Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Synergistic Effect of Silver Nanoparticles and Streptomycin Antibiotic on the MexX Gene Expression of Pump Efflux System in Drug-Resistant Pseudomonas aeruginosa Strains

Ali Mohammad[1], Farahnaz Molavi[1*], Samaneh Dolatabadi[2]

1. Dept of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran
2. Dept of Biology, Neyshbour Branch, Islamic Azad University, Neyshbour, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: 04 September 2021
Revised: 17 May 2021
Accepted: 01 December 2021
Published Online: 28 May 2022

**** Correspondence to:***
Farahnaz Molavi
Dept of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.
Email: Farahmolavi@gmail.com

A B S T R A C T

Introduction: Pseudomonas aeruginosa is one of the most important infectious agents in humans, which is difficult to control in hospitals due to its resistance to various antibiotics. Efflux pump systems play an important role in the drug resistance of this bacterium to a variety of antibiotics. This study aimed to determine the antimicrobial synergistic effect of silver nanoparticles and the antibiotic streptomycin on the MexX gene expression.

Material & Methods: In this cross-sectional descriptive study, 49 samples were collected from 11 medical diagnostic laboratories in Mashhad from 1398 to 1399. After the treatment of multidrug-resistant bacteria with inhibitors, the microdilution method and Real Time-PCR technique were used to determine the effective dilution of silver nanoparticles and probiotics on the expression of the MexX gene of the bacterium.
(Ethic code: IR.IAU.MSHD.REC.1400.018)

Findings: All 49 collected samples of Pseudomonas aeruginosa were identified. All strains had the MexX gene, and all were resistant to more than two antibiotics. The minimum inhibitory concentration (MIC) results and expression of the MexX gene showed that the MIC in the agar dilution method for silver nanoparticles was up to 500 µg/ml. Evaluation of the synergistic effect of silver nanoparticles with streptomycin antibiotic showed that plates containing streptomycin antibiotic disk with silver nanoparticles with the dilution of 250 µg/ml caused a growth inhibition zone according to the CLSI standard. Silver nanoparticles with streptomycin synergy had a greater effect in inhibiting bacterial growth, and this effect was greater than that of silver nanoparticles ($P>0.05$).

Discussion & Conclusion: Silver and streptomycin have inhibitory and antibacterial activity to reduce the function of the MexXY-OprM efflux pump in Pseudomonas aeruginosa ($P>0.05$).

Keywords: Iran, MexXY-OprM, Multidrug resistance, Nanomaterials, Pseudomonas

➢ **How to cite this paper**

Mohammad A, Molavi F, Dolatabadi S. Synergistic Effect of Silver Nanoparticles and Streptomycin Antibiotic on the MexX Gene Expression of Pump Efflux System in Drug-Resistant Pseudomonas aeruginosa Strains. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2022;30(2): 41-50.

© The Author(s)

Publisher: Ilam University of Medical Sciences

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.2.5.6]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.2.41]

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام
JIUMS
P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸
E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

بررسی اثر هم‌افزایی نانوذرات نقره و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین بر بیان ژن جزء MexX دستگاه افلاکس پمپ در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای مقاوم به دارو

علی محمد[۱]، فرحناز مولوی[۱*]، سمانه دولت‌آبادی[۲]

۱ گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
۲ گروه زیست‌شناسی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۱۳
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۰۸/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۰
تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۰۳/۰۷

نویسنده مسئول:
فرحناز مولوی
گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
Email:
Farahmolavi@gmail.com

چکیده

مقدمه: سودوموناس آئروژینوزا یکی از عوامل مهم عفونت‌زا در انسان است که به‌سبب مقاوم شدن به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها، کنترل عفونت ناشی از آن در بیمارستان‌ها دشوار است. سامانه‌های پمپ افلاکس نقش مهمی در مقاومت دارویی این باکتری به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها دارند. هدف این مطالعه، تعیین اثر هم‌افزایی ضدمیکروبی نانوذرات نقره و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین روی بیان ژن MexX است.

مواد و روش ها: در این مطالعهٔ مقطعی– توصیفی، ۴۹ نمونه از ۱۱ آزمایشگاه تشخیص طبی مشهد طی سال‌های ۱۳۹۹–۱۳۹۸ جمع‌آوری شد. پس از تیماردهی باکتری‌های دارای مقاومت چندداروییی با مواد مهارکننده، از روش میکرودایلوشن و فن Real time-PCR به‌ترتیب برای تعیین رقت اثربخش نانوذرات نقره و پروبیوتیک بر بیان ژن MexX باکتری مولد آن استفاده گردید.

یافته‌ها: همهٔ ۴۹ نمونهٔ جمع‌آوری‌شدهٔ سودوموناس آئروژینوزا تأیید هویت شدند. همهٔ سویه‌ها ژن MexX داشتند و همهٔ آن‌ها به بیش از دو آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. نتایج MIC و بیان ژن MexX نشان داد که کمینهٔ غلظت بازدارندگی در روش رقت در آگار برای نانوذرات نقره تا رقت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. ارزیابی اثر هم‌افزایی نانوذرات نقره به همراه آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین نشان داد که پلیت‌های حاوی دیسک آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین به همراه نانوذرات نقره با رقت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر سبب ایجاد هالهٔ عدم رشد مطابق با استاندارد CLSI می‌شود. نانوذرات نقره با هم‌افزایی استرپتومایسین تأثیر بیشتری در مهار رشد باکتری داشت و میزان این تأثیر نسبت به اثر نانوذرات نقره بیشتر است ($P>0.05$)

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که نانوذرات نقره و استرپتومایسین فعالیت مهاری و آنتی‌باکتریال برای کاهش عملکرد پمپ افلاکس MexXY-OprM در باکتری سودوموناس آئروژینوزا دارند ($P>0.05$).

واژه‌های کلیدی: MexXY-OprM، سودوموناس، مقاومت چندداروییی، نانومواد، ایران

استناد: محمد، علی؛ مولوی، فرحناز؛ دولت آبادی، سمانه. بررسی اثر هم‌افزایی نانوذرات نقره و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین بر بیان ژن جزء MexX دستگاه افلاکس پمپ در سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای مقاوم به دارو. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، تیر ۱۴۰۱؛۳۰(۲): ۵۰-۴۱.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.2.5.6]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.2.41]

حق‌مؤلف © نویسندگان

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.2.5.6]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.2.41]

مقدمه

سودوموناس آئروژینوزا یک باکتری گرم منفی بیماری‌زا و فرصت‌طلب است که موفقیت کامل برای مهار عفونت آن به‌دست نیامده است (۱). این باکتری یکی از عوامل مهم ایجاد عفونت‌های بیمارستانی است و به‌ویژه در بخش مراقبت‌های ویژه، مشکلات فراوانی را به بار می‌آورد و همچنین عامل عفونت مزمن تنفسی و علت اصلی مرگ‌ومیر بیماران دارای سیستیک فیبروزیس (CF) است (۲).

مقاومت این باکتری به گروه‌های آنتی‌بیوتیکی مختلف مانند آمینوگلوکوزیدها، کینولون‌ها و بتالاکتام‌ها، درمان آنتی‌بیوتیکی را با شکست مواجه می‌کند (۳). مطالعات نشان می‌دهد که مصرف آنتی‌بیوتیک‌های رایج قادر به کنترل عفونت این باکتری نیستند (۵-۳). سودوموناس آئروژینوزا با سازوکارهای متفاوتی مقاومت به ترکیبات ضدباکتریایی را نشان می‌دهد و سامانه‌های پمپ افلاکس یکی از مهم‌ترین سازوکارهای کسب مقاومت ذاتی این باکتری به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها است (۷، ۶). سودوموناس آئروژینوزا توانایی بیان ۱۲ نوع مختلف پمپ تراوشی مقاومت چندداروییی با نام‌های Mex-Type Multidrug Resistance Efflux Pump را دارد که پنج پمپ MexAB-oprM، MexXY- oprM، MexCD-oprT، MexEF-oprN و MexJK-oprM فراوان‌تر از بقیه هستند (۸) و پمپ MexXY- oprM یکی از پمپ‌های مهمی است که مسئول خارج کردن آنتی‌بیوتیک‌های گروه آمینوگلوکوزیدها در باکتری سودوموناس آئروژینوزا است.

در حال حاضر، آنتی‌بیوتیک‌ها پرکاربردترین داروی ضدمیکروبی برای کنترل عفونت‌های باکتریایی هستند (۹)؛ اما گسترش روزافزون مقاومت ذاتی باکتری‌ها به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها مشکل جدی ایجاد کرده است (۱۰)؛ به این سبب، در تحقیقات اخیر مطالعات به‌سوی شناسایی مواد غیرآنتی‌بیوتیکی مانند نانومواد رفته است تا بتوان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را کاهش داد (۱۱، ۱۰). نانوذرات مدت‌هاست که برای کاهش عفونت‌های میکروبی پوست و زخم‌های پوستی استفاده می‌شود. فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات در برابر باکتری‌ها با دو سازوکار اتفاق می‌افتد: ۱. نانوذرات با اتصال به غشای باکتری در نفوذپذیری غشا و فرایند تنفس اختلال ایجاد می‌کنند؛ ۲. نانوذرات می‌توانند به درون باکتری نفوذ کنند و با ترکیبات دارای گوگرد و فسفر واکنش دهند (۱۲).

استرپتومایسین یک آنتی‌بیوتیک آمینوگلیکوزیدی است که مانند سایر داروهای این گروه، با عبور فعال از غشای باکتری مانع بیوسنتز پروتئین توسط ریبوزوم‌ها می‌شود. این آنتی‌بیوتیک‌ها وسیع‌الطیف هستند و به‌ویژه بر باکتری‌های گرم منفی مؤثرند؛ اما امروزه، به‌سبب عوارض جانبی کاربردشان محدودشده است و برای درمان عفونت‌های شدیدی استفاده می‌شود که نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های دیگر مقاوم باشند. در این تحقیق، اثر هم‌افزایی نانوذرات نقره با استرپتومایسین بررسی شد تا اثر هم‌افزایی آن‌ها بر بیان ژن MexX تعیین گردد که یکی از اجزای مهم عوامل مقاومت در سودوموناس آئروژینوزا است.

مواد و روش ها

شناسایی سویه‌های سودوموناس آئروژینوزا: این مطالعه به‌صورت توصیفی-مقطعی، در ارتباط با ۴۹ سویهٔ سودوموناس آئروژینوزای جمع‌آوری‌شده از آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شهر مشهد طی سال‌های ۱۳۹۹-۱۳۹۸ صورت گرفت. به‌منظور تأیید شناسایی سویه‌های بررسی‌شده از رنگ‌آمیزی گرم، بررسی ظاهر کلنی از نظر موکوئیدی یا صاف بودن، از آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی شامل کشت روی محیط‌های افتراقی سیمون سیترات آگار، TSI (Triple Sugar Iron)، EMB (Eosin Methylene Blue)، SIM (Sulfide Indole Motility) و آزمون‌های اکسیداز و کاتالاز استفاده گردید (همهٔ محیط‌های کشت از شرکت پارس پیوند خریداری شد) (۱۳). سویه ها در محیط

کشت تجاری LB Broth دارای ۲۰ درصد گلیسرول، در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. سویهٔ استاندارد این تحقیق ATCC27853 Pseudomonas aeruginosa بود که به‌صورت لیوفیلیزه خریداری شد (۱۴). گفتنی است که پژوهش حاضر مطابق با دستورالعمل کمیتهٔ اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، با کد اخلاق IR.IAU.MSHD.REC.1400.018 انجام‌شده است.

آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی: حساسیت سویه‌های باکتری بررسی‌شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها با استفاده از روش Kirby-Bauer مطابق با استانداردهای CLSI بررسی گردید (۱۵). دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی به فاصلهٔ ۳ میلی‌متر از لبهٔ پلیت و ۵ میلی‌متر نسبت به یکدیگر قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوبه کردن در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، قطر هالهٔ عدم رشد اندازه‌گیری گردید و میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها با روش CLSI 2018 به‌دست آمد (۱۵). دیسک‌های آنتی‌بیوتیک استفاده‌شده در این تحقیق از شرکت پادتن طب تهیه شد و شامل جنتامایسین (۱۰ µg)، کلیندامایسین (۱۰ µg)، ایمی‌پنم (۱۰ µg)، تتراسایکلین (۳۰ µg)، سفتازیدیم (۳۰ µg)، کلرامفنیکل (۳۰ µg)، سفازولین (۳۰ µg)، اریترومایسین (۱۵ µg)، استرپتومایسین (۱۰ µg) و سولفامتوکسازول (۱۰ µg) بود. در این مرحله، سویه‌هایی که به بیش از یک آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند، به‌عنوان سویه‌های دارای مقاومت چنددارویی (مقاومت چنددارویی حالتی است که در آن باکتری به بیش از یک ترکیب مقاومت نشان می‌دهد) شناسایی و از آن‌ها برای ادامه کار استفاده شد.

استخراج DNA و شناسایی ژن MexX پمپ افلاکس توسط فن PCR: برای شناسایی ژن MexX پمپ افلاکس در سویه‌های دارای مقاومت چنددارویی، استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA (Qiagen, Hilden, Geermany) و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. پرایمرها با استفاده از نرم‌افزارهای Gene Runner vol.6.5.50 طراحی گردیدند و توسط روش BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov) تأیید شدند (جدول شمارهٔ ۱). واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲ میکرولیتر (ایران، سیناکلون) PCR master mix 5X دارای ۵ U/µl Taq DNA polymerase، ۲/۵Mm ،3MgCl2 ۲/۵ mM از dNTPs، ۱ میکرولیتر از هریک از پرایمرها، ۵ میکرولیتر از DNA الگو و ۶ میکرولیتر آب دو بار تقطیر استریل با استفاده از گرادیانت ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) با برنامهٔ دمایی ۱ سیکل دناتوراسیون ابتدایی شامل ۹۴ درجهٔ سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه، واسرشته شدن ۹۴ درجهٔ سلسیوس ۳۰ ثانیه، مرحلهٔ اتصال پرایمر ۵۸ درجهٔ به مدت ۳۰ ثانیه، مرحلهٔ طویل شدن ۷۲ درجهٔ سلسیوس برای ۳۰ ثانیه و یک مرحلهٔ بسط نهایی ۷۲ درجهٔ سلسیوس برای ۱۰ دقیقه صورت گرفت. پس از انجام PCR، محصولات روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شدند. پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، از باندهای به‌دست‌آمده عکس‌برداری گردید. در این واکنش از آب به‌عنوان کنترل منفی و از باکتری دارای ژن MexX به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد (۱۶).

تهیهٔ سوسپانسیون نانوذرات نقره: پودر نانوذرات نقره (برند ARMINANO) از شرکت مهندسی پایدار ابتکار آرمینا خریداری گردید و سری رقت نانوذرات نقره با روش رقت‌سازی سریال با رقت‌های ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ تهیه شد. بر اساس روش استاندارد کمیتهٔ ملی استانداردهای آزمایشگاه

جدول شمارهٔ ۱. پرایمرهای استفاده‌شده در Real- Time PCR و PCR

ژن	توالی نوکلئوتیدی	Tm(درجهٔ سانتی‌گراد)	اندازهٔ محصول (bp)
MexX	CTCTACCCCATCTACGTC ،F GTCGTCACGTCGACACCC ،R	۵۵/۷۰ ۵۵/۳۲	۳۰۰
16S rRNA	F:CCAACCCTTTTCCTTACTTGC R: CATCAACTTCACCTTCACGC	۵۵/۳ ۵۵/۳	۱۱۹

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.2.5.6]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.2.41]

جدول شمارهٔ ۲. مشخصات ترموسایکلر در Real-Time PCR

No.	Step	Temprature(0C)	Time
۱	واسرشت اولیه Initial denaturation	۹۵	۶۰ ثانیه
۲	واسرشت: Denaturation	۹۵	۳۰ ثانیه
۳	اتصال: Annealing	۵۹	۴۰ ثانیه
۴	گسترش: Extention	۷۲	۱ دقیقه
۵	Final extention	۷۲	۷ دقیقه
Cycle(2-4)	۳۰		

بالینی(CLSI)، تعیین اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره با روش رقت در براث صورت گرفت تا MIC (کمینهٔ غلظت مهارکنندگی) و MBC (کمینهٔ غلظت کشندگی) به‌دست آید.

اثر هم‌افزایی نانوذرات نقره با استرپتومایسین، با آغشته کردن دیسک آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین (۱۰ میکروگرم) با بیشترین غلظت نانوذره انجام شد که اثر مهارکنندگی نداشت.

استخراج RNA: پس از تیمار کردن سویه‌ها با نانوذرات نقره (رقت پس از MIC) و هم‌افزایی نانوذرات نقره و استرپتومایسین، استخراج RNA با استفاده از کیت Total RNA Extraction mini Kit (یکتا تجهیز آزما، ایران) انجام گردید. پس از استخراج RNA، برای اطمینان از درستی استخراج، RNA به‌دست‌آمده توسط دستگاه نانودراپ با روش جذب نوری ۲۳۰/۲۶۰ و ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر ارزیابی شد. اگر نسبت به‌دست‌آمده بین ۱/۸ تا ۲ باشد، مولکول کیفیت لازم برای ادامه کار را دارد. RNA استخراج‌شده در دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس نگهداری گردید (۱۷).

ساخت cDNA سنتز cDNA با استفاده از کیت cDNA Synthesis Kit (یکتا تجهیز آزما، تهران) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. در این روش پس از انکوبه کردن RNA استخراج‌شده به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد، فرایند نسخه‌برداری معکوس صورت گرفت. این فرایند با ۲ میکرولیتر Random Primer، ۰/۸ میکرولیتر از آنزیم AMV Reverse Transcriptase، ۲ میکرولیتر از 10mM Dntp، یک میکرولیتر RNasin® Ribonuclease Inhibitor و دو میکرولیتر AMV Reverse Transcriptase 5X Reaction Buffer، در دمای ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد به طول ۶۰ دقیقه انجام شد و درنهایت، ۱۰ دقیقه در ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد (برای غیرفعال کردن آنزیم RT) در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفت.

سنجش بیان ژن توسط فن Real-Time PCR: واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۰ میکرولیتر با استفاده از کیت Genet کره جنوبی، با ترکیب ۱۰ میکرولیتر Prime Qmaster mix (2x) همراه syber green، ۵ میکرولیتر از Depc water، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۱ میکرولیتر از Rox dye و ۲ میکرولیتر از cDNA انجام شد. تکثیر، مطابق جدول شمارهٔ ۲ در ۳۰ چرخه انجام گردید (۱۸). از ژن خانگی 16s rRNA به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد. تحلیل داده‌ها در نمونه‌های تیمارشده و کنترل با کمک معادلهٔ داده‌ها و رسم نمودارهای نرم‌افزار LightCycler Relative Quantification صورت گرفت. درنهایت، داده‌های مربوط به تغییر بیان ژن MexX با روش 2-ΔΔCT با فرض کارایی ۱۰۰ درصد و با استفاده از آزمون آماری تی مستقل در سه گروه تحلیل گردید.

یافته ها

تشخیص سویه‌ها: ۱۰۰ درصد سویه‌ها با روش آزمون‌های تشخیصی و تأییدی میکروبیولوژی و بیوشیمیایی به‌عنوان باکتری سودوموناس آئروژینوزا تأیید شدند.

نتایج آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی: قطر هاله‌های

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-25]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.2.5.6]

[DOI: 10.52547/sjimu.30.2.41]

جدول شمارهٔ ۳. نتایج آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌ها

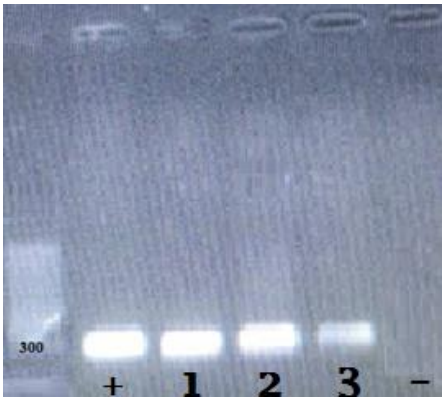
دیسک آنتی‌بیوتیک	حساس (درصد)	نیمه‌حساس (درصد)	مقاوم (درصد)
آموکسی‌سیلین-کلاونیک اسید (۳۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۹ (۱۰۰)
جنتامایسین (GM10)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۹ (۱۰۰)
کلیندامایسین (CC2)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۹ (۱۰۰)
ایمی‌پنم (IMp10)	۱۳ (۲۶/۵۳)	۹ (۱۸/۳۶)	۱۷ (۳۴/۶۹)
تتراسایکلین (TE30)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۹ (۱۰۰)
سفتازیدیم (CAZ30)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۹ (۱۰۰)
کلرامفنیکل (CH30)	۳۱ (۶۳/۲۶)	۷ (۱۴/۲۸)	۱۱ (۲۲/۴۴)
سفازولین (CZ30)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۹ (۱۰۰)
اریترومایسین (E15)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۹ (۱۰۰)
سولفامتوکسازول (SXI)	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۹ (۱۰۰)
استرپتومایسین	۰ (۰)	۰ (۰)	۴۹ (۱۰۰)

ایجادشده در اطراف دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سویه‌های مدنظر با کولیس اندازه‌گیری گردید و میزان حساسیت باکتری نسبت به آنتی بیوتیک‌ها با توجه به استاندارد CLSL تعیین شد و نتایج به‌صورت حساس (S)، نیمه‌حساس (IM) و مقاوم (R) ارائه گردید (جدول شمارهٔ ۳). در این بررسی، همهٔ سویه‌ها مقاومت به بیش از دو آنتی‌بیوتیک داشتند؛ بنابراین، همهٔ سویه‌ها برای ادامه کار استفاده شدند.

نتایج تکثیر ژن با روش PCR: واکنش PCR روی سویه‌های دارای مقاومت چنددارویی سودوموناس آئروژینوزای جمع‌آوری‌شده اجرا گردید. تکثیر ژن پمپ افلاکس MexX در سویه‌های باکتری، وجود باند bp۳۰۰ در ژل الکتروفورز را نشان داد. سویه‌های دارندهٔ ژن مدنظر به‌عنوان کنترل مثبت (شکل شمارهٔ ۱) در نظر گرفته شدند. نتایج ارزیابی مولکولی سویه‌ها نشان داد که همهٔ نمونه‌های با مقاومت چنددارویی، ژن MexX داشتند.

نتایج آزمون MIC: نتایج بررسیMIC یا کمینهٔ غلظت مهار رشد سویه‌های باکتری نشان داد که بهترین غلظت مهارکنندگی برای نانوذرات نقره ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر است.

ارزیابی بیان ژن MexX پس از تیمار با نانوذرات نقره و هم‌افزایی استرپتومایسین و نانوذرات نقره: به این منظور،

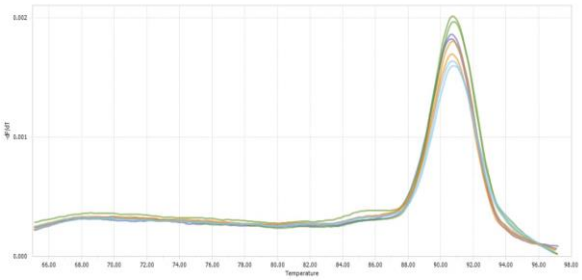


شکل شمارهٔ ۱. نتایج الکتروفورز حاصل تکثیر ژن MexX (از چپ به راست: مارکر، نمونه‌های مثبت حاوی ژن MexX، کنترل مثبت، کنترل منفی). طول قطعهٔ مدنظر ۳۰۰ جفت باز است.

بیان ژن در سه گروه سلولی تیمارشده با نانوذرات نقره، تیمارشده با اثر هم‌افزایی نانوذرات نقره و استرپتومایسین و تیمارنشده با استفاده از آنالیز منحنی ذوب (Melting curve analysis) و منحنی تکثیر با سه بار تکرار ارزیابی گردید.

در منحنی تکثیر دستگاه Real time PCR، نمونه‌های باکتری پیش و پس از تیمار با نانوذرات نقره و نانوذرات نقره-استرپتومایسین و ژن کنترل داخلی بررسی‌شده با رنگ‌های مختلف نشان داده شده‌اند. همان‌طور که در شکل شمارهٔ ۲ و ۳ مشاهده می‌شود، ژن‌هایی که بیان بیشتری داشتند، دارای Ct کمتر بودند و در منحنی، زودتر وارد فاز Exponential شده‌اند و نمونه‌های باکتری پس از تیمار با نانوذرات نقره و نانوذرات نقره- استرپتومایسین بیان کمتر ژن

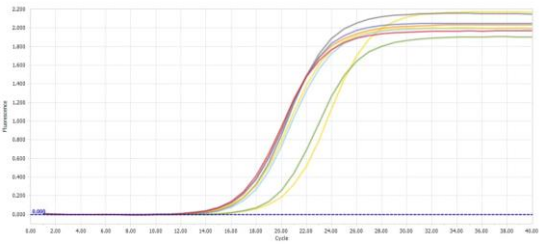
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.2.5.6]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.2.41]



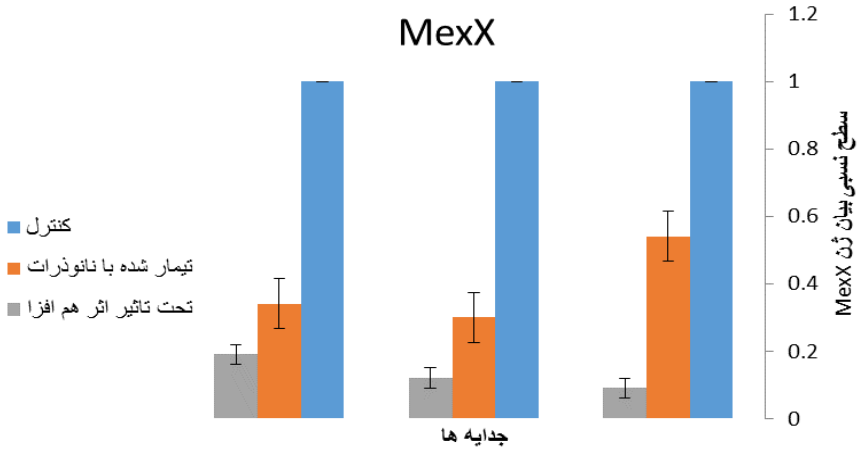
شکل شمارهٔ ۲. آنالیز منحنی ذوب (Melting curve) برای اطمینان از اختصاصی بودن قطعه‌های تکثیرشدهٔ ژن که منحنی ژن سنجیده‌شده در همهٔ نمونه‌ها باهم منطبق و به‌صورت یک قله است.

و Ct بیشتری داشتند.

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از سنجش بیان ژن (Pvalue)، اختلاف آماری معنادار در بیان ژن در میان ۳ گروه وجود داشت. کمترین میزان بیان ژن در گروهی دیده شد که با نانوذرات و آنتی‌بیوتیک تیمارشده بودند. گروه تیمارشده با نانوذرات به‌تنهایی کاهش معناداری در بیان ژن MexX داشت؛ اما نسبت به تیمار هم‌افزایی نانوذرات نقره و استرپتومایسین تأثیر کمتری را نشان می‌دهد (شکل شمارهٔ ۴).



شکل شمارهٔ ۳. نتایج منحنی تکثیر محصول در Real time PCR برحسب سیکل



شکل شمارهٔ ٤. نمودار مقایسهٔ بیان ژن MexX در نمونه‌های کنترل و نمونه‌های تیمارشده با نانوذرات نقره و هم‌افزایی نانوذرات نقره و استرپتومایسین در سه تکرار. تفاوت معناداری در همهٔ گروه‌های تیمار در سطح $P>0.05$ مشاهده شد. از ژن رفرنس ۱۶sRNA برای نرمال‌سازی نتایج استفاده گردید.

بحث و نتیجه‌گیری

سودوموناس آئروژینوزا سومین عامل مهم باکتریایی مسبب عفونت‌های انسانی پس از استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی است (۵). این باکتری فرصت‌طلب گرم منفی به‌سبب ایجاد عفونت‌های شدید، مرگ‌ومیر گسترده‌ای را در بیماران دارای ضعف دستگاه ایمنی و بیماران سیستیک فیبروزیس (CF) به‌وجود می‌آورد (۱۹، ۲۰). سودوموناس آئروژینوزا قابلیت بسیار بالایی برای بقا در طبیعت دارد و در بیشتر محیط‌های دارای رطوبت حتی آب مقطر نیز زندگی می‌کند (۲۱). با وجود پیشرفت‌هایی که در زمینهٔ تهیهٔ آنتی‌بیوتیک‌های ضدباکتریایی به‌دست‌آمده است، هنوز دوز مصرف‌شدهٔ آنتی‌بیوتیک‌ها برای از بین بردن عفونت‌های باکتریایی بسیار زیاد است (۲۲). دربارهٔ باکتری سودوموناس آئروژینوزا، نتیجهٔ تحقیقات نشان می‌دهد که مقاومت‌های چندداروییِ در این باکتری گسترش فراوانی داشته است و در بیشتر موارد، درمان آنتی‌بیوتیکی را با شکست مواجه می‌کند (۲۳) و مطالعهٔ حاضر نیز مقاومت چندداروییِ نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها در همهٔ سویه‌های آزمایش‌شده را تأیید می‌کند.

همه‌سویه‌های بررسی‌شده در این پژوهش که از آزمایشگاه‌های سطح شهر مشهد جمع‌آوری‌شده بودند، به بیش از دو آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند و مقاومت

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.2.5.6]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.2.41]

چندداروییی داشتند. در سال‌های اخیر، گسترش ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای مقاوم به چند دارو (MDR) در سراسر جهان افزایش داشته است (۲۴). مقاومت این باکتری اغلب نسبت به گروه‌های آنتی‌بیوتیکی مختلف مانند آمینوگلوکوزیدها، کینولون‌ها و بتالاکتام‌ها است (۲۵). درصد مقاومت چندداروییی در مطالعهٔ حاضر حدود چهار برابر میزان گزارش‌شده در مطالعهٔ مشابه در سال ۲۰۰۱ است (۲۶). مهم‌ترین علت افزایش مقاومت در باکتری‌ها استفادهٔ بیش‌ازاندازه از آنتی‌بیوتیک‌هاست (۲۴)؛ به همین علت در سال‌های اخیر، مطالعات بسیاری دربارهٔ شناسایی مواد ضدباکتریایی غیرآنتی‌بیوتیکی انجام‌شده است تا بتوان با استفاده از آن‌ها مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را کاهش داد. نانوذرات یکی از گزینه‌های مطرح در این مطالعات است که خاصیت ضدمیکروبی آن پیش‌تر به اثبات رسیده است. مطالعات گذشته نشان داده است که نانوذرات فلزی مانند اکسید نقره به علت داشتن توان ضدمیکروبی می‌توانند به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها بررسی شوند (۲۹، ۲۸، ۲۷). نتایج بررسی حاضر، توانایی ضدمیکروبی نانوذرات نقره را تأیید می‌کند و این نتیجه همسو با نتایجی است که نشان می‌دهد نانوذرات نقره یکی از مؤثرترین ترکیبات برای کنترل رشد باکتری‌ها است (۳۰، ۲۹، ۲۸). دربارهٔ تأثیر نانوذرات بر بیان ژن‌های پمپ افلاکس سودوموناس آئروژینوزا مطالعات متعددی وجود دارد که اثر نانوذرات نقره بر بیان ژن‌های پمپ افلاکس را تأیید می‌کند. نانوذرات دیگر مانند روی و اکسید روی نیز می‌توانند مانع رشد سودوموناس آئروژینوزا باشند (۳۳، ۳۲، ۳۱). نانوذرات آهن نیز با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌توانند نقش مهارکنندگی بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا داشته باشند (۳۴).

مطالعهٔ پیش‌رو اثر هم‌افزایی آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و نانوذرات نقره را اثبات می‌کند. همسو با آن، مطالعات فراوانی وجود دارد که آثار هم‌افزایی نانوذرات و آنتی‌بیوتیک‌ها روی باکتری‌های مختلف را اثبات می‌نماید. باکتری‌های مختلف، چه گرم مثبت و چه گرم منفی، تحت تأثیر این آثار هم‌افزا قرار می‌گیرند، البته این اثر روی باکتری‌های گرم منفی بیشتر است (۳۷، ۳۶، ۳۵). مطالعات گذشته اثر هم‌افزایی ضدباکتریایی ترکیب نانوذرهٔ نقره و آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین، اریترومایسین، کانامایسین و کلرامفنیکل را تأیید می‌کند (۳۸). نانوذرات اکسید روی (ZnO)یکی دیگر از نانوذراتی است که اثر هم‌افزایی آن با آنتی‌بیوتیک علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی گزارش‌شده است (۴۰، ۳۹). در بیشتر مطالعات، آثار ضدباکتریایی نانوذرات فلزی در باکتری‌های گرم منفی بیشتر از باکتری‌های گرم مثبت بوده است (۳۱).

دربارهٔ تقابل نانوذرات با پمپ‌های افلاکس تحقیقاتی در گذشته انجام شده است. در سودوموناس آئروژینوزا سامانه‌های پمپ افلاکس غشایی نقش مهمی در کسب مقاومت ذاتی این باکتری به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها دارند (۴۱). سودوموناس آئروژینوزا توانایی بیان دوازده نوع پمپ تراوشی مسبب مقاومت چندداروییی با عنوان Mex-Type Multidrug Resistance Efflux Pump را دارد که پمپ MexXY- OprM یکی از مهم‌ترین آن‌هاست (۴۲). در مطالعهٔ حاضر، نانوذرات نقره به‌تنهایی یا با همراهی استرپتومایسین توانستند که بیان ژن MexX را کاهش دهند. این نتیجه برخلاف مطالعهٔ شریف و امینی در سال ۲۰۱۹ است که نشان دادند هم‌افزایی نانوذرات اکسید آهن و پروبیوتیک بیفیدیوباکتریوم بیفیدیوم نسبت به ایزوله‌های کنترل تغییر بیان ژن MexA را ایجاد نمی‌کنند (۴۳).

با توجه به اینکه ژن‌های افلاکس MexXY-OprM به‌صورت کروموزومی در نمونه‌های سودوموناس آئروژینوزا وجود دارند و سویه‌های دارای مقاومت چندداروییی حامل اجزای ژنی این سامانه یعنی MexX هستند، شاید این ژن بتواند به‌عنوان وسیلهٔ تشخیصی در شناسایی مولکولی سودوموناس آئروژینوزای مقاوم به دارو استفاده شود؛ همچنین با توجه به معناداری اثر نانوذرات نقره و استرپتومایسین بر بیان ژن MexX ($P>0.05$) می‌توان ترکیب نانوذرات نقره با استرپتومایسین را برای کنترل عفونت ناشی از این باکتری آزمود تا شاید با این هم‌افزایی،

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.2.5.6]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.2.41]

میزان دوز مصرفی آنتی‌بیوتیک‌ها را بتوان کاهش داد.

تشکر و قدردانی

این مطالعهٔ حاصل بخشی از پایان‌نامهٔ شمارهٔ ۱۶۱۵۹۵ برای اخذ درجهٔ کارشناسی ارشد در رشتهٔ زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، از دانشکدهٔ علوم پایهٔ دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد بود. بدین‌وسیله از سرکار خانم بهاره سرگزی که در همهٔ مراحل اجرای پایان‌نامه مشاور طرح بوده‌اند و سرکار خانم فائزه غلامی بهار و آقای علی قرایی و همهٔ کارشناسان محترم آزمایشگاه گروه زیست‌شناسی به‌سبب همکاری در همهٔ مراحل سپاس‌گزاری می‌گردد.

کد اخلاق: IR.IAU.MSHD.REC.1400.018

References

1. Grosjean M, Guenard S, Giraud C, Muller C, Plesiat P and Juarez P. Targeted genome reduction of Pseudomonas aeruginosa strain PAO1 Led to the development of hypovirulent and hypersusceptible rDNA hosts. Front Bioeng Biotechnol 2021; 9: 640-50. doi: 10.3389/fbioe.2021.640450 .
2. Grainha T, Jorge P, Alves D, Lopes SP, Pereira MO. Unraveling pseudomonas aeruginosa and Candida albicans communication in coinfection scenarios: insights through network analysis. Front Cell Infect Microbiolog 2020; 10: 550-9. doi: 10.3390/microorganisms9020412.
3. Behzadi P, Barath Z, Gajdacs M. It's not easy being green: A narrative review on the microbiology, virulence and therapeutic prospects of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa. Antibiotics 2021; 10: 42-53. doi: 10.3390/ antibiotics10010042.
4. Broniewski JM, Chisnall MA, Høyland-Kroghsbo NM, Buckling A, Westra ER. The effect of Quorum sensing inhibitors on the evolution of CRISPR-based phage immunity in Pseudomonas aeruginosa. ISME J 2021; 10:1-9. doi: 10.1038/s41396-021-00946-6.
5. Rossi E, La Rosa R, Bartell JA, Marvig RL, Haagensen JA, Sommer LM, et al. Pseudomonas aeruginosa adaptation and evolution in patients with cystic fibrosis. Nat Rev Microbiol 2021; 19: 331-42. 10. doi: 10.3390/antibiotics11030419.
6. Li R, Peng K, Xiao X, Liu Y, Peng D, Wang Z. Emergence of a multidrug resistance efflux pump with carbapenem resistance gene blaVIM-2 in a Pseudomonas putida megaplasmid of migratory bird origin. J Antimicrob Chemother. 2021; 76:1455-1458. doi: 10.1093/jac/dkab044.
7. Fabre L, Ntreh AT, Yazidi A, Leus IV, Weeks JW, Bhattacharyya S, et al. A "Drug Sweeping" State of the TriABC Triclosan Efflux Pump from Pseudomonas aeruginosa. Structure 2021; 29:261-274.e6. doi: 10.1016/j.str.2020.09.001.
8. Zahedani SS, Tahmasebi H, Jahantigh M. Coexistence of virulence factors and efflux pump genes in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa: Analysis of Biofilm-Forming strains from Iran. Int J Microbiol 2021; 5557361. doi: 10.1155/2021/5557361
9. Seupt A, Schniederjans M, Tomasch J, Häussler S. Expression of the MexXY aminoglycoside efflux pump and presence of an aminoglycoside-modifying enzyme in clinical Pseudomonas aeruginosa isolates are highly correlated. Antimicrob agent chemother 2020; 12: e01166-20. doi: 10.1128/AAC.01166-20.
10. Albadiri V, Molavi F, Tehranipoor M. The effect of silver nanoparticles on blaTEM gene expression in beta-lactamase-resistant samples in Escherichia coli. B J Microorganism. 2021; 39: 87-100. doi: 10.22108/BJM.2021.125907.1353.
11. Wang Y, Jiang Y, Deng Y, Yi C, Wang Y, Ding M, et al. Probiotic Supplements: Hope or Hype? Front Microbiol 2020; 11:160. doi: 10.3389/fmicb.2020.00160.
12. Quang HT, Van QN, and Anh-Tuan L."Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology , applications and perspectives". Adv Nat Sci: Nanosci Nanotechnol 2013; 4: 1-20. doi: 10.1080/21691401.2019.1620757.
13. Gaby W, Hadley CJJob. Practical laboratory test for the identification of Pseudomonas aeruginosa. J bacterial 1957; 74: 356-61. doi:10:1016/21691401. 2019.1620757.
14. Annear D, Black J, Govender S. Multilocus sequence typing of carbapenem resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from patients presenting at port Elizabeth hospitals, south Africa. Afr J Infect Dis 2017; 11: 68-74. doi: 10.21010/ajid.v11i2.9.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28th ed. CLSI supplement M100S. 2018. CLSI, PA. 38-40.
16. Tang Y, Li B, Dai J, Dai J, Wang X, Si J, et al. Genotyping of pseudomonas aeruginosa type III secretion system using magnetic enrichment multiplex polymerase chain reaction and chemiluminescence. J Biomed Nanotechnol 2016; 12: 762-9. doi: 10.1166/jbn.2016.2222.
17. Heera R, Sivachandran P, Chinni SV, Mason J, Croft L, Ravichandran M, et al. Efficient extraction of small and large RNAs in bacteria for excellent total RNA sequencing and comprehensive transcriptome analysis. BMC Res Notes 2015; 8: 754-66. doi: 10.1186/s13104-015-1726-3.
18. Cavallo JD, Fabre R, Leblanc F, NicolasChanoine MH, Thabaut A. Antibiotic susceptibility and mechanisms of betalactam resistance in 1310 strains of pseudomonas aeruginosa: a French multicentre study (1996). J Antimicrob Chemother 2000; 46: 133-6. doi: 10.1093/jac/46.1.133.
19. Rossi E, La Rosa R, Bartell JA, Marvig RL, Haagensen JA, Sommer LM, et al. Pseudomonas aeruginosa adaptation and evolution in patients

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.2.5.6]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.2.41]

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.2.5.6]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.2.41]

with cystic fibrosis. Nat Rev Microb 2021; 19: 331-42. doi: 10.1038/s41579-020-00477-5.
20. Moyne O, Castelli F, Bicout DJ, Boccard J, Camara B, Cournoyer B, et al. Metabotypes of Pseudomonas aeruginosa Correlate with Antibiotic Resistance, Virulence and Clinical Outcome in Cystic Fibrosis Chronic Infections. Metabolites 2021; 11: 63-72.
21. Shander RM. Anil C Antimicrobial Suseptibility Patterns of pseudomonas aeroginosa clinical isolates at tertiary care hospital in kathmando, nepal. Asian J Pharm Clin Res 2013; 6: 235-8. doi: 10:3390/s41579-020-00477-5.
22. Rossi E, La Rosa R, Bartell JA, Marvig RL, Haagensen JA, Sommer LM, et al. Pseudomonas aeruginosa adaptation and evolution in patients with cystic fibrosis. Nat Rev Microb 2021; 19: 331-42. doi: 10.1038/s41579-020-00477-5.
23. Lambert PA. Mechanisms of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa. J Roy Soc Med 2002; 95(Suppl 41): 22-6. doi: 10.4103/joacp. JOACP_349_15.
24. Tahmasebi H, Dehbashi S, Arabestani MR. Antibiotic resistance alters through iron-regulating Sigma factors during the interaction of Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa. Sci Rep 2021; 11: 1-3. doi: 10.1038/s41598-021-98017-5.
25. Pogue JM, Kaye KS, Veve MP, Patel TS, Gerlach AT, Davis SL, et al. Ceftolozane/tazobactam vs polymyxin or aminoglycoside-based regimens for the treatment of drug-resistant Pseudomonas aeruginosa. Clin Infec Dis 2020; 71: 304-10. doi:10:1093.
26. Kato K, Iwai S, Kumasaka K, Horikoshi A, Inada S, Inamatsu T, et al. Survey of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa by The Tokyo Johoku association of Pseudomonas studies. J Infect Chemother 2001; 7: 258-62. doi: 10.29252/ijmr-040202.
27. Huang Y, Bai L, Yang Y, Yin Z, Guo B. Biodegradable gelatin/silver nanoparticle composite cryogel with excellent antibacterial and antibiofilm activity and hemostasis for Pseudomonas aeruginosa-infected burn wound healing. J Colloid Interface S 2021; doi: 10.1016/j.jcis.2021.10.131.
28. Ulagesan S, Nam TJ, Choi YH. Biogenic preparation and characterization of Pyropia yezoensis silver nanoparticles (Py AgNPs) and their antibacterial activity against Pseudomonas aeruginosa. Bioprocess Biosys Eng 2021; 44: 443-52. doi: 10.1007/s00449-020-02454-x.
29. de Lacerda Coriolano D, de Souza JB, Bueno EV, Medeiros SM, Cavalcanti ID, Cavalcanti IM. Antibacterial and antibiofilm potential of silver nanoparticles against antibiotic-sensitive and multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa strains. Braz J Microbiol 2021; 52: 267-78. doi: 10.1007/s42770-020-00406-x.
30. Saeki EK, Yamada AY, de Araujo LA, Anversa L, de Oliveira Garcia D, Barros De Souza RL, et al. Subinhibitory concentrations of biogenic silver nanoparticles affect motility and biofilm formation in Pseudomonas aeruginosa. Front Cell Infec Microbiol 2021; 11: 253-69. doi: 10.3389/fcimb. 2021.656984.
31. Minh Dat N, Linh VN, Huy LA, Huong NT, Tu TH, Phuong NT, et al. Fabrication and antibacterial activity against Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus of silver nanoparticle decorated reduced graphene oxide nanocomposites. Mater Technol 2019; 34: 369-75. doi: 10.3390/ pr9040589.
32. Al Dahmash ND, Al-Ansari MM, Al-Otibi FO, Singh AR. Frankincense, an aromatic medicinal exudate of Boswellia carterii used to mediate silver nanoparticle synthesis: Evaluation of bacterial molecular inhibition and its pathway. J Drug Deli Sci Technol 2021; 61:102337. doi: 10.1016/j.jddst. 2021.102337.
33. Feizi S, Cooksley CM, Bouras GS, Prestidge CA, Coenye T, Psaltis AJ, et al. Colloidal silver combating pathogenic Pseudomonas aeruginosa and MRSA in chronic rhinosinusitis. Colloids Surf B Biointerfaces 2021; 202:111675. doi: 10.1016/j.colsurfb.2021.111675.
34. Haney, Carl. Effects on Iron nanoparticles on Pseudomonas Aeruginosa Biofilms. 2011. University of Dayton, Master's thesis. OhioLINK Electronic Theses and Dissertations Center, http://rave.ohiolink.edu/etdc/view?acc_num=dayton1324058048.
35. Bee SL, Bustami Y, Ul-Hamid A, Lim K, Abdul Hamid ZA. Synthesis of silver nanoparticle-decorated hydroxyapatite nanocomposite with combined bioactivity and antibacterial properties. J Mater Sci Mater Med 2021; 32: 1-2. doi: 10.1007/s10856-021-06590-y.
36. Saravanakumar K, Sriram B, Sathiyaseelan A, Mariadoss AV, Hu X, Han KS, et al. Synthesis, characterization, and cytotoxicity of starch-encapsulated biogenic silver nanoparticle and its improved anti-bacterial activity. Int J biol macromol 2021; 182:1409-18. doi: 10.3390/ma15072388 .
37. Rashid A, Molavi F, Mahmoudzadeh H. The effect of silver nanoparticles on mecA gene expression in methicillin-resistant samples of Staphylococcus aureus. NCMBJ 2020; 11: 67-82. doi: 20.1001.1. 22285458.1399.11.41.6.0.
38. Fayaz K, Balaji M, Girilal, et al. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2010;6: 103-9. doi: 10.2217/nnm.15.128.
39. Banoee S, Seif Ze, Nazari, et al. J Biomed Mater Res Part B: Applied Biomaterials 2010; 93; 557-61. doi: 10.1002/jbm.b.31615.
40. Kon K, Rai M. Interactions Between Plant-produced Nanoparticles and Antibiotics as a Way of Coping with Bacterial Resistance. Green Biosynthesis of Nanoparticles: Mechanisms and Applications. 2013:180.
41. Tenover FC. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. American J med 2006;119: S3-10. doi: 10.1016/j.amjmed.2006.03.011.
42. Doi Y, Arakawa Y .S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against amino-glycosides. Clin Infec Dis 2007; 45:88-94. doi: 10.1086/518605.
43. Sharif R, Amini K. Effect of Iron Oxide nanoparticles and probiotic Bifidobacterium bifidum on MexA Gene Expression in Drug Resistant Isolates of Pseudomonas aeruginosa. Res Med. 2019; 43: 118-123(persian).