Archive of SID

تحقیقی

حداقل غلظت مهارکنندگی نانو ذره نقره علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و ارتباط آن با مقاومت به متی‌سیلین و منشا جداسازی باکتری

فهیمه آزادی[۱]، دکتر آیلر جمالی[۲]، بصیره بائی[۳]، مسعود بازوری[۴]، فاطمه شاکری[۵]، دکتر عزت اله قائمی*[۶و۷]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ۲- استادیار، مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی، واحد آمل، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران. ٤- کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ۵- کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ٦- استاد، مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. ۷- استاد، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف : *افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی به ویژه مقاومت به متی‌سیلین در باکتری‌های پاتوژن مانند استافیلوکوکوس اورئوس موجب تهدید سلامت انسان به‌خصوص در بیمارستان شده است. نانوذرات فلزات سنگین مانند Ag برای مهار این باکتری استفاده می‌شود. این مطالعه به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی نانو ذره نقره علیه استافیلوکوکوس اورئوس و ارتباط آن با مقاومت به متی‌سیلین و منشا جداسازی باکتری انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه توصیفی – تحلیلی حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) نانوذره نقره بر روی ۱۸۳ ایزوله استافیلوکوکوس اورئوس توسط روش میکرودایلوشن ارزیابی شد. ۳۰ ایزوله، براساس وجود ژن mecA به‌عنوان MRSA در نظر گرفته شدند. ایزوله‌ها از بیماران، بینی حاملین سالم و مواد غذایی تهیه شد. مقایسه سطح MIC در ایزوله‌ها بر مبنای مقاومت به متی‌سیلین، منبع جداسازی باکتری و مقاومت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها انجام گردید.*

یافته ها : *میانگین MIC نانو ذره نقره بر ۱۸۳ ایزوله مستقل استافیلوکوکوس اورئوس ۱/۸۹ ±۲/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر برآورد شد و از ۱۶-۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود. میانگین MIC نانوذره نقره در ایزوله‌های جدا شده از مواد غذایی، حاملین سالم و بیماران به ترتیب ۰/۷ ±۲، ۲/٤ ±٤/۱ و ۲/۱ ±۳/٤ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد (P<۰/۰۵). میانگین MIC نانوذره نقره درایزوله‌های فاقد ژن mecA ۲/۳ ±۳/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در ایزوله‌های حاوی این ژن ۱/٤ ±۲/٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد (P<۰/۰۵). میانگین MIC نانوذره نقره در ایزوله‌های مقاوم به جنتامایسین نیز کمتر از ایزوله‌های حساس به آن بود (P<۰/۰۵)؛ ولی بین MIC نانو ذره نقره و مقاومت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده نشد.*

نتیجه‌گیری : *ارتباط معنی‌داری بین MIC نانوذره نقره در ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس با منشا جداسازی نمونه و مقاومت به متی‌سیلین و جنتامایسین وجود دارد. با توجه به پایین بودن MIC نانو ذره نقره بر ایزوله‌های مقاوم به متی سیلین، امکان استفاده از آن در کنترل MRSA در عفونت بیمارستانی می‌تواند مورد توجه بیشتری قرار گیرد.*

کلید واژه‌ها : *استافیلوکوکوس اورئوس ، نانوذره نقره ، حداقل غلظت مهارکنندگی ، ژن mecA*

* نویسنده مسؤول : دکتر عزت اله قائمی ، پست الکترونیکی eghaemi@yahoo.com و dr.ghaemi@goums.ac.ir

نشانی : گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی، تلفن و نمابر ۰۱۷-۳۲٤۲۳۰۹۳

وصول مقاله : ۱۳۹٤/۹/۲۹ ، اصلاح نهایی : ۱۳۹٤/۱۲/۱۰ ، پذیرش مقاله : ۱۳۹٤/۱۲/۱۲

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس پاتوژن فرصت‌طلبی است که به‌عنوان یکی از شایع‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی شناخته شده که می‌تواند مسبب بیماری‌های خفیف تا خطرناک نظیر جوش، زرد زخم، عفونت‌های زخم، اندوکاردیت و سندروم شوک توکسیک شود (۱). افزایش عفونت‌های کسب شده از بیمارستان و جامعه به علت پاتوژن‌های مقاوم به چند دارو است که درمان‌های آنتی‌بیوتیکی معمول پاسخ موثری را در برابر این مشکل نمی‌دهند (۲) و به همین دلیل شرکت‌های دارویی و محققین به دنبال عوامل آنتی‌میکروبیال جدیدتر هستند که به عنوان راه دیگری برای درمان عفونت‌های استافیلوکوکی و سایر عفونت‌های پاتوژنیک عمل کنند (۳).

www.SID.ir

Archive of SID

نانوتکنولوژی با ایجاد فرمولاسیون‌های تازه براساس نانوذرات فلزی، گزینه های جدیدی با خاصیت آنتی‌میکروبیال ارایه داده است (۴) که به‌نظر می‌رسد پتانسیل بالایی برای حل مشکل مقاومت‌های چندداروییِ باکتری‌ها داشته باشد (۲). انواع مختلفی از نانو مواد به وجود آمده و در بین طیف ترکیباتی که دارای فعالیت باکتریسیدال هستند؛ نانوذرات نقره ثابت کردند که اثرگذاری بیشتری نسبت به سایر نانوذرات دارند و دارای خاصیت آنتی‌میکروبیال خوبی علیه باکتری‌ها و ویروس‌ها دارند (۳). از آنجایی که انسان‌ها از قرن‌ها پیش از نقره برای درمان بیماری‌هایی مثل افتالمی گنوکوکی نوزادن و عفونت زخم‌های ناشی از سوختگی استفاده کرده‌اند (۵و۶)؛ کاربرد این ترکیب برای درمان بیماری‌های انسانی سابقه طولانی دارد و می‌توان از آن به‌عنوان یک گزینه در کنترل عفونت‌های میکروبی استفاده نمود.

وقتی دوره استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها با کشف پنی‌سیلین آغاز شد؛ استفاده از نقره به‌تدریج کاهش یافت؛ اما به‌علت مقاومت‌های باکتریایی و عوارض جانبی داروهای شیمیایی، استفاده از یون‌های فلزی مثل نقره برای درمان عفونت‌ها دوباره مورد توجه قرار گرفته است (۷). نانوذره نقره موجب کنترل رشد باکتری‌ها در محیط‌های مختلف شده و از آن در کنترل عفونت در دندانپزشکی و کاتترهای درون عروقی استفاده می‌شود (۸).

نقره به طرق مختلف قابل استفاده است. یون نقره کارایی زیادی در حذف میکروارگانیسم‌ها دارد؛ ولی توانایی نانوذره نقره حتی از آن نیز بیشتر است. کوچک‌تر بودن اندازه نانوذره ممکن است دلیل این تفاوت باشد. نقره با اتصال خود به سطح باکتری موجب تغییر ساختار غشا شده که موجب نفوذ بهتر آن به داخل سلول باکتری می‌شود. نقره همچنین می‌تواند با پروتئین‌های حاوی سولفور در سطح غشا و پروتئین‌های سایتوپلاسمیک واکنش داده و همچنین موجب مهار آنزیم‌های فعال در سیکل‌های فسفر، سولفور و نیتروژن گردد. همچنین ممکن است اثر آن روی DNA و RNA باکتری منجر به مرگ باکتریایی شود. واکنش یون‌های نقره با گروه تیول در آنزیم‌ها و پروتئین‌ها نقش ضروری در فعالیت آنتی‌میکروبیال دارد (۹). این مطالعه به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی نانو ذره نقره علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و ارتباط آن با مقاومت به متی‌سیلین و منشا جداسازی باکتری انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی – تحلیلی روی ۱۸۳ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* جمع‌آوری شده از حاملین سالم (۱۲ ایزوله)، بیماران (۹۶ ایزوله) و مواد غذایی (۷۵ ایزوله) در شهر گرگان طی سال‌های ۹۳-۱۳۸۸ انجام شد.

طی مطالعه قبلی (۱۰) وجود ژن‌های مقاومت به متی‌سیلین (mecA) و نیز مقاومت یا حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین، نالیدیکسیک اسید، کلیندامایسین، ونکومایسین، پنی‌سیلین، تتراسایکلین، سفازولین، آمپی‌سیلین، سفوکسیتین و جنتامایسین (با روش Kirby –Bauer) روی تعدادی از ایزوله‌ها انجام شده بود. بر این اساس ۳۰ ایزوله از نظر وجود ژن mecA (MRSA) مثبت تلقی شدند.

برای هر ایزوله تعیین MIC نانو ذره نقره به شرح زیر انجام شد. نانوذره محلول نقره با سایز ذرات ۲۶nm از شرکت نانونصب پارس خریداری شد. برای رقیق‌سازی نانوذره نقره، یک میلی‌لیتر از نانوذره با غلظت ppm۴۰۰۰ را به نسبت ۱:۳ توسط آب دیونیزه رقیق نمودیم تا به غلظت ppm۱۰۰۰ رسید. سپس غلظت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از آن در محیط کشت مولر هینتون براث (شرکت condalab) تهیه شد. برای تهیه سوسپانسیون باکتری از کشت ۲۴ ساعته هر یک از ایزوله‌ها کدورتی معادل نیم مک فارلند (OD=۰/۱-۰/۰۸) تهیه گردید. سپس با روش سریال دایلوشن ۱۰/۱ غلظت نهایی هر باکتری به 10^5 CFU/ml رسید.

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) (Minimum Inhibitory Concentration) از میکروپلیت استریل کف مسطح (شرکت Jetbiofil) استفاده شد. ستون یک عمودی به عنوان بلانک در نظر گرفته شد. برای چاهک‌های بلانک، فقط غلظت‌های متوالی نانوذره نقره اضافه گردید و به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد. برای هر ایزوله ۸ چاهک در نظر گرفته شد. به هر یک از چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولرهینتون براث اضافه شد. از غلظت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به چاهک اول اضافه شد. سپس در سایر چاهک‌ها رقیق‌سازی نانوذره با سریال دایلوشن انجام شد. به تمامی چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری 10^5 CFU/ml اضافه شد. در چاهک هشتم هر ستون که مخصوص یک ایزوله است؛ به عنوان کنترل مثبت، محیط کشت به‌علاوه سوپانسیون باکتری اضافه و ستون یک عمودی به عنوان بلانک در نظر گرفته شد. برای چاهک‌های بلانک فقط ۲۰۰ میکرولیتر غلظت‌های متوالی نانوذره نقره (۶۴/۵-۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اضافه شد. برای کل مجموعه میکروپلیت یک چاهک به عنوان کنترل منفی حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولرهینتون براث در نظر گرفته شد. برای جلوگیری از تبخیر پلیت را با پارافیلم پوشانده و به مدت ۲۴ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار دادیم. سپس با دستگاه Elisa reader (شرکت BioTek مدل ELx800) در OD570nm قرائت شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 و آزمون‌های کای‌اسکوئر و ANOVA در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ : توزیع فراوانی حداقل غلظت مهارکنندگی نانوذره نقره بر پایه منشا ایزوله علیه ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس

حداقل غلظت مهارکنندگی (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	بیمار (n=۹۶) تعداد (درصد)	حامل سالم (n=۱۲) تعداد (درصد)	مواد غذایی (n=۷۵) تعداد (درصد)	کل تعداد (درصد)
۱	۶ (۴۲/۹)	۰ (۰)	۸ (۵۷/۱)	۱۴ (۱۰۰)
۲	۴۱ (۳۸/۷)	۵ (۴/۷)	۶۰ (۵۶/۶)	۱۰۶ (۱۰۰)
۴	۴۰ (۷۸/۴)	۴ (۷/۸)	۷ (۱۳/۷)	۵۱ (۱۰۰)
۸	۸ (۷۲/۷)	۳ (۲۷/۳)	۰ (۰)	۱۱ (۱۰۰)
۱۶	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۱۱ (۱۰۰)
کل	۹۶ (۵۳/۳)	۱۲ (۶/۷)	۷۵ (۴۰)	۱۸۳ (۱۰۰)

جدول ۲ : توزیع فراوانی حداقل غلظت مهارکنندگی نانوذره نقره علیه ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس بر اساس مقاومت آنتی‌بیوتیکی

آنتی بیوتیک	الگو	تعداد (درصد)	میانگین و انحراف معیار	p-value
اریترومایسین	مقاوم	۱۲ (۱۸/۸)	۳/۳± ۱/۷	۰/۱
	حساس	۵۲ (۸۱/۲)	۴/۳± ۲/۴	
نالیدیکسیک اسید	مقاوم	۲۹ (۴۵/۳)	۳/۵± ۱/۸	۰/۰۸
	حساس	۳۵ (۵۴/۷)	۴/۶± ۲/۷	
کلیندامایسین	مقاوم	۸ (۱۴/۸)	۳± ۱	۰/۱
	حساس	۴۶ (۸۵/۲)	۴/۳± ۲/۴	
ونکومایسین	مقاوم	۰ (۰)	۰	–
	حساس	۶۴ (۱۰۰)	۴/۱± ۲/۳	
پنی‌سیلین	مقاوم	۶۴ (۱۰۰)	۴/۱± ۲/۳	–
	حساس	۰ (۰)	۰	
تتراسایکلین	مقاوم	۱۲ (۱۸/۸)	۳± ۱	۰/۰۶
	حساس	۵۲ (۸۱/۲)	۴/۴± ۲/۵	
سفازولین	مقاوم	۵ (۷/۸)	۴	۰/۸
	حساس	۵۹ (۹۲/۲)	۴/۱± ۲/۴	
سفوکسیتین	مقاوم	۱۸ (۲۸/۱)	۳/۸± ۲/۱	۰/۵
	حساس	۴۶ (۷۱/۹)	۴/۲± ۲/۵	
جنتامایسین	مقاوم	۶ (۹/۴)	۲/۳± ۰/۸	۰/۰۵ *
	حساس	۵۸ (۹۰/۶)	۴/۳± ۲/۴	

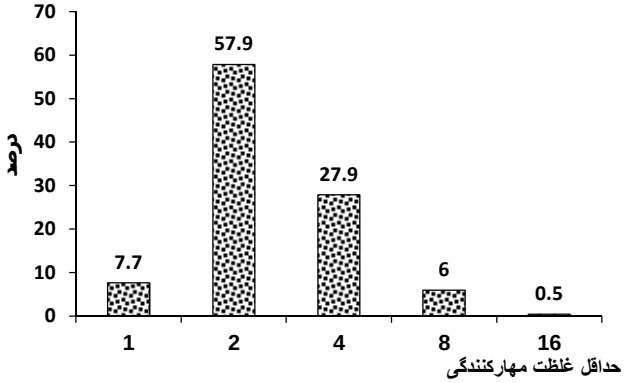
$P<0/05$ *

یافته‌ها

میانگین MIC نانو ذره نقره روی ۱۸۳ ایزوله مستقل *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱/۸۹±۲/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر برآورد شد و از ۱۶-۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود. بیشترین MIC سویه‌ها مربوط به غلظت ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و فقط MIC یک ایزوله ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (نمودار یک).

MIC50 ایزوله‌ها (حداقل غلظت نانوذره نقره با مهار ۵۰ درصدی ایزوله‌ها) ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر و MIC90 ایزوله‌ها (حداقل غلظت نانوذره نقره با مهار ۹۰ درصدی ایزوله‌ها) ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد.

میانگین MIC نانوذره نقره در ایزوله‌های جدا شده از مواد غذایی ۰/۷±۲، نمونه‌های جدا شده از حاملین سالم ۲/۴±۴/۱ و از بیماران ۲/۱±۳/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید ($P<0/0001$). هیچیک از ایزوله‌های جدا شده از مواد غذایی MIC بالاتر از ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر نداشتند (جدول یک).



نمودار ۱ : درصد حداقل غلظت مهارکنندگی نانوذره نقره علیه استافیلوکوکوس اورئوس

ارزیابی مقاومت به متی‌سیلین بر مبنای ژن mecA روی ۱۰۸ ایزوله نشان داد که بین MIC نانوذره نقره با وجود این ژن در باکتری ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($P<0/002$). میانگین در ایزوله‌های فاقد این ژن ۲/۳±۳/۹ و در ایزوله‌های حاوی این ژن ۱/۴±۲/۴ تعیین گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

از بین آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین، نالیدیکسیک اسید، کلیندامایسین، ونکومایسین، پنی‌سیلین، تتراسایکلین، سفازولین، سفوکسیتین و جنتامایسین، MIC نانوذره نقره تنها با مقاومت به جنتامایسین ارتباط آماری معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). به‌طوری که MIC در ایزوله‌های حساس به این دارو بالاتر از ایزوله‌های مقاوم به آن بود (جدول ۲).

بحث

در مطالعه حاضر اندازه نانوذره ۲۶nm بود و MIC از حداقل یک میکروگرم بر میلی‌لیتر تا حداکثر ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود. MIC90 ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که در محدوده مطالعات مختلف است. این تفاوت در کارایی نانوذره در مطالعات مختلف به تفاوت در اندازه نانوذره، غلظت باکتری، تکنیک مورد استفاده، محیط مورد آزمون و منشا باکتری بستگی دارد. مطالعه حاضر بر روی ۱۸۳ ایزوله *استافیلوکوکوس اورئوس* با منشاهای مختلف نشان داد هیچیک از ایزوله‌های جدا شده از مواد غذایی MIC بالاتر از ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر نداشتند و این که ایزوله‌های جداشده از حاملین سالم و بیماران به‌طور معنی‌داری MIC بالاتری نسبت به نمونه‌های غذایی داشتند.

با توجه به اهمیت نانوذره نقره در کنترل عوامل پاتوژن باکتریایی، مطالعات متعددی برای تعیین MIC آن انجام شده است. MIC برای *S.aureus* در مطالعات مختلف از ۰/۲۵ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (۱۱و۱۲) متفاوت بوده که پایین‌ترین و بالاترین آن به ترتیب در مطالعه Paredes و همکاران (۱۱) و Bokaeian و همکاران (۱۲) به‌دست آمده است.

مطالعه مشابهی که بر نقش منشا جداسازی به‌خصوص مواد غذایی و مقایسه با موارد جدا شده از انسان تاکید کرده باشد؛ یافت نشد. مطالعات محدودی نشان داده استافیلوکوک‌های جدا شده از مواد غذایی MIC نانو ذره از ۱۳/۸ تا ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیری داشتند که از نتایج مطالعه ما بالاتر است (۱۳و۱۴)؛ ولی در آن مطالعات همزمان مطالعه روی نمونه‌های جدا شده از بیماران و حاملین سالم انجام نشده بود.

با توجه بروز تغییراتی نظیر تغییر در نوع PBP سویه‌های MRSA به نسبت MSSA؛ انتظار بر آن بود که نفوذپذیری داروها و نانوذرات به داخل باکتری متفاوت باشد (۱۵). یعنی MIC نانو ذره نقره در ایزوله های حساس و مقاوم به متی‌سیلین متفاوت باشد. نتایج ما نشان داد در سویه‌های MRSA سطح MIC نانو ذره نقره به‌طور معنی‌داری کمتر از MSSA است که تایید کننده وجود تفاوت در این دو گروه است. انتظار برآن بود که نانو ذره نقره بر سویه MRSA با مقاومت دارویی بیشتر، کارایی کمتری داشته باشد؛ ولی این یافته با نتایج ما همخوانی نداشت. در مطالعه George و همکاران (۱۶) میانگین قطر هاله عدم رشد در ایزوله‌های MSSA (۱/۶±۱۹/۷ میلی متر) بیشتر از ایزوله‌های MRSA (۱/۶±۱۶/۹ میلی متر) بود که نشان می‌دهد نانو ذره نقره کارایی بیشتری روی سویه های MSSA دارد. از طرفی مطالعه Ayala- Núñez و همکاران (۱۷) در مکزیک و مطالعه Wady و همکاران (۱۸) در برزیل نشان داد میزان MIC حاصله در هر دو سویه مشابه است و هیچ تفاوتی در اثرگذاری نانو ذره نقره بین دو ایزوله MSSA و MRSA وجود ندارد. مطالعه ما با یافته‌های Petrus و همکاران (۱۳) مطابقت دارد. به طوری که در مطالعه Petrus و همکاران (۱۳) در مالزی میزان MIC نانو ذره نقره بر سویه‌های MRSA کمتر از MSSA بود.

دلیل تفاوت نتایج در مطالعات مختلف برای ما روشن نیست. این تفاوت ممکن است به علت تفاوت در نوع SCCmec شایع در منطقه و یا به دلیل تفاوت در کلون باکتری غالب در MRSA های منطقه باشد که نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. نتایج ما نشان داد در ایزوله‌های موجود در استان گلستان MRSA ها سریع‌تر و در غلظت کمتر نانو ذره نقره مهار می‌گردند.

همچنین نتایج ما نشان داد در ایزوله‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند جنتامیسین، تتراسایکین، اریترومایسین و کلیندامایسین که بر ریبوزوم و فرایند پروتئین‌سازی باکتری اثرگذارند؛ MIC نانو ذره نقره کمتر از سویه‌های حساس به این آنتی‌بیوتیک‌ها است و به‌ویژه در مورد جنتامیسین این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود. یکی از راه‌های مقاوم شدن استافیلوکوک‌ها در برابر این آنتی‌بیوتیک‌ها، تغییر در ساختمان ریبوزم است (۱۹). مشخص شدن اثر تغییرات ایجاد شده در ریبوزوم و پروتئین‌سازی، بر افزایش استعداد ورود یا آسیب‌رسانی نقره به باکتری نیازمند انجام مطالعات بیشتری است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذره نقره می‌تواند رشد سویه‌های مختلف *استافیلوکوکوس اورئوس* را مهار کند و کارایی آن بر سویه‌هایی جدا شده از مواد غذایی و نیز سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین، جنتامیسین و سایر آنتی‌بیوتیک‌های اثرگذار بر پروتئین‌سازی باکتری، بیشتر از سویه‌های حساس است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه خانم فهیمه آزادی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته میکروب‌شناسی پزشکی از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان بود. بدین وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان به خاطر حمایت مالی تشکر می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Donnell JO. Characterization of the mobile genetic element responsible for methicillin resistance in environmental and clinical staphiloccocal isolates by multiplex PCR assa. Submitted in partial fulfillment of the requirements for the Bachelor of Science Degree at Malaspina University- College, Nanaimo, British Columbia. 2008 Apr.

2. Franci G, Falanga A, Galdiero S, Palomba L, Rai M, Morelli G, et al. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. Molecules. 2015 May; 20(5):8856-74. doi: 10.3390/molecules 20058856

3. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnol Adv. 2009 Jan-Feb;27(1):76-83. doi: 10.1016/j.biotechadv.2008.09.002

4. Ansari MA, Khan HM, Khan AA, Malik A, Sultan A, Shahid M, et al. Evaluation of antibacterial activity of silver nanoparticles against MSSA and MRSA on isolates from skin infections. Biology and Medicine. 2011; 3(2): 141-46.

5. Adeli M, Hosainzadegan H, Pakzad I, Zabihi F, Alizadeh M, Karimi F. Preparing starchy foods containing silver nanoparticles and evaluating antimicrobial activitiy. Jundishapur J Microbiol. 2013; 6(4): e5057.

6. Lara HH, Garza-Treviño EN, Ixtepan-Turrent L, Singh DK. Silver nanoparticles are broad-spectrum bactericidal and virucidal compounds. J Nanobiotechnology. 2011 Aug; 9:30. doi: 10.1186/ 1477-3155-9-30

7. Hwang IS, Hwang JH, Choi H, Kim KJ, Lee DG. Synergistic effects between silver nanoparticles and antibiotics and the mechanisms involved. J Med Microbiol. 2012 Dec;61(Pt 12):1719-26. doi: 10.1099/jmm.0.047100-0

8. Miller DL, O'Grady NP. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections: recommendations relevant to interventional radiology for venous catheter placement and maintenance. J Vasc Interv Radiol. 2012 Aug; 23(8): 997-1007. doi: 10.1016/j.jvir.2012.04.023

9. Reidy B, Haase A, Luch A, Dawson KA, Lynch I. Mechanisms of silver nanoparticle release, transformation and toxicity: a critical review of current knowledge and recommendations for future studies and applications. Materials. 2013 Jun; 6(6): 2295-50. doi:10.3390/ma6062295

10. Vaez H, Tabaraei A, Moradi A, Ghaemi EA. Evaluation of methicillin resistance Staphylococcus aureus isolated from patients in Golestan province-north of Iran. Afr J Microbiol Res. 2011; 5(4): 432-36.

11. Paredes D, Ortiz C, Torres R. Synthesis, characterization, and evaluation of antibacterial effect of Ag nanoparticles against Escherichia coli O157:H7 and methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Int J Nanomedicine. 2014 Apr; 9:1717-29. doi: 10.2147/IJN.S57156

12. Bokaeian M, Fakheri BA, Mohasseli T, Saeidi S. Antibacterial activity of silver nanoparticles produced by plantago ovata seed extract against antibiotic resistant Staphylococcus aureus. Int J Infect. 2015; 2(1): e22854. doi: 10.17795/iji-22854

13. Petrus EM, Tinakumari S, Chai LC, Ubong A, Tunung R, Elexson N, et al. A study on the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of Nano Colloidal Silver on food-borne pathogens. Int Food Res J. 2011; 18: 55-66.

14. Kazemi J, Ahmadi M, Dastmalchi Saei H, Adib Hesami M. Antibacterial effect of silver nanoparticles along with protein synthesis-inhibiting antibiotics on Staphylococcus aureus isolated from cattle mastitis. Biological Journal of Microorganism. 2014; 2(8): 15-22.

15. Llarrull LI, Fisher JF, Mobashery S. Molecular basis and phenotype of methicillin resistance in Staphylococcus aureus and insights into new beta-lactams that meet the challenge. Antimicrob Agents Chemother. 2009 Oct; 53(10):4051-63. doi: 10.1128/AAC. 00084-09

16. George N, Faoagali J, Muller M. Silvazine (silver sulfadiazine and chlorhexidine) activity against 200 clinical isolates. Burns. 1997 Sep; 23(6):493-5.

17. Ayala-Núñez NV, Lara Villegas HH, del Carmen Ixtepan Turrent L, Rodríguez Padilla C. Silver nanoparticles toxicity and bactericidal effect against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: nanoscale does matter. J Nanobiotechnology. 2009 Dec; 5(1): 2-9.

18. Wady AF, Machado AL, Foggi CC, Zamperini CA, Zucolotto V, Moffa EB, et al. Effect of a silver nanoparticles solution on Staphylococcus aureus and Candida spp. J Nanomater. 2014; 2014: Article ID 545279. http://dx.doi.org/10.1155/ 2014/545279

19. Eyal Z, Matzov D, Krupkin M, Wekselman I, Paukner S, Zimmerman E, et al. Structural insights into species-specific features of the ribosome from the pathogen Staphylococcus aureus. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015 Oct; 112(43):E5805-14. doi: 10.1073/pnas.1517952112

www.SID.ir

Archive of SID

Original Paper

Minimum inhibitory concentration of silver nanoparticle against *Staphylococcus aureus* and its relation with Methicillin resistance and bacterial source of isolation

**Azadi F (B.Sc)[1], Jamali A (Ph.D)[2], Baei B (B.Sc)[3]
Bazouri M (B.Sc)[4], Shakeri F (M.Sc)[5], Ghaemi EA (Ph.D)*[6,7]**

[1]M.Sc Student in Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. [2]Assistant Professor, Medical Laboratory Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. [3]M.Sc Student in Microbiology, Amol Branch, Islamic of Azad University, Amol, Iran. [4]B.Sc in Laboratory Sciences, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. [5]M.Sc in Microbiology, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. [6]Professor, Medical Laboratory Research Center,Golestan University of Medical Sciences,Gorgan, Iran. [7]Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences,Gorgan, Iran.

Abstract

Background and Objective: The rise of antibiotic resistance particulary Methicillin resistance in pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus* is found to be an emerging threat to human health especially in hospitals. Heavy metal nanoparticles such as Ag used for inhibition of this bacterium. This study was done to determine of minimum inhibitory concentration (MIC) Ag nanoparticle against *Staphylococcus aureus* which isolated in Gorgan, north of Iran and its relation with Methicillin resistance and source of bacteria.

Methods: In this descriptive – analytical study, the MIC Ag nanoparticle in 183 isolates of *Staphylococcus aureus* by microdilution method was determined. 30 isolates, based on mecA gene was considered as MRSA. Samples were collected from patients, nose of healthy carriers and foods. Compare the MIC of isolates based on Methicillin resistance, source of the bacteria and resistance to other antibiotics were assessed.

Results: Out of 183 samples MIC was varied from 1 to 16 µg/ml, and mean±std was 2.9±1.89 µg/ml. MIC mean of silver nanoparticles in isolated from foods were 2±0.7, isolared from healthy carriers were 4.1±2.4 and from patients were 3.4±2.1 µg/ml and were statically significant (P<0.05). MIC mean of silver nanoparticles in MSSA isolates are 3.9±2.3 and in MRSA isolates are 2.4±1.4 µg/ml that were statically significant (P<0.05). MIC mean of gentamycin resistant isolate were lower than sensitive one. But between MIC of silver nanoparticles and other antibiotics resistance was not significant statistically.

Conclusion: There is a relation between silver nanoparticle MIC, source of sample isolation, Methicillin and gentamycin resistance. Since MIC of silver nanoparticles on isolates of Methicillin resistant is low, the possibility of its use in the control of MRSA in hospital infections can be considered as a prime attention the Gentamycine.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Silver nanoparticle, Minimum inhibitory concentration, MecA gene

*** Corresponding Author: Ghaemi EA (Ph.D), E-mail: eghaemi@yahoo.com & dr.ghaemi@goums.ac.ir**

Received 20 Jul 2015 **Revised** 11 Jan 2016 **Accepted** 2 Mar 2016

Cite this article as: Azadi F, Jamali A, Baei B, Bazouri M, Shakeri F, Ghaemi EA. [Minimum inhibitory concentration of silver nanoparticle against *Staphylococcus aureus* and its relation with Methicillin resistance and bacterial source of isolation]. J Gorgan Uni Med Sci. Autumn 2016; 18(3): 86-91. [Article in Persian]

www.SID.ir