Studing Antimicrobial effects of Prodigiosin pigment from *Serratia marcescens* bacteria against bacteria causing urinary tract infections

Bahrami F., Hosseyni F.*, Akhavan Sepahi A.

Department of Microbiology, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran, *Farzaneh953@yahoo.com*

Abstract

Aim and Background**:** Today, more opportunistic human pathogens, including bacteria that cause urinary tract infections, are more resistant to a wide range of antibiotics, it making more difficult to treat them.

Materials and Methods: In this study, Prodigiosin pigment was extracted from *Serratia marcescens* bacteria and its antimicrobial effect was evaluated on a number of urinary tract bacteria collected from Tehran's medical diagnostic laboratories.

Results: The results of this study showed that this pigment has been most diameter of inhibition zone for *Staphylococcus saprophyticus* and then the genus Enterococcus in every three methods of disc diffusion test, well diffusion and MIC.

Discussion: This study showed that with due attention to the antimicrobial effect of Prodigiosin pigment, this microbial pigment could be a good alternative to chemical drugs in the future.

Conclusion: The results obtained in this study showed that Prodigiosin pigment has antimicrobial effect on gram positive bacteria more than gram negative bacteria.

Keywords: *Serratia marcescens*, Prodigiosin, Urinary Tract Infection

بررسی اثر ضد میکروبی رنگدانه پرودی جیوسین باکتری *سراشیا مارسسنس* علیه باکتری‌های عامل عفونت های ادراری

فائزه بهرامی ، فرزانه حسینی* و عباس اخوان سپهی

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: امروزه با مقاوم‌تر شدن پاتوژن های فرصت طلب انسانی از جمله باکتری‌های عامل عفونت‌های ادراری در برابر گستره وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها، درمان آنها دشوارتر شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه رنگدانه پرودی جیوسین از باکتری سراشیا مارسسنس[1] استخراج گردید و اثر ضد میکروبی آن بر روی تعدادی از باکتری‌های عامل عفونت ادراری جمع آوری شده از آزمایشگاه‌های تشخیص طبی تهران بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که این رنگدانه بیشترین قطر هاله عدم رشد را برای باکتری استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس[2] و سپس جنس انتروکوکوس[3] در هر سه روش دیسک گذاری، چاهک‌گذاری و MIC داشته است.

بحث: این مطالعه نشان داد که با توجه به اثر ضد میکروبی رنگدانه پرودی جیوسین، این رنگدانه میکروبی می‌تواند در آینده جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی گردد.

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که رنگدانه پرودی جیوسین روی باکتری‌های گرم مثبت اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی داشته است.

کلمات کلیدی: *سراشیا مارسسنس*، پرودی جیوسین، عفونت ادراری

[1] *Serratia marcescens*
[2] *Staphylococcus saprophyticus*
[3] Entrococcus

مقدمه

دستگاه ادراری به طور طبیعی فاقد هرگونه میکروارگانیسم است و زمانی عفونت ایجاد می‌شود که هر یک از انواع باکتری، ویروس، قارچ و انگل‌ها، دستگاه ادراری را مورد تهاجم قرار داده و باعث عفونت شوند (۱ و ۲). عفونت دستگاه ادراری یکی از شایع‌ترین عفونت های باکتریایی می باشد که به عنوان دومین عامل عفونت در بدن انسان شناخته شده است (۳). شیوع این عفونت بر اساس سن و جنس متفاوت و به طور واضحی به دلایل تفاوت‌های آناتومیکی، در زنان بیشتر از مردان است (۴). مقاومت روز افزون باکتری‌ها به عوامل ضد میکروبی مشکل عمده در سراسر جهان می‌باشد. از آن جایی که باکتری‌ها جهش پیدا کرده و با کسب ژن‌های جدید خود را با شرایط مختلف سازگار می‌کنند، لذا در برابر آنتی بیوتیک‌های جدید می‌توانند مقاومت کسب کنند (۵ و ۶). تولید رنگدانه‌ها به عنوان متابولیت‌های ثانویه توسط میکرو ارگانیسم‌ها با توجه به رشد سریع و آسان، محیط کشت ارزان، استخراج راحت‌تر، عدم وابستگی به شرایط جوی و گستردگی تنوع رنگ بیشتر نسبت به سایر منابع زیستی دارای مزایای بیشتری است (۷). مطالعات اخیر نشان داده که برخی از این رنگدانه‌ها دارای عملکرد بیولوژیکی مهمی از جمله فعالیت آنتی بیوتیکی، ضد قارچی، ضد توموری و تضعیف کنندگی سیستم ایمنی هستند، از این رو بسیاری از آنها اثرات شیمی درمانی بالقوه‌ای دارند (۸). از جمله معروف‌ترین باکتری های تولید کننده رنگدانه می‌توان به استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و جنس سراشیا اشاره کرد. برخی ازگونه‌های سراشیا مارسسنس قابلیت تولید رنگدانه‌های قرمز رنگی به نام پرودی جیوسین را دارا هستند (۹). پرودی جیوسین از رنگدانه های قرمز خانواده تری پیرولی است. فرآیند تولید آن به صورت پیش سازهای منو و بی پیرول بوده که به صورت جداگانه سنتز شده و سپس به شکل نهایی پرودی جیوسین ترکیب می‌شوند (۱۰). این رنگدانه دارای فعالیت سیتوتوکسیک، ضد قارچ، ضد مالاریا، تضعیف کننده سیستم ایمنی و به عنوان یک ماده رنگی و رنگ کننده به کار می رود (۱۱). در سال ۲۰۱۱، Antony V.Samrot و همکاران بهینه سازی پرودی جیوسین تولید شده توسط سراشیا مارسسنس SU-10 و ارزیابی زیست فعالی آن را بررسی کرده اند. در این مطالعه شرایط مطلوب برای تولید رنگدانه در نوترینت براث در ۲۸ درجه سانتیگراد و pH ۷ به مدت ۷۲ ساعت به دست آمد. پرودی جیوسین بیشتر توسط حلال‌های آلی و کروماتوگرافی لایه نازک خالص شد. رنگدانه دارای اثر مهاری روی هر دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی تشخیص داده شد (۱۲). در سال ۲۰۱۲، Mohammed Husain Bharmal و همکاران در هند بهینه‌سازی پرودی جیوسین تولید شده توسط سراشیا مارسسنس جدا شده از هوا را بررسی کردند. در این مطالعه تولید پرودی جیوسین تنها با متیونین و یا سیستئین در حضور گلوکز توسط این ایزوله القا شد. رنگدانه نیز فعالیت ضد باکتری در برابر میکروارگانیسم های گرم مثبت نشان داد (۱۳). در سال ۲۰۱۴ Ramani و همکاران بهینه سازی شرایط کشت برای تولید پرودی جیوسین توسط سراشیا مارسسنس و غربالگری برای فعالیت ضد میکروبی پرودی جیوسین را بررسی کردند. در این مطالعه اشاره شد که رنگدانه دارای فعالیت ضد باکتریایی، ضد قارچ، ضد پروتوزوآ و ضد سرطان شناخته شده است. این پژوهش با تمرکز بر بهینه سازی پارامترهای کشت مانند دوره کمون، pH محلول، نوع محیط‌های کشت، و منابع کربن و نیتروژن، به منظور افزایش تولید پرودی جیوسین از سراشیا مارسسنس، به دنبال تجزیه و تحلیل کروماتوگرافی آن بوده است (۱۴). هدف از تحقیق حاضر نیز استخراج رنگدانه پرودی جیوسین و بررسی اثر ضد میکروبی این رنگدانه علیه باکتری‌های عامل عفونت‌های ادراری (اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، کلبسیلا و انتروکوکوس) بوده است.

مواد و روش‌ها

*آدرس نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

پست الکترونیک: Farzaneh953@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۴/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۴

سویه باکتری و تهیه کشت تلقیح

سویه میکروبی سراشیا مارسسنس ATTC14756 از موسسه انیستیتو پاستور ایران تهیه گردید. مشخصات میکروسکوپی، ماکروسکوپی و خصوصیات بیوشیمیایی باکتری فوق پس از کشت در محیط BHI آگار و گرما گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت بر اساس روش‌های متداول میکروبیولوژی از جمله تست های اکسیداز، کاتالاز، سیمون سیترات، SIM، MRVP، TSI، DNase ، اوره آز و تولید رنگدانه در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد مورد بررسی و تأیید قرار گرفت. پس از تأیید سویه استاندارد سراشیا مارسسنس توسط آزمون‌های متداول تشخیصی، سوسپانسیونی معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه شد.

تولید رنگدانه پرودی جیوسین و بهینه‌سازی رنگدانه از نظر pH

برای این منظور قبل از اتوکلاو کردن محیط‌های کشت BHI براث و نوترینت براث، pH آنها به کمک اسید کلریدریک (HCl) یک نرمال و هیدروکسید سدیم (NaOH) یک مولار به ترتیب روی ۶، ۷ و ۸ تنظیم گردید. سپس از سوسپانسیون تلقیح باکتری به طور جداگانه به مقدار ۵ میلی لیتر در ۵۰ میلی لیتر از محیط های کشت یاد شده اضافه گردید، محیط‌های کشت در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد به مدت ۹۶ ساعت گرما گذاری شدند. پس از این مدت میزان جذب در ۵۳۵ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر UV-Visible بررسی شد (۱۵).

استخراج و ارزیابی رنگدانه پرودی جیوسین

بعد از ۹۶ ساعت انکوباسیون، سلول‌ها با استفاده از سانتریفیوژ در دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه به دست آمدند. مایع رویی دور ریخته شد و رسوب ته نشین شده (pellet) در اتانول اسیدی (HCl ۴ درصد و ۱مولار در ۹۶ میلی‌لیتر اتانول) دوباره شناور شد. مخلوط تکان داده شد و سوسپانسیون در ۴۰۰۰rpm به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پرودی جیوسین قرمز رنگ شناور به ویال تازه منتقل شد. ارزیابی مقدار پرودی جیوسین تولید شده در دو محیط ذکر شده نیز با استفاده از فرمول زیرانجام گردید (۱۶):

Prodigiosin unit/cell:

$$\frac{[OD535 - (1.381 \times OD\ 620)] \times 1000}{OD\ 620}$$

Optical density =OD535= جذب رنگدانه

Bacterial cell absorbance = OD620= جذب سلول باکتری

Constant =1.381= عدد ثابت

بعد از ارزیابی رنگدانه‌های استخراج شده، غلیظ‌ترین رنگدانه انتخاب و خالص سازی جزئی شد.

خالص سازی جزئی پرودی جیوسین توسط کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)

کروماتوگرافی لایه نازک انجام شد، به طوری که صفحات در شیشه (jar) حاوی حلال‌های متانول و کلروفرم به ترتیب (vol/vol) ۱:۱ قرار گرفت که به عنوان فاز مایع بودند. RF طبق معادله زیر اندازه گیری شد (۱۷).

$$RF: \frac{\text{فاصله از نقطه حرکت نمونه}}{\text{فاصله از نقطه حرکت حلال}}$$

جمع‌آوری باکتری‌های عامل عفونت ادراری

سویه‌های جدا شده استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، اشرشیا کلی، کلبسیلا و انتروککوس از نمونه‌های ادرار افراد مبتلا به عفونت‌های ادراری بعد از جمع‌آوری از آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شهر تهران و تعیین هویت از طریق آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد جهت سنجش اثر ضد میکربی مورد استفاده قرار گرفتند (۱۹،۱۸).

سنجش اثر ضد میکروبی رنگدانه پرودی جیوسین

اثر ضد میکروبی رنگدانه با سه روش دیسک گذاری، چاهک‌گذاری و MIC مورد بررسی قرار گرفت:

در روش دیسک گذاری،۱۰۰ میکرولیتر از کشت تازه $۱/۵\times۱۰^{۸}$cell/ml از سویه‌های استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، اشرشیا کلی، انتروکک و کلبسیلا در محیط کشت مولر هینتون آگار تلقیح و در هر پلیت سه دیسک شامل دیسک ۳۰ میکرولیتری رنگدانه پرودی جیوسین محلول (به این صورت که ۳۰ میکرولیتر از رنگدانه به

دیسک‌ها تلقیح شد و بعد از تبخیر حلال آن با یک پنس استریل روی محیط قرار گرفت)، دیسک حلال تنها (۳۰ میکرولیتر ایمی پنم (به عنوان استاندارد) با فاصله یکسان قرار داده شد (۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری). قطر هر یک از هاله‌های عدم رشد اندازه گیری شد (۲۰).

در روش چاهک گذاری (well-diffusion) (۲۱)، چاهک ها برای هر یک از سویه‌های مورد آزمون به طور جداگانه با۵۰ میکرولیتر از محلول رنگدانه پرودی جیوسین پر شدند. بعد از گرما گذاری در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت مهار رشد به صورت یک منطقه روشن در اطراف چاهک مشخص شد.

آزمون حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) با ۱۱ لوله حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط مولر هینتون براث (رقت $^{11-}$ ۱۰)، ۱ میلی‌لیتر رنگدانه محلول (در اولین لوله) و ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون برای هر یک از چهار باکتری فوق انجام شد (۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری). حداقل غلظت کشندگی (MBC) رنگدانه علیه باکتری‌های ذکر شده به طور جداگانه سنجیده شد (۲۰).

نتایج

تولید و استخراج رنگدانه پرودی جیوسین

محیط کشت BHI براث و نوترینت براث تلقیح شده بعد از ۹۶ ساعت در ۲۸ درجه سانتیگراد با درجه های مختلف به رنگ قرمز درآمدند که نشان دهنده تولید رنگدانه بود. بعد از استخراج رنگدانه نیز مشاهده شد رنگدانه محلول در اتانول اسیدی که از محیط کشت BHI براث استخراج شد به دلیل غنی‌تر بودن محیط کشت از نظر مواد تشکیل دهنده، پر رنگ تر از رنگدانه استخراج شده از محیط کشت نوترینت براث بوده است. نتایج حاصل از سنجش میزان جذب رنگدانه پرودی جیوسین در محیط های کشت و pH های (۸-۶) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Visible در ۵۳۵ نانومتر، در جدول شماره ۱ آمده است. طبق نتایج ، بیشترین میزان جذب رنگدانه پرودی جیوسین در محیط کشت BHI براث در pH۷ برابر با (unit/cell) ۱/۵۳۵ و در محیط کشت نوترینت براث در pH۷ برابر با ۱/۲۷۸ یافت شد که نشان دهنده آن است که محیط خنثی تا قلیایی برای رشد باکتری و تولید رنگدانه مناسب تر بوده است که به این ترتیب مقدار رنگدانه پرودی جیوسین در محیط کشت BHI براث در pH۷ برابر با (unit/cell) ۲۱۴۰/۲۲ و در محیط کشت نوترینت براث در pH۷ برابر با (unit/cell) ۱۹۶۵/۹۶یافت شد (جدول شماره ۲).

رنگدانه قرمز رنگ پرودی جیوسین در روش TLC، به صورت یک لکه پر رنگ با میزان RF برابر ۰/۸۵روی صفحات سیلیکا ژل نمایان شد. علاوه بر این جذب رنگدانه پرودی جیوسین محلول در اتانول اسیدی یک پیک (قله) را ثبت کرد که تأییدی بر خلوص رنگدانه بوده است.

نتایج حاصل از دیسک گذاری رنگدانه محلول به عنوان ماده ضد میکروبی در جدول شماره ۳ آمده است

جدول شماره ۱- نتایج حاصل از سنجش میزان جذب رنگدانه پرودی جیوسین در محیط های کشت BHI براث و نوترینت براث در (۸-۶) pH توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Visible در ۳۵۳ نانومتر بعد ۹۶ ساعت در ۲۸ درجه سانتیگراد

	جذب نوری پرودی جیوسین در 353 nm		
	pH6	pH7	pH8
BHI براث	1.343	1.531	1.467
نوترینت براث	1.017	1.278	1.068

جدول شماره ۲- نتایج مقدار کل رنگدانه پرودی جیوسین در محیط های کشت BHI براث و نوترینت براث در (۸-۶) pH

	مقدار کل پرودی جیوسین (unit/cell)		
	pH6	pH7	pH8
BHI براث	1977.50	2140.22	2129.18
نوترینت براث	1535.81	1965.96	1645.89

جدول شماره ۳- نتایج حاصل از دیسک گذاری رنگدانه پرودی جیوسین (۳۰ µl) به عنوان ماده ضد میکروبی، اتانول اسیدی به عنوان شاهد (۳۰ µl) و آنتی بیوتیک ایمی پنم به عنوان استاندارد علیه باکتری

ایزوله‌های باکتری	رنگدانه پرودی جیوسین (mm)	اتانول اسیدی (mm)	ایمی پنم (mm)
Staphylococcus Saprophyticus	۱۳	۱۰	۱۹
E. coli	۱۰	۷	۱۴
Enterococcus	۱۱	۹	۱۹
Klebsiella	۹	۱۰	۱۸

نتایج حاصل از چاهک گذاری رنگدانه (۵۰ میکرولیتر) علیه باکتری های عامل عفونت ادراری (استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، اشرشیا کلی، انتروکوکوس و کلبسیلا) در جدول شماره ۴ آمده است. میزان MIC رنگدانه پرودی جیوسین در جدول شماره ۵ آمده است. MBC رنگدانه برای باکتری های عامل عفونت ادراری برابر MIC مربوط به هر باکتری بود.

جدول شماره ۴: نتایج حاصل از اندازه گیری هاله عدم رشد چاهک ها برای رنگدانه پرودی جیوسین (۵۰ µl) به عنوان ماده ضد میکروبی علیه باکتری های عامل عفونت ادراری (استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، اشرشیا کلی، انتروکوکوس و کلبسیلا) در محیط مولر هینتون آگار

ایزوله‌های باکتری	رنگدانه پرودی جیوسین (mm)
Staphylococcus Saprophyticus	19
E. coli	16
Enterococcus	18
Klebsiella	17

جدول شماره ۵: نتایج میزان MIC و MBC رنگدانه پرودی جیوسین برای باکتری های عامل عفونت ادراری (استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، اشرشیا کلی، انتروکوکوس و کلبسیلا)

رنگدانه پرودی جیوسین		
ایزوله باکتری	MIC µ (g/ml)	MBC (g/ml) µ
Staphylococcus Saprophyticus	62.5	62.5
E. coli	250	250
Enterococcus	125	125
Klebsiella	250	250

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که رنگدانه پرودی جیوسین استخراج شده از باکتری سراشیا مارسسنس روی باکتری‌های گرم مثبت اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به باکتری های گرم منفی داشته است که با سایر مطالعات انجام شده در ایران و سایر کشورها مطابقت داشته است. در این تحقیق برای استخراج رنگدانه پرودی جیوسین از سویه استاندارد سراشیا مارسسنس ATTC14756 استفاده شد. در این تحقیق برای تولید رنگدانه پرودی جیوسین از دو محیط کشت BHI براث و نوترینت براث استفاده شد، طبق نتایج به دست آمده بیشترین میزان تولید رنگدانه پرودی جیوسین در محیط BHI براث، ۷ pH و دمای ۲۸ درجه سانتیگراد برابر با (unit/cell) ۲۱۴۰/۲۲ یافت شد. مناسب بودن محیط کشت BHI براث نسبت به محیط کشت نوترینت براث در این تحقیق با نتایج حاصل از مطالعات خنافری و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت داشت در حالی که در مطالعات خنافری و همکاران pH۸ به عنوان pH مناسب گزارش شده است (۲۲). در این تحقیق برای تعیین pH مناسب برای تولید رنگدانه پرودی جیوسین، سه pH (۶-۸) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که pH مناسب برای تولید رنگدانه

پرودی جیوسین pH۷ است که مطابق با نتایج Sundaramoorthy و همکاران در سال ۲۰۰۹ ، Gulani و همکاران در سال ۲۰۱۲ و Ramani و همکاران در سال ۲۰۱۴ بود (۲۳، ۲۴ و ۲۵). در این مطالعه بعد از خالص سازی جزئی رنگدانه پرودی جیوسین به وسیله روش TLC، میزان RF در تانک حاوی حلال‌های متانول و کلروفرم برابر با ۰/۸۳ به دست آمد که مطابق با مطالعات انجام شده توسط Samrot و همکاران (۲۰۱۱) بود که مقدار R_F در همین تانک برابر با ۰/۸۷ گزارش شد (۲۶).

در این تحقیق اثر ضد میکروبی رنگدانه پرودی جیوسین استخراج شده با غلظت (unit/cell) ۲۱۴۰/۲۲ علیه باکتری‌های عامل عفونت ادراری (استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، اشرشیا کلی، انتروکوکوس و کلبسیلا) سنجیده و دریافت شد که این رنگدانه با سه روش دیسک گذاری، چاهک گذاری و سنجش MIC روی هر چهار باکتری فوق اثر ضد میکروبی داشته است. لازم به ذکر است که این رنگدانه در روش دیسک گذاری بیشترین تاثیر را روی باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (با قطر هاله عدم رشد ۱۳ میلی‌متر) و جنس انتروکوکوس (با قطر هاله عدم رشد ۱۱ میلی‌متر) نسبت به دو باکتری گرم منفی اشرشیا کلی (با قطر هاله عدم رشد ۱۰ میلی‌متر) و جنس کلبسیلا (با قطر هاله عدم رشد ۹ میلی‌متر) نشان داد. این نتایج مطابق با نتایج به دست آمده از مطالعات قبلی بود. در مطالعه Ramani و همکاران (۲۰۱۴) بر روی اثر ضد میکروبی رنگدانه پرودی جیوسین علیه سویه های گرم مثبت و گرم منفی ، با میزان رنگدانه ۳۰ میکرولیتر، استافیلوکوکوس اورئوس دارای هاله عدم رشد بیشتری (۳±۰۰ mm)، نسبت به اشرشیا کلی (۳/۰±۲ mm) بود (۲۵). در مطالعه Samrotو همکاران (۲۰۱۱) بر روی اثر ضد میکروبی رنگدانه پرودی جیوسین علیه سویه های گرم مثبت و گرم منفی، استافیلوکوکوس اورئوس دارای هاله عدم رشد بزرگتری (۲۰ میلی‌متر) نسبت به اشرشیا کلی (۱۶ میلی‌متر) بود (۲۶).

نتیجه‌گیری

تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که رنگدانه پرودی جیوسین دارای اثر ضد میکروبی بر روی هر دو گروه از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بوده است بنابراین این رنگدانه می‌تواند در آینده جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی باشد.

سپاسگزاری

از گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال و کارشناسان آزمایشگاه محمودیه برای راهنمایی‌های بی دریغشان تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Astal Z, Increasing Ciprofloxacin resistance among prevalent urinary tract bacterial isolates in Gaza strip Palestine. Journal of biomedicine and Biotechnology,Singapore Med J. 2005. 46:457-465.

2. Barnett J, Stephens DS. Urinary tract infection. An overview. Am J Med Sci. 1997. 314: 245-249.

3. Beyene G, Tsegaye W. Bacterial uropathogens in urinary tract infection and antibiotic susceptibility pattern in Jimma university specialized hospital, southwest Ethiopia. Ethiop J Health Sci. 2011. 2: 141-6.

4. Brunicardi F, Billiar T, Andersen D. Schwart's Principles of Surgery. 8th ed. USA: McGraw–Hill: 2005:1524-25.

5. Rnuka KA, Kapil A, Kabra SK, Wig N, Prasad SP, Chaudhry R. Reduced susceptibility to ciprofloxacin and gyrA gene mutation in north Indian strains of Salmonella enteric serotype typhi and serotype paratyphi A. Microb Resist. 2004. 10: 146-53.

6. Stamm WE, Norrby SR. Urinary tract infections. J Infect Dis. 2001. 183: S1-3S.

7. Mizukami H, Konoshima M, Tabata M. Variation in pigment production in Lithospermum erythrorhizon callus cultures. Phytochem. 1978. 17: 95-97.

8. Aust J. taxonomy, fermentation, purification and biological activities produced by *Streptomyces Sp*. AZ-AR. 2009. 3(1): 126-135.

9. Gaughtan ERL. Division of microbiology from superstition to science: The history of bacterium. Trans NY Acad Sci. The meeting of the division. January 26. 1968. 46:903-912.

10. Boger DL, Patel M: Total synthesis of prodigio sin, prodigiosene, and desmethox yprodigiosin: Diels-Alder reactions of heterocyclic azidenes and development of an effective palladium (II)-promoted 2'2'-bipyrrole coupling procedure. Org Chem. 1988. 53:1405-1415.

11. Tao J, Wang X, Shen Y, Wei D. Strategy for the improvement of prodigiosin production by a *Serratia marcescens* mutant through fed- batch fermentation, World J Microbiol Biotechnol. 2005. 21: 969-972.

12. Samrot AV, Chandana K, Senthilkumar P and Narendra Kumar G. Optimization of prodigiosin production by *Serratia marcescens* SU-10 and evaluation of its bioactivity. I. Res J Bio. 2011. 2(5):128-133.

13. Bharmal MH, Jahagirdar N & Aruna K. Study on Optimization of prodigiosin production by Serratia marcescens MSK1 Isolatedfrom air. I.J. Advanced Bio Res. 2012. 2(4): 671-680.

14. Ramani DG, Nair A and Krithika K. Optimization of Caltural Conditions for the Production of prodigiosin by Serratia marcescens and Screening for the Antimicrobial Activity of Production. Int J Pharm Bio. 2014. 5 (3): (B) 383 – 392.

14. Khanafari A, Ahmadi Fakhr F, Marandi R. Evaluation of optimal conditions for the production of Prodigiosine pigment in Serratia marcescens. The World of Microbes Journal, The First Year, The First Issue, 2008:51-56.

15. Slater H, Crow M, Everson L, Salmond GP. Phosphate availability regulates biosynthesis of two antibiotics, prodigiosin and carbapenem in Serratia via both quorum sensing- dependent and independent pathway, Molecular microbiology. 2003. 47: 303-320.

16. Marshall JH, Wilmoth, GJ. Pigments of *Staphylococcus aureus*, a series of triterpenoid carotenoids. J Bacteriol. 1981.147: 900-913.

17. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. M100-S23. 2013: 130-34.

18. Mohammadi S, Ramezanzadeh R, Zandi S, Rohi S, Mohammadi B. Isolation and determination of antimicrobial resistance pattern of bacteria causing urinary tract infections in patients referred to Tohid Hospital in Sanandaj during 1993-92. Zanko Journal of Medical Sciences/Kurdistan University of Medical Sciences / Autumn 94 /26-55.

19. Ashrafi F. practice with the principles of Microbiology biochemical reactions. Tehran, Iran: Publications Ahsan. 2011. 190-204.

20. Samaranika, P. Susceptibility of Klebsiella sp. isolated from septicemia patients to water soluble pigments of Pseudomonas spp. And Staphylococcus spp. isolated from hospital campus soil.j. of Pharmacy research. 2012. 5(2):1008-1090.

21. Khanafari A, Mazaheri Assadi M, Ahmadi fakhr F. Review of Prodigiosin, Pigmentation in Serratia marcescens. Online J Bio Sci. 2006. 6 (1): 1-13.

22. Sundaramoorthy N, Yoghesh P, Dhandapani R.Production of prodigiosin from Serratia marcescens isolated from soil. Indian J Sci Technol. 2009. 10: 32-34.

23. Gulani C, Bhattacharya S and 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 J of Mic.2012. 8(2):116-122.

24. Ramani DG, Nair A and Krithika K. Optimization of Caltural Conditions for the Production of prodigiosin by Serratia marcescens and Screening for the Antimicrobial Activity of Production. Int J Pharm Bio. 2014. 5 (3): (B) 383 – 392.

25. Samrot AV, Chandana K, Senthilkumar P and Narendra Kumar G. Optimization of prodigiosin production by Serratia marcescens SU-10 and evaluation of its bioactivity. I. Res J Bio. 2011. 2(5):128-133.