

خواص ضد میکروبی ایزو لههای لاکتوباسیلوس پلاتاروم و لاکتوباسیلوس پاراکاژئی جدا شده از عسل علیه استافیلکوکوس اورئوس

*^۱اللهه لشني (MSc)، ابوالفضل داودآبادی (PhD)^۲، محمد مهدی سلطان دلال

- ۱-دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲-مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمیبری، 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: ۱۷/۷/۹۶، اصلاح: ۳/۱۰/۹۶، پذیرش: ۱۷/۱۰/۹۶

خلاصة

ساقه و هدف: لاکتوباسیلوس‌ها با سلسله مثبت، کاتالاز منفی بوده و در انواع غذایی تخمیری مانند عسل همچنین به عنوان فلور نرمآل انسان یافت می‌شوند. هدف از این مطالعه شناسایی لاکتوباسیلوس پلاستروم و لاکتوباسیلوس پاراکائزی در نمونه‌های عسل ایران و بررسی خواص پروپیوتیکی و ضدمیکروبی آن‌ها بر علیه استافیلکوکوس 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 براحت و سپس بر روی MRS آگار کشت داده شدند. جهت تشخیص گونه ایزوله‌های لاکتوپاسیلوس از توالی یالی ژن rDNA ۱۶S استفاده شد. سپس توان پروپویوتیکی (مقاآمت به اسید و صفر) ایزوله‌ها سنجیده شد. فعالیت ضدمیکروبی ایزوله‌های لاکتوپاسیلوس با روش انتشار از چاهک و مقاآمت آنتی‌بیوتیکی با روش انتشار از دیسک بررسی شد.

یافته ها: از ۸۸ نمونه عسل در کل ۳۹ ایزوله لاکتوباسیلوس جاذب‌سازی شدند که از این تعداد چهار ایزوله ل. پالاتاروم و دو ایزوله L. باراکرئی با روش مولکولی شناسایی شدند. هر شش ایزوله شرایط اسیدی را تحمل کردند اما نسبت به صفر حساسیت نشان دادند. پنج ایزوله رشد استافیلکوکوس اورئوس را مهار کردند. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های لاکتوباسیلوس نسبت به نکوماگیسین (100%)، نالیدیکسیک اسید (100%) و استرپتومایسین (100%) دیده شد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که نمونه های عسل ایران دارای گونه های لاکتوباسیلوس از جمله L، پلاتاروم و L، پاراکارٹی می باشد. که این گونه ها می توانند اثرات مولکولی، خود را در بakteری ها، باقی نمایند. مانند استافیلوکوکوس امپئوس دانند.

مقدمه

لакتوباسیلوس‌ها با سیل‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی بوده و در انواع غذایی تخمیری مانند عسل همچنین به عنوان فلور نرمال انسان یافت می‌شوند (۱-۳) عسل حاوی گلکوز، فروکتوز، ویتابین‌ها، آنزیمهای و مواد معدنی است که محیط مناسبی برای رشد باکتری‌های سودمند مانند لакتوباسیلوس‌ها را فراهم می‌سازد (۴ و ۵). پروپویوتیک‌ها میکرووارگانیسم‌های زنده‌ای می‌باشند که در صورت مصرف به میزان کافی، اثرات سلامت‌بخشی را در میزان موجب می‌شوند (۶ و ۷) پروپویوتیک‌ها قادرند از طریق مهار میکرووارگانیسم‌های بیماریزا، نقش پیشگیری کننده و درمانی بر انواع عفونت‌ها داشته باشند (۸-۱۰). انواع گونه‌های لакتوباسیلوس مانند L. пантерوم و L. پاراکارائی، بیفیدوپاکتریوم، استرپتوکوکوس مخمرها و کپک‌ها به عنوان پروپویوتیک تجارتی استفاده می‌شوند (۱۱) سنتافیلکوکوس ارتوس یکی از عوامل اصلی عفونت‌های منتقله از طریق غذا و

□ این مقاله حاصل پژوهش از طرح تحقیقاتی مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم زیستی، تهران به شماره ۳۲۱۲۹ می باشد.

* مسئوٰ، مقالہ: دکتر محمد مهدی سلطان، دلائی

E-mail: msoltandallal@gmail.com

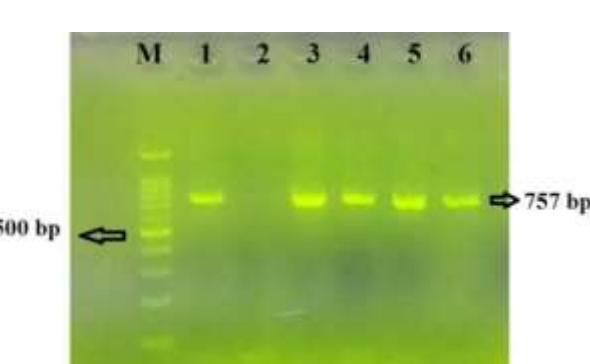
سیلوان مدنی دفتر اسناد همیشگی سازمان آذربایجان غربی

ایزوله‌ها به صورت مقاوم (≥ 15 میلی‌متر)، حساسیت متوسط (۱۶-۲۰ میلی‌متر) و حساس (≤ 21 میلی‌متر) گزارش شدند (۲۶). از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سفوتاکسیم (۳۰ μg ، نالیدیکسیک اسید (۳۰ μg ، ونکومایسین (۳۰ μg)، کوتیریموکسازول (۲۵ μg ، سپیروفلوکسازین (۵ μg ، استرپتومایسین (۱۰ μg ، آمیکاسین (۳۰ μg ، جنتامایسین (۱۰ μg ، اریتروماکسین (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. پلانتروم و دو ایزوله L. پاراکازئی با روش توالی یابی ۱۶S 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 صفراء هر شش ایزوله ضریب مهار بالای ۴/۰ به دست آوردند و در گروه باکتری‌های حساس به صفراء گرفتند (جدول ۱). از بین شش ایزوله لاکتوباسیلوس مورد بررسی، L. پلانتروم H15 H46 اثر مهارکنندگی بر علیه استافیلیکوکوس اورئوس بود. ایزوله‌های L. پلانتروم H47 و L. پلانتروم H47 اثر مهارکنندگی متوسط بر علیه این پاتوژن داشتند و ایزوله‌های L. پاراکازئی H13 و L. پلانتروم H59 اثر مهارکنندگی قوی علیه استافیلیکوکوس اورئوس نشان دادند. اثر مهارکنندگی قوی این دو ایزوله مشابه ایزوله کنترل مثبت L. رامنوزوس GG بود (جدول ۲).



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

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 برات (Merck, Germany) مثبت و به مدت سه تا هفت روز در جار شمع دار در دمای ۳۰°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 شمع دار در دمای ۳۰°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 توالی یابی ژن 16S rDNA انجام گرفت. استخراج DNA با روش جوشاندن انجام شد (۱۸). جهت انجام PCR از جفت پرایمر (5'-CTCGTTGCGGGACTTAA-3') ۲۷F و (5'-GCAGCAGTAGGGAATCTTC-3') ۱۵۲۲R استفاده شد و محصولات PCR توالی یابی و در NCBI بلاست شدند (۲۰). برای بررسی توان پریویوتیکی ایزوله‌های لاکتوباسیلوس (زنده‌ماندن در شرایط اسیدی)، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی ۱۰^۹ 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 ۱۰^۶ CFU/ml نباشد، مقاوم به اسید محسوب می‌شوند (۲۱).

جهت بررسی مقاومت هر ایزوله لاکتوباسیلوس به صفراء دو لوله، یکی حاوی ۹ میلی‌لیتر MRS برات دارای ۰/۳٪ (W/V) صفراء (Oxgall, Sigma, Germany) و دیگری حاوی MRS برات بدون صفراء (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 اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه گرفته شد (۲۲-۲۳). مقاومت ایزوله‌ها به صفراء با فرمول ضریب مهار (Cinh) محاسبه گردید. ایزوله‌های با ضریب مهار کمتر از ۰/۴ مقاوم به صفراء در نظر گرفته شوند (۲۴). فعالیت ضدمیکروبی ایزوله‌های لاکتوباسیلوس با روش انتشار از چاهک بررسی شد. ابتدا سوسپانسیون با غلظت ۱۰^۷ CFU/mL از استافیلیکوکوس اورئوس ATCC 25923 به تهیه و بر روی نوتریت آگار دارای چاهک، کشت چمنی داده شد. مایع رویی ایزوله‌های لاکتوباسیلوس در محیط MRS برات با ساتریفیوژ (۱۳۰۰۰ RPM) ۱۰ دقیقه) جداسازی و ۱۰۰ میکرولیتر از آن به هر چاهک اضافه شد و پلیت‌ها به مدت ۱۴ تا ۱۵ ساعت در دمای ۳۷°C انکوبه شدند. قطر هاله عدم رشد $> 11\text{ mm}$ به عنوان منفی، $11\text{--}16\text{ mm}$ به عنوان مهارکننده متوسط (+)، $17\text{--}22\text{ mm}$ به عنوان مهارکننده قوی (++) و $< 23\text{ mm}$ به عنوان مهارکننده خلیق قوی (+++) تقسیم بندی شدند. از سویه کنترل مثبت L. رامنوزوس GG نیز استفاده شد (۲۵). آزمایش‌ها دوبار تکرار شدند.

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

ل. پلاتناروم، ل. فرمتووم و ل. پاتنوزوس بود (۱۷). مطالعه حاضر مشابه دو مطالعه بالا توانست از نمونه های عسل ایزوله های لاکتوباسیلوس را جداسازی نماید. البته نوع گونه های لاکتوباسیلوس شناسایی شده متقاوت از مطالعه حاضر می باشد که می تواند نشان دهنده نوع گونه های لاکتوباسیلوس در نمونه های عسل در مناطق مختلف جهان باشد. مشخص شده که گونه های ل. پاراکازئی، ل. رامنوزوس، ل. اسیدوفیلوس، ل. کازئی و ل. فرمتووم ایزوله شده از منابع مانند شیر بز، واژن انسان و غیره می توانند رشد استافیلوكوکوس اورئوس را مهار کنند (۲۷-۲۹).

در مطالعه حاضر، همه ایزوله ها نسبت به اسید مقاوم، اما به صفراء حساس بودند. در مطالعه Kelanne و همکاران در فنالاند، همه لاکتوباسیلوس های جدا شده از عسل و میوه نسبت به اسید حساس اما نسبت به صفراء مقاوم بودند (۳۰).

به نظر می رسد 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 زنده مانی ایزوله ها مورد مطالعه قرار گرفت همچنین در مطالعه Kelanne زنده مانی ایزوله ها بعد از سه ساعت مجاورت با صفراء اما در مطالعه حاضر بعد از ۸ ساعت بررسی شده است. ایزوله های لاکتوباسیلوس کاندید پروپیوپویک نباید دارای ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی قابل انتقال به سایر باکتری ها باشند. در مطالعه حاضر بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به ونکومایسین، تالیدیکسیک اسید و استریتومایسین مشاهده شد. مطالعه Davoodabadi و همکاران در ایران نشان داد که لاکتوباسیلوس های جدا شده از نمونه مدفوع مشابه مطالعه حاضر (۹۲/۵۹٪)، نسبت به ونکومایسین استریتومایسین مقاومت دارند (۳۱). مشخص شده که لاکتوباسیلوس ها به طور ذاتی نسبت به ونکومایسین و آمینو گلیکوزیدها مقاومت دارند و این مقاومت کروموزومی غیرقابل انتقال بوده و از نظر ایمنی نگرانی ندارد (۳۲ و ۳۳).

مطالعه حاضر نشان داد که نمونه های عسل طبیعی ایران می تواند منبعی از لاکتوباسیلوس های بومی باشد و برخی از این ایزوله ها پتانسیل خدمتیک خوبی به خصوص بر علیه استافیلوكوکوس اورئوس دارند و ممکن است به عنوان کاندید پروپیوپویک جهت پیشگیری و درمان عفونت های ناشی از این پاتوژن مفید باشند که نیاز به بررسی های بیشتر دارد.

تقدیر و تشکر

بدینویسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تهران جهت حمایت مالی از این تحقیق و همچنین از گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل، آقای دکتر رجب نیا تشکر و قدردانی می گردد.

جدول ۱. مقاومت ایزوله های لاکتوباسیلوس پلاتناروم و لاکتوباسیلوس پاراکازئی جدا شده از عسل به اسید و صفراء

ایزوله	کد	مقاومت به اسید	Cinh	h_3	h_0
ل. پلاتناروم	H15	$5/4 \times 10^{-8}$.۰/۵۶	$5/7 \times 10^{-8}$	
ل. پلاتناروم	H59	$6/4 \times 10^{-8}$.۰/۸۳	$6/3 \times 10^{-8}$	
ل. پلاتناروم	H46	$8/3 \times 10^{-8}$.۰/۷۲	$8/1 \times 10^{-8}$	
ل. پلاتناروم	H47	$2/1 \times 10^{-9}$.۰/۶۸	$2/2 \times 10^{-9}$	
ل. پاراکازئی	H13	$1/8 \times 10^{-9}$.۰/۸۵	$1/8 \times 10^{-9}$	
ل. پاراکازئی	H14	$6/8 \times 10^{-8}$.۰/۹۹	$6/7 \times 10^{-8}$	

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

جدول ۲. فعالیت خدمتیک خوبی ایزوله های لاکتوباسیلوس پلاتناروم و لاکتوباسیلوس ATCC 25923 پاراکازئی جدا شده از عسل علیه استافیلوكوکوس اورئوس

ایزوله	کد	استافیلوكوکوس اورئوس (میلی متر)
ل. پلاتناروم	H15	(-)۰
ل. پلاتناروم	H59	(++)۲۰
ل. پلاتناروم	H46	(+)۱۴
ل. پلاتناروم	H47	(+)۱۶
ل. پاراکازئی	H13	(++)۱۸
ل. پاراکازئی	H14	(+)۱۶
ل. رامنوزوس	GG	(++)۱۸

* ایزوله های با قطر هاله عدم رشد 11 mm به عنوان منفی، $11-16\text{ mm}$ مهار کننده متوسط (+)، $17-22\text{ mm}$ مهار کننده قوی (+) و $<33\text{ mm}$ مهار کننده خیلی قوی (+++) در نظر گرفته شدند.

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که ایزوله های ل. پلاتناروم و ل. پاراکازئی جدا شده از عسل می توانند رشد باکتری های بیماریزا مانند استافیلوكوکوس اورئوس را مهار نمایند. Aween و همکاران در کشور مالزی از ۱۳ نمونه عسل، ۳۲ ایزوله باکتری اسید لاکتیک جدا نمودند که از بین آنها ۶ ایزوله ل. اسیدوفیلوس را از نظر اثر خدمتیک خوبی بر علیه پاتوژن های مختلف بررسی نمودند که بیشترین اثر مهاری بر روی استافیلوكوکوس 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 فوتیپی و مولکولی بررسی نمودند که غالباً گونه ها

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. Avaiable 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. Avaiable 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/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, Eljamal YA, Al-Mabrok ASW, Lani MN. Antibacterial activity of *lactobacillus acidophilus* strains isolated from honey marketed in malaysian 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, Mänttö J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotechnol.* 2000;84(3):197-215.