بررسی کاهش کلونیزاسیون اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک توسط پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس کازئی) در موش آزمایشگاهی

دکتر سید علی فاضلی*، دکتر حاجیه قاسمیان صفائی**، رضا میرنژاد***

چکیده:

زمینه و هدف: **در قسمت های مختلف جهان بیماری اسهال هنوز به عنوان یکی از بزرگترین مشکلات سلامتی مطرح می باشد. در کشور های در حال توسعه اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک از عوامل مهم اسهال در بچه ها و مهم ترین عامل اسهال مسافرتی می باشد. اسهال ناشی از اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک بستگی به کلونیزاسیون این باکتری در روده کوچک دارد. بنابراین کاهش کلونیزاسیون اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در انسان و حیوان به صورت بالقوه سبب کاهش بیماری می شود. پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های زنده ای (باکتری یا ویروس) هستند که وقتی توسط میزبان مصرف می شوند در سلامتی میزبان دارای اثرات مفیدی می باشد. هدف از این مطالعه بررسی کاربرد لاکتوباسیلوس کازئی به عنوان یک ارگانیسم پروبیوتیکی برای کاهش دفع و کلونیزاسیون اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در لوله گوارش موش Balb/c می باشد.**

مواد و روشها: **موش ها در دو دسته قرار گرفتند: گروه دریافت کننده پروبیوتیک و گروه کنترل. گروه دریافت کننده پروبیوتیک برای ۳ یا ۶ روز پروبیوتیک CFU (colony forming unit 1×10^8) را به صورت خوراکی دریافت می کردند و گروه کنترل هیچ پروبیوتیکی دریافت نمی کردند. ۷۲ ساعت بعد از آخرین تجویز خوراکی پروبیوتیک، به موش های گروه کنترل و آزمون اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک (cfu 1×10^8) تلقیح خوراکی می شد. میزان دفع اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در مدفوع با کلنی کانت کردن مدفوعی بررسی شد.**

نتایج: **مشاهده شد موش هائی که به مدت ۳ یا ۶ روز پروبیوتیک دریافت کرده اند، کاهش معنی داری در میزان دفع و کلونیزاسیون اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در مقایسه با گروه کنترل دارند (P=۰/۰۰۱). بنابراین استفاده از لاکتوباسیلوس کازئی میزان دفع و کلونیزاسیون اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک را در موش کاهش می دهد.**

نتیجه گیری: **با توجه به مطالعه حاضر می توان از لاکتوباسیلوس کازئی به عنوان یک کاندیدای احتمالی به عنوان یک پروبیوتیک بر علیه اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک استفاده کرد.**

واژه های کلیدی: اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک، اسهال مسافرتی، پروبیوتیک، موش Balb/c، لاکتوباسیلوس کازئی.

مقدمه:

دلایل زیادی نشان می دهد که بیشتر بیماری ها و عفونت ها در ارتباط با روش زندگی می باشند. در چند قرن گذشته تغییر شرایط زندگی با کاهش فعالیت فیزیکی، استرس های زندگی مدرن امروزی، تصنعی شدن وضعیت تغذیه انسان و به طور کلی فاصله گرفتن از زندگی طبیعی، استعداد ابتلا به بیماری های عفونی را در نوع بشر افزایش

*دانشیار گروه میکروب و ویروس شناسی-دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.** استادیار گروه میکروب و ویروس شناسی-دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.
***محقق دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... تهران: *میدان ونک - دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا ... (عج)- پژوهشکده طب رزمی-*
تلفن: ۰۲۱-۸۰۵۳۶۱۲، **(مؤلف مسئول).**

داده است. استفاده بی رویه و گسترده از عوامل ضد میکروبی باعث پیدایش مقاومت در بین عوامل عفونی شده است. تهیه و تدوین پروتکل پیشگیری و درمان با استفاده از الگو های طبیعی در این خصوص امری ضروری به نظر می رسد.

یکی از قسمت های آسیب پذیر بدن نسبت به عوامل بیماریزا دستگاه گوارش می باشد و از عوامل شایع بیماریزا در این اندام می توان به اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک اشاره کرد که به دنبال استقرار سبب اسهال مسافرتی و اسهال در کودکان و بالغین می شود. این باکتری از طریق مصرف میوه، سبزیجات، آب و مواد غذایی آلوده وارد بدن شده و با استفاده از فاکتور های بیماریزا از جمله فاکتور کلونیزاسیون که خاصیت آنتی ژنیک دارد در روده کوچک استقرار می یابد (اولین مرحله ایجاد عفونت در دستگاه گوارش کلونیزاسیون در آن می باشد). این عامل بعد از استقرار با تولید دو سم انتروتوکسین حساس به گرما و مقاوم به گرما شرایط اسموتیک روده را به هم زده و سبب اسهال می شود. اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در کشور های در حال توسعه در کودکان زیر ۲ سال سبب اسهال می شود و بندرت در بالغین اسهال ایجاد می کند، ولی بر عکس در کشور های توسعه یافته در بالغین ایجاد اسهال می کند. هم چنین این باکتری از مهم ترین عوامل ایجاد کننده اسهال مسافرین می باشد (۶،۸،۱۱).

استفاده از آنتی بیوتیک ها جهت درمان و پیشگیری از این باکتری نه تنها باعث ایجاد مقاومت دارویی در آن می شود بلکه سبب به هم خوردن فلور نرمال مفید دستگاه گوارش شده و بدن را مستعد به انواع بیماری های روده ای از قبیل اسهال می کند. در مقابل با استفاده از پروبیوتیک ها به عنوان میکرو ارگانیسم هایی که در محیط زنده با عامل میکروبی پاتوژن مقابله می کند می توان از طریق خوراکی فرد را در برابر عامل بیماریزا مصون کرد.

این عوامل میکروارگانیسم های زنده می باشند که به صورت سلول های خشک شده و یا به همراه محصولات تخمیری مصرف می شوند و مصرف این عوامل در قسمت های مختلف بدن از جمله دهان، دستگاه گوارش، دستگاه ادراری، تناسلی و دستگاه تنفسی فوقانی نقش مهمی در باز دارندگی از عفونت دارند. از این عوامل می توان هم در درمان و هم در پیشگیری از بیماری های عفونی استفاده کرد. این عوامل شامل انواع لاکتوباسیلوس ها، ساکارمیسس، بیفیدوباکتریم، انتروکوکوس و کلستریدیوم ها می باشند. که با مکانیسم های متعدد از جمله مواد ضد میکروبی، تولید مواد و اسید های آلی، فعال نمودن سیستم ایمنی بدن (کمپلمان و سیستم بیگانه خواری)، 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 می شود. حسن استفاده از این عوامل ارزانی، فراوانی، خطر کم کاربرد و در بعضی موارد تحریک سریع سیستم ایمنی میزبان (در مقایسه با واکسن ها) می باشد (۳،۶،۸،۱۱،۱۲). خاصیت آنتاگونیستی بین چند گونه از باکتری ها برای اولین بار توسط پاستور و جوبرت در سال ۱۸۷۷ مطرح شد. بدنبال آن مچینکوف در سال ۱۹۰۸ برای نخستین بار از باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک در درمان عفونت های دستگاه گوارش استفاده کرد. او عقیده داشت که میکروفلور دستگاه گوارش موادی از خود تولید می کنند که توکسین ها را خنثی می کنند. بدنبال این نظریه در اوایل قرن بیستم خوردن شیر خام در آمریکای شمالی و اروپا رایج شد و تحقیقات زیادی در زمینه اثرات مفید پروبیوتیک ها انجام گرفت. اهمیت پروبیوتیک ها ابتدا به عنوان فاکتور تحریک کننده رشد در نظر گرفته شد و بعد ها توسط فولر به عنوان یک نوع تغذیه میکروبی زنده که دارای اثرات مفیدی در میزبان می باشد مطرح شد (۱۲).

Goldin در مطالعه ای نشان داد که لاکتوباسیلوس GG در درمان و پیشگیری بیماری اسهال و در واکسن هائی که بر علیه روتا ویروس ساخته می شوند به عنوان ادجونت می تواند نقش داشته باشد (۹). آقای Aiba و همکارانش در مطالعه ای نشان دادند که لاکتوباسیلوس ها می توانند مانع از کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری در دستگاه گوارش شوند (۱). بنابراین مطالعات مختلف نشان داد که پروبیوتیک ها پس از مصرف به صورت خوراکی با اتصال به گیرنده ها و اشغال آنها با پاتوژن هایی نظیر استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا، شیگلا، اشرشیا، انتروباکتر، ویبریوکلرا و هلیکوباکتر پیلوری رقابت می کنند و مانع از اتصال و کلونیزاسیون این باکتری ها می شوند. (۴،۱۲،۱۳).

هدف ما از این تحقیق بررسی کاهش کلونیزاسیون اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در دستگاه گوارش موش توسط لاکتوباسیلوس کازئی به عنوان یک عامل پروبیوتیکی است. لازم بذکر است که در این تحقیق از این پیش فرض که لاکتوباسیلوس کازئی به عنوان یک عامل پروبیوتیکی می تواند روی کلونیزاسیون عوامل عفونی در دستگاه گوارش مؤثر باشد استفاده شده است.

مواد و روشها:

تهیه سوش لاکتوباسیلوس کازئی و بررسی خصوصیات بیوشیمیایی و کشت آن:

سوش لاکتوباسیلوس کازئی از آزمایشگاه رفرانس سازمان پژوهش های علمی ایران بصورت پودر در داخل لوله تهیه شد. پس از انتقال سوش به آزمایشگاه آن را در کمی بافر PBS (Phosphate buffered Saline) حل کرده و سپس در داخل محیط MRS (Deman- Rogosa-Sharpe Broth) براس تلقیح می شود. محیط در شرایط بی هوازی و در مجاورت ۵ درصد گاز دی اکسیدکربن و گازپک به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید (۱۰).

تهیه سوش اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک و بررسی خصوصیات بیو شیمیائی و کشت آن:

سوش اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک (سروتایپ O114) از آزمایشگاه رفرانس بوعلی تهران تهیه و بعد از انتقال به آزمایشگاه یک پاساژ روی محیط مک کانکی و ائوزین متیلن بلو (EMB) داده شد. بعد از ۲۴ ساعت گرماگذاری در ۳۷ درجه سانتیگراد کلنی های آن از نظر میکروسکوپی و ماکروسکوپی و از نظر بیوشیمیایی بررسی شد.

انتخاب موش Balb/c:

موشهای Balb/c نر که سنی حدود ۴ هفته داشتند از انستیتوپاستور تهیه و به لانه حیوانات دانشگاه بقیه ا... (عج) انتقال داده شدند و هریک در قفسه ای جدا گانه قرار داده شدند. در مدت دو هفته به آنها غذا وآب استریل (اتوکلاو شده) به همراه آنتی بیوتیک پنی سیلین به غلظت ۰/۳ گرم در لیتر داده می شود (۷،۱۰).

آماده سازی لاکتوباسیلوس کازئی جهت خوراندن به موش آزمایشگاهی:

بعداز اینکه لاکتوباسیلوس کازئی در محیط MRS براس کشت داده شد در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت گرماگذاری می شود که در این مدت تعداد باکتری ها افزایش می یابد. بعد از این مرحله محیط کشت مایع در مدت ۲۰-۱۵ دقیقه با دور ۲۰۰۰ سانتریفوژ و سپس رسوبات را سه بار با PBS شستشو داده و در ۰/۵ میلی لیتر PBS حل می کنیم. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۳۰ نانومترجذب نور اندازه گیری می شود. با توجه به جذب

OD=۰/۵ در طول موج ۶۳۰ نانومتر لوله حاوی 1×10^{8} CFU/ml (Colony Forming Unit/ mililiter) توده باکتریال بود. در مرحله آخر، محلول در آمپول های ۲ میلی لیتر ریخته شد که در این صورت آماده برای خوراندن به موش می باشد (۱۴،۱۰).

آماده سازی باکتری پاتوژن (اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک):

بعد ازکشت اشرشیا کلی روی محیط TSB (Trypticase Soy Broth) در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۸-۱۲ ساعت گرماگذاری می شود که در این مدت تعداد باکتری ها افزایش می یابد. سپس محیط TSB در مدت ۲۰-۱۵ دقیقه با دور دو هزار سانتریفوژ و رسوبات سه بار با PBS شستشو داده می شود. در مرحله آخر رسوبات در ۰/۵ میلی لیتر PBS حل شدند و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۳۰ نانومتر جذب نور را اندازه گیری شد. با توجه به جذب OD=۰/۵ در طول موج ۶۳۰ نانومتر لوله حاوی 1×10^{8} CFU/ml توده باکتریال می باشد. این محلول در آمپول های ۲ میلی لیتر ریخته و برای خوراندن به موش آماده می شود (۱۴،۱۰).

خوراندن لاکتوباسیلوس کازئی به موش های گروه آزمون:

برای خوراندن لاکتوباسیلوس کازئی به موش های آزمون که تعداد آنها ۸ سر می باشد، ابتدا آنها را به دو دسته ۴ تایی تقسیم کرده و به دسته اول ۶ روز پی در پی ۰/۵ میلی لیتر از سوسپانسیون لاکتوباسیلوس کازئی (1×10^{8} CFU/ml) با استفاده از سرنگ های استریل خورانده می شود. به دسته دوم ۳ روز پی در پی همین مقدار لاکتوباسیلوس کازئی خورانده می شود. در این مرحله به هیچ یک از موش های گروه کنترل (۸ سر) لاکتوباسیلوس کازئی تلقیح نمی شود (۱۴،۱۰).

خوراندن باکتری اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک به موش های گروه کنترل و آزمون:

۷۲ ساعت بعد از آخرین تلقیح خوراکی لاکتوباسیلوس کازئی به موش های گروه آزمون، مقدار ۰/۵ میلی لیتر از سوسپانسیون اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک با غلظت 1×10^{8} CFU/ml به کلیه موش های آزمون و کنترل خورانده می شود. عمل تلقیح مانند تلقیح مرحله قبلی می باشد. (لازم به توضیح است برای اینکه تلقیح باکتری پاتوژن به تمامی موش های آزمون در یک مرحله صورت بگیرد تلقیح لاکتوباسیلوس کازئی به گروه دوم آزمون از روز چهارم تلقیح به موش های گروه اول آزمون صورت گرفت) در این صورت زمان پایانی تلقیح در دو دسته یکسان می شود (۱۴،۱۰).

بررسی میزان دفع باکتری اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در مدفوع:

میزان دفع باکتری اشرشیا کلی انترتوکسیژنیک را با انجام کلنی کانت و شمارش کلنی در مدفوع در زمان های ۲۴-۴۸ -۷۲ -۹۶-۱۲۰-۱۴۴-۱۶۸ ساعت پس از خوراندن اشرشیا کلی روی محیط مک کانکی مشخص شد (۱۴،۱۰).

روش های آنالیز نتایج:

برای آنالیز نتایج در گروه ها از روش های آماری Non-Parametric شامل: Mann-Whitney.U Test (برای گروه های غیر وابسته) و Wilcoxon (برای گروه های وابسته) و برای بررسی اختلاف میانگین در بین گروه ها از آزمون آماری Kruscal-Wallis استفاده شد (۱۴).

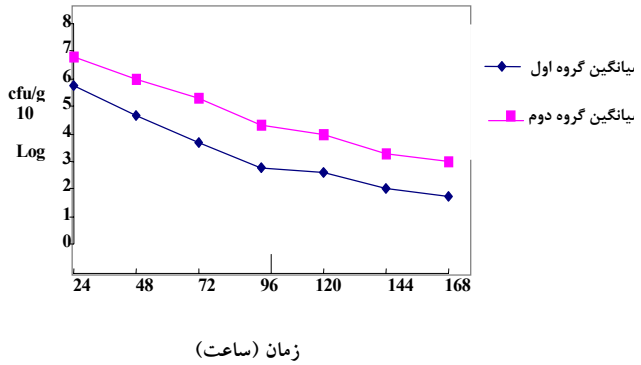
نتایج:

نتایج حاصل از میانگین شمارش اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در موش های گروه کنترل:

میزان دفع اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در گروه کنترل با انجام کلنی کانت مدفوع مشخص می شود. این گروه بر عکس دو گروه آزمون هیچ گونه لاکتو باسیلوس کازئی دریافت نکرده بودند. در جدول شماره ۱ نتایج حاصل از میانگین شمارش اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در مدفوع موش های گروه کنترل در مقایسه با دو گروه-آزمون بر حسب CFU/gr آورده شده است. همانگونه در نمودار شماره ۲ مشاهده می شود میزان دفع اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک کمی کاهش می یابد ولی این کاهش در حد گروه های آزمون نیست. هم چنین این نتایج نشان می دهد که اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در موش استقرار می یابد.

مقایسه نتایج حاصل از میانگین شمارش کلنی های اشرشیاکلی انتروتوکسیژنیک در دو گروه آزمون:

جدول و نمودار شماره ۱ میانگین شمارش کلنی های اشرشیا کلی انترتوکسیژنیک در مدفوع موش های دو گروه آزمون را در فواصل زمانی مختلف بر حسب CFU/gr نشان می دهد. نتایج نشان می دهد که میزان دفع اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در موش های گروه اول که ۶ روز لاکتوباسیلوس کازئی دریافت داشته اند به اندازه معنی داری کمتر از گروه دوم آزمون که ۳ روز پی در پی لاکتوباسیلوس کازئی دریافت داشته اند است (در ۲۴ ساعت اول P=۰/۰۴۳ برای ساعات دیگر P=۰/۰۲۱ می باشد).

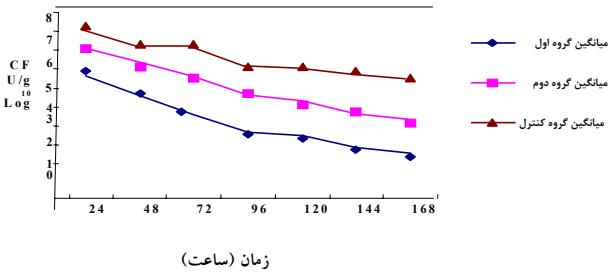


نمودار شماره ۱: مقایسه شماره کلنی های E.coli انتروتوکسیژنیک در مدفوع موش های گروه اول و دوم آزمون در فواصل زمانی مختلف بر حسب Log ۱۰ cfu/g.

جدول شماره ۱: نتایج حاصل از مقایسه بین میانگین های شمارش کلنی های اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در مدفوع موش های گروه های آزمون اول، دوم و کنترل بر حسب CFU/gr

زمان (ساعت) / گروه	۲٤	٤٨	۷۲	۹٦	۱۲۰	۱٤٤	۱٦۸
آزمون اول	٦×١٠^{٥}	٥×١٠^{٤}	٥×١٠^{٣}	٦×١٠^{٢}	٤×١٠^{٢}	١×١٠^{٢}	٥×١٠^{١}
آزمون دوم	٦×١٠^{٦}	١×١٠^{٦}	٢×١٠^{٥}	٢×١٠^{٤}	١×١٠^{٤}	٢×١٠^{٣}	١×١٠^{٣}
کنترل	٤×١٠^{٧}	٦×١٠^{٦}	١×١٠^{٦}	٥×١٠^{٥}	٤×١٠^{٥}	٢×١٠^{٥}	١×١٠^{٥}

CFU/gr: واحد تشکیل کلنی بر گرم



نمودار شماره ۲: مقایسه شمارش کلنی های E.coli انتروتوکسیژنیک در مدفوع موش های گروه آزمون و کنترل در فواصل زمانی بر حسب Log ۱۰ cfu/g.

مقایسه نتایج حاصل از میانگین شمارش کلنی های اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در دو گروه آزمون اول، دوم و گروه کنترل:

در جدول شماره ۱ همانگونه که قبلا مطرح شد مقایسه بین میانگین های نتایج حاصل از شمارش کلنی های اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در مدفوع موش های گروه آزمون اول و دوم با گروه کنترل را در زمان های متفاوت نشان می دهد. مقایسه بین سه گروه نشان می دهد که میانگین میزان دفع اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در سه گروه با یکدیگر اختلاف معنی داری دارند (در ۲۴ ساعت اول P=۰/۰۰۶ و برای ساعات دیگر P<۰/۰۰۳ می باشد). بررسی نمودار شماره ۲ نشان می دهد که مصرف لاکتوباسیلوس کازئی به مدت ۶ روز همانند گروه آزمون دوم میزان دفع اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک را در مدفوع کاهش می دهد ولی این کاهش به مراتب بیشتر از گروه آزمون دوم می باشد.

بحث:

اصولاً پروبیوتیک ها میکروب های زنده هستند که در درمان و پیشگیری از تعدادی بیماری های عفونی مورد استفاده قرار می گیرند. اگر امکان استقرار ارگانیسم مفیدی بی ضرر در دستگاه وجود داشته باشد می توان از این طریق از کلونیزاسیون عفونت های میکروبی مختلف جلوگیری کرد (۸،۶). مطالعات زیادی نشان می دهد که لاکتوباسیلوس ها در پیشگیری و درمان اختلالات دستگاه گوارش نقش مثبتی دارند. لاکتوباسیلوس ها قدرت اتصال به سلول های اپتلیال دستگاه گوارش انسان و حیوان را دارند (۱۰). در این مطالعه مشخص شد که لاکتوباسیلوس کازئی قدرت استقرار و پایداری در دستگاه گوارش موش را دارد و یک کاندید خوب به عنوان یک عامل پروبیوتیکی بر علیه اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک می باشد.

اولین مرحله کلونیزاسیون اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در دستگاه گوارش اتصال به سلول های اپیتلیال روده می باشد. این اتصال از طریق فاکتورهای کلونیزاسیون مختلف که این باکتری دارا می باشد انجام می گیرد. این باکتری قدرت کلونیزه و استقرار در دستگاه گوارش موش را دارد (۵). (نتایج حاصل از کلونیزه شدن این باکتری در موش های گروه کنترل در زمان های مختلف در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است).

در مقایسه ای که بین شمارش باکتری پاتوژن در موش های گروه های آزمون و گروه کنترل صورت گرفت مشخص شد که میزان دفع در ۳ گروه دارای اختلاف معنی داری می باشد. این اختلاف معنی دار نشان دهنده این موضوع است که هر چند در گروه کنترل که لاکتوباسیلوس کازئی دریافت نکرده بودند باز هم کاهش مشاهده می شود ولی میزان کاهش در دو گروه آزمون به مراتب خیلی بیشتر از کاهش گروه کنترل می باشد (P-Value بطور متوسط برای ساعات متفاوت برابر با ۰/۰۰۴ می باشد). وقتی گروه های آزمون را با گروه کنترل به صورت جداگانه مقایسه شود نتیجه می شود که میزان کاهش دفع اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در گروه اول نسبت به گروه کنترل خیلی زیادتر از کاهش دفع

اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک توسط گروه دوم می باشد، که این در اثر مصرف طولانی مدت لاکتوباسیلوس کازئی در گروه اول می باشد. بنابراین می توان گفت که خوراندن طولانی مدت لاکتوباسیلوس کازئی به موش سبب استقرار بیشتر در دستگاه گوارش موش و اثرات بیشتری روی دفع اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک می شود (نمودار شماره ۲).

همانند مطالعه حاضر تاکنون در ایران انجام نشده است ولی مطالعه ای مشابه این تحقیق در سال ۱۹۹۷ توسط Kabir و همکارانش انجام شد که تقریباً در روش کار و انتخاب حیوان آزمایشگاهی با مطالعه ما یکسان بود (۱۰). مطالعه آنها که بر روی اثرات بازدارندگی لاکتوباسیلوس سالیواریوس از کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری در موش از نژاد Balb/c انجام گرفت، دوز تلقیحی و نوع باکتری پاتوژن و پروبیوتیک با آزمایش ما تفاوت داشت. آنها از مطالعه خود نتیجه گرفتند که لاکتوباسیلوس سالیواریوس قدرت بازدارندگی از کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری در معده موش را دارد. این بازدارندگی به نظر می رسد ناشی از اشغال گیرنده های هلیکوباکتر پیلوری توسط لاکتوباسیلوس سالیواریوس باشد (۱۰). ما در این تحقیق فقط ثابت کردیم که لاکتوباسیلوس کازئی قدرت کاهش کلونیزاسیون اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در موش را دارد و اثر بازدارندگی و مکانیسم عمل پروبیوتیک ها را بررسی نکردیم.

آقای Akalin و همکارانش (۲) به موش ها، ماست حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس داده و نتیجه گرفتند که میزان کلی فرم ها در مدفوع موش هائی که ماست حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را خوردند کمتر از موش هائی است که ماست بدون لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را دریافت داشتند. نتیجه آنها تقریباً مشابه نتیجه مطالعه ما بود با این تفاوت که نوع لاکتوباسیلوس و بررسی باکتری در مدفوع با مطالعه ما تفاوت داشت.

در مطالعه حاضر اگرچه مکانیسم کاهش کلونیزاسیون و میزان دفع اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک در موش توسط لاکتوباسیلوس بررسی نشده و تنها به بررسی کاهش کلونیزاسیون اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک توسط لاکتوباسیلوس کازئی پرداخته شد، ولی به نظر می رسد که لاکتوباسیلوس کازئی با اشغال گیرنده ها و تولید مواد آلی و پائین آوردن pH محیط از کلونیزاسیون اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک جلوگیری می کند.

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه لاکتوباسیلوس کازئی احتمالا به عنوان یک پروبیوتیک می تواند در دستگاه گوارش موش کلونیزه شده و سبب کاهش کلونیزاسیون اشرشیا کلی انتروتوکسیژنیک شود. این تحقیق همانند تحقیقات سایر محققین در این زمینه که از سال ۱۹۷۷ شروع و تا کنون نیز ادامه دارد، این نظر را قوت می دهد که بجای آنتی بیوتیک ها بهتر است از پروبیوتیک ها و بیوتراپی در پیشگیری و درمان عفونت های اشرشیا کلی انتروتوکسژنیک استفاده گردد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از معاونت پژوهش، اساتید و کارکنان گروه میکروب و ویروس شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تشکر و قدردانی می گردد.

References:

1. Aiba Y.; Suzuki N.; Kabir AM.; Takagi A.; et.al. Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of lactobacillus salivarius as a probiotic in a gnotobiotic murine model. AM J Gasteroenterol, 93(11): 2097-101, 1998.
2. Akalin As.; Gonc S.; Duzel S. Influence of yogurt and acidophilus yogart on serum cholesterol levels in mice. J Dairy Sci, 80(11): 2721-5, 1997.
3. Bengmark S. Ecological control of the gastrointestinal tract the role of probiotic flora.Gut, 42(1): 2-7, 1995.
4. Bernet MF.; Brassart D.; Neeser JR.; Servin AL. Lactobacillus acidophillus LA_1 binds to cultured human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by Enterovirulent bacteria.Gut, 35(4): 483-89, 1994.
5. Carl FD.; Katherine MC.; Grace MT.; Sherwood Lg. Attachment of enterotoxigenic *Escherichia coli* to human intestinal cell. Infect Immun, 39(3): 1102-6, 1983.
6. De Roos NK. Katan MB. Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. Am J Clin Nutr, 71(2): 405-11, 2000.
7. Dwayne CS.; Rone D. Alteration in the mouse cecum and its flora produced by antibacterial drug. J Exp Med, 127(11): 97-110, 1968.
8. Gary WE.; Christina MS.; Lynne VM. Biothrapeutic agents. JAMA, 275(11): 870-6, 1996.
9. Goldin BR. Health benefits of probiotics. Br J Nutr, 80(4): 203-7, 1998.
10. Kabir AM.; Aiba Y.; Takagi A. Prevention of *Helicobacter pylori* infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model. Gut, 41(1): 49-55, 1997.
11. Leslie CO. Enterobacteriacea. In: Albert B.; Max S. Topleys willsons microbiology and microbial Infections: From Oxford University Inc, NewYork: USA, 514-699, 1998.
12. Sherwood LG. Lactic acid bacteria and human health. Ann Med, 22(1): 37-41, 1990.
13. Spencer RJ.; Chesson A. The effect of lactobacillus Spp. on the attachment of enterotoxigenic *Escherichia coli* to isolated porcine enterocytes. J Appl Bacteriol. 77:(2): 215-20, 1994.
14. Zhao T.; Doyle MP.; Harmon BG.; Brown CA.; et al. Reduction of carriagc of enterohemorrahagic *Escherichia coli* O157: H7 in cattle by inoculation with probiotic bacteria. J Clin Microbiol, 36(3): 641-7, 1998.