

Applied molecular biology

Vol.3, issu.5, Winter. 2025

P.P 27-40

Antimicrobial Properties of Silver Nanoparticles on E. coli Isolated from Urinary Tract Infection Samples in Patients from Tabriz City

**Alireza Abdolhossein Zadeh^{1*}, Zahra Jafari², Bahareh Moghimi³,
Mohammadreza Vahdi Vahed⁴**

1. Associate Professor, Department of Microbiology, Bonab Branch, Islamic Azad University, Bonab, Iran (Corresponding Author; Alirezaabd189@gmail.com).

2. Department of Microbiology, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

3. Department of Microbiology, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

4. Department of Microbiology, Rab-e-Rashid Institute of Higher Education, Tabriz, Iran.

Article history:

Received:11/02/2025 Revised:18/02/2025 Accepted:24/02/2025

Abstract

The application of nanotechnology in various fields, particularly in healthcare and pharmaceuticals, is rapidly expanding. Antimicrobial resistance is a major challenge in healthcare systems. This study aimed to evaluate the antimicrobial properties of silver nanoparticles against E. coli isolated from urinary tract infection (UTI) samples in patients from Tabriz city. Bacteriological tests were performed using an initial concentration of CFU/ml 10^6 for each bacterial sample. The minimum inhibitory concentration (MIC) was first determined. To study bacterial killing kinetics and calculate the sensitivity coefficient, concentrations of one and two times the MIC were used over a contact time of 0 to 360 minutes. The bacterial death process for E. coli in contact with the nanoparticle suspension followed first-order kinetic reactions, and the bacterial survival rate decreased as the contact time increased. Increasing the nanoparticle concentration also enhanced the bactericidal activity of the nanoparticles. The results of this study demonstrated that silver nanoparticles exhibit significant antimicrobial properties and can be used for bacterial control.

Keywords: Antimicrobial, Silver Nanoparticles, E. coli, Urinary Tract Infection.

بررسی خواص ضد میکروبی نانو ذرات نقره بر روی باکتری E.Coli جدا شده از نمونه‌های عفونت ادراری بیماران شهر تبریز

علیرضا عبدالحسین‌زاده^{۱*}، زهرا جعفری^۲، بهاره مقیمی^۳، محمدرضا وحیدی واحد^۴

۱. استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد بناب، دانشگاه آزاد اسلامی، بناب، ایران

(نویسنده مسئول؛ Alirezaabd189@gmail.com).

۲. گروه میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

۳. گروه میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

۴. گروه میکروبیولوژی، موسسه آموزش عالی ربع رشید، تبریز، ایران.

تاریخ بارگزاری: ۱۴۰۳/۱۱/۱۸ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۱/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۶

چکیده

استفاده از فناوری نانو در زمینه‌های مختلف به‌ویژه در زمینه بهداشتی و دارویی به‌سرعت در حال گسترش است. افزایش مقاومت به عوامل ضد میکروبی یکی از مشکلات عمده بخش مراقبت‌های بهداشتی بوده و هدف از این مطالعه بررسی خواص ضد میکروبی نانو ذرات نقره علیه باکتری E.Coli جدا شده از نمونه‌های عفونت ادراری بیماران شهر تبریز است. آزمایشات باکتریولوژیکی با استفاده از غلظت اولیه CFU/ml ۱۰^۶ هر یک از نمونه‌های باکتریایی انجام شد. در ابتدا مقدار حداقل غلظت ممانعت‌کننده رشد (MIC) تعیین گردید و برای بررسی کینتیک مرگ و محاسبه ضریب حساسیت از غلظت‌های یک و دو برابر MIC در زمان تماس صفر تا ۳۶۰ دقیقه استفاده شد. فرایند مرگ باکتری اثرشیاکلی در تماس با سوسپانسیون نانو ذرات از واکنش کینتیک درجه یک پیروی کرد و نسبت بقای باکتری‌ها با افزایش زمان تماس کاهش یافت. با افزایش غلظت نانو ذرات، فعالیت باکتری‌کشی نانو ذرات نیز افزایش نشان داد. نتایج این مطالعه نشان داد که نانو ذرات نقره از اثر ضد میکروبی خوبی برخوردار است و

می‌تواند جهت کنترل باکتری‌ها استفاده شود.

کلمات کلیدی: بررسی، ضد میکروبی، نانو ذرات نقره، باکتری E.Coli، عفونت ادراری.

۱. مقدمه

به موازات توسعه سریع زندگی بشری، کنترل میکروارگانیسم‌های مضر هم امری غیرقابل اجتناب است. عوامل میکروبی در محیط‌زیست پراکنده‌اند و همواره سلامت انسان حیوان و گیاه را به مخاطره می‌اندازد و موجب فساد و ضایع شدن مواد غذایی می‌شوند و بسیاری از عوامل مفید را از بین می‌برند. با استفاده از عوامل فیزیکی و شیمیایی مختلف می‌توان بسیاری از میکروارگانیسم‌ها را نابود کرد و یا موجب توقف رشد آن‌ها شد. برای انجام این عمل عوامل و روش‌های متفاوت و متنوعی وجود دارد که هر کدام به‌نحوی مؤثر بوده و در ضمن دارای محدودیت‌های خاص خود می‌باشند. اصولاً میکروارگانیسم‌ها علاوه بر منابع انرژی و غذایی می‌باید از نظر عوامل فیزیکی و شیمیایی شرایط مساعدی داشته باشند و اگر چنین وضعیتی را نداشته باشند نه تنها رشد و زندگی آن‌ها به‌خوبی برقرار نمی‌شود بلکه ممکن است به‌طور کلی نابود شوند. [۱] طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها در تعادل با محیط زندگی انسان‌ها می‌باشند اما رشد سریع و کنترل نشده آن‌ها می‌تواند منجر به بروز مشکلاتی جدی شود. انواع عفونت‌ها و به‌خصوص عفونت‌های بیمارستانی یکی از مشکلات عدیده در سراسر دنیا بوده و کنترل گسترش این عفونت‌ها به‌خصوص در بیمارستان‌ها یک چالش جدی است. عفونت بیمارستانی یکی از دلایل اصلی مرگ و همچنین افزایش دوران نقاهت است. براساس تحقیقی که سازمان بهداشت جهانی در ۵۵ بیمارستان در ۱۴ کشور به انجام رسانده نشان می‌دهد که میانگین ۸/۶ درصد از بیماران بستری شده مبتلا به عفونت بیمارستانی شده‌اند. عفونت بیمارستانی حداقل ۴۸ تا ۷۲ ساعت بعد از پذیرش بیمار در بیمارستان ایجاد شود و در زمان پذیرش بیمار، فرد نباید علائم آشکار عفونت مربوط را داشته باشد و بیماری در دوره نهفتگی خود نباشد. کوتاه کردن دوره بستری بیماران و سترون کردن سطوح و ابزار درمانی از شیوع عفونت‌های بیمارستانی می‌کاهد. معمولاً میکروب‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی به درمان مقاوم‌اند. [۱،۲] ویژگی ضد میکروبی نانو ذرات

توجه محققین و صاحبان صنایع را به خود جلب کرده است که از این مواد به عنوان جایگزین گندزداهای آلی چون ترکیبات چهارتایی آمونیوم و ترکیبات کلرینه جهت کنترل باکتری‌های مضر در محیط‌هایی چون بیمارستان‌ها برای غلبه بر انواع بیماری‌های عفونی و محیطی استفاده شود. نانو ذرات نقره توانایی نفوذ به دیواره سلولی باکتری‌ها تغییر ساختار غشای سلولی و حتی مرگ سلولی را دارند. کارایی آن‌ها نه تنها به دلیل اندازه نانومقیاس آن‌ها بلکه به دلیل نسبت بزرگ سطح به حجم آن‌هاست. اگرچه مکانیسم دقیق اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نقره به طور کامل مشخص نشده است اما مکانیسم‌های ضد باکتریایی مختلفی برای آن پیشنهاد شده است. این نانو ذرات می‌توانند با افزایش نفوذپذیری غشای سلولی باعث تولید گونه‌های اکسیژن فعال شده و با آزاد کردن یون‌های نقره تکثیر اسید دئوکسی ریبونوکلیک را متوقف کنند. [۳] در تحقیقات انجام شده برخی از اکسیدهای سرامیکی، اکسید کلسیم، اکسید منیزیم و همچنین بسیاری از اکسید نانو ذرات چون نانو ذرات نقره فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی از خود نشان داده‌اند. [۳-۷]

همچنین این نانو ذرات می‌توانند به طور مداوم یون‌های نقره را آزاد کنند که یکی از دلایل مکانیسم کشتن میکروب‌ها در نظر گرفته می‌شود. نانو ذرات نقره به طور مستقیم نیز می‌توانند در حفره‌هایی که روی دیواره سلولی باکتری‌ها پس از چسبیدن به سطح سلول تشکیل می‌شوند تجمع کرده و سبب کشتن باکتری‌ها شوند.

نانو ذرات نقره از جمله موادی هستند که به طور سنتی از دیرباز خواص ضد میکروبی آن‌ها شناخته شده است و مورد تأیید می‌باشد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که یون این گونه فلزات از طریق اتصال به گروه‌های سولفیدریل (SH-) موجود در آنزیم‌ها، با پروتئین‌ها واکنش ایجاد می‌کنند و در نهایت پروتئین‌ها غیرفعال خواهند شد. [۸] اگر این گونه فلزات در اندازه‌های بسیار کوچک موجود باشند به دلیل افزایش نسبت سطح به حجم، خواص ضد میکروبی بهتری از خود نشان خواهند داد. [۹] نانو ذرات نقره همراه با سایر نانو مواد می‌توانند برای مبارزه با میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بدون ایجاد سوییتهای مقاوم نقش بسیار مهمی در این زمینه داشته باشند. با توسعه علم نانو تکنولوژی، نانو ذرات نقره با روش‌های مختلف شیمیایی و الکتریکی تولید می‌شوند و

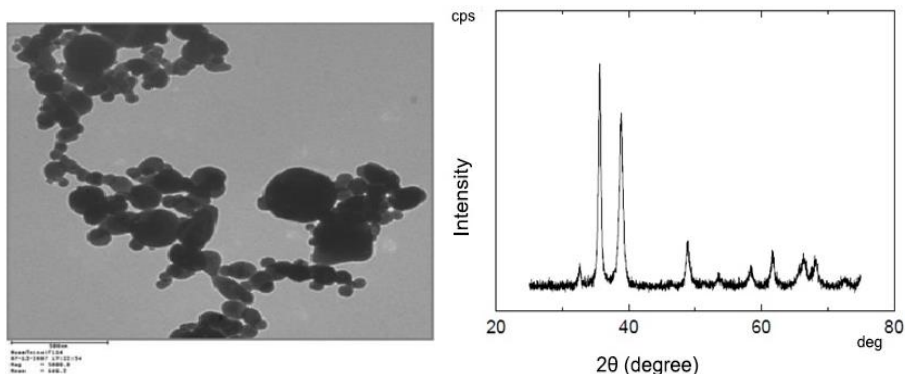
خواص ضد میکروبی آن‌ها در این مطالعه و بسیاری از دیگر مطالعات مشابه بررسی شده است؛ برای Sondi و همکاران اثر ضد میکروبی نانو ذرات نقره علیه *شرشیاکلی* و Hsiao فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات نقره علیه برخی باکتری‌ها را بررسی کرده‌اند. [۶، ۱۰] نتایج حاصل از بررسی‌های انجام شده با عکس‌های TEM و تحقیقات پروتئومیک (تحقیقات مربوط به ساختار و عملکرد پروتئین‌ها) نشان داده است که نانو ذرات نقره با مواد موجود در غشای باکتری‌ها برهم کنش داشته و از طریق ایجاد تغییرات ساختاری، از بین رفتن نیروی محرکه پروتون و در نهایت باعث مرگ سلولی می‌شود. [۱۱] از نانو ذرات فلزی می‌توان برای پوشش‌دار کردن برخی قطعات، به منظور ایجاد خاصیت ضد میکروبی در تجهیزات پزشکی و فیلترهای تصفیه آب استفاده کرد. برای بررسی اثر ضد میکروبی نانو ذرات از دو نوع مطالعات کمی و کیفی استفاده می‌شود. [۸] مطالعات کمی اندکی به منظور مقایسه فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات فلزی گزارش شده است. در کاربردهای صنعتی مواد ضد میکروبی، مدل‌های عددی و پارامترهای کمی جهت استفاده از نانو ذرات برای استفاده‌ای خاص، ارزیابی عملکرد باکتری‌کشی نانو ذرات و همچنین تعیین زمان مرگ باکتری‌های در تماس با نانو ذرات ضروری است. [۸] یکی از پارامترهای کمی برای بررسی میزان حساسیت در مدل‌های عددی، ضریب حساسیت باکتری نسبت به عامل ضد میکروبی می‌باشد. [۸]

این مطالعه به منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات نقره علیه باکتری *شرشیاکلی* جدا شده از نمونه‌های عفونت ادراری بیماران شهر تبریز انجام شده است.

۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش تجربی و از نوع بنیادی کاربردی بود که در آزمایشگاه انجام شد. بدین منظور نانو ذرات نقره تجاری برای بررسی فعالیت ضد میکروبی با درجه خلوص $>99\%$ درصد از شرکت دانش‌بنیان نانو مواد گستران پارس تهیه شد. حالت بلوری و میزان ناخالصی موجود در نانو ذرات نقره با استفاده از پراش اشعه ایکس (XRD) و همچنین با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (SEM) شکل و اندازه نانو ذرات، از سوی شرکت سازنده بررسی و تعیین گردید (شکل ۱). براساس نتایج SEM، نانو ذرات تقریباً دارای شکل کروی بوده

و قطر نانو ذرات نقره در حدود ۷۰ نانومتر به دست آمده است. همچنین میزان سطح ویژه نانو ذرات با اندازه گیری ایزوترم جذب مولکول‌های گاز نیتروژن در دمای 196°C - (BET; BELSORPmini) برای نانو ذرات نقره $80\text{ m}^2/\text{g}$ بوده است.



شکل ۱. تصاویر SEM و XRD نانو ذره نقره

۲-۱. آماده‌سازی سوسپانسیون نانو ذره

برای تهیه محلول استوک نانو ذرات، ۱۰ گرم نانو ذره در یک لیتر محیط کشت استریل به صورت سوسپانسیون در آورده شد و برای پراکنده شدن مناسب آن‌ها از دستگاه التراسونیک (Bandelin Sonorex RK 31 H) به مدت زمان ۳۰ دقیقه استفاده شد. جهت جلوگیری از عدم بروز خطا همزمان با اجرای آزمایشات میکروبی سوسپانسیون نانو ذرات تهیه شدند.

۲-۲. نمونه‌های باکتریایی

باکتری مورد استفاده جهت انجام آزمایشات ضد باکتریایی شامل باکتری /شرشیاکلی جدا شده از نمونه‌های عفونت ادراری بیماران مراکز درمانی شهر تبریز بودند که به صورت فریز خشک نگهداری شده بودند.

۲-۳. کشت نمونه باکتریایی مورد آزمون

نمونه‌های باکتری مذکور روی محیط کشت آگار خون‌دار کشت داده شدند و به مدت

۲۴ ساعت در گرمخانه (RAD Production.co) با دمای 37°C نگهداری گردیدند. پس از طی مدت انکوباسیون، از نمونه باکتریایی برای تهیه سوسپانسیون باکتریایی استفاده شد. [۱۲، ۱۳]

۱-۳-۲. تهیه سوسپانسیون سلول باکتریایی جهت انجام آزمایش

به منظور تهیه سوسپانسیون باکتریایی جهت انجام آزمایشات، ابتدا سلول‌های باکتریایی از سطح محیط کشت آگار خونی به کمک لوپ استریل جمع‌آوری و در یک میلی‌لیتر بافر سالین فسفات (PBS: Phosphate-Buffered-Salin) استریل مخلوط شد تا نمونه‌های با کدورت نیم مک فارلند ($1.08 \times 10^8 - 1$ عدد باکتری در هر میلی‌لیتر Colony-Forming Unit (CFU) تهیه شد.

برای اطمینان از ایجاد کدورت مذکور، جذب آن به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی - فرابنفش (UNICO-2100؛ ایالات متحده) در محدوده طول موج ۶۲۰ نانو متر اندازه‌گیری و میزان جذب در محدوده $0.1 - 0.08$ تنظیم شد. [۱۴]

۴-۲. آزمایشات بررسی مرگ باکتری‌ها

قبل از بررسی مرگ باکتری‌ها، با استفاده از روش استاندارد پیشنهادی توسط کمیته ملی استانداردهای آزمایشگاه‌های بالینی (CLSI)، حداقل غلظت ممانعت‌کننده رشد (MIC) برای هر یک از باکتری‌های در تماس با سوسپانسیون نانو ذرات به دست آورده شد. MIC به‌عنوان کمترین غلظت نانو ذرات که از رشد ارگانیسم‌ها در محیط کشت ممانعت می‌کند، تعریف می‌شود [۱۲] و براساس لوله‌های حاوی محیط کشت، به‌صورت سیستم ناپیوسته، دارای غلظت‌های متفاوتی از نانو ذرات نقره در سوسپانسیون هستند، تعیین شد. در این روش از ۱۲ لوله که هر کدام حاوی ۲ میلی‌لیتر محیط تریپتون سویا برات (TSB) استریل بود، استفاده گردید.

بدین‌صورت که در لوله اول فقط ۴ میلی‌لیتر سوسپانسیون مورد نظر ریخته و مخلوط شد، سپس از لوله شماره ۱ که حاوی ۴ میلی‌لیتر سوسپانسیون نانو ذره و محیط کشت بود، ۲ میلی‌لیتر برداشته و به لوله شماره ۲ اضافه و از این لوله ۲ میلی‌لیتر به لوله بعدی اضافه و به همین ترتیب تا لوله ۱۲ این عمل تکرار گردید (غلظت‌های

حاصله از لوله اول تا دوازدهمین لوله به ترتیب: ۱۰۰۰۰، ۵۰۰۰، ۲۵۰۰، ۱۲۵۰، ۶۲۵، ۳۱۲/۵، ۱۵۶/۲۵، ۷۸/۱۲۵، ۳۹/۰۶۲۵، ۱۹/۵۳، ۹/۷۶۵ و ۴/۸۸۳ میکروگرم بر میلی لیتر سیر نزولی دارد). سپس لوله‌های حاوی نانو ذرات و باکتری در انکوباتور شیکردار (۲۰۰ دور در دقیقه، دمای °C ۳۷ و حداکثر مدت زمان ۲۴ ساعت) گرمخانه‌گذاری شدند.

شکل ۲، نحوه انجام بررسی مرگ باکتری‌های در تماس با سوسپانسیون نانو ذرات را نشان می‌دهد. محلول سوسپانسیون باکتریایی به محیط کشت حاوی نانو ذرات با غلظت‌های یک و دو برابر مقدار MIC اضافه شد و سپس در انکوباتور شیکردار (۲۰۰ دور در دقیقه، دمای °C ۳۷ و حداکثر مدت زمان ۲۴ ساعت) گرمخانه‌گذاری شدند. در زمان‌های مورد نظر (صفر تا ۳۶۰ دقیقه) از سوسپانسیون باکتری - نانو ذرات نمونه‌برداری شده و بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت آگار خون‌دار کشت داده شدند. کلنی‌های شکل گرفته برای هر زمان و باکتری و غلظت شمارش و ثبت شدند. محاسبه نسبت بقا ($\frac{N}{N_0}$) از تقسیم تعداد کلنی‌ها در زمان‌های نمونه‌برداری (N) بر تعداد کلنی‌ها در زمان قبل از تماس با سوسپانسیون نانو ذرات نقره (N_0) محاسبه شد. برای بررسی مرگ باکتری‌ها از کینتیک مرگ درجه اول استفاده شد. شکل کلی این نوع کینتیک به صورت زیر است [۳، ۱۵-۱۷]:

$$dN/dt = -kN_0 \quad (1)$$

در این رابطه k ثابت میزان مرگ درجه اول، N_0 تعداد کلنی‌های اولیه باکتری، N تعداد کلنی باکتری پس از بازه زمانی مورد نظر می‌باشد.

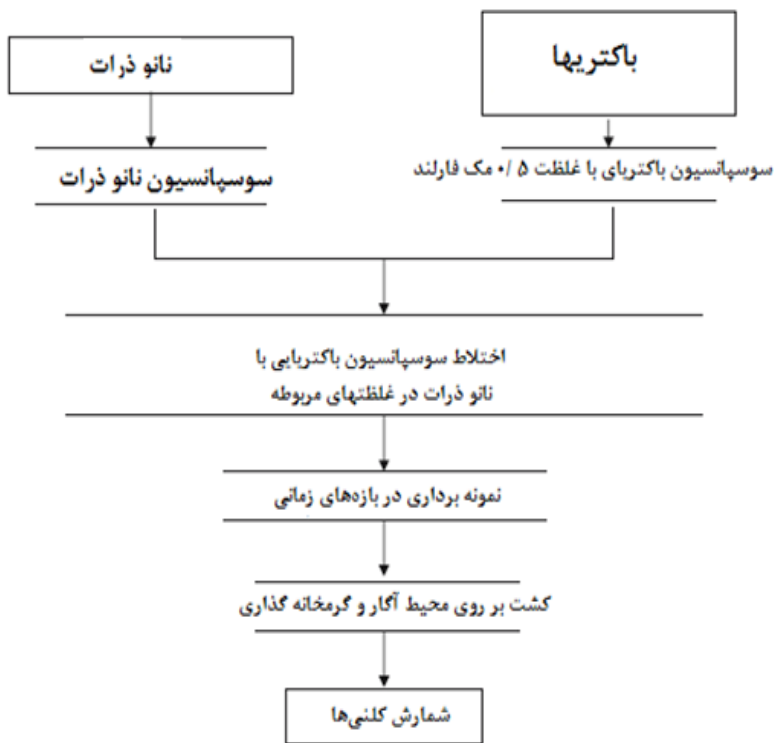
۲-۵. تعیین ضریب حساسیت به نانو ذرات

در این مطالعه ضریب حساسیت نانو ذرات (Z) بر حسب (ml/ μ g) به وسیله رابطه زیر به دست می‌آید که توسط Yoon و همکارانش پیشنهاد شده است: [۸]

$$Z = \frac{-\ln(\frac{N}{N_0})}{c} \quad (2)$$

در این رابطه N تعداد کلنی‌های باکتریایی پس از تماس با نانو ذرات، N_0 تعداد کلنی‌های باکتریایی اولیه و C غلظت نانو ذرات بر حسب (μ g/ml) می‌باشد. با استفاده از

مقدار Z و مقادیر C ، نسبت باکتری‌های زنده مانده $\frac{N}{N_0}$ قابل پیش‌بینی است. مقدار Z بزرگ‌تر به این معنی است که باکتری‌ها نسبت به آن نانو ذرات از حساسیت بیشتری برخوردار است و به عبارت دیگر بیانگر این است که آن نانو ذرات دارای حساسیت ضد میکروبی بیشتری می‌باشد.



شکل ۲. مراحل انجام آزمایشات بررسی مرگ میکروبی در این مطالعه

۳. یافته‌ها و نتایج

براساس نتایج به‌دست آمده از آزمایشات بررسی فعالیت ضد میکروبی سوسپانسیون نانو ذرات نقره بر روی باکتری/شرشیا کلی، مقدار MIC برای باکتری/شرشیا کلی نسبت به نانو ذرات نقره ۱۵۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر به‌دست آمد. مقدار ضریب حساسیت

برای هر نمونه باکتریایی و سوسپانسیون نانو ذرات و برای هر بازه زمانی نمونه برداری محاسبه شد. میانگین ضریب حساسیت باکتری نسبت به نانو ذرات مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. میانگین ضریب حساسیت باکتری نسبت به نانو ذرات مورد استفاده در این مطالعه

E.coli	نمونه باکتری
Ag	غلظت نانو ذرات نقره
۰/۰۰۵۴۵	یک برابر غلظت ممانعت کننده رشد (1xMIC)
۰/۰۰۳۹۳	دو برابر غلظت ممانعت کننده رشد (2xMIC)

نتایج بررسی کینتیک مرگ باکتری‌ها نشان داد نسبت بقا با افزایش غلظت نانو ذرات در هر نمونه باکتریایی کاهش یافته است. با ترسیم حالت لگاریتمی نسبت بقای باکتری‌ها در مقابل زمان تماس، دیده می‌شود که جمعیت باکتری‌ها نسبت به زمان به‌طور خطی کاهش یافته است. نتایج بررسی کینتیک نشان داد که با افزایش غلظت نانو ذرات، جمعیت باکتریایی کاهش می‌یابد. در غلظت یک برابر MIC رشد مجدد باکتری‌ها وجود داشت اما با افزایش غلظت به مقدار دو برابر MIC، پس از کاهش جمعیت باکتری‌ها، رشد مجدد آن‌ها وجود نداشت.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

کاهش اندازه ذرات باعث تغییر ویژگی‌های ساختاری و فیزیکوشیمیایی آن‌ها می‌گردد و در مورد نانو ذرات کاهش اندازه سبب سهل‌الوصول شدن دسترسی آن‌ها برای موجودات زنده شده و در نتیجه منجر به افزایش سمیت آن‌ها می‌شود. [۱۸] در پروفیل XRD نانو ذرات نقره، یک پیک اکسیژن مشاهده می‌شد؛ نانو ذرات نقره دارای اتم‌های چگال بوده و به‌عنوان انواع بسیار رآکتیو برشمرده می‌شوند. [۱۴] شاید افزایش گروه‌های فعال (رآکتیو) سطحی به‌عنوان مکان‌های فعال برای شکل‌گیری گونه‌های اکسیژن رآکتیو (ROS) شامل سوپراکسید، هیدروژن پروکسید و رادیکال هیدروکسیل منجر به استرس اکسیداتیو شود. [۵] نتایج تعیین مقدار MIC نشان داد که باکتری/اشرشیاکلی نسبت به

نانو ذرات مقاوم‌تر است. یکی از علل حساسیت پایین‌تر *اشرشیا کلی* می‌تواند به این دلیل باشد که غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی چون *اشرشیا کلی* به‌طور غالب از لیپو پلی ساکارید (LPS) مستحکم تشکیل شده‌اند که سد مقاومی در برابر نانو ذرات محسوب می‌شود. [۱۸]

نتایج آزمایشات یون و همکاران [۸] نیز نشان داده است *باسیلوس سوبتیلیس* در مقایسه با باکتری *اشرشیا کلی* از حساسیت بیشتری برخوردار می‌باشد. با توجه به وسیع‌الطیف و استفاده آسان کینتیک مرگ درجه اول [۱۵-۱۷]، در این مطالعه برای بیان کینتیک مرگ باکتری‌ها از نوع درجه اول استفاده شده است. نتایج مطالعات ساوایی و همکاران با نتایج این بخش از مطالعه حاضر همخوانی دارد. در روش شمارش کلنی، زمانی که نسبت بقای باکتری‌ها نسبت به زمان دارای شیب منفی است، می‌توان نتیجه گرفت که نانو ذرات از فعالیت ضد میکروبی قوی برخوردار هستند. [۱۵-۱۷]. این نتیجه می‌تواند به سمیت بیشتر در غلظت‌های بالاتر نانو ذرات مرتبط باشد. [۱۹]

البته این موضوع نمی‌تواند بیانگر رابطه خطی غلظت - قابلیت ضد میکروبی نانو ذرات باشد؛ زیرا در غلظت‌های بالاتر احتمال ایجاد مقاومت سازگاری در باکتری وجود دارد؛ همچنین با افزایش زمان تماس به همراه افزایش غلظت نانو ذرات، نسبت بقای باکتری‌ها کاهش یافته است. به عبارتی فعالیت باکتری‌کشی نانو ذرات با افزایش زمان تماس و غلظت نانو ذرات علیه هر نمونه باکتریایی افزایش یافته است و این مورد می‌تواند به معنی وسیع‌الطیف بودن ویژگی ضد میکروبی این نانو ذرات باشد [۱۸] چنانچه در جدول ۱ آورده شده است با افزایش غلظت نانو ذرات از یک برابر به دو برابر مقدار MIC، مقدار پارامتر Z برای *اشرشیا کلی* کاهش نشان داده است که می‌تواند به دلیل مقاومت سازگاری در غلظت‌های بالاتر باشد. شیب کاهش نسبت $(\log \frac{N}{N_0})$ در *اشرشیا کلی* با افزایش غلظت نانو ذرات کمتر بوده است که می‌تواند به دلیل مقاومت این باکتری نسبت به نانو ذرات مورد بررسی در این مطالعه باشد. [۱۹] در هر غلظت از نانو ذرات، ضریب حساسیت با استفاده از رابطه (۱) تعیین شد و مقدار Z برای محدوده غلظت تهیه شده نانو ذرات و زمان تماس‌های متفاوت، به‌طور میانگین محاسبه گردید. همچنین مطالعه کینتیک مرگ نشان داد جمعیت باکتری‌های زنده مانده در تماس با نانو ذرات، با افزایش

زمان تماس و غلظت نانو ذرات به طور خطی کاهش می‌یابد. شیب منفی نسبت بقای باکتری‌ها در مقابل زمان، بیانگر اثر ضد میکروبی قابل ملاحظه نانو ذرات نقره است. تعیین ضریب حساسیت و کینتیک مرگ می‌تواند روشی مناسب جهت بررسی اثر ضد میکروبی عوامل ضد میکروبی مختلف باشد. در این مطالعه اثر نانو ذرات تک‌سایز (نقره با قطر ۷۰) استفاده شد. به‌عنوان پیشنهاد برای مطالعات آتی می‌توان خواص ضد میکروبی سایر نانو ذرات علیه سایر عوامل عفونی دیگر را نیز مورد مطالعه و بررسی قرار داد و همچنین ارتباط اثر ضد میکروبی نانو ذرات نقره در اندازه‌های مختلف با کینتیک مرگ و ضریب حساسیت را نیز مورد بررسی قرار داد.

References

1. Eriksen, HM, Iversen, BG, Aavitsland, P. (2005). **Prevalence of nosocomial infections in hospital in Norway 2002 and 2003.** *Journal of Hospital Infection*, 60:40-45.
2. Hadi, M, Shokoohi, R, Namvar, AME, Karimi, M, Aminabad, MS. (2011). **Antibiotic Resistance of Isolated Bacteria from Urban and Hospital Wastewaters in Hamadan City.** *Iranian Journal of Health and Environment*, 4(1), 105-14.
3. Ohira, T, Yamamoto, O, Iida Y, Nakagawa, Z-e. (2008). **Antibacterial activity of ZnO powder with crystallographic orientation.** *Mater Sci: Mater Med*, 19, 1407-12.
4. Fang, M, Chen, J-H, Xu, X-L, Yang, P-H, Hildebrand, HF. (2006). **Antibacterial activities of inorganic agents on six bacteria associated with oral infections by two susceptibility tests.** *International Journal of Antimicrobial Agents*, 27.
5. Tawale, JS, Dey, KK, Pasricha, R, Sood, KN, Srivastava, AK. (2011). **Synthesis and characterization of ZnO tetrapods for optical and antibacterial applications.** *Thin Solid Films*, 519(3), 1244-7.
6. Sondi, I, Salopek-Sondi, B. (2004). **Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria.** *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(1), 177-82.
7. He, L, Liu, Y, Mustapha A, Lin, M. (2010). **Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against Botrytis cinerea and Penicillium expansum.** *Microbiological Research*, 166(3), 207-15.
8. Yoon, K-Y, Byeon, J-H, Park, J-H, Hwang, (2007). **J. Susceptibility constants of Escherichia coli and Bacillus subtilis to silver and copper nanoparticles.** *International Biodeterioration & Biodegradation*, 47, 23-6.

9. Zhang, L, Ding, Y, Povey, M, York, D. (2008). **ZnO nanofluids -A potential antibacterial agent**. *Progress in Natural Science*, 18(8), 939-44.
10. Hsiao, M, Chen, S, Shieh, D, Yeh, C. (2006). **One-pot synthesis of hollow Au₃Cu₁ spherical-like and biomineral botallackite Cu₂(OH)₃Cl flowerlike architectures exhibiting antimicrobial activity**. *J Phys Chem B*, 110, 205-10.
11. Lok, C, Ho, C, Chen, R, He, Q, Yu, W, Sun, H. (2006). **Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles**. *J Proteome Res*, 5:916-24.
12. *National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents; approved guideline*. Document M26-A. Wayne, PA: NCCLS; 1999.
13. US Food and Drug Administration. Division of Antiinfective and Ophthalmology Drug Products (HFD-520) - **Microbiological data for antibacterial drug products - development, analysis, and presentation**. FDA; 2005.
14. Ruparelia, JP, Chatterjee, AK, Duttagupta, SP, Mukherji, S. (2008). **Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles**. *Acta Biomaterialia*, 4(3):707-16.
15. Sawai, J, Himizu, K, Yamamoto, O. (2005). **Kinetics of bacterial death by heated dolomite powder slurry**. *Soil Biology and Biochemistry*. 37(8):1484-9.
16. Sawai, J, Shiga, H, Kojima, H. (2001). **Kinetic analysis of death of bacteria in CaO powder slurry**. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 47(1):23-6.
17. Sawai J, Shiga H, Kojima, H. (2001). **Kinetic analysis of the bactericidal action of heated scallop-shell powder**. *International Journal of Food Microbiology*. 71(2-3):211-8.
18. Hoseinzadeh, E. (2011). **Evaluation of Antimicrobial Propertice of Copper Oxide Nanoparticle, Zinc Oxide Nanoparticle and their combine against Bacterial Nasocomial Infections Agents**. *Hamedan: Hamedan University of Medical Sciences and Health Services*.
19. Sawai J. (2003). **Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay**. *Journal of Microbiological Methods*, 54(2):177-82.