ORIGINAL ARTICLE

Antimicrobial Activity of Different Lactobacillus Spices in Presence of Prebiotics against Proteus vulgaris

Leila Goudarzi[1],
Rouha Kasra Kermanshahi[2]

[1] MSc in Microbiology, Faculty of Science, Alzahra University, Tehran, Iran
[2] Professor, Department of Microbiology, Faculty of Science, Alzahra University, Tehran, Iran

(Received May 23, 2014 ; Accepted September 17, 2014)

Abstract

Background and purpose: Probiotics and prebiotics are new concepts which have been demonstrated to positively modulate the intestinal micro flora and could promote host health. The aim of this study was to evaluate the effects of prebiotics on production of antimicrobial properties of *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356 ، *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469, and *Lactobacillus casei* ATCC 39392 against growth or activity of *Proteus vulgaris*.

Materials and methods: Antimicrobial activity of bacterial culture supernatant was tested using Agar Well Diffusion (AWD) method in two medium compositions: basic MRS broth and MRS broth with Inulin, Trehalose, Raffinose, Lactulose, and Riboflavin as prebiotic.

Results: Results showed that prebiotics were able to increase antimicrobial activity. Zone of inhibition in presence of prebiotic for *Lactobacillus* spp. increased up to 29/67 mm.

Conclusion: According to the results, prebiotics could increase antimicrobial activity of *Lactobacillus* spp. and this activity of *Lactobacillus* was specifically strain dependent and related to kind of prebiotics. Therefore, probiotic products efficiency could be increased in presence of specific prebiotic properties.

Keywords: Probiotics, prebiotics, *Proteus vulgaris*, antimicrobial activity

J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(117): 55-64 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۱۷ مهر سال ۱۳۹۳ (۶۴-۵۵)

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی گونه های مختلف *Lactobacillus* در حضور پری بیوتیک ها علیه سویه های *Proteus vulgaris*

لیلا گودرزی[۱]
روحا کسری کرمانشاهی[۲]

چکیده

سابقه و هدف: پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها که مفهوم تازه‌تری می‌باشند، اثرات مثبت در تعادل میکروفلور روده و دستگاه ادراری و به واسطه آن بهبود سلامت میزبان ایجاد می‌کنند. این مطالعه با هدف بررسی اثر پری بیوتیک‌ها بر تولید فاکتورهای ترشحی پروبیوتیک‌های *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 ، *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 ، *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469، *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 و *Lactobacillus casei* ATCC 39392 بر علیه رشد سویه‌های مختلف *Proteus vulgaris* انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه خاصیت ضد میکروبی مایع رویی کشت پروبیوتیک‌ها در دو حالت محیط کشت پایه MRS براث و محیط کشت MRS براث در حضور پری بیوتیک‌های رافینوز، لاکتولوز، ترهالوز، اینولین و ریبوفلاوین به کمک روش انتشار در آگار توسط چاهک (Well Diffusion Agar) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج بررسی حاضر نشان داد پری بیوتیک‌های مورد بررسی در تمامی حالات توانستند فعالیت ضد میکروبی را افزایش دهند و میانگین قطر هاله عدم رشد در حضور پری بیوتیک‌ها برای سویه‌های *Lactobacillus* تا ۲۹/۶۷ میلی‌متر افزایش داشته است.

استنتاج: بنابر نتایج به دست آمده می‌توان ادعا نمود که پری‌بیوتیک‌ها باعث افزایش خاصیت ضد میکروبی پروبیوتیک‌ها شده و این افزایش در فعالیت سویه‌های *Lactobacillus* به طور اختصاصی وابسته به نوع پری بیوتیک و سویه *Lactobacillus* مورد بررسی بوده است. بنابراین محصولات پری بیوتیکی در مواجه با پروبیوتیک‌های می‌توانند خواص و کارایی آن‌ها را افزایش دهند.

واژه های کلیدی: پروبیوتیک‌ها، پری بیوتیک، *Proteus vulgaris* ، فعالیت ضد میکروبی

مقدمه

پروبیوتیک واژه‌ای یونانی متشکل از دو قسمت "پرو" به معنی تقویت‌کننده و "بیوتیک" به معنی زندگی می‌باشد که اولین بار در سال ۱۹۸۹ توسط Fuller پیشنهاد شد(۱).

در حال حاضر براساس تعریف مورد قبول WHO به عنوان میکروارگانیسم‌های زنده‌ایی که اگر با مقادیر کافی در بخشی از بدن میزبان کلونیزه شده باشند، در

مولف مسئول: روحا کسری کرمانشاهی– تهران: دانشگاه الزهرا (س) E-mail: rkasra@yahoo.com
۱. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران
۲. استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۳/۳/۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۳/۴/۲۱ تاریخ تصویب : ۱۳۹۳/۶/۲۶

زمینه‌ی حفظ سلامت میزبان خود واجد اثرات مفیدی هستند، مطرح می‌باشند(۱).

باکتری‌های جنس *Lactobacillus* که در مناطق اکولوژیکی متعدد منتشر شده‌اند، به عنوان مهم‌ترین باکتری‌های مورد استفاده در میکروفلور روده در انسان و حیوانات و به‌عنوان معمول‌ترین ارگانیسم‌های پروبیوتیکی مطرح می‌باشند(۲). سویه‌های *Lactobacillus* به محدوده‌ی وسیعی از مواد غذایی کاربردی اضافه می‌شوند و تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که این باکتری‌ها می‌توانند منافع سودمندی به واسطه تولید مواد مختلف برای انسان به بار بیاورند(۳).

مشاهده شده است که تعداد پروبیوتیک‌ها به واسطه ترکیبات پری بیوتیک افزایش پیدا می‌کند. پری بیوتیک‌ها به مواد غذایی غیر قابل تجزیه و غیر هضمی که بر روی میزبان اثرات سودمندی را با تقویت انتخابی در رشد و فعالیت تعدادی از باکتری‌های روده‌ای می‌رسانند و باعث بهبود سلامت میزبان خود می‌شوند، می‌گویند(۴).

پری بیوتیک‌ها که غالباً مواد غذایی تغذیه‌ای متشکل از پلی‌ساکاریدها و اولیگوساکاریدهایی که توسط آنزیم‌های انسانی به ندرت تجزیه می‌شوند بوده و باعث افزایش رشد و بهبود خواص تعدادی از میکروارگانیسم‌های زنده در روده می‌شوند، معمولاً ترکیباتی کربوهیدراتی با وزن مولکولی پایین می‌باشند(۵). زنجیره‌های کربوهیدراتی بلند نسبت به زنجیره‌های کوتاه راحت‌تر متابولیزه شده و ترکیبات پری بیوتیکی پلی‌ساکاریدی در مناطق انتهایی روده و ترکیبات اولیگوساکاریدی که سریع‌تر متابولیزه می‌شوند در مناطق ابتدایی روده اثرات خود را اعمال می‌نمایند(۶).

تعداد زیادی از ترکیبات پری بیوتیکی نظیر فروکتواولیگوساکاریدها، لاکتولوز، اینولین و... به صورت تجاری موجود می‌باشند(۷)، کربوهیدرات‌های فراوان دیگری با توانایی پری‌بیوتیک نیز روز به روز در حال کشف می‌باشند. هدف اصلی پری بیوتیک‌ها باکتری‌های گروه *Bifidobacterium* و *Lactobacillus* به دلیل این‌که این باکتری‌ها اثرات سلامت بخش زیادی بر انسان دارند، می‌باشند(۹،۸). مواردی از اثرات بالقوه و نیز اثبات شده باکتری‌های پروبیوتیک شامل کمک به هضم لاکتوز، مقاومت در مقابل پاتوژن‌های روده‌ای، اثر مهاری روی سرطان کولون، تقویت سیستم ایمنی، رشد باکتری‌های روده باریک، کاهش فشارخون و تاثیر بر روی عفونت‌های مجاری ادراری- تناسلی می‌باشد. هم‌چنین مشاهده شده است که سویه‌های *Lactobacillus* با تولید اسید لاکتیک و اسیدهای آلی سبب کاهش pH می‌شوند و از رشد بسیاری از باکتری‌ها ممانعت می‌کنند. مشخص شده است که این باکتری‌ها به دلیل تولید مواد ضدمیکروبی از جمله باکتریوسین‌ها که مانند آنتی‌بیوتیک عمل می‌کنند، می‌توانند در درمان بسیاری از بیماری‌ها مفید واقع شوند(۱۰).

اصطلاح سین بیوتیک زمانی استفاده می‌شود که محصولات مورد استفاده هم شامل پروبیوتیک و هم پری بیوتیک باشند. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که استفاده از محصولات در حالت سین بیوتیکی اثرات سودمند بیش‌تری بر سلامت انسان نسبت به محصولات حاوی پروبیوتیک و یا پری بیوتیک به تنهایی دارند(۱۱). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که توانایی باکتری‌های *Lactobacillus* در تخمیر کربوهیدرات‌های پری بیوتیکی مختص نوع سویه و نیز نوع سوبسترای مورد استفاده می‌باشد(۱۲). لذا این‌که بدانیم کدام پری بیوتیک توسط سویه‌های خاصی از باکتری‌ها، خصوصاً ارگانیسم‌های معمول به‌کار رفته به عنوان پروبیوتیک متابولیزه می‌شوند امری مهم و قابل توجه می‌باشد. پژوهش حاضر با هدف بررسی خاصیت ضد میکروبی سویه‌های مختلف *Lactobacillus* به عنوان سویه‌های پروبیوتیکی در حضور پری بیوتیک‌های مختلف (لاکتولوز، ترهالوز، اینولین و رافینوز) به‌عنوان منابع مختلف کربن و ریبوفلاوین به عنوان منبع ویتامین در مقایسه با حالت عدم وجود هر

نوع پری بیوتیک در محیط کشت پایه *Lactobacillus* بر علیه سویه‌های مختلف *Proteus vulgaris* از بیماری‌زاهای مهم مجاری ادراری صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

کلیه‌ی سویه‌های میکروبی مورد استفاده از مرکز کلکسیون باکتری ها و قارچ های سازمان پژوهش علمی و صنعتی ایران و نیز انیستیتو پاستور ایران به صورت لیوفلیزه تهیه شد که شامل ۵ سویه *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356، *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014، *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338، *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 و *Lactobacillus casei* ATCC 39392 و دو سویه بیماری‌زای استاندارد *Proteus vulgaris* PTCC 1182 و *Proteus vulgaris* ATCC 7829 بودند.

دوسویه باکتریایی *Proteus vulgaris* تهیه شده پس از احیا در محیط BHI براث در دمای ۳۷ °c، جهت انجام آزمایشات درمحیط نوترینت براث باکدورت معادل ۰/۵ مک فارلند مورداستفاده قرار گرفتند.

برای بررسی فعالیت آنتاگونیستی باکتری‌های اسید لاکتیک به عنوان پروبیوتیک و برخی از ترکیبات به عنوان پری بیوتیک، ابتدا محیط کشت پایه Man-Rogosa-Sharpe (MRS) براث را توسط اتوکلاو در دمای ۱۲۱ °c به مدت ۱۵ دقیقه استریل نموده و پس از خنک شدن محیط پایه MRS براث، پری بیوتیک‌های رافینوز (Raffinose)، لاکتولوز(Lactulose)، ترهالوز (Trehalose) و اینولین (۲ w/v درصد) به عنوان منابع مختلف کربن و ریبوفلاوین (۱۰۰mg/l) به عنوان محرک رشد ویتامین بعد از عبور از صافی غشایی میلی پور (۰/۴۵ میکرومتر)، افزوده شد. از باکتری‌های *Lactobacillus* (شامل ۵ سویه *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356، *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014، *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338، *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 و *Lactobacillus casei* ATCC 39392) کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند($1/5 \times 10^8$ CFU/ml) تهیه و به میزان ۰/۱ ml به محیط کشت حاوی پری بیوتیک تلقیح شد. در این‌جا هم‌چنین از محیط کشت پایه MRS براث بدون افزودن پری بیوتیک‌ها به عنوان محیط کشت شاهد نیز استفاده گردید. بعد از گذشت انکوباسیون ۲۴ ساعته در شرایط بی‌هوازی و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد فعالیت ضد باکتریایی سویه‌های *Lactobacillus* در حضور پری بیوتیک‌های مزبور با روش انتشار در آگار توسط چاهک پلیت بررسی گردید و قطر هاله عدم رشد توسط خط‌کش بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. هم‌چنین به منظور تعیین این‌که آیا پری بیوتیک‌های مورد بررسی فعالیت ضد میکروبی خواهد داشت یا نه، اثر ضد میکروبی پری بیوتیک‌های مورد بررسی نیز به تنهایی بر علیه سویه‌های *Proteus vulgaris* مورد سنجش قرار گرفت(۱۳).

سویه‌های پروبیوتیکی مورد بررسی بر روی محیط MRS در دو حالت فاقد و حاوی پری بیوتیک‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°c و در شرایط بی‌هوازی انکوبه گردید تا کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند ($1/5 \times 10^8$ CFU/ml) به‌دست آید. برای تهیه مایع رویی فاقد سلول از *Lactobacillus*، باکتری‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴°c با دور ۷۰۰۰، سانتریفوژ شدند و با استفاده از صافی غشایی ۰/۴۵ میکرون صاف گردیدند. مایع رویی صاف شده و عاری از سلول، به منظور ارزیابی خاصیت ضد میکروبی آن‌ها بر علیه سویه‌های *Proteus vulgaris* مورد سنجش قرار گرفتند. به منظور حصول نتیجه بهتر هر بار سعی گردید که مایع حاصل از کشت‌های تازه آماده گردد(۱۴).

طی این روش از سوسپانسیون باکتری بیمای‌زای کشت داده شده در محیط نوترینت براث (۰/۵ مک فارلند) با سواپ استریل روی محیط مولر هینتون آگار (Merck, Germany) کشت داده شد و به کمک پیپت

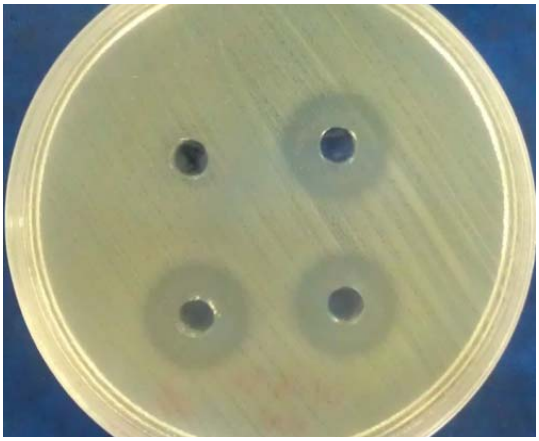
پاستور استریل چاهک هایی با قطر ۶mm روی محیط ایجاد گردید. سپس از مایع رویی کشت (سوپر ناتانت) باکتری‌های مولد اسید لاکتیک کشت داده شده در دو محیط MRS حاوی و فاقد پری بیوتیک‌ها به میزان ۱۰۰ میکرولیتر در چاهک‌ها ریخته شد. سپس پلیت ها به انکوباتور ۳۷°c منتقل گردید. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، قطر هاله عدم رشد توسط خط کش بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و در جدول مربوطه ثبت گردید(۱۵).

تجزیه تحلیل آماری به‌کمک نرم‌افزار SPSS-19 انجام شد. کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار و سطح معنی‌داری نیز در $p< ۰/۰۵$ مد نظر قرار گرفت.

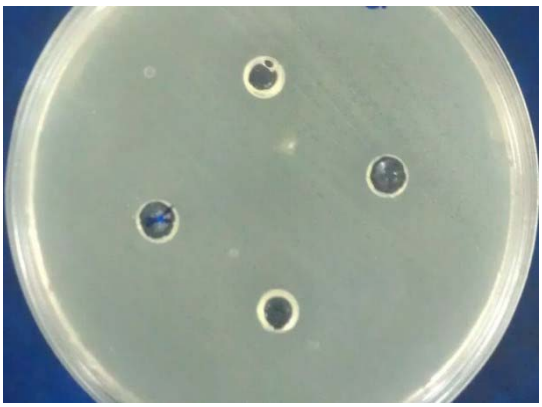
یافته ها

بعد از کشت سویه‌های *Lactobacillus* در دو محیط حاوی و فاقد پری بیوتیک‌های رافینوز، لاکتولوز، ترهالوز، اینولین به عنوان منابع مختلف کربن و ریبوفلاوین به عنوان منبع ویتامین و سه بار تکرار هر آزمون، فعالیت ضد میکروبی مایع رویی کشت آن‌ها، بر علیه سویه‌های بیماری‌زای *Proteus vulgaris* به کمک روش چاهک پلیت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تمام گونه‌ها توانستند باکتری بیماری‌زا را در دو حالت مورد آزمایش یعنی محیط حاوی پری بیوتیک و فاقد آن مهار کنند و تولید قطر هاله عدم رشد توسط آن‌ها از ۱۱ تا ۲۹/۶۷ میلی متر متغیر بود. نتایج نشان داد که میزان مهارکنندگی رشد سویه‌های *Lactobacillus* در حضور پری بیوتیک‌ها نسبت به حالت عدم حضور پری بیوتیک‌ها افزایش داشته که این اختلاف از نظر آماری نیز در تمامی موارد معنادار بوده است ($p<۰/۰۵$). بیش‌ترین میزان مهارکنندگی مربوط *Actobacillus rhamnosus ATCC 7469* علیه *Proteus vulgaris ATCC 7829* با قطر هاله عدم رشد ۲۹/۶۷ میلی‌متر بوده است (نمودار شماره ۱).

در بررسی اثر ضد میکروبی پری بیوتیک‌ها به تنهایی بر روی رشد سویه‌های مختلف *proteus vulgaris* مشاهده شد که پری بیوتیک‌های رافینوز، لاکتولوز، ترهالوز، اینولین و ریبوفلاوین در مواجه با سویه‌های فوق اثر ضد میکروبی از خود نشان نداده‌اند (تصویرهای شماره ۱و ۲).



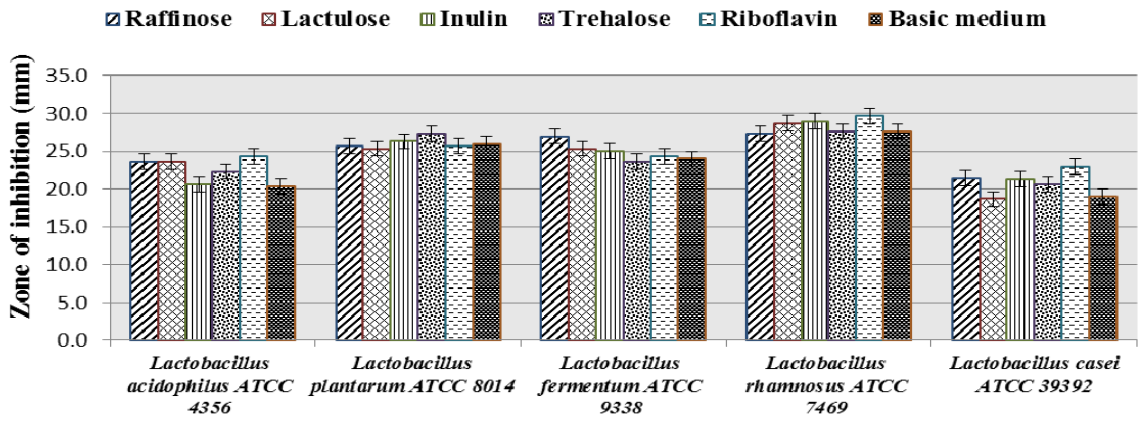
تصویر شماره ۱: قطر هاله عدم رشد مشاهده شده توسط *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 علیه رشد *Proteus vulgaris* PTCC 1182 در محیط مولر هینتون آگار با pH=7 با سه تکرار (شماره های ۱ ، ۲ و ۳)، شماره ۴ مربوط به شاهد محیط کشت MRS می باشد.



تصویر شماره ۲: بررسی تولید هاله عدم رشد توسط پری بیوتیک رافینوز علیه رشد *Proteus vulgaris* PTCC 1182 در محیط مولر هینتون آگار با pH=7 با چهار تکرار.

بحث

بررسی حاضر فعالیت ضدمیکروبی سویه های پروبیوتیکی *Lactobacillus* را بر علیه باکتری های *Proteus vulgaris* از باکتری‌های بیماری‌زای مجاری



نمودار شماره ۱: مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر) سویه های *Lactobacillus*بر علیه *Proteus vulgaris* ATCC 7829 و با سه تکرار در محیط کشت به همراه پری بیوتیک‌ها (رافینوز، لاکتولوز، اینولین و ترهالوز (هر کدام با غلظت۲%w/v) و ریبوفلاوین (۱۰۰ mg/l)) بعد از ۲۴ ساعت گرماگذاری در شرایط میکروآئروفیل در محیط MRS براث با pH=۵/۷ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد. در این شکل منظور ازمحیط کشت پایه، محیط MRS بدون هر گونه ماده اضافه شده می باشد.

ادراری را نشان داد. با توجه به این‌که انتخاب مهار ارگانیسم‌ها و داشتن خاصیت ضد میکروبی بر علیه پاتوژن‌های مختلف به عنوان یک معیار اساسی در انتخاب پروبیوتیک‌ها به عنوان عوامل درمانی در جایگزینی آن‌ها و یا همراهی با آنتی‌بیوتیک‌ها مطرح بوده است، این مکانیسم در بهبود تعادل میکروبی روده و دستگاه ادراری مطرح می‌باشد(۱۶). این خاصیت ضد میکروبی هم‌چنین اثرات سودمندی بر عملکرد و کاهش بار بیماری‌ها و ازجمله بیماری‌های التهابی روده و یا سرطان روده دارد(۱۸،۱۷).

در این بررسی اثرات ضد میکروبی ترشحی از باکتری‌های اسید لاکتیک بر علیه سویه‌های مختلف *Proteus vulgaris* مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که تمامی سویه‌های *Lactobacillus* مورد بررسی بر علیه پاتوژن‌های ادراری خاصیت ضد میکروبی خوبی از خود نشان داده‌اند و در تمامی موارد توانستند رشد را در سویه‌های *Proteus* مورد بررسی مهار کنند. این خاصیت ضد میکروبی به دلیل تولید اسیدهای ارگانیک (استیک و لاکتیک) که باعث کاهش pH محیط می‌شوند(۱۹) و تولید ترکیبات ضدمیکروبی دیگر مانند باکتریوسین‌ها که مانند آنتی‌بیوتیک عمل می کنند باشد(۲۰).

در بررسی Grimoud و همکارانش در سال ۲۰۱۰ نیز مشاهده شد که سویه‌های *Lactobacillus* نسبت به *Bifidobacterium* بیش‌ترین اجزاء ضد میکروبی را بر علیه سویه‌های بیماری‌زای روده‌ای تولید نموده و بیش‌ترین خاصیت ضد میکروبی را از خود نشان داده است(۲۱).

تحقیقات فراوانی در بررسی اثر پری بیوتیک‌ها بر میکروارگانیسم‌ها در شرایط in vivo انجام شده است، اما در خصوص اثرات پری بیوتیک‌ها بر رشد و خاصیت ضد میکروبی پروبیوتیک‌ها در in vitro تحقیقات کم‌تری انجام پذیرفته است. در بررسی‌های مختلف مشاهده شده است که اینولین، فروکتواولیگوساکاریدها و یا گالاکتواولیگوساکاریدها در جذب Ca^{2+}، Mg^{2+} و Fe^{2+} می‌توانند نقش داشته باشند(۲۲). هم‌چنین کاهش لیپیدهای خون نیز در اثر مصرف پری بیوتیک‌ها مشاهده شده است(۲۳).

نتایج بررسی حاضر نشان داد که اولیگوساکاریدهای رافینوز، لاکتولوز، ترهالوز و اینولین به عنوان منابع مختلف کربن و ریبوفلاوین به عنوان منبع ویتامین، می‌توانند برای سویه‌های *Lactobacillus* مورد بررسی، نقش پری‌بیوتیکی داشته و فعالیت ضدمیکروبی را بر علیه سویه‌های *Proteus vulgaris* افزایش دهند، تصور می‌شود

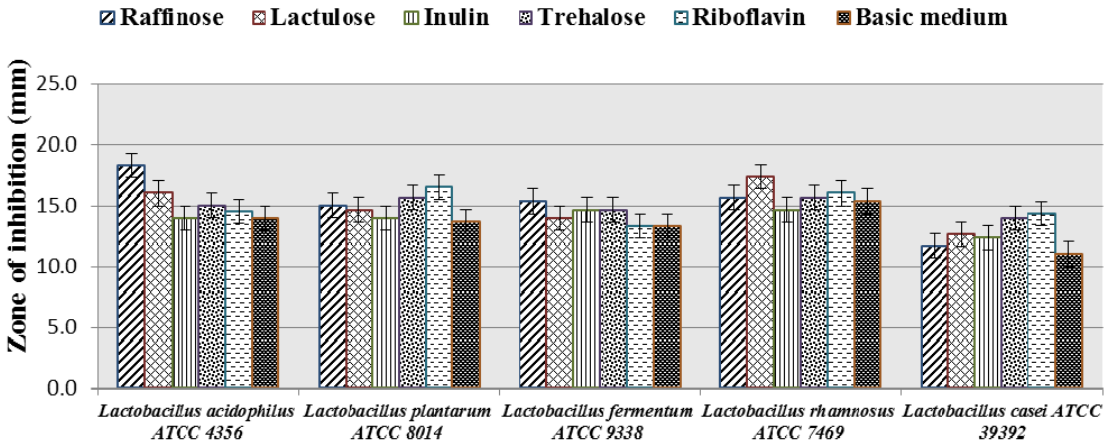
پری بیوتیک‌های مورد بررسی باعث تحریک رشد و یا افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید پروبیوتیک می‌شود(۲۴). در این بررسی مشاهده شد که این میانگین قطر هاله عدم رشد در حضور پری بیوتیک‌ها برای پروبیوتیک‌ها تا ۲۹/۶۷ میلی‌متر افزایش داشته است.

در بررسی Kunova و همکارانش در سال ۲۰۱۱ که در آن رشد و توانایی مصرف پری بیوتیک‌ها توسط ۱۲ سویه از *Lactobacillus* مورد بررسی قرار گرفته بود، مشاهده شد که تمام سویه‌های مورد بررسی رشد قابل توجهی در حضور پری بیوتیک‌ها از خود نشان دادند و از میان آن‌ها اینولین به عنوان بهترین منبع کربوهیدراتی در مصرف سویه‌های *Lactobacillus* بوده است(۲۵). بنابراین پری بیوتیک‌ها علاوه بر افزایش فعالیت ضد میکروبی می‌توانند در افزایش میزان رشد پروبیوتیک‌ها نیز نقش داشته باشند.

در بررسی Mandadzhieva و همکارانش در سال ۲۰۱۱ مشخص شد که فعالیت ضد میکروبی سویه های مختلف *Lactobacillus* و *Lactococcus* بر علیه *Enterobacteraerogenes* پس از انکوباسیون در حضور اولیگوساکاریدها افزایش پیدا می کند. در این بررسی مشخص شد که سیستم جذب قندهای غیر طبیعی تولید مواد ضد میکروبی را در مسیرهای اختصاصی تحت تاثیر قرار می‌دهد. مکانیسم این تحریک فعالیت و این که باکتری‌های اسیدلاکتیک چگونه اولیگوساکاریدها را مصرف می‌نمایند به دلیل ویژگی‌های منحصر به سویه بودن آن‌ها هنوز ناشناخته می‌باشد(۲۶).

Goderska و همکارانش در سال ۲۰۰۸ نیز نشان دادند که افزودن ساکاریدهای مختلف به محیط کشت اثر قابل توجهی نه تنها بر تعداد باکتری‌ها بلکه بر توانایی تولید ترکیبات اسیدی ازسویه‌های *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* خواهند داشت(۲۸). بنابراین نتایج بررسی حاضر با تحقیقات سایر دانشمندان در افزایش تولید ترکیبات ضد میکروبی و افزایش هاله عدم رشد در حضور پری بیوتیک‌ها مطابقت داشت و مشاهده شد که 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 شماره ۱ و ۲ خاصیت ضد میکروبی بیش‌تری را نشان داده است و برای هر سویه متفاوت گزارش گردید.

در این پژوهش از محیط فاقد هرگونه پروبیوتیک به‌عنوان شاهد و نیز هریک از پری بیوتیک‌ها به تنهایی بر روی رشد سویه‌های بیماری‌زا مورد سنجش قرار گرفت



نمودار شماره ۲: مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر) سویه های *Lactobacillus* بر علیه باکتری *Proteus vulgaris* PTCC 1182 و با سه تکرار در محیط کشت به همراه پری بیوتیک ها (رافینوز، لاکتولوز، اینولین و ترهالوز (هر کدام با غلظت۲%w/v) و ریبوفلاوین (۱۰۰mg/l)) بعد از ۲۴ ساعت گرماگذاری در شرایط میکروآئروفیل در محیط MRS براث با pH=۵/۷ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد. در این شکل منظور ازمحیط کشت پایه، محیط MRS بدون هر گونه ماده اضافه شده می باشد.

و مشاهده شد که پری بیوتیک‌های رافینوز، لاکتولوز، تر هالوز، اینولین و ریبوفلاوین در مواجه با سویه‌های فوق اثر ضد میکروبی از خود نشان نداده و تنها نقش در افزایش خاصیت ضد میکروبی پروبیوتیک‌ها علیه سویه‌های *Proteus vulgaris* داشته‌اند.

نتایج بررسی حاضر مشخص کرد که باکتری‌های اسید لاکتیک از جمله *Lactobacillus acidophilus*، *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus fermentum*، *Lactobacillus rhamnosus* و *Lactobacillus casei* می‌توانند رشد را در *Proteus vulgaris* هم در حضور پری بیوتیک‌ها (سین بیوتیک) و هم در محیط پایه فاقد پری بیوتیک‌ها مهارکنند و این مهار رشد در حالت سین بیوتیکی بیش‌تر بوده است که به دلیل افزایش تولید متابولیت‌های ضد میکروبی و باکتریوسین‌ها می‌باشد و برای هر پروبیوتیک یک و یا بیش از یک پری بیوتیک خاص مطرح می‌باشد. بنابراین از آنجائی‌که عملکرد سین بیوتیکی محصولات غذایی می‌توانند منافع سلامت بخشی را با همراهی پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها به ارمغان بیاورند، بررسی حاضر نشان داد که اگرچه پری بیوتیک ها می‌توانند خاصیت ضدمیکروبی و تولید مواد ضدمیکروبی در پروبیوتیک‌ها را افزایش دهند، رشد، فعالیت و دوام پروبیوتیک‌ها به طور خاص وابسته به نوع پری بیوتیک مورد استفاده و نیز سویه‌های به‌کار برده شده می‌باشد. لذا انتخاب دقیق در ترکیب این دو جزء قبل از کارآزمایی‌های بالینی و استفاده در فرآورده‌های دارویی متشکل از پری بیوتیک ها و پروبیوتیک‌ها در عملکرد سین بیوتیکی در بهبود سلامت ضروری می‌باشد.

References

1. Fuller R. Probiotics in man and animals. J Appl Bact 1989; 66: 365-378.
2. Joint F. WHO, Guidelines for the evaluation of probiotics in food: report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002. Available from: Fttp:\\ftp.fao. org/es/esn/food/wgreport 2 pdf. Accessed September 16, 2007.
3. Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. Selective detection, enumeration and identification of potentially probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium species in mixed bacterial populations. Int J Food Microbiol 1997; 35(1): 1-27.
4. Reid G, Younes JA, Van der Mei HC, Gloor GB, Knight R, Busscher HJ. Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities. Nat Rev Microbiol 2011; 9(1): 27-38.
5. Pharmaceutiques UdL. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutr 1995; 125(6): 1401-1412.
6. Goyary J, Owary RK, Basumatary D, Mushahary NM, Muramalla T, Meena GS, et al. Analyses of Symbiosis between Lactobacillus Bulgaricus and (Oat & Onion) Prebiotic. International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research 2013; 4(5): 445-450.
7. Rastall R, Mattila-Sandholm T, Saarela M. Enhancing the functionality of prebiotics and probiotics. Functional dairy products. Cambridge, UK : Woodhead Publishing in Food Science and Technology; 2003. p. 301-315.
8. Rastall RA. Functional oligosaccharides: application and manufacture. Annu Rev Food Sci Technol 2010; 1: 305-339.

9. Gibson GR, McCartney AL, Rastall RA. Prebiotics and resistance to gastrointestinal infections. Br J Nutr 2005; 93(Suppl 1): S31-S34.
10. Rastall RA, Gibson GR, Gill HS, Guarner F, Klaenhammer TR, Pot B, et al. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: an overview of enabling science and potential applications. FEMS Microbiol Ecol 2005; 52(2): 145-152.
11. Aroutcheva AA, Simoes JA, Sebastian F. Antimicrobial Protein Produced by Vaginal *Lactobacillus acidophilus* that Inhibits *Gardnerella vaginalis*. Infect Dis Obstet Gynecol 2001; 9(1): 33-39.
12. Kekkonen R, Ahlroos T, Suomalainen T, Tynkkynen S, Poussa T, Nevala R, et al. A combination of galacto-oligosaccharides and Lactobacillus GG increases bifidobacteria to a greater extent than Lactobacillus GG on its own. Milchwissenschaft 2007; 62(3): 326-330.
13. Kaplan H, Hutkins RW. Metabolism of fructooligosaccharides by Lactobacillus paracasei 1195. Appl Environ Microbiol 2003; 69(4): 2217-2222.
14. Kazemi Darsanaki R, Ghaemi N, Mirpour M, Mirdavoudi F. Evaluating Antimutagenic activity of probiotic bacteria isolated from probiotic products. Qom Univ Med Sci J 2012; 6(2): 37-44 (Persian).
15. Mohankumar A, Murugalatha N. Characterization and antibacterial activity of bacteriocin producing lactobacillus isolated from raw cattle milk sample. International Journal of Biology 2011; 3(3): 128.
16. Schillinger U, Lücke FK. Antibacterial activity of Lactobacillus sake isolated from meat. Appl Environ Microbiol 1989; 55(8): 1901-1906.
17. Isolauri E, Kirjavainen P, Salminen S. Probiotics: a role in the treatment of intestinal infection and inflammation? Gut 2002; 50(Suppl 3): iii54-iii9.
18. Davis CD, Milner JA. Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. J Nutr Biochem 2009; 20(10): 743-752.
19. Heilpern D, Szilagyi A. Manipulation of intestinal microbial flora for therapeutic benefit in inflammatory bowel diseases: review of clinical trials of probiotics, prebiotics and synbiotics. Rev Recent Clin Trials 2008; 3(3): 167-184.
20. Bezkorovainy A. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. Am J Clin Nutr 2001; 73(2 Suppl): 399S-405S.
21. Ibrahim SA, Salameh M. Simple rapid method for screening antimicrobial activities of Bifidobacteriumsp of human isolates. Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology 2001; 9(1): 53-62.
22. Grimoud J, Durand H, Courtin C, Monsan P, Ouarné F, Theodorou V, et al. In vitro screening of probiotic lactic acid bacteria and prebiotic glucooligosaccharides to select effective synbiotics. Anaerobe 2010; 16(5): 493-500.
23. Tuohy KM, Probert HM, Smejkal CW, Gibson GR. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. Drug Discov Today 2003; 8(15): 692-700.
24. Roberfroid M. Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. Br J Nutr 1998; 80(4): S197-202.
25. Burr G, Gatlin D, Ricke S. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the

potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. Journal of the World Aquaculture Society 2005; 36(4): 425-36.

26. Kunová G, Rada V, Lisova I, Ročková S, Vlková E. In vitro Fermentability of Prebiotic Oligosaccharides by Lactobacilli. Czech J Food Sci 2011; 29(1): S49-S54.
27. Mandadzhieva T, Ignatova-Ivanova T, Kambarev S, Iliev I, Ivanova I. Utilization of Different Prebiotics by Lactobacillus Spp. and Lactococcus Spp. Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2011; 25(4): 117-120.
28. Goderska K, Nowak J, Czarnecki Z. Comparison of the growth of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum species in media supplemented with selected saccharides including prebiotics. Acta Sci Pol Technol Alimen 2008; 7(2): 5-20.