

Mirosława Gałęcka¹, Anna Bartnicka¹, Michał Michalik², Alfred Samet^{2,3}, Tomasz Wysocki⁴, Andrzej Marszałek³

1) Instytut Mikrobiologii, Poznań,

2) Centrum Medyczne MML, Warszawa,

3) Laboratoria Medyczne SYNEVO, Warszawa,

4) Oddział Chirurgii Ogólnej, Podmiot Lecznicy COPERNICUS, Gdańsk

Adres korespondencyjny:

Anna Bartnicka

Instytut Mikrobiologii

Ul. Sielska 10

60-129 Poznań

Tel.: +48 602 441 399

Fax.: +48 61 862 63 35

anna.bartnicka@instytut-mikrobiologii.pl

Jelito jako najważniejszy organ immunologiczny człowieka.

Znaczenie bariery jelitowej.

Streszczenie:

Mikroflora jelitowa to zespół mikroorganizmów człowieka, który powinno się rozpatrywać jako niezmiernie ważny organ naszego ciała. Bakterie przewodu pokarmowego pełnią szereg korzystnych funkcji i wpływają na zachowanie homeostazy całego organizmu. Zaburzenia w składzie i ilości poszczególnych mikroorganizmów jelitowych mogą być przyczyną rozlicznych jednostek chorobowych, w tym alergii, atopowego zapalenia skóry, nieswoistych chorób zapalnych jelit, depresji czy zaburzeń ze spektrum autyzmu. Analiza ilościowa

wybranych wskaźnikowych bakterii i grzybów przewodu pokarmowego powinna stać się zasadniczym elementem diagnostyki wielu dolegliwości, szczególnie przewlekłych i o trudnej do ustalenia etiologii. Odpowiednie kondycjonowanie jelit za pomocą preparatów pre- i probiotycznych znajduje zastosowanie w łagodzeniu objawów chorób, u podstaw których leży dysbioza jelitowa.

Słowa kluczowe: mikroflora jelitowa, probiotyki, prebiotyki

Key words: intestinal microbiota, probiotics, prebiotics

Jelito, wraz z zasiedlającymi je mikroorganizmami pełni zasadniczą funkcję w mechanizmach obronnych całego organizmu. Z uwagi na fakt, iż jest to największa powierzchnia naszego ciała, która ma styczność ze środowiskiem zewnętrznym, musiały zostać wykształcone mechanizmy działające na zasadzie selektywnego filtra. W stanie zdrowia warunkują one przenikanie do krążenia tylko i wyłącznie ważnych dla życia składników odżywczych, a zatrzymywanie niepożądanych. Istotnym elementem owej bariery są autochtoniczne bakterie przewodu pokarmowego. Równowaga w składzie mikroorganizmów jelitowych warunkuje prawidłowe funkcjonowanie całego organizmu. Ze względu na czasy, w których żyjemy istnieje coraz więcej czynników, m.in.: nieracjonalna antybiotykoterapia, permanentny stres, nieodpowiednia dieta, zanieczyszczenie środowiska które prowadzą do zakłócenia równowagi mikrobiologicznej przewodu pokarmowego. Stan taki może być przyczyną licznych chorób, w tym także o charakterze przewlekłym. Liczne badania wskazują, iż dysbioza jelitowa, czyli jakościowo-ilościowe zaburzenia w składzie mikroflory, stanowi czynnik ryzyka rozwoju szeregu chorób, takich jak: nieswoiste zapalenia jelit, zespół jelita nadwrażliwego, atopowe zapalenie skóry, choroby alergiczne, depresja, zaburzenia ze spektrum autyzmu, otyłość, martwicze zapalenie jelit, celiakia, nowotwory i inne [Khor, 2011; Lee, 2014; Bjorksten; 1999, Rudzki, 2012; Reddy, 2015; McMurtry, 2015; Cenit, 2015]. Zatem analiza składu mikroflory jelitowej powinna stać się zasadniczym elementem w diagnostyce chorób o trudnej do ustalenia etiologii.

Rola ekosystemu jelitowego

Liczba mikroorganizmów jelitowych jest blisko 10-krotnie większa niż liczba komórek naszego organizmu i wynosi około 10^{14} na gram kału. W przewodzie pokarmowym występuje aż 1500 różnych gatunków drobnoustrojów [Hooper, 2001]. Liczba bakterii w

jelicie zmienia się, wraz z panującymi w poszczególnych odcinkach warunkami. W jelicie czczym wynosi 10^5 - 10^7 , z najważniejszymi rodzajami *Bacteroides*, *Lactobacillus* oraz *Streptococcus*. W jelicie krętym zwiększa się do 10^7 - 10^8 , z przewagą *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Veillonella* i *Enterobacteriaceae*. W jelicie grubym, wraz ze spowolnieniem pasażu jelitowego drobnoustroje mają najkorzystniejsze warunki rozwoju, zatem ich liczba wzrasta nawet do 10^{12} , z przewagą *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Streptococcus* i *Bacillus*. Jelito grube to organ o największej aktywności metabolicznej [Mroczyńska, 2011].

Oddziaływanie mikroflory na zdrowie i fizjologię człowieka jest wielokierunkowe. W naszym organizmie w sposób ciągły występuje komunikowanie się między sobą komórek bakterii i komórek gospodarza (cross-talk process). To właśnie ten mechanizm warunkuje homeostazę organizmu i określa jego zdrowie bądź chorobę. Drobnoustroje bytujące w jelitach pełnią szereg funkcji, które możemy podzielić na cztery grupy:

- immunologiczną
- ochronną
- troficzną
- metaboliczną

Do najważniejszych należy przede wszystkim, rozwój i koordynowanie działania układu immunologicznego gospodarza. Można śmiało powiedzieć, iż bez bakterii jelitowych nie ma życia. Zasadniczą różnicą między florą patogenną, a autochtoniczną jest fakt, iż ta druga nie aktywuje odpowiedzi immunologicznej gospodarza. Wręcz przeciwnie, jest tolerowana przez systemy obronne organizmu i stanowi istotny element rozwoju układu immunologicznego już od momentu narodzin. Swoisty „trening” immunologiczny rozpoczyna się w momencie pojawienia się pierwszych bakterii w jądowym przewodzie pokarmowym noworodka, a więc już w trakcie porodu. Proces ten jest niezwykle istotny. Odpowiednia kolonizacja na tym etapie, wywiera ogromny wpływ na funkcjonowanie organizmu w aspekcie długofalowym. Sjorgen i wsp. [Sjögren, 2009] wykazali, iż rozwój alergii w pierwszych 5 latach życia dziecka wiązał się ze zmniejszeniem bioróżnorodności i zmianami w składzie mikroflory jelitowej już na poziomie drugiego miesiąca życia. Istotne reorganizacje dotyczyły zmniejszenia ilości bakterii z rodzaju *Lactobacillus* oraz *Bifidobacterium* u dzieci, u których rozwinęła się alergia. Co więcej wczesna kolonizacja pałeczkami *Lactobacillus* chroniła przed manifestacją alergii u dzieci, pomimo predyspozycji genetycznej ze strony obojga rodziców.

Istotnymi czynnikami determinującym kolonizację jelit dziecka jest wiek ciążowy, sposób porodu oraz forma karmienia. Skład mikroflory noworodka urodzonego o czasie, w sposób fizjologiczny i karmionego piersią uznawany jest za najbardziej pożądanym. Dowiedziono, iż u dzieci urodzonych poprzez cięcie cesarskie pierwszymi bakteriami, które je kolonizują są mikroorganizmy ze skóry matki lub rąk personelu. Z tego powodu są bardziej narażone na wystąpienie astmy, cukrzycy typu 1 czy otyłości w wieku późniejszym [Azad, 2013]. Dziecko urodzone fizjologicznie, przechodząc przez kanał rodny nabywa w pierwszej kolejności bakterie z pochwy i przewodu pokarmowego matki [Dominguez-Bello, 2010]. Taki sposób kolonizacji wpływa ochronnie i zmniejsza ryzyko wystąpienia chorób atopowych, alergii czy nawracających infekcji w późniejszym okresie życia. Z kolei noworodki przedwcześnie urodzone, z bardzo małą masą ciała mają zwiększone ryzyko dysbiozy jelitowej. U noworodków urodzonych o czasie dominują bakterie z rodzaju *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, natomiast u wcześniaków *Enterobacteriaceae* oraz *Clostridium*. Dzieci karmione mlekiem matki charakteryzują się z kolei większą ilością *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*, podczas gdy dzieci karmione mieszankami mlekozastępczymi skolonizowane są głównie przez clostridia i pałeczki *Enterobacteriaceae* [Matamoros, 2013]. Działalność ochronna mikroorganizmów jelitowych jest ich kolejną niezmiernie istotną funkcją. Symbiotyczne bakterie jelitowe zapobiegają zasiedlaniu się i ekspansji mikroorganizmów patogennych poprzez zajmowanie receptorów na powierzchni nabłonka jelit. Ponadto konkurują z innymi mikroorganizmami o składniki odżywcze, witaminy i czynniki wzrostu oraz wytwarzają szereg substancji bakteriostatycznych i bakteriobójczych. Poprzez produkcję kwasu mlekowego czy octowego obniżają pH stwarzając niekorzystne warunki dla zasiedlania się bakterii patogennych. Dodatkowo przywracają równowagę limfocytów Th1:Th2 oraz nasilają aktywność makrofagów. Bakterie jelitowe wspomagają także początkowy etap procesu trawienia, jak również wytwarzają enzymy trawienne oraz witaminy z grupy B oraz witaminę K [Nowak, 2008]. Wszystkie te procesy wzajemnie się uzupełniają, wpływając tym samym na ogólne zdrowie gospodarza. Szczególnie istotne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu są bakterie produkujące krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (ang. SCFA – short-chain fatty acids), które stanowią istotne źródło energii dla kolonocytów. U podstawy procesów zapalnych w obrębie jelit leży przede wszystkim niedobór energii. Produkcja SCFA odbywa się na drodze fermentacji węglowodanów nie poddających się trawieniu w jelicie cienkim [Stolarczyk, 2008]. Najwięcej energii komórkom jelit, ok. 70% dostarcza kwas masłowy (maślan). Bakterie produkujące kwas masłowy to w większości ściśle beztlenowce z rodziny *Firmicutes*. Jeden z najliczniejszych producentów kwasu

masłowego z tej grupy to wcześniej wspomniany *Faecalibacterium prausnitzii*. Jest to komensalna bakteria, stanowiąca 5-10% całkowitej mikrobioty jelitowej, która dzięki wytwarzaniu maślanu posiada właściwości przeciwzapalne. Wspólnie z *F. prausnitzii* w utrzymywaniu ciągłości bariery jelitowej uczestniczy także *Akkermansia muciniphila*. Obie bakterie są zależne od siebie, a ich obopólne działanie jest istotne dla odżywiania i utrzymywania ciągłości nabłonka jelitowego [Flint, 2007]. Dzięki pozytywnemu oddziaływaniu na śluzówkę jelit, zarówno *F. prausnitzii* jak i *A. muciniphila* wpływają na zmniejszenie przesiąkliwości jelitowej, która może być przyczyną przewlekłego stanu zapalnego. Bakterie te od niedawna są możliwe do oznaczenia także na rynku polskim.

Dysbioza jelitowa czyli zaburzenie równowagi mikrobiologicznej

Mianem dysbiozy jelitowej określa się stan zakłócenia ilości i składu w profilu mikroorganizmów jelitowych. Dzieje się tak na skutek „westernizacji” współczesnego stylu życia. Pacjent cierpi na nieustanny stres zarówno psychiczny jak i fizyczny, spożywa zbyt mało błonnika, przy jednoczesnej podaży żywności wysokoprzetworzonej zawierającej szereg konserwantów. Dodatkowo występuje często nadużywanie antybiotyków i innych leków, które powodują zmniejszenie bioróżnorodności drobnoustrojów fizjologicznie zasiedlających nasz układ pokarmowy. Spożywanie dużych ilości alkoholu ma także negatywny wpływ na skład bakterii jelitowych. Ponadto występuje coraz więcej cięć cesarskich „na żądanie”, skraca się okres karmienia noworodka piersią, co doprowadza do tego, iż już na starcie mamy nieprawidłową kolonizację jelit. Skutkuje to zmniejszeniem odporności i nieprawidłową aktywacją układu immunologicznego. Najczęściej dysbiozę bakteryjną stwierdza się u pacjentów alergicznych, z astmą, dolegliwościami ze strony przewodu pokarmowego, z nawracającymi infekcjami górnych dróg oddechowych czy układu moczowo-płciowego i pokarmowego. Rozlicznie zaburzenie równowagi ekosystemu jelitowego raportowane było w nieswoistych zapaleniach jelit czy w zespole jelita nadwrażliwego [Cummings, 1997]. Co więcej choroby zapalne jelit nigdy nie występują u zwierząt laboratoryjnych wolnych od drobnoustrojów. Coraz częściej podnosi się także aspekt czynnika mikrobiologicznego w patogenezie innych chorób jak np. zaburzenia ze spektrum autyzmu (ang. ASD). W badaniach oceniających skład ekosystemu jelitowego u dzieci z ASD odnotowano istotne zwiększenie liczebności różnych gatunków bakterii z rodzaju *Clostridium*, w porównaniu z grupą kontrolną [Finegold, 2002]. Co ciekawe w kale dzieci z ASD odnotowano także zmniejszenie ilości opisywanej już powyżej bakterii odżywiającej śluzówkę jelit - *Akkermansia muciniphila* [Wang, 2011]. Zmniejszoną liczebność *Faecalibacterium prausnitzii* i

Akkermansia muciniphila odnotowano również w przypadku pacjentów z atopowym zapaleniem skóry, co zaś może wiązać się ze zwiększoną przepuszczalnością jelita (ang. Leaky Gut Syndrome) [Candela, 2012].

Przywracanie równowagi mikrobiologicznej - probiotykoterapia

Działaniem terapeutycznym przywracającym stan równowagi w jelitach jest odpowiednio dobrana probiotykoterapia. Probiotyki to korzystne szczepy bakterii, przede wszystkim z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, o udokumentowanym pozytywnym oddziaływaniu na zdrowie gospodarza. Najlepiej udokumentowaną właściwością szczepów probiotycznych jest zmniejszenie wystąpienia ostrych biegunek oraz skrócenie czasu ich trwania, zarówno o etiologii wirusowej, bakteryjnej jak i biegunek poantybiotykowych. Szczególne zastosowanie ma tutaj szczep *Lactobacillus rhamnosus* GG [Huang, 2002]. Wskazania do stosowania probiotyków są naprawdę szerokie. Wykazano m.in. skuteczność podawania szczepu *Lactobacillus casei* Shirota w łagodzeniu dolegliwości związanych z alergią na pyłki traw [Ivory, 2008]. Isolauri i wsp. dowiedli zaś pozytywny efekt podawania niemowlętom szczepu *Lactobacillus rhamnosus* GG oraz *Bifidobacterium lactis* Bb-12 na redukcję nasilenia i rozległość objawów atopowego zapalenia skóry [Isolauri, 2000]. W przypadku atopowego zapalenia skóry, odnotowano również profilaktyczne działanie probiotyków. Kalliomaki i wsp. [Kalliomaki, 2007] podawali kobietom ciężarnym z dodatnim wywiadem alergicznym szczep *Lactobacillus rhamnosus* GG począwszy od 2-4 tygodni przed porodem, a następnie kontynuowali suplementację także 6 miesięcy po porodzie. Ryzyko wystąpienia wyprysku atopowego u dzieci w grupie badanej w wieku 2 lat było dwukrotnie niższe, aniżeli w grupie kontrolnej. Podobne działanie wykazał Kukkonen i wsp. [Kukkonen, 2007] w przypadku preparatu synbiotycznego (połączenie 4 wybranych szczepów probiotycznych z rodzaju *Lactobacillus*, *Propionibacterium* i *Bifidobacterium* oraz prebiotyku - galaktooligosacharydów). W grupie badanej zauważono, iż bakterie ochronne kolonizowały jelito znacznie częściej niż w grupie placebo, a skutkiem tego okazało się znamienne rzadsze występowanie zmian atopowych w stosunku do grupy placebo. Obecnie obserwuje się również korzystne efekty probiotykoterapii w chorobach cywilizacyjnych (nadciśnienie, miażdżycy, otyłość), w szczególności w postaci pośredniego wpływu na gospodarkę lipidową i cholesterolu czy uwalnianie hormonów, np. insuliny [Ignys, 2008].

Ocena ekosystemu jelitowego

Z uwagi na tak liczne oddziaływania mikroflory jelitowej na zdrowie gospodarza ocena jej składu wydaje się wręcz koniecznym narzędziem diagnostycznym w celu identyfikacji przyczyn wielu jednostek chorobowych. Na podstawie tej wiedzy wdrażane jest odpowiednie leczenie, w postaci probiotykoterapii jak i prebiotykoterapii. Warto zwrócić uwagę na badanie kału **KyberKompakt^{PRO}**, wykonywane w Instytucie Mikroeologii w Poznaniu. Jest to analiza mająca na celu ocenę składu i ilości drobnoustrojów bytujących w przewodzie pokarmowym człowieka. W obrębie tego badania oznaczane są:

- bakterie immunostymulujące, w tym: *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. Mikroorganizmy te mają zdolność do pobudzania komórek układu immunologicznego, a w konsekwencji także do wzrostu ilości sIgA [Enck, 2009]. Niepatogenne szczepy *E.coli* i *Enterococcus* zapobiegają również kolonizacji i translokacji bakterii chorobotwórczych, hamują adhezję wirusów oraz inaktywują substancję toksyczne [Gałęcka, 2013]. Redukcja ilości drobnoustrojów immunostymulujących znamienne koreluje ze zmniejszeniem odporności organizmu i w konsekwencji z występowaniem nawracających infekcji organizmu.
- bakterie ochronne, w tym: *Lactobacillus* spp., *Lactobacillus* spp. wytwarzający H_2O_2 , *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides* spp. Pałeczki z rodzaju *Lactobacillus*, produkujące nadtlenek wodoru (H_2O_2), są szczególnie istotnie klinicznie, gdyż charakteryzują się silnym antagonizmem względem bakterii patogennych. Bakterie ochronne zapobiegają kolonizacji mikroorganizmów potencjalnie patogennych. Drobnoustroje te stanowią ok. 90% biomasy jelita, co wskazuje na zasadniczą ich rolę w utrzymaniu zdrowia. Zmniejszenie ilości bakterii ochronnych prowadzi często do występowania dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego (wzdęcia, biegunki, zaparcia) i ogólnego pogorszenia stanu zdrowia – jako, że bakterie te oddziałują wielokierunkowo na cały organizm [Fooks, 1999].
- bakterie odżywiające nabłonek jelit, w tym *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila*. Mikroorganizmy te zapewniają śluzówce jelit odpowiednią ilość składników odżywczych, przez co są niezbędne do zachowania ciągłości bariery jelitowej. Niedobór ich ilości skutkuje stanem zapalnym w obrębie śluzówki jelit, co może być czynnikiem spustowym do rozwoju licznych jednostek chorobowych, w tym chorób autoimmunologicznych.

- bakterie proteolityczne, w tym: potencjalnie patogenne szczepy *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Clostridium* spp. Mikroorganizmy te, z uwagi na szereg wytwarzanych metabolitów wywierają niekorzystny wpływ na zdrowie gospodarza, przede wszystkim na drodze syntezy substancji genotoksycznych, karcinogennych czy mutagennych [Mroczyńska, 2013].
- ogólna ilość bakterii w próbce.
- grzyby drożdżopodobne oraz pleśniowe.

Cała analiza ma charakter ilościowy, gdzie oznacza się ilość jednostek tworzących kolonię (ang. cfu – colony forming unit) na gram kału. Wynik badania zawiera ocenę, interpretację oraz propozycję terapeutyczną (terapia mikrobiologiczna), opracowaną na podstawie stopnia dysbiozy, wieku, jak i jednostki chorobowej stwierdzonej u pacjenta. Odpowiednie kondycjonowanie jelita jest niezmiernie ważne w profilaktyce chorób przebiegających z dysbiozą jelitową. Analiza mikroflory jelitowej powinna być zatem badaniem coraz częściej zlecanym przez specjalistów z różnych dziedzin, gdyż zdrowie zaczyna się w jelitach.

Piśmiennictwo

1. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011; 474: 307–317.
2. Lee KN, Lee OY. Intestinal microbiota in pathophysiology and management of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(27): 8886-97.
3. Bjorksten B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2 -year -old children. *Clin. Exp. Allergy*. 1999; 29: 342 -446
4. Rudzki L, Frank M, Szulc A i wsp. Od jelit do depresji – rola zaburzeń ciągłości bariery jelitowej i następcza aktywacja układu immunologicznego w zapalnej hipotezie depresji. *Neuropsychiatria i Neuropsychologia*. 2012; 7: 2.
5. Reddy BL, Saier MH. Autism and our intestinal microbiota. *J Mol Microbiol Biotechnol*. 2015; 25(1): 51-5.
6. McMurtry VE, Gupta RW, Tran L I wsp. Bacterial diversity and Clostridia abundance decrease with increasing severity of necrotizing enterocolitis. *Microbiome*. 2015; 3:11.

7. Cenit MC, Olivares M, Codoñer-Franch P, Sanz Y. Intestinal Microbiota and Celiac Disease: Cause, Consequence or Co-Evolution? *Nutrients*. 2015; 17;7(8): 6900-23.
8. Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial talationships in the gut. *Science*. 2001; 292 (5519): 1115-18.
9. Mroczyńska M, Libudzisz Z, Gałęcka M, Szachta P. Mikroorganizmy jelitowe człowieka i ich aktywność metaboliczna. *Prz Gastroenterol*. 2011; 6(4).
10. Sjögren YM, Jenmalm MC, Fagerås-Böttcher M, Björkstén B, Sverremark-Ekström E. Altered early infant gut flora in children developing allergy up to five years of age. *Clin Exp Allergy*. 2009; 39:518-26.
11. Azad MB, Konya T, Maughan H i wsp. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *CMAJ*. 2013; 185:5.
12. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M I wsp. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Trends Microbiol*. 2013 ;21(4):167-73.
13. Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere MF. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol*. 2013; 21(4):167-73.
14. Nowak A, Libudzisz Z. Mikroorganizmy jelitowe człowieka. *Stand Med*. 2008; 1: 372-9.
15. Stolarczyk A, Libudzisz Z, Socha P, Socha J. Rola probiotyków i prebiotyków w profilaktyce i leczeniu zespołu metabolicznego u dzieci i młodzieży. *Stand Med*. 2008; 2: 175-171.
16. Flint HJ, Duncan SH, Scott KP, Louis P. Interactions and competition within the microbial community of the human colon: links between diet and health. *Environ. Microbiol*. 2007; 9: 1101–1111.
17. Cummings JH. The large intestine in nutrition and disease. Ed. by the Institute Danone, 1997; 1: 155.
18. Finegold SM, Molitoris D, Song Y i wsp. Gastrointestinal Microflora Studies in Late-Onset Autism. *Clin Infect Dis*. 2002; 1;35(Suppl 1):S6-S16.
19. Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ i wsp. Low relative abundances of the mucolytic bacterium *Akkermansia muciniphila* and *Bifidobacterium* spp. in feces of children with autism. *Appl Environ Microbiol*. 2011; 77(18):6718-21.

20. Candela M, Rampelli S, Turrone S i wsp. Unbalance of intestine microbiota in atopic children. *BMC Microbiology*. 2012; 12:95.
21. Huang J, Noursvaros A. Efficacy of Probiotic Use in Acute Diarrhea in Children. A Meta-Analysis. *Digest Disease and Science*, 2002; 47: 2625-2634.
22. Ivory K, Chambers SJ, Pin C i wsp. Oral delivery of *Lactobacillus casei* Shirota modifies allergen-induced immune responses in allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy*. 2008; 38(8):1282-9.
23. Isolauri E, Arvola T, Sutas Y i wsp. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp. Allergy*. 2000; 30: 1604-1610.
24. Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, Isolauri E. Probiotics during the first 7 years of life: a cumulative risk reduction of eczema in a randomized, placebo-controlled trial. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2007; 119: 1019-1021.
25. Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T i wsp. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides and the prevention of allergic disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 119: 192-198.
26. Ignyś I, Piątkowska P, Cichy W. Probiotyki i prebiotyki w żywieniu i leczeniu dzieci *Pediatrica polska*. 2008; 83(1):68-75.
27. Enck P, Zimmermann K, Rusch K i wsp. The Effects of Maturation on the Colonic Microflora in Infancy and Childhood. *Gastroenterol Res Pract*. 2009; 2009: 752401.
28. Gałęcka M, Szachta P. Kyberkompakt – znaczenie nowoczesnej diagnostyki mikrobiologicznej przewodu pokarmowego. *Zakażenia*. 2013;13(6):84.
29. Fooks L J, Fuller R, Gibson GR. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *Int Dairy J*. 1999; 9: 53–61.
30. Mroczyńska M, Gałęcka M, Szachta P i wsp. β -glucuronidase and β -glucosidase activity in Stool Specimens of Children with Inflammatory Bowel Disease. *PJM* 2013; 62: 319–25.