



เอกสารรวบรวมบทความวิจัยและบทความคัดย่อ

โครงการประชุมวิชาการระดับชาตินานาชาติ ครั้งที่ 5

The 5th National and International Conference

"งานวิชาการรับใช้สังคม" Research to Serve Society
ในโอกาสครบรอบ 25 ปี ของมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

HCU's 25th Anniversary

Conference Proceeding

26 พฤษภาคม 2560 / 26th May 2017

ณ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสมุทรปราการ
at Huachiew Chalermprakiet University Samutprakarn, Thailand

ผลของการบริโภคโปรไบโอติกต่อระดับไตเตอร์ anti-A และ anti-B Effects of Consuming Probiotic on the Anti-A and Anti-B Titers Level

วีรวรรณ ขาญศิลป์^{1*}, มยุรี เก่งเกตุ², วชิรญา อธิมั่ง³,
สินีนาน อุทา⁴, กฤตธร องค์ติลาณนท์⁵, สมภพ กลิ่นวิมล⁶
^{1, 2, 3} คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
^{4, 5} ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย
⁶ งานคลังเลือด กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลชลบุรี
E-mail: wcharsilpa2000@yahoo.com

บทคัดย่อ

มีรายงานปฏิกิริยาการแตกทำลายของเม็ดเลือดแดงในผู้ป่วยหมู่ B ที่ได้รับเกล็ดเลือดหมู่ A จากผู้บริจาค เกล็ดเลือดที่มีไตเตอร์ anti-B สูงจากการบริโภคโปรไบโอติก ปริมาณมาก จุดประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้คือเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการบริโภคโปรไบโอติก กับระดับไตเตอร์ anti-A และ anti-B โดยเปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังการบริโภคโปรไบโอติกในรูปนมเปรี้ยวของกลุ่มตัวอย่างจำนวน 16 ราย และเปรียบเทียบระดับไตเตอร์ของ anti-A และ anti-B ระหว่างกลุ่มผู้บริจาคโลหิตที่บริโภคโปรไบโอติกและไม่ได้บริโภคโปรไบโอติกกลุ่มละ 50 ราย ซึ่งมาจากตัวอย่างทั้งหมดถูกรวบรวมตามระยะเวลาต่างๆ และนำมาตรวจหาระดับไตเตอร์ของ anti-A และ anti-B ชนิด IgM ด้วยวิธี column agglutination technique (CAT) ผลการศึกษาพบว่าระดับไตเตอร์ anti-A และ anti-B ก่อนและหลังการบริโภคโปรไบโอติกของกลุ่มตัวอย่าง 16 ราย ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตพบว่ามีเพียง anti-B ของผู้บริจาคหมู่ A เท่านั้นที่ผู้บริโภคโปรไบโอติกให้ค่าไตเตอร์สูงกว่าผู้ที่ไม่ได้บริโภคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.037$) ทั้งนี้อาจเกิดจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น ภูมิคุ้มกันของผู้ใหญ่อาจไม่ตอบสนองต่อโปรไบโอติกที่ได้รับโดยการบริโภค (oral immunotolerance) ชนิดของสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ได้รับ ระยะเวลาที่ถูกกระตุ้น และความสามารถของระบบภูมิคุ้มกันในการตอบสนองต่อโปรไบโอติกที่แตกต่างกันในคนหมู่เลือด A, B และ O ซึ่งจะต้องมีการศึกษาในเชิงลึกต่อไป

คำสำคัญ: โปรไบโอติก ปฏิกิริยาการแตกทำลายของเม็ดเลือดแดง anti-A ไตเตอร์ anti-B ไตเตอร์

Abstract

PLT-mediated HTRs in group B patient associated with the group A plateletpheresis component, collected from a high anti-B titer donor taking high doses of probiotics are reported. The aim of this study was to investigate the relation of the consumption of probiotics and anti-A and anti-B titers level. Anti-A and anti-B in 16 subjects were compared before and after consuming probiotic yogurt. Fifty subjects of each blood donors who consumed and did not consume probiotics were studied as well. Serum was collected and test for anti-A and anti-B titer using column agglutination technique (CAT). The results showed that there was no statistically significant difference ($p \geq 0.05$) titer level of anti-A and anti-B in 16 subjects before and after consuming probiotics. For blood donors, only the average titer of anti-B in group A donors who consumed probiotics was statistically significant higher than those who did not consume probiotics ($p = 0.037$). The results suggested that the consumption of probiotics had no effect on the anti-A and anti-B titers level, except in group A donors. This might come from several factors such as the adult immune system might not respond to probiotics received from

eating (oral immunotolerance), a variety of probiotics, the period of time of immunization and the received probiotics might have different effects on the immune system of each blood group which further studies might be needed.

Keywords: Probiotic, HTRs: hemolytic transfusion reactions, Anti-A, Anti-B titer

บทนำ

ในปี 2009 Jennifer Daniel-Johnson และคณะ ได้รายงานอุบัติการณ์ passive mediated hemolytic transfusion reactions (PMHTRs) ในผู้ป่วยหมู่เลือด B จำนวน 2 ราย ซึ่งได้รับเกล็ดเลือดหมู่ A ชนิด single donor platelets (SDPs) ที่เตรียมจากผู้บริจาครายเดียวกัน¹ ภายหลังได้รับเกล็ดเลือด ผู้ป่วยทั้งสองรายมีอาการบ่งชี้ชัดเจนว่ามีการแตกทำลายของเม็ดเลือดแดง เมื่อสืบสวนหาสาเหตุพบว่าใน SDPs มีระดับไตเตอร์ของ anti-B สูงถึง 16,384 เท่ากันทั้งชนิด IgM และ IgG ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีระดับไตเตอร์ระหว่าง 16 - 64 และ 16 - 128 สำหรับ IgM และ IgG ตามลำดับ จากการศึกษาประวัติของผู้บริจาคพบว่าระดับไตเตอร์ที่สูงมีความสัมพันธ์กับการบริโภคสารเสริมอาหารที่มีโปรไบโอติก (probiotics) เป็นส่วนประกอบ ซึ่งประกอบไปด้วยแบคทีเรียที่มีชีวิต ได้แก่ *Lactobacillus* จำนวน 7 สายพันธุ์ Bifidobacteria จำนวน 3 สายพันธุ์ และ *Bacillus subtilis*

เป็นที่ทราบกันว่าแอนติบอดีในหมู่เลือดระบบ ABO ซึ่งได้แก่ anti-A และ anti-B เป็นแอนติบอดีที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นทางธรรมชาติในช่วง 3-6 เดือนแรกของชีวิต² สิ่งกระตุ้นทางธรรมชาติอาจเป็นละอองเกสรดอกไม้ อาหาร หรือจากแอนติเจนของแบคทีเรียบางชนิดโดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมลบที่ปนเปื้อนมากับอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน colostrum คือน้ำนมที่ผลิตระหว่างการตั้งครรภ์และภายใน 72 ชั่วโมงช่วงหลังคลอด ซึ่งเป็นนมที่มีคุณภาพสูงและมีสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายทารก ที่สำคัญคือมีรายงานการพบ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* บางสายพันธุ์อยู่ใน colostrums ด้วย^{3,4} นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบจุลินทรีย์ในกลุ่ม Enterobacteriaceae ในระบบทางเดินอาหารของทารกแรกเกิดได้ตั้งแต่วันที่สองหลังจากคลอด⁵ แบคทีเรียเหล่านี้มีโครงสร้างบางส่วนคล้ายกับ แอนติเจน A และ B ของหมู่เลือดระบบ ABO ตัวอย่างเช่น lipopolysaccharide ของ *Escherichia coli* serotype O86:B7 มีบางส่วนที่คล้ายแอนติเจน B ซึ่งสามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้าง anti-B ได้⁶ การบริโภคอาหารและสารเสริมอาหาร เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต ที่มีจุลินทรีย์โปรไบโอติกเป็นส่วนประกอบจึงอาจเป็นช่องทางหนึ่งที่ช่วยกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีของหมู่เลือดระบบ ABO เพิ่มขึ้นด้วยกลไกเดียวกันกับที่เกิดขึ้นในเด็กแรกเกิด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะเปรียบเทียบระดับไตเตอร์ของ anti-A และ anti-B ก่อนและหลังการบริโภค probiotics ในกลุ่มตัวอย่าง และศึกษาถึงความสัมพันธ์ของการบริโภค probiotics กับระดับ anti-A และ anti-B ในผู้บริจาคโลหิต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. กลุ่มตัวอย่าง

1.1 การเปรียบเทียบระดับไตเตอร์ของ anti-A และ/หรือ anti-B ชนิด IgM ก่อนและหลังจากที่ได้รับโปรไบโอติก

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการอนุมัติเพื่อทำการวิจัยในคน จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยของมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ โดยใช้กลุ่มตัวอย่างจำนวน 16 ราย มีอายุระหว่าง 20-30 ปี มีคุณสมบัติตามเกณฑ์การคัดเลือกผู้บริจาคโลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย และเป็นผู้ที่ไม่ได้บริโภคโปรไบโอติกแบบต่อเนื่องเป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 1 ปี โดยกลุ่มตัวอย่างนี้จะเป็นกลุ่มที่ได้รับนมเปรี้ยวชนิดปีทาแกน ที่มี *Lactobacillus paracasei* ตามข้อกำหนดของงานวิจัยคือ บริโภควันละ 1 ขวด (110 มิลลิลิตร) ในหนึ่งเดือนแรก บริโภควันละ 2 ขวด (220 มิลลิลิตร) ในเดือนที่สองและบริโภควันละ 3 ขวด (330 มิลลิลิตร) ในเดือนที่สาม กลุ่มตัวอย่างถูกเจาะเลือดเพื่อตรวจติดตามค่าไตเตอร์ของ anti-A และ anti-B จำนวน 5 ครั้ง โดยครั้งแรกคือหนึ่งวันก่อนบริโภคนมเปรี้ยว จากนั้นมีการเจาะเลือดอีก 4 ครั้ง ในระหว่างบริโภคนมเปรี้ยว คือเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 2, สัปดาห์ที่ 4, สัปดาห์ที่ 8 และสัปดาห์ที่ 12 เลือดที่เจาะได้จะถูกนำไปปั่นเพื่อแยกเก็บซีรัมไว้และทำการทดสอบพร้อมกันภายหลังจากที่เก็บตัวอย่างเลือดครบในสัปดาห์ที่ 12

1.2 การเปรียบเทียบระดับไตเตอร์ของ anti-A และ/หรือ anti-B ชนิด IgM ในผู้บริจาคโลหิต

ซีรัมจากผู้บริจาคโลหิต ณ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย จำนวน 150 ตัวอย่างที่ไม่ได้บริโภคโปรไบโอติกต่อเนื่องกันภายในระยะเวลา 1 ปีที่ผ่านมา โดยแบ่งเป็นหมู่ A, B และ O อย่างละ 50 ตัวอย่าง และอีก 150 ตัวอย่างได้จากผู้บริจาคโลหิตที่บริโภคโปรไบโอติกเป็นประจำไม่ต่ำกว่าสัปดาห์ละ 5 ครั้ง โดยแบ่งเป็นหมู่ A, B และ O อย่างละ 50 ตัวอย่าง ทำการรวบรวมจนครบตามจำนวนที่ต้องการแล้วจึงนำมาทดสอบพร้อมกัน

2. การตรวจหาระดับไตเตอร์ของ anti-A และ/หรือ anti-B ชนิด IgM

เจือจางซีรัมแบบ two fold dilution ด้วย NSS โดยเริ่มจาก 1:2 จนถึง 1: 2048 จากนั้นใส่ standard A cell หรือ B cell ความเข้มข้น 1% ปริมาตร 25 μ l ใส่ซีรัม 50 μ l ลงใน reaction chamber ของ microcolumn นำไป incubate ที่ 37°C นาน 15 นาที จากนั้นนำไปปั่นที่ 1100 rpm นาน 10 นาที อ่านปฏิกิริยาการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (red cells agglutination) ระบุเป็น 4+, 3+, 2+ และ 1+ โดยที่ค่าไตเตอร์คือส่วนกลับของค่าเจือจางสุดท้ายที่ให้ผลการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงเท่ากับ 1+

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยไตเตอร์ที่ตรวจได้ก่อนและหลังบริโภคโปรไบโอติก จะแสดงข้อมูลโดยใช้แผนภูมิ histogram ส่วนการเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่มตัวอย่างของผู้บริจาคโลหิตที่บริโภคและไม่บริโภคโปรไบโอติก จะใช้ pair t-test ($\alpha=0.05$) สำหรับเปรียบเทียบข้อมูลโดยทดสอบความเป็นอิสระต่อกันของประชากรสองกลุ่ม (Chi-square test) และ ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มที่เป็นอิสระจากกันด้วยการทดสอบทางสถิติชนิด independent sample t-test ($\alpha=0.05$) โดยแปลงระดับการเกาะกลุ่ม 4+, 3+, 2+ และ 1+ เป็น คือ 12, 10, 8 และ 5 ตามลำดับ ซึ่งค่า agglutination score ที่ได้จะแปรผันตามค่าไตเตอร์ การวิเคราะห์ทางสถิติทำโดยใช้โปรแกรม SPSS 20.0

ผลการวิจัย

1. ผลของการบริโภคโปรไบโอติกต่อค่าพารามิเตอร์ทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

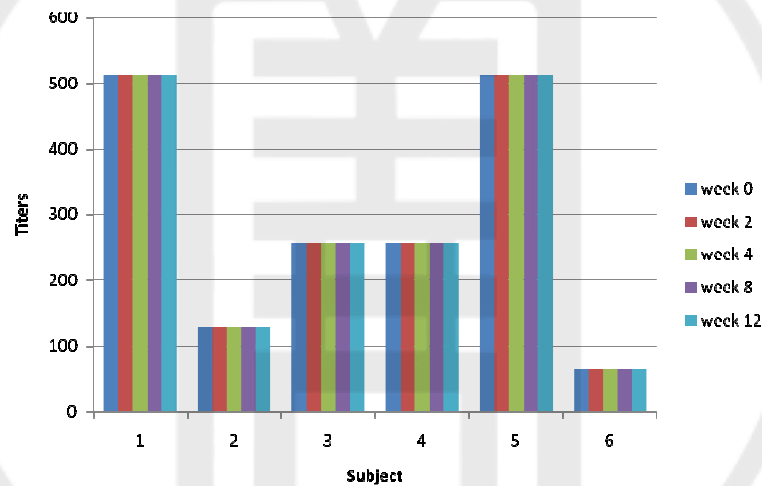
เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยาและ lipid profile ก่อนและหลังการบริโภคโปรไบโอติกที่มี *L. paracasei* ของกลุ่มตัวอย่างจำนวน 16 ราย พบว่ามีค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา ได้แก่ hemoglobin concentrate, hematocrit, white blood cell count, platelet count และ red blood cell count และค่า lipid profile ได้แก่ cholesterol, triglyceride, HDL และ LDL ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังการได้รับโปรไบโอติก โดยใช้ paired sample t-test ($\alpha=0.05$) ในการทดสอบทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา และ lipid profile

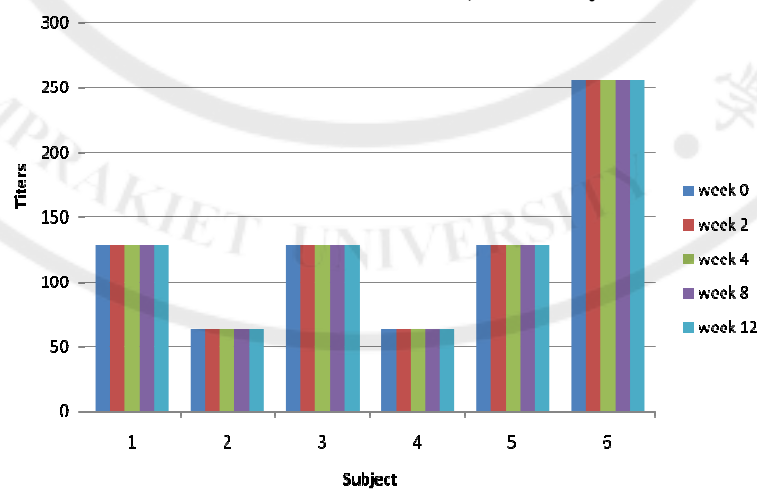
	Hb (g/dl)	Hct (%)	WBC (cell/ μ l)	RBC ($\times 10^6$ cell/ μ l)	Plt (cell/ μ l)	Chol mg/dl	Trig mg/dl	HDL mg/dl	LDL mg/dl
Before	42.3	13.8	6732.4	4.80	226,138	199.9	105.3	62.0	117.1
After	41.8	14.1	7543.6	4.57	231,893	198.5	106.5	63.6	115.4
<i>p-value</i>	0.25	0.19	0.52	0.31	0.67	0.511	0.347	0.095	0.294

2. ระดับไตเตอร์ของ anti-A และ anti-B ก่อนและหลังบริโภครูปโปรตีน

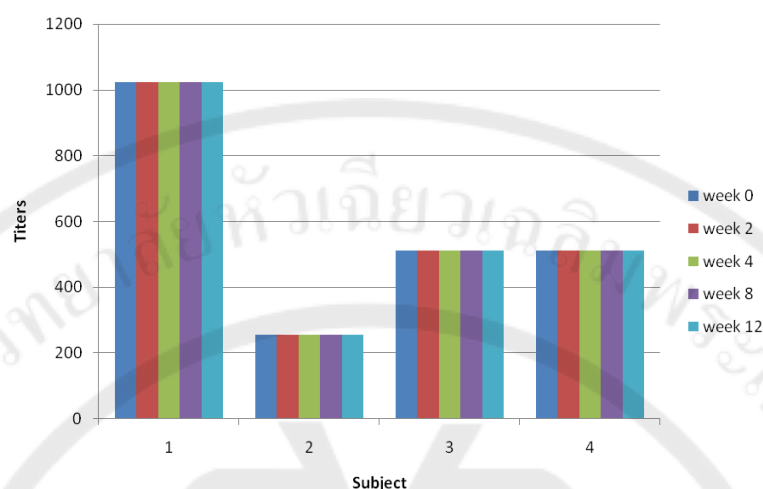
จากการศึกษาระดับไตเตอร์ชนิด IgM ของ anti-A และ anti-B ก่อนและหลังบริโภครูปโปรตีนของกลุ่มตัวอย่าง 16 ราย แบ่งเป็นหมู่เลือด A, B และ O จำนวน 6, 6 และ 4 รายตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าระดับไตเตอร์ของ anti-A และ anti-B มีค่าคงที่ตั้งแต่ก่อนการบริโภคนมเปรี้ยว ระหว่างการบริโภคนมและจนกระทั่งสิ้นสุดเวลาทำการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 1, 2, 3 และ 4



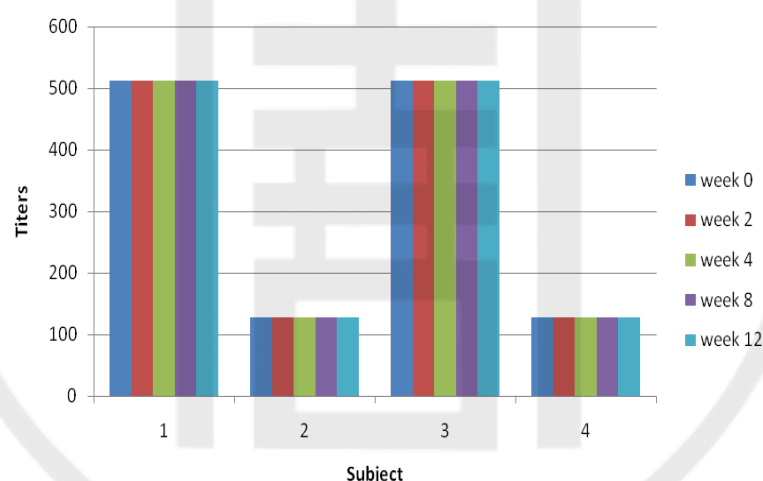
ภาพที่ 1 ระดับไตเตอร์ anti-B ชนิด IgM ในกลุ่มตัวอย่างหมู่เลือด A (N=6)



ภาพที่ 2 ระดับไตเตอร์ anti-A ชนิด IgM ในกลุ่มตัวอย่างหมู่เลือด B (N=6)



ภาพที่ 3 ระดับไตเตอร์ anti-A ชนิด IgM ในกลุ่มตัวอย่างหมู่เลือด O (N=4)



ภาพที่ 4 ระดับไตเตอร์ anti-B ชนิด IgM ในกลุ่มตัวอย่างหมู่เลือด O (N=4)

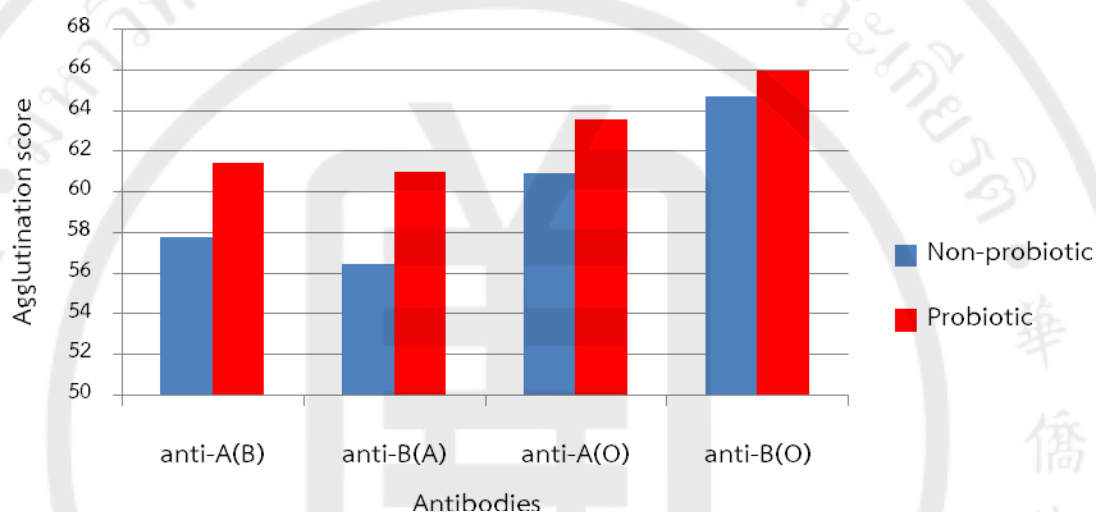
3. ค่าการเกาะกลุ่ม (agglutination score) ของ anti-A และ anti-B ชนิด IgM ของหมู่เลือดระบบ ABO ในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตที่ไม่ได้บริโภคน้ำและบริโภคน้ำไปโรค

ผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่มของ anti-A ของผู้บริจาคโลหิตหมู่ B ที่ไม่ได้บริโภคน้ำและบริโภคน้ำไปโรค มีค่าเท่ากับ 57.76 และ 61.46 ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่มของ anti-B ของผู้บริจาคโลหิตหมู่ A ที่ไม่ได้บริโภคน้ำและบริโภคน้ำไปโรค มีค่าเท่ากับ 56.42 และ 60.98 ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่มของ anti-A ของผู้บริจาคโลหิตหมู่ O ที่ไม่ได้บริโภคน้ำและบริโภคน้ำไปโรค มีค่าเท่ากับ 60.9 และ 63.56 ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่มของ anti-B ของผู้บริจาคโลหิตหมู่ O ที่ไม่ได้บริโภคน้ำและบริโภคน้ำไปโรค มีค่าเท่ากับ 64.74 และ 65.98 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่มของ anti-A และ anti-B ระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ได้บริโภคน้ำและบริโภคน้ำไปโรคโดยใช้การทดสอบทางสถิติชนิด independent sample t-test ($\alpha=0.05$) พบว่าผู้บริจาคโลหิตหมู่ A ที่บริโภคน้ำไปโรคมีค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่ม

ของ anti-B สูงกว่าผู้ที่ไม่ได้บริโภคมียีนสำคัญทางสถิติ ($p=0.037$) และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่มของ anti-A และ anti-B ระหว่างผู้บริจาคโลหิตที่ไม่ได้บริโภคและบริโภคโปรไบโอติกในผู้บริจาคหมู่ O เช่นเดียวกับ anti-A ในผู้บริจาคโลหิตหมู่ B ($p \geq 0.05$)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่มของ anti-A และ anti-B ของหมู่เลือดระบบ ABO

Antibody	Group B		Group A		Group O	
	None	Probiotics	None	Probiotics	None	Probiotics
Anti-A	57.76	61.46	-	-	60.9	63.56
Anti-B	-	-	56.42	60.98	64.74	65.98



ภาพที่ 5 Agglutination score ของ anti-A และ anti-B ของผู้บริจาคโลหิตหมู่เลือด A, B และ O

สรุปและอภิปรายผล

จากผลการตรวจวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยาทั้งก่อนและหลังการบริโภคโปรไบโอติกที่มี *L. paracasei* ของกลุ่มตัวอย่างจำนวน 16 ราย พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) กล่าวคือการบริโภค *L. paracasei* ไม่ได้มีผลต่อค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ทางโลหิตวิทยาและ lipid profile ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Olivares และคณะ ที่ทำการวิเคราะห์เลือดของอาสาสมัครก่อนและหลังบริโภคจุลินทรีย์โปรไบโอติกสองสายพันธุ์คือ *L. gasseri* CECT5714 และ *L. coryniformis* CECT5711 และพบว่าทุกพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับพยาธิวิทยาทางคลินิกอยู่ภายในช่วงของคนปกติ สอดคล้องกับรายงานของ Zhou และคณะ ที่ได้ทำการทดสอบความปลอดภัยของจุลินทรีย์โปรไบโอติกชนิด *L. rhamnosus* HN001, *L. acidophilus* HN017, และ *Bifidobacterium lactis* HN019 ในหนูทดลองเป็นเวลาสี่สัปดาห์ จากนั้นทำการวัดค่าพารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา ได้แก่ red blood cell, platelet counts, haemoglobin concentration, mean corpuscular volume, mean corpuscular haemoglobin และ mean corpuscular haemoglobin concentration ผลที่ได้พบว่าจุลินทรีย์โปรไบโอติกสายพันธุ์ดังกล่าวไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงค่าใด ๆ เหล่านี้เช่นกัน⁹

มีรายงานเกี่ยวกับผลของโปรไบโอติกต่อ lipid profile ที่กล่าวว่าโปรไบโอติกสามารถช่วยลดระดับไขมันในเส้นเลือดได้ โดยผ่านกลไกหลายอย่าง เช่น ทำให้กรดน้ำดีไม่สามารถมารวมตัวกันได้โดยปฏิกิริยาการย่อย

เกลือน้ำดี จึงต้องดึงคลอเรสเตอรอลในเลือดไปใช้ในการผลิตเกลือน้ำดีส่งผลให้คลอเรสเตอรอลในเลือดลดลง การดูดซึมและนำคลอเรสเตอรอลไปใช้เพื่อความเร็วของเยื่อหุ้มเซลล์ การเปลี่ยนคลอเรสเตอรอลให้เป็นโคโปรสเตอรอล (coprostanol) การยับยั้งการสังเคราะห์คลอเรสเตอรอลที่ตับจากกรดไขมันสายสั้นเช่น propionate โดยแบคทีเรียโปรไบโอติก และการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของคลอเรสเตอรอลระหว่างพลาสมาและตับ แต่อย่างไรก็ตาม รายงานการลดคลอเรสเตอรอลระบุว่า การลดคลอเรสเตอรอลเหล่านี้เกิดขึ้นได้จากโปรไบโอติกบางสายพันธุ์เท่านั้น เช่น *L. Plantarum*, *L. acidophilus*⁹ และยังมีจุลินทรีย์โปรไบโอติกอีกหลายสายพันธุ์ที่ไม่มีผลต่อ lipid profile ของผู้บริโภค เช่น ในรายงานของ Hatakka และคณะ¹⁰ ที่ทดลองให้กลุ่มตัวอย่างบริโภคโปรไบโอติกที่มีจุลินทรีย์สายพันธุ์ *L. rhamnosus* ขนาด 10^{10} CFU ต่อแคปซูล วันละสองแคปซูลเป็นเวลาสี่สัปดาห์ และตรวจพบว่าการบริโภคโปรไบโอติกไม่มีผลกระทบต่อ ไขมันในเลือดของกลุ่มตัวอย่าง เช่นเดียวกับงานของ Simon และคณะ¹¹ ที่รายงานว่าบริโภค *L. fermentum* ขนาด 2×10^{10} CFU ต่อแคปซูล โดยบริโภควันละสี่แคปซูล เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ก็ไม่ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของไขมันในกระแสเลือดเช่นเดียวกัน แต่ทั้งการทดลองของ Hatakka และ Simon นั้นต่างก็บริโภคโปรไบโอติกในรูปแบบของแคปซูล อาจกล่าวได้ว่าการบริโภคโปรไบโอติกที่สามารถลดไขมันในเลือดได้นั้น ต้องมีอย่างน้อยสองปัจจัย คือ สายพันธุ์ที่เฉพาะเจาะจงของจุลินทรีย์โปรไบโอติก และจุลินทรีย์สายพันธุ์นั้นต้องมีชีวิตและอยู่ในรูป active form นอกจากนี้อาจจะเกี่ยวข้องกับสภาวะทางพยาธิวิทยาทางคลินิกของกลุ่มตัวอย่าง ระยะเวลาที่ได้รับโปรไบโอติก ขนาดตัวอย่าง และการควบคุมที่เหมาะสมด้วย¹² ผลการทดลองที่ได้ยังสอดคล้องกับงานของ Olivares และคณะ¹³ ที่ทำการวัดค่าความเข้มข้นของ cholesterol และ triacylglycerides ในพลาสมา ในเลือดของอาสาสมัครก่อนและหลังบริโภคจุลินทรีย์โปรไบโอติกสองสายพันธุ์คือ *L. gasseri* CECT5714 และ *L. coryniformis* CECT5711 ซึ่งผลที่ได้พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน

จากสมมุติฐานการวิจัยที่ว่าจุลินทรีย์โปรไบโอติกสามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดีเพิ่มขึ้น แต่เมื่อพิจารณาผลที่ได้จากการเปรียบเทียบระดับไคโตเตอร์ของ anti-A และ anti-B ของกลุ่มตัวอย่าง ทั้งก่อนและหลังการบริโภคโปรไบโอติกชนิดนมเปรี้ยวซึ่งมีจุลินทรีย์ชนิด *L. paracasei* ที่มีชีวิต พบว่าผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแตกต่างจากงานของ Jennifer Daniel-Johnson และคณะที่รายงานว่า ระดับไคโตเตอร์ที่สูงของแอนติบอดีมีความเกี่ยวข้องกับการบริโภคสารเสริมอาหารที่มีจุลินทรีย์โปรไบโอติกเป็นส่วนประกอบ ซึ่งการที่ระดับไคโตเตอร์ของกลุ่มตัวอย่าง 16 ราย ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ หรือไม่ตอบสนองต่อโปรไบโอติกที่บริโภคเข้าไปนั้นอาจเนื่องมาจากหลายปัจจัย เช่น สายพันธุ์ของโปรไบโอติกที่ใช้ในการทดลองแตกต่างกัน ปริมาณจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่กลุ่มตัวอย่างได้รับแตกต่างกัน เนื่องจากมีรายงานว่าหากได้รับจุลินทรีย์ที่แปรเปลี่ยนไปเป็นแอนติเจนเมื่อถูกย่อยในระบบทางเดินอาหารและลำไส้เล็กในปริมาณที่มากเกินไปกว่าปริมาณที่เหมาะสมในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ก็อาจทำให้ภูมิคุ้มกันของร่างกายไม่ตอบสนองต่อแอนติเจนนั้น ๆ ได้¹⁴ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยสำคัญอีกอย่างหนึ่งที่น่าจะเป็นเหตุผลของการที่ระดับไคโตเตอร์ในเลือดของกลุ่มตัวอย่างไม่เพิ่มขึ้น นั่นก็คือวิธีการที่รับแอนติเจนเข้าสู่ร่างกาย ในกรณีนี้ คือ สภาวะภูมิคุ้มกันไม่ตอบสนองต่อจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่ได้รับโดยการกิน (oral immunotolerance) ทำให้ไม่เกิดการกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดีเพื่อตอบสนองต่อแอนติเจนของ *L. paracasei* นักวิจัยยอมรับว่าในบางกรณี การได้รับสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกายโดยการบริโภคกลับไม่ได้รับการตอบสนองจากภูมิคุ้มกันในร่างกาย แม้ว่าจะมีเซลล์ที่สามารถตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นจำนวนมากในเยื่อลำไส้ อาจเนื่องจากการได้รับผ่านการกินเป็นเส้นทางที่ได้รับตามธรรมชาติและไม่ส่งสัญญาณอันตรายต่อร่างกาย¹⁵ ผลจากการทดลองในหนูพบว่าหลังจากที่ร่างกายได้รับสิ่งแปลกปลอม เช่น เมื่อจุลินทรีย์ถูกย่อยสลายจะเกิดโปรตีนแอนติเจนต่าง ๆ ที่ละลายน้ำได้ และโปรตีนเหล่านี้เองที่ไปลดการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน โดยเฉพาะ T cell และ B cell อย่างไรก็ตามการตอบสนองเช่นนี้ไม่ได้เกิดขึ้นโดยทั่วไป แต่จะเกิดขึ้นอย่างเฉพาะเจาะจงต่อแอนติเจนบางชนิดเท่านั้น¹³ และนี่อาจเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้จุลินทรีย์โปรไบโอติกบางชนิดไม่ส่งผลกระทบต่อระดับไคโตเตอร์ของแอนติบอดีหลังจากการบริโภคเข้าไป

การพบว่าค่าไตเตอร์ของ anti-A และ anti-B ในกลุ่มตัวอย่าง 16 ราย ที่บริโรคและไม่ได้บริโรคโพรไบโอติกไม่มีความแตกต่างกัน รวมถึงค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่มของ anti-A และ anti-B ในผู้บริจาคโลหิตหมู่เลือด O และค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่มของ anti-A ในผู้บริจาคโลหิตหมู่เลือด B ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างผู้ที่บริโรคและไม่บริโรคโพรไบโอติกนั้น แสดงให้เห็นว่าการบริโรคโพรไบโอติกไม่มีส่วนในการทำให้ anti-A และ anti-B ในคนหมู่เลือด B และ O เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีงานวิจัยหลายฉบับที่ระบุว่าโพรไบโอติกไม่มีผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น งานวิจัยของ Matsuda และคณะ ที่ได้ทดลองใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติก *Bifidobacterium breve* เพื่อช่วยปรับปรุงภูมิคุ้มกันของเด็กที่อายุต่ำกว่า 5 ขวบในบังคลาเทศที่ได้รับวัคซีน cholera ทางปาก พวกเขาพบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ให้แก่เด็กนั้นไม่ช่วยทำให้ภูมิคุ้มกันตอบสนองได้ดีขึ้นแต่อย่างใด¹⁶ Pérez และคณะได้ศึกษาผลของโพรไบโอติกในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของเด็ก 162 คน ที่มีดัชนีการสัมผัสกับจุลินทรีย์ในธรรมชาติสูง โดยกลุ่มเด็กที่เข้าร่วมการทดลองจะได้รับประทานนมที่หมักด้วยโพรไบโอติกที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Streptococcus thermophilus*, และ *L. casei* กับ *L. acidophilus* เป็นเวลาอย่างน้อย 4 เดือน ผลการทดลองพบว่า immunoglobulin และ isoagglutinin ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกไม่มีความแตกต่างกันแต่อย่างใดเช่นกัน¹⁷

อย่างไรก็ตามในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตหมู่ A ที่บริโรคโพรไบโอติกนั้นกลับมีผลค่าเฉลี่ยการเกาะกลุ่มของ anti-B สูงกว่า ผู้ที่ไม่ได้บริโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.037$) ซึ่งต่างจากผลที่ได้จากกลุ่มตัวอย่างหมู่เลือด A จำนวน 6 ราย ที่พบมาก่อนและหลังได้รับโพรไบโอติกมีระดับของ anti-B ไม่แตกต่างกัน สาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลการทดลองในผู้บริจาคโลหิตหมู่เลือด A แตกต่างจาก กลุ่มตัวอย่างหมู่เลือด A คือ ความแตกต่างของสายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติก จุลินทรีย์ที่กลุ่มตัวอย่างบริโรคมีเพียงสายพันธุ์เดียวคือ *L. paracasei* ส่วนในผู้บริจาคโลหิตหมู่ A นั้นมีการบริโรคโพรไบโอติกที่มีจุลินทรีย์หลากหลายสายพันธุ์แตกต่างกันไป จึงอาจมีผลทำให้ได้ผลการทดลองที่แตกต่างกัน นอกจากนี้แล้วยังอาจเป็นไปได้ว่า การที่ได้รับจุลินทรีย์โพรไบโอติกหลายชนิดพร้อมกัน หรือได้รับเฉพาะบางชนิดที่มีความเฉพาะเจาะจง จะมีผลต่อ antibody ของหมู่เลือด A, B และ O แตกต่างกัน เช่นเดียวกับในรายงานของ Daniel-Johnson และคณะ ที่พบว่าระดับไตเตอร์ anti-B จากผู้บริจาคหมู่เลือด A มีค่าสูงผิดปกติหลังจากได้รับประทานโพรไบโอติก และงานวิจัยของ Kinoshita และคณะ ที่กล่าวว่า glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) บนผิวเซลล์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. plantarum* LA 318 สามารถยึดเกาะกับ antigen ของหมู่เลือด A, B ได้ดีกว่า O ในเยื่อเมือกลำไส้ของมนุษย์¹⁸ นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Springer และ Horton⁶ ที่สอดคล้องกับแนวคิดที่ว่าแอนติเจนที่ได้รับจากจุลินทรีย์มีผลต่อการกระตุ้นแอนติบอดีของร่างกายในคนหมู่เลือด A, B และ O แตกต่างกัน โดย Springer และ Horton ได้ทำการทดลองโดยให้เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* O แก่กลุ่มตัวอย่างที่มีสุขภาพดีและกลุ่มตัวอย่างที่มีอาการของลำไส้แปรปรวนด้วยวิธีรับประทานและผ่านเข้าทางจมูก ผลที่ได้พบว่า หนึ่งในสามของผู้มีสุขภาพดีก็มีระดับของ Anti-A และ Anti-B เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และ 80% ของผู้ป่วยที่มีอาการลำไส้แปรปรวน ที่มีหมู่เลือด A และ O ก็มีระดับของ Anti-B ในเลือดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ที่น่าสนใจคือผู้ป่วยหมู่เลือด A มีระดับของ Anti-B สูงกว่าคนหมู่เลือด O ถึงสามเท่า ผู้วิจัยดังกล่าวคาดว่าค่าการที่ระดับของ Anti-B ในคนหมู่เลือด A สูงกว่า หมู่เลือด O นั้นอาจเนื่องจากประสิทธิภาพในการกำจัดแอนติเจนจาก *E. coli* ในคนหมู่เลือด O เกิดขึ้นได้ดีกว่าหมู่เลือด A นั่นเอง จะเห็นได้ว่าปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ วิธีการได้รับโพรไบโอติก สายพันธุ์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติก และแอนติเจนจากจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่จำเพาะต่อหมู่เลือด A, B และ O ล้วนเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของแอนติบอดีทั้งสิ้น ซึ่งต้องมีการศึกษาปัจจัยเหล่านี้เพิ่มเติมอย่างละเอียดในเชิงลึกต่อไป

บรรณานุกรม

1. Daniel-Johnson J, Leitman S, Klein H, Alter H, Lee-Stroka A, Scheinberg P, Pantin J, Quillen K. Probiotic-associated high-titer anti-B in a group A platelet donor as a cause of severe hemolytic transfusion reactions. *Transfusion*. 2009; 49(9):1845–9.
2. Harmening DM. *Modern blood banking transfusion & practices* 5th ed. 2005.
3. Gueimonde M, Laitinen K, Salminen S and Isolauri E. Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation. *Neonatology*. 2007; 92(1):64–6.
4. Martín R, Jiménez E, Heilig H, Fernández L, Marín ML, Zoetendal EG and Rodríguez JM. Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR. *Applied and Environmental Microbiology*. 2009; 75(4):965–9.
5. Saavedra JM. Use of probiotics in pediatrics: rationale, mechanisms of action, and practical aspects. *Nutrition in Clinical Practice*. 2007; 22(3):351–65.
6. Springer GF and Horton RE. Blood group isoantibody stimulation in man by feeding blood group-active bacteria. *The Journal of Clinical Investigation*. 1969; 48:1280–91.
7. Olivares M, Di'az-Ropero MP, Gómez N, Lara-Villoslada F, Sierra S, Maldonado JA et al. Oral administration of two probiotic strains, *Lactobacillus gasseri* CECT5 7 1 4 and *Lactobacillus coryniformis* CECT5711, enhances the intestinal function of healthy adults. *International Journal of Food Microbiology*. 2006; 104:107–11.
8. Zhou JS, Shu Q, Rutherford KJ, Prasad J, Birtles MJ, Gopal PK and Gill HS. Safety assessment of potential probiotic lactic acid bacterial strains *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lb. acidophilus* HN017, and *Bifidobacterium lactis* HN019 in BALB/c mice. *International Journal of Food Microbiology* 2000; 56(1):87–96.
9. Homayouni A, Payahoo L and Azizi A. Effects of Probiotics on Lipid Profile: A Review. *American Journal of Food Technology* 2012; 7(5):251–65.
10. Hatakka K, Mutanen M, Holma R, Saxelin M and Korpela R. *Lactobacillus rhamnosus* LC705 together with *Propionibacterium freudenreichii* ssp *shermanii* JS Administered in Capsules Is Ineffective in Lowering Serum Lipids. *Journal of the American College of Nutrition* 2008; 27:441–7.
11. Simons LA, Amansec SG and Conway P. Effect of *Lactobacillus fermentum* on Serum Lipids in Subjects with Elevated Serum Cholesterol. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 2006; 16:531–5.
12. Lay-Gaik Ooi and Min-Tze Liong. Cholesterol-Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics: A Review of in Vivo and in Vitro Findings. *International Journal of Molecular Sciences*. 2010; 11:2499–522.
13. Mayer L, Sperber K, Chan L, Child J and Toy L. Oral tolerance to protein antigens. *Allergy*. 2004; 56(s67):12–5.
14. Weiner HL. Oral tolerance: immune mechanisms and treatment of autoimmune diseases. *Immunology Today*. 1997; 18(7):335–43.
15. Weiner HL. Oral tolerance, an active immunologic process mediated by multiple mechanisms. *Journal of Clinical Investigation*. 2000; 106(8):935–937.

16. F. Matsuda MI, Chowdhury A, Saha T, Asahara K, Nomoto AA, Tarique T et al. Evaluation of a probiotics, *Bifidobacterium breve* BBG-01, for enhancement of immunogenicity of an oral inactivated cholera vaccine and safety: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial in Bangladeshi children under 5 years of age. *Vaccine*. 2011; 29(10):1855-8.
17. Pe´rez N, Iannicelli JC, Girard-Bosch C, Gonza´lez S, Varea A, Disalvo L et al. Effect of probiotic supplementation on immunoglobulins, isoagglutinins and antibody response in children of low socio-economic status. *European Journal of Nutrition*. 2010; 49:173-9.
18. Kinoshita H, Wakahara N, Watanabe M, Kawasaki T, Matsuo H, Kawai Y et al. Cell surface glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) of *Lactobacillus plantarum* LA 318 recognizes human A and B blood group antigens. *Research in Microbiology*. 2008; 159(9-10):685-91.