

Marta Kłos^{1*}

¹Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Wpłynęło w październiku 2016 r.
Zaakceptowano w styczniu 2017 r.

1. Wstęp. 2. Czynniki zwiększające ryzyko infekcji *Lactobacillus* sp. 3. Identyfikacja *Lactobacillus* sp. 4. Chorobotwórczość *Lactobacillus* sp. 5. Podsumowanie

Pathogenicity of *Lactobacillus* sp. – risk factors, identification, antibiotic resistance

Abstract: Lactobacilli are found in the mucous membrane of the mouth, in the gastrointestinal tract (GIT) and in the genitourinary tract. It is known that lactobacilli have a beneficial effect on our health and are used in the production of fermented milk, yoghurts, cheese, and probiotics. However, in this article I show that lactic acid bacteria also cause many diseases. Lactobacilli produce lactic acid which acidifies the environment. There are some factors increasing the risk of infection caused by lactobacilli, such as neutropenia in immunocompromised patients and certain underlying diseases, especially diabetes. Also, lactobacilli have a natural resistance to some antibiotics, especially vancomycin. The identification of lactobacilli can be very difficult due to the number of species, subspecies and genotypic or phenotypic traits. The most advanced procedures are molecular DNA-based techniques. Conventional biochemical tests can be also used to determine some differences. Lactobacilli infection can affect both a single organ and the whole organism, causing for example lactobacillemia. The main disease caused by lactobacilli is endocarditis.

1. Introduction. 2. Risk factors. 3. Identification. 4. Pathogenicity. 5. Conclusions

Słowa kluczowe: chorobotwórczość, diagnostyka, *Lactobacillus*

Key words: diagnostics, *Lactobacillus*, pathogenicity

1. Wstęp

Rodzaj *Lactobacillus*, wchodzący w skład grupy bakterii kwasu mlekowego (LAB), jest niejednorodną pod względem molekularnym [19] grupą mikrobiologiczną. Dany rodzaj prezentuje także wiele różnic z punktu widzenia właściwości fenotypowych, konfiguracji kwasu mlekowego czy fermentacji różnych węglowodanów i alkoholi (m.in. ksylozy czy mannitolu) [19]. LAB zawiera około 135 gatunków i 27 podgatunków [4] izolowanych z ludzkich i zwierzęcych błon śluzowych, zwłaszcza w jamie ustnej i jelicie. Pałeczki *Lactobacillus* sp. należą do grupy bakterii Gram-dodatnich, względnie lub ściśle beztlenowych, nieprzetrwalnikujących oraz często sprawiających trudność w identyfikacji [7]. Kolonizują błonę śluzową jamy ustnej, przewód pokarmowy i układ moczowo-płciowy, ale nie są składnikami flory skóry ludzkiej [3, 4]. Fermentują glukozę oraz należą do bakterii katalazo-ujemnych [1]. Charakteryzuje je brak ruchliwości i morfologiczne podobieństwo do innych laseczek Gram-dodatnich typu *Corynebacterium* czy *Clostridium*. Najczęściej opisywanym gatunkiem, wywołującym zakażenia oportunistyczne u ludzi, był gatunek *L. casei* [4].

Pałeczki *Lactobacillus* sp. wytwarzają m.in. kwas mlekowy, co skutkuje obniżeniem pH środowiska, w którym się znajdują. W przemyśle do produkcji m.in. mleka fer-

mentowanego, jogurtów i produktów farmaceutycznych używa się wyselekcjonowanych szczepów *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus* [2]. Przemysł serowarski korzysta z gatunków mezofilnych typu *L. casei*, *L. paracasei* czy *L. plantarum* [4]. Rola bakterii kwasu mlekowego związana jest z ich umiejętnością rozkładu białek i tłuszczów chociaż samo działanie tychże pałeczek w ludzkim przewodzie pokarmowym nie jest jeszcze szczególnie poznane. Prawdopodobnie w ludzkim układzie pokarmowym LAB realizują 4 różne ważne dla gospodarza funkcje: produkcja substancji przeciwbakteryjnych (kwas mlekowy, nadtlenuk wodoru), zdolność do przylegania i współzawodnictwo o receptory adhezyjne z patogenami, rywalizacja z ewentualnymi patogenami o składniki odżywcze oraz stymulacja układu odpornościowego [14]. Spożycie wyrobów zawierających tzw. probiotyki poprawia, zarówno ilościowo jak i jakościowo, mikrobiotę ludzkiego przewodu pokarmowego. Już na przełomie XVIII i XIX wieku rosyjski uczoney Miecznikow uważał, że picie fermentowanego mleka pomaga w zatruciach pokarmowych i wpływa na długowieczność [14, 19, 32]. Jak pisze Fuller stosowanie probiotyków jest często skuteczną metodą zapobiegania wzrostowi chorobotwórczych drobnoustrojów [14].

W toku badań nad bakteriami kwasu mlekowego posługiwano się różnymi definicjami dotyczącymi probiotyków. Dawniej probiotykami nazywano bak-

* Autor korespondencyjny: Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, Czysta 18, 31-121 Kraków; tel. 69 438 00 57; e-mail: klosmartha@gmail.com

terie, zwłaszcza należące do grupy LAB oraz pobudzające wzrost innych drobnoustrojów [18]. Obecnie probiotyki charakteryzuje się jako jedną lub mieszaną kulturę żywych mikroorganizmów, które wspierają mikrobiologiczną równowagę przewodu pokarmowego oraz mogą mieć korzystny wpływ na zdrowie człowieka [18]. Ishibashi określa je jako żywność lub suplementy diety zawierające żywe kultury bakterii [19], które znajdują zastosowanie w terapii chorób jelitowych, ale posiadają także potencjał patogenny i mogą przyczynić się do powstawania zakażeń oportunistycznych [25]. WHO definiuje probiotyki jako żywe mikroorganizmy, których odpowiednia liczba przynosi zdrowotne korzyści gospodarzowi [37].

De Vos przypisuje bakterie kwasu mlekowego do typu *Firmicutes*, czyli Gram-dodatnich drobnoustrojów, mających niską zawartość guaniny i cytozyny oraz używanych jako startery w przemysłowej produkcji żywności fermentowanej, zwłaszcza produktów mlecznych [11]. Badania molekularne wykazały, że plazmidowe transpozony rodzaju *Lactobacillus* kodują wiele związków przydatnych przemysłowo m.in. laktozę i cytrynian – właściwość ta może być wykorzystana w genetycznym modyfikowaniu szczepów [11].

Mikroorganizm, będący probiotykiem, musi także tolerować trudne wewnętrzne warunki panujące w układzie pokarmowym człowieka [30]. W celu określenia bezpieczeństwa probiotyku należy zbadać jego potencjalną chorobotwórczość obejmującą wytwarzane toksyny oraz szkodliwe substancje wydzielane na drodze przemian metabolicznych [19]. Zatem warunkiem jaki muszą spełnić szczepy probiotyczne jest brak sekrecji szkodliwych substancji (amoniak czy drugorzędowe kwasy żółciowe) w swoim szlaku aktywności metabolicznej gdyż działają one kancerogennie na komórki przewodu pokarmowego. Niektóre gatunki posiadają także zdolność wiązania, fibronektyny, fibrynogenu oraz kolagenu, czym przyczyniają się m.in. do agregacji płytek krwi [18, 22].

Jednak bakterie kwasu mlekowego zostały uznane ogólnie za bezpieczne przez Amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA), gdyż wcześniejsze raporty dokumentowały, że ryzyko zakażeń spowodowanych *Lactobacillus* sp. jest bardzo niskie oraz rzadko fatalne w skutkach [9]. Współczesne badania wykazały, że nadmierne spożycie probiotyków i produktów fermentowanych może stać się przyczyną chorób i zakażeń *Lactobacillus* sp.

2. Czynniki zwiększające ryzyko zakażeń *Lactobacillus* sp.

Szczególnie podatne na zakażenia bakteriami kwasu mlekowego są osoby z obniżoną odpornością, pacjenci z trwałą, utrzymującą się neutropenią [1, 18, 20,

24] oraz przewlekle chorzy, zwłaszcza cukrzycy [1, 13, 16, 20, 24, 28, 30]. Ishibashi do czynników zwiększających ryzyko zakażeń oportunistycznych, spowodowanych zakażeniem *Lactobacillus* sp., zalicza: uszkodzenia skóry, przewlekle choroby, nowotwory oraz nieprawidłowe stosowanie leków [20]. Carretto opisuje czynniki wpływające na rozwój lactobacillemii – przeszczep organu, immunosupresja i wcześniejsze stosowanie wankomycyny [7].

Cannon opisuje przypadek pacjenta z ropniem wątroby, który na kilka miesięcy przed zakażeniem *Lactobacillus* sp., stosował dietę bogatą w napoje mleczne zawierające *L. rhamnosus* GG [5]. Gouriet określa ryzyko zakażenia *Lactobacillus* sp. jako zdecydowanie niskie i szacuje, że tylko 0,05–0,4% z wszystkich przedstawionych przypadków infekcyjnego zapalenia wsierdza i bakteremii, to przypadki zależne od *Lactobacillus* sp. [15]. Jednakże DuPrey szacuje jednoroczną przeżywalność po stwierdzeniu lactobacillemii na 48% do 69% [13]. W większości przypadków przyczyną zgonu była choroba podstawowa, niemniej jednak zakażenie przyczyniło się do niej w znacznym stopniu. Carretto zwraca uwagę na inną cechę bakterii kwasu mlekowego, tj. ich zdolność do adhezji do powierzchni abiotycznych, w tym przypadku cewnika zastosowanego u pacjenta [7].

Do czynników wpływających na podatność na zakażenie należą również: stosowanie antybiotyków o szerokim spektrum działania, w szczególności wankomycyny [1, 5, 17, 18, 24, 28], stan po transplantacji [1, 5, 7, 15, 24, 28], nowotwory, wady serca, zwłaszcza zastawek [7], nadmierne spożywanie mleka, produktów mlecznych [2, 5, 28] i probiotyków [15, 17, 30], hamowanie układu immunologicznego pacjenta w trakcie transplantacji lub leczenia [2, 13, 15, 17, 18, 24, 28], ingerencje chirurgiczne oraz procedury inwazyjne, szczególnie w układ oddechowy i pokarmowy [1, 7, 15], długi czas cewnikowania żylnego [15, 24]. Stąd w przypadku pacjentów bardzo obciążonych wskazanymi czynnikami, zwłaszcza kardiologicznie, należy z dużą rozważą podchodzić do stosowania probiotyków w postaci suplementów diety.

Według Cannona prawdopodobną przyczyną 47% przypadków bakteryjnego zapalenia wsierdza, spowodowanego *Lactobacillus* sp., mogło być leczenie stomatologiczne lub stan uzębienia pacjenta [5]. Natomiast w trzech przypadkach, jako przyczynę wskazano nadmierne spożycie produktów mlecznych [5]. W ponad 60% przypadków bakteryjne zapalenie wsierdza powodowały szczepy *Lactobacillus casei*, następnie *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus acidophilus* [18].

3. Identyfikacja *Lactobacillus* sp.

Bardzo trudno jest przeprowadzić pełną diagnostykę mikrobiologiczną *Lactobacillus* sp. ze względu m.in. na trudności w jego hodowli oraz podobieństwo

do innych bakterii stąd konieczność zastosowania nowoczesnych metod molekularnych. Często pałeczki *Lactobacillus* są mylone z *Bifidobacterium* lub traktowane jako zanieczyszczenie hodowli, co znacznie przedłuża diagnostykę chorego i jego leczenie. Na podstawie liczby przypadków oraz ciężkości ich przebiegu

(materiały badane: krew, ropnie, płyn otrzewnowy i mózgowo-rdzeniowy, wsierdziej) za najbardziej chorobotwórczy uznaje się gatunek *L.rhamnosus* [2–4, 7, 15, 16, 18] (tab. I). Gatunek ten, razem z *L. paracasei* i *L. casei*, posiada ważne znaczenie kliniczne według danych przedstawionych przez Russo [28].

Tabela I
Gatunki *Lactobacillus* wyizolowane z określonych miejsc zakażonych oraz zastosowana antybiotykoterapia

Gatunek	Lokalizacja zakażenia	Stosowana antybiotykoterapia		Piśmiennictwo
		skuteczna	nieskuteczna	
<i>Lactobacillus</i> sp.	wsierdzie zastawki	penicylina, aminoglikozydy	wankomycyna, cefalosporyna, beta-laktamy	[1]
	krew	penicylina, beta-laktamy, aminoglikozydy, ampicylina, cefalotyna, streptomycyna, gentamycyna, cefalosporyna, cefalorydyna, cefazolin, cefamandol, klindamycyna, tobramycyna, chloramfenikol	wankomycyna, cefoksytyna, cefalotyna, metronidazol, norfloksacyna, cyprofloksacyna, trimetoprim-sulfametoksazol	
<i>Lactobacillus</i> sp.	krew	piperacylina, tazobactam, metronidazol	–	[14]
<i>L. rhamnosus</i>	krew po operacji wstawienia zastawki aortalnej	penicylina G + gentamycyna, penicylina V + probenecid	–	[2]
<i>L. rhamnosus</i>	krew po drenażu ropni	penicylina G, gentamycyna, metronidazol, flukonazol, erytromycyna, ciprofloksacyna	imipenem, flukonazol	[2]
<i>L. rhamnosus</i>	krew po wykryciu ropnia kulszowo-odbytniczego	ampicylina, netylmycyna, penicylina, gentamycyna	–	[2]
<i>L. rhamnosus</i>	płyn otrzewnowy	wankomycyna, gentamycyna, erytromycyna	–	[7]
<i>L. rhamnosus</i>	krew	–	tazocin, gentamycyna, wankomycyna, ryfampicyna	[7]
<i>L. rhamnosus</i>	krew	penicylina, gentamycyna, linezolid	wankomycyna	[15]
<i>L. rhamnosus</i>	krew, płyn mózgowo-rdzeniowy	ampicylina, ryfampicyna, erytromycyna, linkomycyna, pristinamycyna	benzylpenicylina, cefotaksym, aminoglikozydy, trimetoprim-sulfametoksazol, fluorochinolony, kwas fusydowy, tetracyklina, wankomycyna	[16]
<i>L. rhamnosus</i>	krew	ampicylina, cefotaksym, imipenem tykarcylina + kwas klawulanowy	wankomycyna, amikacyna	[18]
<i>L. rhamnosus, L. casei</i>	krew	erytromycyna, klindamycyna	wankomycyna	[3]
<i>L. rhamnosus, L. plantarum, L. casei</i>	wsierdzie	ciprofloksacyna, erytromycyna, ampicylina, penicylina, aminoglikozydy	gentamycyna, wankomycyna	[3]
<i>L. casei</i>	infekcje zlokalizowane (np. płuc, ropnie)	ciprofloksacyna, erytromycyna	penicylina, ampicylina, cefazolin, wankomycyna	[3]
<i>L. casei, L. paracasei</i>	krew	tigecyklina, daptomycyna, ampicylina, amoksycylina	–	[17]
<i>L. paracasei</i>	krew	erytromycyna, ceftriakson, gentamycyna, ciprofloksacyna	–	[2]
<i>L. delbrueckii</i>	nerki krew	ampicylina	ciprofloksacyna, wankomycyna, cefepim	[6]
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	krew	ampicylina, gentamycyna	–	[2]
<i>L. fermentum</i>	pęcherzyk żółciowy	linezolid	wankomycyna	[5]
<i>L. curvatus</i>	krew	ampicylina	–	[2]
<i>L. acidophilus</i>	krew	–	wankomycyna	[3]

Brak danych (–)

Według fińskich danych z lat 1990–2000 rodzaj *Lactobacillus* stanowił 0,1–0,2% wszystkich izolatów pochodzących z hodowli krwi pacjentów z sepsą [30]. Badania pokazują, że u pacjentów z bakteremią najlepszym materiałem do izolacji gatunku *L. rhamnosus* jest krew – potwierdziło to 16 z 25 przypadków, w pozostałych *L. rhamnosus* izolowano także z płuc, ropni i gardła [15]. Zazwyczaj aby określić przynależność taksonomiczną bakterii, stosuje się barwienie metodą Grama oraz określa się charakterystyczne cechy wzrostu kolonii i wzory biochemiczne. Współczesne metody taksonomii wykorzystują techniki fenotypowe oraz analizy genetyczne. Do metod fenotypowych zalicza się badanie składu ściany komórkowej, „białkowy odcisk palca”, czyli analizę rozpuszczalnych cytoplazmatycznych białek oraz elektroforetyczną ruchliwość wybranych enzymów [23]. Identyfikując biochemicznie prawdopodobnie dosyć łatwym do zidentyfikowania tymi metodami, może być *L. rhamnosus* posiadający ramnozę jako komponent ściany komórkowej i mogący ją fermentować. Do testów biochemicznych zaliczają się jeszcze: test redukcji azotanów, utleniania glukonianu, hydrolizy skrobi [35]. Natomiast analiza fermentacji L-arabinozy, redukcji azotanu i wzrostu w 20°C pozwala odnotować pewne różnice między gatunkami *L. reuteri* i *L. fermentum* [19,23]. Fińskie badania pokazały, że stosując konwencjonalne metody możliwe jest zidentyfikowanie tylko 30–50% izolatów [31], dokładna identyfikacja wymaga analizy molekularnej [36].

Najpewniejszą, najdokładniejszą oraz szybką i tanią metodą identyfikacji izolatów *Lactobacillus* sp. okazało się użycie metody MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry), czyli jonizację próbki połączoną z pomiarem jej masy w spektrometrze masowym [12, 34]. W przypadku badań materiałów klinicznych, za pomocą MALDI-TOF MS, czas ma szczególne znaczenie, gdyż wykazano bezpośrednią zależność między wykorzystaniem szybkich metod diagnostycznych, a śmiertelnością pacjentów [12]; metoda ta znacznie redukuje czas oczekiwania na oznaczenie gatunku. Do zalet MALDI-TOF MS, oprócz wcześniej wspomnianych, należy wiarygodność i powtarzalność wyników oraz zdolność do identyfikacji szerokiej gamy mikroorganizmów [12]. MALDI-TOF MS używa się także do szybkiego wykrycia wrażliwości na antybiotyki – mikroorganizm oporny i wrażliwy na dany antybiotyk różni się w zakresie mas i posiada dwa profile widma [34]. Ograniczeniem tej metody może być wymóg czystej i dobrze wyizolowanej kultury oraz brak rozróżnienia blisko spokrewnionych mikroorganizmów. Dodatkowo w przypadku organizmów anaerobowych bazy danych są jeszcze stosunkowo skąpe i wymagają dalszego rozszerzenia i rozwoju, a metody ekstrakcji standaryzacji [12].

Drugą coraz częściej stosowaną metodą jest zsekwencjonowanie genu 16S rRNA. Reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR) jest procedurą standardową w identyfikowaniu gatunków mikroorganizmów [15]. Sekwencjonowanie chromosomu plazmidowego pozwala na dokładną klasyfikację, odkrywanie nowych szczepów, wprowadzanie zmian i przeklasyfikowywanie starych gatunków oraz rozwój taksonomii rodzaju *Lactobacillus* [4]. Salminen opisuje przypadek, kiedy izolaty potencjalnie nie należące do rodzaju *Lactobacillus* i nie rosnące na podłożu agarowym MRS (de Man, Rogosa, Sharpe) mogą być zidentyfikowane metodą sekwencjonowania 16S rDNA [30].

Do wykrycia *L. rhamnosus* w próbkach fermentowanej żywności lub preparatach probiotycznych stosuje się metodę FAFLP (Fluorescent Amplified Fragment Length Polymorphism) bazującą na selektywnej amplifikacji materiału genetycznego podczas reakcji PCR z trawienia genomowego DNA [4]. Reakcję PCR prowadzi się z użyciem znakowanych fluorescencyjnie starterów.

Oprócz metody FAFLP skutecznymi molekularnymi technikami są:

1. analiza enzymów restrykcyjnych (REA-Restriction Enzyme Analysis) – DNA jest trawione przez endonukleazy restrykcyjne, następnie fragmenty rozdzielają się w żelu agarozowym, a złożony wzór jest analizowany komputerowo; trudność metody polega na doborze właściwych enzymów, dzięki którym program komputerowy rozróżni dane szczepy [19];
2. losowa amplifikacja polimorficznego DNA (RAPD-Randomly Amplified Polymorphic DNA) – opiera się na reakcji PCR, polega na przyłączaniu starterów w niskiej temperaturze i amplifikacji interesujących nas fragmentów [19];
3. rybotypowanie – wzory restrykcyjne rRNA są tworzone przez hybrydyzację z 23S i 16S rRNA, trawienie chromosomalnego DNA i elektroforeza następuje w trakcie Southern Blotting, następnie DNA przenieszone jest na membranę; rybotypowanie jest łatwiejsze i stabilniejsze od REA [19];
4. amplifikacja długości fragmentów polimorficznych AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) – polega na trawieniu DNA dwoma enzymami restrykcyjnymi oraz amplifikacji fragmentów i ich rozdzielaniu w żelu poliakrylamidowym [28].

4. Chorobotwórczość *Lactobacillus* sp.

Lactobacillus sp. najczęściej powiązany jest z: zapaleniem wsierdza [1, 3, 4, 7, 10], opon mózgowych [1, 3, 10, 17], sepsą [1, 10], zakażeniem dróg moczowych [1, 7, 17], układu rodowego u kobiet [13, 17], próchnicą zębów [10, 17, 35]. Odnotowano także pojedyncze

przypadki zapalenia opon mózgowych spowodowanego *L. rhamnosus* w następstwie bakteremii i alloge-nicznego przeszczepu komórek krwiotwórczych [26], niedokrwiennie zapalenie okrężnicy [24], zapalenie błon płodowych [5], wrzodziejące zapalenie okrężnicy [25], rozwarstwienie aorty i zapalenie śluzówki macicy [28], zakażenie u 6-dniowego noworodka prawdopodobnie związane z ograniczeniem wzrostu wewnątrzmacicznego [29].

W latach 1995–2000, w Finlandii, opisano 90 przypadków bakteremii spowodowanej zakażeniem *Lactobacillus* sp., w tym 28 przypadków zdiagnozowano w Centralnym Szpitalu Uniwersyteckim w Helsinkach [30]. Arpi opisuje sześć przypadków bakteremii, w tym pięć ze stanem obniżonej odporności jako prawdopodobnym czynnikiem zwiększającym ryzyko zakażenia *Lactobacillus* sp. [2]. Główne objawy zakażenia krwi [1, 3, 4, 17, 19] o etiologii *Lactobacillus* sp., to gorączka [1, 4, 6, 14], leukocytoza [1, 4], dreszcze [1, 4] i niedociśnienie [4, 6]. Średnia wieku pacjentów z bakteremią powodowaną *Lactobacillus* sp. mieściła się w granicach 55 a 60 roku życia i cecha ta pojawiała się bez względu na płeć i towarzyszące choroby [1]. Odnotowywano także współistniejące odmiedniczkowe zapalenie nerek [1], infekcje przeszczepu aorty [1] oraz ropnie wewnątrzbrzuszne [3, 4, 7].

Bakteremia i odmiedniczkowe zapalenie nerek o etiologii *Lactobacillus* sp. to rzadki przypadek [13]. Na sepsę odnerkową składa się wiele przyczyn m.in. kamica nerkowa, niekontrolowana cukrzyca, obniżona odporność. Istnieją także niepotwierdzone przypadki zakażeń *Lactobacillus* sp., są to m.in. ropień wątroby u pacjentki z cukrzycą, która przyjmowała *L. rhamnosus*; zakażenie *L. rhamnosus* po ekstrakcji zęba u pacjenta przyjmującego tabletki probiotyczne do żucia; sepsa u sześciotygodniowego niemowlęcia po doustnym podaniu *Lactobacillus* sp. [16].

Rodzaj *Lactobacillus* bytujący w ludzkim organizmie może także produkować glikozydazy i proteazy umożliwiające rozkład ludzkich glikoprotein [28]. Wspomniane enzymy mogą być również czynnikami działającymi patogennie w rozwijającym się zapaleniu wsierdza ze względu na możliwość kolonizacji powierzchni naczyń krwionośnych [28]. Badania Harty wykazały, że większość znajdujących się w jamie ustnej gatunków *Lactobacillus* sp. posiada zdolność do wywoływania agregacji płytek krwi, w tym najważniejsze to gatunki *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus* [17]. Potwierdza to związek jaki przedstawił Cannon w swoich badaniach dotyczący wpływu ingerencji stomatologicznych na zapalenie wsierdza [5]. Dodatkowo w badaniu czynników patogenyzy zapalenia wsierdza stwierdzono, że szczepy wywołujące tę chorobę produkują dwa enzymy N-acetylo-beta-D-glukozaminidazę i alfa-D-galaktozydazę aktywujące

białko C podobne, oraz zaktywowany czynnik X i czynnik Hagemana, które zaburzają proces krzepnięcia krwi powodując wytrącanie skrzepów fibrynowych [28]. Ponadto pałeczki *Lactobacillus* sp. dobrze wiążą się z kolagenem typu I (wiąże fibronektynę) i V (w miejscu uszkodzonego śródbłonka), co może mieć znaczenie we wczesnych stadiach kolonizacji uszkodzonej zastawki serca [18]. Jak donosi Harty całkowitą inhibicję agregacji uzyskano dodając do hodowli EDTA, RGDS – inhibitora fibronektyny i fibrynogenu oraz różne stężenia dipirydamolu [18]. Podobny efekt zahamowania agregacji osiągnięto redukując dostępność jonów wapnia i enzymów uczestniczących w reakcji [18]. Istotne znaczenie ma również pH środowiska – przy niskim pH rośnie ilość związanego przez LAB fibrynogenu i fibronektyny i nawet po powrocie do neutralnego pH bakterie zatrzymują pewien procent związanych białek [18].

Badania Bernardeau wykazały, że *Lactobacillus* sp. może produkować także inne szkodliwe dla ludzkiego organizmu substancje, np. D-mleczan i aminy biogenne kumulujące się w fermentowanych produktach [4]. Wtórne zakażenia krwi o źródle w zakażeniach układu pokarmowego wiążą się ze zdolnością translokacji *Lactobacillus* sp. przez śluzówkę jelit do krwioobiegu – prawdopodobną pierwotną przyczyną było niedokrwiennie zapalenie jelita grubego [24]. Przykładem może być pacjent z wrzodziejącym zapaleniem okrężnicy, który zachorował na sepsę w trakcie leczenia probiotykami i obniżającymi odporność kortykosteroidami. Inne, potencjalnie szkodliwe, właściwości rodzaju *Lactobacillus* odnotowane w ludzkim przewodzie pokarmowym to m.in. dekarboksylacja tyrozyny, aktywność dekonjugacyjna kwasów żółciowych, aktywność enzymatyczna (produkcja azoreduktazy, nitroreduktazy, β -glukuronidazy, glikozydazy) oraz degradacja kwasu hialuronowego [4].

Naukowcy stają przed problemem użycia genetycznie zmodyfikowanych bakterii kwasu mlekowego jako wektorów do przenoszenia rekombinowanych protein w chorobach autoimmunologicznych, wrzodziejącym zapaleniu jelita, chorobie Crohna czy nowotworach [6]. Dowiedziono, że zmodyfikowane mikroorganizmy zmniejszają stan zapalny i skutki uboczne stosowania konwencjonalnych leków oraz mogłyby zmniejszyć koszty leczenia. Oprócz zalet metoda ta posiada wiele wad. Główną jest możliwość przeniesienia antybiotykooporności ze zmodyfikowanego mikroorganizmu na mikroflorę jelitową, a u osób podatnych na zakażenia LAB, odnotowywano zakażenia oportunistyczne oraz działanie prozapalne.

Badano *in vitro* wpływ bakterii kwasu mlekowego na system odpornościowy człowieka [33]. Stwierdzono, że z czterech szczepów *L. acidophilus* (La1, La3, La10, La18), największą zdolność przylegania do monowarstw komórek Caco-2, niezależnie od stężenia jonów

wapnia, posiada *L. acidophilus* La1 i zdolność ta obniża się w świeżym buforze. Wzrost spożycia *Lactobacillus* sp. z pokarmem znacznie podnosi aktywność fagocytarną monocytów i ogólnie zwiększa aktywność fagocytarną granulocytów, jednak efekt ogólny nie ma wielkiego znaczenia gdyż odsetek monocytów we krwi jest mały [31].

5. Podsumowanie

Chociaż rodzaj *Lactobacillus* nie jest uważany za znacząco chorobotwórczy, to u pacjentów z osłabioną odpornością, może stać się przyczyną zakażeń i poważnych niekiedy śmiertelnych chorób. Warto wziąć pod uwagę, że z pozoru bezpieczny *Lactobacillus* sp. jest dosyć trudny w hodowli i identyfikacji, często wybranie nawet kilku metod klasycznych jest niemiarodajne. Ze względu na produkcję przez bakterie kwasu mlekowego wielu czynników zjadliwości, fibrynogenu czy enzymów zaburzających proces krzepnięcia wydaje się oczywisty związek tych mikroorganizmów z chorobami serca – zapaleniem wsierdza czy chorobami zastawek.

Zdrowy, stabilny mikrobiom jest w pełni efektywny w regulacji mechanizmów ochronnych człowieka, zatem i zdrowy organizm nie potrzebuje dodatkowych, dostarczanych w pożywieniu bądź w suplementach diety mikroorganizmów probiotycznych.

Piśmiennictwo

1. Antony S.J.: Lactobacillemia: an emerging cause of infection in both the immunocompromised and the immunocompetent host. *J. Natl. Med. Assoc.* **92**, 83–86 (2000)
2. Arpi M., Vancanneyt M., Swings J., Leisner J.J.: Six cases of *Lactobacillus* bacteraemia: Identification of organisms and antibiotic susceptibility and therapy. *Scand. J. Infect. Dis.* **35**, 404–435 (2003)
3. Bayer A.S., Chow A.W., Morrison J.O., Guze L.B.: Bactericidal synergy between penicillin or ampicillin and aminoglycosides against antibiotic-tolerant *Lactobacilli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **17**, 359–363 (1980)
4. Bernardeau M., Vernoux J.P., Henri-Dubernet S., Guéguen M.: Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactobacillus* genus. *Int. J. Food Microbiol.* **126**, 278–285 (2008)
5. Cannon J.P., Lee T.A., Bolanos J.T., Danziger L.H.: Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **24**, 31–40 (2005)
6. Cano-Garrido O., Seras-Franzoso J., Garcia-Fruitós E.: Lactic acid bacteria: reviewing the potential of a promising delivery live vector for biomedical purposes. *Microb. Cell Fact.* DOI 10.1186/s12934-015-0313-6 (2015)
7. Carretto E., Barbarini D., Marzani F.C., Fumagalli P., Monzillo V., Marone P., Emmi V.: Catheter-related bacteremia due to *Lactobacillus rhamnosus* in a single-lung transplant recipient. *Scand. J. Infect. Dis.* **33**, 780–782 (2001)
8. Chen P.-W., Tseng S.-Y., Huang M.-S.: Antibiotic susceptibility of commensal bacteria from human milk. *Curr. Microbiol.* DOI 10.1007/s00284-015-0925-4 (2015)
9. Chery J., Dvoskin D., Morato F.P., Fahoum B.: *Lactobacillus fermentum*, a pathogen in documented cholecystitis. *Int. J. Surg. Case Rep.* **4**, 662–664 (2013)
10. Chin J., Turner B., Barchia I., Mullbacher A.: Immune response to orally consumed antigens and probiotic bacteria. *Immunol. Cell Biol.* **78**, 55–66 (2000)
11. de Vos W.M.: Systems solutions by lactic acid bacteria: from paradigms to practice. *Microb. Cell Fact.* **10**, (Suppl 1): S2 (2011)
12. Dingle T.C., Butler-Wu S.M.: MALDI-TOF mass spectrometry for microorganism identification. *Clin. Lab. Med.* **33**, 589–609 (2013)
13. DuPrey K.M., McCrea L., Rabinowitch B., Azad K.N.: Pyelonephritis and bacteremia from *Lactobacillus delbrueckii*. *Case Rep. Infect. Dis.* 2012:745743 (2012)
14. Fuller R.: Probiotics in human medicine. *Gut*, **32**, 439–442 (1991)
15. Gouriet F., Million M., Henri M., Fournier P.-E., Raoult D.: *Lactobacillus rhamnosus* bacteremia: an emerging clinical entity. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **31**, 2469–2480 (2012)
16. Hammerman C., Bin-Nun A., Kaplan M.: Safety of probiotics: comparison of two popular strains. *BMJ*, **333**, 1006–1008 (2006)
17. Harty D.W.S., Patrikakis M., Hume E.B.H., Oakey H.J., Knox K.W.: The aggregation of human platelets by *Lactobacillus* species. *J. Gen. Microbiol.* **139**, 2945–2951 (1993)
18. Harty D.W.S., Oakey H.J., Patrikakis M., Hume E.B.H., Knox K.W.: Pathogenic potential of lactobacilli. *Int. J. Food Microbiol.* **24**, 179–189 (1994)
19. Holzapfel W.H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J., Schillinger U.: Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* **73**, 365–373 (2001)
20. Ishibashi N., Yamazaki S.: Probiotics and safety. *Am. J. Clin. Nutr.* **73**, 465–470 (2001)
21. Kim K.S., Morrison J.O., Bayer A.S.: Deficient autolytic enzyme activity in antibiotic-tolerant lactobacilli. *Infect. Immun.* **36**, 582–585 (1982)
22. Kirjavainen P.V., Salminen S.J. i wsp.: *In vitro* adhesion and platelet aggregation properties of bacteremia-associated lactobacilli. *Infect. Immun.* **67**, 2653–2655 (1999)
23. Klein G., Pack A., Bonaparte C., Reuter G.: Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **41**, 103–125 (1998)
24. Kulkarni H.S., Khoury C.C.: Sepsis associated with *Lactobacillus* bacteremia in a patient with ischemic colitis. *Indian J. Crit. Care Med.* **18**, 606–608 (2014)
25. Meini S., Laureano R., Fani L., Tascini C., Galano A., Antonelli A., Rossolini G.M.: Breakthrough *Lactobacillus rhamnosus* GG bacteremia associated with probiotic use in an adult patient with severe active ulcerative colitis: case report and review of the literature. *J. Infect. Dis.* DOI 10.1007/s15010-015-0798-2 (2015)
26. Robin F., Paillard C., Marchandin H., Demeocq F., Bonnet R., Hennequin C.: *Lactobacillus rhamnosus* meningitis following recurrent episodes of bacteremia in a child undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J. Clin. Microbiol.* **48**, 4317–4319 (2010)
27. Ruoff K.L., Kuritzkes D.R., Wolfson J.S., Ferraro M.J.: Vancomycin-resistant Gram-positive bacteria isolated from human sources. *J. Clin. Microbiol.* **26**, 2064–2068 (1988)
28. Russo A., Angeletti S., Lorino G., Venditti C., Falcone M., Dicunzio G., Venditti M.: A case of *Lactobacillus casei* bacteraemia associated with aortic dissection: is there a link? *New Microbiol.* **33**, 175–178 (2010)
29. Sadowska-Krawczenko I., Paprzycka M., Korbal P., Wiatrzyk A., Krysztopa-Grzybowska K., Polak M., Czajka U., Lutyńska A.:

- Lactobacillus rhamnosus* GG suspected infection in a newborn with intrauterine growth restriction. *Benef. Microbes*. **5**, 397–402 (2014)
30. Salminen M.K., Tynkkynen S., Rautelin H., Saxelin M., Vaara M., Ruutu P., Sarna S., Valtonen V., Järvinen A.: *Lactobacillus* bacteremia during a rapid increase in probiotic use of *Lactobacillus rhamnosus* GG in Finland. *Clin. Inf. Dis.* **35**, 1155–1160 (2002)
 31. Salminen M.K., Rautelin H., Tynkkynen S., Poussa T., Saxelin M., Valtonen V., Järvinen A.: *Lactobacillus* bacteremia, species identification, and antimicrobial susceptibility of 85 blood isolates. *Clin. Infect. Dis.* **42**, e35–44 (2006)
 32. Salminen S., Arvilommi H.: Probiotics demonstrating efficacy in clinical settings. *Clin. Infect. Dis.* **32**, 1577–1578 (2001)
 33. Schiffrin E.J., Brassart D., Servin A.L., Rochat F., Donnet-Hughes A.: Immune modulation of blood leukocytes in humans by lactic acid bacteria: criteria for strain selection. *Am. J. Clin. Nutr.* **66**, 515–520 (1997)
 34. Seng P., Drancourt M., Gouriet F., La Scola B., Fournier P.-E., Rolain J.M., Raoult D.: Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin. Infect. Dis.* **49**, 543–551 (2009)
 35. Sharpe M.E., Hill L.R., Lapage S.P.: Pathogenic lactobacilli. *J. Med. Microbiol.* **6**, 281–286 (1973)
 36. Wallet F., Dessein R., Armand S., Courcol R.J.: Molecular diagnosis of endocarditis due to *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*. *Clin. Infect. Dis.* **35**, e117–119 (2002)
 37. World Health Organization: Guidelines for the evaluation of probiotics in food. http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf?ua=1 (data dostępu 30.04.2016)