Archive of SID

Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 12, Number 4 (September - October)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Evaluation of Antimicrobial Activity of *Saccharomyces cerevisiae* Against Enterotoxogenic and Enterohemorrahgic *E. coli*

Maryam Koopayee[1], Horieh Saderi[2], Mahmod Amin Marashi [3], Parviz Owlia[2] *

1. Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahed University Tehran, Iran
2. Professor, Molecular Microbiology Research Center (MMRC), Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Ghazvin University, Ghazvin, Iran

Downloaded from ijmm.ir at 13:47 +0330 on Sunday March 10th 2019

Article Information

Article history:
Received: 2017/10/07
Accepted: 2018/09/01
Available online: 2018/11/23

Article Subject:
Food Microbiology

IJMM 2018; 12(4): 280-287

Corresponding author:

Parviz Owlia
Professor, Molecular Microbiology Research Center (MMRC), Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

Email:
powlia@gmail.com

Use your device to scan and read the article online

Abstract

Background and Aims: Probiotics are useful microorganisms for health of communities. *Saccharomyces cerevisiae* is one of the effective microorganisms for treating of functional and gastrointestinal diseases in order to control pathogens. Enterohemorrahgic *Escherichia coli* (EHEC) and Enterotoxogenic (ETEC) are common pathogenic strains in all the world. The aim of this study was to evaluate the inhibitory effect of *S. cerevisiae* probiotic yeast on the growth of ETEC and EHEC.

Materials and Methods: For preparation of the supernatant extract, the yeast suspension was centrifuged, and then, the supernatant was filtered. Extraction with ethyl acetate was performed in three hours. For preparation of lysate, the precipitate was washed and centrifuged. The supernatant was removed and sterilize distilled water was added. Cell lysis was performed by sonication and the liquid was centrifuged and filtered. Then, the MIC and MBC were determined by micro dilution method. The concentration range was 16-8192 µg/ml.

Results: The MIC and MBC of the supernatant against both ETEC and EHEC were 4096 µg/ml and 8192 µg/ml, respectively. Lysate in any of the concentrations showed no inhibitory effects on strains.

Conclusions: The supernatant of *S. cerevisiae* has an inhibitory effect on growth of ETEC and EHEC**.** The lysate, probably due to the richness of the nutrients required for bacterial growth and not containing antibacterial compound, did not lead to such a repressive effect.

Keywords: Antibacterial, Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, Enterotoxogenic *Escherichia coli*, Probiotic, *Saccharomyces cerevisiae*

Copyright © 2018 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Koopayee M, Saderi H, Amin Marashi M, Owlia P. Antimicrobial Effect of Probiotic Strain of Saccharomyces Cerevisiae on Enterotoxogenic and Enterohemorrahgic E. coli by Determination of MIC and MBC. Iran J Med Microbiol. 2018; 12 (4):280-287

www.SID.ir

Archive of SID

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۲ – شماره ۴ – مهر-آبان ۱۳۹۷

Journal homepage: www.ijmm.ir

Downloaded from ijmm.ir at 13:47 +0330 on Sunday March 10th 2019

بررسی اثر ضدمیکروبی *ساکارومیسس سرویزیه* علیه انتروتوکسیژنیک و انتروهموراژیک *اشریشیاکلی*

مریم کوپایی[۱]، حوریه صادری[۲]، محمود امین‌مرعشی[۳]، پرویز اولیا[۲*]

۱. کارشناسی‌ارشد باکتری‌شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲. استاد، مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی مولکولی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳. استادیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچهٔ مقاله
دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۱۵
پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۱۰
انتشار آنلاین: ۱۳۹۷/۰۹/۰۲
موضوع:
میکروبیولوژی مواد غذایی
IJMM1397;12(4): 280-287

نویسندهٔ مسئول:
پرویز اولیا
استاد، مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی مولکولی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

پست الکترونیک:
powlia@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی سودمند برای سلامتی جوامع هستند. *ساکارومیسس سرویزیه* یکی از گونه‌های استفاده‌شده در بهبود کارکرد و درمان بیماری‌های دستگاه گوارش و مهار پاتوژن‌های روده‌ای است. پاتوتایپ‌های انتروهموراژیک *اشریشیاکلی* (EHEC) و انتروتوکسوژنیک (ETEC) دو بیماری‌زای روده‌ای شایع در جهان هستند که سبب اسهال می‌شوند. هدف این مطالعه، بررسی اثر ضدمیکروبی عصارهٔ مایع رویی کشت و لیز سلولی مخمر پروبیوتیک *ساکارومیسس سرویزیه* علیه *اشرشیاکلی* ETEC و EHEC است.

مواد و روش کار: برای تهیهٔ عصارهٔ مایع رویی کشت، ابتدا سوسپانسیون مخمری سانتریفیوژ و مایع رویی کشت جدا و فیلتر شد. عصاره‌گیری با اتیل‌استات برای سه ساعت انجام شد. برای تهیهٔ لیزات، رسوب به‌دست‌آمده از مرحلهٔ قبل را شستشو داده تا رسوب سانتریفیوژ تبدیل به لیز سلولی شده و با استفاده از فیلتر استریل شود. مایع رویی پس از جداسازی، به رسوب آب مقطر استریل اضافه شد و لیز سلولی با استفاده از سونیکاتور انجام گرفت. مایع به‌دست‌آمده از سانتریفیوژ و مایع رویی آن فیلتر شد. سپس مقدار MIC و MBC آن به روش میکرو دایلیوشن، طبق دستورالعمل CLSI تعیین شد. دامنهٔ غلظت بررسی‌شده ۸۱۹۲ µg/ml - ۱۶ بود.

یافته‌ها: MIC و MBC عصارهٔ مایع رویی کشت در هر دو پاتوتایپ ETEC و EHEC به‌ترتیب برابر با ۴۰۹۶ µg/ml و ۸۱۹۲ µg/ml به دست آمد. لیزات در هیچ‌یک از غلظت‌های به‌کاررفته، اثر مهارکنندگی بر دو باکتری نشان نداد.

نتیجه‌گیری: مایع رویی کشت بر رشد سویه‌های ETEC و EHEC اثر مهارکنندگی داشت، اما لیزات سلولی فاقد چنین تأثیری بود. به عبارتی مواد ضدمیکروبی می‌تواند فقط در ترشحات سلولی وجود داشته باشد و احتمالاً لیزات سلولی به دلیل غنی بودن از مواد مغذی لازم برای رشد باکتری و نداشتن ترکیبات ضدمیکروبی چنین تأثیر مهاری را نشان نمی‌دهد.

کلمات کلیدی: آنتی‌باکتریال، انتروتوکسیژنیک *اشریشیاکلی*، انتروهموراژیک *اشریشیاکلی*، پروبیوتیک، *ساکارومیسس سرویزیه*

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفادهٔ علمی از این مقاله برای مجلهٔ میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

برخی از میکروارگانیسم‌ها در صنایع غذایی کاربرد دارد و نقش‌های بسیار سودمندی در سلامت و تغذیهٔ انسان و حیوان ایفا می‌کند. بسیاری از مطالعات قدیمی استفاده از این میکروارگانیسم‌های سودمند و به تعبیری پروبیوتیک‌ها را برای حفاظت و درمان عفونت‌های گوارشی شامل عفونت‌های مرتبط با پاتوژن‌های غذایی، گزارش کرده‌اند. به علاوه، گزارش شده است که مخمر، سلامت انسان و حیوان را ارتقا می‌بخشد (۱). اولین بار Fuller واژهٔ پروبیوتیک را مکمل غذایی میکروبی زنده‌ای تعریف کرد که به‌صورت مفید تعادل میکروبی رودهٔ میزبان را بهبود می بخشد. امروزه این تعریف به‌شکل میکروارگانیسم‌های زنده‌ای تعریف می‌شود که وقتی به تعداد کافی مصرف شود فوایدی برای میزبان دارد (۲). تعداد کمتری از میکروارگانیسم‌های غیرباکتریایی، مانند مخمرها به‌عنوان پروبیوتیک مطالعه شده‌اند (۳). در حال حاضر باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و مخمر

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijmm.ir at 13:47 +0330 on Sunday March 10th 2019

ساکارومیسس بولاردی بهترین گونه‌های پروبیوتیک هستند. اگرچه تأثیرات متضادی به‌صورت موردی گزارش شده است، اما درمجموع این پروبیوتیک‌ها را ایمن می‌دانند (۲).

ساکارومیسس بولاردی پروبیوتیکی تجاری در انسان است، اما برخی محققان استفاده از سایر سویه‌های مخمر و جنس‌های دیگر را نیز پیشنهاد می‌کنند. باید دید آیا دیگر گونه‌های ساکارومیسس نیز مانند بولاردی می‌توانند به‌عنوان پروبیوتیک مصرف شوند؟ تحقیقات آزمایشگاهی نشان داده است سویهٔ ۹۰۵ *ساکارومیسس سرویزیه* که از محصولات Cachaca (نوعی نوشیدنی الکلی) جدا شده است، توانایی کلونیزه‌شدن و زنده‌ماندن را در مجاری گوارشی موش و حیوانات عاری از باکتری دارند و می‌توانند آنها را در مقابل *سالمونلا اینتریکا* سروتیپ تیفی موریوم و *کلستریدیوم دیفیسیل* محافظت کنند (۴).

مکانیسم‌های زیادی دربارهٔ چگونگی عملکرد مخمرهای پروبیوتیکی برای حفاظت در مقابل عفونت‌های باکتریایی توضیح داده شده است؛ مانند فعال‌کردن سیستم ایمنی، تخریب توکسین A و B *کلستریدیوم دیفیسیل* و گیرنده‌های آنها روی مخاط روده، ممانعت از فعالیت توکسین وبا و تعدیل سیستم‌های ترانسداکشن در باکتری‌های انتروپاتوژن. از دیگر موارد فعالیت پروبیوتیک‌ها تولید مواد آنتاگونیستی برای ممانعت از رشد باکتری‌های بیماری‌زا است. در مقایسه با باکتری‌های پروبیوتیک (به‌ویژه باکتری‌های مولد لاکتیک اسید)، مخمرهای پروبیوتیکی به‌ندرت این فعالیت آنتاگونیستی را نشان می‌دهند (حداقل در محیط داخل بدن) (۳).

بسیاری از پروبیوتیک‌ها، سویه‌هایی از *لاکتوباسیل*‌ها و *بیفیدوباکتری*‌ها هستند که می‌توانند جایگزین دارو شوند و در محصولات شیر تخمیری به کار روند. گونه‌هایی از دیگر باکتری‌ها مانند *اشریشیا*، *باسیلوس* و *انتروکوکوس* نیز استفاده می‌شوند، اما نگرانی‌هایی در ارتباط با ایمنی آنها وجود دارد؛ زیرا این جنس‌ها به‌ویژه انتروکوکوس پاتوژن‌های فرصت‌طلبی هستند (۳).

انتروتوکسوژنیک *اشریشیاکلی* (ETEC)، عامل شایع اسهال مسافرتی و اسهال نوزادان در کشورهای در حال توسعه است (۵).

اشریشیاکلی هموراژیک (EHEC) نوعی سیتوتوکسین به نام وروتوکسین تولید می‌کند که بر سلول‌های Vero اثر کشندگی دارد (۶). انواعی از *اشریشیاکلی* که Shiga-like toxin تولید می‌کنند موجب تورم مخاط رودهٔ بزرگ (کولیت) همراه با خونریزی می‌شود. در برخی موارد نیز اسهال شدید همراه با سندرم اورمی همولیتیک ایجاد می‌شود. این بیماری علائمی از قبیل نارسایی کلیوی، کم‌خونی همولیتیکی، نقص در مویرگ‌ها و کاهش پلاکت‌های خون دارد (۷).

از آنجا که ETEC و EHEC شیوع گسترده‌ای در سراسر جهان دارد و می‌تواند بسیاری از افراد جامعه را تحت‌تأثیر قرار دهد، معرفی روش درمانی جدید برای مقابله با آنها لازم و ضروری به نظر می‌رسد. بر این اساس هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر مهارکنندگی عصارهٔ مایع رویی کشت و لیز سلولی مخمر پروبیوتیک *ساکارومیسس سرویزیه* بر ETEC و EHEC است.

مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم‌های استفاده‌شده

سویهٔ استاندارد EHEC O:157 H:7 و سویهٔ استاندارد ETEC10407 از سوی انستیتو پاستور ایران اهدا شد.

سویهٔ بومی مخمر پروبیوتیک *ساکارومایسس سرویزیه* در مطالعات قبلی جدا شد و آزمایش‌های بیوشیمیایی نشان داد سویهٔ مدنظر خواص پروبیوتیکی دارد. تشخیص گونه به تأیید مرکز ذخایر ژنتیکی رسید.

تهیهٔ عصارهٔ مایع رویی کشت (Supernatant)

به منظور تهیهٔ مایع رویی کشت از روش Krasowska و همکاران (۱۰) استفاده شد. ابتدا تک‌کلنی مخمر *ساکارومیسس سرویزیه* که در محیط (Potato (Merck, Germany– PDA Dextrose Agar و در شرایط ۳۰ درجهٔ سلسیوس، به مدت یک شبانه روز کشت داده شده بود، در ۵ میلی‌لیتر محیط Potato Dextrose broth (PDB –Ibresco, Iran)تلقیح شد و به مدت ۱۶ ساعت در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس قرار گرفت. سپس آن را به ۲۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDB تلقیح کرده و در دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس، به مدت یک شب در دور ۱۲۰rpm گرمخانه‌گذاری شد.

سوسپانسیون آماده‌شده سانتریفیوژ شد (۳۰۰۰g، ۱۰ دقیقه). سپس مایع رویی جدا شده و با فیلتر ۰/۲۲، میکرومتر استریل شد. استخراج سوپرناتانت با حجم یک به پنج اتیل‌استات (Merck-Germany) برای سه ساعت انجام شد (با تغییر اتیل استات در هر نیم ساعت). سپس اتیل‌استات با استفاده از Rotary evaporator (Heidolph-Germany) جدا شد. برای تهیهٔ محلول ذخیرهٔ عصارهٔ خشک‌شده مقدار مناسبی از متانول به آن اضافه شد تا غلظت نهایی ۳۲۷/۶۸ mg/ml به دست آید. این محلول به‌عنوان محلول ذخیره به کار رفت.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijmm.ir at 13:47 +0330 on Sunday March 10th 2019

تهیهٔ عصارهٔ لیز سلولی (Lysate)

ابتدا تک‌کلنی از مخمر *ساکارومیسس سرویزیه* رشد کرده در محیط PDA –Merck, Germany) Potato Dextrose Agar) تحت دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس به مدت یک شبانه روز، به ۵ میلی‌لیتر محیط کشت Potato Dextrose broth – (PDB Ibresco,Iran) تلقیح شد و به مدت ۱۶ ساعت در انکوباتور شیکردار و در دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس قرار گرفت. سپس سوسپانسیون مخمری آماده‌شده به ۲۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDB تلقیح، و تحت دمای ۳۰ درجهٔ سلسیوس با دور ۱۲۰ rpm به مدت یک شبانه روز انکوبه شد. در ادامه سوسپانسیون آماده شده سانتریفیوژ (۳۰۰۰g، ۱۰ دقیقه) شده و مایع رویی جدا شد. رسوب به‌دست‌آمده با آب مقطر استریل شستشو داده شد و پس از سانتریفیوژ (۳۰۰۰g، ۱۰ دقیقه) مجدد مایع رویی جدا، و به رسوب باقی‌مانده آب مقطر استریل اضافه شد. لیز سلولی با دستگاه سونیکاتور به مدت ۳۰ دقیقه (Qsonica Q125-USA) و تحت شرایط ۳۰ ثانیه سونیکاسیون و ۱۰ ثانیه استراحت صورت گرفت. سوسپانسیون به‌دست‌آمده تحت شرایط ۴ درجهٔ سلسیوس برای ۳۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی به‌وسیلهٔ فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر استریل، و آب آن با استفاده از دستگاه Rotary evaporator (Heidolph-Germany) جدا شد. سپس مقدار مناسبی از آب مقطر استریل به عصارهٔ خشک اضافه شد تا غلظت نهایی ۱۶۳/۸۴mg/ml به دست آید. این محلول به‌عنوان محلول ذخیره به کار رفت.

تعیین کمترین غلظت ممانعت‌کنندهٔ رشد (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) و کمترین غلظت کشنده (Minimum Bactericidal Concentration: MBC)

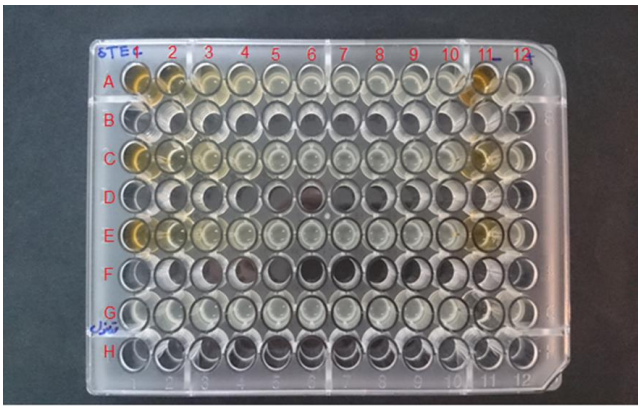
برای تعیین MIC و MBC، از محلول ذخیرهٔ مایع رویی کشت و لیزات سلولی، به‌ترتیب در محیط مایع Brain Heart Infusion Broth (BHI-Merck,Germany)، رقیق‌سازی انجام شد. سپس مطابق شکل ۱ و به روش میکرو دایلیوشن براساس دستورالعمل CLSI، مقدار MIC و MBC تعیین شد. دامنهٔ غلظت بررسی‌شده برای هر دو عصاره، بین ۸۱۹۲-۱۶ µg/ml در نظر گرفته شد. بررسی تأثیرنداشتن متانول بر مهار رشد باکتری‌ها، مشابه روش بالا آزمایش شد.

محاسبات آماری: تمام آزمایش‌ها سه بار تکرار شد و در صورت مشابه بودن نتایج، تأیید و ثبت می‌شد.

یافته‌ها

MIC حاصل از تأثیر مایع رویی کشت

MIC برای هر دو سویهٔ STEC و ETEC معادل µg /ml ۴۰۹۶ به دست آمد. همچنین در چاهک حاوی محیط کشت و باکتری، رشد دیده شد، اما در چاهک محتوی محیط کشت و مایع رویی آن کدورتی مشاهده نشد. در غلظت‌های به‌کاربرده‌شده برای متانول، در تمام چاهک‌ها کدورت دیده شد، که نشان‌دهندهٔ بی تأثیری متانول در مهار رشد باکتری است.



شکل ۱. MIC مایع رویی کشت برای سویهٔ STEC: آزمایش به‌صورت سه بار تکرار انجام شد. در چاهک‌های شمارهٔ 2A، 2C و E۲ که معادل غلظت ۴۰۹۶µg /ml از مایع رویی کشت است، کدورتی مشاهده نشد. ردیف G رقت‌های مختلف متانول است که کدورت ناشی از رشد باکتری‌ها در آن دیده می‌شود. این نتیجه نشان‌دهندهٔ بی‌تأثیربودن ممانعت‌کنندگی رشد متانول برای سویهٔ پاتوژن است. چاهک‌های شمارهٔ 11A، 11C و 11E کنترل منفی و چاهک‌های شمارهٔ 12A، 12C و12E کنترل مثبت است.

MIC حاصل از تأثیر لیزات

در همهٔ چاهک‌های میکروپلیت (هر دو سویهٔ ETEC و EHEC) کدورت دیده شد، که نشان‌دهندهٔ بی‌تأثیربودن عصارهٔ لیزات بر رشد پاتوژن‌های بررسی‌شده است. در چاهک کنترل مثبت کدورت دیده شد و در چاهک کنترل منفی حاوی محیط کشت و عصارهٔ لیز سلولی بدون‌باکتری، هیچ‌گونه کدورتی دیده نشد که تأییدکنندهٔ استریل بودن عصاره از آلودگی باکتریایی بود.

MBC حاصل از تأثیر مایع رویی کشت

MBC برای هر دو سویهٔ ETEC و EHEC معادل µg/ml ۸۱۹۲ به دست آمد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijmm.ir at 13:47 +0330 on Sunday March 10th 2019

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان می‌دهد مایع رویی کشت، بر رشد دو سویهٔ EHEC و ETEC اثر ممانعت‌کننده دارد، اما این اثر در عصارهٔ لیزشدهٔ سلول مخمر مشاهده نشد. لذا می‌توان نتیجه گرفت که احتمالا مواد بازدارنده به خارج از سلول ترشح می‌شود و درون سلول وجود ندارد یا بسیار کم است.

مطالعهٔ Ershadian و همکاران (۱۳۹۳) نشان داد *لاکتوباسیلوس*های پروبیوتیکی جداشده از ماست سنتی شهرستان سبزوار و نیز باکتری‌های استاندارد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازئی*، بیشترین اثر ضدمیکروبی را در کشت دولایه و تجمع سلولی، بر باکتری‌های بیماری‌زای *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان می‌دهد و اثر مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا در حضور باکتری‌های پروبیوتیک، با استفاده از روش کشت همزمان مشاهده شد (۸)؛ اما در مطالعهٔ اخیر، تأثیر عصارهٔ پروبیوتیکی روی پاتوژن‌های ETEC و EHEC به روش تعیین MIC بررسی شد. در هر دو پژوهش اثر مهاری پروبیوتیک‌ها مشاهده شد.

Zarringhalam Moghaddam و همکاران (۲۰۰۶) اثر باکتریوسین‌های تولیدشده با لاکتوباسیل‌های جداشده از ماست را بر سم وروتوکسین حاصل از EHEC بررسی کردند. نتایج نشان داد همهٔ سویه‌های به‌کاررفته در آزمایش، اثر ممانعت‌کننده بر تولید سم دارد (۹).

Krasowska و همکاران (۲۰۰۹) مطالعه‌ای با موضوع تأثیر *ساکارومیسس بولاردی* بر فاکتورهای ویرولانس *کاندیدا آلبیکنس* انجام دادند و دریافتند *ساکارومیسس بولاردی* روی عوامل ویرولانس *کاندیدا آلبیکنس* مانند توانایی رشته‌ای‌شدن، اتصال و تشکیل بیوفیلم بر سطوح پلاستیکی تأثیر منفی قوی دارد (۱۰). علاوه بر این Wu و همکاران (۲۰۰۷) تأثیر این پروبیوتیک را روی فاکتورهای ویرولانس *سیتروباکتر رودنتوم* بررسی کردند (۱۱). این تحقیقات نشان‌دهندهٔ تأثیر مهاری *ساکارومیسس بولاردی* در بیان ژن‌های ویرولانس پاتوژن‌ها است.

علاوه بر تأثیر مخمرهای پروبیوتیک، تأثیر سویه‌های باکتریایی مختلفی نیز بر *اشریشیاکلی* بررسی شده است. Kim و همکاران (۲۰۰۶) مطالعه‌ای روی تأثیر عصارهٔ لیز سلولی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر فعالیت سیتوتوکسیسیتی Stx 2 انجام دادند و دریافتند باکتری پروبیوتیک مدنظر می‌تواند سم ۲ Stx را ضعیف کند (۱۲). Ogawa (۲۰۰۰) در ژاپن اثر پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* را بر باکتری پاتوژن *اشریشیاکلی* تولیدکنندهٔ شیگاتوکسین در مدل حیوانی خرگوش بررسی کرد. وی دریافت باکتری پروبیوتیک مطالعه‌شده، سبب کاهش غلظت سموم Stx1 و Stx2 و آسیب‌های هیستولوژیکی در موکوس روده می‌شود (۱۳). مطالعات بالا تأییدکنندهٔ اثر پروبیوتیک‌ها بر *اشریشیاکلی* است که با تأثیر عصارهٔ مایع رویی کشت در این تحقیق همخوانی دارد اما با عصارهٔ لیزات همخوانی نداشته است. در مطالعهٔ اخیر مایع رویی کشت حاصل از *ساکارومیسس سرویزیه* توانست بر رشد باکتری‌ها اثر مهاری داشته باشد؛ اما توصیه می‌شود اثر آن روی دیگر جنبه‌های بیماری‌زایی مطالعه و بررسی شود.

Ephraim در آمریکا (۲۰۱۳)، با تکنیک Real Time، تأثیر پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* را بر میزان بیان ژن‌های توکسین A و B *کلستریدیوم دیفیسیل* بررسی کرد. وی کاهش میزان بیان ژن‌های مدنظر را زمانی مشاهده کرد که کشت همزمان از پروبیوتیک و پاتوژن تهیه شده بود (۱۴). همچنین MacPhee و همکاران (۲۰۱۲) میزان تأثیر میکروبیوتای واژن را بر میزان تولید سم ۱ TSST، با تکنیک Real Time بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد میزان بیان ژن کاهش می‌یابد (۱۵). در این مطالعات تأثیر پروبیوتیک‌ها روی پاتوژن‌های دیگر صورت گرفته است. با وجود اینکه این مطالعات در سطح مولکولی انجام شده است، نتایج آن با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. ازاین‌رو توصیه می‌شود تأثیرگذاری پروبیوتیک *ساکارومیسس سرویزیه* بر بیان ژن‌های *اشریشیاکلی* و یا پاتوژن‌های دیگر نیز بررسی شود.

West و همکاران (۲۰۱۶) متوجه نقش درمانی *ساکارومیسس سرویزیه* و *ساکارومیسس بولاردی* و مایع رویی کشت آنها در درمان اختلالات روانی مرتبط با استرس شدید شدند (۱۶).

Martin و همکاران (۲۰۱۰) تأثیر مصرف تغذیه‌ای *ساکارومیسس سرویزیه* در مدل موشی مبتلا به تب تیفوئید و سطوح ایمونولوژیکی آن را بررسی کردند. نتایج حاصل از مطالعهٔ آنها نشان داد *ساکارومیسس سرویزیه* می‌تواند به‌عنوان روش بیوتراپی جدید علیه *سالمونلا تیفی موریوم* از طریق اتصال به باکتری و راه‌اندازی مسیرهای سیگنالینگ در مقابله با التهاب در مدل موشی مبتلا به تب تیفوئید مؤثر باشد. با وجود اینکه نوع باکتری بیماری‌زای بررسی‌شده و روش آنها با مطالعهٔ حاضر متفاوت است، در هر دو پژوهش، اثر مهاری *ساکارومیسس سرویزیه* نشان داده شد (۱۷).

Kazemi Darsanaki و همکاران (۲۰۱۱) باکتری‌های اسید لاکتیک را از نمونهٔ ماست و قرص پروبیوتیکی جداسازی کردند و

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijmm.ir at 13:47 +0330 on Sunday March 10th 2019

خاصیت ضدمیکروبی مایع رویی کشت آنها علیه عوامل بیماری‌زای باکتریایی را به کمک روش Well Diffusion Agar و Disk Diffusion Agar بررسی کردند. طی این مطالعه، متابولیت‌های تولیدشده با باکتری‌های اسید لاکتیک، توانست از رشد باکتری های بیماری‌زا جلوگیری کند. این نتیجه نشان‌دهندهٔ نقش مثبت این دسته از باکتری‌ها در سلامت انسان است (۱۸).

Etienne-Mesmin و همکاران (۲۰۱۱)، با استفاده از سیستم TIM (TNO gastrointestinal tract model) اثر *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3856 را بر *Escherichia coli* O157:H7 بررسی کردند و متوجه شدند پروبیوتیک مدنظر آنها اثر مهاری بر باکتری داشته است (۱۹).

Emami و همکاران (۲۰۱۵) اثر تعدادی سویهٔ پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را علیه باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *شیگلا دیسانتری* با روش‌های دیسک دیفیوژن و چاهک دیفیوژن بررسی کردند که نشان‌دهندهٔ اثر مهاری این سویه‌ها بر باکتری‌های بیماری‌زای مدنظر بود (۲۰).

در مطالعهٔ Zojaji و همکاران (۲۰۱۳) گروهی از بیماران مبتلا به *هلیکوباکتر پیلوری*، درمان آموکسی‌سیلین، امپرازول و کلاریترومایسین را به همراه پروبیوتیک *ساکارومیسس بولاردی* (۲۵۰ میلی‌گرم) دریافت کردند. بعد از ۱۴ روز، اثر درمانی قابل‌مشاهده بود و علاوه بر آن، دردهای شکمی و اسهال نیز کاهش یافت (۲۱). همچنین Rafeey و همکاران (۲۰۱۶) ترکیبی از پروبیوتیک‌ها را به نوزادان مبتلا به کولیک دادند و اثرات درمانی آن را مشاهده کردند (۲۲). Remenova و همکاران (۲۰۱۵) نیز از *ساکارومیسس بولاردی* به‌عنوان درمان دارویی استفاده کردند و اثر درمانی آن را روی بیماری‌های گوارشی ناشی از باکتری‌های بیماری‌زا مشاهده کردند (۲۳). اما دربارهٔ اثرگذاری *ساکارومیسس سرویزیه* بر نمونه‌های انسانی، Chambruna (۲۰۱۵) اثر این پروبیوتیک را در درمان بیماری سندرم رودهٔ تحریک‌پذیر بررسی کرد و طی آن، گروه درمان‌شده با پروبیوتیک، دردهای شکمی کمتری داشتند (۲۴). در این مطالعه نوع پروبیوتیک بررسی‌شده با مطالعهٔ حاضر مطابقت دارد.

Pontier-Bres و همکاران (۲۰۱۵) تأثیر *ساکارومیسس بولاردی* را بر سم ترشح‌شده از *باسیلوس آنتراسیس*، با روش کشت سلول بررسی کردند و متوجه اثرات حفاظت‌بخش آن در کشت سلول شدند (۲۵). در این پژوهش از *ساکارومیسس بولاردی* به جای *ساکارومیسس سرویزیه* و از روش کشت سلول برای بررسی اثر حفاظتی آن استفاده شده است، که از این نظر با تحقیق حاضر متفاوت است.

نتایج حاصل از این تحقیق و دیگر مطالعات، نشان‌دهندهٔ اثرات ضدمیکروبی مایع رویی کشت *ساکارومیسس سرویزیه* بر باکتری‌های بیماری‌زا است و احتمالا با مطالعات بیشتر، می‌توان مکانیسم‌های آن را مشخص کرد. یکی از این مطالعات می‌تواند آنالیز ترکیب شیمیایی و تعیین مواد مؤثرهٔ آن باشد.

سپاسگزاری

از مسئولان و همکاران مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی مولکولی دانشگاه شاهد به‌خاطر در اختیار گذاشتن امکانات لازم این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Srinivas B, Swarupa Rani G, Kiran Kumar B, Chandrasekhar B, Vamsi Krishna K, Anjana Devi T, et al. Evaluating the probiotic and therapeutic potentials of *Saccharomyces cerevisiae* strain (OBS2) isolated from fermented nectar of toddy palm. AMB Expr.2017; 7:1-14. https://doi.org/10.1186/s13568-016-0301-1 PMid:28050843 PMCid:PMC5209330

2. Vandenplas Y, Huys G, Daube G. Probiotics: an update. J Pediatr (Rio J). 2015;91(1):6-21. https://doi.org/10.1016/j.jped.2014.08.005 PMid:25458874

3. Tiago FC, Martins FS, Souza EL, Pimenta PF, Araujo HR, Castro IM, et al. Adhesion to the yeast cell surface as a mechanism for trapping pathogenic bacteria by Saccharomyces probiotics. J Med Microbiol. 2012; 61:1194–207. https://doi.org/10.1099/jmm.0.042283-0 PMid:22580913

4. Martins FS, Rodrigues AC, Tiago FC, Penna FJ, Rosa CA, Arantes RM, et al. *Saccharomyces cerevisiae* strain 905 reduces the translocation of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and stimulates the immune system in gnotobiotic and conventional mice. J Med Microbiol. 2007; 56:352–9. https://doi.org/10.1099/jmm.0.46525-0 PMid:17314366

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijmm.ir at 13:47 +0330 on Sunday March 10th 2019

5. Bo¨lin I, Wiklund G, Qadri F, Torres O, Bourgeois AL, Savarino S, et al. Enterotoxigenic *Escherichia coli* with STh and STp genotypes is associated with diarrhea both in children in areas of endemicity and in travelers. JCM. 2006; 44(11): 3872–3877. https://doi.org/10.1128/JCM.00790-06 PMid:16943355 PMCid:PMC1698338

6. Wang G, Clark Clifford G, Rodgers Frank G. Detection in *Escherichia coli* of the Genes Encoding the Major Virulence Factors, the Genes Defining the O157:H7 Serotype, and Components of the Type 2 Shiga Toxin Family by Multiplex PCR. JCM. 2002; 40(10): 3613–3619. https://doi.org/10.1128/JCM.40.10.3613-3619.2002 PMCid:PMC130888

7. Hardegen C, Messler S, Henrich B, Pfeffer K, Würthner J, R MacKenzie C. A set of novel multiplex Taqman real-time PCRs for the detection of diarrhoeagenic *Escherichia coli* and its use in determining the prevalence of EPEC and EAEC in a university hospital. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2010; 9(5): 1-7. https://doi.org/10.1186/1476-0711-9-5

8. Ershadian M, Arbab Soleimani N, Ajodani Far H, Vaezi Khakhki M. The Co-aggregation effects of probiotic lactobacillus against some pathogenic bacteria. Iran J Med Microbiol. 2015; 9 (3):14-22.

9. Zarringhalam Moghaddam M, Sattari M, Mobarez M.A, Doctorzadeh F. Inhibitory Effect of Yogurt Lactobacilli Bactriocins on Growth and Verotoxins Production of Enterohemorrhgic *Escherichia coli* O157:H7. Pak J Biol Sci. 2006; 9(11): 2112-2116. https://doi.org/10.3923/pjbs.2006.2112.2116

10. Krasowska A, Murzyn A, Dyjankiewicz A, Łukaszewicz M, Dziadkowiec D. The antagonistic effect of *Saccharomyces boulardii* on *Candida albicans* Filamentation, adhesion and biofilm formation. FEMS Yeast Res. 2009; 9: 1312–1321. https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00559.x PMid:19732158

11. Wu X, Vallance BA, Boyer L, Bergstrom KSB, Walker J, Madsen K, O'Kusky J. R, et al. *Saccharomyces boulardii* ameliorates *Citrobacter rodentium*-induced colitis through actions on bacterial virulence factors. AJP-Gastrointest Liver Physiol. 2008; 294: 295–306. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00173.2007 PMid:18032474

12. Ogawa M, Shimizu K, Nomoto K, Takahashi M,Watanuki M, Tanaka R, et al. Protective Effect of *Lactobacillus casei* Strain Shirota on Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157:H7 Infection in Infant Rabbits. IAI.2001; 69(2): 1101–1108. https://doi.org/10.1128/IAI.69.2.1101-1108.2001 PMid:11160007 PMCid:PMC97991

13. Kim Y, Han K. S, Imm J. Y, Oh S, You S, Park S,et al. Inhibitory effects of *Lactobacillus acidophilus* lysates on the cytotoxic activity of shiga-like toxin 2 produced from *Escherichia coli* O157:H7. Lett Appl Microbiol. 2006; 43: 502–507. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.02005.x PMid:17032223

14. Ephraim, D. Schultz, Safdar. *Lactobacillus rhamnosus* GG Protects Cells from *Clostridium difficile* Toxins. Br Microbiol Res J. 2013; 3(2): 165-175. https://doi.org/10.9734/BMRJ/2013/3068

15. MacPhee Roderick A., Miller Wayne L, Gloor Gregory B, McCormick John K, Hammond Jo-Anne, Burton Jeremy P, et al. Influence of the Vaginal Microbiota on Toxic Shock Syndrome Toxin1 Production by *Staphylococcus aureus*. Appl Environ Microbiol. 2013; 79(6): 1835–1842. https://doi.org/10.1128/AEM.02908-12 PMid:23315732 PMCid:PMC3592239

16. West C, Stanisz AM, Wong A, Kunze WA. Effects of Saccharomyces cerevisiae or boulardii yeasts on acute stress induced intestinal dysmotility. World J Gastroenterol. 2016; 22(48): 10532-44. https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i48.10532 PMid:28082805 PMCid:PMC5192264.

17. Martins FS, Elian SDA, Vieira AT, Tiago FCP, Martins AKS, Silva FCP, et al. Oral treatment with *Saccharomyces cerevisiae* strain UFMG 905 modulates immune responses and interferes with signal pathways involved in the activation of inflammation in a murine model of typhoid fever.Int J Med Microbiol 301,2011; (4): 359-364.

18. Kazemi Darsanaki R, Ghaemi N, Mirpour M. Evaluation antimicrobial activity of probiotic bacteria isolated from probiotic products. JOURNAL of MICROBIAL BIOTECHNOLOGY, 2011; 2(7): 29-36.

19. Etienne-Mesmin L, Livrelli V, Privat M, Denis S, Cardot J, Alric M, et al. Effect of a New Probiotic *Saccharomyces cerevisiae* Strain on Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in a Dynamic Gastrointestinal Model. APPL. ENVIRON. MICROBIOL, 2011; 77(3): 1127-1131. https://doi.org/10.1128/AEM.02130-10 PMid:21131521 PMCid:PMC3028742

20. Emami Z, Khalilian E, Shahsanaei M. Isolation of *Lactobacillus plantarum* from different varieties of Iranian native olives and investigation of their antimicrobial activity against two pathogenic members of Entrobacteriaceae. Biological Journal of Microorganism, 2015; 4(13): 139-160.

21. Zojaji H, Ghobakhlou M, Rajabalinia H, Ataei E, Jahani Sherafat S, Moghimi-Dehkordi B,et al. The efficacy and safety of adding the probiotic *Saccharomyces boulardii* to standard triple therapy for eradication of *H.pylori*: a randomized controlled trial. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2013; 6(1): 99-104.

22. Rafeey M, Shoaran M, Gholshaian F, Gharehbaghi M. Survey in efficacy of probiotics in infantile colic. Research in Medicine. 2016; 40(3): 135-142.

www.SID.ir

Archive of SID

23. Remenova T, Morand O, Amato D, Chadha-Boreham H, Tsurutani S, Marquardt T. A double-blind, randomized, placebocontrolled trial studying the effects *of Saccharomyces boulardii* on the gastrointestinal tolerability, safety, and pharmacokinetics of miglustat. Otphanet J. Rare Dis. 2015; 10:81. https://doi.org/10.1186/s13023-015-0297-7 PMid:26084276 PMCid:PMC4501118

24. Chambruna G, Neutb C, Chaub A, Cazaubielf M, Pelering F, Justeng P, et al. A randomized clinical trial of *Saccharomyces cerevisiae* versus placebo in the irritable bowel syndrome. Digestive and Liver Disease. 2015; 47: 119–124. https://doi.org/10.1016/j.dld.2014.11.007 PMid:25488056

25. Pontier-Bres R, Rampal P, Peyron, Munro P, Lemichez E, Czerucka D. The *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 Strain Shows Protective Effects against the B. anthracis LT Toxin. Toxins.2015; 7: 4455-4467. https://doi.org/10.3390/toxins7114455 PMid:26529015 PMCid:PMC4663514

Downloaded from ijmm.ir at 13:47 +0330 on Sunday March 10th 2019

www.SID.ir