

# Isolation of Lactobacilli from Dairy Products and Their Effects on the Main Pathogenic Bacteria in Stomach and Intestine

**Dorri, K. (MSc)**

MSc of Biology, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran

**Namdar, N. (MSc)**

MSc of Biology, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran

**HemayatkhahJahromi, V. (PhD)**

Assistant Professor of Animal Biology, Department of Biology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran

**Corresponding Author:** Dorri K

**Email:** [s.dorri@gia.ac.ir](mailto:s.dorri@gia.ac.ir)

Received: 4 Aug 2012

Revised: 5 Dec 2012

Accepted: 2 Jan 2013

## Abstract

**Background and objective:** The effects of lactobacillus Species and their metabolites on dairy products were proved as probiotics on pathogenic bacteria. The aim of this study was to isolate the lactobacillus from dairy product (Yogurt, cheese, milk and whey ...) and to determine the antimicrobial activity against some pathogenic bacteria (*Salmonella typhimurium*, *E.coli*, *Helicobacter pylori*).

**Material and methods:** Samples of dairy products were collected and were serially diluted in peptone medium. To isolate lactobacillus, diluted sample were plated on MRS Agar medium and incubated at 37°C for 48-72h in anaerobic condition. Identification of the lactobacilli was performed according to their morphological, cultural, physiological and biochemical characteristics. The inhibitory effect of isolated lactobacillus strains were performed against pathogenic bacteria by Agar Well Diffusion Assay and Disc method.

**Results:** of 50 samples of isolated Lactobacillus from dairy products (including 11 identified Lactobacillus), 19 samples have inhibitory effect on pathogenic bacteria such as *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* and *Helicobacter pylori*. The most identified strains are *Lactobacillus bulgaris*, *Lactobacillus Salivarius* and *Lactobacillus delbrueki*.

**Conclusion:** According to this study, some lactobacillus strains isolated from dairy products are useful in the management of diarrhea and other gastrointestinal diseases, and the use of these strains can be useful for prevention and treatment.

**Keywords:** Lactobacillus, Dairy products, *Salmonella Typhimurium*, *E.coli*, *Helicobacter pylori*

## دارای رتبه علمی - پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی

### جداسازی سویه های مختلف لاکتو باسیلوس ها از محصولات لبنی شهرستان جهرم و تاثیر متقابل آنها بر باکتری های مهم بیماری زای روده و معده

#### چکیده

**زمینه و هدف:** اثر سویه های لاکتو باسیلوس ها ( و متابولیت های آن ها ) در محصولات لبنی به عنوان پروبیوتیک روی باکتری های پاتوژن ثابت شده است . هدف از این مطالعه جداسازی لاکتوباسیلوس ها از فرآورده های لبنی (ماست، پنیر، شیر، کشک و دوغ) و بررسی فعالیت ضد میکروبی آنها علیه باکتری های پاتوژن (اشریشیا کلی، سالمونلا تیفی موریوم و هلیکوباکتر پیلوری) بود.

**روش بررسی:** نمونه های لبنی جمع آوری و در محیط کشت پپتون برات تهیه رقت گردید. برای جداسازی لاکتوباسیلوس ها رقت ها بر روی محیط کشت *MRS Agar* کشت داده و به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در شرایط بی هوازی و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری گردید. شناسایی لاکتوباسیلوس ها براساس رنگ آمیزی، مورفولوژی، محیط کشت، خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیکی صورت گرفت. اثر بازدارندگی لاکتوباسیلوس های جدا شده روی رشد باکتری های پاتوژن با دو روش چاهک و دیسک صورت گرفت.

**یافته ها:** از ۵۰ نمونه لاکتوباسیلوس جدا شده از فرآورده های لبنی ( شامل ۱۱ گونه لاکتوباسیلوس تعیین هیت شده ) ۱۹ مورد، دارای اثر بازدارندگی رشد علیه باکتری های پاتوژن سالمونلا تیفی موریوم، اشریشیا کلی و هلیکوباکتر پیلوری بود. بیشترین سویه های شناسایی شده دارای اثر باز دارندگی، لاکتوباسیلوس بولگاریس، لاکتوباسیلوس سالیواریوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی بود.

**نتیجه گیری:** با توجه به این تحقیق برخی از سویه های لاکتوباسیلوس جدا شده از فرآورده های لبنی برای درمان اسهال و سایر بیماری های گوارشی می تواند مناسب باشد. همچنین اگر از این باکتری ها در محصولات لبنی استفاده شود در پیشگیری و درمان سودمند می باشد.

**واژه های کلیدی:** لاکتوباسیلوس، فرآورده های لبنی، سالمونلا تیفی موریوم، اشریشیا کلی،

هلیکوباکتر پیلوری

#### کرامت اله دری

مری زیت شناسی، گروه میکروبیولوژی واحد جهرم، جهرم، ایران

#### نجمه نامدار

کارشناس ارشد زیت شناسی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی جهرم، ایران

#### وحید حمایت خواه جهرمی

استادیار علوم جانوری - گرایش تکوین، گروه زیت شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، ایران

#### نویسنده مسئول: کرامت اله دری

تلفن: ۰۹۱۷۷۹۱۹۹۵۲

پست الکترونیک: s.dorri@jia.ac.ir

آدرس: جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه میکروبیولوژی

وصول مقاله: ۹۱/۵/۱۴

اصلاح نهایی: ۹۱/۱۰/۵

پذیرش مقاله: ۹۱/۱۰/۱۳

#### آدرس مقاله:

دری ک، نامدار ن، حمایت خواه جهرمی "جداسازی سویه های مختلف لاکتو باسیلوس ها از محصولات لبنی شهرستان جهرم و تاثیر متقابل آنها بر باکتری های مهم بیماری زای روده و معده." مجله علوم آزمایشگاهی، ۱۳۹۲، دوره هفتم: ۲۸-۲۲

پروبیوتیک ها به عنوان میکروارگانسیم های زنده و مفیدی که به عنوان مکمل های غذایی اثرات مفید بر سلامت میزبان می گذارند شناخته شده اند. پروبیوتیک ها با مکانیسم های متعددی مانند تولید آنزیم ها و ویتامین ها در روده و کاهش pH در مهار باکتری های پاتوژن نظیر اشریشیا کولی و سالمونلا تیفی موریوم تاثیرگذار هستند (۲،۱). کاربرد گونه های مختلف بیفیدو باکتریوم ها و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به عنوان باکتری های پروبیوتیک، در تولید فرآورده های شیری تخمیری از اواخر دهه های ۱۹۷۰ رایج شد. باکتری هایی که به طور معمول در تهیه ماست استفاده می شوند، توانایی رسیدن به محیط روده را ندارند و اثرات مفید آنها اصولاً به حضور توده باکتریایی، ساخت آنزیم های خاص و تولید متابولیت های آنها مربوط می شود. اما باکتری های پروبیوتیک توانایی تحمل اسید معده و نمک های صفراوی و قابلیت جایگزینی در روده را دارند (۳،۴). امروزه باکتری های لاکتیک اسید<sup>۱</sup> (LAB) به طور موفقیت آمیزی با عوارض بسیار کم جایگزینی مناسبی برای استفاده از آنتی بیوتیک ها شده است. اولین اثر ضد باکتریایی باکتری های لاکتیک اسید، کاهش pH می باشد (۵). علاوه بر این LAB، ترکیبات ضد میکروبی متنوع دیگری نیز تولید می کند که می تواند در رده ترکیبات با وزن ملکولی پایین مانند پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ )، دی اکسید کربن ( $CO_2$ )، دی استیل (۳ butane diol) و یا ترکیبات با وزن ملکولی بالا مثل باکتریوسین ها قرار گیرد (۶ و ۷). با پیشرفت علم بیوتکنولوژی در زمینه های مختلف محققین به استفاده از متابولیت هایی که به طور طبیعی توسط باکتری تولید و از رشد میکروب های پاتوژن جلوگیری می کنند، متمرکز شده اند. تمامی این ترکیبات می توانند دارای اثر ضد باکتریایی علیه رشد بعضی از باکتری های پاتوژن در غذا و میزبان باشند. اغلب لاکتوباسیلوس های استفاده شده در غذاهای انسان به عنوان پروبیوتیک با قدرت و کارایی بالا می باشد که مقدار آن حدود  $10^{10}$  CFU/g می باشد. این مقدار اغلب به

صورت یخ خشک شده، اسپری خشک شده و کپسول های کوچک به ماده غذایی اضافه می شود. این لاکتوباسیلوس ها به طور معمول در فرآورده های تخمیر شده شیر (۸ و ۹) پنیر و بستنی استفاده می شوند (۱۰). اشریشیا کلی یک باکتری بیهوازی اختیاری و بخشی از فلور طبیعی روده انسان و حیوان می باشد که اغلب سبب عفونت های فرصت طلب در کلیه، مثانه، زخم، ریه ها و منتر می شود که هر یک می تواند به سپسیس منجر شود. سالمونلا ها نیز گروه بزرگی از باکتری های روده ای و شامل بیش از ۲۲۰۰ سروتیپ می باشند که سبب عفونت های بسیاری از جمله تب روده ای می شوند. هلیکو باکتر پیلوری عامل گاستریت مزمن فعال در انسان و عامل اصلی زخم های معده و دئودنوم و یک فاکتور مهم در ایجاد ارتباط با مخاط معده می باشد. با توجه به بیماری زاوی این سویه های باکتری در دستگاه گوارش و اثر سوء آنتی بیوتیک ها روی سلامت انسان یافتن راهی که در از بین بردن آنها موثر باشد، دارای اهمیت است. هدف از این پژوهش جدا سازی و شناسایی سویه های لاکتوباسیلوس جدا شده از ماست، انواع پنیر ها، دوغ و دیگر فرآورده های لبنی و در نهایت بررسی اثر ضد باکتریایی آنها (مقاومت باکتریایی) علیه اشریشیاکلی، سالمونلا تیفی موریوم و هلیکوباکتر پیلوری بود.

### روش بررسی

سویه های باکتری های پاتوژن شامل سالمونلا تیفی موریوم (۱۶۰۹)، اشریشیا کلی (PTCC 1395) به صورت لیوفیلیزه و هلیکوباکتر پیلوری که از نمونه بیوپسی بیماران تهیه شد. سالمونلا تیفی موریوم و اشریشیا کلی در محیط کشت های Brain Heart Infusion Agar (BHI) و Tryptone Soy Broth (TSB) تحت شرایط هوازی دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کشت داده شدند و هلیکوباکتر پیلوری را در شرایط میکروآتروفیل گرمخانه گذاری گردید. این مطالعه یک مطالعه بنیادی - کاربردی است که به منظور بررسی فراوانی لاکتوباسیلوس ها در محصولات لبنی (شامل شیر، ماست، دوغ، کشک و پنیر) در شهرستان

و روستاهای اطراف جهرم انجام شد. نمونه ها از مراکز تولید مواد لبنی تهیه و با ظروف استریل به آزمایشگاه منتقل شد. از هر محصول لبنی ۱۰ نمونه مختلف و از مکان های متفاوت خریداری و نمونه گیری شد. در ادامه از هر کدام از نمونه ها ۴ تا ۱۰ رقت تهیه شد. سپس از دو رقت آخر به میزان ۲ میلی لیتر به محیط کشت MRS broth (De Man - Rogosa - Sharp) منتقل و برای مدت زمان ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد تحت شرایط میکروآتروفیل گرمخانه گذاری گردید (pH محیط ۶/۲ تا ۶/۴). پس از پایان مدت زمان گرمخانه گذاری جهت جداسازی باکتری ها از محیط مایع، ابتدا شیرابه باکتریایی با دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید و از رسوب ته هر لوله یک لوپ پر به محیط MRS Agar (کشت streak) منتقل و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در شرایط میکروآتروفیلیک به صورت قرار دادن در جار شیمی گرمخانه گذاری گردید (۱۲،۱۱). برای تعیین هویت کلونی ایزوله شده از MRS آگار، رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز، رشد در ۴۲ و ۱۵ درجه سانتی گراد، تست اسکولین، تست آرژنین و تست های قندی صورت گرفت. برای تست های تک قندی از محیط MRS broth بدون گلوکز به عنوان کشت پایه استفاده و یک درصد از هر قند به طور مجزا شامل قندهای لاکتوز، ریوز، گالاکتوز، گلوکز، مالتوز، گزیلوز، فروکتوز، مانیتول، سوکروز، مانوز و رافینوز همراه با معرف استفاده گردید. محیط های کشت پس از سه روز گرمخانه گذاری در ۳۷ درجه سانتیگراد، از نظر تغییر pH بررسی شدند و با استفاده از خصوصیات ذکر شده انواع لاکتوباسیلوس ها مشخص گردیدند. پس از کشت ۴۸-۷۲ ساعته از لاکتوباسیلوس ها در شرایط میکروآتروفیل، مقدار یک میلی لیتر از شیرابه به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۵۰۰ rpm سانتریفوژ و محلول رویی را به یک لوله استریل منتقل شد، سپس محلول رویی دو بار از فیلتر ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد. در نهایت برای اطمینان از عدم وجود باکتری در محلول رویی، یک قطره از محلول فوق بر روی محیط کشت MRS Agar در شرایط

میکروآتروفیل کشت داده شد. محلول رویی شامل باکتریوسین و سایر فرآورده های تولید شده توسط لاکتوباسیلوس ها می باشد که اغلب دارای اثر مهار کنندگی رشد باکتری های پاتوژن را دارا هستند. جهت بررسی فعالیت باز دارندگی لاکتوباسیلوس ها علیه باکتری های پاتوژن روده و معده از قبیل سالمونلا تیفی موربوم، اشیریشیا کلی و هلیکوباکتریلوری روش های دیسک (Disk method) و چاهک (Well method) مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۲،۱۱) پس از کشت ۲۴ ساعته باکتری های پاتوژن در محیط کشت BHI، با استفاده از سوآب استریل از سوسپانسیون باکتریایی روی محیط کشت BHI Agar کشت Lawn داده، پس از مدت زمان ۳۰ الی ۶۰ دقیقه از جذب باکتری ها در محیط کشت، دیسک های استریل پانچ شده به فاصله معین طبق الگو روی محیط کشت قرار داده شد سپس ۳۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر از مایع رویی فیلتر شده هر کدام از لاکتوباسیلوس ها جدا شده از محصولات لبنی روی دیسک ها تلقیح گردید. پلیت ها برای مدت ۴۸-۲۴ ساعت در شرایط مورد نیاز باکتری پاتوژن گرمخانه گذاری گردید (*Escherichia coli* و *Salmonella typhimurium* در شرایط هوازی و *Helicobacter pylori* در شرایط میکروآتروفیل و بی هوازی، دمای ۳۷ درجه به مدت ۴۸-۲۴ ساعت). پس از مدت زمان گرمخانه گذاری برای بررسی خاصیت باز دارندگی رشد، قطر هاله عدم رشد اندازه گیری گردید. تاثیر هر کدام از باکتری های لاکتوباسیلوس جدا شده از محصولات لبنی روی باکتری های پاتوژن جداگانه با سه بار تکرار بررسی گردید. از باکتری های پاتوژن در محیط کشت BHI داده و پس از مدت زمان ۴۸-۲۴ ساعت گرمخانه گذاری با استفاده از سوآب استریل روی محیط کشت BHI Agar کشت Lawn داده شد. پس از جذب باکتری در محیط کشت حفره هایی به فاصله معین بر روی سطح محیط کشت ایجاد و درون آن مقادیر متفاوت (۳۰ تا ۱۵۰ میکرولیتر) از پلیت ها برای مدت زمان ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و پاتوژن گرمخانه گذاری

لاکتوباسیلوس بدانند. (جدول ۱) پس از بررسی قطر هاله ی عدم رشد در هر دو روش چاهک و دیسک مشخص شد که از تعداد ۵۰ نمونه لاکتوباسیلوس جدا شده، ۱۹ مورد (۳۸٪) اثر مهاري عليه باکتری های مایع رویی فیلتر شده هر کدام از لاکتوباسیلوس ها منتقل شد. پس از جذب مایع رویی درون حفرات ایجادی کلیه پاتوژن از خود نشان دادند (جدول ۲) (نمودار ۲). در هر دو روش قطر هاله ی عدم رشد مشاهده شد، اما در روش چاهک مهار رشد باکتری ها بهتر مشاهده گردید. لذا در جدول ۳ مقادیر طبق روش چاهک ثبت شده است.

گردید. پس از مدت لازم تجزیه و تحلیل نتایج آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام و نتایج ثبت گردید. تاثیر هر کدام از باکتری و زمان گرمخانه گذاری بر هاله عدم رشد باکتری های پاتوژن جداگانه با سه بار تکرار بررسی گردید. آزمون های آماری (ANOVA) و دانکن (DUNCAN) صورت گرفت و سطح معنی داری در سطح  $P \leq 0/05$  قرار داده شد.

### یافته ها

در این بررسی پس از کشت محصولات لبنی، تعداد ۵۰ نمونه لاکتوباسیلوس جدا شدند که شامل ۱۱ سویه

جدول شماره ۱- تعداد سویه های جدا شده برای هر لاکتوباسیلوس، بر اساس نمونه گیری از ۵ محصول لبنی

تعداد سویه های جدا شده	سویه های جدا شده
۱	<i>Lactobacillus Salivarius</i>
۳	<i>Lactobacillus Bulgaris</i>
۳	<i>Lactobacillus Delbrueki</i>
۶	<i>Lactobacillus Brevis</i>
۲	<i>Lactobacillus Animalis</i>
۷	<i>Lactobacillus Casei</i>
۲	<i>Lactobacillus Lactis</i>
۶	<i>Lactobacillus Rhamnossus</i>
۱۰	<i>Lactobacillus Acidophilus</i>
۹	<i>Lactobacillus Plantarum</i>
۱	<i>Lactobacillus Fermentum</i>
مجموع نمونه ها : ۵۰	تعداد سویه های لاکتوباسیلوس : ۱۱

جدول شماره ۲- منابع لاکتوباسیلوس های جدا شده

شیر	<i>L. Casei</i>	<i>L. Lactis</i>	<i>L. Brevis</i>	<i>L. Plantarum</i>	<i>L. Acidophilus</i>	-
پنیر	<i>L. Casei</i>	<i>L. Lactis</i>	<i>L. Brevis</i>	<i>L. Fermentum</i>	<i>L. Rhamnossus</i>	<i>L. Animalis</i>
ماست	<i>L. Delbrueki</i>	<i>L. Bulgaris</i>	<i>L. Salivarius</i>	<i>L. Casei</i>	<i>L. Plantarum</i>	<i>L. Animalis</i>
دوغ	<i>L. Rhamnossus</i>	<i>L. Animalis</i>	<i>L. Casei</i>	<i>L. Acidophilus</i>	-	-
کشتی	<i>L. Casei</i>	<i>L. Plantarum</i>	<i>L. Brevis</i>	<i>L. Acidophilus</i>	-	-

جدول شماره ۳- میانگین قطر هاله عدم رشد (به میلی متر) باکتری های پاتوژن توسط جدا به های لاکتوباسیلوس دارای اثر مهاري

لاکتوباسیلوس های جدا شده (۱۱ گونه)	تعداد کل جدا شده (۵۰ جنس)	تعداد دارای اثر مهاري (۱۹ مورد)	Escherichia coli (به میلی متر)	Salmonella typhimurium (به میلی متر)	H. Pylori (به میلی متر)
<i>L. Delbrueki</i>	۳	۱	۸	۷	۷
<i>L. Bulgaris</i>	۳	۱	۷	۷	۶
<i>L. Salivarius</i>	۱	۱	۴	-	-
<i>L. Casei</i>	۷	۳	۸	۸	۸
<i>L. Animalis</i>	۲	۱	-	۶	-
<i>L. Brevis</i>	۶	۲	۶	۷	۶
<i>L. Plantarum</i>	۹	۳	۸	۸	۷
<i>L. Acidophilus</i>	۱۰	۳	۷	۸	۷
<i>L. Rhamnossus</i>	۶	۲	۷	۶	۵
<i>L. Lactis</i>	۲	۱	-	۵	-
<i>L. Fermentum</i>	۱	۱	۵	-	-

## بحث و نتیجه گیری

باکتری های گرم منفی روده ای به ویژه سالمونلا و اشیریشیاکلی از مهمترین عوامل ایجاد مسمویت های غذایی و اسهال به خصوص در کشور های در حال توسعه هستند. با توجه به مقاومت های دارویی در این باکتری ها، اثرات درمانی برای این دسته از عفونت ها کاهش یافته و نیاز به جایگزین نمودن روش های جدید می باشد. امروزه از خواص رقابتی باکتری ها در درمان عفونت های ناشی از باکتری های پاتوژن استفاده می شود که لاکتوباسیلوس یا باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک یکی از مهمترین آنها می باشند (۱۳). در این پژوهش با توجه به اهمیت بیمارزایی باکتری های سالمونلا تیفی موربوم، اشیریشیاکلی و هلیکوباکتریلوری در روده و معده اثر مهار لاکتوباسیلوس های جدا شده از محصولات لبنی (شیر، ماست، پنیر، دوغ و کشک) علیه آنها ارزیابی گردید. از تعداد ۵۰ جنس لاکتوباسیلوس جدا شده (شامل ۱۱ گونه لاکتوباسیلوس تعیین هویت شده از محصولات لبنی متفاوت)، ۱۹ مورد (۳۸٪) دارای اثر مهار بر روی پاتوژنهای خود نشان دادند. Ogunbanwo و همکاران فعالیت ضد میکروبی و تولید باکتریوسین ها را توسط لاکتوباسیلوس ها مورد بررسی قرار دادند. آن ها با استفاده از روش چاهک نشان دادند که لاکتوباسیلوس ها از جمله لاکتوباسیلوس برویس از رشد اشیریشیاکلی (۸-۶ میلی متر)، باسیلوس سرئوس (۱۰-۸ میلی متر) و یرسینیا انتروکولیتیکا (۷-۶ میلی متر) جلوگیری می کند (۱). و محلول رویی حاصل از رشد شان در روش چاهک و دیسک اثر مهار خود را روی پاتوژن های ذکر شده از جمله اشیریشیاکلی به خوبی نشان دادند. Hutt و همکاران گزارش کردند که مصرف محلول رویی حاصل از کشت لاکتوباسیلوس ها و بیفیدوباکتریوم دارای اثر کشندگی علیه طیف وسیعی از باکتری های گرم منفی و گرم مثبت می باشد. (۱۱) این مطالعه نیز اثر محلول رویی حاصل از رشد لاکتوباسیلوس های جدا شده از محصولات لبنی را علیه رشد برخی از پاتوژن های گرم منفی نشان داد. Toksoy و همکاران (۱۴)، schillinger و Lucke (۳) اثر برخی از لاکتوباسیلوس ها از جمله *L. Plantarum*

و *L. sake* جدا شده از محصولات گوشتی را علیه چندین سویه باکتری پاتوژن گزارش کردند. ابتهاج و همکاران نیز توانستند از ۱۹۴ نمونه ماست، لاکتوباسیلوس هایی را جدا و اثر باز دارندگی از رشد را بر روی باکتری های پاتوژن بررسی نمایند (۱۲). نتایج تست های مهار با رشد باکتریایی در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که ۱۰۲ سویه دارای قدرت مهار رشد باکتری های پاتوژن از جمله سالمونلا و اشیریشیاکلی بوده اند. نتایج این تحقیقات نیز تاییدی بر نتایج تحقیق حاضر در مهار رشد باکتری های پاتوژن توسط جدایه های لاکتوباسیلوس از محصولات لبنی بود. Aroutcheva و همکاران (۷) گزارش کردند که بین خاصیت ضد باکتریایی لاکتوباسیلوس ها و توانایی تولید اسید لاکتیک، پراکسید هیدروژن رابطه مستقیمی وجود ندارد. از آنجایی که آنها سه جدایه لاکتوباسیلوس جداسازی نمودند که دارای خاصیت تولید  $H_2O_2$  و اسید لاکتیک بود اما دارای هیچ گونه اثر مهار رشد روی باکتری های پاتوژن نبود. اسید لاکتیک باکتری ها در نوشیدنی های محلی تخمیر شده (دوغ و...) وجود دارد و دارای یک خاصیت ضد باکتریایی علیه پاتوژن های منشأ گرفته از غذا می باشد. بسیاری از باکتری های تولید اسید لاکتیک به آنتی بیوتیک ها مقاوم هستند. اغلب این مقاومت ها به صورت ذاتی می باشد (۱۵). از طرف دیگر مقاوم بودن به آنتی بیوتیک به طور ذاتی می تواند اثرات مفیدی بر میزبان داشته باشد. پروبیوتیک ها می توانند با ایجاد تعادل در میکروب های مقیم دستگاه گوارش و همچنین ترشح مواد ضد میکروبی کمک بارزی به میزبان داشته باشند (۱۵). با توجه به اثرات باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک و کاربرد آنها به عنوان پروبیوتیک، امروزه حدود ۳۰ نوع ماست پروبیوتیک در سایر کشورها تولید می شود. بنابراین شناسایی باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک و بررسی خصوصیات آن ها به عنوان پروبیوتیک برای استفاده در صنعت نیز مفید می باشد (۱۲). Gomes و همکاران با بررسی حدود ۲۰۰ نمونه غذا از جمله پنیر و سوسیس توانستند هفت نوع باکتری تولید کننده اسید لاکتیک را جدا نمایند (از

Ercus (۲۰۰۷) نشان داد که لاکتوباسیلوس بولگاریکوس جدا شده از محصولات لبنی، با تولید بولگاریکان (نوعی باکتریوسین) توانست تحت شرایط آزمایشگاهی جلوی رشد بسیاری از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی نظیر استافیلوکوکوس ها و کلستریدیوم را بگیرد (۲۰). با توجه به نتایج تحقیق حاضر و نتایج دیگر محققان می توان گفت که گونه های مختلف لاکتوباسیلوس قدرت جلوگیری از رشد بسیاری از باکتری های بیماری زا را دارند.

با توجه به اثر آنتاگونیست لاکتوباسیلوس های جدا شده از فرآورده های لبنی علیه پاتوژن های معده و روده، می توان نتیجه گیری کرد که خالص سازی و استفاده از این باکتری ها به عنوان پروبیوتیک در محصولات لبنی جهت پیشگیری و درمان عفونت های روده ای و معدی، مفید خواهد بود.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم که این طرح را به تصویب رسانده و مورد حمایت مالی قرار داد و همچنین از جناب آقای دکتر حمایت خواه معاون پژوهشی وقت، کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

### References

- Ogunbanwo st, sanni Al, onilude AA. *characterization of bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum fl and Lactobacillus brevis OGI*. African journal of biotechnology. 2003; 2(8): 219 - 227.
- Tamime A, Robinson R. *Nutritional value of yoghurt* . journal of Dairy science and Technology. 1999; 1:365
- Schillinger U, lucke FK. *Antibacterial activity of Lactobacillus sake isolated from meat*. Applied and Environmental Microbiology. 1989; 55(8): 1901- 1906.
- Salminen s , Isolauri E , Salminen E . *clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges*. Antonie Van Leeuwenhoek. 1996; 70(2-4): 347-58.
- Daeschel MA. *Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives* . Food Technology. 1989; 43(1):164-167.
- Jay JM. *Antimicrobial properties of diacetyl*. Applied and Environmental Microbiology. 1982; 44(3):525- 532.
- Aroutcheva A, Gariti D, Simon M, Shott S, Faro J, Simoes JA, et al. *Defense factors of vaginal lactobacilli*. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2001; 185(2): 375-379 .
- Coconnier MH, Lievin V, Hemery E, Servin AL. *Antagonistic activity against helicobacter infection in*

جمله *L.Plantarum, L.Brevis* و *L.curvatus* که دارای خاصیت ضد باکتریایی علیه باکتری های پاتوژن از جمله لیستریا مونوسیژون بود Kim و همکاران استفاده از باکتری های *L.Casei* ، *bacillus Longum* و *lactococcus* جدا شده از ماست را در پیشگیری و درمان گاستریت و زخم معده ایجاد شده توسط هلیکوباکتریلوری موثر دانستند (۱۷). در این بررسی نیز برخی از لاکتوباسیلوس ها دارای اثر مهاری روی رشد هلیکو باکتریلوری بود. بسیاری از محققان نیز اثر ماست پروبیوتیک دارای *L.Reuteri* و *L.Ramosus* را در درمان التهاب روده ای ثابت شد (۱۸). در این بررسی سویه های بیشتری از لاکتوباسیلوس از ماست جداسازی شد و اثر مهاری آنها روی پاتوژن های روده مثل اشریشیاکلی و سالمونلا ثابت شد. Tufail و همکاران (۲۰۱۱) با جداسازی لاکتوباسیلوس بولگاریکوس از ماست و تاثیر بازدارندگی از رشد بر روی باکتری هایی نظیر باسیلوس سابتیلیس، اشریشیا کولی، سالمونلا تیفی، ویبریو کلرآ و استافیلوکوکوس اورئوس را ثابت نمودند. نتایج تحقیق فوق نیز تاییدی بر تحقیق حاضر بود (۱۹).

- Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, et al . *Demonstration of safety of probiotics – a review*. International Journal of Food Microbiology. 1998; 44(1-2): 93-106.
- Piard JC, Desmazeaud M. *Inhibitory factors produced by lactic acid bacteria bacteriocins and other antibacterial substances*. Lait. 1992; 72(2): 113 -142.
- Nighswonger BD, Brashears MM, Gilliland SE. *Viability of lactobacillus acidophilus and lactobacillus casei in fermented milk products during refrigerated storage* . Journal of Dairy science. 1996; 79(2): 212 - 219.
- Hu`tt P, Shchepetova J, Lo` ivukene K, Kullisaar T, Mikelsaar M. *Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero-and uropathogens*. J Applied Microbiol. 2006; 100(2): 1324-1332.
- Pishva E, Hassannia N, Fazeli M, Havaee A, Jamalifar H, Poor Hossein M, et al. *Antibacterial Effect of Authochlorous Lactobacillus Strains Isolated from Traditional Yogurts*. Pakistan Journal of Nutrition. 2009; 8(8): 1132-1137.

13. Oliveira MN, Sodini I, Remeuf F, Corrieu G. *effect of milk supplementation and culture composition on acidification textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic*. International Dairy Journal. 2001; 11(11): 935-942.

14. Toksoy A, Beyatli Y, Aslim B. *Studying on metabolic and antimicrobial activities of some L.Plantarum strains isolated from sausages* . Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences.1999; 23:533 – 540.

15. Talwalkar A and kailasapathy k . *comprehensive reviews in food science and food safety* . Institute of Food Technologists. 2004; 3: 117-124.

16. Gomes AM, Malcata FX. *Development of probiotic cheese manufactured from goat milk response surface analysis via technological manipulation* . Journal of Dairy Science.1998; 81(6):1492 - 1507.

*vitro and in vivo by the human lactobacillus acidophilus strain*. 1998; 64(11): 4573 - 4580.

18. Line DC. *Probiotics as functional foods* . Nutrition in Clinical Practice . 2003; 18(6): 497-506.

19. Tufail M, Hussain S, Malik F, Mirza T, Parveen G, Shafaat S, et al. *Isolation and evaluation of antibacterial activity of bacteriocin product by Lactobacillus bulgaricus from yogurt*. African Journal of Microbiology Research. 2011; 5 (22): 3842-3847.

20. Erkus O. *Isolation phenotypic and genotypic characterization of yoghurt starter bacteria*. The Graduated School of Engineering and Sciences of Izmir Institute of Technology. Master Thesis. 2007.