Archive of SID

مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۸، دوره ۶۴، شماره ۴، ۲۸۲-۲۷۹

مطالعه تاثیر برخی پروبیوتیک‌ها برروی اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ در شرایط رشد توامان در شیر

حمید میرزایی[۱]* محمد رضا نهایی[۲] افشین جوادی[۱] مهدی احمدی منش[۳]

۱) گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز - ایران.

۲) گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز - ایران.

۳) دانش آموخته دکترای دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز - ایران.

(دریافت مقاله: ۲۹ بهمن ماه ۱۳۸۶، پذیرش نهایی: ۳۱ تیرماه ۱۳۸۷)

چکیده

در دو دهه گذشته استفاده از پروبیوتیک‌ها در مهار باکتری‌های بیماری‌زا اهمیت بسیاری پیدا کرد. در این مطالعه تاثیر پروبیوتیک‌های بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی بر سرعت رشد اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ در شرایط رشد توامان در شیر مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا به داخل ۵۰۰ میلی لیتر شیر استریل $1/5\times10^8$ CFU/ml باکتری شریشیاکلی اضافه و بعد از همگن‌سازی در ۵ ارلن مایر استریل به طور مساوی توزیع شد. ارلن اول به عنوان کشت انفرادی لحاظ گردید و به ارلن‌های دوم تا پنجم به ترتیب $1/5\times10^8$ CFU/ml از باکتری‌های پروبیوتیک فوق تزریق و بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، pH و تعداد اشریشیاکلی موجود در هر میلی لیتر از آنها به ترتیب با استفاده از pH متر و کشت مخلوط در محیط ویولت رد بایل آگار (VRBA) اندازه‌گیری شد. این عملیات ۱۰ بار تکرار و میانگین pH و تعداد اشریشیاکلی موجود در هر میلی لیتر از کشت انفرادی و کشت‌های توامان با پروبیوتیک‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی مورد مقایسه قرار گرفتند. بر اساس نتایج حاصله رشد توامان هر کدام از پروبیوتیک‌ها در طول ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری بطور معنی دار رشد اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ را مهار نمود ($p<0/01$). pH نمونه شیر حاوی کشت *E.coli + L. casei* بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری از pH نمونه شیر حاوی *E.coli* بطور معنی دار کمتر بود ($p<0/01$). در مجموع نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مصرف طولانی مدت محصولات حاوی فوق الذکر می‌تواند در جلوگیری از بروز عفونت با اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ و درمان آن مفید واقع شود.

واژه‌های کلیدی: اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$، پروبیوتیک، رشد توامان، شیر.

مقدمه

پروبیوتیک (Probiotic) واژه‌ای است یونانی و به معنای «برای زندگی» می‌باشد. Fuller در سال ۱۹۸۹ پروبیوتیک‌ها را تحت عنوان «مکمل غذایی حاوی میکروب‌های زنده که از طریق تعادل میکروفلور روده اثرات مفید در بدن میزبان ایجاد می‌نماید تعریف نمود که در این تعریف اثرات مفید پروبیوتیک‌ها فقط از طریق میکروفلور روده شناخته شده است. Salminen و همکاران در سال ۱۹۹۹ پروبیوتیک‌ها را تحت عنوان «فراورده‌هایی از سلول‌های میکروبی یا اجزایی از سلول‌های میکروبی که اثر مفیدی روی سلامت و آسایش انسان دارند» تعریف نموده‌اند. براساس این تعریف پروبیوتیک‌ها محدود به میکروب‌های زنده نبوده و اشکال غیر زنده آن‌ها نیز روی سلامت انسان تاثیر می‌گذارند (۱،۱۶،۱۸).

بر اساس مطالعات متعددی که بصورت آزمایشگاهی (In vitro) و روی موجودات زنده (In vivo) اعم از جمعیت‌های انسانی و نیز حیوانات مختلف آزمایشگاهی صورت گرفته، خواص بسیار با ارزشی از قبیل مقاومت در مقابل پاتوژن‌های روده‌ای، درمان و پیشگیری اسهال‌های ویروسی و باکتریایی، اثر مهاری روی سرطان کولون، اثر پیشگیری روی سرطان مثانه، تقویت سیستم ایمنی، مهار رشد باکتری‌های روده باریک، درمان عفونت‌های مجاری ادراری - تناسلی، درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط هلیکوباکتر پیلوری (*Helicobacter pylori*)، بهبود عدم تحمل لاکتوز، کاهش کلسترول خون و ... را به پروبیوتیک‌ها نسبت داده‌اند (۱،۲،۴،۵،۱۵،۱۸).

جنس اشریشیا (Escherishia) حداقل متشکل از ۶ گونه می‌باشد که در این میان اشریشیاکلی گونه ای است که بیشترین اهمیت را دارا می‌باشد. این جنس شامل ۵ تیپ بیماریزا می‌باشد که هر کدام از این‌ها علایم بالینی خاصی را سبب می‌شوند و در سال‌های اخیر وقوع شدید کولیت خونریزی دهنده با سویه‌ای از این باکتری بنام $O_{157}:H_7$ همراه بوده است که عامل اسهال خونی و شایع ترین عامل سندرم (Haemolytic Uremic Syndrome HUS) می‌باشد (۱۹، ۹، ۷). در این مطالعه تاثیر ۴ باکتری پروبیوتیک شامل بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم (*Bifidobacterium angulatum*)، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (*Bifidobacterium bifidum*)، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (*Lactobacillus acidophilus*) و لاکتوباسیلوس کازئی (*Lactobacillus casei*) بر سرعت رشد و تکثیر اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ در محیط شیر در طول ۲۴ تا ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد (دمای بدن انسان) مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش کار

لاکتوز براث (Lactose broth)، محیط آب پپتونه (Peptone water)، محیط MRS آگار (Man-Rogosa-Sharp)، محیط آگار مغذی (Agar Nutrient)، محیط ویولت رد بایل آگار (Violet Red Bile Agar)، (ساخت کارخانه مرک) سویه‌های بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم PTCC=۱۳۶۶،

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۴۱۱-۶۳۷۳۹۳۵ نمابر: ۰۴۱۱-۶۳۷۲۲۷۴ Email: h-mirzaii@iau.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- میانگین، انحراف معیار و خطای استاندارد تعداد اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ در کشت‌های تحت مطالعه (CFU/ml). خطای استاندارد: SE، انحراف معیار: SD، میانگین: Mean، تعداد تکرار آزمایش: N. a و b: در هر ستون تفاوت بین میانگین‌های فاقد حروف مشترک معنی‌دار و تفاوت بین میانگین‌های دارای حروف مشترک غیر معنی‌دار می‌باشد.

نوع کشت	تعداد اشریشیاکلی بر $O_{157}:H_7$ برحسب CFU / ml							
	بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری				بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری			
	N	Mean	SD	SE	N	Mean	SD	SE
E. coli	۱۰	$۳۶/۹۷\times۱۰^{۶}$	$۴/۳\times۱۰^{۶a}$	$۱/۷۸\times۱۰^{۶}$	۱۰	۱۱۶×۱۰^{۸a}	$۹/۵\times۱۰^{۸}$	$۳/۸۶\times۱۰^{۸}$
E. coli +B. angulatm	۱۰	$۳۱/۴\times۱۰^{۶}$	$۳/۱\times۱۰^{۶a}$	$۱/۳\times۱۰^{۶}$	۱۰	۱۴×۱۰^{۸b}	$۱/۸\times۱۰^{۸}$	$./۸۱\times۱۰^{۸}$
E. coli +B. bifidum	۱۰	$۴۶/۷\times۱۰^{۶}$	$۴/۳\times۱۰^{۶a}$	$۱/۷\times۱۰^{۶}$	۱۰	$۵/۸۳\times۱۰^{۸b}$	$۰/۶۸\times۱۰^{۸}$	$۰/۲۸\times۱۰^{۸}$
E. coli + L. acidophilus	۱۰	$۲۱/۶۷\times۱۰^{۶}$	$۳/۲۱\times۱۰^{۶a}$	$۱/۳\times۱۰^{۶}$	۱۰	$۸/۵\times۱۰^{۸b}$	$۰/۸۷\times۱۰^{۸}$	$۰/۳۵\times۱۰^{۸}$
E. coli + L. casei	۱۰	$۷۰/۶۶\times۱۰^{۶}$	$۱۳/۳\times۱۰^{۶a}$	$۵/۴۶\times۱۰^{۶}$	۱۰	$۲/۱۷\times۱۰^{۸b}$	$۰/۳۹\times۱۰^{۸}$	$۰/۱۶\times۱۰^{۸}$

بیفیدوباکتریوم بیفیدوم PTCC=۱۶۴۴، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس PTCC=۱۶۴۳ از کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و مایه لاکتیک حاوی سویه لاکتوباسیلوس کازئی ۰۱ ساخت کارخانه Hansen CHR از کارخانه شیرپاک تهران و سویه اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه گردید.

جهت فعال سازی باکتری‌ها طبق پیشنهاد مرکز تولید کننده، سویه‌های پروبیوتیک لیوفیلیزه در ارلن مایرهای حاوی ۱۰۰ میلی لیتر آب پپتونه و سویه اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ در ارلن مایر حاوی ۱۰۰ میلی لیتر لاکتوز براث تلقیح شده و محیط‌های حاصله به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند و سپس جهت تشکیل پرگنه از محتویات ۴ ارلن حاوی پروبیوتیک‌های فعال شده در ۴ پلیت حاوی MRS آگار در شرایط بی هوازی و از محتویات ارلن حاوی باکتری اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ فعال شده در پلیت حاوی محیط آگار مغذی در شرایط هوازی بصورت سطحی (Surface plate method) کشت و به مدت ۴۸ - ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس حدود $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml از اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ در ۵۰۰ میلی لیتر از نمونه شیر استریل تلقیح شده و بعد از حدود ۱۵ دقیقه همگن سازی در ۵ ارلن مایر استریل بطور مساوی توزیع گردید. ارلن اول بعنوان کنترل بوده و به ارلن‌های دوم تا پنجم به ترتیب حدود $۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml از پروبیوتیک‌های فوق الذکر تزریق گردید و ارلن‌های حاصله به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتگراد گرمخانه گذاری و pH نمونه‌ها با دستگاه pH سنج اندازه‌گیری شد. سپس از محتویات ۵ ارلن در ۲۴ ساعت اول بعد از گرمخانه گذاری تا $۱۰^{-۷}$ و در ۲۴ ساعت دوم تا $۱۰^{-۸}$ سریال رقت تهیه گردید و از رقت‌های $۱۰^{-۵}$ تا $۱۰^{-۷}$ در ۲۴ ساعت اول و از رقت‌های $۱۰^{-۶}$ تا $۱۰^{-۸}$ در ۲۴ ساعت دوم بعد از گرمخانه گذاری در محیط VRBA به روش مخلوط (Pour plate method) کشت داده شد. و از پلیت‌های حاوی ۳۰۰-۳۰ عدد پرگنه جهت شمارش پرگنه‌ها و محاسبه تعداد اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ موجود در هر میلی لیتر از محتویات آن‌ها استفاده گردید و میانگین pH و تعداد اشریشیاکلی موجود در هر میلی لیتر از محتویات کشت‌های فوق با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way Analysis of Variance) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey) مقایسه شد و جهت محاسبه میزان اثر مهاری هر کدام از پروبیوتیک‌های فوق بر رشد اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ از فرمول زیر استفاده گردید:

درصد مهار رشد اشریشیاکلی = (تعداد اشریشیاکلی در کشت توأمان - تعداد اشریشیاکلی در کشت انفرادی / تعداد اشریشیاکلی در کشت انفرادی) ×۱۰۰

نتایج

نتایج مربوط به تاثیرهر یک از پروبیوتیک‌های مذکور برتعداد اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ و pH محیط شیر در شرایط رشد توامان در جداول ۱ و ۲ آورده شده است.

بحث

همانطور که در جدول (۱) مشاهده می‌شود میانگین تعداد سلول‌های زنده اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ در نمونه‌های شیر حاوی کشت‌های *E. coli*، *E.coli + B. angulatum*، *E.coli + B. bifidum*، *E.coli + L. acidophilus* + *E.coli* و *E.coli + L.casei* بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری به ترتیب برابر $۱۰^{۶}\times$ (۳۶/۹±۴/۳)، $۱۰^{۶}\times$ (۳۱/۴±۳/۱)، $۱۰^{۶}\times$ (۴۶/۷±۴/۳)، $۱۰^{۶}\times$ (۲۱/۶۷±۳/۲۱)، $۱۰^{۶}\times$ (۷۰/۶۶±۱۳/۳) و بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری به ترتیب برابر $۱۰^{۸}\times$ (۱۱۶±۹/۵)، $۱۰^{۸}\times$ (۱۴±۱/۸)، $۱۰^{۸}\times$ (۵/۸۳±۰/۶۸)، $۱۰^{۸}\times$ (۸/۵±۰/۸۷) و $۱۰^{۸}\times$ CFU/ml (۲/۱۷±۰/۳۹) برآورد شده است و تجزیه و تحلیل آماری این نتایج حکایت از آن دارد که رشد توامان بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی در طول مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری بطور معنی‌دار رشد اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ را مهار می‌کنند ($p<۰/۰۱$). از طرف دیگر بر اساس اطلاعات مندرج در جدول (۲) pH نمونه‌های شیر حاوی کشت‌های فوق الذکر بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری به ترتیب برابر ۵/۰۱۵±۰/۰۸۸، ۵/۰۰۶±۰/۰۸۸، ۴/۹±۰/۱۲۷، ۴/۸۹۱±۰/۱۱۹ و ۴/۸۳۸±۰/۰۳۹ و بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری به ترتیب برابر ۴/۸۷۷±۰/۰۸۸، ۴/۸۸۶±۰/۱۲۶، ۴/۵۵۲±۰/۳۰۲، ۴/۵۹۰±۰/۳۲۶ و ۴/۳۴۵±۰/۱۱۶ برآورد گردید که براساس تجزیه و تحلیل آماری این نتایج، pH

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- میانگین، انحراف معیار و خطای استاندارد pH در کشت های تحت مطالعه. خطای استاندارد: SE، انحراف معیار : SD، میانگین: Mean، تعداد تکرار آزمایش: N. a ,b ,c: در هر ستون تفاوت بین میانگین های فاقد حروف مشترک معنی دار و تفاوت بین میانگین های دارای حروف مشترک غیر معنی دار می باشد.

نوع کشت	بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری				بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری			
	N	Mean	SD	SE	N	Mean	SD	SE
E. coli	۱۰	۵/۰۱۵	۰/۰۸۸^{a}	۰/۰۳۶	۱۰	۴/۸۷۷^{a}	۰/۰۸۸	۰/۰۳۶
E. coli +B. angulatm	۱۰	۵/۰۰۶	۰/۰۸۸^{a}	۰/۰۳۹	۱۰	۴/۸۸۶^{ab}	۰/۱۲۶	۰/۰۵۶
E. coli +B. bifidum	۱۰	۴/۹۰۰	۰/۱۲۷^{a}	۰/۰۵۲	۱۰	۴/۵۵۲^{abc}	۰/۳۰۲	۰/۱۳۳
E. coli + L. acidophilus	۱۰	۴/۸۹۱	۰/۱۱۹^{a}	۰/۰۴۹	۱۰	۴/۵۹^{abc}	۰/۳۲۶	۰/۱۳۳
E. coli + L. casei	۱۰	۴/۸۳۸	۰/۰۳۹^{b}	۰/۰۱۶	۱۰	۴/۳۴۵^{c}	۰/۱۱۶	۰/۰۴۷

نمونه شیر حاوی کشت *E.coli + L.casei* بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری بطور معنی دار از pH نمونه شیر حاوی *E.coli* کمتر می باشد($p<0/01$). لذا تولید اسید و کاهش pH توسط لاکتوباسیلوس کازئی می تواند یکی از عوامل موثر براثر مهاری آن بر سرعت رشد اشریشیا کلی مطرح شود در صورتی که براساس نتایج جدول (۲) این عامل در خصوص سایر پروبیوتیک های فوق الذکر صدق نمی کند.

Lindgren و Dobrogosz در سال ۱۹۹۰، Meghrous و همکاران در سال ۱۹۹۴ و Ramboud و همکاران در سال ۱۹۹۴ فاکتورهای دیگر از جمله رقابت بر سر مواد مغذی، تغییر خاصیت اکسیداسیون و احیا محیط، تولید موادی مانند آب اکسیژنه، دی استیل، ترکیبات مهاری شبیه باکتریوسین تولید شده توسط براثر مهاری پروبیوتیک ها روی رشد باکتری های بیماریزا موثر گزارش کردند (۱۳).

Lefteris و همکاران در سال ۲۰۰۶ طی یک تحقیق آزمایشگاهی اثر مهاری چند سویه بیفیدوباکتریوم را بر روی باکتری های بیماریزای گرم منفی مورد مطالعه قرار دادند. براساس نتایج این تحقیق بیفیدوباکتریوم لانگوم BB546 در محیط با pH=۴/۵ در مدت ۱۸ ساعت تعداد سلول های زنده اشریشیا کلی *C1845* را در حدود ۲/۶۷±۰/۳۰log CFU/mL کاهش داد در صورتی که این باکتری در شرایط مشابه ولی در محیط با pH= ۶/۵ اثر معنی داری روی اشریشیا کلی C1845 از خود نشان نداد. از طرف دیگر بیفیدوباکتریوم لانگوم CA1 در محیط های با pH=۴/۵ و pH=۶/۵ در مدت ۱۸ ساعت اثرات مشابه فوق الذکر را بر روی سالمونلا آنتریکا سروتیپ تیفی موریوم SL۱۴۴۴ از خود نشان داد. بر اساس گزارش این پژوهشگران عامل اصلی اثر مهاری بیفیدوباکتریوم ها بر روی سالمونلا آنتریکا سروتیپ تیفی موریوم SL۱۴۴۴ و اشریشیا کلی C۱۸۴۵ تولید اسیدهای آلی و کاهش pH محیط کشت می باشد. آن ها تولید سایر ترکیبات ضد میکروبی را رد نکردند ولی تاکید کردند که تاثیر این مواد در مهار پاتوژن های گرم منفی ناچیز می باشد (۱۲).

Saarela در سال ۲۰۰۰ گزارش کرده است که کشت توامان لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس باعث کاهش عمر استافیلوکوکوس اورئوس، شیگلا فلکسنری، اشریشیا کلی، کلبسیلا، پنومونیا، باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروجینوزا و سویه های آنتروباکتریاسه در محیط کشت می شود. مواد ضد میکروبی باوزن مولکولی پایین ناشناخته که مستقل از تولید اسید لاکتیک هستند اثری بر روی سویه های لاکتوباسیلوس یا بیفیدوباکتریوم ندارد . فعالیت ضد میکروبی این باکتری علیه سالمونلا تیفی موریوم در موش آلوده نیز نشان داده شده است (۲۰).

Saarela همچنین گزارش نمود که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مواد غیر باکتریوسینی (ناشناخته و متفاوت با اسید لاکتیک) تولید می کند که در شرایط آزمایشگاهی به طور گسترده مانع از رشد پاتوژن های گرم مثبت و منفی مانند استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا منوسیتوژنز، سالمونلا تیفی موریوم، شیگلا فلکسنری، کلبسیلا پنومونیا، سودوموناس آئروجینوزا و آنتروباکتریاسه می شود (۲۰).

Michetti و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش کرده اند که رشد توامان سویه LA1 لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در مدت ۴۸ ساعت میزان رشد هلیکوباکتر پیلوری را در حدود ۱×۱۰^{۳} CFU/ml کاهش می دهد (۱۵).

Holzap و همکاران در سال ۲۰۰۱ مطرح کردند که هرچند سویه های پروبیوتیکی قادر به تولید باکتریوسین هستند، ولی نقش آن ها در مهار رشد عوامل بیماریزا در بدن موجود زنده محدود خواهد بود زیرا باکتریوسین های این باکتری ها فقط بر روی سویه های بسیار نزدیک اثر مهاری دارند (۸).

Bielecka و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش کردند که رشد توامان بیفیدوباکتریوم ها بسته به سویه مربوطه ۴۳/۷ تا ۱۰۰ درصد رشد سالمونلا آنتریتیدیس را مهار می کنند. آن ها ضمن مطالعه مکانیسم این اثر مهاری به این نتیجه رسیدند که شاید متابولیت هایی باوزن مولکولی پایین (پراکسیدهیدروژن، اسید لاکتیک، اسید استیک و سایر مواد معطر) و متابولیت های ثانویه اهمیت بیشتری داشته باشند زیرا دامنه عملکرد آن ها علیه باکتری های مضر (مانند سالمونلا، اشریشیا کلی، کلستریدیوم و هلیکوباکتر) گسترده می باشد (۳).

Lee و همکاران در سال ۲۰۰۳ طی تحقیقی که بصورت آزمایشگاهی انجام دادند دریافتند که لاکتوباسیلوس کازئی سویه شیروتا در رقابت با باکتری های دستگاه گوارش در حدود ۴۶ درصد مانع از اتصال به سطح سلول های Caco-2 می شوند. در این تحقیق مشخص گردید که بیشترین میزان مهار لاکتوباسیلوس کازئی سویه شیروتا (بالای ۳۰ درصد) روی اشریشیا کلی *TG1*، سالمونلا تیفی موریوم *E10*، اشریشیا کلی ATCC۱۷۷۵ و سالمونلا تیفی موریوم ATCC ۱۴۰۲۸ می باشد (۱۱).

Laura در سال ۲۰۰۳ مکانیسم های مربوط به اثر مهاری لاکتوباسیل ها و بیفیدوباکترها بر روی باکتری های بیماریزا را کاهش pH محیط روده بوسیله تولید اسیدهای چرب فرار با زنجیره کوتاه، مصرف مواد مغذی و مورد نیاز باکتریهای بیماریزا و تولید ترکیبات ضد میکروبی خاص مانند باکتریوسین ها معرفی کرده است (۱۰).

www.SID.ir

Archive of SID

Melanie و همکاران در سال ۲۰۰۴ طی یک تحقیق آزمایشگاهی اثر مهاری تعدادی از سویه‌های بیفیدوباکتریوم‌ها را بر روی اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ مورد مطالعه قراردادند و گزارش کردند که عامل مهاری آن‌ها روی اشریشیاکلی ممانعت از اتصال اشریشیاکلی به سلول‌های Caco-2 تا حد بالاتر از ۵۰ درصد می‌باشد (۱۴).

در مجموع نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که اگر سلول‌های زنده بیفیدوباکتریوم‌های آنگولاتوم و بیفیدوم و لاکتوباسیلوس‌های اسیدوفیلوس و کازئی از طریق مصرف فرآورده‌های مناسب حاوی آن‌ها در دستگاه گوارشی انسان مستقر گردند می‌توانند در پیشگیری از بروز بیماری‌های ناشی از اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ و درمان آن‌ها مفید باشند. البته انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه بخصوص در شرایط بدن موجودات زنده ضرورت دارد.

References

1. Aloja, B., Radomira, N., Dagma, M., Peterv, G. (2002) The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. Trends Food Sci. Tech. 13: 121- 126.
2. Aso, Y., Akaza, H., BLP study group. (1992) prophylactic effects of *Lactobacillus casei* preparation on the recurrence of superficial bladder cancer. Urol. Int. 49: 1125- 1129.
3. Bielecka, M., Biedrzycka, E., Biedrzycka, E., Smoragiewicz, W., Smieszek, M. (1998) Interaction of Bifidobacterium and salmonella during associated growth. Int. J. Food Microbiol. 45:151-155.
4. Chapman, M. H., Sanderson, I.R. (2003) Intestinal flora and the mucosal immune system. Ann. Inst. Pasteur. Mic. 61: 55- 65.
5. Coconniier, M. H., Lirvin, V., Hemery, E., Servin, A. L. (1998) Antagonistic activity against Helicobacter infection in vitro and in vivo by the human *Lactobacillus acidophilus* strain. Appl. Environ. Microbiol. 64: 4573-4580.
6. Gruewald, K. K. (1982) Serum cholesterol levels in rats fed skim fermented by lactobacillus. J. Food Sci. 47: 2078-2079.
7. Hassani-Tabatabayi, A., Firouzi, R. (2001) Disease of animals due to bacteria. (3rd ed.) Tehran University Press. Tehran, Iran.
8. Holzapfel, WH., Haberer, P., Geisen, R., Bjorokroth, J., Schillinger, U. (2001) Taxonomy and importance features of probiotic microorganisms in food nutrition. Am. J. Clin. Nutr. 73: 365 - 373.
9. James, M.J. (1998) Modern Food Microbiology. Translated in persian (Mortazavi Ali and et al.) (1rd ed.) Vol.2. Ferdowsi University Press. Mashad, Iran.
10. Laura, J. (2003) Mixed culture fermentation studies on the effects of symbiotics on the human intestinal pathogens *Campylobacter jejuni* and *Escherichia coli*. Food Microbiol. 9: 231-242.
11. Lee, Y. K., Puong, K.Y., Ouwehand, A., Salminen, S. (2003) Displacement of bacterial pathogens from mucus on Caco- 2 cell surface by lactobacilli. J. Med. Microbiol. 52: 925-930.
12. Lefteris, M., Luc, D.V. (2006) The in vivo inhibition Gram negative pathogenic bacteria by bifidobacteria is caused by the production of organic acid. Int. Dairy. J. 16: 1049-1057.
13. Lindgren, S., Dobrogosz, W. J. (1990) Antagonistic Activities of lactic acid bacteria in food and fermentation. FEMS Microbiol. Lett. 87: 149-164.
14. Melanie, G., Ehab, E.K., Gwenaelle, L.B. and Ismail, F. (2004) In vitro inhibition of *Escherichia coli*. $O_{157}:H_7$ by bifidobacterial strains of human origin. Int. J. Food Microbiol.92 : 69 - 78.
15. Michetti, P., Dorta, G., Wiesel, P.H., Brassart, D., *et al.* (1999) Effect of whey-based culture supernatant of *Lactobacillus acidophilus* (johnsoni) La_1 on *Helicobacter pylori* infection in humans. Digestion. 60: 203 - 209.
16. Mirzaei, H. (2004) Probiotics and Introduction to their Role in Human Health. (3rd ed.) Islamic Azad University Press. Tabriz, Iran.
17. Ong, L., Herikson, A., Shah, N. (2006) Development of probiotic cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasci* and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. Int. Dairy. J. 16: 446- 456.
18. Ouwehand, A.C Salminens, S., Isolavri, E. (2002) probiotics: an overview of beneficial effects.A.Van. Leeuv. J. Microb. 82: 279 - 289.
19. Razavilar, V. (2002) Pathogenic Microorganisms in Food and Epidemiology of Foodborne Intoxications. (2rd ed.) Tehran University Press. Tehran,Iran.
20. Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Matto, J., Mattila - Sandholm, T. (2000) Probiotic bacteria safety, functional and technological Properties. J. Biotechnol. 84: 197-515.

www.SID.ir

Archive of SID
J. Vet. Res. 64, 4:279-282, 2009

EFFECT OF SOME PROBIOTICS ON *ESCHERICHIA COLI* O_{157}:H_7 DURING ASSOCIATED GROWTH IN MILK

Mirzaei, H.[1]*, Nahaei, M. R.[2], Javadi, A.[1], Ahmadi-Manesh, M.[3]

[1]*Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz-Iran.*

[2]*Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz-Iran.*

[3]*Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz-Iran.*

(Received 18 February 2007 , Accepted 22 July 2008)

Abstract:

In the past two decade, the application of probiotics to the inhibition of pathogenic or microorganisms has recieved much interest. The aim of the present was to study the effect of *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus* casei on *Escherichia coli* O_{157}:H_7 was evaluated during associated growth in milk. At first a quantity of 1. 5×10^8 *E. coli* O_{157}:H_7 was inoculated to 500 ml of sterilized milk, homogenized and distributed equally in five erlene meyers. The first erlene meyer was considered as the control one and into the second, third, fourth and fifth a quantity of 1. 5×10^8 of the above probiotics were inoculated, respectively. after 24 and 48 hours of incubation at 37 °C, pH and the number of *E. coli* per ml of them were determined using pH meter and pour plate method in VRBA medium. This procedure was repeated 10 times and the mean of pH and number of *E. coli* per ml of the Control and probiotic treatments was compared by one way ANOVA Results showed that associated growth of mentioned probiotics significantly ($p<0.01$) inhibited the growth rate of *E. coli* O_{157}:H_7 during 48 hours incubation. The pH of sample containing *E. coli + L. Casei* was lower than the control after 48 hours incubation ($p<0.01$). It can be concluded that the consumption of products containing mentioned probiotics could have beneficial effects on prevention and treatment of *E. coli* O_{157}:H_7 contamination.

Key words: *E. coli* O_{157}:H_7, probiotics, associated growth, milk.

***Corresponding author's email: h-mirzaii@iau.ac.ir, Tel: 0411-6373935, Fax: 0411-6372274**

www.SID.ir