

PROBIOTIKÁ

Michal Mego

Národný onkologický ústav, Bratislava

Probiotiká sú definované ako živé mikroorganizmy, s prospešným účinkom na zdravie človeka pri podávaní v dostatočných množstvách. Ich účinok je veľmi úzko prepojený s prirodzenou funkciou črevnej flóry. Môžu sa výrazne uplatniť v liečbe a predovšetkým v prevencii mnohých civilizačných ochorení. Predpokladom ich širšieho použitia je dostupnosť bezpečných kmeňov s dokázanou klinickou účinnosťou.

Kľúčové slová: probiotiká, kolonizačná rezistencia, bezpečnosť, črevná flóra.

Kľúčové slová MeSH: probiotiká, črevá – mikrobiológia, bezpečnosť.

PROBIOTICS

Probiotics are defined as live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host. Their effect is closely related to natural function of gut flora. Probiotics could be applied in the therapy and mainly in prevention of many civilisation disorders. Availability of safe probiotic strains with demonstrated clinical effectivity is main assumption of wider their application.

Key words: probiotics, colonisation resistance, safety, gut flora.

Key words MeSH: probiotics, intestines – microbiology, safety.

Via pract., 2005, roč. 2 (9): 354–357.

Úvod

V poslednom období pozorujeme stúpajúci záujem o probiotické baktérie. Kým do roku 2000 bolo v databáze MEDLINE publikovaných 363 prác s kľúčovým slovom probiotiká, za posledných 5 rokov je to až 1 652. Ukazuje sa, že probiotiká sa môžu výrazne uplatniť v liečbe a predovšetkým v prevencii mnohých civilizačných ochorení, pričom ich aplikácia je spojená s minimálnymi rizikami. Ich účinok je veľmi úzko prepojený s prirodzenou funkciou črevnej flóry.

Zloženie črevnej flóry

Črevný systém je extrémne komplexný systém pozostávajúci z 3 základných komponentov: **bunky hostiteľa, mikroflóry a potravu**. Podieľa sa na obranyschopnosti organizmu prostredníctvom slizničnej bariéry, kolonizačnej rezistencie mikroflóry a GALT systému (*gut associated lymphoid tissue*). Porušenie jednej z týchto zložiek vedie k vzniku chorôb (1).

Je známe, že koncentrácia baktérií gastrointestinálneho traktu stúpa aborálnym smerom. V žalúdku je najnižšia, čo je spôsobené extrémne nízkym pH. Malé množstvo baktérií, ktoré prežijú pasáž žalúdkom sa dostávajú do duodena, kde sú naopak vystavené pôsobeniu neutrálneho prostredia (pH = 7), žlče a pankreatickým sekrétom. Baktérie, ktoré prežijú aj toto prostredie sa dostávajú do tenkého čreva, avšak rýchla pasáž neumožňuje ich významnejší rast. Nakoniec sa dostávajú do hrubého čreva, kde dosahujú koncentráciu 10^9 až 10^{13} na gram lumenálneho obsahu. Mikroflóru osídľujúcu hrubé črevo tvorí viac ako 400 druhov baktérií zaradených do 40 rodov. Populácia črevných baktérií pozostáva z predominantných baktérií ($> 10^9$ baktérií/g), subdominantných

baktérií (medzi 10^6 a 10^9 bakt./g) a tranzitných baktérií ($< 10^6$ bakt./g). Niektoré z nich sú pre človeka prospešné ako napríklad *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, kým iné môžu byť škodlivé. U dospelého jedinca sú najpočetnejšie gramnegatívne anaeróby rodu *Bacterioides*, ďalej grampozitívne anaeróbne tyčky a koky, medzi ktorými prevažujú bifidobaktérie, ktoré môžu tvoriť až 25% celkovej populácie.

Zdrojom energie pre rast a výživu baktérií je neabsorbovaná potrava, hlien, odumreté epiteliálne bunky, ako aj metabolity iných baktérií. Vplyvom mikroflóry dochádza k metabolizácii uvedených substrátov. Významná je predovšetkým produkcia mastných kyselín s krátkym reťazcom, ktoré slúžia ako výživa kolonocytov. Na druhej strane vplyvom črevnej flóry dochádza aj k tvorbe toxických metabolitov, karcinogénov, alebo k inaktivácii liekov.

Črevná mikroflóra nie je nevyhnutná pre život hostiteľa, avšak zvieratá chované v bezmikróbnom prostredí sú náchylnejšie k infekcii. Tiež sú u nich prítomné anatomicke zmeny ako distendované cékum, tenšia črevná sliznica a hypotrofia GALT systému. Okrem posilnenia bariérovej funkcie ovplyvňuje črevná flóra aj expresiu génov regulujúcich postnatálnu maturáciu enterocytov, metabolizmus a angiogénu. Baktériami indukovaná zvýšená expresia génov pre absorpciu sacharidov a lipidov, vysvetľuje na molekulárnej úrovni pozorovanie, že zvieratá chované v bezmikróbnom prostredí musia prijať až o 30% kalórií viac na udržanie hmotnosti v porovnaní s normálne chovanými zvieratami. Tieto poznatky poukazujú na vplyv zloženia črevnej flóry na hmotnosť jedincov, tým aj na riziko civilizačných chorôb (2, 3).

Vývin črevnej flóry

Črevný epitel je pokrytý hlienom, ktorý je tvorený prevažne glykoproteínmi. Ich sacharidová zložka tvorí adhézne miesta pre baktérie. Keďže táto štruktúra je kódovaná genomom hostiteľa, je aj repertoár adhézných miest a tým aj zloženie črevnej mikroflóry kontrolované hostiteľom. Toto je zároveň aj príčinou, prečo je zloženie črevnej mikroflóry každého človeka jedinečné a do určitej miery stabilné.

U novorodencov je repertoár adhezívnych miest pre baktérie geneticky kódovaný (tzv. vnútorný repertoár) a preto ku kolonizácii dochádza len baktériami, ktoré sú schopné adhérencie na tieto miesta. Neskôr, vplyvom bakteriálnych glykozidáz, dochádza k zmene adhezívnych miest, čo umožňuje väzbu ďalších druhov baktérií. Baktérie sú tiež schopné indukovať zmenu expresie glykozyltransferáz v bunke črevného epitelu a tým aj zmenu sacharidových zložiek hlienu. Tieto mechanizmy sa uplatňujú pri kolonizácii patogénnymi, ako aj prospešnými baktériami.

Baktérie adherujú výlučne na hlien pokrývajúci epitel, avšak nikdy nie na epitelové bunky priamo. K porušeniu dochádza v prípade patogénnych baktérií, čo sa uplatňuje v prípade hnačky, ale aj pri kolorektálnom karcinóme, alebo Crohnovej chorobe.

Novorodenci majú črevo prakticky sterilné. K prvej kolonizácii dochádza 12 až 24 hod. po pôrode. Prvými kolonizujúcimi baktériami sú *Escherichia coli* a *Enterococcus sp.*, s následnými obligátnymi anaeróbmami. Ďalšia kolonizácia je ovplyvnená typom výživy. U detí dojčených materským mliekom prevažujú rody *Bifidobacterium sp.* s malým podielom *Bacterioides sp.*, kým u detí kŕmených umelou výživou je tento pomer opačný. Infantálna flóra

sa mení na dospelú v priebehu 24 mesiacov, dĺžka je však ovplyvnená zložením stravy.

Významnou funkciou mikroflóry je zabrániť kolonizácii novými bakteriálnymi druhmi z vonkajšieho prostredia – tzv. kolonizačná rezistencia. Podieľa sa na nej niekoľko mechanizmov:

1. kompetícia o substrát,
2. kompetícia o adhezívne miesta,
3. produkcia bakteriocínov a antibiotík,
4. zmena mikroprostredia – pH, toxické metabolity,
5. produkcia signálnych molekúl regulujúcich rast iných baktérií.

Niekoľko faktorov sa podieľa na kolonizácii čreva, napr. vek, acidita žalúdka, zloženie potravy. V súvislosti so starnutím dochádza k zníženiu množstva baktérií mliečného kvasenia, naopak zvyšuje sa podiel anaeróbov rodu *Bacterioides* sp. Potrava bohatá na vlákninu zvyšuje druhovú rozmanitosť a množstvo prospešných baktérií, naopak potrava bohatá na lipidy tento pomer mení. Substráty meniace zloženie flóry v prospech baktérií mliečného kvasenia sa nazývajú **prebiotiká** a okrem probiotík predstavujú ďalší spôsob pozitívneho ovplyvnenia črevnej flóry. Antibiotiká, antacidá, ale aj alkohol narušujú rovnováhu v čreve.

Účinky probiotík na imunitný systém

Črevo predstavuje primárny imunitný orgán obsahujúci viac ako 60% imunoglobulínov a viac ako 10^8 lymfocytov/g tkaniva. GALT systém obsahuje najväčšie množstvo imunokompetentných buniek v ľudskom organizme. Je schopný tolerovať obrovské množstvo antigénov v potrave a komenzálnych mikroorganizmov, na druhej strane odhalí a zničí enteropatogénne mikroorganizmy. Na jeho správnom vývine sa výraznou mierou podieľa črevná flóra.

Použitie probiotických baktérií vedie k stimulácii nešpecifickej imunity, hlavne fagocytózy, ale aj humorálnej imunity, k zvýšeniu produkcie sekrečného Ig A, cytokínov TNF A, IL-6, IL-2, IL-5, IL-1. Pozorovala sa tiež reverzia vekom spojeného poklesu cytokínov, aktivácia T-lymfocytov a modulácia pomeru Th1 a Th2 subpopulácie lymfocytov. (4, 5)

Klinická aplikácia probiotík

Aj keď prospešný účinok probiotík sa predpokladá u celého radu ochorení (tabuľka 1), len u malého počtu z nich bol tento efekt aj dokázaný v klinických štúdiách (2).

Probiotiká u novorodencov

Intestinálne infekcie sú časté u novorodencov, predovšetkým u predčasne narodených, živých umelou výživou. Súvisí to s faktom,

Tabuľka 1. Potenciálne klinické aplikácie probiotík.

- prevencia a terapia hnačky
- eradikácia *H. pylori*
- prevencia nádorov (kolorektálny karcinóm, karcinóm prostaty, prsníka)
- prevencia gastrointestinálnych, urogenitálnych infekcií a infekcií v chirurgii
- stimulácia imunity, imunomodulačný účinok
- prevencia a liečba alergických ochorení
- autoimunitné ochorenia
- liečba hepatálnej encefalopatie
- udržiavacia terapia idiopatických črevných zápalov, syndróm dráždivého hrubého čreva
- prevencia urogenitálnych infekcií, prevencia infekcií u pacientov s močovým katétrom a deriváciou moču
- zníženie hladiny cholesterolu a arteriálnej hypertenzie

že flóra novorodenca sa odlišuje od zloženia dospelých. Nachádza sa tu menšie množstvo kmeňov a z tohto hľadiska je novorodenec imunokompromitovaný, čo sa v praxi aj prejavuje častejšími gastrointestinálnymi infekciami a alergiami. Prítomnosť bifidobaktérií u dojčenských detí je spojená so silnou stimuláciou antitotavírovej IgA v porovnaní s deťmi živými umelou stravou. Nekrotizujúca enterokolitída je komplikácia spojená s vysokou mortalitou (20–30%). Riziko sa zvyšuje v súvislosti s kolonizáciou čreva patogénnymi – *E. coli*, *Klebsiela* sp., *Salmonella* sp., *Clostridium* sp. K takejto kolonizácii dochádza častejšie u detí s nízkou pôrodnou hmotnosťou, na jednotkách intenzívnej starostlivosti. Ak je črevo kolonizované lactobacilmi alebo bifidobaktériami je incidencia výrazne nižšia. Podávanie kmeňov *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium infantis* v dávke $2,5 \times 10^8$ viedlo v klinickej štúdií s 1237 novorodencami k zníženiu incidence nekrotizujúcej enterokolitídy až o 60% v porovnaní s historickou kontrolou. Po cielenom osídlení nedonosených detí a ohrozených novorodencov nepatogénnym kmeňom *E. coli* 083 sa zistila stimulácia imunitného systému, dôsledkom ktorej bolo odstránenie črevných patogénov, výrazne znížený výskyt nozokomiálnych infekcií a znížená potreba liečby antibiotikami (2, 6).

Hnačka

Použitie probiotík v prevencii a liečbe hnačky sa opiera jednak o teoretické predpoklady a tiež o výsledky viacerých klinických štúdií. Baktérie mliečného kvasenia sa podieľajú na úprave dysmikrobiu, kompetujú o substrát s patogénnymi baktériami, produkujú bakteriocíny, zvyšujú transepiteliálnu rezistenciu (7). Ich enzymatická aktivita ovplyvňuje hnačku aktiváciou alebo deaktiváciou metabolitov, ktoré hnačku vyvolávajú. Produkcia mastných kyselín s krátkym reťazcom, ktoré sú dôležité pre výživu črevných buniek sliznice, tiež prispieva k ich anti-diarioickému účinku. Pri prevencii antibiotikami indukovanej hnačky

sa v dvojitoslepých klinických štúdiách zistil protektívny účinok probiotík obsahujúcich *S. boulardii* a *Enterococcus faecium*. Tiež pri prevencii infekčných ochorení spojených s *Clostridium difficile* viedlo podávanie probiotík k výraznému poklesu rekurencie choroby. Trvanie rotavírusovej hnačky u detí a hnačky u imunokompromitovaných HIV pozitívnych pacientov sa významne skrátilo po podaní kmeňov *Lactobacillus* sp., resp. *S. boulardii*.

Meta-analýza 9 randomizovaných, placebo kontrolovaných štúdií ukázala významné zníženie incidence antibiotikami asociovaných hnačky u detí. Ďalšia meta-analýza, do ktorej bolo zahrnutých 23 štúdií, ukázala štatisticky významné zníženie rizika a trvania infekčnej hnačky (8, 9).

Atopická dermatitída a alergické choroby

Pozitívny vplyv probiotík je prítomný aj u alergických ochorení, kde ich podávanie vedie k zmierneniu príznakov u pacientov s atopickou dermatitídou, astmou a rinitídou, ale uplatňuje sa aj pri potravinovej alergii. Podávanie kmeňa *Lactobacillus rhamnosus* GG ženám s anamnézou atopického ekzému, alergickej rinitídy a astmy počas tehotenstva a dojčenia, významne znížilo incidenciu alergických chorôb u detí. Imunomodulačný efekt baktérií mliečného kvasenia nie je viazaný len na perorálne podanie, ale uplatňuje sa aj pri subkutánnom podaní (2, 10).

Kolorektálny karcinóm

Už dlhší čas je akceptovaná predstava, že baktérie zohrávajú významnú úlohu v procese vzniku a vývoja kolorektálneho karcinómu. Protektívny účinok baktérií mliečného kvasenia spočíva v posilnení imunitného systému hostiteľa, supresii rastu a aktivity intestinálnych mikrobov produkujúcich karcinogény a promotory. Viazajú karcinogény a produkujú antimutagénne komponenty, ďalej butyrát, ktorý stimuluje apoptózu abnormálnych buniek. Inhibujú tiež konverziu žlčových kyselín na sekundárne žlčové kyseliny a ovplyvňujú fekálne pH (11). Suplementácia potravy pomocou kmeňov lactobacilla viedla k zníženiu fekálnej aktivity beta-glukuronidázy, nitroreduktázy, azoreduktázy, ktoré sa zúčastňujú premeny prekarcinogénov na karcinogény. Podobný efekt na aktivitu fekálnej beta-glukuronidázy malo podávanie probiotického kmeňa *Enterococcus faecium* M74. Ďalší protektívny efekt probiotík pri kolorektálnom karcinóme vedie cez ovplyvnenie idiopatických črevných zápalov (12, 13).

Infekcia *Helicobacter pylori*

Protektívny účinok probiotík sa začína využívať pri infekcii vyvolanej *Helicobacter pylori*.

Pozorovala sa supresia kolonizácie žalúdočnej sliznice *H. pylori* pomocou probiotického kmeňa *Lactobacillus salivarius* in vitro a v myšom modeli (14). V 2 humánných štúdiách, s celkovým počtom 180 pacientov, viedlo podávanie probiotických baktérií *Lactobacillus acidophilus*, resp. *L. johnsonii* spolu s antibiotikami, k významnej vyššej eradikácii *H. pylori* a k redukcii zápalu žalúdočnej sliznice v porovnaní so skupinou liečenou antibiotikami a placebom (2).

Idiopatické črevné zápaly

Idiopatické črevné zápaly vznikajú v dôsledku poruchy imunoregulačných mechanizmov, pôsobením vonkajších faktorov prostredia u geneticky predisponovaných jedincov (15). Na animálnych modeloch s alteráciami génov ovplyvňujúcich imunitný systém sa zistilo, že črevná mikroflóra hrá pri vzniku zápalu dôležitú úlohu. Zápal sa objavuje v miestach najvyššej koncentrácie črevnej mikroflóry. Prenesenie myši, do bezmikróbneho prostredia zabránilo vzniku črevného zápalu. Podobný efekt malo aj použitie antibiotík, ktoré viedli k potlačeniu črevnej flóry. Predpokladá sa, že len niektoré zložky črevnej flóry majú schopnosť vyvolať zápal.

V zvieracích modeloch malo podávanie baktérií mliečného kvasenia protektívny vplyv na recidívu idiopatických črevných zápalov. Následne bolo uskutočnených niekoľko menších klinických štúdií, ktoré zisťovali vplyv probiotík v udržiavacej terapii ulceróznej kolitídy a Crohnovej choroby. Výsledky týchto prác sú však inkonzistentné, na čom sa podieľa použitie rôznych druhov probiotík, rôzne dávky a predovšetkým veľkosť súborov, pretože väčšina z nich nemala dostatočnú silu na preukázanie efektu probiotika (16). V súčasnosti prebiehajú randomizované štúdie, ktoré dajú odpoveď na túto otázku (2).

Prevencia infekcie

Mechanizmus kolonizačnej rezistencie sa uplatňuje pri prevencii infekcií gastrointestinálneho a urogenitálneho traktu, keď aplikácia probiotických baktérií viedla k významnému zníženiu incidencie infekcií v porovnaní s antibiotickou profylaxiou. Tiež riziko prenosu AIDS sa zvyšuje u žien s bakteriálnou dysmikrobiou. Kolonizačná rezistencia navodená probiotikami sa môže uplatniť dokonca pri ranových infekciách v chirurgii, kde môže byť alternatívou antibiotickej liečby, bez rizika vzniku multirezistentných kmeňov. Podobný efekt sa uplatňuje aj u pacientov po transplantácii pečene, kde napriek imunosupresii, pacienti, ktorí preventívne dostávali kmeň *Lactobacillus plantarum* 299 mali výrazne znížené riziko infekčných komplikácií (2).

Bezpečnosť

Aj keď incidencia infekcií vyvolaných baktériami mliečného kvasenia je extrémne nízka,

existuje určité riziko, že tieto sa môžu stať patogénnymi. Toto riziko sa zvyšuje u imunokompromitovaného jedinca. V literatúre sú popísané kazuistiky, kde baktérie mliečného kvasenia spôsobili lokálne infekcie hrudníka, gastrointestinálneho, urogenitálneho traktu, ako aj meningitídy. Bakteriémia vyvolaná kmeňom *Bacillus subtilis* bola popísaná u 4 z 20 onkologických pacientov, ale bola referovaná aj u ďalších ťažko chorých pacientov (7). Na našom pracovisku podávanie probiotického kmeňa *E. faecium* M-74 onkologickým pacientom s proťahovanou závažnou neutropéniou (absolútny počet neutrofilov < 500/μl), nevedlo k bakteriémii ani infekcii probiotickým kmeňom (17).

Teoretické riziko podávania probiotík súvisí so vznikom a prenosom rezistencie medzi probiotickým kmeňom a endogénnou flórou. Aj keď v praxi sa uvedený jav nepozoroval, obavy budú zvyšujúci sa počet vankomycin-rezistentných kmeňov *Enterococcus faecium*, čo môže súvisieť s používaním antimikrobiálnych preparátov u zvierat a ľudí.

Probiotiká v bežnej praxi

Probiotiká v klinickej praxi môžeme rozdeliť na prirodzené a komerčné produkty. K **prirodzeným** patria jogurty, kefíry a slovenské špecifikum – bryndza. Ich nevýhodou je variabilné množstvo probiotických baktérií, ovplyvnené spôsobom výroby a skladovaním, ktorých množstvo výrazne klesá s dĺžkou skladovania. Ich výhodou je lepšia biologická dostupnosť a širšie spektrum baktérií s komplexnejším vplyvom na črevnú flóru, čo sa týka

predovšetkým pravej netermizovanej slovenskej bryndze.

Komerčné produkty obsahujú probiotické kmene, a sú registrované buď ako lieky, alebo ako potravinové aditíva. Medzi týmito preparátmi sú veľké rozdiely predovšetkým čo sa týka charakteru a obsahu baktérií. Prípravky s obsahom baktérií 10⁶ a menším nemajú prakticky žiadnu klinickú účinnosť, **optimálna terapeutická dávka by sa mala pohybovať medzi 10¹⁰ až 10¹¹ denne**. V budúcnosti budú potrebné garancie od výrobcu na kvalitu týchto pomerne drahých produktov.

Nie všetky používané probiotické kmene majú rovnaký protektívny účinok. Súvisí to jednak s ich schopnosťou prejsť cez ochrannú bariéru tvorenú kyslým prostredím žalúdka, ako aj s ich enzymatickou výbavou, schopnosťou kolonizovať črevo a rastovým potenciálom.

V súčasnosti neexistuje odpoveď na otázku, ktoré probiotikum je to najvhodnejšie. Trend však smeruje k použitiu geneticky modifikovaných kmeňov, s dopredu definovanými biologickými vlastnosťami, ako aj k vzájomnej aplikácii probiotík so substrátmi potrebnými pre svoj rast – prebiotikami.

Použitie probiotík ako bežnej súčasťi klinickej praxi je otázkou blízkej budúcnosti. Predpokladom je dostupnosť dostatočne bezpečných kmeňov s dokázanou klinickou účinnosťou v správne dizajnovaných klinických štúdiách. Ďalšie vedecké úsilie musí smerovať k objasneniu ich mechanizmu účinku a vysvetleniu ich inefektivity v niektorých situáciách.

Literatúra

1. Bourlioux P, Koletzko B, Guarner F, et al. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium „The Intelligent Intestine“, held in Paris, June 14, 2002. *Am J Clin Nutr*. 2003; 78: 675–683.
2. Hooper, L., Gordon, JI. Comensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*, 2001; 292: 1115–1118.
3. Reid G, Jass J, Sebuly M, et al. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev*. 2003; 16: 658–672.
4. Ebringer L, Ferencik M, Lahitova N, et al. Antimutagenic and immunostimulatory properties of lactic acid bacteria. *World J Microbiol Biotechnol* 1995; 11: 294–298.
5. Neumann E, Oliveira MA, Cabral CM, et al. Monoassociation with *Lactobacillus acidophilus* UFV-H2b20 stimulates the immune defense mechanisms of germ free mice *Braz J Med Biol Res* 1998; 31: 1565–1573.
6. Lodinová-Žadniková R, Slavíková M, Tlaskalová-Hogenová H, et al. The antibody response in breast-fed and non breast-fed infants after artificial colonization of the intestine with *Escherichia coli* 083 In: Jablonská et al. (Ed): *Kolorektálny karcinóm, včasná diagnóza a prevencia*, Grada, Publishing, 2000.
7. Vandenas Y. Bacteria and yeast in the treatment of acute and chronic infectious diarrhea. Part I. Bacteria. *Clin Microbiol Infect*, 1999; 5: 299–307.
8. D'Souza AL, Rajkumar CH, Cooke J, et al. Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea: meta-analysis. *BMJ*, 2002; 324: 1361–1366.
9. Allen SJ, Okoko B, Martinez E, et al. Probiotics for treating infectious diarrhoea (Cochrane review). 2004 In *The Cochrane Library*, Issue 2, Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
10. Boggs W. Probiotics effective when given subcutaneously. *Gut*, 2004; 53: 694–700.
11. Sanders ME. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J Nutr*, 2000; 130: 384S–390S.
12. Wollowski I, Reckemmer G, Pool-Zobel BL. Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 451–455.
13. Rolfe DR. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J Nutr*, 2000; 130: 396S–402S.
14. Aiba Y, Suzuki N, Kabir AM, et al. Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. *Am J Gastroenterol* Nov, 1998; 3: 2097–2101.
15. Jablonská, et al. (Ed): *Kolorektálny karcinóm, včasná diagnóza a prevencia*, Grada, Publishing, 2000.
16. Fedorak RN, Madsen KL. Probiotics and the management of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 286–299.
17. Mego M, Ebringer L, Drgoňa L, et al. Prevention of febrile neutropenia in cancer patients by probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74. Pilot study phase I. *Neoplasma* 2005; 52: 159–164.