

Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Κρήτης

Τμήμα Διατροφής & Διαιτολογίας

Σχολή επαγγελματιών υγείας και πρόνοιας

Πτυχιακή Εργασία:

*«Η σημασία του δισχιδοβακτηρίου στη σύγχρονη
διατροφή»*

Σάββα Παναγιώτα

Επιβλέπων Καθηγητής: Σπυριδάκη Ασπασία

Σητεία 2006

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	ΣΕΛΙΔΕΣ
➤ ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1-9
➤ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ	10-20
2.1 Μορφή και ταξινόμηση	10-13
2.2 Συνθήκες ανάπτυξης δισχιδοβακτηρίου	13-15
2.3 Μεταβολισμός υδατανθράκων	15-16
➤ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ	17-20
➤ ΤΡΟΦΙΜΑ ΜΕ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΑ	21-30
4.1 Ενσωμάτωση δισχιδοβακτηρίου στα τρόφιμα	21-24
4.2 Τυριά με δισχιδοβακτήρια	24 -25
4.3 Δισχιδοβακτηριακό γιαούρτι Acidophus	25
4.4 Δισχιδοβακτηριακό γάλα	26-27
4.5 Δισχιδοβακτηριακό γιαούρτι	27
4.6 Bifighurt	27
➤ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ	31-34
5.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση των προβιοτικών στον οργανισμό	31-34
➤ ΤΑ ΟΦΕΛΗ ΤΟΥ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ	35-
6.1 Θρεπτική αξία δισχιδοβακτηρίων	37-38
6.2 Ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος	38-39
6.3 συμβολή του δισχιδοβακτηρίου στη πρόληψη	

και θεραπεία των εντερικών διαταραχών	40-43
6.4 Δισχιδοβακτήρια και ηπατικές παθήσεις	43-45
6.5 Δισχιδοβακτήρια και ουρογεννητικές μολύνσεις	45
6.6 Δισχιδοβακτήρια και πρόληψη του καρκίνου του παχέως εντέρου	45-48
6.7 Δισχιδοβακτήρια και λιπίδια ορού αίματος	48-50
➤ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ	51-53
➤ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	54-61

SUMMARY

The purpose of this diplomatic work is to discuss the relatively recent revival of interest in bacterial interference, particularly the use of *Bifidobacterium* in nutrition, for treatment and prevention of disease in medicine and commercial food products by using recently developed technology.

In 1910, Metchnikoff first put forward the idea that the regular consumption of fermented milks might offer health benefits, the possible prophylactic and/or therapeutic properties of yogurt and related products have been the subject of much speculation. New fermented dairy products containing *Lactobacillus species* and *Bifidobacterium* have been developed and marketed in Europe, North America and the Far East. The potential “health-promoting” properties of *Lactobacillus acidophilus* is well documented, but possible roles of ingested bifidobacteria have not been reviewed much. *Bifidobacteria* are normal inhabitants of the human and animal gut, and newborns are colonized within days after birth. The population seems to be relatively stable until advanced age when it has been reported to decline. Although the population of bifidobacteria in the intestine is stable, it is influenced by diet, antibiotics, stress etc. Bifidobacteria were first described by Tissier in 1899 as predominant flora in breast-fed infants. This review will consider the characteristics, ecology and role in human systems, the therapeutic and prophylactic activities of *Bifidobacteria*, and the potential pharmaceutical and fermented products manufactured using bifidobacteria and advanced technology. The facts and the results of some of the experiments done by different authors and the current areas of research interest and future development have also been reviewed.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σκοπός αυτής της πτυχιακής εργασίας είναι να συζητηθεί η σχετικά πρόσφατη αναγέννηση ενδιαφέροντος για τη βακτηριακή παρέμβαση, ιδιαίτερα στη χρήση *Bifidobacterium* στη διατροφή, για τη θεραπεία και την πρόληψη της ασθένειας στην ιατρική και στα εμπορικά τρόφιμα με τη χρησιμοποίηση της πρόσφατα αναπτυγμένης τεχνολογίας.

Το 1910, ο Metchnikoff αρχικά υπέβαλε την ιδέα ότι η κανονική κατανάλωση ζυμωμένων γαλάτων προσφέρει οφέλη υγείας, και οι πιθανές προφυλακτικές ή/και θεραπευτικές ιδιότητες του γιουρτιού και των σχετικών προϊόντων έχουν αποτελέσει το αντικείμενο πολλής κερδοσκοπίας. Νέα ζυμωτά γαλακτοκομικά προϊόντα μέσω *των ειδών Bifidobacterium SSP και των γαλακτοβακίλλων*, είναι αναπτυγμένα και πωλούνται στην Ευρώπη, τη Βόρεια Αμερική και την Άπω Ανατολή.

Η δυνατότητα τους να συνεισφέρουν στην υγεία οφείλεται στις ιδιότητες *του γαλακτοβακίλλου και* είναι καλά τεκμηριωμένες, αλλά πιθανοί ρόλοι του εξωγενούς δισχιδοβακτηρίου δεν έχουν αναθεωρηθεί πολύ. Τα *Bifidobacteria* είναι κανονικοί κάτοικοι του ανθρώπου και του ζωικού εντέρου, και τα νεογνά αποικίζονται εντός ημερών μετά από τη γέννηση.

Ο πληθυσμός φαίνεται να είναι σχετικά σταθερός μέχρι την προχωρημένη ηλικία όπου μειώνεται. Αν και ο πληθυσμός του bifidobacteria στο έντερο είναι σταθερός, επηρεάζεται από τη διατροφή, τα αντιβιοτικά κ.λπ.

Το Bifidobacteria περιγράφηκε αρχικά από Tissier το 1899 ως η κυρίαρχη χλωρίδα στα θηλασμένα νήπια. Αυτή η πτυχιακή εργασία θα εξετάσει τα χαρακτηριστικά, την οικολογία και το ρόλο του δισχιδοβακτηρίου στα ανθρώπινα συστήματα, καθώς επίσης και τις θεραπευτικές και προφυλακτικές δραστηριότητες *του δισχιδοβακτηρίου*, και το πιθανό φαρμακευτικό ρόλο του στα ζυμωμένα προϊόντα που κατασκευάζονται χρησιμοποιώντας το bifidobacteria και την προηγμένη τεχνολογία.

Επίσης τα γεγονότα και τα αποτελέσματα από μερικά από τα πειράματα που γίνονται από διαφορετικούς συντάκτες και η τρέχουσα ανάπτυξη ενδιαφέροντος των τομέων της μελλοντικής έρευνας.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ισορροπημένη διατροφή είναι μια σημαντική έννοια που προκύπτει από έναν αιώνα έρευνας στη διατροφή, ως συνεπεία της ανακάλυψης των θρεπτικών ουσιών και της αναγκαιότητας τους για την ανάπτυξη και τη συντήρηση του σώματος. Για την θωράκιση της υγείας του οργανισμού μας απαιτείται η κατανάλωση τροφίμων τα οποία αποδεδειγμένα βελτιώνουν την υγεία πέρα από την βασική θρεπτική τους αξία. Βέβαια αυτό δεν αποτελεί νέα ιδέα, αφού ήδη από το 400 π.Χ. ο Ιπποκράτης είχε πει: "Άσε την τροφή να γίνει το φάρμακό σου, και φάρμακο να γίνει η τροφή σου". Σήμερα μία εν δυνάμει επανάσταση επαναφέρει το δόγμα του Ιπποκράτη καθώς την τελευταία δεκαετία καταγράφεται το έντονο ενδιαφέρον των καταναλωτών για τρόφιμα τα οποία έχουν ευεργετικές ιδιότητες στη υγεία θωρακίζοντας τον οργανισμό έναντι σε ασθένειες. Τα τρόφιμα αυτά καλούνται ως **λειτουργικά** και μπορεί να είναι φυσικά προϊόντα ή τρόφιμα εμπλουτισμένα με λειτουργικά συστατικά (φυτικές ίνες, αντιοξειδωτικά κλπ). Τα **προβιοτικά** είναι μια κατηγορία λειτουργικών συστατικών τροφίμων με ιαματικές-φαρμακευτικές ιδιότητες.

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).

Πρώτος ο Ρώσος χημικός Elie Metchnikoff (1845-1916) υποστήριξε ότι οι γαλακτοβάκιλλοι της γιαούρτης κάνουν καλό στην υγεία και συντελούν στη 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. Το ανθρώπινο έντερο

περιέχει εκατομμύρια ζωντανά βακτήρια, γνωστά ως εντερική χλωρίδα. Τα περισσότερα από τα βακτήρια αυτά λειτουργούν ως φυσική άμυνα του οργανισμού, ενώ ένα μικρό ποσοστό μπορεί να είναι επιβλαβές.

Η εντερική χλωρίδα διαφέρει από άτομο σε άτομο (π.χ. φυτοφάγοι-κρεατοφάγοι) και μπορεί να αλλάξει εξαιτίας:

- Μιας φτωχής δίαιτας που βασίζεται σε λιπαρές τροφές, αλκοόλ και πολύ λίγες φυτικές ίνες από φρούτα, λαχανικά ή δημητριακά.
- Ακανόνιστα γεύματα.
- Τροφικές δηλητηριάσεις από βακτηρίδια όπως π.χ. Σαλμονέλα που προκαλεί γαστρεντερίτιδα.
- Η πρόσληψη αντιβιοτικών – τα αντιβιοτικά σκοτώνουν τόσο τα επικίνδυνα μικρόβια όσο και τα καλά βακτηρίδια, επιτρέποντας έτσι την εγκατάσταση παθογόνων μικροοργανισμών στο έντερο.
- Το στρες: έρευνες αναφέρουν ότι το στρες διαταράσσει το έντερο.
- Ταξίδια σε μακρινούς τόπους – η διάρροια των ταξιδιωτών επηρεάζει την ισορροπία στο έντερο και μετά την επιστροφή τους από αυτό.
- Η λήψη προβιοτικών μπορεί να βοηθήσει στην αποκατάσταση της ισορροπίας της χλωρίδας του εντέρου.

Τα διάφορα είδη βακτηρίων που χρησιμοποιούνται ως προβιοτικά έχουν διαφορετική δράση και καταναλώνοντας προβιοτικά σε τακτική βάση μπορεί να έχουμε μια σειρά από ευεργετικές δράσεις όπως:

- Ενίσχυση του αμυντικού μηχανισμού του σώματος με την αναστολή της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών και με την καταστροφή τοξικών ουσιών.

- Ενισχύοντας την αντίσταση στις μολύνσεις (π.χ. εμποδίζοντας τη διάρροια).
- Βοηθώντας τη διέγερση της διαδικασίας της πέψης και εξουδετερώνοντας πιθανά επικίνδυνα παραπροϊόντα της πέψης.
- Συμβάλλουν στη βελτίωση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με τη δυσανεξία στη λακτόζη.
- Βελτιώνουν την ποιότητα ζωής των ασθενών που πάσχουν από φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου (νόσος του Crohn, ψευδομεμβρανώδης κολίτιδα).
- Μείωση της LDL-Χοληστερόλης (κακής), καθώς και του κινδύνου εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων (όπως λόγω υπέρτασης).
- Μείωση των υψηλών επιπέδων σεξουαλικών ορμονών.
- Αντικαρκινική δράση (μειώνει την συγκέντρωση των κοπρανικών ενζύμων που συσχετίζονται με την μετατροπή προκαρκινογόνων ουσιών σε καρκινογόνες, καθώς επίσης διεγείρει τις ανοσολογικές αντιδράσεις του ξενιστή).
- Καταστέλλουν τη δράση των νιτροδών και νιτρικών αλάτων που προστίθενται στα προϊόντα κρέατος για ενίσχυση του χρωματισμού τους και τα οποία στον άνθρωπο μετατρέπονται σε νιτροζαμίνες, που είναι καρκινογόνες.
- Αντιμετώπιση των επιπλοκών της αντιβιοτικής θεραπείας (οξυγαλακτικά βακτήρια του γιαουρτιού).
- Συμβολή στην σύνθεση και αφομοίωση των βιταμινών του συμπλέγματος Β και της βιατμίνης Κ.
- Βοηθούν στην καλύτερη αφομοίωση του ασβεστίου συνεισφέροντας στην υγεία των οστών.

- ο Βοηθούν στην καταπολέμηση της δυσάρεστης αναπνοής καθώς και στη μείωση των αερίων του πεπτικού συστήματος.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Ευεργετικά αποτελέσματα προβιοτικών

Ζώα	Άνθρωπος
Επίδραση στα εγχώρια μικρόβια: Μη μολυσματική δράση μετά από τις υψηλές δόσεις των αντιβιοτικών Άγχος (π.χ. αλλαγή τροφών, μεταφορά) Ανεπάρκεια στην ανάπτυξη μικροχλωρίδας Προώθηση αύξησης Υψηλότερη μετατροπή τροφών Αντιθρεπτικοί παράγοντες (ANFs) : καταστροφή Σύνθεση βιταμινών Προετοιμασία πρωτεϊνικής πέψης	Μη μολυσματική δράση κατόπιν υψηλών δόσεων αντιβιοτικών και μετά από τη θεραπεία ακτινοβολίας. Στη μονάδα εντατικής παρακολούθησης νεογνών : Προώθηση υγείας Παρεμπόδιση της καρκινογένεσης Αντιχολεστερεμική επίδραση Υψηλή απορρόφηση ασβεστίου Καταστροφή αντιθρεπτικών παραγόντων ANFs Σύνθεση βιταμινών Προετοιμασία πρωτεϊνικής πέψης

Η χρήση των ζωντανών μικροβίων ως διαιτητικών πρόσθετων ή προβιοτικών αποτελεί ένα αντικείμενο έντονου και αυξανόμενου ενδιαφέροντος. Μπορούν να καλλιεργηθούν και να προστεθούν στα τρόφιμα όπως στο γιαούρτι και στο γάλα ή σε διατροφικά συμπληρώματα. 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 δισχιδοβακτήρια. Δεν είναι τυχαίο ότι οι ίδιες ομάδες βακτηρίων αποτελούν ταυτόχρονα σημαντικό τμήμα της εντερικής χλωρίδας του ανθρώπου. Τα προβιοτικά βακτήρια καταναλώνονται κυρίως υπό μορφή γαλακτοκομικών προϊόντων. Τα

προϊόντα αυτά έχουν χαρακτηριστεί ως «λειτουργικά τρόφιμα», λόγω των ευεργετικών αποτελεσμάτων τους στον ανθρώπινο οργανισμό.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Βακτήρια και ζύμες που χρησιμοποιούνται ως προβιοτικά

<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>B breve</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<i>B infantis</i>	<i>L acidophilus</i>
<i>B bifidum</i>	<i>L casei</i>
<i>B adolescentis</i>	<i>L bulgaricus</i>
<i>Lactococcus cremoris</i>	<i>L gasserii</i>
<i>L lactis</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>S cerevisiae</i>

Από τα προβιοτικά βακτήρια ιδιαίτερα σημαντικά είναι τα δισχιδοβακτήρια. Τα δισχιδοβακτήρια είναι αναερόβια gram-θετικά βακτήρια που ενδημούν στην εντερική χλωρίδα του ανθρώπινου οργανισμού. Τα δισχιδοβακτήρια αντιπροσωπεύουν μέχρι και το 91% του συνολικού πληθυσμού της εντερικής χλωρίδας στα νεογνά και μεταξύ 3% με 7% στους ενήλικες (Biavati & Mattarelli, 2001). Έχει προταθεί ότι τα δισχιδοβακτήρια ασκούν ευεργετική επίδραση στην υγεία του ξενιστή επειδή διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της εντερικής μικροχλωρίδας και στη συντήρηση της ισορροπίας της. Η συμβολή αυτού του βακτηρίου στη καλή υγεία έχει αναγνωριστεί εδώ και αρκετό καιρό και έχει οδηγήσει στη διαδεδομένη χρήση του δισχιδοβακτηρίου για τη διατήρηση και τη βελτίωση της υγείας του ανθρώπου και των ζώων (Stanton et Al, 2001).

Τα προβιοτικά αυτά βακτήρια όταν καταναλώνονται σε βιολογικά ενεργό μορφή παρουσιάζουν σημαντικά οφέλη στην υγεία όπως προστασία από τους παθογόνους μικροοργανισμούς, δράση έναντι διαταραχών του πεπτικού συστήματος, αντικαρκινική δράση και μείωση της χοληστερόλης

του αίματος. Οφέλη τα οποία καθιστούν τα βακτήρια αυτά ασπίδα προστασίας του οργανισμού. Η αναγνώριση της ευεργετικής δράσης των δισχιδοβακτηριών ώθησε στην ενσωμάτωση αυτών των μικροοργανισμών σε πολλά γαλακτοκομικά προϊόντα. Η ανάπτυξη αυτών των προϊόντων απαιτεί μεταξύ άλλων και τον έλεγχο της ποσότητας των προβιοτικών που περιέχει το προϊόν, καθώς και τον έλεγχο της ικανότητάς επιβίωσης των μικροοργανισμών στο γαστροεντερικό σωλήνα, να παραμείνει ζωντανό το βακτήριο μέχρι και το τέλος του εντέρου σε επαρκείς ποσότητες (Bouhnik et al, 1992).

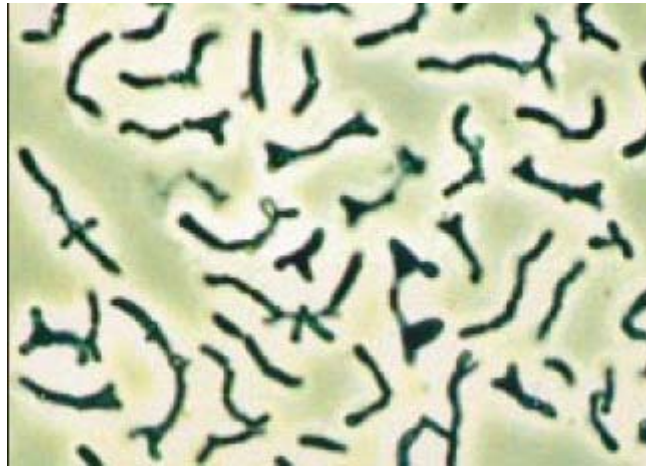


Σκοπός της πτυχιακής εργασίας είναι η διερεύνηση του ρόλου του δισχιδοβακτηριου στον ανθρώπινο οργανισμό καθώς και η αναζήτηση των τροφίμων που περιέχουν το βακτήριο αυτό σε βιολογικά ενεργό μορφή έτσι ώστε να γίνει κατανοητή η αναγκαιότητα του και να συμπεριληφθεί στη διατροφή μας.

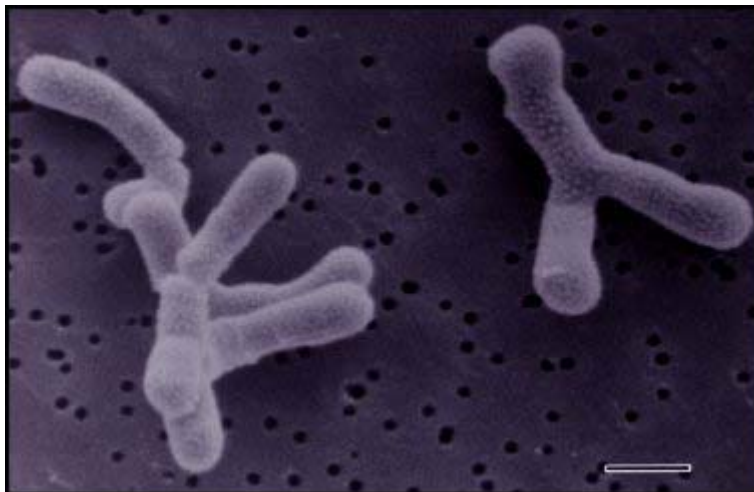
2. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ

2.1 ΜΟΡΦΗ ΚΑΙ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Τα δισχιδοβακτήρια είναι αναερόβια gram-θετικά βακτήρια που ενδημούν στην εντερική χλωρίδα του ανθρώπινου και ζωικού εντέρου. Το δισχιδοβακτήριο έχει μορφή διακλαδισμένου ράβδου με ακανόνιστο σχήμα.



Σχήμα1 Μικροφωτογραφία καλλιέργειας *Bifidobacterium adolescentis*.



Σχήμα2

Μέχρι σήμερα έχουν απομονωθεί και μελετηθεί 30 είδη βακτηρίων τα οποία συμπεριλαμβάνονται στο γένος των δισχιδοβακτηρίδιων, 10 εκ των οποίων είναι από ανθρώπινες πηγές (οδοντική τερηδόνα, περιττώματα και έντερο) και 17 από στομάχι ή έντερο ζώων, δύο από ούρα και ένα από

ζυμωμένο γάλα. Τα διάφορα δισχιδοβακτήρια έχουν διαφορετικό σχήμα συμπεριλαμβανομένων των κοντών, κυρτών ράβδων και των Υ-διαμορφωμένων ράβδων (από τους οποίους πήραν και το όνομα τους). Τα είδη των δισχιδοβακτηρίων στο ανθρώπινο έντερο εξαρτώνται από την ηλικία του ατόμου. Τα *Bifidobacterium infantis* και *B. breve* είναι κυρίαρχα στα νήπια, ενώ το διχσχιδοβακτήριο *adolescentis B.* είναι κυρίαρχο στους ενήλικους, και το *longum B.* είναι παρόν καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής (Gomes & Malcata, 1999).

ΠΙΝΑΚΑΣ Πίνακας των γενών των δισχιδοβακτηρίων

<i>B. adolescentis</i>	<i>B. indicum</i>
<i>B. angulatum</i>	<i>B. infantis</i>
<i>B. animalis</i>	<i>B. lactis</i>
<i>B. asteroides</i>	<i>B. longum</i>
<i>B. bifidum</i>	<i>B. magnum</i>
<i>B. boum</i>	<i>B. merycicum</i>
<i>B. breva</i>	<i>B. minimum</i>
<i>B. Catenulatum</i>	<i>B. pseudocatenulatum</i>
<i>B. choerinum</i>	<i>B. psudolongum</i>
<i>B. coryneforme</i>	<i>B. pullorum</i>
<i>B. cuniculi</i>	<i>B. ruminantium</i>
<i>B. dentium</i>	<i>B. saeculare</i>
<i>B. gallicum</i>	<i>B. subtile</i>
<i>B. gallinarum</i>	<i>B. suis</i>
<i>B. globosum</i>	<i>B. thermophilum</i>

Τα δισχιδοβακτήρια είναι φυλογενετικά ομαδοποιημένα στον κλάδο των ακτινομυκητών των κατά gram- θετικών βακτηριδίων, τα οποία

χαρακτηρίζονται από έναν υψηλό ποσοστό περιεκτικότητας σε γουανίνη και σε κυτοσίνη (G+C), η οποία ποικίλλει από 54 έως 67 mol%.

ΠΙΝΑΚΑΣ: Φυσιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά Bifidobacterium SSP και Lactobacillus acidophilus

Χαρακτηριστικά	Bifidobacterium spp.	Lactobacillus acidophilus
Φυσιολογία	Αναερόβια	Μικροαναερόβια
Έκθεση τοιχώματος κυττάρων:	Το μεταβλητό, βασικό αμινοξύ στο τετραπεπτίδιο είναι η	Lys-D Asp
Τύπος πεπτιδογλυκάνων	ορνιθίνη ή η λυσίνη,	Γλυκερόλη
Σύνθεση φωσφολιπιδίων/ Teichoic οξύ	πολυγλυκεροφωσφολιπίδια και τα παράγωγά τους, αλανιφωσφογλυκερόλη και τα παράγωγα	
DNA-έκθεση βάσης Mol% (G+C)	55 - 67	34 - 37
Διαμόρφωση γαλακτικού οξέος	L	D L
Μεταβολισμός σακχάρων	Ετεροζύμωση	Ετεροζύμωση

Άλλωστε, υπάρχουν αξιοσημείωτες διαφορές στις φυσιολογικές και βιοχημικές ιδιότητες τους, συμπεριλαμβανομένων των συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος. Το κύριο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος είναι η πεπτιδογλυκάνη (μουρεΐνη).

Βέβαια ανάλογα με το είδος του δισχιδοβακτηρίου στο κυτταρικό του τοίχωμα μπορούμε να συναντήσουμε επίσης τη γλυκόζη, τη γαλακτόζη κ.α. Τα σημαντικότερα λιπαρά οξέα στη δομή των κυτταρικών τοιχωμάτων είναι το μυριστικό, το παλμιτικό, το παλμιτελαϊκό και το ελαϊκό οξύ.

Κύρια συστατικά κυτταρικών τοιχωμάτων των διαφορετικών ειδών δισχιδοβακτηρίου:

ΠΙΝΑΚΑΣ: Κύρια συστατικά κυτταρικών τοιχωμάτων των διαφορετικών ειδών δισχιδοβακτηρίου

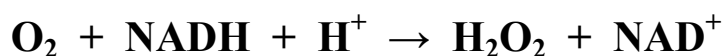
Βακτήρια	Πεπτιδογλυκάνες	Πολυσακχαρίτες		
		Γαλακτόζη	Γλυκόζη	Rhamnose
<i>Bifid. adolescentis</i>	Lys-or Orn-D-Asp	+	+	-
<i>Bifid. bifidum</i>	Orn or Lys-D-Ser-D-Asp	+	+	+
<i>Bifid. breve</i>	Lys-Gly	+	+	+
<i>Bifid. infantis</i>	Orn or Lys-Ser-Ala-Thr-Ala	+	+	+
<i>Bifid.</i>	Orn or Lys-Ser-	+	+	+

<i>longum</i>	Ala-Thr-Ala			
---------------	-------------	--	--	--

2.2 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΟΥ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ

Το δισχιδοβακτήριο μπορεί να αναπτυχθεί σε μέσο που περιέχει λακτόζη, τρία ελεύθερα αμινοξέα (κυστεΐνη, γλυκίνη και τρυπτοφάνη), διάφορες βιταμίνες και νουκλεοτίδια, μέταλλα και άλατα αμμωνίου ως πηγή αζώτου (Kantha D. Arunachalam, Ph.D. 1999)

Το δισχιδοβακτήριο είναι σε θέση να ζυμώσει ευρεία σειρά υποστρωμάτων (γλυκόζη, γαλακτόζη, φρουκτόζη, ολιγοσακχαρίτες κλπ) . Παρόλο που τα δισχιδοβακτήρια είναι αναερόβιοι οργανισμοί, μερικά είδη μπορούν να ανεχτούν το οξυγόνο. Τα ένζυμα όπως η δισμουτάση του υπεροξειδίου και η καταλάση, βοηθούν τον οργανισμό στην υπεράσπιση ενάντια στα τοξικά αποτελέσματα του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Αυτά τα ένζυμα είναι παρόντα αλλά σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις στα *Bifid. infantis*, *breve*, *longum* και *adolescentis*. Η NADH οξειδάση και η NADH υπεροξειδάση είναι ένζυμα που συμβάλλουν σημαντικά στη κατανάλωση του οξυγόνου. Αυτά τα ένζυμα καταλύουν τις παρακάτω αντιδράσεις, χωρίς τη συσσώρευση του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Η ανάπτυξη των βακτηρίων εξαρτάται από τη δραστηριότητα των ενζύμων αυτών. (Kantha D. Arunachalam, Ph.D. 1999)



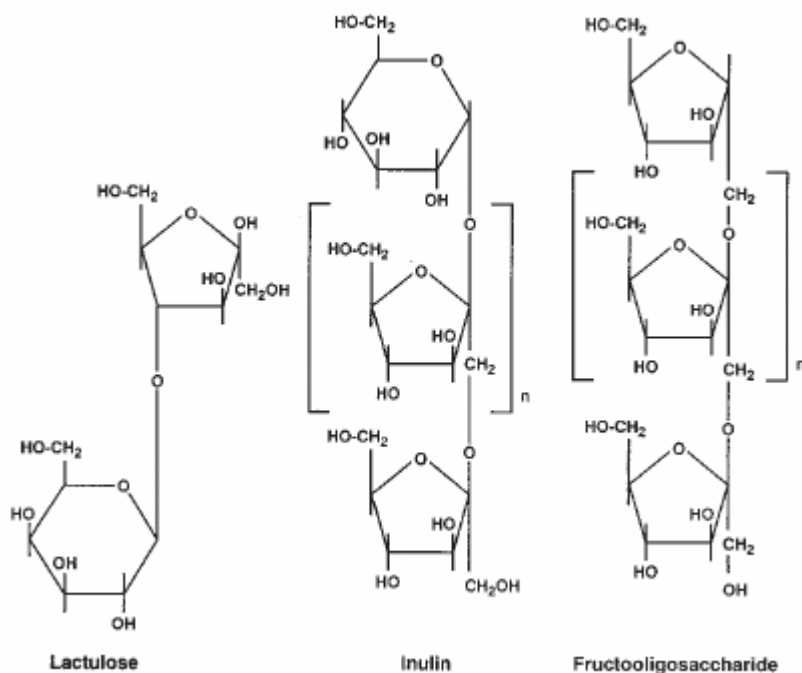
Το βέλτιστο pH για την ανάπτυξη των δισχιδοβακτηρίων είναι μεταξύ 6,5 και 7,0 και εμποδίζεται κάτω από 5,0 ή επάνω από 8,0 ανάλογα με το είδος (Scardovi, 1986 Hattingh & Viljoen, 2001). Η βέλτιστη θερμοκρασία αύξησης για τα περισσότερα είδη δισχιδοβακτηρίου ανθρώπινης προέλευσης είναι μεταξύ 36° C και 38° C, ενώ τα ζωικά είδη έχουν τη

βέλτιστη θερμοκρασία αύξησης ελαφρώς υψηλότερη (περίπου 41-43° C). Τα δισχιδοβακτήρια δεν αναπτύσσονται κάτω από 20° C και επάνω από 46° C (Rasic & Kurmann, 1983).

Έχουν βρεθεί ορισμένες ουσίες (παράγοντες αύξησης), οι οποίες προωθούν τον πολλαπλασιασμό των δισχιδοβακτηρίων *in vitro*, χωρίς αυτή η επίδραση να έχει επιβεβαιωθεί *in vivo* (στο παχύ έντερο). Στους παράγοντες αυτούς περιλαμβάνονται η κ-καζεΐνη από ανθρώπινο γάλα, εκχύλισμα ζύμης, αμινοξέα (θρεονίνη, κυστεΐνη) κ.α. Μικρής αλυσίδας λιπαρά οξέα (το μυρμηκικό άλας, το οξικό άλας, το προπιονικό και το βουτυρικό υποκίνησαν επίσης την αύξηση των δισχιδοβακτηρίων (Roch, M. and Bezkorovainy, A. 1991).

Πέρα από τους παράγοντες αύξησης έχει βρεθεί ότι μια σειρά υδατανθράκων (γνωστοί ως *bifidogenic* παράγοντες), ευνοεί την ανάπτυξη των δισχιδοβακτηρίων στο παχύ έντερο. Οι υδατάνθρακες αυτοί (οι οποίοι συμπεριλαμβάνονται στα πρεβιοτικά) δεν πέπτονται και φθάνουν στο παχύ έντερο, όπου μεταβολίζονται επιλεκτικά από τα δισχιδοβακτήρια, ευνοώντας έτσι την ανάπτυξη τους (Gibson, G.R et al. 1995). Ως *bifidogenic* παράγοντες έχουν αναγνωριστεί διάφοροι ολιγοσακχαρίτες, φρουκτο – ολιγοσακχαρίτες (Fructooligosaccharides, FOS) και πολυσακχαρίτες, ξυλολιγοσακχαρίτες που βρίσκονται σε φυσικά προϊόντα όπως (κρεμμύδι, δημητριακά ολικής άλεσης, κλπ) .

Από τους ολιγοσακχαρίτες που έχουν μελετηθεί βρέθηκε ότι μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα εμφάνισαν εκείνοι που είχαν γραμμική αλυσίδα αποτελούμενη από γλυκόζη και φρουκτόζη με βαθμό πολυμερισμού τέσσερα (neosugars). Όλοι οι φρουκτοσακχαρίτες που έχουν μελετηθεί είναι φυσικής προέλευσης και αποτελούνται από δεσμό β(2→1) με βαθμό πολυμερισμού από 2-35 ((Gibson, G. R et al. 1994).



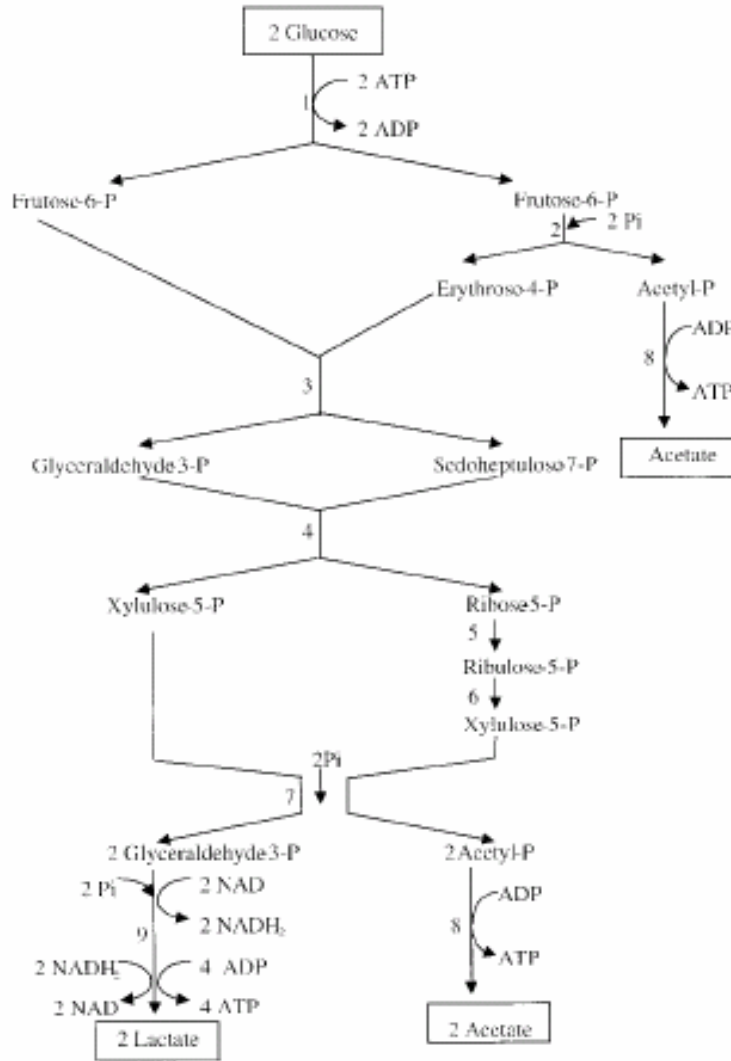
Σχήμα3

Χορήγηση 15gr/ημέρα FOS σε εθελοντές οδήγησε σε αύξηση του πληθυσμού των κοπρανικών δισχιδοβακτηριδίων κατά 10 φορές ενώ μειώθηκε ο αριθμός των κλοστριδίων και των εντεροκόκκων αποδεικνύοντας την προτίμηση του δισχιδοβακτηρίου για τους FOS (Mitsuoka T et al.1987).

Από τους πιο γνωστούς υδατάνθρακες οι οποίοι έχουν χρησιμοποιηθεί για τις πρεβιοτικές τους ιδιότητες είναι η ινουλίνη και η λακτουλόζη.

2.3 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΩΝ

Τα δισχιδοβακτήρια διαφοροποιούνται από το γαλακτοβάκιλλο λόγω της διαφορετικής οδού που ακολουθείται όσον αφορά το μεταβολισμό των υδατανθράκων (Bifid shunt). Τα δισχιδοβακτήρια χρησιμοποιούν 6-φωσφορική φρουκτόζη, ενώ ο γαλακτοβάκιλλος χρησιμοποιεί 6-φωσφορική γλυκόζη.



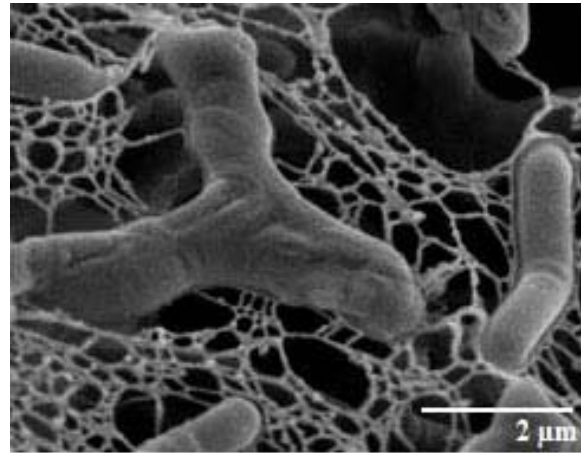
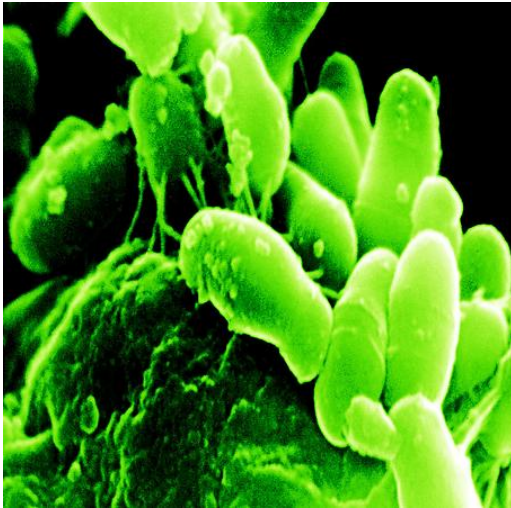
Σχήμα4

Όπως φαίνεται στο παραπάνω σχήμα από το μεταβολισμό 2 μορίων εξόζης παράγονται 3 μόρια οξικού και 2 μόρια γαλακτικού οξέως.

Κεντρικό ρόλο στο μεταβολικό αυτό μονοπάτι κατέχει το ένζυμο φωσφοκετολάση της 6-φωσφορικής φρουκτόζης (F6PPK). Η ανίχνευση του ενζύμου αυτού αποτελεί διαγνωστική δοκιμή για τα δισχιδοβακτήρια, δεδομένου ότι δεν είναι παρόν σε άλλα gram-θετικά εντερικά βακτήρια. Εκτός από τη γλυκόζη, όλα τα δισχιδοβακτήρια από ανθρώπινη προέλευση είναι επίσης ικανά να χρησιμοποιήσουν τη γαλακτόζη, λακτόζη και συνήθως φρουκτόζη ως πηγές άνθρακα. (Ana M.P. Gomes και F. Xavier Malcata, 1999)

3. ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ

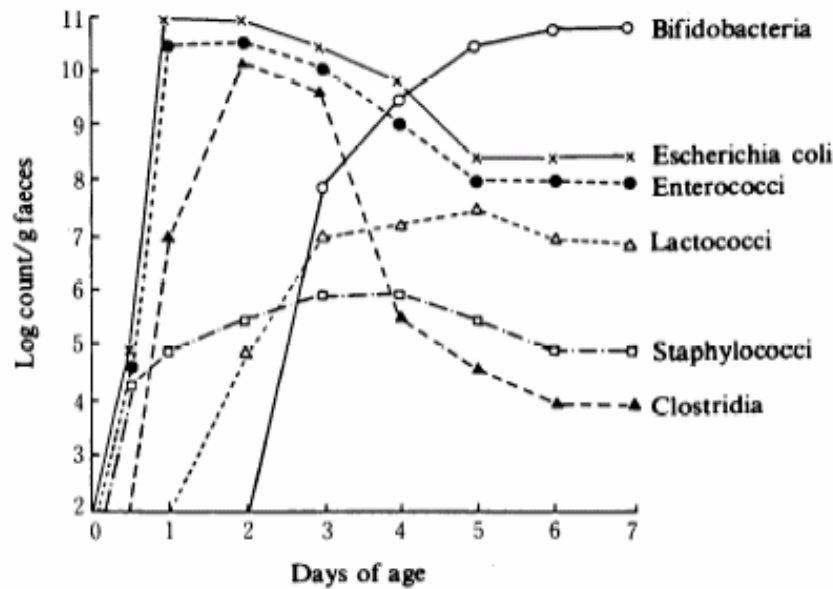
Τουλάχιστον 400 τύποι βακτηριδίων έχουν ταυτοποιηθεί στα περιττώματα των ανθρώπων, μεταξύ των οποίων 25 είδη βακτηρίων προσδιορίστηκαν ως δισχιδοβακτήρια *Bifid. adolescentis, infantis, και longum*. Γενικά, η δισχιδοβακτηριακή μικροχλωρίδα των ανθρώπων αποτελείται από 4 ή 5 διαφορετικά είδη και αυτά ένα ή δύο είναι ποσοτικά κυρίαρχα. Το *B. longum* και το *bifidum B.* είναι τα υπερισχύοντα είδη. (Kantha D. Arunachalam, Ph.D. 1999)



Σχήμα5: Κύτταρα δισχιδοβακτηρίου στο επιθήλιο του παχέως εντέρου.

Στη γέννηση το γαστροεντερικό κομμάτι ενός μωρού είναι αποστειρωμένο, αλλά γρήγορα αποικίζεται από βακτηρίδια από τον κόλπο κατά τη διάρκεια της γέννησης και μέσα σε 48 ώρες από τη γέννηση, μπορεί να περιέχει μέχρι $4,0 \times 10^{10}$ cfu/gr. Το δισχιδοβακτήριο περιγράφηκε αρχικά από τον Tissier το 1899, ως η κυρίαρχη χλωρίδα στα θηλασμένα νήπια. Ο πληθυσμός φαίνεται να είναι σχετικά σταθερός μέχρι και την ενηλικίωση όπου αρχίζει να παρατηρείται μείωση (Mitsuoka, 1982, Gavini et al., 2001, Orla-Jensen Mitsuoka, 2001). Το δισχιδοβακτήριο, *Bifidobacterium infantis* είναι το κυρίαρχο στα περιττώματα των θηλασμένων νηπίων. Νηπία ταϊσμένα με μητρικό γάλα εμφάνισαν μεγαλύτερη ποσότητα δισχιδοβακτηρίων στα

περιπτώματα τους σε σχέση με εκείνα των νηπίων που τρέφονταν με μη μητρικό γάλα (Yuhara et al., Yuhara T, Isojima S, Tsuchiya F, and Mitsuoka T. 1983).

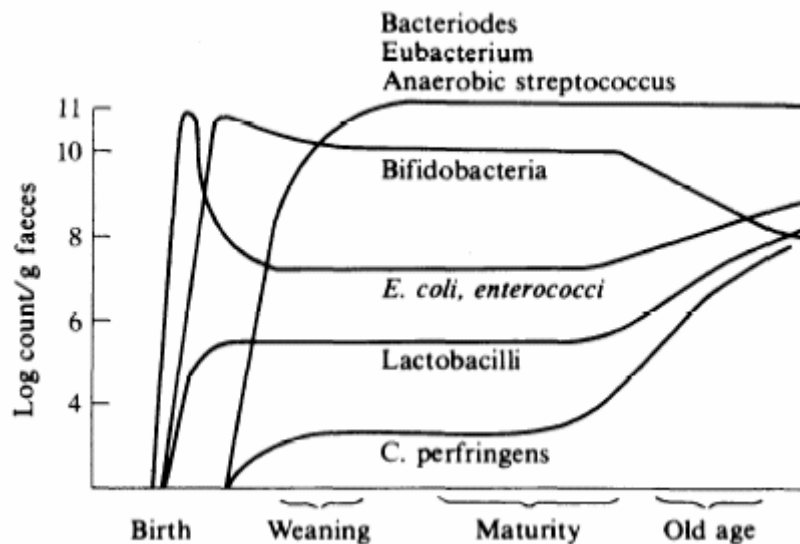


Σχήμα6: Αλλαγές στην εντερική μικροχλωρίδα στα μωρά από τη γέννηση σε 7 ημέρες.

Η μικροχλωρίδα στο παχύ έντερο ενός παιδιού το οποίο τρέφεται με μη μητρικό γάλα θα είναι κατειλημμένη με περίπου 80% δισχιδοβακτηρίου, αλλά ο αριθμός θα μειωθεί βαθμιαία με την αύξηση της ηλικίας. Η εντερική χλωρίδα των ενηλίκων αποτελείται κυρίως από bacteroides και τα είδη Bifid. adolescentis, longum και bifidum. Η αφθονία των δισχιδοβακτηριακών ειδών εξαρτάται από την υγιή λειτουργία του παχέος εντέρου. Τα επικρατέστερα είδη δισχιδοβακτηρίων στην εντερική μικροβιακή χλωρίδα εξαρτώνται από τον τύπο της τροφής. Ο Ballongue πρότεινε ότι τα δισχιδή adolescentis ήταν οι κυρίαρχοι οργανισμοί στα νεογνά τα οποία τρέφονταν με ξένο γάλα και οι Beerens βρήκαν το δισχιδές longum ως επικρατέστερο είδος στα νήπια τα οποία τρέφονταν με ξένο γάλα. Αντίθετα οι Biavati et al. απομόνωσαν τα είδη bifidum Bifid., infantis, longum και breve, ανεξάρτητα από τον τύπο γάλακτος. Ακόμη παραλλαγές

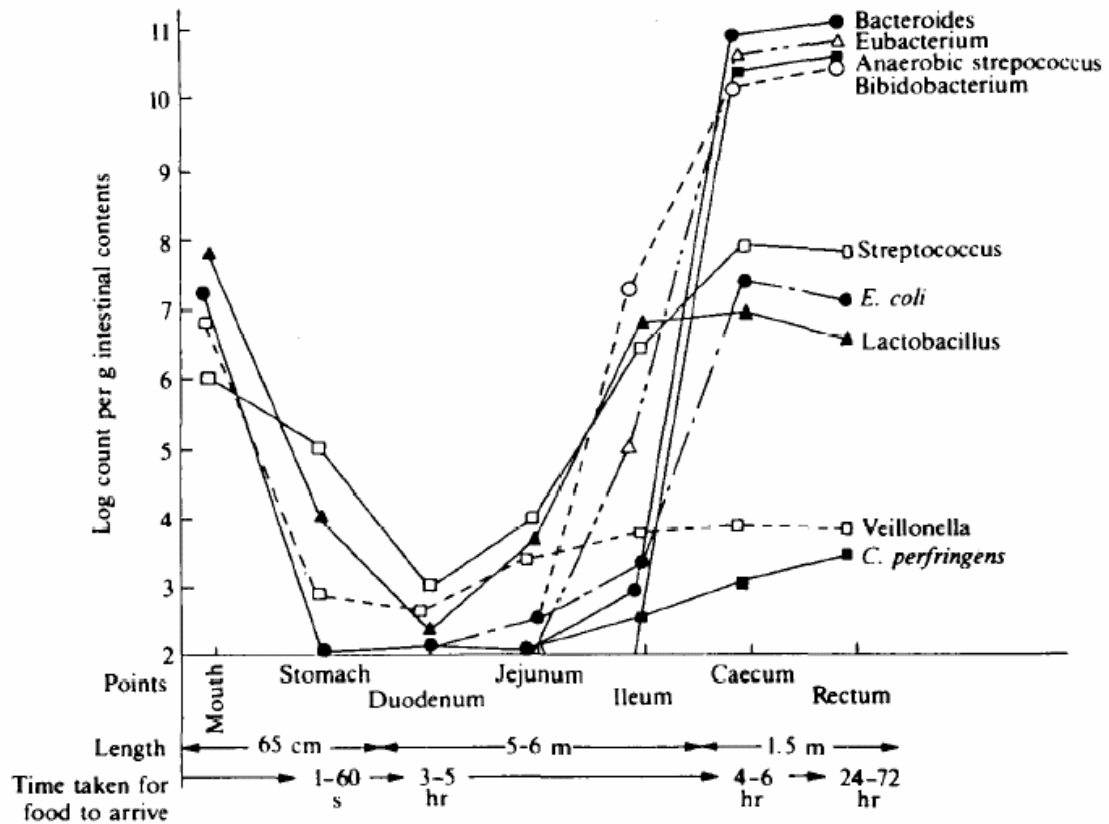
στο ανθρώπινο γάλα από μητέρα σε μητέρα επίσης έχουν επιπτώσεις στην εντερική μικροβιακή χλωρίδα των νηπίων.

Εκτός από την κανονική μικροχλωρίδα ("εδρεύουσα" μικροχλωρίδα) που έχει εδραιωθεί στο γαστρεντερικό σωλήνα, βακτηρίδια εισάγονται στο σώμα ως μέρος των τροφίμων ("επιβάτης" μικροχλωρίδα), ή ως μολυσματικοί παράγοντες ("τυχαία" μικροχλωρίδα).



Σχήμα7: Αλλαγές στην εντερική μικροχλωρίδα ανάλογα με την ηλικία.

Τα τοιχώματα του παχέος εντέρου παρέχουν ειδικές θέσεις στις οποίες τα δισχιδοβακτήρια μπορούν να προσκολληθούν και να πολλαπλασιαστούν. Τα είδη *Bifid. bifidum* και *infantis* μπορούν να μεταβολίσουν τους ολιγοσακχαρίτες που βρίσκονται μέσα στη βλεννογόνο ουσία που εκκρίνεται από τα τοιχώματα των επιθηλιακών κυττάρων του παχέος εντέρου και ως εκ τούτου η βλέννα τείνει να έχει μια εκλεκτική επιρροή στη μικροχλωρίδα. Τα διάφορα είδη δισχιδοβακτηρίων εκκρίνουν τους πολυσακχαρίτες με τους οποίους αρχίζει η προσκόλληση στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου. Η σύνδεση των βακτηρίων στα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα εξαρτάται από τη συγκέντρωση των κυττάρων, το χρόνο επαφής και το μήκος της αλυσίδας του λιπαρού οξέος στο λιποτοιχοϊκό οξύ του δισχιδοβακτηρίου. (Guerina NG, and Neutra MR. 1984)



Σχήμα8: Βακτηριακοί πληθυσμοί κατά μήκος του γαστροεντερικού σωλήνα

(Cu = Colony forming unit, s= second, h=hour, cm= centimeter, m = meter)

4. ΤΡΟΦΙΜΑ ΜΕ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΑ

4.1 ΕΝΣΩΜΑΤΩΣΗ ΤΟΥ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Με το πέρασμα του χρόνου, οι κατασκευαστικές βιομηχανίες έχουν αναπτυχθεί κατάλληλα ώστε να αντεπεξέλθουν στις τεχνολογικές απαιτήσεις των προβιοτικών τροφίμων και σήμερα παράγονται μια σειρά από προβιοτικά γαλακτοκομικά τρόφιμα συμπεριλαμβανομένου του γάλακτος, του γιαουρτιού, του παγωτού και κάποιων επιδόρπιων (Samona & Robinson, 1994 Gomes, Malcata, Klaver, & Grande, 1995, Nighswonger, Brashears, & Gilliland, 1996, Stanton et al., 1998, Corbo et al., 2001).

Προκειμένου να παραχθούν τα ζυμούμενα προϊόντα χρησιμοποιούνται αρχικές καλλιέργειες δισχιδοβακτηρίων για τον εμβολιασμό του γάλακτος. Οι αρχικές καλλιέργειες μπορεί να είναι είτε σύνθετο μίγμα μικροοργανισμών είτε καλλιέργειες με συγκεκριμένα είδη δισχιδοβακτηρίων. Μέχρι σήμερα πέντε είδη δισχιδοβακτηρίων δηλαδή *B. adolescentis*, το *bifidum B.*, το *B. breve*, το *B. infantis* και το *longum B.* (Terri D. Boylston*, Celso G. Vinderolab, Hamid B. Ghoddusic, Jorge A. Reinheimer, 2003) έχουν κινήσει το ενδιαφέρον των γαλακτοκομικών βιομηχανιών κατασκευαστών.

Κριτήριο επιλογής για ένα συγκεκριμένο είδος δισχιδοβακτηρίου αποτελεί ο τύπος της ζύμωσης των σακχάρων, δεδομένου ότι δεν ασκούν όλα τα είδη δισχιδοβακτηρίου την ίδια επίδραση στις οργανοληπτικές ιδιότητες των γαλακτοκομικών προϊόντων (Gomes & Malcata, 1999, Corbo et al., 2001). Ένα άλλο κριτήριο για την επιλογή ενός συγκεκριμένου είδους δισχιδοβακτηρίου είναι ο εμπλουτισμός του προϊόντος με συγκεκριμένες ουσίες, που μπορεί να αυξήσουν τη θρεπτική αξία του προϊόντος (π.χ. σύνθεση βιταμινών), ή να του προσδώσουν συγκεκριμένες ευεργετικές για την υγεία ιδιότητες.

Αν και τα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι μια λογική επιλογή για την εισαγωγή των προβιοτικών βακτηριδίων στην διατροφική αλυσίδα, υπάρχουν πολυάριθμες αναφορές σχετικά με την αστάθεια των προβιοτικών βακτηριδίων στα προϊόντα αυτά (Dinakar & Mistry, 1994, Hattingh & Viljoen, 2001). Το περιβάλλον του γαλακτοκομικού προϊόντος αποτελεί σημαντικό χαρακτηριστικό, συμπεριλαμβανομένου του χαμηλού pH και των αναερόβιων συνθηκών. Παράγοντες οι οποίοι μπορούν να οδηγήσουν σε μειώσεις των πληθυσμών των δισχιδοβακτηρίων σε αυτά τα γαλακτοκομικά προϊόντα (Dinakar & Mistry, 1994, Vinderola, bailo, & Reinheimer, 2000, Gobbetti, Corsetti, Smacchi, Zocchetti, & de Angelis, 1998, Shah, 2000, **Λόρενς**- Hattingh & Viljoen, 2001).

Το δισχιδοβακτήριο απαιτεί αναερόβιες συνθήκες για τη συντήρηση της βιωσιμότητας του στα προβιοτικά τρόφιμα. Εντούτοις, ο βαθμός ανοχής του οξυγόνου εξαρτάται από το είδος του δισχιδοβακτηρίου. Ορισμένα είδη του δισχιδοβακτηρίου συμπεριλαμβανομένου του *B. infantis*, το *B. breve* και το *longum B.*, διαθέτουν μηχανισμό από τον οποίο μπορούν να αποφύγουν την τοξικότητα του οξυγόνου, όπως παρουσιάζεται από την έστω και περιορισμένη μεταβολική δραστηριότητά η οποία παρατηρείται παρουσία οξυγόνου (Shimamura et al., 1992).

Επιπλέον πολλές βιομηχανίες χρησιμοποιούν εξοπλισμό εξαέρωσης για να εξαερώσει το γάλα εάν ζυμώνεται από δισχιδοβακτήρια. Για να αποφευχθεί το πρόβλημα οξυγόνου, μια ενδιαφέρουσα προσέγγιση είναι η μίξη δισχιδοβακτηρίου με το μικροοργανισμό *s. thermophilus* που εμφανίζει υψηλό ρυθμό κατανάλωσης οξυγόνου. Είναι προτιμότερο για τα τρόφιμα με *bifidus* να χρησιμοποιούνται συσκευασίες γυαλιού ή PVDC ή EVOH, οι οποίες παρεμποδίζουν τη διείσδυση του οξυγόνου, ενώ το πολυαιθυλένιο ή το πολυστυρόλιο δεν είναι κατάλληλα για τα *Bifidus* προϊόντα.

Ένας άλλος περιοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη των δισχιδοβακτηρίων στα τρόφιμα είναι το pH του τροφίμου. Το βέλτιστο pH για τα δισχιδοβακτήρια είναι μεταξύ 6.5 και 7.0, ενώ σε τιμές pH κάτω από 5.0 παρεμποδίζεται η ανάπτυξη τους (Λόρενς- Hattingh & Viljoen, 2001).

Αυτό αποτελεί σημαντικό περιορισμό της ενσωμάτωσης των δισχιδοβακτηρίων στα γιαούρτια, δεδομένου ότι το pH των περισσότερων εμπορικών γιαουρτιών είναι μεταξύ 3,7 και 4.3. Επειδή τα περισσότερα είδη δισχιδοβακτηρίων είναι ευαίσθητα σε τιμές pH κάτω από 4.6, το τελικό pH του προϊόντος πρέπει να διατηρηθεί επάνω από 4,6, διαφορετικά ο δισχιδοβακτηριακός πληθυσμός θα μειωθεί γρήγορα (Tamime & Robinson, 1988; Modler et al., 1990 Laroia & Martin, 1990, Modler, 1994, Vinderola et al., 2000). Γενικά το δισχιδοβάκτηριο *B. longum* έχει προτιμηθεί στα διάφορα προβιοτικά τρόφιμα λόγω της μεγαλύτερης ανθεκτικότητας τους στη παρουσία οξυγόνου και της υψηλότερης ανοχής του σε όξινες συνθήκες.

Τα καλλιεργημένα με μικροοργανισμούς γαλακτοκομικά προϊόντα είναι ένα σημαντικό μέρος της διατροφής πολλών κοινωνιών. Αυτά τα γαλακτοκομικά προϊόντα, αρχικά ήταν αναπτυγμένα ως μέσα για τη συντήρηση του γάλακτος. Η ζύμωση μέσω των μικροβιακών καλλιεργειών συντηρεί το προϊόν μέσω της παραγωγής του γαλακτικού οξέος από τη λακτόζη και συμβάλλει στην ανάπτυξη των χαρακτηριστικών ενώσεων οι οποίες προσδίδουν και τη γεύση του προϊόντος. Τα προϊόντα αυτά αναγνωρίζονται τώρα για τα ευεργετικά αποτελέσματά τους στην υγεία. Σήμερα υπάρχει ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον για την ενίσχυση της θρεπτικής αξίας αυτών των προϊόντων μέσω της ενσωμάτωσης των προβιοτικών δισχιδοβακτηρίων σ' αυτά (Robinson, 1991 Tamime, 2002).

Ένας μεγάλος αριθμός προϊόντων ζυμωμένων με δισχιδοβακτήρια είναι διαθέσιμος στην αγορά. Ο Reuter το 1990 πραγματοποίησε μια

έρευνα για τα ζυμωτά γαλακτοκομικά προϊόντα που περιέχουν δισχιδοβακτήρια, στη Γερμανία, Ιαπωνία, και Γαλλία και ανακάλυψε ότι το δισχιδές longum χρησιμοποιείται ευρέως στη Γερμανία. Η επιλογή αυτού του είδους δισχιδοβακτηρίου στηρίζεται στο υψηλό ποσοστό επιβίωσης του στα όξινα προϊόντα. Ο καταλληλότερος συνδυασμός είναι Bifid. longum και στρεπτόκοκκος thermophilus. Το Longum δισχιδοβακτήριο χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με το στρεπτόκοκκο salivarious ή/και εμπλουτισμένο με οξεόφιλο λακτοβάκιλο.

4.2 ΤΥΡΙΑ ΜΕ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΑ

Το δισχιδοβακτήριο έχει επιτυχώς ενσωματωθεί σε μια σειρά διαφορετικών τύπων τυριών (παρακάτω πίνακα). Η επιτυχία της ενσωμάτωσης του δισχιδοβακτηρίου στα τυριά εξαρτάται από το είδος του δισχιδοβακτηρίου, τη δραστηριότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων που χρησιμοποιούνται στην κατασκευή του τυριού, τη σύνθεση του τυριού, και τις συνθήκες επεξεργασίας και ωρίμανσης.

Η προσεκτική επιλογή του είδους του βακτηρίου είναι απαραίτητη έτσι ώστε να επιτραπεί η επιβίωση του δισχιδοβακτηρίου στα τυριά. Η αξιολόγηση της βιωσιμότητας των δισχιδοβακτηριακών ειδών σε αρκετούς τύπους τυριών έχει μελετηθεί. Σε μία μελέτη (Roy et al., 1995) αξιολογήθηκε η ικανότητα επιβίωσης διαφόρων ειδών δισχιδοβακτηρίων στο γάλα υπό τις συνθήκες της τυροκόμησης. Τα είδη δισχιδοβακτηρίου διέφεραν στη δυνατότητά τους να αυξηθούν μέσα στα διαφορετικά μέσα, συμπεριλαμβανομένου του γάλακτος, της πυτιάς και των αρχικών καλλιεργειών. Τα B. longum έδειξαν υψηλά ποσοστά επιβίωσης, ενώ τα B. adolescentis ήταν ανίκανα να αυξηθούν κάτω από τις συνθήκες αυτές. Σε μια άλλη μελέτη (O'Riordan & Fitzgerald, 1998) συγκρίθηκε η βιωσιμότητα

των *B. breve*, *B. bifidum*, και του *B. infantis* σε διάφορους τύπους τυριών. Μετά από μια περίοδο κατάψυξης 14 ημερών, διαπιστώθηκε ότι το είδος *B. bifidum* παρουσίασε αμελητέες απώλειες, ενώ οι πληθυσμοί των *B. infantis* και των *B. breve* μειώθηκαν δραματικά στο διάστημα αυτό.

Στο Crescenza, ένα μαλακό ιταλικό τυρί με κρούστα με σύντομο χρόνο ωρίμανσης συγκρίθηκε η βιωσιμότητα τριών ειδών δισχιδοβακτηρίων (Terri D. Boylston, Celso G. Vinderola, Hamid B. Ghodduji, Jorge A. Reinheimer, 2004) του *bifidum B.* του *longum B.* και του *B. infantis*. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής έδειξαν ότι τα *bifidum B.* και τα *longum B.* διαθέτουν μεγαλύτερη ικανότητα επιβίωσης σε σχέση με το *B. infantis* στις συγκεκριμένες συνθήκες.

ΠΙΝΑΚΑΣ Χαρακτηριστικά τυριών με δισχιδοβακτήρια

Τύπος τυριού	Χρόνος αποθήκευσης	Μικροοργανισμοί	Ph	Υγρασία (%)	Λίπος (%)	Άλας (%)	Πηγή
Fresco	60 μέρες	<i>Bifidobacteria</i> , <i>L. acidophilus</i> and/or <i>L. casei</i>	5.29	58	12	0.9	Vinderola et al. (2000b)
Crescenza	14 μέρες	<i>B. bifidum</i> or <i>B. longum</i> and <i>S. thermophilus</i>	5.27	62	27	0.7	Gobbetti et al. (1998)
Cheddar	24 μέρες	<i>B. bifidum</i> and mesophilic starter culture		37	33	1.1	Dinakar and Mistry (1994)
Cheddar	84 μέρες	<i>B. infantis</i> and <i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> and/or <i>Lc. Lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	5.2	33	30	1.9	Daigle et al. (1999)
Canestrato Pugliese	56 μέρες	<i>B. bifidum</i> or <i>B. longum</i> and <i>S. thermophilus</i> and <i>L. delbrueckii</i> ssp.	5.55	39	31	3.0	Corbo et al. (2001)

		bulgaricus					
Gouda	9 μέρες	Bifidobacteria ssp. and <i>L. acidophilus</i>	5.1	42	29	1.7	Gomes et al. (1995)
Iranian White Brined	60 μέρες	<i>B. bifidum</i> , <i>S. thermophilus</i> , and <i>L. delbrueckii</i> or <i>Lc. Lactis</i>	4.85	59.5	20.5	7.15	Ghoddusi and Robinson (1996a)

Το τυρί Kariesh είναι ένα δημοφιλές αιγυπτιακό μαλακό τυρί που γίνεται από γάλα βούβαλων. Προστέθηκαν δισχιδοβακτήρια στο τυρί Kariesh και βρέθηκε ότι μετά από μια περίοδο δέκα ημερών ωρίμανσης, οι δισχιδοβακτηριακοί πληθυσμοί ήταν υψηλότεροι από 10^8 cfu/gr (Murad, Sadek, & Fathy, 1998).

Προτείνεται ότι από τα δισχιδοβακτήρια ανθρώπινης προέλευσης τα *bifidum* B. και τα *longum* B. εμφανίζουν τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στις συνθήκες παραγωγής τυριού (Corbo et al., 2001). Η ενσωμάτωση των δισχιδοβακτηρίων στα τυριά έχει οδηγήσει στη παραγωγή νέα προβιοτικά τρόφιμα με βελτιωμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.

4.3 ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΑΚΟ ΓΙΑΟΥΡΤΙ ACIDOPHILUS

Το δισχιδοβακτηριακό γιαούρτι *Acidophilus* είναι παρόμοιο με το *Bifidus* γιαούρτι. Κατασκευάζεται σε πολλές χώρες ζυμώνοντας γάλα της αγελάδας με μικροοργανισμούς δισχιδοβακτηρίων. Το ομογενοποιημένο γάλα θερμαίνεται στους 85°C για 30 λεπτά ή στους 90°C για 5 λεπτά και ψύχεται στους $40 - 42^{\circ}\text{C}$ όπου εμβολιάζεται με τις αρχικές καλλιέργειες του *L. Acidophilus* και *Bifid. bifidum* ή *longum* συσκευάζεται και αφήνεται για επώαση στους $40 - 44^{\circ}\text{C}$ για 3-5 ώρες. Έπειτα ακολουθεί η ψύξη και η αποθήκευση του γιαουρτιού. (Kantha D. Arunachalam, Ph.D., 1999).

4.4 ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΑΚΟ ΓΑΛΛΑ Ή BIFIDUS ΓΑΛΛΑ

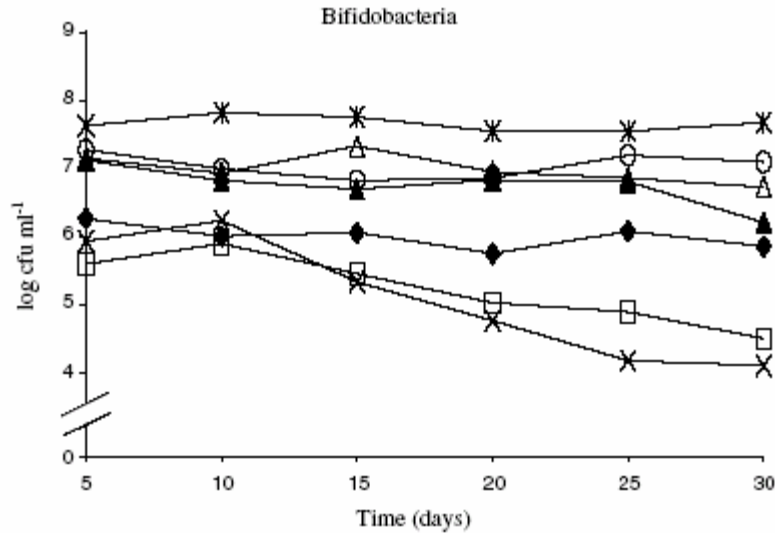
Το γάλα της αγελάδας συμπυκνώνεται στα 150 - 200 γρ/κιλό. Το γάλα ομογενοποιείται και θερμαίνεται στους 80-120 °C για 15 λεπτά, και ψύχεται στους 37 ° C. Εμβολιάζεται με 100 g/l με το δισχιδές bifidum ή Longum ως αρχική καλλιέργεια σε pH 4,5. Τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του Bifidus γάλακτος είναι:

- i) έχει μια ήπια όξινη και ελαφρώς πικάντικη γεύση,
- ii) η μοριακή αναλογία γαλακτικού οξέος προς οξικό οξύ 2:3,
- iii) ο πληθυσμός του δισχιδοβακτηρίου είναι 10^8 - 10^9 cfu/ml.

Το ζυμωμένο γάλα που περιέχει δισχιδοβακτήρια είναι δημοφιλές στην Αγγλία επειδή είναι ηπιότερο στη γεύση σε σχέση με το γιαούρτι. Η εμπορική μέθοδος για την παραγωγή του Bifidus γάλακτος στην Ινδία (Misra και Kuila, 1992) είναι η εξής:

Αποβουτυρωμένο γάλα θερμαίνεται στους 90 ° C για 30 λεπτά, και ψύχεται στους 37 ° C, όπου εμβολιάζεται με το δισχιδές bifidum σε συγκέντρωση 100gr/Lt και επωάζεται για 19 ώρες. Τα προϊόντα αυτά έχουν ζωή αποθήκευσης το ελάχιστο 3 εβδομάδων και μικροβιακό φορτίο 10^8 cfu/gr.

Τα δισχιδοβακτήρια αποδείχτηκε ότι εμφανίζουν μεγάλη ανθεκτικότητα κατά την αποθήκευση ζυμωμένου γάλακτος στους 4 °C. Από τα 7 εμπορικά διαθέσιμα ζυμωμένα γάλατα στα 5 από αυτά τα ο αριθμός των δισχιδοβακτηρίων παραμένει σταθερός και πάνω 10^6 cfu/ml συγκέντρωση η οποία θεωρείται απαραίτητη για την εκδήλωση των προβιοτικών αποτελεσμάτων (Miguel Gueimonde et. al 2004).



Σχήμα10: Επιβίωση δισχιδοβακτηρίων κατά την συντήρηση ζυμούμενων γαλάτων.

4.5 BIFIDUS ΓΙΑΟΥΡΤΙ

Χρησιμοποιείται συνδυασμός καλλιέργειας bifidum Bifid. ή longum και καλλιέργειας γιαουρτιού με ή χωρίς τον εμπλουτισμό με οξεόφιλο λακτοβάκιλο. Ακολουθεί θέρμανση στους 40 - 42 ° C για 3-5 ώρες και στη συνέχεια ψύξη και συσκευασία. (Kantha D. Arunachalam, ' Ph.D., 1999)

4.6 BIFIGHURT

Αυτό το προϊόν είναι παρόμοιο με το Bifidus γάλα ή το Bifidus γιαούρτι αλλά η αρχική καλλιέργεια είναι αποκλειστικά το δισχιδές longum CKL 1969 ή DSM 2054 σε συνδυασμό με στρεπτόκοκκο thermophilus.

Το δισχιδοβακτηριακό φορτίο στο προϊόν είναι 10^8 cfu/ml. (Kantha D. Arunachalam, ' Ph.D., 1999)

ΠΙΝΑΚΑΣ Εμπορικά προϊόντα που περιέχουν Bifidobacterium τα SSP και

Lactobacillus acidophilus

Προϊόν	Χώρα προσέλευσης	Μικροοργανισμοί
A-38	Δανία	Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, Leuconostoc mesenteroides spp. cremoris, mesophilic lactococci
Acidophilus buttermilk	USA	Lactobacillus acidophilus, Leuconostoc mesenteroides spp. cremoris, mesophilic lactococci
Progurt		Bifidobacterium bifidum, Lactobacillus acidophilus, mesophilic lactococci
Acidophilus milk	Διάφορες χώρες	Lactobacillus acidophilus
Acidophilus yeast milk	Former USSR	Lactobacillus acidophilus, Saccharomyces fragilis, S. cerevisiae
A-B Yoghurt	France	Bifidobacterium bifidum, Lactobacillus acidophilus
Cultura	Δανία	Ibidem

Milky	Ιταλία	Ibidem
Nu-Trish A/B Milk	USA	Ibidem
Biomild	Διάφορες χώρες	Bifidobacterium spp., Lactobacillus acidophilus
Acidophilus yoghurt (ACO- yoghurt)	Διάφορες χώρες	Lactobacillus acidophilus, L. delbrueckii subsp. bulgaricus, Streptococcus thermophilus
B-Active	Γαλλία	Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, L. delbrueckii subsp. bulgaricus, Streptococcus thermophilus
Fresh BA	Αγγλία	Ibidem
Kyr	Ιταλία	Ibidem
Yoplus	Αυστραλία	Ibidem
Biogarde	Γερμανία	Lactobacillus acidophilus, Bi®dobacterium bi®dum, Streptococcus thermophilus

Ofilus	Γαλλία	Ibidem
Philus	Νορβηγία	Ibidem
Bifidus milk	Διάφορες χώρες	Bifidobacterium bifidum, B. longum
Bifighurt	Γερμανία	Bifidobacterium bifidum, Streptococcus thermophilus
Biogurt	Γερμανία	Lactobacillus acidophilus, Streptococcus thermophilus
Biokys	Czech Republic	Bifidobacterium bifidum, Lactobacillus acidophilus, Pediococcus acidilactici
Mil-Mil	Ιαπωνία	Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, B. breve
Akult	Ιαπωνία	Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, B. breve, L. casei subsp. casei

5. ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ

5.1 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ.

Σήμερα είναι αποδεκτό γενικά ότι το προϊόν θα πρέπει να περιέχει τουλάχιστον 10^6 ζωντανά βακτήρια cfu/gr κατά την διάρκεια της κατανάλωσης του. Η προσθήκη δισχιδοβακτηρίων σε ένα τρόφιμο δεν αποτελεί ικανή και αναγκαία συνθήκη για να είναι λειτουργικό. Οι απόψεις για το κατώτατο προτεινόμενο επίπεδο των δισχιδοβακτηρίων στα τρόφιμα δίστανται (Charteris et al., 1998).

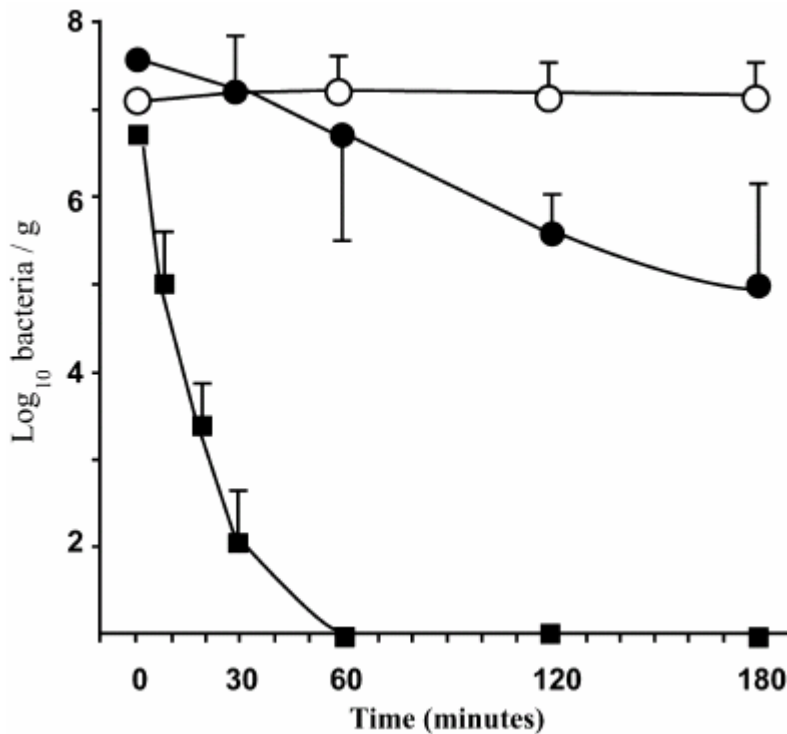
Οι προϋποθέσεις οι οποίες λαμβάνονται υπόψη στην επιλογή του προβιοτικού για την παραγωγή αποτελεσματικών λειτουργικών τροφίμων είναι οι ακόλουθες:

- Να έχει αποδεδειγμένα ευεργετικές ιδιότητες στη υγεία χωρίς να υπάρχει κίνδυνος παθογένειας - δηλητηρίασης από την κατανάλωση του.
- Ανθεκτικότητα στο όξινο περιβάλλον του στομάχου.
- Ανθεκτικότητα στα χολικά οξέα στο λεπτό έντερο.
- Ικανότητα του στελέχους να εγκαθίσταται και να αναπτύσσεται στην ανθρώπινη εντερικό βλεννογόνο (προαιρετικά).

Επιπλέον για την επιλογή του στελέχους δισχιδοβακτηρίου στις βιομηχανίες τροφίμων λαμβάνεται υπόψη η δυνατότητα του να αναπτύσσεται εύκολα και σε μεγάλες ποσότητες *in Vitro*, να είναι ανθεκτικό στις συνθήκες παραμονής και αποθήκευσης και να προσδίδει επιθυμητές οργανοληπτικές ιδιότητες στο τελικό προϊόν.

Συνήθως επιλέγονται δισχιδοβακτήρια ανθρώπινης προέλευσης έτσι ώστε να είναι συμβατά με την ανθρώπινη εντερική χλωρίδα (Lankaputhra & Shah, 1995), αν και τα δισχιδοβακτήρια ζωικής προέλευσης είναι

περισσότερο ανθεκτικά των δυσμενών συνθηκών που βρίσκονται στα καλλιεργημένα γαλακτοκομικά προϊόντα (Gomes & Malcata, 1999). Επιπλέον για να ενεργήσουν τα βακτήρια ως προβιοτικά, θα πρέπει να αντισταθούν στις όξινες συνθήκες του στομάχου για περίπου 90 λεπτά (ένας μέσος χρόνος για γαστρική εκκένωση των γαλακτοκομικών προϊόντων). Με In Vitro πειράματα στα οποία διάφορα στελέχη δισχιδοβακτηρίων βακτήρια εκτέθηκαν σε συνθήκες οξύτητας προσομοιαζόμενες με εκείνες τους στομάχου βρέθηκε ότι τα ορισμένα ότι ο πληθυσμός αυτών παραμένει σταθερός για 180 λεπτά σε pH 3, μειώνεται προοδευτικά σε pH 2 και μηδενίζεται μετά από μια ώρα σε PH 1, (Pochart P et al. 1992). Από τις μελέτες αυτές βρέθηκε ότι τα πλέον ανθεκτικά στελέχη στο όξινο περιβάλλον ήταν το *B. Longum* και το *Bifidobacterium Pseudolongum*.



Σχήμα 11: Επιβίωση δισχιδοβακτηρίων μετά από επώαση σε pH1 (τετράγωνα), pH2 (κλειστοί κύκλοι) και pH3 (ανοικτοί κύκλοι).

Επίσης τα δισχιδοβακτήρια πρέπει να είναι ανθεκτικά στα χολικά άλατα προκειμένου να φθάσουν ζωντανά στο έντερο και σε ικανοποιητικό αριθμό (Robinson & Samona, 1992, Blanchette et al., 1995, Arunachalam, 1999, Brassert & Schiffrin, 2000). In Vitro μελέτες έδειξαν ότι τα πιο ανθεκτικά δισχιδοβακτηρία στα χολικά άλατα είναι *B. Longum*, το *Bifidobacterium Pseudolongum* και το *B. Infantis* (Lankaputhra WEV et al. 1995).

Γενικά τα δισχιδοβακτήρια επιζούν της ανθρώπινης εντερικής διέλευσης σε υψηλούς αριθμούς και φτάνουν στο παχύ έντερο ζωντανά σε ποσοστό $23,5 \pm 10,4\%$ της χορηγούμενης δόσης. Η επιβίωση αυτών εξαρτάται από το βαθμό οξύτητας του στομάχου, την συγκέντρωση των χολικών αλάτων καθώς και το χρόνο παραμονής αυτών στις συνθήκες αυτές.

Σχετικά με την εγκατάσταση και ανάπτυξη των χορηγούμενων δισχιδοβακτηρίων, In vivo μελέτες δείχνουν ότι τα εξωγενή δισχιδοβακτήρια δεν προσκολλούνται σε μεγάλο βαθμό στο εντερικό επιθήλιο. Συγκεκριμένα μελέτη στην οποία χορηγήθηκε σε εθελοντές ένα στέλεχος δισχιδοβακτηρίου (με ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικό) το ποσοστό ανάκτησης αυτού στα κόπρανα ήταν $29,7 \pm 6\%$. Το ποσοστό αυτό αντιστοιχεί σε εκείνο των βιώσιμων βακτηρίων μετά την διέλευση τους στο γαστρεντερικό σύστημα. Επιπλέον όταν έπαψε η χορήγηση του προβιοτικού σταμάτησε και η εμφάνιση αυτού στα κόπρανα (Bouhnik Y, et al. 1992).

Φαίνεται όμως ότι δεν είναι απαραίτητη η προσκόλληση του δισχιδοβακτηρίου αρκεί κατά τη διέλευση του να είναι μεταβολικά ενεργό για να εκδηλωθούν τα ευεργετικά του αποτελέσματα. Αυτό υποστηρίζεται και από μια μελέτη στην οποία βρέθηκε ότι τα δισχιδοβακτήρια παρεμποδίζουν την προσκόλληση παθογόνων μικροβίων στο έντερο με την έκκριση μιας πρωτεΐνης (100.000kDa) χωρίς να είναι απαραίτητη η

απευθείας προσκόλληση αυτών (Fujiwara S, et al. 1997).

6. ΤΑ ΟΦΕΛΗ ΤΟΥ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ

Τα δισχιδοβακτήρια συνδέθηκαν γρήγορα με το τομέα της υγείας λόγω της αριθμητικής κυριαρχίας τους στα νήπια, τα οποία τρέφονταν με μητρικό γάλα έναντι των νηπίων που τρέφονταν με ξένο γάλα (Tissier, 1899 -1906).

ΠΙΝΑΚΑΣ : Πειραματικά αποτελέσματα που παρουσιάζουν την επίδραση Bifidobacteria.

Οργανισμός	Έλεγχος	Τεστ	Μορφή	Αποτέλεσμα	Πηγή
B. longum. BL 2928	latex, γαλακτώδης χυμός	in vitro (φαγοκυττάρωση)	λαιοφιλιωμένα νεκρά κύτταρα	+ IL- 1 production + cytotoxicity	Yasui H, Nagaoka AA, Mike K, Hayakawa K, and Owaki M. 1992
B. breve 4064	B. breve Κα- 6	in vitro	-	+ έκκριση IgA	Yasui H, Nagaoka AA, Mike K, Hayakawa K, and Owaki M. 1992
B. breve 4064	B. breve Κα- 6	in vivo (με ποντίκια)	αναστολή ύδατος (σωλήνας στομαχίου)	+ antigen-specific antibody* (cholera toxm)	Yasui H, Nagaoka AA, Mike K, Hayakawa K, and Owaki M. 1992
B. bifidum	placebo	in vivo (με 15 ανθρώπους)	λαιοφιλιωποίηση	-chronic inflammation of sigmoid colon' + humoral immunity*	De Simone C, Clardi A, Grassi A, Lambert Gardini S, Tsantoglou S, Trinchieri V, Moretti S & Jirillo E. 1992
<i>Bifidobacterium SPP.</i>		in vivo (με 15 ανθρώπους)	-	-stool frequency in intractable diarrhea	Colombel JF, Cortot A, Neute and Romond. 1987
<i>B. longum</i>	κάποια άτομα πριν και μετά τα δισχιδοβακτήρια	in vivo (με 5 ανθρώπους)	λαιοφιλιωμένα βακτήρια	πληθυσμός clostridia -NH ₃ στα περιττώματα β-	Benno Y, and Mitsuoka T. 1996

				glicouronidase στα περιττώματα	
<i>B. longum</i>	με άπαχο γάλα και γιαούρτι	in vivo (με ποντίκια)	ζυμωμένο γάλα	+ life span* - creatinine*	Suzuki Y, Kaizu H, Yamauchi Y and Nakazato H 1991
<i>Bifidobacterium</i> <i>SPP.</i>	κάποια άτομα πριν και μετά τα δισχιδοβακτήρια	in vivo (με ανθρώπους)	ζυμωμένο γάλα	+ stool frequency + (in bedridden elderly)	Tanaka R, and Shimosaka K. 1982
<i>B. longum</i>	γιαούρτι χωρίς δισχιδοβακτήρια	in vivo (με 10 ανθρώπους)	ζυμωμένο γάλα	- ερυθρομυκίνη - προκληθείσα γαστροεντερικά αποτελέσματα	Colombel JF, Cortot A, Neut and Romond. 1987
<i>Bifidobacterium</i> <i>SPP.</i>	κάποια άτομα πριν και μετά τα δισχιδοβακτήρια	in vivo (με 6 ανθρώπους)	ζυμωμένο γάλα	-nitroreductase -glucuronidase	Bouhnik Y, 1993
<i>Bifidobacterium</i> <i>SPP.</i>		in vivo (με ανθρώπους)	ζυμωμένο γάλα	επιβίωση κατά τη διάρκεια της εντερικής διέλευσης	Benno Y, and Mitsuoka T. 1996
<i>B. longum</i> BB. 536	<i>B. longum</i> ATCC 15707	in vivo (με 48 ανθρώπους)	ζυμωμένο γάλα	- clostridium πληθυσμοί, bacteroides, κολοβακτηρίδια	Ballongue J, Grill JP, and Baratte- Euloge P. 1993
<i>Bifidobacterium</i> <i>spp.</i>	παστεριωμένο, ζυμωμένο με δισχιδοβακτήρια γάλα	in vivo (με 60 ανθρώπους)	ζυμωμένο γάλα	χρόνος διέλευσης του παχέος εντέρου	Grimaud JC, Bouvier M, Bertolino JG, Salducci J, Chiarelli P, Bouley C. 1992

Επιπρόσθετα οφέλη στην υγεία από τα δισχιδοβακτήρια είναι η ενισχυμένη άνοση απάντηση, η μείωση της χοληστερόλης, η σύνθεση βιταμινών, η αντικαρκινογόνος δράση, η αντιβακτηριακή δράση, η ανακούφιση των συμπτωμάτων της δυσανεξίας στη λακτόζη, η αύξηση στην απορρόφηση του ασβεστίου και ο περιορισμός της μετάβασης αλλεργιογόνων ουσιών από τα τρόφιμα στο αίμα (Bifirkstun et al., 2004,

Guarner & Malagelada, 2003, Jiang et al., 1996, Robinson & Samona, 1992, Blanchette, Roy, & Gauthier, 1995, Gomes & Malcata, 1999 Arunachalam, 1999, Brassert & Schiffrin, 2000, Lourens- Hattingh & Viljoen, 2001).

6.1 ΘΡΕΠΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

Τα δισχιδοβακτήρια έχουν δράση φωσφατάσης φωσφοπρωτεϊνών, η οποία συμβάλλει στην αύξηση της απορρόφησης της πρωτεΐνης του μητρικού γάλακτος μέσω της διάσπασης της καζεΐνης. Αυτό συμβάλει στην ικανοποιητική απορρόφηση του μητρικού γάλακτος (Nishizawa, 1963). Η κατακράτηση αζώτου είναι καλή στα νήπια με φυσιολογική μικροχλωρίδα δισχιδοβακτηρίων. Τα δισχιδοβακτήρια προάγουν το μεταβολισμό των αμινοξέων, αλλά ο μηχανισμός δεν είναι σαφής. Ένας από τους ρόλους των δισχιδοβακτηρίων στο έντερο των νηπίων είναι η καταστολή της ανάπτυξης των σηπτικών βακτηρίων και με αυτόν τον τρόπο αποφεύγονται οι απώλειες των θρεπτικών ουσιών.

Τα διάφορα είδη δισχιδοβακτηρίων μπορούν να συνθέσουν βιταμίνες όπως η θειαμίνη (B₁), η πυριδοξίνη (B₆), το φολικό οξύ (B₉), η κυανοκοβαλαμίνη (B₁₂), νιασίνη, ασκορβικό οξύ, βιοτίνη και ριβοφλαβίνη (Deguchi et al., 1999).

Ένα σημαντικό πλεονέκτημα των δισχιδοβακτηρίων έναντι των άλλων προβιοτικών είναι η παραγωγή L-γαλακτικού οξέως το οποίο μεταβολίζεται από τον ανθρώπινο οργανισμό προφυλάσσοντας τα βρέφη (κάτω του ενός έτους) από το ενδεχόμενο μεταβολικής οξέωσης.

Τέλος τα δισχιδοβακτήρια αυξάνουν τη βιοδιαθεσιμότητα μετάλλων όπως ασβέστιο, μαγνήσιο, ψευδάργυρος, σίδηρος μέσω ελάττωσης του pH στο έντερο διευκολύνοντας έτσι την απορρόφηση των μετάλλων.

ΠΙΝΑΚΑΣ Σύνθεση βιταμινών από διάφορα είδη δισχιδοβακτηρίων

Βιταμίνες $\mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$	Μικροοργανισμοί				
	<i>Bifid. adolescentis</i>	<i>Bifid. bifidum</i>	<i>Bifid. breve</i>	<i>Bifid. infantis</i>	<i>Bifid. longum</i>
Θειαμίνη	0.02	0,23	0,09	0,2	0,09
Πυριδοξίνη	0.01	0,058	0,008	0,040	0,02
Φολικό οξύ	0,043	0,046	0,02	0,059	0,42
Νιασίνη	0.17	1.04	0.39	1.23	0.61
Κυανοκοβαλαμίνη	0.35	0.65	0.49	0.39	0.46
Ασκορβικό οξύ	l.c.	n.s	l.c.	l.c.	l.c.
Βιοτίνη	l.c.	n.s.	l.c.	l.c	l.c
Ριβοφλαβίνη	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s

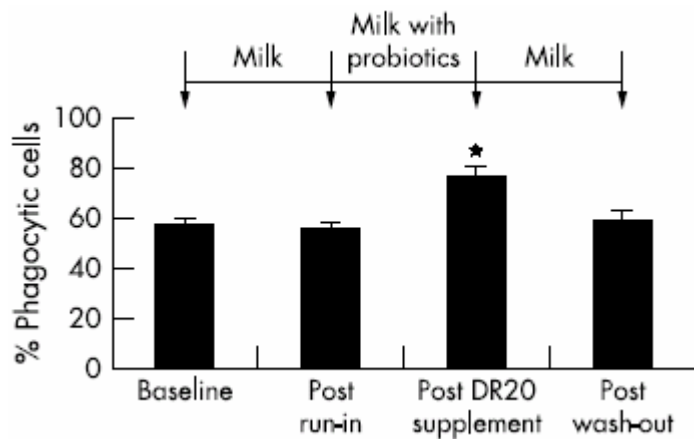
l.c. low concentration = χαμηλή συγκέντρωση, n.s. not synthesized = μη συντεθειμένο

6.2 ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Η εντερική χλωρίδα είναι ένα σημαντικό τμήμα του αμυντικού μηχανισμού 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 με δισχιδοβακτήρια σχετίζεται άμεσα με την ωρίμανση των χημικών ανοσοποιητικών μηχανισμών, και συγκεκριμένα της κυκλοφορίας των κυττάρων που εκκρίνουν IgA και IgM (Grönlund et al. 2000).

Η άνοση λειτουργία τείνει να μειωθεί με την ηλικία. Δύο φορές καθημερινή κατανάλωση γάλακτος με *Bifidobacterium lactis* να ενισχύει σημαντικά την άνοση λειτουργία σε μια ομάδα υγιών ηλικιωμένων ανθρώπων.



Σχήμα12: Αύξηση της φαγοκυτταρικής δραστηριότητας των πολυμορφοπύρηνων στο αίμα υγιών ηλικιωμένων ατόμων (65-85 χρόνων) μετά από χορήγηση (τριών εβδομάδων) γάλακτος εμπλουτισμένο με *B. lactis* (HN 019).

Στο παραπάνω πείραμα συμμετείχαν 13 ηλικιωμένοι (5 άντρες, 8 γυναίκες) στους οποίους χορηγήθηκαν 200ml /2 φορές τη μέρα γάλακτος (χαμηλών λιπαρών και λακτόζης) για τρεις εβδομάδες. Στη συνέχεια η φόρμουλα γάλακτος συμπληρώθηκε με προβιοτικό και συνεχίστηκε η ίδια αγωγή για άλλες τρεις εβδομάδες. Τέλος ακολούθησε μία ακόμη περίοδος τριών εβδομάδων χωρίς με χορήγηση της φόρμουλας χωρίς προβιοτικό). (Gill HS, Rutherford KJ, Gopal P, et al. 2001).

6.3 Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥ ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ ΣΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΩΝ ΕΝΤΕΡΙΚΩΝ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ

α) Δυσκοιλιότητα

Η δυσκοιλιότητα μπορεί να οριστεί ως η αποτυχία αφόδευσης για 3 ή 4 ημέρες και όταν συνδυάζεται με πόνο εξελίσσεται σε ασθένεια. Η δυσκοιλιότητα προκαλείται από την κακή ποιότητα των τροφίμων, κακές διατροφικές συνήθειες και τη θνησιμότητα της μικροχλωρίδας στις πεπτικές οδούς. Χορήγηση γάλακτος το οποίο περιέχει δισχιδοβακτήρια συμβάλλει αισθητά στην αντιμετώπιση της πάθησης (Doerbeck et al., Doerbeck F and Tobiasch V. Zur., 1973).

Θεωρείται ότι τα οργανικά οξέα που παράγονται από τα δισχιδοβακτήρια διεγείρουν τις περισταλτικές κινήσεις του εντέρου. Επίσης έχει προταθεί ότι η χορήγηση δισχιδοβακτηρίων σε δυσκοίλιους ασθενείς βοηθά στη κατακράτηση υγρασίας στα κόπρανα βελτιώνοντας έτσι την κατάσταση των ασθενών.

β) Δυσανεξία λακτόζης

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-γαλακτοσιδάσης, η λακτόζη δεν αφομοιώνεται και οδηγεί σε εντερικά προβλήματα. Έχει παρατηρηθεί (Gobbetti et al., 1998) ότι η υψηλότερη δραστηριότητα της β-γαλακτοσιδάσης, που αποδίδεται στα δισχιδοβακτήρια αυξάνει την υδρόλυση λακτόζης και παρέχει πρόσθετα ευεργετικά αποτελέσματα για τα άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη.

γ) Αντιβιοτική δράση δισχιδοβακτηρίου έναντι μικροβίων του γαστρεντερικού.

Η υγιής εντερική μικροχλωρίδα αποτελεί ένα φυσικό εμπόδιο και ελέγχει τη μετακίνηση παθογόνων βακτηρίων, αντιγόνων και άλλων τοξικών παραγόντων από το έντερο προς το αίμα.

Ένας από τους μηχανισμούς που επιτρέπει στο δισχιδοβακτήριο να παρέχει την προστασία ενάντια σε άλλους μικροοργανισμούς είναι το γεγονός ότι παράγει γαλακτικό οξύ και οξικό οξύ. Αυτά τα δύο οξέα καθιστούν το περιβάλλον ακατάλληλο για πολλούς διαφορετικούς τύπους βακτηριδίων. Επιπλέον η γρήγορη αύξηση και σε μεγάλους πληθυσμούς μπορεί να περιορίσει την αύξηση παθογόνων και σηπτικών βακτηρίων. Το οξικό οξύ είναι πιο βακτηριοστατικό από το γαλακτικό οξύ γεγονός το οποίο μπορεί να εξηγήσει μια μεγαλύτερη επίδραση του δισχιδοβακτηρίου έναντι ορισμένων άλλων βακτηριδίων, π.χ. σαν εκείνα που βρίσκονται στο γιαούρτι, τα οποία παράγουν μόνο γαλακτικό οξύ. Έχει βρεθεί ότι τα δισχιδοβακτήρια αναπτύσσουν *in vitro* αντιβακτηριακή δράση έναντι στους παθογόνους μικροοργανισμούς σταφυλόκοκκο, *Shigella*, *dysenteria*, σαλμονέλλα και *candida albicans*. (Korshunov VM, Sinitsyua NA, Ginodman GA, and Pinegin BV., 1985).

Τα δισχιδοβακτήρια παρέχουν μια άμεση προστασία έναντι στην αύξηση των παθογόνων μικροοργανισμών, κάτι το οποίο είναι ιδιαίτερα χρήσιμο ενάντια στα βακτηρίδια όπως τα *clostridium difficile*, τα οποία προκαλούν τη ψευδομεμβρανική κολίτιδα. Οι *difficile* μολύνσεις *clostridium* αναπτύσσονται συχνά τόσο σε νέους όσο και σε ηλικιωμένους, και επίσης σε άτομα μετά από χρήση αντιβιοτικών. Η κατανάλωση δισχιδοβακτηρίων μπορεί να μειώσει την επίπτωση της μόλυνσης *clostridium* και της σχετικής διάρροιας. (Schneegans E, 1966).

Τα δισχιδοβακτήρια είναι επίσης αποτελεσματικό έναντι στο θανάσιμο είδος *E.coli* 0157:H7. Αυτό είναι ένα κοινό παθογόνο που βρίσκεται σε πολλές τροφικές ασθένειες και λαμβάνεται από τα μαγειρεμένα κρέατα. Μπορεί να προκαλέσει μια μόλυνση που μπορεί εύκολα να διαδοθεί

στο αίμα και μπορεί ακόμη και να οδηγήσει στο θάνατο. Οι Schneegan et al., το 1966 έχουν δείξει ότι η διαιτητική πρόσληψη *B. bifidum* στα παιδιά με εντερικά προβλήματα ή μολύνσεις, μπορεί να καταστρέψει τα εντεροπαθογόνα είδη των μικροοργανισμών *E. coli* σε περίπου 60% των περιπτώσεων.

Το δισχιδοβακτήριο εμφανίζει αντιμικροβιακές ικανότητες επίσης απέναντι σε δυο άλλους μικροοργανισμούς που είναι η λιστερία και το *bacteroides*. Αυτοί προκαλούν επίσης σοβαρές περιπτώσεις διάρροιας και αφυδάτωσης. Αναπτύσσονται συνήθως μετά από την αντιβιοτική χρήση.

Έχει βρεθεί ότι η κατανάλωση γάλακτος που περιέχει δισχιδοβακτήρια όπως το *dischidés longum*, και το *bifidum B.* συμβάλλει σημαντικά στην αποκατάσταση της μικροχλωρίδας, μετά από χρήση αντιβιοτικών. Ο Korshunov, το 1985 παρατήρησε ότι με τη χορήγηση δισχιδοβακτηρίων αποκαταστάθηκε γρήγορα ο πληθυσμός των δισχιδοβακτηρίων στο έντερο ατόμων που έκαναν χρήση καναμυκίνης. Επιπλέον σε ασθενείς που έπασχαν από λευχαιμία παρατηρήθηκε βελτίωση της διαταραγμένης εντερικής τους μικροχλωρίδας μετά από χορήγηση δισχιδοβακτηρίου. Τα αποτελέσματα της έρευνας δίνονται στον παρακάτω πίνακα.

ΠΙΝΑΚΑΣ Αλλαγές στα δευτερεύοντα μέλη των εντερικών βακτηριδίων κατά τη διάρκεια της θεραπείας της λευχαιμίας.

Οργανισμοί	Έλεγχος (10 περιπτώσεις)	Θεραπεία με αντιλευχαιμικά φάρμακα (56 περιπτώσεις)	
		Χωρίς δισχιδοβακτήρια (28 περιπτώσεις) επί %	Με δισχιδοβακτήρια (28 περιπτώσεις) επί %
<i>Klebsiella sp.</i>	0	3 (10.7)	2 (7.1)

Citrobacter sp.	0	6 (21.4)	5 (17.9)
Proteus vulgar-is	0	8 (28.6)	2 (7.1)

Το δισχιδοβακτήριο έχει αποδειχθεί επίσης ότι καταστέλλει το ελικοβακτήριο του πυλωρού. Το ελικοβακτήριο του πυλωρού είναι το βακτηρίδιο τα οποίο είναι αρμόδιο για το πεπτικό έλκος και μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές καταστάσεις όπως αναιμία και γαστρικός καρκίνος. Το δισχιδοβακτήριο είναι σε θέση να καταστείλει το ελικοβακτήριο του πυλωρού λόγω της παραγωγής των οργανικών οξέων.

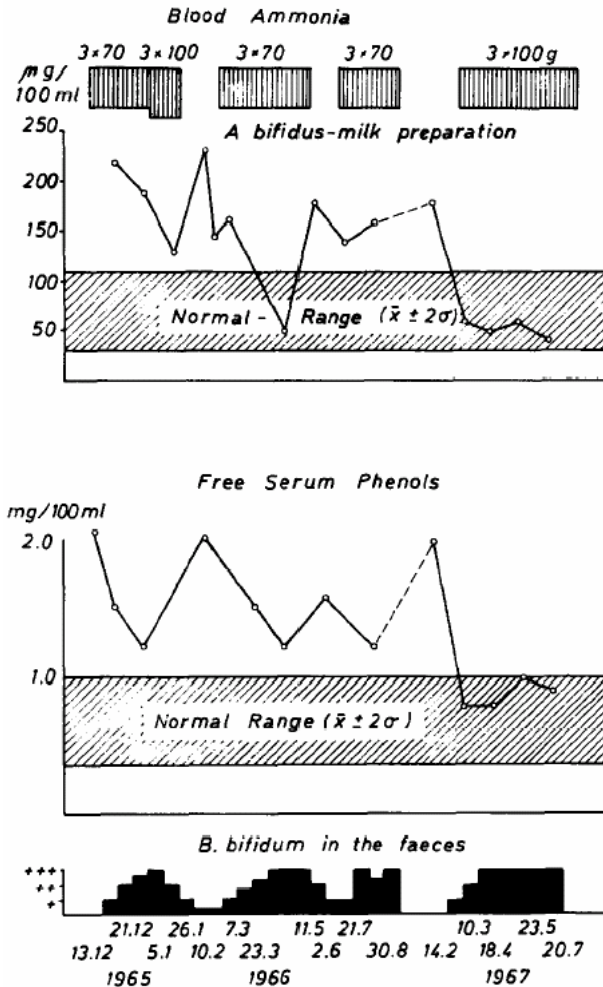
Έχει απομονωθεί ένα αντιβιοτικό, το bifidine, από το *Bifid. bifidum* 1452, το οποίο είναι σταθερό στους 100 ° C για 30 λεπτά και έχει αντιβακτηριακή δράση σε pH 4.8 με 5.5 (Ramakrishna, 1985) έναντι των *Micrococcus flavus* και *Staphylococcus aureus*. Οι Ferrari et al. (1980) έχουν δείξει ότι τα δισχιδοβακτηριακά κύτταρα διασπούν τα συζευγμένα χολικά οξέα προς ελεύθερα χολικά οξέα, τα οποία με τη σειρά τους παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των παθογόνων.

Επίσης έχει βρεθεί ότι τα δισχιδοβακτήρια μπορούν να μειώσουν τη δριμύτητα των συμπτωμάτων στα άτομα που πάσχουν από το σύνδρομο των ευερέθιστων εντέρων (IBS). Πολλά από τα συμπτώματα IBS οφείλονται πιθανά στην ανώμαλη ζύμωση στο παχύ έντερο.

6.4 ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΗΠΑΤΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ

Οι ηπατικές παθήσεις προκαλούν μεταβολικές ανωμαλίες λόγω της αμμωνίας και των αμινών που παράγονται από τα σηπτικά βακτήρια. Οι Muting et al., το 1968, ανέφεραν ότι η χορήγηση *Bifidus* γάλακτος για μια μεγάλη περίοδο σε ασθενείς με ηπατίτιδα ή κίρρωση του ήπατος, οδήγησε

στην μείωση της αμμωνίας και της φαινόλης στο αίμα. Η αύξηση των δισχιδοβακτηρίων στα κόπρανα συνοδεύτηκε από αυξανόμενη όρεξη και οι ασθενείς κέρδισαν βάρος.



ΣΧΗΜΑ13: Αποτελέσματα αγωγής με Bifidus γάλα σε ασθενείς 12 ετών με κίρρωση του ήπατος

Η διαιτητική πρόσληψη Bifid. bifidum μαζί με λακτουλόζη βοηθά στην αποκατάσταση της εντερικής βακτηριακής ισορροπίας, που είναι διαταραγμένη σε περίπτωση κίρρωσης του ήπατος. Η αποκατάσταση της κανονικής μικροβιακής ισορροπίας συνοδεύεται από μια μείωση της αμμωνίας και των ελεύθερων φαινολών στο αίμα. Η δυνατότητα του δισχιδοβακτηρίου να χρησιμοποιήσει την αμμωνία ως πηγή αζώτου μπορεί

να οδηγήσει στη μείωση της αμμωνίας στο παχύ έντερο. Προτείνεται επίσης ότι η αποτοξίνωση του οργανισμού από την αμμωνία ευνοείται από την ελάττωση του pH (λόγω των οξέων που παράγονται από τη μεταβολική δραστηριότητα των δισχιδοβακτηρίων) με τη μετατροπή της σε κατιόν NH_4 και αποβολή αυτού στα κόπρανα.

6.5 ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΟΥΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΕΣ ΜΟΛΥΝΣΕΙΣ.

Ο κυρίαρχος μικροοργανισμός στη φυσιολογική μικροχλωρίδα του ουροποιητικού συστήματος της γυναίκας είναι οι γαλακτοβάκιλλοι, ειδικότερα, ο *L. Acidophilus*. Οι ορμονικές αλλαγές, η ηλικία, και η εμμηνόπαυση μπορεί να αλλάξει τη χλωρίδα. Κατά τη διάρκεια των μολύνσεων των ουροποιητικών συστημάτων, παθογόνα όπως τα *Candida albicans* και τα *E. coli*, μεταφέρονται από το παχύ έντερο στην ουρήθρα και την ουροδόχο κύστη. Μια πρόσφατη μελέτη από τους Hilton et al., το 1992, προτείνει ότι η καθημερινή κατανάλωση 227 gr γιαουρτιού που περιέχει *L. Acidophilus* είναι χρήσιμη στη μείωση της συχνότητας εμφάνισης κολπικών μολύνσεων. Τα βακτηρίδια *Bifid. Fragilis* ανταγωνίζονται με τα παθογόνα βακτήρια του ουροποιητικού συστήματος για τη διατροφή και το βιότοπο μειώνοντας την παθογένειά.

6.6 ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΑΧΕΩΣ ΕΝΤΕΡΟΥ

Η έρευνα τα προηγούμενα δεκαπέντε έτη έχει εστιαστεί στη μελέτη του πιθανού ρόλου του δισχιδοβακτηρίου στην πρόληψη του καρκίνου. Μέσα από κλινικές μελέτες έχει βρεθεί ότι κατανάλωση δισχιδοβακτηρίων προκαλεί τη μείωση των επιπέδων μερικών ένζυμων του παχέος εντέρου στον άνθρωπο (β-γλυκουρονιδάση, νιτρορεδοκτάση, αζωτορεδοκτάση και

γλυκοχολική υδρολάση). Τα ένζυμα αυτά εμπλέκονται στη μετατροπή των προκαρκινογόνων ουσιών σε καρκινογόνες ουσίες, συμπεριλαμβανομένων των μεθυλικών κινολινών (Reddy και Rivenson, 1993), των ετεροκυκλικών αμίνων (Sreekumar και Hosono, 1998), των νιτροζαμίνων (1995), και του αζομεθανίου (Singh et al., 1997). Η β-γλυκουρονιδάση φαίνεται ότι εμπλέκεται στην απελευθέρωση τοξικών ουσιών (φάρμακα, τοξίνες) που είναι συζευγμένες με γλυκουρονικό και παρεμποδίζει την αποτοξίνωση τους από τον οργανισμό. Η νιτρορεδοκτάση και αζωτορεδοκτάση με αναγουν τα υποστρώματα τους και οδηγούν στη παραγωγή ουσιών με μεγάλη τοξικότητα. Μελέτες που έχουν γίνει με χορήγηση δισχιδοβακτηρίων έχουν δείξει ότι η δάση των παραπάνω ενζύμων μπορεί να μειωθεί μετά από κατανάλωση 12 ημερών με ζυμούμενα γαλακτομικά (Bouhnik Y, et al. 1996).

Πειράματα σε αρουραίους έχουν δείξει ότι η χορήγηση δισχιδοβακτηρίων ελαττώνει τις πιθανότητες εμφάνισης καρκίνου του παχέως εντέρου προκαλούμενο από χημικές ουσίες. Τέτοιες χημικές ουσίες μπορεί να προκύψουν από τη δράση βακτηριακών ενζύμων (Αζοξυμεθάνιο AOM) είτε από το ψήσιμο των τροφίμων όπως η 2-αμινο-3-μεθυλιμιδαζολ-κινολίνη(IQ) η οποία παράγεται κατά τη πυρόλυση και έχει βρεθεί στα ψητά κρέατα και ψάρια.

ΠΙΝΑΚΑΣ: Ικανότητα *B. longum* να παρεμποδίζει την εμφάνιση χημικώς επαγόμενου καρκίνου

Dietary regimen	AOM-induced colon tumorigenesis ¹		IQ-induced colon tumorigenesis ²	
	Incidence ³	Multiplicity ⁴	Incidence ³	Multiplicity ⁴
Male rats				
Control diet	77	1.8 ± 1.27 ⁵	27	0.43 ± 0.89 ⁵
2% <i>B. longum</i>	53 ³	0.83 ± 0.98*	0 ⁶	0*

Πειράματα σε αρουραίους έδειξαν ότι η χορήγηση λυοφιλοποιημένων καλλιεργειών *B. longum* (2%) παρεμποδίζουν την εμφάνιση χημικά επαγόμενου καρκίνου από AOM και κατά 100% από IQ. (Singh et al. 1997).

Μελέτες έχουν δείξει ότι ο καρκίνος του παχέως εντέρου, που επάγεται με χημικό τρόπο σε ποντίκια μπορεί να παρεμποδιστεί και με κατανάλωση γάλακτος, που περιέχει δισχιδοβακτήρια (παρακάτω πίνακας). Τα ποντίκια που τρέφονταν με γάλα που περιείχε δισχιδοβακτήρια είχαν διάρκεια ζωής κατά μέσο όρο 8% μεγαλύτερη σε σχέση με των άλλων ποντικιών. Ωστόσο απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων. (Takano T, 1985).

Ομάδα	Αριθμός ποντικών	Ποντίκια με όγκο	Αριθμός όγκων ανά ποντίκι		
			Σύνολο	Αδένωμα	Καρκίνωμα
Τυφλό (control)	9	9	2.6	1.3	1.3
Bifidus γάλα	9	6	1.0	0.4	0.6
Όξινο γάλα	9	9	3.4	2.0	1.4
Αρχικά κύτταρα	8	7	2.3	1.8	0.5

Ωστόσο περαιτέρω έρευνα απαιτείται για την επιβεβαίωση της μεταξύ δισχιδοβακτηρίων και πρόληψης του καρκίνου.

Η αντικαρκινική δράση των δισχιδοβακτηρίων μπορεί να αποδοθεί στη διέγερση της ανοσολογικής απάντησης του ξενιστή σε συνδυασμό με την εξουδετέρωση χημικών ουσιών που δρουν ως μετάλλαξιογόνα.

6.7 ΔΙΣΧΙΔΟΒΑΚΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΛΙΠΙΔΙΑ ΟΡΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ.

Η υπόθεση για την πιθανή υποχολιστεριναιμική δράση των δισχιδοβακτηρίων ξεκίνησε από την παρατήρηση (Mann και Sproerry, 1974) ότι οι ανατολικοί αφρικανικοί Maasai οι οποίοι καταναλώνουν ημερησίως τέσσερα λίτρα γάλακτος με δισχιδοβακτήρια έχουν χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης. Ενώ όταν αυξήθηκε η κατανάλωση στα οκτώ λίτρα ανά

ημέρα, είχαν επιπρόσθετη μείωση. Από τότε πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί για να βρεθεί ο μηχανισμός της υποχολιστεριναιμικής δράσης των δισχιδοβακτηρίων. Προτείνεται ως υπεύθυνος παράγοντας για τη δράση αυτή το υδροξυμέθυλ-γλουταρικό οξύ. Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας δίνονται στον παρακάτω πίνακα. Ο παράγοντας αυτός εμποδίζει τη σύνθεση χοληστερόλης με συνέπεια τα μειωμένα επίπεδα χοληστερόλης στον αίμα. Ωστόσο ο μηχανισμός με τον οποίο τα ζυμούμενα προϊόντα γάλακτος μειώνουν τη χοληστερόλη δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί. Εναλλακτική εξήγηση για την υποχολιστεριναιμική δράση προτείνεται η απευθείας αφομοίωση της χοληστερόλης στο έντερο από τα δισχιδοβακτήρια, ελαττώνοντας έτσι την απορρόφηση της και μεταφορά αυτής στο αίμα (Gilliland, S.E., 1990).

Επίδραση των διαφόρων γαλακτοκομικών προϊόντων με δισχιδοβακτήρια, στα επίπεδα χοληστερόλης των ανθρώπινων ορών αίματος

Προϊόν	Χοληστερόλη ορών (mg/dl)		
	Πριν	Μετά	Σημαντική μείωση
Πλήρες γάλα	196	177	όχι
Γιαούρτι από πλήρες γάλα	193	175	ναι
Γιαούρτι από άπαχο γάλα	211	150	ναι

Σύμφωνα με τους (Thakur και Jha, 1981) κουνέλια τα οποία ακολουθούσαν μια διατροφή πλούσια σε χοληστερόλη που συμπληρώθηκε με bifidus γιαούρτι, παρουσίασαν χαμηλότερα επίπεδα χοληστερόλης ορών από κουνέλια στα οποία δε χορηγήθηκαν δισχιδοβακτήρια.

Βρέθηκε ότι τα δισχιδοβακτήρια (Dambekodi και Gilliland, 1998) χαμηλώνουν αποτελεσματικά τη συνολική χοληστερόλη του αίματος, χωρίς να μειώνει την HDL (καλή χοληστερόλη).

Υπάρχει ανησυχία ότι καταναλώνοντας γιαούρτι υπό μια κανονική βάση μπορεί να αυξηθεί η χοληστερόλη ορών λόγω των λιπαρών ουσιών του γάλακτος. Ο Halpem et al., 1991 και ο McNamara et al., 1989, έδειξαν ότι σε νέους ενήλικες με κανονικό λιπιδαιμικό προφίλ, οι οποίοι κατανάλωναν 450 γρ. ανά ημέρα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά γιαουρτιού (7 γρ λίπους/d) μέχρι και τέσσερις μήνες, δεν είχαν κανένα επιβαρυντικό αποτέλεσμα στη χοληστερόλη ορών, στα τριγλυκερίδια και στα επίπεδα των HDL και LDL.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αυξανόμενο ενδιαφέρον των καταναλωτών για τρόφιμα τα οποία προλαμβάνουν την εμφάνιση ασθενιών και γενικά βελτιώνουν την ποιότητα ζωής και την υγεία του οργανισμού. Η τάση αυτή έχει στρέψει την επιστημονική έρευνα προς την κατανόηση των μηχανισμών με τους οποίους τα διάφορα συστατικά των τροφίμων μπορεί να έχουν προληπτικές ακόμα και θεραπευτικές ιδιότητες έναντι του καρκίνου, των καρδιαγγειακών κλπ. Την τελευταία δεκαετία μάλιστα έχουν εμφανιστεί στην αγορά τρόφιμα εμπλουτισμένα σε λειτουργικά συστατικά και τα οποία υπόσχονται εξειδικευμένα οφέλη στους διάφορους τομείς της ανθρώπινης υγείας. Τα προβιοτικά μικρόβια (γαλακτοβάκιλοι και δισχιδοβακτήρια) αποτελούν γνωστά συστατικά σε παραδοσιακά ζυμούμενα προϊόντα γάλακτος. Νέα όμως ερευνητικά δεδομένα τα οποία υποστηρίζουν τις ευεργετικές ιδιότητες των προβιοτικών στην υγεία έχουν δώσει μεγάλη ώθηση στην προσπάθεια για παραγωγή τροφίμων εμπλουτισμένων με προβιοτικά και παράλληλα γίνεται προσπάθεια για την επιστημονική τεκμηρίωση της λειτουργικής αξίας αυτών.

Η ιδέα για την παραγωγή των τροφίμων εμπλουτισμένα με προβιοτικά απορρέει από το φυσιολογικό ρόλο των ενδογενών βακτηρίων στη χλωρίδα του ανθρώπινου εντέρου. Τα δισχιδοβακτήρια έχουν προκαλέσει το επιστημονικό ενδιαφέρον για το ότι αποτελούν την πρωτεύουσα χλωρίδα στη βρεφική ηλικία του ανθρώπου ενώ με το πέρασμα του χρόνου σταδιακά μειώνεται ο πληθυσμός τους. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει τη μεγάλη σημασία του δισχιδοβακτηρίου στην ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος και άλλων λειτουργιών του ανθρώπου σε μικρή ηλικία ενώ η μείωση αυτών μπορεί να ενοχοποιηθεί για την καταστολή της ανοσολογικής απάντησης στους ηλικιωμένους.

Με την πρόοδο της τεχνολογίας έχει επιτευχθεί η παραγωγή μιας ευρείας σειράς γαλακτομικών προϊόντων τα οποία συνδυάζουν επιθυμητές οργανοληπτικές ιδιότητες και υψηλές συγκεντρώσεις δισχιδοβακτηρίων ($>10^6$ cfu/gr) κατά τη κατανάλωση προκειμένου να εμφανιστούν οι λειτουργικές ιδιότητες των προβιοτικών. Σήμερα προτείνεται ημερήσια κατανάλωση 100gr προϊόντος, που περιέχει 10^6 cfu/gr ζωντανών δισχιδοβακτηρίων προκειμένου να εκδηλωθούν τα λειτουργικά αποτελέσματα αυτών.

Η προσθήκη δισχιδοβακτηρίων σε ένα τρόφιμο δεν αποτελεί ικανή και αναγκαία συνθήκη για να είναι λειτουργικό. Τα ερωτήματα τα οποία εγείρονται από την κατανάλωση τέτοιων «ζωντανών» τροφίμων είναι τα ακόλουθα:

- Υπάρχει κίνδυνος παθογένειας - δηλητηρίασης από την κατανάλωση του;
- Μπορεί να αντέξει στις αντίξοες συνθήκες του στομάχου (όξινο pH) και του λεπτού εντέρου (χολικά άλατα) ώστε να φτάσει στο παχύ έντερο σε βιώσιμες ποσότητες;
- Είναι απαραίτητο να εγκαθίσταται και να αναπτύσσεται στην ανθρώπινη εντερικό βλεννογόνο;

Για την ικανοποίηση των παραπάνω προϋποθέσεων έχει δοθεί μεγάλη έμφαση στη διερεύνηση των ιδιοτήτων διαφόρων στελεχών δισχιδιβακτηρίου

Από τη βιβλιογραφία προκύπτει ότι η κατανάλωση δισχιδιβακτηρίων τόσο ανθρώπινης προέλευσης όσο και ζωικής (*B. Animalis*) είναι ασφαλής για τον άνθρωπο χωρίς κίνδυνο πρόκλησης δηλητηριάσεων.

Επιπλέον *In Vivo* και *In Vitro* μελέτες αποδεικνύουν την ικανότητα ορισμένων δισχιδοβακτηρίων να φτάνουν ζωντανά σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο παχύ έντερο. Φαίνεται όμως ότι δεν είναι απαραίτητη η

προσκόλληση του δισχιδοβακτηρίου, αρκεί κατά τη διέλευση του να είναι μεταβολικά ενεργό για να εκδηλωθούν τα ευεργετικά του αποτελέσματα..

Σήμερα είναι τεκμηριωμένη η αξία της κατανάλωσης δισχιδιβακτηρίων στην αντιμετώπιση και θεραπεία των συμπτωμάτων εντερικών διαταραχών. Ιδιαίτερα διαδομένη είναι η κλινική χρήση των δισχιδοβακτηρίων στη αντιμετώπιση της βρεφικής διάρροιας που οφείλεται στο ρετροϊό καθώς και στην διάρροια προκαλούμενη από τη λήψη αντιβιοτικών. Επίσης έχει αξιολογηθεί η ικανότητα των δισχιδοβακτηρίων να ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα ανοσοκατεσταλμένων ατόμων όπως οι ηλικιωμένοι. Όσον αφορά τη πρόληψη του καρκίνου του παχέως εντέρου καθώς και τη ρύθμιση των λιπιδίων του αίματος υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις για τα ευεργετικά αποτελέσματα των δισχιδοβακτηρίων απαιτείται όμως περαιτέρω έρευνα για την τεκμηρίωση αυτών.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η τακτική και μακροχρόνια κατανάλωση τροφίμων εμπλουτισμένων σε δισχιδοβακτήρια μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα διαβίωσης και να θωρακίσει την ανθρώπινη υγεία. Παράλληλα επισημάνεται η μεγάλη αξία μιας ισορροπημένης διατροφής πλούσια σε φυτικές ίνες η οποία μπορεί επιλεκτικά να διατηρήσει τη φυσιολογική ενδογενή χλωρίδα του ανθρώπινου οργανισμού.

8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1. Acute oral toxicity and bacterial translocation studies on potentially probiotic strains of lactic acid bacteria**
Food and Chemical Toxicology, Volume 38, Issues 2-3, February 2000,
Pages 153-161
J. S. Zhou, Q. Shu, K. J. Rutherford, J. Prasad, P. K. Gopal and H. S. Gill
- 2. Antibiotic susceptibility patterns and resistance genes of starter cultures and probiotic bacteria used in food**
Systematic and Applied Microbiology, Volume 29, Issue 2, 1 March 2006,
Pages 145-155
Sabine Kastner, Vincent Perreten, Helen Bleuler, Gabriel Hugenschmidt, Christophe Lacroix and Leo Meile
- 3. Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium strains**
International Journal of Food Microbiology, Volume 98, Issue 2, 1 February 2005,
Pages 211-217
J. S. Zhou, C. J. Pillidge, P. K. Gopal and H. S. Gill
- 4. Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects**
Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, Volume 17, Issue 5, October 2003, Pages 725-740
Philippe Marteau and Fergus Shanahan
- 5. Bouhnik Y, Pochart P, Marteau P, Arlet G, Goderel I, Rambaud JC. Gastroenterology 1992;102:875-8.**
- 6. Clinical Applications of Probiotic Bacteria**
International Dairy Journal, Volume 8, Issues 5-6, 6 May 1998, Pages 563-572
S. Salminen, A. C. Ouwehand and E. Isolauri
- 7. Development of probiotic Cheddar cheese containing Lactobacillus acidophilus, Lb. casei, Lb. paracasei and Bifidobacterium spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid**

- International Dairy Journal, Volume 16, Issue 5, May 2006, Pages 446-456
L. Ong, A. Henriksson and N.P. Shah
- 8. Effect of Probiotics and Breastfeeding on the Bifidobacterium and Lactobacillus/Enterococcus Microbiota and Humoral Immune Responses**
The Journal of Pediatrics, Volume 147, Issue 2, August 2005, Pages 186-191
Minna Rinne, Marko Kalliomaki, Heikki Arvilommi, Seppo Salminen and Erika Isolauri
- 9. Effects of different probiotic strains of Lactobacillus and Bifidobacterium on bacterial translocation and liver injury in an acute liver injury model**
International Journal of Food Microbiology, Volume 70, Issue 3, 8 November 2001, Pages 213-220
Diya Adawi, Siv Ahrné and Göran Molin
- 10. Demonstration of safety of probiotics**
International Journal of Food Microbiology, Volume 44, Issues 1-2, 20 October 1998, Pages 93-106
Seppo Salminen, Atte von Wright, Lorenzo Morelli, Philippe Marteau, Dominique Brassart, Willem M. de Vos, Rangne Fondén, Maija Saxelin, Kevin Collins, Gunnar Mogensen *et al.*
- 11. EU project Crownalife: functional foods, gut microflora and healthy ageing: Isolation and identification of Lactobacillus and Bifidobacterium strains from faecal samples of elderly subjects for a possible probiotic use in functional foods**
Journal of Food Engineering, Volume 56, Issues 2-3, February 2003, Pages 195-200
S. Silvi, M. C. Verdenelli, C. Orpianesi and A. Cresci
- 12. Evaluation of Bifidobacterium breve strain Yakult-fermented soymilk as a probiotic food**
International Journal of Food Microbiology, Volume 81, Issue 2, 15 March 2003, Pages 131-136
Y. Shimakawa, S. Matsubara, N. Yuki, M. Ikeda and F. Ishikawa

13. Failure to Define What Constitutes a Patient Responder Is a Problem in the Interpretation of the Probiotic Clinical Trial Evaluating the Use of Bifidobacterium in Irritable Bowel Syndrome

Gastroenterology, Volume 129, Issue 2, August 2005, Page 772
Sander Veldhuyzen van Zanten

14. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation

International Journal of Food Microbiology, Volume 106, Issue 3, 15 February 2006, Pages 270-285
Frédéric Leroy, Jurgen Verluyten and Luc De Vuyst

15. Fujiwara S, Hashiba H, Hirota T, Forstner JF. Appl Environ Microbiol 1997;63:506–12.

Bouhnik Y, Flourie B, Andrieux C, Bisetti N, Briet F, Rambaud JC. Eur J Clin Nutr 1996; 50: 269–73.

16. Genetically engineered probiotics
Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, Volume 17, Issue 5, October 2003, Pages 861-876
Lothar Steidler

17. Gibson, G. R and Roberfroid, M.B . 1995. J. Nutrition. 125, 1401-14012

18. Gibson, G. R and Wang, X (1994). Food Microbiology. 11, 491-498.

19. Gill HS, Rutherford KJ, Gopal P, et al. Am J Clin Nutr 2001;74:833–9

20. Grönlund M.M, H. Arvilommi, P. Kero, O.P. Lehtonen and E. Isolauri (2000) Arch. Dis. Childhood 83, F186-F192.

21. Gut bacteria and health foods—the European perspective
International Journal of Food Microbiology, Volume 78, Issues 1-2, 15 September 2002, Pages 99-117
M. Saarela, L. Lähteenmäki, R. Crittenden, S. Salminen and T. Mattila-Sandholm

- 22. Immunostimulatory probiotic *Lactobacillus rhamnosus* HN001 and *Bifidobacterium lactis* HN019 do not induce pathological inflammation in mouse model of experimental autoimmune thyroiditis**
 International Journal of Food Microbiology, Volume 103, Issue 1, 15
 August 2005, Pages 97-104
 J.S. Zhou and H.S. Gill
- 23. Incidence of virulence determinants in enterococcal strains of probiotic and clinical origin**
International Congress Series, Volume 1289, April 2006, Pages 367-369
 V. Kolodjieva, R. Yafaev, E. Yermolenko and A. Suvorov
- 24. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry**
Trends in Food Science & Technology, Volume 15, Issue 2, February 2004, Pages 67-78
 Frédéric Leroy and Luc De Vuyst
- 25. Lankaputhra WEV, Shah NP.. Cult Dairy Prod J 1995;30:2-7.**
- 26. Meta-analysis of probiotics for the prevention of traveler's diarrhea**
Travel Medicine and Infectious Disease, Available online 5 December 2005,
 Lynne McFarland
- 27. Mitsuoka T, Hidaka, H and Eida (1987). Die Nahrung 31, 427-436**
- 28. Microbiology Reviews, Gilliland, S.E. (1990) FEMS, 87, 175-188**
- 29. Miguel Gueimonde, Susana Delgado, Baltasar Mayo, Patricia Ruas-Madiedo, Abelardo Margolles, Clara G. de los Reyes-Gavil Food Research International 37 (2004) 839-850**
- 30. Mutagenicity of arbutin in mammalian cells after activation by human intestinal bacteria**
Food and Chemical Toxicology, Volume 44, Issue 11, November

- 2006, *Pages* 1940-1947
 Michael Blaut, Annett Braune, Sandra Wunderlich, Patrick Sauer,
 Heiko Schneider and Hansruedi Glatt
- 31. Pharmaceutical Probiotics for the Treatment of Anaerobic and Other Infections**
Anaerobe, Volume 3, Issues 2-3, April 1997, Pages 73-78
 L. V. McFarland and G. W. Elmer
- 32. Poch, M. and Bezkorovainy, A. (1991) ` Journal of Agriculture and Food Chemistry 39, 73-77**
- 33. Pochart P, Marteau P, Bouhnik Y, Goderel I, Bourlioux P, Rambaud JC Am J Clin Nutr 1992;55:78-80.**
- 34. Polymerase Chain Reaction and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Monitoring of Fecal Bifidobacterium Populations in a Prebiotic and Probiotic Feeding Trial**
Systematic and Applied Microbiology, Volume 24, Issue 2, 2001, Pages 227-231
 Reetta M. Satokari, Elaine E. Vaughan, Antoon D.L. Akkermans,
 Maria Saarela and Willem M. de Vos
- 35. Potential probiotic lactic acid bacteria Lactobacillus rhamnosus (HN001), Lactobacillus acidophilus (HN017) and Bifidobacterium lactis (HN019) do not degrade gastric mucin in vitro**
International Journal of Food Microbiology, Volume 63, Issues 1-2, 22 January 2001, Pages 81-90
 J. S. Zhou, P. K. Gopal and H. S. Gill
- 36. Probiotics and colon cancer**
Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, Volume 17, Issue 5, October 2003, Pages 849-859
 Joseph Rafter
- 37. Probiotics and gastrointestinal health**
The American Journal of Gastroenterology, Volume 95, Issue 1, Supplement 1, January 2000, Pages S2-S4
 Sherwood L. Gorbach

- 38. Probiotics, antibiotic-associated diarrhoea and Clostridium difficile diarrhoea in humans**
Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, Volume 17, Issue 5, October 2003, Pages 775-783
Christina M. Surawicz
- 39. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties**
Journal of Biotechnology, Volume 84, Issue 3, 28 December 2000, Pages 197-215
Maria Saarela, Gunnar Mogensen, Rangne Fondén, Jaana Mättö and Tiina Mattila-Sandholm
- 40. Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment**
Regulatory Toxicology and Pharmacology, Volume 45, Issue 1, June 2006, Pages 91-95
Arturo Anadón, Maria Rosa Martínez-Larrañaga and Maria Aranzazu Martínez
- 41. Probiotic lactic acid bacteria (*Lactobacillus acidophilus* HN017, *Lactobacillus rhamnosus* HN001 and *Bifidobacterium lactis* HN019) have no adverse effects on the health of mice**
International Dairy Journal, Volume 9, Issue 11, November 1999, Pages 831-836
Quan Shu, Joseph S. Zhou, Kay J. Rutherford, Mervyn J. Birtles, Jaya Prasad, Pramod K. Gopal and Harsharnjit S. Gill
- 42. Probiotics: potential pharmaceutical applications**
European Journal of Pharmaceutical Sciences, Volume 15, Issue 1, February 2002, Pages 1-9
Indu Pal Kaur, Kanwaljit Chopra and Amarpreet Saini
- 43. Quantitative Detection of Probiotic Bifidobacterium Strains in Bacterial Mixtures by Using Real-time PCR**
Systematic and Applied Microbiology, Volume 26, Issue 2, 2003, Pages 269-276
Beatrice Vitali, Marco Candela, Diego Matteuzzi and Patrizia Brigidi
- 44. Rapid identification of potentially probiotic Bifidobacterium species by multiplex PCR using species-specific primers based on**

- the region extending from 16S rRNA through 23S rRNA
 FEMS Microbiology Letters, Volume 250, Issue 1, 1 September 2005,
 Pages55-62
 Hyuk-Sang Kwon, Eun-Hee Yang, Seung-Hun Lee, Seung-Woo
 Yeon, Byung-Hwa Kang and Tae-Yong Kim
- 45. Safe and efficacious probiotics: what are they?**
Trends in Microbiology, Volume 14, Issue 8, August 2006, Pages 348-352
 Gregor Reid
- 46. Safety assessment of potential probiotic lactic acid bacterial strains *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lb. acidophilus* HN017, and *Bifidobacterium lactis* HN019 in BALB/c mice**
International Journal of Food Microbiology, Volume 56, Issue 1, 25 May 2000, Pages 87-96
 J. S. Zhou, Q. Shu, K. J. Rutherford, J. Prasad, M. J. Birtles, P. K. Gopal and H. S. Gill
- 47. Safety evaluation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* UO 004, a probiotic bacterium**
Research in Microbiology, Volume 156, Issue 2, March 2005, Pages 154-160
 M. Fernanda Fernández, Soledad Boris and Covadonga Barbés
- 48. Safety of infant formula supplemented with probiotics in early infancy**
Clinical Nutrition, Volume 22, Supplement 1, August 2003, Pages S69-S70
 Z. Weizman and A. Alsheikh
- 49. Survival of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium animalis* and *Propionibacterium* in cheese-based dips and the suitability of dips as effective carriers of probiotic bacteria**
International Dairy Journal, Volume 14, Issue 12, December 2004, Pages 1055-1066
 Nalayini Tharmaraj and Nagendra P. Shah

50. The role of probiotic bacteria in cancer prevention
Microbes and Infection, Volume 2, Issue 6, May 2000, Pages 681-686
Kazuhiro Hirayama and Joseph Rafter

51. Use of a probiotic Bifidobacterium in a dry food matrix, an in vivo study I
International Journal of Food Microbiology, Volume 95, Issue 1, 15
August 2004, Pages 103-106
Arthur C. Ouwehand, Teija Kurvinen and Päivi Rissanen

52. Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese

International Journal of Food Microbiology, Volume 108, Issue 2, 25
April 2006, Pages 276-280
Michael Phillips, Kasipathy Kailasapathy and Lai Tran

53. Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks

Food Research International, Volume 37, Issue 9, 2004, Pages 839- 850
Miguel Gueimonde, Susana Delgado, Baltasar Mayo, Patricia Ruas-Madiedo, Abelardo Margolles and Clara G. de los Reyes-Gavilán

54. Yoghurt contg. *Bifidobacterium* and catechin and/or tocopherol — and pref. Ash oil, as well as lactic acid bacteria, useful as health food, and source of usatd. fatty acid
Food Control, Volume 8, Issue 4, August 1997, Page 216