

健康食品之胃腸功能改善評估方法

880802 衛署食字第 88037803 號公告

920829 衛署食字第 0920401629 號公告修正

壹、前言

消化器官的主要功能是使食物消化，營養素吸收及排便。消化最主要是經由消化酵素的作用，自律神經的調節及體液性的調節(消化管荷爾蒙等)等系統來控制。因此，除了病原菌的侵襲外，各種飲食內容的改變及精神壓力或過敏都會引起胃腸道的不適，影響食物的消化及營養素的吸收。

人類的腸道中棲息了約數百種細菌，這些正常菌相的存在，除了可抑制有害病菌在腸內孳生及危害外，且可產生人體所需的物質，如維生素 B 及 K 等。在人體正常菌相中，包含了有益菌與有害菌，有益菌產生的代謝產物（如乳酸與醋酸）可抑制有害菌的增殖，對健康的維持與整腸方面有相當的幫助。一般健康人體腸道中有害細菌（如產氣莢膜梭菌 *Clostridium perfringens*）含量不高，無法危害人體，然而身體的不適，飲食及環境的變化、精神壓力、老化等都可能使有害菌增加，造成腸內菌相平衡的崩解，進而引起便秘、下痢。

食品種類繁多，其中部份食品可改善食慾，促進消化酵素的分泌，增進胃腸蠕動，增加小腸吸收。食品亦可因含有利腸道益生菌生長的成份，或本身含有腸道中的有益細菌，因而具改善腸內菌相的功能。因此，若食品具有(1) 促進消化吸收，(2) 改善腸內細菌菌相，(3) 促進胃腸蠕動，幫助維持腸道正常機能等三種功能中任一種功能時，可認為具有改善胃腸道功能。

貳、實驗方法及結果判定

一、評估對胃腸道功能改善之要點與原則：

(一)改善胃腸功能必須明確具有以下四種功能指標之一。

1. 促進消化吸收

2. 改善腸內細菌菌相

3. 幫助（改善）胃腸運動

4. 有助於胃黏膜之保護作用

(二)所進行的實驗可分為動物實驗與人體實驗，兩者可擇一施行。

(三)若廠商所提產品的相關科學研究證據不明確或不足時，須同時進行「人體實驗」和「動物實驗」，以加強證據之可信度。

(四)動物實驗進行時間至少需 4 星期以上，人體實驗至少需進行 2 星期以上。

(五)所使用的實驗動物以哺乳類動物為原則。動物隻數每組至少為 8 隻，小白鼠隻數每組至少為 10 隻。

(六)實驗動物必須來自各大實驗動物中心。

(七)人體實驗每組人數至少為 8 人，且必須有控制組。

(八)人體實驗必須由大學食品、營養、醫藥等相關系所、研究機構、醫學中心執行，需有醫師參與，並遵循衛生單位對人體實驗有關之相關規定。

- (九) 動物實驗進行時，飼料的內容與比例必須符合 AIN (American Institute of Nutrition) 之規範，進行人體實驗的飲食內容與比例必須符合衛生署所公佈之飲食指南。
- (十) 評估對胃腸道功能所採用的實驗方法，必須是學術界或醫學單位所採用或普遍認可之方法，亦可使用市售的生化試劑(Test Kit)直接測定之。

二、促進消化吸收

(一)動物實驗

- 1.動物體重的測定及消化吸收率的測定
- 2.消化酵素活性的測定:如 trypsin, chymotrypsin, amylase, lipase, leucine amino peptidase, disaccharidase。

(二)人體實驗：

- 1.有關改善食慾不佳方面，觀察食慾、食量、體重、血紅素等指標的變化。
- 2.有關改善消化吸收不良方面，觀察食慾、食量、胃腸腹脹感、糞便形狀及次數、胃腸運動及小腸吸收等指標變化。

(三) 結果判定：

- 1.動物實驗中必須至少一項指標為實驗組明顯優於控制組($p < 0.05$)。
- 2.人體實驗方面，如果是針對改善兒童食慾方面，以食慾、食量的改善為觀察重點。體重及血紅素的變化則作為輔助指標。
- 3.針對消化吸收不良者，除了有明顯改善食慾、食量，胃腸腹脹感及糞便形狀等消化不良症狀外，在小腸吸收指標中至少有一項指標為實驗組明顯優於控制組($p < 0.05$)。
- 4.如果符合以上要求即可判定測試食品具有促進消化吸收作用。

(四)測定方法

1.消化酵素活性測定

樣品製備：

截取實驗老鼠(Sprague-Dawley 或 Wistar 品系) 小腸片段，刮下腸黏膜(脂解酵素活性測定不必刮下腸黏膜)，取 0.2 g 加入 2 mL 含 protease 抑制劑 (1 μ M phenylmethylsulfonylfluoride 及 2.2 mM iodoacetic acid) 之 4°C、0.9% NaCl 溶液，以均質機均質化。

(1)雙醣酵素 (disaccharidase) 活性測定

目的：測定小腸雙醣類消化酵素(乳糖酵素、麥芽糖酵素與蔗糖酵素)活性。

測定方法：取 30 μ L 的腸黏膜均質液加入 15 μ L 的 56 mM 雙醣溶液(乳糖、麥芽糖或蔗糖)於 37°C 下作用 30 分鐘，再加入 100 μ L 的 0.6 N NaOH 溶液溶解細胞，另以 10 μ L 的 6 N HCl 溶液中和之。取 45 μ L 處理過後之腸黏膜液或葡萄糖標準液(0-40 mg/mL)與 625 μ L 反應緩衝液(50 mM Tris-malate、33 mM sodium potassium phosphate 與 30 mM $MgCl_2$, pH 6.8)、150 μ L 的 1 mM ATP、150 μ L 的 1 mM NADP、15 μ L 的 330 IU/mL hexokinase (EC 2.7.1.11)與 15 μ L 的 170 IU/mL glucose-6-phosphate dehydrogenase (EC 1.1.1.49) 於 37°C 下作用 30 分鐘，最後將樣品置於冰浴上以終止其反應。葡萄糖產物含量則以分光光度計於 340 nm 波長下測定減少的 NADPH，並以改良的 Lowry 方法測定樣品中蛋白質含量，而雙醣酵素活性以 μ M 葡萄糖/分鐘/ μ g 蛋

白質表示之。

(2)脂解酵素 (lipase) 活性測定

目的：測定小腸內脂質消化酵素活性

測定方法：用市售試劑組(Sigma Lipase-PS™)測定之。將 900 μ L 受質溶液(1.1 mM 1,2-diglyceride、2 mM sodium N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-m-toluidine、0.66 mM ATP、860 U/L monoglyceride lipase、1340 U/L glycerol kinase、40,000 U/L glycerol-3-phosphate oxidase、1340 U/L horseradish peroxidase、40,000 U/L co-lipase 與緩衝液)加至 15 μ L 之腸均質液或標準液(附於試劑組)中，於 37°C 下作用 3-5 分鐘，再加入 300 μ L 活化劑(36 mM deoxycholate、6 mM 4-aminoantipyrine、0.05% sodium azide 與緩衝液)，於 37°C 下作用 3 分鐘後，以分光光度計於 550 nm 波長下測定 2 分鐘，並以改良的 Lowry 方法測定樣品中蛋白質含量，而脂解酵素活性以 unit/ μ g 蛋白質表示之。

(3)白胺酸胺基酵素 (leucine aminopeptidase, LAP) 活性測定

目的：測定小腸絨毛刷狀緣膜上蛋白質消化酵素活性。

測定方法：用市售試劑組(Sigma Diagnostics® LAP)測定之。取 0.5 mL 腸黏膜均質液，混合 0.5 mL LAP 受質溶液(20 mg/dL L-leucyl- β -naphthylamine 溶於 phosphate 緩衝液，pH 7.1)，於 37°C 下作用 1 小時，再加入 0.5 mL 的 2 N HCl，1.5 mL 處理過後之腸黏膜液或 1.5 mL 標準液(0-12 Sigma unit/mL)與 0.5 mL sodium nitrite 溶液，於室溫下作用 3 分鐘後，混合 1.0 mL 0.5% (w/v) ammonium sulfamate，於室溫下作用 3 分鐘，再加入 2.0 mL N-1-naphthylethylenediamine 酒精溶液，於室溫下作用 45 分鐘後，以分光光度計於 580 nm 波長下測定吸光值，並以改良的 Lowry 方法測定樣品中蛋白質含量，而白胺酸胺基之酵素活性以 Sigma unit/ μ g 蛋白質表示之。1 Sigma unit 定義為於 37°C、pH 7.1 下，每 1 小時生成 1 μ mole β -naphthylamine 的酵素量。

判定：以上各一項有改善，表示有改善胃腸消化之功能。

2.改善胃腸功能之參考指標：

(1)Lundh 測試（主要為胰臟功能）：

使用 300 ml 之流質食物（含 6%脂肪、5%蛋白質及 15%醣類），並放置十二指腸管，依時段抽取十二指腸液，以測定消化酵素之濃度（如 Trypsin）或以內視鏡抽取胰液作消化酵素之分析。

(2)Schilling 測試（主要為胃腸功能）

- 以維生素 B12 之吸收來測定胃腸功能
- 以放射性標示之維他命 B12 給予空腹之受試者
- 一小時後再由肌肉注射未標示 B12
- 24 小時後收集尿液，並測定 B12 含量
- 7 天後重複此步驟，但口服 B12 則加入 Intrinsic factor
- 兩次檢查加以比較評估

(3)脂肪之吸收判定：

糞便脂肪分析：

- 正常值： $< 7\text{g/day}$
- 每日食用食物中至少有 100 g 中鏈三酸甘油酯共三天；並收集糞便 3 天
- 測定糞便中脂肪含量
- 使用 Sudan stain，只可測三酸甘油酯及 lipolytic product

(4) D-xylose 耐受測試（主要為小腸功能）：

- 主要測定近端小腸之醣類吸收
- 隔夜禁食，再服用 25g 之 D-xylose，5 小時後之尿液中若 xylose 排出大於 25%，即表示正常。
- 1 及 2 小時抽血，若其中一次大人血中 xylose $> 300\text{ mg/L}$ ，或小孩血中 xylose $> 100\text{ mg/L}$ ，則表示正常。

(5) 核子醫學檢查

目前只使用於 gastric emptying study

- 受試者服下含有放射源（Tc-99m and In-111）的固體及液體食物
- 測量受試者 90 分後的胃排空率

(6) 放射線科檢查

小腸排空速度檢測

- 受試者喝下 600 cc barium 後，隔 15 分透視一次，直到 barium 完全排出 ileocecal valve

三、改善腸內細菌菌相

（一）動物實驗：

1. 檢測 1 種益生菌：*Bifidobacterium*
2. 檢測 1 種有害（或無益）菌：*Clostridium perfringens*

（二）人體實驗：

1. 檢測 1 種益生菌：*Bifidobacterium*
2. 檢測 1 種有害（或無益）菌：*Clostridium perfringens*

（三）測定方法：

1. 腸內細菌菌相

(1) 材料

- a. 大白鼠：雄性 Sprague Dawley (SD) 或 Wistar 系統大白鼠之盲腸或糞便。
- b. 人體糞便。

培養基

- a. 雙叉桿菌 (*Bifidobacteria*) 參考培養基：

- (a) *Bifidobacteria* iodoacetate medium -25 (BIM-25)
- (b) MPN medium
- (c) Beerens medium

b. 產氣英膜梭菌 (*Clostridium perfringens*) 參考培養基
Tryptose-sulfite-D-cycloserine (TSC) agar

有關製備請參考各相關參考文獻。

(2)方法

取樣及均質

- (a) 動物實驗: 以按摩方式收集糞便於密閉容器內 (維持厭氧狀態), 再於厭氧操作箱內秤取約 0.5 g, 加入含 4.5 mL 無菌厭氧稀釋液(附註)之試管中 (內含 5 粒玻璃珠), 以試管震盪器混合。
- (a)-1 大白鼠經餵養試驗後, 麻醉, 解剖, 在厭氧狀況取出盲腸 (cecum) 內容物, 秤取約 1 g, 加入含 9 mL 無菌厭氧稀釋液之試管中 (內含 5 粒玻璃珠), 以試管震盪器混合。
- (b) 人體試驗: 收集糞便於密閉容器內 (維持厭氧狀態), 再於厭氧操作箱內, 進行如同上述大白鼠樣品之秤重及均質操作。

稀釋及微生物平板分析

於厭氧狀況下, 上述均質液以厭氧稀釋液進行一系列十倍稀釋。取適當稀釋倍數, 以表面塗抹法 (spread plate method) 或混稀平板法 (pour plate method) 加入雙叉桿菌培養基中, 置於厭氧操作箱或厭氧缸中 (內含厭氧包, 或抽氣維持厭氧狀態), 於 35~37°C 培養, 計數菌落數。

至於產氣英膜梭菌之計數, 請依照美國 FDA 發行的 Bacteriological Analytical Manual (BAM)。

統計分析

實驗數據經統計變異數分析 (Analysis of variance ANOVA) 測試各實驗組間是否有差異, 若有差異再以鄧肯氏多變試驗 (Duncan's multiple range test) 作進一步分析, 以決定各實驗組在 95% 可信度內是否有差異。

結果判定

動物實驗: 若盲腸或糞便的 bifidobacteria 明顯增加, 以及 *Clostridium perfringens* 減少或無明顯變化者, 則稱之具改善腸內細菌相功能。

人體試驗: 若 bifidobacteria 明顯增加, 以及 *Clostridium perfringens* 減少或無明顯變化者, 則稱之具改善腸內細菌相功能。

附註: 厭氧稀釋液之製備如下:

Gelatin	0.2 g
Distilled water	50 mL

Salts solution (如 2.1.3 中 salts solution 配方) 50 mL

Resazurin solution (25 mg/100 mL H₂O) 0.4 mL

將各成分混合，煮沸，冷卻，再加入 0.05 g cysteine，以厭氧操作分裝入試管中，每一試管裝 9 mL，以 121 °C 殺菌 15 min，殺菌完成或實驗過程呈粉紅色，請勿使用。

四、幫助（改善）胃腸運動，促進腸道正常機能之維持

（一）動物實驗：

1. 胃腸運動(活性碳、腸鉬計檢查或核子醫學檢查)
2. 胃黏膜保護
3. 觀察糞便之乾重、粒數、水分及形狀

（二）人體實驗：

1. 腸運動(腸鉬計檢查或核子醫學檢查)
2. 觀察排便時間，糞便重量、水分及形狀及排便感覺之變化。

（三）檢查方法

胃腸運動測定：

(a) 動物實驗

1. 離體實驗：擷取絕食老鼠之胃或腸片段約 1-2cm，放於組織浴（organ bath）中並通氣之（95%O₂，5%CO₂），放置 2hr 使其穩定而後做等長收縮（0.5-1 gm），視測試食品對於胃或腸片段之收縮情況，若實驗組明顯優於控制組（p<0.05），即可判定，即可判定測試食品具有改善胃腸運動之功能。
2. 活體實驗：動物配置的灌胃溶液灌食（含有 10%活性碳及測試物）。而後追蹤計算排空率，活性碳則以黑色易觀察之特性作為胃腸排空之另一指標。30 分鐘後，大白鼠去頭犧牲，隨後剪開腹腔以線綁住貴門處，將胃、小腸完整取出，計算胃腸排空率，方法如下：

$$\text{Charcoal Transit} = \frac{\text{charcoal marker}}{\text{Intestinal length}} \times 100\%$$

(b) 人體實驗

1. 核子醫學檢查：目前只使用於 gastric emptying study
 - 讓病人服下含有放射源(Tc-99m and In-111)的固體及液體食物
 - 測量病人 90 分後的胃排空率
2. 放射線科檢查：小腸排空速度檢測
 - 請病人喝下 600 cc 鉬鹽（barium salt）後，隔 15 分透視一次，直到鉬鹽完全排出迴腸瓣（ileocecal valve）。

（四）結果判定：糞便重量或粒數明顯增加，再加上胃腸運動實驗或排便時間中有任何一項結果為實驗組明顯優於控制組(p<0.05)，即可判定測試食品具有潤腸通便之功能。

五、有助於胃黏膜之保護作用，維持腸道正常機能

（一）實驗內容：

1.離體實驗：培養鼠胃黏膜細胞，先將測試物至於胃黏膜細胞內，培養 2 小時，而後置入酸性培養液（pH=4）或含 indomethacin 之培養液下。測定胃黏膜細胞之存活率（viability）的變化（MTT assay），若實驗組明顯優於控制組（ $p<0.05$ ），即可判定測試食品具有保護作用之功能。

2.活體實驗：胃酸的分泌測定：Shay 潰瘍法（Shay's ulcer）

雄性實驗絕食老鼠（24 小時），胃部幽門結紮，再予以縫合復原，俟 4 小時後，將其犧牲取出胃部，收集胃液並定量胃液體積，並以 0.1N NaOH 溶液滴定，求其實驗組及控制組之總酸度之變化若 $p<0.05$ ，即可判定測試食品具有胃黏膜保護作用之功能。

（二）結果判定：任何一項結果為實驗組明顯優於控制組（ $p<0.05$ ），即可判定測試食品具有幫助胃黏膜保護之功能。

六、減少胃內幽門螺旋桿菌

（一）受試者的篩選

- 1.志願參與者先填寫一份問卷，包括個人飲食、生理習慣及健康狀況（含是否有慢性病，需要隨時服藥等）。
- 2.體檢，包括醫生問診、體位測驗、及血液生化檢查（含血紅素、血球比容、血糖、血脂肪、肝功能及腎功能）。
- 3.依據前兩項的資料，篩去習慣特異及健康不良的參與者。然後填寫志願書，進行尿素呼氣試驗（urea breath test），以得 $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ 比值（即 ΔUBT 值）。就 ΔUBT 值決定受試對象（建議 $\Delta\text{UBT}>10\%O$ 者）。

（二）實驗方法

- 1.受試者在實驗開始前三週每四天測一次 ΔUBT 值，以觀察其日常飲食是否影響該值；並計算其平均值，以作為實驗開始後的比較。
- 2.每位受試者於實驗前必須接受飲食指導。實驗開始前須經 2~3 週之穩定期，於穩定期間應按其個人之原飲食習慣攝食，並避免暴飲暴食或其他特殊食物之攝取，且亦不可服用整腸健胃藥物、補充劑、抗生素、組織胺-2 拮抗劑、抗氧化劑、強調整腸健胃的機能性食品，或其他不明藥物等。並於該其間進行幽門螺旋桿菌之測試，而獲得至少最後之 3 次為近似恆定值，其平均值作為實驗之起始值（initial value）。
- 3.實驗期間（最少二週）的飲食按上述穩定期間之條件進食，且加食試驗品穩定與實驗期間定期測量其 ΔUBT 值、血液生化檢查、體檢、與問卷調查，以瞭解其實驗期間健康情形及身體的感覺。
4. ΔUBT 值測定：受試者在受試前一天晚上 10 點以後禁食，次晨刷牙、漱口，靜坐 5 分鐘後飲用 200 mL 的 0.1 N 檸檬酸溶液，漱口、靜坐 10 分鐘後，吹氣至 2 支 10 mL 的氣體收集管。再靜坐 5 分鐘後飲用 50 mL 含 ^{13}C 標識的尿素（50 mg）溶液，再漱

口、靜坐 10~20 分鐘後，吹氣至 2 支 10 mL 的氣體收集管。所收集的氣體以 isotope ratio mass spectrometer (IRMS) 分析其 Δ UBT 值。

(三) 結果判定

- 1.若受試者之 Δ UBT 值於實驗後比實驗前有明顯 ($p < 0.05$) 降低，則表示該試驗品具有減少幽門螺旋桿菌之生理功能。
- 2.經體檢及問卷調查結果，若於實驗期間及實驗後一週沒有明顯不舒服的感覺或其他健康問題，特別是腸胃道問題，則可判斷該試驗品沒有安全上的問題。

參考文獻

- 1.Muñoz, F. J. and Pares, R. (1988) Selective medium for isolation and enumeration of Bifidobacterium spp. Appl. Environ. Microbiol. 54: 1715 - 1718.
- 2.Tanaka, R. and Mutai, M. (1980) Improved medium for selective isolation and enumeration of Bifidobacterium. Appl. Environ. Microbiol. 40: 866-869.
- 3.FDA. 1992. Clostridium perfringens. In "Bacteriological Analytical Manual". 7th edition, Chap. 16. pp.209-214. U.S. Food and Drug Administration. Washington, DC.
- 4.Ishibashi, N. and Shimamura, S. (1993) Bifidobacteria: Research and development in Japan. Food Tech. 47(6): 126-135.
- 5.Mitsuoka, T. (1978) Intestinal Bacteria and Health . Harcourt Brace Jovanovich Japan Inc. Tokyo.
- 6.Hoover, D. G.(1993) Bifidobacteria: Activity and potential benefits. Food Tech. 47(6): 120-124.
- 7.Robison, C. H., Lawler, M. R., Wanda, L. C. and Garwick, A. E. (1990) Normal and Therapeutic Nutrition 17th edition . Macmillan Publishing Company, NY.
- 8.Miller, M. S., Galligan, J. J. and Burks, T. F. (1981) Accurate measurement of intestinal transit in the rat. J. Pharmacol. Meth. 6: 211-217.
- 9.Holtze, P. (1985) Stimulation and inhibition of gastrointestinal propulsion induced by substance P and substance K in the rat. Br. J. Pharmacol. 86: 305-312.
- 10.Green, A. F. (1959) Comparative effects of analgesics on pain threshold, respiratory frequency and gastrointestinal propulsion. Br. J. Pharmacol. 14: 26-34.
- 11.Takagi, K. and Okabe, S. (1968) The effect of drugs on the production and recovery processes of the stress ulcer. Japan. J. Pharmacol. 18: 9-18.
- 12.Shay, H., Komarov, S. A., Fels, S., Meranxe, S., Gruenstein, D. and Siplet, H. (1945) A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. Gastroenterology 5: 43-61.
- 13.Takagi, K., Okabe, S. and Saziki, R. (1969) A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. Japan. J.

- Pharmacol. 19: 418-426.
14. Waisman, G., Dinari, G., Marcus, H., Ligumsky, M., Rosenbach, Y., Zahavi, I. and Nitzan, M. (1985) Naloxone is protective against indomethacin-induced intestinal ulceration in the rat. *Gastroenterology* 89: 86-91.
 15. McNeely MDD (1996) Gastrointestinal function a digestive disease. In *Clinical Chemistry*, Pesce, A.J., Kaplan, L.A., editors, Pesce Kaplan Publishers.
 16. Sleisenger MH, Fordtran JS (1993) *Gastrointestinal disease vol.2*, P 1593-1594, W.B. Saunders Company.
 17. Brandt LJ (1999) *Clinical practice of Gastroenterology*, Vol.2, P 1190, Churchill livingstone company.
 18. Dahlqvist, A. (1964) Method for assay of intestinal disaccharidase. *Anal. Biochem.* 7: 18-25.
 19. Peterson, G.L. (1977) A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Anal. Biochem.* 83:346-356.
 20. Verduin, P.A., Punt, J.M., Kreutzer, H.H. (1973) Studies of the determination of lipase activity. *Clin. Chim. Acta* 46:11-19.
 21. Martinek, P.G., Berger, L., Broida, D. (1964) Simplified estimation of leucine aminopeptidase (LAP) activity. *Clin. Chem.* 10: 1087-1097.
 22. Massion, C.G., McNeely, M.D. (1973) Accurate micromethod for estimation of both medium-and long-chain fatty acids and triglycerides in fecal fat. *Clin. Chem.* 19: 499-505.
 23. Benson, J. A., Culver, P.J., Ragland, S., Jones, C.M., Drummey, G.D., Bougas, E (1957) The D-xylose absorption test in malabsorption syndromes. *N. Engl. J. Med.* 256: 335-339.
 24. Fuji, Y., Matsura, T., Kai, M., Kawasaki, H. and Yamada, K. (2000) Protection by polaprezinc, and anti-ulcer drug, against indomethacin – induced apoptosis in rat gastric mucosal cells. *Jpn J Pharmacol.* 84: 63-70.
 25. Furukawa, O., Nakamura, E. and Okabe, S. (1997) Characterization of a novel cell damage model induced by acid and pepsin using rat gastric epithelial cells: protective effect of sucralfate. *J Gastroenterol Hepatol.* 12: 115-121.
 26. Beerens, H. 1990. An elective and selective isolation medium for *Bifidobacterium* spp. *Letters in Applied Microbiology* 11: 155 - 157.
 27. Chatterjee, A., Yasmin, T., Bagchi, D. and Stohs, S. (2003) The bactericidal effects of *Lactobacillus acidophilus*, garcinol and Protykin compared to clarithromycin, on *Helicobacter pylori*. *Molecular Cellular Biochem.* 243:29-35.
 28. Wong, W. M., Wong, B. C. Y., Wong, K. W., Fung, F. M. Y., Lai, K. C., Hu, W. H. C., Yuen, S. T., Leung, S. Y., Lau, G. K. K., Lai, C. L., Chan, C. K., Go, R. and Lam, S. K. (2003) ¹³C-urea breath test without a test meal is highly accurate for the detection of

Helicobacter pylori infection in Chinese. *Alim. Pharm. Ther.* 14:1353-1358.