

Beneficial Effects of Inactive and Non-Viable Probiotics on Health

Fatemeh Zendeboodi¹,
 Hanieh-Sadat Ejtahed^{2,3},
 Mohammad Mahdi Gholian⁴,
 Amir Mohammad Mortazavian⁵
 Sara Sohrabvandi⁶,
 Nasim Khorshidian⁷,
 Reza Mohammadi⁸

¹ PhD in Food Science and Technology, Student Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Endocrinology and Metabolism Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Obesity and Eating Habits Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ PhD Student in Food Science and Technology, Department of grape processing, Research Institute for Grapes and Raisin, Malayer University, Malayer, Iran

⁵ Professor, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁶ Associate Professor, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁷ Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Aradan School of Nutrition and Food Sciences, Food Safety Research Center (Salt), Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

⁸ Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, School of Nutrition Sciences and Food Technology, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

(Received September 30, 2020 ; Accepted November 18, 2020)

Abstract

According to the World Health Organization, viable probiotics could have health effects. However, in recent years, many benefits have been observed through application of inactive and non-viable cells of microbes or their metabolites. Therefore, probiotics could be defined as viable, inactive, or non-viable microbial cells or cell extracts that have beneficial health effects on the host. Based on the proposed terminology, probiotics are divided into three categories: real probiotics, pseudo-probiotics, and ghost probiotics. This article reviewed the beneficial effects and underlying mechanisms of inactive and non-viable microbial cells on the host. Also in this article, new proposed terms are described based on the nature of the cell or active ingredient so that it could cover all aspects of the microbial cell (viable, non-viable, inactive, and cell extract).

Keywords: probiotics, parabiotics, non-viable cell, ghost probiotics, pseudo-probiotics

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 30 (193): 125-139 (Persian).

* **Corresponding Author: Amir Mohammad Mortazavian**- Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran (E-mail: mortzvn@sbmu.ac.ir)

مزایای پروبیوتیک‌های غیر فعال و غیر زنده بر سلامت

فاطمه زنده بودی¹هانیه السادات اجتهد^{2و3}محمد مهدی قلیان⁴امیر محمد مرتضویان⁵سارا سهراب وندی⁶نسیم خورشیدیان⁷رضا محمدی⁸

چکیده

بر اساس تعریف بیان شده توسط سازمان بهداشت جهانی، پروبیوتیک‌ها در صورتی که به صورت زنده مورد استفاده قرار گیرند اثرات سلامتی بخش بر میزبان دارند. با این حال در سال‌های اخیر فواید بسیاری در اثر استفاده از سلول‌های غیر فعال و غیر زنده میکروب‌ها و یا متابولیت‌های آن‌ها مشاهده شده است. بنابراین به نظر می‌رسد که می‌توان پروبیوتیک‌ها را سلول یا عصاره سلول میکروب زنده، غیر فعال و یا حتی غیرزنده‌ای معرفی کرد که دارای اثرات سلامتی بخش بر میزبان هستند. بر این اساس پروبیوتیک‌ها به 3 دسته پروبیوتیک‌های حقیقی، شبه پروبیوتیک‌ها و روح پروبیوتیک‌ها تقسیم‌بندی می‌شوند. این مطالعه به مرور اثرات و مکانیسم عملکرد سلامتی بخش سلول‌های غیر فعال و غیرزنده میکروبی بر میزبان پرداخته است. هم‌چنین در این مطالعه واژگان پیشنهادی جدید بر اساس ماهیت سلول یا ماده اثر بخش به گونه‌ای که تمامی جنبه‌های سلول میکروبی (زنده، غیر زنده، غیر فعال و عصاره سلولی) را در برگیرد شرح داده شده است.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، پارابیوتیک، سلول غیر زنده، روح پروبیوتیک، شبه پروبیوتیک

مقدمه

پروبیوتیک‌ها به عنوان مفیدترین راه برای بازیابی میکروارگانیسم‌های دستگاه گوارشی و رفع اختلالات گوارشی محسوب می‌شوند (1،2). این میکروارگانیسم‌ها علاوه بر سلامت دستگاه گوارش سبب ایجاد سلامت عمومی در سایر اعضای بدن نیز می‌شوند؛ که برخی از آن‌ها عبارتند از: کاهش کلسترول خون (3،4)، تقویت

مؤلف مسئول: امیر محمد مرتضویان - تهران: دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی

E-mail: mortzvn@sbmu.ac.ir

1. دکتری علوم و صنایع غذایی، کمیته تحقیقات دانشجویی، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
2. استادیار، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
3. مرکز تحقیقات چاقی و عادات غذایی، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
4. دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، گروه تبدیل و نگهداری مواد غذایی، پژوهشکده کشمش و انگور، دانشگاه ملایر، ایران
5. استاد، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
6. دانشیار، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
7. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی آرادان، مرکز تحقیقات سلامت غذایی (نمک)، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، ایران
8. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ دریافت: 1399/7/9 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1399/8/11 تاریخ تصویب: 1399/8/28

ساکارومایسس¹، باسیلوس²، انتروکوکوس³، پروبیونی باکتر⁴، لاکونوستاک⁵، آکرمانسیا⁶ و استرپتوکوکوس⁷ هستند. واژه پروبیوتیک در زبان یونان باستان به معنای "برای زندگی" است. در واقع "برای زندگی" نشان‌دهنده هر ترکیب یا موجود زنده‌ای است که سبب افزایش کیفیت سلامت میزبان شود (12، 13). سازمان بهداشت جهانی⁸ (WHO) و سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد⁹ (FAO) در سال 2014، پروبیوتیک‌ها را میکروب‌های زنده‌ای معرفی کردند که در صورت استفاده به میزان کافی، سلامت میزبان افزایش می‌یابد (14). بر همین اساس، این تعریف به عنوان مبنای ضروری برای تعیین یک محصول پروبیوتیک (دارو، غذا و یا مکمل) تعیین شده است. بنابراین، زنده بودن میکروارگانیسم یک اصل اساسی در دسته‌بندی یک میکروب یا محصولات حاوی آن به عنوان پروبیوتیک بوده است. ولی به نظر می‌رسد عامل زنده بودن میکروارگانیسم یک عامل محدودکننده در تعریف پروبیوتیک‌ها است (14، 15). به طور مثال استفاده پروبیوتیک زنده در برخی افراد با سیستم ایمنی ضعیف، سبب ایجاد پاسخ‌های التهابی شدیدی در این افراد می‌شود. در این افراد، استفاده از سلول‌های غیرزنده میکروب سبب تقویت و تنظیم سیستم ایمنی بدن می‌شود. استفاده از سلول‌های غیرزنده و یا غیر فعال شده پروبیوتیک‌ها سبب افزایش سلامت این افراد می‌شود. با توجه به اثرات سلامت‌بخشی سلول‌های غیرفعال یا غیر زنده میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، هم‌چنین متابولیت‌های مترشحه از آن‌ها، واژه‌های جدیدی به واژه‌نامه پروبیوتیک‌ها افزوده شده است که شامل پارا پروبیوتیک (سلول غیرفعال/ غیرزنده پروبیوتیک) و پستیوتیک (متابولیت‌های سلامت بخش پروبیوتیک‌ها) می‌شود (19-16). با این وجود، واژه‌های

پیشنهادی جدید نمی‌توانند منعکس‌کننده معنای واقعی و اثر سلامت‌بخشی وضعیت‌های مختلف پروبیوتیک‌ها (سلول زنده و غیرفعال، غیر زنده و یا متابولیت سلولی) باشند. به همین دلیل پیشنهاد واژه‌های جدیدی که نشان‌دهنده وضعیت پروبیوتیک و جنبه‌ی عملکردی آن باشد، امری ضروری است. این واژگان می‌بایست کاربردی و قابل فهم باشند به طوری که بتوان از آن‌ها در متن‌های علمی بین‌المللی به صورت یکپارچه استفاده نمود. در این مطالعه با توجه به تحقیقات علمی انجام شده در جهان، اثر هر یک از سلول‌های زنده و غیرفعال، غیر زنده و یا متابولیت میکروب‌های پروبیوتیک بر سلامت میزبان گردآوری شده است. هم‌چنین به بررسی تاریخچه پیدایش واژگان جدید و پیشنهاد واژگان جایگزین پرداخته شده است.

اثر سلامتی بخش پروبیوتیک‌های غیرفعال و پروبیوتیک‌های غیرزنده بر سلامت

اسپور و سلول غیر فعال پروبیوتیک‌ها

زمانی که یک باکتری پروبیوتیک در معرض یک شرایط استرس‌زای محیطی نظیر دمای بالاتر از دمای بهینه رشد، تغییرات شدید اسیدیته و pH، سموم آلی ترشح شده توسط سایر باکتری‌ها، غلظت بالای اکسیژن (برای انواع بی‌هوازی یا کم‌هوازی)، کمبود مواد غذایی، فعالیت آبی پایین مثل فشار اسمزی بالا، انجماد و نور زیاد قرار گیرد وارد فاز خواب¹⁰ می‌شود (22-20). هر چند پروبیوتیک‌های به خواب رفته زنده هستند ولی فعالیت متابولیکی و رشدی در آن‌ها رخ نمی‌دهد. این سلول‌های غیرفعال ممکن است گونه‌های غیر اسپورزا و قابل رشد باشند و یا ممکن است اسپورزا باشند (23). این دسته از پروبیوتیک‌ها دارای اثر و مکانیزم عمل مختلفی هستند که شامل دو حالت می‌شود که عبارت است از الف) عملکردی شبیه متابولیت یا سلول غیر زنده پروبیوتیک‌ها یا ب) عملکردی شبیه پروبیوتیک‌های زنده و فعال؛ به

1. *Saccharomyces*
2. *Bacillus*
3. *Enterococcus*
4. *Propionibacterium*
5. *Leuconostoc*
6. *Akkermansia*
7. *Streptococcus*
8. World Health Organization
9. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)

10. Dormancy state

این معنی که پس از فراهم شدن شرایط رشد و فعالیت به حالت رشدی و فعال خود بازگردند و اثرات مفید خود را بر میزان داشته باشند. انواعی از گونه های باسیلوس ها نظیر باسیلوس سابتیلیس¹¹، لیکنی فورمیس¹² و کلوزی¹³ از جمله پروبیوتیک هایی هستند که در مواد غذایی و درمان بیماری های گوارشی و کلیوی استفاده می شوند. به طور مثال، سلول غیرفعال باسیلوس کلوزی برای درمان آلرژی کودکان و تقویت سیستم ایمنی بدن و کاهش عفونت های تنفسی استفاده شده است. از آنجایی که لاکتوباسیلوس ها و بیفیدوباکترها نسبت به شرایط سخت مقاوم نیستند، استفاده از باسیلوس ها به عنوان گونه های اسپورزا می تواند راه حلی جدید برای تولید غذاهای پروبیوتیک (غذاهایی که دارای محیط غیر قابل تحمل برای انواع سلول های رویشی هست) باشد. از جمله این غذاها انواع غذاهای خشک، اسیدی و غذاهایی با دمای فرآوری بالاتر از 60 درجه سلسیوس است (24). غذاهای حاوی این پروبیوتیک ها قابلیت نگهداری در مدت زمان طولانی در دمای محیط را دارند. به طور مثال نتایج حاصل از نگهداری رب خشک شده خرما حاوی اسپورهای باسیلوس کواگولانس در شرایط کم هوایی و هوایی به مدت 45 روز نشان داد که شرایط نگهداری ماده غذایی اثری بر بازیابی قابلیت جوانه زنی سلول باکتری در زمان قرار گرفتن در دستگاه گوارشی نداشت (25). در مطالعه ای میزان مقاومت گونه های باکتری های لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتر و باسیلوس در پنیر، آب پرتقال پاستوریزه شده و نان مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج این مطالعه گونه های باسیلوس در انتهای زمان ماندگاری محصولات غذایی دارای بیش ترین مقاومت و بیش ترین زنده ماندی (بیش از 80 درصد) بوده اند (24). به طور کلی براساس مطالعات آزمایشگاهی اندکی که تاکنون صورت گرفته است، اثرات مثبت مختلف اسپورها بر میزبان مشاهده شده است که در ادامه به برخی از آن ها اشاره می شود.

تولید نگهدارنده های طبیعی در مواد غذایی

یکی از توانایی های گونه های باسیلوس تولید سموم باکتریایی در زمان تبدیل اسپور به سلول جوانه زده هستند. این سموم باکتریایی همانند نگهدارنده طبیعی مواد غذایی عمل می کنند. بسیاری از این ترکیبات برای انواع باکتری های بیماری زای گرم مثبت و گرم منفی و قارچ ها اثر کشندگی دارد و به همین دلیل این باکتری بر سایر پروبیوتیک ها ارجحیت دارد. به طور مثال باکتری باسیلوس سوبتیلیس KU 201، قادر به تولید نوعی سم باکتریایی است که مقاوم به دماهای بالای فرآوری (90 درجه سلسیوس به مدت 30 دقیقه) و شرایط شدید اسیدی است و می توان از آن به عنوان یک نگهدارنده ی طبیعی در مواد غذایی استفاده نمود (26).

تقویت سیستم ایمنی بدن

پروبیوتیک ها از راه تحریک یا تنظیم سیستم ایمنی سلامت میزبان را افزایش می دهند. براساس مطالعات انجام شده، مصرف اسپور باکتری باسیلوس سوبتیلیس محرک تولید اینترفرون در سلول های تک هسته ای در خون است. این فرآیند فعالیت ماکروفاژها و سلول های طبیعی کشنده¹⁴ در میزبان را تحریک می کند؛ که در واقع سیستم ایمنی را تحریک و آماده مبارزه با سلول های مهاجم می کند (27). هم چنین استفاده از اسپور باکتری باسیلوس کلوزی در بیماران با سیستم ایمنی ضعیف نشان داد که این اسپورها تولید مشتقات لنفوسیتی به ویژه لنفوسیت B را افزایش می دهد. استفاده از اسپور باکتری ها می تواند عاملی برای افزایش تحریک سیستم ایمنی بدن و تولید لنفوسیت های B باشد. با این حال استفاده از این اسپورها باید براساس مطالعات بیش تری صورت گیرد. زیرا در برخی موارد سبب ایجاد پاسخ های التهابی در میزبان شده است که خود عامل بسیاری از بیماری های خود ایمنی است (28).

1. *B. coagulans*, *B. subtilis*,
2. *B. licheniformis*
3. *B. clausii*

4. Natural killer (NK) cells

کاهش عفونت‌های تنفسی

عفونت‌های تنفسی در مجاری فوقانی تنفسی رخ می‌دهد و به عنوان یک بیماری طاقت‌فرسا برای کودکان تلقی می‌شود. در سال‌های اخیر به دنبال افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، میزان تمایل به استفاده از روش‌های پیشگیرانه افزایش یافته است. هم‌چنین براساس برخی مطالعات علمی مشخص شده است که فلور روده نقش مهمی در رشد و بلوغ سیستم ایمنی بدن دارد. یکی از راه‌های کاهش پاسخ‌های آلرژیک، تحریک سیستم ایمنی بدن و وادار کردن آن به تولید بیش تر لنفوسیت‌های تنظیمی T و Th1 (T helper 1) و کاهش فعالیت و تولید Th2 (T helper 2) است. باکتری باسیلوس کلوزی یکی از پروبیوتیک‌هایی است که سبب تنظیم سیستم ایمنی می‌گردد. براساس مطالعه انجام شده توسط Marsegia و همکاران (29)، استفاده از اسپور این باکتری به مدت 3 ماه، موجب کاهش محسوس علائم تنفسی در کودکان مبتلا به عفونت‌های تنفسی شد. هم‌چنین براساس گزارش این پژوهشگران شدت علائم تنفسی در زمان اوج بیماری بسیار کاهش یافت. با توجه به این که میزان احتمال ابتلا کودکان دارای آلرژی به عفونت‌های تنفسی بیش تر از کودکان سالم است، استفاده از اسپور این باکتری از ابتلا این کودکان به عفونت‌های تنفسی نیز جلوگیری کرد. اسپور این باکتری نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم است و هم‌چنین این باکتری با استفاده از 4 مکانیزم احتمالی از رشد باکتری‌های پاتوژن در دستگاه گوارش جلوگیری می‌کند و سبب تقویت سیستم ایمنی می‌شود که عبارتند از، اشغال فضاهای خالی در روده، رقابت در اتصال به سلول‌های مخاطی روده، تولید و انتشار آنتی‌بیوتیک‌ها و آنزیم در محیط روده که سبب از بین رفتن باکتری‌های گرم مثبت می‌شوند و تحریک لنفوسیت‌های T تنظیمی که سیتوکین‌های مورد نیاز برای ایجاد پاسخ‌های Th1 را آزاد می‌کنند (29).

تولید ترکیبات ضد میکروبی

تولید ترکیبات ضد میکروبی یکی توانایی‌های پروبیوتیک‌ها است. این ترکیبات از رشد میکروب‌های بیماری‌زا در دستگاه گوارش جلوگیری می‌کنند. باکتری‌های خانواده باسیلوس قادر به تولید انواع مختلفی از ترکیبات ضد میکروبی هستند. این ترکیبات شامل باکتریوسین‌ها و ترکیبات شبه باکتریوسین‌ها (مثل سوبتیلین و کواگولین) و آنتی‌بیوتیک‌ها (به‌طور مثال سورفاکتین، ایتورین‌های A، B، C، D، E و باسیلیسین) است (30). در انواعی از محصولات تجاری، گونه‌های مختلف باسیلوس با هدف تولید ترکیبات ضد میکروبی استفاده می‌شوند. باسیلوس سوبتیلیس قادر به تولید آنتی‌بیوتیک آمینوکومارین است که این ترکیب نسبت به حرارت و آنزیم‌های پروتئازی مقاوم است. این آنتی‌بیوتیک از رشد باکتری‌های مختلفی شامل استافیلوکوکوس اورئوس¹⁵، انتروکوکوس فاسیوم¹⁶، شیگلا فلکسنری¹⁷، کامپیلوباکتر ژرونی¹⁸ و هلیوباکتر پیلوری¹⁹ جلوگیری می‌کند. باکتری باسیلوس پلی‌فرمنتیکوس²⁰ نوعی باکتریوسین حساس به حرارت است و آنزیم تولید می‌کند، که قادر به از بین بردن باکتری‌های گرم مثبت است. این باکتری در تولید محصولات پروبیوتیک در کره جنوبی استفاده می‌شود، اما با این حال بر روی بسته‌بندی این محصولات قید نمی‌شود (31، 32). سویه‌های پروبیوتیک باسیلوس کواگولانس در انواعی از محصولات تجاری استفاده می‌شود. این سویه‌ها قادر به تولید ترکیب ضد میکروبی کواگولین هستند، این ماده ضد میکروبی از رشد باکتری‌های گرم مثبت جلوگیری می‌کند (33). براساس یک مطالعه، باکتری باسیلوس سوبتیلیس سویه ناتو²¹ از رشد مخمر کاندیدا آلیکانس²² در دستگاه گوارشی جلوگیری می‌کند (34). این سویه یک نوع سورفاکتین تولید می‌کند که بازدارنده رشد مخمرها

1. *Staphylococcus aureus*
2. *Enterococcus faecium*
3. *Shigella flexneri*
4. *Camphylobacter jejuni*
5. *Helicobacter pylori*
6. *B. polyfermenticus*
7. *B. subtilis* var. *natto*
8. *Candida albicans*

است (35). با اینکه اثرات مثبت این ترکیبات در محیط های آزمایشگاهی مشاهده شده است، اما تاکنون مطالعات اندکی در مورد اثرات ضد میکروبی آن ها، در بدن موجودات زنده انجام شده است. در یک مطالعه اسپورهای باسیلوس سوبتیلیس سویه ناتو به موش های آزمایشگاهی تزریق شد. نتایج نشان داد که استفاده از اسپور این باکتری میزان رشد لاکتوباسیلوس ها را در شرایط خاصی افزایش می دهد (36، 37). محیط دستگاه گوارشی یک محیط پیچیده است و در معرض انواعی از مواد غذایی و شرایط فیزیولوژیکی مختلف قرار می گیرد. بنابراین توانایی پروبیوتیک های مصرف شده بر رشد لاکتوباسیلوس ها تحت تاثیر عوامل مختلفی قرار می گیرد.

تنظیم فلور میکروبی دستگاه گوارش

حفظ تعادل مناسب بین باکتری های موجود در دستگاه گوارش یکی از عوامل مهم در جلوگیری از ابتلا به مشکلات و بیماری های گوارشی نظیر اسهال، التهاب روده ای و سرطان های دستگاه گوارش است. استفاده از آنتی بیوتیک ها در درمان عفونت های میکروبی ممکن است سبب از بین رفتن تعادل میکروب های سلامتی بخش دستگاه گوارش گردد. این اثر آنتی بیوتیک ها ممکن است در اثر مکانیزم های مختلفی نظیر کاهش تنوع باکتری های گوارشی و در نتیجه افزایش رشد باکتری های بیماری زا باشد. پروبیوتیک ها با کمک به بازگردانی فلور طبیعی دستگاه گوارش اثرات مخرب آنتی بیوتیک ها را کاهش می دهند. علاوه بر این ممکن است در از بین بردن میکروب های بیماری زا در دستگاه گوارش موثر واقع شوند (38، 39).

Plomer و همکاران (40)، اثر اسپور باکتری باسیلوس کلوزی را بر کاهش علائم گوارشی ایجاد شده در اثر مصرف آنتی بیوتیک ها بررسی نمودند. این محققان، شاهد کاهش محسوس علائم گوارشی نظیر اسهال وابسته به آنتی بیوتیک ها در بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری در زمان استفاده از اسپور باکتری باسیوس کلوزی به همراه آنتی بیوتیک ها بودند؛ در صورتی که

بیمارانی که فقط از آنتی بیوتیک در درمان عفونت استفاده نمودند، دارای علائم شدیدتر بودند. براساس یک مطالعه که بر موجود زنده انجام شده است، استفاده از باسیلوس سوبتیلیس سویه ناتو، میزان فلور میکروبی مدفوعی به ویژه باکتریویدیز²³ و لاکتوباسیلوس ها را مورد تاثیر قرار داد. تعداد لاکتوباسیلوس ها در موش های تغذیه شده با سفیده تخم مرغ کاهش محسوسی داشت، درحالی که موش های تغذیه شده با سفیده تخم مرغ به همراه اسپور باکتری باسیلوس سوبتیلیس دارای فلور میکروبی ثابت و بدون تغییر بودند. قابل ذکر است که استفاده از اسپور اتوکلاو شده این باکتری اثری بر رشد یا جلوگیری از رشد فلور میکروبی دستگاه گوارش نداشت؛ بنابراین، حفظ توانایی جوانه زنی در اسپور باکتری، امری ضروری برای ایجاد اثر مثبت بر میزبان است (37، 41).

سلول غیر زنده و متابولیت های مترشحه از پروبیوتیک ها به کارگیری پروبیوتیک های زنده و فعال و پروبیوتیک های غیر فعال و اسپور باکتری ها ممکن است مشکلاتی ایجاد کند که عبارتند از کاهش زندهمانی پروبیوتیک های زنده در زمان نگهداری مواد غذایی، مقاومت متفاوت هر یک پروبیوتیک های زنده ی فعال، حساسیت پروبیوتیک های غیر فعال و اسپورها به اسید معده و احتمال اکتساب ژن بیماری زایی از باکتری های بیماری زا از جمله مشکلاتی هستند که جایگزین کردن این پروبیوتیک ها با سلول های غیر زنده میکروب هایی که دارای اثر مثبت بر میزبان هستند امری مهم و ضروری به حساب آید (23). براساس مطالعات صورت گرفته، غلظت 10^5 cfu/mL تا 10^{14} cfu/mL سلول غیر زنده پروبیوتیک ها در واحد حجمی دارای اثر مثبت در مواد غذایی و میزبان می باشد. این سلول ها ممکن است به صورت سلول غیر زنده کاملاً سالم (از نظر فیزیکی)²⁴ و یا سلول غیر زنده آسیب دیده²⁵ مورد استفاده قرار

1. Bacteroidaceae
3. Intact
3. ptured

گیرند که دارای اثرات مختلفی از جمله خاصیت ضد میکروب‌های بیماری‌زا، افزایش عملکرد روده کوچک، درمان سرطان‌های گوارشی، کاهش علائم عدم تحمل لاکتوز، کاهش علائم بیماری‌های تنفسی، تنظیم و تقویت سیستم ایمنی بدن، کاهش پاسخ‌های آلرژیک غذایی، درمان نقص عملکرد کبد، کاهش فشار خون، جلوگیری از اکسیداسیون، کاهش دهنده کلسترول خون، کاهش دهنده وزن و چاقی هستند (19). تولید سلول‌های غیر زنده باکتری‌های مفید به روش‌های متفاوتی انجام می‌شود که شامل استفاده از امواج فرابنفش به مدت 5 تا 30 دقیقه، فرایند حرارتی در دمای 61 تا 121 درجه سلسیوس به مدت 5 تا 60 دقیقه و استفاده از پرتوهای یونیزه کننده با توان 10 کیلوگری می‌شود. این فرآیندها از راه واسرشت کردن پروتئین‌ها، غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها، آسیب به DNA و تغییر شکل سلول سبب از بین رفتن حیات سلول پروبیوتیک می‌شوند. برای به دست آوردن میکروب‌های غیر زنده دارای اثر مفید بر سلامت، سالم بودن دیواره سلولی امری ضروریست (19). با توجه به نوع روش غیر فعال‌سازی و تولید سلول میکروبی غیرزنده، شاهد اثرات متفاوتی بر عملکرد سلول هستیم؛ به طور مثال با افزایش دما و زمان حرارت دهی میزان اثر بخشی سلول غیر زنده لاکتوباسیلوس گاسری²⁶ تغییر می‌کند. سلول‌های این باکتری زمانی که توسط حرارت 70 درجه سلسیوس غیرفعال شدند، دارای فعالیت ضد میکروبی قوی‌تری نسبت به زمانی بودند که در دمای 90 درجه سلسیوس به مدت 5 دقیقه غیر فعال شدند (42). به همین دلیل بهینه‌سازی فرآیند غیر فعال سازی برای هر نوع روش غیر فعال کننده ضروریست.

جلوگیری از رشد میکروب‌های بیماری‌زا و بیماری‌های گوارشی

سلول‌های غیر زنده پروبیوتیک‌ها همانند سلول‌های زنده و فعال آن‌ها قادر به محافظت از میزبان خود در

برابر میکروب‌های بیماری‌زا هستند. تغذیه موش با لاکتوباسیلوس پلانٹاروم²⁷ غیر زنده (غیر فعال شده با حرارت) از عفونت سالمونلایی در بسیاری اعضای بدن آن نظیر کبد، طحال و خون جلوگیری کرد (43). این سلول‌های غیر زنده از راه جلوگیری از اتصال باکتری پاتوژن به سلول‌های مخاط روده از انتشار عفونت جلوگیری می‌کنند. هم‌چنین براساس مطالعات انجام شده سلول‌های غیر زنده لاکتوکوکوس لاکتیس²⁸ و لوکونوستاک مزنتروئیدس²⁹ به ترتیب از راه جلوگیری از رشد پاتوژن‌ها و افزایش ایمنی بدن میزبان، سبب افزایش سلامت در میزبان می‌شوند (44،45).

سلول‌های غیر زنده پروبیوتیک و سالم ساکارومایسس بولاردی³⁰، سبب درمان اختلال عملکرد روده می‌شوند و در نتیجه از نفوذ میکروب‌های بیماری‌زا به روده جلوگیری می‌کنند. این اثر مثبت به دلیل ترکیبات فعال موجود در دیواره سلولی آن می‌باشد. با استفاده از سلول‌های غیر زنده میکروبی می‌توان از بروز سرطان روده بزرگ و دستگاه گوارش جلوگیری کرد. براساس مطالعه‌ای که بر روی حیوانات انجام شده است، استفاده از سلول‌های غیر زنده و سالم (از نظر فیزیکی)، سبب جلوگیری از تکثیر سلول‌های سرطانی شد و هم‌چنین مرگ سلول‌های سرطانی را سرعت بخشید (46،47).

تقویت سیستم ایمنی

اثرات سلول‌های غیر زنده باکتری‌ها بر کاهش التهاب و مشکلات تنفسی از راه تنظیم سیستم ایمنی بدن میزبان می‌باشد. در درمان بیماری‌های تنفسی زنده بودن سلول باکتری مهم نیست بلکه سالم بودن دیواره سلولی امری ضروریست. میکروب‌های غیر زنده، میزان غلظت سلول‌های تنظیم کننده T را در طحال بالا می‌برند. این سلول‌ها از ایجاد پاسخ‌های آلرژیک Th1 و Th2 جلوگیری می‌کنند که در نهایت از ترشح ایمونوگلوبولین

2. *Lactobacillus plantarum*
3. *Lactococcus lactis*
4. *Leuconostoc mesenteroides*
5. *Saccharomyces boulardii*

1. *Lactobacillus gasseri*

E و فعالیت ائوزونوفیل ها در بدن میزبان جلوگیری می کند. از جمله باکتری هایی که سلول های غیرزنده آن ها سبب کاهش پاسخ های آلرژیک می شوند می توان به لاکتوباسیلوس پاراکازئی³¹ و انتروکوکوس فکالیس³² اشاره کرد (49,48).

افزایش عملکرد کبد

بیماری کبد چرب با نقص عملکرد کبد همراه است. استفاده از سلول های غیرزنده باکتری لاکتوباسیلوس برویس³³ در درمان این بیماری موثر است. در زمان آسیب کبدی، آنزیم هایی نظیر آلانین-آمینو ترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز به داخل سرم خون مهاجرت می کنند. استفاده از سلول های غیر زنده (سلول های کشته شده توسط حرارت) این باکتری از مهاجرت این آنزیم ها به خون جلوگیری می کند و همچنین از انباشته شدن تری گلیسریدها و کلسترول در کبد جلوگیری می کند. در واقع این سلول های غیر زنده سبب کاهش بیان ژن تنظیم کننده استرول متصل به پروتئین 1 و 2 و سبب افزایش تولید پروتئین در روده کوچک می شود (50). متابولیت های میکروب های پروبیوتیک که از سلول زنده ترشح می شود و یا از راه تخریب سلولی توسط فرآیندهای مختلف به دست می آیند دارای اثر درمانی و سلامت بخشی بر میزبان می باشند (51-55). روش های مختلفی برای به دست آوردن متابولیت های فعال زیستی و یا عصاره سلولی استفاده می شود که عبارتند از تخریب سلول زنده میکروبی با استفاده از حرارت دهی و اعمال فراصوت، تحریک باکتری زنده به ترشح برخی متابولیت ها، استخراج عوامل محلول از سلول های غیر زنده و هیدرولیز آنزیمی سلول. این ترکیبات محلول هستند و شامل انواعی از آنزیم ها، پلی ساکاریدها، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، پروتئین های سطحی سلول، تیکونوئیک اسید، ویتامین ها،

اسیدهای آلی و مشتقات گلیسرولی هستند (53-58). به دلیل آن که این ترکیبات بدون حضور سلول زنده باکتری قادر به ایجاد اثر مثبت بر میزبان هستند؛ در نتیجه زنده بودن و یا فعالیت میکروب پروبیوتیک مهم نمی باشد. هم چنین مشکلاتی که ممکن است در اثر استفاده از سلول زنده میکروبی برای درمان یک بیماری خاص به ویژه در کودکان به دلیل ضعیف بودن سیستم ایمنی، ایجاد شود نیز با استفاده از این ترکیبات فعال زیستی کاملاً بر طرف خواهد شد. بنابراین استفاده از ترکیبات ترشح شده از سلول زنده و یا استخراج شده از سلول های غیر زنده میکروب یک جایگزین مناسب برای جلوگیری از خطرات استفاده از سلول زنده میکروبی است. هم چنین این ترکیبات دارای عمر نگهداری بالایی هستند؛ به گونه ای که برخی از آنها تا بیش از 5 سال خاصیت خود را حفظ می کنند. این ترکیبات دارای خاصیت درمانی متفاوتی می باشند که در ادامه به آن پر داخته شده است (51).

کاهش کلسترول خون

ترکیبات فعال استخراج شده از لاکتوباسیلوس ها سبب کاهش کلسترول خون می شود. این اثر به دلیل فعال نمودن پذیرنده هایی است که گلیسرول را از راه افزایش بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب در خون کاهش می دهند. هم چنین ممکن است به دلیل توانایی این ترکیبات در تولید پروتئین هایی باشد که سبب تحریک لیپولیز در سلول های چربی و افزایش میزان پروتئین کیناز در بافت ماهیچه ای و کبد می شوند که در نهایت سوخت و ساز لیپیدها را در بدن میزان افزایش می دهند. این نحوه عملکرد متابولیت در کاهش کلسترول خون، متفاوت از سلول های زنده است (44,59,60).

جلوگیری از ابتلا به سرطان سینه

ترکیبات فعالی نظیر نوکلئوتیدها، پلی ساکاریدها و پروتئین ها خاصیت ضد سرطانی بر میزبان دارند.

1. *Lactobacillus paracasei*
2. *Enterococcus faecalis*
3. *Lactobacillus brevis*

ترکیبات فعال پروتئینی ترشح شده از لاکتوباسیلوس پلاتناروم سبب جلوگیری از ابتلا میزبان به سرطان سینه می‌شوند. این ترکیبات از طریق جلوگیری از تکثیر سلول‌های سرطانی و همچنین هضم سلول‌های سرطانی سبب جلوگیری از بروز این بیماری می‌شوند (55).

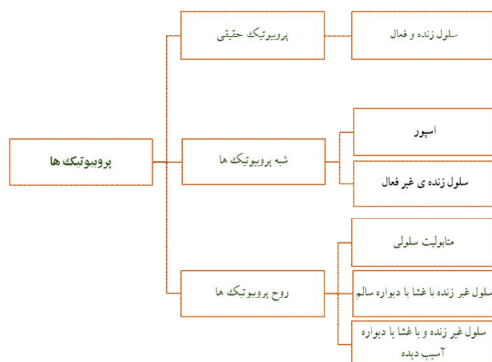
تولید آنتی‌اکسیدان‌ها

براساس مطالعات صورت گرفته میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره عاری از سلول پروبیوتیک بیشتر از سلول کامل پروبیوتیک است. لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکترها برخی ویتامین‌ها نظیر ویتامین E و ویتامین C را ترشح می‌کنند که نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند. هم چنین این باکتری‌ها قادر به ترشح سوپراکسید دیسموتاز هستند که این ترکیب به عنوان سد ذاتی سلول در برابر ترکیبات اکسید کننده است و هم چنین از تولید ترکیبات سمی در سلول زنده جلوگیری می‌کند. به دلیل حضور اسید اورونیک در پلی‌ساکاریدهای ترشح شده بوسیله باسیلوس انیمالیس³⁴ و لاکتوباسیلوس هلوتیکوس³⁵ این پلی‌ساکاریدها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند (53، 61، 62).

کاهش علائم بیماری عدم تحمل لاکتوز

قابل ذکر است باکتری‌های ماست (استرپتوکوکوس ترموفیلوس³⁶ و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس³⁷) را نمی‌توان به عنوان پروبیوتیک زنده استفاده کرد؛ به دلیل این که در اثر نمک‌های صفراوی در دستگاه گوارش از بین می‌روند. اما مواد مترشحه شده از آنها سبب کاهش علائم بیماری عدم تحمل لاکتوز می‌شوند. با تخریب سلول این باکتری‌ها در روده کوچک، آنزیم‌های بتاگالاکتوزیداز آزاد می‌شود و این آنزیم قادر به هیدرولیز لاکتوز موجود در فرآورده‌های لبنی وارد شده به روده این افراد می‌باشد (63).

پیشنهاد واژه‌های جایگزین پارaproبیوتیک و پُست بیوتیک به منظور رفع ابهام از اصطلاحات متنوعی که وارد واژه نامه پروبیوتیک شده است. اصلاح واژگان به گونه‌ای که واژگان جدید معنای واقعی واژه را پوشش دهد و با سایر واژگان تداخل معنایی نداشته باشد لازم و ضروری است. براساس زبان یونانی واژه پروبیوتیک به معنی برای زندگی است. بنابراین از نقطه نظر سلامت بخشی، می‌توان پروبیوتیک‌ها را به سلول‌های میکروبی زنده یا غیر زنده که دارای اثر سلامتی بخش بر میزبان هستند تعریف نمود. براین اساس پروبیوتیک‌ها را می‌توان به پروبیوتیک‌های حقیقی (سلول زنده و فعال میکروبی)، شبه پروبیوتیک‌ها (سلول زنده و غیر فعال، به صورت سلول قابل جوانه‌زنی یا اسپور)، و روح پروبیوتیک‌ها (سلول غیرزنده میکروبی که از نظر فیزیکی سالم و یا آسیب دیده باشد) تقسیم‌بندی نمود (تصویر شماره 1). براساس این تقسیم‌بندی، اگر با یک هدف خاص یک سلول زنده وارد بدن انسان شود به آن پروبیوتیک حقیقی اطلاق می‌شود. اگر سلول زنده غیر فعال شود به آن شبه پروبیوتیک³⁸ می‌گویند و اگر سلول غیرزنده و آسیب دیده با هدف سلامت بخشی و یا عصاره سلول غیر زنده استفاده شود به آن روح پروبیوتیک³⁹ اطلاق می‌شود.



تصویر شماره 1: گروه‌بندی جدید و کاربردی پروبیوتیک‌ها

5. Pseudo-probiotic
6. Ghost probiotic

1. *Bacillus animalis*
2. *Lactobacillus helveticus*
3. *Streptococcus thermophilus*
4. *Lactobacillus bulgaricus*

شبه پروبیوتیک

در سال 2011، Taverniti و Guglielmetti واژه پاراپروبیوتیک را برای پروبیوتیک های غیر زنده و غیر فعال پیشنهاد دادند (64). براساس تعریف بیان شده، سلول های غیر فعال شده و یا اجزای سلول های پروبیوتیک ها که دارای اثر مثبت بر سلامتی میزبان بودند به عنوان پاراپروبیوتیک شناخته شدند (64). در نتیجه، منظور از پاراپروبیوتیک ها، سلول های غیر زنده (آسیب دیده یا سالم از نظر فیزیکی) و یا عصاره سلولی است که در صورت استفاده از میزان معین آن، سلامت میزبان افزایش یابد. از سال 2013، سلول های غیر زنده؛ غیر فعال، آسیب دیده و سالم به عنوان پاراپروبیوتیک ها شناخته می شوند که همین امر یکی از جنبه های مبهم و گسترده دگی دامنه این واژه می باشد. علاوه بر این، وارد شدن عصاره سلولی پروبیوتیک ها به تعریف این واژه نیز جنبه مبهم دیگر این واژه است. از سوی دیگر، در زبان لاتین پیشوند "پارا" به معنای "در مقابل" است. با توجه به اینکه واژه پروبیوتیک به معنای "سلامت بخش برای زندگی" است، قرار دادن پیشوند "در مقابل" در ابتدای این واژه، می تواند به اشتباه اشاره به واژه متضاد آن یعنی آنتی بیوتیک ها به معنای اثر منفی بر سلامتی داشته باشد. علاوه بر این، براساس معنای لغوی (بدون در نظر گرفتن ریشه لاتین) پارا (به معنی در کنار)، و قرار گیری آن به عنوان پیشوند پروبیوتیک می تواند این معنا را برساند که پاراپروبیوتیک ها تنها زمانی اثر سلامت بخشی دارند که در کنار و حضور پروبیوتیک ها باشند و فعالیت سلامت بخشی آن ها وابسته به پروبیوتیک های زنده باشد؛ که این معنا برخلاف مستندات علمی به اثبات رسیده در مورد اثر مثبت و مستقل سلول های غیر زنده و یا غیر فعال شده است. غیر فعال شدن سلول مبنی بر عدم حیات سلول نیست و سلول ممکن است زنده و فعال، زنده و غیر فعال و یا غیر زنده باشد. با توجه به ابهاماتی که در معنای واژه پاراپروبیوتیک می شود و هم چنین عدم تعیین دقیق خصوصیات سلول یا ترکیبات فعال به عنوان پاراپروبیوتیک،

نیاز است تا واژه ای جدید در واژه نامه پروبیوتیک وارد شود به گونه ای که بتوان براساس آن پروبیوتیک های زنده و فعال را از انواع غیر فعال متمایز نمود. در واقع ممکن است یک پروبیوتیک در شرایط نامساعد به فاز خواب وارد شود. در این حالت، سلول دارای حیات است ولی دارای فعالیت متابولیکی و رشدی نیستند و به همین دلیل پیشنهاد می شود که از واژه جایگزین شبه پروبیوتیک برای تعریف این ترکیبات فعال استفاده شود. این نام گذاری به دلیل این است که پروبیوتیک های حقیقی زنده و فعال هستند. شبه پروبیوتیک ها ممکن است گونه های غیر اسپورزا و قابل رشد و یا اسپورزا باشند. شبه پروبیوتیک ها قادرند پس از فراهم شدن شرایط رشد و فعالیت به حالت رشدی و فعال خود بازگردند و اثرات مفید خود را بر میزان داشته باشند. انواعی از گونه های باسیلوس ها نظیر باسیلوس ساب تیلیس⁴⁰، لیکنی فورمیس⁴¹ و کلوزی⁴² از جمله شبه پروبیوتیک هایی هستند که در مواد غذایی و در درمان بیماری های گوارشی و کلیوی استفاده می شوند.

روح پروبیوتیک

در سال 2013، پست بیوتیک ها به عنوان متابولیت ها، هر نوع عصاره و یا ترشحات سلولی پروبیوتیک ها معرفی شدند که به صورت مستقیم یا غیر مستقیم دارای اثر مثبت بر سلامت میزبان باشند (51). این ترکیبات محلول شامل آنزیم ها، پلی ساکارید های داخل و خارج سلولی، پروتئین های سطحی، ویتامین ها، اسید های آلی، اسید های چرب و پپتیدها است. Aguilar-Toala و همکاران (17)، محلولی (محصول یا متابولیت های دفعی سلول) که توسط باکتری زنده ترشح می شود و یا پس از مرگ سلولی و هیدرولیز سلول باکتری از آن خارج می شود را پُست بیوتیک⁴³ نامیدند. براساس مطالعات

1. *B. subtilis*
2. *B. licheniformis*
3. *B. clausii*
4. Post probiotic

پروبیوتیک‌های حقیقی، روح پروبیوتیک‌ها و شبه پروبیوتیک‌ها دسته‌بندی می‌شوند.

در گذشته پروبیوتیک به معنای سلول زنده و فعال میکروب‌هایی بوده است که اثر سلامت بخشی بر میزبان داشته باشد. در سال‌های اخیر، با توجه به اثرات سلامتی بخش سلول‌های غیر فعال، غیر زنده و یا حتی سلول‌های آسیب دیده پروبیوتیک‌ها بر میزبان (نظیر کاهش کسترول خون، تقویت سیستم ایمنی، کاهش پاسخ‌های آلرژیک، افزایش کارایی دستگاه گوارش، جلوگیری از رشد میکروب‌های بیماری‌زا و جلوگیری از بروز سرطان‌های گوارشی) و هم چنین افزایش نگرانی‌ها در مورد استفاده از سلول زنده میکروبی سبب شده است که واژگانی نظیر پارaproبیوتیک‌ها و پست بیوتیک‌ها وارد واژه‌نامه پروبیوتیک‌ها شود. با وجودی که این واژگان به اثرات سلامت بخشی سلول‌های غیر فعال و غیر زنده پروبیوتیک‌ها اشاره دارند اما با توجه به واژه، نمی‌توان به معنای واقعی آن‌ها پی برد. بنابراین در این مقاله علاوه بر بررسی اثرات سلامت بخشی و نحوه عملکرد هر یک از جنبه‌های سلولی پروبیوتیک‌ها (غیر فعال و غیر زنده)، واژگان جدیدی جهت جایگزینی با واژگان قدیمی پیشنهاد شده است. براین اساس پروبیوتیک‌ها به 3 دسته اصلی پروبیوتیک‌های حقیقی (سلول‌های زنده و فعال)، شبه پروبیوتیک‌ها (سلول زنده غیر فعال) و روح پروبیوتیک‌ها (سلول غیرزنده سالم یا آسیب دیده) تقسیم‌بندی شده‌اند. براساس این تقسیم‌بندی پروبیوتیک را می‌توان سلول زنده یا غیر زنده میکروبی تعریف نمود که دارای اثرات سلامت بخشی بر میزبان باشند.

انجام شده، در اغلب مقالات علمی در مورد ماهیت و فواید پُست‌بیوتیک‌ها بیش تر از واژه شناسی آن بحث شده است به گونه‌ای که واژه پُست‌بیوتیک قادر به تعریف و در برگرفتن ذات و اثر آن نیست. از نظر ادبی، پیشوند "پست" به معنای "سپس" و "بعد از" است؛ در نتیجه پُست‌بیوتیک به معنای پس از زندگی است. بنابراین با در نظر گرفتن این معنای لغوی، پُست‌بیوتیک به معنای اثر بعد از مرگ سلول میکروب است و این معنا تا حدودی با معنای پارaproبیوتیک‌ها هم پوشانی دارد زیرا هر دو واژه اشاره به پس از مرگ سلول دارد. ویژگی‌های ذکر شده برای پُست‌بیوتیک‌ها تنها مرتبط با سلول غیر زنده نیست و سلول میکروبی زنده نیز قادر به تولید این ترکیبات با خواص سلامت بخشی است. همان‌طور که آشکار شد معنای پُست‌بیوتیک، نیز همانند پارaproبیوتیک مبهم و گیج کننده است. به همین دلیل برای یکنواخت کردن واژه در مقالات علمی و هم‌چنین جلوگیری از ایجاد ابهام در مفهوم واژه، در این مقاله واژه روح پروبیوتیک به عنوان جایگزین واژه پست بیوتیک پیشنهاد می‌شود. در این مقاله منظور از روح پروبیوتیک، سلول‌های غیرزنده سالم یا آسیب‌دیده و متابولیت‌های ترشح شده از سلول زنده یا خارج شده از سلول غیرزنده آسیب‌دیده است. براساس واژه‌های پیشنهادی می‌توان پروبیوتیک‌ها را سلول زنده و فعال، سلول زنده غیرفعال و سلول غیرزنده سالم و آسیب‌دیده و متابولیت‌هایی نامید که در صورتی که میزان معینی از آن مورد استفاده قرار گیرد سبب تقویت سلامتی بدن میزبان می‌شوند. از این رو پروبیوتیک‌ها به سه دسته

References

1. Yan. F. Polk DB. Probiotic bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. J Biol Chem 2002; 277(52): 50959-50965.
2. Norouzbeigi S, Vahid-Dastjerdi L, Yekta R, Sohravandi S, Zendeboodi F, Mortazavian AM. Celiac therapy by administration of probiotics in food products: a review. Curr Opin Food Sci 2020; 32: 58-66.
3. Gérard P. Metabolism of cholesterol and bile acids by the gut microbiota. Pathogens 2014; 3(1): 14-24.

4. Kumar M, Nagpal R, Kumar R, Hemalatha R, Verma V, Kumar A, et al. Cholesterol-lowering probiotics as potential biotherapeutics for metabolic diseases. *Exp Diabetes Res* 2012; 2012: 902917.
5. Gill H, Rutherford K. Viability and dose-response studies on the effects of the immunoenhancing lactic acid bacterium *Lactobacillus rhamnosus* in mice. *Br J Nutr* 2001; 86(2): 285-289.
6. Hemarajata P, Versalovic J. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therap Adv Gastroenterol* 2013; 6(1): 39-51.
7. Misra S, Mohanty D. Psychobiotics: A new approach for treating mental illness? *Crit Rev Food Sci Nutr* 2019; 59(8): 1230-1236.
8. Sarkar A, Lehto SM, Harty S, Dinan TG, Cryan JF, Burnet PW. Psychobiotics and the manipulation of bacteria-gut-brain signals. *Trends Neurosci* 2016; 39(11): 763-781.
9. Bermúdez-Humarán LG, Salinas E, Ortiz GG, Ramirez-Jirano LJ, Morales JA, Bitzer-Quintero OK. From probiotics to psychobiotics: live beneficial bacteria which act on the Brain-Gut axis. *Nutrients* 2019; 11(4): 890.
10. Cheng LH, Liu YW, Wu CC, Wang S, Tsai YC. Psychobiotics in mental health, neurodegenerative and neurodevelopmental disorders. *J Food Drug Anal* 2019; 27(3): 632-648.
11. Collins FL, Rios-Arce ND, Schepper JD, Parameswaran N, McCabe LR. The potential of probiotics as a therapy for osteoporosis. *Microbiol Spectr* 2017; 5(4): 10.
12. Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Microbiol* 1989; 66(5): 365-378.
13. Haveenar R, In't Veld JH. Probiotics: A general view In: Wood BJB, (eds). *The lactic acid bacteria in health and disease*. Boston Springer; 1992. p. 151-152.
14. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 11(8): 506-514.
15. Blagodatskaya E, Kuzyakov Y. Active microorganisms in soil: Critical review of estimation criteria and approaches. *Soil Biol Biochem* 2013; 67: 192-211.
16. Adams CA. The probiotic paradox: live and dead cells are biological response modifiers. *Nutr Res Rev* 2010; 23(1): 37-46.
17. Aguilar-Toalá J, Garcia-Varela R, Garcia H, Mata-Haro V, González-Córdova A, Vallejo-Cordoba B, et al. Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends Food Sci Technol* 2018; 75: 105-114.
18. Collado M, Vinderola G, Salminen S. Postbiotics: facts and open questions. A position paper on the need for a consensus definition. *Benef Microbes* 2019; 10(7): 711-719.
19. de Almada CN, Almada CN, Martinez RC, Sant'Ana AS. Paraprobiotics: evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. *Trends Food Sci Technol* 2016; 58: 96-114.
20. Blinkova L, Martirosyan DM, Pakhomov Y, Dmitrieva O, Vaughan R, Altshuler M. Nonculturable forms of bacteria in lyophilized probiotic preparations. *Funct Food Health Dis* 2014; 4(2): 66-76.
21. Lahtinen SJ, Gueimonde M, Ouwehand AC, Reinikainen JP, Salminen SJ. Comparison of four methods to enumerate probiotic bifidobacteria in a fermented food product. *Food Microbiol* 2006; 23(6): 571-577.

22. Mohammadi R, Sohrabvandi S, Mohammad Mortazavian A. The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milks. *Eng Life Sci* 2012; 12(4): 399-409.
23. Zendeboodi F, Khorshidian N, Mortazavian AM, da Cruz AG. Probiotic: Conceptualization from a new approach. *Curr Opin Food Sci* 2020;32:103-123
24. Soares MB, Martinez RC, Pereira EP, Balthazar CF, Cruz AG, Ranadheera CS, et al. The resistance of *Bacillus*, *Bifidobacterium*, and *Lactobacillus* strains with claimed probiotic properties in different food matrices exposed to simulated gastrointestinal tract conditions. *Food Res Int* 2019; 125: 108542.
25. Marcial-Coba MS, Pjaca AS, Andersen CJ, Knøchel S, Nielsen DS. Assessment during storage and simulated gastric passage. *LWT* 2019; 99: 197-201.
26. Abriouel H, Franz CM, Omar NB, Gálvez A. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS Microbiol Rev* 2011; 35(1): 201-232.
27. Kosaka T, Maeda T, Nakada Y, Yukawa M, Tanaka S. Effect of *Bacillus subtilis* spore administration on activation of macrophages and natural killer cells in mice. *Vet Microbiol* 1998; 60(2-4): 215-225.
28. Fiorini G, Cimminiello C, Chianese R, Visconti G, Cova D, Uberty T, et al. *Bacillus subtilis* selectively stimulates the synthesis of membrane bound and secreted IgA. *Chemioterapia* 1985; 4(4): 310-312.
29. Marseglia GL, Tosca M, Cirillo I, Licari A, Leone M, Marseglia A, et al. Efficacy of *Bacillus clausii* spores in the prevention of recurrent respiratory infections in children: a pilot study. *Ther Clin Risk Manag* 2007; 3(1): 13.
30. Urdaci M, Pinchuk I. Antimicrobial activity of *Bacillus* probiotics In: *Horizon Bioscience*, Ed. Bacterial spore formers-Probiotics and emerging applications Norfolk, UK; 2004. p. 171-182.
31. Urdaci MC, Bressollier P, Pinchuk I. *Bacillus clausii* probiotic strains: antimicrobial and immunomodulatory activities. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: S86-S90.
32. Duc LH, Hong HA, Barbosa TM, Henriques AO, Cutting SM. Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70(4): 2161-2171.
33. Marrec L. Coagulin, a bacteriocin like inhibitory substance produced by *Bacillus coagulans* L4. *J Appl Microbiol* 1998; 85(1): 42-50.
34. Ozawa K, YABU-UCHI K, Yamanaka K, Yamashita Y, Ueba K, Miwatani T. Antagonistic effects of *Bacillus natto* and *Streptococcus faecalis* on growth of *Candida albicans*. *Microbiol Immunol* 1979; 23(12): 1147-1156.
35. Nagai S, Okimura K, Kaizawa N, Ohki K, Kanatomo S. Study on surfactin, a cyclic depsipeptide. II. Synthesis of surfactin B2 produced by *Bacillus natto* KMD 2311. *Chem Pharm Bull* 1996; 44(1): 5-10.
36. Hosoi T, Ametani A, Kiuchi K, Kaminogawa S. Changes in fecal microflora induced by intubation of mice with *Bacillus subtilis* (natto) spores are dependent upon dietary components. *Can J Microbiol* 1999; 45(1): 59-66.
37. Hosoi T, Ametani A, Kiuchi K, Kaminogawa S. Improved growth and viability of lactobacilli in the presence of *Bacillus subtilis* (natto), catalase, or subtilisin. *Can J Microbiol* 2000; 46(10): 892-897.
38. Ji J, Yang H. Using Probiotics as Supplementation for *Helicobacter pylori*

- Antibiotic Therapy. *Int J Mol Sci* 2020; 21(3): 1136.
39. Barbut F, Meynard JL. Managing antibiotic associated diarrhoea: Probiotics may help in prevention. *BMJ* 2002; 324(7350): 1345-1346.
 40. Plomer M, Perez M, Greifenberg DM. Effect of *Bacillus clausii* Capsules in Reducing Adverse Effects Associated with *Helicobacter pylori* Eradication Therapy: A Randomized, Double-Blind, Controlled Trial. *Infect Dis Ther* 2020; 9(4): 867-878.
 41. Maruta K, Miyazaki H, Masuda S, Takahashi M, Marubashi T, Tadano Y, et al. Exclusion of intestinal pathogens by continuous feeding with *Bacillus subtilis* C-3102 and its influence on intestinal microflora in broilers. *Anim Feed Sci Technol* 1996; 67(3): 273-280.
 42. Tejada-Simon MV, Pestka JJ. Proinflammatory Cytokine and Nitric Oxide Induction in Murine Macrophages by Cell Wall and Cytoplasmic Extracts of Lactic acid bacteria. *J Food Prot* 1999; 62(12): 1435-1444.
 43. Ishikawa H, Kutsukake E, Fukui T, Sato I, Shirai T, Kurihara T, et al. Oral administration of heat-killed *Lactobacillus plantarum* strain b240 protected mice against *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Biosci Biotechnol Biochem* 2010; 74(7): 1338-1342.
 44. Nakamura F, Ishida Y, Sawada D, Ashida N, Sugawara T, Sakai M, et al. Fragmented lactic Acid bacterial cells activate peroxisome proliferator-activated receptors and ameliorate Dyslipidemia in obese mice. *J Agric Food Chem* 2016; 64(12): 2549-2559.
 45. Nakamura S, Kuda T, An C, Kanno T, Takahashi H, Kimura B. Inhibitory effects of *Leuconostoc mesenteroides* 1RM3 isolated from narezushi, a fermented fish with rice, on *Listeria monocytogenes* infection to Caco-2 cells and A/J mice. *Anaerobe* 2012; 18(1): 19-24.
 46. Zeng J, Jiang J, Zhu W, Chu Y. Heat-killed yogurt-containing lactic acid bacteria prevent cytokine-induced barrier disruption in human intestinal Caco-2 cells. *Ann Microbiol* 2016; 66(1): 171-178.
 47. Orlando A, Refolo M, Messa C, Amati L, Lavermicocca P, Guerra V, et al. Antiproliferative and proapoptotic effects of viable or heat-killed *Lactobacillus paracasei* IMPC2. 1 and *Lactobacillus rhamnosus* GG in HGC-27 gastric and DLD-1 colon cell lines. *Nutr Cancer* 2012; 64(7): 1103-1111.
 48. Shinkai S, Toba M, Saito T, Sato I, Tsubouchi M, Taira K, et al. Immunoprotective effects of oral intake of heat-killed *Lactobacillus pentosus* strain b240 in elderly adults: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Nutr* 2013; 109(10): 1856-1865.
 49. Zhu L, Shimada T, Chen R, Lu M, Zhang Q, Lu W, et al. Effects of lysed *Enterococcus faecalis* FK-23 on experimental allergic rhinitis in a murine model. *J Biomed Res* 2012; 26(3): 226-234.
 50. Segawa S, Wakita Y, Hirata H, Watari J. Oral administration of heat-killed *Lactobacillus brevis* SBC8803 ameliorates alcoholic liver disease in ethanol-containing diet-fed C57BL/6N mice. *Int J Food Microbiol* 2008; 128(2): 371-377.
 51. Tsilingiri K, Rescigno M. Postbiotics: what else? *Benef Microbes* 2012; 4(1): 101-107.
 52. Cicienia A, Santangelo F, Gambardella L, Pallotta L, Iebba V, Scirocco A, et al. Protective role of postbiotic mediators secreted by *Lactobacillus rhamnosus* GG versus lipopolysaccharide-induced damage in human colonic smooth muscle cells. *J Clin Gastroenterol* 2016; 50: S140-S144.
 53. Amaretti A, Di Nunzio M, Pompei A, Raimondi S, Rossi M, Bordoni A. Antioxidant

- properties of potentially probiotic bacteria: in vitro and in vivo activities. *Appl Microbiol Biotechnol* 2013; 97(2): 809-817.
54. Shin HS, Park SY, Lee DK, Kim SA, An HM, Kim JR, et al. Hypcholesterolemic effect of sonication-killed *Bifidobacterium longum* isolated from healthy adult Koreans in high cholesterol fed rats. *Arch Pharm Res* 2010; 33(9): 1425-1431.
 55. Tiptiri-Kourpeti A, Spyridopoulou K, Santarmaki V, Aindelis G, Tompoulidou E, Lamprianidou EE, et al. *Lactobacillus casei* exerts anti-proliferative effects accompanied by apoptotic cell death and up-regulation of TRAIL in colon carcinoma cells. *PloS One* 2016; 11(2): e0147960.
 56. Li W, Ji J, Chen X, Jiang M, Rui X, Dong M. Structural elucidation and antioxidant activities of exopolysaccharides from *Lactobacillus helveticus* MB2-1. *Carbohydr Polym* 2014; 102: 351-359.
 57. Izuddin WI, Loh TC, Samsudin AA, Foo HL. In vitro study of postbiotics from *Lactobacillus plantarum* RG14 on rumen fermentation and microbial population. *R Bras Zootec* 2018; 47: e20170255.
 58. Kim HG, Lee SY, Kim NR, Lee HY, Ko MY, Jung BJ, et al. *Lactobacillus plantarum* lipoteichoic acid down-regulated *Shigella flexneri* peptidoglycan-induced inflammation. *Mol Immunol* 2011; 48(4): 382-391.
 59. Ogawa A, Kadooka Y, Kato K, Shirouchi B, Sato M. *Lactobacillus gasseri* SBT2055 reduces postprandial and fasting serum non-esterified fatty acid levels in Japanese hypertriacylglycerolemic subjects. *Lipids Health Dis* 2014; 13(1): 13-36.
 60. Khorshidian N, Yousefi Asli M, Hosseini H, Shadnough M, Mortazavian AM. Potential Anticarcinogenic Effects of Lactic Acid Bacteria and Probiotics in Detoxification of Process-Induced Food Toxicants. *Int J Cancer Prev* 2016; 9(5): e7920.
 61. Nowak A, Paliwoda A, Błasiak J. Anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-oxidative activity of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains: A review of mechanisms and therapeutic perspectives. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2019; 59(21): 3456-3467.
 62. Zhang S, Liu L, Su Y, Li H, Sun Q, Liang X, et al. Antioxidative activity of lactic acid bacteria in yogurt. *Afr J Microbiol Res* 2011; 5(29): 5194-5201.
 63. Saqib S, Akram A, Halim SA, Tassaduq R. Sources of β -galactosidase and its applications in food industry. *3 Biotech* 2017; 7(1): 79.
 64. Taverniti V, Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes Nutr* 2011; 6(3): 261-274.