AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences
نشریه دانشگاه علوم پزشکی البرز، زمستان ۱۳۹۹، سال ۱۰، شماره ۱، صفحه‌های ۱۵-۲۲
مقاله تحقیقی

بررسی فعالیت ضد باکتریایی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس کازیی بر باکتری بورخولدریا جدا شده از بیماران بستری شده در بیمارستان امام علی (ع) شهرستان آمل

ملیحه صادقی[1*]، رابعه ایزدی آملی[2]، اسماعیل فتاحی[2]

[1] دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آیت الله آملی، آمل، ایران
[2] استادیار گروه زیست شناسی دانشگاه آیت الله آملی، آمل، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۹۷/۱۰/۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: عفونت‌های بیمارستانی از علل شایع مرگ و میر، افزایش طول مدت بستری و افزایش هزینه‌های بیمارستانی می‌باشند. امروزه استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک، به عنوان مهارکننده و ضد باکتری‌ها، مورد توجه قرارگرفته است. هدف از این مطالعه، تعیین فعالیت ضدمیکروبی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازیی* در مقابل *بورخولدریا سپاشیا* جداشده از بیمارستان امام علی (ع) شهرستان آمل بوده است.

مواد و روش ها: دراین تحقیق، جداسازی باکتری *بورخولدریا سپاشیا* از بیماران بیمارستان امام علی(ع) آمل با روش کشت، تست‌های بیوشیمیایی و تکنیک PCR انجام شد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه استاندارد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازیی* بررسی شد. سپس، فعالیت مهارکنندگی محلول رویی کشت *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازیی* علیه *بورخولدریا سپاشیا*، در دو حالت فعال و غیرفعال، به روش چاهک درآگار، مورد بررسی قرارگرفت.

یافته ها: در این تحقیق، تعداد ۵ باکتری *بورخولدریا سپاشیا* از خون و ۸ باکتری از خلط جداسازی شد. نتایج حساسیت باکتری *بورخولدریا سپاشیا* نسبت به باکتری *لاکتوباسیلوس کازیی* (۶۶/۶۷٪) بیشتر در وضعیت حد واسط قرار داشت و بعد به ترتیب در وضعیت مقاوم و حساس و نسبت به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (۶۱/۹۱٪) نیز بیشتر در وضعیت حد واسط و سپس به ترتیب حساس و مقاوم بودند. *لاکتوباسیلوس کازیی* به همه آنتی‌بیوتیکها مقاوم بود به جز کوتریموکسازول که در وضعیت حد واسط قرار داشت و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به آنتی‌بیوتیک جنتامیسین حساس، به آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول در وضعیت حد واسط و به آنتی‌بیوتیکهای دیگر مقاوم بود.

نتیجه‌گیری: این تحقیق نشان داد که *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازیی* بر علیه *بورخولدریا سپاشیا* اثر مهاری دارند.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس کازیی*، *بورخولدریا سپاشیا*، عفونت‌های بیمارستانی

نویسنده مسئول:
دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آیت الله آملی آمل ایران

۰۹۳۸۹۹۸۴۱۶۹
E-mail: Sadeghi3737@yahoo.com

مقدمه

درسال‌های اخیر، ضرورت توجه به مقاومت‌های دارویی یکی از دغدغه‌های اصلی در عفونت‌های بیمارستانی است [۱]. بر پایه گزارش‌های سازمان نظارت بر عفونت‌های بیمارستانی در سال۱۹۹۹، گسترش پاتوژن‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی در زمان‌های مختلف و مکان‌های مختلف، متفاوت است [۲]. مقاومت چند دارویی در باکتری‌های گرم منفی، نیز یک مشکل جدی جهانی رو به افزایش است [۳]. این عفونت‌ها به سختی درمان شده و گاهی منجر به مرگ بیماران می شوند و بنابراین به عنوان خطری رو به افزایش، تقریباً تمامی افراد بستری شده در بیمارستان‌ها را تهدید می‌کنند. درمان عفونت‌های بیمارستانی، با توجه به مقاومت اغلب سویه‌های میکروبی، بسیار مشکل و به علت طولانی شدن زمان بستری بیماران، پرهزینه می باشند [۴].

دسته‌ای از باکتری‌ها، تولید کننده اسید لاکتیک هستند و در تهیه ماست، شیرهای تخمیری و دیگر غذاهای تخمیری استفاده می‌شوند و نقش مهار کنندگی بر روی برخی از پاتوژن‌ها از جمله باکتری *بورخولدریا سپاشیا* دارند [۵]. تاکنون نقش های متعددی از اسید لاکتیک باکتری‌ها شناسایی شده که برخی از اثرات سودمند آنها عبارتند از : بهبود و حفظ سلامت مجرای گوارش، افزایش قدرت سیستم ایمنی، تولید و افزایش میزان دسترسی به مواد مغذی مورد نیاز بدن، کاهش علائم مربوط به عدم تحمل لاکتوز و کاهش شیوع بیماری‌های آلرژیک در بین افراد حساس، پیشگیری یا مقابله با سرطان، تولید طعم‌های مختلف در ماست و پنیر و دیگر متابولیت‌ها در محصولهای تخمیری، افزایش ارزش غذایی مثل کاهش اسیدهای آمینه آزاد یا تولید ویتامین‌ها در محصول تخمیر شده به ویژه تولید ترکیب‌هایی مثل نایسین که فعالیت ضدباکتریایی دارد [۱].

یکی از این راهکارهای کنترل رشد میکروبی، استفاده از باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک است که با تولید اسید و کاهش pH ،خاصیت ضدمیکروبی از خود نشان داده و بر هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، اثر مهارکنندگی دارند[۶].

بورخولدریا سپاشیا، باسیل گرم منفی و اکسیداز مثبت بوده و نیترات را به نیتریت احیا می کند، لیزین دکربوکسیلاز مثبت و DNaseمنفی است، رنگ دو قطبی به خود گرفته و در زیر میکروسکوپ به شکل سنجاق قفلی دیده می شود و یک باکتری غیر تخمیری هوازی، شیمیو ارگانوتروف و با رشد بهینه در دمای ۳۰-۳۵ درجه سلسیوس است. این باکتری قادر به رشد در اکثر محیط‌های مرطوب مانند خاک، آب، محیط‌های بیمارستانی و محلول‌های ضدعفونی کننده می‌باشد [۷].

لاکتوباسیلوس‌های متعلق به خانواده لاکتوباسیلاسه و دارای شکل باسیلی می باشند. این باکتری‌ها، گرم مثبت، فاقد اسپور، کاتالاز، اکسیداز و اندول منفی و قادر به احیا نیترات نمی باشند، با تولید متابولیت‌های ضدمیکروبی، اثر بازدارنده بر روی باکتری‌های بیماری‌زای انسانی دارند [۸].

امروزه با افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و عوارض ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، استفاده از درمان‌های جایگزین، ضروری به نظر می‌رسد. این دسته از باکتری‌ها و متابولیت‌های تولیدی آنها می‌توانند به طور وسیع کاربرد درمانی داشته باشند [۹].

هدف از این تحقیق، جداسازی باکتری بورخولدریا ازنمونه‌های بالینی بیمارستان امام علی (ع) آمل و شناسایی باکتری با روش کشت، تست‌های بیوشیمیایی و PCR بوده است، همچنین بررسی قدرت ضدمیکروبی گونه استاندارد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازیی* بر باکتری مورد نظر با روش چاهک بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق، یک مطالعه توصیفی –مقطعی بوده که درسه ماهه نخست بهار سال ۱۳۹۵، از میان بیماران بستری شده در بیمارستان امام علی (ع) شهرستان آمل که حداقل دو روز از بستری شدن آنها در بخش‌های مختلف بالینی گذشته بود انجام شد.

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق

نام ژن	توالی ژن	اندازه محصول bp
16S rRNA	F: 5'- AGTTTGATCCTGGCTCAG -3' R: 5'- CCTACGTATTACGCGGC- 3'	۵۶۹bp

جداسازی و شناسایی باکتری بورخولدریا

نمونه بالینی مورد بررسی ادرار، خون و خلط بود. تست‌های افتراقی با استفاده از محیط‌های کشت TSI, SIM، سیمون سیترات، XLD, DNase و تست اکسیداز شناسایی شد و برای تایید روش شناسایی فنوتیپی از روش مولکولی هم استفاده شد.

ابتدا DNA باکتری با استفاده از کیت استخراج شرکت سیناکلون استخراج شد. سپس واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای جدول ۱ انجام شد.

اجزای واکنش شامل ۱۸ میکرولیتر (PCR buffer, $MgCl_2$, dNTP, Taq polymerase, DDH_2O)، ۱ میکرولیتر (از هر کدام از پرایمرهای Forward و Reverse) ، ۵ میکرولیتر (DNA استخراج شده)، که حجم کلی، ۲۵ میکرولیتر بود. واکنش PCR در داخل دستگاه ترموسایکلر با برنامه دمایی شامل واسرشت شدن اولیه (دمای ۹٤ درجه سلسیوس به مدت ٤ دقیقه)، واسرشت شدن (۹٤ درجه سلسیوس به مدت ٤٥ ثانیه، اتصال (۵۷ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه) و گسترش (۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه) که این سه مرحله ۳۵ بار تکرار شد و مرحله آخر، گسترش نهایی (۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه) انجام شد. پس از انجام واکنش و تکثیر قطعه مورد نظر، بررسی و مشاهده محصول، به روش الکتروفورز ژل آگارز با ژل آگار ۲ ٪ انجام شد. با تاباندن اشعه UV بر روی آن، باند DNA مشاهده و از آن عکس برداری به عمل آمد. سپس برای تعیین توالی، محصول واکنش به شرکت ماکرون ژن کشور کره فرستاده شد تا جنس و گونه باکتری تایید شود [۱۰]

آزمایش آنتی‌بیوگرام

برای بررسی اثر باکتری‌های اسید لاکتیک بر باکتری‌های جدا شده، ابتدا حساسیت باکتری *لاکتوباسیلوس کازیی* (PTCC 1608) و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (PTCC 1745) به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، جنتامیسین (۱۰ میکروگرم) ، توبرامایسین (۱۰ میکروگرم) ، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم) و کوتریموکسازول (۲۵ میکروگرم) از شرکت Rosco به روش انتشار از دیسک در آگار بررسی شد و بر اساس جدول استاندارد CLSI، نتایج بدست آمده، به سه صورت حساس، مقاوم و نیمه حساس، گزارش گردید[۱۱].

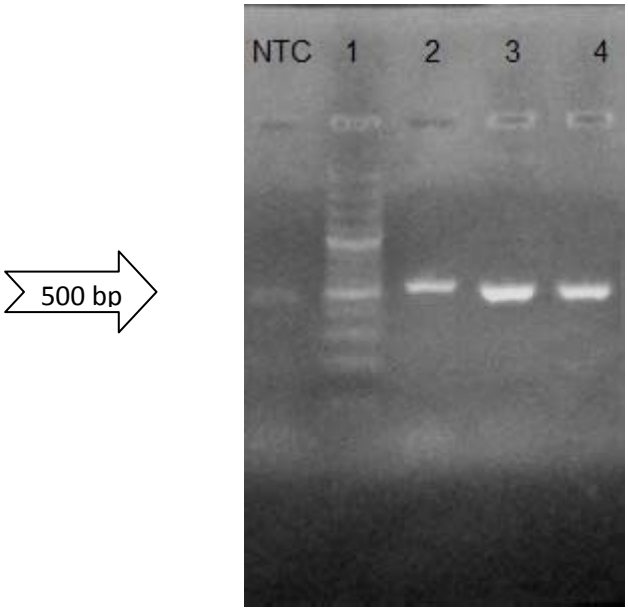
ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی گونه‌های لاکتوباسیل علیه باکتری *بورخولدریا سپاشیا* با استفاده از روش چاهک

ابتدا باکتری در محیط نوترینت آگار در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ ساعت انکوبه شد، سپس از کشت باکتری پاتوژن، طبق نیم مک فارلند کدورتی تهیه شد و در محیط مولر هینتون آگار پس از ایجاد چاهک به فاصله ۲ سانتیمتر از هم و بدنه پلیت به وسیله سوآپ کشت متراکم داده شد. سپس از کشت ۷۲ ساعته لاکتوباسیلوس‌ها در محیط MRS براث با جار بیهوازی در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، سوسپانسیون تهیه کرده وسپس محلول حاوی باکتری را با دور ٤۰۰۰ RPM به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ کردیم و رسوب داده شد و برای ادامه مراحل بررسی، نیمی از محلول رویی سوسپانسیون گونه‌های لاکتوباسیل را جدا کرده و برای غیر فعال کردن محلول رویی جدا شده لاکتوباسیل‌ها، PH اسیدی سوسپانسیون را با استفاده از هیدروکسید سدیم ۱ نرمال به ٦/۵ افزایش داده شد و آب اکسیژنه موجود در محیط را نیز با استفاده از کاتالاز خنثی کردیم. سپس به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از محلول‌های فعال و غیر فعال به داخل چاهک‌های ایجاد شده در پلیت حاوی باکتری *بورخولدریا سپاشیا* ریخته شد.برای جذب محلول‌ها پلیت‌ها به مدت ۲ ساعت در داخل یخچال قرار گرفتند وبعد از مرحله جذب پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس طی مدت ٢٤ ساعت انکوبه شدند. سپس، اندازه هاله‌های مهاری تشکیل شده با استفاده از خط کش و برحسب میلی متر اندازه گیری شد [۱۲].

نتایج

نتایج جداسازی و شناسایی باکتری بورخولدریا

در این تحقیق، سیزده نمونه باکتری *بورخولدریا سپاشیا* جدا شد که ۵ نمونه از خون و ۸ نمونه از خلط بود. نتایج عکس‌برداری از ژل الکتروفورز محصول PCR در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱: نتایج الکتروفورز محصول PCR ژن *16S rRNA* باکتری *بورخولدریا سپاشیا*

شماره ۱، ladder marker شماره‌های ۲، ۳ و ٤: نمونه‌ها NTC: کنترل منفی

نتایج آنتی بیوگرام

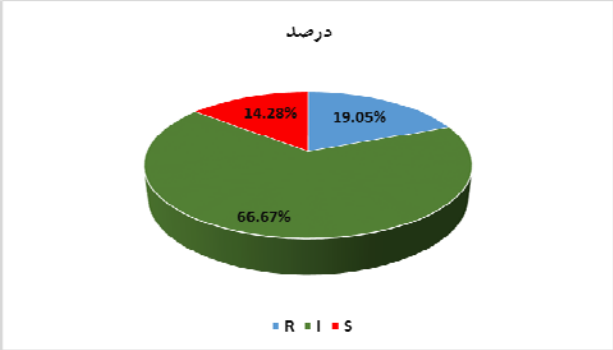
نتایج آنتی‌بیوگرام طبق جدول ۱ آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی بر روی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازیی* نشان داد که *لاکتوباسیلوس کازیی* به همه آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بود به جز کوتریموکسازول که نیمه حساس بود. *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به آنتی‌بیوتیک جنتامیسین حساس و به آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول نیمه حساس و به بقیه آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بود [۸].

نتایج ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی گونه‌های لاکتوباسیلوس علیه باکتری بورخولدریا به روش چاهک

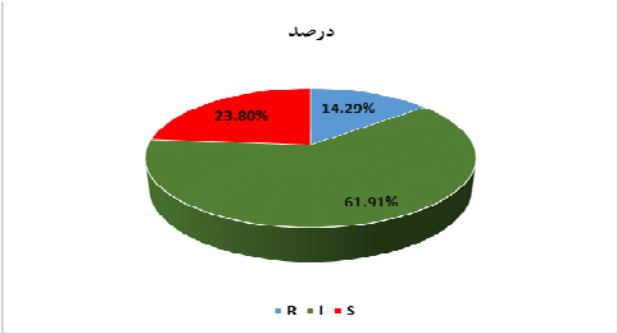
طبق پروتکل استاندارد فعالیت ضد میکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک، فعالیت دو گونه از لاکتوباسیل‌ها را براساس قطر هاله طبقه‌بندی و به صورت نمودار درصد ۱ و۲ نشان دادیم.[۱۹]

جدول ۱: نتایج آنتی بیوگرام

دیسک	غلظت آنتی‌بیوتیک	لاکتو باسیلوس کازیی	لاکتو باسیلوس پلانتاروم
Vancomyn	۳۰ میکروگرم	R	R
Ciprofloxacin	۵ میکروگرم	R	R
Gentamicin	۱۰ میکروگرم	R	S
Tobramycin	۱۰ میکروگرم	R	R
Geftazidime	۳۰ میکروگرم	R	R
Cotrimoxazol	۲۵ میکروگرم	I	I

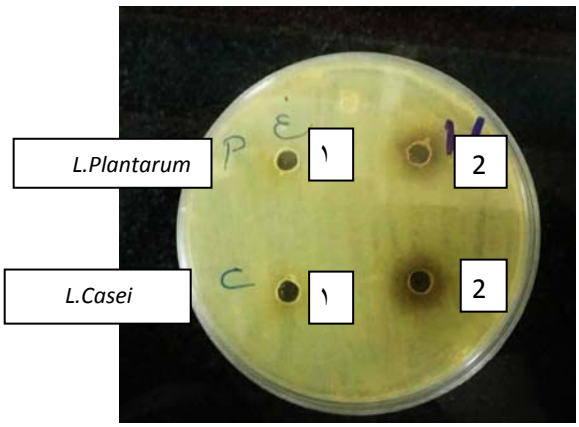


نمودار ۱: نتایج حساسیت باکتری بورخولدریا نسبت به *لاکتوباسیلوس کازیی* نشان داد که ۱۹/۰۵٪ مقاوم، ٦٦/٦٧٪ حد واسط و ١٤/٢٨٪ حساس بودند.



نمودار ۲: نتایج حساسیت باکتری بورخولدریا نسبت به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نیز نشان داد کـه ١٤/٢٩٪ مقـاوم، ٦١/٩١٪ حـد واسـط و ٨ /٢٣٪ حساس بودند.

نتایج هاله عدم رشد طبق شکل-۲ نشان داده شده است، چاهک شماره ۱ ،شکل غیر فعال محلول لاکتوباسیل‌ها مـی‌باشـد کـه PH و آب اکسیژنه آن توسط سود و کاتالاز خنثی شده است و هالـه عـدم رشد دیـده نشـده اسـت.چاهـک شـماره ۲، شـکل فعـال محلـول لاکتوباسیل‌ها می‌باشد که فعالیت ضد باکتری دیده شده است.



شکل ۲: هاله عدم رشد باکتری پاتوژن در حضور باکتری‌های لاکتوباسیل

بحث

در این تحقیق از باکتری باسیل گرم منفی که اولین بار در بیماران مبتلا به سیستیک فایبروزیس جدا شد استفاده گردید که این عفونت در بیماران مزمن،شایع تر و بیشتر به شکل عفونت بیمارستانی پدیدار شده بود[۱۳]. *باکتری بورخولدریا سپاشیا*، به دلیل انتقال انسان به انسان و آمار بالای مرگ و میر در۵ سال اخیر در بیماران، از اهمیت بالایی برخوردار است.برطبق گزارش FAO/WHO باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک (LAB) به طور طبیعی ساکن لوله گوارشی انسان و همچنین دارای تاریخچه طولانی درفراورده های تخمیری دارا بوده اند. علت مطرح بودن این باکتری‌ها اثرات مثبت آن‌ها در روند سلامتی افراد بوده است. خاصیت ضد میکروبی باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک مربوط به تولید ترکیب‌هایی مثل اسید لاکتیک و اسید استیک دی استیل، هیدروژن پراکسید ،اسیدهای چرب و آلدهیدها و کاهش PH است[۱].

در این مطالعه، خاصیت ضد باکتریایی باکتری‌های لاکتوباسیلوس به این ترتیب بود که میزان مقاومت باکتری *بورخولدریا سپاشیا* نسبت به باکتری *لاکتوباسیلوس کازیی* (۱۹/۰۵٪) و نسبت به باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (۱٤/۲۹٪) بود[۱٤].

نتایج این تحقیق نشان داد که گونه‌های استاندارد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازیی* علیه *بورخولدریا سپاشیا* به عنوان یک باکتری عامل عفونت‌های بیمارستانی اثر مهاری دارد. امامی و همکاران در سال ۲۰۱۰، از روش انتشار در آگار جهت بررسی اثر مهارکنندگی بر رشد باکتری‌های پاتوژن استفاده نمودند و همچنین از گونه‌های لاکتوباسیلوس جدا شده از لبنیات محلی استفاده کردند خاصیت ضدباکتریایی آنها را بر روی باکتری‌های *سودوموناس ائروژینوزا*، *اشریشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیه* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی نمودند و نشان دادند که محلول رویی لاکتوباسیلوس بر روی باکتری‌های ذکر شده خاصیت ضدباکتریایی دارد [۸].

درمطالعه حاضر،گونه‌های لاکتوباسیلوس استاندارد و گونه پاتوژن از بیماران مبتلا به عفونت‌های بیمارستانی گرفته شده بود، درحالی که در تحقیق امامی و همکاران، گونه‌های پاتوژن استاندارد و گونه‌های لاکتوباسیلوس از لبنیات محلی بوده و نوع گونه‌های کارشده در دو مطالعه نیز متفاوت بوده است [۸]. لوک و اشلینگر در سال ۱۹۸۹ سویه‌های مختلف *لاکتوباسیل ساکی* را از نظر توانایی مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا با روش چاهک مورد بررسی قرار دادند. هیچ کدام در روش چاهک، هاله عدم رشد ایجاد نکردند ولی پس از افزایش غلظت مایع رویی کشت لاکتوباسیلوس‌ها، هاله عدم رشد ایجاد کردند [۱۵].

کوکونیر و همکاران گزارش کردندکه مصرف محلول رویی کشت *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، *لاکتوباسیلوس کازیی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، اثر ضدباکتریایی بر طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی پاتوژن داشت [۱٦]. در مطالعه حاضر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی *بورخولدریا سپاشیا* اثر ضدباکتریایی داشته است. در تحقیق دیگری که توسط چاووشی فروشانی انجام شده اینطور نشان داد که تحقیق انجام شده همانند مطالعه حاضر اثر لاکتوباسیلوس کازیی به روش چاهک انجام شده است با این تفاوت که باکتری از ماست جداسازی شده و بر روی O157:H7 انجام شده است [۱۷].

نتایج ما نشان داد که باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس کازیی مورد آزمایش، درشرایط غیرفعال، دارای فعالیت ضدباکتریایی علیه بورخولدریا سپاشیا نداشته است، این درحالی است که درحالت فعال یعنی زمانی که باکتری توانایی تولید ترکیباتی نظیر آب اکسیژنه و اسید را داشته و یا تحت چنین شرایطی قرار گرفته، خاصیت ضدباکتریایی داشته است.

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر ،جدایه‌های بورخولدریا سپاشیا از بیماران بستری در بیمارستان تا حد زیادی در مقابل دو باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازیی* حساس *بودند .با توجه به اینکه* این دو گونه لاکتوباسیلوس تقریباً در برابر آنتی‌بیوتیک‌های معمول، مقاوم بودند بنابراین، در زمان مصرف این دسته از آنتی‌بیوتیک‌ها، میزان این باکتری‌های فلور طبیعی دستگاه گوارش، کاهش چشمگیری پیدا نکرده و در طی دوره درمان، این باکتری‌ها تا حد زیادی قادر به ادامه عملکرد خود خواهند بود و به

صورت زنده قادر به ایجـاد شـرایط اسـیدی و تولیـد آب اکسـیژنه هستند،بنابراین می‌تـوان در امـر بهینـه سـازی محـیط بیولـوژیکی و برخی از عوامل عفونی بیمارستانی از قبیل بورخولدریااستفاده کرد.

References

1. Sanders ME. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. J Nutr. 2000;130:384S-90S. http://dx.doi.org/10.1093/jn/130.2.384S www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10721912
2. Chetchotisakd P, Anunnatsiri S, Kiatchoosakun S, Kularbkaew C. Melioidosis pericarditis mimicking tuberculous pericarditis. Clin Infect Dis. 2010;51:e46-9. http://dx.doi.org/10.1086/655699 www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20645861
3. Ogutlu A, Guclu E, Karabay O, Utku AC, Tuna N, Yahyaoglu M. Effects of Carbapenem consumption on the prevalence of Acinetobacter infection in intensive care unit patients. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2014;13:7. http://dx.doi.org/10.1186/1476-0711-13-7 www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24405720
4. Barnett AG, Page K, Campbell M, Martin E, Rashleigh-Rolls R, Halton K, et al. The increased risks of death and extra lengths of hospital and ICU stay from hospital-acquired bloodstream infections: a case-control study. BMJ Open. 2013;3:e003587. http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2013-003587 www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24176795
5. Darazam IA, Kiani A, Ghasemi S, Sadeghi H, Alavi F, Moosavi MJ, et al. Melioidosis: It is not far from here. Tanaffos. 2011;10:64.
6. Heydari Z, Ghaemi N, Faezi M. Activity of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from dairy environments in situ. J Biol Sci Lahijan. 2006;1:13-23.
7. Tomas MS, Bru E, Nader-Macias ME. Comparison of the growth and hydrogen peroxide production by vaginal probiotic lactobacilli under different culture conditions. Am J Obstet Gynecol. 2003;188:35-44. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12548193
8. Dallal M-MS, Mirak S, Azarsa M, Rahbar M, Yazdi M-KS. Evaluation of antimicrobial activity of Lactobacillus plantarum and ruteri on Burkholderia cepacia isolated from nosocomial infections. Pajoohandeh Journal 2013;18:202-7.
9. Dicks LM, Du Plessis EM, Dellaglio F, Lauer E. Reclassification of Lactobacillus casei subsp. casei ATCC 393 and Lactobacillus rhamnosus ATCC 15820 as Lactobacillus zeae nom. rev., designation of ATCC 334 as the neotype of L. casei subsp. casei, and rejection of the name Lactobacillus paracasei. Int J Syst Bacteriol. 1996;46:337-40. http://dx.doi.org/10.1099/00207713-46-1-337 www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8573516
10. McPherson M, Muller S. PCR basics and laboratory applications. . Tehran: The Idea of Advent, 359 pages.; 2004.
11. Wayne P. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI Document M100-S25, Clinical and Laboratory Standards Institute 2015.
12. FAO-WHO. Food and Health AgriculturalOrganization of the United Nations and WorldHealth Organization. Guidelines for the evaluationof probiotics in food. Working Group Rep. Food and Health Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization, Washington, DC. 2002
13. Smith D, Smith E, Gumery L, Stableforth D. Pseudomonas cepacia infection in cystic fibrosis. The Lancet 1992;339:252.
14. Dallal MS, Davoodabadi A, Abdi M, Hajiabdolbaghi M, Yazdi MS, Douraghi M, et al. Inhibitory effect of Lactobacillus plantarum and Lb. fermentum isolated from the faeces of healthy infants against nonfermentative bacteria causing nosocomial infections. New microbes and new infections 2017;15:9-13.
15. Schillinger U, Lucke FK. Antibacterial activity of Lactobacillus sake isolated from meat. Appl Environ Microbiol. 1989;55:1901-6. www.ncbi.nlm. nih.gov/pubmed/2782870
16. Coconnier MH, Lievin V, Hemery E, Servin AL. Antagonistic activity against Helicobacter infection in vitro and in vivo by the human Lactobacillus acidophilus strain LB. Appl Environ Microbiol. 1998;64:4573-80. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9797324
17. Chavoshi Frooshani M, Imani Fooladi A, Saadatmand S. Antimicrobial Effects of Bacterial Cell Debris and Supernatant of Lactobacillus casei Isolated from Yoghurt Against Enterohemorrhagic Escherichia coli O157: H7. Journal of Ardabil University of Medical Sciences 2011;11:208-17.

AUMJ Alborz University of Medical Sciences Journal
Alborz University of Medical Sciences Journal, January 2021, Vol. 10, No. 1: 15-22 *Original Article*

Malihe Sadeghi[1*], Rabeeh Izadi[2], Smaeil Fattahi[2]

[1] *M.Sc of Microbiology of Ayatollah Amoli, Amol, Iran*
[2] *Assistant Professor of Biology Department of Ayatollah Amoli, Amol, Iran*

Antibacterial Activity of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei* on *Burkholderia cepacia* Isolated from Imam Ali Hospital

Received: 24 Dec. 2018 ; Accepted:19 Feb. 2020

Abstract

Background: Nosocomial infections are the causes of the most common of morbidity and mortality, prolonged hospital stay, and increased hospital costs worldwide. Today probiotic bacteria, as antibacterial agents, attracted the attention of clinicians. The current study aimed at determining the antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* and *L. casei* species against *Burkholderia cepacia* isolated from Imam Ali (AS) Hospital, Amol, Iran.

Methods: In the current study, *B. cepacia* species isolated from Imam Ali (AS) Hospital were identified using bacterial culture and biochemical tests as well as polymerase chain reaction (PCR) technique, and the antibacterial activity of *L. plantarum* and *L. casei* standard species against the isolated species of *B. cepacia* were assessed. Then, the inhibitory activity of *L. plantarum* and *L. casei* broth cultures supernatants in two active and inactive forms against *B. cepacia* was also assessed using the agar well diffusion.

Results: In the current study, five isolates of *B. cepacia* were isolated from blood and eight from sputum samples. Sensitivity of *B. cepacia* against *L. casei* was mostly moderate (66.67%) followed by resistant and sensitive; but it was moderate against *L. plantarum*, followed by sensitive and resistant. *Lactobacillus casei* was resistant against all the examined antibiotics, except cotrimoxazole in moderate level; *L. plantarum* was sensitive to gentamycin, moderate to cotrimoxazole, and resistant against other antibiotics.

Conclusion: Results of the current study showed that *L. plantarum* and *L. casei* have inhibitory effects against *B. cepacia*.

Keywords: Probiotics, *Lactobacillus plantarum*; *lactobacillus casei*, *Burkholderia cepacia,* Nosocomial Infections

***Corresponding Author:**
M.Sc of Microbiology of Ayatollah Amoli, Amol, Iran

Tel: 09389984169
E-mail: Sadeghi3737@yahoo.com