مقاله پژوهشی

اثر ضد میکروبی نانو ذرات مس و در ترکیب با کوتریموکسازول علیه *سالمونلا تیفی* در شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی

مینا جوادی[۱]، رسول شکری[*۲]، حسین سلطانی[۳]

تاریخ دریافت ۱۴۰۱/۰۲/۲۲ تاریخ پذیرش ۱۴۰۱/۰۹/۱۲

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: *سالمونلا* یک باسیل گرم منفی با خصوصیات باکتری‌های انتروباکتریاسه است. *سالمونلا تیفی* در طبیعت و در دستگاه گوارش انسان و حیوانات مشاهده می‌شود که می‌تواند موجب بیماری‌زایی انسان و حیوان و نیز آلودگی محیط‌زیست گردد. هدف از این تحقیق بررسی اثر ضد باکتریایی نانو ذرات مس و ترکیب آن با آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول در شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی به‌منظور تولید یک داروی ضد میکروبی مؤثرتر علیه *سالمونلا تیفی* بود.

مواد و روش کار: در این مطالعه کارآزمایی بالینی، تعداد مشخصی محیط تهیه‌شده و تحت اثر دارو قرار گرفت. حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) برای نانو ذرات مس و ترکیب با کوتریموکسازول بر اساس روش مایکرودیلوشن انجام شد. سپس اثر ضد میکروبی آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی و مدل موش آلوده بررسی شد. نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ به‌منظور تجزیه‌وتحلیل آماری نتایج حاصل مورداستفاده قرار گرفت. مقادیر P< ۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: MIC و MBC برای *سالمونلا تیفی* در مورد نانو ذرات مس به‌تنهایی به ترتیب برابر ppm ۲۰۰۰ و ppm ۴۰۰۰، برای ترکیب نانو ذرات مس با کوتریموکسازول برابر ppm ۱۲۵ و ppm ۲۵۰ و برای کوتریموکسازول به‌تنهایی برابر ppm ۵۰۰ و ppm ۱۰۰۰ بودند. مدل موشی برای بررسی اثر ضد میکروبی نانو ذرات مس و ترکیب با کوتریموکسازول علیه عفونت *سالمونلا تیفی* تائید شد. برای *سالمونلا تیفی*، ترکیب نانو ذرات مس با کوتریموکسازول بیشترین اثر ضد میکروبی را نسبت به سایر گروه‌ها داشتند.

بحث و نتیجه‌گیری: ترکیب نانو ذرات مس با کوتریموکسازول در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌ویژه کوتریموکسازول اثر آنتی‌باکتریایی بیشتری دارد و بنابراین می‌تواند در بالینی کاربرد داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: نانو ذرات مس، کوتریموکسازول، *سالمونلا تیفی*

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و سوم، شماره پنجم، ص ۳۷۸-۳۷۲، مرداد ۱۴۰۱

آدرس مکاتبه: گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران، تلفن: ۰۹۱۲۷۴۲۵۰۳۴

Email: rsh.bio42@gmail.com

مقدمه

سالمونلا انتریکا سروتیپ تیفی یک باکتری گرم منفی است که مسئول تب حصبه است و نسل‌ها باری بر دوش کشورهای درحال‌توسعه بوده است. در سال ۱۸۲۹، پیر لوئیس اولین کسی بود که اصطلاح تب تیفوئید را پس از شناسایی ضایعات در غدد لنفاوی شکمی بیمارانی که به دلیل تب شکم فوت کرده بودند، ابداع کرد. این اصطلاح از کلمه یونانی تیفوس مشتق شده است که به معنای دودی بود و برای توصیف هذیان که بیماران با این بیماری نشان می‌دادند استفاده می‌شد (۱). *سالمونلا تیفی* یک باکتری گرم منفی، میله‌ای شکل و تاژک‌دار است که تنها مخزن آن بدن انسان است. این باکتری ازنظر سرولوژیکی برای آنتی‌ژن‌های لیپوپلی ساکارید O9 و O12 و همچنین آنتی‌ژن کپسولی پلی ساکارید مجزا Vii مثبت است. به نظر می‌رسد سویه‌های آنتی‌ژن Vi منفی در مقایسه با سویه‌هایی که Vi مثبت هستند کمتر عفونی و بدخیم‌تر هستند (۲). تب حصبه در کودکان و بزرگ‌سالان جوان شایع‌تر است و با مناطق کم‌درآمدی که در آن‌ها بهداشت ضعیف است، مرتبط است

[۱] کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

[۲] استادیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران. (نویسنده مسئول)

[۳] کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-09-30]

[DOI: 10.52547/umj.33.5.372]

(۳،۲). بااین‌حال، با توجه به اینکه بخش بزرگی از بیماران به‌صورت سرپایی درمان می‌شوند یا اصلاً هیچ درمانی دریافت نمی‌کنند، این اعداد به‌احتمال‌زیاد نشان‌دهنده کمتری از بار واقعی بیماری هستند. در ایالات‌متحده، تقریباً ۲۰۰ تا ۳۰۰ مورد *سالمونلا تیفی* هرسال گزارش می‌شود و تقریباً ۸۰ درصد از این موارد مربوط به مسافرانی است که از یک منطقه بومی بازمی‌گردند (۵،۴). *سالمونلا تیفی* معمولاً با خوردن غذا یا آب آلوده به فضولات افرادی که این ارگانیسم را حمل می‌کنند وارد می‌شود و برای اینکه قبل از چسبیدن به روده کوچک از سد pH معده در معده جان سالم به در ببرد، منقبض می‌شود. دوز عفونی *سالمونلا تیفی* در افراد سالم بین ۱۰۰۰ تا ۱ میلیون ارگانیسم است، اما می‌تواند به مکانیسم‌های دفاعی میزبان مرتبط باشد (۳). علی‌رغم تلاش‌های قابل‌توجه در تحقیقات و پیشرفت‌های پزشکی، تب حصبه هنوز یک نگرانی عمده بهداشت عمومی در سراسر جهان است. کوتریموکسازول (Cotrimoxazole) از ترکیب دو آنتی‌بیوتیک تری متوپریم (Trimethoprim) و سولفامتوکسازول (Sulfamethoxazole) (از گروه سولفونامیدها) به نسبت ۴۰۰ به ۸۰ ساخته‌شده است. هردو این ترکیبات از راه‌های مختلف در متابولیسم اسیدفولیک در باکتری‌ها ایجاد اختلال می‌کنند. سولفانامیدها متوقف کننده رشد باکتری هستند. آن‌ها با اسید پارا آمینوبنزوئیک (PABA) شباهت ساختمانی داشته و به‌طور رقابتی یک آنزیم باکتریایی بنام دی هیدروپتروات سنتتاز (Dihydropteroate synthase) را که مسئول داخل کرد PABA در ساختمان اسید دی هیدروفولیک است، مهار می‌کنند. این عمل ساخت اسید دی هیدروفولیک را که ازنظر متابولیک کوفاکتور در ساخت پورین‌ها، تیمیدین و DNA است را کاهش می‌دهد. تری متوپریم با تداخل در عملکرد آنزیم دی هیدروفولت ردوکتاز باکتری‌ها ساخت اسید تتراهیدروفولیک را مهار می‌کند. تتراهیدروفولیک اسید کوفاکتور ضروری در ساخت تیمیدین و DNA است. باکتری‌هایی که اسیدفولیک را خودشان تولید می‌کنند به این دارو حساس هستند لذا این دارو تکثیر آن‌ها را متوقف می‌کند. لذا با استفاده از ترکیب کوتریموکسازول متابولیسم اسیدفولیک در باکتری‌ها با دو مکانیسم متفاوت مختل می‌شود (۶). نانو ذرات مس از روش مکانیسم یونی برای از بین بردن باکتری‌ها و مهار رشد آن‌ها استفاده می‌کنند. در این روش نانو ذرات مس با آزاد کردن کاتیون‌های CU^{+2} باعث می‌شوند تا این کاتیون‌ها به باندهای سولفیدریل (SH) موجود در پروتئین‌های مختلف سلول باکتریایی ازجمله پروتئین‌های آنزیمی و پروتئین‌های سطحی غشاء متصل شوند. نتیجه اتصال کاتیون‌های مس به باندهای سولفیدریل پروتئین‌های باکتریایی تغییر در ساختار این پروتئین‌هاست و با ایجاد تغییری که در ساختار پروتئین‌ها انجام می‌شود آنزیم‌ها و پروتئین‌های غشایی غیرفعال می‌شوند و با از بین بردن آنزیم‌های باکتریایی و همچنین پروتئین‌های سطحی غشا واکنش‌های مهم آنزیمی و خاصیت نفوذپذیری و تراوایی غشاء سلول دچار مشکل می‌شود و درنتیجه باعث از بین رفتن باکتری‌ها می‌شود (۷،۸). هدف اصلی از مطالعه حاضر، مقایسه میزان فعالیت نانو ذرات مس و ترکیب آن با کوتریموکسازول در مقابله با بیماری‌زایی *سالمونلا تیفی* در شرایط آزمایشگاهی و در مدل حیوانی بود.

مواد و روش کار

در این تحقیق، سویه *سالمونلا تیفی* PTCC 1609 (از بانک میکروبی بیمارستان آیت‌الله موسوی زنجان)، نانو ذرات مس به‌صورت پودر با قطر ۲۰ نانومتر (از شرکت نانو مهرگان شیمی) و محیط‌های کشت مورداستفاده (از شرکت Multimedia محصول کشور مجارستان) تهیه گردید. موش‌های سوری ماده شش الی هشت‌هفته‌ای (با وزن تقریبی ۵±۲۵ گرم) از موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج خریداری شدند. ابتدا برای تهیه سوسپانسیون میکروبی در شرایط استریل، از کلنی‌های تک رشد کرده با استفاده از لوپ استریل وارد ۲ میلی‌لیتر آب مقطر استریل گردید تا غلظت نهایی سوسپانسیون موردنظر به 1.5×10^{8}-(CFU/ml)کلنی در هر میلی‌لیتر معادل نیم مک فارلند رسانده شود. برای افزایش دقت عمل، میزان جذب نوری نیم مک فارلند توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد (۹).

بررسی حساسیت باکتری *سالمونلا تیفی* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها به روش دیسک دیفیوژن:

سوسپانسیون میکروبی تهیه‌شده بر روی محیط کشت حاوی مولر هینتون آگار کشت داده شد سپس دیسک‌های آنتی بیوگرام بر روی محیط کشت انتقال داده شد. جهت انجام روش دیسک دیفیوژن، از دیسک‌های تتراسایکلین (TE30)، کلرامفنیکل (C30)، سیپروفلوکساسین (CIP5)، جنتامایسین (GM10)، ایمی پنم (IPM10)، سفالوتین (CF30)، سفتازیدیم (CAZ30)، کوتریموکسازول (SXT)، آمپی سیلین (AM10) و آمیکاسین (AN30) استفاده شد. درنهایت با تطابق قطر هاله‌ها با جداول استاندارد، نتایج به‌صورت حساس و مقاوم گزارش گردید (۱۰).

نانو ذرات مس (با قطر ۲۰ نانومتر)، کوتریموکسازول و ترکیب آن‌ها در آب مقطر دیونیزه در میکرو تیوب‌های استریل تهیه گردید. به‌منظور تعیین حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) از روش مایکرودیلوشن (رقت در براث) در سه مرحله جدا، به شرح زیر استفاده گردید:

الف) بررسی اثر کوتریموکسازول بر باکتری *سالمونلا تیفی*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-09-30]

[DOI: 10.52547/umj.33.5.372]

برای تعیین MIC و MBC آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول بر روی باکتری *سالمونلا تیفی* ابتدا محیط کشت مولر هینتون براث در شرایط استریل تهیه شد، سپس به مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر از محیط کشت آماده مولر هینتون براث داخل ۱۵ چاهک موردنظر از میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته شد، در ادامه به هرکدام از چاهک‌ها ۱۰۰ میکرو لیتر از رقت‌های مختلف کوتریموکسازول اضافه شد. رقت‌های کوتریموکسازول شامل: ۴۰۰۰ ppm، ۲۰۰۰ ppm، ۱۰۰۰ppm، ۵۰۰ ppm، ۲۵۰ppm، ۱۲۵ ppm، ۶۲ ppm، ۳۱ ppm، ۱۶ ppm، ۸ ppm، ۴ ppm، ۲ ppm، ۱ ppm بود. در ادامه به ۱۵ چاهک موردنظر ۱۰۰ میکرو لیتر سوسپانسیون میکروبی با کدروت نیم مک فارلند اضافه گردید. جهت کنترل منفی، در یکی از میکروپلیت‌ها محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی و دارو اضافه شد و جهت کنترل مثبت در میکروپلیتی دیگر، محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی ریخته شد و در مرحله آخر میکروپلیت ها به مدت ۲۰ دقیقه در انکوباتور شیکردار قرار داده شدند و پس از آن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، چاهک‌ها ازنظر کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده مورد بررسی قرار گرفتند و در هر ردیف، آخرین رقتی که در آن هیچ‌گونه کدورتی قابل تشخیص نبود (عدم رشد) به عنوان MBC برای کوتریموکسازول در نظر گرفته شد .تمامی مراحل ذکر شده با سه بار تکرار انجام گردید (۱۱).

ب) بررسی اثر نانو ذرات مس بر روی باکتری *سالمونلا تیفی*

در این مرحله، تمامی مراحل همانند روش فوق انجام گرفت. در نهایت، دو مورد از چاهک‌ها، یکی حاوی محیط کشت و نانو ذرات مس با قطر ۲۰ نانومتر به‌عنوان شاهد منفی و دیگری حاوی محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی به‌عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شدند. تمامی مراحل این روش با سه بار تکرار انجام گردید (۹).

پ) بررسی اثر نانو ذرات مس و آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول (به‌صورت ترکیبی) بر روی *سالمونلا تیفی*

در این مرحله، تمامی مراحل همانند روش فوق انجام گرفت که در نهایت دو مورد از چاهک‌ها، یکی حاوی محیط کشت و نانو ذرات مس (با قطر ۲۰ نانومتر) و آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول (به‌صورت ترکیبی، که میکروپلیت به مدت ۲۰ دقیقه بر روی شیکر قرار داده شد) به‌عنوان شاهد منفی و دیگری حاوی محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی به‌عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. تمامی مراحل این روش با سه بار تکرار انجام گردید (۹).

در مدل حیوانی، از موش‌های سوری ماده شش الی هشت‌هفته‌ای (با وزن تقریبی ۵±۲۵ گرم) استفاده شد. ۱۵ سر موش سوری به ۵ گروه سه‌تایی که شامل: گروه اول، اثر ضد میکروبی با کوتریموکسازول. گروه دوم، اثر ضد میکروبی با نانوذره مس. گروه سوم، اثر ضد میکروبی با ترکیب کوتریموکسازول و نانو ذرات مس (به‌صورت ترکیبی). گروه چهارم، به‌عنوان شاهد مثبت و گروه پنجم، به‌عنوان شاهد منفی تقسیم شدند. برای ایجاد عفونت تجربی در موش‌های انتخابی، به تمام موش‌ها از کشت ۲۴ ساعته از باکتری *سالمونلا* تیفی بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده‌شده، سوسپانسیون با غلظت نیم مک فارلند به‌وسیله سرم فیزیولوژی به مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر تهیه و به‌صورت داخل صفاقی به همه گروه‌های موردنظر به‌غیراز گروه شاهد تزریق شد و ۷۲ ساعت به موش‌ها فرصت ایجاد عفونت داده شد. در این مرحله در موش‌های کلیه گروه که عفونت ایجادشده بود، ۰/۲ میلی‌لیتر از غلظت MBC مشخص‌شده به‌صورت درون صفاقی به موش‌ها تزریق شد. بعد از طی دوره درمان هر یک از موش‌ها در دسیکاتور حاوی اتر کشته شدند و طحال موش‌ها در شرایط استریل خارج گردیده و در ۱۰۰۰ میکرو لیتر سرم فیزیولوژی هموژنیزه گردیدند، سپس از سوسپانسیون هموژنیزه طحالی به مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر بر روی محیط حاوی محیط کشت هینتون آگار کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد و درنهایت شمارش کلنی‌های *سالمونلا تیفی* با استفاده از شمارش گر کلنی انجام گردید (۱۲). به‌منظور تجزیه‌وتحلیل آماری نتایج حاصل، نسخه ۱۸ نرم‌افزار SPSS مورداستفاده قرار گرفت. در این آزمون P< ۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تست دیسک آنتی‌بیوگرام برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه *سالمونلا تیفی* با روش انتشار دیسک طبق جدول استاندارد آزمایشگاهی و بالینی نسبت به ۱۰ آنتی‌بیوتیک بررسی شد و کوتریموکسازول به‌عنوان حساس‌ترین آنتی‌بیوتیک مشخص شد.

نتایج حاصل از تعیین MIC و MBC با روش مایکرودیلوشن در جدول ۱ نشان داده‌شده است که در غلظت‌های ۱ppm-۴۰۰۰ از نانو ذرات مس (با قطر ۲۰ نانومتر)، کوتریموکسازول و ترکیب آن‌ها در محیط مولر هینتون آگار انجام گردید.

در مدل حیوانی، آنالیز آماری نتایج مربوط به بررسی اثر ضد میکروبی نانو ذرات مس، آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول و اثر ترکیبی آن‌ها بر روی *سالمونلا تیفی* در موش‌های سوری ماده در جدول ۲ نشان داده‌شده است؛ که اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌های تیماری موردمطالعه وجود دارد.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-09-30]
[DOI: 10.52547/umj.33.5.372]

جدول (۱): میزان MIC و MBC نانو ذرات مس و کوتریموکسازول و اثرات ترکیبی آن‌ها بر روی *سالمونلا تیفی*

غلظت	MIC	MBC
کوتریموکسازول	۵۰۰ ppm	۱۰۰۰ ppm
نانو ذرات مس	۲۰۰۰ ppm	۴۰۰۰ ppm
نانو ذرات مس و کوتریموکسازول	۱۲۵ ppm	۲۵۰ ppm

جدول (۲): نتایج شمارش کلنی و اثر مهاری نانو ذرات مس و کوتریموکسازول و اثرات ترکیبی آن‌ها بر روی موش‌های سوری آلوده به *سالمونلا تیفی*

نتایج	میانگین شمارش کلونی‌ها	انحراف معیار
کوتریموکسازول	۲۶۶۰	۳۴۶/۰۹
نانو ذرات مس	۲۰۰۰۰	۲۶۰۲/۱۵
نانو ذرات مس و کوتریموکسازول	۲۳۰۰	۲۹۹/۲۵
کنترل مثبت	۲۶۶۶۰	۳۴۶۸/۶۶

بحث و نتیجه‌گیری

ازآنجایی‌که *سالمونلا تیفی* یک پاتوژن محدودشده توسط انسان است، این ناقلین مزمن مخزن مهمی برای گسترش بیشتر بیماری از طریق ریزش باکتری در مدفوع و ادرار ۱۸-۱۶ تشکیل می‌دهند. عفونت‌های مزمن *سالمونلا تیفی* می‌توانند برای دهه‌ها ادامه داشته باشند و اگرچه افراد آلوده بسیار مسری هستند، اما معمولاً بدون علامت هستند و شناسایی ناقلان را دشوار می‌کند. وضعیت با این واقعیت پیچیده‌تر می‌شود که تقریباً ۲۵ در صد از ناقلان هیچ تظاهرات بالینی را در مرحله حاد بیماری تجربه نمی‌کنند (۱۴،۱۳). امروزه مقاومت *سالمونلا* به آنتی‌بیوتیک‌های رایج شامل کلرامفنیکل، آمپی سیلین و کوتریموکسازول، روزبه‌روز در حال افزایش بوده و شکست‌های درمانی متعددی از سراسر جهان، گزارش می‌گردد (۱۵). با توجه به اهمیت این موضوع یافتن جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها در برابر عوامل میکروبی و عفونی می‌تواند راهکار بسیار مناسبی باشد تا مشکل مقاومت‌های دارویی حل شود. به نظر می‌رسد که ترکیبات آنتی‌بیوتیکی همراه با نانو ذرات فلزی جایگزین مناسبی برای این آنتی‌بیوتیک‌ها باشند. ولی تاکنون مطالعه چندانی بر روی اثر ضد میکروبی نانو ذرات مس و اثر ترکیبی آن‌ها با آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول علیه عفونت ناشی از *سالمونلا تیفی*، به‌خصوص در مدل حیوانی نشده است. بر اساس مطالعه حاضر، اثر ترکیبی نانو ذرات مس و آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول به‌تنهایی بسیار مؤثرتر از سایر گروه‌ها به‌ویژه آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول است. نانو ذرات مس و آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول نیز اثر هم‌افزایی چشمگیری نداشته و نمی‌توانند جای نانو ذرات مس و آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول (به‌صورت ترکیبی) را بگیرند ولی می‌توان از آن‌ها، میزان استفاده از ضد میکروبی کاهش داد. در مطالعه حاضر نتایج تعیین MIC و MBC به روش مایکرودایلوشن نشان داد که نانو ذرات مس و آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول (به‌صورت ترکیبی) نسبت به هرکدام از عوامل به‌تنهایی، دارای خاصیت ضد میکروبی بیشتری بر روی *سالمونلا تیفی* می‌باشد. این یافته‌ها با نتایج حاصل از سایر پژوهشگران موردبررسی قرار گرفت. محمدرضا سمرقندی و همکاران، در مطالعه‌ای بر روی بررسی ضریب حساسیت و کینتیک مرگ اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به نانو ذرات اکسید روی و اکسید مس پرداختند که بر اساس نتایج آزمایش‌ها، ضریب حساسیت تعیین گردید و حساسیت استافیلوکوکوس اورئوس از اشرشیاکلی بیشتر بود. نتایج این مطالعه نشان داد که نانو ذرات اکسید روی نسبت به اکسید مس از اثر ضد میکروبی قوی‌تری برخوردار است و می‌تواند جهت کنترل باکتری‌ها استفاده شود (۱۶). در سال ۲۰۱۴ هاریش کومار و همکارانش تأثیر نانو ذرات مس را بر روی انواع باکتری‌های گرم منفی کلبسیلا پنومونیه، استافیلوکوکوس تیفی موریوم و انتروباکترآئروژنز بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که نانو ذرات اکسید مس به دیواره سلولی باکتری‌ها چسبیده و از طریق غشاء سلولی به داخل باکتری نفوذ می‌کنند و باعث بازداری از رشد سلول باکتری و تکثیر آن می‌شود (۱۷). در مطالعه‌ای دیگر جیارامان رامیادوی و همکارانش در سال ۲۰۱۲ فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات مس علیه لوتئوس، استافیلوکوکوس

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-09-30]

[DOI: 10.52547/umj.33.5.372]

اورئوس، اشریشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و سودوموناس آئروژینوزا، قارچهایی مانند فلاووس، آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکنس موردبررسی قرار گرفت. درنهایت، نانو ذرات مس در باکتری‌ها نسبت به قارچ فعالیت بازدارندگی بیشتری نشان دادند و همچنین در باکتری اشریشیاکلی نسبت به کاندیدا آلبیکنس منطقه بازدارندگی بیشتری را نشان دادند (۱۸). نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش‌های انجام‌شده بر روی مدل حیوانی نیز نشان می‌دهد که نانو ذرات مس و آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول (به‌صورت ترکیبی) در موش‌های سوری ماده می‌تواند آثار ضد میکروبی خود را بر روی عفونت ناشی از *سالمونلا تیفی* حفظ کرده و به‌تنهایی دارای اثر ضد میکروبی می‌باشد. همچنین آنالیز آماری نتایج مدل حیوانی نشان داد که نانو ذرات مس و آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول (به‌صورت ترکیبی) دارای خاصیت ضد میکروبی بیشتری علیه عفونت‌های حاصل از *سالمونلا تیفی* نسبت به آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول می‌باشد. با افزایش غلظت نانو ذرات مس و آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول (به‌صورت ترکیبی)، رشد میکروب کاهش‌یافته است لذا می‌توان گفت که اثر نانو ذرات مس و آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول (به‌صورت ترکیبی) وابسته به دوز مصرفی است و با افزایش غلظت آن اثر ضد میکروبی آن نیز افزایش می‌یابد. در مطالعه حاضر با مقایسه نتایج مربوط به مدل حیوانی، مشخص شد تأثیر ضد میکروبی بین گروه‌های تیماری با نانو ذرات مس (با قطر ۲۰ نانومتر)، آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول و نانو ذرات مس و آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول (به‌صورت ترکیبی)، اختلاف معنی‌داری بود. درنهایت می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اثر نانو ذرات مس و آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول (به‌صورت ترکیبی) دارای اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به آنتی‌بیوتیک کوتریموکسازول و نانو ذرات مس بوده و می‌تواند در آینده به‌عنوان کنترل جمعیت باکتریایی موردتوجه قرار گیرد. با توجه به اینکه امروزه کاربرد نانوتکنولوژی در زمینه‌های علمی و صنعت، بیش‌ازپیش گسترش‌یافته است. به‌کارگیری نانو مواد جهت استفاده‌های دارویی و صنعت باعث افزایش رهاسازی نانو ذرات در بدن انسان و محیط‌زیست می‌شود. از خطرات سلامتی و ایمنی نانو مواد، سمیت بالقوه انواع نانو ذرات است. بااین‌حال، ارزیابی‌های علمی اولیه نشان می‌دهد که تماس با نانو مواد، اثرات مخربی بر وضعیت سلامتی، بهداشت و امنیت کارکنان دارد؛ بنابراین اولین قدم برای جلوگیری از عوارض ناشی از قرار گرفتن در معرض نانو مواد، آگاهی بخشی و رعایت اصل احتیاط در هنگام آزمایش و تماس با مواد نانومتری است. مطالعه اثر ضد میکروبی برای *سالمونلا تیفی* در مورد سایر نانو ذرات و نیز ترکیب آن با نانو ذرات مس در شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی می‌تواند به‌عنوان موضوع مطالعات بعدی پیشنهاد شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمام مسئولین محترم مرکز تحقیقات بیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان تشکر و قدردانی می‌شود.

References:

1. Barnett R. Typhoid fever. Lancet 2016; 388(10059):2467.
2. Crump JA, Sjölund-Karlsson M, Gordon MA, Parry CM. Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive Salmonella infections. Clin Microbiol Rev 2015;28(4):901–37. Available from: http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00002-15.
3. Parry CM, Hien TT, Dougan G, White NJ, Farrar JJ. Typhoid fever. N Engl J Med 2002;347(22):1770–82. Available from: http://dx.doi.org/10.1056/nejmra020201.
4. Lynch MF, Blanton EM, Bulens S, Polyak C, Vojdani J, Stevenson J, Medalla F, Barzilay E, Joyce K, Barrett T, Mintz ED. Typhoid fever in the United States, 1999-2006. JAMA 2009;302(8):859-65.
5. Imanishi M, Newton AE, Vieira AR, Gonzalez-Aviles G, Kendall Scott ME, Manikonda K, Maxwell TN, Halpin JL, Freeman MM, Medalla F, Ayers TL, Derado G, Mahon BE, Mintz ED. Typhoid fever acquired in the United States, 1999-2010: epidemiology, microbiology, and use of a space-time scan statistic for outbreak detection. Epidemiol Infect 2015;143(11):2343-54.
6. Hamilton, Richard. Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2015 Deluxe Lab-Coat Edition. Jones & Bartlett Learning. p. 105. ISBN-13: 978-1-284-05756-0.
7. Ponce AA, Klabunde KJ. Chemical and catalytic activity of copper nanoparticles prepared via metal vapor synthesis. J Mol Catal A Chem

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-09-30]
[DOI: 10.52547/umj.33.5.372]

2005;225(1):1–6. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.molcata.2004.08.019.

8. Stoimenov PK, Klinger RL, Marchin GL, Klabunde KJ. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. Langmuir 2002; 18(17): 6679-86.

9. Ruparelia JP, Chatterjee AK, Duttagupta SP, Mukherji S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. Acta Biomater 2008;4(3):707–16. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2007.11.006.

10. Corona A, Bertolini G, Lipman J, Wilson AP, Singer M. Antibiotic use and impact on outcome from bacteraemic critical illness: the BActeraemia Study in Intensive Care (BASIC). J Antimicrob Chemother 2010;65(9):2061. Available from: http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkq267.

11. Tran QH, Nguyen VQ, Le AT. Corrigendum: Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives (Adv. Nat. Sci: Nanosci. Nanotechnol. 4 033001). Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol 2018;9(4):049501. Available from: http://dx.doi.org/10.1088/2043-6254/aad12b

12. Naeini A, Khosravi A, Tadjbakhsh H, Ghazanfari T, Yaraee R, Shokri H. Evaluation of the immunostimulatory activity of Ziziphora tenuior extracts. Comp Clin Path 2010;19(5):459–63. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/s00580-009-0885-9.

13. Sinnott CR, Teall AJ. Persistent gallbladder carriage of Salmonella Typhi. Lancet 1987;1:976

14. Schiøler H, Christiansen ED, Høybye G, Rasmussen SN, Greibe J. Biliary calculi in chronic Salmonella carriers and healthy controls: a controlled study. Scand J Infect Dis 1983;15(1):17–9. Available from: http://dx.doi.org/10.3109/inf.1983.15.issue-1.04.

15. Fluit AC. Towards more virulent and antibiotic-resistant Salmonella? FEMS Immunol Med Microbiol 2005;43(1):1–11. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.femsim.2004.10.007.

16. Samarkandi M., Hosseinzadeh A., Alikhani M. Sensitivity and kinetics of death of Escherichia coli and Staphylococcus aureus to zinc oxide and copper oxide nanoparticles. J Adv Med Biomed Res 2013;20(82):31-43. (Persian)

17. Rani R, Kumar H, Salar RK, Purewal SS. Antibacterial activity of copper oxide nanoparticles against gram negative bacterial strain synthesized by reverse micelle technique. Int J Pharm Res Dev 2014;6(1):72–8..

18. Ramyadevi J, Jeyasubramanian K, Marikani A, Rajakumar G, Rahuman AA. Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. Mater Lett 2012;71:114–6. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2011.12.055

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-09-30]

[DOI: 10.52547/umj.33.5.372]

Original Article

THE ANTIBACTERIAL ECTIVITY OF COPPER NANOPARTICLES AND COMBINATION WITH COTRIMOXAZOLE AGAINST *SALMONELLA TYPHI* IN VITRO AND IN ANIMAL MODEL

Mina Javadi[1], Rasoul Shokri[*2], Hossein Soltani[3]

Received: 12 May, 2022; Accepted: 03 December, 2022

Abstract

Background & Aims: *Salmonella* is a gram-negative bacillus with characterizations of Enterobacteriaceae bacteria. *Salmonella typhi* is living in the nature as well as digestive system of the humans and animals, which can cause human and animal disease and environmental pollution. The purpose of this research was to investigate the antibacterial effect of copper nanoparticles and its combination with cotrimoxazole antibiotic in laboratory conditions and animal model in order to produce a more effective antimicrobial drug against *Salmonella typhi.*

Materials & Methods: In this clinical trial study, certain amounts of medium were prepared and subjected to the effect of the drug. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) for copper nanoparticles and its combination with cotrimoxazole was mesured using microdilution method. Then, their antibacterial effect was investigated in vitro and in infected mouse model. SPSS version 18 software was used for statistical analysis of the results. In $P< 0.05$ was considered as a significant level.

Results: MIC and MFC for *Salmonella typhi* were 2000 ppm and 4000 ppm for copper nanoparticles alone, were 125 ppm and 250 ppm for the combination of copper nanoparticles with cotrimoxazole, and were 500 ppm and 1000 ppm for cotrimoxazole alone, respectively. The mouse model was confirmed to investigate the antibacterial effect of copper nanoparticles and its combination with cotrimoxazole against *Salmonella typhi* infection. The combination of copper nanoparticles with cotrimoxazole has the most antibacterial effect compared to others groups for *Salmonella typhi*.

***Conclusion*:** The combination of copper nanoparticles with cotrimoxazole is very effective in comparison with other groups, especially antibacterial cotrimoxazol, and therefore could be used clinically.

Keywords: Copper nanoparticles, Cotrimoxazole, *Salmonella* typhi

Address: School of Basic Sciences, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.
Tel: +989127425034
Email: rsh.bio42@gmail.com

SOURCE: STUD MED SCI 2022: 33(5): 378 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2022 Studies in Medical Sciences

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

[1]*Master of Science in Microbiology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Zanjan, Iran*
[2]*Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Science, Islamic Azad University, Zanjan, Iran (Corresponding Author)*
[3]*Master of Science in Microbiology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Zanjan, Iran*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2023-09-30]

[DOI: 10.52547/umj.33.5.372]