

## Investigation of the Inhibitory Effect of Zinc Nanoparticles on *Pseudomonas aeruginosa*

Milad Mohammadyari, Ziba Mozaffari\*, Baharah Rahimian Zarif

Department of Biology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.

Received: July 18, 2021; Accepted: February 08, 2022

### Abstract

**Background and Aim:** Nowadays, the use of metals such as silver, copper, gold, and aluminum in various forms including nanoparticles as antimicrobial and bactericidal compounds has become popular. The present study aimed to evaluate the effect of zinc nanoparticles on *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

**Methods:** In the current experimental study, zinc nanoparticles prepared from Nano Pars Co. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 was used as the indicator microorganism. The antibacterial activity of nano-particles was compared with benzalkonium using agar diffusion (disk diffusion) and dilution methods. Data were statistically analyzed using SPSS software, version 22 (IBM, Armonk, NY, USA) running one way ANOVA and Tukey test.

**Results:** The results showed that the addition of zinc nanoparticles to the benzalkonium chloride solvent increased the diameter of the inhibitory zone of *Pseudomonas* spp. from  $9 \pm 1$  to  $19.66 \pm 3.05$  (P-value =0.001). The MIC and MBC for zinc nanoparticles were 0.15 and 0.24 mg/ml, respectively, while the MIC and MBC for nanoparticles of zinc+benzalconium chloride 10% were 0.03 and 0.04, respectively. This indicates the excellent antibacterial activity of nanoparticles in combination with benzalkonium chloride solvent against *Pseudomonas* spp.

**Conclusion:** It seems that the stock of nanoparticles with benzalkonium chloride solvent has bactericidal or growth inhibitory effect against *Pseudomonas aeruginosa* in different concentrations and has rapid bactericidal effect in concentrations higher than MIC concentration. Zinc oxide nanoparticles can be used to prevent or help treat *Pseudomonas aeruginosa* infections.

**Keywords:** Zinc oxide nanoparticles; *Pseudomonas aeruginosa*; MIC; Agar diffusion

**Please cite this article as:** Mohammadyari M, Mozaffari Z, Rahimian Zarif B. Investigation of the Inhibitory Effect of Zinc Nanoparticles on *Pseudomonas aeruginosa*. *Pejouhesh dar Pezeshki*. 2022;46(3):41-49.

\*Corresponding Author: Ziba Mozaffari; Email: Mozaffari\_Ziba882@yahoo.com



## بررسی اثر مهاری نانوذره روی بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا

میلاد محمدیاری، زیبا مظفری\*، بهاره رحیمیان ظریف

گروه زیست‌شناسی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۷

### خلاصه

**سابقه و هدف:** امروزه، استفاده از فلزات نظری نقره، مس، طلا و آلومینیوم در فرم‌های مختلف از جمله نانوذرات به عنوان ترکیباتی ضد میکروبی و باکتری کش رواج پیدا کرده است. این مطالعه به منظور بررسی اثر نانوذره روی بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا (ATCC 27853) انجام گرفت.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی نانوذره روی از شرکت نانو پارس، تهران تهیه شد. از باکتری سودوموناس آئروژینوزا (ATCC 27853) به عنوان میکروارگانیسم مورد آزمایش استفاده شد. مقایسه فعالیت ضد باکتریایی نانوذره روی با بنزاکونیوم با استفاده از روش انتشار در آگار (دیسک دیفیوژن) و رقت‌سازی سریالی (دایلوشن) بررسی شد. داده‌های به دست آمده، توسط نرم‌افزار spss ورژن ۲۲ (IBM, Armonk, NY, USA) و با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) و آزمون توکی تجزیه و تحلیل آماری شد.

**یافته‌ها:** نتایج حاکی از آن بود که با اضافه شدن نانوذرات روی به حلال بنزاکونیوم کلراید میزان قطره‌الله عدم رشد باکتری سودوموناس از  $9 \pm 1$  به  $3 \pm 0.5$  افزایش داشت ( $P=0.001$ ). میزان MIC و MBC برای نانوذره روی به ترتیب  $1/15$  و  $1/24$  میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. در حالی که میزان MIC و MBC برای نانوذره روی + حلال بنزاکونیوم کلراید  $10$  درصد به ترتیب  $1/3$  و  $1/4$  بود.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد که استوک نانوذرات با حلاب بنزاکونیوم کلراید در مقابل باکتری سودوموناس آئروژینوزا در غلظت‌های مختلف دارای اثر باکتری کشی یا ممانعت‌کنندگی رشد است و در غلظت‌های بیشتر از غلظت MIC دارای اثر باکتری کشی سریع است. از نانوذره اکسید روی می‌توان برای پیشگیری و یا کمک به درمان عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا استفاده کرد.

وازگان کلیدی: نانوذره اکسید روی؛ سودوموناس آئروژینوزا؛ MIC؛ انتشار در آگار

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Mohammadyari M, Mozaffari Z, Rahimian Zarif B. Investigation of the Inhibitory Effect of Zinc Nanoparticles on *Pseudomonas aeruginosa*. Pejouhesh dar Pezeshki. 2022;46(3):41-49.

\*نویسنده مسئول مکاتبات: زیبا مظفری، آدرس پست الکترونیکی: Mozaffari\_Ziba882@yahoo.com

## مقدمه

ناشی از سودوموناس آئروژینوزا با مشکل مواجه شود. ارزیابی‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالانه نشان می‌دهند که سویه‌های سودوموناس آئروژینوزای مقاوم به آنتی‌بیوتیک بالای ۱۰ درصد از کل جدایه‌های مقاوم به دارو جدا شده را در آمریکا بین سال‌های ۲۰۱۲ تا ۲۰۱۵ تشکیل داده‌اند (۹). انعطاف‌پذیری ژنتیکی در ایجاد سویه‌های مقاوم به چند دارو نقش دارند به طوری که CDC تقریباً ۶۷۰۰ مورد عفونت سودوموناس آئروژینوزا مقاوم به چند دارو را سالانه در آمریکا گزارش کرده است (۱۰).

امروزه استفاده از نانوذرات به منظور کنترل باکتری‌ها در حال افزایش است (۱۱). نانوذرات می‌توانند در شرایط نامساعد مانند دمای بالای استریلیزاسیون، که تحت تاثیر آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم غیر فعال می‌شوند، مقاومت کنند (۱۲). نانوذرات فلزی مانند مس، تیتانیوم، منیزیم، روی، طلا و نقره از اهمیت خاصی برخوردارند، زیرا آنها نه تنها تحت شرایط سخت مقاوم هستند، بلکه معمولاً به عنوان مواد بی خطر برای انسان و حیوانات محسوب می‌شوند. به دلیل سطح بزرگ‌تر نسبت به حجم‌شان پتانسیل ضد باکتریایی قوی دارند (۱۳). علاوه بر خواص شیمیایی نانوذرات، دو ویژگی اندازه ذرات و نسبت سطح به حجم بیشتر به نانوذرات بخشیده است. هرچه اندازه ذرات کوچک‌تر باشد، قدرت آنتی‌بیوتیکی آنها قوی‌تر است (۱۴). تاکنون مقاومت میکروبی به نانوذرات اکسید روی گزارش نشده است. بنابراین استفاده از آنها برای کنترل باکتری‌ها می‌تواند هرچه بیشتر مورد توجه قرار گیرد. خاصیت سینزیستی نانوذرات می‌تواند نیاز به غلظت‌های بالای عوامل ضد میکروبی در جهت کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها را کاهش دهد و در نتیجه عوارض جانبی استفاده از دوزهای بالای آنها نیز تخفیف می‌یابد (۱۵). بنابراین با توجه به افزایش روز افزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی سودوموناس آئروژینوزا و خاصیت آنتی‌بیوتیکی قابل توجه نانوذره اکسید روی، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر نانوذره روی بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا در سال ۱۳۹۷ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنجنج انجام شد.

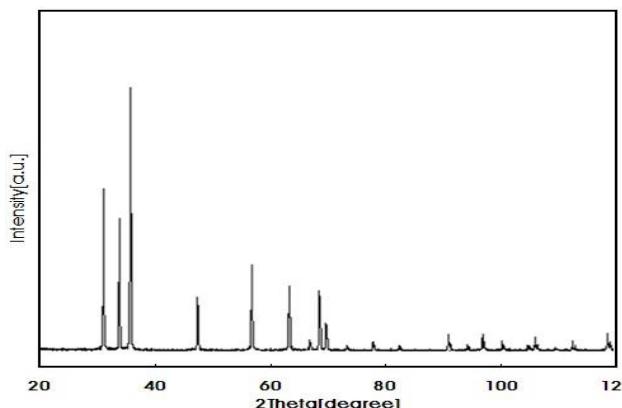
سودوموناس آئروژینوزا باکتری باسیل گرم منفی و اکسیداز مثبت است که دارای ژنوم بزرگ، انعطاف‌پذیری متابولیک و سیستم تنظیمی قابل انطباق است که این باکتری را قادر به زنده ماندن در هر مکانی می‌کند (۱). سودوموناس آئروژینوزا به عنوان یکی از عوامل عفونت‌های بیمارستانی است که قادر به ایجاد عفونت‌های مزمن و پیچیده است و از طرفی کسب مکانیسم‌های مقاومت دارویی متعدد به دلیل نفوذپذیری پایین غشای خارجی و حضور پمپ‌های افلاکس متعدد به مضلات درمانی عفونت‌های ناشی از این باکتری می‌افزاید. همچنین قدرت تشکیل بیوفیلم و تجمعات باکتری با شدت بالا در سطوح مخاطی یا سطح ابزار پزشکی سبب ایجاد چالش‌های زیادی در سیستم بهداشتی جوامع شده است (۲). عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا شامل پنومونی بیمارستانی، سپتی سمی، عفونت‌های ادراری، عفونت سوختگی و زخم هستند که اغلب در بیماران با نقص در سیستم ایمنی، سوختگی‌های شدید، سرطان، نوتروپنی و سیستیک فیبروزیس ایجاد می‌شوند (۳). سودوموناس آئروژینوزا عامل ۱۷ درصد موارد پنومونی وابسته به ونتیلاتور، ۹ درصد پنومونی‌های بیمارستانی، ۱۰ درصد عفونت‌های ادراری وابسته به کاتتر و ۶ درصد عفونت‌های جراحی است (۴). سودوموناس آئروژینوزا یکی از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی است که در رد سوم بعد از اشرشیاکلی و استافیلکوکوس/ورئوس قرار دارد (۵). این باکتری سالانه سبب شش میلیون مورد بستری در بیمارستان و بیش از چهار میلیون مورد مرگ و میر می‌شود (۷). عفونت‌های تنفسی حاد در بیماران با ضعف سیستم ایمنی مانند افراد مبتلا به ایدز و بیماران سرطانی ایجاد می‌شود، در حالی که نوع مزمن عفونت تنفسی ناشی از این باکتری در بیماران سیستیک فیبروزیس دیده می‌شود. با وجود پیشرفت‌های زیاد در مدیریت عفونت‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا، مرگ و میر ناشی از عفونت‌های ایجاد شده به ویژه سپسیس و پنومونی به خصوص به دلیل پیدایش سویه‌های مقاوم به چند دارو بسیار بالا هستند (۸). تمایل ذاتی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این باکتری سبب شده که انتخاب درمان آنتی‌بیوتیکی موثر برای عفونت‌های

## روش کار

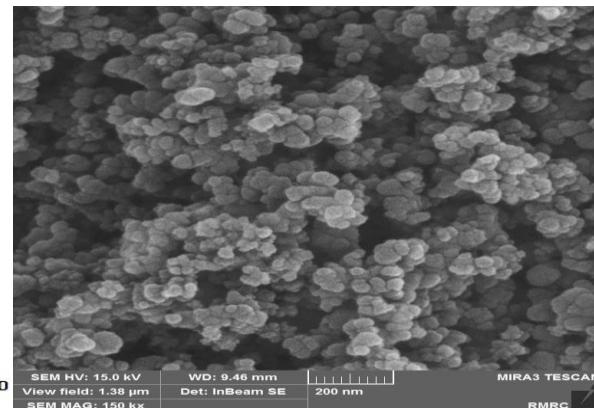
### تهیه نمونه:

در مطالعه تجربی حاضر، نانو ذره روی با قطر ۵۰ نانومتر از شرکت نانو پارس خریداری شد. نمونه استاندارد سودوموناس آئرزوئینوزا (ATCC 27853) به صورت آمپول لیوفیلیزه از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه و سپس بر روی محیط نوترینت آگار کشت داده شد.

### بررسی قطر نانو ذرات روی:



شکل ۱- عکس XRD و SEM نano ذرات روی



### تجزیه و تحلیل آماری:

داده‌های به دست آمده، توسط نرم‌افزار spss ورژن ۲۲ (IBM, NY, USA) و با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA) و آزمون توکی تجزیه و تحلیل آماری شد. یافته‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شد و سطح معناداری آزمون‌ها  $0.05 < p < 0.1$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

#### نتایج حاصل از انتشار دیسک:

بیشترین قطره‌الله عدم رشد برای نانو ذره روی در غلظت  $10 \pm 1/55$  میکروگرم بر میلی‌لیتر برابر با  $10 \pm 1/55$  میلی‌متر مشاهده شد. همچنین میانگین قطره‌الله عدم رشد برای نانو ذره روی در ترکیب با حلal بنزآلکونیوم کلراید  $10 \pm 1$  درصد، بیشتر از حلal بنزآلکونیوم کلراید  $10 \pm 1$  درصد به تنها یی و نانو ذره روی بود (جدول ۱).

### بررسی اثر ضد میکروبی نانو ذرات بر سودوموناس آئرزوئینوزا:

فعالیت ضدمیکروبی نانو ذره روی به روش انتشار در دیسک بررسی شد. روش انتشار در آگار به منظور بررسی فعالیت ضدبacterیایی نانو ذرات روی به تنها یی و ترکیب آن با حلal بنزآلکونیوم کلراید  $10 \pm 1$  درصد استفاده شد. این تست در سه تکرار انجام شد. برای تعیین MIC از روش میکرودایلوشن استفاده شد. سپس MBC با استفاده از کشت تعیین شد (۱۶).

#### بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی:

با استفاده از روش استاندارد (۱۷) دیسک دیفیوژن حساسیت سودوموناس آئرزوئینوزا نسبت به آنتی بیوتیک‌های سپیروفلوكسازین، ایمیپنم و مروپن (Mast Co., UK) سنجیده شد.

جدول ۱- نتایج انتشار دیسک نانوذرات روی

| نوع ماده  | میانگین مقدار غلظت‌های مختلف (میکرو گرم بر میلی لیتر) | قطر منطقه هاری (میلی متر) | میانگین مقدار غلظت‌های مختلف (میکرو گرم بر میلی لیتر) |
|---|---|---------------------------|---|
| نانوذرات روی  | ۴۰  | ۲۰                        | ۱ ± ۸   |
| نانوذرات روی  | ۸۰  | ۴۰                        | ۹ ± ۱/۳۲  |
| نانوذرات روی  | ۸۰  | ۲۰                        | ۱۰ ± ۱/۵۵   |
| نانوذره روی در ترکیب با حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد           | ۴۰  | ۲۰                        | ۱۷ ± ۱/۶۰   |
| نانوذره روی در ترکیب با حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد به تنهایی | ۸۰  | ۲۰                        | ۱۹ ± ۱/۲۴   |
| نانوذره روی در ترکیب با حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد به تنهایی | ۸۰  | ۲۰                        | ۲۳ ± ۱/۶۵   |
| نانوذره روی در ترکیب با حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد به تنهایی | ۴۰  | ۲۰                        | ۱۰ ± ۱/۵۵   |
| نانوذره روی در ترکیب با حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد به تنهایی | ۸۰  | ۲۰                        | ۱۱ ± ۱/۴۷   |
| نانوذره روی در ترکیب با حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد به تنهایی | ۸۰  | ۲۰                        | ۱۲ ± ۱/۶۸   |

حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد به تنهایی و ترکیب آن با نانو ذرات روی بر باکتری سودوموناس آنروئینوزا در غلظت‌های مختلف (نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است).

میانگین قطره‌الله عدم رشد در حالت استفاده از حلال بنزآلکونیوم به تنهایی ندارد ( $P\text{-value} > 0.05$ ). میانگین قطره‌الله عدم رشد در حالت استفاده از نانو ذره روی به تنهایی اختلاف آماری معناداری با میانگین قطره‌الله عدم رشد در حالت استفاده از ترکیب نانو ذره روی با حلال بنزآلکونیوم داشت ( $P=0.001$ ). میانگین قطره‌الله عدم رشد در حالت استفاده از حلال بنزآلکونیوم به تنهایی نیز اختلاف آماری معناداری با میانگین قطره‌الله عدم رشد در حالت استفاده از ترکیب نانو ذره روی با حلال بنزآلکونیوم داشت ( $P\text{-value} = 0.001$ ).

نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (One way ANOVA) نشان داد میانگین قطره‌الله عدم رشد در سه گروه با هم متفاوت و معنادار است به طوری که، میانگین قطره‌الله عدم رشد در حالتی که از ترکیب نانوذره روی با حلال بنزآلکونیوم استفاده شد به طور معناداری بیشتر از میانگین قطره‌الله در دو گروه نانو ذره روی به تنهایی و حلال بنزآلکونیوم به تنهایی است ( $0.001 = P\text{-value}$ ). (جدول ۲). بر اساس نتایج آزمون توکی میانگین قطره‌الله عدم رشد در حالت استفاده از نانو ذره روی به تنهایی اختلاف آماری معناداری با

جدول ۲- قطره‌الله عدم رشد ترکیبات مختلف نانو ذره روی و حلال بنزآلکونیوم

| گروه‌ها   | میانگین ± انحراف معیار | حداقل حد اکثر | حداکثر     | P-value |
|---|------------------------|---------------|------------|---------|
| نانو ذره روی  | ۸                      | ۱۰            | ۹±۱        | ۰.۰۰۱   |
| حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد به تنهایی               | ۱۰                     | ۱۲            | ۱۱±۱       |         |
| نانوذره روی در ترکیب با حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد | ۱۷                     | ۲۳            | ۶۶/۰۵±۱۹/۳ |         |

روی با حلال بنزآلکونیوم و همچنین در حالت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها نشان داد ( $P\text{-value} < 0.001$ ). میانگین قطره‌الله عدم رشد در حالت استفاده از حلال بنزآلکونیوم به تنهایی نیز اختلاف آماری معناداری با میانگین قطره‌الله عدم رشد در حالت استفاده از ترکیب نانو ذره روی با حلال بنزآلکونیوم و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها دارد ( $P\text{-value} < 0.001$ ). با توجه به نتایج ملاحظه شده با اضافه شدن نانو ذرات روی به حلال بنزآلکونیوم

بررسی اثر مهاری نانوذرات و آنتی‌بیوتیک‌ها: میانگین قطره‌الله عدم رشد در حالت استفاده از نانو ذره روی به تنهایی اختلاف آماری معناداری با میانگین قطره‌الله عدم رشد در حالت استفاده از حلال بنزآلکونیوم به تنهایی نشان نداد ( $P\text{-value} = 0.065$ ) میانگین قطره‌الله عدم رشد در حالت استفاده از نانو ذره روی به تنهایی اختلاف آماری معناداری با میانگین قطره‌الله عدم رشد در حالت استفاده از ترکیب نانو ذره روی با حلال بنزآلکونیوم

نانو ذرات علیه باکتری سودوموناس بوده است (جدول ۳).

جدول ۳- قطره‌الله عدم رشد ترکیبات مختلف نانو ذره روی و حلال بنزآلکونیوم و آنتی بیوتیک‌ها در غلظت ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

| P-value | میانگین ± انحراف معیار | حداکثر | حداقل |  |
|---------|------------------------|--------|-------|--|
| <0.001  | ۱۰ ± ۱/۵۵              | ۱۱/۵۵  | ۸/۴۵  | نانو ذره روی                                   |
|         | ۱۲ ± ۱/۶۸              | ۱۳/۵۵  | ۱۰/۲۰ | حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد                |
|         | ۲۳ ± ۱/۶۵              | ۲۴/۶۰  | ۲۱/۳۰ | حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد + نانو ذره روی |
|         | ۲۰ ± ۱/۴۴              | ۲۱/۲۰  | ۱۸/۴۰ | آنتی بیوتیک IPM                                |
|         | ۲۰ ± ۰/۶۲              | ۲۰/۷۰  | ۱۹/۵۰ | آنتی بیوتیک CP                                 |
|         | ۳۵ ± ۱/۷۵              | ۳۶/۷۰  | ۳۳/۲۰ | آنتی بیوتیک MEN                                |

همکاران در سال ۲۰۲۰ در مطالعه خود به بررسی اثر ترکیبی نانوذارت نقره و حلال بنزآلکونیوم و همچنین نانوذارات مس و حلال بنزآلکونیوم بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا پرداختند. نتایج حاصل از مطالعه آنها همراستا با نتایج حاصل از مطالعه حاضر بود، به طوری که بنزآلکونیوم فعالیت ضدمیکروبی نانوذارات نقره و مس را افزایش داد (۱۸). اثر ضد میکروبی نانوذارات روی در مطالعات مختلف نشان داده شده است. مشابه مطالعه حاضر، Abdelraheem و همکاران نیز در سال ۲۰۲۱ در مطالعه خود اثر ضدمیکروبی نانوذارات روی را علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا بررسی کردند. در مطالعه آنها نانوذارات اکسید روی به طور قابل توجهی سطح بیان ژن‌های دخیل در تشکیل بیوفیلم و همچنین ژن‌های حدت جدایه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا به جز ژن *toxA* را کاهش داد. آنها در مطالعه خود نانوذارات اکسید روی را به عنوان یک ترکیب ضد بیوفیلم و ضد ویرولانسی معرفی کردند (۱۹). حسین زاده و همکاران نیز با بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذارات روی علیه باکتری‌های اشرشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلکوکوس/ورئوس، استافیلکوکوس/پیدرمیدیس دریافتند نانو ذرات روی می‌تواند رشد این میکرورگانیسم‌ها را مهار کند که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد (۲۰). همتی مقدم و همکاران نیز در مطالعه خود با بررسی اثر مهاری نانوذره اکسید روی بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا، نشان دادند که این نانوذره دارای اثر مهاری بر تولید پیگمان است به طوری که با افزایش غلظت نانوذره، تولید پیگمان کاهش یافت (۱۶). نتایج

کلراید قطره‌الله عدم رشد باکتری سودوموناس افزایش بیشتری داشته که این امر نشان‌دهنده فعالیت ضدباکتریایی بسیار خوب

جدول ۴- قطره‌الله عدم رشد ترکیبات مختلف نانو ذره روی و حلال بنزآلکونیوم و آنتی بیوتیک‌ها در غلظت ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

| نانو ذره روی | حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد | حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد + نانو ذره روی | آنتی بیوتیک IPM | آنتی بیوتیک CP | آنتی بیوتیک MEN |
|--------------|---------------------------------|--|-----------------|----------------|-----------------|
| ۸/۴۵         | ۱۰/۲۰                           | ۲۱/۳۰  | ۱۸/۴۰           | ۱۹/۵۰          | ۳۳/۲۰           |
| ۱۱/۵۵        | ۱۲/۵۵                           | ۲۴/۶۰  | ۲۱/۲۰           | ۲۰/۷۰          | ۳۶/۷۰           |
| ۱۰ ± ۱/۵۵    | ۱۲ ± ۱/۶۸                       | ۲۳ ± ۱/۶۵                                      | ۲۰ ± ۱/۴۴       | ۲۰ ± ۰/۶۲      | ۳۵ ± ۱/۷۵       |
|              |                                 |  |                 |                |                 |

نتایج حاصل از تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشنندگی (MBC) نانوذارات روی بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا :

نتایج تعیین MIC و MBC نشان داد که نانوذره روی دارای اثرات ضدباکتریایی قابل توجه بر سودوموناس آئروژینوزا هستند، به طوری که مقادیر MIC و MBC نانوذره روی بر باکتری به ترتیب ۰/۱۵ mg/ml و ۰/۲۴ mg/ml به دست آمد (جدول ۴).

جدول ۴- حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشنندگی(MBC) بر حسب گروههای ترکیبات

| ترکیبات          | MIC (میلی گرم) | MBC (میلی گرم) | بر میلی لیتر) | نano ذرات روی |
|------------------|----------------|----------------|---------------|---------------|
| نانو ذرات روی +  | ۰/۱۵           | ۰/۲۴           |               |               |
| حلال بنزآلکونیوم | ۰/۰۳           | ۰/۰۴           |               |               |
| کلراید ۱۰ درصد   |                |                |               |               |

## بحث

در مطالعه حاضر با اضافه شدن حلال بنزآلکونیوم کلراید به نانو ذرات روی میانگین قطره‌الله عدم رشد باکتری سودوموناس افزایش نشان داد. همچنین میزان MIC و MBC برای نانوذره روی+حلال بنزآلکونیوم کلراید ۱۰ درصد نسبت به نانوذره روی به تنها یک کمتر بود که این امر نشان‌دهنده افزایش فعالیت ضدباکتریایی نانو ذرات در ترکیب با حلال بنزآلکونیوم کلراید علیه باکتری سودوموناس است. به طور مشابه محمدی و

برساند (۲۳). در این تحقیق هم از نانوذرات روی با قطر ۴۰-۵۰ نانومتر استفاده شد که فعالیت ضد بacterیایی از خود نشان داد. با توجه به اینکه برخی از بیماری‌های عفونی از اهمیت خاصی برخوردار هستند و درمان این بیماری‌ها جزو اولویت‌های درمانی در سازمان بهداشت جهانی است و همچنین افزایش مقاومت دارویی و اثرات جانبی از آنها که از محدودیت‌های درمان این بیماری است، دستیابی به روش‌های مناسب و بی‌ضرری که بتواند با عفونت‌های حاصله از آنها مقابله کند احساس می‌شود. در مطالعه حاضر علاوه بر نشان دادن اثر ضد سودوموناسی نانوذرات روی، اثر همافزایی آنها با حلال بنزآلکونیوم کلراید نیز نشان داده شد. از جمله نقاط قوت مطالعه حاضر می‌توان به استفاده از غلظت‌های مختلف نانوذره و همچنین ترکیب آن با بنزآلکونیوم کلراید اشاره کرد. اما از جمله معایب طرح حاضر عدم استفاده از سویه بالینی بود، به طوری که تنها سویه استاندارد سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد. امید است که در مطالعات آتی اثر ضد میکروبی این نانوذره و ترکیب آن با بنزآلکونیوم کلراید در جدایه‌های بالینی نیز بررسی شود.

## نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که استوک نانوذرات با حلال بنزآلکونیوم کلراید در مقابل باکتری سودوموناس آئروژینوزا در غلظت‌های مختلف دارای اثر باکتری‌کشی یا ممانعت کنندگی رشد است و در غلظت‌های بیشتر از غلظت MIC دارای اثر باکتری‌کشی سریع است. از نانوذره اکسید روی می‌توان برای پیشگیری و یا کمک به درمان عفونت‌های سودوموناس آئروژینوزا استفاده کرد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنترج با کد ۱۱۰۳۰۵۰۷۹۶۲۰۱۴ استخراج شده است و با حمایت مالی این واحد دانشگاهی انجام شده است لذا از همکاری و حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنترج کمال تشکر و قدردانی را دارم.

## تعارض منافع

نویسندهای تعارض منافعی را گزارش نکرده اند.

تمام مطالعات ذکر شده با مطالعه حاضر همسو بوده و نشان‌دهنده اثر ضد میکروبی نانوذره روی بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا است.

در مطالعه حاضر حلال بنزآلکونیوم کلراید به تنها یی نیز دارای اثرات ضد میکروبی بود که مشابه مطالعه انجام گرفته توسط Marchetti و همکاران در سال ۲۰۰۶ بود. در مطالعه آنها بنزآلکونیوم کلراید در مقایسه با ویرکون، بر ضد درماتوفیت‌های قارچی بسیار موثرتر بوده و کاهش معناداری را در رشد کلونی‌های قارچی نشان داده است (۲۱). تصور می‌شود مکانیسم عملکرد ضد میکروبی بنزآلکونیوم کلراید به دلیل بر هم خوردن فعل و انفعالات بین مولکولی باشد. بنزآلکونیوم کلراید می‌تواند سبب تجزیه لایه‌های دوگانه لیپیدی غشای سلولی شود، که کنترل نفوذ پذیری سلولی را به خطر می‌اندازد و سبب نشت محتوای سلولی می‌شود. سایر کمپلکس‌های زیست مولکولی درون سلول باکتریایی نیز ممکن است تجزیه شوند؛ به ویژه آنزیم‌هایی که طیف گستره‌های از فعالیت‌های سلولی تنفسی و متابولیکی را به خوبی کنترل می‌کنند در معرض غیرفعال شدن قرار می‌گیرند (۲۲).

حساسیت باکتری‌ها نسبت به نانوذرات مختلف بستگی به گونه باکتری، اندازه، شکل و غلظت نانوذرات و همچنین شرایط فیزیکی و شیمیایی محیط واکنش دارد. مواد در مقیاس نانو (۱-۱۰۰ نانومتر)، دارای خصوصیات فیزیکی و شیمیایی منحصر به فردی هستند. از جمله این خصوصیات می‌توان به نسبت سطح به حجم بالاتر، خصوصیات الکتریکی، مغناطیسی، و نوری تغییریافته و واکنش‌پذیری بالاتر اشاره کرد. Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۷، در مطالعه خود نشان دادند با کاهش اندازه نانوذرات اکسید روی، فعالیت ضد باکتریایی آن افزایش می‌باید. آنها در مطالعه خود اثر ضد سودوموناسی نانوذرات اکسید روی را با قطر ذرات ۵ و ۱۰۰ نانومتر بررسی کردند و مشخص شد کاهش اندازه نانوذرات، با بروز فعالیت ضد باکتریایی بیشتری همراه است. احتمال دارد کوچکی اندازه نانوذرات این قابلیت را به وجود آورد تا راحت‌تر بتواند از منافذ سطحی باکتری عبور کند و به ساختارهای درونی یا سطح غشای سیتوپلاسمی آسیب

## References

1. Quick J, Cumley N, Wearn CM, Niebel M, Constantinidou C, Thomas CM, et al. Seeking the source of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a recently opened hospital: an observational study using whole-genome sequencing. *BMJ open*. 2014;4(11):e006278. Doi: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2014-006278>
2. Bassetti M, Vena A, Croxatto A, Righi E, Guery B. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs in context*. 2018;7. Doi: <https://doi.org/10.7573/dic.212527>
3. Moradali MF, Ghods S, Rehm BH. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: a paradigm for adaptation, survival, and persistence. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2017;7:39. Doi: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00039>
4. Baker SM, McLachlan JB, Morici LA. Immunological considerations in the development of *Pseudomonas aeruginosa* vaccines. *Human vaccines & immunotherapeutics*. 2020;16(2):412-8. Doi: <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1650999>
5. Giske CG, Monnet DL, Cars O, Carmeli Y. Clinical and economic impact of common multidrug-resistant gram-negative bacilli. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2008;52(3):813-21. Doi: <https://doi.org/10.1128/AAC.01169-07>
6. Moghadam MT, Mirzaei M, Moghaddam MFT, Babakhani S, Yeganeh O, Asgharzadeh S, et al. The Challenge of Global Emergence of Novel Colistin-Resistant *Escherichia coli* ST131. *Microbial drug resistance* (Larchmont, NY.).
7. Cookson WO, Cox MJ, Moffatt MF. New opportunities for managing acute and chronic lung infections. *Nature Reviews Microbiology*. 2018;16(2):111-20. Doi: <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.122>
8. Djordjevic Z, Folic M, ivic Z, Markovic V, Jankovic SM. Nosocomial urinary tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species: sensitivity to antibiotics and risk factors. *Am J Infect Control*. 2013;41(12):1182-7. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2013.02.018>
9. Sader HS, Huband MD, Castanheira M, Flamm RK. Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* : results from four years (2012-2015) of the international network for optimal resistance monitoring (INFORM) program in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2017. Doi: <https://doi.org/10.1128/AAC.02252-16>
10. CDC. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. US Department of Health and Human Services Atlanta; 2013.
11. Borg MA, De Kraker M, Scicluna E, van de Sande-Bruinsma N, Tiemersma E, Monen J, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in invasive isolates from southern and eastern Mediterranean countries. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007;60(6):1310-5. Doi: <https://doi.org/10.1093/jac/dkm365>
12. Johnson NJ, Oakden W, Stanisz GJ, Scott Prosser R, van Veggel FC. Size-tunable, ultrasmall NaGdF4 nanoparticles: insights into their T1 MRI contrast enhancement. *Chemistry of Materials*. 2011;23(16):3714-22. Doi: <https://doi.org/10.1021/cm201297x>
13. Sahoo S, Parveen S, Panda J. The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2007;3(1):20-31. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2006.11.008>
14. Sanguansri P, Augustin MA. Nanoscale materials development-a food industry perspective. *Trends in Food Science & Technology*. 2006;17(10):547-56. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.04.010>
15. Padilla-Cruz A, Garza-Cervantes J, Vasto-Anzaldo X, García-Rivas G, León-Buitimea A, Morones-Ramírez J. Synthesis and design of Ag-Fe bimetallic nanoparticles as antimicrobial synergistic combination therapies against clinically relevant pathogens. *Scientific Reports*. 2021;11(1):1-10. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84768-8>
16. Hemati M, Keshtmand, Z., Borhani, K. . The effect of silver nanoparticles on the expression of exotoxin A and S genes in *Pseudomonas aeruginosa* . *Applied Biology*. 2020;10(40):37-52.
17. Tendencia EA. Disk diffusion method. Laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria isolated from aquatic animals and environment: Aquaculture

Department, Southeast Asian Fisheries Development Center; 2004. p. 13-29.

18. Mohammadyari M, Mozaffari Z, Zarif BR. Study of synergistic effect of copper and silver nanoparticles with 10% benzalkonium chloride on *Pseudomonas aeruginosa*. Gene Reports. 2020;20:100743. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100743>

19. Abdelraheem WM, Mohamed ES. The effect of Zinc Oxide nanoparticles on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and virulence genes expression. The Journal of Infection in Developing Countries. 2021;15(06):826-32. Doi: <https://doi.org/10.3855/jidc.13958>

20. Hoseinzadeh E, Alikhani M-Y, Samarghandi M-R, Shirzad-Siboni M. Antimicrobial potential of synthesized zinc oxide nanoparticles against gram positive and gram negative bacteria. Desalination and Water Treatment. 2014;52(25-27):4969-76. Doi: <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.810356>

21. Marchetti V, Mancianti F, Cardini G, Luchetti E. Evaluation of fungicidal efficacy of benzalkonium chloride (Steramina G uv) and Virkon-S against *Microsporum canis* for environmental disinfection. Veterinary research communications. 2006;30(3):255-61. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11259-006-3199-2>

22. Dai Jing CY-b, Shan C, Jing R, Kun-man L, Jun-ying Y. In vitro antibacterial effect of benzalkonium chloride on five common oral pathogens. Chinese Journal of Tissue Engineering Research. 2018;22(18):2849.

23. Zhang L, Jiang Y, Ding Y, Povey M, York D. Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). Journal of Nanoparticle Research. 2007;9(3):479-89. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11051-006-9150-1>