



ویژگی های پروبیوتیک مطلوب

- مقاومت در برابر شرایط داخل بدن حیوان

پس از تجویز پروبیوتیک، میکروارگانیسم ها نباید توسط مکانیسم های دفاعی میزبان نابود شوند. آنها باید بسته به محل تجویز میکروارگانیسم ها در برابر شرایط اختصاصی موجود در آن قسمت از بدن مقاوم باشند. برای مثال، میکروارگانیسم های موجود در یک پروبیوتیک باید با مصرف خوراکی در برابر آنزیم های موجود در محوطه دهانی (آمیلاز و لیزوزیم)، آنزیم های معده (پپسین و لیپاز) و pH پایین (مقادیر بالای HCl) و آنزیم های موجود صفرا، شیره لوزالمعده و مخاط روده کوچک مقاوم باشند. بدین ترتیب برای سویه های میکروبی به کار گرفته شده در فرآورده های پروبیوتیکی با مصرف خوراکی، مقاومت در برابر دستگاه گوارش و دهان از مهمترین معیارهای انتخاب و گزینش می باشد.

گیلیند (۱۹۷۲) نشان داد که باکتری های گرم مثبت عمدتاً در برابر لیزوزیم حساسند، اما لاکتوباسیل ها و استرپتوکوک ها در مقایسه با سایر باکتری های گرم مثبت از مقاومت بیشتری در این زمینه برخوردار می باشند. باکتری های اسید لاکتیکی در برابر اسید مقاوم هستند. کان وی و همکاران (۱۹۸۷) نشان دادند که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در مقایسه با لاکتوباسیلوس دلبروکی تحت گونه بولگاریکوس از مقاومت بیشتری برخوردار است و در مقایسه با استرپتوکوکوس سالیواریوس تحت گونه ترموفیلوس نیز به نوبه خود مقاوم تر است. مقاومت در برابر pH پایین و خارج بدن حیوانات به نوع بافر و حضور غذا یا موادی مانند شیر بستگی دارد. این امر با نتایج مربوط به مطالعات داخل بدن حیوانات انجام شده توسط رابینز- براون و همکاران همخوانی دارد. در مطالعه آنها، میزان بقای لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در مایع ژرژنوم پس از عبور از معده در موارد اعمال محدودیت غذایی در مقایسه با موارد معمولی بسیار پایین بود. کان وی و همکاران (۱۹۸۷) نشان دادند که بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ژرژنوم و دوازدهه بسیار بالاتر از بقای

لاکتوباسیلوس دلبروکی تحت گونه بولگاریکوس می باشد. با توجه به این یافته ها، توجه به این نکته بسیار مهم است که نتایج حاصل از مطالعات داخل و خارج از بدن بسیار شبیه هستند. این امر بدان معناست که بخشی از روش انتخاب سویه های پروبیوتیکی را می توان بر اساس آزمایشات خارج از بدن قرار داد. بقای سویه ها هنگام عبور مواد از معده (۲ تا ۳ ساعت) را می توان با مطالعات خارج از بدن یعنی در شیر معده (برای مثال در حیوانات ذبح شده) در مقادیر مختلف pH، با انواع و مقادیر مختلف غذاها مورد آزمایش قرار داد. در صورتی که برای دستیابی به فعالیت مطلوب سویه های پروبیوتیکی، وقوع فعالیت متابولسمی و تکثیر یا استقرار در روده کوچک ضروری می نماید، تحمل پذیری در برابر صفرا یکی از معیارهای اساسی در انتخاب سویه های میکروبی خواهد بود. طبق بررسی های گیلیند و اسپیک (۱۹۷۷)، باکتری های با منشأ خارج روده ای مانند لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و لاکتوباسیلوس لاکتیس در برابر صفرا بسیار حساسند، به طوری که مقادیر کمتر از ۰/۰۵٪ نیز برای آنها مهارکننده است. با این وجود، حتی در میان گونه های باکتریایی نیز از نظر تحمل پذیری تفاوت هایی وجود دارد که این امر توسط گیلیند و همکاران (۱۹۸۷) برای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نشان داده شده است. مطالعات انجام شده توسط کالانهامر و کلیمن (۱۹۸۱) نشان داد که لاکتوباسیل های رشد یافته در پرگنه های صاف در مقایسه با پرگنه های سخت از مقاومت بیشتری در برابر صفرا برخوردارند. در حضور صفرا، ریخت شناسی پرگنه ها به ریزوئید تبدیل می شود و سلولها نیز بیرون زدگی غشای سیتوپلاسمی ناشی از فواصل موجود در دیواره سلولی را نشان می دهند. این امر می تواند بدین معنا باشد که ریخت شناسی سلولی و پرگنه ها نیز در گزینش سویه های لاکتوباسیلوس پارامترهای ارزشمندی محسوب می شوند. گزینش باکتری های (اسید لاکتیکی) مقاوم در برابر صفرا می تواند از طریق کشت روی محیط آگار انتخابی دارای مقادیر متفاوت صفرا انجام شود (گیلیند و اسپیک، ۱۹۷۷). مطابق نتایج حاصل از مطالعات گیلیند و همکاران (۱۹۸۴)، براساس آزمایشات خارج بدن میان گزینش سویه های مقاوم در برابر صفرای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و تعداد لاکتوباسیل های موجود در ژژنوم گوساله ها ارتباطی خوب وجود دارد (اما با تعداد آنها در دوازدهم ارتباطی ندارد). با توجه به آزمایشات خارج از بدن، باید تفاوت های موجود در ترکیب صفرا نیز مدنظر قرار گیرد. تفاوت ها در ترکیب نه تنها میان صفرای گونه های حیوانی مختلف بلکه میان صفرای کانوله شده و نمونه صفرای مأخوذه از کیسه صفرا نیز قابل مشاهده است. تعیین غلظتی از صفرا که سویه های منتخب باید در برابر آن مقاوم باشند بسیار دشوار است. میانگین صفرای تولیدی در خوک ها بسیار بالاست (حدود ۲ لیتر در یک خوک ۴۰ کیلوگرمی) که البته بسته به جیره مصرفی و ترکیب آن می تواند متفاوت باشد. علاوه بر مطالعه تحمل پذیری در برابر صفرا، تعیین تحمل پذیری در برابر شیر لوزالمعده و یا شیر کامل روده نیز می تواند از

اهمیت برخوردار باشد. در یک محیط کشت پایه که حاوی مقادیر متغیری از شیره روده ای می باشد (سانتریفوژ و استریل شده)، باید منحنی های رشد را به منظور بررسی توان سویه ها در تکثیر در شرایط روده ای خارج از بدن حیوانات مورد بررسی قرار داد. این نوع آزمایش را حتی می توان با مدنظر قرار دادن متغیرهای روده ای و اجزای جیره مانند بهبود دهندگان رشد پیچیده تر نمود.

- برقراری اتصال و استقرار در محل

جهت بقای طولانی مدت سویه های پروبیوتیکی در داخل بدن میزبان، باید زمان تکثیر میکروارگانیسم کوتاه باشد و یا اینکه سویه های مذکور قابلیت استقرار در سطوح داخل بدن را داشته باشند. در غیر این صورت، سویه ها به علت انقباض دستگاه گوارش از محل کنده می شوند. به طور کلی، برای سویه های پروبیوتیکی قابلیت برقراری اتصال و استقرار در مقایسه با حفظ قابلیت حیات و فعالیت متابولیکی یک عامل مهم محسوب می شود. با این وجود، کاملاً مشخص نیست که آیا تجویز روزانه میکروارگانیسم های زنده با عدم توانایی استقرار نیز دارای خاصیت بهبود دهنده سلامتی هست یا خیر.

چنین تصور می شود که این میکروارگانیسم ها ممکن است از خواص و ویژگی های تحریک ایمنی برخوردار باشند. نخستین گام درخصوص پدیده استقرار، برقراری اتصال است. با این وجود، هود و زوتولا (۱۹۸۸) نشان دادند که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به علت pH پایین نابود می شود، بی آنکه اسید بر لایه پلی ساکارییدی تأثیر گذارد و آنها هنوز قدرت برقراری اتصال به کشت سلول بافت های روده تک سلولی را دارا می باشند. این اتصال با همان قدرت و کارآیی انجام می شود که سلول های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس زنده این کار را انجام می دهند. این امر نشان می دهد که وجود متابولیسم فعال برای برقراری اتصال پیش شرط نیست؛ اگرچه وجود آن برای رشد و استقرار حیاتی است. انتخاب سویه های با قابلیت برقراری اتصال به سلول های دستگاه گوارش را می توان براساس آزمایشات خارج از بدن حیوانات استوار نمود اما تعمیم این نتایج به موقعیت های داخل بدن دشوار است. عامل اصلی و کنترل کننده برقراری اتصال و استقرار در داخل بدن حیوانات، اختصاصی بودن گونه های حیوانی برای میکروارگانیسم هاست. اگرچه گونه های مشابه لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم از حیوان و انسان جدا شده اند، ولی بسته به نوع حیوانی که میکروارگانیسم از آن جدا شده است، یعنی در داخل گونه های باکتریایی نیز بیوتیپ های متفاوتی قابل مشاهده اند. این امر نشان می دهد که یک سویه باکتریایی جدا شده از میکروفلور بومی یک گونه حیوانی در سایر گونه های حیوانی ضرورتاً در همان محل استقرار نمی یابد. علاوه بر اختصاصیت گونه های حیوانی برای برقراری اتصال، اختصاصی بودن سویه ای نیز در همان گونه

های باکتریایی دیده می شود. بارو و همکاران (۱۹۸۰) نشان دادند که شدت و میزان برقراری ارتباط با سلول های مخاطی خاردار معده خوک برای سویه های متفاوت موجود در گونه های مشابه لاکتوباسیل ها متفاوت می باشد. این امر ممکن است ناشی از این مطلب باشد که برخی از گونه های لاکتوباسیلوس از نظر ژنتیکی حاوی یک گروه همولوگ نیستند. برای مثال، براساس فن آوری هیبریدسازی DNA، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس یک گروه هترولوگ از باکتری ها را تشکیل می دهد. اختصاصی بودن برای گونه های میزبان مربوط به میکروفلور روده ای از مطالعات بر روی تعیین ویژگی ها مشخص گردید (اختصاصات در بیوتیپ ها، سروتیپ ها و انواع پلاسمید). در مطالعه ای که توسط کان وی و همکاران (۱۹۸۷) انجام گردید، باکتری های اسید لاکتیکی مورد آزمایش برای سلول های دوازدهه خوک و انسان شیوه های مختلف و قابل مقایسه برقراری اتصال را نشان دادند. به عبارت دیگر، تعجب آور نیست که میرا-ماکینین و همکاران (۱۹۸۳) نشان دادند که لاکتوباسیل های به دست آمده از مواد گیاهی و شیر و پنیر و کشت داده شده در خارج از بدن حیوانات به سلول های مخاطی خوک ها و گوساله ها اتصال نمی یابند. عامل دیگری که در برقراری اتصال مؤثر می باشد مصرف غذا است. برخلاف طیور معمولی سویه های لاکتوباسیلوس در طیور با ۱۲ ساعت محدودیت غذایی به دیواره چینه دان اتصال نمی یابند. میزان ارتباط در آزمایشات خارج از بدن حیوانات می تواند تحت تأثیر شرایط آزمایشگاهی مانند pH، حضور آنزیم ها، ترکیب محیط کشت (یک درصد شیر بدون چربی موجب افزایش میزان برقراری ارتباط می گردد) و سوسپانسیون بافر قرار گیرد. اگرچه می توان شرایط انجام آزمایش خارج از بدن حیوانات را تا حد ممکن مشابه شرایط داخل یا روی بدن انتخاب کرد، ولی با این وجود نتایج باید به دقت مورد تفسیر قرار گیرند. برقراری اتصال در شرایط خارج از بدن هیچ گونه تضمینی برای برقراری اتصال در شرایط داخل بدن و سپس استقرار بعدی را به دست نمی دهد. در یک اکوسیستم میکروبی، استقرار یک سویه پروبیوتیکی نیازمند چیزی بیش از برقراری اتصال به تنهایی می باشد. این سویه پروبیوتیکی باید قادر باشد پس از استقرار روی مخاط میزبان و علیرغم حضور مکانیسم های دفاعی میزبان و تأثیرات متقابل با میکروفلور اطراف سویه تکثیر گردد. میکروارگانیسم های با قابلیت رقابت با سایر میکروارگانیسم ها برای مثال از طریق تولید مواد ضد میکروبی از بیشترین احتمال برای استقرار در اکوسیستم برخوردارند.

- فعالیت ضد میکروبی

هنگامی که یک پروبیوتیک به منظور تضعیف عوامل بالقوه بیماریزا یا سایر میکروارگانیسم های مضر در میزبان به کار می رود، برخورداری از ویژگی های آنتاگونیستی می تواند سودمند باشد. باکتری های اسید لاکتیکی که

اغلب به عنوان پروبیوتیک به کار گرفته می شوند، دارای خواص آنتاگونیستی هستند که از طرق ذیل خواص خود را اعمال می کنند:

- کاهش pH از طریق تولید اسید لاکتیک
- مصرف مواد غذایی در دسترس
- کاهش پتانسیل اکسیداسیون- احیا
- تولید پراکسید هیدروژن (تحت شرایط بی هوازی).
- تولید اجزای مهارکننده اختصاصی مانند باکتریوسینها.

گروه تحقیق و توسعه شرکت گهر دانه شرق