Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 34, No. 3, Autumn 2024 ORIGINAL ARTICLE

Anti-biofilm effects of bacteriocin-like compounds produced by *Bacillus subtilis* SP1 isolated from Sablan honey

Maryam Khalili Samani[1], Zahra Noormohammadi[2], Mohammad Reza Fazeli[3], Nasrin Samadi[4]
[1] PhD in Microbiology, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Professor of Genetics, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[3] Professor of Microbiology, Department of Drug and Food Control, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[4] Associate Professor of Pharmaceutics, Department of Drug and Food Control, Faculty of Pharmacy; and Pharmaceutical Quality Assurance Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-06-21]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.3.6]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.237]

Abstract

Background: Biofilms are communities of microorganisms which are difficult and complicated to treat with antimicrobial agents. Therefore, there is a need to use new compounds to treat these types of resistant microorganisms. This study was done with the aim of finding an effective compound for inhibition of biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Streptococcus mutans*, and *Staphylococcus aureus*.
Materials and methods: The effect of bacteriocin-like compounds produced by *B .subtilis* SP1 isolated from Sablan native honey on the biofilm of four bacterial strains including *E .coli*, *P. aeruginosa*, *St. mutans* and *S. aureus* was investigated by using 96-well microtiter plate and crystal violet staining.
Results: The percentage of anti-biofilm effect against *S. mutans* and *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa* at 80 µg/ml of bacteriocin like compounds were about 80, 62, 50, and 15 percent, respectively. The antibiofilm effect was concentration dependent and reduced at lower concentrations of bacteriocin like compounds.
Conclusion: The highest percentage of anti-biofilm effect of bacteriocin like compounds was observed against *S. mutans* and the lowest percentage of inhibition was against *P. aeruginosa*.
Keywords: *Biofilm, Bacillus subtilis, Bacteriocin.*

Cited as: Khalili Samani M, Noormohammadi Z, Fazeli MR, Samadi N. Anti-biofilm effects of bacteriocin-like compounds produced by *Bacillus subtilis* SP1 isolated from Sablan honeMedical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2024; 34(3): **237-244.**

Correspondence to: Nasrin Samadi
Tel: *+98 2164122154*
E-mail: samadin@tums.ac.ir
ORCID ID: 0000-0001-6036-6272

Received: 3 Dec 2023; **Accepted:** 13 Mar 2024

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۴، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، صفحات ۲۳۷ تا ۲۴۴

Original Article

بررسی اثر ضد بیوفیلمی ترکیبات شبه باکتریوسینی تولید شده توسط باسیلوس سوبتیلیس SP1 جدا شده از عسل سبلان

مریم خلیلی سامانی[۱]، زهرا نورمحمدی[۲]، محمد رضا فاضلی[۳]، نسرین صمدی[۴]

[۱] دکتری میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی ،دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم وتحقیقات، تهران، ایران
[۲] استادِ ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم وتحقیقات، تهران، ایران
[۳]استاد میکروبیولوژی، گروه کنترل دارو وغذا، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
[۴] دانشیار فارماسیوتیکس، گروه کنترل دارو وغذا، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات تضمین کیفیت دارو، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *فرایند درمان عفونت‌های ناشی ازباکتری‌های مولد بیوفیلم سخت وپیچیده است و نیاز به استفاده ازترکیباتی جدید برای درمان این نوع عفونت‌ها وجود دارد. این پژوهش با هدف بررسی ترکیبی موثر برای مهار بیوفیلم باکتری های سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیاکلای، استرپتوکوکوس موتانس و استافیلوکوکوس اورئوس انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه اثر غلظت‌های مختلف ترکیبات شبه باکتریوسینی تولید شده توسط باسیلوس سوبتیلیس SP1 جدا شده از عسل سبلان جهت مهار بیوفیلم حاصل از باکتری های سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیاکلای، استرپتوکوکوس موتانس و استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از میکروپلیت ۹۶ خانه و رنگ آمیزی با کریستال ویوله بررسی شد.*

یافته‌ها: *درصد خاصیت ضد بیوفیلمی این ترکیبات در برابر S. mutans ،S. aureus ، E. coli و P. aeruginosa در غلظت ۸۰ µg/ml به ترتیب معادل ۸۰، ۶۲، ۵۰ و ۱۵ بود . این درصد برای S. mutans در غلظت ۰/۰۰۹ µg/ml به ۲٪ و برای S. aureus درغلظت ۰/۱۵۶ µg/ml به ۵٪ رسید. برای E. coli و P. aeruginosa در همین غلظت به ترتیب به ۲٪ و ۱٪ کاهش یافت.*

نتیجه‌گیری: *بیشترین درصد خاصیت ضد بیوفیلمی دربرابر S. mutans وکمترین درصد در برابر P. aeruginosa مشاهده شد.*

واژگان کلیدی: *بیوفیلم، باسیلوس سوبتی لیس، باکتریوسین.*

مقدمه

بیوفیلم‌ها ساختارهای پیچیده‌ای هستند که توسط میکروارگانیسم‌های مختلف بر روی انواع سطوح از جمله بافتهای زنده، دستگاه های پزشکی، لوله کشی های آب آشامیدنی و... قابلیت تشکیل دارند. لازم به ذکر است که میکروارگانیسم های تشکیل دهنده بیوفیلم متنوع و شامل انواع بیماری‌زا وغیر بیماری‌زا هستند. عوامل بیماریزا می‌توانند عامل ایجاد کننده بیماری های مزمن ویا آزاد کننده مواد مضر وسموم باشند (۱). از جمله عفونت‌های به وجودآمده توسط بیوفیلم‌ها می‌توان به عفونت‌های واژن، دستگاه ادراری، گوش میانی و پلاک دندان اشاره کرد (۲).

تشکیل بیوفیلم در چند مرحله صورت می گیرد: ۱- اتصال اولیه که در عرض چند ثانیه وتوسط نیروهای واندروالس صورت می‌گیرد و برگشت پذیر است. پیلی و ملکول‌های چسبنده در این اتصال نقش دارند . ۲- مرحله اتصال غیر قابل برگشت که حرکت سلول ها کم شده وتجمع باکتری‌ها وتولید اگزوپلی ساکارید خارجی رخ می‌دهد. ۳- افزایش ضخامت ساختار بیوفیلم تا ۱۰ میلی متر توام با اتصال وتجمع باکتریها (دراین مرحله تشکیل بیوفیلم کامل شده است). ۴- در آخرین

آدرس نویسنده مسئول: ، تهران، گروه کنترل دارو وغذا، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات تضمین کیفیت دارو ، دانشگاه علوم پزشکی تهران، نسرین صمدی (**email**: samadin@tums.ac.ir)
ORCID ID: 0000-0001-6036-6272
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۹/۱۲
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۲/۲۲

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-06-21]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.3.6]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.237]

مرحله تولید سلول‌های دختر وجدا شدن آنها از ساختار بیوفیلم رخ می‌دهد (مرحله حرکت موقت).

میکرو ارگانیسم‌های موجود در بیوفیلم به سطوح چسبیده و در بین آنها تقسیم کار صورت می‌گیرد و قابلیت متابولیکی جامعه سلولی در سطح مطلوبی افزایش می‌یابد. در ادامه می‌توان گفت کلونیزاسیون راحت‌تر صورت می‌گیرد و این ساختار در برابر جریان خون و ادرار و... پابرجا باقی مانده و باکتری‌های بیوفیلم از دسترس سیستم ایمنی بیمار، مانند فاگوسیتوز در امان می‌مانند وبه دنبال آن افزایش ویرولانس رخ می‌دهد (۳). ساختار بیوفیلم، باکتری را در برابر تنش‌های محیطی حفاظت می‌کند، به گونه‌ای که سبب می‌گردد تا ترکیبات ضدمیکروبی متداول، تأثیر معنی‌داری بر روی آنها نداشته باشند (۴). اصولاً باکتری‌ها با تشکیل بیوفیلم می‌توانند در برابر عوامل ضد میکروبی سیستم ایمنی میزبان مقاومت کنند وشرایط فیزیکی وشیمیایی مناسب برای رشد خود را ایجاد کنند و این امر مقاومت بیوفیلم‌ها را در شرایط نامساعد را افزایش می‌دهد. در ضمن روابط همیاری بین باکتری‌ها و بیوفیلم در مقاومت آنها در مقابل شرایط نامساعد مؤثراست (۲).

اشرشیا کلی شایع‌ترین ومهم‌ترین جنس در خانواده انتروباکتریاسه است که در پزشکی اهمیت دارد. این باکتری قابلیت تشکیل بیوفیلم را دارد. باکتری بی هوازی اختیاری و بخشی از فلور روده در انسان وحیوانات خونگرم است. برخی از سویه‌های این باکتری سبب ایجاد بیماری‌هایی مانند پنومونی، گاستروانتریت، عفونت‌های ادراری تناسلی و سپتی سمی می‌شوند (۵).

سودوموناس آئروژینوزا، باسیل گرم منفی وهوازی اجباری است و به راحتی بر روی انواع مختلفی از محیط‌های کشت رشد می‌کند. برخی از سویه‌های این باکتری خون را همولیز می‌کنند. سودوموناس آئروژینوزا کلنی‌هایی صاف وگرد همراه با فلورسانس سبز ایجاد می‌کنند. این باکتری به شکل گسترده‌ای در طبیعت پراکنده شده و به طور معمول در محیط‌های مرطوب بیمارستانی یافت می‌شود. بیوفیلم‌های ایجاد شده توسط اشرشیاکلای وسودوموناس آئروژینوزا مشکلات شدیدی در بیماران مبتلا به سیستیک فیبروزیس ایجاد می‌کنند (۶).

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل اصلی مولد عفونت‌های بیمارستانی، به خصوص بیماری‌هایی از قبیل پنومونی وعفونت جریان خون بوده وهم چنین به عنوان یک عامل ایجاد کننده عفونت‌های اکتسابی جامعه مطرح است (۵). یکی از عوامل موثر در بیماری‌زایی این باکتری تشکیل بیوفیلم است. محققین نشان داده‌اند که مرحله اول در عفونت‌زایی استافیلوکوکوس اورئوس اتصال این باکتری به سطوحی از قبیل ابزارهای پزشکی، بافت‌های میزبان و غیره است که به ترکیبی از عوامل خارج سلولی مانند توانایی اتصال وتشکیل بیوفیلم نسبت داده می‌شود (۷).

استرپتوکوک موتانس دسته‌ای از استرپتوکوک‌ها هستند که در رده باکتریهای اسیدوژنیک قرار می‌گیرند (۲). حضور آنها در محیط دهان به وجود دندان‌ها وابسته است، به طوری که بعد از درآمدن دندان‌های پیشین و همراه با رویش دندان‌های مولر از دهان شیرخواران قابل جداسازی است. بنابراین تثبیت اولیه آن طی ۴-۱ سال اولیه زندگی رخ می‌دهد که منشا آن نیز معمولا بزاق مادر است (۸).

بیوفیلم‌ها با عوامل ضد باکتریایی مثل ضدعفونی کننده‌ها، حرارت و خشک کردن ازبین نمی‌روند و بر روی سطح باقی می‌مانند، و به خصوص در بیمارستان‌ها سبب آلودگی و انتقال بیماری‌های عفونی می‌گردند و به طور فیزیکی از باکتری‌ها در برابر سیستم ایمنی میزبان و آنتی بیوتیک‌ها محافظت می‌کنند؛ این پدیده یکی از علل عود بیماری های عفونی می باشد (۹). با توجه به اهمیت بیوفیلم، پژوهش جهت یافتن یک روش ساده وموثر برای کنترل آنها می‌تواند بسیار مفید و کاربردی باشد. یکی از مواد بیولوژیک دارای خاصیت ضد بیوفیلمی، باکتریوسین‌ها وترکیبات شبه باکتریو سینی هستند (۱۰). این عوامل ضد میکروبی طبیعی توسط باکتری‌های گرم مثبت وگرم منفی سنتز می‌شوند. این ماکرو ملکول‌های پروتئینی یا پپتیدی خارج سلولی توسط گونه‌های مختلف باکتری تولید می‌شوند وتاثیرات کشندگی روی باکتری‌های مشابه یا نزدیک دارند. این ترکیبات در مقابل حرارت، pH پایین، حلال های آلی ضعیف، سرما، نمک‌ها و آنزیم‌ها مقاوم هستند. باکتریوسین‌ها بر خلاف آنتی بیوتیک‌ها متابولیت اولیه هستند و mRNA رونویسی شده از ژن آنها در ریبوزوم‌های باکتری به پروتئین ترجمه می‌شود (۱۱). این مواد بر خلاف آنتی بیوتیک‌ها که اغلب وسیع الطیف هستند، طیف اثر محدودی دارند. باکتریوسین‌ها با ایجاد منفذ وگاهی ایجاد اختلال در سنتز دیواره سلولی رشد باکتری‌های هدف را مهار می‌کنند، اما آنتی بیوتیک‌ها بر روی عملکرد غشا، دیواره سلولی، ارگانلهای درون سلولی و یا ژنوم باکتریایی اثر می‌کنند (۱۲). باکتری‌های تولید کننده باکتریوسین‌ها به طور معمول در محیط زندگی ما وبدن موجودات زنده وجود درند و این مواد را تولید می‌کنند که سمیتی برای بدن انسان ندارند، اما آنتی بیوتیک‌ها تنها برای درمان ویا پیش گیری از بیماری‌ها استفاده می‌شوند و می‌توانند موجب سمیت شوند (۱۳).

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-06-21]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.3.6]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.237]

در این مطالعه، اثر مهاری ترکیبات شبه باکتریوسینی مشتق شده از باکتری باسیلوس سوبتیلیس ایزوله شده از عسل بومی منطقه سبلان ایران بر روی بیوفیلم باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیاکلای و استرپتوکوکوس موتانس و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد.

مواد و روشها

تولید ترکیبات شبه باکتریوسین

برای تولید این ترکیبات از باکتری باسیلوس سوبتیلیس SP1 که از عسل بومی سبلان ایزوله شده است، استفاده شد. این باکتری در پایگاه NCBI با کد MN055979 ثبت شده است. ترکیبات شبه باکتریوسینی تولید شده توسط این باکتری، مقاوم به دما و سوپرناتانت آن دارای pH خنثی است. این باکتری که به صورت ذخیره در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد درگروه کنترل دارو و غذای دانشکده دارو سازی دانشگاه علوم پزشکی تهران نگهداری می‌شود، بر روی پلیت (Brain heart infusion agar)BHI آگار کشت داده شد. در مرحله بعد این کشت ۲۴ ساعته به ۵۰ میلی لیتر محیط کشت BHI Broth منتقل شد. بعد از ۱۹ ساعت، یک میلی لیتر از این محیط مایع که دارای جذب نوری معادل ۱/۵-۱/۳ در طول موج ۶۰۰ نانومتر بود، به ۱۰۰ میلی لیتر محیط BHI براث منتقل و در انکوباتور شیکر دار به مدت ۲۳ ساعت قرار داده شد. محیط کشت حاوی باکتری تولید کننده باکتریوسین، بعد از ۲۳ ساعت با استفاده از سانتریفیوژ یخچال دار به مدت ۱۵ دقیقه در دور g ×5000 سانتریفیوژ شد. مایع رویی (سوپرناتانت) جدا شد وجهت جلوگیری ازهرگونه آلودگی احتمالی با استفاده از فیلتر میلی پور ۰/۲۲ میکرومتر فیلتر شد. در مرحله بعد به علت اینکه pH سوپرناتانت در محدوده خنثی بود، نیازی به تنظیم pH در این محدوده نبود (۱۴).

خنثی کردن سوپرناتانت باآنزیم کاتالاز

با توجه به اینکه این باکتری کاتالاز مثبت است، جهت اطمینان از عدم حضور پراکسید هیدروژن، مایع رویی تحت تیمار با آنزیم کاتالاز قرار گرفت. بدین ترتیب که ۱mg/ml از آنزیم به حجم مشخص از مایع رویی حاوی ترکیبات شبه باکتریوسینی افزوده شد و بعد از ۵ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، اثر ضد میکروبی پراکسید هیدروژن خنثی شد (۱۵).

حضورترکیبات شبه باکتریوسین

برای بررسی ارتباط اثر ضد میکروبی مایع رویی جدا شده به حضور ترکیبات شبه باکتریوسین، باید ماهیت پپتیدی این عوامل ضد میکروبی اثبات شود. برای نیل به این هدف اثر آنزیم‌های پروتئولیتیک شامل پروتئیناز K، تریپسین وپپسین بر فعالیت ضدمیکروبی مایع رویی جدا شده بررسی شد.

محلول آنزیم های پروتئیناز K وتریپسین در بافر فسفات ۰/۱۴ مولار (pH 7) و آنزیم پپسین در اسید هیدروکلریک ۰/۰۲۵ مولار (pH 2) تهیه شد. محلول آنزیم‌های تهیه شده به مایع رویی جدا شده از باکتری‌ها به صورت جداگانه افزوده شد، درنهایت غلظت آنزیم معادل ۱ میلی گرم در میلی لیتر بود. نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و سپس جهت غیر فعال سازی آنزیم‌ها ۳ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند . اثر ضد میکروبی آنها با استفاده از روش AWDA(Agar well diffusion assay) با استفاده از محیط مولرهینتون آگار و در مقابل باکتری *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 تعیین شد. بافر فسفات و اسید هیدروکلریک به عنوان شاهد دراین روش به کار رفتند (۱۶).

تعیین غلظت

از روش براد فورد برای تعیین غلظت ترکیبات شبه باکتریوسین با استفاده از اسپکتروفتومتر استفاده شد. آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان استاندارد استفاده شد. محلول ذخیره BSA با حل کردن ۱ میلی گرم BSA در ۱ میلی لیتر آب مقطر تهیه شد. غلظت های متفاوتی ازBSA برای منحنی استاندارد، تهیه شد. از آب مقطر به عنوان بلانک استفاده شد. جذب نوری در ۵۹۵ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد رسم شده برای BSA، غلظت ترکیبات شبه باکتریوسینی بدست آمد. در این مرحله از محیط کشت BHI براث به عنوان بلانک استفاده شد. علت این امر تولید این ترکیبات شبه باکتریوسین در این محیط کشت بود (۱۷).

اثر ضد بیوفیلمی ترکیبات شبه باکتریوسین به روش میکروتیتر پلیت

برای این منظور از ۴ سویه باکتریایی *Streptococcus mutans* ATCC 5668، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027، *Staphylococcus aureus* ATCC 6538، *Escherichia coli* ATCC 8739 استفاده شد. باکتری های یاد شده تا رسیدن به غلظت نیم مک فارلند در محیط کشت کازوبراث کشت داده شدند و سپس جهت رسیدن به غلظت معادل 1.8×10^{6} CFU/ml با محیط کشت مناسب برای تشکیل بیوفیلم رقیق شدند.

برای تشکیل بیوفیلم *P. aeruginosa* و *E. coli* از محیط کشت M63و برای *S. mutans* محیط کشت BHI با ۲ درصد (w/v) سوکروز و برای *S. aureus* محیط کشت TSB با ۰/۲۵ درصد (w/v) گلوکز استفاده شد.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-06-21]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.3.6]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.237]

۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی در داخل هر چاهک پلیت ۹۶ خانه ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شد. بعد از این مرحله باکتری‌هایی که به دیواره میکروپلیت اتصال پیدا نکرده بودند خالی و محیط کشت تازه حاوی رقت های مختلف ترکیبات شبه باکتریوسینی اضافه و دوباره به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد. بعد از ۲۴ ساعت سلول‌هایی که نچسبیده بودند با شستشوی بافر فسفات جدا شدند. سلول‌های چسبیده شده با رنگ آمیزی کریستال ویوله مشخص شدند. به این ترتیب که ابتدا به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر متانول اضافه شد وسلول‌ها به مدت ۱۵ دقیقه تثبیت شدند. سپس متانول خالی شده و۲۰۰ میکرولیتر محلول کریستال ویوله اضافه شد، بعد از ۵ دقیقه رنگ اضافی خالی شده و پلیت با آب جاری شسته شد و در معرض هوا قرار گرفت تا خشک شود. رنگ جذب شده توسط میکروارگانیسم‌ها با ۲۰۰ میکرولیتر اسید استیک ۳۳٪ حل شد وجذب چاهک‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت شد. جذب نوری محیط کشت فاقد باکتریوسین به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد (۱۰).

برای محاسبه درصد مهار تشکیل بیوفیلم برای هر میکروارگانیسم از رابطه زیر استفاده شد:

Percentage inhibition= [1-(A sample/ A control)] × 100

یافته‌ها

تولید و تعیین مقدار ترکیبات شبه باکتریوسین

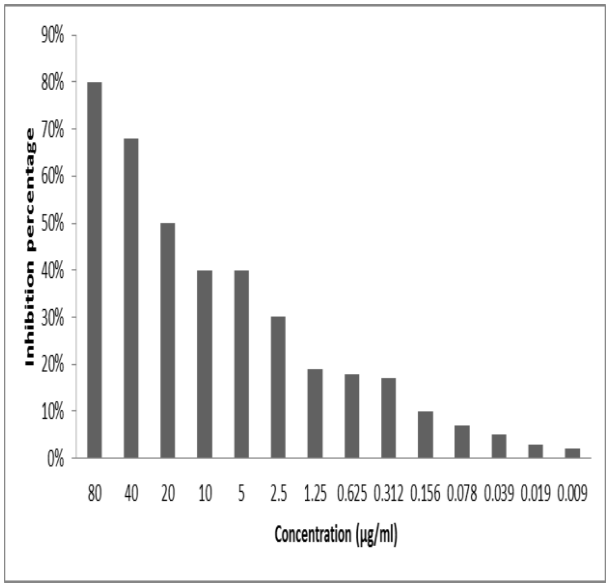
بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، سوپرناتانت عاری از هرنوع میکروارگانیسم احتمالی که آنزیم کاتالاز آن خنثی شده است، برای بررسی اثبات حضور ترکیبات شبه باکتریوسین استفاده شد. با تیمار توسط پروتئینازK، تریپسین وپپسین اثر ضد میکروبی سوپرناتانت از بین رفت ودر آزمون AWDA هاله عدم رشد مشاهده نشد که این امر خود تاییدی بر ماهیت پپتیدی این ترکیبات است.

با استفاده از روش برادفورد غلظت ترکیبات شبه باکتریوسینی معادل ۸۰ µg/ml محاسبه شد.

مهار تشکیل بیوفیلم

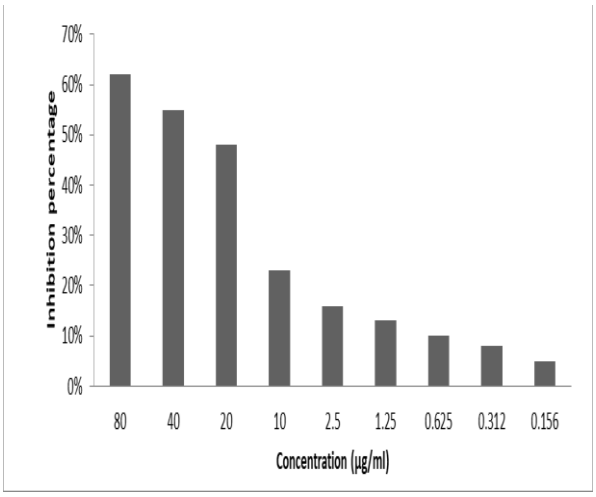
برای هر باکتری اثر ضد بیوفیلمی به صورت ۳ بار تکرار در رقت‌های متوالی ترکیبات شبه باکتریوسین بررسی شد.

در ارتباط با باکتری *S. mutans* برای بررسی خاصیت ضد بیوفیلمی همان طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، در غلظت ۸۰ µg/ml میزان مهار تشکیل بیوفیلم معادل ۸۰٪ است که به تدریج درصد مهار کنندگی کمتر شده تا در چاهک چهاردهم با غلظت معادل ۰/۰۰۹ µg/ml بسیار ناچیز شده و به ۲٪ رسیده است.



نمودار ۱. اثر ضد بیوفیلمی ترکیبات شبه باکتریوسینی در برابر *S. mutans*

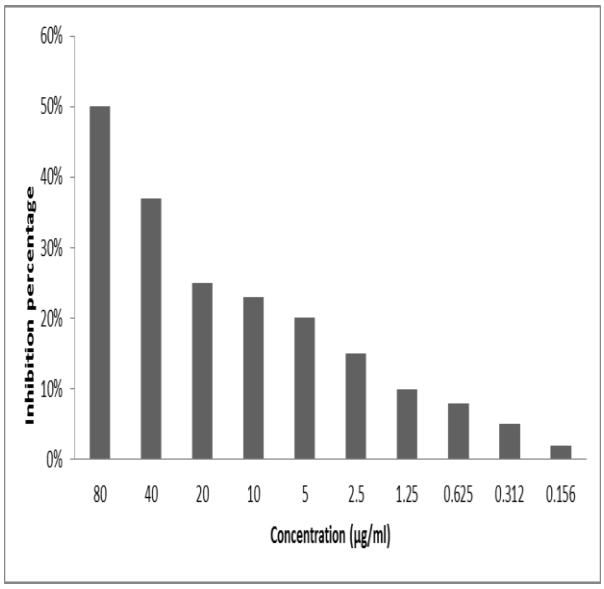
در نمودار شماره۲ اثر ضد بیوفیلمی ترکیبات باکتریوسینی در برابر *S. aureus* درغلظت ۸۰ µg/ml برابر با ۶۲ ٪ است ودر غلظت ۰/۱۵۶ µg/ml به ۵٪ می‌رسد.



نمودار ۲. اثر ضد بیوفیلمی ترکیبات شبه باکتریوسینی در برابر *S. aureus*

در نمودار ۳ اثر ضد بیوفیلمی این ترکیبات بر علیه *E. coli* در غلظت معادل ۸۰ µg/ml برابر با ۵۰٪ است و در غلظت‌های کمتر سیر نزولی دارد و در نهایت در غلظت ۰/۱۵۶ µg/ml به ۲٪ می‌رسد.

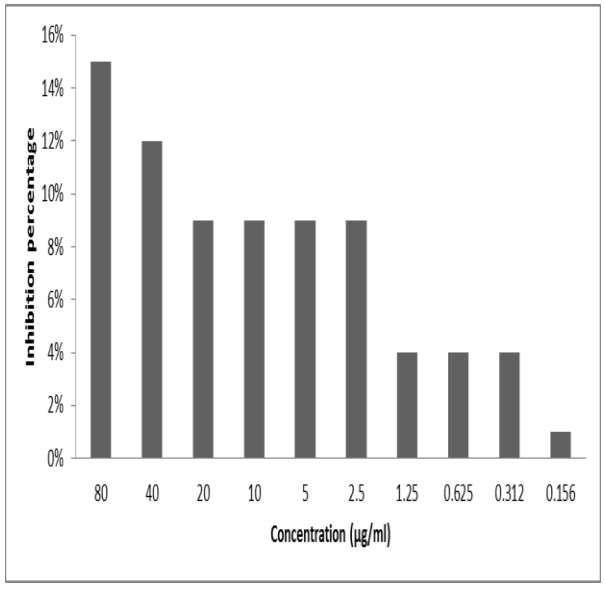
[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-06-21]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.3.6]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.237]



نمودار ۳. اثر ضد بیوفیلمی ترکیبات شبه باکتریوسینی در برابر *E. coli*

در نمودار ۴ اثر ضد بیوفیلمی در برابر *P. aeruginosa* درغلظت ۸۰ µg/ml معادل ۱۵٪ ودر نهایت در غلظت ۰/۱۵۶ µg/ml به ۱٪ می‌رسد.

تفاوت درصد مهار بیوفیلم در غلظت ۸۰ µg/ml ترکیبات باکتریوسینی که بیشترین اثر مهاری را نشان داد، در بین باکتری‌های بیماری‌زای مورد آزمون معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).



نمودار ۴. اثر ضد بیوفیلمی ترکیبات شبه باکتریوسینی در برابر *P. aeruginosa*

بحث

اهمیت بیوفیلم‌ها در جوامع امروزی به حدی است که در حوزه پزشکی و تجهیزات مربوط به آن و همچنین در صنایع غذایی به صورت یک معضل مطرح هستند و سالانه هزینه‌های بسیار زیادی برای پژوهش در زمینه از بین بردن و جلوگیری از تشکیل بیوفیلم‌ها اختصاص داده می‌شود. در نتیجه، تحقیقات فراوانی به مبحث بیوفیلم‌ها که عمدتا توسط باکتری‌های گوناگون تولید می‌شوند، می‌پردازند (۱۸). عسل دارای اثرات ضد باکتریایی و ضد بیوفیلم است. بنابراین، عسل این پتانسیل را دارد که به عنوان یک آنتی بیوفیلم و عامل ضد باکتری در کاربردهای مختلف از جمله در پیشگیری از پوسیدگی دندان و عفونت زخم استفاده شود. یکی از موادی که در عسل این خواص را دارد، پپتیدهایی تحت عنوان باکتریوسین است که توسط باکتری‌های مفید موجود در عسل تولید می‌شود (۱۹، ۲۰).

باکتریوسین‌ها پپتیدها یا پروتئین‌های فعال زیستی هستند که توسط باکتری‌هایی تولید می‌شوند که پتانسیل مهار توسعه بیوفیلم‌ها و مبارزه با عفونت‌های باکتریایی ناشی ازبیوفیلم را دارند (۲۱). باکتریوسین‌ها می توانند از تشکیل بیوفیلم ها جلوگیری کنند و بیوفیلم های بالغ و باکتری های پلانکتونیک را از بین ببرند (۱۲). مطالعات متعددی اثرات ضد بیوفیلم باکتریوسین‌ها را نشان داده‌اند. به عنوان مثال، یک باکتریوسین تولید شده توسط باسیلوس دریایی سویه Sh10 دارای خواص ضد باکتریایی در برابر سویه های بیوفیلم ساز *Proteus mirabilis* است (۱۰). باکتریوسین BMP32r تشکیل بیوفیلم لیستریا مونوسیتوژنز را مهار می‌کند (۲۲). باکتریوسین جداشده از لاکتوکوکوس لاکتیس سویه CH3 اثرات ضد میکروبی و ضد بیوفیلم قابل توجهی از خود نشان داده است (۲۳). سونورنسین، باکتریوسینی متعلق به زیرخانواده هتروسیکلوآنتراسین، به طور موثر سلول‌های فعال و غیر تکثیر شونده باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را از بین می‌برد و فعالیت مهاری قابل توجهی در برابر بیوفیلم استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده است (۲۱). آنچه در نتایج مربوط به این مطالعه دیده شد، نشان می‌دهد که باکتریوسین جدید تولید شده توسط باسیلوس سوبتیلیس SP1 جدا شده از عسل بومی سبلان توانایی قابل توجهی در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم سویه‌های گرممثبت و گرم منفی مورد آزمون دارد. با توجه به اهمیت این باکتری‌ها در حوزه عفونت بیمارستانی و بیماری‌زایی و تبدیل سریع آنها به سویه‌های مقاوم به درمان، این ترکیبات می‌توانند گام موثری در مهار بیوفیلم این باکتری‌ها داشته باشند. این یافته‌ها نشان می‌دهند که باکتریوسین‌ها پتانسیل امیدوارکننده‌ای به عنوان عوامل آنتی بیوفیلم برای مبارزه با باکتری‌های تشکیل دهنده بیوفیلم

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-06-21]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.3.6]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.237]

دارند. توانایی باکتریوسین‌ها در مهار تشکیل بیوفیلم و مختل کردن بیوفیلم‌های بالغ، آنها را به یک جایگزین بالقوه برای آنتی بیوتیک‌ها و نگهدارنده‌های فعلی در کاربردهای مختلف، از جمله نگهداری مواد غذایی و درمان های پزشکی تبدیل می‌کند.

امروزه پزشکی مدرن، درمواجهه با باکتری‌های بیماریزای مقاوم به آنتی بیوتیک با افزایش مشکلات جدی روبرو شده است. ازطرف دیگر، اثرات نامطلوب نسل جدید آنتی بیوتیک ها و خاصیت سمیت بالا آنها سبب شده که روش‌های جایگزین مورد بررسی قرار گیرند. باکتریوسین‌ها به دلیل سمیت کم و دارا بودن هدف اختصاصی پتانسیل خوبی برای استفاده‌های درمانی در انسان دارند. با توجه به اینکه درطبیعت گونه‌های مختلف تولید کننده باکتریوسین را می‌توان یافت، لذا کاربرد درمانی باکتریوسین‌ها می‌تواند بسیار وسیع باشد (۱۲). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که از ترکیبات غیر آنتی بیوتیکی جدید مانند باکتریوسین‌ها به تنهایی یا به صورت ترکیب با عوامل دیگر می‌توان برای غلبه بر مقاومت‌های آنتی بیوتیکی مانند بیوفیلم‌های باکتریایی استفاده کرد که کاربرد عملی آنها در زمینه‌های درمانی یا آلودگی‌های محیطی و غذایی نیازمند مطالعات بیشتر است.

REFERENCES

1. Chen C, Chen Y, Wu P, Chen B. Update on new medicinal applications of gentamicin: Evidence-based review. J Formos Med Assoc 2014;113:72–82.

2. Hamzeie M, Nomanpour B, Akhavansepahy A. The effect of bromhexine, gentamicin and imipenem on biofilm of standard bacterial *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* by ELISA method. Med Sci J 2019;29:216–21.

3. Kafil HS, Mobarez AM. Assessment of biofilm formation by enterococci isolates from urinary tract infections with different virulence profiles. Journal of King Saud University - Science 2015;27:312–7.

4. Lu Q, Yu J, Yang X, Wang J, Wang L, Lin Y, et al. Ambroxol interferes with *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing. Int J Antimicrob Agents 2010;36:211–5.

5. Bekoe A, Azorliade R, Ablordey A, Addo MG. Microbial Profile and Antibiotic Resistance Pattern of Urine and Biofilm Pathogens Isolated from Catheterized Patients at Komfo Anokye Teaching Hospital, Kumasi, Ghana. J Biosci Med 2021;09:1–13.

6. Fennell Y, Ymele-Leki P, Azeezat Adegboye T, Jones KL. Impact of Sulfidation of Silver Nanoparticles on Established P. aeruginosa Biofilm. J Biomater Nanobiotechnol 2017;08:83–95.

7. Abdulrahim U, Kachallah M, Rabiu M, Usman NA, Adeshina GO, Olayinka BO. Molecular Detection of Biofilm-Producing Staphylococcus aureus Isolates from National Orthopaedic Hospital Dala, Kano State, Nigeria. Open J Med Microbiol 2019;09:116–26.

8. Marchand S, De Block J, De Jonghe V, Coorevits A, Heyndrickx M, Herman L. Biofilm Formation in Milk Production and Processing Environments; Influence on Milk Quality and Safety. Compr Rev Food Sci Food Saf 2012;11:133–47.

9. Gholap H, Gholap A, Patil R. ZnO/CdS Nanocomposite: An Anti-Microbial and Anti-Biofilm Agent. Adv Microbiol 2020;10:166–79.

10. Shayesteh F, Ahmad A, Usup G. In vitro anti-biofilm activity of bacteriocin from a marine bacillus sp.Strain sh10 against proteus mirabilis. Iran J Microb 2020; 12.

11. Ansari A, Aman A, Siddiqui NN, Iqbal S, Ul Qader SA. Bacteriocin (BAC-IB17): Screening, isolation and production from Bacillus subtilis KIBGE IB-17. Pak J Pharm Sci 2012;25:195–201.

12. Gradisteanu Pircalabioru G, Popa LI, Marutescu L, Gheorghe I, Popa M, Czobor Barbu I, et al. Bacteriocins in the era of antibiotic resistance: rising to the challenge. Pharmaceutics 2021;13:1–15.

13. Darbandi A, Asadi A, Mahdizade Ari M, Ohadi E, Talebi M, Halaj Zadeh M, et al. Bacteriocins: Properties and potential use as antimicrobials. J Clin Lab Anal 2022;36:1–40.

14. Khalili Samani M, Noormohammadi Z, Fazeli MR, Samadi N. Bacteriocin activity of various iranian honey-associated bacteria and development of a simple medium for enhanced bacteriocin activity. J Environ Heal Sci Eng 2021;19:427–35.

15. Taheri P, Samadi N, Reza Ehsani M, Reza Khoshay M, Jamalifar H. An evaluation and partial characterization of a bacteriocin produced by lactococcus lactis subsp lactis ST1 isolated from goat milk. Brazilian J Microbiol 2012;43:1452–62.

16. Abriouel H, Franz CMAP, Omar N Ben, Galvez A. Diversity and applications of Bacillus bacteriocins. FEMS Microbiol Rev 2011;35:201–32.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-06-21]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.3.6]
[DOI: 10.61186/iau.34.3.237]

17. Ahsan A, Mazhar B, Khan MK, Mustafa M, Hammad M, Ali NM. Bacteriocin-mediated inhibition of some common pathogens by wild and mutant Lactobacillus species and in vitro amplification of bacteriocin encoding genes. ADMET DMPK 2022;10:75-87.

18. Hall CW, Mah TF. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. FEMS Microbiol Rev 2017;41:276-301.

19. Deglovic J, Majtanova N, Majtan J. Antibacterial and Antibiofilm Effect of Honey in the Prevention of Dental Caries: A Recent Perspective. Foods 2022;11:2670.

20. Balázs VL, Nagy-Radványi L, Bencsik-Kerekes E, Koloh R, Szabó D, Kocsis B, et al. Antibacterial and Antibiofilm Effect of Unifloral Honeys against Bacteria Isolated from Chronic Wound Infections. Microorganisms 2023;11:509.

21. Chopra L, Singh G, Kumar Jena K, Sahoo DK. Sonorensin: A new bacteriocin with potential of an anti-biofilm agent and a food biopreservative. Sci Rep 2015;5:13412.

22. Qiao Z, Zhang L, Wang X, Liu B, Shan Y, Yi Y, et al. Antibiofilm Effects of Bacteriocin BMP32r on Listeria monocytogenes. Probiotics Antimicrob Proteins 2022;14:1067-1076.

23. Krishnamoorthi R, Srinivash M, Mahalingam PU, Malaikozhundan B, Suganya P, Gurushankar K. Antimicrobial, anti-biofilm, antioxidant and cytotoxic effects of bacteriocin by Lactococcus lactis strain CH3 isolated from fermented dairy products-An in vitro and in silico approach. Int J Biol Macromol 2022;220:291-306.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-06-21]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1403.34.3.3.6]

[DOI: 10.61186/iau.34.3.237]