سید محمد مهدی محمودی[1*] فرحناز جوانمردی[2]

استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

آستادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

بررسی اثر ضد باکتریایی و سینرژیسم پرودیجیوسین با تعدادی از آنتی بیوتیک های رایج

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۸/۱۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۲۶

چکیده

مقدمه و هدف: امروزه راهکار اصلی درمان عفونت های باکتریایی استفاده از آنتی بیوتیک ها است، ولی به دلیل عوارض جانبی و افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی، استفاده از روش های مکمل یا جایگزین برای درمان بیماری های عفونی اهمیت ویژه ای پیدا کرده است.

مواد و روش: در این تحقیق توسط یک سویه از باکتری *سراشیا مارسسنس*، رنگیزه پرودیجیوسین تولید شد و اثر ضد باکتریایی آن بر تعدادی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی بیماریزا با روش تعیین حداقل غلظت ممانعتی و حداقل غلظت کشنده رنگیزه بررسی شد. همچنین اثر سینرژیسم رنگیزه تولیدی با تعدادی از آنتی بیوتیک های رایج مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج این تحقیق نشان داد که پرودیجیوسین تولیدی در غلظت های ۳۲ ، ٦٤ ، ۲٥٦ و ۵۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر می تواند به ترتیب از رشد باکتری های *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کولی و کلبسیلا اکسی توکا* جلوگیری کند. بررسی پدیده سینرژیسم نیز نشان داد که این رنگیزه با آنتی بیوتیک های اگزاسیلین، سفتریاکسون و ونکومایسین دارای اثر سینرژیسم می باشد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج، به نظر می رسد که باکتری های گرم مثبت حساسیت بیشتری نسبت به پرودیجیوسین تولیدی داشته و همچنین اثر سینرژیسم این رنگیزه عمدتا با آنتی بیوتیک هایی است که بر دیواره سلولی باکتری ها اثر می گذارند. در صورتیکه بی ضرر بودن و عدم سمیت این رنگیزه در مدلهای زنده حیوانی و انسانی اثبات شود، می توان به کاربرد این رنگیزه به عنوان یک داروی مکمل و یا حتی جایگزین آنتی بیوتیک ها امیدوار بود.

کلمات کلیدی: پرودیجیوسین، سینرژیسم، کمترین غلظت ممانعتی

***نویسنده مسئول:**

استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

۰۹۱۷۷۰۴۴۸۰۰
Email: mm.mahmoodi@kau.ac.ir

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.524]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.524] [Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2025-08-20]

مقدمه

تاکنون استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، هسته اصلی درمان عفونت‌های باکتریایی را تشکیل داده، ولی به دلیل افزایش روز افزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها و وجود عوارض جانبی اغلب این داروها، به کارگیری روش‌های مکمل و یا جایگزین برای درمان عفونت‌های باکتریایی اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. امروزه مشخص گردیده که حدود ۷۰ درصد باکتری‌هایی که باعث عفونت‌های بیمارستانی می‌شوند، حداقل نسبت به یکی از داروهای معمول مورد استفاده برای درمان مقاوم شده‌اند. به کارگیری محصولات ثانویه باکتریایی با قابلیت ضد میکروبی همچون رنگیزه‌ها و باکتریوسین ها، به عنوان مکمل و یا جایگزین داروهای فعلی، توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف کرده است و به نظر می‌رسد که استفاده از این ترکیبات می‌تواند یکی از راهکارهای مقابله با مقاومت دارویی ایجاد شده در باکتری‌ها باشد[۱].

باکتری‌های رنگیزه دار از جمله باکتری‌هایی هستند که قادر به تولید رنگیزه به عنوان یک محصول ثانویه می‌باشند. این باکتری‌ها در مقایسه با سویه‌های بدون رنگیزه تفاوت‌هایی را از نظر مقاومت نسبت به عوامل فیزیکی و شیمیایی از خود نشان می‌دهند. باکتری *سراشیا مارسسنس*، یک گونه گرم منفی، بی هوازی اختیاری، متحرک و میله‌ای شکل از خانواده انتروباکتریاسه است که برخی از نژادهای آن از توانایی تولید رنگدانه قرمز پرودیجیوسین برخوردارند. رنگدانه پرودیجیوسین یک متابولیت ثانویه ویژه با فرمول مولکولی $C_{20}H_{25}N_{30}O$ و وزن مولکولی ۳۲۳/٤ گرم بر مول می باشد. ساختار آن دارای سه حلقه پیرولی بوده و یک پیریل دی پیریل متن می‌باشد[۲]. این رنگیزه در آب نامحلول بوده، در کلروفرم و استونیتریل بطور نسبی محلول و در اتانول، متانول، استون، اتر نفت و دی متیل سولفوکساید محلول می باشد[۳]. تحقیقات متعدد نشان داده‌اند که رنگیزه پرودیجیوسین از خواص متعددی برخوردار بوده و می‌تواند در پزشکی به عنوان داروی سرکوب کننده ایمنی و عامل ضد تومور کاربرد داشته باشد[٤]. دارای اثرات ضد انگل مالاریا[۵] و ضد میکروبی بوده و در صنایع نساجی و رنگرزی نیز می‌توان از آن استفاده کرد[٦].

هدف از انجام این تحقیق، تولید رنگیزه پرودیجیوسین توسط سویه ای از باکتری *سراشیا مارسسنس* و مطالعه اثرات ضد باکتریایی آن بر علیه تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بیماریزا بود ضمن آنکه اثر سینرژیسم این رنگیزه با تعدادی از آنتی بیوتیک های رایج نیز مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها

در این مطالعه پژوهشی- کاربردی، باکتری *سراشیا مارسسنس* سویه IBRC-M 10705 به صورت آمپول لیوفیلیزه از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه گردید. پس از انجام چندین آزمون بیوشیمیایی و اطمینان یافتن از خلوص باکتری و توانایی تولید رنگیزه، کشت ۱۸ ساعته باکتری در محیط تریپتیکیز سوی براث تهیه شد. به منظور سهولت استخراج و خالص سازی بهتر رنگیزه، تصمیم گرفته شد که باکتری *سراشیا مارسسنس* را به صورت کشت کامل در سطح محیط جامد کشت داده و سپس کلنی های باکتری از سطح محیط جمع آوری شوند و رنگیزه مستقیما از سلول های باکتری استخراج گردد. به این ترتیب، عناصر و ترکیبات محیط کشت وارد نمونه نشده و رنگیزه خالص تری به دست خواهد آمد. برای این منظور، ابتدا ٦۰ پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار تهیه گردید و باکتری *سراشیا مارسسنس* در تمام سطح پلیت ها به صورت کامل کشت داده شد و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت ٤۸ ساعت گرمخانه گذاری گردید. با استفاده از یک میله شیشه ای L مانند استریل و افزودن کمی آب مقطر استریل، کلنی های باکتری را از سطح پلیت ها شسته و درون یک ارلن استریل ریخته شد. به میزان ٤ برابر حجم محلول رنگیزه، استون به ارلن اضافه گردید و دهانه ارلن با فویل آلومینیومی استریل پوشانده شد و به مدت ۲۰ دقیقه بر روی دستگاه شیکر با گشتاور ۱۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. محتویات ارلن را به لوله های درپیچ دار استریل انتقال داده و لوله ها به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ٦۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع رویی لوله ها به یک بشر ۱۰۰۰ میلی لیتری استریل که قبلا توسط ترازوی دیجیتال با دقت وزن آن تعیین گردیده بود انتقال داده شد. بشرحاوی رنگیزه به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور با دمای ٤۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا استون موجود در آن کاملا تبخیر گشته و رنگیزه خشک شود.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.524]

سپس بشر به مدت ۳ ساعت در محفظه دسیکاتور قرار داده شد تا هرگونه رطوبت احتمالی آن نیز حذف گردد. بشر حاوی پودر رنگیزه را مجددا وزن نموده و اختلاف وزن بشر نسبت به وزن اولیه آن، که معادل وزن رنگیزه پرودیجیوسین تولیدی بود محاسبه گردید. میزان ۱۰ میلی لیتر الکل اتانول ۹۶ درصد به بشر اضافه شد و با حرکت دورانی، ذرات رنگیزه چسبیده به جداره های بشر کاملا در اتانول حل گردید[۷]. با توجه به اینکه در مرحله تولید، میزان ۵۱ میلی گرم پودر رنگیزه به دست آمده بود، با افزودن آب مقطر استریل به ارلن، حجم محلول رنگیزه به ۲۴/۹ میلی لیتر رسانده شد تا غلظت نهایی پرودیجیوسین معادل ۲۰۴۸g/ml µ گردد. در پایان جهت اطمینان از فقدان هرگونه آلودگی میکروبی، با استفاده از فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرون محلول رنگیزه تولید شده فیلتر گردید[۸].

تعیین حداقل غلظت بازدارنده (MIC) پرودیجیوسین

در این تحقیق، اثر ضد باکتریایی رنگیزه پرودیجیوسین تولیدی، بر روی چهار باکتری مختلف مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور از باکتری های گرم منفی *کلبسیلا اکسی توکا* و *اشریشیا کلی* و باکتری های گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده گردید. این باکتری ها که قبلا با آزمون های بیوشیمیایی[۹] و تعیین توالی مولکولی اصالت آنها تایید شده بود از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد واحد کازرون تهیه گردیدند. از کشت ۱۸ ساعته باکتری ها در محیط نوترینت آگار چندین کلنی برداشته و با حل نمودن تدریجی در محیط مولر هینتون براث و مقایسه کدورت حاصله با لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند، غلظت هر باکتری معادل $1/5 \times 10^8$ CFU/ml تنظیم گردید. مطابق دستورالعمل موسسه استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (CLSI, ۲۰۱۸) ابتدا با روش رقیق سازی متوالی، رقت های مختلفی از رنگیزه پرودیجیوسین در لوله های حاوی محیط مولر هینتون براث تهیه گردید و از یک باکتری هدف به آن لوله ها تلقیح شد. این مراحل برای تک تک باکتری های مورد بررسی به صورت مجزا تکرار گردید. بعد از گرمخانه گذاری به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، کدورت لوله ها در مقایسه با لوله های شاهد (حاوی رنگیزه با غلظت های مختلف اما فاقد باکتری) هم به صورت چشمی و هم توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر مقایسه گردید و کمترین غلظت پرودیجیوسین که توانسته بود از رشد باکتری ها ممانعت نماید، به عنوان MIC رنگیزه پرودیجیوسین در نظر گرفته شد[۱۰].

تعیین حداقل غلظت کشنده (MBC) پرودیجیوسین

جهت تعیین حداقل غلظت کشنده پرودیجیوسین، از تک تک لوله های MIC که فاقد کدورت بودند نمونه برداری شد و در پلیت های حاوی محیط مولر هینتون آگار کشت سطحی داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، کمترین غلظتی از رنگیزه که توانسته بود بیشتر از ۹۹/۹ ٪ از باکتری ها را از بین ببرد به عنوان MBC در نظر گرفته شد[۱۰].

تعیین اثر سینرژیسم پرودیجیوسین با آنتی بیوتیک ها

در این تحقیق، به منظور بررسی اثر سینرژیسم بین پرودیجیوسین تولیدی با تعدادی از آنتی بیوتیک های رایج، آنتی بیوتیک های آموکسی سیلین، سفتریاکسون، جنتامایسین، تتراسایکلین، کلرامفنیکل، ونکومایسین، سیپروفلوکساسین و اگزاسیلین انتخاب و تهیه گردیدند. با حل نمودن مقدار مناسبی از پودر این آنتی بیوتیک ها در محیط کشت مولر هینتون براث، محلول هایی با غلظت ۱۰۲۴g/ml µ تهیه شد و همانند آنچه که در خصوص رنگیزه پرودیجیوسین بیان شد، با روش رقیق سازی متوالی، MIC و MBC آنتی بیوتیک ها نیز تعیین گردید. جهت بررسی اثر سینرژیسم بین رنگیزه پرودیجیوسین با آنتی بیوتیک ها از روش ترکیب شطرنجی استفاده شد. برای این منظور، مطابق شکل ۱ سایر رقت های تهیه شده از پرودیجیوسین با سایر رقت های تهیه شده از آنتی بیوتیک ها به صورت شطرنجی با یکدیگر ترکیب گشته و تاثیر مخلوط حاصله، بر تک تک باکتری های هدف مورد بررسی قرار گرفت[۱۱].

جهت ارزیابی نتایج سینرژیسم، شاخص نسبی غلظت ممانعت کنندگی FIC (fractional inhibitory concentration index) تعیین گردید. برای این منظور $FIC_{Prodigiosin}$ (MIC پرودیجیوسین در حالت مخلوط با آنتی بیوتیک، تقسیم برMIC پرودیجیوسین به

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.524]

تنهایی) و $FIC_{Antibiotic}$ (MIC آنتی بیوتیک در حالت مخلوط با پرودیجیوسین، تقسیم برMIC آنتی بیوتیک به تنهایی) تعیین گردیدند و سپس مجموع آنها به عنوان شاخص FIC محاسبه گردید[۱۲].

$$FIC\ index = FIC_{Prodigiosin} + FIC_{Antibiotic}$$

اگر FIC index <= ۰/۵ باشد نشانه پدیده سینرژیسم (synergism) بین آنتی بیوتیک و پرودیجیوسین خواهد بود.

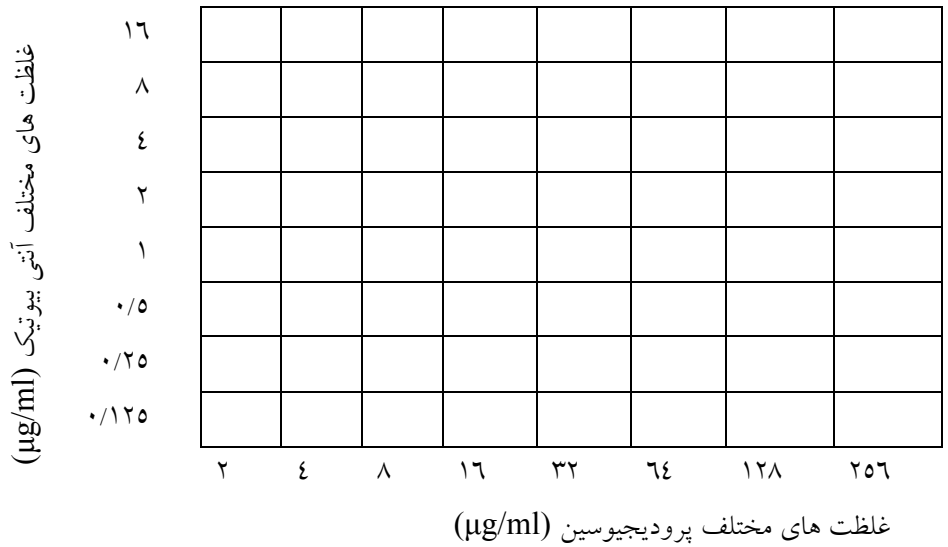
اگر ۰/۵ < FIC index <= ۱ باشد نشانه جمع اثرات ضدباکتریایی (additive) آنتی بیوتیک و پرودیجیوسین خواهد بود.

اگر ۱ < FIC index <= ۲ باشد نشانه عدم وجود رابطه (indifferent) بین آنتی بیوتیک و پرودیجیوسین خواهد بود.

اگر FIC index > ۲ باشد نشانه پدیده تضاد (antagonism) بین آنتی بیوتیک و پرودیجیوسین خواهد بود[۱۲].

نتایج

در این تحقیق مشخص گردید که رنگیزه پرودیجیوسین تهیه شده از شیرابه کشت باکتری *سراشیا مارسسنس*، دارای اثرات ممانعت کنندگی و کشندگی بر برخی از باکتری های هدف می باشد. نتایج این بررسی درجدول ۱ نشان داده شده است. نتایج حداقل غلظت ممانعتی و کشندگی آنتی بیوتیک های مورد بررسی نیز در جدول ۲ نمایش داده شده است. در این تحقیق اثر سینرژیسم بین رنگیزه پرودیجیوسین تولیدی با آنتی بیوتیک ها نیز مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۳ نمایش داده شده است.



شکل ۱: بررسی اثر سینرژیسم غلظت های مختلف پرودیجیوسین و آنتی بیوتیک ها به روش شطرنجی

جدول ۱: نتایج حداقل غلظت ممانعتی و کشندگی پرودیجیوسین بر باکتری های مورد مطالعه

باکتری هدف	حداقل غلظت ممانعتی (µg/ml)	حداقل غلظت کشندگی (µg/ml)
باسیلوس سرئوس	۳۲	۱۲۸
استافیلوکوکوس اورئوس	٦٤	۱۲۸
اشریشیا کولی	۲٥٦	۲٥٦
کلبسیلا اکسی توکا	٥۱۲	٥۱۲

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.524]

جدول ۲: نتایج حداقل غلظت ممانعتی و کشندگی آنتی بیوتیک ها بر باکتری های مورد مطالعه

آنتی بیوتیک	*باسیلوس سرئوس*		*استافیلوکوکوس اورئوس*		*اشریشیا کولی*		*کلبسیلا اکسی توکا*	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
آموکسی سیلین	۱۲۸	۲۵۶	۲۵۶	۵۱۲	۱۶	۶۴	۶۴	۲۵۶
اگزاسیلین	۳۲	۱۲۸	۱	۸	۱۶	۶۴	۶۴	۱۲۸
سفتریاکسون	۶۴	۲۵۶	۴	۱۶	۰/۵	۴	۴	۱۶
ونکومایسین	۱	۸	۰/۵	۸	۶۴	۲۵۶	۲۵۶	۱۰۲۴
تتراسیکلین	۴	۶۴	۴	۳۲	۲	۳۲	۴	۳۲
کلرآمفنیکل	۲	۶۴	۱۶	۲۵۶	۴	۱۲۸	۸	۱۲۸
جنتامایسین	۱	۱۶	۴	۳۲	۴	۶۴	۸	۶۴
سیپروفلوکساسین	۲	۱۶	۴	۶۴	۰/۱۲۵	۴	۰/۵	۴

جدول ۳: نتایج اثر سینرژیسم پرودیجیوسین تولیدی با آنتی بیوتیک های مورد مطالعه

ترکیب پرودیجیوسین با	*باسیلوس سرئوس*			*استافیلوکوکوس اورئوس*			*اشریشیا کولی*			*کلبسیلا اکسی توکا*		
	FIC_P	FIC_A	نتایج	FIC_P	FIC_A	نتایج	FIC_P	FIC_A	نتایج	FIC_P	FIC_A	نتایج
آموکسی سیلین	۰/۵	۰/۲۵	مجموع	۰/۵	۰/۵	مجموع	۱	۰/۵	بی اثر	۱	۱	بی اثر
اگزاسیلین	۰/۲۵	۰/۵	مجموع	۰/۰۶۲۵	۰/۲۵	سینرژیسم	۰/۲۵	۰/۵	مجموع	۰/۵	۰/۲۵	مجموع
سفتریاکسون	۰/۲۵	۰/۱۲۵	سینرژیسم	۰/۱۲۵	۰/۲۵	سینرژیسم	۰/۲۵	۰/۵	مجموع	۰/۲۵	۰/۵	مجموع
ونکومایسین	۰/۱۲۵	۰/۱۲۵	سینرژیسم	۰/۱۲۵	۰/۲۵	سینرژیسم	۱	۰/۵	بی اثر	۱	۰/۵	بی اثر
تتراسیکلین	۰/۵	۱	بی اثر	۱	۰/۵	بی اثر	۱	۰/۲۵	بی اثر	۱	۱	بی اثر
کلرامفنیکل	۰/۵	۱	بی اثر	۱	۱	بی اثر	۰/۲۵	۰/۵	مجموع	۱	۰/۵	بی اثر
جنتامایسین	۰/۲۵	۰/۵	مجموع	۰/۵	۰/۲۵	مجموع	۰/۵	۰/۲۵	مجموع	۱	۰/۲۵	بی اثر
سیپروفلوکساسین	۰/۵	۰/۵	مجموع	۰/۵	۰/۵	مجموع	۰/۵	۱	بی اثر	۰/۵	۱	بی اثر

$MIC = FIC_P$ پرودیجیوسین در حالت مخلوط با آنتی بیوتیک، تقسیم برMIC پرودیجیوسین به تنهایی

$MIC = FIC_A$ آنتی بیوتیک در حالت مخلوط با پرودیجیوسین، تقسیم برMIC آنتی بیوتیک به تنهایی

بحث و نتیجه گیری

امروزه گسترش مقاومت دارویی در بین سویه های مختلف میکروبی موجب شده که محققین به دنبال کشف، شناسایی و یا تولید عوامل ضد میکروبی دیگری باشند. پیدایش مقاومت دارویی معضل جدیدی نبوده بلکه از بدو استفاده از آنتی بیوتیک ها در درمان بیماری های عفونی وجود داشته است. در سال ۲۰۱۴ سازمان بهداشت جهانی از مقاومت دارویی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان یک "تهدید بزرگ جهانی" نام برده است[1].

در تحقیق حاضر، ابتدا توسط سویه ای از باکتری *سراشیا مارسسنس*، رنگیزه پرودیجیوسین تولید و با استفاده از استون و اتانول از سلول های باکتری جداسازی گردید. اثر ضد باکتریایی رنگیزه تولیدی، بر تعدادی از باکتری های بیماریزای گرم مثبت و گرم منفی با روش رقیق سازی متوالی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که پرودیجیوسین تولیدی در غلظت های

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.524]

۳۲ و ٦٤ میکروگرم بر میلی لیتر می تواند به ترتیب از رشد باکتری های گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* ممانعت نماید اما در خصوص باکتری های گرم منفی *اشریشیا کولی* و *کلبسیلا اکسی توکا*، غلظت های بیشتری از رنگیزه (به ترتیب ۲۵٦ و ۵۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر) جهت ممانعت از رشد این باکتری ها لازم بود. به همین ترتیب، در خصوص حداقل غلظت کشنده این رنگیزه نیز مشخص گردید که باکتری های گرم منفی مقاومت بیشتری داشته و غلظت های بالاتری از رنگیزه برای از بین بردن آنها لازم می باشد. به نظر می رسد که تفاوت ساختاری دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی می تواند عامل اصلی مقاومت بیشتر باکتری های گرم منفی نسبت به این رنگیزه باشد. غشای خارجی باکتری های گرم منفی و چربی های موجود در آن می تواند همانند یک لایه مقاوم در برابر ترکیبات شیمیایی درشت مولکول عمل نموده و از ورود چنین ترکیباتی به درون سلول باکتری ممانعت کند. وجود فضای پری پلاسم نیز در باکتری های گرم منفی، خود عامل دیگری برای محافظت این باکتری ها در برابر مولکول های مهاجم خارجی است. آنزیم های هضم کننده مختلفی که در سیتوپلاسم باکتری های گرم منفی ساخته می شوند، عمدتا در فضای پری پلاسم باکتری انباشته شده و همانند سپری محافظ می توانند سلول باکتری را در برابر هجوم ترکیبات مخرب خارجی محافظت نمایند. در تحقیقاتی نیز که توسط دیگر محققین صورت گرفته، گزارش هایی مبنی بر حساسیت بیشتر باکتری های گرم مثبت نسبت به رنگیزه پرودیجیوسین آمده است. گولانی و همکاران درسال ۲۰۱۲ گزارشی مبنی بر فعالیت پرودیجیوسین برعلیه باکتری های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس* و *باسیلوس سوبتیلیس* ارائه داشته اند. دراین مطالعه همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی رنگدانه پرودیجیوسین نیز نشان داده شده است[۱۳]. گزارش های مشابه دیگری نیز توسط دارشان و همکاران در سال ۲۰۱٦ در خصوص اثر ضد میکروبی این رنگیزه بر باکتری های پاتوژن آمده است. در این گزارش ها تا حدودی به برهم کنش های این رنگیزه با غشاء و دیواره سلول های باکتری نیز پرداخته شده است[۱٤].

در این تحقیق مشخص گردید که رنگیزه پرودیجیوسین می تواند با تعدادی از آنتی بیوتیک های مورد بررسی اثر سینرژیسم داشته باشد و به نظر می رسد که این پدیده بیشتر با آنتی بیوتیک های موثر بر دیواره سلولی باکتری صورت گرفته است. همچنین نوع باکتری هدف نیز در این خصوص بی تاثیر نبوده به گونه ای که در خصوص باکتری های گرم مثبت، پرودیجیوسین با آنتی بیوتیک های اگزاسیلین، سفتریاکسون و ونکومایسین اثر سینرژیسم داشته است اما در خصوص باکتری های گرم منفی، با همین آنتی بیوتیک ها به صورت اثر ترکیبی و یا فاقد اثر ظاهر شده است. این مسئله می تواند به دلیل تفاوت های ساختاری دیواره سلولی در این دو گروه باکتری باشد و احتمالا وجود غشای خارجی (با ساختار چرب و آب گریز خود) و وجود فضای پری پلاسم (با آنزیم های هضم کننده موجود در آن) در باکتری های گرم منفی می تواند عامل مهمی در عدم کارآیی مناسب پرودیجیوسین و عدم شکل گیری پدیده سینرژیسم در خصوص این باکتری ها باشد. بررسی نتایج نشان داد که آن دسته از آنتی بیوتیک های مورد بررسی که تاثیر مستقیم آنها بر ریبوزوم باکتری و یا آنزیم های باکتری می باشد، فقط به صورت اثر ترکیبی و یا فاقد اثر، با پرودیجیوسین وارد عمل می شوند ضمنا هیچ گونه اثر متضادی بین پرودیجیوسین تولیدی با آنتی بیوتیک های مورد مطالعه مشاهده نشد. در هر صورت، حساسیت قابل توجه باکتری های گرم مثبت نسبت به اثرات ضد باکتریایی پرودیجیوسین و توانایی این رنگیزه در ایجاد پدیده سینرژیسم با تعدادی از آنتی بیوتیک ها نوید بخش امکان بکارگیری این رنگیزه به عنوان یک داروی مکمل در درمان عفونت های باکتریایی خواهد بود.

References

1. Alanis AJ. Resistance to antibiotics: are we in the post antibiotic era. Archives Med Res. 2005; 36(6): 697-705.
2. Bennett JW, Bentley R. Seeing red: The story of prodigiosin. Adv Appl Microbiol. 2000; 47: 1-32.
3. Hee-Yong P, Tai-Kyong K, Se-Jong H, Jong-Han Y.Enhancement of the stability of prodigiosin using cyclodextrin in seawater. KSBB Journal. 2012; 27(2): 109-113.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2025-08-20]
[DOI: 10.52547/aums.11.4.524]

4. Campas C. Prodigiosin induces apoptosis of B and T cells from B-cell chronic lymphocytic leukemia. Leukemia. 2003; 17: 746-750.

5. Castro A J. Antimalarial activity of prodigiosin. Nature. 1967; 213: 903–904.

6. Alihosseini F, Ju KS, Lango J, Bruce D, Sun HG. Antibacterial colorants: Characterization of prodiginines and their applications on textile materials. Biotechnol Progress. 2008; 24: 742-747.

7. Chang S, Sanada M, Johdo O. et al. High production of prodigiosin by *Serratia marcescens* grown on ethanol. Biotchnol. Lett. 2000; 22:1761-1765.

8. Haddix P L, Werner T F. Spectrophotometric assay of gene expression: *Serratia marcescens* pigmentation. Bioscene. 2000; 26: 4-7.

9. Baron EJ and Finegold SM. Diagnostic microbiology. 8th edition, C.V.Mosby Company. 1990; 363-380

10. Weinstein MP, Patel JB, Campeau Sh, et al. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI. M100, 28th ed. 2018; 38(3).

11. Gani O, Aisen B, Yasemin Z, Iclal B. Synergy tests by E-Test and checkerboard methods of antimicrobial combinations against *Brucella melitensis*. Journal of clinical Microbiologyl. 2005; 43(1): 140-143.

12. Nisarg G, Gargi B, Vijai S. Synergistic bactericidal profiling of prodigiosin extracted from *Serratia marcescens* in combination with antibiotics against pathogenic bacteria. microbial pathogenesis. 2020; 149:1-6.

13. Gulani Ch, Bhattacharya S, Das A. Assessment of process parameters influencing the enhanced production of prodigiosin from *Serratia marcescens* and evaluation of its antimicrobial, antioxidant and dyeing potentials. Malaysian Journal of Microbiology. 2012; 8(2): 116-122.

14. Darshan N, Manonmani HK. Prodigiosin inhibits motility and activates bacterial cell death revealing molecular biomarkers of programmed cell death. AMB express. 2016; 6: 50-54.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.524]

AUMJ Alborz University of Medical Sciences Journal

Alborz University of Medical Sciences Journal, October 2022, Vol. 11, No. 4: 524-531 *Original Article*

Seyed Mohammad Mehdi Mahmoodi[1]* , Farahnaz Javanmardi[2]

[1]Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

***Corresponding Author:**

Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

Tel: 09177044800
E-mail:: mm.mahmoodi@kau.ac.ir

Evaluation of Antibacterial Effect and Synergism of Prodigiosin with a Number of Common Antibiotics

Received: 8 Nov 2021 ; Accepted: 16 Apr 2022

Abstract

Aim and objective: Today, the main treatment for bacterial infections is the use of antibiotics, but due to side effects and increased antibiotic resistance, the use of complementary or alternative methods to treat infectious diseases has become particularly important.

Material and Method: In this study, prodigiosin pigment was produced by a strain of *Seratia marcescens* and its antibacterial effect on a number of gram-positive and gram-negative pathogenic bacteria was investigated by determining the MIC and MBC of the pigment. The synergism effect of pigment with a number of common antibiotics was also investigated.

Results: The results of this study showed that produced prodigiosin, at concentrations of 32, 64, 256 and 512 µg / ml could inhibit the growth of *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Klebsiella oxytoca* respectively. The study of synergism phenomenon also showed that, this pigment has a synergistic effect with the antibiotics oxacillin, ceftriaxone and vancomycin.

Conclusion: According to the results, it seems that gram-positive bacteria are more sensitive to produced prodigiosin and also the synergistic effect of this pigment is mainly with antibiotics that affect the cell wall of bacteria. If the harmlessness and non-toxicity of this pigment is proven in living animal and human models, we can hope that this pigment will be used as a complementary drug or even as an alternative to antibiotics.

Key words: Prodigiosin, Synergism, MIC

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2025-08-20]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.524]