Studies of antibacterial effects of synthesized silver nanoparticles using a novel thermotolerant *Isoptericola variabilis* sp. IRSH1 against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*

F. Hajmohammadi[1], Z. Soleimani[1], J. Hemmat[1], N. Kazemimejad[1], AR. Sedrpoushan[2], M. Ranjbar[2], M. Heydari[2], A. Parach[2]

[1] Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran
[2] Department of Chemical Technologies, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran

Corresponding Address: Jafar Hemmat, Department of Biotechnology, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran
Tel: +98-21-56276020, Email: j.hemmat@gmail.com
Received: 5 Mar 2017; Accepted: 24 May 2017

Abstract

Background: Silver nanoparticles can consider as an alternative source for some antibiotic usages due to those effective antibacterial activity and eco-friendly characteristics.

Objective: This in vitro study was done to evaluate the inhibitory effect of extracellular synthesized of silver nanoparticles using inexpensive cellulosic materials and supernatant culture of *Isoptericola variabilis* sp. *IRSH1* against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Methods: Silver nanoparticles were produced by extracellular biosynthesis using supernatant culture of a novel thermotolerant *Isoptericola variabilis* sp.*IRSH1* and characterized. The antibacterial activities of the synthesized silver nanoparticles were examined by the standard Kirby-Bauer disc diffusion method against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* on Muller-Hinton agar plates.

Findings: The silver nanoparticles were produced with an average size of 77 nm and 0.29 polydispersity index (PDI). The inhibition zones of AgNPs (1000 µg/ml) were 10 mm and 11 mm against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* respectively.

Conclusion: The biosynthesized AgNPs has good antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa.* The results indicate *Pseudomonas aeruginosa* is more sensitive to silver nanoparticles.

Keywords: Nanotechnology, Metallic nanoparticle, Anti-bacterial agents, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

Citation: Hajmohammadi F, Soleimani Z, Hemmat J, Kazemimejad N, Sedrpoushan AR, Ranjbar M, Heydari M, Parach A. Studies of antibacterial effects of synthesized silver nanoparticles using a novel thermotolerant *Isoptericola variabilis* sp. IRSH1 against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa.* J Qazvin Univ Med Sci. 2017; 21 (3): 23-30.

بررسی اثرات ضدباکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده توسط سویه جدید مقاوم حرارت *ایزوپتریکولا واریابلیس* IRSH1 علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا*

فریبا حاج محمدی[۱]، زهرا سلیمانی[۱]، دکتر جعفر همت[۱]، نازنین کاظمی‌نژاد[۱]، دکتر علیرضا سدرپوشان[۲]، دکتر مریم رنجبر[۲]، مسعود حیدری[۲]، علی پرچ[۲]

[۱] پژوهشکده بیوتکنولوژی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران
[۲] پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

آدرس نویسنده مسؤول: تهران، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، پژوهشکده زیست فناوری، تلفن ۵۶۲۷۶۰۲۰- ۰۲۱
تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۱۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۷

✸چکیده

زمینه: نانوذرات نقره به‌دلیل اثرات مهارکنندگی و کشندگی قوی و در عین حال سازگاری با محیط زیست می‌تواند یک منبع جایگزین مناسب برای برخی از مصارف آنتی‌بیوتیک‌ها باشد.

هدف: این مطالعه به‌منظور بررسی اثرات ضدباکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده به روش خارج سلولی توسط سویه جدید مقاوم حرارت *ایزوپتریکولا واریابلیس IRSH1* و مواد سلولزی ارزان قیمت بر علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه برون‌تنی نانوذرات نقره به روش سنتز زیستی خارج سلولی توسط محلول رویی کشت سویه *ایزوپتریکولا واریابلیس* تولید و مشخصه‌یابی شد. فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره سنتزی با استفاده از روش انتشار دیسک (کربی- باثر) بر علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* بر روی محیط مولر هینتون آگار بررسی شد.

یافته‌ها: نانوذرات نقره با متوسط اندازه ۷۷ نانومتر و شاخص پراکندگی ۰/۲۹ به‌دست آمدند. در تراکم ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانوذرات نقره، فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و سودوموناس *آئروژینوزا* هاله عدم رشد به‌ترتیب ۱۰ و ۱۱ میلی‌متر بود.

نتیجه‌گیری: نانوذرات نقره ساخته شده به‌صورت کارآمد دارای فعالیت ضدباکتریایی علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* است که نتایج به‌دست آمده بیان‌گر حساسیت بیش‌تر *سودوموناس آئروژینوزا* بود.

کلیدواژه‌ها: نانوفناوری، نانوذرات فلزی، عوامل ضدباکتریایی، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*

✸مقدمه:

هم‌اکنون افزایش تعداد گونه‌های باکتریایی بیماری‌زا به‌عنوان چالشی بزرگ سلامتی انسان را به خطر انداخته است. باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا*، عامل بروز طیف گسترده‌ای از عفونت‌های بیمارستانی است. *استافیلوکوکوس اورئوس* یک کوکسی گرم مثبت و بی‌هوازی اختیاری است که به شکل خوشه در زیر میکروسکوپ دیده می‌شود. این باکتری از مهم‌ترین باکتری‌های ایجادکننده عفونت در انسان از جمله عفونت‌های گوارشی، ادراری و دستگاه تنفس تحتانی و فوقانی، عفونت‌های ساده پوستی مانند؛ زرد زخم، سندرم شوک سمی، مننژیت، استئومیلیت و اندوکاردیت می‌باشد.[۱-۳] سودوموناس آئروژینوزا یک باکتری گرم منفی، میله‌ای شکل، هوازی اجباری، غیرتخمیری متحرک با تک تاژه قطبی است که قادر به زیستن در تمام محیط‌ها به‌ویژه در محیط‌های مرطوب است. سودوموناس آئروژینوزا بیماری‌زای فرصت طلب انسانی بوده و از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی و مرگ و میر در مبتلایان به لوسمی (لنفوم) و

سوختگی‌های شدید است. مقاومت ذاتی به آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد ضدعفونی‌کننده مهم‌ترین عاملی است که این باکتری را به‌عنوان یک بیماری‌زا معرفی می‌کند. این باکتری دارای مقاومت بالایی نسبت به طیف وسیعی از مواد ضدمیکروبی و آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله؛ بتالاکتام‌ها، فلوروکینولون‌ها، تتراسیکلین، کلرامفنیکل و اریترومایسین می‌باشد.[۶-۴]

استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها به مرور زمان منجر به پیدایش سویه‌های مقاوم شده است. افزایش مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک می‌تواند باعث از بین رفتن تأثیر و کارکرد بسیاری از درمان‌های مدرن شود. از این‌رو بسیاری از محققان برای مقابله با این مشکل در تلاش برای توسعه عوامل ضدمیکروبی مؤثر و در عین حال از لحاظ اقتصادی مقرون به‌صرفه هستند.[۷و۸] نانوفناوری دارای طیف گسترده‌ای از برنامه‌های کاربردی در زمینه‌های زیست‌شناسی و علوم پزشکی است. یکی از مهم‌ترین محصولات نانوفناوری، نانوذرات نقره است. در بین فلزات طبیعی یون‌های نقره دارای اثرات ضدباکتریایی و مهارکنندگی قوی و همچنین طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های ضدمیکروبی است، اما کاربردهای پزشکی آن با توسعه آنتی‌بیوتیک کاهش یافته است.[۹و۱۰] نانوذرات نقره دارای خواص منحصر به فرد فیزیکی و شیمیایی هستند، به‌علاوه کاهش اندازه ذرات تا ابعاد نانو منجر به افزایش نسبت سطح به حجم نانوذرات و در نتیجه افزایش خواص ضدمیکروبی آن‌ها می‌شود.[۱۵-۱۱]

استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به گسترش میکروارگانیسم‌های مقاوم در برابر بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها شده است، نانوذرات نقره به‌دلیل اثرات مهارکنندگی و کشندگی قوی و در عین حال سازگاری با محیط زیست می‌تواند یک منبع جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشد. گزارش‌های متعددی در زمینه بررسی اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*، سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیاکلی موجود است.[۱۸-۱۶]

هدف از این مطالعه، بررسی اثرات ضدباکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده به روش زیستی توسط سویه ایزوپتریکولا واریابلیس IRSH1 بر علیه باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد.

❋مواد و روش‌ها:

این پژوهش برون‌تنی در سال ۱۳۹۴ در سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران انجام شد. نیترات نقره و تمام محیط‌های کشت به‌جز محیط مولر هینتون (شرکت دیفکو) استفاده شده در این پژوهش از شرکت مرک آلمان و دیسک‌های استاندارد از شرکت پادتن طب خریداری شدند. از سویه *IRSH1* که از مناطق اکستریم ایران جداسازی و به عنوان *ایزوپتریکولا واریابلیس* (کُد بانک ژن KR856182) شناسایی شد به‌منظور سنتز خارج سلولی نانوذرات نقره استفاده شد. سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC1431) و *سودوموناس آئروژینوزا* (PTCC1074) از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران تهیه شد. در تمام مراحل آزمایش به‌منظور سنتز زیستی نانوذرات نقره از آب مقطر دو بار تقطیر استفاده شد.

سویه *ایزوپتریکولا واریابلیس IRSH1* در ارلن مایر با حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر حاوی محیط کشت مایع که پیش از این نحوه تهیه آن در مقاله عزیزی و همکاران با استفاده از مواد سلولزی ارزان قیمت کشاورزی توصیف شد،[۱۹] کشت داده شد؛ این مواد به‌عنوان منبع کربن محیط کشت باکتری استفاده شده‌اند تا فرایند تولید از نظر اقتصادی مقرون به‌صرفه باشد.

ارلن مایر حاوی محیط کشت باکتری به‌مدت ۷۲ ساعت در شیکر انکوباتور با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس با انجام سانتریفیوژ با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه محلول رویی باکتری از زیست توده جدا شد. محلول رویی باکتری به‌عنوان کاتالیزور زیستی برای سنتز

خارج سلولی نانوذرات نقره استفاده شد. سپس در ارلن مایر با حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول رویی باکتری به محلول نیترات نقره با غلظت ۰/۱ مولار اضافه و ارلن حاوی محلول واکنش در شیکرانکوباتور با سرعت ۱۱۰ دور در دقیقه به‌مدت ۴۸ ساعت گرماگذاری شد تا کلوئید نانوذرات نقره حاصل شود.[۲۰] میانگین اندازه و شاخص پراکندگی نانوذرات نقره با استفاده از دستگاه پراکندگی نوری دینامیک (مدل مالورن) تعیین شد.[۲۱] اندازه‌گیری در محدوده ۰/۱ نانومتر تا $۱۰^{۴}$ نانومتر و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. به‌منظور بررسی شکل ظاهری نمونه‌های ساخته شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (مدل وگا۳. تسکن) استفاده شد. برای آماده‌سازی نمونه قطره‌ای از کلوئید نانوذارت نقره روی پایه آلومینیومی ریخته و پس از خشک شدن در دمای محیط با لایه نازکی از طلا پوشانده و در نهایت در ولتاژ ۲۰ کیلووات با میکروسکوپ الکترونی مطالعه شد.[۲۱]

فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره سنتزی با استفاده از روش انتشار دیسک (کربی- بائر) بر علیه سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC1431) و *سودوموناس آئروژینوزا* (PTCC1074) بر روی پلیت‌های حاوی محیط مولر هینتون آگار مورد بررسی قرار گرفت. رقت مناسب از هر باکتری براساس استاندارد ۰/۵ مک فارلند که معادل $۱۰^{۵}$ تا $۱۰^{۶}$ واحد تشکیل‌دهنده کلونی در هر میلی‌لیتر است؛ با استفاده از محلول سرم فیزیولوژی تهیه شد. برای افزایش دقت عمل، میزان جذب نوری ۰/۵ مک فارلند توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل لامبدا) ۲۵ تعیین شد. در نهایت هر یک از باکتری‌های مورد بررسی بر روی پلیت‌های جداگانه با استفاده از روش کشت چمنی به‌صورت یکنواخت گسترش یافتند. قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها با استفاده از کولیس ورنیه اندازه‌گیری و ثبت شد.[۱۱و۲۲]

تمام آزمایش‌های مربوط به تهیه نانوذرات نقره و تعیین قطر هاله عدم رشد با سه بار تکرار انجام و تمامی نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد گزارش شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار مینی تب ۱۷ و آزمون‌های آماری واریانس یکطرفه و توکی تحلیل شدند.

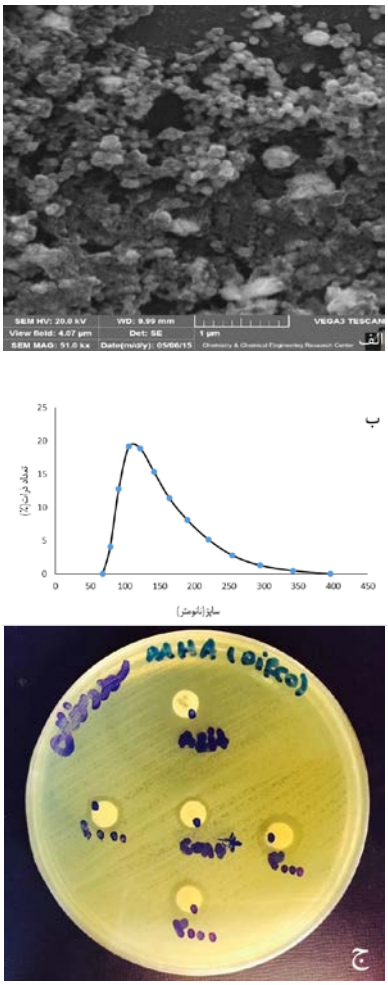
✵یافته‌ها:

براساس نتایج به‌دست آمده متوسط اندازه ذرات ساخته شده ۷۷/۳۰ نانومتر و توزیع اندازه نانوذرات براساس تعداد بین ۴۳ تا ۱۲۰ نانومتر بود. همچنین تصاویر به‌دست آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی، سنتز نانوذرات نقره با ابعاد کم‌تر از ۱۰۰ نانومتر و به‌صورت کروی شکل را نشان داد (شکل شماره ۱).

بررسی اثرات ضدباکتریایی نانوذرات نقره، نشان‌دهنده اثر ضدباکتریایی بیش‌تری در مقایسه با محلول نیترات نقره است. قطر هاله عدم رشد برای *سودوموناس آئروژینوزا* نسبت به *استافیلوکوکوس اورئوس* در حضور غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره دارای اندازه بزرگ‌تری بود. همچنین نتایج به‌دست آمده بیان‌گر حساسیت بیش‌تر *سودوموناس آئروژینوزا* در مقایسه با تراکم ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نسبت به نانوذرات نقره بود. اما نانوذرات ساخته شده تا تراکم ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیز بر استاف مؤثر بود، در حالی‌که در این تراکم تأثیری بر *سودوموناس* نداشت (جدول و شکل شماره ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) در غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره

باکتری‌ها / غلظت‌ها (میکروگرم/ میلی‌لیتر)	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*سودوموناس آئروژینوزا*
نیترات نقره	۰	۹/۶۶±۰/۵۷
۱۰۰	۰	۰
۵۰۰	۸/۶۶±۰/۶	۰
۱۰۰۰	۱۰±۰/۵	۱۱±۰/۵
۲۰۰۰	۱۰/۶۶±۰/۵۷	۱۲±۰/۵



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذرات نقره سنتز شده توسط سویه *ایزوپتریکولا واریابلیس IRSH1* (الف) نمودار توزیع اندازه نانوذرات براساس آنالیز پراکندگی نوری دینامیک، (ب) اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره اولیه علیه باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* در غلظت‌های ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، (ج) کنترل مثبت آزیتروومایسین

✵بحث و نتیجه‌گیری:

در این مطالعه اثبات شد که خواص ضدباکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده با افزایش غلظت این ذرات افزایش یافت. به‌علاوه در حضور غلظت‌های ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ میکروگرم نانوذرات نقره، قطر هاله عدم رشد بزرگ‌تری برای *سودوموناس آئروژینوزا* در مقایسه با *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌دست آمد، اما آستانه فعالیت حداقل تراکم نانوذرات مؤثر بر *استافیلوکوکوس اورئوس* کم‌تر از *سودوموناس آئروژینوزا* و معادل ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

در این پژوهش سنتز زیستی خارج سلولی نانوذرات نقره با استفاده از سویه بومی *ایزوپتریکولا واریابلیس IRSH1* به‌عنوان روشی ساده، سریع، سازگار با محیط زیست و از لحاظ اقتصادی مقرون به‌صرفه انجام شد. اساس این روش احیای یون‌های نقره توسط مولکول‌های زیستی موجود در محلول رویی باکتری است.[۱۳]

در سال‌های اخیر چندین گروه تحقیقاتی اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره را مورد بررسی قرار دادند.[۲۳و۲۴] در مطالعه جیاراج و همکاران نانوذرات نقره به روش سنتز زیستی خارج سلولی از محلول رویی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* با میانگین اندازه ۸۰ نانومتر تولید شد. نانوذرات تولید شده در این مطالعه بر روی رشد باکتری‌های *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر مهاری داشتند، قطر هاله عدم رشد برای این باکتری‌ها به ترتیب ۱۰ و ۸ میلی‌متر بود.[۱۰] در مطالعه مشابه توسط حامدی و همکاران با استفاده از کشت قارچ *نوروسپورا اینترمدیا* نانوذرات سنتز شده با ابعاد متوسط ۵۵ نانومتر و شاخص پراکندگی آن‌ها ۰/۲۰ گزارش شد.[۲۱]

در مطالعه پریادارشینی و همکاران نانوذرات نقره به روش سنتز زیستی خارج سلولی از محلول رویی باکتری *باسیلوس فلکس* با میانگین اندازه ۱۲ تا ۶۵ نانومتر تولید شد. نانوذرات تولید شده در این مطالعه بر روی رشد باکتری‌های *اشرشیاکلی*، *باسیلوس سوبتیلیس* و *سودوموناس آئروژینوزا* اثر مهاری داشتند، قطر هاله عدم رشد برای این باکتری‌ها به‌ترتیب ۱۲/۱۵، ۱۱/۵۵، ۱۱/۰۵ میلی‌متر بود.[۲۲] در مطالعه حاضر حداکثر هاله عدم رشد برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* به‌ترتیب ۱۰/۶۶ و ۱۲ میلی‌متر تعیین شد. نتایج این پژوهش همانند نتایج گزارش‌های ذکر شده نشان‌دهنده وابستگی خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره به غلظت آن بود، همچنین تأثیر قوی‌تر نانوذرات نقره در

مهار رشد باکتری گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* در مقایسه با باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* تا تراکم ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود.

گزارش‌های متعددی مبنی بر خاصیت ضدمیکروبی قوی‌تر نانوذرات نقره بر علیه باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت وجود دارد.[۱۱،۲۰و۲۵] علت این پدیده را می‌توان این‌گونه تفسیر کرد، دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت از یک تک لایه ضخیم پپتیدوگلیکان که از زنجیره‌هایی از پلی‌ساکارید خطی که توسط اتصالات (پل‌های تقاطعی) پپتیدی کوتاه به یکدیگر متصل هستند تشکیل شده است؛ بنابراین در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی که دیواره سلولی آن‌ها متشکل از لایه نازک‌تری از پپتیدوگلیکان است ساختار مستحکم و سخت‌تری را ایجاد می‌کند که منجر به نفوذ دشوارتر نانوذرات نقره می‌شود.[۲۵] ساز و کار دقیق اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره به‌وضوح مشخص نشده است. مکانیسم پیشنهاد شده در مطالعه‌های انجام شده توسط محققان مختلف نشان می‌دهد که پس از تیمار میکروارگانیسم‌ها با نانوذرات نقره، از طریق آزاد کردن نقره به‌صورت یونی و غیرفعال کردن گروه‌های تیول موجود در آنزیم‌ها توانایی غیرفعال کردن آنزیم‌های باکتریایی را دارند. یون‌های نقره آزاد شده همانندسازی DNA باکتری را مهار می‌کند؛ به‌علاوه بیان زیر واحد پروتئینی ریبوزوم و برخی از پروتئین‌های سلولی را غیرفعال و در نهایت منجر به آسیب سیتوپلاسم سلولی می‌شود.[۲۲] براساس نتایج به‌دست آمده، یون‌های نقره در درجه اول عملکرد آنزیم‌های متصل به غشاء سلولی همانند آنزیم‌های دخیل در چرخه تنفس سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند که باعث کاهش سطح آدنوزین تری فسفات و در نهایت مرگ سلول باکتری می‌شود.[۲۲و۲۶]

به واسطه ماهیت عملکردی نانوذرات از جمله نقره، خوشبختانه ضمن تلاش جهت توسعه اثرات مثبت نانوذرات، تأثیرات احتمالی ناخواسته آن‌ها بر سلامت مصرف‌کنندگان محصولات آن‌ها و همچنین بر محیط زیست مورد توجه قرار گرفته است که امروزه به‌صورت موضوع تحقیقات پیرامون نانوزیست فناوری درآمده است که موضوع این تحقیق نیست.[۳۰-۲۷]

این مطالعه نشان داد نانوذرات نقره سنتز شده دارای فعالیت ضدمیکروبی بر علیه سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* است، اما الگوی حساسیت متفاوت این دو باکتری مهم بیماری‌زا نیازمند مطالعه‌های عمیق‌تر در حوزه کاربرد عملی این نانوذرات در عفونت‌های مختلف است.

❋سپاس‌گزاری:

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد نانوبیوتکنولوژی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران است. بدین‌وسیله از سازمان مذکور جهت فراهم آوردن امکانات این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

❋مراجع:

1. Rasigade JP, Vandenesch F. Staphylococcus aureus: a pathogen with still unresolved issues. Infect Genet Evol 2014; 21: 510-4. doi: 10.1016/j.meegid.2013.08.018.

2. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev 2015; 28(3): 603-61. doi: 10.1128/CMR.00134-14.

3. Larkin EA, Carman RJ, Krakauer T, Stiles BG. Staphylococcus aureus: the toxic presence of a pathogen extraordinaire. Curr Med Chem 2009; 16(30): 4003-19.

4. Picoli S, Gonçalves A. Metallo- beta-lactamase producer Pseudomonas aeruginosa: an opportunistic pathogen in lungs. In: Rai M, editor. The microbiology of respiratory system infections. 1: 1st ed.

Academic Press; 2016. 143-52. Academic Press Inc., London. doi:10.1016/B978-0-12-804543-5.00010-5.
5. Bédard E, Prévost M, Déziel E. Pseudomonas aeruginosa in premise plumbing of large buildings. Microbiol Open 2016; 5(6): 937-56. doi: 10.1002/ mbo3.391.
6. de Bentzmann S, Plésiat P. The Pseudomonas aeruginosa opportunistic pathogen and human infections. Environ Microbiol 2011; 13(7): 1655-65. doi: 10. 1111/j.1462-2920.2011.02469.x.
7. Morones-Ramirez JR, Winkler JA, Spina CS, Collins JJ. Silver enhances antibiotic activity against gram-negative bacteria. Sci Transl Med 2013; 5(190): 190ra81-ra81. doi: 10.1126/scitranslmed.3006276.
8. Gurunathan S, Han JW, Kwon DN, Kim JH. Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria. Nanoscale Res Lett 2014; 9(1): 373. doi: 10. 1186/1556-276X-9-373.
9. Lara HH, Ayala-Núnez NV, Turrent LdCI, Padilla CR. Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. World J Microbiol Biotechnol 2010; 26(4): 615-21. doi: 10.1007/s11274-009-0211-3.
10. Jeyaraj M, Varadan S, Anthony KJP, Murugan M, Raja A, Gurunathan S. Antimicrobial and anticoagulation activity of silver nanoparticles synthesized from the culture supernatant of Pseudomonas aeruginosa. J Ind Eng Chem 2013; 19(4): 1299-303.
11. Ajitha B, Ashok Kumar Reddy Y, Sreedhara Reddy P. Biosynthesis of silver nanoparticles using Plectranthus amboinicus leaf extract and its antimicrobial activity. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc 2014; 128: 257-62. doi: 10.1016/j.saa.2014. 02.105.
12. Bharathidasan R, Panneerselvam A. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using endophytic fungi Aspergillus concius, Penicillium janthinellum and Phomosis sp. Int J Pharm Sci Res 2012; 3(9): 3163-9.
13. Tran QH, Nguyen VQ, Le AT. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. Advances in Natural Sciences: Nanoscience Nanotechnol 2013; 4(3): 033001.
14. Vimala RT, Sathishkumar G, Sivaramakrishnan S. Optimization of reaction conditions to fabricate nano-silver using Couroupita guianensis Aubl. (leaf & fruit) and its enhanced larvicidal effect. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc 2015; 135: 110-5. doi: 10.1016/j.saa.2014. 06.009.
15. Shivaji S, Madhu S, Singh S. Extracellular synthesis of antibacterial silver nanoparticles using psychrophilic bacteria. Process Biochem 2011; 46(9): 1800-7. doi: 10.1016/j.procbio.2011.06.008.
16. Goswami AM, Sarkar TS, Ghosh S. An Ecofriendly synthesis of silver nano-bioconjugates by Penicillium citrinum (MTCC9999) and its antimicrobial effect. AMB Express 2013; 3(1): 16. doi: 10.1186/ 2191-0855-3-16.
17. Abdel-Raouf N, Al-Enazi NM, Ibraheem IBM. Green biosynthesis of gold nanoparticles using Galaxaura elongata and characterization of their antibacterial activity. Arab J Chem 2017; 10(Suppl 2): S3029-S3039. doi: 10.1016/j. arabjc.2013.11.044.
18. Ibrahim HM. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial

activity against representative microorganisms. J Radiation Res and Applied Sci 2015; 8(3): 265-75. doi: 10.1016/j.jrras. 2015.01.007.

19. Azizi M, Hemmat J, Seifati SM, Torktaz I, Karimi S. Characterization of a thermostable endoglucanase produced by Isoptericola variabilis sp. IDAH9. Braz J Microbiol 2015; 46(4): 1225-34. doi: 10.1590/ S1517-838246420140846.

20. Gandhi H, Khan S. Biological synthesis of silver nanoparticles and its antibacterial activity. J Nanomed Nanotechnol 2016; 7(2): 366. doi: 10.4172/2157-7439.1000366.

21. Hamedi S, Shojaosadati SA, Shokrollahzadeh S, Hashemi - Najafabadi S. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using a novel and non-pathogenic fungus, Neurospora intermedia: controlled synthesis and antibacterial activity. World J Microbiol Biotechnol 2014; 30(2): 693-704. doi: 10.1007/s11274-013-1417-y.

22. Priyadarshini S, Gopinath V, Meera Priyadharsshini N, MubarakAli D, Velusamy P. Synthesis of anisotropic silver nanoparticles using novel strain, Bacillus flexus and its biomedical application. Colloids Surf B Biointerfaces 2013; 102: 232-7. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.08.018.

23. Abd-Elnaby HM, Abo-Elala GM, Abdel-Raouf UM, Hamed MM. Antibacterial and anticancer activity of extracellular synthesized silver nanoparticles from marine Streptomyces rochei MHM13. Egyptian J Aquatic Rese 2016; 42(3): 301-12. doi: 10. 1016/j.ejar.2016.05.004.

24. Devi LS, Joshi SR. Antimicrobial and synergistic effects of silver nanoparticles synthesized using soil fungi of high altitudes of eastern himalaya. Mycobiology 2012; 40(1): 27-34. doi: 10.5941/MYCO.2012.40.1. 027.

25. Shrivastava S, Bera T, Roy A, Singh G, Ramachandrarao P, Dash D. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. Nanotechnology 2007; 18(22): 225103. doi: 10.1088/0957-4484/18/ 22/225103.

26. MubarakAli D, Thajuddin N, Jeganathan K, Gunasekaran M. Plant extract mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and its antibacterial activity against clinically isolated pathogens. Colloids Surf B Biointerfaces 2011; 85(2): 360-5. doi: 10. 1016/j.colsurfb.2011.03.009.

27. Wang J, Che B, Zhang L, Dong G, Luo Q, Xin L. Comparative genotoxicity of silver nanoparticles in human liver HepG2 and lung epithelial A549 cells. J Appl Toxicol 2017; 37(4): 495-501. doi: 10.1002/jat.3385.

28. Li H, Yang T, Zhou H, Du J, Zhu B, Sun Z. Emodin combined with nanosilver inhibited sepsis by anti-inflammatory protection. Front Pharmacol 2017; 7: 536. doi: 10.3389/fphar.2016.00536.

29. Pulit - Prociak J, Stokłosa K, Banach M. Nanosilver products and toxicity. Environ Chem Lett 2015; 13(1): 59-68. doi: 10.1007/ s10311-014-0490-2.

30. Sthijns MM, Thongkam W, Albrecht C, Hellack B, Bast A, Haenen GR, et al. Silver nanoparticles induce hormesis in A549 human epithelial cells. Toxicol in Vitro 2017; 40: 223-33. doi: 10.1016/j.tiv.2017.01.010.