

## PROBIOTIKÁ V ONKOLOGIÍ - ÁNO ČI NIE?

### PROBIOTICS IN ONCOLOGY - YES OR NO?

MEGO M.<sup>1</sup>, ZAJAC V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> NÁRODNÝ ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRATISLAVA,

<sup>2</sup> ÚSTAV EXPERIMENTÁLNEJ ONKOLOGIE, SAV, BRATISLAVA, SLOVENSKO

#### Súhrn

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

**Kľúčové slová:** probiotiká, onkológia, kolonizačná rezistencia, bezpečnosť, črevná flóra

#### Summary

Probiotics are defined as live microorganisms which administered in adequate amounts confer a health benefit on the host. Their effect is closely related to the natural function of gut flora. Probiotics could be applied in therapy and mainly in prevention of many civilization disorders. The experience with the use of probiotic bacteria in cancer patients is limited with regard to evoking the iatrogenic infection. Availability of safe probiotic strains with demonstrated clinical effectivity is the main assumption of their wider application.

**Key words:** probiotics, oncology, colonization resistance, safety, gut flora

#### Úvod

Probiotiká sú definované ako živé mikroorganizmy, s prospešným účinkom na zdravie človeka pri podávaní v dostatočných množstvách (1).

Skúšajú sa pri prevencii a liečbe antibiotikami indukovanej a infekčnej hnačky, v prevencii urogenitálnych infekcií, hepatálnej insuficiencii, kde sú alternatívou laktulózy, laktózovej intolerancii, idiopatických črevných zápaloch, syndróme dráždivého hrubého čreva. Testuje sa aj ich vplyv na hladinu cholesterolu, lipidov, hypertenziu ako aj ich imunomodulačný účinok pri reumatických a alergických ochoreniach (1,2,3). Ďalšou možnosťou ich uplatnenia je primárna a sekundárna prevencia kolorektálneho karcinómu.

V poslednom období pozorujeme výrazný nárast záujmu o probiotiká, čo sa prejavuje aj množstvom publikovaných prác v tejto oblasti. Napriek tomu ich použitie v onkológii zostáva zatiaľ kontroverzné, predovšetkým vzhľadom na riziko vyvolania iatrogénnej infekcie.

#### Charakteristika prirodzenej črevnej flóry človeka

Mikroflóru osídľujúcu hrubé črevo tvorí asi 500 druhov baktérií zaradených do 40 rodov. U dospelého jedinca sú najpočetnejšie gramnegatívne anaeróby rodu *Bacteroides*, ďalej grampozitívne anaeróbne paličky a koky, medzi ktorými prevažujú bifidobaktérie, ktoré môžu tvoriť až 25% celkovej populácie. Žiadna zložka anaeróbnej mikroflóry nie je účinným patogénom. Najdôležitejšou úlohou mikroflóry je zabrániť pomnoženiu patogénnych mikroorganizmov, pričom vzájomná interakcia jej zložiek má kompetitívny charakter (5,6,7). Ďalšou významnou funkciou je produkcia mastných kyselín s krátkym reťazcom dôležitých najmä z hľadiska výživy buniek črevnej sliznice (8,9).

#### Účinky probiotík na imunitný systém

Relatívne málo prebádanou funkciou je vplyv črevnej mikroflóry na vývoj imunitného systému. Väčšina prác zaoberajúcich sa týmto vplyvom využíva hlavne experimentálne modely zvierat (10,11,12,13). Na podklade takéhoto ovplyvnenia imunitného systému sa pozoroval tiež protinádorový efekt (14). Použitie probiotických baktérií vedie k stimulácii humorálnej imunity, predovšetkým k zvýšeniu produkcie povrchového IgA (15, 16), ďalej k zvýšeniu produkcie cytokínov, hlavne TNF alfa, IL-6, IL-2, IL-5, IL-1 (17,18). Pozorovala sa tiež reverzia vekom spojeného poklesu cytokínov (19,20) ako aj stimulácia nešpecifickej imunity, hlavne fagocytózy (21,22). Po cieleom osídlení nedonosených detí a ohrozených novorodencov nepatogénnym kmeňom *Escherichia coli* 083 sa zistila stimulácia imunitného systému, dôsledkom ktorej bolo odstránenie črevných patogénov, výrazne znížený výskyt nozokomiálnych infekcií a znížená potreba liečiť antibiotikami (23). Črevná flóra za normálnych okolností stimuluje nielen vývoj imunity lokálnej, ale aj systémovej (9,11,12,24,25). Nezodpovedanou zostáva otázka, do akej miery sa môže stimulácia imunity uplatniť u onkologického pacienta imunosuprimovaného základným ochorením, ako aj aplikáciou chemo- a radioterapie.

#### Hnačka

Hnačka je pomerne častou komplikáciou u pacientov s nádorovým ochorením. Na jej vzniku participuje niekoľko mechanizmov; malabsorpcia na podklade mukozitídy vyvolanej chemoterapiou, dysmikrobia vyvolaná širokospektrálnymi antibiotikami ako aj predispozícia k infekčnej hnačke u imunosuprimovaného pacienta. Niektoré cytostatiká a ich meta-

bolity indukujú hnačku priamo účinkom na črevnú sliznicu. Použitie probiotík v prevencii a liečbe hnačky je založené nielen na teoretických predpokladoch, ale aj na výsledkoch niekoľkých štúdií. Baktérie mliečného kvasenia sa podieľajú na úprave dysmikrobiócie, kompetujú o substrát s patogénnymi baktériami, produkujú bakteriocíny, zvyšujú transepiteliálnu rezistenciu (26,27). Ich enzymatická aktivita ovplyvňuje hnačku aktiváciou alebo deaktiváciou metabolitov, ktoré hnačku vyvolávajú. Produkcia mastných kyselín s krátkym reťazcom, ktoré sú dôležité pre výživu črevných buniek sliznice, prispieva aj k ich antidiaroidickému účinku (8,9).

Pri prevencii antibiotikami indukovanej hnačky sa v dvojitosplepých klinických štúdiách zistil protektívny účinok probiotík obsahujúcich *Saccharomyces boulardii* (1,28) a *Enterococcus faecium* (29). Podávanie probiotík viedlo k výraznému poklesu recidencie choroby pri prevencii infekčných ochorení spojených s *Clostridium difficile* (30). Trvanie rotavírusovej hnačky u detí a hnačky u imunokompromitovaných HIV pozitívnych pacientov sa významne skrátilo po podaní kmeňov *Lactobacillus sp.* resp. *S. boulardii* (31,32).

Metaanalýza 9 randomizovaných placebo kontrolovaných štúdií ukázala významné zníženie incidence antibiotikami asociovaných hnačiek u detí (33). Ďalšia metaanalýza, v ktorej bolo zahrnutých 23 štúdií ukázala štatisticky významné zníženie rizika a trvania infekčnej hnačky (34). Väčšina z týchto štúdií bola uskutočnená s probiotickým kmeňom *Lactobacillus GG*. Incidencia hnačky počas liečby akútnej leukémie sa pohybuje medzi 15 - 80%. Závažná hnačka stupňa 3 - 4 tvorí z toho 8-20% a je oveľa častejšia počas indukčnej fázy chemoterapie (35,36, 37,38). V štúdiu fázy II uskutočnenej na našom pracovisku preventívne podávanie probiotického kmeňa *Enterococcus faecium* M-74 so selénom bolo spojené s nízkou incidenciou (14%) ako aj závažnosťou (všetko stupeň 1) hnačky, napriek tomu, že polovica pacientov dostávala indukčnú liečbu (39,40). Uvedené výsledky je však potrebné overiť v randomizovanej placebo kontrolovaných štúdií. Incidencia irinotecanom vyvolanej hnačky sa pohybuje medzi 60-90%, z čoho závažná hnačka tvorí 20-40%, ktorá je významným faktorom morbidita a mortality počas liečby (41). Na jej vzniku sa významnou mierou podieľa jeden z metabolitov irinotecanu, SN38 (7-ethyl-10 hydroxycamptothecin), ktorý je v pečeni glukuronovaný a následne vylúčený do čreva. Vplyvom aktivity bakteriálneho enzýmu beta-glukuronidázy je v črevnom lumene opätovne dekonjugovaný. V tejto forme vyvoláva priame poškodenie črevnej sliznice spojené s malabsorpciou vody, elektrolytov a rozvojom hnačky. Je známe, že probiotické baktérie znižujú aktivitu črevnej beta-glukuronidázy (42), čím by sa mohli uplatniť v prevencii hnačky u pacientov liečených irinotecanom.

### Neutropenický pacient

Skúsenosti s podávaním probiotických baktérií u neutropenických pacientov s nádorovým ochorením sú veľmi obmedzené, vzhľadom na obavu z vyvolania iatrogénnej infekcie u imunokompromitovaného jedinca.

Asi 80% infekcií u neutropenických pacientov pochádza z endogénnej flóry (43). Za hlavnú bránu vstupu sa považuje črevná sliznica (44,45) pričom alterácia črevnej flóry u imunokompromitovaného jedinca vedie k získaniu virulentných baktérií. Táto zmena je spôsobená použitím širokospektrálnych antibiotík suprimujúcich rast normálnej anaeróbnej črevnej flóry (43,46).

Kompetitívna inhibícia kolonizácie čreva patogénnymi mikroorganizmami prostredníctvom baktérií mliečného kvasenia by mohla byť jednou z možností prevencie febrilnej neutropénie u onkologických pacientov. V porovnaní s existujúcou selektívnou dekontamináciou čreva chinolónmi a/alebo trimethoprim- sulfamethoxazolom, možno očakávať zníženie incidence aj mykotických a grampozitívnych infekcií na podklade ovplyvnenia črevnej mikroflóry.

V literatúre sú len anekdotálne správy o použití probiotík u pacientov s neutropéniou. V experimentálnom animálnom modeli cyklofosfamidom indukovanej neutropénie viedlo podávanie teplo inaktivovaného kmeňa *Enterococcus faecalis* FK-23 k skr-

teniu dlhšej trvania neutropénie a k urýchleniu reštitúcie počtu neutrofilov (47). Taktiež orálne alebo intraperitoneálne profylaktické podanie tohto kmeňa významne predĺžilo prežívanie myši po infekcii druhom *Candida albicans* a znížilo počet viabilných kandid izolovaných z obličiek infikovaných myší (48). Hengens a kol. podávali kmene *Lactobacillus sp.* piatim neutropenickým pacientom, ktorí mali intestinálnu flóru suprimovanú antibiotickou liečbou. Ani v jednom prípade laktobacily neboli úspešné pri spontánnej rekolonizácii čreva enterickými baktériami. Len u 2 pacientov však bolo detegované významné množstvo laktobacilov v stolici (45,49). V randomizovanej štúdiu 33 det-ských pacientov s leukémiou a solídnyimi tumorami dostávalo framycetín, colymicin, nystatin a metronidazol v 35 neutropenických epizódach, kým co-trimoxazol s laktobacilmi bol aplikovaný v 35 epizódach u 35 pacientov. Nebol pozorovaný významný rozdiel v incidencii infekcie vzniknutej v priebehu neutropénie a ani v dĺžke trvania neutropénie. Kombinácia co-trimoxazolu s laktobacilmi však bola výrazne lepšie tolerovaná (50).

Možnosť prevencie febrilnej neutropénie baktériami mliečného kvasenia sme sa pokúsili overiť u neutropenických pacientov prostredníctvom probiotického kmeňa *Enterococcus faecium* M-74 so selénom.

V štúdiu fázy I prebiehajúcej v NOU sme podávali probiotický kmeň *Enterococcus faecium* M-74 so selénom 11 onkologickým pacientom (40). Cieľom štúdie bolo stanovenie dávky a bezpečnosti u pacientov so solídnyimi a hematologickými malignitami. V prvej fáze bolo zaradených 6 pacientov liečených chemoterapiou pre nádor z germinatívnych buniek. Profylaxiu nepatogénnym kmeňom *E. faecium* M-74 dostávali počas 3. a 4. cyklu. Iničiálna dávka bola  $6 \times 10^9$  viabilných buniek denne. Vzhľadom na nedostatočnú kolonizáciu čreva u prvých 3 pacientov bola dávka zvýšená na  $18 \times 10^9$  denne. Po vyhodnotení bezpečnosti bol probiotický kmeň podávaný 5 pacientom s relapsom akútnej leukémie. V 8 z 10 cyklov chemoterapie bola u 5 pacientov s germinatívnymi nádormi zachytená závažná neutropénia stupňa 3/4. Ani u jedného z nich nebola prítomná febrilná epizóda. Kolonizácia čreva u pacientov s germinatívnymi tumorami pri dávke  $18 \times 10^9$  denne dosahovala  $10^5$  až  $10^6$  CFU/g stolice. U 5 pacientov s akútnou leukémiou bola prítomná neutropénia stupňa 3/4 počas 127 dní. Bolo zaznamenaných 12 febrilných epizód. Ani v jednom prípade však nebol pôvodcom infekcie testovaný bakteriálny kmeň. Následne bolo do štúdie fázy II zaradených 14 pacientov s myeloidnou leukémiou liečených chemoterapiou. Počas 1. cyklu chemoterapie dostávali dennú dávku  $36 \times 10^9$  baktérií *E. faecium* M-74 so selénom. U všetkých pacientov došlo k rozvoju febrilnej neutropénie. Počas 231 dní závažnej neutropénie stupňa 3-4 sme zaznamenali 30 febrilných epizód, avšak žiadnu vyvolanú probiotickým kmeňom. Neboli pozorované ani závažnejšie nežiaduce účinky (39).

Jedna z príčin zlyhania účinnosti probiotika v prevencii febrilnej neutropénie môže byť prítomnosť ďalších brán vstupu infekcie ako napríklad centrálna venózne katétre. Vysoká incidencia bakteriémie vyvolane koaguláza-negatívnym stafylokokom tento fakt aj podporuje. Tiež efektivita kolonizácie, poškodenie sliznice chemoterapiou, dávka ako aj vybraný probiotický kmeň sa môžu podieľať na tejto skutočnosti.

### Kolorektálny karcinóm

Kolorektálny karcinóm je u nás najčastejším karcinómom tráviaceho traktu a je druhým najčastejším karcinómom po karcinóme pľúc u mužov a karcinóme prsníka u žien (okrem rakoviny kože), pričom jeho incidenciou má stúpajúci charakter (51). Už dlhší čas je prijímaná predstava, že baktérie zohrávajú významnú úlohu v procese vzniku a vývoja kolorektálneho karcinómu (52,53). Bakteriálna flóra môže ovplyvniť kolorektálnu karcinogézu produkciou enzýmov, ktoré transformujú prokarcinogény na aktívne karcinogény. Medzi tieto patria beta-glukuronidáza, glykozidáza, azoreduktáza, nitroreduktáza (42,54). Medzi hlavné efektorové mechanizmy, ktorými mikroflóra ovplyvňuje vývoj karcinómu patrí: dekonjugácia žlčo-

vých kyselín a tvorba sekundárnych žľových kyselín, aktivácia prokarcinogénov, fermentácia vedúca k tvorbe mastných kyselín s krátkym reťazcom, tvorba diacylglycerolu, syntéza pentánov a adsorpcia hydrofóbných molekúl (55).

Baktérie mliečného kvasenia zohrávajú významnú úlohu v spomalení kolorektálnej karcinogenézy. Ich účinok spočíva v posilnení imunitného systému hostiteľa, supresii rastu a aktivity intestinálnych mikróbov produkujúcich karcinogény a promotory, kompetitívnu kolonizáciu alebo produkciu inhibítorov, vo viazaní karcinogénov, produkciu antimutagénnych komponentov, produkciu butyrátu stimulujúceho apoptózu abnormálnych buniek, inhibíciu konverzie žľových kyselín na sekundárne žľové kyseliny a ovplyvnením fekálneho pH (3). Ďalší protektívny efekt probiotík pri kolorektálnom karcinóme vedie cez ovplyvnenie idiopatických črevných zápalov, známej prekancerózy (56). Dôkaz protektívneho účinku probiotík pochádza z animálnych štúdií, kde sa skúmal ich vplyv na chemicky indukovanú karcinogenézu najčastejšie pomocou 1,2-dimetylhidrazínu (41). Podávanie probiotík viedlo priamo k supresii tvorby aberantných krypt (57). V humánnych štúdiách bol ich protektívny význam potvrdený len nepriamo prostredníctvom zníženia exkrécie fekálnych mutagénov, (58), poklesu aktivity enzýmov spôsobujúcich konverziu prokarcinogénov, zvýšenia aktivity detoxifikačných enzýmov (59,60) a stimuláciu imunity (4,61). Suplementácia potravy pomocou kmeňov *Lactobacillus sp.* viedla k zníženiu fekálnej aktivity beta-glukuronidázy, nitroreduktázy, azoreduktázy, ktoré sa zúčastňujú premeny prokarcinogénov na karcinogény (42). Podobný efekt na aktivitu fekálnej beta-glukuronidázy malo podávanie probiotického kmeňa *Enterococcus faecium* M-74 (4). Nie všetky používané probiotické kmene majú rovnaký protektívny účinok. Súvisí to jednak s ich schopnosťou prejsť cez ochrannú bariéru tvorenú kyslíkmi prostredím žalúdka, ako aj ich enzymatickou výbavou, schopnosťou kolonizovať črevo a rastovým potenciálom.

Protektívny účinok probiotík sa začína využívať pri infekcii vyvolanej *Helicobacter pylori*. Aiba a kol, pozorovali supresiu kolonizácie žalúdočnej sliznice *H.pylori* pomocou probiotického kmeňa *Lactobacillus salivarius* in vitro ako aj v gnotobiotickom myšom modeli (62). Sakamoto a kol. skúšali efekt *Lactobacillus gasseri* OLL2716 u 31 jedincov s helikobakteriovou infekciou. Podávania tohto probiotika viedlo k supresii *H.pylori* a redukcii zápalu žalúdočnej sliznice (63). Vzhľadom na karcinogénny potenciál *H. pylori*, jeho rastúcu rezistenciu na antibiotiká a nežiaduce účinky antibiotík sa probiotický spôsob eradikácie ukazuje ako veľmi výhodná alternatíva. Vplyv probiotík pri prevencii kolorektálneho karcinómu teda potvrdzuje význam bakteriálnej flóry v etiológii kolorektálneho karcinómu a zároveň predstavuje cestu vhodnú na zníženie jeho incidencie. Ďalšie štúdie však budú potrebné na selekciu kmeňov s najlepším profilom účinnosti.

## Bezpečnosť

Aj keď incidencia infekcií vyvolaných baktériami mliečného kvasenia je extrémne nízka, existuje určité riziko, že tieto sa môžu stať patogénnymi (64). Toto riziko sa u imunokompromitovaného jedinca pochopiteľne zvyšuje. Je to tiež jednou z hlavných príčin obmedzených skúseností s podávaním probiotík imunokompromitovaným pacientom. Navyše vplyvom chemoterapie a rádioterapie dochádza aj k lokálnemu poškodeniu črevnej sliznice.

V literatúre sú popísané kazuistiky, kde baktérie mliečného kvasenia spôsobili lokálne infekcie hrudníka, gastrointestinálneho, urogenitálneho traktu ako aj meningitídy (64,65). Bakteriémia vyvolaná kmeňom *Bacillus subtilis* bola popísaná u 4 z 20 onkologických pacientov, ale bola referovaná aj u ďalších ťažko chorých pacientov (66). Tento fakt potvrdzuje aj skúsenosť nášho pracovníka. Tiež bola referovaná fungémia vyvolaná kvasinkami *Saccaromyces* u neutropenického pacienta s akútnou leukémiou. Išlo o 6 mesačného pacienta, u ktorého bola uskutočnená profylaxia hnačky pomocou *Saccharomyces boulardii* (67). Podobná infekcia bola zaznamenaná aj u ďalších 2 imunokompromitovaných jedincov dostávajúcich profylaxiu *Saccharomyces boulardii* (68). V uvedených prípadoch bola infekcia úspešne zvládnutá antimykotickou liečbou. Z týchto skutočností vyplýva tiež prirodzená požiadavka na citlivosť probiotických kmeňov na antimikrobiálne látky používané v bežnej klinickej praxi.

Možné riziko podávania probiotík súvisí so vznikom a prenosom rezistencie medzi probiotickým kmeňom a endogénnou flórou. Zvyšujúci sa počet vankomycin-rezistentných kmeňov *Enterococcus faecium* môže súvisieť s používaním antimikrobiálnych preparátov u zvierat a ľudí. Bol tiež dokázaný génový prenos medzi enterokokmi gastrointestinálneho traktu u potkanov, ako aj prenos medzi laktobacilmi a enterokokmi (69,70). Nami použité kmeň *Enterococcus faecium* M-74 vykazoval citlivosť na väčšinu antibiotík a chemoterapeutík používaných v klinickej praxi. Bol tiež testovaný za účelom prenosu génov rezistencie na tetracyklín a vancomycin in vitro. Takýto transfer nebol úspešný (osobná komunikácia Aarestrup FM, 2002). Napriek bezpečnosti nami testovaného kmeňa sa domnievame, že podávanie probiotických preparátov neutropenickým pacientom by malo prebiehať len v rámci klinických štúdií, kým nebudú k dispozícii ďalšie údaje o ich bezpečnosti.

## Záver

Záverom môžeme konštatovať, že doterajšie práce s baktériami mliečného kvasenia poukazujú na to, že vybrané kmene majú priaznivý potenciál na ľudské zdravie. Môžu sa uplatniť ako adjuvans chemo- a rádioterapie, ale aj v prevencii nádorových ochorení.

Predpokladom ich širšieho použitia v onkológii je však overenie účinnosti vybraných probiotických kmeňov ako aj ich bezpečnosti v randomizovaných štúdiách.

## Literatúra.

1. McFarland LV, Elmer GW. (1995): Biotherapeutic agents: past, present and future. *Microcol Ther* 23, 46-73.
2. Rolfe RD. (2000): The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J Nutr* 130, 396S-402S.
3. Sanders ME. (2000): Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J Nutr* 130, 384S-390S.
4. Ferenčík M, Ebringer L, Mikeš Z, Jahnová E, Čiznár I (1999): Beneficial modification of the human intestinal microflora using orally administered lactic acid bacteria. *Bratislav Lek Listy* 100, 238-245.
5. Cebra JJ, Jiang HJ, Šterzl J, Tlaskalová-Hogenová H. (1999): The role of mucosal microbiota in the development and maintenance of the mucosal immune system. In: Ogra, P. et al.: *Mucosal Immunology*. New York, Academic Press, pp. 19-30.
6. Savage DC. (1999): *Mucosal microbiota*. In: Ogra, P. et al.: *Mucosal Immunology*. New York, Academic Press, pp. 19-30.
7. Wilson KH (1995): The gastrointestinal microflora. In: *Textbook of Gastroenterology*. Ed. T. Yamada. J. Philadelphia, B. Lippincott Co. pp.607-618.
8. Batt RM, Rutgers HC, Sancar AA. (1996): Enteric bacteria: friend or foe? *J Small Anim Pract* 37, 261-267.

9. Chapman MA. (2001): The role of the colonic flora in maintaining a healthy large bowel mucosa. *Ann R Coll Surg Engl* 83, 75-80.
10. Midtvedt T. (1997): Germ-free and conventional animal models for intestinal carbohydrate disposition. *J Gastroenterol* 32, 25S-27S.
11. Tlaskalová-Hogenová H (1997): Gnotobiology as a tool. In: *Manual of Immunological Methods*. Ed. I. Lefkowitz. London, New York, Academic Press, pp. 1524-1527.
12. Tlaskalová-Hogenová H, Šterzl J, Štěpánková R. et al. (1983): Development of immunological capacity under germ-free and conventional conditions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 409, 96-113.
13. Erickson KL, Hubbard NE. (2000): Probiotic immunomodulation in health and disease. *J Nutr* 130, 403S-409S.
14. Kato I, Endo K, Yokokura T. (1994): Effects of oral administration of *Lactobacillus casei* on antitumor responses induced by tumor resection in mice. *Int J Immunopharmacol* 16, 29-36.
15. Perdigon G, Alvarez S, Pesce de Ruiz Ingado A. (1991): Immunoadjuvant activity of oral *Lactobacillus casei*: influence of dose on the secretory immune response and protective capacity in intestinal infections. *J Dairy Res* 58, 485-496.

16. Perdigon G, Alvarez S, Rachid M, Agüero G, Gobatto N. (1995): Immune system stimulation by probiotics. *J. Dairy Sci.* 78, 1597-1606.
17. Marin ML, Tejada-Simon MV, Lee JH, Murtha J, Ustunol Z, Pestka JJ. (1998): Stimulation of cytokine production in clonal macrophage and T-cell models by *Streptococcus thermophilus* s: comparison with *Bifidobacterium* sp. and *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Food Prot.* 61, 859-864.
18. Nicaise P, Gleizes A, Forestier F, Quero AM, Labarre C. (1993): Influence of intestinal bacterial flora on cytokine (IL-1, IL-6 and TNF-alpha) production by mouse peritoneal macrophages. *Eur. Cytokine Netw.* 4, 133-138.
19. Famularo G, Moretti S, Marcellini S, De Simone C. (1997): Stimulation of immunity by probiotics. Fuller R, eds. *Probiotics 2: Applications and Practical Aspects*, Chapman and Hall London, UK, pp.131-161.
20. Muscettola M, Massai L, Tanganelli C, Grasso G. (1994): Effects of lactobacilli on interferon production in young and aged mice. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 717, 226-232.
21. Neumann E, Oliveira MA, Cabral CM, Moura LN, Nicolli JR, Vieira EC, Cara DC, Podoprigora GI, Vieira LQ. (1998): Monoassociation with *Lactobacillus acidophilus* UVF-H2b20 stimulate s the immune defense mechanisms of germfree mice. *Braz J. Med. Biol. Res.* 31, 1565-1573.
22. Peltto L, Isolauri E, Lilius EM, Nuutila J, Salminen S. (1998): Probiotic bacteria down-regulate the milk-induced inflammatory response in milk-hyper-sensitive subjects but have a non-immunostimulatory effect in healthy subjects [In Process Citation]. *Clin. Exp. Allergy* 28,1474-1479.
23. Lodinová-Žadníková R, Slavíková M, Tlaskalová-Hogenová H. et al. (2000): The antibody response in breast-fed and non breast-fed infants after artificial colonization of the intestine with *Escherichia coli* 083. In: Jablonská et al. (Ed): *Ko loretální karcinóm, včasná diagnóza a prevencia*, Grada, Publishing s.r.o. pp.60-61.
24. Hamann L, El-Samallouti V, Ulmer AJ, Flad HD, Rietschel ET. (1998): Components of gut bacteria as immunomodulators. In *t. J. Food Microbiol.* 41, 141-154.
25. Umesaki Y, Setoyama H, Matsumoto S, Imaoka A, Itoh K. (1999): Differential roles of segmented filamentous bacteria and clostridia in development of the intestinal immune system. *Infection and Immunity* 67, 3504-3511.
26. Resta-Lenert S, Barrett KE. (2003): Live probiotics protect intestinal epithelial cells from the effects of infection with enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC). *Gut* 52, 988-997.
27. Vandenplas Y. (1999): Bacteria and yeast in the treatment of acute and chronic infectious diarrhea. Part I. *Bacterica. Clin Microbiol Infect* 5, 299-307.
28. Surawicz CM, Elmer GW, Speelman P, McFarland LV, Chinn J, van Belle G. (1989): Prevention of antibiotic-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii*: a prospective study. *Gastroenterology* 96, 981-988.
29. Wunderlich PF, Braun L, Fumagalli I, D'Apuzzo V, Heim F, Karly M, Lodi R, Politta G, Vonbank F, Zeltner L. (1989): Double-blind report on the efficacy of lactic acid-producing *Enterococcus SF68* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and in the treatment of acute diarrhoea. *J. Int. Med.* Res. 17, 333-338.
30. McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, Fekety R, Elmer GW, Moyer KA, Melcher SA, Bowen KE, Cox JL, Noorani Z. (1994): A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *J. Am. Med. Assoc.* 271, 1913-1918.
31. Isolauri E, Juntunen M, Rautanen T, Sillanaukee P, Koivu A. T. (1991): A human *Lactobacillus* strain (*Lactobacillus casei* sp strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. *Pediatrics* 88, 90-97.
32. Born P, Lersch C, Zimmerhackl B, Classen M. (1993): The *Saccharomyces boulardii* therapy of HIV-associated diarrhea (letter). *Dtsch. Med. Wochenschr.* 118, 765.
33. D'Souza AL, Rajkumar CH, Cooke J, Bulpitt CHJ. (2002): Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea: meta-analysis. *BMJ* 324, 1361-1366.
34. Allen SJ, Okoko B, Martinez E, Gregorio G, Dans LF. (2004): Probiotics for treating infectious diarrhoea (Cochrane review). In *The Cochrane Library*, Issue 2, Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd
35. Camera A, Andretta C, Villa MR, Volpicelli M, Picardi M, Rossi M, Rinaldi CR, Della Cioppa P, Ciancia R, Selleri C, Rotoli B. (2003): Intestinal toxicity during induction chemotherapy with cytarabine-based regimens in adult acute myeloid leukemia. *Hematol J.* 4, 346-350.
36. Bishop JF, Matthews JP, Young GA, Szer J, Gillet A, Joshi A, Bradstock K, Enno A, Wolf MM, Fox R, Cobcroft R, Herrmann R, van der Weyden M, Lowenthal RM, Page F, Garson OM, June JA S. (1996): A randomized study of high-dose cytarabine in induction in acute myeloid leukemia. *Blood*, 87, 1710-1717.
37. Wiernik PH, Banský PLC, Case DC, Arlin ZA, Periman PO, Todd MB, Ritchie PS, Enck RE, Weitzberg AB. (1992): Cytarabine plus idarubicin or daunorubicin as induction and consolidation therapy for previously untreated adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood*, 79, 313-319.
38. Talbot GH, Cassileth PA, Paradiso L, Correa-Coronas R, Bond L. (1993): Oral Enoxacin for infection prevention in adults with acute nonlymphocytic leukemia. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37, 474-482.
39. (2005): Prevention of febrile neutropenia in cancer patients by probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74. Phase II study, *Support Care Cancer*, (in press)
40. Mego M, Ebringer L, Drgoňa L, Mardíak J, Trupl J, Greksak R, Nemova I, Oravcova E, Zajac V, Koza I. (2005): Prevention of febrile neutropenia in cancer patients by probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74. *Pilot study phase I. Neoplasma* 52, 159-164.
41. Michael M, Brittain MA, Nagai J, Feld R, Hedley D, Oza A, Siu L, Moore M. (2004): Phase II study of activated charcoal to prevent irinotecan-induced diarrhea. *JCO*, 22, 4410-4417.
42. Goldin BR. (1990): Intestinal microflora: metabolism of drugs and carcinogens. *Ann. Med.* 22, 43-48.
43. Schimpff SC, Young VM, Green WH, et al. (1972): Origin of infection in acute lymphocytic leukemia: significance of hospital acquisition of potential pathogens. *Ann Intern Med* 77, 70-714.
44. Cole GT, Halawa AA, Anaissie EJ. (1996): The role of gastrointestinal tract in hematogenous candidiasis from the laboratory to the bedside. *Clin Infect Dis* 22, 735
45. Klasterksy J. (1989): A review of chemoprophylaxis and therapy of bacterial infections in neutropenic patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 12, 201S-207S.
46. Marshall JC. (1999): Gastrointestinal flora and its alterations in critical illness. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2, 405-411.
47. Hasegawa T, Kanasugu H, Hidaka M, Yamamoto T, Abe S, Yamaguchi H (1996): Effect of orally administered heat-killed *Enterococcus faecalis* FK-23 preparation on neutropenia in dogs treated with cyclophosphamide. *Int Immunopharmacol.* 18, 103-112.
48. Satonaka K, Ohashi K, Nohmi T, Yamamoto T, Abe S, Uchida K, Yamaguchi H (1996): Prophylactic effect of *Enterococcus faecalis* FK-23 preparation on experimental candidiasis in mice. *Microbiol Immunol* 40, 217-222.
49. Hengens C, Klasterksy J. (1976): Intestinal colonization with lactobacillary strains in neutropenic patients. *Biomedicine* 25, 11-15.
50. Ekerk H, Jurk IH, Waters KD, Tiedemann K. (1980): Prophylactic co-trimoxazole and lactobacilli preparation in neutropenic patients. *Med Pediatr Oncol* 8, 47-51.
51. Geryk E. et al. (1995): *Atlas zhubných nádorov v České republice*. Brno, pp. 15-19.
52. (1971): Bacteria and aetiology of cancer of large bowel. *Lancet* 16, 95-100.
53. Robertson AM (1993): Role of endogenous substances bacteria in colorectal cancer. *Mutat Res.* 290, 71-78.
54. Ling WH, Korpela R, Mykkanen H, Salminen S, Hanninen O. (1994): *Lactobacillus* strain GG supplementation decreases colonic hydrolytic and reductive enzyme activities in healthy female adults. *J Nutr.* 124, 18-23.
55. Jablonská et al. (2000): *Ko loretální karcinóm, včasná diagnóza a prevencia*, Grada, Publishing s.r.o., pp. 60-61.
56. Kruiš W et al. (2000): Double blind comparison of an oral *Escherichia coli* preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. In: Rolfé, RD.: *The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health*. *J.Nutr.* 130, 396S-402S
57. Brady LJ, Gallaher DD, Busta FF (2000): The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. *J.Nutr.* 130, 410S-414S.
58. Lindbeck A, Overvik E, Raftar J, Nord CE, Gustafsson JA. (1992): Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplements on mutagen excretion in faeces and urine in humans. *Microb. Ecol. Health Dis.* 5, 59-67.
59. Benno, Y., Mitsuoka, T., Impact of *Bifidobacterium longum* on human fecal microflora. *Microbiol Immunol.* 1992, 36:683-94
60. Bouhnik Y, Flourie B, Andrieux C, Bisetti N, Briet F, Rambaud JC (1996): Effects of *Bifidobacterium* sp. fermented milk indigested with or without inulin on colonic bifidobacteria and enzymatic activities in healthy humans. *Eur J Clin Nutr* 50, 269-273
61. Link-Amster H, Rochat F, Saudan KY, Mignot O, Aeschlimann JM. (1994): Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. *FEMS Immunol Med Microbiol* 10, 55-63.
62. Aiba Y, Suzuki N, Kabir AM, Takagi A, Koga Y (1998): Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. *Am J Gastroenterol* 93, 2097-2101.
63. Sakamoto I, Igarashi M, Kimura K, Takagi A, Miwa T, Koga Y. (2001): Suppressive effect of *Lactobacillus gasserii* OLL 2716 (LGL21) on *Helicobacter pylori* infection in humans. *J Antimicrob Chemother.* 47, 709-710.
64. Gasser S (1994): Safety of lactic acid bacteria and their occurrence in human clinical infection. *Bull Inst Pasteur* 92, 45-67.
65. Fruchart C, Salah A, Gray C, Martin E, Stamatoullas A, Bonmarchand G, Lemeland JF, Tilly H (1997): *Lactobacillus* species as emerging pathogens in neutropenic patients. *Eur Clin Microbiol Infect Dis* 16, 681-684.
66. Richard V, Van der Auwera P, Snoeck R, Daneau D, Meunier F (1988): Nosocomial bacteremia caused by *Bacillus* species. *Eur J Microbiol Infect Dis* 7, 783-785.
67. Cesaro S, Chinello P, Rossi L, Zaneco L (2000): *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in a neutropenic patient treated with *Saccharomyces boulardii*. *Support Care Cancer* 8, 504-505.
68. Riquelme AJ, Calvo MA, Guzman AM, Depix MS, Garcia P, Perez C, Arrese M, Labarca JA (2003): *Saccharomyces cerevisiae* fungemia after *Saccharomyces boulardii* treatment in immunocompromised patients. *J Clin Gastroenterol* 36, 41-43.
69. Elmer GW, Surawicz CM, McFarland LV (1996): Biotherapeutic agents. A neglected modality for the treatment and prevention of selected intestinal and vaginal infections. *JAMA* 275, 870-876.
70. Leonard F, Andremont A, Leclercq B, Labia R, Tancrede C (1989): Use of B-lactamase-producing anaerobes to prevent ceftriaxone from degrading intestinal resistance to colonization. *J Infect Dis* 160, 274-280.

Došlo: 10. 10. 2005  
Přijato: 24. 1. 2006