

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

مریم قهرمانی^۱، یعقوب شریفی^۲، مرتضی واحدی^۳، نیما حسینی جزئی^{*}

تاریخ دریافت ۱۳۹۴/۰۸/۲۲ تاریخ پذیرش ۱۰/۳۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: اثرات ضد میکروبی نانوذرات نیکل در مطالعات محدودی بر روی برخی از سوش‌های باکتریایی از قبیل استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا 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 جمع‌آوری شده 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 حضور غیاب نانوذکل با روش پلیت میکروتیتر انجام گرفت.

یافته‌ها: از ۱۵۰ جدایه استافیلوکوکوس اورئوس ۳۰ جدایه نسبت به موپیروسین مقاوم بودند. جدایه‌های مقاوم به موپیروسین بهترین میزان مقاومت را نسبت به پنی‌سیلین و تری‌متیپریم-سولامتوکسازول و کمترین میزان مقاومت را نسبت به تیکوپلاتین و لینزولید نشان دادند. ۳۳,۳ درصد از جدایه‌های تحت بررسی تولیدکننده بیوفیلم بودند. اثر مهارکنندگی 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 مهارکنندگی 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 اورئوس 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 ۱۰۷۰-۱۰۶۳، اسفند ۱۳۹۴

آدرس مکاتبه: بخش باکتری‌شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده 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 فناوری را به عنوان یک زمینه‌ی فرارشته‌ای مطرح می‌سازد. نانوذرات گروههایی از اتم‌ها، یون‌ها یا مولکول‌ها می‌باشند که به طور تیپیک از قطر ۱۰۰-۱ نانومتر برخوردار می‌باشند. این اندازه کوچک بسیار با ارزش است، زیرا به

^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

^۴ استاد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه (نویسنده مسئول)

مانعنت می‌کند. موپیروسین ابتدا در کشور انگلستان به عنوان 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 مطالعه‌ای بر روی اثرات نانو ذرات نیکل بر روی میزان تولید بیوفیلم باکتری‌ها انجام نشده است، لذا با توجه به اهمیت کنترل استافیلولوکوس اورئوس مقاوم به موپیروسین در ناقلين سالم، در این مطالعه اثرات ممانعت کنندگی نانو ذرات نیکل جهت پیشگیری از تشکیل بیوفیلم استافیلولوکوس اورئوس مقاوم به موپیروسین با روش میکروتیتر پلیت مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

جداسازی ایزووله‌ها:

جدایه‌های استافیلولوکوس 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 بر حسب نوع نمونه ارسالی (ادرار، زخم، خون، مایع صفاتی) یادداشت شد. شناسایی جدایه‌های استافیلولوکوس اورئوس در آزمایشگاه براساس تست‌های تشخیصی استاندارد برای شناسایی استافیلولوکوس 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)، سفووتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، جنتامیسین (۱۰ میکروگرم)، اریتروماسین (۱۵ میکروگرم)، سیپروفلوکسازین (۵ میکروگرم)، کلیندامايسین (۲ میکروگرم)، موپیروسین (۰۰۰-۲۳/۷۵ میکروگرم)، تری متوبریم/سولفا متاکسازول (۱/۲۵ میکروگرم)، تیکوپلائین (۳۰ میکروگرم)، تتراسیکلین (Mast Diagnostics, UK) (۳۰ میکروگرم) و ریفارمپین (۵ میکروگرم) مقاوم بود. انتخاب آنتی‌بیوتیک‌های مذکور مطابق با تعیین شد. انتخاب آنتی‌بیوتیک‌های دانشگاه علوم پزشکی ارومیه و توصیه‌های عفونی بیمارستان‌های دانشگاه انجام CLSI(Clinical and Laboratory Standards Institute) گرفت. از بین جدایه‌های مقام به موپیروسین ۳۰ جدایه به طور 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:

مقایسه با یون‌های فلزی از سمیت کمتری برخوردار بوده و قابلیت تجویز در بدن موجودات زنده را دارند و دارای تأثیر طولانی‌مدت می‌باشد. 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 غشاء سلولی باکتری‌ها گرددن. (۳-۵). نانوذرات نیکل، ذرات سیاه‌رنگ کروی شکل با سطحی بسیار وسیع می‌باشد. اثرات ضد میکروبی نانو ذرات نیکل در مطالعات محدودی بر روی برخی از سویه‌های باکتریایی از قبیل استافیلولوکوس اورئوس واشرشیا کلی مشخص شده است (۶، ۷). بیوفیلم باکتری‌ها شامل تجمعاتی از میکرووارگانیسم‌ها، محصولات خارج سلولی و مواد موجود در فضای بین آن‌ها است که به یک سطح متصل شده‌اند. بیوفیلم‌ها به دلیل ساختار خاص خود وجود مواد پلیمری خارج سلولی باعث کاهش نفوذ عوامل ضد میکروبی می‌شوند. درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مولد بیوفیلم سخت و پزشکان با مضادات زیادی در این زمینه روی رو هستند. به دلیل 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. به دلیل مقاومت باکتری‌های مولد بیوفیلم‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف فلی، روش‌های درمانی غیرمعtaraf و گوناگونی از گوش و کnar جهان برای این‌گونه عفونت‌ها گزارش شده است. یکی از عوامل مؤثر در بیماری‌زایی استافیلولوکوس اورئوس نیز توانایی تشکیل بیوفیلم توسط این باکتری است (۸). استافیلولوکوس اورئوس با تولید عوامل چسبندگی در سطح وسایل پزشکی همچون کاتترهای پلاستیکی مستقر می‌شود. ممانعت از تشکیل بیوفیلم استافیلولوکوس اورئوس برای پیشگیری از این قبیل عفونت‌ها راهکار مناسبی می‌باشد (۹). با افزایش شیوع عفونت‌های ناشی از استافیلولوکوس اورئوس‌های مقام به متی‌سیلین، احتمال استفاده از موپیروسین برای ریشه‌کنی استافیلولوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) در ناقلين این‌گونه باکتری‌ها در بینی افزایش پیدا کرده است. درک مکانیسم اثر، علائم بالینی و اپیدمیولوژی مقاومت به موپیروسین برای پیش‌بینی چگونگی استفاده از آنتی‌بیوتیک در درمان ناقلين ممکن است جمعیت باکتریایی و کنترل استافیلولوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین را تحت تأثیر قرار دهد. موپیروسین به طور موضعی در داخل بینی برای ریشه‌کنی استافیلولوکوس اورئوس‌های مقاوم به متی‌سیلین در ناقلين استافیلولوکوس اورئوس استفاده می‌شود، اما مقاومت به موپیروسین نیز در استافیلولوکوس اورئوس از نقاط مختلف جهان گزارش می‌شود (۱۰). موپیروسین به عنوان یک آنتی‌بیوتیک آنالوگ ایزولوپین است که با رقابت در باند شدن به آنزیم isoleucyl-tRNA سنتتاز، از سنتر پروتئین

به منظور رنگ آمیزی بیوفیلم اضافه شد و میکروپلت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. پس از چند بار شستشو میکروپلت 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 میکروپلت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. در مرحله بعد محتوای چاهک‌ها به میکروپلت ته صاف جدید منتقل شد و جذب چاهک‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر با استفاده از محیط کشت فاقد میکرووارگانیسم به عنوان 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).

توانایی تولید بیوفیلم جدایه‌های مقاوم به موپیروسین استافیلوکوکوس اورئوس با روش میکروتیترپلت انجام گرفت (۱۸). رقیق‌سازی کشت تازه باکتری در محیط کشت مولر هینتون برات (CONDA) به نسبت ۱:۱۰۰ انجام شده و سپس به هر چاهک از میکروپلت پلی استیرن U شکل ۹۶ خانه‌ای، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون حاصل افزوده شد. میکروپلت در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد. سپس محتويات چاهک‌ها تخلیه شده و با فرو بردن میکروپلت 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

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

ODs ≤ ODc

عدم تولید بیوفیلم

ODc ≤ ODs ≤ 2 × ODc

تولید ضعیف بیوفیلم

2 × ODc ≤ ODs ≤ 4 × ODc

تولید متوسط بیوفیلم

4 × ODc < ODs

تولید قوی بیوفیلم

= شدت جذب نمونه باکتریایی

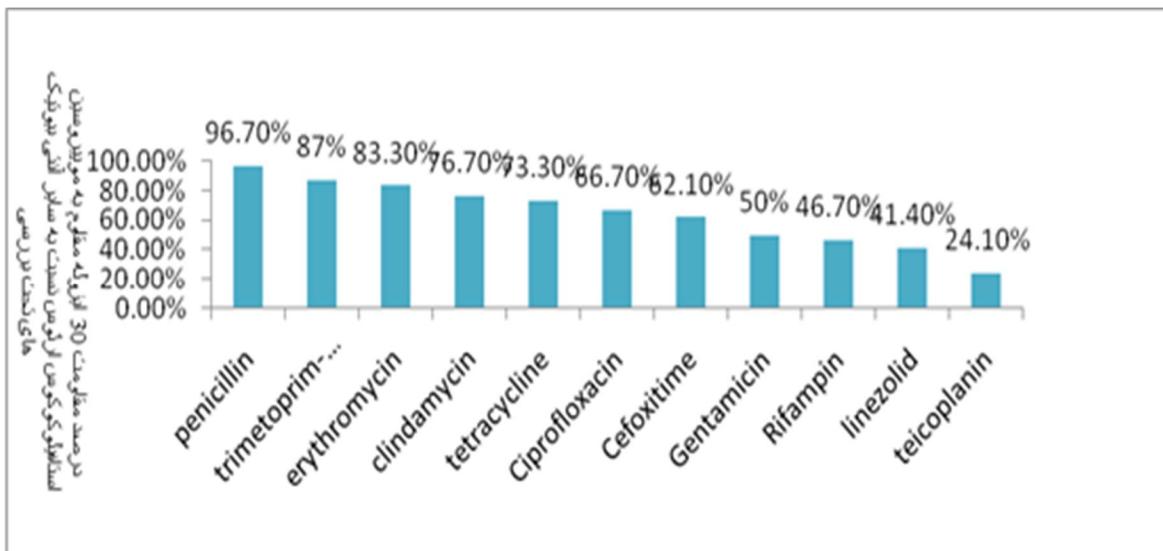
= شدت جذب کنترل منفی

مورد اشاره قرار گرفت، به عنوان جدایه‌های متعلق به جنس و گونه 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، تری‌متوپریم-سولفومتوکسازول، اریتروماکسین، کلیندماکسین، تتراسیکلین، سیپروفلوكسازین، سفوتاکسین، جنتامایسین، ریفامپین، لینزولید و تیکوپلانین در نمودار ۱ نشان داده شده است، همانطور که مشاهده می‌شود بیشترین میزان مقاومت به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول و کمترین میزان مقاومت به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تیکوپلانین و لینزولید مشاهده شد (نمودار ۱).

در مرحله بعد به منظور تعیین اثر نانوذرات نیکل بر روی میزان تولید بیوفیلم جدایه‌ها، مراحل فوق برای همه نمونه‌ها با افزودن نانوذرات نیکل بالغه 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 جمع‌آوری شده و با انجام آزمایشات استاندارد میکروب‌شناسی که در قسمت روش کار

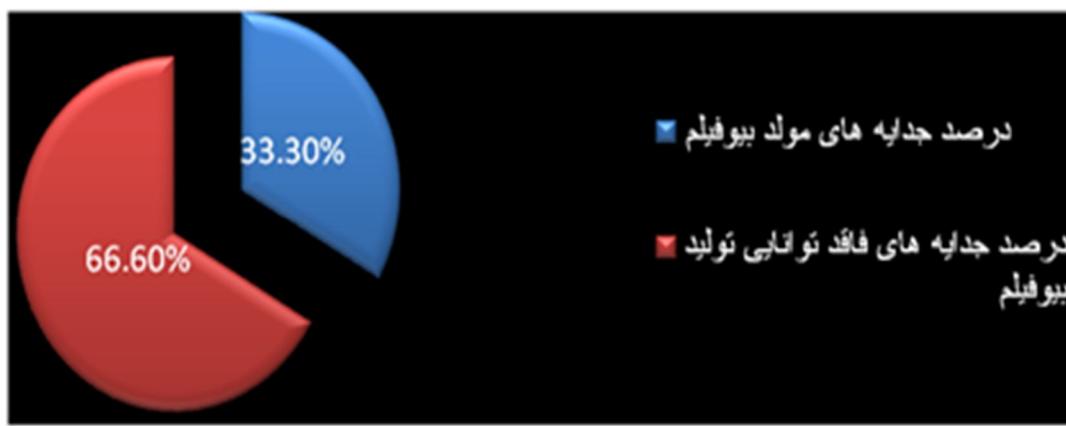


نمودار (۱): میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های تحت بررسی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

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).

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.

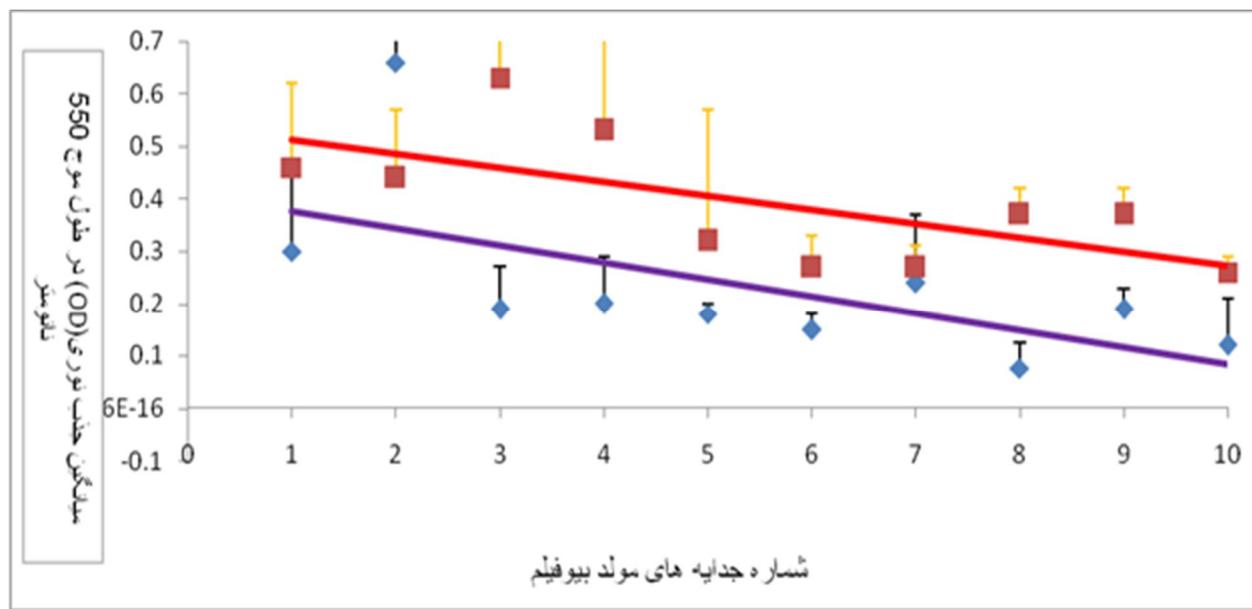


نمودار (۲): درصد جدایه‌های تولید کننده بیوفیلم در استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به موپیروسین

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 حضور و غیاب نانوذرات نیکل در نمودار ۳ نشان داده شده است.

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

مقایسه میزان تشکیل بیوفیلم در حضور و غیاب نانوذرات نیکل:



نمودار (۳): رنگ آبی تولید بیوفیلم در حضور نانوذره نیکل (خط قرمز رنگ) را نشان می‌دهد، هم‌چنانکه 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 نانوذرات نیکل با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در سی سی منجر به کاهش تولید بیوفیلم توسط جدایه‌های تحت بررسی شد.

دانسته و این مطالعات را راهگشایی پیشرفت در معرفی واکسن‌ها و داروهای جدید ضد استافیلوکوکی دانسته‌اند (۲۱). در سال ۲۰۱۳ Mamonova و همکاران اثرات ضد باکتریایی نانوذرات فلزی را بر روی جدایه‌های بالینی اشرشیا کلی بررسی کردند. اشرشیا کلی همانند استافیلوکوکوس ارئوس از جمله شایع‌ترین عوامل عفونت زا در انسان است. این باکتری از مکانیسم‌های متعددی از جمله تولید آنزیمهای بتالاکتاماز وسیع الطیف و کارپاپنمازها 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 نانوذرات 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 به عنوان یک عامل ضد باکتریایی صورت گیرد (۷). یافته‌های این محققین با نتایج پژوهش حاضر که نشان دهنده اثرات ضد باکتریایی

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

بحث و نتیجه‌گیری

استافیلوکوکوس ارئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس فراوان ترین عوامل ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی و عفونت‌های مرتبط با وسائل پزشکی می‌باشند، دلیل این امر به طور واضح توانایی تولید بیوفیلم توسط این باکتری‌ها است. پیشرفت‌های اخیر در بیولوژی ملکولی بیشتری را در رابطه با اساس تشکیل بیوفیلم در این پاتوژن‌های فرست طلب آشکار نموده است. تعدادی از پروتئین‌های سطحی، اتصال اولیه باکتری به پروتئین‌های ماتریکس میزان را بواسطه گری می‌کنند که با بیان یک اگرولی ساکارید کاتیونی از جنس گلوکز آمین که سلول‌های باکتریایی را به هم می‌چسباند، دنبال می‌شود. در برخی از موارد پروتئین‌ها نیز ممکن است به عنوان ساختارهای جایگزین متصل کننده باکتری‌ها به یکدیگر عمل نمایند. همچنین مشخص شده است که مقاومت بیوفیلم‌های استافیلوکوکی به مواد ضد میکروبی، وابسته به فرایندهای تحت کنترل ژنومی است. در حال حاضر محققین لزوم انجام مطالعات متعددی را بر روی بیوفیلم‌های استافیلوکوکی ضروری

استفاده بیشتر بود که نشان دهنده اثرات سینرژیستیک کاربرد توان 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 استافیلکوکوس ارئوس را تائید می‌کنند.

نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نشان دهنده توانایی تولید بیوفیلم توسط درصد قابل توجهی از جدایه‌های استافیلکوکوس ارئوس برخوردار از مقاومت دارویی چند گانه است، از طرفی این پژوهش تأثیر کاهنده نانوذرات نیکل بر روی تولید بیوفیلم توسط جدایه‌های مقاوم استافیلکوکوس ارئوس را نشان می‌دهد. به هر حال 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 استافیلکوکوس ارئوس مقاوم به درمان خواهد بود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کمیته تحقیقات دانشجویی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه بهدلیل تأمین هزینه‌های لازم برای انجام این طرح تحقیقاتی تشکر و قدردانی می‌شود.

References:

- Johnston RL, Wilcoxon J. Metal Nanoparticles and Nanoalloys. 1st ed. Elsevier; 2012. P.1-5.
- 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.
- Toumey C. Reading Feynman In to Nanotechnology: A Text for a New Science. *Techné* 2008; 12(3): 135-71.
- Nowrouzi A, Meghراzi K, Golmohammadi T, Golestan 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.
- 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.
- 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.
- 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
- 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.

ناشو ذرات نیکل در کاهش بیوفیلم تولیدی توسط جدایه‌های مقاوم به موبپرسین 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 از جمله 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 استافیلکوکوس ارئوس بر روی کاتر های پوشانده شده با نانو ذرات نقره را در شرایط *in vitro* بررسی نموده و اثر سینرژیستیک نانو ذرات نقره با برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها را نیز مورد مطالعه قرار دادند. پس از تولید نانو ذرات نقره به روش شیمیایی، سطح کاترها با این ذرات پوشانده شد. اثرات واضح مهار بیوفیلم در کاترها پوشیده شده با نانوذرات مشاهده شد و حداکثر میزان مهار تشکیل بیوفیلم در طی ۲۴ ساعت در کاترها 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 توان نانوذرات آنتی‌بیوتیک‌های مورد

- 9- Roe D, Karandikar B, Bonn-Savage N, Gibbins B, Roulet 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 methicillin-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.

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

Maryam Gahremani¹, Yaejhob Sharifi¹, Morteza Vahedi², Nima Hosseini Jazani^{3*}

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/sulfametoazol 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)