

NUTRICE, PROBIOTIKA A IMUNITNÍ SYSTÉM

II. ČÁST: NUTRICE, PŘIROZENÁ SLIZNIČNÍ MIKROFLÓRA A INDIVIDUÁLNÍ IMUNITNÍ REAKTIVITA

prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc., Mgr. Manuela Kudlová, Mgr. Martina Koláčková, MUDr. Jakub Novosad

Ústav klinické imunologie a alergologie, LF UK a FN Hradec Králové

Zásadní pro nastavení individuální imunitní reaktivity je interakce slizničního imunitního systému trávicí trubice s vnějšími podněty představovanými střevní mikroflórou a složkami potravy. Střevní mikroflóra, tzv. mikrobiom, je strukturované mikrobiální společenství, na jehož vytvoření se pozitivně podílí kojení. Deregulace mikrobiomu vede k abnormitám slizniční i systémové imunity s možným rozvojem imunopatologií. Střevní mikrobiom je pozitivně modulován prebiotiky a probiotickými mikroorganismy. Výsledkem může být pozitivní ovlivnění abnormální imunologické reaktivity u dětí se zvýšeným rizikem rozvoje alergie zprostředkované IgE protilátkami.

Klíčová slova: slizniční imunita, mikrobiom, prebiotika, probiotika, alergie.

NUTRITION, PROBIOTICS, AND IMMUNE SYSTEM

The interaction between mucosal immune system of gut and gut microflora together with components of food is the key point for the development of individual immune reactivity. Gut microflora, so called microbiome is highly regulated microbial society which development is positively regulated by breast feeding. Dereglulation of gut microbiome is followed by the failure of both mucosal and systemic immunity regulations leading to the development of immunopathology. Gut microbiome is positively modulated by prebiotics and probiotics. It is possible to influence positively the development of IgE mediated allergies by the administration of probiotics prenatally and during early postnatal period of life.

Key words: mucosal imunity, microbiome, prebiotics, probiotics, allergy.

Pediatr. pro Praxi, 2007; 3: 156–162

Osídlovací vzory sliznice trávicího traktu

Lymfoidní systém spojený se sliznicemi (MALT, Mucosa Associated Lymphoid Tissue) je nepochybně svým rozsahem i funkcí nejvýznamnějším sekundárním orgánem imunitního systému. Sliznice představují strategické rozhraní mezi vnějším světem a vnitřním prostředím člověka. Expozice rozmanitým podnětům vnějšího světa na sliznicích je extrémní. S ohledem na intenzitu i pestrost podnětů na sliznicích musí být slizniční imunitní systém přesně regulován. Na sliznicích není možné reagovat na všechny podněty. Zde je obrana regulována tak, aby noxy vnějšího světa byly odstraňovány z povrchu, či jinak eliminovány ještě předtím, než budou stimulovat slizniční imunitu. K tomu je slizniční systém optimálně vybaven. Slizniční imunitní systém je regulován tak, aby na většinu podnětů, které nepředstavují jednoznačné signály nebezpečí, byla indukována tolerance. Na druhou stranu stimulace slizniční imunity má za důsledek ovlivnění centrálních mechanismů imunity. Z tohoto pohledu je role slizničního imunitního systému mimořádně důležitá zvláště pro rozvoj individuální imunitní reaktivity (5).

Klíčové pro její optimální nastavení je období těsně po narození. Trávicí trubice embrya je sterilní. K jeho kolonizaci dochází bezprostředně po porodu. Střevní mikroflóra prodělavá v tomto období rychlé proměny. První kolonizační vlnu představují především fekální mikroorganismy z rodu *Enterobacter*, *Streptococcus* a *Staphylococcus*. Původ mají v mateřské vaginální a fekální bakteriální flóře. Zástupci uvedených bakteriálních rodů jsou schopni spotřebovávat kyslík, a vytvářejí tak vhodné prostředí pro další vlnu mikroorganismů, jež kolonizuje zdravé dítě, které je kojeno, zhruba po týdnu po narození. Druhou kolonizační vlnu představují především bakterie z rodu *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. Počáteční kolonizace má mimořádný význam nejenom pro rozvoj slizniční imunity, ale bakterie modulují biologickou aktivitu epitelových buněk.

Další klíčové období pro vývoj slizniční mikroflóry představuje odstavení kojence a přechod na pevnou stravu. Od tohoto období převládá striktně anaerobní mikroflóra. Pouze okolo 3 % střevní mikroflóry dospělého člověka jsou aerobní bakterie nebo fakultativně anaerobní bakterie. Mikroflóra střeva dospělého člověka je tvořena zhruba 40 dominantními mikrobiálními druhy. Jsou zde rozdíly ve složení mikrobiální flóry nejenom v závislosti na anatomické lokalizaci, ale rozdíly lze nalézt i v rámci určité lokalizace. Jsou odlišnosti v mikroflóře, která je v kontaktu se střevní sliznicí, v porovnání s mikroorganismy, které se nacházejí ve střevním lumen. Střevní mikroflóra dospělého člověka zahrnuje zhruba 10^{14} mikroorganismů, jejichž celková hmotnost je odhadována na více než

1 kg. Na základě genových identifikací je prokázáno, že střevní mikroflóru představuje zhruba 500–1 000 mikrobiálních druhů. Je v ní možné odlišit tzv. autochtonní komponentu, která přetrvává v určitém úseku střeva. Jiné druhy mikroorganismů pouze procházejí trávicí trubici a jejich přítomnost je proměnlivá (tzv. alochtonní složka). V tlustém střevě je koncentrace mikroorganismů největší. Vytvářejí zde doslova anaerobní bioreaktor, který umožňuje rozklad nestrávených a někdy také pro člověka nestravitelných složek potravy. Zajišťují biosyntézu mikronutrientů včetně vitaminů a tvoří také esenciální mastné kyseliny s krátkým řetězcem. Tento biofermentor zajišťuje pro člověka okolo 10 % veškeré energie. Vzájemně výhodný vztah mezi hostitelem a mikroorganismy je označován jako komenzalizmus. Kromě výhod vyplývajících z aspektů výživy poskytují mikroorganismy nezbytné stimuly pro postnatální maturaci trávicí trubice a samozřejmě také zásadně ovlivňují slizniční imunitní systém (7).

V současnosti je definován nový termín mikrobiom, který je označován jako suma genů všech mikrobiálních druhů, které kolonizují střevo. Mikrobiom zahrnuje odhadem stokrát více genů, než má náš vlastní genom. Zajišťuje člověku využití pro něj nedostupných živin. Potlačuje kolonizaci a růst potenciálně patogenních mikroorganismů. Bakterie v trávicím traktu jsou schopny mezi sebou komunikovat. Využívají k tomu tzv. quorum sensing látky podobné hormonům – autoinducery. Signální systém quorum sensing umožňuje bakteriím koordinovaně regulovat expresi svých genů. Tím jsou schopny synchronizovat svoje chování a chovat se v mnoha ohledech jako mnohobuněčný organizmus. Je pravděpodobné, že signální systém quorum sensing je schopen jisté míry komunikace i s epitelovými buňkami hostitele. Přítomnost některých bakterií hostitele totiž stimuluje tvorbu složitých fukosylovaných cukrů epitelovými buňkami, které jsou využívány bakteriemi jako zdroj energie. Experimenty na bezmikrobních zvířatech bylo prokázáno, že mikrobiální kolonizace je nutná pro vyzrávání střevní sliznice, angiogenezi a vytvoření pevných slizničních bariér. Přibývají údaje, že komenzální bakterie ovlivňují i genovou expresi mimo slizniční struktury. Například je možné nalézt vztah mezi určitými osídlovacími vzory GIT a abnormálním ukládáním tuků vedoucím k obezitě.

Střevní mikroflóra určuje kvantitativní i kvalitativní parametry slizniční imunity. Je možné rozlišit tři úrovně vztahů mezi mikroorganismy a sliznicí. Uvnitř střevního lumen dochází k vzájemným interakcím mikroorganismů. Přítomnost fyziologické mikroflóry omezuje schopnost patogenních mikroorganismů adherovat na epitelové struktury. Prostřednictvím potravní kompetice a tvorbou bakteriocinů přirozená mikroflóra potlačuje rozvoj patogenní mikroflóry. Samotné epite-

lové buňky jsou schopny identifikovat nebezpečné mikrobiální vzory pomocí svých receptorů PRR (Pattern Recognition Receptors). Aktivované epitelové buňky jsou vydatným zdrojem cytokinů, které ovlivňují jak intraepitelové lymfocyty, tak buňky imunitního systému nacházející se v lamina propria. Specializované M buňky umožňují prostup podnětů do lamina propria. Významnou složkou slizniční imunity jsou dendritické buňky. Dendritické buňky, které se nacházejí v lamina propria, jsou schopny pronikat svými výběžky mezi epitelové buňky do střevního lumen. Zde jakoby vzorkují mikrobiální podněty a prezentují je potom specifické imunitě. Je pravděpodobné, že takovýto kontakt s fyziologickou mikroflórou vede k indukci regulačních T lymfocytů, které tvorbou cytokinů s protizánětlivým působením (IL-10) optimalizují slizniční odpověď a indukují slizniční toleranci (12).

Opakovaná expozice sliznic antigenním podnětům nevede obvykle k zesílení slizniční odpovědi, ale naopak k utlumení imunitní reakce. Tento fenomén tzv. indukce slizniční tolerance je mimořádně komplexní a my se budeme věnovat pouze jednomu dílčímu mechanismu, jakým je indukován a udržován. Konkrétně půjde o úlohu subsetu regulačních T lymfocytů (Treg). Tato populace je heterogenní množinou buněk, pro které je společná schopnost tlumit antigenem stimulovanou imunitní reakci tvorbou regulačních cytokinů, především IL-10 a TGFβ. Vývoj T lymfocytů subsetu Treg závisí na interakci s antigenem prezentujícími buňkami. Naivní T lymfocyt, tj. T lymfocyt, který se ještě nesetkal s antigenem, může účinně stimulovat pouze antigenní podnět, který byl prezentován dendritickými buňkami. Jiné typy antigen prezentujících buněk, např. makrofágy, tyto naivní T lymfocyty schopny stimulovat nejsou. Jsou schopny stimulovat pouze paměťové T lymfocyty, které se již s daným podnětem v minulosti setkaly. Typ a úroveň maturace dendritických buněk určuje, jaká populace T lymfocytů nakonec po antigenní stimulaci vznikne. Zralé dendritické buňky, které byly aktivovány prozánětlivými signály, indukují vyzrávání T lymfocytů do subsetu TH1 nebo do subsetu TH2 T lymfocytů. Nezralé dendritické buňky, v nepřítomnosti prozánětlivých podnětů, indukují vyzrávání regulačních subsetů T lymfocytů. Podobně jako T lymfocyty je možné i dendritické buňky členit do odlišných regulačních subsetů DC1, DC2 a DCR. Tyto subsety stimulují odlišné subsety T lymfocytů.

Expozice antigenům na střevní sliznici vede k rozvoji antigen specifické imunologické tolerance (orální tolerance). Je jednoznačně určována subsetem Treg T lymfocytů. Ze studií na bezmikrobních zvířatech je zřetelně doloženo, že orální tolerance nemůže být indukována v bezmikrobních zvířatech. Její indukce vyžaduje osídlení střeva normálními mikrobioty.

V uplynulých zhruba 10 letech, v souvislosti s tzv. hygienickou hypotézou vzniku a rozvoje alergického zánětu, byly publikovány výsledky studií, které porovnávají kvalitatívni a kvantitativní složení střevní mikrobiální flóry mezi zdravými dětmi a dětmi trpícími alergickými nemocemi zprostředkovanými IgE. Bylo opakovaně prokázáno, že alergické děti v ní mají nižší zastoupení bakterií rodu *Bifidobacterium* a *Enterococcus*. Naopak, jsou u nich ve zvýšené míře zastoupeny bakterie z rodu *Clostridium* a *Staphylococcus*. Zásadní negativní vliv na střevní mikrobiota má aplikace antibiotik. Antibiotika podaná v časném období života jsou schopna eliminovat větší část střevních mikrobiot a nepřímo snížit kolonizační rezistenci v trávicím traktu. Kolonizační rezistence je schopnost obligátně anaerobních mikroorganismů inhibovat růst potenciálně škodlivých exogenních i endogenních mikroorganismů. Dobrým příkladem je ovlivnění růstu *Candida albicans* normálními mikrobioty. Ty jsou schopny inhibovat růst kvasinek tvorbou metabolitů, např. mastných kyselin s krátkým řetězcem. Na paměti je třeba mít skutečnost, že negativní důsledky použití antibiotik na střevní mikroflóru přetrvávají i měsíce po ukončení léčby. Jasně doložené závislosti mezi aplikací antibiotik dětem v časných údobích vývoje a rozvoje alergických nemocí jsou bohatě

dokumentovány. Lze z nich implikovat, že právě narušení přirozené mikroflóry je důvodem pro ztrátu fyziologických regulací imunitní soustavy, která se nakonec manifestuje jako imunopatologická reakce (1).

Jak tedy ovlivnit střevní mikrobiota člověka, zvláště v časných údobích vývoje? Jak již bylo řečeno, pro optimální rozvoj střevních mikrobiot má zásadní úlohu kojení. Mateřské mléko je totiž mimořádně bohatým zdrojem látek s tzv. prebiotickými vlastnostmi. Prebiotika jsou definována jako nestravitelné složky potravy, které nepřímo pozitivně působí na hostitele tím, že selektivně stimulují růst a aktivitu přirozené střevní mikroflóry člověka. Látky s prebiotickými vlastnostmi jsou již v současnosti součástí tzv. funkčních potravin a jsou přidávány i do některých mléčných preparátů používaných jako náhražka mateřského mléka. Takto používány jsou oligosacharidy, např. inulin, galaktooligosacharidy, maltooligosacharidy. Tyto látky nemohou být tráveny člověkem, ale jsou fermentovány střevními bakteriemi, které jsou pro to vybaveny patřičnými enzymy (11).

Definovat zdravý prospěšné mikroorganismy, které jsou přijímány v potravě, je obtížnější. Od roku 1965, kdy byl poprvé použit termín probiotika, došlo již k několika revizím definice. Podle expertů Evrop-

ské unie je probiotikum definováno jako preparát nebo produkt, který obsahuje živé přesně definované mikroorganismy v dostatečném množství. Tyto mikroorganismy pozitivně ovlivňují mikroflóru hostitele a mají pozitivní účinky na zdraví člověka (11). Mikroorganismy považované za probiotické lze rozdělit do dvou skupin. První skupina zahrnuje bakterie mléčného kvašení. Jedná se o heterogenní skupinu gram pozitivních bakterií, jejichž metabolismem vzniká kyselina mléčná. Jde o bakteriální druhy ze tří rodů; *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* a *Lactococcus*. O dalších rodech této skupiny (např. *Enterococcus*, *Streptococcus*) nebudeme přinášet žádné informace. Podstatné je, že ve skupině bakterií mléčného kvašení jsou zahrnuty ty bakteriální druhy, které jsou obecně považovány za bezpečné. Jejich aplikace tedy nepředstavuje pro člověka žádné riziko. Do druhé skupiny jsou zařazovány probiotické organismy, které představují nepatogenní izoláty, např. *Escherichia coli*, *Clostridium butyricum* nebo kvasinku *Saccharomyces boulardii*, tj. mikrobiálních rodů, které zahrnují i potenciálně patogenní kmeny (3).

Bakterie rodu *Bifidobacterium* kolonizují trávicí trubici a představují dominantní bakteriální populaci. U kojených dětí tvoří více než 95 % kultivovatelných

střevních bakterií. U dospělých jejich podíl klesá na zhruba 25%. V současnosti je definováno 38 bakteriálních druhů v rámci rodu *Bifidobacterium*. Z nich 6 je využíváno pro své probiotické vlastnosti. Jejich podání je bezpečné jak u imunokompetentních osob, tak u osob s imunodeficiencí.

Bakterie rodu *Lactobacillus* se ve svém výskytu neomezují pouze na střevní trakt, jako je tomu v případě bifidobakterií. Vyskytují se i ve volné přírodě a jsou častou součástí potravy. U člověka jsou dominantní populací v proximálním tenkém střevě. Největšího množství dosahují v terminálním ileu. Bylo popsáno již okolo 128 druhů rodu *Lactobacillus*. Z nich pouze několik je využíváno pro své probiotické vlastnosti. Opět jsou považovány za bezpečné s výjimkou *Lactobacillus rhamnosus*, jehož aplikace u imunokompromitovaných osob je diskutabilní.

Posledním rodem bakterií mléčného kvašení, používaným pro své probiotické vlastnosti, je rod *Lactococcus*. Laktokoky jsou grampozitivní bakterie, které se vyskytují v přírodě. Jsou často používány v produkci sýrů. *Lactococcus lactis* kolonizuje jako jeden z prvních střeva novorozence. Tvoří vitamín K a potentní bakteriociny.

Kombinací látek s prebiotickými vlastnostmi a probiotických mikroorganismů vznikají tzv. symbiotika. O těchto kombinacích je zatím pouze velmi málo konkrétních vědeckých údajů, ale je již prokázáno, že působí pozitivně např. na průběh poškozuující zánětové reakce u nemocných s ulcerózní kolitidou. Z některých studií vyplývá, že symbiotika by měla mít výraznější efekty než samostatně podaná prebiotika či probiotika.

Rovněž neuzavřenou zůstává otázka, zda je vhodnější používat jediný bakteriální druh jako probiotikum, nebo lépe kombinovat více probiotických druhů. Ukazuje se, že vhodné kombinace probiotických mikroorganismů vykazují lepší efekt než aplikace jednoho probioticky působícího druhu.

Klinické aplikace probiotik

Použití probiotik prokazatelně snižuje výskyt a dobu některých průjemových onemocnění. Zvláště zřetelné je to v případech průjmů způsobených rotaviry. Nepřímé důkazy existují i pro pozitivní ovlivnění průjmů bakteriálního původu, zvláště průjmů provázejících terapii antibiotiky a průjemových onemocnění cestovatelů. Probiotika podle některých studií pozitivně ovlivňují i průběh nekrotizující enterokolitidy u nedonošených dětí.

Mimořádná pozornost byla věnována pozitivnímu účinku podání probiotických mikroorganismů těhotným ženám a poté také kojencům. Takovéto podání *Lactobacillus rhamnosus* GG vedlo k redukci IgE zprostředkovaných alergických nemocí u dětí. Zcela recentně bylo ve velké studii prokázáno, že

kombinace tří probiotických druhů *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis* a *Lactococcus lactis* (tzv. Ecologic Panda) prenatálně podaných matkám dětí s vysokým rizikem rozvoje atopické dermatitidy, potravních alergií a alergické rinitidy nebo astmatu s následnou aplikací těchto probiotik po dobu 12 měsíců jejich dětem významně snižovala výskyt atopické dermatitidy (10).

V in vitro pokusech bylo prokázáno, že vybrané kmeny probiotických mikroorganismů jsou schopny stimulovat produkci IL-10 především v populaci monocytů. Interleukin-10 vykazuje významné imunoregulační charakteristiky a má obecně protizánětlivé působení. V uvedené práci tlumil tvorbu cytokinů subsetem TH2T lymfocytů (2, 6). Tento subset je klíčový v rozvoji alergického zánětu. Bylo prokázáno, že podání probiotik zvyšuje dvojnásobně koncentraci TGFβ (Transforming Growth Factor β) v mateřském mléce. Pozitivní výsledky podání probiotik nebyly potvrzeny jinými studiemi. Např. se nepodařilo ovlivnit průběh alergie na pyl břízy podáním probiotik. Zatím lze shrnout, že u dospělých jedinců s jasně vyjádřenými klinickými projevy atopické dermatitidy nepřináší probiotická terapie žádoucí klinický efekt. Naproti tomu výsledky několika studií především z Finska a Holandska jasně ukazují, že podání probiotik prenatálně matkám u dětí s vysokým rizikem rozvoje tohoto typu imunopatologie a následná aplikace probiotik po narození přináší klinický efekt, který se udržuje i v pozdějším věku dítěte. Údaje jsou zatím dostupné do věku 4 let (4, 8).

Do individuální imunitní reaktivity, která je charakterizována nastavením imunoregulačních subsetů TH1 a TH2T lymfocytů, zasahuje negativně také snížená expozice mikrobiálním podnětům, které vyzrávající imunitní systém vyžaduje pro svoje diferenciální kroky. Paradoxně zásadní pozitivní změny, ke kterým došlo v posledních desetiletích při zpracování potravy, které nepochybně vedly k dramatickému snížení morbidit a mortality na alimentární nákazy, vedou velmi pravděpodobně k abnormálním procesům při nastavení individuální imunitní reaktivity. Průmyslově vyráběné

potraviny jsou v průběhu celého výrobního procesu „debacilovány“. Člověk je při expozici takto připravené potravě zbaven expozice živým mikroorganismům. I to má nepochybně negativní vliv na rozvoj individuální imunitní reaktivity. Ta je negativně ovlivněna i vysokou úrovní sanitace, která je pro moderní život typická. V životním pracovním prostředí jsou eliminovány mikrobiální podněty. Naopak, člověk je masivně vystaven abnormálním podnětům či abnormálním kombinacím podnětů životního prostředí, které mohou vést k poruchám v nastavení individuální imunitní reaktivity. V neposlední řadě je individuální imunitní reaktivita negativně ovlivňována nadužíváním antibakteriálních látek, kterým je člověk exponován buď léčebně, nebo jsou přijímány jako rezidua v potravě (9). Vliv na rozvoj individuální imunitní reaktivity mají nepochybně i postupy aktivní imunizace. Je bez jakékoliv diskuse, že v současné době nemáme jiný efektivní a laciný způsob, jak chránit lidskou populaci před důsledky nebezpečných infekcí bakteriálního či virového původu. Je však nezbytné konstatovat, že aktivní imunizace představuje nepřírozený podnět pro imunitní systém, kterému je vystaven v nepřírodních kombinacích a v nepřírodné dynamice. Výsledkem všech uvedených faktorů a jistě nesčetného množství dalších podnětů, kterým je moderní člověk vystaven, jsou abnormity v individuální imunitní reaktivitě, které mohou být základem pro vznik a rozvoj imunopatologických onemocnění. Z epidemiologických údajů je zřetelné, že v lidské populaci zásadní měrou přibývá onemocnění, které mají charakteristiky alergií zprostředkovaných protilátkami IgE. Přibývá ale i orgánově zaměřených imunopatologií, např. diabetes mellitus I. typu. Kojení, aplikace látek s prebiotickými vlastnostmi a probiotických mikroorganismů by mohly pozitivně ovlivnit nežádoucí trend v prevalenci imunopatologických nemocí v populaci.

prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.

Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice, Sokolská tř. 581, 500 05 Hradec Králové
e-mail: krejsek@fnhk.cz

Literatura

1. Baker BS. The role of microorganisms in atopic dermatitis. Clin Exp Immunol, 2006; 144: 1–9.
2. Dunstan JA, Hale J, Breckler L, et al. Atopic dermatitis in young children is associated with impaired interleukin-10 and interferon-γ responses to allergens, vaccines and colonizing skin and gut bacteria. Clin Exp Allergy, 2005; 35: 1309–1317.
3. Furrie E. Probiotics and allergy. Proc Nutrition Soc, 2005; 64: 465–469.
4. Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T et al. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. Lancet 2003; 361: 1869–1871.
5. Kudsk KA. Current aspects of mucosal immunology and its influence by nutrition. Am J Surgery, 2002; 183: 390–398.
6. Niers LEM, Timmerman HM, Rijkers GT et al. Identification of strong interleukin-10 inducing lactic acid bacteria which down-regulate T helper type 2 cytokines. Clin Exp Allergy, 2005; 35: 1481–1489.
7. Noverr MC, Huffnagle GB. The „microflora hypothesis“ of allergic diseases. Clin Exp Allergy, 2005; 35: 1511–1520.
8. Rosenfeldt V, Benfeldt E, Nielsen SD et al. Effect of probiotic *Lactobacillus* strains in children with atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol 2003; 111: 389–395.
9. Russell ARB, Murch SH. Could peripartum antibiotics have delayed health consequences for the infant? BJOG, 2006; 113: 758–765.
10. Salvatore S, Keymolen K, Hauser B, Vandenplas Y. Intervention during pregnancy and allergic disease in the offspring. Pediatr Allergy Immunol, 2005; 16: 558–566.
11. Senok AC, Ismaeel AY, Botta GA. Probiotics: facts and myths. Clin Microbiol Infect, 2005; 11: 958–966.
12. Schmidt-Weber CB, Blaser K. New insights into the mechanisms of allergen-specific immunotherapy. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2005; 5: 525–530.