



The protective role of the probiotic mixture (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, and *Lactobacillus brevis*) on the structure of small intestine tissue of rats infected with

Shiva Sayidi¹, Zahra Keshtmand^{2*}

¹Ms Student, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Assistant Professor, Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Place of Research: Laboratory of Central Tehran Branch, Islamic Azad University

Article Info

Abstract

Article History:

Recived 2024.11.15
Revised 2025.1.8
Accepted 2025.1.29

KeyWords:

probiotic
small intestine
Staphylococcus aureus
rat

*Corresponding author:

E-mail address:

zkeshtmand2001@gmail.com

Introduction: *Staphylococcus aureus* is one of the most common causes of food poisoning, which causes food poisoning by containing numerous toxins. Probiotics are live and beneficial microorganisms that can modulate the host's immune response and prevent and treat various diseases. The aim of this research is to investigate the protective effect of the probiotic mixture (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, and *Lactobacillus brevis*) on the small intestine tissue of male rats infected with *Staphylococcus aureus* bacteria.

Materials and Methods: In this experimental study, 21 male Wistar rats were subjected to three the group included the control group, infected with *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) (108 CFU/ml) and the infected model + probiotic recipient (109 CFU/ml). Induction of infection was done by intraperitoneal injection and receiving probiotics for 35 days by gavage method. After the treatment and dissection of the animals, the tissue of the small intestine was extracted for examination in different groups. Data analysis in different groups was done with SPSS software and a one-way statistical test of variance and $P < 0.05$ was considered significant.

Results: The results showed a significant change in the damage of different parts of the small intestine tissue in the infected group compared to the control group showed. At the same time, the positive changes in induced damage in the small intestine of the treatment group were significant compared to the infected group.

Conclusion: Based on the obtained results, the probiotic mixture showed a protective effect on the destruction of the small intestine tissue of rats infected with bacteria. Therefore, it can probably be used as a promising therapeutic tool to reduce small intestinal tissue damage.

Cite this article: Sayidi SH, Keshtmand Z, The protective role of the probiotic mixture (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, and *Lactobacillus brevis*) on the structure of small intestine tissue of rats infected with *Staphylococcus aureus* bacteria. Iranian Journal of Biological Sciences. 2024; 19 (2): 15-25



10.71631/zisti.2024.1190614

Publisher: Islamic Azad University of Varamin – Pishva branch

Print ISSN: 1735-4226

Online ISSN: 1727-459X

This is an open access article under the: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



نقش محافظتی مخلوط پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس پاراکازنی و لاکتوباسیلوس برویس) بر ساختار بافت روده باریک موش های صحرایی آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

شیوا صیدی^۱، زهرا کشتمند^{۲*}

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۲ استادیار، گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

محل انجام تحقیق: دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی گروه زیست شناسی

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

ارسال ۱۴۰۳/۰۵/۰۶

بازنگری ۱۴۰۳/۰۸/۲۴

پذیرش ۱۴۰۳/۱۰/۱۶

کلمات کلیدی

پروبیوتیک

روده باریک

استافیلوکوکوس اورئوس

موش صحرایی

* مسئول مکاتبات:

zkeshmand2001@gmail.com

مقدمه: استافیلوکوکوس اورئوس یکی از شایع ترین علل مسمومیت های غذایی است که با دارا بودن توکسین های متعددی باعث ایجاد مسمومیت غذایی می شود. پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های زنده و مفیدی هستند که می توانند پاسخ ایمنی میزبان را تعدیل کنند و موجب پیشگیری و درمان بیماری های مختلف شوند. هدف از این پژوهش بررسی اثر محافظی مخلوط پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس پاراکازنی و لاکتوباسیلوس برویس) بر بافت روده باریک موش های صحرایی نر آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می باشد

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی ۲۱ موش صحرایی نر نژاد ویستار، در سه گروه شامل گروه کنترل، آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC25923) (CFU / ml ۱۰۸) و مدل آلوده + دریافت کننده پروبیوتیک (CFU / ml ۱۰۹) (تقسیم بندی شدند. القا آلودگی با تزریق درون صفاقی و دریافت پروبیوتیک به مدت ۳۵ روز با روش گاواژ انجام شد. بعد از دوره تیمار و تشریح حیوانات، بافت روده باریک جهت بررسی در گروه های مختلف استخراج شد. آنالیز داده ها در گروه های مختلف با نرم افزار SPSS و آزمون آماری واریانس یکطرفه انجام و $P > 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج: نتایج حاصل، تغییر معنادار آسیب بخش های مختلف بافت روده باریک گروه آلوده را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. در حالیکه تغییرات مثبت آسیب های القایی در روده باریک گروه تیمار در مقایسه با گروه آلوده به صورت معنادار نشان داده شد.

نتیجه گیری: براساس نتایج به دست آمده مخلوط پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس پاراکازنی و لاکتوباسیلوس برویس) اثر حفاظتی بر تخریب بافت روده باریک موش های آلوده به باکتری را نشان داد. بنابراین احتمالاً بتواند به عنوان یک ابزار امیدوارکننده درمانی در جهت کاهش آسیب های بافت روده باریک استفاده شود.

شیوه آدرس دهی این مقاله: شیدی، ز کشتمند. نقش محافظتی مخلوط پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس پاراکازنی و لاکتوباسیلوس برویس) بر ساختار بافت روده باریک موش های صحرایی آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس. مجله دانش زیستی ایران. ۱۴۰۳: ۱۹ (۲): ۱۵-۲۵

doi: 10.71631/zisti.2024.1190614

نویسندگان: حق مؤلف ©

شاپا الکترونیکی: X ۴۵۹ - ۲۷۱۷

شاپا چاپی: ۴۲۲۶-۱۷۳۵

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا

مقدمه

در سال‌های اخیر بیماری‌های عفونی و مقاومت میکروب‌ها یکی از مشکلات مهم در حوزه بهداشت و درمان و یکی از مهم‌ترین عوامل افزایش مرگ و میر در جهان می‌باشند (۱)

استافیلوکوکوس اورئوس باکتری گرم مثبت، کروی شکل با قطر ۱ میکرون، بدون حرکت، فاقد هاگ و به شکل خوشه انگوری، یک پاتوژن فرصت طلب انسانی بسیار سازگار و یکی از بدنام‌ترین پاتوژن‌های انسانی بسیار مهم بیمارستانی و اکتسابی است که عفونت آن می‌تواند بسیاری از اندام‌ها را درگیر کند (۲). این باکتری انواعی از سموم و آنزیم‌ها و برخی پروتئین‌ها و پپتیدها را ترشح می‌کند که اثرات حدت خاصی نیز دارند (۳)

عوامل بیماری‌زایی در بروز بیماری اثرگذار هستند. علاوه بر اجزای بیماری‌زایی فوق، خود استافیلوکوکوس اورئوس دارای اثرات بیماری‌زایی نیز می‌باشد. تکثیر استافیلوکوکوس اورئوس در محل عفونت منجر به دیس بیوز فلور در محل عفونت می‌شود که باعث ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌ها می‌شود (۴). علاوه بر این، استافیلوکوکوس اورئوس ممکن است باعث اسهال بیمارستانی مرتبط با آنتی‌بیوتیک شود. در این راستا، کاهش اسیددیده معده به دلیل عبور از سد معده اسیدی استافیلوکوکوس اورئوس می‌تواند باعث ایجاد کلونیزاسیون شود (۵)، که رشد بیش از حد باکتری‌ها در روده ممکن است رخ دهد که منجر به آتريت و یا اسهال شود. همچنین استافیلوکوکوس اورئوس در بیماری التهابی روده نقش دارد زیرا آنتی‌ژن‌های استافیلوکوکوس اورئوس مشتق از روده می‌توانند پاسخ‌های التهابی را القا کنند (۶). سموم استافیلوکوکوس اورئوس با مسمومیت غذایی مرتبط هستند و سم آلفای استافیلوکوکوس اورئوس می‌تواند عملکرد سلول‌های روده را در شرایط آزمایشگاهی با تغییر یکپارچگی اتصال، مختل کند (۷). با توجه به شیوع برخی عفونت‌های بیمارستانی و عوارض جانبی درمان آنها، امروزه محققین به دنبال معرفی و شناسایی ترکیبات طبیعی درمانی، با کارایی بالاتر و عوارض جانبی کمتر هستند و در حال حاضر پروبیوتیک‌ها از جمله کاندیدای مورد توجه پژوهشگران هستند. شناسایی اولیه پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروبیوتای طبیعی و مفید گوارشی به پایان قرن نوزدهم برمی‌گردد،

زمانی که میکروارگانیسم‌های موجود در دستگاه گوارش افراد سالم بدون علامت توصیف شدند. در حال حاضر به خوبی پذیرفته شده است که باکتری‌های پروبیوتیک، میکروارگانیسم‌های مفیدی هستند که در انواع متعددی از غذاها و در دستگاه گوارش زندگی می‌کنند (۸). این باکتری‌ها قادرند با میکروب‌های مضر رقابت کنند و روده را مستعمره کنند. علاوه بر این، پروبیوتیک‌ها می‌توانند با بهبود، بازیابی ترکیب، فعالیت فیزیولوژیکی میکروفلور روده، ارتقاء سلامتی را در هنگام مصرف به ارمغان آورند (۹)

با توجه به ماهیت و ترکیب شیمیایی بسیار متفاوت عوامل مولکولی پروبیوتیک‌ها، اثر مفید آنها با استفاده از مکانیسم‌های مختلف، در روده اعمال می‌شود. از نظر مولکولی، پروبیوتیک‌ها تعداد زیادی از مولکول‌های متنوع را در محیط روده ترشح می‌کنند که به عنوان عوامل اثرگذار در یک تعامل متقابل و پیچیده بین میکرو فلور روده، سیستم ایمنی روده و سلول‌های اپیتلیال عمل می‌کنند (۱۰). این عوامل مولکولی عمدتاً شامل پروتئین‌هایی با ماهیت مختلف هستند که یا در سطوح میکروبی موضعی هستند یا در بخش خارج سلولی سبب ترشح پپتیدها و یا اسیدهای آمینه با وزن مولکولی کم و اسیدهای چرب اشباع می‌شوند (۱۱). مشابه قطعات سطح سلولی باکتری، آنتی‌ژن‌های پروبیوتیک می‌توانند از سد روده عبور کرده و سیستم ایمنی را تحریک کنند، این عملکردهای چندگانه از ترکیبات، برای بهبود فیزیولوژیکی میزبان ضروری هستند (۱۲)

با توجه به اینکه، چندین اثر مفید پروبیوتیک‌ها بر هومئوستاز روده ای از جمله بهبود پاسخ‌های ایمنی ذاتی، فعالیت‌های ضد بیماری‌زایی و ضد التهابی، افزایش ترشح اجزای طبیعی یا متابولیک و مواد مغذی ضروری و عملکرد مشابه میکروبیوتای روده جهت بهبود هضم و ایمنی، بر کل ارگانیسم گزارش شده است، از این رو، در این مطالعه نقش محافظتی مخلوط پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس پلانتروم، لاکتوباسیلوس پاراکازئی و لاکتوباسیلوس برویس) بر ساختار هیستولوژیکی بافت روده باریک موش‌های آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شده است

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، ۲۱ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از دانشگاه شهید بهشتی تهیه و به حیوان خانگی دانشکده علوم پایه‌ی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی انتقال داده شدند و قبل از شروع آزمایشات، به منظور سازش با محیط آزمایشگاه به مدت یک هفته نگهداری شدند. موش ها در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، با درجه حرارت 22 ± 3 سانتی گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد، بدون محدودیت در دسترسی به آب و غذا در حیوان خانه نگهداری و آزمایش ها در بازه‌ی زمانی مشخصی (ساعت ۹ تا ۱۲ ظهر) منطبق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

گروه بندی حیوانات

۲۱ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ (۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) به طور تصادفی در ۳ گروه هفت تایی گروه بندی شدند
گروه کنترل: دریافت کننده آب و مواد غذایی به صورت روزانه
گروه دوم: موش های دریافت کننده استافیلوکوکوس اورئوس (10^8 CFU/ml) (۱۳)
گروه سوم: موش های دریافت کننده استافیلوکوکوس اورئوس (10^8 CFU/ml) + مخلوط پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس پاراکازی و لاکتوباسیلوس برویس) (10^9 CFU/ml) (۱۴)
باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با غلظت 10^8 CFU/ml و مخلوط پروبیوتیک ها با غلظت 10^9 CFU/ml از طریق گاوژ به موش ها داده شد. جهت یکسان بودن شرایط موش ها در طول دوره تیمار، به گروه اول و دوم نیز روزانه، مقدار کمی از آب به صورت گاوژ داده شد

تهیه مخلوط پروبیوتیک

مخلوط پروبیوتیک ها (لاکتوباسیلوس پلانتاروم (KP۱۶۵۸۴۱،۱)، لاکتوباسیلوس پاراکازی (KU۵۱۲۷۵۷،۱) و لاکتوباسیلوس برویس (KP۱۶۵۸۳۸،۱)) به صورت پودر و با $\log 10$ از شرکت تکژن زیست تهیه شد.

تهیه و تأیید سویه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس سویه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ATCC۲۵۹۲۳ از آزمایشگاه استاندارد ایران تهیه و جهت شناسایی نمونه های باکتری از تست های استاندارد شامل رنگ آمیزی گرم، کاتالاز و کوآگولاز لوله ای و رشد در مانیتول سالت آگار استفاده شد (۱۵)

تهیه غلظت مخلوط پروبیوتیک

یک گرم پروبیوتیک در ۹ سی سی آب مقطر حل گردید و به هر موش ۱ سی سی محلول تهیه شده با غلظت 10^9 CFU/ml به مدت ۳۵ روز گاوژ شد (۱۴)

کشت باکتری

سوش استافیلوکوکوس اورئوس تهیه شده بعد از انتقال به آزمایشگاه روی محیط کشت بلاد آگار (مرک، آلمان) پاساژ داده شد. سپس کلنی های حاصل از کشت از نظر میکروسکوپی و ماکروسکوپی و بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. کلنی های کوآگولاز مثبت، مانیتول مثبت جهت مطالعات بعدی در محیط BHI در یک میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری در دور ۳۰۰۰ دور به مدت ۳ دقیقه رسوب گیری شد. در مرحله آخر رسوبات در نیم مک فارلند PBS حل شده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۳۰ نانومتر جذب نور اندازه گیری شد. با توجه به جذب $OD_{630} = 0.5$ نانومتر هر لوله حاوی 10^8 CFU/ml باکتری است. محلول باکتری در آمپول ۲ میلی لیتری ریخته شد و طی سه روز متوالی، یک سی سی به موش های گروه دوم و سوم خوراندن شد (۱۵)، (۱۶).

نمونه گیری

پس از تیمار موش های صحرایی آلوده به باکتری، گروه سوم با مخلوط پروبیوتیک به مدت ۳۵ روز، با رعایت اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه آزاد واحد تهران مرکزی (IR.IAU.CTB.REC.۱۴۰۱،۰۹۲) حیوانات با تزریق درون صفاقی کتامین- زایلازین ۱٪ (۱۰ میلی گرم زایلازین ۱۰۰۰ میلی گرم کتامین) آسان کشی شده و نمونه برداری از روده کوچک (دوازدهه، ژژنوم و

ایلتوم) انجام شد. طی مراحل آماده سازی بافت، جهت تثبیت، نمونه ها در داخل محلول فرمالین ۱۰٪ نمکی با pH خنثی قرار داده شدند و طی مراحل آبیگری، شفاف کردن و آغشتگی، بافت ها با پارافین، پاساژ داده شدند. در مرحله بعد، قالب گیری نمونه ها با پارافین، تهیه برش های ۵ میکرونی، تهیه لام و رنگ آمیزی با هماتوکسیلین ائوزین صورت گرفت (۱۷)

از هر نمونه استخراج شده از هر قسمت روده (دوازدهه، تهی روده، دراز روده)، سه برش تهیه و از نظر میکروسکوپی ارزیابی شد. در این مطالعه ضخامت لایه های مختلف روده (لایه سروزی، ماهیچه ای، زیر مخاط و مخاط)، طول

و عرض پرز، تراکم غدد گابلت و سلول های جامی در طول بافت روده باریک، واکوئله شدن و نکروزه شدن بافت و میزان تجمع سلول های التهابی لنفوسیت بررسی شدند. در این مرحله، از عدسی چشمی مدرج و اسلاید تنظیم شده (کالیبره) و میکروسکوپ نوری المپیوس استفاده شد. در بخش بررسی فاکتور های مختلف بافتی، شدت آسیب روده بر اساس اعداد درجه بندی از صفر تا ۴، در نظر گرفته شد: صفر تا ۱ طبیعی؛ ۱ تا ۲ آسیب خفیف؛ ۲ تا ۳ آسیب متوسط؛ ۳ تا ۴ آسیب شدید؛ ۴ و بیشتر آسیب بسیار شدید؛ (۱۷)

آنالیز آماری

برای آنالیز داده ها از نرم افزار SPSS (IBM, Version ۲۲)، آزمون واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی استفاده شد ($P \geq 0/05$). نتایج در هر مورد به

صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد. همچنین از آزمون آماری کلموگروف - اسمیرنف، نیز برای تعیین نرمال بودن توزیع داده ها استفاده شد ($P > 0/05$).

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر با مجوز کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی تهران مرکزی انجام گرفته است و سعی شده که تمام موازین اخلاقی کار با حیوان مورد توجه باشد

و الزامات معاهده هلسینکی رعایت گردد (IR.IAU.CTB) و REC.۱۴۰۱،۰۹۲)

نتایج

نتایج هیستوپاتولوژی در گروه کنترل پرزها سالم و سلول های استوانه ای نکروز نشده بودند و از نظر درصد پرزهای درگیر شده نیز به نظر می رسد هیچ پرزی دچار آسیب نشده است، تعداد بسیار کمتری از سلول های بافت پوششی در مقایسه با سلول های پوششی گروه آلوده دچار آسیب شدند. نتایج بررسی بافت روده باریک در گروه دریافت کننده باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با گروه کنترل تغییر در لایه های مختلف (مخاطی، زیر مخاطی

و عضلانی)، شدت تخریب پرزها، نکروزه شدن، واکوئله شدن، تجمع سلول های التهابی لنفوسیتی، تغییر در تراکم و تعداد سلول های جامی و غدد گابلت مشاهده شد. در حالی که در گروه دریافت کننده مخلوط پروبیوتیک کاهش معناداری در تجمع سلول های التهابی لنفوسیتی، تخریب پرزها، نکروزه شدن، واکوئله شدن، تغییر در ضخامت و نظم لایه های مختلف در مقایسه با گروه عفونی مشاهده شد (جدول ۱، شکل ۱)

جدول ۱. مقایسه بافت روده باریک در گروه های مختلف

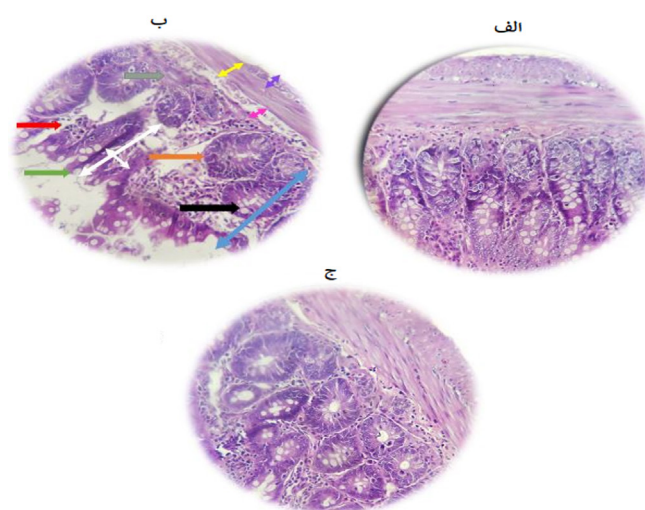
تغییرات بافت روده باریک	گروه کنترل	گروه دریافت کننده استافیلوکوکوس اورئوس (10^8 ml)	گروه دریافت کننده استافیلوکوکوس اورئوس (10^9 CFU/ml) + پروبیوتیک (10^8 ml)
تغییر در طول و عرض پرز	0/01 ± 0/01	***4/51 ± 0/02	***2/56 ± 0/038
باریک شدن پرزها	0/02 ± 0/01	***4/31 ± 0/02	***1/56 ± 0/028
تغییر ضخامت لایه ماهیچه ای	0/011 ± 0/003	***4/14 ± 0/06	***3/01 ± 0/03
تخریب بافت اپی تلیوم	0/13 ± 0/001	***4/28 ± 0/016	***3/18 ± 0/01
ضخامت لایه زیر مخاط	0/01 ± 0/02	***4/18 ± 0/07	***3/29 ± 0/02
ضخامت لایه مخاط	0/02 ± 0/03	***4/13 ± 0/15	***4/43 ± 0/06
نکروزه شدن بافت	0/01 ± 0/02	***3/24 ± 0/03	***2/02 ± 0/001
واکنش شدن	0/07 ± 0/02	***3/38 ± 0/014	***2/06 ± 0/04
تجمع سلول های لنفوسیت	0/02 ± 0/003	***4/23 ± 0/02	***3/01 ± 0/03
تعداد سلول های گابلت	0/01 ± 0/02	***4/35 ± 0/07	***3/23 ± 0/02
تعداد سلول های جامی غدد	0/01 ± 0/01	***3/46 ± 0/02	***3/08 ± 0/003

نتایج براساس میانگین ± انحراف معیار

***P < 0/001 مقایسه با گروه کنترل

#P < 0/05 مقایسه با گروه آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس

###P < 0/001 مقایسه با گروه آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس



شکل ۱. مقطع میکروسکوپی بافت روده باریک در گروه های آزمایش. (الف) گروه کنترل، (ب) گروه آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، (ج) گروه آلوده تیمار شده با مخلوط پروبیوتیک. با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (بزرگنمایی ۴۰۰).

ضخامت لایه سروزی، (فلش بنفش) ضخامت لایه ماهیچه ای (فلش زرد)، ضخامت لایه زیر مخاط (فلش صورتی) و ضخامت لایه مخاطی (فلش ابی) نشان داده شد

در گروه القا عفونت افزایش تعداد سلول های التهابی به ویژه لنفوسیت ها (فلش قرمز رنگ)، واکنش شدن (فلش مشکی)، نکروزه شدن بافت (فلش خاکستری)، غدد گابلت (فلش نارنجی)، تخریب بافت اپی تلیوم (فلش سبز)، تغییر در طول و عرض پرزها (فلش سفید)،

بحث

در تحقیق حاضر، اثر محافظتی مخلوط پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس پاراکازئی و لاکتوباسیلوس برویس) بر بافت روده باریک موش های صحرایی نر آلوده به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در گروه آلوده به باکتری در بخش های مختلف روده باریک آسیب هایی القا شده و تخریب هایی قابل مشاهده است. در آلودگی های باکتریایی، استرس اکسیداتیو باعث تولید انواع گونه های اکسیژن آزاد از جمله رادیکال آزاد هیدروکسیل و آنیون های سوپراکسید می شود. تحقیقات مختلف گزارش داده اند، افزایش گونه های اکسیژن آزاد می تواند به ماکرومولکول های زیستی غشا مانند پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب برساند (۱۹،۲۰). از این رو، افزایش استرس اکسیداتیو در عفونت ها بر وقوع التهاب، آسیب سلولی و حساسیت به بیماری تأثیرگذار است (۲۰). در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۱۵ توسط سیمون و همکاران اثرات باکتری سالمونلا بر فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی در شرایط درون زایی گزارش داده شده (۲۱) که نتایج حاصل از این مطالعه نیز همسو با مطالعه پیشین بود. همچنین در پژوهش انجام شده توسط دژنگومتر و همکاران (۲۰۲۳) برهم خوردن تعادل سیستم آنتی اکسیدانی در موش های صحرایی آلوده به سالمونلا گزارش داده شد (۲۲). در بخش دیگری از این تحقیق، نتایج حاصل از بررسی بافت روده باریک موش های آلوده به باکتری تیمار شده با مخلوط پروبیوتیک به مدت ۳۵، بهبودی معناداری را در مقایسه با گروه آلوده به باکتری نشان داد. در پژوهش انجام شده توسط حسینی و همکاران (۲۰۲۳) نشان داد، مصرف مخلوط پروبیوتیک در موش های آلوده به باکتری اشیرشیاکلی می تواند سبب کاهش آسیب های القایی عفونت باکتریایی شود (۲۳) که نتایج حاصل از این مطالعه نیز همسو با این تحقیق است. ژو و همکاران (۲۰۲۱) اثرات لاکتوباسیلوس روتری بر نفوذپذیری روده ای در خوک های از شیر گرفته، نشان داده شد که در گروه دریافت کننده پروبیوتیک نسبت ارتفاع پرز به عمق

کریپت افزایش داشته (۲۴) که در مطالعه حاضر نیز، نتایج همسو با مطالعه پیشین است. تشام و همکاران، در بررسی خود گزارش دادند، مصرف پروبیوتیک در جیره غذایی ماکیان موجب افزایش طول خمل ها در ابتدای روده و افزایش عمق کریپت های لیپرکون در ابتدا و انتهای روده باریک شده است. احتمالاً افزایش عمق کریپت ها به دلیل تحریک غدد لیپرکون توسط پروبیوتیک و در نتیجه افزایش تقسیم سلولی این غدد می باشد (۲۵). مکانیسم های احتمالی مختلفی برای کاهش آسیب در گروه تیمار با پروبیوتیک می توان پیشنهاد داد که از جمله آنها می توان به موارد زیر اشاره داشت

فعالیت آنزیمی پروبیوتیک ها در مجرای روده می تواند در اثرات بیولوژیکی این پروبیوتیک ها نقش داشته باشد. لاکتوباسیل ها و بیفیدوباکتری ها بیش از ۲۰ فعالیت آنزیمی مختلف را نشان می دهند این آنزیم ها با مهار فعالیت بتاگلوکورونیداز باکتریایی روده که متابولیت های گلوکورونید شده را به شکل سمی در روده هیدرولیز می کند مانع القا آسیب در روده می شوند (۲۶). مسیرهای خاص و مکانیسم های تنظیمی کلیدی این اثرات پروبیوتیک ها تا حد زیادی ناشناخته هستند. کاهش pH مجرا، رقابت برای منابع غذایی و تولید باکتریوسین یا مواد مشابه باکتریوسین از جمله مکانیسم های پیشنهادی اصلی برای حذف رقابتی عوامل بیماری زا توسط پروبیوتیک هاست. هنگامی که یک سویه میکروبی به عنوان یک پروبیوتیک نشان داده می شود، پیش نیازهای خاصی وجود دارد که باید مورد توجه قرار گیرد. یکی از آنها چسبندگی به مخاط روده برای کلونیزاسیون و تعامل بیشتر بین سویه های پروبیوتیک تجویز شده و میزبان است (۲۷). این تعامل خاص برای تعدیل تضاد در برابر پاتوژن ها و برای اعمال در سیستم ایمنی مورد نیاز است. سلول های اپیتلیال روده برای جلوگیری از چسبندگی باکتری های بیماری زا، موسین ترشح می کنند و نشان داده شده است که چندین پروتئین لاکتوباسیلوس این چسبندگی را تقویت می کنند و چسبندگی های سطحی را نشان می دهند

که اتصال به لایه مخاطی را تسهیل می کنند (۲۸). همچنین پروبیوتیک ها در تعادل فلور روده ای دارای اهمیت هستند، میکروبیوتای روده سیستم ایمنی را از طریق تولید مولکول هایی با عملکردهای تعدیل کننده ایمنی و ضد التهابی که قادر به تحریک سلول های ایمنی هستند تعدیل می کند. این اثرات تعدیل کننده ایمنی، به دلیل تعامل باکتری های پروبیوتیک با سلول های اپیتلیال، دندروسیت ها، مونوسیت ها، ماکروفاژها و لنفوسیت ها است (۲۹). پروبیوتیک ها یک رویکرد بالقوه برای کمک به حفظ سد روده در طول کل دستگاه روده هستند. پروبیوتیک ها علاوه بر کمک به تولید بوتیرات توسط یک میکروبیوم سالم و متعادل، در تقویت پروتئین های TJ و حفظ یکپارچگی مخاط مؤثر هستند و به این ترتیب جذب بهینه مواد مغذی را نیز ارتقا می دهند (۳۰). یکی دیگر از مکانیسم های اصلی اثر پروبیوتیک ها تنظیم پاسخ ایمنی میزبان است (۳۱) که با تعدیل پاسخ ایمنی و القای ایجاد سلول های T تنظیم کننده به حفظ همئوستاز روده کمک می کنند (۳۲).

این میکروارگانیسم ها قادر به سرکوب التهاب روده از طریق کاهش بیان TLR و ترشح متابولیت هایی هستند که ممکن است مانع ورود TNF- α به سلول های تک هسته ای خون و مهار سیگنال دهی NF-kB در انتروسیت ها شوند. از این نظر، سیگنال دهی توسط اجزای دیواره سلولی لاکتوباسیل ها به طور بالقوه می تواند از طریق اتصال TLR۲ و TLR۶ رخ دهد و تولید سیتوکینین را تحریک کند. علاوه بر این، TLR۲ پپتیدوگلیکان را که جزء اصلی باکتری های گرم مثبت از جمله باکتری های جنس لاکتوباسیلوس است، شناسایی می کند (۳۳). پروبیوتیک ها با سلول های اپیتلیال از طریق TLR۲ تعامل دارد و این تعامل با سلول های ایمنی مرتبط با روده باعث افزایش تعداد گیرنده های CD-۲۰۶ و TLR۲ می شود که مجموعه ای از این مکانیسم ها در کاهش آسیب و بهبودی تخریب های ایجاد شده در بافت روده باریک موش های آلوده به باکتری کمک می کند (۳۴).

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مصرف مخلوط پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس پاراکازئی و لاکتوباسیلوس برویس) بر بافت روده باریک موش های صحرایی نر آلوده به باکتری استافیلوکوکوس

اورئوس اثر حفاظتی داشته، با توجه به نتایج مطالعات، پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های بی خطری هستند که احتمالاً وقتی در دوزهای کافی و در دوره های مناسب تجویز شوند، اثرات مفیدی را برای میزبان ایجاد می کنند.

References

1. Mitevska E, Wong B, Surewaard BG, Jenne CN. The prevalence, risk, and management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in diverse populations across Canada: a systematic review. *Pathogens*. 2021; 10(4):393. DOI: 10.3390/pathogens10040393.
2. Liu A, Garrett S, Hong W, Zhang J. *Staphylococcus aureus* Infections and Human Intestinal Microbiota. *Pathogens*. 2024 ;13(4):276. DOI:10.3390/pathogens13040276.
3. Howden BP, Giulieri SG, Wong Fok Lung T, Baines SL, Sharkey LK, Lee JY, Hachani A, Monk IR, Stinear TP. *Staphylococcus aureus* host interactions and adaptation *Nat. Rev. Microbiol*. 2023 Jun; 21(6):380-95. DOI:10.1038/s41579-023-00852-y.
4. Hu X, Guo J, Zhao C, Jiang P, Maimai T, Yanyi L, Cao Y, Fu Y, Zhang N. The gut microbiota contributes to the development of *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in mice. *The ISME journal*. 2020 Jul; 14(7): 1897-910. DOI: 10.1038/s41396-020-0651-1.
5. Zhao C, Wu K, Hao H, Zhao Y, Bao L, Qiu M, He Y, He Z, Zhang N, Hu X, Fu Y. Gut microbiota-mediated secondary bile acid alleviates *Staphylococcus aureus*-induced mastitis through the TGR5-cAMP-PKA-NF-KB/NLRP3 pathways in mice. *NPJ biofilms and microbiomes*. 2023 Feb; 9(1):8. DOI: 10.1038/s41522-023-00374-8.
6. Chen H, Zhang J, He Y, Lv Z, Liang Z, Chen J, Li P, Liu J, Yang H, Tao A, Liu X. Exploring the role of *Staphylococcus aureus* in inflammatory diseases. *Toxins*. 2022 Jul; 14(7):464. DOI: 10.3390/toxins14070464.
7. Piewngam P, Khongthong S, Roekngam N, Theapparap Y, Sunpaweravong S, Faroonsarng D, Otto M. Probiotic for pathogen-specific *Staphylococcus aureus* decolonisation in Thailand: a phase 2, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *The Lancet Microbe*. 2023 Feb; 4(2): e75-83. DOI: 10.1016/S2666-5247(22)00322-6.
8. Tang J, Zhao M, Yang W, Chen H, Dong Y, He Q, Miao X, Zhang J. Effect of Composite Probiotics on Antioxidant Capacity, Gut Barrier Functions, and Fecal Microbiome of Weaned Piglets and Sows. *Animals*. 2024 Apr; 14(9):1359. DOI: 10.3390/ani14091359.
9. Chandrasekaran P, Weiskirchen S, Weiskirchen R. Effects of Probiotics on Gut Microbiota: An Overview. *Sci Rep*. 2024 May; 25(11):6022. DOI:10.3390/ijms25116022.
10. Watanabe M, Nakai H, Ohara T, Kawasaki K, Murosaki S, Hirose Y. Beneficial effect of heat-killed *Lactiplanti bacillus plantarum* L-137 on intestinal barrier function of rat small intestinal epithelial cells. *Sci Rep*. 2024 May ; 14(1):12319. DOI: 10.1038/s41598-024-62657-0.
11. Shawky LM, Abo El Wafa SM, Behery M, Bahr MH, Abu Alnasr MT, Morsi AA. *Lactobacillus rhamnosus* GG and Tannic Acid Synergistically Promote the Gut Barrier Integrity in a Rat Model of Experimental Diarrhea via Selective Immunomodulatory Cytokine Targeting. *Molecular Mol Nutr Food Res*. 2024 Aug; 68(16):2400295. DOI: 10.1002/mnfr.202400295.
12. Di Vincenzo F, Del Gaudio A, Petito V, Lopetuso LR, Scaldaferri F. Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. *Intern Emerg Med*. 2024 Mar;19(2): 275-93. DOI: 10.1007/s11739-023-03374-w.
13. Liang H, Wang Y, Liu F, Duan G, Long J, Jin Y, Chen S, Yang H. The Application of Rat Models in *Staphylococcus aureus* Infections. *Pathogens*. 2024 May; 13(6):434. DOI: 10.3390/pathogens13060434.
14. Ahmadi Z, Tajbakhsh H, Momtaz H. Detection of the antibiotic resistance pattern in *staphylococcus aureus* isolated from clinical samples obtained from patients hospitalized in imam raze hospital, kermanshah. *World J Microbiol Biotechnol* 2014 Mar; 6,4 (17):209-311. DOI: 10.5812/jkums.118807.
15. Tabaei S, Kouhi Noghondar M, Mohammadzadeh, M, Ataei L, Amel Jamehdar S. Pattern of antibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from clinical specimens: Imam Reza hospital in Mashhad. *Med. J. Mashhad Univ. Med. Sci.*,2016 Jul-Oct; 59(2): 64-70. DOI: 10.22038/mjms.2016.7328
16. Liu Y, Zhang J, Ji Y. Environmental factors modulate biofilm formation by *Staphylococcus aureus*. *Sci. Prog*. 2020 Mar;103(1):0036850419898659. DOI: 10.1177/0036850419898659.
17. Barzin oshtolgh A, Keshtmand, Z, Samadikhah H R. Effect of protective of a mixture of native Iranian probiotics (*Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus holoticus*) on the Damage of Rat male Small Intestinal tissue Caused by lead

acetate. Iranian Journal of Biological Sciences. 2022 May; 16: 71-80.

18. Gulgun M, Erdem O, Oztas E, Kesik V, Balamtekin N, Vurucu S, Kul M, Kismet E, Koseoglu V. Proanthocyanidin prevents methotrexate-induced intestinal damage and oxidative stress. *Exp Toxicol Pathol*. 2010 Mar; 62(2):109-15. DOI: 10.1016/j.etp.2009.02.120.

19. Men Q, Zhang P, Zheng W, Song S, Ai C. Fucoidan alleviates Salmonella-induced inflammation and mortality by modulating gut microbiota and metabolites, protecting intestinal barrier, and inhibiting NF- κ B pathway. *Food Biosci*. 2023 Dec 1;56:103209. DOI: 10.1016/j.fbio.2023.103209.

20. Rowe SE, Wagner NJ, Li L, Beam JE, Wilkinson AD, Radlinski LC, Zhang Q, Miao EA, Conlon BP. Reactive oxygen species induce antibiotic tolerance during systemic *Staphylococcus aureus* infection. *Nat. Microbial*. 2020 Feb; 5(2):282-90. DOI: 10.1038/s41564-019-0627-y.

21. Siméon Pierre Chegaing Fodouop, Donatien Gatsing, Benjamin Talom Tangué, Richard Simo Tagne, Sédrick Donald Tala, Joseph Tchoumboué, Jules Roger Kuâte, Effect of Salmonella typhimurium infection on rat's cell oxidation and in vivo antioxidant activity of Vitellaria paradoxa and Ludwigia abyssinica aqueous extract, *Asian Pac J Trop Dis*. 2015 Jan; 5(1): 38-46. DOI:10.1016/S2222-1808(14)60624-1.

22. Djenguemtar J, Goka MS, Noubom M, Konack EY, Kamsu GT, Sokoudjou JB, Feudjio HB, Kodjio N, Gatsing D. In vivo Antisalmonellal and Antioxidant Activity of Hydroethanolic Extract of *Bauhinia rufescens* Leaves in Wistar Albino Rats Infected with *Salmonella Typhi*. *Microbiol. Res. J. Int*. 2023 Sep; 33 (2):39-53. DOI: 10.9734/mrji/2023/v33i21366.

23. Hosseini S, Keshtmand Z, Mlrnurollahi S M. Investigating the effect of probiotics mixture (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus heloticus*) on small intestine tissue infected with *Escherichia coli* bacteria in male rats. *J. Appl. Microbiol*. 2023 Sep; 2(9) 79-87. DOI: 10.1186/s40104-021-00624-9.

24. Zhu T, Mao J, Zhong Y, Huang C, Deng Z, Cui Y, Liu J, Wang H. *L. reuteri* ZJ617 inhibits inflammatory and autophagy signaling pathways in gut-liver axis in piglet induced by lipopolysaccharide. *JASB*. 2021 Dec; 12:1-6. DOI: 10.1186/s40104-021-00624-9.

25. Teshfam M, Rahimi SH, Karimi K. Effect

of various levels of probiotic on morphology of intestinal mucosa in broiler chicks. *J Vet Res*. 2005; 60(3):205-211.

26. Zhang J, Zhao J, Jin H, Lv R, Shi H, De G, Yang B, Sun Z, Zhang H. Probiotics maintain the intestinal microbiome homeostasis of the sailors during a long sea voyage. *Gut Microbes*. 2020 Jul; 11(4):930-43. DOI: 10.1080/19490976.2020.1722054.

27. Varela-Trinidad GU, Domínguez-Díaz C, Solórzano-Castanedo K, Íñiguez-Gutiérrez L, Hernández-Flores TD, Fafutis-Morris M. Probiotics: Protecting our health from the gut. *Microorganisms*. 2022 Jul; 10(7):1428. DOI: 10.3390/microorganisms10071428.

28. Gorreja F, Walker WA. The potential role of adherence factors in probiotic function in the gastrointestinal tract of adults and pediatrics: a narrative review of experimental and human studies. *Gut Microbes*. 2022 Dec; 14(1):2149214. DOI: 10.1080/19490976.2022.2149214.

29. Dvorožňáková E, Vargová M, Hurníková Z, Lauková A, Revajová V. Modulation of lymphocyte subpopulations in the small intestine of mice treated with probiotic bacterial strains and infected with *Trichinella spiralis*. *J Appl Microbiol*. 2022 Jun; 132(6):4430-9. DOI: 10.1111/jam.15534.

30. Cao F, Jin L, Gao Y, Ding Y, Wen H, Qian Z, Zhang C, Hong L, Yang H, Zhang J, Tong Z. Artificial-enzymes-armed *Bifidobacterium longum* probiotics for alleviating intestinal inflammation and microbiota dysbiosis. *Nat. Nanotechnol*. 2023 Jun; 18(6):617-27. DOI: 10.1038/s41565-023-01346-x.

31. Wu Y, Yang F, Jiang W, Hu A, Xiong Z, Yang S, Cao P, Cao Z, Xiong Z, Cao H. Effects of compound probiotics on intestinal barrier function and caecum microbiota composition of broilers. *Avian Pathol*. 2022 Sep; 51(5):465-75. DOI: 10.1080/03079457.2022.2100740.

32. Mazziotta C, Tognon M, Martini F, Torreggiani E, Rotondo JC. Probiotics mechanism of action on immune cells and beneficial effects on human health. *Cells*. 2023 Jan; 12(1):184. DOI: 10.3390/cells12010184.

33. Qi X, Xiao Y, Zhang X, Zhu Z, Zhang H, Wei J, Zhao Z, Li J, Chen T. Probiotics suppress LL37 generated rosacea-like skin inflammation by modulating the TLR2/MyD88/NF- κ B signaling pathway. *FOOD FUNCT*. 2024;15(17):8916-34. DOI: 10.1039/D4FO03083D.

34. Winther KD, Boll EJ, Sandvang D, Williams AR. Probiotic *Bacillus* spp. enhance TLR3-mediated TNF signalling in macrophages. *J Immunol* 2024 Mar; 171(3):402-12. **DOI: 10.1111/imm.13721.**