



โพรไบโอติกและการติดเชื้อในทางเดินอาหาร

PROBIOTICS AND GASTROINTESTINAL INFECTIONS

มาลัย ทวีศักดิ์ภักดิ์

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

บทคัดย่อ

โรคติดเชื้อในทางเดินอาหารเป็นปัญหาสาธารณสุขทั่วโลก โดยเฉพาะในประเทศที่กำลังพัฒนา ได้มีการศึกษาโพรไบโอติกเพื่อใช้ในการป้องกันและรักษาการติดเชื้อในทางเดินอาหาร ซึ่งโพรไบโอติกคือ จุลินทรีย์มีชีวิตที่ให้ประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคเมื่อได้รับเข้าไปในปริมาณที่เพียงพอ ปัจจุบันมีรายงานการศึกษาพบว่า โพรไบโอติกสามารถป้องกันและลดอาการของโรคติดเชื้อ หรือโรคที่ก่อให้เกิดความผิดปกติอื่นๆ ในทางเดินอาหารได้ในบทความนี้จะกล่าวถึงโพรไบโอติกในด้านประวัติความเป็นมา คำจำกัดความ คุณสมบัติ กลไกการทำงาน สายพันธุ์ และบทบาทของโพรไบโอติกในการต่อต้านการติดเชื้อต่างๆ ในทางเดินอาหาร นอกจากนี้จะกล่าวถึงพรีไบโอติกที่ส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก ซึ่งช่วยให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร

คำสำคัญ: โพรไบโอติก, การติดเชื้อในทางเดินอาหาร, แบคทีเรียกรดแลคติก, พรีไบโอติก

Abstract

It is well-awared worldwide that gastrointestinal tract diseases obviously are the major problems in public health, particularly in developing countries. Probiotics have been thoroughly studied for its potentialities in treatment and prevention of gastrointestinal tract infections. Probiotics are viable microorganisms, which insert its beneficial effects on the health of their hosts upon administering in adequate amounts. In recent years, there are a number of studies demonstrating the capability of probiotics to prevent and decrease the risks of gastrointestinal tract infections and gastrointestinal tract disorders. This article reviews entirely about probiotics including its background, definition, properties, mechanisms, strains and its potential roles in gastrointestinal tract infection. In addition, intestinal microbial balance and ingestion of prebiotics to promote probiotics growth will also be provided.

Keywords: Probiotics, Gastrointestinal infection, Lactic acid bacteria, Prebiotics

บทนำ

โรคติดเชื้อในทางเดินอาหารเป็นสาเหตุของการเจ็บป่วย (morbidity) และการเสียชีวิต (mortality) ในเด็ก ผู้ป่วยตามโรงพยาบาล หรือผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันต่ำ ซึ่งเป็นปัญหาสาธารณสุขทั่วโลก โดยเฉพาะในประเทศที่กำลังพัฒนา [1] เชื้อก่อโรคในทางเดินอาหาร (gastrointestinal pathogens) ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เช่น pathogenic *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio cholerae* [2-3] เป็นต้น ในผู้ป่วยที่ได้รับยาปฏิชีวนะเป็นเวลานานมักจะเกิดเป็นโรค antibiotics-associated diarrhea เนื่องจากเชื้อ toxigenic *Clostridium difficile* [4] ส่วนการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เป็นสาเหตุของโรคกระเพาะอาหารอักเสบ (gastritis) หรือ แผลในกระเพาะอาหาร (peptic ulcer) [1] นอกจากนี้ การติดเชื้อไวรัสบางชนิด ได้แก่ rotavirus ก็เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วง (diarrhea) ในเด็ก

เนื่องจากปัญหาของเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะ (antibiotic resistance) และความสำคัญของการส่งเสริมสุขภาพ จุลินทรีย์ที่ให้ประโยชน์ (beneficial microorganisms) ต่อสุขภาพ หรือ เรียกว่า โพรไบโอติก (probiotics) ได้เข้ามามีบทบาท และเป็นที่ยอมรับหลายในยุคปัจจุบันทั้งด้านการแพทย์ ผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ และอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ เพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะหรือเพื่อเพิ่มทางเลือกในการป้องกันการติดเชื้อ [1,4]

การใช้โพรไบโอติกเป็นสิ่งที่นักวิทยาศาสตร์ในปัจจุบันเห็นความสำคัญและให้ความสนใจอย่างจริงจัง มีการศึกษาบทบาทของโพรไบโอติกในการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อ โดยเฉพาะโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร ทั้งในห้องทดลอง สัตว์ทดลอง และในอาสาสมัคร ซึ่งพบว่าจุลินทรีย์หลายชนิดมีความปลอดภัย และมีศักยภาพในการป้องกัน หรือลดระยะเวลา และลดความผิดปกติของโรคในทางเดินอาหารได้

1. โพรไบโอติก (Probiotics)

1.1 ประวัติความเป็นมาของโพรไบโอติก (Background of probiotics)

จุดเริ่มต้นของโพรไบโอติกมีมาตั้งแต่ต้นปี ค.ศ. 1900 โดย Elie Metchnikoff นักวิทยาศาสตร์ รางวัลโนเบล ชาวรัสเซีย ได้ตั้งข้อสังเกต ศึกษาและค้นคว้า จนได้ข้อเสนอนี้ว่า ประชากรที่บริโภคนมเปรี้ยว หรือโยเกิร์ต ซึ่งมีแบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) เป็นประจำ จะมีสุขภาพดี แข็งแรง และอายุยืน ซึ่งจุลินทรีย์ที่ได้รับเข้าไปจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกาย โดยช่วยลดการเน่าเสีย และลดสารที่เป็นพิษจากอาหาร และที่เกิดจากเชื้อก่อโรค (pathogens) หรือ เชื้อที่ไม่ดีในลำไส้ ซึ่งจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ดีช่วยให้เกิด autointoxication [5] จากการศึกษาภายหลังพบว่าจุลินทรีย์นั้นเป็นแบคทีเรียชนิด *Lactobacillus bulgaricus* ต่อมาในปี ค.ศ 1930 แพทย์ชาวญี่ปุ่น ชื่อ Minoru Shirota ผู้ซึ่งเห็นความสำคัญของการป้องกันโรค และการปรับสมดุลของเชื้อประจำถิ่นในทางเดินอาหาร ได้ศึกษาค้นคว้า จนสามารถคัดแยกและเพาะเลี้ยงแบคทีเรียชนิด *L. casei* จากคนได้สำเร็จ ซึ่ง *L. casei* สายพันธุ์ Shirota นี้ นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวที่ประสบความสำเร็จจนถึงปัจจุบัน [6] ในระยะเวลาประมาณ 20 ปีมานี้ นักวิทยาศาสตร์สนใจศึกษาจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมากขึ้น ทั้งในด้านสายพันธุ์ และคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติก แบคทีเรียในลำไส้หลายสายพันธุ์ มีการศึกษาพบว่า มีคุณสมบัติและความเป็นไปได้ในการเป็นโพรไบโอติก [7] การวิจัยและพัฒนาโพรไบโอติกมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ โดยเฉพาะในสหรัฐอเมริกา ยุโรป และญี่ปุ่น [8] ส่วนผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกมีในหลายรูปแบบ เช่น ผสมในนม นมเปรี้ยว โยเกิร์ต หรืออาหารเสริมในรูปแบบแคปซูล เป็นต้น ดังตัวอย่างแสดงในภาพที่ 1 [9]



ภาพที่ 1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารที่มีโพรไบโอติก

ที่มา: Parkes, G.C., Sanderson, J.D. and Whelan, K. (2009). The mechanisms and efficacy of probiotics in the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea, *Lancet Infect Dis*, 9, 237-244.

1.2 คำจำกัดความของโพรไบโอติก (Definition of probiotics)

คำว่า “probiotics” เป็นคำตรงข้ามกับคำว่า “antibiotic” โดย probiotics เป็นคำมาจากภาษากรีก แปลว่า เพื่อชีวิต (for life) [10] ซึ่งโพรไบโอติกมีหลายคำจำกัดความ และมีการปรับเปลี่ยนมาเรื่อยๆ โดยก่อนหน้านี้ คำจำกัดความที่เป็นที่ยอมรับมากที่สุด เสนอโดยนักวิทยาศาสตร์ชื่อ Fuller ซึ่งได้ให้คำจำกัดความไว้ว่า โพรไบโอติกหมายถึง จุลินทรีย์ที่มีชีวิต เมื่อให้เสริมเข้าไปจะมีประโยชน์ต่อร่างกายโดยไปเพิ่มสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ [11] ต่อมาคำจำกัดความก็ได้กำหนดขึ้นมาโดยคณะกรรมการของ Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) และ World Health Organization (WHO) ซึ่งคำจำกัดความนี้ได้กำหนดว่า โพรไบโอติก หมายถึง จุลินทรีย์ที่มีชีวิตเมื่อได้รับในปริมาณที่เพียงพอ จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกายผู้เป็นเจ้าของ [12] ซึ่งถือเป็นคำจำกัดความที่เป็นทางการ เป็นที่ยอมรับ

อย่างกว้างขวางในวงการวิทยาศาสตร์ และใช้ในปัจจุบัน

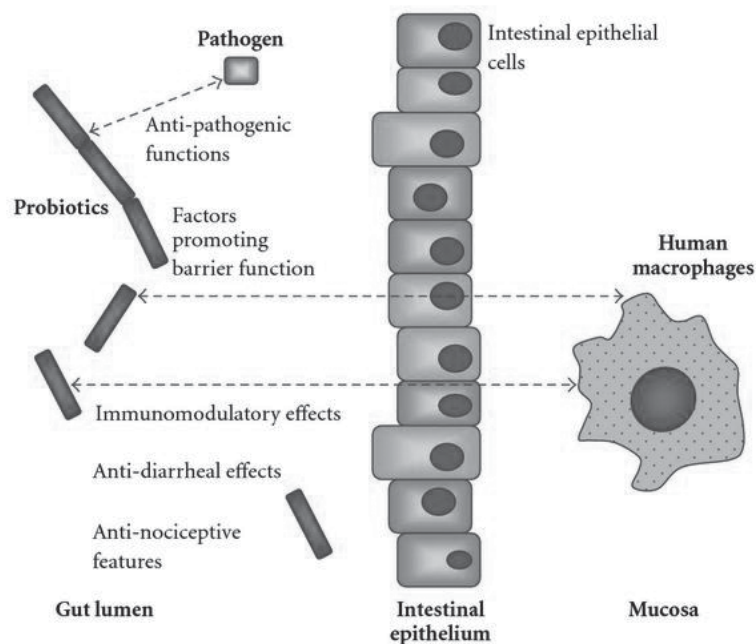
1.3 คุณสมบัติของโพรไบโอติก (Properties of probiotics)

การได้รับโพรไบโอติกเข้าไปจะช่วยในการเพิ่มสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย และก่อให้เกิดประโยชน์ด้านต่างๆ ต่อร่างกาย [13] ดังนั้นในการคัดเลือก และประเมินคุณสมบัติของจุลินทรีย์เพื่อเป็นโพรไบโอติกนั้น จุลินทรีย์จะต้องมีคุณสมบัติตามหลักเกณฑ์ของการเป็นโพรไบโอติกที่ดี เช่น จุลินทรีย์โพรไบโอติกควรเป็นสายพันธุ์ที่ได้จากคน เพราะจะสามารถปรับตัวและมีการแสดงออกของคุณสมบัติต่างๆ ได้ดีในสิ่งแวดล้อมที่คุ้นเคย มีความปลอดภัยตามหลักของ Generally recognized as safe status (GRAS) สามารถมีชีวิตรอด และมีคุณสมบัติทนต่อสภาพความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร (resistance to gastric acidity) และน้ำดี (bile acid resistance) สามารถยึดเกาะกับเซลล์เยื่อบุลำไส้ (intestinal epithelial cells)

สามารถสร้างสารต้านจุลินทรีย์อื่น (antimicrobial substances) [14] ความสามารถในการปรับภูมิคุ้มกัน (modulate immune response) ก็มีความสำคัญในการนำมาใช้กับผู้ที่มีความภูมิคุ้มกันบางอย่างไม่ทำงานหรือไม่ปกติ [15-16] และนอกจากนี้สายพันธุ์ที่เหมาะสมจะต้องสามารถเพาะเลี้ยงหรือผลิตในระดับอุตสาหกรรมและสามารถมีชีวิตรอดในสภาวะหรือขั้นตอน กระบวนการผลิตและการวางจำหน่าย [15,17]

2. กลไกการทำงานของโพรไบโอติก (Mechanism of action of probiotics)

การทำงานของโพรไบโอติกในการป้องกันและลดอาการของโรคที่ก่อให้เกิดความผิดปกติต่างๆ มีหลายกลไกที่มีข้อพิสูจน์ชัดเจน แต่หลายกลไกยังขาดข้อมูลและยังต้องพิสูจน์ต่อไป ดังแสดงในภาพที่ 2 [18] งานวิจัยส่วนใหญ่ยังคงศึกษา กลไกการทำงานของโพรไบโอติกต่อเชื้อก่อโรคจำเพาะ (specific pathogen) อย่างไรก็ตามคุณสมบัติโพรไบโอติกเป็นคุณสมบัติที่จำเพาะของแต่ละสายพันธุ์ (strain dependent) โพรไบโอติกชนิด (species) เดียวกัน แต่ละสายพันธุ์ (strain) อาจจะยับยั้งเชื้อก่อโรคต่างกัน และด้วยกลไกที่ต่างกัน [19] กลไกที่สำคัญบางอย่างของโพรไบโอติกดังจะได้กล่าวต่อไปนี้



ภาพที่ 2 แสดงถึงกลไกการทำงานของโพรไบโอติก โดยจะหลั่งสารที่ต่อต้านการติดเชื้อ รวมทั้งการมี interaction กับ intestinal epithelial cells และ macrophages ซึ่งจะช่วยส่งเสริมการทำงานของ barrier ปรับระบบภูมิคุ้มกันและเพิ่มความสามารถในการต้านการติดเชื้อ

ที่มา: Britton, R.A. and Versalovic, J. (2008). Probiotics and gastrointestinal infections, *Interdiscip Perspect Infect Dis*, 1-10.

2.1 Production of antimicrobial substances

จุลินทรีย์โพรไบโอติก สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคอื่นได้ โดยคุณสมบัติทั่วไปส่วนใหญ่จะสร้างกรดแลคติก (lactic acid) และกรดอะซิติก (acetic acid) ได้ส่งผลให้สภาพแวดล้อมเป็นกรด จึงไปยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคอื่นๆ นอกจากนี้โพรไบโอติกบางสายพันธุ์สามารถสร้างโปรตีน หรือเปปไทด์ที่ได้แก่ bacteriocin ซึ่งจะยับยั้ง (inhibit) เชื้อก่อโรคอย่างจำเพาะ (specific pathogenic strains) โพรไบโอติกบางสายพันธุ์ เช่น *L. reuteri* จะสร้างสารที่เรียกว่า reuterin ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อื่นได้อย่างกว้างขวาง ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก (gram-positive bacteria), แบคทีเรียแกรมลบ (gram-negative bacteria), ยีสต์ (yeast), เชื้อรา (fungi), โปรโตซัว (protozoa) และไวรัส (virus) [20-21]

2.2 Anti-adhesive effects

ความสามารถในการยึดเกาะกับ intestinal mucosa และการแย่งจับกับที่รับ (receptor) ที่ตำแหน่งของ intestinal epithelial surface เป็นกลไกที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของแบคทีเรียโพรไบโอติก [22] โพรไบโอติกที่สามารถยึดเกาะกับ intestinal epithelial cells จะทนต่อการบีบตัวแบบ peristalsis ไม่ถูกขับออกนอกทางเดินอาหาร ขณะเดียวกันยังเป็นการไปกีดขวางการยึดเกาะ (adhere) และเป็นการแข่งแย่งกันจับระหว่างโพรไบโอติกกับเชื้อก่อโรคในทางเดินอาหารอีกด้วย โพรไบโอติกอาจจะแข่งกับเชื้อก่อโรคในการจับกับ receptor เดียวกัน หรือสามารถย่อย (degrade) carbohydrate receptor หรือการสร้าง biofilm ของโพรไบโอติกเอง ตลอดจนการสร้าง analogues receptor หรือการสร้าง biosurfactants [23]

2.3 Competition for nutrients

ความสามารถในการแย่งอาหารที่มีอย่างจำกัด มีความสำคัญในการกำหนดเชื้อประจำถิ่น (normal microbiota) ในทางเดินอาหาร เชื้อ species ใด ที่ไม่สามารถแย่งอาหารก็จะถูกกำจัดออกไปจากระบบนี้ การเพิ่มจำนวนของ probiotic lactobacilli จะทำให้เกิดการลดสารอาหารที่จำเป็นสำหรับเชื้อก่อโรคอื่น เช่น การมีปริมาณธาตุเหล็กอย่างจำกัด ซึ่งจุลินทรีย์เกือบทุกชนิดต้องการในการเจริญเติบโต [7] แต่สำหรับ lactobacilli สามารถแข่งขันในการแย่งธาตุเหล็กที่มีอย่างจำกัดได้ดีกว่าเชื้อก่อโรค เนื่องจากสามารถ uptake เหล็กได้โดยตรงที่ cell surface ไม่ต้องอาศัยการสร้าง siderophores ออกมาเพื่อดึงเหล็กไปใช้ในการเจริญเติบโต [24]

2.4 Antitoxin effects

Toxin เป็นปัจจัย (virulence factor) ที่สำคัญของเชื้อในการก่อโรค กลไกของโพรไบโอติกสามารถป้องกันไม่ให้มีการแสดงออก (express) ของ toxin ของเชื้อก่อโรคในร่างกายได้ มีการศึกษาพบว่า *Bifidobacterium breve* Yakult และ *B. pseudocatenulatum* DSM 20439 สามารถยับยั้งการ express ของ shiga toxin โดย *E. coli* (STEC) O157:H7 ได้ ในหลอดทดลอง (*in vitro*) และในหนูทุกตัว ที่ได้รับ *B. breve* Yakult มีชีวิตรอดจากการ challenge ด้วย STEC [25] นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่า “*Saccharomyces boulardii*” สามารถต่อต้านเชื้อ *C. difficile* โดยการย่อย toxin receptor ใน intestinal mucosa ได้ [26-27]

2.5 Modulation of immunity

การยึดเกาะกับเยื่อบุลำไส้อาจจะส่งผลให้มี interaction ระหว่างโพรไบโอติกกับ epithelial cells โดยตรง หรือ โพรไบโอติกอาจจะสร้าง soluble factor บางอย่าง เช่น immunomodulin [28]

และอาจจะไปมีผลในการกระตุ้น signaling cascade ของ epithelial cells หรือ immune cells นำไปสู่การปรับภูมิคุ้มกัน (immunomodulation) [23] มีการศึกษา *ex vivo* พบว่า human monocyte derived dendritic cells ที่เจริญในสภาวะที่มีโพรไบโอติกแบคทีเรียชนิด *L. rhamnosus* มีอัตราการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนลดลง และมีการเปลี่ยนแปลงการสร้าง cytokine ชนิด interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4) และ interleukin-10 (IL-10) [29] อย่างไรก็ตามโพรไบโอติกมีบทบาททั้งภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (non-specific immunity) และภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (specific immunity) ซึ่งเป็นอีกกลไกหนึ่งที่โพรไบโอติกช่วยให้ร่างกายต่อต้านความผิดปกติต่างๆ ในลำไส้ได้ [30]

3. จุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติก (Strains use as probiotics)

จุลินทรีย์หลายชนิดมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะของแต่ละสายพันธุ์ (strain dependent) ดังนั้น จึงต้องมีการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ประโยชน์ ศึกษาคุณลักษณะและคุณสมบัติต่างๆ ของสายพันธุ์เพื่อการเป็นโพรไบโอติกที่ดี ตามเกณฑ์ของ FAO/WHO หรือตามข้อกำหนดของแต่ละประเทศ ซึ่งจะคล้ายๆ กัน และที่สำคัญจุลินทรีย์โพรไบโอติกนั้นๆ จะต้องมีความปลอดภัยตามหลักของ GRAS แบคทีเรียสายพันธุ์โพรไบโอติกจะมีความสามารถได้อย่างใดอย่างหนึ่ง หรือหลายๆ อย่าง เช่น ป้องกันการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ควบคุมการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (immune regulation) ลดการอักเสบ (anti-inflammatory) หรือ สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (anti-cancer) เป็นต้น การนำโพรไบโอติกมาใช้อาจจะประกอบไปด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์เดียว หรือหลายๆ สายพันธุ์ จุลินทรีย์โพรไบโอติกส่วนใหญ่จะอยู่ใน

กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก (gram-positive bacteria) มีทั้งรูปร่างกลม (cocci) และรูปร่างแท่ง (bacilli) ที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ ที่สำคัญ ได้แก่ สกุล (genus) *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* นอกจากนี้ก็มีจุลินทรีย์ในสกุล *Bacillus* หรือ เชื้อราชนิด *Sacharomyces* และ *Aspergillus* [31] ซึ่ง *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* เป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่มีการศึกษา และนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกมากที่สุด [19] ทั้งสองชนิดนี้เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเชื้อประจำถิ่นในทางเดินอาหาร (gut microbiota) และเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรค (non-pathogenic) สำหรับ *Lactobacillus* นั้นมีหลายสายพันธุ์ที่นำมาใช้เป็นโพรไบโอติก เพราะเป็นแบคทีเรียที่เลี้ยงง่าย มีประวัติการบริโภคมายาวนาน และมีความปลอดภัยในอาหารหมัก (fermented food) หลายชนิด [32] จุลินทรีย์สายพันธุ์ที่มีการศึกษาและนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกดังแสดงในตารางที่ 1 [17]

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติก

Lactobacillus species	Bifidobacterium species	Other species
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>AnimalisBifidobacterium longum</i>	<i>Clostridium butyricum</i>
<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Freundendsreichii</i>
<i>Lactobacillu bulgaricus</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	“ <i>Saccharomyces boulardii</i> ”
<i>Lactobacillus plantarum</i>		<i>Enterococcus feecalis</i>
<i>Lactobacillus johnsonii</i>		<i>Streptococcus thermophilus</i>
		<i>Lactococcus species</i>
		VSL#3 (<i>L.bulgaricus</i> , <i>L. plantarum</i> ,
		<i>B. longum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. breve</i> ,
		<i>S. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>)

ที่มา: Gorbach, S. L. (2002). Probiotics in the third millennium, *Digest Liver Dis*, 34 (21), S2- S7.

4. บทบาทของโพรไบโอติกในการต่อต้านการติดเชื้อในทางเดินอาหาร (Role of probiotics in gastrointestinal infections)

โพรไบโอติก เป็นจุลินทรีย์ที่ช่วยปรับสมดุลของเชื้อประจำถิ่นในทางเดินอาหาร [13] ซึ่งมีทั้งจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และมีโทษอาศัยอยู่ ถ้าปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มีมากจะช่วยป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ก่อโรคขึ้นเอง หรือที่ด้รับเข้าไปในร่างกายมายึดเกาะ epithelial cells และหลั่งสารที่มีผลทำให้เกิดพยาธิสภาพ และความผิดปกติตามมา [1] เนื่องจากคุณสมบัติที่ดีของโพรไบโอติกดังที่กล่าวมาแล้วในตอนต้น จึงมีการศึกษาเพื่อนำโพรไบโอติกมาใช้ในการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร รวมทั้งโรคที่ก่อให้เกิดความผิดปกติอื่นๆ ในร่างกาย [18] ซึ่งในที่นี้จะกล่าวถึงบทบาทของโพรไบโอติก

ในการต่อต้านโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร ได้แก่ antibiotic-associated diarrhea, *Clostridium difficile*-associated diarrhea, traveler’s diarrhea, food-borne pathogen-associated gastrointestinal infections, *Helicobacter pylori* gastroenteritis และ rotavirus diarrhea

4.1 Antibiotic-associated diarrhea

ในผู้ป่วยที่ได้รับยาปฏิชีวนะ พบว่าประมาณ 20% จะมีผลข้างเคียงทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วง [33] กลไกการเกิดโรคยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มักจะมีความสัมพันธ์ด้านปริมาณและคุณภาพของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ (intestinal microbiota) [34] มีหลายการศึกษาที่แสดงให้เห็นประโยชน์ของโพรไบโอติก ในการรักษาโรคนี้ การศึกษาในคนไข้ 388 ราย โดยแบ่งเป็นผู้ที่ได้รับ tetracycline หรือ beta-lactam และกลุ่มได้รับ

โพรไบโอติก “*S. boulardii*” เทียบกับกลุ่ม placebo ผลพบว่ากลุ่ม placebo เป็น diarrhea 17.5% ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับ “*S. boulardii*” เป็น diarrhea 4.5% ซึ่งผลสอดคล้องกับการศึกษาในคนไข้ที่ได้รับ beta-lactam การศึกษาโดยให้ 97 คน ได้รับ “*S. boulardii*” ซึ่งในกลุ่มนี้พบว่า 7.2% ที่เป็น antibiotic-associated diarrhea (AAD) ส่วนในกลุ่ม placebo จำนวน 96 คน พบว่า 14.6% เป็น antibiotic-associated diarrhea [35] ในการศึกษาอื่นๆ กับคนไข้ที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาลจำนวน 79 คน ที่ได้รับยา ampicillin ซึ่งการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะนั้นจะทำให้ *Lactobacillus* ในลำไส้ลดลง การศึกษานี้ ได้ใช้ Lactinex ซึ่งประกอบด้วยเชื้อโพรไบโอติก *L. acidophilus* และ *L. bulgaricus* โดย 36 คน ได้รับ Lactinex อีก 43 คน เป็นกลุ่มที่ให้ placebo ผลคือในกลุ่มที่ได้รับ Lactinex ไม่มีรายใดเป็น ampicillin-induced diarrhea ในขณะที่กลุ่มที่ให้ placebo เกิด diarrhea 14% [36] นอกจากนี้พบว่าการใช้ *Lactobacillus* GG ในเด็ก เพื่อป้องกันการเกิด AAD สามารถลดอัตราการเกิดโรคได้ 60% [37]

4.2 *Clostridium difficile* - associated diarrhea

C. difficile เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างแท่ง และสร้างสปอร์ เป็นตัวอย่างที่สำคัญของเชื้อฉวยโอกาสเพิ่มจำนวน (opportunistic proliferation) และก่อโรคในทางเดินอาหาร ปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญที่ทำให้เกิด *Clostridium difficile*-associated diarrhea (CDAD) คือ การใช้ยาปฏิชีวนะ ซึ่งจะ ทำให้เชื้อประจำถิ่น (normal microbiota) ถูกทำลาย ปริมาณลดลง และความสมดุลของเชื้อประจำถิ่น เสียไป ส่งผลให้เชื้อ *C. difficile* เพิ่มจำนวนมากขึ้น และ colonized อยู่ในลำไส้ หลังจากนั้นจะปล่อย toxin ออกมา 2 ชนิด คือ enterotoxin A และ cytotoxin B

ซึ่งทำให้เกิด diarrhea และ colitis เชื้อ *C. difficile* สายพันธุ์ที่สร้าง toxin เป็นสาเหตุของการเกิด antibiotic-associated diarrhea ประมาณ 20-40% [38-40] ทางเลือกที่น่าสนใจ คือ การนำโพรไบโอติก มาใช้เพื่อให้เกิดความสมดุล (homeostasis) ของเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ มีการศึกษาพบว่า *L. paracasei*, *L. plantarum* และ *L. salivarius* สามารถยับยั้ง *C. difficile* สายพันธุ์ที่สร้าง toxin ได้จำนวนหลายสายพันธุ์ [41-42] การศึกษาของ McFarland และคณะ ปี ค.ศ. 1994 ในคนไข้ 124 คน โดยให้ได้รับ antibiotic, “*S. boulardii*” หรือ placebo พบว่า 64 คนที่เริ่มเป็น *Clostridium difficile*-associated diarrhea และ 60 คน ที่มีประวัติเคยเป็น ไม่มีความแตกต่างกันของการ recurrence ในกลุ่ม placebo หรือกลุ่มที่ได้รับ “*S. boulardii*” อย่างไรก็ตาม ในคนไข้ที่เคยเป็น *C. difficile*-associated diarrhea เมื่อให้ “*S. boulardii*” จะลดการ recurrence ของโรคอย่างมีนัยสำคัญ [43]

4.3 Traveler's diarrhea

อุบัติการณ์ (incidence) ของการเป็นโรคอุจจาระร่วงในนักท่องเที่ยว หรือผู้เดินทางที่เป็นชาวต่างชาติ จะพบได้ประมาณ 20-50% ขึ้นอยู่กับประเทศต้นทางและปลายทาง ตลอดจนประเภทของการเดินทาง อย่างไรก็ตาม เชื้อก่อโรคที่มักจะเป็นสาเหตุของ traveler's diarrhea ได้แก่ non-inflammatory *E. coli* การให้ความรู้เรื่องอาหาร น้ำ และ hygiene เป็นหลักเบื้องต้นในการป้องกัน และช่วยลดการติดเชื้อในทางเดินอาหาร จาก food-born และ water-born ได้ ในปัจจุบันเพื่อป้องกันและลดอาการของโรค การใช้โพรไบโอติกได้เข้ามา มีบทบาทแทนการใช้ยาปฏิชีวนะมากขึ้น [44] และมีการศึกษาพบว่าโพรไบโอติกชนิด *L. rhamnosus* GG และโพรไบโอติกที่ประกอบด้วยแบคทีเรีย *Bifidobacterium*, *Streptococcus* และ *Saccharomyces*

สามารถป้องกัน traveler's diarrhea ได้ [45-46]

4.4 Food-borne pathogen-associated gastrointestinal infections

การเสียสมดุลของเชื้อประจำถิ่นที่อาศัยอยู่เป็นประจำในทางเดินอาหาร ทำให้เกิดการเข้ายึดเกาะและเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค (transient enteropathogens) เช่น *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* และ *Shigella* spp. มีการศึกษาและทดสอบโพรไบโอติก *Lactobacillus* พบว่าสามารถยับยั้ง (antagonist) เชื้อ *Bacillus cereus*, *E. coli*, *S. aureus*, *Yesinia enterocolitica* และ *Listeria* ได้ ในหลอดทดลอง [47] และพบว่า *L. acidophilus*, *L. plantarum* และ *L. brevis* สามารถยับยั้ง *C. jejuni*, *E. coli* O157:H7 และ *S. Typhimurium* ได้ [42, 48] ส่วนการศึกษาในสัตว์ทดลอง พบว่าโพรไบโอติกดังกล่าว สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ [7]

4.5 *Helicobacter pylori* gastroenteritis

H. pylori เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิด chronic gastritis ตลอดจน gastric ulcer และ duodenal ulcer ซึ่งการติดเชื้อ *H. pylori* เรื้อรัง อาจจะนำไปสู่การเกิดมะเร็งในกระเพาะอาหารและลำไส้ มีการศึกษาพบว่าเชื้อ *L. acidophilus* และ *L. rhamnosus* สามารถยับยั้งการเจริญของ *H. pylori* ได้ ในหลอดทดลอง [49] ส่วนเชื้อ *L. salivarius* สามารถยับยั้ง *H. pylori* ได้ใน gnotobiotic mice [50] การศึกษาในคนพบว่า *L. acidophilus* สามารถยับยั้งการ colonize ของเชื้อ *H. pylori* ได้ [51] ในหลายๆ การศึกษาพบว่าโพรไบโอติกนั้นไม่ได้ทำให้ *H. pylori* หดไป แต่โพรไบโอติก สามารถลดปริมาณของเชื้อ และลดการอักเสบได้

4.6 Rotavirus diarrhea

Rotavirus พบได้เสมอที่ทำให้เกิด

โรคอุจจาระร่วงในเด็ก (infantile diarrhea) โดยเฉพาะเด็กช่วงอายุ 3-24 เดือน [18] เป็นสาเหตุการป่วยและการตายในเด็ก โดยเฉพาะในประเทศที่กำลังพัฒนา [52] rotavirus ทำให้เกิดการติดเชื้อในส่วน of distal small intestine และ barrier จะถูกทำลายด้วย enterotoxin [18] จากการศึกษาของ Isolauri ในเด็กที่เป็นโรคอุจจาระร่วง โดย 80% พบว่ามี rotavirus และให้ได้รับ *L. rhamnosus* GG (LGG) หรือได้รับ placebo พบว่าในกลุ่มที่ได้รับ LGG นั้น ระยะเวลาของการเป็น diarrhea ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ [53] ส่วนอีกการศึกษาโดยให้ *L. reuteri* พบว่าสามารถป้องกันโรคอุจจาระร่วงในทารกได้ อย่างไรก็ตาม คุณสมบัติของ *L. reuteri* ในการต่อต้านการติดเชื้อ rotavirus ดังกล่าว ก็ยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด [54]

5. โพรไบโอติก (Prebiotics)

ความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารอาจจะมีผลต่อสุขภาพของมนุษย์ การมีจุลินทรีย์ที่ดีอยู่ในภาวะสมดุลย่อมส่งผลดีต่อสุขภาพ โดยเฉพาะทางเดินอาหาร ซึ่งจะช่วยป้องกันและลดการเกิดโรคต่างๆ รวมทั้งการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย นักวิทยาศาสตร์ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของโพรไบโอติก และสารอาหารที่เรียกว่า โพรไบโอติก (prebiotics) ซึ่งโพรไบโอติก หมายถึง ส่วนประกอบของอาหารที่ร่างกายไม่สามารถย่อยและดูดซึมได้แต่จุลินทรีย์โพรไบโอติกในลำไส้ สามารถย่อยสลายได้ดี ซึ่งจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ดังกล่าว [55-56] โพรไบโอติกส่วนใหญ่จะเป็น oligosaccharides หรือ น้ำตาลเชิงซ้อน (complex saccharides) ซึ่งจะหมัก (ferment) ได้เฉพาะแบคทีเรียประจำถิ่นในทางเดินอาหาร โดยเฉพาะ species ที่ให้ประโยชน์ต่อร่างกาย [20,55-56] คุณสมบัติสำคัญของสารที่จัดเป็นโพรไบโอติก จะมี

ลักษณะเป็นสารอาหารที่ร่างกายไม่สามารถย่อย (digestion) และดูดซึม (absorption) ในลำไส้ ก่อนที่จะมีการหมักโดย resident microbiota ซึ่งจะช่วยให้เกิดการขับถ่ายได้ดี การย่อยสลายสารที่เป็น โปรไบโอติก โดยโปรไบโอติกแบคทีเรียจะช่วยเพิ่ม การดูดซึมสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายเพิ่มขึ้น และนอกจากนี้จะช่วยเปลี่ยนองค์ประกอบของ จุลินทรีย์โปรไบโอติก หรือเชื้อประจำถิ่นที่ดี ให้มีความสมดุลมากขึ้น ซึ่งจะส่งผลดีต่อสุขภาพ อีกทางหนึ่ง ตัวอย่างของโปรไบโอติก เช่น inulin ซึ่งพบในพืช ประเภท เห็ด หัวหอม หัวกระเทียม กล้วย เป็นต้น fructo-oligosaccharide (FOS) ในพืชผัก และ galacto-oligosaccharide (GOS) ในน้ำนมแม่ [55] จากประโยชน์ของโปรไบโอติก ดังกล่าว จึงมีการผสมในผลิตภัณฑ์อาหารฟังก์ชัน (functional food) และปัจจุบันนิยมนำเอาโปรไบโอติก และโปรไบโอติกที่มีความจำเพาะต่อกัน มารวมกัน ไว้ในผลิตภัณฑ์ชนิดเดียวกัน เรียกว่า synbiotics ซึ่งจะช่วยเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน [56] ช่วยเพิ่ม ปริมาณแบคทีเรียโปรไบโอติก ช่วยส่งเสริมการ เจริญเติบโตและการอยู่รอด จากการใช้โปรไบโอติก เป็นแหล่งอาหาร และช่วยกระตุ้น metabolism ของแบคทีเรียโปรไบโอติก และที่สำคัญช่วยให้ ทางเดินอาหารมีความสมดุลของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ช่วยป้องกันการเจริญและการเกาะติดของเชื้อก่อโรค ในทางเดินอาหารได้อีกด้วย [20,55]

บทสรุป

อาจจะกล่าวได้ว่า มนุษย์รู้จักและบริโภค จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ หรือจุลินทรีย์โปรไบโอติกมา แล้วกว่าศตวรรษ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้บางชนิด พบอยู่ตามปกติในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ การมีจุลินทรีย์ที่ดีในร่างกายอย่างสมดุล หรือมี ปริมาณมากพอ จะช่วยส่งเสริมสุขภาพที่ดีให้แก่

ผู้เป็นเจ้าของโปรไบโอติกได้เข้ามามีบทบาทในด้าน การป้องกัน และรักษาโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร ซึ่งช่วยลดความรุนแรง (severity) ของโรค หรือ ช่วยลดระยะเวลา (duration) ของการเป็นโรคได้ โดยอาศัยกลไกต่างๆ ซึ่งบางกลไกยังไม่ทราบ ชัดเจนนัก และหลายกลไกยังต้องมีการศึกษาต่อไป ขณะเดียวกันการศึกษความสัมพันธ์ของโปรไบโอติก กับร่างกาย (host-probiotics interaction) ก็มีความสำคัญเพื่อความเข้าใจบทบาทของโปรไบโอติก มากขึ้น คุณสมบัติของโปรไบโอติกเป็น strain specific ซึ่งการเพิ่มประสิทธิภาพ สามารถทำได้ โดยการใช้โปรไบโอติกรวมกันหลายสายพันธุ์ หรือ ผสมกับพรีไบโอติก โปรไบโอติกนอกจากจะมี บทบาทสำคัญกับโรคติดเชื้อในทางเดินอาหารแล้ว ยังมีบทบาทในการป้องกันและช่วยลดอาการที่ผิดปกติ จากโรคอื่นๆ อีก ซึ่งมีทั้งรายงานการศึกษา ที่ชัดเจนและอยู่ระหว่างการวิจัย เช่น urinary tract infection, vaginitis, respiratory tract infection, cancer, allergy และ inflammatory bowel disease เป็นต้น ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์สนใจศึกษาวิจัย โปรไบโอติกเพิ่มขึ้น มีการวิจัยและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง รวมทั้งการบริโภค functional food ได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ทั้งในสหรัฐอเมริกา ยุโรป และบางประเทศในเอเชีย สำหรับในประเทศไทย นั้น การศึกษาวิจัยโปรไบโอติกยังมีน้อย ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาวิจัย และการใช้โปรไบโอติก ในสัตว์ อย่างไรก็ตาม การศึกษาโปรไบโอติก ในระยะยาว จะช่วยให้มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ เพื่อสนับสนุนการใช้ทางคลินิกเพิ่มมากขึ้น และยังมี ประโยชน์ในการพัฒนาสายพันธุ์ของโปรไบโอติก อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

- [1] Gill, H.S. (2003). Probiotics to enhance anti-infective defenses in the gastrointestinal tract. *Best Practice and Res Clin Gastroenterol*, 17, 755–773.
- [2] Drago, L., Gismando, M.R., Lombardi, A., Haen, C., and Gozzini, L. (1997). Inhibition of in vitro growth of enteropathogens by new *Lactobacillus* isolates of human intestinal origin. *FEMS Microbiol Let*, 153, 455–463.
- [3] Shu, Q., and Gill, H.S. (2002). Immune protection mediated by the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (DR20™) against *Escherichia coli* O157:H7 infection in mice. *FEMS Immunol and Med Microbiol*, 34, 59–64.
- [4] Alvarez-Olmos, M.I., and Oberhelman, R.A. (2001). Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. *Clin Infect Dis*, 32, 1567–1576.
- [5] Metchnikoff, E. (1907). *The prolongation of life: Optimistic studies*. London, UK: Heinemann.
- [6] Yakult Central Institute for Microbiological Research. (1998). *Lactobacillus casei* strain Shirota. Tokyo, Japan: Yakult Honsha Company Ltd.
- [7] Fooks, L.J. and Gibson, G.R. (2002). Probiotics as modulators of the gut flora, *Br J Nutr*, 88, S39–S49.
- [8] Stanton, C., et al. (2001). Market potential for probiotics, *Am J Clin Nutr*, 73, 476S–483S.
- [9] Parkes, G.C., Sanderson, J.D. and Whelan, K. (2009). The mechanisms and efficacy of probiotics in the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea, *Lancet Infect Dis*, 9, 237–244.
- [10] Hamilton-Miller, J.M.T., Gibson, G.R. and Bruck, W. (2003). Some insight into the derivation and early uses of the word “probiotic”, *Br J Nutr*, 90, 845.
- [11] Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals, *J Appl Bacteriol*, 66, 365–378.
- [12] FAO/WHO. (2002). *Guidelines for the evaluation of probiotics in food, Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food*. London, Ont., Canada.
- [13] Salminen, S. and Isolauri, E. (2006). Intestinal colonization, Microbiota, and Probiotics, *J Pediatr*, 149, S115–S120.
- [14] Ouwehand, A.C. (1998). Antimicrobial components from lactic acid bacteria, In: Salminen, S. and von Wright, A. (eds.). *Lactic acid bacteria, microbiology and functional aspects*. New York: Marcel Dekker.
- [15] Tuomola, E., Crittenden, R., Playne, M., Isolauri, E. and Salminen, S. (2001). Quality assurance criteria for probiotic bacteria, *Am J Clin Nutr*, 73, 393S–398S.

- [16] Colum, D., et al. (2001). In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings, *Am J Clin Nutr*, 73, 386S-392S.
- [17] Gorbach, S. L. (2002). Probiotics in the third millennium, *Digest Liver Dis*, 34 (21), S2-S7.
- [18] Britton, R.A. and Versalovic, J. (2008). Probiotics and gastrointestinal infections, *Interdiscip Perspect Infect Dis*, (-), 1-10.
- [19] Rolfe, R.D. (2000). Symposium: Probiotic bacteria: Implications for human health: The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health, *Am soc Nutr Sci. Suppl*, 396S-402S.
- [20] Saulnier, D.M.A., Spinler, J.K., Gibson, G.R. and Versalovic, J. (2009). Mechanisms of probiosis and prebiosis: considerations for enhanced functional foods, *Curr opin biotechnol*, 20, 135-141.
- [21] Cleusix, V., Lacroix, C., Vollenweider, S. and LeBlay, G. (2008). Glycerol induces reuterin production and decreases *Escherichia coli* population in an *in vitro* model of colonic fermentation with immobilized human feces, *FEMS Microbiol Ecol*, 63, 56-64.
- [22] Conway, P.L., Gorbach, S.L. and Goldin, B.R. (1987). Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells, *J Dairy Sci*, 70, 1-12.
- [23] Oelschlaeger, T.A. (2009). Mechanisms of probiotic actions: A review, *Int J Med Microbiol*, In press.
- [24] Elli, M., Zink, R., Rytz, A., Reniero, R. and Morelli, L. (2000). Iron requirement of *Lactobacillus* spp. in completely chemically defined growth media, *Appl Microbiol*, 88, 695-703.
- [25] Asahara, T., Shimizu, K., Nomoto, K., Hamabata, T., Ozawa, A. and Takeda, Y. (2004). Probiotic bifidobacteria protect mice from lethal infection with shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7, *Infect Immun*, 72, 2240-2247.
- [26] Castagliuolo, I., LaMont, J.T., Nikulasson, S.T. and Pothoulakis, C. (1996). *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A effects in the rat ileum, *Infect Immun*, 64, 5225-5232.
- [27] Pothoulakis, C., et al. 1993). *Saccharomyces boulardii* inhibits *Clostridium difficile* toxin A binding and enterotoxicity in rat ileum, *Gastroenterol*, 104, 1108-1115.
- [28] Pena, J.A. and Versalovic, J. (2003). *Lactobacillus rhamnosus* GG decreases TNF- α production in lipopolysaccharide-activated murine macrophages by a contact independent mechanism, *Cell Microbiol*, 5, 277-285.
- [29] Braat, H., vandenBrande, J., vanTol, E., Hommes, D., Peppelenbosch, M. and van Deventer, S. (2004). *Lactobacillus rhamnosus* induces peripheral hyporesponsiveness in stimulated CD4+Tcells via modulation of dendritic cell function, *Am J Clin Nutr*, 80, 1618-1625.

- [30] Malin, M., Suomalainen, H., Saxelin, M. and Isolauri, E. (1996). Promotion of IgA immune response in patients with Crohn's disease by oral bacteriotherapy with *Lactobacillus* GG, *Ann Nutr Metab*, 40, 137-145.
- [31] Drago, L., Gismando, M.R., Lombardi, A., Haen, C. and Gozzini, L. (1997). Inhibition of *in vitro* growth of enteropathogens by new *Lactobacillus* isolates of human intestinal origin, *FEMS Microbiol Let*, 153, 455-463.
- [32] Berg, R.D. (1998). Probiotics, prebiotics or "conbiotics", *Trends Microbiol*, 6, 89-92.
- [33] Bartlett, J.G. (1992). Antibiotic-associated diarrhea, *Clin Infect Dis*, 15, 573-581.
- [34] Nord, C.E., Heimdal, A. and Kager, L. (1986). Antimicrobial induced alterations of the human oropharyngeal and intestinal microflora, *Scand J Infect Dis*, 49, 64-72.
- [35] McFarland, L.V., et al. (1995). Prevention of beta-lactamase associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii* compared with placebo, *Am J Gastroenterol*, 90, 439-448.
- [36] Gotz, V., Romankiewicz, J.A., Moss, J. and Murray, H.W. (1979). Prophylaxis against ampicillin-associated diarrhea with a *Lactobacillus* preparation, *Am J Hosp Pharm*, 36, 754-757.
- [37] Cremonini, F., Di Caro, S., Nista, E.C., Bartolozzi, F., Capelli, G., Gasbarrini, G. and Gasbarrini, A. (2002). Meta-analysis: the effect of probiotics administration on antibiotic-associated diarrhea, *Aliment Pharmacol Ther*, 16(8), 1461-1467.
- [38] Clabots, C.R., Johnson, S., Olson, M.M., Peterson, L.R. and Gerding, D.N. (1992). Acquisition of *Clostridium difficile* by hospitalized patients: evidence for colonized new admissions as a source of infection, *J Infect Dis*, 166, 561-567.
- [39] Fekety, R. and Shah, A.B. (1993). Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* colitis, *J Am Med Assoc*, 269, 71-75.
- [40] McFarland, L.V., Mulligan, M.E., Kwok, R.Y. and Stamm, W.E. (1989). Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection, *N Engl J Med*, 320, 204-210.
- [41] Lee, Y.J., Yu, W.K. and Heo, T.R. (2003). Identification and screening for antimicrobial activity against *Clostridium difficile* of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* species isolated from healthy infant faeces, *Int J Antimicrob Agent*, 21, 340-346.
- [42] Naaber, P., et al. (2004). Inhibition of *Clostridium difficile* strains by intestinal *Lactobacillus* species. *J Med Microbiol*, 53, 551-554.
- [43] McFarland, L. V., et al. (1994). A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *J Am Med Assoc*, 271, 1913-1918.
- [44] Lori, A. and Spies, F.N.P.-C. (2008). Traveler's diarrhea: an update on prevention and treatment, *J Midwifer Women's Health*, 53 (3), 251-254.

- [45] Oksanen, P.J., et al. (1990). Prevention of travellers' diarrhoea by *Lactobacillus* GG, *Ann Med*, 22, 53-56.
- [46] Scarpignato, C. and Rampal, P. (1995). Prevention and treatment of traveler's diarrhea: a clinical pharmacological approach, *Chemotherapy*, 41, 48-81.
- [47] Batdorj, B., et al. (2007). Isolation, taxonomic identification and hydrogen peroxide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* T31, isolated from Mongolian yoghurt: inhibitory activity on food-borne pathogens, *J Appl Microbiol*, 103, 584-593.
- [48] Chaveerach, P., Lipman, L.J.A. and van Knapen, F. (2004). Antagonistic activities of several bacteria on in vitro growth of 10 strains of *Campylobacter jejuni/coli*, *Int J Food Microbiol*, 90, 43-50.
- [49] Midolo, P.D., Lambert, J.R., Hull, R.R. and Luo, F. (1995). In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by organic acids and lactic acid bacteria, *J Appl Bacteriol*, 79, 475-479.
- [50] Kabir, A.M.A., Aiba, Y., Takagi, A., Kamiya, S., Miwi, T. and Koga, Y. (1997). Prevention of *Helicobacter pylori* infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model, *Gut*, 41, 49-55.
- [51] Michetti, P., Dorta, G., Brassart, D. and Vouillamoz, D. (1995). *Lactobacillus acidophilus* supernatant as an adjuvant in the therapy of *Helicobacter pylori* in humans, *Gastroenterol*, 108, 253-258.
- [52] Majamaa, H., Isolauri, E., Saxelin, M. and Vesikari, T. (1995). Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis, *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 20, 333-338.
- [53] Isolauri, E., Juntunen, M., Rautanen, T., Sillanaukee, P. and Koivula, T. (1991). A human *Lactobacillus* strain (*Lactobacillus casei* sp strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children, *Pediatrics*, 88, 90-97.
- [54] Weizman, Z., Asli, G. and Alsheikh, A. (2005). Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents, *Pediatrics*, 115, 5-9.
- [55] Manning, T. S. and Gibson, G.R. (2004). Prebiotics, *Best Practice and Res Clin Gastroenterol*, 18, 287-298.
- [56] Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics, *J Nutr*, 125, 1401-1412.