

ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ - ΠΑΡΟΝ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝ

Έφη Τσακαλίδου
Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Ιερά Οδός 75, 11855 Αθήνα

Περίληψη

Σύμφωνα με τις θεωρίες που διατυπώθηκαν για πρώτη φορά από τον Elie Metchnikoff στα τέλη του 19^{ου} αιώνα οι μικροοργανισμοί της γιαούρτης *Lactobacillus bulgaricus* και *Streptococcus thermophilus* έχουν ευεργετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου. Τα τελευταία χρόνια εμφανίσθηκαν στην αγορά νέοι τύποι γιαούρτης που παρασκευάζονται με τη χρήση των λεγόμενων προβιοτικών βακτηρίων. Τα βακτήρια αυτά πιστεύεται ότι αυξάνουν τη ευεργετική επίδραση του γιαουρτιού, και γενικότερα των τροφίμων στα οποία απαντώνται, στην υγεία του ανθρώπου. Υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ότι τα προβιοτικά βακτήρια συμβάλλουν στη διατήρηση της υγιούς ισορροπίας της μικροχλωρίδας του πεπτικού μας συστήματος, μας προστατεύουν από εντερικά παθογόνα που προκαλούν γαστρεντερίτιδες και διάρροιες, καταπολεμούν το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού που ευθύνεται για το έλκος του στομάχου, ενισχύουν το ανοσοποιητικό μας σύστημα, μας προστατεύουν από αλλεργίες η έχουν αντικαρκινική δράση. Σήμερα οι ερευνητές στρέφονται σε εφαρμογές των προβιοτικών βακτηρίων πέραν του πεπτικού συστήματος του ανθρώπου, ενώ παράλληλα συζητάνε για προβιοτικά βακτήρια με εξειδικευμένη λειτουργικότητα.

Εισαγωγή

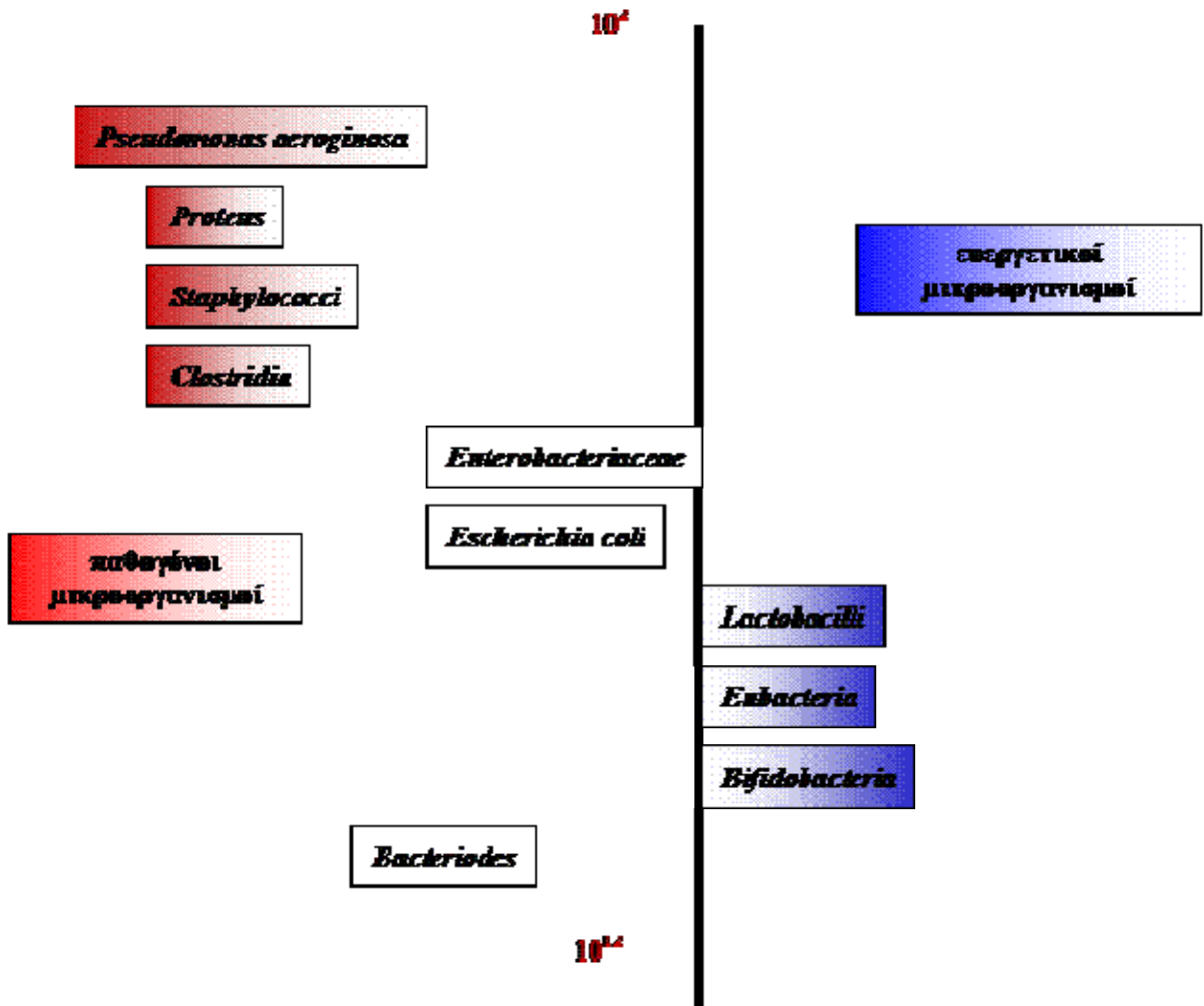
Ο όρος «προβιοτικά» εμφανίσθηκε στα τέλη της δεκαετίας του 1980 (Fuller 1989). Σήμερα ως προβιοτικά ορίζονται «ζωντανοί μικροοργανισμοί, οι οποίοι όταν καταναλώνονται ασκούν ευεργετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου πέραν της εγγενούς επίδρασης της γενικής διατροφής

» (Guernaer & Schaafsma 1998). Ο ορισμός αυτός δεν προϋποθέτει μεταβολές της εντερικής χλωρίδας, δηλαδή αποίκηση του ανθρώπινου πεπτικού συστήματος από τα προβιοτικά βακτήρια, καθώς θεωρείται ότι οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορούν να δράσουν ευεργετικά απλά διαβαίνοντας το πεπτικό σωλήνα. Προϋποθέτει όμως ότι οι μικροοργανισμοί πρέπει να είναι ζωντανοί. Ούτε καθορίζει κάποιο συγκεκριμένο αριθμό κυττάρων που πρέπει να καταναλώνονται ημερησίως, αλλά γενικά είναι αποδεκτό ότι πρέπει να λαμβάνονται τουλάχιστον 10^9 κύτταρα την ημέρα προκειμένου να έχουμε ευεργετικά αποτελέσματα. Τέλος, τα όποια ευεργετικά αποτελέσματα πρέπει να τεκμηριώνονται με καλά σχεδιασμένες κλινικές μελέτες σε ανθρώπους. Σταδιακά ο ορισμός των προβιοτικών αλλάζει καθώς νέα πειραματικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι ακόμη και νεκρά κύτταρα προβιοτικών μικροοργανισμών έχουν ευεργετικά αποτελέσματα στην υγεία. Με αυτή την έννοια, ήδη πρέπει να αρχίσουμε να μιλάμε για τα προβιοτικά του μέλλοντος (Lee et al. 1999; Salminen et al. 1999).

Ως προβιοτικά χρησιμοποιούνται σήμερα διάφορα είδη και γένη μικροοργανισμών. Μεταξύ αυτών κυριαρχούν τα οξυγαλακτικά βακτήρια (lactic acid bacteria), και ειδικότερα οι γαλακτοβάκιλλοι και οι εντερόκοκκοι, καθώς επίσης και τα bifidobacteria. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια απαντώνται σε μεγάλους πληθυσμούς στα τρόφιμα που έχουν υποστεί ζύμωση. Άλλωστε ακόμη και σήμερα τα προβιοτικά βακτήρια καταναλώνονται κυρίως υπό μορφή γαλακτοκομικών προϊόντων. Δεν είναι τυχαίο ότι οι ίδιες ομάδες βακτηρίων αποτελούν ταυτόχρονα σημαντικό τμήμα της εντερικής χλωρίδας του ανθρώπου.

Πρώτος ο Ρώσος χημικός Elie Metchnikoff (1845-1916) υποστήριξε ότι οι γαλακτοβάκιλλοι της γιαούρτης κάνουν καλό στην υγεία και τη μακροημέρευση, ενώ σύμφωνα με τον Ιάπωνα μικροβιολόγο Minoru Shirota (1899-1982) μια ισορροπημένη και υγιής εντερική χλωρίδα αποτελεί τη βάση για μια μακρά και υγιή ζωή.

Η εντερική χλωρίδα του ανθρώπου
> 10¹⁴ μικροοργανισμοί και > 400 διαφορετικά είδη



Οξυφιλικές βακτηρίες σε ζυμωμένα τρόφιμα

Γαλακτοκομικά προϊόντα

- γαρίφα
- τυρί
- παγιό
- ξυδιούλια

Προβίοντα προϊόντα

- αλλαντικά

Ασχηματικά

- Ξινό λάχανο
- Πίκλας

Ψωμί

- κροτίδα

Παστί

- κροτί

Παραδοσιακά

- *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*
- *Streptococcus thermophilus*
- *Lactococcus lactis* spp. *lactis*
- *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*

Νέοι απόφοιτοι

- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus casei*
- *Lactobacillus johnsonii*
- *Bifidobacterium* spp.

Κριτήρια επιλογής προβιοτικών μικροοργανισμών

Η επιλογή ενός μικροοργανισμού προκειμένου να χρησιμοποιηθεί ως προβιοτικό στηρίζεται σε συγκεκριμένα κριτήρια. Οι μικροοργανισμοί πρέπει να μπορούν να επιβιώσουν στις συνθήκες του ανθρώπινου πεπτικού συστήματος, άρα η ανθεκτικότητα τους σε χαμηλές τιμές pH, αλλά και έναντι των υδρολυτικών ενζύμων του πεπτικού σωλήνα και των χολικών αλάτων είναι σημαντική. Η ικανότητα προσκόλλησης στον εντερικό βλεννογόνο θεωρείται επίσης σημαντικό κριτήριο σε σχέση με την ικανότητα των προβιοτικών είτε να εμποδίζουν τη προσκόλληση παθογόνων μικροοργανισμών, είτε να παραμένουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στο έντερο και να λειτουργούν ανοσορυθμιστικά. Η ικανότητα προσκόλλησης των προβιοτικών ποικίλει. Φαίνεται ότι επηρεάζεται τόσο από τα γαστρικά υγρά όσο και από τη διαδικασία παρασκευής των ίδιων των προβιοτικών (Tuomola et al. 2000; Ouwehand et al. 2001). Η ικανότητα προσκόλλησης εξαρτάται επίσης από τις συνθήκες ανάπτυξης του στελέχους, τον αριθμό των ανακαλλιεργειών και την χρησιμοποίηση κρουπροστατευτικών κατά τη λυοφιλίωση προκειμένου να συντηρηθεί (Elo et al. 1991).

Η προέλευση από υγιή άνθρωπο είναι επίσης σημαντική προϋπόθεση, αφού εξασφαλίζει στο προβιοτικό τις σωστές αλληλοεπιδράσεις με τον άνθρωπο – ξενιστή, παρ' όλο που κυκλοφορούν και προβιοτικά που δεν έχουν απομονωθεί από ανθρώπους (π.χ. ο *Saccharomyces cerevisiae boulardii*). Ταυτόχρονα, τα προβιοτικά βακτήρια πρέπει να είναι ασφαλή για τον άνθρωπο, αν και δεν είναι εύκολο να «μετρηθεί» η ασφάλεια μικροοργανισμών που γενικά δεν θεωρούνται παθογόνοι. Η πρώτη κλινική μελέτη σε ανθρώπους είναι ίσως και η πρώτη πραγματική δοκιμασία της ασφάλειας ενός μικροοργανισμού. Οι γαλακτοβάκιλλοι και τα bifidobacteria θεωρούνται ασφαλή απλά λόγω της ταξονομικής τους θέσης.

Τέλος, τα προβιοτικά βακτήρια πρέπει να διαθέτουν καλό τεχνολογικό δυναμικό, δηλαδή να μπορούν να καλλιεργούνται σε μεγάλη κλίμακα, να έχουν μεγάλο χρόνο ζωής και στη περίπτωση που χρησιμοποιούνται για τη παρασκευή προϊόντων ζύμωσης να συμβάλουν στη διαμόρφωση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων των προϊόντων. Η βιωσιμότητα των προβιοτικών θεωρείται σημαντικό κριτήριο καθώς οι μέχρι τώρα κλινικές μελέτες έχουν γίνει με τη χρήση ζωντανών μικροοργανισμών, και υπάρχουν περιπτώσεις στις οποίες τα ζωντανά κύτταρα είναι βασική προϋπόθεση για την ανάπτυξη ανοσορυθμιστικής δράσης. Σε μια πρόσφατη καταγραφή που έγινε στις ΗΠΑ βρέθηκε ότι από τα 30 σκευάσματα που εξετάστηκαν τα 11 δεν περιείχαν ζωντανά κύτταρα, ενώ στην Μ. Βρετανία μόνο 6 στα 13 περιείχαν ζωντανά κύτταρα σε ικανοποιητικό επίπεδο (Temmerman et al. 2001; Hamilton-Miller 2001). Πρέπει να σημειωθεί πάντως, ότι τα τελευταία χρόνια άρχισαν να γίνονται μελέτες και με τη χρήση μη ζωντανών μικροοργανισμών (Ouwenhand and Salminen 1998).

Οι γαλακτοβάκιλλοι είναι γενικά ανθεκτικοί στις συνθήκες καταπόνησης που επικρατούν στο ανθρώπινο πεπτικό σύστημα και ταυτόχρονα διαθέτουν τεχνολογικό δυναμικό. Έτσι εξηγείται η ευρεία χρήση τους ως προβιοτικά. Τα bifidobacteria αντίθετα είναι ευαίσθητα στο οξυγόνο και έχουν μεγάλες διατροφικές απαιτήσεις, και για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται λιγότερο από τους γαλακτοβακίλλους. Τα περισσότερα άλλα προβιοτικά είδη δεν χρησιμοποιούνται στη παραγωγή προϊόντων ζύμωσης, αλλά κυκλοφορούν υπό μορφή διαιτητικών συμπληρωμάτων και φαρμακευτικών σκευασμάτων.

Οι ιδιότητες των προβιοτικών πρέπει να παραμένουν σταθερές τόσο κατά τη διαδικασία παραγωγής του τροφίμου η του σκευάσματος, όσο και κατά τη συντήρησή τους. Πολύ σημαντική είναι επίσης η καθαρότητα των προβιοτικών στελεχών. Έχουν αναφερθεί επιμολύνσεις σε προβιοτικά σκευάσματα. Τίθεται λοιπόν θέμα τήρησης των κανόνων υγιεινής κατά τη παρασκευή, αλλά και σωστής ταυτοποίησης των στελεχών. Όλα τα προβιοτικά στελέχη που κυκλοφορούν στο εμπόριο πρέπει να είναι καταχωρημένα σε μια διεθνώς

αναγνωρισμένη συλλογή μικροοργανισμών, έτσι ώστε να είναι δυνατός ανά πάσα στιγμή ο έλεγχος της ταυτότητας και των ιδιοτήτων τους.

Τρόπος δράσης των προβιοτικών στην υγεία του ανθρώπου

α) Ρύθμιση της εντερικής χλωρίδας. Η αρχική ιδέα για τη δράση των προβιοτικών ήταν ότι αλλάζουν τη σύσταση της εντερικής χλωρίδας ευνοώντας την επικράτηση των ευεργετικών μικροοργανισμών (*lactobacilli*, *bifidobacteria*) έναντι των επιβλαβών (*coliforms*, *clostridia*), ιδιαίτερα όταν οι αρχικοί πληθυσμοί των πρώτων είναι χαμηλοί. Τα επίπεδα των λιγότερο επιθυμητών βακτηρίων μειώνονται είτε εξ αιτίας του ανταγωνισμού για διατροφικά στοιχεία αλλά και για σημεία προσκόλλησης στον εντερικό βλενογόνο, είτε λόγω της παραγωγής αντιμικροβιακών ουσιών (π.χ. οργανικά οξέα, βακτηριοσίνες) από τα προβιοτικά. Παρατηρήθηκε ότι η κατανάλωση του *L. rhamnosus* GG σχετίζεται με την αύξηση των *bifidobacteria* στα κόπρανα (Benno et al. 1996), ενώ η κατανάλωση του *L. salivarius* UCC 118 του προκαλεί αύξηση των επιπέδων των εντεροκόκκων (Mattila-Sandholm et al 1999).

β) Ανοσορυθμιστική δράση. Η εντερική χλωρίδα είναι ένα σημαντικό τμήμα του αμυντικού μηχανισμού του εντέρου. Είναι γνωστό ότι απουσία εντερικής χλωρίδας η μεταφορά των αντιγόνων αυξάνεται. Επηρεάζοντας την ανάπτυξη του λεμφοειδούς ιστού του εντέρου, η εντερική χλωρίδα συμμετέχει στη ρύθμιση της συστημικής και τοπικής ανοσοαπόκρισης, συμπεριλαμβανομένης και της υπεραπόκρισης σε αντιγόνα που προέρχονται από μικροοργανισμούς και τρόφιμα. Ο αποικισμός του εντέρου σε ανθρώπινα βρέφη σχετίζεται άμεσα με την ωρίμανση των χυμικών ανοσοποιητικών μηχανισμών, και συγκεκριμένα της κυκλοφορίας των κυττάρων που εκκρίνουν IgA και IgM (Grönlund et al. 2000). Σε περιπτώσεις φλεγμονής του εντέρου οι αλληλοεπιδράσεις ξενιστή – μικροοργανισμών διαταράσσονται και η φλεγμονή συνοδεύεται από διατάραξη της ισορροπίας της εντερικής χλωρίδας, με αποτέλεσμα οι ενδογενείς μικροοργανισμοί του εντέρου να επάγουν ανοσοαπόκριση (Isolauri 1999). Η θεραπεία με προβιοτικά στηρίζεται στην αποκατάσταση της μικροοικολογίας και της διαπερατότητας του εντέρου, στη βελτίωση της αμυντικής του λειτουργίας και στην εξάλειψη της φλεγμονώδους απόκρισης (Isolauri et al. 2001).

Προβιοτικά και ασθένειες του πεπτικού

α) Δυσανεξία στη λακτόζη. Η δυσανεξία στη λακτόζη είναι μια πολύ συνηθισμένη κατάσταση που δεν μπορεί να θεωρηθεί ασθένεια, αλλά σίγουρα δημιουργεί προβλήματα όταν υπάρχει. Σε ανθρώπους με έλλειψη β-γαλακτοζιδάσης, η λακτόζη δεν αφομοιώνεται και οδηγεί σε αύξηση του ωσμωτικού φορτίου στο λεπτό έντερο με επακόλουθη έκκριση υγρών και άρα διάρροια (Launiala 1968). Τα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως το τυρί και η γιαούρτη, δημιουργούν λιγότερα προβλήματα. Αφ' ενός μεν διότι ένα μέρος της λακτόζης του γάλακτος έχει ήδη ζυμωθεί κατά τη παρασκευή των προϊόντων αυτών, αφ' ετέρου δε γιατί κατά τη πέψη τα ίδια τα βακτήρια λύνονται και έτσι η β-γαλακτοζιδάση τους ελευθερώνεται στον πεπτικό σωλήνα. Επί πλέον, το αυξημένο ιξώδες των προϊόντων αυτών σε σχέση με το ίδιο το γάλα οδηγεί στην αύξηση του χρόνου διέλευσης της τροφής από το πεπτικό σωλήνα πράγμα που βοηθά στη πέψη της λακτόζης (Vesa et al. 2000). Πρέπει να σημειωθεί παντως ότι κάποια από τα βακτήρια που κυκλοφορούν ως προβιοτικά, όπως ο *L. rhamnosus* GG, δεν είναι ικανά να ζυμώσουν τη λακτόζη.

β) Οξεία γαστρεντερίτιδα. Η οξεία γαστρεντερίτιδα μπορεί να είναι ιογενούς ή βακτηριακής προέλευσης. Ο rotavirus είναι από τις πιο συνηθισμένες αιτίες γαστρεντερίτιδας σε παιδιά στις αναπτυσσόμενες χώρες (Claeson and Merson 1990). Μελέτες έχουν δείξει ότι επιλεγμένα προβιοτικά βακτήρια, όπως ο *L. rhamnosus* GG, ο *L. reuteri*, ο *L. casei* Shirota, και ο *B. lactis* Bb12, μειώνουν τον χρόνο διάρκειας της διάρροιας (Kaila et al. 1992; Saavedra et al. 1994; Sugita and Togawa 1994; Shornikova et al. 1997). Αρκετοί μηχανισμοί βρίσκονται ενδεχομένως πίσω από αυτό το αποτέλεσμα. Έχει παρατηρηθεί ότι μετά από χορήγηση προβιοτικών αυξάνεται η παραγωγή της ειδικής για τους rotavirus IgA (Kaila et al. 1992), μειώνεται η διαπερατότητα του εντερικού βλεννογόνου (Isolauri et al. 1993) και αποκαθίσταται η ισορροπία της εντερικής χλωρίδας (Salminen et al. 1996). Στις περιπτώσεις που η διάρροια προκαλείται από λήψη αντιβιοτικών (Antibiotic Associated Diarrhoea, AAD), τότε παρατηρείται υπερβολική ανάπτυξη του *Clostridium difficile*. Έχει παρατηρηθεί ότι η χορήγηση *Saccharomyces cerevisiae* (*boulardii*) μειώνει κατά 30 ως 50% τον κίνδυνο από αυτού του είδους τις διάρροιες (Surawicz et al. 1989). Παρεμπόδιση η και θεραπεία της AAD έχει παρατηρηθεί και μετά από χορήγηση των προβιοτικών στελεχών *L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus* και *Enterococcus faecium* SF68 (Gismondo et al. 1999).

γ) Ιδιοπαθή φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου. Με τον όρο ιδιοπαθή φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου (Inflammatory Bowel Disease, IBD) χαρακτηρίζονται δύο αλληλοεπικαλυπτόμενοι κλινικά φαινότυποι, η ασθένεια του Crohn (Crohn's disease, CD) και

η ελκώδης κολίτιδα (ulcerative colitis, UC), οι οποίοι κυρίως προσβάλλουν το κόλον (UC και CD) και το λεπτό έντερο (CD). Αν και η αιτιολογία των ασθενειών αυτών δεν είναι πλήρως διευκρινισμένη, πιστεύεται ότι τόσο η γενετική προδιάθεση όσο και η εντερική μικροχλωρίδα παίζουν σημαντικό ρόλο. Η τροποποίηση της σύνθεσης της εντερικής χλωρίδας μπορεί να οδηγήσει σε βελτίωση της κλινικής εικόνας. Πράγματι, έχει παρατηρηθεί ότι η χορήγηση προβιοτικών, όπως π.χ. του *L. rhamnosus* GG και του *L. salivarius* UCC 118, αλλά και του *S. cerevisiae* (*boulardii*) και του *E. coli* (Nissle), μειώνει τη συχνότητα των υποτροπών και αυξάνει τη διάρκεια των περιόδων ύφεσης (Mattila-Sandhom et al. 1999; Gupta et al. 2000; Guslandi et al. 2000; Hamilton-Miller et al. 2001).

δ) Καρκίνος του εντέρου. Η αιτιολογία του καρκίνου του εντέρου ποικίλει, αλλά φαίνεται ότι η διαίτα παίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο (Greenwald et al. 2001). Δίαιτες πλούσιες σε κρέας και λιπαρά, και φτωχές σε φυτικές ίνες ενοχοποιούνται για την αλλαγή της σύστασης της εντερικής χλωρίδας, και πιο συγκεκριμένα για την αύξηση των γενών *Bacteroides* και *Clostridium*, και τη μείωση των bifidobacteria (Benno et al. 1991). Οι αλλαγές αυτές σχετίζονται με την αύξηση ενζυμικών ενεργοτήτων όπως η β-γλυκουρονιδάση, η αζωρεδοουκτάση, η ουρεάση και η νιτρορεδοουκτάση. Τα ένζυμα αυτά μετατρέπουν προκαρκινιογόνες ουσίες σε καρκινογόνες και συμβάλλουν στην αύξηση του κινδύνου για καρκίνο του εντέρου. Έχει παρατηρηθεί ότι η κατανάλωση γαλακτοβακίλλων μειώνει την ενεργότητα των ενζύμων αυτών. Δεν έχει αποδειχθεί όμως αν μειώνει και τον πραγματικό κίνδυνο από τον καρκίνο. Παρ' ολ' αυτά, επιδημιολογικές μελέτες υποδεικνύουν ότι η κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων ζύμωσης σχετίζεται με χαμηλότερο κίνδυνο καρκίνου του εντέρου (Hirayama and Rafter 2000).

Προβιοτικά του μέλλοντος

Προκειμένου σχεδιασθούν τα προβιοτικά του μέλλοντος πρέπει να εκλεππυνθούν τα κριτήρια επιλογής τους, επομένως πρέπει να κανανοήσουμε καλύτερα τους μηχανισμούς δράσης των προβιοτικών. Αυτό θα διευκολύνει στην επιλογή προβιοτικών με πιο εξειδικευμένα χαρακτηριστικά και άρα πιο εξειδικευμένες εφαρμογές, όπως π.χ. για συγκεκριμένες ηλικιακές ομάδες ή για συγκεκριμένες ομάδες ασθενών. Πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι η ικανότητα προσκόλλησης των προβιοτικών είναι διαφορετική στο εντερικό επιθήλιο ανθρώπων διαφορετικής ηλικίας (Ouwenhand et al. 1999), και ότι επηρεάζεται από τη φυσιολογία του επιθηλίου ανάλογα με το αν ο άνθρωπος ασθενεί ή είναι υγιής (Ouwenhand et al. 2002).

Τα τελευταία χρόνια γίνονται μελέτες για το κατά πόσο μη ζωντανά κύτταρα προβιοτικών βακτηρίων μπορεί να έχουν εξ ίσου ευεργετικά αποτελέσματα. Τα μη ζωντανά βακτήρια πλεονεκτούν έναντι των ζωντανών σε πολλά σημεία. Έχουν μεγαλύτερο χρόνο ζωής, μικρότερο κόστος συντήρησης και μεταφοράς και είναι πιο ασφαλή. Μελέτες που έχουν γίνει με μη ζωντανά κύτταρα έχουν δείξει μείωση της διάρκειας διάρροιας από rotavirus (Kaila et al. 1995) και καταπράυνση σε περιπτώσεις δυσανεξίας στη λακτόζη (Vesa et al. 2000).

Μέχρι σήμερα η χρήση των προβιοτικών στοχεύει το πεπτικό σύστημα του ανθρώπου και τη μικροχλωρίδα του. Θεωρητικά, κάθε μέρος του ανθρώπινου σώματος που διαθέτει χλωρίδα θα μπορούσε να αποτελέσει πεδίο δράσης για τα προβιοτικά. Η στοματική κοιλότητα διαθέτει μια αρκετά πολύπλοκη χλωρίδα, κάποια μέλη της οποίας δημιουργούν προβλήματα όπως τερηδόνα και περιδοντιτίτιδα. Έχει παρατηρηθεί ότι η κατανάλωση γιαούρτης μειώνει τους *mutans* στρεπτοκόκκους που ευθύνονται για την τερηδόνα (Petti et al. 2001).

Η φυσιολογική χλωρίδα του ουρογεννητικού συστήματος είναι λιγότερο πολύπλοκη σε σχέση με αυτή της στοματικής κοιλότητας και του εντέρου. Υπάρχουν όμως περίπου 50 διαφορετικά είδη, και κάτω από φυσιολογικές συνθήκες επικρατούν γαλακτοβακίλλοι που παράγουν H_2O_2 (Redondo-Lopez et al. 1990). Η διατάραξη της χλωρίδας των γαλακτοβακίλλων φαίνεται ότι σχετίζεται με τον κίνδυνο λοιμώξεων. Πειράματα που έγιναν με επιλεγμένα στελέχη γαλακτοβακίλλων έδειξαν μείωση των υποτροπών τέτοιων λοιμώξεων. Η παραγωγή H_2O_2 και τασιενεργών ουσιών από τους γαλακτοβακίλλους φαίνεται ότι παίζει κάποιο ρόλο σ' αυτό (Reid et al. 2001).

Η επιδερμίδα διαθέτει επίσης μικροχλωρίδα που ποικίλει ανάλογα με το μέρος του σώματος. Τα πιο συνηθισμένα γένη που συναντάμε είναι τα *Propionobacterium*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium* και η ζύμη *Malassezia*. Αρκετά είδη αυτών των γενών μπορεί να είναι ευκαιριακά παθογόνα. Προς το παρόν δεν έχουν γίνει μελέτες που να αφορούν στη χρήση προβιοτικών στις περιπτώσεις αυτές. Το ίδιο ισχύει και για τη περιοχή του άνω αναπνευστικού συστήματος που διαθέτει τη δική του μικροχλωρίδα.

Ο *Lactobacillus casei* Shirota και ο *Streptococcus macedonicus*

Το Εργαστήριο Γαλακτοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών ασχολείται τον τελευταίο καιρό και σε συνεργασία με το Τμήμα Ιατρικής Μικροβιολογίας του Ελληνικού Ινστιτούτου Παστέρ με την *in vitro* και *in vivo* μελέτη προβιοτικών βακτηρίων, και συγκεκριμένα του *Lactobacillus casei* Shirota και του *Streptococcus macedonicus*. Ο *L. casei* Shirota απομονώθηκε από το ζυμωμένο γάλα Yakult της ομώνυμης Ιαπωνικής εταιρείας, ενώ ο *S.*

macedonicus από παραδοσιακό Ελληνικό Κασέρι φυσικής ζύμωσης και ανήκει στη συλλογή ACA-DC του Εργαστηρίου Γαλακτοκομίας.

Ο *L. casei* Shirota είναι ένα από τα πιο γνωστά προβιοτικά που κυκλοφορούν σήμερα στην αγορά. Έχουν δημοσιευτεί κλινικές μελέτες με πειραματόζωα που του αποδίδουν αντιμικροβιακή, ανοσορυθμιστική και αντικαρκινική δράση. Παρεμποδίζει την ανάπτυξη του *E. coli* σε περιπτώσεις ουρολοίμωξης και μειώνει τη δριμύτητα της διάρροιας από το *E. coli* O157:H7 (Asahara et al. 2001; Ogawa et al. 2001). Στοματική χορήγηση του *L. casei* Shirota διεγείρει την ανοσοαπόκριση μέσω των Th1 λεμφοκυττάρων και παρεμποδίζει την έκταση των καρκινωμάτων και τη παραγωγή της IgE (Matsuzaki et al. 1998; Yasui et al. 1999). Τέλος, η στοματική χορήγηση του *L. casei* Shirota σε αρουραίους επιμολυσμένους με *L. monocytogenes* ενισχύει τη κυτταρική ανοσοαπόκριση (de Waard et al. 2002). Η ομάδα μας μελέτησε πρόσφατα τη δράση του *L. casei* Shirota τόσο στον αποικισμό του *Helicobacter pylori* στο στομάχι των ποντικών (C57BL/6), όσο και στον βαθμό της γαστρίτιδας, χορηγώντας τον *L. casei* Shirota στα ποντίκια καθημερινά μέσα στο πόσιμο νερό τους για ένα διάστημα εννέα μηνών. Διαπιστώθηκε σημαντική μείωση τόσο του αποικισμού όσο και του βαθμού της γαστρίτιδας (Sgouras et al. 2003). Υποθέτουμε ότι ο τρόπος δράσης του είναι ανοσορυθμιστικός, καθώς ο *L. casei* Shirota δεν παρεμποδίζει το *H. pylori in vitro*, ενώ παράλληλα παρατηρείται μείωση των ειδικών αντι-*H. pylori* αντιγόνων στον ορό του αίματος των ζώων H^{r+}LcS⁺. Πρέπει τέλος να σημειωθεί ότι ο *L. casei* Shirota επάγει τη παραγωγή της αντιφλεγμονώδους IL-10 σε PBMCs. Προκειμένου να ενισχυθεί η υπόθεση αυτή γίνεται ανοσοϊστοχημική αξιολόγηση γαστρικών δειγμάτων για την ανίχνευση κυτοκινών.

Ο *S. macedonicus* εντοπίστηκε και περιγράφηκε ως νέο είδος θερμόφιλου οξυγαλακτικού βακτηρίου από την ομάδα μας (Tsakalidou et al. 1998). Από μια πρώτη καταγραφή των βιοχημικών και τεχνολογικών του ιδιοτήτων (Georgalaki et al. 2000), προέκυψε ότι οι πλέον ενδιαφέρουσες ιδιότητες των στελεχών του είδους είναι η υψηλή δραστηριότητα της Χ-προλυλο-διπεπτυλο-αμινοπεπτιδάσης (XPDA; Georgalaki et al. 2002a), και η παραγωγή αντιμικροβιακής ουσίας πρωτεϊνικής φύσεως (βακτηριοσίνη), η οποία παρεμποδίζει μεταξύ άλλων και την ανάπτυξη του *Clostridium* (Georgalaki et al. 2002b). Οι δύο αυτές ιδιότητες καθιστούν το είδος *S. macedonicus* εξαιρετικά ενδιαφέρον από την άποψη της χρησιμοποίησής του στη παρασκευή προϊόντων ζύμωσης του γάλακτος ως προστατευτικής – εναρκτήριας καλλιέργειας. Ειδικότερα για τη βακτηριοσίνη (μασεδοσίνη) πρέπει να αναφερθεί ότι ανήκει στη κατηγορία των λαντιβιοτικών, είναι σταθερή σε πολυ υψηλές θερμοκρασίες, μεγάλο εύρος τιμών pH και παρουσία των πρωτεολυτικών ενζύμων, ενώ η μέγιστη παραγωγή της παρατηρείται όταν ο *S. macedonicus* αναπτύσσεται σε γάλα

(Georgalaki et al. 2002b). Σε πρόσφατα *in vitro* πειράματα που κάναμε φαίνεται ότι και το ίδιο το βακτήριο επιβιώνει ικανοποιητικά τόσο σε συνθήκες που προσομοιάζουν αυτές της παρασκευής τυριών, όσο και σε συνθήκες του ανθρώπινου πεπτικού συστήματος, ενώ ταυτόχρονα η μασεδοσίνη που παράγει αναστέλλει την ανάπτυξη στελεχών του *H. pylori*. Ήδη έχουμε ξεκινήσει πειράματα αφ' ενός μεν παρασκευής τυριού με τον *S. macedonicus* ως εναρκήρια καλλιέργεια, αφ' ετέρου δε χρησιμοποιώντας τη μασεδοσίνη σε κλινικά πειράματα σε ποντίκια με το ίδιο μοντέλο όπως και στη περίπτωση του *L. casei* Shirota. Η έκβαση των πειραμάτων στα ποντίκια θα κρίνει κατά πόσον ο *S. macedonicus* είναι μια νέα προβιοτική καλλιέργεια.

Βιβλιογραφία

1. Asahara, T., K. Nomoto, M. Watanuki and T. Yokokura (2001) Antimicrobial activity of intraurethrally administered probiotic *Lactobacillus casei* in a murine model of *Escherichia coli* urinary tract infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:1751-60
2. Benno Y., T. Mitsuoka and K. Kanazawa (1991) Human faecal flora in health and colon cancer. *Acta. Chirur. Scand.* 521, 15-23
3. Benno Y., F. He, M. Hosoda, H. Hashimoto, T. Kojima, K. Yamazaki, H. Iino, H. Mykkaenen and S. Salminen (1996) Effects of *Lactobacillus* GG yogurt on human intestinal microecology in Japanese subjects. *Nutr. Today.* 31, 9S-11S
4. Claeson M. and M.H. Merson (1990) Global progress in the control of diarrheal disease. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 9, 345-355
5. de Waard, R., J. Garssen, G.C.A.M. Bokken and J.G. Vos (2002) Antagonistic activity of *Lactobacillus casei* strain Shirota against gastrointestinal *Listeria monocytogenes* infection in rats. *Int. J. Food Microbiol.* 73, 93-100
6. Elo S., M. Saxelin and S. Salminen (1991) Attachment of *Lactobacillus casei* strain GG to human colon carcinoma cell line Caco-2: comparison with other dairy strains. *Lett. Appl. Microbiol.* 13, 154-156
7. Fuller R. (1989) Probiotics in man and animals. *J. Appl. Microbiol.* 66, 372-378
8. Georgalaki M.D., P. Sarantinopoulos, E.S. Ferreira, L. De Vuyst, G. Kalantzopoulos and E. Tsakalidou (2000) Biochemical properties of *Streptococcus macedonicus* strains isolated from Greek Kasser cheese. *J. Appl. Microbiol.* 88, 817-825
9. Georgalaki M.D., M. Papadeli, R. Anastasiou, G. Kalantzopoulos and E. Tsakalidou (2002) Purification, biochemical characterization and cloning of the intracellular X-prolyl-dipeptidyl aminopeptidase from *Streptococcus macedonicus* strain ACA-DC 191. *Le Lait* 82, 657-671
10. Georgalaki M.D., E. Van den Berghe, D. Kritikos, B. Devreese, J. Van Beeumen, G. Kalantzopoulos, L. De Vuyst and E. Tsakalidou (2002) Macedocin: a food grade lantibiotic produced by *Streptococcus macedonicus* ACA-DC 198. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 5891-5903
11. Gismondo M.R., L. Drago and A. Lombardi (1999) Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *Int. J. Antimicrob. Agents* 12, 287-292
12. Greenwald P. C.K. Clifford and J.A. Milner (2001) Diet and cancer prevention. *Eur. J. Cancer* 37, 948-965

13. Grönlund M.M, H. Arvilommi, P. Kero, O.P. Lehtonen and E. Isolauri (2000) Importance of intestinal colonization in the maturation of humoral immunity in early infancy: a prospective follow-up study of healthy infants aged 0-6 months. Arch. Dis. Childhood 83, F186-F192
14. Guernaer F. and G.J. Schaafsma (1998) Probiotics. Int. J. Food. Microbiol. 39, 237-238
15. Gupta P., H. Andrew, B. S. Kirschner and S. Guandalini (2000) Is *Lactobacillus* GG helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study. J. Ped. Gastroenterol. Nutr. 31, 453-457
16. Guslandi M., G. Mezzi, M. Sorghi and P.A. Testoni (2000) *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. Digest. Dis. Sci. 45, 1462-1464
17. Hamilton-Miller J.M.T. (2001) A review of clinical trials of probiotics in the management of inflammatory bowel disease. Infect. Dis. Rev. 3, 83-87
18. Hatakka K., E. Savilahti, A. Poenkae, J.H. Meurman, T. Poussa, L. Naese, M. Saxelin and R. Korpela (2001) Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centers: double blind randomized trial. Brit. Med. J. 322, 1327-1329
19. Hirayama K. and J. Rafter (2000) The role of probiotic bacteria in cancer prevention. Microbes Infect. 2, 681-686
20. Isolauri E., Kaila M., T. Arvola, H. Majamma, I, Rantala, E. Virtanen and H. Arvilommi (1993) Diet during rotavirus enteritis affects jejunal permeability to macromolecules in sucking rats. Ped. Res. 33, 548-553
21. Isolauri E. (1999) Probiotics and gut inflammation. Curr. Opin. Gastroenterol. 15, 534-537
22. Isolauri E. (2001) Probiotics in human disease. Am. J. Clin. Nutr. 73, S1142-S1146
23. Kaila M., E. Isolauri, E. Soppi, E. Virtanen, S. Laine and H. Arvilommi (1992) Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. Ped. Res. 32, 141-144
24. Kaila M., E. Isolauri, M. Saxelin, H. Arvilommi and T. Vescari (1995) Viable versus inactivated *Lactobacillus* strain GG in acute rotavirus diarrhea. Arch. Dis. Childhood. 72, 51-53
25. Launiala K. (1968) The effect of unabsorbed sucrose and manitol on the small intestinal flow rate and mean transit time. Scand. J. Gastroenterol. 3, 665-671

26. Lee Y.K., K. Nomoto, S. Salminen and S.L. Gorbach (1999) Handbook of probiotics. John Wiley & Sons, Inc., NY
27. Link-Amster H., F. Rochat, K.Y. Saudan, O. Mignot, J.M. Aeschlimann (1994) Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 10, 55-64
28. Matsuzaki, T., R. Yamazaki, S. Hashimoto and T. Yokokura (1998) The effect of oral feeding of *Lactobacillus casei* strain Shirota on immunoglobulin E production in mice. J Dairy Sci. 81, 48-53
29. Mattila-Sandholm T., S. Blum, J.K. Collins, R. Crittenden, W. de Vos, C. Dunne, R. Fonden, G. Grenov, E. Isolauri, B. Kiely, P. Marteau, L. Morelli, A. Ouwehand, R. Reniero, M. Saarela, S. Salminen, M. Saxelin, E. Schiffrin, F. Shanahan, E. Vaughan and A. von Wright (1999) Probiotics: towards demonstrating efficacy. Trends Food Sci. Technol. 10, 393-399
30. Ogawa, M., K. Shimizu, K. Nomoto, M. Takahashi, M. Watanuki, R. Tanaka, T. Tanaka, T. Hamabata, S. Yamasaki and Y. Takeda (2001) Protective effect of *Lactobacillus casei* strain Shirota on Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 infection in infant rabbits. Infect. Immun. 69, 1101-8
31. Ouwehand A.C and S. Salminen (1998) The health effects of cultured milk products with viable and non viable bacteria. Int. Dairy J. 8, 749-758
32. Ouwehand A.C., E. Isolauri, P.V. Kirjavainen and S. Salminen (1999) Adhesion of four *Bifidobacterium* strains to human intestinal mucus from subjects from different ages. FEMS Microbiol. Lett. 172, 61-64
33. Ouwehand A.C., S. Toekkoe and S. Salminen (2001) The effect of digestive enzymes on the adhesion of probiotic bacteria *in vitro*. J. Food Sci. 66, 856-859
34. Ouwehand A.C., S. Salminen, S. Toekkoe, P.J. Roberts, J. Ovaska and E. Salminen (2002) Resected human colonic tissue: new model for characterizing adhesion of lactic acid bacteria. Clin Diagn Lab Immunol. 9, 184-186
35. Petti S., G. Tarsitani and A. Simoneti D' Area (2001) A randomized clinical trial of the effect of yogurt on the human salivary microflora. Arch. Oral Biol. 46, 705-712
36. Redondo-Lopez V., R.L. Cook and J.D. Sobel (1990) Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. Rev. Infect. Dis. 12, 856-872
37. Reid G., A.W. Bruce, N. Fraser, C. Heinemann, J. Owen and B. Henning (2001) Oral probiotics can resolve urogenital infections. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 30, 49-52

38. Saavedra J.M., N.A. Bauman, I. Oung, J.A. Perman and R.H. Yolken (1994) Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet* 344, 1046-1049
39. Salminen S., E. Isolauri and E. Salminen (1996) Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. *Ant. Leeuw.* 70, 347-358
40. Salminen S., A. Ouwehand, Y. Benno and Y.K. Lee (1999) Probiotics: how should they be defined? *Trends Food Sci. Technol.* 10, 107-110
41. Sgouras D., P. Maragkoudakis, K. Petraki, B. Martinez-Gonzalez, E. Eriotou, S. Michopoulos, G. Kalantzopoulos, E. Tsakalidou and A. Mentis (2003) *In vitro* and *in vivo* inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus casei* strain Shirota. *Appl. Environ. Microbiol.*, submitted
42. Shornikova A.V., I.Casas, H. Mykkaenen, E. Salo and T. Vesikari (1997) Bacteriotherapy with *Lactobacillus reuteri* in rotavirus gastroenteritis. *Ped. Infect. Dis. J.* 16, 1103-1107
43. Sugita T. and M. Togawa (1994) Efficacy of *Lactobacillus* preparation Biolactis powder in children with rotavirus enteritis. *Jpn. J. Periatr.* 47, 2755-2762
44. Surawicz C.M., G.W. Elmer, P. Spleeman, L.V. MacFarland, J. Chinn and G. van Belle (1989) Prevention of antibiotic associated diarrhoea by *Saccharomyces boulardii*: a prospective study. *Gastroenterol.* 96, 981-988
45. Temmerman R., G. Huys, B. Pot and J. Swings (2001) Identification and antibiotic resistance of isolates from probiotic products. Abstracts of 101st ASM General Meeting C-289
46. Tsakalidou E., E. Zoidou, B. Pot, W. Ludwig, L. Wassil, L.A. Devriese, G. Kalantzopoulos, K.H. Schleifer and K. Kersters (1998) Identification of streptococci from Greek Kasser cheese and description of *Streptococcus macedonicus* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48, 519-527
47. Tuomola E.M., R. Crittenden, M. Playne, E. Isolauri and S. Salminen (2000) Quality assurance criteria for probiotic bacteria. *Am. J. Clin. Nutr.* 73, S393-S398
48. Yasui, H., K. Shida, T. Matsuzaki and T. Yokokura (1999) Immunomodulatory function of lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 76, 383-9
49. Vesa T., P. Marteau and R. Korpela (2000) Lactose intolerance. *J. Am. Coll. Nutr.* 19, 165S-175S