مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۷، شماره ۵/ آذر و دی ۱۳۹۴/ ۱۰۹-۱۰۱

مقاله پژوهشی

فعالیت ضد میکروبی سویه‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری* بر *اسینتوباکتر بومانی* جدا شده از عفونت های بیمارستانی

محمد مهدی سلطان دلال[۲،۱]، هایده مبین[۳]، سعیده میرک[۴*]

[۱]گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛ [۲]مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛ [۳]گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران؛ [۴]گروه میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۲۳

چکیده:

زمینه و هدف: **امروزه استفاده از مواد مترشحه از باکتری‌های پروبیوتیک به عنوان مهارکننده و ضد باکتری مورد توجه قرارگرفته است. این مطالعه به منظور تعیین فعالیت ضد میکروبی *لاکتوباسیلوس روتری* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نسبت به *اسینتوباکتر بومانی* جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی بوده است.**

روش بررسی: **در این بررسی تجربی اسینتو باکتر از ۱۰۰ بیماران بستری در بیمارستان میلاد، مسیح دانشوری و مفید شهر تهران جدا و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن ها به همراه دو سویه استاندارد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری* بررسی شد؛ سپس از محلول رویی کشت ۴۸ ساعته دو سویه لاکتوباسیل برای بررسی فعالیت مهار کنندگی آن‌ها علیه *اسینتوباکتر بومانی* در دو حالت فعال و غیر فعال به روش چاهک در آگار بررسی شد.**

یافته‌ها: **ایزوله‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری* به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین، ایمی پنم، سیپروفلاکساسین و سفتازیدیم، مقاوم به پیپراسیلین، کلیستین و کوتریموکسازول حساسیت نشان دادند؛ همچنین باکتری اسینتوباکتر نسبت به ونکومایسین، کوتریموکسازول، پیپراسیلین، سفتازیدیم و سیپروفلاکساسین مقاوم و به کلیستین و ایمی پنم حساسیت نشان داد. محلول رویی کشت *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *روتری* فعال در آب اکسیژنه و بدون تغییر pH، خاصیت ضد باکتریایی بیشتری نسبت به محلول غیر فعال آن داشت.**

نتیجه‌گیری: **دو باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری* در شرایط غیر فعال دارای فعالیت ضد باکتریایی علیه باکتری *اسینتوباکتر بومانی* نبودند؛ ولی در حالت فعال یعنی زمانی که باکتری توانایی تولید ترکیب‌هایی نظیر آب اکسیژنه و اسید را داشته و یا تحت چنین شرایطی قرار گیرد می‌تواند خاصیت ضد باکتریایی داشته باشد و همچنین دو لاکتوباسیلوس فوق تقریباً نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های معمول مقاوم بودند.**

واژه های کلیدی: **پروبیوتیک، آنتی‌بیوتیک، عفونت بیمارستانی، *اسینتوباکتر بومانی*.**

مقدمه:

اسینتو باکتر یک کوکو باسیل، هوازی، گرم منفی است که به طور وسیع در خاک و آب وجود دارد و گاهی از پوست، غشای مخاطی، ترشحات و محیط بیمارستان جدا می‌شود و یک پاتوژن فرصت طلب است. این باکتری پاتوژن بیمارستانی با بیماری زایی محدود بوده و در کشت خون بیماران دارای کاتترهای پلاستیکی داخل وریدی دیده می‌شود. اسینتوباکتری هایی که از پنومونی های بیمارستانی جدا می‌شوند، اغلب از مرطوب‌کننده ها یا خنک‌کننده ها منشأ گرفته‌اند (۱). اسینتو باکتر کاتالاز مثبت و اندول، حرکت و اکسیداز منفی است. این باکتری برای زنده ماندن در محیط نیازی به مواد مغذی

نویسنده مسئول: *اهر- دانشگاه آزاد اسلامی- گروه میکروب شناسی- تلفن: ۰۹۱۲۲۵۰۰۳۳۶، E-mail:s_mirak65@yahoo.com*

www.SID.ir

خاصی ندارد و به راحتی بر روی محیط‌های کشت روتین آزمایشگاهی رشد می‌کند و تولید پیگمان نمی‌کند. امروزه بیش از ۲۰ گونه اسینتو باکتر گزارش شده است که شناخته ترین گونه شایع در عفونت بیمارستانی گونه *اسینتوباکتر بومانی* است. این باکتری از پوست، مجرای ادراری، مجرای تنفسی، خلط، ترشحات واژن و مدفوع جدا می‌شود. اسینتو باکترها در بین باسیل‌های غیر تخمیری (Non-Fermentative Bacilli= NFB) بعد از سودوموناس بیشترین وفور را در نمونه‌های کلینیکی دارند (۳،۲).

مرگ ناشی از عفونت‌های *اسینتوباکتر بومانی* شایع است که علت آن شکست در درمان است. از سال ۱۹۸۵ که آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام وسیع الطیف مثل کرباپنم ها معرفی شدند، برای سال‌های متمادی است که از آن ها در درمان عفونت‌های ایجاد شده به وسیله اسینتوباکترهای مقاوم به دارو (multidrug-resistant= MDR) استفاده می شود. کرباپنم ها درمان انتخابی در مورد عفونت با این ارگانیسم می‌باشند. در این ارگانیسم، به علت تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده کرباپنم از قبیل OXA کرباپنماز (blaOXA)، مقاومت حاصل می‌شود. ایزوله‌های MDR اسینتوباکتر در طی دهه گذشته مشکلات فراوانی را در امر درمان عفونت‌ها پدید آورده‌اند. امروزه ایزوله‌های با طیف مقاومت بیشتری نیز مشاهده شده است که آن‌ها را اصطلاحاً (Pandrug-resistant= PDR) می‌نامند. این ایزوله‌ها، باکتری‌هایی هستند که به تمام داروهای ضد میکروبی در دسترس به‌جز کلی ستین و پلی میکسین B مقاوم اند (۴). اخیراً سازگاری ایزوله‌های کلینیکی اسینتوباکتر با آنتی‌بیوتیک‌ها، منتهی به ایجاد ایزوله‌های (drug –resistant extensively=XDR) نیز شده است. این ایزوله‌ها عملاً نسبت به‌تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان می‌دهند. وجود این ایزوله‌ها با طولانی شدن مدت بستری شدن، افزایش هزینه ها و در نهایت مرگ و میر بیماران رابطه معنی داری دارد (۵،۴).

به طور کلی باکترهای اسید لاکتیک همگی گرم مثبت و کاتالاز منفی می‌باشند، در شرایط میکروآئروفیلیک تا مطلقاً بی‌هوازی رشد کرده و اسپور تولید نمی‌کنند. این باکتری‌ها به این دلیل باکتری‌های اسید لاکتیک نامیده می‌شوند که دارای ویژگی های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مشابه هستند و از طبیعت اکولوژیکی مشترکی نظیر مجرای معده روده ای برخوردارند. این باکتری‌ها عموماً در مواد غذایی شامل فرآورده‌های لبنی و غیره و همچنین در دستگاه های تنفسی، گوارشی، تناسلی و فاضلاب و مواد گیاهی یافت می‌شود. این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند مقدار زیادی اسید لاکتیک تولید نمایند که باعث ایجاد محیط اسیدی شده که برای بسیاری از میکروارگانیسم‌های بیماریزا شرایط نامطلوب را مهیا کرده و آن‌ها را از بین می‌برند. باکتری های اسید لاکتیک از اعضای مطلوب میکروفلور روده هستند و به علاوه این باکتری‌ها به طور سنتی در تولید محصولات لبنی تخمیری استفاده می‌شوند و از خصوصیت به طور کلی ایمن برخوردار می‌باشند (۸-۶).

یکی از این راهکارها استفاده از باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک است که با تولید اسید و کاهش pH، خاصیت ضد میکروبی دارند که هم بر روی باکتری‌های گرم مثبت و هم گرم منفی اثر مهار کننده دارند (۱۰،۹). امروزه ثابت شده حضور انواع باکتری‌های لاکتیک در شیرهای تخمیر شده از جمله ماست اثرات سودمندی بر سلامت انسان دارد که شامل ایجاد تعادل در میکروفلور طبیعی بدن، مقاومت در برابر کلونیزه شدن باکتری‌های بیماری زا، کاهش میزان سرمی کلسترول، جلوگیری از موتاژنیسیته عوامل موجود در روده و کاهش تومورهای روده، جلوگیری از عفونت هلیکوباکترپیلوری، عفونت مجاری ادراری و به‌خصوص التهاب حاد روده‌ای و معده‌ای می‌شود (۱۱). هدف از این مطالعه تعیین فعالیت ضد میکروبی *لاکتوباسیلوس روتری* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نسبت به *اسینتوباکتر بومانی* جداشده از عفونت‌های بیمارستانی بوده است.

www.SID.ir
Archive of SID

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی، ۱۰۰ بیمار بستری‌شده در بیمارستان میلاد، مسیح دانشوری و مفید شهر تهران که حداقل ۲ روز از بستری شدن آن‌ها در بخش‌های مختلف گذشته بود (۱۲)، مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌های خون، ادرار، زخم و خلط این بیماران جهت تشخیص *اسینتوباکتر بومانی* و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها به آزمایشگاه منتقل شد. از ۱۰۰ بیمار بستری، تعداد ۴۰ گونه باسیل گرم منفی غیر تخمیری جدا و شناسایی گردید که از این تعداد، ۱۵ نمونه *اسینتوباکتر بومانی* از طریق آزمایش‌های روتین میکروبی و بیوشیمیایی شناسایی و جدا گردید (۳).

در ابتدا حساسیت دو باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* PTCC 1058 و *لاکتوباسیلوس روتری* ATCC 23272 به آنتی بیوتیک های معمول خوراکی به روش انتشار دیسک بررسی شد، تا مقاومت نسبی و ماندگاری تحت شرایط مصرفی آنتی بیوتیک از جانب بیمار ارزیابی شود؛ سپس حساسیت سویه‌های اسینتوباکتر نسبت به آنتی بیوتیک‌های معمول مورد استفاده در این دسته از عفونت‌ها تعیین شد.

از کلنی‌های جداشده یک سوسپانسیون بر اساس استاندارد نیم مک فارلند تهیه و با سواپ استریل در کنار شعله از سوسپانسیون برداشت نموده و به‌صورت یکنواخت بر سطح محیط مولر هینتون آگار کشت متراکم در تمام سطح پلیت انجام و سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیک با پنس استریل به فاصله‌ای حداقل ۲-۴ سانتی متری قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه، تشکیل یا عدم تشکیل منطقه رشد بررسی و بر اساس جدول استاندارد CLSI نتایج به‌دست‌آمده به سه صورت حساس، مقاوم و حد واسط گزارش شد (۱۳). آنتی بیوتیک های مورد استفاده وانکومایسین، ایمی پنم، کلیستین، سیپروفلوکساسین، سفتازیدیم، پیپراسیلین وکوتریموکسازول از شرکت MAST انگلستان خریداری و استفاده شد.

فعالیت ضد میکروبی سویه‌های لاکتوباسیل بر روی ایزوله‌های *اسینتوباکتر بومانی* نیز با استفاده از روش چاهک بررسی شد (۱۴). در روش چاهک، سوسپانسیون باکتری بر اساس استاندارد نیم مک فارلند با سواپ سر پنبه‌ای استریل در محیط کشت مولر هینتون به‌طور یکنواخت تلقیح شد. بعد با کمک پیپت پاستور استریل چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر در محیط حفر کرده و سپس برای بررسی فعالیت ضد باکتریایی سویه‌های لاکتو باسیل، سویه‌های موردنظر به ۱۰ میلی‌لیتر از محیط (de Man-Rogosa-Sharpe= MRS) حاوی ۰/۲ درصد گلوکز تلقیح و ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند (۱۵،۱۴).

پس از سپری شدن این زمان، سلول‌های باکتریایی با استفاده از سانتریفیوژ در دور ۶۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه رسوب داده شد و برای اطمینان از عدم وجود سلول در محلول به‌دست‌آمده دوباره با استفاده از فیلتر باکتریولوژیکی تصفیه شد. برای انجام مراحل بررسی، pH نیمی از محلول با استفاده از هیدروکسید ۱ نرمال به ۶/۵ افزایش داده شد و آب اکسیژنه موجود در محیط هم با استفاده از کاتالاز خنثی شد. سپس به میزان ۵۰۰ میکرولیتر از هر دو محلول به داخل چاهک‌های ایجاد شده در پلیت های حاوی باکتری مورد آزمایش ریخته شد. برای جذب محلول به داخل محیط، پلیت ها به مدت ۲ ساعت در داخل یخچال قرار گرفتند .پس از مرحله جذب، پلیت ها در دمای ۳۷ درجه طی مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند؛ سپس اندازه هاله های مهاری تشکیل‌شده با استفاده از خط کش بر اساس میلی متر اندازه‌گیری شد (۱۵،۱۴).

یافته‌ها:

از ۱۰۰ بیمار مبتلا به عفونت بیمارستانی که در بخش‌های مختلف بیمارستان بستری بودند، ۴۰ نمونه باکتری‌های گرم منفی غیر تخمیری شناسایی گردید که ۱۵ نمونه آن متعلق به *اسینتوباکتر بومانی* بود. الگوی

www.SID.ir

مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها به روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت (جدول شماره ۱، تصویر شماره ۱).

جدول شماره ۱: مقاومت *اسینتوباکتر بومانی* مورد مطالعه نسبت به آنتی بیوتیک های مورد مطالعه به روش دیسک دیفیوژن

سویه / آنتی بیوتیک	*اسینتوباکتر بومانی* تعداد (درصد)
ونکومایسین ۳۰ µg	۱۵ (۱۰۰)
کوتریموکسازول ۲۵ µg	۱۵ (۱۰۰)
ایمی پنم ۱۰ µg	۱۴ (۹۳)
پیپراسیلین ۱۰۰ µg	۱۵ (۱۰۰)
کلیستین ۲۵ µg	۱۲ (۶۷/۵)
سفتازیدیم ۳۰ µg	۱۵ (۱۰۰)
سیپروفلاکساسین ۵ µg	۱۵ (۱۰۰)

همانگونه که مشاهده می‌شود ایزوله‌های اسینتو باکتر مقاومت صد در صدی نسبت به ونکومایسین، کوتریموکسازول، پیپراسیلین، سفتازیدیم و سیپروفلاکساسین و حساسیت نسبی به ایمی پنم و کلیستین نشان دادند.

تصویر شماره ۱: پلیت آنتی بیوگرام *اسینتو باکتربومانی*

دو سویه *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری* به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین، ایمی پنم، سیپروفلاکساسین و سفتازیدیم مقاوم بودند و به پیپراسیلین، کلیستین و کوتریموکسازول حساسیت نشان دادندکه در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

جدول شماره ۲: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *لاکتوباسیل پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری*

سویه / آنتی‌بیوتیک	ونکومایسین ۳۰µg	کوتریموکسازول ۲۵µg	ایمی پنم ۱۰µg	پیپراسیلین ۱۰۰µg	کلیستین ۲۵µg	سفتازیدیم ۳۰µg	سیپروفلاکساسین ۵µg
لاکتوباسیل پلانتاروم	R	S	R	S	S	R	R
لاکتوباسیل روتری	R	S	R	S	S	R	R

R: مقاوم؛ S: حساس.

دو سویه *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری* در مقابل برخی از آنتی بیوتیک های معمول خوراکی مقاومت دارند و محلول رویی کشت آن‌ها نیز فعالیت چشمگیری تحت شرایط اسید و تولید آب اکسیژنه علیه پاتوژن بیمارستانی دارد، این در حالی است که محلول غیر فعال شده آن فعالیت ضد باکتریایی

Archive of SID
www.SID.ir

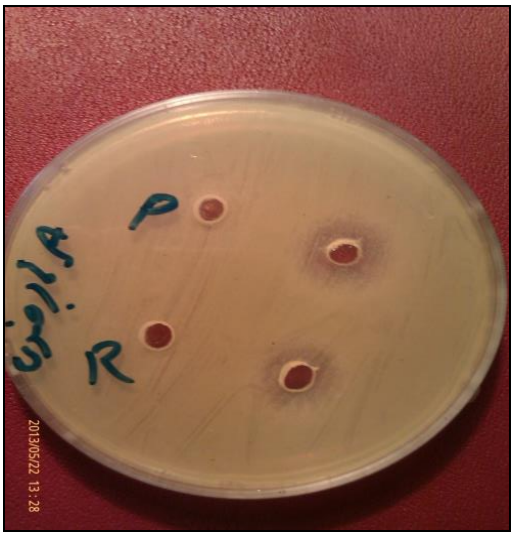
ندارد. در این تحقیق اثر آنتاگونیستی ۲ سویه *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری* علیه *اسینتوباکتر بومانی* شایع در عفونت بیمارستانی بررسی گردید (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳: اندازه (میلی‌متر) هاله عدم رشد سویه پاتوژن *اسینتوباکتر بومانی* مورد مطالعه توسط سویه‌های دو لاکتو باسیلوس

کد سویه	*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	*لاکتوباسیلوس روتری*
A۱	۷	R
A۲	۱۴	۹
A۳	۱۲	R
A۴	۱۲	۱۰
A۵	۱۵	۱۲
A۶	۱۵	۱۲
A۷	۱۲	۱۰
A۸	۱۲	۱۰
A۹	۱۲	۱۰
A۱۰	۱۲	۱۰
A۱۱	۱۲	۱۰
A۱۲	۱۰	۱۰
A۱۳	۱۴	۱۱
A۱۴	۱۱	۸
A۱۵	۱۲	۱۱
A۱۶	۱۲	۱۰

R: مقاوم.

بیشترین میزان قطر هاله عدم رشد لاکتوباسیل پلانتاروم علیه *اسینتوباکتر بومانی* ۱۵ میلی متر و کمترین میزان هاله ۷ میلی متر بود و بیشترین قطر هاله عدم رشد لاکتوباسیل روتری علیه اسینتو باکتر ۱۲ بوده است و برخی از سویه‌ها مقاومت (R) صد درصد به *لاکتوباسیلوس روتری* نشان داده‌اند (تصویر شماره ۲).



تصویر شماره ۲: قطر هاله عدم رشد

قسمت A *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* است که در چاهک اول از محلول خنثی شده و در چاهک دوم محلول فعال است و قسمت B لاکتوباسیلوس روتری به همان ترتیب پلانتاروم در چاهک قرار داده شد.

محلول رویی کشت ۴۸ ساعته *لاکتوباسیل پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری* توسط سود و آنزیم کاتالاز غیر فعال گردید (چاهک‌ها قسمت A تصویر شماره ۲) و محلول رویی کشت ۴۸ ساعته لاکتوباسیل های فوق بدون اضافه کردن هیچ ترکیبی درون چاهک ها قرار داده شد که در این حالت اسید و pH در آن‌ها فعال ماند (قسمت B تصویر شماره ۲). همانطور که در تصویر شماره ۲ مشاهده می‌کنید هاله عدم رشد اسینتو باکتر که توسط محلول فعال رویی کشت ۴۸ ساعته لاکتوباسیل ها تلقیح شده، ایجاد شده؛ ولی محلول خنثی شده لاکتوباسیل ها اثر ضد میکروبی بر اسینتوباکتر نداشته است.

بحث:

در این تحقیق از *اسینتوباکتر بومانی* که یک باسیل غیر تخمیری (Non-fermentative bacilli= NFB) است که در عفونت بیمارستانی نقش دارد استفاده شد. این باکتری در آب، خاک و در انسان و حیوانات وجود

Archive of SID
www.SID.ir

دارد. در افرادی که ضعف ایمنی وجود دارد و یا در صورت دسترسی باکتری به محل‌های استریل بدن بیماریزا می‌باشند. در نمونه‌های کلینیکی کمتر از ۲۰ درصد باسیل های گرم منفی که با آن‌ها مواجه می‌شوند از نوع غیر تخمیری یا NFB هستند (۳-۱).

امامی و همکاران نیز نشان دادند که ۲ سویه لاکتو باسیلوس کازئی و لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس مقاومت زیادی در مقابل آنتی بیوتیک های معمول خوراکی دارند و محلول کشت رویی آن‌ها نیز فعالیت چشمگیری علیه پاتوژن های بیمارستانی نظیر سودوموناس آئرژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا پنومونیه و اشریشیاکلی دارند (۱۶). تفاوت مطالعه حاضر با تحقیق فوق در چند نکته است که در مطالعه ما سوش های لاکتوباسیلوس استاندارد و سوش پاتوژن از بیماران مبتلا به عفونت بیمارستانی بود، ولی در تحقیق امامی و همکاران سوش های پاتوژن استاندارد و سوش های لاکتوباسیلوس از لبنیات محلی بوده است و نوع سوش های کار شده در مطالعه‌ها متفاوت است در تحقیق آن‌ها از روش آگار دیفیوژن جهت بررسی اثر مهارکنندگی رشد پاتوژن ها استفاده شده و در مطالعه ما پاتوژن ها بر روی سطح محیط، کشت متراکم داده شده بودند.

کیایی و همکاران در مطالعه‌ای مشاهده کردند بیشترین اثر بازدارندگی مربوط به لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوکوکوس لاکتیس در روش چاهک بود و حداکثر میانگین قطر هاله عدم رشد آن‌ها ۱۸ میلی متر ارزیابی شد. بیشترین و کمترین اثر مهاری علیه باکتری‌های پاتوژن به ترتیب یرسینیا آنتروکلی تیکا و باسیلوس سرئوس مشاهده شد (۱۷). حداکثر قطر هاله در نتایج ما به ترتیب ۱۵ میلیمتر و ۱۲ میلی متر برای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری* بود. علت این اختلاف می‌تواند ناشی از متفاوت بودن در نوع باکتری مورد مطالعه باشد. بعلاوه مطالعه کیایی بر روی باکتری های پاتوژن روده‌ای و مطالعه ما بر روی *اسینتوباکتر بومانی* به‌عنوان یک باکتری عفونت بیمارستانی که مقاوم تر نسبت به سایر باکتری‌ها است، انجام شد.

Conconnier و همکاران گزارش کردند که مصرف محلول روئی کشت لاکتوباسیلوس فرمنتوم و لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوکوکوس لاکتیس اثر ضد میکروبی بر ضد طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی پاتوژن ایجاد می‌کنند. مطالعه ما نشان داد که گونه‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری* بر باکتری پاتوژن شایع در عفونت بیمارستانی در محیط کشت اثر مهاری خوبی نشان می‌دهند (۱۸).

ماتسوساکی و همکارانش برای بررسی اثر بازدارندگی رشد لاکتوباسیلوس ها بر روی باکتری‌های بیماریزا به کار رفت و آن شمارش کلنی باکتری ها در فواصل زمانی مختلف پس از مجاورت با یکدیگر بود در تحقیق حاضر، باکتری پاتوژن در مجاورت لاکتوباسیلوس ها، به‌طور همزمان کشت داده شد و مشخص شد که رشد باکتری پاتوژن در مجاورت لاکتوباسیلوس ها، از کاهش محسوسی برخوردار است (۱۹).

در تحقیق تاج‌آبادی و همکاران محلول لاکتوباسیل را به صورت تغلیظ شده نیز مورد استفاده قرار داد که در این صورت با افزایش ترکیب‌های مؤثر در محیط، احتمال افزایش فعالیت ضد باکتریایی نیز وجود دارد (۲۰). مقایسه نتایج به دست آمده در این بررسی با نتایج گزارش شده تاج آبادی و همکاران نشان می‌دهد باکتری های اسید لاکتیک دارای طیف وسیع تری نسبت به باکتری های گرم منفی می‌باشند و در غربال باکتری های اسید لاکتیک دارای فعالیت ضد میکروبی باید از طیف وسیعی از باکتری های اندیکاتور استفاده نمود.

در بررسی مشابهی Schillinger و Lucke سویه‌های مختلف لاکتو باسیلوس ساکی را از نظر توانایی مهار رشد باکتری های بیماریزا با دو روش دو لایه و چاهک مورد بررسی قرار دادند. از سویه های که

Archive of SID
www.SID.ir

توانایی مهار رشد باکتری های اندیکاتور را در روش دو لایه داشتند. هیچکدام در روش چاهک ایجاد هاله عدم رشد ننمودند. پس از افزایش غلظت مایع رویی ۶ سویه از ۱۹ سویه مورد بررسی روی محیط آگار هاله عدم رشد ایجاد نمودند (۲۱). در بررسی ما بدون افزایش غلظت مایع رویی کشت لاکتوباسیلوس ها ایجاد هاله عدم رشد کردند. البته محلول رویی کشت لاکتوباسیل های غیر فعال از نظر اسید و pH ایجاد هاله عدم رشد ننمود.

نتایج قبلی محققین (۱۴) نیز نشان داد که دو *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *روتری* نتایج مشابهی با باکتری های غیر تخمیری دیگری مانند بورخولدریا سپاسیا دارند و این می‌تواند در درمان عفونت های ناشی از این گروه باکتری ها مؤثر باشد.

اثر حفاظتی لاکتوباسیلوس ها در نگهداری غذاهای تخمیری، به طور عمده به دلیل شرایط اسیدی است که در زمان رشد باکتری ها در غذا به وجود می‌آید. تبدیل کربوهیدرات ها به اسیدهای آلی اسید استیک باعث افزایش pH و افزایش اسید لاکتیک به همراه کاهش نیمه عمر و کیفیت خوب فرآورده‌های غذایی تخمیری می‌شود. این باکتری ها قادر به تولید مواد دیگری مانند باکتریوسین، پراکسید هیدروژن، دی استیل، استالدهید، آمونیاک، اسیدهای چرب آزاد هستند که بر روی رشد بسیاری از میکروارگانیسم‌ها اثر بازدارندگی دارند (۲۲،۱۵). برخی از این مواد موجب بازدارندگی رشد برخی از میکروارگانیسم های پاتوژن منتقله از غذا و میکروارگانیسم‌های فاسد کننده گی غذا مانند لیستریا، کلستریدیوم و انتروکوک، برخی از باسیلوس ها و استافیلوکوک ها می‌شوند. لاکتوباسیلوس ها در صنعت برای اصلاح بو، طعم و بافت محصولات تخمیری به کار می‌روند و با توجه به اثر ممانعت از رشدی که بر روی باکتری های مختلف دارند، سعی بر آن است تا از این باکتری ها یا باکتریوسین های خالص شده آن ها به عنوان نگهدارنده بیولوژیک در غذا استفاده شود (۲۴،۲۳).

نتیجه‌گیری:

دو باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری* در شرایط غیر فعال دارای فعالیت ضد باکتریایی علیه باکتری *اسینتوباکتر بومانی* نبودند؛ ولی در حالت فعال یعنی زمانی که باکتری توانایی تولید ترکیب هایی نظیر آب اکسیژنه و اسید را داشته و یا تحت چنین شرایطی قرار گیرد، می‌تواند خاصیت ضد باکتریایی داشته باشد؛ همچنین دو لاکتوباسیلوس فوق تقریباً نسبت به آنتی بیوتیک های معمول مقاوم بودند؛ بنابراین در زمان مصرف این دسته از داروها، میزان این باکتری ها فلور طبیعی دستگاه گوارش کاهش چشمگیری پیدا نمی‌کند و طی دوره درمان این باکتری ها تا حد زیادی قادر به ادامه عملکرد خود هستند.

تشکر و قدردانی:

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره ۲۰۳۰۹ مورخ ۱۳۹۱/۱۲/۱ است، که بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه جهت تأمین هزینه های طرح، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع:

1. Visca P, Seifert H, Towner KJ. Acinetobacter infection-an emerging threat to human health. IUBMB Life. 2011; 63(12): 1048-54.
2. Manuel J, Panaligan M, Coronel R. Acinetobacter baumanni: an emerging nosocomial infection pathogen. J Philipp Microb Infec Dis. 2010; 39(1): 66-72.
3. Bergogne-Berezin E, Towner K. Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev. 1996; 9(2): 148-60.

Archive of SID
www.SID.ir

4. Dent LL, Marshall DR, Pratap S, Hulette RB. Multidrug resistant Acinetobacter baumannii: a descriptive study in a city hospital. BMC Infec Dis. 2010; 10(1): 196.
5. Rasti A, Erfani Y, Yazdan band H. Plenty of Acinetobacter isolated from blood culture in Shariati hospital. J Isfahan Med Sch. 2008; 3(4): 70–5.
6. Sanders ME. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. Int Dairy J. 1998; 8(5–6): 341-7.
7. Ziemer CJ, Gibson GR. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotic in the functional food concept: perspectives and future strategies. Int Dairy J. 1998; 8(5-6): 473-9.
8. Fonseca F, Cenard S, Passot S. Freeze-drying of lactic acid bacteria. Methods Mol Biol. 2015; 1257: 477-88.
9. Voravuthikunchai SP, Bilasoi S, Supamala O. Antagonistic activity against pathogenic bacteria by human vaginal lactobacilli. Anaerobe. 2006; 12(5-6): 221-6.
10. Brink M, Todorov SD, Martin JH, Senekal M, Dicks LM. The effect of prebiotics on production of antimicrobial compounds, resistance to growth at low pH and in the presence of bile, and adhesion of probiotic cells to intestinal mucus. J Appl Microbiol. 2006; 100(4): 813-20.
11. Taibi A, Comelli EM. Practical approaches to probiotics use. Appl Physiol Nutr Metab. 2014; 39(8): 980-6.
12. Kouchak F, Askarian M. Nosocomial infections: the definition criteria. Iran J Med Sci. 2012; 37(2): 72-3.
13. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Available from: http://www.dbt.univr.it/documenti/occorrenzaIns/matdid/matdid485539.pdf.
14. Dallal M-MS, Mirak S, Azarsa M, Rahbar M, Yazdi M-KS. Evaluation of antimicrobial activity of Lactobacillus plantarum and ruteri on Burkholderia cepacia isolated from nosocomial infections. Pajoohan J. 2013; 18(4): 202-7.
15. Tomas MS, Bru E, Nader-Macias ME. Comparison of the growth and hydrogen peroxide production by vaginal probiotic lactobacilli under different culture conditions. Am J Obstet Gynecol. 2003; 188(1): 35-44.
16. Emami A, Hashemi zade Z, Noe aghdam R. Evaluation of the antimicrobial activity of Lactobacillus casei and acidophilus against common pathogens in hospital infections. J Qazvin Univ Med Sci. 2010; 14 (3): 32–9.
17. Kiyae E, Mozafari N, Samie adab H, Jandaghi N, Ghaemi E. Effect of Lactic bacteria antagonistic against pathogenic bacteria isolated from yoghart. J Gorgan Univ Med Sci. 2006; 8(1): 20–33.
18. Coconnier MH, Lievin V, Hemery E, Servin AL. Antagonistic activity against Helicobacter infection in vitro and in vivo by the human Lactobacillus acidophilus strain LB. Appl Environ Microbiol. 1998; 64(11): 4573-80.
19. Matsusaki H, Endo N, Sonomoto K, Ishizaki A. Lantibiotic nisin Z fermentative production by Lactococcus lactis IO-1: Relationship between production of the lantibiotic and lactate and cell growth. Appl Microbiol Biotechnol. 1996; 45(1-2): 36-40.
20. Tajabadi M, Hejazi MA, Ghafari R, Jafari P. Antagonism to the bile acid-resistant lactobacilli isolated from dairy products. J Arak Univ Med Sci. 2008; 12(2): 17-21.
21. Schillinger U, Lucke FK. Antibacterial activity of Lactobacillus sake isolated from meat. Appl Environ Microbiol. 1989; 55(8): 1901-6.
22. Molin G. Probiotics in foods not containing milk or milk constituents, with special reference to Lactobacillus plantarum 299v. Am J Clin Nutr. 2001; 73(2 Suppl): 380S-5S.
23. Hirano J, Yoshida T, Sugiyama T, Koide N, Mori I, Yokochi T. The effect of Lactobacillus rhamnosus on enterohemorrhagic Escherichia coli infection of human intestinal cells in vitro. Microbiol Immunol. 2003; 47(6): 405-9.
24. Collado MC, Jalonen L, Meriluoto J, Salminen S. Protection mechanism of probiotic combination against human pathogens: in vitro adhesion to human intestinal mucus. Asia Pac J Clin Nutr. 2006; 15(4): 570-5.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2015 Dec, Jun; 17(5): 101-109. ***Original article***

Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* and *ruteri* in *Acinetobacter baumannii* isolated from nosocomial infections

Soltan Dallal MM[1,2], Mobaiyen H[3], Mirak S[4*]
[1]Pathobiology Dept., Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran; [2]Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran; [3]Microbiology Dept., College of Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, I.R. Iran; [4]Microbiology Dept., Islamic Azad University, Ahar Branch, Ahar, I.R. Iran.
Received: 20/Aug/2015 Accepted: 13/Mar/2016

Background and aims: Todays, the use of substances secreted by some probiotic bacteria as inhibitor and antibacterial substance is in high importance. The aim of this study was to evaluate of antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum and ruteri in Acinetobacter baumannii* isolated from nosocomial infections.
Methods: In this experimental study, it was investigated Acinetobacter isolated of 100 patients hospitalized in Milad, Daneshvari and Mofid hospitals in Tehran. Antibiotic resistance of Acinetobacter with 2 strains of *Lactobacillus plantarum and ruteri* was determined. The inhibitory activity of 2 *Lactobacillus plantarum* and *ruteri* against Acinetobacter baumannii were determined by using supernatant solution of 48 hours culture of lactobacilli in 2 forms of active and passive according agar well diffusion method.
Results: Results showed that *Lactobacillus plantarum* and *ruteri* were sensitive to vancomycin, imipenem, ciproflaxin, ceftazidime and resistance to piperacillin, colistin. Cotrimoxazol. Acinetobacter baumannii was also resistance to vancomycin, cortrimoxazol, piperacillin, ceftazidine, and sensitive to ciproflaxin and imipenem. Supernatant solution of *lactobacillus plantarum* and *ruteri* cultur has had more antibacterial activity in presence of hydrogen peroxide and natural pH compared to non-active solution.
Conclusion: The results of this study showed that *Lactobacillus plantarum* and *ruteri* hadn't antibacterial activity against *Acinetobacter baumannii* in inactive condition, but the culture supernatant lactobacilli had significant activity against strains of hospital pathogens under conditions of acid and hydrogen peroxide solution. Moreover, 2 *Lactobacillius* (*plantarum* and *ruteri*) were nearly resistance to common antibiotics.

Keywords: **probiotic, Antibiotic, Nosocomial infections, *Acinetobacter baumannii*.**

Cite this article as: Soltan Dallal MM, Mobaiyen H, Mirak S. Antimicrobial activity of Lactobacillus plantarum and *ruteri* in *Acinetobacter baumannii* isolated from nosocomial infections. J Shahrekord Univ Med Sci. 2015; 17(5): 101-109.

[*]**Corresponding author:**
Microbiology Dept., Islamic Azad University, Ahar Branch, Ahar, I.R. Iran, I.R. Iran; Tel: 00989122500336, E-mail:s_mirak65@yahoo.com

www.SID.ir