

Lactobacillus GG - probiotička svojstva i aktivitet*

Anica Borović, Stjepan Mahnet, Zdenka Koritnik

Revijalni prikaz - Review

UDK: 579.872

Sažetak

Fermentirani mliječni proizvodi dio su naše svakodnevne prehrane, a bakterije mliječne kiseline važan su izvor funkcionalnih sastojaka koji djeluju na ravnotežu intestinalne mikroflore. Općenito, postoji mišljenje da npr. jogurt olakšava posljedice intolerancije na laktozu i koristan je u sprečavanju određenih intestinalnih poremećaja. Neki sojevi probiotičkih bakterija mliječne kiseline proučavaju se više od drugih, ali ipak najveće zanimanje pobudio je Lactobacillus GG (Lactobacillus (casei subsp.) rhamnosus GG (ATCC 53 103)).

U istraživanja su uključeni laboratorijski pokusi i brojne kliničke studije kojima su dokazani i potvrđeni primarni funkcionalni i zdravstveni učinci LGG-a, a to su: naseljavanje ljudskog probavnog trakta i uravnotežavanje intestinalne mikroekologije, prevencija i pomoć pri liječenju intestinalnih poremećaja, poboljšanje prirodnog imuniteta i brži oporavak osoba alergičnih na mlijeko.

Da bi se navedeni učinci ostvarili, broj živih stanica LGG-a u fermentiranim mliječnim proizvodima treba biti minimalno 1×10^8 .

Riječi natuknice: Lactobacillus GG, porijeklo, antimikrobiotička aktivnost, intestinalni poremećaji, sigurnost uporabe.

Uvod

Posljednjih godina tržište nudi nove vrste hrane temeljene na tradicionalnim nutritivnim vrijednostima, a s različitim povoljnim učincima na ljudsko zdravlje (Cannella i Pinto, 1998.). Takva hrana deklarira se kao prirodna, integralna, "light", funkcionalna. Pojam "funkcionalna hrana" prisutan je u svakodnevnom rječniku, mada značenje toga pojma nema prave definicije (Salminen, 1996.). Neki je opisuju kao hranu koja se uzima svaki dan, a klinički je potvrđen njezin jače izražen povoljni utjecaj na ljudsko zdravlje, od slične tradicionalne hrane (Salminen, 1996.).

Najčešće se blagotvorni učinak temelji na dodatku određenih aktivnih tvari uobičajenoj hrani ili zamjeni određenih sastojaka koji mogu štetno djelovati na zdravlje ljudi (npr. alergeni).

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

Probiotička hrana, uglavnom se odnosi na mliječne proizvode, sadrži za zdravlje korisne bakterije i trenutno je možda najvažnija grupa funkcionalne hrane.

Pojam "probiotik" označava dodatak živih bakterijskih stanica hrani koje korisno djeluju na domaćina, poboljšavajući intestinalnu mikrobnu ravnotežu odnosno kao regulator su intestinalne mikroflore i promotor zdravlja i dobre kondicije (Borsari, 1998.).

Probiotici su uglavnom bakterije mliječne kiseline koje, osim što daju organoleptička svojstva proizvodu, poboljšavaju probavljivost i resorpciju hranjivih sastojaka u organizmu. Od mnogih, danas poznatih bakterija kojima se dodjeljuju probiotička svojstva, sigurno je najviše znanstveno i klinički proučavan i dokumentiran *Lactobacillus GG*.

Lactobacillus GG

Ovu bakteriju izolirali su iz zdravog ljudskog organizma američki znanstvenici - profesori Sherwood Gorbach i Barry Goldin (Salminen, 1996.) tijekom koordiniranog proučavanja laktobacila normalno prisutnih u ljudskoj stolici, a koji mogu rasti u 0,15 % - tnoj otopini žuči (oxgall), relativno su tolerantni na kiselinu (rastu pri pH 3,0), prijanjaju na intestinalne stanice mukoze ("in vitro" model) i stvaraju antimikrobne tvari. *Lactobacillus GG* raste bolje u anaerobnim, nego aerobnim uvjetima, ali može rasti i aerobno u prisutnosti CO₂ (Goldin et al., 1992.).

U većini znanstvenih publikacija, soj se najčešće naziva *Lactobacillus GG*, *Lactobacillus* sp. soj GG ili *Lactobacillus casei* ssp. soj GG. Nedavno je, amplifikacijom 1,5 kb sekvencije gena 16 S ribosomske RNK, potvrđeno da je to *Lactobacillus rhamnosus* (Saxelin, 1997.).

Ova je bakterija zaštićena patentom (Borsari, 1998.) i čuva se u američkoj zbirci kultura (ATCC) pod brojem 53103.

Tijekom rasta *Lactobacillus GG* proizvodi velike količine L+ mliječne kiseline i male količine octene kiseline (Saxelin, 1997.), ne fermentira laktozu, ali fermentira mnoge druge šećere kako je prikazano tablicom 1. (Saxelin, 1997.).

Bakterije mliječne kiseline kojima se pripisuju probiotička svojstva, između ostalih uključuju i *Lactobacillus casei* te neke vrste *Bifidobacterium*. Pri tome je potrebno imati na umu da biokemijska svojstva pojedinih bakterija unutar vrste nisu ista pa ih je potrebno promatrati zasebno, a tek onda kao cjelinu (Borsari, 1998.).

Stoga, da bi se nekom soju mogla pripisati probiotička svojstva, on mora udovoljavati zahtjevima prikazanim u sljedećem dijagramu:

Slika 1: Zahtjevi kojima moraju udovoljavati probiotički sojevi (Goldin i Salminen, 1998.)

Figure 1: Selection criteria for probiotics to enhance gut barrier mechanisms (Goldin and Salminen, 1998.)

Zahtjev za soj Demands for strain	PODRIJETLO (dio intestinalne mikroflore zdravog čovjeka) ORIGIN (human intestinal microflora)	
	SIGURAN ZA LJUDSKU PREHRANU SAFETY FOR HUMAN NUTRITION	
Biološka svojstva Biological characteristics	AKTIVITET I PREŽIVLJAVANJE (aktivitet u intestinalnoj sredini) ACTIVITY AND SURVIVAL (activity in intestinal tract)	
	OTPORNOST NA NISKI pH ŽELUČANI SOK ŽUČ ŽUČNE KISELINE	RESISTANCE TO LOW pH GASTRIC JUICE GALL GALL ACIDS
	PRIJANJANJE NA INTESTINALNI EPITEL I MUKOZU; KOLONIZACIJA ATTACHMENT ON THE INTESTINAL EPITHELIUM AND MUCOUS MEMBRANE; COLONISES	
	<i>i/ili and/or</i>	
Fiziološka svojstva Physiological characteristics	ANTAGONIZAM PREMA PATOGENIMA ANTIMIKROBNA AKTIVNOST ANTAGONISM TO PATHOGENS ANTIMICROBIAL ACTIVITY	
	<i>i/ili and/or</i>	
	STIMULACIJA IMUNOSISTEMA IMMUNITY SYSTEM STIMULATION	
	<i>i/ili and/or</i>	
	SELEKTIVNA STIMULACIJA ODREĐENIH KORISNIH BAKTERIJA OTEŽAVANJE RASTA ŠETNIH SELECTIVE STIMULATION OF PARTICULAR BENEFICIAL BACTERIA GROWTH RESTRICTION OF UNDESIRABLE BACTERIA	
	<i>i/ili and/or</i>	
	POVOLJNI UČINAK NA ODRŽAVANJE PRIRODNE CRIJEVNE BARIJERE BENEFICIAL EFFECT ON NATURAL INTESTINAL MEMBRANE RETENTION	

Tablica 1: Ugljikohidrati koje fermentira *Lactobacillus GG* (API 50 CHL, Bio Merieux, France)Table 1: Fermentation of Carbohydrates by *Lactobacillus GG* (API 50 CHL, Bio Merieux, France)

Ugljikohidrat Carbohydrate	Fermentacija Fermentation	Ugljikohidrat Carbohydrate	Fermentacija Fermentation
D-Arabinoza	+++	Glicerol	-
Riboza	+	Eritrol	-
Galaktoza	+++	L-Arabinoza	-
D-Glukoza	+++	D-Ksiloza	-
D-Fruktoza	+++	L-Ksiloza	-
D-Manoza	+++	Adonitol	-
Ramnoza	+	β -Metil-ksilozid	-
Dulcitol	+++	L-Sorbitol	-
Inozitol	+	Adonitol	-
Manitol	+++	β -Metil-ksilozid	-
Sorbitol	+++	L-Sorboza	-
N-Acetil-glukozamin	+++	α -Metil-D-manozid	-
Amigdalin	++	α -Metil-D-glukozid	-
Arbutin	++	Laktoza	-
Eskulin	+++	Melibioza	-
Salicin	+++	Inulin	-
Celobioza	+++	D-Rafinoza	-
Maltoza	+	Amidon	-
Saharoza	+	Glikogen	-
Trehaloza	+++	Ksilitol	-
Melezitoza	++	D-Turanoza	-
β -Gentobioza	++	D-Liksoza	-
Tagatoza	+++	D-Fukoza	-
L-Fukoza	+++	D-Arabitol	-
Glukonat	+++	L-Arabitol	-

*** Fermentira u jednom danu / Fermented in one day

** Fermentira u dva dana / Fermented in two days

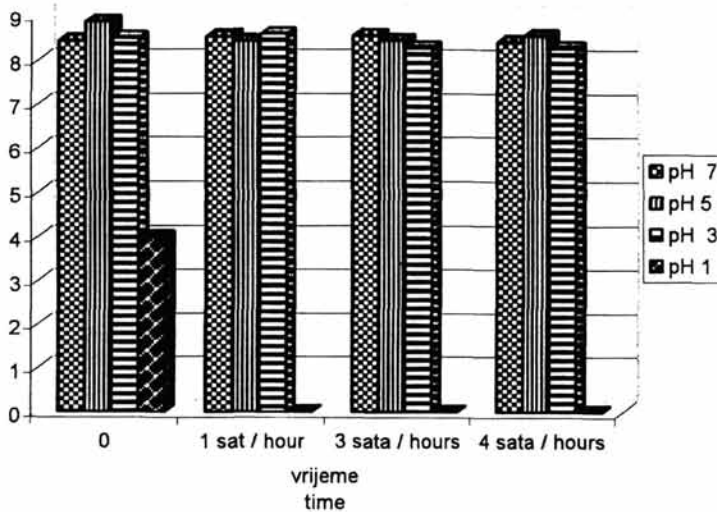
* Fermentira u pet dana / Fermented in five days

Preživljavanje *Lactobacillus GG*-a u želučanom soku

Istraživanja provedena "in vitro" pokazala su da *Lactobacillus GG* odlično preživljava u želučanom soku pri pH vrijednosti 3,0 do 7,0 ali aktivnost naglo opada pri pH vrijednosti 1,0 što je i kritična vrijednost za preživljavanje. Nasuprot tome, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ne pokazuje takova svojstva što je i prikazano slikama 2 i 3. (Goldin et al., 1992.).

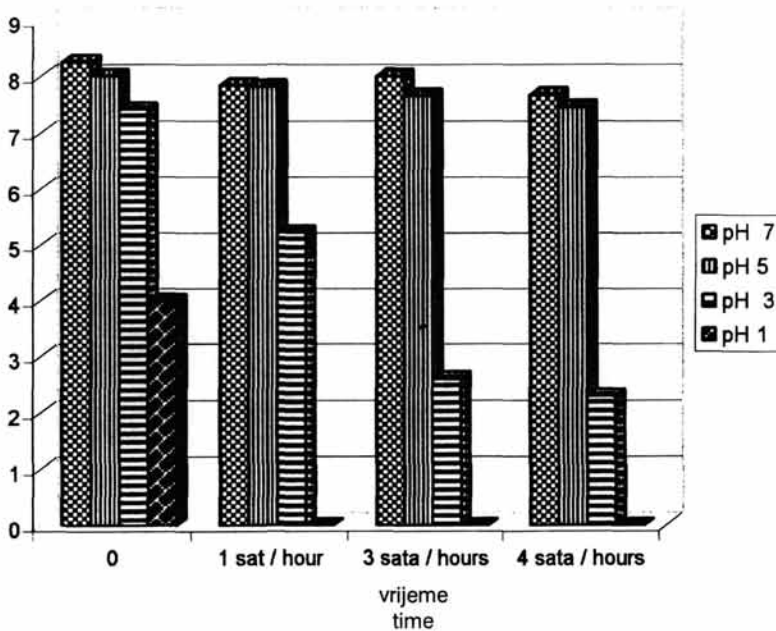
Slika 2: Preživljavanje *Lactobacillus GG*-a u želučanom soku pri različitim pH vrijednostima (broj izražen kao log 10 cfu/ml)

Figure 2: Survival an gastric juice at different pH values (expressed as log 10 cfu/mL)



Slika 3: Preživljavanje *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* u želučanom soku pri različitim pH vrijednostima (broj izražen kao log 10 cfu/ml)

Figure 3: Survival of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in gastric Juice at different pH values (expressed as log 10 cfu/mL)



Ovi podaci potvrđuju da *Lactobacillus GG* može preživjeti prolaz kroz želudac, posebno kada se uzima s hranom, odnosno mliječnim proizvodima koji povisuju pH-vrijednost u želucu na 3,0 i više (Goldin et al., 1992.).

Poznato je da postojeća mikroflora crijeva "živi" u složenom simbiotskom odnosu tzv. rezistentne kolonizacije koja predstavlja prepreku kolonizaciji novih sojeva iz okoline (Gismondo, 1998.). To je razlog zbog kojega je prijanjanje laktobacila na epitelne stanice i sluznicu otežano i vrlo specifično. Također je potrebno naglasiti da ti sojevi ne mogu sami sebe reproducirati u domaćinu što je najvjerojatnije povezano s gubitkom genetičkog potencijala za otpornost prema uvjetima sredine u kojoj se nalaze i/ili prijanjanja i kolonizacije (Aureli, 1998.).

Djelovanje *Lactobacillus GG* na aktivnost enzima

Čak i privremena kolonizacija s LGG ima vrlo važan utjecaj na postojeću mikrofloru, odnosno smanjenje beta-glukuronidazne aktivnosti (Goldin et al., 1992.). Ovaj enzim katalizira hidrolizu konjugata glukuronske kiseline. Konjugati nastaju u jetri da bi se povećala njihova topljivost u vodi. Ovisno o strukturi glukuronida, mogu se izlučiti u žuč nakon čega slijedi dekonjugacija pomoću intestinalnih bakterija pri čemu mogu nastati aktivne droge, hormoni, prokancerogene tvari. Količina bakterijske β -glukuronidaze može se regulirati i pravilnom prehranom i antibioticima (Hawksworth et al., 1971., Gadelle et al., 1985.).

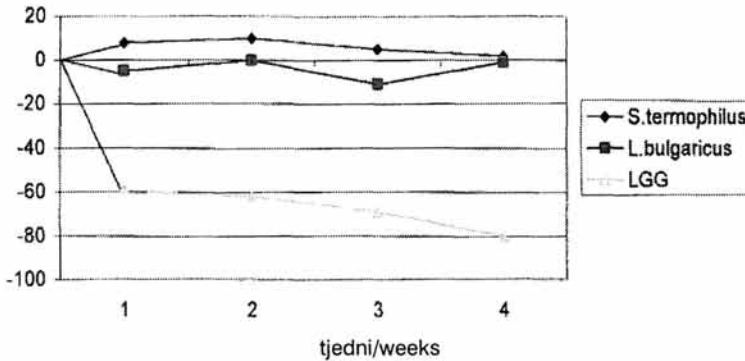
Zbog toga je ovaj enzim vrlo važan pokazatelj metabolizma intestinalnih bakterija.

Bakterijska β -glukuronidaza određuje se pri pH 7,0 što je i najviša vrijednost pri kojoj je ovaj enzim još uvijek aktivan, za razliku od istog enzima sisavaca koji gubi aktivnost pri pH vrijednostima višim od 4,5 (Goldin et al., 1992.). Ova razlika, tijekom pokusa, omogućava određivanje samo bakterijske β -glukuronidaze.

Djelovanje *Lactobacillus GG*-a *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* na bakterijsku β -glukuronidazu prikazano je slikom 4 (Goldin et al., 1992.).

Kako *Lactobacillus GG* djeluje na β -glukuronidaznu aktivnost nije poznato, mada proučavanja na životinjama pokazuju da ovaj enzim i nije zastupljen u tako velikim količinama obzirom na veliki broj vrsta bakterija u intestinalnoj flori (Hawksworth et al., 1971., Gadelle et al., 1985.). Moguće je da *Lactobacillus GG*, smanjenjem broja selektivnih grupa bakterija, preko svoje poznate antimikrobne aktivnosti (Silva et al., 1987.) može smanjiti β -glukuronidaznu aktivnost bez većih promjena u sastavu intestinalne mikroflore.

Slika 4: Djelovanje *Lactobacillus GG*-a, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* na bakterijsku β -glukuronidazu
 Figure 4: The effect of *Lactobacillus GG*-a, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* on fecal β -glucuronidase activity



Antimikrobna aktivnost

Inhibitorne tvari, koje proizvodi *Lactobacillus GG*, djeluju na mnoge ne mliječno- kiseline intestinalne bakterije.

Dugo se vjerovalo, da primarni metaboliti, a posebice organske kiseline koje sintetiziraju laktobacili, mogu kontrolirati ne autohtonu intestinalnu mikrofloru (Aureli, 1998.). U posljednje vrijeme sve se veća i važnija uloga pripisuje drugim tvarima, primjerice bakteriocinima. Za *Lactobacillus reuteri* i *Lactobacillus GG* dokazano je da proizvode širok spektar biološki aktivnih sastojaka. Za prvu takvu izoliranu tvar pretpostavljalo se da je kratkolančana masna kiselina ili mikocin. Dobivena tvar bila je otporna na toplinu i različite proteaze (Yang et al., 1997.). Pokazivala je inhibitorno djelovanje na mnoge gram-pozitivne i gram-negativne mikroorganizme, uključujući i bakterije mliječne kiseline, ali ne i laktobacile.

Tijekom proučavanja antimikrobiološkog djelovanja *Lactobacillus GG*, iz hranjive podloge (iz koje su prethodno odstranjene stanice LGG-a), izolirani su peptidi niske molekularne mase (veće od 300, a manje od 850 Da) djelotvorni prema *Salmonella typhimurium* (Yang et al., 1997.).

Jedan od peptida je i pročišćen (pri tome su korištene kromatografske tehnike, IR spektroskopija, masena spektrometrija) (Aureli, 1998.). To je kiseli peptid 803,5 Da i može se opisati molekularnom formulom $C_{35}O_{14}N_7H_{61}$.

Ova supstancija ne gubi svoja prvotna svojstva pri 121 °C/10 min i antagonistički djeluje na mnoge intestinalne patogene (*Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*, *E. coli* 0:128, *Helicobacter pylori*, *Klebsiela oxitoza*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *S. napoli*, *Yersinia enterocolitica*), a djelotvoran je i prema *Candida albicans* (Yang et al., 1997.).

Zbog vrlo spore fermentacije saharoze i ne fermentiranja laktoze (Tablica 1.) te proizvodnje antimikrobnih supstancija, LGG je važan i za mikroekologiju usta. Prema nekim istraživanjima (Meurman, et al., 1995.), pokazalo se da *Lactobacillus GG* može kolonizirati usnu šupljinu, izoliran je iz sline, a pri tome je pronađena i slaba inhibitorna tvar koja djeluje na oralni *Streptococcus sobrinus*. Inhibitorski učinak bio je vrlo slab i uočen je jedino pri pH 5 pa su (prema navodima autora) potrebna daljnja istraživanja da bi se ovaj učinak mogao smatrati pouzdanim (Silva et al., 1987.).

Antibiotici i Lactobacillus GG

Zdrava autohtona gastrointestinalna flora ljudi dobar je i stabilan ekosustav (Gismondo, 1998.), ali određeni utjecaji mogu tu ravnotežu narušiti. Različita bolnička liječenja, zračenja (u području glave i vrata), operacije želuca, povezane su s promjenama crijevne mikroflore.

Najčešći i najznačajniji poremećaji ipak nastaju djelovanjem neapsorbiranih antibiotika (Finagold, 1986.) u intestinalnom sadržaju te njihova koncentracija u debelom crijevu u aktivnoj formi. Neapsorbirani antibiotici djeluju na osjetljive mikroorganizme (vrlo često i na bakterije mliječne kiseline), mijenjaju ravnotežu crijevne mikroflore i omogućavaju dominaciju bakterija normalne mikroflore neosjetljivih na djelovanje antibiotika. Posljedica toga su različite infekcije. Prema dosadašnjim saznanjima, najmanje 10% svih tretmana antibioticima popraćeno je i diarejama ili bolom u abdominalnom području (Siitonen et al., 1990.).

Preživljavanje LGG-a u intestinalnom području, proučavano je tijekom oralnog uzimanje ampicilina (Goldin et al., 1992.) u terapijskim dozama te eritromicina (Siitonen et al., 1990.) i penicilina (Saxelin, 1997.). Sedmog dana uzimanja antibiotika *Lactobacillus GG* izoliran je iz uzorka stolice 76% ispitanika tretiranih ampicilinom, 57% penicilinom i 75% eritromicinom. Ovi rezultati nisu u korelaciji s osjetljivošću ovoga soja na navedene antibiotike "in vitro" (Saxelin, 1997.).

Morfologija

Rezultati nekih ispitivanja (Goldin et al., 1992.) potvrđuju mogućnost izolacije LGG iz uzoraka stolice i nakon prestanka uzimanja LGG-a; četvrti dan kod 81% ispitanika odnosno kod 33% ispitanika nakon sedam dana.

Jasno je da opstanak LGG-a u intestinalnom području, nakon oralnog uzimanja ne može se objasniti samo pasivnim prolazom kroz gastrointestinalni trakt. Korištenjem intestinalnih "markera" (pokazivača) utvrđena je gornja vremenska granica ukupnog prolaza tvari kroz gastrointestinalni trakt i ona iznosi, kod normalnih pojedinaca, 96 sati. Zadržavanje, odnosno kolonizacija intestinalnog trakta s LGG-om osigurava mogućnost promjene bakterijske flore

iz čega proizlazi koristan učinak u tretiranju ili prevenciji određenih intestinalnih bolesti (Silva et al., 1987.).

Morfologija *Lactobacillus GG*-a na hranjivoj podlozi je svojstvena i vrlo lako se može razlikovati od ostalih laktobacila, bilo da je izoliran iz uzorka stolice (Goldin et al., 1992.) ili fermentiranog proizvoda (autor). Raste kao velika, kremasta, bijela, neprozirna kolonija s laganim mirisom na maslac (slika 5) (Goldin et al., 1992.).

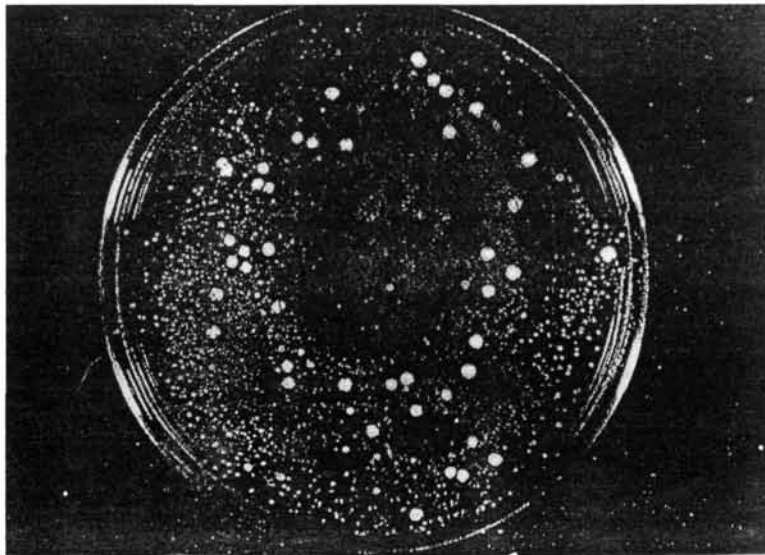
Ako se LGG uzima kao liofilizirani prah u količini od 10^6 do 10^8 stanica/danu, ne može se naći u uzorcima stolice. Kada se uzima u fermentiranom mliječnom proizvodu dovoljno je 10^9 stanica/danu da bi se iz uzorka stolice (nakon 3 - 7 dana) moglo izolirati $1,8 \times 10^5$ do $1,1 \times 10^6$ bakt. stanica/gramu.

Mlijeko također ima zaštitničku ulogu za ovu bakteriju pa je čak i 1×10^8 cfu/danu dovoljno za uspješnu pojavu i izolaciju LGG-a iz stolice (Saxelin, 1997.).

Tijekom proučavanja pokazalo se da ovaj soj povećava broj bifidobakterija i laktobacila, a značajno smanjuje broj lecitinaza - negativnih klostridija (uzorci stolice) (Yoshimi et al., 1996.).

Slika 5: Porast *Lactobacillus GG* na hranjivoj MRS podlozi. Kolonije *Lactobacillus GG* su velike, kremaste, bijele i neprozirne. Male transparentne kolonije su ostali *Lactobacillus* rodovi.

Figure 5: Culture of feces on MRS agar from a subject receiving *Lactobacillus GG*. *Lactobacillus GG* colonies are the large, creamy white, opaque ones. The small, transparent colonies are other *Lactobacillus* strains.



Intestinalni poremećaji

Najviše je kliničkih istraživanja posvećeno djelovanju LGG-a na različite intestinalne poremećaje.

Već spomeniti tretmani antibioticima, ponekad su popraćeni pojavom kronične povratne dijareje uzrokovane s *Clostridium difficile* (Richard et al., 1996.) tzv. prikrivenim patogenim mikroorganizmom (čeka povoljne uvjete za nagli rast) koji je stanovnik gastrointestinalnog trakta pojedinih ljudi. Kod zdrave crijevne mikroflore nije štetan, ali kada je ravnoteža poremećena (antibiotici, operacije) može postati dominantan i uzrokovati pseudomembranski kolitis u 15 - 20 % slučajeva (Saxelin, 1997., Richard et al., 1996.).

LGG se pokazao vrlo uspješan u tretiranju ovog problema i dnevna doza od 10^{10} stanica/danu tijekom 7-10 dana može eliminirati kolitis u 70% slučajeva (Gorbach et al., 1987.).

Diareja

Rotavirus je najčešći uzročnik akutnog gastroenteritisa u ranom djetinjstvu (Kaila and Isolauri, 1996.). Oralna rehidracija može vratiti tekućinu i elektrolitsku ravnotežu te smanjiti akutne tegobe kod gastroenteritisa, ali slabo utječe na trajanje akutne diareje (Isolauri et al., 1991.). Da bi se utvrdilo djelovanje *Lactobacillus GG*-a, za usporedbu korišten je pasterizirani jogurt te još dvije vrste bakterija mliječne kiseline (jogurtna kultura - Yalacta Francuska i "Laktofilus" - farmaceutski pripravak u prahu).

LGG je značajno smanjio trajanje bolesti, bilo da se koristio kao liofilizirani prah ili u jogurtu (Saxelin, 1997.).

Jedan od mehanizama djelovanja povezan je s lokalnim imuno odgovorom, no mogući su i drugi mehanizmi jer i toplinom inaktivirani *Lactobacillus GG* također je značajno skratio vrijeme bolesti, mada nije bilo zamijećeno poboljšanje imuno odgovora (Kaila et al., 1995.). Tijekom dijareje uočeno je i povećanje količine fekalne ureaze, ali ne i kod bolesnika tretiranih s *Lactobacillus GG*.

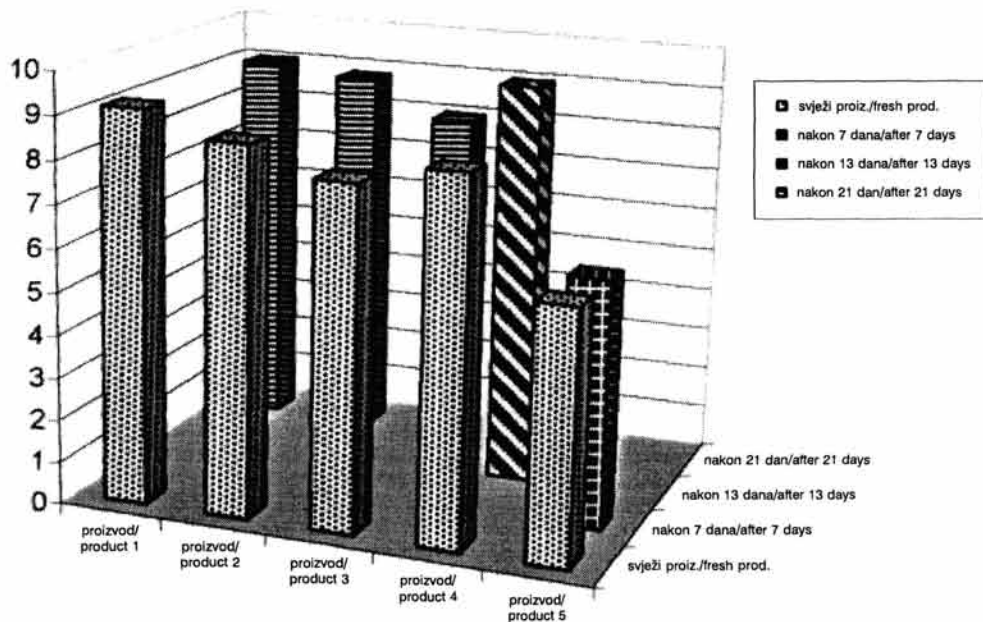
Tijekom rotavirusne dijareje postoje dva stadija. Prvi je infekcija mukoze uzrokovana rotavirusom, a posljedica je osmotska dijareja, a zatim prerastanje neželjenih bakterija koje produžavaju vrijeme trajanja bolesti i mogu biti inhibirane laktobacilima.

Vežanje bakterija mliječne kiseline na crijevni epitel može, također, biti važan čimbenik u tretmanu ove bolesti, mada uloga vezanja, u ovom slučaju, još nije objašnjena. Možda je važna stimulacija imunostistema ili jednostavno sprečavanje vezanja patogena, ali to treba potvrditi (Saxelin, 1997.).

Isto tako, etiologija Kronove bolesti nije poznata, ali je poznato da je narušena cjelovitost crijevne mukoze i transport tvari (antitijela) (Saxelin, 1997.).

Slika 6: Broj stanica LGG u različitim mliječnim proizvodima/g (svježi proizvod i nakon isteka roka valjanosti) - broj izražen kao log₁₀ cfu/ml

Figure 6: Stability of LGG in various dairy products during storage (fresh products/ after shelf life) - expressed as log₁₀ cfu/mL



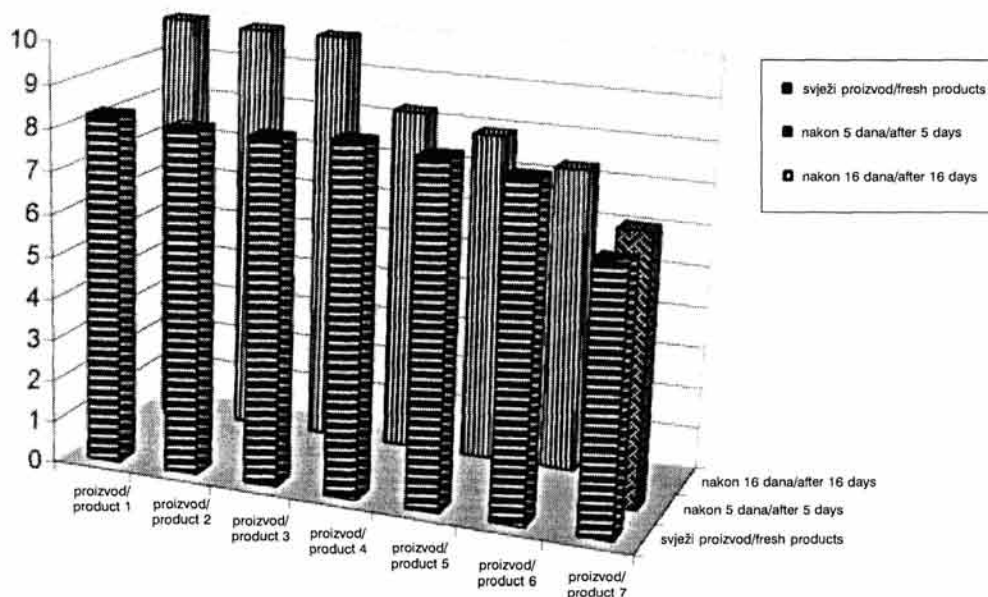
proizvod 1 - fermentirani proizvod tipa jogurt
 proizvod 2 - mliječni napitak na bazi sirutke (fermentacija s LGG)
 proizvod 3 - LGG s jogurtnom kulturom
 proizvod 4 - LGG s mezofilnom kulturom
 proizvod 5 - LGG u mlijeku

product 1 - fermented milk ("yogurt Type")
 product 2 - whey - based drink, fermented with LGG
 product 3 - LGG with yogurt culture
 product 4 - LGG with mesophilic culture
 product 5 - LGG in sweet milk

Otkada je poznato da LGG može normalizirati permeabilnost crijeva, pokušala se i kod ove bolesti primijeniti bakterioterapija. Tijekom ispitivanja kod ljudi oboljelih od ove bolesti, rezultati ukazuju da tretman s LGG aktivira lokalni imunitet protiv tvari unešenih u organizam, a koje potiču razvoj i tijek ove bolesti.

Dosadašnji problemi, posebno oni vezani uz alergije, rješavani su eliminiranjem određenih namirnica iz prehrane (Saxelin, 1997.). Ispitivanja napravljena "in vitro" pokazuju da kazein, odnosno α 1-kazein hidroliziran pomoću *Lactobacillus GG*, značajno inhibira nastajanje interleukin-4. Razgrađeni kazein nema utjecaj na stvaranje γ -interferona, što znači da intestinalni laktobacili mogu modificirati imunomodulatorna svojstva prirodnih bjelančevina iz hrane i zaštititi organizam od potencijalno štetnih tvari, posebno u djetinjoj dobi (Isolauri et al., 1994.).

Slika 7: Broj stanica LGG u mliječnim proizvodima/g (svježi proizvod i nakon isteka roka valjanosti tipa jogurt i svježe mlijeko) - broj izražen kao log₁₀ cfu/ml
 Figure 7: Stability of LGG in various dairy products during storage (fresh products/ after shelf life) - expressed as log₁₀ cfu/mL



proizvodi 1-4 - tipa jogurt s dodatkom voća
 proizvod 5 i 6 s jogurtnom kulturom
 proizvod 7 svježe mlijeko

products 1-4 - fermented milk "yogurt type" with fruit
 products 5 and 6 LGG with yogurt culture
 product 7 LGG in sweet milk

Loša prehrana, tj. previše masnoća a premalo prehrambenih vlakana, povećava rizik raka debelog crijeva. U debelom crijevu se nakuplja fekalni sadržaj zbog čega prevladavaju putrefaktivne bakterije. One stvaraju velike količine bakterijskih enzima i omogućuju stvaranje karcinogena, otrova i otrovnih tvari koje se apsorbiraju u sluznicu crijeva te počinju cirkulirati (Ling, 1992.). Rizik se može umanjiti unošenjem kalcija u organizam i uzimanjem većih količina fermentiranih mliječnih proizvoda.

Mehanizam djelovanja laktobacila može se temeljiti na: niskoj enzimskoj aktivnosti (stvaraju male količine enzima), utjecaju na fekalni pH i međudjelovanju bakterija mliječne kiseline s drugim intestinalnim bakterijama odnosno smanjenju količine β-glukuronidaze, nitroreduktaze i azoreduktaze (Saxelin, 1997.).

Doze potrebne za uspješnu izolaciju *Lactobacillus GG* iz uzoraka stolice višestruko su potvrđene (Saxelin, 1996.). Isto tako, preživljavanje LGG-a u mliječnim proizvodima je vrlo dobro što se može prikazati slikama 6 i 7.

Sigurnost korištenja *Lactobacillus GG*

Prije nego se *Lactobacillus GG* počeo koristiti kao dodatak hrani, napisane su mnoge studije o njegovoj sigurnoj uporabi. Kao rezultat istraživanja mogu se navesti sljedeći zaključci:

- *Lactobacillus GG* može se sa sigurnošću koristiti kao "funkcionalna hrana" ili njezin sastojak

- sva ispitivanja ove bakterije potvrđuju njegovu netoksičnost te je to najbolje i najdetaljnije dokumentirani soj

- sigurnu uporabu *Lactobacillus GG* potvrdili su japanski stručnjaci za funkcionalnu hranu, te United Kingdom Advisory Committee on Novel Foods and Processes (Salminen and Donohue, 1996.).

LACTOBACILLUS GG - PROBIOTIC PROPERTY AND ACTIVITY

Summary

Fermented milk products are an important part of our diets and lactic acid bacteria are the sources of functional ingredients for products designed for the nutritional treatment of intestinal imbalance. A general consensus exists that yoghurt, for example, helps alleviate lactose intolerance and is beneficial in treating certain intestinal disorders. Some strains of probiotic lactic acid bacteria have been studied more thoroughly than others; Lactobacillus GG (Lactobacillus (casei subsp.) rhamnosus GG (ATCC 53103)) has attracted the greatest interest. In addition to experimental laboratory studies, a number of clinical studies have also been carried out. The primary functional and health effects of LGG are summarised as follows; colonises the human digestive tract and balances intestinal micro-ecology; prevents and cures intestinal disorders; enhances natural intestinal resistance; forster recovery to milk allergy.

In order to provide probiotic effects, however, they must be present in adequate numbers at the time of consumption. Administration in milk was shown to enhance the intestine viability of the strain, so that with milk-based products the lowest colonising daily dose is 1×10^8 living bacteria.

Key words: Lactobacillus GG, origin, antimicrobial activity, intestinal disorders, safety

Literatura

Aureli, P. (1998): State of the Art Concerning Lactobacillus spp. Potential for Stabilising Intestinal Microflora and Preventing Gastrointestinal Infection, Gastroenterology International, Vol 11, Suppl. 1, 22 - 26.

- Biller, J. A., Katz, A. J., Flores, A. F., Buie, T. M., Gorbach, S. L. (1995): Treatment of Recurrent *Clostridium difficile* Colitis with LGG. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 21: 224-226.
- Borsari, A. (1998): Milk Enriched with *Lactobacillus GG* for a New Daily Well-Being. *Gastroenterology International*. Vol. 11, 42-44.
- Cannella, C., Pinto, A. (1998): Functional Foods and Nutraceuticals, *Gastroenterology International*, Vol 11, Suppl. 1, 40-41.
- Finagold, S. M. (1986): Intestinal microflora changes and diseases as a result of antimicrobial use. *Pediatric Infectious Diseases*, 5.
- Gadelle, D., Raiband, P., Saquet, E. (1985): β -glucuronidase activities of intestinal bacteria determined both in vitro and in vivo in gnotobiotic rats. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 682 - 685.
- Gismondo, M. R. (1998): Antibiotic Impact on Intestinal Microflora, *Gastroenterology International*, Vol 11, Suppl. 1, 29 - 30.
- Goldin, B. R., Salminen, S. (1998): Lactic Acid Bacteria and Gut Mucosal Barrier Function, *Gastroenterology International*, Vol 11, Suppl. 1, 69 - 73.
- Goldin, R. B., Sherwood, L., Gorbach, S. L., Saxelin, M., Barakat, S., Gualtieri, L., Salminen, S. (1992): Survival of *Lactobacillus* Species (Strain GG) in Human Gastrointestinal Tract. *Digestive Diseases and Sciences*, Vol. 37 br. 1, 121-128.
- Gorbach, S. L., Chang, T. V., Goldin, B. R. (1987): Successful treatment of relapsing *Clostridium difficile* colitis with *Lactobacillus GG*. *Lancet* Dec. 26. 1519.
- Hawksworth, G. B., Draser, B. S., Hill, M. J. (1971): Intestinal bacteria and the hydrolysis of glycoside donds. *J. Med. Microbiol.* 4: 451-459.
- Isolauri, E., Juutunen, M., Rutanen, T., Sillanonkee, P., Koivula, T. (1991): A Human *Lactobacillus* Strain (*Lactobacillus casei* sp. strain GG) Promotes Recovery from Acute Diarrhea in Children. *Pediatrics*, Vol. 88 br. 1.
- Isolauri, E., Kaila, M., Mykkanen, H., Wen Hua Ling, Salminen, S. (1994): Oral Bacterioterapy for Viral Gastroenteritis. *Digestive Diseases and Sciences*, Vol 39, br. 12 2595-2600.
- Ling, W. H. (1992): Colonization and Fecal Enzyme Activities after oral *Lactobacillus GG* Administration in Elderly Nursing Home Residents. *Ann. Nutr. Metab.* 36: 162-166.
- Kaila, M., Isolauri, E., Saxelin, M., Arvilommi, H., Vesikari, T. (1995): *Arch. Dis. Child.*, 72, 51.
- Kaila, M., Isolauri, E. (1996): Nutritional Management of Acute Diarrhea. *Nutrition today supp.* Vol. 31 br. 6, 16-18.
- Meurman, J. H., Autila, H., Korhonen, A., Salminen, S. (1995): Effect of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG (ATCC 53103) on the growth of *Streptococcus sobrinus* in vitro. *Eur. J. Oral Sci.* 103: 253-258.
- Richard, G., Bennett, Gorbach, S. L., Goldin, B. R., Chang, Barbarella, E. L., William, B., Greenough, Bartlett, J. G. (1996): Treatment of Relapsing *Clostridium difficile* Diarrhea with *Lactobacillus GG*. *Nutrition today supp.* Vol. 31 br. 6, 35-37.
- Salminen, S., J., Donohue, D. C. (1996): Safety Assessment of *Lactobacillus* Strain GG (ATCC 53103). *Nutrition today supp.* Vol. 31 br. 6, 12 - 14.
- Salminen, K. (1996): Editorial: The First Functional Probiotic Food, *Nutrition Today Supplement*. Vol 36 br. 6, 1.
- Saxelin, M. (1996): Colonization of the Human Gastrointestinal Tract by Probiotic Bacteria. *Nutrition today supp.* Vol. 31 br. 6, 5 -8.

- Saxelin, M. (1997): Lactobacillus GG - a Human Probiotic Strain with Thorough Clinical Documentation, Food Rev. Int. 239-313.*
- Suutonen, S., Vapaatalo, H., Salminen, S., Gordin, A., Saxelin, M., Wikberg, R., Kirkkola, A.-L. (1990): Effect of Lactobacillus GG yoghurt in prevention of antibiotic associated diarrhea. Ann. Med. 22: 57-59.*
- Silva, M., Jacobus, N. V., Deneke, C., Gorbach, S. L. (1987): Antimicrobial substance from human Lactobacillus strain. Antimicrob Agents Chemother, 31; 1231 - 1233 (16).*
- Yang, Z., Suomalainen, T., Mayra-Makinen, A., Huttunen, E. (1997): Antimicrobial activity of 2-pyrrolidone-5-carboxylic acid produced by lactic acid bacteria. J. Food Protect, 5: 503 - 513.*
- Yoshimi, B., Fang He, Hosoda, M., Hashimoto, H., Kojima, T., Yamazaki, K., Iino, H., Mykkanen, H., Salminen, S. (1996): Effect of Lactobacillus GG Yoghurt on Human Intestinal Microecology in Japanese Subjects. Nutrition today supp. Vol. 31 br. 6, 9-11.*

Adresa autora - Author's addresses:

Mr. sc. Anica Borović
Dipl. ing. Stjepan Mahnet
Dipl. ing. Zdenka Koritnik
Mljekara "Dukat" d.d. Zagreb

Primljeno - Received: 16. 11. 1998.

Prihvaćeno - Accepted: 22. 12. 1998.