مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۲۱، خرداد ۱۴۰۱، ۲۸۰-۲۶۴

جداسازی و شناسایی مولکولی اکتینومیست‌های مولد مواد آنتی‌باکتریال علیه پاتوژن‌های بیماری‌زا از رسوبات پساب صنعتی کارخانه شیشه‌سازی شهر مراغه: یک مطالعه آزمایشگاهی

علیرضا عبدالحسین زاده[۱]، رسول شکری[۲]، سیدرضا مؤدب [۳] مهدی رهنما [٤]

دریافت مقاله: ۱٤۰۰/۰٦/۱٦ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۱٤۰۰/۰۸/۱۲ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۱٤۰۰/۱۲/۱۱ پذیرش مقاله: ۱٤۰۰/۱۲/۱٤

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، استفاده از منابع جدید آنتی‌بیوتیک مانند اکتینومیست‌ها که به عنوان منابع جدید آنتی‌بیوتیکی شناخته شده، امری ضروری است. هدف از تحقیق حاضر جداسازی و شناسایی اکتینومیست‌های مولد متابولیت‌های آنتی‌باکتریال از رسوبات پساب صنعتی و مطالعه اثر ضد میکروبی آن‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی، اکتینومیست‌ها از رسوبات پساب صنعتی خروجی کارخانه شیشه سازی کاوه سودای مراغه در سال ۱۳۹۸، جمع‌آوری و جدا شدند. جدایه‌های اکتینومیست‌ها توسط محیط استارچ کازئین آگار بر اساس تشکیل هاله شفاف در محیط کشت غربال‌گری شد. تست آنتی‌بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن بر روی ۲۰ بیمار مراکز درمانی شهر تبریز انجام گرفت. نتایج به دست آمده به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: بر اساس روش E-Test تمام ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین حساس بودند و دارای مقدار (Minimal inhitory concentration) MIC کم‌تری از ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند. بیش‌ترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر اریترومایسین و آموکسی‌سیلین در ایزوله‌های مورد بررسی مشاهده شد. نتایج نشان داد از بین ۱۰۰ جدایه اکتینومیست، ۵ جدایه، توانایی بالایی را در مهار تعدادی از باکتری‌ها داشتند. سویه‌های S۲ (۱/۴۳ ± ۱۶/۴۶) و S۳۹ (۱/۴۴ ± ۱۸/۲۵) دارای فعالیت بهتری نسبت به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین (۱/۲۳ ± ۱۴/۱۴) علیه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین نشان دادند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که پساب‌های صنعتی کارخانه‌ها حاوی اکتینومیست‌های فعالی هستند که می‌توانند به عنوان متابولیت‌های ضدباکتریایی جدید مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: اکتینومیست، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، متابولیت، آنتی‌باکتریال، پساب صنعتی

۱- گروه میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران
۲- (نویسنده مسئول) گروه میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران
تلفن: ۳۷۷۴۵۳۶۳-۰۴۱، دورنگار: ۳۷۷۳۱۳۳۰-۰۴۱، پست الکترونیکی: rsh.bio42@gmail.com
۳- مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۴- گروه فیزیولوژی جانوری، مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

مقدمه

امروزه، استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یک پاتوژن شایع در ارتباط با مراقبت‌های بیمارستانی در سراسر جهان شناخته شده است. این باکتری گرم مثبت کاتالاز مثبت عمدتاً در بخش قدامی سوراخ بینی (شایع‌ترین مکان کلونیزاسیون) کلونیزه می‌شود [۲-۱]. یکی از مشکلات عمده در درمان و پیش‌گیری از عفونت‌های ایجاد شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت این باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف از قبیل آمنیوگلیکوزیدها، ماکرولیدها می‌باشد که این امر موجب گسترش عفونت‌های ناشی از این باکتری گردیده است [۳].

بر پایه نتایج حاصل از مطالعات، شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-resistant Staphylococcus aureus; MRSA) در حدود ۳۰-۱۵ درصد است که یک زنگ هشداری برای افزایش میزان این عفونت در نقاط مختلف جهان می‌باشد. با شیوع MRSA، گونه‌های مقاوم به ونکومایسین (VRSA) آن نیز افزایش می‌یابد. به همین دلیل شیوع MRSA هر چند سال یک‌بار در مراکز معتبر دنیا با توجه به اهمیت و عوارض ناشی از آن مورد بررسی قرار می‌گیرد و با پژوهش‌های پیشین، جهت استفاده صحیح از آنتی‌بیوتیک‌ها و کاهش هزینه‌ها و هم‌چنین خطرات ناشی از آن با نتایج قبلی مقایسه می‌شود. استفاده بیش از حد یا خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها به مدت طولانی موجب ایجاد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود. این عوامل بیماری‌زا به دلیل داشتن تعداد زیادی از ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک در بین ژنوم اصلی و پلاسمیدها منجر به محدود شدن انتخاب‌های درمانی می‌شوند [۵-۴]. بنابراین، نیاز بسیار زیادی به منظور کشف و توسعه آنتی‌بیوتیک‌های جدید علیه عوامل بیماری‌زای کشنده که باعث عفونت در موجود زنده می‌شود، وجود دارد. محیط‌های آبی، خاک‌ها و پساب‌های رسوبی منابع مهم و غنی برای جداسازی متابولیت‌های ثانویه فعال از میکروارگانیسم‌ها می باشند [۶]. اکتینومیست‌ها از جمله پروکاریوت‌هایی هستند که به صورت همزیست با گیاهان به سر می‌برند و می‌توان آن‌ها را در همه اکوسیستم‌ها از جمله پساب‌ها و رسوبات آبی مشاهده کرد.

اکتینومیست‌ها در تجزیه مواد آلی (از جمله لیگنین و سایر پلیمرهای سخت تجزیه شونده) در خاک مؤثر بوده و قادر هستند ضایعات کشاورزی و صنعتی را تجزیه نمایند. متابولیت‌های به دست آمده از اکتینومیست‌ها مهم‌ترین منبع تولید فرآورده‌های بیوتکنولوژیک بوده و حدود ۸۵ درصد آنتی بیوتیک‌ها توسط این میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند [۸-۷]. هم‌چنین، این باکتری‌ها منبع مهمی برای تولید آنزیم‌ها و فرآورده‌های فعال زیستی دیگر به شمار می روند و از پتانسیل بالایی در تولید متابولیت‌های ثانویه، برخوردار می‌باشند [۱۰-۹]. مطالعات نشان می‌دهد که تولیدات طبیعی میکروبی یکی از موفق‌ترین و آسان‌ترین منابع دارویی برای درمان بیماری‌های عفونی است. مقاومت زیاد قارچ‌ها و باکتری‌های مقاوم به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های رایج، از جمله چالش‌های مهم امروزه می‌باشد و کشف ترکیبات طبیعی با خاصیت ضد میکروبی جدید برای رفع

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

این مشکلات ضروری می‌باشد [۱۱]. استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین از جمله عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی مقاوم به دارو به شمار می‌رود و تاکنون تلاش های گسترده‌ای به منظور کشف داروها و ترکیبات جدید بر علیه این پاتوژن از دل طبیعت شامل خاک‌ها، دریاها و غیره صورت گرفته است [۱۳-۱۲]. اگرچه داروها بر پایه شیمیایی نیز نقش مهمی را در درمان بسیاری از بیماری‌ها ایفاء می‌کنند، اما اکنون تحقیق و جستجو در طبیعت که مهم‌ترین منبع برای یافتن داروهای جدید به حساب می‌آید، در حال انجام است [۱۴].

در مطالعه حاضر سعی شده است تعدادی از جدایه‌های اکتینومیست‌ها را از رسوبات پساب صنعتی خروجی کارخانه شیشه‌سازی کاوه سودای شهر مراغه جداسازی کرده و پس از شناسایی و بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی و مولکولی، فعالیت ضد میکروبی جدید آن‌ها از طریق مهار MRSA و VRSA بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه آزمایشگاهی، در سال ۱۳۹۸ تعداد ۱۸ نمونه آسپتیک از بیماران بستری و سرپایی مراکز درمانی شهر تبریز جمع‌آوری و به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده علوم پزشکی مراغه منتقل گردید و سپس از هر نمونه روی پلیت نوترینت آگار به روش سه شعله کشت داده شد تا کلنی تک به دست آید. سپس بر روی محیط آگار حاوی ۵ درصد خون گوسفندی (blood agar) کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در داخل انکوباتور میکروبی (مدل France-ETUVES شرکت XB032) انکوبه گردید. پس از انکوباسیون، هویت باکتری‌های جدا شده با استفاده از تست‌های استاندارد میکروب‌شناسی، بررسی میکروسکوپی کلنی‌ها، رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز (شکل ۱)، تست کواگولاز لوله‌ای (شکل ۲) و رشد بر روی مانیتول سالت آگار مشخص گردید [۱۵].

الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از تست دیسک دیفیوژن بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار مطابق با دستورالعمل Clinical and Laboratorary (CLSI) Standards Institute علیه آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین، لینزولید و متی‌سیلین تعیین شد. جهت تعیین میزان حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimal inhitory concentration; MIC) ونکومایسین از نوار و روش E-Test استفاده شد. ابتدا از باکتری مورد نظر سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند تهیه کرده و بر روی پلیت مولر هینتون آگار کشت چمنی داده و پس از قرار دادن نوار E-Test، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد [۱۶].

به منظور جداسازی اکتینومیست‌ها، نمونه‌ها از رسوبات پساب صنعتی خروجی کارخانه شیشه‌سازی کاوه سودای شهر مراغه، در ظروف استیل استوانه‌ای شکل استریل جمع‌آوری و در کوتاه‌ترین زمان به آزمایشگاه میکروب-شناسی دانشکده علوم پزشکی مراغه منتقل گردید. برای کشت اکتینومیست‌ها در این تحقیق از محیط کشت‌های اختصاصی اکتینومیست‌ها، شامل استارچ کازئین آگار یا Starch Casein Agar (SCA) و ISP2 یا عصاره مخمر-عصاره مالت آگار و Kuster's agar استفاده شد. برای جداسازی اکتینومیست‌ها از روش رقیق‌سازی متوالی استفاده

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

شد. برای این منظور یک گرم از هر نمونه در ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد NaCl حل شد، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های 10^{-2} و 10^{-3} در محیط کشت اختصاصی SCA (شامل ۱۵ گرم آگار، ۱ گرم پتاسیم فسفات، ۲ گرم پتاسیم نتیرات، ۲ گرم کلرید سدیم، ۰/۳ گرم کازئین، ۰/۰۵ گرم منزیم سولفات ۷ آبه، ۰/۰۲ گرم کربنات کلسیم و ۱ لیتر آب دیونیزه) در pH = ۷/۲ ± ۲ کشت داده شدند. برای کاهش مقدار آلودگی قارچی و باکتریایی ۲۵ میکروگرم بر لیتر نیستاتین و ۱۰ میکروگرم بر لیتر نالیدیکسیک اسید به محیط کشت افزوده شد. پس از تلقیح، پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۱ روز انکوبه شدند.

برای تهیه کشت خالص باکتری، کلنی‌های اکتینومیست به صورت پودری و خشک، در سطح آگار جداسازی شد. برای این منظور ابتدا مورفولوژی کلنی‌ها با استفاده از استریو میکروسکوپ Nikon (مدل TN-PSE 30 ساخت کشور ژاپن) بررسی شدند. رنگ پشت و روی کلنی، سفت و پودری بودن کلنی و دیگر خصوصیات مورفولوژیکی کلنی‌ها بررسی شد.

برای استخراج عصاره خام از حلال غیرقطبی اتیل استات استفاده شد. برای استخراج متابولیت‌های ضدمیکروبی، سویه‌های فعال اکتینومیست در ۱۰۰ میکرولیتر محیط مایع جداسازی اکتینومیست (Actinomycete Isolation Medium) (شامل ۵ گرم گلیسرول، ۴ گرم سدیم پروپیونات، ۲ گرم سدیم کازئینات، ۰/۵ گرم پتاسیم فسفات، ۰/۱ گرم آسپارژین، ۰/۱ گرم منزیم سولفات، ۰/۰۰۱ گرم سولفات آهن) تلقیح شد. برای استخراج متابولیت‌های ثانویه ضدمیکروبی از حلال آلی اتیل استات استفاده شد. به این منظور یک برابر حجم سوپرناتانت به دست آمده از هر سویه، اتیل استات به آن اضافه شد. فاز آلی حاوی ترکیبات آنتی‌بیوتیک، توسط قیف جداکننده جدا و به کمک حرارت در حمام آب گرم تغلیظ شد. از عصاره خام استخراج شده برای بررسی فعالیت ضد میکروبی سویه‌ها استفاده شد.

هم‌چنین برای غربال‌گری اولیه اکتینومیست‌های فعال از روش Cross Streak استفاده شد. برای این منظورکلنی‌ها با منظر مورفولوژیکی شبیه اکتینومیست‌ها انتخاب شدند [۱۷]. برای گزینش ثانویه جدایه‌های فعال، از روش انتشار در دیسک استفاده شد. برای این منظور از عصاره خام استخراج شده استفاده شد. برای تهیه کشت تازه باکتری‌های پاتوژن در محیط کشت مایع لوریا برتانی (Luria Bertani) تلقیح شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. از هر سویه پاتوژن غلظت استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد و به کمک سوآپ استریل کشت متراکم باکتری روی محیط کشت مولر هینتون آگار تهیه شد. دیسک‌های کاغذی استریل (قطر ۶ میلی‌متر پادتن، ایران) آغشته به عصاره خام روی سطح محیط کشت قرار داده شد. از دیسک آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین به عنوان کنترل مثبت، دیسک خالی به عنوان کنترل منفی و دیسک آغشته به اتیل استات به عنوان کنترل حلال استفاده شد. در نهایت پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردید و هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) در اطراف دیسک‌ها توسط خط‌کش (mm) اندازه‌گیری شد [۱۸].

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

حساسیت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به عصاره خام سویه‌های فعال با روش دیسک دیفیوژن بررسی شد. برای این منظور سوسپانسیون میکروبی سویه‌های استافیلوکوک معادل نیم مک فارلند تهیه شد و به کمک سوآپ استریل بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار تلقیح شد. دیسک‌های استریل حاوی عصاره خام سویه‌های فعال با فاصله معین بر سطح پلیت قرار داده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. هم‌چنین از دیسک حاوی ۳۰ میکروگرم متی‌سیلین به عنوان کنترل استفاده شد [۱۹].

برای شناسایی مولکولی سویه مورد نظر و به منظور استخراج DNA از روش بیدبیتر استفاده شد. سپس به منظور بررسی موفق بودن عمل استخراج DNA، الکتروفورز با ژل آگارز ۸ درصد به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد و در نهایت باندها توسط ژل داک تشخیص داده شد [۲۰].

به منظور انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (Polymerase Chain Reaction) در مطالعه حاضر از پرایمرهای عمومی PA-F و PH-R (جدول ۱) برای تکثیر ژن 16S rDNA جهت بررسی ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک متی سیلین استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ژن 16S rDNA برای اکتینومیست‌های فعال به این صورت بود که دمای دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۵ دقیقه بود. سپس ۳۵ چرخه شامل یک دقیقه دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد یک دقیقه دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و یک و نیم دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

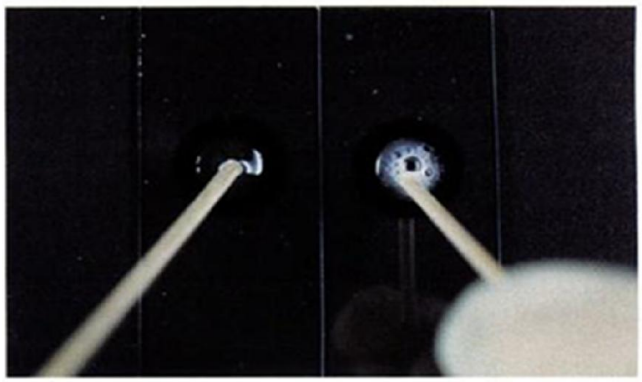
در نهایت برای تکمیل واکنش ساخت DNA، دما به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. درستی انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ژن 16S rDNA با الکتروفورز ژل آگارز ۸ درصد رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم بروماید تأیید شد [۲۱].

جدول۱- توالی پرایمرهای PA و PH برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ژن مقاومت متی‌سیلین

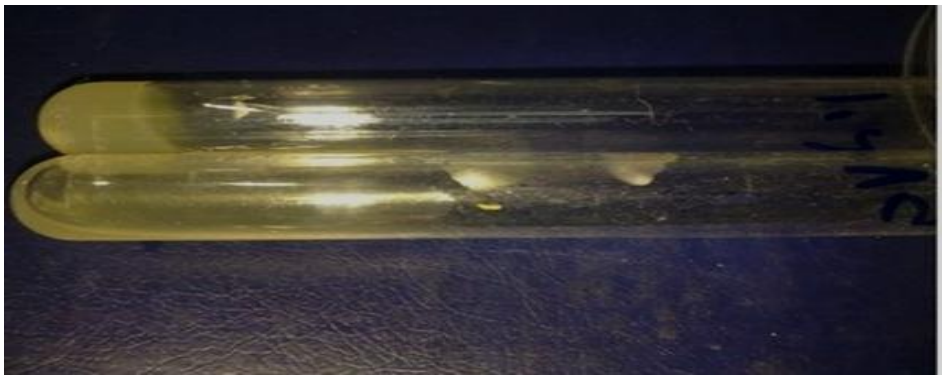
PA forward	۵′- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG -۳′
PH reverse	۵′- AAGGAGGTGATCCAGCCGCA -۳′

نمونه‌های میکروبی جمع‌آوری شده از بیماران با تست‌های کاتالاز، رشد بر روی محیط کشت مانیتول سالت آگار، کواگولاز لوله‌ای، و توانایی تولید آنزیم DNase تعیین هویت شدند. هم‌چنین ایزوله‌ها از نظر مورفولوژی کلنی‌ها، رنگ‌آمیزی گرم، مشخصات بیوشیمیایی مانند تحمل نمک تأیید شدند [۲۲].

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]



شکل ۱ - تست کاتالاز



شکل ۲- تست کواگولاز لوله‌ای: لوله بالایی ایجاد لخته در پلاسمای سیتراته خرگوش و نتیجه مثبت تست را نشان می‌دهد. لوله پایینی لوله کنترل بدون تلقیح ارگانیسم تست است.

قابل ذکر است تمامی مراحل بررسی عملکرد ضد میکروبی بر روی میکروارگانیسم‌ها به‌طور دقیق و با رعایت موازین آزمایشگاهی و اخلاقی و با کد اخلاق IR.TBZMED.REC.1398.779 انجام شد. نتایج به دست آمده به‌وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

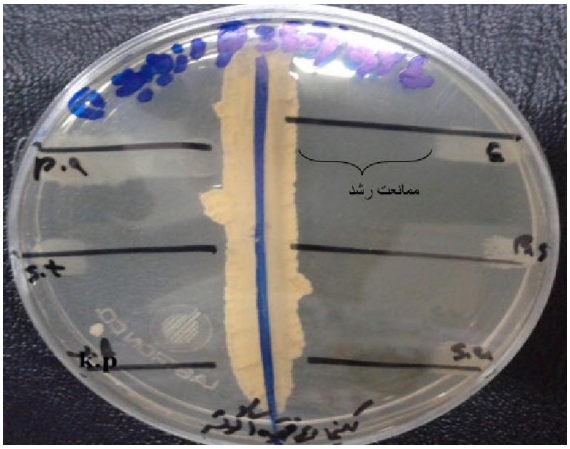
نتایج

در این پژوهش، تعداد ۱۰۰ نمونه از رسوبات پساب صنعتی خروجی کارخانه شیشه‌سازی کاوه سودای شهر مراغه جمع‌آوری و بررسی شد. کلنی‌های اکتینومیست پس از دو هفته روی محیط کشت اختصاصی SCA و ISP2 نمایان شدند. از بین رسوبات مختلف، تعداد ۱۰۰ جدایه اکتینومیست به صورت کلنی‌های پودری و خشک در سطح آگار جداسازی شدند. جدایه‌ها خالص‌سازی شده و به نام S۱ تا S۱۰۰ نام‌گذاری شدند.

به منظور شناسایی سویه‌های فعال، ۱۰۰ جدایه به روش متقابل (Cross Streak) غربال‌گری اولیه شدند و نتایج نشان داد که از بین ۱۰۰ جدایه، حداقل ۴۸ جدایه دارای فعالیت ضد میکروبی پاتوژن می‌باشند. از بین این جدایه‌های فعال، تعداد ۵ جدایه با بهترین خاصیت ضد میکروبی به نام‌های

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

S۲، S۱۱، S۳۴، S۳۹ و S۵۰ برای غربال‌گری ثانویه و ادامه کار انتخاب شدند. شایان ذکر است که هر پنج جدایه‌ی منتخب نسبت به تمام سویه‌های پاتوژن ممانعت رشد نشان دادند. شکل ۳، نتایج مربوط به تأثیر متابولیت‌های تولید شده توسط جدایه S۲ در غربال‌گری اولیه را نشان می‌دهد که حاکی از ایجاد هاله‌ی ممانعت رشد علیه باکتری‌های پاتوژن است.



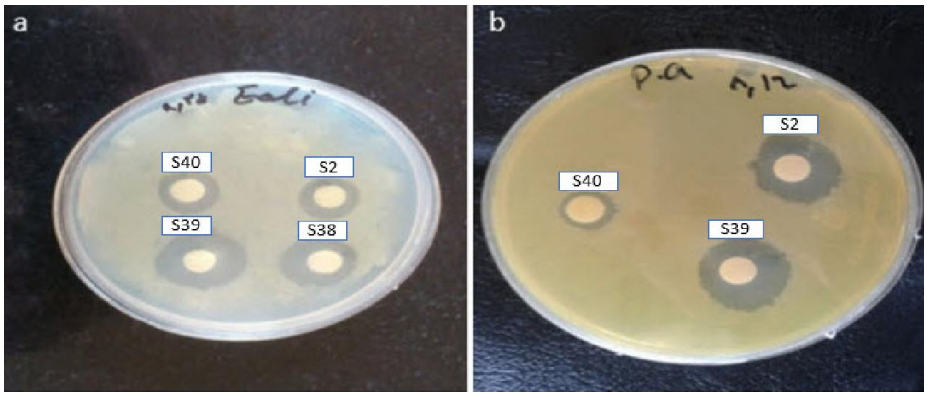
شکل ۳- غربال‌گری اولیه با روش cross-streak برای جدایه S۲

مطابق نتایج ارائه شده در جدول ۲، اغلب جدایه‌ها در مقایسه با آنتی‌بیوتیک ونکومایسین به طور معنی‌داری رشد باکتری‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس و سالمونلا تیفی را مهار کردند (p< ۰/۰۵). آنالیز نتایج نشان داد که تأثیر جدایه S۲ بر علیه باکتری سالمونلا تیفی (p= ۰/۸۹۱) و جدایه‌های S۱۱ و S۳۴ بر علیه باکتری باسیلوس سوبتیلیس (p= ۰/۹۰۰) در مقایسه با آنتی‌بیوتیک ونکومایسین معنی‌دار نبود. هم‌چنین، علی‌رغم اثر مهاری قابل توجه جدایه‌ها، اثر جدایه S۳۹ بر علیه باکتری‌های اشرشیاکلی (p= ۰/۴۱۳) و باسیلوس سوبتیلیس (p= ۰/۹۳۱) در مقایسه با گروه ونکومایسین از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۲). شکل ۴، نتایج مربوط به غربال‌گری ثانویه با روش انتشار از دیسک (دیسک دیفیوژن) با استفاده از عصاره خام استخراج شده از برخی جدایه‌های فعال را نشان می‌دهد. شایان ذکر است که در غربال‌گری ثانویه از دیسک آنتی‌بیوتیک ونکومایسین (شاهد مثبت)، دیسک آغشته به متابولیت‌های استخراج شده و از دیسک اتیل استات (کنترل حلال) استفاده شد.

جدول ۲- غربال‌گری ثانویه با استفاده از عصاره خام استخراج شده از جدایه‌های فعال (آنتی‌بیوتیک ونکومایسین به عنوان شاهد)

باکتری‌های تست شده	هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر					
	S۵۰	S۳۹	S۳۴	S۱۱	S۲	ونکومایسین
E. coli	۲۰/۷۱ ± ۱/۵۴	۲۵/۰۲ ± ۱/۱۵	۱۰/۵۱ ± ۰/۷۲	۱۷/۰۴ ± ۰/۷۶	۱۰/۹ ۰± ۱/۴۸	۱۸/۶۴ ± ۱/۱۸
S. aureus	۱۲/۰۸ ± ۰/۴۴	۲۰/۳۳ ± ۱/۵۲	۲۵/۵۲ ± ۰/۷۱	۱۳/۰۳ ± ۱/۴۲	۱۹/۵۱ ± ۰/۷۰	۲۴/۰۹ ± ۱/۰۵
B. subtilis	۱۳/۰۵ ± ۱/۴۱	۲۲/۰۹ ± ۱/۷۴	۲۳/۰۶ ± ۱/۴۳	۲۵/۰۴ ± ۰/۶۶	۱۲/۰۶ ± ۰/۵۶	۲۳/۶۳ ± ۰/۶۱
S. typhi	۱۱/۰۷ ± ۱/۷۱	۱۱/۰۸ ± ۱/۴۶	۱۶/۰۱ ± ۱/۴۱	۱۴/۰۲ ± ۱/۴۵	۲۵/۰۵ ± ۱/۴۱	۱۹/۳۳ ± ۰/۶۱

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]



شکل ٤- غربال‌گری ثانویه به روش دیسک دیفیوژن. هاله عدم رشد برخی از (a) جدایه‌های فعال S2، S38، S39 و S40 علیه اشرشیاکلی (E. coli). و (b) شامل جدایه‌های S2، S39 و S40 علیه سودوموناس آئروژینوزا (P. aeruginosa).

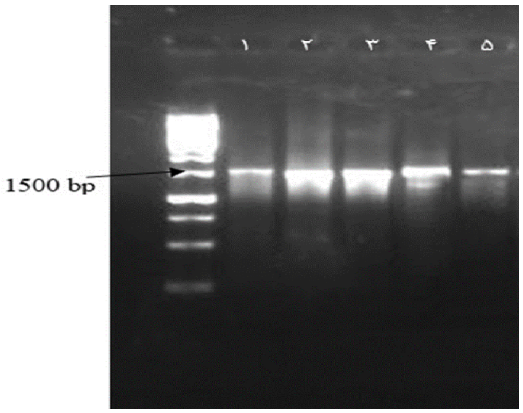
فعالیت ضد باکتریایی عصاره خام جدایه‌های فعال با استفاده از روش دیسک دیفیوژن علیه سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) و ۸ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جداشده از بیماران مقایسه و بررسی شد. نتایج نشان داد که جدایه‌های اکتینومیست فعالیت خوبی علیه استافیلوکوک‌ها در مقایسه با آنتی‌بیوتیک ونکومایسین داشته‌اند (جدول ۳). هم‌چنین جدایه‌های S۲ (۱/۴۳±۱۶/۴۶) و S۳۹ (۱/۴۴±۱۸/۲۵)، با اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) فعالیت بهتری نسبت به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین (۱/۲۳±۱۴/۱۴) علیه استافیلوکوکوس مقاوم به متی‌سیلین نشان دادند.

جدول ۳- فعالیت ضدباکتریایی عصاره خام استخراج شده از جدایه‌ها علیه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) و استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از بیماران به روش دیسک دیفیوژن

باکتری‌های تست شده	هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر					
	S۵۰	S۳۹	S۳۴	S۱۱	S۲	Vancomycin
MRSA	۱۱/۰۵ ± ۱/۵۲	۱۸/۲۵ ± ۱/۴۴	۱۳/۱۴ ± ۱/۱۶	۱۲/۵۵ ± ۰/۷۸	۱۶/۴۶ ± ۱/۴۳	۱۴/۱۴ ± ۱/۲۳
S. aureus 1	-	-	-	۱۳/۳۴ ± ۱/۴۷	-	۱۶/۵۰ ± ۱/۸۲
S. aureus 2	۱۰/۳۱ ± ۱/۰۴	۱۰/۱۲ ± ۱/۷۷	۱۱/۵۵ ± ۱/۴۸	۱۲/۴۱ ± ۱/۴۰	۱۲/۷۵ ± ۱/۵۵	۱۸/۱۱ ± ۱/۰۸
S. aureus 3	۸/۱۴ ± ۱/۷۳	۸/۱۷ ± ۱/۴۸	۱۵/۸۹ ± ۱/۴۱	-	-	۱۵/۱۹ ± ۱/۵۱
S. aureus 4	-	-	۱۱/۶۵ ± ۱/۵۱	۱۰/۱۶ ± ۱/۷۲	۱۴/۶۶ ± ۱/۴۹	۱۷/۳۳ ± ۱/۹۱
S. aureus 5	-	۱۰/۱۳ ± ۱/۴۶	-	۱۰/۸۲ ± ۱/۷۴	۱۲/۵۶ ± ۱/۷۵	۱۶/۰۵ ± ۱/۲۲
S. aureus 6	۱۰/۴۴ ± ۱/۴۲	-	۹/۲۴ ± ۱/۵۶	۱۱/۴۷ ± ۱/۴۶	۱۱/۷۶ ± ۱/۷۳	۱۷/۵۱ ± ۱/۵۶
S. aureus 7	-	-	۹/۹۱ ± ۱/۴۳	-	۱۶/۳۶ ± ۱/۴۱	۱۸/۸۶ ± ۱/۳۶
S. aureus 8	۱۲/۱۱ ± ۱/۴۰	-	۹/۱۵ ± ۱/۶۳	-	۱۵/۱۶ ± ۱/۷۲	۱۸/۱۶ ± ۱/۱۳

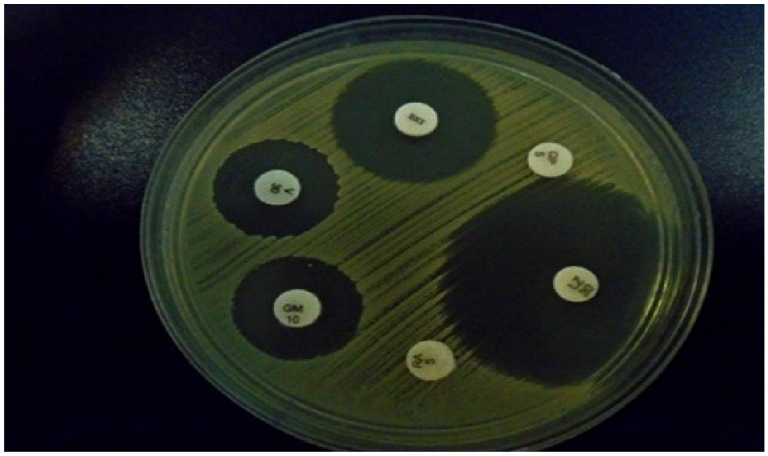
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

شناسایی مولکولی جدایه‌ها با استفاده از تعیین توالی ژن 16S rDNA بررسی شد. به این منظور واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ژن 16S rDNA انجام شد. طول محصول PCR، حاصل از تکثیر ژن 16S rDNA، ۱۵۰۰ نوکلئوتید است (شکل ۵).



شکل ۵- تکثیر قطعه ژنی 16S rDNA جدایه‌ها: ردیف‌های ۱، ۲، ۳، ٤ و ٥ به ترتیب مربوط به جدایه‌های S2، S11، S34، S39 و S50می باشد.

بر اساس الگوی آنتی‌بیوتیکی با روش دیسک دیفیوژن تمام ایزوله‌های مورد مطالعه بیماران به آنتی‌بیوتیک لینزولید و بر اساس روش E-Test تمام ایزوله‌ها به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین حساس بودند و دارای مقدار MIC کم‌تری از ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند. به غیر از آنتی‌بیوتیک‌های ذکر شده درجات مختلفی از فراوانی مقاومت نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مشاهده شد. بیش‌ترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر اریترومایسین با میزان فراوانی ۶۲ درصد در ایزوله‌های مورد بررسی مشاهده شد. ۵۸ درصد از ایزوله‌های مورد بررسی به اگزاسیلین و جنتامایسین، ۵۶ درصد به سیپروفلوکساسین، ۴۸ درصد به تتراسایکلین، ۴۷ درصد به سفوکسیتین، ۳۸ درصد به ریفامپین، و ۳۶ درصد به کلیندامایسین مقاوم بودند (شکل ۶).

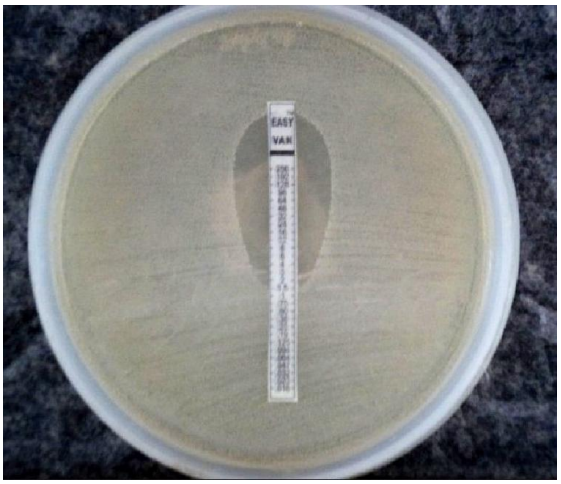


شکل ٦- پلیت آنتی‌بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار

در این مطالعه بر اساس دستورالعمل CLSI غربال‌گری ایزوله‌های مقاوم به متی‌سیلین با استفاده از دیسک ۳۰ میکروگرمی سفوکسیتین انجام و مشاهده شد که ۴۷ درصد از ایزوله‌ها دارای قطر هاله‌ای کم‌تر از ۲۴ میلی‌متر به عنوان مقاوم به متی‌سیلین در نظر گرفته شدند. بر اساس نتایج به دست آمده تعیین MIC با روش E-Test تمام ایزوله‌های جدا

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

شده در این مطالعه حساس به ونکومایسین و دارای MIC کم‌تری از ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند. طیف مقدار MIC در باکتری‌های جدا شده تا ۱/۵ درصد میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند. بیش‌ترین تعداد باکتری‌ها (۳۸ درصد) دارای MIC برابر با ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کم‌ترین تعداد (۴ درصد) دارای MIC برابر ۱/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند (شکل ۷).



شکل ۷- پلیت بررسی MIC ونکومایسین با روش E-Test

بحث

مطالعات نشان داده است که می‌توان اغلب اکتینومیست‌ها را از مناطق مختلف از جمله خاک‌ها و آب‌ها جدا کرد [۲۵-۲۳]، اما در تحقیق حاضر به منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی اکتینومیست‌ها، برای اولین بار اکتینومیست‌ها از رسوبات پساب صنعتی خروجی کارخانه شیشه‌سازی جداسازی شده و پس از غربال‌گری اولیه و توانایی ضدمیکروبی آن‌ها بر علیه استافیکوکوس‌های مقاوم به متی-سیلین توسط غربال‌گری ثانویه به روش دیسک دیفیوژن بررسی شد و اکتینومیست که دارای پتانسیل تولید متابولیت ضد میکروبی هستند، شناسایی شد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که رسوبات پساب صنعتی خروجی کارخانه شیشه‌سازی کاوه سودای شهر مراغه می‌تواند به عنوان منبع غنی از اکتینومیست‌های فعالی باشد که توانایی تولید متابولیت‌های ضد MRSA و VRSA را دارند که می‌توانند به صورت معنی‌داری فعالیت میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس های مقاوم به متی‌سیلین و ونکومایسین را مهار کنند. بنابراین با خالص‌سازی و مطالعه دقیق‌تر متابولیت‌های فعال اکتینومیست‌های رسوبات پساب صنعتی خروجی کارخانه شیشه‌سازی می‌توان آنتی‌بیوتیک‌های جدید و مناسب برای درمان بیماری‌های عفونی ناشی از میکروارگانیسم‌های مقاوم را معرفی کرد.

بدین منظور، در مطالعه حاضر به تعداد ۱۰۰ جدایه اکتینومیست از رسوبات پساب صنعتی خروجی کارخانه شیشه‌سازی شهر مراغه آجداسازی شد. سپس غربال‌گری جدایه‌های فعال صورت گرفت. غربال‌گری آنتی‌بیوتیک‌ها عبارت است از روش‌هایی که با آن فعالیت آنتی‌بیوتیکی مواردی هم‌چون متابولیت‌های میکروبی را می‌توان مشخص کرد و در این رابطه از راندمان خوبی نیز برخوردار باشد [۲۶]. روش انتخابی ما در غربال‌گری ثانویه روش دیسک‌گذاری بوده است، این آزمایش روش معمول برای تشخیص فعالیت ضدمیکروبی سویه‌هایی است که فعالیت مشخصی ندارند.

در این روش دیسک‌های کاغذی ۶ میلی‌متری استریل حاوی عصاره خام روی سطح محیطی که با لایه نازک از

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

باکتری‌های پاتوژن پوشیده شده بود، قرارگرفت و هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد. نتایج دو مرحله غربال‌گری اولیه و ثانویه نشان داد، علی‌رغم این‌که اغلب جدایه‌ها فعالیت ضد باکتریایی علیه حداقل یک پاتوژن آزمایشی را داشتند، تعداد ۵ جدایه دارای بهترین خاصیت ضد باکتریایی بودند. از آن جایی که آنتی‌بیوتیک‌ها ساختار آلی دارند و در حلال‌های آلی قابلیت حل‌شدن دارند، بهترین حلال آلی برای آن‌ها، اتیل‌استات می‌باشد. در این خصوص می‌توان به گزارش Dhanasekaran و همکاران که اکتینومیست‌های خاک‌های مناطق مختلف هندوستان را مورد مطالعه قرار دادند، اشاره کرد که در غربال‌گری ثانویه جهت استخراج متابولیت‌های فعال ضدمیکروبی از محیط کشت مایع، از حلال‌های اتیل استات، متانول، کلروفورم و پریدین استفاده کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که اتیل استات بهترین حلال برای استخراج این مواد است [۲۷]. طی مطالعه‌ای در کشور نپال Shrestha و همکاران در سال ۲۰۲۱ جدایه‌های مختلفی از اکتینومیست‌ها را سواحل آبی و از رسوبات خاکی جداسازی کردند. نتایج این گروه نشان داد ۸ و ۴ عدد از جدایه‌ها به ترتیب در تست اولیه و ثانویه بیش‌ترین اثر ضد باکتریایی را بر روی باکتری‌های مختلف داشتند که می‌تواند همسو با مطالعه و نتایج ما باشد [۲۳]. در مطالعه‌ی مشابه دیگری Valli و همکاران در سال ۲۰۱۲ از رسوبات، سویه‌هایی از اکتینومیست‌ها را جداسازی کردند که از میان آن‌ها، دو سویه بهترین فعالیت ضد میکروبی را داشتند. آن‌ها پیشنهاد کردند که اکتینومیست‌ها می‌توانند به عنوان منبع آنتی بیوتیک‌های جدید معرفی شوند [۲۸].

هم‌چنین Sangkanu و همکاران در سال ۲۰۱۷ نیز توانستند اکتینومیست‌هایی را از رسوبات آبی رسوبی جداسازی کنند که دارای فعالیت ضد باکتریایی بودند که این نتایج، مشابه یافته‌های پژوهش حاضر است. فراوانی جدایه‌های اکتینومیست جداشده در این مطالعه نسبت به فراوانی اکتینومیست‌های جدا شده در مطالعات قبلی بیش‌تر بوده است [۲۹].

استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین یکی از مهم ترین عامل عفونت‌های بیمارستانی در تمام دنیا است و در بعضی بیمارستان‌ها عامل بیش از۵۰ درصد عفونت‌ها می‌باشد. در دهه ۱۹۶۰ ونکومایسین به عنوان یک آنتی-بیوتیک مفید در جهت درمان عفونت‌های حاصل از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین معرفی گردید [۳۰]. اولین گزارش در مورد مقاومت به ونکومایسین در استافیلوکوک‌های مقاوم به متی‌سیلین در سال ۲۰۱۵ گزارش گردید که تعداد ۵ مورد مقاوم در این مطالعه گزارش شد [۳۱].

با توجه به اهمیت مقابله با سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک مثل استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، عصاره خام سویه‌های فعال اکتینومیست‌ها روی این میکرو ارگانیسم‌ها با روش دیسک دیفیوژن بررسی و نتایج با آنتی‌بیوتیک ونکومایسین مقایسه شد. نتایج نشان داد که نه تنها اکثر جدایه‌های فعال توانستند اثر مهاری معنی‌داری بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین نشان دهند، بلکه جدایه‌های S۲ و S۳۹ اثر مهاری بیش‌تری نسبت به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین اعمال کردند. با توجه به وجود

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

تفاوت هاله عدم رشد سویه‌های منتخب می‌توان به این نکته اشاره کرد که نوع متابولیت تولید شده توسط این سویه‌ها متفاوت است. تنوع آنتی‌بیوتیک‌های موجود می‌تواند نشان‌گر این باشد که رسوبات پساب صنعتی خروجی کارخانه شیشه سازی می‌تواند غنی از اکتینومیست‌های فعال با متابولیت‌های جدید باشد که نیاز به پژوهش بیش‌تر در این زمینه دارد. همسو با نتایج مطالعه حاضر، Sujatha و همکاران در سال ۲۰۰۵ یک سویه اکتینومیست جدید از رسوبات رسوبی جداسازی کردند که فعالیت ضد باکتریایی علیه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین نشان داد. یافته‌های این پژوهش پتانسیل اکتینومیست‌های رسوبات پساب صنعتی کارخانه شیشه‌سازی در تولید متابولیت‌های فعال علیه باکتری‌های مقاوم به دارو از جمله استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین را تایید می‌کند [۳۲]. در مطالعه‌ای دیگر که توسط Asnani و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام شد، مشخص گردید که از ۱۶ نمونه اکتینومیست‌های جدا سازی شده از رسوبات، ۱۴ جدایه دارای فعالیت ضد MRSA بودند و سه جدایه بیش‌ترین خاصیت مهار کنندگی رشد MRSA را به خود اختصاص دادند که می‌تواند تأییدی بر نتایج بدست آمده از مطالعه‌ی حاضر باشد [۳۳]. هم‌چنین نتایج مطالعه Siddharth و همکارانش که به تازگی در سال ۲۰۲۱ انجام شده است، نشان داد که متابولیت ثانویه دیکتوپیپرازین که توسط اکتینومیست‌های آبی تولید می‌شود، از خاصیت ضد MRSA بالایی برخوردار است [۳۴].

در مرحله بعد، ۷ جدایه منتخب تشخیص خصوصیات شدند و نتایج آزمون‌های مورفولوژی و رنگ‌آمیزی با برخی مقالات دیگر آنالیز و مقایسه شد. باکتری‌های اکتینومیست گرم مثبت، رشته‌ای شکل شبیه قارچ‌ها بود و مورفولوژی رشته‌ای، کلنی پودری و سفت نیز مشاهد گردید که می‌تواند نمایان‌گر اکتینومیست باشد. این نتایج با یافته گزارش شده توسط Gozari و همکاران در سال ۲۰۱۹ و همچنین Rajivgandhi و همکاران در سال ۲۰۲۱ همخوانی دارد [۳۵-۳۶].

بعد از انتخاب سویه‌های فعال و بررسی‌های مورفولوژیکی جدایه‌ها، شناسایی مولکولی جدایه‌ها با تعیین توالی 16S rDNA انجام شد و نتایج نشان داد که همه سویه‌های منتخب دارای شباهت بالای ۹۸ درصد با جنس استرپتومایسس بودند. در پژوهشی مشابه Valli و همکاران از رسوبات پساب صنعتی دو جدایه اکتینومیست فعال جداسازی کردند که با بررسی توالی 16S rDNA مشاهده شد که این جدایه‌ها استرپتومایسس هستند و می‌تواند تأییدی بر یافته مطالعه حاضر باشد [۲۸].

در مطالعه دیگری، Rahimi و همکاران در سال ۲۰۱۳ سویه مقاوم به متی سیلین در سه بیمارستان مرجع در شهر تهران را ۳۰ درصد گزارش کردند. در این مطالعه بیش‌ترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، کلیندامایسین، توبرامایسین و تتراسیکلین گزارش شد در حالی‌که در مطالعه ما بیش‌ترین مقاومت آنتی بیوتیکی به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و اگزاسیلین و جنتامایسین بود [۳۷].

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

با توجه به محدودیت منابع مالی، امکان استفاده از سایر روش‌های مولکولی و هم‌چنین با وجود محدودیت‌های زمانی در فرآیند نمونه برداری، امکان بررسی اثر جدایه‌ها بر روی سایر باکتری‌ها میسر نبود. لذا پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی، اثر جدایه‌های اکتینومایستی بر روی سایر باکتری‌ها، عفونت‌ها و هم‌چنین میزان بیان ژن مربوط به مقاومت آنتی‌بیوتیکی و مقاومت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز بررسی کرد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که رسوبات پساب صنعتی خروجی کارخانه شیشه‌سازی شهر مراغه غنی از اکتینومیست‌های فعال است که قادر به تولید متابولیت‌های ضد باکتریایی جدید هستند که می‌بایست مورد مطالعه بیش‌تر و دقیق‌تری قرار گیرند. با ارزیابی و مطالعه توانایی ضد میکروبی جدایه‌های اکتینومیست‌های جدا شده علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و ونکومایسین می‌توان این جدایه‌ها را به عنوان گزینه مناسبی در طراحی و ساخت داروها و ترکیبات ثانویه ضد میکروبی معرفی نمود. بنابرین با استخراج، خالص‌سازی و تحقیقات بیش‌تر جدایه‌های فعال از اکتینومیست‌های رسوبات پساب صنعتی خروجی کارخانه شیشه‌سازی شهر مراغه، احتمالاً بتوان قدمی در جهت دست‌یابی، تولید و توسعه داروهای وسیع الطیف و مؤثر در درمان بیماری‌های عفونی ناشی شده از میکرو اورگانسیم‌های مقاوم از جمله MRSA و VRSA معرفی کرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از رساله دکترای تخصصی گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان می باشد. لازم است مراتب تشکر و قدردانی صمیمانه را از مجموعه بیمارستان امام رضا (ع) شهر تبریز و کارخانه شیشه سازی کاوه سودای شهر مراغه به جهت مساعدت و همکاری‌های لازم برای نمونه برداری و هم‌چنین دانشکده علوم پزشکی شهر مراغه به جهت استفاده از امکانات و تجهیزات آن مجموعه که ما را در انجام و ارتقاء کیفی این پژوهش یاری دادند، اعلام نماییم.

References

[1] Fisher JF, Mobashery S. β-Lactams against the Fortress of the Gram-Positive Staphylococcus aureus Bacterium. *Chem Rev* 2020; 121(6): 3412-63.

[2] Sakr A, Brégeon F, Mège J-L, Rolain J-M, Blin O. Staphylococcus aureus nasal colonization: an update on mechanisms, epidemiology, risk factors, and subsequent infections. *Front Microbiol* 2018; 9: 2419.

[3] Sun F, Bian M, Li Z, Lv B, Gao Y, Wang Y, et al. 5-Methylindole potentiates aminoglycoside against Gram-positive bacteria including Staphylococcus

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

aureus persisters under hypoionic conditions. *Front Cell Infect Microbiol* 2020; 10: 84.

[4] Roubaud-Baudron C, Ruiz VE, Swan Jr AM, Vallance BA, Ozkul C, Pei Z, et al. Long-term effects of early-life antibiotic exposure on resistance to subsequent bacterial infection. *MBio* 2019; 10(6): e02820-19.

[5] Banik GR, Durayb B, King C, Rashid H. Antimicrobial Resistance Following Prolonged Use of Hand Hygiene Products: A Systematic Review. *Pharmacy* 2022; 10(1): 9.

[6] Nnadozie C, Kumari S, Bux F. Status of pathogens, antibiotic resistance genes and antibiotic residues in wastewater treatment systems. *Rev Environ Sci Biotechnol* 2017; 16(3): 491-515.

[7] Ding T, Yang L-J, Zhang W-D, Shen Y-H. The secondary metabolites of rare actinomycetes: chemistry and bioactivity. *RSC Adv* 2019; 9(38): 21964-88.

[8] Stincone P, Brandelli A. Marine bacteria as source of antimicrobial compounds. *Crit. Rev. Biotechnol* 2020; 40(3): 306-19.

[9] Jakubiec-Krzesniak K, Rajnisz-Mateusiak A, Guspiel A, Ziemska J, Solecka J. Secondary metabolites of actinomycetes and their antibacterial, antifungal and antiviral properties. *Pol J Microbiol* 2018; 67(3): 259-72.

[10] Ullah S, Muhammad ZS, Jehan S, Zia S, Hussain Z, Hussain SA, et al. Soil actinomycetes molecular characterization for secondary metabolites production. *JABPS* 2022; 5(1): 40-4.

[11] Sorinolu AJ, Tyagi N, Kumar A, Munir M. Antibiotic resistance development and human health risks during wastewater reuse and biosolids application in agriculture. *Chemosphere* 2021; 265: 129032.

[12] Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: molecular characterization, evolution, and epidemiology. *Clin Microbiol Rev* 2018; 31(4): e00020-18.

[13] Miethke M, Pieroni M, Weber T, Brönstrup M, Hammann P, Halby L, et al. Towards the sustainable discovery and development of new antibiotics. *Nat. Rev Chem* 2021; 5(10): 726-49.

[14] Atanasov AG, Zotchev SB, Dirsch VM, Supuran CT. Natural products in drug discovery: advances and

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

opportunities. *Nat Rev Drug Discov* 2021; 20(3): 200-16.

[15] Aliyi S, Kazaure A. Prevalence of bacteriuria among diabetic patients attending General Hospital Katsina. *Bayero J Pure Appl Sci* 2019; 12(1): 707-12.

[16] Kowalska-Krochmal B, Dudek-Wicher R. The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. *Pathogens*. 2021; 10(2): 1-21.

[17] Nandhini SU, Sudha S, Jeslin VA, Manisha S. Isolation, identification and extraction of antimicrobial compounds produced by Streptomyces sps from terrestrial soil. *Biocatal Agric Biotechnol* 2018; 15: 317-21.

[18] Renganathan S, Subramaniyan S, Karunanithi N, Vasanthakumar P, Kutzner A, Kim P-S, et al. Antibacterial, Antifungal, and Antioxidant Activities of Silver Nanoparticles Biosynthesized from Bauhinia tomentosa Linn. *Antioxidants* 2021; 10(12) :1-18.

[19] Pai V, Rao VI, Rao SP. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin-resistant Staphylococcus aureus [MRSA] isolates at a tertiary care hospital in Mangalore, South India. *J. Lab Physicians* 2010; 2(02): 82-4.

[20] Cureau N, Threlfall R, Savin M, Marasini D, Lavefve L, Carbonero F. Year, location, and variety impact on grape-, soil-, and leaf-associated fungal microbiota of Arkansas-grown table grapes. *Microb Ecol* 2021; 1-14.

[21] Wu D, Hou C, Li Y, Zhao Z, Liu J, Lu X, et al. Analysis of the bacterial community in chronic obstructive pulmonary disease sputum samples by denaturing gradient gel electrophoresis and real-time PCR. *BMC Pulm Med* 2014; 14(1): 1-7.

[22] Macia M, Rojo-Molinero E, Oliver A. Antimicrobial susceptibility testing in biofilm-growing bacteria. *Clin. Microbiol Infect* 2014; 20(10): 981-90.

[23] Shrestha B, Nath DK, Maharjan A, Poudel A, Pradhan RN, Aryal S. Isolation and characterization of potential antibiotic-producing actinomycetes from water and soil sediments of different regions of Nepal. *Int J Microbiol* 2021; 1-9.

[24] AbdElgawad H, Abuelsoud W, Madany MM, Selim S, Zinta G, Mousa AS, et al. Actinomycetes enrich soil rhizosphere and improve seed quality as well as productivity of legumes by boosting nitrogen availability and metabolism. *Biomolecules* 2020; 10(12): 1-19.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

[25] Rakesh E, Rajakomuraiah T. Isolation, Identification and Evaluation of Antibacterial Activity of Actinomycetes from Soil Sample of Adilabad, Telangana State (India). *Ann Romanian Soc Cell Biol* 2021; 25(6): 19327-35.

[26] Cui Z-H, He H-L, Wu S-B, Dong C-L, Lu S-Y, Shan T-J, et al. Rapid screening of essential oils as substances which enhance antibiotic activity using a modified well diffusion method. *Antibiotics* 2021; 10(4): 1-11.

[27] Dhanasekaran D, Rajakumar G, Sivamani P, Selvamani S, Panneerselvam A, Thajuddin N. Screening of salt pans actinomycetes for antibacterial agents. *Internet J Microbiol* 2005; 1(2): 1-4.

[28] Valli S, Suvathi SS, Aysha O, Nirmala P, Vinoth KP, Reena A. Antimicrobial potential of Actinomycetes species isolated from marine environment. *Asian Pac J Trop Biomed* 2012; 2(6): 469-73.

[29] Sangkanu S, Rukachaisirikul V, Suriyachadkun C, Phongpaichit S. Evaluation of antibacterial potential of mangrove sediment-derived actinomycetes. *Microb Pathog* 2017; 112: 303-12.

[30] Wu Q, Sabokroo N, Wang Y, Hashemian M, Karamollahi S, Kouhsari E. Systematic review and meta-analysis of the epidemiology of vancomycin-resistance Staphylococcus aureus isolates. *Antimicrob Resist Infect Control* 2021; 10(1): 1-13.

[31] Friães A, Resina C, Manuel V, Lito L, Ramirez M, Melo-Cristino J. Epidemiological survey of the first case of vancomycin-resistant Staphylococcus aureus infection in Europe. *Epidemiol. Infect* 2015; 143(4): 745-8.

[32] Sujatha P, Raju KB, Ramana T. Studies on a new marine streptomycete BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant Staphylococcus aureus. *Microbiol Res* 2005; 160(2): 119-26.

[33] Asnani A, Luviriani E, Oedjijono O. Activity of actinomycetes isolated from mangrove Segara Anakan Cilacap toward Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA). *J Kim Sains Apl* 2020; 23(1): 1-7.

[34] Siddharth S, Aswathanarayan JB, Kuruburu MG, Madhunapantula SRV, Vittal RR. Diketopiperazine derivative from marine actinomycetes Nocardiopsis sp. SCA30 with antimicrobial activity against MRSA. *Arch Microbiol* 2021; 203(10): 6173-81.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

[35] Gozari M, Zaheri A, Jahromi ST, Gozari M, Karimzadeh R. Screening and characterization of marine actinomycetes from the northern Oman Sea sediments for cytotoxic and antimicrobial activity. *Int J Microbiol* 2019; 22(4): 521-30.

[36] Rajivgandhi G, Gnanamangai BM, Prabha TH, Poornima S, Maruthupandy M, Alharbi NS, et al. Biosynthesized Zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) using actinomycetes enhance the anti-bacterial efficacy against K. pneumoniae. *J King Saud Univ Sci* 2021; 34(1): 101731.

[37] Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR. Antibiotic resistance pattern of methicillin resistant and methicillin sensitive Staphylococcus aureus isolates in Tehran, Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2013; 6(2): 144-9.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]

Isolation and Molecular Identification of Antibacterial-Producing Actinomycetes against Pathogenic Pathogens from Industrial Effluent Sediments of the Maragheh Glass Factory: A Laboratory Study

Alireza Abdolhossein Zadeh[1], Rasoul Shokri[2], Seyyed Reza Moaddab[3], Mehdi Rahnema[4]

Received: 07/09/21 Sent for Revision: 03/11/21 Received Revised Manuscript: 02/03/22 Accepted: 05/03/22

Background and Objectives: Due to the increasing of antibiotic resistance, the use of new antibiotic sources, especially actinomycetes, as new sources of antibiotics have been considered. The aim of this study was to isolate and identify actinomycetes with the ability to produce antibacterial metabolites from industrial effluent sediments and study their antimicrobial effect.

Materials and Methods: In this laboratory study carried out in 2019, actinomycetes were collected and isolated from the sediments of industrial wastewater of Maragheh Kaveh Soda Glass Factory. Actinomycete isolates were screened by Starch casein agar medium based on the formation of inhibitory zones. Also, anti-biogram test was performed by disk diffusion method on 20 patients of Tabriz medical centers. The results were analyzed by SPSS software version 23.

Results: Based on E-Test approach, all isolates were sensitive to Vancomycin antibiotic and had lower MIC (Minimal inhibitory concentration) value of less than 2 µg/ml. The highest rate of antibiotic resistance to erythromycin and amoxicillin was observed in the included isolates. The results indicated that among 100 actinomycete isolates, five of them had the highest ability to inhibit some of bacteria. S2 (16.46±1.43) and S39 (18.25±1.44) strains demonstrated better activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) compared to vancomycin antibiotic (14.14±1.23).

Conclusion: The results showed that industrial wastewaters of factories are containing active actinomycetes that could be used as new antibacterial metabolites.

Key words: Actinomycetes, Antibiotic resistance, Metabolites, Antibacterial, Industrial wastewater

Funding: This study did not have any funds.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Tabriz University of Medical Sciences approved the study (IR.TBZMED.REC.1398.779)

How to cite this article: Abdolhossein Zadeh Alireza, Shokri Rasoul, Moaddab Seyyed Reza, Rahnema Mehdi. Isolation and Molecular Identification of Antibacterial-Producing Actinomycetes Against Pathogenic Pathogens from Industrial Effluent Sediments of the Maragheh Glass Factory: A Laboratory Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2022; 21 (03): 264-80. [Farsi]

1- Dept. of Microbiology, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran
2- Dept. of Microbiology, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran
ORCID: 0000-0001-5363-5331
(Corresponding Author) Tel: (041) 37745363, Fax: (041) 37731330, E-mail: rsh.bio42@gmail.com
3- Biotechnology Research Center, School of Paramedical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
4- Dept. of Animal Physiology, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-07-05]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1401.21.3.1.2]
[DOI: 10.52547/jrums.21.3.264]