Archive of SID

JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره چهاردهم، شماره دوم، ۱۳۹۷، پیاپی ۳۷: ۱۰۷-۹۵

بررسی تأثیر پروبیوتیک‌های *لاکتوباسیلوس* جدا شده از مدفوع گاو و گاومیش بر کاهش غلظت کلسترول در شرایط آزمایشگاهی

حسین محمدی[۱]، احسان عناصری[۲*]، امیر توکمه چی[۳]

۱- دانش آموخته دکتری حرفه‌ای دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- استادیار گروه بیماری‌های درونی و کلینیکال پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- دانشیار گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت:۹۶/۱/۱ تاریخ پذیرش:۹۷/۴/۲۶

چکیده

در این بررسی تأثیر چند گونه متفاوت *لاکتوباسیلوس* جدا شده از مدفوع گاو و گاومیش از دامداری‌های اطراف ارومیه بر میزان کلسترول مورد مطالعه قرار گرفت. در بررسی‌های باکتری شناسی نمونه‌های مدفوع گاو، تنها ۵ گونه متفاوت از جنس لاکتوباسیلوس جدا شد. بیشترین فراوانی مربوط به *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (۳۷/۵ ٪) و کمترین آن مربوط به *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* (۵٪) بود. در بررسی‌های باکتری‌شناسی نمونه‌های مدفوع گاومیش نیز ۱۰ گونه متفاوت از جنس *لاکتوباسیلوس* و تنها یک گونه *بیفیدوباکتریوم* جداسازی شد. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دارای بیشترین فراوانی (۲۵ ٪) و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* دارای کمترین (۲/۲۸ ٪) فراوانی بود. در این مطالعه توانایی باکتری‌های جداسازی شده از نمونه‌های مدفوع برای کاهش میزان کلسترول در محیط کشت مایع MRS سنجیده شد. بر اساس این یافته‌ها هیچ کدام از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس* جدا شده از نمونه‌های مدفوع گاو نتوانستند تغییری در میزان کلسترول موجود در محیط کشت ایجاد نمایند. در حالیکه برخی از لاکتوباسیلوس‌های مدفوع گاومیش توانستند مقدار کلسترول موجود در محیط کشت را پس از ۲۴ ساعت کاهش دهند. این کاهش بسته به گونه باکتری متفاوت بوده و بیشترین آن مربوط به *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* (۵۰ ٪کاهش) و کمترین آن مربوط به *لاکتوباسیلوس کازئی* (۱۲ ٪) بود.

کلمات کلیدی: *لاکتوباسیلوس*، مدفوع، کلسترول، گاومیش، گاو، شرایط آزمایشگاهی

*نویسنده مسئول: احسان عناصری

آدرس: گروه بیماری‌های درونی و کلینیکال پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

پست الکترونیک: e.anassori@urmia.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری‌های قلبی عروقی یکی از علل شایع مرگ و میر در جوامع مختلف به شمار می‌رود. یکی از فاکتورهای خطر مهم در بروز بیماری عروق کرونر قلب افزایش میزان کلسترول خون می‌باشد (۳). بررسی‌های انجام شده ارتباط مستقیمی را بین افزایش کلسترول تام و لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین (Low Density Lipoprotein) در سرم خون و بروز بیماری عروق کرونر قلب انسان نشان می‌دهد (۳۳). علی رغم کشف داروهای فراوان در زمینه کاهش میزان کلسترول خون، استفاده از این داروها به دلیل هزینه بالا و اثرات جانبی دارای محدودیت است. بنابراین جستجو و استفاده از فراورده‌های طبیعی جهت کاهش کلسترول خون رو به افزایش است. پروبیوتیک ها گروهی از میکروارگانیسم‌ها هستند که با ایجاد تعادل در میکروفلور دستگاه گوارش بر سلامت مصرف کننده مؤثر هستند (۱۷). امروزه نقش بسیاری از گونه‌های پروبیوتیکی در سلامت انسان به خوبی شناخته شده است. علاوه بر ارتقای سلامتی و ایمنی زایی در روده (۱۲)، پروبیوتیک ها نقش‌های دیگری چون حفاظت میزبان در برابر میکروارگانیسم‌های مضر، تقویت سیستم ایمنی و کاهش شدت عفونت‌ها، تعدیل انرژی مصرفی و متابولیسم چربی‌ها را دارا هستند (۳۴). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که یکی از اثرات مفید پروبیوتیک ها توانایی آن‌ها در کاهش میزان کلسترول سرم می‌باشد (۱۶ و ۱۵). مکانیسم‌های مختلفی در ارتباط با نحوه عملکرد پروبیوتیک ها در کاهش کلسترول گزارش شده است. از جمله این مکانیسم‌های پیشنهادی، می‌توان به قابلیت اتصال کلسترول به دیواره سلولی پروبیوتیک ها و ترکیب کلسترول با غشای سلولی باکتری‌ها و در نتیجه، جلوگیری از جذب کلسترول مواد غذایی اشاره کرد. با توجه به تنوع و تفاوت گونه‌ای پروبیوتیک های موجود در دستگاه گوارش گاو و گاومیش و نیز پایین بودن مقادیر کلسترول در فراورده‌های حاصل از گاومیش نظیر گوشت (۲۶) در مقایسه با گاو، که تداعی کننده نقش احتمالی باکتری‌های دستگاه گوارش در کاهش میزان کلسترول می‌باشد، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات پروبیوتیک‌های جداشده از مدفوع گاو و گاومیش بر روی کلسترول در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

جداسازی و شناسایی لاکتوباسیلوس ها: برای این منظور تعداد ۵۰ نمونه مدفوع گاومیش و ۵۰ نمونه مدفوع گاو به صورت تصادفی از مجموع ۱۲ فارم پرورش حومه شهرستان ارومیه تهیه شد. نمونه‌های مدفوع با استفاده از محیط انتقالی پپتون واتر و در لوله‌های فالکون ۵۰ میلی لیتری استریل و در کنار یخ و در اسرع وقت به آزمایشگاه میکروبیولوژی منتقل شدند. لازم به ذکر است به ازای هر ۳۵ میلی لیتر محیط انتقالی پپتون واتر ۵ گرم نمونه مدفوع اضافه شده و پس از انتقال نمونه‌های مدفوع به آزمایشگاه بلافاصله رقت‌های سریالی (10^{-1} تا 10^{-8}) از هر نمونه به طورجداگانه به کمک بافر نمکی فسفات (Phosphate Bufer Solution) استریل تهیه و کشت نمونه‌ها در محیط کشت MRS آگار با دمای ۵۵-۴۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. سپس به منظور شناسایی باکتری‌های رشد یافته، از تمامی پرگنه‌ها بر روی پلیت های حاوی MRS آگار گسترش آماده، و رنگ آمیزی گرم انجام شد. سپس باکتری‌های گرم مثبت میله‌ای شکل انتخاب و بلافاصله تست کاتالاز در مورد آن‌ها صورت گرفت. در این مرحله تمامی باکتری‌های

www.SID.ir

Archive of SID

میله‌ای شکل و کاتالاز منفی به عنوان باکتری‌های مشکوک به یکی از جنس‌های *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم* در نظر گرفته شدند و متعاقبا تست‌های بیوشیمیایی افتراقی در مورد آن‌ها انجام گرفت. در این بررسی تشخیص افتراقی باکتری‌های جدا شده به کمک آزمون رشد در ۱۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد، احیاء نیترات، تولید گاز از گلوکز، حرکت، متیل رد-وگوس پروسکائر، سیمون سیترات (Simon's Citrate)، اوره آز، محیط سه قندی آهن دار و شیر تورنسل دار بر اساس روش‌های متداول انجام گرفت (۲۵). پس از انجام تست‌های بیوشیمیایی، با توجه به این که تشخیص گونه‌ای در جنس *لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم* بر اساس الگوی تخمیر کربوهیدرات‌ها صورت می‌گیرد لذا از تخمیر کربوهیدرات‌های مختلف برای شناسایی گونه استفاده شد (۹)، (جدول ۱). در نهایت پس از شناسایی جنس و گونه باکتری‌ها با استفاده از روش‌های معمولی باکتری شناسی نگه داری آنها در محیط کشت آبگوشت MRS حاوی ۱۰٪ گلیسرین و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمون‌های دیگر نگهداری شدند.

کشت انبوه باکتری‌ها: برای این منظور پرگنه خالصی از هر باکتری به طور جداگانه در ۱۰ میلی لیتر محیط آبگوشت MRS کشت و در شرایط بی هوازی و اتمسفر حاوی ۵٪ گاز CO_2، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در انکوباتور شیکر دار با دور ۱۲۰ در دقیقه گرمخانه گذاری شدند. پس از رشد ابتدا باکتری‌ها به طور جداگانه سانتریفیوژ شدند (۲۵۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد)، سپس محلول رویی هر لوله دور ریخته شد و رسوب حاصل دو مرتبه با بافر PBS استریل شستشو داده شد. در نهایت به کمک بافر PBS و با مقایسه کدورت سنجی نمونه‌ها با لوله‌های استاندارد مک فارلند تراکم مناسب از هر باکتری به طور جداگانه تهیه گردید (معادل لوله شماره ۲ مک فارلند یا 6×10^8 CFU/ml). لازم به توضیح است که جهت اطمینان از دقیق بودن تراکم باکتری‌ها به کمک لوله‌های استاندارد مک فارلند شمارش آنها با روش زنده به ترتیب زیر نیز انجام گرفت: ابتدا رقت‌های سریال (10^{-1} تا 10^{-12}) از هر باکتری به طور جداگانه در بافر PBS استریل تهیه شد. سپس مقدار یک میلی لیتر از هر رقت بر روی محیط MRS آگار انجام گرفت. تمامی نمونه‌ها به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در شرایط بی هوازی و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شدند. سرانجام پرگنه‌های رشد یافته بر روی پلیت مناسب شمارش شده و میزان تراکم باکتری در نمونه مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی توانایی باکتری‌ها در کاهش کلسترول: به منظور بررسی توانایی باکتری‌های جدا شده از مدفوع گاو و گاومیش جهت کاهش کلسترول در شرایط آزمایشگاهی، پس از کشت و تنظیم تراکم باکتری‌ها، ابتدا غلظت مناسبی از کلسترول در محیط کشت آبگوشت MRS تهیه شد. به این ترتیب که در لوله‌های آزمایش درب دار ۲۰ میلی لیتری، مقدار ۱۰ میلی لیتر محیط کشت آبگوشت MRS ریخته شد وسپس مقدار ۰/۰۵ گرم از پودر کلسترول به تمامی لوله‌ها افزوده شده و در نهایت با استفاده از فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرون در زیر هود لامینار فلو استریل شدند. پس از تهیه محیط کشت مایع MRS حاوی کلسترول در زمان صفر، نور جذبی آن‌ها در طول موج ۴۹۶ نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومتر اندازه گیری شد. هدف از این مرحله ایجاد غلظت‌های استاندارد کلسترول بود، به این ترتیب که لوله‌های با جذب نوری متفاوت از مجموعه حذف شدند تا شرایط برای همه باکتری‌ها یکسان شود.

www.SID.ir

Archive of SID

سنجش میزان کلسترول در محیط کشت: برای اندازه گیری کلسترول از روش اصلاح شده پیریرا و گلن در سال ۲۰۰۲ استفاده گردید (۳۰). به طور خلاصه، ابتدا با استفاده از پودر کلسترول منحنی استاندارد برای جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر و غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در میلی لیتر رسم شد. در این آزمایش محلول نهایی رزورافین (Resorufin) بود که به نسبت ۱ به ۱ با کلسترول، نور را در طول موج ۵۷۰ نانومتر جذب می‌نمایند. واکنش شیمیایی انجام شده به طور خلاصه شامل اکسیداسیون کلسترول است که در این واکنش آنزیم پراکسیداز وارد عمل شده تا از کلسترول ماده رزورافین را سنتز کند. نحوه تهیه معرف‌ها به شرح زیر است:

تهیه کلسترول استوک: مقدار ۱۰ میکرو گرم از کلسترول در ۲۲۰ میکرولیتر محلول دی متیل سولفوکساید (DMSO) حل و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید. نیمه عمر این استوک دو ماه بوده و باید از نور مستقیم محافظت گردد.

تهیه کلسترول استراز: پودر آنزیم کلسترول اکسیداز را در ۲۲۰ میکرولیتر بافر حل کرده و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

مخلوط واکنش: مقدار ۷۰۴ میکرولیتر بافر واکنش کلسترول با ۳۲ میکرولیتر کلسترول استوک، ۳۲ میکرولیتر مخلوط آنزیم و ۳۲ میکرولیتر کلسترول استراز مخلوط گردید. لازم به ذکر است مخلوط واکنش در میکروتیوب های ۱/۵ میلی لیتر تهیه گردید. سپس غلظت‌های استاندارد کلسترول (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در لیتر) در بافر واکنش کلسترول تهیه شد. حجم نهایی هر کدام از غلظت‌ها برابر با ۲۰۰ میکرولیتر بود. سپس مقدار ۲۵ میکرولیتر از هر غلظت استاندارد به میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته شد و به هر چاهک مقدار ۲۵ میکرولیتر از مخلوط واکنش اضافه شد. همچنین مقدار ۲۵ میکرولیتر از نمونه به چاهک میکروپلیت ریخته و به آن ۲۵ میکرولیتر مخلوط واکنش اضافه شده و با فویل آلومینیومی پوشانده شد. میکروپلیت به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شده و نور جذبی در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزا خوان (Statfut, USA) قرائت گردید.

جدول ۱- نتایج بررسی‌های بیوشیمیایی *لاکتوباسیلوس‌ها* و *بیفیدوباکتریوم* جداسازی شده از نمونه‌های مدفوع گاو و گاومیش.

تست	*L. rhamnosus*	*L. acidophilus*	*L. reuteri*	*L. fermentum*	*L. delbrueckii*	*L. lactis*	*L. casei*	*L. paracasei*	*L. plantarum*	*L. salivarius*	*L. bulgaricus*	*B. lactis*
رشد در ۱۵ °C	–	–	+	+	–	–	+	+	+	+	+	–
رشد در ۴۵ °C	–	–	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–
VP	–	–	+	–	–	+	–	–	–	–	–	–
احیاء نیترات	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
تولید گاز گلوکز	–	–	+	+	–	+	+	–	–	+	+	+
حرکت	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
کاتالاز	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
آرابینوز	–	+	+	+	–	–	–	–	+	–	–	–
اینوزیتول	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–
اینولین	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
رافینوز	+	–	–	+	–	+	–	–	+	–	–	+

www.SID.ir

Archive of SID

رامنوز	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
سلبیوز	+	+	−	+	−	+	−	−	−	+	+	−
سوربوز	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
سوربیتول	+	+	−	+	−	+	−	+	+	−	−	−
فروکتوز	−	−	−	−	+	−	−	+	+	−	+	−
گالاکتوز	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	−
گزیلوز	−	−	+	−	−	−	−	−	−	+	−	−
لاکتوز	+	−	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+
مانوز	+	+	−	+	−	+	−	+	+	−	+	−
مانیتول	+	+	−	+	−	+	−	+	+	−	−	−
ملزیتوز	+	+	−	−	−	−	−	+	+	+	−	−
ملیبیوز	+	−	+	+	−	−	−	−	−	+	−	−

نتایج

نتایج مربوط به کشت نمونه‌های مدفوع گاو و گاومیش در جدول ۲ آورده شده است. همان طور که نتایج این جدول نشان می‌دهد تنوع گونه‌های جدا شده از مدفوع گاومیش (۲۰ نوع گونه) بیشتر از میکروارگانیسم‌های جدا شده از مدفوع گاو (۱۸ نوع گونه) است. از ۵۰ نمونه مدفوع گاو هیچ گونه *بیفیدوباکتریوم* جدا نشد در حالی که یک گونه *بیفیدوباکتریوم* از مدفوع گاومیش جداسازی شد. همچنین بیشترین تنوع گونه‌ای *لاکتوباسیلوس* مربوط به نمونه مدفوع گاومیش بود (۱۰ گونه مختلف). نتایج بدست آمده از بررسی‌های باکتری شناسی نمونه‌های مدفوع گاو نشان داد که در مجموع ۵ گونه متفاوت از جنس *لاکتوباسیلوس* توانایی رشد بر روی محیط کشت MRS آگار را دارند. بیشترین فراوانی مربوط به *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (۳۷/۵٪) و کمترین آن مربوط به *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* (۵٪) می‌باشد (جدول ۳).

بررسی‌های باکتری‌شناسی نمونه‌های مدفوع گاومیش نیز نشان داد که از مجموع ۵۰ نمونه، ۱۰ گونه متفاوت از جنس *لاکتوباسیلوس* و یک گونه *بیفیدوباکتریوم* جداسازی شد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دارای بیشترین فراوانی (۲۵٪) و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* دارای کمترین فراوانی (۲/۲۸٪) می‌باشد (جدول ۴).

در این مطالعه توانایی باکتری‌های جداسازی شده از نمونه‌های مدفوع برای کاهش میزان کلسترول در محیط کشت مایع MRS سنجیده شد که نتایج آن در جدول ۵ آورده شده است. بر اساس یافته‌های حاصل از این مطالعه هیچ کدام از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس* جدا شده از نمونه‌های مدفوع گاو نتوانستند تغییری در میزان کلسترول موجود در محیط کشت ایجاد نمایند. در حالی که برخی از باکترهای نمونه مدفوع گاومیش توانستند مقدار کلسترول موجود در محیط کشت را پس از ۲۴ ساعت کاهش دهند. این کاهش بسته به گونه باکتری متفاوت بوده و بیشترین آن مربوط به *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* (۵۰٪ کاهش) و کمترین آن مربوط به *لاکتوباسیلوس کازئی* (۱۲٪ کاهش) می‌باشد.

جدول ۲- بررسی میکروبیولوژیک نمونه‌های مدفوع گاو و گاومیش پس از کشت بر روی محیط MRS آگار.

میکروارگانیسم جدا شده	از ۵۰ نمونه مدفوع گاو	از ۵۰ نمونه مدفوع گاومیش
مخمر	۱۳ گونه متفاوت	۹ گونه متفاوت
لاکتوباسیلوس	۵ گونه متفاوت	۱۰ گونه متفاوت
بیفیدوباکتریوم	−	۱ گونه
مجموع	۱۸	۲۰

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- گونه‌های شناسایی شده *لاکتوباسیلوس* جداسازی شده از ۵۰ نمونه مدفوع گاو.

ردیف	میکروارگانیسم	فراوانی (در ۵۰ نمونه مدفوع)	درصد فراوانی
۱	*Lactobacillus rhamnosus*	۱۵	۳۷/۵
۲	*Lactobacillus acidophilus*	۱۲	۳۰
۳	*Lactobacillus reuteri*	۹	۲۲/۵
۴	*Lactobacillus fermentum*	۲	۵
۵	*Lactobacillus delbrueckii*	۲	۵
	مجموع	۴۰ مورد	۱۰۰

جدول ۴- گونه‌های شناسایی شده *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم* جداسازی شده از ۵۰ نمونه مدفوع گاومیش.

ردیف	میکروارگانیسم	فراوانی (در ۵۰ نمونه مدفوع)	درصد فراوانی
۱	*Lactobaciilus acidophilus*	۱۱	۲۵
۲	*Lactobaciilus lactis*	۹	۲۰/۴۵
۳	*Lactobaciilus fermentum*	۶	۱۳/۶۳
۴	*Lactobaciilus casei*	۴	۹/۱
۵	*Lactobaciilus paracasei*	۴	۹/۱
۶	*Lactobaciilus plantarum*	۲	۴/۵۴
۷	*Lactobaciilus salivarius*	۲	۴/۵۴
۸	*Lactobaciilus reuteri*	۲	۴/۵۴
۹	*Lactobacillus delbrueckii*	۲	۴/۵۴
۱۰	*Lactobaciilus bulgaricus*	۱	۲/۲۸
۱۱	*Bifidobacterium lactis*	۱	۲/۲۸
	مجموع	۴۴ مورد	۱۰۰

جدول ۵- نتایج مربوط به توانایی باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های مدفوع بر کاهش میزان کلسترول.

نمونه مدفوع	ردیف	میکروارگانیسم	درصد کاهش کلسترول
گاو	۱	*Lactobacillus rhamnosus*	کمتر از ۲
	۲	*Lactobacillu acidophilus*	۰
	۳	*Lactobacillus reuteri*	کمتر از ۳
	۴	*Lactobacillus fermentum*	۰
	۵	*Lactobacillus delbrueckii*	کمتر از ۱
گاومیش	۱	*Lactobacillus acidophilus*	۰
	۲	*Lactobacillus lactis*	۱۷
	۳	*Lactobacillus fermentum*	۰
	۴	*Lactobacillus casei*	۱۲
	۵	*Lactobacillus paracasei*	۵۰
	۶	*Lactobacillus plantarum*	۰
	۷	*Lactobacillus salivarius*	کمتر از ۱
	۸	*Lactobacillus reuteri*	کمتر از ۱
	۹	*Lactobacillus delbrueckii*	۰
	۱۰	*Lactobacillus bulgaricus*	۰
	۱۱	*Bifidobacterium lactis*	۳۲

بحث

در طی مطالعات متعددی مشخص شده است که سطح بالای سرمی کلسترول می‌تواند باعث افزایش احتمال بیماری کرونر قلبی گردد (۳). تاکنون روش‌های مختلفی از جمله مصرف داروهای شیمیایی برای کاهش سطح سرمی کلسترول در افراد مورد استفاده قرار گرفته است. با توجه به مصرف روزافزون این قبیل داروها و عوارض جانبی آن‌ها مسیر تحقیقات به سمت یافتن

www.SID.ir

Archive of SID

جایگزین بهتری که کمترین خطر را برای انسان داشته باشد معطوف شده است. مطالعه‌های صورت گرفته مشخص نموده‌اند که پروبیوتیک ها قادرند سطح سرمی کلسترول را به میزان قابل توجهی در افراد کاهش دهند (۷)، از این رو این ترکیبات می‌توانند نقش موثری را در کاهش این دسته از بیماری‌ها که امروزه پس از سرطان دومین عامل مرگ و میر انسان در جوامع پیشرفته محسوب می‌شود داشته باشد. از آنجایی که مصرف پروبیوتیک‌ها فاقد اثرات جانبی می‌باشد، همین امر باعث شده است که این گونه تحقیقات در حال حاضر مورد توجه فراوانی قرار گیرند (۱۶).

مطالعه حاضر به عنوان یک تحقیق اولیه با هدف بررسی توانایی *لاکتوباسیل‌های* مدفوع گاو و گاومیش و بررسی نحوه عملکرد آن‌ها در جذب و حذف کلسترول در محیط کشت آزمایشگاهی صورت گرفته است. بدیهی است نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند مقدمه و راهگشایی برای مطالعات بعدی به منظور بررسی تولید فراورده‌های دامی سالم با محتوای کلسترول پایین و یا تولید فراورده‌های دارویی با ویژگی پروبیوتیکی مورد توجه باشد.

با توجه به نگرانی‌های موجود در مورد افزایش کلسترول خون، استفاده از مواد غذایی فرآوری شده با پروبیوتیک ها به عنوان یک راهکار برای کاهش سطح کلسترول سرم پیشنهاد شده است (۱۶). بیشتر محصولات تخمیری که در حال حاضر استفاده می‌شوند شامل باکتری‌هایی مثل *بیفیدوباکتر* و سویه‌های مختلفی از *لاکتوباسیلوس* هستند (۳۱).

بررسی‌های انجام شده درشرایط آزمایشگاهی نقش مؤثر کشت *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در جذب کلسترول را نشان داده است. این عمل در حالت طبیعی ممکن است اثرات کاهش دهنده کلسترول رادر پی داشته باشد (۱۳ و ۱۵). هانگ و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که از مجموع ۲۱ گونه *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم* جدا شده از مدفوع انسان، ۶ گونه از آن‌ها قادر به حذف کلسترول از محیط کشت در شرایط آزمایشگاهی می‌باشند (۱۸).

مطالعات ال-گاواد اثرات مصرف ماست تولید شده از شیر گاومیش غنی شده با *بیفیدوباکتریوم لانگوم* بر روی ۴۸ رت با کلسترول بالا در سرم خون به مدت ۳۵ روز را بررسی کرده و نتایج مطالعه نشان داد که ماست تخمیر شده حاصل از شیر گاومیش به طور معنی داری کلستروم تام را ۵۰/۳٪، لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین را ۵۶/۳٪ و تری گلیسرید را ۵۱/۲٪ در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد (۱۰). در مطالعه دیگری که در انسان انجام شد، مشاهده شد که در بیماران با کلسترول خون بالا و تغذیه شده با ماست حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدو باکتریوم لاکتیس* در مقایسه با گروهی که از ماست معمولی استفاده می‌کنند اثرات کاهش دهندگی در کلسترول خون دیده می‌شود (۴).

با توجه به اهمیت موضوع، مطالعات بسیاری به منظور شناخت رابطه مصرف شیر تخمیر شده و غلظت کلسترول سرم انجام شده، و نتایج بدست آمده متفاوت بوده است. نتایج این مطالعات، از ایجاد کاهش معنی دار در سطح کلسترول سرم (۲ و ۳)، تا اثر خنثی (۸) و یا حتی افزایش سطح کلسترول سرم (۲۴) متغیر بوده است. علت این نتایج متناقض را می‌توان در نحوه طراحی مطالعات، تفاوت در مقدار دریافت شیر تخمیر شده و مهم‌تر از همه، تفاوت در گونه (۳۲) و سویه باکتری اسید لاکتیک مورد استفاده (۱۹) جستجو کرد. اثرات هیپولیپیدمیک گونه‌های متعدد پروبیوتیکی در بسیاری از مطالعات حیوانی نیز تأیید شده است. استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* در تغذیه همستر

www.SID.ir

Archive of SID

تغییرات معنی داری در سطح کلسترول، تری گلیسرید و لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین را نشان داد (۶). هانگ و همکاران (۲۰۱۳) اثرات کاهندگی کلسترول سرمی گونه‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را در رت های تغذیه شده با چربی بالا نشان دادند (۲۰). استفاده از پروبیوتیک‌ها در دام‌ها نیز به منظور افزایش تولید، بهبود عملکرد و وضعیت سلامت حیوان و تولید فراورده‌های دامی سالم مورد استفاده انسان، در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات انجام شده بر روی جوجه‌های گوشتی توانایی پروبیوتیک ها در کاهش غلظت کلسترول خون را اثبات نموده‌اند (۲۲). همچنین پاندا و همکاران (۲۰۰۳) دریافتند که پروبیوتیک ها باعث کاهش کلسترول سرم و زرده می‌شوند و در افزایش تولید تخم مرغ نیز نقش دارند (۲۹). با این حال بررسی‌های صورت گرفته در گوساله‌های شیر خوار نشان داد که استفاده از مخمر *ساکارومایسس سرویسیه* با نام تجاری Probio-Sacc تاثیری بر غلظت کلسترول و تری گلیسیریدهای خون ندارد (۱).

مکانیسم‌های متعددی برای اثر کاهندگی پروبیوتیک ها پیشنهاد شده است. اثرات کاهش کلسترول سرمی پروبیوتیک‌ها بیشتر از طریق اثرات آن‌ها بر مسیر انتقال دهنده‌های کلسترول و لیپوپروتئینی است (۲۷). این مکانیسم شامل جذب و برداشت کلسترول در روده برای بقای پروبیوتیک ها، اتصال کلسترول به دیواره سلولی پروبیوتیک ها و حفظ یکپارچگی غشای سلولی، تبدیل کلسترول به کوپروستانول و دفع از طریق مدفوع، تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر از جمله پروپیونات توسط باکتری‌های پروبیوتیکی که تولید کبدی کلسترول یا برگشت کلسترول از پلاسما به کبد را مهار می‌کنند و نیز دکونژوگه شدن اسیدهای صفراوی از طریق اثر بر آنزیم هیدرولیز کننده نمک‌های صفراوی می‌باشد (۲۲). از آنجایی که کلسترول ماده اولیه جهت سنتز اسیدهای صفراوی است، استفاده از کلسترول برای سنتز اسیدهای صفراوی جدید، غلظت کلسترول در گردش خون را کاهش می‌دهد (۵).

در این مطالعه توانایی باکتری‌های جداسازی شده از نمونه‌های مدفوع گاو و گاومیش برای کاهش میزان کلسترول در محیط کشت MRS براث سنجیده شد. بر اساس این یافته‌ها هیچ کدام از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس* جدا شده از نمونه‌های مدفوع گاو نتوانستند تغییری در میزان کلسترول موجود در محیط کشت ایجاد نمایند. در حالیکه برخی از باکترهای جدا شده از نمونه مدفوع گاومیش توانستند مقدار کلسترول موجود در محیط کشت را پس از ۲۴ ساعت کاهش دهند. این کاهش بسته به گونه باکتری متفاوت بوده و بیشترین آن به ترتیب مربوط به *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* (٪۵۰ کاهش)، *لاکتوباسیلوس لاکتیس* (٪۱۷ کاهش) و کمترین آن مربوط به *لاکتوباسیلوس کازئی* (٪۱۲ کاهش) می‌باشد. این در حالی است که قبلاً نیز *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* جدا شده از فراورده‌های لبنی به عنوان فعال‌ترین پروبیوتیک ها در جذب و حذف کلسترول در محیط آزمایشگاهی گزارش شده‌اند (۱۱ و ۲۲، ۷).

آوهند و همکاران (۲۰۰۲)، کاهش ۹۵/۶۵٪ کلسترول توسط سویه‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* جدا شده از شیر خام گاو را در شرایط آزمایشگاهی گزارش نمودند (۲۸). با این حال هیچ سویه‌ای از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* از مدفوع گاو جدا نشد و سویه‌های جدا شده از مدفوع گاومیش نیز اثری بر کاهش غلظت کلسترول در محیط کشت آزمایشگاهی نداشتند. در مطالعه حاضر تأثیر *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در کاهش کلسترول ۳۲٪ بود. *بیفیدوباکترها* جهت رشد بهینه، نیاز به محیطی بی

www.SID.ir

Archive of SID

هوازی، pH پایین و فاکتورهای بیفیدوژنیک (تقویت کننده رشد) دارند، درحالی که گزارش شده است که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت به *بیفیدوباکترها* به شرایط اسیدی مقاوم‌تر است و بیشتر زنده می‌ماند (۲۳). بنابراین یکی از علل فراوانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* های جدا شده از مدفوع گاو و گاومیش (به ترتیب ۳۰ و ۲۵٪) نسبت به *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* جدا شده از جمعیت گاومیش (۲۸٪) می‌تواند به دلیل زیادتر بودن تعداد باکتری‌های زنده *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در روده باشد. توجیه مشابهی را می‌توان برای *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* جدا شده از مدفوع گاو با فراوانی ۳۷/۵٪ بیان نمود. عمدتاً فلور میکروبی روده تحت تأثیر رژیم غذایی، سن و اثرات آنتاگونیسمی یا سینرژیسمی باکتری‌ها در محیط روده می‌باشد.

مطالعات بالینی نشان می‌دهند که باکتری‌های *لاکتوباسیلی* که در شرایط آزمایشگاهی توانایی کاهش کلسترول اضافه شده به محیط را دارند احتمالاً در شرایط درون تنی نیز قادر به کاهش کلسترول سرمی می‌باشند (۲۸). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که توانایی کاهش کلسترول در سویه‌های مختلف حتی یک گونه *لاکتوباسیل* (*لاکتوباسیلوس روتری*) در مدفوع گاو و گاومیش کاملاً متغیر می‌باشد که این موضوع کاملاً با نتایج مطالعات قبلی همخوانی دارد (۲۸). اوهند و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که توانایی پروبیوتیک ها در کاهش کلسترول از گونه‌ای به گونه دیگر می‌تواند متفاوت باشد (۲۸).

در مطالعه حاضر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* های جدا شده از گاو و گاومیش هیچ اثری در میزان کلسترول محیط کشت آزمایشگاهی نداشتند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می‌تواند اسیدهای گلیکوچولیک (Glycocholic Acid) و تائوروکولیک (Taurocholic Acid) را تحت شرایط بی هوازی دکونژوگه کند (۱۴). دکونژوگه شدن اسیدهای صفراوی در روده کوچک ممکن است در کنترل غلظت کلسترول سرم مهم باشد، زیرا اسیدهای صفراوی دکونژوگه شده عملکردی بخوبی اسیدهای صفراوی کونژوگه در محلول کردن و جذب چربی ندارند، به این ترتیب مانع جذب کلسترول همراه چربی می‌شوند، و خود آن‌ها نیز دوباره جذب نمی‌شوند. همچنین اظهار شده که اسیدهای صفراوی آزاد به باکتری‌ها و فیبر می‌چسبند. بنابراین دفع اسیدهای صفرا افزایش می‌یابد (۲۱). با توجه به مطالب ذکر شده عدم هماهنگی و مطابقت نتایج در شرایط آزمایشگاهی و استفاده از حیوان می‌تواند مربوط به شرایط خاص دستگاه گوارش باشد. در عین حال در مطالعات اولیه برای ارزیابی میزان قدرت کاهش کلسترول توسط *لاکتوباسیل* ها از ترکیبات صفراوی استفاده شده است. نتایج حاصل از مطالعه حاضر با نتایج گیلیاند و واکر (۱۹۹۰) که نشان دادند بدون وجود صفرا در محیط آزمایش هیچ یک از سویه‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* قادر به کاهش کلسترول در محیط خارج سلولی نبودند، مطابقت دارد اما این محققین اثبات نمودند که در حضور صفرا برخی سویه‌ها به طور قابل توجهی می‌توانند کلسترول را در محیط لوله آزمایش کاهش دهند (۱۴). در بسیاری از مطالعات بعدی نیز استفاده از اکسگال (Oxgall) که ترکیبی از صفرای گاو می‌باشد، یا اسیدهای صفراوی مختلف به این منظور مطالعه شدند. این امر اگر چه به نظر می‌رسد که برای مشابه سازی شرایط آزمایش با محیط داخل بدن صورت گرفته باشد، در برخی از

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعات ثابت شده که رسوب همزمان اسیدهای صفراوی با کلسترول بر سطح باکتری بر میزان کاهش کلسترول در محیط اثر گذار است و به این ترتیب نقشی جدا از قابلیت باکتری در تولید آنزیم هیدرولیز کننده صفرا داشته باشد. با این حال مرور منابع نشان می‌دهد که وجود صفرا در محیط آزمایش تعیین کننده نمی‌باشد. برای مثال در مطالعه لیونگ و شاه مشاهده شد که کشت در محیط MRS می‌تواند در کاهش کلسترول محیط مؤثر باشد و افزودن اسیدهایی صفراوی به این محیط در کاهش غلظت کلسترول در محیط موثرتر می‌باشد (۲۲).

در مطالعه حاضر از آنجایی که بررسی فعالیت *لاکتوباسیلوس* ها در محیط آزمایشگاهی برای کاهش کلسترول آن مورد نظر بود، از صفرا یا اسیدهای صفراوی در محیط کشت استفاده نشد. از این رو نتایج به دست آمده در این مطالعه تنها با نتایج مطالعات مشابهی که از صفرا در محیط کشت استفاده نکرده‌اند قابل مقایسه است. نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر با نتایج برخی مطالعات از جمله آزمایشات گیلی‌اند و همکاران (۱۹۸۵) مطابقت دارد (۱۵). این محققین در مطالعه خود اشاره کردند که بدون حضور اسیدهای صفراوی هیچ گونه کاهشی در کلسترول محیط ایجاد نمی‌شود. از جمله سایر یافته‌های مطالعه حاضر می‌توان به ارتباط بین جذب کلسترول و رشد باکتری‌ها اشاره کرد. با توجه به اینکه در محیط کشت، *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* مدفوع گاومیش از رشد بیشتری برخوردار بود لذا متعاقب آن به طور موثری سبب کاهش میزان کلسترول گردید. ارتباط مشابهی در مطالعه امامی و همکاران (۲۰۰۸)، با استفاده از جدایه های *لاکتوباسیلوس کازئی* گزارش شده است (۱۱). بر این اساس، مطالعه پیرامون سویه‌های مختلف به منظور یافتن جدایه‌هایی با توانایی کاهش کلسترول بالا در شرایط آزمایشگاهی و درون تنی الزامی است. منطقی است اگر این سویه‌ها از میکروفلور دستگاه گوارش نشخوارکننده در شرایط پرورشی ایران جداسازی شده باشند، می‌توانند ایده‌ای مناسبی در تولید محصولات پروبیوتیک با استفاده از سویه‌های بومی ایران باشد، به طوریکه با فلور طبیعی دستگاه گوارش دام سازگاری بهتری داشته باشد.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که *لاکتوباسیلوس‌های* مختلفی در مدفوع گاو و گاومیش وجود دارند که فراوانی آن‌ها متفاوت می‌باشد. همچنین می‌توان گفت که بسته به سویه، *لاکتوباسیلوس‌ها*، می‌توانند سبب کاهش مقدار کلسترول در شرایط آزمایشگاهی گردند. با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گیری نمود که پروبیوتیک‌ها از کلسترول در طی رشد خود استفاده کرده و احتمالاً مقداری از آن را جذب ساختار خود و مقداری را نیز به ترکیبات دیگر تبدیل کرده‌اند، که البته برای تأیید این مرحله و نوع محصول متابولیتی می‌باید آزمایش‌های دقیق‌تری صورت گیرد. به طور کلی با توجه به نتایج مطالعه‌های گذشته و پژوهش حاضر دو احتمال قوی در حذف کلسترول از محیط برای *لاکتوباسیل* ها از احتمال بیشتری برخوردار است؛ جذب و تبدیل کلسترول به متابولیت های دیگر در طی رشد باکتری و الحاق کلسترول به میزان بسیار کم به غشاء پلاسمایی باکتری که این حالت نیز با توجه به حذف دایمی باکتری‌ها و به میزان زیاد از سیستم گوارشی می‌تواند به عنوان یکی از موارد مؤثر در کاهش میزان لیپید از سیستم گوارشی مطرح باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

تشکر

بدین وسیله نویسندگان از دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، جهت تأمین منابع مالی این تحقیق، کمال تشکر را دارند.

منابع

۱- نوروزی، ا. (۱۳۹۰). تأثیر سطوح مختلف پروبیوتیک و پری بیوتیک مخمری و اثرات سیمبیوتیکی آن در تغذیه گوساله‌های ماده شیرخوار هلشتاین. *فصل نامه تخصصی گاوهای شیری*. سال سوم، شماره: ۱، صفحات: ۱۵-۸

2. Agerholm-Larsen, L., Raben, A., Haulrik, N., Hansen, A., Manders, M., Astrup, A. (2000). Effect of 8 week intake of probiotic milk products on risk factors for cardiovascular diseases. *European Journal of Clinical Nutrition*. **54**: 288-297.
3. Anderson, J. W., Gilliland, S. E. (1999). Effect of fermented milk (yogurt) containing Lactobacillus acidophilus L1 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. *Journal of the American College of Nutrition.* **18**: 43-50.
4. Ataie-Jafari, A., Larijani, B., Alavi Majd, H., Tahbaz, F. (2009). Cholesterol-lowering effect of probiotic yogurt in comparison with ordinary yogurt in mildly to moderately hypercholesterolemic subjects. *Annals of Nutrition and Metabolism.* **54**: 22-27.
5. Begley, M., Hill, C., Gahan, C. G. (2006). Bile salt hydrolase activity in probiotics. *Applied and Environmental Microbiology*. **72**: 1729-1738.
6. Bhathena, J., Martoni, C., Kulamarva, A., Urbanska, A. M., Malhotra, M., Prakash, S. (2009). Orally delivered microencapsulated live probiotic formulation lowers serum lipids in hypercholesterolemic hamsters. *Journal of Medicinal Food.* **12**: 310-319.
7. Corzo, G., and Gilliland, S. (1999). Measurement of bile salt hydrolase activity from Lactobacillus acidophilus based on disappearance of conjugated bile salts. *Journal of Dairy Science*. **82**: 466-471.
8. De Roos, N., Schouten, G., Katan, M. (1999). Yoghurt enriched with Lactobacillus acidophilus does not lower blood lipids in healthy men and women with normal to borderline high serum cholesterol levels. *European Journal of Clinical Nutrition.* **53**: 277-280.
9. Dimitonova, S. P., Bakalov, B. V., Aleksandrova-Georgieva, R. N., Danova, S. T. (2008). Phenotypic and molecular identification of lactobacilli isolated from vaginal secretions. *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection*. **41**: 469-477.
10. El-Gawad, I.A.A., El-Sayed, E., Hafez, S., El-Zeini, H., Saleh, F. (2005). The hypocholesterolaemic effect of milk yoghurt and soy-yoghurt containing bifidobacteria in rats fed on a cholesterol-enriched diet. *International Dairy Journal.* **15**: 37-44.
11. Emami, A., Noeiaghdam, R. (2008). Cholesterol Assimilation with Isolated lactobacilli Strains of Fars' Local Dairy Products. *Armaghane Danesh*. **13**: 45-56.
12. Galdeano, C. M., de LeBlanc, A. d. M., Vinderola, G., Bonet, M. B., Perdigon, G. (2007). Proposed model: mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria. *Clinical and Vaccine Immunology*. **14**: 485-492.
13. Gilliland, S., Speck, M. (1977). Enumeration and Identity of Lactobacilli in Dietary Product. *Journal of Food Protection.* **40**: 760-762.
14. Gilliland, S., Walker, D. (1990). Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. *Journal of Dairy Science*. **73**: 905-911.
15. Gilliland, S., Nelson, C., Maxwell, C. (1985). Assimilation of cholesterol by Lactobacillus acidophilus. *Applied and Environmental Microbiology.* **49**: 377-381.
16. Greenwald, C. (1991). Overview of fat and cholesterol reduction technologies. In: Haberstroh, C., Morris, C.E. (Eds) *Fat and Cholesterol Reduced Foods.* 21-34.
17. Hill, M. (1993). Probiotics: the scientific basis. *Gut*. **34**: 863-864.
18. Hong, Z.J.Y. (2005). Progress in the effect of probiotics on cholesterol and its mechanism. *Acta Microbiologica Sinica.* **2**: 34.
19. Hosono, A. (2000). Effect of administration of *Lactobacillus gasseri* on serum lipids and fecal steroids in hypercholesterolemic

www.SID.ir

Archive of SID

rats. *Journal of Dairy Science*. **83**: 1705-1711.

20. Huang, Y., Wang, X., Wang, J., Wu, F., Sui, Y., Yang, L., Wang, Z. (2013). *Lactobacillus plantarum* strains as potential probiotic cultures with cholesterol-lowering activity. *Journal of Dairy Science*. **96**: 2746-2753.
21. Khani, S., M Hosseini, H., Taheri, M., R Nourani, M., A Imani Fooladi, A. (2012). Probiotics as an alternative strategy for prevention and treatment of human diseases: a review. *Inflammation Allergy-Drug Targets*. **11**: 79-89.
22. Liong, M., Shah, N. (2005). Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of lactobacilli strains. *Journal of Dairy Science*. **88**: 55-66.
23. Martin, S. A., Streeter, M. (1995). Effect of malate on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. *Journal of Animal Science*. **73**: 2141-2145.
24. McNamara, D. J., Lowell, A. E., Sabb, J. E. (1989). Effect of yogurt intake on plasma lipid and lipoprotein levels in normolipidemic males. *Atherosclerosis*. **79**: 167-171.
25. Mirlohi, M., Soleimanian-Zad, S., Sheikh-Zeiondin, M., Fazeli, H. (2008). Enumeration of lactobacilli in the fecal flora of infant using two different modified de-Man rogosa sharpe media under aerobic and anaerobic incubation. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. **11**: 876-881.
26. Nanda, A. S., nakao, T. (2003). Role of buffalo in the socioeconomic development of rural Asia: Current status and future prospectus. *Animal Science Journal*. **74**: 443-455.
27. Ooi, L.-G., Liong, M.-T. (2010). Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: a review of in vivo and in vitro findings. *International Journal of Molecular Sciences*. **11**: 2499-2522.
28. Ouwehand, A. C., Salminen, S., Isolauri, E. (2002). Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek*. **82**: 279-289.
29. Panda, A., Reddy, M., Rao, S. R., Praharaj, N. (2003). Production performance, serum/yolk cholesterol and immune competence of white leghorn layers as influenced by dietary supplementation with probiotic. *Tropical Animal Health and Production*. **35**: 85-94.
30. Pereira D. I., Gibson G. R. (2002). Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut. *Applied Environmental Microbiology*. **68**: 4689-93.
31. Sanders, M. E. (2000). Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *The Journal of Nutrition*. **130**: 384S-390S.
32. Taranto, M., Medici, M., Perdigon, G., Holgado, A. R., Valdez, G. (1998). Evidence for hypocholesterolemic effect of Lactobacillus reuteri in hypercholesterolemic mice. Journal of Dairy Science. **81**: 2336-2340.
33. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results. I. Reduction in incidence of coronary heart disease. (1984). *Jama Journal*. **251**: 351-364.
34. Yeo, S. K., Liong, M. T. (2010). Effect of prebiotics on viability and growth characteristics of probiotics in soymilk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **90**: 267-275.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 14, Issue 2, 2018

In vitro evaluation of cholesterol lowering effects of isolated *Lactobacillus* probiotics from cattle and buffalo feces

Mohammadi, H.[1], Anassori, E.[2*], Tukmechi, A.[3]

1. Graduate Student of Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
2. Assistant Professor, Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
3. Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 21 March2017 Accepted: 17 July2018

Abstract

In this study, the effect of different species of isolated Lactobacillus from cattle and buffalo feces from some Urmia suburban farm were investigated on cholesterol reduction efficacy in the test tube. Bacteriological studies on cow fecal sample showed that 5 different species of Lactobacillus were able to grow on MRS agar medium. The most frequently isolated species was Lactobacillus rhamnosus (37/5%) and Lactobacillus fermentum and lactobacillus delbrueckii were the less abundant organisms (5%). Bacteriological examination on buffalo fecal sample revealed, ten different species of Lactobacillus and one species of Bifidobacterium were isolated. The higher and lower frequency microrganisms were Lactobacillus acidophilus (25%) and Lactobacillus bulgaricus (2/28%) respectivelly. In this study, the ability of bacteria isolated from fecal samples to reduce cholesterol level in MRS broth medium was considered. It's should be concluded that non of isolated Lactobacilli from cow fecal samples could modify cholesterol level in test tube, while some of bacteria isolated from buffalo feces could reduce cholesterol level in medium after 24 hours. Depended on bacteria species, this reduction is variable, and the most reduction related to Lactobacillus paracasei (50%), and the less reduction related to Lactobacillus casei (12%).

Keyword: Lactobacillus, Feces, cholesterol, Buffalo, Cattle, In Vitro

**Corresponding author: Anassori, E.*
Address: Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
E-mail address: e.anassori@urmia.ac.ir

www.SID.ir