

موانع و مشکلات استفاده از پروبیوتیک‌ها

سمیه صادقی (MSc)^۱، فرشید جابری انصاری (MSc)^۲، حسن جلیلی (PhD)^{۳*}

۱- گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲- گروه نانو تکنولوژی پزشکی، دانشکده فناوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

دریافت: ۹۶/۹/۵، اصلاح: ۹۶/۱۲/۱۵، پذیرش: ۹۷/۱/۶

خلاصه

سابقه و هدف: پروبیوتیک‌ها میکرو ارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که مصرف کافی آنها سبب نمایان شدن اثرات سلامت بخش در بدن میزبان می‌شود و با داشتن اثرات مفید، برای پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها پیشنهاد شده‌اند. این مطالعه به منظور بررسی مخاطرات و مشکلات محصولات پروبیوتیک در فرآیند تولید و اثر بر سلامتی انسان انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مروری ساده برای جمع آوری اطلاعات، مقالاتی که دارای یکی از کلمات پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم، بیوژنیک آمین و مقاومت به آنتی بیوتیک در فاصله سالهای ۱۹۹۰ تا ۲۰۱۷ در پایگاه‌های Thomson Reuters، Pubmed، Science Direct، Scopus و پایگاه استنادی علوم جهان اسلام (ISC) بودند، جستجو و بررسی شدند.

یافته‌ها: تحقیقات نشان می‌دهد عفونت‌های سیستماتیک و ابتلا به بیماری‌های مزمن، تحریک بیش از حد سیستم ایمنی، انتقال ژن‌های مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها، تولید آمین‌های بیوژنیک و D- لاکتیک اسید، عدم بقاء و پایداری میکروارگانیسم و در نهایت تغییر عطر و مزه محصولات حاوی پروبیوتیک از موانع و مشکلات پیش روی تولید پروبیوتیک‌ها به شمار می‌آیند. استفاده از بیفیدوباکتریوم از نظر انتقال ژن‌های مقاومت به آنتی بیوتیک نسبت به سایر میکروارگانیسم‌ها برای تولید محصولات پروبیوتیکی ایمن‌تر می‌باشد.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج این مطالعه پروبیوتیک‌ها تنها در افراد سالم کاملاً بی‌خطر می‌باشند هر چند مصرف این مواد برای سلامت انسان‌ها بسیار مفید می‌باشد اما استفاده آن در کودکان، زنان باردار و افراد دارای سیستم ایمنی تضعیف شده موجب ایجاد عفونت می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم، آمین بیوژنیک، مقاومت به آنتی بیوتیک.

مقدمه

بیماری‌زا شدن باکتری را افزایش می‌دهد (۱۲). همچنین نگرانی‌هایی در رابطه با انتقال احتمالی مقاومت ضد میکروبی از سویه‌های پروبیوتیک به باکتری‌های پاتوژن در میکروفلور روده‌ای وجود دارد. از طرفی تولید متابولیت‌های سمی مانند آمین‌های بیوژنیک و D- لاکتیک‌اسید از مخاطرات اصلی استفاده از پروبیوتیک‌ها است (۱۳ و ۱۴). بنابراین با توجه به مزایای بالقوه استفاده از پروبیوتیک‌ها، کاربرد این میکروارگانیسم‌ها همواره دارای مزایای نوظهور و نگرانی‌هایی در خصوص استفاده از آنها در کاربردهای بالینی و صنعتی وجود دارد. آزمایشات محدودی در رابطه با کنترل کیفیت فرآورده‌های پروبیوتیک و خطرات بالقوه مرتبط با مصرف آنها صورت گرفته است. با وجودی که استفاده از فرآورده‌های غذایی پروبیوتیک دارای مزایای سلامت بخش بسیاری می‌باشند. اما همانند بسیاری از مواد غذایی دارای محدودیت‌هایی نیز هستند که کمتر مورد توجه قرار گرفته است. لازم است که محدودیت‌های به کارگیری آنها مورد بررسی و مطالعه دقیق قرار گرفته و به اطلاع مصرف کنندگان این نوع محصولات برسد. این مطالعه مروری به منظور بررسی محدودیت‌های استفاده از پروبیوتیک‌ها برای افراد در معرض خطر انجام شد.

پروبیوتیک‌ها تحت عنوان موجودات زنده ای تعریف می‌شوند که به ترشحات صفرا، معده و پانکراس مقاوم بوده، به سلول‌های اپیتلیال متصل شده و در روده انسان کلونیزه می‌شوند (۱-۴). مکانیزم اصلی عمل باکتری‌های پروبیوتیک جلوگیری از کلونیزه شدن باکتری‌های پاتوژن است (۷-۵). بسیاری از محققان معتقدند که پروبیوتیک‌ها باید در روده زنده باقی بمانند و با چسبیدن به اپیتلیوم روده اثرات مفید خود را اعمال نمایند (۸ و ۱۰). اکثر پروبیوتیک‌ها متعلق به گونه‌های بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس‌ها هستند (۱). پروبیوتیک‌ها می‌توانند به عنوان مکمل‌های غذایی یا عوامل درمانی مورد استفاده قرار گیرند (۹). امروزه باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک به میکروارگانیسم‌های مهم از لحاظ صنعتی در تولید غذاهای تخمیری از قبیل ماست، پنیر و کره مبدل شده‌اند (۱۰). باکتری‌های پروبیوتیک به انتروسیت‌ها متصل شده و بنابراین از اتصال پاتوژن‌های روده‌ای به موکوس روده از طریق تولید مواد مهارکننده از قبیل باکتریوسین، لاکتیک اسید و متابولیت‌های اکسیژنی سمی جلوگیری می‌کنند (۱۱). اتصال به موکوس روده برای عملکرد پروبیوتیک‌ها ضروری است اما از طرف دیگر این اتصال قابلیت جایجایی و

* مسئول مقاله: دکتر حسن جلیلی

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مروری ساده برای جمع آوری اطلاعات، مقالاتی که دارای یکی از کلمات پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم، آمین‌های بیوژنیک و مقاومت به آنتی‌بیوتیک در فاصله سال‌های ۱۹۹۰ تا ۲۰۱۷ در پایگاه‌های Science Direct, Scopus, Pubmed و ISC بودند جستجو و بررسی شدند. از مجموع ۱۵۸ مقاله یافت شده در پایگاه‌های مختلف اطلاعاتی ۵۲ مقاله که مربوط به موانع و مشکلات محصولات پروبیوتیک در فرآیند تولید و اثرات سلامت بر انسان می‌شود، انتخاب گردیده و سایر مقالات که ارتباطی با موضوع این پژوهش نداشتند از مطالعه حذف شدند.

یافته‌ها

نگرانی‌های تغذیه‌ای و بالینی

عفونت‌های سیستماتیک و ابتلا به بیماری‌های مزمن: برخی گزارشات موردی بیانگر عفونت‌های ناشی از باکتری‌های پروبیوتیک در بیماران مصرف کننده پروبیوتیک می‌باشد. بیشترین گزارش‌ها حدود ۳۲ مورد در رابطه با عفونت‌های قارچی ناشی از حضور ساکارومایسس سرویزیه و ساکارومایسس بولاردی در بیماران مصرف کننده پروبیوتیک می‌باشد. حدود ۸ مورد باکتری‌ها در ارتباط با مصرف گونه‌های لاکتوباسیلوس گزارش شده است (۱۵). در سایر موارد پیامد ایجاد عفونت کشنده است، اما این کشندگی مرتبط با بیماری از پیش موجود بوده و مستقیماً ناشی از عفونت پروبیوتیکی نیست (۱۷ و ۱۶). طی ۱۰ سال اخیر، مقالات بسیاری در زمینه ارزیابی ایمنی لاکتوباسیلوس‌ها بر اساس استفاده آزمایشی به منظور تعیین قابلیت بیماریزا بودن این میکروارگانیسم‌ها منتشر شده است. ۱۳ گونه از جنس استریتوکوکوس‌ها در غذاهای تخمیری وجود دارد (۱۸) که به عنوان پاتوژن‌های فرصت طلب و درگیر در عفونت‌های انسانی از قبیل مننژیت، عفونت دریچه قلبی،

باکتری‌ها و خصوصاً عفونت دستگاه ادراری در نظر گرفته می‌شود (۱۹). اینتروکوکوس‌ها به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند. فاکتورهای دخیل در عفونت‌زایی اینتروکوکوس فکالیس شامل حضور فاکتورهای دارای خاصیت چسبندگی به سلول، تولید سایتولیزین (همولایزین)، وجود پروتئین سطحی Esp، سوپراکسیداز خارج سلولی یا متالوپروتئیناز حاوی روی (ژلاتیناز)، دارا بودن ترکیبات شبیه به پروتئین M و نیز قابلیت تجزیه لوسین است. این خصوصیات باعث ایجاد تردید در استفاده از اینتروکوکوس‌ها به عنوان پروبیوتیک گردیده است. خصوصیت نامطلوب دیگر در خصوص اینتروکوکوس‌ها دارا بودن ژن‌های قابل انتقال است که ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌هایی از قبیل ونکومایسین را کد می‌کند (۲۰ و ۱۹). بیفیدوباکترها دخالت در تشکیل پولیپ در انسان دارند که یکی از عوامل پیشبرنده سرطان در نظر گرفته می‌شود (۲۱).

مهمترین نگرانی در خصوص پروبیوتیک‌ها خطر مسمومیت است (۲۲ و ۱). مشخص شده که سرطان، دیابت و پیوند عضو (خصوصاً کبد) احتمال ایجاد عفونت با لاکتوباسیلوس را افزایش می‌دهد (۲۳). گزارش‌های مختلفی در خصوص مسمومیت‌های لاکتوباسیلوس‌ها و باکتری‌های پروبیوتیک موجود است (جدول ۱) (۱). Rautio و همکاران عفونت کبدی را در زن ۴۷ ساله و مبتلا به دیابت ملیتوس در اثر مصرف باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوزیس GG گزارش کردند (۲۴). در بررسی انجام شده توسط Gasser و همکاران در سال‌های ۱۹۳۸ تا ۱۹۹۳، ۵۶ مورد عفونت دریچه قلب گزارش شد که علت آن وجود باکتری‌های اسیدلاکتیک بود (۲۵).

در جدول ۲ لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکتری‌ها که عموماً در روده وجود دارد و نیز گونه‌های مرتبط با عفونت‌های انسانی آورده شده است (۱۹). بر اساس خصوصیات مواردی که تاکنون گزارش شده فهرستی از عوامل پرخطر و کم‌خطر برای عفونت‌های پروبیوتیک در ارائه گردیده است (جدول ۳) (۱).

جدول ۱. عفونت‌های باکتریایی مرتبط با مصرف پروبیوتیک در انسان (۱).

Study	Age	Risk factors	Probiotic	Method of identification	Form of sepsis
Rautio et al (24)	74 y	Diabetes mellitus	LGG	API 50 CH, PFGE of DNA restriction fragments	Liver abscess
Mackay et al (46)	67y	Mitral regurgitation, dental extraction	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , 3 10 ⁹ CFU/d	API 50 CH, pyrolysis mass spectrometry	Endocarditis
Kunz et al (47)	3mo	Prematurity, short gut syndrome-	LGG	No confirmatory typing	Bacteremia
	10wk	Prematurity, inflamed intestine, short gut syndrome	LGG	PFGE of DNA restriction fragments	Bacteremia
De Groote et al (48)	11 mo	Prematurity, gastrostomy, short-gut syndrome, CVC, parenteral nutrition, rotavirus diarrhea	LGG, 1/4 capsule/d	rRNA sequencing	Bacteremia
Land et al (49)	4 mo	Cardiac surgery, antibiotic diarrhea	LGG, 10 ¹⁰ CFU/d	Repetitive element sequence-based PCR DNA fingerprinting	Endocarditis
	6 y	Cerebral palsy, jejunostomy feeding, CVC, antibiotic associated diarrhea	LGG, 10 ¹⁰ CFU/d	Repetitive element sequence-based PCR DNA fingerprinting	Bacteremia
Richard et al (50)	47 y	Not stated	<i>Bacillus subtilis</i> , 8 10 ⁹ spores/d	Antibiotic susceptibility	Bacteremia
	25y	Not stated	<i>Bacillus subtilis</i> , 8 10 ⁹ spores/d	Antibiotic susceptibility	Bacteremia
	63 y	Neoplastic disease	<i>Bacillus subtilis</i> , 8 10 ⁹ spores/d	Antibiotic susceptibility	Bacteremia
	79 y	Not stated	<i>Bacillus subtilis</i> , 8 10 ⁹ spores/d	Antibiotic susceptibility	Bacteremia
Oggioni,etal(17,51)	73 y	Chronic lymphocytic leukemia	<i>B. subtilis</i> , 10 ⁹ spores/d	16S rRNA sequencing	Bacteremia

جدول ۲. *لاکتوباسیل‌ها* و *بیفیدوباکترهای* که عموماً در روده انسان وجود دارد. گونه‌هایی که زیر آن‌ها خط کشیده شده است در عفونت‌های بالینی و آنهایی که پررنگ شده‌اند در غذاهای تخمیری مشاهده شده است (۲۰).

<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>L. brevis</i>	<i>B. angulatum</i>
<i>L. buchneri</i>	<i>B. bifidum</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>
<i>L. delbrueckii</i>	<i>B. catenulatum</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>B. dentium</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. infantis</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. longum</i>
<i>L. paracasei</i>	<i>B. pseudocatenulatum</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>L. reuteri</i>	<i>E. faecium</i>
<i>L. rhamnosus</i>	
<i>L. ruminis</i>	
<i>L. salivarius</i>	

جدول ۳. عوامل خطر پیشنهاد شده برای عفونت پروبیوتیک (۱).

عوامل خطر	
1) Immune compromise, including a debilitated state or malignancy	Major
2) Premature infants	
1) CVC	Minor
2) Impaired intestinal epithelial barrier, eg, diarrheal illness, intestinal inflammation	
3) Administration of probiotic by jejunostomy	
4) Concomitant administration of broad spectrum antibiotics to which probiotic is resistant	
5) Probiotics with properties of high mucosal adhesion or known pathogenicity	
6) Cardiac valvular disease (<i>Lactobacillus</i> probiotics only)	

اکتسابی قرار دارد. مقاومت اکتسابی ناشی از موارد زیر است: ۱. تجمع جهش در DNA که منجر به مقاومت به آنتی‌بیوتیک می‌شود. ۲. کسب ژن‌های مقاومت از باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک. DNA خارجی را می‌توان از طریق کانژوگاسیون، انتقال از طریق ویروس یا تراریختگی کسب کرد. مقاومت به آنتی-بیوتیک به علت کسب DNA خارجی می‌تواند از طریق پلازمید یا ترانسپوزون به سایر گونه‌ها یا جنس‌های باکتریایی منتقل گردد (۲۷).

لاکتوباسیل‌ها به طور طبیعی مقاومت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان می‌دهند (۲۸). در اکثر موارد مقاومت به آنتی‌بیوتیک از نوع مقاومت قابل انتقال نیست. سویه‌های لاکتوباسیل با مقاومت آنتی‌بیوتیکی غیرقابل انتقال معمولاً نگرانی ایجاد نمی‌کنند. چندین سویه از لاکتوباسیل‌ها از قبیل لاکتوباسیلوس رامنوزیس و لاکتوباسیلوس کازئی به طور ذاتی به ونکومایسین مقاوم هستند (۳۰-۲۸). بسیاری از سویه‌های لاکتوباسیل‌ها که ذاتاً به ونکومایسین مقاوم هستند برای استفاده به عنوان پروبیوتیک بی‌خطر قلمداد گردیده‌اند (۳۱). مقاومت به آنتی‌بیوتیک به واسطه پلازمید به ندرت در میان لاکتوباسیل‌ها اتفاق می‌افتد (۳۳ و ۳۲). زیرا ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک می‌تواند بین باکتری‌های به لحاظ فیلوژنتیکی دور از هم انتقال یابد (۳۴).

اکثر بیفیدوباکترها به طور ذاتی مقاوم به نالیدیسیک اسید، نئومایسین، پلی-میکسین B، کانامایسین، جنتامایسین، استرپتومایسین و مترونیدازول هستند (۳۳). در مطالعات اولیه ونکومایسین اثر مهارکننده علیه بیفیدوباکترها داشت (۳۵). در

تحریک بیش از حد سیستم ایمنی: آزمایشات در موش نشان داد که میکروفلور روده‌ای برای تحریک سیستم ایمنی مهم است. حضور میکروفلور روده‌ای برای عملکردهای مختلف سیستم ایمنی از قبیل تولید آنتی‌بادی، ایجاد و دوام تولرانس دهانی به آنتی‌ژن‌های غذا و تشکیل مراکز زایا درون فولیکول‌های دهانی ضروری است. اثرات متضاد دستکاری میکروفلور روده‌ای خصوصاً در مورد نوزادان مطرح است که در آن تغییر طولانی‌مدت میکروفلور می‌تواند تغییراتی در پاسخ سیستم ایمنی ایجاد کند. گروه دومی که در معرض افزایش خطر تحریک سیستم ایمنی در اثر استفاده از پروبیوتیک هستند، زنان باردار می‌باشند. طی بارداری پاسخ سلول‌های T به سمت Th2 سوق می‌یابد که برای حفظ قابلیت بقای جنین ضروری است. زیرا سایتوکاین‌های Th1 باعث سقط جنین می‌شود (۱). گونه‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاسخ‌های سایتوکاین Th2 را در شرایط آزمایشگاهی سرکوب کرده و در برخی مطالعات انسانی موجب افزایش تولید سایتوکاین Th1 اینترفرون گاما می‌گردد (۱ و ۲۶). این اثرات می‌تواند موجبات سقط جنین را فراهم آورد. با این وجود در حال حاضر هیچ‌گونه شواهدی در این خصوص وجود نداشته و چنین خطری به صورت تئوری باقی مانده است.

انتقال ژن‌های مقاومت: مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها می‌تواند ذاتی یا اکتسابی باشد. مقاومت ذاتی خصوصیت طبیعی بوده و می‌تواند به عنوان خصوصیت گونه در نظر گرفته شود. این نوع مقاومت در اکثر موارد غیر قابل انتقال است و تقریباً در تمام اعضای یک گروه تاکسونومی موجود می‌باشد. در مقابل مقاومت ذاتی، مقاومت

محدودیت‌های استفاده از پروبیوتیک در صنعت: به منظور استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک، این سویه‌ها باید طی فرآیند تولید یا عمل آمدن محصول قابلیت تکثیر خود را حفظ کنند. افزودن باکتری‌های پروبیوتیک نباید باعث از دست رفتن کیفیت محصول گردد (۴۱). در زیر دو محدودیت اصلی در خصوص استفاده از پروبیوتیک‌ها در صنعت ذکر گردیده است.

عدم بقاء و پایداری: چالش اصلی مرتبط با کاربرد کشت‌های پروبیوتیک در ایجاد غذاهای فراسودمند، حفظ قابلیت بقای آنها طی فرآیند است. میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک باید به لحاظ تکنولوژیک برای استفاده در محصولات غذایی مناسب باشند. بطوری که این میکروارگانیسم‌ها بتوانند قابلیت بقاء و پایداری خود را در محصولات غذایی (در مقیاس صنعتی) و طی مصرف حفظ کنند (۴۲). در مطالعه مروری که توسط Evivie و همکاران در سال ۲۰۱۷ منتشر شد اثبات گردید بسیاری از باکتری‌های پروبیوتیک هنگام ذخیره سازی، در معرض قرارگیری در مقابل pH پایین و نیز شرایط اسیدی در معده از بین می‌روند (۴۳). همچنین در سال ۲۰۱۳ مشخص گردید زنده ماندن و بقای باکتری‌های پروبیوتیک اختصاصی سویه بوده و بنابراین روش‌های میکروانکپسولاسیون از قبیل تبخیر حلال به طوور موفقیت آمیزی برای حفاظت سلول‌های باکتری در مقابل آسیب حاصل از شرایط محیطی به کار می‌رود (۴۴). روش‌های خشک کردن انجمادی باعث نگرانی داری و پایداری طولانی مدت میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک می‌گردد (۴۵ و ۴۶).

تغییر طعم، عطر و مزه محصولات حاوی پروبیوتیک: کشت‌های پروبیوتیک معمولاً به طور قابل توجهی طعم، عطر و مزه محصولات را تغییر نمی‌دهند. نگرانی اصلی در ارتباط با پنی‌های حاوی بیفیدوباکتر است. زیرا این باکتری‌ها مقادیر زیادی اسید استیک و نیز اسیدلاکتیک از طریق مسیر شنت فروکتوز ۶ فسفات تولید می‌کنند. در مقادیر کم، اسید استیک تاثیر مثبتی بر روی عطر پنی‌های پروبیوتیک دارد. اما غلظت زیاد آن نامطلوب بوده و باعث از دست رفتن طعم و مزه پنی می‌شود. جدول ۴ مشکلات عمده مرتبط با تولید پنی‌های پروبیوتیک و راهکارهای مقابله با آن را نشان می‌دهد (۴۱).

حالی که مطالعات اخیر نشان داد که مقاومت به ونکومایسین خصوصیت عمومی تمام بیفیدوباکترها است (۳۳).

تولید متابولیت‌های سمی

تولید آمین‌های بیوژنیک: آمین‌های بیوژنیک (Biogenic amine=BA) بازهای آلی با وزن مولکولی کم و دارای ساختار هتروسیکلیک، آروماتیک یا آلیفاتیک بوده که از طریق دکربوکسیلاسیون آمینواسیدها یا آمیناسیون و ترانس‌آمیناسیون آلدئیدها و کتون‌ها تشکیل می‌شوند. از آنجاییکه بسیاری از باکتری‌های اسیدلاکتیک تولید BA می‌کنند، کشت‌های استارتر باکتری‌های اسیدلاکتیک باید فاقد آنزیم‌های دکربوکسیلاز باشد تا مانع تولید مقادیر زیاد BA در غذاهای تخمیری گردد (۳۶ و ۱۳). سایر BAها مانند پوترسین نیز دارای اثرات سمی هستند (۳۷ و ۳۸)، همچنین تربتامین و فینیل‌اتیل‌آمین به خاطر اثرات نامناسب‌شان، به عنوان آمین‌های نامطلوب در نظر گرفته می‌شوند (۳۹). به علاوه آمین‌های ثانویه می‌توانند با نیتريت موجود در غذاها میانکنش داده تا نیتروزآمین‌های کارسینوژن را تولید نمایند (۳۶). محصولات گوشتی فراوری شده یکی از غذاهایی است که به دلیل مصرف مواد خام بی‌کیفیت، آلودگی میکروبی و شرایط نامناسب طی فرآیند می‌تواند دارای آمین‌های بیوژنیک باشد.

تولید D-لاکتیک اسید: بسته به میزبان و سویه مصرفی فعالیت‌های متابولیکی مضر از قبیل القای اسیدوز از طریق تولید D-لاکتیک اسید یا تجزیه نمک‌های صفراوی می‌تواند اتفاق بیفتد. چنین فرآیندهایی به علت فعالیت فلورهای داخلی یا خارجی در معده خصوصاً کلون صورت می‌گیرد (۱۴). متابولیسم انسان ایزومر L-لاکتیک اسید را تولید می‌کند. یکی از ویژگی‌های معمول در خصوص بیماران مبتلا به اسیدوز ناشی از D-لاکتات، در معرض قرارگیری بیش از حد کربوهیدرات با باکتری‌های تولیدکننده D-لاکتات است. در مورد این بیماران کلونیزاسیون مجدد با باکتری‌های غیرمولد D-لاکتات ضروری است. در مجموع، مصرف باکتری‌های مولد D-لاکتات باید با احتیاط بیشتری به خصوص برای بیماران در معرض خطر اسیدوز متابولیک مانند افرادی که جراحی روده شده‌اند و افراد مبتلا به "سندرم معده تحریک‌پذیر" و همچنین نوزادان صورت پذیرد (۴۰).

جدول ۴. موانع تکنولوژیک در ارتباط با تولید پنی‌های پروبیوتیک در صنعت و راهکارهای مقابله با آن (۴۲).

Stage	Problem	Possible solutions
Addition of probiotic inoculum	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Interactions of the probiotic and starter may cause negative impact ✓ Loss of viable probiotic cells in the whey during draining. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Preliminary tests to choose the most suitable probiotic and starter combination; ✓ Use of strains from the same supplier; ✓ Check different moments of addition of the probiotic inoculum (observing the impact on the final cost of the product and probiotic survival).
Salting	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Probiotic bacteria are sensitive to high salt concentrations 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Microencapsulation; ✓ Suitable strain selection (information from the strain supplier).
Packaging	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Probiotic bacteria are sensitive to oxygen. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Choose suitable packaging system: film plastic with low permeability to oxygen, vacuum packaging or active packaging; ✓ Cell incubation under sub-lethal conditions to develop salt resistance ✓ Suitable strain selection (information with the strain supplier).
Ripening	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Survival of probiotic bacteria through the cheese ripening period. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Microencapsulation; ✓ Optimize ripening conditions through preliminary tests.
Storage conditions	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Inadequate storage conditions affect the probiotic survival. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Strict control of storage temperature.

بحث و نتیجه گیری

با توجه به موارد بیان شده استفاده از پروبیوتیک ها تنها در افراد سالم کاملاً بی خطر است و در کودکان، سالمندان، زنان باردار و بیماران به دلیل خطر ایجاد عفونت باید با احتیاط مصرف گردد. بسیاری از مطالعات صورت گرفته در خصوص عفونت پروبیوتیک بیانگر آن است که اشخاصی با بیماری از قبل موجود روده‌ای از قبیل اسهال روده کوچک، مستعد ابتلا به عفونت هستند. این موضوع می‌تواند شاخص عمومی برای استفاده از پروبیوتیک‌ها باشد. حضور کاترهای رگی نیز از دیگر عوامل ایجاد عفونت‌های پروبیوتیکی می‌باشد (۵۲).

عفونت کودکان نابالغ ظاهراً در این گزارشات زیاد به چشم می‌خورد. زیرا دارای سیستم ایمنی تضعیف شده هستند. حساسیت زیاد کودکان نابالغ و سیستم ایمنی تضعیف شده آنها با مطالعات حیوانی تایید شده است (۵۳) افراد دارای سیستم ایمنی تضعیف شده در معرض ابتلا به عفونت‌های ناشی از لاکتوباسیل‌ها قرار می‌گیرند اما هیچ گزارشی در خصوص ایجاد عفونت در اثر استفاده از بیفیدوباکترها در دست نیست و مطالعات حیوانی قابلیت بیماری‌زایی پایین این گروه از پروبیوتیک‌ها را نشان داده است. بنابراین بیفیدوباکترها از نظر ایمنی بهتر از سایر پروبیوتیک‌ها هستند (۵۳). نقش اساسی میکروفلور روده‌ای در تنظیم سیستم ایمنی نشان می‌دهد که دستکاری آن جهت تغییر میکروفلور می‌تواند اثرات زیادی در تعدیل سیستم ایمنی داشته باشد. باکتری‌های پروبیوتیک مولد تولید آمین‌های بیوژنیک هستند. حضور مقادیر زیاد آمین‌های بیوژنیک در غذاها خطر مسمومیت را به دنبال خواهد داشت. یکی دیگر از مواد مضر تولیدی توسط گونه‌های پروبیوتیک تولید D-لاکتیک اسید است. اگر D-لاکتات بیش از حد تولید گردد ایجاد اسیدوز متابولیک می‌کند (۳۸). از سوی دیگر پایداری پروبیوتیک‌ها برای تضمین کارآمدی و القای اثرات مفید آن بر روی تشکیل محصول بسیار ضروری است. بنابراین کشت‌های پروبیوتیک باید بتوانند خواص خود را بعد از فرآیند حفظ کنند. پایداری پروبیوتیک‌ها تحت تاثیر

فاکتورهای مختلفی از قبیل نوع گونه، فعالیت آب، دما، غلظت یون هیدروژن (pH)، فشار اسمزی و اکسیژن قرار می‌گیرد (۵۴). Sedighi و همکاران نشان داده‌اند که افزودن ریز جلبک های کلرلا ولگاریس و اسپیرولینا به دلیل داشتن مواد مغذی، زنده ماننی میکروارگانیسم های پروبیوتیک را طی تولید و ذخیره‌سازی محصولات لبنی تخمیری افزایش می‌دهد (۵۵). باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده در محصولات غذایی از قبیل سویه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم متابولیسم میکروآئروفیل یا بی‌هوازی دارند. در نتیجه وجود اکسیژن تهدیدی برای بقای آنها به شمار می‌رود. به طور کلی بیفیدوباکتریوم‌ها به دلیل اینکه شدیداً بی‌هوازی اند، نسبت به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به اکسیژن حساس‌تر هستند. سایر خصوصیات شامل میزان اسیدی بودن محیط، قابلیت رشد در محیط حاوی شیر، زمان تخمیر، سطح اکسیژن در محصولات، نفوذ اکسیژن از طریق بسته‌بندی، حساسیت به مواد ضد میکروبی تولیدشده توسط باکتری‌ها و خطر آلودگی در طی آماده‌سازی ماده تلقیح نیز بر روی رشد و بقای میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک مؤثر است (۴۱ و ۵۶).

از نتایج بدست آمده می‌توان اینگونه برداشت نمود که سویه های بیفیدوباکتریوم از لحاظ انتقال ژن‌های مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها ایمن‌تر از بقیه‌ی میکروارگانیسم‌ها می‌باشند و با بهینه کردن دیگر پارامترهای ذکر شده در این مطالعه می‌توان انتظار کمترین بیماری‌زایی و تولید مواد نامطلوب را از آنها داشت. پیشنهاد می‌شود برای استفاده از پروبیوتیک‌ها در صورت وجود یک عامل پرخطر یا چندین عامل کم‌خطر احتیاط به عمل آید.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از گروه رویال تکنولوژی که در تهیه این مقاله کمک شایانی کردند تقدیر و تشکر می‌گردد.

Obstacles and Challenges in the Use of Probiotics

S. Sadeghi (MSc)¹, F. Jaber Ansari (MSc)², H. Jalili (PhD)^{3*}

1. Department of Life Science Engineering, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, I.R.Iran

2. Department of Medical Nanotechnology, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

3. Department of Life Science Engineering, Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Tehran, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(6); June 2018; PP: 53-61

Received: Nov 26th 2017, Revised: Mar 6th 2018, Accepted: Mar 26th 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Probiotics are living microorganisms whose adequate intake has shown healthful effects in the host body and have been suggested to have beneficial effects in the prevention and treatment of many diseases. This study was conducted to investigate the obstacles and challenges of probiotic products in the production process and their effects on human health.

METHODS: For data collection in this review article, articles containing one of the terms “probiotic”, “lactobacillus”, “bifidobacterium”, “biogenic amine” and “antibiotic resistance” from 1990 to 2017 were searched and reviewed at Thomson Reuters, Pubmed, Scopus, Science Direct and Islamic World Science Citation Center (ISC).

FINDING: Research has shown that systematic infections and chronic diseases, over-stimulation of the immune system, transfer of antibiotic resistance genes, production of biogenic amines and D-lactic acidosis, lack of survival and sustainability of microorganisms and ultimately the change in the taste and flavor of probiotic products are among the obstacles and challenges facing the production of probiotics. The use of bifidobacterium to transfer antibiotic resistance genes is safer than other microorganisms for the production of probiotic products.

CONCLUSION: Based on the results of this study, probiotics are only safe in healthy people, although they are very useful for human health, but their use in children, pregnant women and people with a weakened immune system causes infection.

KEY WORDS: *Probiotics, Lactobacillus, Bifidobacterium, Biogenic Amine, Antibiotic resistance.*

Please cite this article as follows:

Sadeghi S, Jaber Ansari F, Jalili H. Obstacles and Challenges in the Use of Probiotics. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(6):53-61.

*Corresponding Author: H. Jalili (PhD)

Address: Faculty of New Sciences and Technologies, University of Tehran, Kargar Shomali St., Tehran, I.R.Iran

Tel: +98 21 86093268

E-mail: hjalili@ut.ac.ir

References

- 1.Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML. Probiotic use in clinical practice: what are the risks. *Am J Clin Nutr.* 2006; 83(6): 1256-64.
- 2.Jalili H, Razavi H, Safari M. Effect of whey permeate and yeast extract on metabolic activity of bifidobacterium animalis subsp. lactis bb 12 cultivated in skim milk based media. *Iran J Biotechnol.* 2010; 8(1): 38-45.
- 3.Jalili H, Razavi H, Safari M, Amrane A. Kinetic analysis and effect of culture medium and coating materials during free and immobilized cell cultures of Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb 12. *Electron J Biotechnol.* 2010;13(3): 2-3.
- 4.Jalili H, Razavi SH, Safari M, Malcata FX. Enhancement of growth rate and β -galactosidase activity, and variation in organic acid profile of Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb 12. *Enzyme Microb Technol.* 2009; 45(6-7): 469-76.
- 5.Rafraf M, Nabavi S, Somi MH, Homayouni-Rad A, Asghari-Jafarabadi Rad M. The Effect of Probiotic and Conventional Yogurt Consumptions on Anthropometric Parameters in Individuals with Non Alcoholic Fatty Liver Disease. *J Babol Univ Med Sci.* 2014; 16(9): 55-62 .[In Persian]
- 6.Akbarian-rad Z, Haghshenas mojaveri M, Zahedpasha Y, Ahmadpour-kacho M, Hajian tileki K, Taghipour Y. The Effect of Probiotic Lactobacillus Reuteri on Reducing the Period of Restlessness in Infants with Colic. *J Babol Univ Medi Sci.* 2015; 17(5):7-11.
- 7.Ghasempour M, Sefidgar A, Gharekhani S, Shirkhani L, Moghadamnia A. Comparison of the Effect of Probiotic Yogurt-Drink Kefir, % 0.2 Chlorhexidine and % 0.2 Sodium Fluoride Mouthwashes on Streptococcus Mutans: An In vitro Study. *J Babol Univ Med Sci.* 2013; 15(6): 12-18.[In Persian]
- 8.Kaila M, Isolauri E, Saxelin M, Arvilommi H, Vesikari T. Viable versus inactivated lactobacillus strain GG in acute rotavirus diarrhoea. *Arch Dis Child.* 1995; 72(1): 51-3.
- 9.Theunissen J, Britz T, Torriani S, Witthuhn R. Identification of probiotic microorganisms in South African products using PCR-based DGGE analysis. *Int J Food Microbiol.* 2005; 98(1):11-21.
- 10.Gezginc Y, Topcal F, Comertpay S, Akyol I. Quantitative analysis of the lactic acid and acetaldehyde produced by Streptococcus thermophilus and Lactobacillus bulgaricus strains isolated from traditional Turkish yogurts using HPLC. *J Dairy Sci.* 2015; 98(3): 1426-34.
- 11.Kaur IP, Chopra K, Saini A. Probiotics: potential pharmaceutical applications. *Eur J Pharm Sci.* 2002; 15(1): 1-9.
- 12.Apostolou E, Kirjavainen PV, Saxelin M, Rautelin H, Valtonen V, Salminen SJ, et al. Good adhesion properties of probiotics: a potential risk for bacteremia? *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2001; 31(1): 35-39.
- 13.Ten Brink B, Damink C, Joosten H, Huis in 't Veld JH. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int J Food Microbiol.* 1990; 11(1): 73-84.
- 14.O'Brien J, Crittenden R, Ouwehand AC, Salminen S. Safety evaluation of probiotics. *Trends Food Sci Technol.* 1999; 10(12):418-24.
- 15.Doron S, Snyderman DR. Risk and safety of probiotics. *Clin Infect Dis.* 2015; 60(suppl_2): S129-34.
- 16.Lherm T, Monet C, Nougère B, Soulier M, Larbi D, Le Gall C, et al. Seven cases of fungemia with Saccharomyces boulardii in critically ill patients. *Intens Care Med.* 2002; 28(6): 797-801.
- 17.Oggioni MR, Pozzi G, Valensin PE, Galieni P and Bigazzi C. Recurrent septicemia in an immunocompromised patient due to probiotic strains of Bacillus subtilis. *J Clin Microbiol.* 1998;36(1): 325-326.
- 18.Franz CM, Holzapel WH, Stiles ME. Enterococci at the crossroads of food safety. *Int J Food Microbiol.* 1999;47(1):1-24.
- 19.Hammes WP, Hertel C. Research approaches for pre-and probiotics: challenges and outlook. *Food Res Int.* 2002;35(2-3):165-70.
- 20.Murray BE. Diversity among multidrug-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis.* 1998; 4(1): 37-47.
- 21.Moore WE, Moore LH. Intestinal floras of populations that have a high risk of colon cancer. *Appl Environ Microbiol.* 1995;61(9):3202-7.
- 22.Borriello S, Hammes W, Holzapel W, Marteau P, Schrezenmeir J, Vaara M, et al. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin Infect Dis.* 2003;36(6): 775-80.
- 23.Cannon J, Lee T, Bolanos J, Danziger L. Pathogenic relevance of Lactobacillus: a retrospective review of over 200 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2005;24(1):31-40.

24. Rautio M, Jousimies-Somer H, Kauma H, Pietarinen I, Saxelin M, Tynkkynen S, et al. Liver abscess due to a *Lactobacillus rhamnosus* strain indistinguishable from *L. rhamnosus* strain GG. *Clin Infect Dis*. 1999; 28(5): 1159-60.
25. Gasser F. Safety of lactic acid bacteria and their occurrence in human clinical infections [opportunistic bacteria, various infections]. *Bulletin de l'Institut Pasteur (France)*. 1994.
26. Pochard P, Gosset P, Grangette C, Andre C, Tonnel AB, Pestel J, et al. Lactic acid bacteria inhibit TH2 cytokine production by mononuclear cells from allergic patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2002; 110(4): 617-23.
27. Vankerckhoven V, Huys G, Vancanneyt M, Vael C, Klare I, Romond MB, et al. Biosafety assessment of probiotics used for human consumption: recommendations from the EU-PROSAFE project. *Trends Food Sci Technol*. 2008; 19(2): 102-14.
28. Nicas T, Cole C, Preston D, Schabel A, Nagarajan R. Activity of glycopeptides against vancomycin-resistant gram-positive bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 1989; 33(9): 1477-81.
29. Klare I, Konstabel C, Werner G, Huys G, Vankerckhoven V, Kahlmeter G, et al. Antimicrobial susceptibilities of *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Lactococcus* human isolates and cultures intended for probiotic or nutritional use. *J Antimicrob Chemother*. 2007; 59(5): 900-12.
30. Swenson J, Facklam R, Thornsberrry C. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus*, and *Lactobacillus* species. *Antimicrob Agents Chemother*. 1990; 34(4): 543-49.
31. Billot-Klein D, Gutmann L, Sable S, Guittet E, Van Heijenoort J. Modification of peptidoglycan precursors is a common feature of the low-level vancomycin-resistant VANB-type *Enterococcus* D366 and of the naturally glycopeptide-resistant species *Lactobacillus casei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*, and *Enterococcus gallinarum*. *J Bacteriol*. 1994; 176(8): 2398-405.
32. Egervärn M. Antibiotic Resistance in *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus plantarum*. [Doctoral Thesis]. Swedish University of Agricultural Sciences; 2009; 30.
33. Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Mättö J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotechnol*. 2000; 84(3): 197-215.
34. Courvalin P. Transfer of antibiotic resistance genes between gram-positive and gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994; 38(7): 1447-51.
35. Moubareck C, Gavini F, Vaugien L, Butel M, Doucet-Populaire F. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria. *J Antimicrob Chemother*. 2005; 55(1): 38-44.
36. Muñoz-Atienza E, Landeta G, de las Rivas B, Gómez-Sala B, Muñoz R, Hernández PE, Cintas LM and Herranz C. Phenotypic and genetic evaluations of biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from fish and fish products. *Int J Food Microbiol*. 2011; 146(2): 212-16.
37. Halász A, Baráth Á, Simon-Sarkadi L and Holzapfel W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci Technol*. 1994; 5(2):42-9.
38. Straub BW, Kicherer M, Schilcher SM, Hammes WP. The formation of biogenic amines by fermentation organisms. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. 1995; 201(1): 79-82.
39. Ammor MS, Mayo B. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Sci*. 2007; 76(1): 138-46.
40. Stadnik J, Dolatowski ZJ. Biogenic amines content during extended ageing of dry-cured pork loins inoculated with probiotics. *Meat Sci*. 2012; 91(3): 374-7.
41. da Cruz AG, Burity FCA, de Souza CHB, Faria JAF, Saad SMI. Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects. *Trends Food Sci Technol*. 2009; 20(8):344-54.
42. Mattila-Sandholm T, Myllärinen P, Crittenden R, Mogensen G, Fondén R, Saarela M. Technological challenges for future probiotic foods. *Int Dairy J*. 2002; 12(2): 173-82.
43. Evvie SE, Huo G-C, Igene JO, Bian X. Some current applications, limitations and future perspectives of lactic acid bacteria as probiotics. *Food Nut Res*. 2017; 61(1): 1318034.
44. Evvie S. Preliminary studies on pharmaceutical microencapsulation for synbiotic application. *J Appl Nat Sci*. 2013; 5(2): 488-96.
45. Nakai M, Okahashi N, Ohta H, Koga T. Saliva-binding region of *Streptococcus mutans* surface protein antigen. *Infect Immun*. 1993; 61(10): 4344-9.

46. Mackay AD, Taylor MB, Kibbler CC, Hamilton-Miller JM. Lactobacillus endocarditis caused by a probiotic organism. *Clin Microbiol Infect*. 1999; 5(5): 290-2.
47. Kunz AN, Noel JM, Fairchok MP. Two cases of Lactobacillus bacteremia during probiotic treatment of short gut syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004; 38(4): 457-8.
48. De Groote MA, Frank DN, Dowell E, Glode MP, Pace NR. Lactobacillus rhamnosus GG bacteremia associated with probiotic use in a child with short gut syndrome. *Pediatr Infect Dis J*. 2005; 24(3): 278-80.
49. Land MH, Rouster-Stevens K, Woods CR, Cannon ML, Cnota J, Shetty AK. Lactobacillus sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics*. 2005; 115(1): 178-81.
50. Richard V, Van Der Auwera P, Snoeck R, Daneau D, Meunier F. Nosocomial bacteremia caused by Bacillus species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1988; 7(6):783-5.
51. Spinosa MR. The trouble in tracing opportunistic pathogens: cholangitis due to Bacillus in a French hospital caused by a strain related to an Italian probiotic? *Microb Ecol Health Dis*. 2000; 12(2): 99-101.
52. Hennequin C, Kauffmann-Lacroix C, Jobert A, Viard J, Ricour C, Jacquemin J, et al. Possible role of catheters in Saccharomyces boulardii fungemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2000; 19(1): 16-20.
53. Wagner RD, Warner T, Roberts L, Farmer J, Balish E. Colonization of congenitally immunodeficient mice with probiotic bacteria. *Infect Immun*. 1997; 65(8): 3345-51.
54. Fonseca F, Béal C, Corrieu G. Operating conditions that affect the resistance of lactic acid bacteria to freezing and frozen storage. *Cryobiology*. 2001; 43(3): 189-98.
55. Sedighi M, Jalili H, Ranaei-Siadat SO, Amrane A. Potential health effects of enzymatic protein hydrolysates from Chlorella vulgaris. *Appl Food Biotechnol*. 2016; 3(3):160-9.
56. Kosin B, Rakshit SK. Microbial and processing criteria for production of probiotics: a review. *Food Technol Biotechnol*. 2006; 44(3): 371-9.