مطالعه اثر پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی طیور بر مخاطرات میکروبی گوشت مرغ

افشین جوادی[1*]، حمید میرزایی[1]، عیسی ابراهیمی[2]

۱. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
۲. دانش آموخته دامپزشکی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: *Afshinjavadi @ yahoo.com*

(دریافت مقاله: ۸۷/۹/۸، پذیرش نهایی: ۸۸/۶/۱)

چکیده

پروبیوتیک‌ها فرآورده‌هایی از سلول‌های میکروبی هستند که اثر مفید روی سلامت و آسایش انسان دارند. براساس مطالعات متعدد، خواص بسیار با ارزشی از جمله اثرات ضد جهش‌زایی و ضد سرطان‌زایی و تقویت ایمنی بدن و مقاومت در مقابل پاتوژن‌های روده‌ای و ... را به پروبیوتیک‌ها نسبت داده‌اند. لذا هدف این مطالعه تعیین اثر استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی طیور گوشتی بر مخاطرات میکروبی در گوشت مرغ می‌باشد. برای این منظور دو گروه ٤٠ تایی تیمار و شاهد از جوجه‌های گوشتی انتخاب و در کل دوره ۵۵ روزه پروبیوتیک خوراکی در شرایط یکسان به گروه تیمار داده شد و سپس هر دو گروه در کشتارگاه ذبح و از هر لاشه به میزان ۱۰۰ گرم نمونه پوست و گوشت سینه گرفته و در شرایط استریل به آزمایشگاه مواد غذایی دانشکده دامپزشکی انتقال و مطابق روش‌های استاندارد ایران مورد بررسی شمارش تام میکروبی، شمارش استافیلوکوکوس اورئوس، شمارش استرپتوکوک‌های مدفوعی، شمارش کلوستریدیوم پرفرینجنس، شمارش کلی‌فرم، جستجوی سالمونلا و جستجوی *اشریشیاکولای* قرار گرفته و نتایج با آزمون آماری ***t*-Test مستقل و مربع کای آنالیز گردید. مقایسهٔ میانگین‌های شمارش تام میکروبی، کلی‌فرمی و استرپتوکوک مدفوعی و استافیلوکوکوس اورئوس گوشت، در دو گروه شاهد و تیمار با آزمون آماری ***t*-Test** مستقل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۰۵$). همچنین فراوانی وجود *اشریشیاکولای* در گروه تیمار کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان می‌داد ($p<۰/۰۵$)، در صورتی‌که این کاهش در خصوص سالمونلا و کلستریدیوم معنی‌دار نبود. به‌نظر می‌رسد مصرف خوراکی پروبیوتیک‌ها بر کاهش باکتری‌های بیماریزای با منشأ روده‌ای در گوشت مؤثر می‌باشد. حال چنانچه فراوانی و بار آلودگی با این اجرام در مواد غذایی اعم از گوشت مرغ کاسته شود گام مؤثری در جهت کاهش ابتلا به مسمومیت‌های غذایی، بهبود کیفیت بهداشتی و ماندگاری گوشت طیور برداشته شده است.**

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۸۸، دوره ۳، شماره ۱، ۳۸۲-۳۷۷.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، مخاطرات، گوشت،مرغ

مقدمه

واژه پروبیوتیک به معنای "برای زندگی" یک کلمه یونانی می‌باشد و بنا به تعریف، پروبیوتیک‌ها را فرآورده‌هایی از سلول‌های میکروبی یا اجزایی از سلول‌های میکروبی نامیده‌اند که اثر مفیدی روی سلامت و آسایش انسان دارند (۸ و ١٤).

اوگاوا و همکارانش در سال ۲۰۰۲ با مطالعاتی که روی حیوانات انجام دادند اثرات مفید *پروبیوتیک*‌ها را در جلوگیری از بروز اثرات پاتوژن‌هایی هم‌چون سالمونلا متذکر شدند. هیلتون و همکارانش در سال ۱۹۹۷ اثرات مفید پروبیوتیک را بر

عارضه اسهال مسافرتی بیان نمودند. همچنین بومبا و همکارانش به سال ۱۹۹٦ با مطالعه‌ای اثر مهاری *لاکتوباسیلوس کازئی* را بر اتصال و چسبندگی *اشریشیاکولای* $O_{101}:K_{99}$ به مخاط روده‌ای بره‌های عاری از میکروب مورد آزمایش قرار دادند (۱۱و۱٦و۱۹).

مواردی از اثرات بالقوه اثبات شده میکروارگانیزم‌های پروبیوتیک شامل کمک به هضم لاکتوز در روده، اثر مهاری سرطان قولون ،تقویت سیستم ایمنی، تحریک رشد میکروفلور روده باریک، پیشگیری از واکنش‌های ازدیاد حساسیت،...و در نهایت مقاومت در برابر رشد پاتوژن‌ها در محیط روده می‌باشد (۱۲، ۱۸، ۲۰ و ۲۲).

Huynh و همکاران (۲۰۰٤) کاربرد وسیع پروبیوتیک‌ها به‌عنوان مکمل غذایی در غذای انسان و حیوانات به ویژه اسپوردارهایی نظیر باسیلوس‌ها را در صنعت مرغداری و شیلات توضیح و استفاده از آن‌ها را برای جلوگیری از گاستروآنتریت و کاهش فعالیت پاتوژن‌های روده‌ای توصیه نمودند. این عملکرد را باسیلوس‌ها با تولید مواد آنتی‌میکروبیالی در روده علاوه بر رقابت در رشد انجام می‌دهند (۱۷).

Anadon و همکاران (۲۰۰٦) مطرح نمودند که اتحادیه اروپا استفاده از پروبیوتیک‌ها را به عنوان افزودنی غذایی در طیور برای مقاصد بهداشتی و ایمنی تأکید کرده است. تحقیقات آن‌ها نشان داد که پروبیوتیک‌ها سبب کاهش میزان مرگ و میر، افزایش وزن و تخمگذاری در طیور و افزایش رشد و باروری در بوقلمون و افزایش شیرواری و رشد در نشخوارکنندگان می‌گردد. هم‌چنین عنوان نمودند که مصرف پروبیوتیک‌ها تا مقادیر ۱۰ برابر طبیعی مشکلی در مصرف کننده ایجاد نمی‌کند (۱۰).

سویه *انتروکوکوس فیسیوم* (*Entrococcus feacium*) جدا شده از چینه‌دان جوجه، توانایی تولید باکتریوسین و عمل بر ضد بیماریزاهای طیور نظیر *سالمونلاپلورروم* (*Salmonella pullrum*) - *اینترکوکوس هیره* (*Entrococcus hirae*) و *لیستریا مونوسیتوژن* (*Listeria monocytogenes*) را دارد. همچنین پروتئین‌های لایه S *لاکتوباسیلوس کریسپاتوس* (*Lactobacillus cryspatus*) سویه *zjoo1* مسئول رقابت در مقابل *اشرشیاکولای* $0_{157}:H_7$ و *سالمونلا تیفی موریوم* می‌باشد (۱۵).

در این راستا، اثر استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی طیور بر مخاطرات میکروبی گوشت مرغ هدف این مطالعه می‌باشد.

مواد و روش‌کار

جامعه تحت مطالعه شامل جوجه‌های گوشتی در طی یک دوره پرورشی (۵۵ روز) می‌باشد که از آنها به‌طور تصادفی دو گروه چهل‌تایی در قالب گروه شاهد و گروه تیمار انتخاب شد. به گروه تیمار پروبیوتیک خوراکی (پروتکسین) حاوی ۲×۱۰^{۹} میکروارگانیزم در گرم، شامل ۹ سویه (*استرپتوکوکوس فاسیوم* (*Streptococcus feacium*)، *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* (*Streptococcus termophilus*)، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (*Lactobacillus plantarum*)، *لاکتوباسیلوس جانسونی* (*Lactobacillus johnsonii*)، *لاکتوباسیلوس بولگاریوس* (*Lactobacillus bulgaricus*)، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (*Lactobacillus acidophillus*)، *بیفیدوباکترویوم بیفیدوم* (*Bifidobacterium bifidum*)، *آسپرژیلوس اروزای* (*Aspergillus ourozai*)، *کاندیدا پنتولوپسی* (*Candida pentolopsy*) خورانده شد.

مصرف پروتکسین از همان روز نخست پرورش جوجه‌ها آغاز شد به طوری که در ۷ روز نخست، یک گرم در هر لیتر آب و بعد از یک هفته (شروع دوره آغازین) به ازای هر تن خوراک ۱۵۰ گرم و در دوره رشد به ازای هر تن خوراک ۱۰۰ گرم و بعد در دوره پایانی به ازای هر تن خوراک ۵۰ گرم پروتکسین به صورت دستی مخلوط و در اختیار جوجه‌ها قرار داده می‌شد. پس از اتمام دوره پرورشی و کشتار آن‌ها در کشتارگاه، از ناحیه سینه هر مرغ حدود ۱۰۰ گرم پوست و گوشت برداشته و برای کشت میکروبی به آزمایشگاه مواد غذایی دانشکده دامپزشکی

دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز ارسال گردید. درآزمایشگاه، شمارش تام میکروبی، شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس*، شمارش استرپتوکوک‌های مدفوعی، شمارش *کلوستریدیوم پرفرینجنس*، شمارش کلی‌فرم، جستجوی سالمونلا، جستجوی *اشریشیا کولای* مطابق روش استاندارد ایران به شماره‌های ۳۵۶، ۴۳۷، ۱۱۹۴، ۱۸۱۰، ۲۱۹۷، ۲۱۹۸ و ۲۹۴۶ انجام گرفت (۱، ۲، ۳، ٤، ٥، ٦ و ۷).

برای مقایسه داده‌های کمی در دو گروه از t-Test مستقل و برای مقایسه داده‌های کیفی از آزمون Chi-square استفاده گردید.

نتایج

لگاریتم میانگین شمارش تام میکروبی، *استافیلوکوکوس اورئوس*، استرپتوکوک‌های مدفوعی، کلی‌فرمی و *کلستریدیوم پرفرینجنس* گوشت در دو گروه شاهد و تیمار به‌طور مجزا محاسبه گردیده و در هر مورد انحراف معیار و خطای استاندارد نیز تعیین گردید (جدول۱). با عنایت به این‌که در برخی نمونه‌ها کلستریدیوم پرفرینجنس جدا نگردید لذا فراوانی وجود و یا عدم وجود این جرم در نمونه‌ها به همراه سالمونلا و *ای کولای* در دو گروه تیمار و شاهد محاسبه گردید (جدول۲).

جدول ۱- میانگین، انحراف معیار و خطای استاندارد لگاریتم شمارش میکروبی گوشت طیور در گروه شاهد و تیمار

گروه‌ها		تعداد	میانگین log cfu/g	انحراف معیار	خطای استاندارد
شمارش تام میکروبی	تیمار	٤٠	٤/٥٥١٤*	۰/۸۰٦۷٥	۰/۱۲۷٥٦
	شاهد	٤٠	٥/٥۷۸۹	۰/۹٥۰۳٥	۰/۱٥۰۲٦
شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس*	تیمار	٤٠	٤/٥٥٥۰*	۱/۱۱۲٤۷	۰/۱۷٥۹۰
	شاهد	٤٠	٥/۰۳٦٥	۰/۷۲۸۰۱	۰/۱۱٥۱۱
شمارش استرپتوکوک‌های مدفوعی	تیمار	٤٠	۳/۲٤۱٥*	۰/٤٥۸٥۰	۰/۰۷۲٥۲
	شاهد	٤٠	٤/۹۰٦٥	۰/٥٦۲۳۰	۰/۰۸۸۹۱
شمارش کلی فرمی	تیمار	٤٠	۲/۷۷٤٦*	۰/٦۷٥۰۳	۰/۱۰٦۷۳
	شاهد	٤٠	٥/۳۰۱٤	۰/۹۸۲۸۱	۰/۱٥٥٤۰
شمارش *کلستریدیوم پرفرینجنس*	تیمار	۱۲	۱/۳٤۲۷	۰/۳۱٥۱٥	۰/۰۹۰۹۸
	شاهد	۱٥	۱/۲۰۷۱	۰/۲۳۱٦۲	۰/۰٥۹۸۱

*تفاوت بین دو گروه گروه معنی‌دار

جدول ۲- فراوانی نسبی سالمونلا، *اشریشیا کولای* و *کلستریدیوم پرفرینجنس* گوشت طیور در گروه‌های شاهد و تیمار

گروه‌ها		تعداد	تیمار	شاهد	*p*-value
سالمونلا	مثبت	۴۰	۵	۷	۰/۶۳۱
	منفی	۴۰	۳۵	۳۳	
ای کولای	مثبت	۴۰	۲۵	۴۰	۰/۰۰۰
	منفی	۴۰	۱۵	۰	
کلستریدیوم	مثبت	۴۰	۱۲	۱۵	۰/۳۱۸
	منفی	۴۰	۲۸	۲۵	

مقایسهٔ میانگین‌های شمارش تام میکروبی، کلی‌فرمی و استرپتوکوک مدفوعی و *استافیلوکوکوس اورئوس* گوشت، در دو گروه شاهد و تیمار با آزمون آماری *t*-Test مستقل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۰۵$) ولی این مقایسه در خصوص *کلستریدیوم پرفرینجنس* کاهش معنی‌داری نشان نداد. همچنین فراوانی وجود *ای کولای* در گروه تیمار کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p<۰/۰۵$) در صورتی‌که این کاهش در خصوص سالمونلا و کلستریدیوم معنی‌دار نبود.

بحث و نتیجه‌گیری

میزان آلودگی میکروبی اولیه گوشت در دامنه cfu/ g $۱۰^{۴}$ – $۱۰^{۲}$ متغیر است که ۱۰ درصد از این جمعیت میکروبی ممکن است در دماهای پایین قادر به رشد باشند و درصد کمتری سبب فساد گوشت شوند. در گوشت تازه یا خام، هوا، خاک، پوست، مو، پشم و دستگاه گوارش دام، منابع اصلی آلوده کننده لاشه در هنگام ذبح و پس از آن به شمار می‌روند. در مکان عرضه گوشت، علاوه بر این موارد، تماس کارگران با گوشت، دستگاه‌های برش و ظروف از جمله عوامل مهم آلوده کننده گوشت محسوب می‌شوند (۱۳).

Aksu و همکاران در سال ۲۰۰۵ گزارش نمودند که مصرف خوراکی پروبیوتیک به میزان ۰، ۰/۱ و ۰/۲ درصد از *ساکارومیسس سروزیه* در طیور گوشتی به‌مدت ۴۹ روز و سپس کشتار آنها و نگه‌داری گوشت به‌مدت ۱۲ روز در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد در دو حالت وکیوم و معمولی، سبب کاهش باکتری‌های سرماگرا و انتروباکتریاسه گردیده ولی شمارش تام میکروبی را افزایش می‌دهد که مطابق یافته‌های مطالعه حاضر به غیر از شمارش تام می‌باشد (۹).

شاناهان در سال ۲۰۰۰ مطرح کرد که بیماری التهابی روده همانند سندرم روده تحریک‌پذیر ممکن است به علت تغییر فلور روده (که شامل عفونت می‌باشد) ایجاد و یا تشدید گردد. به ظاهر، میکروفلور روده‌ای در شرایط التهابی روده نقشی حیاتی را بازی می‌کند، و پروبیوتیک‌ها می‌توانند از طریق اصلاح میکروفلور این وضعیت را درمان نمایند (۲۳).

مصرف لاکتوباسیلوس‌ها، میزان IgM و IgA را در بدن میزبان افزایش داده است. هم‌چنین طی گزارشی گونه‌های بیفیدوباکتریوم در شرایط آزمایشگاهی سنتز IgA را نیز تحریک می‌کنند. مصرف *لاکتوباسیلوس جانسونی* نیز از طریق شیرهای تخمیری سبب تقویت بیگانه خواری می‌گردد. Bonavida و همکارانش طی مطالعه‌ای آینده‌نگر ثابت کرده‌اند که مصرف شیرهای تخمیری باعث تقویت ایمنی اکتسابی علیه آنتی‌ژن ویروس می‌شود. این مطالعات فرضیه «*لاکتوباسیلوس کازئی* باعث تحریک پاسخ ایمنی اختصاصی می‌شود» را تقویت می‌کند (۱۵). بنابراین پروبیوتیک‌ها و به‌ویژه لاکتوباسیل‌ها مطابق با یافته‌های مطالعه حاضر سبب حذف و یا کاهش میکروب‌های بیماری‌زای روده‌ای می‌گردند.

در تحقیقی که به صورت آزمایشگاهی انجام گرفته‌است، مشخص شده‌است که *لاکتوباسیلوس کازئی* سویه شیروتا در رقابت با باکتری‌های دستگاه گوارش در حدود ۴۶ درصد مانع از اتصال آن‌ها به سطح سلول‌های Caco-2 می‌شود. در این تحقیق مشخص شده‌است که بیشترین میزان مهار LCS (بالای ۳۰ درصد) روی *اشریشیاکولای* و سالمونلا *تیفی موریوم* می‌باشد (۲۱).

Ogawa و همکارانش در سال ۲۰۰۲ با مطالعاتی که روی حیوانات انجام دادند، اثرات مفید پروبیوتیک‌ها را در جلوگیری از بروز اثرات پاتوژن‌هایی هم‌چون سالمونلا را متذکر شدند. در مطالعه‌ای که Hilton و همکارانش در سال ۱۹۹۷ در مورد عارضه اسهال مسافرتی انجام دادند اثر مفید پروبیوتیک را مطرح کردند. bomba و همکارانش در سال ۱۹۹٦ با مطالعه‌ای اثر مهاری *لاکتوباسیلوس کازئی* ۲۹٤/۸۹ را بر اتصال و چسبندگی *اشریشیاکولای* $O_{101}:K_{99}$ به مخاط روده‌ای بره‌های عاری از میکروب (Gnoto biotic) مورد آزمایش قرار دادند. از مقایسه بین گروه‌های دریافت‌کننده *لاکتوباسیلوس کازئی* و *اشریشیاکولای* با گروه شاهد که فقط *اشریشیاکولای* دریافت نموده بودند، مشخص گردید که *لاکتوباسیلوس کازئی* از طریق رقابت میکروبی باعث کاهش تعداد *اشریشیاکولای* می‌گردد و از طرف دیگر از طریق تولید مواد خاصی مانع از چسبیدن *اشریشیا* به سطح مخاط روده می‌شود (۱۱و۱٦و۱۹).

از آن‌جایی که قسمت عمده‌ای از میکروفلور گوشت مربوط به میکروارگانیزم‌های روده‌ای می‌باشد، لذا مطالب فوق در تأیید اثر مهاری پروبیوتیک‌ها روی رشد و تکثیر میکروارگانیزم‌های روده‌ای با مکانیسم‌های تحریک سیستم ایمنی، تولید باکتریوسین، رقابت میکروبی و... مؤید این تحقیق در خصوص کاهش بار میکروبی گوشت در گروه تیمار که پروبیوتیک را به‌صورت خوراکی مصرف نموده بودند، می‌باشد. اما علی‌رغم مهار سالمونلا و کلستریدیوم توسط باکتری‌های پروبیوتیکی تغییر معنی‌داری در مطالعه حاضر مشاهده نگردید که احتمالاً به سبب پایین بودن میزان شیوع این اجرام در گوشت مرغ‌های تحت مطالعه و حجم نمونه خواهد بود.

با این‌حال، از یافته‌های این مطالعه چنین برمی‌آید که استفاده از پروبیوتیک‌ها در صنعت مرغداری سبب کاهش مخاطرات میکروبی در گوشت می‌گردد لذا علی‌رغم وجود محدودیت‌هایی در کاربرد آن‌ها که شامل تأثیر متقابل پروبیوتیک‌ها بر میزبان و میکروفلور گوارشی در انتقال ژن‌های مشکل‌زا، شکل فرآورده، میزان و نحوه مصرف پروبیوتیک‌ها و همچنین سن و نوع حیوان و...می‌باشد، با تأیید تأکید نظر اتحادیه اروپا در به‌کارگیری از آنها، استفاده پروبیوتیک‌ها در ایران نیز پیشنهاد و توصیه می‌گردد.

فهرست منابع

۱. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳٦۰): آماده کردن نمونه‌های مواد غذایی و شمارش میکروارگانیسم‌های مختلف، چاپ دهم، ۳۵٦.

۲. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۷۲): روش جستجو و شمارش *کلی‌فرم‌ها* در مواد غذایی، چاپ هشتم، ٤۳۷.

۳. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۷۲): روش جستجو و شمارش بیشترین تعداد احتمالی *اشریشیاکولای* در مواد غذائی، چاپ سوم، شماره ۲۹٤٦.

٤. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۷۲): روش جداکردن و شناسائی استرپتوکوک‌های گروه D لانسفیلد در مواد غذائی، تجدید نظر سوم چاپ سوم، شماره ۲۱۹۸.

۵. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۷٤): روش شناسائی و شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز (+) در مواد غذایی، انتشارات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۱۹٤.

٦. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۲): روش جستجو، شناسایی و شمارش *کلستریدیوم پرفرینجنس* (ولشای) و کلستریدیوم‌های احیا کننده سولفیت در مواد غذایی چاپ چهارم، شماره ۲۱۹۷.

۷. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۷۰): روش جستجو و شناسایی سالمونلاها در مواد غذایی، چاپ پنجم، شماره ۱۸۱۰.

۸. میرزایی، ح. (۱۳۸۳): پروبیوتیک‌ها و مقدمه‌ای بر کاربرد آن‌ها در تأمین سلامت انسان، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، صفحات ٥١-٤١.

9. Aksu, M.R. (2005): Effect of a dietary probiotic on some quality characteristics of raw broiler drumsticks and breast meat. Journal of Muscle Foods, 16(4): 306-317(12).
10. Anadon, A., Larrinaga, M.R.M. and Martinez, M.A. (2006): Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 45(1): 91-95.
11. Bomba, A. (1996): Inhibitory effects of *lactobacillus casei* upon the adhesion of entrotoxigenic *Escherichia coli K99* to the intestinal mucosa in genotobiotic lambs. Small ruminant research, 23:199-206.
12. Charles, B. and Pratt, M.D. (1997): Colorectal carcinoma in adolescents' implications regarding etiology. Large bowel cancer work-shop, 40: 2464-2472.
13. Dickson, J.S. and Anderson, M.E. (1992): Microbiological decontamination food animal carcasses by washing and sanitizing systems: a review. J. Food Protects, 55: 133-40.
14. Emoke, B. (2005): The use of proteomics in meat science, Meat Science, a review article, 71: (1).
15. Gordon, T.D. (2002): Intestinal health trough dietary fiber, prebiotics and probitics immunology and medical microbiology, 5: 23-28.
16. Hilton, E. (1992): Lactobacillus GG, Vaginal suppositories and vaginitis. J. Clin. Microbiol., 33: 1433-1442.
17. Huynh, A., Horg, Le Hong Duc and Simon, M. (2004): The use of bacterial spore formers as probiotics. FEMS Microbiology, 4: 813-835.
18. Montrose, D.C. and Flock, M.H. (2005): Probiotics used in human studies. Juornal of clinical gastroenterology, 39: 469-484.
19. Ogawa, M. (2002). Protective effect of *Lactobacillus casei* strain Shirota on Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 infection in infant rabbits. Infect. Immun., 69:1101-1108.
20. Ouwehand, A., Salninen, S. and Isolauri, E. (2002): Probiotics: an overview of beneficial effects.
21. Matsuzaki, T. (1998): Immunomodulation by treatment with lactobacillus casei strain shirota. Int. J., food. Mic., 41(2): 133-140.
22. Rowland, I.R. and Byrns, A.J. (2000): Anticarcinogenicity of probiotics and perbiotics. Curr. Assues. Intest. Microbiol., 1(1): 13-24.
23. Shanahan, F. (2000): Probiotics and inflammatory bowel disease: is the rational? Inflam. Bowel Dis., 6: 107-150.