نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 11، شماره 1، بهار 1394، ص. 47-41

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 11, No. 1, Spring 2015, p. 41-47

اثر پری بیوتیک‌ها بر تولید ترکیبات ضد میکروبی از *لاکتوباسیلوس‌ها* علیه *پروتئوس میرابیلیس*(سویه ATCC 7002 و سویه PTCC 1076)

لیلا گودرزی[1] - روحا کسری کرمانشاهی[2*]

تاریخ دریافت: 1392/4/26
تاریخ پذیرش: 1393/6/12

چکیده

لاکتوباسیلوس ها، گروهی از باکتری‌های گرم مثبت، بدون اسپور، کروی یا میله ای شکل و کاتالاز منفی هستند که دارای اثرات سود مندی برای میزبان خود می‌باشند. پری بیوتیک‌ها نیز مواد غذایی غیر قابل تجزیه و هضمی می‌باشند که با تقویت انتخابی در رشد و فعالیت تعدادی از باکتری‌های روده ای به میزبان اثرات مفیدی را می‌رساند. این مطالعه با هدف بررسی اثر افزودن پری بیوتیک‌ها به محیط کشت در تولید ترکیبات ضد میکروبی از *لاکتوباسیلوس‌ها* علیه *پروتئوس میرابیلیس* انجام پذیرفته است. در این بررسی خاصیت ضد میکروبی مایع رویی کشت پروبیوتیک‌ها (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (ATCC 4356)، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (ATCC 8014)*لاکتوباسیلوس فرمنتم* (PTCC 1638)، *لاکتوباسیلوس کازئی* (PTCC 1608) و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (PTCC 1637)) در محیط MRS براث در حضور و عدم حضور پری بیوتیک‌های رافینوز، لاکتولوز، ترهالوز، اینولین و ریبوفلاوین بر علیه *پروتئوس میرابیلیس* (سویه ATCC 7002 و سویه PTCC 1076) به کمک روش انتشار در آگار توسط چاهک (Well Diffusion Agar) انجام شد. نتایج نشان داد که در محیط کشت تجاری MRS براث در حضور پری بیوتیک ها، *لاکتوباسیلوس‌ها* بر علیه *پروتئوس میرابیلیس* هاله عدم رشد بیشتری را در مقایسه با محیط تجاری بدون هر گونه ماده افزاینده ای داشته اند ($p<0/05$). همچنین مشاهده شد که این افزایش در فعالیت ضد میکروبی در هر مورد بستگی به نوع سویه پروبیوتیکی داشته است.با توجه به اینکه پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها در حالت سین بیوتیکی اثرات ضد میکروبی بیشتری دارند می‌توان نتیجه گرفت که افزودن پری بیوتیک‌ها به محیط تجاری MRS براث فعالیت ضد میکروبی آنها را بیشتر می‌کند و دلیل احتمالی آن تقویت رشد و افزایش تولید مواد ضد میکروبی از *لاکتوباسیلوس*ها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پری بیوتیک ،*لاکتوباسیلوس* ها، *پروتئوس میرابیلیس*، فعالیت ضد میکروبی

مقدمه

باکتری‌های مولد اسید لاکتیک گروهی از باکتری‌های گرم مثبت، غیر متحرک، غیر اسپوردار و کاتالاز منفی می‌باشند که توانایی رشد در شرایط میکروآئروفیل و یا کاملاً بیهوازی را دارند و مشخص شده است که بعضی از سویه‌ها وقتی از گلوکز به عنوان منبع کربن استفاده می‌کنند می‌توانند تولید اسید استیک و اسید لاکتیک را بنمایند (Hammes *et al.*, 1995). باکتری‌های اسید لاکتیک اگر در مقدار مناسب استفاده شوند (حداقل شامل 3×10^9 واحد تشکیل دهنده کلونر) می‌توانند منافع سودمندی را برای میزبانشان ایجاد کنند که این نقش را به سویه‌های پروبیوتیکی آنها نسبت داده اند (FAO/WHO,2001). پروبیوتیک (Probiotic) واژه ای یونانی و به معنای "برای زندگی" می‌باشد که اولین بار توسط lilly و Stillwell در سال 1965 به منظور توضیح مواد ترشحی به وسیله یک میکروارگانیسم که رشد یک میکروارگانیسم دیگر را تحریک می‌کند استفاده شد (Lilly and Stillwell, 1965). Salminens و همکارانش (2002) پروبیوتیک‌ها را تحت عنوان"فراورده هایی از سلول‌های میکروبی یا اجزایی از سلول‌های میکروبی که اثرمفیدی روی سلامت و آسایش انسان دارند" تعریف نمودند (Salminens *et al.*, 2002).

پروبیوتیک‌ها با تولید اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه، رقابت با باکتری‌های پاتوژن برای اشغال گیرنده سطحی، اکتساب مواد غذایی، اثر بر بیان ژن‌های بیماریزا، تولید آنزیم‌های متفاوت و تجزیه بهتر مواد غذایی، تحریک انتروسیت‌ها برای تولید سیتوکین ها، تنظیم سیستم ایمنی، اثرات ضد توموری و نیز تولید محصولات ضد باکتریایی (مانند باکتریوسین ها، بوتیریک اسید، متابولیت‌های اکسیژن

1 و2- به ترتیب دانشجوی اسبق کارشناسی ارشدو استاد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهرا(س) تهران،
(*- نویسنده مسئول: Email: rkasra@yahoo.com)

مثل پراکسید هیدروژن) می‌توانند اثرات مفید و سودمند درمانی و سلامت بخشی را برای مصرف کننده داشته باشند (Picard et al., 2005;Cummings, 2001; Mkcp *et al.* ,2008).

پری بیوتیک‌ها که مفهوم تازه تری می‌باشد اولین بار توسط *گیبسون و روبرفروید* در سال 1995 بکار برده شد؛ آنها پری بیوتیک‌ها را اینطور تعریف کردند: مواد غذایی غیر قابل تجزیه و هضمی که با تقویت انتخابی در رشد و فعالیت تعدادی از باکتری‌ها ی روده ای، به میزبان اثرات مفیدی را می‌رساند (Gibson and Roberfroid, 1995). بنابراین پری بیوتیک‌ها دارای خاصیت غیر قابل تجزیه بودن توسط خود میزبان و غیر قابل متابولیزه شدن به وسیله فلور میکروبی روده غیر از پروبیوتیک ها، مانند گونه‌های *باکتروئیدس و اشریشیا کلی* می‌باشند (Biradar *et al.*, 2005). اولیگوساکارید هایی که معمولاً می‌توانند به عنوان پری بیوتیک استفاده شوند، گروهی از پلی ساکاریدهای غیر قابل تجزیه و با زنجیره کوچک می‌باشند که یا در مواد غذایی به طور طبیعی وجود دارند (Crittenden , 1999) و یا در طی فرآیندهای آنزیمی و به طور تجاری تولید می‌شوند (Kaplan and Hutkins, 2002). در تحقیقات اخیر نشان داده شده است که باکتری‌های پروبیوتیک توانایی تخمیر اولیگوساکاریدها را به عنوان پری بیوتیک‌ها دارند (Kaplan and Hutkins, 2000). امروزه علاقه در استفاده از مواد غذایی برای تقویت فلور روده ای بسیار رو به افزایش می‌باشد، بنابراین توجه به رابطه ی پروبیوتیک‌ها، پری بیوتیک‌ها و نیز ترکیب آنها (سین بیوتیک؛ که اشاره به ترکیباتی دارد که هم دارای پروبیوتیک و هم پری بیوتیک اند) بسیار مهم می‌باشد (Suskovic *et al.* ,2001; Fook *et al.*, 1999).

این مطالعه با هدف بررسی اثر ترکیبات ضد میکروبی *لاکتوباسیلوس‌ها* علیه *پروتئوس میرابیلیس* از باکتری‌های شایع عفونت‌های ادراری، در دو حالت فقدان و حضور پری بیوتیک‌ها انجام پذیرفته است.

مواد و روش‌ها

سویه‌های میکروبی بکار رفته

در تحقیق از سویه‌های *پروتئوس میرابیلیس*(ATCC 7002) و *پروتئوس میرابیلیس* (PTCC 1076) به عنوان الگوی پاتوژنی که از مرکز کلکسیون باکتری ها و قارچ های سازمان پژوهش علمی و صنعتی ایران به صورت لیوفلیزه خریداری شده بودند، استفاده شد. سویه‌های مورد نظر به صورت لیوفیلیزه تهیه و جهت فعال سازی بر روی محیط‌های مناسب کشت داده شده و به مدت 24 ساعت در شرایط هوازی و دمای 37°C گرمخانه گذاری شدند. در مطالعه ی حاضر همچنین از سویه‌های پروبیوتیکی استاندارد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (PTCC 1634)، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (PTCC 1058) *لاکتوباسیلوس فرمنتم* (PTCC 1638)، *لاکتوباسیلوس کازئی* (PTCC 1608) و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (PTCC 1637) که از مرکز کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌های سازمان پژوهش علمی و صنعتی ایران تهیه شده بود و اثرات ضد میکروبی و پروبیوتیکی از آنان قبلاً مشاهده شده بود، نیز استفاده گردید.

روش ارزیابی فعالیت ضد میکروبی پروبیوتیک‌ها در حضور پری بیوتیک‌ها

روش مورد استفاده برای تشخیص فعالیت ضد میکروبی *لاکتوباسیلوس* ها، روش چاهک پلیت (Well Diffusion Agar) برای تشخیص فعالیت ضد میکروبی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس فرمنتم، لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس رامنوسوس* علیه سویه‌های پاتوژن ذکر شده در این بررسی در حضور پری بیوتیک‌ها بوده است.

سویه‌های پروبیوتیک خریداری شده بر روی محیط Man-Rogosa-Sharpe(MRS) براث به مدت 24 ساعت در دمای 37°C و در شرایط بی هوازی گرمخانه گذاری گردید. برای تهیه مایع شناور رویی کشت (سوپر ناتانت)، باکتری‌ها به مدت 20 دقیقه در دمای 4 °C با دور 7000g سانتریفوژ شدند و با استفاده از فیلتر میلی پور 0/45 میکرومتر فیلتر گردیدند. از سویه *پروتئوس میرابیلیس* استاندارد مورد استفاده در این بررسی بعد از کشت شبانه در محیط نوترینت براث کدورتی معادل 0/5 مک فارلند(10^8 cfu/ml × 1/5) تهیه گردید (Schillinger U and Lucke F.K , 1989).

کشت و جداسازی مایع رویی از کشت سویه‌های *لاکتوباسیلوس* مورد بررسی

برای بررسی فعالیت آنتاگونیستی باکتری‌های اسید لاکتیک به عنوان پروبیوتیک و برخی از ترکیبات به عنوان پری بیوتیک ابتدا محیط کشت تجاری MRS براث را توسط اتوکلاو در دمای 121 °C به مدت 20 دقیقه استریل نموده و سپس پری بیوتیک‌های رافینوز[1]، لاکتولوز[2]، تر هالوز[3] و اینولین[4] (هر کدام با غلظت 2%w/v) به عنوان منابع مختلف کربن و ریبوفلاوین[5] (100mg/l) عنوان محرک رشد ویتامین بعد از فیلتراسیون (میلی پور 0/45 میکرومتر) افزوده شد. از باکتری‌های پروبیوتیک فوق کدورتی معادل 0/5 مک فارلند (10^8 cfu/ml × 1/5) تهیه و به میزان 1 درصد به محیط کشت حاوی پری بیوتیک تلقیح شد به مدت 24 ساعت در شرایط بی هوازی انکوبه

1- Raffinose
2- Lactulose
3- Trehalose
4- Inulin
5- Riboflavin

گردید.در این بررسی همچنین از محیط کشت تجاری MRS براث بدون افزودن پری بیوتیک‌ها به عنوان محیط کشت شاهد استفاده گردید (میرداوودی 1390) .

روش بررسی خاصیت ضد میکروبی

بعد از گذشت انکوباسیون 24 ساعته در شرایط بیهوازی و دمای 37 درجه سانتیگراد فعالیت ضد باکتریایی سویه‌های *لاکتوباسیلوس* مولد در حضور پری بیوتیک‌های مزبور با روش انتشار در آگار توسط چاهک پلیت بررسی گردید و قطر هاله عدم رشد توسط خط کش میلی متری اندازه گیری شد. به منظور کاهش خطا هر آزمون سه بار تکرار و میانگین نتایج در جدول مربوطه ثبت گردید. در اینجا همچنین اثر ضد میکروبی پری بیوتیک‌های مورد بررسی نیز به تنهایی بر علیه سویه‌های *پروتئوس* مورد سنجش قرار گرفت (Schillinger U and Lucke F.K , 1989) .

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج با استفاده از آزمونهای آماری ANOVA و برنامه SPSS-18 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و سطح معنی داری نیز کمتر از 0/05 تعیین و هر آزمون به صورت سه بار تکرار انجام شد.

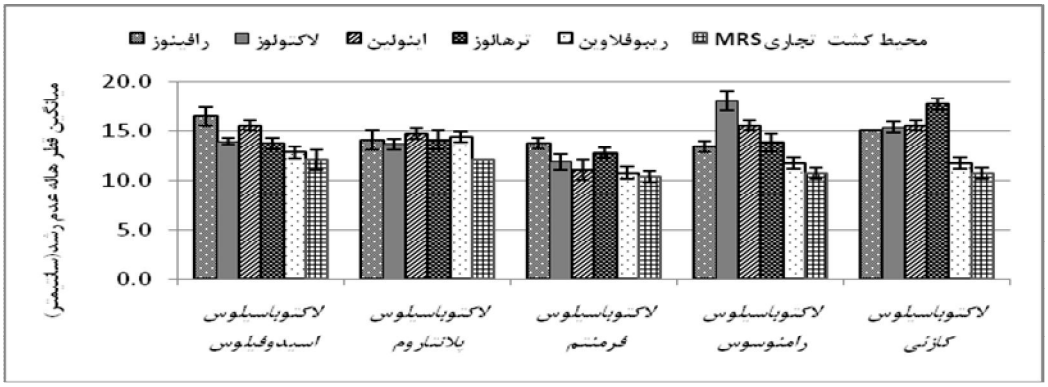
نتایج و بحث

بعد از کشت سویه‌های پروبیوتیک در دو محیط حاوی و فاقد پری بیوتیک‌ها و سه بار تکرار هر آزمون، فعالیت ضد میکروبی مایع رویی کشت آنها، بر علیه دو سویه بیماریزای *پروتئوس میرابیلیس* (سویه ATCC 7002 و سویه PTCC 1076) به کمک روش چاهک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تمام گونه‌ها توانستند باکتری بیماری‌زا را در دوحالت مورد آزمایش یعنی محیط حاوی پری بیوتیک و فاقد آن مهار کنند و تولید قطر هاله عدم رشد توسط آنها از 9/67 تا 18/33 میلی متر متغیر بود. نتایج نشان داد که میزان مهار کنندگی رشد سویه‌های *پروتئوس میرابیلیس* (ATCC 7002 و PTCC 1076) در تمامی سویه‌های پروبیوتیکی در حضور پری بیوتیک ها(سین بیوتیک) نسبت به حالت عدم حضور پری بیوتیک‌ها افزایش داشته که این اختلاف از نظر آماری نیز معنادار بوده است. ($p<0/05$) و همچنین این افزایش در میزان خاصیت ضد میکروبی وابسته به نوع سویه پروبیوتیکی، و هر پروبیوتیک در حضور یک و یا بیشتر از یک پری بیوتیک مطابق با نمودارهای 1 و 2 خاصیت ضد میکروبی بیشتری را نشان داده است و برای هر سویه متفاوت گزارش گردید (نمودار های1و 2) .

در این بررسی همچنین خاصیت ضد میکروبی پروبیوتیک‌ها بر علیه *پروتئوس میرابیلیس* (ATCC 7002 و PTCC 1076) در محیط MRS براث به همراه تمامی پری بیوتیک‌ها با همدیگرنیز مورد آزمایش قرار گرفت و بیشترین میزان مهار کنندگی مربوط به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*(ATCC 4356) علیه *پروتئوس میرابیلیس* (ATCC 7002) با قطر هاله عدم رشد 20/17 میلی متر در محیط به همراه تمامی پری بیوتیک‌ها با همدیگر بوده است (جدول 1).

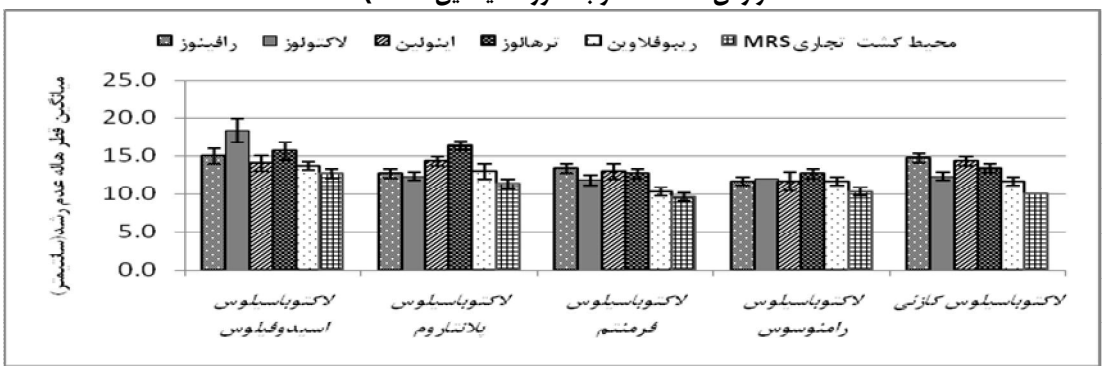
همانطور که می‌دانیم ،خانواده انتروباکتریاسه (Entrobacteriaceae) بزرگترین و نا متناجس ترین مجموعه از باسیل‌های گرم منفی با اهمیت فوق العاده در پزشکی می‌باشند و شامل ارگانیسم هایی هستند که در همه جا حضور داشته و در تمام جهان در خاک، آب و سبزیجات یافت می‌شوند و به عنوان قسمتی از فلور روده ای نرمال در بیشتر حیوانات و هم چنین انسان‌ها محسوب می‌شوند (Murray PR *et al* 2006).

این باکتری‌ها عامل بیماری‌های مختلفی در انسان بوده و 30-35 درصد باکتریمی ها، بیش از 70 درصد عفونت‌های مجاری ادراری و بسیاری از عفونت‌های روده ای را به خود اختصاص داده‌اند.



شکل 1- مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر) *لاکتوباسیلوس*ها بر علیه سویه *پروتئوس میرابیلیس* (ATCC 7002) در محیط کشت به همراه پری بیوتیک‌ها بعد از 24 ساعت انکوباسیون در شرایط میکروآئروفیل در محیط MRS براث با pH=5/7 و دمای 37 درجه سانتیگراد. در این نمودار منظور ازمحیط کشت تجاری محیط MRS بدون هر گونه ماده اضافه شده می‌باشد.(نتایج از تکرار سه بار هر آزمون

گزارش شده است و به صورت میانگین± SD)



شکل 2-مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر) *لاکتوباسیلوس*ها بر علیه سویه *پروتئوس میرابیلیس* (PTCC 1076) در محیط کشت به همراه پری بیوتیک‌ها بعد از 24 ساعت انکوباسیون در شرایط میکروآئروفیل در محیط MRS براث با pH=5/7 و دمای 37 درجه سانتیگراد .در این نمودار منظور ازمحیط کشت تجاری، محیط MRS بدون هر گونه ماده اضافه شده می‌باشد(نتایج از تکرار سه بار هر آزمون گزارش شده است و به صورت میانگین± SD)

جدول 1- مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر) در سویه‌های استاندارد *پروتئوس میرابیلیس* (ATCC 7002)و *پروتئوس میرابیلیس*(PTCC 1076) به وسیله *لاکتوباسیلوس‌ها* در محیط کشت تجاری به همراه پری بیوتیک ها(محیط MRS براث به همراه پری بیوتیک‌های رافینوز، لاکتولوز، ترهالوز، اینولین و ریبوفلاوین با همدیگر) و محیط کشت تجاری (محیط MRS براث بدون هر گونه ماده اضافه شده) (نتایج از تکرار سه بار هر آزمون گزارش شده است و به صورت میانگین± SD)

باکتری بیماری زا	باکتری‌های اسید لاکتیکی	*پروتئوس میرابیلیس* (ATCC 7002)	*پروتئوس میرابیلیس* (PTCC 1076)
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (ATCC 4356)	محیط 1	12/00±1/00	12/67 ±0/58
	محیط 2	20/17±0/76	19/67 ±0/58
لاکتوباسیلوس پلانتاروم (ATCC 8014)	محیط 1	12/00±1/00	11/33 ±0/58
	محیط 2	18±1/00	17/33 ±1/53
لاکتوباسیلوس فرمنتم (PTCC 1638)	محیط 1	10/33±0/58	9/67 ±0/58
	محیط 2	13/67±1/53	14/00±1/00
لاکتوباسیلوس رامنوسوس (PTCC 1637)	محیط 1	12/00±1/00	10/33±1/53
	محیط 2	17/00±1/00	17/33±0/58
لاکتوباسیلوس کازئی (PTCC 1608)	محیط 1	10/67±1/15	11/00±0/00
	محیط 2	15/67±0/58	16/33±0/58

محیط 1: محیط تجاری MRS ، محیط 2: محیط تجاری MRS به همراه پری بیوتیک ها

برخی از آنها مانند گونه هایی از سالمونلا، شیگلا همیشه همراه بیماری بوده و برخی دیگر مانند *اشریشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *پروتئوس میرابیلیس* به عنوان اعضای فلورطبیعی نرمال می‌باشند که می‌توانند عفونت‌های فرصت طلب ایجاد نمایند(Murray *et al* 2006). استفاده از پروبیوتیک‌ها به منظور پیشگیری و درمان بیماری‌ها امروزه رو به گسترش می‌باشد ولی نقش پروبیوتیک‌ها در کاهش بیماریزایی *پروتئوس میرابیلیس* کمتر مورد بررسی قرار گرفته است .

محققین فراوانی اثر ضد میکروبی *لاکتوباسیلوس‌ها* را بر علیه سایر میکروارگانیسم‌ها بررسی کرده اند و نتایج آنها نشان داده است زمانی که *لاکتوباسیلوس‌ها* بر روی محیط‌های کشت اختصاصی و یا انتخابی کشت داده شوند قادر به تولید ترکیبات ضد میکروبی خواهند بود (Hamdan ,1974 and Shahani, 1977). در این تحقیق مشاهده شد که باکتری‌های اسید لاکتیک(*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* *لاکتوباسیلوس فرمنتم*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*) می‌توانند رشد باکتری *پروتئوس میرابیلیس* را مهار کنند که این خاصیت می‌تواند به دلیل تولید اسیدهای ارگانیک (استیک و لاکتیک اسیدها) که منجر به کاهش pH محیط می‌شود (Beskorovainy, 2001) و یا تولید مواد ضد میکروبی از جمله باکتریوسین‌ها که مانند آنتی بیوتیک‌ها عمل

کننـد، باشـد (Ibrahim and Salameh , 2001 ; Aroutcheva (Alla, *et al*., 2001).

در این تحقیق همچنین اثـر افـزودن پـری بیوتیـک‌هـا بـر روی فعالیت ضد باکتریایی *لاکتوباسیلوس‌ها* بررسی شد. مشاهده شـد کـه اولیگوساکاریدهای رافینوز، لاکتولوز، تره هـالوز و اینـولین بـه عنـوان منابع مختلف کربن و ریبوفلاوین به عنوان منبع ویتـامین مـی‌تواننـد نقش پری بیوتیکی داشته و فعالیت ضد میکروبی را بر علیه *پروتئوس میرابیلیس* افزایش داده که این خاصیت را با تحریک رشد و افـزایش فعالیت پروبیوتیک‌ها انجام می‌دهند (Hillestand , 2007).

در بررسی که توسط همیلتون و میلر در سـال 2004 انجـام شـده بود نیز مشاهده شد که اینولین به عنوان یـک عامـل پـری بیـوتیکی می‌تواند باعث تقویت رشد انتخابی میکروارگانیسم‌های مفیـد یعنـی " پروبیوتیـک‌هـا " شـود (Hamilton and Miller, 2004).در تحقیقات مختلف مشخص شده اسـت کـه ترکیبـات پـری بیـوتیکی می‌توانند با تقویت رشد پروبیوتیک‌ها و افزایش تولیـد ترکیبـات ضـد میکروبی مانند استیک، لاکتیـک و بنزوئیـک اسـید و انـواع مختلـف ترکیبات باکتریوسین خاصیت ضد میکروبی را افـزایش دهنـد(2000 (Tungland and Jehan , 2009). همچنین مشاهده شده که بعضی از پری بیوتیک‌ها می‌توانند باعث کاهش رشد تعدادی از باکتری‌هـای مضر مانند *باکتروئیدس و فوزوباکترها و کلستریدیوم*هـا شـوند (and Stig Bengmark Martindale, 2005).

اخوان و همکارانش(1384) در تحقیقی نشان دادنـد کـه دو پـری بیوتیک رافیلوز و رافتیلـین باعـث افـزایش رشـد *بیفیـدوباکتریم‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها* می‌شوند و فعالیت آنتاگونیستی آنها را نیـز بـر علیـه *شیگلا فلکسنری* و *اشریشیا کلی* و *سالمونلا تیفـی موریـوم* افـزایش مـی‌دهـد. همچنـین میـرداودی و همکـارانش (1390) در ایـران در تحقیقی نشان دادند که خاصیت ضد باکتریـایی *لاکتوباسـیلوس‌هـا* در محـیط کشـت MRS بـراث حـاوی لاکتـوز ،سـوربیتول، رافینـوز و ریبوفلاوین افزایش داشته و بیشترین فعالیت آنتاگونیستی مربـوط بـه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر روی *شـیگلا فلکسـنری* بـود. در ایـن پژوهش نیز مشاهده شد که فعالیت آنتاگونیستی *لاکتوباسیلوس‌ها* بـر علیه *پروتئوس میرابیلیس* در حضور پری بیوتیک‌ها افـزایش داشـته و مشاهده گردید که بیشترین فعالیت آنتاگونیسـتی بـر علیـه *پروتئـوس میـرابیلیس* توسـط *لاکتوباسـیلوس اسـیدوفیلوس* در مجـاورت پـری بیوتیک لاکتولوز بود. همچنین میزان فعالیت ضد میکروبـی بـر علیـه *پروتئوس میرابیلیس*، وابسته به نوع سویه پروبیـوتیکی بـوده و در هـر حالت در این بررسی متفاوت گزارش شـد. در بررسـی ای کـه توسـط عبدالرضا آقاجانی و رضوان پوراحمد (2012) مشاهده کردند که پـری بیوتیـک‌هـای اینـولین و لاکتولـوز مـی‌تواننـد باعـث افـزایش رشـد باکتری‌های اسید لاکتیک در حالت سین بیوتیکی و وابسـته بـه نـوع سـویه ی بـاکتری اسـید لاکتیـک شـوند (and Aghajania 2012 Pourahmad). در تحقیقی که در توسط Jehan و Salman انجـام شده بود نیز مشاهده گردیدکه اینولین بـه عنـوان یـک عامـل پـری بیوتیکی از طریق افزایش تولید ترکیبـات ضـد میکروبـی اسـتیک و لاکتیک و بنزوئیک اسید و انواع مختلف ترکیبات باکتریوسین می‌تواند باعـث تقویـت رشـد انتخـابی پروبیوتیـک‌هـا شـود (Jehan and Salman, 2008) که همگی مطابق با نتایج فوق بود، به عنوان مثال برای *لاکتوباسیلوس فرمنتم* می‌توان رافینوز و بـرای *لاکتوباسـیلوس رامنوسـوس* لاکتولـوز را بـه عنـوان پـری بیوتیـک مناسـب معرفـی کرد.(شکل‌های 1 و 2)

در این پژوهش همچنین از محیط فاقـد هرگونـه پروبیوتیـک بـه عنوان شاهد نیز استفاده شد که مشاهده شد فعالیت ضد میکروبـی آن در مقایسه با محیط حاوی پروبیوتیک‌ها کاهش داشته اسـت. در ایـن بررسی اثر ضد میکروبی پری بیوتیـک‌هـا بـه تنهـایی بـر روی رشـد *پروتئوس میرابیلیس* نیز مورد بررسی قرار گرفت و مشـاهده شـد کـه پری بیوتیک‌های رافینوز، لاکتولوز، تر هالوز، اینولین و ریبوفلاوین در مواجه با سویه‌های فوق اثر ضد میکروبی از خود نشـان نـداده و تنهـا نقش در افزایش خاصیت ضد میکروبی پروبیوتیک‌ها بر علیه *پروتئوس میرابیلیس* رادارند.

در این بررسی همچنین اثر سین بیوتیکی پری بیوتیک‌ها بر علیه رشد در *پروتئوس میرابیلیس* نیز مورد بررسی قـرار گرفـت و مشـاهده شد که در حالت سین بیوتیکی فعالیت ضـد میکروبـی در مقایسـه بـا حالت تجاری افزایش قابل توجه ای داشته است و این فرضـیه کـه برای هر پروبیوتیک بیش از یک پری بیوتیک مطرح می‌باشد را تاییـد می‌نماید (جدول 1).

نتیجه گیری

بنابراین نتایج نشان داد که باکتری‌های اسـید لاکتیـک از جملـه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتو باسیلوس فرمنتم، لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس رامنوسوس* مـی‌تواننـد رشد را در *پروتئوس میرابیلیس* هم در حضور پری بیوتیـک‌هـا (سـین بیوتیک) و هم در محیط تجاری فاقد پری بیوتیک‌ها مهار کنند و این مهار رشد در حالت سین بیوتیکی بیشتر بوده است که به دلیل افزایش تولید متابولیت‌های ضد میکروبی و باکتریوسین‌ها می‌باشد و برای هـر پروبیوتیک یک و یا بیش از یک پری بیوتیک خاص مطرح می‌باشد.

منابع

Aghajania, A. , Pourahmad, R. 2012. Effect of lactulose and inulin on physicochemical and microbial properties of synbiotic yogurt, Annals of Biological Research, 3 (12), 5692-5696.

Aroutcheva, A.A. , Simoes, J.A., Sebastian, F. 2001. Antimicrobial protein produced by vaginal Lactobacillus acidophilus that inhibits Gardnerella vaginalis. Infect Dis obstet Gynecol. 9,33-39.

Biradar,S.S., Patil, P.M., Rasal, V.B.2005. Prebiotics For Improved Gut Health. The Internet J. of Nut. Well, 2 (1).

Crittenden R., 1999. Prebiotics. Ch 10. In: Tannock GW, editor, Probiotics: a critical review. Norfolk, U.K., Horizon Scientific Press, 141–56.

Cummings, J.H., Macfarlane, G.T., Englyst, H.N. 2001. Prebiotic digestion and fermentation, Am J Clin Nutr, 73, 415–20.

FAO/WHO. 2001.Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria, Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health organization expert consultation report, Rome, FAO.

Fooks, L.J., Fuller, R., Gibson, G.R. 1999. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology, Int Dairy J.,9,53–61.

Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota, introducing the concept of prebiotics, J Nutr. 125,1401–12.

Hamdan, I.Y., Mikolajecik, E.M., Acidolin. 1974. An Antibiotic Produced By Lactobacillus Acidophilus J Antibiot. 27(8),631-636.

Hammes, W.P., Vogel R.F. 1995.The genus Lactobacillus, In: Wood BJB, Holzapfel WH, editors. The lactic acid bacteria, The genera of lactic acid bacteria,Glasgow,Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall. 2, 19–54.

Hillestand , K. 2007. Pet food additives , Prebiotics, Probiotics , Kelp and Yeast, PedEducation. Com .

Kazemi Darsanaki, R., et al., Evaluating Antimutagenic activity of probiotic bacteria isolated from probiotic produ cts. Qom Univ Med Sci J, 2012. 6(2): p. 37-44

Ibrahim, S.A., Salameh , M.M. 2001. Simple rapid method for screening antimicrobial activities of Bifidobacterium sp. of human isolates. Rapid Methods and Automation in Microbiology.9, 52-63.

Beskorovainy ,A. 2001. Probiotics, Determinants of survival and growth in the gut . Am. J.Clin, Nut. 73:399-405.

Jehan, A. S., Salman. 2009. Synbiotic Effect of Probiotic (Bifidobacterium sp.) and Prebiotics (Chicory and Inulin) aganist some pathogenic bacteria. Um-Salama Science Journal .6(2), 354-360.

Kaplan H., Hutkins R. 2000. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. Appl Environ Microbiol. 66 (6), 2682–4.

Lilly, D.M., Stillwell, R.H. 1965.Probiotics, Growth promoting factors produced by microorganisms, Science. 147, 747-8.

Mohankumar, A., Murugalatha, N. 2011. Characterization and Antibacterial Activity of Bacteriocin Producing Lactobacillus Isolated from Raw Cattle Milk Sample. International Journal of Biology .(3),143-128.

Mkcp, S., Hart, A.L., Kamm, M.A., Stagg, A.J., Kinght, S.C. 2008. Mechanism Action of probiotics: Recent Advances, Inflamm Bowel Dis. 15(2), 300-305.

Picard, C., Fioramonti, J., Francois, A., Robinson, T., Neat, F., Matuchansky, C. Review article. 2005. bifidobacteria as agents-physiological effect and clinical benefits. Animal pharmacolther. 22,495-512.

Salminens, S., Ouwehand, A.C., Isolavri, E. 2002. probiotics: an overview of beneficial effects.A.Van. Leeuv. J. Microb. 82, 279 - 289.

Schillinger, U., Lucke, F.K.1989. Antibacterial activity of Lactobacillus sake isolated from meat, Appl.and Environ. Microbiol. 55,1901-1906.

Shahani, J.R., Kilara A. 1977.Natural activity of Lactobacillus acidophilus and L. bulgaricus. Cultured Dairy Product J. 2:8-11

Stig Bengmark, S., Martindale, R. 2005. Prebiotics and Synbiotics in Clinical Medicine. Nutr. in Clinic, Practice. 20(2), 244-261.

Suskovic ,J. , Kos , B., Goreta , J., Matosic , S. 2001. Role of lactic acid bacteria and Bifidiobacteria in Synbiotic effect. Food Technol Biotechnol . 39 (3) ,227-235.

Tungland , B.C. 2000. Inulin- A Comprehensive Scientific Review. Duncan Crow HOME.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 11, No. 1, Spring 2015, p. 41-47

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 11، شماره 1، بهار 1394، ص. 47-41

The Effect of Prebiotics on Production of Antimicrobial Compounds from *Lactobacillus* spp. Against *Proteus mirabilis* (ATCC 7002 and PTCC 1076)

L. Goudarzi [1] -R. Kasra Kermanshahi[2*]

Received: 17-07-2013
Accepted:03-09-2014

Abstract

Lactobacillus spp are a group of gram-positive, non-spore forming, cocci or rod shaped, catalase negative organisms that benefit to the host. prebiotics are non-digestible food ingredients that stimulate the growth and /or activity of bacteria in the digestive system in ways claimed to be beneficial to health. this study was conducted in order to investigate the effects of selected probiotic microorganisms in combination with prebiotics, on a growth or activity of proteus mirabilis .in this study the antimicrobial activity of five probiotic *lactobacillus* spp. (*Lactobacillus acidophilus*(atcc 4356), *Lactobacillus Plantarum* (ATCC 8014), *Lactobacillus Fermentum* (PTCC 1638), *Lactobacillus Casei* (PTCC 1608) And *Lactobacillus Rhamnosus* (PTCC 1637)) And Combination of probiotic and prebiotics (synbiotic) (*Lactobacillus* Spp. + five prebiotics : inulin, , trehalose , raffinose, lactulose and riboflavin) tested for their antimicrobial activity against *proteus mirabilis* (atcc 7002 and ptcc 1076) growth with agar well diffusion (awd) method. results showed that *Lactobacillus* Spp. had more antimicrobial activity against *proteus* spp., followed by inulin, , trehalose , raffinose , lactulose in comparison to basic mrs media ($p<0.05$) .this increase on antimicrobial activity was strain dependent and can be related to promoting growth and antimicrobial activity of probiotics by prebiotics. so it can be conclude that prebiotic could antimicrobial activity of *Lactobacillus* Spp.

Keywords: Prebiotics, *Lactobacillus* spp., *Proteus mirabilis* and Antimicrobial Effect.

1 and 2- M.Sc. Student and Professor, Department of Microbiology, Faculty of Science, Alzahra University, Tehran, Iran Respectively
(*-Corresponding Author Email: rkasra@yahoo.com)