

خواص ضد میکروبی ایزوله‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس پاراکازئی جدا شده از عسل علیه استافیلوکوکوس اورئوس

الهه لشنی (MSc)^۱، ابوالفضل داودآبادی (PhD)^۲، محمد مهدی سلطان دلال (PhD)^{۳*}

۱- دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۳- مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، بخش میکروب شناسی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

دریافت: ۹۶/۷/۱، اصلاح: ۹۶/۱۰/۳، پذیرش: ۹۶/۱۰/۱۷

خلاصه

سابقه و هدف: لاکتوباسیلوس‌ها باسیل‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی بوده و در انواع غذاهای تخمیری مانند عسل همچنین به عنوان فلور نرمال انسان یافت می‌شوند. هدف از این مطالعه شناسایی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس پاراکازئی در نمونه‌های عسل ایران و بررسی خواص پروبیوتیکی و ضد میکروبی آن‌ها بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مقطعی طی به مدت شش ماه از فروردین لغایت شهریور ۱۳۹۵ بر روی ۸۸ نمونه عسل که از ۱۳ استان کشور تهیه شد، انجام گردید. نمونه‌ها ابتدا در محیط MRS براث و سپس بر روی MRS آگار کشت داده شدند. جهت تشخیص گونه ایزوله‌های لاکتوباسیلوس از توالی‌یابی ژن 16S rDNA استفاده شد. سپس توان پروبیوتیکی (مقاومت به اسید و صفرا) ایزوله‌ها سنجیده شد. فعالیت ضد میکروبی ایزوله‌های لاکتوباسیلوس با روش انتشار از چاهک و مقاومت آنتی‌بیوتیکی با روش انتشار از دیسک بررسی شد.

یافته‌ها: از ۸۸ نمونه عسل در کل ۳۹ ایزوله لاکتوباسیلوس جداسازی شدند که از این تعداد چهار ایزوله *ل. پلانتاروم* و دو ایزوله *ل. پاراکازئی* با روش مولکولی شناسایی شدند. هر شش ایزوله شرایط اسیدی را تحمل کردند اما نسبت به صفرا حساسیت نشان دادند. پنج ایزوله رشد استافیلوکوکوس اورئوس را مهار کردند. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های لاکتوباسیلوس نسبت به ونکومايسين (۱۰۰٪)، نالیدیکسیک اسید (۱۰۰٪) و استرپتومایسین (۱۰۰٪) دیده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه نشان داد که نمونه‌های عسل ایران دارای گونه‌های لاکتوباسیلوس از جمله *ل. پلانتاروم* و *ل. پاراکازئی* می‌باشد. که این گونه‌ها می‌توانند اثرات مهاری خوبی بر روی باکتری‌های پاتوژن مانند استافیلوکوکوس اورئوس دارند.

واژه‌های کلیدی: لاکتوباسیلوس، عسل، پروبیوتیک، استافیلوکوکوس اورئوس.

مقدمه

لاکتوباسیلوس‌ها باسیل‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی بوده و در انواع غذاهای تخمیری مانند عسل همچنین به عنوان فلور نرمال انسان یافت می‌شوند (۱-۳). عسل حاوی گلوکز، فروکتوز، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها و مواد معدنی است که محیط مناسبی برای رشد باکتری‌های سودمند مانند لاکتوباسیلوس‌ها را فراهم می‌سازد (۴و۵). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای می‌باشند که در صورت مصرف به میزان کافی، اثرات سلامت‌بخشی را در میزبان موجب می‌شوند (۶و۷). پروبیوتیک‌ها قادرند از طریق مهار میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، نقش پیشگیری کننده و درمانی بر انواع عفونت‌ها داشته باشند (۸-۱۰). انواع گونه‌های لاکتوباسیلوس مانند *ل. پلانتاروم* و *ل. پاراکازئی*، بیفیدوباکتریوم، استرپتوکوکوس، مخمرها و کپک‌ها به عنوان پروبیوتیک تجاری استفاده می‌شوند (۱۱). استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل اصلی عفونت‌های منتقله از طریق غذا و

طیف وسیعی از عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد. متأسفانه درمان عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس به دلیل افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، روز به روز مشکل‌تر می‌شود (۱۴-۱۲). به همین دلیل دانشمندان در تلاش هستند که روش‌های درمانی جدید مانند استفاده از پروبیوتیک‌ها برای عفونت‌های این پاتوژن بیابند (۱۵). Aween و همکاران نشان دادند که ایزوله‌های *ل. اسیدوفیلوس* جدا شده از عسل رشد استافیلوکوکوس اورئوس را مهار می‌کنند (۱۶). Tajabadi و همکاران در مالزی توانستند از عسل گونه‌های *ل. پلانتاروم*، *ل. فرمتوم* و *ل. پیتوزوس* را جداسازی نمایند (۱۷). تاکنون در ایران مطالعه‌ای مبنی بر وجود لاکتوباسیلوس‌ها در عسل و بررسی خواص پروبیوتیکی و ضد میکروبی آن‌ها انجام نشده است. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی وجود لاکتوباسیلوس‌ها در نمونه‌های عسل ایران و بررسی خواص پروبیوتیکی و اثر مهاری آن‌ها بر روی استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد.

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی تهران به شماره ۳۲۱۲۹ می‌باشد.

* مسئول مقاله: دکتر محمد مهدی سلطان دلال

آدرس: تهران، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی. تلفن: ۰۲۱-۸۸۹۹۲۹۷۱

E-mail: msoltandallal@gmail.com

مواد و روش‌ها

این مطالعه مقطعی طی مدت شش ماه از فروردین لغایت شهریور سال ۱۳۹۵ در گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل انجام شد. تعداد ۸۸ نمونه عسل طبیعی از ۱۳ استان کشور به طور مستقیم از زنبورداران تهیه شد. یک گرم از نمونه‌های عسل به محیط کشت MRS (Merck, Germany) برات (۱۸) جهت انجام تلقیح و به مدت سه تا هفت روز در جار شمع‌دار در دمای 30°C انکوبه شد. سپس کشت مجدد بر روی MRS آگار (Merck, Germany) انجام شد. پلیت MRS آگار به مدت دو الی پنج روز در جار شمع‌دار در دمای 30°C انکوبه شد. از هر نمونه عسل کشت مثبت، دو الی سه کلنی متفاوت بررسی و باسیل‌های گرم مثبت و کاتالاز منفی جدا شدند.

تشخیص ایزوله‌ها در سطح گونه با روش توالی‌یابی ژن 16S rDNA انجام گرفت. استخراج DNA با روش جوشاندن انجام شد (۱۸). جهت انجام PCR از جفت پرایمر 27F (5'-CTCGTTGCGGGACTTAA-3') و 1522R (5'-GCAGCAGTAGGGAATCTTC-3') استفاده شد و محصولات PCR توالی‌یابی و در NCBI بلاست شدند (۱۹ و ۲۰). برای بررسی توان پروبیوتیکی ایزوله‌های لاکتوباسیلوس (زنده‌ماندن در شرایط اسیدی)، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی 10^9 CFU/ml هر ایزوله را به ۹ میلی‌لیتر PBS دارای pH برابر ۳/۳، اضافه شد و تعداد باکتری‌های زنده مانده در زمان صفر و پس از ۳ ساعت انکوباسیون با کشت بر روی MRS آگار شمارش شد. ایزوله‌هایی که بعد از سه ساعت تعداد کلنی آنها کمتر از 10^6 CFU/ml نباشد، مقاوم به اسید محسوب می‌شوند (۲۱).

جهت بررسی مقاومت هر ایزوله لاکتوباسیلوس به صفرا دو لوله، یکی حاوی ۹ میلی‌لیتر MRS برات دارای ۰/۳٪ (W/V) صفرا (Oxgall, Sigma, Germany) و دیگری حاوی MRS برات بدون صفرا (کنترل) تهیه و به هر دو لوله ۹۰ میکرولیتر از کشت تازه ایزوله لاکتوباسیلوس اضافه شد. میزان رشد ایزوله‌ها در زمان صفر و ۸ ساعت بعد از انکوباسیون توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه گرفته شد (۲۲ و ۲۳). مقاومت ایزوله‌ها به صفرا با فرمول ضریب مهار (Cinh) محاسبه گردید. ایزوله‌های با ضریب مهار کمتر از ۰/۴، مقاوم به صفرا در نظر گرفته شوند (۲۴). فعالیت ضد میکروبی ایزوله‌های لاکتوباسیلوس با روش انتشار از چاهک بررسی شد. ابتدا سوسپانسیون با غلظت 10^7 CFU/mL از استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923 تهیه و بر روی نوترینت آگار دارای چاهک، کشت چمنی داده شد. مایع رویی ایزوله‌های لاکتوباسیلوس در محیط MRS برات با سانتریفیوژ ($13000 \times \text{RPM}$ ، ۱۰ دقیقه) جداسازی و ۱۰۰ میکرولیتر از آن به هر چاهک اضافه شد و پلیت‌ها به مدت ۱۴ تا ۱۵ ساعت در دمای 37°C انکوبه شدند. قطر هاله عدم رشد اطراف چاهک‌ها اندازه‌گیری و ایزوله‌های با قطر هاله عدم رشد $> 11 \text{ mm}$ به عنوان منفی، $11-16 \text{ mm}$ به عنوان مهارکننده متوسط (+)، $17-22 \text{ mm}$ به عنوان مهارکننده قوی (++) و $< 23 \text{ mm}$ به عنوان مهارکننده خیلی قوی (+++) تقسیم بندی شدند. از سویه کنترل مثبت ل. رامنوزوس GG نیز استفاده شد (۲۵). آزمایش‌ها دوبار تکرار شدند.

مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها با روش انتشار از دیسک بر روی پلیت مولر هیتون آگار (Merck, Germany) حاوی ۱۰٪ MRS برات بررسی شد. قطر هاله مهار دیسک‌ها طبق مطالعات قبلی اندازه‌گیری و تفسیر شد به طوری که

ایزوله‌ها به صورت مقاوم (≥ 15 میلی متر)، حساسیت متوسط (۲۰-۱۶ میلی متر) و حساس (ک 21 میلی متر) گزارش شدند (۲۶). از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سفوتاکسیم (۳۰ μg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ μg)، ونکومایسین (۳۰ μg)، کوتریموکسازول (۲۵ μg)، سیپروفلوکساسین (۵ μg)، استریتومایسین (۱۰ μg)، آمیکاسین (۳۰ μg)، جنتامایسین (۱۰ μg)، اریترومایسین (۱۵ μg)، تتراسایکلین (۳۰ μg) و آمپی سیلین (۱۰ μg) استفاده شد.

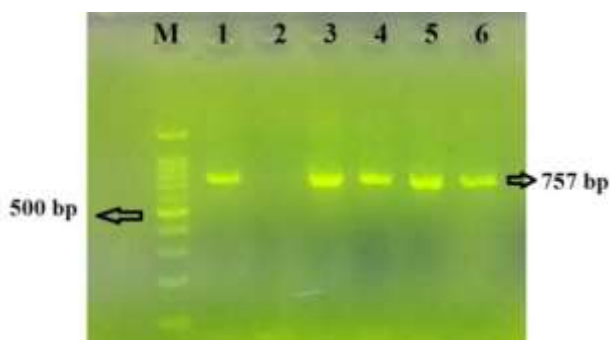
یافته‌ها

از بین ۸۸ نمونه عسل طبیعی، ۱۶ نمونه (۱۸/۱۸٪) از نظر کشت لاکتوباسیلوس مثبت بودند. بیشترین تعداد نمونه جمع‌آوری شده از استان مازندران سپس استان تهران بود اما میزان مثبت شدن کشت لاکتوباسیلوس در نمونه‌های استان تهران از استان مازندران بیشتر بود، به طوری که در استان مازندران از مجموع ۴۰ نمونه تنها ۸ نمونه (۲۰٪) و در استان تهران از مجموع ۲۵ نمونه، ۸ نمونه (۳۲٪) مثبت شدند. مابقی نمونه‌ها که متعلق به سایر استان‌ها بود، همگی از نظر کشت میکروبی منفی شدند. در کل ۳۹ ایزوله لاکتوباسیلوس با روش فنوتیپی و PCR در سطح جنس شناسایی شدند که از میان آنها ۶ ایزوله شامل چهار ایزوله ل. پلاتناروم و دو ایزوله ل. پاراکازنی با روش توالی‌یابی ژن 16S rDNA در سطح گونه شناسایی شدند (شکل ۱).

در تست مقاومت به اسید هر شش ایزوله شرایط اسیدی را تحمل نمودند و در تست مقاومت به صفرا، هر شش ایزوله ضریب مهار بالای ۰/۴ به دست آوردند و در گروه باکتری‌های حساس به صفرا قرار گرفتند (جدول ۱).

از بین شش ایزوله لاکتوباسیلوس مورد بررسی، ل. پلاتناروم H15 فاقد اثر مهارکنندگی بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس بود. ایزوله‌های ل. پلاتناروم H46، ل. پلاتناروم H47 و ل. پاراکازنی H14 اثر مهارکنندگی متوسط بر علیه این پاتوژن داشتند و ایزوله‌های ل. پاراکازنی H13 و ل. پلاتناروم H59 اثر مهارکنندگی قوی علیه استافیلوکوکوس اورئوس نشان دادند. اثر مهارکنندگی قوی این دو ایزوله مشابه ایزوله کنترل مثبت ل. رامنوزوس GG بود (جدول ۲).

بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به ونکومایسین (۱۰۰٪)، نالیدیکسیک اسید (۱۰۰٪)، استریتومایسین (۱۰۰٪)، کوتریموکسازول (۸۳/۳٪)، جنتامایسین (۸۳/۳٪)، آمیکاسین (۶۶/۶۶٪) و سیپروفلوکساسین (۶۶/۶۶٪) مشاهده شد.



شکل ۱. محصولات PCR ژن 16S rDNA لاکتوباسیلوس پلاتناروم و لاکتوباسیلوس پاراکازنی جدا شده از عسل، M: لدر ۱۰۰bp، چاهک ۱ و ۲: نمونه کنترل مثبت و منفی، چاهک ۳ الی ۶: ایزوله‌های لاکتوباسیلوس

جدول ۱. مقاومت ایزوله‌های لاکتوباسیلوس پلاتناروم و لاکتوباسیلوس پاراکازئی

جدا شده از عسل به اسید و صفرا				
ایزوله	کد	مقاومت به اسید h ₃	مقاومت به صفرا Cinh	
ل. پلاتناروم	H15	$5/7 \times 10^{-8}$	$5/4 \times 10^{-8}$	۰/۵۶
ل. پلاتناروم	H59	$6/3 \times 10^{-8}$	$6/4 \times 10^{-8}$	۰/۸۳
ل. پلاتناروم	H46	$8/1 \times 10^{-8}$	$8/3 \times 10^{-8}$	۰/۷۲
ل. پلاتناروم	H47	$2/2 \times 10^{-9}$	$2/1 \times 10^{-9}$	۰/۶۸
ل. پاراکازئی	H13	$1/8 \times 10^{-9}$	$1/8 \times 10^{-9}$	۰/۸۵
ل. پاراکازئی	H14	$6/7 \times 10^{-8}$	$6/8 \times 10^{-8}$	۰/۹۹

h0: تعداد باکتری شمارش شده در زمان صفر، h3: تعداد باکتری شمارش شده پس از ۳ ساعت

جدول ۲. فعالیت ضد میکروبی ایزوله‌های لاکتوباسیلوس پلاتناروم و لاکتوباسیلوس

پاراکازئی جدا شده از عسل علیه استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923

ایزوله	کد	استافیلوکوکوس اورئوس (میلی متر)
ل. پلاتناروم	H۱۵	۰(-)*
ل. پلاتناروم	H۵۹	۲۰(++)
ل. پلاتناروم	H۴۶	۱۴(+)
ل. پلاتناروم	H۴۷	۱۶(+)
ل. پاراکازئی	H۱۳	۱۸(++)
ل. پاراکازئی	H۱۴	۱۶(+)
ل. رامنوزوس	GG	۱۸(++)

* ایزوله‌های با قطر هاله عدم رشد $>11 \text{ mm}$ به عنوان منفی، $16-11 \text{ mm}$ مهارکننده متوسط (+)، $22-17 \text{ mm}$ مهارکننده قوی(++) و $<23 \text{ mm}$ مهارکننده خیلی قوی (+++) در نظر گرفته شدند.

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که ایزوله‌های ل. پلاتناروم و ل. پاراکازئی جدا شده از عسل می‌توانند رشد باکتری‌های بیمارزا مانند استافیلوکوکوس اورئوس را مهار نمایند. Aween و همکاران در کشور مالزی از ۱۳ نمونه عسل، ۳۲ ایزوله باکتری اسیدلاکتیک جدا نمودند که از بین آنها ۶ ایزوله ل. اسیدوفیلوس را از نظر اثر ضد میکروبی بر علیه پاتوژن‌های مختلف بررسی نمودند که بیشترین اثر مهاري بر روی استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شد (۱۶). Tajabadi و همکاران نیز در کشور مالزی از ۱۰ نمونه عسل تهیه شده از زنبور عسل، ۹۲ ایزوله لاکتوباسیلوس را از نظر فنوتیپی و مولکولی بررسی نمودند که غالب گونه‌ها

ل. پلاتناروم، ل. فرمنتوم و ل. پنتوزوس بود (۱۷). مطالعه حاضر مشابه دو مطالعه بالا توانست از نمونه‌های عسل ایزوله‌های لاکتوباسیلوس را جداسازی نماید. البته نوع گونه‌های لاکتوباسیلوس شناسایی شده متفاوت از مطالعه حاضر می‌باشد که می‌تواند نشان دهنده تنوع گونه‌های لاکتوباسیلوس در نمونه‌های عسل در مناطق مختلف جهان باشد. مشخص شده که گونه‌های ل. پاراکازئی، ل. رامنوزوس، ل. اسیدوفیلوس، ل. کازئی و ل. فرمنتوم ایزوله شده از منابعی مانند شیر بز، واژن انسان و غیره می‌توانند رشد استافیلوکوکوس اورئوس را مهار کنند (۲۹-۲۷ و ۱۴). در مطالعه حاضر، همه ایزوله‌ها نسبت به اسید مقاوم، اما به صفرا حساس بودند. در مطالعه Kelanne و همکاران در فنلاند، همه لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از عسل و میوه نسبت به اسید حساس اما نسبت به صفرا مقاوم بودند (۳۰).

به نظر می‌رسد که علت تفاوت بین مطالعه حاضر و مطالعه Kelanne زمان بررسی تست‌ها باشد. در مطالعه حاضر بعد از سه ساعت، اما در مطالعه Kelanne بعد از هفت روز مجاورت با اسید زنده‌مانی ایزوله‌ها مورد مطالعه قرار گرفت همچنین در مطالعه Kelanne زنده ماننی ایزوله‌ها بعد از سه ساعت مجاورت با صفرا اما در مطالعه حاضر بعد از ۸ ساعت بررسی شده است. ایزوله‌های لاکتوباسیلوس کاندید پروبیوتیک نباید دارای ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی قابل انتقال به سایر باکتری‌ها باشند. در مطالعه حاضر بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به ونکومایسین، نالیدیکسیک اسید و استرپتومایسین مشاهده شد. مطالعه Davoodabadi و همکاران در ایران نشان داد که لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از نمونه مدفوع مشابه مطالعه حاضر (۹۲/۵۹٪)، نسبت به ونکومایسین استرپتومایسین مقاومت دارند (۳۱). مشخص شده که لاکتوباسیلوس‌ها به طور ذاتی نسبت به ونکومایسین و آمینوگلیکوزیدها مقاومت دارند و این مقاومت کروموزومی غیرقابل انتقال بوده و از نظر ایمنی نگرانی ندارد (۳۳ و ۳۲).

مطالعه حاضر نشان داد که نمونه‌های عسل طبیعی ایران می‌تواند منبعی از لاکتوباسیلوس‌های بومی باشد و برخی از این ایزوله‌ها پتانسیل ضد میکروبی خوبی به خصوص بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس دارند و ممکن است به عنوان کاندید پروبیوتیک جهت پیشگیری و درمان عفونت‌های ناشی از این پاتوژن مفید باشند که نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تهران جهت حمایت مالی از این تحقیق و همچنین از گروه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل، آقای دکتر رجب‌نیا تشکر و قدردانی می‌گردد.

Antimicrobial Effects of Lactobacillus Plantarum and Lactobacillus Paracasei Isolated from Honey against Staphylococcus Aureus

E. Lashani (MSc)¹, A. Davoodabadi (PhD)², M.M. Soltan Dallal (PhD)^{3*}

1.Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

2.Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran

3.Food Microbiology Research Center, Department of Microbiology, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(3); Mar 2018; PP: 44-9

Received: Sep 23th 2017, Revised: Dec 24th 2017, Accepted: Jan 7th 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Lactobacilli are gram positive, catalase-negative, and found in a variety of fermented foods such as honey, as well as human normal flora. The aim of this study was to identify lactobacillus Plantarum and lactobacillus Paracasei in Iranian honey samples and to investigate the probiotic and antimicrobial properties of them against Staphylococcus aureus.

METHODS: This cross-sectional study investigated 88 honey samples from different areas in Iran at 6 months, from May to September, 2016. Samples were cultured in MRS broth and after were cultured on MRS agar. Sequencing of 16S rDNA gene was used to detect lactobacillus isolates. Then probiotic capacity (acid and bile resistance) of isolates was measured. Antimicrobial activity of lactobacillus isolates was investigated by diffusion method from wells and antibiotic resistance by disc diffusion method.

FINDINGS: From 88 honey samples, 39 Lactobacillus isolates were isolated, four L. plantarum and two L. paracasei were identified by molecular technique. Every six isolates tolerated acidity but were sensitive to bile salt. Five isolates inhibited the growth of S. aureus. The most antibiotic resistance of Lactobacillus strains was seen to vancomycin(100%), nalidixic acid(100%) and streptomycin(100%).

CONCLUSION: Iranian honey samples can be a source for different Lactobacillus species as L. plantarum and L. Paracasei which some of these species could have wonderful inhibitory effects against pathogen bacteria like S. aureus.

KEY WORDS: Lactobacillus, Honey, Probiotics, Staphylococcus Aureus.

Please cite this article as follows:

Lashani E, Davoodabadi A, Soltan Dallal MM. Antimicrobial Effects of Lactobacillus Plantarum and Lactobacillus Paracasei Isolated from Honey against Staphylococcus Aureus. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(3):44-9.

*Corresponding Author; M.M. Soltan Dallal (PhD)

Address: Food Microbiology Research Center, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R Iran

Tel: +98 21 88992971

E-mail: msoltandallal@gmail.com

References

1. Paul DV, George MG, Dorothy J, Noel RK, Wolfgang L, Fred AR. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd ed. Springer-Verlag, New York; 2009. P. 465-511.
2. Sonomoto K, Yokota A. Lactic acid bacteria and bifidobacteria: current progress in advanced research. *Horizon Scientific*. 2011. P. 68-80. Available From: <https://www.caister.com/lactic-acid-bacteria>
3. Holt JG, Krieg NR, Sneath PH, Staley JT, Williams ST. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Baltimore: Williams and Wilkins; 1994. P. 121-30.
4. Nakano S, Noguchi T, Takekoshi H, Suzuki G, Nakano M. Maternal-fetal distribution and transfer of dioxins in pregnant women in Japan, and attempts to reduce maternal transfer with *Chlorella* (*Chlorella pyrenoidosa*) supplements. *Chemosphere*. 2005;61(9):1244-55.
5. Khismatullina N. Apitherapy: Guidelines for more effective use: Mobile; 2005. Available From: <https://books.google.com/books/about/Apitherapy.html?id=77RFMwEACAAJ>.
6. Wright AL, Bauer M, Naylor A, Sutcliffe E, Clark L. Increasing breastfeeding rates to reduce infant illness at the community level. *Pediatrics*. 1998;101(5):837-44.
7. Araya M, Morelli L, Reid G, et al. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. [ftp fao org/es/esn/food/wgreport2 pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf) (pp 1e11). 2002.
8. Kaur IP, Chopra A, Chopra K. Probiotics in paediatric disorders. *Int J Pharma Med*. 2006;20(1):37-48.
9. Blaut M. Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora. *Eur J Nutr*. 2002;41(1):11-6.
10. Fuller R. Probiotics in human medicine. *Gut*. 1991;32(4):439-42.
11. Kopp-Hoolihan L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. *J Am Diet Assoc*. 2001;101(2):229-38.
12. Jamali H, Paydar M, Radmehr B, Ismail S, Dadrasnia A. Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. *Food Control*. 2015;54:383-8.
13. Roussel S, Felix B, Vingadassalon N, Grout J, Hennekinne JA, Guillier L, et al. *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France: comparison of different molecular typing methods, including MLVA. *Front Microbiol*. 2015;6:882.
14. Karska-Wysocki B, Bazo M, Smoragiewicz W. Antibacterial activity of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Microbiol Res*. 2010;165(8):674-86.
15. Gan BS, Kim J, Reid G, Cadieux P, Howard JC. *Lactobacillus fermentum* RC-14 inhibits *Staphylococcus aureus* infection of surgical implants in rats. *J Infect Dis*. 2002;185(9):1369-72.
16. Aween MM, Hassan Z, Muhialdin BJ, Eljamel YA, Al-Mabrok ASW, Lani MN. Antibacterial activity of *Lactobacillus acidophilus* strains isolated from honey marketed in Malaysia against selected multiple antibiotic resistant (mar) gram-positive bacteria. *J Food Sci*. 2012;77(7):364-71.
17. Tajabadi N, Mardan M, Saari N, Mustafa S, Bahreini R, Manap MYA. Identification of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus fermentum* from honey stomach of honeybee. *Braz J Microbiol*. 2013;44(3):717-22.
18. Antonsson M, Molin G, Ardö Y. *Lactobacillus* strains isolated from Danbo cheese as adjunct cultures in a cheese model system. *Int J Food Microbiol*. 2003;85(1):159-69.
19. Yun JH, Lee KB, Sung YK, Kim EB, Lee H-G, Choi YJ. Isolation and characterization of potential probiotic *Lactobacilli* from pig feces. *J Basic Microbiol*. 2009;49(2):220-6.
20. Hilmi HTA, Surakka A, Apajalahti J, Saris PEJ. Identification of the most abundant *Lactobacillus* species in the crop of 1-and 5-week-old broiler chickens. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73(24):7867-73.
21. Tsai C-C, Lin P-P, Hsieh Y-M. Three *Lactobacillus* strains from healthy infant stool inhibit enterotoxigenic *Escherichia coli* grown in vitro. *Anaerobe*. 2008;14(2):61-7.
22. Gilliland SE, Walker DK. Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. *J Dairy Sci*. 1990;73(4):905-11.

23. Belviso S, Giordano M, Dolci P, Zeppa G. In vitro cholesterol-lowering activity of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus paracasei* strains isolated from the Italian Castelmagno PDO cheese. *J Dairy Sci Tech.* 2009;89(2):169-76.
24. Gopal PK, Prasad J, Smart J, Gill HS. In vitro adherence properties of *Lactobacillus rhamnosus* DR20 and *Bifidobacterium lactis* DR10 strains and their antagonistic activity against an enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Int J Food Microbiol.* 2001;67(3):207-16.
25. Rammelsberg M, Radler F. Antibacterial polypeptides of *Lactobacillus* species. *J Appl Microbiol.* 1990;69(2):177-84.
26. Hashemi SMB, Shahidi F, Mortazavi SA, Milani E, Eshaghi Z. Potentially probiotic *Lactobacillus* strains from traditional Kurdish cheese. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2014;6(1):22-31.
27. Ocaña VS, Pesce de Ruiz Holgado AA, Nader-Macías ME. Growth inhibition of *Staphylococcus aureus* by H₂O₂-producing *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* isolated from the human vagina. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1999;23(2):87-92.
28. Anas M, Eddine HJ, Mebrouk K. Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species isolated from Algerian raw goat's milk against *Staphylococcus aureus*. *World J Dairy Food Sci.* 2008;3(2):39-49.
29. Gilliland S, Speck M. Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and foodborne pathogens in associative cultures. *J Food Prot.* 1977;40(12):820-3.
30. Kelanne N. Applicability of fructophilic lactic acid bacteria in food industry. 2012:55-100.
31. Davoodabadi A, Dallal MMS, Foroushani AR, Douraghi M, Harati FA. Antibacterial activity of *Lactobacillus* spp. isolated from the feces of healthy infants against enteropathogenic bacteria. *Anaerobe.* 2015;34:53-8.
32. Tomás MSJ, Duhart CIS, De Gregorio PR, Pingitore EV, Nader-Macías ME. Urogenital pathogen inhibition and compatibility between vaginal *Lactobacillus* strains to be considered as probiotic candidates. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;159(2):399-406.
33. Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Mättö J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotechnol.* 2000;84(3):197-215.