Archive OF SID

مجله علمی – پژوهشی دانشگاه اصفهان (علوم پایه)
جلد سی و پنجم، شماره ٦، سال ١٣٨٧
صص ٣٦-٢٧

بررسی اثر اسید سیتریک و پروبیوتیک بر میکروفلور دستگاه گوارش زنبور عسل

ماندانا لک*، روحا کسری کرمانشاهی* و عباسعلی قیصری**

* دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

* دانشگاه آزاد واحد خوراسگان، دانشکده دامپروری

چکیده

برای درمان بیماری های زنبور عسل از آنتی بیوتیک ها استفاده می شود. استفاده از آنتی بیوتیکها میکرو ارگانیسم‌های مفید را از بین برده، تعادل میکروفلور دستگاه گوارش زنبور عسل را بر هم می زند . مشکل دیگر در استفاده از آنتی بیوتیک ها در تولید محصولات غذایی، ایجاد باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک است. برای حل این مشکل سازمان های متعددی استفاده از آنتی بیوتیک ها را در تولیدات محصولات غذایی محدود کرده، از افزودنی های مجاز برای این امر استفاده می کنند. از میان آنها می توان به پروبیوتیک ها و اسید سیتریک اشاره کرد که هم خاصیت ضد باکتریایی دارند و هم در تغذیه زنبور عسل استفاده می شوند.

پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های زنده ای هستند که وقتی توسط میزبان مصرف می شوند در سلامتی میزبان دارای تأثیرات مفیدی از طریق برقراری تعادل در میکروفلور روده‌ای هستند. پروبیوتیک شامل لاکتوباسیلوس ها، بیفیدوباکترها و مخمرها هستند. هدف از این مطالعه بررسی کاربرد مخمر ساکارومایسس سرویزیه به عنـــوان یک ارگانیسم پروبیوتیکی و اسید سیتریک به عنوان اسیدی کننده دستگاه گوارش برای محدودیت در رشد باکتری های بیماریزای دستگاه گوارش است. در این تحقیق، باکتری های موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل جداسازی و شناسایی شدند. سپس تأثیر اسید سیتریک و پروبیوتیک بر این باکتری‌ها، بررسی گردید.

مشاهده شد که اسید سیتریک بر روی باکتری های جدا شده از دستگاه گوارش زنبور عسل مؤثر بوده، میزان MIC برای هر یک از باکتری ها به دست آمد و مخمر ساکارومایسس سرویزیه باعث کاهش تعداد باکتری های موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل می شود.

واژه‌های کلیدی: میکروفلور دستگاه گوارش زنبور عسل، اسید سیتریک، پروبیوتیک

www.SID.ir

Archive OF SID

مقدمه:

میکروفلور طبیعی دستگاه گوارش زنبورعسل، شامل میکروارگانیسم‌های مختلف است. حضور جمعیت کثیری از این میکروارگانیسم‌ها به دلایل زیر برای میزبان ضروری است:

کمک به فرایند هضم مواد غذایی؛

کمک به سنتز و جذب ویتامین‌ها و مواد معدنی؛

تجزیه پلی ساکاریدها؛

تحریک سیستم ایمنی؛

جمعیت میکروفلور طبیعی روده تحت تأثیر عوامل مختلف، نظیر: تغییرات جیره غذایی، استفاده از آنتی بیوتیک‌ها برای درمان، تراکم بالای افراد گله، دستخوش تغییراتی می گردد. از آنجایی که امروزه در صنعت پرورش زنبور و دام و طیور، به منظور دستیابی به سطوح بالای اقتصادی، زنبور و دام و طیور در سیستم‌های پرورشی متراکم با جمعیت‌های زیاد پرورش و نگهداری می‌شوند، به همین جهت، تحت تأثیر عوامل گوناگون در معرض تنش قرار می‌گیرند. همان گونه که اشاره گردید، این عوامل به اختلال در تعادل میکروفلور روده و در نتیجه تضعیف مکانیسم‌های دفاعی بدن منجر می‌گردد و بدین ترتیب، اجرام بیماریزا فرصت فعالیت پیدا می‌کنند (Kasahara *et al* 2006).

در چنین شرایطی به منظور مهار یا حذف اجرام زیان آور موجود در روده و همچنین بهبود بازده غذایی و افزایش تولید، از افزودنی‌های غذایی ضد میکروبی مانند آنتی بیوتیک ها استفاده می شود. بررسی‌ها نشان می‌دهد که مصرف مستمر و طولانی مدت مقادیر تحت درمانی این ترکیبات ممکن است به حضور بقایای آنها در فراورده‌های غذایی منجر گردیده، پس از مدتی موجب به وجود آمدن میکروارگانیسم‌های مقاوم به داروها در انسان گردد. بر اساس گزارش‌های موجود، افزایش روز افزون ناهنجاری‌های مادر زادی، وقوع بیماری‌های مزمن، عدم تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها، به مصرف بی‌رویه این ترکیبات نسبت داده می‌شود. با توجه به موارد فوق، در حال حاضر استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در خوراک حیوانات در برخی کشورها به طور کامل ممنوع شده و در سایر کشورها نیز بتدریج رو به کاهش نهاده است (Parker 2001).

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان و پیشگیری از بیماری‌های زنبور عسل، نه تنها باعث ایجاد مقاومت دارویی در بدن می‌شود، بلکه سبب به هم خوردن فلور نرمال مفید دستگاه گوارش شده، بدن را مستعد انواع بیماری‌ها می‌کند. در مقابل، با استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان میکرو ارگانیسم هایی که در محیط زنده با عامل میکروبی پاتوژن مقابله می‌کنند، می‌توان از طریق خوراکی فرد را در برابر عامل بیماریزا مصون کرد.

این عوامل میکروارگانیسم‌های زنده هستند که به صورت سلول‌های خشک شده و یا به همراه محصولات تخمیری مصرف می‌شوند و مصرف این عوامل درقسمت‌های مختلف بدن از جمله دهان، دستگاه گوارش، دستگاه ادراری، تناسلی و دستگاه تنفسی فوقانی نقش مهمی در بازدارندگی از عفونت دارند. از این عوامل می‌توان هم در درمان و هم در پیشگیری از بیماری‌های عفونی استفاده کرد. این عوامل شامل انواع لاکتوباسیلوس‌ها، ساکارمیسس، بیفیدوباکتریم، انتروکوکوس و کلستریدیوم‌ها و مخمر ساکارومایسس هستند که با مکانیسم‌های متعددی، از جمله تولید مواد ضد میکروبی، تولید مواد و اسیدهای آلی، فعال نمودن سیستم ایمنی بدن،

www.SID.ir

Archive OF SID

رقابت بر سر مواد غذایی با عامل پاتوژن و اشغال گیرنده سلول میزبان باعث مهار رشد و تکثیر عوامل بیماریزا در آن محل از بدن می‌شوند. حسن استفاده از این عوامل، ارزانی، فراوانی، خطر کم کاربرد و در بعضی موارد تحریک سریع سیستم ایمنی میزبان است (Kopp ,2001).

اهمیت پروبیوتیک‌ها ابتدا به عنوان فاکتور تحریک کننده رشد در نظر گرفته شد و بعدها توسط فولر به عنوان یک نوع تغذیه میکروبی زنده که دارای تأثیرات مفیدی در میزبان است، مطرح گردید (Parker 2001).

نتایج تحقیقات متعدد نشان می دهد که از عوامل اسیدی کننده دستگاه گوارش نیز می توان به عنوان جایگزینی برای مواد ضد میکروبی استفاده نمود (بخصوص در زمان محدودیت در استفاده از مواد ضد میکروبی)
(Bearson *et al*.1997,Cherringon *et al*. 1991)

استفاده از عوامل اسیدی کننده دستگاه گوارش کمک بزرگی در نگهداری تعادل میکروبی دستگاه گوارش می‌کند. اسیدی کننده های دستگاه گوارش با کاهش pH خوراک، دستگاه گوارش و سیتوپلاسم میکروبی باعث محدودیت در رشد باکتری‌های بیماریزای دستگاه گوارش و در نتیجه، افزایش رشد و بازدهی غذایی در دام و طیور می شوند (Cherringon *et al*. 1991).

طرز کار و مطالعه:

جداسازی باکتری های موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل:

نمونه برداری:

برای جداسازی باکتری های موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل از یکی از زنبورداری های شهر اصفهان، زنبور عسل تهیه شد. سپس برای بی حس کردن زنبورها از دمای ٤ درجه سانتیگراد در یخچال استفاده شد.

جداسازی:

۱- پس از بیرون کشیدن روده زنبور عسل و جدا کردن نیش آن، روده ها در ظرف شیشه ای درب دار ریخته شد تا وزن آن به یک گرم برسد. سپس محلول رینگر استریل به میزان ۹ میلی لیتر به آن اضافه شد تا مخلوط همگنی حاصل شود. سپس از آن سری رقت تهیه شد؛ مثلاً برای تهیه رقت 10^{-2} یک میلی لیتر از رقت تهیه شده (10^{-1}) به ۹ میلی لیتر محلول رینگر اضافه و مخلوط شد.

۲- از رقت های مختلف بر روی پلیت‌های نوترینت آگار یک میلی لیتر روی سطح پلیت ریخته شد و به آرامی با میله شیشه‌ای سر کج در سطح پلیت پخش شد. سپس پلیت ها به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد.

شناسایی باکتری های جداسازی شده:

پس از خالص سازی باکتری های جداسازی شده به صورت استریک پلیت متد بر روی پلیت های نوترینت آگار، آزمایش بیوشیمیایی، شامل: رنگ آمیزی گرم، بررسی واکنش اکسیداز، بررسی واکنش کاتالاز، بررسی حرکت، بررسی تولید SH_2، بررسی تولید اندول، بررسی تخمیر هیدرات های کربن، بررسی تجزیه اوره، بررسی مصرف سیترات ، بررسی آزمایش وژپرسکوئر، بررسی رشد در محیط TSI روی این باکتری ها انجام شد و با توجه به جداول مربوطه، شناسایی باکتری‌ها انجام شد.

www.SID.ir

Archive OF SID

بررسی اثر اسید سیتریک بر باکتری های جدا سازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل:

تهیه محلول ذخیره اسید سیتریک ۳ ٪:

۳ گرم از پودر اسید سیتریک در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. سپس با استفاده از فیلتر ٤٥/۰ میکرومتری استریل شد و در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری گردید و جهت تهیه رقت از آب مقطر استریل استفاده شد.

تهیه محلول ذخیره پروبیوتیک تجاری ساکارومایسس سرویزیه:

۱ گرم از پودر پروبیوتیک در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل حل شد و جهت تهیه رقت از آب مقطر استریل استفاده گردید.

بررسی اثر ضد میکروبی پروبیوتیک تجاری ساکارومایسس سرویزیه بر باکتری‌های جدا سازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل به روش چاهک پلیت:

محیط کشت مولر هینتون آماده شده در پلیت به وسیله باکتری که کدورت آن به میزان کدورت نیم مک فارلند ($۱/۵\times۱۰^{۸}$ CFU/ml) است، به وسیله سواپ استریل به صورت چمنی کشت داده شد. آنگاه در آن چاهک هایی به قطر ٦ میلی متر ایجاد شد. سپس یک قطره از محیط کشت مولر هینتون آگار مذاب که در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد است به درون چاهک ریخته تا ته آن ببندد. آنگاه از ماده مورد نظر استریل به میزان ۱۰۰ میکرولیتر در چاهک ریخته و از آب مقطر استریل به عنوان شاهد منفی استفاده شد. برای جلوگیری از ریخته شدن قطرات آب از در پلیت به داخل آن از کاغذ صافی استریل استفاده شد. پلیت‌ها یک ساعت در دمای ٤ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا مواد موجود در چاهک جذب آگار شود. سپس در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲٤ ساعت انکوبه شد و قطر هاله عدم رشد برای تعیین حساسیت یا مقاومت باکتری به ماده مورد نظر تعیین شد. در این آزمایش از آب مقطر استریل به عنوان شاهد منفی استفاده شد.

تعیین میزان MIC پروبیوتیک تجاری ساکارومایسس سرویزیه و اسید سیتریک بر باکتری های جدا سازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل:

با استفاده از پلیت میکرو تیتر ۹٦ خانه ای غلظت‌های مختلف مواد موثر در مجاورت باکتری قرار داده شد و رشد باکتری در آن بررسی گردید؛ به این ترتیب که در یک ردیف ۱۲ تایی در چاهک شماره ۱ میزان ۷۰ میکرولیتر محیط کشت TSB، ۷۰ میکرولیتر باکتری مورد نظر و ۷۰ میکرولیتر حلال ماده مورد نظر ریخته شد. این چاهک به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. در چاهک بعدی ۷۰ میکرولیتر باکتری مورد نظر، ۷۰ میکرولیتر محیط کشت TSB و ۷۰ میکرولیتر از کمترین رقت ماده موثره ریخته شد. در چاهک های بعدی به همین ترتیب رقت های بالاتر ماده مورد نظر ریخته شد. برای هر رقت، یک تکرار در نظر گرفته شد. در چاهک شماره ۱۲، ۷۰ میکرولیتر محیط کشت TSB، ۷۰ میکرولیتر ماده مورد نظر و ۷۰ میکرولیتر حلال ماده مورد نظر ریخته شد. این چاهک به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد.

به علت حجم کم مواد مورد استفاده، پس از بستن درب میکروپلیت ها دور آن با پارافیلم بسته شده، به مدت ۱۰ دقیقه روی شیکر با دور پایین قرار داده می‌شود. سپس ۲٤-۱٦ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. آنگاه جذب نوری چاهک ها

www.SID.ir

Archive OF SID

در طول موج ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه خواننده الایزا[1] خوانده شد و رشد یا عدم رشد در آنها بررسی گردید. هر آزمایش دو بار تکرار شد.

تعیین میزان MBC اسید سیتریک بر باکتری‌های جدا سازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل:

پس از تعیین حداقل غلظتی از ماده مورد نظر که برای باکتری مهار کننده است، برای تعیین حداقل غلظت کشندگی، ماده مورد نظر از چاهک های شفافی که رشد در آن‌ها مهار شده بود به کمک سر سمپلر استریل بر روی محیط کشت جامد مولر هینتون آگار کشت داده شد و پلیت‌ها ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. کمترین غلظت ماده مؤثر که در آن غلظت هیچ باکتریی زنده نمانده باشد، بیان کننده میزان MBC آن ماده است.

نتایج حاصله:

برای جدا سازی باکتری‌های دستگاه گوارش زنبور عسل، از روده زنبور عسل استفاده شد. برای جدا سازی باکتری‌های هوازی دستگاه گوارش، از محیط کشت نوترینت آگار و شرایط هوازی و روش تهیه رقت و کشت چمنی استفاده شد.

باکتری‌های هوازی، شامل: باسیلوس سابتیلیس[2]، باسیلوس سرئوس[3]، باسیلوس فیرموس[4]، اشیریشیا کلی[5]، کلبسیلا پنومونیه[6]، انتروباکتر آئروژن[7]، آسینتوباکتر[8]، برانهاملا کاتارهالیس[9]، استافیلوکوکوس اورئوس[10]، استرپتوکوکوس[11]، میکروکوکوس لوتئوس[12] بود.

برای جدا سازی لاکتوباسیلوس های موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل از محیط کشت های MRS آگار، MY40، M16 و یوگن آگار و روش تهیه رقت و کشت چمنی و شرایط بی هوازی استفاده شد.

لاکتوباسیلوس ها: شامل لاکتوباسیلوس جانسونی[13]، لاکتوباسیلوس کازئی[14] بود.

برای تایید صحت شناسایی لاکتوباسیلوس های موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل، از کیت شناسایی RapID^{TM} ANA II استفاده شد. نتایج به دست آمده با نتایج آزمایش‌های بیوشیمیایی یکسان بود.

تعیین میزان MIC و MBC اسید سیتریک بر باکتری های جدا سازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل:

نتایج مربوط به تعیین میزان **MIC** اسید سیتریک بر باکتری های جدا سازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل در جدول (۳-۵) و (۳-۶) آمده است.

1. ELISA reader mashine
2. Bacillus subtilis
3. Bacillus cereus
4. Bacillus firmus
5. Escherichia coli
6. Klebsiella pneumoniae
7. Enterobacter aerogenes
8. Acinetobacter
9. Branhamella catarrhalis
10. Staphylococcus aureus
11. Streptococcus
12. Micrococcus luteus
13. Lactobacillus johnsonii
14. Lactobacillus casei

www.SID.ir

Archive OF SID

جدول ٦: میزان MBC و MIC اسید سیتریک بر باکتری‌های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل

نام باکتری	حداقل میزان مهار کنندگی(MIC) بر حسب g/ml	حداقل میزان کشندگی(MBC) بر حسب g/ml
باسیلوس سابتیلیس	۰/۸٤	۰/۸٤
باسیلوس سرئوس	۰/۷۸	۰/۷۸
باسیلوس فیرموس	۰/۷۸	۰/۷۸
استافیلوکوکوس اورئوس	۰/۸٤	۰/۸٤
اشیریشیا کلی	۰/۷۵	۰/۷۵
کلبسیلا پنومونیه	۰/۷۵	۰/۷۵
انتروباکتر آئروژن	۰/۸٤	۰/۸٤
برانهاملا کاتارهالیس	۰/۹	۰/۹
آسینتوباکتر	۰/۷۸	۰/۷۸

بررسی اثر ضد میکروبی پروبیوتیک تجاری بر باکتری‌های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل:

برای بررسی اثر ضد میکروبی پروبیوتیک تجاری از روش چاهک پلیت استفاده شد. از آنجایی که هاله عدم رشد برای هیچ یک از باکتری های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل دیده نشد، در نتیجه، پروبیوتیک تجاری مصرفی در تغذیه زنبور عسل، در شرایط آزمایشگاه تأثیری بر این باکتری ها ندارد. نتایج در شکل ۲ آمده است.

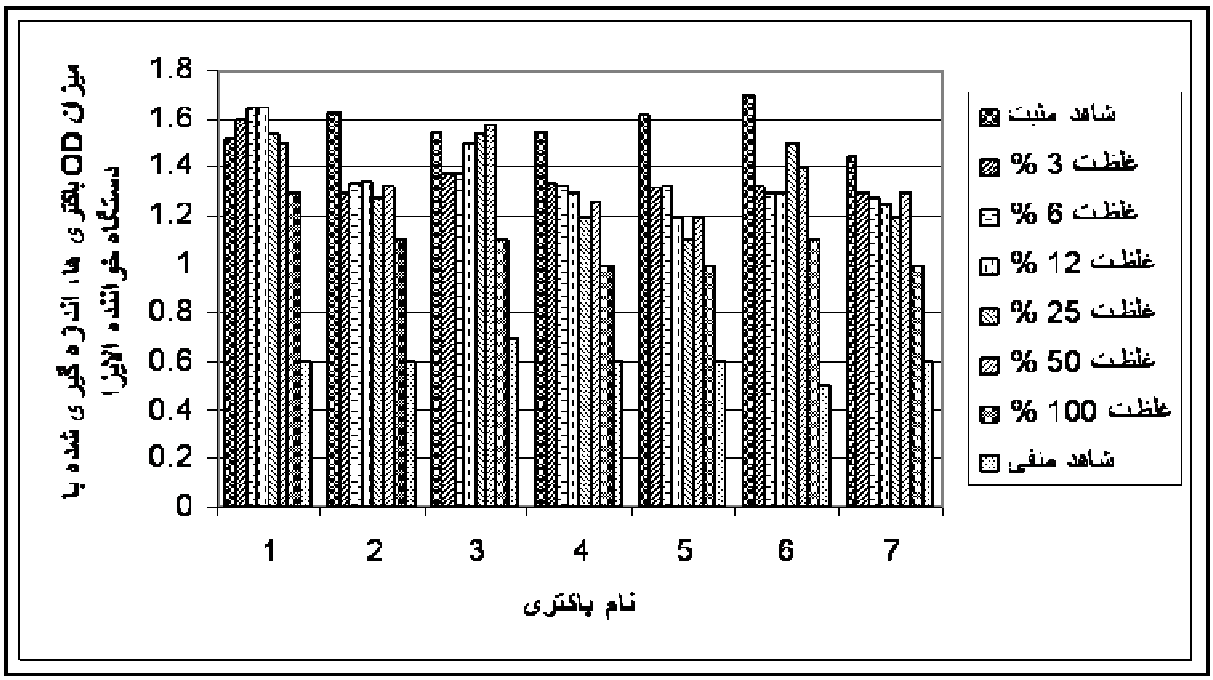
شکل ۲: اثر ضد میکروبی پروبیوتیک تجاری ساکارومایسس سرویزیه

www.SID.ir

Archive OF SID

بررسی اثر پروبیوتیک تجاری *ساکارومایسس سرویزیه* بر تعداد باکتری‌های جدا سازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل:

از آنجایی که پروبیوتیک تجاری *ساکارومایسس سرویزیه* فاقد اثر ضد باکتریایی بود، اثر آن بر تعداد باکتری‌ها با استفاده از میکرو تیتر پلیت بررسی گردید. آنگاه جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه خواننده الایزا، خوانده شد. نتایج آن در شکل ۳ آمده است.



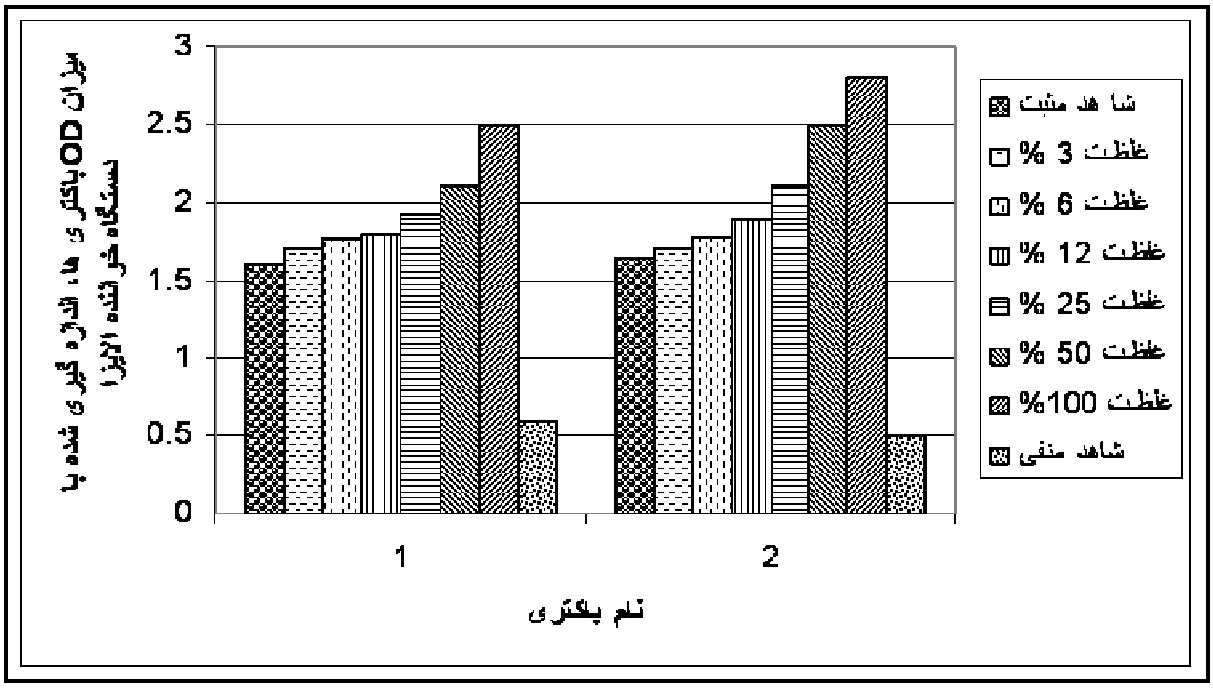
شکل ۳: نمودار اثر پروبیوتیک تجاری ساکارومایسس سرویزیه بر تعداد باکتری‌های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل: ۱- انتروباکتر آئروژن؛ ۲- باسیلوس سابتیلیس؛ ۳- کلبسیلا پنومونیه؛ ٤- برانهاملا کاتارهالیس؛ ٥- اشرشیا کلی؛ ٦- استافیلوکوکوس اورئوس؛ ۷- آسینتوباکتر

بررسی اثر پروبیوتیک تجاری ساکارومایسس سرویزیه بر تعداد *لاکتوباسیلوس*های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل:

از آنجایی که پروبیوتیک تجاری ساکارومایسس سرویزیه فاقد اثر ضد باکتریایی بود، اثر آن بر تعداد باکتری‌ها با استفاده از میکرو تیتر پلیت بررسی گردید. سپس جذب نوری چاهک‌هادر طول موج ٦٣٠ نانومتر با استفاده از دستگاه خواننده الایزا، خوانده شد. نتایج آن در شکل ٤ آمده است.

www.SID.ir

Archive OF SID



شکل ٤: نمودار اثر پروبیوتیک تجاری ساکارومایسس سرویزیه بر تعداد لاکتوباسیلوس‌های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل:۱- لاکتوباسیلوس کازئی؛ ۲- لاکتوباسیلوس جانسونی.

بحث و نتیجه‌گیری:

جمعیت میکروفلور طبیعی روده زنبور عسل تحت تأثیر عوامل مختلف، نظیر: تغییرات جیره غذایی، استفاده از آنتی بیوتیک‌ها برای درمان و تراکم بالای افراد گله دستخوش تغییراتی می‌گردد. همان گونه که اشاره گردید، این عوامل به اختلال در تعادل میکروفلور روده و در نتیجه تضعیف مکانیسم های دفاعی بدن منجر می گردد و بدین ترتیب اجرام بیماریزا فرصت فعالیت پیدا می کنند. در چنین شرایطی به منظور مهار یا حذف اجرام زیان آور موجود در روده و همچنین بهبود بازده غذایی و افزایش تولید، از افزودنی های غذایی ضد میکروبی مانند آنتی بیوتیک‌ها استفاده می‌شود. بررسی‌ها نشان می دهد که مصرف مستمر و طولانی مدت مقادیر تحت درمانی این ترکیبات ممکن است به حضور بقایای آنها در فراورده‌های غذایی منجر گردیده، پس از مدتی موجب به وجود آمدن میکروارگانیسمهای مقاوم به داروها در انسان گردد.

در همین راستا، از افزودنی های مجاز خوراکی مانند اسیدهای آلی و پروبیوتیک ها که بتواند این مشکل را ساده‌تر کند همراه با حذف آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه استفاده می شود (Guarner, 1998 ;Kopp *et al*.2001).

اسیدی کننده های دستگاه گوارش با کاهش pH خوراک، دستگاه گوارش و سیتوپلاسم میکروبی باعث محدودیت در رشد باکتری های بیماریزای دستگاه گوارش و در نتیجه افزایش رشد و بازدهی غذایی در دام و طیور می شوند.

آزمایش های انجام شده در این تحقیق نشان می‌دهد که اسیدسیتریک بر روی باکتری‌های جدا - سازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل مؤثر است و میزان MIC برای هر یک از باکتری ها به دست

www.SID.ir

Archive OF SID

آمد، که بیشترین مقدار متعلق به باکتری برانهاملا کاتارهالیس و کمترین مقدار متعلق به اشیریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه بود. این نتایج با نتایج کرمانشاهی و نصر (۱۳۸٤) مطابقت دارد. (نصر، کرمانشاهی ۱۳۸٤).

از آنجایی که لاکتوباسیلوس ها، نسبت به pH بی تفاوت هستند، توانایی تحمل کردن ناگهانی و تفاوت زیاد بین pH داخلی و خارجی را دارند. احتمالاً به دلیل نوع دیواره سلولی، عوامل فوق توانایی خروج را دارند و تعادل برقرار می شود. آزمایش‌های انجام شده در این تحقیق نشان می دهد که اسید سیتریک بر روی لاکتوباسیلوس های جدا سازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل اثری ندارد. این نتایج، با نتایج ریزلی و همکاران ۱۹۹۱ مطابقت دارد.
(Risley *et al*,1991, Risley *et al*,1992, Risley *et al*, 1993)

یکی از نتایج با ارزش این تحقیق این مسأله است که اسید سیتریک بر باکتری‌های پاتوژن دستگاه گوارش زنبور عسل مؤثر بوده، باعث محدودیت در رشد آنها می‌شود، ولی بر باکتری‌های مفید موجود در دستگاه گوارش زنبور عسل، مانند لاکتوباسیلوس ها اثری ندارد. در نتیجه، می توان از اسید سیتریک برای از بین بردن باکتری های پاتوژن استفاده کرد، بدون آنکه تاثیری بر باکتری های مفید داشته باشد.

در این تحقیق برای اولین بار اثر ضد میکروبی پروبیوتیک تجاری ساکارومایسس سرویزیه بر باکتری‌های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل بررسی گردید. با توجه به اینکه هاله عدم رشد مشاهده نشد و در تمام چاهک های میکروتیتر پلیت باکتری ها رشد کرده بود، این نتیجه حاصل شد که پروبیوتیک تجاری ساکارومایسس سرویزیه در غلظت های تهیه شده فاقد اثر ضد میکروبی کامل بر باکتری‌های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل است.

با توجه به این مساله، اثر پروبیوتیک تجاری ساکارومایسس سرویزیه بر تعداد باکتری‌های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل بررسی گردید. نتایج به‌دست آمده نشان می دهد که پروبیوتیک تجاری ساکارومایسس سرویزیه در تمامی غلظت‌های تهیه شده باعث کاهش تعداد باکتری‌های باسیلوس سابتیلیس و اشیریشیا کلی می شود ولی در بالاترین غلظت باعث کاهش تعداد تمامی باکتری‌های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل و افزایش تعداد لاکتو باسیلوس‌های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل می شود. در بالاترین غلظت، افزایش تعداد لاکتو باسیلوس ها بیشتر مشاهده شد.

علت اینکه پروبیوتیک تجاری ساکارومایسس سرویزیه باعث افزایش تعداد لاکتو باسیلوس های جداسازی شده از دستگاه گوارش زنبور عسل می‌شود، به صورت زیر توضیح داده می شود:

تجمع یافتن بیش از اندازه اسید لاکتیک در محیط باعث مهار رشد لاکتو باسیلوس ها می شود. مخمر ساکارومایسس سرویزیه اسید لاکتیک موجود در محیط را جذب کرده، از آن به عنوان منبع کربن استفاده می‌کند و باعث کاهش غلظت آن می‌شود. در نتیجه، باعث افزایش رشد لاکتوباسیلوس ها می شود. تجمع یافتن بیش از اندازه پر اکسید هیدروژن مهار کننده رشد باکتری های اسید لاکتیک است. مخمر ساکارومایسس سرویزیه باعث حذف پر اکسید هیدروژن می شود (Ammor *et al*, 2006).

www.SID.ir

Archive OF SID

منابع:

نصر آزادانی. آ. ۱۳۸٤، **بررسی مقاومت باکتری‌ها در برابر برخی از مواد محافظ بیولوژیکی و شیمیایی در مواد غذایی**، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه اصفهان.

Ammor, S. Tauveron, G. Dufour,E. Chevallier, I. 2006. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility Screening and characterization of the antibacterial compounds. Food Control 17 454–461

Bearson, S. Bearson, B. & Foster, J. 1997. Acid stress responses in enterobacteria. FEMS Microbiol. Letters. 147: 173-180.

Cardenas, I. Ledesma, O and Guillermo, O. 2005. Effect of lactic acid on diacetyl and acetoin production by*Lactobacillus casei* subsp.*rhamnosus* ATCC 7469. Journal current Microbiology, pagws 391-394.

Cherringon, C. Hinton, M. Mead, G. & Chopra, I. 1991. Organic acids: Chemistry, Antibacterial activity and practical applications.

Guarner, F. Schaafsma, GJ. 1998. Probiotics. Int J Food Microbiol; 39: 237-8. (2): 361S-64S

Jeyaprakash, A. Hoy, M. A and Allsopp, M. H .2003. Bacterial diversity in worker adults of *Apis mellifera capensis* and *Apis mellifera scutellata* (Insecta: Hymenoptera) assessed using 16S rRNA sequences; *J. Invertebr. Pathol.* 84 96–103

Kasahara. R, Nakamura.J, Koizumi.J, Mitsui. A, Sasaki. M. 2006. Age-dependent Changes in intestinal microflora of honeybee.

Kopp-Hoolihan, L. 2001. Prophylactic and therapeutic role of probiotics. A review. J Am Diet Assoc 2001; 101 (2): 229-41.

Parker, R. 2001. Probiotics, the other half of the antibiotic story. Anim Nutr Health 1974; 29: 4-8

Risley, C. R., Kornegay, E. T,. Lindemman, M. D & Weakland, S. M. (1991) Effects of organic acid with and without a microbial culture on performance and gastrointestinal tract measurements of weanling pigs. Animal Feed Science and Technology, 35: 259 -270.

Risley, C. R., Kornegay, E. Lindemman, M. Wood, C. (1992). Effect of feeding organic acids on selected intestinal content measurements at varying times postweaning in pigs. Journal of Animal Science 70: 196-206.

Risley, C. R., Kornegay, E. Lindemman, M. Wood, C. M. (1993). Effect of feeding organic acids on gastrointestinal digesta measurements at various times post weaning in pigs challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli*. Canadian Journal.

Sherwood LG. Lactic acid bacteria and human health. Ann Med, 22(1): 37-41, 1990.

www.SID.ir