مقایسه مقاومت آنتی‌بیوتیکی لاکتوباسیلوس‌های جداسازی شده از فرآورده‌های لبنی سنتی با لاکتوباسیلوس‌های جداسازی شده از نمونه‌های فرآورده‌های لبنی صنعتی

بهاره مقیمی [a]، مریم قبادی دانا [b*]، رضا شاپوری [c]

[a] دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران
[b] عضو هیئت علمی پژوهشگاه استاندارد، کرج، ایران
[c] استادیار واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۰۳/۳۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۰۴/۲۱
https://dorl.net/dor/20.1001.1.20080123.1400.18.4.2.2

چکیده

مقدمه: *لاکتوباسیلوس*ها یکی از اعضا خانواده باکتری‌های اسیدلاکتیک (LAB) و از متداول‌ترین انواع باکتری‌هایی هستند که به‌عنوان کشت آغازگر و پروبیوتیک در تولید انواع فرآورده‌های لبنی صنعتی و سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. با توجه به اینکه *لاکتوباسیلوس*ها به‌صورت بالقوه می‌توانند در انتقال مقاومت به آنتی‌بیوتیک به باکتری‌های ساکن دستگاه گوارش یا باکتری‌های بیماری‌زا نقش داشته باشند.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش پس از جداسازی *لاکتوباسیلوس*ها از نمونه‌های ماست سنتی و صنعتی، دوغ سنتی و دوغ پاستوریزه صنعتی، مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، تتراسایکلین، اریترومایسین، جنتامایسین، استرپتومایسین، ونکومایسین، نالیدیکسیک‌اسید، سیپروفلوکساسین، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول و کانامایسین، ریفامپین و کلرامفنیکل در ایزوله‌ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی و مقایسه قرارگرفته است.

یافته‌ها: یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که در میان ۲۴ *لاکتوباسیلوس* جداسازی شده فرآورده‌های لبنی سنتی، مقاومت به ونکومایسین (۴۵/۸٪) و در *لاکتوباسیلوس*های جداسازی شده از ۱۷ نمونه ماست صنعتی مقاومت به ونکومایسین (۵۹٪) و بیشترین میزان را دارا بود. در نمونه‌های جداسازی شده از دوغ سنتی مقاومت به ونکومایسین ۴۰٪ و دوغ صنعتی (۵۰٪) در بین ایزوله‌ها بیشترین فراوانی را داشت. مقایسه قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده در *لاکتوباسیلوس*های جداسازی شده از ماست سنتی به‌جز در مورد آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و ریفامپین تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد، هم‌چنین در ایزوله‌های دوغ سنتی قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده به‌جز در آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین تفاوت معنی‌داری ندارند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به‌دست‌آمده که مقاومت به آنتی‌بیوتیک هم در *لاکتوباسیلوس*های جداسازی شده فرآورده‌های لبنی سنتی و صنعتی مشاهده گردید به نظر می‌رسد که نیاز به توجه و بررسی میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک در کشت‌های آغازگر مورد استفاده در تولید فراورده‌های غذایی و ایجاد استاندارد مدون در این زمینه وجود دارد تا به این ترتیب از انتشار مقاومت به آنتی‌بیوتیک و تبعات زیان‌بار ناشی از آن جلوگیری شود.

واژه‌های کلیدی: *آغازگر، فرآورده‌های لبنی، لاکتوباسیلوس، مقاومت به آنتی‌بیوتیک*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: Dana.m@standard.ac.ir

مقدمه

*لاکتوباسیلوس*ها فراوان‌ترین گونه در میان اعضا خانواده باکتری‌های اسیدلاکتیک (LAB) هستند که به‌صورت گسترده در صنایع غذایی به‌عنوان کشت آغازگر در تولید فراورده‌های غذایی تخمیری و یا به‌عنوان باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده قرار می‌گیرند (Clementi, 2011). این باکتری‌ها به‌طورکلی ایمن یا[1] (GRAS) و دارای وضعیت QPS[2] شناخته می‌شوند (Fraqueza, 2015). با این وجود طبق تحقیقات صورت گرفته مشخص شده است که این باکتری‌ها و به‌طور کلی زنجیره غذایی یکی از راه‌های مهم و مؤثر در انتقال مقاومت به آنتی‌بیوتیک به باکتری‌های بیماری‌زا و ساکن دستگاه گوارش هستند که سبب به وجود آمدن نگرانی‌هایی در این زمینه شده است (Mermelstein, 2018)؛ بنابراین در کنار ایمن بودن میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در مواد غذایی از نظر بیماری‌زایی مقاومت به آنتی‌بیوتیک نیز باید مورد توجه قرار گیرد (Cormican, 2015). *لاکتوباسیلوس*ها به‌صورت کلی و غیر از مواردی محدود که از افراد دارای نقص سیستم ایمنی گزارش شده است بیماری‌زا نیستند اما می‌توانند به‌عنوان مخزن یا انتقال‌دهنده مقاومت به آنتی‌بیوتیک عمل کنند (Sharma *et al*, 2018). این باکتری‌ها معمولاً به‌عنوان کشت آغازگر در تولید مواد غذایی تخمیری مانند ماست، پنیر، دوغ و گوشت‌های فراوری شده تخمیری یا به‌صورت باکتری‌های پروبیوتیک مورداستفاده قرار می‌گیرند. فراورده‌های غذایی تخمیری ازجمله فرآورده‌های لبنی تخمیری از دیرباز توسط بشر مورد استفاده قرارگرفته و با توجه به این سابقه طولانی مصرف علیرغم دارا بودن میکروارگانیسم‌های زنده ازجمله باکتری‌های اسیدلاکتیک و خصوصا *لاکتوباسیلوس*ها توسط بشر بی‌خطر در نظر گرفته می‌شدند (Chaves-López, 2014). فرآورده های لبنی تخمیری به دو روش سنتی و صنعتی تهیه می‌شوند. در تولید فرآورده‌های لبنی سنتی تخمیری از میکروارگانیسم‌های طبیعی موجود در کشت‌های آغازگری استفاده می‌شود که به‌صورت نسل به نسل مورداستفاده قرارگرفته‌اند درحالی‌که برای تولید فرآورده‌های لبنی تخمیری به روش صنعتی از کشت آغازگر صنعتی تولیدشده در شرکت‌های مختلف بهره گرفته می‌شود (Durso & Hutkins, 2003). در روش تولید فرآورده‌های لبنی تخمیری به شیوه سنتی فرایند تخمیر کنترل نشده و خودبه‌خودی صورت می‌گیرد و به همین دلیل ویژگی‌های حسی محصول نیز متغیر خواهد بود (Mani-López, 2014). درحالی‌که در فرآورده‌های لبنی صنعتی از کشت آغازگر صنعتی استفاده می‌شود که باعث حفظ یکنواختی و ثبات خواص فیزیکی فراورده‌های تخمیری می‌گردد (Kumar & Kumar, 2015). فرآورده‌های لبنی تخمیری سنتی و صنعتی حاوی تعداد زیادی از باکتری‌های زنده شامل باکتری‌های خانواده اسید لاکتیک و به ویژه *لاکتوباسیلوس*ها هستند.این فراورده‌ها بدون گذراندن تیمار حرارتی یا فراوری خاص مصرف می‌شوند و به همین دلیل و بر طبق مطالعات صورت گرفته می‌توانند به‌عنوان مخزنی برای انتقال مقاومت وژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک به باکتری‌های بیماری‌زا و ساکن دستگاه‌گوارش انسان عمل‌کنند(Patel & Nihir, 2012) . مقاومت به آنتی‌بیوتیک عامل نگران کننده‌ای در زمینه سلامت عمومی به شمار می‌آید و معمولا در باکتری هایی که از لحاظ بالینی بیماری‌زایی دارند مورد بررسی قرار گرفته است در حالی که طبق مطالعات انجام شده، مشخص شده که شیوع مقاومت به آنتی بیوتیکدر باکتری‌های موجود در زنجیره غذایی شایع است و این می‌تواند به صورت بالقوه خطرناک باشد (Verraes *et al*, 2103). با توجه به تفاوت‌هایی که فرآورده‌های لبنی سنتی و صنعتی وجود دارد و کاربرد گسترده فرآورده‌های لبنی سنتی و صنعتی در این پژوهش به بررسی تفاوت‌های احتمالی در میزان شیوع مقاومت به آنتی‌بیوتیک در فرآورده‌های لبنی سنتی و صنعتی پرداخته‌شده است.[2]

مواد و روش‌ها

- جداسازی *لاکتوباسیلوس‌ها* فرآورده‌های لبنی سنتی و صنعتی

نمونه‌برداری از ماست سنتی و دوغ سنتی تولید شده در استان زنجان در ظروف استریل به مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر انجام شد تعداد ۵۵ نمونه ماست سنتی و ۲۱ نمونه دوغ

[1] Generally recognized as safe

[2] qualified presumption of safety

سنتی از مناطق روستایی استان زنجان تحت شرایط سترون جمع‌آوری شده و همراه بسته‌های یخ به آزمایشگاه منتقل گردیدند و تا شروع آزمایش در دمای یخچال نگهداری شدند. اطلاعات مربوط به تولیدکننده و نوع شیر و استارتر ثبت گردید. ۱۸ نمونه ماست گوسفندی و ۳۵ نمونه ماست گاو و ۲ مورد مربوط به بز بوده است.

با استفاده از رقیق‌کننده آب پپتونه از نمونه‌ها رقت‌های سریالی تهیه شده و سپس در محیط کشت MRS آگار (ایبرسکو، ایران) کشت خطی داده شده و سپس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعتدر دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری انجام شد. سپس برای به دست آوردن کشت خالص از کلنی‌ها مجدداً کلنی‌های مورد نظر در محیط کشت MRS آگار کشت داده شدند و سپس بررسی‌های مورفولوژیک از نظر ویژگی‌های کلنی انجام پذیرفت (Bergey, 2000).

برای جداسازی *لاکتوباسیلوس*ها از ۵۰ نمونه ماست صنعتی تولیدشده توسط شرکت‌های مختلف در ایران و ۱۴ نمونه دوغ پاستوریزه صنعتی نمونه‌برداری صورت گرفت و سپس همانند نمونه‌های ماست سنتی کشت در محیط MRS آگار و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی انجام شد.

- **شناسایی بیوشیمیایی *لاکتوباسیلوس*ها**

شناسایی بیوشیمیایی *لاکتوباسیلوس*ها بر اساس رنگ‌آمیزی گرم، ویژگی‌های ظاهری، ویژگی‌های کلنی، ویژگی‌های میکروسکوپی، آزمون‌های کاتالاز، اکسیداز، اندول، متیل رد، وژس‌پرسکوئر، مصرف سیترات و تخمیر کربوهیدرات‌ها با استفاده از قندهای گلوکز، گالاکتوز، لاکتوز، سوکروز، تره هالوز، مانیتول، آرابینوز، ریبوز و مالتوز، رافینوز، زایلیتول برای همه جدایه‌ها در محیط کشت MRS مایع دارای معرف فنل قرمز (شرکت Merck آلمان) (۰/۵ گرم بر لیتر) تعیین گردید (Kavitha *et al*, 2016). پس از تهیه محیط کشت MRS براث محلول ذخیره ۵٪ تهیه شده و با استفاده از صافی غشایی با قطر منافذ ۰/۲ میکرومتر سترون و به مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول قندی به لوله آزمایش حاوی ۴ میلی‌لیتر از محیط‌کشت MRS براث اضافه شد. نمونه‌های مذکور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و برای مدت ۲۴ ساعتگرمخانه‌گذاری شدند.

هم‌چنین ۵۰µl ازکشت‌های فعال مذکوربه محیط‌کشت حاوی قندهای اختصاصی تلقیح شده وبرای بررسی واکنش‌های تأخیری ۵ الی ۷ روزدرهمان دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. تغییر رنگ معرف از قرمز به زرد و هم‌چنین تولید گاز در لوله‌های دورهام برای تفسیر نتایج مورد استفاده قرار گرفت (Kavitha *et al*, 2016).

- **شناسایی مولکولی *لاکتوباسیلوس*ها**

- **استخراج DNA کروموزومی**

استخراج DNA کروموزومی با استفاده از دستورالعمل درج‌شده بر روی کیت تهیه‌شده از شرکت پیشگامان انتقال ژن که مبتنی بر روش لیز قلیایی است انجام پذیرفت. خلوص DNA استخراج‌شده با استفاده از اسپکتروفوتومتر و بررسی طول‌موج جذب در OD۲۶۰ نانومتر انجام گرفت.

- ***واکنش زنجیره‌ای پلیمراز***

توالی پرایمر مورداستفاده در شناسایی *لاکتوباسیلوس‌ها* به‌صورت:

(5'F-CTCAA AACTAAACAAAGTTTC-3')و R16-1 (5'-RCTTGTACACACCG CCCGTCA-3') بود که به ترتیب با OD های ۲/۷ و ۵/ ۳و از شرکت سیناژن ایران تهیه شد. این توالی در میان تعداد زیادی از سویه‌های *لاکتوباسیلوس* محافظت شده است (Kavitha *et al*, 2016). برای انجام PCR از مستر میکس شرکت سیناکلون که حاوی ۰/۰۸ واحد/ میلی‌لیتر آنزیم Taq DNA پلیمراز در بافر واکنش، ۳ mM و $MgCl_2$ ۰/۴، ۲mMdATP ۰/۴mMdCTP و ۰/۴mMdGTP mMdTT ۰/۴ بود. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از مسترمیکس۲۵µl پرایمر فرادست ۰/۱µM پرایمر پایین‌دست ۰/۱ µM، DNA الگو ۱µl آب فاقد نوکلئاز برای رسیدن به حجم ۵۰µl انجام شد.

مرحله دناتوراسیون با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه که با ۳۰ چرخه به‌صورت: دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه،واسرشت شدن در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله طویل شدن نهایی به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد و محصولات نهایی تا

زمان الکتروفورز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگه‌داری شدند (Guo *et al*, 2017).

- **الکتروفورز روی ژل آگاروز**

محصول تکثیرشده در PCR با ژل آگاروز ۱٪ در بافرTAE(۸/۲ mM Tris acetate,۱mM EDTA, pH: ۴۰) الکتروفورز گردید. ژل مذکور با اتیدیوم بروماید ($۵\mu g\ mL^{-1}$) رنگ‌آمیزی شده و زیر آشکارساز UV مشخص گردید.

- **بررسی مقاومت به آنتی‌بیوتیک با استفاده از روش دیسک دیفیوژن**

تعیین میزان حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱۳۵۶۰ به شرح زیر انجام پذیرفت:

مایه تلقیح به‌صورت مستقیم از کلنی‌های *لاکتوباسیلوس شناسایی‌شده* با استفاده از سرم فیزیولوژی تهیه شد. کلنی‌هایی که حدود ۱۸ تا ۲۴ ساعت از رشد آن‌ها روی محیط کشت نوترینت‌آگار در شرایط میکروائروفیلیک گذشته را به سرم فیزیولوژی استریل منتقل کرده و کدورت محلول تهیه‌شده به کمک استاندارد نیم‌مک‌فارلند که بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۱۳۵۶تهیه شده بود در دستگاه اسپکتروفوتومتر با جذب بین ۰/۰۸ تا ۰/۱۳ در طول‌موج ۶۲۵ nm سنجیده شد (ISIRI, 2011).

پس از ۱۵ دقیقه تنظیم کدورت با استاندارد نیم مک‌فارلند با استفاده از یک سواپ استریل سطح محیط کشت مولرهینتون‌آگار تلقیح شد تا تراکم مورد نظر به دست بیاید سپس درب پلیت را زیر هود به مدت ۳–۵ دقیقه باز گذاشته تا رطوبت اضافی جذب شود. دیسک‌های مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین ۳۰µg، کانامایسین۳۰µg، اریترومایسین ۱۵µg، سیپروفلوکساسین ۵µg، پنی‌سیلین ۱۰µg، ریفامپن ۵µg، نالیدیکسیک‌اسید ۳۰µg، تتراسایکلین ۳۰µg، کلرامفنیکل ۳۰µg، جنتامایسین ۱۰µg، استرپتومایسین ۳۰µg و آمپی‌سیلین ۱۰ µg، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول ۲۵ µg مورد بررسی قرار گرفت. دیسک‌ها روی هر پلیت قرار داده شد و سپس ۱۵ دقیقه در گرمخانه با دمای ۳۷ درجه سانتی گرادقرار داده شد. بعد از ۱۸ ساعت قطر هاله‌های تشکیل‌شده سه بار برای هر یک از دیسک‌ها توسط خط‌کش اندازه‌گیری شده و نتایج طبق جدول CLSI۲۰۱۸ مورد سنجش قرار گرفت (M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2018).

- **تجزیه و تحلیل آماری**

قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده برای آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی ماست در دو گروه *لاکتوباسیلوس‌های* جداسازی شده از ماست سنتی و صنعتی با استفاده از پارامترهای آماری مورد مقایسه قرار گرفت .

برای آنکه شواهد آماری مبنی بر اختلاف میانگین را بررسی کنیم، از «آزمون تی دو نمونه مستقل (Two Independent Samples t Test)استفاده شده است. این آزمون یک روش پارامتری محسوب شده و توزیع آماری هر دو جامعه نرمال فرض شده و با توجه به برآورد واریانس، از آماره‌ای با توزیع T برای آزمون استفاده می‌کند. این آزمون، میانگین دو گروه را با یکدیگر مقایسه می‌کند. به عبارتی دیگر در این آزمون، میانگین‌های بدست آمده از نمونه‌های تصادفی مورد قضاوت قرار می‌گیرد. بدین معنی که از دو جامعه مختلف، نمونه‌هایی اعم از اینکه تعداد نمونه مساوی یا غیر مساوی باشند، به‌طور تصادفی انتخاب کرده و میانگین‌های آن دو جامعه را با هم مقایسه می‌کنیم. در آزمون تی دو نمونه مستقل، لازم است ابتدا برابری واریانس گروه‌ها مورد بررسی قرار گیرد و اگر واریانس‌ها برابر بود، از آماره آزمون تی با فرض برابری واریانس‌ها استفاده شود و در غیر این صورت از آماره آزمون تی با فرض نابرابری واریانس‌ها استفاده می‌گردد (Mansourfar, 2005).

یافته ها

در بررسی مورفولوژی کلنی‌های تشکیل‌شده به رنگ سفید، مدور و موکوئید روی محیط کشت MRS agar را تشکیل دادند که نمونه‌ای از کلنی‌های *لاکتوباسیلوس‌های* جداسازی شده از فرآورده های لبنی سنتی استان زنجان در تصویر ۱ نشان داده شده است. *لاکتوباسیلوس*ها در بررسی میکروسکوپی میله‌ای و گرم مثبت بوده و از نظر آزمون اکسیداز و کاتالاز منفی بودند.

در *لاکتوباسیلوس*های جداسازی شده از ماست سنتی همه ایزوله‌ها توانایی تخمیر گلوکز و لاکتوز را داشتند،

(۸۰٪) ۱۹ ایزوله توانایی تخمیر فروکتوز، (۵۰٪) ۱۲ ایزوله تخمیر سوکروز (۳۳٪) ۸ ایزوله تخمیر آرابینوز، (۳۰٪)۷ ایزوله گالاکتوز و (۳۰٪) ۷ ایزوله مالتوز، (۱۲٫۵٪) ۳ ایزوله تخمیر تره هالوز و مانیتول و (۴٪) ۱ ایزوله ریبوز و رافینوز را تخمیر کردند.

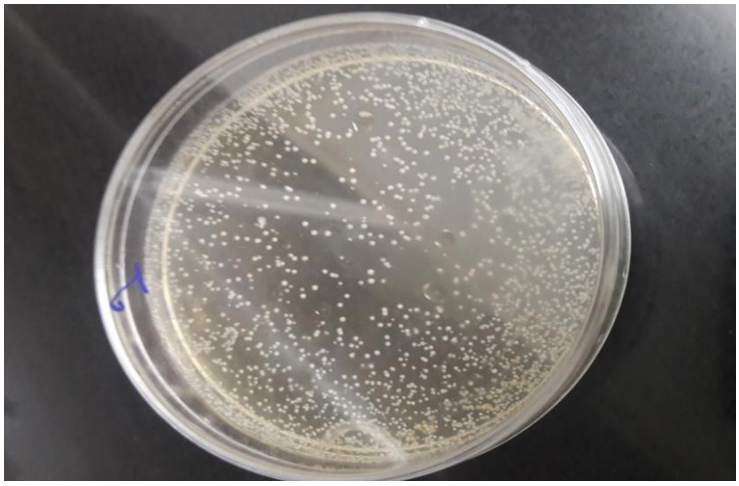

Figure 1. Colonies of Lactobacillus isolates on MRS agar

شکل ۱- کلنی‌های لاکتوباسیلوس های جداسازی شده فرآورده های لبنی سنتی استان زنجان

جدول ۱- نتایج تخمیر کربوهیدرات‌های مورد بررسی در *لاکتوباسیلوس*های جداسازی شده از ماست‌های سنتی

Table 1. Sugar fermentation tests results of studied carbohydrates in *Lactobacilli* isolated from traditional yogurts

Sugar/Isolate number	Sucrose	Manitol	Maltose	Arabinose	Trehalose	Ribose	Galactose	Fructose	Glucose	Lactose	Xylitol	Raffinose
1	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
2	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-
3	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
4	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
5	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-
6	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
7	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-
8	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
9	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
13	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
14	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
16	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-
17	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
18	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
19	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-
20	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-
21	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-
22	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
23	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-

جدول ۲- نتایج تخمیر کربوهیدرات‌ها در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست‌های صنعتی

Table 2. Sugar fermentation tests results of studied carbohydrates in *Lactobacilli* isolated from industrial yogurts

Sugar/Isolate number	Sucrose	Manitol	Maltose	Arabinose	Trehalose	Ribose	Galactose	Fructose	Glucose	Lactose	Xylitol	Raffinose
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
2	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-
3	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
4	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
5	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+
6	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
8	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
9	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
10	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
11	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-
12	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-
13	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-
14	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-
15	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-
16	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
17	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-

در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست صنعتی همگی ایزوله‌ها توانستند گلوکز، لاکتوز، سوکروز و گالاکتوز را تخمیر کنند. هم‌چنین (۸۸٪) ۱۵ *لاکتوباسیلوس* تخمیر فروکتوز (۵۳٪) ۹ تخمیر آرابینوز و مانیتول (۴۷٪) ۸ ایزوله تخمیر مالتوز، (۳۵٪) ۶ ایزوله تخمیر تره هالوز، (۱۸٪) ۳ ایزوله تخمیر ریبوز و (۱۲٪) ۲ ایزوله تخمیر رافینوز و (۶٪) ۱ ایزوله تخمیر زایلیتول را ایزوله انجام دادند.

نتایج مربوط به آزمون تخمیر قندها در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از دوغ سنتی و دوغ صنعتی به ترتیب در جدول‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است.

لاکتوباسیلوس‌های جداسازی شده از دوغ سنتی همگی گلوکز، لاکتوز و فروکتوز را تخمیر کردند. تخمیر سوکروز در ۹ ایزوله (۹۰٪)، تخمیر مالتوز در (۸۰٪) ۸، گالاکتوز در (۷۰٪)۷ ایزوله، تخمیر مانیتول در (۵۰٪) ۵ ایزوله، آرابینوز و تره هالوز در ۴ (۴۰٪) ایزوله، رافینوز در ۲(۲۰٪) ایزوله و ریبوز و زایلیتول در ۱ (۱۰٪) ایزوله مشاهده شد.

در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از نمونه‌های دوغ پاستوریزه صنعتی تخمیر سوکروز، گلوکز، لاکتوز و گالاکتوز در تمام ایزوله‌ها دیده شد. تخمیر مالتوز و فروکتوز در ۵ (۸۳٪) ایزوله، تخمیر آرابینوز در (۶۷٪)۴ ایزوله، تخمیر مانیتول و ریبوز در ۲ (۳۳٪) ایزوله و تره هالوز در یکی (۱۷٪) از ایزوله‌ها مشاهده شد درحالی‌که هیچ‌یک از ایزوله‌ها رافینوز و زایلیتول را تخمیر نکردند.

در این پژوهش هموفرمنیتیو یا هتروفرمنتیتیو بودن ایزوله‌ها با قرار دادن لوله دورهام در لوله‌های آزمایش و تشکیل گاز CO_2 در لوله دورهام مشخص شد. بدین ترتیب در میان ایزوله‌های ماست سنتی (۲۵٪)۶ ایزوله (۳،۱۱،۱۴،۱۶،۱۷ و ۲۳) در هنگام تخمیر گلوکز گاز دی‌اکسید کربن در لوله دورهام دیده شد که نشان‌دهنده هتروفرمنتیتیوبودن آن‌هاست. در ایزوله‌های ماست صنعتی در (۶%) ۲ ایزوله گاز دی‌اکسید کربن دیده شد. در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از دوغ سنتی (۲۰٪) ۲ ایزوله (۴ و ۹) در تخمیر گلوکز تشکیل گاز دیده شد درحالی‌که در ایزوله‌های جداسازی شده از دوغ صنعتی تشکیل گاز دیده نشد.

در این پژوهش پرایمر اختصاصی جنس که با بهره‌گیری از تحلیل شباهت‌های بین توالی نوکلئوتیدی ناحیهspacer بین ۱۶ و ۲۳S ریبوزومی *لاکتوباسیلوس‌ها* طراحی شده است، مورداستفاده قرار گرفت (Dubernet *et al*, 2002). پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و الکتروفورز نمونه‌ها روی ژل آگاروز یک درصد تعداد ۲۴ *لاکتوباسیلوس* جداسازی شده از ماست سنتی، ۱۰ *لاکتوباسیلوس* جداسازی شده از نمونه دوغ سنتی، ۱۷

لاکتوباسیلوس جداسازی شده از ماست صنعتی و ۶ *لاکتوباسیلوس* که از نمونه‌های دوغ پاستوریزه جداسازی شده بود با استفاده از پرایمر اختصاصی جنس تأیید و شناسایی شدند. اندازه امپلیکون‌ها برابر با۲۰۹bp بود. تصاویر شماره ۵ و ۶، ۷ و ۸ نشان‌دهنده الکتروفورز روی ژل آگاروز به ترتیب برای *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده فرآورده های لبنی سنتی و صنعتی است.

به‌طور کلی ۵۷ نمونه از ماست سنتی که تعداد ۴۵ کلنی به دست آمد همه کلنی‌های به‌دست‌آمده از نمونه‌های ماست سنتی با استفاده از پرایمر اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند، از این تعداد ۲۴ (۵۳٪) مورد از آن‌ها در بررسی‌های مولکولی با استفاده از پرایمر اختصاصی ۲۰۹bp به‌عنوان *لاکتوباسیلوس* تأیید شدند. در نمونه‌های ماست صنعتی تعداد کلنی‌های به‌دست‌آمده ۲۶ مورد بود که پس از بررسی همه آن‌ها با استفاده از پرایمر اختصاصی،۱۷ عدد (۶۵٪) با استفاده از پرایمر اختصاصی تأیید شد. در نمونه‌های دوغ سنتی از ۱۵ کلنی به‌دست‌آمده بعد از بررسی با پرایمر اختصاصی،۱۰ کلنی (۶۷٪) و در مورد نمونه‌های دوغ صنعتی از ۱۳ کلنی پس از بررسی همه کلنی‌های به‌دست‌آمده، ۶ مورد (۴۶٪) با استفاده از پرایمر اختصاصی تأیید شدند.

مقاومت به آنتی‌بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده فرآورده های لبنی سنتی و صنعتی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج مربوط به قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده پس از گرفتن میانگین از سه اندازه‌گیری برای *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست‌های سنتی در جدول ۵ نشان داده شده است.

نتایج مربوط به قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده برای *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست صنعتی جدول ۶ نشان داده شده است.

جدول ۳- نتایج مربوط به آزمون تخمیر قندها در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از دوغ سنتی

Table 3. Sugar fermentation tests results of studied carbohydrates in *Lactobacilli* isolated from traditional yogurt drinks

Sugar/Isolate number	Sucrose	Manitol	Maltose	Arabinose	Trehalose	Ribose	Galactose	Fructose	Glucose	Lactose	Xylitol	Raffinose
1	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
2	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+
3	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-
4	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-
5	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
8	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-
9	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-
10	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-

جدول ٤- نتایج مربوط به آزمون تخمیر قندها در *لاکتوباسیلوس* های جداسازی شده از دوغ پاستوریزه صنعتی

Table 4. Sugar fermentation tests results of studied carbohydrates in *Lactobacilli* isolated from industrial yogurt drinks

Sugar/Isolate number	Sucrose	Manitol	Maltose	Arabinose	Trehalose	Ribose	Galactose	Fructose	Glucose	Lactose	Xylitol	Raffinose
1	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
2	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-
3	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-
4	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-
5	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

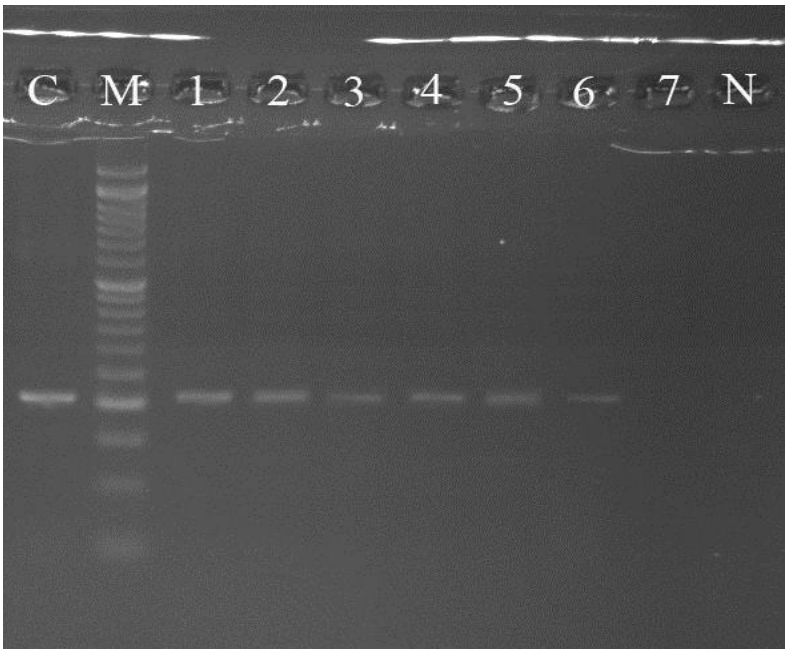

Figure 2. Shows agarose gel electrophoresis results for Lactobacillus isolates of traditional yogurt which amplicon sizes are 209bp. M: Ladder 1000bp, P: positive control *Lactobacillus delberukii subsp. Bulgaricus* PTCC 1737 and N: negative control

شکل ۲- نشان‌دهنده الکتروفورز روی ژل آگاروز برای *لاکتوباسیلوس*های جداسازی شده از ماست سنتی است که اندازه امپلیکون‌ها برابر با bp ۲۰۹ است. M: لدر bp۱۰۰۰، P: کنترل مثبت که *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکس PTCC ۱۷۳۷* است و N کنترل منفی است.

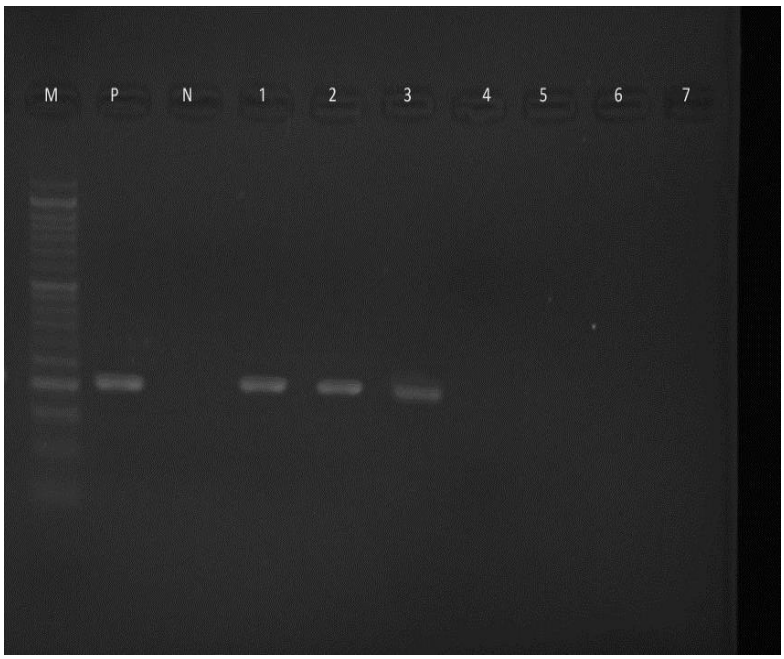

Figure 3. Shows agarose gel electrophoresis results for *Lactobacillus* isolates from industrial yogurt, which amplicon sizes are 209bp. This image is related to 7 of DNA extract samples in which 3 of them were positive. . M: Ladder 1000bp, P: positive control *Lactobacillus delberukii subsp. Bulgaricus* PTCC 1737 and N: negative control

شکل ۳- نشان‌دهنده الکتروفورز روی ژل آگاروز برای *لاکتوباسیلوس*های جداسازی شده از ماست صنعتی است که اندازه امپلیکون‌ها برابر با bp ۲۰۹ است. این تصویر ۷ نمونه DNA استخراج‌شده از نمونه‌های مشکوک مورد بررسی قرارگرفته‌اند را نشان می‌دهد که 3 مورد از آن‌ها مثبت بوده‌اند M: لدر bp ۱۰۰۰، P: کنترل مثبت که *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکس PTCC ۱۷۳۷* است و N کنترل منفی است.

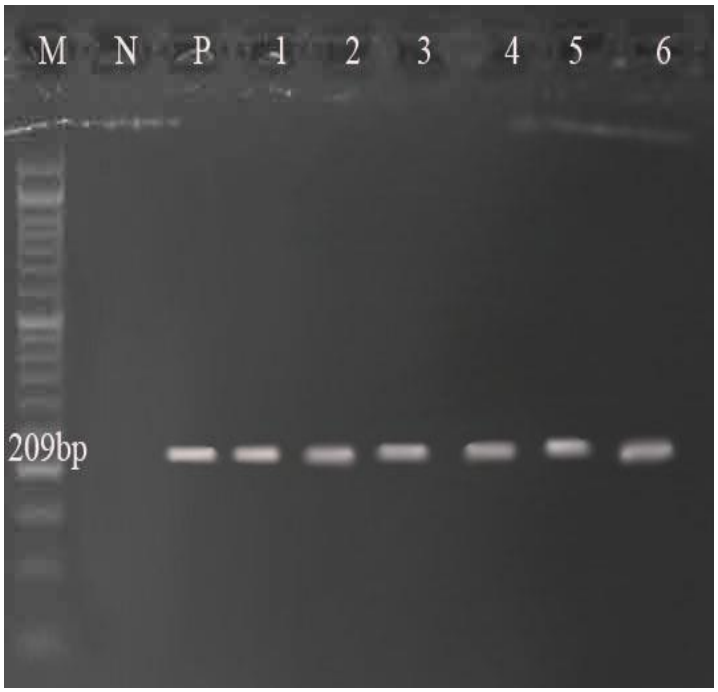

Figure 4. Shows agarose gel electrophoresis results for *Lactobacillus* isolates oftraditional yogurt drinks, in which amplicon sizes are 209bp. This image is related to 6 DNA extract samples in which all of them were positive. M: Ladder 1000bp, P: positive control *Lactobacillus delberukii subsp. Bulgaricus* PTCC 1737 and N: negative control

شکل ٤- نشان‌دهنده الکتروفورز روی ژل‌آگاروز برای *لاکتوباسیلوس*های جداسازی شده از نمونه‌های دوغ سنتی است که اندازه امپلیکون‌ها برابر با bp ۲۰۹ است. این تصویر ٦ DNA استخراج‌شده از نمونه‌های مشکوک مورد بررسی قرارگرفته‌اند را نشان می‌دهد که تمامی آن‌ها مثبت بوده‌اند M: لدر۱۰۰۰bp، P: کنترل مثبت که *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکس PTCC* 1737 است و N کنترل منفی است.

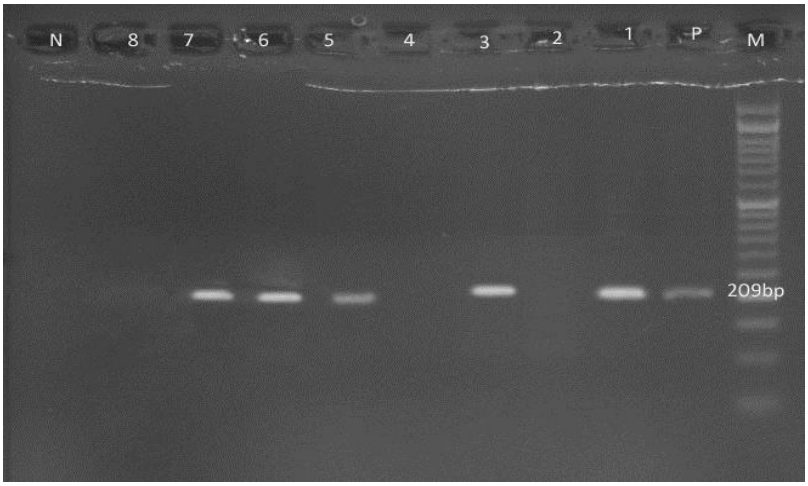

Figure 5. Shows agarose gel electrophoresis results for *Lactobacillus* isolates of industrial yogurt drinks, in which amplicon sizes are 209bp. This image is related to 8 DNA extract samples in which 6 of them were positive. M: Ladder 1000bp, P: positive control *Lactobacillus delberukii subsp. Bulgaricus* PTCC 1737 and N: negative control

شکل ٥- نشان‌دهنده الکتروفورز روی ژل‌آگاروز برای *لاکتوباسیلوس*های جداسازی شده از نمونه‌های دوغ پاستوریزه صنعتی است که اندازه امپلیکون‌ها برابر با bp ۲۰۹ است. استخراج DNA از نمونه‌هایی انجام گرفت که به روش بیوشیمیایی تأیید شده بودند و سپس پس از انجام PCR، الکتروفورز روی ژل‌آگاروز انجام شد و سپس نمونه‌های تأییدشده با الکتروفورز به ترتیب از ۱ تا ٦ شماره‌گذاری شدند. این تصویر ٦ DNA استخراج‌شده را نشان می‌دهد که از نمونه‌های مشکوک مورد بررسی قرارگرفته‌اند که ٥ مورد از آن‌ها مثبت بوده‌اند M: لدر۱۰۰۰bp، P: کنترل مثبت که *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکس PTCC ۱۷۳۷* است و N کنترل منفی است.

جدول ۵- نتایج آزمون دیسک دیفیوژن و قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست سنتی

Table 5. Disk diffusion results and clear zone diameter for *Lactobacillus* isolates from traditional yogurt

Antibiotic name /Isolate number	Vancomycin	Chloramphenicol	Penicillin	Ampicillin	Erythromycin	Tetracycline	Gentamycin	Kanamycin	Trimethoprim sulfametoxazol	Rifampin	Nalidixic acid	Streptomycin	Ciprofloxain
1	8±0.11	18±0.25	16±0.02	16±0.00	18±0.09	19±0.01	10±0.00	12±0.02	17±0.09	22±0.09	12±1.70	16±0.52	22±0.51
2	17±0.09	19±0.17	16±0.09	17±0.26	12±0.16	19±0.52	22±0.09	17±0.17	16±0.26	18±0.06	17±0.10	12±0.17	30±0.20
3	9±0.09	18±0.47	25±0.33	18±0.10	12±0.21	11±0.17	21±0.44	12±0.25	10±0.29	18±0.36	19±0.02	16±0.00	26±0.06
4	18±0.13	18±0.35	25±0.17	15±0.02	12±0.25	14±1.20	22±0.08	13±0.12	10±0.25	19±0.01	17±0.00	18±0.2	21±0.01
5	17±0.60	20±0.06	24±0.02	18±0.004	19±0.6	19±0.066	10±0.17	18±1.10	18±0.06	18±0.04	18±0.53	12±0.06	27±0.06
6	14±0.08	18±0.41	14±0.09	12±0.00	14±1.03	15±0.08	23±0.5	14±0.02	14±0.9	20±0.00	18±0.07	18±0.58	28±0.12
7	7±0.01	18±0.06	20±0.01	11±0.12	19±0.42	19±0.71	12±0.6	18±0.00	8±0.3	18±0.02	19±0.04	21±0.09	14±0.40
8	14±0.50	12±0.00	14±0.05	11±0.06	18±0.51	11±0.23	22±0.11	18±0.40	14±0.67	23±0.98	12±0.10	13±0.40	27±0.00
9	18±0.32	18±0.03	26±0.02	17±1.00	15±0.02	16±0.10	23±0.40	17±0.05	15±0.00	18±0.05	23±0.02	19±0.51	17±0.13
10	18±1.10	19±0.10	24±0.00	17±0.50	14±0.30	18±0.01	22±0.00	22±0.07	18±0.06	23±1.25	18±0.06	16±0.02	24±0.00
11	9±0.03	18±0.51	27±0.10	17±0.40	16±0.04	11±0.05	22±0.10	15±0.14	18±0.01	18±0.07	19±0.90	9±0.00	23±0.10
12	18±0.00	11±0.02	20±0.15	14±0.09	18±0.30	19±0.20	21±0.80	10±0.70	22±0.76	18±0.75	17±0.20	13±0.20	26±0.60
13	19±0.20	19±0.50	15±0.11	16±0.40	19±0.55	23±1.05	14±0.05	12±0.17	17±0.01	19±0.14	19±0.00	17±0.50	26±1.35
14	9±0.08	12±0.30	20±0.50	11±0.50	11±0.45	21±0.03	22±0.70	24±1.05	10±0.80	20±0.76	19±0.06	12±0.06	28±0.70
15	8±0.10	14±0.47	26±1.02	18±0.75	18±0.67	20±0.08	22±0.85	15±0.07	19±0.75	20±0.08	21±0.4	10±0.45	25±0.64
16	7±0.50	18±0.50	23±0.80	12±0.04	12±0.40	19±0.05	21±0.01	13±0.40	17±0.30	18±0.03	22±0.01	18±0.00	17±0.35
17	8±0.06	19±1.00	21±0.47	12±0.06	19±0.25	19±0.40	18±0.06	19±0.85	10±0.05	24±1.24	20±0.07	16±0.14	24±0.00
18	18±0.11	18±0.90	25±0.56	14±0.70	16±0.18	15±0.05	18±0.03	16±0.70	20±0.80	21±0.25	20±0.50	14±0.80	16±0.10
19	9±0.05	18±0.30	18±0.50	11±0.30	18±0.75	19±0.61	21±0.75	25±1.02	15±0.75	18±0.75	20±0.30	17±0.09	22±0.80
20	18±0.20	18±0.45	22±0.32	18±0.60	22±0.15	10±0.50	10±0.45	8±0.01	9±0.08	18±0.07	12±0.60	13±0.07	28±0.34
21	9±0.50	20±0.50	24±0.75	20±0.90	21±0.50	16±0.45	16±0.02	22±0.90	23±1.06	21±0.09	11±0.85	17±0.02	29±0.76
22	7±0.05	11±0.17	20±0.45	12±0.71	19±0.04	22±0.06	21±0.65	17±0.06	18±0.03	19±0.80	21±0.70	19±0.65	25±1.30
23	17±0.02	12±0.06	23±0.80	12±0.50	18±0.30	12±0.40	11±0.03	10±0.05	19±0.02	21±0.17	19±0.16	16±0.30	23±0.55
24	19±0.45	18±0.00	21±0.04	18±0.60	19±0.65	17±0.01	20±0.29	14±0.03	17±0.01	18±0.05	11±0.30	18±0.50	18±0.33

جدول ٦- قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده برای *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست صنعتی

Table 6. Disk diffusion results and clear zone diameter for *Lactobacillus* isolates from industrial yogurt

Antibiotic name /isolate number	Ciprofloxacin	Streptomycin	Nalidixic acid	Rifampin	Trimethoprim Sulfametoxazol	Kanamycin	Gentamycin	Tetracycline	Erythromycin	Ampicillin	Penicillin	Chloramphenicol	Vancomycin
1	0.51±۱۹	0.52±15	0.70±20	0.23±18	0.09±21	± ۰,۱۰16	0.06±15	0.00±15	0.11±19	0.90±18	0.04±15	0.35±11	0.00±16
2	0.17±14	0.24±12	0.10±16	0.11±17	0.15±13	0.15±18	0.05±17	0.07±15	0.17±14	0.14±13	0.09±14	0.58±13	0.17±14
3	0.32±25	0.55±17	0.35±14	0.31±17	0.19±20	0.19±14	0.17±18	0.10±16	0.90±14	0.35±14	0.16±18	0.00±17	0.00±13
4	0.01±20	0.93±11	0.10±17	0.00±16	0.08±19	0.16±22	0.06±18	0.05±18	0.15±10	0.07±15	0.60±18	0.19±10	0.19±8
5	0.03±24	0.04±16	0.25±19	0.01±19	0.06±12	0.00±20	0.67±12	0.24±16	0.09±18	0.15±16	0.00±17	0.13±14	0.22±9
6	0.10±26	0.03±17	0.03±19	0.10±23	0.95±14	0.93±16	0.24±12	0.00±18	0.03±15	0.26±10	0.16±13	0.76±15	0.06±7
7	0.37±28	0.35±13	0.07±18	0.05±17	0.04±13	0.10±17	0.34±16	0.11±20	۰0.10±14	0.15±9	0.025±13	0.32±14	0.01 ±13
8	0.12±24	0.76±14	0.12±20	0.39±14	0.13±16	0.45±15	0.78±17	0.19±15	0.01±14	0.86±18	0.23±16	0.06±19	0.25±13
9	0.34±24	0.00±13	0.01±20	0.45±17	0.50±25	0.13±16	0.34±18	0.20±17	0.01±16	0.55±16	0.72±19	0.34±12	0.00±9
10	0.56±26	0.49±17	0.33±16	0.00±13	0.03±15	0.55±19	0.00±27	0.00±13	0.30±14	0.42±14	0.19±17	0.09±15	0.22±16
11	0.03±19	0.15±13	0.24±18	0.05±17	0.00±16	0.00±20	0.33±16	0.28±16	0.15±17	0.15±18	0.43±16	0.00±17	0.11±8
12	0.32±20	0.20±16	0.56±19	0.16±19	0±23.19	0.35±14	0.45±17	0.49±10	0.40±15	0.23±15	0.00±18	0.24±15	0.00±15
13	0.68±23	0.34±15	0.23±12	0.23±15	0.09±15	0.92±17	0.00±18	0.04±18	0.23±16	0.18±12	0.16±13	0.49±15	0.16±15
14	0.37±24	0.01±15	0.15±20	0.48±18	0.34±21	0.01±16	0.30±19	0.02±14	0.11±19	0.23±15	0.22±17	0.13±16	0.37±8
15	0.00±22	0.03±17	0.00±11	0.00±19	0.00±18	0.38±18	0.54±16	۰0.6±14	0.00±16	0.12±19	0.09±12	0.00±19	0.03±9
16	0.62±24	0.10±17	0.05±16	0.01±16	0.22±16	0.20±19	0.19±17	0.35±16	0.03±16	0.31±16	0.00±16	0.17±10	0.40±7
17	0.20±22	0.45±16	0.04±16	0.00±17	0.07±19	0.07±8	0.20±19	0.46±24	0.19±18	0.13±17	0.25±18	0.2±21	0.55±9

جداول ۷ و ۸ به ترتیب نشان دهنده قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده برای *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از نمونه‌های دوغ سنتی و دوغ پاستوریزه صنعتی هستند.

در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست سنتی بیشترین میزان مقاومت (۴۵٪) مربوط به ونکومایسین بوده که در ۱۱ ایزوله مشاهده شد. در ایزوله‌های صنعتی نیز مقاومت به ونکومایسین بیشترین فراوانی را داشت و در ۱۰ ایزوله (۵۹٪) مشاهده شد. در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست سنتی مقاومت به آمپی‌سیلین در ۹ (۳۷٪) دیده شد در ایزوله‌های ماست صنعتی مقاومت به آمپی‌سیلین در ۴ ایزوله (۲۳٪) مشاهده شد.

مقاومت به کانامایسین در ایزوله‌های ماست سنتی در ۷ (۲۹٪) دیده شد درحالی‌که تمامی ایزوله‌های ماست صنعتی به این آنتی‌بیوتیک حساس بودند. مقاومت‌تری متوپریم در ۶ (۲۵٪) از ایزوله‌های سنتی مشاهده شد و در ایزوله‌های صنعتی (۶٪) ۱ ایزوله به این آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. در *لاکتوباسیلوس* های جداسازی شده از ماست‌های صنعتی پس از ونکومایسین مقاومت به پنی‌سیلین در ۶ ایزوله (۳۵٪) شایع‌ترین فنوتیپ بود درحالی‌که در ایزوله‌های صنعتی (۸٪) ۲ ایزوله مقاومت به پنی‌سیلین داشتند.

بعد از پنی‌سیلین مقاومت به کلرامفنیکل و آمپی‌سیلین در ۴ ایزوله صنعتی (۲۳٪) مشاهده شد در ایزوله‌های ماست سنتی مقاومت به کلرامفنیکل در (۲۱٪) ۵ ایزوله و مقاومت به آمپی‌سیلین در ۹(۳۷٪) از ایزوله‌های سنتی دیده شد. مقاومت به سیپروفلوکساسین در (۲۱٪) ۵ ایزوله سنتی و (۱۸٪)۳ ایزوله صنعتی مشاهده شد. مقاومت به جنتامایسین در (۲۱٪) ۵ از *لاکتوباسیلوس*‌های جداشده از ماست سنتی و در (۱۲٪) ۲ ایزوله صنعتی مشاهده شد. مقاومت به

جدول ۷- نشان دهنده قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده برای *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از نمونه‌های دوغ سنتی

Table7. Disk diffusion results and clear zone diameter for Lactobacillus isolates from traditional yogurt drink

Antibiotic name/isolate number	Vancomycin	Chloramphenicol	Penicillin	Ampicillin	Erythromycin	Tetracycline	Gentamycin	Kanamycin	Trimethoprim	Rifampin	Nalidixic acid	Streptomycin	Ciprofloxacin
1	9±0.00	16±0.15	15±0.7	15±0.15	15±0.00	15±0.00	18±0.00	14±0.00	20±0.13	14±0.16	17±0.04	22±0.52	27±0.00
2	15±0.07	15±0.13	14±0.10	14±0.58	18±0.07	19±0.07	15±0.06	16±0.03	15±0.26	17±0.32	15±0.00	19±0.15	21±0.11
3	8±0.16	17±0.10	17±0.48	17±0.13	16±0.40	16±0.55	16v0.19	19±0.20	14±0.00	19±0.14	16±0.83	13±0.45	24±0.02
4	16±0.10	19±0.25	17±0.10	18±0.10	15±0.12	14±0.10	19±0.93	15±0.81	13±0.20	15±0.22	17±0.32	17±0.39	22±0.43
5	18±0.50	14±0.00	16±0.08	13±0.00	20±0.17	17±0.05	10±0.17	16±0.10	18±0.77	20±0.00	19±0.00	16±0.05	20±0.01
6	9±0.03	16±0.30	17±0.37	19±0.06	16±0.06	15±0.87	16±0.00	10±0.75	15±0.65	11±0.36	23±0.06	15±0.33	25±0.70
7	14±0.01	11±0.02	16±0.00	14±0.19	17±0.4	17±0.00	14±0.08	17±0.50	11±1.00	17±0.91	15±0.02	19±0.12	25±0.14
8	15±0.32	18±0.60	16±0.75	15±0.08	19±0.80	10±0.12	17±0.00	14±0.37	13±0.23	18±0.14	13±0.11	16±0.00	23±0.00
9	9±0.10	15±0.01	19±0.12	17±1.0	10±0.48	13±0.15	19±0.12	16±0.57	16±0.10	19±0.75	25±0.08	17±0.01	24±0.17
10	13±0.07	14±0.78	13±0.00	16±0.35	16±0.11	19±0.17	16±0.07	19±0.00	19±0.18	15±0.00	19±0.39	13±0.09	26±0.56

جدول ۸- نشان دهنده قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده برای *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از نمونه‌های دوغ پاستوریزه صنعتی

Table8. Disk diffusion results and clear zone diameter for Lactobacillus isolates from industrial yogurt drink

Antibiotic name/isolate number	Vancomycin	Chloramphenicol	Penicillin	Ampicillin	Erythromycin	Tetracycline	Gentamycin	Kanamycin	Trimethoprim	Rifampin	Nalidixic Acid	Streptomycin	Ciprofloaxin
1	4±0.15	14±0.27	16±0.32	17±0.13	20±0.34	16±0.30	14±0.55	17±0.06	19±0.00	20±0.41	18±0.16	11±0.29	21±0.67
2	11±0.23	15±0.64	19±0.18	16±0.39	16±0.56	15±0.24	16±0.23	16±0.23	24±0.21	19±0.18	14±0.08	16±0.78	24±0.00
3	16±0.37	19±0.03	17±0.36	14±0.17	14±0.27	13±0.00	11±0.34	20±0.80	18±0.05	17±0.26	19±0.26	19±0.44	19±0.02
4	14±035	14±0.79	19±0.39	10±0.00	11±0.15	14±0.2	16±0.42	11±0.24	17±0.64	19±0.60	15±0.24	19±0.35	18±0.11
5	15±0.67	16±0.11	16±0.56	17±0.09	13±0.04	15±0.45	15±0.81	16±0.05	10±0.78	18±0.00	16±0.45	18±0.14	24±0.06
6	10±0.00	18±0.00	16±0.25	14±0.25	17±0.01	17±0.60	14±0.00	14±0.25	18±0.05	22±0.17	22±0.00	10±0.00	19±0.15

تتراسایکلین در ایزوله‌های ماست سنتی نیز مانند جنتامایسین در (۲۱٪) ۵ ایزوله و (۱۲٪) ۲ ایزوله صنعتی مشاهده گردید. مقاومت به نالدیکسیک اسید در (۲۱٪) ۵ ایزوله سنتی و (۱۸٪) ۳ ایزوله صنعتی مشاهده شد.

مقاومت به اریترومایسین در (۱۶٪) ۳ ایزوله سنتی و (۱۲٪) ۲ ایزوله صنعتی دیده شد. مقاومت به استرپتومایسین در ایزوله‌های ماست سنتی در (۴٪) ۱ و در ایزوله‌های صنعتی در (۱۲٪) ۲ ایزوله مشاهده گردید. در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست سنتی همه ایزوله‌ها به ریفامپین حساس بودند درحالی‌که (۶٪) ۱ ایزوله ماست صنعتی به ریفامپین مقاومت داشت.

در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از دوغ سنتی (۴۰٪) ۴ مورد از ایزوله‌ها به ونکومایسین مقاومت داشتند و در ایزوله‌های دوغ پاستوریزه صنعتی نیز مقاومت به ونکومایسین در (۵۰٪) ۳ نمونه از ایزوله‌ها مشاهده شد. مقاومت به سیپروفلوکساسین در ایزوله‌های صنعتی نیز همانند مقاومت به ونکومایسین بیشترین میزان را داشت و در (۵۰٪) ۳ ایزوله مشاهده شد درحالی‌که تمامی ایزوله‌های دوغ صنعتی به این آنتی‌بیوتیک حساس بودند.

مقاومت به اریترومایسین و استرپتومایسین در (۳۰٪) ۲ ایزوله دوغ پاستوریزه صنعتی مشاهده شد درحالی‌که مقاومت به اریترومایسین در (۱۰٪) ۱ ایزوله یافت شده و مقاومت به استرپتومایسین در هیچ یک از ایزوله‌ها دیده نشد. مقاومت به جنتامایسین، کانامایسین، تری متوپریم و آمپی‌سیلین هرکدام در (۱۷٪) ۱ ایزوله دیده شد. در ایزوله‌های سنتی مقاومت به جنتامایسین، آمپی‌سیلین و کانامایسین نیز هرکدام در (۱۰٪) ۱ ایزوله دیده شد درحالی‌که همه ایزوله‌های دوغ سنتی به تری متوپریم حساس بودند. مقاومت به پنی‌سیلین، تتراسایکلین، کلرامفنیکل، نالدیکسیک اسید و ریفامپین در ایزوله‌های دوغ دیده نشد. مقاومت به پنی‌سیلین در ایزوله‌های سنتی در (۲۰٪) ۲ ایزوله درحالی‌که مقاومت به کلرامفنیکل، تتراسایکلین، نالدیکسیک اسید و ریفامپین در ایزوله‌های سنتی هرکدام در (۱۰٪) ۱ ایزوله دیده شد.

قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده برای آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی ماست در دو گروه *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست سنتی و صنعتی مورد مقایسه قرار گرفت که نتایج مربوط در جدول ۹ ارائه شده است:

جدول ۹- شاخص‌های توصیفی قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده برای آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده در دو نوع ماست سنتی و صنعتی

Table9. Descriptive indicators of clear zone diameter measured for the studied antibiotics in *Lactobacilli* isolates from traditional and industrial yogurt

Antibiotic	group	number	Mean	Standard deviation	Bias	skewness	lowest	highest
Vancomycin	Traditional yogurt	24	13.125	4.281	0.071	-1.952	7.0	17.0
	industrial yogurt	17	10.941	3.561	0.534	-1.455	7.0	17.0
Chloramphenicol	Traditional yogurt	24	16.833	2.959	-1.163	-0.245	11.0	20.0
	industrial yogurt	17	15.000	3.182	0.040	-0.582	10.0	21.0
Penicillin	Traditional yogurt	24	20.542	5.816	-2.047	5.860	0.0	27.0
	industrial yogurt	17	14.882	4.456	-2.471	7.903	0.0	19.0
Ampicillin	Traditional yogurt	24	14.875	2.939	-0.046	-1.454	11.0	20.0
	industrial yogurt	17	15.176	2.298	-0.480	0.303	10.0	19.0
Erythromycin	Traditional yogurt	24	16.625	3.146	-0.426	-0.929	11.0	22.0
	industrial yogurt	17	15.000	2.208	-0.592	1.102	10.0	19.0
Tetracycline	Traditional yogurt	24	16.833	3.726	-0.462	-0.791	10.0	23.0
	industrial yogurt	17	15.882	3.333	0.495	1.219	10.0	24.0
Gentamycin	Traditional yogurt	24	18.500	4.672	-0.968	-0.694	10.0	23.0
	industrial yogurt	17	17.059	3.288	1.436	5.033	12.0	27.0
Kanamycin	Traditional yogurt	24	15.875	4.436	0.374	-0.324	8.0	25.0
	industrial yogurt	17	16.824	1.811	0.297	-0.501	14.0	20.0
Trimethoprim Sulfametoxazol	Traditional yogurt	24	15.583	4.180	-0.338	-0.732	8.0	23.0
	industrial yogurt	17	17.176	3.752	1.002	1.482	12.0	27.0
Rifampin	Traditional	24	19.583	1.909	0.958	-.0.167	18.0	24.0
	industrial	17	17.118	2.261	0.681	2.072	13.0	23.0
Nalidixic acid	Traditional	24	17.667	3.510	-0.855	-0.250	11.0	23.0
	industrial	17	17.118	2.956	-0.558	-0.067	11.0	22.0
Streptomycin	Traditional	24	15.417	3.708	-0.391	-0.558	9.0	21.0
	Industrial	17	14.941	1.592	-0.593	-0.813	11.0	17.0
Ciprofloxacin	Traditional	24	23.583	4.442	-0.691	-0.466	14.0	30.0
	Industrial	17	22.118	3.295	-0.616	1.082	14.0	28.0

مقادیر کم‌تر از ۳ برای قدر مطلق ضریب چولگی و مقادیر قدر مطلق کم‌تر از ۱۰ برای ضرایب کشیدگی به لحاظ نرمال بودن متغیرها قابل‌قبول هستند همان‌طور که در جدول ۱۰ ملاحظه می‌شود، برای همگی متغیرهای حاضر در تحقیق در دو گروه، مقادیر ضرایب کشیدگی و ضرایب چولگی در محدوده مذکور قرار دارد و لذا نرمال بودن آن‌ها مورد تأیید قرار می‌گیرد.

با توجه به نرمال بودن توزیع قطر هاله‌های آنتی‌بیوتیک‌ها، برای مقایسه میانگین در قطر هاله‌ها در دو گروه *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست سنتی و صنعتی از آزمون پارامتری تی دو نمونه مستقل استفاده می‌شود که نتایج آن در جدول ۱۰ به نمایش در آمده است:

در جدول فوق نتایج آزمون لون نیز که برابری واریانس‌ها را مورد آزمون قرار می‌دهد، درج‌شده است، با توجه به نتایج حاصل، پی مقدار این آزمون در مواردی که مقدار به‌دست‌آمده بیشتر از ۰/۰۵ بوده فرضیه برابری واریانس‌ها تأیید شد و از اماره آزمون با فرض برابری واریانس‌ها استفاده شده است و در مواردی که فرضیه برابری واریانس‌ها تأیید نشد از آمارآزمون تی با فرض نابرابری واریانس‌ها استفاده شده است (Momeni & Faal Qayyumi, 2003).

با توجه به نتایج مقایسه قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده در آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین نشان می‌دهد که قطر هاله اندازه‌گیری شده برای *لاکتوباسیلوس‌های* جداسازی شده از ماست سنتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ماست صنعتی است (t(۳۹) = ۳/۳۶۸ = p-value۰/۰۰۲<۰/۰۵)، هم‌چنین در آنتی‌بیوتیک ریفامپین نیز که قطر هاله به‌دست‌آمده در ایزوله‌های ماست سنتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ماست صنعتی است (t5(۳۹)= ۳/۳۷۵ p-value=۰/ ۰۰۱<۰/۰۵) در سایر آنتی‌بیوتیک‌های موردبررسی، قطر هاله‌ها تفاوت معنی‌داری در لاکتوباسیلوس‌های جداسازی شده از ماست سنتی و صنعتی ندارند. (p-value>۰/۰۵)

مقایسه قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده برای آنتی‌بیوتیک‌های موردبررسی در لاکتوباسیلوس‌های جداسازی شده از دوغ در دو گروه سنتی و صنعتی:

نتایج مربوط به قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده برای آنتی‌بیوتیک‌های موردبررسی در لاکتوباسیلوس‌های جداسازی شده از دوغ در دو گروه سنتی و صنعتی در جدول زیر ارائه شده است:

جدول ۱۰- نتایج مقایسه میانگین قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده برای آنتی‌بیوتیک‌ها در دو گروه ماست سنتی و صنعتی با آزمون t

Table 10. Results for comparison of the mean diameter of the clear zones measured for antibiotics in the two groups of traditional and industrial yogurt by t-test

Variable	Group	Number	Mean	Standard deviation	Loan test		T test		
					Test statistics	p-value	Test statistics	Degree of freedom	p-value
Vancomycin	Traditional yogurt	24	13.13	82.4	9.741	0.003	1.668	38.900	0.103
	Industrial yogurt	17	10.94	56.3					
Chloramphenicol	Traditional yogurt	24	16.33	96.2	0.009	0.923	1.895	39	0.066
	Industrial yogurt	17	15.00	18.3					
Penicillin	Traditional yogurt	24	54.20	82.5	0.803	0.376	3.368	39	0.002
	Industrial yogurt	17	88.14	46.4					
Ampicillin	Traditional yogurt	24	88.14	94.2	4.943	0.032	-0.368	38.553	0.715
	Industrial yogurt	17	15.18	30.2					
Erythromycin	Traditional yogurt	24	63.16	15.3	5.626	0.023	1.943	39.000	0.059
	Industrial yogurt	17	15.00	21.2					
Tetracycline	Traditional yogurt	24	83.16	73.3	1.249	0.271	0.840	39	0.406
	Industrial yogurt	17	88.15	33.3					
Gentamycin	Traditional yogurt	24	50.18	67.4	6.125	0.018	1.159	39.000	0.253
	Industrial yogurt	17	17.06	29.3					
Kanamycin	Traditional yogurt	24	88.15	44.4	10.020	0.003	-0.942	32.509	0.353
	Industrial yogurt	17	82.16	81.1					
Trimethoprim Sulfametoxazol	Traditional yogurt	24	58.15	18.4	0.451	0.506	-1.252	39	0.218
	Industrial yogurt	17	18.17	76.3					
Rifampin	Traditional yogurt	24	58.19	91.1	0.007	0.935	2.775	39	0.001
	Industrial yogurt	17	12.17	26.2					
Nalidixic acid	Traditional yogurt	24	17.67	51.3	0.303	0.585	0.526	39	0.602
	Industrial yogurt	17	12.17	96.2					
Streptomycin	Traditional yogurt	24	15.42	3.08	4.594	0.038	0.605	38.630	0.549
	Industrial yogurt	17	14.94	95.1					
Ciprofloxacin	Traditional yogurt	24	23.58	24.4	1.817	0.185	1.153	39	0.256
	Industrial yogurt	17	12.22	3.30					

جدول ۱۱- شاخص‌های توصیفی قطر هاله‌های اندازه‌گیری آنتی‌بیوتیک‌ها در دو نوع دوغ سنتی و صنعتی

Table 11. Descriptive indicators of clear zone diameter measured for the studied antibiotics in *Lactobacilli* isolates from traditional and industrial yogurt drink

Variable	Group	Number	Mean	Standard deviation	Loan test		T test		
						p-value	Test statistics	Degree	p-value
Vancomycin	Traditional yogurt drink	10	12.60	3.57	0.067	0.799	0.465	14	0.649
	Industrial yogurt drink	6	11.67	4.41					
Chloramphenicol	Traditional yogurt drink	10	15.50	2.27	0.846	0.373	0.159	14	0.876
	Industrial yogurt drink	6	15.33	1.51					
Penicillin	Traditional yogurt drink	10	14.50	5.36	0.456	0.511	0.000	14	1.000
	Industrial yogurt drink	6	14.50	7.23					
Ampicillin	Traditional yogurt drink	10	15.80	1.93	0.434	0.520	0.989	14	0.339
	Industrial yogurt drink	6	14.67	2.66					
Erythromycin	Traditional yogurt drink	10	16.20	2.74	0.486	0.497	0.688	14	0.503
	Industrial yogurt drink	6	15.17	3.19					
Tetracycline	Traditional yogurt drink	10	15.50	2.76	2.237	0.157	0.409	14	0.689
	Industrial yogurt drink	6	15.00	1.41					
Gentamycin	Traditional yogurt drink	10	16.00	2.67	0.299	0.593	1.339	14	0.202
	Industrial yogurt drink	6	14.33	1.86					
Kanamycin	Traditional yogurt drink	10	15.60	2.63	0.061	0.808	-0.047	14	0.964
	Industrial yogurt drink	6	15.67	3.01					
Trimethoprim Sulfametoxazol	Traditional yogurt drink	10	15.40	2.88	0.168	0.688	-1.239	14	0.236
	Industrial yogurt drink	6	17.67	4.50					
Rifampin	Traditional yogurt drink	10	16.50	2.76	1.933	0.186	-2.117	14	0.053
	Industrial yogurt drink	6	19.17	1.72					
Nalidixic acid	Traditional yogurt drink	10	17.90	3.73	0.298	0.594	0.317	14	0.756
	Industrial yogurt drink	6	17.33	2.94					
Streptomycin	Traditional yogurt drink	10	16.70	2.79	1.956	0.184	0.706	14	0.492
	Industrial yogurt drink	6	15.50	4.04					
Ciprofloxacin	Traditional yogurt drink	10	23.70	2.21	0.439	0.519	2.338	14	0.035
	Industrial yogurt drink	6	.20.83	2.64					

مقادیر کم‌تر از ۳ برای قدر مطلق ضریب چولگی و مقادیر قدر مطلق کم‌تر از ۱۰ برای ضرایب کشیدگی به لحاظ نرمال بودن متغیرها قابل‌قبول هستند (Momeni & Faal Qayyumi, 2003). همان‌طور که در جدول فوق ملاحظه می‌شود، برای همگی متغیرهای حاضر در تحقیق در دو گروه، مقادیر ضرایب کشیدگی و ضرایب چولگی در محدوده مذکور قرار دارد و لذا نرمال بودن آن‌ها مورد تأیید قرار می‌گیرد.

با توجه به نرمال بودن توزیع قطر هاله‌های آنتی‌بیوتیک‌ها، برای مقایسه میانگین در قطر هاله‌ها در دو گروه دوغ سنتی و صنعتی از آزمون پارامتری تی دو نمونه مستقل استفاده می‌شود که نتایج آن در جدول زیر به نمایش درآمده است:

با توجه به نتایج مقایسه قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده در آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین نشان می‌دهد که قطر هاله اندازه‌گیری شده برای *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از دوغ سنتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از دوغ صنعتی است (p-value=۰/ ۰۳۵<۰/۰۵، t (۱۴) =۲/۳۳۸)، در سایر آنتی‌بیوتیک‌های موردبررسی، قطر هاله‌ها تفاوت معنی‌داری در دوغ سنتی و صنعتی ندارند (p-value>۰/۰۵).

با توجه به نتایج مقایسه قطر هاله‌های اندازه‌گیری شده در آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین نشان می‌دهد که قطر هاله دوغ سنتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از دوغ صنعتی است (t(۱۴)=۲/۳۳۸, p-value=۰/۰۳۵< ۰/۰۵)، در سایر آنتی‌بیوتیک‌های موردبررسی، قطر هاله‌ها تفاوت معنی‌داری در دوغ سنتی و صنعتی ندارند. (p-value> ۰/۰۵)

در بین *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست سنتی مقاومت به شش آنتی‌بیوتیک در (۴٪) ۱ ایزوله و پنج آنتی‌بیوتیک در (۱۲٪) ۳ ایزوله مشاهده شد درحالی‌که *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست سنتی بیشترین تعداد مقاومت هم‌زمان به چهار آنتی‌بیوتیک بود که در (۱۲٪) ۲ ایزوله مشاهده گردید. در ایزوله‌های ماست سنتی مقاومت به ۴ آنتی‌بیوتیک در (۱۲٪) ۳ ایزوله دیده شد. مقاومت به ۳ آنتی‌بیوتیک در (۶٪)۱ *لاکتوباسیلوس* جداسازی شده از ماست‌های صنعتی و (۲۵٪) ۶ ایزوله از ماست سنتی مشاهده شد. مقاومت به ۲ آنتی‌بیوتیک در ایزوله‌های ماست صنعتی بیشترین مقدار را داشت و در (۴۱٪) ۷ ایزوله مشاهده شد درحالی‌که (۱۲٪) ۳ ایزوله سنتی به دو آنتی‌بیوتیک مقاومت داشتند. در (۳۰٪) ۵ ایزوله ماست صنعتی مقاومت به ۱ آنتی‌بیوتیک دیده شد

جدول ۱۲- نتایج مقایسه میانگین قطر هاله‌های اندازه‌گیری‌شده برای آنتی‌بیوتیک‌ها در دو گروه ایزوله‌های دوغ سنتی و صنعتی با آزمون t

Table 12. Results for comparison of the mean diameter of the clear zones measured for antibiotics in the two groups of traditional and industrial yogurt drink by t-test

Antibiotic	Group	Number	Mean	Standard deviation	Bias	Skewness	Lowest	highest
Vancomycin	Traditional yogurt drink	10	12.600	3.565	-0.031	-1.630	8.0	18.0
	Industrial yogurt drink	6	11.667	4.412	-1.133	1.081	4.0	16.0
Chloramphenicol	Traditional yogurt drink	10	15.500	2.273	-0.426	0.686	11.0	19.0
	Industrial yogurt drink	6	15.333	1.506	1.270	1.531	14.0	18.0
Penicillin	Traditional yogurt drink	10	14.500	5.359	-2.620	7.501	0.0	19.0
	Industrial yogurt drink	6	14.500	7.232	-2.256	5.285	0.0	19.0
Ampicillin	Traditional yogurt drink	10	15.800	1.932	0.236	-0.961	13.0	19.0
	Industrial yogurt drink	6	14.667	2.658	-1.189	1.279	10.0	17.0
Erythromycin	Traditional yogurt drink	10	16.200	2.741	-1.070	2.840	10.0	20.0
	Industrial yogurt drink	6	15.167	3.189	0.329	-0.271	11.0	20.0
Tetracycline	Traditional yogurt drink	10	15.500	2.759	-0.615	0.444	10,0	19.0
	Industrial yogurt drink	6	15.000	1.414	0.000	-0.300	13.0	17.0
Gentamycin	Traditional yogurt drink	10	16.000	2.667	-1.187	2.100	10.0	19.0
	Industrial yogurt drink	6	14.333	1.862	-1.281	1.853	11.0	16.0
Kanamycin	Traditional yogurt drink	10	15.600	2.633	-0.780	1.417	10.0	19.0
	Industrial yogurt drink	6	15.667	3.011	-0.247	0.884	11.0	20.0
Trimethoprim Sulfametoxazol	Traditional yogurt drink	10	15.400	2.875	0.269	-0.805	11.0	20.0
	Industrial yogurt drink	6	17.667	4.502	-0.639	2.836	10.0	24.0
Rifampin	Traditional yogurt drink	10	16.500	2.759	-0.734	0.173	11.0	20.0
	Industrial yogurt drink	6	19.167	1.722	0.678	0.814	17.0	22.0
Nalidixic acid	Traditional yogurt drink	10	17.900	2.725	0.856	0.140	13.0	25.0
	Industrial yogurt drink	6	17.333	2.944	0.640	-0.003	14.0	22.0
Streptomycin	Traditional yogurt drink	10	16.700	2.791	0.424	0.081	13.0	22.0
	Industrial yogurt drink	6	15.500	4.037	-0.711	-1.856	10.0	19.0
Ciprofloxacin	Traditional yogurt drink	10	23.700	2.214	-0.295	-0.690	20.0	27.0
	Industrial yogurt drink	6	20.833	2.639	0.464	-2.094	18.0	24.0

درحالی‌که مقاومت به ۱ آنتی‌بیوتیک در ایزوله‌های ماست سنتی در (۲۵٪) ۶ ایزوله دیده شد. در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده هم از ماست سنتی و هم صنعتی یک *لاکتوباسیلوس* بدون مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی یافت شد.

در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از نمونه‌های دوغ پاستوریزه صنعتی و سنتی مقاومت به ۳ آنتی‌بیوتیک در (۱۷٪) ۱ ایزوله دوغ پاستوریزه صنعتی و (۱۰٪) ۱ ایزوله دوغ سنتی مشاهده شد. مقاومت به دو آنتی‌بیوتیک در (۳۳٪) ۲ ایزوله دوغ و (۳۰٪) ۳ ایزوله دوغ سنتی دیده شد. مقاومت به ۱ آنتی‌بیوتیک در (۵۰٪) و همچنین در (۵۰٪)۵ ایزوله دوغ سنتی دیده شد. در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از دوغ سنتی (۱۰٪) ۱ ایزوله بدون مقاومت دیده شد و در ایزوله‌های دوغ پاستوریزه صنعتی ایزوله بدون مقاومت یافت نشد.

بحث

لاکتوباسیلوس‌ها در صنایع غذایی به‌صورت گسترده به‌عنوان کشت آغازگر مورد استفاده قرار می‌گیرند و همان‌طور که اشاره شد معمولاً ایمن در نظر گرفته می‌شوند. اخیراً گزارش‌هایی درباره مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در *لاکتوباسیلوس*‌های مورداستفاده به‌عنوان کشت‌های آغازگر مورداستفاده در صنایع غذایی ارائه شده است که این موضوع نگرانی‌هایی را در این زمینه به وجود آورده است (Angelis & Gobbetti, 2016). مواد غذایی تخمیری مانند ماست و دوغ به علت دارا بودن میکروارگانیسم‌های زنده و به‌ویژه *لاکتوباسیلوس*‌ها و عدم گذراندن فرایند حرارتی قبل از مصرف می‌توانند به‌عنوان یکی از عوامل بالقوه جهت انتشار مقاومت به آنتی‌بیوتیک به باکتری‌های بیماری‌زا و ساکن دستگاه گوارش نقش داشته باشند (Angelis & Gobbetti, 2016).

آزمون تخمیر قندها بر روی ایزوله‌ها انجام شد و تمامی سویه‌های سنتی و صنعتی قادر به مصرف گلوکز و لاکتوز بودند که یافته‌های این تحقیق با پژوهش رحمان و همکاران (۲۰۱۶) که به جداسازی باکتری‌های اسیدلاکتیک پرداخته هماهنگی دارد که در آن همگی *لاکتوباسیلوس*-های جداسازی شده گلوکز و لاکتوز را تخمیر کردند (Rahman *et al.*, 2016). در پژوهش انجام‌شده توسط

Rahman و همکاران (۲۰۱۶)، *لاکتوباسیلوس*‌های موردبررسی قادر به تخمیر آرابینوز، ریبوز، فروکتوز و ساکاروز بودند درحالی‌که در این پژوهش *لاکتوباسیلوس*‌ها از نظر تخمیر این قندها متغیر بودند.

از نظر تفاوت *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از فرآورده‌های لبنی سنتی و صنعتی تاکنون مقایسه‌ای صورت نگرفته است. *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از فرآورده‌های لبنی سنتی و صنعتی از نظر تخمیر کربوهیدرات‌های دیگر غیر از گلوکز و لاکتوز باهم متفاوت بودند. در این پژوهش مقاومت به آنتی‌بیوتیک در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از فرآورده های لبنی سنتی و صنعتی (ماست و دوغ) به روش دیسک دیفیوژن موردبررسی قرار گرفته است. پژوهش‌هایی که تا کنون در این زمینه انجام شده به بررسی مقاومت به آنتی‌بیوتیک در فرآورده‌های لبنی سنتی یا فراورده‌های لبنی صنعتی پرداخته‌اند. در مطالعه‌ای که گوو مقنه (۲۰۱۹) انجام داده‌اند مقاومت به آنتی‌بیوتیک در ۲۰ *لاکتوباسیلوس جداسازی* شده از فرآورده‌های لبنی سنتی مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعه دیگری که توسط Wang و همکاران (۲۰۱۹) انجام شده است. ۳ *لاکتوباسیلوس* جداسازی شده از فرآورده‌های لبنی صنعتی و کارخانه‌ای را از نظر مقاومت به آنتی‌بیوتیک بررسی کرده است (M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2018 و Ammor *et al.*, 2007 و Wang, 2019). هم‌چنین مطالعات مشابهی توسط آکپینار و همکارانش (۲۰۱۱) در ترکیه روی *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست سنتی و ارگین کایا و همکارانش (۲۰۱۸) به بررسی *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از فرآورده‌های لبنی صنعتی خریداری‌شده از سوپرمارکت پرداخته‌اند

(Akpinar *et al.*, 2011; Erginkaya *et al.*, 2018; Campedelli *et al.*, 2018) همان‌طور که اشاره شد در این پژوهش به مقایسه میزان شیوع مقاومت به آنتی‌بیوتیک میان *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست و دوغ پاستوریزه پرداخته شده است درحالی‌که بیشتر مطالعات انجام شده به بررسی یکی از انواع فرآورده های لبنی پرداخته‌اند و مقایسه‌ای صورت نگرفته است.

از نظر میزان شیوع مقاومت به ۱۳ آنتی‌بیوتیک موردبررسی در ماست‌های سنتی مقاومت به ونکومایسین (۴۵/۸٪) بیشترین میزان را به خود اختصاص داد. در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست‌های صنعتی نیز مقاومت به ونکومایسین (۵۹٪) بیشترین میزان را داشت که از نظر درصد بیشتر مقاومت به ونکومایسین ایزوله‌ها مشابه بودند. البته تعداد ایزوله‌های مقاوم به ونکومایسین در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از ماست‌های صنعتی بیشتر بود.

در نمونه‌های جداسازی شده از دوغ سنتی و صنعتی پاستوریزه نیز مقاومت به ونکومایسین بیشترین میزان را به خود اختصاص داده بود. در ایزوله‌های دوغ سنتی مقاومت به ونکومایسین در ۴۰٪ ایزوله‌ها و در ایزوله‌های دوغ پاستوریزه ۵۰٪ که همانند ایزوله‌های جداسازی شده از نمونه‌های ماست، مقاومت در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از دوغ پاستوریزه صنعتی به ونکومایسین بیشتر از دوغ سنتی بود.

در پژوهش گو و همکاران (۲۰۱۹) که به بررسی ۳۳ *لاکتوباسیلوس* جداسازی شده از فرآورده های لبنی سنتی چین پرداخته است همه ایزوله‌ها نسبت به ونکومایسین مقاوم بوده‌اند که نتایج آن‌ها با این پژوهش هم‌خوانی ندارد. در پژوهش ارگین کایا و همکارانش (۲۰۱۸) میزان مقاومت به ونکومایسین در ایزوله‌های سنتی موردبررسی ۵۸٪ بود که تقریباً نزدیک به نتایج این پژوهش است (۱۴ و ۲۱) شایان‌ذکر است که به‌طور کلی مقاومت به ونکومایسین در *لاکتوباسیلوس*‌ها یک ویژگی درونی و ذاتی است و معمولاً به سایر باکتری‌ها انتقال پیدا نمی‌کند (Campedelli *et al.*, 2018).

مقاومت به آمپی‌سیلین (۳۷٪) در لاکتوباسیلوس‌های جداسازی شده از نمونه‌های ماست سنتی بیشترین میزان را داشت درحالی‌که در ایزوله‌های ماست صنعتی مقاومت به پنی‌سیلین (۳۵٪) بیشترین میزان را پس از ونکومایسین داشت. به‌طور کلی *لاکتوباسیلوس*‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین حساس هستند ولی اخیراً گزارش‌هایی در خصوص مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها صورت گرفته است (Abriouel *et al.*, 2015).

در این تحقیق نیز مقاومت به آمپی‌سیلین و پنی‌سیلین در نمونه‌های ماست موردبررسی گزارش شده است. در تحقیق انجام شده توسط Lethycia و همکاران (۲۰۱۷) مقاومت به آمپی‌سیلین بیشترین میزان را داشت البته در این پژوهش مقاومت به ونکومایسین مورد بررسی قرار نگرفته است و Campedelli و همکاران ۲۰۱۸ مقاومت به آمپی‌سیلین نسبت به مقاومت به پنی‌سیلین بیشتر بود که یافته‌های این پژوهش با دو این تحقیق هم‌خوانی دارد (Campedelli *et al.*, 2018; Lethycia *et al.*, 2017).

مقاومت به تتراسایکلین در ایزوله‌های ماست سنتی در ۲۱٪ آن‌ها دیده شد و در ماست صنعتی ۱۲٪ دارای مقاومت به این آنتی‌بیوتیک بودند. در پژوهشی که Ledina و همکاران (۲۰۱۸) در صربستان روی *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از پنیر سنتی انجام دادند مقاومت به تتراسایکلین از نظر فنوتیپی در ایزوله‌های موردبررسی فراوانی زیادی داشته است درحالی‌که یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد در ایزوله‌های سنتی و صنعتی مقاومت به این آنتی‌بیوتیک فراوانی چندانی ندارد و بنابراین با یافته‌های لدیناو همکارانش هم‌خوانی ندارد. یافته‌های پژوهش Anisimova و Yarullina (۲۰۱۸) که مقاومت به تتراسایکلین و اریترومایسین را در *لاکتوباسیلوس*‌ها مورد بررسی قرار داده نیز نشان داده که مقاومت به تتراسایکلین در پژوهش مذکور نیز در تمامی *لاکتوباسیلوس*‌های مورد بررسی وجود داشته درحالی‌که مقاومت به اریترومایسین فقط در یکی از ایزوله‌ها دیده شده بود. مقاومت به اریترومایسین در این تحقیق نیز در ایزوله‌های دوغ سنتی در یک ایزوله و صنعتی ۲ ایزوله دیده شد و در نمونه‌های ماست سنتی در ۳ و صنعتی ۲ ایزوله دیده شد که تقریباً از نظر مقاومت به اریترومایسین نتایج با یافته‌های آنیسیموا و یارولینا هم‌خوانی دارد (Nawaz *et al.*, 2011; Anisimova & Yarullina, 2018; Ledina *et al.*, 2018).

تتراسایکلین و اریترومایسین به‌عنوان محرک رشد در دامداری مورد استفاده قرار می‌گیرند و مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از فرآورده های لبنی گزارش شده است (Devirgiliis *et al.*, 2013).

در این تحقیق، مقاومت به کانامایسین و جنتامایسین در ایزوله‌های ماست و دوغ سنتی دیده شد که نتایج به‌دست‌آمده با مطالعه Rozman و همکاران هم‌خوانی دارد که فنوتیپ مقاوم به کانامایسین و جنتامایسین در آن تحقیق نیز دیده شد، مقاومت به جنتامایسین و کانامایسین در *لاکتوباسیلوس*‌ها درونی است (Rozman *et al.*, 2020).

مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک[1] که به معنی مقاومت هم‌زمان به سه یا تعداد بیشتری آنتی‌بیوتیک است (Campedelli *et al.*, 2018). در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از نمونه‌های ماست و دوغ سنتی و صنعتی دیده شد که مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک یکی از ویژگی‌هایی ست که در *لاکتوباسیلوس*‌ها معمولاً دیده می‌شود (۱۵). در این پژوهش نیز مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک در ایزوله‌ها دیده شد که این با یافته‌های پژوهش‌های مشابه مانند Herreros و همکاران (۲۰۰۵) و Zhou همکاران (۲۰۱۲) هم‌خوانی دارد (Herreros *et al.*, 2005 Zhou *et al.*, 2012;) در این تحقیق ۱۲ *لاکتوباسیلوس* جداسازی شده از ماست سنتی (۵۰٪) ایزوله‌ها مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک داشتند در نمونه‌های جداسازی شده از ماست سنتی ۵ (۲۹٪) مورد مقاومت چندگانه داشتند. در *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از نمونه‌های دوغ سنتی و صنعتی نیز فقط یک ایزوله از هر کدام مقاومت چندگانه داشتند. بیشترین میزان، مقاومت به شش آنتی‌بیوتیک بود که در یکی از *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده (ایزوله شماره ۲۰) از ماست سنتی دیده شد که به نالدیکسیک اسید، جنتامایسین، کانامایسین، تری‌متوپریم و تتراسایکلین مقاومت داشت.

در مطالعه Zhou و همکاران (۲۰۱۲) مقاومت هم‌زمان نسبت به استرپتومایسین و جنتامایسین در *لاکتوباسیلوس*‌های موردبررسی دیده شد که هر دو آنتی‌بیوتیک مربوط به خانواده آمینوگلیکوزیدها هستند این پژوهشگران مقاومت به کانامایسین که یک آنتی‌بیوتیک دیگر از خانواده آمینوگلیکوزیدهاست را مورد بررسی قرار نداده بودند. در این تحقیق مقاومت هم‌زمان به جنتامایسین و کانامایسین در یکی از *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی (ایزوله شماره ۲۰) شده دیده شد.

[1] Multi drug resistance

نتیجه‌گیری

در این تحقیق مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک در ایزوله‌های ماست سنتی بیشتر دیده شد و *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از دوغ سنتی و صنعتی به چند آنتی‌بیوتیک محدود مقاومت داشتند. به‌طور کلی مقاومت به آنتی‌بیوتیک تقریباً در تمامی *لاکتوباسیلوس*‌های جداسازی شده از نمونه‌های موردبررسی دیده شد. با توجه به اینکه فرآورده‌های لبنی تخمیری مانند ماست و دوغ سنتی و صنعتی در ایران و کشورهای آسیایی به دلیل مزایایی که برای آن‌ها ذکر شده و ذائقه مردم منطقه متداول است و مخاطراتی که درنتیجه انتقال مقاومت به آنتی‌بیوتیک به باکتری‌های ساکن دستگاه گوارش و باکتری‌های بیماری‌زا به وجود می‌آید، ضرورت بررسی‌های سخت‌گیرانه‌تر و تدوین مقررات و استاندارد برای سویه‌های مورداستفاده به‌عنوان کشت آغازگر در تولید فراورده های لبنی تخمیری وجود دارد. پیشنهاد می‌شود که *لاکتوباسیلوس*‌ها و سایر باکتری‌هایی که به‌عنوان کشت آغازگر در تهیه مواد غذایی تخمیری مورد استفاده قرار می‌گیرند از نظر وجود ژن‌های مقاومت و احتمال انتقال آن‌ها به سایر باکتری‌ها مورد بررسی قرار بگیرند.

سپاسگزاری

به این وسیله از سازمان ملی استاندارد ایران به‌ویژه اداره کل استاندارد استان زنجان و تمامی افرادی که به نحوی در انجام این تحقیق همکاری داشته‌اند تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

Abriouel, H., Casado Muñoz, M., Lavilla Lerma, L., Pérez Montoro, B., Bockelmann, W., Pichner, R., Kabisch, J., Cho, G. S., Franz, C., Gálvez, A. & Benomar, N. (2015). New insights in antibiotic resistance of *Lactobacillus* species from fermented foods. Food research international *(Ottawa, Ont.)*, *78*, 465–481. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.016

Akpinar, A., Yerlikaya, O. & Kiliç, S. (2011). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Turkish homemade yoghurts. African Journal of Microbiology Research, 5(6), 675-682.

Ammor, M. S., Flórez, A. B. & Mayo, B. (2007). Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. Food microbiology, *24*(6), 559–570. https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.11.001

Angelis, M. De. & Gobbetti, M. (2016). *Lactobacillus* SPP: General Characteristics, in Reference Module in Food Science.

Anisimova, E. & Yarullina, D. (2018). Characterization of Erythromycin and Tetracycline Resistance in *Lactobacillus fermentum* Strains. *International journal of microbiology*, *2018*, 3912326. https://doi.org/10.1155/2018/3912326

Anon. (2018). M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical and Laboratory Standards Institute.

Bergey, D. H., John G. & Holt, J. G. (2000). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Campedelli, I., Mathur, H., Salvetti, E., Clarke, S., Rea, M. C., Torriani, S., Ross, R. P., Hill, C. & O'Toole, P. W. (2018). Genus-Wide Assessment of Antibiotic Resistance in *Lactobacillus* spp. Applied and environmental microbiology, *85*(1), e01738-18. https://doi.org/10.1128/AEM.01738-18

Chaves-López, C., Serio Carlos., A, Grande-Tovar Raul, D. & Cuervo-Mulet, J. (2014).Traditional Fermented Foods and Beverages from a Microbiological and Nutritional Perspective: The Colombian Heritage, Comprehensive reviews in food science and food safety, 13(5), 1031-1048.

Clementi, F. & Aquilanti, L. (2011). Recent investigations and updated criteria for the assessment of antibiotic resistance in food lactic acid bacteria. Anaerobe, *17*(6), 394–398. https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.03.021

Cormican, M. (2015) *Potential for Transmission of Antimicrobial Resistance in the Food Chain*, Ireland, Dublin: Food Safety Authority of Ireland publication.

Devirgiliis, C., Zinno, P. & Perozzi, G. (2013). Update on antibiotic resistance in foodborne *Lactobacillus* and *Lactococcus* species. Frontiers in microbiology, *4*, 301. https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00301

Dubernet, S., Desmasures, N. & Guéguen, M. (2002). A PCR-based method for

identification of lactobacilli at the genus level. FEMS Microbiology letters, *214*(2), 271–275. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11358.x

Durso, L. & Hutkins, R. (2003) Starter culture, in Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition).

Erginkaya, Z., Turhan, E. U. & Tatlı, D. (2018). Determination of antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from traditional Turkish fermented dairy products. Iranian journal of veterinary research, *19*(1), 53–56.

Fraqueza, M. J. (2015). Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from dry-fermented sausages. International Journal of Food Microbiology, *212*, 76–88. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.035

Guo, H., Pan, L., Li, L., Lu, J., Kwok, L., Menghe, B., Zhang, H. & Zhang, W. (2017). Characterization of Antibiotic Resistance Genes from *Lactobacillus* Isolated from Traditional Dairy Products. Journal of Food Science, *82*(3), 724–730. https://doi.org/10.1111/1750-3841.13645

Herreros, M. A., Sandoval, H., González, L., Castro J. M., Fresno J. M. & Tornadijo, M. (2005). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). Food Microbiology, 22(5), 455-459. https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.11.007

ISIRI. (2011). Evaluation of antibiotic susceptibility by disc diffusion method- Test method. Standard 13560 [In Persian].

Kavitha, P. D. & Banumathi, M. (2016). Isolation and Biochemical Characterization of *Lactobacillus* species isolated from Dahi, International Journal of Current Microbiology and applied Science, 5(4), 1042-1049.

Kumar, A. & Kumar, D. (2015). Characterization of *Lactobacillus* isolated from dairy samples for probiotic properties. Anaerobe, *33*, 117–123. https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.03.004

Ledina, T., Mohar-Lorbeg, P., Golob, M., Djordjevic, J., Bogovič-Matijašić, B. & Bulajic, S. (2018). Tetracycline resistance in *Lactobacilli* isolated from Serbian traditional raw milk cheeses. Journal of Food Science and Technology, *55*(4), 1426–1434. https://doi.org/10.1007/s13197-018-3057-6

Lethycia, W. H., Aparecida, M. A., DallaSanta, O. R., Bittencourt Fernando, L., Madeira, H. M. F. & Freitas de Macedo, F. R. (2017). Methods for the evaluation of antibiotic resistance in *Lactobacillus* isolated from fermented sausages. Ciência Rural, Santa Maria, 47(8), 78-96. https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160966.

Mani-López, E., Palou, E. & López-Malo, A. (2014). Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. Journal of Dairy Science, *97*(5), 2578–2590. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7551

Mansourfar, K. (2005). Statistical methods, Tehran university press.p.201 [In Persian].

Mermelstein, N. H. (2018). Combating antibiotic resistance. Food Technology. 72(3), 62-65.

Momeni, M. & Faal Qayyumi, A. (2003). Statistical analysis using SPSS. New book publishing, Tehran [In Persian].

Nawaz, M., Wang, J., Zhou, A., Ma, C., Wu, X., Moore, J. E., Millar, B. C. & Xu, J. (2011). Characterization and transfer of antibiotic resistance in lactic acid bacteria from fermented food products. *Current Microbiology*, *62*(3), 1081–1089. https://doi.org/10.1007/s00284-010-9856-2

Patel, A., Shah, N. & Prajapati, J. (2012). Antibiotic Resistance Profile of Lactic Acid Bacteria and Their Implications in Food Chain. World Journal of Dairy and Food Sciences .7. 202-211. 10.5829/idosi.wjdfs.2012.7.2.1113.

Rahman, M. M., Hossain Moazzem, K. & Mahbubur Rahman, S. M. (2016). Isolation, characterization, and properties study of probiotic *lactic acid bacteria* of selected yoghurt from Bangladesh. African Journal of Microbiology Research, 10(1), 23-31.

Rozman, V., Mohar Lorbeg, P., Accetto, T. & Bogovič Matijašić, B. (2020). Characterization of antimicrobial resistance in *Lactobacill*i and *bifidobacteria* used as probiotics or starter cultures based on integration of phenotypic and in silico data. International Journal of Food Microbiology, *314*, 108388. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108388

Sharma, N., Nuth, A. K., Neopaney, B. & Gupta, A. (2018). Biotechnology and Traditional Fermented Foods, Boca Raton, UK: CRC Press.

Verraes, C., Van Boxstael, S., Van Meervenne, E., Van Coillie, E., Butaye, P., Catry, B., De Schaetzen, M., Van Huffel, X.,

Imberechts, H., Dierick, K., Daube, G., Saegerman, C., De Block, J. & Dewulf, J. (2013). Antimicrobial Resistance in the Food Chain: A Review, International Journal of Environmental Research and Public Health, 10(7), 2643—2669. Doi:10.3390/ijerph10072643.

Wang, K., Zhang, H., Jinsong, F., Luyao, M., Fuente-Núñeze, F. & Xiaonan Lua, Sh. W. (2019). Antibiotic resistance of *lactic acid bacteria* isolated from dairy products in Tianjin, China. Journal of Agriculture and Food Research, 1, 24-37.

Zhou, N., Zhang, J. X., Fan, M. T., Wang, J., Guo, G. & Wei, X. Y. (2012). Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Chinese yogurts. Journal of Dairy Science, *95*(9), 4775–4783. https://doi.org/10.3168/jds.2011-5271

Comparison of the Antibiotic Resistance of *Lactobacilli* Isolated from Traditional Dairy Products with the Antibiotic Resistance of *Lactobacilli* Isolated from Industrially Produced Dairy Products

B. Moghimi [a], M. Ghobadi Dana [b*], R. Shapouri [c]

[a] Ph. D. Student of Microbiology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

[b] Assistant Professor of Molecular Genetic, Standard Research Institute, Karaj, Iran.

[c] Assistant Professor of Medical Bacteriology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

Received: 20 June 2021 Accepted: 12 July 2021

Abstract

Introduction: *Lactobacilli* are a member of the Lactic Acid Bacteria (LAB) family that are used as starter culture in the production of industrial and traditional dairy products. *Lactobacilli* could potentially play an important role in the transition of antibiotic resistance to gastrointestinal bacteria or pathogenic bacteria.

Materials and Methods: In this study, *Lactobacilli* were isolated from traditional yogurts, yogurt drinks and industrial yogurts and yogurt drinks and the antibiotic resistance to 13 antibiotic including: Penicillin, Ampicillin, Tetracycline, Erythromycin, Gentamicin, Streptomycin, Vancomycin, Nalidixic acid, Trimethoprim Sulfamethoxazole, Kanamycin, Rifampin, Ciprofloxacin, and Chloramphenicol have been investigated and the results were compared.

Results: According to the results, vancomycin resistance was the most prevalent phenotype in traditional yogurt (45.8%) and yogurt drink (40%) and in industrial yogurt (59%) and yogurt drink (50%) respectively. Except in the case of Penicillin and rifampin there was no significant difference between the resistances of *Lactobacilli* isolated from industrial yogurt to other studied antibiotics in this study are compared to the resistance of *Lactobacillus* isolated from traditional yogurt. Ciprofloxacin resistance in *Lactobacilli* isolated from industrial yogurt drink is significantly higher than the resistance of *Lactobacilli* isolated from traditional yogurt drink and there was no significant difference between the resistances to the other studied antibiotics in*Lactobacillus* isolated from industrial and traditional yogurt drink.

Conclusion: Antibiotic resistance was observed in *Lactobacilli* isolates of traditional and industrial samples. It seems that there is a need to pay attention to the antibiotic resistance in starter cultures used in the food industries in order to prevent the spread of antibiotic resistance.

Keywords: *Antibiotic Resistance, Dairy Products, Lactobacillus, Starter Culture.*

* Corresponding Author: Dana.m@standard.ac.ir