

## بررسی تاثیر نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم بر باسیل های گرم منفی مقاوم به چند آنتی بیوتیک مسبب عفونت های ادراری

زهرا پورشبانان نجف آبادی<sup>۱</sup>، منیردودی<sup>۲\*</sup>، محبوبه سترکی<sup>۲</sup>

(۱) گروه میکروبیولوژی، واحد فلاوریات، دانشگاه آزاد اسلامی، فلاوریات، اصفهان، ایران

(۲) گروه بیولوژی، واحد ایذه، دانشگاه آزاد اسلامی، ایذه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۸

### چکیده

**مقدمه:** امروزه معضل بزرگ مقاومت آنتی بیوتیکی یکی از مشکلات بزرگ جامعه است. هدف از این تحقیق بررسی تاثیر نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم بر باسیل های گرم منفی مسبب عفونت های ادراری مقاوم به چند آنتی بیوتیک (MDR) بود.

**مواد و روش ها:** این مطالعه بر روی ۱۴۰ نمونه از جدایه های باکتریایی اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه، انتروباکتر آئروژنز، پروتئوس ولگاریس، سیتروباکتر فروندی، سودوموناس آئروژینوزا و آسینتوباکتر بومانی از هر کدام ۲۰ نمونه که همگی مقاوم به چند آنتی بیوتیک و مسبب عفونت های ادراری بودند و نیز سویه های استاندارد آن ها انجام گرفت و بدین منظور از انواع تست های بیوشیمیایی جهت شناسایی این باکتری ها استفاده شد. برای سنجش حساسیت آن ها در برابر نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم به شکل کروی و به قطر ۱۰ نانومتر از روش های آزمایشگاهی (انتشار چاهک و دیسک در آگار و ماکرودایلوشن) استفاده شد.

**یافته های پژوهش:** نتایج روش های انتشار چاهک و دیسک در آگار از نانوذرات نقره با غلظت ۱۰۰۰ ppm، نشان دهنده بیشترین و کمترین قطر هاله عدم رشد به ترتیب در سودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیه بود. در روش ماکرودایلوشن نانوذرات نقره، کمترین میزان MIC و MBC در باکتری سودوموناس آئروژینوزا نیز به دست آمد. ولی نانوذره دی اکسید تیتانیوم بر باکتری ها هیچ تاثیری نداشت.

**بحث و نتیجه گیری:** نتایج حاصله نشان داد که در شرایط In vitro نانوذرات نقره بر باکتری های مورد آزمایش موثر بودند، ولی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم با همان قطر و همان شکل هیچ تاثیری بر روی باکتری ها نداشت.

**واژه های کلیدی:** نانوذرات نقره و تیتانیوم، عفونت ادراری، MIC، MBC

\* نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، واحد فلاوریات، دانشگاه آزاد اسلامی، فلاوریات، اصفهان، ایران

Email: Doudi@iaufala.ac.ir OR Monirdoudi@yahoo.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

## مقدمه

در سال های اخیر مقاومت دارویی در بسیاری از باکتری های پاتوژن به طور قابل توجهی افزایش یافته که درمان بیماری های عفونی را با مشکل مواجه کرده است. این مشکل نه تنها در قاره آسیا بلکه در کل جهان مشاهده می شود و ما را به ساخت دارویی موثر و در عین حال بی خطر برای درمان عفونت های مقاوم ترغیب می کند (۱).

یکی از مکانیسم های عمومی مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک های بتالاکتام، تولید آنزیم های بتا لاکتاماز می باشد که در این باکتری ها وجود دارد؛ که این آنزیم ها به وسیله ژن های پلاسمیدی، ترانسپوزونی و کروموزوم های باکتریایی کد می شوند و این ژن های مقاومت توسط مکانیسم های ترانسفورمیشن و ترانسپوزیشن به سایر باکتری ها انتقال می یابند. میکروارگانیسم های حامل این ژن ها سبب افزایش مقاومت بیماری زایی می شوند که جامعه را با خطر جدی مواجه می کند (۲).

برخی از باکتری ها از جمله کلبسیلا پنومونیه، اشریشیاکلی، هموفیلوس آنفولانزا، استافیلوکوکوس ارئوس، سودوموناس ها به خصوص سودوموناس آئروژینوزا دارای مکانیسم بالقوه ای جهت تخریب حلقه بتا لاکتام این داروها می باشند (۳).

مسئله بررسی مقاومت آنتی بیوتیک از این نظر حائز اهمیت است که عمده مواد دارویی که در درمان بیماری های ناشی از انواع باکتری های مقاوم به داروها مورد استفاده قرار می گیرد آنتی بیوتیک ها هستند از این رو با استفاده بی رویه از این مواد دارویی توسط انسان و به مراتب ورود کنترل نشده آن به محیط زیست و خصوصاً اکوسیستم آب و فاضلاب سرعت مقاوم شدن میکروب ها به دلیل تماس بیش از حد آنتی بیوتیک ها با آن ها افزایش می یابد. در واقع محیط فاضلاب در عین حال که انواع گوناگونی از میکروب ها را در خود پرورش می دهد محیط مناسبی برای مقاوم شدن باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک ها نیز می باشد چرا که مقادیر قابل توجهی از آنتی بیوتیک ها به طور بی رویه ای به داخل فاضلاب راه یافته اند. با توجه به افزایش هزینه های بخش

بهداشت و درمان یک کشور برای درمان عفونت های باکتریایی مقاوم و جوابگو نبودن این داروها باید طرحی تازه برای مبارزه اتخاذ کرد (۳). از آن جایی که اکثر نانوذرات فلزی دارای خاصیت ضد باکتریایی هستند و بسیاری از محققین مانند ابانز و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۶) و لای و یون و همکاران در سال ۲۰۰۷ (۴)، و بلات و همکاران در سال ۲۰۰۹ (۵) و لارا و همکاران در سال ۲۰۱۰ (۷) و رضایی و همکاران هم در سال ۲۰۱۰ (۸) به اثرات ضد میکروبی نانوذرات نقره، دی اکسید تیتانیوم و اکسید کادمیوم بر تعدادی از باکتری های پاتوژن اشاره کرده اند، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی روشی نوین برای مقابله با گسترش مقاومت دارویی باکتری ها طراحی شده است.

## مواد و روش ها

در این پژوهش از ۱۴۰ نمونه باکتری باسیلی شکل گرم منفی که همگی از عفونت های ادراری بیماران جداسازی شده بودند و مقاوم به چندین آنتی بیوتیک بودند، استفاده شد. این بیماران به صورت تصادفی در سنین و موقعیت های مختلفی پس از مراجعه به بیمارستان های الزهرای اصفهان، شهید منتظری و کلینیک نبی اکرم در شهرستان نجف آباد انتخاب شدند. این باکتری ها شامل:

اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس آئروژینوزا، سیتروباکتر فروندی، پروتئوس ولگاریس، انتروباکتر آئروژنز و آسیتوباکتر بومانی بودند، که از هر کدام به تعداد ۲۰ باکتری مقاوم به چندین آنتی بیوتیک انتخاب شدند. پس از جمع آوری نمونه ها برای تشخیص دقیق جنس و تا حدی گونه باکتری ها از تست های بیوشیمیایی افتراقی که در آزمایشگاه کلینیک نبی اکرم نجف آباد انجام گرفت، استفاده شد. این مرحله از کار حدود ۵ ماه به طول انجامید که از فروردین تا اواخر مرداد ماه ۱۳۹۲ انجام گرفت. ضمناً برای تشخیص مقاومت نمونه ها به آنتی بیوتیک های متعلق به چند خانواده آنتی بیوتیکی از تست آنتی بیوگرام به روش کربی-بائر استفاده شد. سویه های استاندارد این باکتری ها نیز از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه خریداری شدند و شامل اشریشیاکلی PTCC 1399،

نانوذرات از روش رقت سازی سریال از نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم سری رقت های ۱۰۰۰ ppm و ۵۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ تهیه شد (۵).

### یافته های پژوهش

پس از جمع آوری و تشخیص هر کدام از باکتری ها با تست های افتراقی مربوطه تمامی باکتری های مورد مطالعه و سویه های استاندارد آن ها، نسبت به آنتی بیوتیک های آمیکاسین (AN) ۳۰ میکروگرم بر دیسک، آموکسی سیلین (AMX) ۲۵ میکروگرم بر دیسک، آمپی سیلین (AM) ۱۰ میکروگرم بر دیسک، افلوکسازین (OFX) ۵ میکروگرم بر دیسک، استرپتومایسین (S) ۱۰ میکروگرم بر دیسک، تتراسایکلین (TE) ۳۰ میکروگرم بر دیسک، سیپروفلوکسازین (CIP) ۵ میکروگرم بر دیسک، نیتروفورانتوئین (NF) ۳۰۰ میکروگرم بر دیسک، نورفلوکسازین (NOR) ۱۰ میکروگرم بر دیسک، کلرامفنیکل (C) ۳۰ میکروگرم بر دیسک؛ بر اساس روش کربی-بائر مورد بررسی قرار گرفتند (جدول شماره ۱، نمودار شماره ۱).

کلبسیلا پنومونیه PTCC 1290، انتروباکتر اثرورنز PTCC 1221، سیتروباکتر فروندی PTCC 1600، پروتئوس ولگاریس PTCC 1079، سودوموناس آئروژینوزای PTCC 1620، آسیتوباکتر بومانی ATCC 1960 بودند.

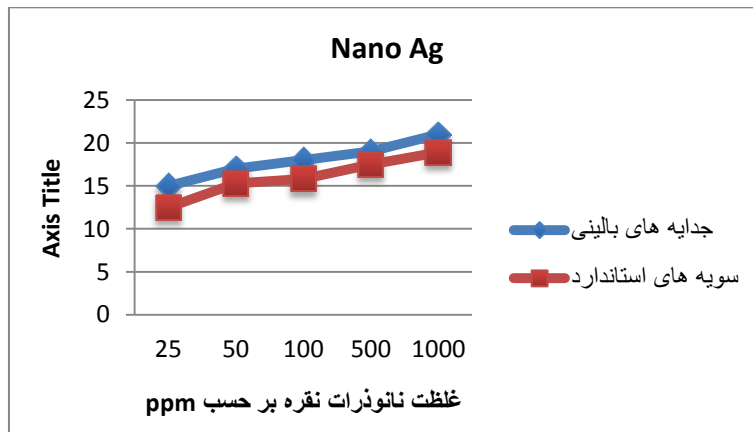
جهت بررسی سنجش حساسیت باکتری ها در برابر دو نانوذره نقره و دی اکسید تیتانیوم از سه روش زیر استفاده شد.

۱) روش انتشار چاهک در آگار، ۲) روش انتشار دیسک در آگار، ۳) روش ماکرودایلوشن (روش سری رقت در لوله های بزرگ) (۴۶).

جهت آماده سازی نانوذرات نقره و دی اکسید تیتانیوم، نمونه محلول کلونیدی نقره از شرکت کیان اکسیر آزما اصفهان به صورت محلول کلونیدی به قطر ۱۰ نانومتر و غلظت ۱۰۰۰ ppm و به شکل کروی و به میزان ۱۰۰ میلی لیتر خریداری شد. نانوذره دی اکسید تیتانیوم نیز از دو شرکت نوترینوی تهران ساخت کشور اسپانیا به صورت ذرات پودری جامد و از شرکت کیان اکسیر آزما اصفهان ساخت کشور آمریکا به صورت محلول کلونیدی در اندازه ۱۵-۱۰ نانومتر و به شکل کروی خریداری شد. جهت تهیه سری رقت از

جدول شماره ۱. نتایج حاصل از درصد مقاومت باسیل های گرم منفی عامل عفونت ادراری به کمک تست آنتی بیوگرام

C	NF	Nor	CIP	TE	S	OFX	AM	AMX	AN	آنتی بیوتیک باکتری
۲۸/۳	۵۵/۵	۳۰/۷	۳۱/۳	۵۴	۳۸/۵	۴۶/۲	۶۸/۵	۲۸/۴	۸۳/۸	اسیتوباکتر بومانی
۸/۷	۳/۲	۴۸/۸	۳۹/۵	۸۳/۲	۱۵/۴	۴۱/۶	۷۵	۶۰/۴	۱۱/۱	اشرشیاکلی
۵/۲	۳۹/۳	۱۲/۴	۴۱/۴	۸۵	۱۰/۳	۵/۵	۵۷/۵	۴۵/۴	۱۲	انتروباکتر اثرورنز
۲/۱	۲۳	۱۱/۱	۱۵/۱	۴۳/۴	۸/۸	۱۴	۸۱/۸	۵۳/۵	۸۷	پروتئوس ولگاریس
۳۳	۶۵/۶	۱۱/۱	۶۵/۶	۴۰	۱۷/۳	۲۸/۳	۶۵/۶	۷۰	۱۵/۵	سودوموناس آئروژینوزا
۳۲/۵	۴۵/۲	۱۴/۳	۲۵/۳	۱۸/۱	۱۷/۱	۲۳/۲	۷۸/۷	۴۴/۴	۶۵	سیتروباکتر فروندی
۱۰/۱	۱۹/۷	۴۸/۳	۵۳/۵	۶۳/۶	۱۸	۴۳/۶	۸۵/۱	۸۰/۳	۱۲/۴	کلبسیلا پنومونیه



نمودار شماره ۱. نتایج تست های مقاومت جدایه های بالینی و سوش های استاندارد باکتری ها در برابر غلظت های مختلف نانوذرات نقره

در مورد سویه های استاندارد این حساسیت به مراتب بیشتر از سویه های بالینی بود. غلظت های پایین تر این نانوذره که از ذکر آن امتناع کرده ایم تاثیر قابل توجهی نداشت.

نتایج حاصل از روش چاهک در آگار و بررسی تاثیر نانوذرات نقره بر باکتری ها بر اساس اعداد ارائه شده در جدول شماره ۲ نتایج حاصل از تاثیر نانوذرات نقره در روش چاهک در آگار نشان داد که، با افزایش غلظت نانوذره نقره قطر هاله عدم رشد هم افزایش می یافت.

جدول شماره ۲. نتایج تست های حساسیت نمونه های بالینی مقاوم به چند آنتی بیوتیک در برابر غلظت های مختلف نانوذرات نقره بر حسب ppm به روش چاهک در آگار بر حسب میلی متر

غلظت نانوذره نقره بر حسب ppm					نام باکتری
۲۵	۵۰	۱۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	
۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۸	آسیتوباکتر بومانی
۱۰	۱۵	۱۵	۱۷	۱۸	اشرشیاکلی
۱۱	۱۴	۱۴	۱۷	۱۹	انتروباکتر آنروژنز
۱۰	۱۳	۱۴	۱۶	۱۷	پروتئوس ولگاریس
۱۸	۲۱	۲۱	۲۳	۲۴	سودوموناس آنروژینوزا
۱۳	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	سیتروباکتر فروندی
۱۲	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	کلیسیلا پنومونیه

سویه های استاندارد این حساسیت به مراتب بیشتر از سویه های بالینی بود. البته شایان ذکر است که بدانیم میانگین قطر هاله عدم رشد در روش چاهک کمی بیشتر از روش دیسک بود که در قسمت بحث تفسیر خواهد شد.

نتایج حاصل از روش انتشار دیسک بر پلیت و بررسی تاثیر نانوذرات نقره بر باکتری ها بر اساس جدول شماره ۳ نتایج حاصل از تاثیر نانوذرات نقره در روش انتشار دیسک بر پلیت نشان داد که، با افزایش غلظت نانوذرات نقره مانند روش چاهک در آگار قطر هاله عدم رشد هم افزایش یافته بود. در مورد

جدول شماره ۳. نتایج تست های حساسیت نمونه های بالینی مقاوم به چند آنتی بیوتیک در برابر غلظت های مختلف نانوذرات نقره بر حسب ppm به روش انتشار دیسک بر پلیت بر حسب میلی متر

غلظت نانوذره نقره بر حسب ppm	۲۵	۵۰	۱۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰	نام باکتری
۱۱	۱۱	۱۱	۱۲	۱۳	۱۳	آسیتوباکتر بومانی
۹	۱۱	۱۱	۱۲	۱۳	۱۳	اشرشیاکلی
۱۰	۱۲	۱۳	۱۵	۱۸	۱۸	انتروباکتر آئروژنز
۹	۱۰	۱۱	۱۳	۱۵	۱۵	پروتئوس ولگاریس
۱۳	۱۶	۱۷	۱۸	۲۰	۲۰	سودوموناس آئروژینوزا
۱۲	۱۲	۱۲	۱۳	۱۵	۱۵	سیتروباکتر فروندی
۱۰	۱۱	۱۲	۱۴	۱۱	۱۱	کلسیلا پنومونیه

باکتریایی جداسازی شده از بیماران دارای عفونت های ادراری مقاوم به چند آنتی بیوتیک به صورت زیر تعیین شد (جدول شماره ۴).

نتایج حاصل از روش ماکرودایلوژن و بررسی تاثیر نانوذرات نقره بر باکتری ها میانگین MIC و MBC غلظت های مختلف نانوذرات نقره کروی شکل با سایز ۱۰ نانومتر پس از تاثیر بر روی سویه های

جدول شماره ۴. نتایج MIC و MBC حاصل از تاثیر نانوذرات نقره بر باکتری ها بر حسب mg/ml

MIC	MBC	نمونه بالینی
۳۰۸	۳۴۰	آسیتوباکتر بومانی
۲۷۵	۳۴۰	اشرشیاکلی
۲۱۶	۲۸۰	سودوموناس آئروژینوزا
۳۱۸	۳۵۲	پروتئوس ولگاریس
۲۲۰	۲۳۸	انتروباکتر آئروژنز
۲۳۶	۲۸۴	سیتروباکتر فروندی
۳۱۸	۳۴۳	کلسیلا پنومونیه

بودند. هم چنین نتایج حاصل از بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی در بین سوش های بالینی خانواده انتروباکتریاسه جدا شده از بیماران دارای عفونت ادراری سه مرکز درمانی نامبرده مقاومت بسیار بالایی نسبت به آنتی بیوتیک های تتراسایکلین، آموکسی سیلین و آمپی سیلین و حساسیت بالای همان سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک های نیتروفورانئوئین و کلرامفنیکل مشاهده شد.

به دلیل ظهور و شیوع بالای باکتری های مقاوم به چند آنتی بیوتیک (MDR) در سراسر جهان و بالاخص ایران و با توجه به این که این سویه ها برای میکروبیولوژیست های بالینی، تکنسین ها، متخصصین حرفه ای کنترل عفونت و تولیدکنندگان داروهای ضد باکتری مشکلات لاینحلی را به وجود آورده اند (۷)، لذا

نتایج حاصل از تاثیر نانوذره دی اکسید تیتانیوم به شکل کروی و با سایز ۱۰ نانومتر بر باسیل های گرم منفی مقاوم به چند آنتی بیوتیک جداسازی شده از عفونت های ادراری بیماران سه مرکز نامبرده و نمونه های استاندارد این باکتری ها به دو حالت پودری و سوسپانسیون (محلول کلئیدی) هیچ گونه تاثیر قابل توجهی نه تنها بر روی سوش های بالینی بلکه بر روی سوش های استاندارد این باکتری ها نیز نداشت.

### بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که، فراوانی باسیل های گرم منفی جداسازی شده از عفونت های ادراری بیماران سه بیمارستان الزهراء، شهید منتظری و کلینیک نبی اکرم شهرستان نجف آباد واقع در استان اصفهان بیشتر از باسیل ها و کوکسی های گرم مثبت

البته شایان ذکر است که به این مطلب اشاره شود که، بسیاری از محققین مانند ابانز و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۶) و لای و یون و همکاران در سال ۲۰۰۷ (۴،۹) و بلات و همکاران در سال ۲۰۰۹ (۵) و لارا و همکاران در سال ۲۰۱۰ (۷) و رضایی و همکاران هم در سال ۲۰۱۰ (۸) به اثرات ضد میکروبی نانوذرات نقره، دی اکسید تیتانیوم و اکسید کادمیوم با سایزها و شکل های مختلف و در موقعیت های جغرافیایی متفاوت بر تعدادی از باکتری های پاتوژن اشاره کرده اند.

در این پروژه تحقیقاتی نیز به این نتیجه رسیده شد که، محلول های نانوذرات نقره با قطر nm ۱۰، به شکل کروی، به حالت محلول کلئیدی و در فاز کریستالی آناز در غلظت های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm، ۵۰، ۱۰۰ می تواند اثرات مهارکننده رشد بر روی باسیل های گرم منفی مسبب عفونت های ادراری مقاوم به چند آنتی بیوتیک را داشته باشد مطابق جدول شماره ۲ بیشترین تأثیر محلول های نانوذرات نقره مربوط به غلظت ۱۰۰۰ ppm بود. هم چنین بر روی باکتری های استاندارد نیز به نتیجه مشابهی دست یافته شد که در آن ها نیز بهترین و موثرترین غلظت نانوذره نقره، متعلق به غلظت ۱۰۰۰ ppm بود. نتایج حاصله نشان داد که، تأثیر محلول های نانوذرات نقره متناسب با دوز این محلول ها بوده، به طوری که هر چقدر غلظت این محلول ها افزایش می یافت، اندازه قطر هاله عدم رشد نیز افزایش نشان می داد.

مقایسه بین دو روش چاهک و دیسک در آگار حاوی چندین غلظت نانوذره نقره در شرایط یکسان بود، که نشان داد غلظت های مختلف نانوذرات نقره در روش چاهک در آگار، کمی بیشتر از روش انتشار دیسک در آگار در محیط منتشر می شد. این نکته کاملاً بدیهی است که انتشار نانوذرات نقره در حالت سوسپانسیون در روش چاهک در آگار بیشتر باشد زیرا، در روش دیسک در آگار مقداری از محلول های کلئیدی نانوذرات نقره جذب لایه های مختلف دیسک شده و پس از خشک نمودن آن نیز به میزان کمی از این محلول تبخیر می شود و با وجود این که در هر دو روش مقدار  $100 \mu\text{lit}$  از محلول های مختلف

توجه ما را به خود معطوف نمود که راه حل مناسبی برای مبارزه با این باکتری ها انتخاب نماییم. از طرف دیگر از آن جایی که ESBL ها گروه بزرگی از MDR ها هستند و به عنوان یک تهدید جدی برای مصرف سفالوسپورین های وسیع الطیف به شمار می روند و درمان عفونت های ناشی از باکتری های MDR توسط آنتی بیوتیک های سفالوسپورین وسیع الطیف با شکست مواجه می شود لذا ما را بر آن داشت که از فناوری نانو بهره گرفته و برای از بین بردن این باکتری ها از محلول های نانوسیلور که به کمک تکنیک های جدید اقدام به ساخت آن ها نموده اند استفاده نماییم (۸).

در فناوری نانوسیلور، یون های نقره به صورت کلئیدی در محلولی به حالت سوسپانسیون قرار دارند که خاصیت آنتی باکتریال (ضدباکتری)، ضد قارچ و ضد ویروس دارند. محلول های نانوسیلور از یون های نقره در اندازه های ۱۰-۱ nm تشکیل شده اند و در مقایسه با محلول های دیگر پایداری بیشتری دارند. یون های نقره به دلیل خواص ضد باکتریایی فوق العاده ای، که در اثر اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم زیادی که دارند، باعث تماس بیشتر با فضای بیرون می شوند و تأثیر بیشتری بر محیط اطرافشان می گذارند، لذا به دلیل این که مقاومت میکروبی در برابر آنتی بیوتیک ها در حال افزایش بوده و توسعه گونه های مقاوم دارو که در اثر بروز مقاومت دارویی طی درمان آنتی بیوتیکی و نیز شیوع بیمارستانی سویه های چند مقاومتی ایجاد می شوند گرایشی به سمت نانوذرات بالاخص نانوذرات نقره به گرایشی جدید در میان محققان تبدیل شده است و نوید بخش درمان عفونت های ناشی از باکتری های مقاوم می باشد (۹).

وانگ و همکاران در سال ۲۰۰۷ اذعان داشتند که، نانوذرات فلزی نویدبخش داروهای ضد باکتریایی جدید موثر علیه باکتری های بیماری زای مقاوم هستند، به این دلیل که آن ها ویژگی های ضد باکتریایی خوبی را به نسبت ناحیه سطح زیاد به حجم شان نشان می دهند و ثابت کردند که نانوذرات نقره تأثیر و کارایی ضد میکروبی خوبی را نه تنها بر ضد باکتری ها، بلکه بر ضد ویروس ها، قارچ ها و انگل ها نشان داده اند (۱۰).

۳ روش انتشار دیسک، چاهک در آگار و ماکرودایلوژن جهت بررسی خواص ضد باکتریایی نانوذرات نقره با غلظت ۱۰۰۰ ppm بیشترین تاثیر بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا بود و بیشترین میانگین قطر هاله عدم رشد در این باکتری ۲۴ میلی متر و کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به باکتری کلبسیلا پنومونیه با قطر ۱۱ میلی متر بود. دقیق ترین تکنیک، روش ماکرودایلوژن بود البته این روش هم هزینه زیاد دارد و هم وقت زیادی را از کاربر می گیرد و متاسفانه خطرات استفاده از نانوذرات در مقیاس بالا را به عنوان تهدیدی برای محیط زیست و کاربران به همراه دارد. نتایج مربوط به نانوذره دی اکسید تیتانیوم نشان داد که، این نانو ذره هیچ گونه تاثیر قابل توجهی نه تنها بر روی ایزوله های بالینی بلکه بر روی سویه های استاندارد این باکتری ها نیز نداشت.

#### سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجو بوده و از مسئولین محترم آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان بالاخص سر کار خانم ها مهندس شاهسار و پارسافر و مسئول محترم آزمایشگاه سرکار خانم مهندس کریمی کمال تشکر و امتنان را داریم.

#### References

1. Chen D, Xi T, Bai J. Biological effect induced by nanosilver particles in vivo study. *Biomed Mater* 2007; 2: 126-8. doi: 10.1088/1748-6041/2/3/S08
2. Angulo P, Lindor K. Non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol Clin* 2002; 17: 186-190. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.02.016>
3. Duran N, Marcato PD, Alves OL, Desouza GIH, Esposito E. Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *J Nanobiotechnol* 2005; 3: 1-7. doi: 10.1186/1477-3155-3-8
4. Lai JCK, Lai MB, Edgley KL, Bhushan A, Dukhande VV, Daniel CK, et al. Titanium dioxide nanoparticles can exert effects on neutral cells, in chapter 8 bio materials and tissues. *Proce* 2007

کلوئیدی نانوذرات نقره مورد استفاده قرار گرفته است، ولی شرایط انتشار ماده (نانوذرات نقره) یکسان نمی باشد.

مطابق با جدول شماره ۴ در بین باسیل های گرم منفی جداسازی شده از عفونت های ادراری مقاوم به چندین آنتی بیوتیک دو باکتری پروتئوس ولگاریس و کلبسیلا پنومونیه بیشترین MIC و MBC را به ترتیب (۳۱۸ و ۳۴۳ μg/ml) و (۳۱۸ و ۳۴۳ μg/ml) را به خود اختصاص داده اند.

نتایج حاصله نشان داد که، تفاوت چشمگیری بین اثرات ضد باکتریایی نانوذرات نقره بر روی باکتری های مقاوم به چند دارو MDR و سویه های استاندارد این باکتری ها وجود دارد. چنین به نظر می رسد که مکانیسم های مقاومت در برابر داروها که به باکتری ها این توانایی را می دهد که از آنتی بیوتیک ها اجتناب و دوری کنند بر کارایی نانوذرات نقره تا حدودی تاثیر دارد (۱۱).

یافته های حاصل از این پژوهش نشان داد که، بالاترین عامل عفونت های ادراری و مقاومت در برابر آنتی بیوتیک ها در باکتری های خانواده انتروباکتریاسه نسبت به باکتری های خانواده سودوموناداسه بیشتر بود. در این پژوهش پس از اجرای

- Nanotechnol Con Trade 2007; 2:741-3. doi: 10.1186/1743-8977-11-13.
5. Blat GK, Shetty A, Hedge BMA. Study on the ASAP nano silver solution on patogenic bacteria and candida. *J India Acad Clin Med* 2009; 10: 7-15.
6. Ibanez J, Litter MI, Pizarro RA. Photocatalytic bactericidal of Tio<sub>2</sub> on *Enterobacter cloacae* comparative study with other gram negative bacteria. *J Photochem Photobiol* 2003; 157:81-05. doi: 10.1016/S1010-6030(03)00074-1
7. Lara HH, Ayalanunez NV, Ixtepanurrent LC, Rodriguez C. Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug resistant bacteria. *World J Microbiol Biotechnol* 2010; 26:615-21. doi.org/10.1007/s11274-009-0211-3
8. Rezaei ZS, Javedb A, Ghani MJ, Soufian S. Comparative study of

antimicrobial activities of TiO<sub>2</sub> And CdO Nanoparticles against the pathogenic strain Of Escherichia coli. Iranian J Pathol2010; 5:83-09.

9.Yoon KY, Byeon JH, Park JH, Hwang J. Susceptibility constants of Escherichia coli and Bacillus subtilis to silver and copper nanoparticles. Sci Total Environ2007;373: 572-05. doi:10.1016/j.scitotenv.2006.11.007

10. Ahari H, Peycan R, Dastmalchi F. Nanotechnology in medicine and veterinary

medicine. Tehran Jahad daneshgahi Branch Publication. 2008; P.15-25.

11.Wang J, Zhou G, Chen CH, Yu H, Wang T, Mad Y, et al. Acute toxicity and biodistribution of different size titanium dioxide particles in mice after oral administration. Toxicol Let 2007;168:176-85.doi:10.1016/j.toxlet.2006.12.001

12.Yasdoyleb H, Blascoc J, Redmondb G, Sheehana D. Oxidative stress and toxicity of Tio<sub>2</sub> Nanoparticles in Mytilus edulis. Aquat Toxicolo2010;100:178-86. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.12.084



## Effect of Silver and Titanium Dioxide Nanoparticles on Antibiotic Resistant Gram Negative Bacilli causing Urine Tract Infection

Porshabanannajafabady Z<sup>1</sup>, Doudi M<sup>2\*</sup>, Setorki M<sup>3</sup>

(Received: February 6, 2017

Accepted: June 19, 2017)

### Abstract

**Introduction:** Nowadays, antibiotic resistance is a major problem for the Iranian society. The aim of this research was to investigate the effects of silver and titanium dioxide nanoparticles on gram-negative bacteria causing urinary infections resistant to multiple antibiotics.

**Materials & Methods:** This study was conducted on gram-negative bacilli from multitude of species strains, including *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Citrobacter freundii*. A total of 140 samples (i.e., 20 samples from each) were selected through a variety of biochemical tests to isolate and identify the bacteria. The samples were all the primarily cause of urinary tract infections and resistant to multiple antibiotics. The sensitivity of silver and titanium dioxide nanoparticles with the size of 10 nm were assessed through in vitro methods, such as disk diffusion, agar-well diffusion, and broth microdilution.

**Finding:** The results of agar-well diffusion and agar disk diffusion methods on silver nanoparticles with the concentration of 1000 ppm indicated that the largest and lowest values for the diameter of growth were in *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumonia*, respectively. Moreover, macro dilution analysis of silver nanoparticles revealed that the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration were at their lowest levels in the *Pseudomonas aeruginosa*. However, titanium dioxide nanoparticles, similar in size and shape to silver nanoparticles, had no effect on bacteria.

**Discussion & Conclusions:** Regarding two metal types of nanoparticles, the obtained results of in vitro revealed that silver nanoparticles could significantly affect the investigated types of bacteria, whereas, titanium dioxide nanoparticles had no effect on them.

**Keywords:** Silver and titanium nanoparticles, Gram negative bacteria, Urinary tract infection, MIC, MBC

1. Dept of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Falavarjan, Isfahan, Iran

2. Dept of Biology, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, Iran

Corresponding author Email: monirdoudi@yahoo.com