

---

# Perbandingan Efek *Live* dan *Heat-killed Probiotic* Terhadap Penyembuhan Diare Akut Nondisentri pada Anak

Reby Kusumajaya, Ina Rosalina, Sri Endah Rahayuningsih

Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/RS Dr. Hasan Sadikin, Bandung

**Latar belakang.** Diare akut masih menjadi penyebab morbiditas dan mortalitas, terutama di negara berkembang. Probiotik sebagai mikroorganisme hidup jika dikonsumsi dalam jumlah cukup akan memberikan manfaat terhadap tubuh pejamu. Namun masih terdapat masalah teknologi probiotik yang sulit diatasi, yaitu hilangnya dosis dan aktivitas yang tidak dapat diprediksi karena kualitas penyimpanan sediaan yang beragam. *Heat-killed probiotic* sudah mengalami tinalisasi menawarkan sediaan farmasi yang lebih stabil dengan aktivitas yang sama.

**Tujuan.** Menilai efektifitas *heat-killed probiotic* dibandingkan dengan *live probiotic* terhadap anak yang menderita diare akut nondisentri.

**Metode.** Uji klinis acak tersamar buta ganda terhadap pasien diare akut nondisentri usia 6-24 bulan dengan atau tanpa dehidrasi ringan-sedang di RS Hasan Sadikin, RSUD Ujung Berung dan RSUD Cibabat pada periode bulan April-Mei 2008. Setiap subjek mendapat satu bungkus berisi  $3 \times 10^{10}$  *probiotic* atau  $10^7$  *live probiotic*, kemudian dilanjutkan dengan interval 8 sampai 12 jam per hari selama lima hari. Durasi dan frekuensi defekasi dicatat secara kuantitatif. Analisis statistik dihitung dengan menggunakan uji t.

**Hasil.** Didapatkan 52 anak (25 *heat-killed probiotic*, 27 *live probiotic*) masuk ke dalam penelitian. Rata-rata durasi diare menurun secara bermakna pada pasien yang diberi *heat-killed probiotic* (50,2 jam SB 28,6) dibandingkan dengan *live probiotic* (74,8 jam SB 28,8) ( $p=0,003$ ). Rata-rata frekuensi defekasi juga lebih rendah secara bermakna pada kelompok *heat-killed probiotic* dibandingkan dengan kelompok *live probiotic* (8,3;SB 7,4 vs 10,7;SB6,4).

**Kesimpulan.** *Heat-killed probiotic* lebih baik dalam mengurangi lama diare dan frekuensi defekasi daripada *live probiotic* pada anak pasien diare akut nondisentri. (**Sari Pediatri** 2009;10(5):302-7).

**Kata kunci:** *live probiotic*, *heat-killed probiotic*, diare akut nondisentri, anak

---

## Alamat Korespondensi:

Reby Kusumajaya, dr. Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran/Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Jl. Pasteur No. 38 Bandung 40163, Indonesia. Telp. 022-2035957. email: [dr\\_reby@yahoo.com](mailto:dr_reby@yahoo.com)

**D**iare akut di negara berkembang menyebabkan mortalitas dan morbiditas yang tinggi, lebih dari dua juta anak setiap tahun. Di wilayah Asia Tenggara perkiraan kematian akibat diare hampir sama dengan di seluruh

dunia, yaitu berada di urutan kedua (18%) pada sepuluh kasus terbanyak setelah pneumonia (19%).<sup>1-3</sup> Di Indonesia, rata-rata episode diare terjadi sekitar 1,6-2 kali per tahun. Dari hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 1995, diare menempati urutan ketiga penyebab kematian bayi dan kedua pada balita.<sup>4</sup> Diare yang disebabkan virus lebih banyak terjadi dibandingkan dengan diare yang disebabkan bakteri. Infeksi *rotavirus* telah diidentifikasi sebagai penyebab gastroenteritis nonbakteri pada anak dan terjadi di seluruh penjuru dunia. *Rotavirus* dapat menyerang semua kelompok usia dan sebagian besar menimbulkan penyakit pada anak usia antara 6-24 bulan.<sup>5-7</sup>

Paradigma baru dalam terapi tambahan pada diare, dengan cara memelihara mikroekosistem bakteri nonpatogen dalam usus, sehingga dapat mencegah kolonisasi bakteri patogen penyebab diare yang dikenal sebagai probiotik.<sup>8</sup> Beberapa telaah peneliti setuju bahwa probiotik dapat mengurangi durasi diare dibandingkan dengan plasebo. Probiotik sebagai mikroorganisme hidup, jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup akan memberikan manfaat terhadap tubuh pejamu. Saat ini masih dalam perdebatan apakah mikroorganisme mempunyai efek yang sama dalam intestinal apabila diberikan dalam keadaan hidup atau mati. Dalam satu penelitian mengenai aktivitas imunomodulator yang ditimbulkan oleh beberapa galur *Lactobacillus*, ditemukan produksi IL-12 lebih banyak diinduksi oleh *heat-killed L. lactis* subsp (*Lactis* G50) dibandingkan dengan yang diinduksi oleh bakteri hidup.<sup>9</sup> Mediator IL-12 akan menginduksi respons Th1 dan jika reaksi Th1 diinisiasi (dalam hal ini dengan adanya paparan bakteri), maka sel Th1 akan mengaktifasi sel B untuk memproduksi antibodi sIgA dan kemudian menghancurkan mikroorganisme yang masuk serta mencetuskan respons imun. Keuntungan lain pemberian *heat killed probiotic* juga menghindari kemungkinan terjadinya translokasi yang terjadi karena mutasi gen mikroba, yang mungkin terjadi pada pemberian *live probiotic*.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menilai efikasi *heat-killed probiotic* ini, tetapi masih sedikit penelitian yang membandingkan efek *live* dan *heat killed probiotic* pada anak pasien diare akut. Maka kami melakukan penelitian uji klinis untuk membandingkan efek *heat-killed* dengan *live probiotic* pada pasien diare akut nondisentri berusia 6-24 bulan.

## Metode

Telah dilakukan uji klinis acak tersamar buta ganda pada pasien diare akut nondisentri berusia 6 sampai 24 bulan yang dirawat inap atau berobat jalan di RS Hasan Sadikin, RSUD Ujungberung, dan RSUD Cibabat, mulai 1 April sampai 31 Mei 2008. Orangtua menyetujui anaknya diikutsertakan dalam penelitian setelah diberi penjelasan dan menandatangani persetujuan (*informed consent*). Persetujuan penelitian diperoleh dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran RS Hasan Sadikin Bandung. Sebagai kriteria inklusi adalah pasien diare akut nondisentri yang dirawat atau berobat jalan, usia 6-24 bulan, status gizi baik, dan saat datang ke rumah sakit lama diare kurang dari 48 jam. Kriteria eksklusi, sudah mendapat probiotik sebelumnya, pasien penyakit keganasan atau HIV, menderita penyakit infeksi sistemik lainnya selain diare, sedang atau telah mendapatkan terapi antibiotik, dan dehidrasi berat.

Jumlah subjek yang ikut serta dalam penelitian 60 bayi/anak. Dilakukan randomisasi per mutasi blok untuk membagi dua kelompok terapi probiotik. Kode terapi probiotik tersimpan dalam amplop tertutup, dibuka setelah seluruh subjek penelitian terkumpul. Semua subjek yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak termasuk kriteria eksklusi diberi nomor inklusi sesuai dengan urutan masuk rumah sakit. Semua subjek mendapatkan terapi standar WHO 2005, ditambahkan probiotik *live* atau *heat-killed probiotic* (dalam box tertutup tanpa label nama dagang) selama lima hari dengan dosis dua atau tiga kali sehari, sesuai dengan usia pasien. Dilakukan pemantauan durasi diare tiap 24 jam dan frekuensi defekasi per hari, sampai tujuh hari dari sejak pasien masuk menjadi subjek penelitian. Orangtua pasien diminta untuk mengisi lembar pemantauan yang telah disediakan berisi data frekuensi dan durasi serta jam minum obat probiotik (*diary card*). Pada hari ketujuh pemantauan, orangtua diminta menyerahkan kembali data hasil pemantauan.

Data yang terkumpul diolah, analisis statistik menggunakan uji t atau dengan uji Mann-Whitney jika data yang didapat tidak berdistribusi normal. Kemaknaan ditentukan berdasarkan nilai  $p < 0,05$ . Seluruh perhitungan statistik dikerjakan dengan piranti lunak SPSS versi 15.0 *for Window* tahun 2007, SPSS Inc., Chicago-Illinois, USA.

## Hasil

Terdapat 52 anak yang memenuhi kriteria inklusi dari 60 anak. Delapan subjek lain tidak dapat diambil datanya karena berbagai alasan, seperti orangtua pindah kota, orangtua tidak memenuhi panggilan saat harus kontrol kembali ke rumah sakit, atau rumah pasien tidak ditemukan saat kunjungan rumah. Karakteristik umum subjek penelitian tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

Karakteristik	<i>Live probiotic</i> (n=27)	<i>Heat-killed probiotic</i> (n=25)	Nilai <i>p</i>
Usia (rerata, SB, bulan)	12,0 (6,9)	14,8 (6,8)	0,166
Jenis kelamin (%)			
Laki-laki	20 (74,1)	16 (64,0)	0,432
Perempuan	7 (25,9)	9 (36,0)	
Derajat dehidrasi (%)			
Tanpa dehidrasi	19 (70,4)	20 (80,0)	0,423
Dehidrasi ringan sedang	8 (29,6)	5 (20,0)	

Keterangan: SB: simpang baku, *p* bermakna bila <0,05

Dilakukan pemantauan setelah diberikan pengobatan selama tujuh hari dengan melihat lama diare dan jumlah total frekuensi diare per episode. Dari Tabel 2 tampak rata-rata lama diare pada kelompok *live probiotic* 74,8 (SB 28,8) jam sementara pada kelompok *heat-killed probiotic* rata-rata 50,2 (SB 28,6) jam. Frekuensi total per episode diare pada kelompok *live probiotic* tampak lebih banyak dibandingkan dengan kelompok *heat-killed probiotic*, 10,7 (SB 6,4) kali sementara pada kelompok *heat-killed probiotic* 8,3 (SB 7,4) kali. Selanjutnya dilakukan uji statistik, untuk variabel frekuensi diare digunakan uji Mann Whitney (menggunakan uji Shapiro Wilk didapatkan sebaran data yang tidak normal), sedangkan untuk variabel lama diare dipakai uji *t* karena data yang tersedia berdistribusi normal. Hasil uji statistik tertera pada Tabel 2.

Dari uji statistik diperoleh hasil perbedaan bermakna lama diare dan frekuensi per episode diare antara kelompok *live probiotic* dan kelompok *heat-killed probiotic* ( $p=0,003$  dan  $p=0,041$ ).

Tabel 2. Perbedaan *outcome* berdasarkan kelompok probiotik

Variabel	<i>Live probiotic</i> (n=27)	<i>Heat-killed probiotic</i> (n=25)	Nilai <i>p</i>
Lama diare (rerata, SB, jam)	74,8 (28,8)	50,2 (28,6)	0,003 <sup>†</sup>
Frekuensi per episode (rerata, SB kali/hari)	10,8 (6,4)	8,3 (7,4)	0,041 <sup>‡</sup>

Keterangan: SB: Simpang baku, <sup>†</sup> uji *t*, <sup>‡</sup> uji Mann-Whitney, *p* bermakna bila <0,05

## Diskusi

Hasil penelitian mendapatkan perbedaan bermakna lama diare dan frekuensi defekasi. Kelompok *heat-killed probiotic* memiliki waktu penyembuhan diare 24,7 jam lebih cepat dibandingkan dengan *live probiotic*. Frekuensi defekasi yang lebih sedikit secara bermakna pada kelompok *heat-killed probiotic* dibandingkan dengan kelompok *live probiotic* (8,3 kali dibandingkan 10,7 kali). Supriatmo dalam penelitian retrospektif tahun 2006 membedakan efektivitas *live* dan *heat-killed probiotic* pada 108 pasien diare akut usia 4-24 bulan yang mendapat terapi standar dengan probiotik sebagai ajuvan diberikan selama tujuh hari. Didapatkan *heat-killed probiotic* lebih unggul dibandingkan dengan *live probiotic*. Lama diare pada kelompok *live* dan *heat-killed probiotic* berbeda bermakna (7,06 hari dibandingkan 5,56 hari;  $p=0,042$ ), namun frekuensi defekasi tidak berbeda (3,4 episode dibandingkan 4,1 episode;  $p=0,055$ ).<sup>10</sup>

Efektivitas pemberian *heat-killed L. acidophilus* didukung oleh bukti bahwa *L. acidophilus* LB memiliki kemampuan yang spesifik. Pertama, bakteri ini dapat melekat pada sel absorpsi dan sekretorik intestinal manusia, kemudian membentuk suatu biofilm protektif. Pada model selular, adanya *heat-killed L. acidophilus* LB akan menghambat adhesi dan invasi mikroorganisme penyebab diare ke dalam enterosit. Kedua, *L. acidophilus* LB akan memproduksi agen antimikroba yang diduga mengandung *nonconventional acidic amino acid*. Zat ini efektif menyerang bakteri enterovirulen gram positif dan negatif namun tidak menunjukkan suatu aktivitas penghambatan terhadap bakteri mikroflora seperti *Bifidobacterium* atau

*Lactobacillus*. Semua mekanisme ini tidak berubah meskipun sudah mengalami pemanasan.<sup>11,12</sup>

Kimoto dkk<sup>9</sup> dalam penelitiannya mengenai aktivitas imunomodulator yang ditimbulkan oleh beberapa galur *Lactobacillus* menemukan produksi IL-12 lebih banyak diinduksi oleh *heat-killed L. lactis* subsp. *Lactis* G50 dibandingkan dengan yang diinduksi oleh bakteri hidup. Beberapa penelitian lain membuktikan pemberian secara oral *heat-killed L. casei* dapat menstimulasi produksi sitokin Th1. Mereka menyatakan kemungkinan besar komponen dinding sel *heat-killed Lactic acid bacteria*, seperti peptidoglikan dan *lipoteichoic acid*, menginduksi maturasi dan aktivasi dari sel dendritik melalui *toll-like receptor* (TLR)2, serta menghasilkan berbagai sitokin proinflamasi dan kemokin. Selain itu, komponen-komponen tersebut menghasilkan IL-12 yang akan menginduksi respon Th1. Pada *heat-killed probiotic* peptidoglikan juga masih menempel pada dinding probiotik, sehingga masih mempunyai hubungan dengan respon imun. Pada penelitian yang dilakukan pada tikus yang diberi *heat-killed L. Casei*, kadar produksi sitokin Th1, seperti IFN- $\gamma$  dan IL-2 oleh sel limpa lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Sebaliknya kadar produksi sitokin Th2, seperti IL-4, IL-5, dan IL-6 oleh sel limpa lebih rendah dibandingkan dengan kontrol, sehingga disimpulkan bahwa pemberian *heat-killed L. casei* lebih menginduksi respon Th1 daripada Th2.<sup>13,14</sup>

Pada tahap epitel intestinal, bakteri probiotik dapat memberikan efek positif melalui kolonisasi transien dan/atau pelepasan kompleks bioaktif. Berarti terjadi penguatan barier intestinal seiring terjadi modulasi langsung fungsi sel epitel yang meliputi pelepasan sitokin dan kemokin. Walaupun dalam waktu yang terbatas, translokasi bakteri ke lamina propria dapat mempengaruhi imunitas *innate* dan *adaptive* dengan mengaktivasi produksi sitokin oleh monosit/makrofag. Penarikan bakteri oleh sel M dalam *Peyer's patches* dan dilanjutkan dengan dieliminasi oleh sel dendritik dari sistem imun *innate* akan memberikan gambaran adanya antigen mikroba kepada sel T naif dalam *Peyer's patches* dan *mesentericus lymph node* (MLN). Proses tersebut memungkinkan respon IgA *antibody-mediated mucosal* untuk melawan bakteri. Stimulasi probiotik akan meningkatkan siklus IgA dan meningkatkan jumlah sel IgA<sup>+</sup> di daerah mukosa yang jauh dari usus. Sel IgA<sup>+</sup> akan bermigrasi ke MLN dan kemudian melalui duktus torasikus

menuju sirkulasi. Sitokin yang dilepaskan karena stimulasi probiotik di *Peyer's patches* merupakan *messengers* jaringan signal yang kompleks yang akan mengaktifkan respons imun sistemik.<sup>15,16</sup>

Penelitian lain juga memperlihatkan keuntungan pemberian *heat-killed probiotic* dibandingkan dengan *live probiotic* terhadap pasien diare kronik. Xiao dkk<sup>12</sup> melakukan penelitian multisenter prospektif, uji tersamar buta ganda dengan membandingkan efikasi klinis penggunaan *heat-killed Lactobacillus acidophilus* dengan *live Lactobacillus* pada pasien diare kronik dengan hasil rata-rata frekuensi diare per hari menjadi 1,88 kali pada kelompok *heat-killed* dan 2,64 kali pada kelompok *live probiotic*. Xiao dkk<sup>12</sup> menyatakan bahwa salah satu penyebab diare kronik adalah *irritable bowel syndrome* (IBS). Pada beberapa penelitian dinyatakan bahwa pemberian *heat-killed probiotic* terhadap pasien IBS terbukti efektif. Pada satu penelitian ditemukan bahwa pasien IBS memiliki rasio basal IL-10/IL-12 yang lebih rendah sehingga pemberian probiotik akan mengembalikan rasio tersebut ke dalam keadaan normal.<sup>17</sup>

Penelitian Khanna dkk<sup>18</sup> yang juga melakukan uji tersamar buta ganda dengan membandingkan *heat-killed LAB* dengan plasebo memberikan hasil yang berbeda. Meskipun kelompok *heat-killed LAB* mengalami lama diare yang lebih singkat, tetapi tidak didapatkan perbedaan yang signifikan. Mereka meneliti efikasi *tyndalized Lactobacillus acidophilus* pada 98 anak pasien diare akut usia 6 bulan sampai 12 tahun yang dibandingkan dengan plasebo. Rata-rata lama diare pada kelompok *Lactobacillus acidophilus* 54,4 jam sedangkan pada kelompok plasebo 55,1 jam, sehingga tidak perbedaan bermakna. Mungkin disebabkan karena jumlah pasien diare *rotavirus* di India hanya sedikit (18%) sehingga sulit untuk mengetahui efektivitas pemberian *heat-killed L. acidophilus* dan rentang usia subjek penelitian yang luas menyulitkan penilaian penelitian. Pada penelitian Khanna dkk<sup>18</sup> juga ada pasien kolera yang diikutsertakan ke dalam penelitian sehingga membuat hasil penelitian menjadi bias.

Penelitian yang dilakukan oleh Kosim dkk,<sup>19</sup> membandingkan efektivitas  $5 \times 10^7$  cfu *viabile Lactobacillus sporogenes probiotic* dosis 3 x 1 tablet dengan  $3 \times 10^{10}$  cfu *tyndallized Lactobacillus acidophilus probiotic* dosis 3 x 1 bungkus pada anak usia 4-60 bulan pasien diare akut yang dirawat di rumah sakit. Tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kedua

kelompok dalam hal lama penyembuhan diare ( $3,32 \pm 1,54$  dibandingkan  $3,98 \pm 2,0$  hari). Perbedaan hasil kemungkinan disebabkan karena perbedaan usia subjek penelitian dan perbedaan galur *live probiotic*.

*Live* dan *heat-killed probiotic* dibedakan dari proses pembuatannya, namun mempunyai mekanisme kerja yang sama terhadap diare, di antaranya yaitu kompetisi dengan enteropatogen, modifikasi toksin bakteri, serta modulasi respons imun dari pejamu. Diperlukan perlakuan khusus dalam penyimpanan *live probiotic*, misalnya suhu lingkungan harus dipertahankan lebih rendah daripada suhu ruangan. Cara penyimpanan yang tidak sesuai dapat menyebabkan terjadinya penurunan kualitas *live probiotic* yang kemudian menghasilkan hilangnya dosis dan aktivitas yang tidak dapat diprediksi. Dengan proses tindalisasi (*tyndallized*), diharapkan *heat-killed probiotik* dapat menjadi sediaan yang lebih stabil dan tahan terhadap panas. Meskipun telah dimatikan, *heat-killed probiotic* masih tetap mengandung beberapa zat yang penting seperti bakteriosin, peptidoglikan, yang dihasilkan saat fermentasi probiotik. Pada saat pembuatan produk *tyndallized probiotic* seluruh komponen yang dihasilkan selama fermentasi tetap diikutsertakan di dalam produk *tyndallized*. Hal inilah yang mengakibatkan potensi *tyndallized probiotic* mirip dengan probiotik hidup, dengan masa kadaluarsa yang lebih lama karena sediaan menjadi lebih stabil dan distribusi atau penyimpanan lebih sederhana, tidak perlu disimpan di suhu yang rendah.<sup>10,20</sup> Dengan kandungan seperti ini *heat-killed probiotic* diharapkan dapat memberikan dampak yang lebih cepat karena mengandung komponen yang siap pakai.

## Kesimpulan

*Heat-killed probiotic* lebih baik dalam mengurangi lama diare dan mengurangi frekuensi buang air besar daripada *live probiotic* pada anak pasien diare akut nondisentri. Untuk itu *heat-killed probiotic* sebaiknya digunakan sebagai adjuvan terapi standar diare WHO. Untuk lebih mendukung penggunaan pemberian *heat-killed probiotic*, disarankan melakukan penelitian lebih lanjut pada komunitas yang lebih luas. Dengan membandingkan kelompok kontrol yang tidak mendapatkan kedua jenis probiotik serta membandingkan kadar IgA pada pasien diare akut nondisentri yang mendapatkan *heat-killed* dan *live probiotic*.

## Daftar Pustaka

1. Bryce J, Boschi-Pinto C, Shibuya K, Black R. WHO child health epidemiology reference group. WHO estimates of the causes of death in children. *Lancet* 2005;365:1147-52.
2. Department of Child and Adolescent Health and Development. The treatment of diarrhoea; a manual for physicians and other senior health workers. Geneva: World Health Organization, Geneva 2005.
3. Bhattacharya SK. Therapeutic methods for diarrhea in children. *World J Gastroenterol* 2000;6:497-500.
4. Departemen Kesehatan RI, Direktorat Jendral Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan Pemukiman. Buku ajar diare. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 1999.
5. Noel RJ, Cohen MB. Infectious diarrhea. Dalam: Wylie, Hyams JH, penyunting. *Pediatric gastroenterology and liver: pathophysiology/diagnosis/management*. Edisi ke-3. New York: Saunders; 2006. h. 557-81.
6. Cama RI, Parashar UD, Taylor DN, Hickey T, Figueroa D, Ortega YR, dkk. Enteropathogens and other factors associated with severe disease in children with acute watery diarrhea in Lima, Peru. *JID* 1999;179:1139-44.
7. Carneiro NB, Diniz-Santoz DR, Fagundes SQ, Neves LL, Reges RMB, Lima EKP, dkk. Clinical and epidemiological aspects of children hospitalized with severe Rotavirus-associated gastroenteritis in Salvador, BA, Brazil. *BJID* 2005;9:525-8.
8. Sudarmo SM. Peranan probiotik dan prebiotik dalam upaya pencegahan dan pengobatan diare pada anak. *Prosiding Kongres Nasional II Badan Koordinasi Gastroenterologi Anak*. Bandung Indonesia, 2003.
9. Kimoto H, Mizumachi K, Okamoto T, Kurisaki J. New *Lactobacillus* strain with immunomodulatory activity: Enhancement of Th1-type immune response. *Microbiol Immunol* 2004;48:75-82.
10. Supriatmo. Effectivity of live versus heat killed probiotic in children with acute diarrhea. *Maj Kedok Nusantara* 2006;4:391-6.
11. Nipat S, Vorapun P, Prayungari R, Chumnian K, Pisamai T, Wandee V. Clinical evaluation of the addition of lyophilized, heat-killed *Lactobacillus acidophilus* LB to oral rehydration therapy in treatment of acute diarrhea in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30:68-72.
12. Xiao S, Jiang SH, Liu HY, Wang GS, Xu GM, Zhang ZB. Multicenter, randomized, controlled trial of heat-killed *Lactobacillus acidophilus* LB in patients with chronic diarrhea. *Advance Therapy* 2003;20:253-60.

13. Matsuzaki T, Chin J. Modulating immune responses with probiotic bacteria. *Immunol Cell Biol* 2000;78:67-73.
14. Torii A, Torii S, Fujiwara S, Tanaka H, Inagaki N, Nagai H. *Lactobacillus acidophilus* strain L-92 regulates the production of Th1 cytokine as well as Th2 cytokines. *Allergol Intern* 2007;56:293-301.
15. Corthesy B, Gaskins HR, Merceiner A. Cross-talk between probiotic bacteria and the host immune system. *J Nutr* 2007;137:781-90.
16. Galdeano CM, de LeBlanc AM, Viderola G, Bonet MEB, Perdigon G. Proposed model: mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria. *Clin Vaccine Immunol* 2007;14:485-92.
17. Chermesh I, Eliakim R. Probiotics and the gastrointestinal tract: where are we in 2005?. *World J Gastroenterol* 2006;12:853-7.
18. Khanna V, Alam S, Malik A. Efficacy of tyndallized *Lactobacillus acidophilus* in acute diarrhea. *Indian J Pediatr* 2005;72:935-8.
19. Kosim S, Waraouw S, Manoppo J, Gunawan S. Comparison between lived and tyndallized probiotic effectivities as therapy of acute diarrhea on children aged 4-60 months. Makalah lengkap PIT III IDAI. Yogyakarta, 2007.
20. Le Moal V, Davila ES, Servin AL. An experimental study and a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial to evaluate the antisecretory activity of *Lactobacillus acidophilus* strain LB against nonrotavirus diarrhea. *Pediatrics* 2007;120:795-803.