

## بررسی مقایسه‌ای اثرات ضد میکروبی نانوکامپوزیت آلومینا-سیلیکا-تیتانیا و نانوذره نقره در شرایط برون تنی

حمزه میرزایی جاهد\*<sup>۱</sup>، سید مسعود هاشمی کروئی<sup>۲</sup>، بابک صادقی گرمارودی<sup>۳</sup>، مهران ریاضیان<sup>۴</sup>، اسماعیل بی آزار<sup>۵</sup>،

مریم صادق پور<sup>۶</sup>، مصطفی گنجوری<sup>۷</sup>، امین برقی<sup>۸</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، باشگاه پژوهشگران جوان، تنکابن، ایران، صندوق پستی: ۴۶۸۱۵-۵۵۹

۲و۶- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، گروه میکروبیولوژی، تنکابن، ایران، صندوق پستی: ۴۶۸۱۵-۵۵۹

۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، گروه شیمی، تنکابن، ایران، صندوق پستی: ۴۶۸۱۵-۵۵۹

۴و۵- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، گروه مهندسی پزشکی، تنکابن، ایران، صندوق پستی: ۴۶۸۱۵-۵۵۹

۷- دانشگاه اصفهان، گروه سلولی مولکولی، اصفهان، ایران، صندوق پستی: ۸۱۷۴۶-۷۳۴۴۱

۸- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، باشگاه پژوهشگران جوان، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

(\*عهده دار مکاتبات - dr\_hamzeh@yahoo.com)

### چکیده

نانوذرات و نانو کامپوزیت‌ها نقش مهمی را در علوم زیستی ایفا می‌کنند. در این مطالعه فعالیت ضد میکروبی نوعی نانوکامپوزیت آلومینا-سیلیکا-تیتانیا به همراه نانو ذره نقره در غلظت‌های متفاوت مورد بررسی قرار گرفت. پنج روش حداقل غلظت مهارکنندگی، چاهک گذاری، دیسک گذاری، شیکر گذاری و تأثیر سمیت سلولی به منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی پنج غلظت متفاوت از نانوذرات بر روی دو باکتری *E. coli*، *Bacillus subtilis* و قارچ *Candida albicans* مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که ذرات نانو کامپوزیت آلومینا بعد از پراکنی (دیسپرس شدن)، در غلظت‌های پایین قادر به از بین بردن میکروارگانیسم‌ها نبوده، اما در تیمار با غلظت‌های بالاتر در پلیت‌های مربوط به *E. coli* تفاوت معناداری ایجاد نمود اما ذرات نقره در کمترین غلظت، از بین برنده همه میکروارگانیسم‌ها بودند. از طرفی ویژگی‌های سمیتی روی سلول‌های اپی تلیالی نشان می‌دهند که بر خلاف نانو ذره نقره، نانوکامپوزیت آلومینا به دلیل سازگاری زیستی مناسب و با توجه به اهمیت فلور میکروبی بدن می‌تواند درحوزه علوم پزشکی به کار برده شود. مطالعه حاضر مؤید این حقیقت است که نانو ذره نقره اثرات آنتی باکتریال وسیع و مؤثری دارد اما نانو کامپوزیت آلومینا طیف محدودی از میکروارگانیسم‌ها را نظیر *E. coli* مهار می‌کند و در عین حال اثرات بیولوژیکی مخاطره آمیزی برای سلول‌های یوکاریوتی ندارد.

**کلمات کلیدی:** نانوذرات نقره، نانو کامپوزیت، اثرات ضد میکروبی، عوامل پراکننده ساز.

## مقدمه

نانوفناوری عرصه جدیدی را در علوم مختلف به ویژه میکروبیولوژی باز نموده است. نانوذرات مختلفی ویژگی‌های ضد میکروبی مناسبی را نشان داده‌اند از جمله می‌توان به نانوذرات نقره، اکسیدهای فلزی همانند سیلیکا، تیتانیا و.. اشاره نمود. عوامل مختلفی همانند شکل ذرات و غلظت و فاکتورهای دیگر بر ویژگی ضد میکروبی آن‌ها تأثیرگذارند (۱ و ۲). به عنوان نمونه در مطالعات مختلفی به نتیجه مشابهی مبنی بر این که با افزایش غلظت نانو ذرات ZnO و Ag خاصیت ضد میکروبی‌شان افزایش پیدا خواهد کرد دست یافتند (۶، ۱۲ و ۱۳). نانوذرات با توانایی تولید رادیکال آزاد اکسیژن می‌توانند میکروارگانیسم‌های فلور طبیعی بدن را نیز مورد حمله قرار داده و باعث ایجاد اختلال در تعادل فلور میکروبی شوند. نمونه بارز نانوذرات آنتی میکروبیال قوی، نقره می‌باشد. این نانوذرات توسط اتصال به غشای سلول قارچی و با از بین بردن سدهای نفوذپذیر غشاء، باعث تخریب غشای دو لایه قارچ گردیده که به دنبال آن با ایجاد منافذ کوچک در غشاء، باعث نشت مواد داخل سلولی به خارج و فقدان یون‌ها و سایر مواد خواهند شد و در نهایت باعث از بین رفتن قدرت الکتریکی غشاء می‌شود (۷ و ۸). در این مطالعه برای مقابله با پاتوژن‌های باکتریایی و قارچی، از محصولات فناوری نانو از قبیل نانو ذرات کامپوزیتی اکسید آلومینیوم - تیتانیوم - سیلیکا و نقره در غلظت‌ها و زمان‌های متغیر استفاده شد، تا بتوان غلظت و زمان آستانه‌ی مهار رشد این میکروارگانیسم‌های پاتوژن را محاسبه نمود.

## مواد و روش‌ها

نانو کامپوزیت آلومینا - سیلیکا - تیتانیا تهیه شده توسط دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات، نانوذرات نقره تهیه شده توسط شرکت نانونصب پارس (ایران)، سدیم پرکربنات محصول سیگما (امریکا)، رنگ MTT محصول سیگما (امریکا)، ترازو دیجیتالی (Presica XT 1220M - سوئیس)، اولتراسوند فراصوت (SONOREX DIGITAL 10P - آلمان)، میکروسکوپ الکترونی (TEM (PHILIPS - هلند)، دستگاه Phomo Reader (امریکا) *Bacillus subtilis*، *E. coli* PTCC 1397، *Candida albicans* PTCC 1023، PTCC 5027 تهیه شده از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران، محیط کشت مولر هینتون براث و مولر هینتون آگار و ساپرو دکستروز براث و ساپرو دکستروز آگار (MERCK).

## آنالیز ساختاری

برای دیسپرس نمودن نانوکامپوزیت از روش فراصوت (سونیکیشن) و اضافه نمودن سدیم پرکربنات جهت پراکنی (دیسپرس نمودن) نانوذرات استفاده شد. ابتدا غلظت مشخصی از نانوذرات آلومینا به ۱۰ ml آب دیونیزه اضافه شد، بعد نانوذرات به مدت ۶۰ دقیقه با قدرتی معادل ۵۰W در معرض دستگاه اولتراسونیک قرار گرفت. البته لازم به ذکر است که سدیم پرکربنات در غلظت‌های بالا، خود می‌تواند خاصیت ضد باکتری داشته باشد، در نتیجه ابتدا با استفاده از دو روش چاهک و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی، غلظت مناسب سدیم پرکربنات برای دیسپرس نمودن نانوذرات انتخاب شد. اندازه‌گیری سایز ذرات با روش تفرق نور

### تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی نانوذرات آلومینا و نقره، با روش تهیه رقت

داخل ۱۱ لوله، ۱ml از محیط مولر هیتون براث ریخته شد، سپس مقدار ۱ml از غلظت ۴۰۰ ppm نانو ذرات را به لوله اول اضافه کرده و سپس ۱ml از این لوله به لوله دوم اضافه گردید. این کار تا یک لوله مانده به آخر ادامه داده و ۱ml از آن دور ریخته شد و لوله آخر فاقد نانو ذره به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. ۱۰۰µl از سوسپانسیون میکروبی قبلاً تهیه شده را به تمام لوله‌ها اضافه نموده و سپس لوله‌ها به مدت ۲۴h داخل انکوباتور شیکر دار  $37^{\circ}\text{C}$  قرار گرفتند.

#### روش CFU (Colony-forming unit)

برای انجام این روش جهت بررسی اثر پودر نانو کامپوزیت بر روی میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه، برای هر باکتری ارلن‌های شاهد و تیمار مجزایی را فراهم نموده که حاوی غلظت مشخصی از نانو ذرات می‌باشد. محتوای ارلن‌های تیمار برای هر میکروارگانیسم شامل محیط کشت مایع مناسب باکتری و قارچ به حجم ۱۰ml و سوسپانسیون باکتریایی یا قارچی و نانو ذره با غلظت مشخص (۴۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm) هر کدام به حجم ۱ml بود و ارلن‌های شاهد فاقد نانو ذره بود. ارلن‌های شاهد و تیمار در لحظات متفاوتی از لحظه صفر، میانی و پایانی، در لوله‌ها تا ۶ رقت ( $10^{-1}$  تا  $10^{-6}$ ) از سوسپانسیون باکتری رقت سریالی تهیه شد. بلافاصله از رقت‌های  $10^{-6}$ ،  $10^{-5}$ ،  $10^{-4}$  کشت پورپلیت تهیه نموده و پس از قرار دادن ارلن‌ها به مدت ۲۴h در انکوباتور شوکر دار  $37^{\circ}\text{C}$  با دور ۲۰۰ rpm، شمارش واحد

پویا<sup>۱</sup> صورت گرفت. برای بررسی مورفولوژی ذرات از میکروسکوپ الکترونی استفاده شد (۱۴).

#### بررسی خواص ضد میکروبی

### تعیین میزان حساسیت میکروارگانیسم‌ها به نانوذرات آلومینا و نقره با استفاده از روش دیسک

دیسک‌های استریل را به مدت ۲۴h داخل لوله‌های حاوی غلظت‌های متفاوت (۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ ppm) نانوذرات آلومینا و نقره قرار داده و جهت خارج شدن رطوبت در پلیت استریل در بسته‌ای قرار گرفت. سپس مقدار ۵۰µl از سوسپانسیون میکروبی حاوی ۰/۵ مک فارلند از میکروارگانیسم مورد نظر را در پلیت حاوی محیط کشت اختصاصی (مولر هیتون آگار برای باکتری‌ها و سابروکستروز آگار برای قارچ) کشت سفره‌ای داده و دیسک گذاری صورت گرفت. سپس به مدت ۲۴h داخل انکوباتور  $37^{\circ}\text{C}$  جهت بررسی قطر هاله عدم رشد قرار داده شد.

### تعیین میزان حساسیت میکروارگانیسم‌ها به نانوذرات آلومینا و نقره با استفاده از روش چاهک

در این مرحله مجدداً پس از کشت سوسپانسیون بر روی محیط‌ها مشابه بالا بر روی پلیت‌ها ایجاد چاهک نموده و با اضافه نمودن ۱۰۰µl از غلظت‌های متفاوت نانوذرات (۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ ppm) به داخل چاهک‌ها، به مدت ۲۴h داخل انکوباتور  $37^{\circ}\text{C}$  جهت بررسی قطر هاله عدم رشد قرار داده شد.

<sup>1</sup> Dynamic Light Scattering

شدند. سپس به هر چاهک ۲۰۰µl محیط کشت حاوی ۰/۵ mg/ml محلول

(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) MTT

اضافه شد و به مدت ۲ الی ۴h در انکوباتور CO<sub>2</sub> دار ۳۷°C قرار گرفت. در طی انکوباسیون MTT توسط سیستم سوکسینات دهیدروژناز احیا شد. احیا و شکسته شدن این حلقه موجب تولید کریستال‌های آبی رنگ فورمازان می‌شود که در زیر میکروسکوپ براحتی قابل تشخیص هستند. میزان رنگ تولید شده با تعداد سلول‌هایی که از نظر متابولیک فعال هستند رابطه مستقیم دارد. کریستال‌های فورمازان در آب غیرمحلول بوده و بایستی قبل از رنگ سنجی توسط ماده حلالی نظیر دی متیل سولفاید DMSO (Stop Solution) به حالت محلول درآیند. در نهایت جذب نوری محلول به دست آمده در طول موج ۵۷۰nm توسط دستگاه Phomo Reader قرائت شد.

### نتایج

**آنالیز اندازه گیری نانو کامپوزیت آلومینا-سیلیکا-تیتانیا و نانوذرات نقره**

همان‌طور که از منحنی شکل ۱ برمی‌آید اندازه نانو کامپوزیت آلومینا-سیلیکا-تیتانیا توسط آزمون توزیع سایز ذرات (DLS) در حدود ۳۰ الی ۴۰nm تخمین زده شد. همین آنالیز برای نمونه نانوذرات نقره دیسپرس شده حدود ۱۵nm را نشان داد.

کلنی انجام گرفت. تمامی مراحل کار دو بار تکرار گردید و میانگین داده‌های بدست آمده در نتایج منظور گردید. درصد کاهش کلنی باکتری با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۵).

$$C = \frac{A - B}{A} \times 100$$

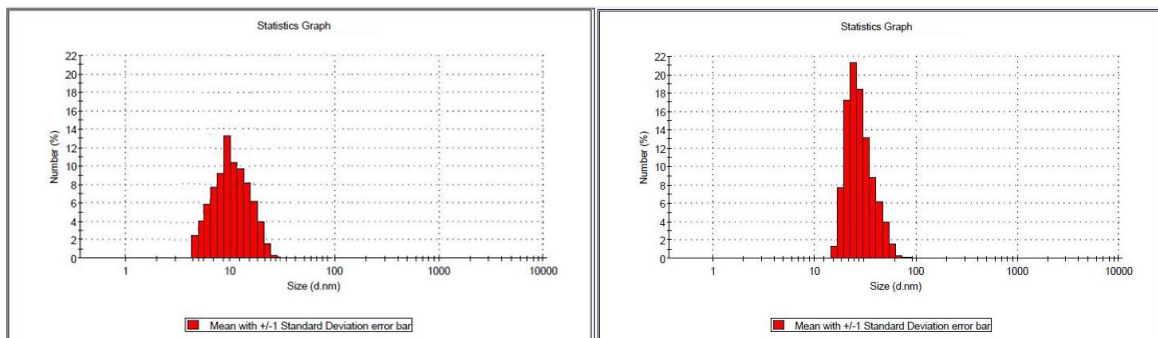
A: تعداد باکتری اولیه

B: تعداد باکتری پس از مجاورت

C: درصد کاهش باکتری

### آنالیز سلولی

آزمایش MTT که یک روش رنگ سنجی است که بر اساس احیا شدن و شکسته شدن کریستال‌های زرد رنگ تترازولیوم به وسیله آنزیم سوکسینات دهیدروژناز انجام می‌شود. ابتدا تعداد مناسبی سلول اپی تلایال sw742 تهیه شده از انستیتو پاستور (ترجیحاً ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک) را در هر یک از چاهک‌ها کشت داده و به مدت ۲۴h در انکوباتور ۳۷°C قرار گرفت تا سلولها به کف پلیت چسبیده و به حالت پایدار خود درآیند. سپس چاهک‌های کنترل و آزمایش انتخاب شده و مقدار مناسبی از سوسپانسیون نانوذرات آلومینا به چاهک‌های تست اضافه شد و پلیت مدت ۴۸h، جهت تأثیر ماده مورد نظر، انکوبه شد. پس از اتمام انکوباسیون محیط کشت روئی دور ریخته شد و توسط دستگاه Microplate Washer چاهک‌ها شسته

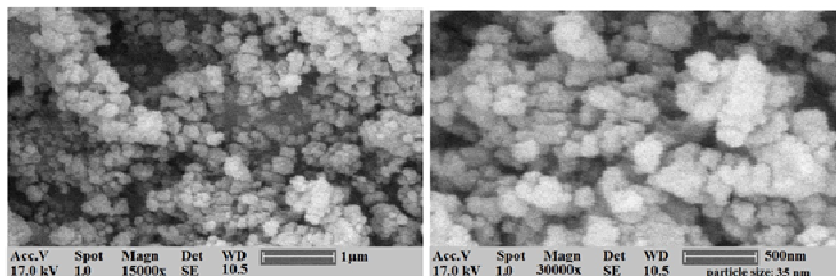


شکل ۱: میانگین توزیع سایز نانو کامپوزیت آلومینا-سیلیکا-تیتانیا و نقره

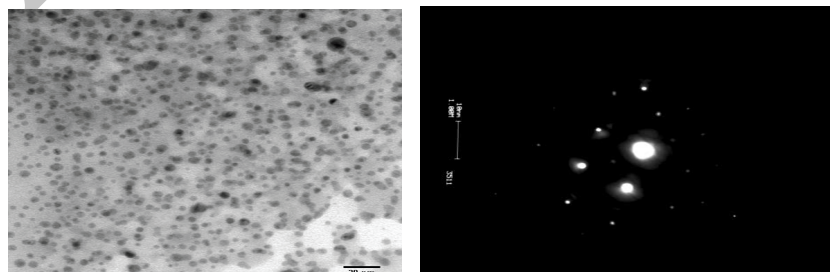
نانو کامپوزیت آلومینا-سیلیکا-تیتانیا و نانوذرات نقره را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج به دست آمده، نانوذره نقره به صورت خالص و به شکل کروی و دارای ابعادی کم‌تر از ۲۰nm بوده است.

### نتایج میکروسکوپ الکترونی گذاره نانو کامپوزیت آلومینا-سیلیکا-تیتانیا و نانوذرات نقره

از میکروسکوپ الکترونی گذاره جهت شناسایی، تعیین ساختار و مطالعه مورفولوژی سطحی نانوذرات استفاده گردید. شکل ۲ و ۳ تصاویر میکروسکوپی از



شکل ۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی نانو کامپوزیت آلومینا-سیلیکا-تیتانیا

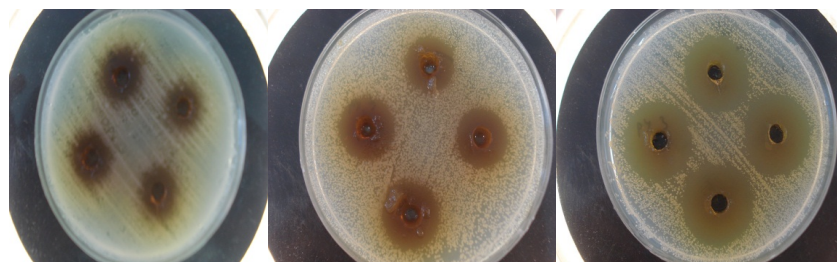


شکل ۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی نانوذرات نقره

### نتایج آنالیزهای میکروبی

نانوذرات نقره حتی در پایین‌ترین غلظت خود تأثیر معناداری در میکروارگانیسم‌های استفاده شده داشته، که این امر با تشکیل شدن هاله عدم رشد در میکروارگانیسم‌های مذکور به خوبی قابل مشاهده بود

(شکل ۴). به تدریج با افزایش غلظت نانوذرات، هاله عدم رشد میزان ثابتی بود. حساس‌ترین میکروارگانیسم، به ترتیب *Bacillus subtilis*، *E.coli* و *Candida albicans* بود (جدول‌های ۱ و ۲).



شکل ۴: هاله‌های عدم رشد چاهک‌های حاوی غلظت‌های متفاوت نانوذرات

میکروارگانیسم‌های دیگر همانند پلیت کنترل مثبت خود رشد نمودند، که نتایج خود نشان دهنده این مطلب می‌باشد که نانوکامپوزیت آلومینا توانایی از بین بردن میکروارگانیسم‌های استفاده شده را به استثناء *E.coli* در بالاترین غلظت خود ندارد. در مورد نانو ذره نقره در روش مشابه و مقایسه‌ای از غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm برای میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه استفاده گردید که نتیجه کار عدم رشد تمامی میکروارگانیسم‌ها در تمامی لحظات مورد بررسی بود.

### نتایج آنالیز سلولی

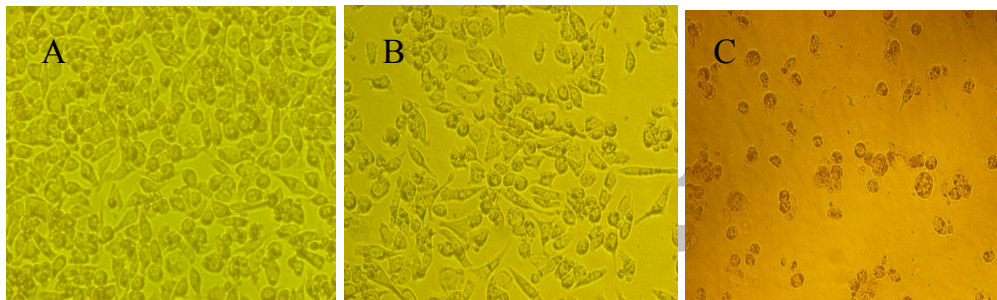
میزان جذب نوری میکروپلیت‌های حاوی سلول اپی‌تلیال و نانوذرات در طول موج ۵۷۰ nm نشان دهنده این بود که تنها ۹٪ از سلول‌های اپی‌تلیال بعد از در معرض قرار گرفتن با نانوذرات نقره توانستند زنده بمانند در صورتی که این مقدار برای نانوکامپوزیت آلومینا ۹۷٪ بود (جدول ۵). تصاویر میکروسکوپ نوری نشانگر سمیت نانوذرات نقره و نانوکامپوزیت

نتایج آنالیز نشان داده که نانوکامپوزیت آلومینا-سیلیکا-تیتانیا در سه غلظت فوق هاله عدم رشدی برای هیچ کدام از میکروارگانیسم‌ها نشان نداده است.

جدول ۳ نتایج اثر نانوذرات نقره و نانو کامپوزیت آلومینا با روش MIC و MBC، در میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه را نشان داده است. غلظت نانو ذره نقره در اولین لوله ۴۰۰ ppm بود که بر اساس رقت سریالی تا ۳ ppm ادامه یافت و نتایج زیر مشاهده گردید. هر ۳ میکروارگانیسم بعد از تحت تأثیر قرار گرفتن توسط ۸ غلظت متفاوت از نانوذرات آلومینا، در لوله‌های MIC به رشد خود ادامه دادند. نتایج اثر نانوذرات نقره و نانو کامپوزیت آلومینا با روش CFU، در میکرو-ارگانیسم‌های مورد مطالعه در جدول ۴ آورده شده است. در روش مذکور ابتدا غلظت ۲۰۰ ppm از نانو کامپوزیت آلومینا مورد بررسی قرار گرفت ولی در تمام میکروارگانیسم‌های مورد بررسی اعداد معناداری شمارش نشد، اما بعد از تیمار در ۴۰۰ ppm فقط اعداد مربوط به *E.coli* قابل گزارش بود و در سایر پلیت‌ها

سلولی شده که برای نانو کامپوزیت آلومینا-سیلیکا-تیتانیا (شکل 5.B) سمیت چندانی را نشان نمی دهد ولی برای نمونه در معرض قرار گرفته با نانوذرات نقره (شکل 5.C) اثر سمیتی قوی را نشان می دهد که این خود بیان گر سمی بودن نانوذرات نقره می باشد.

علیه سلول های اپی تلیال در مقایسه با نمونه کنترل (TCPS) می باشد (شکل 5). بدین صورت که سلول های اپی تلیال کنترل به صورت سالم و دوکی شکل مشاهده شدند (شکل 5.A) اما سلول های اپی تلیالی که در معرض این نانوذرات قرار گرفتند دچار آسیب



شکل 5: تصاویر میکروسکوپ نوری از سلول های اپی تلیال sw742

A: قبل از تحت تاثیر قرار گرفتن با نانو ذرات، B: پس از تحت تاثیر قرار گرفتن با نانو کامپوزیت آلومینا-سیلیکا-تیتانیا  
C: پس از تحت تاثیر قرار گرفتن با نانوذرات نقره

مناسب جهت کم نمودن آسیب وارده توسط این ذرات بر سلول های پستانداران از اهمیت بسیاری برخوردار است (۱۱). در راستای تحقق بخشیدن به این هدف در این مطالعه از نانو کامپوزیت آلومینا استفاده گردید. برای اثبات بی خطر بودن این نانو کامپوزیت برای سلول های پستانداران آنالیز MTT بر روی سلول های اپی تلیال sw742 انجام پذیرفت و نتایج به دست آمده با اثرات نانوذره نقره مقایسه شد و نتایج نشان داد که تنها ۹٪ از سلول های اپی تلیال بعد از در معرض قرار گرفتن با نانوذرات نقره زنده ماندند در صورتی که برای نانو کامپوزیت ۹۷٪ بوده است. مطالعه حاضر مؤید این است که نانو ذره نقره اثرات آنتی باکتریال وسیع و مؤثری نسبت به نانو کامپوزیت آلومینا داشته اما می تواند با توجه به فاکتور زمان اثرات نامطلوبی بر سلول های یوکاریوتی برجا گذارد. گنجوری و

## بحث

در سال های اخیر به علت مصرف روز افزون عوامل ضد میکروبی، میکروارگانیزم های بیماری زا توانایی مقاومت نسبت به عوامل ضد میکروبی رابه طرق مختلف به دست آورده اند (۹). در این مطالعه از نانوذرات نقره و آلومینا در ابعاد ۱۸ الی ۴۰nm استفاده گردید. در مطالعه صورت گرفته توسط فالکیویکز-دولیک و ماکورا در سال ۲۰۰۸، گزارش شد که محلول ۱٪ نانو ذرات نقره از رشد قارچ های مخمر مانند و گونه های کپکی، و درغلظت ۱۰۰ppm از رشد باکتری ها ممانعت نموده اند (۴) که این نتیجه به طور کامل با نتایج ما همخوانی داشت. نانوذرات متفاوت همان طور که توانایی از بین بردن سلول های باکتری یا قارچی را دارا می باشند توانایی ایجاد آسیب در سلول های پستانداران را داشته و بنابراین ارایه راهکار

کامپوزیت آلومینا طیف محدودی از میکروارگانیسم‌ها را نظیر *E.coli* مهار کرده و اثرات بیولوژیکی مخاطره آمیزی برای سلول‌های یوکاریوتی ندارد، می‌تواند در راهکارهای درمانی مورد استفاده قرار گیرد. اما با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه نانوکامپوزیت آلومینا توانایی از بین بردن طیف وسیع میکرو-ارگانیسم‌ها را نداشته در نتیجه می‌توان از این ذرات به منظور از بین بردن پاتوژن‌ها بدون آسیب به فلور طبیعی بدن استفاده نمود. در واقع فرمول‌های مصرفی مفید با زمان تأثیرگذاری سریع می‌تواند در روش‌های بالینی جهت درمان عفونت‌های ادراری، عفونت‌های سیستم گوارشی (توسط *E.coli*) مورد استفاده قرار گیرد که این روش از نظر اقتصادی نیز به صرفه خواهد بود (۱۰).

همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی اثرات مخاطره انگیز نانو ذرات نقره در مغز نوزادان موش صحرایی نشان دادند که ژن پروکاسپاز ۳ در ۱۰ppm نسبت به کنترل‌ها میزان بالایی از بیان را نشان می‌داد، این مشاهده بر این موضوع دلالت داشته که نانو ذرات نقره سطح اولیه پیشرفت آپوپتوزیس یعنی بیان ژن را به واسطه عبور از سد خونی و مغزی در یک روش وابسته به غلظت تحت تأثیر خود قرار داده است. نکته مهم این است که غلظت ۱۰ppm بعد از ورود به بدن از طریق آب آشامیدنی به دلیل توزیع وسیع در بدن با مقدار کمتری در تماس با سلول‌های اعصاب مرکزی قرار می‌گیرد، اما همین غلظت کاهش یافته در بدن بر روی بیان ژنی نرمال کاسپاز ۳ سلول‌ها اثر تداخلی خود را تحمیل کرده است (۳). با توجه به این که نانو

جدول ۱: قطر هاله‌ها در روش چاهک نانوذرات نقره

غلظت ماده میکروارگانیسم	۲۰۰ppm	۳۰۰ppm	۴۰۰ppm
<i>Bacillus subtilis</i>	۲۰ mm	۲۴ mm	۲۵ mm
<i>E.coli</i>	۱۵ mm	۱۷ mm	۱۸ mm
<i>Candida albicans</i>	۱۲ mm	۱۵mm	۱۵ mm

جدول ۲: قطر هاله‌ها در روش دیسک نانو ذرات نقره

غلظت ماده میکروارگانیسم	۲۰۰ppm	۳۰۰ppm	۴۰۰ppm
<i>Bacillus subtilis</i>	۱۰ mm	۱۰ mm	۱۱ mm
<i>E.coli</i>	۱۱ mm	۱۲ mm	۱۳ mm
<i>Candida albicans</i>	۹ mm	۱۱ mm	۱۱ mm

جدول ۳: نتایج روش MIC و MBC

MBC	MIC	
۶/۲۵Ppm	۶/۲۵Ppm	<i>Bacillus subtilis</i>
۲۵ppm	۱۲/۵Ppm	<i>E.coli</i>
۵۰ppm	۲۵ppm	<i>Candida albicans</i>



جدول ۴: نتایج روش CFU در غلظت ۴۰۰ ppm از نانو کامپوزیت آلومینا برای *E. coli*

غلظت زمان	۶-شاهد	۶-تیمار	۵-شاهد	۵-تیمار	۴-شاهد	۴-تیمار	میانگین درصد کاهش
زمان ۰	۱	۱	۱۵	۱۶	۱۱۰	۱۱۴	—
زمان ۱	۳	۱	۱۳	۷	۶۰	۶۱	۳۸٪
زمان ۲	۱۲	۵	۹۰	۴۵	۵۰۰	۲۲۰	۵۴٪
زمان ۳	۴۲	۱۰	۲۰۰	۷۰	۸۵۰	۴۳۸	۷۰٪
زمان ۴	۱۱۰	۳۰	۵۴۰	۲۱۰	۱۶۵۰	۶۰۰	۶۵٪
زمان ۲۲	۵۸	۴۳	۴۰۰	۴۰۰	بالا	بالا	۱۳٪
زمان ۲۳	۴۷	۵۶	۳۰۰	۲۸۵	بالا	بالا	۶٪
زمان ۲۴	۳۴	۳۲	۳۰۵	۲۸۰	بالا	بالا	۷٪

جدول ۵: نتایج آنالیز MTT

Structure	OD	Viability percent
Control (Tissue culture polystyrenes)	۲۵۷	%۱۰۰
Silver	۲۳	%۹
Nanocomposite	۲۵۰	%۹۷

footwear materials in the foot mycosis prophylaxis. Mikologia Lekarska, 15: 145-50.

- Jin, T., Sun, D., Su, J., Zhang, H., Sue, J., 2009. Antimicrobial Efficacy of Zinc Oxide Quantum Dots against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, and *Escherichia coli* O157:H7. Food Microbiology and Safety, 74: 46-52.
- Kim, K., Kuk, E., Yu, K. N., 2007. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomed Nanotechnol Biol Med, 3: 95–101.
- Kim, K., Sung, W., Suh, B., Moon, S., Choi, J., Kim, J. and Lee, D., 2009. Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on *Candida albicans*. Biometals, 22: 235–242.

## منابع

- جاووز م.، ۱۳۸۷. میکروب شناسی پزشکی جاووز. ترجمه م خزعلی، م جنابی نمین، جلد اول و دوم، تهران: انتشارات ارجمند، صفحه ۹۶۸.
- ویلت، ج.، ویلفرت، آ.، ۱۳۸۲. میکروب شناسی زینسر. ترجمه م رحیمی، جلد اول و دوم، تهران: آیش، صفحه ۸۹۶.
- گنجوری، م.، ۱۳۸۹. بررسی اثر نانوذرات نقره روی بیان ژن پروکسپاز ۳ در مغز نوزادان موش صحرائی، پایان نامه کارشناسی ارشد رشته سلولی و مولکولی، دانشگاه اصفهان.
- Falkiewicz Dulik, M., Macura, A., 2008. Nanosilver as substance biostabilising

8. Park, H., Kim J., 2009. Silverion mediated reactive oxygen species generation affecting bactericidal activity. *Water Res*, 43: 1027–1032.
9. Ramsden, J., 2005. What is nanotechnology? *Journal of Biomaterials Scienc*, 43: 3-17.
10. Tuan, V., 2007. *Nanotechnology in Biology and Medicine: Methods, Devices, and Applications*. USA: CRC Press, p.792.
11. Warheit, D., Laurence, B., Reed, K., Roach, D., Reynolds, G., Webb, T., 2004. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. *Toxicol. Sci*, 77: 117–125.
12. Yamamoto, O., 2001. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *Inter J Inorg Mater*, 3: 643–646.
13. Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Povey, M., York, D., 2007. Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *J Nanopart Res*, 9: 479–489
14. Zhang, H., Chen, G., 2009. Potent Antibacterial Activities of Ag/TiO<sub>2</sub> Nanocomposite Powders Synthesized by a One-Pot Sol-Gel Method. *Environ Sci Technol*, 43: 2905-2910.

Archive of SID