بررسی مقایسه ای اثرات آنتی باکتریال نانو پارتیکل های نقره و روی بر باکتری های پاتوژن سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس

یاسمن السادات نبی پور[۱]، آرمان رستم زاد*[۱]، سلمان احمدی اسب چین[۲]

۱) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۲) گروه زیست شناسی سلولی و ملوکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، مازندران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/٤

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 5:55 IRDT on Sunday April 11th 2021

چکیده

مقدمه: در این تحقیق کارایی فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات نقره و روی بر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی پاتوژن مقاوم و شایع عفونت های بیمارستانی بررسی گردید. در این مطالعه غلظت اولیه باکتری ها ثابت بود و فقط سویه های باکتری های مورد بررسی و نانوذرات متغیر بودند.

مواد و روش ها: ابتدا در این تحقیق، با استفاده از واکنش گرهای شیمیایی قابل دسترسی و فقط با کنترل شرایط و اعمال شرایط بهینه، نانوذرات با اندازه حدود ۳۵-۲۰ نانومتر، به روش رسوب گیری شیمیایی سنتز شد. جهت بررسی تاثیر غلظت های مختلف نانوذرات بر باکتری ها به روش ماکرودایلوشن غلظت های ۰/۰۱ درصد، ۰/۱ درصد، ۰/۵ درصد، ۱ درصد و ۱/۵ درصد از نانو پارتیکل های نقره و روی(محیط کشت+ نانوذرات) تهیه گردید. سپس غلظت cell/ml ۱۰۵ از هر یک از باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا تهیه گردید. ظروف حاوی محیط کشت های تیمار(باکتری+نانوذرات) و محیط های کشت کنترل در انکوباتور شیکر با ۲۵۰ دور در دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. پس از طی شدن مدت مذکور، از چگالی نوری در طول موج nm ۶۰۰ برای اندازه گیری غلظت باکتری ها استفاده شد و OD محیط های تیمار و کنترل+ و کنترل - تعیین شد. از رقت های نانوذرات در محیط کشت باکتری جهت کالیبر نمودن دستگاه اسپکتروفتومتر به عنوان محلول بلانک استفاده شد. این آزمایش سه مرتبه تکرار شد و میانگین نتایج گزارش گردید این نتایج از لحاظ آماری معنی دار می باشد($P<0.01$)

یافته های پژوهش: در نتایج آنالیز آماری مشخص شد در مورد نانو پارتیکل ها Zn; Ag غلظت ۰/۵ درصد نانوذرات باکتریساید و قادر به حذف تقریباً ۱۰۰ درصد باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا بوده و غلظت ۰/۰۱ درصد در مورد هر دو باکتری باکتریواستاتیک می باشد.

بحث و نتیجه گیری: در تست های آزمایشگاهی این تحقیق، باکتری ها بعد از تماس با نانوذرات از بین رفتند. بنا بر این استفاده از نانوذرات فلزی جهت مقابله با عفونت های باکتریایی به عنوان روش جایگزین آنتی بیوتیک ها می تواند موثر باشد.

نتایج به دست آمده از تعیین خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات نشان داد که بین غلظت نانو ذره و درصد حذف باکتری ارتباط مستقیم وجود دارد.

واژه های کلیدی: نانوپارتیکل، ماکرودایلوشن، انکوباتور شیکردار، باکتریواستاتیک، باکتریساید

* نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

Email: y.nabipour1@gmail.com

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 5:55 IRDT on Sunday April 11th 2021

مقدمه

این باور که نانو تکنولوژی عصر دیگری از علوم است و تلفیقی از مهندسی و زیست شناسی، شیمی، پزشکی و فیزیک می باشد را عموم دانشمندان پذیرفته اند. بررسی ها نشان داده است که هر چه اندازه نانوذرات کوچک تر باشد، خصوصیات و فعالیت های جدید و متفاوت تری از خود نشان می دهند. این ویژگی ها باعث شده است که امروزه سرعت استفاده از نانو مواد بسیار سریع گسترش پیدا کند به طوری که در تمام ابعاد زندگی هم چون سیستم های الکتریکی، مبارزه با میکروب ها، تشخیص و درمان بیماری ها کاربرد آن شناخته شود(۱). از گذشته نانوذرات در دو بخش فلزی و غیرفلزی مورد بحث قرار می گرفته اند. نانوذرات فلزی در حشره کش ها و باکتری کش ها سال ها است مورد استفاده قرار می گیرند. برخی از نانوذرات به عنوان یک روش نوظهور در پیشرفت علم داروسازی مدرن به حساب می آیند که به علت داشتن پتانسیل بالا جهت انجام فرآیندهای درمانی اختصاصی، در مطالعات زیست شناسی و داروسازی، کاربرد فراوان دارند. برای مثال، آن ها قادرند در زمانی کمتر از ۴ ساعت، ۶۵۰ سلول سرطانی را از بین ببرند(۲).

نانوذرات در چرخه حیات و اکوسیستم، پایین ترین سطح سمیت را از خود نشان داده اند لذا استفاده از این مواد برای مبارزه با میکروب های بیماری زا می تواند انتخاب مناسبی باشد. نانوذرات اکسید فلزی، بر اساس نسبت سطح به حجم، خاصیت ضد باکتریایی متفاوتی از خود نشان می دهند. باکتری های گرم مثبت در مقایسه با باکتری های گرم منفی در مقابل نانوذرات فلزی، مقاومت بیشتری از خود نشان می دهند که این می تواند به ساختار دیواره سلولی ارتباط داشته باشد(۳).

تحقیقات متعدد، مبتنی بر واکنش های احتمالی بین نانوذرات با ماکرومولکول های موجودات زنده انجام گرفته است. اختلاف بین بار منفی میکروارگانیسم و بار مثبت نانوذره، به صورت یک الکترومغناطیس جاذب بین میکروب و نانوذره عمل کرده و باعث اتصال نانوذره به سطح سلول شده و در نتیجه می تواند باعث مرگ سلول شود(۴). در نهایت تعداد زیادی از این تماس ها منجر به اکسیدشدن مولکول های سطحی میکروب ها و مرگ سریع آن ها می شوند. احتمال داده می شود یون های آزاد شده از نانو مواد با گروه های تیول(SH–) پروتئین های سطحی سلول های باکتریایی واکنش دهند. تعدادی از این پروتئین های غشای سلول های باکتریایی عمل انتقال مواد معدنی از سطح دیواره را به عهده دارند؛ که نانو مواد با اثر بر روی این پروتئین ها باعث غیرفعال شدن و نفوذناپذیری غشاء می شوند(۵).

غیر فعال شدن تراوایی غشاء در نهایت باعث مرگ سلول می شود. هم چنین نانو مواد چسبیدن سلول باکتری و تشکیل بیوفیلم را به تأخیر می اندازند که این عمل باعث می شود گروهی از باکتری ها نتوانند تثبیت شوند و تکثیر یابند(۶). تغییرات ضد میکروبی که از رشد باکتری بیماری زا ممانعت می کنند، یک هدف مطلوب محسوب می شود. عوامل ایجادکننده عفونت ها می توانند متعدد باشند. تشکیل کلنی، رشد سلول باکتری و تشکیل ماتریکس های بیوفیلمی فشرده میکروبی، باکتری ها را در مقابل سیستم دفاعی میزبان مقاوم می کند، که نانوذرات از تشکیل این عوامل دفاعی میکروب در برابر سیستم ایمنی میزبان جلوگیری می کند(۷).

نانو مواد که پایه آن ها از یون های فلزی است، دارای فعالیت سلول‌کشی گسترده ای هستند که علیه باکتری، قارچ و ویروس فعالیت دارند. نانو مواد و به خصوص نانو مواد فلزی به علت داشتن بار سطحی و نسبت سطح به حجم خود، آنزیم ها و DNA میکروارگانیسم ها را با تعادل الکترون بین گروه های دهنده الکترون مثل تیول، کربوکسیلات، آمید، ایمیدازول، اندول و هیدروکسیل غیر فعال می نمایند(۸).

عفونت های بیمارستانی: به طور کلی عفونت های بیمارستانی آن دسته از عفونت هایی می باشند که در زمان پذیرش بیمار با انجام کشت های مختلف وجود نداشته است و به این لحاظ تحت عنوان عفونت های اکتسابی بیمارستانی نامیده می شود، این عفونت ها بعد از ۷۲ ساعت به صورت اندمیک یا اپیدمیک تظاهر نموده و باعث مرگ و میر فراوان و افزایش

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 5:55 IRDT on Sunday April 11th 2021

هزینه می شوند. میزان این عفونت ها در بخش ICU تا ۱۰ برابر شیوع عفونت در بخش های دیگر است(۹).

عفونت های بیمارستانی، معمولاً به دلیل تأثیر متقابل میان بیماران، کادر درمان(پزشک و پرستار)، لوازم و تجهیزات آلوده و نیز ارگانیسم های بیـــماری زا(عمدتاً باکتری ها) اتفاق می افتد. عفونت بیمارستانی می تواند هر ارگانی را گرفتار نماید. اما مجرای ادرار، زخم های جراحی، بخش تحتانی سیستم تنفسی بیش از سایر ارگان ها، گرفتار می شوند و برای سال ها نیز گرفتاری در آن ارگان باقی می ماند(جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱. انسیدانس نسبی عفونت های بیمارستانی بر حسب محل

محل	درصد
مجرای ادرار	٪۴۲
زخم جراحی	٪۲۰
مجاری تحتانی تنفسی	٪۲۴
جریان خون	٪۸
باقی ارگان‌ها	٪۱۶

ارگانیسم های مقاوم به آنتی بیوتیک ها، یکی از دلایل افزایش موارد عفونت های بیمارستانی هستند، به همین دلیل کنترل عفونت های مذکور، نباید صرفاً بر اساس تشخیص باشد بلکه تعیین نوع پاتوژن مسئول و حساسیت آن، نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف نیز، دارای اهمیت می باشد(۱۰).

مقاومت دارویی: از زمان شناخت باکتری ها، بشر همواره در پی یافتن دارویی موثر علیه عفونت های ناشی از آن ها بوده است و باکتری ها نیز به مکانیسم های موثری جهت از بین بردن آنتی بیوتیک ها دست یافتند. امروزه با پیدایش مقاومت دارویی در میان باکتری های بیماری زا، درمان این دسته از بیماری های عفونی با مشکلات بسیاری مواجه شده است(۱۱).

یکی از مکانیسم های مقاومت آنتی بیوتیکی، مقاومت ناشی از موتاسیون های کروموزومی است که در غیاب آنتی بیوتیک نیز رخ می دهد منتهی کاربرد آنتی بیوتیک باعث نابودی سویه های حساس و گزینش سویه های مقاوم می شود. مکانیسم دوم مقاومت آنتی بیوتیکی، مقاومت ناشی از تبادلات ژنتیک است که غالباً به وسیله پلاسمیدها ایجاد می شود این فاکتورهای مقاومت خارج کروموزومی در باکتری های گرم منفی فاکتور R نامیده می شود. این گونه مقاومت در برابر آنتی بیوتیک های استرپتومایسین، نئومایسین، کانامایسین، کلرامفنیکل، تتراسایکلین، فورازولیدون و هم چنین سولفانامیدها نیز گزارش شده است که پلاسمیدها این نوع مقاومت را به باکتری های مختلف سرایت می دهند. بیش از ۵۰ سال است که آنتی بیوتیک ها در درمان عفونت ها استفاده می گردد. در طول این مدت تغییرات زیادی در نوع آنتی بیوتیک های مصرفی و نیز حساسیت و مقاومت باکتری ها نسبت به آن ها ایجاد شده است(۱۲).

به دنبال توسعه ارگانیسم های مقاوم به ترکیبات آنتی بیوتیکی، امروزه شاهد گزارش های متعددی مبنی بر شیوع گسترده آن ها در بخش های مختلف بیمارستان ها هستیم که غالباً به دلیل مصرف داروهای بتالاکتام وسیع الطیف می باشد. بستری شدن طولانی مدت بیماران و استفاده از وسایلی از جمله کاتترهای ادراری و داخل عروقی از دیگر عوامل افزایش الگوی مقاومت دارویی در بیمارستان می باشد(۱۳).

متاسفانه با افزایش مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک های قوی تر، خطر افزایش بیماری های عفونی جان انسان ها را تهدید می کند. استفاده از نانوذرات اکسید فلزی جهت مقابله با عفونت های باکتریایی به عنوان روش جایگزین آنتی بیوتیک ها می تواند موثر باشد. امروزه روش های مختلفی به یاری انسان ها آمده تا مصرف این آنتی بیوتیک ها روز به روز کاهش یابد. نانوذرات، بدون افزایش مقاومت دارویی، باعث مهار باکتری ها می شود(۱۴).

مواد و روش ها

در این تحقیق ابتدا نانوذرات تهیه شد و سپس اثر آن ها در رقت های مختلف(۰/۰۱، ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۵ /۱) درصد، بر پاتوژن های مذکور مورد بررسی قرار گرفت.

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 5:55 IRDT on Sunday April 11th 2021

تهیه نانوذرات: نانوذرات ابتدا سنتز گردید. جهت بررسی سایز بندی نانوذرات، عکس TEM به وسیله میکروسکوپ الکترونی فیلیبس مدل H987 گرفته شد تا سایز نانوذرات برای ما تایید شود.

جهت توزیع نانوذرات در محیط کشت، محلول نانوذرات قبل از مصرف روی شیکر قرار داده شدند و بعد از تلقیح نیز در انکوباتور شیکردار کشت صورت می گرفت. هم چنین مقدار نانوذرات مورد تلقیح در حدی نبود که رسوب بدهد یا توزیع یکنواخت نداشته باشد.

-قطر نانوذرات مورد استفاده در این تحقیق:

Zno: 20nm و Ag: 20nm

-محیط کشت: از محیط پیچیده LB(Complex Lauria Bertani) برای رشد و محیط شاهد و نگهداری باکتری استفاده شد.

-باکتری های پاتوژن مورد بررسی: در این تحقیق از دو سویه استاندارد استفاده شد:

Staphylococcus Aureus(ATCC 29213) American Type Culture Collection
ATCC 27853) American Type Culture Collection(Pseudomonas aeroginosa

سنتز نانوذرات نقره: حدود ۱۵ میلی لیتر از محلول AgNO3، ۰/۰۰۱ مولار در محلول حاوی NaBH4 ریخته شد. بخش کوچکی از محلول را به یک لوله آزمایش منتقل کرده به اندازه کافی PVA جامد اضافه شد تا محلول ۴ درصد تشکیل شود. برای حل کردن PVA، آهسته به محلول داغ و در حال به هم خوردن NPs معلق Ag اضافه گردید(۱۵).

سنتز نانوذرات روی: ۱۵ گرم بیکربنات آمونیم را در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل نموده، ضمن هم زدن درون حمام آب، به دمای۶۰-۴۰ درجه سانتی گراد رساندیم. سپس ۲۴ گرم اکسید روی در طی دو مرحله به محلول فوق افزوده شد. در مرحله اول، یک سوم اکسید روی(۵ گرم) توزین شده به محلول بیکربنات آمونیم اضافه شد و به مدت ۱/۵ ساعت در دمای ۷۰ هم زده شد. در مرحله بعد، دو سوم باقی مانده اکسید روی به محلول قبلی اضافه شد و به مدت ۲ ساعت در همان دما قرار داده شد تا حل شود. پس از گذشت ۲ ساعت، دوغاب غلیظ به جای مانده را وارد کروزه چینی کرده، به مدت ۱۵ دقیقه در کوره با دمای ۳۰۰ درجه سانتی گراد قرار دادیم تا کلسینه شود(۱۶).

تاثیر غلظت های مختلف نانوذرات بر باکتری ها در محیط(ماکرودایلوشن): ابتدا محیط کشت(LB) سنتز و استریل گردید، پس از آن ذرات نانو به وسیله ترازوی الکترونیک در وزن های ۰/۰۰۱g، ۰/۰۱g، ۰/۰۵g، ۰/۱۰g، ۰/۱۵ g توزین گردید و با اضافه کردن این ذرات به ۱۰ml از محیط کشت مایع(LB) غلظت های ۰/۰۱ درصد، ۱ /۰ درصد، ۰/۵ درصد، ۱ درصد و ۱/۵ درصد از نانو پارتیکل های نقره، روی به صورت سوسپانسیون، تهیه گردید.

مجدداً جهت استریل نمودن محیط به مدت ۱۵ دقیقه و دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و در فشار ۱۵ پوند(۱۵Lb) در اتوکلاو اتوماتیک قرار داده شد و سپس جهت خنک شدن در یخچال نگه داشته شد.

جهت تهیه کشت تازه باکتری های استافیلوکوکوس ارئوس و سودوموناس آئروژینوزا از محیط کشت مولر هینتون آگار(Merck)، ۳۴ گرم در یک لیتر آب مقطر استفاده شد(۱۷).

سپس جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی یک لوپ از هر سویه میکروبی به ۲۵ میلی لیتر محیط کشت(LB) اضافه گردید، در مرحله بعد به وسیله دستگاه اسپکت غلظت دارای چگالی نوری(OD) ۰/۰۵ در طول موج ۶۰۰ nm تهیه گردید، تا یک غلظت نهایی ۱۰۵ cell/ml در هر میلی لیتر از هر یک از نمونه ها به دست آید(۱۸).

در مرحله بعد به وسیله سمپلر ۲ ml از رقت تهیه شده از هر یک از باکتری ها به غلظت های آماده شده از(محیط کشت+نانوذرات) اضافه گردید و همین مراحل برای تهیه گروه کنترل+ به کار رفت با این تفاوت که نانوذرات به محیط کشت اضافه نگردید. از محیط کشت بدون باکتری به عنوان کنترل- استفاده شد.

درب ظروف حاوی محیط کشت های تیمار(باکتری+نانوذرات) و محیط های کشت کنترل بسته شده و در انکوباتور شیکر با ۲۵۰ دور در دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. پس از طی شدن مدت مذکور، از چگالی نوری در طول موج ۶۰۰nm برای اندازه گیری غلظت

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 5:55 IRDT on Sunday April 11th 2021

باکتری ها استفاده شد و محیط های تیمار و کنترل + و کنترل – به ترتیب در کوئیت های شیشه ای مخصوص دستگاه ریخته و OD تعیین شد. از رقت های نانوذرات در محیط کشت باکتری جهت کالیبر نمودن دستگاه اسپکتروفتو متر به عنوان محلول بلنک استفاده شد. این آزمایش سه مرتبه تکرار شد و میانگین نتایج گزارش گردید.

عکس ها توسط دوربین دیجیتال Olympus C2020Z گرفته شد. نتایجی که در تمام تست ها به دست آمد با گروه کنترل مقایسه شد. نرم افزار SAS و آزمون Student t-test برای تعیین معنی داری نتایج آزمایشات و ارزیابی آن ها استفاده شد($P<0.01$). این پژوهش در مرکز تحقیقات میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایلام انجام شد. روش مطالعه در این بررسی از نوع تحقیقی بوده است.

یافته های پژوهش

تاثیر نانوذرات(اکسید روی) بر باکتری های مورد بررسی در محیط LB: با توجه به آنالیز آماری چگالی نوری حاصل از اسپکت محیط های تیمار مشخص شد که غلظت ۰/۵ درصد نانو ذره ZnO در مورد هر دو باکتری باکتریسیدال بوده و باکتری ها به میزان بیش از ۸۰ درصد از بین رفته اند. به همین صورت با افزایش غلظت نانو ذره ZnO میزان تاثیر باکتری سایدی افزایش می یابد.

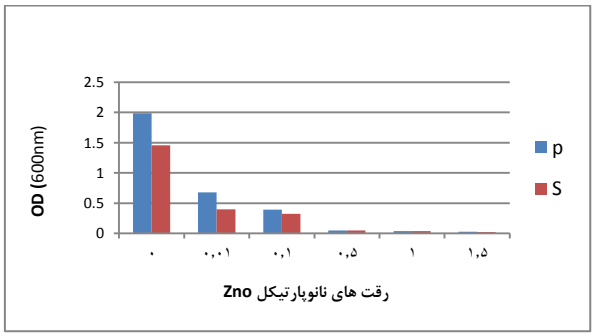
در غلظت ۰/۱ درصد میزان کشندگی نانوذرات ZnO نسبت به گروه کنترل در باکتری های سودوموناس ۶۵ درصد، استاف ارئوس ۷۴ درصد بوده است. هم چنین نانوذرات ZnO در غلظت ۰/۰۱ درصد قادر به حذف ۶۰ درصد باکتری سودوموناس و ۷۰ درصد باکتری استاف گردیده است.

در غلظت ۰/۵ درصد اثر باکتری ساید نانوذره ZnO بر باکتری سودوموناس به میزان ۸۰ درصد و بر باکتری استاف ارئوس ۹۷ درصد بوده است(جدول شماره ۲)(نمودار شماره ۱).

در مجموع نانو ذره روی بر باکتری استاف اورئوس تاثیر بیشتری داشته و تاثیر کمتری بر باکتری سودوموناس مشاهده شد به طوری که این باکتری در همه غلظت ها کمترین حساسیت و بیشترین مقاومت را نشان می دهد. مکانیسم عمل اکسید روی، شبیه سایر نانوذرات است ولی بیشتر از طریق تخریب دیواره باکتری عمل می کند با توجه به این ویژگی نانو ذره اکسید روی به عنوان یکی از پرکاربردترین نانوذرات برای مقابله با باکتری های گرم منفی و گرم مثبت مورد استفاده قرار گرفته است(۱۹).

جدول شماره ۲. تغییرات چگالی نوری باکتری های مورد بررسی،حاصل از تاثیر رقت های مختلف نانوپارتیکل Zno در محیط LB

Zn	C	0.01	0.1	0.5	1	1.5
S	1.454	0.398	0.325	0.047	0.039	0.023
P	1.983	0.679	0.391	0.048	0.039	0.028



نمودار شماره ۱. تاثیر رقت های مختلف نانو پارتیکل Zno بر باکتری های پاتوژن، استافیلوکوکوس اورئوس(S)، سودوموناس آئروژینوزا(p) در محیط LB

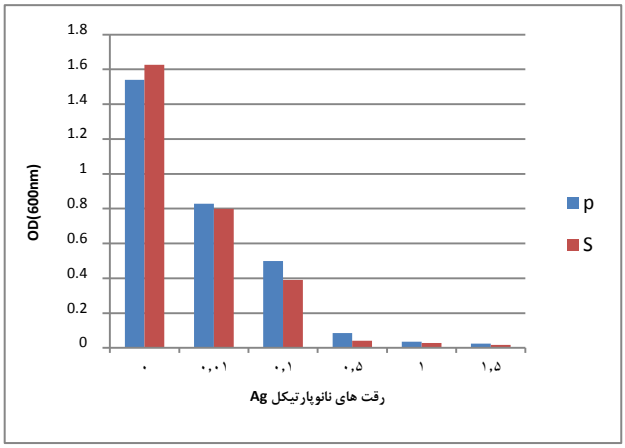
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 5:55 IRDT on Sunday April 11th 2021

تاثیر نانوذرات(نقره) بر باکتری های مورد بررسی در محیط LB: با توجه به آنالیز آماری چگالی نوری حاصل از اسپکت محیط های تیمار مشخص شد که در غلظت ۰/۵ درصد میزان باکتریوسایدی نانوذرات نقره بسیار قوی بوده و تقریباً به ۱۰۰ درصد می رسد. غلظت های ۰/۱ درصد و ۰/۰۱ درصد این نانوذرات باکتریو استاتیک می باشد. این نانو ذره در غلظت ۰/۱ درصد بیشترین اثر بازدارندگی را بر باکتری استاف اورئوس دارد و این باکتری را به میزان ۷۶ درصد از بین برده است. تاثیر نانو ذره نقره بر باکتری سودوموناس کـمتر بوده، به طوری که در غلظت ۰/۱ درصد نانو نقره، این باکتری به میزان ۶۵ درصد کاهش رشد داشته است(جدول شماره ۳)(نمودار شماره ۲)

مکانیسم عمل نانو نقره به این صورت است که تنفس سلولی در حضور غلظت های مختلف نانونقره در گروه های مختلف باکتریایی یک الگوی مشابه را مطرح می کنند و آن کاهش تدریجی میزان تنفس سلولی به موازات افزایش غلظت نانو نقره است تا این که در غلظت MIC برای هر باکتری میزان تنفس به پایین ترین حد خود می رسد(۲۰).

جدول شماره ۳. تغییرات چگالی نوری باکتری های مورد بررسی، حاصل از تاثیر رقت های مختلف نانوپارتیکل Ag در محیط LB

Ag	C	0.01	0.1	0.5	1	1.5
S	1.627	0.798	0.391	0.041	0.028	0.017
P	1.540	0.829	0.499	0.085	0.036	0.024



نمودار شماره ۲. تاثیر رقت های مختلف نانو پارتیکل Ag بر باکتری های پاتوژن، استافیلوکوکوس اورئوس(S)، سودوموناس آئروژینوزا(p) در محیط LB

در طی مطالعه حاضر ما اثرات ضدباکتریایی Ag و zno را بر روی باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس ارئوس و گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به عفونت های بیمارستانی بررسی کردیم. یافته های پژوهش حاضر، موافق و مطابق با پژوهش های قبلی است، که با اثرات آنتی باکتریال نانو مواد سروکار داشته اند. متیوس و همکاران در سال ۲۰۱۰ در پژوهشی با عنوان «کاربرد نانودارو آنتی باکتریال در تشخیص و درمان پزشکی» بیان کردند که می توان از نقره در مقیاس نانومتری در درمان استفاده شود و به طور کامل مانع رشد درصد بالایی از گونه های باکتری گرم مثبت و گرم منفی می شود(۲۱) نتایج حاصله از این پژوهش متیوس با نتایج به دست آمده از این تحقیق مطابقت دارد.

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 5:55 IRDT on Sunday April 11th 2021

گوانگ ین لی و همکاران در سال ۲۰۰۷ در تحقیقی با عنوان«سنتز کلوئیدهای نانو نقره و اثرات ضدمیکروبی آن ها» عنوان کردند بخش های بزرگی از باکتری با روش تیمار با نانوذرات نقره از بین رفتند به علاوه با غلظت های پایین نانوذرات نقره مانع رشد ایجاد می شود که به کاهش عمده مقدار باکتری زنده در مقایسه با نمونه کنترل منجر می شود(۲۲) که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد.

شری واستاوا و همکاران در سال ۲۰۱۰ در طی تحقیقی اثر آنتی باکتریال نانوسیلور را بر روی استافیلوکوک اورئوس و سالمونلاتیفی موریوم مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که اثر آنتی باکتریال ذرات نانوسیلور وابسته به دوز می باشد(۲۳) که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد.

هومبرتو و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثر مهاری نانوذرات نقره را بر روی باکتری هایی که مقاومت های دارویی زیادی از خود نشان می دهند بررسی نمودند و مشاهده کردند که نانوذرات نقره اثر باکتریوستاتیک قابل ملاحظه ای بر روی این باکتری ها دارند(۲۱) که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد.

بحث و نتیجه گیری

در مجموع نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر چند موضوع را اثبات می کند:

۱- نانوذرات فلزی دارای خواص آنتی باکتریال بسیار موثری هستند.

۲-نتایج به دست آمده از تعیین خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره و روی نشان داد که بین غلظت نانوذرات و درصد حذف باکتری ارتباط مستقیم وجود دارد، این نتایج از لحاظ آماری معنی دار می باشد($P<0.01$)(نمودار شماره ۱)(نمودار شماره ۲)

۳-اثر نانوذرات کلوییدی در باکتری های مذکور به صورت کشندگی است و نه مهارکنندگی، بنا بر این در همه باکتری ها MIC برابر MBC است.

۴-در مطالعه موجود سودوموناس آئروژینوزا سویه مقاوم و استاف اورئوس سویه حساس نسبت به خاصیت باکتریسیدال نانوذرات بودند.

۵-محلول نانوذرات کلوئیدی به صورت ذرات ریز میکروسکوپی منتشر شده و به راحتی می تواند به داخل سلول های باکتری نفوذ کنند.

۶-نانوذرات Ag و Zno بر اساس تاثیرات بیولوژیکی نانوذرات می تواند برای درمان عفونت ها و بیماری هایی که به وسیله S.aureus و P.aeroginosa ایجاد می شود، مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این پژوهش درمرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی دانشگاه علوم پزشکی ایلام انجام پذیرفت، بدین وسیله از تمامی مسئولین این مرکز خصوصاً جناب آقای دکتر ایرج پاکزاد که با در اختیار گذاشتن امکانات لازم مرا در اجرای این طرح یاری کردند کمال سپاس و قدردانی را دارم.

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 5:55 IRDT on Sunday April 11th 2021

References

1. Zhang L, Jiang Y, Ding Y, Daskalakis N, Jeuken L, Povey M. Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of Zno nanoparticles against E. coli. J Nanoparticle Res 2010;12:1625-36.

2. Shrivastava S, Jyung wo, lungue M. Characterization of enhanced antibacterial effects of nano silver nano particles. J Nanotechnol 2010; 25:103–25.

3. Binyu Yu. Synthesis of Ag–TiO2 composite nano thin film for antimicrobial application. Nanotechnology2011;22:115-603.

4.Wenru Li. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticleson Escherichia coli . Appl Microbiol Biotechnol2010;2:23-7.

5. Tailee Hu. Anti-bacterial study using nano silver doped high density polyethylene pipe. Sustain Environ Res2012;22:153-8.

6 .Dutta R.K, et al. Studies on antibacterial activity of zno nanoparticles by ros induced lipid peroxidation. Colloids Surf B Biointerfaces 2012;94:143-50.

7.Selvam S, et al. Antibacterial effect of novel synthesized sulfated beta-cyclodextrincrosslinked cotton fabric and its improved antibacterial activities with zno, tio(2) and ag nanoparticles coating. Int J Pharm 2012;1-2:366-74.

8.Ruparelia JP, Kumar A, Duttagupta SP, Diao M, Yao M. Use of zero-valentir nanoparticles in inactivating microbes. water Res2009;43:5243-51.

9. Navidinia M, Karimi A, Rahbar M, Fallah F, et al. Study prevalence of verotoxigenic E. coli isolated from urinary tract infections in an Iranian children hospital. Open Microbiol J2012;6:1-4.

10.Marambalazarte CC, Bunyi MAC, Gallardo EE, et al. Etiology of neonatal sepsis in five uran hospitals in the Philippines. Pediatr Infect Dis Soc Philippines J 2011;12:75-85.

11.Garcia L, Juan C, Domenech A, Alberti S. Role of Klebsiella pneumonia LamB Porin in Antimicrobial Resistance. Antimicrob Age Chem2011;55:1803-5.

12. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of carbapenemase producing enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis2011;17:1791-8.

13. Luo Y, Yang J, Zhang Y, Ye L, Wang L, Guo L. Prevalence of β-lactamases and 16S rRNA methylase genes amongst clinical Klebsiella pneumoniae isolates carrying plasmid-mediated quinolone resistance determinants. Int J Antimicrob Agents 2011;37:352-5.

14.Rancovic B, Kosanic A. Antimicrobial activities of different extracts of lecanoramuralis parmeliasulcata and parmeliopsisambigua .Pakistan J Botan2012; 44: 429-37.

15. Tailee Hu. Anti bacterial study using nano silver doped high density polyethylene pipe. Sus Environ Res2012; 22:153-8.

16. Dutta RK, Nenavathu BP, Gangishetty MK, Reddy AV. Antibacterial effect of chronic exposure of low concentration ZnO nanoparticles on E. coli. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng2013;48:871-8.

17.Yang J, Ye L, Wang W, Luo Y, Zhang Y, Han L. Diverse prevalence of 16S rRNA methylase genes armA and rmtB amongst clinical multidrug resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates. Int J Antimicrob Age2011;38:348-51.

18.Tsai YK, Fung CP, Lin JC, Chen JH, Chang FY, Chen TL, et al. Klebsiella pneumoniae outer membrane porins OmpK35 and OmpK36 play roles in both antimicrobial resistance and virulence. Antimicrob Age Chemo2011;55:1485-93.

19.Wang H, Wick RL, Xing B. Toxicity of nanoparticulate and bulk ZnO Al2O3 and TiO2 to the nematode caenorhabditiselegans. Environ Poll2009;77-1171:157.

20.Hanxuan Zh, Uwesiegert M, Ranliu F. Facile fabrication of ultrafine copper nanoparticles in organic solvent,nanoscale. Res Lett2009;4:705–8.

21. Shrivastava S, Jyung wo, lungue M. Characterization of enhanced antibacterial effects of nano silver nano particles. J Nanotechnol2010;25:103–25.

22.Lara HH. Ayalanunez NV, Ixtepan LC, Rodriguez P. CBactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug resistant bacteria. World J Microbiol Biotechnol2010;26:615-21.

23.Wenru Li. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticleson Escherichia coli. Appl Microbiol Biotechnol2010;3:42-8.

The Evaluation ofAntimicrobial Properties of Zink and Silver Nanoparticles on Pathogenic BacteriaPseudomonas aeruginosa and Staphylococcus Aureus

Nabipour Y[1], Rostamzad A[1], Ahmadyasbchin S[2]*

(Received: June 8, 2014 Accepted: January 24, 2015)

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 5:55 IRDT on Sunday April 11th 2021

Abstract

Introduction: In the current research, the effectiveness of silver's Nano- particles anti- microbial activity on the pathogenic and resistant positive- gram and negative-gram bacteria in the hospital infections have been studied. In this study, the primary density of bacteria was constant and only Nano- particles and items of studied bacteria were variable.

Materials & methods: At first, this study uses the available chemical reagents and conditions only apply controlling optimum conditions, nanoparticles with a size of about 20-35 nm were synthesized by chemical precipitation method. Using Macro dilution method the different densities of silver Nano- particles and Zinc Nano- particles (medium+ Nano- particle) were prepared as: 0.01 percent, 0.1 percent, 0.5 percent, 1 percent and 1.5 percent. Then density of 1.5 cell/ml was prepared for Staphylococcus aureus; Pseudomonas aeruginosa the containers which included treatment medium (bacterium + Nano-particle) and control medium have been placed in incubator shaker with 250 cycle in minute and 37˚C for 24h. after passing this time, light density 600 nm ware length was used for measuring bacteria density, then OD in treatment and + control and – control were determined. Nano- particles dilutions were used in bacteria medium for calibrating spectrophotometer as a blank solution. . These results are statistically significant. (P-value <0.01).

Findings: Statistical analysis about Zn; Ag Nano- particles showed that in 0.5 percent density; Nano- particles were bactericide and they could eliminate 100% of Staphylococcus aureus;Pseudomonasaeruginosa; and in 0.01 percent density for all two bacteria, these Nano- particles were bacteriostatic.

Discussion & Conclusion: in the laboratorial tests of Nano-Materials, contact with them, bacteria will be killed. The obtained results for Nano- particles' anti-bacteria property showed that there is a direct relationship between Nano- particles density and the amount of bacteriums elimination.

Kewords: Nano- particles, Macro dilution method, Incubator shaker, Bacteriostatic, Bactericide

1.Dept of Microbiology,Faculty of Sciences, Ilam University, Ilam, Iran
2.Dept of Cell and Molecular Biology, Faculty of Sciences, Mazandaran University, Mazandaran, Iran
**Corresponding author Email: arostamzad381@yahoo.com*