مقاله پژوهشی

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۲ شماره ۱ فروردین و اردیبهشت ۱۳۸۹ صفحات ۸۵- ۸۰

تاثیر مصرف شیر تخمیر شده با بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم بر عفونت ناشی از اشریشیاکلی $O_{157}:H_7$ درموش سوری

حمیدمیرزایی: گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز: نویسنده رابط
E-mail: hmirzaii@yahoo.com
محمدرضا نهائی: گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
سیدعلی طاهری: دانش آموخته دکترای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز
ستار اکبری نخجوانی: دانش آموخته دکترای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز

دریافت: ۲۳/ ۸۷/۶ ، پذیرش: ۸۸/۲/۲۷

چکیده

زمینه و اهداف: سویه $O_{157}:H_7$ اشریشیاکلی عامل اسهال خونی و سندرم اورمی همولیتیک (Haemolytic uremic syndrome) شناخته شده‌است. هدف از این مطالعه تعیین تاثیر مصرف شیر تخمیر شده با *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* به عنوان یک پروبیوتیک پرمصرف بر عفونت ناشی از *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$در موش‌های سوری بود.

روش بررسی: در این مطالعه تعداد ۴۵ موش سوری ۶ تا ۸ هفتگی ماده بطور تصادفی به ۵ گروه ۹ سری شامل گروه کنترل (A)، گروه آلوده (B)، گروه غیر آلوده تغذیه شده با پروبیوتیک (C)، گروه پیش آلوده تغذیه شده با پروبیوتیک (D) و گروه پس آلوده تغذیه شده با پروبیوتیک (E) تقسیم شدند. به هر کدام از موش‌های گروه B,D,E تعداد $1/5\times10^{8}$ CFU g^{-1} از *E. coli* $O_{157}:H_7$ از طریق سوند داخل معدی خورانده شد. موش‌های گروه C به مدت ۱۴ روز، گروه D به مدت ۷ روز بعد از آلوده شدن و گروه E به مدت ۷ روز قبل از آلوده شدن روزانه ۰/۵ میلی لیتر شیر تخمیر شده با *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* دریافت نمودند و در روزهای قبل از آلوده شدن، ۳، ۵، ۷ و ۹ روز بعد از آلوده شدن تعداد سلول‌های *E. coli* $O_{157}:H_7$ در مدفوع موش‌ها با روش کشت مخلوط در محیط کشت سوربیتول مکانکی آگار و تایید با آنتی سرم اختصاصی *E. coli* O_{157} شمارش شدند.

یافته ها: در هیچ‌کدام از مراحل کشت از موش‌های گروه کنترل (A) و گروه غیر آلوده تغذیه شده با پروبیوتیک (C)، باکتری زنده *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ جدا نشد.

بر اساس آزمون های آماری تفاوت معنی داری بین میانگین تعداد کل سلول‌های دفع شده در گروه B [$(۱۱/۵۳ \pm ۲/۸۱)\times10^{5}$] و D CFU g^{-1} [$(۲/۶۷ \pm ۰/۵۶)\times10^{5}$] ($p<۰/۰۱$) و نیز گروه B [$(۱۱/۵۳ \pm ۲/۸۱)\times10^{5}$] و E [$(۱/۴۷ \pm ۰/۵۷)\times10^{5}$ cfu g-1] مشاهده گردید ($p<۰/۰۱$).

نتیجه گیری: مصرف شیر تخمیر شده با *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* در مسمومیت با *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$، شدت و طول مدت بیماری را کاهش می‌دهد.

کلید واژه‌ها: اشریشیاکلی، بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم، تخمیر پروبیوتیک

مقدمه

اشریشیاکلی مهمترین گونه از جنس اشریشیا می‌باشد. در سالهای اخیر وقوع کولیت خونریزی دهنده با سویه‌ای از این باکتری بنام *E. coli* $O_{157}:H_7$ همراه بوده است و این سویه به عنوان عامل اسهال خونی و شایعترین عامل سندرم اورمی همولیتیک (HUS) شناخته شده‌است (۱و۲). تا به حال هیچ مدرک قابل قبولی مبنی بر اثر استفاده از عوامل ضد میکروبی برای درمان و بهبود بیماری ایجاد شده با*E. coli* $O_{157}:H_7$ تایید نشده است و اعتقاد بر این است که درمان آنتی بیوتیکی ممکن است باعث ایجاد نارسایی در کلیه گردد (۲).

بر اساس مطالعات متعددی که بصورت آزمایشگاهی و روی موجودات زنده اعم از جمعیت‌های انسانی و نیز حیوانات مختلف آزمایشگاهی صورت گرفته است، خواص بسیار با ارزشی از قبیل

مقاومت در مقابل پاتوژن‌های روده‌ای، درمان و پیشگیری اسهال-های ویروسی و باکتریایی، اثر مهاری روی سرطان کولون، اثر پیشگیری روی سرطان مثانه، تقویت سیستم ایمنی، مهار رشد باکتری‌های روده باریک، درمان عفونت‌های مجاری ادراری – تناسلی، درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط هلیکوباکتر پیلوری، بهبود عدم تحمل لاکتوز، کاهش کلسترول خون و ... را به پروبیوتیک ها نسبت داده اند (۸-۳).

پروبیوتیکها فرآورده‌هایی از سلولهای میکروبی یا اجزائی از سلولهای میکروبی هستند که آثار مفیدی بر روی سلامت و آسایش انسان دارند و تا بحال آثار بسیار متعدد و مفیدی از قبیل سد حمایتی در مقابل پاتوژنها و عوامل عفونت‌زای روده‌ای، تنظیم کننده انتقالات روده‌ای، تجزیه و شکستن بعضی از کربوهیدراتهای غیرقابل جذب، بهبود وضعیت عدم تحمل لاکتوز، تحریک سیستم ایمنی دستگاه گوارش و تولید ویتامینها و بعضی از فاکتورهای رشد برای سلولهای روده‌ایی به آنها نسبت داده شده است (۹). گزارشها و مطالعات اخیر بر روی اثرات مصرف مقادیر لازم پروبیوتیک ها در ایجاد سلامتی میزبان متمرکز شده است (۱۰،۹،۵). مصرف پروبیوتیک هایی مثل بیفیدوباکتریوم ها می توانند با بقاء و تعادل میکروفلور طبیعی روده در ارتباط باشد و از آلودگی های روده ای جلوگیری نماید (۱۲،۱۱). در مطالعات اخیر آزمایشگاهی ممانعت از رشد و گسترش پاتوژنهای روده ای توسط بیفیدوباکتریوم های پروبیوتیک تجارتی نشان داده شده است (۱۵-۱۳).

هدف از این مطالعه تعیین تاثیر مصرف شیر تخمیر شده با *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* به عنوان یک پروبیوتیک پر مصرف بر عفونت ناشی از دوز های مختلف *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ در موش‌های سوری بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی می باشد که در آن تاثیر مصرف شیر تخمیر شده با *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* بر عفونت ناشی ازسه دوز $۱۰^۸ \times ۱/۵$، $۱۰^۸ \times ۳$ و $۱۰^۸ \times ۶$ cfu مختلف *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ در موش سوری مورد ارزیابی قرار گرفت.

در مرحله اول تعداد ۴۵ موش سوری ۶ تا ۸ هفتگی ماده از محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه و بمدت ۷ روز در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با جیره غذایی معمول و دسترسی آزاد به آب به محیط جدید عادت داده شدند و سپس به طور تصادفی در ۵ گروه توزیع شدند. گروه کنترل (A): در این گروه مواجهه با باکتری *E. coli* $O_{157}:H_7$ صورت نگرفت و آب و غذای مصرفی نیز حاوی پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* نبود. گروه آلوده (B): با *E. coli* $O_{157}:H_7$، آلوده شدند ولی پروبیوتیک دریافت نکردند. گروه غیر آلوده تغذیه شده با پروبیوتیک (C): این گروه بدون مواجه با *E. coli* $O_{157}:H_7$ پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* را در روزهای صفر تا هفت دریافت نمودند. گروه پیش آلوده تغذیه شده با پروبیوتیک (D): پس از مواجهه با باکتری *E. coli* $O_{157}:H_7$ در روز هفتم، از روز ۷ تا روز ۱۴ پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* را دریافت نمود. گروه پس آلوده تغذیه شده با پروبیوتیک(E) : پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* را در روزهای صفر تا ۷ دریافت نموده و در روز ۷ با باکتری *E. coli* $O_{157}:H_7$ آلوده شدند. بعد از اینکه نتایج حاصل از مرحله اول مورد آنالیز آماری قرارگرفت در مرحله دوم و سوم در هر مرحله ۱۸ موش سوری طبق شرایط قبل به محیط عادت داده شده و به دو گروه مساوی تحت تیمار و کنترل بطور تصادفی تقسیم شدند. موش‌های گروه اول و دوم در روز صفر با استفاده از سوند مری به ترتیب با $۱۰^۸ \times ۳$ و $۱۰^۸ \times ۶$ cfu g^{-1} *اشریشیا کلی* $O_{157}:H_7$ آلوده شدند. به آب مصرفی موش‌های گروه تیمار شیر تخمیر شده با *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* طبق مرحله اول اضافه می‌شد ولی به آب مصرفی گروه کنترل اضافه نمی‌شد.

برای آماده‌سازی باکتری‌ها، *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ تهیه شده از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران در محیط کشت آگار مغذی (Nutrient agar) در مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد تکثیر داده شد و توسط تست IMViC و آنتی سرم O_{157} مورد تائید قرار گرفت. سپس طبق روش نفلومتری مک فارلند از کلنی های تشکیل شده رقت ۰/۵ مک فارلند که حاوی $۱۰^۸ \times ۱/۵$ cfu ml^{-1} می باشد تهیه گردید. از رقت حاصله به هر کدام از موش‌های گروه B در روز صفر و به موش‌های گروه D و E در روز ۷ به مقدار ۰/۵ میلی لیتر با استفاده از لوله مری بصورت گاواژ خورانده شد.

بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم PTCC 1366 بصورت لیوفیلیزه از سازمان علمی و پژوهشی ایران تهیه گردید و طبق سفارش سازمان فوق الذکر ابتدا در محیط آب پپتونه (ساخت کارخانه مرک) در مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد فعال سازی شد. سپس ۵ میلی لیتر از این محیط در ۲۵۰ میلی لیتر شیر استریلیزه تلقیح گردید و شیر حاصله در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا اسیدیته آن به حدود ۸۰ درجه دورنیک برسد و این شیر تخمیر شده به آزمایشگاه منتقل گردید و در طول مطالعه بعنوان مایه کشت مورد استفاده قرار گرفت. برای تولید شیر تخمیر شده با *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* مورد نیاز ۲٪ از مایه کشت اولیه به داخل شیر استریلیزه تلقیح می شد و شیر حاصل در ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شد تا زمانیکه اسیدیته آن به حدود ۸۰ درجه دورنیک برسد و از شیر تخمیر شده حاصله طبق برنامه زمان‌بندی شده فوق الذکر به آب مصرفی گروه‌های C، D و E به مقداری اضافه می‌شد تا روزانه هر کدام از موش‌ها حدودا ۰/۵ میلی‌لیتر شیر تخمیر شده دریافت نمایند.

برای شمارش تعداد اشریشیاکلی O157:H7 دفع شده در مدفوع موش‌ها در روزهای قبل از آلوده شدن (۱)، ۳، ۵، ۷ و ۹ روز بعد از آلوده شدن به روش زیر نمونه مدفوع از موش‌ها تهیه و مورد آزمایش قرار گرفت.

پس از مقید سازی فیزیکی با فشار قسمت پایینی شکم حیوان نمونه مدفوعی گرفته می‌شد و در ظرف‌های مخصوص استریل با وزن مشخص قرار می‌گرفت و از نمونه مدفوع اخذ شده، رقت-های 10^{-1}و10^{-2}و10^{-3}و10^{-4}و10^{-5} و 10^{-6} در محیط آب پپتونه تهیه شد و از ۳ رقت آخر بصورت سطحی در مکانکی سوربیتول آگار کشت داده و بمدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس تعداد کلنی‌های سوربیتول منفی شمارش شده و جذری از آنها با آنتی سرم O_{157} (تهیه شده از شرکت بهار افشان) مورد ارزیابی تائیدی قرار گرفت و تعداد *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ دفع شده در مدفوع موش‌ها با استفاده از فرمول (نسبت کلنی‌های مثبت با آنتی سرم × عکس رقت مربوطه × تعداد کلنی‌های مشکوک = N) محاسبه گردید. علاوه بر آزمایش فوق، میزان آب و غذای مصرفی با استفاده از کسر نمودن مقدار باقیمانده از میزانی که در اختیار هر گروه قرار داده شده بود به صورت روزانه اندازه‌گیری و ثبت گردید. وزن موش‌ها در ابتدا و انتهای آزمایش اندازه گیری و ثبت شد و موش‌های هرگروه بصورت روزانه از نظر علائم بالینی مورد ارزیابی قرار می‌گرفتند. برای مقایسه میانگین بین گروه ها در مرحله اول مطالعه از آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و در صورت معنی دار بودن برای مقایسه میانگین بین گروه ها بصورت دو به دو از آزمون تعقیبی توکی (Tukey) و در مراحل ۲ و ۳ مطالعه از آزمون تی مستقل در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده گردید.

نتایج

نتایج مربوط به شمارش تعداد *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ دفع شده و تعداد روزهای دفع مربوط به مرحله اول آزمون که در آن موش‌های گروه‌های تحت مطالعه با دوز $1/5 \times 10^8$ cfuml^{-1} آلوده شده‌اند در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده‌است.

با توجه به اینکه از نمونه‌های مدفوع هیچکدام از موش‌های گروه A و C *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ جدا نشد، لذا در آنالیزهای آماری و نمودار ۱ از آوردن آنها اجتناب شده‌است.

همانطوری‌که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود تعداد *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ دفع شده از زمان آلوده شدن تا روز نهم روند کاهشی داشته‌است. میانگین تعداد *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ دفع شده در طول مدت ۹ روز در گروهای B، D و E بترتیب برابر $\times 10^5$ (۲/۸۱ ± ۱۱/۵۳)، $\times 10^5$ (۰/۵۶ ± ۲/۶۷) و $\times 10^5$ cfu g^{-1} (۰/۵۷ ± ۱/۴۷) بود که براساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی این میانگین در گروه‌های D وE بطور معنی‌دار کمتر از گروه B برآورد گردید ($P <$ ۰/۰۱).

براساس اطلاعات مندرج در نمودار ۲ میانگین تعداد روزهای دفع *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ در مدفوع موش های گروههای B، D و E به ترتیب برابر ۰/۹۵ ± ۸/۳۳، ۱/۳۲ ± ۵/۴ و ۱/۱ ± ۴/۶ برآورد شده است که براساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی این میانگین در گروه E بطور معنی‌دار کمتر از دو گروه دیگر و در گروه D بطور معنی دار کمتر از گروه B برآورد گردید ($P <$ ۰/۰۱).

نتایج مربوط به مرحله دوم آزمون که در آن موش‌های گروه-های تحت مطالعه با دوز 3×10^8 cfu ml^{-1} آلوده شده بودند نشان داد که تعداد *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ دفع شده از موش‌های گروه تیمار و شاهد از زمان آلوده شدن با دوز 3×10^8 cfuml^{-1} تا روز پنجم روند کاهشی داشته‌است. میانگین تعداد *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ دفع شده در طول مدت ۵ روز در گروه‌های تیمار و شاهد بترتیب برابر $\times 10^5$ (۳/۲۹±۲۰/۷۸) و $\times 10^5$ cfu g^{-1} (۱/۵۵±۱۳/۱۱) بود که براساس آزمون آماری تی مستقل در سطح اطمینان ۹۵٪ این میانگین در گروه تیمار بطور معنی‌دار کمتر از گروه شاهد برآورد گردید ($P <$ ۰/۰۵).

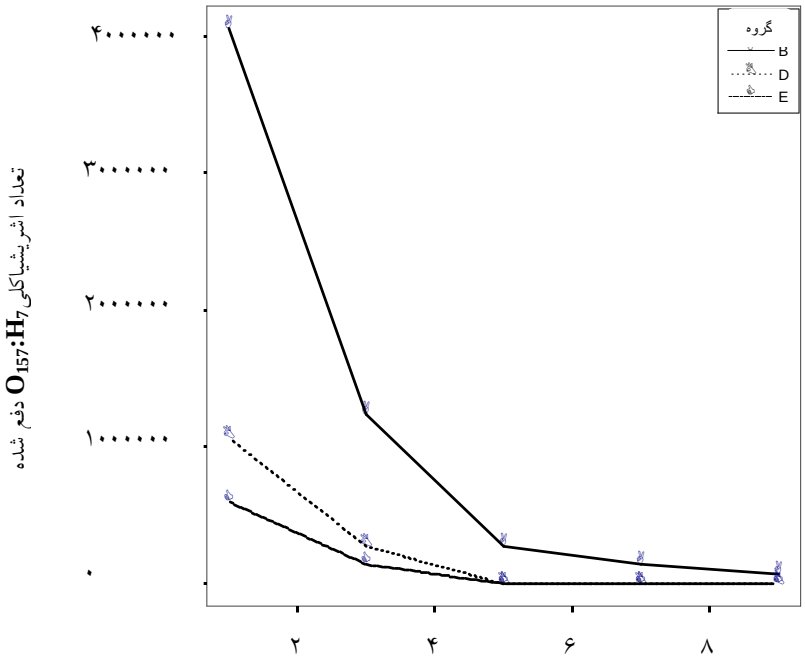
همچنین نتایج مربوط به مرحله سوم آزمون که در آن موش‌های گروه‌های تحت مطالعه با دوز 6×10^8 cfu ml^{-1} آلوده شده بودند نشان داد که تعداد *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ دفع شده از موش‌های گروه تیمار و شاهد از زمان آلوده شدن با دوز 6×10^8 cfu ml^{-1} تا روز پنجم روند کاهشی داشته‌است. میانگین تعداد *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ دفع شده در طول مدت ۵ روز در گروه-های تیمار و شاهد بترتیب برابر $\times 10^5$ (۲/۰۳±۲۰/۵۶) و $\times 10^5$ cfu g^{-1} (۴/۱۷±۳۸/۱۱) بود که براساس آزمون آماری تی مستقل این میانگین در گروه تیمار بطور معنی‌دار کمتر از گروه شاهد برآورد گردید ($P <$ ۰/۰۱). لازم به ذکر است که در سه مرحله این مطالعه در هیچکدام از گروه های تحت مطالعه علائم بالینی مشاهده نشد.

بحث

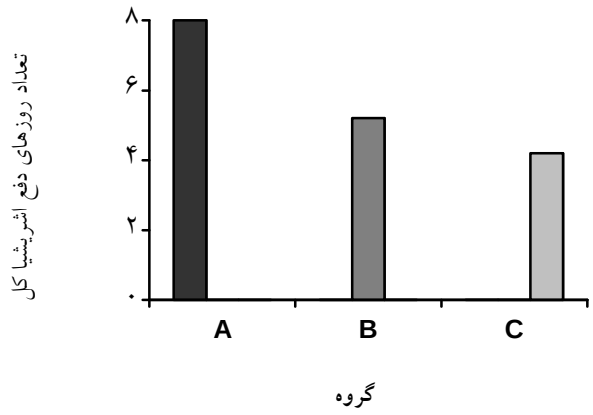
هدف از مطالعه حاضر تعیین تاثیر مصرف شیر تخمیر شده با *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* بر عفونت ناشی از دوز های مختلف *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ در موش سوری بوده است.

براساس اطلاعات مندرج در نمودار ۱ مصرف شیر تخمیر شده با *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* بصورت قبل و بعد از آلوده شدن، تعداد *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ دفع شده در مدفوع موش‌های آلوده شده با دوز $1/5 \times 10^8$ cfu ml^{-1} را در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی‌دار کاهش می‌دهد (p<۰/۰۱). از طرف دیگر براساس این نتایج، میزان تاثیر مصرف شیر تخمیر شده با این پروبیوتیک، بصورت پس از آلوده شدن بطور غیرمعنی‌دار بیشتر از مصرف پیش از آلوده شدن برآورد گردید. طبق نتایج مندرج در نمودار ۲ مصرف شیر تخمیر شده به صورت‌های قبل و همزمان با آلوده شدن، تعداد روزهای دفع *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ را بطور معنی دار کاهش می‌دهد (p<۰/۰۱).

همچنین نتایج حاصله از این تحقیق نشان داد که مصرف همزمان شیر تخمیر شده با *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* در موش‌های آلوده شده با دوزهای 3×10^8 cfu ml^{-1} و 6×10^8 cfu ml^{-1} *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$، میانگین تعداد دفع این باکتری را بطور معنی‌دار کاهش می‌دهد (P<۰/۰۵).



نمودار۱:مقایسه میانگین تعداد *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ دفع شده در سطح اطمینان ۹۵٪ از موش‌های آلوده با دوز $1/5 \times 10^8$ $cfug^{-1}$ در طول مدت مطالعه



نمودار ۲: مقایسه میانگین تعداد روزهای دفع *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ در سطح اطمینان ۹۵٪ در مدفوع موش های گروههای تحت مطالعه در مرحله اول

Gibsonو Vang دریافتند کـه در شـرایط رشـد توأمـان، *B. infantis*اثر مهاری بر رشد *اشریـشیاکلی و کلـستریدیوم پرفرینژنـز* دارد و نیز نتیجه گرفتند که این اثر مهاری ضرورتاً مربوط بـه تولیـد اسـید نمـی‌باشـد (۱۶). Lindgren و Dobrogosz، Meghrous و همکاران و Ramboud و همکـاران عوامـل دیگـر از جملـه رقابت بر سر مـواد مغـذی، تغییـر خاصـیت اکـسیداسیون و احیـاء محیط، تولید موادی مانند آب اکسیژنه، دی استیل، ترکیبـات مهـاری شـبیه باکتریوسـین تولیـد شـده توسـط تعـدادی از سـویه‌هـای بیفیدوباکتریوم و LAB [1] را بر اثر مهاری پروبیوتیک‌هـا روی رشـد باکتریهای بیماریزا مؤثر گزارش کرده‌اند (۱۶).

1. Lactic Acid Bacteria

Laura مکانیسم‌های مربوط به اثر مهاری لاکتوباسیلها و بیفیدوباکترها بر روی باکتریهای بیماریزا را کاهش pH محیط روده بوسیله تولید اسیدهای چرب فرار با زنجیره کوتاه، مصرف مواد مغذی و مورد نیاز باکتریهای بیماریزا و تولید ترکیبات ضد میکروبی خاص مانند باکتریوسین‌ها معرفی کرده‌است (۱۸).

Holzap و همکاران مطرح کردند که هر چند سویه‌های پروبیوتیکی قادر به تولید باکتریوسین‌هستند، ولی نقش آنها در مهار رشد عوامل بیماریزا در بدن موجود زنده محدود خواهد بود، زیرا باکتریوسین‌های این باکتریها فقط بر روی سویه‌های بسیار نزدیک اثر مهاری دارند (۱۹).

Melanie و همکاران طی یک تحقیق آزمایشگاهی اثر مهاری تعدادی از سویه‌های بیفیدوباکتر را بر روی *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$را مورد مطالعه قرار دادند . نتایج نشان می دهد که عامل مهاری بیفیدوباکتریها روی *اشریشیاکلی* ممانعت از اتصال *اشریشیاکلی* به سلولهای Caco-2 توسط بیفیدوباکترها است (۱۱).

Lema و Williams عنوان کردند که تامین غذای بره های آلوده با *Streptococcus faecium* و یا مخلوطی از *S. faecium*، *L. acidophilus*، *L. casei*، *L. fermentum* و *L. plantarum* در جیره غذایی می تواند باعث کاهش مقدار کلی *E. coli* $O_{157}:H_7$دفعی در مدفوع شود و نیز سبب بهبود هر چه بیشتر عملکرد و فرآیند تولید گوشت در حیوان شود (۲۰).

Shu و Harsharnjitl گزارش نمودند که تغذیه با پروبیوتیک *L. rhamnosus* در موش می تواند باعث کاهش بقای آلودگی *E. coli* $O_{157}:H_7$ شود و پیشنهاد نمودند که این کاهش می‌تواند با افزایش پاسخ ایمنی سلولی و همورال در ارتباط باشد (۱۵).

Jean گزارش نمود که پروبیوتیک‌ها اثرات کمی را در عملکرد فیزیولوژی لوله گوارشی دارند و عملکرد اصلی پروبیوتیک‌ها به عنوان یک تقویت و تجدید سد مخاطی روده در برابر عوامل زیان آور می‌تواند خلاصه شود (۲۱).

Gagnon و همکاران گزارش نمودند که بیفید و باکتریوم‌های جداسازی شده از مدفوع تازه ممکن است در بهبود فرمولاسیون پروبیوتیک ها با در نظر گرفتن حفاظت آنها در برابر آلودگی *E. coli* $O_{157}:H_7$ مفید واقع شود (۲۲).

به گزارش Takahashi و همکاران، پروبیوتیک باکتریایی *C. butyricum MIYAIRI* سویه 588 دارای اثر ممانعت کننده و درمانی بر روی آلودگی انتروهموراژیک *E. coli* $O_{157}:H_7$ در موشهای gnotobiotic می باشد (۲۳).

Gagnon و همکاران نیز عنوان کردند که تغذیه با پروبیوتیک *B. thermacidophilum RBL71* در موش‌ها می‌تواند میزان حدت آلودگی *E.coli* $O_{157}:H_7$ را کاهش داده و این پروبیوتیک را به عنوان یک انتخاب مناسب برای جلوگیری از آلودگی‌های روده ای در انسان پیشنهاد کردند (۲٤).

در طول سه مرحله مطالعه حاضر تمام موش های گروه های تحت مطالعه بطور روزانه از نظر علائم بالینی و بروز اسهال یا خون در مدفوع مورد ارزیابی قرار می‌گرفتند و در طول این مدت در هیچکدام از گروه های تحت مطالعه علائم بالینی مشاهده نشد. Brando و همکاران گزارش کردند که تجویز خوراکی اشریشیا کلی O157:H7 به موش‌های سوری در سن بعد از ترک شیر مادر (Weaned mice) می‌تواند بعد از ۱۰ روز در اپیتلیوم روده کلونیزه شده و ضایعات موضعی ایجاد نماید که این ضایعات در درصدی از موش‌های مبتلا، بدون ایجاد اسهال یا خون در مدفوع منجر به بروز بیماری سیستمیک و مرگ می‌شود و میزان مرگ و میر ناشی از عفونت وابسته به سن موش‌ها می‌باشد و بر اساس این یافته ها موش‌های سوری با سنین پایین را بعنوان مدلی مناسب برای عفونت اشریشیا کلی O157:H7 معرفی نموده اند (۲۵).

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت که مصرف شیر تخمیر شده با *بیفیدوباکتریوم آنگولاتوم* میانگین تعداد *اشریشیاکلی* $O_{157}:H_7$ و مدت زمان دفع آن در موش‌های آلوده را کاهش می‌دهد.

References:

1. Kovacs J, Roddy J, Gregoire S. Thrombotic thrombocytopenic purpura following hemorrhagic colitis due to *Escherichia coli* $O_{157}:H_7$. *Am J Med* 1990; **88**: 177-179.
2. Molbak K, Mead PS, Griffin PM. Antimicrobial therapy in patients with *Escherichia coli* $O_{157}:H_7$ infection. *Journal of the American Medical Association* 2002; 288: 1014-1016.
3. Aloja B, Radomira N, Dagma M, Peterv G. The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trend in Food Sci & Thechnol* 2002; **13**: 121- 126.
4. Aso Y, Akaza H. BLP study group. Prophylactic effects of lactobacillus casei preparation on the recurrence of superficial bladder cancer. *Uro Int* 1992; **49**: 1125- 1129.
5. Chapman MH, Sanderson IR. Intestinal flora and the mucosal immune system. *Annales nestle* 2003; **1**: 55- 65.
6. Coconniier MH, lirvin V, Hemery E, Servin AL. Antagonistic activity against Helicobacter infection in vitro and in vivo by the human Lactobacillus acidophilus strain. *L.B.APPL Environ Microbial* 1998; **64**: 4573- 4580.

7. Michetti P, Dorta G, Wiesel PH, Brassart D, Vedu E. Effect of whey-based culture supernatant of lactobacillus acidophilus (johnsoni) La1 on Helicobacter pylori infection in humans. *Digestion* 1999; **60**: 203 - 209.
8. Mirzaei, H.[Probiotics and introduction to their role in human health]. 1st ed. Tabriz, Islamic Azad University, 2004; PP: 1-2.(Persian)
9. Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Matto J, Mattila - Sandholm T. Probiotic bacteria safety, functional and technological Properties. *J Biotechnology* 2000; **84**: 197-515.
10. Melanie G, Ehab EK, Gwenaelle LB, Ismail F. In vitro inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 by bifidbacterial strains of human origin. *Int J food Microbial* 2004; **92**: 69 - 78.
11. Bielecka M, Biedrzycka E, Biedrzycka E, Smoragiewicz W, Smieszek M. Interaction of Bifidobacterium and salmonella during associated growth. *Int J Food Microbial* 1998; **45**: 151-155.
12. Kim S, Yang SJ, Koo HC, Bae WK, Kim JY, Park JH, et al. Inhibitory activity of Bifidobacterium longum HY8001 against vero cytotoxin of *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Protection* 2001; **64**: 1667-1673.
13. Asahara T, Shimizu K, Nomoto K, Hamabata T, Ozowa A, Takeda Y. Probiotic bifidobacteria protect mice from lethal infection with shiga toxin – producing *Escherichia coli* O157:H7, lnfection and lmmunity. Full Text via CrossRef View Record in Scopus Cited By in Scopus 2004; PP: 2240 – 2247.
14. Shu Q, Gill HS. A dietary probiotic (Bifidobacterium lactis HN019) reduces the severity of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 infection in mice. *Medical Microbiology and lmmunology* 2001; **189**: 147-152.
15. Lindgren S, Dobrogosz WJ. Antagonistic Activities of lactic acid bacteria in food and fermentation. *FEMS Microbiology Letters* 1990; **87**: 149 - 164.
16. Lee Yk, Puong KY, Ouwehand A, Salminen S. Displacement of bacterial pathogens from mucus on Caco-2 cell surface by lactobacilli. *J Med Microbiol* 2003; **52**: 925-930.
17. Laura J. Mixed culture fermentation studies on the effects of symbiotics on the human intestinal pathogens. *Campylobacter jejuni* and *Escherichia coli food Microbiol* 2003; **9**: 231- 242.
18. Holzapfel WH, Haberer P, Geisen R, Bjorokroth J, Schillinger U. Taxonomy and importance features of probiotic micro organisms in food nutrition. *American J Clinical Nutrition* 2001; **73**: 365 - 373.
19. Lema M, William SL, Rao DR. Reduction of fecal sheddiny of entrohemorrhagic *Escherichia coli* O_{157}:H_7 in lambs by feeding microbial feed supplement. *Small Ruminant Research* 2001; **39**: 31- 39.
20. Fioramonti J. Proboscis: what are they? What are the effects on gut physiology? *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2003; **17**: 711-724.
21. Gagnon M, Kheadr EE, LeBlay G, Fliss I. In vitro inhibition of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 by bifidobacterial strains of human origin. *International Journal of Food Microbiology* 2004; **92**: 69-78.
22. Takahashi M, Toguchi H, Yamaguchi H, Osaki T, Komatsu A, Kamiya Sh. The effects of probiotic treatment with Clostridium butyricum on enter hemorrhagic *Escherichia coli* O_{157}:H_7 infection in mice. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2006; **41**: 219-226.
23. Gagnon M, Kheadr EE, Dabour N, Richard D, Fliss I. Effect of Bifidobacterium thermacidophilum probiotic feeding on enterohemorrhagic *Escherichia coli* O_{157}:H_7 infection in BALB/C mice. *International Journal of Food Microbiology* 2006; **111**: 26-33.
24. Brando JF, Miliwebsky E, Bentacor L, Deza N, Baschier A, Ramos MV, et al. Renal damage and death in weaned mice after with shiga toxin 2-producing Eschericiha coli strains. *Clinical and Experimental immunology* 2009; **153**: 279-306.