مجله پژوهش های بالینی دامپزشکی
JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

دوره پنجم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۳
صفحات ۱۶۰-۱۵۳

اثرات آنتاگونیستی لاکتوباسیل‌های جدا شده از واژن سگ‌های سالم در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های رایج برروی رشد برخی از پاتوژن‌های مطرح در عفونت‌های رحمی سگ در شرایط آزمایشگاهی

مهرداد جبارزاده[۱]، اورنگ عطایی عمارلویی[۱*]، فرهاد موسی خانی[۲]

۱- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج،ایران

۲- گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج،ایران

نویسنده مسئول: **ataee@kiau.ac.ir***

چکیده

امروزه عفونت‌های رحمی یکی از عارضه‌های اصلی دستگاه تناسلی سگ‌های ماده است. بدین منظور استفاده از لاکتوباسیل‌ها به عنوان پروبیوتیک و به منظور جایگزینی در رحم به عنوان یک عامل باز دارنده از عفونت‌های رحمی به علت تولید متابولیت‌هایی همچون پراکسید هیدروژن و اسید لاکتیک امری مفید و سودمند است. (۸) بدین منظور جهت جداسازی لاکتوباسیل‌ها از واژن سگ‌های سالم اقدام به اخذ نمونه با سواب دابل گارد تحت شرایط استریل از ۲۰ قلاده سگ ماده که ابتدا توسط رادیوگراف و تصاویر سونوگرافی و معاینات بالینی سلامت آن‌ها تایید شده بود صورت گرفت. سواب‌ها پس از اخذ نمونه بلافاصله در محیط MRS-broth قرار داده شده و پس از انتقال به آزمایشگاه ابتدا ۴۸ تا ۷۲ ساعت در شرایط بی هوازی در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سپس از نمونه‌های رشد کرده بر روی MRS-agar اقدام به کشت گردید و به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت دیگر در شرایط فوق انکوبه شدند.کلونی‌های رشد نموده بر روی سطح با روش‌های مشاهده مستقیم و آزمون‌های بیو شیمیایی و در نهایت توسط PCR و sequencing تشخیص جنس لاکتو باسیل داده شد. پس از آن اقدام به خالص سازی و تکثیر لاکتو باسیل‌ها شد. سپس به منظور آزمون تاثیر لاکتوباسیل‌های جدا شده بر روی پاتوژن‌های مطرح در عفونتهای رحمی اقدام به جداسازی سگ‌های مبتلا به عفونت رحمی ارجاع داده شده به مطب‌های دامپزشکی استان البرز جهت اخذ نمونه‌های ترشحات رحمی شد.

در ادامه میزان ناحیه باز دارنده ایجاد شده حاصل از مجاورت جداگانه لاکتوباسیل‌ها و دیسک‌های آنتی بیوگرام با پاتوژن‌های اصلی جدا شده که شامل Staphylococcus epidermidis و Staphylococcus intermedius و E. coli و Proteus mirabilis و Pseudomonas aeruginosa و Staphylococcus aureus و Trueperella بودند با یکدیگر مقایسه گردید. نتایج نشان دادند که لاکتو باسیل‌ها بر روی بسیاری از باکتریهای پاتوژن تاثیر معنی داری را در ایجاد منطقه بازدارنده از رشد در شرایط آزمایشگاهی دارد ۸۳/۳% که در مقایسه با حساسیت کلیه دیسک‌های آنتی بیوگرام مورد بررسی که به میزان ۳۴/۱۶% بوده است اختلاف معنی داری را نشان می‌دهد.

با توجه به نتایج به دست آمده در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) به نظر میرسد که به کارگیری لاکتوباسیل‌ها در واژن سگ‌ها به عنوان عامل پیش گیرانه از عفونت‌های رحمی و یا عاملی در جهت کاهش ابتلا به این نوع از عفونت‌ها است و شاید جایگزین مناسبی جهت درمان‌های آنتی بیوتیکی باشد البته می‌بایست در شرایط بالینی نیز مورد بررسی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: لاکتوباسیل، عفونت رحم، سگ

JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 5(3)153-160, 2014

Invitro antagonistic effects of normal vaginal Lactobacilli isolated from healthy bitches on some pathogens related to bitch endometritis in comparison with some commonly used antibiotics

Jabarzadeh m.[1] ,ataie amarloie o.[1*] ,moosakhani f.[2] Ghalambor Dezfouli[4]

1. Department of Clinical Sciences, College of veterinary medicine, Karaj branch , Islamic Azad University, Karaj, Iran.

2- Department of Microbiology, College of veterinary medicine, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

**** Corresponding author:*** **ataee@kiau.ac.ir**

Abstract

Nowadays the uterine infections are considered as one of the principal disorders of bitch's reproductive system. For this reason, the utilization of lactobacillus spp. as probiotic and aimed at substituting in the uterus as an inhibiting factor against the uterine infections due to the production of metabolites such as hydrogen peroxide and lactic acid be useful and should be investigated (13). For this reason, in order to isolate the lactobacillus spp. from the vaginas of healthy bitches beings, an attempt was made to obtain specimens using double guard swab under sterile conditions from twenty healthy bitches which had been primarily confirmed through radiograph, ultrasonography and clinical examinations. Subsequent to the acquisition of specimens, the swabs were immediately placed in MRS-broth medium and after transferring to laboratory they were incubated firstly for 48 to 72 hours in anaerobic condition under 37ºc. Thereafter, from the specimens grown on MRS-agar, cultures were prepared and further incubated under above conditions for more 48 to72 hours. Utilizing direct observation, biochemical tests and ultimately PCR and sequencing the genus of lactobacillus spp. was discerned from the colonies grown on the surface. Following this step, the lactobacillus spp. were subjected to isolation and propagation. On the other hand, in a bid to test the effect of isolated lactobacillus on regular pathogens occurring in uterine infections, a certain number of afflicted bitches beings referred to medical clinics existing all over Alborz province were selected for obtaining specimens of uterine secretions. In continuation, the degree of created inhibition zone resulting from separate proximity of lactobacilli and antibiogram discs with main isolated pathogens including Staphylococcus intermedius, E. coli, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus and Trueperella were compared. The findings demonstrated that the Lactobacilli had a significant effect on a multitude of pathogenic bacteria for the creation of inhibition zone from growth in laboratory conditions. Most of isolated pathogens (83.3%) in the vicinity of 2.5µl of fresh culture medium of Lactobacillus showed susceptibility which indicates a significant difference in comparison with susceptibility of all antibiogram discs under investigation (34.16%). In the light of acquired results in laboratory conditions (in vitro), it seems that the application of Lactobacillus spp. in bitch vagina as a preventive factor from uterine infections or as a factor for mitigating the disposition to such infections should also be surveyed under clinical conditions which might possibly be a suitable replacement for antibiotic treatments.

Key words: lactobacilli, Endometritis, Dog

مقدمه

مطالعات عدیده‌ای بر روی فلور طبیعی واژن در سگ صورت گرفته که متعاقبا می‌توانند با بروز شرایط مناسب و کاهش سطح ایمنی به عنوان پاتوژن محسوب گردند. گونای و همکارانش (۲۰۱۰) و همچنین لورسویسیوس و همکارانش(۲۰۰۸) با انجام آزمایشاتی به معرفی برخی از عوامل به عنوان فلور واژن در سگ (Escherichia coli.,Streptococcus spp, Staphylococcus spp., Pseudomonas aeruginosa و Pasteurella spp.) پرداختند که در شرایط خاص به عنوان عوامل اصلی در بروز عفونت‌های رحمی در نظر گرفته می‌شوند(۵و۶). در چنین شرایطی بحث درمان در این گونه عفونت‌ها از اهمیت زیادی برخوردار خواهد بود که امروزه در راستای بروز برخی از موارد مقاومت دارویی به سمت درمان‌های جایگزین از قبیل استفاده از پروبیوتیک‌ها متمایل گشته است.

دینی و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی لاکتوباسیل‌ها و خاصیت باز دارندگی این باکتری‌ها در مقابل پاتوژن‌های واژن و رحم گاو به نتایج مفیدی رسیده‌اند.آنها اعلام داشتند که لاکتوباسیل‌ها دارای اثرات ممانعت کننده در رشد پاتوژن‌های اصلی جدا شده از عفونت‌های رحمی گاو هستند. (۲) دلوچی و همکارانش(۲۰۰۸) نیزبا انجام آزمایشات مشابه در خصوص لاکتو باسیل‌ها در سگ‌های ماده مبتلا به عفونت‌های رحمی و سالم به نتایج مشابهی دست یافتند و اعلام نمودند که انتروکوک‌ها و لاکتوباسیل‌ها خاصیت آنتی میکروبیال را دارا هستند. (۱) لازم به ذکر است که بیشتر این گونه تحقیقات در انسان انجام شده است. نتایج تحقیقات داندرز (۲۰۰۹) نشان می‌دهد که اثرات آنتی باکتریال پروبیوتیک‌ها عمدتا ناشی از تولید اسید لاکتیک و پراکسید هیدروژن توسط این عوامل می‌باشد. (۴) همچنین دکتر صبری و همکارانش اثرات ضد باکتریایی قابل قیاس این عوامل با آنتی بیوتیک‌ها و تاثیر متقابل آنتی بیوتیک‌ها و لاکتوباسیل بیان کرده اند(۹). بررسی‌های انجام گرفته توسط پسکوال و همکارانش (۲۰۰۶) و همچنین آلن لورنس در انسان اشاره به خاصیت مهاری لاکتو باسیل‌ها با توجه به مواد تولیدی آن‌ها به عنوان مثال پراکسید هیدروژن دارند(۷و۸)

روش کار

جهت جداسازی لاکتوباسیل‌ها از واژن ۲۰ قلاده سگ‌های سالم که در تاریخچه خود سابقه دریافت هیچ گونه آنتی بیوتیکی نداشته‌اند اقدام به اخذ نمونه با سواب دابل گارد تحت شرایط استریل شد. ابتدا سطح خارجی دستگاه تناسلی و ناحیه vulva را ضد عفونی کرده سپس با استفاده از سواب‌ها بدون آن که برخوردی با سطح خارجی دستگاه تناسلی داشته باشند به دنبال ۳۰ ثانیه ماندگاری از کلیه سطوح واژن اقدام به اخذ نمونه بوسیله سواب گردید. سواب‌ها پس از اخذ و به مجرد انتقال به آزمایشگاه (ظرف مدت کمتر از ۴ ساعت) در محیط MRS-Broth به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت قرار داده می‌شدند تا غنی سازی لاکتوباسیل‌ها صورت گیرد. پس از آن 0.5cc از محیط MRS-broth به محیط کشت MRS-agar اضافه می‌شود در دمای $37^{o}c$ و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در یک محیط Micro aerophilic و یا an aerophilic انکوبه می‌شدند. پس از طی سه روز از کلونی‌های ایجاد شده نمونه‌گیری به عمل آمد و توسط مشاهده مستقیم با میکروسکوپ باسیلی شکل بودن باکتریها بررسی گردیده و پس از تایید اولیه مراحل آزمایشات بیوشیمیایی صورت می‌گرفت. برای تعیین شباهت‌ها و گونه لاکتوباسیل اخذ شده آزمایشات PCR (Tag DNA polymerase kit کمپانی Qiagen) انجام شده و Sequencing شرکت Biotech (MWG) صورت پذیرفت. در مرحله بعد به منظور جداسازی پاتوژن‌های مطرح در عفونت‌های رحمی سگ سواب‌های اخذ شده از ترشحات واژن ۱۰ قلاده سگ مبتلا به عفونت‌های رحمی ابتدا درمحیط BHI غنی سازی شده و به مدت ۱۸ الی ۲۴ ساعت در انکوباتور $37^{o}c$ قرار داده می‌شدند و پس از آن در محیط بلاد آگار و مک کانگی آگار کشت ایزوله صورت گرفت و

جهت تعیین نوع پاتوژن‌ها توسط آزمایشات میکروسکوپی و بیوشیمیایی مرحله بعدی آزمایش انجام شد.

در نهایت به منظور مقایسه ناحیه بازدارنده از رشد پاتوژن‌ها توسط لاکتو باسیل و دیسک‌های آنتی بیوتیک‌های رایج به میزا 2.5 µl از کشت تازه لاکتوباسیل داخل محیط کشت MRS-agar به صورت Spotted (نقطه‌گذاری) و در شرایط Microaerophilic به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷° c انکوبه گردیدند و پس از نمایان شدن محیط کلونی‌های رشد یافته ۱۰ میلی لیتر محیط کشت نیمه جامد BHI آگار (w/v 0.8%) که شامل باکتری‌های پاتوژن به میزان (1×10^7 CFU/ml) بودند به صورت جداگانه بر روی محیط‌های کشت لاکتوبسیل ریخته شدند. آن گاه محیط در فضای هوازی و در دمای ۳۷° c قرار داده شدند. و در انتها متوسط میزان inhibition zone ایجاد شده توسط لاکتوباسیل برای هر پاتوژن به دنبال پنج بار مجاورت لاکتوباسیل‌های جدا شده با پاتوژن‌ها اندازه گیری شد و با میزان ناحیه بازدارنده دیسک‌های آنتی بیوگرام که شامل (Penicilin. Enrofloxacin. Gentamycin. Cobactan. Ceftiofor. Florfenicol. Soltrin (SLT). Tetracycline. Trimethoprim + sulfamethoxazol. Streptomycin. Lincospectin. Neomycin. Colistin. Erythromycin. Amoxicillin. Ampicillin. Amikacin) و Cefalexin. Cefazolin. Nalidixic acid بودند بر روی پاتوژن‌ها مورد مقایسه قرار گرفتند.

به منظور تراز بندی کردن Inhibition Zone (منطقه ممانعت کننده از رشد) باکتری‌های پاتوژن در صورت نداشتن Zone (–) و در صورت Zone اندک ۰/۵ تا ۶ mm (+) و ۷ تا ۱۲ mm (++) و بیشتر از ۱۲ mm (+++) در نظر گرفته شد (۱۰). (۴میلیمتر< inhibition zone به عنوان s یا حساس در نظر گرفته شد (۲).

نتایج

به دنبال آزمایشات پاتوژن‌های Staphylococcus epidermidis و *Staphylococcus intermedius* و *E. coli* و *Proteus mirabilis* و *Pseudomonas aeruginosa* و Staphylococcus aureus و *Trueperella* از عفونت‌های رحمی جدا گردیدند. پس از انجام نمونه‌گیری از لاکتوباسیل‌های کشت داده شده و انجام PCR و به دنبال آن Sequencing لاکتوباسیل‌های جدا شده از واژن سگ‌های سالم با ۹۸% شباهت به لاکتوباسیل‌های L.plantarum , L.helveticus , L.fermentum , L. sakei , L.casei جداسازی و شناسایی شدند.

با توجه به نتایج sequencing جدول فیلوژنتیک زیر با استفاده از پرایمرهای F ۲۷ و RD1 به دست آمده است.

جدول ۱- لاکتوباسیل‌های جدا شده از رحم سگ‌های مورد بررسی (بیشترین شباهت قطعه ۵۶۸ نوکلئوتید 16s rRNA در بین لاکتوباسیل‌ها با جدایه‌های جدول زیر، ۹۸% است.)

ردیف	strain	خصوصیات لاکتوباسیل ها
1	02	*Lactobacillus casei 16S ribosomal RNA gene ,partial sequence*
2	090	*Lactobacillus casei 16S ribosomal RNA gene ,partial sequence*
3	095	*Lactobacillus casei 16S ribosomal RNA gene ,partial sequence*
4	IMAU60162	*Lactobacillus fermentum 16S ribosomal RNA gene ,partial sequence*
5	IMAU60201	*Lactobacillus helveticus 16S ribosomal RNA gene ,partial sequence*
6	PFK2	*Lactobacillus plantarum 16S ribosomal RNA gene ,partial sequence*

سپس تاثیرات لاکتو باسیل‌ها را بر روی پاتوژن‌ها به صورت جداول زیر بررسی و حاصل شد:

جدول ۲ : متوسط Inhibition Zone ایجاد شده به دنبال پنج بار مجاورت لاکتو باسیل‌ها با پاتوژن‌های جدا شده از ترشحات واژنی سگ‌های مبتلا به عفونت‌های رحمی بر حسب میلی متر

پاتوژن ها	MEAN ± •SE	*SD	MIN	MAX	CLASIFICATION
Staphylococcus intermedius	15.6±0.44	1.51	14	18	+++=S
E. coli	11.4±0.50	1.14	10	13	++=S
Proteus mirabilis	0.4 ±0	0	0	2	-=R
Pseudomonas aeruginosa	5.6±0.40	0.89	5	7	+=S
Staphylococcus aureus	12.4±0.40	0.89	11	13	+++=S
Trueperella	17.8±0.37	0.83	17	19	+++=S

•SE: standard error

*SD: standard deviation

نتایج به دست آمده در جدول شماره ۲ نشان می‌دهند که اکثر پاتوژن‌های مطرح نسبت به کار گیری ۲/۵ µl از کشت تازه از لاکتوباسیل‌ها کاملا حساس می‌باشند. همچنین با توجه به جداول ۲ و ۴ همان طور که مشاهده می‌شود تاثیر لاکتوباسیل‌ها بر روی کلیه پاتوژن‌های جدا شده در حدود ۸۳/۳% ایجاد حساسیت را نشان می‌دهد.

جدول ۳: نتایج آنتی بیوگرام برخی از آنتی بیوتیک‌های رایج بر روی پاتوژن‌های جداشده از ترشحات واژنی سگ‌های مبتلا به عفونت‌های رحمی

Antibiotic	پاتوژن ها						میزان حساسیت		
	Proteus mirabilis	*Pseudomonas Aeruginosa*	*Staph. Intermedius*	*E.coli*	*Staph. aureus*	*Arcanobacter*	حساس	حساسیت متوسط	مقاوم
							تعداد(٪)	تعداد(٪)	تعداد(٪)
Penicilin	R	R	R	R	R	R	0=(0)	0=(0)	6=(100)
Enrofloxacin	R	IM	S	S	S	S	4=(66.6)	1=(16.7)	1=(16.7)
Gentamycin	R	R	S	S	S	R	3=(50)	0=(0)	3=(50)
Cobactan	S	S	S	S	S	S	6=(100)	0=(0)	0=(0)
Ceftiofor	S	S	S	S	S	S	6=(100)	0=(0)	0=(0)
Florfenicol	R	R	S	S	S	S	4=(66.6)	0=(0)	2=(33.4)
Soltrin (SLT)	R	R	S	IM	IM	R	1=(16.7)	2=(33.3)	3=(50)
Trimethoprim + sulfamethoxazol	R	R	S	IM	IM	R	1=(16.7)	2=(33.3)	3=(50)
Tetracycline	R	R	IM	IM	IM	S	1=(16.7)	3=(50)	2=(33.3)
Streptomycin	R	R	R	R	R	R	0=(0)	0=(0)	6=(100)
Lincospectin	S	S	S	S	S	S	6=(100)	0=(0)	0=(0)
Neomycin	R	R	R	R	R	R	0=(0)	0=(0)	6=(100)
Colistin	IM	S	R	S	IM	S	3=(50)	2=(33.3)	1=(16.7)
Erythromycin	R	R	R	R	R	IM	0=(0)	1=(16.7)	5=(83.3)
Amoxicillin	R	R	R	R	IM	S	1=(16.7)	1=(16.7)	4=(66.6)
Ampicillin	R	R	R	R	R	IM	0=(0)	1=(16.7)	5=(83.3)
Cefalexin	R	R	IM	R	R	R	0=(0)	1=(16.7)	5=(83.3)
Cefazolin	R	R	R	R	R	R	0=(0)	0=(0)	6=(100)
Nalidixic acid	R	R	R	R	R	R	0=(0)	0=(0)	6=(100)
Amikacin	S	S	S	S	S	IM	5=(83.3)	1=(16.7)	0=(0)
مقاوم تعداد(٪)	15=(75)	14=(70)	9=(45)	9=(45)	8=(40)	9=(45)			

جدول ۴ : مقایسه درصد اثرات مهاری کل دیسک‌های آنتی بیوتیک مورد استفاده با لاکتوباسیل‌های جدا شده بر روی پاتوژن‌های مطرح در عفونت‌های رحمی سگ

	کل دیسک های آنتی بیوتیک مورد استفاده	*lactobacillus*
حساس تعداد (٪)	41=(34.16)	25=(83.3)
مقاوم تعداد (٪)	79=(65.84)	5=(16.7)
Total تعداد (٪)	120=(100)	30=(100)

با توجه به جدول ۴ نسبت حساسیت باکتری‌های پاتوژن مورد بررسی با لاکتوباسیل‌ها در مقایسه با دیسک‌های آنتی بیوتیک بالاتر است.

بحث

صبری و همکاران (۲۰۱۱) در طی تحقیقات صورت گرفته نشان دادند که بیشتر اثر ممانعت کننده لاکتو باسیل‌ها بر روی رشد پاتوژن‌هایی همچون *Escherisia Coli* و *Staphylococcus spp* و *streptococcus spp* ناشی از ترشح پروکسید هیدروژن و اسید لاکتیک و عمل رقابتی لاکتو باسیل‌ها و پاتوژن‌ها بر سر جایگزینی بر روی بایو فیلم‌های سلول‌ها بوده است. (۹) با توجه به این که میزان غلظت لاکتوباسیل‌ها ۲/۵ µl از کشت تازه لاکتوباسیل در محیط کشت بوده است تحقیقات صورت گرفته در مطالعه حاضر نیز نشان داد که لاکتو باسیل‌های واژن سگ‌های نرمال می‌تواند این اثرات مهاری را روی پاتوژن‌های مطرح در عفونت‌های رحمی سگ نیز اعمال نماید. در این بین *E.coli* بیشترین حساسیت و *Proteous* بیشترین مقاومت را نسبت به لاکتو باسیل‌ها نشان دادند که این بدین معنی است که در صورت آن که لاکتوباسیل‌ها با جایگزین شدن به عنوان یک دفاع بیولوژیک در دستگاه تناسلی سگ‌های ماده به کار گرفته شوند می‌توانند از بسیاری از بیماری‌های عفونی رحم پیش گیری نماید که در مقایسه با آنتی بیوتیک مقرون به صرفه تر خواهد بود و نیز مقرون به صرفه بودن آن در دراز مدت استفاده از لاکتوباسیل‌ها و فرآورده‌های آن را امری طبیعی نشان می‌دهد..

تحقیقات زیادی در این خصوص وجود دارد که عمدتا در مورد پاتوژن‌های مربوط به عفونت‌های دستگاه تناسلی انسان می‌باشد. صبری و همکاران نشان دادند با جایگزینی لاکتو باسیل‌ها در صورتی که برخی از آنتی بیوتیک‌ها که برای درمان بیماری‌های دستگاه تناسلی زنان مورد استفاده قرار می‌گیرند استفاده نشوند اثر مهاری قوی بر روی رشد و تکثیر *E coli* جداشده از عفونت‌های دستگاه تناسلی انسان به دست می‌آید. (۹) از لحاظ میزان بازدارندگی لاکتوباسیل‌ها در کل اثر این نتایج با حاصل تحقیقات حاضر که در شرایط *in vitro* صورت گرفته هم خوانی کامل دارد و پیشنهاد می‌شود مرحله بعدی تکمیل طرح حاضر و به کار گیری استانداردی مناسب از لاکتوباسیل در شرایط *in vivo* (داخل

بدنی) به منظور پیش گیری از بروز عفونت‌های رحمی سگ در شرایط کنترل شده باشد.

ناحیه بازدارنده از رشد *E.coli* توسط لاکتوباسیل‌ها در تحقیق حاضر بین ۱۰ تا ۱۳ میلی متر بوده که با بسیاری از نتایج به دست آمده دیگر تحقیقات هم خوانی دارد. Delucci و همکاران (۲۰۰۸) در سگ، صبری وهمکاران (۲۰۱۱) در انسان و دینی و همکاران (۲۰۱۲) در گاو منطقه ممانعت از رشد ایجاد شده توسط لاکتو باسیل‌ها را به ترتیب ۲۵ میلی متر،۱۲ و۲۱ میلی متر،۱۳/۴ میلی متر گزارش کردند که این نتایج با نتایج تحقیق حاضر هم خوانی کامل دارد. با توجه به این که باکتری لاکتوباسیل در ۸۳/۳% بر روی پاتوژن‌های جدا شده دارای اثر ممانعت کنندگی واضحی بود که در مقایسه با حساسیت کلیه دیسک‌های آنتی بیوگرام مورد بررسی که به میزان ۳۴/۱۶% بوده است قابل ملاحظه می‌باشد.گرچه شاید مقایسه این دو نتیجه از نظر میزان لاکتوباسیل‌های به کار گرفته شده از نظر آماری درست نباشد اما استفاده جایگزین از لاکتوباسیل‌ها به جای آنتی بیوتیک‌ها امری خارج از تصور نمی‌تواند باشد. در خاتمه می‌توان گفت که از لاکتوباسیل‌ها هر چند در انسان به خوبی استفاده می‌شود. امید است که با کاهش استفاده از آنتی بیوتیک‌ها که به مرور زمان مقاومت باکتری‌های پاتوژن و نیز حساسیت‌های آنتی بیوتیکی که در حیوانات خانگی را ایجاد می‌کند مسیر به سمتی رود که استفاده از درمان بیولوژیک مانند استفاده از لاکتوباسیل‌ها و فرآورده‌های آنها به صورت تجاری نیز در پیشگیری ودرمان عفونت‌های رحمی سگ بیشتر مورد استفاده قرار گیرد.

References

1. Delucchi luis, Fraga, K.Perelmuter, E.Cidade, p.Zunino 2008, vaginal lactic acid in healthy and ill bitches and evaluation of in vitro probiotic activity of selected isolated. pages 991-994

2. Dini p.,p.mottaghian, o.ataie, m.farhoodi, 2012, comparison of the lactococcus lactis ptcc1403 and isolated vaginal against uterin and udder pathogensof dairy cows,international journal ofprobioticsand prebiotics,vol 7,no3/4,pages 129-134

3. Donders gilbert gg,2007, definition and classification of abnormal vaginal flora,Elsevier,vol.21,no.3.

4. Donders gilbert gg, 2009, probiotics innovative strategy for better vaginal health.

5. Gunay ulgen,k.onat,a.gunay,m.ulgen,2010,vaginal cervical and uterin bacterial flora at the different stages of the reproductive cycle in ovariohysterectomized bitches,jurnal of animal and veterinary advances,issn:1680-5593,pages478-480.

6. Laurisevicius s.,j. Šiugždaitė, h.Žilinskas, 2008, correlation between different sexual cycle stage and vaginal bacterial flora in bitches of different breeds. pages 76-78.

7. Lawrence allen, ,alternative treatment of vaginitis , pages 2/5 – 3/5

8. Pascual liliana m, M. Daniele, C.Pa´jaro, l.Barberis, 2006,lactobacillus species isolated from the vagina :identification,hydrogen peroxide production and non oxynol-9 resistance,Elsevier,pages78-81.a

9. Sabri a.mohammad, A. Al-Charrakh, B.Greitty, 2011, relationship between lactobacilli and opportunisticbacterial pathogens associated with vaginitis. north American jurnal sciences,pages, vol 3, no 4, pages 185-192...

10. Ve´ lez M. Perea, K. Hermans, T.L.A. Verhoeven,

S.E. Lebeer, J. Vanderleyden and S.C.J. De Keersmaecker, 2007, Identification and characterization of starter lactic acid bacteria and probiotics from Columbian dairy products, Journal of Applied Microbiology, ISSN : 1364-5072 , pages 666 -674.