بررسی اثر آنتاگونیستی *لاکتوباسیل‌های* جدا شده از خاک محل فرآوری ماست محلی بر علیه باکتری‌های بیماری‌زا

جعفر آقاجانی: مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. j.aghajani@theaasm.org
سید بشیر میرتاجانی: مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. b.mirtajani@theaasm.org
***سامان ایوبی**: مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران (*نویسنده مسئول). s.ayoubi@theaasm.org
مریم حبیب پور: مرکز تحقیقات مایکوباکتریولوژی، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. m.habibpour@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: باکتری‌های اسید لاکتیک در بهبود طعم فرآورده‌های غذایی دخالت کرده و با تولید مواد ضد میکروبی به نام باکتریوسین، نقش عمده‌ای را در جلوگیری از رشد ارگانیسم‌های فاسدکننده غذا و پاتوژن‌ها به عهده دارند. هدف از این مطالعه بررسی اثر آنتاگونیستی *لاکتوباسیل‌های* جدا شده از خاک محل فرآوری ماست محلی بر علیه باکتری‌های بیماری‌زا بوده است.

روش کار: در این مطالعه از نمونه خاک آلوده به پساب ماست محلی، *لاکتوباسیلوس‌ها* جداسازی و به کمک روش‌های بیوشیمیایی شناسایی شدند. خاصیت ضد میکروبی مایع رویی کشت آن‌ها برعلیه ۵ باکتری بیماری‌زا به کمک روش چاهک (Well Diffusion Agar) و دیسک (Disk Diffusion Agar) مورد بررسی قرار گرفت. به منظور کاهش خطا هر آزمون سه بار تکرار شد و قطر هاله عدم رشد اندازه گیری و توانایی ضد میکروبی آن‌ها با هم مقایسه گردید.

یافته‌ها: مطابق با نتایج، سه گونه *لاکتوباسیلوس* شناسایی شد. این باکتری‌ها شامل *لاکتوباسیلوس کازئی*، *پلانتاروم* و *دلبروکی* بود. همچنین این باکتری‌ها توان ضد میکروبی خوبی را در مقابل باکتری‌های بیماری‌زا از خود نشان دادند. بیشترین اثر ضد باکتریایی از *لاکتوباسیلوس کازئی* بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* در روش چاهک با میانگین قطر هاله عدم رشد ۱۸/۶۶ میلی‌متر مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: تنوع ارزشمندی از باکتری‌های تولید کننده باکتریوسین با فعالیت ضد باکتریایی بر علیه باکتری‌های بیماری‌زا در لبنیاتی که به صورت سنتی تهیه می‌شوند وجود دارد و استفاده از آن‌ها در تولید فرآورده‌های لبنی صنعتی توصیه می‌شود.

کلیدواژه‌ها: *لاکتوباسیلوس*، فعالیت ضد میکروبی، باکتری‌های بیماری‌زا

مقدمه

اغلب باکتری‌های اسید لاکتیک (Lactic Acid Bacteria)، موادی تولید می‌کنند که از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌نماید (۱). باکتری‌های اسید لاکتیک مکمل‌های غذایی هستند که روی میزبان تأثیرات سودمندی داشته و به تعادل فلور میکروبی روده کمک می‌کنند (۲). امروزه استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک و متابولیت‌های ضد میکروبی آن‌ها در پیشگیری از فساد فرآورده‌های غذایی و افزایش زمان ماندگاری به ویژه در فرآورده‌هایی که غنی از مواد مغذی و ویتامین هستند بسیار رایج شده است (۳). همچنین با افزایش مقاومت پادزیستی و عوارض های ناشی از مصرف داروهای شیمیایی استفاده از درمان‌های طبیعی جایگزین ضروری به نظر می‌رسد. باکتری‌های اسید لاکتیک علاوه بر این که قادر به کاهش میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد هستند، می‌توانند متابولیت‌های تولیدی و توکسین‌های احتمالی تولید شده توسط آن‌ها را نیز بی اثر کنند (۴). فعالیت ضد میکروبی این باکتری‌ها ناشی از عوامل گوناگون از جمله تولید اسیدهای آلی (اساساً اسیدهای لاکتیک و استیک)، پراکسید هیدروژن، دی‌استیل، استالدئید، آمونیاک و باکتریوسین می‌باشد (۵). باکتریوسین‌ها

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-31]

ترکیبات پروتئینی با خاصیت ضد میکروبی هستند که باعث جلوگیری از رشد سویه‌های حساس می‌شوند و در این زمینه *لاکتوباسیلوس‌ها* از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (۶). *لاکتوباسیل‌ها* با تولید ترکیباتی نظیر باکتریوسین دارای اثر آنتاگونیستی بر طیف وسیعی از باکتری‌ها هستند این گونه ترکیبات ممکن است متابولیسم باکتری‌های بیماری‌زا یا سموم آن‌ها را نیز تحت تأثیر قرار دهند. باکتریوسین‌های تولید شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک به عنوان نگهدارنده های طبیعی توجه ویژه ای را در سال‌های اخیر به دلیل کاربرد بالقوه خود در صنعت مواد غذایی یافته اند (۷، ۸). *لاکتوباسیلوس‌ها* باعث تقویت سد مخاطی روده شده که این امر موجب حفظ و ارتقاء سطح ایمنی شده، میزان جابه‌جایی باکتری‌ها از طریق مخاط روده را کاهش داده و همچنین در کاهش میزان بیماری‌های التهابی روده و سندرم روده تحریک پذیر نقش دارند (۹). باکتری‌های اسید لاکتیک را می‌توان از گستره وسیعی از منابع جدا کرد. انواع دانه‌ها، گیاهان سبز، سبزیجات تخمیری، سطوح مخاطی انسان و حیوان، فرآورده‌های گوشتی، تولیدات لبنی، اسفنج های دریایی، صدف‌ها، انواع ماهی و خاک منابعی هستند که بسته به نوع تحقیق می‌توانند برای جستجوی این باکتری‌ها مناسب باشند (۱۰). تولید مواد آنتاگونیستی توسط باکتری‌های لاکتیک، مدت‌هاست که شناخته شده است. اولین مورد به وسیله Rogers در سال ۱۹۲۸ گزارش شد که فعالیت آنتاگونیستی *لاکتوباسیلوس لاکتیس* را در برابر *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* نشان داد (۱۱). در سال ۲۰۱۳، Akhter نشان داد که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* دارای فعالیت ضد میکروبی خوبی بر علیه سویه های استاندارد *اشرشیاکلی*، *کلبسیلا پنومونیه*، *پروتئوس میرابیلیس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* هستند (۱۲). همچنین Abdullah و همکاران در سال ۲۰۱۰ در کشور سودان طی بررسی بر روی شیر و پنیر مشخص کردند که فلور لاکتیکی غالب آن‌ها شامل جنس‌های *لاکتوباسیلوس*، *لاکتوکوکوس* و *پدیوکوکوس* می‌باشد (۱۳). هدف از این مطالعه بررسی اثر آنتاگونیستی *لاکتوباسیل های* جدا شده از خاک محل فرآوری ماست محلی بر علیه باکتری‌های بیماری‌زای شایع دستگاه گوارش می‌باشد.

روش کار

نمونه‌برداری: این مطالعه به صورت مقطعی بر روی خاک آلوده به پساب ماست‌های محلی تهیه شده از روستای فیروزکلا در بهار سال ۱۳۹۴ انجام شده است. فیروزکلا روستایی است کوهستانی در غرب استان مازندران و در ۶۰ کیلومتری شهر نوشهر. این روستا از دهستان توابع کجور شهرستان نوشهر است. با تحقیقات به عمل آمده از این منطقه، تلاش شد تا حد امکان نمونه از منطقه بکر تهیه شود. همچنین از عدم حضور سویه‌های تجاری در این منطقه اطمینان حاصل شد. نمونه در کمتر از ۱۰ ساعت به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس منتقل شد.

جداسازی: به منظور جداسازی *لاکتوباسیلوس‌ها*، ابتدا ۱ گرم از نمونه خاک مورد مطالعه توزین و در یک لوله آزمایش حاوی ۹ سی‌سی آب مقطر استریل حل شد. سپس رقت‌های متوالی تهیه گردید (رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-6}) و از هر رقت توسط سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و بر روی سطح محیط کشت MRS آگار (DeMan,Rogosa and Sharpes Agar)، (شرکت مرک، آلمان) اضافه نموده و به صورت سفره ای کشت داده شد، پلیت ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در شرایط بی‌هوازی با استفاده از جار بی هوازی و گازپک (نوع A، آلمان) گرمخانه گذاری شدند. همچنین برای جلوگیری از رشد مخمرها به محیط کشت بعد از اتوکلاو، ۵۰ AU/ml آنتی بیوتیک نیستاتین اضافه گردید. نیستاتین با مهار رشد مخمرها امکان جداسازی بهتر و مؤثرتر *لاکتوباسیلوس‌ها* را فراهم می‌آورد. پس از پایان زمان گرمخانه گذاری، پلیت‌ها از جار خارج شده و کلنی‌ها از نظر ویژگی‌های ماکروسکوپی مورد بررسی قرارگرفتند. سپس کلنی‌هایی که از لحاظ

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-31]

شکل، اندازه، کدر یا شفاف بودن و سایر ویژگی های ظاهری متفاوت بودند به صورت جداگانه روی پلیت‌های حاوی محیط MRS آگار منتقل و به صورت خطی کشت داده شدند تا عمل خالص سازی و جداسازی صورت پذیرد. انجام کشت خطی از کلنی‌های مجزا تا رسیدن به خلوص کامل تکرار شد (۱۴،۱۵).

آزمون‌های بیوشیمیایی: پس از خالص سازی کلنی‌ها، به منظور شناسایی باکتری‌های جداسازی شده از بررسی میکروسکوپی مانند رنگ آمیزی گرم، تست کاتالاز، اکسیداز، حرکت، تست‌های بیوشیمیایی مانند تخمیر قندهای مختلف از جمله گلوکز، مانوز، مالتوز، فروکتوز، تره‌هالوز، لاکتوز، آرابینوز، ساکارز، گزیلوز، گالاکتوز، ریبوز، سوربیتول، رافینوز، رامنوز، ملی بیوز، سالیسین و سوربوز در محیط پایه با فرمول (۰/۸٪ عصاره مخمر، ۱/۲٪ پپتون، ۰/۱٪ توئین و ۰/۰۰۴٪ برموفنل بلو به عنوان معرف و ۲٪ غلظت نهایی قند مورد نظر) و آزمون افتراقی سیمون سیترات، همچنین توانایی رشد در دماهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درجه سلسیوس و تولید آمونیاک از آرژنین استفاده شد. لازم به ذکر است که ابتدا باسیل‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی و فاقد حرکت شناسایی شدند و کلیه باکتری‌هایی که دارای این ۴ ویژگی بودند به عنوان *لاکتوباسیلوس* در نظر گرفته شدند. سپس به منظور شناسایی باکتری‌های جداسازی شده در سطح گونه، پس از مشخص شدن نتایج تخمیر کربوهیدرات‌ها و رشد در دماهای ذکر شده، نتایج آزمون‌های جدایه‌های شناسایی شده با خصوصیات بیوشیمیایی باکتری‌های اسید لاکتیک در کتاب The Prokaryotes و برجی مطابقت داده شد و گونه آن‌ها مورد تأیید قرارگرفت (۱۶).

تهیه پالیده Cell Free Culture) (Supernatant کشت لاکتوباسیلوس‌ها: ایزوله‌ها هر یک به صورت جداگانه، در ۱۰ میلی‌لیتر محیط‌های کشت MRS Broth تلقیح و در شرایط بی‌هوازی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شدند. سپس محیط-های کشت با سرعت g ۶۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ گردیدند. رسوب در شرایط استریل حذف و رویه‌ها برای ادامه مطالعه نگهداری شد. برای اطمینان از عدم وجود سلول باکتریایی، محلول حاصل از صافی ۰/۲ میکرومتر (شرکت AXYGEN SCIENTIFIC، آمریکا) عبور داده شد. در نتیجه pH رویه‌ها به دست آمده برای هر باکتری، به کمک ۱NaOH نرمال روی ۶/۵ تنظیم گردید و به منظور حذف اثر مهاری پراکسید هیدروژن ۵ mg/ml کاتالاز اضافه شد. در نهایت از رویه‌ها حاصله به منظور ارزیابی فعالیت ضد میکروبی بر علیه باکتری‌های بیماری‌زا استفاده شد (۱۷).

آماده سازی باکتری‌های بیماری‌زا: ۵ سویه استاندارد بیماری‌زای دستگاه گوارش شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1431)، *باسیلوس سرئوس* (PTCC 1015)، *اشرشیا کلی* (PTCC 1399)، *شیگلا دیسانتری* (PTCC 1188)، *سودوموناس آئروژینوزا* (PTCC 1430) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. سویه‌های استاندارد ابتدا در محیط مایع BHI (Brain Heart Infusion) و دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت احیا شدند. سپس هر یک از باکتری‌ها در محیط آگاردار کشت داده شد تا کلنی‌های خالص ظاهر شود. کلنی خالص از کشت ۲۴ ساعته هر سویه به ۳ سی‌سی محیط نوترینت براث اضافه و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲-۱ ساعت قرار داده شد تا به کدورت ۰/۵ مک فارلند $1/5 \times 10^8$ CFU/mL رسید (۱۸).

بررسی فعالیت ضد میکروبی: به منظور بررسی فعالیت ضد باکتریایی جدایه‌ها از محیط مولر هینتون آگار (شرکت مرک، آلمان) استفاده شد. برای این منظور از روش‌های چاهک (Well Diffusion Agar) و دیسک (Disk Diffusion Agar) برای تعیین میزان مهار کنندگی *لاکتوباسیلوس‌ها* استفاده شد. همچنین اثر آنتاگونیستی این جدایه‌ها بر علیه ۵ سویه استاندارد بیماری‌زا بررسی گردید و به منظور کاهش خطا هر آزمون ۳ بار تکرار شد.

روش چاهک (Well Diffusion Agar): طی این روش از سوسپانسیون باکتری‌های بیماری‌زا با

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-31]

سوآپ سرپنبه‌ای استریل روی محیط مولر هینتون آگار به صورت سطحی کشت داده شد. سپس به کمک پیپت پاستور استریل چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر بر روی محیط ایجاد کرده و از روماند *لاکتوباسیلوس‌های* جدا شده به مقدار ۳۰ میکرولیتر درون چاهک‌ها ریخته شد و پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند. سپس قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط *لاکتوباسیلوس‌ها* برعلیه هر یک از باکتری‌های بیماری‌زا توسط خط کش میلی متری اندازه گیری شد (۱۹).

روش دیسک (Disk Diffusion Agar): دیسک‌های کاغذی استریل به قطر ۶ میلی‌متر به روماند *لاکتوباسیلوس‌ها* به مدت ۵ دقیقه آغشته شد و دیسک‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴ ساعت قرار داده شدند تا کاملا خشک شوند. از سوسپانسیون باکتری‌های بیماری‌زا با سوآپ سرپنبه‌ای استریل روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس دیسک‌های آغشته به روماند *لاکتوباسیلوس‌ها* با فاصله معین از یکدیگر و از لبه پلیت روی سطح محیط مولر هینتون آگار قرار داده شدند. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شدند. پس از آن قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط *لاکتوباسیلوس‌ها* علیه هر یک از باکتری‌های بیماری‌زا توسط خط کش میلی‌متری اندازه گیری شد (۱۹،۲۰).

تجزیه تحلیل آماری: تجزیه تحلیل آماری نتایج حاصل از این مطالعه توسط نرم افزار SPSS انجام شد. برای آزمون اختلاف میانگین در چند گروه کیفی از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. برای افزایش میزان معنی‌داری از آزمون Tukey استفاده شد که نشان دهنده بیشترین معنی داری می‌باشد.

یافته‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی: بر اساس نتایج حاصل از تعیین رقت پس از طی دوره گرمخانه گذاری بعد از ۲۴ ساعت رشد باکتری‌ها در رقت های 10^{-1}- تا 10^{-4} روی محیط کشت MRS آگار مشاهده شد. تعداد ۷ جدایه مشکوک به باکتری-های اسید لاکتیک که میله‌ای، کوکوباسیل و کوکسی شکل با کلنی‌های کرمی رنگ بودند جداسازی شد. از ۷ جدایه مذکور، تعداد ۳ جدایه میله‌ای شکل، گرم مثبت، کاتالاز منفی و فاقد حرکت بودند و در جنس *لاکتوباسیلوس* قرار

جدول ۱- شناسایی گونه‌های *لاکتوباسیلوس* بر اساس تست‌های بیوشیمیایی و مورفولوژیکی

خصوصیات		گونه های جدا شده		
		لاکتوباسیلوس کازئی	*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	*لاکتوباسیلوس دلبروکی*
تخمیر کربوهیدرات ها	گلوکز	+	+	+
	مانوز	+	+	+
	مالتوز	+	+	+
	فروکتوز	+	+	+
	تره‌هالوز	+	−	+
	لاکتوز	+	+	+
	آرابینوز	−	−	−
	ساکارز	+	+	+
	گزیلوز	−	−	−
	گالاکتوز	+	+	−
	ریبوز	+	+	+
	سوربیتول	+	+	+
	رافینوز	−	+	−
	رامنوز	−	−	−
	ملی‌بیوز	−	+	−
	سالیسین	+	+	+
	سوربوز	+	+	−

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-31]

ادامه جدول ۱

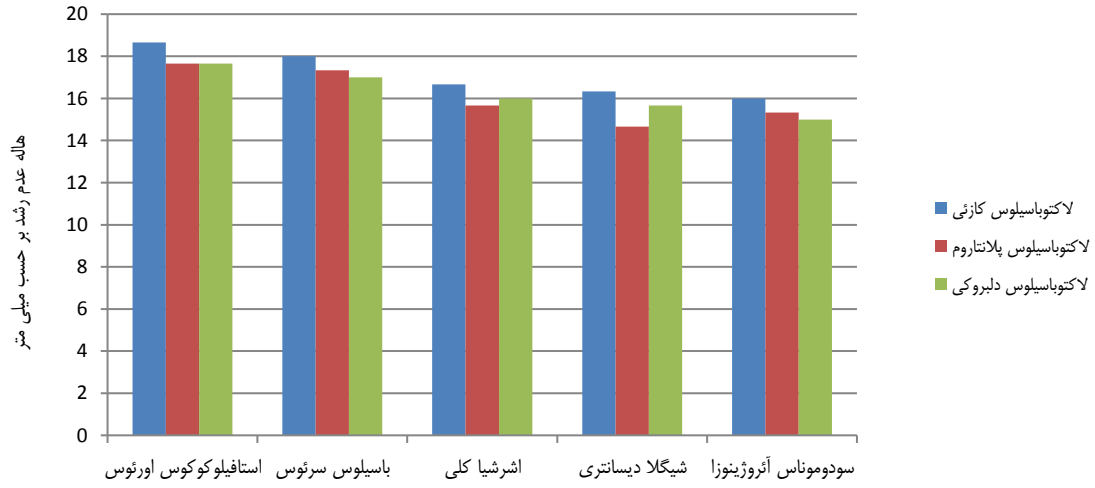
واکنش گرم	+	+	+
حرکت	−	−	−
از آرژنین NH_3	−	−	−
کاتالاز	−	−	−
اکسیداز	−	−	−
سیترات	−	+	−
رشد در دمای ۱۵ °C	+	+	−
رشد در دمای ۳۰ °C	+	+	−
رشد در دمای ۴۵ °C	−	−	+

واکنش مثبت: + واکنش منفی: −

گرفتند. این ۳ جدایه قادر به تخمیر ۱۷ قند و رشد در دماهای مورد بررسی بودند و طی تست های شناسایی و تأییدی طبق کتاب Prokaryotes The و برجی، ۳ گونه باکتری جداسازی و شناسایی شده شامل *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* بودند (جدول ۱). همچنین نتایج حاصل از بررسی فعالیت ضد میکروبی روماند کشت این ۳ جدایه، بر علیه ۵ سویه بیماری‌زا اثرات مثبتی در بر داشت و تمام گونه‌ها توانستند رشد باکتری‌های بیماری‌زا را مهار کنند، توانایی مهار کنندگی آن‌ها از ۱۱ – ۱۹ میلی‌متر متغییر بود.

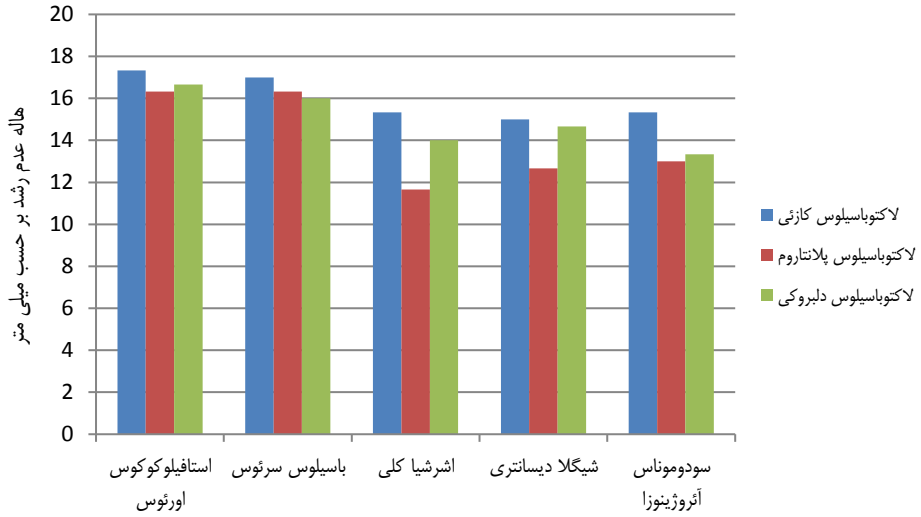
نتایج حاصل از روش چاهک (Well Diffusion Agar): نتایج به دست آمده در این روش در (نمودار ۱) نشان دهنده اثر مهاری مناسب این دسته از باکتری‌ها است. طی این روش بیشترین اثر مهاری را *لاکتوباسیلوس کازئی* بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* با مهار ۱۸/۶۶ میلی‌متر از خود نشان داد و کمترین میزان مهار کنندگی نیز متعلق به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* علیه *شیگلا دیسانتری* با مهار ۱۴/۶۶ میلی‌متر بود. *لاکتوباسیلوس دلبروکی* نیز با میانگین مهاری ۱۶ تا ۱۶/۴۰ میلی متر توانایی بالایی در مهار عوامل بیماری زا از خود نشان داد.

نتایج حاصل از روش دیسک (Disk Diffusion Agar): نتایج بدست آمده دراین روش در (نمودار ۲)، نشان دهنده اثر مهاری این دسته از باکتری‌ها است. طی این روش بیشترین اثر مهاری را *لاکتوباسیلوس کازئی* بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* با مهار ۱۷/۳۳ میلی‌متری از خود نشان داد و کمترین میزان مهار کنندگی نیز متعلق به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* علیه *اشرشیاکلی* با مهار ۱۱/۶۶ میلی‌متر بود. *لاکتوباسیلوس دلبروکی* نیز با میانگین مهاری ۱۴ تا ۱۵ میلی‌متر توانایی بالایی در مهار عوامل بیماری زا از خود نشان داد.

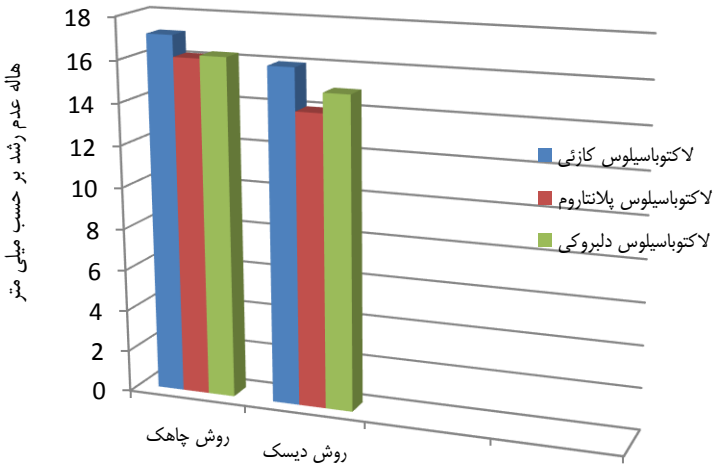


نمودار ۱– میزان مهار کنندگی *لاکتوباسیلوس‌های* جدا سازی شده در مهار باکتری‌های بیماری‌زا بر حسب میلی‌متر (روش چاهک)

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-31]



نمودار ۲- میزان مهار کنندگی *لاکتوباسیلوس‌های* جدا سازی شده در مهار باکتری‌های بیماری‌زا بر حسب میلی‌متر (روش دیسک)



نمودار ۳- مقایسه روش چاهک و دیسک

نتایج حاصل از مقایسه روش چاهک و دیسک:
در مقایسه این دو روش، روش چاهک نسبت به روش دیسک از نتایج بهتر و مثبت‌تری برخوردار بود و *لاکتوباسیلوس‌ها* اثرات مهار کنندگی بهتری در روش چاهک از خود نشان دادند که برای همه جدایه‌ها این مسأله نمایان بود. *لاکتوباسیلوس کازئی* با میانگین مهار کنندگی کل ۱۷/۱۳ میلی متر در روش چاهک و ۱۵/۹۹ میلی‌متر در روش دیسک بالاترین میزان مهار کنندگی و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با میانگین مهار کنندگی کل ۱۶/۱۲ میلی‌متر در روش چاهک و ۱۳/۹۹ میلی‌متر در روش دیسک کمترین میزان مهار کنندگی را از خود نشان داد (نمودار ۳).

بحث و نتیجه‌گیری

باکتری‌های اسید لاکتیک به دلیل تولید ترکیبات ضد میکروبی از جمله باکتریوسین‌ها می توانند به عنوان نگهدارنده طبیعی مورد استفاده قرار گیرند (۲۱). تولید این ترکیبات در باکتری های اسید لاکتیک از این نظر حائز اهمیت است که این باکتری‌ها میکروفلور غالب بسیاری از محصولات تخمیری هستند و در فرآوری و کنترل

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-31]

عوامل بیماری‌زای این محصولات نقش مهمی را ایفا می‌کنند. از سوی دیگر مصرف محصولات حاوی این باکتری‌ها می‌تواند موجب تعدیل میکروفلور روده و مهار رشد میکروب‌های بیماری‌زا در سیستم گوارشی گردد (۲۲،۲۳). در این پژوهش بررسی فعالیت ضد میکروبی *لاکتوباسیلوس‌ها*، روی تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زای گرم مثبت و گرم منفی انجام پذیرفت. همچنین با استفاده از محیط کشت MRS کلنی های تیپیک و خالص *لاکتوباسیلوس‌ها* به دست آمد. روش مرسوم در شناسایی *لاکتوباسیلوس‌ها* پس از جداسازی، آنالیز خصوصیات بیوشیمیایی آن‌ها از جمله تخمیر قندها است. در این تحقیق نیز از تخمیر ۱۷ قند استفاده شد. همچنین بر اساس نتایج حاصل از ویژگی‌های بیوشیمیایی، ایزوله‌ها مورد تعیین هویت بیشتر تا حد گونه قرار گرفتند و با مقایسه نتایج بیوشیمیایی باکتری‌های مورد بررسی با جداول مندرج در کتاب The Prokaryotes و برجی، *لاکتوباسیلوس‌های* شناسایی شده شامل *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* بودند. در مطالعه حاضر، فعالیت ضد میکروبی روماند کشت *لاکتوباسیلوس‌ها* بر علیه ۵ سویه بیماری‌زا که به کمک روش دیسک و چاهک مورد بررسی قرار گرفت اثرات مثبتی در بر داشت و تمام گونه‌ها توانستند رشد باکتری‌های بیماری‌زا را مهار کنند. آن‌چه در نتایج این مطالعه بارزتر است اثر مهاری قوی‌تر *لاکتوباسیلوس کازئی* بر روی هر پنج باکتری بیماری‌زای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *اشرشیاکلی*، *شیگلا دیسانتری* و *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد. با توجه به حدود اطمینان و سطح معنی داری در ارتباط با فعالیت ضد میکروبی گونه‌های جداسازی شده مورد بررسی با $p\leq 0/05$، می‌توان از درستی آزمون اطمینان حاصل کرد. در سال ۲۰۱۱ Tufail و همکاران فعالیت ضد میکروبی باکتریوسین تولید شده توسط *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* جدا شده از ماست را برعلیه *باسیلوس سوبتیلیس*، *اشرشیا کلی*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *ویبریوکلرا* مورد بررسی قرار دادند. در نتیجه *ویبریوکلرا* بیشترین حساسیت به باکتریوسین تولید شده با قطر هاله عدم رشد ۱۸/۳ میلی‌متر را نشان داد (۱۷). در مطالعه دیگری توسط تفنگ سازان و همکاران در سال ۲۰۱۳ توان ضد باکتریایی باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از فرآورده بومی پنیرکردی برعلیه سویه‌های بیماری زا به روش دیسک و چاهک مورد بررسی قرار گرفت که در پی آن اثرات مثبتی مشاهده شد. تمام سویه‌های مورد نظر در محدوده متغیر ۱۲ تا ۱۹ میلی‌متر، قادر به مهار باکتری‌های بیماری‌زا بودند (۲۰). Chowdhury و همکاران در سال ۲۰۱۳، فعالیت ضد میکروبی و تولید باکتریوسین گونه‌های *لاکتوباسیلوس* جدا شده از ماست را روی بعضی باکتری‌های بیماری‌زای اصلی منتقله از غذا بررسی کردند که بیشترین اثر مهار کنندگی را روی باکتری بیماری‌زای *باسیلوس سوبتلیس* (۴۲ میلی‌متر) و کمترین اثر مهاری روی *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۵ میلی متر) گزارش کردند (۲۴). در صورتی که در پژوهش حاضر بیشترین اثر مهار کنندگی روی *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۸/۶۶ میلی‌متر) و کمترین اثر مهاری روی *اشرشیاکلی* (۱۱/۶۶ میلی‌متر) مشاهده شد. Chundawat Hemant و همکاران در سال ۲۰۱۵ به این نتیجه رسیدند که تأثیرات ضد میکروبی *لاکتوباسیلوس‌های* مورد مطالعه بر روی باکتری های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی است (۲۵). در این مطالعه نیز *لاکتوباسیلوس‌ها* اثرات مهار کنندگی وسیع‌تری را نسبت به باکتری‌های گرم مثبت از خود نشان دادند. طی این بررسی، در مقایسه دو روش دیسک و چاهک هاله‌های عدم رشد ایجاد شده بر علیه باکتری‌های بیماری‌زا در روش چاهک در همه موارد بیشتر از روش دیسک بود. در مطالعه‌ای که Datta و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام دادند *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس برویس* را از فرآورده‌های لبنی برای آزمایش فعالیت ضد میکروبی جداسازی نمودند و هاله عدم رشد ایجاد شده را بر روی چند باکتری بیماری‌زا بررسی نمودند که بیشترین اثر مهار کنندگی به وسیله *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-31]

سودوموناس آئروژینوزا به اندازه ۲۵ میلی‌متر مشاهده شد (۲۶). در این مطالعه نیز اثر آنتاگونیستی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی همه باکتری‌های بیماری‌زای مورد آزمون مشاهده گردید. در تحقیق دیگری در همین سال توسط PREMA در هند فعالیت ضد میکروبی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی باکتری‌های بیماری‌زای منتقل شونده از طریق آب مانند *سالمونلا تیفی*، *ویبریوکلرا*، *اشرشیاکلی* و *شیگلا دیسانتری* در in vitro هاله‌های عدم رشد از ۱۶ تا ۲۴ میلی‌متر به وجود آورد. همچنین بزرگترین قطر هاله عدم رشد بر روی *سالمونلا تیفی* به اندازه ۲۴ میلی‌متر مشاهده شد (۲۷). در این مطالعه نیز گونه‌های *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* توانستند در مقابل هر پنج باکتری بیماری‌زای مورد بررسی اثر ممانعت کنندگی داشته باشند که توانایی مهار کنندگی آن‌ها از ۱۱ – ۱۹ میلی‌متر متغییر بود. در تحقیق انجام شده توسط Saranya و Hemashenpagam در سال ۲۰۱۱ فعالیت ضد میکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک بر علیه سویه های استاندارد *اشرشیاکلی*، *کلبسیلا پنومونیه*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس پنومونیه* و پروتئوس بررسی شد. بیشترین قدرت مهار کنندگی از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با قطر هاله عدم رشد ۲۵ میلی‌متر بر علیه *سودوموناس آئروژینوزا* مشاهده گردید (۲۸). در صورتی که در این پژوهش بیشترین اثر گذاری توسط *لاکتوباسیلوس کازئی* بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* با میانگین مهاری ۱۸/۶۶ میلی‌متر مشاهده شد. فرح بخش و همکاران در سال ۲۰۱۳، به کمک روش چاهک و دیسک نشان دادند که ۸ گونه باکتری اسید لاکتیک شناسایی شده شامل *لاکتوباسیلوس* (*کازئی*، *رامنسوس*، *پلانتاروم*، *اسیدوفیلوس*، *بولگاریکوس*، *دلبروکی*، *فرمنتوم* و *برویس*) از ماست‌های سنتی دارای اثر ممانعت کنندگی بر علیه باکتری‌های بیماری‌زای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی*، *استرپتوکوک پیوژنز* و *پروتئوس ولگاریس* هستند. توانایی مهار کنندگی گونه‌ها از ۸-۱۵ میلی‌متر متغیر بود و بیشترین اثر ضد باکتریایی از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* مشاهده شد (۲۹). در صورتی که در پژوهش حاضر از میان گونه‌های شناسایی شده کمترین اثر ضد باکتریایی مربوط به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بود.

بر اساس تحقیقات انجام شده توسط Noopur Agrawal و Alka Prakash در سال ۲۰۱۳ بر روی پنیر و کشک مشخص شد که فلور لاکتیکی غالب جدا شده شامل گونه‌های لاکتوکوکوس، پدیوکوکوس، لاکتوباسیلوس و لوکونوستوک هستند (۳۰). در سال‌های اخیر بسیاری از دانشمندان به دنبال یافتن باکتری‌های اسید لاکتیک بومی با کاربردهای گوناگون بوده‌اند. به طور مثال Abd E1 Gawad و همکاران در سال ۲۰۱۰ در کشور مصر از شیر سنتی باکتری‌های اسید لاکتیک را جداسازی نمودند که متعلق به جنس‌های لاکتوباسیلوس، لوکونوستوک، انتروکوکوس، استرپتوکوکوس و آئروکوکوس بودند (۳۱). Lelise و همکاران در سال ۲۰۱۴ در شمال غربی اتیوپی باکتری‌های اسید لاکتیک را از نوشیدنی‌های تخمیری سنتی به نام‌های Ergo و Taj جداسازی نمودند (۳۲). Rossetti و همکاران در سال ۲۰۰۸ در شمال ایتالیا از نمونه‌های پنیر سنتی به نام Grana padano، باکتری‌های L. delbrukii ،lactic L. helveticus و Streptococcus thermophillus را به صورت غالب جدا نمودند (۳۳). Mbawala و همکاران هم در سال ۲۰۱۳ در کشور کامرون از نمونه محصول تخمیری حاصل از شیر به نام pendidam لاکتوباسیلوس‌ها را جداسازی نمودند. سپس فعالیت ضد میکروبی لاکتوباسیلوس‌ها بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی مورد بررسی قرار گرفت. همه ایزوله‌ها فعالیت ضد میکروبی خوبی بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس نشان دادند که با نتایج مطالعه ما مطابق بود. در صورتی که همه ایزوله‌ها بر خلاف مطالعه ما قادر به مهار رشد اشرشیا کلی نبودند (۳۴). در این مطالعه هم تلاش شد تا حد امکان نمونه‌ها از مناطق بکر و دارای کمترین آلودگی انسانی و از دام‌های سنتی تهیه شوند. در همین راستا نمونه

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-31]

برداری از محلی انجام شد که از عدم حضور سویه های تجاری در آن منطقه اطمینان وجود داشت. در منطقه مورد بررسی امکان تهیه لبنیات به صورت صنعتی وجود نداشت و محصولات لبنی به شیوه سنتی و در منازل تهیه می‌شد. چنان‌چه انتظار می‌رفت مشخص شد منطقه مورد بررسی از نظر تنوع باکتری‌های اسید لاکتیک بسیار غنی می‌باشد و لاکتوباسیلوس‌های مورد بررسی طیف متغیری از فعالیت آنتاگونیستی را بر علیه باکتری های بیماری‌زای دستگاه گوارش نشان دادند. با توجه به این‌که سالانه هزینه زیادی صرف واردات باکتری‌های آغازگر جهت تولید لبنیات صنعتی می‌شود و به دلیل خواص منحصر به فرد این باکتری‌ها و به دلیل این‌که این باکتری‌ها با تغییر فلور روده می‌توانند سبب نابودی باکتری‌های مضر در بدن شوند و از این طریق به سلامت انسان کمک شایانی کنند مطالعه در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد و انجام بررسی‌های بیشتر روی گونه‌های شناسایی شده بسیار ارزشمند می‌باشد. همچنین این باکتری‌ها امکان تهیه محصولاتی با ویژگی‌های سنتی در مقیاس صنعتی را فراهم می آورند، اما استفاده مناسب از آن‌ها به شرایط ویژه و مطالعات بیشتری نیاز دارد. نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر وجود پتانسیل بومی و ملی در تهیه باکتری‌های آغازگر جهت تولید لبنیات به صورت صنعتی و با ویژگی‌های عطری و طعمی بالا است. همچنین استفاده از روش‌های مولکولی همراه با آزمون‌های فنوتیپی برای تأیید تشخیص گونه‌های لاکتوباسیلوس جدا شده توصیه می‌شود. با توجه به تأثیرات مثبت این دسته از باکتری‌ها در سلامت انسان پیشنهاد می‌گردد برای اثبات این اثرات در شرایط درونی بدن، تحقیقاتی با استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک در رابطه با کنترل بیماری‌های گوارشی انجام شود.

تقدیر و تشکر

با سپاس فراوان از تمامی عزیزانی که ما را در اجرای این پژوهش یاری نموده‌اند.

منابع

1. Ouda SM, Debevere J, Enan J. Purification and biochemical characterization of plantaricin UG1: a bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum UG1 isolated from dry sausage. Life Science J; 2014. 11(8): 271-279.
2. Dalie DKD, Deschamps AM, Richard-Forget F. Lactic acid bacteria Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. Food Control; 2010. 21(4): 370–80.
3. Zhang J, Liu G, Shang N, Cheng W, Chen S, Li P. Purification and partial amino acid sequence of pentocin 31-1, an anti-Listeria bacteriocin produced by Lactobacillus pentosus 31-1. J Food Prot; 2009. 72(12): 2524–2529.
4. Stoyanova LG, Ustyugova EA, Netrusov AI. Antibacterial metabolites of lactic acid bacteria: Their diversity and properties. Appl Biochem Microbiol; 2012. 48(3): 229–43.
5. Deegan LH, Cotter PD, Hill C, Ross P. Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. Int Dairy J. 2006; 16 (9): 1058–1071.
6. Ghanbari M, Jami M, Kneifel W, Domig KJ. Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocins produced by lactobacilli isolated from sturgeon fosh. Food Control; 2013. 32: 379-385. [Persian]
7. Lavanya B, Sowmiya S, Balaji S, Muthuvelan B. Screening and characterization of lactic acid bacteria from fermented milk. Brit J Dairy Sci; 2012. 2(1): 5-10.
8. Simova ED, Beshkova DB, Dimitrov ZHP. Characterization and antimicrobial spectrum of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from traditional Bulgarian dairy products. J of Applied Microbiol; 2009. 106 (2): 692-701.
9. Lee B, Bak Y. Irritable bowel syndrome, gut microbiota and probiotics. J Neuro Gastro Enterol Motil; 2011. 17(3): 252-66.
10. Kathiresan K, Thiruneelakandan G. Prospects of lactic acid bacteria of marine origin. Indian J of Biotechnology; 2009. 7: 170-177.
11. Rogers La. The inhibiting effect of Streptococcus lactis on Lactobacillus bulgaricus. J Bacterol; 1928. 16: 321.
12. Akhter AA. In vitro Screening of Lactobacillus species from Homemade Yoghurt for Antagonistic Effects against Common Bacterial Pathogens. Jordan J of Biological Sci; 2013. 6(3): 211– 216.
13. Abdullah SA, Osman MM. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Raw Cow Milk, White Cheese and Rob in Sudan. Pak J Nutr; 2010. 9(12): 1203-1206.
14. Nandhini L, Rajasekar T, Sakthivel M, Deivasigamani B. Isolation of Bacteriocin Producing Lactic Acid Bacteria From Different Soil

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-31]

Samples. Asian J Biochemical Pharma Res; 2011. 4(1): 280-290.

15. Rashid S, Hassanshahian M. Screening, Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria From a Traditional Dairy Product of Sabzevar, Iran. Int J Enteric Pathog; 2014. 2(4): 1-5. [In Persian]

16. Ehsani A, Mamoudi R, Hashemi M, Raeisi M. Identification of Lactobacillus Species Isolated from Traditional Cheeses of West. Iran J Med Microbiol; 2014. 8(1): 38-43. [Persian]

17. Tufail M, Hussain Sh, Malik F, Mirza T, Parveen Gh, Shafaat Sh, et al. Isolation and evaluation of antibacterial activity of bacteriocin produced by Lactobacillus bulgaricus from yogurt. Afr J Microbiol Res; 2011. 5(22): 3842-3847.

18. Kiaie E, Amir Mozaffari N, Samioladab H, Jandaghi N, Ghaemi E. Antagonistic effect of lactic acid bacteria isolated from yoghurt against pathogenic bacteria. J of Gorgan Univ of Med Sci; 2006. 8(1): 28-33. [Persian]

19. Guetouache M, Guessas B. Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese (klila) prepared from cow's milk. Afr J Microbiol Res; 2015. 9(2): 71-77.

20. Tofangsazan F, Shahidi F, Mortazavi SA, Milani E, Eshaghi Z. Evaluation antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese of kordestsn in contrast by standard strains. Iran J Med Microbiol; 2013. 7(3): 34- 41. [Persian]

21. Zhou K, Zhou W, Li P, Liu G, Zhang J, Dai Y. Mode of action of pentocin 31-1: An antilisteria bacteriocin produced by Lactobacillus pentosus from Chinese traditional ham. Food Control; 2008. 19(8): 817–822.

22. Stoyanova LG, Ustyugova EA, Netrusov AI. Antibacterial metabolites of lactic acid bacteria: Their diversity and properties. Appl Biochem Microbiol; 2012. 48(3): 229–243.

23. Rawal K, Bhavsar N, Raol G, Raol BV, Patel JD. Bacteriocin: production and optimization by Lactobacillus species. J Microbiol Biotechnol Res; 2013. 3: 64–76.

24. Chowdhury A, Malaker R, Nur Hossain MD, Fakruddin MD, Noor R, Ahmed MM**.** Bacteriocin Profiling of Probiotic Lactobacillus spp. Isolated from Yoghurt. International J of Pharmaceutical Chemistry; 2013. 3(3): 50-56.

25. Chundawat H, Joshi H. Antagonistic Effect of Lactobacillus Isolates from cow Milk on selected Pathogenic Bacteria. Res J Recent Sci; 2015. 4: 173-176.

26. Datta S, Nama KS, Paras P, Sharma P, Shaikh N, Nagar J. Antagonistic Activity of Lactic Acid Bacteria from Dairy Products. Int J Pure App Biosci; 2013. 1(1): 28-32.

27. Prema P. In vitro antagonistic activity of a probiotic lactobacillus plantarum against water borne pathogens. Int J Pharm Pharm Sci; 2013. 5(4) 175-178.

28. Saranya S, Hemashenpagam N. Antagonistic activity and antibiotic sensitivity of Lactic acid bacteria from fermented dairy products. Adv Appl Sci Res; 2011. 2(4): 528-534.

29. Farahbakhsh M, Hakimi H, Bahram Abadi R, Zolfaghari MR, Doraki N. Survey on Isolation of Probiotic Lactobacilli from Traditional Yogurts Produced in Rural Areas of Rafsanjan and their Antimicrobial Effects. J Rafsanjan Univ Med Sci; 2013. 12(9): 733-746. [Persian]

30. Agrawal N, Prakash A**.** Isolation of Lactic Acid Bacteria from Fermented Milk Products and Their Antimicrobial Activity against Staphylococcus aureus. Internet J Food Safety; 2013. 15: 39 - 42.

31. Abd El Gawad IA, Abd El Fatah AM, Al Rubayyi KA. Identification and Characterization of Dominant Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Rayeb Milk in Egypt. J American Science; 2010. 6(10): 728-735.

32. Lelise A, Belaynesh G, Mulubrhan M, Kedija S, Endashaw B, Abebe B. Isolation and screening of antibacterial producing lactic acid bacteria from traditionally fermented drinks ("Ergo" and "Tej") in Gondar town, Northwest Ethiopia. Glob Res J Publ Health Epidemiol; 2014. 1(3): 018-022.

33. Rossetti L, Fornasari ME, Gatti M, Lazzi C, Neviani E, Girraffa G. Grana Padano cheese whey stsrters: microbial composition and strain distribution. Inter J Food Microb; 2008. 127: 168-171.

34. Mbawala A, Mahbou PY, Mouafo HT, Tatsadjieu LN. Antibacterial activity of some lactic acid bacteria isolated from a local fermented milk product (pendidam) in Ngaoundere, Cameroon. J Anim Plant Sci; 2013. 23(1): 157-166.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-31]

Original Article http://rjms.iums.ac.ir

Studying the antagonistic effect of isolated *Lactobacillus* from soil where native yogurt is processed against pathogenic bacteria

Jafar Aghajani, Mycobacteriology Research Centre, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Disease (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. j.aghajani@theaasm.org
Seyed Bashir Mirtajani, Mycobacteriology Research Centre, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Disease (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. b.mirtajani@theaasm.org
***Saman Ayoubi**, Mycobacteriology Research Centre, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Disease (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran (*Corresponding author). Email: samanayoubi@yahoo.com
Maryam Habibpour, Mycobacteriology Research Centre, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Disease (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. m.habibpour@gmail.com

Abstract

Background: Lactic acid bacteria interfere to improve the taste of food products and and to prevent the growth of food spoilage organisms and pathogens with producing antimicrobial substances called bacteriocin. To study the antagonistic effect of isolated *Lactobacillus* from soil where native yogurt is processed against pathogenic bacteria is the purpose of this study.
Methods: In this cross-sectional study, *Lactobacillus* isolated from the soil contaminated with native yogurt waste were identified with the help of biochemical methods. The antimicrobial quality of supernatant fluid was tested against five pathogenic bacteria using diffusion agar and disk diffusion agar methods. Each test was repeated three times to reduce error and inhibition zone diameter measured then their antimicrobial ability were compared.
Results: According to the results, three species of *Lactobacillus* were identified. These bacteria included *Lactobacillus casei*, *plantarum* and *delbrueckii*. Also, these bacteria showed their good antimicrobial ability against pathogenic bacteria. The most antibacterial effect was observed from *Lactobacillus casei* against *Staphylococcus aureus* in well diffusion agar method with inhibition zone diameter of 18.66 mm.
Conclusion: A great variety of bacteria producing bacteriocin with antibacterial activity against pathogenic bacteria exist in traditional dairy products, and it is recommended to use them in the production of industrial dairy products.

Keywords: *Lactobacillus*, Antimicrobial activity, Pathogenic bacteria

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-31]