DOI: 10.48305/jims.v42.i794.1077

مجله دانشکده پزشکی اصفهان | سال چهل و دوم/شماره‌ی ۷۹٤/هفته‌ی دوم بهمن ۱٤۰۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۲ | تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۰۶ | تاریخ چاپ: ۱۴۰۳/۱۱/۱۵

بررسی تأثیر شرایط پرتاب زیرمداری کپسول زیستی بر خواص میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک

مریم صلواتی فر[۱]، کیانوش خسروی دارانی[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: نظر به گزارش‌های مبنی بر افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی و مقاومت در برابر تنش‌های محیطی میکروب‌ها در فضای خارج از جو، در این تحقیق امکان تغییر در سرعت رشد، زنده‌مانی و مقاومت در برابر تنش باکتری‌های پروبیوتیک بومی ایران در فضا مطالعه شد.

روش‌ها: پروبیوتیک‌های *Lactobacillus (L.) acidophilus* ، *Lactiplantibacillus (L.) plantarum* و *Saccharomyces (S.) cerevisiae* در جدیدترین کپسول زیستی ایران به نام کاووس به ارتفاع ۱۳۰ km از سطح دریا پرتاب و بازیابی شدند. رشد میکروارگانیسم‌ها، مقاومت در برابر شوک اسمزی، اسیدی و دمایی به همراه مقاومت آنتی‌بیوتیکی اندازه‌گیری و با کنترل‌های زمینی مقایسه شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند که تنش پرتاب، باعث افزایش سرعت رشد و کاهش فاز تأخیر در لاکتوباسیلوس‌ها شد. دمای مطلوب رشد و تحمل در برابر شوک اسیدی، قبل و بعد از پرتاب در هیچ یک از پروبیوتیک‌ها تغییری نکرد. قدرت تحمل شوک اسمزی در *L. plantarum*، به طور معنی داری در نمونه‌های پس از پرتاب افزایش یافت اما در *L. acidophilus* و مخمر تغییری مشاهده نشد. به جز افزایش مقاومت *L. acidophilus* نسبت به جنتامایسین و آموکسی‌سیلین و *L. plantarum* در برابر آمپی‌سیلین و داکسی‌سیکلین در نمونه‌های پرتابی، در سایر آنتی‌بیوتیک‌ها تغییری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاکی از افزایش سرعت و مقاومت پروبیوتیک‌ها در برابر تنش‌های محیطی بود. مصرف پروبیوتیک‌ها برای حفظ سلامت مسافران فضایی چندین برابر ضروری‌تر از زندگی بر روی زمین است. این پروبیوتیک‌ها برای بهبود کیفیت زندگی انسان بر روی زمین نیز توصیه می‌شوند.

واژگان کلیدی: پروبیوتیک‌ها؛ میکروارگانیسم؛ بی‌وزنی؛ زنده مانی

ارجاع: صلواتی‌فر مریم، خسروی دارانی کیانوش. **بررسی تأثیر شرایط پرتاب زیرمداری کپسول زیستی بر خواص میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۳؛ ۴۲ (۷۹۴): ۱۰۷۷-۱۰۸۵.

مقدمه

قرارگیری در محیط بسته، کیلومترها دورتر از زمین، فضانوردان را در معرض عوامل استرس‌زا قرار داده و منجر به بروز اختلالاتی مانند کاهش ایمنی، افزایش عفونت‌های ادراری، فعالیت ویروس‌ها، مقاومت باکتریایی، مشکلات قلبی- عروقی، انواع سرطان، بیماری‌های زوال شناختی، تحلیل استخوان و عضلات می‌شود (۲). مصرف پروبیوتیک‌ها در سفرهای فضایی می‌تواند برخی اثرات مضر را کاهش دهد (۳، ٤). تغییر در شتاب جاذبه، باعث تغییرات در سلول‌ها و مولکول‌های موجودات زنده (میزبان و میکروبیوم) می‌شود. در شرایط بی‌وزنی فیزیولوژی، مورفولوژی و بیماری‌زایی میکروارگانیسم‌ها تغییر می‌یابد که می‌تواند ناشی از تغییر در ضخامت لایه‌ی سطحی و تشکیل بیوفیلم باشد (۵، ٦). مطالعات حوزه‌ی زیست فضا، اهمیت نیروهای مکانیکی در حفظ هوموستازی موجودات زنده را برجسته می‌نماید. همچنین ظهور مکانوبیولوژی فضایی، آینده تحقیقاتی در جهت بقای فضانوردان در ماموریت‌های طولانی و درمان‌های بهتر بیماری‌های زمینی را ارتقا خواهد داد (۹-۷).

ریزجاذبه که در آن، شتاب جاذبه بسیار کم یا نزدیک به صفر است و می‌تواند بر شکل، رشد، بیان ژن و فیزیولوژی میکروبیوم

۱- استادیار، گروه فیزیولوژی هوافضا، پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

۲ – استاد، گروه تحقیقات علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده‌ی علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: کیانوش خسروی دارانی: استاد، گروه تحقیقات علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده‌ی علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

Email: kiankh@yahoo.com

بدن حتی پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس‌ها و ساکارومایسس‌ها اثر گذارد (۹). کاهش جاذبه، انسان را تضعیف و میکروب‌ها را قوی می‌کند. گرچه افزایش قدرت چسبندگی، تشکیل بیوفیلم و همچنین افزایش مقاومت میکروب‌های بیماری‌زا برای انسان خطرآفرین است، اما وقوع این تغییرات در پروبیوتیک را می‌توان به عنوان یک فرصت تلقی کرد (۱۰). در فعالیت‌های پیشین این گروه، افزایش اتصال پروبیوتیک‌ها در شرایط بی‌وزنی با فلزات سنگین ثابت شد که می‌تواند ناشی از افزایش ضخامت لایه‌ی سطحی آن‌ها در نتیجه شوک بی‌وزنی بوده باشد (۱۱، ۱۲).

در این مطالعه در ادامه‌ی فرضیات قبلی، به منظور بررسی ویژگی‌های رشدی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تحمل‌در برابر شوک‌های محیطی، سه نمونه میکروارگانیسم پروبیوتیک در کپسول زیستی قرار گرفت. این کپسول که محموله علمی، پژوهشی و فناورانه در راستای تحقق نقشه‌ی راه اعزام انسان به فضا بود به منظور توسعه فناوری‌های مورد نیاز به فضا پرتاب گردید. پس از پرتاب و بازیابی کپسول زیستی، نتایج با نمونه‌های زمینی مقایسه شدند تا عملکرد و کارآیی آن‌ها برای سفرهای فضایی به منظور حفظ هوموستاز و تعدیل اثرات ناشی از تغییر میکروبیوم مورد بررسی قرار گیرد.

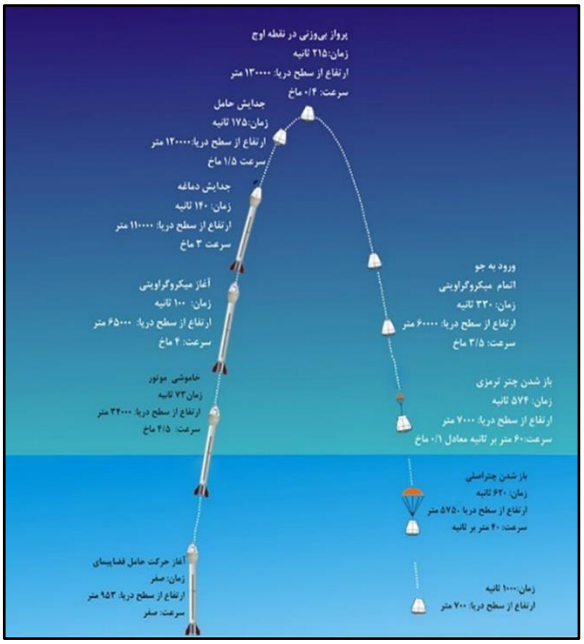
روش‌ها

اولین کپسول زیستی ایران با نام کاووس به وزن ۵۰۰ kg در ۱۴ آذر سال ۱۴۰۲با پرتابگر بومی سلمان توسط پژوهشگاه هوافضا به موقعیت زیرمداری پرتاب شد. شکل ۱ که نمای شماتیک رویدادهای مسیر پرتاب را نشان می‌دهد توسط محققان پژوهشگاه هوافضا ترسیم گردیده است.

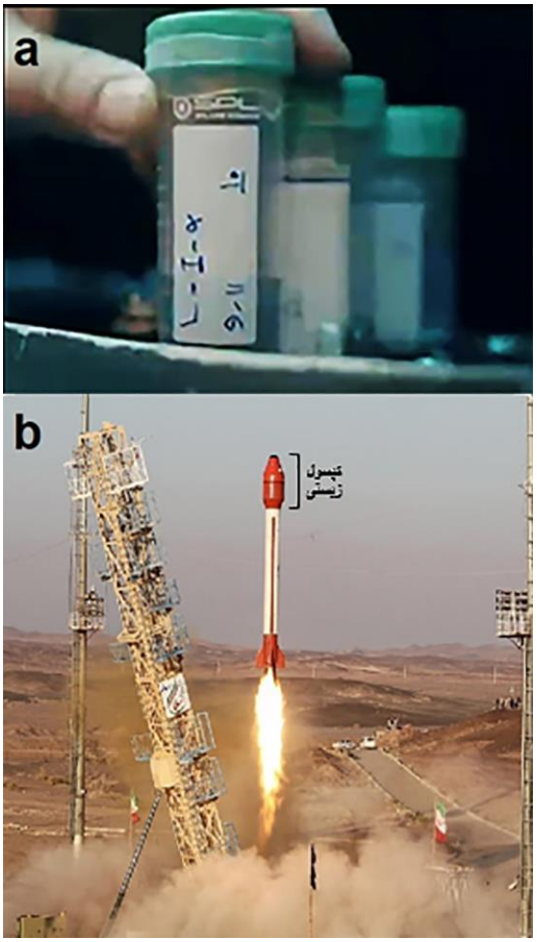
پروبیوتیک‌های *L. acidophilus* و *L. plantarum* در محیط MRS (Man–Rogosa–Sharpe) و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و *S. cerevisiae* در محیط PDB (Potato dextrose broth) و ۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد کشت داده شدند (QUELAB, Canada). یک روز قبل از پرتاب به ۱۰mL محیط کشت، ۱۰۰ µL (۱۰۸ CFU/mL) از هر میکروارگانیسم تلقیح شده و به سایت پرتاب اعزام و درون کپسول جاسازی شدند (شکل ۲). نمونه‌های کنترل در زمین باقی مانده و پرتاب نشدند. شرایط داخل کپسول زیستی به شرح جدول ۱ بود. پس از پرتاب و بازیابی کپسول، نمونه‌ها در حداقل زمان ممکن به آزمایشگاه زیست پزشکی فضایی منتقل شدند.

رسم منحنی رشد

با استفاده از دستگاه بیواسکرین (Growth Curves Ltd, Finland) انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور منحنی رشد بررسی شد. این دستگاه یک انکوباتور خواننده جذب میکروپلیت



شکل ۱. نمای شماتیک رویدادهای مسیر پرواز



شکل ۲. کپسول زیستی. a) جانمایی نمونه‌ها در محفظه‌ی زیستی، b) ارسال کپسول به فضای خارج از جو زمین در سایت پرتاب سمنان

جدول ۱. شرایط درون کپسول زیستی

	حداقل	حداکثر
زمان (s)	–	۴۵۰
دما (ºC)	+۱۸/۱۷	+۲۷/۰۹
فشار (Bar)	۸۹×۷^{-۱۰}	~۱
ارتفاع (km)	۰	۱۳۳
سرعت (m/s)	۰	۱۶۵۷/۹۷
شتاب (m/s^2)	۰	۶۴

فوتومتریک است که به طور خودکار رشد میکروارگانیسم‌ها را بر اساس کدورت محیط اندازه‌گیری می‌کند. لذا به هر چاهک پلیت مربوط به دستگاه، میزان ۳۰۰ میکرولیتر محیط کشت و ۱۰۰ میکرولیتر میکروارگانیسم با غلظت ۰/۵ مک‌فارلند تلقیح و در دستگاه مذکور قرار گرفتند. پس از گذشت مدت زمان خاص، منحنی رشد بر اساس چگالی نوری هر میکروارگانیسم ترسیم گردید.

تعیین دمای بهینه رشد

از یک کشت تازه، به میزان ۱ درصد به محیط کشت تلقیح گردیده و هر آزمون در دماهای مختلف (۲۲°C–۵۵) گرماگذاری شدند. سپس میزان رشد هر یک از نمونه‌ها با سنجش کدورت، توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Awareness Technology, United States) در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین گشته و منحنی‌ها ترسیم شدند.

بررسی تحمل غلظت نمک و pH

از یک کشت شبانه تازه، به میزان ۱ درصد درصد به محیط کشت‌های مربوطه با غلظت‌های مختلف NaCl (۱–۱۰ درصد) و pHهای مختلف (۵/۵–۲/۸) تلقیح و در پایان رشد منحنی‌های رشد رسم شد (۱۳).

بررسی تغییرات مقاومت آنتی‌بیوتیکی

به منظور بررسی تأثیر تنش پرتاب بر پاسخ میکروارگانیسم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، آنتی‌بیوگرام با دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی جنتامایسین، آموکسی‌سیلین، سفیکسیم، آمپی‌سیلین، سفتازیدیم، پن‌سیلین، آزیترومایسین، اریترومایسین، کلرامفیکل، تتراسیکلین، نالیدیکسیک اسید، سفالوتوکسیم، سفالکسین، داکسی‌سیلین، سفریاکسون (پادتن طب، ایران) انجام و از دیسک دیفیوژن آگار جهت تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استفاده شد. میکروارگانیسم به سرم فیزیولوژی منتقل شدند تا کدورت با استاندارد نیم مک‌فارلند برابر گردد. سوسپانسیون میکربی توسط سواب استریل روی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت متراکم کشت شد و دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با پنس استریل در سطح محیط قرار گرفت. پس از زمان کافی گرمخانه‌گذاری، قطر هاله منطقه مهار رشد، اندازه‌گیری و مقاومت یا حساسیت با جدول استاندارد (Clinical and Laboratory Institute Standards) CLSI برای هر میکروارگانیسم تعیین گردید.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel و بسته‌ی آماری Minitab v۱۸ آنالیز شد. آزمون‌های تحلیل واریانس یک طرفه و T-test ($P \leq ۰/۰۵$) و اطلاعات گروه‌بندی با استفاده از روش LSD فیشر با اطمینان درصد ۹۵ به دست آمد. نمودارها توسط Microsoft Excel و GraphPad prism 9.4.0 رسم و آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام شدند.

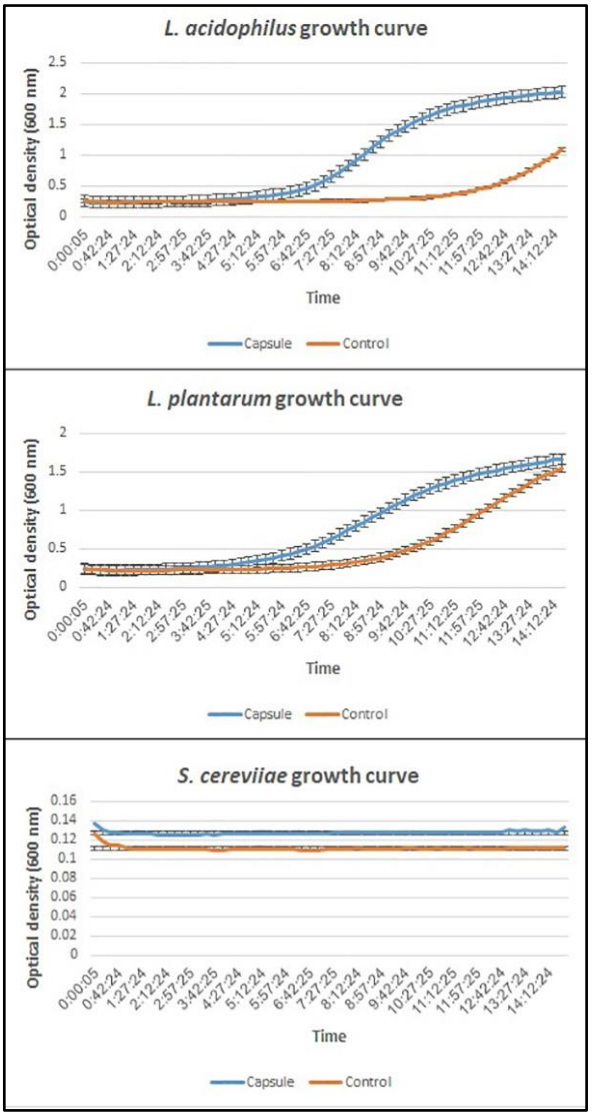
یافته‌ها

بررسی منحنی رشد

از آن‌جا که پاسخ سلول‌های مختلف در هر یک از فازهای رشد در برابر تنش‌های محیطی متفاوت است، منحنی رشد ۳ میکروارگانیسم ترسیم گردید (شکل ۳). منحنی رشد *L. acidophilus* و *L. plantarum* نشان دادکه تنش پرتاب نه تنها بر رشد، تأثیر منفی نداشته، بلکه فاز تأخیر را نسبت به کنترل کوتاه‌تر کرد. پایش منحنی رشد با دستگاه Bioscreen، در ۱۴ ساعت انجام شد و در مورد *S. cerevisiae* تغییر معنی‌داری در منحنی رشد مشاهده نشد که می‌تواند ناشی از کند رشدی نسبت به لاکتوباسیلوس باشد. گزارش مشابه نشان داد، رشد میکروارگانیسم‌ها در محیط‌های کشت مایع به دلیل کاهش رسوب‌گذاری در شرایط ریزجاذبه و یا شبیه‌سازهای آن، اغلب با افزایش تراکم سلولی همراه بوداما تفاوت قابل ملاحظه‌ای برای رشد در محیط‌های جامد یا نیمه جامد گزارش نشده است (۱۴).

در کشت‌های مایع، احتمالاً سلول‌ها به علت معلق بودن، بی‌وزنی را تجربه می‌کنند، در حالی که در آگار جامد به یک سطح متصل شده‌اند و رهایی از بردار جاذبه رخ نمی‌دهد. همچنین، یافته‌ها نشان داده که پدیده‌های دینامیک مایعات و نقل و انتقالات خارج سلول بر خلاف دینامیک سلولی، محتمل‌ترین علل افزایش سرعت رشد باکتری در شرایط ریزجاذبه هستند.

van Mulders و همکاران گزارش نموده‌اند که رشد تهاجمی سوش آزمایشگاهی *S. cerevisiae S1278b* در محیط نیمه جامد در ریزجاذبه نسبت به نمونه‌های کنترل کاهش یافت اما در سویه‌ی صنعتی آن CMBSESA1 تفاوت معنی‌داری نداشت (۱۵). تفاوت‌ها، هم به سویه و هم به شرایط محیط کشت بستگی دارد (۱۴). البته اثرات بی‌وزنی و شبیه سازها بر رشد میکروارگانیسم‌ها در محیط‌های کشت مایع به میزان مواد مغذی نیز بستگی دارد به نحوی که کشت در شرایط ریزجاذبه در محیط حداقل، تفاوت چندانی در تعداد و اندازه سلول میکروارگانیسم ایجاد نمی‌نماید اما در محیط غنی، تعداد سلول‌ها افزایش و اندازه‌ها کوچکتر شده‌اند (۱۶).

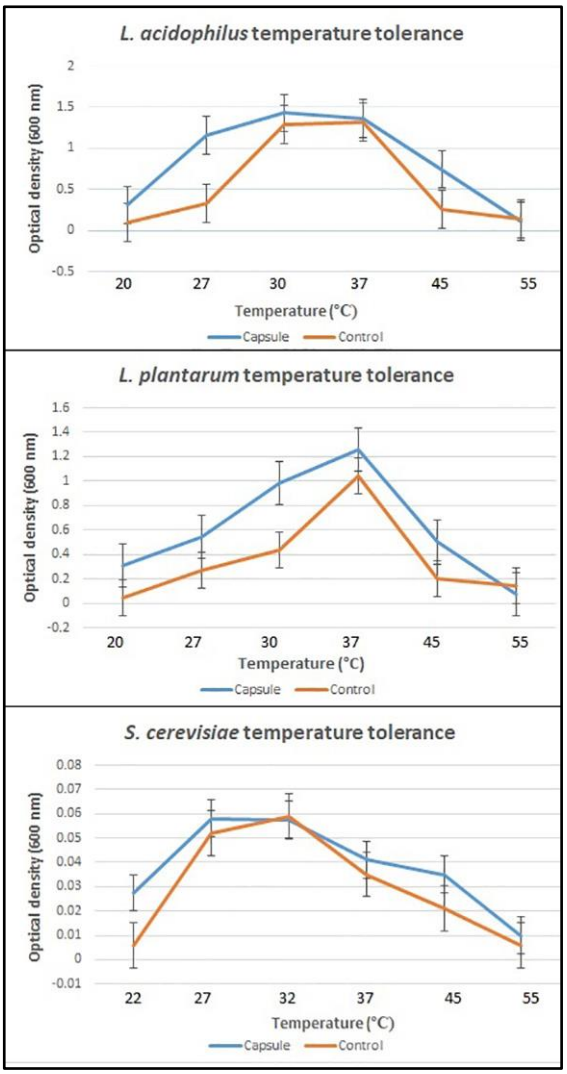


شکل ۳. نتایج منحنی‌های رشد میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک

Kim و همکاران نشـــان دادند *Pseudomona aeruginosa* در پرواز فضایی رشد نمود و در مقایسه با جاذبه‌ی طبیعی، در غلظت کم فسفات و اکسیژن محیط، سرعت رشد افزایش یافت. اما زمانی که فسفات و اکسیژن زیاد بودند، تفاوتی در سرعت رشد میان شرایط ریزجاذبه و کنترل مشاهده نشد (۱۷). تفاوت‌های مشاهده شده در تراکم سلولی میان شرایط پرتاب فضایی و جاذبه‌ی طبیعی مربوط به تعامل میان شرایط بی‌وزنی و میزان غلظت مواد ضروری برای رشد می‌باشـــد. در کل تنش پرتاب، تأثیری منفی بر رشـــد نداشـــته و میکروارگانیسم‌ها قادرند با سرعت مشابه (و حتی بیشتر) با شرایط زمینی رشـــد و تکثیر نمایند. بنابراین به احتمال زیاد قادرند در ایســـتگاه‌های بین‌المللی به منظور حفظ ســـلامت فضـــانوردان مورد استفاده قرار بگیرند.

تعیین دمای بهینه‌ی رشد

رشد میکروارگانیسم‌ها تحت تأثیر شرایط مختلف مانند دما، pH و غلظت نمک محیط می‌باشد. میزان رشد سه میکروارگانیسم در پنج دمای مختلف به شـرح شـکل بود. نتایج نشـان داد *L. acidophilus* پس از پرتاب، حتی در دمای ۲۷ °C نیز رشد مناسبی داشته در حالی که نمونه‌ی کنترل در دمای مذکور رشد اندکی دارد. همچنین رشد در دمای ۳۰ °C نیز برای نمونه کپسول کمی بیشتر از نمونه‌ی کنترل بود.



شکل ٤. نتایج منحنی‌های تحمل دما میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک (دمای بهینه لاکتوباسیل‌ها، ۳۷ °C و برای مخمر ۲۵ °C-۳۳ است).

در مورد *L. plantarum* دمای بهینه در هر دو مورد آزمون و کنترل، همان دمای ۳۷ °C بود ولی به هر حال در مورد نمونه‌های کپسول، در دمای ۳۰ °C رشد نسبتاً بالا بود (برعکس نمونه‌ی کنترل). بیشترین رشد *S. cerevisiae* پس از ٤٨ ساعت، در دمای ۲۷ و ۳۲

درجه‌ی سانتی‌گراد بود. در نمونه‌های کپسول و کنترل تفاوت خاصی مشاهده نشد. با توجه به تغییرات دمایی رخ داده در زمان ارسال، بازگشت و به ویژه توقف محموله‌های فضایی در ایستگاه‌ها، وسیع‌الطیف بودن بیشتر دمای مطلوب رشد برای میکروارگانیسم‌های مفید، گزینه‌ی مثبتی برای کشت آن‌ها می‌باشد.

بررسی مقاومت به شرایط اسیدیته محیط

میکروارگانیسم‌ها در طیف خاصی از pH رشد می‌کنند که ناشی از سازگاری با محیط طبیعی آن‌هاست. برای مثال، باکتری‌های روده به دلیل شرایط روده، قادرند در طیف pH وسیعی باقی بمانند. طیف اختصاصی باکتری‌ها، ۹-٤ و pH اپتیمم ۵/۷ – ۵/٦ می‌باشد. قارچ‌ها، کپک‌ها و مخمرها محیط اسیدی pH اپتیمم ٦-٤ را ترجیح می‌دهند.

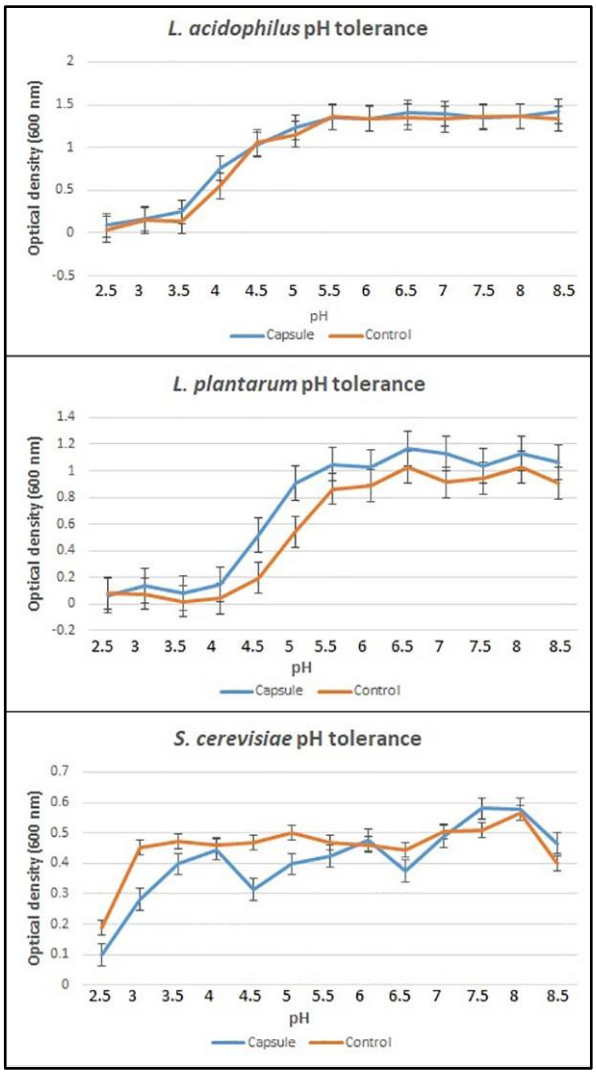
زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها نه تنها در طول زمان ملندگاری غذا بلکه در حین عبور از اسید معده، آنزیم‌ها و نمک‌های قلیایی صفراوی اهمیت دارد. میزان رشد سه میکروارگانیسم در ۱۳ مورد pH مختلف به شرح شکل بود. نتایج نشان دادند که تنش پرتاب تأثیر چندانی در رشد میکروارگانیسم‌ها در pHهای مختلف نداشته و رشد نمونه‌های کپسول و کنترل در تمام pH ها تقریباً یکی بود.

بررسی رشد باکتری در غلظت‌های مختلف نمک

با توجه به نگهداری برخی باکتریی‌های پروبیوتیک در محلول‌های نمکی از جمله دوغ، قدرت رشد و بقای آن‌ها در غلظت‌های مختلف نمک حائز اهمیت می‌باشد. غلظت بالای نمک، منجر به تخریب غشا سلولی و غیر فعال شدن آنزیم‌ها می‌شود که می‌تواند برای میکروارگانیسم‌ها کشنده باشد (۱۸). میزان رشد سه میکروارگانیسم در غلظت‌های ۱۰-۱ درصد نمک NaCl در محیط کشت، به شرح شکل ٦ بود.

افزایش غلظت نمک از طریق افزایش فشار اسمزی اثر منفی بر فعالیت میکروارگانیسم‌ها می‌گذارد یا در رشد آن‌ها تأخیر می‌اندازد. تحمل نمک در هر دو گونه لاکتوباسیل، در نمونه‌های کپسول بیشتر از کنترل‌های زمینی بود و این تفاوت در مورد *L. plantarum* کاملاً محسوس و معنی‌دار بود.

در مورد *S. cerevisiae*، تفاوت خاصی مشاهده نشد. *S. cerevisiae* در برابر استرس اسمزی از طریق تجمع املاح درون سلولی مقاومت می‌کند. همچنین در برابر اختلالات مکانیکی با خاصیت ارتجاع دیواره‌ی سلولی، با سازماندهی غشای پلاسمایی جانبی و غلظت بالای ارگوسترول در غشای پلاسمایی مقاومت نموده و توانایی خود را برای تغییر شکل بدون تشکیل وزیکول و لیز شدن افزایش می‌دهد (۱٤، ۱۹). تنش‌ها می‌تواند بر پاسخ‌های سلولی-مولکولی و عملکرد میکروارگانیسم‌ها، مانند رشد، بیان ژن، مورفولوژی، تکامل سلول، بیماری‌زایی، مقاومت دارویی، تشکیل بیوفیلم، متابولیسم ثانویه و جهش‌هایی برای سازگاری با شرایط محیط تأثیر بگذارند (۱٤، ۱۹).

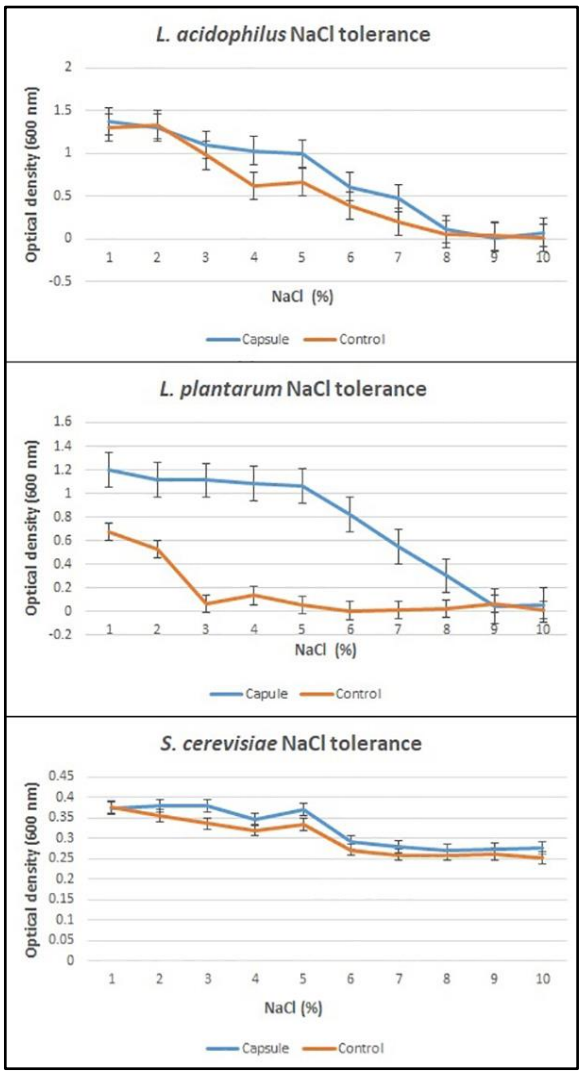


شکل ۵. نتایج تحمل میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک به pH

در زمینه‌ی تأثیر شرایط پرتاب فضایی بر ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیکی پروبیوتیک‌هامستندات محدود می‌باشد. Sakai و همکاران، باکتری پروبیوتیک *L. casei* سویه Shirota را به صورت کپسول منجمد خشک شده، به مدت یک ماه در ایستگاه بین المللی فضایی نگهداری نمودند. ٦ ماه پس از انتقال به زمین، در ویژگی‌های رشدی، ژنتیکی و فیزیولوژیکی تغییری مشاهده نشد. نتایج حاصله حاکی از کارآیی این باکتری پروبیوتیک در مسافرت‌های طولانی‌مدت فضایی به منظور حفظ سلامت فضانوردان بود (۸).

همچنین Shao و همکاران، تأثیر بی‌وزنی شبیه‌سازی شده را بر *L. acidophilus* مطالعه و نشان دادند، بی‌وزنی تأثیری بر مورفولوژی

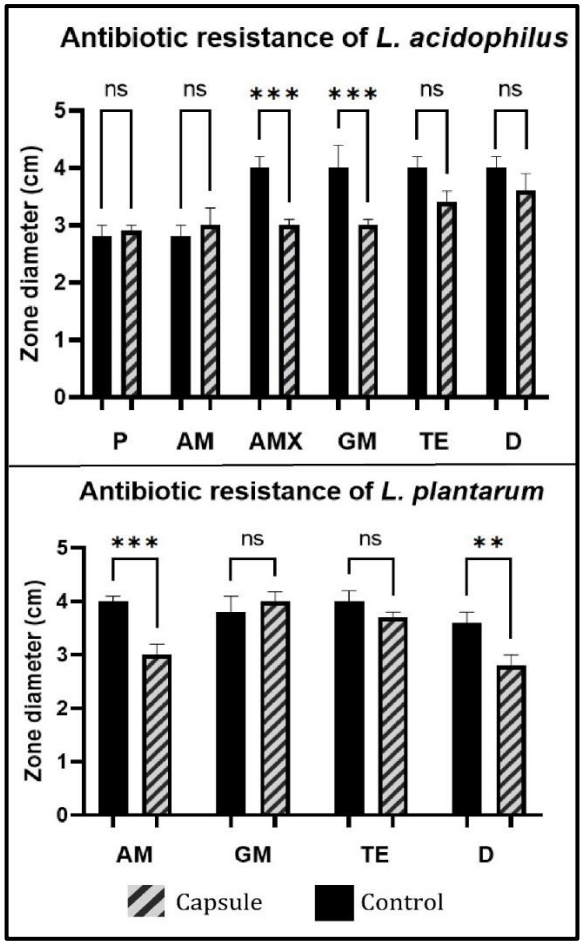
باکتری نداشـــت اما به طور قابل توجهی فاز تأخیر را کوتاه و توانایی تحمل اســـیدیته را تا pH <۲/۵ افزایش داد (۲۰). نتایج دو مطالعه‌ی فوق‌الذکر با نتایج مطالعه‌ی حاضر مشابه بود و حاکی از حفظ خواص و کاربرد میکروارگانیسم پروبیوتیک در سفرهای فضایی بودند.



شکل ٦. نتایج تحمل میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک به نمک NaCl

تغییر مقاومت آنتی‌بیوتیکی

قرارگیری میکروارگانیســـم‌ها در معرض ریزجاذبه فضـــا و یا شبیه‌سازهای زمینی، بر عملکرد و ریخت‌شناسی و حتی بیماری‌زایی و مقاومت به تنش‌های محیطی و آنتی‌بیوتیک‌ها اثر دارد (۱۰). نتایج بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پژوهش حاضر در شکل ۷ نشان داده شـــده اســـت. از میان ۱۵ آنتی‌بیوتیک، تنها مواردی که تفاوت در مقاومت‌انتی‌بیوتیکی داشـــتند در نمودارها آمده‌اند. آنالیز آماری از نظر سطح معنی‌داری با T-test نشان داد، تنها تفاوت‌های معنی‌دار، مربوط به افزایش مقاومت *L. acidophilus* نســـبت به جنتامایســـین و آموکســـی‌ســـیلین و همچنین *L. plantarum* نسبت به آمپی‌ســـیلین و داکســـی‌ســـیکلین بوده اســـت. در مورد *S. cerevisiae* نیز هیچ‌گونه تغییری در قطر هاله‌های اطراف دیســـک‌های آنتی‌بیوتیکی وس از بی‌وزنی مشاهده نشد (نتایج نشان داده نشده‌اند).



شکل ۷. نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک.

Penicillin (P)، ceftazidime (CAZ)، Ampicillin (AM)، Cefixime (CFM)، Amoxicillin (AMX)، Gentamicin (GM)، Nalidixic acid (NA)، Tetracycline (TE)، Chloramphenicol (C)، Erythromycin (E)، Azitromycin (AZM) ، Cefotaxime (CTC)، Cefalexin (CN)، Doxycycline (D) و Ceftriaxone (CRO)

(بدون معنی: ns، ۰/۰۰۱ > P***، ۰/۰۵ > P **)

دلایل مختلف افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در فضـــا می‌تواند برهمکنش‌های بین عوامل اســـترس‌زا (تابش فضـــایی و ریزجاذبه)، کاهش تولید پلی‌ســـاکاریدهای خارج ســـلولی، تشـــکیل بیشـــتر بیوفیلم، کـــاهش انـــدازه و افزایش تعـــداد ســـلول باشـــنـــد. همچنین کـــاهش رسوب‌گذاری و افزایش شناوری می‌تواند بر تغییر نحوه‌ی جذب مواد مغذی یا داروها توسط باکتری‌ها اثر بگذارد (۱۰).

Mora و همکاران، پتانسیل ۱۹ باکتری را برای زنده‌مانی در برابر شوک حرارتی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی مطالعه و نشان دادند که بر خلاف *Micrococcus yunnanensis* بقیه‌ی میکرب‌ها مقاومت آنتی‌بیوتیکی داشتند. *Paenibacillus campinasensis* بیشترین مقاومت را (۸ آنتی‌بیوتیک از ۱۷ مورد) نشان داد (۲۱).

Taylor نشان داد *Staphylococcus aureus* در بی‌وزنی شبیه‌سازی شده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مواردی به دو برابر رسید (۲۲). در مقوله‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بی‌وزنی مطالعات بر روی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک اندک می‌باشد. Shao و همکاران در بی‌وزنی شبیه‌سازی شده نشان داد که *L. acidophilus* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفالکسین، سدیم پنی‌سیلین و سولفور جنتامایسین مقاوم‌تر شده اما نسبت به کلرامفنیکل تغییری ننموده است (۲۰). نتایج این پژوهش با گزارش Shao و همکاران در مورد پنی‌سیلین و کلرامفنیکل مشابه اما در مورد سولفور جنتامایسین مغایر بود. تفاوت‌ها می‌تواند به دلیل تفاوت زمان اعمال بی‌وزنی و نوع آن (شبیه‌سازی شده و واقعی) باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

تنش پرتاب، بقای میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک مورد مطالعه را تهدید ننموده و حتی سرعت رشد را افزایش داد. برخی از ویژگی‌های رشدی مورد مطالعه نیز حفظ گردیده‌اند. در مطالعات آینده، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تغییرات ژنومیکس و پروتئومیکس این میکروارگانیسم‌ها لازم الاجرا می‌باشد. به طور کلی، نتایج منتج از این گونه مطالعات علاوه بر کاربرد در مسافرت‌های فضایی، می‌تواند بر بهبود کیفیت زندگی انسان بر روی زمین و سلامت آن نیز مؤثر باشد. از آنجا که بدن فضانوردان به دلیل تنش‌های وارد شده در شرایط پرتاب و فرود و در حین انجام مأموریت، دچار تغییر در میکروبیوتای روده می‌شود. پروبیوتیک‌ها در شرایط بی‌وزنی مقاومتر شده با زنده‌مانی مناسب عرصه را برای رشد بیماری‌زاها تنگ می‌کنند. استفاده از آن‌ها به عنوان یک مکمل غذایی یا به عنوان افزودنی به غذا در طول پرواز فضایی مفید است.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۴۳۰۰۶۶۴۹ می‌باشد که طی یک تفاهم‌نامه بین پژوهشگاه هوافضا و انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، تصویب گردید و با حمایت مالی هر دو سازمان به انجام رسیده است. بدین‌وسیله از زحمات کادر معاونت تحقیقات انستیتو، پژوهشگاه هوافضا و دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1. Iwase S, Nishimura N, Tanaka K, Mano T. Effects of microgravity on human physiology. Beyond LEO-Human Health Issues for Deep Space Exploration. 2020. Available from: https://www.intechopen.com/chapters/70679
2. Winkler LH. Human physiological limitations to long-term spaceflight and living in space. Aerosp Med Hum Perform 2023; 94(6): 444-56.
3. Bharindwal S, Goswami N, Jha P, Pandey S, Jobby R. Prospective use of probiotics to maintain astronaut health during spaceflight. Life (Basel) 2023; 13(3): 727.
4. Voorhies AA, Mark Ott C, Mehta S, Pierson DL , Crucian BE, Feiveson A, et al. Study of the impact of long-duration space missions at the International Space Station on the astronaut microbiome. Sci Rep 2019; 9(1): 9911.
5. Tesei D, Jewczynko A, Lynch AM, Urbaniak C. Understanding the complexities and changes of the astronaut microbiome for successful long-duration space missions. Life (Basel) 2022; 12(4): 495.
6. Tozzo P, Delicati A, Caenazzo L. Skin microbial changes during space flights: A systematic review. Life (Basel) 2022; 12(10): 1498.
7. Basirun C ,Ferlazzo ML, Howell NR, Liu G-J, Middleton RJ, Martinac B, et al. Microgravity× radiation: a space mechanobiology approach toward cardiovascular function and disease. Front Cell Dev Biol 2021; 9: 750775.
8. Sakai T, Moteki Y, Takahashi T, Shida K, Kiwaki M, Shimakawa Y, et al. Probiotics into outer space: feasibility assessments of encapsulated freeze-dried probiotics during 1 month's storage on the International Space Station. Sci Rep 2018; 8(1): 10687.
9. Ulluwishewa D ,Anderson RC, McNabb WC, Moughan PJ, Wells JM, Roy NC. Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components. J Nutr 2011; 141(5): 769-76.
10. Salavatifar M, Ahmadi SM, Todorov SD, Khosravi-Darani K, Tripathy A. Impact of Microgravity on virulence, antibiotic resistance and gene expression in beneficial and pathogenic microorganisms. Mini Rev Med Chem 2023; 23(16): 1608-22.
11. Salavatifar M, Khosravi-Darani K. Investigation of the simulated microgravity impact on heavy metal biosorption by Saccharomyces cerevisiae. Food Science & Nutrition 2024; 12(5): 3642-52.
12. Afsharian Z, Salavatifar M, Khosravi_Darani K. Impact of simulated microgravity on bioremoval of heavy-metals by Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 from water. Heliyon 2022; 8(12): e12307.
13. Hoque M, Akter F, Hossain K, Rahman M, Billah M, Islam K. Isolation, identification and analysis of

probiotic properties of Lactobacillus spp. from selective regional yoghurts. World Journal of Dairy & Food Sciences 2010; 5(1): 39-46.
14. Huang B, Li D-G, Huang Y, Liu C-T. Effects of spaceflight and simulated microgravity on microbial growth and secondary metabolism. Military Med Res 2018; 5(1): 1-14.
15. van Mulders SE, Stassen C, Daenen L, Devreese B, Siewers V ,van Eijsden RGE, et al. The influence of microgravity on invasive growth in Saccharomyces cerevisiae. Astrobiology 2011; 11(1): 45-55.
16. Baker PW, Meyer ML, Leff LG. Escherichia coli growth under modeled reduced gravity. Microgravity Sci Technol 2004; 15(4): 39-44.
17. Kim W, Tengra FK, Shong J, Marchand N, Chan HK, Young Z, et al. Effect of spaceflight on Pseudomonas aeruginosa final cell density is modulated by nutrient and oxygen availability. BMC Microbiol 2013; 13: 241.
18. Dzairi FZ, Zeroual Y, Moutaouakkil A, Taoufik J, Talbi M, Loutfi M, et al. Bacterial volatilization of mercury by immobilized bacteria in fixed and fluidized bed bioreactors. Annals of Microbiology 2004; 54(4): 353-64.
19. Senatore G, Mastroleo F, Leys N, Mauriello G. Effect of microgravity & space radiation on microbes. Future Microbiol 2018; 13: 831-47.
20. Shao D, Yao L, Riaz MS, Zhu J, Shi J, Jin M, et al. Simulated microgravity affects some biological characteristics of Lactobacillus acidophilus. Appl Microbiol Biotechnol 2017; 101(8): 3439-49.
21. Mora M, Perras A, Alekhova TA, Wink L, Krause R, Aleksandrova A, et al. Resilient microorganisms in dust samples of the International Space Station—survival of the adaptation specialists. Microbiome 2016; 4(1): 65.
22. Taylor PW. Impact of space flight on bacterial virulence and antibiotic susceptibility. Infect Drug Resist 2015; 8: 249-62.

DOI: *10.48305/jims.v42.i794.1077*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 42, No. 794, 2nd Week, February 2025**

Received: 01.06.2024 Accepted: 25.01.2025 Published: 03.02.2025

Investigating the Effect of Suborbital Launch Conditions of the Biological Capsule on Probiotic Microorganisms

Maryam Salavatifar [1], Kianoush Khosravi-Darani[2]

Original Article

Abstract

Background: According to the reports about the increasing antibiotic resistance and resistance to environmental stresses of microbes in outer space. This research investigates the potential effects of space conditions on the growth rate, survival, and stress resistance of probiotic bacteria native to Iran.

Methods: Probiotics of *Lactobacillus (L.)* acidophilus, *Lactiplantibacillus (L.) plantarum*, and Saccharomyces *(S.) cerevisiae* were launched and recovered in Iran's newest biological capsule named Kavos at a height of 1300 km from the sea level. Growth of microorganisms and resistance to osmotic, acid, and temperature shock, as well as antibiotic resistance, were measured and compared with controls.

Findings: The results showed that the launch stress increased the growth rate and decreased the lag phase duration in lactobacilli. The optimum growth temperature and tolerance against acid shock did not change in probiotics before and after launch. The osmotic shock tolerance in *L. plantarum* increased significantly in the samples after the launch, but in *L. acidophilus* and the yeast did not change. Except for the increase in *L. acidophilus* resistance to gentamicin and amoxicillin and *L. plantarum* to ampicillin and doxycycline in launch samples, no change was observed in other antibiotics.

Conclusion: The results showed that the probiotic strains are fast-growing and resistant to environmental. Therefore, probiotics consumption can be necessary several times more to maintain the health of space travelers than life on Earth. These probiotics are also recommended to improve the quality of human life on Earth.

Keywords: Probiotics; Microorganism; Weightlessness; Survival

Citation: Salavatifar M, Khosravi-Darani K. **Investigating the Effect of Suborbital Launch Conditions of the Biological Capsule on Probiotic Microorganisms.** J Isfahan Med Sch 2025; 42(794): 1077-85.

1- Assistant Professor, Air and Space Physiology Research Group, Aerospace Research Institute, Ministry of Science, Research and Technology, Tehran, Iran
2- Professor, Research Department of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: Kianoush Khosravi-Darani, Professor, Research Department of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran; Email: kiankh@yahoo.com