

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra biologických a lékařských věd

Terapeutická hodnota probiotik

Využití v prevenci a terapii alergií a gynekologických onemocnění

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Hradec Králové

Sládková Jana

Děkuji panu PharmDr. Petru Jílkovi za odborné vedení a pomoc při vypracování diplomové práce.

Obsah

1. ÚVOD.....	5
2. CÍL PRÁCE	7
3. TEORETICKÁ ČÁST.....	8
3.1. Definice probiotik.....	8
3.1.1. Probiotické bakterie.....	8
3.1.2. Požadavky na probiotické mikroorganismy	11
3.2. Imunita a mechanismus účinku probiotik	12
3.2.1. Slizniční imunitní systém.....	12
3.2.2. Imunitní systém střevní sliznice.....	13
3.2.3. Perorální tolerance.....	14
3.2.4. Komezální mikroflóra	16
3.2.5. Mechanismus příznivého účinku probiotik.....	16
3.2.6. Imunomodulační účinky probiotik	17
3.3. Klinické využití probiotik	19
3.3.1. Formy podání	19
3.3.2. Prokázané účinky probiotik	20
3.3.3. Nežádoucí účinky probiotik	20
3.3.4. Využití probiotik v terapii	21
4. PROBIOTIKA V PREVENCI A TERAPII ALERGIÍ A UROGENITÁLNÍCH INFEKČÍ.....	25
4.1. Probiotika v prevenci a terapii alergií	25
4.1.1. Navržené odůvodnění pro užívání probiotik proti.....	25
4.1.2. Klinické studie	26
4.2. Probiotika v prevenci a terapii gynekologických infekcí.....	29
4.2.1. Urogenitální infekce	29
4.2.2. Využití probiotik a prebiotik	30
4.2.3. Predispoziční a rizikové faktory rekurentní vulvovaginitis.....	32
4.2.4. Klinické studie	32

5. PROBIOTIKA REGISTROVANÁ V ČESKÉ REPUBLICE JAKO	
LÉČIVA	35
5.1. Perorální probiotika	35
5.2. Vaginální probiotika.....	36
5.3. Parenterální probiotika	39
6. DISKUSE	40
7. ZÁVĚR	42
8. LITERATURA.....	43

1. ÚVOD

Lidský organismus není sterilní. Jak povrch těla, tak i řada dutých orgánů je osídlena mikroflórou, která je za normálních okolností neškodná. Může však vyvolat postižení zdraví, pokud se v důsledku poranění nebo jiné poruchy dostane do jiného orgánového systému než toho, ve kterém se obvykle vyskytuje. Může být rovněž zdrojem nebezpečí pro osoby s poruchami imunity.

Fyziologická mikroflóra jednoho člověka může být potenciálně riziková pro člověka jiného. Fyziologická mikroflóra také různými mechanismy zabraňuje kolonizaci lidského těla dalšími mikroorganismy, včetně patogenů.

V průběhu fylogenetického vývoje člověka došlo k několika podstatným změnám, které se pravděpodobně rozhodující měrou podílejí na neustále se zvyšující incidenci některých moderních civilizačních nemocí.

Od počátku vývoje lidského druhu byl slizniční imunitní systém vystaven vysokému tlaku mikrobiálních antigenů. Pod tímto tlakem se vyvinul velmi důmyslný a propracovaný imunitní systém, který na nejrůznějších úrovních chrání svého nositele před vznikem infekce.

V průběhu posledních 200 let došlo však k dramatickým změnám ve stravovacích návycích, způsobu přípravy jídla a konzervace pokrmů. Navíc neustále se zlepšující hygienický standard, používání antimikrobiálních léčiv a prostředků tento antigenní tlak patologických mikrobů významně snížil.

Dramatické snížení kontaminace potravy v éře moderního člověka sice snižuje výskyt infekčních nemocí, ale zároveň vede k minimální stimulaci dozrávajícího imunitního slizničního systému u malých dětí. Opožděná maturace a trvalá nezralost slizniční imunity může pak v dalším průběhu mít závažné důsledky pro svého nositele.

Na jedné straně slizniční střevní bariéry stojí mocný imunitní systém s dávno vyvinutými stereotypními mechanismy poznání a likvidace infekce (přirozená imunita) a na druhé straně bariéry je slabý mikrobiální antigenní tlak.

Co je důsledkem? Patrně to, že slizniční imunitní systém se s touto změnou nevyrovnal a svoji hyperaktivitu vybíjí proti vlastním strukturám s následným orgánovým (slizničním) poškozením. Tak si můžeme vysvětlit vznik alergických reakcí, idiopatických střevních zánětů.

Cílem terapie probiotiky je právě obnovení normálního složení mikroflóry a tím i posílení imunitního systému člověka.

2. CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo nalézt a sestavit aktuální přehled informací o probiotikách, zejména o jejich využití v prevenci a terapii alergií a gynekologických onemocnění. Dále nalézt a zhodnotit studie dokazující účinnost probiotik. A vytvořit přehled probiotik registrovaných v České republice jako léčiva.

3. TEORETICKÁ ČÁST

3.1. DEFINICE PROBIOTIK

Jako **probiotika** označujeme živé mikroorganismy lidského původu, které příznivě ovlivňují zdraví hostitele zlepšením střevní mikrobiální bilance, to znamená, že podáváním probiotik dodáváme v nadbytku bakterie, které působí prospěšně na zdravotní stav hostitele. Probiotické působení těchto mikroorganismů není omezené pouze na gastrointestinální trakt, ale může se uplatnit např. i v urogenitálním nebo dýchacím traktu.

Kromě termínu „probiotika“ se do odborné literatury zavedly i termíny „prebiotika“ a „synbiotika“.

Prebiotika jsou složky potravy, které nejsou tráveny enzymatickým systémem trávicího traktu a přicházejí nenatráveny do tlustého střeva. Slouží jako substrát (potrava) pro bakteriální flóru, která působí prospěšně na hostitele - patří sem oligofruktany a polysacharidy.

Jako **synbiotika** označujeme směs probiotik a prebiotik, která příznivě ovlivňuje složení střevní mikroflóry příjemce.^{1,2}

3.1.1. PROBIOTICKÉ BAKTERIE

Bakteriální species lidského původu s prokazatelně příznivými účinky na lidské zdraví zahrnují různé kmeny laktobacilů, bifidobakterií, streptokoků a nepatogenní kmeny escherichií. Výjimku tvoří *Saccharomyces boulardii*, která není lidského původu, avšak má prokazatelně příznivý vliv na lidské zdraví.

Ze zdravotního hlediska nejprospěšnější jsou bakterie mléčného kvašení, které mají schopnost zkvasit mléčný cukr (laktózu) a jiné cukry na krátkořetězcové karboxylové kyseliny (mléčnou, octovou, propionovou, máselnou), produkuje vitaminy skupiny B, K a další vitamíny potřebné pro hostitele a jsou schopné dehydroxylovat a dekonjugovat žlučové kyseliny.³

Tab.1 Bakterie produkující kyselinu mléčnou			Neprodukující kyselinu mléčnou
<i>Lactobacillus species</i>	<i>Bifidobacterium species</i>	Jiné bakterie	
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus (toyoi)</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. animalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>B. subtilis</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>L. lactis</i>	<i>S. boulardii</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. infantis</i>		<i>S. cerevisiae</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. lactis</i>		<i>E. coli</i>
(<i>L. paracasei</i>)			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

Lactobacillus species

Existuje mnoho druhů laktobacilů, jsou to fakultativně anaerobní Gram - pozitivní bakterie obvykle lidského původu. Jednotlivé druhy se liší ve fermentaci, produkci H₂O₂ a bakteriocinů. Z toho důvodu nachází široké uplatnění. Komerčně se využívají živé v potravních doplncích, nebo živé, inaktivované, či lyofilizované ve farmakologických preparátech.

Bifidobacterium species

Produkují kyselinu mléčnou. Jsou striktně anaerobní, Gram - pozitivní, většinou lidského původu. Indikují se při průjmu, stimulaci imunity, mají antimutagení účinek a působí proti hypercholesterolemii. Účastní se dekonjugace žlučových kyselin, katabolismu karbohydrátů obsažených ve stravě a syntézy vitamínů. In vivo jsou užívány zejména u dětí k obnově imunity.

Bacillus species

Jsou Gram – pozitivní sporulující aerobní tyčky. Jejich spóry doporučovali někteří lékaři pouze empiricky v prevenci nebo léčbě průjmů, ale postupem času od nich bylo upouštěno kvůli novým mnohem zajímavějším mikroorganismům, protože chyběly kontrolní zkoušky ověřující jejich účinnost. Komerčně dostupné jsou spóry suspendované v tekutém nosiči.

Enterococcus faecium a E. faecalis

Měli úspěch v minulosti zásluhou jejich účinku při střevních poruchách. Mají dobré mikrobiologické rysy jako je krátký generační čas a produkce bakteriocinů, ale existuje obava z možného přenosu antimikrobiální rezistence. Komerčně dostupné preparáty zahrnují jak farmaceutické preparáty, tak i živé bakterie ve stravě.⁴

Streptomyces boulardii

Jde o sušené nepatogenní kvasinky, které nejsou lidského původu.³ Jsou užívány při střevních poruchách. Několik zkoušek prokázalo jejich účinnost při průjmu. Výhodná je jejich rezistence vůči antimikrobiálním látkám. Jsou k dispozici v lyofilizované formě.⁴

Escherichia coli Nissle 1917

Je to fakultativně anaerobní Gram – negativní bakterie. Nevykazuje patogenní vlastnosti a má inhibiční vliv na růst jiných mikrobů. Byla prověřena molekulárně-genetickou typizací pomocí stanovení DNA makrorestrikčním testem a PCR plazmidovou analýzou. Jde o jedno z nejlépe typizovaných a prověřených probiotik.¹

3.1.2. POŽADAVKY NA PROBIOTICKÉ MIKROORGANISMY

Předpokladů k tomu, aby uvedená bakteriální species splňovala požadavky probiotik, je několik. V kontrolovaných klinických zkouškách by mělo mít jejich podávání prokazatelný příznivý vliv. Po stránce mikrobiologické musí mikroby být nejen nepatogenní, ale také netoxické a jejich kultury musí být mikrobiologicky, biochemicky i geneticky jasně definovány a homogenní. Z hlediska farmaceutického by měly být odolné vůči trávicím sekretům při zachované viabilitě i po transportu a uskladnění.³

Tab.2 Požadavky na mikroorganismy používané jako probiotika

- typizace mikroba (molekulárně genetická, sérologická, biochemická, mikrobiologická)
- nepřítomnost patogenních vlastností (neprodukce enterotoxinů, cytotoxinů, bez enteroinvazivity, patogenní adhezivity, hemolýzy a přítomnosti rezistence na antibiotika)
- humánní (lidský) původ
- rezistence na účinek žaludeční kyseliny a žluči
- schopnost adherovat na povrch kolonocytů
- schopnost kolonizovat trávicí ústrojí
- klinicky doložitelný příznivý účinek na lidské zdraví
- doložitelná bezpečnost léčby

3.2. IMUNITA A MECHANISMUS ÚČINKU PROBIOTIK

3.2.1. SLIZNIČNÍ IMUNITNÍ SYSTÉM

Imunitní systém se skládá ze dvou anatomicky a částečně i funkčně oddělených kompartmentů, slizničního a systémového. Většina antigenů a mikrobů se dostává do styku s organismem na slizničním povrchu. **Slizniční imunitní systém je proto první linií obrany organismu.** Slizniční povrchy měří přibližně 400 m², což je asi 200krát větší plocha než plocha kůže a představují tak hlavní rozhraní mezi antigenními látkami okolního prostředí a organismem.

Lymfoidní tkáň asociovaná se sliznicí (tzv. MALT = mucosa-associated lymphoid tissue) se skládá z několika více či méně funkčně propojených oddílů:

- a) **Se střevem asociovaná lymfoidní tkáň (GALT = gut-associated lymphoid tissue).** Sem patří Peyeroovy plaky (PP) a ostatní lymfoidní folikuly střev, apendix, imunokompetentní buňky v lamina propria střeva (LP) a intraepiteliální (IE) imunokompetentní buňky. Někteří autoři řadí k tomuto kompartmentu i mesenterální lymfatické uzliny.
- b) **Lymfoidní tkáň asociovaná s bronchy (BALT = bronchus associated lymphoid tissue).**
- c) **S nosní sliznicí asociovaná lymfoidní tkáň (NALT = nasal-associated lymphoid tissue).**
- d) **Ostatní lymfoidní tkáně** asociované s prsními žlázami, slznými žlázami, slinnými žlázami, s urogenitálním systémem, s vnitřním uchem a tonzily.⁵

V MALT se nachází téměř 80 % všech imunocytů. T - lymfocyty, B - lymfocyty a akcesorní buňky (makrofágy, dendritické buňky aj.) vykazují některé fenotypové a funkční odlišnosti od buněk systémového imunitního kompartmentu.⁵

3.2.2. IMUNITNÍ SYSTÉM STŘEVNÍ SLIZNICE

Tkáně kryté epitelii, tedy také střevní sliznice, představují místo kontaktu mezi zevním a vnitřním prostředím a jsou neustále vystaveny toku velkého množství antigenních a mitogenních podnětů.

Organismus je vybaven mechanickými, chemickými a imunologickými bariérami, které v místech kontaktu brání nekontrolovatelnému průniku těchto látek do vnitřního prostředí organismu. Právě k těmto tkáním patří slizniční povrchy zažívacího, dýchacího a urogenitálního traktu.

V současné době je nejlépe popsáným kompartmentem slizničního imunitního systému **GALT**. Skládá se z „indukčních oblastí“, kde dochází ke styku a zpracování antigenu a primární stimulaci T - a B - lymfocytů, sem patří izolované lymfoidní folikuly a Peyerovy plaky.⁶

Lymfoidní tkáň střeva – GALT tvoří:

- Volné intraepitelové lymfocyty a lymfocyty lamina propria. Jedná se převážně o T - lymfocyty a z nich pak především o T helper (CD4), méně T - supresor (CD8) eventuálně CD5. Produkují lymfokiny hrající zřejmě rozhodující roli v antimikrobiální ochraně sliznic, reagují na autoantigeny (heat shock proteins) a zajišťují orální toleranci.
- Organizovaná lymfoidní tkáň v Peyerových plátech appendixu obsahuje tzv. M-buňky (microfold cells), mohutně pohlcující antigeny, aniž by byly vybaveny znaky hlavního histokompatibilitního systému II. třídy. Tím informace pouze přenášejí, a to bez zásadního imunologického zpracování.

Imunitní systém střevní sliznice zajišťuje tři základní úkoly:

1. Bariéru proti patogenním mikroorganismům.
2. Bariéru proti proniknutí imunogenů přijatých cestou trávicího traktu.
3. Nereaktivnost organismu vůči těm složkám potravy, které do organismu pronikly v imunogenní podobě.

K základním rysům slizničního imunitního systému patří převaha protilátek třídy IgA, přednostní osídlování sliznic a exkrečních žláz buňkami, které pocházejí z lymfatických folikulů střevních (tzv. homing) a konečně transport polymerních imunoglobulinů do sekretu prostřednictvím epitelových buněk.

Součástí imunologické reaktivity střevní stěny je recirkulace a homing slizničních lymfocytů, zajišťujících zpětnovazebný kontakt sliznice – lymfatický systém – oběhový systém – orgánové systémy – sliznice.⁶

3.2.3. PERORÁLNÍ TOLERANCE

Imunitní tolerance je obvyklá imunitní reakce na slizničně podané antigeny a je mnohem častější než aktivní imunitní obranná reakce.

Podmínky, za jakých je antigen aplikován, z větší části předurčují výslednou imunitní reakci.

Antigeny spojené s infekcí a invazivními patogeny zpravidla způsobují aktivní obranou reakci. Z tohoto důvodu je třeba na „perorální toleranci“ pohlížet jako na dynamický proces, který je součástí širokého spektra imunitních odpovědí na vnější antigeny a ne pouze jako na absenci imunitní odpovědi. Snížení systémové imunitní odpovědi na antigeny okolního prostředí, které procházejí slizniční bariérou, může hrát důležitou roli při ochraně sliznic a celého organismu před patologickým chronickým zánětem, a je proto stejně důležité jako imunitní obranná reakce proti antigenům patogenních mikrobů.

Vlastnosti perorální tolerance :

1. Tolerance je **antigen specifická**, a to jak její buněčná, tak humorální složka.
2. Tolerance je většinou pouze **částečná**. Nejedná se tedy o úplnou neschopnost specifické imunitní odpovědi, ale maximálně o 80-90% redukci imunitní odpovědi dosažené bez předchozího perorálního podání antigenu.
3. Tolerance **přetrvává pouze určitou dobu**.
4. Perorální podání antigenu snáze inhibuje indukci imunitní odpovědi, než snižuje již existující imunitní odpověď. Již existující imunitní odpověď může být za určitých podmínek také inhibována perorálním podáním antigenu.

Mechanismy, kterými je inhibována specifická imunitní odpověď po perorálním podání antigenu, jsou společné s mechanismy periferní imunitní tolerance ať již k vlastním antigenům, nebo indukované jinými způsoby podání antigenu.

Nejběžnějšími mechanismy perorální tolerance se zdají být **delece, anergie a indukce** regulačních imunitní odpovědi inhibujících T- lymfocytů. Tyto mechanismy pravděpodobně nepůsobí izolovaně a více než jeden z nich zajišťuje toleranci k danému antigenu, např. výsledkem perorálního podání antigenu může být jak anergie tak i indukce imunitní odpovědi inhibujících T-lymfocytů.⁷

Perorální tolerance zahrnuje imunologickou odpověď na antigenní podněty přicházející z lumenální strany do trávicí trubice. Mechanismus imunitní tolerance funguje nejen pro dietní antigeny, ale také pro osídlující mikroflóru střeva.

Existují dvě populace lymfocytů, které jsou odpovědné za perorální toleranci. První představují regulační lymfocyty produkující interleukin 10 (IL-10). Druhá je subpopulace označovaná jako TH3 - lymfocyty tvoří transformující růstový faktor β (TGF- β). Právě obnovení normálního složení mikroflóry vedoucí k obnovení orální tolerance je cílem terapie probiotiky. Proto také hlavní terapeutickou indikací jsou zánětlivé a infekční choroby trávicího traktu.^{8,9}

3.2.4. KOMENZÁLNÍ MIKROFLÓRA

Ke komplexu přirozených mechanismů, které zabezpečují odolnost organismu proti patogenním mikroorganismům, patří komenzální mikroflóra, která v symbiotickém soužití s makroorganismem osídluje sliznice a kůži. Pokud je její složení optimální, brání mikroflóra uchycení a pomnožení patogenních mikroorganismů.

Složení střevní mikroflóry se výrazně mění po aplikaci antibiotik a je výrazně závislé na složení potravy. (tzv. kolonizační rezistence).⁷

3.2.5. MECHANISMUS PŘÍZNIVÉHO ÚČINKU PROBIOTIK

Příznivý vliv probiotik na lidské zdraví nelze vysvětlit jedním fenoménem, protože je nepochybně komplexní povahy. Navíc se uplatňují jednotlivé mechanismy různou měrou.

a) Stimulační vliv na bariérovou funkci střeva

V experimentálních pracích bylo prokázáno, že podání probiotik významně upravuje narušenou bariérovou funkci střeva. *Lactobacillus rhamnosus* (GG) se pravděpodobně podílí tím, že významně snižuje tvorbu tumor nekrotizujícího faktoru.

Naproti tomu *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus acidophilus* snižují adhezi entero-invazivního kmene *Escherichia coli* (kolonizační rezistence) na sliznici a také zvýšením syntézy actininu a ocludinu přispívají k těsnému spojení enterocytů. Toto zpevnění těsných mezibuněčných spojení (tight junction) vede ke zlepšení slizniční bariéry omezením permeability střev.

b) Příznivý vliv na funkci imunitního systému

Epiteliální buňky jako součást přirozeného imunitního systému reagují na přítomnost bakterií, nebo pouze na některé součásti bakteriálních těl (DNA) nebo produktů jejich metabolismu. Výsledkem je snížení stimulace jaderného faktoru NF- κ B prostřednictvím TNF- α . Rovněž se uplatňuje stimulace imunokompetentních buněk a uvolnění imunomodulačních cytokinů.

c) Vliv na systémovou imunitu

Zajímavé a prakticky důležité je, že podání probiotik rovněž ovlivňuje imunitní reakce na vzdálených orgánech, jako jsou genitálie, respirační trakt a kůže.

Jisté kmeny *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* se příznivě uplatňují v terapii a prevenci kožních ekzémů u kojenců a dětí. Protože aplikace probiotik ovlivňuje dlouhodobé složení bakteriální flóry v tlustém střevě, zdá se, že jejich příznivý vliv na vzdálené orgány je zprostředkován úpravou porušené imunitní reakce.

d) Kolonizační rezistence

Spočívá v kompetici s patogenními mikroorganismy o možnost adherovat na epitelální buňky tenkého nebo tlustého střeva. Současně soutěží o využití jednotlivých substrátů pro metabolismus bakterií.

Je prokázáno, že bakteriální species využívané jako probiotika mají schopnost produkovat látky (mikrociny a koliciny), které mají antibakteriální efekt a potlačují růst a množení patogenů.

e) Tvorba metabolických substrátů pro epitelální buňky

Účastí na tvorbě metabolických substrátů pro kolonocyty, zvláště mastných kyselin s krátkým řetězcem (butyrátu, propionátu a acetátu), a také tvorbou některých aminokyselin se probiotika uplatňují na zvýšení rezistence sliznice před toxickými vlivy.³

3.2.6. IMUNOMODULAČNÍ ÚČINKY PROBIOTIK

Základní úlohou střevní sliznice je nejen trávení a resorpce různých nutričních látek z potravy, ale i obrana hostitele proti neustálé přítomnosti antigenů z potravy a střevní mikroflóry. Tuto obrannou funkci plní lymfoidní tkáň spojená se střevem - GALT.

Na antigeny, které se dostanou do organismu perorální cestou, může GALT odpovídat likvidační imunitní odpovědí, ale může je i tolerovat. Typ antigenu a jeho dávka jsou rozhodující pro to, která z těchto dvou možných cest se uplatní. Množství experimentálních výsledků dokazuje, že probiotika jsou schopna normalizovat obě dvě tyto cesty, které mohou být defektní hlavně u malých dětí, starých lidí nebo osob s nevhodnou skladbou střevní mikroflóry.

Enterocyty a buňky imunitního systému mají na svém povrchu **toll /IL-1 receptory** označované také jako **TLR** (toll-like receptors), kterými jsou schopny rozpoznávat určité molekulové motivy spojené s patogenitou – **PAMPs** (pathogen-associated molecular patterns), a které se nacházejí na povrchu patogenních mikroorganismů.

Typickými PAMPs jsou např. manany v buněčných stěnách kvasinek, formylované peptidy a různé součásti obalu bakterií jako jsou lipopolysacharidy, lipopeptidy, peptidoglykany a kyseliny teichoové.

Rozpoznání PAMPs aktivuje TH1-lymfocyty, které procesem závislým na nukleárním faktoru kB (NF-kB) secernují protizánětlivé cytokiny, čímž se může zahájit imunitní eliminace takovýchto antigenů.

Antigeny, které nemají znaky patogenity (typickými jsou potravinové antigeny), mohou navodit vznik tolerance a to při jejich nízké nebo vysoké dávce. Při vysoké dávce se aktivují i TH2-lymfocyty, jejichž cytokiny (IL-4 a IL-10) mají na jedné straně protizánětlivý účinek a stimulují tvorbu sekrečního IgA, ale na straně druhé (hlavně IL-4 a IL-5) mohou vést ke zvýšené tvorbě IgE, eozinofilii a vzniku atopické choroby. Proto je důležité udržovat poměr TH1- a TH2- odpovědí na fyziologické úrovni. Právě tuto schopnost mají probiotika.

Při navození perorální tolerance na antigen nacházející se v nízké dávce se uplatňují dvě populace lymfocytů produkující imunosupresivní cytokiny. Jsou to TH3-lymfocyty secernující transformační růstový faktor β (TGF- β) a T-regulační buňky 1 (Tr1) produkující IL-10.

Defekt v tvorbě některého z těchto dvou cytokinů může mít za následek zánět střevní sliznice způsobený nedostatkem tolerance na antigeny střevní mikroflóry.

Probiotika tak prospěšným způsobem regulují imunitní eliminaci antigenů patogenních mikroorganismů, jako i imunologickou toleranci na potravinové antigeny.

Mechanismus tohoto působení není přesně znám, ale uplatňuje se na úrovni anatomických struktur (zabránění adheze patogenních mikroorganismů na střevní epitel), i jako součást přirozené a specifické imunity.

Podstatou působení probiotik je imunostimulační účinek na ty imunitní mechanismy, které se uplatňují v obraně proti patogenním mikroorganismům

nacházejícím se v GIT-u, a naopak imunosupresivní účinek na reakce imunitní přecitlivělosti (hypersenzitivity) na potravinové antigeny. Klíčovou úlohu má při tom udržování správné rovnováhy mezi prozánětlivými a protizánětlivými cytokiny secernovanými hlavně subpopulacemi TH1- a TH2-lymfocytů, stimulace tvorby TGF- β , IL-10 a sekrečního IgA.

Imunostimulační účinek probiotik se odráží i ve zvýšené rezistenci hostitele na spontánní nádory (hlavně tlustého střeva, prostaty, ledvin a jater) následkem účinnějšího imunitního dozoru a snížené aktivity prokarcinogenních enzymů.¹⁰

3.3. KLINICKÉ VYUŽITÍ PROBIOTIK

3.3.1. FORMY PODÁNÍ

Probiotika lze do organismu dodávat v mnoha různých formách. Mohou být podávány samostatně nebo v kombinaci s jinými mikroorganismy v potravě, v léku, v potravinářských přísadách nebo v doplňcích výživy.⁷

Probiotika zpracovaná v mléčných výrobcích (v jogurtu, rozpustěná v mléce) jsou limitována nutností skladování v chladu a mají sníženou životnost. A navíc lidé se zažívacími poruchami nemohou konzumovat dostatečné množství těchto produktů. Tato omezení mohou být překonána užíváním sušených nebo lyofilizovaných bakterií ve farmaceutických preparátech.

Existuje několik rozdílných cest podání probiotik. Nejčastější je samozřejmě **perorální** podání.

Užití **rektální** terapie nese určité výhody jako je rozmanitější výběr mikroorganismů, které nemusí být rezistentní vůči pH. Mohou být přímo aplikovány na potřebné místo účinku v případě střevních poruch. Není mnoho studií týkajících se tohoto způsobu podání a je třeba brát v úvahu riziko roznášení fekálních patogenů.

Vaginální aplikací lze docílit rekolonizaci vaginální sliznice laktobacily, je doporučena v prevenci a léčbě bakteriálních vaginóz a rekurentních infekcí močového traktu u žen.

Doporučená dávka, u kterékoliv cesty podání, je $10^9 - 10^{11}$ mikroorganismů.⁴

3.3.2. PROKÁZANÉ ÚČINKY PROBIOTIK

Evropská komise sponzoruje výzkumné programy, které se podrobně zabývají výzkumem účinku probiotik a shromažďují veškerá dostupná data.

Řada projektů se zabývá studiem bakterií mléčného kvašení, které pravděpodobně:

- Snižují účinek některých karcinogenních mikroorganismů.
- Zvyšují odolnost vůči průniku infekcí (např. proti průjmovým onemocněním).
- Posilují intestinální mikroflóru při tlumení alergických reakcí.
- Zlepšují kvalitu života pacientů se zánětlivým onemocněním střev.

Získané výsledky jsou velice povzbudivé, pro potvrzení výše popsanych účinků je však za potřebí shromáždit větší množství dat. Pro potvrzení platnosti vědecké hypotézy musí existovat přesvědčivé důkazy z více zdrojů.

Některé účinky probiotik však již jsou považovány za jednoznačně prokázané:

- Posílení imunity.
- Omezení působení patogenů ve střevech.
- Snížení případů recidivy povrchových nádorů močového měchýře.
- Zkrácení doby léčení rotavirového průjmového onemocnění.
- Zmírnění intolerance laktózy¹¹

3.3.3. NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY PROBIOTIK

V ojedinělých případech jsou bakterie mléčného kvašení považovány za příčinu infekčního střevního onemocnění. Ukázalo se, že téměř všichni pacienti však trpěli nějakým závažným onemocněním (např. leukémií), které způsobilo, že byli obecně mnohem náchylnější k různým infekcím. A mléčné bakterie byly škodlivé z toho důvodu, že imunitní systém byl již vážně oslabený.

Je třeba zdůraznit, že takovéto případy jsou velice vzácné a ve všech ostatních („normálních“) případech byla konzumace v současnosti používaných probiotik naprosto bezpečná. Bakterie mléčného kvašení nejsou nebezpečné ani pro velmi malé děti a velmi staré občany, ani pro těhotné ženy.¹¹

3.3.4. VYUŽITÍ PROBIOTIK V TERAPII

Prevence enterokolitidy novorozenců

Bylo zjištěno, že kolonizace střeva novorozenců donošených i předčasně narozených nepatogenními kmeny *E.coli 083* nebo *Nissle 1917* příznivě ovlivňuje lokální i systémový imunitní systém.

Probiotika zvyšují koncentraci specifických protilátek ve střevním obsahu, ve slinách i v séru.

Cukrowska studovala vliv kolonizace *E. coli kmen Nissle 1917* na humorální a buněčnou imunitu u předčasně narozených dětí. U 36 předčasně narozených dětí bylo zahájeno podávání *E. coli kmen Nissle 1917* v dávce 1ml 3x denně. Jako kontrolní skupina sloužilo 27 předčasně narozených dětí, které dostávaly placebo. Gestační věk novorozenců byl v obou skupinách stejný (33. týden). Ukázalo se, že *E. coli Nissle 1917* stimuluje humorální i buněčnou odpověď u předčasně narozených novorozenců. Nejvyšší koncentrace specifických protilátek byla nalezena za 14 dnů od počátku léčby. Kolonizace střeva vedla k významnému zvýšení proliferační aktivity lymfocytů v pupečnickové krvi v porovnání s kontrolní skupinou. Bylo přímo potvrzeno, že orální aplikace *E. coli Nissle 1917* u předčasně narozených dětí významně stimuluje specifickou humorální a buněčnou odpověď a současně stimuluje nespecifickou přirozenou imunitu.¹²

Infekční průjem

Metaanalýza 18 klinických zkoušek s probiotickou léčbou u dětí mladších 5 let ukázala, že tato terapie je efektivní a významně zkracuje délku trvání průjmů. Několik studií potvrdilo, že podávání laktobacilů (*Lactobacillus rhamnosus* a *Lactobacillus reuteri*) významně snižuje nutnost hospitalizace a délku klinických symptomů.

Asi 60 % akutních průjmovitých onemocnění u malých dětí je vyvoláno rotavirovou infekcí. Rosenfeld ukázal, že děti léčené probiotiky během pěti dnů mají významně vyšší eliminaci rotavirů v porovnání s neléčenou skupinou dětí (12% vs 46%).¹³

Několik dalších kontrolovaných zkoušek ukázalo příznivý vliv *Lactobacillus GG* ve formě fermentovaného mléka nebo jogurtu na průběh rotavirové gastroenteritidy u kojenců. Příznivý efekt spočívá ve stabilizaci

původní mikroflóry, eliminaci rotavirů, snížení permeability střevní bariéry a s významným zvýšením tvorby slizničních IgA. Efekt je jednoznačný u průjmů způsobených rotavirovou infekcí, u bakteriálně podmíněných infekcí nemají probiotika vliv tak zřetelný.³

Alergická onemocnění

Zvýšená incidence atopie a jiných alergických projevů je podle tzv. „hygienické hypotézy“ vysvětlována sníženou expozicí lymfatické tkáně k mikrobiálním antigenům v časných fázích po narození. Hypotetický regulační význam probiotik u alergických onemocnění vychází z toho, že probiotika mají v pokusech in vitro imunopresivní vlastnosti na proliferaci lymfocytů a tvorbu interleukinu 4 (IL-4). Následná odpověď nejen k mikrobiálním, ale také k dietním antigenům je zprostředkována zvýšenou tvorbou protizánětlivých cytokinů (např. IL-10) a transformujícího růstového faktoru β (TGF- β).¹⁴

Postantibiotické průjmy

Porucha bakteriálního osídlení střeva s následnými průjmy je relativně častým průvodním jevem a komplikací antibiotické terapie. Nejčastějšími původci jsou penicilinová antibiotika, cefalosporiny a klindamycin. Klinická manifestace je velmi rozdílná, u imunokompromitovaných osob nebo u nemocných se závažnými přidruženými chorobami může mít dokonce až život ohrožující průběh. Asi ve 30 % případů jsou průjmy po antibiotikách vyvolány infekcí *Clostridium difficile*.³

Největší pozornost byla věnována *Saccharomyces boulardii* ve vztahu k prevenci a terapii postantibiotických průjmů. Suravizcová sledovala 180 pacientů, kteří byli hospitalizováni a léčeni antibiotiky, buďto s probiotikem (*Saccharomyces boulardii* 1g denně) nebo s placebem. Probiotická konkomitantní terapie byla zahájena do 48 hodin od aplikace antibiotik. U 14 z 64 (21,8 %) nemocných léčených placebem a antibiotikem se vyskytly v průběhu terapie průjmy. V porovnání s tím pouze u 11 ze 116 pacientů (9,5 %) léčených antibiotikem a probiotikem se objevily střevní dyspeptické potíže nebo průjmy. Nebyly pozorovány žádné vedlejší nežádoucí účinky probiotické terapie.¹⁵

Průjmy cestovatelů

V závislosti na destinaci se pohybuje jejich frekvence od 7 % (Severní Amerika a západní a severní Evropa) až po 50 % (Afrika a Asie). Odhaduje se, že tyto krátkodobé průjmy postihují až 12 milionů lidí ročně. Jde o obtíže trvajících v průměru 3 – 4 dny, které mohou být spojeny s bolestmi v břiše, myalgiemi, nauzeou a teplotou.³

Velmi praktické je použití *Saccharomyces boulardii* jako profylaktické terapie před vznikem cestovatelských průjmů. Bylo prokázáno, že uvedená léčba významně snižuje frekvenci průjmovitých onemocnění, a to v závislosti na použité dávce. Lidé, kteří užívali placebo, měli vyšší frekvenci průjmů (39 %) v porovnání s ostatními, kteří užívali nízkou dávku léku (250 mg denně) (34 %) anebo s těmi, kteří brali vyšší dávkování (1 000 mg denně) (29 %).¹⁶

Idiopatické střevní záněty

Obrovský a variabilní antigenní náboj daný střevní flórou je pro slizniční střevní imunitní systém důležitý nejen pro vyzrání po narození, ale také pro vytvoření orální tolerance. Její podstatou je, že slizniční imunitní systém se dokáže vyhnout odpovědi na tento antigenní tlak, ale na druhé straně si zachovává schopnost velmi rychlé a mohutné odpovědi na infekci. Experimentální práce ukázaly, že idiopatické střevní záněty, ulcerózní kolitida (UC) a Crohnova nemoc (CN) vznikají v důsledku abnormální imunitní reaktivity k normální střevní flóře u geneticky predisponovaných jedinců. Význam bakteriální flóry pro vznik idiopatických střevních zánětů vychází z řady experimentálních a klinických pozorování.¹⁷

Funkční střevní dyspepsie

U funkčních střevních poruch dochází vlivem abnormální motility a sekrece v tlustém střevě k druhotné poruše bakteriálního osídlení. Důsledkem je závažná porucha intraluminální fáze trávení s projevy nadýmání, plynatosti, nepravidelné stolice, střídání zácpy a průjmů. Funkční střevní dyspepsie a dráždivý tračník jsou proto vhodnou indikací k zavedení dlouhodobé léčby probiotiky. Příznivý účinek léku spočívá v úpravě narušeného střevního mikroprostředí, normalizaci porušeného složení bakteriální flóry, která se podílí na kvasných a hnilobných procesech. V celkovém výsledku se zmenšuje pocit plynatosti, křečovitých bolestí a vodnatých stolic. U nemocných s funkční střevní dyspepsií je

vhodné začít s nižším dávkováním. Jako velmi vhodný se v těchto případech jeví nepatogenní kmen *Escherichiae coli Nissle 1917*.³

Urogenitální infekce

Bakteriální vaginózy, infekce močových cest a kvasinkové vaginitidy postihují odhadem 1 miliarda žen ročně. Léčba antimikrobiálními látkami sice účinně potírá infekci, ale velice často dochází k recidivám a vedlejším efektům léčby ve formě sekundárních infekcí. Spolu s infekcí je zlikvidována i normální vaginální mikroflóra, primárně dochází ke ztrátě laktobacilů. Exogenní přívod laktobacilů se jeví jako alternativa k antimikrobiální terapii, lze je použít i profylakticky.¹⁸

4. PROBIOTIKA V PREVENCI A TERAPII ALERGIÍ A UROGENITÁLNÍCH INFEKČÍ

4.1. PROBIOTIKA V PREVENCI A TERAPII ALERGIÍ

Prudký nárůst výskytu alergií v posledních letech a jeho stále rostoucí trend odehrávající se v ekonomicky rozvinutých zemích vedl k zájmu o faktory prostředí.

Epidemiologické studie provedené v poslední době ukazují, že se odehrál až trojnásobný nárůst výskytu alergií např. od roku 1970 do dneška především ve vyspělých zemích s tržním hospodářstvím (USA, Japonsko, Anglie, Skandinávie), země bývalého socialistického tábora (Rusko, Rumunsko, Bulharsko), kde byly studie také provedeny, tento trend nezaznamenaly.

Pátrání po příčině tohoto trendu vedlo k hypotéze, že vyspělá hygiena v těchto zemích má za následek snížení kvanta přirozených infekčních podnětů z prostředí, a tím nerovnováhu ve vývoji subpopulací buněk T (tzv. hygienická hypotéza růstu alergií).

Využití probiotik pro prevenci alergií je zatím vzhledem k slibným výsledkům nejvíce uvažováno v případě potravinové alergie.

Potravinová alergie je častou příčinou klinických projevů dysfunkce gastrointestinálního traktu, je však důležité si uvědomit, že přecitlivělost na potraviny je často příčinou symptomů kožních (atopická dermatitida) a dýchacích (astma).

4.1.1. NAVRŽENÉ ODŮVODNĚNÍ PRO UŽÍVÁNÍ PROBIOTIK PROTI ALERGIÍM

Mnoho okolnostmi podmíněných, ale nepřímých důkazů podporuje vztah mezi složením intestinální flóry a alergiemi.

Střeva dětí narozených v chudých oblastech rozvojových zemích, kde je prevalence alergií poměrně nižší, jsou kolonizována dříve enterobakteriemi, enterokoky, laktobacily a eubakteriemi a projevují vyšší obrat různých druhů *E.coli* v intestinální mikroflóře ve srovnání se střevy dětí narozených ve vyspělých zemích, kde jsou alergie mnohem frekventovanější.

Ve studii mezi Švédskými a Estonskými dvouletými dětmi bylo množství koliformních bakterií vyšší u atopických dětí, zatímco bifidobakterie více převažovaly u zdravých dětí.

Ve Finsku podobná studie potvrdila vznik atopické přecitlivělosti u dětí ve věku dvanácti měsíců, které měly více klostridií a méně bifidobakterií v prvních třech týdnech života, ve srovnání s dětmi, u nichž se alergie neobjevila.

Podobně byl nižší výskyt bifidobakterií prokázán u ročních dětí, u nichž se objevila alergie v průběhu druhého roku života.

Skutečný význam pozorovaných rozdílů a jejich dopad na vznik alergické reakce je stále sledován a prokazován. Navíc dosud nebyl dokázán i nižší počet laktobacilů u alergických dětí.¹⁹

4.1.2. KLINICKÉ STUDIE

Domněnka, že probiotické bakterie mohou zprostředkovat antialergický účinek stimulací produkce Th1-cytokinů, TGF- β a střevního IgA; probiotika mohou redukovat symptomy atopického ekzému a dermatitidy - AEDS (atopic eczema/dermatitis syndrome) a alergie na kravské mléko – CMA (cow's milk allergy) u dětí. A nedostatek klinických zkoušek.²⁰

Všechny tyto faktory daly vzniknout mnoha studiím, které mají za snahu prokázat účinnost probiotik v této oblasti.

Tzv. „přísné skórování atopických dermatitid“ - SCORAD (The Severity Scoring of Atopic Dermatitis) nám pomáhá objektivně zhodnotit a porovnat vzhled jednotlivých atopických stavů. SKORAD hodnotí stupeň (1-100); intenzitu (za pomoci doporučených fotografií), jako součet skóre jednotlivých příznaků, jimiž jsou erytém, edém/papulky, mokvání/strupy, oděrky, ztvrdnutí a suchost kůže (jednotlivý příznak 0-3; maximum 18); a subjektivní symptomy zahrnující pruritus a nespavost (u dětí hodnotí rodiče; rozsah bodů 0-10 za každý symptom, maximum 20).²¹

Výpočet SCORAD celkově vypadá takto:

Stupeň/5 + 3.5 x intenzita+ subjektivní symptomy

(maximum je 103 bodů)

Příklady studií:

Jedné ze studií, která zkoumala zmírnění příznaků AEDS pomocí probiotických bakterií, se zúčastnilo (po souhlasu rodičů) 230 dětí ve věku 1.4 - 11.9 měsíců. Jednalo se o dvojitě zaslepenou placebem kontrolovanou studii, kde se jedné skupině podával samotný *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), druhé skupině LGG v kombinaci dalšími dvěma probiotiky (*Bifidobacterium breve*, *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS) a třetí skupina dostávala placebo dvakrát denně po dobu čtyř týdnů.

Rozdíly nebyly významné (pouze 8 bodů dle SKORAD), což mohlo být způsobeno například tím, že během studie byla doporučena i léčba pomocí emoliencií a 1% hydrokortisonové masti.

U dětí s AEDS spojeným s vyšší hladinou IgE v LGG skupině byla redukce symptomů dle SKORAD větší ve srovnání se skupinou, která brala placebo. U skupiny, jež brala směs probiotik, nebyl prokázán žádný efekt.

Na závěr této studie lze říci, že léčba s LGG zmírňuje symptomy AEDS u dětí s IgE senzitivací.²⁰

V jiné dvojitě zaslepené randomizované placebem kontrolované studii byl podáván *Lactobacillus* GG prenatálně matkám, jejichž alespoň jeden nejbližší příbuzný nebo partner měl atopický ekzém, alergickou rýmu, nebo astma. A dále byl podáván LGG postnatálně jejich dětem po dobu šesti měsíců. Koncovým bodem studie byl chronický vracející se atopický ekzém v prvním roce života.

Výsledky tohoto experimentu jsou mnohem povzbudivější. Atopický ekzém byl diagnostikován ve dvou letech u 46 dětí ze 132 (35%). Astma bylo diagnostikováno u 6 dětí a alergická rýma pouze u jednoho. Frekvence atopického ekzému ve skupině, která dostávala probiotika, byla poloviční ve srovnání se skupinou, která brala placebo. *Lactobacillus* GG je efektivní v prevenci rané atopické nemoci u vysoce rizikových dětí.

Střevní mikroflóra by mohla být doposud neprozkoumaným zdrojem imunomodulátorů s probiotik vhodných pro prevenci atopických nemocí.²¹

Studie, kterou provedla Raja Lodinová-Žádníková potvrdila, že probiotický kmen *E. coli* perorálně podávaný po narození rychle osídlí střevní trakt novorozence, dochází k jeho kvantitativní převaze a stává se kmenem dominantním.

Dlouhodobá přítomnost kmene ve střevě snižovala počet patogenů, osídlujících střevní, ale i jiné sliznice, výskyt onemocnění a nutnost podávání antibiotik u nedonošených a rizikových dětí.

Příznivé působení podávaného kmene je možné vysvětlit stimulací lokální i celkové imunitní odpovědi. Častá indukce vlastní tvorby sekrečního IgA je zvláště významná u nekojených dětí.

Nahrazení přirozeného, leč náhodného osídlení střeva cíleným osídlením probiotickým kmenem *E.coli* s výhodnými vlastnostmi snížilo u nedonošených dětí významně počet nosokomiálních infekcí. Ještě po 10 letech pak byl u této skupiny prokázán nižší výskyt opakovaných infekcí (23%) než u dětí kontrolních (58%).

Cílené osídlení po narození kmenem *E.coli* mělo též dlouhodobý vliv na výskyt alergických onemocnění – významně nižší počet alergií byl prokázán po 10 a 20 letech (12% po 10 letech, 16% po 20 letech u osídlených dětí, 33% a 32% po 10 a 20 letech u kontrolních dětí).

Výsledky jsou v souladu se současnými údaji ve světové literatuře o stoupajícím významu střevní flóry, která je důležitým modulátorem vývoje imunitních funkcí pro vznik alergických onemocnění. Kontrolovaná kolonizace probiotickými bakteriemi by tak mohla být užitečným preventivním i terapeutickým opatřením.¹²

Při další studii byl celkový počet dětí rozdělen do tří skupin, kdy jedné byl podáván *Lactobacillus* GG, druhé *Bifidobacterium lactis* Bb-12 a třetí placebo po dobu dvou měsíců. Během kojení byly symptomy AEDS hodnoceny 16 body dle SKORAD. Po dvouměsíčním podávání probiotik se kožní projevy významně zlepšily ve srovnání se skupinou, která dostávala placebo.

SKORAD klesl u skupiny s *Bifidobacterium lactis* Bb-12 na 0 - 3.8 bodů, u skupiny s LGG na 0.1 – 8.7 bodů, ve srovnání se třetí skupinou, u které klesl pouze na průměrných 13.4 bodů. Souběžně se snížila i koncentrace CD4 v séru a eosinofilních proteinů v moči.

Výsledek studie poskytl důkaz, že specifické probiotické druhy upravují změny související s alergickým zánětem. Data dále naznačila, že probiotika mohou působit proti zánětlivým odezvám i mimo střevní prostředí.²⁹

Na základě vědeckých důkazů můžeme konstatovat, že probiotika významným způsobem zasahují do imunitní odpovědi našeho těla takovým způsobem, že brání vzniku alergických i autoimunitních reakcí.

Probiotika se stala součástí našeho imunitního systému a ukazuje se, že v případě jejich nedostatku nefunguje optimálně. Použití probiotických bakterií jako farmak na ovlivnění alergických a jiných onemocnění s poruchou obranyschopnosti je novou oblastí medicíny. V současnosti se intenzivně zkoumá, který probiotický kmen, při kterém onemocnění a jakém období (kdy začít, jak dlouho podávat) používat.

4.2. PROBIOTIKA V PREVENCI A TERAPII GYNEKOLOGICKÝCH INFEKČÍ

4.2.1. UROGENITÁLNÍ INFEKCE

Urogenitální infekce, které nejsou přenosné pohlavním stykem, jako jsou kvasinková infekce, bakteriální vaginóza a infekce močových cest (UTI-urinary tract infection), vzhledem k počtu žen postižených za rok, zůstávají největším zdravotnickým problémem.

Ačkoli je antimikrobiální terapie stále účinnější v eradikaci těchto infekcí, vyskytuje se vysoká incidence recidiv.²²

Kolpitida patří dnes k nejčastějším formám vaginální infekce, se kterou se nejen gynekolog, ale i praktický lékař setkává v každodenní praxi.

Mezi nejčastější typy tohoto onemocnění patří vulvovaginální kandidóza (v ČR a v zemích západní Evropy nejčastější forma vaginálního zánětu), dále bakteriální vaginóza - definovaná jako polymikrobiální klinický syndrom, charakterizovaný částečnou nebo totální redukcí laktobacilů s mnohonásobným množением aerobních a anaerobních mikrobů (v ČR je v pořadí druhou, v USA je nejčastější vaginální infekcí), dále pak trichomoníáza, která se řadí mezi onemocnění přenášená převážně pohlavním stykem (její výskyt v současné době celosvětově klesá, v ČR méně než 5 - 8%).

Symptomy těchto infekčních nemocí, zejména u akutních forem, jsou dostatečně známé, i když se mohou u pacientek lišit. U některých, zejména chronických forem, mohou být pacientky i bez klinických příznaků.

Diagnostika i léčba těchto zánětů pochvy je dnes většinou rutinní záležitostí s dostatečným sortimentem preparátů nejen k lokální, ale i systémově cílené terapii podle etiologického infekčního agens. Přesto však výsledky v léčbě těchto zánětů, a to zejména u pacientek s rekurentní mykózou, zůstávají závažným lékařským problémem a její výskyt se v poslední době spíše zvyšuje (20 – 40 %).

U mykotických zánětů ani nejnovější preparáty umožňující perorální aplikaci se systémovým působením, s výhodnými farmakokinetickými parametry a pohodlnější aplikací, nedokážou vždy spolehlivě zabránit rekurenci tohoto onemocnění, i když jejich počet podstatně snižují.²³

4.2.2 VYUŽITÍ PROBIOTIK A PREBIOTIK

Léčba ovlivněním složení a aktivity střevní mikroflóry probiotiky a prebiotiky u gynekologických infekcí, ale i v jiných oblastech, nabízí dostatečnou prevenci a podpurnou terapii infekčních onemocnění a zároveň i její zlevnění.

Zvláštní a důležitý význam pro zachování a udržování vaginální i střevní flóry a její ochranu před invazí patogenů se přikládá přítomnosti laktobacilů, které mají nezastupitelné místo v udržování fyziologického prostředí v těchto lokalitách.

Laktobacily představují rozsáhlou heterogenní skupinu Gram-pozitivních mikroorganismů (přibližně asi 60 typů). Ve zdravém vaginálním ekosystému převládají některé druhy rodu *Lactobacillus*, mající důležitý vliv na vaginální mikrobiologii.

Některé druhy potlačují růst endogenní vaginální mikroflóry produkcí organických kyselin jako je kyselina mléčná, peroxidu vodíku (H_2O_2) a bakteriocinů či laktocinů.

Produkce organických kyselin udržuje pH vaginálního prostředí < 4.5 a takto vytváří nepříznivé podmínky pro růst většiny endogenních patogenních bakterií. Laktobacily zvyšují oxido-redukční potenciál vaginálního prostředí, což inhibuje růst obligátních anaerobů.

96 % kmenů laktobacilů izolovaných ze zdravého vaginálního ekosystému produkuje H_2O_2 , zatímco tak činí pouze 6 % laktobacilů izolovaných z žen s bakteriální vaginózou. H_2O_2 je letální pro gardnerely, některé bakteroidy a *E. coli*. Proto kolonizace vaginy laktobacily produkujícími H_2O_2 je sdružena s nižším výskytem bakteriálních vaginóz.

Třetí složkou tohoto systému je produkce bakteriocinu či laktocinu, bílkovin s baktericidní aktivitou. Tyto látky mají různě škodlivé spektrum účinku, od úzkého, inhibujícího růst některých příbuzných druhů laktobacilů až po široké, potlačující různé skupiny bakterií včetně gardnerel.

Některé práce poukazují na fakt, že nízké pH zvyšuje aktivitu bakteriocinu laktobacilů a stabilitu H_2O_2 .

Důležitou podmínkou pro udržení zdravého ekosystému je nejen produkce kyseliny mléčné (a kyseliny octové – synergistický účinek), ale i dostatečná růstová rychlost přítomných laktobacilů. Snížení tohoto růstu vede ke zvýšení pH a k přerůstání endogenní vaginální mikroflórou.

Gardnerely rostou nejlépe při pH 6.0 – 6.5, anaeroby 5.5 – 6.0. Nerostou při pH 3.5 – 4.0. Různý stupeň citlivosti gardnerel k bakteriocinům laktobacilů může být zodpovědný za rezistentní případy bakteriální vaginózy a možná klíč k pochopení vývinu bakteriální vaginózy.

Inhibiční látky produkované laktobacily (organické kyseliny, H_2O_2 a bakteriociny) jsou tedy základní podmínkou pro udržení zdravého vaginálního prostředí. 1 – 2 miliardy živých bakterií jsou minimálním množstvím potřebným pro udržení zdravého intestinálního a vaginálního prostředí.²⁴

4.2.3. PREDISPOZIČNÍ A RIZIKOVÉ FAKTORY REKURENTNÍ VULVO-VAGINITIS

a) Alterace imunitního systému

Zejména porucha lokální slizniční imunity. Důležitou úlohu hraje buněčná imunita a souhra mezi buněčnou a humorální složkou.

b) Iatrogenní příčiny

Antibiotická léčba může porušit ekologickou rovnováhu v pochvě.

Cytostatická, radiační, imunosupresivní léčba a léčba glukokortikoidy často způsobuje pokles hladiny leukocytů a ulehčuje tak invazi kandid z intestinálního traktu.

Hormonální antikoncepce (způsobuje změny na vaginální sliznici).

c) Gravidita

Má diabetogenní účinek. Zvyšuje se glykémie, ale i obsah glykogenu v epitelových buňkách.

d) Další nemoci a stavy

Diabetes, obezita, poruchy menstruačního cyklu z důvodu deficitu gestagenů, AIDS.

e) Nesprávné hygienické návyky a další

Přehnaná, častá hygiena, těsné oblečení, pohlavní aktivita a různé sexuální praktiky, stres aj.

Potenciálním a velmi pravděpodobným faktorem, podílejícím se na recidivách může být aktivace rezervoárů kvasinek v gastrointestinálním traktu a v hlubších vrstvách vaginální tkáně, která následuje po vymizení fyziologické mikrobioty kolonizující tlusté střevo i vagínu.²⁴

4.2.4. KLINICKÉ STUDIE

Kritický základ pro výběr druhu:

Téměř před dvaceti lety bylo prokázáno, že laktobacily jeví takové vlastnosti, které jsou podstatné pro ochranu hostitele před urogenitálními infekcemi.

Od té doby některé studie dokázaly, že původní nebo zevně aplikované laktobacily snižují riziko infekcí močového traktu – UTI (urinary track infection).

Výzkumy se zaměřily na rozsáhlý klinický problém úbytku laktobacilů, který je spojen s UTI, bakteriální vaginózou – BV a kvasinkovou infekcí.

Je užíváno mnoho tzv. „probiotických produktů“, jejichž obsah a životaschopnost je většinou nedůvěryhodný a nespolehlivý. Je to způsobeno použitím druhů, které nekolonizují a nechrání proti rekurentním UTI.

Aby byla aplikace probiotik v oblasti urogenitálního traktu úspěšná, byl zaveden kritický základ pro výběr druhů.

Některé vlastnosti pro urogenitální použití jsou nejpodstatnější, jmenovitě kolonizace hostitele, inhibice vazby a růstu patogenů a udržení vyvážené flóry.

Analýza poukázala na 7 druhů laktobacilů, které splnily požadavky anti-patogenních probiotik. Další druhy mohou mít prospěšné účinky a schopnost stimulovat střevní imunitu, ale doposud ještě neexistuje žádná rozsáhlá hodnotná publikace potvrzující jejich účinnost.

Je nutné zdůraznit, že ne všechny laktobacily mají vlastnosti, které jsou potřebné pro kolonizaci vaginy a inhibici urogenitálních patogenů. Tři druhy laktobacilů vykazují vynikající klinický potenciál pro urogenitální trakt. *Lactobacillus crispatus* CTV05, *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 a *Lactobacillus fermentum* RC-14.

O *L. crispatus* CTV05 je známo kromě toho, že kolonizuje vaginu a produkuje H_2O_2 *in vitro*, velice málo. Další dva druhy mají výborné vlastnosti, jež z nich dělají potenciální kandidáty pro klinickou terapii urogenitálního traktu a střev.

L. rhamnosus GR-1 je vysoce přilnavý k uroepitelu a vaginálním buňkám, je rezistentní vůči spermicidům, je schopný inhibovat růst a adhezi urogenitálních a intestinálních patogenů, má schopnost kolonizovat vaginu a střeva.

L. fermentum RC-14 je také adherentní druh, který produkuje H_2O_2 a velice účinný biosurfaktant, také kolonizuje vaginu a střeva. Důležitou vlastností je antiinfekční schopnost jeho biosurfaktantu, který inhibuje adhezi řady uropatogenů jako je: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, streptokoky skupiny B, *Providencia stuarti*, *Staphylococcus epidermidis*; a genitálních patogenů: *Candida albicans* a *Gardnerella vaginalis*.

Při hledání laktobacilů stejně působících na urogenitální trakt mnoho komerčních probiotických laktobacilů selhalo. Tím nechceme naznačit, že by jiné laktobacily nemohly být efektivní, ale opět je nutné zdůraznit, že prozatím neexistují o takových kmenech žádná publikovaná data.²⁵

Příklady studií:

Studie, která v podstatě potvrdila daný vědecký základ byla provedena na 64 ženách ve věku 35 let. Ženy dostávaly buď kombinaci *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 a *Lactobacillus fermentum* RC-14, nebo placebo jedenkrát denně po dobu 60 dnů.

Mikroskopická analýza vaginálních stěrů prokázala obnovu mikroflóry postižené asymptomatickou BV ve flóru laktobacily osídlenou u 37% žen v léčené skupině. U skupiny léčené placebem bylo zjištěno zlepšení pouze u 13%. Pozitivním výsledkem této studie bylo zjištění, že kombinaci daných druhů laktobacilů lze použít nejen jako prevenci (při denním užívání), ale i k redukci kolonizace vaginy potenciálními patogenními bakteriemi a kvasinkami.²⁶

Jiné studie neprokázaly zlepšení u urogenitálních infekcí, což bylo zapříčiněno použitím nevhodných kmenů laktobacilů, např. *Lactobacillus rhamnosus* GG, který pouze ojediněle přilne k vaginálním buňkám²⁷, nebo *L. delbrueckii*, *Streptococcus thermophilus* či *Bifidobacterium longum*.²⁸

5. PROBIOTIKA REGISTROVANÁ V ČESKÉ REPUBLICE JAKO LÉČIVA

5.1. PERORÁLNÍ PROBIOTIKA

5.1.1. LACIDOFIL POR. CPS. DUR.

Jsou to tobolky obsahující laktobacily, které jsou normální složkou střevní mikroflóry. Jejich přítomnost ve střevě je důležitá pro správný průběh trávení, pro rovnováhu střevní mikroflóry. Brání vzniku i prohlubování projevů střevní dysmikrobie, rozvoji a růstu patogenních a hnilobných mikrobů ve střevě. Rovněž produkuje některé vitaminy skupiny B.

Účinné složky: *Lactobacillus acidophilus cryodessicatus* $0,145 \times 10^9$
Lactobacillus rhamnosus $2,755 \times 10^9$ v jedné tobolce.

Indikace:

Léčba a prevence průjmových onemocnění; při akutní gastritidě, enteritidě a enterokolitidě, při průjmech z dysmikrobie po antibiotikách, při enteritidách po cytostatikách nebo ozáření, při průjmech souvisejících s poruchou pankreatické sekrece nebo s malabsorpcí, při syndromu slepé klíčky.

5.1.2. HYLAK FORTE POR. SOL.

Je to čirý, žlutohnědý roztok s charakteristickým zápachem.

Účinné složky: <i>Escherichia coli metabolita</i>	24.9481 g
<i>Streptococci faecalis metabolita</i>	12.4741 g
<i>Lactobacilli acidophili metabolita</i>	12.4741 g
<i>Lactobacilli helvetici metabolita</i>	49.8960 g

Indikace:

Přípravek se užívá při léčbě následujících stavů a onemocnění: Meteorismus, kolitida, chronická atrofická gastroenteritida. Během léčby antibiotiky, sulfonamidy a radioterapií. Poruchy jaterního metabolismu. Gastrointestinální potíže vyvolané achlorhydrií, změnou klimatu. Příznaky, jako nauzea, poruchy cirkulace, snadná únavnost, vyvolané chronickou intoxikací ze střeva. Dermorespirační syndrom. Při salmonelové enteritidě u kojenců a malých dětí ke zkrácení doby vylučování salmonel.

5.1.3. COLINFANT NEW BORN POR. LYO.

Perorální lyofilizovaná suspenze živých bakteriálních buněk selektovaného nepatogenního kmene *E.coli*.

Účinné složky: *Escherichia coli* 083: K 24: H 31 lyophilisatum min. 0.8 x 10⁹

Indikace:

Je určen pro novorozence a kojence do 1 roku věku a pro nedonošené děti především k preventivnímu podávání a to:

- K prevenci gastrointestinálních infekcí především nosokomiálních na novorozeneckých odděleních a v kojeneckých ústavech.
- K preventivnímu osidlování střeva na odděleních intenzivní péče u nedonošených či rizikových novorozenců zvláště ohrožených nosokomiálními infekcemi, často nekojených, v mnoha případech léčených antibiotiky, která narušují přirozené složení střevní mikroflóry. Ohrožení těchto dětí infekcemi je mimořádně závažné, průběh bývá těžký, pobyt v nemocničním prostředí dlouhý a výskyt rezistentních kmenů mikrobusů vysoký. Riziko infekce zvyšuje ještě nezralost imunitního systému této skupiny pacientů.
- Individuálně ve všech případech, kde lze předpokládat porušení střevní mikroflóry (po selektivní dekontaminaci, po ozařování, po podávání antibiotik).

5.1.4. SANTAX S POR. CPS. DUR.

Jsou to sušené léčivé kvasnice, které mají schopnost vázat na sebe některé střevní patogeny a zastavit tak jejich průjmové působení. Přípravek působí také příznivě na stabilizaci střevní flóry a zvyšuje tak nespecifickou imunitu zažívacího traktu.

Účinné složky: *Saccharomyces boulardii* siccatus 250 mg v 1 tvrdé tobolce

Indikace:

Symptomatická léčba akutních průjmových onemocnění, prevence a symptomatická léčba průjmů na cestách a při umělé výživě pacienta sondou.

5.1.5. MUTAFLOL 20 MG, 100 MG POR. CPS. ETD.

Mutaflor představuje speciální nepatogenní kmen *E. coli*. Má antagonizující vliv na enterobakterie a jiné kmeny, jmenovitě na uropatogenní *E. coli*, na *Salmonella typhi murium* a na *Candida albicans*. Produkuje za určitých podmínek nutričního prostředí mikrocin (coliciny). Jde zřejmě o coliciny dosud neznámé. Jedním z nich je mutafloricin, nízkomolekulární látka < 1000 Daltonů. Ten je chromozomálně kódován. Kmen Nissle má adhezivní vlastnosti, které umožňují přichycení na sliznici. Jde o metabolicky aktivní bakterii, odbouráváním řady substrátů tvoří mastné kyseliny s krátkým řetězcem, které jsou důležité pro metabolismus kolonocytů.

Účinné složky: 20 mg: $0.5-5 \times 10^9$ KBE (2.957- 14.784 mg) *Escherichia coli* (Nissle 1917) v 1 tvrdé enterosolventní tobolce.

100 mg: $2.5- 25 \times 10^9$ KBE (7.391- 36.959 mg) *Escherichia coli* (Nissle 1917) v 1 tvrdé enterosolventní tobolce.

Indikace:

Poruchy flóry tlustého střeva a jejich následky; průjem, zácpa, meteorismus, colitis, alergie, ekzémy; novotvorba střevní flóry po jejím poškození antibiotiky, sulfonamidy nebo ozářením; uroinfekce. Aktivace obranyschopnosti organismu.

5.2. VAGINÁLNÍ PROBIOTIKA

5.2.1. FERMALAC VAGINAL CPS. VAG.

Jsou to vaginální tobolky s obsahem mléčných organismů, které se vyskytují také ve střevech a v pochvě. Dovedou přetvářet přirozené cukry na mléčnou kyselinu, udržují správný stupeň kyselosti v pochvě a zabraňují množení škodlivých mikrobů, které by mohly vyvolávat záněty a hnilobné procesy.

Účinné složky: *Lactobacillus rhamnosus* 85 % 47,6 mg

Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus 10 %

Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus 5 %, 220,0 mg

(celkem dvě miliardy mikrobů v každé tobolce)

Indikace:

Používá se k obnovení normálních bakteriálních poměrů v pochvě. Bývá to např. po předchozím léčení poševních zánětů, vyvolaných bičíkovcem poševním, moučnivkou, choroboplodnými bakteriemi aj., dále při změnách normální bakteriální flóry např. při nedostatečné hygieně anebo po používání různých antibiotik, chemoterapeutik i antikoncepčních prostředků podávaných ve formě tablet anebo zaváděných do pochvy.

Také se používá jako ochrana před změnami bakteriálního složení v pochvě a možných následných zánětů pochvy, při užívání léčiv (např. antibiotik, poševních výplachů a vaginálních přípravků), které mohou změnit normální poševní flóru. Používá se před gynekologickými výkony i po nich. Ve všech uvedených případech si žena může naordinovat používání přípravku sama. Pokud si však léčí již vzniklé zánětlivé potíže, a pokud tyto obtíže do týdne nevyjmizí, musí se nutně poradit s lékařem, aby se nezanedbalo specifické léčení nějaké vážnější infekce.

Přípravek mohou užívat dospělé i mladistvé ženy, může se používat i v těhotenství a v období kojení.

5.2.2. GYNOFLOR

Vaginální tablety s obsahem kultury *Lactobacillus acidophilus* a *estriolu*. *Lactobacilli acidophili* je převažující bakteriální flórou vaginy u zdravé ženy. Laktobacil je nepatogenní bakterie, která má v pochvě protektivní funkci; fermentuje glykogenové zásoby ve vaginálním epitelu na kyselinu mléčnou. Výsledkem je kyselé prostředí (pH 3,8 – 4,5), výhodné pro jeho růst, nepříznivé pro kolonizaci a růst jiných patogenních bakterií.

Estriol umožňuje i ve velmi nízkých dávkách obnovení vaginálního epitelu, který poskytuje zásobu glykogenu pro růst laktobacilů.

Účinné složky: *Lactobacillus acidophilus cryodessicatus* 50 mg, Estriolum 30 µg v 1 vaginální tabletě.

Indikace:

Vaginální výtok neznámé etiologie (Fluor vaginalis), nebo mírné až středně závažné případy bakteriální vaginitidy, u kterých není plně indikováno použití protiinfekční terapie. Obnovení vaginální bakteriální flóry tvořené lakto-

bacilem po lokální nebo systémové terapii antibiotiky nebo chemoterapeutiky. Atrofická vaginitida způsobená nedostatečnou sekrecí estrogenů v průběhu menopauzy a v období po menopauze, případně jako doplňková léčba v průběhu systémové substituční hormonální léčby. Profylaktická aplikace při recidivujících kandidových infekcích.

5.3. PARENTERÁLNÍ PROBIOTIKA

5.3.1. SOLCOTRICHOVAC INJ. SUS.

Imunomodulans, vakcína k terapii a profylaxi nespecifických bakteriálních vaginitid a vaginální trichomonádové infekce. Obsahuje inaktivované bakterie *Lactobacillus acidophilus*. Po aplikaci dochází k normalizaci a stabilizaci normální vaginální flóry a eliminaci *Trichomonas vaginalis*. Aplikací přípravku se dosahuje ochrana proti relapsům a reinfekcím asi u 80% pacientek a recidivujícími infekcemi.

Účinné složky: *Lactobacillus acidophilus* min. 7×10^9 bakterií v 1 ampuli 0.5 ml injekční suspenze.

Indikace:

Léčba a/nebo prevence recidivující nespecifické bakteriální vaginitidy, recidivující trichomoniázy u žen.²¹

6. DISKUSE

Výzkum a vývoj probiotik je na samém počátku, ale už nyní je jasné, díky dobrým vlastnostem některých probiotických bakterií, že ve zkoušení účinnosti a zjišťování spektra použití se bude pokračovat i nadále.

Ačkoli byl účinek bakterií mléčného kvašení vědecky ověřen, jejich využití je stále obtížné, jelikož probiotický efekt závisí na mnoha faktorech. Nelze očekávat, že všechny mikroorganismy daného kmene nebo celého druhu budou mít stejný vliv na lidské zdraví. Probiotické účinky jsou prokázány pouze u konkrétních typů bakterií.

Podstatné je i to, že složení střevní mikroflóry není u všech lidí stejné, proto jsou také její účinky na každého člověka jiné. Složení flóry se dokonce může měnit s věkem. Z toho vyplývá, že probiotika prospěšná pro dítě nemusí zdaleka pomoci dospělému člověku.

Nevyřešené otázky a omezení terapie probiotiky je možné spatřovat v několika oblastech. Používání nedokonale otestovaných a prověřených probiotik může být spojeno sice s malým, přesto nezanedbatelným rizikem zavlečení infekce, sepse nebo dokonce s přenesením rezistence na antibiotika.

Protože se jedná o velice perspektivní terapii, která je nepochybně vystavena komerčnímu tlaku farmaceutického nebo potravinářského průmyslu, je nedořešeným problémem provádění pečlivých kontrol vyráběných přípravků především s ohledem na kvalitu a standardizaci bakteriálního obsahu.

Chceme-li užívat probiotika k prevenci, terapii, nebo pouze jako doplněk léčby, je vždy vhodné volit takové přípravky, které mají registraci a splňují tak kritéria léčivého přípravku, musí mít prokázanou jakost, účinnost a bezpečnost. Zatímco potravinové doplňky, kterých je na našem trhu nepřehledné množství, podléhají pouze kontrole na hygienickou nezávadnost.

I přes všechny experimentální a klinické zkušenosti máme v současné době jen kusé informace o účinnosti probiotik v určitých klinických situacích. Je proto žádoucí, aby byly prováděny další experimentální a klinické studie, které by potvrdily a upřesnily naše představy o využití probiotik v klinické praxi.

Nyní můžeme s jistotou tvrdit, že probiotické bakterie jsou neškodné a některé z nich jsou z hlediska lidského zdraví skutečně prospěšné.

A kam bude vývoj probiotik směřovat? Existuje řada nápadů, od genových modifikací, kterými by se eventuelně posílily probiotické vlastnosti bakterií, po využití probiotik jako přenašečů různých vakcín, enzymů nebo antimikrobiálních preparátů přímo k cíli v trávicím traktu.

Vznikla také myšlenka, že by probiotika v budoucnu mohla v terapii zcela nahradit antibiotika, ale to je v současné době nepředstavitelné. Už proto, že nástup účinku antibiotik je ve srovnání s probiotiky mnohem rychlejší. Prozatím lze probiotika využít jako doplňující terapii po léčbě antibiotiky.

Probiotika mají také obrovský potenciál v prevenci alergií u novorozenců a prevenci rekurentních urogenitálních infekcí. Existuje několik studií prokazujících jejich účinnost právě v těchto oblastech. Mechanismus účinku však není zcela objasněn a proto i tato oblast bude i nadále prověřována.

Probiotika patří k tématům, která v současné době stojí v popředí zájmu evropských vědců a nám nezbyvá než čekat (pokud se do výzkumu nezapojíme), co nového jejich práce přinese.

7. ZÁVĚR

Tato diplomová práce shrnuje informace týkající se probiotických bakterií. Vysvětluje, co to probiotika jsou, jaké požadavky musí splňovat, jakým mechanismem ovlivňují slizniční a celkovou imunitu hostitele. Popisuje perorální toleranci, kolonizační rezistenci. Dále uvádí možnosti využití probiotik v prevenci a terapii různých klinických stavů, se zaměřením na alergie a urogenitální infekce. A na závěr uvádí seznam léčiv, obsahujících probiotické kmeny, jež jsou registrována v České republice.

Práce v podstatě potvrdila příznivý účinek probiotik na lidský organismus a nutnost dalšího výzkumu jednotlivých probiotických druhů a kmenů a možností jejich využití.

8. LITERATURA

1. Fedorak R. N., Madsen K. L.: Probiotics and prebiotics in gastrointestinal disorders. *Current opinion in gastroenterology.*, 2004, č. 20, s. 146-155
2. Frič P.: Probiotics in gastroenterology. *Zeitschrift für gastroenterologie.*, 2002, č. 40, s. 223-229
3. Lukáš M., Kuchařová A.: Probiotika., *www.mednews.cz : Správná klinická praxe.*, 2004, č.3
4. Mombelli B., Gismondo M. R.: The use of probiotics in medical practice. *International journal of antimicrobial agents.*, 2000, č. 16 , s. 531-536
5. Živý J.: Orální tolerance: fyziologie imunitní odpovědi na antigeny potravy., <http://mail.tigis.cz/alergie/alerg201/07.htm>, 2001
6. Dítě P. : Nejčastější zánětlivá střevní onemocnění., *www.zdravcentra.cz : Interní medicína pro praxi.*, 2001, č. 10, s. 451
7. Špičák V., Panzner P.: *Alergologie Galén.*, 2004, s. 24 -25
8. Tlaskolová-Hogenová H., Štěpánková R. et al.: Mucosal immunity, intestinal microflora and inflammatory bowel disease. *Falk symposium 135, Prague*, s. 152-167
9. Isolauri E., Kirjavainen P. V. et al.: Probiotics: a role in the treatment infection and inflammation? *GUT.*, 2002, č. 50, s. 54-64
10. Ferenčík M., Ebringer L.: Možnosti využití probiotik v prevenci a terapii alergických chorob., www.tigis.cz/alerg102/10htm
11. syntetická zpráva: konzumenti (CG1): Probiotika., <http://flairflow4.vscht.cz/synt CG1.doc>

12. Lodinová- Zádňíková R., Cukrowska B. et al.: Oral administration of probiotik *Escherichia coli* after birth reduces frequency of allergies and repeated infections later in life (after 10 and 20 year). *Allergy Immunol.*, 2003, vol. 131, s. 209-211
13. Rosenfeld V., Michaelsen K. F. et al.: Effect of probiotics *Lactobacillus* strains in children hospitalized with acute diarrhea. *Pediatr Infect Dis J.*, 2002, č. 21, 411-416
14. Kalliomäki M., Salminen S. et al.: Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *The lancet.*, 2001, č. 357, s. 1076-79
15. Elmer Q. W., McFarland L. V.: The treatment of infectious diarrhoea. *Gastroenterology clinics of North America.*, 2001
16. Kollaratish H., Holst H. et al.: Prevention of traveler's diarrhoea with *Saccharomyces boulardii*: Results of controlled double-blind study. *Fortschr Med.*, 1993, č. 111, s. 152-156
17. Pelech T., Frič P. et al.: Srovnání Mutafloru a mesalazinu v udržovací léčbě neaktivní idiopatické proktokolitidy. *Prakt. Lékař.*, 1998, č.78, s.556-558
18. Reid G.: Probiotics for urogenital health, *Nutrition in clinical care*, 2002, č. 5, s. 3-8
19. Matricardi P. M., Bjorksten B. et al.: Microbial products in allergy prevention and therapy. *Allergy.*, 2003, č. 58, s. 461-471
20. Viljaden V., Savilahti E. et al.: Probiotics in the treatment of atopic eczema/dermatitis syndrome in infants: a double-blind placebo-controlled trial., *Allergy.*, 2005, č. 60, s. 494-500

21. Peid G., Bruce A. W.: Urogenital infections in women: can probiotics help?
Postgradual Medical jurnal., 2003, č. 79, s. 428-432
22. Hatala M.: Podpůrná léčba a prevence vaginálních infekcí přirozeným biologickým způsobem., www.gyne.cz/clanky/2001/501c114.htm
23. Vovsová R., Hušková J. et al.: Výsledky aplikace preparátu Multi acidophilus firmy Panacea v ambulantní gynekologické praxi.,
http://kpreichman.cz/panacea/studie/Multi_acidophilus_web.pdf
24. Reid G., Bruce A. W.: Selection of Lactobacillus strains for urogenital probiotic applications. The journal of infectious diseases., 2001, č. 183, s. 77-80
25. Reid G., Charbonneau D. et al.: Oral use of *L. rhamnosus* GR-1 and *L. fermentum* RC-14 significantly alters vaginal flora: randomized, placebo-controlled trial in 64 healthy women. FEMS Immunology and medical microbiology., 2003, č. 35, s. 131-134
26. Colodner R., Edelstein H. et al.: Vaginal colonization by orally administered *Lactobacillus rhamnosus* GG. IMAJ., 2003, č. 5, s. 767-769
27. Pirrotta M., Gunn J. et al.: Effect of lactobacillus in preventing post-antibiotic vulvovaginal candidiasis: a randomised controlled trial.,
<http://bmj.bmjournals.com/cgi/content/abstract/329/7465/548>
28. AISLP – automatizovaný informační systém léčivých přípravků., 2004.3
29. Isolauri E., Arvola T et al.: Probiotics in the management of atopic eczema. Clinical and experimental allergy., 2000, č. 30, s. 1604-1610