

PRODUKTY PROBIOTÍK AKO BIOLOGICKY AKTÍVNE LÁTKY

MONIKA FEDOROVÁ^a, MARIÁN PROKEŠ^b,
JURAJ PISTL^c a RADOMÍRA NEMCOVÁ^c

^a Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie, ^b Katedra epizootológie a parazitológie, ^c Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
marian.prokes@uvlf.sk

Došlo 8.1.19, prijaté 30.5.19

Kľúčové slová: bakteriocín, biosurfaktant, vitamín K, exopolysacharid, probiotické baktérie

Obsah

1. Úvod
2. Bakteriocíny
3. Biosurfaktanty
4. Vitamín K
5. Exopolysacharidy
6. Záver

1. Úvod

Využitie špecifických vlastností mikroorganizmov nazývaných prospešné baktérie – probiotiká – je dlho známe. Prostredníctvom potravín, doplnkov stravy alebo liekov, môžu mať pozitívny vplyv na celkový zdravotný stav a pohodu hostiteľa – človeka alebo zvieru. Probiotiká sú definované Svetovou zdravotníckou organizáciou ako „živé mikroorganizmy, ktoré ak sú podávané v primeranom množstve, poskytujú zdravotné výhody hostiteľovi“^{1–3}. Probiotiká sa svojimi biologickými vlastnosťami a produktmi podieľajú na optimálnom fungovaní orgánových systémov a tvoria prirodzenú bariéru pred pomnožením nežiaducich mikroorganizmov.

Probiotické baktérie sú mimoriadne bohaté na tvorbu rôznych biologicky aktívnych látok, z ktorých sa v súčasnosti venuje popredná pozornosť najmä bakteriocínom, biosurfaktantom, vitamínu K2 a exopolysacharidom, najmä pre ich významné mnohostranné účinky na ľudský či zvierací organizmus. Pričom biologicky aktívne látky sú zlúčeniny, ktoré majú schopnosť interagovať s jednou alebo viacerými zložkami živého tkaniva, so širokým spektrom možných účinkov⁴. Okrem vyššie spomínaných látok majú aj organické kyseliny, oxid uhličitý, etanol, peroxid vodíka, diacetyl a ďalšie látky schopnosť inhibo-

vať rast a metabolickú aktivitu technologicky a zdravotne nežiaducej mikroflóry⁵.

2. Bakteriocíny

Baktériami ribozomálne syntetizované antimikrobiálne látky sú tradične známe ako bakteriocíny⁶. Klasifikácia bakteriocínov Gram-pozitívnych baktérií je komplikovaná, dlhodobo diskutovaná medzi odborníkmi s rôznymi nezhodami, existuje však všeobecný konsenzus pre dve hlavné skupiny bakteriocínov: (a) lantibiotiká (trieda I), posttranslačne modifikované bakteriocíny (charakteristické prítomnosťou posttranslačne modifikovaných neobvyklých aminokyselín, ako sú napríklad dehydroaminokyseliny dehydroalanín a dehydrobutyrín a tioéterové aminokyseliny (lantionín a 3-metyllantionín)) a (b) nonlantibiotiká (trieda II), nemodifikované bakteriocíny, ktoré sa ďalej delia do 4 podtried^{7–9}. Mnohí autori navrhujú a uznávajú doplnenie samostatnej skupiny bakteriocínov (trieda III) zahrňujúcej cyklické peptidy/proteíny s lytickou aktivitou, tzv. bakteriolyzíny^{9–13}.

Okrem toho, v deväťdesiatych rokoch nastal značný rozmach v štúdiu bakteriocínov produkovaných niektorými zástupcami rodu *Enterococcus*, čo viedlo ku klasifikácii samotných enterocínov, teda bakteriocínov produkovaných zväčša enterokokmi. Probiotické baktérie alebo ich bakteriocíny (enterocíny) majú sľubný profylaktický či aditívny potenciál v chove zvierat, napr. u koní¹⁴ alebo psov¹⁵.

Názov lantibiotiká je odvodený od „antibiotiká obsahujúce lantionín“ (*lanthionine and/or methyl-lanthionine containing antibiotics*). Sú syntetizované v ribozómoch ako neaktívne prekursor, ktoré podliehajú enzýmami sprostredkovaným, posttranslačným modifikáciám (výsledkom je kruh lantionín a/alebo 3-metyllantionín), pričom vznikajú ich biologicky aktívne formy. Charakteristické tioéterové aminokyseliny sú zavedené do prekursorových peptidov pomocou enzýmov sprostredkujúcich posttranslačné modifikácie¹³. Výsledné kruhové štruktúry prispievajú k zvýšeniu odolnosti voči proteolýze či k zvýšenej tolerancii voči oxidačným podmienkam¹⁶. Vzhľadom na ich komplikované štruktúry je chemická syntéza týchto biomolekúl ekonomicky náročná, a preto sa biologická výroba javí ako jediná reálna alternatíva⁶.

Lantibiotiká ako rozmanité triedy antimikrobiálnych peptidov produkovaných rôznymi baktériami, vykazujú široké spektrum aktivity. Bolo identifikovaných viac ako sto lantibiotík (lantipeptidov), pričom niektoré vykazovali na nanomolárnej úrovni silnú antimikrobiálnu aktivitu proti nozokomiálnym patogénom, ako je meticilín-rezistentný *Staphylococcus aureus*, vankomycín-

rezistentné enterokoky a oxacilín-rezistentné Gram-pozitívne baktérie. Dôležité je, že významný vývoj rezistencie nebol pozorovaný u najlepšie preštudovaného lantibiotika nizínu¹⁷. Nizín ako najžiadanejšie a komerčne využívané lantibiotikum vykazuje vysokú účinnosť proti mnohým patogénom. Avšak niektoré klinicky relevantné baktérie môžu exprimovať vysoko špecifické membránovo asociované proteíny nízkej rezistencie¹⁸. Nizín a ďalšie lantibiotiká majú potenciál viesť k vývoju nových derivátov pre terapeutické použitie (oblasť bioinžinierstva). Nizín sa môže vyskytovať v niektorých syroch prirodzene ako výsledok fermentačného procesu, v potravinárskom priemysle sa môže používať ako konzervačná látka E234.

Lantibiotiká sú klasifikované na typ-A a typ-B. Typ-A (lineárne peptidy) sa delí na základe štruktúry do podtypov typ-A (I) (napr. nizín) a typ-A (II) (napr. nukacín ISK-1). Lantibiotiká typ-A sú všeobecne podlhovasté amfifilné látky. Lantibiotiká typ-B sú naopak konformačne definované peptidy s globulárnou 3D štruktúrou (napr. mersacidín a actagardín). Tretí typ, dvojzložkové (dvojpeptidové) lantibiotiká (napr. lakticín 3147), obsahujú dva štruktúrne odlišné peptidy pôsobiace synergicky pri ničení cieľových baktérií¹⁹.

Lantibiotiká pôsobia proti Gram-pozitívnym baktériám, a to viacerými mechanizmami účinkov: Lantibiotiká typ-A (I) a dvojzložkové lantibiotiká najprv interagujú s lipidom II (hlavný transportér peptidoglykánových podjednotiek z cytoplazmy do bunkovej steny) a vzniká stabilný komplex, ktorý následne vedie k inhibícii biosyntézy bunkovej steny a k tvorbe pórov v nej. Lantibiotiká typ-A (II) a typ-B sa tiež viažu s lipidom II a inhibujú biosyntézu bunkovej steny, ale bez tvorby pórov¹⁹.

Antimikrobiálna aktivita lantibiotík voči multirezistentným patogénom, ich stabilita voči proteázam, teplu a oxidácii robí tieto látky zaujímavými kandidátmi pre nové antimikrobiálne aplikácie v oblastiach zdravotníctva a súvisiacich odvetviach. Vzhľadom na nedávny vývoj a skutočnosť, že niekoľko lantibiotík je v súčasnej dobe v predklinických a klinických štúdiách, predpokladá sa, že bioinžinierstvo lantibiotík by mohlo prispieť k riešeniu antibiotickej rezistencie naprieč širokému spektru bakteriálnych patogénov. Rôzne modifikácie lantibiotík otvárajú totiž možnosť generovať vylepšené lantibiotikové peptidy. Okrem aplikácie ako alternatíva klasických antibiotík možno lantibiotiká použiť aj ako profylaktiká či aditíva¹³. Gallidermín a lakticín 3147 pôsobia proti akné spôsobujúcim baktériám *Propionibacterium acnes* a je možné ich použitie ako prísad v kozmetických prípravkoch a prípravkoch osobnej starostlivosti²⁰. Bola popísaná vhodná aplikácia gallidermínu (jeho inkorporáciou do kĺbu) ako profylaktika proti biofilmovým infekciám spôsobeným *Staphylococcus epidermidis* a súvisiacich s implantáciou protetikého kĺbu²¹. Lakticín 3147 a mutacíny pôsobia antimikrobiálne na rôzne kariogénne kmene *Streptococcus mutans*, diskutuje sa preto o ich pridávaní do zubných prípravkov. Bolí vyvinuté žuvačky a pastilky obsahujúce kmeň *Streptococcus salivarius*, ktorý produkuje salivariín, a sú určené na profylaxiu zubného kazu, paradentózy

a infekcie ústnej dutiny^{13,22}. Pokiaľ ide o veterinárne aplikácie, napríklad lakticín 3147 bol úspešne použitý na prevenciu/liečbu mastitídy u hovädzieho dobytku^{22,23}. U pacientov s cystickou fibrózou neprítomnosť alebo dysfunkcia transmembránového regulátora chloridového kanála vedie k zníženiu transportu chloridových iónov v respiračných epitelových bunkách. Duramycín v prípravku Moli 1901 stimuluje alternatívny chloridový kanál a môže tak kompenzovať nedostatok regulátora v epiteli dýchacích ciest pacientov s cystickou fibrózou²⁴. Viacerí autori sa zaoberali cytotoxickým efektom nizínu na rôzne humánne nádorové bunky^{25–27}.

Bakteriocíny môžu byť použité samostatne alebo v kombinácii s inými antimikrobiálnymi látkami (inhibítormi *quorum sensing*, enzýmami odbúravajúcimi biofilm a inými) na inhibíciu tvorby biofilmu a/alebo eradikáciu existujúcich biofilmov²⁸. Dôležitú súčasť biofilmu tvoria aj bunky obklopujúce matrice obsahujúce vodu, extracelulárnu DNA, proteíny a polysacharidy. Komponenty matrice uľahčujú kolonizáciu povrchov v kontakte s potravinami alebo tkanivami^{29,30}.

Perales-Adan a spol.³¹ vo svojom experimente preukázali synergický účinok dvoch testovaných bakteriocínov (AS-48 a nizínu) produkovaných baktériami mliečného kvasenia na kontrolu stafylokokov, vrátane kmeňov rezistentných voči antibiotikám.

3. Biosurfaktanty

Biosurfaktanty (BS) môžeme definovať ako povrchovo aktívne biomolekuly so širokým spektrom aplikácií, produkované mikroorganizmami³². Môžu byť produkované baktériami buď extracelulárne alebo ako súčasť bunkovej membrány³³. Sú to amfifilné molekuly, ktoré obsahujú hydrofilnú a hydrofóbnu časť a môžu byť použité ako emulgátory, ale aj ako demulgačné činidlá, zmáčadlá, penotvorné činidlá, roztieracie činidlá, funkčné zložky potravín a detergenty. Schopnosť BS znižovať medzifázové povrchové napätie spôsobila, že zohrávajú dôležitú úlohu pri obnove ropy a v bioremediácii³². Vlastnosti BS sú žiaduce v rôznych priemyselných odvetviach ako petrochemický priemysel, baníctvo, hutníctvo, poľnohospodárstvo, kozmetický, farmaceutický a potravinársky priemysel, či oblasť nanotechnológií³⁴. Produkcia biosurfaktantov je považovaná za jednu z kľúčových technológií pre rozvoj v 21. storočí. Jej význam spočíva najmä v riešení globálnych problémov. BS je možné pre ich biologickú rozložiteľnosť a nízku toxicitu využiť ako obnoviteľné zdroje energie. Santos a spol.³⁵ biosurfaktanty označili ako multifunkčné biomolekuly 21. storočia.

Väčšina v súčasnosti vyrábaných surfaktantov je chemicky odvodených z ropy. Tieto syntetické povrchovo aktívne činidlá sú všeobecne toxické a ťažko sa rozkladajú pôsobením mikroorganizmov, preto je snaha o vývoj a zavedenie surfaktantov šetrnejších k životnému prostrediu, čo sa dá dosiahnuť napr. mikrobiálnou produkciou (viď vyššie spomínané biosurfaktanty). Medzi výhody BS

patria štruktúrna rôznorodosť, povrchová aktivita, nízka toxicita, účinnosť pri extrémnych podmienkach (pH, teplota), relatívne ľahká príprava, výroba zahŕňajúca obnoviteľné zdroje, vyššia biodegradovateľnosť, emulgačná a demulgačná schopnosť a antimikrobiálna aktivita^{32,34}.

Biosurfaktanty sú všeobecne kategorizované podľa ich mikrobiálneho pôvodu a chemického zloženia. Delia sa do dvoch základných skupín a) glykolipidy a b) lipopeptidy a lipoproteíny. Zo skupiny lipopeptidov je známy surfaktín (produkovaný *Lactococcus lactis*), fengycín (produkovaný *Bacillus subtilis*) a lichenyzín (produkovaný *Bacillus licheniformis*). Biosurfaktanty môžeme rozdeliť aj na základe molekulovej hmotnosti na nízkomolekulárne BS (napr. glykolipidy, lipopeptidy a fosfolipidy) a BS s vysokou molekulovou hmotnosťou (napr. lipoproteíny, lipopolysacharidy a komplexné biopolyméry). Boli popísané mnohé probiotické baktérie produkujúce BS, ako napríklad: *Lactobacillus helveticus* (xylolipidy), *Lactobacillus delbrueckii* (glykolipidy), *Lactobacillus pentosus* (glykolipidy), *Lactococcus lactis* (xylolipidy a glykoproteíny), *Streptococcus thermophilus* (glykolipidy), *Enterococcus faecium* (glykolipidy), *Lactobacillus casei* (glykolipidy) a iné (cit.³⁶). Lipopeptidy môžu byť používané v rôznych oblastiach ako potravinársky a kozmetický priemysel pre svoje emulzifikačné/deemulzifikačné, penivé, zvlhčovacie a dispergačné vlastnosti. Niektoré glykolipidové biosurfaktanty (napr. sophorolipidy, rhamnolipidy) sú používané v kozmetike. Možnosť aplikácie biosurfaktantov v biomedicíne sa za posledné desaťročie zvýšila. Kvôli svojim vlastnostiam (biologický pôvod, biologická odbúrateľnosť, nízka toxicita) sú považované za vhodnejšie ako chemické, povrchovo aktívne látky³⁷. Okrem toho ich schopnosť tvoriť póry a destabilizovať biologické membrány umožňuje ich použitie ako antimikrobiálne, hemolytické, protivírusové, protinádorové a insekticídne látky^{32,38,39}.

Mnohé BS získané z laktobacilových kmeňov sa vyznačujú antiadhezívnymi/antibiofilmovými vlastnosťami voči multirezistentným patogénnym mikroorganizmom⁴⁰. BS môžu zmeniť fyzikálne a chemické podmienky prostredia, kde sa vyvíjajú biofilmy a sú považované za silné antiadhezívne látky, pretože inhibujú príľnavosť širokého spektra patogénov na povrchy biomateriálu a epiteliálnych buniek. Biosurfaktant izolovaný z *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* PTCC 1896 zabraňoval adhézii patogénov *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*, pri použití bakteriálnej suspenzie na mikrotitračnej platničke v pokuse *in vitro* (cit.³⁴). Biosurfaktant získaný z *Lactococcus lactis* 53 inhiboval adhéziu rôznych patogénov na silikónové rúrky a redukoval populácie patogénnych mikroorganizmov na hlasových protézach^{41,42}. BS získané z probiotických baktérií mliečného kvasenia (najmä *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus* spp.) antagonizovali rast rôznych patogénov ako *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* (cit.^{37,43}). Napríklad biosurfaktant produkovaný *Lactococcus lactis* (xylolipid), izolovaný z fermentovaného mliečného prípravku, vykazoval významnú antibakteriálnu

aktivitu voči klinickým patogénom⁴⁴. Merghni a spol.⁴⁵ potvrdili antioxidálny a antiproliferatívny potenciál biosurfaktantov izolovaných z *Lactobacillus casei* a rovnako ich antiadhezívne a antibiofilmové vlastnosti voči orálnym oportúnnym kmeňom *Staphylococcus aureus*. Biosurfaktanty produkované probiotikami majú potenciál na použitie ako antibiofilmové činidlá v biomedicínskej oblasti (antibiofilmové biologické nátery pre medicínske zariadenia na znižovanie nozokomiálnych patogénov) a v potravinárskej oblasti³⁷.

4. Vitamín K

Existujú dva typy prirodzene sa vyskytujúceho vitamínu K: vitamín K1 (fylochinón/fytomenadión) a vitamín K2 (menachinón) (cit.⁴⁶). Obe formy majú spoločné 2-metyl-1,4-naftochinónové jadro (menadión, vitamín K3), líšia sa štruktúrou v postrannom reťazci. Menachinón môže obsahovať bočné reťazce rôznej dĺžky (4–13 isoprenových jednotiek), preto je označovaný ako MK-n, kde „n“ označuje počet isoprenoidových zvyškov^{47,48}.

Vitamín K1 je tvorený hlavne v rastlinách⁴⁹, kým vitamín K2 je produkovaný predovšetkým mikroorganizmami, tzv. bakteriálnou syntézou^{48,50,51}. Prirodzené vitamíny K sú nerozpustné vo vode a v tele sa absorbujú iba za prítomnosti žlče. Koncentrácia fylochinónu v zvieracích tkanivách je pozoruhodne nízka v porovnaní s menachinónom (najmä MK-4) (cit.⁵²).

Baktériami produkované menachinóny (MK) sú biologicky aktívne formy vitamínu K, ktoré sú prítomné v ľudskom čreve, pečeni a plazme⁵¹. Je pozoruhodné, že baktérie nesyntetizujú MK-4. MK-4 je produkovaný ľuďmi a zvieratami tkanivovo špecifickou premenou fylochinónu a/alebo menadiónu⁵². V procese fermentácie druhom *Bacillus* vzniká napríklad MK-7 a teda môže byť získaný z potravinárskych výrobkov ako je syr, mäso a fermentované sóje, ale jeho koncentrácia je veľmi nízka. Ukázalo sa, že MK-7 môže hrať dôležitú úlohu pri znižovaní rizika zlomenín kostí⁵³ ako aj pri špecifických kardiovaskulárnych poruchách⁵⁴. Zvýšená produkcia vitamínu K2 bola dosiahnutá u *Bacillus subtilis natto* mutáciou a optimalizáciou fermentácie. Získaný kmeň bol pomenovaný ako BN-2-6 (cit.⁴⁶). Zvýšenú produkciu vitamínu K2 potvrdzuje aj patent u bakteriálneho kmeňa *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (cit.⁵⁵). Produkcia menachinónov baktériami mliečného kvasenia bola potvrdená aj u kmeňa *Leuconostoc lactis* YIT 3001 (cit.⁵⁶). U väčšiny druhov v rámci rodu *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* a *Streptococcus* bežne používaných v procese kvasenia alebo pridávaných do potravín ako probiotiká, nie je známe, či produkujú menachinóny⁴⁸.

5. Exopolysacharidy

Exopolysacharidy (EPS) sú mikrobiálne polysacharidy produkované prokaryotami (eubaktérie a *Archaeobacte-*

ria) aj eukaryotami (fytoplanktón, huby a riasy) (cit.⁵⁷) a uvoľňované do extracelulárneho prostredia, vo forme kapsúl alebo biofilmu⁵⁸. EPS predstavujú až 90 % celkového organického uhlíku v biofilme a tvoria hlavnú časť matrixu biofilmu. Líšia sa u jednotlivých mikroorganizmov v chemických a fyzikálnych vlastnostiach⁵⁹.

Exopolysacharidy môžu byť vylučované z bunky do prostredia alebo viazané k stene bunky, pripojené k bunkovému povrchu. Delia sa do dvoch skupín na homo- a hetero-EPS. Homo-EPS sú tvorené z jedného typu monosacharidu, ako napríklad dextrans alebo leván, kým hetero-EPS sú zložené z rôznych typov monosacharidov^{58,64,65}.

Baktérie mliečneho kvasenia produkujú EPS, napríklad *Leuconostoc mesenteroides* vylučuje dextrans, ktorý je komerčne využívaný⁶⁰. Medzi popisované úlohy EPS patrí napríklad ochrana bakteriálnych povrchov, pri interakciách s inými bakteriálnymi povrchmi slúžia ako substrát či lepidlá, ako ochranné bariéry proti vonkajšiemu prostrediu, ako látky pre bakteriálne agregácie v rhizosfére, ako stavebné stabilizátory v biofilme, či ako signálne molekuly⁶¹. Niektoré bakteriálne polyméry sú využívané ako aditíva v potravinárskom priemysle (xantán, gellán a curdlán) (cit.^{58,62,63}).

Exopolysacharidy našli využitie okrem potravinárskeho priemyslu aj vo farmaceutickom priemysle, resp. v iných priemyselných odvetviach⁵⁷.

Približne 30 druhov laktobacilov je opísaných ako producenti EPS. Medzi nimi sú najznámejšie *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. curvatus*, *L. delbrueckii bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. johnsonii*, atď. (cit.⁶¹).

Zvýšený záujem sa v súčasnosti orientuje na produkty prospešných (probiotických) baktérií, ktoré sú schopné rozrušovať, prípadne eradikovať biofilmy patogénnych baktérií s perspektívou použitia vo farmaceutickom a potravinárskom priemysle ako alternatíva antibiotík. Medzi takéto produkty s antibiofilmovou aktivitou patria EPS. Významné sú aj ich imunostimulačné a ďalšie zdravie prospešné účinky, či možné využitie pre zlepšenie vybraných vlastností fermentovaných potravín^{66–68}.

6. Záver

Probiotiká sa svojimi biologickými vlastnosťami a produktmi podieľajú na optimálnom fungovaní orgánových systémov a tvoria prirodzenú bariéru pred pomnožením nežiaducich mikroorganizmov. Probiotické baktérie tvoria biologicky aktívne látky ako bakteriocíny, biosurfaktanty, vitamín K2 a exopolysacharidy. Inhibícia rastu a metabolickej aktivity technologicky a zdravotne nežiaducej mikroflóry, antimikrobiálne a antiadhezívne vlastnosti či antibiofilmová aktivita týchto látok naznačujú široké spektrum ich využitia v rôznych oblastiach medicíny, priemyslu a potravinárstva.

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-15-0377

a na základe Zmluvy č. APVV-16-0203 a projektom VEGA 1/0081/17.

LITERATÚRA

1. FAO/WHO: Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, London, Canada (2002). http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf, stiahnuté 3. 1. 2019.
2. Rakická M., Marko A., Šturdík E., Danihelová M., Mošovská S., Juríková L.: Chem. Listy 109, 371 (2015).
3. Liptáková D., Petruľáková M., Pelikánová J., Valík L., Krištúfková K.: Chem. Listy 110, 149 (2016).
4. Guaadaoui A., Benaicha S., Elmajdoubi N., Bellaoui M., Hamal A.: Int. J. Nutr. Food. Sci. 3, 174 (2014).
5. Mančušková T., Medveďová A., Valík L.: Chem. Listy 110, 179 (2016).
6. Ongey E. L., Neubauer P.: Microb. Cell Fact. 15, 97 (2016).
7. Lahtinen S., Ouwehand A. C., Salminen S., von Wright A. (ed.): *Lactic acid bacteria, microbiological and functional aspects*, 4. vyd. CRC Press, Boca Raton 2011.
8. Hassan M., Kjos M., Nes I. F., Diep D. B., Lotfipour F.: J. Appl. Microbiol. 113, 723 (2012).
9. Nissen-Meyer J., Oppegård C., Rogne P., Haugen H. S., Kristiansen P. E.: Probiotics Antimicrob. Proteins 2, 52 (2010).
10. Pag U., Sahl H. G.: Curr. Pharm. Des. 8, 815 (2002).
11. Willey J. M., van der Donk W. A.: Annu. Rev. Microbiol. 61, 477 (2007).
12. Malik D. K., Bhatia D., Nimbriya A., Kumar S.: J. Pharm. Res. 5, 2510 (2012).
13. Dischinger J., Chipalu S. B., Bierbaum G.: Int. J. Med. Microbiol. 304, 51 (2014).
14. Lauková A. a 10 spoluautorů: Probiotics Antimicrob. Proteins 10, 420 (2018).
15. Kubašová I., Lauková A., Hamarová L., Pristaš P., Stropfiová V.: Folia Microbiol. 64, 177 (2019).
16. Sass P., Jansen A., Szekat C., Sass V., Sahl H. G., Bierbaum G.: BMC Microbiol. 8, 186 (2008).
17. Oman T. J., van der Donk W. A.: ACS Chem. Biol. 4, 865 (2009).
18. Field D., Blake T., Mathur H., O' Connor P. M., Cotter P. D., Paul Ross R., Hill C.: Mol. Microbiol. 111, 717 (2019).
19. Islam M. R., Nagao J., Zendo T., Sonomoto K.: Biochem. Soc. Trans. 40, 1528 (2012).
20. Lawton E. M., Ross R. P., Hill C., Cotter P. D.: Mini-Rev. Med. Chem. 7, 1236 (2007).
21. Sandiford S., Kay P., Upton M.: Bone Joint J., Orthopaedic Proceedings Supp_XXI, 94-B, 154 (2012).
22. Suda S., Cotter P. D., Hill C., Ross R. P.: Curr. Protein Pept. Sci. 13, 193 (2012).
23. Ryan M. P., Meaney W. J., Ross R. P., Hill C.: Appl. Environ. Microbiol. 64, 2287 (1998).

24. Grasmann H., Stehling F., Brunar H., Widmann R., Laliberte T. W., Molina L., Döring G., Ratjen F.: *Chest* 131, 1461 (2007).
25. Maher S., McClean S.: *Biochem. Pharmacol.* 71, 1289 (2006).
26. Begde D., Bundale S., Mashitha P., Rudra J., Nashikkar N., Upadhyay A.: *J. Pept. Sci.* 17, 438 (2011).
27. Paiva A. D., de Oliveira M. D., de Paula S. O., Baracat-Pereira M. C., Breukink E., Mantovani H. C.: *Microbiology* 158, 2851 (2012).
28. Mathur H., Field D., Rea M. C., Cotter P. D., Hill C., Ross R. P.: *NPJ Biofilms Microbiomes* 4, 9 (2018).
29. Fleming H. C., Neu T. R., Wozniak D. J.: *J. Bacteriol.* 189, 7945 (2007).
30. Boháčová M., Pazlarová J.: *Chem. Listy* 112, 215 (2018).
31. Perales-Adan J., Rubino S., Martinez-Bueno M., Valdivia E., Montalban-Lopez M., Cebrian R., Maqueda M.: *Front. Microbiol.* 9, 1143 (2018).
32. Vijayakumar S., Saravanan V.: *Res. J. Microbiol.* 10, 181 (2015).
33. Karlapudi A. P., Venkateswarulu T. C., Srirama K., Kota R. K., Mikkili I., Kodali V. P.: JK SUS, v tisku. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.04.007> (2018).
34. Bakhshi N., Soleimani-Zad S., Sheikh-Zeinoddin M.: *Enzyme Microb. Technol.* 101, 1 (2017).
35. Santos D. K. F., Rufino R. D., Luna J. M., Santos V. A., Sarubbo L. A.: *Int. J. Mol. Sci.* 17, 401 (2016).
36. Fariq A., Saeed A.: *Curr. Microbiol.* 72, 489 (2016).
37. Sharma D., Saharan B. S., Kapil S. (ed.): *Biosurfactants of Lactic Acid Bacteria*. Springer, Switzerland 2016.
38. Mnif I., Ghribi D.: *Biopolymers* 104, 129 (2015).
39. Mnif I., Ghribi D.: *J. Sci. Food Agric.* 96, 4310 (2016).
40. Sambanthamoorthy K., Feng X., Patel R., Patel S., Parnavitana C.: *BMC Microbiol.* 14, 197 (2014).
41. Rodrigues L., van der Mei H., Teixeira J. A., Oliveira R.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66, 306 (2004).
42. Rodrigues L., Banat I. M., Teixeira J., Oliveira R.: *J. Antimicrob. Chemother.* 57, 609 (2006).
43. Vandecastelaere I., Matthijs N., Van Nieuwerburgh F., Deforce D., Vosters P., De Bus L., Nelis H. J., Depuydt P., Coenye T.: *PLoS One* 7, e38401 (2012).
44. Saravanakumari P., Mani K.: *Bioresour. Technol.* 101, 8851 (2010).
45. Merghni A., Dallel I., Noumi E., Kadmi Y., Hentati H., Tobji S., Ben Amor A., Mastouri M.: *Microb. Pathog.* 104, 84 (2017).
46. Song J. Y., Liu H. X., Wang L., Dai J., Liu Y., Liu H., Zhao G., Wang P., Zheng Z.: *Braz. Arch. Biol. Technol.* 57, 606 (2014).
47. Vermeer C., Schurgers L. J.: *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 14, 339 (2000).
48. Walther B., Karl J. P., Booth S. L., Boyaval P.: *Adv. Nutr.* 4, 463 (2013).
49. Meurer J., Meierhoff K., Westhoff P.: *Planta* 198, 385 (1996).
50. Collins M. D., Jones D.: *Microbiol. Rev.* 45, 316 (1981).
51. Suttie J. W.: *Annu. Rev. Nutr.* 15, 399 (1995).
52. Okano T., Shimomura Y., Yamane M., Suhara Y., Kamao M., Sugiura M., Nakagawa K.: *J. Biol. Chem.* 283, 11270 (2008).
53. Schurgers L. J., Teunissen K. J. F., Hamulyak K., Knapen M. H. J., Vik H., Vermeer C.: *Blood* 109, 3279 (2007).
54. Gast G. C. M., de Roos N. M., Sluijs I., Bots M. L., Beulens J. W. J., Geleijnse J. M., Witteman J. C., Grobbee D. E., Peeters P. H., van der Schouw Y. T.: *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 19, 504 (2009).
55. Garrigues C., Pedersen M. B.: US 08765118 B2, 2014.
56. Morishita T., Tamura N., Makino T., Kudo S.: *J. Dairy Sci.* 82, 1897 (1999).
57. Kumar A. S., Mody K., Jha B.: *J. Basic Microbiol.* 47, 103 (2007).
58. Donot F., Fontana A., Baccou J. C., Schorr-Galindo S.: *Carbohydr. Polym.* 87, 951 (2012).
59. Kvasničková E., Paldrychová M., Mařátková O., Masák J.: *Chem. Listy* 110, 485 (2016).
60. Monsan P., Bozonnet S., Albenne C., Joucla G., Willemot R. M., Remaud-Siméon M.: *Int. Dairy J.* 11, 675 (2001).
61. Badel S., Bernardi T., Michaud P.: *Biotechnol. Adv.* 29, 54 (2011).
62. Sutherland I. W.: *Int. Dairy J.* 11, 663 (2001).
63. Sutherland I. W., v kniže: *Comprehensive Glycoscience* (Kamerling J. P., ed.), kapitola Bacterial exopolysaccharides, Elsevier, Oxford 2007.
64. Ganzle M. G., Schwab C.: *Probiotics and Prebiotics: Scientific Aspects*. Caister Academic Press, Dunedin 2005.
65. Kongo M. J. (ed.): *Lactic Acid Bacteria – R & D for Food, Health and Livestock Purposes*. InTech, Rijeka 2013.
66. Englerová K., Nemcová R., Mudroňová D.: *Folia Vet.* 61, 27 (2017).
67. Fedorová M., Prokeš M., Pistl J., Nemcová R.: *Chem. Listy* 112, 770 (2018).
68. Fedorová M., Nemcová R., Mudroňová D., Styková E., Brudňáková M., Reiffová K.: *Folia Vet.* 62, 24 (2018).

M. Fedorová^a, M. Prokeš^b, J. Pistl^c, and R. Nemcová^c
^aDepartment of Pharmacy and Social Pharmacy,
^bDepartment of Epizootiology and Parasitology,
^cDepartment of Microbiology and Immunology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Slovakia): **Probiotic Products as Biological Active Substances**

Probiotics and their products, due to their beneficial biological properties, participate in optimum functioning of organ systems and form a natural barrier against the

overgrowth of undesirable microorganisms. Probiotic bacteria produce biologically active substances, such as bacteriocins, biosurfactants, vitamin K2, and exopolysaccharides. Inhibition of growth and metabolic activity of technologically and medically undesirable microflora, antimicrobial and antiadhesive properties or antibiofilm activity of these substances represent a wide range of their application in medicine, industry and food industry.

Keywords: bacteriocin, biosurfactant, vitamin K2, exopolysaccharide, probiotic bacteria

Acknowledgements

This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under the contract No. APVV-15-0377 and under the contract No. APVV-16-0203 and the Slovak Scientific Grant Agency (VEGA) (Grant number: 1/0081/17).