تأثیر نانوذرات طلا و مس بر باسیل های گرم منفی مسبب عفونت های ادراری

پروین نادی[۱]، منیردودی[۱*] ،محبوبه سترکی[۲]

۱ گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان ، دانشگاه آزاد اسلامی ، فلاورجان، اصفهان، ایران.
۲. گروه بیولوژی، واحد ایذه، دانشگاه آزاد اسلامی ، ایذه، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: مصرف بی رویه آنتی بیوتیک های رایج باعث افزایش مقاومت آنتی بیوتیک‌ها در بین پاتوژن های ادراری شده است. با توجه به کاربرد وسیع نانوذرات طلا و مس در درمان بیماریها، اطلاعات اندکی از تأثیر آنها بر باسیل های گرم منفی مسبب عفونت های ادراری در دسترس است. در این مطالعه اثر نانوذرات طلا و مس بر باسیل های گرم منفی مسبب عفونت های ادراری مطالعه شده است.

روشها: مطالعه بر روی۱۴۰نمونه از سویه های باکتریایی مقاوم به چند آنتی بیوتیک شامل اشرشیا کلای، کلبسیلا پنومونیه، انتروباکتر آئروژنز، پروتئوس ولگاریس، سیترو باکتر فروندی، آسینتوباکتربومانی و سودوموناس آئروژینوزا (هرجنس ۲۰ ایزوله) ، مسبب عفونت ادراری و سویه های استاندارد آن ها انجام گرفت. از انواع تست های بیوشیمیایی جهت شناسایی باکتریها و روش های آزمایشگاهی (انتشار چاهک و دیسک در آگار و ماکرو دایلوشن) جهت سنجش حساسیت آنها نسبت به نانو ذرات مس و طلا استفاده شد.

نتایج: نانو ذرات طلای مورد استفاده در این تحقیق فاقد اثر ضد باکتری بود. مطابق با روش های چاهک و انتشار دیسک در آگار نانوذرات مس ، در رقت ppm ۱۰۰۰، بیشترین و کمترین میانگین قطر هاله عدم رشد به ترتیب در آسینتو باکتر بومانی و انترو باکتر آئروژنز برابر ۲۳ و ۱۵ میلیمتر مشاهده گردید. میزانMIC برای تمامی باکتری ها ۲۵۰ میکرو گرم بر میلی لیتر بود اما این میزان برای آسینتو باکتر بومانی و اشرشیا کلی ۱۲۵ میکرو گرم بر میلی لیتر بود.

نتیجه گیری: نانوذرات مس دارای اثر ضد باکتریایی نسبتا قوی علیه باکتری های مولد عفونت ادراری مقاوم به چند آنتی بیوتیک را نشان داد. پیشنهاد می شود عدم توکسیک بودن نانوذره مس در شرایط In vivo مورد مطالعه قرار بگیرد تا بتوان در آینده از خواص ضد باکتریایی این نانو ذره برای مصارف انسانی نیز استفاده نمود.

کلمات کلیدی : عفونت ادراری، باسیل گرم منفی ، مقاوم به چند آنتی بیوتیک، نانوذرات مس و طلا

*آدرس نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی فلاورجان، اصفهان، ایران
آدرس پست الکترونیک: monirdoudi@yahoo.com

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-07-19]

مقدمه

عفونت های ادراری از بیماریهای شایعی است که عمدتاً توسط باکتری‌های روده‌ای ایجاد می شوند. بیشترین عامل مسبب عفونت ادراری انسان باکتری اشرشیا کلای و به نسبت کمتری کلبسیلا پنومونیه و پروتئوس ولگاریس است (۱). امروزه مقاومت های باکتریایی درمان بیماران مبتلا به عفونت های ادراری را با مشکل ایجاد مواجه نموده است، به طوری که آنتی بیوتیک های مورد استفاده در درمان‌های رایج عفونت ادراری تدریجاً عدم تاثیر خود را نشان می دهند (۲).

نانوذرات دارای خواص منحصر به فرد فیزیکی، شیمیایی، نوری و بیولوژیکی می باشند که به دلیل کوچکی اندازه کاندیدهای خوبی برای استفاده در داخل بدن و در تحقیقات آزمایشگاهی هستند. از جمله موارد کاربـرد آنها می توان بعنوان جایگزین آنتی بیوتیک ها و یا همراه با آنها برای درمان باکتری های مقاوم به دارو اشاره کرد (۳). نانوذرات مس ظاهری کروی و بلورین داشته و از آنها در صنایع مختلف استفاده می شود. شکل و اندازه نانوذرات برای فعالیت آنها مهم است به طوری که ذرات کوچکتر فعالیت ضد میکروبی قوی‌تر و بیشتری نسبت به ذرات بزرگتر دارند (۴-۸). نانوذرات طلا دارای فعالیت ضدباکتریایی علیه نمونه های کلینیکی جداسازی شده مقاوم به دارو از جمله باکتـری‌های گرم مثبت می باشند (۹). اندازه این ذرات به طور تقریبی سه تا صد نانومتر بوده و از آنها جهت تشخیص پروتئین‌ها ، میکروارگانیسم-ها و طراحی بیوحس گرها استفاده شده است (۱۰).

با توجه به کاربرد وسیع نانوذرات طلا و مس در درمان بیماری ها، گزارش های اندکی در زمینه های اثرات جانبی آنها بر سلول ها و بافت های جانداران در شرایط درون بدن[1] و در مواردی با نتایج متناقض گزارش شده است (۱۱-۱۴). بطور کلی امروزه، مصرف بی رویه آنتی بیوتیک های رایج باعث افزایش مقاومت آنتی بیوتیکها در بین پاتوژن های ادراری شده است. از این رو با توجه به کاربرد وسیع نانوذرات طلا و مس در درمان بیماریها، اطلاعات اندکی از تأثیر آنها بر باسیل های گرم منفی مسبب عفونت های ادراری در دسترس است. در این مطالعه اثر نانوذرات طلا و مس بر باسیل های گرم منفی مسبب عفونت های ادراری مطالعه شده است.

روش ها

این مطالعه بصورت تجربی می باشد که در آزمایشگاه و بر روی ۱۴۰ نمونه ایزوله بالینی باکتری های مختلف و سویه های استاندارد آنها انجام شده است.

باکتری های مورد استفاده جهت انجام آزمایشات ضد باکتریایی شامل ۲۰ ایزوله MDR همراه با سویه های استاندارد آنها از هر کدام از باکتری های اشرشیا کلای (PTCC 1399)، کلبسیلاپنومونیه (PTCC 1290)، انتروباکتر آئروژنز (PTCC 1221)، پروتئوس ولگاریس(PTCC 1079)، سیتروباکترفروندی (PTCC 1600)، سودوموناس آئروژینوزا (PTCC 1620) و آسینتوباکتر بومانی (ATCC 1960) بودند که نمونه های بالینی از مبتلایان به عفونت ادراری در گروههای سنی و جنسی متفاوت مراجعه کننده به آزمایشگاه قاضی عسگر اصفهان و بیمارستان های الزهرا، شهید منتظری و کلینیک نبی اکرم شهرستان نجف آباد، در طی ۶ ماه جمع آوری شد و همگی سویه های استاندارد از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران به صورت آمپول های لیوفیلیزه تهیه شدند.

ایزوله های بالینی و سویه های استاندارد باکتری های مذکور بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند و سپس نمونه های حاصله به مدت ۲۴ ساعت در داخل گرمخانه با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری گردیدند. ایزوله های مربوطه به کمک تست های بیوشیمیایی تعیین هویت و از هر کدام از نمونه ها تست آنتی بیوگرام براساس آنتی بیوتیک های رایج برای درمان عفونتهای ادراری به عمل آمد. دیسک های آنتی بیوگرام ساخت کشور ایران و تحت برند پادتن طب بودند.

[1] - In vivo

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-07-19]

نانوذرات های مس و طلا تجاری برای بررسی فعالیت ضد میکروبی از شرکت کیان اکسیرآزما اصفهان به صورت محلول کلوئیدی کروی شکل به قطر ۱۰ نانومتر در غلظت ppm ۱۰۰۰ و به میزان ۱۰۰ میلی لیترخریداری شد. محلول کلوئیدی طلا نیز از شرکت نوترینوی تهران در اشکال کروی به اندازه ۱۵-۱۰ نانومتر در غلظت ۱۰۰۰ppm و به میزان ۱۰۰ میلی لیتر تهیه گردید.

به منظور بررسی اثر نانوذرات بر باکتریها، حداقل غلظت بازدارنده ی رشد (MIC[1]) تعیین گردید. میزان MIC، غلظتی از است که می‌تواند رشد باکتری را در شرایط آزمایشگاهی مهار کند. نتیجه MIC بر اساس کدورت محیط کشت که نشان دهنده رشد باکتری است بررسی می‌گردد. در روش تعیین حداقل غلظت کشندگی (M.B.C[2])، بعد از اینکه MIC را تعیین کردیم از لوله‌ها بر روی محیط کشت مولر هیلتون آگار استریل شده، به وسیله سوآپ کشت می‌دهیم که این پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار می‌دهیم و رشد باکتری نشان دهنده MBC می‌باشد.

با استفاده از روش رقت سازی متوالی[3] از نانوذرات مس و طلا، سری رقت های ۱۰۰۰ppmو ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵ تهیه شد. به منظور جلوگیری از بروز خطا همزمان با اجرای آزمایشات میکروبی، سوسپانسیون نانو ذرات تهیه شد. جهت تزریق غلظت های نامبرده از نانوذرات در روش چاهک پلیت، میزان ۹۰ میکرولیتر از نانو ذرات ها در هر چاهک تزریق شد و همچنین در روش ماکرودایلوشن به هر لوله میزان ۱ میلی لیتر از نانو ذرات ها اضافه گردید.

از تست آنتی بیوگرام به کمک روش کربی- بائر[4] جهت سنجش حساسیت و یا مقاومت باکتری ها در برابر۱۱ آنتی بیوتیک رایج که در اکثر موارد جهت برطرف کردن عفونت های ناشی از باسیل های گرم منفی مسبب عفونت های ادراری توسط پزشکان تجویز می گردد، استفاده شد و جهت سنجش حساسیت باکتری ها در برابر دو نانوذره طلا و مس به سه روش زیر شامل روش انتشار دیسک در آگار[5]، روش انتشار چاهک در آگار[6] و روش ماکرودایلوشن[7] انجام شد.

داده های حاصله با استفاده از آزمون های آماری و نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ و نرم افزار Excel 2007 تجزیه و تحلیل گردید. در تمامی آزمون ها سطح معنی داری کمتر یا مساوی ۰/۰۱ مد نظر بود.

نتایج

این پژوهش بصورت تجربی بر روی ۱۴۰ ایزوله بالینی شامل ۲۰ ایزوله MDR از هر کدام از باکتری های اشرشیا کلای،کلبسیلاپنومونیه، اانتروباکتر آئروژنز،پروتئوس ولگاریس، سیتروباکتر فروندی، سودوموناس آئروژینوزا، آسینتوباکتر بومانی انجام گردید که این نمونه های بالینی از بیماران مبتلا به عفونت های ادراری و همچنین دارای بیماری های مختلف شامل بیماری های زمینه ای، دیابت ، سنگ کلیه ، پیوند یکی از اعضای بدن، دارای سرطان و یا از بیماران بدون بیماری زمینه ای و فقط با علائم بالینی مانند سوزش، خارش دستگاه تناسلی و یا تکرر ادرار اخذ گردید. نمونه ها از گروه های سنی متفاوت در هر دو جنس شامل ۳۰ نفر(۳۰٪) مرد و ۷۰ نفر(۷۰٪) زن مراجعه کننده به آزمایشگاه قاضی عسگر اصفهان و بیمارستان های الزهرا، شهید منتظری و کلینیک نبی اکرم شهرستان نجف آباد، جمع آوری و مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج تست آنتی بیوگرام به روش کربی- بائر از نمونه های بالینی جداسازی شده ازبیماران در جدول ۱ ارائه شده است. براین اساس بالاترین میزان مقاومت ایزوله های بالینی در برابر آنتی بیوتیک های آموکسی سیلین (۹۹/۹۵ درصد) و آمپی سیلین (۹۹/۹۵ درصد) مشاهده شد، درحالی که مقاومت ایزوله ها در برابر آنتی بیوتیک های تتراسایکلین (۱۸/۱۸ درصد) و نیتروفورانتوئین (۱۰/۷۱ درصد) به میزان کمتری مشاهده گردید، اما در

1 Minimum Inhibitory Concentration
2 Minimum Bactericidal Concentration
3-Serial dilution
4-Kirby- bauer

5-Agar Disc Diffusion
6- Agar Well Diffusion
7 -Macro-tube dilution

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-07-19]

این پژوهش به دلایل عوارض جانبی متعدد آنتی بیوتیک های مذکور تنها از آنتی بیوتیک وسیع الطیف تتراسایکلین جهت استفاده از سویه کنترل مثبت در سه روش چاهک پلیت و انتشار دیسک در آگار و ماکرودایلوشن، استفاده شد.

جدول (۱): مقاومت دارویی سویه های بالینی مولد عفونت ادراری به آنتی بیوتیک ها (بر حسب درصد)

باکتری / آنتی بیوتیک	اشرشیا کلای	پروتئوس ولگاریس	کلبسیلا پنومونیه	انتروباکتر آئروژنز	سیترو باکتر فروندی	سودوموناس آئروژینوزا	آسینتوباکتر بومانی
اریترومایسین (E) ۱۰میکروگرم بر دیسک	۷۵/۲۳	۶۵/۰۰	۳۴/۱۶	۴۶/۲۶	۹۸/۲۳	۴۹/۵۵	۹۲/۲۰
سیپروفلوکساسین(CIP) ۵ میکروگرم بر دیسک	۶۵/۳۹	۲۴/۸۵	۶۰/۲۵	۳۰/۳۳	۳۴/۶۱	۶۸/۶۳	۸۵/۳۱
استرپتومایسین(S) ۱۰میکروگرم بر دیسک	۷۹/۵۶	۵۸/۶۷	۸۰/۳۵	۴۰/۸	۴۰/۵۶	۲۰/۴۰	۳۵/۲۲
کلرامفنیکل (C) ۳۰میکروگرم بر دیسک	۸۵/۲۰	۱۵/۴۹	۶۰/۹۷	۸۸/۳	۸۴/۹۷	۶۰/۷۸	۹۰/۵۶
آموکسی سیلین(AMX) ۲۵میکروگرم بر دیسک	۶۶/۶۹	۹۰/۴۹	۷۵/۶۰	۵۵/۵	۸۵/۶۹	۷۲/۸۱	۹۹/۹۵
تتراسایکلین (TE) ۳۰میکروگرم بر دیسک	۲۰/۳۶	۱۸/۱۸	۴۵/۰۰	۵۵/۰۰	۹۰/۳۶	۹۷/۰۰	۴۰/۹۴
افلوکساسین (OFX) ۵میکروگرم بر دیسک	۶۰/۷۴	۳۹/۴۹	۴۵/۰۰	۲۰/۳۳	۸۰/۷۴	۹۵/۳	۹۰/۵۶
نیتروفورانتوئین(NF) ۳۰۰میکروگرم بر دیسک	۴۵/۸۷	۷۵/۰۶	۱۰/۷۱	۷۰/۰۰	۴۵/۸۷	۷۸/۵	۶۵/۱۴
آمیکاسین(AN) ۳۰میکروگرم بر دیسک	۳۵/۶۴	۱۵/۴۹	۶۵/۹۸	۴۰/۶۰	۳۵/۶۴	۶۰/۰۰	۸۵/۰۲
آمپی سیلین (AM) ۱۰میکروگرم بر دیسک	۸۹/۳۵	۹۸/۰۶	۸۰/۱۲	۷۰/۵	۷۵/۳۵	۸۲/۵۵	۹۹/۹۵
جنتامایسین(G) ۱۰میکروگرم بر دیسک	۹۰/۱۲	۶۰/۱۶	۴۵/۰۵	۶۷/۰۶	۴۸/۴۴	۷۶/۲۶	۹۸/۲۸

در این مطالعه نانوذرات طلای مورد استفاده به صورت محلول کلوئیدی با قطر ۱۰ نانومتر و به شکل کروی با غلظت ۱۰۰۰ppm بر روی هیچ کدام از باکتری های مورد استفاده مؤثر نبود.

نتایج سنجش غلظت های مختلف نانوذره مس به روش دیسک دیفیوژن (D) و چاهک آگار (W) بر روی باکتریهای مورد آزمایش در جدول ۲ ارائه شده است. هر کدام از اعداد نشان دهنده قطر هاله عدم رشد میانگین قطر هاله های رشد مربوط به ۲۰ ایزوله می باشد. مطابق این جدول بالاترین قطر هاله های عدم رشد باکتری ها در هر دو حالت استاندارد و بالینی در برابر بالاترین غلظت نانوذره مس (۱۰۰۰ppm) متعلق به باکتری آسینتوباکتربومانی (۲۵mm و ۲۳ mm) و کمترین قطر هاله های عدم رشد هم در برابر غلظت ۲۵۰ ppmمشاهده شد که متعلق به باکتری انتروباکتر آئروژنز بود (جدول ۲). همچنین در برابر غلظت ۱۲۵ppm نانوذره مس هاله عدم رشدی مشاهده نشد. این اختلافات بین غلظت های

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-07-19]

مختلف این نانوذره و قطر هاله ها از نظر آماری در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار است (P<۰/۰۱).

همانطور که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است، متناسب با افزایش غلظت نانوذراه مس قطر هاله های عدم رشد مربوط به ایزوله های باکتریایی نیز رو به افزایش بود. این بدین معنی است که با افزایش غلظت نانوذره تأثیر گذاری آن نیز افزایش یافته است.

مطابق با جدول ۲، دو باکتری آسینتوباکتر بومانی و اشرشیا کلای نسبت به سایر باکتری ها در برابر غلظت های مختلف نانوذره مس دارای مقاومت نسبتا کمی بوده و در نتیجه این دو باکتری حساسیت بالایی را نشان دادند. همچنین نتایج نشان داد که قطر هاله ی عدم رشد این باکتری ها در برابر دیسک ها در روش دیسک دیفیوژن به مراتب کمتر از روش چاهک گذاری بوده است. آزمون تی مستقل بین این دو روش تفاوت آماری معنی داری نشان داد (P<۰/۰۱).

جدول ۲: میانگین قطر هاله در غلظت های مختلف نانوذره مس به دو روش دیسک و چاهک در نمونه های باکتریایی بالینی و استاندارد

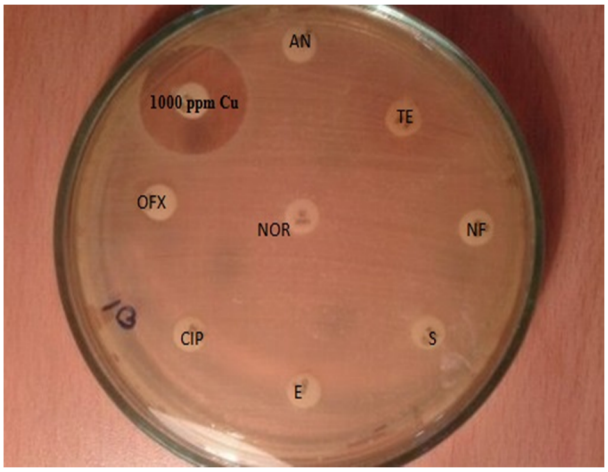
غلظت نانو ذرات مس (ppm)		آسینتو باکتر بو مانی		سودوموناس آئروژینوزا		انتروباکتر آئروژنز		کلبسیلا پنومونیه		اشریشیا کلای		سیتروباکتر فروندی		پروتئوس ولگاریس	
		استاندارد	بالینی	استاندارد	بالینی	استاندارد	بالینی	استاندارد	بالینی	استاندارد	بالینی	استاندارد	بالینی	استاندارد	بالینی
۱۰۰۰	W	*۲۵	*۲۳	۲۰	۱۸	۱۷	۱۵	۲۲	۲۰	۲۱	۲۳	۲۱	۱۹	۱۹	۱۷
	D	*۲۰	*۱۹	۱۷	۱۵	۱۵	۱۴	۱۶	۱۴	۱۸	۱۵	۱۸	۱۶	۱۶	۱۵
۵۰۰	W	۲۱	۱۸	۱۴	۱۲	۱۳	۱۱	۱۶	۱۴	۲۰	۱۷	۱۸	۱۶	۱۴	۱۳
	D	۱۸	۱۶	۱۳	۱۳	۱۰	۱۰	۱۱	۱۲	۱۴	۱۱	۱۴	۱۳	۱۳	۱۱
۲۵۰	W	۱۴	۱۳	۱۰	۸	۸	۸	۹	۸	۹	۸	۱۰	۸	۹	۸
	D	۱۲	۱۱	۸	۸	۹	۸	۸	۸	۸	۷	۹	۸	۱۰	۸
۱۲۵	W	۸	۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	D	۷	۷	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

* D قطر هاله ی عدم رشد بر حسب میلی متربا روش دیسک دیفیوژن است و W قطر هاله ی عدم رشد بر حسب میلی متر با روش چاهک گذاری در آگار می باشد. غلظت های کمتر از ppm ۱۲۵ نانوذره مس که در جدول قرار داده نشده بر روی باکتری های مورد آزمایش بی تاثیر بوده است.

شکل۱، حساسیت سویه بالینی آسینتوباکتر بومانی در تست آنتی بیوگرام و اثر غلظت ppm ۱۰۰۰ نانوذره مس بر سویه بالینی آسینتوباکتر بومانی را در مقایسه با مقاومت های این باکتری در برابر ۶ آنتی بیوتیک رایج را نشان می دهد. همانطور که در این شکل نشان داده شده است باکتری اسینتوباکتر بومانی در حضور سایر آنتی بیوتیک های رایج در درمان عفونت های ادراری رشد خود را بطور کامل انجام داده است اما توقف رشد آن و تشکیل

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-07-19]

هاله عدم رشد در اثر حضور نانو ذره مس در غلظت ppm ۱۰۰۰ دیده می شود. از آنتی بیوتیک تتراسایکلین(TE) بعنوان کنترل مثبت و از سرم فیزیولوژی بعنوان کنترل منفی (NOR) استفاده شده است.



شکل۱: نتایج تست آنتی بیوگرام و اثر غلظت ۱۰۰۰ppm نانوذره مس بر سویه بالینی آسینتوباکتر بومانی بر محیط کشت MHA.. (E: اریترومایسین؛ CIP: سیپروفلوکساسین؛ S: استرپتومایسین؛TE: تتراسایکلین (کنترل مثبت)؛ OFX : افلوکساسین؛ NF : نیتروفورانتوئین؛ NOR: کنترل منفی).

نتایج سنجش غلظت های مختلف نانوذره مس به روش ماکرودایلوشن بر روی باکتریهای مورد آزمایش در جدول ۳ ارائه شده است.

مطابق این جدول بالاترین میزان غلظت مهاری رشد (MIC) در دو حالت استاندارد و بالینی در برابر بالاترین غلظت نانوذره مس (۲۵۰ppm) متعلق به ۵ جنس از باکتری های مورد آزمایش شامل باکتری های کلبسیلاپنومونیه، اانتروباکتر آئروژنز،پروتئوس ولگاریس، سیتروباکتر فروندی و سودوموناس آئروژینوزا بوده است. همچنین کمترین میزان MIC در هر دو حالت استاندارد و بالینی در برابر کمترین غلظت نانوذره مس (۱۲۵ppm) تنها در دو جنس از باکتری های مورد آزمایش شامل باکتری های آسینتوباکتر بومانی و اشرشیا کلای مشاهده گردید. تفاوت ها بین غلظت های مختلف نانوذره مس و مقادیر متفاوت MIC با استفاده از آزمون تی مستقل معنی داری مشاهده گردید (P<۰/۰۱).

همچنین مطابق با جدول ۳، بالاترین میزان غلظت کشندگی باکتری (MBC) در دو حالت استاندارد و بالینی در برابر بالاترین غلظت نانوذره مس (۵۰۰ppm) در برابر باکتری های پروتئوس ولگاریس و سودوموناس آئروژینوزا مشاهده شد. تفاوت‌ها بین غلظت های مختلف نانوذره مس و مقادیر متفاوت MBC با استفاده از آزمون تی مستقل نیز معنی داری مشاهده گردید (P<۰/۰۱) (جدول ۳).

جدول (۳): میانگین MIC وMBC نانوذرات مس به روش ماکرودایلوشن در نمونه های بالینی و استاندارد

باکتری	پروتئوس ولگاریس		انتروباکتر آئروژنز		سیتروباکتر فروندی		اشریشیا کلای		کلبسیلا پنومونیه		سودوموناس آئروژینوزا		اسینتو باکتر بومانی	
	بالینی	استاندارد	بالینی	استاندارد	بالینی	استاندارد	بالینی	استاندارد	بالینی	استاندارد	بالینی	استاندارد	بالینی	استاندارد
MIC	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	۱۲۵	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	۲۵۰	۱۲۵	۱۲۵
MBC	۵۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۱۲۵	۲۵۰

بحث

در این مطالعه فعالیت های مهارکنندگی و فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات مس و طلا بر علیه ایزوله های بالینی باکتری های گرم منفی مسبب عفونت های ادراری و همچنین سویه های استاندارد انها بررسی گردید. در این مطالعه از سویه های بالینی مختلفی شامل اشرشیا کلای،

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-07-19]

پروتئوس ولگاریس، کلبسیلا پنومونیه، انتروباکتر آئروژنز، سیترو باکتر فروندی، سودوموناس آئروژینوزا و آسینتوباکتر بومانی استفاده گردید. علاوه بر این در این مطالعه غلظت های مختلفی از نانو ذرات مس و طلا بر علیه این باکتری ها بکار برده شد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که محلول های نانوذرات مس با قطر ۱۰ تا ۱۵ نانومتر، به شکل کروی، در غلظت هایppm ۱۰۰۰و ۵۰۰، ۲۵۰ ، ۱۲۵ می توانند اثرات مهارکننده رشد برروی بعضی از باسیل های گرم منفی مانند سیترو باکتر فروندی ، انترو باکتر آئروژنز، اشریشیا کلای، کلبسیلا پنومونیه، پروتئوس ولگاریس، سودوموناس آئروژینوزا و آسینتوباکتربومانی داشته باشند. به همین دلیل می توانند در غلظت هایی که برای انسان فاقد خاصیت سمی باشند (۱۵-۱۸)، در درمان بیماری های عفونی ناشی از باکتری های بررسی شده مؤثر باشند (۱۹-۲۱).

طبق نتایج تست ها، حساسیت باکتری آسینتوباکتر بومانی به نانو ذره مس بیشتر از سایر باکتری ها بود. به طوری که در غلظت ۱۰۰۰ppm از نانوذره مس بر روی نمونه های بالینی بیشترین قطر هاله عدم رشد (۲۳ میلیمتر) مشاهده شد و در مقابل انتروباکتر آئروژنز کمترین حساسیت را نسبت به نانو ذرات مس نشان داد؛ به نحوی که در غلظت ۱۰۰۰ppm نمونه های بالینی بیش ترین قطر هاله عدم رشد مشاهده شده برای انتروباکترائروژنز برابر با ۱۵ میلیمتر بود.

فعالیت نانو ذره مس در آزمایشات حداقل غلظت مهاری رشد (MIC) برای باکتری آسینتو باکتربومانی ۱۲۵ppm و برای سایر باکتری ها۲۵۰ ppm به دست آمد. بیشترین تاثیر محلول های نانوذرات مس مربوط به غلظت ۱۰۰۰ppm بود. همچنین برروی باکتری های استاندارد نیز نتایج مشابهی بدست آمد که در آنها نیز بهترین و مؤثرترین غلظت نانو ذره مس ۱۰۰۰ppm بود. سوسان و همکاران[1] (۲۰۰۹) نیز با تاثیر محلول های مختلف نانوذرات به نتایجی مشابهی دست یافتند (۲۲).

براساس یافته ها، با افزایش غلظت نانوذراه مس در هفت ایزوله از باکتری های مورد بررسی قطر هاله های عدم رشد نیز افزایش داشت. مشخص شده است که نانو ذرات به علت جذب درون ذره ای ناشی از نیروهای واندروالس و الکترواستاتیک دارای انرژی سطحی بسیار بالایی هستند، لذا نانو ذرات در سوسپانسیون به حالت مجتمع خواهند شد. همچنین مشخص شده است که با افزایش غلظت نانو ذرات به بیش از (۱۰۰۰ppm، مجتمع شدن ذرات رخ می دهد و در نتیجه برهمکنش نانو ذرات و باکتری ها کاهش یافته و در نتیجه کارایی باکتری کشی نانو ذرات در غلظت های بالاتر کمتر خواهد شد. با توجه به اینکه در مطالعه حاضر اثر مهاری نانو ذره مس در غلظت های بالا (۱۰۰۰ppm) اتفاق افتاده است، لذا می شود نتیجه گیری نمود که احتمالا با مجتمع شدن ذرات خاصیت باکتری کشی انها تحت تاثیر قرار نمی گیرد. در توافق با مطالعه حاضر، حسین زاده و همکاران () مشاهده کردند که MIC موثر نانو ذرات بر برخی از سویه ها در غلظت های بالا به دست می آید و بیان داشتند که اثر ضد میکروبی نانو ذرات منحصرا به خود نانو ذرات مربوط است (۱۸).

رافی و همکاران[2] (۲۰۱۰) فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات مس را بر ضد باکتری گرم منفی اشرشیا کلای، درمحیط رشد مایع و جامد بررسی کردند. به اعتقاد آنان خواص ضد میکروبی نانوذرات مس به طور عمده به ادهسین[3] های باکتری نسبت داده می شود، زیرا آن ها دارای بار الکتریکی مخالف هستند و در نتیجه باعث ایجاد واکنش های احیا بین دیواره سلولی با نانوذره می شوند (۶).

میزان آسیب پذیری دیواره سلولی در سویه های مختلف باکتریایی به دلیل تفاوت در نفوذپذیری غشاء متفاوت از هم میباشد، لذا میزان حساسیت باکتری های مختلف در

1- Susan et al
2Raffi et al
3 - Adhesin

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-07-19]

شرایط یکسان غلظت نانو ذره و زمان تماس نسبت به هم بسیار متفاوت است (۳).

استفانیا و همکاران[1] (۲۰۰۹) تاثیر نانوذرات اکسید های فلزی(CuO- SiO(2) - Fe(2)O(3))، را بر استرس اکسیداتیو و سیتوکسیتی در سلولهای اپی تلیال مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که نانوذرات اکسید مس، بالاترین مقدار سیتوتوکسیتی را (به روش وابسته به دوز) ، در این سلولها القاء کردند، در صورتی که دوز های دیگر این نانوذرات تاثیر سیتوکسیتی نشان ندادند. همچنین افزایش معنی داری در میزان 8-isoprostanes و نسبت GSSG برای گلوتاتیون کل در سلولهایی که در معرض نانوذرات اکسید مس قرار گرفته بودند، مشاهده گردید. این یافته نشان می دهد که این نانوذرات، قادر به تولید انواع اکسیژن فعال ، مانند پراکسید هیدروژن در سلول های اپی تلیال شده و از طرفی مانع اجرای مکانیسم های دفاعی آنتی اکسیدانی سلولی می شوند. در نتیجه نسبت سلول های اکسید شده افزایش یافته و موجب آسیب های اکسیداتیو در سلول های باکتری در تماس با آن می شوند (۷).

در این مطالعه MIC وMBC نانوذرات مس مطابق با جدول ۳ تعیین شدند تا مشخص شود حداقل غلظت نانوذره مس که دارای بیشترین اثر ضدباکتری بوده ، ۱۲۵ ppm و همچنین حداکثر غلظت نانوذره مس در روش ماکرودایلوشن ۵۰۰ ppm بود. البته مطالعات متعددی در این زمینه انجام گرفته است که میزان MIC وMBC برای نانوذرات مختلف فلزی متفاوت است که می تواند ناشی از تفاوت و تنوع موجود در روش ساخت ، اندازه ، شکل و حالت نانوذرات و سوش های باکتریایی متفاوت مورد مطالعه و موارد دیگر باشد (۱۶و۱۸، ۱۵).

در این مطالعه نانوذرات طلای مورد استفاده به صورت محلول کلوئیدی با قطر ۱۰ نانومتر و به شکل کروی با غلظت ۱۰۰۰ppm بر روی هیچ کدام از باکتری های مورد استفاده مؤثر نبود. به نظر می رسد دلایل موثر نبودن آن می تواند مربوط به قطر نانوذره ، شکل نانوذره ، فاز کریستالی و غلظت اولیه آن باشد. حتی نوع جنس و گونه باکتری مورد مطالعه هم می تواند در گرفتن نتایج مثبت یا منفی از یک نانوذره موثر باشد (۲ و۲۰).

نتیجه گیری

با توجه به یافته های حاصل از این پژوهش نتیجه گیری می شود شرایط In vitro که در بین باکتری های مسبب عفونت های ادراری مقاوم به چندین آنتی بیوتیک، بالاترین حساسیت مربوط به باکتری آسینتو باکتر بومانی بود. این باکتری در برابر در غلظت ۱۰۰۰ppm از نانوذره مس بر روی نمونه های بالینی بیشترین قطر هاله عدم رشد (۲۳ میلیمتر) را نشان داد و در مقابل انتروباکتر آئروژنز کمترین حساسیت را نسبت به نانو ذرات مس نشان داد؛ به نحوی که در غلظت ۱۰۰۰ppm نمونه های بالینی بیش ترین قطر هاله عدم رشد مشاهده شده برای انتروباکترائروژنز برابر با ۱۵ میلیمتر بود. همچنین حداقل غلظت مهاری رشد (MIC) نانو ذره مس برای باکتری آسینتو باکتربومانی و اشرشیاکلی ۱۲۵ppm بدست آمد اما برای سایر باکتری ها MIC برابر با ۲۵۰ ppm به دست آمد. پیشنهاد می شود عدم توکسیک بودن نانوذره مس در شرایط In vivo مورد مطالعه قرار بگیرد تا بتوان در آینده از خواص ضد باکتریایی این نانو ذره برای مصارف انسانی نیز استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان به ویژه سرکار خانم مهندس شاهسار و پارسافر و مسئولین آزمایشگاه های قاضی عسگر اصفهان و بیمارستان های الزهرا، شهید منتظری و کلینیک نبی اکرم شهرستان نجف آباد، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

[1]Stephania

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-07-19]

References

1. Arabi F, Banazadehi A. Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of uropathogens among patients referring to valieasr laboratory in Najafabad, Isfahan. Middle-East Journal of Scientific Research, 2013; 13: 85-90.

2. Ravishankar RV, Jamuna BA. Nanoparticles and their Potential application as antimicrobials.Scienceagainst Microbial Pathogens .2001; 10: 197-209

3. Zhang D, Chen L, Zang C, Chen Y, Lin H. Antibacterial cotton fabric grafted with silver nanoparticles and its excellent laundering durability. Carbohydrate Polymers. 2013; 92(2): 2088-2094.

4. Dastjerdi R, Montazer M. A review on the application of inorganic nano-structured materials in the modification of textiles: focus on anti-microbial properties. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2010; 79(1): 5-18.

5. Lioyd JR. Microbial reduction of metals and redionuclides.FEMS Microbial Rev.2003; 27:412-425.

6. Raffi M, Mehrwan S, Bhatti T, Akhter J, Hameed A, Yawar W, et al. Investigations in to the antibacterial behavior of copper nanoparticles against Escherichia coli. Ann Microbiol. 2010; 60(1): 75-80.

7. Stephania AC,Fahmy B. Copper oxidenanoparticles induce oxidative stress andcytotoxicity in airway epithelial cells. J Toxicol inVitro. 2009; 23: 1365-1371.

8.Studer AM, Limbach LK, Van Duc L, Krumeich F, Athanassiou EK, Gerber LC, Moch H, Stark WJ.Nanoparticle cytotoxity depends on intracellular solubity:comparison of stabilized copper metal and degradable copper oxide nanoparticles. ToxicolLett.2010 ; 197(3):169-74.

9.Gunawan C, Teoh WY, Marquis CP, Amal R.Cytotoxic origin of copper(II) oxide nanoparticles: comparative study with micron-sized particles,leachate and metal salts. ACS Nano.2011; 5(9):7214-25.

10. Chen G .Assessment of the invivotoxity of gold nanoparticles. Nanoscale Res Lett. 2009; 4(8): 858–864.

11.Cho WS,Cho MJ, Jeong JETAL.Acute toxity and pharmacokinetics of 13 nm-sized PEG coted gold nanoparticles. Toxicol APP Pharmacol. 2009;236:16-24.

12.Shukla R, Bansal V,Chaudhary M, Basu A, Bhonde, R, Sastry M. Biocompatibility of Gold Nanoparticles and Their Endocytotic Fate Inside the Cellular Compartment; A Microscopic Overview. Langmuir. 2005; 21; 10644–54.

13. Glushchenko N,Olkhovskaya IP, Pleteneva TV, Fatkullina LD, ErshovYu A and Fedorov Yu I. The Biological Effect of Superfine Metal Powders;Izvestiya AN. 1989; 6(3): 415-418.

14. Sizova1 E, Sergey M, Valentina P, Natalia G, Anatoly S.Copper Nanoparticles as Modulators of Apoptosis and Structural Changes in Tissues.Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology. 2012; 3: 97-104.

15. Susan WP,Williw GM, Maaike VJ. Nanosilver a review of avelable data and

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-07-19]

knowledge daps in human and environmental risk assessment. Nanotoxicology. 2009; 3:109 -138.

16. Wang B, Feng WY, Wang TC, Jia G, Wang M, Shi JW, Zhang F, Zhao YL, Chai ZF..Acute toxicity of nano and micro scale zinc powder in bacteria and healthy adult mice.Toxicology letters.2006; 161:115-23.

17. Oded Shoseyov and Ilan levy. Nanobiotechnology. 2008 Humana Press Inc. 999 Riverview Drive, Suite 208 Totowa, New Jersey 07512.

18. Hoseinzadeh E, Samargandi MR, Alikhani MY. Evaluation of synergetic effect of commercial zinc oxide and copper oxide nanoparticles against gram posetive and gram negative bacteria by fraction inhibitory concentration index. Journal of Zanjan University of Medical Sciences. 2012; 20:82.

19. Doudi M, Naghsh N,Heidarpour. The effect of silver nanoparticles on Gram-negative bacilli Resistant to Extended-Spectrum B-Lactamase Enzymes. Medical Laboratory Journal.2011;5:2.

20. Ahmad A , Senapati S , Islam Khan M , Kumar R , Ramani R , Srinivas V. (2003). Intracellular synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant Actinomycete, Rhodococcus sp. Nanotechnology, 14, 824–828.

21.Freita RA. What is nanomedicine. Nanomedicine 2005; 1: 2-9

22.Susan WP, Wijnhoven Willie JGM, Peijnenburg Carla A, Herberts Werner I, Hagens Agnes G, Oomen Evelyn H W, Heugens BR. Nano-silver – a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. Nanotoxicology.2009; 18:109-138

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-07-19]

The effect of Gold and Copper nanoparticles on negative bacillus bacteria causing urine infection (MDR)

Parvin nadi[1] , Monir Doudi[1]*, Mahbubeh setorki[2]

1- Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University , Falavarjan, Isfahan ,Iran
2- Department of biology, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh,Iran

***Corresponding Address: Islamic Azad University , Falavarjan, Isfahan , Iran**
Email Address: monirdoudi@yahoo.com

Abstract

Background & Aim: Irregular consumption of common antibiotics increases antibiotic resistance in the urine pathogens. The topic of this study was selected based on this great community problem and considering the fact that a large number of diseases are being treated using gold and copper nanoparticles yet not much is known of their effects on gram negative bacillus bacteria that cause urine infection.

Methods: The study included 140 cases of Multiple drug resistance (MDR) bacteria strains: E.coli, Klebsiellapneumoniae, Enterobacteraerogenes, Proteus vulgaris, Citrobacterfreundii, Acinetobacterbumanii and Pseudomonas aeruginosa (each genus of bacteria, 20 samples), all of which were MDR causing urinary tract infections. A variety of biochemical tests for identification of bacteria were used and laboratory methods (Agar well diffusion, Agar disk diffusion and Macrodilution method) were utilized to assess their sensitivity to copper and gold nanoparticles.

Results: Gold nanoparticles did not show any effect on these bacteria. According to agar disk diffusion and the Macrodilution method, copper nanoparticles (in 1000ppm dilution) showed the highest and lowest mean inhibition zone diameter in Acinetobacterbumanii and Entrobacteraerogenes 23 and 15mm, respectively. The MIC for all of the bacteria stood at 250µg/ml while Acinetobacterbumanii was 125µg/ml.

Discussion: Gold nanoparticles were not effective on these bacteria. Copper nanoparticles had a relatively strong effect on all of the bacteria causing urine infection and MDR.

Keywords: Urine infection, Negative bacillus bacteria, Multiple drug resistance, Copper and gold

[Downloaded from jms.thums.ac.ir on 2025-07-19]