

پژوهش در پزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)  
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی  
سال ۲۷، شماره ۴، صفحات ۳۱۹ تا ۳۳۰ (زمستان ۸۲)

## پروبیوتیک ها و مکانیسم اثر آنها در پیشگیری و درمان بیماریهای انسان

دکتر ریحانه وجدانی<sup>۱</sup>، دکتر محمدرضا زالی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>دکتر داروساز، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی  
<sup>۲</sup>مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

### چکیده

پروبیوتیک ها ارگانیزم های زنده ای هستند که با تعدیل فلور میکروبی روده، اثرات مفیدی را بر روی سلامت میزبان اعمال می کنند. آنها عموماً از منابع انسانی بوده و غیر بیماری زا محسوب می شوند. پروبیوتیک هایی که بیش از همه در زمینه های مختلف مورد مطالعه قرار گرفته اند، باکتریهای تولید کننده اسید لاکتیک شامل گونه های لاکتوباسیلوس و بیفیدو باکتریا است. مکانیسم اثر پروبیوتیک ها کاملاً شناخته شده نیست ولی مکانیسم هایی برای توجیه اثرات پیشگیری کننده و درمانی آنها در بیماریهای انسان پیشنهاد شده است که از آن جمله می توان به تولید ترکیبات مهار کننده باکتریها، تعدیل PH روده، بلوک جایگاه های اتصال باکتریها، رقابت برای جذب مواد غذایی و تقویت سیستم ایمنی اشاره نمود. **واژگان کلیدی:** پروبیوتیک ها، لاکتوباسیلوس، بیفیدو باکتریا، فلور میکروبی روده.

### مقدمه

مختلف موثر است که این تاثیر در جمعیت های دارای خطر بالا (مانند کودکان بستری در بیمارستان، کودکانی که شیر مادر مصرف نمی کنند یا در شرایط محروم به سر می برند) بارزتر است. فراورده های پروبیوتیکی در بازار تجاری به اشکال قرص، کپسول، پودر، ماست های غنی شده، شیر و پنیر به فروش می رسند. اغلب پروبیوتیک هایی که تاکنون مورد مطالعه قرار گرفته اند یا در بازار موجودند، ایمن هستند و در هزاران نفر از افرادی که تاکنون مصرف این فراورده ها را گزارش کرده اند، هیچ گونه عارضه جانبی آشکاری از خود نشان نداده اند. (۴).

پروبیوتیکها، میکروارگانیزم های زنده و مشخصی هستند که در صورت مصرف در انسان یا حیوان، با اثر بر روی فلور میکروبی بدن باعث اعمال اثرات مفید بر سلامتی میزبان می شوند. اکثر پروبیوتیک ها متعلق به گروه بزرگی از باکتری های اصلی فلور میکروبی روده انسان بوده و در آنجا زندگی همسفرگی بی ضرری دارند (۱،۲). باور موجود در مورد اثرات مفید پروبیوتیک ها، بر پایه این واقعیت قرار دارد که فلور میکروبی روده نقش محافظت کننده ای در برابر بیماری های مختلف از خود نشان می دهد؛ اثر اصلی پروبیوتیک ها با تثبیت فلور میکروبی روده مشخص می شود (۳). مشاهده شده است که مصرف پروبیوتیک ها در کاهش میزان بروز بیماریهای

## تاریخچه

تعداد کافی که فلور میکروبی را از طریق جایگیری<sup>۲</sup> یا کولونیزاسیون در بخشی از بدن میزبان تغییر داده و بدین ترتیب باعث اعمال اثرات مفید بر سلامتی میزبان می شوند (۱۲).

## معیارهای انتخاب پروبیوتیک ها

پروبیوتیک ها عموماً از منابع انسانی بوده و بعنوان باکتریهای غیر بیماریزا محسوب می شوند. انتخاب گونه های پروبیوتیک عمدتاً بر پایه سابقه تاریخی استفاده از آنها برای مدتهای مدید بدون داشتن عوارض جانبی مضر صورت می گیرد. سایر معیارهای مطرح برای استفاده از گونه های باکتریایی مناسب عبارتند از:

- ۱- مقاومت و زنده ماندن در پروسه تکنولوژیک ساخت
- ۲- زنده و فعال ماندن در دستگاه گوارش که به معنی مقاومت در برابر اسید معده و اسیدهای صفاوی است.
- ۳- توانایی اتصال به سلولهای اپی تلیال روده
- ۴- توانایی آنتاگونیسم کردن پاتوژن ها از طریق تولید ترکیبات ضد باکتری، حذف رقابتی آنها یا کاهش PH داخل کولون.
- ۵- توانایی تثبیت فلور باکتریای روده

از جنبه عملی، فرآورده های پروبیوتیکی باید عمر مناسب داشته باشند، در زمان مصرف حاوی تعداد زیادی سلولهای زنده بوده و غیر بیماری زا و غیر سمی نیز باشند. پروبیوتیکی که بیش از همه در زمینه های مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است، باکتریهای تولید کننده اسیدلاکتیک شامل گونه های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتريا است. این دو جنس باکتریایی، هیچگونه توانایی ایجاد التهاب را ندارند که این مسئله از جمله علل انتخاب آنها بعنوان پروبیوتیک است (۱۸-۱۳، ۹). در جدول ۱، تعدادی از پروبیوتیک ها که به مواد غذایی اضافه شده یا به صورت تغلیظ شده در مکمل های غذایی مورد استفاده قرار می گیرند، نشان داده شده است (۹). لازم بذکر است یک فرآورده پروبیوتیکی می تواند حاوی یک یا چند گونه مختلف باکتریایی باشد (۱۹).

تاریخچه استفاده از میکروارگانیسم های زنده در غذا به ویژه باکتریهای تولید کننده اسید لاکتیک به منظور حفظ و بهبود سلامت انسان بسیار طولانی است. ۷۶ سال قبل از میلاد مسیح، مورخ رومی استفاده از فرآورده های تخمیری شیر را به منظور درمان گاستروانتریت توصیه نمود (۵). از زمان پیدایش عصر میکروب شناسی، تعدادی از محققین مانند Carr (۶)، Tisser (۷) و Metchinkoff (۸) این اثرات مفید را به تعادل میکروبی روده نسبت دادند. فرضیه پروبیوتیکها در اوایل سالهای ۱۹۰۰ شکل گرفت؛ زمانی که برنده جایزه نوبل، Eli Metchinkoff این فرضیه را مطرح کرد که مصرف ماست حاوی لاکتوباسیلوس منجر به کاهش باکتریهای تولید کننده سم در روده شده و در نتیجه باعث افزایش طول عمر میزبان می شود (۸). اولین مطالعات بالینی بر روی پروبیوتیک ها در دهه ۱۹۳۰ در مورد اثربخشی در یبوست انجام شد. از آن به بعد، تعداد این مطالعات دائماً افزایش یافته است و بسیاری از این مطالعات در اروپا و آسیا انجام شده اند (۹).

## تعریف واژه پروبیوتیک

واژه پروبیوتیک<sup>۱</sup> به معنی برای زندگی، از زبان یونانی مشتق شده است. این واژه اولین بار توسط Lilly و Stillwell (۱۰) در سال ۱۹۶۵ به منظور توضیح مواد ترشخی به وسیله یک میکروارگانیسم که رشد یک میکروارگانیسم دیگر را تحریک می کند، استفاده شد و بنابراین، متضاد واژه آنتی بیوتیک است. Parker (۱۱) اولین فردی بود که واژه پروبیوتیک را در مفهومی که امروزه استفاده می شود بکار برد. وی پروبیوتیک ها را بعنوان ارگانیسم ها و موادی که در برقراری تعادل میکروبی روده موثر هستند، تعریف کرد. تعریف ارائه شده در زیر، نزدیک ترین تعریف به تعریف کامل Havenaar و همکاران از واژه پروبیوتیک است: فرآورده ای از یا محصولی حاوی میکروارگانیسم های زنده و مشخص در

جدول ۱- پروبیوتیک هایی که بصورت فرآورده های تجاری مورد استفاده قرار می گیرند\*

#### Lactobacillus Species

L acidophilus  
L casei  
L fermentum  
L gasseri  
L johnsonii  
L lacits  
L paracasei  
L plantarum  
L reuteri  
L rhamnosus  
L salivarius

#### Bifidobacterium species

B bifidum  
B breve  
B lactis  
B longum

#### Streptococcus species

S thermophilus

#### Yeasts & Molds

Saccharomyces boulardii

\* این گونه ها در ماست، فرآورده های تخمیری شیر، شیر غنی شده و یا مکمل های غذایی موجود هستند.

### فلور میکروبی روده

فلور میکروبی طبیعی روده، یک جزء متابولیکی فعال ولی مطالعه نشده دفاع میزبان است (۲۰). فلور طبیعی، غنی ترین چالش آنتی ژنی را به همراه یک اثر تحریکی قوی برای بلوغ بافت لنفوئید وابسته به روده برای میزبان فراهم می کند (۲۱، ۲۲). تعدادی از گونه های باکتریایی موجود در فلور روده، بطور بالقوه مضر محسوب می شوند که علت این مسئله، توانایی بالقوه آنها در تولید سموم، توانایی تهاجم مخاطی یا فعال سازی کارسینوزن ها و ایجاد پاسخ های التهابی است (۳). ۲۰-۱۰ جنس باکتریایی در فلور روده بصورت غالب موجود هستند که از آن جمله می توان به موارد زیر اشاره کرد:

Peptococcus, Eubacterium, Clostridium,  
Lactobacillus, Bacterioides, Bifidobacterium,  
Fusobacterium, Veillonella, Escherchia,

Peptostreptococcus (۲۳). باکتریهای گسه دارای ویژگیهای بهبود دهنده سلامت هستند عبارتند از: بیفیدوباکتريا و لاکتوباسیلوس (۲۴). عملکرد اصلی فلور میکروبی روده فعالیت متابولیک است که منجر به حفظ انرژی و مواد غذایی قابل جذب می شود. همچنین می توان به آثار مهم تروفیک روی سلولهای اپی تلیال روده و عملکرد ایمنی و حفاظت میزبان در برابر هجوم میکروبهایی بیگانه نیز اشاره کرد (۲۵). در بیماریهای عفونی و شرایط التهابی، تعادل میکرواکولوژی روده به گونه ای تغییر می کند که تعداد باکتریهای دارای پتانسیل بیماری زا بی افزایش یافته و واکنش سلامت بین میزبان و باکتری مختل می شود و در نتیجه یک پاسخ ایمنی توسط این دسته از باکتریهای ساکن روده می تواند القا شود (۲۶). از جمله این بیماریها، می توان به آرتریت روماتوئید و بیماریهای آلرژیک اشاره کرد (۲۷-۲۹). اسهال، عفونتهای دستگاه ادراری یا واژینیت زمانی رخ می دهند که فلور نرمال میکروبی به دلیل استفاده از آنتی بیوتیکها، دارو درمانی یا سایر پروسه های درمانی دچار اختلال شود. از جمله توانایی های فلور طبیعی برای محافظت میزبان در برابر جایگزینی نامطلوب و ناخواسته پاتوژنها، مقاومت در برابر کولونیزه شدن پاتوژنها است که می تواند با مصرف آنتی بیوتیکها یا تعدادی از پروسه های درمانی دیگر مختل شود. یک هدف مهم درمان با ترکیبات بایوتراپیوتیک، متوقف کردن تکثیر پاتوژن ها است تا بدین ترتیب فلور طبیعی دوباره مستقر شود. توانایی تامین زمان مورد نیاز برای استقرار مجدد مقاومت در برابر کولونیزه شدن، مکانیسم محتمل درمان موفق با ترکیبات بایوتراپیوتیک است (۳۰).

### نقش پروبیوتیک ها در تغییر ترکیب و

#### متابولیسم فلور میکروبی روده

فلور میکروبی روده در یک فرد غالباً ثابت است هر چند که این فلور در افراد مختلف ممکن است متفاوت باشد (۳۱، ۳۳). با این حال تجویز پروبیوتیک ها هم در نوزادان تازه متولد شده و هم در بزرگسالان منجر به تغییر در پروفایل میکروبی و فعالیت های متابولیکی مدفوع می شود.

کاهش فعالیت  $\beta$ -glucuronidase، Nitroreductase و Glycolic acid hydrolyse مدفوع شد. دفع ادراری p-cresol فرآورده ای ناشی از *Bacteroids fragilis* روده ای نیز کاهش پیدا کرد. فعالیت آنزیم های ذکر شده در مدفوع در تمام طول مدت تجویز پروبیوتیک پایین باقی می ماند (۴ هفته) و زمانی که مصرف پروبیوتیک ها قطع شد، این میزان به غلظتهای اولیه بازمی گردد (۳۹). کاهش فعالیت آنزیم های  $\beta$  glucuronidase، Azoreductase تجویز *L.acidophilus* نیز نشان داده شده است (۴۰). وقتی داوطلبان سالم لاکتوباسیلوس هایی را که توانایی جایگیر شدن در مخاط را دارا هستند دریافت می کنند، غلظت لاکتوباسیلوسها در مخاط روده افزایش یافته و غلظت بی هوازی های گرم منفی، انتروباکتریاسه و کلستریدیومها کاهش دهنده سولفیت کاهش می یابد (۴۱). در بررسی دیگر گزارش شد مصرف 299V *L.Plantarum* در یک نوشیدنی میوه ای حاوی جو تخمیر شده، غلظت اسیدهای کربوکسیلیک بویژه اسید استیک و اسید پروپیونیک را در مدفوع افراد داوطلب سالم افزایش داد (۴۲). این اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه، یک منبع انرژی برای سلولهای مخاطی کولون محسوب می شوند. بعنوان مثال یک غلظت افزایش یافته از اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه در لومن روده می تواند برای وضعیت مخاط مفید باشد. علت این افزایش غلظت در مطالعه فوق، احتمالاً بدلیل تغییری است که در ترکیب فلور میکروبی روده حادث شده است. به این صورت که *L.plantarum* احتمالاً از افزایش تعداد باکتریهای تولید کننده اسید استیک و اسید پروپیونیک و یا از مهار باکتری هایی که این ترکیبات را کاتابولیزه می کنند، حمایت می کند. بعنوان یک توضیح مکمل در این زمینه می توان گفت که *L. Plantarum* مقدار موسین را در کولون افزایش می دهد، چراکه این باکتری تولید موسین مخاطی را بصورت *In vitro* تحریک می کند (۴۳). افزایش مقدار موسین ممکن است منجر به افزایش میزان مواد قابل تخمیر در کولون شود، موادی که قابلیت تبدیل به اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه را دارا هستند.

هر چند این تغییرات اندک است، با این حال در صورت تجویز در شرایط پاتولوژیک اکثراً برای اصلاح روند بیماری کافی است. در اغلب شرایط، تجویز پروبیوتیک ها منجر به افزایش تعداد بیفیدوباکتريا و لاکتوباسیلوس ها، کاهش PH مدفوع، کاهش در فعالیت آنزیمهای باکتریایی می شود (۲۴).

در نوزادان تازه متولد شده، فلور میکروبی روده با افزودن پروبیوتیک ها به فرمولهای تغذیه ای اصلاح می شود. بدلیل وجود فلور بیفیدوباکتري زيادی در روده نوزادانی که از شیر مادر تغذیه می کنند و مقاومت بیشتر این نوزادان در برابر بیماریهای عفونی مختلف در مقایسه با نوزادان مصرف کننده شیر خشک، توجه به این مسئله جلب شد که فلور بیفیدوباکتريا را بعنوان فلور عمده روده نوزادان مصرف کننده شیر خشک ایجاد کنند. در یک مطالعه ۷ روزه، مدفوع نوزادان تغذیه شده با یک فرمولاسیون صناعی حاوی *B.bifidum* با مدفوع نوزدانی که فرمولاسیون صناعی مشابه ولی فاقد بیفیدوباکتريا دریافت کرده بودند و نیز با مدفوع نوزادان مصرف کننده شیر مادر مقایسه شد. نوزادان تغذیه شده با فرمولاسیون حاوی پروبیوتیک و نوزادان تغذیه شده با شیر مادر، بیفیدوباکتريا در مدفوع خود داشتند در حالیکه نوزادان گروه سوم این باکتری در مدفوعشان دیده نشد. PH مدفوع نوزادان دریافت کننده شیر مادر و نوزادان دریافت کننده شیر حاوی پروبیوتیک، ۶/۸۳ بود (۳۵،۳۶). در یک مطالعه دوماهه دیگر با استفاده از یک فرمولاسیون صناعی حاوی *B. bifidum*، PH مدفوع در این نوزادان و نوزادان تغذیه شده با شیر مادر یکسان بود در حالیکه این PH در نوزادان گروه کنترل که با فرمولاسیون فاقد بیفیدوباکتريا تغذیه شده بودند، بطور معنی داری بالاتر بود (۳۷).

سناریوی مشابهی در بزرگسالان مشاهده می شود. در داوطلبان با میانگین سنی ۳۱/۵ سال، تجویز یک فرآورده پروبیوتیکی از *B.longum* منجر به افزایش شمارشی بیفیدوباکتريا و کاهش شمارش کلستریدیوم، کاهش PH مدفوع و کاهش غلظت آمونیاک مدفوع گردید (۳۸). در یک مطالعه دیگر بر روی ۶۴ زن، تجویز *Lactobacillus GG* منجر به باز یافت LGG در مدفوع و

## مکانیسم اثر

مکانیسم های پیشنهادی زیادی برای توجیه توانایی پروبیوتیک ها در محافظت میزبان در برابر اختلالات گوارشی وجود دارد. مجموع کلیه فرآیندهایی که باکتریها از طریق آن کونولیزه شدن (استقرار) سایر گونه های باکتریایی را در بدن مهار می کنند مقاومت در برابر کولونیزه شدن نامیده می شود. گونه های مختلف بیفیدوباکتريا بعنوان عوامل مقاومت در برابر کولونیزه شدن باکتریهای پاتوژن در روده بزرگ شناخته شده اند (۴۴).

یک باکتری پروبیوتیکی ممکن است پاتوژن های مختلف را با مکانیسم های متفاوتی مهار کند. تعریفی از مکانیسمهای اثر پروبیوتیک ها برای حفاظت میزبان در برابر بیماریهای گوارشی در زیر آمده است: (۴۵)

## ۱- تولید ترکیبات مهار کننده:

پروبیوتیک ها مواد مختلفی را تولید می کنند که هم بر روی باکتریهای گرو مثبت و هم بر روی گرم منفی ها اثر مهار کننده دارند. این ترکیبات مهار کننده شامل: اسیدهای آلی نظیر استات، پروپیونات و بوتیرات،  $H_2O_2$  و ترکیبات باکتریوسن است. این مواد نه تنها تعداد سلولهای زنده پاتوژن ها را کم می کنند، بلکه ممکن است متابولیسم باکتریها یا تولید سموم توسط آنها را نیز تحت تاثیر قرار دهند (۴۵). تولید باکتریوسن ها یا ترکیبات پروتئینی توسط باکتریهای تولید کننده اسید لاکتیک، با فعالیت مهار کننده ویژه بر علیه گونه های باکتریایی بیش از همه مورد بررسی قرار گرفته است (۴۶-۴۸).

## ۲- رقابت برای جایگاه های اتصال

مهار رقابتی جایگاه های اتصال باکتریایی بر روی سطوح اپی تلیال روده، یک مکانیسم دیگر اثربخشی پروبیوتیکها است (۴۹-۵۴). امروزه این مسئله پذیرفته شده است که بسیاری از پاتوژن های روده ای برای استقرار در روده و ایجاد بیماری باید بتوانند به دیواره روده متصل شوند. با توجه به این مسئله، تعدادی از گونه های پروبیوتیکی بدلیل توانایی اتصالشان به سلولهای اپی تلیال انتخاب شده اند (۵۵). در یک مطالعه پیشنهاد شده است که پروبیوتیکها احتمالاً با افزایش موسین های روده ای از

اتصال E.coli دارای پتانسیل بیماریزایی به جدار روده جلوگیری می کنند (۴۳).

## ۳- رقابت برای مواد غذایی

رقابت برای مواد غذایی بعنوان یکی از مکانیسم های اثر پروبیوتیک ها پیشنهاد شده است. پروبیوتیک ها احتمالاً از مواد غذایی که مورد مصرف باکتریهای بیماریزا قرار می گیرد، استفاده می کنند. مطالعات آزمایشگاهی نشان می دهد که میکروارگانیسمهای روده ای، در مقایسه با Clostridium difficile برای جذب گلوکز مونومریک، N-acetyl-glucosamine و Sialic acid موجود در کولون، کارآمدتر هستند (۵۶).

## ۴- از بین بردن گیرنده های سموم

مکانیسم فرضی که S. bouardii جانوران را بر علیه بیماری روده ای ناشی از C.difficile محافظت می کند، از بین بردن گیرنده های سموم در مخاط روده است. (۵۷-۵۹).

## ۵- تقویت سیستم ایمنی

پروبیوتیک ها در سطوح متعددی بر روی سیستم ایمنی تاثیر می گذارند که از جمله می توان افزایش سطح سیتوکاین ها و ایمونوگلوبولین ها، افزایش تکثیر سلولهای مونونوکلئاز، فعال کردن ماکروفاژها، افزایش فعالیت سلولهای Natural killer، تعدیل خود ایمنی و تحریک ایمنی در برابر باکتریهای بیماریزا و پروتوزواها را نام برد (۶۰-۶۴). نشان داده شده است که تمامی سلولهای باکتریایی، تکثیر سلولهای ایمنی را افزایش می دهند (۶۵) و تولیدسیتوکاینهای پیش التهابی مانند  $TNF-\alpha$  و اینترلوکین ۶ را القا می کنند (۶۶). برعکس، پروبیوتیکها سرکوب تکثیر لنفوسیت ها و تولید سیتوکاین ها توسط سلولهای T را تحت تاثیر قرار می دهند. مهمتر از همه اینکه پروبیوتیک ها این اثرات مثبت را بر روی سیستم ایمنی بدون ایجاد یک پاسخ التهابی مضر اعمال می کنند (۶۷،۶۸). پاسخ ایمنی، ممکن است زمانی که چند پروبیوتیک با هم مصرف شوند و بصورت سینرژیک عمل کنند، افزایش یابد. همچنان که عموماً این اثر زمانی که تلفیقی از لاکتوباسیلوس ها و بیفیدوباکتريا مصرف شود، دیده می شود (۶۰).

داده ولی تعداد لنفوسیت‌های B و T را تغییر ندادند. با این وجود، تعداد سلولهای B در خون محیطی این افراد بیش از گروه شاهد افزایش پیدا کرد (۶۰).

پروبیوتیک‌ها، فاگوسیتوز را در افراد سالم و افراد آلرژیک به طریقه متفاوتی متعادل می‌کنند. در افراد سالم، یک اثر تحریک‌کننده سیستم ایمنی دیده شد در حالیکه در افراد آلرژیک، کاهش پاسخ‌های التهابی مشاهده گردید (۷۴). در بررسی دیگر، *L. acidophilus*، *B. bifidum* هر دو با دوز  $8 \times 10^6$  CFU/day برای مدت ۲۸ روز به ۱۵ داوطلب مسن تجویز شدند. تغییر ناچیزی در اندکسهای ایمنی این افراد ایجاد گردید. در گروه کنترل شامل ۱۰ بیمار، تغییری در سیستم ایمنی مشاهده نشد. کولونوسکوپی برای تمام بیماران انجام گردید. مصرف پروبیوتیکها، علایم التهاب را در سیگموئید و کولون نزولی کاهش داد در حالیکه تغییری در گروه شاهد دیده نشد (۶۰).

در مطالعه دیگری اثرات مصرف ماست حاوی *L. acidophilus la1* و *B. bifidum* بر روی پاسخ ایمنی *Salmonella typhimurium* که با ۱۵ داوطلب سالم که بصورت خوراکی واکسینه شده بودند، بررسی شد. از ۱۵ داوطلب دیگر خواسته شد که غذاهای تخمیر شده مصرف نکنند. واکسیناسیون، غلظت تام IgA را در سرم افراد دریافت‌کننده پروبیوتیک ۴/۱ برابر و در گروه کنترل ۲/۵ برابر افزایش داد ( $p=0/04$ ). با این وجود در بزاق افراد گروه کنترل IgA بیشتری بر علیه سالمونلا نسبت به بزاق گروه مورد دیده شد (۷۵). لازم به ذکر است در این مطالعه چون ماست فاقد پروبیوتیک بعنوان پلاسبو به گروه کنترل داده نشد، نمیتوان با قطعیت اظهار نظر کرد که آیا اثر مشاهده شده در گروه مورد بوسیله پروبیوتیک ایجاد شده یا ناشی از مصرف ماست بوده است. در دو مطالعه دیگر نشان داده شد تعداد گلبولهای سفید دارای فعالیت فاگوسیتی در خون داوطلبان سالم بدنبال مصرف پروبیوتیک دو برابر شده است. در یک بررسی دیگر *B. bifidum* ( $Bd_{12}$ ) به میزان  $10^{11}$  CFU/day و *L. acidophilus la1* ( $7 \times 10^{11}$  CFU/day) هر کدام به ۱۴ داوطلب برای مدت ۳ هفته داده شده و فعالیت فاگوسیتی قبل و بعد از درمان اندازه گیری شد. این

در یک مطالعه بر روی ۹۶ داوطلب سالم، این افراد *S. bouardii* را با دوز یک گرم در روز بصورت خوراکی برای مدت ۷ روز دریافت کردند. در روز هشتم، الگوی تغییر معنی داری در ایمنی سلولی و هومورال مشاهده گردید. محققین نتیجه گرفتند *S. bouardii* هر دو سیستم کمپلمان و رتیکولاندوتلیال را فعال می‌کند. تحریک سیستم ایمنی توسط *L. casei* (۶۹)، *E. coli* (۷۱) و *L. casei GG* (۷۰) نیز گزارش شده است. اثر *L. casei Shirota* بر روی جنبه‌های مختلف سیستم ایمنی در مطالعه دیگری بر روی ۲۰ مرد سالم بررسی شد. این افراد یک رژیم غذایی کنترل شده را برای مدت ۸ هفته دریافت کردند. در هفته‌های ۳-۶، به ۱۰ نفر روزانه مقدار ۱۰۰ میلی لیتر شیر تخمیر شده حاوی  $10^{12}$  واحد ایجادکننده کولونی (CFU) از این باکتری در لیتر و به ۱۰ نفر شیر تخمیر نشده داده شد. هیچ تغییری در فعالیت سلولهای *Natural killer* فاگوسیتوز یا تولید سیتوکاین‌ها مشاهده نگردید (۷۲). در بررسی دیگری، تاثیر مصرف خوراکی *E. coli Nissle 1917* بر روی سیستم ایمنی سلولار و هومورال در نوزادان نارس بررسی گردید. ۳۴ نوزاد نارس در این مطالعه که بطور تصادفی دارای گروه کنترل بودند، با این پروبیوتیک کولونیزه شدند. نمونه‌های مدفوع نوزادان مرتبا برای تعیین وجود اینگونه از *E. coli* بررسی گردید. پاسخ پرولیفراتیو به آنتی ژن‌های باکتریال *E. coli* در خون ۳۴ نوزاد کولونیزه شده با پروبیوتیک و ۲۷ نوزاد غیر کولونیزه شده بعنوان گروه کنترل اندازه گیری شد. مشاهده شد که میزان آنتی بادی‌های ضد *E. coli Nissle 1917* از نوع *IgM*، *IgA* و *IgG* در خون نوزادان گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی داری بالاتر بود. این مسئله نشان دهنده آنست که تجویز خوراکی *E. coli Nissle 1917* پس از تولد، بطور معنی داری پاسخهای ویژه هومورال و سلولار را تحریک کرده و بطور همزمان ایمنی طبیعی غیر ویژه را هم القا می‌نماید (۷۳). در یک بررسی انجام شده بر روی افراد مسن، مصرف *L. B. bifidum acidophilus* باعث تغییرات قابل ملاحظه‌ای در پاسخهای التهابی و ایمونولوژیک گردید. این پروبیوتیکها نفوذپذیری التهابی روده را کاهش

## اثرات درمانی

مطالعات بالینی مختلف انجام شده بر روی انسان نشان داده اند که مصرف باکتریهای تولیدکننده اسید لاکتیک به میزان  $10^{11}$  -  $10^9$  عدد در روز، می تواند میزان بروز، طول مدت و نیز شدت تعدادی از بیماریهای دستگاه گوارش را کاهش دهد. مشاهده شده است که پروبیوتیکها یکنواختی روده را حفظ کرده و عوارض تعدادی از بیماریهای گوارشی مانند اسهال وابسته به آنتی بیوتیکها، بیماریهای التهابی روده، اسهال کودکان، اسهال مسافرتی، عدم تحمل لاکتوز، عفونت ناشی از هلیکوباکتر پیلوری، سندروم روده تحریک پذیر و بیماری روده ای ناشی از کلستریدیوم دیفیسیل را تعدیل می کنند (۱۰۱-۸۴). علاوه بر آن، بررسی های آزمایشگاهی و بالینی مختلف نشان داده اند که پروبیوتیکها در پیشگیری یا درمان عفونتهای اداری- تناسلی، چربی خون بالا، آلرژی و سرطان اثر بخشی امیدوارکننده ای داشته اند (۱۱۲-۱۰۲). البته برای اثبات این آثار نیاز به انجام مطالعات علمی مشابه و بسیار دقیق شامل کارآزمایی های بالینی دوسوکور و دارای گروه کنترل، مطالعات فارماکوکینتیک و کارآزمایی های چند مرکزی است.

## بحث و نتیجه گیری

درمان با پروبیوتیک ها بر پایه فرضیه فلور میکروبی سالم قرار دارد. استفاد از گونه های خاص فلور میکروبی روده انسان سالم به منظور تعدیل فلور میکروبی به هم ریخته آندوژن، منطق درمان پروبیوتیکی را تشکیل می دهد. مطالعات مختلف نشان داده اند که گونه های پروبیوتیکی مختلف با هم متفاوت هستند و اثر بخشی آنها نیز تحت تاثیر ماتریکسی است که برای رساندن آنها به روده استفاده شده است. یک پروبیوتیک ایده آل پروبیوتیکی است که بتواند در حین عبور از دستگاه گوارش زنده مانده بصورت دائمی در روده جایگزین شده و اثرات مفیدی را بر سلامت میزبان از طریق تقویت پاسخ های ایمنی، ترشح، تولید و سنتز ترکیباتی مانند اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه، اسید لاکتیک و باکتریوسین ها یا با مکانیسم های اثر مناسب دیگر اعمال نماید. داده های

مطالعه فاقد گروه کنترل بود. قبل از شروع دوره مطالعه یک دوره run-in در نظر گرفته شد که طی آن، داوطلبان ۳۶۰ میلی لیتر شیر غیر تخمیری را دریافت کردند. پروبیوتیک ها نیز بصورت شیر تخمیر شده داده شدند. در این مورد هم افزایش فاگوسیتوز ممکن است بدلیل مصرف پروبیوتیک و یا مصرف شیر تخمیر شده باشد (۷۷، ۷۶). در بررسی بر روی ۱۰ داوطلب سالم، مشاهده شد که مصرف *L.rhamnosus spp. GG* برای مدت ۵ هفته منجر به تعدیل سیستم ایمنی بوسیله این پروبیوتیک از طریق اثر مستقیم روی سیستم ایمنی سلولی می شود (۷۸). در مطالعه دیگری مشاهده شد که تجویز *E.coli* غیر بیماریزا در نوزادان و کولونیزه شدن مخاطی آن باعث تحریک سیستم ایمنی مخاطی شده و موجب ترشح آنتی بادیهای ویژه و نیز ایمونوگلوبولینهای غیر ویژه می گردد (۷۹).

این واقعیت که مصرف خوراکی پروبیوتیک ها، اثرات پیشگیری کننده و درمانی بر روی ویروسهای روده ای نشان می دهد، عمدتاً به دلیل تحریک بافت لنفوئید روده ای است که منجر به افزایش پاسخ ایمنی هومورال می شود. مشاهده افزایش ایمنی زایی واکسن روتاویروس در صورتی که همراه با لاکتوباسیلوس تجویز شود و مشاهدات بالینی کاهش shedding روتا ویروس در جمعیت های دریافت کننده پروبیوتیک ها، هم از نظر درمان و هم پیشگیری، نشاندهنده افزایش این پاسخ ایمنی است (۲۶). لاکتوباسیلوس های موجود در ماست بصورت *in vitro* به لنفوسیت های CD4 T و CD8 محیطی خون و نه به لنفوسیت های B متصل می شوند. لاکتوباسیلوس هایی که توانایی اتصال به سلولهای اپی تلیال روده را دارند، توانایی فعالسازی ماکروفاژها را نیز دارا هستند (۸۱، ۸۰). بصورت آزمایشگاهی مشاهده شده است که بیفیدوباکتری با میزان زیادی تشکیل IgA را تحریک می کند (۸۲). تجویز خوراکی LGG در اسهال حاد ناشی از روتا ویروس، درارتباط با یک پاسخ ایمنی تقویت شده به این ویروس است (۸۳). این مسئله می تواند بیان کننده دوره کوتاه شده اسهال در بیماران دریافت کننده پروبیوتیک باشد.

در برابر پروبیوتیک ها را کاهش می دهند، اشاره نمود. مکانیسم اثر پروبیوتیک های مختلف باید با وضوح بیشتری شرح داده شوند تا بتوان بر اساس آن، بهترین جنس و گونه پروبیوتیکی را برای استفاده علیه یک پاتوژن خاص انتخاب نمود. همچنین باید به سوالات موجود در مورد دوز مصرفی و نیز طول دوره درمان و انتخاب مناسب ترین پروبیوتیک ها پاسخ داده شود.

بدست آمده از مطالعات مختلف، شواهد روشنی را دال بر اثر بخشی تعدادی از پروبیوتیک ها در بیماریهای انسان فراهم می کنند اما هنوز نیاز به تایید و تحکیم سود بخشی بالینی آنهاست. از جمله فواید بالقوه استفاده از پروبیوتیک ها در درمان بیماریهای مختلف می توان به هزینه نسبتا کم، این واقعیت که پروبیوتیک ها میزان بروز مقاومت آنتی بیوتیکی را افزایش نمی دهند، ایمنی آنها و مکانیسم های متعددی که پروبیوتیک ها از طریق آن پاتوژن ها را مهار کرده و در نتیجه شانس توسعه مقاومت

## REFERENCES

1. Stanton C, Gardiner G, Meehan H, et al. Market potential for probiotics. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(2): 476S-83S.
2. Campieri, Goonchetti. Bacteria as the cause of uncreative colitis. *Gut* 2001; 48(1): 132-35.
3. Salminen S, Bouley C, Bourtron-Ruault MC, et al. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr* 1998; 80 (suppl): 147-71.
4. Saaveda JM. Clinical applications of probiotic agents. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(6): 1147S-51S.
5. Bottazzi V. Food and feed production with microorganisms. *Biotechnology* 1983; 5: 315-63.
6. Carre C. Ueber Antagonisten unterden Bacterien. (Antagonists among bacteria) *Correspondenz- Blatt fuer Schweizer-Aerzte* 1887; 17: 385-92. (in German).
7. Tissier H. Taxonomy and ecology of Bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora* 1984; 3: 11-28.
8. Metchinkoff E. The prolongation of life; Optimistic studies. London: Butterworht Heinemann, 1907.
9. Kopp-Hoolihan L. Prophylactic and therapeutic role of probiotics : A review. *J Am Diet Assoc* 2001; 101(2): 229-41.
10. Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics; Growth promoting factors produced by microorganisms. *Science* 1965; 147: 747-8.
11. Parker RB. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim Nutr Health* 1974; 29: 4-8.
12. Scherezzenmeir J, De Verse M. Probiotics, and synbiotics-approaching a definition. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(2): 361S-64S.
13. Guarner F, Schaafsma GJ. Probiotics. *Int J Food Microbiol* 1998; 39: 237-8.
14. Brassart D, Schiffrin E, Rochat F, et al. The future of functional foods : scientific basis and future requirements. *Lebensmittel Technol* 1998; 7-8 : 258-66.
15. Marteau P, Rambaud J-C, Potential of using lactic acid bacterial for therapy and immunomodulation in man. *FEMS Microbiol Rev* 1993; 207-20.
16. Huis in't Veld J, Shortt C. Selection criteria for probiotic microorganism. In : Leeds AR, Rowland IR eds. *Gut flora and health : past , present and future*. London: The Royal Society of Medicine Press Ltd. 1996; p: 19-26.
17. Salminen S, Isolauri E, Salminen E. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1996; 70: 251-62.
18. Collins JK, Thornton G, Sullivan GD. Selection of probiotic strains for human applications. *Int Dairy J* 1998; 8: 487-90.
19. Rolfe R.D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J Nutr* 2000; 130: 396S-402S.
20. Berg RD. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol* 1996; 4: 430-51

21. Benno Y, Mitsuoka T. Development of intestinal microflora in humans and animals. *Bifidobacteria Microfi* 1986; 5: 13-25.
22. Gronlund MM, Arvilommi H, Kero P, et al. Importance of intestinal colonization in the maturation of humoral immunity in early infancy : a prospective follow up study of healthy infants aged 0-6 month . *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2000; 83: F186-92.
23. Isolauri E, Kirjavainen PV, Salminen S. probiotics : A role in treatment of intestinal infection and inflammation? *Gut* 2002; 50: iii54-iii59.
24. Freter R. Factors affecting the microecology of the gut. In: Fuller R, ed. *Probiotics, the scientific basis*. London: Chapman & Hall 1992; P: 111-44.
25. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003; 361 (9356) : 512-9.
26. Isolauri E. Probiotics in human disease. *Am J Clin Nutr* 2001 ; 73(6): 1142S-46S.
27. Malin M, Verronen P, Mykkänen H, et al. Increased bacterial urease activity in faeces in juvenile chronic arthritis : evidence of altered intestinal microflora? *Br J Rheumatol* 1996; 35: 689-94.
28. Apostolou E, Pelto L, Kirjavainen PV, et al. Differences in the gut bacterial flora of healthy and mil-hypersensitive adults, as measured by fluorescence in situ hybridisatin. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001; 30:217-21.
29. Björkstén B, Naaber P, Sepp E, et al. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-years-old children. *Clin Exp Allergy* 1999; 29 : 342-6.
30. Emer GW, Surawicz CM, McFarland LV. Biotherapeutic agents : A neglected modality for the treatment and prevention of selected intestinal and vaginal infections. *JAMA* 1996; 275(11): 870-76.
31. McCarney AL, Wenzhi W, Tannock GW. Molecular analysis of the composition of the bifidobacterial and lactobacillus microflora of humans. *Appl Environ Microbiol* 1996; 62: 4608-13.
32. Tannock GW. Probiotic properties of lactic-acid bacteria : plenty of scope for fundamental R & D. *Trends Biotechnol* 1997; 15: 270-4.
33. Bartram HP, Scheppach W, Gerlach S, et al. Dows yogurt enriched with *Bifidobacterium longum* affect colonic microbiology and fecal metabolites in healthy subjects? *Am J Clin Nutr* 1994; 59 : 428-32.
34. Bezorovainy A. probiotics : determinants of survival and growth in the gut. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(2): 399S-405S.
35. Beerens H, Romond C, Neut C. Influence of breast-feeding on the bifid flora of the newborn intestine. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 2434-9.
36. Pahwa A, Mathur BN. Assessment of bifidus containing infant formula. Part II. Implantation ob *Bifidobacterium bifidum*. *Indian J Dairy Sci* 1987; 40: 364-7.
37. Langhendries JP, Detry J, Van Hees J, et al. Effect of a fermented infant formula containing viable bifidobacteria on the fecal flora composition an PH of healthy full-term infants . *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 21: 177-81.
38. Benno Y, Mitsuoka T. Impact of *Bifidobacterium longum* on human fecal microflora. *Microbiol Immunol* 1992; 36: 683-94.
39. Ling WH, Korpela R, Mykkanen H, et al. *Lactobacillus* strain GG supplementation decreases colonic hydrolytic and reductive enzyme activities in healthy female adults. *J Nutr* 1994; 124: 18-23.
40. Anonymous *Lactobacillus* feeding alters human colonic bacterial enzyme activities. *Nutr Rev* 1984; 42: 374-6.
41. Johanson ML, Molin G, Jeppsson ML, et al. Administration of different *Lactobacillus* strains in fermented oatmeal soup: in vivo colonization of human intestinal mucosa and effect on the indigenous flora. *Appl Environ Microbiol* 1993; 59: 15-20.
42. Jahansson ML, Nobaek S, Berggren A, et al. Survival of *Lactobacillus plantarum* DSM 9843 (299v) and effect on the short – chain fatty acid content in faeces after ingestion of a rose-hij drink with fermented oats. *Int J Food Microbiol* 1998; 42: 29-38.
43. Mack DR, Michail S, Wei S, et al. probiotics inhibit enteropathogenic *E.coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. *Am J Physiol* 1999; 276 : G 941-50.
44. Yamazaki S, Kamimura H Momose H, et al. Protective effect on bifidobacterium monoassociation against lethal activity of *E coli*. *Bifidobacterial Microflora* 1982; 1: 55-60.

45. Rial DR. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J Nutr* 2000; 130(2): 396 S-402S.
46. Ouwehand AC. Antimicrobial components from lactic acid bacterial In: Salminen S, won Wright A, eds. *Lactic acid bacteria : microbiology and functional aspects*. 2<sup>nd</sup> en New York, Marcel Dekker Inc, 1998; p: 139-60.
47. Abee T, Kaenhammer Tr, Letellier L. Kinetic studies of the action lactacin F, a bacteriocin produced by *Lactobacillus johnsonii* that forms poration complexes in the cytoplasmic membrane. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60: 1006-13.
48. McAuliffe O, Ryan MP, Ross RP, Hill C, Breeuwer P, Abee T. Lactacin 3147, a broad spectrum bacterium which selectively dissipates the membrane potential. *Appl Environ Mirobiol* 1998; 64: 439-45.
49. Perdigon G, Alvarez S, Richard M, Agüero G, Gpbato N. Immune stimulation by probiotics. *J Dairy Sci* 1995; 78: 1597-606.
50. Duffy LC, Zielezny MA, Riepenhoff-Talty M, et al. Reduction of virus shedding by *B.bifidum* in experimentally induced MRV infection. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 2334-40.
51. Dyffy LC, Zielezny MA, Roepenhoff-Talty M, et al. Effectiveness of *Bifidobactruim bidifum* in mediating the clinical course of murine rotavirus diarrhea. *Pediatr Res* 1994; 35: 690-6.
52. Conway P. L, Gorbach S.L, Goldin B.R. Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *J Dairy Sci* 1987; 70: 1-12.
53. Goldin B.R, Gorbach S.K, Saxelin M, et al. Survival of *lactobacillus* species (strain GG) in human gastrointestinal tract. *Dig Dis Sci* 1992; 37 121-128.
54. Kleeman E. G., Klaenhammer T.R. Adherence of *Lactobacillus* species to human fetal intestinal cells. *J Dairy Sci* 1982; 65: 2063-69.
55. Fuller R. Probiotics in human medicine. *Gut* 1991; 32 : 439-42.
56. Wilson K.H, Prini F. Role of competition for nutrients in suppression of *Clostridium difficile* by the colonic microflora. *Infect Immun* 1998; 56: 2610-14.
57. Castagliuolo L, LaMont JT, Nikulasson ST, Pothoulakis C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A effects in the rat ileum. *Infect Immun* 1996; 64: 5225-32.
58. Castagliuolo I., Riegler M. F., Valenick L., LaMont J.T., Pothoulakis C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. *Infect Immun* 1999; 67: 302-307.
59. Pothoulakis C, Kelly CP, Joshi MA, et al. *Saccharomyces boulardii* inhibits *Clostridium difficile* toxin A binding and enterotoxicity in rat ileum. *Gastroenterology* 1993; 104: 1108-15.
60. De Simone C, Ciardi A, Grassi A, et al. Effect *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus* on gut mucosa peripheral blood B lymphocytes. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1992; 14: 331-40.
61. Famularo G, Moretti S, Marcellini S, et al. Stimulation of immunity by probiotics. In: Fuller R, ed. *Probiotics : Therapeutic an other beneficial effects*. London: Chapman & Hall 1997; p: 133-61.
62. Schiffrin EJ, Brassart D, Servin AL, et al. Immune modulating of blood leukocytes in humans by lactic acid bacteria : Criteria for strain selection . *Am J Clin Nutr* 1997; 66 (suppl): 15-20S.
63. Matsumara K, Kitazawa H, Itoh T, et al. Interferon induction by murine peritoneal macrophage stimulated with *Lactobacillus gasserii*. *Animal Sci Technol* 1992; 63: 1157-59.
64. Solis Pereyra B, Lemmonier D. Induction of human cytokines to bacterial used in dairy foods. *Nutr Res* 1993; 13: 1127-40.
65. De Simone C, Vesely R, Bianchi Salvadori B, Jirillo E. The role of probiotics in modulation of the immune system in man and in animals. *Int J Immunother* 1993; 9: 23-8.
66. Miettinen M, Vupio-Varkila J, Varkila K. Production of human tumor necrosis facto alpha, interleukin-6 , and interleukin-10 is induced by lactic acid bacteria. *Infect Immun* 1996; 64: 5403-5.
67. Sütas H, Soppi E, Korhonen H. et al. Suppression of lymphocyte proliferation in vitro by bovine caseins hydrolyzed with *Lactobacillus casei* GG-derived enzymes. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 216-24.
68. Sütas Y, Hurme M, Isolauri E. Down regulation of antiCD3 antibody-induced IL-4 production by bovine hydrolyzed with *lactobacillus casei* GG-derived enzymes. *Scand J Immunol* 1996; 43: 687-9.

69. Perdigon G, De Macias MEN, Alarez S, Oliver G, DeRuiz Holgada AAP. Effect of periorally administered lactobacilli on macrophage activation in mice . *Infect Immun* 1986; 3: 404-410.
70. Kail M, Isolauri E, Soppi E, et al. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human lactobacillus strain . *Pediatr Res* 1992; 32; 141-144.
71. Baitz R, Schroder R, Linde K. The influence of oral application of viable or inactivated *Escherichia coli* on the intestinal ecology of conventional mice. *Microecology Ther* 1987; 17: 191-96.
72. Blatz S, Havenarr R, Schaafsma G. The effect of consumption of milk fermented by *Lactobacillus casei* strain Shirota on the intestinal microflora and immune parameters in humans. *Eur J Clin Nutr* 1998; 52: 1-9.
73. Cukrowska B, Londlnova –Zadnlkova R, Enders C, et al. Specific proliferate and antibody responses of premature infants to intestinal colonization with nonpathogenic probiotic *E. Coli* strain Nissle 1917. *Scand J Immunol* 2002; 55(2): 204-9.
74. Pelto L, Isolauri E, Lilius EM, et al . Probiotic bacteria down-regulate the milk-induced effect in healthy subjects. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 1474-9.
75. Link-Aster H, Rochat F, Saudan KY, et al. Modulation of a specific humoral immune response an changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1994; 10; 55-64.
76. Schiffrin EJ, Rochat F, Link-Amster H, et al. Immunomodulation of human blood cells following the ingesting of lactic acid bacterial. *J Dairy Sci* 1995; 78: 491-7.
77. Schiffrin EJ, Brassart D, Servin AL, et al. Immune modulation of blood leukocytes in humans by lactic acid bacteria: criteria for strain selection. *Am J Clin Nutr* 1997; 66 (suppl): 515S-20S.
78. Schultz M, Linde HJ, Zimmermann K, et al. Immunomodulatory consequences of oral administration of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in healthy volunteers. *J Dairy Res* 2003; 70(2): 165-73.
79. Vancikova Z, Lodiniva-Zahnikova R, Radl J, et al . The early postnatal development of salivary antibody and immunoglobulin response in children orally colonized with a nonpathogenic, probiotic strain of *E. coli* Folia *Mirbiol* 2003; 48 (2) 281-7.
80. Kaila M, Isolauri E, Soppi E, Virtanen E, et al. Enhancement of he circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human lactobacillus strain. *Pediatr Res* 1992; 32: 141-4.
81. Pearce JL, Hamilton JR. Controlled trial of orally administered lactobacilli in acute infantile diarrhea. *J Pediatr* 1974; 84: 261-2.
82. Obhelmean RA, Gilman RH, Sheen P, et al. A placebo-controlled trial of *Lactobacillus GG* to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. *J Pediatr* 1999; 134: 15-20.
83. Kaila M , Isolauri E, Soppi E, et al. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human dharrhea by a human lactobacillus strain. *Pediatr Res* 1992; 32: 141-4.
84. Orrhage K, Brismar B, Nord CE. Effect of supplements with *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus* on the intestinal microflora during administration of clindamycin. *Microb Ecol Health Dis* 1994; 7: 17-25.
85. Isolauri E, Juntunen M, Rautanen T, et al. A human lactobacillus strain (*Lactobacillus casei* sp. Strain GG) promotes from acute diarrhea in children. *Pediatrics* 1991; 88: 90-7.
86. Kruis W, Schutz E, Fric P, et al. Double blind comparison of an oral *Escherichia coli* preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11: 853-8.
87. Kosanen PJ, Salminen S, Saxelin M. et al. prevention of travelers' diarrhea by lactobacillus GG. *Ann Med* 1990; 22: 53-6.
88. Niedzielin K, Korecki H, Birkenfeld B. A controlled, double-blind, randomized study on the efficacy of *Lactobacillus plantarum* 299V in patients with irritable bowel syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13(10): 1143-7.
89. Siitonen S, Vapaatalo H, Salmienn S, et al. Effect o *Lactobacillus GG* yoghurt in prevention of antibiotic associated diarrhea. *Ann Med* 1990; 22 : 57-9.
90. Gorbach SL. Probiotics and gastrointestinal health . *Am J Gastroenterol* 2000; 95(1S): 2S-4S.
91. Schultz M, Sartor RB. Probiotics and inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95(1S):4S-7S.

92. Nobaek S, Johansson ML, Molin G, et al . Alteration of intestinal microflora is associated with reduction in abdominal bloating and pain in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2000; 95(5): 1231-8.
93. Hibi T, Inoue N, Naganuma M. Introduction and overview : recent advances in the immunotherapy of inflammatory bowel diseases. *J Gastroenterol* 2003; 38 (suppl.15): 36-42.
94. Saavedra JM. Carbohydrate malabsorption. In: Brandt, LJ, ed. *Clinical practice of gastroenterology* . Philadelphia: Current Medicine Publishers, 1999; p: 1312-8.
95. Kolars JC, Levitt MD, Aouji M, et al Yogurt- an autodigesting source of lactose. *N Engl J Med* 1984; 310: 1-3.
96. Montes RG, Saavedra JM, Bayless TM, et al. Effect of milks inoculated with lactobacillus acidophilus or a yogurt starter culture in lactose-maldigesting children. *J Dairy Sci* 1995; 78: 1657-64.
97. Shermak MA, Saavedra JM, Jackson TL, et al. Effect of yogurt on symptoms and hydrogen production in lactose- malabsorbing children. *Am J Clin Nutr* 1995; 62 :1003-6.
98. Surawicz CM, McFarland LV, Elmer GW, et al | Treatment of recurrent Clostridium difficile colitis with vancomycin and Saacharomyces boulardii. *Am J Gastroenterol* 1989; 84: 1285-7.
99. McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, et al. A randomized placebo controlled trial of Saccharomyces boulardii in combination with standard antibiotics for Clostridium difficile disease. *J Am Med Assoc* 1994; 271 1913-8.
100. Sakamoto I, Igarashi M, et al. Suppressive effect of Lactobacillus gasseri OLL 2716 GLG21 on Helicobacter pylori infection in humans. *J Antimicrobial Chemotherapy* 2001; 47(5): 709.
101. Armuzzi A, Cremonini F, et al. Effect of Lactobacillus GG supplementation on antibiotic-associated gastrointestinal side effects during Helicobacter pylori eradication therapy : A pilot study. *Digestion* 2001; 63(1): 1.
102. Reid G. Probiotics for urogenital health . *Nutr Clin Care* 2002; 5(1): 3-8.
103. Kontiokari T, Laitinen J, jarvi L, et al. Dietary factors protecting women form urinary tract infection. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(3): 600-4.
104. Halleh A, Jarstand C, Pahlson C. Treatment of bacterial vaginosis with lactobacilli. *Sex Trans Dis* 1992; 19(3): 146-8.
105. Agerbaeck M, Gerdes LU, Richelsen B. Hypocholesterolemic effect of a new fermented milk product in healthy middle -aged men. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49: 346-52.
106. Klaver FAM, Van der Meer R. The assumed assimilating of cholesterol by lactobacilli and Bifidobacterium bifidum is due to their bile salt-deconjugating activity. *Appl Environ Microbiol* 1993; 59: 1120-4.
107. Mohan JC, Arora R, Khalilullah M. Short-term hypolipidemic effects of oral Lactobacillus sporogenes therapy in patients with primary dyslipidemias. *Indian Heart J* 1990; 42: 361-4.
108. Roenfeldt V, Benfeldt E, Nielsen SD, et al. Effect of probiotic lactobacillus strains in children with atopic dermatitis . *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111(2): 389-95.
109. Kankaanpaa PE, Yang B, Kallio HP, et al. Influence of probiotic supplemented infant formula on composition of plasma lipids in atopic infants. *J Nutr Biochem* 2002; 13(6): 364-9.
110. Kirjavainen PV, Salminen SJ, Isolauri E. Probiotic bacteria in the management of atopic disease : underscoring the importance of viability. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36(2): 223-7.
111. Peters RK, Pike MC, Garabrant D, et al. Diet and colon cancer in Los Angeles County, California. *Cancer Causes Control* 1992; 3: 453-73.
112. Huang MT, Wood AW, Newmark JL, et al. H. Inhibition of the mutagenicity of bay-region diol-epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons by polyphenolic plant flavonoids. *Carcinogenesis* 1998; 4: 1631-7.