Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 20:16 +0430 on Monday July 23rd 2018

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نیکل بر روی میزان تشکیل بیوفیلم جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به موپیروسین

مریم قهرمانی[۱]، یعقوب شریفی[۲]، مرتضی واحدی[۳]، نیما حسینی جزنی*[٤]

تاریخ دریافت ۱۳۹٤/۰۸/۲۲ تاریخ پذیرش ۱۳۹٤/۱۰/۳۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: اثرات ضد میکروبی نانو ذرات نیکل در مطالعات محدودی بر روی برخی از سوش‌های باکتریایی از قبیل استافیلوکوکوس ارئوس واشرشیا کلی مشخص شده است. هدف از این پژوهش بررسی خاصیت مهارکنندگی نانوذره نیکل بر روی تشکیل بیوفیلم توسط جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به موپیروسین می‌باشد.

مواد و روش کار: ۱۵۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس از بیمارستان‌های آموزشی شهرستان ارومیه جمع‌آوری‌شده و تعیین هویت شدند. حساسیت جدایه‌ها نسبت به موپیروسین و سایر آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان با روش دیسک دیفیوژن تعیین شد. تعیین میزان تولید بیوفیلم در حضوروغیاب نانونیکل با روش پلیت میکروتیتر انجام گرفت.

یافته‌ها: از ۱۵۰ جدایه استافیلوکوکوس ارئوس ۳۰ جدایه نسبت به موپیروسین مقاوم بودند. جدایه‌های مقاوم به موپیروسین به‌ترتیب بیشترین میزان مقاومت را نسبت به پنی‌سیلین و تری متوپریم- سولفامتوکسازول و کم‌ترین میزان مقاومت را نسبت به تیکوپلانین و لینزولید نشان دادند. ۳۳,۳ درصد از جدایه‌های تحت بررسی تولیدکننده بیوفیلم بودند. اثر مهاری نانوذره نیکل بر روی تشکیل بیوفیلم استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به موپیروسین در مقایسه با میزان تولید بیوفیلم توسط هر جدایه در غیاب نانوذرات معنی‌دار بود (P=0/039).

بحث و نتیجه‌گیری: اثر مهارکننده نانوذره نیکل بر روی تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های مقاوم به موپیروسین استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شد. با توجه به کاربرد نیکل در مواد دندانی و امکان تجویز آن در مخاط بینی و دهان، با انجام مطالعات تکمیلی شاید از این ترکیب بتوان برای مهار تولید بیوفیلم و پاک‌سازی استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به موپیروسین از افراد حامل استفاده نمود.

کلیدواژه‌ها: استافیلوکوکوس اورئوس، موپیروسین، نانوذره نیکل، بیوفیلم

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره دوازدهم، ص ۱۰۷۰-۱۰٦۳، اسفند ۱۳۹٤

آدرس مکاتبه: بخش باکتری‌شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، جاده نازلو، ارومیه، تلفن: ۰۹۱۴۳۴۶۴۲۳۴

Email: n_jazani@yahoo.com

مقدمه

نانوتکنولوژی از کاربردهای متعددی در حوزه‌های تشخیص پزشکی، غذا، دارو، شیمی، بیوتکنولوژی، محیط‌زیست، انرژی، فیزیک و غیره برخوردار می‌باشد که این فن‌آوری را به‌عنوان یک زمینه‌ی فرارشته‌ای مطرح می‌سازد. نانو ذرات گروه‌هایی از اتم‌ها، یون‌ها یا مولکول‌ها می‌باشند که به‌طور تیپیک از قطر ۱-۱۰۰ نانومتر برخوردار می‌باشند. این اندازه کوچک بسیار با ارزش است، زیرا به دلیل اندازه کوچک، نانوذرات قادر به نفوذ در شکاف‌های مولکول‌های کوچک و ایجاد گسیختگی در ساختار آن‌ها می‌باشند. نانو ذرات از خواص ویژه‌ایی برخوردارند که با خواص مولکول‌های مجزا یا توده‌هایی از همین مواد متفاوت است (۱). نانوذرات به‌عنوان نسل جدیدی از آنتی‌بیوتیک‌های جایگزین، برای مقابله با مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها در نظر گرفته شده‌اند (۲). مثلاً نانو ذرات نقره و مس دارای خواص ضد میکروبی می‌باشند. نانوذرات فلزی در

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی،کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی، ارومیه

[۲] استادیار میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه

[۳] دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، ارومیه

[٤] استاد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه (نویسنده مسئول)

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 20:16 +0430 on Monday July 23rd 2018

مقایسه با یون‌های فلزی از سمیت کم‌تری برخوردار بوده و قابلیت تجویز در بدن موجودات زنده را دارند و دارای تأثیر طولانی‌مدت می‌باشند. ثابت شده است که نانو ذرات نقره علیه طیف وسیعی از باکتری‌ها اثر ضد میکروبی دارند، احتمال می‌رود که یون‌های نقره باعث ایجاد آسیب‌هایی در غشای سلولی باکتری‌ها گردند. (۳-۵). نانوذرات نیکل، ذرات سیاه‌رنگ کروی شکل با سطحی بسیار وسیع می‌باشند. اثرات ضد میکروبی نانو ذرات نیکل در مطالعات محدودی بر روی برخی از سویه‌های باکتریایی از قبیل استافیلوکوکوس ارئوس واشرشیا کلی مشخص شده است (۶،۷). بیوفیلم باکتری‌ها شامل تجمعاتی از میکروارگانیسم‌ها، محصولات خارج سلولی و مواد موجود در فضای بین آن‌ها است که به یک سطح متصل شده‌اند. بیوفیلم‌ها به‌دلیل ساختار خاص خود و وجود مواد پلیمری خارج سلولی باعث کاهش نفوذ عوامل ضد میکروبی می‌شوند. درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مولد بیوفیلم سخت و پزشکان با معضلات زیادی در این زمینه روبرو هستند. به‌دلیل خواص متمایز و نقش بیوفیلم‌ها در کاهش نفوذ دارو به داخل سلول‌های باکتریایی، باکتری‌های مولد بیوفیلم مقاومت دارویی زیادی داشته و نیاز به استفاده از روش‌های درمانی متفاوتی برای درمان این نوع عفونت‌ها وجود دارد. به‌دلیل مقاومت باکتری‌های مولد بیوفیلم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف فعلی، روش‌های درمانی غیرمتعارف و گوناگونی از گوشه و کنار جهان برای این‌گونه عفونت‌ها گزارش شده است. یکی از عوامل مؤثر در بیماری‌زایی استافیلوکوکوس اورئوس نیز توانایی تشکیل بیوفیلم توسط این باکتری است (۸). استافیلوکوکوس اورئوس با تولید عوامل چسبندگی در سطح وسایل پزشکی همچون کاتترهای پلاستیکی مستقر می‌شود. ممانعت از تشکیل بیوفیلم استافیلوکوکوس اورئوس برای پیشگیری از این قبیل عفونت‌ها راهکار مناسبی می‌باشد (۹). با افزایش شیوع عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقام به متی‌سیلین، احتمال استفاده از موپیروسین برای ریشه‌کنی استافیلوکوکوس ارئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) در ناقلین این‌گونه باکتری‌ها در بینی افزایش پیدا کرده است. درک مکانیسم اثر، علائم بالینی و اپیدمیولوزی مقاومت به موپیروسین برای پیش‌بینی چگونگی استفاده از آنتی‌بیوتیک در درمان ناقلین ممکن است جمعیت باکتریایی و کنترل استافیلوکوکوس ارئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین را تحت تأثیر قرار دهد .موپیروسین به‌طور موضعی در داخل بینی برای ریشه‌کنی استافیلوکوکوس ارئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین در ناقلین استافیلوکوکوس اورئوس استفاده می‌شود، اما مقاومت به موپیروسین نیز در استافیلوکوکوس اورئوس از نقاط مختلف جهان گزارش می‌شود (۱۰-۱۳). موپیروسین به‌عنوان یک آنتی‌بیوتیک آنالوگ ایزولوسین است که با رقابت در باند شدن به آنزیم isoleucyl-tRNA سنتتاز، از سنتز پروتئین ممانعت می‌کند. موپیروسین ابتدا در کشور انگلستان به‌عنوان یک آنتی‌بیوتیک موضعی مؤثر علیه باکتری‌های گرم مثبت و همچنین برخی باکتری‌های گرم منفی، معرفی و استفاده شد (۱۴، ۱۵). براساس بررسی‌های انجام شده در منابع، تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ایی بر روی اثرات نانو ذرات نیکل بر روی میزان تولید بیوفیلم باکتری‌ها انجام نشده است، لذا با توجه به اهمیت کنترل استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به موپیروسین در ناقلین سالم، در این مطالعه اثرات ممانعت کنندگی نانو ذرات نیکل جهت پیشگیری از تشکیل بیوفیلم استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به موپیروسین با روش میکروتیتر پلیت مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

جداسازی ایزوله‌ها:

جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس در طی شش ماه در فاصله زمانی دی ماه ۱۳۹۳ تا خرداد ۱۳۹۴، از نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی بیمارستان‌های دانشگاهی شهرستان ارومیه جمع‌آوری شدند. اطلاعات نمونه‌ها برحسب نوع نمونه ارسالی (ادرار، زخم، خون، مایع صفاقی) یادداشت شد. شناسایی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس در آزمایشگاه براساس تست‌های تشخیصی استاندارد برای شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس شامل کاتالاز، کوآگولاز لامی و لوله‌ای، رشد در محیط مانیتول سالت آگار، DNase و انجام شد (۱۶).

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با استفاده از دیسک دیفیوژن در محیط کشت جامد.

الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها، با روش دیسک دیفیوژن در محیط کشت جامد (۱۷) نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰ واحد)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، جنتامیسین (۱۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، کلیندامایسین (۲ میکروگرم)، موپیروسین (۲۰۰ میکروگرم)، تری متوپریم/سولفا متاکسازول (۱/۲۵ -۲۳/۷۵ میکروگرم)، تیکوپلانین (۳۰ میکروگرم)، تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم) و ریفامپین (۵ میکروگرم) (Mast Diagnostics, UK) تعیین شد. انتخاب آنتی‌بیوتیک‌های مذکور مطابق با آنتی‌بیوتیک‌های مورد تجویز به‌طور رایج توسط اساتید بخش‌های عفونی بیمارستان‌های دانشگاه علوم پزشکی ارومیه و توصیه‌های CLSI(Clinical and Laboratory Standards Institute) انجام گرفت. از بین جدایه‌های مقام به موپیروسین ۳۰ جدایه به‌طور تصادفی انتخاب شدند و میزان تولید بیوفیلم در حضور و عدم حضور نانو ذرات نیکل بررسی شد (۱۸).

بررسی توانایی تولید بیوفیلم با روش میکروتیتر پلیت:

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 20:16 +0430 on Monday July 23rd 2018

توانایی تولید بیوفیلم جدایه‌های مقاوم به موپیروسین استافیلوکوکوس اورئوس با روش میکروتیترپلیت انجام گرفت (18). رقیق سازی کشت تازه باکتری در محیط کشت مولر هینتون برات (CONDA) به نسبت ۱:۱۰۰ انجام شده و سپس به هر چاهک از میکروپلیت پلی استیرن U شکل ۹۶ خانه‌ای، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون حاصل افزوده شد. میکروپلیت در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد. سپس محتویات چاهک‌ها تخلیه شده و با فرو بردن میکروپلیت در وان آب و سرو ته کردن آن، سلول‌های معلق باکتریایی و اجزای محیط کشت که ممکن است در مراحل بعدی رنگ آمیزی شوند، به حداقل رسید. در مرحله بعدی به هر چاهک ۱۲۵ میکرولیتر از محلول کریستال ویوله ۱ درصد به‌منظور رنگ آمیزی بیوفیلم اضافه شد و میکروپلت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. پس از چند بار شستشو میکرو پلیت با قرار گرفتن در دمای اطاق به مدت یک شبانه روز خشک شد. برای ارزیابی تولید بیوفیلم به هر چاهک، ۱۲۵ میکرولیتر اسید استیک ۳۰ درصد افزوده و میکروپلیت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. در مرحله بعد محتوای چاهک‌ها به میکروپلیت ته صاف جدید منتقل شد و جذب چاهک‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر با استفاده از محیط کشت فاقد میکروارگانیسم به‌عنوان شاهد قرائت شد. جهت تعیین توانایی تولید بیوفیلم توسط جدایه‌های باکتریایی تحت بررسی، از مقایسه مقادیر جذب با نمونه کنترل منفی طبق جدول زیر استفاده شد (۲۰،۱۹).

جدول (۱): نحوه محاسبه میزان تولید بیوفیلم توسط جدایه‌های باکتریایی تحت بررسی

عدم تولید بیوفیلم	$ODs \leq ODc$
تولید ضعیف بیوفیلم	$ODc \leq ODs \leq 2 \times ODc$
تولید متوسط بیوفیلم	$2 \times ODc \leq ODs \leq 4 \times ODc$
تولید قوی بیوفیلم	$4 \times ODc < ODs$

ODc = شدت جذب کنترل منفی ODs= شدت جذب نمونه باکتریایی

در مرحله بعد به‌منظور تعیین اثر نانو ذرات نیکل بر روی میزان تولید بیوفیلم جدایه‌ها، مراحل فوق برای همه‌ی نمونه‌ها با افزودن نانو ذرات نیکل باغلظت ۱۰ میلی‌گرم در سی سی در مرحله تهیه سوسپانسیون باکتریایی تکرار شد و میانگین مقدار شدت جذب به دست آمده برای هریک از جدایه‌های مولد بیوفیلم در حضور و عدم حضور بیوفیلم مورد مقایسه قرار گرفت. برای اطمینان از صحت نتایج ارزیابی کمی بیوفیلم در حضور و عدم حضور بیوفیلم، هشت تکرار برای هر نمونه در نظر گرفته شد.

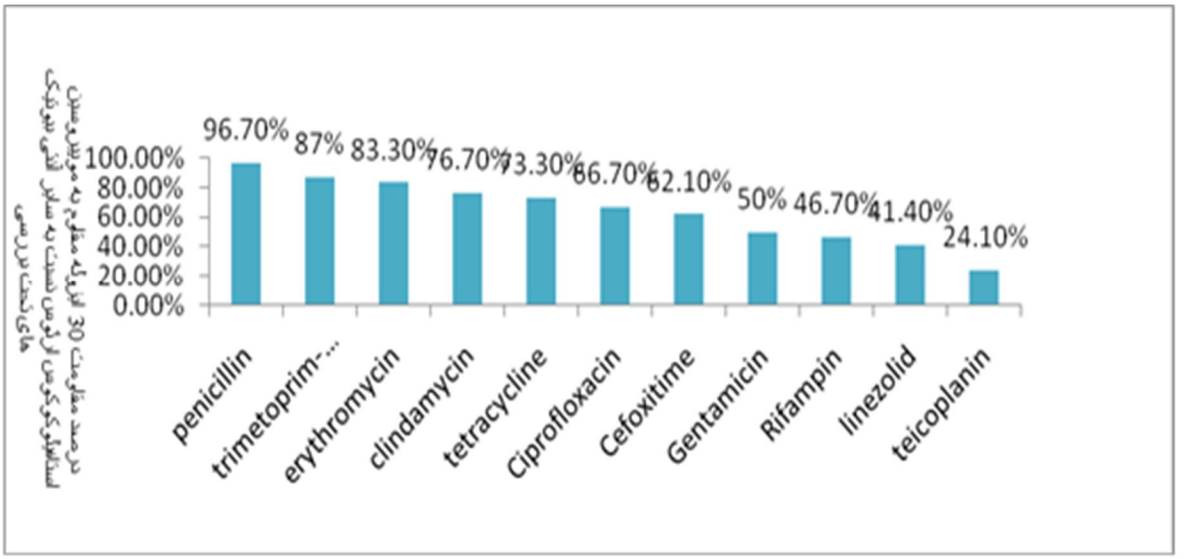
یافته‌ها

جداسازی ایزوله‌ها: در طی یک دوره شش ماهه در فاصله زمانی دی ماه ۱۳۹۳ تا خرداد ۱۳۹۴، ۱۵۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس از بیمارستان‌های دانشگاهی شهرستان ارومیه جمع‌آوری‌شده و با انجام آزمایشات استاندارد میکروب‌شناسی که در قسمت روش کار مورد اشاره قرارگرفت، به‌عنوان جدایه‌های متعلق به جنس وگونه استافیلوکوکوس اورئوس مورد تائید قرار گرفتند.

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با استفاده از روش دیسک دیفیوژن.

مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۳۰ جدایه مقاوم به موپیروسین استافیلوکوکوس اورئوس تحت بررسی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، تری متوپریم-سولفومتوکسازول، اریترومایسین، کلیندامایسین، تتراسیکلین، سیپروفلوکساسین، سفوتاکسیم، جنتامیسین، ریفامپین، لینزولید و تیکوپلانین در نمودار ۱ نشان داده شده است، همانطور که مشاهده می‌شود بیشترین میزان مقاومت به‌ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و تری متوپریم- سلفامتوکسازول و کم‌ترین میزان مقاومت به‌ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تیکوپلانین و لینزولید مشاهده شد (نمودار ۱).

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 20:16 +0430 on Monday July 23rd 2018



نمودار (۱): میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های تحت بررسی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

بررسی توانایی تولید بیوفیلم:

بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به موپیروسین با هشت تکرار برای هر نمونه از طریق اندازه‌گیری جذب نوری توسط دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۵۵۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت و مشخص شد که از ۳۰ جدایه تحت بررسی براساس مقایسه با Cut off ذکر شده، ۲۰ جدایه فاقد توانایی تولید بیوفیلم و ۱۰ جدایه (۳۳,۳ درصد) تولید کننده بیوفیلم بودند (نمودار ۲).

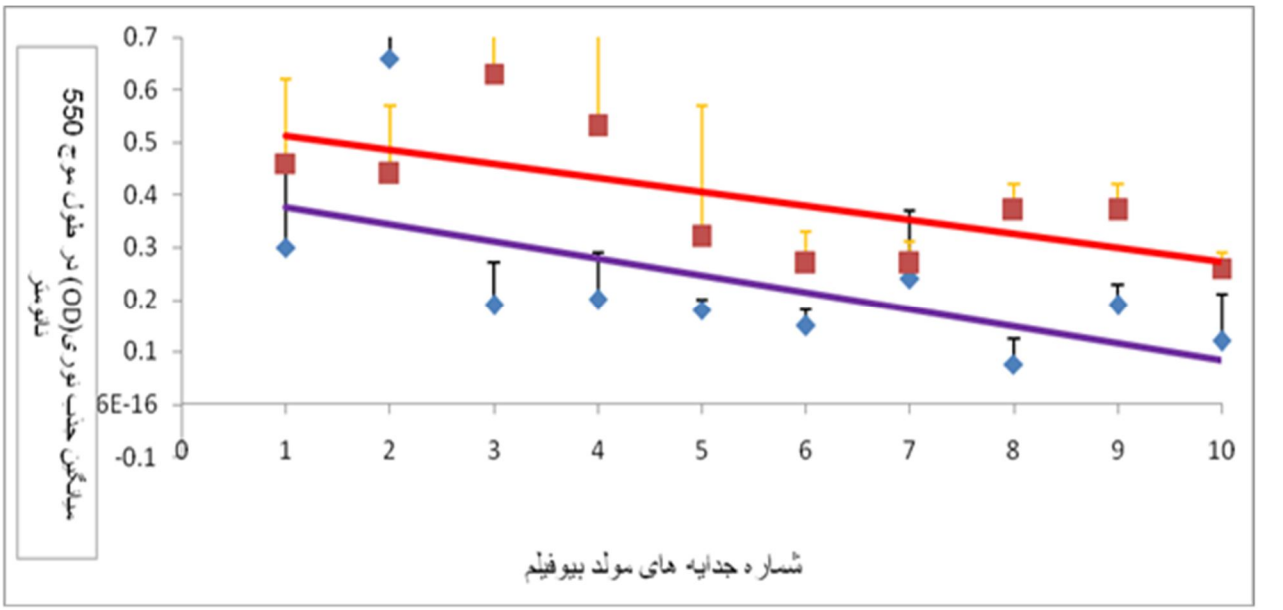
نمودار (۲): درصد جدایه‌های تولید کننده بیوفیلم در استافیلوکوکوس ارئوس‌های مقاوم به موپیروسین

لازم به ذکر است که تمامی جدایه‌های تولید کننده بیوفیلم از نمونه‌های ادرار و کشت خون جداسازی شده بودند.

مقایسه میزان تشکیل بیوفیلم در حضوروغیاب نانوذرات نیکل:

تشکیل بیوفیلم در حضور غلظت ۱۰ میلی‌گرم در سی سی نانوذره نیکل بررسی شده و با میزان تولید بیوفیلم در غیاب نانوذرات توسط هر جدایه مقایسه شد. میانگین جذب نوری (OD) در طول موج ۵۵۰ نانومتر با ۸ تکرار برای هریک از جدایه‌های تولید کننده بیوفیلم در حضوروغیاب نانوذرات نیکل در نمودار ۳ نشان داده شده است.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 20:16 +0430 on Monday July 23rd 2018



نمودار (۳): رنگ آبی تولید بیوفیلم در حضور نانوذره نیکل (خط بنفش رنگ) و رنگ قرمز تولید بیوفیلم در عدم حضور نانوذره نیکل (خط قرمز رنگ) را نشان می‌دهد، هم چنانکه مشاهده می‌شود در مورد تمام جدایه‌ها (به جز مورد ۲) حضور نانوذرات نیکل نقش مهارکننده بر روی تولید بیوفیلم توسط جدایه‌های تحت بررسی را داشته است و در مجموع اثر کلی حضور نانو ذرات نیکل با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در سی سی منجربه کاهش تولید بیوفیلم توسط جدایه‌های تحت بررسی شد.

اثر مهاری نانوذره نیکل بر روی تشکیل بیوفیلم باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به موپیروسین در مقایسه با میزان تولید بیوفیلم توسط هر جدایه در غیاب نانوذرات معنی‌دار بود (p=0/039).

بحث و نتیجه‌گیری

استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس فراوان‌ترین عوامل ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی و عفونت‌های مرتبط با وسایل پزشکی می‌باشند، دلیل این امر به‌طور واضح توانایی تولید بیوفیلم توسط این باکتری‌ها است. پیشرفت‌های اخیر در بیولوژی ملکولی جزییات بیشتری را در رابطه با اساس تشکیل بیوفیلم در این پاتوژن های فرصت طلب آشکار نموده است. تعدادی از پروتئین‌های سطحی، اتصال اولیه باکتری به پروتئین‌های ماتریکس میزبان را واسطه گری می‌کنند که با بیان یک اگزوپلی ساکارید کاتیونی از جنس گلوکز آمین که سلول‌های باکتریایی را به هم می‌چسباند، دنبال می‌شود. در برخی از موارد پروتئین‌ها نیز ممکن است به‌عنوان ساختارهای جایگزین متصل کننده باکتری‌ها به یکدیگر عمل نمایند. همچنین مشخص شده است که مقاومت بیوفیلم‌های استافیلوککی به مواد ضد میکروبی، وابسته به فرایندهای تحت کنترل ژنومی است. در حال حاضر محققین لزوم انجام مطالعات متعددی را بر روی بیوفیلم‌های استافیلوککی ضروری دانسته و این مطالعات را راهگشای پیشرفت در معرفی واکسن‌ها و داروهای جدید ضد استافیلوککی دانسته‌اند (۲۱).

در سال ۲۰۱۳ Mamonova و همکاران اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات فلزی را بر روی جدایه‌های بالینی اشرشیا کلی بررسی کردند. اشرشیا کلی همانند استافیلوکوکوس ارئوس ازجمله شایع‌ترین عوامل عفونت زا در انسان است. این باکتری ازمکانیسم های متعددی ازجمله تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف وکارباپنمازها برای ایجاد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف استفاده می‌نماید، بنابراین ضرورت طراحی و یا شناسایی عوامل ضد باکتریایی جدید برای درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها احساس می‌شود. این محققین با توجه به این نکته که نانوذرات فلزی در مقایسه با یون‌های فلزی از سمیت کم‌تری برخوردار بوده و قابلیت تجویز در بدن موجودات زنده را دارند و دارای تأثیر طولانی‌مدت می‌باشند، اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نیکل و تیتانیوم را بر روی جدایه‌های بالینی اشرشیا کلی بررسی نمودند و مشخص گردید که نانوذرات نیکل فعالیت باکتری کشی دارند. اثرات ضد باکتریایی نانوذرات نیکل وابسته به غلظت این ذرات و زمان مجاورت بود. بنابراین این محققین پیشنهاد کردند که بهتر است مطالعات بیشتری بر روی فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات نیکل به‌منظور معرفی آن به‌عنوان یک عامل ضد باکتریایی صورت گیرد (۷). یافته‌های این محققین با نتایج پژوهش حاضر که نشان دهنده اثرات ضد باکتریایی

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 20:16 +0430 on Monday July 23rd 2018

نانو ذرات نیکل در کاهش بیوفیلم تولیدی توسط جدایه‌های مقاوم به موپیروسین است تا حدی مطابقت داشته و نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر، یافته‌های این محققین را از این لحاظ که نشان دهنده اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نیکل است، تائید می‌کند. البته براساس دسترسی ما به منابع تاکنون اثرات ضد بیوفیلم نانوذرات نیکل مورد مطالعه قرار نگرفته است و پژوهش حاضر اولین مطالعه بر روی اثرات ضد بیوفیلم نانو ذرات نیکل می‌باشد. البته اثرات ضد میکروبی برخی از دیگر انواع نانو ذرات ازجمله نانوذرات نقره بر روی تولید بیوفیلم سایر باکتری‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است. به‌طوری که در سال ۲۰۱۲ Namasivayam و همکارانش مهار تولید بیوفیلم جدایه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس بر روی کاتتر های پوشانده شده با نانو ذرات نقره را در شرایط in vitro بررسی نموده و اثر سینرژیتستیک نانو ذرات نقره با برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها را نیز مورد مطالعه قرار دادند. پس از تولید نانو ذرات نقره به روش شیمیایی، سطح کاتترها با این ذرات پوشانده شد. اثرات واضح مهار بیوفیلم در کاتترهای پوشیده شده با نانوذرات مشاهده شد وحداکثر میزان مهار تشکیل بیوفیلم در طی ۲۴ ساعت درکاتترهای پوشانده شده با نانوذرات و یا نانوذرات همراه با آنتی‌بیوتیک مشاهده شد و بررسی‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی اسکنینگ تخریب کامل بیوفیلم را آشکار نمود. میزان مهار بیوفیلم و تغییر ماهیت بیوشیمیایی در موارد کاربرد توام نانوذرات وآنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده بیشتر بود که نشان دهنده اثرات سینرژیستیک کاربرد توام این ترکیبات در مهار تولید بیوفیلم است (۶). نتایج مطالعه حاضر نیز در توافق با نتایج این مطالعه بوده و هر دو مطالعه اثرات مهارکننده نانوذرات بر روی تولید بیوفیلم استافیلوکوکوس ارئوس را تائید می‌کنند.

نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نشان دهنده توانایی تولید بیوفیلم توسط درصد قابل توجهی از جدایه‌های استافیلوکوکوس ارئوس برخوردار از مقاومت دارویی چند گانه است، از طرفی این پژوهش تأثیر کاهنده نانوذرات نیکل بر روی تولید بیوفیلم توسط جدایه‌های مقاوم استافیلوکوکوس اورئوس را نشان می‌دهد. به هرحال از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به تعداد محدود جدایه‌های باکتریایی و عدم استفاده از غلظت‌های مختلف نانوذرات نیکل اشاره نمود. بنابراین انجام مطالعات تکمیلی راهگشای استفاده از نانوذرات نیکل در سطوح مخاطی دهان و بینی به‌منظور پاک‌سازی افراد حامل از استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به درمان خواهد بود.

تشکر و قدردانی

بدین وســیله ازکمیته تحقیقات دانشــجویی معاونت محترم پژوهشــی دانشــگاه علوم پزشــکی ارومیه به‌دلیل تأمین هزینه‌های لازم برای انجام این طرح تحقیقاتی تشکر و قدردانی می‌شود.

References:

1- Johnston Rl, Wilcoxon J. Metal Nanoparticles and Nanoalloys. 1st ed. Elsevier; 2012. P.1-5.

2- Mohanty S, Mishra S, Jena P, Jacob B, Sarkar B, Sonawane A. An investigation on the antibacterial, cytotoxic, and anti-biofilm efficacy of starch-stabilized silver nanoparticles. Nanomedicine 2012; 8(6):916-24.

3- Toumey C. Reading Feynman In to Nanotechnology: A Text for a New Science. Techné 2008; 12(3): 135-71.

4- Nowrouzi A, Meghrazi K, Golmohammadi T, Golestani A, Ahmadian M, Shafiezadeh M, et al. Cytotoxicity of Subtoxic AgNP in Human Hepatoma Cell Line (HepG2) after Long-Term Exposure. Iran Biomed J 2010; 12:23-32.

5- Shuval H, Fattal B, Nassar A, Lev O, Pedahzur R. The study of the synergism between oligodynamic Ag and hydrogen peroxide as a long-acting water disinfectant. Water Supply 1995; 13: 241–51.

6- Raja Namasivayam SK, Preethi M, Arvind Bharani. RS, Robin G, Latha B. Biofilm Inhibitory effect of silver nanoparticles coated catheter against Staphylococcus aureus and evaluation of its synergistic effect with antibiotics. IJBPR 2012; 3(2): 259- 65.

7- Mamonova IA. Study of the antibacterial action of metal nanoparticles on clinical strains of gram-negative bacteria. World J Med Sci 2013; 8(4): 314-7

8- Mirzaee M, Najar-Peerayeh S, Behmanesh M, Forouzande hMoghadam M, Ghasemian A. Biofilm Formation and Presence of ica Genes in Staphylococcus aureus Isolated from Intensive Care Unit. J Mazandaran Unive Med Sci 2014; 24(115): 43-51.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 20:16 +0430 on Monday July 23rd 2018

9- Roe D, Karandikar B, Bonn-Savage N, Gibbins B, Roullet JB. Antimicrobial surface functionalization of plastic catheters by silver nanoparticles. J Antimicrob Chemother 2008; 61(4):869-76.

10- McDanel JS, Murphy CR, Diekema DJ, Quan V, Kim DS, Peterson EM, et al. Chlorhexidine and mupirocin susceptibilities of methicillin-resistant Staphylococcus aureus from colonized nursing home residents. Antimicrob Agents Chemother 2013; 57(1):552-8.

11- Daskalaki M, Otero JR, Chaves F. Molecular characterization of resistance to mupirocin in methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates in a tertiary hospital in Spain. J Antimicrob Chemother 2009; 63 (4):826-8.

12- Liu QZ, Wu Q, Zhang YB, Liu MN, Hu FP, Xu XG, et al. Prevalence of clinical meticillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) with high-level mupirocin resistance in Shanghai and Wenzhou, China. Int J Antimicrob Agents 2010; 35 (2):114-8.

13- Annigeri R, Conly J, Vas S, Dedier H, Prakashan KP, Bargman JM, et al. Emergence of mupirocin-resistant Staphylococcus aureus in chronic peritoneal dialysis patients using mupirocin prophylaxis to prevent exit-site infection. Perit Dial Int 2001; 21(6):554-9.

14- Parenti MA, Hatfield SM, Leyden JJ. Mupirocin: a topical antibiotic with a unique structure and mechanism of action. Clin Pharm 1987; 6(10):761-70.

15- Perkins D, Hogue JS, Fairchok M, Braun L, Viscount HB. Mupirocin resistance screening of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates at Madigan Army Medical Center. Mil Med 2008; 173(6):604-8.

16- Betty Forbes A, Daniel Sahm F, Alice S. Weissfeld: Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 12th Ed. New York, St. Louis. Mosby Company; 2007.

17- Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Tech. Bull. Regist. Med. Technol 1966; 36(3): 49-52.

18- Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition M02-A11 Vol. 32 No. 1 January 2012.

19- O'Toole GA. Microtiter dish biofilm formation assay. J Vis Exp 2011; 30 (47): 2437.

20- Ebrahimi A, Hemati M, Shabanpour Z, Habibian Dehkordi S, Bahadoran S, Lotfalian A. et al. Effects of Benzalkonium Chloride on Planktonic Growth and Biofilm Formation by Animal Bacterial Pathogens. Jundishapur J Microbiol 2015; 8(2): e16058.

21- Otto M. Staphylococcal biofilms. Curr Top Microbiol Immunol 2008; 322: 207-28.

Original Article

EVALUATION OF THE ANTI BACTERIAL EFFECTS OF NICKEL NANOPARTICLES ON BIOFILM PRODUCTION OF MUPIROCIN RESISTANT ISOLATES OF S.AUREUS

*Maryam Gahremani[1], Yaejhob Sharifi[2], Morteza Vahedi[3], Nima Hosseini Jazani[4]**

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 20:16 +0430 on Monday July 23rd 2018

Received: 13 Nov, 2015; Accepted: 20 Jan, 2016

Abstract

Background & Aims: The antimicrobial effects of nickel nanoparticles on some bacterial strains such as *S. aureus* and *E.coli* have been shown in limited studies. The aim of this study was to investigate the inhibitory effects of nickel nanoparticles on biofilm formation by mupirocin resistant *S. aureus* isolates.

Materials & Methods: In this study, 150 *S. aureus* isolates were collected from educational hospitals in Urmia city. The sensitivity of isolates to mupirocin and other commonly used antibiotics was investigated by agar disk diffusion method. Microtiter dish biofilm formation assay method was used to determine the amounts of biofilm formation in the presence/absence of nickel nanoparticles.

Results: From 150 isolates, 30 ones were resistant to mupirocin. The highest levels of resistance to other antibiotics in Mupirocin resistant isolates were seen to penicillin and Trimetoprim/sulfametoxazol respectively, and the least amounts of resistance were seen to ticoplanin and linezolid, respectively. 33.3% of investigated isolates were biofilm producers. The inhibitory effect of nickel nanoparticles on biofilm formation by mupirocin resistant S.aureus isolates was significant (P = 0.039).

Conclusion: Considering the inhibitory effects of nickel nanoparticles on biofilm of mupirocin resistant *S. aureus* isolates and the safety of nickel usage in dental materials which allow its administration in the nose and mouth mucosa, after further studies it may be useful for prevention of biofilm formation and removal of the carriers from mupirocin resistant *S. aureus*.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Mupirocin, Nickel nanoparticles, Biofilm

Address: Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
Tel: +989143464234- +984432780800
Email: n_jazani@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2016: 26(12): 1070 ISSN: 1027-3727

[1] *Master Student in Medical Microbiology, Student's Research Committee, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[2] *Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran*
[3] *Master Student in Microbial Biotechnology, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran*
[4] *Professor Master Student in Medical Microbiology, Student's Research Committee, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran of Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran (Corresponding Author)*