Received: 2023/08/2
Accepted: 2023/08/12
How to cite:
Mousavinezhad SA, Harzandi N, Marjani A, Jafari P. Effect of culture supernatant of three probiotic bacterial strains of Bifidobacterium on Pseudomonas aeruginosa. EBNESINA 2023;25(3):25-32.
DOI: 10.22034/25.3.25

Original Article

Effect of culture supernatant of three probiotic bacterial strains of *Bifidobacterium* on *Pseudomonas aeruginosa*

Seyed Amin Mousavinezhad[1], Nasser Harzandi[2]✉, Azam Marjani[3], Parvaneh Jafari[4]

Abstract

Background and aims: Probiotics are living microorganisms that, if prescribed in sufficient quantity, have beneficial effects on the host's health. Consuming a large number of live bacteria increases the possibility of infection and inflammatory reactions, especially in people with a weak immune system. Therefore, in recent years, new terms such as postbiotics have been added to the literature of researchers. This study aimed to investigate the antimicrobial effect of the culture supernatant of three probiotic strains of *Bifidobacterium* as a postbiotic on the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria in laboratory conditions.

Methods: In order to conduct this experimental study, three probiotic strains of *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, and *Bifidobacterium lactis* as well as *Pseudomonas aeruginosa*, were cultivated. Based on the standards, the lack of contamination of probiotic culture was checked and finally, after preparing the culture supernatant of probiotics, the effect of each probiotic strain on inhibiting the growth of *Pseudomonas* bacteria was compared to the negative and positive control.

Results:. The greatest inhibition of growth was achieved by *Bifidobacterium bifidum*. (16/33±1.52mm). No significant difference was observed between groups *Bifidobacterium bifidum* and positive control. The synergistic effect between probiotics was not seen.

Conclusion: Probiotics and postbiotics can act as natural antibiotics against harmful pathogens. For appropriate and targeted exploitation, it seems necessary to identify a strain with a better effect on each pathogen.

Keywords: Culture Media, Probiotics, Bifidobacterium, Pseudomonas aeruginosa

1. PhD candidate, Department of Microbiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran
2. Assistant professor, Department of Microbiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran
3. Professor, Department of Chemistry, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran
4. Associate professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

✉ Corresponding Author:
Nasser Harzandi
Address Department of Microbiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran
Tel: +98 (26) 34182301
E-mail: nasharzan@gmail.com

OPEN ACCESS
Copyright© 2023. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms. Downloaded from: http://www.ebnesina.ajaums.ac.ir

مقاله تحقیقی

اثر سوپرناتانت کشت سه سویه پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم بر سودوموناس آئروژینوزا

سیدامین موسوی‌نژاد[1]، ناصر هرزندی[2]✉، اعظم مرجانی[3]، پروانه جعفری[4]

چکیده

زمینه و اهداف: پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده هستند که در صورت تجویز به مقدار کافی، آثار سودمندی بر سلامت میزبان می‌گذارند. مصرف تعداد زیاد باکتری به صورت زنده، احتمال ایجاد عفونت و همچنین واکنش‌های التهابی به خصوص در افراد دارای ضعف سیستم ایمنی را افزایش می‌دهد از این رو در سال های اخیر، اصطلاحات جدیدی مانند پست‌بیوتیک‌ها در ادبیات پژوهشگران افزوده شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد میکروبی سوپرناتانت کشت سه سویه پروبیوتیکی بیفیدوباکتریوم به عنوان پست بیوتیک بر رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا در شرایط آزمایشگاهی بود.

روش بررسی: به منظور انجام این مطالعه تجربی، سه سویه پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، بیفیدوباکتریوم لانگوم و بیفیدوباکتریوم لاکتیس همچنین باکتری سودوموناس آئروژینوزا کشت داده شدند. بر اساس استانداردها، عدم آلودگی کشت پروبیوتیک‌ها بررسی شد و در نهایت پس از تهیه سوپرناتانت کشت پروبیوتیک‌ها، اثر هر سویه پروبیوتیک بر مهار رشد باکتری سودوموناس نسبت به کنترل منفی و مثبت ارزیابی شد.

یافته‌ها: بیشترین مهار رشد توسط باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (۱/۵۲± ۱۶/۳۳ میلی‌متر) حاصل شد. اختلاف معنی‌دار بین گروه بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و کنترل مثبت مشاهده نشد. اثر هم‌افزایی بین پروبیوتیک‌ها دیده نشد.

نتیجه‌گیری: پروبیوتیک‌ها و پست بیوتیک‌ها می‌توانند به عنوان آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی علیه پاتوژن‌ها عمل کنند. برای بهره‌برداری مناسب و هدف‌مند، شناسایی سویه‌ای که بتواند اثر بخشی بهتری برای هر پاتوژن داشته باشد، ضروری به نظر می‌رسد.

کلمات کلیدی: محیط کشت، پروبیوتیک، بیفیدوباکتریوم، سودوموناس آئروژینوزا

فصلنامه علمی پژوهشی ابن‌سینا / اداره بهداشت، امداد و درمان نهاجا (سال بیست و پنجم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۲، مسلسل ۸۴)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۵/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۲۱

۱. دانشجوی دکتری میکروبیولوژی،گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
۲. استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
۳. استاد، گروه شیمی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران
۴. دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

✉نویسنده مسئول: ناصر هرزندی
آدرس: گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
تلفن: ۳۴۱۸۲۳۰۱ (۲۶) ۹۸+
ایمیل: nasharzan@gmail.com

همه حقوق مادی و معنوی این اثر به فصلنامه علمی پژوهشی ابن‌سینا / اداره بهداشت، امداد و درمان نهاجا تعلق دارد.

مقدمه

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده هستند که در صورت تجویز به مقدار کافی، آثار سودمندی بر سلامتی میزبان می‌گذارند [۱]. پروبیوتیک از واژه یونانی پروبیوس به معنای حیات‌بخش اقتباس شده است و از نظر مفهوم درمقابل واژه آنتی‌بیوتیک یا پادزیست به معنای ضدحیات قرار دارد. این واژه اولین بارتوسط لایلی و استیل‌ول در سال ۱۹۶۵ به منظور توضیح مواد ترشحی به وسیله یک میکروارگانیسم که رشد یک میکروارگانیسم دیگر را تحریک می‌کرد، استفاده شد [۲]. پارکر اولین فردی بود که واژه پروبیوتیک را در مفهومی که امروزه استفاده می‌شود به کار برد و پروبیوتیک‌ها را به عنوان ارگانیسم‌ها و موادی که در برقراری تعادل میکروبی روده مؤثر هستند، تعریف کرد.

معمولی‌ترین میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک به سه گروه باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها تقسیم می‌شوند. بعضی از این میکروارگانیسم‌ها سویه‌های انتخابی باکتری‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم هستند. گرچه سویه‌های انتروکوکوس و استرپتوکوکوس و ای‌کولای نیز برای این منظور استفاده شده‌اند. امروزه تأثیر پروبیوتیک‌های خوراکی بر سلامت موجودات به خصوص در کنترل پروفایل چربی خون در مطالعات مورد بررسی قرار گرفته شده است [۳].

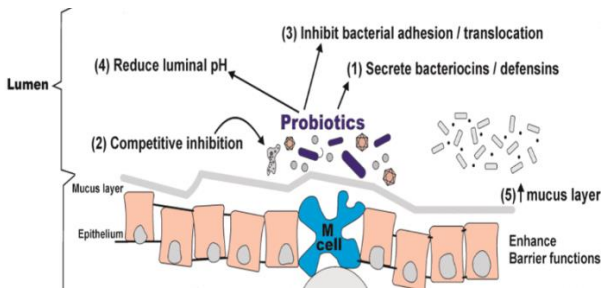
مقاومت و زنده ماندن در روند فرایند ساخت، زنده و فعال ماندن در دستگاه گوارش پس از مصرف که به معنی مقاومت در برابر اسید معده و اسیدهای صفراوی است، توانایی اتصال به سلول‌های اپی‌تلیال روده، توانایی افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا از طریق تولید ترکیبات ضدباکتری، حذف رقابتی یا کاهش pH داخل کولون، توانایی تثبیت فلور باکتریایی روده و ثبات ژنتیکی [۴] از جمله ویژگی‌های پروبیوتیک‌ها هستند.

پروبیوتیکی که بیش از همه در زمینه‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک شامل گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدیوباکتریا است. این دو جنس باکتریایی هیچ‌گونه توانایی ایجاد التهاب ندارند که این مسئله از جمله علل انتخاب آنها به عنوان پروبیوتیک است [۵].

استانداردهای کیفیت یک پروبیوتیک که توسط سازمان جهانی بهداشت و سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد ارائه گردیده، با توجه به شناسایی سویه، ارزیابی ایمنی، ویژگی زیستی، نمایش تأثیرات سودمند ازطریق مطالعه کارایی در انسان، تأیید ویژگی‌ها و تعیین تعداد حداقل باکتری موجود در یک گرم ماده غذایی هنگام مصرف جهت اثربخشی باید مشخص شوند.

مکانیسم اثر پروبیوتیک‌ها در بهبود کیفیت حیات میزبان و ممانعت از ابتلا به بیماری‌های عفونی به طور دقیق مشخص نشده است. به‌علاوه یک باکتری پروبیوتیک ممکن است باکتری‌های بیماری‌زای مختلف را با مکانیسم‌های متفاوتی مانند تولید ترکیبات مهار کننده شامل اسیدهای آلی نظیر اسیدلاکتیک، اسید استیک و اسیدهای چرب نظیر استات، پروپیونات و بوتیرات، پراکسیدهیدروژن و ترکیبات باکتریوسین [۵]، رقابت برای کسب مواد غذایی [۶] و اثر بر سیستم ایمنی هومورال و ایمنی سلولی [۷] مهار کند (شکل ۱).

از سویی، مصرف تعداد زیاد باکتری به صورت زنده، احتمال ایجاد عفونت و همچنین واکنش‌های التهابی به خصوص در افراد دارای ضعف سیستم ایمنی را افزایش می‌دهد [۸] از این رو در سال های اخیر، اصطلاحات جدیدی مانند پاراپروبیوتیک‌ها (سلول‌های غیرفعال پروبیوتیک‌ها) و پست‌بیوتیک‌ها (متابولیت‌های پروبیوتیک‌ها) در ادبیات پژوهشگران افزوده شده است، زیرا تحقیقات نشان داده است که سلول‌های مرده، چه دست نخورده و یا پاره شده، ممکن



شکل ۱- مکانیسم عملکردی پروبیوتیک‌ها [۱]

است برای سلامت انسان همانند پروبیوتیک‌های زنده سودمند باشند [۹].

در مطالعه توراکاتو و همکاران [۱۰] به فعالیت های زیستی پست‌بیوتیک‌ها شامل اثرات ضدسرطانی، ضدچاقی، ضدالتهابی، ضدتکثیر، هیپوکلسترولمی، آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کننده سیستم ایمنی اشاره شده است اما نیاز مطالعات بیشتر بر روی خواص پست‌بیوتیک‌ها را ضروری دانسته‌اند.

ازما و همکاران [۱۱] در یک مطالعه مروری عنوان کردند که یکی از بهترین راه‌های مقابله با عوامل بیماری‌زا، استفاده از پست‌بیوتیک‌های مشتق از پروبیوتیک است که شامل ساختارها و ترکیبات مختلفی است که با استفاده از مکانیسم‌های مختلف رشد و فعالیت پاتوژن‌ها را محدود کرده و آنها را از بین می‌برد.

هدف از این مطالعه بررسی اثر ضدمیکروبی سوپرناتانت کشت سه سویه پروبیوتیکی بیفیدوباکتریوم به عنوان پست‌بیوتیک بر رشد باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* در شرایط آزمایشگاهی بود.

روش بررسی

به منظور انجام این مطالعه تجربی، سه گونه مختلف پروبیوتیک، *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* سویه DSM22892، *بیفیدوباکتریوم لانگوم* سویه DSM16603 و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* سویه LMGP21384 به صورت لیوفلیزه از شرکت پوراطب گستر (تهران، ایران) تهیه شد. ارزیابی ایمنی و کارایی این باکتری‌ها به لحاظ ویژگی‌های پروبیوتیک به اثبات رسیده است و به صورت تجاری عرضه می‌شوند. همچنین باکتری سودوموناس آئروژینوزا زنده با کد ATCC 27853 از شرکت بهار افشان (تهران) تهیه شد. برای کشت پروبیوتیک‌ها از محیط کشت MRS براث حاوی ۰/۵ درصد ال‌سیستئین استفاده شد.

به منظور کشت پروبیوتیک‌ها به هر لوله حاوی MRS براث که قبلاً برچسب زده شده بود، ۰/۱ گرم باکتری لیوفلیزه پروبیوتیکی افزوده شد و لوله‌های حاوی محیط کشت و باکتری تلقیح شده به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷°C در شرایط بی‌هوازی گرماگذاری شدند تا کدورت ۱ مک‌فارلند (۳×۱۰^{۸}cfu/ml) به دست آید [۱۲، ۱۳].

به منظور اطمینان از عدم آلودگی محیط کشت بر اساس استانداردهای موجود اقدام به بررسی وجود آلودگی در محیط کشت گردید.

بر اساس استاندارد ۱-۲۴۶۱ و ۲-۲۴۶۱ مؤسسه استاندارد ایران، حضور انتروباکتریاسه در سه محیط کشت حاوی بیفیدوباکتریوم با کمک محیط اختصاصی VRBGبررسی شد، یک میلی‌لیتر از کشت هر سه لوله را به ۹ میلی‌لیتر بافر فسفات افزوده و از سوسپانسیون حاصل، سریال رقت تهیه شد. سپس یک میلی‌لیتراز هر رقت را روی محیط VRBGبه صورت پورپلیت کشت و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور۳۷°C گرماگذاری شدند و حضور خانواده انتروباکتریاسه بررسی شد.

بر اساس استاندارد شماره ۱۰۱۵۴ مؤسسه استاندارد ایران، یک میلی‌لیتر ازکشت سه گونه بیفیدوباکتریوم را به ۹ میلی‌لیتر بافر فسفات افزوده و به خوبی مخلوط کرده و سوسپانسیون همگنی تهیه شد. پس از تهیه سریال رقت از سوسپانسیون حاصله، از هر رقت یک میلی‌لیتر را روی محیط YGC به صورت پورپلیت کشت، و به مدت ۳ تا ۵ روز در انکوباتور ۲۵°C گرماگذاری شد. سپس حضور کپک و مخمر بررسی شد.

بر اساس استاندارد شماره ۵۲۳۴ سازمان استاندارد ایران، یک میلی‌لیتر از کشت سه سویه بیفیدوباکتریوم، به ۹ میلی‌لیتر بافر فسفات افزوده و سوسپانسیون همگنی تهیه شد. سپس یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون مورد اشاره را در ۱۰ میلی‌لیتر محیط LSD حاوی لوله دورهام افزوده شد. لوله به مدت ۴۸ ساعت داخل انکوباتور ۳۷°C گرماگذاری شد. پس از طی شدن زمان انکوباسیون، تولید گاز در لوله دورهام برای حضور *ای‌کولای* بررسی شد.

بر اساس استاندارد شماره ۱-۶۸۰۶، ۲-۶۸۰۶، ۳-۶۸۰۶ دستورالعمل‌های استاندارد میکروبیولوژی مواد غذایی ایران یک میلی‌لیتر از کشت سه سویه بیفیدوباکتریوم را به ۹

میلی‌لیتر بافر فسفات اضافه و سوسپانسیون تهیه شد. از سوسپانسیون حاصل مقدار یک میلی‌لیتر به محیط کشت اختصاصی GC منتقل و سطح لوله با پارافین مایع استریل بسته شد. سپس لوله در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شد. پس از طی شدن زمان انکوباسیون، بااستفاده از پیپت استریل پارافین مایع کشیده و با آنس حلقوی بر روی محیط بردپارکر کشت و پلیت حاصله را در شرایط هوازی در دمای ۳۷°C به مدت ۴۸ ساعت گرماگذاری شد. مشاهده کلنی‌های سیاه مبنی بر اثبات حضور استافیلوکوکوس‌های کواگولاز مثبت است.

پس از کشت پروبیوتیک‌ها و اطمینان از عدم آلودگی آنها، ۱۰ میلی‌لیتر از هر کشت را در لوله‌های استریل ریخته در دور ۷۰۰۰g در دمای ۴°C به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. سوپرناتانت کشت حاصل با کمک سرنگ ۱۰ میلی‌لیتر از فیلتر ۰/۴۵ و سپس از فیلتر ۰/۲، برای اطمینان از عدم وجود باکتری، عبور داده شد و بدین ترتیب سوپرناتانت کشت، عاری از باکتری‌های پروبیوتیک تهیه گردید و در یخچال ۴°C نگهداری شد [۱۴].

به جهت بررسی خاصیت ضد میکروبی سوپرناتانت کشت پروبیوتیک‌ها، باکتری سودوموناس آئروژینوزا در محیط نوترینت براث کشت داده شد تا غلظت باکتری به نیم مک‌فارلند (۱/۵ ×۱۰^{۸} cfu/ml) برسد. سپس از سوسپانسیون باکتریایی حاصل با کمک سوآپ استریل برداشته و در ۳ پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار (شرکت مرک آلمان) با pH=۷ کشت داده شد و به کمک پیپت پاستور استریل چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر به تعداد ۶ چاهک روی محیط کشت حفر شد. قبل از ریختن مواد به چاهک‌ها یک قطره سافت آگار (۰/۶ گرم آگار را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب حل کرده و در اتوکلاو استریل گردید) به ته چاهک اضافه شد تا ته چاهک‌ها بسته شود. مطابق جدول ۱ در هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از هر سوپرناتانت کشت، اضافه شد. در یک چاهک ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی و در یک چاهک نیز ۱۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰٪ به عنوان کنترل مثبت افزوده شد. از هر لوله حاوی سوپرناتانت کشت باکتری ۲۰۰ میکرولیتر سوپرناتانت جدا و به یک لوله افزوده و از مخلوط حاصل ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به چاهک ششم افزوده شد تا اثر هم افزایی احتمالی سوپرناتانت کشت باکتری‌ها بررسی شود. در آخر با کمک سافت آگار سر چاهک‌ها بسته شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ °C با کولیس، قطر هاله تشکیل شده، اندازه گیری شد در جدول ۱ می‌توان نحوه گروه‌بندی نمونه‌ها را مشاهده کرد.

جدول ۱- شرح علائم و مواد مورد استفاده در روش انتشار چاهکی

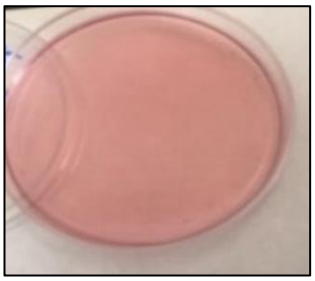
علامت چاهک	ماده مورد استفاده
C -	۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر
C +	۱۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰٪
BB	۱۰۰ میکرولیترسوپرناتانت کشت *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*
BL	۱۰۰ میکرولیتر سوپرناتانت کشت *بیفیدوباکتریوم لانگوم*
BI	۱۰۰ میکرولیتر سوپرناتانت کشت *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*
MIX	۱۰۰ میکرولیتر از ترکیب سوپرناتانت کشت سه باکتری

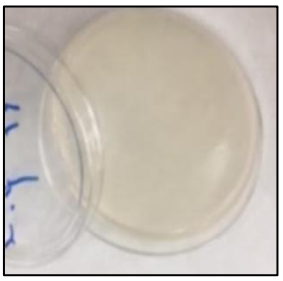
تجزیه و تحلیل آماری

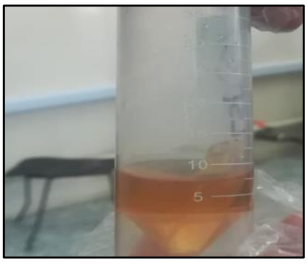
داده‌ها با استفاده از از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ با کمک آزمون‌های آماری تی و آنالیز واریانس، تجزیه و تحلیل شد. نتایج آزمایش‌ها به صورت میانگین ±انحراف معیار گزارش شد. معیار استنتاج آماری p≤۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

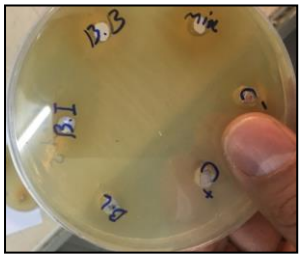
پس از طی ۲۴ ساعت انکوباسیون در محیط VRBG، هیچ کلنی صورتی رنگی مبنی بر حضور انتروباکتریاسه در محیط کشت باکتری‌ها مشاهده نشد (تصویر ۱). پس از ۴ روز انکوباسیون در دمای ۲۵°C، هیچ کلنی مبنی بر حضور کپک و مخمر در محیط YGC، مشاهده نشد (تصویر ۲). پس از طی ۴۸ ساعت زمان انکوباسیون در دمای ۳۷°C، هیچ گازی مبنی بر وجود *ای‌کولای* در لوله دورهام مشاهده نشد (تصویر ۳).


تصویر ۱- محیط VRBG


تصویر۲- محیط کشت YGC


تصویر ۳- تست تولید گاز در لوله دورهام

تصویر ۴- عدم رشد استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت محیط کشت بردپارکر


تصویر ۵- هاله های ایجاد شده در اطراف چاهک های حاوی سوپرناتانت کشت

پس از ۴۸ ساعت گرماگذاری در دمای ۳۷°C، در پلیت‌های حاوی محیط کشت بردپارکر هیچ کلنی سیاه مشاهده نشد (تصویر ۴) که به معنای عدم حضور استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت در سوپرناتانت کشت باکتری بود.

نتیجه حاصل از مهار رشد باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* توسط سوپرناتانت کشت باکتری‌های *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، *بیفیدوباکتریوم لانگوم* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در جدول ۲ قابل مشاهده است در این جدول، حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف بین گروه‌ها است؛ همچنین هاله حاصل از مهار رشد باکتری را در تصویر ۵ می‌توان مشاهده کرد.

جدول ۲-اندازه قطر هاله‌ها

ردیف	نام گروه	اندازه هاله تشکیل شده (میلی‌متر)
۱	سوپرناتانت کشت بیفیدو باکتریوم بیفیدوم	*آ ۱/۵۲ ± ۱۶/۳۳
۲	سوپرناتانت کشت بیفیدوباکتریوم لاکتیس	ب ۱/۱۵ ± ۱۰/۶۶
۳	سوپرناتانت کشت بیفیدوباکتریوم لانگوم	ج ۰/۵۷ ± ۶/۶۶
۴	مخلوط سه سوپرناتانت کشت	ب ۰/۵۷ ± ۱۰/۳۳
۵	کنترل منفی	ج ۰/۵۷ ± ۶/۳۳
۶	کنترل مثبت	آ ۰/۵۷ ± ۱۶/۶۶

*حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف بین گروه‌ها است

بحث و نتیجه‌گیری

سودوموناس آئروژینوزا بعد از *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* سومین عامل عفونت‌های بیمارستانی شناخته شده است. مصرف بی‌رویه آنتی بیوتیک‌ها سبب افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های بیماری‌زا شده و مشکلات زیادی در درمان بیماران ایجاد کرده است و میزان مرگ و میر را افزایش داده است [۱۵]. استفاده از روابط بین میکروبی و مهار رشد بیماری‌زاها از این طریق یکی از راه‌های قابل بررسی برای رفع این مشکلات پیشنهاد شده است [۱۵].

در مطالعه قربانی و همکاران با عنوان اثر عصاره مایع رویی کشت و لیز سلولی مخمر *ساکارومایسیس سرویزیه* بر تولید بیوفیلم و آلژینات توسط باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*، نتیجه گرفته شد که پروبیوتیک‌هایی مثل مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* از پتانسیل لازم برای استفاده علیه عوامل باکتریایی بیماری‌زا برخوردار هستند؛ اما برای تأیید نهایی به عنوان یک جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم نیاز به آزمایش‌های متعدد در شرایط درون و برون تنی است [۱۶].

مهارکنندگی رشد پاتوژن‌های گوارشی توسط پروبیوتیک‌ها در مطالعات مختلفی بررسی شده است؛ در مطالعه هوت و همکاران در سال ۲۰۰۶، اثر آنتاگونیستی پنج سویه مختلف لاکتوباسیلوس و دو سویه بیفیدوباکتریوم بر پاتوژن‌های گوارشی بررسی و هر کدام از سویه‌ها بر پاتوژن‌های مختلف ارزیابی شد [۱۷]. در بررسی نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعات مشابه، بررسی اثرات ضدمیکروبی سویه‌های مختلف پروبیوتیک بر هر پاتوژن ضروری به نظر می‌رسد. از این رو در این پژوهش سعی شد اثر ضد میکروبی سه سویه بیفیدوباکتریوم که پروبیوتیک بودن آن محرز بود، بر روی باکتری پاتوژن *سودوموناس آئروژینوزا* بررسی شود.

از آنجایی که پست بیوتیک‌ها حاوی میکروارگانیسم‌های زنده نیستند و خطرات مرتبط با مصرف مستقیم میکروب‌ها را به حداقل می‌رسانند در این پژوهش از سوپرناتانت کشت

پروبیوتیک‌ها به عنوان پست بیوتیک استفاده شد.

در بررسی نتایج، اختلاف معنی‌دار بین گروه BB و C+ مشاهده نشد و این در حالی بود که اختلاف بین گروه BB و گروه BI و همچنین BB و BL معنی‌دار بود. اثر هم‌افزا در خاصیت ضد باکتریایی سوپرناتانت کشت‌ها مشاهده نشد و این موضوع در مقایسه گروه MIX با گروه BB و وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه، قابل مشاهده است.

از بین پروبیوتیک‌های مورد بررسی در مهار رشد باکتری پاتوژن *سودوموناس آئروژینوزا*، سوپرناتانت کشت باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بیشترین اثر مهاری را نشان داد.

در مطالعه چوی و همکاران در سال ۲۰۲۱ بر روی هشت سویه مختلف بیفیدوباکتریوم و بررسی مهار پاتوژن‌های *استافیلوکوک آرئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *انتروکوک فکالیس* انجام داد، سوپرناتانت کشت *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بیشترین مهار را در رشد سودوموناس نشان داد [۱۸] که با مطالعه حاضر همسو بود.

اگرچه مکانیسم دقیق مهار رشد پاتوژن‌ها توسط پروبیوتیک‌ها مشخص نیست اما بر اساس مطالعات، تولید ترکیبات مهار کننده مانند اسید لاکتیک، اسید استیک و اسیدهای چرب نظیر استات، پروپیونات، بوتیرات، پراکسیدهیدروژن و ترکیبات باکتریوسین و نیز رقابت برای کسب مواد غذایی و همچنین تحریک سیستم ایمنی با افزایش سطح سیتوکاین‌ها و ایمونوگلوبین‌ها، افزایش تکثیر سلول‌های تک هسته‌ای، فعال کردن ماکروفاژها، افزایش فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی، تعدیل خود ایمنی و تحریک ایمنی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا می‌توانند از جمله مکانیسم‌های مهار رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن توسط پروبیوتیک‌ها باشند [۶، ۷].

پروبیوتیک‌ها می‌توانند در مهار پاتوژن‌ها اثر هم‌افزایی داشته باشند [۱۹]. در این پژوهش تأثیر ترکیب سوپرناتانت کشت سه باکتری نسبت به اثر مستقل هر کدام بررسی شد و هم‌افزایی در مهار رشد باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* مشاهده نشد. این موضوع می‌تواند به علت تفاوت در میزان غلظت مواد مهارکننده در سوپرناتانت کشت باکتری‌ها باشد.

به طور کلی بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت، پروبیوتیک‌ها و پست بیوتیک‌ها می‌توانند به عنوان آنتی‌بیوتیک‌های طبیعی علیه پاتوژن‌ها عمل کنند. برای بهره برداری مناسب و هدفمند شناسایی سویه‌ای که بتواند اثربخشی بهتری برای هر پاتوژن داشته باشد، ضروری به نظر می‌رسد. همچنین هم‌افزایی بین پروبیوتیک‌ها نیازمند بررسی دقیق‌تر است.

تشکر و قدردانی

این مقاله در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج با کد IR.IAU.K.REC.1399.020 به تصویب رسیده است.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

سهم نویسندگان

همه نویسندگان در ایده پردازی و انجام طرح، همچنین نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بوده‌اند و همه با تأیید نهایی، مقاله حاضر مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

منابع مالی

این مقاله قسمتی از رساله دکتری مورد تصویب در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج بود.

References

1. Brown-Etris M, Milne C, Orsted H, Gates JL, Netsch D, Punchello M, et al. A prospective, randomized, multisite clinical evaluation of a transparent absorbent acrylic dressing and a hydrocolloid dressing in the management of Stage II and shallow Stage III pressure ulcers. Advances in skin & wound care. 2008;21(4):169-174. doi:10.1097/01.ASW.0000305429.01413.f8
2. Field FK, Kerstein MD. Overview of wound healing in a moist environment. American journal of surgery. 1994;167(1A):2S-6S. doi:10.1016/0002-9610(94)90002-7
3. Mousavi Nezhad SA, Jafari p, Tajabadi Ebrahimi M, Zilabi R. The Effect of Iran Probiotic Fermented Milk Beverage on Cholesterol and Liver Function Biomarkers of Rat. Journal of Police Medicine. 2015;4(1):49-56 [Persian] doi:10.30505/4.1.49
4. Vroman I, Tighzert L. Biodegradable Polymers. Materials. 2009;2(2):307-344. doi:10.3390/ma2020307
5. Knapp TR, Kaplan EN, Daniels JR. Injectable collagen for soft tissue augmentation. Plastic and reconstructive surgery. 1977;60(3):398-405.
6. O'Brien FJ. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. Materials Today. 2011;14(3):88-95. doi:https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70058-X
7. Holmes C, Wrobel JS, Maceachern MP, Boles BR. Collagen-based wound dressings for the treatment of diabetes-related foot ulcers: a systematic review. Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy. 2013;6:17-29. doi:10.2147/dmso.s36024
8. Sanders M. How do we know when something called "probiotic" is really a probiotic? A guideline for consumers and health care professionals. Functional Food Reviews. 2009;1:3-12.
9. Sabahi S, Homayouni Rad A, Aghebati-Maleki L, Sangtarash N, Ozma MA, Karimi A, et al. Postbiotics as the new frontier in food and pharmaceutical research. Critical reviews in food science and nutrition. 2022:1-28. doi:10.1080/10408398.2022.2056727
10. Thorakkattu P, Khanashyam AC, Shah K, Babu KS, Mundanat AS, Deliephan A, et al. Postbiotics: Current Trends in Food and Pharmaceutical Industry. Foods (Basel, Switzerland). 2022;11(19). doi:10.3390/foods11193094
11. Ozma MA, Moaddab SR, Hosseini H, Khodadadi E, Ghotaslou R, Asgharzadeh M, et al. A critical review of novel antibiotic resistance prevention approaches with a focus on postbiotics. Critical reviews in food science and nutrition. 2023:1-19. doi:10.1080/10408398.2023.2214818
12. Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic actions – A review. International Journal of Medical Microbiology. 2010;300(1):57-62. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2009.08.005
13. Lukic J, Chen V, Strahinic I, Begovic J, Lev-Tov H, Davis SC, et al. Probiotics or pro-healers: the role of beneficial bacteria in tissue repair. Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society. 2017;25(6):912-922. doi:10.1111/wrr.12607
14. Chan MZA, Toh M, Liu SQ. Growth, survival, and metabolic activities of probiotic Lactobacillus spp. in fermented coffee brews supplemented with glucose and inactivated yeast derivatives. Food research international (Ottawa, Ont.). 2020;137:109746. doi:10.1016/j.foodres.2020.109746
15. Rajabpour M, Arabestani mR, Yousefi mashof R, Alikhani MY. MIC determination of Pseudomonas aeruginosa strains were isolated from clinical specimens of patients admitted to educational hospitals in Hamedan (90-91). Iranian Journal of Medical Microbiology. 2013;7(3):18-25 [Persian]
16. Ghorbani Z, Owlia P, Marashi MA, Saderi H. Effect of Supernatant Extract and Cell Lysate of Probiotic Yeast of Saccharomyces Cerevisiae on Biofilm and Alginate Production in Pseudomonas Aeruginosa. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2018;12(3):189-198[Persian] doi:10.30699/ijmm.12.3.189
17. Hütt P, Shchepetova J, Lõivukene K, Kullisaar T, Mikelsaar M. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. Journal of applied microbiology. 2006;100(6):1324-1332. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02857.x
18. Choi YJ, Shin HS. Antibacterial Effect of Eight Probiotic Strains of <italic>Bifidobacterium</italic> against Pathogenic <italic>Staphylococcus aureus</italic> and <italic>Pseudomonas aeruginosa</italic>. JOURNAL OF BACTERIOLOGY AND VIROLOGY. 2021;51(3):128-137. doi:10.4167/jbv.2021.51.3.128
19. Chen X, Yang H, Gu Z, Shao Z. Preparation and characterization of HY zeolite-filled chitosan membranes for pervaporation separation. Journal of Applied Polymer Science. 2001;79:1144-1149. doi:10.1002/1097-4628(20010207)79:6<1144::AID-APP190>3.0.CO;2-D