مجله ایمنی زیستی
دوره ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹
ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

دورنمای موفقیت در مهار رشد باکتری‌های مقاوم به چند دارو با پاروموماییسین

مهسا عی‌قرلو[۱]، علی محمدی[۲] و اکرم صادقی[۳*]

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران
۲- استادیار میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران
۳-استادیار ژنتیک مولکولی، بخش بیوتکنولوژی میکروبی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
aksadeghi@abrii.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۹/۲۸، تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۰۸
صفحه ۱۶-۱

چکیده

استرپتومایسس (*Streptomyces*) مهمترین جنس باکتریایی شناخته‌شده در تولید ترکیبات ثانویه آنتی‌بیوتیکی است. با در نظر گرفتن سرعت گسترش مقاومت باکتریایی اهمیت بررسی ترکیبات کمتر استفاده‌شده بیشتر می‌شود. آمینوگلیکوزیدها با اثر در فرآیند پروتئین‌سازی موجب اختلال در عملکرد میکروارگانیسم هدف می‌شوند. پاروموماییسین از آمینوگلیکوزیدهایی است که بر طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و تک‌یاخته‌ها اثرگذار است. امروزه این آنتی‌بیوتیک بیشتر در درمان لیشمانیوز احشایی کاربرد دارد. مولد اصلی پاروموماییسین *S. rimosus* NRRL 2455 است. مصرف این آنتی‌بیوتیک در دوزهای بالا موجب بروز عوارض گسترده در قلب، کلیه و سیستم شنوایی می‌شود اما در دوزهای پائین و به همراه دیگر انواع آنتی‌بیوتیک‌ها بر اثر هم‌افزایی عملکرد قابل‌توجهی در مهار رشد باکتری‌های مقاوم به چند دارو یا MDR نشان می‌دهد. با توجه به این اطلاعات، شناخت عوامل مؤثر در افزایش تولید و شناخت ارتباط بین ساختار وعملکرد این آنتی‌بیوتیک اهمیت پیدا می‌کند. هدف این مطالعه گردآوری اطلاعات مفید و به‌روز در مورد پاروموماییسین، شرایط تولید و اهمیت این آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌های باکتریایی MDR است.

واژه‌های کلیدی: *استرپتومایسس*، آمینوگلیگوزید، بهینه‌سازی، پاروموماییسین، مقاومت دارویی.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

مقدمه

۱- معرفی پاراومومایسین

آمینوگلیکوزیدها (aminoglycosides) دسته‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها هستند که تولید پروتئین در عوامل بیماری‌زا را مهار می‌کنند (۱). آمینوگلیکوزیدهایی که به طور طبیعی توسط جنس *استرپتومایسس* تولید می‌شوند علاوه‌بر پاروموماسین شامل استرپتومایسین (streptomycin)، کانامایسین (kanamycin)، جنتامایسین (gentamicin)، نئومایسین (neomycin) و توبرامایسین (tobramycin) هستند. برخی از این آنتی‌بیوتیک‌ها به شکل نیمه‌سنتزی نیز تولید می‌شوند. آمینوگلیکوزیدها از نظر شیمیایی پایدار هستند و به‌طور معمول با سایر داروهای ضدباکتری اثر هم‌افزایی دارند. پرکاربردترین اعضاء خانواده آمینوگلیکوزیدها در حوزه درمان پاروموماسین، نئومایسین‌ها، کانامایسین‌ها و جنتامایسین‌ها هستند. خوشه‌های ژنی تولید زیستی این آنتی‌بیوتیک‌ها جدا و آنالیز شده اما همه ژن‌ها از نظر بیوشیمیایی آنالیز نشده‌اند (۲). آمینوگلیکوزیدها به‌عنوان داروی مناسب برای تعدادی از بیماری‌ها انتخاب شده‌اند اما عوارض جانبی ناشی از سمیّت دلیل اصلی کاهش مصرف آن‌ها در ۳۰ سال گذشته است. این آنتی‌بیوتیک‌ها عوارض جانبی مهمّی مانند سمیّت کلیوی، سمیّت دهلیزی و اختلال شنوایی دارند (۳). بنابراین تجویز این آنتی‌بیوتیک به تنهایی توصیه نشده و به‌طور معمول همراه با دیگر داروها و در دوزهای پایین مصرف محدود دارد. رویکردهایی برای غلبه بر سمیّت این داروها در نظر گرفته شده است، برای مثال یک بار مصرف هر دوز دارو در هر روز مصرف آمینوگلیکوزیدها را ایمن‌تر می‌کند. آمینوگلیکوزیدها آنتی‌بیوتیک‌هایی توانمند و مؤثر در برابر بیماری‌زاهای با مقاومت چندگانه (MDR) هستند و نمی‌توان به سادگی از آن‌ها چشم‌پوشی کرد (۴).

پاراومومایسین یک 2 deoxystreptamine aminocyclitol aminoglycoside antibiotic با طیف گسترده فعالیت علیه بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و همچنین تک‌یاخته‌ها است. پاروموماسین به‌صورت اختصاصی به الیگونوکلئوتید آر.ان.ای ریبوزوم‌های 30S باکتریایی متصل می‌شود و در نتیجه موجب

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

خاتمه زودرس ترجمه شده و منجر به مهار سنتز پروتئین می‌شود (۱).

این آنتی‌بیوتیک بر سویه‌های *Staphylococcus aureus* به‌ویژه آن‌هایی که در برابر اکسی تتراسایکلین (oxytetracycline)، اریترومایسین (erythromycin) و کاربومایسین (carbomycin) مقاوم هستند اثرگذاری بیشتری دارد (۵). همچنین پاروموماییسین در درمان علیه عفونت‌های تک‌یاخته‌ای مانند لیشمانیوز احشایی بسیار مؤثراست. این آنتی‌بیوتیک همچنین دارای فعالیت بالای ضدآمیبی است و در عین‌حال سمیّت کمی برای دستگاه گوارش دارد، بنابراین به‌صورت کنترل شده برای درمان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶).

مقاومت آنتی‌بیوتیکی

توانایی باکتری‌ها در کسب مقاومت آنتی‌بیوتیکی از زمان کشف عوامل ضدمیکروبی شناخته شده است. کسب مقاومت تحت تأثیر مجموعه‌ای از ژن‌های ویژه مقاومت برای یک جامعه خاص باکتریایی است که در دهه‌های اخیر شناخته شده است (۷). کاهش تنظیم ژن‌های مقاومت امکان استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های موجود را در درمان باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک فراهم کرده است (۸).

مقاومت باکتریایی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی برای اولین بار در سال ۱۹۵۲ کشف شد. فرضیه‌ای برای توضیح منشاء ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی با نام aminoglycoside phosphotransferase حاصل از باکتری‌های تولیدکننده آنتی‌بیوتیک در خاک در اوایل دهه ۱۹۷۰مطرح شد (۹).

در سال ۱۹۸۳، ژن‌های aminoglycoside-3`-phosphotransferase در پلاسمیدها و عناصر متحرک در سویه‌های بالینی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت شناسایی و توالی‌یابی شدند (۱۰).

ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک در جنس *استرپتومایسس* شناخته شده‌اند. بررسی ژنوم حداقل چهارده ژن aminoglycoside phosphotransferase را در این باکتری‌ها نشان می‌دهد (۱۱). هنگام تعیین توالی ژنوم

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

تولید *Streptomyces rimosus* subsp. *rimosus* ATCC 10970، چهارده ژن *aph* بدست آمده است که به‌عنوان *aphSR1* تا *aphSR14* نامگذاری شده‌اند. تجزیه و تحلیل مقایسه‌ای و تبارزایی از توالی اسیدهای آمینه برای محصولات این چهارده ژن و ژن‌های *aph* که در گذشته از جدایه‌های بالینی و سویه‌های تولیدکننده آنتی‌بیوتیک آمینوگلیکوزیدی از هفت زیر خانواده شناخته شده بودند، انجام شده است. ژن‌های *aphSR3* و *aphSR5* هنگام مشابه‌سازی در باکتری *E. coli* موجب مقاومت این باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌های کانامایسین، نئومایسین، پارومومایسین و استرپتومایسین می‌شوند. پژوهش‌ها بر نحوه عملکرد ژن‌های شماره ۳ تا ۸ نشان داد مقاومت آنتی‌بیوتیکی پس از فسفریله‌شدن موتیف Ser146 سایت فعال آنزیم توسط پروتئین‌کینازهای سرین-ترئونین افزایش پیدا کرده است. بررسی‌های بیشتر نشان داد آنزیم پروتئین‌کیناز سرین-ترئونین در افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزید نقش مهمّی دارد (۱۲).

۲- بیوسنتز پارومومایسین

استرپتومایسس‌ها (*Streptomyces*) عضو خانواده اکتینومایستاسه (Actinomycetaceae) هستند. این باکتری‌ها در تولید ترکیب‌های ثانویه مانند آنتی‌بیوتیک‌ها اهمیت بسیار زیادی دارند (۱۳).

سویه اصلی تولیدکننده پارومومایسین *S. rimosus* NRRL 2455 است (۱). اعضای *استرپتومایسس‌ها* ناپایداری ژنتیکی و اختلاف ریخت‌شناسی (morphology) درون سویه‌ای زیادی را نشان می‌دهند و این یکی از دلایل ترس برخی از پژوهشگران برای کار با این باکتری‌ها است. هرچند تحقیقات نشان می‌دهد که بین شکل کلنی‌ها و فعالیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها همبستگی و ارتباط وجود دارد. جهش‌زایی تصادفی به‌عنوان یک روش مؤثر در بهبود بهره‌وری کشت‌های میکروبی در صنعت در نظر گرفته می‌شود.

بررسی‌های ژنتیکی در برخی جهش‌یافته‌هایی که شکل کلنی نیز در آن‌ها تغییر یافته است افزایش توان فعالیت تولیدی را نشان می‌دهد (۱۴).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

۳- عوامل موثر در افزایش تولید پاراموماییسین

تولید این آنتی‌بیوتیک توسط *S. rimosus* در مقادیر ثابت و نتایج مشابه امکان‌پذیر نیست. عوامل مختلفی بر تولید پاروموماییسین تاثیر دارند. با تغییر در فرآیند تخمیر یا تغییر در محیط کشت و یا حتّی جهش‌های خودبه‌خودی (در نتیجه واکشت‌های پی‌درپی) ممکن است محصول نهایی افزایش یابد یا توانایی تولید سویه از دست برود (۱۵). اجزای محیط کشت و شرایط میکروارگانیسم‌ها اغلب بر تولید ترکیب‌های زیست فعال تأثیر می‌گذارند. محیط کشت مورد استفاده برای تولید، دمای گرمخانه‌گذاری، میزان هم‌زنی، حجم تلقیح، مدت زمان تخمیر و pH محیط در میزان تولید ترکیبات اولیه و ثانویه اثرگذار است. بنابراین، ژن‌های باکتری، ترکیب محیط کشت و شرایط محیطی مهمترین عوامل تاثیرگذار بر تولید این آنتی‌بیوتیک هستند.

۳-۱ جهش زایی

جهش یکی از روش‌های مفید برای افزایش تولید پاروموماییسین توسط باکتری‌ها است. بهبود تولید پاروموماییسین توسط *S. rimosus* NRRL 2455 از طریق جهش‌زایی توسط تابش گاما امکان‌پذیر است. این جهش‌ها در جهت تغییر سویه و به‌منظور افزایش عملکرد ترکیب‌های ثانویه میکروبی و بر اساس غربالگری برای تولید بیشتر متابولیت توسط جهش‌یافته‌ها انجام شده است. سویه‌های جهش‌یافته با توانایی تولید بیشتر پاروموماییسین هزینه‌های تولید را کاهش داده‌اند. پرکاربردترین عوامل جهش‌زا شامل متیل متان سولفونات (MMS)، هیدروکسی آمین (HA)، اتیل متان سولفونات (EMS)، متیل نیترو نیتروز گوآنیدین (MNNG) و اشعه ماوراء بنفش (UV) هستند (۱۶). در قرن اخیر روش‌های جهش‌زایی در اکتینومیست‌ها توسعه یافته است.

قرار دادن اسپورهای *Streptomyces* در برابر پرتو ماوراء بنفش و گاما در باکتری تغییرات ژنتیکی ایجاد می‌کند؛ این جهش‌ها تغییر در شکل کلنی و رنگدانه را به دنبال دارند (۱۷). می‌دانیم که دی.ان.ای *استرپتومایسس* حاوی مقادیر زیادی از نوکلئیک اسیدهای سیتوزین (C) و گوانین

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

(G) و مقادیر کمتری از آدنین (A) و تیمین (T) است (۱۸). تبدیل AT به CG بهترین راه برای جهش وبهبود توان تولیدی در سویه است. تاکنون تبدیل AT به CG توسط هیچ ماده جهش‌زای شیمیایی گزارش نشده است (۱۶)؛ اما تبدیل AT به CG در سلول‌های تحت تابش پرتو گاما گزارش شده است (۱۹). پرتوهای گاما از طریق شکستن تک یا دو رشته دی.ان.اِ و درنتیجه با حذف یا تغییر ساختار در دی.ان.اِ عمل می‌کنند (۲۰). اثربخشی تابش گاما و دوز انتخابی به نوع ماده بیولوژیکی بستگی دارد. از دوزهای بالای تابش گاما برای استریلیزاسیون استفاده می‌شود، دوزهای متوسط برای رفع آلودگی و دوزهای پایین برای جهش‌زایی کاربرد دارند (۲۱).

در مطالعه Asmaa و همکاران، *S. rimosus* subsp. *paromomycinus* در معرض اشعه گاما قرار داده شد و شش کلنی با ریخت‌شناسی تغییریافته بدست آمد. این باکتری برای یافتن بهترین دوز پرتو گاما، که منجر به کشتار ۹۹/۹۹ ٪ باکتری‌ها می‌شود، با دوزهای مختلف (3,4,5 KGy) تحت تابش قرار گرفت. دوز مطلوب 4KGy بود. شش نوع کلونی که به لحاظ ریخت‌شناسی تغییر کرده بودند بر محیط کشت tryptic soy agar ظاهر شدند. این کلنی‌ها برای تعیین فعالیت ضدمیکروبی در برابر سویه استاندارد *S. aureus* ATCC 25923 با استفاده از روش انتشار در چاهک آگار زیست‌سنجی شدند. سویه جهش‌یافته کارآمد 5M نامگذاری شد. جهش‌یافته 5M پایداری ژنتیکی بالایی در کشت‌های بعدی داشت. این سویه جهش‌یافته نسبت به نوع وحشی ۱/۴۴ و ۲ برابر افزایش فعالیت را به ترتیب در محیط کشت پایه و بهینه‌سازی شده نشان داد. *S. rimosus mutant*-5M می‌تواند به‌عنوان یک سویه صنعتی بالقوه برای تولید پاروموماییسین مورد استفاده قرار گیرد (۲۲).

نتایج مشابهی در مطالعات قبلی گزارش شده است، *Aspergillus niger* تولید کننده مهم بسیاری از آنزیم‌های صنعتی است که با قرار گرفتن در معرض تابش گاما از نظر ژنتیکی توسعه یافته است (۲۳). *A. niger* پس از قرار گرفتن در معرض تابش گاما و ایجاد جهش آنزیم‌های α و β گالاکتوزیداز را با افزایش دو برابری تولید کرد (۲۴).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

همچنین افزایش تولید گلوکز اکسیداز توسط جهش‌یافته‌های این قارچ پس از دوز 0.8 KGy گزارش شده است (۲۳). البته جهش‌یافته تولیدکننده کربوکسی متیل سلولاز با دوز 2KGy پرتو گاما بدست آمده است (۲۵).

مورد دیگر افزایش قابل‌توجه در اکسی تتراسایکلین تولیدشده از یک جهش‌یافته *S .rimosus* CN08 است. این سویه *S. rimosus* γ-45 نامیده شد (۲۶). علاوه براین، افزایش دوازده برابری در تولید اپسیلون پیروماییسینون گلیکوزیدها در *S. galilaeus* پس از تابش پرتو گاما گزارش شده است (۲۷). نتایج مشابه‌ای برای سویه جهش‌یافته *S. fradiae* NRRL-2702 توسط پرتو گاما گزارش شده است (۲۸). این نتایج تابش گاما را روشی مؤثر برای ایجاد جهش در مقایسه با دیگر روش‌های جهش‌زایی نشان می‌دهد.

۳-۲ بهینه‌سازی محیط کشت

برای دستیابی به حداکثر تولید آنتی‌بیوتیک توسط سویه تولیدکننده بهینه‌سازی شرایط تغذیه‌ای و محیطی نیز ضروری است. برنامه بهینه‌سازی آماری بر اساس روش سطح پاسخ (RSM) به‌طور معمول برای ساده‌سازی فرآیند بهینه‌سازی استفاده می‌شود. این روش از نظر ریاضی ابزار آماری مفیدی برای یافتن طراحی آزمایش است و برای تعیین نسبت‌ها در میان متغیرها و بهترین ترکیب پارامترها بر اساس پاسخ‌ها استفاده می‌شود. این رویکرد به صنعت کمک می‌کند برای افزایش تولید آنتی‌بیوتیک‌ها بهترین محیط کشت‌های کم هزینه و سازگار با محیط زیست را طراحی کند (۲۹).

درمطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۹ انجام شد، افزایش تولید پاروومومایسین توسط *S.rimosus* NRRL 2455 از طریق بهینه‌سازی مواد مغذی و محیطی توسط روش طراحی چند فاکتوری و RSM مورد بررسی قرارگرفت. در این مطالعه تأثیر ترکیب پاروموماییسین با سایر آنتی‌بیوتیک‌ها در برابر برخی از عوامل بیماری‌زای MDR که از نظر بالینی مرتبط هستند، بررسی شد. محیط کشت‌های مختلفی در این مطالعه مورد آزمایش قرار گرفت. در پایان هر دوره کشت فعالیت ضدمیکروبی پاروموماییسین

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

در برابر *S. aureus* ATCC 25923 سنجش شد. نتایج نشان داد که استفاده از کنجاله سویا(A1) و محیط تولید آمینوگلیکوزید(A6) بالاترین تولید پاروموماییسین را به همراه دارد که چندین برابر بیشتر از سایر محیط‌های آزمایش شده است. محاسبه فعالیت ضدباکتریایی پاروموماییسین در هر واحد تشکیل کلنی یک امر ضروری برای یافتن بهترین محیط تولید است. بر این اساس نتایج نشان داد که بهترین گزینه محیط تولید آمینوگلیکوزید (A6) است (۳۰).

جدول ۱- درصد ترکیب‌های مختلف در محیط کشت‌های بررسی‌شده در مطالعه ابراهیم و همکاران (۳۰).

ترکیبات محیط کشت	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
Soy bean meal(g/L)	۱۵	۱۵	-	-	-	۳۰	۳۰	-	-	۳۰	-	-
Yeast extract(g/L)	-	۱	۳	۱۰	-	-	-	۱۰	۳	-	-	-
Peptone(g/L)	-	-	-	۱۵	۱۰	-	-	۱۵	-	-	-	-
Tryptone(g/L)	-	-	۵	-	-	-	-	-	۵	-	-	-
Glucose(g/L)	۱۵	۱۵	۲۰	۱۵	۲۰	-	۲۰	-	-	-	-	-
Glycerol(ml/L)	-	۲/۵	-	-	-	۴۰	-	۴۰	۴۰	-	-	-
NaCl(g/L)	۵	۵	-	-	۵	-	-	-	-	-	-	-
$CaCO_3$(g/L)	۱	۱	-	-	-	۵	۵	-	-	۵	-	-
NH_4Cl(g/L)	-	-	-	-	-	۴	۴	-	-	۴	-	-
K_2HPO_4(g/L)	-	-	۱	-	-	-	-	-	۱	-	-	-
KH_2PO_4(g/L)	-	-	۰/۱	-	-	-	-	-	۰/۱	-	-	-
Beef extract(g/L)	-	-	-	-	۵	-	-	-	-	-	-	-
TSB(g/L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۳۰	-
Soybean casein digest broth(g/L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۳۰

۳-۳ بهینه‌سازی شرایط کشت

تأثیر دما بر زیست‌توده و تولید پاروموماییسین نیز مورد مطالعه قرار گرفته است. حداکثر تولید پاروموماییسین در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انجام می‌شود (۳۰). این شرایط بر اساس آزمایش‌های سینگ و همکاران در سال ۲۰۱۴ بدست آمده است. در این مطالعه نشان داده شده که دمای بهینه برای باکتری *S. sannanensis* SU118 جهت بالاترین نرخ رشد و

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

همچنین حداکثر تولید ماده ضدمیکروبی ۲۸ درجه سانتی‌گراد است (۳۱). تولید پاروموماییسین در pHهای متفاوت ۶، ۷/۵ و ۹ بررسی شده است. سایر فاکتورها از جمله حجم تلقیح و دوره انکوباسیون توسط RSM نیز بهینه‌سازی شده است. همچنین پژوهشی که به‌تازگی انجام شده نشان داد که افزایش سرعت چرخش به ۲۰۰ دور در دقیقه منجر به حداکثر تولید پاروموماییسین و بالاترین رشد باکتری شد. در نهایت حداکثر تولید پاروموماییسین در محیط کشت و شرایط محیطی بهینه با حجم تلقیح v/v ۵/۵٪، اسیدیته برابر با ۶ و در یک دوره ۸/۵ روزه بدست آمده است (۳۰). در جستجوهای انجام شده توسط نویسندگان این مقاله گزارشی مبنی‌بر اثر شدت نور بر میزان تولید پاراموماییسین یافت نشد.

جدول ۲- تأثیر اسیدیته، حجم تلقیح و دوره رشد بر نتایج آزمایش و مقادیر پیش‌بینی‌شده برای تولید پاراموماییسین (۳۰).

Run order	pH	Inoculum siz (%)	Incubation period (days)	Observed response	Predicted response
۱	۹	۱	۶	۱۴	۱۷/۶
۲	۷/۵	۵/۵	۶	۲۸	۲۶/۸
۳	۹	۵/۵	۳	۰	۲/۰
۴	۷/۵	۵/۵	۶	۲۸	۲۶/۸
۵	۶	۵/۵	۹	۳۴	۳۴/۵
۶	۷/۵	۱	۹	۲۷	۲۵/۱
۷	۷/۵	۵/۵	۶	۲۸	۲۶/۸
۸	۹	۱۰	۶	۲۲	۲۲/۱
۹	۷/۵	۵/۵	۶	۲۸	۲۶/۸
۱۰	۶	۱	۶	۲۰	۲۲/۴
۱۱	۶	۱۰	۶	۲۵	۲۳/۹
۱۲	۷/۵	۱۰	۳	۰	-۱/۱
۱۳	۷/۵	۱	۳	۰	-۴/۱
۱۴	۶	۵/۵	۳	۰	۳/۳
۱۵	۷/۵	۵/۵	۶	۲۷	۲۶/۸
۱۶	۷/۵	۱۰	۹	۲۶	۲۸/۱
۱۷	۹	۵/۵	۹	۳۰	۲۹/۳

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

۴- بهینه‌سازی شرایط تولید پاراومومایسین در مقیاس صنعتی

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۲۱ انجام شد، روش تخمیر حالت جامد برای تولید پاراومومایسین توسط *S. rimosus* NRRL 2455 و با استفاده از سبوس ذرت به‌عنوان یک بستر عالی و ارزان ارزیابی شد (۳۲). تخمیر حالت جامد (SSF: solid state fermentation) یک فرآیند بیوتکنولوژی است که در آن میکروارگانیسم‌ها بر روی لایه‌های جامد و بدون آب آزاد رشد می‌کنند (۳۳). بستر رشد ممکن است یک ماده پشتیبانی‌کننده بی‌اثر یا یک منبع غذایی مانند دانه‌های غلات، مواد لیگنوسلولزی و طیف وسیعی از مواد گیاهی یا حیوانی باشد (۳۴). تخمیر حالت جامد به دلیل سادگی نسبی آن، استفاده از مواد زیستی ارزان قیمت با حداقل پیش‌تصفیه، تولید کم پساب و توانایی شبیه‌سازی ریز محیط‌های مناسب برای رشد میکروبی مورد توجه است. تخمیر حالت جامد در مقایسه با تخمیر مایع غوطه‌ور (SLF: submerged liquid fermentation) پیامدهای مخرب کمتری در تخمیر صنعتی دارد (۳۵).

از ۶ نوع بستر جامد انتخابی، سبوس ذرت و کنجاله سویا بیشترین کارایی را نشان دادند. بنابراین مخلوطی از این دو بستر مورد آزمایش‌های بیشتر قرار گرفت. در این بستر ۰/۵۱ میلی‌گرم پاراومومایسین در هر گرم ماده جامد خشک اولیه (IDS: initial dry solids) تولید شد. بهینه‌سازی شرایط محیطی با استفاده از طراحی بهینه DOD باعث افزایش ۴/۳ برابری در غلظت نهایی پاروومومایسین شد. سویه منتخب در شرایط بهینه شامل اسیدیته ۸/۵، حجم تلقیح ۵/۵v/w٪، دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در یک دوره ۹ روزه ۲/۲۱ میلی‌گرم پاراومومایسین درهر گرم ماده جامد خشک اولیه تولید کرد. این نتایج نشان داد *S. rimosus* NRRL 2455 می‌تواند به‌عنوان یک سویه مناسب برای مطالعات بیشتر در مقیاس صنعتی در نظر گرفته شود (۳۲).

۵- فعالیت همزمان پاراومومایسین با دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها

برای بررسی تأثیر هم‌افزایی احتمالی ترکیب پاروومومایسین با عوامل ضدمیکروبی مختلف از روش شطرنجی استفاده شده است. در این مطالعه کمترین غلظت

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

بازدارنده (MIC) از هر کدام از مواد ضدمیکروبی آمپی‌سیلین (ampicillin)، سولباکتام (sulbactam)، سفتریاکسون (ceftriaxone)، سیپروفلوکساسین (ciprofloxacin)، آزیتروماییسین (azithromycin)، کلیندامایسین (clindamycin) و داکسی‌سایکلین (doxycycline) با استفاده از روش براث میکرودایلوشن تعیین شد (۳۰). مطابق با دستورالعمل CLSI، MIC کمترین غلظت ماده ضدمیکروبی است که مانع رشد میکروارگانیسم‌ها می‌شود و توسط چشم غیرمسلح قابل مشاهده است (۳۶).

سه اثر مختلف بر فعالیت پاروموماییسین به همراه ترکیبات سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین، آزیتروماییسین، آمپی‌سیلین، سولباکتام، کلیندامایسین و داکسی‌سایکلین بر باکتری *S. aureus* ATCC25923 تعیین شد: هم‌افزایی (S; ΣFIC <0.5)، اثر افزودنی (A; ΣFIC >0.5 , <1) و اثر بی‌تفاوت (I; ΣFIC >1 , <4). ترکیبات آزمایش‌شده در ۴۶٪ از جدایه‌ها اثر هم‌افزایی، در ۴۲٪ اثر افزودنی و در ۱۳٪ اثر بی‌تفاوت موارد را نشان دادند. همه این ترکیبات اثرات هم‌افزایی و افزایشی قابل‌توجهی داشتند که برای جدایه‌های مقاوم به دارو مطلوب بود. باید توجه داشت که استفاده از چند ترکیب ضدمیکروبی همزمان باید بر مبنای مطالعات دقیق در مورد تأثیر دو یا چند دارو به‌صورت ترکیبی باشد تا از اثرات احتمالی مانند تضاد جلوگیری شود (۳۰).

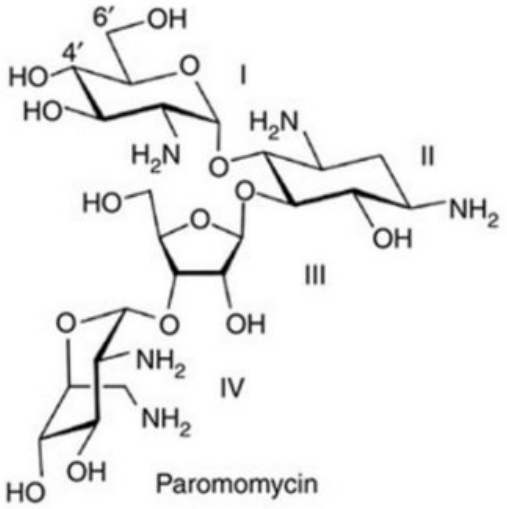
۶- تغییر ساختار پاروموماییسین جهت بهبود عملکرد آن

پژوهشگران با اصلاح گروه‌های اصلی عملکردی، تلاش قابل‌توجهی در تولید آنالوگ‌های جدید پاروموماییسین انجام داده‌اند. تغییرات حلقه I پاروموماییسین (شکل ۱) برای تولید آنتی‌بیوتیک‌های جدید بررسی شده است. اصلاح پاروموماییسین برای اولین بار با سنتز 2-N-ethyl paromomycin در دهه ۱۹۸۰ انجام شد. پس از آن 6-tetra-N-acetyl paromomycin 118 ساخته شد. برخی از این ترکیبات در برابر میکروارگانیسم‌های انتخاب شده MDR فعالیت بیشتری نسبت به پاروموماییسین والد نشان می‌دهند. تمام مشتقات پاروموماییسین، پاروموماییسین والد

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

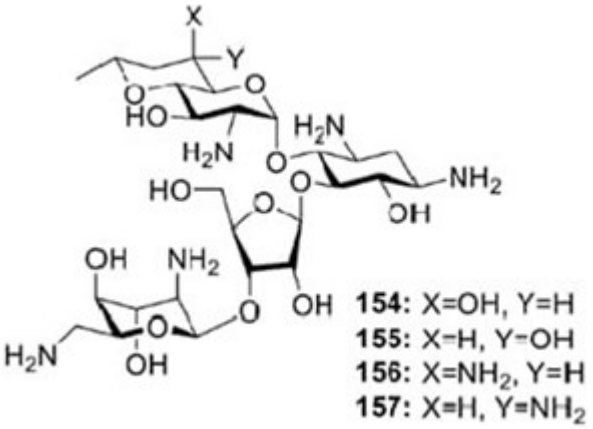
اولیه و بقیهٔ آنتی‌بیوتیک‌هایی که برای مقایسه انتخاب شده بودند مانند آپرامایسین (apramycin) و نئومایسین بیشترین فعالیت ضدمیکروبی را در برابر جدایه‌های بالینی سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین باکتری گرم مثبت *S. aureus* یا همان MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) داشتند. اما ترکیب حلقوی 6-epi paromomycin بیشترین فعالیت ضدمیکروبی را در برابر تمام سویه‌های بالینی MRSA و *E. coli* نشان داد. جایگزینی گروه هیدروکسیل با یک آمین در ترکیب شماره ۱۵۶ (شکل ۲)، منجر به افزایش فعالیت ضدمیکروبی قابل‌توجهی در برابر تمام سویه‌های *S. aureus* و *E. coli* در مقایسه با ترکیب والد شد. در حالی‌که ایزومر محوری ۱۵۷ فعالیت ضدمیکروبی بسیار کمتری را نشان داد. به‌طور کلی، به استثنای ترکیب ۱۵۷، تمام مشتقات دو حلقه‌ای (۱۵۴، ۱۵۵ و ۱۵۶) فعالیت خوبی در برابر دو سویه بالینی MRSA شامل AG039 و AG042 نشان دادند (این سویه‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک والد مقاوم هستند). این افزایش فعالیت در نتیجه تداخل در مکانیسم مقاومت دو سویه MRSA پس از اصلاح دارو بود.



شکل ۱- حلقه I پاروموماییسین. ساختار اصلی و تغییر پیدا نکرده پاروموماییسین (۳۷).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]



شکل۲- ساختارهای گوناگون مشتقات پاروموماییسین (۳۷).

بـــــه‌تازگی کـــــلاس جدیـــــدی از آنتـی‌بیوتیک‌هـای پاروموماییسـین براسـاس کتابخانه مولکولی فعال طراحی شده اسـت. ایـن طراحـی جدیـد بـر تغییـر حلقـه I در موقعیـت '4 و '6 تاکیـد دارد. ایـن کـلاس متشکل از یک داربسـت دو حلقـه‌ای شـبیه آپرامایسین و یک گروه کلیدی هیدروکسی یا آمین در موقعیت '6 است تا بـه بازهـای آر.ان.اِ متصل شود. این مشـتقات جدیـد از آنتی‌بیوتیک پاروموماییسین ساخته شده و از نظر فعالیت آنتی‌ریبوزومی در فرآیند ترجمه بـدون سـلول (هـر دو مـدل ریبـوزوم میتوکندری و سیتوزولی) و همچنـین بـرای فعالیت ضدباکتریایی بـر علیـه جدایـه‌های بـالینی *E. coli* و *S. aureus* مقـاوم بـه متی‌سیلین بررسی شده‌اند (۳۷).

نتیجه‌گیری

ظهور باکتری‌های مقاوم بـه چنـد دارو در سـال‌های گذشـته نگرانـی‌هـای بسـیاری درمورد آینده بیماری‌های عفونی ایجاد کرده اسـت. در طـی ایـن مـدت تحقیقـات و برنامـه‌ریـزی‌هـای متعـددی در رابطـه بـا پیشگیری از کسب مقاومت در باکتری‌هـا و درمان باکتری‌های مقـاوم‌شـده انجـام شـده اسـت. یکـی از راه‌هـای پیشـنهاد شـده در درمـان باکتری‌هـای مقـاوم بـه چنـد دارو اسـتفاده از آنتـی‌بیوتیک‌هـای جدیـد، آنتـی‌بیوتیک‌هـای کمتـر اسـتفاده شـده و مصرف همزمان چنـد آنتـی‌بیوتیـک اسـت. پاروموماییسین از جملـه آنتـی‌بیوتیک‌هـایی اسـت کـه کـاربرد گسـترده‌ای در درمـان بیماری‌هـای عفـونی باکتریـایی نـدارد و

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

باکتری‌های بیماری‌زا هنوز به آن مقاوم نشده‌اند. همچنین مطالعات نشان داده است که مصرف پاروموماییسین به همراه دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها قدرت آن را در مهار رشد باکتری *S. aureus* افزایش می‌دهد. این آنتی‌بیوتیک پتانسیل خوبی برای تغییرات ساختاری جهت بهبود عملکرد ضدمیکروبی دارد. با انجام مطالعات بیشتر در زمینه عملکرد پاروموماییسین این آنتی‌بیوتیک می‌تواند از گزینه‌های مؤثر در درمان عفونت‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها در آینده باشد.

فهرست منابع

References

1. Wasserman M.R., Pulk A., Zhou Z., Altman R.B., Zinder J.C., Green K.D., Garneau-Tsodikova S., Doudna-Cate J.H. and Blanchard S.C. (2015). Chemically related 4,5-linked aminoglycoside antibiotics drive subunit rotation in opposite directions. Nature Communications. 6:7896.
2. Krause K.M., Serio A.W., Kane T.R. and Connolly L.E. (2016). Aminoglycosides: An Overview. Cold Spring Harbor Perspectives in Medidicine. 6: a 027029.
3. Ishikawa M., García-Mateo N., Čusak A., López-Hernández I., Fernández-Martínez M., Müller M., Rüttiger L., Singer W., Löwenheim H., Kosec G., Fujs Š., Martínez-Martínez L., Schimmang T., Petković H., Knipper M. and Durán-Alonso M.B. (2019). Lower ototoxicity and absence of hidden hearing loss point to gentamicin C1a and apramycin as promising antibiotics for clinical use. Nature Medicine. 9:2410.
4. Poulikakos P. and Falagas M.E. (2013). Aminoglycoside therapy in infectious diseases. Expert Opinion on Pharmacotherapy. 14:1585–1597.
5. Aboshanab K.M.A. (2010). Isolation, recombinant expression and characterization of the dprA gene product in *Streptomyces rimosus* NRRL 2455. African Journal of Microbiology Research. 4:915–922.
6. Lalle M. and Hanevik K. (2018). Treatment-refractory giardiasis: challenges and solutions. Infection and Drug Resistance. 11: 1921–1933.
7. Davies J. (2014). Antibiotic resistance and the golden age of microbiology. Upsala Journal of Medical Sciences. 119: 65–67
8. Gerard D. and Wright G.D. (2007). The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. Nature Reviews Microbiology. 5:175–186.
9. Davies J. and Wright G.D. (1997). Bacterial resistance to aminoglycoside antibiotics. Elsevier Science Ltd. 56:234–240.
10. Wright G.D. (2011). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Chemical Communications. 47:4055–4061 .
11. Anderson A.S., Clark D.J., Gibbons P.H. and Sigmund J.M. (2002). The detection of diverse aminoglycoside phosphotransferases within natural populations of Actinomycetes. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 29:60–69.
12. Rudakovaa N.N., Alekseevaa M.G., Zakharevicha N.V., Mavletovaa D.A. and Danilenkoa V.N. (2019). Aminoglycoside phosphotransferase AphSR2 from *Streptomyces rimosus* ATCC 10970: dependence of antibiotic resistance on serine-threonine protein kinases PkSR1 and PkSR2. Russian Journal of Genetics. 56:112–117.
13. Batt C.A. and Tortorello M.L. (2014). Encyclopedia of food microbiology (Second Edition). Oxford: Academic Press, New York, USA. 560–566.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

14. Lee N., Hwang S., Lee Y., Cho S., Palsson B. and Cho B.K. (2010). Synthetic biology tools for novel secondary metabolite discovery in *Streptomyces*. Journal of Microbiology and Biotechnology. 29:667–686.

15. Thakur D., Bora T.C., Bordoloi G.N. and Mazumdar S. (2009). Influence of nutrition and culturing conditions for optimum growth and antimicrobial metabolite production by *Streptomyces* sp. 201. Journal de Mycologie Médicale. 19:161–167.

16. Baltz R.H. (2001). Genetic methods and strategies for secondary metabolite yield improvement in Actinomycetes. Antonie van Leeuwenhoek. 79:251–259.

17. Guravaiah M. (2016). Production of alkaline protease by *Streptomyces indicus*. Darshan Publishers, India. 27–28.

18. Surajit D., Lyla P.S. and seyed K. (2008). Distribution and generic composition of culturable marine Actinomycetes from the sediments of Indian continental slope of Bay of Bengal. Chinese Journal of Oceanology and Limnology. 26:166–177.

19. Xie C.X., Xu A., Wu L.J., Yao J.M., Yang J.B. and Yu Z.L. (2004). Comparison of base substitutions in response to nitrogen ion implantation and 60Co-gamma-ray irradiation in *Escherichia coli*. Genetics and Molecular Biology. 27:284–290.

20. Huma T., Rashid M.H., Javed M.R. and Ashraf A. (2012). Gamma-ray mediated mutagenesis of Phialocephala humicola: Effect on kinetics and thermodynamics of A-amylase production. African Journal of Microbiology Research. 6:4639–4646.

21. Hoe P.C.K., Rahim K.A. and Saud H.M. (2016). A review on microbial mutagenesis through gamma irradiation for agricultural applications. Jurnal Sains Nuklear Malaysia. 28:20–29.

22. Asmaa A.I., Khaled M.A., Mahmoud A.Y. and Nadia A.H. (2017). Improvement of paromomycin production by *Streptomyces rimosus* subsp *paromomycinus* NRRL 2455 using gamma irradiation mutagenesis. Archives of Pharmaceutical Sciences Ain Shams University. 1:26–30.

23. Zia M.A., Rasul S. and Iftikhar T. (2012). Effect of gamma irradiation on *Aspergillus niger* for enhanced production of glucose oxidase. Pakistan Journal of Botany. 44: 1575–1580.

24. Awan M.S., Tabbasam N., Ayub N., Babar M.E., Rahman M., Rana S.M. and Rajoka M.I. (2011). Gamma radiation-induced mutagenesis in *Aspergillus niger* to enhance its microbial fermentation activity for industrial enzyme production. Molecular Biology Reports. 38:1367–1374.

25. Mostafa A. (2014). Effect of gamma irradiation on *Aspergillus niger* DNA and production of cellulases enzymes. The Journal of American Science. 10:152–160.

26. Lazim H., Slama N., Mankai H., Barkallah I. and Limam F. (2010). Enhancement of oxytetracycline production after gamma irradiation-induced mutagenesis of *Streptomyces rimosus* CN08 strain. Journal of Microbiology and Biotechnology. 26:1317–1322.

27. Královocová E., Blumauerová M. and Vaněk Z. (1977). Strain improvement in *Streptomyces galilaeus*, a producer of anthracycline antibiotics galirubins. Folia Microbiologica. 22:321–328.

28. Khaliq S., Akhtar K., Ghauri M.A., Iqbal R., Khalid A.M. and Muddassar M. (2009). Change in colony morphology and kinetics of tylosin production after UV and gamma irradiation mutagenesis of *Streptomyces fradiae* NRRL-2702. Microbiological Research. 164:469–477.

29. Ibrahim H.M. and Elkhidir E.E. (2011). Response surface method as an efficient tool for medium optimization. Trends in Applied Sciences Research. 6:121–9.

30. Ibrahim A.A., El-Housseiny G.S., Aboshanab K.M., Yassien M.A. and Hassouna N.A. (2019). Paromomycin production from *Streptomyces rimosus* NRRL 2455: statistical optimization and new synergistic antibiotic combinations against multidrug resistant Pathogens. BMC Microbiology. 19:18.

31. Singh L.S., Sharma H. and Talukdar N.C. (2014). Production of potent antimicrobial agent by Actinomycete, *Streptomyces sannanensis* strain SU118 isolated from phoomdi in Loktak Lake of Manipur, India. BMC Microbiology. 14:287.

32. Bhargav S., Panda B. P., Ali M. and Javed S. (2013). Solid-state fermentation: an overview. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly. 22: 49–70.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]

33. Leya T., Christian L. and Ashok P. (2013). Current developments in solid-state fermentation. Biochemical Engineering Journal. 81: 146–161.
34. Singhania R.R., Patel A.K., Soccol C.R., Pandey A. (2009). Recent advances in solid-state fermentation. Biochemical Engineering Journal. 44: 13–18.
35. El-Housseiny G.S., Ibrahim A.A., Yassien M.A. and Aboshanab K. M. (2021). Production and statistical optimization of Paromomycin by *Streptomyces rimosus* NRRL 2455 in solid state fermentation. BMC Microbiology. 21: 1–13.
36. CLSI. (2015). Clinical and laboratory standards institute. methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard. 10th edition. Clinical and Laboratory Standards Institute. 27-29.
37. Mandhapati A.R. (2016). Synthesis of apramycin and paromomycin derivatives as potential next generation aminoglycoside antibiotics and chemistry of isothiocyanato sialyl donors.Wayne State University, Michigan, USA. 62-85.

Prospects for Success in Inhibiting the Growth of Multidrug-resistant Bacteria with Paromomycin

Mahsa Eigharlou[1], Ali Mohammadi[1], Akram Sadeghi[2*]
1- Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.
2- Department of Microbial Biotechnology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
aksadeghi@abrii.ac.ir

Abstract

Streptomyces is the most important bacterial genus known to produce secondary antibiotic compounds. Considering the speed of bacterial resistance spread, it becomes more important to study less used compounds. Aminoglycosides disrupt the function of the target microorganism by acting on the protein-synthesis process. Paromomycin is an aminoglycoside that acts on a wide range of gram-positive, gram-negative bacteria and protozoa. Today, this antibiotic is mostly used in the treatment of visceral leishmaniasis. The main producer of paromomycin is *S. rimosus* NRRL 2455. Taking these antibiotics in high doses can cause widespread complications in the heart, kidneys, and auditory system, but in low doses and in combination with other types of antibiotics, it can significantly inhibit the growth of multidrug-resistant (MDR) bacteria. According to this information, it is important to know the factors that increase production and to understand the relationship between the structure and performance of this antibiotic. The aim of this study was to collect useful and up-to-date information about paromomycin, production conditions and the importance of this antibiotic in the treatment of bacterial MDR infections.

Keywords: Aminoglycoside, Drug-resistance, Optimization, Paromomycin, *Streptomyces*.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2025-12-25]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1399.13.2.5.7]