JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی دوره بیست و یکم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۴۰۴، پیاپی ۵۰ : ۲۳-۱۱

مقاله پژوهشی

# اثرات ضدباکتریایی پالیده عاری از سلول (CFS) *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و برخی از گونه‌های *لاکتوباسیلوس* بر جدایه‌های *اشریشیاکلی* مقاوم به چند دارو (MDR) حاصله از مدفوع سگ‌های شهرستان ارومیه

**رضا کاظم زاده [۱]، مسلم نیریز نقدهی [۲]*، شهرام سقایی [۳]**

۱- دانش‌آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

۲- گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاداسلامی، ارومیه، ایران.

۳- گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۱۲

**چکیده مبسوط**

**زمینه و هدف مطالعه:** جدایه‌های اشرشیاکلی مقاوم به چند دارو (MDR) به‌دلیل تأثیرات گسترده بر سلامت انسان و حیوانات، مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این راستا، استفاده از پست‌بیوتیک‌ها جهت کنترل سویه‌های باکتریایی MDR موردتوجه محققین واقع شده‌اند. تحقیق حاضر با هدف ارزیابی اثرات ضدباکتریایی پالیده عاری از سلول (CFS)گونه‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بر روی جدایه‌های MDR *اشریشیاکولای* از مدفوع سگ‌های شهرستان ارومیه انجام شد. **مواد و روش‌ها:** تهیه نمونه مدفوع، انجام آزمایش‌های میکروب شناسی استاندارد جهت جداسازی اشریشیاکولای، آنتی‌بیوگرام جدایه‌ها، تعیین جدایه‌های MDR، تهیه CFS، تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) CFS بر روی جدایه‌های MDR و آنالیز آماری داده‌ها از روش‌های به‌کار رفته در این پژوهش بودند. **نتایج:** باکتری *اشریشیاکولای* از تمامی نمونه‌ها (۲۰ سگ خانگی و ۸۰ سگ پناهگاهی) جداسازی شد. در میان جدایه‌ها، بیشترین مقاومت به آمپی‌سیلین (۷۳ جدایه) و کمترین مقاومت به آموکسی‌سیلین -کلاوولانیک اسید (یک جدایه) مشاهده گردید. هم‌چنین درصد جدایه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در سگ‌های خانگی به مراتب بالاتر از سگ‌های پناهگاهی بود. از سویی، ۳۳ جدایه، MDR تشخیص داده شدند. فراوانی جدایه‌های MDR در سگ‌های خانگی (۱۹ جدایه) به مراتب بالاتر از سگ‌های پناهگی (۱۴ جدایه) بود. میانگین MIC پالیده عاری از سلول باکتری‌های مورد آزمایش بر روی جدایه‌های MDR تفاوت آماری معنی‌داری داشتند؛ بطوری‌که بالاترین مقدار MIC در CFS *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* (۹۷/۸۹ ± ۱۵۳۶/۰۰ µg/ml) و پایین‌ترین مقدار MIC در CFS *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (۲۷/۸۲ ± ۱۷۲/۳۸ µg/ml) و لاکتوباسیلوس کازئی (۱۶/۷۷ ± ۸۷/ ۱۸۷ µg/ml) مشاهده شد. **نتیجه گیری:** بنابراین پیشنهاد می‌گردد که از CFS *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازئی* برای کنترل سویه‌های MDR *اشریشیاکولای* استفاده گردد.

**کلمات کلیدی: *اشریشیاکولای*، سویه های MDR، CFS، گونه‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس، بیفیدولاکتریوم، مدفوع**

* *نویسنده مسئول : مسلم نیریز نقدهی*

*آدرس: گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی ، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران*

*پست الکترونیک: mo.neyriz@iau.ac.ir*

**مقدمه**

مقاومت ضدمیکروبی[1] یکی از چالش‌های بزرگ سلامت انسان و دام است که پیامدهای آن از درمان‌های شکست‌خورده تا افزایش مرگ‌ومیر و هزینه‌های مراقبت سلامت را در بر می‌گیرد. برآوردهای مطالعات بار جهانی بیماری‌ها[2] نشان می‌دهد عفونت‌های باکتریایی مقاوم در سال ۲۰۱۹ با مرگ‌ومیر قابل توجهی همراه بوده‌اند و ضرورت مداخلات مبتنی بر رویکرد «یک سلامت»[3] برای مهار چرخه‌ی انتقال در انسان، حیوان و محیط بیش از پیش احساس می‌شود (Murray et al., 2022; WHO, 2024).

سگ‌های خانگی به‌دلیل تماس نزدیک و پایدار با انسان، می‌توانند به‌عنوان مخزن و ناقل باکتری‌های مقاوم‌به‌چنددارو یا MDR [4] از جمله *اشریشیاکولای*[5] عمل کنند؛ انتقال سویه‌ها و ژن‌های مقاومت بین حیوانات خانگی و صاحبانشان بارها گزارش شده و حضور کلون‌های پرخطر مانندST131 ، ST410و ST648 در حیوانات هم‌خانه نگرانی‌های بهداشت عمومی را تشدید کرده است (Ljungquist et al., 2016; Silva et al., 2024; Sanz-Gaitero et al., 2025).

شواهد چندکشوری نشان می‌دهد نسبت قابل‌توجهی از جدایه‌های روده‌ای *اشریشیاکولای* در سگ‌ها حامل الگوهایMDR یا ESBL [6] هستند و می‌توانند به‌واسطه‌ی تماس‌های روزمره به انسان‌ها یا سایر حیوانات انتقال یابند. در مطالعه‌ای سراسری روی سگ‌ها و گربه‌های سالم در کره جنوبی (۲۰۲۰–۲۰۲۲)، ۴۲/۳ درصد از جدایه‌ها MDR گزارش شدند و مقاومت بالایی به سفالکسین، آمپی‌سیلین و تتراسیکلین مشاهده گردید (Moon et al., 2024). در ایران نیز مطالعات پراکنده و مرورهای منطقه‌ای، حضور جدایه‌های مقاوم و تولیدکننده‌ی بتالاکتاماز طیف‌گسترده (ESBL) را در مخازن حیوانی و محیطی نشان داده‌اند (Naziri et al., 2022).

در سال‌های اخیر، «پست‌بیوتیک‌ها[7]» که فرآورده‌های زیستی غیرزنده و یا متابولیت‌های مشتق از پروبیوتیک‌ها با آثار سودمند برای میزبان هستند به‌عنوان گزینه‌هایی ایمن‌تر و پایدارتر نسبت به تجویز زنده‌ی پروبیوتیک‌ها مطرح شده‌اند. پالیده عاری از سلول[8] لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها مجموعه‌ای از اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، دی‌استیل و باکتریوسین‌ها را در بر می‌گیرد که می‌توانند اثر ضدمیکروبی مستقیم بر اشریشیاکولای (از جمله جدایه‌های مقاوم) اعمال کنند (Salminen et al., 2021; Aguilar-Toalá et al., 2018).

مطالعات متعدد، فعالیت ضدمیکروبیCFS *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[9] و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*[10] را علیه (از جمله سروتیپ‌های بیماری‌زا) نشان داده‌اند؛ این آثار عمدتاً با اسیدی‌سازی محیط، تولید ترکیبات واکنش‌پذیر اکسیداتیو، و باکتریوسین‌ها (پپتیدهای ضدمیکروبی) مرتبط‌اند (Knezevic et al., .

[1] - Antimicrobial resistance (AMR)
[2] - Global burden of disease (GBD)
[3] - One health
[4] - Multidrug -resistant (MDR)
[5] - *Escherichia coli*
[6] - Extended spectrum beta-lactamase (ESBL)
[7] - Postbiotics
[8] - Cell-free supernatant (CFS)
[9] - *Lactobacillus acidophilus*
[10] - *Lactobacillus plantarum*

(2023; Kaewchomphunuch et al., 2022) هم‌چنین، CFS *لاکتوباسیلوس کازئی*[11] علاوه بر مهار رشد، قادر به تعدیل بیان ژن‌های ویرولانس، مهاجرت، چسبندگی و تشکیل بیوفیلم در پاتوژن‌های انتروپاتوژنیک و انتروهموراژیک است (Ahmed et al., 2015).

*لاکتوباسیلوس هلوتیکوس*[12] از تولیدکنندگان باکتریوسین‌های قوی مانند «هلوتیسینJ» است که بر طیفی از باکتری‌های گرم‌مثبت و برخی گرم‌منفی‌ها اثر دارد؛ همچنین فرآورده‌های تخمیری این گونه با حضور پپتیدهای زیست‌فعال و اسیدهای آلی می‌توانند محیط نامساعدی برای رشد انتروباکتریاسه‌ها ایجاد کنند (Joerger & Klaenhammer, 1986).در همین راستا، CFS *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*[13] نیز توانسته است چسبندگی و تشکیل بیوفیلم *اشریشیاکولای* را مهار کند و به‌عنوان یک عامل مکمل در مهار سویه‌های MDR پیشنهاد شود(Aviello et al., 2024) .

با توجه به روند فزاینده‌ی MDR در جدایه‌های *اشریشیاکولای* حیوانات خانگی و خطر انتقال در سطح خانوار، ارزیابی جامع و مقایسه‌ای اثرات ضدمیکروبی CFSگونه‌های منتخب لاکتوباسیلوس از جمله *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بر جدایه‌های MDR *اشریشیاکولای* از مدفوع سگ‌های خانگی و پناهگاهی شهرستان ارومیه (سال ۱۴۰۴) می‌تواند شواهد کاربردی برای توسعه‌ی فراورده‌های پست‌بیوتیک دامپزشکی، پروتکل‌های کنترل عفونت و کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها فراهم کند.

## مواد و روش‌ها

### نمونه‌گیری

تحقیق حاضر، یک مطالعه تلفیقی توصیفی و تجربی می‌باشد. جامعه آماری، جدایه‌های مقاوم به چند دارو (MDR) *اشریشیاکولای* از مونه مدفوع سگ‌های شهرستان ارومیه (خانگی و پناهگاهی) در سال ۱۴۰۴ بودند. تعداد ۱۰۰ نمونه مدفوع (سوآب مقعد)، با در نظر گرفتن شیوع احتمالی (p) ۵۰ درصد جدایه‌های MDR *اشریشیاکولای*، q (1-p)، ضریب اطمینان ۹۵ درصد (z=1.96) و خطای برآوردی (d) ۱۰ درصد و با استفاده از فرمول کوکران محاسبه و با رعایت شرایط سترون جمع‌آوری شدند.

$$n = \frac{pqz^2}{d^2}$$

### جداسازی *اشریشیاکولای* از نمونه‌های مدفوع سگ

نمونه‌های سوآب مقعدی به لوله‌های محتوی ۱۰ میلی‌لیتر آب پپتونه ۰/۱ درصد سترون منتقل و نمونه‌ها در اسرع وقت به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه منتقل و آزمایش شدند. ابتدا، لوله‌های محتوی آب پپتونه و سوآب با استفاده از شیکر لوله آزمایش تکان داده شدند. سپس به مقدار یک میلی‌لیتر در لوله‌های محتوی ۱۰ میلی لیتر

[11] - *Lactobacillus casei*
[12] - *Lactobacillus helveticus*
[13] - *Bifidobacterium bifidum*

آبگوشت *اشریشیاکولای*[14] و دورهام کشت و در دمای ۴۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. سپس لوله‌های مثبت (دارای گاز و کدورت) در پلیت‌های محتوی آگار ائوزین متیلن بلو [15] کشت خطی داده شده و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴-۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پلیت‌های دارای پرگنه های بنفش مرکز سیاه با جلای سبز فلزی به‌عنوان *اشریشیاکولای* شناسایی شدند. برای تایید شناسایی، آزمایش‌های IMViC [16] ، کشت در آگار سه قندی آهن‌دار[17] و کشت در آگار لیزین آهن دار[18] انجام شدند و با مشاهده نتایج تولید اندول، مثبت؛ متیل رد، مثبت؛ وژئز- پروسکوئر، منفی؛ و سیمون سیترات، منفی در آزمایش‌های IMViC؛ مشاهده نتیجه اسیدی/اسیدی همراه با گاز در آگار TSI و در نهایت با مشاهده نتیجه قلیایی/ قلیایی همراه با گاز در آگار LIA، جدایه‌ها به عنوان *اشریشیاکولای* تیپیک تایید شدند (Mahon et al., 2015; Barkey et al., 2013).

## آزمایش حساسیت ضدمیکروبی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *اشریشیاکولای*

آزمایش حساسیت ضدمیکروبی به روش انتشار دیسک کربی بائر انجام شد. ابتدا جدایه‌ها روی آگار مغذی تجدید کشت شدند. سپس اینوکولوم باکتریایی ($1.5\times10^8$ cfu/ml) با استفاده از استاندارد کدورت ۰/۵ مک فارلند آماده‌سازی شدند. در مرحله بعد، با استفاده از سوآب سترون آغشته شده با اینوکولوم، کشت چمنی روی آگار مولرهینتون (کیولب، کانادا) انجام شد. دیسک های آنتی بیوتیکی (پادتن طب، ایران) آزیترمایسین (۱۵ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین کلاوولانیک اسید (۱۰ و ۲۰ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سفازولین (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم) و کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم) بر روی آگار مولر هینتون تلقیح شده قرار داده شدند. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. قطر منطقه مهاری[19] با کولیس اندازه گیری و نتایج به‌صورت میلی‌متر ثبت شدند. مقادیر قطر منطقه مهاری با معیارهای موسسه استاندارد آزمایشگاهی بالینی [20] (CLSI) مقایسه و جدایه ها به‌صورت حساس [21]، بینابینی یا نیمه‌حساس [22]و مقاوم [23]ارزیابی شدند (CLSI., 2023). جدایه‌هایی که به سه گروه آنتی‌بیوتیکی و یا بیشتر مقاوم بودند؛ به صورت MDR تعریف شدند (Magiorakos et al., 2012).

## تهیه CFS گونه‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*

14 - EC broth
15 - Eosin methylene blue (EMB) agar
16 - Indole Methyl Red Voges-Proskauer Simmon's Citrate (IMViC)
17 - Triple sugar iron (TSI) agar
18 - Lysine iron agar (LIA)
19 - Inhibition zone
20 - Clinical laboratory standard institute (CLSI)
21 - Susceptible
22 - Intermediate
23 - Resistant

برای این منظور باکتری مورد آزمایش *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* PTCC 1896، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* PTCC 1643، *لاکتوباسیلوس کازئی تحت گونه کازئی* PTCC 1608 ، *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* PTTC 1332 و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* PTCC 1644 از کلکسیون میکروبی مرکز پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه شد. ابتدا باکتری های مورد نظر در آبگوشت MRS [۲۴] (کیولب، کانادا) کشت و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت در شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری شدند. سپس کشت باکتری‌های مورد نظر در سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعد، محلول رویی جداسازی و پس از عبور از فیلتر سرنگی با قطر منافذ ۰/۲۲ میکرومتر لیوفلیزه شدند (Moradi et al, 2019).

## تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)[۲۵] و حداقل غلظت کشندگی (MBC) [۲۶] CFS گونه های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بر روی جدایه‌های MDR اشریشیاکولای

برای این منظور از از روش Broth Microdilution MIC testing و میکرپلیت‌های ۹۶ چاهکی سترون استفاده شد. ابتدا به مقدار ۱۶۰ میکرولیتر از آبگوشت مولر هینتون (کیولب، کانادا)، سپس ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های ۲۰۴۸۰، ۱۰۲۴۰، ۵۱۲۰، ۲۵۶۰، ۱۲۸۰، ۶۴۰، ۳۲۰ ، ۱۶۰ ، ۸۰ و ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر تهیه شده از CFS باکترهای پروبیوتیکی مورد آزمایش و ۲۰ میکرولیتر از اینوکولوم باکتریایی تنظیم شده با استاندارد کدورت نیم مک فارلند و ۱۰۰ برابر رقیق شده ($۱۰^{۶}$ × ۱/۵ cfu/ml) به چاهک‌ها اضافه شدند. کنترل‌های استریلیتی (مثبت) و رشد باکتری (منفی) در نظر گرفته شدند. سپس برای مخلوط شدن محتوای میکروپلیت‌ها، میکروپلیت‌ها به‌مدت ۲-۱ دقیقه در دستگاه شیکر میکروپلیت قرار داده شدند. در مرحله بعد، میکروپلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴-۱۸ ساعت به‌صورت هوازی گرمخانه‌گذاری شدند. سپس چاهک های شفاف و کدر به‌صورت چشمی و با مقایسه کنترل‌های مثبت و منفی مشخص شدند. دو چاهک شفاف آخر و دو چاهک کدر اول برای تعیین مقادیر MIC و MBC در پلیت کانت آگار (کیولب، کانادا) کشت سطحی داده و گرمخانه‌گذاری شدند. حداقل غلظتی که بتواند ۹۰ درصد از جمعیت اینوکولوم اولیه را از بین ببرد، MIC و حداقل غلظتی که بتواند ۹۹/۹ درصد از جمعیت اینوکولوم اولیه را از بین ببرد، MBC در نظر گرفته شدند (Rankin, 2005).

## روش انجام آزمون آماری (تجزیه‌وتحلیل داده‌ها)

تحلیل آماری داده‌های حاصله با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۷ انجام شد. اختلاف میانگین MIC و MBC جدایه‌های MDR *اشریشیاکولای* از مدفوع سگ‌ها تحت تأثیر CFS *لاکتوباسیلوس‌های پلانتاروم*،

[24] - Man, Rogosa, Sharpe (MRS) broth
[25] - Minimal inhibitory concentration (MIC)
[26] - Minimal bactericidal concentration (MBC)

*لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس هلویتیکوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی توکی بررسی گردید. لازم به ذکر است در تمامی مراحل تجزیه‌وتحلیل، خطای مجاز برای رد فرض صفر ($H_0$)، ۵ درصد در نظر گرفته شد و برای کاهش خطا، آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام گردید. داده‌ها به صورت میانگین±خطای استاندارد گزارش گردید. همچنین رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۹ صورت گرفت.

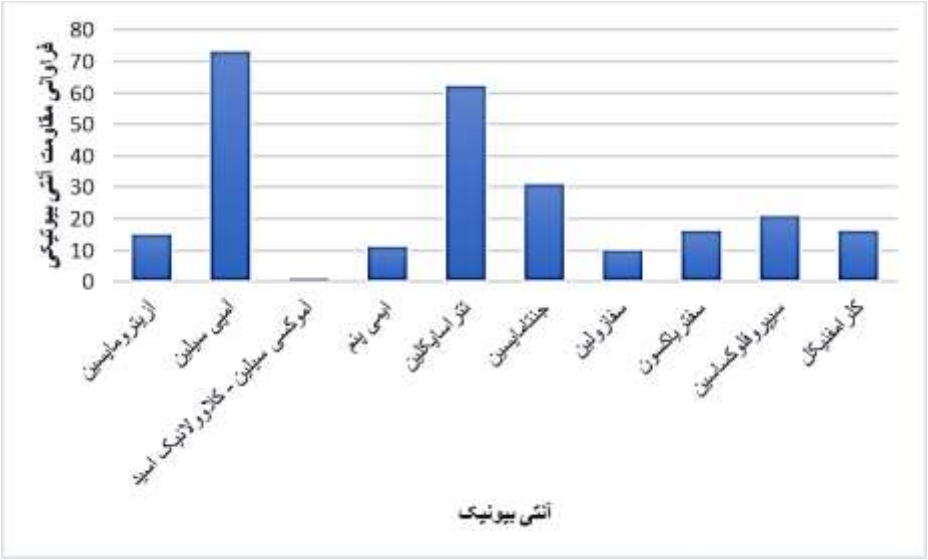
## نتایج

### نتایج آنتی‌بیوگرام جدایه‌های *اشریشیاکولای* از نمونه مدفوع سگ‌های شهرستان ارومیه

از یک صد نمونه مورد آزمایش (۲۰ نمونه مدفوع سگ خانگی و ۸۰ نمونه مدفوع سگ پناهگاهی)، باکتری *اشریشیاکولای* از تمامی نمونه‌ها جداسازی شد. همان‌گونه که در جدول و نمودار یک نشان داده شده است؛ از کل ۱۰۰ جدایه *اشریشیاکولای*، ۷۳ جدایه (۷۳ درصد) به آمپی‌سیلین، ۶۲ جدایه (۶۲ درصد) به تتراسایکلین، ۳۱ جدایه (۳۱ درصد) به جنتامایسین، ۲۱ جدایه (۲۱ درصد) به سیپروفلوکساسین، ۱۶ جدایه (۱۶ درصد) به سیپروفلوکساسین و کلرامفنیکل، ۱۵ جدایه (۱۵ درصد) به آزیترومایسین، ۱۱ جدایه (۱۱ درصد) به ایمی‌پنم، ۱۰ جدایه (۱۰درصد) به سفازولین و یک جدایه (یک درصد) به آموکسی‌سیلین -کلاوولانیک اسید مقاوم بودند. بنابراین از کل جدایه‌ها، بیشترین مقاومت به آمپی‌سیلین (۷۳ جدایه) و کمترین مقاومت به آموکسی سیلین- کلاوولانیک اسید (یک جدایه) مشاهده گردید. همچنین مقایسه نتایج آنتی‌بیوگرام جدایه‌های سگ‌های خانگی و پناهگاهی در جدول یک نشان داده شده است؛ و همان‌گونه که ملاحظه می‌گردد فراوانی کل و درصدی جدایه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در سگ‌های خانگی به‌مراتب بالاتر از سگ‌های پناهگاهی می‌باشد.

**جدول ۱. نتایج تعیین آنتی‌بیوگرام جدایه‌های *اشریشیاکولای* از نمونه مدفوع سگ‌های شهرستان ارومیه**

| آنتی‌بیوتیک | جدایه‌های خانگی (n=20) | | | جدایه‌های پناهگاهی (n=80) | | | کل جدایه‌ها (n=100) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | حساس | نیمه‌حساس | مقاوم | حساس | نیمه‌حساس | مقاوم | حساس | نیمه‌حساس | مقاوم |
| آزیترومایسین | ۷ (۳۵٪) | ۲ (۱۰٪) | ۱۱ (۵۵٪) | ۶۹ (۸۶/۲۵٪) | ۷ (۸/۷۵٪) | ۴ (۵٪) | ۷۶ (۷۶٪) | ۹ (۹٪) | ۱۵ (۱۵٪) |
| آمپی سیلین | ۰۰ (۰۰٪) | ۰۰ (۰۰٪) | ۲۰ (۱۰۰٪) | ۱۳ (۱۶/۲۵٪) | ۱۴ (۱۷/۵٪) | ۵۳ (۶۶/۲۵٪) | ۱۳ (۱۳٪) | ۱۴ (۱۴٪) | ۷۳ (۷۳٪) |
| آموکسی سیلین – کلاوولانیک اسید | ۲۰ (۱۰۰٪) | ۰۰ (۰۰٪) | ۰۰ (۰۰٪) | ۷۹ (۹۸/۷۵٪) | ۰۰ (۰۰٪) | ۱ (۱/۲۵٪) | ۹۹ (۹۹٪) | ۰۰ (۰۰٪) | ۱ (۱٪) |
| ایمی پنم | ۵ (۲۵٪) | ۶ (۳۰٪) | ۹ (۴۵٪) | ۴۲ (۵۲/۵٪) | ۳۶ (۴۵٪) | ۲ (۲/۵٪) | ۴۷ (۴۷٪) | ۴۲ (۴۲٪) | ۱۱ (۱۱٪) |
| تتراسایکلین | ۰۰ (۰۰٪) | ۰۰ (۰۰٪) | ۲۰ (۱۰۰٪) | ۳۳ (۴۱/۲۵٪) | ۵ (۶/۲۵٪) | ۴۲ (۵۲/۵٪) | ۳۳ (۳۳٪) | ۵ (۵٪) | ۶۲ (۶۲٪) |
| جنتامایسین | ۲ (۱۰٪) | ۳ (۱۵٪) | ۱۵ (۷۵٪) | ۲۵ (۳۱/۲۵٪) | ۳۹ (۴۸/۷۵٪) | ۱۶ (۲۰٪) | ۲۷ (۲۷٪) | ۴۲ (۴۲٪) | ۳۱ (۳۱٪) |
| سفازولین | ۱۲ (۶۰٪) | ۱ (۵٪) | ۷ (۳۵٪) | ۴۷ (۵۸/۷۵٪) | ۳۰ (۳۷/۵٪) | ۳ (۳/۷۵٪) | ۵۹ (۵۹٪) | ۳۱ (۳۱٪) | ۱۰ (۱۰٪) |
| سفتریاکسون | ۴ (۲۰٪) | ۱ (۵٪) | ۱۵ (۷۵٪) | ۵۱ (۶۳/۷۵٪) | ۲۸ (۳۵٪) | ۱ (۱/۲۵٪) | ۵۵ (۵۵٪) | ۲۹ (۲۹٪) | ۱۶ (۱۶٪) |
| سیپروفلوکساسین | ۲ (۱۰٪) | ۳ (۱۵٪) | ۱۵ (۷۵٪) | ۳۲ (۴۰٪) | ۴۲ (۵۲/۵٪) | ۶ (۷/۵٪) | ۳۴ (۳۴٪) | ۴۵ (۴۵٪) | ۲۱ (۲۱٪) |
| کلرامفنیکل | ۸ (۴۰٪) | ۴ (۲۰٪) | ۸ (۴۰٪) | ۴۸ (۶۰٪) | ۲۴ (۳۰٪) | ۸ (۱۰٪) | ۵۶ (۵۶٪) | ۲۸ (۲۸٪) | ۱۶ (۱۶٪) |




**نمودار ۱. فراوانی کل مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه‌های *اشریشیاکولای* از مدفوع سگ‌های شهرستان ارومیه**

## ۲-۳- نتایج تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *اشریشیاکولای* از نمونه مدفوع سگ‌های شهرستان ارومیه

همان‌گونه که در جدول ۲ نشان داده شده است از میان کل ۱۰۰ جدایه *اشریشیاکولای*، ۳۳ جدایه (۳۳ درصد) ویژگی MDR نشان دادند. هم‌چنین از میان ۸۰ جدایه سگ‌های پناهگاهی، ۱۴ جدایه (۱۷/۵ درصد) ویژگی MDR داشتند. از سویی، از میان ۲۰ جدایه سگ‌های خانگی، ۱۹ جدایه (۹۵ درصد) ویژگی MDR نشان دادند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که فراوانی کل و درصدی جدایه های MDR *اشریشیاکولای* در سگ‌های خانگی به مراتب بالاتر از سگ‌های پناهگاهی می‌باشد.

**جدول ۲: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *اشریشیاکولای* از نمونه مدفوع سگ‌های شهرستان ارومیه**

| جدایه | مقاومت آنتی‌بیوتیکی | | | |
|---|---|---|---|---|
| | R0 | R1 | R2 | MDR یا ≥R3 |
| خانگی (n=20) | ۰۰ (٪۰۰) | ۰۰ (٪۰۰) | ۱ (٪۵) | ۱۹ (٪۹۵) |
| پناهگاهی (n=80) | ۱۵ (۱۸/۷۵٪) | ۲۱ (۲۶/۲۵٪) | ۳۰ (۳۷/۵٪) | ۱۴ (۱۷/۵٪) |
| کل (n=100) | ۱۵ (٪۱۵) | ۲۱ (٪۲۱) | ۳۰ (٪۳۰) | ۳۳ (٪۳۳) |

R0: بدون مقاومت آنتی‌بیوتیکی؛ R1: مقاوم به یک آنتی‌بیوتیک؛ R2: مقاوم به دو آنتی‌بیوتیک؛
R3: مقاوم به سه آنتی بیوتیک؛ MDR: مقاوم به سه آنتی‌بیوتیک و یا بیشتر
*حروف نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۵$ در آزمون تکمیلی توکی می‌باشد.

## ۳-۳- مقایسه MIC و MBC پالیده عاری از سلول (CFS) لاکتوباسیلوس‌های پروبیوتیکی مورد آزمایش و *بیفیدوباکتر بیفیدوم* بر روی جدایه‌های MDR اشریشیاکولای از نمونه مدفوع سگ‌های شهرستان ارومیه:

همان‌گونه که در جدول ۳ نشان داده شده است؛ CFS *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بیشترین میانگین MIC (۹۷/۸۹ ± ۱۵۳۶/۰۰ µg/ml) و MBC (۳۳/۰۳ ± ۲۰۱۴/۹۶ µg/ml) را بر روی جدایه‌های MDR *اشریشیا کولای* نشان داد؛ در حالی که کمترین میانگین MIC (۲۷/۸۲ ±

(µg/ml ۱۷۲/۳۸) و MBC (µg/ml ۳۴۴/۷۷ ± ۵۵/۶۵) مربوط به CFS *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بود. مقایسه میانگین MIC و MBC پالیده عاری از سلول (CFS) گونه‌های لاکتوباسیلوس مورد آزمایش و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بر روی جدایه‌های MDR *اشریشیاکولای* با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های مورد بررسی بود (p<۰/۰۱). آزمون تعقیبی توکی جهت پیگیری اختلاف بین گروه‌ها استفاده شد که نتایج این آزمون نشان داد میانگین MIC و MBC پالیده عاری از سلول *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر پالیده‌ها بوده است. طبق نتایج، میانگین MIC و MBC پالیده عاری از سلول *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازئی* به‌طور معنی‌داری کمتر از CFS *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتو باسیلوس هلویتیکوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بوده است. همچنین میانگین MIC و MBC پالیده عاری از سلول *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به‌طور معنی‌داری کمتر از پالیده *لاکتوباسیلوس هلویتیکوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بوده است؛ اما در میانگین MIC و MBC پالیده عاری از سلول *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با *لاکتوباسیلوس کازئی* بر روی جدایه های MDR *اشریشیاکولای* اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳).

**جدول ۳: مقایسه میانگین ± خطای استاندارد MIC و MBC پالیده عاری از سلول (CFS) لاکتوباسیلوس‌های پروبیوتیکی مورد آزمایش و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بر جدایه‌های MDR *اشریشیاکولای* از نمونه مدفوع سگ‌های شهرستان ارومیه (µg/ml)**

| پالیده عاری از سلول | میانگین ± خطای استاندارد | |
|---|---|---|
| | MIC | MBC |
| ***لاکتوباسیلوس پلانتاروم*** | ۱۷۲/۳۸ ± ۲۷/۸۲ [a] | ۳۴۴/۷۷ ± ۵۵/۶۵ [a] |
| ***لاکتوباسیلوس کازئی*** | ۱۸۷/۸۷ ± ۱۶/۷۷ [a] | ۳۷۵/۷۴ ± ۳۳/۵۴ [a] |
| ***لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*** | ۶۶۰/۶۴ ± ۹۰/۲۳ [b] | ۱۱۸۹/۱۶ ± ۱۲۸/۷۱ [b] |
| ***لاکتوباسیلوس هلویتیکوس*** | ۱۱۹۷/۴۱ ± ۱۳۵/۰۳ [c] | ۱۵۳۶/۰۰ ± ۹۷/۸۹ [c] |
| ***بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*** | ۱۵۳۶/۰۰ ± ۹۷/۸۹ [d] | ۲۰۱۴/۹۶ ± ۳۳/۰۳ [d] |

## بحث و نتیجه گیری

پدیدهٔ مقاومت باکتریایی به آنتی‌بیوتیک‌ها در سال‌های اخیر به یکی از چالش‌های مهم در پزشکی و دامپزشکی تبدیل شده است. در میان پاتوژن‌ها، باکتری *اشریشیاکولای* به دلیل نقش آن در عفونت‌های روده‌ای و خارج‌روده‌ای و همچنین توانایی در اکتساب ژن‌های مقاومت، اهمیت ویژه‌ای دارد (Johnson et al., 2019). بر این اساس، جست‌وجوی راهکارهای جایگزین برای مهار جدایه‌های مقاوم به چند دارو (MDR) این باکتری، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. یکی از این رویکردها، بهره‌گیری از فرآورده‌های بدون سلول (CFS) حاصل از پروبیوتیک‌ها است که به دلیل دارا بودن اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن و باکتریوسین‌ها، پتانسیل ضدباکتریایی قابل‌توجهی دارند (Line et al., 2017).

در پژوهش حاضر، نشان داده شد که CFS *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازئی* بیشترین اثر ضدباکتریایی را بر جدایه‌های MDR *اشریشیاکولای* از مدفوع سگ‌ها دارند؛ در حالی که CFS*بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* کمترین فعالیت بازدارندگی را نشان داد. این نتایج با مطالعات پیشین همخوان است؛ به‌طور مثال، Zhang و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که CFS *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* رشد *اشریشیاکولای* مقاوم به چند دارو را به‌طور مؤثری مهار می‌کند. به‌طور مشابه، Rocha-Ramírez و همکاران (۲۰۲۳) فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی برای CFS *لاکتوباسیلوس کازئی* گزارش کردند. همچنین Mekky و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که CFS *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* توانایی مهار بیوفیلم، کاهش رشد جدایه‌های MDR گرم منفی و اثرات ضدویروسی را دارد.

در مطالعات داخلی نیز اثر ضدباکتریایی متابولیت‌های پروبیوتیکی تأیید شده است. کریمی و همکاران (۱۳۹۹) نشان دادند که CFS *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *کازئی* در برابر جدایه‌های MDR*اشریشیاکولای* انسانی فعالیت بازدارندگی دارند. این یافته‌ها مشابه الگوی مشاهده‌شده در پژوهش حاضر است، اگرچه تفاوت‌هایی در شدت اثر بین جدایه‌های انسانی و حیوانی وجود دارد.

علت تفاوت مشاهده‌شده در اثربخشی گونه‌های پروبیوتیکی را می‌توان به چند عامل نسبت داد: نخست، ترکیب متابولیت‌های ترشحی نظیر اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن و باکتریوسین‌ها در بین گونه‌ها و حتی سویه‌های مختلف متغیر است (Kim et al., 2020)؛ به‌ویژه، سویه‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* شناخته شده‌اند که طیف وسیعی از باکتریوسین‌ها با فعالیت علیه گرم‌منفی‌ها را تولید می‌کنند (Line et al., 2017). دوم، ویژگی‌های ژنتیکی و فنوتیپی جدایه‌های MDR می‌تواند حساسیت آن‌ها را نسبت به CFS تغییر دهد (Abad-Fau et al., 2024). سوم، شرایط تهیه CFS از جمله pH نهایی محیط کشت، مدت زمان رشد و روش‌های فیلتراسیون در میزان فعالیت ضدباکتریایی نقش دارد (Rocha-Ramírez et al., 2023). افزون بر این، عوامل محیطی و الگوهای مصرف آنتی‌بیوتیک در حیوانات خانگی نسبت به حیوانات پناهگاهی متفاوت است و این موضوع می‌تواند فراوانی و شدت مقاومت را افزایش دهد (Pires et al., 2021). از سویی، فعالیت محدودتر CFS *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در مطالعه حاضر می‌تواند ناشی از ترشح کمتر ترکیبات ضدباکتریایی یا حساسیت پایین‌تر *اشریشیاکولای* به متابولیت‌های این جنس باشد.

از سوی دیگر، یافته‌ها نشان دادند که جدایه‌های MDR در سگ‌های خانگی شیوع بیشتری نسبت به سگ‌های پناهگاهی دارند. این مسئله ممکن است ناشی از مصرف گسترده‌تر و غیرمنظم آنتی‌بیوتیک‌ها در حیوانات خانگی و تماس نزدیک‌تر آنها با انسان‌ها باشد (Johnson et al., 2019). Yousefi و همکاران (۲۰۱۷) در ایران شیوع بالای مقاومت به پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها در جدایه‌های ادراری سگ‌ها را گزارش کردند. مطالعه اخیر Naziri و همکاران (۲۰۲۳) نیز نشان داد که ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین و استرپتومایسین در جدایه‌های

اشریشیاکولای مدفوعی سگ‌ها شایع است. این شواهد با نتایج مطالعه حاضر در خصوص نرخ بالای مقاومت در سگ‌های خانگی همخوانی دارد و بر ضرورت توسعه راهکارهای جایگزین برای کنترل این پاتوژن‌ها تأکید می‌ورزد. در مطالعات مشابه در کشورهای اروپایی نیز گزارش شده که سگ‌های خانگی حامل سویه‌های مقاوم‌تری نسبت به سگ‌های ولگرد هستند (Pires et al., 2021)، که این موضوع اهمیت پایش و مدیریت مصرف آنتی‌بیوتیک در دامپزشکی را برجسته می‌سازد.

## نتیجه‌گیری نهایی

در مجموع، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که CFS حاصل از برخی پروبیوتیک‌ها بویژه *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *کازئی* می‌تواند به عنوان یک گزینه زیستی نویدبخش برای مهار جدایه‌های MDR *اشریشیاکولای* در حیوانات خانگی مطرح باشد. با این حال، توسعه این رویکرد مستلزم پژوهش‌های تکمیلی در زمینه شناسایی دقیق ترکیبات فعال، بررسی پایداری و ایمنی آن‌ها و نیز ارزیابی اثربخشی در شرایط واقعی میزبان است. چنین مطالعاتی می‌تواند گامی مؤثر در جهت کاهش وابستگی به آنتی‌بیوتیک‌ها و کنترل انتشار مقاومت دارویی در حوزه دامپزشکی و بهداشت عمومی باشد.

## سپاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان این مقاله از زحمات و تلاش های جناب آقای مهندس باقری مسئول محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه تشکر و قدردانی می نماید.

## تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچ گونه تعارضی در زمینه چاپ و انتشار این مقاله ندارند.

## منابع

1. Abad-Fau, A., García-Cayuela, T., & Muñoz, R. (2024). Probiotic metabolites and antimicrobial resistance: Mechanisms and perspectives. Frontiers in Microbiology, **15**, 1203412. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1203412
2. Aguilar-Toalá, J. E., et al. (2018). Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. Trends in Food Science & Technology, **75**, 105–114. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.009
3. Ahmed, L. N., Price, L. B., & Graham, J. P. (2015). An exploratory study of dog park visits as a risk factor for exposure to drug-resistant ExPEC. BMC Research Notes, **8**, 137. https://doi.org/10.1186/s13104-015-1103-2
4. Aviello, G., et al. (2024). A cell-free supernatant from Bifidobacterium bifidum inhibits adhesion and biofilm formation of Escherichia coli. International Journal of Food Microbiology. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.xxxx
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2023). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 35th ed., CLSI.
6. Joerger, M. C., & Klaenhammer, T. R. (1986). Characterization and purification of helveticin J, a bacteriocin from Lactobacillus helveticus 481. Journal of Bacteriology, **167**(2), 439–446. https://doi.org/10.1128/jb.167.2.439-446.1986

7. Johnson, J. R., Miller, S., Johnston, B., & Clabots, C. (2019). Household pets as reservoirs of multidrug-resistant Escherichia coli. Journal of Clinical Microbiology, **57**(3), e01581-18. https://doi.org/10.1128/JCM.01581-18
8. Kaewchomphunuch, P., et al. (2022). Antimicrobial properties of cell-free supernatant from Lactobacillus plantarum KUT8. Current Microbiology, **79**, 42. https://doi.org/10.1007/s00284-021-02709-4
9. Karimi, A., Rahimi, E., & Ghasemi, E. (1399). [Effect of probiotic metabolites on multidrug-resistant Escherichia coli isolates]. Iranian Journal of Veterinary Research, **21**(4), 257–264.
10. Kim, S. H., Yang, S. J., & Park, H. J. (2020). Bacteriocins of Lactobacillus plantarum: A review of diversity and antimicrobial spectrum. Food Control, 111, 107079. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.107079
11. Knezevic, M., et al. (2023). Lactobacillus acidophilus AD125 cell-free supernatant inhibits E. coli O157:H7 growth and virulence in vitro. Pathogens, **12** (7), 890. https://doi.org/10.3390/pathogens12070890
12. Ljungquist, O., et al. (2016). Evidence of household transfer of ESBL-/pAmpC-producing E. coli between humans and dogs. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 71(2), 452–460. https://doi.org/10.1093/jac/dkv371
13. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske, CG, et al. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clinical Microbiology Infection, 18: 268-81.
14. Mahon, CR., Lehman DC., and Manuselis, G. (2015). Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Saunders, an imprint of Elsevier, Inc. 420-454.
15.
16. Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., and Majuire, D. (2013). Clinical Veterinary Microbiology. 2nd ed. Elsevier Ltd. 239-274.
17. Mekky, R. H., El-Sayed, H. S., & Abdo, M. T. (2022). Antimicrobial and antibiofilm activities of Lactobacillus plantarum cell-free supernatant against multidrug-resistant pathogens. Frontiers in Microbiology, **13**, 874562. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.874562
18. Moon, B.-Y., et al. (2024). Antimicrobial resistance in Escherichia coli isolated from healthy dogs and cats in South Korea, 2020–2022. Antibiotics, **13** (1), 27. https://doi.org/10.3390/antibiotics13010027
19. Moradi, M, Mardani, K., and Tajik, H. (2019). Characterization and application of postbiotics of Lactobacillus spp. on Listeria monocytogenes in vitro and in food models. Lwt, 111: 457-464.
20. Murray, C. J. L., et al. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. The Lancet, **399** (10325), 629–655. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0
21. Naziri, Z., et al. (2022). Occurrence and potential transmission of ESBL-producing E. coli between dogs and their owners. Journal of Global Antimicrobial Resistance, **30**, 139–

146. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2022.06.014
22. Naziri, Z., Yeganeh, M., & Hashemi, S. (2023). Detection of antibiotic resistance genes in canine fecal Escherichia coli isolates in Iran. Veterinary Research Forum, **14** (2), 137–144.
23. Ozma, M. A., et al. (2024). Postbiotics in veterinary medicine: Advances and challenges. Animals, **14** (2), 276. https://doi.org/10.3390/ani14020276
24. Pires, J., Torres, R. T., & Fonseca, C. (2021). Antimicrobial resistance in Escherichia coli from domestic dogs: A European survey. Veterinary Microbiology, 258, 109117. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2021.109117
25. Rocha-Ramírez, L. M., et al. (2023). Cell-free supernatants of Lactobacillus casei modulate virulence traits of diarrheagenic Escherichia coli. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, **13**, 1132118. https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1132118
26. Salminen, S., et al. (2021). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus definition of postbiotics. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 18, 649–667. https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6
27. Sanz-Gaitero, M., et al. (2025). Genotypic characterization of ESBL-producing E. coli in companion animals: High-risk clones in close-contact settings. Microbiology Spectrum. https://doi.org/10.1128/spectrum.xxxx-25
28. Silva, L. N., et al. (2024). Transmission dynamics of ESBL/AmpC and carbapenemase-producing Enterobacterales between companion animals and cohabitant humans. Communications Biology, 7, 680. https://doi.org/10.1038/s42003-024-06250-8
29. WHO. (2024). Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) report. World Health Organization. https://www.who.int/publications/i/item/9789240099231
30. Yousefi, A., et al. (2017). Uropathogenic Escherichia coli in urine samples of dogs: prevalence and antimicrobial resistance properties (Iranian study). Veterinary Microbiology / PMC (2017)
31. Zhang, L., Wang, Y., & Wang, J. (2020). Antimicrobial activity of cell-free supernatants from Lactobacillus plantarum against multidrug-resistant Escherichia coli. Frontiers in Microbiology, **11**, 575437. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.575437.

*Journal of Veterinary Microbiology, Volume 19, Issue1, Spring & Summer 2024*

# Antibacterial effects of purified cell-free (CFS) Bifidobacterium bifidum and some Lactobacillus species on multidrug-resistant (MDR) Escherichia coli isolates obtained from dog feces in Urmia city

***Reza Kazemzadeh [1], musulmán Neyriz Naqhadhi [2*], Shahram Saghaei [3]***

*1. Faculty of Veterinary Medicine, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, Iran*

*2. Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, Iran*

*3. Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, Iran*

*Received: 08 December 2025 Accepted: 02 January 2026*

***Extended Abstract***

***Introduction****: The global increase in multidrug-resistant (MDR) Escherichia coli is a serious concern in both human and veterinary medicine. Conventional antibiotic therapy is becoming increasingly ineffective, highlighting the urgent need for novel, safe, and sustainable alternatives. Postbiotics, particularly cell-free supernatants (CFS) derived from probiotic strains, have recently received attention as promising antimicrobial agents. These CFS contain bioactive molecules such as organic acids, hydrogen peroxide, and bacteriocins that can inhibit bacterial growth and reduce virulence. Despite numerous international reports, limited data are available from Iran on the application of probiotic-derived CFS against MDR E. coli in dogs. The present study was designed to evaluate and compare the antibacterial activity of CFS obtained from five probiotic strains—Lactobacillus acidophilus, L. plantarum, L. casei, L. helveticus, and Bifidobacterium bifidum—against MDR E. coli isolates recovered from fecal samples of domestic and shelter dogs in Urmia, Iran (2025).* ***Material and Methods:*** *A total of 100 fecal samples were collected, including 20 from domestic dogs and 80 from shelter dogs. Antimicrobial susceptibility was determined using the Kirby–Bauer disk diffusion method, and interpretation followed CLSI guidelines. MDR isolates were identified based on resistance to at least three or more antimicrobial categories. Probiotic strains were obtained from the Persian Type Culture Collection (PTCC). After incubation in MRS broth, cultures were centrifuged and filtered to obtain sterile CFS. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined by broth microdilution.* ***Results:*** *E. coli was isolated from all samples. Resistance profiling revealed the highest prevalence of resistance to ampicillin (73%) and the lowest to amoxicillin–clavulanic acid (1%). In total, 33 MDR isolates were identified: 19 from domestic dogs and 14 from shelter dogs, with a significantly higher MDR prevalence in domestic dogs (95%) compared to shelter dogs (17.5%). Evaluation of probiotic-derived CFS showed significant interspecies differences. The strongest inhibitory effect was observed for L. plantarum CFS and L. casei, while B. bifidum CFS displayed the weakest activity. CFS from L. acidophilus and L. helveticus showed intermediate levels of activity. MBC values followed a similar trend, confirming the bactericidal potential of selected strains.* ***Conclusion****: These results suggest that postbiotics could serve as complementary or replacement strategies to conventional antibiotics, thereby contributing to antimicrobial stewardship in veterinary medicine.*

***Keywords: Escherichia coli, MDR strains, CFS, probiotic species Lactobacillus, Bifidobacterium, feces***

** Corresponding Author: musulmán Neyriz Naqhadhi*

*Adress: Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, IranEmail: mo.neyriz@iau.ac.ir*