ISSN: (3007-0384)
E-ISSN: (3007-0392)
مجلة وهج العلوم للعلوم الصرفة
المجلة متاحة على الرابط
https://uomosul.edu.iq/womeneducation/jwups/

Raya T. Gaddawi*[1],
Rasmia O. sultan[2],
Sawsan M.Alomari[3],
Wafaa S. Eid[4]
[1]College of Medicine / University of Nineveh / Mosul / Iraq
[2]Department of Biology / College of Education for Women / University of Mosul / Mosul / Iraq
[3]Department of Medical Laboratory Techniques / Medical Technical Institute / Northern Technical University / Mosul / Iraq
[4]College of Medicine / University of Mosul / Mosul / Iraq
*Corresponding author e-mail:
Raya.Talal@uoninevah.edu.iq

Keywords:
Salmonella Enteritidis,
Probiotic,
Virulence factors.

ARTICLE INFO

Article history:
Received : 2024/11/15
Accepted : 2024/12/8
Available online
Email: jwups@uomosul.edu.iq

Effect of four types of probiotics on the growth and virulence of *Salmonella Enteritidis*

ABSTRACT

The study aimed to evaluate the inhibitory role of probiotics on *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (*S.*Enteritidis) virulence factors in morphological level. Twenty five stool specimens were collected from children under five years suffering from acute diarrhea hospitalized in Al-Zahrawi Hospital,Mosul city from 1/7/2021 till 1/9/2021. One isolate of *S.*Enteritidis was obtained from these specimens with incidence rate of 4%. Four probiotics included three bacterial species and one yeast species obtained from different sources were used in this study included *Lactobacillus acidophilus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Bifidobacterium bifidum* and *Saccharomyces boulardii*.

The inhibitory effect of the four probiotics cell-free culture supernatants on *S.*Enteritidis growth using well diffusion method was measured, the results showed that *P.pentosaceus* cell-free culture supernatant had the highest inhibitory zone reached 17 mm. The effect of probiotics cell-free culture supernatants on three virulence factors of *S.*Enteritidis namely biofim , adhesion to epithelial cells and swarming motility were studied , the results indicated that *L.acidophilus* and *P.pentosaceus* cell-free culture supernatants were more effective in reducing virulence factors as biofilm was reduced by the rate of 91.6 %, adhesion on urinary epithelial cells was reduced by the rate 85.7% and 71.4 % respectively, swarming motility also reduced by the rate 35%.

© 2025JWUPS, College of Education for Women, University of Mosul.

Journal of Wahj Al-Ulom for Pure Sciences Journal of Wahj Al-Ulom for Pure Sciences

تأثير أربعة أنواع من المعززات الحيوية في نمو وضراوة بكتريا *Salmonella Enteritidis*

ريا طلال كداوي[1]، رسمية عمر سلطان[2]، سوسن مؤيد العمري[3]، وفاء صبري عيد[4]
[1] كلية الطب / جامعة نينوى / الموصل / العراق
[2] قسم علوم الحياة / كلية التربية للبنات / جامعة الموصل / الموصل / العراق
[3] قسم تقنيات المختبرات الطبية/ المعهد التقني الطبي/ الجامعة التقنية الشمالية / الموصل / العراق
[4] كلية الطب / جامعة الموصل / الموصل / العراق

الخلاصة:

هدفت الدراسة الى تقييم دور المعززات الحيوية في تثبيط عوامل ضراوة بكتريا *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (*S.*Enteritidis) على المستوى المظهري. جمعت 25 عينة خروج من الأطفال أقل من خمس سنوات المصابين بالإسهال الحاد المراجعين لمستشفى الزهراوي الأهلي في مدينة الموصل للمدة من 2021/7/1 لغاية 2021/9/1.

تم الحصول على عزلة واحدة للنوع *S.*Enteritidis من العينات بنسبة عزل 4%, وتم الحصول على أربعة معززات حيوية من مصادر مختلفة شملت ثلاثة أنواع بكتيرية , ونوع واحد من الخمائر , وتضمنت الأنواع *Lactobacillus acidophilus* , *Pediococcus pentosaceus* ,*Bifidobacterium bifidum* و*Saccharomyces boulardii*.

أُختبر التأثير التثبيطي للرواشح الخام للمعززات الحيوية الاربع على نمو بكتريا *S.*Enteritidis بطريقة الانتشار في الحفر, وأظهرت النتائج أنّ راشح المعزز الحيوي *P.pentosaceus* كان الاكثر تأثيراً بقطر تثبيط بلغ 17 ملم.

دُرس تأثير رواشح المعززات الحيوية على ثلاثة عوامل ضراوة لبكتريا *S.*Enteritidis وهي الغشاء الحيوي،الالتصاق بالخلايا الظهارية وحركة العج، وأظهرت النتائج أنَّ راشحي النوعين *L.acidophilus* و*P.pentosaceus* كانا الأكثر كفاءة في تثبيط عوامل الضراوة المدروسة؛ إذ ثبّطا تكوين الغشاء الحيوي بنسبة 91.6 %, وثبّطا كلاهما الالتصاق بالخلايا الظهارية البولية بنسبة 85.7% و71.4 % على التوالي, فضلاً عن تثبيط حركة العج بنسبة بلغت 35%.

الكلمات المفتاحية: *Salmonella Enteritidis*، المعززات الحيوية، عوامل الضراوة.

1.المقدمة

يعد الإسهال المسبب الثاني للوفاة بين الأطفال الذين تقل أعمارهم عن 5 سنوات، إذ تحدث ما يقرب من 1.7 مليار حالة إصابة بالإسهال لدى الأطفال ومسببة حوالي525.000 حالة وفاة طفل كل عام[1], ومن المعروف أن الإسهال ناتج عن عدة عوامل بما في ذلك العوامل المعدية وغير المعدية، من العوامل المعدية مجموعة متنوعة من الكائنات البكتيرية والفيروسية والطفيلية , إذ يحدث الإسهال البكتيري لدى الأطفال دون سن الخامسة بشكل شائع بسبب *Salmonella*، *Shigella*، *Campylobacter* species و*Escherichia coli* diarrheogenic [2].

وتمثل السالمونيلا جنساً كبيراً ذا أهمية للصحة العامة وهي السبب الرئيس للأمراض المنقولة عن طريق الأغذية والمسؤولة عن آلاف الوفيات في جميع أنحاء العالم [3]، ويمكن أن تساعد المضادات الحيوية والسوائل الوريدية في علاج الحالات الشديدة، ولكن العديد من سلالات بكتريا السالمونيلا أصبحت مقاومة للمضادات الحيوية مما أدى الى زيادة عدد الوفيات، وطول مدة الإقامة في المستشفى، وارتفاع تكاليف العلاج [4], وتعد أنواع بكتريا السالمونيلا مسببات مرضية داخل خلوية اختياريا facultative intracellular، إذ يمكن ان تغزو أنواعاً مختلفة من خلايا المضيف مثل Epithelial cells وMicrofold cells وMacrophages وDendritic cells، وتنقسم الامراض التي تسببها عدوى السالمونيلا في البشر إلى الحمى التيفودية التي تسببها في الغالب الانواع Typhi *Salmonella* وParatyphi *Salmonella* و*Salmonella sendai* وأمراض الإسهال التي تسببها السالمونيلا غير التيفية Non-Typhoidal Salmonella (NTS) مثل النوع *S.*Enteritidis [5][6].

وقد أظهرت الدراسات التي أجريت في السنوات الأخيرة على العبئ العالمي للسالمونيلا غير التيفية Non Typhoidal Salmonella (NTS) زيادة حدوثها؛ إذ قدّرت إحدى هذه الدراسات أنّ هنالك مايقرب من 94 مليون حالة التهاب للمعدة والأمعاء بالسالمونيلا غير التيفية NTS Gastroenteritis تسبب 155.000 حالة وفاة سنوياً على مستوى العالم [7].

ونظراً لتزايد صفة المقاومة للمضادات الحيوية وعدم كفاءتها في علاج الإسهال، وتماشياً مع الجهود الحثيثة للبحث عن بدائل أو مكمّلات تساهم في الوقاية أو علاج الإسهال تم تسليط الضوء على المعززات الحيوية (البروبايوتيك) بوصفها بدائل واعدة لعلاج أو الوقاية من الإسهال , إذ تُعرّف المعززات الحيوية على أنها بكتريا أو خمائر عند إعطائها بكميات كافية تفيد المضيف وتساعد في الشفاء من بعض الأمراض, فيجب أن يحتوي الغذاء على ما لايقل عن 10^6 g/CFU من الكائنات الحية الدقيقة النشطة، بينما المكملات الغذائية المجفدة اظهرت نتائج جيدة باستخدام 10^7 الى 10^{11} كائن دقيق حيوي يومياً [8], وهي مفضلة لأنها من أصل بشري ولاتستطيع نقل أي مقاومة للمضادات الحيوية أو الامراضية أو عوامل السمية، وتشتمل أكثر أنواع المعززات الحيوية شيوعاً على البكتريا المنتجة لحامض اللاكتيك (*Lactobacillus* spp، *Bacillus* spp، *Bifidobacterium* spp، *Streptococcus* spp و*Enterococcus* spp) الموجودة في الجهاز الهضمي البشري، وعادةً مايتم تناولها في الاطعمة المخمرة [9].

2.مواد وطرائق العمل

1.2 جمع العينات Sample Collection

جمعت 25 عينة براز من الأطفال بعمر1يوم الى 5 سنوات يعانون من الإسهال من كلا الجنسين المراجعين لمستشفى الزهراوي الاهلي في الموصل للفترة من 2021/7/1 الى 2021/9/1 بحافظات معقمة Container، ونُقلت الى المختبر لإجراء بقية الاختبارات.

2.2 الزرع على الاوساط الانتخابية والتشخيص

أُخذت مسحة من كل عينة بواسط ناقل زرعي Loop ووضعت في انابيب معقمة حاوية على 5 مل من مرق نقيع القلب-الدماغ (Brain-heart infusion broth)، حُضنت الانابيب بدرجة 37 °م لمدة 24 ساعة، بعد انتهاء فترة التحضين وملاحظة النمو البكتيري أُخذت حملة لوب مملوءة بالمعلق البكتيري وزرعت على الاوساط الانتخابية الثلاث: اكار Xylose-Lysine Deoxycholate واكار Salmonella-Shigella واكار MacConkey بطريقة التخطيط Streaking، وحُضنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 18-24 ساعة وبظروف هوائية، من أجل ملاحظة صفات وأشكال المستعمرات النامية[10]. شخصت العزلات مظهرياً ومجهرياً اعتماداً على أنظمة التشخيص المعتمدة[11] وتم تأكيد التشخيص بجهاز Vitek 2 [12].

تم الحصـــول على عزلة للنوع *L.acidophillus* وعزلة للنوع *B.bifidum* من مركز الأمين للأبحاث والتقانات الاحيائية المتقدم التابع للعتبة العلوية المقدسة , في حين تم عزل النوع *P.pentosaceus* من *الالبان المحلية* وتم عزل خميرة *S.boulardii* من المعزز الحيوي PROIBS المجهز من شركة Erbozeta الاسبانية.

تم تحضير الرواشح لأنواع المعززات الحيوية الثلاث *L.acidophillus*، *P.pentosaceus* و*B.bifidum* كالآتي:

أُخذت عدة مســتعمرات بكتيرية حديثة النمو على وســط MRS agar، وتم نقلها الى أنبوبة اختبار حاوية على وســط MRS broth مُعقم باســتخدام حلقة الزرع Loop، بعد ذلك تم تحضــينها بدرجة 37 °م لمدة 24-48 ســاعة وبوجود5-10% CO_2 ثم نُبذت باستعمال جهاز الطرد المركزي بسرعة 10000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة, بعدها أُخذ الجزء العلوي (الراشح) بعناية باستخدام السرنجة وتم إهمال الراسب، وبعدها تم تنقية الرواشح من الشوائب باستخدام مرشح غشائي millipore بقطر ثقوب 0.22 µm [13].

تم تحضــير راشــح مزرعة خميرة *S.boulardii* حيث تم تنميتها في مرق Yeast Peptone Dextrose بحجم 25سم^3، وحُضــنت بدرجة حرارة 37 °م لمدة 16 ســاعة، ثم أُجري بعدها طرد مركزي بقوة 8000 دورة/دقيقة لمدة 20 دقيقة ثم أُخذ الراشح وتمت تنقيته بالمرشح الغشائي millipore بقطر ثقوب 0.22µm [14].

3.2 اختبار تأثير رواشح المعززات الحيوية في نمو بكتريا *S.*Enteritidis

اســتُعملت طريقة الانتشــار في الحفر Well_Diffusion assay وذلك بصــب 20-25سم^3 من وســط اكار مولر هنتون Muller-Hinton Agar لكل طبق، ثم نقلت 3-5مســتعمرات للنوع *S.*Enteritidis الى 5 ســم^3 من المحلول الملحي الفسلجي لعمل معلق بكتيري، واســتُخدمت ماســحة قطنية Swap إذ غُمرت في المعلق ونشــر المعلق على ســطح الطبق بالتســاوي، ثم تُركت الأطباق بدرجة حرارة الغرفة لمدة15 دقيقة لتجف، ثم تم عمل حفر في الوســط الغذائي الملقح بــالبكتريــا بقطر8ملم باستخدام الثاقب الفليني وبواســطــة مــاصــــــة دقيقة Micropipette تم نقل 100 مايكروليتر من كل راشح من الرواشح قيد الدراســة ووضــعت داخل الحفرة وبثلاثة مكررات لكل راشح، بعد ذلك تم تحضين الأطباق بدرجة 37م° لمدة 24 ســاعة وقُرئت النتيجة بقياس قطر منطقة التثبيط حول الحفر[15].

4.2 اختبار تأثير رواشح المعززات الحيوية الأربع على ثلاث عوامل ضراوة لبكتريا *S.*Enteritidis

1.4.2 اختبار تأثير رواشح المعززات الحيوية الأربع على تكوين الغشاء الحيوي لبكتريا *S.*Enteritidis بطريقة الانابيب:

1. تم تحضير أنابيب اختبار حاوية على2 سم^3 من مرق نقيع القلب والدماغ المعقم.
2. أُضيف 2 سم^3 من رواشح المعززات الحيوية الأربع بتركيز نهائي 50% مع عينة سيطرة وبثلاثة مكررات لكل معاملة.
3. تم تلقيح جميع الأنابيب بإضافة 0.1 سم^3 من المزارع الحديثة لعزلة *S.*Enteritidis بعمر 18 ساعة.
4. تم تحضين عينات الاختبار والسيطرة بدرجة 30 °م لمدة 10 ساعات بدون تحريك.
5. بعد التحضين سُكب الوسط وأُضيف لكل انبوبة 4 سم^3 من صبغة كرستال فايوليت (1%) وتركت لمدة 20 دقيقة بدون تحريك, بعدها تم سكب الصبغة وغُسلت الأنابيب بالماء المقطر وتركت لتجف.
6. تم إجراء القياس الكمي للخلايا الملتصــقة في كل الأنابيب بإذابة الصــبغة في 4 ســم^3 من الايثانول المطلق، وتركت لمدة 20 دقيقة، ثم تم قياس الامتصــاصــية عند الطول الموجي 630 نانوميتر بجهاز المطياف الضــوئي Spectrophotometer [16].

2.4.2 اختبار تأثير رواشح المعززات الحيوية الأربع في التصاق بكتريا *S.*Enteritidis بالخلايا الظهارية:

1. تم الحصــول على خلايا ظهارية من عينة إدرار صــباحي لطفل ســليم بدون أية بيلة جرثومية ووضــعت في أنبوبة نظيفة.
2. أُجريت عملية النبذ المركزي للعينة بســرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة، وحصــلنا على الراســب وتم إهمال الراشــح، ثم غســل الراســب بمحلول دارئ الفوســفات الملحي (PBS)، وكررت عملية الغســل 2-3 مرات الى أن حصلنا على راسب الخلايا الظهارية الذي علق ب0.5 سم^3 من محلول دارئ الفوسفات الملحي.
3. تمت معاملة بكتريا *S.*Enteritidis بالرواشح الأربع من خلال تحضير أنابيب حاوية على 2 سم^3 من مرق نقيع القلب والدماغ المعقم والرواشــح بتركيز 50 %، ولقحت الأنابيب بإضــافة 100 مايكروليتر من المزارع الحديثة لبكتريا *S.*Enteritidis، وتم تحضينها بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة.

4. بعد انتهاء فترة التحضين تم إجراء عملية النبذ المركزي والحصول على راسب البكتريا المرضية وإهمال الراشح، بعد ذلك تمت عملية الغسل للراسب بمحلول دارئ الفوسفات الملحي (PBS) 2-3مرات، ثم علق الراسب ب 0.5 سم^3 من محلول PBS.
5. تمت إضافة معلق الخلايا الظهارية المحضّر مسبقاً (0.5 سم^3) الى معلق البكتريا المرضية (0.5 سم^3)، ثم تم تحضين الأُنبوب الحاوي على (1سم^3) من مزيج معلق البكتريا المرضية والخلايا الظهارية في حاضنة هزازة بدرجة حرارة 37°م لمدة ساعة.
6. بعد انتهاء فترة التحضين تم أخذ قطرة واحدة من العالق ووضعت على شريحة زجاجية معقمة وفُرشت القطرة وتم تثبيتها بالميثانول لمدة نصف ساعة ثم صُبغت بصبغة كرستال فايوليت.
7. بعد ذلك تم إجراء الفحص المجهري بعدسة تكبير 40x و100x بالعدسة الزيتية وتم احتساب عدد ومعدل الخلايا الجرثومية الملتصقة على 10 خلايا ظهارية [17].

3.4.2 اختبار تأثير رواشح المعززات الحيوية على حركة العج لبكتريا *S.*Enteritidis:

أُستخدم وسط Nutrient Broth المُضاف اليه اكار بنسبة 0.3 % إذ وُضع في منتصف كل طبق 40 مايكروليتر من الرواشح وبثلاثة مكررات مع عينة سيطرة أُستخدم فيها المحلول الملحي الفسلجي المعقم بدلاً من الرواشح، ثم تُركت الأطباق لتجف في درجة حرارة 30 °م لمدة 3 ساعات بعدها لُقحت نقطياً بالعزلة المرضية باستخدام عيدان خشبية معقمة وحُضنت بدرجة حرارة 30 °م لمدة 24 ساعة ثم قيست أقطار النمو [18].

3.النتائج والمناقشة:

1.3 عزل وتشخيص البكتريا المرضية:

تم عزل بكتريا *S.*Enteritidis من حالات الإسهال الحاد لدى الأطفال بعمر أقل من 5 سنوات, إذ تم الحصول على عزلة واحدة فقط للنوع *S.*Enteritidis من مجموع 25 عينة إسهال حاد أي بنسبة عزل 4%، وتتفق هذه النتيجة مع ماوجده الباحث[19] الذي عزل البكتريا بنسبة 5%، في حين لاتتفق مع ماوجده الباحثون [20][4]الذين عزلوا البكتريا بنسب 6.2% و1.39% على التوالي , ويعزى هذا التباين بنسب العزل للجرثومة الى الاختلاف في المناطق الجغرافية والظروف الاجتماعية والاقتصادية والظروف الصحية المتباينة مابين الدراسات. [21][4].

شُخصت البكتريا اعتماداً على أنظمة التشخيص المعتمدة[22][11] وتم تأكيد التشخيص بجهاز Vitek2.

2.3 تأثير رواشح المعززات الحيوية الأربع في نمو بكتريا *S.*Enteritidis

أظهرت نتائج دراسة التأثير التثبيطي للرواشح الخام التابعة للمعززات الحيوية الأربع قيد الدراسة (*L.acidophilus, P.pentoscaues, B.bifidum, S.boulardii*) , وجود تباين بين الرواشح الخام الأربع من ناحية تأثيرها التثبيطي ضد بكتريا *S.*Enteritidis كما موضح في الجدول(1),إذ لوحظ أنّ الراشح الخام للنوع *P.pentoscaues* أعطى أعلى تأثير تثبيطي بقطر تثبيط بلغ 17ملم ضد بكتريا *S.*Enteritidis كما موضح في الشكل (1: ب), ثم تلاه الراشح الخام للنوع *L.acidophilus* بقطر تثبيط بلغ 15ملم كما موضح في الشكل (: 1أ) في حين أظهر الراشح الخام للنوع *B.bifidum* منطقة تثبيط بقطر 12ملم, كما في الشكل (:1ت) بينما أظهر الراشح الخام للنوع *S.boulardii* أقل قدرة تثبيطية بقطر تثبيط بلغ 10 ملم، كما في الشكل(1: ث)

تتفق هذه النتائج مع ماوجده الباحث [23] بأن الراشح الخام للنوع *L.acidophilus* أعطى تأثيراً تثبيطياً معنوياً ضد بكتريا *S.*Enteritidis وضد بكتريا أخرى هي *Bacillus cereus,Staphylococcus aureus,Escherichia coli,Bacillus subtilis* و*Shigella* وبينوا أن سبب التأثير التثبيطي الكبير يعزى الى إنتاج البكتريوسينات ضمن الراشح الخام مما أظهر منطقة تثبيط بقطر 15ملم ضد بكتريا *Salmonella* وبأقطار متباينة ضد الأنواع البكتيرية الأخرى قيد الدراسة، وأوضحوا بأن سبب هذا التباين يعزى الى اختلاف كمية ونوعية المواد الايضية ضمن الراشح حسب نوع سلالة المعزز الحيوي, واختلاف سلالة البكتريا المرضية المختبرة.

وتتفق النتائج ايضاً مع الباحثين [24][25] الذين وجدوا أن الراشح الخام للمعزز الحيوي *L.acidophilus* أظهر تثبيطاً معنوياً كبيراً ضد سلالات بكتيرية عديدة ممرضة منها , *Campylobacter* , *S.*Typhimurium *B.cereus S.aureus* , *Helicobacter* و*Pseudomonas* وبينوا أن سبب التأثير التثبيطي الكبير يعزى الى وجود مركبات ضد ميكروبية مختلفة ضمن الراشح الخام منها الببتيدات الدهنية, البكتريوسينات, الأحماض العضوية.

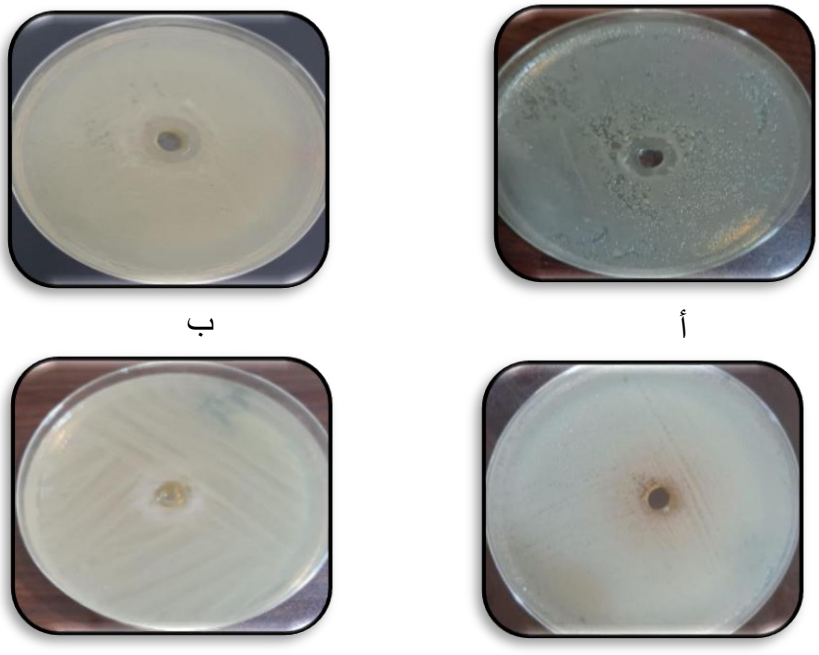
وتتفق ايضـــاً مع نتائج الباحثين[26]الذين أكدوا بأن الراشــح الخام للنوع *P.pentosaceus* يمتلك فعالية مثبطة لبكتريا *S.*Typhimurium نتيجة وجود المواد الأيضـــية المضـــادة لها من بيروكســـيد الهيدروجين وأحماض عضـــوية فضـــلاً عن ببتيدات متخصـــصـــة لقتل البكتريا بالتأثير المباشـــر على الغشـــاء والجدار البكتيري, و أثبت الباحثون[27] بأن الراشح الخام للمعزز الحيوي *P.pentosaceus* أظهر تأثيراً تثبيطياً كبيراً ضد عدة ممرضات سالبة وموجبة لصـــبغة كرام؛ إذ أظهرت مناطق تثبيط كبيرة على الوســـط الزرعي، وأوصـــت الدراســـة بإمكانية اســـتخلاص وتنقية المواد الأيضـية المتواجدة بالراشـح واسـتخدامها تجارياً كمادة حافظة ومحسـنة للأغذية واسـتخدامها لعلاج حالات الإسهال والأمراض المنقولة بالغذاء.

وتتفق هذه النتيجة مع نتيجة الباحثان [28] الذين وجدوا أن ثمان ســـلالات من المعزز الحيوي *B.bifidum* أظهرت فعالية تثبيطية ضـــد ســـلالات بكتيرية عديدة منها *Campylobacter* , *Vibrio* , *Shigella* , *Salmonella* و*Listeria* وبينوا أنّ سبب الفعالية التثبيطية يُعزى الى وجود مركبات حامضية مثل اللاكتيت أو الاسيتيت التي تعمل على جعل الأس الهيدروجيني للخلية البكتيرية حامضـــية وبالتالي موت الخلية, أو قد يعزى الى الببتيد الدهني أو البكتريوســـين الذي أبدى تأثير تثبيط معنوي من خلال التأثير المباشـــر على غشـــاء وجدار الخلية البكتيرية مما أدى الى خلل في وظيفتهما وبالتالي موت الخلية البكتيرية.

كما تتفق هذه النتيجة ايضـــاً مع الباحثين[29] الذين وجدوا ان الراشـــح الخام لســـلالات مختلفة من المعزز الحيوي *S.boulardii* أعطى تأثيراً تثبيطياً متوســـطاً ضـــد بكتريا متعددة منها بكتريا *Salmonella* و*E.coli* وبينوا أن ســـبب الفعالية التثبيطية يُعزى الى إنتاج تراكيز عالية من حامض الخليك الذي يكون ضـــرورياً لعمل الأحماض الدهنية قصـــيرة الســـلســـلة، إذ لوحظ وجود تآزر مابينهما في إظهار التأثير التثبيطي الضـــد ميكروبي تجاه البكتريا المرضية المعوية المستهدفة.

الجدول (1) أقطار مناطق التثبيط الناتجة عن رواشح المعززات الحيوية الأربع تجاه بكتريا *S.*Enteritidis

ت.	نوع المعزز الحيوي المحضر منه الراشح	قطر منطقة التثبيط (ملم)
1.	*Lactobacillus acidophilus*	15
2.	*Pediococcus pentosaceus*	17
3.	*Bifidobacterium bifidium*	12
4.	*Saccharomyces boulardii*	10



أ ب

ت ث

أ. المعزز الحيوي *L.acidophilus* ب. المعزز الحيوي *P.pentosaceus*
ب. المعزز الحيوي *B.bifidum* ث. المعزز الحيوي *S.boulardii*
الشكل (1) التأثير التثبيطي للمعززات الحيوية الأربع

3.3 تأثير المعززات الحيوية على ثلاث عوامل ضراوة لبكتريا*S.*Enteritidis

1.3.3 التأثير التثبيطي للرواشح الخام للمعززات الحيوية على تكوين الغشاء الحيوي لبكتريا*S.*Enteritidis بطريقة الانابيب:

تمت معاملة البكتريا*S.*Enteritidis المحلية بالرواشح الخام الأربع للمعززات الحيوية، أظهرت النتائج امتلاك الراشح الخام للمعززات الحيوية الأربع تأثيراً تثبيطياً كبيراً لتكوين الغشاء الحيوي للبكتريا كما موضح في الجدول (2) والشكل (2).

يتضح من المخطط أنّ أعلى نسبة تثبيط لتكوين الغشاء الحيوي ظهرت بعد المعاملة براشح النوعين *L.acidophilus* و*P.pentosceus* إذ بلغت 91.6%, تلاها الراشح الخام للنوع *B.bifidium* بنسبة تثبيط بلغت 75%، في حين أعطى الراشح الخام للخميرة *S.boulardii* أقل نسبة تثبيط حيث بلغت 66.6%.

تتفق النتائج هذه مع الباحثين[30] الذين وجدوا أنّ الراشح الخام للمعزز الحيوي *L.acidophilus* أظهر فعالية تثبيطية كبيرة لتكوين الغشاء الحيوي لبكتريا *E.coli* و*S.aureus*, وبينت الدراسة بأن التركيز الأقل من التركيز المثبط الأدنى للراشح سبب تثبيطاً معنوياً للغشاء وبدون التأثير على حيوية البكتريا، بينما أوضحت الدراسة نفسها بأن المواد الايضية ضمن الراشح الخام للمعزز الحيوي *S.boulardii* ثبطت الغشاء الحيوي لبكتريا *S.aureus* ولم تؤثر على تكوين الغشاء الحيوي لبكتريا *E.coli*.

وبين الباحثون[31] بأن المعززات الحيوية والمواد الايضية المتواجدة بالراشح تثبط الغشاء الحيوي للبكتريا المرضية بطرائق مختلفة ؛ فقسم منها تنتج بكتريوسينات وببتيدات متخصصة تثبط الغشاء الحيوي, وقسم منها تمتلك قدرة كبيرة على التنافس على المغذيات ومواقع الالتصاق وبالتالي تمنع البكتريا المرضية من تكوين الغشاء الحيوي، وقسم منها تنتج سكريات متعددة خارجية تمنع البكتريا المرضية من تكوين الغشاء الحيوي، وقسم آخر يمنع الغشاء الحيوي من خلال التأثير على التعبير الجيني لجينات البكتريا المسؤولة عن الانجذاب الكيمياوي, والتجمع الذاتي Co-aggregation, اذ بينت نتائج الدراسة نفسها بأن راشح *L.acidophilus* ثبط تكوين الغشاء الحيوي للعديد من البكتريا المرضية الموجبة والسالبة لصبغة كرام.

وبينت دراسة الباحثين[32] بأن تلقيح المزرعة الجرثومية المرضية التابعة ل *S.aureus* , *E.coli*,*S.enterica* و*Listeria* بالمعزز الحيوي التابع ل *Bifidobacterium* لغرض معرفة وتحديد دورها التثبيطي تجاه الغشاء الحيوي, ادت الى حدوث تثبيط كبير لتكوين الغشاء الحيوي المتكون من قبل هذه البكتريا مقارنة بعينة السيطرة، كما أكدت الدراسة بأن التثبيط للغشاء الحيوي يتناسب طردياً مع زيادة وقت التحضين.

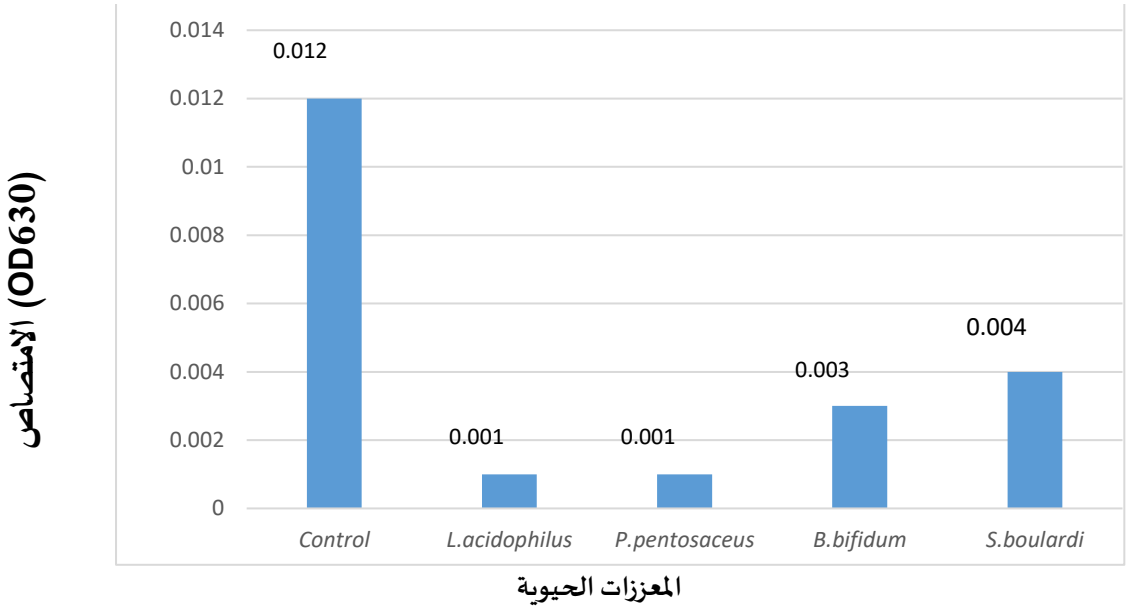
وأوضحت دراسة الباحثين [33] بأن الراشح الخام التابع ل *B.bifidum* سبب تثبيطاً كبيراً لتكوين الغشاء الحيوي *لبكتريا E.coli* بنسبة تثبيط بلغت 51.38%.

كما أوضحت دراسة الباحث [34] بأن الراشح الخام للنوع *P.pentosaceus* امتلك فعالية تثبيطية كبيرة تجاه تكوين الغشاء الحيوي لبكتريا *S.aureus* ,*E.coli P.aeruginosa* و*B.subtilis* من خلال تحطيم الغشاء المتكون مسبقاً وتثبيط تكوين الغشاء الحديث التكوين خارج الجسم الحي، كما ثبط الراشح قابلية التصاقها واختراقها للخلايا المعوية الطلائية، و أثر على حيوية البكتريا ضمن الغشاء الحيوي نفسه, وأوضحت الدراسة بأن سبب ذلك يُعزى الى امتلاك المعزز الحيوي *P.pentosaceus* الكثير من المواد الايضية المضادة مثل الببتيدات السطحية او البكتريوسينات التي لها تأثير كبير على تركيب ووظيفة الجدار الخلوي والغشاء البلازمي ثم الدخول الى داخل السايتوبلازم وخفض الأس الهيدروجيني وبالتالي موت الخلية البكتيرية.

وقد أثبتت دراسة الباحثين [35][36] بأن معاملة الفئران المصابة تجريبياً ببكتريا *S.*Typhi بالخميرة *S.boulardii* سببت تقليل التأثيرات المرضية الناتجة عن بكتريا *S.*Typhi وهذا يؤيد دور الخميرة المضاد للبكتريا إذ قللت من امراضيتها من خلال تثبيط عملية التصاقها وغزوها للجسم وتقليل الغشاء الحيوي المتكون.

الجدول (2) تأثير الرواشح الاربع على تكوين الغشاء الحيوي لبكتريا*S.*Enteritidis

ت.	نوع المعاملة	الامتصاص الضوئي عند الطول الموجي 630نانوميتر	النسبة المئوية للتثبيط(%)
.1	بكتريا غير معاملة (Control)	0.012	-
.2	*Lactobacillus acidophilus*	0.001	91.6
.3	*Pediococcus pentosaceus*	0.001	91.6
.4	*Bifidobacterium bifidum*	0.003	75
.5	*Saccharomyces boulardii*	0.004	66.6



الشكل (2) تأثير الرواشح الأربع على تكوين الغشاء الحيوي لبكتريا*S.*Enteritidis

2.3.3 تأثير الرواشح الخام الأربع على عملية التصاق جرثومة*S.*Enteritidis بالخلايا الظهارية البولية:

أجرى التحري عن قابلية العزلة المحلية للنوع*S.*Enteritidis المعزولة من حالات الإسهال الحاد على الالتصاق بالخلايا الظهارية البولية خارج الجسم الحي , وبينت النتائج قدرة الجرثومة المتوسطة للالتصاق بالخلايا الظهارية إذ بلغ معدل عدد الخلايا الجرثومية الملتصقة 35 خلية بكتيرية / خلية ظهارية كما موضح في الجدول (3) والشكل (3).

وتم التحري عن قابلية الجرثومة*S.*Enteritidis على الالتصاق بعد المعاملة بالرواشح قيد الدراسة, وبينت النتائج حدوث اختزال في قابلية الجرثومة للالتصاق نتيجة معاملتها بالرواشح الأربعة لكن بدرجات متباينة حسب نوع المعزز الحيوي كما موضح في الجدول (3) والشكل(3), إذ اعطى راشح النوع *L.acidophilus* اعلى قدرة تثبيطية للالتصاق بلغت (85.7%), تلاه راشح النوع *P.pentosaceus* بنسبة تثبيط بلغت (71.4%) ثم راشح النوع *B.bifidum* تأثير بنسبة تثبيط بلغت (60%) , اما راشح المعزز الحيوي *S.boulardii* فقد كان الأقل قدرة على تثبيط التصاق الجرثومة بالخلايا الظهارية اذ بلغت نسبة التثبيط (51.4%).

تتفق هذه النتائج مع الباحثين [37] الذين بينوا بأن الراشح الخام للمعزز الحيوي *L. acidophilus* سبب تأثيراً تثبيطياً كبيراً تجاه الممرضات المعوية مثل السالمونيلا والشيكلا، كما أظهر أيضاً قدرة تثبيطية لعملية الغزو الجرثومي لجرثومة *S.*Enteritidis.

وبينت النتائج الموضحة في الشكل (3) أن راشح النوع *P.pentosaceus* أدى الى تثبيط التصاق الجرثومة بالخلايا الظهارية بنسبة عالية بلغت 71.4%, وتتفق هذه النتيجة مع دراسة الباحثين [38] الذين أكدوا بأن المعزز الحيوي *P.pentosaceus* يمتلك فعالية ضد ميكروبية فضلاً عن دوره التثبيطي الكبير تجاه عملية الالتصاق الجرثومي للبكتريا المرضية ومنع التصاقها بالخلايا الطلائية المعوية.

وتظهر من النتائج المبينة في الشكل (3) قدرة معنوية لتثبيط الالتصاق أبداها الراشح الخام للمعزز الحيوي *B.bifidum* وتتفق هذه النتائج مع ماوجده الباحثين[39] بأن المعزز الحيوي *B.bifidum* أظهر فعالية تثبيطية كبيرة تجاه الالتصاق الجرثومي والغشاء الحيوي المكون من قبل بكتريا *E.coli* و*Cronobacter sakazakii*.

ويتضح من الشكل (3) أنّ راشح خميرة *S.boulardii* امتلك نسبة تثبيط معنوية لعملية الالتصاق تجاه بكتريا*S.*Enteritidis بلغت 51.4%، وتتفق هذه النتائج مع دراسة الباحثين [40] الذين أوضحوا بأن الفعالية الضد ميكروبية لخميرة *S.boulardii* تتم من خلال قدرتها على تثبيط التصاق الجراثيم المرضية بالخلايا المستهدفة للطبقة المعدية-المعوية وذلك من خلال قدرة الخميرة ونواتجها الأيضية على الالتصاق بالجراثيم المرضية نفسها، وبالتالي سوف تزيل هذه البكتريا وتمنع التصاقها المباشر بالخلايا المعوية الهدف.

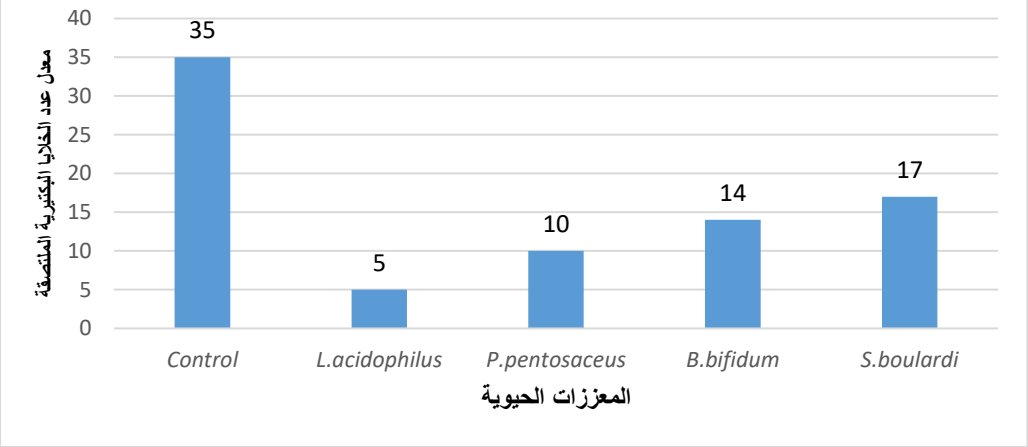
وبينت دراسة الباحثين[41] بأن خميرة *S.boulardii* تدعم القناة المعدية-المعوية من خلال آليات مختلفة منها: تقليل أعداد البكتريا المرضية المعوية, وتثبيط فعالية السموم البكتيرية , وارتباطها القوي بالمستقبلات واللكتينات المعوية , واختزال قابلية البكتريا المرضية على الالتصاق بالمستقبلات المعوية، وتقليل اختراق الخلايا الظهارية المعوية.

كما اثبت دراسة الباحثين[42] بأن خميرة *S.boulardii* تمتلك قابلية كبيرة للالتصاق بالغشاء المخاطي المبطن للأمعاء وبالتالي سوف تمنع البكتريا المرضية من الالتصاق بالغشاء المخاطي, إذ إن بروتينات الجدار الخلوي للخميرة تتوسط عملية التصاقها بالبكتريا المرضية مثل *S.enterica* serovar Typhimurium ,*S.enterica* serovar Typhi و*E.coli* لذا فأنها تمنع هذه البكتريا من الارتباط بالخلايا الطلائية المعوية وبالتالي تمنع الإصابة البكتيرية للأمعاء.

كما أكد الباحثون[43][9] أن بعض أنواع المعززات الحيوية تحتوي على لواصق متخصصة بروتينية تتوسط عملية الالتصاق بالخلايا الظهارية للأمعاء مثل البروتينات عبر الغشاء أو مكونات المادة الأساس الخارج خلوية، وذكر الباحثان [44] أن المعززات الحيوية تؤثر على انتاج المخاط في الأمعاء وبالتالي تقلل من التصاق وغزو الخلايا الظهارية للأمعاء من الجراثيم المرضية للجهاز الهضمي.

الجدول (3) تأثير الرواشح الاربع على التصاق بكتريا*S.*Enteritidis بالخلايا الظهارية

ت.	نوع المعاملة	معدل عدد الخلايا البكتيرية الملتصقة	النسبة المئوية للتثبيط (%)
.1	بكتريا غير معاملة (Control)	35	-
.2	*Lactobacillus acidophilus*	5	85.7
.3	*Pediococcus pentosaceus*	10	71.4
.4	*Bifidobacterium bifidum*	14	60
.5	*Saccharomyces boulardii*	17	51.4



الشكل (3) تأثير الرواشح الخام الأربع على التصاق بكتريا*S.*Enteritidis بالخلايا الظهارية

الشكل (4) التصاق خلاياS.Enteritidis بالخلايا الظهارية البولية بعد معاملتها براشح المعزز الحيوي *L.acidophilus*

3.3.3 تأثير الرواشح الخام للمعززات الحيوية الأربع على حركة العج لجرثومة S.Enteritidis

تم التحري عن التأثير التثبيطي للرواشح الخام للمعززات الحيوية الأربع *P.pentosaceus,L.acidophiuls* *B.bifidum,* و*S.boulardii* تجاه حركة البكتريا S.Enteritidis على الوسط الزرعي شبه الصلب حسب الطريقة الموضحة سابقا.

وأظهرت النتائج الموضحة في الجدول (4) والشكل (5) و(6) أن رواشح النوعين *L.acidophilus* و*P.pentosaceus* كانت أفضل في تثبيط حركة العج لبكتريا S.Enteritidis بنسبة بلغت 35%, تلتهما خميرة *S.boulardii* بنسبة تثبيط بلغت 23%, في حين كان المعزز الحيوي *B.bifidum* الأقل تأثيراً بنسبة تثبيط بلغت 12% على حركة العج لبكتريا S.Enteritidis.

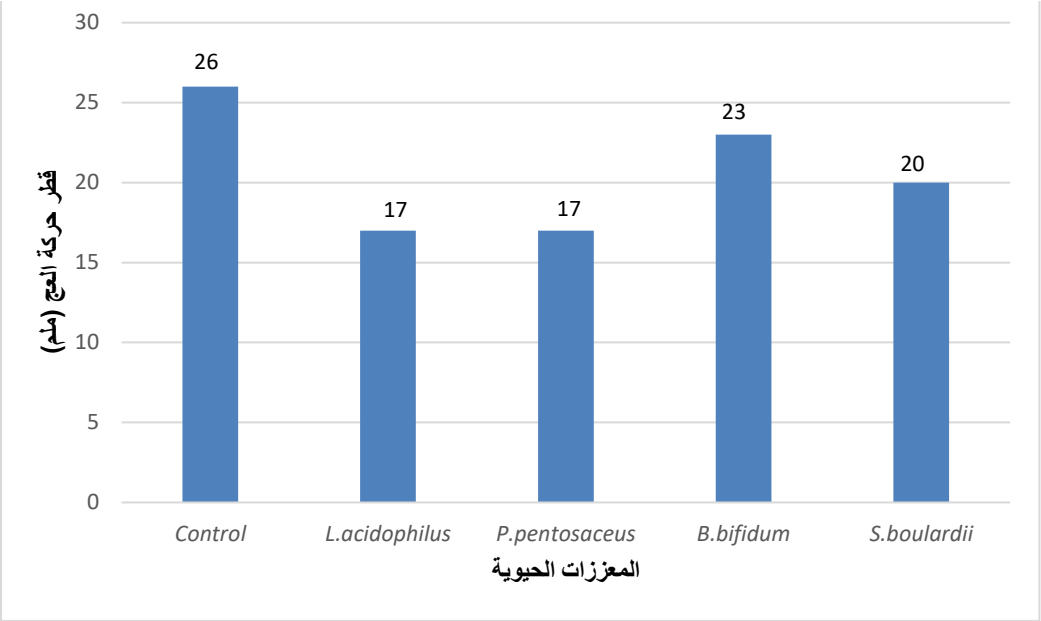
وتتفق هذه النتائج مع العديد من الدراسات في هذا المجال,إذ بينت دراسة الباحثين[45] بأن أقطار النمو لبكتريا Salmonella قلت نتيجة معاملتها برواشح المعززات الحيوية *L.acidophilus,L.casei* و*L.rhamnosus* مقارنة بعينة السيطرة و اكدوا بأن هذا التثبيط للحركة يعزى الى وجود مواد أيضية مثل البكتريوسينات وأحماض عضوية تؤثر على البكتريا وحركتها كما تقلل من التعبير الجيني للجينات المسؤولة عن النمو وحركة العج.

العديد من الدراسات سجلت بأن بكتريا حامض اللاكتيك تمتلك خصائص مضادة للتأثيرات المرضية للجراثيم منها حركة البكتريا التي تعد عامل ضراوة أولي ومهم لحدوث الإصابة البكتيرية ويحدث التثبيط من خلال اختزال التعبير الجيني لعوامل الضراوة ومنها الجينات المسؤولة عن الحركة بواسطة الأسواط [46][47].

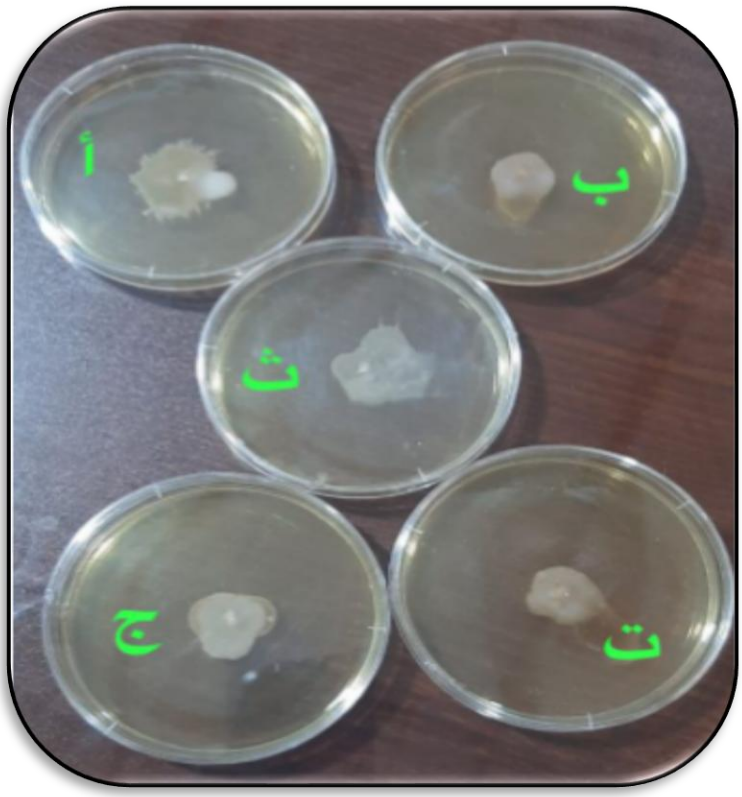
و أكدت الدراسة نفسها [46] بأن معاملة سلالات S.Typhi و S.Enteritidis بالرواشح الخام لعزلات *L.acidophilus* و*Pediococcus* سبب تقليل التعبير الجيني لجينات الحركة وبالتالي تقليل او اختزال اقطار النمو للبكتريا المعاملة على الوسط الزرعي شبه الصلب مقارنة بعينة السيطرة.

الجدول (4) تأثير الرواشح الاربع على قطر منطقة حركة العج لبكتريا S.Enteritidis

ت.	نوع المعاملة	اقطار النمو (ملم)	النسبة المئوية للتثبيط (%)
.1	بكتريا غير معاملة (Control)	26	-
.2	*Lactobacillus acidophilus*	17	35
.3	*Pediococcus pentosaceus*	17	35
.4	*Bifidobacterium bifidum*	23	12
.5	*Saccharomyces boulardii*	20	23



الشكل(5) تأثير الرواشح الأربع على حركة العج لبكتريا*S.*Enteritidis



أ.Control ب.المعزز الحيوي *L.acidophilus*

ت.المعزز الحيوي *P.pentosaceus* ث. المعزز الحيوي *B.bifidum*

ج. المعزز الحيوي *S.boulardii*

الشكل (6) تأثير الرواشح الخام على حركة العج لبكتريا *S.*Enteritidis

الإستنتاجات Conclusions

1. إنّ المعززات الحيوية الأربعة قيد الدراسة *L.acidophilus*, *P.pentosaceus*, *S.boulardii* و*B.bifidum* لها قدرة متوسطة الى بسيطة على تثبيط نمو البكتريا المسببة للإسهال الحاد Enteritidis *Salmonella* المعزولة محلياً، وإنّ العزلة المحلية للمعزز الحيوي *Pediococcus pentosaceus* هي الأكثر تثبيطاً لنمو البكتريا المرضية مقارنة بأنواع المعززات الحيوية الأخرى قيد الدراسة.
2. إنّ انتاج وكفاءة عوامل الضراوة للبكتريا المسببة للإسهال الحاد*S.*Enteritidis يتأثر سلباً بالمعاملة بالرواشح الخام للمعززات الحيوية الأربع آنفة الذكر وبدرجات متفاوتة، حيث إنّ رواشح المعززين الحيويين *L.acidophilus* و*P.pentosaceus* هما الأكفأ في تثبيط عوامل الضراوة للبكتريا المرضيةEnteritidis.*S* التي تشمل تكوين الغشاء الحيوي والالتصاق على الخلايا الظهارية وحركة العج.

المصادر:

[1] W. Abebe, A. Earsido, S. Taye, *et al.*, "Prevalence and antibiotic susceptibility patterns of *Shigella* and *Salmonella* among children aged below five years with diarrhoea attending Nigist Eleni Mohammed Memorial Hospital, South Ethiopia," *BMC Pediatrics*, vol. 18, p. 241, 2018. DOI: 10.1186/s12887-018-1221-9.

[2] G. Mulatu, G. Beyene, and A. Zeynudin, "Prevalence of *Shigella*, *Salmonella* and *Cmpylobacter* species and their susceptibility patterns among under-five children with diarrhea in Hawassa town, South Ethiopia," *Ethiopian Journal of Health Sciences*, vol. 24, no. 2, p. 101, 2014.

[3] A. B. Alzwghaibi, R. Yahyaraeyat, B. N. Fasaei, A. G. Langeroudi, and T. Z. Salehi, "Rapid molecular identification and differentiation of common *Salmonella* serovars isolated from poultry, domestic animals and foodstuff using multiplex PCR assay," *Archives of Microbiology*, vol. 200, no. 7, pp. 1009–1016, 2018. DOI: 10.1007/s00203-018-1501-7.

[4] K. K. Abbas, W. M. A. AL-Wattar, S. Hasan, H. Kasim, and A. A. Jasim, "The incidence of *Shigella* and *Salmonella* in the stool of pediatric patients," *Iraqi Journal of Public Health*, vol. 1, no. 3, pp. 76–78, 2017.

[5] J. Wain, R. S. Hendriksen, M. L. Mikoleit, K. H. Keddy, and R. L. Ochiai, "Typhoid fever," *The Lancet*, vol. 385, 2015.

[6] R. Balasubramanian, J. Im, J.-S. Lee, H. J. Jeon, O. D. Mogeni, J. H. Kim, and R. Rakotozandrindrainy, "The global burden and epidemiology of invasive non-typhoidal infections," *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, vol. 15, pp. 1421–1426, 2019.

[7] S. M. Jajere, "A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and adaptation and antimicrobial resistance including multidrug resistance," *Veterinary World*, vol. 12, no. 4, pp. 504–521, 2019. DOI: 10.14202/vetworld.2019.504-521.

[8] P. Pais, V. Almeida, M. Yılmaz, and M. Teixeira, "*Saccharomyces boulardii*: What makes it tick as successful probiotic?," *Journal of Fungi*, vol. 6, no. 2, pp. 1–15, 2020. DOI: 10.3390/jof6020078.

[9] J. Plaza-Diaz, F. J. Ruiz-Ojeda, M. Gil-Campos, and A. Gil, "Mechanisms of action of probiotics," *Advances in Nutrition*, vol. 10, pp. S49–S66, 2019. DOI: 10.1093/advances/nmy063.

[10] A. H. Baily and A. M. Scotts, "Etiological agent recovered from clinical material," in *Diagnostic Microbiology*, 8th ed., F. O. Fingold and A. H. Bailey, Eds., Baltimore, MD, USA: Williams and Wilkins Co., 1998.

[11] A. Wanger, V. Chavez, R. Huang, and J. K. Actor, *Microbiology and molecular diagnosis in pathology: a comprehensive review for board preparation, certification and clinical practice*, 2017.

[12] G. Funke, D. Monnet, A. von Graevenitz, and J. Freney, "Evaluation of the VITEK 2 system for rapid identification of medically relevant gram-negative rods," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 36, no. 7, pp. 1948–1952, 1998.

[13] R. Sousa, J. Halper, J. Zhang, S. J. Lewis, and W. I. O. Li, "Effect of *Lactobacillus acidophilus* supernatants on body weight and leptin expression in rats," *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 8, no. 1, pp. 1–8, 2008. DOI: 10.1186/1472-6882-8-1.

[14] R. Chelliah, E.-J. Kim, E. B.-M. Daliri, U. Antony, and D.-H. Oh, "In vitro probiotic evaluation of *Saccharomyces boulardii* with antimicrobial spectrum in a *Caenorhabditis elegans* model," *Foods*, vol. 10, p. 1428, 2021. DOI: 10.3390/foods10061428.

[15] B. S. A. AL-Mjalawi, A. R. H. AL-Hamil, and H. A. R. K. AL-Awade, "Study the inhibition activity of *Bifidobacterium spp.* filtrate against some pathogenic bacteria isolated from patients with cardiac catheterization in vitro," *International Journal of Research and Development in Pharmacy & Life Sciences*, vol. 5, no. 3, pp. 2099–2106, 2016.

[16] A. L. Adonizio, "Anti-quorum sensing agents from South Florida medicinal plants and their attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenicity," Ph.D. dissertation, Florida International University, 2008.

[17] M. Fitzgerald, S. Murphy, R. Mulcahy, C. Keane, D. Coakley, and T. Scott, "Tissue culture adherence and haemagglutination characteristics of *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*," *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, vol. 24, no. 1, pp. 105–114, 1999.

[18] D. A. Vattem, K. Mihalik, S. H. Crixell, and R. J. C. McLean, "Dietary phytochemicals as quorum sensing inhibitors," *Fitoterapia*, vol. 78, pp. 302–310, 2007. DOI: 10.1016/j.fitote.2007.02.009.

[19] S. S. Hussain, "Molecular characterization of *Shigella spp.* and *Salmonella enterica* isolated from diarrheal children in AL-Nassiriyah City," Ph.D. dissertation, University of Thi-Qar, Iraq, 2018.

[20] S. B. Alrifai, Y. A. Mahmood, A. A. Ali, and L. A. Al-Kaisi, "Prevalence and etiology of nosocomial diarrhoea in children < 5 years in Tikrit teaching hospital," *The Eastern Mediterranean Health Journal*, vol. 15, no. 5, pp. 1111–1118, 2009.

[21] H. B. N. Yongsi, "Pathogenic microorganisms associated with childhood diarrhea in low-and-middle-income countries: Case study of Yaoundé – Cameroon," *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 5, no. 4, pp. 213–229, 2008.

[22] E. Jawetz, J. A. Melnick, and E. A. Adelberg, *Review of Medical Microbiology*, 27th ed., McGraw-Hill Education, Inc., 2016, p. 85.

[23] A. E. Abo-Amer, "Molecular characterization of antimicrobial compound produced by *Lactobacillus acidophilus* AA11," *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, vol. 54, pp. 107–119, 2007.

[24] M.-F. Bernet-Camard, V. Liévin, D. Brassart, J.-R. Neeser, A. L. Servin, and S. Hudault, "The human *Lactobacillus acidophilus* strain LA1 secretes a non-bacteriocin antibacterial substance(s) active in vitro and in vivo," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 63, pp. 2747–2753, 1997.

[25] M.-H. Coconnier, V. Liévin, E. Hemery, and A. L. Servin, "Antagonistic activity against *Helicobacter* infection in vitro and in vivo by the human *Lactobacillus acidophilus* strain LB," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 64, pp. 4573–4580, 1998.

[26] S. Nanasombat, P. Treebavonkusol, S. Kittisrisopit, T. Jaichalad, S. Phunpruch, A. Kootmas, *et al.*, "Lactic acid bacteria isolated from raw and fermented pork products: Identification and characterization of catalase-producing *Pediococcus pentosaceus*," *Food Science and Biotechnology*, vol. 26, pp. 173–179, 2017.

[27] P. O. de Souza de Azevedo, C. M. N. Mendonça, A. C. R. Moreno, A. V. I. Bueno, S. R. Y. de Almeida, L. Seibert, and R. P. de Souza Oliveira, "Antibacterial and antifungal activity of crude and freeze-dried bacteriocin-like inhibitory substance produced by *Pediococcus pentosaceus*," *Scientific Reports*, vol. 10, no. 1, pp. 1–14, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-67156-1.

[28] G. R. Gibson and X. Wang, "Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria," *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 77, no. 4, pp. 412–420, 1994.

[29] B. Offei, P. Vandecruys, S. De Graeve, M. R. Foulquié-Moreno, and J. M. Thevelein, "Unique genetic basis of the distinct antibiotic potency of high acetic acid production in the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae var. boulardii*," *Genome Research*, vol. 29, pp. 1478–1494, 2019.

[30] D. M. Stefania, P. Miranda, M. Diana, Z. Claudia, P. Rita, and P. Donatella, "Antibiofilm and antiadhesive activities of different synbiotics," *Journal of Probiotics and Health*, vol. 5, no. 3, pp. 182–191, 2017.

[31] S. Miquel, R. Lagrafeuille, B. Souweine, and C. Forestier, "Anti-biofilm activity as a health issue," *Frontiers in Microbiology*, vol. 7, p. 592, 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00592.

[32] B. Speranza, A. Liso, V. Russo, and M. R. Corbo, "Evaluation of the potential of biofilm formation of *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* and *Lactobacillus reuteri* as competitive biocontrol agents against pathogenic and food spoilage bacteria," *Microorganisms*, vol. 8, no. 2, p. 177, 2020. DOI: 10.3390/microorganisms8020177.

[33] A. G. Abdelhamid, A. Esaam, and M. M. Hazaa, "Cell-free preparations of probiotics exerted antibacterial and antibiofilm activities against multidrug-resistant *E. coli*," *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 26, no. 5, pp. 603–607, 2018. DOI: 10.1016/j.jsps.2018.02.012.

[34] M. Adnan, A. J. Siddiqui, W. S. Hamadou, S. A. Ashraf, M. I. Hassan, M. Snoussi, *et al.*, "Functional and structural characterization of *Pediococcus pentosaceus*-derived biosurfactant and its biomedical potential against bacterial adhesion, quorum sensing, and biofilm formation," *Antibiotics*, vol. 10, p. 1371, 2021. DOI: 10.3390/antibiotics10111371.

[35] R. S. Blosser and K. M. Gray, "Extraction of violacein from *Chromobacterium violaceum* provides a new quantitative bioassay for N-acyl homoserine lactone autoinducers," *Journal of Microbiological Methods*, vol. 40, pp. 47–55, 2000. DOI: 10.1016/S0167-7012(99)00118-3.

[36] G. A. Płaza, I. Zjawiony, and I. M. Banat, "Use of different methods for detection of thermophilic biosurfactant-producing bacteria from hydrocarbon-contaminated and bioremediated soils," *Journal of Petroleum Science and Engineering*, vol. 50, pp. 71–77, 2006. DOI: 10.1016/j.petrol.2005.10.005.

[37] D. M. Guglielmotti, M. B. Marcó, M. Golowczyc, J. A. Reinheimer, and A. L. Quiberoni, "Probiotic potential of *Lactobacillus delbrueckii* strains and their phage-resistant mutants," *International Dairy Journal*, vol. 17, pp. 916–925, 2007. DOI: 10.1016/j.idairyj.2006.12.007.

[38] A. Pinto, J. Barbosa, H. Albano, J. Isidro, and P. Teixeira, "Screening of bacteriocinogenic lactic acid bacteria and their characterization as potential probiotics," *Microorganisms*, vol. 8, p. 393, 2020. DOI: 10.3390/microorganisms8030393.

[39] F. Serafini, F. Strati, P. Ruas-Madiedo, F. Turroni, E. Foroni, S. Duranti, *et al.*, "Evaluation of adhesion properties and antibacterial activities of the infant gut commensal *Bifidobacterium bifidum* PRL2010," *Anaerobe*, vol. 21, pp. 9–17, 2013. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2013.02.003.

[40] N. C. Gomez, J. M. Ramiro, B. X. Quecan, and B. D. de Melo Franco, "Use of potential probiotic lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, and *Escherichia coli* O157:H7 biofilms formation," *Frontiers in Microbiology*, vol. 7, p. 863, 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00863.

[41] A. E. Maysa, O. M. Abdel-Fatah, J.-ch. Janson, and A. M. Elshafzi, "Antimicrobial potential of *Saccharomyces boulardii* extracts and fractions," *Journal of Applied Sciences Research*, vol. 8, no. 8, pp. 4537–4543, 2012.

[42] L. C. Edwards-Ingram, M. E. Gent, D. C. Hoyle, A. Hayes, L. I. Stateva, and S. G. Oliver, "Comparative genomic hybridization provides new insights into the molecular taxonomy of the *Saccharomyces sensu stricto* complex," *Genome Research*, vol. 14, pp. 1043–1051, 2004. DOI: 10.1101/gr.2049704.

[43] L. V. McFarland, "Common organisms and probiotics: *Saccharomyces boulardii*," in *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology*, Academic Press, Cambridge, MA, USA, 2017, pp. 145–164.

[44] V. K. Gogineni, L. E. Morrow, and M. A. Malesker, "Probiotics: Mechanisms of action and clinical applications," *Journal of Probiotics and Health*, vol. 1, no. 1, pp. 1–11, 2013.

[45] K. M. Burkholder, D. H. Fletcher, L. Gileau, and A. Kandolo, "Lactic acid bacteria decrease *Salmonella enterica* Javiana virulence and modulate host inflammation during infection of an intestinal epithelial cell line," *Pathogens and Disease*, vol. 77, no. 3, p. ftz025, 2019. DOI: 10.1093/femspd/ftz025.

[46] M. S. Muyyarikkandy and M. A. Amalaradjou, "*Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus paracasei* attenuate *Salmonella enteritidis*, *Salmonella heidelberg* and *Salmonella typhimurium* colonization and virulence gene expression in vitro," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 18, p. 2381, 2017. DOI: 10.3390/ijms18112381.

[47] W. Zhao, T. Yuan, and C. Piva, "The probiotic bacterium, *Phaeobacter inhibens*, down-regulates virulence factor transcription in the shellfish pathogen, *Vibrio coralliilyticus*, by N-acyl homoserine lactone production," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 85, p. e01545–18, 2018. DOI: 10.1128/AEM.01545-18.