



UPPSALA  
UNIVERSITET

Kan intag av probiotika ge positiva effekter  
för hälsan?

Marcus Wäneskog

---

Independent Project in Biology  
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2011  
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

# Kan intag av probiotika ge positiva effekter för hälsan?

Marcus Wäneskog

Självständigt arbete i biologi 2011

## Sammandrag

Definitionen av probiotika är bakterier som vid intag i tillräcklig mängd har positiva hälsoeffekter. Dessa bakterier ger oftast positiva effekter efter att de nått tjocktarmen och introducerats till tarmfloran. Den mänskliga tarmfloran består av ungefär 500 olika bakteriearter uppdelade i 20 olika släkter. Bland dessa bakteriesläkten är det två som klart dominerar, *Lactobacillus* spp. och *Bifidobacterium* spp. Forskare har påvisat i otaliga probiotikastudier att intag av bakterier tillhörande ett av dessa två bakteriesläkten kan ge upphov till en mängd olika positiva hälsoeffekter. Det finns dock tvivel och oenighet mellan forskare inom probiotikaforskning ifall bakterier intagna oralt kan överleva och passera matsmältningskanalens kataboliska aktiviteter och nå tjocktarmen i tillräcklig mängd för att åstadkomma någon effekt. För att öka bakteriernas chanser att passera matsmältningskanalen har därför flera olika mikroinkapslingstekniker utvecklats för att skydda bakterierna mot dessa kataboliska aktiviteter. Bland de olika mikroinkapslingsmetoder som utvecklats de senaste åren är inkapslingen av mikroorganismer med alginat den enklaste och mest framgångsrika metoden.

Bakteriesläktet *Lactobacillus*, även kallat mjölksyrebakterier, är ett stort släkte på över 125 arter som producerar bl.a. mjölksyra från laktos. *Lactobacillus* spp. är korta stavformade bakterier som oftast sitter i långa kedjor. Intag av *Lactobacillus* spp. har visats ge positiva hälsoeffekter i flera olika studier. En av de påvisade immunstimulerande effekterna av *Lactobacillus* spp. kan bero på deras produktion av mjölksyra som sänker pH-värdet i tarmen vilket förändrar det bakteriella ekosystemet och missgynnar många patogena bakterier.

Bakteriesläktet *Bifidobacterium* är ett mindre släkte på cirka 30 arter och är korta, förgrenade och stavformade bakterier. *Bifidobacterium* spp. är specialister på att använda oligosackarider som kol och energikälla och eftersom oligosackarider kataboliseras dåligt och ineffektivt av kroppens egna matsmältningssystem når de flesta oligosackarider tjocktarmen där de förser *Bifidobacterium* spp. med stora mängder energi vilket kan vara den främsta anledningen till varför *Bifidobacterium* spp. står för nästan 25% av hela tarmfloras biomassa.

*Bifidobacterium* spp. producerar precis som *Lactobacillus* spp. mjölksyra, dock producerar de även flera andra sura och antibakteriella metaboliter. Dessa metaboliter kan ge upphov till ännu starkare immunstimulerande effekter än de *Lactobacillus* spp. uppvisar. Genetiskt modifierade *Bifidobacterium* spp. har även påvisats i studier kunna absorbera och konjugera kolesterollipider så kroppen inte längre kan ta upp dessa och på så sätt minska kroppens koncentration av farligt kolesterol.

Otaliga studier av probiotika har påvisat nästan uteslutande positiva effekter på kroppen samt endast minimala och sällsynta biverkningar. Probiotika kan därför vara ett bra potentiellt kosttillskott för alla, speciellt om de är alginatinkapslade men även om det är tillsatt till mejeriprodukter eller bara naturligt förekommande i förädlade mejerivaror.

## Inledning

Den mänskliga tarmfloran består av ungefär 500 olika bakteriearter uppdelade i 20 olika släkten (Masood *et al.* 2011). Bland dessa bakteriesläkten är det två som klart dominerar, *Lactobacillus* spp. och *Bifidobacterium* spp. (Masood *et al.* 2011). Dock består även tarmfloran till stor del av bakteriesläktena *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Fusobacterium* spp., *Eubacterium* spp., *Peptococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Escherichiaspp.* och *Veillonella* spp. som tillsammans förekommer i ungefär samma mängd som en av de två dominanta bakteriesläktena *Lactobacillus* spp. och *Bifidobacterium* spp. (Masood *et al.* 2011).

Den moderna människan har alltid varit beroende av symbiotiska bakterier för nedbrytning av främst långa kolhydratkedjor och vissa växtcellulosafibrer som kroppens egna matsmältningsenzymer inte kan bryta ner själva. Symbiotiska bakterier hjälper även vid syntes av bl.a. tiamin (vitamin B<sub>1</sub>), riboflavin (vitamin B<sub>2</sub>), niacin (vitamin B<sub>3</sub>) och folsyra (vitamin B<sub>9</sub>) samt bidrar till en ökad absorption av mineraler (Deguchi *et al.* 1985). Dessa symbiotiska bakterier finns i tjocktarmen och fungerar som ett pseudoorgan som förser sin värd med både näring och hjälper att behålla tarmens homeostas (Forsythe *et al.* 2010). Livsmedel innehållande bakteriekulturer som är avsedda att hjälpa eller öka effektiviteten av dessa symbiotiska bakterier kallas probiotiska produkter. Definitionen av probiotika är bakterier som vid intag i tillräcklig mängd har positiva hälsoeffekter (Masood *et al.* 2011).

En av de demonstrerade positiva hälsoeffekterna av probiotika behandlingar i vetenskapliga studier har varit vid behandling av akut diarré, speciellt vid behandling av antibiotikainducerad diarré (Miniello *et al.* 2010). Dock har även bevis för potentiella positiva hälsoeffekter av probiotika behandlingar vid andra tarmrelaterade sjukdomar och besvär blivit allt starkare (Miniello *et al.* 2010).

De senaste åren har flera både kort- och långsiktiga djurförsöksstudier utförts inom området probiotika, dock har endast ett mindre antal mänskliga studier utförts varav nästan enbart kortsiktiga studier. Dessa studier har också utförts på endast ett fåtal bakteriearter så definitiva slutsatser om eventuella biverkningar vid kortsiktigt intag är något oklara och obefintliga för långvarigt intag. Många vetenskapliga studier som utförts inom området probiotika har gjorts med tanke på behandling av orolig tarmsyndrom (eng ”irritable bowel syndrome”). Orolig tarmsyndrom är det vanligaste av alla tarmbesvär och ger upphov till magsmärtor, ovanliga tarmrytmer och gaser (Drossman *et al.* 1982). Även om orolig tarmsyndrom är vanligt hos stora delar av den vuxna befolkningen, 10%-20%, är orsaken till dessa tarmbesvär ej helt utredd (Maxwell *et al.* 1997). Flera olika studier pekar dock på en korrelation med störningar i tarm bakteriefloran (Maxwell *et al.* 1997, Meier 2010). Dessa besvär hoppas man förmildras av probiotikabehandlingar pga. en introduktion av nya bakterier till tjocktarmen.

Fysiologiskt varför en introduktion av nya bakterier till tjocktarmen skulle ha denna positiva effekt är debatterad och ännu oklar, dock har några teorier blivit mer populära än andra. En av de teorier som fått vetenskapligt stöd är att tjocktarmen har en begränsad yta och när den ytan är fylld och helt täckt av nyttiga eller ofarliga bakterier så kan inte de mer patogena och ohälsosamma bakteriearterna få fäste och föröka sig i tillräcklig grad för att orsaka biverkningar (O’Mahony *et al.* 2005). En annan populär teori är att vissa nyttiga bakteriearter inducerar utsöndringen av immunoglobulin A vilket stärker och gynnar immunförsvaret i slemhinnorna av mag- och tarmkanalen samt till viss del även det systemiska immunsystemet vilket gör det svårare för patogena bakterier att föröka sig i tillräcklig kvantitet för att orsaka biverkningar (Liebregts *et al.* 2007). Den tredje och mest populära teorin är att vissa bakteriearter utsöndrar sura metaboliter, som de själva är toleranta för, vilket sänker pH värdet

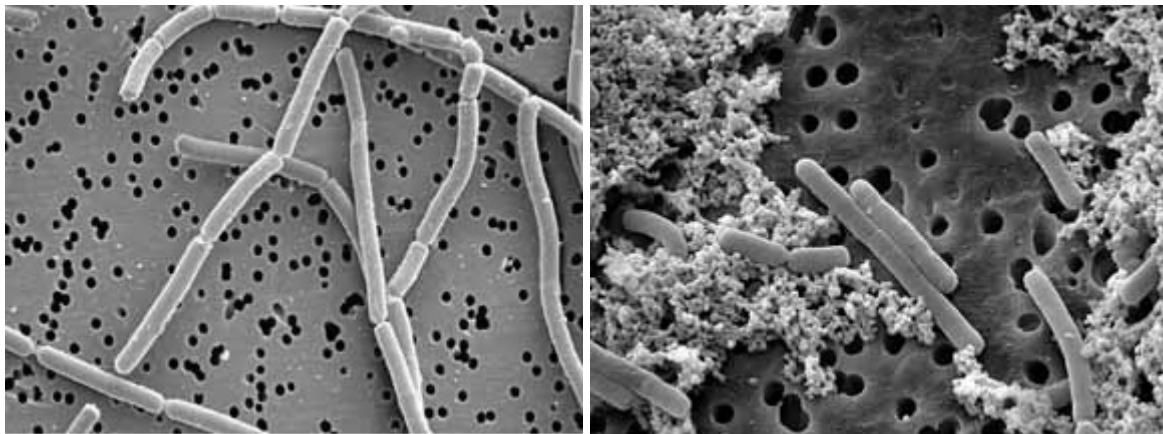
i tarmen och missgynnar på så sätt många patogena och ohälsosamma bakteriearter. Ett exempel på detta är mjölksyrebakterier som producerar bl.a. mjölksyra från laktos.

Det har funnits tvivel och oenighet mellan forskare ifall bakterier intagna oralt kan överleva och passera matsmältningskanalen i tillräcklig mängd för att åstadkomma någon effekt på tarmfloran (Islam *et al.* 2010). Detta eftersom all intagen föda måste passera hela matsmältningskanalen och utsättas för de kataboliska enzymaktiviteterna, denaturering av gallan samt saltsyran i magsäcken innan de når tjocktarmen. För att öka bakteriernas chanser att passera matsmältningskanalen har därför flera olika mikroinkapslingstekniker utvecklats för att skydda bakterierna mot dessa kataboliska aktiviteter (Siuta-Cruce & Goulet 2001, Islam *et al.* 2010).

De vanligaste bakteriearter som används idag inom probiotika är de två bakteriesläktena *Lactobacillus* spp. och *Bifidobacterium* spp. Dessa bakteriesläkten är också de som dominerar den normala tarmfloran hos människor (Rokka & Rantamäki 2010). *Lactobacillus* spp. och *Bifidobacterium* spp. är även de två bakteriesläkten som flest studier har utförts på och är därför två av de få probakteriesläkten som mer omfattande frågeställningar kan besvaras för.

### **Lactobacillus** spp.

Bakteriesläktet *Lactobacillus*, även kallat mjölksyrebakterier, är ett stort släkte på över 125 arter grampositiva och huvudsakligen anaerobiska bakterier med låg eller obefintlig motilitet. *Lactobacillus* spp. producerar bl.a. mjölksyra från laktos och får sin energi främst från fermentation av sockerarter. *Lactobacillus* spp. är korta stavformade bakterier som oftast sitter i par eller i långa kedjor (figur 1) och finns närvarande i den normala tarmfloran hos de flesta djur, främst växtätare då mjölksyrebakterier är bra på fermentation av växtmaterial.



Figur 1. Bilderna visar två olika arter av mjölksyrebakterier. Till vänster är *L. bulgaricus* som är en typisk mjölksyrebakterie som växer och lever i långa kedjor. Till höger är *L. casei* som är en mjölksyrebakterie som växer och lever i par. Bilderna är hämtade från Utah State universitets mikrobiologinstitutions hemsida <http://bioweb.usu.edu/microscopy/Research.htm>.

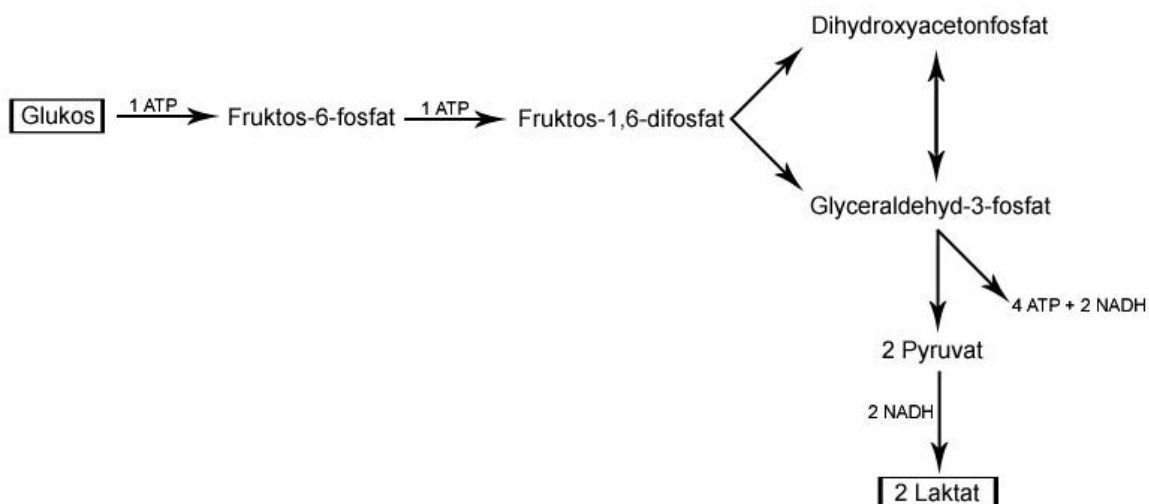
Före slutet av nittioalet trodde forskare att *Lactobacillus* spp. hade en större chans att fungera som probiotika än många andra bakteriearter eftersom de var toleranta för sura miljöer (Hove *et al.* 1999). Det spekulerades att de därför skulle kunna överleva och passera saltsyran i magsäcken och nå tjocktarmen för att stimulera till positiva hälsoeffekter. De behövde alltså endast överleva de kataboliska enzymaktiviteterna och gallans denaturering för att nå tjocktarmen. Däremot visade ett stort antal studier att detta ej var fallet (Hove *et al.* 1999). I dagens läge används istället olika mikroinkapslingstekniker för att skydda bakterierna genom matsmältningskanalen vilket har givit forskare inom området frihet att experimentera med

många olika potentiella probiotikaarter och inte bara de mest toleranta (Islam *et al.* 2010). Mikroinkapslade mjölksyrebakterier har i ett flertal studier kopplats, med olika stark bevisning, till lindring och/eller botning av diarré, både akut och antibiotikainducerad och behandling av laktosintolerans, magsår, orolig tarmsyndrom, stimulation av immunsystemet samt antisvampbekämpning i livsmedel.

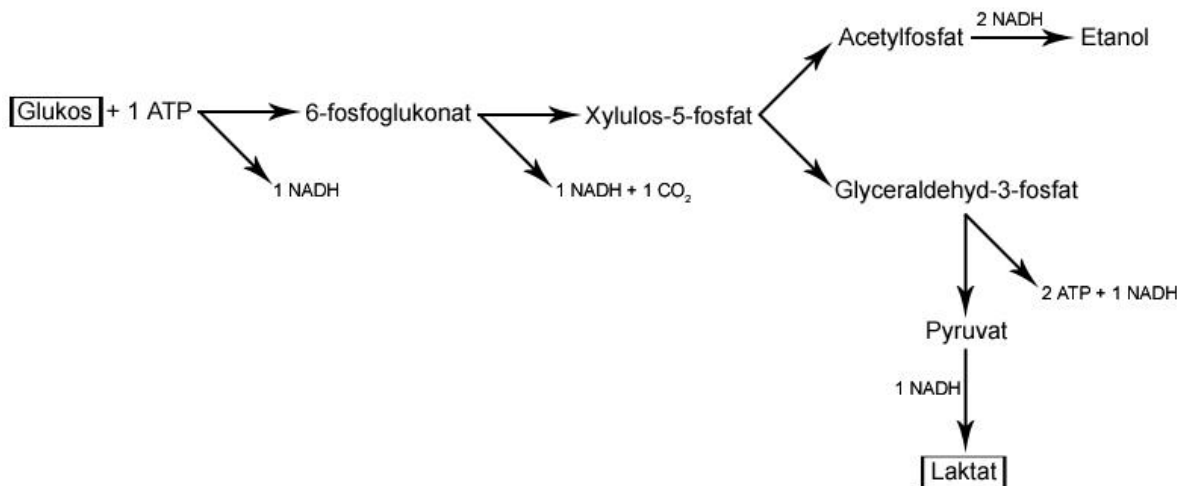
### Laktosintolerans

För människor hjälper mjölksyrebakterier bl.a. till vid nedbrytningen av laktos i mjölkprodukter. Katabolismen av laktos börjar med att *Lactobacillus* spp. utsöndrar enzymet laktas som spjälkar disackariden laktos till de två monosackariderna glukos och galaktos. Galaktos som är en diastereoisomer av glukos, dvs. en molekylär spegelbild av glukos, absorberas och omvandlas snabbt och relativt enkelt av mjölksyrebakterierna genom en process som kallas Leloir's metaboliska väg (eng "Leloir's pathway") till glukos, som är en av de mest energirika och mest användbara bränslena för cellulära funktioner (Hazel *et al.* 2003). Tack vare metabolismen av galaktos via Leloir's metaboliska väg så ger nedbrytningen av laktos en nettosumma av två glukosmolekyler per laktosmolekyl.

Den glukos som bildas från nedbrytningen av laktos tar mjölksyrebakterierna hand om och utvinner sin egen energi genom en av två kataboliska processer (figur 2, figur 3)(Hofvendahl & Hahn–Hägerdal 2000). Olika arter av *Lactobacillus* spp. är kapabla till en eller båda av dessa kataboliska processer (figur 2, figur 3). Den vanligaste processen för *Lactobacillus* spp. är dock den första (figur 2) eftersom den genererar två laktatmolekyler och en nettosumma på två ATP molekyler för varje glukosmolekyl som kataboliseras (Hofvendahl & Hahn–Hägerdal 2000). Den alternativa kataboliska processen (figur 3) ger endast en laktatmolekyl, en koldioxidmolekyl och en nettosumma på en ATP samt en etanolmolekyl per glukosmolekyl. Från den andra processen (figur 3) generas både en mindre mängd energi, i form av ATP molekyler per glukosmolekyl, och den mildt toxiska metaboliten etanol. Eftersom bakteriers etanolmetabolism ej är lika avancerad som hos de flesta flercelliga organismers så går bakterierna inte bara miste om den potentiella energin som finns lagrad i etanol men de måste även spendera energi för att utsöndra etanolen.



Figur 2. En av två metaboliska processer för nedbrytning av glukos till laktat av *Lactobacillus* spp. Ämnen skrivna efter reaktionspilarna är de produkter som utvinns från substraten skrivna före reaktionspilarna. Ämnen skrivna på reaktionspilarna är de ämnen som förbrukas under själva reaktionen. Figuren är skapad med information från Hofvendahl K, Hahn–Hägerdal B. 2000.



Figur 3. En alternativ metabolisk process för nedbrytningen av glukos till laktat av *Lactobacillus* spp. Ämnen skrivna efter reaktionspilarna är de produkter som utvinns från substraten skrivna före reaktionspilarna. Ämnen skrivna på reaktionspilarna är de ämnen som förbrukas under själva reaktionen. Figuren är skapad med information från Hofvendahl K, Hahn-Hägerdal B. 2000.

Efter att laktat har bildats genom mjölksyrebakteriernas nedbrytande av glukos enligt en av de två metaboliska processerna (figur 2, figur 3) utsöndras det av mjölksyrebakterierna. Laktat som är negativt laddad tar lätt upp en vätejon från sin miljö och bildar på så sätt mjölksyra. Enligt en av flera populära teorier till varför intag av *Lactobacillus* spp. ger en positiv effekt på tarmfloran är just att bildandet av mjölksyra sänker pH värdet i tarmen och vilket missgynnar många patogena och potentiellt skadliga bakteriearter vilket sänker nivån av deras skadliga metaboliter (Rokka & Rantamäki 2010). Eftersom mjölksyrebakterier även är toleranta för sura miljöer förblir de relativt opåverkade och kan fortsätta sitt nedbrytande av laktos.

Från spädbarnsålder produceras enzymet laktas i människokroppen för att spjälka disackariden laktos till de två monosackariderna glukos och galaktos som båda tas upp och används av kroppen för diverse cellulära processer. Produktion av laktas avtar mer och mer ju äldre människan blir och för många människor avtar den helt i vuxen ålder. 15% av alla européer i vuxen ålder, 80% av alla afrikaner och sydamerikaner samt nästintill 100% av alla amerikanska indianer och asiater i vuxen ålder är laktosintoleranta och kan inte längre producera enzymet laktas (Daniel *et al.* 2002). Dessa personer måste helt förlita sig på nedbrytningen av laktos till mjölksyra av mjölksyrebakterier i tarmen för att undvika bl.a. diarré och gasig mage (Daniel *et al.* 2002). För dessa personer kan mjölksyrebakterier vara ett sätt att återigen kunna inta mjölkprodukter med laktos.

### Risker med intag av *Lactobacillus* spp.

Som probiotika har mjölksyrebakterier utvärderas för säkerhet i flera studier med olika arter av *Lactobacillus* spp. som modellorganism. Flera potentiella biverkningar har upptäckts, bl.a. produktion av biogena aminer, dvs. kolväteföreningar med en aminogrupp, så som histamin (Bernardeau *et al.* 2008). Dessa biogena aminer produceras under mjölksyrebakteriernas fermentationsprocess och kan irritera tarmens immunsystem (Bernardeau *et al.* 2008). En potentiell utveckling mot antibiotikaresistans har också teoriserats (Bernardeau *et al.* 2008). Dessa biverkningar är dock ovanliga och mjölksyrebakterier anses därför som säkra för användning i probiotikasyfte (Bernardeau *et al.* 2008).

### Påvisade positiva effekter av *Lactobacillus* spp. intag

Immunsystemet definieras som kroppens resistens mot främmande patogener och kan delas in i två kategorier; den medfödda resistensen och den inlärd resistensen för olika patogener (Masood *et al.* 2011). Den medfödda resistensen inkluderar mekaniska barriärer, så som membran och cellväggar men även de antibakteriella egenskaperna av diverse kroppsvätskor samt kroppens inflammatoriska gensvar (Masood *et al.* 2011). Kroppens inlärd resistens inkluderar däremot lymfocyter och antikroppar som snabbare identifierar och bekämpar farliga patogener med upprepad kontakt (Masood *et al.* 2011). Stimulering av det medfödda immunsystemet har påvisats i studier efter oralt intag av den genetiskt modifierade bakteriestammen *L. casei* Shirota då dessa bakterier inducerar utsöndringen av immunoglobulin G2b som aktiverar produktion och distribution av fagocyter i tarmen vilket minskar spridningen av farliga patogener (Waard *et al.* 2001). Andra studier har även visat att den genetiskt modifierade bakteriestammen *L. kefiranofaciens* M1 kan inducera produktion av de två cytokinerna tumörnekrosfaktor alfa och interleukin 2 (Hong *et al.* 2009). Tumörnekrosfaktor alfa inducerar apoptos, främst av tumörceller och stimulerar immunsystemet samt inducerar kroppens inflammatoriska gensvar. Interleukin 2 är en signalsubstans som inducerar mitos och därmed förökning av T-celler. Båda dessa cytokiner påverkar immunsystemet positivt, det är dock oklart varför *L. kefiranofaciens* M1 kan inducera produktionen av dessa (Hong *et al.* 2009). Mjölksyrebakterier har i många olika studier med många olika *Lactobacillus* spp. arter påvisat flera olika positiva effekter efter oralt intag (tabell 1).

Tabell 1. Påvisade positiva hälsoeffekter för intag av olika *Lactobacillus* spp. arter och i vilka studier dessa effekter har visats. Tabellen är uppbyggd av information från åtta olika studier med mjölksyrebakterier, specifika referenser för varje studie finns angivna i tabellen.

Bakterieart	Hälsoeffekt	Referens
<i>L. acidophilus</i>	Stimulering av immunförsvaret i slemhinnorna av tarmen.	Perdigón <i>et al.</i> 1999.
<i>L. acidophilus</i> (L1 och ATCC43211)	Minskning av koncentrationen farligt kolesterol och risken för hjärtinfarkt.	Anderson & Gilliland 1999.
<i>L. casei</i>	Stimulering av immunförsvaret i slemhinnorna av tarmen.	Perdigón <i>et al.</i> 1999.
<i>L. casei</i> Shirota	Stimulering av tarmens cellulära immunsystem samt inhibition av immunoglobulin E.	Yasui <i>et al.</i> 1999.
<i>L. citreum</i>	Lindring av allergiska besvär genom inhibition av immunoglobulin E.	Kang <i>et al.</i> 2009 och Arauz <i>et al.</i> 2009.
<i>L. delbrueckii</i>	Stimulering av immunförsvaret i slemhinnorna av tarmen.	Perdigón <i>et al.</i> 1999.
<i>L. fermentum</i> CECT5716	Generell immunsystemsstimulerade effekt.	Díaz-Roperó <i>et al.</i> 2007.

<i>L. lactis</i>	Stimulering av immunförsvaret i slemhinnorna av tarmen.	Perdigón <i>et al.</i> 1999.
<i>L. plantarum</i>	Stimulering av immunförsvaret i slemhinnorna av tarmen.	Perdigón <i>et al.</i> 1999.
<i>L. plantarum</i> L137	Ökat skydd för influensavirusinfektioner.	Maeda <i>et al.</i> 2009.
<i>L. rhamnosus</i>	Stimulering av immunförsvaret i slemhinnorna av tarmen.	Perdigón <i>et al.</i> 1999.
<i>L. salivarius</i> CECT5713	Antiinflammatoriska effekter, potentiell behandling för inflammatorisk tarmsjukdom.	Díaz-Ropero <i>et al.</i> 2007 och Peran <i>et al.</i> 2005.

Mjölksyrebakteriers hämmande effekt på cancertillväxter har även de dokumenterats i flera studier. En studie konstaterade att en specifik genetiskt modifierad bakteriell stam vid namn *L. rhamnosus* ATCC9595 kunde förhindra spridningen av tjocktarmscancer samt även minska existerande cancervävnader (Kim *et al.* 2006). *L. rhamnosus* ATCC9595's förmåga att lindra tjocktarmscancer spekuleras av forskare bero på att denna bakterie producerar extracellulära polysackarider (Kim *et al.* 2006). *L. rhamnosus* ATCC9595 utsöndrar både fria polysackarider som används främst till biofilmer men även cellbundna polysackarider som används främst som bindemedel. Av dessa olika polysackarider bekämpade de fritt utsöndrade extracellulära polysackariderna bäst tjocktarmscancer (Kim *et al.* 2006). De andra cellbundna polysackariderna verkade också bekämpa tjocktarmscancer, dock ej i samma utsträckning (Kim *et al.* 2006). Varför de fritt utsöndrade polysackariderna var effektivare i bekämpningen av tjocktarmscancer spekuleras kring det faktum att de fritt utsöndrade polysackariderna sprids över en större yta och volym än den cellbundna vilket kan ge större effekt (Kim *et al.* 2006).

En annan anledning till att olika arter av *Lactobacillus* spp. visat potentiella tjocktarmscancer bekämpande effekter kan vara att dessa mjölksyrebakterier utsöndrar just mjölksyra som inte bara ändrar pH-värdet för tjocktarmen utan även, som en konsekvens av pH-ändringen, det bakteriella ekosystemet (Rafter *et al.* 2007). Detta missgynnar inte bara patogena bakterier utan tvingar även många olika bakteriearter att anpassa sig till den nya miljön i tjocktarmen vilket gör mängden bakterier och antalet bakteriearter dynamiskt (Rafter *et al.* 2007). Denna konstant skiftande bakteriedynamik gör att koncentrationen av de olika cytotoxiska metaboliterna som produceras av dessa bakterier höjs och sänks kontinuerligt vilket ger tjocktarmen tid, under perioder med låg koncentration av toxiner, att återhämta sig och reparera eventuella skador dessa toxiner orsakar (Rafter *et al.* 2007). Eftersom många av dessa toxiner kan ge upphov till cellulära skador som kan utvecklas till tumörer och cancerceller kan mjölksyrebakterier indirekt ge upphov till en lägre cancer risk.

### Allergibehandling

Allergi är en överkänslighet för ett främmande ämnen och beror på en överproduktion av immunoglobulin E av de vita blodkropparna B-lymfocyter. Immunoglobulin E fungerar som en signalsubstans och stimulerar immunförsvarets inflammatoriska gensvar. Flera studier har visat att en introduktion av *L. citreum* kan reglera och hämma överproduktionen av immunoglobulin E och lindra allergiska besvär (Kang *et al.* 2009, Arauz *et al.* 2009).



Mekanismen bakom detta är välkänd och beror på att *L. citreum* inducerar utsöndringen av de två cytokinerna interleukin 12 och interleukin 18 som båda är T-cells signalsubstanser (Kang *et al.* 2009, Arauz *et al.* 2009). Dessa signalsubstanser kan korsa tarmepitelet och tas upp av blodcirkulationssystemet. Väl i blodcirkulationssystemet stimulerar det bl.a. produktionen av T-hjälparceller (Kang *et al.* 2009, Arauz *et al.* 2009). En av T-hjälparcellernas funktioner är att inhibera B-lymfocyter vilket även inhiberar produktionen av immunoglobulin E vilket kan lindra allergiska besvär.

### **Probiotikaforskning innan slutet av nittioalet**

Definitiva slutsatser av huruvida mjölksyrebakterier verkligen ger positiva hälsoeffekter var innan slutet av nittioalet svåra att göra. Detta eftersom resultaten från många probiotikastudier med mjölksyrebakterier oftast gav motsägande resultat eller endast visade minimala effekter, eller inga effekter alls. Till exempel visade åtta studier med sammanlagt 57 laktosintoleranta patienter en bättre hantering av laktos vid intagning av yoghurt, som är naturligt rik på mjölksyrebakterier, än intag av vanlig mjölk (Hove *et al.* 1999). Två andra studier med sammanlagt 25 laktosintoleranta patienter stödde dock ej dessa resultat (Hove *et al.* 1999). Två studier med 25 laktosintoleranta försökspersoner visade också att ofermenterad mjölk med tillsatts av *L. acidophilus* hanterades bättre av laktosintoleranta personer än vanlig mjölk (Hove *et al.* 1999). Däremot visade sex andra studier med sammanlagt 68 laktosintoleranta försökspersoner ej ett samband med intag av *L. acidophilus* och bättre laktoshantering (Hove *et al.* 1999). Trenden av motsägande resultat för probiotikastudier var väldigt vanliga inom probiotikafältet före slutet av nittioalet och utvecklingen av mikroinkapslingstekniker. Till exempel visade en studie med 94 försökspersoner att intag av mjölksyrebakterier kunde behandla och förhindra diarré i samband med resor till länder med annan bakterieflora (Hove *et al.* 1999). Detta även då en annan studie med 756 försökspersoner ej kunde bevisa en statistiskt signifikant förändring eller förmildring av resdiarrésymptomer (Hove *et al.* 1999). En tredje studie med 50 försökspersoner visade även den ingen effekt eller förmildring av resediarrésymptomer efter intag av mjölksyrebakterier (Hove *et al.* 1999). Motsägande resultat existerade även för studier inom antibiotikainducerad diarré där tre studier med sammanlagt 66 försökspersoner visade en förmildring av antibiotikainducerad diarré efter intag av mjölksyrebakterier (Hove *et al.* 1999). Även då två studier med sammanlagt 117 försökspersoner ej visade detta samband (Hove *et al.* 1999). Det ska dock nämnas att alla dessa studier varierade i utförande och alla utfördes före 1999 utan att några mikroinkapslingstekniker applicerades på bakterierna för att öka biotillgängligheten och låta en tillräckligt stor andel passera matsmältningskanalen för att ge statistiskt märkbar effekt på hälsan. Studier utförda efter slutet av nittioalet med hjälp av olika mikroinkapslingstekniker har inte bara visat bättre och mer positiva resultat utan även mer statistiskt hållbara resultat. Dessa resultat har tidigare presenterats på föregående sidor.

### **Prebiotika**

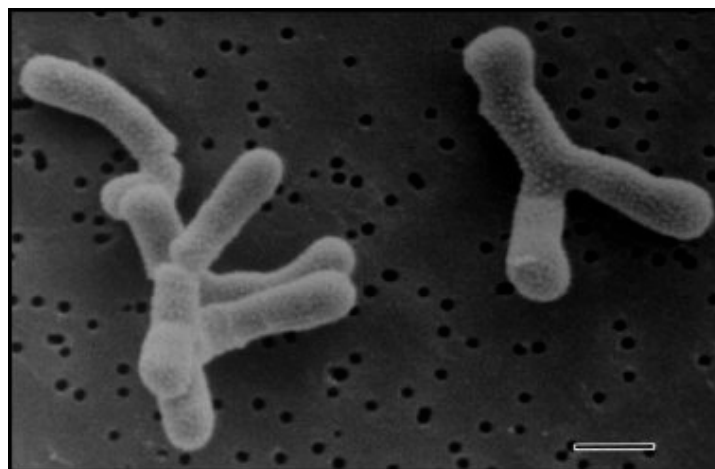
Ännen som besitter egenskaper som gynnar nyttiga bakterier och missgynnar patogena bakterier antingen direkt eller indirekt kallas prebiotika. Forskare har kunnat konstatera att intag av kostfibrerna inulin och oligofruktos i kosten gynnar bakterier i tjocktarmen, specifikt mjölksyrebakterier (Kleessen *et al.* 2001). Detta då båda molekylerna är polysackarider som fermenterande bakterier, så som mjölksyrebakterier, kan utvinna energi från men som kroppen själv antingen inte är kapabel att bryta ner, så som för inulin, eller är dålig på att bryta ner, så som för oligofruktos (Kleessen *et al.* 2001). Båda dessa polysackarider klarar därför att passera matsmältningskanalen relativt intakta, speciellt inulin, och når tjocktarmen där de kan förse de nyttiga mjölksyrebakterierna med ett överflöd av näring vilket ger dessa

bakterier ett stort övertag över andra, potentiellt patogena, icke fermenterande bakterier som då konkurreras ut.

### ***Bifidobacterium* spp.**

Bakteriesläktet *Bifidobacterium* är ett mindre släkte på cirka 30 arter grampositiva och uteslutande anaerobiska bakterier med obefintlig motilitet (Scardovi *et al.* 1986).

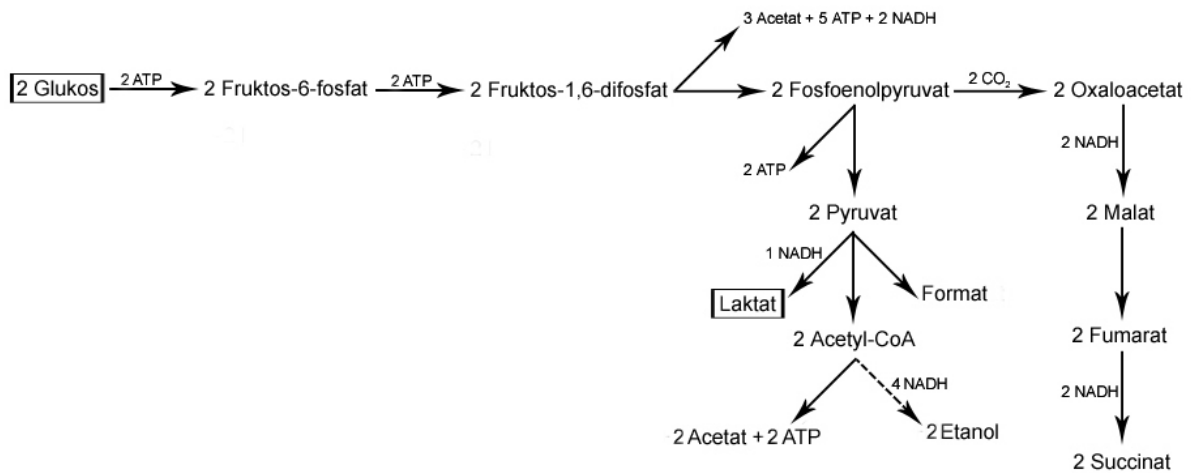
*Bifidobacterium* spp. är korta, förgrenade och stavformade bakterier (figur 4) som oftast sitter i glesa kolonier med minimal fysisk kontakt med andra bakterier av samma art eller släkte (Scardovi *et al.* 1986). *Bifidobacterium* spp. är specialister på att använda oligosackarider som kol och energikällor och eftersom oligosackarider kataboliseras dåligt och ineffektivt av kroppens eget matsmältningssystem når de flesta oligosackarider tjocktarmen och förser *Bifidobacterium* spp. med stora mängder energi vilket kan vara den främsta anledningen till varför *Bifidobacterium* spp. står för nästan 25% av hela tarmens biomassa.



Figur 4. Bilden visar *B. adolescentis* som är en typisk förgrenad och stavformad *Bifidobacterium* spp. Bilden är hämtad från livsmedelsforskning och utvecklingscentret i Kanadas hemsida [http://sci.agr.ca/crda/indust/microscope\\_e.htm](http://sci.agr.ca/crda/indust/microscope_e.htm).

### **Laktosnedbrytning**

Innan 1960-talet uppgjorde alla *Bifidobacterium* spp. en enda art av *Lactobacillus* spp. vid namn *L. bifidus* och innan 1980-talet ingick det även alla i gruppen mjölksyrebakterier (Scardovi *et al.* 1986). Detta eftersom *Bifidobacterium* spp. precis som *Lactobacillus* spp. producerar mjölksyra av laktos, och precis som *Lactobacillus* spp. utsöndrar *Bifidobacterium* spp. enzymet laktas för spjälkning av disackariden laktos till de två monosackariderna glukos och galaktos. Efter att galaktos har passerat genom Leloir's metaboliska väg och omvandlats till glukos tas båda dessa glukosmolekyler hand om av *Bifidobacterium* spp. och omvandlas till bl.a. laktat. Dock är den metaboliska vägen för denna nedbrytning av glukos till laktat av *Bifidobacterium* spp. något annorlunda den *Lactobacillus* spp. använder (figur 5)(Van der Meulen *et al.* 2006).



Figur 5. Den metaboliska processen för nedbrytning av glukos till bl.a. laktat av *Bifidobacterium* spp. Ämnen skrivna efter reaktionspilarna är de produkter som utvinns från substraten skrivna före reaktionspilarna. Ämnen skrivna på reaktionspilarna är de ämnen som förbrukas under själva reaktionen. Den streckade reaktionspilen indikerar en alternativ och ej obligatorisk metabolisk väg för nedbrytningen av acetyl-CoA. Figuren är skapad med information från Van der Meulen *et al.* 2006.

Till skillnad från *Lactobacillus* spp. utvinns *Bifidobacterium* spp. en nettosumma av fem ATP och en laktat för varje två glukos (figur 5). Dock förbrukas även tre till sju NADH beroende på andelen etanol som produceras från acetyl-CoA genom den alternativa och ej obligatoriska metaboliska vägen samt även två CO<sub>2</sub> (figur 5). *Bifidobacterium* spp. producerar således mindre laktat per glukos än *Lactobacillus* spp., oavsett vilken av de två metaboliska vägarna *Lactobacillus* spp. använder (figur 2, figur3). *Bifidobacterium* spp. producerar alltså en lägre sammanlagd nettosumma av ATP och NADH molekyler då stor mängd NADH förbrukas, även då stor mängd ATP genereras (figur 5). Främsta skillnaden mellan den metaboliska väg *Bifidobacterium* spp. bryter ner glukos genom och de två metaboliska vägarna *Lactobacillus* spp. använder är att flera olika bimolekyler produceras när *Bifidobacterium* spp. bryter ner glukos (figur 5). I kontrast till majoritet av *Lactobacillus* spp. som endast använder den primära metaboliska vägen (figur 2) och då endast bryter ner glukos till laktat. De fyra olika restmolekylerna som produceras när *Bifidobacterium* spp. bryter ner glukos är acetat, succinat och format samt även en viss andel etanol (figur 5). Av dessa restmolekyler är succinat den enda som de flesta *Bifidobacterium* spp. har någon användning för, de resterande restmolekylerna utsöndras enbart tillsammans med laktat. *Bifidobacterium* spp. använder succinat som en viktig komponent i citronsyrcykeln efter att succinat, som är negativt laddad, tagit upp en vätejon och bildat bärnstenssyra. Precis som laktat och succinat är de tre resterande restmolekylerna, förutom etanol, också negativt laddade och kan lätt ta upp vätejoner från sin miljö och bildar då två olika syror. Acetat bildar ättiksyra som fungerar som ett mildt antibakteriellt medel i tjocktarmen och format bildar myrsyra och verkar även den som ett ännu starkare antibakteriellt medel.

Den största praktiska skillnaden mellan nedbrytandet av glukos till laktat av *Bifidobacterium* spp. och *Lactobacillus* spp. är att *Lactobacillus* spp. genererar mer ATP molekyler som den själv använder och utsöndrar bara laktat. *Bifidobacterium* spp. däremot producerar en lägre sammanlagd nettosumma av ATP och NADH molekyler men producerar flera restmolekyler som människan har nytta av. *Lactobacillus* spp. gynnar således mest sig själv vid glukos nedbrytning medan *Bifidobacterium* spp. gynnar mer människan än sig själv. Forskare har spekulerat att det är den sura miljön som genereras av *Lactobacillus* spp. via utsöndring av laktat som missgynnar patogena bakterier (Rokka & Rantamäki 2010). Detta skulle då kunna

tyda på att *Bifidobacterium* spp. som utsöndrar en större mängd sura och antibakteriella restmolekyler är potentiellt ett ännu bättre probiotikasläkte för bekämpning av just spridningen av patogena bakterier i tjocktarmen än *Lactobacillus* spp. Det ska dock nämnas att eftersom *Bifidobacterium* spp. genererar en lägre sammanlagd nettosumma av ATP och NADH molekyler för sin egen förbrukning är detta bakteriesläkte mer känslig för brist av glukos, utvunnen från laktos, än *Lactobacillus* spp. samt även mer känslig för en brist av oligosackarider då *Bifidobacterium* spp. är specialist på att katabolisera dessa (Van der Meulen *et al.* 2006, Scardovi *et al.* 1986). *Lactobacillus* spp. däremot som genererar mer ATP molekyler för egen förbrukning behöver en mindre mängd glukos, utvunnen från laktos, än *Bifidobacterium* spp. för att överleva och föröka sig vilket gör den mer tolerant för näringsbrist (Hofvendahl & Hahn–Hägerdal 2000).

### **Påvisade hälsoeffekter av *Bifidobacterium* spp. intag**

Till skillnad från *Lactobacillus* spp. har *Bifidobacterium* spp. haft statistiskt och vetenskapligt påvisade positiva effekter i studier även innan slutet av nittioalet (tabell 2). Probiotikastudier utförda på *Bifidobacterium* spp. innan 1999 har dessutom nästan alltid givit positiva resultat som inte varit varken motsägelsefulla eller endast visat minimala effekter (tabell 2). Detta även då olika mikroinkapslingstekniker inte började appliceras inom probiotika studier i någon större utsträckning före efter slutet av nittioalet. Olika teorier bakom varför detta är fallet har uppkommit, bl.a. att *Bifidobacterium* spp. är ännu mer tolerant än *Lactobacillus* spp. och klarar därför att passera matsmältningskanalen med större framgång (Shu *et al.* 2001, Singh *et al.* 1997). *Bifidobacterium* spp. har uppvisat många positiva hälsoeffekter som även *Lactobacillus* spp. visat (tabell 2), vilket eventuellt kan förklaras med att dessa bakterier har många fysiologiska likheter (Scardovi *et al.* 1986, Hazel *et al.* 2003). *Bifidobacterium* spp. har dock även visat positiva hälsoeffekter som *Lactobacillus* spp. ej visat (tabell 2). Den genetiskt modifierade bakteriestammen *B. lactis* HN019 har t.ex. påvisat en minskning i intensiteten av diarré inducerad av *Escherichia coli* (Shu *et al.* 2001). Diarré orsakad av *E. coli* brukar vanligtvis vara väldigt intensiv vilket får de drabbade att förlora stora mängder vätska och essentiella vattenlösliga vitaminer och salter eftersom dessa ej hinner tas upp i tjocktarmen (Shu *et al.* 2001). Om vätskan, vitaminerna och salterna inte kan återtillföras i tillräcklig mängd kan detta tillstånd vara livshotande. Att dö från *E. coli* inducerad diarré är väldigt ovanligt i västvärlden men eftersom *E. coli* inducerad diarré oftast drabbar individer i tredje världen där diarrébehandling är svåra att få tillgång till är denna typ av diarré mycket ofta livshotande för de drabbade. Om en tillförsel av *B. lactis* HN019 skulle kunna förhindra eller minska intensiteten av diarrén så skulle denna probiotika-art verkligen vara en livräddare.

Tabell 2. Påvisade positiva hälsoeffekter för intag av olika *Bifidobacterium* spp. arter och i vilka studier dessa effekter har visats. Tabellen är uppbyggd av information från nio olika studier med *Bifidobacterium* spp., referenser för varje studie finns angivna i tabellen.

Bakterieart	Hälsoeffekt	Referens
<i>B. animalis</i> ATCC2552	Minskning av koncentrationen farligt kolesterol och därmed risken för hjärtinfarkt.	Tahri <i>et al.</i> 1995.
<i>B. bifidum</i>	Minskning av koncentrationen farligt kolesterol och risken för hjärtinfarkt.	Klaver & van der Meer 1993.

<i>B. bifidum</i> Bb12	Stimulering av immunförsvaret i slemhinnorna av tarmen.	Schifrin <i>et al.</i> 1995.
<i>B. breve</i> YIT4064	Stimulering av B-lymfocyter och influensainfektionsinhiberande effekter.	Yasui <i>et al.</i> 1999.
<i>B. infantis</i>	Antibakteriella effekter på patogena bakterier i tjocktarmen.	Gibson & Wang 1994.
<i>B. lactis</i> HN019	Minskning i intensitet av <i>E. coli</i> inducerad diarré och stimulering av de generella immunsystemet.	Shu <i>et al.</i> 2001.
<i>B. longum</i>	Tjocktarmscancerinhiberande och tumörbekämpande effekter.	Singh <i>et al.</i> 1997.
<i>B. longum</i> SBT2928	Stimulering av immunförsvaret i slemhinnorna av tarmen.	Kado-Oka <i>et al.</i> 1991.
<i>B. thermophilus</i>	Antibakteriella effekter på patogena bakterier i tjocktarmen.	Kot <i>et al.</i> 1995.

Precis som för *Lactobacillus* spp. har *Bifidobacterium* spp. undersökts i studier med syfte att behandla symptom av orolig tarmsyndrom (O'Mahony *et al.* 2005, Whorwell *et al.* 2006). Två av dessa studier med *B. infantis* påvisade att intag av *B. infantis* kan minska och behandla tarmsmärtor och överproduktion av gas i tjocktarmen som associeras med orolig tarmsyndrom (O'Mahony *et al.* 2005, Whorwell *et al.* 2006). Den genetiskt modifierade bakteriestammen *B. animalis* DN-173010 har även den visats kunna återställa normala tarmrörelser och lindra orolig tarmsyndrom (Pochart *et al.* 1992). Studier har även visat att *Bifidobacterium* spp. kan behandla komplikationer i samband med diarré för barn mellan 6 och 36 månader gamla (Canani *et al.* 2007). En annan studie visade även ett starkt samband mellan lindring av blödande tjocktarmsinflammation och intag av de två olika genetiskt modifierade bakteriestammarna *B. bifidum* YIT4007 och *B. breve* YIT4065 (Kato *et al.* 2004).

Studier har visat att den genetiskt modifierade bakteriestammen *B. animalis* ATCC2552 minskar koncentrationen av farligt kolesterol genom att absorberar och konjugera många olika kolesterollipider så kroppen ej kan absorbera dem (Tahri *et al.* 1995). Det finns även bevis för att den genetiskt modifierade bakteriestammen *B. longum* BB536 skulle inneha samma kolesterolkonjugerande och absorberande effekt (Tahri *et al.* 1995). De flesta antibakteriella effekter *Bifidobacterium* spp. påvisar (tabell 2) verkar bero på den sura miljö de orsakar i sin omgivning tack vare utsöndringen av bl.a laktat men även utsöndringen av acetat och format (figur 5) som även de besitter antibakteriella egenskaper. Dock verkar den immunförstärkande effekten den genetiskt modifierade bakteriestammen *B. longum* SBT2928 uppvisar bero på dess inducering utav produktionen av cytokinet interleukin 1 som är ett signalämne för immunförsvaret som stimulerar flera av kroppens inflammatoriska gensvar (Kado-Oka *et al.* 1991).

## Mikroinkapslingstekniker

Många forskare tvivlade före slutet av nittioalet på probiotikas förmåga att passera matsmältningskanalen i tillräcklig mängd för att nå tjocktarmen och stimulera till positiva effekter (Islam *et al.* 2010). Även studier utförda på probiotika innan slutet av nittioalet indikerade att en stor mängd, om inte all intagen probiotika aldrig nådde tjocktarmen (Hove *et al.* 1999). Analyser av avföringen för individer som intagit *Bifidobacterium* spp. avslöjade att mindre än 8% av mängden intagen probiotika nådde tjocktarmen (Pochart *et al.* 1992). Vid analys av avföring för personer som intagit *Lactobacillus* spp. sjönk denna siffra avsevärt till mindre än några procent (Pochart *et al.* 1992). På grund av detta var resultaten av studier inom probiotika innan slutet av nittioalet väldigt svåra att analysera. Det var endast ett fåtal probiotikaarter, så som *Bifidobacterium* spp., som visade statistiskt signifikanta hälsoeffekter och många forskare trodde att probiotikafältet inte hade något särskilt stort användningsområde i framtiden. Flera forskare spekulerade dock att om probiotika endast kunde passera matsmältningskanalen intakt så skulle den stimulera till de positiva hälsoeffekter som tidigare hypotiserats (Siuta-Cruce & Goulet 2001, Islam *et al.* 2010). Man började därför experimentera med olika metoder för att höja överlevnadschanserna för den intagna probiotikan, till slut utvecklades flera olika inkapslingsmetoder. Utvecklingen av dessa inkapslingsmetoder var dock komplicerad då de behövde uppfylla flera kriterier för att vara användbara vid skyddandet av probiotika. Probiotikan behövdes inte bara skyddas och överleva själva inkapslingen men själva kapseln behövdes också vara resistent för den starkt kataboliska miljön i matsmältningskanalen (Rihova 2000). Kapseln behövdes också inte bara vara resistent mot de kataboliska enzymaktiviteterna, den sura miljön i magsäcken och de denaturerande egenskaperna av gallan utan också även kunna släppa in näringsämnen, samtidigt som den behövdes hålla toxiska ämnen ute (Rihova 2000).

En av de mer framgångsrika inkapslingsmetoder som utvecklades och som används idag är inkapsling av mikroorganismer med alginat (Cirone *et al.* 2002). Alginat är en negativt laddad polysackarid som finns i stora koncentrationer i brunalgers cellväggar och är uppbyggd av en polymer av beta-D-mannuronsyra och alfa-L-guluronsyra. Alginat är kapabelt att absorbera och binda mer än 200 gånger sin egen vikt i vatten vid närvaro av positiva kalciumjoner och bildar då en hydrogel (Joki *et al.* 2001). När en kalciumjon får kontakt med fyra separata alginatmolekyler binder dessa tillsammans och alginat går från flytande till gelltillstånd (Joki *et al.* 2001, Cirone *et al.* 2002). Detta utnyttjas främst genom att kalcium först tillsätts till en bakteriesuspension av probiotika varpå alginat tillsätts droppvis till suspensionen som då sakta bildar små gelsfärer som innehåller den specifika probiotikaarten inkapslad i alginatgel (Joki *et al.* 2001, Cirone *et al.* 2002). Alginatgelen är dock känslig för starka syror eftersom magnesium- och natriumjoner kan ersätta kalcium vid lågt pH (Gåserød *et al.* 1999). Magnesium- och natriumjoner bildar dessutom ej bindningar mellan flera alginatmolekyler, så som kalcium, och ett gelltillstånd kan därför ej behållas (Gåserød *et al.* 1999). Alginatgelen övergår således, på grund av detta, till ett flytande tillstånd och probiotikan förlorar sitt skydd (Gåserød *et al.* 1999). Detta problem löstes dock genom att täcka ytan av alginatgelsfärerna med en hinna av positivt laddade polymerer (Sultana *et al.* 2000). Kitosan som är en linjär positivt laddad polysackarid som utvinns från skalet av skaldjur och polylysin som är en linjär positivt laddad homopolymer som produceras av vissa *Streptomyces* spp. har i flera studier påvisats vara bra skyddande polymerer för alginatgelsfärerna (Sultana *et al.* 2000, Hari *et al.* 1999). Det positivt laddade kitosan- och polylysinmolekylerna binder till de negativt laddade alginatgelsfärerna och bildar en skyddande hinna som förhindrar de positivt laddade jonerna magnesium och natrium att passera och ersätta kalcium genom repellering, pga samma positiva laddning (Sultana *et al.* 2000, Hari *et al.* 1999). De täckta alginatgelsfärerna kan sedan inkapslas i en vanlig

pillerkapsel för enkel sväljning som väl i magen fort bryts ner av magsyran. I magen är alginatgelsfärerna väldigt resistenta mot matsmältningskanalens kataboliska effekter då de är täckta med en skyddande hinna av kitosan eller polylysin. Eftersom alginatgelsfärerna också är ogiftiga både för människor och bakterier samt relativt permeabla för icke laddade partiklar och dessutom bryts ner efter ett par timmar av kontakt med matsmältningskanalen passar de utmärkt som en mikroorganismkapsel för leverans av probiotika till tjocktarmen (Joki *et al.* 2001, Cirone *et al.* 2002).

Av de två skyddande positivt laddade polymererna kitosan och polylysin verkar flera studier visa att kitosan fungerar som en stabilare skyddande hinna än polylysin (Lee *et al.* 2004). Analyser av avföringen för personer som intagit olika probiotikaarter visade på en överlevnad av mellan 5-11% av de intagna bakterierna utan mikroinkapsling vid passering genom matsmältningskanalen beroende på släkte och art (Junzhang *et al.* 2008). Där bakterier tillhörande *Bifidobacterium* spp. hade en överlevnadschans på runt 11% och bakterier tillhörande *Lactobacillus* spp. en överlevnads chans på runt 5%. Samma studie visade även en överlevnad på mellan 51-65% av intagna probiotikabakterier som inkapslats av alginat med en skyddande hinna av kitosan beroende på släkte och art (Junzhang *et al.* 2008). Bakterier tillhörande *Bifidobacterium* spp. hade med mikroinkapsling en överlevnadschans på runt 65% och bakterier tillhörande *Lactobacillus* spp. en överlevnadschans på runt 51%. Även om de finns alternativa mikroinkapslingsmetoder till alginat så är det denna metod som har fått mest stöd och som används mest inom probiotikaforskning. Detta framförallt därför att den är både enkel och framförallt billig att genomföra och kräver inte särskilt mycket förutom den specifika probiotikaarten som ska inkapslas, två olika polymerer och kalciumjoner. Anledningen till att alginatinkapsling är billig att genomföra är att alginat lätt och billigt utvinns från brunalg. Kitosan framställs även de lätt och billigt från skalet av skaldjur och eftersom kitosan både är billigare att framställa och fungerar bättre som skyddande hinna än polylysin är det ett vinnande koncept för dess användning som skyddande polymer för alginatgelsfärerna.

## Diskussion

De senaste åren har forskningen inom probiotika tagit stora steg och nya applikationer och potentiella probakteriarter upptäcks hela tiden. Det finns dock ett nästan oändligt förråd av potentiella probiotikaarter att utforska och probiotikaforskningen de närmaste åren kommer att vara avgörande för upptäckten av en potentiell nyckel till behandling och botandet av de flesta tarmsjukdomar och förhoppningsvis utöka listan av kända probiotikaarter. Tack vare nya mikroinkapslingsmetoder kommer även framtidens probiotikaarter ej behöva vara toleranta för de kataboliska aktiviteterna av matsmältningskanalen vilket kommer öppna dörren till utforskning av bakteriearter som aldrig tidigare varit probiotikaaspiranter. De seriösa probiotikastudier som genomförts och påvisat positiva resultat de senaste åren blir allt fler och som resultat har fler forskare och biologer fått upp ögonen för probiotika och alla dess potentiella användningsområden. Detta kommer förhoppningsvis åka antal probiotikastudier som genomförs per år och som resultat även probiotikans kunskapsförrådet.

Ett område med bristande mängd information gäller intag av kombinationer av olika probiotikaarter. Preliminära studier verkar antyda att olika kombinationen av probiotikaarter kan ge starkare positiva effekter än den sammanlagda positiva effekten för varje enskild specifik probiotikaart. Om detta skulle vara fallet finns det ett oändligt många olika kombinationer av probiotikaarter att utforska. Ett bakteriesläkte som tidigare inte antogs stimulera till positiva effekter är *Escherichia* spp., specifikt *E. coli*, dock har flera studier gett preliminära resultat av potentiella positiva hälsoeffekter. Dessa studier har dock främst

genomförts med genetiskt modifierade stammar av *E. coli* och naturliga *E. coli* bakterier kan ännu inte definitivt räknas som probiotika.

Ett nytt och spännande område är användningen av naturliga probiotikabakterier som blivit genetiskt modifierade för att öka deras positiva effekter ytterligare. Många av dessa bakteriearter har redan påvisats kunna bekämpa allt från farligt kolesterol till blödande tjocktarmsinflammation och inflammatorisk tarmsjukdom samt även förmildra allergiska besvär. Om genetisk modifiering av bakterier kan förbättras och förädlas kommer användningsområdet för probiotika utökas ordentligt. Dessa genetiskt modifierade bakterier skulle agera som levande biologiska fabriker som ständigt producerar botemedel för ett flertal olika sjukdomar och besvär. De skulle också endast behöva kostfibrer, så som oligosackarider som kroppen själv inte klarar av att utvinna energi från, för att frodas. Detta skulle kunna innebära en revolution inom biologin och probiotikafältet. Dessa genetiskt modifierade superprobiotikaarter skulle främst vara fördelaktigt för fattiga och för individer i tredje världen som inte har råd att konstant köpa nya mediciner. För många sjukdomar, speciellt för tarmsjukdomar skulle folk då endast behöva ta några få doser med probiotika och sedan endast inta specifika kostfibrer i dieten för att förse sin kropp med det botemedel den behöver. Dock under förutsättningen att de probiotiska bakterierna först klarar av att etablera sig i tarmfloran. Den enda potentiella nackdel är precis som för all genetiskt modifiering en risk för oplanerade mutationer som skulle möjligtvis skapa en superprobiotika som utkonkurrerar alla andra bakteriearter i tarmfloran och på så sätt orsakar tarmstörningar och tjocktarmsbesvär. Chansen för detta är dock väldigt liten så längre de genetiska modifikationerna utförs på korrekt sätt av kompetenta forskare. Om probiotika verkligen är framtiden för mikrobiologin så är genetiska modifikationer av bakterier definitivt framtiden för probiotika, så länge genmodifierade organismer blir mer accepterade av allmänheten.

Även om denna artikel mest framfört positiva hälsoeffekter från intag av probiotika så får man inte glömma att bakterier, även genetiskt modifierade bakterier inte klarar av att producera alla olika biomolekyler. Bakterier kan inte, och kommer antagligen inte i framtiden kunna modifieras till en punkt då de blir organiska producenter av botemedel för alla kända sjukdomar. Eftersom de flesta botemedel för både systemiska och lokala sjukdomar som finns idag är syntetiskt framställda kommer det alltid finnas ett behov av mer konventionella läkemedel. Probiotika i framtiden kommer antagligen inte kunna modifieras för att producera någonting annat än enkla biomolekyler. Även om dessa biomolekyler har visat ett förvånansvärt högt terapeutiskt värde inom sjukdomsbekämpning, speciellt för behandling av tarmrelaterade besvär, så finns det ett tak för deras användningsområde.

Denna artikel har också även mest handlat om intag av probiotika i sig själv utan något leveransmedium. Det måste dock nämnas att många vanliga förädlade mejerivaror är naturligt rika på bl.a. mjölksyrebakterier. Bland annat filmjolk, yoghurt, smör och ost har skapats och syratts med hjälp av mjölksyrebakterier. Som tidigare nämnts har naturliga mjölksyrebakterier flera positiva egenskaper på tarmfloran bl.a. deras produktion av mjölksyra som ändrar pH-värdet i magen och missgynnar patogena bakterier. Intaget av dessa förädlade mjölkprodukter sägs inte bara kunna hanteras bättre av många laktosintoleranta utan även ge mer långvariga positiva hälsoeffekter. Dock eftersom dessa mjölksyrebakterier ej är mikroinkapslade med t.ex. alginat så har de samma genomsnittliga överlevnadschans som andra ej inkapslade bakterier, dvs. i genomsnitt 8% av det intagna mjölksyrebakterierna överlever matsmältningskanalen och når tjocktarmen. Koncentrationen av mjölksyrebakterier i t.ex. yoghurt eller filmjolk är även lägre än i jämförelse av mängden probiotika som intagits i studier som påvisat positiva hälsoeffekter och oftast kan ingen eller endast en minimal positiv



hälsoeffekt upptäckas efter intag av förädlade mejerivaror. Specifika mejeriprodukter med extra probiotika tillsatt har en högre koncentration probiotika än den som finns naturligt i förädlade mejerivaror dock gäller samma överlevnadschans, dvs. i genomsnitt 8%, då även dessa bakterier ej är mikroinkapslade. Dessa probiotikatillsatta mejeriprodukter ger oftast därför endast en minimal eller låg positiv hälsoeffekt som är betydligt svagare än den hälsoeffekt som påvisats i studier med intagning av alginatinkapslade probakteria. Man kan därför säga att all reklam och den generellt överdrivna tilltron för probiotikatillsatta produkter är väldigt överproportionerlig eftersom dessa produkter oftast endast ger svaga positiva hälsoeffekter. Oftast kräver det också konsumtion av stora mängder probiotikatillsatta produkter för att kunna känna av även svaga positiva effekter vilket gör försäljningen av probiotikatillsatta produkter till ett inte särskilt ärligt försäljningsområde. Särskilt om man även tar i beaktande det faktum att de extra tillvekningskostnaderna för att tillsätta probiotika i t.ex. mejerivaror inte ens är i närheten av de extra kostnader som företagen tar ut vid försäljningen, i jämförelse med vanliga mejerivaror. Så länge däremot konsumenten är medveten om den minimala effekten i korrelation med det höga priset för probiotikatillsatta produkter så kan inga andra negativa aspekter framhåvas.

Som visats i otaliga studier har probiotika nästan bara positiva effekter på kroppen samt endast minimala och otroligt ovanliga biverkningar. Probiotika är därför definitivt ett rekommenderat kosttillskott för alla, speciellt om de är alginatinkapslade men även om det är tillsatt till mejeriprodukter eller bara naturligt förekommande i förädlade mejerivaror. Detta eftersom en minimal eller måttlig positiv effekt alltid är bättre än ingen positiv effekt alls.

## Referenser

- Anderson JW, Gilliland SE. 1999. Effect of fermented milk (yogurt) containing *Lactobacillus acidophilus* L1 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. *Journal of the American College of Nutrition* **18**: 43-50.
- Arauz LJ, Jozala AF, Mazzola PG, Penna TCV. 2009. Nisin biotechnological production and application. *Trends in Food Science & Technology*. **20**: 146–154.
- Bernardeau M, Vernoux JP, Henri-Dubernet S, Guéguen M. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: the *Lactobacillus* genus. *International Journal of Food Microbiology* **126**: 278–285.
- Canani RB, Cirillo P, Ginaluca T, Cesarano L, Immacolata M, Vincenzo AD, Marco GD, Manguso F, Guarino A. 2007. Probiotics for the treatment of diarrhoea in children: randomized clinical trial of five different preparations. *British Medical Journal* **18**: 335–340.
- Cirone P, Bourgeois JM, Austin RC, Chang PL. 2002. A novel approach to tumor suppression with microencapsulated recombinant cells. *Human Gene Therapy* **13**: 1157-1166.
- Daniel L, Swagerty JR, Walling AD, Klein RM. 2002. Lactose intolerance. *American Family Physician* **65**: 845-851.
- Deguchi Y, Morishita T, Mutai M. 1985. Comparative studies on synthesis of water-soluble vitamins among human species of *Bifidobacteria*. *Agricultural and Biological Chemistry* **49**: 13-19.
- Díaz-Ropero MP, Martín R, Sierra S, Lara-Villoslada F, Rodríguez JM, Xaus J, Olivares M. 2007. Two *Lactobacillus* strains, isolated from breast milk, differently modulate the immune response. *Journal of Applied Microbiology* **102**: 337-343.
- Drossman DA, Sandler RS, McKee DC, Lovitz AJ. 1982. Bowel patterns among subjects not seeking health care. *Gastroenterology* **83**: 529-534.
- Forsythe P, Sudo N, Dinan T, Taylor VH, Bienenstock J. 2010. Mood and gut feelings. *Brain*,

- Behavior, and Immunity **24**: 9-16.
- Gibson GR, Wang X. 1994. Regulatory effects of *Bifidobacteria* on the growth of other colonic bacteria. *Journal of Applied Bacteriology* **77**: 412-423.
- Gåserød O, Sannes A, Skjåk-Braek G. 1999. Microcapsules of alginate-chitosan. II. A study of capsule stability and permeability. *Biomaterials* **20**: 773-783.
- Hari PR, Chandy T, Sharma CP. 1999. Chitosan/calcium-alginate beads for oral delivery of insulin. *Journal of Applied Polymer Science* **59**: 1795-1801.
- Hazel MH, Ivan R, Thoden JB. 2003. Structure and function of enzymes of the Leloir pathway for galactose metabolism. *Journal of Biological Chemistry* **278**: 885-888.
- Hofvendahl K, Hahn-Hägerdal B. 2000. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resource. *Enzyme and Microbial Technology* **26**: 87-107.
- Hong W, Chen H, Chen Y, Chen M. 2009. Effects of kefir supernatant and lactic acid bacteria isolated from kefir grain on cytokine production by macrophage. *International Dairy Journal* **19**: 244-251.
- Hove H, Nørgaard H, Mortensen PB. 1999. Lactic acid bacteria and the human gastrointestinal tract. *European Journal of Clinical Nutrition* **53**: 339-359.
- Islam MA, Cheol-Heui Y, Yun-Jaie C, Chong-Su C. 2010. Microencapsulation of live probiotic bacteria. *Journal of Microbiology and Biotechnology* **20**: 1367-1377.
- Joki T, Machluf M, Atala A, Zhu J, Seyfried IF, Dunn T, Abe R, Carroll S, Black PM. 2001. Continuous release of endostatin from microencapsulated engineered cells for tumor therapy. *Nature Biotechnology* **19**: 35-39.
- Junzhang L, Weiting Y, Xiudong L, Hongguo L, Wei W, Xiaojun M. 2008. In vitro and in vivo characterization of alginate-chitosan-alginate artificial microcapsules for therapeutic oral delivery of live bacterial cells. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **105**: 660-665.
- Kado-Oka Y, Fujiwara S, Hirota T. 1991. Effects of *Bifidobacteria* cells on mitogenic response of splenocytes and several functions of phagocytes. *Milchwissenschaft* **46**: 626-628.
- Kang H, Oh YJ, Ahn KS, Eom HJ, Han N, Kim YB, Sohn NW. 2009. *Leuconostoc citreum* HJ-P4 (KACC 91035) regulates immunoglobulin E in an ovalbumin-induced allergy model and induces interleukin-12 through nuclear factor-kappa B and p38/c-Jun N-terminal kinases signaling in macrophages. *Microbiology and Immunology* **53**: 331-343.
- Kato K, Mizuno S, Umesaki Y, Ishii Y, Sugitani M, Imaoka A, Otsuka M, Hasunuma O, Kurihara R, Iwasaki A, Arakawa Y. 2004. Randomized placebo-controlled trial assessing the effect of *Bifidobacteria*-fermented milk on active ulcerative colitis. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* **20**: 1133-1141.
- Kim J, Kim Y, Han K, Sejong OH, Whang KY, Jai NK, Kim SH. 2006. The function of cell bound and cell released exopolysaccharides produced by *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9595. *Journal of Microbiology and Biotechnology* **16**: 939-945.
- Klaver F, van der Meer R. 1993. The assumed assimilation of cholesterol by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt-deconjugation activity. *Applied and Environmental Microbiology* **59**: 1120-1129.
- Kleessen B, Hartmann L, Blaut M. 2001. Oligofructose and long-chain inulin, influence on the gut microbial ecology of rats associated with a human faecal flora. *British Journal of Nutrition* **86**: 291-300.
- Kot E, Furmanov S, Bezkorovainy A. 1995. Ferrous iron oxidation by *Lactobacillus acidophilus* and its metabolic products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43**: 1276-1286.
- Lee JS, Cha DS, Park HJ. 2004. Survival of freeze-dried *Lactobacillus bulgaricus* KFRI 673

- in chitosan-coated calcium alginate microparticles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**: 7300-7305.
- Liebrechts T, Adam B, Bredack C. 2007. Immune activation in patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* **132**: 913-920.
- Maeda N, Nakamura R, Hirose Y, Murosaki S, Yamamoto Y, Kase T, Yoshikai Y. 2009. Oral administration of heatkilled *Lactobacillus plantarum* L-137 enhances protection against influenza virus infection by stimulation of type I interferon production in mice. *International Immunopharmacology* **9**: 1122-1125.
- Masood MI, Qadir MI, Shirazi JH, Kha IU. 2011. Beneficial effects of lactic acid bacteria on human being: critical reviews. *Microbiology* **37**: 91-99.
- Maxwell PR, Mendall MA, Kumar D. 1997. Irritable bowel syndrome. *Lancet* **350**: 1691-1695.
- Meier R. 2010. Probiotics in irritable bowel syndrome. *Annals of Nutrition & Metabolism* **57**: 12-13.
- Miniello VL, Colasanto A, Diaferio L, Galizia IS, Jablonska J, Lauriero MA, Lieggi MS, Raimondi G, Santoiemma V, Sarcinella G, Simone R, Torrente P. 2010. Too fast, too soon to call it "probiotic". *Minerva Pediatrica* **62**: 105-123.
- O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, Röth A, Heinzl S, Lester S, Downie-Doyle S, Smith E, Drew P, Talley NJ, Holtmann G. 2005. *Lactobacillus* and *bifidobacterium* in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology* **128**: 541-551.
- Van der Meulen R, Adriany T, Verbrugghe K, De Vuys L. 2006. Kinetic analysis of *Bifidobacterial* metabolism reveals a minor role for succinic acid in the regeneration of NAD<sup>+</sup> through its growth-associated production. *Applied and Environmental Microbiology* **72**: 5204-5210.
- Peran L, Camuesco D, Comalada M, Nieto A, Concha A, Diaz-Ropero MP. 2005. Preventative effects of a probiotic, *Lactobacillus salivarius* ssp. *salivarius*, in the TNBS model of rat colitis. *World Journal of Gastroenterology* **11**: 5185-5193.
- Perdigón G, Vintiñi E, Alvarez S, Medina M, Medici M. 1999. Study of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science* **82**: 1108-1114.
- Pochart P, Marteau P, Bouhnik Y, Goderel I, Bourlioux P, Rambaud JC. 1992. Survival of *Bifidobacteria* ingested via fermented milk during their passage through the human small intestine: an in vivo study using intestinal perfusion. *The American Journal of Clinical Nutrition* **55**: 78-80.
- Rafter J, Bennett M, Caderni CY, Hughes R, Karlsson PC, Klinder AO, Riordan M, O'Sullivan P, Pool-Zobel S, Rechkemmer G, Roller M, Rowland I, Salvadori M, Thijs H, Loo JV, Watzl B, Collins JK. 2007. Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *The American Journal of Clinical Nutrition* **85**: 488-496.
- Rihova B. 2000. Immunocompatibility and biocompatibility of cell delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews* **42**: 65-80.
- Scardovi V, Holt G, Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME. 1986. Genus *Bifidobacterium* Orla-Jensen. *Bergey's manual of systematic bacteriology* **2**: 1418-1434.
- Schiffrin EJ, Rochat F, Link-Amster H, Aeschlimann JM, Donnet-Hughes A. 1995. Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science* **78**: 491-496.
- Shu Q, Qu F, Gill HS. 2001. Probiotic treatment using *Bifidobacterium lactis* HN019 reduces weanling diarrhea associated with rotavirus and *Escherichia coli* infection in a piglet model. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* **33**: 171-177.

- Singh J, Rivenson A, Tomita M, Shimamura S, Ishibashi N, Reddy BS. 1997. *Bifidobacterium longum*, a lactic acid producing intestinal bacterium inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* **18**: 833-841.
- Siuta-Cruce P, Goulet J. 2001. Improving probiotic survival rates. *Food Technology* **55**: 36-42.
- Sultana K, Godward G, Reynolds N, Arumugaswamy R, Peris P, Kailasapathy K. 2000. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology* **62**: 47-55.
- Rokka S, Rantamäki P. 2010. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology* **231**: 1-12.
- Tahri K, Crociani J, Ballongue J, Schneider F. 1995. Effect of three strains of *Bifidobacteria* on cholesterol. *Letters in Applied Microbiology* **21**: 149-164.
- Waard R, Garssen J, Snel J, Bokken GCAM, Sako T, Veld JH, Vos JG. 2001. Enhanced antigen-specific delayed-type hypersensitivity and immunoglobulin G2b responses after oral administration of viable *Lactobacillus casei* YIT9029 in wistar and brown Norway rats. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* **8**: 762-767.
- Whorwell PJ, Altringer L, Morel J. 2006. Efficacy of an encapsulated probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in women with irritable bowel syndrome. *The American Journal of Gastroenterology* **101**: 1581-1592.
- Yasui H, Shida K, Matsuzaki T, Yokokura T. 1999. Immunomodulatory function of lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek journal of microbiology* **76**: 383-389.