

PROBİYOTİKLER: TANIMI, ETKİ MEKANİZMASI, SEÇİM VE GÜVENİLİRLİK KRİTERLERİ

PROBIOTICS: DEFINITION, EFFECT MECHANISMS, SELECTION AND SAFETY CRITERIA

İbrahim ÇAKIR¹, M. Lütfü ÇAKMAKÇI²

¹AİBÜ Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu

²Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

ÖZET: "Probiyotik" terimi ilk defa 1960'lı yıllarda, bir mikroorganizma tarafından üretilen ve diğer mikroorganizmaların gelişimini teşvik eden maddelerin tanımlanması için kullanılmıştır. 1970'li yıllarda probiyotik, konakçının (insan veya hayvan) bağırsak florasının mikrobiyel dengesine katkıda bulunan madde ve organizmaları tanımlamada kullanılmıştır. Laktik asit bakterileri ile üretilen gıdalarda olduğu gibi probiyotiklerin de son ve en doğru tanımlaması ise 1980'li yılların sonlarında yapılmış ve probiyotikler, konakçının mikrobiyel dengesini geliştirerek fayda sağlayan, canlı, mikrobiyel besin katkıları olarak tanımlanmıştır.

Bu makale probiyotiklerin tanımı, etki mekanizmaları, seçim kriterleri ve güvenilirlikleri ile ilgili bazı bilimsel araştırma ve gelişmelerin esasını anlatmaktadır.

ABSTRACT: "Probiotic" term was first used in scientific literature in 1960's to refer to substances produced by one micro-organism which stimulated the growth of another. In 1970's probiotic defined as organisms and substances that contribute to the intestinal microbial balance of host (man or animal). The latest and most accurate description of probiotics like lactic acid bacteria based food products was presented in late 1980's as a live microbial food/feed supplement beneficial to the host by improving the microbial balance within its body.

This paper presents some background on the scientific research and development of probiotics such as mechanisms, selection criteria, and safety issues.

GİRİŞ

Probiyotik özellik taşıyan mikroorganizmaların insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri ilk defa 1908 yılında, Nobel ödüllü Rus araştırmacı Elie Metchnikoff tarafından ortaya atılmıştır. Metchnikoff, Bulgar çiftçilerin fermente süt ürünleri tüketimi sonucu daha sağlıklı ve uzun ömürlü olduklarını, bunun nedeninin ise bu ürünlerde bulunan çubuk şeklindeki bakterilerin (*Lactobacillus* spp.) bağırsaktaki mikroflorayı olumlu yönde etkilemesi ve toksik mikrobiyel aktiviteyi azaltması olduğunu belirtmiştir. Fermente gıdalarla sağlıklı yaşam arasındaki bu bağlantı bugün de geçerliliğini korumaktadır. Fermente ürünler üzerine yapılan araştırmaların başlangıcı çok eskilere dayanmakla birlikte, probiyotikler konusunda yapılan çalışmalar ancak son 20 yılda hız kazanmıştır (Kalantzopoulos 1997, Saxelin vd 1999, Çakır vd 2001).

Probiyotik içerikli ürünler özellikle Japonya, Uzakdoğu ülkeleri ve Avrupa Birliğine üye olan ülkelerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Lee vd 1999). Amerika Birleşik Devletleri'nde ise son yıllarda probiyotik ürünlere olan ilgi giderek artış göstermiş olup, sağlıklı gıda tüketimi bilincinin gelişmesi sonucu ortaya çıkan tüketici talebi gıda endüstrisinin fonksiyonel gıdalara dolayısıyla probiyotik ürünlere olan ilgisini arttırmıştır (Sönmez vd 1999, Başyigit 2004).

¹E-posta: cakir_i@ibu.edu.tr

Probiyotik mikroorganizmalar patojenlerin üretmiş oldukları zararlı metabolitlerin temizlenmesini sağlayarak diyareyi önlemekte veya azaltmaktadır. Bunun için probiyotik mikroorganizmalar yeterli miktarlarda canlı olarak bağırsak sistemine ulaşmalı ve orada yerleşmelidir. Yoğurt yapımında kullanılan klasik mikroorganizmaların (*S. salivarius* subsp. *thermophilus*, *L. bulgaricus*) bağırsaklara tutunma ve kolonize olma özellikleri yoktur. Bu nedenle starter bakterileri tek başlarına probiyotik mikroorganizma olarak nitelendirilememektedir. Probiyotiklerin bağırsak mukozasına yerleşerek tutunma bölgelerini işgal etmesi patojenlerin gelip buraya yerleşmelerini engellemektedir. Probiyotiklerin diğer bilinen faydalı etkileri; kandaki kolesterol oranını düşürücü etki göstermeleri, bağırsıklık sistemini güçlendirerek hastalıklara direnç kazandırılması, karsinojenlerin parçalanarak kanser yapıcı etkilerinin giderilmesi ve belki de en önemlisi laktoz intoleransı olan insanların laktoz sindirmine katkıda bulunarak süt tüketimini sağlamaları olarak sıralanabilir (Klaenhammer 1998, Sanders 1999, Çakır vd 2001, Kaur vd 2002).

Ağız yoluyla alınan probiyotiklerin beklenen yararlı etkiyi gösterebilmeleri için canlı olarak ve çok sayıda bağırsak sistemine ulaşmaları gerekmektedir. Bu nedenle kullanılan suşların mide asitliğine ve safra tuzlarına karşı dirençli olmaları istenmektedir. Bu özellik aynı zamanda probiyotik mikroorganizma seçiminin en temel kriterlerinden birisidir. Bunun yanında patojenlerle mücadele açısından bakteriyosin veya bakteriyosin benzeri antimikrobiyel bileşiklerin üretimi de çok önemli bir kriterdir (Haddadin vd 2004).

2. PROBIYOTİKLERİN TANIMI VE TARİHÇESİ

Probiyotik kelimesi Yunanca kökenli olup "yaşam için" anlamına gelmektedir. Probiyotik terimi ilk defa 1965 yılında, Lilly ve Stillwell adlı araştırmacılar tarafından, diğer mikroorganizmaların gelişimini destekleyen maddeleri tanımlamak için kullanılmıştır (Lee vd 1999, Armbrrecht 2002). Bu tarihten günümüze kadar probiyotik kelimesi, etki mekanizmalarına ve insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerine bağlı olarak çok değişik anlamlarda kullanılmıştır. Başlangıçta, protozoonlar tarafından üretilen ve diğer mikroorganizmaların gelişimini destekleyen maddeler için kullanılmış olan probiyotik teriminin anlamı, 1970'li yılların başlarında genişletilerek mikrobiyel gelişmeyi destekleyen doku ekstraktları için de kullanılmaya başlamıştır. 1974 yılında Parker probiyotik kelimesinin tanımını; intestinal sistemin mikrobiyel dengesine katkıda bulunan madde ve organizmalar olarak, bugünkü kullanımına en yakın anlamda geliştirmiştir. Bugün kullandığımız tanım Fuller (1989) tarafından geliştirilmiş olup probiyotik terimi; intestinal sistemin mikrobiyel dengesini geliştirerek konakçı sağlığı üzerinde yararlı etkileri olan canlı mikrobiyel diyet destekleyicisi anlamında kullanılmıştır. Daha sonra bu tanım gıda ve yemlerde kullanılan tekli ve çoklu kültürleri kapsayacak şekilde genişletilmiştir (Havenaar ve Huis In't Veld 1992). Probiyotik kelimesinin tanımına Avrupalı bilim insanları son şeklini vermiş olup, insan ve hayvan beslemede kullanılan probiyotikleri; vücuda alındığında konakçının gastrointestinal mikroflorasına olumlu etkileri olan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlamışlardır (Kneifel vd 1999). FAO ve WHO'nun probiyotik kelimesini kesin olarak tanımlamasına, International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics gibi uzman kuruluşların tanım konusunda açık görüşleri olmasına rağmen, piyasada birbirinden çok farklı işlevde ve yararlı etkileri henüz kanıtlanmamış çok sayıda ürün probiyotik adı ile satılmaktadır. Tüketicilerin yanlış yönlendirilmelerini de önlemek amacıyla probiyotik kavramının yeniden tanımlanması gerektiği konusunda görüşler bildirilmiştir. Örneğin Nisan 2004'te Amsterdam'da yapılan Uluslararası Probiyotik Çalıştayı'nda (International Probiotic Workshop; IPW) bazı bilim adamları, sağlık yönünden belirli hastalıkları tedavi edici etkileri klinik deneylerle kanıtlanmış ürünlerin "bakteriyel tedavi edici, mikrobiyel tedavi edici veya bakteriyel immun sistem düzenleyici" ürünler olarak tanımlanmalarını önermişlerdir (IPW 2004).

"Probiyotik ürün" denildiğinde ise; içerisinde konakçı sağlığı üzerine olumlu etkileri olan mikroorganizmaları içeren, çeşitli enzim, vitamin ve aroma bileşenleri ile desteklenerek direkt kapsül veya tablet haline getirilmiş diyet destekleyiciler anlaşılmaktadır. Bu tablet veya kapsüller "farmasötikaller" olarak da bilinmekte olup, hastalıkların tedavisinde ilaç yerine kesinlikle kullanılamamakta, sadece sağlık destekleyici ürünler olarak satılmaktadır. Bu preparatlar dondurarak kurutulmuş bakteri kültürlerinin kapsül veya tablet haline getirilmesi ile hazırlanmış olup; bazı hepatik hastalıklar, kabızlık ve antibiyotik tedavisi sonucu ortaya çıkan diyare gibi gastrointestinal düzensizliklerin önlenmesinde kullanılmaktadır (Ouwehand vd 1999, Rolfe 2000, Yücecian 2002, Başyigit 2004).

Ticari bir ürün olarak probiyotiklerin çiftlik hayvanlarının yemlerinde kullanımı, gıdaların bileşiminde veya diyet destekleyici preparatlar olarak kullanımından daha öncelere dayanmaktadır. 1968 yılında domuz yemlerinde büyümeyi teşvik etmek amacıyla *L. acidophilus* kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Bu tarihten bir yıl sonra, hayvan yetiştirme ve veteriner hekimlikte antibiyotik kullanımı konularında önemli bir otorite olan Swann Komitesi, antibiyotiklerin tedavi amacıyla kullanımının sınırlandırılmasını tavsiye etmiştir (Fuller 1999). Antibiyotik kullanımına karşı olan tepkiler, diyare gibi antibiyotik kullanımının yan etkilerinden kaynaklanmaktadır (Mitsuoka 1996, Fuller 1999, Gomes ve Malcata 1999). Antibiyotiklere karşı en büyük tepkiler özellikle gıda katkı maddeleri karşılarından gelmiştir. Bu tepkilerin temel nedeni, antibiyotiklerin dolaylı yollardan da olsa gıda zincirine yabancı madde olarak katılıyor olmasıdır. Antibiyotiklerin bu dezavantajlarına karşın probiyotikler, uzun yıllardır ve hiçbir yan etkisi olmaksızın gıdaların bileşiminde ve sağlıklı bireylerin intestinal sisteminde bulunuyor olması nedeniyle de kabul görmektedir (Tannock 1997, Fuller 1999, Leroy ve deVuyst 2004). Gerek insan beslenmesinde gerekse hayvan yemi üretiminde kullanılan probiyotik mikroorganizmalar Çizelge 1' de verilmiştir.

Çizelge 1. Probiyotik üretiminde kullanılan bazı mikroorganizmalar

İnsanlar için kullanılanlar	Hayvan beslemede kullanılanlar	
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>Bacillus mesentericus</i>
<i>L. casei</i> Shirota	<i>L. casei</i>	<i>B. licheniformis</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>B. subtilis</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>B. natto</i>
<i>L. reuteri</i>	<i>L. reuteri</i>	<i>B. toyoi</i>
<i>L. rhamnosus</i>	<i>L. fermentum</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>L. brevis</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>
<i>B. bifidum</i>	<i>L. helveticus</i>	<i>Candida pintolopesii</i>
<i>B. breve</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>B. longum</i>	<i>B. brevis</i>	<i>Torulopsis</i> spp.
<i>B. infantis</i>	<i>B. pseudolongum</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>S. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>	<i>B. thermophilus</i>	
<i>Saccharomyces boulardii</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	

3. PROBİYOTİK ETKİNİN BİLİMSEL TEMELİ VE MEKANİZMASI

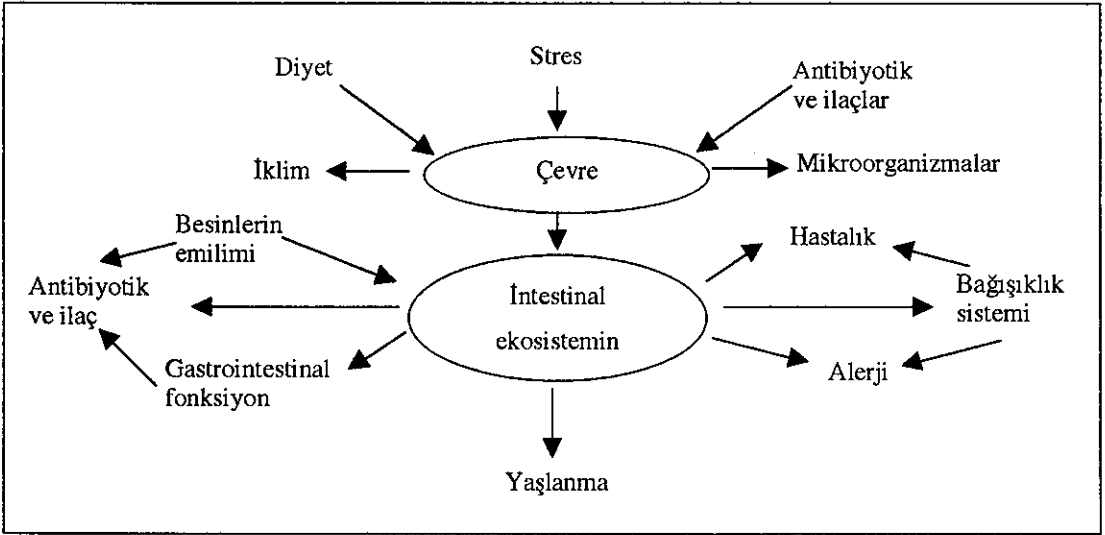
İnsan vücudu deri, ağız boşluğu, gastrointestinal ve ürogenital sistemler başta olmak üzere yüzlerce mikroorganizmanın yaşadığı dinamik bir ekosistemdir. İnsan vücudundaki toplam bakteriyel popülasyonun yaklaşık 10^{14} düzeyinde olduğu tahmin edilmektedir (Yücecan 2002). Sindirim sisteminde bulunan mikroorganizma çeşitleri Çizelge 2'de verilmiştir. Vücutumuzdaki toplam hücre sayısı ile kıyaslandığında, bakteri sayısının 10 kat daha fazla olduğu görülmektedir (Salminen 1999). Mikroorganizmalardan arındırılmış (gnotobiotic) de-

Çizelge 2. Sindirim sisteminde yaygın olarak bulunan mikroorganizmalar

Sindirim sistemi bölgesi	Baskın flora
Ağız boşluğu	<i>Lactobacillus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Fusobacterium</i>
Yutak	<i>Lactobacillus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Fusobacterium</i>
Mide	<i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Fusobacterium</i>
Duodenum	<i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Eubacterium</i>
Jejunum	<i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Eubacterium</i>
İnce bağırsak	<i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Eubacterium</i>
Kör bağırsak	<i>Peptostreptococcus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>E. coli</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Fusobacterium</i>
Kalın bağırsak	<i>Peptostreptococcus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>E. coli</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Fusobacterium</i>
Anüs	<i>Peptostreptococcus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>E. coli</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Fusobacterium</i>

nek hayvanları ile yapılan çalışmalar mikrobiyel kolonizasyonun yaşam için zorunlu bir gereksinim olmadığını göstermiştir. Hatta mikrobiyel kolonizasyon, bazı mikrobiyel metabolitlerin toksik, karsinojenik ve mutajenik potansiyelleri nedeni ile olumsuz etkilere bile neden olabilmektedir. Bununla birlikte gnotobiyotiklerin, doğal koşullarda yetiştirilen denek hayvanlarına göre infeksiyonlara karşı daha duyarlı oldukları da bilinen bir gerçektir. Buradan hareketle yetersiz bağışıklık sonucu zararlı mikroorganizmaların intestinal sistemde hiçbir direnç olmaksızın kolayca kolonize olabilecekları düşünülmektedir. Doğal koşullarda yetiştirilmiş denek hayvanları ile gnotobiyotikler arasındaki farklılıklar, mikrobiyel kolonizasyonun konakçı sağlığı açısından çok önemli olduğu fikrinin temelini oluşturmaktadır (Mattila-Sandholm vd 1999, Salminen 1999).

İntestinal ekosistemin fizyolojik dengesi hastalık, yaşlılık, stres, antibiyotik veya ilaç kullanımı, diyet alışkanlıklarının değiştirilmesi, iklim koşullarında meydana gelen değişimler ve çevresel toksik maddeler gibi faktörlerden direkt veya dolaylı olarak etkilenebilmektedir (Şekil 1) (Cedgård 2000).



Şekil 1. İntestinal sistemin florasını etkileyen faktörler

İntestinal sistemin dengesinde meydana gelen bu düzensizlikler "disbiosis" olarak adlandırılmaktadır. Disbiosisin tersi bir durum olarak, intestinal sistemde bulunan faydalı mikroorganizmaların sistemin fizyolojik dengesine olumlu yönde katkıda bulunmasına "probiyosis", bu mikroorganizmalara da "probiyotik mikroorganizmalar" denilmektedir. Konakçının yaşantısı esnasında karşılaştığı şartlar ve buna bağlı olarak hormonal sisteminde meydana gelen değişiklikler de disbiosisi meydana getiren en önemli etmenlerden birisidir. Tedavi amacıyla alınan ilaçların birçoğu faydalı floranın inhibisyonuna neden olmaktadır. Disbiosise neden olan etmenlerden bir diğeri de iklim koşullarında meydana gelen değişimlerdir. Seyahat esnasında meydana gelen ve seyahat diyaresi olarak bilinen düzensizlik bunun en iyi bilinen örneğidir. Sağlıklı bir yaşam için faydalı etki gösteren mikroorganizmaların intestinal sistemdeki sayısı yeterli değilse mutlaka dışarıdan takviye edilmesi gerekmektedir (Çakır vd 2001, Başyigit 2004).

Probiyotiklerin konakçıyı intestinal sistem bozukluklara karşı nasıl koruduğunu açıklamaya çalışan birçok mekanizma bulunmaktadır. Ancak yine de hangi patojenlere karşı hangi probiyotiklerin etkili olduğunun tam olarak belirlenmesi için daha çok çalışmaya gereksinim vardır. Probiyotiklerin muhtemel etki mekanizmaları aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir (Goldin ve Gorbach 1984, Salminen 1998, Salminen 1999, Rolfe 2000, Forestier vd 2001, Çakır vd 2002, Başyigit 2004). Bunlar:

1. İnhibe edici maddeler üretirler: Probiyotikler, Gram pozitif ve Gram negatif mikroorganizmalar üzerinde etkili birçok madde üretmektedir. Bunlardan bazıları organik asitler, hidrojen peroksit, bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri maddelerdir.

2. Tutunma bölgelerini bloke ederler: Probiyotikler tutunma bölgeleri için patojenlerle rekabete girerek, intestinal sistemde yerleşmelerini engellemektedirler.
3. Besin maddeleri için rekabet ederler: Probiyotikler patojenler için de gerekli olan besin maddelerini tüketerek, onların sistemde uzun süre kalmasını engellemektedirler. Ancak bu mekanizmanın kanıtlanabilmesi için in vivo verilere gereksinim duyulmaktadır.
4. Toksin reseptörlerini yıkıma uğrattırır: Bu mekanizma hayvanlarda *S. boulardii*'nin intestinal mukozada bulunan *Clostridium difficile*'nin toksin reseptörlerini parçalayarak konakçıyı koruması nedeniyle ortaya atılmıştır (Castagliuola vd 1999).
5. Bağışıklık sistemini güçlendirirler: Son yıllarda yapılan çalışmalar probiyotiklerin spesifik ve spesifik olmayan bağışıklık sistemini güçlendirerek intestinal hastalıklara karşı konakçıyı koruduğunu ortaya koymuştur (Fukushima vd 1998). Bu mekanizma tam olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen spesifik hücre duvarı komponentlerinin veya hücre yüzeylerinin adjuvant etki gösterdiği ve humoral immun yanıtı güçlendirdiği düşünülmektedir (Medici vd 2004).

4. PROBİYOTİK MİKROORGANİZMA SEÇİM KRİTERLERİ

Probiyotik mikroorganizma suşlarının sınıflandırılması ve seçimi için üzerinde anlaşma sağlanmış belirli bir kriterler dizini yoktur. Herhangi bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kullanılabilmesi için sahip olması gereken kriterler Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3. Probiyotik seçim kriterleri

Probiyotik türün özelliği	Açıklama
İnsanlar için kullanılacak ürünlerde insan kaynaklı suşların kullanımı	İnsan orijinli olmamasına rağmen insanlar için kullanılan <i>Saccharomyces boulardii</i> gibi bir örneğe rağmen türe bağlı sağlık etkileri açısından bu özellik önem taşımaktadır.
Asit ve safra tuzlarına direnç	Diğer kullanımlar için olmasa bile ağızdan yapılan uygulamalarda mikroorganizmanın canlı kalma, metabolik aktivitesini devam ettirebilme ve tutunabilme özelliklerini sürdürebilmesi önemlidir.
Mukozal yüzeylere tutunma	İmmün sistemin güçlendirilmesi, patojenlerle yarışmalı rekabet, tutunmanın engellenmesi ve kolonizasyonun engellenmesi açısından önemlidir.
Gıda ve klinik amaçlı kullanımlarda güvenilirlik	Suşların doğru olarak tanımlanmaları ve özelliklerinin belirlenmesi. İntestinal sistemde mukozal yapıya zarar vermeyen ve invazyon özelliği olan suşların kullanılmaması.
Klinik olarak kanıtlanmış ve sağlık üzerine olumlu etki	Her bir farklı suşun veya ürünün minimum etki dozunun belirlenmesi plasebo kontrollü ve çok tekerrürlü canlı denemelerinin gerçekleştirilmesi.
Teknolojik açıdan üstün özellikler	Suşun stabilitesi, faj dirençliliği, üründe canlı kalabilme kabiliyeti (canlı mikroorganizma gereksinimi varsa), büyük ölçekte üretime uygunluk, ürün tadına olumsuz etkisinin olmaması, oksijen direnç kabiliyeti.

Günümüzde satılan probiyotiklerin birçoğu yukarıda belirtilen kriterler kullanılarak seçilmiştir. Sağlık açısından faydalı etkileri ölçülebilen ve fonksiyonel özellikleri olan probiyotik suşlar elde etmek için bu kriterlere sahip suşların seçilmesi gerekmektedir. Probiyotik özellik bakımından en iyi suşlar bu kriterlerin tamamına sahip olan suşlardır (Pennacchia vd 2004).

Potansiyel probiyotik değeri olan mikroorganizmaların taranmasındaki en önemli parametrelerden biri si kullanılan mikroorganizmanın gastrointestinal bölgelerden geçerken metabolik aktivitesini ve tanımlanmış hedef mikroorganizmaya karşı biyolojik aktivitesini kaybetmemesidir. Buna ilaveten son üründe ve ticari üretim esnasında suşun canlılığını ve istenen özelliklerini koruyabilmesi de çok önemlidir (Salminen 1998, Gomes ve Malcata 1999, Ouwehand vd 1999).

İstenen probiyotik özelliklere sahip ve klinik olarak etkisi kanıtlanmış suşlar genellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsine ait türlerdir. Bunlardan özellikle *L. acidophilus* (NCFB1478), *L. casei* Shirota, *Lactobacillus* GG (ATCC 53103), *B. lactis* Bb12, *L. johnsonii* LJ1 ve *L. reuteri* türleri üzerinde birçok çalışma yapılmış, sağlık üzerindeki yararlı etkileri klinik deneylerle kanıtlanmış olup ticari preparatlarda yaygın olarak kullanılan mikroorganizmalardır. Ayrıca bu türler üzerinde daha ayrıntılı araştırmalar yapılarak, çeşitli intestinal düzensizliklerin önlenmesinde ve intestinal bozuklukların diyet ile tedavi edilmesinde alternatif yöntemlerin önerilebileceği düşünülmektedir (Ouwehand vd 1999, Lourens-Hattingh ve Viljoen 2001).

Kısaca probiyotik üretiminde kullanılacak mikroorganizmaların metabolik ve teknolojik özellikleri ürün işleme tekniğine uygun olmalı ve son üründeki canlı probiyotik mikroorganizma sayısı istenen düzeyde kalabilmelidir (Ouwehand vd 1999, Reid 2000). Probiyotik bakterilerin fizyolojik etkileri üzerinde yapılan araştırmalar diyare, laktöz intoleransı ve kolon kanserini önleyici etki için gerekli dozun 10^9 - 10^{10} adet organizma/gün olduğunu göstermiştir. Bu değer günde 1 litre asidofiluslu süt tüketimine eşdeğerdır (Murray 1998, Lee vd 1999, Sanders 1999).

5. PROBIYOTİKLERİN GÜVENİLİRLİK KRİTERLERİ

Günümüzde ticari probiyotik ürünler hakkındaki mevcut bilgiler bu ürünlerin güvenilir olduklarını göstermektedir (Salminen ve vonWright 1998, Mattila-Sandholm vd 1999). Bununla birlikte, potansiyel yeni cins ve türlerin probiyotik ürün oluşturmak amacıyla seçiminde, Avrupa Birliği tarafından önerilen yeni gıda üretiminde uyulması zorunlu güvenlik kriterlerine dikkat edilmesi gerekmektedir. Probiyotik ürünlerin güvenilirliği, üretilen gıdanın fenotipik ve genotipik özellikleri ile bu mikroorganizmaların gıdalarda kullanımının geçmişi konusunda elde bulunan veriler temel kriterler olarak değerlendirilmektedir. Bu konuda yapılan araştırmalar genetik olarak düzenlenmiş suşlardan daha çok, geçmişten günümüze yıllardır güvenle kullanılan doğal izolatlar üzerine yoğunlaşmış durumdadır (Klaenhammer 1998, Adams 1999, Klaenhammer ve Kullen 1999, Saarela vd 2000, Zhou vd 2000, Başyigit 2004).

Avrupa Birliği ülkelerinde probiyotiklerin güvenilirliği ve teknolojik özellikleri çok geniş kapsamlı iki projede araştırılmıştır. Bunlardan biri 1994-1997 yılları arasında gerçekleştirilmiş olan ve halen kullanılan ticari probiyotik suşlarının in vitro fonksiyonlarını belirlemeyi amaçlayan Nordic projesidir. Diğer proje 1996 yılında başlamış olup, ticari probiyotiklerin sağlık açısından bahsedilen etkilerini kanıtlamayı amaç edinen Probdemo (FAIR CT96-1028) projesidir (Leroy ve deVuyst 2004). Bu projede yetişkinlerde ve çocuklarda intestinal sistemin durumu ve bağıışıklığın düzenlenmesi için klinik denemeler yapılması, gastrointestinal hastalıkların teşhisleri için yeni moleküler araçların geliştirilmesi, potansiyel probiyotik suşların ve gıdaların seçimi için yöntemler geliştirilmesi ve elde edilen bu bilgilerin yayınlanarak paylaşılması amaçlanmıştır (Salminen ve vonWright 1998, Zhou vd 2000, Kaur vd 2002). Bu projenin endüstriyel ortakları arasında Arla (İsveç), Valio (Finlandiya), Chr. Hansen (Danimarka), Nestec (İsviçre), Waterford Foods (İrlanda) ve Norwegian Dairies (Norveç) gibi bu alanda söz sahibi firmalar bulunmaktadır. Projenin araştırma bölümünü ise, Agricultural University of Wageningen (Hollanda), Catholic University of Piacenza (İtalya), University College Cork (İrlanda), University of Turku (Finlandiya) ve VTT (Finlandiya, Koordinatör)'den oluşan kuruluşlar tarafından yürütülmüştür. Bu projenin sonuçlarına göre geleneksel ve yeni gıdalarda kullanılacak probiyotiklerin güvenilirliği konusunda elde edilen sonuçlar ve dikkat edilmesi gereken öneriler aşağıda özetlenmiştir.

1. Üretici firma ürettiği gıdanın güvenilirliğinden birinci derecede sorumludur. Probiyotik gıdalar da en az diğer gıdalar kadar güvenilir olmalıdır.

2. Probiyotik mikroorganizmalar yeni bir ürün oluşumunda kullanılacakları zaman yasal olarak onaylanmış olmaları gerekmektedir.
3. Bir suş probiyotik olarak uzun zamandır güvenilir bir şekilde kullanılıyorsa, gıda üretiminde ilk defa kullanılacak yeni suşlarla aynı işleme tabi tutulmaz.
4. Gıda güvenliği için en iyi test yöntemi, insan kullanımında güvenilir olarak kullanıldığının belgelenmesidir. Hiçbir suşu patojen olarak belirlenmemiş olan mikroorganizmalar ile uzun yıllardır probiyotik olarak güvenle kullanılan suşlar probiyotik üretiminde güvenilir kabul edilmekte ve yeni ürün üretiminde kullanımına izin verilmektedir.
5. Hiçbir suşu patojen olarak belirlenmemiş ama, güvenilir bir kullanım geçmişi olmayan suşlar da probiyotik üretiminde kullanılabilirler. Ancak bunların yeni ürün oluşumunda ilk defa izole edilen suşlarla aynı işleme görmesi gerekmektedir.
6. Probiyotik potansiyeli olan suş, patojenik suşları da olduğu bilinen bir türe ait ise yeni bir ürün üretiminde kullanılmadan önce klinik olarak çok iyi araştırıldıktan sonra kullanılmalıdır.
7. Dikkat edilmesi gereken bir başka kriter, antibiyotik direnç genlerini taşıyıp aktarabilen suşların probiyotik olarak değerlendirilmemesidir.
8. Güvenilir bir probiyotik seçiminde belki de en önemli kriter, suşun kesin olarak tanımlanmış olmasıdır. Bu amaçla günümüzde DNA-DNA hibridizasyon teknikleri veya 16S rRNA dizi analiz teknikleri kullanılmalıdır. Taksonomik analizleri gelişmiş yöntemler kullanılarak tanıları doğru bir şekilde yapılmayan suşlar probiyotik olarak kesinlikle satılmamalıdır (Salminen vd 1998, Wagner ve Balish 1998, Dunne vd 1999, MacFarlane ve Cummings 1999, Zhou vd 2000).

KAYNAKLAR

- Adams MR. 1999. Safety of industrial lactic acid bacteria. *Journal of Biotechnology*, 68: 171-178.
- Armbrecht J. 2002. Probiotics and possible health benefits. <http://www.bact.wisc.edu/ScienceEd/probioticsandpossibl.html>.
- Başıyigit G. 2004. Bazı laktik asit bakterilerinin probiyotik olarak kullanıma özellikleri. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 96 s, Isparta.
- Castagliuolo L, Riegler MF, Valenick L, LaMont JT and Pathoulakis C. 1999. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. *Infect Immun*, 67: 302-307.
- Cedgård, L. 2000. Probiotics: The link between health and disease. <http://www.positivehealth.com/permit/Articles/Environment/probiot.htm> (01.12.2001).
- Çakır İ, Karahan AG and Çakmakçı ML. 2001. Probiotic and functional properties of some traditional Turkish foods. In: Proceedings of the 1st Euroasian Congress on Molecular Biotechnology. Editor Z. Demirbağ, Vol. 1, KTU Publishing Section, Trabzon, pp. 89-93.
- Çakır İ, Karahan AG ve Çakmakçı ML. 2002. Probiyotikler ve etki mekanizmaları. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 6 (12)? 15-19.
- Dunne C, Murphy L, Flynn S, O'Mahony L, O'Halloran S, Feeney M, Morrissey D, Thornton G, Fitzgerald G, Daly C, Kiely B, Quigley EMM, O'Sullivan GC, Shanahan F and Collins JK. 1999. Probiotics: From myth to reality. Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76: 279-292.
- Forestier C, DeChamps C, Vatoux C, and Joly B. 2001. Probiotic activities of *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*: *in vitro* adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. *Res. Microbiol*, 152: 167-173.
- Fukushima Y, Kawata Y, Hara H, Terada A and Mitsuoka T. 1998. Effect of probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children. *Int. J. Food Microbiol.*, 42: 39-44.
- Fuller R. 1989. Probiotics in man and animal. *J. Appl. Bacteriol.*, 66: 365-378.
- Fuller R. 1999. Probiotics for farm animals. pp. 15-22. *Probiotics A Critical Review*. Editor GW Tannock, Horizon Scientific Press, 164 p., Wymondham, UK.
- Goldin BR and Gorbach SL. 1984. The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 39: 756-761.
- Gomes AMP and Malcata FX. 1999. *Bifidobacterium* ssp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food Sci. Technol.*, 10: 139-157.
- Haddadin MSY, Awaishéh SS and Robinson RK. 2004. The production of yoghurt with probiotic bacteria from infants in Jordan. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3 (5): 290-293.

- Havenaar R and Huis In't Veld JHJ. 1992. Probiotics: A general view. Vol. 1, pp. 151-170, In: The Lactic Acid Bacteria. Editor B. J. B. Wood, Elsevier, London.
- IPW. 2004. International Probiotic Workshop. Workshop Summary. www.probiotics-amsterdam.org/workshop/index.php (25.07.2004).
- Kalantzopoulos G. 1997. Fermented products with probiotic qualities. *Anaerobe*, 3: 185-190.
- Kaur IP, Chopra K and Saini A. 2002. Probiotics: potential pharmaceutical applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15: 1-9.
- Klaenhammer TR. 1998. Functional activities of *Lactobacillus* probiotics: Genetic mandate. *Int. Dairy J.*, 8: 497-505.
- Klaenhammer TR and Kullen MJ. 1999. Selection and design of probiotics. *Int. J. Food Microbiol.* 50: 45-57.
- Kneifel W, Mattila-Sandholm T and Wright A. 1999. Probiotic Bacteria-Detection and estimation in fermented and non-fermented dairy products. Vol. 3, 1783-1789. In: *Encyclopedia of Food Microbiology*. Eds: R. K. Robinson, C.A. Batt, P. D Patel, Academic Press.
- Laurens-Hattingh A and Viljoen BC. 2001. Yogurt as probiotic carrier food. *Int. Dairy J.*, 11: 1-17.
- Lee YK, Nomoto K, Salminen S, Gorbach SL. 1999. *Handbook of Probiotics*. A Wiley-Interscience Publication. 211 p. Canada.
- Leroy F and deVuyst L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*. 15: 67-78.
- MacFarlane GT and Cummings JH. 1999. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? *Brit. Med. J.*, 318: 999-1003.
- Mattila-Sandholm T, Mättö J and Saarela M. 1999. Lactic acid bacteria with health claims-interactions and interference with gastrointestinal flora. *Int. Dairy J.*, 9: 25-35.
- Medici M, Vinderola CG and Perdigon G. 2004. Gut mucosal immunomodulation by probiotic fresh cheese. *Int. Dairy J.*, 14: 611-618.
- Mitsuoka T. 1996. Intestinal flora and human health. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, 1: 2-9.
- Murray F. 1998. *Acidophilus and Your Health: The beneficial microorganisms that aid digestion and fight disease*. Keats Publishing, Inc., 46 p. New Canaan, Connecticut.
- Ouweland AC, Kirjavainen PV, Shortt C and Salminen S. 1999 Probiotics: Mechanisms and established effects. *Int. Dairy J.*, 9: 43-52.
- Pennacchia C, Ercolini D, Blaiotta G, Pepe O, Mauriello G and Vilani F. 2004. Selection of *Lactobacillus* strains from fermented sausages for their potential use as probiotic. *Meat Science*, 67: 309-317.
- Reid G. 2000. *In vitro* testing of *Lactobacillus acidophilus* NCFM™ as a possible probiotic for the urogenital tract. *Int. Dairy J.*, 10: 415-419.
- Rolfe RD. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr.*, (Supplement), 130: 396-402.
- Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Mättö J and Mattila-Sandholm T. 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. of Biotechnol.*, 84: 197-215.
- Salminen S. 1998. Probiotics: Scientific support for use. *Food Technology*, 53 (11): 66.
- Salminen S and vonWright A. 1998. Current probiotics-safety assured? *Microbial. Ecol. Health Dis.*, 10: 68-77.
- Salminen S, vonWright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, deVos WM, Fondén R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birke-land SE and Mattila-Sandholm T. 1998. Demonstration of safety of probiotics-a review. *Int. J. Food Microbiol.* 44: 93-106.
- Salminen S. 1999. Probiotics: Scientific support for use. *Food Technol.*, 53: 66.
- Sanders ME. 1999. Probiotics. *Food Technology*, 53: 67-77.
- Saxelin M, Grenov B, Svensson U, Fondén R, Reneiro R and Mattila-Sandholm T. 1999. The technology of probiotics. *Trends Food Sci. Technol.*, 10: 387-392.
- Sönmez N, Çakmakçı ML, Karahan AG ve Çakır İ. 1999. Probiyotik Kullanımı ve Ülke Şartlarında Geliştirilmesi. SDÜ Basımevi, 134 s., Isparta.
- Tannock GW. 1997. Probiotic properties of lactic-acid bacteria: plenty of scope for fundamental R & D. *Tibtech*, 15: 270-274.
- Wagner RD and Balish E. 1998. Potential hazards of probiotic bacteria for immunodeficient patients. *Bull. Inst. Pasteur*, 96: 165-170.
- Yücecan S. 2002. Probiyotikler ve sağlık üzerine etkileri. *Türkiye Diyetisyenler Derneği Bülteni*, 2: 1-13.
- Zhou JS, Shu Q, Rutherford KJ, Prasad J, Birtles MJ, Gopal PK and Gill HS. 2000. Safety assessment of potential probiotic lactic acid bacterial strains *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lb. acidophilus* HN017, and *Bifidobacterium lactis* HN019 in BALB/ c mice. *Int. J. Food Microbiol.*, 56: 87-96.