مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره نهم، شماره پنجم، مرداد ۹۴
صفحه ۳۵الی ۴۱

مقاله پژوهشی
(Original Article)

تأثیر آمپی‌سیلین و جنتامایسین کونژوگه با نانوذرات طلا بر روی تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا*

علی جوادی[۱]، مهدی رستمی‌راد[۲*]، محمدرضا زندمنفرد[۳]، فریبا دستجانی فراهانی[۴]، اعظم حیدرپور[۵]، محمد خدادادمطلق[۶]

[۱]دانشجوی دکتری باکتری‌شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

[۲]دانشجوی دکتری میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

[۳]کارشناس ارشد شیمی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران.

[۴]کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران.

[۵]مربی میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

[۶]دانشجوی دکتری باکتری‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
مهدی رستمی‌راد، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
mehdirostami1984@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۳/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: *سودوموناس آئروژینوزا* یک باکتری گرم منفی و پاتوژن فرصت‌طلب مهم با فاکتورهای ویرولانس فراوان است. این باکتری از پاتوژن‌های مشترک در عفونت‌های بیمارستانی، به‌خصوص در بیماران مبتلا به سیستیک فیبروزیس می‌باشد، همچنین از مکانیسم‌های مهم در بقای این پاتوژن در بیماری ریه می‌توان به تولید بیوفیلم اشاره کرد. این مطالعه با هدف تعیین غلظت‌های sub-MIC دو آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین و جنتامایسین به همراه فرم کونژوگه با نانوطلا در برابر تشکیل بیوفیلم در سویه موکوئیدی *پسودوموناس آئروژینوزا* انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه، ابتدا نانوذرات طلا به‌وسیله تری‌سیترات سدیم به روش احیای شیمیایی سنتز شد، سپس شکل و اندازه نانوذرات طلا به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) تعیین گردید. کونژوگاسیون نانوذرات طلا با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و آمپی‌سیلین از طریق مخلوط‌کردن آنها با هم صورت گرفت. تست تأثیر ترکیبات بر روی تشکیل بیوفیلم نیز به روش میکروپلیت انجام شد.

یافته‌ها: در این بررسی اندازه تقریبی نانوذرات، ۱۰ نانومتر تعیین شد. در تصویر الکترونی (در حالت کونژوگه)، تجمع نانوذرات مشاهده گردید. همچنین نانوذرات طلا کونژوگه با داروها، تأثیر بهتری نسبت به حالت آزاد داروها بر روی بیوفیلم داشت.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه، نانوذرات طلا با افزایش تجمع دارو در اطراف خود باعث تأثیر مهاری بهتر دارو بر روی تشکیل بیوفیلم نسبت به حالت آزاد داروها می‌شود.

کلید واژه‌ها: *سودوموناس آئروژینوزا*؛ نانوذرات؛ آمپی‌سیلین؛ جنتامایسین‌ها؛ فعالیت ضدبیوفیلمی.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Javadi A, Rostamirad M, Zand Monfared MR, Dastjani Farahani F, Heidarpour A, Khodadad Motlagh M. The effect of ampicillin and gentamicin conjugated with gold nanoparticles on the formation of biofilms in *Pseudomonas aeruginosa*. Qom Univ Med Sci J 2015;9(5):35-41. [Full Text in Persian]

www.SID.ir

مقدمه

پسودوموناس آئروژینوزا، باکتری میله‌ای گرم منفی و یک پاتوژن فرصت‌طلب است. سویه‌های موکوئید این باکتری با تولید لایه گلیکوکالیکس با ویسکوزیته بالا که آلژینات نام دارد، در برابر عوامل ضدمیکروبی و سیستم ایمنی بدن، سد دفاعی ایجاد می‌کند. این باکتری، عامل عفونت‌های متنوع و گسترده‌ای، به‌ویژه در افراد مبتلا به نقص ایمنی، بیماران سرطانی، ایدزی، سیستیک فیبروزیس و سوختگی‌ها می‌باشد (۱). یکی از مشکلات درمانی در بیماران مبتلا به عفونت‌های ناشی از این باکتری، مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری به درمان‌های رایج آنتی‌بیوتیکی بوده که این مقاومت‌ها در بسیاری از موارد با تولید بیوفیلم ارتباط دارند. بیوفیلم باکتری، از باکتری‌های محصور در ساختار آلژینات به‌وجود آمده که در طی اتصال به سطح ایجاد می‌شود و سبب مقاومت آنتی‌بیوتیکی و پایداری در برابر سیستم ایمنی و فاگوسیت‌ها می‌گردد (۲). به عبارتی ساده، می‌توان گفت بیوفیلم جمعیت‌هایی متشکل از یک گونه یا گونه‌های متنوع باکتری به‌صورت چسبیده به یکدیگر و یا به سطوح زنده و غیرزنده در زمینه‌ای از پل دی‌ساکاریدهای خارج سلولی است. همچنین توسعه بیوفیلم یک فرآیند پیچیده بوده که نیازمند رفتارهای جمعی باکتری می‌باشد و در مقایسه با زندگی منفرد، فواید زیادی را برای باکتری دربردارد. مراحل تشکیل بیوفیلم شامل اتصال ابتدایی برگشت‌پذیر و برگشت‌ناپذیر به سطوح، تشکیل میکروکلنی‌ها و در نهایت، بلوغ میکروکلنی‌ها همراه با تشکیل اگزوپلی‌ساکاریدها (Exopolysaccharides) می‌باشد. هنگامی‌که باکتری‌ها در شرایط محیطی ویژه‌ای از جمله فشار اسمزی، آهن، فشار اکسیژن، دما و pH قرار می‌گیرند؛ فرآیند تشکیل بیوفیلم آغاز می‌شود، هرچند جزئیات تأثیر این شاخص‌ها روی توسعه بیوفیلم از یک میکروارگانیسم به میکروارگانیسم دیگر متفاوت است (۳).

مطالعات متعدد نشان داده است غلظت‌های کمتر از حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد که به اصطلاح sub-MIC نامیده می‌شوند، موجب بازدارندگی تولید فاکتورهای فوق در باکتری‌ها می‌شود. به‌طور مثال این اثر بر روی اتصال، هیدروفوبیسیتی سطوح سلول، تشکیل بیوفیلم و حرکت نشان داده شده است (۴).

مطالعات گوناگونی پیرامون جنبه‌های مختلف بیوفیلم، به‌خصوص در زمینه بحث مقاومت آنتی‌بیوتیکی و شکست این ساختار به‌وسیله مکانیسم‌های مختلف انجام شده است، از جمله مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۵ توسط Agarwal و همکاران در زمینه بررسی تأثیر جنتامایسین و سیپروفلوکساسین بر روی تشکیل بیوفیلم با باکتری *پسودوموناس آئروژینوزا* انجام گرفت (۵). در بررسی‌های دیگر، از نانوذرات برای سرکوب فاکتورهای ویرولانس باکتریایی استفاده شده است. در مطالعه Brown و همکاران (سال ۲۰۱۲) مشخص گردید نانوذرات نقره به تنهایی روی ایزوله‌های مقاوم *پسودوموناس آئروژینوزا* و *انتروباکتر آئروژنز* اثر داشته و هنگام ترکیب با آمپی‌سیلین قدرت بیشتری خواهد داشت. درصورتی‌که نانوذرات طلا تنها در فرم کونژوگه با آمپی‌سیلین، توانایی تأثیر بر روی ایزوله‌های مقاوم را دارد (۶). مطالعات متعدد در زمینه بررسی تأثیر فرم کونژوگه نانوذرات مختلف به تنهایی و در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی بیوفیلم باکتریایی صورت گرفته است، از جمله اینکه Ansari و همکاران با بررسی "اثر نانوذرات نقره بر روی بیوفیلم *اشرشیا کلی* و *کلبسیلا پنومونیه* مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف" طی گزارشی از موفقیت خود در زمینه حذف بیوفیلم خبر دادند (۷). برهمین اساس این مطالعه با هدف تعیین غلظت‌های sub-MIC دو آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین و جنتامایسین به همراه فرم کونژوگه با نانوطلا در برابر تشکیل بیوفیلم در سویه موکوئیدی *پسودوموناس آئروژینوزا* انجام شد.

روش بررسی

برای سنتز نانوذرات طلا به روش احیای شیمیایی (Turkevich method)، ابتدا ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول استوک $HAuCl_4$ داخل ارلن ریخته شد، سپس ۹۲/۵ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر به آن اضافه گردید، پس از جوشاندن محلول با استفاده از هات پلیت، همزن روشن‌شده و قطره قطره به میزان ۲/۵ میلی‌لیتر تری‌سیترات سدیم به آن افزوده شد. پس از ایجاد رنگ قرمز یاقوتی، دستگاه خاموش و محلول مورد نظر در ظرف تیره در ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد، سپس جهت تعیین شکل و اندازه، از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده گردید (۸). جهت کونژوگاسیون، ۵ میلی‌لیتر از محلول آمپی‌سیلین و

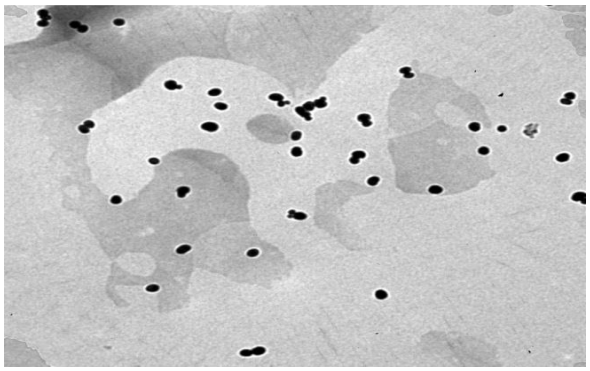
Archive of SID

www.SID.ir

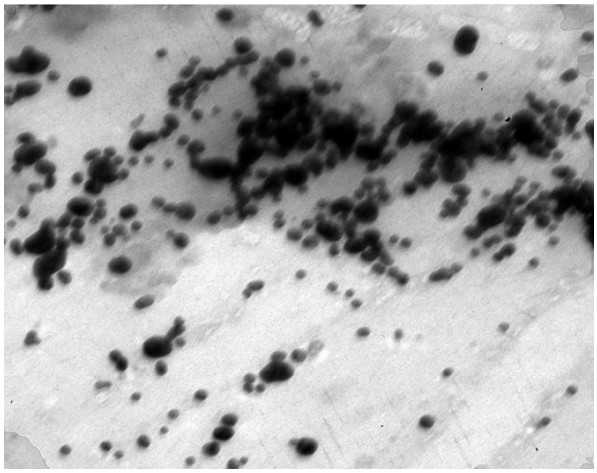
جنتامایسین (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به‌طور جداگانه با ۱۰ میلی‌لیتر از محلول نانوذرات طلا مخلوط و به مدت ۲ ساعت با دستگاه همزن مگنت‌دار همزده شد، پس از تغییر رنگ، محلول با میکروسکوپ الکترونی عبوری آنالیز گردید (۹). برای سنجش فعالیت ضدبیوفیلمی از یک‌سویه استاندارد تولیدکننده بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* با شماره ATCC 27853 استفاده شد. جهت انجام آزمایش بیوفیلم، ایزوله‌ها در محیط لوریا برتانی به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد کشت داده شدند. سپس برای تمامی ایزوله، سوسپانسیون میکروبی در محیط لوریا برتانی با جذب نوری حدود ۰/۱ در ۶۰۰ نانومتر تنظیم گردید. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی ایزوله‌ها، به پلیت ۹۶ خانه استریل از جنس پلی‌استیرن (Falcon) منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۰ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. سپس پلیت ۹۶ خانه‌ای با آب، ۳ بار شسته شد و سپس خشک گردید، در مرحله بعد، با افزودن ۲۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۱٪ (به مدت ۱۵ دقیقه) رنگ‌آمیزی شد؛ مجدداً جهت حذف رنگ اضافه، عمل شست‌وشو (سه بار با آب) و خشک کردن انجام شد. برای حل‌شدن رنگ‌های متصل به سلول باکتری دخیل در بیوفیلم، ۲۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۵٪، اضافه گردید، سپس پلیت در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (۸). در این مطالعه، تأثیر غلظت‌های متفاوتی از آمپی‌سیلین و جنتامایسین به تنهایی و به فرم ترکیب با نانوذرات طلا بر روی تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* بررسی گردید. در مورد آمپی‌سیلین و فرم کونژوگه، غلظت‌ها شامل دوز ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و در جنتامایسین و فرم کونژوگه آن شامل دوز ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند که به همراه ۱۰۰ لاندا از سوسپانسیون ۰/۵ مک‌فارلند به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای تلقیح شده و ۲۴ ساعت در ۳۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند (۹،۱۰).

یافته‌ها

در این مطالعه، نانوذرات طلا با اندازه تقریبی ۱۰ نانومتر و به شکل دایره تشکیل شد (شکل شماره ۱). در تصویر الکترونی در حالت کونژوگه با داروها، تجمع نانوذرات طلا مشاهده گردید (شکل شماره ۲).



شکل شماره ۱: میکروسکوپ الکترونی نانوذرات طلا



شکل شماره ۲: میکروسکوپ الکترونی حالت کونژوگه

of SID

www.SID.ir

آمپی‌سیلین در غلظت ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر موجب کاهش تشکیل بیوفیلم باکتری و در غلظت ۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر تقریباً مانع تشکیل بیوفیلم شد. اما در فرم کونژوگه (ترکیب آمپی‌سیلین/ نانوذرات طلا) در مقایسه با تأثیر آمپی‌سیلین در غلظت ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر، مانع تشکیل بیوفیلم شد. نانوذرات طلا به تنهایی هیچ تأثیری نداشت (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: بررسی تأثیر آمپی‌سیلین و آمپی‌سیلین- نانوذرات طلا بر روی تشکیل بیوفیلم

حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد نام عامل ضدباکتریایی	۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر	۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر	٦٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر	۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر	۲۵٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر	۵۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر
آمپی‌سیلین	+	+	+	+	–	–
آمپی‌سیلین/ نانوذرات طلا	+	+	+	-	–	–
نانوذرات طلا به تنهایی	بی‌تأثیر	بی‌تأثیر	بی‌تأثیر	بی‌تأثیر	بی‌تأثیر	بی‌تأثیر

جنتامایسین در غلظت برابر ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر روی تشکیل بیوفیلم، اثر مهاری به جای گذاشت، این درحالی بود که فرم کونژوگه (جنتامایسین/نانوذرات طلا) در غلظت یک میکروگرم بر میلی‌لیتر، اثر ضدبیوفیلمی داشت. نانوذرات طلا به تنهایی هیچ تأثیری نداشت (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: تأثیر جنتامایسین و جنتامایسین- نانوذرات طلا بر روی تشکیل بیوفیلم

حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد نام عامل ضدباکتریایی	۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر	۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر	۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر	٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر	۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر
جنتامایسین	+	+	+	–	–
جنتامایسین/ نانوذرات طلا	+	–	–	–	–
نانوذرات طلا به تنهایی	بی‌تأثیر	بی‌تأثیر	بی‌تأثیر	بی‌تأثیر	بی‌تأثیر

علامت(+):تشکیل بیوفیلم؛ علامت (-):عدم تشکیل بیوفیلم

بحث

پسودوموناس آئروژینوزا عامل مهم عفونت‌های بیمارستانی (Nosocomial Infection)، مرگ و میر در مبتلایان به ضعف سیستم ایمنی مانند ایدز، بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU)، مبتلایان به نقص ژنتیکی سیستیک فیبروزیس (Cystic Fibrosis) و سوختگی‌ها به شمار می‌رود (۱۱). بنابراین، کنترل و درمان عفونت ناشی از این باکتری و سایر باکتری‌ها نظیر *استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس* به دلیل افزایش سویه‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک (Multi Drug Resistant, MDR) و تولید بیوفیلم، به‌خصوص بر روی ابزار پزشکی و ابزاری از قبیل به‌کارگیری وسایل مصنوعی و کارگذاشتنی در بدن مانند سوندهای درون سیاهرگی، سوندهای ادراری، دریچه‌های مصنوعی قلب، لنزهای تماسی و داخل چشمی، همچنین سوختگی‌های شدید، از مشکلات اصلی در بیمارستان‌ها می‌باشد (۱۳،۱۲). مطالعات مختلف، بیانگر وقوع عفونت دستگاه ادراری ناشی از بیمارستان در افراد دریافت‌کننده سوند می‌باشد.

اغلب باکتری‌های موجود در این عفونت‌ها، باکتری‌های مولد بیوفیلم از جمله *پسودوموناس آئروژینوزا*، *اشرشیا کلی* و پروتئوس‌ها هستند که در بسیاری از موارد با تشکیل بیوفیلم بر روی سوندها وارد دستگاه ادراری شده و ایجاد عفونت می‌کنند (۱۴،۱۳)). جهت جلوگیری یا مهار این مشکلات، تحقیقات بسیاری بر روی بیوفیلم، به‌خصوص در بحث مهار آن انجام شده که با موفقیت‌ها و شکست‌هایی همراه بوده است. اما نکته اصلی این است که شکست بیوفیلم، امری بسیار سخت و دشوار می‌باشد. در بررسی انجام‌شده توسط Musk و همکاران (سال ۲۰۰۶) مشخص گردید آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین با MIC نسبتاً پایین موجب شکست بیوفیلم *کلبسیلا پنومونیه* می‌شود، این درحالی است که غلظت دو برابر MIC این آنتی‌بیوتیک نیز به‌همین شکل عمل می‌کند (۱۵). البته در مواردی نیز تأثیر مواد ضدمیکروبی خاصی موجب سرکوب بیوفیلم؛ حتی در غلظت برابر با غلظت MIC آنتی‌بیوتیک شده است. در مطالعه‌ای‌که توسط Agarwal و همکاران (سال ۲۰۰۵) انجام شد مشخص گردید جنتامایسین

www.SID.ir

اثر مشابهی با فرم پلانکتونیک بر فرم بیوفیلمی این باکتری دارد (۵)، که این نتیجه با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت. بر این اساس غلظت MIC جنتامایسین بر روی فرم پلانکتونیک *پسودوموناس آئروژینوزای* ATCC 27853 برابر با ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود، درحالی‌که MIC ضدبیوفیلمی آن به‌تنهایی ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده و در فرم کونژوگه با نانوذرات طلا نیز یک میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. در این بررسی، نتیجه حاصله از تأثیر آمپی‌سیلین و آمپی‌سیلین/نانوذرات طلا بر روی تشکیل بیوفیلم، متفاوت از نتیجه جنتامایسین بود. بدین صورت‌که فرم خالص آمپی‌سیلین در غلظت ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر روی فرم آزاد باکتری یا پلانکتونی اثر مهاری داشت، درحالی‌که این حالت در مورد بیوفیلم باکتری برابر ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود اما نکته مهم این است که نانوذرات طلا در تقویت این واکنش نقش داشته، به‌طوری‌که غلظت MIC برای آمپی‌سیلین/ نانوذرات طلا، ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد نانوذرات طلا با اثر تقویتی بر عملکرد داروهای مورد بررسی باعث کارآیی بهتر آنها بر ضدبیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* می‌شود.

References:

1. Aslani MM, Hashemipour M, NikBin VS, Shahcheraghi F, Eydi A, Sharafi Z. PCR identification of Pseudomonas aeruginosa based on two outermembrane lipoprotein oprI, oprL, and exotoxin A gene. J Med Sci Lorestan 2009;11(2):21-6. [Full Text in Persian]

2. Aslani MM, Sharafi Z, Shahcheraghi F, Nik Bin V, Hashemi Poor M, Ebrahimi Poor Gh. Molecular detection and identification of virulence factors of Pseudomonas aeruginosa isolated from wound and burn infections. Pajouhandeh 2010;15(6):287-92. [Full Text in Persian]

3. Kamali A, Ahmadzade A, Behbodi K. Investigation on biofilm formation stages in some strains of pseudomonas fluorescens and the influence of some nutritional factors on biofilm formation of selected strain. Iran J Plant Path 2011;47(4):153-4. [Full Text in Persian]

4. Vallet I, Olson JW, Lory S, Lazdunski A, Filloux A. The chaperone/usher pathways of Pseudomonas aeruginosa: Identification of fimbrial gene clusters (cup) and their involvement in biofilm formation. Proc Nati Acad Sci 2001;98(12):6911-6.

5. Agarwal G, Kapil A, Kabra S, Das BK, Dwivedi S. In vitro efficacy of ciprofloxacin and gentamicin against a biofilm of Pseudomonas aeruginosa and its free-living forms. Nati Med J India 2005;18(4):184-6.

6. Brown AN, Smith K, Samuels TA, Lu J, Obare SO, Scott ME. Nanoparticles functionalized with ampicillin destroy multiple-antibiotic-resistant isolates of Pseudomonas aeruginosa and Enterobacter aerogenes and methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Appl Environ Microbiol 2012;78(8):2768-74.

7. Ansari MA, Khan HM, Khan AA, Cameotra SS, Ruchita P. Antibiofilm efficacy of silver nanoparticles against biofilm of extended spectrum β-lactamase isolates of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. Appl Nanosci 2014;4(7):859-68.

8. Nirmala Grace A, Pandian K. Antibacterial efficacy of aminoglycosidic antibiotics protected gold nanoparticles-A brief study. Colloids Surfaces A: Physicochem Eng Aspect 2007;297(1):63-70.

9. Huang C-T, James G, Pitt WG, Stewart PS. Effects of ultrasonic treatment on the efficacy of gentamicin against established Pseudomonas aeruginosa biofilms. Colloid Surfaces B: Biointerfaces 1996;6(4):235-42.

10. Ceri H, Olson M, Stremick C, Read R, Morck D, Buret A. The Calgary Biofilm Device: New technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. J Clin Microbiol 1999;37(6):1771-6.

Archive of SID

www.SID.ir

11. Leid JG, Willson CJ, Shirtliff ME, Hassett DJ, Parsek MR, Jeffers AK. The exopolysaccharide alginate protects Pseudomonas aeruginosa biofilm bacteria from IFN-γ-mediated macrophage killing. J Immunol 2005;175(11):7512-8.

12. Kadry AA, Fouda SI, Shibl AM, El-Asrar AA. Impact of slime dispersants and anti-adhesives on in vitro biofilm formation of Staphylococcus epidermidis on intraocular lenses and on antibiotic activities. J Antimicrob Chemother 2009;63(3):480-4.

13. Potera C. Forging a link between biofilms and disease. Science 1999;283(5409):1837-39.

14. Trautner BW, Darouiche RO. Role of biofilm in catheter-associated urinary tract infection. Am J Infect Control 2004;32(3):177-83.

15. Musk DJ Jr, Hergenrother PJ. Chemical countermeasures for the control of bacterial biofilms: Effective compounds and promising targets. Curr Med Chem 2006;13(18):2163-77.

Archive of SID

www.SID.ir

The Effect of Ampicillin and Gentamicin Conjugated with Gold Nanoparticles on the Formation of Biofilms in Pseudomonas aeruginosa

Ali Javadi[1]; Mehdi Rostamirad[2*]; Mohammad Reza Zand Monfared[3]; Fariba Dastjani Farahani[4]; Azam Heidarpour[5]; Mohammad Khodadad Motlagh[6]

[1]PhD Student of Medical Bacteriology, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[2]PhD Student of Microbiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[3]Master of Sciences in Chemistry, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

[4]Master of Sciences in Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

[5]Instructor of Microbiology, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

[6]PhD Student of Bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

***Corresponding Author:**
Mehdi Rostami Rad,
Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Email:
mehdirostami1984@gmail.com

Received: 10 Jun, 2013

Accepted: 1 Dec, 2014

Abstract

Background and Objectives: *Pseudomonas aeruginosa*is a gram-negative bacterium and an opportunistic pathogen with several virulence factors. This bacterium is one of the common pathogens in nosocomial infections, particularly in patients with cystic fibrosis. Also, one of the important mechanisms of the survival of this pathogen in the pulmonary disease is biofilm formation. This study was conducted with the purpose of determining the sub-MIC concentrations of two antibiotics, ampicillin and gentamicin, along with the form conjugated with gold nanoparticles on the formation of biofilms in mucoid strain of *Pseudomonas aeruginosa.*

Methods: In this study, gold nanoparticles were synthesized using trisodium citrate in a chemical reduction method, then the shape and size of gold nanoparticles were determined by transmission electron microscopy (TEM).Conjugation of gold nanoparticles with ampicillin and gentamicin antibiotics was performed by mixing them together. To test the effect of compound son biofilm formation, micro plate method was performed.

Results: In this study, approximate size of nanoparticles was determined to be 10nm. In electronic image (in conjugated form), accumulation of nanoparticles was observed in the image. Also, gold nanoparticles conjugated with the drugs, had better effect on biofilm formation compared to free form of the drugs.

Conclusion: According to the results of this study, gold nanoparticles by increasing the concentration of drug around themselves result in better inhibitory effect of drug on the biofilm formation compared to the free form of drug.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa;* Nanoparticles; Ampicillin; Gentamicins; Antibiofilm activity.

www.SID.ir