

Laktobacily a ich probiotické vlastnosti

KIŇOVÁ SEPOVÁ H., BILKOVÁ A., BUKOVSKÝ M.

Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra bunkovej a molekulárnej biológie liečiv

Došlo: 22. ledna 2007 / Prijato: 16. února 2008

SÚHRN

Laktobacily a ich probiotické vlastnosti

Laktobacily radíme k baktériám mliečneho kvasenia, fermentujú sacharidy na kyselinu mliečnu. Profílom fermentovaných sacharidov sa jednotlivé druhy a kmene líšia, ale tento údaj nie je dostatočný pre identifikáciu na úrovni druhu. Druhy a kmene sa líšia v sekvencii 16S rDNA a v medzi-génovom priestore medzi 16S a 23S rDNA, ktoré umožňujú ich rozlíšenie a identifikáciu. Niektorí zástupcovia rodu *Lactobacillus* sú súčasťou probiotických prípravkov, vzhľadom na ich zdraviu prospešné účinky pre ľudský a zvierací organizmus. Sú schopné napríklad interagovať s imunitným systémom a pozitívne ho stimulovať, konzumáciou fermentovaných mliečnych výrobkov zmierniť prejavy laktózovej intolerancie, skracovať postantibiotickú a cestovateľskú hnačku. Laktobacily taktiež produkujú bakteriocíny, antimikróbne účinné látky.

Kľúčové slová: *Lactobacillus* – probiotiká – bakteriocíny - baktérie mliečneho kvasenia - 16S rDNA

Čes. slov. Farm., 2008; 57, 95–98

SUMMARY

Lactobacilli and their probiotic properties

Lactobacilli rank among lactic acid bacteria, fermenting saccharides to produce lactic acid. The individual species and strains differ by the profiles of fermented saccharides, but this property is not sufficient for the identification at the species level. The species and strains differ in the 16S rDNA sequence and in the intergenic space between 16S and 23S rDNA, which make their differentiation and identification possible. Some representatives of the genus *Lactobacillus* are included in probiotic preparations with regard to their beneficial health effects on the human and animal organisms. For example, they are able to interact with the immune system and stimulate it positively, to reduce the manifestations of lactose intolerance by consuming fermented milk products, and to shorten postantibiotic and travellers' diarrhoea. Lactobacilli also produce bacteriocins, antimicrobially active substances.

Key words: *Lactobacillus* – probiotics – bacteriocins – bacteria of lactic fermentation – 16S rDNA

Čes. slov. Farm., 2008; 57, 95–98

Má

Rod *Lactobacillus* spp.

Lactobacillus spp. sú nesporulujúce, grampozitívne, fakultatívne anaeróbne, kataláza negatívne baktérie, morfológicky paličky pravidelného tvaru, niekedy kokobacily. Charakteristickou vlastnosťou rodu *Lactobacillus* je schopnosť fermentovať sacharidy na laktát. Podľa vzniknutých produktov fermentácie ich môžeme rozdeliť

na obligátne homofermentatívne (OHOL), keď je produktom fermentácie len kyselina mliečna, fakultatívne homofermentatívne (FHOL) a obligátne heterofermentatívne (OHEL), kedy vzniká okrem laktátu acetát, etanol a oxid uhličitý. U niektorých zástupcov boli dokázané zdraviu prospešné účinky na ľudský a zvierací organizmus¹⁻³). Môžu sa využiť v profylaxii a terapii niektorých ochorení, ako probiotiká (z gr. „pro bios”, pre život).

Adresa pro korespondenci:

Mgr. Hana Kiňová Sepová
Katedra bunkovej a molekulárnej biológie liečiv FaF UK
Kalinčiaková 8, 832 32 Bratislava, SR
e-mail: kinovasepova@fpharm.uniba.sk

Probiotiká sú prípravky obsahujúce živé mikroorganizmy, ktoré prijaté do gastrointestinálneho traktu organizmu v adekvátnom množstve, majú zdraviu prospešné účinky⁴⁾. Probiotické účinky baktérií sa vzťahujú na jednotlivé druhy a kmene (*Lactobacillus* spp., ale aj *Bifidobacterium* spp., *Lactococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Saccharomyces* spp. a *Bacillus* spp.). FAO/WHO⁵⁾ určujú podmienky, za akých je možné daný mikrobiálny kmeň používať ako probiotikum.

Laktobacily, ktorých je dnes známych viac ako 90 druhov⁶⁾, nachádzame v rôznych ekologických podmienkach: Osídľujú ľudský gastrointestinálny trakt⁷⁻⁹⁾, pošvu žien vo fertilnom veku¹⁰⁾, ústnu dutinu¹¹⁾, boli nájdené v siláži¹²⁾, ovčom mlieku¹³⁾, v rôznych druhoch syrov^{14, 13)}, jogurte^{12, 15)}, ale i vo víne¹⁶⁾. Podmienkam výskytu daného druhu je prispôbená aj veľkosť genómu jednotlivých zástupcov.

Je známa kompletná nukleotidová sekvencia genómu *Lactobacillus johnsonii* NCC 533, izolovaného z ľudskej stolice. Jej dĺžka bola stanovená na 1 992 676 bp. V genetickej výbave *L. johnsonii* chýbajú gény pre syntézu väčšiny aminokyselín *de novo*¹⁷⁾. To predpokladá výskyt *L. johnsonii* v prostredí bohatom na živiny, akým je aj ľudské črevo. Taktiež v genóme tejto baktérie nenachádzame gény pre syntézu niektorých enzýmov, napr. glutamát syntázu, glutamát dehydrogenázu (neschopnosť využívať amoniak), chýbajú enzýmy zodpovedné za syntézu mnohých kofaktorov, ako sú tiamín, kyselina nikotínová, riboflavin, biotín, kobalamín, pantotenát a pyridoxín. Pre obmedzené schopnosti biosyntézy sa predpokladá v *L. johnsonii* kompenzácia tohto nedostatku posilnením transportných systémov¹⁷⁾.

Sekvencia genómu *Lactobacillus plantarum* WCFS1 bola stanovená na 3 308 274 bp, čo je zatiaľ najrozsiahlejšia génová výbava identifikovaná u mliečnych baktérií. Kmeň bol izolovaný z ľudských slín, iné kmene tohto druhu boli izolované z fermentovaných nápojov^{18, 19)}, mäsa²⁰⁾ a rôznych rastlín²¹⁾. Veľkosť genómu predurčuje *L. plantarum* pre výskyt aj v prostredí chudobnom na živiny. Genóm *L. plantarum* kóduje kompletné cesty biosyntéz väčšiny aminokyselín, okrem aminokyselín s rozvetveným reťazcom, leucínu, izoleucínu a valínu. *L. plantarum* má enzýmový systém pre príjem peptidov, primárnych produktov degradácie proteínov. Devätnásť génov *L. plantarum* kóduje intracelulárne peptidázy rôznej špecificity. Ako u prvej baktérie zo skupiny mliečnych baktérií bol v genóme *L. plantarum* nájdený gén (o veľkosti 25 kb) pre neribozomálnu syntézu peptidov. Podobným systémom sú produkované aj peptidom podobné produkty, ktoré majú rôznu štruktúru a zloženie a zahŕňajú dôležité komponenty (*L. plantarum* NC8 produkuje plantaricin NC8²²⁾), používané aj vo farmácii.

Pri klasickej identifikácii (morfológia buniek, typ fermentácie glukózy, rast pri rozdielnych teplotách, DL-konfigurácia kyseliny mliečnej a fermentácia rôznych sacharidov⁷⁾) jednotlivých zástupcov rodu *Lactobacillus* vznikajú problémy a niektoré baktérie sa nedajú týmito metódami od seba odlíšiť. Napríklad profil fermentácie sacharidov u *L. fermentum* je veľmi podobný profilu *L. reuteri*, ale na génovej úrovni nie sú tieto dva

druhy laktobacilov podobné. Napriek tomu sú fenotypové metódy pri rozlíšení týchto dvoch baktérií potrebné – zloženie peptidoglykánu je významne odlišné²¹⁾. V súčasnosti sa pristupuje pri identifikácii laktobacilov k metódam molekulárnej biológie. Jednou z využívaných metód je sekvenácia variabilných regiónov 16S rDNA amplifikovaných pomocou polymerázovej reťazovej reakcie (PCR). 16S rDNA kódujúca gény pre 16S rRNA, ktorá je súčasťou menšej podjednotky ribozómu, obsahuje okrem variabilných regiónov aj konzervované regióny, ktoré sa využívajú pre konštrukciu rodovo špecifických PCR primerov⁷⁾. Iným príkladom ťažko odlišiteľných druhov rodu *Lactobacillus* sú *L. plantarum* a *L. pentosus*. Opäť je fermentácia sacharidov na rozlíšenie týchto dvoch druhov nepoužiteľná, profily fermentácie oboch baktérií sú takmer identické. V prípade týchto dvoch baktérií je nemožné použiť metódu sekvenácie amplikónov 16S rDNA, lebo sa v nukleotidovej sekvencii daného génu líšia len tromi nukleotidmi²⁴⁾, homológia daného úseku je až 99 %²⁵⁾. Na odlíšenie týchto dvoch druhov laktobacilov sa využíva iné miesto v ich genóme. Jedná sa o DNA v medzigénovom priestore, ISR („intergenic spacer region“), teda o sekvenciu ležiacu medzi 16S a 23S rDNA. Do tohto priestoru smerujú aj druhovo špecifické PCR primery pre *L. plantarum* a *L. pentosus*, pomocou ktorých možno amplifikovať časť týchto génov a odlíšiť baktérie od seba²⁶⁾.

Ako bolo spomenuté, *Lactobacillus* spp. a niektoré mliečne baktérie (*Bifidobacterium* spp., *Lactococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Saccharomyces* spp. a *Bacillus* spp.) sa používajú v profylaxii a terapii niektorých ochorení. Dnes sa uvažuje o viacerých mechanizmoch účinku probiotických baktérií a ich pôsobkov. Už na začiatku 20. storočia predpokladal Ilja Mečnikov, že niektoré potraviny – ako fermentované mlieko a mliečne produkty – napomáhajú nahradiť škodlivé baktérie v gastrointestinálnom trakte prospešnými⁴⁾.

Pôsobenie laktobacilov

Medzi hlavné miesta pôsobenia laktobacilov v ľudskom organizme patrí črevo a pošva. V pošve sú laktobacily súčasťou prirodzenej mikroflóry a majú nezastupiteľné miesto v udržiavaní fyziologických podmienok v tomto orgáne. Tým, že laktobacily produkciou laktátu znižujú pH pošvy na 4,5 a menej, bránia kolonizácii patogénmi, ktoré pri takomto nízkom pH nie sú schopné rásť. Laktobacily sa v pošvovom sekréte nachádzajú v koncentrácii 10⁵–10⁷ CFU/ml²⁷⁾.

Gastrointestinálny trakt dospelého jedinca je osídľovaný približne 300–400 druhmi baktérií patriacich k viac ako 190 rodom²⁸⁾. Rozloženie a počet jednotlivých druhov sa mení podľa meniacich sa podmienok v GIT, pričom tu nachádzame i oportúnne patogénne druhy²⁸⁾. Druhy rodu *Lactobacillus* sa vyskytujú v celej dĺžke tráviaceho traktu, v rôznej koncentrácii²⁹⁾. Hrubé a tenké črevo sú miestom pôsobenia laktobacilov pri viacerých ochoreniach. Pri laktózovej intolerancii sa ukázala konzumácia probiotík ako prospešná. Niektoré probiotické kmene, ako *L. delbrueckii* *subsp. bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*, schopné fermentovať laktózu, zmier-

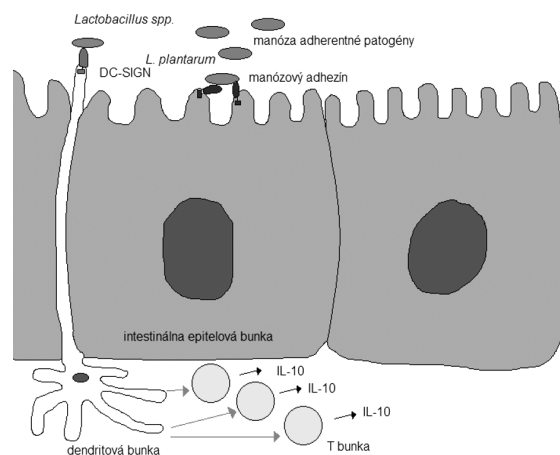
ňujú prejavy ochorenia pri konzumácii fermentovaných mliečnych produktov ¹⁾. Podávanie probiotických kmeňov viedlo tiež k zmierneniu prejavov akútnej rotavírusovej hnačky. Po užití určitých probiotík (*L. rhamnosus* GG, *L. reuteri*, *L. casei* Shirota) sa pozorovalo zvýšenie hladiny špecifického antirotavírusového IgA ³⁰⁾, súčasne sa znížila zvýšená črevná permeabilita ³¹⁾ a normalizovala sa črevná mikroflóra ²⁾. Podaním *Saccharomyces cerevisiae* (*boulardii*) sa znížilo riziko vzniku postantibiotickej hnačky ³²⁾. Probiotiká ako *L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus* a *Enterococcus faecium* SF68 tiež znižujú riziko vzniku hnačky zapríčinenej podávaním antibiotík a uľahčujú jej terapiu ³⁾.

Mliečne baktérie sa ukazujú byť prospešné pri profylaxii kolorektálneho karcinómu. Na 21 zdravých dobrovoľníkoch sa sledoval vplyv *L. acidophilus* NCFM a *L. acidophilus* N-2 na β -glukuronidázu, nitroreduktázu a azoreduktázu, baktériové fekálne enzýmy asociované so vznikom kancerogénov v čreve. Pozorovalo sa signifikantné zníženie špecifickej aktivity uvedených enzýmov u všetkých dobrovoľníkov po 10 dňoch podávania týchto kmeňov. Oba kmene mali rovnaký účinok. Pre túto aktivitu je ale nutná nepretržitá konzumácia týchto baktérií ³³⁾. Mlieko fermentované druhmi *Bifidobacterium infantis*, *B. bifidum*, *B. animalis*, *L. acidophilus* a *L. paracasei* inhibovalo rast bunkovej línie MCF7 rakoviny prsníka, pričom tento efekt nebol priamo závislý na ich prítomnosti ³⁴⁾. Toto zistenie predpokladá prítomnosť novovzniknutých komponentov produkovaných mliečnymi baktériami pri fermentácii mlieka alebo mikrobiálnou transformáciou biologicky aktívnych látok z komponentov mlieka ³⁵⁾.

Napriek tomu, že laktobacily sú všeobecne považované za nepatogénne a ich použitie je bezpečné, je nutné preukázať ich bezpečnosť ⁵⁾. Boli zaznamenané prípady infekcie druhmi rodu *Lactobacillus*, i keď sa jednalo o imunokompromitovaných pacientov a infekcia laktobacilmi bola sekundárna. Laktobacily ako baktérie schopné produkovať kyselinu mliečnu sa zúčastňujú na tvorbe zubného kazu. Viaceré druhy rodu *Lactobacillus* boli asociované so zubným kazom a považujú sa za dôležitý sekundárny patogén ³⁶⁾. Boli nájdené ako pri povrchovom zubnom kaze, tak aj pri hlbokých léziách ³⁷⁾, ale nepreukázala sa ich prítomnosť v bakteriálnej invázii neexponovanej zuboviny ³⁸⁾. U imunokompromitovaných pacientov sa zaznamenali systémové infekcie, ako bakteriémie, endokarditída alebo lokalizovaná infekcia, zapríčinené laktobacilmi. Pri bakteriémii to boli najmä onkologickí pacienti, diabetici, pacienti s abscesom. Pri endokarditíde spôsobenej laktobacilmi mali pacienti štrukturálnu poruchu srdca alebo predchádzajúcu epizódu endokarditídy, pričom predispozičným faktorom sa ukázal byť stomatologický zákrok. Lokalizované infekcie *Lactobacillus spp.* boli spojené s pľúcnou infekciou, peritonitídou, chorioamnionitídou, intraabdominálnou infekciou, a i. Opäť boli dôležitým predispozičným faktorom chronické ochorenia: diabetes, rakovina, neutropénia, renálne zlyhanie ³⁹⁾. V popisovaných prípadoch boli najčastejšími infekčnými agens *L. casei*, *L. rhamnosus* a *L. plantarum* ³⁹⁾.

Interakcia s imunitným systémom

V ochrane proti infekčným agens hrá dôležitú úlohu tzv. s črevom asociované lymfoidné tkanivo (GALT). GALT je najväčším lymfoidným orgánom v ľudskom organizme ²⁸⁾. V čreve sa predpokladá viacero mechanizmov pôsobenia laktobacilov a prirodzene aj ich interakcia s imunitným systémom hostiteľského organizmu. Niektoré druhy baktérií, vrátane známych probiotických kmeňov (napr. *L. plantarum* 299v), sú schopné indukovať *in vitro* maturáciu a expresiu myších dendritových buniek, s možnosťou uprednostnenia imunitnej odpovede T pomocných buniek (T_H1 , T_H2 , T_H3) ^{40, 41)}. Interakcia laktobacilov s dendritovými bunkami sa čiastočne deje cez receptor nesúci rozpoznávací znak („pattern-recognition receptor“) DC-SIGN („dendric cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing non-intergrin“). Tie laktobacily, ktoré sú schopné interagovať s DC-SIGN, vedú k pomnoženiu T buniek produkujúcich IL-10 (obr. 1) ⁴²⁾. Svoju úlohu



Obr. 1. Niektoré efektorové molekuly baktérií a hostiteľského organizmu s potenciálnymi probiotickými účinkami (podľa ⁴⁵⁾).

IL-10 – interleukín 10; DC-SIGN – dendric cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing non-intergrin

zohráva aj adhézia baktériových buniek na intestinálny epitel. V genetických štúdiách sa preukázala prítomnosť viacerých proteínov bunkového povrchu, ktoré sú asociované s intestinálnymi bunkami a s funkciami viažucimi sa s mukózou. Takto boli identifikované viaceré adhezívne faktory v *L. acidophilus* ⁴³⁾. Taktiež bol v *L. plantarum* identifikovaný špecifický manózový adhézin ⁴⁴⁾. Niektoré enteropatogény sa viažu na epitelové bunky cez špecifický manózový adhézin. To znamená, že probiotické kmene s podobnými adhezívnymi vlastnosťami sú schopné inhibovať adhéziu a kolonizáciu čreva patogénnymi a ochrániť hostiteľský organizmus pred infekciou (obr. 1) ⁴⁵⁾.

Iným mechanizmom účinku laktobacilov v čreve je znižovanie pH prostredia, a tým zabránenie rastu patogénnych organizmov. Kyslé prostredie je dôsledkom produkcie laktátu. Tento mechanizmus sa pokladá za nešpecifický. Laktobacily sú tiež známe produkciou špecifických antibakteriálnych substancií, tzv. bakteriocínov. Pôvodne boli bakteriocíny definované ako proteínové zložky, ktoré zabíjajú príbuzné bakté-

rie ⁴⁶⁾. Aj keď väčšina bakteriocínov je proteínovej povahy, dnes je evidentné, že bakteriocíny môžu mať aj inú formu ⁴⁷⁾. *L. reuteri* LA6 produkuje reutericín 6, bakteriocín peptidovej povahy, s lytickým účinkom voči kmeňom *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* JCM 1002^T a *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* NIAI B6 ⁴⁸⁾. U *L. reuteri* bola zaznamenaná tvorba 3-hydroxypropionaldehydu (reuterínu), ktorý okrem využitia v probiotických prípravkoch, má aj priemyselné využitie pri príprave chemikálií, napríklad plastov alebo kyseliny akrylovej ⁴⁹⁾. Reuterín vzniká dehydratáciou a redukciou glycerolu.

ZÁVER

Laktobacily ako baktérie mliečného kvasenia majú využitie nielen v potravinárstve, ale aj vo veterinárnej a ľudskej medicíne. Produkujú substancie s pozitívnym vplyvom na hositeľský organizmus a nešpecifickými a špecifickými mechanizmami bránia kolonizácii patogénov a svojou nepatogenitou a tým, že sú prirodzenými kolonizátormi ľudskeho čreva a pošvy, sú vhodnými adeptami pre použitie ako probiotiká. Využitím metód molekulárnej biológie sa zjednodušuje a urýchľuje proces identifikácie a charakterizácie izolovaných kmeňov, to vysvetľuje aj rozšírenie sortimentu probiotík v ostatnom čase. Svoje využitie našli probiotiká nielen v perorálnych formách, ale aj ako vaginálne preparáty určené na obnovu prirodzenej mikróflóry po antimykotickej a antibakteriálnej terapii.

LITERATÚRA

- Ouweland, A. C., Salminen, S., Isolauri, E.:** *Antonie Leeuwenhoek*, 2002; 82, 279–289.
- Salminen, S., Isolauri, E., Salminen, E.:** *Antonie Leeuwenhoek*, 1996; 70, 347–358.
- Gismondo, M. R., Drago, L., Lombardi, A.:** *Int. J. Antimicrob. Agents*, 1999; 12, 287–292.
- www.who.int/entity/foodsafety/publications/fs_management/probiotics2/en, 15. 3. 2007.
- www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf, 9. 3. 2007.
- www.bacterio.cict.fr/index.html, 18. 12. 2007.
- Heilig, H. G. H. J., Zoetendal, E. G., Vaughan, E. E. et al.:** *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002; 68, 114–123.
- Wilson, K. H., Blichington, R. B.:** *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996; 62, 2273–2273.
- Claesson, M. J., Li, Y., Leathy, S. et al.:** *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2006; 107, 6718–6723.
- Anukam, K. C., Osazuwa, E. O., Ahonkhai, I., Reid, G.:** *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2006; 22, 1055–1060.
- Kleerebezem, M., Boekhorst, J., van Kranenburg, R. et al.:** *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2003; 100, 1990–1995.
- Tannock, G. W., Tilsala-Timisjarvi, A., Rodtong, S. et al.:** *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999; 65, 4264–4267.
- Oneca, M., Irigoyen, A., Ortigosa, M., Torre, P.:** *FEMS Microbiol. Lett.*, 2003; 227, 271–277.
- Sánchez, I., Seseña, S., Poveda, J. M. et al.:** *Int. J. Food Microbiol.*, 2006; 107, 265–273.
- van de Guchte, M., Penaud, S., Grimaldi, C. et al.:** *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2006; 103, 9274–9279.
- Spano, G., Beneduce, L., de Palma, L. et al.:** *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2006; 22, 769–773.
- Pridemore, R. D., Berger, B., Desiere, F. et al.:** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101, 2512–2517.
- Beneduce, L., Spano, G., Vernile, A. et al.:** *Basic Microbiol.*, 2004; 44, 10–16.
- Bourdineaud, J. P., Nehme, N., Tesse, S., Lonvaud-Funel, A.:** *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003; 69, 2512–2520.
- Aymerich, T., Martin, B., Garriga, M., Hugas, M.:** *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003; 69, 4583–4594.
- Balows, A. et al.:** *The prokaryotes*. 2. vyd. New York, Springer, 1992. s. 1564.
- Maldonado, A., Ruiz-Barba, J.L., Jiménez-Díaz, R.:** *Arch. Microbiol.*, 2004; 181, 8–16.
- Holzappel, W. H., Haberer, P., Geisen, R. et al.:** *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001; 73, 365S–373S.
- Quere, F., Deschamps, A., Urdaci, M. C.:** *J. Appl. Microbiol.*, 1997; 82, 783–790.
- Colins, M. D., Rodrigues, U., Ash, C. et al.:** *FEMS Microbiol. Lett.*, 1991; 77, 5–12.
- Berthier, F., Ehrlich, S. D.:** *FEMS Microbiol. Lett.*, 1998; 161, 97–106.
- Martius, G., Breckwoldt, M., Pfleiderer, A.:** *Gynekologie a porodnictví*. Martin, Osveta, 1997, s. 22, 427.
- Holzappel, W. H., Haberer, P., Snel, J. et al.:** *Int. J. Food Microbiol.*, 1998; 41, 85–101.
- Simon, G. L., Gorbach, S. L.:** *Med. Clin. North Am.*, 1982; 66, 557–574.
- Kaila, M., Isolauri, E., Soppi, E. et al.:** *Ped. Res.*, 1992; 32, 141–144.
- Isolauri, E., Kaila, M., Arvola, T. et al.:** *Ped. Res.*, 1993; 33, 1605–1610.
- Surawitz, C. M., Elmer, G. W., Spleeman, P. et al.:** *Gastroenterol.*, 1989; 96, 981–988.
- Goldin, B. R., Gorbach, S. L.:** *Am. J. Clin. Nutr.*, 1984; 39, 756–761.
- Biffi, A., Coradini, D., Larsen, R. et al.:** *Nutr. Canc.*, 1997; 28, 93–99.
- Hirayama, K., Rafter, J.:** *Antonie Leeuwenhoek*, 1999; 76, 391–394.
- van Houte, J.:** *J. Dent. Res.*, 1994; 73, 672–681.
- Hanhn, C. L., Falkler Jr., W. A., Minah, G. E.:** *Arch. Oral Biol.*, 1991; 36, 147–153.
- Hoshino, E., Ando, N., Sato, M., Kota, K.:** *Int. Endod. J.*, 1992; 25, 2–5.
- Cannon, J. P., Lee, T. A., Bolanos, J. T., Danziger, L. H.:** *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2005; 24, 31–40.
- Christensen, H. R., Frokiaer, H., Pestka, J. J.:** *J. Immunol.*, 2002; 168, 171–178.
- Hart, A. L., Lammers, K., Brigidi, P. et al.:** *Gut*, 2004; 53, 1602–1609.
- Smits, H. H., Engering, A., van der Kleij, D. et al.:** *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005; 115, 1260–1267.
- Buck, B. L., Altermann, E., Svingerud, T., Klaenhammer, T. R.:** *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005; 71, 8344–8351.
- Pretzer, G., Snel, J., Molenaar, D. et al.:** *J. Bacteriol.*, 2005; 187, 6128–6136.
- Marco, M. L., Pavan, S., Kleerebezem, M.:** *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2006; 17, 204–210.
- Tagg, J. R., Dajani, A. S., Wannamaker, I. W.:** *Microbiol. Rev.*, 1976; 40, 722–756.
- Klaenhammer, T. R.:** *FEMS Microbiol. Rev.*, 1993; 12, 39–86.
- Kabuki, T., Saito, T., Kawai, Y. et al.:** *Int. J. Food Microbiol.*, 1997; 34, 145–156.
- Hall, R. H., Stern, E. S.:** *J. Chem. Soc.*, 1950; 490–498.