

Ανταγωνισμός μικροχλωρίδας εμπορικού γιαουρτιού/κεφίρ έναντι δείκτη-βακτηρίου

Σκοπός της άσκησης

Η άσκηση στοχεύει να δείξει ότι οι μικροοργανισμοί που υπάρχουν σε εμπορικό γιαούρτι και κεφίρ μπορούν να εμφανίσουν *in vitro* ανασταλτική δράση έναντι ενός δείκτη-βακτηρίου, μέσω παραγωγής οργανικών οξέων, πτώσης του pH και ενδεχομένως αντιμικροβιακών μεταβολιτών όπως βακτηριοσίνες.

Σύντομη θεωρία

Το γιαούρτι περιέχει κυρίως καλλιέργειες όπως *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, ενώ προϊόντα που φέρουν ένδειξη «προβιοτικό» ή το κεφίρ μπορεί να περιέχουν και επιπλέον γαλακτικά βακτήρια ή/και ζύμες.

Η ανασταλτική δράση των γαλακτικών βακτηρίων αποδίδεται συχνά σε γαλακτικό και οξικό οξύ, μείωση pH, υπεροξειδίο του υδρογόνου και βακτηριοσίνες.

Η μέθοδος βασίζεται στη διάχυση αντιμικροβιακών ουσιών από ένα δίσκο μέσα στο άγαρ που έχει εμβολιαστεί ομοιόμορφα με το δείκτη-βακτήριο· όσο μεγαλύτερη η ζώνη αναστολής, τόσο εντονότερη η *in vitro* δράση.

Υλικά

- Πλάκες MRS agar.
- Υγρή καλλιέργεια *E. coli*.
- Πρότυπο 0,5 McFarland για ρύθμιση της θολερότητας του εναιωρήματος.[cite:148][cite:165]
- Αποστειρωμένο NaCl.
- Εμπορικό γιαούρτι.
- Εμπορικό κεφίρ.
- Διηθητικό χαρτί κομμένο σε μικρά δισκάκια ή αποστειρωμένα tips.
- Swab ή πιπέτα.
- Χάρακας.

Διαδικασία

1. Ετοιμάστε εναιώρημα *E. coli* και ρυθμίστε τη θολερότητά του περίπου στο 0,5 McFarland με οπτική σύγκριση. Αν είναι πολύ θολό, αραιώστε με NaCl· αν είναι πιο αραιό, προσθέστε λίγη ακόμη καλλιέργεια.

2. Με swab ή με 100–200 μL καλλιέργειας, απλώστε την *E. coli* σε όλη την επιφάνεια της πλάκας MRS agar σε 2–3 κατευθύνσεις ώστε να απλωθεί ομοιόμορφα.
3. Αφήστε την πλάκα 5–10 λεπτά ώστε να απορροφηθεί η υγρασία από την επιφάνεια.
4. Σε αποστειρωμένο σωληνάριο βάλτε μικρή ποσότητα γιαουρτιού και προσθέστε λίγο NaCl για να γίνει πιο ρευστό. Κάντε το ίδιο και για το κεφίρ.
5. Βρέχετε ένα δισκάκι με το εναιώρημα γιαουρτιού και τοποθετήστε το προσεκτικά πάνω στην πλάκα. Επαναλάβετε με νέο δισκάκι για το κεφίρ.
6. Τοποθετήστε τα δείγματα σε απόσταση μεταξύ τους ώστε να μπορούν να διακριθούν οι ζώνες αναστολής.
8. Επώαστε τις πλάκες ανεστραμμένες στους 35–37°C για 18–24 ώρες.

Παρατήρηση και καταγραφή

- Μετά την επώαση, εξετάστε αν γύρω από το γιαούρτι ή το κεφίρ υπάρχει καθαρή ζώνη χωρίς ανάπτυξη της *E. coli*.
- Μετρήστε τη διάμετρο της ζώνης αναστολής με χάρακα σε mm.
- Συγκρίνετε τα αποτελέσματα μεταξύ γιαουρτιού και κεφίρ.

Τι δείχνει το αποτέλεσμα

- Μεγαλύτερη ζώνη αναστολής σημαίνει ισχυρότερη in vitro ανασταλτική δράση απέναντι στην *E. coli*.
- Η αναστολή μπορεί να οφείλεται σε οργανικά οξέα, χαμηλό pH ή άλλους αντιμικροβιακούς μεταβολίτες της μικροχλωρίδας του προϊόντος.