ارزیابی اثر آنتاگونیستی لاکتوباسیلوسهای جدا شده از کشکهای سنتی استان گلستان علیه برخی از باکتریهای پاتوژن گوارشی

محمدرضا داورپناه[1]، هادی کوهساری[2*]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم وصنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران
۲- استادیارگروه میکروبیولوژی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران
(تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۲۳)

چکیده

با توجه به اهمیت کارگیری پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های غذایی، شناخت انواع غذاهای سنتی و بومی ایرانی حاوی باکتری‌های اسید لاکتیک اهمیت پیدا می‌کند. لاکتوباسیل‌ها از مهمترین جنس‌های باکتریهای اسید لاکتیک در محصولات لبنی محسوب می‌شوند و استفاده از بعضی گونه‌های آن با توان پروبیوتیک می تواند در جلوگیری از رشد بعضی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و کنترل بیماری‌های گوارشی موثر باشد. این مطالعه با هدف بررسی اثر آنتاگونیستی لاکتوباسیل‌های جدا شده از کشک‌های سنتی استان گلستان علیه چهار باکتری بیماری‌زای گوارشی انجام گردید. در این پژوهش کشت نمونه های کشک بر روی محیط کشت MRS آگار انجام شد و پس از تعیین هویت لاکتوباسیل‌های جدا شده، بررسی اثرات ضد میکروبی محلول رویی کشت آنها بر اساس انتشار درآگار و باروش چاهک انجام شد. از ۱۱ نمونه کشک سنتی بررسی شده ۳۵ ایزوله لاکتوباسیل جداسازی و شناسایی شد که در این بین *لاکتوباسیلوس کازئی* بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داد (۳۱/۴۲٪). *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*(۱۴/۲۸٪)، *لاکتوباسیلوس بیفرمنتانس* (۱۴/۲۸٪) و *لاکتوباسیلوس انیمالیس* (۱۱/۴۲٪) از نظر فراوانی در جایگاههای بعدی قرار داشتند. *لاکتوباسیلوس کازئی* بیشترین اثرات مهاری را علیه باکتری‌های پاتوژن مورد آزمون نشان داد ($P<0/005$). این باکتری بیشترین اثر مهاری را علیه *شیگلا دیسانتری* با قطر هاله عدم رشد ۱۷ میلی‌متر و کمترین اثر مهاری علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر هاله عدم رشد ۱۴ میلی متر نشان داد. به طور کلی با توجه به اثر آنتاگونیستی لاکتوباسیل‌های جدا شده از کشک های سنتی شهرستان گرگان، استفاده از آنها به عنوان باکتری‌های با توان پروبیوتیکی توصیه می‌شود.

کلید واژگان: لاکتوباسیل، اثر آنتاگونیستی، کشک سنتی ، باکتری‌های بیماری زا، استان گلستان

*مسئول مکاتبات: hadikoohsari@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

۱- مقدمه

با توجه به فراوانی بیماریهای گوارشی در دنیا و افزایش روز افزون مقاومت داروئی، شناسایی و بررسی روشهای درمانی جدید، جهت پیشگیری و درمان این بیماریها ضروری به نظر می‌رسد. در این راستا متابولیت‌های حاصل از کشت لاکتوباسیلوس‌ها به عنوان یکی از مهمترین باکتری‌های اسید لاکتیک در محصولات لبنی و عمده‌ترین باکتری‌ها با توان پروبیوتیکی، می توانند به عنوان ترکیب‌های ضد میکروبی طبیعی کاربرد غذایی و دارویی فراوان داشته باشند[۱].

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که تاثیرات مفیدی مانند بهبود سیستم ایمنی، جلوگیری از استقرار و رشد باکتری‌های بیماری‌زا، کاهش جذب کلسترول و کاهش احتمال ابتلا به سرطان کولون را دارند. امروزه بررسی‌های زیادی جهت افزودن باکتری‌های پروبیوتیک به محصولات لبنی و بررسی تاثیر این باکتری‌ها بر سلامت مصرف کننده صورت گرفته است. استفاده از بعضی گونه های باکتری های اسید لاکتیک به عنوان پروبیوتیک می تواند در درمان و کنترل بعضی بیماری‌ها میسر باشد(۲).

اثرات ضد باکتریایی باکتری‌های اسید لاکتیک علیه باکتری‌های بیماری‌زای مهم بیشتر مربوط به تولید اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، دی‌اکسیدکربن، باکتریوسین‌ها و رقابت در چسبندگی به سطح موکوسی سلول‌های روده گزارش شده است. پروبیوتیک ها میزبان را از ابتلا به بیماری های عفونی مصون می دارند و به درمان نسبی این بیماری ها نیز کمک می کنند[۳].

از بین باکتریهای اسید لاکتیک می توان به لاکتوباسیلوس‌ها اشاره کرد، که باسیل‌های گرم مثبت، بدون اسپور، کاتالاز منفی و در خانواده لاکتوباسیلاسه طبقه‌بندی می‌شوند. این باکتری‌ها جزء فلور نرمال دهان، روده، و دستگاه تناسلی زنان می‌باشند و همچنین، در مواد لبنی، گوشت و سطح برگ گیاهان نیز یافت می‌شوند[۵و٤].

فراورده‌های لبنی نظیر ماست، دوغ و کشک می‌تواند منبع خوبی از باکتری‌های اسید لاکتیک باشد. کشک یکی از فرآورده‌های فرعی شیر است که به روش سنتی از جوشاندن ، تغلیظ و یا خشک کردن دوغی که پس از کره گیری باقی می ماند، به دست می‌آید و یا از ماست بدون چربی تهیه می‌شود. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثر آنتاگونیستی لاکتوباسیل‌های جدا شده از کشک های سنتی شهرستان *گرگان* واقع در استان *گلستان* علیه چهار باکتری بیماری‌زای گوارشی شامل *باسیلوس سرئوس*، *شیگلا دیسانتری*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* انجام شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- جداسازی لاکتوباسیل‌ها

در این مطالعه ۱۱ نمونه کشک از مناطق روستایی شهرستان گرگان در استان گلستان در فاصله زمانی اواخر پاییز و زمستان ۱۳۹۳ جمع‌آوری و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شد و تا زمان انجام آزمایشات در یخچال نگهداری شد. از نمونه‌های کشک در محلول رینگر رقت تهیه شد و به منظور غنی‌سازی، ۱۰۰ میکرولیتر از رقت تهیه شده را به لوله حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط کشت MRS Broth افزوده و به مدت ٤٨ ساعت در جار بی‌هوازی و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شد. پس از این مدت از این محیط‌ها بر روی محیط کشت اختصاصی MRS آگار کشت خطی داده شد و پلیت‌های کشت داده شده به مدت ٤٨ تا ۷۲ ساعت در جار بی‌هوازی و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. پس از این مدت باتوجه به مورفولوژی از کلنی‌های مشکوک رنگ‌آمیزی گرم و تست کاتالاز انجام شد و باکتری‌های میله ای گرم مثبت و کاتالاز منفی خالص‌سازی شدند و مراحل تعیین هویت بر روی آنها انجام شد. جهت نگهداری ایزوله‌های جدا شده از محیط کشتMRS براث حاوی ۱۰ درصد گلیسرول در فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد استفاده شد.

۲-۲- تعیین هویت لاکتوباسیل‌ها

به منظور تعیین هویت ایزوله‌ها از تست‌های تخمیر قندهای مختلف در کنار دیگر تست‌ها همچون رشد در۱۰ و ٤٥ درجه سانتیگراد و توانایی رشد در غلظت ٦/٥ درصد نمک طعام استفاده شد[٦].

به منظور بررسی تخمیر قندهای مختلف، هر یک از ایزوله‌ها در محیط کشت MRS براث حاوی معرف فنل رد و ۲ درصد از هر یک از قندهای مورد بررسی تلقیح شدند و برای ایجاد شرایط بی‌هوازی روی محیط با پارافین مایع استریل پوشانده شد و پس از ٤ روز گرمخانه گذاری در ۳۷ درجه سانتیگراد، با بررسی تغییر رنگ محیط از قرمز به زرد تخمیر

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

قند مورد نظر تایید گردید. به منظور بررسی رشد هر یک از ایزوله‌ها در دمای ۱۰ و ۴۵ درجه سانتیگراد، از هر ایزوله در دو لوله حاوی محیط کشت MRS براث تلقیح گردید و با ایجاد شرایط بی هوازی (افزودن پارافین مایع استریل بر روی محیط)، یکی از لوله ها در ۱۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷ روز و دیگری در۴۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و پس از این مدت با بررسی ایجاد کدورت (در مقایسه با لوله شاهد منفی) رشد ایزوله مورد تایید قرار گرفت.

به منظور بررسی رشد در غلظت ۶/۵ درصد نمک طعام، هر یک از ایزوله‌ها در محیط کشت MRS براث حاوی ۶/۵ گرم کلرید سدیم تلقیح شدند و در کنار لوله شاهد منفی در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت و با ایجاد شرایط بی‌هوازی گرمخانه گذاری شدند. پس از این مدت با بررسی ایجاد کدورت (در مقایسه با لوله شاهد منفی) رشد ایزوله مورد تایید قرار گرفت گردید[۷].

۲-۳- تهیه محلول رویی کشت لاکتوباسیلوس‌های جدا شده

۳ تا ٤ کلنی یکدست از کشت ۲٤ ساعته هر کدام از ایزوله‌ها در محیط کشت اختصاصی MRS براث تلقیح و سپس روی آن با پارافین مایع استریل پوشانده شد و به مدت ٤ روز در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید. در این مدت لاکتوباسیل‌ها رشد کرده و ترکیبات ضد میکروبی تولید می‌شود. آنگاه پارافین خارج شده و لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دور ٤۰۰۰ سانتریفوژ گردیده و مایع رویی جهت انجام آزمون میکروبی به لوله‌ای استریل انتقال داده شده و تا زمان انجام آزمون میکروبی در یخچال نگهداری شد. جهت اطمینان از عدم وجود سلول باکتری در سوپرناتانت حاصله از فیلتر سرنگی با قطر۰/۲ میکرومتر استفاده شد [۸و۹].

۲-٤- آماده سازی باکتری‌های بیماری‌زا

٤ سویه استاندارد بیماری‌زای گوارشی شامل *شیگلا دیسانتری* (PTCC 1188)، *اشرشیا کلی*(PTCC 1338)، *استافیلوکوکوس اورئوس*(PTCC 1112) و *باسیلوس سرئوس* (PTCC 1154) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند و پس از احیاء درمحیط BHI (عصاره قلب و مغز)، در محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد تا کلنی‌های خالص حاصل شود. آنگاه چند کلنی یکدست از کشت ۲٤ ساعته هر باکتری به ۳ میلی‌لیتر محیط نوترینت براث تلقیح شد و به مدت ۱ تا ۲ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد تا به کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند $1/5\times10^8$ CFU/ml رسید.

۲-۵- بررسی اثر ضد میکروبی به روش چاهک

اثر ضد میکروبی بر اساس انتشار در آگار و با روش چاهک مورد ارزیابی قرار گرفت. ازسوسپانسیون معادل ۰/۵ مک‌فارلند (۱/۵×۱۰۸ CFU/ml) باکتری‌های پاتوژن با سواپ استریل در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار به طور یکنواخت کشت داده شد. سپس با کمک پیپت پاستور استریل چاهک‌هایی به قطر ٦ میلی‌متردر محیط حفر شد و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی لاکتوباسیل‌های جدا شده از نمونه‌های کشک در داخل چاهک‌ها ریخته و به مدت ۲٤ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد و بعد از این مدت قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری و ثبت شد[۱۰و۱۱].

۲-٦- آنالیز آماری

به منظور افزایش دقت هر آزمون حداقل سه بار تکرار و میانگین قطر هاله عدم رشد بعد از سه بار ثبت گردید. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون‌های ANOVA و دانکن و از نرم افزار SPSS نسخه ۱٦ استفاده گردید.

۳- نتایج

از ۱۱ نمونه کشک سنتی جمع‌آوری شده از مناطق روستایی شهرستان گرگان در استان گلستان ۳۵ ایزوله لاکتوباسیل جداسازی و شناسایی شد. تمامی این ایزوله‌ها میله‌ای گرم مثبت، کاتالاز منفی بودند. در کنار این تست‌های اساسی، تخمیر ۱۳ قند در کنار رشد در ۱۰ و ٤۵ درجه سانتیگراد و رشد در حضور ٦/۵ درصد نمک طعام به شناسایی ایزوله‌ها کمک کرد. که نتایج آن در جدول ۱ آمده است.

نتایج این تحقیق نشان داد که از ۳۵ ایزوله لاکتوباسیل در نمونه‌های کشک‌های سنتی شهرستان گرگان ۱۰ سویه لاکتوباسیلوس شناسایی شدند که *لاکتو باسیلوس‌کازئی* بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داد. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود ۳۱/٤۲ درصد لاکتوباسیل‌های جدا شده از کشک‌های سنتی شهرستان گرگان به *لاکتوباسیلوس‌کازئی* اختصاص دارد. از دیگر باکتری‌های شایع

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

در نمونه‌های کشک می‌توان به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بیفرمنتاس* با ۱٤/۲۸درصد اشاره کرد. همچنین کمترین فراوانی هم مربوط به *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و *فروکتی‌ورنس* با ۲/۸۵ درصد بود(جدول ۲).

در بررسی اثر آنتاگونیستی این ایزوله‌های جدا شده علیه باکتری‌های بیماری‌زای گوارشی با روش چاهک نشان داد که محلول رویی حاصل از کشت اکثر سویه‌های جدا شده از کشک، در محدوده‌ی متغیر ۱۱ تا ۱۷ میلی‌متر قادر به مهار باکتری‌های بیماری‌زا بودند (جدول۳). نتایج بدست آمده از این روش در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. طی این روش بیشترین اثر مهاری را *لاکتو باسیلوس کازئی* با قطرهاله عدم رشد ۱۷ میلیمتر علیه *شیگلا دیسانتری* نشان داد و اثرات آنتاگونیستی این باکتری علیه باکتری های پاتوژن گوارشی در سطح ۰/۰۵ با دیگر سویه‌های لاکتوباسیل اختلاف معناداری داشت.

نتایج نشان داد که در بین باکتری‌های بیماری‌زای گوارشی مورد آزمون *شیگلا دیسانتری* نسبت به سایر باکتری‌ها حساسیت بیشتری نسبت به محلول رویی کشت لاکتوباسیل ها نشان داد ($P<0/005$)و اختلاف معنی دار بر اساس داده های خروجی از SPSS بین *شیگلا دیسانتری* با *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *باسیلوس سرئوس* مشاهده شد.

جدول ۱ جدول تشخیصی گونه‌های لاکتوباسیلوس بر اساس تست‌های بیوشیمیایی

کد ایزوله	رشد در ٤٥ درجه	رشد در ۱۵درجه	رشد در حضور ٦,٥٪ نمک طعام	تست های تخمیر قندی												
				آرابینوز	فروکتوز	گالاکتوز	گلوکز	لاکتوز	مالتوز	مانیتول	مانوز	ملیبیتوز	ملی بیوز	رفینوز	سوکروز	ترهالوز
۱-۱-۳و۱-۱-۱ و۱-۲-۱ و۱-۳-۱	+	−	−	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−
۲-۱-۳ و۲-۳-۱ و۱-٤-۱و۲-٤-۱ و۱-٥-۱	−	+	−	−	+	+	+	−	+	+	+	−	−	+	−	−
۱-۲-۳ و۲-٥-۱ و۲-٦-۱ و۱-۷-۱ و۱-۸-۱	+	−	−	−	+	+	+	+	+	−	+	−	−/+	−	+	−/+
۲-۲-۳و۲-٤-۳	−	+	−	+	+	−/+	+	−/+	+	−	−	+	+	+	−/+	−
۱-۳-۳ و۱-۱-۲	−	+	−	−	+	−	+	−	−/+	−	+	−	−	−	+	−/+
۲-۳-۳ و۲-۸-٤	−	+	−	+	+	+	+	+	+	−	+	−	+	+	+	
۱-٤-۳و ۳-۳-۳	−	+	−	+	+	−/+	+	−/+	+	−	−	−	+	+	−/+	−
۱-٥-۳	−/+	−	−	−	+	−	+	−	−/+	−	−	−	−	+	−/+	−
۱-۸-۳	+	−	−	−	−/+	+	+	+	−/+	−	−/+	−	−	−	−	−/+
۲-۱-۲و۲-۲-۲ و۳-۲ و۱-٤-۱ و۲-٥-۲ و۲-٦-۲ و۱-۷-۱ و۲-۸-۱و۱-۷-۳ و۲-۳-۱۰ و۳-۸-٦	−	+	−	−/+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	−

جدول۲ درصد فراوانی باکتری‌های جدا شده از کشک‌های سنتی شهرستان گرگان

نام سویه	تعداد (درصد)
لاکتوباسیلوس کازئی	۱۱(۳۱,٤۲)
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	٥(۱٤,۲۸)
لاکتوباسیلوس بیفرمنتانس	٥(۱٤,۲۸)
لاکتوباسیلوس انیمالیس	٤(۱۱,٤۲)
لاکتوباسیلوس بوچنری	۲(٥,۷۱)
لاکتوباسیلوس دلبروکی	۲(٥,۷۱)
لاکتو باسیلوس ساکی	۲(٥,۷۱)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

لاکتو باسیلوس برویس	۲(۵,۷۱)
لاکتو باسیلوس فرکتی ورنس	۱(۲,۸۵)
لاکتوباسیلوس هلوتیکوس	۱(۲,۸۵)
مجموع سویه ها: ۱۰	۳۵(۱۰۰)

جدول۳ میزان هاله عدم رشد باکتری های پاتوژن توسط ایزوله‌های جداشده بر حسب میلی‌متر

باکتری پاتوژن / ایزوله جدا شده	استافیلوکوکوس اورئوس	اشرشیا کولای	باسیلوس سرئوس	شیگلا دیسانتریه
لاکتو باسیلوس کازئی	۱۴±۱	۱۶±۰,۵۳	۱۶±۱	۱۷±۰,۷۱
لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس	۱۲±۱	۱۲±۰,۷۱	۱۳±۱	۱۷±۱
لاکتو باسیلوس انیمالیس	۱۴±۱	۱۴±۱	–	۱۲±۰,۵۸
لاکتوباسیلوس فروکتی ورنس	–	–	۱۲±۱	۱۳±۱
لاکتو باسیلوس بیفرمنتانس	۱۲±۱	۱۲±۰,۹۲	۱۲±۰,۷۱	۱۲±۱
لاکتو باسیلوس دلبروکی	۱۲±۱	–	–	۱۴,۵±۰/۵
لاکتو باسیلوس بوچنری	–	۱۲±۱	–	۱۳±۱
لاکتو باسیلوس برویس	–	–	–	۱۱,۵±۰,۵۳
لاکتو باسیلوس ساکی	–	۱۲±۱	–	۱۲,۵±۱
لاکتوباسیلوس هلوتیکوس	–	–	۱۲±۱	۱۲±۰,۹۲

۴- بحث و نتیجه‌گیری

همانطور که گفته شد *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بیفرمنتانس* بیشترین فراوانی را در کشک‌های سنتی شهرستان گرگان نشان دادند. در مطالعه‌ای مشابه، فراوان ترین لاکتوباسیل‌های موجود در محصولات لبنی شهرستان جهرم، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس‌پلانتاروم* معرفی شدند[۱۲]. برداج و همکاران *نیز لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* را به عنوان فراوان ترین ایزوله‌های نوعی کشک سنتی در هندوستان معروف به Dahi گزارش کردند[۷].

در مطالعه حاضر فعالیت ضدباکتریایی محلول رویی حاصل از کشت لاکتوباسیل‌های جدا شده از کشک‌های سنتی شهرستان گرگان به اثبات رسید. مطالعات متعدد دیگر نیز به نقش باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از محصولات لبنی علیه باکتری‌های پاتوژن اشاره داشته اند. ابتهاج و همکاران در مطالعه ای از ۱۹۴ نمونه ماست لاکتوباسیل‌هایی را جدا نمودند که ۱۰۲ سویه از این ایزوله‌ها قادر بودند از رشد باکتری های پاتوژن از جمله *سالمونلا* و *اشریشیا کلی* جلوگیری کنند[۱۳].

اوگونبان و همکاران نیز فعالیت ضد میکروبی و تولید باکتریوسین‌ها را توسط لاکتوباسیل ها مورد بررسی قراردادند. آنها با استفاده از روش چاهک نشان دادند که محلول رویی حاصل از کشت لاکتوباسیل‌ها از جمله *لاکتوباسیلوس برویس* می‌تواند از رشد *باسیلوس سرئوس*، *اشریشیا کلی* و *یرسینیا انتروکولیتیکا* جلوگیری کنند[۱۴].

نتایج این تحقیقات نیز تاییدی بر نتایج تحقیق حاضر در مهار رشد باکتری‌های پاتوژن توسط ایزوله‌های لاکتوباسیل از محصولات لبنی بود.

در بین لاکتوباسیل‌های ایزوله شده از نمونه‌های کشک سنتی شهرستان گرگان بیشترین اثرات ضد باکتریایی علیه چهار باکتری پاتوژن گوارشی به *لاکتوباسیلوس کازئی* مربوط می شد. در مطالعاتی مشابه به نقش *لاکتوباسیلوس کازئی* ، جدا شده از محصولات لبنی در مهار رشد باکتری‌های پاتوژن گوارشی اشاره شده است. در تحقیق دری و همکاران(۱۲) نیز، *لاکتوباسیلوس کازئی* بیشترین اثرات مهار کنندگی علیه *سالمونلا تیفی موریوم* ، *اشریشیا کلی* و *هلیکوباکتر پیلوری* را نشان داد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. کیایی و همکاران [۱۵] نیز لاکتوباسیلوس‌کازئی جدا شده از نمونه‌های ماست های محلی شهرستان گرگان رابه عنوان کارآمدترین

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

باکتری در مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا معرفی کردند. همچنین درسنکی و همکاران [۱۶] حساسیت باکتری‌های پاتوژن گرم مثبت و گرم منفی را به سوپرناتانت کشت *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نشان دادند.

در مطالعه‌ای چاووشی فروشانی و همکاران به بررسی اثرات ضد میکروبی جسم سلولی و محلول رویی *لاکتوباسیلوس کازئی* جدا شده از نمونه‌های ماست علیه *اشریشیا کلی O157:H7* با روش انتشار از چاهک و حداقل غلظت مهارکنندگی پرداختند. نتایج این تحقیق حاکی از اثرات ضد میکروبی ایزوله‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* علیه باکتری پاتوژن مورد آزمون بود و کمترین غلظت مهارکنندگی[1] و کمترین غلظت باکتری‌کشی[2] به ترتیب ۱/۱۶ و ۱/۸ گزارش شد. با توجه به پایداری مایع رویی حاصل از کشت این باکتری در حرارت های ۵۶، ۷۰، ۸۰ و ۱۰۰ درجه سانتیگراد و نیز pH ۳، ۷ و۱۰ پیشنهاد استفاده از محلول رویی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی به عنوان نگهدارنده زیستی در صنایع غذایی و درمان بیماری‌های ناشی از *اشریشیاکلی O157:H7*

فعالیت ضد میکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک ناشی از عوامل گوناگون از جمله اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن ، دی اکسیدکربن و باکتریوسین ها می‌باشد. میزان و نوع عوامل ضد میکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک به گونه و مواد تشکیل دهنده محیط کشت بستگی دارد[۱۸]. اسیدهایی همچون اسید لاکتیک و اسید استیک از جمله ترکیباتی هستند که می‌توانند بر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها اثر بازدارندگی داشته باشند. حضور اسید می‌تواند سبب کاهشpH محیط شود و شرایط رشد را برای دیگر میکروارگانیسم ها غیر فعال کند. همچنین فرم غیر یونیزه این اسیدهای آلی می‌تواند از غشای سلول باکتری‌های بیماری‌زا عبور نماید و با توجه به pH داخل سلول به فرم یونیزه تبدیل شود و یون‌های هیدروژن تولیدی سبب اسیدی شدن سیتوپلاسم و اختلال در خاصیت الکتروشیمیایی سلول شوند[۱۹].

نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که عصاره سلولی باکتریهای جدا شده از کشک‌های سنتی قادر هستند از رشد باکتری‌های بیماری‌زا جلوگیری کنند. باتوجه به افزایش روز افزون مقاومت داروئی و عوارض ناشی از مصرف ترکیب‌های ضد میکروبی شیمیایی، این متابولیت‌ها می‌توانند به عنوان ترکیب های ضد میکروبی طبیعی کاربرد غذایی و دارویی داشته باشند. با توجه به اثرات مهاری قابل توجه *لاکتوباسیلوس کازئی* علیه باکتری‌های پاتوژن گوارشی مورد آزمون می‌توان امیدوار بود استفاده از این باکتری به عنوان یک پروبیوتیک در محصولات لبنی بتواند در پیشگیری و درمان بیماری‌های گوارشی موثر باشد.

۵- منابع

[1] Somoro, A. 2002. Role of lactic acid bacteria in food preservation and Human Health-A Review. Pakistan Journal of Nutrition, vol. 1: 20-24.

[2] Wadher, K.J., Mahore, J.G., Umekar, M.J. 2010. Probiotics: living medicines in health maintenance and disease prevention. Int J Pharma and Bio Sci, vol. 3:1-9.

[3] De Verse, M., Schrezenmeir, J. 2002. Probiotics and non intestinal infectious conditions. British Journal of Nutrition, vol. 88:59.

[4] De Roos, N.M., Katan, M.B. 2000. Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. Am J Clin Nutr, vol. 71: 405-411.

[5] Lee, B., Bak, Y. 2011. Irritable bowel syndrome, gut microbiota and probiotics. J Neuro Gastro Enterol

Motil, vol. 17: 252-266.

[6] Finegold, S.M., Baron, E.J. 2009. Diagnostic Microbiology, 8th ed. Bailey & Scott s. Mosby Company.

Baltimore. Philadelphia .; Part II, IV, 171-476.

[7] Bhardwaj, A., Puniya, M., Sangu, K.P.S., Kumar, S., Dhewa, T. 2012. Isolation and Biochemical Characterization of *Lactobacillus* species Isolated from Dahi. Research & Reviews: A Journal of Dairy Science and Technology, vol. 1: 18-31.

[8] Laukova, A., Vlaemynck, G. 2003. Use of bacteriocin preparation with anti-microbial activity in Saint-Paulin cheese. In Bulletin of Veterinary Institute in Pulawy, vol. 47: 497-505.

[9] Badis, A., Guetarni, D., Moussa Boudjema, B.M., Henni, D.E., Kihal, M. 2004.

1. MIC
2. MBC

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Article Food Microbiology, vol. 21: 579-588.

[10] Alphy karaoglu, S., Aydin, F., Kilic, A.O. 2003. Antimicribial activity and characterization of bacteriocins produced by vaginal Lactobacilli. Turk J Med Sci, vol. 33: 7-13.

[11] Aslim, B., Yukesekdag, Z.N., Sarikaya, E., Beyatli, Y. 2005. Determination of the bacteriocin-like

substances produced by some lactic acid bacteria isolated from Turkish dairy products. LWT, vol. 38: 691-694.

[12] Dorri, K., Namdar, N., Hemayatkhah Jahromi, V. 2013. Isolation of *Lactobacilli* from Dairy Products and Their Effects on the Main Pathogenic Bacteria in Stomach and Intestine. MLJ, vol. 7: 21-29.

[13] Pishva, E., Hassannia, N., Fazeli, M., Havaee, A., Jamalifar, H., Poor Hossein, M., et al. 2009. Antibacterial Effect of Authochlorous *Lactobacillus* Strains Isolated from Traditional Yogurts. Pakistan Journal of Nutrition, vol. 8: 1132-1137.

[14] Ogunbanwo, S.T., Sanni,A.L., Onilude, A.A. 2003. Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* f1 and *Lactobacillus brevis* OG1. African journal of biotechnology, vol. 2: 219 - 227.

[15] Kiaie, E., Amir Mozafar, N., Samioladab, H., Jandaghi, N., Ghaemi, E. 2006. Antagonistic effect of lactic bacteria present in youghurt against pathogenic bacteria. J Gorgan Uni Med Sci, vol. 8: 23-28.

[16] Kazemi Darsanaki, R., Ghaemi, N., Mirpour, M. 2011. Evaluation antimicrobial activity of probiotic bacteria isolated from probiotic products. Journal of Islamic Azad University Microbial Biotechnology, vol. 7: 29-36.

[17] Chavoshi Frooshani, M., Imani Fooladi, A.A., Saadatmand, S. 2011. Antimicrobial effects of bacterial cell debris and supernatant of *Lactobacillus casei* isolated from yoghurt against Enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7. J Ardabil Univ Med Sci, vol. 11: 208-217.

[18] Vanderbergh, P.A. 1993. Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. FEMS Microbiology Review,vol. 12: 221–238.

[19] Collado, C., Surono, I., Meriluoto, J., Salminen, S. 2007. Indigenous dadih lactic acid bacteria: cell-surface properties and interactions with pathogens. Journal of Food Science, vol.72: 89–93.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

Evaluation of antagonistic effect of isolated lactobacillus strains from traditional Cruds of Golestan province against some gastrointestinal pathogenic bacteria

Davarpanah, M. R. [1], Koohsari, H. [2*]

1. Graduated student, Department of Food Science and technology, Azadshahr branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Golestan province, Iran.
2. Assistant Prof, Department of Microbiology, Azadshahr branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Golestan province, Iran.

(Received: 94/7/11 Accepted: 95/3/23)

According to importance of the use of probiotics in food products, recognition of Iranian traditional foods, that contain lactic acid bacteria is important. Lactobacillus is the most important genus of lactic acid bacteria in the dairy products and use of some species of lactobacillus with the probiotic potential can be effective in inhibiting the growth of some pathogens and treatment and control of some gastrointestinal diseases. the aim of this study was to evaluate the antagonistic effect of isolated *lactobacillus* from traditional cruds of Gorgan township in golestan province against four gastrointestinal pathogenic bacteria. In This study,crud samples sub-cultured on media cultures of MRS agar and after identification of isolated *Lactobacillus*, evaluation of antibacterial activity of their supernatant against four gastrointestinal pathogenic bacteria was performed by using agar well diffusion method. From 11 samples of traditional cruds, 35 *lactobacillus* were isolated and identified that the *Lactobacillus casei* had the most frequent (31.42%). *Lactobacillus acidophilus*(14.28%), *L. Byfermentans* (14.28%) and *Lactobacillus animalis* (11.42%) in the next positions were frequent respectively. *Lactobacillus casei* showed the most antibacterial activity against tested pathogenic bacteria ($P<0.005$). This bacteria showed the highest and lowest inhibitory effect against *Shigella dysenteriae* and *Staphylococcus aureus* respectively with inhibition zone diameter of 17 mm and 14mm. Overall, according to antagonistic effects of *lactobacillus* which is isolated from traditional cruds of Gorgan township in *golestan* province, their use as probiotic bacteria is recommended.

Key words: *Lactobacillus*, Antagonistic effect, Traditional crud, *Golestan* province, Gastrointestinal pathogenic bacteria

* Corresponding Author E-Mail Address: hadikoohsari@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]