Iranian Journal of Biological Sciences.2023; 18(4):43-56

Orginal Article

Iranian Journal of Biological Sciences

https://zisti.iauvaramin.ac.ir

# Antimicrobial activity of bacteriocin of lactic acid bacteria against beta-lactamase producing bacteria and evaluation of synergistic effect by some antibiotics

Reyhaneh shirkavand[1], Fatemeh Noorbakhsh[2*], Sahar Honarmand Jahromi[2]

1. MSc Student, Department of Microbiology, Biological Science College, Varamin-pishva branch, Islamic Azad University, Pishva, Iran
2. Associate professor, Department of Microbiology, Biological Science College, Varamin-pishva branch, Islamic Azad University, Pishva, Iran

Place of Research: Department of Microbiology, Varamin-pishva branch, Islamic Azad University, Pishva, Iran

Article Info

**Article History:**

Recived 06.18.2024
Revised 07.09.2024
Accepted 07.29.2024
Online 12.30.2024

**Keywords:**
Antimicrobial activity
bacteriocin
lactic acid bacteria
beta-lactamase
antibiotic

***Corresponding author:**
E-mail address,
niloofar_noorbakhsh@yahoo.com

Abstract

**Introduction:** The purpose of this study was to investigate the antimicrobial activity of bacteriocins produced by lactic acid bacteria against beta-lactamase-producing bacteria and to evaluate its synergism effect with some antibiotics.

**Materials and Methods:** In this study, bacteriocin was isolated from Lactobacillus acidophilus strains, and then the effect of produced bacteriocin against 3 pathogenic bacterial strains, Escherichia coli, Acinetobacter baumannii, and Pseudomonas aeruginosa was investigated by serial dilution method. The effectiveness of bacteriocin extract alone and in combination with commercial antibiotics against clinical pathogens was determined using the disk diffusion method in three replicates.

**Results:** The results showed that all *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* strains were beta-lactamase positive. This study showed a statistically significant difference in bacteriocin-antibiotic synergism activity for ceftazidime, levofloxacin, and piperacillin in *Pseudomonas aeruginosa* strains and in *Acinetobacter baumannii* strains for tetracycline, gentamicin, and ceftazidime. A synergistic effect was also observed in *Escherichia coli* with the antibiotics kanamycin and ciprofloxacin

**Conclusion:** Lactobacillus acidophilus bacteriocin along with some antibiotics showed synergism effect in beta-lactamase producing strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Escherichia coli*

**Cite this article:** Shirkavand, P., Noorbakhsh, F., Honarmand Jahromi, S. Antimicrobial activity of bacteriocin of lactic acid bacteria against beta-lactamase producing bacteria and evaluation of synergistic effect by some antibiotics. Iranian Journal of Biological Sciences. 2023; 18(4):43-56
Publisher: Islamic Azad University of Varamin – Pishva branch Print ISSN: 1735-4226 Online ISSN: 1727-459X This is an open access article under the: https://creativecommons.org/license/by-nc/4.0/

دانش زیستی ایران . سال۱۴۰۲. دوره ۱۸ . شماره ٤

مقاله تحقیقی

دانش زیستی ایران

https://zisti.iauvaramin.ac.ir

# فعالیت ضدمیکروبی باکتریوسین‌های تولید شده توسط باکتری‌های لاکتیک اسید علیه باکتری‌های تولید کننده بتالاکتاماز و ارزیابی اثر سینرژیسم آن با بعضی آنتی‌بیوتیک‌ها

ریحانه شیرکوند[۱]، فاطمه نوربخش[۲*]، سحر هنرمند جهرمی[۲]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۲. دانشیار،گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

محل انجام تحقیق: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، ایران

تاریخچه مقاله

ارسال ۱٤۰۳/۳/۲۹

بازنگری ۱٤۰۳/٤/۱۹

پذیرش ۱٤۰۳/۵/۸

نمایه ۱٤۰۳/۱۰/۱۰

کلامت کلیدی

فعالیت ضدمیکروبی

باکتریوسین

باکتری‌های لاکتیک

بتالاکتاماز

آنتی‌بیوتیک

* نویسنده مسؤل

niloofar_noorbakhsh@yahoo.com

**مقدمه:** هدف از مطالعه حاضر بررسی فعالیت ضدمیکروبی باکتریوسین‌های تولید شده توسط باکتری-های لاکتیک علیه باکتری‌های تولید کننده بتالاکتاماز و ارزیابی اثر سینرژیسم آن با آنتی‌بیوتیک‌ها بود.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه از سویه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، باکتریوسین جداسازی شد و سپس اثر باکتریوسین تولیدی علیه باکتری های بیماریزای اشریشیا کلی، اسینتوباکتر بومانی و سودوموناس آئروژینوزا به روش رقت های متوالی بررسی شد. اثربخشی باکتریوسین به تنهایی و در ترکیب با آنتی بیوتیک‌های تجاری بر روی این ۳ گروه باکتری بیماریزا با استفاده از روش انتشار دیسک در سه تکرار تعیین شد.

**نتایج:** نتایج نشان داد تمامی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا و سویه‌های اسینتوباکتر بومانی نیمی از سویه های اشریشیا کلی جداشده از ادرار در این مطالعه، بتالاکتاماز مثبت بودند. سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا فعالیت سینرژیسمی باکتریوسین- آنتی بیوتیک برای سفتازیدیم، لووفلوکساسین، پیپراسیلین و سویه‌های اسینتوباکتر بومانی برای تتراسایکلین، جنتامایسین، سفتازیدیم نشان دادند. همچنین در اشریشیا کلی اثر سینرژیک در مورد آنتی بیوتیک های کانامایسین و سیپروفلوکساسین مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** باکتریوسین لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به همراه برخی از آنتی بیوتیک اثر سینرژیسم در سویه های تولید کننده بتالاکتاماز سودوموناس آئروژینوزا، اسینتوباکتر بومانی و اشریشیا کلی نشان دادند.

شیوه آدرس دهی این مقاله : شیرکوند، ر.، نوربخش، ف.، هنرمند جهرمی، س. فعالیت ضدمیکروبی باکتریوسین‌های تولید شده توسط باکتری‌های لاکتیک اسید علیه باکتری‌های تولید کننده بتالاکتاماز و ارزیابی اثر سینرژیسم آن با بعضی آنتی‌بیوتیک‌ها. مجله دانش زیستی ایران. ۱٤۰۲؛۱۸ (۴): ۴۳-۵۶

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا شاپا چاپی: ۱۷۳۵-٤۲۲٦ شاپا الکترونیکی: X ٤۵۹ - ۲۷۱۷

نویسندگان: حق مؤلف©

## مقدمه

آنتی بیوتیک‌ها نقش مهمی در درمان بیماری‌های عفونی دارند، اما استفاده بیش از حد آنها منجر به شیوع و گستردگی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جهان شده است. این مساله امروزه به عنوان یکی از مهمترین چالش‌های بهداشتی و درمانی مطرح شده است. امروزه ایجاد مقاومت‌های دارویی در باکتری‌های بیماریزا نسبت به بسیاری از آنتی بیوتیک‌ها، نقشی مهم و اساسی در عدم کنترل و درمان عفونت‌های باکتریایی دارند و به عنوان یک نگرانی عمده در جوامع بشری مطرح می‌باشند (۱). آنتی بیوتیک های بتالاکتام آنتی بیوتیک هایی هستند که دارای یک حلقه بتالاکتام در ساختار شیمیایی خود هستند. بیشتر آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام با مهار بیوسنتز دیواره سلولی در ارگانیسم باکتریایی کار می کنند و پرمصرف ترین گروه آنتی بیوتیک ها هستند (۳ , ۲). بتالاکتامازها آنزیم‌های باکتریایی هستند که آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام نظیر پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها را با هیدرولیز کردن حلقه بتالاکتام غیر فعال می‌کنند. یکی از مشکل‌سازترین مکانیسم‌های مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها در رابطه با تولید بتالاکتامازها می‌باشد. تاکنون بیش از ۴۰۰ نوع مختلف بتالاکتاماز در نمونه‌های بالینی تعریف شده‌اند و به علت مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک‌ها بطور مداوم جهش می‌یابند که منجر به گسترش و توسعه بتالاکتامازهای وسیع الطیف می‌شوند (۴).

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که با قرار گرفتن در محیط روده تعادل میکروبی را در جهت افزایش سودمندی آنها اصلاح کرده و با فعالیت خود مانع از فعالیت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌شوند. اکثر پروبیوتیک‌ها در استفاده روزمره شامل گونه‌های اسید لاکتیک (LAB) از جمله لاکتوباسیل، انتروکوک، بیفیدوباکترها، *E.coli* های غیر بیماری‌زا و مخمرهای ساکارومایسز بولاردی می‌باشند. از میان میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، باکتری‌های اسید لاکتیک به عنوان مهم‌ترین گروه شناخته شده هستند که در این میان دو جنس لاکتوباسیلوس و انتروکوکوس جزو فلور طبیعی دستگاه گوارش و غذاهای تخمیری بوده و گزینه‌های خوبی به عنوان پروبیوتیک محسوب می‌شوند(۵). از جمله اثرات مفید پروبیوتیک‌ها می‌توان به تحریک سیستم ایمنی، تعدیل هموستازی ایمنی سیستمیک، خاصیت ضد توموری، اصلاح عدم تحمل لاکتوز، بهبود هضم و حرکت غذا در روده، پیشگیری از آلرژی غذایی، باز گرداندن تعادل میکروبی روده (میکروفلور روده) بعد از مصرف آنتی بیوتیک‌ها و مهار پاتوژن‌های روده اشاره کرد (۶). باکتری‌های اسید لاکتیک می‌توانند به عنوان میکروارگانیسم‌های صنعتی برای استفاده در سنتز بهتر مواد شیمیایی، دارویی و سایر محصولات مفید انسانی با موفقیت به کار گرفته شوند، چرا که آنها مزیت‌های زیادی در تخمیر صنعتی دارند (۷).

باکتریوسین‌ها به پپتیدها، پروتئین‌ها یا کمپلکس پروتئینی ضد میکروبی اطلاق می‌گردد که علیه باکتری‌های نزدیک از نظر خویشاوندی، با هدف باکتری‌کشی و یا توقف رشد تولید می‌شوند. این پپتیدها جذب گیرنده‌های ویژه‌ی سطحی سلول‌های حساس به باکتریوسین شده و اهداف خود را با نفوذپذیرکردن غشا و تخریب اسیدهای نوکلئیک آنها از بین می‌برند(۸). تولید باکتریوسین‌ها معیار مهمی در انتخاب سویه‌های باکتری‌های پروبیوتیک در نظر گرفته شده و یکی از صفات پروبیوتیک‌ها محسوب می‌شود. تحقیقات نشان داده تولید باکتریوسین توسط باکتری‌های پروبیوتیک برتوانایی رقابت پروبیوتیک‌ها با باکتری‌های روده و در نهایت بر سلامتی میزبان خود تأثیر مثبتی داشته است(۹). مکانیسم‌های اثر متفاوت و متعددی برای باکتریوسین‌ها گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به ایجاد تغییر در فعالیت آنزیمی، مهار جوانه‌زنی اسپور و غیرفعال کردن حامل‌های آنیونی از طریق ایجاد منافذ اختصاصی و غیراختصاصی در غشا، اشاره کرد(۱۰). آنتی بیوتیک‌ها

مواد شیمیایی (اعم از پپتیدی یا غیر پپتیدی) هستند، که در بدن موجودات زنده مختلف از جمله حیوانات، میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و قارچ‌ها تولید می‌شوند، اثر ترجیحی به سویه‌های نزدیک مرتبط از خود نشان نمی‌دهند و طیف فعالیت گسترده‌تری دارند. علاوه بر این باکتریوسین‌ها به صورت ریبوزومی وطی فاز اولیه رشدی سنتز می‌شوند. اما آنتی بیوتیک‌ها معمولاً متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که توسط کمپلکس‌های آنزیمی چندگانه و بزرگ طی انواع فرایندهای سلولی ساخته می‌شوند. باکتریوسین‌ها بر روی سلول‌های یوکاریوتی بی‌اثر می‌باشند ولی آنتی بیوتیک‌ها اثرات گسترده و متفاوتی حتی بر روی یوکاریوت‌ها دارند(۱۱). بنابراین هدف از بررسی حاضر بررسی فعالیت ضدمیکروبی باکتریوسین‌های تولید شده توسط باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس علیه باکتری‌های تولید کننده بتالاکتاماز و ارزیابی اثر سینرژیسم آن با بعضی آنتی‌بیوتیک‌ها می باشد.

## مواد و روش‌ها

**جمع آوری نمونه**

در این مطالعه ۳ نوع باکتری بیماری زا *اشریشیاکلی*، *اسینتوباکتر بومانی* و *سودوموناس آئروژینوزا* از نمونه‌های ادرار ۸۵ بیمار مراجعه کننده به بیمارستان میلاد تهران مورد بررسی قرار گرفت.

**جداسازی باکتری های پاتوژن**

جهت تایید وجود باکتری های بیماری زا در نمونه های عفونت ادراری از محیط کشت بلاد آگار (Merck, Germany) و ائوزین متیلن بلو (Merck, Germany) استفاده شد. از کلونی ها رنگ آمیزی گرم انجام شد. باسیل‌های گرم منفی انتخاب و سپس تست های افتراقی *باکتری های گرم منفی* انجام شد. در محیط کشت های افتراقی(Merck, Germany) شامل (اندول، مک کانکی، ائوزین متیل بلو، سیمون سیترات، اوره آز، MR-VP، SIM، TSI، تخمیر قند، اسکولین براث و تست های کاتالاز و اکسیداز استفاده شد.

**تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی در باکتری ها**

جهت انجام آنتی بیوگرام یا تست حساسیت میکروبی از روش دیسک دیفیوژن یا انتشار دیسک استفاده شد. نوع محیط کشت در اندازه هاله، عدم رشد و میزان نفوذ آنتی بیوتیک تاثیر بسزایی دارد. محیط مولر هینتون آگار به عنوان محیط انتخابی برای این آزمایش به کار رفت. تست تعیین حساسیت به روش دیسک دیفیوژن با آنتی بیوتیک‌های تتراسایکلین (۳۰µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، نیتروفورانتوئین (۳۰۰µg)، آمیکاسین (µ۳۰g)، مروپنم (µ۱۰g)، لووفلوکساسین (µ۵g)، سفتازیدیم (µ۳۰g) و کوتریموکسازول (۷۵/۲۳g -µ۲۵/۱) (شرکت پادتن طب) بر روی نمونه های جدا شده طبق استاندارد CLSI 2002 انجام گردید. از سویه *اشریشیاکلی* استاندارد (ATCC 25922) به عنوان کنترل استفاده شد.

**کشت باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و جداسازی باکتریوسین**

سویه‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس از انیستیتوپاستور ایران خریداری شد. ۲ میلی لیتر از سوسپانسیون لاکتوباسیلوس در ۵۰ میلی لیتر de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) broth کشت داده شد و در شرایط بی هوازی در دمای۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۴ ساعت انکوبه شد. سپس ۱۰۰ میلی لیتر MRS broth و ۱ درصد از کشت لاکتوباسیلوس در شرایط بی هوازی در دمای۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. پس از انکوباسیون، کشت لاکتوباسیل سانتریفیوژ شد. مایع رویی بدون سلول در اواپراتور خلاء چرخشی تغلیظ شد. سولفات آمونیوم در دمای ۴ درجه سانتی گراد با هم زدن تا ۷۰ درصد اشباع اضافه شد و سپس سانتریفیوژ انجام شد، رسوب جمع آوری و در

آب مقطر در لوله سانتریفیوژ معلق شد (۱۲).

**تعیین فعالیت باکتریوسینی با استفاده از تست MIC**

مطالعه MIC، به روش میکرودایولیشن براث انجام شد. به تمام چاهک های مورد نیاز میکروپلیت ۹۶ خانه ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولرهینتون براث اضافه شد. سپس غلظت های مختلفی از باکتریوسین (۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶۲۵، ۷/۸۱۲۵، ۳/۹۰، ۱/۹۵، ۰/۹۷، ۰/۴۸۸ و ۰/۲۴۴ میلی گرم بر میلی لیتر) در چاهک ها به روش سریال دایولیشن تهیه شد. در انتها به چاهک ها ۱۰ میکرولیتر سوسپانسون باکتری ایزوله شده با غلظت نیم مک فارلند اضافه شد. جهت صحت انجام آزمون از چاهک های کنترل مثبت (محیط کشت و باکتری) و کنترل منفی (محیط کشت، باکتریوسین) نیز استفاده شد. سپس پلیت ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. بعد از گذشت این مدت چاهک‌ها از نظر رشد و عدم رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفتند. کمترین غلظت از ماده که مانع رشد میکروارگانیسم بود به عنوان غلظت MIC گزارش شد.

**جداسازی باکتری‌های تولیدکننده آنزیم بتالاکتاماز**

**بررسی سویه های MBL (روش استفاده شده برای سودوموناس و اسینتوباکتر بومانی)**

برای این منظور از سویه مورد نظر سوسپانسیونی با کدورتی معادل نیم مک فارلند تهیه شد سپس بر روی سطح محیط کشت مولرهینتون آگار کشت داده شد. در ادامه جهت بررسی تولید آنزیم های متالوبتالاکتاماز از یک دیسک مروپنم و یک دیسک مروپنم آغشته (۲۰ میکرولیتر) به 0.5M محلول EDTA استفاده شد. دیسک‌ها با فاصله تقریبا ۲۰ میلی متر از یکدیگر بر روی سطح آگار قرار داده شد. سپس پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه و بعد از این مدت قطر هاله های عدم رشد اندازه گیری شد. درصورتی که قطر هاله دیسک مروپنم همراه با EDTA، ۵ میلی متر بیشتر از دیسک مروپنم به تنهایی باشد نشان از تولید این آنزیم می باشد.

**بررسی سویه‌های ESBLs (روش استفاده شده برای اشریشیاکلی)**

از سویه مورد نظر سوسپانسیونی با کدورتی معادل نیم مک فارلند تهیه شد و بر روی سطح محیط کشت مولرهینتون آگار کشت داده شد. سپس جهت شناسایی سویه های ESBLs از دیسک‌های استاندارد شرکت پادتن طب (ساخت ایران) استفاده گردید. طبق دستور شرکت سازنده از دیسک‌های سفتازیدیم و سفتازیدیم کلاونیک اسید همچنین سفوتاکسیم و سفوتاکسیم کلاونیک اسید به فاصله ۲۰ میلی متر از یکدیگر بر روی سطح آگار استفاده شد. سپس پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه و بعد از این مدت قطر هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری گردید.

در صورتی که قطر هاله دیسک های همراه با کلاونیک ۵ میلی متر بیشتر از دیسک های به تنهایی باشد نشان از تولید این آنزیم می باشد.

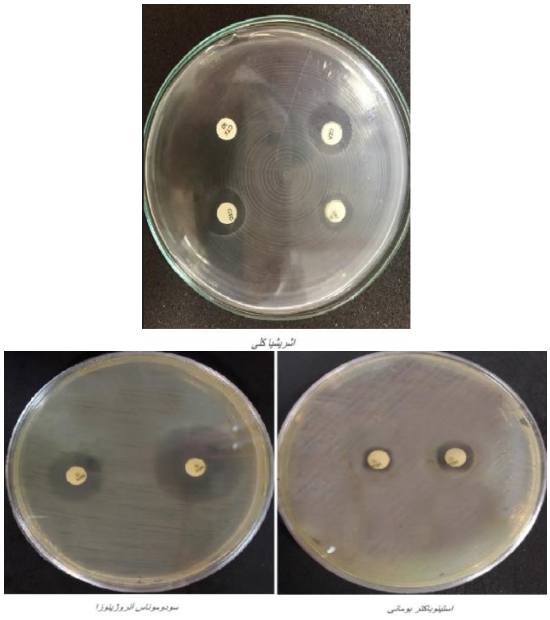
**بررسی اثر سینرژیسم باکتریوسین و آنتی بیوتیک‌ها بر باکتری های بتالاکتاماز مثبت**

اثربخشی باکتریوسین لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ترکیب با آنتی بیوتیک های تجاری در برابر پاتوژن های بالینی تولید کننده بتالاکتاماز با استفاده از روش انتشار دیسک در سه تکرار تعیین شد. برای بررسی اثر ترکیبی باکتریوسین و آنتی‌بیوتیک‌ها، ۲۰ میلی‌لیتر (۲ میلی‌گرم) از باکتریوسین به دیسک استاندارد آنتی‌بیوتیکی اضافه شد و سپس دیسک ها روی پلیت‌های مولر هینتون آگار تلقیح شده با ارگانیسم‌های مورد آزمایش قرار داده شد. برای کنترل مثبت از دیسک های آنتی بیوتیک استاندارد استفاده شد. پلیت ها به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند و مناطق مهار ثبت شد. افزایش سطح برابری برای آنتی بیوتیک ها با فرمول (b2-a2)/a2 محاسبه شد، که در آن a و b به ترتیب منطقه مهار آنتی بیوتیک به تنهایی و آنتی بیوتیک در ترکیب با باکتریوسین هستند(۱۳).

## نتایج

**شناسایی باکتری های پاتوژن از نمونه ادرار**

از نمونه های ادرار بیماران سویه های اشریشیا کلی، اسینتوباکتر بومانی و سودوموناس آئروژینوزا جدا شد و تعداد ۱۰ سویه از هر نمونه برای مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. تمامی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی، سودوموناس آئروژینوزا در بین جدایه‌های بیماری‌زا، فعالیت بتالاکتاماز مثبت را نشان دادند. در همین حال، تنها پنج مورد از سویه‌های اشرشیاکلی شواهدی از فعالیت مثبت بتالاکتاماز را نشان دادند. نتایج آزمایشات بتالاکتاماز سویه های بیماری زا در شکل ۱ نشان داده شده است.



**شکل ۱**: نتایج سویه های بتالاکتاماز مثبت در باکتری های پاتوژن (اشریشیا کلی، اسینتوباکتر بومانی، سودوموناس آئروژینوزا)

**نتایج تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا**

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۰ سویه سودوموناس آئروژینوزا نسبت به آنتی بیوتیک‌های رایج بررسی شد. مقاومت ۱۰۰ درصدی آنتی بیوتیکی نسبت به سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین و مروپنم در همه سویه‌های سودوموناس مورد بررسی مشاهده شد. سپس به ترتیب، مقاومت آنتی بیوتیکی به آمیکاسین ۹۰٪ (۹ سویه)، جنتامیسین ۹۰٪ (۹ سویه)، پیپراسیلین ۹۰٪ (۹ سویه) و سفتازیدیم ۸۰٪ (۸ سویه) مشاهده شد. درحالی که نتایج این مطالعه نشان داد ۹۰ درصد (۹ سویه) نسبت به کولیستین حساس بودند.

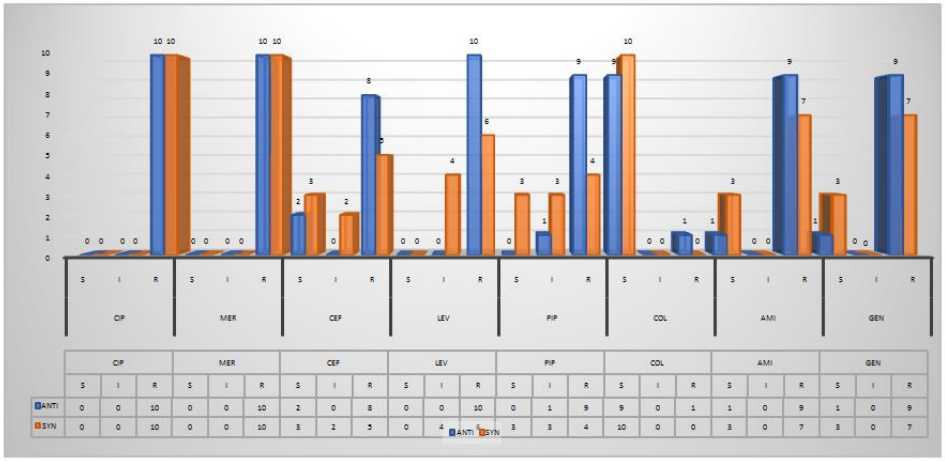
**نتایج حاصل از MIC باکتریوسین**

در باکتری سودوموناس آئروژینوزا ۸۰ درصد سویه ها دارای MIC:25mg و ۲۰ درصد سویه ها دارای MIC:50 mg هستند.

**اثر سینرژیسمی آنتی بیوتیک و باکتریوسین**

مقاومت ۱۰۰ درصدی در حالت سینرژیسمی نسبت به سیپروفلوکساسین و مروپنم در همه سویه های سودوموناس مورد بررسی مشاهده شد. سپس به ترتیب، مقاومت در حالت سینرژیسمی به لووفلوکساسین ۶۰٪ (۶ سویه)، آمیکاسین ۷۰٪ (۷ سویه)، جنتامیسین ۷۰٪ (۷ سویه)، پیپراسیلین ۴۰٪ (۴ سویه) و سفتازیدیم ۵۰٪ (۵ سویه) مشاهده شد (نمودار ۱).

همچنین نتایج این مطالعه نشان داد مقاومت در حالت آنتی‌بیوتیکی و سینرژیسمی نسبت به سفتازیدیم ($p$=0.049)، لووفلوکساسین ($p$=0.038)، پیپراسیلین ($p$=0.036) دارای تفاوت آماری معنی‌داری در سطح آماری P<0.05 درصد می‌باشد.




**نمودار ۱**: نمودار مقایسه توزیع فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی و سینرژیسمی در سویه های *سودوموناس آئروژینوزا*

**نتایج تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی اسینتوباکتری بومانی**

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۰ سویه های استینوباکتر بومانی نسبت به آنتی بیوتیک های رایج بررسی شد مقاومت ۱۰۰ درصدی نسبت‌به کوتریموکسازول، سیپروفلوکساسین، مروپنم، پیپراسیلین ۱۰۰٪ (۱۰ سویه)، سفتازیدیم ۱۰۰٪ (۱۰ سویه)، جنتامایسین ۱۰۰٪ (۱۰ سویه) و تتراسایکلین ۱۰۰٪ (۱۰ سویه) مشاهده شد. نسبت به آمپی سیلین/ سولباکتام ۴۰٪ (۴ سویه) مقاوم بودند و به آنتی بیوتیک کولیستین ۲۰٪ (۲ سویه) مقاوم بودند( نمودار ۲).

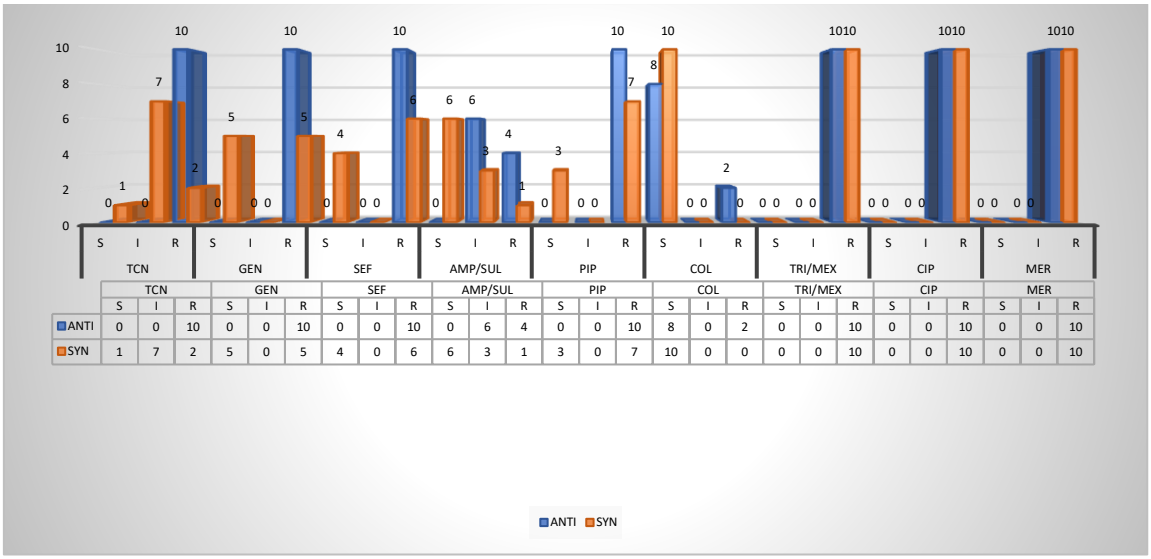
**نتایج حاصل از MIC باکتریوسین**

در باکتری اسینتوباکتر بومانی ۱۰۰ درصد سویه ها دارای MIC:25 mg بودند.

**اثر سینرژیسمی آنتی بیوتیک و باکتریوسین در اسینتوباکتر بومانی**

مقاومت ۱۰۰ درصدی در حالت سینرژیسمی نسبت به کوتریموکسازول (TRI/MEX)، سیپروفلوکساسین (CIP) و مروپنم (MER) در همه سویه های اسینتوباکتر بومانی مورد بررسی مشاهده شد. سپس به ترتیب، مقاومت در حالت سینرژیسمی به پیپراسیلین ۷۰٪ (۷ سویه)، سفتازیدیم ۶۰٪ (۶ سویه)، جنتامیسین ۵۰٪ (۵ سویه) و تتراسایکلین ۲۰٪ (۲ سویه) و آمپی سیلین/ سولباکتام ۱۰٪ (۱ سویه) مشاهده شد. درحالی که نتایج این مطالعه نشان داد هیچگونه مقاومت در حالت سینرژیسمی نسبت به کولیستین در سویه‌های اسینتوباکتر بومانی مورد بررسی مشاهده نشد (نمودار ۲).

همچنین نتایج این مطالعه نشان داد مقاومت در حالت آنتی‌بیوتیکی و سینرژیسمی نسبت به تتراسایکلین ($p$=0.044)، جنتامایسین ($p$=0.041)، سفتازیدیم ($p$=0.048) دارای تفاوت آماری معنی‌داری در سطح آماری P<0.05 می‌باشد.




| | TCN | | | GEN | | | SEF | | | AMP/SUL | | | PIP | | | COL | | | TRI/MEX | | | CIP | | | MER | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | S | I | R | S | I | R | S | I | R | S | I | R | S | I | R | S | I | R | S | I | R | S | I | R | S | I | R |
| ANTI | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 10 | 0 | 6 | 4 | 0 | 0 | 10 | 8 | 0 | 2 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 10 |
| SYN | 1 | 7 | 2 | 5 | 0 | 5 | 4 | 0 | 6 | 6 | 3 | 1 | 3 | 0 | 7 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 10 |

**نمودار ۲**: نمودار مقایسه توزیع فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی و سینرژیسمی در سویه های اسینتوباکتر بومانی

**نتایج تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی در اشریشیاکلی**

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۰ سویه های اشریشیا کلی نسبت به آنتی بیوتیک های رایج بررسی شد. مقاومت ۹۰ درصدی آنتی بیوتیکی نسبت به کانامایسین و سیپروفلوکساسین در همه سویه های اشریشیا کلی مورد بررسی مشاهده شد. سپس به ترتیب، مقاومت آنتی بیوتیکی به جنتامیسین و توبرامایسین ۷۰٪ (۷ سویه) و در آمیکاسین، تتراسایکلین و مروپنوم ۶۰٪ (۶ سویه) مشاهده شد. درحالیکه نتایج این مطالعه نشان داد هیچگونه مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به نیتروفورانتوئین (۱۰ سویه) در سویه‌های اشریشیا کلی مورد بررسی مشاهده نشد.

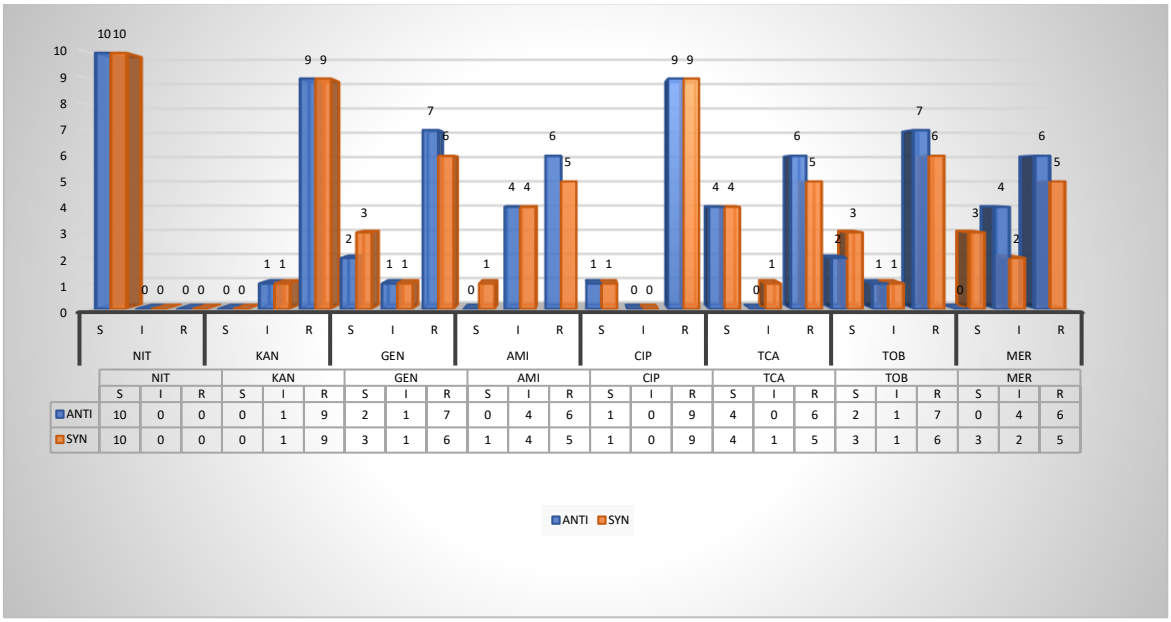
**اثر سینرژیسمی آنتی بیوتیک و باکتریوسین در اشریشیا کلی**

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۰ سویه های اشریشیا کلی نسبت به آنتی بیوتیک های رایج با باکتریوسین بصورت سینرژیسمی بررسی شد. مقاومت ۹۰ درصدی در حالت سینرژیسمی نسبت به کانامایسین و سیپروفلوکساسین در همه سویه های اشریشیا کلی مورد بررسی مشاهده شد. سپس به ترتیب، مقاومت در حالت سینرژیسمی به جنتامایسین و توبرامایسین ۶۰٪ (۶ سویه) و در آمیکاسین، تتراسایکلین و مروپنم ۵۰٪ (۵ سویه) مشاهده شد. درحالیکه نتایج این مطالعه نشان داد هیچگونه مقاومت در حالت سینرژیسمی نسبت به نیتروفورانتوئین (۱۰ سویه) در سویه‌های اشریشیا کلی مورد بررسی مشاهده نشد (نمودار۳).

همچنین نتایج این مطالعه نشان داد هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در مقاومت آنتی‌بیوتیکی و سینرژیسمی بین آنتی‌بیوتیک‌های مشاهده شده مشاهده نشد.

**نتایج حاصل از MIC باکتریوسین**

در باکتری اشریشیا کلی ۱۰۰ ٪ سویه ها دارای MIC:50 mg هستند.




| | NIT | | | KAN | | | GEN | | | AMI | | | CIP | | | TCA | | | TOB | | | MER | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | S | I | R | S | I | R | S | I | R | S | I | R | S | I | R | S | I | R | S | I | R | S | I | R |
| ANTI | 10 | 0 | 0 | 0 | 1 | 9 | 2 | 1 | 7 | 0 | 4 | 6 | 1 | 0 | 9 | 4 | 0 | 6 | 2 | 1 | 7 | 0 | 4 | 6 |
| SYN | 10 | 0 | 0 | 0 | 1 | 9 | 3 | 1 | 6 | 1 | 4 | 5 | 1 | 0 | 9 | 4 | 1 | 5 | 3 | 1 | 6 | 3 | 2 | 5 |

**نمودار ۳**: نمودار مقایسه توزیع فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی و سینرژیسمی در در سویه های *اشریشیا کلی*

## بحث

امروزه شاهد روز افزون مقاومت‌های باکتریایی و عفونت‌های ناشی از آن‌ها در جهان هستیم. این مسئله یکی از بحران‌های موجود در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌هاست. انتقال و انتشار سریع ارگانیسم‌هایی که قادر به تولید آنزیم‌های مذکورند، باعث بالا رفتن میزان عفونت‌های بیمارستانی در سراسر دنیا شده‌است. مقاومت میکروبی در برابر عوامل ضد میکروبی مختلف به طور فزاینده ای گزارش می شود و به طور خطرناکی گزینه‌های درمانی موجود را محدود می‌کند. در این زمینه، کارهای تحقیقاتی متعددی به بررسی منابع طبیعی با هدف بازیابی آنتی بیوتیک‌های جدید یا رویکرد درمانی جایگزین می‌پردازد. در نتیجه، باکتریوسین‌ها به دلیل فعالیت ضد میکروبی بالقوه توجه محققان را به خود جلب کردند (۱۴).

نتایج نشان داد تمامی سویه های باکتری سودوموناس آئروژینوزا، اسینتوباکتربومانی و اشریشیا کلی، بتالاکتاماز مثبت بودند و بعد از استفاده کردن از باکتریوسین به عنوان مهار کننده ی فعالیت بتالاکتامازی سویه ها تاثیری مشاهده نشد و همچنان سویه ها دارای فعالیت بتالاکتامازی بودند.

نتایج سینرژیسمی باکتریوسین- آنتی بیوتیک در سویه‌های سودوموناس نسبت به مقاومت آنتی بیوتیکی به تنهایی در لووفلوکساسین ۴۰٪، آمیکاسین و جنتامیسین ۲۰٪، پیپراسیلین ۵۰٪ و سفتازیدیم ۳۰٪ کاهش نشان داد، این نتایج برای سفتازیدیم (p=0.049)، لووفلوکساسین (p=0.038)، پیپراسیلین (p=0.036) و همچنین در سویه‌های *اسینتوباکتربومانی* نتایج سینرژیسمی باکتریوسین- آنتی بیوتیک در نسبت به مقاومت آنتی بیوتیکی به تنهایی در پیپراسیلین ۳۰٪، و جنتامیسین ۵۰٪، تتراسایکلین ۸۰٪، آمپی سیلین- سالباکتام ۳۰٪ و سفتازیدیم ۴۰٪ کاهش نشان داد برای تتراسایکلین (p=0.044)، جنتامایسین (p=0.041)، سفتازیدیم (p=0.048) به دست آمد.

گروه لوپز در مطالعه خود، سویه‌های انتروکوک جدا شده از عفونت‌های ادراری را ایزوله کردند، که نشان می‌دهد اکثریت *E.faecalis* بودند حساسیت آنها در برابر باکتریوسین حاصل از گونه لاکتوباسیلوس با نام AS-48 و چندین آنتی بیوتیک مورد آزمایش قرار گرفت.

AS-48 یک باکتریوسین قوی بود که با تشکیل منافذ در غشای سلولی باعث مرگ باکتری می‌شود. AS-48 در غلظت‌های زیر ۱۰ میلی‌گرم در لیتر حتی در برابر سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک فعال بود، در حالی که این سویه‌ها به حداقل ۷ آنتی‌بیوتیک از ۲۰ آنتی‌بیوتیک آزمایش‌شده مقاومت نشان دادند. همانطور که انتظار می‌رفت، نتایج نشان داد که فعالیت AS-48 مستقل از مقاومت به آنتی بیوتیک ها است. مشابه سایر باکتریوسین ها، داده های موجود نشان دهنده هم افزایی AS-48 است که با سایر ترکیبات ضدمیکروبی (مانند اتامبوتول، نایسین یا لیزوزیم) ترکیب می شود، که منجر به کاهشMIC هر دو ترکیب می‌شود. مطالعات پیشنهاد می‌کنند، AS-48 غشای باکتری را نفوذپذیر می‌کند و موجب دسترسی جنتامیسین به سیتوپلاسم می گردد (۱۵).

از لحاظ مقایسه ای این دو مطالعه در مجموع با یکدیگر نتایج مشابهی دادند. یکی از مسیرهای احتمالی که برای باکتریوسین ها در نظر گرفته می‌شود اثر آنها بر روی دیواره است و می‌توانند میزان ورود آنتی‌بیوتیک را در سلول زیاد کنند تا اثر بخش باشند. اما در مطالعه ما این اثر سینرژیسمی تقریبا در بعضی موارد مشاهده شد که می‌توان احتمال داد باکتریوسین حاصل از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تا حدی به همراه آنتی بیوتیک های موثر در سنتز دیواره سلولی(پیپراسیلین، سفتازیدیم، آمپی سیلین) و آنتی بیوتیک موثر در غشا سیتوپلاسمی( کلیستین) اثرسینرژیسمی دارد.

گروه ریشی (Rishi) در مطالعه خود بیان کرد که باکتریوسین نایسین پتانسیل این را دارد که در برابر آنتی‌بیوتیک‌های بتا-لاکتام در ارتباط با بیماری سالمونلوز موشی عملکرد موثری داشته باشد. به خصوص، ترکیبات نایسین- سفتریاکسون و نایسین- سفوتاکسیم فعالیت هم افزایی عالی را نشان دادند. البته قابل ذکر است در حالت اثر منفرد هر کدام، اثربخشی هر کدام معنادار نبوده است(۱۶). نایسین عمدتاً با نفوذ به غشای سیتوپلاسمی با تشکیل منافذ گذرا عمل می کند که اجازه نشت متابولیت های داخل سلولی و اتلاف پتانسیل غشا و با اختلال در بیوسنتز دیواره سلولی از طریق اتصال به لیپید II را می‌دهد (۱۷). با این حال، باکتری های گرم منفی توسط یک غشای خارجی (OM) متشکل از دولایه فسفولیپیدی پوشیده شده اند، که توسط شبکه ای از لیپیدها و پلی ساکاریدها به نام لیپوپلی ساکاریدها احاطه شده است. بنابراین، به دلیل سدی که OM ایجاد می کند، نایسین به تنهایی معمولاً در برابر باکتری های گرم منفی مؤثر نیست، نایسین قادر است فعالیت ضد میکروبی خود را بر علیه سالمونلا در حضور بتالاکتام‌های معمولی (آمپی سیلین، سفتریاکسون و سفوتاکسیم) در غلظت‌های بسیار پایین‌تر اعمال کند. این نتایج این فرضیه را تقویت می‌کند که بتا-لاکتام‌ها و نایسین با افزایش نفوذ نایسین در سراسر OM باکتریایی و با ناکارآمد ساختن پمپ‌های خروج دارو، در نتیجه تجمع سلولی دارو را با تغییر نفوذپذیری سلول افزایش می‌دهند که منجر به فروپاشی پتانسیل غشاء و ایجاد جریان سریع مواد موجود در محیط سیتوزولی می‌شود (۱۸). همچنین گزارش شده است که بتا-لاکتام ها باعث تشکیل رادیکال هیدروکسیل و سوپراکسید می‌شوند که به DNA، لیپیدها و پروتئین ها آسیب می‌رساند. این ممکن است به این واقعیت نسبت داده شود که افزایش هجوم آنتی بیوتیک ها به دلیل تشکیل منافذ توسط نایسین باعث مهار سریعتر می شود (۱۶).

این تحقیق نیز با مطالعه حاضر در کلیت خود نتایج یکسانی به دست آورده اند. باکتریوسین لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به اندازه نایسین قوی نیست ولی بنظر می رسد با عملکرد یکسان با اثر بر غشا سلولی و تخریب یا ایجاد منفذ موجب ورود آنتی بیوتیک ها در سلول باکتری می شوند که می‌توانند بر عملکرد سلول باکتری اثر بگذارند. در مطالعه حاضر در حالت سینرژیسمی میزان مقاومت اسینتوباکتر بومانی به تتراسایکلین ۸۰٪ و جنتامایسین ۵۰٪ و در سودموناس آئروژینوزا ۴۰٪ کاهش یافته به طوری که تتراسایکلین و جنتامایسین

آنتی بیوتیک های موثر بر سنتز پروتئین می باشند و لووفلوکسازین موثر بر آنزیم DNA ژیراز در سنتز اسیدهای نوکلئیک می‌باشد. در نتیجه باکتریوسین به همراه آنتی بیوتیک‌ها بر سنتز بخش های مختلف باکتری های موثر بوده و در نتیجه موجب از بین رفتن باکتری ها می گردند.

گروه گرازیا (Grazia) در مطالعه خود از یک باکتریوسین (BLIS) از باکتری *Streptococcus macedonicus* استفاده کرد. رشد میکروکوکوس لوتئوس، استرپتوکوک پیوژنز، لاکتوکوکوس لاکتیس و لوکونوستوک مزانتروییدها توسط BLIS مهار شد. فعالیت هم افزایی بالقوه علیه برخی گونه‌های گرم مثبت (اما نه گرم منفی) در استفاده همزمان با آنتی بیوتیک‌ها (آمپی سیلین، تتراسایکلین یا کانامایسین) مشاهده شد. ترکیب برخی از فراکسیون های فعال BLIS با آنتی بیوتیک ها (آمپی سیلین، تتراسایکلین یا کانامایسین) می تواند فعالیت های هم افزایی را علیه گونه های گرم مثبت خاصی نشان دهد که این اثر در حالت منفرد مشاهده نشده بود (۱۹).

گروه بیسواس (Biswas) در مجموع ۸۴ ایزوله از باکتری‌های اسید لاکتیک برای اثر ضد باکتریایی آنها در برابر استرپتوکوک پیوژنز، انتروکوکوس فکالیس، اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه و باسیلوس سرئوس و همچنین در برابر پاتوژن‌های بالینی حامل ژن‌های بتا-لاکتاماز مانند، SHIM, SHVBblaCT ،SHVBblaCT، SHIMP، SHVBLACT و blaNDM غربالگری کردند. فعالیت سینرژیستیک باکتریوسین ها در ترکیب با آنتی‌بیوتیک ها یعنی سفوتاکسیم، پلی میکسین B، ایمی پنم و تایگی سیکلین تعیین شد. باکتریوسین های خالص شده از لاکتوباسیلوس، پدیوکوکوس و انتروکوک از رشد پاتوژن‌های بالینی دارای بتالاکتاماز جلوگیری می‌کنند که در مقایسه با آنتی‌بیوتیک ها به تنهایی، به طور قابل توجهی مهار بیشتری دارند (۲۰).

گروه سینق (Aman Preet Singh) یک مطالعه به منظور ارزیابی اثرات هم افزایی، در صورت وجود، نایسین در ترکیب با آنتی بیوتیک های معمولی ضد سالمونلا علیه سروار سالمونلا انتریکا طراحی کرد. طبق نتایج مشاهده شد که ترکیبات نایسین-آمپی سیلین و نایسین-EDTA دارای اثرات افزایشی هستند، در حالی که ترکیبات نایسین-سفتریاکسون و نایسین-سفوتاکسیم به شدت در برابر سروار تیفی موریوم هم افزایی دارند. این مطالعه نشان می‌دهد که نایسین پتانسیل این را دارد که در ارتباط با آنتی‌بیوتیک‌های معمولی در MIC های بسیار پایین‌تر عمل کند. به نظر می رسد این مشاهدات قابل توجه هستند، زیرا کاهش غلظت درمانی آنتی بیوتیک ها ممکن است یک استراتژی ارزشمند برای جلوگیری/ کاهش توسعه مقاومت آنتی بیوتیکی در حال ظهور باشد. قابل ذکر است نایسین ممکن است پمپ های خروج دارو را بی اثر کند، در نتیجه با تغییر نفوذپذیری سلول، تجمع داروی سلولی را افزایش می دهد، که منجر به فروپاشی پتانسیل غشاء و ایجاد جریان سریع مواد موجود در محیط سیتوزولی می شود. این مکانیسم ها ممکن است به طور متقابل عمل کرده و منجر به افزایش اثر ضد سالمونلا شود که توسط شاخص FIC و سنجش زمان کشنده در مطالعه سینق مشاهده شده است (۲۱).

همچنین مطالعات دیگری وجود دارد که به مکانیسم اثر باکتریوسین و آنتی‌بیوتیک‌ها پرداختند. آنتی بیوتیک‌هایی که بیوسنتز دیواره سلولی را هدف قرار می دهند شامل آنهایی هستند که در گروه بتالاکتام قرار دارند. کاهش اخیر در اثربخشی بتا-لاکتام در برابر عفونت های شایع بیمارستانی، نیاز به جایگزین‌های مناسب را بوجود آورده است. پاتوژن ها آنزیم های تجزیه کننده بتا-لاکتام مانند کارباپنمازها و پنی‌سیلینازها را توسعه داده اند. در پرتو این روند، پتانسیل زیادی برای ادغام باکتریوسین‌ها، به ویژه لانتی بیوتیک ها، در درمان های جدید وجود دارد. علی‌رغم این پتانسیل، شیوع مقاومت به لانتی‌بیوتیک زمانی که ارگانیسم‌ها برای مدت طولانی در معرض سطوح تحت مهاری لانتی‌بیوتیک‌ها قرار می‌گیرند، می‌تواند افزایش یابد. دیواره سلولی به طور گسترده ای به عنوان یک هدف عالی برای توسعه

فناوری های جدید در نظر گرفته می شود، زیرا سنتز آن در بین پاتوژن ها بسیار حفاظت شده است و در سلول‌های پستانداران وجود ندارد. علاوه بر این، دیواره سلولی برای بقای کلی باکتری بسیار مهم است زیرا یکپارچگی و مورفولوژی سلولی را تنظیم می کند(۲۳, ۲۲).

در مجموع می‌توان گفت استفاده از باکتریوسین‌ها به عنوان یک عامل دارویی در برابر بیماری‌های انسانی هنوز در مرحله تحقیق و توسعه است، اما در حال حاضر به صورت تجاری برای نگهداری مواد غذایی و به عنوان یک پروبیوتیک استفاده می شود (۲۴).

## نتیجه گیری

با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان بیان کرد، باکتریوسین لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به تنهایی اثر ضد میکروبی محدودی ایجاد می کند ولی در مواردی اثر سینرژیسمی به همراه آنتی‌بیوتیک‌ها نشان داده است. نتایج سینرژیسمی این مطالعه در سویه‌های سودوموناس برای سفتازیدیم، لووفلوکساسین، پیپراسیلین و در سویه های اسینتوباکتر بومانی برای تتراسایکلین، جنتامایسین، سفتازیدیم تفاوت آماری معنی داری به دست آمد. با این حال مطالعه حاضر تنها اثرضد میکروبی آنتی‌بیوتیک و باکتریوسین لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را سنجیده است و باکتریوسین سایر باکتری های اسید لاکتیک مورد بررسی قرار نگرفته است. این پژوهش پیشنهاد می کند مطالعات بیشتری برای درک مکانیزم دقیق انجام شود تا مسیرهای بلوکه کننده را بتوان برطرف کرد.

## تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی واحد ورامین پیشوا تشکر می شود.

## تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند هیچ تعارض منافعی در انجام این مطالعه وجود نداشته است.

## Reference

1. Bush K, Bradford PA. β-Lactams and β-lactamase inhibitors: an overview. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2016;6 (8).

2. Elander RP. Industrial production of beta-lactam antibiotics. Appl Microbiol Biotechnol. 2003;61(5-6):385-92.

3. Houbraken J, Frisvad JC, Samson RA. Fleming's penicillin producing strain is not Penicillium chrysogenum but P. rubens. IMA Fungus. 2011;2(1):87-95.

4. Tamma PD, Doi Y, Bonomo RA, Johnson JK, Simner PJ, RA ARLGTPDYB. A primer on AmpC β-lactamases: necessary knowledge for an increasingly multidrug-resistant world. Clinical Infectious Diseases. 2019;69(8):1446-55.

5. de Melo Pereira GV, de Oliveira Coelho B, Júnior AIM, Thomaz-Soccol V, Soccol CR. How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. Biotechnology advances. 2018;36(8):2060-76.

6. Cremon C, Barbaro MR, Ventura M, Barbara G. Pre-and probiotic overview. Current opinion in pharmacology. 2018;43:87-92.

7. Telhig S, Ben Said L, Zirah S, Fliss I, Rebuffat S. Bacteriocins to thwart bacterial resistance in gram negative bacteria. Frontiers in microbiology. 2020;11:586433.

8. Molujin AM, Abbasiliasi S, Nurdin A, Lee P-C, Gansau JA, Jawan R. Bacteriocins as potential therapeutic approaches in the treatment of various cancers: A review of invitro studies. Cancers. 2022;14(19):4758.

9. Teame T, Wang A, Xie M, Zhang Z, Yang Y, Ding Q, et al. Paraprobiotics and postbiotics of probiotic Lactobacilli, their positive effects on the host and action mechanisms: A review. Frontiers in nutrition. 2020; 7:570344.

10. Kumariya R, Garsa AK, Rajput Y, Sood S, Akhtar N, Patel S. Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. Microbial pathogenesis. 2019;128:171-7.

11. Kashyap ML, Ganji S, Nakra NK, Kamanna VS. Niacin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): novel use for an old drug Journal of clinical lipidology. 2019;13(6):873-9.

12. Zamfir M, Callewaert R, Cornea PC, Savu L, Vatafu I, De Vuyst L. Purification and characterization of a bacteriocin produced by Lactobacillus acidophilus IBB 801. Journal of Applied Microbiology. 1999;87(6):923-31.

13. Birla S, Tiwari V, Gade A, Ingle A, Yadav A, Rai M. Fabrication of silver nanoparticles by Phoma glomerata and itscombined effect against Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus. Letters in Applied Microbiology. 2009;48(2):173-9.

14. Wang X, Zhang H, Chen X. Drug resistance and combating drug resistance in cancer. Cancer Drug Resistance.2019;2(2):141-160.

15. Montalbán-López M, Cebrián R, Galera R, Mingorance L, Martín-Platero AM, Valdivia E, et al. Synergy of the Bacteriocin AS-48 and antibiotics against uropathogenic Enterococci. Antibiotics. 2020;9(9):567.

16. Rishi P, Preet Singh A, Garg N ,Rishi M. Evaluation of nisin–β-lactam antibiotics against clinical strains of Salmonella enterica serovar Typhi. The Journal of antibiotics. 2014;67(12):807-11.

17. Cotter PD, Ross RP, Hill C. Bacteriocins—a viable alternative to antibiotics? Nature Reviews Microbiology. 2013;11(2):95-105.

18. Gut IM, Blanke SR, Van Der Donk WA. Mechanism of inhibition of Bacillus anthracis spore outgrowth by the lantibiotic nisin. ACS chemical biology. 2011;6(7):744-52.

19. Grazia SE, Sumayyah S, Haiti FS, Sahlan M, Heng NC, Malik A. Bacteriocin-like inhibitory substance (BLIS) activity of Streptococcus macedonicus MBF10-2 and its synergistic action in combination with antibiotics. Asian Pacific journal of tropical medicine. 2017;10(12):1140-5.

20. Biswas K, UpadhayayS, Rapsang GF, Joshi SR. Antibacterial and synergistic activity against β-Lactamase-producing nosocomial bacteria by bacteriocin of LAB isolated from lesser known traditionally fermented products of India. HAYATI Journal of Biosciences. 2017;24(2):87-95.

21. Singh AP, Prabha V, Rishi P. Value addition in the efficacy of conventional antibiotics by nisin against Salmonella. PLoS One. 2013;8(10):e76844.

22. Medeiros AA. Evolution and dissemination of β-lactamases accelerated by generations of β-lactam antibiotics. Clinical Infectious Diseases. 1997;24(Supplement_1):S19-S45.

23. Ulvatne H, Karoliussen S, Stiberg T, Rekdal Ø, Svendsen JS. Short antibacterial peptides and erythromycin act synergically against Escherichia coli. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001;48(2):203-8.

24. Ahmad V, Khan MS, Jamal QMS, Alzohairy MA, Al Karaawi MA, Siddiqui MU. Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. International journal of antimicrobial agents. 2017;49(1):1-11.