DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1

مطالعه آلودگی‌های باکتریایی برخی آثار مکتوب نفیس مرکز اسناد آستان قدس رضوی

سمیرا بهدانی[۱]، معصومه بحرینی[۱*]، پریسا محمدی[۲]، لیلا شکرزاده[۲]، میرزا محمدرضا شریف مقدم[۱] و علی‌اصغر ثابت جازاری[۳]

[۱] ایران، مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

[۲] ایران، تهران، دانشگاه الزهرا(س)، دانشکده علوم زیستی، گروه میکروبیولوژی

[۳] ایران، مشهد، موزه‌ها و مرکز اسناد آستان قدس رضوی، سازمان کتابخانه‌ها، معاونت امور موزه‌ها، بخش مرمت آثار تاریخی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۲/۲۴

چکیده

تجزیه زیستی مواد آلی در چرخه عناصر، بسیار با اهمیت است؛ اما در مورد آثار موزه‌ای و آرشیوی، این تجزیه که به آن فرسودگی زیستی گفته می‌شود، موجب از دست رفتن اطلاعات با ارزشی می‌شود، که محققین به دنبال کاهش این آسیب‌ها هستند. هدف از این پژوهش بررسی آسیب‌شناسی باکتریایی برخی نسخ نفیس خطی نگهداری شده در مرکز اسناد آستان قدس رضوی مشهد بود. در این مطالعه با استفاده از روش‌های کلاسیک و مولکولی، آلودگی‌های باکتریایی پنج اثر نفیس بررسی گردید. نمونه برداری با استفاده از سه روش سوآب مستقیم، سوآب مرطوب شده در سرم فیزیولوژی و غشاء نیتروسلولز انجام شد. آلودگی باکتریایی هوای مخزن با استفاده از روش پلیت باز انجام گردید. در مجموع ۷۲ سویه باکتریایی جداسازی شد که از میان آن‌ها ۲۸ سویه با روش مولکولی شناسایی شدند که غالب آنها مربوط به شاخه *Firmicutes* بودند. باکتری *Bacillus atrophaeus* با ۳۸/۶٪ فراوانی، دارای بالاترین پراکندگی بود. گونه‌های باکتریایی *Staphylococcus hominis* و *B. altitudinis* تنها در نمونه‌های مربوط به هوا جداسازی شدند. جامعه میکروبی کتب و هوا ۵۳٪ شباهت نشان دادند، که نشان دهنده منبع احتمالی آلودگی میکروبی با منشا هوا می‌باشد. حضور باکتری‌های مشابه (۲۳٪/۵) در هوای اتاق بافری و هوای مخزن تأییدکننده این مسئله بود. نتایج حاصل از این پژوهش، حضور باکتری‌ها را در بسترهای کاغذی و چرمی کتب مطالعه شده به خوبی نشان می‌دهد و از طرفی شناخت آلاینده‌های باکتریایی هوا، کمک به بهبود روش‌های تهویه مخازن و کتابخانه‌ها می‌نماید. شناخت این عوامل به انتخاب روش‌های کارآمد حفاظت و مرمت آثار مکتوب کمک شایانی خواهد نمود.

واژه های کلیدی: فرسودگی زیستی، آثار مکتوب، باکتری‌ها، مرکز اسناد آستان قدس رضوی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۱۳۸۸۰۵۵۰۲ ، پست الکترونیکی: mbahreini@um.ac.ir

مقدمه

میکروارگانیسم‌های زنده با تخریب مواد و ماکرومولکول-های سازنده آثار فرهنگی–هنری باعث تخریب آثار ارزشمند و نفیس تاریخی می‌شوند. این تغییرات ناخواسته که درنتیجه فعالیت میکروارگانیسم‌های زنده در خصوصیات مواد به وجود می‌آید، را فرسودگی زیستی می نامند (۸). علاوه بر عوامل زیستی، عوامل شیمیایی مانند: اکسیداسیون سلولز و عوامل فیزیکی مانند: نور، دما و رطوبت نیز می‌توانند این فرآیندها را ایجاد و تشدید کنند، که به نوبه خود موجب تحریک حمله میکروارگانیسم‌ها می‌شوند. طیف متنوعی از عوامل زیستی در فرسودگی آثار کاغذی نقش دارند که می‌توان به: قارچ‌ها، باکتری‌ها، سیانوباکترها، جلبک ها و حشرات اشاره کرد (۴ و ۱۴).

DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1

با ارزش‌ترین اسناد بشر، کتاب‌ها و طومارهای ساخته شده از کاغذ پاپیروس و پوست حیوانات می‌باشد (۲۳). فرسودگی زیستی مواد آلی موجود در آثار مکتوب، موجب آسیب به مستندات و از دست رفتن این اطلاعات با ارزش می‌شود. میکروارگانیسم‌ها با رشد خود بر سطح آثار مکتوب و تولید مواد متابولیکی مختلف مانند: پیگمان‌ها، آنزیم‌ها (سلولاز و پروتئاز)، اسیدهای آلی و غیرآلی، عوامل کلاته کننده و سایر مواد شیمیایی، علاوه بر اینکه باعث تخریب این آثار نفیس و گرانبها می‌شوند، با تولید سم توسط میکروارگانیسم‌های مضر می‌توانند سلامتی کارکنان و بازدیدکننده‌ها را نیز تهدید کنند (۱۳).

اجزای مواد کتابخانه‌ای ازنظر مقاومت در برابر میکرو-ارگانیسم‌ها متفاوت‌اند و این بستگی به مواد خام و روش ساخت آن‌ها دارد (۱۳). مواد تشکیل دهنده کاغذ که شامل چوب، سلولز، پروتئین ها و مواد افزودنی شیمیایی است یک منبع تغذیه‌ای مناسب برای باکتری‌ها و قارچ‌ها هستند (۵، ۱۸، ۲۴). باکتری‌ها و قارچ‌ها باعث تخریب و تغییر رنگ کتب و نسخه‌های خطی نگهداری شده در کتابخانه‌ها و همچنین تابلوهای نفیس نقاشی می‌شوند. بعنوان مثال کاغذهای پوستی به دلیل داشتن مواد پروتئینی می‌توانند به راحتی توسط باکتری‌های دارای پروتئیناز مورد تجزیه قرار گرفته و لکه‌های متفاوتی نسبت به کاغذ های سلولزی در سطح آن‌ها ظاهر می‌شود (۱۷).

شایان ذکر است که در فرسودگی زیستی کتب و نسخ خطی قارچ‌ها پیشتاز هستند. قارچ‌ها با رشد خود شرایط را برای رشد و تکثیر باکتری‌ها فراهم می‌آورند و این مسأله باعث فرسودگی بیشتر و تشکیل بی‌رنگی‌ها و بد رنگی-هایی در سطح بستر کاغذی می‌شود (۲۲). بنابراین شناسایی باکتری‌های عامل فساد، می تواند راهکارهایی برای ترمیم و مرمت این آسیب‌هایی که منشأ باکتریایی دارند، در کنار آسیب‌های قارچی پیشنهاد کند. طبق مطالعات متعددی که در زمینه آلودگی باکتریایی نسخ خطی و سایر آثار نفیس انجام شده است، جنس باسیلوس بیشتر از سایر باکتری ها بعنوان عامل فرسودگی جدا شده است. اسپور باسیلوس به طور مستقیم و یا به واسطه گرد و غبار بر روی بستر رسوب کرده و زمانی که شرایط رشد اسپورها در سطح بستر فراهم می شود و مواد غذایی در اختیار آن‌ها قرار می گیرد، تندش کرده و رشد می کنند. نوع آسیب هایی که در سطح بستر ایجاد می شود، می تواند تعیین کننده منشأ آلودگی باشد (۶، ۱۱، ۱۶).

در مطالعات انجام شده توسط شکرزاده و همکاران (۲۱)، قارچ‌های عامل فرسودگی نسخ خطی مرکز اسناد آستان قدس رضوی جدا و شناسایی شده است. پژوهش حاضر به دلیل اهمیت نقش باکتری‌ها در کنار قارچ‌ها در فرسودگی نسخ خطی، به بررسی باکتریایی این آثار مکتوب مرکز اسناد آستان قدس رضوی اقدام کرده است. شناخت عوامل فرسوده‌گر به مرمتگران کمک خواهد نمود تا با بینش بهتر و هدفمندتر، به تیمار چنین آثار آلوده اقدام نمایند.

مواد و روشها

مشخصات مخزن و کتب نفیس: مخزن نگه‌داری کتب نفیس کتابخانه آستان قدس رضوی در انتهای سالنی در زیرزمین کتابخانه مرکزی، واقع در بست شیخ طوسی قرار دارد. غالب کتب این مخزن نسخ علوم اسلامی می‌باشند. یک اتاق ۶ وجهی با دیوارهای بتنی به ضخامت ۰/۵ m و دری با قطر ۴۵ cm و مساحت ۲۰۰ مترمربع که دارای سیستم تهویه چرخشی حاوی ۳ ورودی و ۳ خروجی هوا است. رطوبت نسبی ۵۵/۵٪ و دما ۱۹/۲ $^{\circ}$ C می‌باشد. مشخصات کتب نفیس موجود در مخزن که برای نمونه برداری مورد استفاده قرار گرفتند در جدول ۱ نشان داده شده است.

محیط‌کشت: محیط کشت‌های مورد استفاده در نمونه-برداری شامل: تریپتیکاز سوی آگار (Trypticase Soya

DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1

Agar) (شرکت Liofilchem)، نوترینت آگار (Nutrient Agar) و نوترینت براث (شرکت Himedia) بودند، که بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده آماده و pH آن‌ها روی ۷ تنظیم گردید (۱۰).

نمونه‌برداری: نمونه‌برداری در آبان ماه ۱۳۹۶ با حداقل آسیب به کتب در کنار شعله و در داخل اتاق بافری انجام شد. ملاک انتخاب محل نمونه‌برداری روی کتب، لکه‌های رنگی و قسمت‌های آسیب دیده آن بود. نمونه‌برداری به سه روش سوآب استریل مستقیم، سوآب استریل مرطوب شده با سرم فیزیولوژی استریل و غشاء نیتروسلولز انجام شد. در روش غشاء نیتروسلولز، قطعات کوچک و استریل غشاء به قسمت‌های مشکوک به آلودگی از کتاب سایش داده شده و روی پلیت‌های حاوی محیط کشت قرار گرفت. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و کشت شدند. ابتدا نمونه ها بر روی محیط تریپتیکاز سوی آگار و نوترینت آگار کشت داده شدند و به مدت ۲۱ روز در دمای ۳۰ °C گرماگذاری شدند و هر روز از لحاظ رشد و تشکیل کلنی بررسی گردیدند. سپس از کلنی‌های ظاهرشده در طی این دوره، بر روی پلیت‌های تریپتیکاز سوی آگار و نوترینت آگار مجدداً کشت و خالص سازی شدند.

نمونه‌برداری از هوای مخزن با استفاده از روش پلیت باز انجام شد و در هر محل دو پلیت قرار داده شد. پلیت‌های محیط کشت، به مدت ۲۰ دقیقه به‌منظور ته نشین شدن سلول‌های باکتریایی در ۵ نقطه مختلف مخزن، نزدیک درب ورودی سالن در مجاورت ورودی و خروجی هوا، انتهای سالن مجاور ورودی و خروجی هوا و در روی قفسه‌ها گذاشته شد. علاوه بر فضای مخزن، از هوای اتاق بافری نیز نمونه‌برداری انجام شد (۲۰). پلیت ها سپس به آزمایشگاه منتقل و در انکوباتور در دمای ۳۰ °C گذاشته شدند و مطابق بالا مورد بررسی قرار گرفتند. برای نگه-داری جدایه‌های باکتریایی در درازمدت، مقدار ۷۰۰ µl از محیط کشت مایع حاوی باکتری خالص در ۳۰۰µl گلیسرول استریل مخلوط و به فریزر ۲۰- °C منتقل شد.

تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی (CFU) در هر متر مکعب هوا طبق روش Omeliansky با فرمول زیر محاسبه شد:

$$N=5a.10^4 (bt)^{-1}$$

N = تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی در هر متر مکعب هوای سر پوشیده (CFU/m^3)، a = تعداد کلنی‌ها در هر پلیت، b = سطح پلیت بر حسب cm^2 (πr^2 = مساحت پلیت = ۵۰/۲۴)، t = مدت زمان در معرض قرارگرفتن پلیت‌ها برحسب دقیقه (۲۰ دقیقه)

اگرچه این محاسبه برای نمونه‌برداری فعال با استفاده از پمپ روی پلیت استفاده می‌شود، ولی در این پژوهش جهت مقایسه کیفیت میکروبی هوای مخزن و اتاق بافری استفاده شد (۲).

شناسایی بیوشیمیایی باکتری‌ها: جهت شناسایی اولیه باکتری‌ها از رنگ‌آمیزی گرم، رنگ‌آمیزی اسپور، تست کاتالاز، تست KOH، مصرف سیترات، واکنش متیل‌رد-وژپرسکوئر (MR-VP) و هیدرولیز نشاسته استفاده شد. تمامی محیط‌های کشت و معرف‌ها طبق پروتکل شرکت سازنده آماده و استفاده شد.

شناسایی مولکولی باکتری‌ها: استخراج DNA باکتریایی طبق پروتکل کیت استخراج DNA شرکت سینا کلون (DNP^{TM} Kit) انجام شد. تکثیر ژن ۱۶S rRNA با استفاده از جفت آغازگرهای عمومی۲۷F و ۱۴۹۲R انجام گردید. واکنش PCR با استفاده از کیت آمپلیکون (Amplicon, Denmark) انجام شد. مواد مورد نیاز جهت انجام PCR درحجم کلی ۲۵ میکرولیتر شامل ۰/۷۵ میکرولیتر از هر آغازگر رفت و برگشت (10 pmol)، ۲ میکرولیتر DNA ، ۱۲ میکرولیتر Master mix و۹/۵ میکرولیتر آب بود.

DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1

جدول۱- مشخصات کتب نمونه‌برداری شده

تصویر کتب	توضیحات
	نمونه۱: قرآن ناقص منسوب به دستخط حضرت علی(ع)، که به خط کوفی و زبان عربی است. این قرآن مربوط به قرن ۳ هجری-قمری و مرمت شده است. اوراق از جنس پوست حیوانات و جلد چرم می‌باشد.
	نمونه ۲: قرآن ناقص که در سال ۳۲۷ قمری، وقف شده است و قدمت آن به قرن ۴ هجری می‌رسد. در مرمت آن از چسب سیریشم استفاده شده و جلد آن چرمی است.
	نمونه ۳: جزء ۱۷ قرآن که به خط کوفی نوشته شده است و قدمت آن مربوط به قرن ۵ هجری-قمری است و در سال ۶۰۹ هجری وقف شده است. کتاب مرمت نشده، اوراق کاغذی و جلد آن از جنس پوست است.
	نمونه ۴: قرآن ناقص که به زبان عربی است. اطلاعات دقیقی راجع‌به قدمت آن در دست نیست. کتاب مرمت نشده و جلد آن یتماج مشکی است.
	نمونه ۵: قرآن خطی اهدایی به کتابخانه می‌باشد. اطلاعات دقیقی راجع به قدمت آن موجود نیست. کتاب در دوره قاجار مرمت شده است. جلد از جنس چرم است و اوراق ماهیت قلیایی دارند. این کتاب پس از مرمت و پاک‌سازی به مخزن نگه‌داری کتب نفیس منتقل شد.

برنامه دمایی واکنش PCR شامل: واسرشت‌سازی اولیه در دمای۹۴°C به مدت ۴ دقیقه برای یک سیکل، واسرشت-سازی در دمای °C ۹۴ به مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگرها در دمای ۶۰°C به مدت ۱ دقیقه و سنتز قطعه در دمای °C ۷۲ به مدت ۱ دقیقه برای ۲۵ سیکل وگسترش نهایی در دمای°C ۷۲ به مدت ۱۰ دقیقه برای یک سیکل در برنامه PCR گنجانده و توسط دستگاه ترمال سایکلر (TC-TE, Germany) انجام شد. پس از پایان یافتن PCR جهت اطمینان از تکثیر قطعه مورد نظر ۵ µl از محصول PCR با استفاده از ژل آگاروز ۱٪ در کنار مارکر الکتروفورز گردید.

محصول PCR، جهت تعیین توالی به شرکت رویان زیستا-ژن ایران ارسال گردید. قرابت فیلوژنتیکی جدایه‌های به‌دست‌آمده، با یکدیگر و با سویه‌های موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI و Ez-Taxon با استفاده از نرم‌افزار MEGA (Version 7) بررسی شد. هم راستا سازی و دسته بندی توالی‌ها با نرم افزار MUSCLE و الگوی

DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1

Neighbour-joining صورت گرفت و از باکتری *Borrelia* turcica IST7 به عنوان outgroup استفاده و درخت فیلوژنی آن رسم گردید.

بررسی پتانسیل جدایه‌ها در فرسودگی مواد کاغذی به روش کشت و میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning electron microscope): ۱۰۰ ml محیط کشت حاوی ۰/۰۵ g KH_2PO_4، ۰/۰۲ g $MgSO_4.7H_2O$، ۰/۰۱ g NH_4NO_3، ۰/۰۰۲ g $FeSO_4$، ۰/۰۰۵ g $Ca(NO_3)_2$ وکاغذ-های به ابعاد ۱×۳ cm از جنس سلولز به‌عنوان تنها منبع کربن در لوله‌های آزمایش تهیه و استریل گردید. سپس به هر لوله ۱۰۰ µl از میکروارگانیسم‌ها تلقیح گردید و به مدت۳۰ روز در ۳۰ °C گرماگذاری گردید. پس از آماده-سازی نمونه، با استفاده از دستگاه پوشش‌دهی (Coating) طلا مدل SC7620 نمونه‌ها پوشش داده شده و تصویر نمونه های آماده شده با استفاده ازدستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل Leo 1450 VP ثبت گردید.

نتایج

در پژوهش حاضر از ۵ کتاب قدیمی مربوط به حدود هزار سال پیش که آثار فرسودگی زیستی روی آن مشاهده می-شد و در آرشیو کتابخانه آستان قدس رضوی نگهداری می‌شد، استفاده شد. نمونه‌برداری به سه روش انجام شد و نتایج نشان دادند استفاده از سوآب استریل مرطوب شده در سرم فیزیولوژی بهتر از سایر روش‌ها است و تعداد بیش-تری نمونه را از سطح کتاب‌ها جدا می‌کند (جدول ۲).

جدول۲- مقایسه روش‌های نمونه‌برداری از کتب

نمونه مورد بررسی	روش نمونه‌برداری	تعداد باکتری جدا شده
کتب	سوآب مستقیم	۱۱
	سوآب مرطوب شده با سالین	۲۲
	غشاء نیتروسلولز	۱۰

ویژگی‌های ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی جدایه‌های باکتریایی: جدایه‌های باکتریایی از نظر میکروسکوپی و ویژگی‌های بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند، که نتایج آن در جدول ۳ نشان داده شده است. در مجموع ۷۲ جدایه بدست آمد که طبق بررسی های اولیه شامل ۱۶ نمونه باکتریایی متفاوت بود.

شناسایی مولکولی جدایه‌های باکتریایی: نمونه‌های جداسازی شده پس از بررسی اولیه با روش مولکولی شناسایی گردیدند. نتایج توالی‌یابی سویه‌های شناسایی شده در جدول ۴ نشان داده شده است. تمامی سویه‌های به دست آمده با نتایج حاصل از آزمون‌های بیوشیمیایی تطابق داشتند. قرابت فیلوژنی سویه‌ها با سویه‌های نزدیک در پایگاه داده‌ها بررسی گردید و درخت فیلوژنی براساس متد Neighbour-joining رسم شد، که در شکل ۱ نشان داده شده است. توالی DNA باکتری‌هادر پایگاه NCBI ثبت و برای آن‌ها شماره دسترسی گرفته شد.

سویه های جداسازی شده از کتب مختلف: از نمونه کتاب ۱ که مربوط به قرن سوم هجری قمری است و در اکثر نقاط آن آثار پخش شدن جوهر به چشم می‌خورد، ۱۷ جدایه باکتریایی جدا شد که ۱۰ مورد با روش سوآب مرطوب شده با سالین، ۴ مورد با روش سوآب مستقیم و ۳ مورد با غشاء نیتروسلولزی به دست آمد. از این ۱۷ جدایه، ۱۳ جدایه باسیل گرم مثبت اسپوردار و ۲ جدایه کوکوس گرم مثبت از شاخه *Firmicutes*، ۱ باسیل گرم منفی از شاخه *Proteobacteria* و ۱ جدایه از شاخه *Actinobacteria* بودند. طبق نتایج بلاست سویه‌های جداسازی شده با شباهت بیش از ۹۹٪ عبارت بودند از: *B. atrophaeus*، *B. halotolerans*، *Paenibacillus polymyxa*، *B. zhangzhouensis*، *Acinetobacter junii*، *Staphylococcus warneri* و *Cellulosimicrobium aquatile*.

DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1

جدول۳- نتایج مشاهدات مورفولوژیکی و آزمون بیوشیمیایی جدایه‌های باکتریایی

شماره جدایه	شکل میکروسکوپی	واکنش گرم	آزمون کاتالاز	آزمون KOH	اسپور	آزمون سیترات	آزمون MR	آزمون VP	آزمون نشاسته
۱، ۳، ۱۸، ۴۶، ۶۳	میله‌ای	+	+	−	+	+	−	+	+
۵	میله‌ای کوتاه، منفرد یا جفتی	−	−	+	−	+	−	+	−
۱۰،۱۲، ۳۳، ۴۱، ۴۳، ۴۵، ۴۸، ۵۳، ۶۷	کروی، منفرد، دوتایی، چهارتایی و خوشه‌ای	+	+	−	−	−	+	+	−
۱۳	میله‌ای و زنجیره‌ای	+	+	−	+	v	−	+	+
۸،۱۷	کروی، منفرد، دوتایی و چهارتایی	+	+	−	−	−	−	+	−
۲، ۴، ۶، ۹، ۱۵، ۱۶، ۲۷، ۳۰، ۳۸،۳۹، ۴۰، ۴۲، ۴۴، ۵۱، ۵۵، ۵۸، ۵۹،۶۰، ۶۲، ۷۵،۸۹،۱۹	میله‌ای	+	+	−	+	+	−	+	+
۲۵، ۲۴، ۲۳، ۶۱، ۶۴	میله‌ای(کوکوباسیل)	+	+	−	−	+	−	+	+
۲۶، ۷۳	میله‌ای	v	+	−	+	−	−	+	+
۳۷،۷۸، ۲۹	میله‌ای	+	+	−	+	+	−	+	+
۷، ۱۴، ۳۲ ، ۳۴، ۴۷، ۷۱	میله‌ای	+	+	−	+	+	−	+	−
۳۵	کروی، منفرد، دوتایی و چهارتایی	+	+	−	−	−	−	+	−
۵۰، ۵۲، ۵۷	میله‌ای	+	+	−	+	v	−	+	+
۳۱، ۵۶، ۶۵، ۷۴	میله‌ای	+	+	−	+	+	−	+	−
۷۰	کروی، دوتایی، چهارتایی و خوشه‌ای	+	+	−	−	−	−	+	−
۳۶، ۷۷	کوکوباسیل، جفتی و زنجیره‌ای	−	+	+	−	v	−	−	−
۵۴، ۴۹، ۱۱، ۶۸، ۷۹	میله‌ای	+	+	−	+	+	+	−	−

در نمونه کتاب ۲ که مربوط به قرن چهارم هجری قمری می‌باشد و در مرمت آن از چسب سیریشم استفاده شده است، لکه‌هایی که حاکی از قرار گرفتن کتاب در معرض رطوبت می‌باشد، دیده می شد. از این کتاب در مجموع ۹ باکتری جدا شد، که ۴ مورد با روش سوآب مرطوب شده با سالین، ۳ مورد با روش سوآب مستقیم و ۲ مورد با غشاء نیتروسلولزی به دست آمد. باکتری‌های به‌دست آمده طبق نتایج بلاست شامل: *B. mobilis*، *Terribacillus goriensis* و *B. paramycoides* با شباهت ۱۰۰٪ و *B. atrophaeus* با شباهت ۹۹/۸۱٪ بودند.

قدمت نمونه کتاب شماره ۳ مربوط به قرن پنجم هجری قمری است. این کتاب مرمت نشده و اوراق کاغذی و جلد آن از جنس پوست است. از این کتاب در مجموع ۵ باکتری جدا شد، که ۱ مورد با روش سوآب مرطوب شده با سالین، ۳ مورد با روش سوآب مستقیم و تنها ۱ مورد با غشاء نیتروسلولزی به دست آمد. باکتری‌های به دست آمده شامل باسیل گرم مثبت اسپوردار *B. atrophaeus* (با شباهت ۹۹/۸۱٪) ، باسیل گرم منفی *Pantoea eucrina* (با شباهت ۹۸/۲۷٪) و سه کوکسی گرم مثبت شامل *S. warneri* (با شباهت ۱۰۰٪) و *S. epidermidis* (با شباهت ۹۹/۶۱٪) بودند.

در مورد قدمت کتاب نمونه ۴ اطلاعات دقیقی در دست نیست. این کتاب مرمت نشده و جلد آن یتماج مشکی و آسیب دیده است. از این کتاب تنها ۲ باسیل گرم مثبت

DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1

اسپوردار مشابه (*B. atrophaeus* با شباهت ۹۹/۸۱٪) جدا شد.

جدول۴- نتایج شناسایی مولکولی جدایه‌های باکتریایی

نزدیک‌ترین میکروارگانیسم مشابه	درصد شباهت	شماره جدایه ثبت شده در NCBI	شماره دسترسی سویه‌های ثبت شده در NCBI
Bacillus halotolerans	۱۰۰	*۱	MK093005
		۳	MK093006
Pantoea eucrina	۹۸/۲۷	*۵	MK093029
Staphylococcus warneri	۱۰۰	*۱۲	MK093022
		۳۳	MK093021
		۴۳	MK093025
		۵۳	MK093023
		۶۷	MK093024
Bacillus paramycoides	۱۰۰	*۱۳	MK093007
Macrococcus equipercicus	۹۹/۸۹	*۱۷	MK093026
Bacillus atrophaeus	۹۹/۸۱	۶	MK093010
		۱۹	MK093009
		۳۰	MK093011
		*۸۹	MK093008
Cellulosimicrobium aquatile	۹۹/۶۷	۲۴	MK093033
		*۶۴	MK093032
Paenibacillus polymyxa	۹۹/۸۶	*۲۶	MK093013
		۷۳	MK093012
Bacillus zhangzhouensis	۱۰۰	۳۲	MK093017
		۴۷	MK093015
		*۷۱	MK093016
Staphylococcus hominis	۹۹/۹۱	*۳۵	MK093027
Bacillus altitudinis	۹۹/۷۹	*۶۵	MK093019
Staphylococcus epidermidis	۹۹/۶۱	*۷۰	MK093028
Acinetobacter junii	۹۹/۵۲	*۷۷	MK093030
Terribacillus goriensis	۹۹/۸۰	*۷۹	MK093020
Bacillus amyloliquefaciens	۹۹/۹۰	*۵۰	MK093018
Bacillus mobilis	۱۰۰	*۲۹	MK093014

*نمونه‌های مورد استفاده در رسم درخت فیلوژنی

در مورد قدمت نمونه ۵ نیز اطلاعات دقیقی موجود نیست. این کتاب در دوره قاجار مرمت شده است و جلد آن از جنس چرم است و اوراق ماهیت قلیایی دارند. سطح صفحات پوشیده از گرد و غبار بوده و لکه‌های رطوبت در سطح آن مشاهده می‌شد. از این کتاب در مجموع ۱۱باکتری جدا شد، که ۵ مورد با روش سوآب مرطوب شده در سالین، ۲ مورد با روش سوآب مستقیم و ۴ مورد با روش غشاء نیتروسلولز به دست آمد. باکتری‌های به دست

DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1

آمده شامل ۸ باسیل گرم مثبت اسپوردار و ۳ کوکسی گرم مثبت بودند که طبق نتایج بلاست با شباهت بیش از ۹۹/۸٪ شامل سویه‌های مختلف *B. atrophaeus*، *B. amyloliquefaciens*، *Terribacillus goriensis* و *Macrococcus equipercicus*، *S. warneri* بودند.

نمونه‌برداری از هوا با استفاده از روش پلیت باز، از پنج نقطه سالن مخزن و اتاق بافری انجام شد. تعداد باکتری-های جدا شده از هر نقطه نمونه برداری طبق روش Omeliansky در جدول ۵ نشان داده شده است. بیشترین آلودگی در قسمت انتهای سالن مخزن بود و نیز در قسمت خروجی هوا در هر دو قسمت درب ورودی و انتهای سالن که به کمک فن هوا به بیرون کشیده میشود نیز آلودگی نسبت به ورودی هوا بیشتر بود.

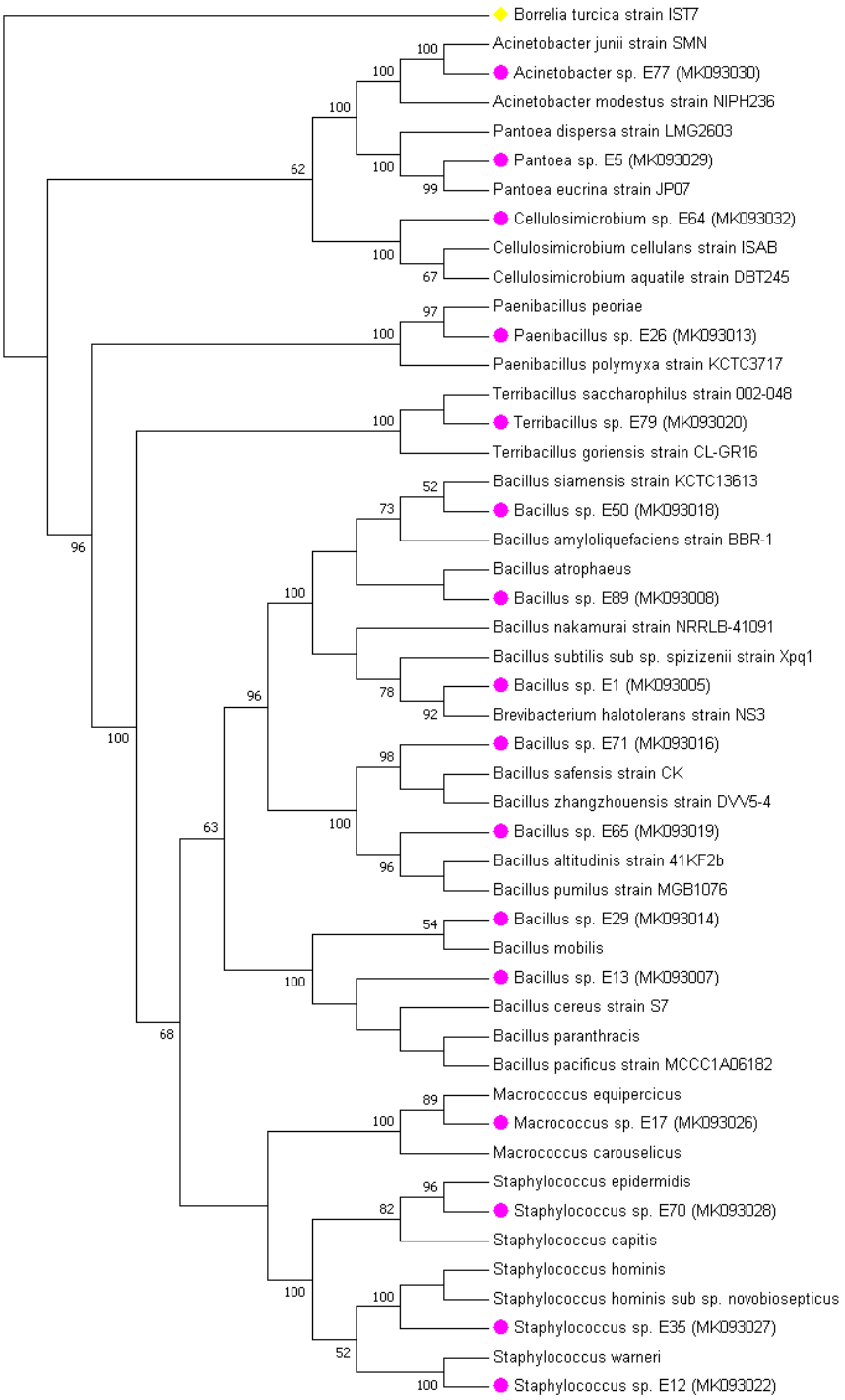
جدول ۵- تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی در هر متر مکعب هوا طبق روش Omeliansky در مکانهای مختلف نمونه برداری از مخزن کتابخانه

محل‌های نمونه‌برداری از هوا	N (CFU/m^3)
نزدیک در ورودی روی زمین کنار ورودی هوا	۳۷/۳
نزدیک در ورودی روی زمین کنار خروجی هوا	۶۲/۲
انتهای سالن روی زمین کنار ورودی هوا	۷۴/۶
انتهای سالن روی زمین کنار خروجی هوا	۶۲/۲
مرکز مخزن روی قفسه‌ها در ارتفاع ۱۵۰cm	۴۹/۸
اتاق بافری در ارتفاع ۱۴۰cm	۶۲/۲

باکتری‌های جدا شده از هر نقطه نمونه برداری طبق بررسی های انجام شده بشرح زیر مشخص گردید. از ورودی هوا مجاور درب ورودی مخزن سه باکتری جدا شد که طبق نتایج مولکولی شامل *B. zhangzhouensis*، *halotolerans B.* با شباهت ۱۰۰٪ و *S. hominis* با شباهت ۹۹/۹۱٪ بودند. از خروجی هوا مجاور درب ورودی چهار باسیل گرم مثبت اسپوردار به دست آمد که احتمالا با شباهت بیش از ۹۹/۷٪ عبارت بودند از *B. halotolerans*، *B. atrophaeus*، *P. polymyxa* و *B. altitudinis*. از ورودی هوا در انتهای سالن پنج جدایه باکتریایی جدا سازی گردید که شامل سویه‌هایی از *B. atrophaeus* (با شباهت ۹۹/۸۱٪)، *Terribacillus goriensis* (با شباهت ۹۹/۸٪) و کوکسی گرم مثبت *S. warneri* (با شباهت ۱۰۰٪) بود. از خروجی هوا در انتهای سالن ۳ باسیل و ۱ کوکوس گرم مثبت جدا شد که طبق نتایج بلاست با شباهت نزدیک به ۱۰۰٪ شامل باکتری‌های *S. warneri*، *B. atrophaeus*، *B. zhangzhouensis* و *B. altitudinis* بودند. از داخل مخزن درون قفسه‌هایی با ارتفاع ۱۵۰ cm نیز ۴ جدایه محتلف (۳ باسیل و ۱ کوکوس گرم مثبت) جداسازی گردید که با احتمال نزدیک به صد در صد شامل سویه های *B halotolerans*، *S. warneri* ، *B. zhangzhouensis* و *B. altitudinis* بود. از اتاق بافری و در ارتفاع ۱۴۰ cm از سطح زمین ۵ باسیل گرم مثبت اسپوردار متعلق به شاخه Firmicutes و ۱ باسیل گرم منفی از شاخه Proteobacteria به دست آمد. نتایج بلاست نشان داد که این جدایه ها با شباهت بالای ۹۹٪ عبارتند از: *B. halotolerans*، *B. atrophaeus*، *B. zhangzhouensis*، *B. altitudinis*، *B. amyloliquefaciens* و *Acinetobacter junii*.

اگرچه این محاسبه برای نمونه‌برداری فعال با استفاده از پمپ روی پلیت استفاده می‌شود.، ولی در این پژوهش فقط برای مقایسه کیفیت میکروبی هوای مخزن و اتاق بافری، برای بحث استفاده شد (Borrego *et al*., 2010).

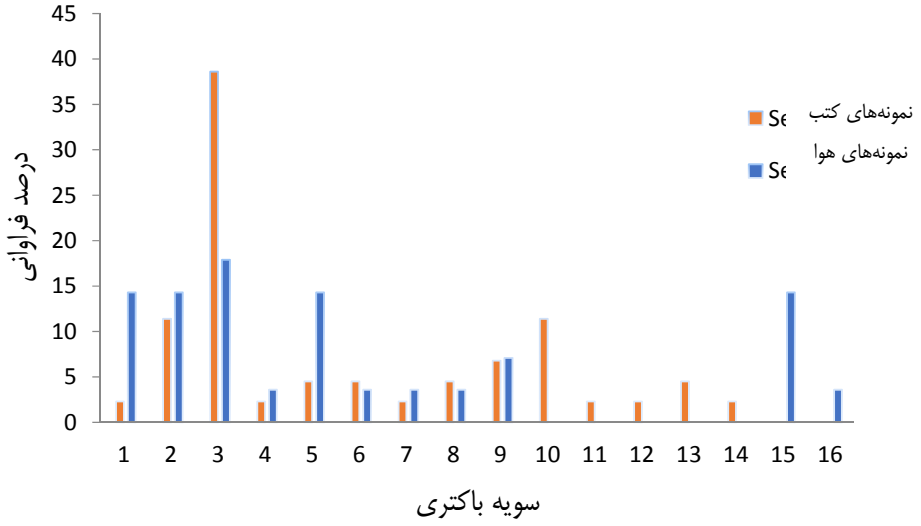
DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1



شکل۱- درخت فیلوژنی رسم شده برای جدایه‌های باکتریایی جدا شده از سطح کتب و هوا با استفاده از نرم‌افزار MEGA (Version7) و دسته بندی با استفاده از الگوی Neighbour-joining. از باکتری *Borrelia turcica* strain IST7 بعنوان outgroup استفاده شده است.

DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1

درصد فراوانی جدایه های مختلف در شکل ۲ نشان داده شده است. باکتری *B. atrophaeus* با درصد فراوانی ۳۸/۶٪ و ۱۷/۹٪ دارای بیش‌ترین پراکندگی بین سویه‌های به دست آمده از کتب و هوا می باشد. پس از آن سویه‌های *B. zhangzhouensis*، *B. halotolerans*، *S. warneri* و *B. altitudinis* با درصد فراوانی ۱۴/۳٪ در رتبه دوم فراوانی قرار داشتند.



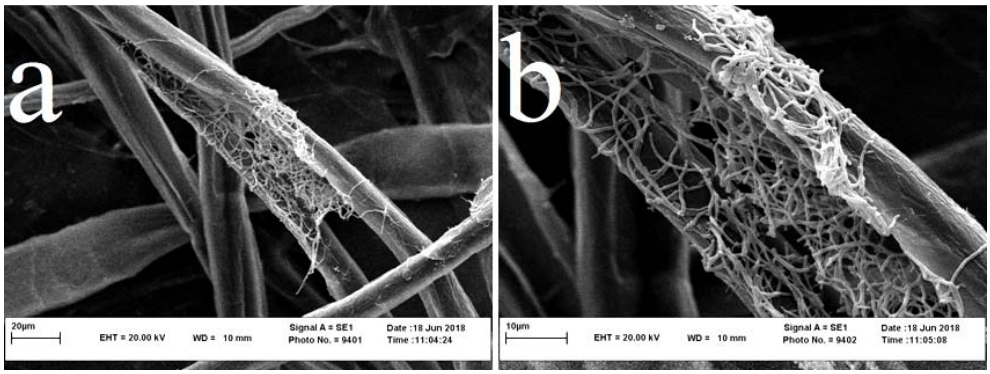
شکل۲- درصد فراوانی جدایه‌های باکتریایی: ۱: *B. halotolerans*، ۲: *S. warneri*، ۳: *B. atrophaeus*، ۴: *P. polymyxa*، ۵: *B. zhangzhouensis*، ۶: *B. amyloliquefaciens*، ۷: *A. junii*، ۸: *B. mobilis*، ۹: *T. goriensis*، ۱۰: *C. aquatile*، ۱۱: *B. paramycoides*، ۱۲: *S. epidermidis*، ۱۳: *M. equipercicus*، ۱۴: *Pantoea eucrina*، ۱۵: *B. altitudinis* و ۱۶: *S. hominis*

بررسی پتانسیل جدایه‌ها در فرسودگی مواد کاغذی به روش کشت و میکروسکوپ الکترونی روبشی:

فرسودگی بافت کاغذ توسط میکروارگانیسم‌های جداسازی شده مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد جدایه اکتینومیست قادر به تخریب بافت کاغذ می‌باشد. در شکل ۳ رشد جدایه اکتینومیست در محیط حاوی کاغذ و در شکل ۴ عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی اتصال اکتینومیست روی کاغذ با دو بزرگنمایی متفاوت نشان داده شده است.

شکل۳- تصویر a: نمونه شاهد (محیط بدون حضور میکروارگانیسم) که هیچ گونه تخریبی در کاغذ مشاهده نمی‌شود، تصویر b: محیط تلقیح شده با اکتینومیست

DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1



شکل۴. تصویر SEM از استقرار اکتینومیست *Cellulosimicrobium aquatile* روی بافت کاغذ (با بزرگنمایی a: ۲۰۰۰ و b: ۵۰۰۰ برابر)

بحث

در بررسی‌های انجام شده بر روی کتب نفیس موجود در آرشیو کتابخانه آستان قدس رضوی مشخص گردید، که در بین جمعیت باکتریایی یافت شده در کتب ۲۸/۶ ٪ شباهت وجود دارد و باکتری *B. atrophaeus* بیش‌ترین فراوانی را در بین کتب داشت. باکتری *S. warneri* تنها در سه کتاب یافت شد و فراوانی آن نیز از سایر باکتری‌ها بیش‌تر و بعد از *B. atrophaeus* بود. سایر باکتری‌ها فقط در بعضی از کتاب‌ها با فراوانی مختلف یافت شدند. در کتاب شماره ۱ که از نظر تاریخی قدمت بیش‌تری دارد، بیش‌ترین میزان آلودگی مشاهده شد و باکتری‌ها اکثراً متعلق به جنس *Bacillus* بودند، همچنین از این کتاب تنها جنس اکتینومیست که یک باکتری سلولولیتیک است نیز جدا شد. دو باکتری گرم منفی *Acinetobacter* و *Pantoea* تنها باکتری‌های گرم منفی بودند، که از سطح دو کتاب از نمونه‌های مورد مطالعه جدا شدند. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج میچلسن و همکارانش که بر روی نسخ خطی ایتالیایی کار میکردند، مطابقت داشت. آن‌ها جدایه-های باکتریایی از اعضای جنس‌های *Acinetobacter* و *Bacillus* را از نمونه‌های مورد مطالعه جدا کردند (۱۲). لوپز-میراسو همکاران نیز از نمونه‌های نقاشی قدیمی بیش-تر باکتری‌های گرم مثبت اسپوردار از جنس *Bacillus* و *Sporosarcinia* و دو نمونه *Acinetobacter* جداسازی کردند، که مشابه نتایج حاضر است (۱۰). دونکا و همکارانش نیز از کتب قدیمی مورد مطالعه باکتری‌های گرم مثبت از جنس‌های *Bacillus*، *Clostridium* و *Micrococcus* جدا کردند، همچنین باکتری *Pseudomonas* که یک باکتری گرم منفی می‌باشد نیز از سطح نمونه‌ها جدا کردند (۲). والنتین نیز گزارش کرد که دو جنس *Bacillus* و *Staphylococcus* در سطح کتب قدیمی مورد مطالعه بیش‌تر حضور داشتند (۲۵). گویامت و همکارانش در مطالعه نقشه‌ها و عکس‌های آرشیوی نشان دادند تنوع جدایه‌های باکتریایی بیش‌تر از قارچ‌ها است، که معتقد بودند بخاطر تفاوت مواد بستر آن‌ها است (۷).

در بررسی فلور باکتریایی هوای مخزن و اتاق بافری با روش پلیت باز، که حاصل ته‌نشینی باکتری‌ها و اسپور آن‌ها است (۹)، بیش‌ترین نمونه‌های جداسازی شده مربوط به جنس *Bacillus* بود، سه نمونه *B. atrophous*، *B. halotolerans* و *B. altitudini* در بیش‌تر قسمت‌های نمونه‌برداری از هوا یافت شدند و گونه *B. altitudini* فقط در نمونه‌های هوا یافت شد. باکتری *Acinetobacter* تنها باکتری گرم منفی بود، که در نمونه‌های جداسازی شده از اتاق بافری دیده شد. جامعه باکتریایی یافت شده در کتب و هوا ۵۳ ٪ شباهت نشان دادند که نشان دهنده نقش غیرقابل انکار باکتری‌های هوا-برد در انتقال آلودگی‌های باکتریایی است که در محیط مخازن و کتابخانه‌ها با جریان هوا جابه-جا می‌شوند. حضور باکتری‌های مشابه در هوای اتاق بافری و هوای مخزن (۲۳٪/۵) تأییدکننده این مسئله است

DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1

که بسیاری از باکتری‌ها و اسپور آن‌ها از طریق جریان هوا می‌توانند وارد مخزن شوند. توانایی اعضای جنس *Bacillus* برای تشکیل اسپور، به آن‌ها اجازه می‌دهد تا در شرایط نامساعد محیطی برای مدت طولانی زنده بمانند (۱۵ و ۲۶). جنس *Staphylococcus* شناسایی شده در این مطالعه به صورت گسترده‌ای در طبیعت پراکنده است و از اعضای اصلی میکروبیوتای طبیعی پوست انسان محسوب می‌گردد، که می‌تواند به انتقال آن‌ها از طریق جریان هوا و افرادی که در این مراکز تردد دارند نسبت داده شود (۱۹). بررسی درصد فراوانی گروه‌های باکتریایی، نشانگر غالب بودن باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی در هوای مخازن بود که با سایر مطالعات صورت گرفته در خصوص پایش هوای آرشیوها و کتابخانه‌ها همسو است (۲ و ۲۴). تفاوت در ساختار دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت و منفی و نیاز به آب در دسترس (a_w) کمتر، می‌تواند فراوانی بیش‌تر گرم مثبت‌ها را در این شرایط توجیه نماید (۱).

اکثر باکتری‌هایی که در این پژوهش جدا شدند از گروه فیلوژنتیکی *Firmicutes* بودند، که قادر به استفاده از کلاژن به‌عنوان منبع کربن و نیتروژن هستند (۱۷) و همچنین در برابر شرایط نامطلوب محیطی مقاوم بوده و فعالیت آنزیمی زیادی دارند، که این خود توجیهی برای تخریب آثار کتابخانه‌ای از جنس پوست حیوانات توسط آن‌ها است. اعضای جنس‌های *Bacillus* و *Staphylococcus* نیز به واسطه تولید و ترشح انواع پروتئازها معمولاً روی مواد پروتئینی رشد می‌کنند (۲۵). در مطالعه حاضر مشخص گردید که اکثر باکتری‌های جدا شده، قادر به تولید آنزیم سلولاز و تخریب کاغذ می‌باشند. طبق مطالعات انجام شده، بیش‌ترین فعالیت آنزیمی مربوط به فرسودگی زیستی جدایه‌های باکتریایی، مربوط به آنزیم‌های استراز (C4) و استراز-لیپاز (C8) است (۱۰). همچنین بررسی‌ها نشان داده است که برخی جدایه‌ها می‌توانند قندهای حاصل از فعالیت آنزیمی خود و یا دیگر میکروارگانیسم‌ها را به اسید تبدیل کنند و باعث خوردگی بافت کتاب و ایجاد فرسایش در آن شوند (۳). تولید سلولاز و دیگر آنزیم‌های مضر برای آثار فرهنگی، هنری و تاریخی نیز در باکتری‌ها به کرات گزارش شده است (۱). با توجه به مطالب فوق الذکر، بازبینی دوره‌ای مخازن، کتابخانه‌ها و مراکز نگهداری آثار نفیس مکتوب به لحاظ میکروبی و فیزیکوشیمیایی باید مورد توجه مرمتگران و متخصصین این حوزه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

بررسی‌ها نشان می‌دهد که شرایط مخازن مراکز اسناد و کتابخانه‌ها، محیط ایده‌آل برای رشد میکروارگانیسم‌ها نیست، ولی این عوامل با فعالیت متابولیکی آرام و پیوسته-ای که دارند می‌توانند در درازمدت در این شرایط رشد کنند. ازاین‌رو کنترل شرایط محیطی جهت کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌ها، کاملاً ضروری است. در این زمینه، شرایط بهینه دما $^{\circ}C$ ۲۲-۱۸ و رطوبت نسبی کمتر از ٪۵۵ پیشنهاد شده است، که این شرایط در مخزن کتب مورد نمونه‌برداری مرکز اسناد آستان قدس رضوی به خوبی کنترل شده بودند. حضور لکه‌های ناشی از رطوبت در برخی نمونه‌ها نشان‌دهنده عدم نگه‌داری مناسب در طول زمان و پیش از اهدا آنها به مرکز اسناد بوده است. در واقع مرطوب بودن کاغذ، باعث حبس رطوبت درون کتاب شده به‌طوری‌که شرایط را برای رشد میکروارگانیسم‌ها فراهم نموده است، بنابراین بازبینی دوره‌ای این آثار پیشنهاد می‌گردد. باتوجه به نتایج به‌دست آمده چنین نتیجه‌گیری می‌شود که حضور باکتری‌ها در کتب نفیس مخزن مرکز اسناد آستان قدس رضوی قابل توجه است. اگرچه برخی از این عوامل از ابتدای تهیه این آثار نفیس، روی آن‌ها مستقر شده‌اند و به نظر می‌رسد از آن زمان به زندگی فعال و آهسته خود ادامه داده‌اند، ولی برخی از آن‌ها نیز می‌توانند از محیط منتقل شده باشند، لذا تهویه مناسب فضاهای مرکز اسناد پیشنهاد می‌گردد. در ضمن با توجه به اهدا و خرید بسیاری از این کتب نفیس از مناطق مختلف و دوردست

DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1

دنیا، قرنطینه و ضدعفونی کتب قبل از ورود به مخازن شدیداً توصیه می‌شود.

تقدیر و تشکر

این پژوهش توسط معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد حمایت مالی شده است (شماره گرنت ۳/۴۳۳۰۱)، که بدینوسیله تقدیر می‌گردد. همچنین از مرکز اسناد آستان قدس رضوی بخاطر فراهم نمودن امکانات لازم جهت نمونه‌برداری از کتب نفیس موجود در آن مرکز و از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه الزهرا بخاطر تامین بخشی از هزینه های آزمایشگاهی این طرح تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

1- Ardakani M., Pour Ramezan Z. (2016) General Bacteriology. Ahvaz: Shahid *Chamran* University of Ahvaz.

2- Borrego S., Guiamet P., de Saravia SG., Batistini P., Garcia M., Lavin P., et al. (2010) The quality of air at archives and the biodeterioration of photographs. International Biodeterioration & Biodegradation, 64(2), 139-45.

3- Brady CL. (2008) Taxonomic evaluation of the genus *Pantoea* based on a multigene approach: University of Pretoria.

4- Dunca SI., Tanase C., Padurariu C., Balaes T., Ardelean E., Puica NM. (2014) Study of the contaminating microbiota of old paper supports. European Scientific Journal, ESJ, 10(10).

5- Florian, MLE. (2002) Fungal Facts. London, UK: Archetype publications, p: 146.

6- Gorbushina AA., Heyrman J., Dornieden T., Gonzalez-Delvalle M., Krumbein WE., Laiz L., et al., (2004) Bacterial and fungal diversity and biodeterioration problems in mural painting environments of St. Martins church (Greene-Kreiensen, Germany). Int. Biodeterior. Biodegrad. 53:13–24.

7- Guiamet P., Borrego S., Lavin P., Perdomo I., de Saravia SG. (2011) Biofouling and biodeterioration in materials stored at the Historical Archive of the Museum of La Plata, Argentine and at the National Archive of the Republic of Cuba. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 85(2), 229-34.

8- Hueck H. (1965) The biodeterioration of textiles and its prevention in antiquities and works of art. TNO-news, 20, 301-7.

9- Hyvärinen A. (2002) Characterizing moisture damaged buildings: environmental and biological monitoring. National Public Health Institute.

10- López-Miras M., Piñar G., Romero-Noguera J., Bolivar-Galiano F., Ettenauer J., Sterflinger K., et al. (2013) Microbial communities adhering to the obverse and reverse sides of an oil painting on canvas: identification and evaluation of their biodegradative potential. Aerobiologia, 29(2), 301-14.

11- López-Miras MDM., Martín-Sánchez I., Yebra-Rodríguez Á., Romero-Noguera J., Bolívar-Galiano F., Ettenauer J., et al., (2013) Contribution of the microbial communities detected on an oil painting on canvas to its biodeterioration. Plus One 8:80198.

12- Michaelsen A., Piñar G., Pinzari F. (2010) Molecular and microscopical investigation of the microflora inhabiting a deteriorated Italian manuscript dated from the thirteenth century. Microbial Ecology, 60(1), 69-80.

13- Mohammadi P., Gholaminejad P., Matinfar M., Gholipour Shahraki M., Asgarani E. (2016) Isolation and Identification of Phototrophic Microorganisms from Rudkhan Castle as a Biodeteriorating Agent. Biological Journal of Microorganisms, 5, 117-128.

14- Mohammadi M., Kouchakzaei A. (2014) Characterization of fungi and their effect on documents and manuscripts in the archive of Malek National Library and museum. Ganjine-ye Asnad Quarterly Journal, 23(4), 45-126.

15- Pasanen A-L., Pasanen P., Jantunen M., Kalliokoski P. (1991) Significance of air humidity and air velocity for fungal spore release into the air. Atmospheric Environment Part A General Topics, 25(2), 459-62.

16- Phulpoto AH., Qazi MA., Mangi S., Ahmed S., Kanhar NA., (2016) Biodegradation of oil-based paint by Bacillus species monocultures isolated from the paint warehouses. Int J Environ Sci Technol 13:125–134.

DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1

17- Piñar G., Sterflinger K., Pinzari F. (2015) Unmasking the measles-like parchment discoloration: molecular and microanalytical approach. Environmental microbiology, 17(2), 427-43.

18- Pinzari, F., Cialei, V., & Piñar, G. (2012). A case study of ancient parchment biodeterioration using variable pressure and high vacuum scanning electron microscopy. *Historical technology, Materials and conservation: SEM and microanalysis. Meeks N, Cartwright C, Meek A, Mongiatti A (eds). Archetype Publications-International Academic Projects*, *1*.

19- Rayisnia N. (2016) A comparison of Active and Passive air sampling methods in the repositories of archival materials. Ganjine-ye Asnad Quarterly Journal, 26(3), 158-173.

20- Shadzi S., Zahraee M., ChadeganiPour M. (1993) Incidence of airborne fungi in Isfahan, Iran: Häufigkeits-Untersuchungen zum Pilz-Luftplankton in Isfahan, Iran. Mycoses, 36(1-2), 69-73.

21- Shokrzadeh L., Mohammadi P., Bahreini M., Behdani S., Sabet Jazari AA., (2019) Investigation of the relationship between the fungal deterioration of the manuscripts of Astan Quds Razavi Document Center and library with the air and its evaluation in the paper model. Modares Journal of Biotechnology, 11(1), 85-91.

22- Sterflinger K., and Pinzari F., (2012) The revenge of time: fungal deterioration of cultural heritage with particular reference to books, paper and parchments. Environmental Microbiology.14, 559–566.

23- Sterflinger K. (2010) Fungi: their role in deterioration of cultural heritage. Fungal biology reviews, 24(1-2), 47-55.

24- Taghizadeh N., Farsi M., Pakdin Parizi A., Tarighi S., (2014) Determination cellulase activity of mushroom compost thermophilic actinomysets by filter paper assay. Journal of Cellular and Molecular Research, 27(1), 26-34.

25- Valentín N. (2010) Microorganisms in museum collections. Coalition, 19, 2-5.

26- Valentín N. (2007) Microbial contamination in archives and Museums: Health hazards and preventive strategies using air ventilation systems. The Getty Conservation Institute.

DOR: 20.1001.1.23832738.1400.34.2.2.1

Study of bacterial contamination of some exquisite written works of the Documentation Centre of Astan Quds Razavi

Behdani S.[1], Bahreini M.[1], Mohammadi P.[2], Shokr zadeh L.[2], Sharif-Moghadam M.R.[1] and Sabet Jazari A.A.[3]

[1] Dept. of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. of Iran.

[2] Dept. of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, I.R. of Iran.

[3] Restoration of Monuments, Deputy of Museums Affairs, Organization of Libraries, Museums and Astane Qudse Razavi Documentation Center, Mashhad, I.R. of Iran.

Abstract

Biodegradation of organic matter in the elemental cycle is very important, but in the case of the museum and archival works, the degradation called *biodeterioration* leads to the loss of valuable information that biologists seek to reduce its damages. The purpose of this study was to investigate the bacterial pathology of some of the exquisite manuscripts kept in Astane Quds Razavi Documentation Center in Mashhad. In this study, using classical and molecular methods, bacterial contamination of five exquisite manuscripts was investigated and identified. Sampling was performed using three methods of a direct swab, wet swab in physiological serum and nitrocellulose membrane. Bacterial contamination of the reservoir air was performed using an open plate method. In total, 72 bacterial strains were isolated, 28 of which were identified by molecular method, most of which belonged to the Firmicutes phylum. *Bacillus atrophaeus* with 38.6% abundance had the highest distribution. Bacterial strains of *Staphylococcus hominis* and *Bacillus altitudinis* were isolated only from airborne samples. The microbial community of books and air showed 53% similarity, indicating a possible source of microbial contamination with air origin. The presence of similar bacteria (23.5%) in the buffer room and repository air confirmed this. The results of this study indicate the presence of bacteria in the paper and leather substrates of the studied books, and, on the other hand, identifying bacterial air pollutants helps improve the ventilation system in repositories and libraries. Understanding these factors will help in choosing efficient methods of preservation and restoration of written works.

Key words: Biodeterioration, Written Works, Bacteria, Astan Quds Razavi