

## ارزیابی اثر ضد میکروبی عصاره پست بیوتیک حاصل از لاکتوباسیلوس کازئی بر اشریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، پنی سیلیوم نوتاتوم و کاندیدا آلبیکانس به روش انتشار در چاهک

سمیرا حسینی\*<sup>۱</sup> و عزیز همایونی راد<sup>۲</sup>

\*<sup>۱</sup> و <sup>۲</sup> - به ترتیب: کارشناس ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی و استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران  
تاریخ ارسال: ۱۴۰۰/۱۰/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۳

### چکیده

انسان همیشه به دنبال راهی برای حفظ مواد غذایی در برابر تخریب شیمیایی، میکروبی و بیماری‌زاهای غذایی است. مصرف پروبیوتیک‌ها امروزه با چالش‌هایی روبه‌رو است. برای برون‌رفت از این بن‌بست می‌توان پروبیوتیک‌ها را تبدیل به پست بیوتیک کرد و در تیمار بیماری‌های مختلف به کار گرفت. پست بیوتیک‌ها منبع انرژی قابل توجهی را برای سلول‌های اپیتلیال روده بزرگ فراهم می‌کنند و در رشد و تمایز آنها نقش دارند. برای ارزیابی اثر ضد میکروبی، عصاره پست بیوتیک از باکتری لاکتوباسیلوس کازئی استخراج و علیه بیماری‌زاهای اشریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، پنی سیلیوم نوتاتوم و کاندیدا آلبیکانس با روش انتشار در چاهک و اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد ارزیابی شد. برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از شاخص‌های چولگی (skewness) و کشیدگی (kurtosis) استفاده شد. در ارزیابی اثر ضد میکروبی عصاره پست بیوتیک به روش انتشار در چاهک، بزرگ‌ترین قطر در غلظت  $80 + \mu\text{l/ml}$  در باکتری‌های اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس تشکیل شد. اما در پنی سیلیوم نوتاتوم و کاندیدا آلبیکانس بعد از سه بار تکرار هیچ‌گونه هاله عدم رشد مشاهده نشد. با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که پست بیوتیک می‌تواند علیه باکتری‌های بیماری‌زا از جمله اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس اثر مهارکنندگی داشته باشد. نتایج به دست آمده در اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد بیماری‌زاهای ارزیابی شده نشان از تفاوت در اثر عصاره پست بیوتیک دارد.

**واژه‌های کلیدی:** انتشار در چاهک، بیماری‌زا، پاتوژن، پروبیوتیک، پست بیوتیک، لاکتوباسیلوس کازئی

## مقدمه

پست‌بیوتیک‌ها فاقد خطرهای باکتری‌های زنده پروبیوتیک هستند (Samira et al., 2022). پست‌بیوتیک به مواد انحلال‌پذیر (محصولات یا متابولیک‌های جانبی) ترشح شده توسط باکتری‌های زنده گفته می‌شود که شامل: آنزیم‌ها، پپتیدها، اسیدهای تیکوئیک، میروپپتیدهای حاصل از پپتیدوگلیکان، پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌های سطح سلولی و اسیدهای آلی هستند (Osman et al., 2021). ترکیبات پست‌بیوتیکی طی فرآیند تخمیر از باکتری‌های پروبیوتیک تولید می‌شوند. اسیدهای چرب کوتاه زنجیر مانند استات، بوتیرات و پروپیونات از جمله پست‌بیوتیک‌هایی هستند که بیشترین پژوهش روی آنها صورت گرفته است (Leo et al., 2021). مراحل استخراج و خالص‌سازی پست‌بیوتیک‌ها از طریق سانتریفیوژ کردن، دیالیز و خشک کردن انجمادی طی می‌شود (Morales-Ferré et al., 2021). برخی از پست‌بیوتیک‌ها را می‌توان از طریق غیرفعال‌سازی و انهدام سلول‌های میکروبی والد با روش‌های مختلف از جمله عملیات حرارتی، فشار زیاد، فرمالین، پرتو فرابنفش، تابش یونیزان و فراصوت تهیه کرد (Warda et al., 2021). پست‌بیوتیک‌ها ممکن است فعالیت ایمن‌سازی، ضدالتهابی، یپوکلسترولمی، ضدچاقی، ضدفشارخون بالا، ضد رتینوپاتی و اثرهای آنتی‌اکسیدانی داشته باشند (Butera et al., 2022). بنابراین، آن‌ها با بهبود عملکردهای فیزیولوژیکی خاص به بهبود سلامت میزبان کمک می‌کنند. به نظر می‌رسد عوامل ترشحاتی از لاکتوباسیلوس‌ها منبع غنی از باکتریواستاتیک هستند که رشد و فعالیت بیماری‌زاهای مختلف را محدود می‌کنند و بالقوه باعث کاهش عفونت و موجب تعدیل ترشحات متابولیتی در التهاب بافت‌ها می‌شوند (Balaguer et al., 2022). لاکتوباسیلوس‌ها به دلیل

بیماری‌های عفونی دومین عامل مرگ و میر در سراسر جهان هستند (Husby et al., 2020). در سه دهه گذشته، کاربرد پروبیوتیک‌ها به عنوان یکی از عوامل کنترل زیستی برای پیشگیری و درمان اختلالات روده‌ای و معده‌ای توجه زیادی را به خود جلب کرده است (Zendeboodi et al., 2020). از آنجا که در سال ۲۰۰۶ استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای رشد دام‌ها ممنوع گردید، پروبیوتیک‌ها و سایر مواد افزودنی خوراکی مورد توجه صنعتگران قرار گرفت. پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش با جلوگیری از چسبندگی میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا به دیواره روده، باعث افزایش بقای سلول‌های اپیتلیال و تقویت عملکرد سیستم ایمنی بدن می‌شوند (Binda & Hill, 2020) و انتروتوکسین‌ها و لیپو پلی‌ساکاریدهای تولید شده توسط بیماری‌زاهای خنثی می‌کنند (Kostelac et al., 2021). پروبیوتیک‌ها مزایای بسیاری دارند، اما هر پروبیوتیکی که تغذیه یا مصرف می‌شود، باید هنگام رسیدن به روده کوچک و بزرگ به مقدار کافی زنده بماند (Purton et al., 2021). تجویز پروبیوتیک‌های زنده به بیماران مبتلا به التهاب حاد روده‌ای خطر مرگ و میر را افزایش می‌دهد (Gharibzahedi & Smith, 2021). گزارش شده است که مواد انحلال‌پذیر، متابولیت‌ها، باکتریوسین‌ها یا محلول‌های بدون باکتری که از پروبیوتیک‌ها به دست می‌آیند، اثرهای سودمندی در سلول‌های زنده به وجود می‌آورند (Rad et al., 2022). مواد انحلال‌پذیر تولید شده توسط پروبیوتیک‌ها اخیراً با اصطلاح "پست‌بیوتیک" معرفی شده‌اند که ممکن است فرصتی برای توسعه راهبردهای جدید درمانی فراهم کند.

ویژگی‌های پروبیوتیکی به شدت مورد توجه واقع شده‌اند (Abdelazez *et al.*, 2022). اثرهای مفید آنها شامل کاهش آنزیم‌های جهش‌زای مدفوعی، اتصال به سلول‌های اپیتلیال، تولید باکتریوسین‌ها و کاهش عفونت‌های روده‌ای به واسطه فعالیت علیه بیماری‌زها ست (Nataraj *et al.*, 2020). لاکتوباسیلوس کازئی باکتری گرم مثبت، میکرواerوفیل و فاقد اسپور است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی دارد. با توجه به تولید انواع عوامل سودمند و کاربردی، این جنس یکی از بهترین گزینه‌ها برای کنترل بیولوژیکی بیماری‌هاست (Żółkiewicz Marzec *et al.*, 2020). اثر حفاظتی لاکتوباسیلوس کازئی علیه باکتری‌های بیماری‌زا از جمله بیماری‌زهای روده‌ای حاکی از آن است که این باکتری در محیط اختصاصی نوترینت آگار، شرایط نامساعد دمایی و اسیدیته فعال است و اثر ضد میکروبی پایداری در محصولات غذایی را دارد (Cuevas-González *et al.*, 2020). لاکتوباسیلوس کازئی به عنوان باکتری پروبیوتیک و استارتر به محصولات لبنی اضافه می‌شود که می‌تواند موجب بهبود ویژگی‌های تکنولوژیکی و تغذیه‌ای محصول نهایی گردد (Barros *et al.*, 2020).

### فرآیند تولید عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک

برای کشت اختصاصی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، در محیط کشت MRS-broth کشت داده شد و سپس در اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۲۱ دقیقه) قرار داده شد. پس از سپری شدن مدت زمان انکوباسیون و رشد میکروارگانیسم به منظور تهیه پودر پست بیوتیک، سویه مورد استفاده باکتری کشت داده شده در فالكون‌های استریل ریخته و در سرعت ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. بعد از جدا کردن سوپرناتانت (عصاره) و اندازه‌گیری pH، برای تهیه شکل لیوفیلیزه آن، ابتدا سوپرناتانت حاصل از باکتری کشت داده شده، به مدت ۲۴ ساعت در خشک کن انجمادی با دمای ۴۰- درجه سلسیوس قرار داده شد و خشک گردید. قبل از استفاده از پودر به دست آمده، برای حصول اطمینان از غیرفعال شدن باکتری، در محیط کشت MRS-agar کشت داده شدند؛ بعد از گذشت ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس هیچ باکتری روی محیط کشت رشد نکرد. در نتیجه، باکتری غیر فعال شد و پست بیوتیک به دست آمد. تمام مراحل در شرایط کاملاً استریل صورت گرفت.

### مواد و روش‌ها

#### گونه‌های میکروبی مورد استفاده

برای تهیه و استخراج عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک، لاکتوباسیلوس کازئی ATCC= ۳۹۳۹۲ از کلکسیون باکتری‌های سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی دانشگاه علوم پزشکی ایران تهیه و به کار برده شد. میکروب‌های مورد مطالعه، شامل اشریشیا کلی ATCC=۲۵۹۲۲ و استفیلوکوکوس/اورئوس PTCC=۱۴۳۱ تهیه شده از مرکز

## آماده‌سازی و تعیین مقدار گونه‌های میکروبی مورد

### استفاده

اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس در محیط کشت MHA شرکت سازنده (Chr. Hansen) کشور دانمارک به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس تلقیح گردیدند و برای حداقل دو مرتبه متوالی تجدید کشت شدند. کاندیدا آلبیکانس در محیط کشت اختصاصی Chromagar candida شرکت سازنده (Merck) کشور آلمان و پنی‌سیلیوم نوتاتوم در محیط کشت اختصاصی SDA شرکت سازنده (Que lab) کشور کانادا به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تلقیح شدند. بیماری‌زها برای حداقل دو مرتبه متوالی تجدید کشت شدند. به منظور محاسبه حجم تلقیح بیماری‌زها از استاندارد نیم مک فارلند به غلظت  $3 \times 10^8$  cfu/ml استفاده گردید.

### بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره (سوپر ناتانت)

#### پست بیوتیک علیه گونه‌های میکروبی

برای تعیین فعالیت ضد میکروبی عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک، با حفظ شرایط استاندارد از سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند ( $3 \times 10^8$  cfu/ml)، سویه اشریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، پنی‌سیلیوم نوتاتوم و کاندیدا آلبیکانس به روش کشت سطحی به ترتیب در محیط‌های کشت اختصاصی مولر هینتون آگار، SDA و Chromagar Candida کشت داده شدند. چاهک‌هایی روی محیط‌های کشت به قطر ۴ میلی‌متر با استفاده از پیپت شماره ۵ و عمق ۴mm حفر گردید. از عصاره (سوپرناتانت)

پست بیوتیک در غلظت‌های مختلف تعیین شده پودر تهیه شده در آب مقطر بر حسب ppm، حل گردید و درون چاهک‌های حفر شده ریخته شد. اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و پنی‌سیلیوم نوتاتوم و کاندیدا آلبیکانس به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. برای تعیین اثر ضد میکروبی، قطر هاله بازدارندگی رشد با کولیس اندازه‌گیری و قطر آن بر حسب میلی‌متر گزارش گردید.

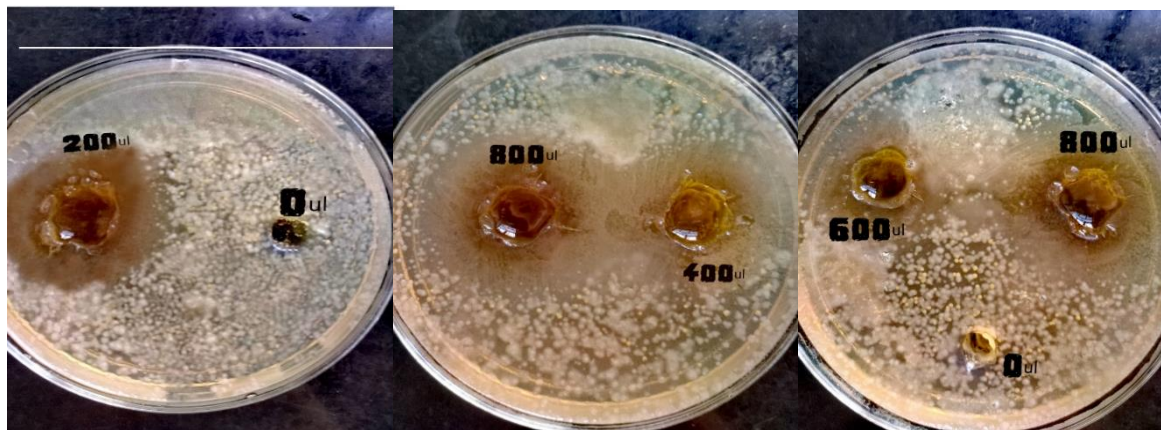
### تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات به دست آمده از آزمایش‌ها، با نرم‌افزار SPSS 26 پردازش شد برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از شاخص‌های چولگی (skewness) و کشیدگی (kurtosis) و برای مقایسه انحراف معیار با نصف میانگین استفاده شد.

### نتایج و بحث

ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی علیه اشریشیا کلی

برای ارزیابی این هدف، پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار آماده شد. پس از آن با فاصله سه میلی‌متری چاهک‌ها حفر شدند. عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک در غلظت‌های ۸۰۰، ۶۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰ و صفر میکرولیتر بر میلی‌لیتر در درون چاهک‌ها ریخته شد، پس از گذشت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، هاله عدم رشد تشکیل و مشاهده شد.



شکل ۱- اثرهای ضد میکروبی عصاره پست بیوتیک در غلظت‌های متفاوت علیه اشریشیا کلی به روش چاهک گذاری  
**Fig. 1- Antimicrobial effects of postbiotic extract (supernatant) of *L. casei* at different concentrations against *E. coli* by Well Diffusion Agar method**

جدول ۱- قطر هاله عدم رشد برای نمونه اشریشیا کلی در برابر غلظت‌های مختلف پست بیوتیک

**Table 1- The diameter of the halo of non-growth for *Escherichia coli* samples against different concentrations of postbiotics**

قطر هاله (میلی متر) Halo diameter (mm)	غلظت‌های پست بیوتیک Postbiotic concentrations
0±0	0
25±0	200
28±0	400
30±0	600
36±0	800

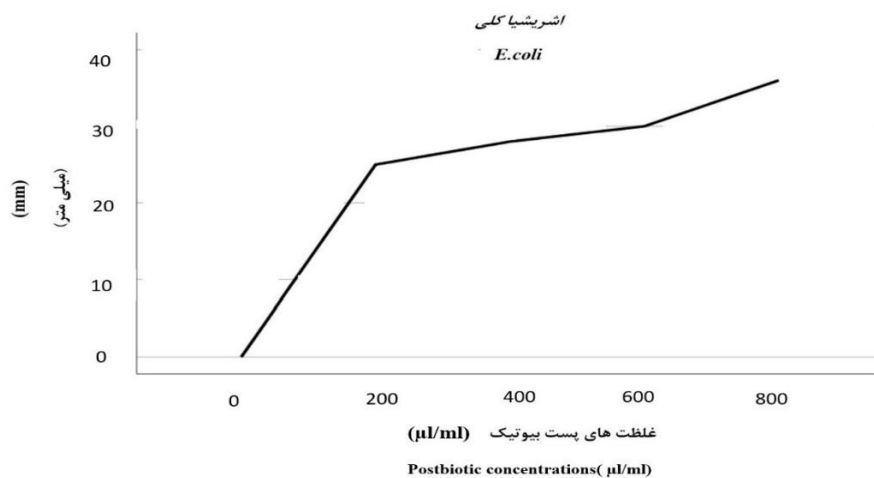
(آنالیز آماری در سطح معنی دار ۹۵٪ صورت گرفته است)

(Statistical analysis has been performed at a significant level of 95%)

عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک حاصل از لاکتوباسیلوس کازئی را علیه اشریشیا کلی نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده بیانگر این است که غلظت‌های بین ۸۰۰ و ۶۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر بیشترین اثر را داشته است. در شکل ۲، بیشترین غلظت مهارکنندگی با قطر هاله عدم رشد ۳۶ میلی متر بوده است.

جدول ۱ نشان می‌دهد که بعد از سه بار تکرار در غلظت‌های ۲۰۰ (۲۵mm)، ۴۰۰ (۲۸mm)، ۶۰۰ (۳۰mm) و ۸۰۰ (۳۶mm) هاله عدم رشد تشکیل شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها حاکی از آن است که با افزایش غلظت عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک، قطر هاله عدم رشد نیز افزایش می‌یابد و از لحاظ آماری معنی دار ( $P \leq 0.05$ ) است. تأثیر مقادیر غلظت

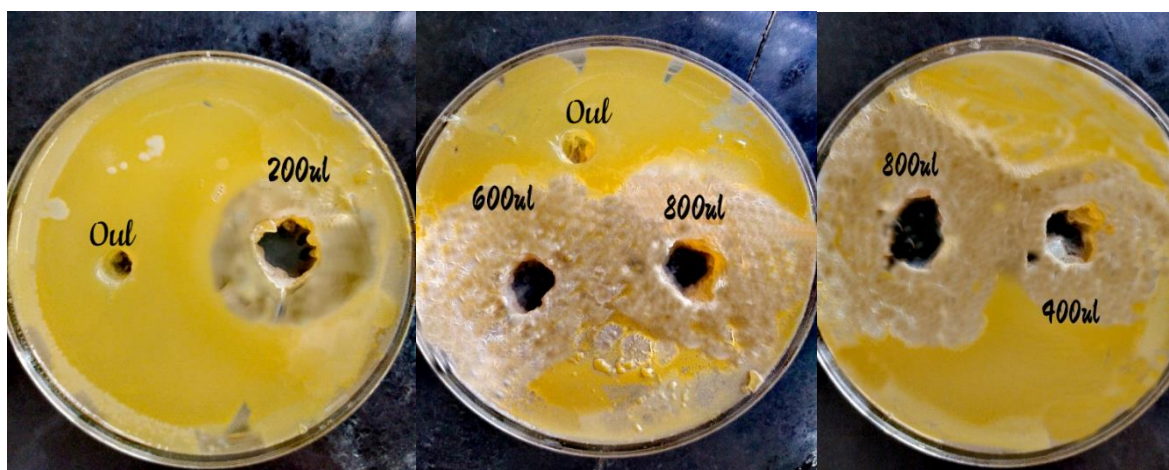




شکل ۲- حداکثر غلظت مهارکنندگی عصاره پست‌بیوتیک علیه *اشریشیا کلی*  
**Fig. 2- The maximum inhibitory concentration of postbiotic extract against *E. coli***

میلی‌متری قرار داده شدند. سپس عصاره پست‌بیوتیک در غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و صفر میکرولیتر بر میلی‌لیتر در درون چاهک‌ها ریخته شد، پس از گذشت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، هاله عدم رشد تشکیل و مشاهده شد.

ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره پست‌بیوتیک علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* برای ارزیابی این هدف به روش انتشار در چاهک، آزمایش روی پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار اجرا شد. پس از آن، چاهک‌هایی حفر شده با فاصله سه



شکل ۳- اثرهای ضد میکروبی عصاره پست‌بیوتیک در غلظت‌های متفاوت علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* به روش چاهک‌گذاری  
**Fig. 3- Antimicrobial effects of postbiotic extract in different concentrations against *Staphylococcus aureus* by Well Diffusion Agar method**

جدول ۲- قطر هاله عدم رشد برای نمونه استافیلوکوکوس اورئوس در برابر غلظت‌های مختلف پست بیوتیک

Table 2- Non-growth halo diameter for *Staphylococcus aureus* samples against different postbiotic concentrations

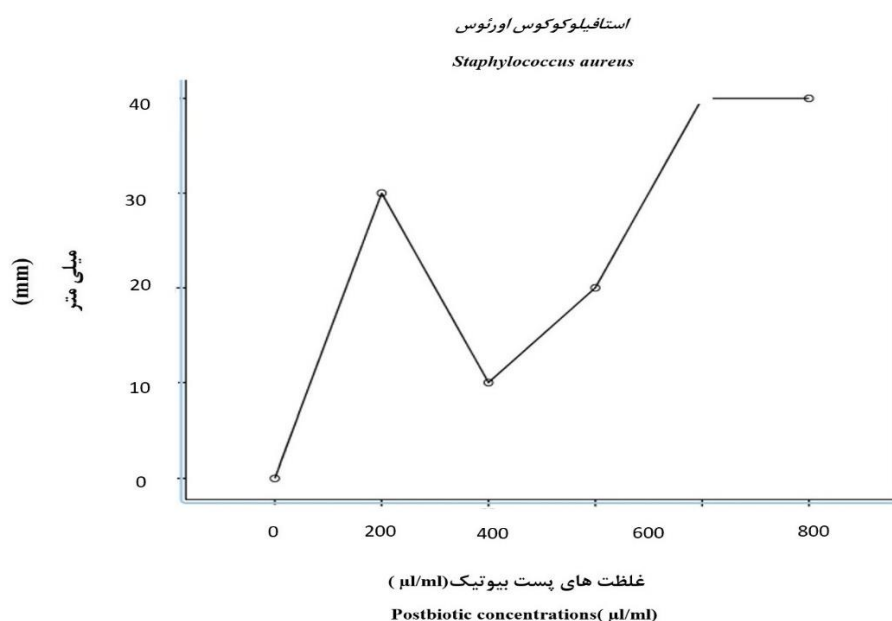
قطر هاله (میلی‌متر) Halo diameter (mm)	غلظت‌های پست بیوتیک Postbiotic concentrations
0±0	0
22±0	200
24±0	400
25±0	600
32±0	800

(آنالیز آماری در سطح معنی‌دار ۹۵٪ صورت گرفته است)

(Statistical analysis has been performed at a significant level of 95%)

لاکتوباسیلوس کازئی را علیه استافیلوکوکوس اورئوس نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده بیانگر این است که غلظت‌های بین ۸۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بیشترین اثر را داشته است. همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده، بیشترین غلظت مهارکنندگی با قطر هاله عدم رشد ۳۲ میلی‌متر بوده است.

جدول ۲ نشان می‌دهد که بعد از سه بار تکرار در غلظت‌های ۲۰۰ (۲۲mm)، ۴۰۰ (۲۴mm)، ۶۰۰ (۲۵mm) و ۸۰۰ (۳۲mm) هاله عدم رشد تشکیل شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها حاکی از آن است که با افزایش غلظت عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک، قطر هاله عدم رشد نیز افزایش می‌یابد و از لحاظ آماری معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) است و تأثیر مقادیر غلظت عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک حاصل از

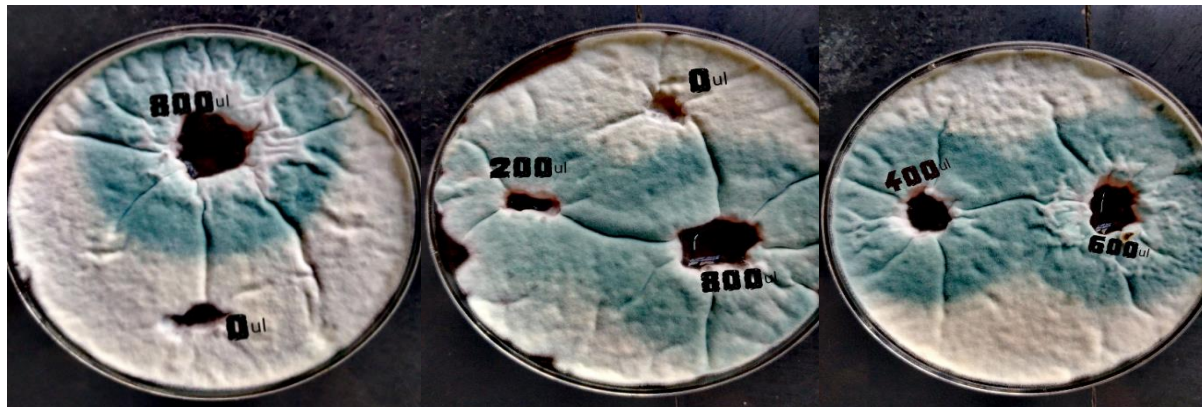


شکل ۴- حداکثر غلظت مهارکنندگی عصاره پست بیوتیک علیه استافیلوکوکوس اورئوس

Fig. 4- Maximum inhibitory concentration of postbiotic extract against *Staphylococcus aureus*

فاصله سه میلی متری قرار داده شده است. سپس عصاره پست‌بیوتیک در غلظت‌های ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و صفر میکرولیتر بر میلی لیتر در درون چاهک‌ها ریخته شد، پس از گذشت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، هاله عدم رشد تشکیل نشد

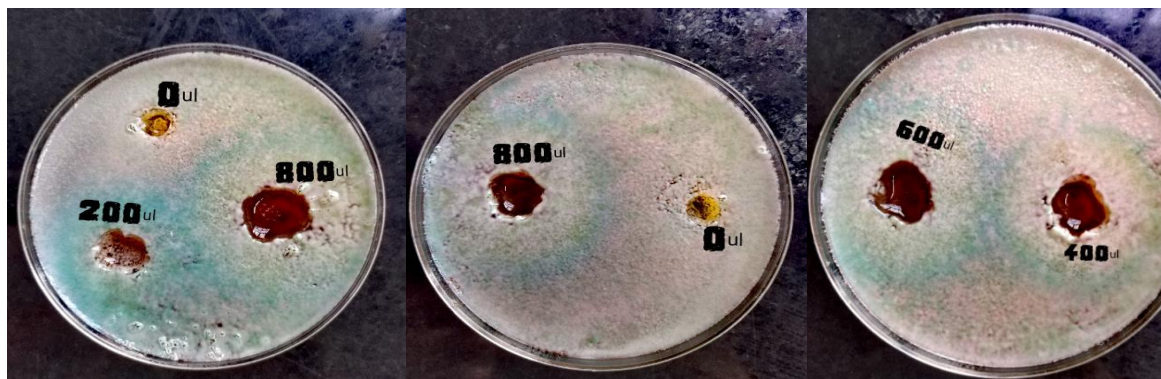
ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره پست‌بیوتیک علیه پنی سیلیوم نوتاتو برای ارزیابی این هدف به روش انتشار در چاهک، آزمایش روی پلیت‌های حاوی محیط SDA انجام گرفت. همان‌طور که در شکل ۵، مشاهده می‌شود، چاهک‌های حفر شده با



شکل ۵- اثرهای ضد میکروبی عصاره پست‌بیوتیک در غلظت‌های متفاوت علیه پنی سیلیوم نوتاتوم به روش چاهک‌گذاری  
**Fig. 5- Antimicrobial effects of postbiotic extract in different concentrations against *Penicillium notatum* by Well Diffusion Agar method**

می‌شود، چاهک‌های حفر شده با فاصله سه میلی متری قرار داده شده‌اند. عصاره پست‌بیوتیک در غلظت‌های ۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و صفر میکرولیتر بر میلی لیتر در درون چاهک‌ها ریخته شد، پس از گذشت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، هاله عدم رشد تشکیل نشد.

ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره پست‌بیوتیک علیه کاندیدا آلبیکانس برای ارزیابی این هدف به روش انتشار در چاهک، آزمایش روی پلیت‌های حاوی محیط Chromagar candida اجرا شد. همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده



شکل ۶- اثرهای ضد میکروبی عصاره پست‌بیوتیک در غلظت‌های متفاوت علیه کاندیدا آلبیکانس به روش چاهک‌گذاری  
**Fig. 6- Antimicrobial effects of postbiotic extract in different concentrations against *Candida albicans* by Well Diffusion Agar method**



مورد توجه‌اند (He *et al.*, 2019). با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، اثر بازدارندگی در رشد/اشریشیا کلی به وضوح تحت تأثیر غلظت‌های مختلف از عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک بوده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد هرچه غلظت عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک بیشتر باشد، قطر هاله عدم رشد بزرگ‌تر است. سودان و همکاران (Sudan *et al.*, 2021) غلظت‌های مختلفی از سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی را برای مهار رشد اشریشیا کلی جدا شده از مدفوع افراد مبتلا به عفونت‌های گوارشی گزارش کردند و نتایج حاکی از آن بود که حداقل غلظت بازدارنده از سوپرناتانت، دیواره سلولی و عصاره سیتوپلاسمی لاکتوباسیلوس کازئی اثر ضد میکروبی قابل توجهی بر اشریشیا کلی دارد که با نتایج به دست آمده از این پژوهش همسوست. در پژوهش‌های المختار و همکاران (El-Mokhtar *et al.*, 2020) با بررسی و اندازه‌گیری اثرهای ترکیبات زیست فعال حاصل از متابولیت‌های لاکتوباسیلوس کازئی در غلظت‌های مختلف بر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از جمله اشریشیا کلی به روش دیسک دیفیوژن و چاهک‌گذاری مشخص شد که هاله‌های مهار رشد در روش چاهک آگار به مراتب بزرگ‌تر از هاله‌های به دست آمده در روش دیسک دیفیوژن آگار است. دلیل این امر نفوذ بهتر و در نتیجه تأثیرگذاری بیشتر روی میکروارگانیسم در روش چاهک آگار تشخیص داده شده است. نتایج به دست آمده از این پژوهش با نتایج پژوهش‌های محققان همخوانی دارد و با نتایج تحقیقات داتا و همکاران (Datta *et al.*, 2021) که اثرهای ضد میکروبی گونه‌های لاکتوباسیلوس را بر اشریشیا کلی بررسی کرده‌اند همسوست. با توجه به نتایج به دست آمده، ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک علیه اشریشیا کلی تأیید گردید.

طی چند دهه اخیر به ترکیبات زیست فعال مانند پروبیوتیک‌ها توجه زیادی شده است. این ترکیبات ارتباط نزدیکی با میکروبیوتای مفید روده و ارتقای وضعیت سلامتی میزبان دارند (Khalesi *et al.*, 2019). اثر ضد میکروبی سوپرناتانت حاصل از باکتری‌های پروبیوتیک را می‌توان به تولید اسید لاکتیک نسبت داد (Kazemi *et al.*, 2019). پست بیوتیک‌ها نیز بخش‌های فراسودمند پروبیوتیک‌های زنده هستند که قابلیت اعمال زیستی و فیزیولوژیکی سلول‌های زنده والد خود را دارند (Johnson *et al.*, 2019). پست بیوتیک‌ها معمولاً با مکانیسم‌های عمل مشابه یا متفاوت از سلول‌های والد خود، اثرهای سلامت بخش و درمانی خود را نشان می‌دهند (Dunand *et al.*, 2019). در زمینه فعالیت زیستی پست بیوتیک‌ها در تعدیل عملکرد سیستم ایمنی، وجود رابطه‌ای مستقیم و پیچیده بین جمعیت میکروبیوتای روده (پروبیوتیک‌ها)، کارکرد بهینه سیستم ایمنی و ایجاد شرایط هومئوستازیس در بسیاری از مطالعات بالینی بررسی شده است (Ebrahimi *et al.*, 2021). پست بیوتیک‌ها در مقایسه با پروبیوتیک‌ها نسبت به شرایط مراحل فرآوری، عوامل محیطی و شرایط دستگاه گوارشی حساسیت کمتری دارند که این مسئله به صرفه اقتصادی آنها می‌افزاید (Toushik *et al.*, 2022).

ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک علیه اشریشیا کلی

اشریشیا کلی یکی از شایع‌ترین عوامل ایجاد کننده عفونت است. این میکروارگانیسم باکتری بیماری‌زای مشترک بین انسان و حیوان و یکی از مهم‌ترین عوامل باکتریایی انتقالی از مواد غذایی است (DeFilipp *et al.*, 2019). از آنجا که این باکتری مقاوم به درمان آنتی‌بیوتیکی است، برای جلوگیری از رشد آن روش‌های ضد میکروبی غیر آنتی‌بیوتیکی مانند پروبیوتیک‌ها و پست بیوتیک‌ها بسیار

## ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک علیه استافیلوکوکوس اورئوس

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل اصلی عفونت‌ها از طریق غذا و طیف وسیعی از عفونت‌های بیمارستانی است. این باکتری به دلیل افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، مهار آن روز به روز مشکل‌تر می‌شود. به همین دلیل دانشمندان در تلاش هستند تا روش‌های درمانی جدید مانند استفاده از متابولیت‌های زیست فعال را برای عفونت‌های این بیماری‌زها بیابند (Turner et al., 2019). افزایش دانسته‌ها در مورد مکانیسم‌های درگیر در برهم‌کنش میان اسید لاکتیک باکتری‌ها و استافیلوکوکوس اورئوس، راهکاری جدید برای کنترل زیستی بدون استفاده از آنتی‌بیوتیک‌هاست (Gajdacs, 2019). با توجه به نتایج به دست آمده، اثر بازدارندگی در رشد استافیلوکوکوس اورئوس به وضوح تحت تأثیر غلظت‌های مختلفی از عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک است. اثر بازدارندگی رشد استافیلوکوکوس اورئوس توسط عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک حاصل از لاکتوباسیلوس کازئی را می‌توان به ترکیباتی مانند اسیدهای چرب، گلیکولپیدها، پورین‌ها، لیگوساکاریدها و اسفنگولپیدها نسبت داد. ناتاراج و مالاپا (Nataraj & Mallappa, 2021) نشان دادند که گلیکولپیدها و پورین‌ها از ترکیبات مشتق شده لاکتوباسیلوس کازئی هستند که می‌توانند رشد باکتری بیماری‌زا استافیلوکوکوس اورئوس را مهار کنند. نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر با نتیجه تحقیقات آن محققان همسوست. گزارش شده است غلظت‌های مورد استفاده از عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک حاصل از لاکتوباسیلوس کازئی اثر مهاری بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس دارند (Nataraj & Mallappa, 2021). لائوس و همکاران (Layus

et al., 2020) نشان دادند سوپرناتانت حاصل از لاکتوباسیلوس کازئی به روش انتشار در چاهک در غلظت ۲۰۰ μl/ml تأثیری مستقیم بر مهار رشد استافیلوکوکوس اورئوس دارد که مطالعه ما با نتایج به دست آمده از این پژوهش همسوست. با توجه به نتایج به دست آمده، ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک علیه استافیلوکوکوس اورئوس تأیید می‌شود.

## ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک علیه پنی سیلیوم نوتانوم

فساد قارچی یکی از مشکلات رایج مواد غذایی است که تخمین زده می‌شود سالانه ۱۰-۵ درصد از تولیدات مواد غذایی به دلیل آلودگی قارچی از بین می‌روند. علاوه بر پیامدهای مخرب اقتصادی، فساد قارچی غذا به عنوان یک نگرانی جدی در سلامت انسان محسوب می‌شود (Hassan et al., 2018). متابولیت‌های ثانویه قارچی در مواد غذایی مانند میکوتوکسین‌ها برای سلامتی انسان بسیار زیان‌آورند. حضور قارچ‌ها در مواد غذایی بستگی دارد به عوامل مختلفی از جمله فعالیت آبی، pH و در دسترس بودن مواد مغذی (Oyewole et al., 2019). حضور گونه پنی سیلیوم نوتانوم به عنوان مشکلی جدی و مکرر در صنعت لبنیات چشمگیر است. این جنس از کپک می‌تواند در فرآورده‌های لبنی به دلیل وجود شرایط هوازی رشد کند (Beikzadeh et al., 2021). در سال‌های اخیر، پپتیدهای ضد میکروبی مختلفی از گونه‌های لاکتوباسیلوس تولید و معرفی شده‌اند. با اینکه تولید پپتیدها و هیدرولیز شده‌های پروتئینی ضد باکتریایی در مطالعات متعددی بررسی شده‌اند اما هیدرولیز شده‌های دارای فعالیت ضد قارچی کمتر بررسی شده‌اند (Beikzadeh et al., 2021). طبق نتایج به

سیستمیک به صورت اولیه یا ثانویه در اثر عوامل مستعدکننده بیماری کاهش یابد (Kim & Kang, 2019). رویه معمول برای پیشگیری از این عفونت‌ها استفاده از داروهای مختلف گروه آزول مانند فلوکونازول و ایتراکونازول است. اما بررسی‌های مختلف، مقاومت گونه‌های کاندیدا را نسبت به داروهای ضد قارچی نشان می‌دهد. از این رو استفاده از مواد بیولوژیکی می‌تواند یکی از راه‌حل‌های مناسب برای جایگزینی داروهای ضد قارچی باشد (Sabbatini *et al.*, 2021). طبق نتایج به دست آمده در این مطالعه، اثر ضد میکروبی عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک حاصل از لاکتوباسیلوس کازئی در غلظت‌های تعیین شده علیه کاندیدا آلبیکانس هیچ‌گونه هاله عدم رشدی تشکیل و مشاهده نشد. این آزمایش سه بار تکرار گردید. کار و کار (Kaur & Kaur, 2019) حساسیت ۲۵۰ ایزوله کاندیدا آلبیکانس را در پنج هفته نسبت به عصاره استخراج شده لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلیوس بررسی کردند و گزارش دادند ۹۶ درصد مهار می‌شوند. نتایج تحقیق ما با نتایج به دست آمده از این مطالعه یادشده همسو نیست. در برخی مطالعات، نتایج مثبت احتمالاً مربوط به تفاوت در زمان گرمخانه‌گذاری و نوع متابولیت‌های تولیدی است که در تأثیرگذاری ترکیبات ضد قارچی تولید شده از طریق گونه‌های دیگر لاکتوباسیل‌ها بوده است. برابر گزارش ویراواتی و همکاران (Wirawati *et al.*, 2020)، اثر ضد میکروبی عصاره‌های فرار مچه به دست آمده از طریق تقطیر آبی و تقطیر با کمک کلروفرم بر تعدادی از مخمر کاندیدا آلبیکانس مؤثر بوده‌اند. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره در محدوده ۴ تا ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمده است (Wirawati *et al.*, 2020). نتایج تحقیق ما با نتایج به دست آمده از این مطالعات این محققان همسو نیست. با

دست آمده در این مطالعه، اثر ضد میکروبی عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک حاصل از لاکتوباسیلوس کازئی در غلظت‌های تعیین شده علیه پنی‌سیلیوم‌نوتاتوم هیچ‌گونه هاله عدم رشدی تشکیل و مشاهده نشد. چن و همکاران (Chen *et al.*, 2021) نشان دادند عصاره متابولیت‌های حاصل از لاکتوباسیلوس پلانتاروم به روش دیسک‌دیفیوژن و چاهک‌گذاری بر برخی بیماری‌ها مانند پنی‌سیلیوم‌نوتاتوم باعث تشکیل هاله عدم رشد در غلظت‌های متفاوت می‌شود. نتایج تحقیق این محققان با نتایج به دست آمده از این مطالعه همسو نیست. این آزمایش سه بار تکرار گردید. در گزارش ابولویفا و همکاران (Abouloifa *et al.*, 2021) از مجموع ۹۰ جدایه لاکتیک اسید باکتری، اسیدهای لاکتیک، اسید استیک، فنیل لاکتیک، روترین و اسیدهای چرب به عنوان عامل اصلی مهارکننده رشد قارچ‌ها شناسایی شدند. اما با توجه به نتایج به دست آمده، ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک علیه پنی‌سیلیوم‌نوتاتوم تأیید نمی‌شود.

#### ارزیابی خاصیت ضد میکروبی عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک علیه کاندیدا آلبیکانس

کاندیدیازیس از شایع‌ترین بیماری‌های قارچی است که در سال‌های اخیر گسترش چشمگیری داشته است. عامل بیماری، قارچی فرصت‌طلب از جنس کاندیدا است. که به صورت همزیست در دستگاه گوارش، مخاط و سطح پوست وجود دارد (Matsuda *et al.*, 2018). مهم‌ترین گونه‌هایی که موجب بیماری می‌شود، کاندیدا آلبیکانس نام دارد. کاندیدا آلبیکانس در شرایطی قادر به ایجاد بیماری در هر ناحیه از بدن خواهند بود که مقاومت میزبان به صورت موضعی یا

پست‌بیوتیک‌ها واجد اثرهای ضد میکروبی شناخته شده‌ای هستند که می‌توانند برای کنترل و جلوگیری از رشد باکتری‌های بیماری‌زا و عامل فساد منتقل شده از مواد غذایی به جای نگهدارنده‌های شیمیایی و سنتتیک به کار روند. استخراج و استفاده از پست‌بیوتیک، چه در محیط آزمایشگاهی و چه در صنعت غذا، باعث جلوگیری از رشد میکروبهای بیماری‌زا و افزایش ماندگاری و تأخیر در فساد محصولات غذایی می‌شود. اما، مطالعات بیشتری برای تعیین اثر فاکتورهای مختلف به‌منظور حصول اثر ضد میکروبی پست‌بیوتیک‌ها بر ضد قارچ مورد نیاز است.

توجه به نتایج به دست آمده، ارزیابی ویژگی ضد میکروبی عصاره (سوپرناتانت) پست بیوتیک علیه کاندیدا/آلبیکانس تأیید نمی‌شود.

### نتایج و بحث

در بسیاری از مطالعات بالینی، فعالیت بیولوژیکی پست‌بیوتیک‌ها در تعدیل عملکرد سیستم ایمنی، وجود رابطه مستقیم بین جمعیت میکروبیوتای روده (پروبیوتیک‌ها)، عملکرد بهینه سیستم ایمنی و ایجاد هموستاز مشخص شده است. این مطالعه حیطه‌ای جدید از تحقیقات را در زمینه ترکیبات زیستی مشتق شده از پروبیوتیک‌ها گشوده است.

### سپاسگزاری

این مقاله منتج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته بهداشت و ایمنی مواد غذایی با کد اخلاق ( IR.TBZMED.VCR. REC.1398.393) است، بدین‌وسیله از دانشگاه علوم پزشکی تبریز به دلیل تأمین هزینه‌های این طرح پایان‌نامه سپاسگزاری می‌شود.

### تعارض منافع

نویسندگان در خصوص انتشار مقاله ارائه شده به طور کامل از سوء اخلاق نشر، از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پرهیز نموده‌اند و منافی تجاری در این راستا وجود ندارد

### مراجع

- Abdelazez, A., H. Abdelmotaal, S. E. Evvie, M. Bikheet, R. Sami, H. Mohamed and X. Meng. 2022. Verification of *Lactobacillus brevis* tolerance to simulated gastric juice and the potential effects of postbiotic gamma-aminobutyric acid in streptozotocin-induced diabetic mice. *Food Science and Human Wellness*. 11(1): 165-176.
- Abouloifa, H., S. Gaamouche, Y. Rokni, I. Hasnaoui, R. Bellaouchi, N. Ghabbour, S. Karboune, M. Brasca, G. D'Hallewin and R. B. Salah. 2021. Antifungal activity of probiotic *Lactobacillus* strains isolated from natural fermented green olives and their application as food bio-preservative. *Biological Control*. 152, 104450.
- Balaguer, F., M. Enrique, S. Llopis, M. Barrena, V. Navarro, B. Álvarez, E. Chenoll, D. Ramon, M. Tortajada and P. Martorell. 2022. Lipoteichoic acid from *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BPL1: a novel postbiotic that reduces fat deposition via IGF-1 pathway. *Microbial biotechnology*. 15(3): 805-816.
- Barros, C. P., J. T. Guimaraes, E. A. Esmerino, M. C. K. Duarte, M. C. Silva, R. Silva, B. M. Ferreira, A. S. Sant'Ana, M. Q. Freitas and A. G. Cruz. 2020. Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products. *Current Opinion in Food Science*. 32, 1-8.

- Beikzadeh, S., S. M. Hosseini, V. Mofid, S. Ramezani, M. Ghorbani, A. Ehsani and A. M. Mortazavian. 2021. Electrospun ethyl cellulose/poly caprolactone/gelatin nanofibers: The investigation of mechanical, antioxidant, and antifungal properties for food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*. 191, 457-464.
- Binda, S., C. Hill, E. Johansen, D. Obis, B. Pot, M. E. Sanders, A. Tremblay and A. C. Ouwehand. 2020. Criteria to qualify microorganisms as “probiotic” in foods and dietary supplements. *Frontiers in Microbiology*. 1662.
- Butera, A., S. Gallo, M. Pascadopoli, D. Taccardi and A. Scribante. 2022. Home oral care of periodontal patients using antimicrobial gel with postbiotics, lactoferrin, and aloe barbadensis leaf juice powder vs. conventional chlorhexidine gel: A split-mouth randomized clinical trial. *Antibiotics*. 11(1): 118.
- Chen, H., H. Ju, Y. Wang, G. Du, X. Yan, Y. Cui, Y. Yuan and T. Yue. 2021. Antifungal activity and mode of action of lactic acid bacteria isolated from kefir against *Penicillium expansum*. *Food Control*. 130, 108274.
- Cuevas-González, P., A. Liceaga and J. Aguilar-Toalá. 2020. Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. *Food research international*. 136, 109502.
- Datta, P., L. Fu, P. Brodfuerer, J. S. Dordick and R. J. Linhardt. 2021. High density fermentation of probiotic *E. coli* Nissle 1917 towards heparosan production, characterization, and modification. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 105(3): 1051-1062.
- DeFilipp, Z., P. P. Bloom, M. Torres Soto, M. K. Mansour, M. R. Sater, M. H. Huntley, S. Turbett, R. T. Chung, Y.-B. Chen and E. L. Hohmann. 2019. Drug-resistant *E. coli* bacteremia transmitted by fecal microbiota transplant. *New England Journal of Medicine*. 381(21): 2043-2050.
- Dunand, E., P. Burns, A. Binetti, C. Bergamini, G. H. Peralta, L. Forzani, J. Reinheimer and G. Vinderola. 2019. Postbiotics produced at laboratory and industrial level as potential functional food ingredients with the capacity to protect mice against *Salmonella* infection. *Journal of applied microbiology*. 127(1): 219-229.
- Ebrahimi, M., A. Sadeghi, D. Rahimi, H. Purabdollah and S. Shahryari. 2021. Postbiotic and anti-aflatoxigenic capabilities of *Lactobacillus kunkeei* as the potential probiotic LAB isolated from the natural honey. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 13(2): 343-355.
- El-Mokhtar, M. A., K. M. Hassanein, A. S. Ahmed, G. F. Gad, M. M. Amin and O. F. Hassanein. 2020. Antagonistic activities of cell-free supernatants of lactobacilli against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and Drug Resistance*. 13: 543.
- Gajdács, M. 2019. The continuing threat of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics*. 8(2): 52.
- Gharibzahedi, S. M. T. and B. Smith. 2021. Legume proteins are smart carriers to encapsulate hydrophilic and hydrophobic bioactive compounds and probiotic bacteria: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 20(2): 1250-1279.
- Hassan, B. A., M. A. Jebor and Z. M. Ali. 2018. Purification and Characterization of the Glucose Oxidase from *Penicillium notatum*. *International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance*. 9(1): 55-63.
- He, L., H. Yang, J. Tang, Z. Liu, Y. Chen, B. Lu, H. He, S. Tang, Y. Sun and F. Liu. 2019. Intestinal probiotics *E. coli* Nissle 1917 as a targeted vehicle for delivery of p53 and Tum-5 to solid tumors for cancer therapy. *Journal of biological engineering*. 13(1): 1-13.
- Husby, S., S. Koletzko, I. Korponay-Szabó, K. Kurppa, M. L. Mearin, C. Ribes-Koninckx, R. Shamir, R. Troncone, R. Auricchio and G. Castillejo. 2020. European Society Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition guidelines for diagnosing coeliac disease 2020. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 70(1): 141-156.
- Johnson, C. N., M. H. Kogut, K. Genovese, H. He, S. Kazemi and R. J. Arsenault. 2019. Administration of a postbiotic causes immunomodulatory responses in broiler gut and reduces disease pathogenesis following challenge. *Microorganisms*. 7(8): 268.



- Kaur, S. and R. Kaur. 2019. Biosurfactant from *Lactobacillus* sp. as an antibiofilm agent. *BioTechnologia. Journal of Biotechnology Computational Biology and Bionanotechnology*.100(3).
- Kazemi, A., A. A. Noorbala, K. Azam, M. H. Eskandari and K. Djafarian. 2019. Effect of probiotic and prebiotic vs placebo on psychological outcomes in patients with major depressive disorder: A randomized clinical trial. *Clinical Nutrition*. 38(2): 522-528.
- Khalesi, S., N. Bellissimo, C. Vandelanotte, S. Williams, D. Stanley and C. Irwin. 2019. A review of probiotic supplementation in healthy adults: helpful or hype? *European journal of clinical nutrition*. 73(1): 24-37.
- Kim, H. and S.-S. Kang. 2019. Antifungal activities against *Candida albicans*, of cell-free supernatants obtained from probiotic *Pediococcus acidilactici* HW01. *Archives of oral biology*. 99: 113-119.
- Kostelac, D., M. Gerić, G. Gajski, K. Markov, A. M. Domijan, I. Čanak, Ž. Jakopović, I. K. Svetec, B. Žunar and J. Frece. 2021. Lactic acid bacteria isolated from equid milk and their extracellular metabolites show great probiotic properties and anti-inflammatory potential. *International Dairy Journal*. 112: 104828.
- Layus, B. I., C. L. Gerez and A. V. Rodriguez. 2020. Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* CRL 759 against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Arabian Journal for Science and Engineering*. 45(6): 4503-4510.
- Leo, A., C. De Caro, P. Mainardi, M. Tallarico, V. Nesci, N. Marascio, P. Striano, E. Russo, A. Constanti and G. De Sarro. 2021. Increased efficacy of combining prebiotic and postbiotic in mouse models relevant to autism and depression. *Neuropharmacology* 198: 108782. Culture supernatants of *Lactobacillus gasseri* and *L. crispatus* inhibit *Candida albicans* biofilm formation and adhesion to HeLa cells. *Mycopathologia*. 183(4): 691-700.
- Morales-Ferré, C., I. Azagra-Boronat, M. Massot-Cladera, S. Tims, K. Knipping, J. Garssen, J. Knol, À. Franch, M. Castell and M. J. Rodríguez-Lagunas. 2021. Effects of a postbiotic and prebiotic mixture on suckling rats' microbiota and immunity. *Nutrients*. 13(9): 2975.
- Nataraj, B. H., S. A. Ali, P. V. Behare and H. Yadav. 2020. Postbiotics-parabiotics: The new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microbial cell factories*. 19(1): 1-22.
- Nataraj, B. H. and R. H. Mallappa. 2021. Antibiotic resistance crisis: an update on antagonistic interactions between probiotics and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Current Microbiology*. 78(6): 2194-2211.
- Osman, A., N. El-Gazzar, T. N. Almanaa, A. El-Hadary and M. Sitohy. 2021. Lipolytic postbiotic from *Lactobacillus paracasei* manages metabolic syndrome in albino wistar rats. *Molecules*. 26(2): 472.
- Oyewole, O. A., S. S. L.-T. Zobeashia, E. O. Oladoja, R. O. Raji, E. E. Odiniya and A. M. Musa. 2019. Biosorption of heavy metal polluted soil using bacteria and fungi isolated from soil. *SN Applied Sciences*. 1(8): 1-8.
- Purton, T., L. Staskova, M. M. Lane, S. L. Dawson, M. West, J. Firth, G. Clarke, J. F. Cryan, M. Berk and A. O'Neil. 2021. Prebiotic and probiotic supplementation and the tryptophan-kynurenine pathway: A systematic review and meta analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 123: 1-13.
- Rad, A. H., S. Hosseini and H. Pourjafar. 2022. Postbiotics as dynamic biological molecules for antimicrobial activity: A mini-review. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 12(5): 6543-6556.
- Sabbatini, S., S. Visconti, M. Gentili, E. Lusenti, E. Nunzi, S. Ronchetti, S. Perito, R. Gaziano and C. Monari. 2021. *Lactobacillus iners* Cell-Free Supernatant Enhances Biofilm Formation and Hyphal/Pseudohyphal Growth by *Candida albicans* Vaginal Isolates. *Microorganisms*. 9(12): 2577.
- Samira, H., H.-R. Aziz, K. Hossein Samadi and D. Nazli. 2022. Evaluating the antimicrobial effect of postbiotic extract from *Lactobacillus casei* on *Escherichia coli* in commercial sterilized milk. *Journal of Food Safety and Hygiene*. 8(1).
- Sudan, S., R. Flick, L. Nong and J. Li. 2021. Potential Probiotic *Bacillus subtilis* Isolated from a Novel Niche Exhibits Broad Range Antibacterial Activity and Causes Virulence and Metabolic Dysregulation in Enterotoxic *E. coli*. *Microorganisms*. 9(7): 1483.

- Toushik, S. H., J.-H. Park, K. Kim, M. Ashrafudoulla, M. S. I. Ulrich, M. F. R. Mizan, P. K. Roy, W.-B. Shim, Y.-M. Kim and S. H. Park. 2022. Antibiofilm efficacy of *Leuconostoc mesenteroides* J. 27-derived postbiotic and food-grade essential oils against *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli* alone and in combination, and their application as a green preservative in the seafood industry. *Food Research International*. 156: 111163.
- Turner, N. A., B. K. Sharma-Kuinkel, S. A. Maskarinec, E. M. Eichenberger, P. P. Shah, M. Carugati, T. L. Holland and V. G. Fowler. 2019. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nature Reviews Microbiology*. 17(4): 203-218.
- Warda, A. K., A. G. Clooney, F. Ryan, P. H. de Almeida Bettio, G. Di Benedetto, R. P. Ross and C. Hill. 2021. A postbiotic consisting of heat-treated lactobacilli has a bifidogenic effect in pure culture and in human fermented fecal communities. *Applied and environmental microbiology*. 87(8): e02459-02420.
- Wirawati, C. U., D. E. Nirmagustina and Y. R. Widodo. 2020. ANTIHYPERTENSIVE PEPTIDES PRODUCED BY INDIGENOUS LACTIC ACID BACTERIA FROM DADIH ORIGIN. *Pakistan Journal of Biotechnology*. 17(2): 85-91.
- Zendeboodi, F., N. Khorshidian, A. M. Mortazavian and A. G. da Cruz. 2020. Probiotic: conceptualization from a new approach. *Current Opinion in Food Science*. 32: 103-123.
- Żółkiewicz, J., A. Marzec, M. Ruszczyński and W. Feleszko. 2020. Postbiotics—a step beyond pre-and probiotics. *Nutrients*. 12(8): 2189.

Original Research

## Evaluating the Antimicrobial Effect of Postbiotic Extract From *Lactobacillus Casei* on *E.coli*, *S.aureus*, *P.nutatum*, and *C.albicans* by Using the Well Diffusion Agar Method

Samira Hosseini\* and Aziz Homayouni-Rad

\*Corresponding author: M.se Food Hygiene and Safety, Faculty of Nutrition and Food Sciences, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran

Email: Samira.hosseini575@gmail.com.

Received:12 January 2022 Accepted: 14 December 2022

[http://doi: 10.22092/FOODER.2023.357471.1326](http://doi:10.22092/FOODER.2023.357471.1326)

### Abstract

Humans are always looking for a way to preserve food from chemical, microbial, and food pathogen spoilage. The use of probiotics is facing challenges today. To get out of this impasse, probiotics can be converted into postbiotics and used in the treatment of various diseases. postbiotics provide a significant source of energy for colon epithelial cells and play a role in their growth and differentiation. To evaluate the antimicrobial effect, the postbiotic and was evaluated against the pathogens *Escherichia. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Penicillium notatum*, and *Candida albicans* by Well Diffusion Agar method in measuring the diameter of the halo of non-growth. Skewness and kurtosis indices were used to check the normality of the data. In evaluating the antimicrobial effect of the postbiotic extract by diffusion method in the well and measuring, the largest diameter was formed in the concentration of 800 µl/ml in *E. coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. in *Penicillium notatum* and *Candida albicans*, a non-growth halo was observed after three repetitions. According to the results obtained from the present research, it can be concluded that *Lactobacillus casei* is one of the bacteria, whose postbiotics can have an inhibitory effect against pathogenic bacteria such as *E. coli* and *Staphylococcus aureus*. The results obtained in the measurements of the diameter of the non-growth halo of the evaluated pathogens showed a difference in the effect of the postbiotic extract.

**Keywords:** *Lactobacillus casei*, probiotics, postbiotics, pathogenic pathogens, Well Diffusion Agar method