

Inhibitory Effect of *E. coli* Nissle 1917 on Clinical and Standard Strains of *Pseudomonas aeruginosa*

Sheyda Damoogh¹,
Mehrad Vosough²,
Sarvenaz Falsafi³,
Ava Behrouzi^{4,5}

¹ MSc in Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² MSc in Microbiology, Department of Mycobacteriology and Pulmonary Research, Microbiology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

³ Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁴ Ph.D Microbiology, Department of Mycobacteriology and Pulmonary Research, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

⁵ Department of Microbiology, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received November 4, 2020 ; Accepted December 2, 2020)

Abstract

Background and purpose: *Pseudomonas aeruginosa* is an indispensable pathogenic agent that can lead to serious infections. Antibiotic resistance is really common among bacteria, so, new therapeutic agents could be of great help in overcoming this problem. Based on previous studies, probiotic strains have a protective effect against pathogenic or Image result for opportunist bacteria opportunistic bacteria thorough various mechanisms. The main purpose of the present study was to evaluate the influence of *E. coli* Nissle 1917 as a probiotic strain on *Pseudomonas aeruginosa* strains.

Materials and methods: In this experimental study, MIC and Disk Diffusion techniques were used to investigate the effect of *E. coli* Nissle 1917 on *Pseudomonas aeruginosa* strains. Effect of antibacterial activity of the probiotic strain was evaluated after 24h at 37°C.

Results: The highest concentration of *E. coli* Nissle 1917 showed the most effective antibacterial activity against clinical and standard *Pseudomonas aeruginosa* strains after 24h.

Conclusion: Probiotic bacteria can have a positive effect on medical aspects, especially because of having access to numerous antibiotic resistance pathways. Therefore, due to lack of suitable antibiotics for several infections, probiotics could be highly helpful. Various concentrations of probiotic bacteria can also inhibit the pathogenic strain.

Keywords: MIC, *E. coli* Nissle1917, *Pseudomonas aeruginosa*

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 30 (193): 2-11 (Persian).

Corresponding Author: Ava Behrouzi and Sarvenaz Falsafi -Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran (E-mail: sarvenaz_falsafi@yahoo.com, ava.behrouzi@gmail.com)

اثر مهارى پروبیوتیک *E. coli Nissle1917* روی رشد سویه های بالینی جدا شده از بیمار و سویه استاندارد *سودوموناس آئروژینوزا*

شیدا داموغ¹

مهراد وثوق²

سروناز فلسفی³

آوا بهروزی^{4,5}

چکیده

سابقه و هدف: سودوموناس آئروژینوزا یک عامل بیماری زای پراهمیت است که می تواند منجر به عفونت های جدی شود. به دلیل وجود مقاومت های آنتی بیوتیکی که در میان باکتری ها رایج می باشد، یافت یک عامل درمانی جدید می تواند ما را قادر به غلبه بر این مشکل نماید. براساس مطالعات قبلی، فرض ما بر این است که سویه های پروبیوتیک باید دارای اثرات حفاظتی علیه باکتری های پاتوژن و یا فرصت طلب از طریق مکانیسم های مختلف باشند. هدف اصلی از مطالعه حاضر ارزیابی اثر *E. coli Nissle1917* به عنوان یک پروبیوتیک بر روی سویه های سودوموناس آئروژینوزا است.

مواد و روش ها: در مطالعه تجربی حاضر، به منظور ارزیابی اثر *E. coli Nissle1917* بر روی سویه های بالینی سودوموناس آئروژینوزا از تکنیک های MIC و دیسک دیفیوژن استفاده شد و اثر فعالیت میکروبی سویه پروبیوتیک پس از 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: نتایج مطالعه نشان داد که بالاترین غلظت از سویه *E. coli Nissle1917* دارای بهترین فعالیت ضد میکروبی بر علیه سویه های بالینی و استاندارد سودوموناس آئروژینوزا را پس از 24 ساعت دارا می باشد.

استنتاج: استفاده از باکتری های پروبیوتیک دارای اثرات مثبتی در جنبه های پزشکی است، به خصوص به علت بروز مسیرهای مقاومت های آنتی بیوتیکی بیشماری که باکتری ها به آن دستیابی پیدا می کنند. بنابراین، با توجه به فقدان آنتی بیوتیک مناسب برای بسیاری از عفونت ها، پروبیوتیک ها می توانند جهت کنترل عفونت ها کمک کننده باشند. غلظت های مختلف از یک پروبیوتیک می تواند مهار کننده رشد باکتری پاتوژن باشد.

واژه های کلیدی: *E. coli Nissle1917*, MIC, سودوموناس آئروژینوزا

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا یکی از رایج ترین ارگانسیم های جدا شده از مجاری تنفسی بیماران مبتلا به فیروز سیستمیک (CF-Cystic Fibrosis) است. وقوع عفونت با افزایش سن افزایش می یابد و می تواند در بزرگسالان به 80 درصد برسد. مطالعات متعددی نشان داده است که این عفونت علاوه بر پیشرفت سریع تر

Email: ava.behrouzi@gmail.com

مؤلفین مسئول: آوا بهروزی و سروناز فلسفی - تهران: دانشگاه آزاد اسلامی، دانشگاه علوم و فن آوری های نوین

Email: sarvenaz_falsafi@yahoo.com

1. کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم و فن آوری های نوین - واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

2. کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه سل و تحقیقات ریوی، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

3. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم و فن آوری های نوین، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

4. دکترای میکروبیولوژی، گروه سل و تحقیقات ریوی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

5. گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم و فن آوری های نوین، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 1399/8/14 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1399/9/2 تاریخ تصویب: 1399/9/12

بیماری، منجر به تشدید فشار روانی و بستری شدن در بیمارستان می شود و همچنین منجر به تغییرات برگشت ناپذیری می شود و به واسطه تخریب در سیستم تنفسی باعث نارسایی مزمن تنفسی می گردد (۲،۱). قابل درک است که سیستم ایمنی سالم قادر به کنترل عفونت ها است. با این حال افراد مستعد، به ویژه افراد مبتلا به عفونت HIV، افرادی که تحت پیوند عضو قرار گرفته اند، بیماران سوانح سوختگی با آسیب عروقی که مانع فاگوسیتوز موضعی می شود، غالباً از عفونت های ناشی از این پاتوژن رنج می برند (۳). همچنین این باکتری به عنوان یک عامل بیماری زا با امکان ایجاد عفونت های شدید در انسان به ویژه در بیماران فیروز سیستمیک می باشد. به دلیل مقاومت طبیعی در برابر آنتی بیوتیک ها و امکان تشکیل بیوفیلم ها، عفونت با این بیماریزا می تواند مشکلات درمانی جدی ایجاد کند (۲). عفونت های باکتریایی یکی از عوامل مهم مرگ و میر در محیط های بالینی هستند. تأثیر آن ها با ظهور اپیدمی گونه های مقاوم افزایش یافته است. به علاوه، درمان های آنتی بیوتیکی می توانند میکروب های مفید را از بین برده و منجر به ماندگاری سویه های مقاوم شوند. همچنین باکتری می تواند وارد گردش خون شود و موجب بروز سپتی سمی گردد که در این صورت درصد مرگ و میر بالاست (۴).

از سوی دیگر عفونت روده به وسیله باکتری سودوموناس آئروژینوزا سبب افزایش مرگ و میر شده و باعث بیماری های التهابی روده از جمله تب شانگهای می شود (۵). علاوه بر این، استقرار باکتری سودوموناس آئروژینوزا در روده نوزادان با وزن کم منجر به انتروکولیت شدید نکرز کننده و افزایش قابل توجه مرگ و میر می شود. فاکتورهای متعددی از جمله ترکیبات ساختمانی، توکسین و آنزیم های مختلف سودوموناس آئروژینوزا سبب ایجاد بیماری از طریق اعمال نقش های چسبندگی، حفاظت از فاگوسیتوز، تغییر پاسخ های ایمنی یا تخریب بافت های میزبانی مرتبط با

ویرولانسی می گردند. به عبارت دیگر تشخیص این که کدام یک از فاکتورها در بیماری چه نقشی بر عهده دارند مشکل است و شواهد نشان می دهند که ویرولانسی این باکتری چند عاملی است (۶). استفاده از داروهای ضد میکروبی منجر به ایجاد مقاومت در برابر داروهای استاندارد تأیید شده از جمله سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین، سفپیم و جنتامایسین می گردد. از این رو به موجب گسترش سریع مقاومت باکتری به آنتی بیوتیک ها، کشف عوامل جدید به منظور مقابله با این موضوع به عنوان یک مسئله ضروری است. علاوه بر این، مقاومت چند دارویی در برابر سودوموناس آئروژینوزا یک تهدید بزرگ است. بنابراین ضروری است تا درمان های جدیدی برای هدف قرار دادن این پاتوژن در نظر گرفته شود (۷). پروبیوتیک ها در درمان بیماری های عفونی درگیر می باشند که این امر به صورت اصلی به واسطه تغییر در سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی میزبان صورت می پذیرد. به عبارت دیگر باکتری های پروبیوتیک پتانسیل استفاده به عنوان عوامل دارویی را دارا می باشند (۸). سویه *E. coli Nissle 1917 (EcN)* توسط آلفرد نیسل در سال ۱۹۱۷ در جنگ جهانی اول از مدفوع یک سرباز آلمانی جدا شد. به نظر می رسد با توجه به عدم وجود ترکیباتی چون انتروتوکسین و یا سیتوتوکسین، *EcN* می تواند به عنوان یک عامل درمانی مطمئن عمل نماید. از سوی دیگر به تازگی این سویه به عنوان ابزاری بالقوه در بسیاری از واکنش های ایمنی و همچنین توسعه واکسن و همچنین به طور گسترده ای در توسعه دارو مورد مطالعه قرار گرفته است (۹). با توجه به موارد بیان شده در مطالعه حاضر به بررسی قدرت ضد میکروبی *E. coli Nissle 1917* علیه سویه های سودوموناس آئروژینوزا پرداختیم.

مواد و روش ها

مطالعه تجربی حاضر دارای کد اخلاق به شماره IR.IAU.PS.REC.1399.113 می باشد.

سویه باکتریایی و محیط کشت

به منظور به دست آوردن سویه باکتریایی پروبیوتیک *E. coli Nissle 1917* از قرص Mutaflor ساخت کشور آلمان استفاده شد. بدین منظور ابتدا محتویات یک کپسول به صورت سوسپانسیون به محیط کشت LB Agar انتقال داده شدند. سویه مورد نظر تحت شرایط اپتیمم 37 درجه سانتی گراد فعال گردید.

تست‌های تشخیصی گالری جهت تایید سویه

به منظور تایید سویه مورد نظر از رنگ آمیزی گرم و تست تشخیصی گالری استفاده شد، که پس از تایید سویه مورد نظر به منظور تهیه سوسپانسیون سلولی جهت تست MIC مورد استفاده قرار گرفت.

تست (MIC) Minimum Inhibitory Concentration

به منظور سنجش میزان تاثیر مستقیم باکتری پروبیوتیک بر روی سویه سودوموناس آئروژینوزا استاندارد PAO1 و 10 نمونه بالینی از روش میکروپلیت استفاده نمودیم. سویه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا از بانک میکروبی دانشکده میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران تهیه شد. برای انجام تست MIC از محیط مولر هینتون برات استفاده گردید. سوسپانسیونی از باکتری به میزان استاندارد معادل نیم مک فارلند تهیه شد که در این سوسپانسیون معادل 1.5×10^8 cfu/ml باکتری طبق جدول استاندارد موجود می‌باشد.

MIC جهت تاثیر کشندگی باکتری پروبیوتیک *E. coli Nissle 1917* بر روی سویه‌های مورد نظر به روش میکروپلیت در حضور رقت‌های مختلف از باکتری پروبیوتیک (به عنوان پادزیست) صورت گرفت. رقت مختلف به صورت سریالی از پادزیست (سویه پروبیوتیک) در محیط مولر هینتون برات تهیه شد و سپس سوسپانسیون باکتریایی شامل سودوموناس آئروژینوزا استاندارد و 10 نمونه بالینی در سرم

فیزیولوژی معادل غلظت نیم مک فارلند تهیه گردید، در ادامه به میزان 100 میکرولیتر از هریک از سویه‌های سودوموناس تهیه شده به چاهک‌های پلیت انتقال داده شده و هر یک به صورت جداگانه در حضور رقت‌های مختلف تهیه شده از پادزیست قرار داده شدند، این تست بصورت سه بار تکرار برای هر رقت انجام گردید. بدین منظور، ابتدا یک سوسپانسیون اولیه از باکتری پروبیوتیک در محیط مولر هینتون برات با غلظت مشخصی، معادل 7 مک فارلند (معادل 21×10^8 باکتری) تهیه شد. برای اطمینان از غلظت این سوسپانسیون تهیه شده نمونه مورد نظر توسط دستگاه اسپکتروفتومتری OD در طول موج 625 nm خوانش شد و OD بدست آمده برابر با 1/12 تا 1/82 به عنوان OD نهایی در نظر گرفته شد. سپس توسط فرمول $M_1.V_1=M_2.V_2$ سایر رقت‌های مورد نظر از باکتری پروبیوتیک تهیه شد. همچنین از تمام سویه‌های بالینی و سویه استاندارد سودوموناس آئروژینوزا غلظتی معادل نیم مک فارلند در داخل سرم فیزیولوژی تهیه گردید.

پس از تهیه این سوسپانسیون‌ها و بعد از مخلوط نمودن سوسپانسیون و رقت‌های پادزیست در داخل چاهک‌های میکروپلیت به مدت 18 ساعت انکوباسیون در درمای 37 درجه سانتی گراد صورت گرفت. پس از گذشت این زمان کدورت‌های تشکیل شده در درون چاهک‌ها که بر اثر رشد باکتری به وجود آمده، مشاهده شدند و در نهایت رقت‌های MIC خوانده شدند. با مشاهده کدورت در هر چاهک، چاهک قبلی به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی در نظر گرفته شد. جهت کنترل کیفی نمونه‌ها، سویه استاندارد سودوموناس آئروژینوزا به صورت دوتایی در دو ردیف پلیت مورد آزمایش قرار داده شد و یک چاهک به عنوان کنترل مثبت (سوسپانسیون باکتری بدون پادزیست) و یک چاهک به عنوان کنترل منفی (سوسپانسیون باکتری به همراه پادزیست) در نظر گرفته شد. در مورد چاهک کنترل مثبت کدورت یا رشد بیش تر از 2mm که نشان‌دهنده

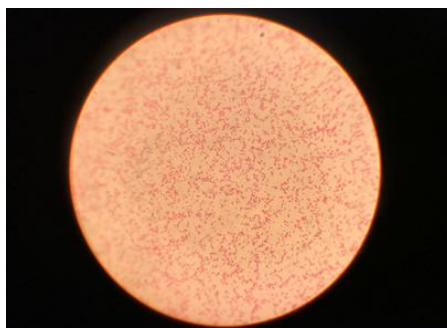
یافته ها

رنگ آمیزی گرم و تست های تشخیصی گالری جهت تایید سویه پروبیوتیک

پس از فعال شدن سویه باکتری مورد نظر جهت تایید این سویه پروبیوتیک از رنگ آمیزی گرم و تست های تشخیصی گالری استفاده شد. در رنگ آمیزی گرم شناسایی باکتری از نظر صحت جنس و گونه، در زیر میکروسکوپ به صورت باکتری گرم منفی میله ای خمیده یا میله ای تجمعی مشاهده شد. نتایج حاصل از رنگ آمیزی گرم، در تصویر شماره 1 آورده شده است نتایج ناشی از تست گالری نیز در جدول شماره 1 بیان شده است.

جدول شماره 1: نتایج تست گالری سویه *E. coli* Nissle1917

نام تست	نتیجه
TSI	A/A-G
MR	+
VP	-
SIM	-/+
Urea	-
Simmon citrate agar	-



تصویر شماره 1: رنگ آمیزی گرم از باکتری پروبیوتیک *E. coli* Nissle 1917

تست MIC

در روش تست MIC که شامل رقت های مختلف (1 تا 7 مک فارلند) تهیه شده از باکتری پروبیوتیک (به عنوان پادزیست) بودند، به صورت مستقیم از این رقت ها برای انجام تست استفاده گردید و سویه های سودوموناس آنروژینوزا که با غلظت معادل نیم مک فارلند تهیه شده بودند بعد از حدود 24 ساعت انکوباسیون مورد بررسی

رشد کافی در پنتل MIC می باشد، باید مشاهده شود و برای چاهک کنترل منفی که از نظر عدم وجود رشد بررسی می شود، این چاهک باید بدون رشد و به صورت Clear باشد.

بررسی قدرت ضد میکروبی *E. coli* Nissle1917 علیه سویه های

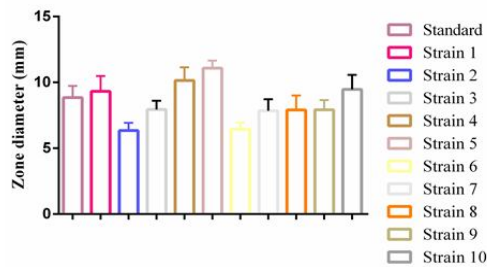
سودوموناس آنروژینوزا توسط روش دیسک دیفیوژن

در روش دیسک دیفیوژن ابتدا یک سوسپانسیون اولیه از باکتری پروبیوتیک در محیط مولر هینتون براث با غلظت مشخصی، معادل 7 مک فارلند (21×10^8) تهیه گردید.

جهت اطمینان از غلظت این سوسپانسیون تهیه شده نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتری OD در طول موج 625 nm خوانش شد و OD بدست آمده برابر با 1/12 تا 1/82 انتخاب شد. در ادامه سوسپانسیون باکتری را به مدت 20 دقیقه با دور 6000Rpm سانتریفیوژ نمودیم. سپس مایع رویی به وجود آمده بعد از سانتریفیوژ را توسط فیلتر 0/2، فیلتر نمودیم و از این عصاره برای MIC به عنوان دارو یا پادزیست استفاده شد. از عصاره به دست آمده، غلظت های مختلفی توسط فرمول $M_1.V_1=M_2.V_2$ تهیه گردید. همچنین از تمام سویه های بالینی و سویه استاندارد سودوموناس آنروژینوزا غلظتی معادل نیم مک فارلند در داخل سرم فیزیولوژی تهیه شد. پس از تهیه این سوسپانسیون ها از دیسک های کاغذی آغشته به سوپرناتانت استفاده نمودیم و به مدت 18 ساعت انکوباسیون در دمای 37 درجه سانتی گراد صورت گرفت. پس از گذشت این زمان به بررسی هاله عدم رشد باکتری در حضور غلظت های مختلف از پادزیست خود پرداختیم.

جهت رسم نمودار، بررسی و ارزیابی آماری از نرم افزار Graphpad prism 6 استفاده شد. به منظور ارزیابی های آماری از روش t test استفاده شد. تمام داده ها به صورت سه بار تکرار انجام و $P < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

داده شده است. قطره هاله عدم رشد ایجاد شده روی هر سویه سودوموناس آئروژینوزا به صورت جداگانه مورد بررسی و اندازه گیری قرار گرفت که در رنج 8-12mm گزارش گردید. اختلاف قطر هاله شفاف در سویه های مختلف می تواند ناشی از تفاوت های میان سویه های بالینی باشد.



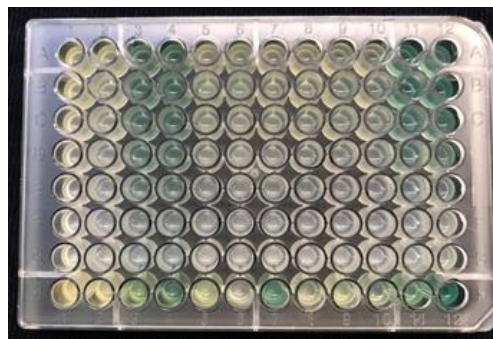
تصویر شماره 4: قطر اندازه گیری شده هاله عدم رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا (10 سویه بالینی و سویه استاندارد) در حضور سویه *E. coli* Nissle1917

به منظور ارزیابی های آماری از t-test نرم افزار Graphpad Pism 6 استفاده نمودیم و تمامی داده ها به صورت دو به دو با یکدیگر مقایسه شدند، در تمامی سویه های بالینی و سویه استاندارد سودوموناس آئروژینوزا، قطر هاله عدم رشد معنی داری در حضور پادزیست (باکتری پروبیوتیک) نسبت به عدم حضور پادزیست مشاهده گردید. این موضوع در حالی می باشد که تفاوت معنی داری در میان تمامی سویه های بالینی در مقایسه با سویه استاندارد مشاهده نشد و این تفاوت تنها در میان چندسویه بالینی نسبت به گروه استاندارد مشاهده شد که این موضوع می تواند مرتبط با تفاوت های میان سویه های بالینی در برخی از ویژگی ها ارجاع داده شود.

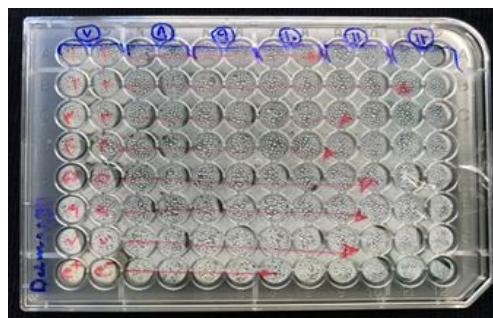
بحث

با در نظر گرفتن عوارض و مرگ و میر ناشی از باکتری های بیمارزا، مخمرها و ویروس ها مردم اغلب نگران میکروب های عمومی هستند. با این وجود در حال

قرار گرفتند. با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده شد که به ترتیب در هر سویه با افزایش غلظت باکتری پروبیوتیک (در هر ستون از بالا به پایین) مهار رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا نیز افزایش پیدا کرده است. این موضوع به واسطه کاهش رنگ سبز رنگ (ناشی از تولید پیوسیانین توسط سودوموناس آئروژینوزا) به صورت بارز مشخص است (تصاویر شماره 2 و 3).



تصویر شماره 2: کشت سویه های سودوموناس آئروژینوزا در حضور باکتری *E. coli* Nissle1917 قبل از انکوباسیون



تصویر شماره 3: نتایج تست MIC از چپ به راست (دو بار تکرار) سویه های سودوموناس و از بالا به پایین رقت های مختلف از باکتری پروبیوتیک، ردیف آخر پلیت شامل کنترل منفی و مثبت هر نمونه است

ارزیابی اثر مهاری *E. coli* Nissle1917 بر روی سویه های سودوموناس آئروژینوزا توسط روش دیسک دیفیوژن همان طور که در تصویر شماره 4 مشاهده می شود اثر مهاری با کتری *E. coli* Nissle1917 بر روی 10 سویه بالینی جدا شده از بیمار به همراه سویه استاندارد نشان

حاضر مجموعه‌ای از شواهد نشان می‌دهد که باکتری پروبیوتیک می‌تواند به سلامت انسان کمک کند (10). طبق تحقیقات انجام شده مکمل‌های غذایی، مانند برخی از پروبیوتیک‌ها، به عنوان یک گزینه معتبر برای کنترل بسیاری از بیماری‌ها ظاهر شده‌اند (11) و گزارشات محدودی نیز از اثرات مضر ناشی از مصرف مکمل‌های خوراکی پروبیوتیک مطرح شده است (12). پروبیوتیک *اشریشیا کلی* سویه *Nissle 1917* جهت درمان بیماری‌های التهابی روده استفاده شده است (13، 14)، اما مکانیسم‌های دقیق عملکرد این سویه همچنان نامشخص است. در مطالعه حاضر، ما اثر ضد باکتریایی *E. coli Nissle 1917* را بر روی سویه‌های مختلف سودوموناس آنروژینوزا مورد بررسی قرار دادیم.

در حال حاضر سودوموناس آنروژینوزا عمده ترین ارگانیزم گرم منفی از نمونه‌های کلینیکی بوده و تقریباً هر بافت یا نقطه‌ای از بدن می‌تواند با این باکتری آلوده شود و همچنین این باکتری می‌تواند وارد گردش خون شده و موجب بروز سپتی سمی گردد که در این صورت درصد مرگ و میر بالا خواهد بود. امروزه عفونت‌های ناشی از سودوموناس آنروژینوزا به علت مقاومت دارویی که از خود نشان می‌دهد به عنوان یک مسئله مهم و جدی تلقی می‌شود (15، 16). از این رو در پژوهش حاضر به بررسی اثر مهار باکتری پروبیوتیک بر روی باکتری سودوموناس آنروژینوزا و سویه‌های بالینی پرداخته شد، مقاومت آنتی‌بیوتیکی به عنوان یک مشکل در حال رشد در سراسر جهان گسترده شده است (17)، بنابراین تلاش زیادی برای یافتن آنتی‌بیوتیک‌های بی‌خطر و طبیعی مانند پروبیوتیک‌ها در حال انجام است (18).

سودوموناس آنروژینوزا علاوه بر مقاومت طبیعی در برابر بسیاری از داروها، توانایی تشکیل بیوفilm‌ها را دارند و به همین علت این باکتری‌ها در برابر عوامل درمانی مقاومت بالایی دارند (19-21).

در حال حاضر استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان جایگزین مناسبی در برابر میکروارگانیزم‌های مقاوم در

برابر آنتی‌بیوتیک و میکروارگانیزم‌های که سبب فساد مواد غذایی می‌شوند در نظر گرفته شده است (22).

نتایج مطالعاتی که انجام شده است، نشان داده که باکتری‌های پروبیوتیک توانایی مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا از جمله سودوموناس آنروژینوزا را دارا می‌باشند (23). در این پروژه نیز در تمام غلظت‌ها و سویه‌های بیماری‌زای بررسی شده، مشاهده کردیم که از مراحل اولیه رشد تا انتها کاملاً مهار رشد اتفاق افتاده است.

نویسندگان مختلف تأثیر ایجاد شده بر رشد باکتری‌های مختلف بیماری‌زا را محیط کشت که باکتری پروبیوتیک در آن رشد کرده را تأیید کرده‌اند (24، 25). البته در برخی موارد عنوان شده است فقط در صورتی که این محیط‌های کشت حاوی باکتری پروبیوتیک غلیظ باشند و یا در pH خاصی قرار داشته باشند، می‌توان اثر مهار آن‌ها را مشاهده کرد (26). برای مثال باکتری پروبیوتیک، تنها زمانی اثر مهار بر روی رشد باکتری *E. coli* بیماری‌زا خواهد داشت که PH سوسپانسیون تهیه شده از باکتری پروبیوتیک روی عدد 7 تنظیم شده باشد (27).

از دیگر عوامل تأثیرگذار توسط پروبیوتیک‌ها، ممانعت از اتصال و چسبندگی باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشد و این امر منجر به مهار رشد سویه بیماری‌زا می‌گردد (28). علاوه بر این موضوع، وجود فاکتورهای پروتئینی و همچنین ترکیبات ضد میکروبی وجود دارند که از چسبندگی پاتوژن به جایگاه اتصال جلوگیری می‌کند.

مطالعات نشان داده که کاهش PH و اسیدها خود عامل اصلی انسداد بیوفilm‌ها یا عامل مهار پاتوژن‌ها می‌باشند و همچنین باکتریوسین‌های تولید شده توسط پروبیوتیک‌ها دارای یک اثر برجسته‌تر در PH پایین‌تر هستند (29).

همچنین سویه‌های پروبیوتیک قادر به مهار پیوند باکتریایی هستند (30). علاوه بر این در مطالعات بیان شده است که زمان تلقیح سلول و باکتری پروبیوتیک و میزان پروبیوتیک تلقیح شده در رقابت بر سر جایگاه اتصال به

اهمیت پروبیوتیک‌ها در جنبه‌های متفاوت پزشکی، بررسی پتانسیل این ترکیبات در جنبه‌های مختلف می‌تواند دارای اهمیت ویژه‌ای باشد، تاجایی که اکنون بسیاری از مطالعات متمرکز بر اهمیت پروبیوتیک‌ها در کنترل بیماری و یا تشدید علایم بیماران مرتبط با covid-19 می‌باشد (33,34).

سپاسگزاری

نویسندگان مطالعه حاضر از همکاری جناب آقای دکتر شکوهی عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران که ما را در انجام پژوهش حاضر یاری رساندند کمال قدردانی و تشکر را دارند. مطالعه حاضر حاصل از پایان‌نامه دانشجویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران می‌باشد.

سلول میزبان نقش دارد. در یکی از مطالعات ارتباط اثر ضد میکروبی گونه‌های مختلف لاکتوباسیلوس به عنوان یک پروبیوتیک قابل مصرف، بر روی باکتری‌های خانواده اتریباکتریاسه‌ها که دارای مقاومت گسترده طیف به کرباپنم بودند، مورد بررسی قرار گرفت و اثرگذاری معنی‌دار این سویه بر روی مهار رشد این باکتری گزارش شد (31).

توجه به این نکته مهم است که پروبیوتیک‌ها و پاتوژن‌ها همزمان با سلول‌های میزبان انکوبه می‌شوند. اگر پروبیوتیک‌ها زودتر معرفی شوند، اجازه می‌دهند اپی‌تلیوم میزبان را کلونیزه کنند، ممکن است بدون اتصال رقابت کننده‌ها، پروبیوتیک‌ها محل‌های اتصال بیش‌تری را جذب کنند و همین امر ممکن است از بروز بیماری بکاهد (32). در نهایت می‌توان بیان داشت با توجه به

References

- Mielko KA, Jabłoński SJ, Milczewska J, Sands D, Łukaszewicz M, Młynarz P. Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. World Journal of Microbiology & Biotechnology 2019; 35(11): 178.
- Mielko KA, Jabłoński SJ, Milczewska J, Sands D, Łukaszewicz M, Młynarz P. Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. World Journal of Microbiology and Biotechnology 2019; 35(11): 178.
- Martin SJ, Yost RJ. Infectious diseases in the critically ill patients. Journal of Pharmacy Practice 2011; 24(1): 35-43.
- Markou P, Apidianakis Y. Pathogenesis of intestinal *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cancer. Front Cell Infect Microbiol 2014; 3: 115.
- Chuang CH, Wang YH, Chang HJ, Chen HL, Huang YC, Lin TY, et al. Shanghai fever: a distinct *Pseudomonas aeruginosa* enteric disease. Gut 2014; 63(5): 736-743.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology E-Book: Elsevier Health Sciences; 2020.
- Foulkes DM, McLean K, Haneef AS, Fernig DG, Winstanley C, Berry N, et al. *Pseudomonas aeruginosa* Toxin ExoU as a Therapeutic Target in the Treatment of Bacterial Infections. Microorganisms 2019; 7(12): 707.
- Behzadi E, Mahmoodzadeh Hosseini H, Imani Fooladi AA. The inhibitory impacts of *Lactobacillus rhamnosus* GG-derived extracellular vesicles on the growth of hepatic cancer cells. Microbial Pathogenesis 2017; 110: 1-6.
- Baxter D. Active and passive immunity, vaccine types, excipients and licensing. Occupational Medicine (Oxford, England) 2007; 57(8): 552-556.
- Dudek-Wicher R, Junka A, Paleczny J, Bartoszewicz M. Clinical Trials of Probiotic

- Strains in Selected Disease Entities. International Journal of Microbiology 2020; 2020: 8854119.
11. Liu Y, Tran DQ, Rhoads JM. Probiotics in Disease Prevention and Treatment. Journal of Clinical Pharmacology 2018; 58 Suppl 10(Suppl 10): S164-S179.
 12. Erreni M, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated Macrophages (TAM) and Inflammation in Colorectal Cancer. Cancer Microenvironment: official Journal of the International Cancer Microenvironment Society 2011; 4(2): 141-154.
 13. Rhodes JM. The role of Escherichia coli in inflammatory bowel disease. Gut 2007; 56(5): 610-612.
 14. Arribas B, Rodríguez-Cabezas ME, Camuesco D, Comalada M, Bailón E, Utrilla P, et al. A probiotic strain of Escherichia coli, Nissle 1917, given orally exerts local and systemic anti-inflammatory effects in lipopolysaccharide-induced sepsis in mice. British Journal of Pharmacology 2009; 157(6): 1024-1033.
 15. Rastegar Lari A, Bahrami H, Alaghebandan R. Pseudomonas aeruginosa infection in Tohid center, Iran Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries 1998; 24(7): 637-641.
 16. Jiang X, Zhang Z, Li M, Zhou D, Ruan F, Lu Y. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Antimicrobial agents and chemotherapy 2006; 50(9): 2990-2995.
 17. Selvin J, Maity D, Sajayan A, Kiran GS. Revealing antibiotic resistance in therapeutic and dietary probiotic supplements. Journal of Global Antimicrobial Resistance 2020; 22: 202-205.
 18. Joint F. WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada. 2002; 30.
 19. Bierbaum G, Sahl H-G. Lantibiotics: mode of action, biosynthesis and bioengineering. Current Pharmaceutical Biotechnology 2009; 10(1): 2-18.
 20. Rybalchenko OV, Bondarenko VM, Orlova OG, Markov AG, Amasheh S. Inhibitory effects of Lactobacillus fermentum on microbial growth and biofilm formation. Archives of Microbiology 2015; 197(8): 1027-1032.
 21. Rasamiravaka T, Labtani Q, Duez P, El Jaziri M. The formation of biofilms by Pseudomonas aeruginosa: a review of the natural and synthetic compounds interfering with control mechanisms. BioMed Research International 2015; 2015.
 22. Chatterjee M, Anju C, Biswas L, Kumar VA, Mohan CG, Biswas R. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa and alternative therapeutic options. International Journal of Medical Microbiology 2016; 306(1): 48-58.
 23. Gutiérrez S, Martínez-Blanco H, Rodríguez-Aparicio LB, Ferrero MA. Effect of fermented broth from lactic acid bacteria on pathogenic bacteria proliferation. Journal of Dairy Science 2016; 99(4): 2654-2665.
 24. Drago L, Gismondo MR, Lombardi A, De Haën C, Gozzini L. Inhibition of in vitro growth of enteropathogens by new Lactobacillus isolates of human intestinal origin. FEMS Microbiology Letters 1997; 153(2): 455-463.
 25. Stavropoulou E, Bezirtzoglou E. Probiotics in Medicine: A Long Debate. Front Immunol 2020; 11.
 26. López-Brea M, Alarcón T, Domingo D, Díaz-Regañón J. Inhibitory effect of Gram-negative and Gram-positive microorganisms against Helicobacter pylori clinical isolates.

- Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2008; 61(1): 139-142.
27. Yang E, Fan L, Jiang Y, Doucette C, Fillmore S. Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts. *Amb Express* 2012; 2(1): 48.
28. Deng Z, Luo XM, Liu J, Wang H. Quorum Sensing, Biofilm, and Intestinal Mucosal Barrier: Involvement the Role of Probiotic. *Front Cell Infect Microbiol* 2020; 10: 538077.
29. Chapman C, Gibson GR, Rowland I. In vitro evaluation of single-and multi-strain probiotics: Inter-species inhibition between probiotic strains, and inhibition of pathogens. *Anaerobe* 2012; 18(4): 405-413.
30. Gutiérrez S, Martínez-Blanco H, Rodríguez-Aparicio L, Ferrero M. Effect of fermented broth from lactic acid bacteria on pathogenic bacteria proliferation. *Journal of Dairy Science* 2016; 99(4): 2654-2665.
31. Chen CC, Lai CC, Huang HL, Huang WY, Toh HS, Weng TC, et al. Antimicrobial Activity of *Lactobacillus* Species Against Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*. *Front Microbiol* 2019; 10: 789.
32. Chapman C, Gibson G, Rowland I. Effects of single-and multi-strain probiotics on biofilm formation and in vitro adhesion to bladder cells by urinary tract pathogens. *Anaerobe* 2014; 27: 71-76.
33. Stavropoulou E, Bezirtzoglou E. Probiotics in Medicine: A Long Debate. *Frontiers in Immunology* 2020; 11: 2192.
34. Olaimat AN, Aolymat I, Al-Holy M, Ayyash M, Abu Ghoush M, Al-Nabulsi AA, et al. The potential application of probiotics and prebiotics for the prevention and treatment of COVID-19. *NPJ Sci Food* 2020; 4: 17.