

ارزیابی اثر مخمرهای جدا شده از غذاهای تخمیری و تأثیر آن‌ها بر روی باکتری‌های پاتوژن

رویا سفرکار*^۱، نور امیر مظفری^۲، آرش چایچی نصرتی^۳

*^۱ و ^۳ - دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

^۲ - دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۱۸۳-۱۴۱۵۵

h.safarkar@yahoo.com

چکیده

مقاومت دارویی به علت افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌ها و مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک یک مشکل جهانی می‌باشد. به همین دلیل امروز استفاده از مواد شیمیایی جایگزین و در طیف وسیع‌تر استفاده از خود میکروارگانیسم‌ها احساس می‌شود. در این پژوهش هدف، جداسازی قارچ‌ها از مواد غذایی تخمیری از قبیل انواع ترش‌بجات، انواع شورها و ماست و نیز کشت آن‌ها با باکتری‌های شاخص به منظور شناسایی هرگونه تولید متابولیت‌های ثانویه از ایزوله‌ها به عنوان پروبیوتیک‌های احتمالی می‌باشد. در گذشته تحقیقات زیادی روی باکتری‌ها صورت گرفته است اما در این تحقیق قارچ‌ها هدف بررسی بوده‌اند. حدود ۱۵۰ نمونه از محصولات تخمیری که به صورت سنتی تهیه شده بودند جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها با روش آزمایشگاهی رایج مواد غذایی و قارچ‌شناسی مرکز CBS برای مخمرها غنی شده و کشت داده شدند. پس از خالص‌سازی ۳۰۰ مخمر ابتدا با کشت کیفی CAMP در تقابل با *E. coli*، *S. aureus*، *C. freundii* و *B. subtilis* که از سازمان پژوهش‌های ایران تهیه شده بودند گذاشته شدند، تا اثر مهار اولیه مشخص گردد. سپس تست کمی MIC و MFC برای تعیین سنجش اثر مهارکنندگی و کشندگی مخمرها روی باکتری‌های هدف مورد ارزیابی قرار گرفت. استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و مورفولوژی ایزوله های قارچی موثر *C. kefir*، *S. cerevisiae*، *G. candidum* و *Troloopsis spp.* که اثر مهار روی باکتری‌های *E. coli* و *B. subtilis* داشتند شناسایی و گزارش گردید.

کلمات کلیدی: مخمرها، باکتری‌های شاخص، MFC، MIC.

مقدمه

غذاهای تخمیری با تولید انواع فرآورده‌های آلی نقش موثری را در جلوگیری از عفونت های ناشی باکتری‌های مضر در بدن ایجاد می‌کنند و امروزه تحت عنوان پروبیوتیک از آن‌ها نام برده می‌شود. ثابت شده است که قبل و بعد از مصرف پروبیوتیک‌ها میزان فلور میکروبی معده از نظر تعداد *Bifidobacteria* تغییر محسوسی می‌کند که این تغییر ناشی از مصرف روزانه غذاهای تخمیری است (۱). با توجه به اهمیت پروبیوتیک تلاش برای استفاده از این میکروارگانیسم به عنوان Functional Foods افزایش یافته است تا با بهره‌مندی آن در رژیم غذایی افراد، سبب پیشگیری از ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها و سرطان‌ها شوند (۱۳).

از قارچ‌ها گونه *Aspergillus* و مخمرها گونه *Saccharomyces* در غذاهای حیوانی در تولید محصولاتی مشابه آنچه *Lactobacillus* تولید می‌کنند استفاده شده است (۷). گونه *Aspergillus Rhizospous*, *A. tamarz*, *A. flavus niger* طی تحقیقاتی که روی *Penicillium oxalicum* دانه سویا انجام شده است اثر ضد باسیلوسی آن‌ها به اثبات رسیده و ثابت شده که اثر مفیدی را روی محصولاتی که آلوده به انتروباکتریاسه هستند دارند (۱۷).

از مخمرها گونه‌های *S. Candida utilis* و *Kluyveromyces fragillus* و *cerevisia* جدا شده از نان ترکیبات مفیدی از سوپر ناتانت آن‌ها اثر ضد باکتریایی دارد. در تهیه گورگون زولا و استیلتون *Penicillium glucom* جدا شده است که قارچ اصلی در تخمیر آن‌ها است و اسید بوتریک تولید شده توسط آن اثر ضد باکتریایی دارد (۱۹).

مخمر *Saccharomyces boulardii*

سلول‌های چسبنده به *Clostridium difficile* را مهار کرده و از اسهال مرتبط با کلستریدیوم جلوگیری می‌کند (۱۶).

با توجه به افزایش مقاومت پی‌درپی اکثر میکروارگانیسم‌های عفونت‌زا به آنتی‌بیوتیک‌ها در سویه‌های مقاوم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جدید نیاز به تغییر دادن آنتی‌بیوتیک‌های موجود به طوری که علیه سویه‌های مقاوم موثر باشد و یا استفاده از مواد شیمیایی جایگزین و در طیف وسیع‌تر استفاده از خود میکروارگانیسم‌ها احساس می‌شود (۱۹و۵). به همین دلیل این تحقیق انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

برای جداسازی مواد تخمیری، نمونه‌ها به صورت تصادفی از شهرستان‌های استان گیلان به کمک سرنگ ۵CC استریل جمع‌آوری شدند. این فرآورده‌های سنتی شامل ۵۰ نمونه ترشیجات، ۵۰ نمونه محصولات لبنی، ۵۰ نمونه شور بودند. نمونه مواد تخمیری با حفظ زنجیره سرد به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه نمونه‌ها به مدت پانزده دقیقه در دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ و سپس به کمک پپیت پاستور استریل ۲ml از ته نشین نمونه برداشت شد؛ سپس در رقت‌های $\frac{1}{5}$ و $\frac{1}{10}$ با کمک محلول ۰/۱ درصد peptone water آماده‌سازی شده و جهت جلوگیری و کاهش رشد باکتری‌ها ۵۰۰ ppm (۱۵-۱۰ قطره) کلرامفنیکل در نمونه با حجم ۱۰ml استفاده شد (۳). بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای (۱۵-۲۵°C) ۱/۱ ml از رقت ۱/۱۰ جهت کشت سفره‌ای در پلیت حاوی Malt Extract Agar (MEA) و همچنین از رقت ۱/۵

ایزوله‌های باکتریایی کشت داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای 35°C مهار رشد باکتری‌ها بررسی گردید. با مشاهده روند مهار رشد یا کاهش رشد باکتری توسط مخمر آزمون Disc Diffusion Assay و MIC در لوله انجام شد.

آزمون Disc Diffusion Assay

از عصاره اتوکلاو شده ۷۰ نمونه پس از هم زدن برداشت مستقیم به اندازه ۲ ml حجم نهایی و با رقت‌های $\frac{1}{2}$ ، $\frac{1}{5}$ ، $\frac{1}{10}$ ، $\frac{1}{25}$ و $\frac{1}{100}$ در میکروتیوپ آماده گردید. پس از کشت باکتری در محیط آگار مغذی و انکوباسیون در 37°C هوازی هر یک ساعت یکبار لوله‌ها بررسی و در صورت تطابق با لوله ۰/۵ استاندارد مک فارلند پس از هم زدن و تهیه سوسپانسیون یکنواخت با استفاده از سوآپ استریل یکبار مصرف جهت تهیه پلیت‌های کشت سفره‌ای از باکتری‌ها به کار گرفته شدند (۶).

دیسک‌های تهیه شده را با حجم ۱۰ میکرولیتر به ۵ رقت آغشته و در اطراف پلیت حاوی محیط مولر هینتون آگار با فاصله ۱/۵ قرار داده شد، یک دیسک تتراسایکلین برای *S. aureus*، *B. subtilis* و *C. freundii* و یک دیسک سفتریاکسون برای *E. coli* به عنوان کنترل مثبت و یک دیسک پلاسبو را در وسط پلیت به عنوان کنترل منفی قرار گرفت.

آزمون MIC در لوله

عصاره فیلتر شده ۳۰ مخمر پس از هم زدن با برداشت مستقیم تا اندازه ۱ML حجم نهایی و با رقت‌های $\frac{1}{1}$ ، $\frac{1}{5}$ ، $\frac{1}{10}$ ، $\frac{1}{25}$ و $\frac{1}{50}$ در میکروتیوپ

جهت کشت خطی در پلیت حاوی محیط (YEA) Yeast Extract Agar استفاده شد. پلیت‌های کشت شده در دمای آزمایشگاه $25-15^{\circ}\text{C}$ با رعایت دوره نور - تاریکی انکوباسیون گردید.

جداسازی اولیه نمونه‌های تک سلولی باکتریایی، مخمری، قارچی رنگ‌آمیزی متیلن بلو و لاکتوفنل کاتن بلو برای تهیه لام مرطوب به روش مستقیم (Teasemount) و همچنین در صورت لزوم تهیه اسمیر و رنگ‌آمیزی به روش گرم انجام گردید (۴). برای خالص‌سازی مخمرها، در پلیت‌های دارای Sabarud Dextrose Agar به شکل خطی کشت شده و در دمای آزمایشگاه ۳-۵ روز انکوبه گردید ($25^{\circ}\text{C} \pm 2$) (۳). تمام نمونه‌های پلیت‌های کشت خطی ایزوله‌های خالص‌سازی شده ساپرو آگار دارای دکستروز و همچنین لوله‌های کشت انبوه ایزوله‌ها بر محیط آگار تریپتوکاز سویا در یخچال با دمای $5-10^{\circ}\text{C}$ نگهداری شد (۴).

بررسی ابتدایی مهار رشد باکتری‌ها توسط مخمرها

سویه‌های باکتری مورد آزمایش در این پژوهش *Staphylococcus aureus* PTCC 1113 و *Escherchia coli* PTCC 1533؛ *Citrobacter freundii* PTCC 1600 و *Bacillus subtilis* PTCC 1023 بود که از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های عفونی و صنعتی ایران خریداری گردید.

برای بررسی ابتدایی کیفی ناسازگاری میان رشد مخمرهای فراهم آمده هر یک در محیط MEA درون پلیت به روش CAMP در تقابل با کشت یک خطی

درجه به مدت ۳ روز انکوبه گردیدند. نتایج بر اساس رشد و کدورت محیط قرائت شدند (۱۴ و ۱۵).

تست اوره آز

ایزوله‌های هر کدام در ۲ تکرار از لوله Urea Broth کشت داده شدند. یکی در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد و هم نیم ساعت یکبار مورد بررسی قرار گرفت. لوله دیگر در ۲۵ درجه انکوبه شدند و هر شش ساعت یکبار مورد بررسی قرار گرفت و نتایج بر اساس تغییر رنگ به زرد قرائت گردید (۸ و ۱۳). برای بررسی جذب و تخمیر قندها توسط ایزوله‌ها، قندهای گلوکز، مالتوز، سوکروز، گالاکتوز، مانیتول، تری‌هالوز، لاکتوز به محیط پایه Phenol Red Broth اضافه گردیدند. ایزوله مورد نظر در آن کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت تغییر رنگ از قرمز به زرد قرائت گردید (۳ و ۸).

بررسی کونیدی‌زایی

Mirror test برای شناسایی قارچ‌های تولیدکننده بالیتوسپور جهت بررسی کونیدی‌زایی بکار می‌رود. در یک پلیت حاوی محیط Corn Meal Agar ایزوله مورد نظر به صورت خطی کشت داده و یک پلیت حاوی همان محیط که فاقد ایزوله است روی آن قرار داده شده پس از ۷۲ ساعت که پلیت‌ها در دمای محیط انکوبه گردیدند و از نظر پرتاب کونیدی و هر گونه رشد کلنی‌ها در پلیتی که قبلاً کشت نشده بود مورد بررسی قرار گرفت (۱۵).

بررسی تغییر رنگ کلونی

ایزوله‌ها در دو تکرار پلیت حاوی Hi-Crom agar برای بررسی تغییر رنگ کشت داده شدند. یک

آماده گردیدند و به اندازه ۰/۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری مورد نظر به رقت‌های مورد نظر اضافه شدند. سریال لوله‌های تهیه شده تا ۲۴ ساعت در دمای محیط انکوبه شدند و سپس کشت آن‌ها در محیط نوتریت‌اگار با برداشت یک لوپ فول از آن به صورت کشت خطی انجام و پس از ۲۴h و ۴۸h هر بار کلیه کلونی‌های رشد یافته شمارش و نتایج یادداشت گردید (۱۳ و ۱۴). برای شناسایی ایزوله‌های مخمری جدا شده که اثر مهاری داشتند تست‌های بیوشیمیایی و مورفولوژی ظاهری و فیزیولوژی اجرا گردید.

بررسی همانندسازی و تولید مثل

برای بررسی همانندسازی و تولید مثل کشت ایزوله‌های برگزیده در مرحله قبل به روش دالمو در محیط Corn Meal Agar انجام شد. بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و روزهای ۷-۵، ۱۴-۱۲، ۲۱-۲۰ و همچنین ۲۶-۲۸ روز اندازه و آرایش سلول‌ها و جوانه‌زنی و وجود اندام‌های مثل‌جنسی و غیرجنسی مورد بررسی قرار گرفت (۲).

تست مقاومت به اسید استیک

ایزوله‌ها در محیط پایه Yeast Extract Broth به اضافه ۱٪ اسید استیک کشت داده شدند و در ۲۵ درجه به مدت ۶ روز انکوبه گردیدند. نتایج بر اساس رشد و کدورت محیط قرائت شدند (۴ و ۱۴).

تست اسموتولرانی

ایزوله‌ها در محیط پایه Yeast Extract Broth به اضافه ۶۰٪ دی‌گلوکز کشت داده شدند و در ۲۵

شد. رنگ کلونی در محیط کروم آگار سفید رنگ بود. با توجه به داده‌های بیوشیمیایی و مورفولوژی موجود، به عنوان *Candida kefyr* شناسایی شد (شکل ۴).

ایزوله شماره $\frac{91}{3}$ در محیط Corn Meal Agar

به روش Dalmu کشت داده شد. بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تا ۲۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی میکروسکوپی شکل و سایز مخمر به ترتیب فوزی فرم و $10-8 \mu$ طول و $3-4 \mu$ عرض و اندام تولید مثل آسکوسپور و آرتروسپور قابل مشاهده بود. با توجه به تست‌های بیوشیمیایی جذب قند و تخمیر قند گلوکز، سوکروز و فروکتوز و گالاکتوز مثبت و اوره آز، احیای نیتراژ منفی و مقاومت به اسید استیک، اسموتولرانسی مثبت گزارش شد. ایزوله در محیط Corn Meal Agar دارای کلونی سفید براق بود و در محیط Suabrod Glucos Agar دارای رشد بود. با توجه به داده‌های شیمیایی و مورفولوژی موجود به عنوان *Troulopsis spp.* شناخته شد (شکل ۲).

ایزوله شماره $\frac{95}{8}$ در محیط Corn Meal Agar

به روش Dalmu کشت داده شد. بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تا ۲۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی میکروسکوپی شکل و سایز مخمرها انگشتی و $20-15 \mu$ طول و $6-8 \mu$ عرض جوانه زنی فیالیدیک و هولوبلاستیک، اندام تولید مثل آسکوسپور و آرتروسپور قابل مشاهده بود. با توجه به تست‌های بیوشیمیایی تخمیر قند و جذب غذا گلوکز مثبت اوره آز و احیای نیتراژ منفی و مقاومت به اسید استیک اسموتولرانسی مثبت گزارش شد. رنگ کلونی در محیط کروم آگار سفید بود. با توجه به داده‌های

پلیت بعد از ۲۴ ساعت و پلیت دیگر بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون ۳۷ درجه بررسی و نتایج بر اساس تغییر رنگ قرائت گردیدند (۹ و ۱۰).

نتایج

ایزوله شماره $\frac{122}{1}$ قطر هاله عدم رشد ۱۲ mm و قطر هاله عدم رشد آنتی بیوتیک سفتریاکسون ۲۲ mm قرائت گردید، این ایزوله از ماست جدا شده بود.

ایزوله شماره $\frac{91}{2}$ قطر هاله عدم رشد ۱۰ mm و قطر هاله عدم رشد آنتی بیوتیک تتراسایکلین ۲۰ mm قرائت گردید، این ایزوله از ماست جدا شده بود.

ایزوله شماره $\frac{95}{8}$ قطر هاله عدم رشد ۱۰ mm و قطر هاله عدم رشد آنتی بیوتیک تتراسایکلین ۲۰ mm قرائت گردید، این ایزوله از ماست جدا شده بود.

ایزوله شماره $\frac{60}{1}$ قطر هاله عدم رشد ۱۰ mm و قطر هاله عدم رشد آنتی بیوتیک تتراسایکلین ۲۰ mm قرائت گردید، این ایزوله از سیر ترشی جدا شده بود (جداول ۱ و ۲).

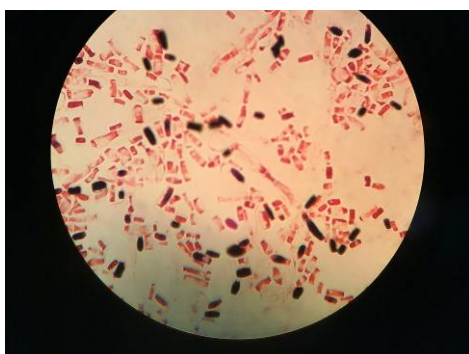
ایزوله شماره $\frac{122}{1}$ در محیط Corn Meal

Agar به روش Dalmu کشت داده شد. بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تا ۲۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی میکروسکوپی شکل و اندازه مخمر به ترتیب انگشتی $10-12 \mu$ طول و $5-6 \mu$ عرض و جوانه زنی فیالیدیک و استریگما و اندام تولید مثل آرتروسپور قابل مشاهده بود. با توجه به نتایج بیوشیمیایی تخمیر قند و جذب گلوکز، سوکروز، لاکتوز و گالاکتوز مثبت و اوره آز، احیای نیتراژ، تست Mirror منفی، اسموتولرانسی و مقاومت به اسید استیک مثبت گزارش

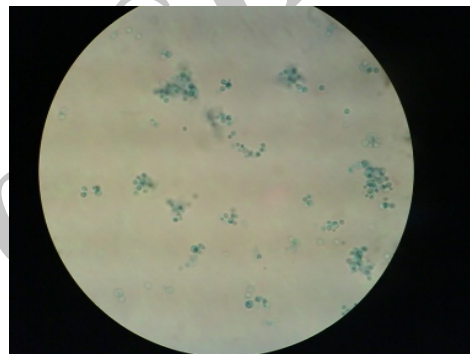
تست‌های بیوشیمیایی تخمیر قند و جذب غذا گلوکز مثبت اوره آز و احیای نیترات منفی و مقاومت به اسید استیک اسمو تولرانسی مثبت محیط‌های کروم آگار به رنگ سفید بوده است. رنگ کلونی در محیط کروم آگار سفید بود. با توجه به داده‌های بیوشیمیایی و مورفولوژی موجود به عنوان *Saccharomyces cerevisiae* شناسایی شد (شکل ۱) (جدول ۳).

بیوشیمیایی و مورفولوژی موجود به عنوان *Geotrichum candidum* شناسایی شد (شکل ۳).

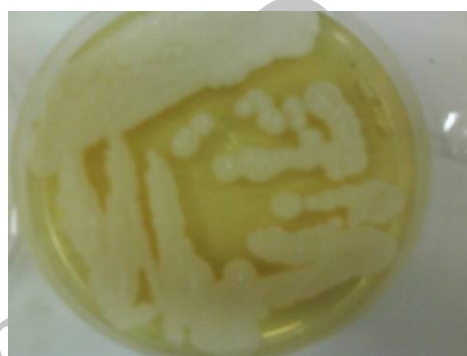
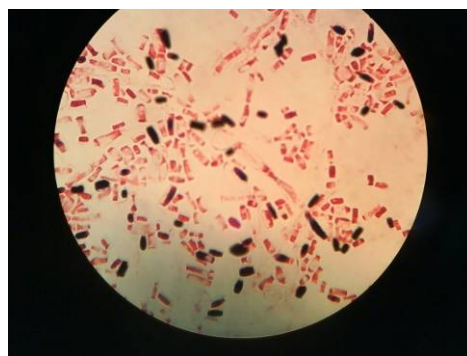
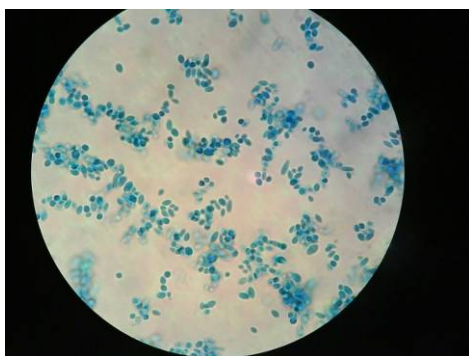
ایزوله شماره $\frac{60}{1}$ در محیط Corn Meal Agar به روش Dalmu کشت داده شد. بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تا ۲۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی میکروسکوپی شکل و سایز مخمرها گرد و $10-12 \mu$ طول و $2-3 \mu$ عرض و فاقد اندام تولید مثل بود و جوانه‌زنی دو قطبی قابل مشاهده بود. در بررسی



شکل ۲: ترولوپسیس جدا شده از ماست



شکل ۱: ساکارومایسیس سرویزیه جدا شده از سیر ترشی



شکل ۴: کاندیدا کفیر جدا شده از ماست

شکل ۳: ژئوتریکوم کاندیدوم جدا شده از ماست

جدول (۱): هاله عدم رشد و مخمرهای شناسایی شده

مخمر شناسایی	دیسک Ceftriaxon	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. freundii</i>	<i>B. subtilis</i>	دیسک Tetracycline	رقت	نام باکتری
								شماره ایزوله
<i>C. kefyr</i>	۲۲ mm	۱۲ mm	---	-----	-----	-----	$\frac{1}{5}$	$\frac{122}{1}$
<i>Troloopsis spp.</i>	---	---	---	---	۱۰ mm	۲۰ mm	$\frac{1}{10}$	$\frac{91}{2}$
<i>S. cerevisiae</i>	---	---	---	---	۱۰ mm	۲۰ mm	$\frac{1}{10}$	$\frac{95}{8}$
<i>G. candidum</i>	---	---	---	---	۱۰ mm	۲۰ mm	$\frac{1}{25}$	$\frac{60}{1}$

جدول ۲: قارچ‌های شناسایی شده از مواد تخمیری

ماده تخمیری	قارچ شناسایی شده	ماده تخمیری و سویه جدا شده شماره ایزوله
ماست	<i>Candida kefyri</i>	۱۲۲ ۱
ماست	<i>Troloopsis spp.</i>	۹۱ ۲
ماست	<i>Getorichum candidum</i>	۹۵ ۸
سیر ترشی	<i>Saccharomyce cerevisiae</i>	۶۰ ۱

جدول ۳: تست‌های بیوشیمیایی

Fermentation	Assimilation											ایزوله	ویژگی‌های مورفولوژی رشد در ۲۵ درجه سلسیوس	اوره آز	پالستینور	آسکو سبور	اسید استیک	اسموترازی		
	Glucose	Sucrose	Galactose	Trehalose	Fructose	Lactose	KNO ₃	Lactose	Fructose	Trehalose	Galactose								Sucrose	Glucose
+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	۱۲۲ ۱	+
+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۹۱ ۲	+
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۹۵ ۸	+
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۶۰ ۱	+

بحث

کمتری را نشان می‌دهند، گسترش یافته است (۱۱ و ۱۰). افزودنی‌ها و غذاهای هدفمند مانند پروبیوتیک‌ها می‌توانند جایگزین مناسبی برای داروها و مواد شیمیایی باشند قارچ‌های تخمیری باعث ایجاد موادی در غذا می‌شوند که به غذا بو، رنگ و بر اساس تحقیقات

در سال‌های اخیر مقاومت به آنتی بیوتیک گسترش یافته و به یک مشکل جهانی تبدیل شده است. به علت افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی تحقیقات در جهت دستیابی به موادی که اثرات مفید بیشتر و اثرات جانبی

18-15 mm متوسط و 19 به بالا حساس طبق دستور سازنده می‌باشد.

با توجه به اندازه 100 درصدی حساسیت *C. freundii* و *S. aureus* در برابر آنتی بیوتیک تتراسایکلین با قاطعیت می‌توان گفت هیچ یک از مخمرهای بدست آمده توان کاهش یا باز دارندگی رشد برای این میکروب‌ها را نداشت، چون حداکثر هاله پدید آمده از سوی عصاره مخمر 10 mm بوده است. *Candida kefyr* جدا شده از ماست تنها ایزوله‌ای است که به اندازه *E. coli* و به اندازه 54/55 درصد آنتی بیوتیک سفتریاکسون اثر بازدارندگی دارد بنابراین می‌تواند یک مهار کننده رشد میکروبی مناسب به عنوان نگهدارنده مواد غذایی به کار رود و شاید بتواند با نسبت رایج 2 تا 4 برابر دوز آزمایشگاهی در شرایط بالینی یک کاندید مناسب آنتی بیوتیکی باشد که ارزش بررسی خواهد داشت. با توجه به اندازه 100 درصدی حساسیت باکتری *B. subtilis* در برابر آنتی بیوتیک تتراسایکلین با قاطعیت می‌توان گفت که مخمر *S. cerevisiae* بدست آمده از سیرترشی می‌توان کاهش رشد برای باکتری را دارا است بنابراین می‌تواند یک مهار کننده رشد میکروبی مناسب به عنوان نگهدارنده مواد غذایی به کار رود و شاید بتواند با نسبت رایج 2-4 برابر دوز آزمایشگاهی در شرایط بالینی یک کاندید مناسب آنتی بیوتیکی باشد که ارزش بررسی خواهد داشت. *S. cerevisiae* بدست آمده تنها بر *B. subtilis* موثر بوده و به اندازه 50 درصد آنتی بیوتیک تتراسایکلین اثر مهاری داشته است (جدول 1).

کیرس اسید بوتریک جدا شده از پنی سیلیوم در پنیر به طور 100٪ بر گونه‌های لیستریا اثر محدودکننده رشد داشته است (12). *S. boulardii* در اسهال ناشی از *Clostridium difficile* ثابت کردند. *S. boulardii* سلول‌های چسبنده باکتری به روده را مهار می‌کند و در جلوگیری از اسهال نقش دارد (16).

گزارشاتی در سال 2006 توسط Olila (11) اثر مهاری عصاره استخراج شده اتانولی و اتری قارچ‌های خوراکی روی باکتری‌های *S. aureus*، *E. coli* و *P. aeruginosa* را نشان می‌دهد (11). مطالعات بیشتری نیاز است تا با جداسازی و تجزیه مخمرهای شناسایی شده و تأثیر هر یک از آن‌ها روی باکتری‌ها اثرات ضد میکروبی آن‌ها مشخص شود و بتوان این مواد را در حد صنعتی تولید کرد و جایگزین داروها و مواد شیمیایی شود. برای اولین بار از غذاهای تخمیری استان گیلان گونه‌های میکروبی بدست آمده که توان کاهش یا باز دارندگی رشد میکروب‌های شاخصی همچون: *S. aureus*، *E. coli*، *C. freundii* و *B. subtilis* را دارد. لبنیات به ویژه ماست (محلی) بیشترین تعداد مخمرهای بدست آمده را در خود داشته‌اند. از میان نزدیک به 150 نمونه برداشت شده، 50 نمونه از لبنیات بدست آمده که 6 درصد نمونه‌ها و برابر با 0/9 درصد کل نمونه‌ها را دربر دارد (جدول 1).

تنها یک نمونه از نمونه‌های بدست آمده از شور و ترشی‌ها از باز دارندگی نشان داده است که 0/1 از این نمونه‌ها و برابر با 1/5 درصد از کل نمونه است. آنتی بیوتیک Tetracycline 1 mm ± 20، باکتری *S. aureus* 1 mm ± 20، باکتری *C. freundii* 1 mm ± 20، هر یک به اندازه 15 mm مقاوم و

9. Larone, D.H., 2005. Medically Important Fungi, a guide to identification. ASM press. 5th ed., 1-402.
10. Levy, S.B., 1998. The challenge of antibiotic resistance. Scientific American Microb. 278:32-39.
11. Olila, D., 2006. Antibacterial activity of extract of selected indigenous edible and medicinal tropical mushrooms IMC8 Abstract Book. 1:226.
12. Quinn, P.J and Carter, M., 1998. Clinical veterinary microbiology. Mosby and wolf publishing: 9-117.
13. Sanders, M.E., 1998. Overview of Functional food with an emphasis on probiotic bacteria. International Dairy Journal. 8:341-347.
14. Samson, R.A. and Diyksterhuis, J., 2007. Food and Airborne Fungi. A Multifaceted Approach to fungi and food: 163-183.
15. Samson, R.A; Frisvad, J.C. and Filtenborg, O., 2000. Introduction to food and Airborne Fungi CBS Publishings: 1-389.
16. Samson, R.A; Frisvad, J.C. and Filtenborg, O., 2007. Introduction to food and Airborne Fungi, CBS publishings: 1-400.
17. Tasteyra, A.; Barc, M.; Karja, T.; Bourliox, P. and Collignon, A., 2002. Inhibition of in vitro cell adherence of *Clostridium difficile* by *Saccharomyces boulardii*. Microbial Pathogenesis. 6:219-225.
18. Vanderhoof, J.A. and Yuong, R.J., 2004. Current and potential uses of probiotics Annals of Allergy. Asthma Immunology. 3(5 suppl 13): 33-37.
19. Xian Gqunxa, H. and Yang, M., 2005. Microbiological analysis and antibacterial effects of the indigenous Fermented puer tea. Agro food industry hi.tech. Anno 18 (6):124-130.

سپاسگزاری

بدینوسیله از حمایت‌های ارزنده جناب آقای دکتر محمد فائزی مدیر گروه میکروبیولوژی واحد لاهیجان و سرکار خانم اندیش مسئول آزمایشگاه آن واحد کمال سپاس و تشکر را داریم.

منابع

1. Beumer, R.R and Te Giffel, M.C., 1998. Microbiological Hazards and Their control. W.W.W.Vermicon.com, Bacteria. Chapter 7, 1:141-259.
2. Barany, J. and Robert, T.A., 1994. A dynamic approach to predicting bacteria growth in food. Int. J. food Microbial. 23:277-297.
3. Fisher, F. and Norma, B.C., 1998. Fundamentals of diagnostic mycology, W.B Saunders, pp: 1-352.
4. Gams, W.; Hoekstra, E.S. and Aptroot, A., 1998. CBS Course of mycology. CBS Publishing. 1:1-165.
5. Gismonda, M.R.; Drago, L.A.D. and Lombardi, A., 1999. International Journal of Antomicrobial Agents. 12:287.
6. Harley, J.P and Prescott, L.M., 2002. Laboratory exercises in microbiology, 5th ed. Mc Grow Hill. PP:1-466.
7. Holzofel, W. and Biovaty, B., 2002. Food Quality and safty use of protective and probiotic cultures prevent pathogen transsion along the food chain. Food Research Int. 35:109-116.
8. Isenberg, I.D., 1998. Essential procedurce for clinical microbiology. American Society For Microbiology. 1:287-340.