

Probiotyki jako immunostymulatory w weterynarii i medycynie

Zdzisław Gliński¹, Katarzyna Grzegorzczak²

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie¹ i Biowet Puławy²

W terapii chorób zakaźnych, zwłaszcza tła bakteryjnego, istnieje konieczność uwzględnienia m.in. zmian w mikrobiomie, jakie mogą mieć miejsce pod wpływem stosowanych leków, oporności patogenów na leki, a zwłaszcza pojawienia się superbakterii oraz możliwości działania immunosupresyjnego patogenów, środowiska i niepożądanego działania niektórych leków (1). Optymalne postępowanie polega na eliminacji, a jeżeli to jest niemożliwe, na zminimalizowaniu wpływu tych destrukcyjnych czynników na organizm. Ogromne znaczenie w całym zespole postępowania profilaktyczno-leczniczego ma sterowanie odpornością realizowane przez indukację odporności swoistej przez szczepienia i surowice odpornościowe, oraz przez wpływ na odporność naturalną za pomocą różnego

typu immunostymulatorów, w tym przez probiotyki.

Mikrobiom, który tworzą określone gatunki drobnoustrojów w odpowiednich proporcjach lokalizuje się w ściśle określonych miejscach ciała, np. w przewodzie pokarmowym i układzie oddechowych, skórze, układzie rozrodczym, przy czym jego skład jest zróżnicowany w zależności od lokalizacji i ściśle określony dla danego gatunku zwierząt i przedziału wiekowego. Mikrobiom ludzi i zwierząt wpływa na rozwój oraz różnorodne funkcje organizmu i na występowanie niektórych chorób. Drobnoustroje wchodzące w skład mikrobiomu nie tylko spełniają funkcję ochronną, dzięki współzawodnictwu o miejsce oraz o pokarm z drobnoustrojami warunkowo chorobotwórczymi i patogenami (2). Pod wpływem mikrobiomu, zwłaszcza

przewodu pokarmowego, skóry i układu oddechowego, rozwijają się zarówno mechanizmy odporności miejscowej, jak i odporności ogólnej (4), kształtują się wzajemne zależności pomiędzy patogenami i drobnoustrojami zasiedlającymi organizm (1, 5). U dorosłych osobników mikrobiom moduluje też niektóre czynności układu nerwowego przez wpływ na oś podwzgórze – przysadka – nadnercza, zaś zmiany w mikrobiomie jelit indukują u człowieka zapalenie i otyłość (6), cukrzycę typu 1 (7). Do najważniejszych czynników zaburzających mikrobiom należą leki, substancje zawarte w pożywieniu i środowisku o działaniu przeciwdrobnoustrojowym (8). Dlatego tak ważne znaczenie ma rekonstrukcja uszkodzonego metabolizmu drobnoustrojów mikrobiomu oraz możliwość sterowania aktywnością mikrobiomu bez wywołania niepożądanych efektów (9).

Ksenobiotyki, zwłaszcza metale ciężkie, pestycydy (10), nawozy sztuczne, składniki mas plastycznych, a także niektóre leki i zakażenia wirusowe obniżają skuteczność mechanizmów komórkowej i humoralnej odpowiedzi immunologicznej (11), powodując alergię, choroby z autoagresji (12), pierwotne i wtórne niedobory immunologiczne. Ich działanie jest ukierunkowane,

Probiotics as immunostimulators in veterinary and human medicine

Gliński Z.¹, Grzegorzczak K.², Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin¹ and Biowet Pulawy²

This overview summarizes the most commonly used probiotic microorganisms and their demonstrated health claims. Probiotics are defined as live microorganisms which, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the animal host. Bacteria most commonly used in probiotic preparations are members of *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Bacillus* spp. and *Streptococcus* spp. Probiotics exert different immunoregulatory effects in a host-dependent manner, including gene expression, protein synthesis, signaling pathways in the immune cells and in the intestinal epithelial cells. Probiotics regulate the functions of systemic and mucosal immunity and they show therapeutic potential for diseases, including several immune response-related diseases, such as allergy, eczema, viral infection. They have been shown to potentiate post-vaccinal immune responses. Bacterial probiotics may also induce an immune response in the honey bee. The important point for ascertaining the true health benefits of probiotics is careful selection of the probiotic agent (s), its dose and standardization.

Keywords: probiotics, gene expression, protein synthesis, signaling pathways, immunity, honey bee.

na wszystkie dzielące się komórki łącznie z komórkami układu immunologicznego bądź cechują się dość dużym stopniem specyficznością działania na ściśle określone populacje komórek układu immunologicznego i mogą eliminować określone populacje komórek T lub B (13, 14). Do immunosupresorów działających na wszystkie dzielące się komórki organizmu, należy promieniowanie jonizujące, promieniowanie ultrafioletowe, kortykosteroidy oraz cytostatyki, które hamują podział komórek na różnych etapach syntezy kwasu nukleinowego lub jego działania na komórki organizmu (15, 16). Czynniki alkilujące hamują podział komórki przez zmianę położenia zmodyfikowanej guaniny, czego efektem jest błąd w parach zasad DNA. Mogą też spowodować krzyżowe łącznie się dwóch łańcuchów DNA i blokować w ten sposób proces replikacji komórek. Analogi puryn i pirymidyn oraz antagoniści kwasu foliowego (metotreksat) hamują syntezę DNA. Cyklosporyna działa na proces aktywacji limfocytów T, hamując ich proliferację. Efekt działania polega na blokowaniu syntezy interleukin (IL-2, IL-3 i IL-4) oraz interferonu- γ (INF- γ), hamowaniu prezentacji antygeny przez komórki dendryczne, zwiększaniu populacji komórek

supresorowych oraz wzroście ich zdolności cytolitycznych (17). Rapamycyna hamuje proliferację limfocytów T, w mniejszym stopniu hamuje proliferację limfocytów B.

Immunosupresja występuje w nowotworach złośliwych tkanek limfatycznych (chłoniaki), w zakażeniach wirusowych i bakteryjnych, w stanach niedożywienia. Niedobory białka, witamin (A, B₂, B₁₂, kwasu foliowego), cynku i żelaza obniżają aktywność układu dopełniacza oraz fagocytozę. Właściwościami immunosupresyjnymi cechuje się m.in. wirus niedoboru immunologicznego kotów, wirus niedoboru immunologicznego bydła, białaczki kotów, nosówki psów, choroby Newcastle, choroby aleuckiej nerek (18). Immunosupresja występuje w zatruciach polichlorowanymi dwufenylami, ołowiem, kadmem, mikotoksynami (mikotoksyna T2 *Fusarium*, aflatoksyny, ochratoksyny), w silnych urazach i rozległych oparzeniach. Kadm i ołów, oprócz wpływu immunotoksycznego, działają genotoksycznie (19, 20).

Występowanie lekooporności jest procesem, którego nie da się uniknąć. Codziennie pojawiają się nowe mechanizmy odpornościowe i zwiększa się liczba lekoopornych bakterii, zwłaszcza w następstwie masowego, często nieuzasadnionego stosowania antybiotyków, transferu opornych bakterii pomiędzy zwierzętami i człowiekiem (21). Bakterie antybiotkooporne rozprzestrzeniają się w zakażeniach dużych populacji zwierząt, w zakażeniach szpitalnych oraz za pośrednictwem pokarmów, wody i roślin zanieczyszczonych przez lekooporne bakterie (22). Pojawianie się lekoopornych drobnoustrojów, a zwłaszcza superbakterii opornych na antybiotyki β -laktamowe (New Delhi metallo β -laktamase-1 – NDM-1; 23), enterokoków opornych na wankomycynę (vancomycin resistant enterococcus – VRE) oraz szczepów *Staphylococcus aureus* opornych na metycylinę (MRSA, methicillin resistant *Staphylococcus aureus* – MRSA; 24, 25) spowodowało, że pomimo wprowadzenia do terapii coraz to nowych generacji antybiotyków coraz częściej brak możliwości likwidacji infekcji, ponieważ pojawiają się szczepy odporne na polimiksynę i karbapenemy, a ostatnio też na tejsobaktynę (26). Możliwość terapeutycznego stosowania linezolidu i deptomycyny, leków ostatniej szansy w przypadku MRSA, jest coraz bardziej ograniczana (27). Szczepy MRSA są odporne na wszystkie antybiotyki β -laktamowe, a u 90% występuje dodatkowo oporność krzyżowa z makrolidami i fluorochinolonami (28). Ta sytuacja stwarza konieczność rygorystycznego przestrzegania zaleceń, które zapobiegają rozwojowi lekooporności oraz poszukiwaniu efektywnych metod leczenia zakażeń

spowodowanych przez lekooporne bakterie. Ten cel próbuje się osiągnąć przez ograniczenie stosowania antybiotyków, doskonalenie znanych antybiotyków, produkcję nowych antybiotyków, stosowanie bakteriofagów (29), bakteriocyn (30, 31), szczepionek, modyfikowanie odporności zwierząt z grup podwyższonego ryzyka na drodze inżynierii genetycznej na ściśle określone bakterie chorobotwórcze. Duże nadzieje wiąże się z inżynierią genetyczną z wykorzystaniem microRNA produkowanego przez enterocyty. Za pośrednictwem microRNA można włączyć w DNA określonych gatunków bakterii tworzących mikrobiom geny, dzięki czemu będą one hamować rozwój chorobotwórczych antybiotkoopornych bakterii na drodze konkurencji o pokarm i miejsce w jelitach (32). Przyszłościową metodą, jest modyfikowanie odporności zwierząt na lekooporne patogeny, wykorzystując inżynierię genetyczną, co pozwoli w pewnym zakresie zmarginalizować problemy lekooporności (33). Ważną i coraz częściej zalecaną metodą profilaktyczną jest stosowanie probiotyków, które zawierają żywe drobnoustroje. Stosowane są one zarówno jako stymulatory wzrostu, konkurencja dla patogenów w przewodzie pokarmowym, ale także spełniają rolę stymulatorów układu immunologicznego.

Charakterystyka probiotyków

W badaniach nad mikrobiomem, żywieniem człowieka i zwierząt oraz sposobem eliminowania niszczącego mikroflorę jelit działania antybiotyków stosowanych doustnie, zwrócono uwagę na rolę bakterii produkujących kwas mlekowy. Ponadto wycofanie antybiotyków paszowych spowodowało zainteresowanie probiotykami jako stymulatorami wzrostu zwierząt (34). Według FAO i WHO probiotyki to żywe drobnoustroje, które podane w odpowiednich ilościach przez przewód pokarmowy wpływają pozytywnie na zdrowie (35, 36). Najczęściej obecnie terminem probiotyki określa się produkty zawierające żywe albo zabite drobnoustroje lub wytwarzane przez nie substancje korzystne dla zdrowia, które przez immunomodulację oraz zachowywanie prawidłowej flory fizjologicznej przewodu pokarmowego wpływają na trawienie oraz metabolizm, a tym samym wywierają dodatni wpływ na wzrost i rozwój organizmu. Są to pożyteczne mikroorganizmy, których obecność w jelitach jest korzystna dla zdrowia człowieka i zwierząt i niezbędna w nowoczesnej hodowli zwierząt (34).

Większość powszechnie używanych probiotyków jest produkowana z udziałem bakterii kwasu mlekowego (37). Najlepiej poznanym jest *Lactobacillus acidophilus*

występujący w jelitach cienkich, pochwie i moczowodach. Hamuje on rozwój *Staphylococcus aureus*, pałeczek *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, wytwarza laktocydynę i acydofilinę, stymuluje odporność organizmu. *Lactobacillus brevis* syntetyzuje witaminę D i K, *L. bulgaricus* produkuje duże ilości kwasu mlekowego, *L. plantarum* wytwarza antybiotyk laktolinę i syntetyzuje l-lizynę, która działa przeciwwirusowo, *L. rhamnosus* zwiększa tolerancję na laktozę. *Bifidobacterium bifidum* hamuje rozwój bakterii i grzybów, zwiększa absorpcję żelaza, wapnia, magnezu i cynku. *B. infantis* stymuluje wytwarzanie cytokin pobudzających układ immunologiczny, działa na drobnoustroje z rodzajów *Clostridium*, *Salmonella* i *Shigella*. *B. longum* hamuje rozwój grzybic. *Enterococcus faecium* niszczy rotawirusy (38). Właściwości probiotyku posiada *Saccharomyces boulardii*, niektóre szczepy *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* produkujące nizinę, hamują *B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. cereus* (38).

Probiotyki cechuje tolerancja na odczyn kwaśny środowiska i działanie żółci, hydrofobowość, aktywność przeciwdrobnoustrojowa, zdolność do regenerowania protoplastu, kolonizowanie jelit, rozkład laktozy, aktywność proteolityczna i aminopeptydazowa (ryc. 1). Wyróżnia się cztery generacje probiotyków. Do pierwszej należą nagie (nieosłonięte) bakterie, do drugiej należą bakterie zaopatrzone w pojedynczą osłonkę syntetyczną chroniącą przed niekorzystnym działaniem środowiska przewodu pokarmowego. Trzecia generacja to probiotyki w syntetycznych mikrokapłkach, zaś do czwartej generacji należą probiotyki w dwóch syntetycznych osłonkach, białkowej i mukopolisacharydowej, co umożliwia uwalnianie bakterii w odpowiednim pH, ciśnieniu i temperaturze przewodu pokarmowego.

Efekt stosowania probiotyków jest wielokierunkowy i zależy od charakteru probiotyku, długości okresu stosowania, wielkości dawki, a także od kombinacji probiotyków. Probiotyki poprawiają strawność paszy, dostarczają organizmowi witamin, głównie z grupy B, zwiększają aktywności enzymów jelitowych, redukują poziom toksycznych amin biogennych i amoniaku, obniżają poziom cholesterolu we krwi i tkankach, wpływają modulująco na układ odpornościowy (39, 40).

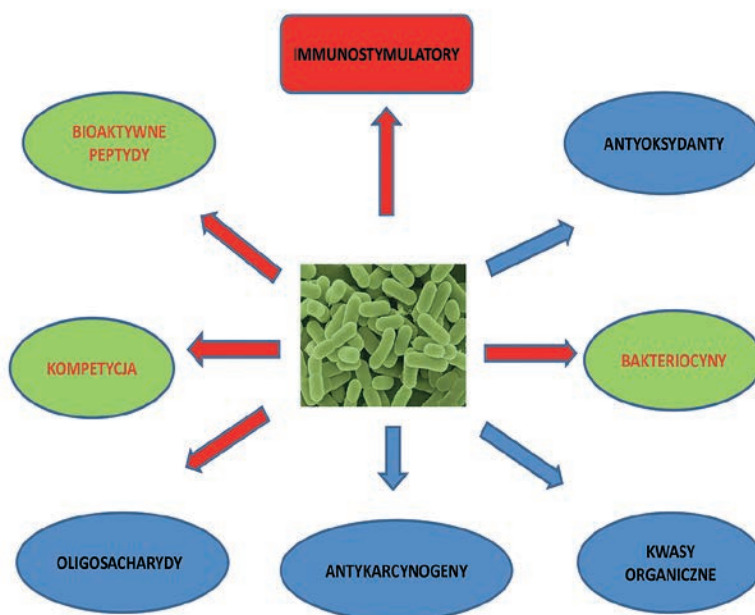
Probiotyki zalecane w medycynie, weterynarii i żywieniu zwierząt powinny spełniać zalecenia FAO i WHO z 2002 r. (41). Należy do nich m.in. określenie wrażliwości na antybiotyki, ocena aktywności metabolicznej (produkcja mleczanu), charakter działań niepożądanych na organizm i ewentualnej toksyczności (42).

Probiotyki jako immunomodulatory

Udział probiotyków w odporności przeciwzakaznej dotyczy: blokowania receptorów dla bakterii i wirusów na enterocytach, hamowania namnażania się patogenów i drobnoustrojów warunkowo chorobotwórczych na drodze kompetencji o pokarm i miejsce w jelitach, produkcji antybiotyków oraz stymulowania i regulowania odporności miejscowej i ogólnej organizmu (43). Badania nad genomiką i proteomiką probiotyków wykazały, że mechanizm działania probiotyków w dużym stopniu zależy od ich rodzaju. Wpływają one na ekspresję genów, syntezę białek, aktywację sieci sygnałowych w komórkach układu immunologicznego i nabłonka jelit (44). Probiotyki hamują wytwarzanie IL-8 i TNF- α w zapaleniu jelit i pobudzają do produkcji mediatorów przeciwzapalnych TGF- β i TLSP (thymic stroma lymphoprotein) będącego promotorem niedojrzałych komórek dendrytycznych (iDC), w dojrzałe regulatorowe komórki dendrytyczne (DCreg). Probiotyki hamują też produkcję IL-6 przez makrofagi w zmienionej zapalnie śluzówce jelit. Pod wpływem wybranych szczepów *Lactobacillus* wzrasta liczba komórek produkujących IgA, fagocytoza, liczba limfocytów T i komórek NK (39, 45). Po internalizacji z komórkami M jelit na drodze współdziałania z CDreg inicjują odpowiedź immunologiczną w której są zaangażowane makrofagi, limfocyty T i B. Mieszianina *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*, *B. bifidum* i *Streptococcus thermophilus* przez stymulowanie CDreg pobudza do produkowania w dużych ilościach IL-10, TGF- β , CD4⁺FoxP3⁺ T reg., COX-2 idoleamino, 2,3-dioxygenazy, które indukują pojawienie się nowych limfocytów Treg CD4⁺CD25⁺ oraz zwiększają działanie

supresyjne obecnych TregCD4⁺CD25⁺. Ponadto zwiększają silnie odpowiedź limfocytów T i B, hamują produkcję cytokin przez Th1, Th2 i Th17 bez indukowania apoptozy (46). *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 produkuje 74 białka, z których 18 odgrywa rolę w immunomodulacji przez interakcję z komórkami nabłonka jelit lub białkami pozakomórkowej matrix (47). Rozpuszczalne białko p40 *L. rhamnosus* GG obniża u myszy produkcję TNF, IL-6, chemoatraktantu keranocytów i INF- γ , regulując w ten sposób odporność naturalną i odpowiedź związaną z limfocytami Th1 (48). *E. coli* Nisle 1917 cechuje wielokierunkowe działanie. Ten probiotyk aktywuje produkcję IL-8, IL-10, IL-12, INF- γ , TNF- α , IgM i IgG w śluzówce jelit, moduluje aktywność limfocytów $\delta\gamma$ T, zwiększa liczbę limfocytów TCD4⁺ we krwi obwodowej, produkuje 2 β -defensynę i kalprotektynę markera nieswoistego zapalenia, białek TJ (ZO-2) zaangażowanych w organizację połączeń międzykomórkowych i śródbłonna naczyńowego, hamuje inhibitor selektywny COX-2 odpowiedzialny za zapalenie i ból oraz hamuje produkcję prostaglandyny PGE2 (49).

Regulacja ekspresji genów i aktywacja sieci sygnałowych jest drugim ważnym mechanizmem działania probiotyków. Na przykład *L. acidophilus* moduluje szlak sygnałowy w zapaleniu jelit związany z IL-23. *L. rhamnosus* wpływa na wzrost i rozmnażanie się komórek w procesie gojenia się ran i produkcję INF, zaś *L. casei* jest promotorem zmiany Th1/Th2 na korzyść Th2 lub Th17, silnie pobudza produkcję IL-17D i IL-21, a tym samym wpływa na rozwój komórek NK (50). W hodowli ludzkich komórek nabłonka jelita (Caco-2) *L. johnsoni* przez stymulację szlaku TLR9 zwiększa



Ryc. 1. Aktywność probiotyków

poziom INF typu 1 oraz regulatorów INF takich jak IRF 7 (51). Tak więc jednym z najważniejszych efektów działania probiotyków w jelitach jest rekonstrukcja uszkodzonego nabłonka stanowiącego barierę jelitową, produkcja substancji o działaniu przeciwbakteryjnym i białek o działaniu ochronnym, blokada apoptozy komórek nabłonkowych indukowanych działaniem cytokin i regulowanie immunologicznych funkcji nabłonka jelitowego (52).

Metagenomika umożliwiła określenie roli genów probiotyków regulujących odpowiedź immunologiczną. U *L. plantarum* taką rolę spełnia 6 genów, które odpowiadają za produkowanie bakteriocyn, jeden odpowiadał za produkcję hydrolazy soli kwasów żółciowych (43).

Probiotyki jako adjuwanty

Działanie adjuwancyjne w przypadku żywej szczepionki przeciwko grypie wykazał u szczurów *Lactobacillus* GG (53). Podobne działanie wywiera *L. acidophilus* w żywej doustnej szczepionce przeciwko wirusowi anemii kurcząt (CAV). *L. acidophilus* z białkiem VP1 wirusa modyfikował immunogenność szczepionki, zwiększając poziom IL-2, IL-12 i INF- γ (54).

Probiotyki w profilaktyce i leczeniu chorób zakaźnych

Ze względu na właściwości immunomodulacyjne probiotyki są stosowane w stanach zapalnych okrężnicy (55), biegunkach poantybiotykowych, biegunkach rotawirusowych, zapaleniu jelit na tle zakażenia *Clostridium difficile*, zakażeniu *Helicobacter pylori*, zapaleniach dróg moczowo-płciowych u kobiet, w bakteryjnych zakażeniach pooperacyjnych (56). Suplementacja diety przez probiotyki, zwłaszcza w pałeczki *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, obniża ryzyko i nasilenie alergii szczególnie atopowego zapalenia skóry. Także probiotyki obniżają częstotliwość zakażeń układu oddechowego (57, 58). Wzbogacenie pożywienia ciężarnych matek w probiotyki wpływa na odporność płodu przez zwiększenie poziomu INF- γ we krwi pępowinowej, TGF- β 1 i IgA w mleku matek. Konsumpcja *L. plantarum* i *L. paracasei* przez 12 tygodni zmniejsza ryzyko przeziębienia (59).

Pałeczki *Lactobacillus* przyspieszają dojrzałość układu immunologicznego u cieląt (60, 61). U prosiąt po odsadzeniu podawanie *Saccharomyces cerevisiae* ssp. *boulardii* przez 3–4 tygodnie powoduje zwiększenie liczby makrofagów w jelitach cienkich (62). Suplementacja karmy macior przez *E. faecium* znacznie zmniejsza występowanie biegunki u odsadzonych prosiąt (63) oraz liczbę komórek TCD8+ w nabłonku jelitowym (64). U krów pałeczki *Lactobacillus*

izolowane z pochwy są wykorzystywane w leczeniu zapaleń układu rozrodczego (65).

Stosowanie probiotyków w profilaktyce i terapii oraz w żywieniu może nieść pewne ryzyko ze względu na wzajemne oddziaływanie probiotyków na rodzimą mikroflorę jelit, ich wpływ na kwasy organiczne, witaminy i niektóre mikroelementy pożywienia oraz leki, zwłaszcza antybiotyki, i dlatego powinno podlegać ścisłym rygorom. Korzystny efekt probiotyków zależy przy tym od stanu zdrowia, kondycji i wieku zwierząt, płci, rasy, kierunku produkcji, wielkości dawki i częstotliwości jej stosowania oraz jakości paszy (40). Pacjenci z niedoborami immunologicznymi i zespołem krótkiego jelita, u których istnieje możliwość translokacji bakterii z przewodu pokarmowego do tkanek i rozwoju bakteriemii, chorobami zastawek serca oraz wcześniaki są w większym stopniu narażeni na działanie niepożądane probiotyków.

Możliwość wykorzystania probiotyków u pszczoły miodnej

W jelicie środkowym czerwia i pszczoł występuje mikroflora, której skład zależy od drobnoustrojów nektaru, pyłku i wody przyniesionych do ula i od mikroflory miodu (66). Tworzą ją *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, bakterie związane symbiotycznie z roślinami wyższymi, np. *Agrobacterium tumefaciens*, *Rhizobium melliloti*, bakterie fitopatogenne, jak *Erwinia salicis*, *Pseudomonas syringa* i bakterie z rodziny Enterobacteriaceae występujące w przewodzie pokarmowym człowieka i zwierząt, które zanieczyszczają wodę, glebę i rośliny (67, 68). Mikroflora jelita środkowego blokuje receptory na enterocytach, do których mogłyby się przyłączyć bakterie względnie chorobotwórcze lub chorobotwórcze występujące w pokarmie lub w wodzie, produkuje substancje przeciwbakteryjne, witaminy, a być może, podobnie jak u zwierząt wyższych, również neurotransmitery, współdziała z enzymami trawiennymi, zwłaszcza z proteazami, rojalizyną, fitoncydami i olejkami eterycznymi zawartymi w pyłku w działaniu ochronnym jelita środkowego przed zakażeniem patogenami.

Ważną rolą produktów wytwarzanych przez mikroflorę jelita środkowego jest stymulacja mechanizmów odporności obecnych w hemolimfie: fagocytozy, nodulacji, hipersyntezy lizozymu, układu oksydazy polifenolowej oraz indukcja peptydów odpornościowych, jak apidycyny i abycyna (69, 70). Zanieczyszczenia środowiska przez metale ciężkie, insektycydy i pestycydy, a także gwałtowne zmiany pogody, braki pokarmu, niedobory żywieniowe, choroby, inwazje pasożytnicze, szczególnie *Varroa destructor*, osłabiają odporność rodziny przez niekorzystne zmiany w składzie

ilościowym i jakościowym mikroflory jelita oraz przez bezpośrednio supresyjny wpływ na mechanizmy odporności jamy ciała czerwia i pszczoł (71, 72). Osłabienie odporności rodziny pszczelej ma duże znaczenie praktyczne, ponieważ wnoszą do chorób wywołanych przez drobnoustroje oportunistyczne, uaktywnia latentne zakażenia wirusowe, umożliwia saprofitom występującym obficie w rodzinie przełamanie działania ochronnego i rozwój posocznicy bakteryjnych i grzybic, kończącego się z reguły padaniem owadów (73).

Jedną z metod sterowania odpornością rodziny jest użycie immunomodulatorów biologicznych i syntetycznych, np. chitozanu, klotrimazolu lub wyciągu z jeżówki purpurowej, co wpływa na pobudzenie fagocytozy, zwiększenie aktywności lizozymu, indukcję apidycyn i abycyny (74).

Uwzględniając rolę, jaką odgrywa mikroflora jelita środkowego czerwia i pszczoł w odporności na choroby oraz produktywności rodziny, ważna i rokująca duże nadzieje jest możliwość sterowania jej składem, wykorzystując probiotyki w celu stymulacji odporności, kompetycji z patogenami w adherencji do komórek nabłonka jelita środkowego, syntezy peptydów o działaniu bakteriostatycznym i bakteriobójczym, hamowania rozmnażania się patogenów w jelicie środkowym (75). Zaleca się u pszczoł stosowanie probiotyków wiosną w celu odbudowy mikroflory jelit, latem, ażeby zniwelować stresogenne działanie środowiska na organizm, jesienią w celu zwiększenia siły zimującej rodziny. *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* obniżają nasilenie inwazji *N. ceranae* u robotnic pszczoły miodnej karmionych przez pierwsze 13 dni po wygryzieniu pokarmem z dodatkiem tych bakterii (76).

Perspektywy produkcji nowych probiotyków

Nowe techniki, zwłaszcza inżynieria genetyczna, przy współpracy biochemików, immunologów i lekarzy, są już wykorzystywane w celu zwiększenia właściwości probiotyków, co powinno doprowadzić do otrzymania probiotyków o nowych właściwościach. W przyszłości mogą one być alternatywą dla antybiotyków, a zwłaszcza dla immunostymulatorów chemicznych ze względu na silną immunogenność i brak działań niepożądanych. Ze względu na możliwość ukierunkowania działania z powodzeniem mogą zostać też wykorzystane w profilaktyce i leczeniu zaburzeń metabolicznych, szczególnie w cukrzycy typu 2, nadwadze, stresie oksydacyjnym i chorobach układu krążenia (77) oraz w profilaktyce i leczeniu raka jelita grubego (78). Istnieje możliwość produkowania w oparciu o probiotyki bioleków i bioszczepionek (79, 80). Na przykład zaawansowane są badania nad użyciem zmodyfikowanego genetycznie szczepu

Salmonella Typhimurium, który na drodze kompetencji metabolicznej będzie hamował infekcje spowodowane przez chorobotwórcze serowary pałeczki *Salmonella* (81).

Piśmiennictwo

- Pflughoef K.J., Versalovic J.: Human microbiome in health and disease. *Ann. Rev. Pathol.* 2012, **7**, 90–122.
- Human Microbiome Project Consortium: Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012, **486**, 207–214.
- Cogen, A.L., Nizet, V., Gallo, R.L.: Skin microbiota: a source of disease or defence? *Br. J. Dermatol.* 2008, **158**, 442–455.
- Kau A.L., Ahern P.P., Griffin N.W., Goodman A.L., Gordon J.L.: Human nutrition, the gut microbiome, and immune system: envisioning the future. *Nature* 2011, **474**, 327–336.
- Grice E.A., Segre J.A.: The skin microbiome. *Nature Rev. Microbiol.* 2011, **9**, 244–253.
- Strober W.: Impact of the gut microbiome on mucosal inflammation. *Trends Immunol.* 2013, **34**, 423–430.
- Zipris D.: The interplay between the gut microbiota and the immune system in the mechanism of type 1 diabetes. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 2013, **20**, 265–270.
- Langdon A., Crook N., Dantas G.: The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Med.* 2016, **8**, 39–44.
- Abubucker S., Segata N., Goll J., Schubert A.M., Izard J., Cantarel B.L., Rodriguez-Mueller B., Zucker J., Thiagarajan M., Henrissat B., White O., Kelley S.T., Methé B., Schloss P.D., Gevers D., Mitreva M., Huttenhower C.: Metabolic reconstruction for metagenomic data and its application to the human microbiome. *PLoS One*. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002358>.
- Sharma R.P.: Evaluation of pesticide immunotoxicity. *Toxicol. Industrial Health.* 1988, **4**, 373–381.
- Hartung T.: Toxicology for the twenty-first century. *Nature* 2009, **460**, 208–212.
- Holsapple M.P.M.: Autoimmunity by pesticides: a critical review of the state of the science. *Toxicol Lett.* 2002, **127**, 101–109.
- Corsini E.: Human immunotoxicology: Consequences and mechanisms. *Toxicol. Lett.* 2006, **164**, 313–322.
- Germolec D., Luebke R., Rooney A., Shipkowski K., Vandebriel R., Loveren van H.: Immunotoxicology: a brief history, current status and strategies for future immunotoxicity assessment. *Curr. Opin. Toxicol.* 2017, **3**, 75–79.
- Spreafico F.: Problems and challenges in the use of immunomodulating agents. *Arch. Allergy Appl. Immunol.* 2006, suppl. 1, 1985, **108**, 118–122.
- Thompson A.W., Forrester J.V.: Therapeutic advances in immunosuppression. *Clin. Exp. Immunol.* 1994, **98**, 351–367.
- Kahan B.D.: Cyclosporin. *N. Engl. J. Med.* 1989, **321**, 1725–1734.
- Tizard I.R.: Veterinary immunology. An introduction. W.B. Saunders Co. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1996.
- Descotes J.: Immunotoxicology of drugs and chemicals: An experimental and clinical approach. Elsevier, 2004.
- Black R.D., Oehme F.W.: Immunotoxicity in the bovine animal: a review. *Vet. Human Toxicol.* 1992, **34**, 438–443.
- Bogaard van den A.E., Stobbering E.A.: Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animal and humans. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2000, **14**, 327–335.
- D'Agata E.M., Dupont-Rouzeyrol M., Magal P., Olivier D., Ruan D.: The impact of different regimes on the emergence of antimicrobial-resistant bacteria. *PLoS One* 2008, **3**, doi: 10.1371/journal.pone.0004036. Epub 2008 Dec 29.
- European Center for Disease Prevention and Control: Epidemiological update on NDM-1 "superbug" threat. <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/sciadvice>.
- Cloete T.E.: Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. *Int. Biodegrad. Biodegrad.* 2003, **51**, 277–282.
- Goossens R., Ferech M., Vander Stichele R., Elseviers M.: Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet* 2005, **365**, 579–587.
- Kährström C.T.: Antibacterial drugs: a new drug for resistant bugs. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2015. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25633792>.
- Paterson G.K., Harrison E.M., Holmes M.A.: The emergence of mecc methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.* 2014, **22**, 42–47.
- Clements A., Halton K., Graves N., Pettitt A., Morton A., Looke D., Whitby M.: Overcrowding and understaffing in modern health-care systems: key determinants in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission. *Lancet Infect. Dis.* 2008, **8**, 427–434.
- Lu K.K., Koeris M.S.: The next generation of bacteriophage therapy. *Curr. Opin. Microbiol.* 2011, **14**, 524–531.
- Gillor O., Ghazaryan L.: Recent advances in bacteriocin application as antimicrobials. *Recent Pat. Antiinf. Drug Discov.* 2007, **2**, 115–122.
- Jenssen H., Hamill P., Hancock R.E.W.: Peptide antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006, **19**, 491–511.
- Bartel D.P.: MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004, **116**, 281–297.
- Ohlsen K., Dandekar G., Schwarz R., Dandekar T.: New trends in pharmacogenomic strategies against resistance development in microbiological infections. *Pharmacogenomics* 2008, **9**, 1711–1723.
- Rijkers G.T., de Vos W.M., Brummer R.J., Morelli L., Corthier G., Marteau P.: Health benefits and health claims of probiotics: bridging science and marketing. *Brit. J. Nutr.* 2011, **106**, 1291–1296.
- FAO/WHO: Health and nutritional properties of probiotics in food including powdered milk with live lactic acid bacteria. http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf
- FAO/WHO: Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Joint FAO/WHO Working Group on the Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food/ London, Ontario, 2002.
- Didari T., Solki S., Mozaffari S., Nikfar S., Abdollahi M.: A systematic review of the safety of probiotics. *Expert Opin. Drug Saf.* 2014, **13**, 227–239.
- Fijan S.: Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2014, **11**, 4745–4767.
- Ouweland A.C., Salminen S., Isolauri E.: Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek* 2002, **82**, 279–289.
- Boyle R.J., Robins-Browne R.M., Tang M.L.: Probiotics use in clinical practice: what are the risks? *J. Clin. Nutr.* 2006, **83**, 1256–1264.
- Huys G., Botteldoorn N., Delvigne F., Vuyst L.D., Heyndrickx M., Pot B., Dubois J., Daube G.: microbial characterization of probiotics – Advisory report of the Working Group "8661 Probiotics" of the Belgian Superior Health Council (SHC). *Molecular Nutr. Food Res.* 2013, **57**, 1479–1504.
- Doron S., Snyderman D.R.: Risk and safety of probiotics. *Clin. Infect. Dis.* 2015, **60** suppl 2, 129–134.
- Yang F., Polk D.B.: Probiotics and immune health. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2011, **27**, 496–501.
- Lomax A.R., Calder P.C.: Probiotics, immune function, infection and inflammation: a review of the evidence from studies conducted in humans. *Curr. Pharm. Des.* 2009, **15**, 1428–1518.
- Reid G., Jass J., Sebulyk M.T., McCormick J.K.: Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin. Microbiol. Rev.* 2003, **16**, 658–672.
- Kwon H.K., Lee C.G., So J.S., Chae C.S., Hwang J.S., Sahoo A., Nam J.H., Rhee J.H., Hwang K.C., Im S.H.: Generation of regulatory dendritic cells and CD4+Foxp3+ T cells by probiotics administration suppresses immune disorders. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010, **107**, 2159–2164.
- Gilad O., Svensson B., Viborg A.H., Stuer-Lauridsen B., Jacobson S.: The extracellular proteome of *Bifidobacterium Animalis* Subsp. *Lactis* BB-12 reveals proteins with putative roles in probiotic effects. *Proteomics* 2011, **11**, 2503–2514.
- Yan F., Cao H., Cover T.L., Washington M.K., Shi Y., Liu L., Chaturvedi R., Peek R.M.Jr., Wilson K.T., Polk D.B.: Colon-specific delivery of a probiotic-derived soluble protein ameliorates intestinal inflammation in mice through an EGF-dependent mechanism. *J. Clin. Invest.* 2011, **121**, 2242–2253.
- Behnsen J., Deriu E., Sassone-Corsi M., Raffatellu M.: Probiotics; properties, examples, and specific applications. <http://perspectivesinmedicine.cshp.org/content/3/3/a010074.full>.
- Van Baaren P., Troost F., van der Meer C., Hooiveld G., Boekschoten M., Brummer R.J., Kleerebezem M.: Human mucosal in vivo transcriptome responses to three Lactobacilli indicate how probiotics may modulate human cellular pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011, **108**, 4562–4569.
- Kingma S.D., Li N., Sun F., Valladares R.B., Neu J., Lorca G.L.: Lactobacillus johnsonii N6.2 stimulates the innate response through Toll-like receptor 9 in Caco-2 cells and increases intestinal crypt Paneth cell number in biobred diabetes-prone rats. *J. Nutr.* 2011, **141**, 1023–1028.
- Yan F., Polk D.B.: Probiotics; progress toward novel therapies for intestinal diseases. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2010, **26**, 95–101.
- Davidson L.E., Fiorino A.M., Snyderman D.R., Hibberd P.L.: Lactobacillus GG as an immune adjuvant for live-attenuated influenza vaccine in healthy adults: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2011, **65**, 501–507.
- Moeini H., Rahim R.A., Omar A.R., Shafee N., Yusoff K.: Lactobacillus acidophilus as a live vehicle for oral immunization against chicken anemia virus. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011, **90**, 77–88.
- Durchschein F., Petritsch W., Hammer H.E.: Diet therapy for inflammatory bowel diseases: The established and the new. *World J. Gastroenterol.* 2016, **22**, 2179–2194.
- Gupta V., Garg R.: Probiotics. *Indian J. Med. Microbiol.* 2009, **27**, 202–209.
- Hatakka K., Savilahti E., Pönkä A., Meurman J.H., Pousa T., Näse L., Saxelin M., Korpela R.: Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *BMJ*, 2001, **322**, 1327.
- Näse L., Hatakka K., Savilahti E., Saxelin M., Pönkä A., Pousa T., Korpela R., Meurman J.H.: Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *J. Caries Res.* 2001, **35**, 412–420.
- Berggren A., Lazou Ahren I., Larsson M., Onning G.: Randomised, double-blind and placebo-controlled study using new probiotic Lactobacilli for strengthening the body immune defence against viral infections. *Eur. J. Nutr.* 2011, **50**, 203–210.
- Al-Saiady M.Y.: Effect of probiotic bacteria on immunoglobulin G concentration and other blood components of newborn calves. *J. Anim. Vet. Adv.* 2010, **9**, 604–609.
- Drincanu D., Pop I.M., Stack D., Stef L., Julean C., Burke B.: The Effect of Probiotics on Animal Health: Review. *Animal Sci. Biotechnol.* 2010, **43**, 35–41.
- Baum B., Liebler-Tenorio E. M., Enss M. L., Pohlzen J., Breves G.: *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus* var. *Toyo* influence the morphology and the mucins of the intestine of pigs. *Gastroenterol.* 2002, **40**, 277–284.
- Taras D., Vahjen W., Macha M., Simon O.: Performance, diarrhea incidence, and occurrence of *Escherichia coli* virulence genes during long-term administration of a probiotic *Enterococcus faecium* strain to sows and piglets. *J. Anim. Sci.* 2006, **84**, 608–617.
- Scharek L., Guth J.Reiter, K., Weyrauch K.D., Taras D., Schwerk P., Schierack P., Schmidt M.F., Wieler L.H., Tedin K.: Influence of a probiotic *Enterococcus faecium* strain on development of the immune system of sows and piglets. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2005, **105**, 151–161.
- Otero M.C., Morelli L., Nader-Macias M.E.: Probiotic properties of vaginal lactic acid bacteria to prevent metritis in cattle. *Lett. Appl. Microbiol.* 2006, **43**, 91–97.
- Gliński Z., Jarosz J.: Deleterious effects of *Vrova jacobsoni* on the honeybee. *Apiacta* 1988, **23**, 42–51.
- Engel P., Martinson V.G., Moran N.A.: Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2012, **109**, 11002–11007.
- Corby-Harris V., Maes P., Anderson K.E.: The bacterial communities associated with honey bee (*Apis mellifera*) foragers. [PLOS ONE 2014](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3989306/) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3989306/>.
- Casteels-Josson K., Capaci T., Casteels P., Tempst P.: Apidaecin multipetide precursor structure: a putative mechanism for amplification of the insect antibacterial response. *EMBO J.* 1993, **12**, 1569–1572.
- Gliński Z., Kostro K.: Key stones in insect immunity. *Cent. Eur. J. Immunol.* 2001, **26**, 43–50.
- Gliński Z., Grzegorzczak K.: Apidacins and lysozyme in the honeybee (*Apis mellifera* L.) from environment non-heavily contaminated with heavy metals. *Annls. UMCS, s.DD.* 1995, **50**, 139–142.
- Gliński Z., Kauko L.: Problems of immunosuppression and immunotoxicology in respect to the honey bee protection against microbial and parasitic invaders. *Apiacta* 2000, **35**, 65–75.
- Kauko L., Gliński Z., Buczek K.: *Enterococcus faecalis* – tartunta mehilaissäällä. *Suomen Eläinlääk.* 1996, **102**, 266–271.
- Chelmiński M.: *Badania nad modulacją odporności przeciwbakteryjnej robotnic pszczoły miodnej, Apis mellifera L. przy użyciu immunomodulatorów biologicznych i syntetycznych.* Dysertacja doktorska. Wydział Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie, 2006.
- Evans J.D., Lopez D.L.: Bacterial probiotics induce an immune response in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.* 2004, **97**, 752–756.
- Baffoni L., Gaggia F., Alberoni D., Cabbari R., Nanetti A., Biavati B., Di Gioia D.: Effect of dietary supplementation of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains in *Apis mellifera* L. against *Nosema ceranae*. *Benef. Microbes* 2016, **7**, 45–51.
- Yoo J.Y., Kim S.S.: Probiotics and prebiotics: Present status and future perspectives on metabolic disorders. *Nutrients* 2016, **8**, 173–181.
- Patel S., Goyal A.: The current trends and future perspectives of probiotics research: a review. *Biotech.* 2012, **2**, 115–125.
- Li P., Gu Q., Zhou Q.: Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* LZ206, a potential probiotic strain with antimicrobial activity against foodborne pathogens. *J. Biotechnol.* 2016, **238**, 52–55.
- Saxelin M.: Probiotic formulations and applications, the current probiotics market, and changes in the marketplace: a European perspective. *Clin. Inf. Dis.* 2008, **46** suppl. 2, 76–79.
- Sabag – Daigle A., Blunk H.M., Gonzalez J.F., Steidley B.L., Boyaka P.N., Ahme B.M.M.: Use of attenuated but metabolically competent *Salmonella* as a probiotic to prevent or treat *Salmonella* infection. *Infect. Immun.* 2016, **84**, 2131–2140.

Prof. zw. dr hab. mgr Zdzisław Gliński, e-mail: zginski@o2.pl