

## اثر لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر رشد و تولید انتروتوکسین استافیلوکوکوس اورئوس

مهنوش پارسایی مهر<sup>۱</sup>، علی میثاقی<sup>۱\*</sup>، افشین آخوندزاده<sup>۱</sup>، تقی زهرایی صالحی<sup>۲</sup>، محمد حسین مدرسی<sup>۳</sup>، حسن گندمی<sup>۱</sup>، فهیمه فیروز بخت<sup>۴</sup>، ستاره کرکودی<sup>۴</sup>، رضا اسدالله نژاد<sup>۴</sup>

۱ گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

۲ گروه میکروب شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

۳ گروه ژنتیک دانشکده پزشکی، دانشگاه تهران

۴ دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۸۹/۶/۱۹ تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۲۲)

### چکیده

مسمومیت های باکتریایی ناشی از مواد غذایی از مشکلات رایج در جامعه انسانی هستند که بخش عمده ای از آنها توسط انتروتوکسین های استافیلوکوکوس اورئوس ایجاد می شوند. از طرفی اخیراً "تاثیر بازدارنده برخی از پروبیوتیک ها (که اثرات مفیدشان بر سلامتی به خوبی شناخته شده اند) بر روی تعدادی از باکتری های بیماری زای مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته است. در این تحقیق اثر سویه های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی بر رشد و تولید انتروتوکسین باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 29213) مورد بررسی قرار گرفت. دز تلقیح پروبیوتیک ها  $10^8$  cfu/ml\* و دز تلقیح استافیلوکوکوس اورئوس  $10^9$  cfu/ml\* بود و پس از تلقیح در محیط TSB و گرم خانه گذاری در دو دمای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد، در زمان های صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، از کشت مخلوط موجود در محیط TSB در محیط های اختصاصی BP و MRS کشت داده شد و تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در Baird parker (BP) بعد از ۲۴ ساعت و تعداد لاکتوباسیلوس در MRS بعد از ۴۸ ساعت شمارش شد. استافیلوکوکوس اورئوس بدون حضور پروبیوتیک ها به عنوان کنترل گرم خانه گذاری شد. پروبیوتیک هادر این مطالعه، رشد استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 29213) رانسبت به نمونه کنترل ۳ لوگ در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و ۲ لوگ در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد کاهش دادند که این نتایج از نظر آماری معنی دار است ( $P < 0.05$ ). سویه های پروبیوتیکی تولید انتروتوکسین های A، C و E را در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد مهار کرده اند و همچنین در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد انتروتوکسین نوع E و A توسط لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و فقط انتروتوکسین E توسط لاکتوباسیلوس کازئی مهار شد. نتایج این مطالعه نشان می دهد که پروبیوتیک ها، رشد استافیلوکوکوس اورئوس و تولید اندوتوکسین بوسیله این میکروارگانیسم را به صورت معنی داری مهار کرده است. این امر می تواند نمایانگر نقش ضد میکروبی پروبیوتیک ها در مواد غذایی باشد.

کلید واژگان: لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، استافیلوکوکوس اورئوس، انتروتوکسین

\*مسئول مکاتبات: misaghia@vetmed.ut.ac.ir

## ۱- مقدمه

پروبیوتیک ها به عنوان میکروارگانیسم های زنده ای شناخته شده اند که در معده، ترشحات صفراوی و پانکراس وجود دارند. به سلولهای اپیتلیال متصل می شوند و در روده انسان کلونیزه می گردند.

بسیاری از گونه های پروبیوتیک به گروه بزرگی از باکتری ها به نام باکتری های اسیدلاکتیک تعلق دارند. دیگر پروبیوتیک ها شامل (مخمرها از جمله ساکارومایسس بولاردی) و انواع باکتری ها (انتروکوکوس فاسیوم و باسیلوس سابتلیس) می باشند [۱،۲].

معیار اصلی جهت انتخاب پروبیوتیک ها برای مصارف غذایی شامل حفظ کارایی در شرایط محیطی گوناگون، قابلیت تولید در مقیاس صنعتی، ثبات خصوصیت و بقا طی دوره انبارداری، قابلیت زنده ماندن در روده و مقاومت در برابر اسید معده و صفرا، اعمال اثرات سودمند بر میزبان، داشتن منشا انسانی، عدم بیماری زایی، سهولت و سرعت تکثیر در آزمایشگاه و بدن موجود زنده، مقاومت در برابر آنتی بیوتیک های متداول، عدم انتقال مواد ژنتیکی به میکروبیهای بیماری زا مثل فاکتورهای مقاومتی، توانایی چسبیدن به دیواره روده، تولید مواد ضد میکروبی و اثر پادزیستی در برابر میکروبیهای بیماری زا در نظر گرفته شده است. پروبیوتیک ها دارای خواص متعددی می باشند. از جمله خاصیت ضد میکروبی، کاهش عدم تحمل لاکتوز، کاهش سطح کلسترول سرم خون، فعالیت ضد جهشی، فعالیت ضد سرطانی، تحریک سیستم ایمنی، پروبیوتیک ها با تولید مواد بازدارنده و ضد میکروبی (اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، ضد باکتری ها، آنتی بیوتیک ها و دکانژوگه کننده اسیدهای صفراوی)، ایجاد رقابت برای جذب غذا و اشغال سایت های ویژه در روده با میکروارگانیسم های مضر اثرات خود را اعمال می کنند [۳-۶].

مسمومیت های غذایی یکی از عمده ترین بیماری های جوامع بشری محسوب می شوند. تعدادی از اپیدمی های مسمومیت های غذایی با منشا باکتریایی توسط انتروتوکسین استافیلوکوکوس اورئوس ایجاد می شود. به دلیل میزان بالای انتقال این باکتری از طریق انسان، فقدان معیارهای مناسب بهداشتی طی آماده سازی غذا، هنوز استافیلوکوکوس یک علت مهم مسمومیت های غذایی در سراسر جهان را به خود اختصاص می دهد. تاکنون ۱۸ نوع

انتروتوکسین استافیلوکوکی شناخته شده است. که شامل انتروتوکسین های استافیلوکوکی (SEs) A,B,C,D,E,G,H,I,J,K,L,M,N,O,Q.. و غیره می باشند. مطالعات اخیر نشان داده که همه آنها نقشی در مسمومیت غذایی ایفا نمی کنند. در این میان، انتروتوکسین های کلاسیک (A,B,C,D,E) نقش بیشتری در مسمومیت های غذایی دارند. این انتروتوکسین ها، آگزوپروتئین های مقاوم به حرارت هستند که سندرم گاستروانتریت در انسان ایجاد می کنند. بیشترین توکسین درگیر در مسمومیت های غذایی استافیلوکوکی، انتروتوکسین A میباشد [۳،۲].

## ۲- روش کار

در این مطالعه اثر باکتری های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی 01 و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (LA5) بر روی رشد و تولید انتروتوکسین باکتری استافیلوکوکوس ارئوس ATCC 29213 در محیط آبگوشت تریپتیکاز سوی (TSB) به مدت ۳ روز در زمان های صفر، ۸، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، پس از کشت مورد ارزیابی قرار گرفت.

### ۲-۱- آماده سازی دز تلقیح باکتریایی

باکتری استافیلوکوکوس ارئوس باکتری از گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه گردید و جهت تهیه دز تلقیح به محیط آبگوشت TSB منتقل و به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد، گرمخانه گذاری صورت گرفت. مجدداً کشت دومی از این کشت ۱۸ ساعته اول در محیط آبگوشت TSB دیگری تهیه و به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. سپس لوله های کوت حاوی ۵ میلی لیتر محیط آبگوشت TSB استریل تهیه شد. مقادیر مختلفی از ۱۸ ساعته دوم کشت آبگوشت TSB به آنها اضافه گردید. و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Milton Roy Company USA) در طول موج ۶۰۰ نانومتر، جذب نوری لوله های مذکور خوانده شد و ضمناً محتویات این لوله ها مورد شمارش باکتریایی به روش کشت پورپلیت قرار گرفت تا لوله کوت حاوی تقریباً  $10^7$  \*۱ باکتری در هر میلی لیتر مشخص شود.

### ۳- نتایج

در این بررسی تاثیر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی با دز تلقیح  $10^8$  \* ۱ بر روی رشد و تولید انتروتوکسین باکتری استافیلوکوکوس ارئوس ATCC 29213 با دز تلقیح  $10^6$  \* ۱ به صورت کشت همزمان و در محیط آبگوشت TSB در زمان های صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از کشت د دو دمای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد بررسی شد نتایج پس از شمارش باکتری استافیلوکوکوس ارئوس در محیط B.P و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی در محیط MRS در جدول شماره ۱ و ۲ ارائه شده است.

بر طبق نتایج لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دمای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد در ساعت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از کشت به ترتیب ۳ لوگ و ۲ لوگ رشد استافیلوکوکوس ارئوس را نسبت به گروه کنترل کاهش داده است که این مقدار از نظر آماری معنی دار است ( $P < 0.05$ ).

مقایسه اثر لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر رشد استافیلوکوکوس ارئوس در دو دمای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد نشان می دهد که، لاکتوباسیل های مورد استفاده در این مطالعه در دمای ۲۵ درجه نسبت به دمای ۳۵ درجه دارای اثر ممانعت کنندگی برجسته تری بر رشد استافیلوکوکوس ارئوس بوده اند.

بررسی اثر ممانعت کنندگی لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر روی تولید انواع انتروتوکسین استافیلوکوکوس ارئوس پس از ۷۲ ساعت در دو دمای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد نشان داد که نمونه مربوط به کنترل استافیلوکوکوس ارئوس که در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد پس از ۷۲ ساعت از نظر حضور انتروتوکسین های A، C و E مثبت بوده و پروبیوتیک ها توانستند در این دما، در محیط کشت مخلوط تولید این انتروتوکسین ها را مهار کنند. همینطور با بررسی نمونه مربوط به کنترل استافیلوکوکوس ارئوس در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد مشاهده شد که این نمونه از نظر حضور انتروتوکسین های A و E مثبت بود. که در این دما لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به خوبی توانست تولید انتروتوکسین نوع E و A را مهار کند.

باکتری های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نیز از طریق گروه ژنتیک دانشکده پزشکی دانشگاه تهران تهیه گردید و مشابه با استافیلوکوکوس ارئوس دز تلقیح آنها تهیه گردید.

### ۲-۲- تهیه و گرمخانه گذاری کشت همزمان (مخلوط)

ابتدا در محیط آبگوشت TSB کشت مخلوطی به طور همزمان از استافیلوکوکوس ارئوس و لاکتوباسیلوس کازئی با دزهای تلقیح  $10^6$  cfu/ml و  $10^8$  cfu/ml به ترتیب تهیه گردید و سپس کشت فوق الذکر در دماهای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت گرم خانه گذاری شد و در ساعت های صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ پس از تهیه رقت و با استفاده از محیط های اختصاصی BPA (برای استافیلوکوکوس ارئوس) و MRSA (برای لاکتوباسیلوس کازئی) تعداد استافیلوکوکوس ارئوس و لاکتوباسیلوس کازئی مورد شمارش قرار گرفت. سویه استافیلوکوک اورئوس بدون باکتری پروبیوتیک نیز به عنوان یک کنترل گرمخانه گذاری شد. کل آزمایش ۳ بار تکرار شد.

تهیه نمونه جهت سنجش انتروتوکسین استافیلوکوکوس ارئوس : با استفاده از فیلتر استریل یکبار مصرف عصاره محیط مخلوط را پس از ۷۲ ساعت به عنوان نمونه، برای بررسی حضور انتروتوکسین تهیه کردیم. به این ترتیب که از لوله آبگوشت حاوی استافیلوکوکوس ارئوس و پروبیوتیک و کنترل که به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شده بود، بعد از مخلوط نمودن توسط شیکر لوله، با استفاده از سرنگ استریل مقداری از نمونه را برداشت کرده و با استفاده از فیلتر یک بار مصرف آن را فیلتر نموده و عصاره را جهت سنجش انتروتوکسین با استفاده از کیت الایزای ریدا اسکرین مورد بررسی قرار دادیم.

### ۲-۳- تجزیه و تحلیل آماری

با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۵، اطلاعات حاصل از پاسخ رشد باکتریها به کمک آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و آنالیز رگرسیون و یافته های مربوط به سنجش انتروتوکسین باکتری مورد مطالعه با استفاده از آزمون مربع کای، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**جدول ۱** نتایج شمارش استافیلوکوکوس ارئوس با لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس  $\log(\text{cfu/ml})$  در کشت های مخلوط و کنترل در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد

تعداد باکتری بر حسب $\log(\text{cfu/ml})$				نوع کشت
ساعت ۷۲	ساعت ۴۸	ساعت ۲۴	ساعت صفر	
۹/۴	۹/۵	۹/۴	۵/۳	استافیلوکوکوس ارئوس در کشت کنترل
۷/۱	۶/۸	۶/۴	۵/۱	استافیلوکوکوس ارئوس در کشت مخلوط با لاکتوباسیلوس کازئی
۸/۹	۸/۹	۸/۸	۸/۴	لاکتوباسیلوس کازئی در کشت مخلوط
۸/۸	۸/۷	۸/۹	۸/۳	لاکتوباسیلوس کازئی در کشت کنترل
۵/۶	۵/۹	۶	۵/۲	استافیلوکوکوس ارئوس در کشت مخلوط با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
۸/۵	۸/۸	۸/۹	۸	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در کشت مخلوط
۹/۳	۹/۱	۹	۸/۳	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در کشت کنترل

**جدول ۲** نتایج شمارش استافیلوکوکوس ارئوس با لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس  $\log(\text{cfu/ml})$  در کشت های مخلوط و کنترل در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد

تعداد باکتری بر حسب $\log(\text{cfu/ml})$				نوع کشت
ساعت ۷۲	ساعت ۴۸	ساعت ۲۴	ساعت صفر	
۹/۵	۹/۴	۸/۵	۵/۱	استافیلوکوکوس ارئوس در کشت کنترل
۷/۵	۷/۶	۶/۷	۵/۰۴	استافیلوکوکوس ارئوس در کشت مخلوط با لاکتوباسیلوس کازئی
۸/۵	۸/۴	۸/۸	۸/۵	لاکتوباسیلوس کازئی در کشت کنترل
۸/۶	۸/۴	۸/۸	۸/۴	لاکتوباسیلوس کازئی در کشت مخلوط
۶/۲	۶	۶/۸	۵/۲	استافیلوکوکوس ارئوس در کشت مخلوط با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
۸/۳	۸/۳	۸/۵	۸/۷	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در کشت مخلوط
۸/۳	۸/۴	۸/۳	۸/۸	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در کشت کنترل

شده اثر مهارى بر روى استافیلوکوکوس اورئوس در هر دو دما داشت و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد پس از ۷۲ ساعت ۳ لوگ و در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد پس از ۷۲ ساعت ۲ لوگ تعداد استافیلوکوکوس اورئوس رانست به کنترل کاهش داد. و از طرفی جمعیت لاکتوباسیل ها تقریباً در کشت های مخلوط با کنترل مشابه بودند.

این نتایج با مطالعات صورت گرفته همخوانی کامل دارد و نسبت به برخی از کارهایی که قبلاً انجام شده، در این مطالعه اثر ممانعت رشد بیشتری مشاهده شده است. نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که تاثیر بازدارندگی پروبیوتیک ها بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد بیشتر می باشد که این امر با نتیجه سامشیمما و همکاران در سال ۱۹۹۷ مطابقت دارد. آنها تاثیر سویه های لاکتوباسیل جدا شده از روده (لاکتوباسیلوس رامنوسوس، پاراکازی و اسیدوفیلوس را در دماهای ۲۰ و ۳۵ در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کردند و گزارش نمودند اثر ممانعت کنندگی در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد بیشتر از ۳۵ درجه سانتیگراد بوده است [۱۱-۱۳].

گومالز فوندوس و همکاران (۱۹۹۴) طی آزمایشی تاثیر سه سویه استارتر تجاری را بر رشد و تولید انتروتوکسین های D، C، B، A استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کردند.

رشد ۴ سویه استافیلوکوکوس اورئوس که تولید کننده ۳ نوع انتروتوکسین بودند، توسط ۳ نوع استارتر تجاری که در صنعت گوشت به کار می رفت، در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد در شرایط رشد آبگوشت، به طور نسبی مهار شد [۵].

نیسکانن و نورمی در ۱۹۷۶ گزارش دادند که استفاده از مخلوط استارتر کالچر لاکتوباسیل و میکروکوکسی، تولید انتروتوکسین A را مهار کرده ولی مانع تولید انتروتوکسین C نمی شود [۱۴].

در این تحقیق انتروتوکسین زایی استافیلوکوکوس اورئوس نیز تحت تاثیر قرار گرفت و میزان تولید انتروتوکسین های A و C و E در ۲۵ درجه و انتروتوکسین های A و E در ۳۵ درجه در محیط کشت همزمان استافیلوکوکوس اورئوس و سویه های پروبیوتیکی مهار گردید.

در حالیکه لاکتوباسیلوس کازئی فقط تولید انتروتوکسین نوع E را مهار کند بنابراین بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی تاثیر معنی داری در ممانعت از رشد استافیلوکوکوس اورئوس که یکی از مهم ترین عوامل مسمومیت غذایی است، را داشته و بعلاوه توانستند تولید انتروتوکسین های C, A, E در ۳۵ درجه سانتیگراد و A, E در ۲۵ درجه سانتیگراد را مهار کنند.

## ۴- بحث

بررسی های مختلفی در مورد اثر پروبیوتیک های متفاوت بر روى پاتوژن های مهم غذایی در محیط کشت و غذا انجام گرفته است. از جمله در پژوهش انجام شده توسط میلیتی و همکاران در سال ۲۰۰۷ آثار ضد میکروبی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر لیستریا منوسیتوژن بررسی گردید [۸].

سالواتیرا و همکاران در سال ۲۰۰۴ به بررسی اثر لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست در ۲ غلظت  $10^9$  و  $10^7 \times 1$  cfu/g، روى رشد استافیلوکوکوس اورئوس پرداختند و مشاهده کردند که pH و جمعیت باکتری های اسید لاکتیک در طول آزمایش ثابت بوده و جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس در ماست حاوی این پروبیوتیک ها در هر دو غلظت طی مدت ۸ روز به سطحی غیر قابل تشخیص کاهش پیدا کرده، اما در ماست بدون پروبیوتیک حتی ۲۴ روز پس از تلقیح استاف، باز هم استافیلوکوکوس اورئوس قابل تشخیص بود (۹).

آلمار و همکاران (۲۰۰۸) نیز تاثیر ۴ سویه لاکتوباسیلوس گارویی، ۳ سویه لاکتوباسیلوس لاکتیس و ۱ سویه انتروکوکوس فکالیس را بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس SA15 در شیر میکروفیلتر شده بررسی کردند. آنها ادعا نمودند که تمام سویه های ذکر شده رشد استاف را پس از ۶ ساعت مهار نمودند و لاکتوباسیلوس گارویه موثر ترین سویه در مهار استافیلوکوکوس اورئوس بود [۱۰].

ما نیز در این مطالعه، اثر مهارى لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی را در دمای ۲۵ و ۳۵ بر روى استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29213 بررسی نمودیم و همان گونه که نتایج نشان می دهد سویه ی پروبیوتیک استفاده

- juice. Digestive Liver Disease; 38: 134 (abstract).
- [7]. Dinges, M. M., Orwin, P. M., Schlievert, P. M. 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clinical Microbiology, Review., 13: 16-34.
- [8]. Millet, L., Saubusse, M., Didienne, R., Tessier, L., & Montel, M. C. 2007. Control of *Listeria monocytogenes* in raw-milk cheeses. International Journal Food Microbiology, 108: 105-114.
- [9]. Salvatierra, M., Molina, A., Gamboa Mdel, M., Arias, M. L. (2004) Evaluation of the effect of probiotic cultures on two different yogurt brands over a known population of *Staphylococcus aureus* and the production of thermonuclease. Centro de Investigacion en enfermeda des Tropicales. facultad de Microbiologia. Universidad de Costa Rica. 54(3):298-302.
- [10]. Even, S., Charlier, C., Nouaille, S., Ben Zakour, N. L., Cretenet, M., Cousin, FJ., Gautier, M., Cocaiqn-Bousquet, M., Loubiere, P., Le Loir, Y. (2009) *Staphylococcus aureus* virulence expression is impaired by *Lactococcus lactis* in mixed cultures. Applied Environmental Microbiology, 75(13):4459-72.
- [11]. Thomas, L. V., Wimpenny, J. W. T., Davis, J. G. 1993. Effect of three preservatives on the growth of *Bacillus cereus*, Vero cytotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, on plates with gradients of pH and sodium chloride concentration. International Journal Food Microbiology, 17:289-301.
- [12]. Villani, F., Aponte, M., Blaiotta, G., Mauriello, G., Pepe, O., Moschetti, G. 2001. Detection and characterization of a bacteriocin, garviecin L1-5, produced by *Lactococcus garvieae* isolated from raw cow's milk. Journal Applied Microbiology, 90:430-439.
- [13]. Pauli, A. (2001) Antimicrobial properties of essential oil constituents. International Journal Aromather. 11: 126-133.
- [14]. Niskanen, A., Nurmi, E., 1976. Effect of starter culture on staphylococcal enterotoxin and thermonuclease production in dry sausage. Appl. and Environmen. Microbiol., 31: 11-20.

به طور کلی نتایج این تحقیق بیانگر تاثیر بازدارندگی سویه های پروبیوتیکی بر رشد و انتروتوکسین زایی استافیلوکوکوس ارئوس می باشد و نشان دهنده امکان استفاده از این باکتری ها به عنوان یک عامل مهار کننده رشد باکتریایی در مواد غذایی می باشد. به هر حال قبل از استفاده عملی از این باکتری ها، تحقیقات بیشتری در محیط های آزمایشگاهی و مدل های غذایی باید انجام پذیرد..

## ۵- منابع

- [1]. Valeur N, Engel P, Carbajal N, Connolly E, Ladefoged. K. 2004. Colonization and immunomodulation by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 in the human gastrointestinal tract. Applied Environmental Microbiology, 70:1176-8.
- [2]. Alander M., Satokar R., Korpela R., Saxelin M., Vilpponen-salmela T; Mattila-Sandholm, T. 1999. Persistence of colonisation of human colonic mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus. rhamnosus* GG, after oral consumption. Applied Environmental Microbiology; 65: 351-354.
- [3]. Tatini, S. R., Jezeski, J. J., Olson, J. C. J., Casman, E. P. 1971. Factors influencing the production of staphylococcal enterotoxin A in milk. J. Dairy Science, 54: 312-320.
- [4]. Korshunov, V.M., Potashnik, L.V., Efimov, B.A., Korshunova, O.V., Sameianov VV, Gyr, K., Frei, R. (2001) Intestinal micro ecology of the adult population of Mongolia, Switzerland, and Russia. Microbiology Epidemiology Immunology., 1:71-73.
- [5]. Gomza`lez-Fandos, E., Otero, A., Sierra, M. Garcìa-Lo`pez, M. ,Prieto, M. 2002. Effect of three commercial starters on growth of *Staphylococcus aureus* and enterotoxins (A-D) and thermonuclease production in broth. International journal of food microbiology, 24:321-327 .
- [6]. Del Piano M, Ballera M, Anderloni A , Carnagnola S, Montino F, Garelo E. 2006. In vitro sensitivity of probiotics of human gastric

## Effect of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* on growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus*

Parsaeimehr, M. <sup>1</sup>, Misaghi, A. <sup>1\*</sup>, Afshin Akhondzade, A. <sup>1</sup>, Zahraei Salehi, T. <sup>2</sup>, Modaresi, M. H. <sup>3</sup>, Gandomi, H. <sup>1</sup>, Firuzbakht, F. <sup>4</sup>, Karkudi, S. <sup>4</sup>, Assadollah nezhad, R. <sup>4</sup>

1. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran.
2. Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran.
3. Department of Genetic, Faculty of medicine, University of Tehran, Tehran.
4. Student of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran.

(Received:89/6/19 Accepted: 89/7/22)

Food born intoxications are kind of current problem in human society and most of them are caused by enterotoxins of *Staphylococcus aureus*. Also probiotics(Lactic acid bacteria) have been known as health and immune system modulator. In this experiment we assessed the effects of *Lactobacillus acidophilus* LA5 and *Lactobacillus casei* 10<sup>8</sup>cfu/ml on growth of *Staphylococcus aureus* 10<sup>5</sup>cfu/ml at 25 °C and 35°C in TSB. Then samples from the co cultured and control were pour plated in Baird parker agar and MRS agar to compute the bacterial count at 0, 8, 24, 48, 72 hours after incubation. We found that *Lactobacillus acidophilus* (LA<sub>5</sub>) *Lactobacillus casei* inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* 29213 and comparing to controls reduced number of *S. aureus* cells was by 3 logs in 25 °C and 2 logs in 35 °C. enterotoxin production by *S. aureus* was also inhibited in both temperatures of 25 and 35 °C due to ELIZA rida screen test. *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* inhibited the production of enterotoxins A, C and E at 25 °C and A and/orC at 35 °C. In conclusion, the results of this study revealed the effectiveness of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in inhibition of *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production proposed their potential application as antibacterial in food.

Key words: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, enterotoxin, *Staphylococcus aureus*

---

\* Corresponding Author E-Mail address: misaghia@vetmed.ut.ac.ir