

Probiotici: znanstvena činjenica ili pomodni trend?*

Jagoda Šušković, Blaženka Kos i Srećko Matošić

Revijalni prikaz - Review

UDK: 579.674

Sažetak

Još su prije sto godina znameniti Pasteur i Metchnikoff, na temelju znanstvenih istraživanja, upozorili na korisne učinke mikroorganizama, posebice bakterija mliječne kiseline, na zdravlje ljudi. Međutim, tek se zadnjih tridesetak godina ponovo znanstveno istražuje povezanost sastava crijevne mikroflore sa zdravljem ljudi. Istraživanju te povezanosti pridonijela su dva čimbenika:

1) otkriće da antibiotici potiču rast životinja, što je potaknulo istraživanja o načinu djelovanja antibiotika, pa tako i pokušaje definiranja sastava crijevne mikroflore i

2) unapređenje tehnike uzgoja životinja bez mikroorganizama (germ-free životinje) bez kojih se ne može istraživati utjecaj crijevne mikroflore na zdravlje ljudi.

Jedan od najuvjerljivijih pokazatelja uloge crijevne mikroflore u otpornosti prema bolesti, dali su 1978. godine znanstvenici Collins i Carter. Dokazali su, da se pokusnog kunića uzgojenog bez crijevne mikroflore (germ-free) može ubiti s 10 stanica patogene *Salmonella enteritidis*, ali da je potrebno 10^9 stanica te iste bakterije da bi se usmratio kunić s normalnom crijevnom mikroflorom. Te i druge znanstvene spoznaje bile su temelj i poticaj za znanstvena istraživanja u pronalaženju idealnog probiotičkog mikroorganizma koji bi obnovio ravnotežu crijevne mikroflore narušene zbog antibiotske terapije, stresa ili bilo koje druge bolesti.

Međutim, danas u vremenu alarmantnog stanja s antibiotskom rezistencijom i očekivanjima da naš obrambeni sustav neće biti sposoban uhvatiti se u koštac s letalnim patogenima koji su nam skoro na kućnom pragu, zacijelo je došlo vrijeme da najozbiljnije prihvatimo alternativu kao što su probiotici. Prema tome, probiotici kao znanstvena činjenica, postaju naša stvarnost i potreba te se ne bi moglo reći da su trenutna pomodnost.

Pretjerana uporaba antibiotika kao lijeka i stimulatora rasta životinja, u zadnjih pedeset godina, pokazala je sve veću neefikasnost antibiotika zbog pojačanog razvitka antibiotske rezistencije. Stoga se zadnjih godina intenzivno istraživala učinkovita zamjena za antibiotike, a bakterije mliječne kiseline koje se primjenjuju kao probiotici doista su to i postale.

*Rad je izložen na 33. hrvatskom simpoziju mljekarskih stručnjaka (plenarno predavanje), Lovran, 11.-13. studenoga, 1998.

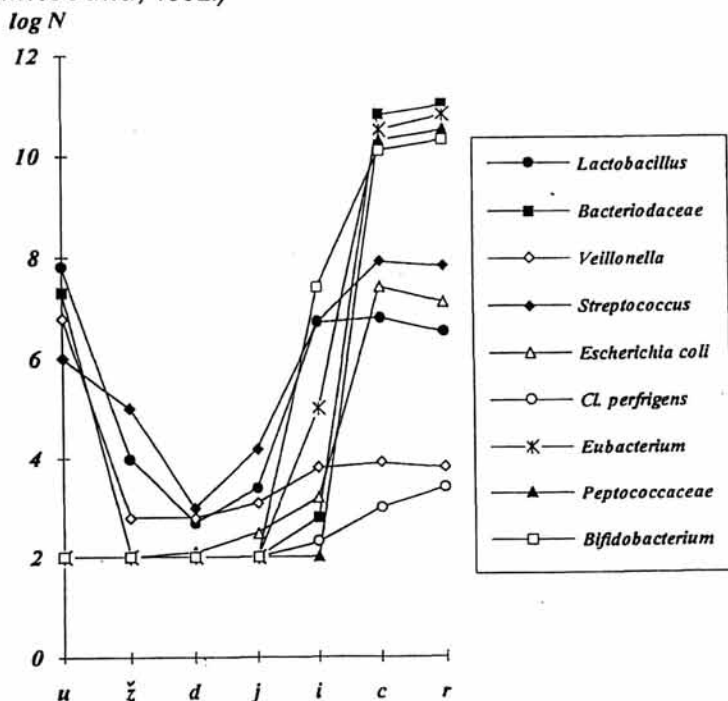
Mikroflora humanog probavnog sustava

Kada se govori o probioticima najčešće se misli na bakterije mliječne kiseline jer su one dio mikrobne populacije probavnog sustava zdravih ljudi i životinja i uključene su u njihov metabolizam.

Na slici 1. prikazani su udjeli pojedinih vrsta mikroorganizama u različitim područjima probavnog sustava. Usna šupljina udomaćuje kompleksnu mikrobnu zajednicu čiji se broj kreće od 10^4 - 10^8 /mL sline. Želudac zdravih osoba je sterilan ili sadrži manje od 10^6 mikroorganizama/mL sadržaja. Progutane bakterije ili bivaju usmrćene slobodnom kloridnom kiselinom želučanog soka ili brzo prođu tankim crijevom gdje je peristaltika od primarne važnosti u nadzoru raspodjele bakterija. Koncentracija bakterija uvijek je niža na početku tankog crijeva i značajno se povećava do krajnjeg dijela tankog crijeva - ileuma gdje se broj bakterija kreće od 10^5 - 10^9 /mL sadržaja, pa je njegova populacija slična onoj u debelom crijevu, a broj se kreće između 10^4 - 10^{11} jer su u značajnom udjelu i različiti rodovi bakterija mliječne kiseline: *Lactobacillus*, *Streptococcus* i *Bifidobacterium*.

Slika 1: Mikroflora različitih područja probavnog trakta zdravih osoba (Mitsouka, 1992.) - u - usna šupljina; ž - želudac; d - dvanaesnik; j - jejunum; i - ileum; c - cekum; r - rektum

Fig. 1: Microflora of different gastrointestinal tract regions of healthy persons (Mitsouka, 1992.)

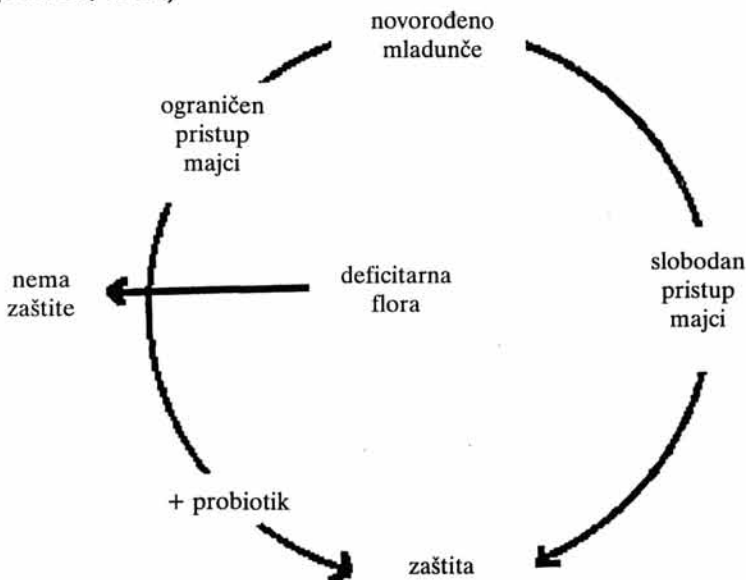


Uzroci induciranih promjena crijevne mikroflore i definicija probiotika

Crijevna mikroflora ima zaštitnu ulogu u probavnom sustavu ljudi i životinja jer sprečava naseljavanje nepoželjnih mikroorganizama. Uporište ovoj spoznaji su brojna istraživanja provedena na novorođenoj mladunčadi koja u prvim danima života nema uspostavljenu crijevnu floru i znatno je podložnija crijevnim infekcijama od onih koji imaju cjelovitu crijevnu floru. Još 1989. godine Fuller je to zgodno prikazao (slika 2.). Kao što se vidi na slici 2., probiotici su potrebni zbog uspostave cjelovite crijevne flore. Riječ probiotik prvi put je upotrijebljena 1965. godine (Lilly i Stillwell, 1965.) i tijekom godina je poprimala različita značenja, pa današnja definicija glasi ovako: "Probiotik je jedna ili više kultura živih stanica mikroorganizama koje, primjenjene u ljudi ili životinja djeluju korisno na domaćina poboljšavajući svojstva autohtone mikroflore probavnog sustava domaćina" (Havenaar i Huis in't Veld, 1992.).

Slika 2: Uloga probiotika u obnavljanju zaštitnog djelovanja crijevne mikroflore (Fuller, 1989.)

Fig. 2: Role of probiotics in restoration of protective activity of intestinal microflora (Fuller, 1989.)



Iako je u zdravih osoba sastav crijevne mikroflore najčešće stabilan, do njenog poremećaja može doći pod utjecajem različitih endogenih i egzogenih čimbenika (tablica 1).

Tablica 1: Uzroci poremećaja crijevne mikroflore (Lidbeck i Nord, 1994.)

Table 1: Factors of colonic microflora disturbance (Lidbeck and Nord, 1994.)

EGZOGENI	ENDOGENI
antibiotička terapija	probavljivost hranjivih tvari
pretjerana higijena	vrsta hrane
stres	pH
starenje	redoks potencijal
putovanja	dijareja
peristaltički poremećaj	bakterijski antagonizam
operacijski zahvat	bakterijska kooperativnost
bolesti bubrega i jetre	mucin*
radijacijska terapija	
kemoterapija	
oboljenje imuno sustava	

* Mucin je vrlo važna supstancija koju producira crijevni epitel, a po kemijskom sastavu je visoko sulfatizirani polisaharid koji stvara zaštitni gel na sluznici crijeva zaštićujući ju od naseljavanja patogenim mikroorganizmima.

Način djelovanja probiotika

Mehanizam, odnosno način probiotičkog djelovanja bakterija mliječne kiseline, može biti izražen kroz tri glavna aspekta: A) Inhibicijom rasta nepoželjnih mikroorganizama, B) Modifikacijom metabolizamskih procesa u probavnom sustavu i C) Stimulacijom imuno sustava domaćina.

A. Inhibicija rasta nepoželjnih mikroorganizama.

a) antimikrobno djelovanje

Bakterije mliječne kiseline koje se primjenjuju kao probiotici mogu djelovati antagonistički zbog:

- sniženja pH vrijednosti uslijed nakupljanja organskih kiselina, kao što su mliječna i octena kiselina. To su lipofilne organske kiseline koje u nedisociranom obliku mogu prodrijeti u mikrobnu stanicu i interferirati s osnovnim metabolizmom te sniziti intracelularni pH (Kashket, 1987.).

- bakterije mliječne kiseline mogu proizvesti H_2O_2 koji uzrokuje oksidaciju SH-grupa u vitalnim metabolizamskim enzimima: heksokinaza, aldolaza i gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza (Bjorck, 1985.).

- antimikrobno djelovanje može biti zbog diacetila, koji nastaje u prisutnosti organskih kiselina, a one se preko piruvata konvertiraju u diacetil. Njegovo inhibicijsko djelovanje je naročito izraženo prema gram-negativnim bakterijama (Jay i sur., 1983.).

• proizvodnja specifičnih mikrobnih supstancija - bakteriocina dodatna je osobina bakterija mliječne kiseline koja povećava kapacitet njihovog antimikrobnog djelovanja. U posljednjih nekoliko godina porastao je interes za istraživanjem načina biosinteze i izolacije bakteriocina. Do danas ih je veliki broj identificiran (tablica 2). Bakteriocini su ekstracelularne supstancije proteinske prirode koji djeluju prema sojevima iste ili srodne vrste. Ispočetka se mislilo da se bakteriocini sintetiziraju na multienzimskom kompleksu kao i polipeptidni antibiotici. Međutim, ustanovilo se ipak da biosinteza ide na ribosomu kao i uobičajena sinteza proteina, a zatim se taj veći protein posttranslacijski modificira, pomoću specifičnih enzima, u biološki aktivni bakteriocin. Sposobnost probiotičkog soja da proizvodi bakteriocine daje mu ekološku prednost pred drugim bakterijama u natjecanju za mjesta vezanja na crijevnom epitelu probavnog sustava (Klaenhammer, 1993., Aktypis, 1998., Yildirim i Johnson, 1998.).

b) natjecanje za hranjive tvari

Budući da se probavni sustav ponaša kao kontinuirani reaktor, populacijski kontrolni mehanizmi su u skladu s teorijom kemostata. Osnovni koncept teorije kemostata je da se bakterije u mješovitoj kulturi natječu za nužne hranjive tvari. Istraživanja su pokazala da je natjecanje za iskoristive ugljikohidrate temeljno važno za regulaciju bakterijske populacije u probavnom sustavu (Wilson, 1986.).

c) natjecanje za mjesta vezanja u probavnom sustavu

Sposobnost vezanja na crijevni epitel važna je osobina probiotičkih sojeva. Neke bakterije mliječne kiseline imaju sposobnost koagregacije i na taj način istisnu druge nepoželjne bakterije u probavnom sustavu, dok neki probiotički sojevi proizvode adhezine, proteine koji se specifično vežu za receptore na crijevnom epitelu (Perez i sur., 1998.).

B. Modifikacija metaboličkih procesa u probavnom traktu

a) povećanjem aktivnosti nekih enzima

Unošenjem probiotičkog mikroorganizma u organizam sisavaca dolazi do modifikacije enzimskih reakcija u probavnom sustavu. Osobama koje ne podnose laktozu, poželjno je unošenjem probiotičkog pripravka ili probiotičkog soja povećati razinu β -galaktozidaze, te tako nadomjestiti nisku fiziološku razinu tog enzima (Rowland, 1992.).

b) smanjenjem aktivnosti enzima koji sudjeluju u kancerogenim procesima

Druga vrsta aktivnosti probiotičkih sojeva je u tome da spriječe rast nekih nepoželjnih sudionika mikrobne populacije probavnog sustava koji su odgovorni za biosintezu enzima: β -glikozidaza, β -glukuronidaza, nitroreduktaza, azoreduktaza i steroid- 7α -dehidroksilaza, jer ti enzimi potiču nastajanje kancerogenih procesa u probavnom sustavu (Marteau i Rambaud, 1993.).

Tablica 2: Antimikrobna svojstva bakteriocina bakterija mliječne kiseline (Cogan i Hill, 1993.)

Table 2: Antimicrobial properties of lactic acid bacteria bacteriocins (Cogan and Hill, 1993.)

Mikroorganizam producent	Bakteriocin	Osjetljive bakterije	Rezistentne bakterije
<i>Lactobacillus acidophilus</i> N2	Laktacin B	Termofilni laktobacili	Mezofilni laktobacili, <i>Clostridium</i> sp., <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Ps. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Lactococcus</i> sp., <i>Ec. faecalis</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 11088	Laktacin F	Termofilni laktobacili, <i>Enterococcus</i> sp.	Isto kao gore
<i>Lactobacillus helveticus</i> 27	Laktocin 27	Termofilni laktobacili	-
<i>Lactobacillus helveticus</i> 481	Helveticin J	Termofilni laktobacili	Mezofilni laktobacili
<i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>lactis</i>	Nisin	<i>Lactococcus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Listeria</i>	-
<i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>lactis</i> biov. <i>diacetylactis</i> S50	Bakteriocin S50	Druge vrste iz roda <i>Lactococcus</i>	<i>Lactobacillus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i>
<i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>cremoris</i> LMG2130	Laktokokin A	Druge vrste iz roda <i>Lactococcus</i>	Gram-negativne bakterije
<i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>cremoris</i> 346	Diplokokin	Druge vrste iz roda <i>Lactococcus</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobacterium</i>
<i>Pediococcus acidilactici</i> H	Pediacin Ach	<i>L. plantarum</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Cl. perfringens</i> , <i>Listeria</i> , <i>Pseudomonas</i>	<i>Salmonella</i> , <i>E.coli</i> , <i>Yersinia</i>

C. Stimulacija imuno sustava domaćina

a) povećanjem razine protutijela

Povećanje koncentracije protutijela koje uzrokuju stanice probiotičkog mikroorganizma preko humoralnog (krv, limfa) i celularnog imuno-sustava crijevne sluznice prenosi imuno-odgovor na druga mjesta prekrivena sluznicom, a to su respiratorni i urogenitalni sustav.

b) povećanjem makrofagne aktivnosti

Translokacija stanica probiotičkog mikroorganizma, iz probavnog sustava u limfne čvorove crijevne opne i druge organe, otežava translokaciju patogenih mikroorganizama (Havenaar i Spanhaak, 1994.).

Izbor sojeva za probiotičku uporabu

Uz sve navedene probiotičke aktivnosti bakterija mliječne kiseline, pri izboru sojeva za probiotičku primjenu moraju biti zadovoljeni sljedeći zahtjevi:

- a) trebaju preživljavati u uvjetima okoline gdje je potrebna njihova aktivnost
- b) da se razmnožavaju i naseljavaju mjesto gdje su aktivni
- c) da ne izazivaju imuno reakciju
- d) da nisu patogeni ni toksični, da ne izazivaju alergiju, te da nisu mutageni ili kancerogeni sami po sebi, kao ni njihovi fermentirani proizvodi ili stanične komponente nakon smrti stanice
- e) da su genetički stabilni (nema prijenosa plazmida)
- f) da se brzo i lako razmnožavaju
- g) tijekom pripreme i čuvanja trebaju imati visok stupanj preživljavanja (Havenaar i sur., 1992.).

Potencijalni probiotički sojevi: L. acidophilus M92 i L. plantarum L4

U okviru naših istraživanja, napravljeni su eksperimenti koji su dio izbornog probiotičkog kriterija za preživljavanje u uvjetima probavnog sustava, a u tablici 3. sažeto su iznijeti rezultati po glavnim skupinama eksperimenata koji ukazuju na probiotički potencijal ovih dvaju sojeva bakterija mliječne kiseline. U tim istraživanjima korišteno je nekoliko sojeva bakterija mliječne kiseline: *Lactobacillus acidophilus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4, *Lactobacillus plantarum* Z88, *Lactobacillus* sp. J91 i *Enterococcus faecium* L3. Za testiranje probiotičke, odnosno, antimikrobne aktivnosti korišteni su sporogeni, enteropatogeni i fungalni test-mikroorganizmi: *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* 3048, *Staphylococcus aureus* K-144, *Salmonella mumm*, *Escherichia coli*, *Candida pseudotropicalis* i *Candida tropicalis*.

Tablica 3: Probiotička svojstva sojeva bakterija *Lactobacillus acidophilus* M92 i *Lactobacillus plantarum* L4 na temelju "in vitro" eksperimenata koji simuliraju uvjete u probavnom sustavu (Šušković, 1996., Šušković i sur., 1997a., 1997b.)

Table 3: Probiotic properties of bacterial strains *Lactobacillus acidophilus* M92 and *Lactobacillus plantarum* L4 on the base of "in vitro" experiments simulating gastrointestinal tract conditions (Šušković, 1996., Šušković et al., 1997a., 1997b.)

SVOJSTVO	KOMENTAR
ANTIMIKROBNA AKTIVNOST	Supernatanti kultura inhibicijski djeluju prema sporogenim, enteropatogenim i fungalnim test mikroorganizmima.
TOLERANTNOST PREMA NISKIM pH VRIJEDNOSTIMA	Visok stupanj preživljavanja pri niskim pH vrijednostima (pH 3,0; 4,0; 4,5) prednost je pred nepoželjnim (patogenim) bakterijama u probavnom sustavu.
NEOSJETLJIVOST PREMA LIZOZIMU	Preživljavaju relativno visoku koncentraciju lizozima (100 µg/mL) kroz 60 minuta.
OTPORNOST PREMA FENOLU	Preživljavaju i rastu pri 0,1; 0,2 i 0,3% fenola u podlozi.
TOLERANTNOST PREMA KONJUGIRANIM I DEKONJUGIRANIM ŽUČNIM SOLIMA	Pokazuju zadovoljavajuću razinu otpornosti prema konjugiranim žučnim solima, a rastu u prisutnosti različitih koncentracija dekonjugirane žučne soli natrij-dezoksikolata.
UTJECAJ ŽUČNIH SOLI NA MORFOLOGIJU STANICA I KOLONIJA	Glatke (S) kolonije su otpornije od hrapavih (R) kolonija na djelovanje žučnih soli. Na stanicama hrapavih (R) kolonija uočena su zadebljanja koja mogu biti posljedica oštećenja stanične stijenke ili citoplazmene membrane.
REZISTENCIJA PREMA RAZLIČITIM ANTIBIOTICIMA KOJI SE PRIMIJENJUJU U TERAPIJI	Visoki stupanj rezistencije prema testiranim koncentracijama (5, 10, 15, 20 i 30 µg/mL) penicilina G, streptomycin-sulfata, oksitetraciklina, ceporeksa i azitromicina (Sumamed). Visoke minimalne inhibicijske koncentracije (MIC) prema ovim, i nizu drugih testiranih antibiotika, također ukazuju na visoku rezistenciju ovih sojeva prema antibioticima.
PRISUTNOST PLAZMIDA	Ustanovljena je prisutnost plazmida koja bi se mogla povezati s visokim stupnjem rezistencije ovih dviju bakterija prema antibioticima.

Da bi se probiotički mikroorganizam mogao primijeniti u ljudi ili životinja, potrebno je napraviti *in vitro* istraživanja koja simuliraju uvjete u probavnom sustavu, a preduvjet su za *in vivo* istraživanja. Istraženom antimikrobnom aktivnosti ustanovljeno je da supernatanti kultura *L. acidophilus* M92 i *L. plantarum* L4 inhibicijski djeluju prema sporogenim, enteropatogenim i fungalnim test-mikroorganizmima. Ove bakterije su pokazale visok stupanj preživljavanja pri niskim pH vrijednostima što im je prednost pred nepoželjnim (patogenim) bakterijama u probavnom sustavu.

Jedna od prepreka probiotičkom soju u probavnom sustavu djelovanje je različitih enzima, a naročito lizozima. Za mnoge mikroorganizme lizozim je nepremostiva barijera jer lizozim cijepa peptidoglikan stanične stijenke bakterija što uzrokuje lizu bakterija, međutim rezultati naših istraživanja pokazuju preživljavanje odabranih sojeva bakterija mliječne kiseline i pri znatno većim koncentracijama lizozima od one fiziološke, u uvjetima probavnog sustava.

Fenol je jedan od intermedijera putrefaktivnih procesa u debelom crijevu, a nastaje bakterijskom deaminacijom aromatskih amino-kiselina nastalih hidrolizom proteina unesenih hranom ili endogeno proizvedenih proteina. Fenol ima visoku antimikrobnu aktivnost pa je probiotičkim sojevima potrebna otpornost prema ovoj supstanciji da bi preživjeli u probavnom sustavu.

Za metaboličku aktivnost, razmnožavanje i naseljavanje probiotičkih sojeva u tankom crijevu, neophodno je važna tolerantnost prema žučnim solima - konjugiranim i dekonjugiranim. Utjecaj žučnih soli na morfologiju kolonija i stanica važan je parametar pri izboru sojeva za probiotičku primjenu, a rezultati ovakvih istraživanja mogu se jednostavno i brzo dobiti.

Terapija različitim antibioticima uzrokuje poremećaje ravnoteže crijevne mikroflore, pa bi za vrijeme ili nakon takve terapije bilo uputno koristiti probiotičku kulturu koja bi pokazivala određeni stupanj rezistencije prema antibioticima koji se često primjenjuju u terapiji različitih infektivnih bolesti. Kao što se vidi iz tablice 3, obje bakterije pokazuju visok stupanj rezistencije prema testiranim antibioticima.

Ispitivani sojevi bakterija mliječne kiseline posjeduju plazmide te bi se visok stupanj rezistencije ovih sojeva mogao povezati s prisutnošću plazmida. Sa stajališta primjene probiotičkih sojeva u svrhu obnove mikroflore probavnog sustava koja je poremećena uslijed antibiotske terapije ovi se rezultati čine korisnima, međutim, treba imati na umu i lošu stranu njihove antibiotske rezistencije. Naime, ako ih se koristi kao probiotike u ljudskom ili animalnom probavnom sustavu ovi sojevi bi mogli biti izvor rezistentnih gena za druge nepoželjne, patogene bakterije. Međutim, ohrabrujuće je to što i nakon višestrukog tretmana s mutagenim sredstvima nije došlo do gubitka plazmida u ovih bakterija.

Probiotici: naša stvarnost i potreba

U današnje vrijeme alarmantnog stanja s antibiotskom rezistencijom moralo bi se najozbiljnije prihvatiti probiotike, a zbog svega toga se u zadnje vrijeme intenzivna pozornost posvećuje i PREBIOTICIMA, supstancijama kompleksnog polisaharidnog sastava koje stimuliraju preživljavanje i implantaciju probiotičkih bakterija u probavnom sustavu. Ako se istovremeno koristi PROBIOTIK i PREBIOTIK, dobiva se SINBIOTIK, odnosno sinbiotički efekt na probavni sustav. Dakle, povećanim korištenjem PROBIOTIKA, PREBIOTIKA i SINBIOTIKA trebala bi se smanjiti upotreba ANTIBIOTIKA što bi svakako pridonijelo i smanjenju ANTIBIOTIČKE REZISTENCIJE (Byrne, 1997., Coussement, 1997.).

Živa priroda probiotika čini ih izuzetnima, ali se istovremeno javljaju i poteškoće u usporedbi s antibioticima ili drugim lijekovima. Stoga, buduća istraživanja trebaju omogućiti identifikaciju biokemijskih osobina odgovornih za probiotičko djelovanje i pronaći rješenje za drugu generaciju probiotika koji neće biti žive prirode. To bi svakako pomoglo da se izbjegne ovakva situacija s probioticima u kojoj se nalazi ovaj skandinavski turist (slika 3) koji putuje na dvotjedni turistički izlet u Egipat, a opterećen je strahom od putničke dijareje, pa umjesto 20-tak litara fermentiranih mliječnih proizvoda s probiotičkim djelovanjem, praktičnije bi mu bilo ponijeti probiotički pripravak tabletiran ili kapsuliran i to takvog mikrobnog sastava koji bi polučio zaštitni učinak protiv putničke dijareje.

Slika 3: Situacija s probioticima koju bi trebalo izbjegavati

Fig. 3: A situation with probiotic to be avoided



A situation to be avoided (Laulund, 1994.)

Nakon svega iznesenoga nije upitno da li su probiotici znanstvena činjenica. Oni postaju naša stvarnost i potreba, a ne pomodnost.

PROBIOTICS: SCIENTIFIC FACT OR FANCY?

Summary

At the beginning of this century, famous scientists Pasteur and Metchnikoff on basis of scientific investigations suggested beneficial effects of microorganisms, especially of lactic acid bacteria on human health. However, in last thirty years, the connection between intestinal microflora composition and health of people are researching, again. This was due to two factors:

1) the discovery of antibiotic growth promotion of animals, which stimulated research into its mode action and consequently gave rise to attempts to define the composition of the gut microflora and

2) the improved techniques for rearing germ-free animals.

One the most convincing demonstrations of the role of the gut microflora in resistance to disease was provided by Carter and Collins in 1978. They showed that the germ-free guinea-pig was killed by 10 cells of Salmonella enteritidis but it required 10⁹ cells to kill a conventional animal with a complete gut microflora. These and another scientific conceptions have been base and impulse for scientific researches in finding out of ideal probiotic microorganism which will be able to restore the intestinal microbial balance disrupted by antibiotic therapy, stress or any other diseases.

However, at a time of alarming concern over antibiotic resistance and the expectation our defenses will not be able to cope with the lethal pathogens that are on our doorstep, surely it is time to truly embrace alternatives such as probiotics. Consequently, probiotics as scientific fact are not fancy but become our reality and necessity.

Literatura

- Aktypis, A., G. Kalantzopoulos, J. H. J. Huis in't Veld and B. ten Brink (1998): Purification and characterization of thermophilin T, a novel bacteriocin produced by Streptococcus thermophilus ACA-DC 0040, J. Appl. Microbiol., 84, 568-576.*
- Bjorck, L. (1985): The lactoperoxidase system. U: "Natural antimicrobial systems". IDF Square Vergote 1040 Brussels, 18-30.*
- Byrne, M. (1998): Pump it up! Fortified future for functional foods, Food Eng. Int., 22, 42-46.*
- Cogan, T. M. i C. Hill (1993): Cheese Starter Cultures. U: "Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology", vol. 1 (P. F. Fox, ed.), Chapman & Hall, London, 193-257.*
- Collins, F. M. i P. B. Carter (1978): Growth of Salmonellae in orally infected germfree mice. Infect. Immun. 21, 41-47.*
- Coussement, P. (1997): Powerful products, World of Ingredients, 12, 16-17.*
- Fuller, R. (1989): Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol., 66, 365-378.*
- Havenaar, R., B. T. Brink i J. H. J. Huis in't Veld (1992): Selection of strains for probiotic use. U: "Probiotics - The Scientific basis". (Fuller, R. ed.) Chapman and Hall, London, 209-221.*

- Havenaar, R. i J. H. J. Huis in't Veld (1992): Probiotics: A General View. U: "The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease", vol. 1. (B. J. Wood, ed.), Elsevier Applied Science, London, 151-170.
- Havenaar, R. i S. Spanhaak (1994): Probiotics from an immunological point of view. *Curr. Opinion in Biotechnol.*, 5, 320-325.
- Jay, J. M., G. M. Rivers i W. E. Boisvert (1983): Antimicrobial properties of alpha-dicarbonyl and related compounds. *J. Food Prot.*, 46, 325-329.
- Kashket, E. R. (1987): Bioenergetics of lactic acid bacteria: cytoplasmic pH and osmotolerance. *FEMS Microbiol. Rev.*, 46, 233-244.
- Klaenhammer, T. R. (1993): Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.*, 12, 39-86.
- Laulund, S. (1994): Commercial Aspects of Formulation, Production and Marketing of Probiotic Products. U: "Human Health: The Contribution of Microorganisms" (S. A. W. Gibson, ed.), Springer-Verlag, London, 159-173.
- Lidbeck, A. i C. E. Nord (1994): Lactobacilli, Normal Human Microflora and Antimicrobial Treatment. U: "Human Health: The Contribution of Microorganisms" (S. A. W. Gibson, ed.) Springer-Verlag, London, 95-110.
- Lilly, D. M. i R. H. Stillwell (1965): Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147, 747-748.
- Marteau, F. i J. C. Rambaud (1993): Potential of using lactic acid bacteria for therapy and immunomodulation in man, *FEMS Microbiol. Rev.*, 12, 207-220.
- Metchnikoff, E. (1907): *The Prolongation of Life. Optimic Studies*, Heinemann, London.
- Mitsuoka, T. (1992): The human gastrointestinal tract. U: "The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease", vol. 1. (B. J. Wood, ed.) Elsevier Applied Science, London, 69-114.
- Perez, P. F., Y. Minnaard, E. A. Disalvo i G. L. de Antoni (1998): Surface Properties of Bifidobacterial Strains of Human Origin, *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 21-26.
- Rowland, J. R. (1992): Metabolic interactions in the gut. U: "Probiotics - The Scientific basis". (Fuller, R. ed.) Chapman and Hall, London, 29-53.
- Salminen, S., E. Isolauri i E. Salminen (1996): Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. *Antoine van Leeuwenhoek*, 70, 347-358.
- Šušković, J. (1996): Rast i probiotičko djelovanje odabranih bakterija mliječne kiseline. Disertacija, Prehrambeno-biotehnoški fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- Šušković, J., B. Brkić i S. Matošić (1996): Mehanizam probiotičkog djelovanja bakterija mliječne kiseline. U: "Fermentirani mliječni proizvodi u prehrani i dijetetici", (Živković, R., M. Hadžiosmanović, V. Oberiter, eds.), Hrvatska akademija medicinskih znanosti, Zagreb, 21-34.
- Šušković, J., B. Brkić, S. Matošić i V. Marić (1997a): Lactobacillus acidophilus M92 as probiotic strain, *Milchwissenschaft*, 52, 430-435.
- Šušković, J., B. Brkić, S. Matošić i V. Marić (1997b): Probiotic properties of Lactobacillus plantarum L4, *Food Technol. Biotechnol.*, 35, 107-112.
- Wilson, K. H., J. N. Sheagren i R. Freter (1986): Gnotobiotic models for study of Clostridium difficile and E. coli. *J. Infect. Dis.*, 153, 547-551.
- Yildirim, Z. i M. G. Johnson (1998): Detection and characterization of a bacteriocin produced by Lactococcus lactis subsp. cremoris R isolated from radish, *Lett. Appl. Microbiol.*, 26, 297-304.

Adresa autora - Author's addresses:

Doc. dr. sc. Jagoda Šušković
Mr. sc. Blaženka Kos
Prof. dr. sc. Srećko Matošić

Primljeno - Received: 18. 11. 1998.

Prihvaćeno - Accepted: 22. 12. 1998.