

Evaluation of Antibacterial Activity of Nanoparticles of Zinc Oxide on Standard Strains and Isolates of *Yersinia Enterocolitica* and *Enterococcus Faecalis* of Food

Zahra Dargahi¹, Alireza Partoazar², Shima Naddafi¹, Mohammad Mehdi Soltan Dallal^{*3}

1. Division of Microbiology, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2. Assistant Professor, Experimental Medicine Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. Food Microbiology Research Center/ Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received:2019/06/18

Accept: 2020/03/9)

Abstract

Background: The emergence of infectious diseases around the world is a threat, especially with the emergence of bacteria that are resistant to antibiotics. The current advances in nanotechnology have led to the development of new antimicrobial agents. In the current study, the antibacterial effects of zinc oxide nanoparticles on *Yersinia enterocolitica* and *Enterococcus faecalis* were investigated.

Materials and Methods: In the present experimental study, two standard bacteria of *Yersinia enterocolitica* and *Enterococcus faecalis* and two isolates from a previous study were assessed using x-ray fluorescence (XRF). Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were assessed using disk diffusion method. Zinc acetate and distilled water were considered as positive and negative controls, respectively. All experiments were repeated three times. GraphPad Prism Statistical software was used for data analysis and ANOVA was used for analysis of variances with the significance level set at $P \leq 0.05$.

Results: MIC value of zinc oxide nanoparticles for all tested bacteria was 4 mg/ml and MBC values were calculated to be 4 mg/ml for standard strain and *Yersinia enterocolitica* isolate and 64 mg/ml for standard strain and *Enterococcus faecalis* isolate.

Conclusion: The gram-negative bacterium *Yersinia enterocolitica* had a more severe decrease compared to the gram-positive bacterium *Enterococcus faecalis*. According to the results, it can be hoped that these nanoparticles can be used in different parts of the food industry to inhibit or reduce the growth of microorganisms present in food.

Keywords: Zinc oxide nanoparticles; *Yersinia enterocolitica*; *Enterococcus faecalis*; Antibacterial activity

* Corresponding: Mohammad Mehdi Soltan Dallal

Email:msoltandallal@gmail.com

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی نانو ذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه یرسینیا انتروکلی تیکا و انتروکوک فکالیس از مواد غذایی

زهرا درگاهی^۱، علیرضا پرتوآذر^۲، شیمیا ندافی^۱، محمد مهدی سلطان دلال^{۳*}

- ۱- بخش میکروبی‌شناسی مواد غذایی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
 ۲- مرکز تحقیقات طب تجربی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
 ۳- مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۱۲/۱۹

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۳/۲۸

چکیده:

سابقه و هدف: پیدایش بیماری‌های عفونی در سرتاسر جهان یک تهدید به شمار می‌رود به خصوص با پیدایش باکتری‌هایی که در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند. پیشرفت‌های فعلی در زمینه نانو به رشد و توسعه عوامل جدید ضد میکروبی منجر شده است. در این تحقیق، اثر ضد باکتریایی نانو ذره اکسید روی بر دو باکتری یرسینیا انتروکلی تیکا و انتروکوک فکالیس بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی روی دو سویه استاندارد باکتری یرسینیا انتروکلی تیکا و انتروکوک فکالیس و دو سویه دیگر از همین باکتری‌ها که در کارهای پیشین جدا شده بود، مقدار نانو ذره اکسید روی تهیه شده با استفاده از *X-Ray Fluorescence (XRF)* تعیین شد. *Minimum inhibitory concentration (MIC)* و *Minimum Bactericidal Concentration (MBC)* با استفاده از روش انتشار دیسک تعیین شد، استات روی و آب مقطر به ترتیب به عنوان شاهد مثبت و منفی در نظر گرفته شد؛ تمامی آزمایش‌ها با سه بار تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری *GraphPad Prism* استفاده شد و با استفاده از تجزیه واریانس یکطرفه *ANOVA* تجزیه و تحلیل شد. مرز معناداری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ($P \leq 0.05$).

یافته‌ها: مقدار *MIC* نانو ذره اکسید روی برای همه باکتری‌های مورد آزمایش چهار میلی گرم بر میلی لیتر و مقادیر *MBC* این ماده برای سویه استاندارد و جدایه یرسینیا انتروکلی تیکا چهار میلی گرم بر میلی لیتر، برای سویه استاندارد و جدایه انتروکوک فکالیس ۶۴ میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه شد. **نتیجه‌گیری:** باکتری گرم منفی یرسینیا انتروکلی تیکا در مقایسه با باکتری گرم مثبت انتروکوک فکالیس کاهش شدیدتری داشت. با توجه به نتایج، می‌توان به استفاده از این نانو ذرات در بخش‌های مختلف صنایع غذایی برای مهار یا کاهش رشد میکروارگانیسم‌های موجود در غذا امیدوار بود.

واژگان کلیدی: نانو ذره اکسید روی، یرسینیا انتروکلی تیکا، انتروکوک فکالیس، فعالیت ضد باکتریایی.

مقدمه:

اخیر رو به افزایش است. گرچه یرسینیا انتروکولی تیکا بیش از ۶۰ سال است شناخته شده، ولی تنها در دو دهه اخیر به عنوان عامل بیماری در انسان و سپس دام معرفی شده است. در اپیدمیولوژی این باکتری همه راه‌های ممکن از آب شرب گرفته تا انواع فرآورده‌های دامی اعم از شیر و سایر محصولات لبنی تا انواع اغذیه با منشأ دامی و گیاهی به عنوان منبع این باکتری بر شمرده شده است. به عبارت دیگر، این میکروارگانیسم ممکن است در هر یک از مواد یاد شده موجود بوده و از آن طریق به انسان سرایت کند (۲). انتروکوک‌ها کوکسی‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی، غیر اسپور دار، هوازی تا بی هوازی اختیاری هستند که به صورت دیپلوکوک دیده می‌شوند.

جنس یرسینیا سه گونه از باکتری‌های درون سلولی اختیاری را در خود جای داده است که برای انسان بیماری‌زا هستند. این باکتری‌ها یرسینیا پستیس، یرسینیا انتروکلی تیکا و یرسینیا پسودوتوبرکلوزیس هستند.

این گونه‌ها بیماری‌زای حیوانی بوده و انسان میزبان تصادفی آن‌هاست. یرسینیا انتروکلی تیکا یک باکتری گرم منفی و پاتوژن روده‌ای است که از طریق آب و مواد غذایی به انسان منتقل می‌شود (۱). میزان عفونت‌های ناشی از یرسینیا در سال‌های

نویسنده مسئول: محمد مهدی سلطان دلال
 پست الکترونیک: msoltandallal@gmail.com

سانتی گراد گذاشته شد و به آرامی برای بالا بردن اندازه pH به تدریج به ساختار مورد نظر سود ۲ مولار (Merck، آلمان) اضافه شد که pH به ۱۲ رسید، بعد از ثابت ماندن pH یک ساعت روی دستگاه همزن مغناطیسی باقی ماند، سپس با استفاده از کاغذ صافی سلولزی واتمن ۴۰ و باند سفید (um 25-12:SS589/2&S ساخت آلمان) محتوای بشر فیلتر شد.

برای تهیه سوسپانسیون غیر نانو اکسید روی ابتدا مقدار ۱۰۰ گرم ژئولیت با ۷۰ گرم استات روی در داخل بشر ریخته شد و ۴۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه به آن اضافه شد، این ساختار درون بشر روی دستگاه همزن مغناطیسی قرار داده شد، بعد از گذشت ۳۰ دقیقه با استفاده از کاغذ صافی سلولزی محتوای بشر فیلتر شد و بعد محتوای روی فیلتر ۵۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه شست و شو داده شد؛ سپس هر دو محتوای فیلتر شده به پلیت شیشه‌ای انتقال داده شد و به مدت یک شبانه‌روز در دمای محیط خشک شد. در روز دوم، پلیت به مدت دو ساعت در انکوباتور ۸۰ درجه سانتی گراد و سپس در فور ۱۲۰ درجه سانتی گراد به مدت دو ساعت قرار داده شد، سپس برای کلسینه کردن ماده حاصله از کوره ۴۰۰ درجه سانتی گراد به مدت دو ساعت استفاده شد (۱۳) و در آخر برای سنجش مقدار اکسید روی، در آزمایشگاه دانشگاه تربیت مدرس (XRF) دستگاه فلورسانس اشعه ایکس انجام شد.

(Model: PW 2404, Company: Philips, Country: Holland)

از هر چهار نمونه، نانو ذره اکسید روی و سوسپانسیون غیر نانو اکسید روی و ژئولیت و استات روی غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۶۰، ۳۲۰، ۶۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر در محیط تریپتیک سوی برات (Merck) (TSB، آلمان) تهیه و برای حل شدن ورتکس شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط نگهداری و بعد از آن مایع رویی جدا شده و اتوکلاو شد. برای هر چهار باکتری به طور جداگانه از هشت لوله استریل که هر کدام حاوی ۱۰۰ میکرو لیتر محیط تریپتیک سوی برات (TSB) استریل و سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی، سوسپانسیون غیر نانو اکسید روی، ژئولیت و استات روی بود، استفاده شد. سپس به همه لوله‌ها از سوسپانسیون میکروبی مورد نظر با کدورت معادل نیم مک فارلند (Merck، آلمان) به میزان ۵۰ میکرو لیتر (یک لوله به عنوان شاهد منفی بود و سوسپانسیونی در آن ریخته نشد) اضافه شد. یک لوله حاوی سوسپانسیون میکروبی فاقد نانو ذره به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفته و جواب با مشاهده کدورت و شفافیت به صورت رشد، یا عدم رشد در نظر گرفته شد و به این ترتیب میزان MIC نانو ذره اکسید روی برای هر یک از میکروارگانیسم‌ها تعیین شد. کمترین غلظت از سوسپانسیون نانو ذره که کدورت در لوله نشان نداد به عنوان حداقل غلظت ممانعت کننده رشد نانو ذره تعیین شد. در لوله‌هایی که عدم رشد داشتند با انجام یک کشت دوباره روی محیط کشت مولر هیتون آگار (Merck، آلمان) MBC تعیین شد، این بررسی‌ها سه بار تکرار شد (۱۴).

دیسک‌های بالانک استریل (Mast، انگلستان) در غلظت‌های مختلف تهیه شده، به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. تعدادی دیسک در استات روی و آب مقطر به عنوان شاهد مثبت و منفی قرار داده شد، بعد از دیسک‌گذاری توسط پنس استریل، پلیت‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده و هاله‌های عدم رشد (در صورت ایجاد) با خط کش، همانند روش اندازه‌گیری دیسک‌های آنتی بیوگرام اندازه‌گیری و یادداشت شد. این بررسی‌ها سه بار تکرار شد (۱۵). برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری GraphPad Prism استفاده شد. داده‌های حاصل از تأثیر استات روی، آب مقطر و غلظت‌های مختلف سوسپانسیون نانوذرات اکسید روی بر روی باکتری‌های مورد بررسی با سه تکرار، با استفاده از تجزیه واریانس یکطرفه one-way ANOVA تجزیه و تحلیل شد. مرز معناداری (P-Value ≤ 0.05) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

با استفاده از دستگاه XRF درصد‌های مختلف عناصر موجود در سوسپانسیون غیر نانو اکسید روی و سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی طبق جدول شماره ۱ تعیین شد. مقادیر حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی علیه همه باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه چهار میلی گرم بر میلی لیتر بود و

این باکتری‌ها گستره بزرگی از شرایط محیطی را تحمل می‌کنند و حضور زیاد آن‌ها در مواد غذایی می‌تواند دلیلی بر آلودگی مدفوعی باشد. جنبه مفید این باکتری‌ها نقش پروبیوتیکی آن‌هاست و جنبه مضرشان نقش آن‌ها در عفونت‌های غذایی است. تراکم بیش از حد مجاز آن‌ها در مواد غذایی بیانگر وضعیت نامطلوب بهداشتی است (۳). ژئولیت‌ها جامداتی کریستالی، متخلخل و دارای ساختار و چارچوبی منظم و مشخص هستند. ساختارشان از شبکه‌های متصل به هم حاصل شده به طوری که در شبکه چهاروجهی، اتم سیلیسیوم یا آلومینیوم در مرکز و اتم‌های اکسیژن در گوشه‌ها قرار گرفته‌اند. در واقع این چهار وجهی‌ها به گونه‌ای در کنار یکدیگر قرار دارند که اتم اکسیژن موجود در هر گوشه چهار وجهی با اتم سیلیسیوم یا آلومینیوم چهار وجهی دیگر کناری نیز شریک هستند (۴). ژئولیت‌ها به دو دسته ژئولیت‌های سنتزی و ژئولیت‌های طبیعی دسته‌بندی می‌شوند. در سال‌های اخیر، به اکسیدهای فلزی، مانند اکسید روی به عنوان ترکیبی ضد میکروبی توجه شده است. نانو ذرات اکسید روی با تولید پراکسید هیدروژن و نفوذ در دیواره سلولی و تخریب غشا، مانع از رشد باکتری‌ها می‌شوند اما مکانیسم فعالیت نانو ذرات اکسید روی به طور دقیق مشخص نشده است (۵-۸). اکسید روی با خواص فیزیکی و شیمیایی خاص خودش یک ماده چند عملکردی است که در صنایع مختلفی مثل الکترونیک، اپتوالکترونیک، لیزر و همین طور صنایع سرامیک، نساجی، کشاورزی، آرایشی و داروسازی کاربرد دارد و به دلیل سمیت پایین آن و قابلیت تجزیه زیستی یک ماده مناسب برای تحقیقات زیست پزشکی و سیستم‌های طرفدار محیط زیست است (۹). در مطالعه Khani و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان داده شد با استفاده از نانو ذرات می‌توان رشد باکتری‌های بیماری‌زایی چون شیگلا دیسنتری را مهار کرد (۱۰). در مطالعه Liu و همکاران در سال ۲۰۰۹ نانو ذرات اکسید روی به عنوان یک عامل ضد باکتری موثر برای حفاظت از امنیت غذایی کشاورزی و مواد غذایی می‌تواند به طور بالقوه استفاده شود (۱۱). هدف از اجرای این طرح، تعیین تأثیر ضد باکتریایی نانو ذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه برسینیا انتروکولی تیکا و انتروکوک فکالیس از مواد غذایی در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال ۹۸-۹۷ است.

مواد و روش‌ها:

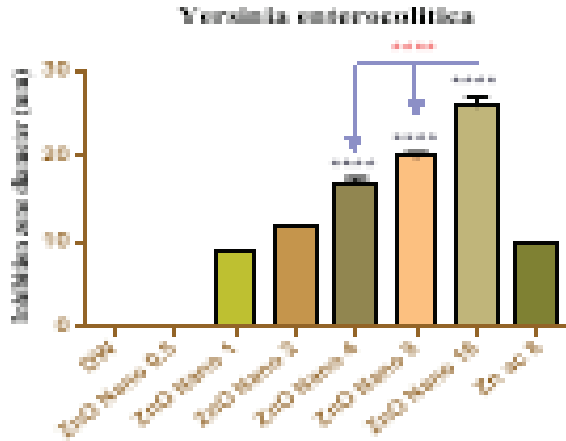
این مطالعه از نوع تجربی بوده که در شش ماه در بین سال‌های ۱۳۹۸-۱۳۹۷ و روی دو باکتری عامل بیماری‌زایی که در کارهای پیشین جدا شده بود، در کنار دو سویه استاندارد از همان باکتری انجام شد.

برای استفاده از جدایه‌های جمع‌آوری شده در مراحل بعدی، جدایه‌ها در محیط تریپتیک سوی برات (TSB) حاوی ۱۵ درصد گلیسرول کشت ذخیره داده شده و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سویه‌های استاندارد برسینیا انتروکولی تیکا ATCC 23715 و انتروکوک فکالیس ATCC 29212 استفاده شده در این پژوهش از شرکت تعاونی دانش بنیان زیست رویش که به صورت فریز خشک نگهداری شده بودند، تهیه شد. ابتدا در محیط کشت تریپتیک سوی برات گذاشته شد و بعد از آن روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تهیه سوسپانسیون باکتریایی برای انجام آزمایش‌ها در هر روز، ابتدا نیم مک فارلند 1.5×10^8 -۱ عدد باکتری در هر ml تهیه شد. برای اطمینان از ایجاد کدورت صحیح سوسپانسیون نیم مک فارلند، جذب آن به وسیله اسپکتروفتومتر در محدوده طول موج ۶۲۰ nm اندازه‌گیری شد (۱۲).

ابتدا ژئولیت از نوع کلینوپتیلولیت clinoptilolite سدیم-پتاسیمی با خلوص متوسط ۸۰ درصد از شرکت افرازند واقع در سمنان تهیه شد. ۶۰۰ گرم از آن را وزن کرده و سپس سه بار با ۵۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه شست و شو داده شد. به مدت یک شبانه‌روز در دمای محیط خشک شد و روز بعد با استفاده از انکوباتور ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت گرما داده شد تا خشک شود.

برای تهیه نانو ذره اکسید روی مقدار ۱۰۰ گرم ژئولیت با ۷۰ گرم استات روی (Merck، آلمان) در داخل بشر ۵۰۰ میلی لیتری ریخته شد و ۴۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه به آن اضافه شد و pH آن اندازه گرفته شد که pH=6 بود، سپس این ساختار درون بشر روی دستگاه همزن مغناطیسی (Magnet stirrer) در دمای ۶۰ درجه



نمودار ۱ قطر هاله عدم رشد باکتری یرسینیا انتروکلی تیکا بر حسب گروهها

مقادیر حداقل غلظت بازدارنده رشد استات روی علیه همه باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه هشت میلی گرم بر میلی لیتر و سوسپانسیون غیر نانو اکسید روی و ژئولیت فاقد حداقل غلظت بازدارنده رشد علیه تمامی باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه بوده است. مقادیر حداقل غلظت کشندگی (MBC) سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی علیه سویه استاندارد و جدایه یرسینیا انتروکلی تیکا چهار میلی گرم بر میلی لیتر و برای سویه استاندارد و جدایه انتروکوک فکالیس ۶۴ میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه شد و سوسپانسیون غیر نانو اکسید روی و ژئولیت فاقد حداقل غلظت کشندگی علیه باکتری‌های استفاده شده در این مطالعه بوده است. نتایج بررسی ضد میکروبی سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی با روش دیسک گذاری نشان داد که با کاهش غلظت نانو ذره از اثر مهاری آن کاسته شده است (جدول شماره ۲).

نمودارهای تاثیر استات روی (Zn ac)، آب مقطر (DW) و غلظت‌های مختلف سوسپانسیون نانوذرات اکسید روی (ZnO Nano)، روی قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مختلف در نمودارهای شماره ۱، ۲، ۳ و ۴ نشان داده شده است. جدول ۱ - مقایسه درصد عناصر موجود در سوسپانسیون غیر نانو اکسید روی و سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی

عناصر											عناصر
TiO2	CaO	K2O	Cl	SO3	P2O5	SiO2	Al2O3	MgO	L.O.I.		
0.144	3.661	1.324	0.04	0.153	0.031	65.819	8.905	0.568	9.12	(%)	سوسپانسیون غیر نانو اکسید روی
0.117	4.333	1.029	0.039	0.102	0.03	50.232	7.643	0.478	9.06	(%)	سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی
عناصر											عناصر
Pb	Ba	Zr	Sr	Rb	ZnO	Cu	Ni	Co	Fe2O3	MnO	
0.02	0.233	0.036	0.133	0.004	8.358	0.005	0.072	0.03	1.291	0.053	(%)
0.032	0.382	0.034	0.135	0.004	25.149		0.009		1.154	0.039	(%)

جدول ۲- میزان قطر هاله عدم رشد بر حسب نوع باکتری

شاهد منفی	شاهد مثبت	۶۴	۳۲	۱۶	۸	۴	۲	۱	۰٫۵	باکتری
۰	۱۰	۴۳	۳۵	۲۶	۲۰	۱۷	۱۲	۹	۰	یرسینیا انتروکلی تیکا ATCC 23715
۰	۱۰	۴۵	۳۸	۲۹	۲۲	۱۸	۱۳	۱۱	۰	جدایه یرسینیا انتروکلی تیکا
۰	۱۰	۱۲	۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰	انتروکوک فکالیس ATCC 29212
۰	۱۰	۱۵	۱۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	جدایه انتروکوک فکالیس

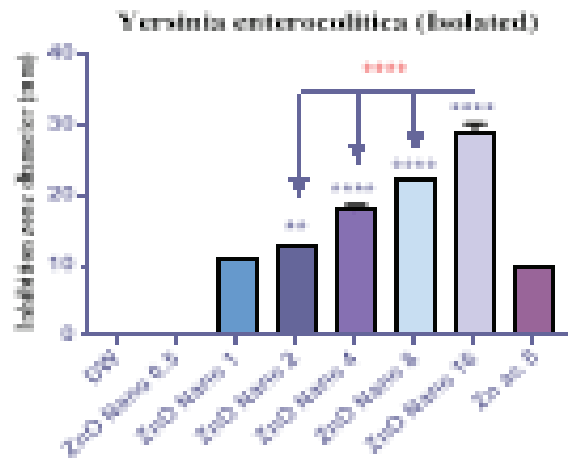
شاهد مثبت: دیسک آغشته به استات روی با غلظت هشت میلی گرم بر میلی لیتر
شاهد منفی: دیسک آغشته به آب مقطر

بحث:

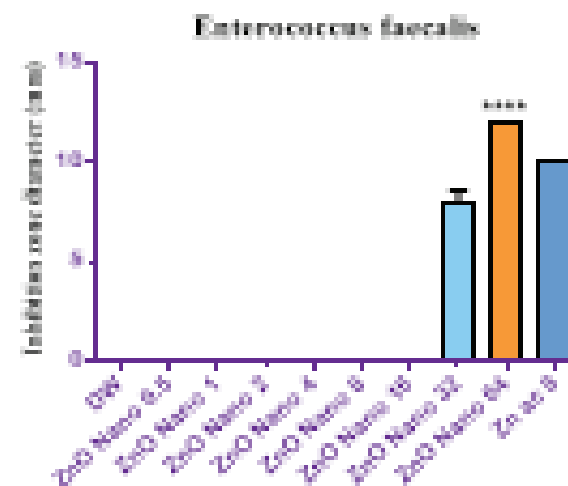
تحقیق نشان داد که سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی بر همه باکتری‌ها اثر ضد میکروبی بهتری نسبت به سوسپانسیون غیر نانو اکسید روی، ژئولیت دارد. در این بررسی، با افزایش غلظت محلول نانو ذره، فعالیت ضدباکتریایی افزایش یافت. Sawai و همکاران در سال ۲۰۰۴ با بررسی اثر ضد میکروبی پودرهای اکسید روی، اکسید مس و اکسید منیزیم گزارش کرده‌اند که این سه اکسید فلزی قدرت ضد میکروبی خوبی در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها دارند (۱۵). Parish و همکاران در سال ۱۹۹۸ نیز استفاده ایمن از نانو ذره اکسید روی در مصرف غذایی را با اثر دادن آن بر آب پرتقال نشان دادند (۱۶). Adams و همکاران در سال ۲۰۰۶ تولید گونه‌های حاوی اکسیژن فعال را یکی از مهم‌ترین دلایل فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات اکسید روی ذکر کرده‌اند (۱۷). Hosseini و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر ضد قارچی نانو ذره اکسید روی را بر مهار رشد سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس با روش میکرو برات دایلوژن در مقایسه با داروی فلوکونازول بررسی کردند و از نانو ذره اکسید روی به عنوان گزینه مناسب برای حذف کاندیدا آلبیکنس در حیطه پزشکی، به ویژه در ارتباط با وسایل پزشکی استفاده شد (۱۸). Chen و Zhang در سال ۲۰۰۹ بیان داشتند که شرایط محیط و نور مرئی برای فعالیت ضد میکروبی اکسید روی کافی است، در حالی که این فعالیت در شرایط تاریک با قدرت کمتری انجام می‌شود (۱۹). Sinha و همکاران در سال ۲۰۱۱ در بررسی اثر ضد میکروبی نانو ذرات اکسید روی نشان دادند که گونه‌های گرم منفی انتروباکتر و ماریوباکتر حساسیت بیشتری به این نانو ذرات در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتیلیس دارند. دلیل مقاوم بودن باکتری‌های گرم مثبت به وجود لایه‌های پپتید و گلیکانی ضخیم در این باکتری‌ها نسبت داده می‌شود (۲۰) که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. Reddy و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثر ضد میکروبی نانو ذرات اکسید روی را روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی بررسی کردند و مشاهده کردند که باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با باکتری گرم منفی اشریشیاکلی حساسیت بیشتری نسبت به نانو ذرات اکسید روی دارد (۲۱) که با نتایج این تحقیق مطابقت ندارد. Gunalan و همکاران در سال ۲۰۱۲ نانو ذرات اکسید روی را سنتز کردند و خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی آن را روی چهار سویه باکتری و چهار سویه قارچ بررسی کردند و نشان دادند که فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات به دوز نانو ذرات، زمان تماس، اندازه ذرات و روش سنتز بستگی دارد (۲۲). Ramani و همکاران در سال ۲۰۱۲ نانو ذرات اکسید روی را با ساختارهای متفاوت سنتز کردند و خواص ضد باکتریایی آن را روی چهار سویه باکتری گرم مثبت و چهار سویه باکتری گرم منفی بررسی و مشاهده کردند که نانو ذرات اکسید روی کروی شکل خواص ضد باکتریایی بهتری را از خود نشان می‌دهند (۲۳). جاستین و همکاران در سال ۲۰۱۲ کامپوزیتی از پلی وینیل کلراید و نانو ذرات اکسید روی سنتز کردند و خواص ضد باکتریایی آن را روی استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کردند و نشان دادند که اکسید روی سبب بهبود عملکرد خاصیت ضد باکتریایی کامپوزیت می‌شود (۲۴). Jiang و همکاران در سال ۲۰۱۳ نانو ذرات اکسید روی را به کمک امواج مایکروویو سنتز کردند و خواص ضد باکتریایی آن را روی کاندیدا آلبیکنس بررسی کردند و نشان دادند که خواص ضد باکتریایی نانو ذرات به شکل و اندازه آن‌ها بستگی دارد (۲۵). با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان دریافت که باکتری یرسینیا انتروکلی تیکا حساسیت بیشتری نسبت به انتروکوک فکالیس در برابر نانو ذرات اکسید روی دارد. لازم به ذکر است که تاکنون مطالعه‌ای روی فعالیت ضد باکتریایی نانو ذره اکسید روی بر روی باکتری‌های یرسینیا انتروکلی تیکا و انتروکوک فکالیس جدا شده از مواد غذایی انجام نگرفته است.

نتیجه‌گیری:

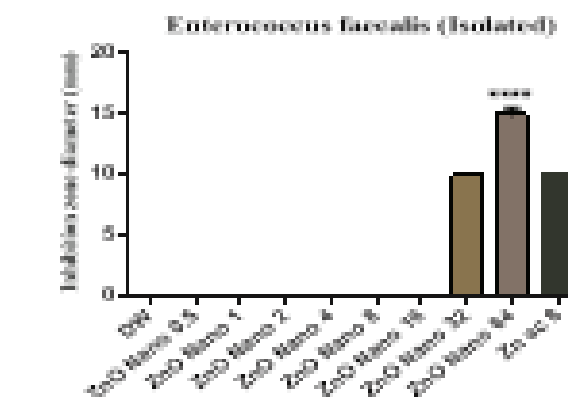
به نظر می‌رسد باکتری گرم منفی یرسینیا انتروکلی تیکا کاهش شدیدتری در مقایسه با باکتری گرم مثبت انتروکوک فکالیس مشاهده شد که این امر می‌تواند به وجود دیواره سلولی ضخیم در باکتری‌های گرم مثبت نسبت داده شود. مطالعه



نمودار شماره ۲ - قطر هاله عدم رشد باکتری جدایه انتروکوک فکالیسبر حسب گروه



نمودار شماره ۳ - قطر هاله عدم رشد باکتری Enterococcus faecalis بر حسب گروه‌ها



نمودار شماره ۴ - قطر هاله عدم رشد باکتری جدایه Enterococcus faecalis بر حسب گروه‌ها

تشکر و قدردانی:

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی با کد ۳۹۰۷۸ و دانشکده بهداشت با کد ۳۹۰۸۰ دانشگاه علوم پزشکی تهران بوده است. نویسندگان این مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران به دلیل حمایت‌های مالی و اجرایی اعلام می‌دارند.

منابع:

1. de Boer E. Isolation of *Yersinia enterocolitica* from foods (Review). *Int J Food Microbiol.* 1992;17(2):75-84.
2. Sohrabi R, Panahi dorcheh M, Tajbakhsh E. The frequency of virulence genes in *Yersinia enterocolitica* strains isolated from laying eggs consumed in the city of Arak. *Applied Microbiology In Food Industries.* 2016;2(3):64-74.
3. Abbaspour M, Rajabi Z, Soltan Dallal MM, Yazdani A. Prevalence and antibiotic resistance of *Enterococci* species isolated from packed and unpacked dried vegetables distributed in Tehran. *Razi Journal of Medical Sciences.* 2017;24(159):21-9.
4. Cejka J, Corma A, Zones S. *Zeolites and catalysis: synthesis, reactions and applications*: John Wiley & Sons; 2010.
5. Emami-Karvani Z, Chehrizi P. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on gram positive and gram-negative bacteria. *African J of Microbiology Research.* 2011;12:1368-73.
6. Dutta RK, Nenavathu BP, Gangishetty MK, Reddy AVR. Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation. *J of Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 2012;94:143-50.
7. Xie Y, He Y, Irwin P, Jin T, Shi X. Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles. *J of Applied Environmental Microbiology.* 2011;77(7):2325-31.
8. Ravikumar S, Gokulakrishnan R, Boomi P. In vitro antibacterial activity of the metal oxide nanoparticles against urinary tract infectious bacterial pathogens. *Asian Pacific J of Tropical Disease.* 2012;2(2):85-9.
9. Kolodziejczak A, Jesionowski T. Zinc oxide from synthesis to application. *Materials.* 2014;7:2833-81.
10. Hosseinkhani P, Zand AM, Imani S, Rezayi M, Rezaei Zarchi S. Determining the antibacterial effect of ZnO nanoparticle against the pathogenic bacterium, *Shigella dysenteriae* (type 1). *Int J Nano Dimens.* 2011;7(4):279-85.
11. Liu Y, He L, Mustapha A, Li H, Hu Z, Lin M. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of applied microbiology.* 2009;107(4):1193-201.
12. Hoseinzadeh E, Samargandi MR, Alikhani MY, Roshanaei GH, Asgari GH. Antimicrobial Efficacy of Zinc Oxide Nanoparticles Suspension Against Gram Negative and Gram Positive Bacteria. *Iran J Health & Environ.* 2012;5(4):463-74.
13. Alswat AA, Ahmad MB, Saleh TA, Hussein MZB, Ibrahim NA. Ef-

fect of zinc oxide amounts on the properties and antibacterial activities of zeolite/zinc oxide nanocomposite. *Materials Science and Engineering: C.* 2016;68:505-11.

14. Ketabchi M, Iessazadeh Kh, Massiha A. Evaluate the inhibitory activity of ZnO nanoparticles against standard strains and isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolated from food samples. *JFM.* 2017;4(1):63-74.

15. Sawai J, Yoshikawa T. Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. *J Appl Microbiol.* 2004;96:803-809.

16. Parish M. Orange juice quality after treatment by ZnO nanoparticle or thermal pasteurization isostatic high pressure, 2011. *Lwt.* 1998;31:439-442.

17. Adams LK, Lyon DY, Alvarez PJJ. Comparative ecotoxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. *Water Res.* 2006;40:3527-3532.

18. Hosseini SS, Mohammadi SH, Joshagani HR, Eskandari M. Colorimetric MTT assessment of antifungal activity of ZnO nanowires against *Candida dubliensis* biofilm. *Jondishapur Med Sci.* 2013;12(1):69-80.

19. Zhang H, Chen G. Potent antimicrobial activity of Ag/TiO₂ nanocomposite powder synthesized by a one-pot sol-gel method. *Environ. Sci Technol.* 2009;43:2905-10.

20. Sinha R, Karan R, Sinha A, Khare SK. Interaction and nanotoxic effect of ZnO and Ag nanoparticles on mesophilic and halophilic bacterial cells. *Bioresource Technology.* 2011;2:1516-1520.

21. Reddy KM, Feris K, Bell J, Wingett DG, Hanley C, Punnoose A. Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. *Applied Physics Letters.* 2007;90(21):1-3.

22. Gunalan S, Sivaraj R, Rajendran V. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens, *Progress in Natural Science. Materials International.* 2012;22(6):695-702.

23. Ramani M, Ponnusamy S, Muthamizhchelvan C. From zinc oxide nanoparticles to microflowers: A study of growth kinetics and biocidal activity. *Materials Science and Engineering.* 2012;32(8):2381-89.

24. Seil JT, Webster TJ. Reduced *Staphylococcus aureus* proliferation and biofilm formation on zinc oxide, nanoparticle PVC composite surfaces. *Acta Biomaterialia.* 2011;7(6):2579-84.

25. Ma J, Liu J, Bao Y, Zhu Z, Wang X, Zhang J. Synthesis of large-scale uniform mulberry-like ZnO particles with microwave hydrothermal method and its antibacterial property. *Ceramics International.* 2013;39(3):2803-10.