ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of the Effect of Outer Membrane Vesicles (EcN) as an Effective and New Postbiotic on Inhibiting the Growth of Staphylococcus Aureus

Tania MirHosseini[1],
Ava Behrouzi[2],
Sarvenaz Falsafi[2]

[1] MSc in Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received March 13, 2023; Accepted January 31, 2024)

Abstract

Background and purpose: The use of antibiotics is one of the most important ways to deal with bacterial infections. However, the improper of antibiotics and the emergence of drug resistance have compromised the effectiveness of antibiotics. *Staphylococcus aureus* causes a wide range of clinical diseases, and infections caused by this pathogen are increasing rapidly in the community and hospitals. Today, the treatment of this pathogen has become a challenging issue due to the emergence of multi-drug resistant strains such as MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*). Since the antibiotic resistance of pathogens has become a global public health problem, the introduction of novel drug candidates against pathogens has become a necessity. Recently, there have been more reports on the use of OMVs as active antibacterial agents or carriers of antibiotics, which indicates the potential of OMVs in antibacterial therapy. The study aims to evaluate the effect of outer membrane vesicles of E. coli Nissle 1917 on the growth ability of Staphylococcus aureus strains.

Materials and methods: The present study was conducted on 50 samples of Staphylococcus aureus isolated from wounds, urine, and blood. In this study, to emphasize the beneficial effect of OMVs derived from the probiotics (EcN) as a postbiotic agent, the outer membrane vesicles were extracted using the ultracentrifugation method. After confirming the presence of protein content by the SDS-PAGE method, we confirmed the structure and maintained the integrity of the vesicles during the extraction process using a FE-SEM electron microscope. Finally, to evaluate the effect of these structures on the viability of *Staphylococcus aureus*, we used the MTT method.

Results: In the analysis of the protein pattern by SDS-PAGE, protein bands in the range of 15 to 100 kDa were observed. Also, the structure and integrity of outer membrane vesicles in the range of 40 to 100 nm were confirmed by an electron microscope. Finally, we saw a significant decrease in growth inhibition of all *Staphylococcus aureus* strains in the presence of outer membrane vesicles caused by EcN.

Conclusion: Considering the non-proliferative nature of OMV structures and their effects similar to probiotics, as well as, results obtained due to the significant reduction of growth inhibition of *Staphylococcus aureus* strains in the presence of outer membrane vesicles caused by EcN, it seems that these compounds can be a powerful tool for developing therapeutic approaches for human health and a better lifestyle.

Keywords: probiotics, *Staphylococcus aureus*, *biofilm*, outer membrane vesicles, *EcN*

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 33 (230): 16-27 (Persian).

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

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره ۲۳۰ اسفند سال ۱۴۰۲ (۲۷-۱۶)

ارزیابی اثر وزیکول های غشای خارجی *E. coli Nissle1917 (EcN)* به عنوان یک پست بیوتیک موثر و جدید بر مهار رشد *استافیلوکوکوس اورئوس*

تانیا میرحسینی[۱]
آوا بهروزی[۲]
سروناز فلسفی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای مقابله با عفونت‌های باکتریایی است. با این حال، استفاده نادرست از آنتی‌بیوتیک‌ها و ظهور مقاومت دارویی، کارایی آنتی‌بیوتیک را به خطر انداخته است. *استافیلوکوکوس اورئوس* منجر به ایجاد طیف گسترده‌ای از بیماری‌های بالینی می‌شود و عفونت‌های ناشی از این پاتوژن در جامعه و در محیط های بیمارستانی به شدت رو به افزایش است. امروزه درمان این عامل پاتوژن به دلیل ظهور سویه های مقاوم به چند دارو به بحثی چالش برانگیز تبدیل شده است. از آن‌جایی که مقاومت آنتی‌بیوتیکی پاتوژن‌ها در حال حاضر به یک مشکل بهداشت عمومی جهانی تبدیل شده است، معرفی کاندیدهای دارویی جدید علیه عوامل پاتوژن به یک ضرورت تبدیل گردیده است. اخیراً، گزارش‌هایی در راستای استفاده از OMVs به‌عنوان عوامل ضد باکتری یا حامل آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد که حاکی از پتانسیل OMVs در درمان ضد باکتریایی می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثر وزیکول های غشای خارجی باکتری E. coli Nissle1917 بر روی مهار رشد سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد.

مواد و روش‌ها: پژوهش حاضر بر روی ۵۰ نمونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از زخم، ادرار و خون صورت پذیرفت. در پژوهش حاضر با هدف تأکید بر تأثیر سودمند OMVs مشتق شده از پروبیوتیک (EcN) به عنوان عامل پست بیوتیکی، به استخراج وزیکول‌های غشای خارجی ناشی از باکتری با استفاده از روش اولتراسانتریفیوژ پرداخته و پس از تایید حضور محتوای پروتئینی توسط روش SDS-PAGE به تایید ساختار و حفظ یکپارچگی وزیکول‌ها در طی مراحل استخراج با استفاده از میکروسکوپ الکترونی FE-SEM پرداخته شد. در نهایت به منظور ارزیابی اثر این ساختارها بر قدرت زنده مانی *استافیلوکوکوس اورئوس* از روش MTT استفاده گردید.

یافته‌ها: در ارزیابی‌های الگوی پروتئینی توسط SDS-PAGE بان‌های پروتئینی در محدوده ۱۵ الی ۱۰۰ کیلو دالتونی مشاهده گردید و هم‌چنین ساختار و یکپارچگی وزیکول‌های غشای خارجی در رنج ۴۰ الی ۱۰۰ نانومتر توسط میکروسکوپ الکترونی تایید گردید. در نهایت، کاهش معنی‌داری در مهار رشد تمامی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در حضور وزیکول‌های غشای خارجی ناشی از EcN، مشاهده گردید.

استنتاج: با توجه به گزارشات مطالعات مبنی بر غیر تکثیری بودن ساختارها و اثرات مشابه با پروبیوتیک و از سوی دیگر با توجه به نتایج به‌دست آمده ناشی از کاهش معنی‌دار مهار رشد سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در حضور وزیکول‌های غشای خارجی ناشی از EcN، به نظر می‌رسد این ترکیبات می‌توانند به عنوان ابزار قدرتمندی برای توسعه رویکردهای درمانی در جهت سلامت انسان و سبک زندگی بهتر باشد.

واژه های کلیدی: پروبیوتیک، استافیلوکوکوس اورئوس، بیوفیلم، وزیکول‌های غشای خارجی، EcN

مولف مسئول: آوا بهروزی– تهران: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشکده علوم و فناوری پیشرفته E-mail: ava.behrouzi@gmail.com
۱. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری پیشرفته، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری پیشرفته، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۱/۱۲/۲۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۲/۷/۹ تاریخ تصویب : ۱۴۰۲/۱۱/۱۱

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

مقدمه

عفونت باکتریایی یک تهدید بزرگ برای سلامتی و حتی زندگی انسان است. آنتی‌بیوتیک درمانی به عنوان یکی از مهم‌ترین و کارآمدترین روش‌ها برای درمان بیماری‌های عفونی در نظر گرفته شده است. با این حال، سوء استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و ظهور مقاومت دارویی، کارایی آنتی‌بیوتیک درمانی را تضعیف کرده است(۲،۱). *استافیلوکوکوس اورئوس*، یکی از علل شایع عفونت‌های باکتریایی انسان و حیوان از جمله عفونت‌های پوستی و سایر بافت‌های نرم، استخوان‌ها، جریان خون و دستگاه تنفسی است و همچنین با ایجاد مقاومت به هر دسته جدید از داروهای ضد میکروبی، از جمله پنی‌سیلین‌ها، سولفونامیدها، تتراسایکلین‌ها، گلیکوپپتیدها و غیره منجر به پیچیده شدن درمان آن شده است. در انسان، اختلالات ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* شامل باکتریمی تهدیدکننده حیات، پنومونی، استئومیلیت و عفونت محل‌های جراحی است(۳). مدیریت این شرایط با ظهور سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین که مسئول بیش از ۱۲۰۰۰ مرگ و میر هستند، دشوارتر شده است(۴). امروزه پروبیوتیک‌ها و متابولیت‌های آن‌ها (پست بیوتیک‌ها) مانند باکتریوسین به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی سبب شده پروبیوتیک‌ها به‌عنوان عوامل درمانی و پیشگیری‌کننده از بیماری‌های عفونی دهانی، روده‌ای و ادراری، تناسلی مطرح شوند. علاوه بر این، پروبیوتیک‌ها عملکرد سد اپیتلیال روده را تثبیت می‌کنند و سیستم ایمنی میزبان را از طریق تنظیم مکانیسم‌های مختلف انتقال سیگنال به‌طور مثبت تعدیل می‌کنند(۷-۵). وزیکول‌های غشایی خارجی (OMVs) به عنوان یکی از پست بیوتیک‌ها مزایا و نقش‌های بسیاری دارند(۸). این وزیکول‌ها مانند غشاهای محافظت‌کننده می‌توانند محتویات وزیکول‌های غشایی را از تخریب‌های نوکلئازی و پروتئازی حفاظت کنند؛ و بدین واسطه می‌توانند به‌عنوان یک حامل دارویی عمل نموده و نیمه عمر دارو را افزایش دهند. علاوه بر این هدفمندکردن این وزیکول‌ها تحویل دارو را به بافت مدنظر آسان کرده و با این روش می‌توان از اثرات سمی عوامل دارویی به بافت‌هایی که دلخواه نیست؛ جلوگیری کرد. بنابراین، OMVs به‌عنوان یک فرم باکتریایی غیرهمانند سازی کننده، می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد درمانی جدید مشتق از پروبیوتیک، با خطر عوارض جانبی کم‌تر نسبت به تجویز پروبیوتیک مورد بررسی قرارگیرد. وزیکول‌های خارج سلولی به‌عنوان اجزای تکاملی حفاظت شده بین سلولی هستند. همه انواع قلمروهای حیات روی زمین که شامل باکتری‌های گرم منفی، گرم مثبت و یوکاریوت‌ها هستند، به شکل فعال وزیکول‌هایی با اندازه نانومتری ترشح می‌کنند(۱۰،۹). این ساختارها گرد، دو لایه و حاوی مواد فعال بیولوژیکی از جمله پروتئین، لیپید، اسیدنوکلئیک و متابولیت‌ها هستند. اصطلاحات متنوعی برای وزیکول‌های خارج سلولی در نظر گرفته می‌شود که شامل وزیکول‌های غشایی در ارتباط با باکتری‌های گرم مثبت و آرکی‌ها، وزیکول‌های غشای خارجی برای گرم منفی‌ها و اکتوزوم و اگزوزوم درباره سلول‌های پستانداران است. وزیکول‌های خارج سلولی باکتری‌های گرم منفی نخستین بار در سال ۱۹۶۰ در مطالعات ساختارهای باکتریایی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مشاهده شدند. محتویات داخل این نانوساختارها بستگی به منشأ تولیدکننده آن‌ها دارد. امروزه استفاده از وزیکول‌های خارج سلولی به عنوان کاندید واکسنی، انتقال‌دهنده دارو و همچنین ادجوانت بسیار مورد توجه قرار گرفته است(۱۳-۱۱). با وجود رویکرد جدیدی که امروزه نسبت به وزیکول‌های غشای خارجی ایجاد شده است؛ مطالعات فراوانی از نقش OMVها در مسیرهای مختلف صحبت به میان آورده‌اند. نقش این ساختارها در ایجاد تنظیم پاسخ‌های ایمنی گزارش گردیده است(۱۴). هم‌چنین نشان داده شده است که وزیکول‌های غشای خارجی باکتری‌های روده‌ای درتسهیل پاکسازی باکتری‌ها و کمک به فرآیند فاگوسیتوز نقش بسیار دارای اهمیتی را ایفا می‌کنند(۱۵). وجود ترکیبات ویژه‌ای چون

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

(Extracellular RNA(exRNA که زیر مجموعه‌ای از miRNA می‌باشند؛ اثبات گردیده است و نقش این ترکیبات در ایجاد اثرات تنظیمی سلولی در بسیاری از گزارشات تاییدشده است(۱۶). از دیگرنقش‌های عملکردی و کاربردی وزیکول‌های غشای خارجی باکتری‌های مختلف حفظ هموئوستاز چربی و التهاب و کنترل چاقی افزایش اتصالات محکم و کاهش وزن وجود اثرات ضد توموری کمک به هموئوستاز روده و تعدیل بیماری التهابی روده (IBD) و بهبود اتصالات محکم روده و بهبود عملکرد سد اپیتلیالی روده می‌توان اشاره داشت(۲۱-۱۷). با توجه به مطالعات صورت گرفته، وزیکول‌های خارج سلولی به‌دلیل داشتن غشای محافظت‌کننده و اندازه نانومتری و قابلیت هدفمند شدن به‌عنوان نسل جدید و کارآمدی از انتقال دهنده دارو می‌توانند به‌عنوان گزینه درمان جدید و مناسبی مطرح شوند.

مواد و روش ها

پژوهش حاضر با کد اخلاق IR. IAU. PS. REC. 1401.418 بر روی ۵۰ نمونه های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از زخم، ادرار و خون صورت پذیرفت.

کشت سویه باکتریایی E. coli Nissle1917

به منظور به دست آوردن سویه باکتریای *E. coli Nissle1917* از قرص Mutaflor؛ DMS6601، serotypeO6:K5H1 استفاده و جهت کشت این سویه ابتدا مقداری از محتویات داخل کپسول به محیط کشت لوریا برتانی (LBBroth) انتقال داده شد و پس از ۲۴ ساعت انکوبه کردن در دمای اپتیمم ۳۷ درجه سانتی‌گراد، این سوسپانسیون به محیط کشت LB Agar انتقال داده شد.

استخراج OMVs

به منظور استخراج وزیکول‌های غشای خارجی باکتری، کشت در حجم بالا صورت پذیرفت و پس از ۲۴ ساعت محیط کشت حاوی باکتری در دور بالا جهت حذف جسم سلولی باکتریایی سانتریفیوژ گردید و محلول رویی جدا گردید. به منظور فرایند تغلیظ از اولترافیلتراسیون محلول رویی استفاده گردید. بدین منظور محلول رویی عاری از بیوماس باکتریایی به دستگاه فیلتراسیون با فیلتر مناسب دارای کاتاف مناسب انتقال داده شد و فرآیند تغلظ محلول رویی صورت پذیرفت. از آن‌جایی‌که وزیکول‌های غشای خارجی متابولیت‌های ترشحی می‌باشند و در مایع ناشی از رشد باکتری حضور دارند، سوسپانسیون تهیه و تغلیظ شده جهت استخراج وزیکول‌های غشای خارجی اولترا سانتریفیوژ گردید. در این مرحله محلول تغلیظ شده با دور g۱۰۰۰۰۰ به مدت ۹۰ دقیقه سانتیرفیوژ گردید. در نهایت رسوب ظریف ایجاد شده در ته لوله از سوپ رویی جمع‌آوری و در محلول PBS حل و برای آنالیزهای بعدی به دمای ۸۰- انتقال داده شد(۲۲).

تجزیه و تحلیل OMVs

به منظور ارزیابی حفظ ساختار باکتری و ارزیابی‌های فیزیکو شیمیایی به آنالیز الگوی پروتئینی OMVs بر روی ژل SDS-PAGE پرداخته و به منظور تایید حفظ یکپارچگی ساختمان OMVs از میکروسکوپ الکترونی استفاده گردید. جهت مشاهده مورفولوژی وزیکول‌های غشای خارجی از میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (Field Emission ScanningElectron Microscope-FE-SEMS) استفاده شد و به منظور آماده‌سازی نمونه، OMVs به‌دست آمده روی یک لام انتقال داده شد و در محیط گذاشته تا خشک شود و سپس عکس‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی گرفته شد. به منظور ارزیابی غلظت محتوای پروتئینی استخراج شده و استفاده از یک غلظت مشخص از OMVs نیازمند اندازه‌گیری محتوای پروتئینی می‌باشیم و بدین منظور از روش استاندارد اندازه‌گیری پروتئین به روش بردفورد استفاده گردید(۲۳).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

تهیه سوسپانسیون میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس

در پژوهش حاضر از سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 6538 در کنار سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* دریافت شده از بانک میکروبی جمع‌آوری شده در گروه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی استفاده گردید. سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* از نمونه‌های بالینی جدا شده و با استفاده از تست‌های افتراقی تعیین هویت گردیده و تست‌های آنتی‌بیوگرام برای آنتی‌بیوتیک‌های سفوکسیتین µg ۳۰، جنتامایسین µg۱۰ ،تری متوپریم-سولفومتوکسازول µg ۵، اریترومایسین µg ۱۵، ونکومایسین µg ۳۰، تتراسایکلین µg ۱۰، پنی‌سیلین µg ۱۰، ایمی‌پنم µg ۱۰ انجام گردید و طبق تعریف Magiorakos و همکاران سویه‌هایی حداقل به یک تا سه آنتی‌بوتیک مقاوم بودند؛ به عنوان سویه‌های MDR انتخاب و استوک گردید(۲۴). جهت فعال‌سازی مجدد از فریزر ۸۰- به محیط کشت تازه مانیتول سالت آگار انتقال داده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. سپس ۲-۳ کلنی از هر یک از سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* کلنی ایزوله را در ۵-۳ میلی‌لیتر محیط LB Broth انتقال و در ۳۷ درجه انکوبه گردید و در نهایت از هر یک از سویه‌ها استانداردهای معادل نیم مک فارلند تنظیم گردید. دانسیته این سوسپانسوین میکروبی مطابق با استاندارد یک مک فارلند 8*10× 1.5 CFU/ml از محلول باکتری داشته است.

اثر OMVs استخراج شده بر زنده مانی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس

به منظور ارزیابی تاثیر وزیکول‌های غشای خارجی استخراج شده بر زنده مانی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* از روش ذکر MTT استفاده گردید. به این منظور سوسپانسیون میکروبی از ۱۰ سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* که مطابق با استاندارد نیم مک فارلند 1.5×10*8 CFU/ml تهیه نموده و میزان ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی به هرکدام از چاهک‌های پلیت کشت سلولی ۹۶ خانه به‌صورت دو بار تکرار (Duplicate) اضافه گردید. به منظور فراهم نمودن شرایط رشد باکتری نیز میزان ۵۰ میکرو لیتر از محیط LB Broth اضافه و در نهایت OMVs به غلظت ۵۰ میکروگرم به عنوان ماده موثر بر روی نمونه‌ها تیمار گردید. به‌عنوان کنترل منفی، سوسپانسیون باکتری بدون حضور و تیمار EcN OMVs مورد استفاده قرار گرفت. پلیت را به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در روز دوم میزان ۱۰ میکرولیتر از معرف MTT به همه چاهک‌ها اضافه شد و در پلیت را با فویل پوشانده و به‌مدت ۳۰ دقیقه روی یک انکوباتور شیکردار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی انکوبه گردید. مشخص شده است که کاهش MTT توسط میکروارگانیسم‌های گرم مثبت و گرم منفی در ۱۵ تا ۳۰ دقیقه اول اتفاق می‌افتد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه انکوباسیون، محتویات رویی هر چاهک با استفاده از سمپلر به میزان ۱۷۰ میکرولیتر خارج شد و مقادیر ۱۰۰ میکرولیتر حلال دی متیل‌سولفوکساید (DMSO) به هر چاهک برای حل شدن بلورهای فورمازان اضافه شد و صفحات روی شیکر با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند. با استفاده از یک میکروپلیت خوان (ELISA Reader) درطول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و از روی جذب نمونه‌ها، میزان سلول‌های باکتری کشته شده تعیین شد. هر چقدر تعداد سلول‌های باکتریایی کشته شده بیش‌تر باشد در نهایت، کاهش جذب خوانده شده، مشاهده گردید و سلول‌های زنده موجب تولید فورمازان می‌شود که شاهد افزایش جذب خوانده شده خواهیم بود(۲۵).

آنالیز آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و به این منظور از تست آماری t-test استفاده گردید.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

یافته‌ها

میکروسکوپ الکترونی

تصاویر میکروسکوپ الکترونی ساختارهای کروی شکل با حفظ ساختارکروی و یکپارچگی را تائید نمود. همان طورکه درتصویر شماره۱ مشخص است این وزیکول‌های دارای اندازه‌ای با بازده ۴۰ الی ۱۰۰ نانومتر می‌باشند.

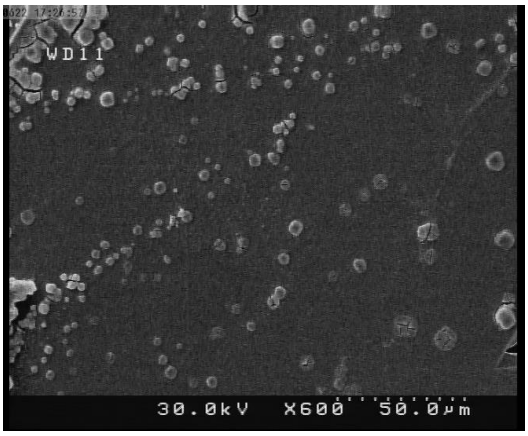
نتایج SDS-PAGE

نتایج ناشی از SDS-PAGE بر روی ژل ۱۲ درصد نیز الگوی پروتئینی وزیکول‌های استخراج شده را در رقت‌های مختلف در بازده ۱۵ الی ۱۰۰ کیلو دالتون نشان داد. همان‌طورکه در تصویر شماره ۲ مشخص است سه باند پروتئینی ۲۰، ۲۵ و ۳۵ کیلو دالتونی دارای بیش‌ترین میزان غلظت در الگوی پروتئینی مطالعه حاضر می‌باشند.

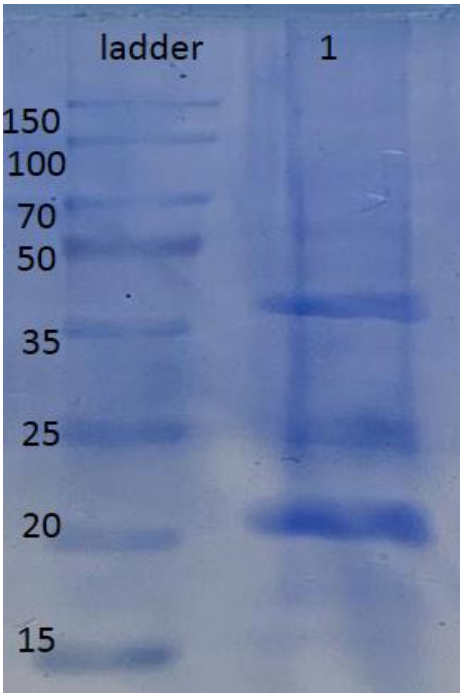
نتایج MTT Assay

در غلظت بهینه ۵۰ میکروگرم (این غلظت، غلظت بهینه به‌دست آمده در پژوهش‌های قبلی انجام شده مطالعه حاضرمی‌باشد) ازحضور OMVs کاهش چشمگیری در رشد سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با سویه کنترل (سویه فاقد تیمار با OMVs) مشاهده گردید(۲۶). در مطالعه حاضر به بررسی اثر وزیکول‌های استخراج شده ناشی از EcN بر روی سویه‌هایی از *استافیلوکوکوس اورئوس* که دارای بالاترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی بوده و هم‌چنین به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین که به‌عنوان خط اول درمان بر علیه این باکتری می‌باشد، دارای مقاومت می‌باشد، پرداخته شد.

از آن‌جایی که ارتباط مستقیمی میان مقاومت آنتی‌بیوتیک و تشکیل بیوفیلم وجود دارد و از سوی دیگر *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌عنوان یکی از باکتری‌های شایع تشکیل‌دهنده بیوفیلم بوده و ایجاد بیوفیلم نیز می‌تواند بر روی شدت بیماری ناشی از



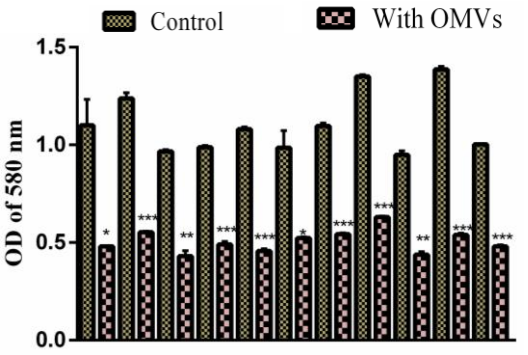
تصویر شماره ۱: وزیکول‌های غشای خارجی استخراج شده از EcN پس از رنگ‌آمیزی منفی جهت بررسی‌های تائیدی مورد مشاهده با میکروسکوپ الکترونی FE-SEM قرار گرفتند. تصاویر حاکی از وجود ساختارهای کروی با حفظ یکپارچگی و در محدوده اندازه ۱۰۰-۴۰ نانومتر بود.



تصویر شماره ۲: ارزیابی الگوی پروتئینی وزیکول‌های استخراج شده بر روی ژل ۱۲ درصد. OMVs استخراج شده در غلظت‌های مختلف بر روی ژا آکریل آمید ۱۲ درصد ران گردید. همان‌طورکه در تصویر مشاهده می شود الگوی پروتئین بر روی ژل باندهای پروتئینی را در محدوده ۱۵ الی ۱۰۰ کیلو دالتونی نشان داد. ستون اول از سمت چپ مارکر پروتئینی و ستون ۱ الگوی پروتئینی OMVs استخراج شده می‌باشد.

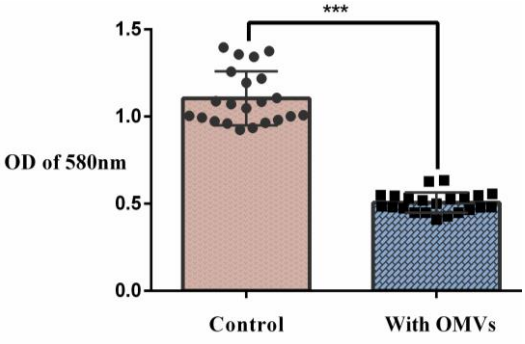
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

باکتری موثر باشد، سویه‌های با بالاترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی مورد مطالعه قرار گرفت(۲۷). جالب توجه است که آنالیزهای آماری نشان‌دهنده اثر مهاری وزیکول‌های استخراج شده ناشی از EcN را بر روی این سویه‌ها نشان داد. این کاهش طبق آنالیزهای آماری معنی‌دار و با P<۰/۰۵ گزارش گردید. در نمودار شماره ۱، به ارزیابی تک تک سویه‌ها با کنترل همان سویه پرداخته شد که در ارتباط با تک تک سویه‌ها نسبت به کنترل خود کاهش معنی‌داری در بازده ۰/۰۵-۰/۰۰۱ Pvalue مشاهده گردید و این کاهش به معنی اثر مستقیم وزیکول‌های غشای خارجی بر زنده مانی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد(۲۸). در نمودار شماره ۲، تمامی سویه‌ها با تمامی کنترل‌های گذاشته شده مورد ارزیابی قرارگرفتند و در مجموع اثر وزیکول‌های غشای خارجی EcN به عنوان یک پست بیوتیک بر روی مهار رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* با P=۰/۰۰۱ معنی‌دار گزارش گردید.



نمودار شماره ۱: ارزیابی تیمار وزیکول‌های استخراج شده بر ۱۱ سویه بالینی *استافیلوکوکوس اورئوس* با بالاترین درصدمقاومت آنتی‌بیوتیکی، ستون‌ها کرم رنگ مربوط به هر یک از سویه‌های کار شده در عدم حضور EcN OMVs و ستون‌های صورتی رنگ همان سویه‌ها در حضور و تیمار EcN OMVs می‌باشد. هریک از ۱۱ سویه به صورت جداگانه در حضور EcN OMVs و عدم حضور EcN OMVs مورد بررسی و سنجش قرارگرفتند و کاهش معنی‌داری در هر یک از سویه‌ها در حضور OMVs نسبت به کنترل نشان داده شده و در ارتباط با هر ۱۱ سویه این کاهش با درجه P متفاوت معنی‌دار گزارش گردید.

*= P<۰/۰۵ ، **= P<۰/۰۱ ، ***= P<۰/۰۰۱



نمودار شماره ۲: میانگین ارزیابی تیمار وزیکول های استخراج شده بر ۱۱ سویه بالینی *استافیلوکوکوس اورئوس* با بالاترین درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی- به منظور ارزیابی نهایی اثر EcN OMVs بر روی رشد سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به آنتی‌بیوتیک، تمامی داده‌های مرتبط با کنترل (سویه‌های فاقد تیمار EcN OMVs) با داده‌های مرتبط با نمونه‌های تیمار شده با EcN OMVs مورد مقایسه قرار گرفت. تا نتایج ناشی از هر ۱۱ سویه به‌صورت کلی را به یک پاسخ نهایی در ارتباط با اثر پست بیوتیک مورد مطالعه برساند. آنالیزهای آماری کاهش معنی‌داری را با P=۰/۰۰۱ در ارتباط با اثر مهاری پست بیوتیک مورد مطالعه بر مهار رشد سویه‌های مورد مطالعه تایید نمود.

*= P<۰/۰۵ ، **= P<۰/۰۱ ، ***= P<۰/۰۰۱

بحث

استفاده مداوم از آنتی‌بیوتیک‌ها و هم‌چنین دسترسی آسان از طریق فروش بدون نسخه و فروش از طریق اینترنت باعث ظهور باکتری‌های مقاوم به چند دارو (MDR) شده است و به عنوان یک چالش درمانی ظاهر گردید. بنابراین میزان عوارض و مرگ و میر در سراسر جهان، به ویژه در کشورهای در حال توسعه در حال افزایش است(۲۹).

برخی عوامل پاتوژن به دلیل توانایی فوق‌العاده خود در سازگاری، فرار از پاسخ ایمنی میزبان و ایجاد مقاومت دارویی، شهرت استثنایی به‌دست آورده‌اند. این امر باعث شده است که سازمان بهداشت جهانی پاتوژن‌های انسانی قابل توجهی را در دسته‌بندی‌هایی با اولویت بحرانی، بالا و متوسط قرار دهد. *انتروکوکوس فاسیوم* (مقاوم به وانکومایسین) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (مقاوم به متی‌سیلین) به عنوان پاتوژن‌های با اولویت بالا در نظر گرفته می‌شوند که برای آن‌ها آنتی‌بیوتیک‌های

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

جدید ضروری ترین نیاز است. واضح است که *استافیلوکوکوس اورئوس* همراه با سایر باکتری‌ها توانایی فوق‌العاده‌ای در ایجاد مقاومت در برابر هر آنتی‌بیوتیکی دارد که در معرض آن قرار گرفته است. این موضوع اولین بار با کسب بتالاکتاماز بر روی "پلاسمیدهای پنی سیلیناز" توسط MRSA آشکار شد. از سوی دیگر، تشکیل بیوفیلم توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌تواند مشکل دیگری را به فنوتیپ مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن اضافه کند و منجر به عفونت‌های جدی و پایدار شود(۳۱،۳۰). برخی از استراتژی‌های اصلی برای ایجاد وقفه در تشکیل بیوفیلم توسعه یافته مانند مهار چسبندگی باکتری، تخریب بیوفیلم از پیش ساخته شده به‌کار گرفته شده است. با این حال، این رویکردها کاملاً مؤثر نیستند و با توجه به افزایش مقاومت سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین (MDR-MRSA) و تمایل آن‌ها به تشکیل بیوفیلم، برای ریشه‌کنی آن‌ها باید به استراتژی‌های موثرتری روی آورده شود(۳۲). شواهد نشان می‌دهد که سویه‌های پروبیوتیک می‌توانند با کاهش اثرات نامطلوب، بهبود عملکرد آنتی بیوتیک و افزایش ایمنی مخاطی، به عنوان مکمل درمان آنتی‌بیوتیکی عمل کنند. باکتری‌های پروبیوتیک با ترشح ترکیبات ضد میکروبی از جمله اسیدهای آلی مانند اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه (SCFAs) نقش محافظتی دارند و به‌طور مستقیم با پاتوژن‌ها رقابت می‌کنند. در مطالعه‌ای که توسط Kin و همکاران صورت پذیرفت، سوپرناتانت ناشی از *ساکارومایسس سرویزیه* به عنوان پروبیوتیک برای مهار تشکیل بیوفیلم *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به آنتی‌بیوتیک استفاده گردید(۳۳). سوپرناتانت بدون سلول (CFS) جدا شده از این سویه، ظرفیت‌های بیوفیلم زدایی را از خود نشان دادند. در مطالعه دیگر در اسپانیا و فرانسه، اثر آنتی‌بیوفیلمی *انتروکوکوس فکالیس* مورد ارزیابی قرار گرفت. این مطالعه نیز نشان داد که انتروسین موجب غیر فعال‌سازی *استافیلوکوکوس*ها شده و تشکیل بیوفیلم آن‌ها را کاهش می‌دهد(۳۴). علاوه بر این، از آن‌جایی که *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به آنتی‌بیوتیک در میکرو فلور طبیعی قرار دارد، نمی‌توان آن را به راحتی با آنتی‌بیوتیک‌ها از بین برد. از این‌رو، پروبیوتیک‌ها و مشتقات آن‌ها برای جلوگیری و از بین بردن بیوفیلم‌های بیماری‌زا منطقی‌تر هستند(۳۴).

در سال ۲۰۱۷، Kang و همکاران از CFS *لاکتوباسیلوس سالیواریوس* و *لیموسیلاکتوباسیلوس فرمنتوم*، جدا شده از مخاط دهان کودکان سالم (۴ تا ۷ ساله)، برای مهار تشکیل بیوفیلم *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به آنتی‌بیوتیک استفاده کردند(۳۵). نتایج نشان داد که *لاکتوباسیلوس سالیواریوس* دارای اثر باکتری‌کش قوی علیه بیوفیلم ناشی از این باکتری را تایید نمود. در مطالعه‌ای دیگر که توسط سینگ و دوبی انجام شد، سویه جدیدی از *اکتینوباکتری‌های اندوفیت* که میکروارگانیسم‌هایی هستند که در بافت‌های گیاهی زندگی می‌کنند بدون این که هیچ اثر نامطلوبی برای گیاهان ایجاد کنند دارای ترکیبات با خواص ضد میکروبی در برابر MRSA می‌باشند. متابولیت‌های ثانویه تولید شده توسط این سویه به دلیل خواص ضد باکتریایی، آنتی‌بیوفیلمی و آنتی‌اکسیدانی خود توانستند به طور موثری از تشکیل بیوفیلم سویه‌های MRSA تا ۹۰ درصد جلوگیری کنند(۳۶). با وجود مزایای تائید شده در ارتباط با پروبیوتیک‌ها، نگرانی‌هایی در مورد استفاده از آن‌ها نیز به وجود آمده است و این واقعیت است که پروبیوتیک‌ها می‌توانند فاکتورهای حدت را بیان کنند و ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی را به باکتری‌های بیماری زا در روده منتقل کنند، مورد تائید قرار گرفته است(۳۷). از این رو به منظور از بین بردن این معایب، تمرکز بیش‌تر مطالعات بر روی میکروارگانیسم‌های غیر فعال و یا متابولیت‌های ناشی از آن‌ها می‌باشد که در سال‌های اخیر افزایش یافته است. اگرچه پست‌بیوتیک‌ها حاوی میکروارگانیسم‌های زنده نیستند، اما از طریق مکانیسم‌های مشابه ای که مشخصه پروبیوتیک‌ها هستند، اثر سلامتی مفیدی از خود نشان می‌دهند و در عین حال

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

خطرات مرتبط با مصرف آن‌ها را نسبت به پروبیوتیک‌ها به حداقل می‌رسانند. بنابراین، مانند پری‌بیوتیک‌ها که به عنوان گروهی از مواد مغذی که توسط میکروبیوتای روده تجزیه می‌شوند. پست‌بیوتیک‌ها نیز به عنوان میکروارگانیسم‌های بی‌جان برای سلامتی میزبان مفید هستند، توصیه می‌شوند(۳۹،۳۸). بنابراین در مطالعه حاضر با رویکرد تمرکز بر ارزیابی اثر یک پست بیوتیک ناشی از یکی از پروبیوتیک‌های دارای مجوز FDA به بررسی تاثیر آن بر مهار رشد سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های خط اول درمان چون متی‌سیلین پرداختیم. نتایج به‌صورت معنی‌داری تایید کننده اثر مهاری EcN OMVs بر روی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به آنتی‌بیوتیک بود که این نتایج هم راستا با بسیاری از مطالعات صوت گرفته بر روی متابولیت‌های متفاوت باکتری‌های پروبیوتیک مختلف و اثرات مهاری آن‌ها بر ممانعت از پاتوژنز و شکل‌گیری بیوفیلم و .... بود. با توجه به نبود عوارض جانبی ناشی از مصرف پست بیوتیک‌ها و هم‌چنین حفظ مزایای سلامتی میزبان که از طریق برخی از اجزای زیست فعال (اگزوپلی ساکارید (EPS)، اسید تیکوئیک، SCFA، اسیدهای آمینه، پپتیدهای ترشح شده، و غیره می‌گذارند، در عین حال که دارای اثرات مشابه با پروبیوتیک‌ها، می‌توانند در بیماری‌هایی التهابی مانند سندرم روده تحریک‌پذیر، بیماری‌های عفونی مانند گاستروانتریت یا عفونت‌های روده ناشی از *سالمونلا انتریتیدیس* و یا عمدتاً با اثرات ضد سرطانی، ضد چاقی، ضد تکثیر، هیپوکلسترولمی، آنتی‌اکسیدانی و تعدیل سیستم ایمنی، مقابله با پاتوژن‌ها، ترکیبات ضد میکروبی تاثیرگذار باشند(۴۰). وزیکول‌های غشای خارجی یکی از متابولیت‌های ترشحی باکتری‌های گرم منفی می‌باشند که به عنوان یکی از ترکیبات پست‌بیوتیکی می‌توان در نظر گرفت. این ترکیبات در تمام مراحل رشد باکتری از سطح سلول فاصله می‌گیرند، بنابراین ترکیب اجزای غشای خارجی را منعکس می‌کند. این وزیکول‌ها از غشای خارجی باکتری (OM) تشکیل می‌شوند. بنابراین، ترکیب آن‌ها شباهت زیادی به اجزای OM و پری پلاسم دارد. آن‌ها حامل OMPs (پروتئین‌های غشای خارجی)، LPS (لیپوپلی ساکاریدها)، فسفولیپیدها، پپتیدوگلیکان، پروتئین‌ها (پری پلاسمیک، سیتوپلاسمی و متصل به غشاء)، اجزای پری پلاسمیک، اسیدهای نوکلئیک (DNA، RNA)، متابولیت‌های یونی، و مولکول‌های سیگنالینگ هستند(۴۱). در طی مطالعه گوس و همکاران نشان داده شد وزیکول‌های غشای بیرونی (OMVs) مشتق شده از *میکسوباکتری سیستوباکتر ولاتوس* و *سیستوباکتر فروژینوس* را که به‌طور طبیعی ضد میکروبی هستند، فعالیت باکتریواستاتیک خود را در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان دادند(۴۲).

مطالعه حاضر نیز نشان داد این متابولیت به صورت اثرگذاری می‌تواند از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین جلوگیری نماید، این موضوع می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات مختلفی باشد که درون ساختمان وزیکول‌ها بسته‌بندی می‌گردد و براساس یافته‌های مطالعه حاضر، احتمال داده شد که پست بیوتیک حاضر می‌تواند از اتصال باکتری پاتوژن جلوگیری نماید و این امر در ارتباط با پروبیوتیک‌ها مرتبط با فرآیند رقابتی ایجاد شده در اتصال به سطوح می‌باشد و در ارتباط با این پست بیوتیک می‌تواند به دلیل ترکیبات مختلف درون این ساختارها باشد که به هر روی می‌تواند ممانعت از اتصال باکتری نماید، از این رو به نظر می‌رسد بررسی توالی آمینو اسیدی ترکیبات پروتئینی داخل وزیکول‌ها بتواند ما را به ماهیت دقیق ترکیبات درون ساختارها برساند. OMVs به‌عنوان ابزاری برای تحویل باکتریوسین‌های آب گریز در کاربردهای درمانی پیشنهاد شده‌اند و باکتریوسین‌ها را می‌توان در میان انبوهی از پروتئین‌هایی که با OMVs مرتبط هستند، یافت. علاوه بر این، رنگدانه ویولاسین، که هم‌چنین دارای خواص آنتی‌بیوتیکی و باکتری‌کشی است، اخیراً نشان داده شده است که با OMVs مرتبط است(۴۳). در

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

طی مطالعاتی اخیرا در ارتباط با مقاومت آنتی‌بیوتیکی و هم‌چنین کاربرد پروبیوتیک‌ها و پست‌بیوتیک‌ها انجام شده این ساختارها به عنوان یک گزینه درمانی جدید معرفی شده‌اند. با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه و هم‌چنین تایید بسیاری دیگر از مطالعات در راستای تایید اثر بخشی مناسب پست‌بیوتیک‌ها، به نظر می‌رسد پست بیوتیک‌ها می‌توانند به‌عنوان ترکیباتی جدید تحول نوینی را در علم پزشکی ایجاد نمایند.

References

1. Licitra G. Etymologia: Staphylococcus. Emerg Infect Dis 2013; 19(9): 1553.
2. Irfan M, Almotiri A, AlZeyadi ZA. Antimicrobial Resistance and Its Drivers-A Review. Antibiotics(Basel) 2022; 11(10): 1362.
3. Bai AD ,Lo CKL, Komorowski AS, Suresh M, Guo K, Garg A, et al. Staphylococcus aureus bacteraemia mortality: a systematic review and meta-analysis. Clin Microbiol Infect 2022; 28(8): 1076-1084.
4. David MZ, Daum RS. Treatment of Staphylococcus aureus Infections. Curr Top Microbiol Immunol 2017; 409: 325-383.
5. Costa SS, Viveiros M, Amaral L, Couto I. Multidrug Efflux Pumps in Staphylococcus aureus: an Update. Open Microbiol J 2013; 7: 59-71.
6. Scarpellini E, Rinninella E, Basilico M, Colomier E, Rasetti C, Larussa T, et al. From Pre- and Probiotics to Post-Biotics: A Narrative Review. Int J Environ Res Public Health 2021; 19(1): 37.
7. Aggarwal S, Sabharwal V, Kaushik P, Joshi A, Aayushi A, Suri M. Postbiotics: From emerging concept to application. Front Sustain Food Syst 2022; 6: 1-18.
8. Cañas MA, Fábrega MJ, Giménez R, Badia J, Baldomà L. Outer Membrane Vesicles From Probiotic and Commensal Escherichia coli Activate NOD1-Mediated Immune Responses in Intestinal Epithelial Cells. Front Microbiol 2018; 9: 498.
9. Yang J, Shin TS, Kim JS, Jee YK, Kim YK. A new horizon of precision medicine: combination of the microbiome and extracellular vesicles. Exp Mol Med 2022; 54(4): 466-482.
10. Ambrożej D, Stelmaszczyk-Emmel A, Czystowska-Kuźmicz M, Feleszko W. "Liquid biopsy"-extracellular vesicles as potential novel players towards precision medicine in asthma. Front Immunol 2022; 13: 1025348.
11. Mancini F, Rossi O, Necchi F, Micoli F. OMV Vaccines and the Role of TLR Agonists in Immune Response. Int J Mol Sci 2020; 21(12): 4416.
12. Behrouzi A, Mazaheri H, Falsafi S, Tavassol ZH, Moshiri A, Siadat SD. Intestinal effect of the probiotic Escherichia coli strain Nissle 1917 and its OMV. J Diabetes Metab Disord 2020; 19(1): 597-604.
13. Balhuizen MD, Veldhuizen EJA, Haagsman HP. Outer Membrane Vesicle Induction and Isolation for Vaccine Development. Front Microbiol 2021; 12: 629090.
14. Kang CS, Ban M, Choi EJ, Moon HG, Jeon JS, Kim DK, et al. Extracellular vesicles derived from gut microbiota, especially Akkermansia muciniphila, protect the progression of dextran sulfate sodium-induced colitis. PloS One 2013; 8(10): e76520.
15. van Bergenhenegouwen J, Kraneveld AD, Rutten L, Kettelarij N, Garssen J, Vos AP. Extracellular vesicles modulate host-microbe responses by altering TLR2 activity and

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

phagocytosis. PloS One 2014; 9(2): e89121.

16. Behrouzi A, Ashrafian F, Mazaheri H, Lari A, Nouri M, Riazi Rad F, et al. The importance of interaction between MicroRNAs and gut microbiota in several pathways. Microb Pathog 2020; 144: 104200.
17. Ashrafian F, Shahriary A, Behrouzi A, Moradi HR, Keshavarz Azizi Raftar S, Lari A, et al. Akkermansia muciniphila-Derived Extracellular Vesicles as a Mucosal Delivery Vector for Amelioration of Obesity in Mice. Front Microbiol 2019; 10: 2155.
18. Chelakkot C, Choi Y, Kim DK, Park HT, Ghim J, Kwon Y, et al. Akkermansia muciniphila-derived extracellular vesicles influence gut permeability through the regulation of tight junctions. Exp Mol Med 2018; 50(2): e450.
19. Chronopoulos A, Kalluri R. Emerging role of bacterial extracellular vesicles in cancer. Oncogene 2020; 39(46): 6951-6960.
20. Jonkers D, Stockbrügger R. Probiotics and inflammatory bowel disease. J R Soc Med 2003; 96(4): 167-171.
21. Fábrega MJ, Rodríguez-Nogales A, Garrido-Mesa J, Algieri F, Badía J, Giménez R, et al. Intestinal Anti-inflammatory Effects of Outer Membrane Vesicles from Escherichia coli Nissle 1917 in DSS-Experimental Colitis in Mice. Front Microbiol 2017; 8: 1274.
22. Thoma J, Manioglu S, Kalbermatter D, Bosshart PD, Fotiadis D, Müller DJ. Protein-enriched outer membrane vesicles as a native platform for outer membrane protein studies. Commun Biol 2018; 1: 23.
23. Kruger NJ. The Bradford method for protein quantitation. Methods Mol Biol 1994; 32: 9-15.
24. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2012;18(3):268-281.
25. Wang H, Wang F, Tao X, Cheng H. Ammonia-containing dimethyl sulfoxide: an improved solvent for the dissolution of formazan crystals in the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay. Anal Biochem 2012; 421(1): 324-326.
26. Behrouzi A, Vaziri F, Riazi Rad F, Amanzadeh A, Fateh A, Moshiri A, et al. Comparative study of pathogenic and non-pathogenic Escherichia coli outer membrane vesicles and prediction of host-interactions with TLR signaling pathways. BMC Res Notes 2018; 11(1): 539.
27. Pajohesh R, Tajbakhsh E, Momtaz H, Rahimi E. Relationship between Biofilm Formation and Antibiotic Resistance and Adherence Genes in Staphylococcus aureus Strains Isolated from Raw Cow Milk in Shahrekord, Iran. Int J Microbiol 2022; 2022: 6435774.
28. Benov L. Effect of growth media on the MTT colorimetric assay in bacteria. PloS One 2019; 14(8): e0219713.
29. Totté JE, van der Feltz WT, Bode LG, van Belkum A, van Zuuren EJ, Pasmans SG. A systematic review and meta-analysis on Staphylococcus aureus carriage in psoriasis, acne and rosacea. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2016; 35(7): 1069-1077.
30. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. Lancet Infect Dis 2018; 18(3): 318-327.
31. Craft KM, Nguyen JM, Berg LJ, Townsend SD. Methicillin-resistant Staphylococcus

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

aureus (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype. MedChemComm 2019; 10(8): 1231-1241.

32. Neyra RC, Frisancho JA, Rinsky JL, Resnick C, Carroll KC, Rule AM, et al. Multidrug-resistant and methicillin-resistant Staphylococcus aureus(MRSA) in hog slaughter and processing plant workers and their community in North Carolina (USA). Environ Health Perspect 2014; 122(5): 471-477.
33. Kim YJ, Yu HH, Park YJ, Lee NK, Paik HD. Anti-Biofilm Activity of Cell-Free Supernatant of Saccharomyces cerevisiae against Staphylococcus aureus. J Microbiol Biotechnol 2020; 30(12): 1854-1861.
34. Al Atya AK, Belguesmia Y, Chataigne G, Ravallec R, Vachée A, Szunerits S, et al. Anti-MRSA Activities of Enterocins DD28 and DD93 and Evidences on Their Role in the Inhibition of Biofilm Formation. Front Microbiol 2016; 7: 817.
35. Kang M-S, Lim H-S, Oh J-S, Lim Y-J, Wuertz-Kozak K, Harro JM, et al. Antimicrobial activity of Lactobacillus Salivarus and Lactobacillus Fermentum against staphylococcus aureus. Pathog Dis 2017; 75(2).
36. Singh R, Dubey AK. Isolation and Characterization of a New Endophytic Actinobacterium Streptomyces californicus Strain ADR1 as a Promising Source of Anti-Bacterial, Anti-Biofilm and Antioxidant Metabolites. Microorganisms 2020; 8(6): 929.
37. Chuah LO, Foo HL, Loh TC, Mohammed Alitheen NB, Yeap SK, Abdul Mutalib NE, et al. Postbiotic metabolites produced by Lactobacillus plantarum strains exert selective cytotoxicity effects on cancer cells. BMC Complement Altern Med 2019; 19(1): 114.
38. Żółkiewicz J, Marzec A, Ruszczyński M, Feleszko W. Postbiotics-A Step Beyond Pre- and Probiotics. Nutrients 2020; 12(8): 2189.
39. Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh I, Seifan M, Mohkam M, Masoumi SJ, et al. Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. Foods 2019; 8(3): 92.
40. Park M, Joung M, Park JH, Ha SK, Park HY. Role of Postbiotics in Diet-Induced Metabolic Disorders. Nutrients 2022; 14(18): 3701.
41. Bonnington KE, Kuehn MJ. Protein selection and export via outer membrane vesicles. Biochim Biophys Acta 2014; 1843(8): 1612-1619.
42. Goes A, Lapuhs P, Kuhn T, Schulz E, Richter R, Panter F, et al. Myxobacteria-Derived Outer Membrane Vesicles: Potential Applicability Against Intracellular Infections. Cells 2020; 9(1): 194.
43. Choi SY, Lim S, Cho G, Kwon J, Mun W, Im H, et al. Chromobacterium violaceum delivers violacein, a hydrophobic antibiotic, to other microbes in membrane vesicles. Environ Microbiol 2020; 22(2): 705-713.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]