

## Synthesis and Study of Bactericidal Effects of Iron Oxide Nanoparticles on Bacteria Isolated from Urinary Tract Infections

Nasim Baniasadi<sup>1</sup>, Ashraf Kariminik<sup>2,\*</sup> , Sayed Mohammad Reza Khoshroo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> MSc, Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

\* **Corresponding Author:** Ashraf Kariminik, Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran. Email: a.kariminik@iauk.ac.ir

### Abstract

**Received:** 01.12.2019

**Accepted:** 14.04.2020

#### How to Cite this Article:

Baniasadi N, Kariminik A, Khoshroo SMR. Synthesis and Study of Bactericidal Effects of Iron Oxide Nanoparticles on Bacteria Isolated from Urinary Tract Infections. *Avicenna J Clin Med.* 2020; 27(1): 37-44. DOI: 10.29252/ajcm.27.1.37

**Background and Objective:** Due to the increased prevalence of microbial resistance against chemical antimicrobial agents, the biological effects of metallic nanoparticles have recently been studied by researchers. In this regard, the present study aimed to investigate the antimicrobial effects of iron oxide nanoparticles made by chemical methods in different concentrations on bacteria isolated from urinary tract infections.


**Materials and Methods:** In this descriptive cross-sectional research, iron oxide nanoparticles were synthesized by chemical precipitation method using chemical reactants and only by controlling the conditions and applying optimal conditions. Subsequently, their bactericidal effects on the six common bacteria causing urinary tract infections was studied using agar well diffusion method. The minimum inhibitory and bactericidal concentrations of nanoparticles were determined as well. In addition, the antibiotic resistance pattern of bacteria was investigated for antibiotics Gentamycin, amikacin, ampicillin, nalidixic acid, ciprofloxacin, norfloxacin, sulfamethoxazole using disk diffusion method.

**Results:** The iron oxide nanoparticle was made in a spherical shape with a diameter of approximately 60 nm. Bacteria had an extensive antibiotic resistance, but iron nanoparticles were effective on all 6 bacteria, and the minimum inhibitory and bactericidal concentration to *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Serratia marcescens* were 0.32, 0.04, 0.02, 0.08, 0.04, and 0.02 at 1.25, 0.08, 0.61, 32 0, 16.0, and 16.0 mg/mL respectively.

**Conclusion:** Iron oxide nanoparticles showed a wide spectrum of effects at very low concentrations against bacteria, and these nanoparticles could be considered as an appropriate candidate for the treatment of bacterial infections after extensive research.

**Keywords:** Antibacterial Activity, Iron Oxide Nanoparticles, Urinary Tract Infection

## سنتر و بررسی اثرات باکتریسیدال نانوذرات اکسید آهن بر باکتری‌های جدا شده از عفونت‌های ادراری

نسیم بنی‌اسدی<sup>۱</sup>، اشرف کریمی نیک<sup>۲\*</sup> ، سید محمد رضا خوشرو<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

<sup>۲</sup> استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

\* نویسنده مسئول: اشرف کریمی نیک، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران. ایمیل: a.kariminik@iauk.ac.ir

### چکیده

**سابقه و هدف:** به دنبال افزایش شیوع مقاومت میکروبی در برابر عوامل ضد میکروبی شیمیایی، اخیراً اثرات بیولوژیک نانوذرات فلزی مورد توجه ویژه محققان قرار گرفته است. در این ارتباط، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن ساخته شده به روش شیمیایی در غلظت‌های مختلف بر باکتری‌های جدا شده از عفونت‌های ادراری انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه توصیفی-مقطعی با استفاده از واکنش‌گرهای شیمیایی قابل دسترس و تنها با کنترل شرایط و اعمال شرایط بهینه، نانوذرات اکسید آهن به روش رسوب‌گیری شیمیایی سنتز شدند و اثرات باکتریسیدال آن‌ها بر شش باکتری شایع ایجادکننده عفونت‌های ادراری به روش ایجاد چاهک مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت مهار رشد و حداقل غلظت کشندگی نانوذرات نیز تعیین گردید. همچنین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، آمیکاسین، آمپی‌سیلین، نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، نوروفلوکساسین و سولفومتاکسازول به روش انتشار دیسک بررسی شد.

**یافته‌ها:** نانوذره اکسید آهن به شکل کروی با قطری حدود ۶۰ نانومتر ساخته شد. باکتری‌ها دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی گسترده‌ای بودند؛ اما نانوذرات آهن بر هر شش باکتری مؤثر واقع شدند و حداقل غلظت ممانعت از رشد نسبت به پروتئوس میرابیلیس، کلسیلا پنومونیه، استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا و سراسیا مارسسنس به ترتیب ۰/۳۲، ۰/۰۴، ۰/۰۲، ۰/۰۸، ۰/۰۴ و ۰/۰۲ و حداقل غلظت باکتری‌سایدی به ترتیب ۱/۲۵، ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲، ۰/۱۶ و ۰/۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید.

**نتیجه‌گیری:** نانوذرات اکسید آهن طیف اثر گسترده‌ای را در غلظت‌های بسیار کم بر باکتری‌ها نشان دادند. می‌توان این نانوذرات را انتخاب مناسبی برای مقابله با عفونت‌های باکتریایی پس از انجام تحقیقات گسترده‌تر معرفی نمود.

**واژگان کلیدی:** عفونت ادراری، فعالیت ضد باکتریایی، نانوذرات اکسید آهن

### مقدمه

دارویی و پزشکی است. مشکل دیگر مصرف این داروها، اثرات جانبی آن‌ها است. بنا بر گزارش سازمان جهانی بهداشت، از هر ۱۰ بیماری که در بیمارستان‌ها بستری می‌شوند، یک نفر به عفونت‌های بیمارستانی مبتلا می‌شود و هزینه درمانی این بیماران سه برابر بیشتر از افرادی است که دچار عفونت بیمارستانی نشده‌اند [۱]؛ از این رو توسعه و شناسایی ترکیبات ضد میکروبی با پتانسیل اثرات ضد باکتریایی مطلوب، یک اولویت مهم در تحقیقات فعلی و آتی پزشکی می‌باشد [۲]. یکی از کاربردهای نانوفناوری، استفاده از نانوذرات فلزی جهت حذف آلودگی‌های

از آنجایی که باکتری‌ها به سهولت به مجرای ادراری وارد می‌شوند، عفونت‌های مجرای ادراری از نظر فراوانی در دومین رتبه عفونت‌ها یعنی پس از عفونت‌های مجرای تنفسی قرار دارند. عفونت‌های مجرای ادراری در اولین ردیف شیوع عفونت‌های باکتریایی در بزرگسالان و مراجعه به پزشک قرار داشته و میزان قابل توجهی از عفونت‌های بیمارستانی را شامل می‌شود. عفونت مجرای ادراری گاهی به باکتری‌ها و سپتیمی منجر می‌شود [۱]. مقاومت آنتی‌بیوتیکی و مصرف مداوم و بی‌رویه داروها در باکتری‌های بیماری‌زای انسانی، یک چالش بزرگ در زمینه

هیدروکسید سدیم و آب به عنوان حلال با روش هم‌رسوبی سنتز شدند [۱۶، ۱۷]. برای تهیه نانوذرات اکسید آهن، ۰/۲۱ گرم کلرید آهن فریک و ۲ میلی‌مول (۰/۴۴ گرم) از هیدروکسید سدیم در یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری تحت شرایط همزن در دمای ۶۰ درجه به مدت ۴۵ دقیقه حرارت داده شد. در بشر دیگری، ۴ میلی‌مول (۰/۳۰ گرم) سورفاکتانت سدیم دودسیل سولفات به عنوان منبع پایدارکننده در ۱۰ میلی‌لیتر حلال متانول تحت دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. در این شرایط pH محلول بین ۸ تا ۹ تنظیم گردید. سپس محتویات دو بشر مخلوط شد و به مدت یک ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و سپس در دستگاه حمام آلتراسونیک در توان ۶۰ وات قرار داده شد. به منظور تثبیت، ذرات محلول حاصل شده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در ادامه، رسوب ایجاد شده جداسازی شد و رومانده تخلیه گردید. به منظور حذف ناخالصی‌ها، شستشوی متعدد رسوب با آب دو بار تقطیر و اتانول انجام شد و در نهایت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در آون خلأ خشک شد. سپس مورفولوژی و سایز به دست آمده توسط دستگاه‌های آنالیز پراش اشعه ایکس و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM: Scanning Electron Microscope) مورد بررسی قرار گرفت. کلیه مواد مورد استفاده ساخت شرکت Merck آلمان بودند.

#### اثرات ضد باکتریایی نانوذرات اکسید آهن

ارگانسیم‌های مورد استفاده شامل: *شریشیا کلی*، *کلبسیلا پنومونیه*، *پروتئوس میرابیلیس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *ساراشیا مارسنس* بودند که از کشت‌های مثبت افراد مبتلا به عفونت‌های ادراری پس از کشت روی محیط کشت‌های پایه و افتراقی و انجام آزمون‌های تشخیصی و بیوشیمیایی جداسازی و شناسایی شده و مورد استفاده قرار گرفتند [۱۸]. از هر باکتری کشت خالص ۲۴ ساعته در محیط مایع تربیتیکاز سوی براث تهیه گردید و سوسپانسیون استاندارد با کدورتی برابر با محلول نیم مک‌فارلند در سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید. این کدورت دارای جذب نوری برابر با ۱ و طبق استاندارد نیم مک‌فارلند شمارش باکتری در آن  $10^8 \times 1/5$  واحد تشکیل کلونی بر میلی‌لیتر می‌باشد. هر باکتری به طور جداگانه روی محیط کشت مولر هینتون آگار به روش یکنواخت کشت داده شد. غلظت‌های متفاوت ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از نانو اکسید آهن ساخته شده در حلال دی‌متیل سولفو کسید و متانول (با حجم برابر) به روش دو برابر کردن رقت در هر مرحله تهیه گردید [۱۹، ۲۰]. حفره‌هایی به قطر ۴ میلی‌متر در محیط کشت مولر هینتون آگار تعبیه گردید و میزان ۲۰ میکرولیتر از محلول نانو اکسید آهن در هر حفره ریخته شد. پلیت‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

زیست محیطی، میکروبی و درمان بیماری‌های عفونی است که اهتمام ویژه متخصصان میکروبیولوژی را به خود معطوف نموده است. نانوفناوری به عنوان پیشرفته‌ترین فناوری کنونی توانسته است در تمامی بخش‌ها و زوایای حیات انسانی، جانوری، گیاهی، زیست محیطی و صنعتی رخنه کرده و با نوآوری خود، وضعیت فعلی و آتی آن‌ها را تحت تأثیر قرار دهد [۴]. گوناگونی مواد نانوذره‌ای به اندازه تنوع آن‌ها در کاربردهایشان می‌باشد. زمینه‌های کاربردی نانوذرات عبارت هستند از: بسته‌بندی، افزودنی سوخت، پزشکی، داروسازی، دارورسانی، تشخیص پزشکی و غیره.

همواره نانوذرات در دو بخش فلزی و غیر فلزی مورد بحث قرار گرفته‌اند [۵]. نانوذرات اکسید آهن به صورت ذراتی با قطری بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر به دو فرم اصلی مگنتیت ( $Fe_3O_4$ ) و فرم مغناطیسی اکسید شده ( $\gamma-Fe_2O_3$ ) ساخته می‌شوند. این نانوذرات فلزی به دلیل ویژگی‌های فوق‌العاده پارامغناطیسی و کاربردهای بالقوه خود در زمینه‌های گوناگون در علوم زیستی و پزشکی مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته‌اند [۶]؛ به طوری که سازمان غذا و داروی آمریکا، نانوذره اکسید آهن (مگنتیت) با روکش دکستران را برای مصارف دارویی و پزشکی تأیید نموده است [۷]. نانوذرات اکسید فلزی براساس نسبت سطح به حجم، خاصیت ضد باکتریایی متفاوتی را از خود نشان می‌دهند [۸]. نانوذرات اکسید آهن خواص منحصر به فردی چون پایداری بیشتر، دوام طولانی، بی‌خطر بودن و همچنین مقاومت در مقابل طیف گسترده‌ای از میکروب‌ها دارند [۹]. از فناوری نانو در تولید نانوذرات مواد مختلف از قبیل نانوذرات فلزی نقره، آهن، روی، منگنز، طلا، مس، نانو خاک رس، نانو سیلیس و غیره استفاده می‌شود [۱۰، ۱۱]. نانوذرات اکسید آهن به عنوان عامل جاذب بسیار مؤثر برای حذف آلاینده‌ها از محیط آبی شناخته شده‌اند و در بسیاری از موارد برای حذف آلاینده‌های آلی و فلزات سنگین از محیط‌های آبی مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۱۲].

مطالعات نشان داده‌اند که نانوذرات اکسید آهن مانند  $Fe_2O_3$  و  $Fe_3O_4$  سمیت نسبتاً کمی دارند [۱۳]. نانوذرات آهن و کبالت، سازگاری زیست محیطی بیشتری نسبت به سایر نانوذرات فلزی دارند و می‌توانند انتخاب مناسبی برای مقابله با عوامل خطر ساز محیطی محسوب گردند [۱۴، ۱۵]. در این راستا، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن ساخته شده به روش شیمیایی در غلظت‌های مختلف بر مهم‌ترین باکتری‌های عامل عفونت ادراری انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

##### ساخت و شناسایی نانوذرات اکسید آهن

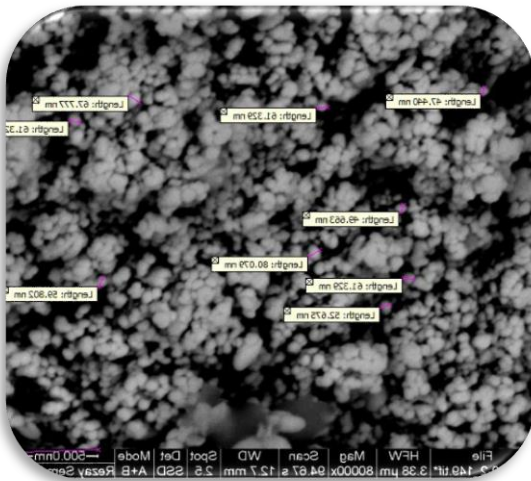
در مطالعه توصیفی-مقطعی حاضر، نانوذرات اکسید آهن با استفاده از مواد اولیه کلرید آهن فریک ( $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ).

۲۵ میکروگرم) تهیه شده از شرکت پارس طب ایران) استفاده شد. کنترل کیفی دیسک‌های پادتن طب به نتایج مطالعات مشابه انجام شده، استناد داده شد [۲۵]. پس از انکوباسیون به مدت ۱۸-۱۶ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد ایجاد شده بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردید.

### یافته‌ها

#### نتایج کیفیت ساخت نانوذرات اکسید آهن

شناسایی و آنالیز نمونه نانوذرات اکسید آهن ساخته شده براساس میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و مطابق با مقیاس میکروسکوپی که در شکل ۱ نشان داده شده است، مشخص گردید و مشاهده شد که این ذرات به شکل کروی با قطری حدود ۶۰ نانومتر بوده و به خوبی پراکنده شده‌اند. بررسی پیک‌های پراش اشعه ایکس (XRD: X-ray Diffraction) نیز بیانگر آن بودند که نمونه با خلوص بسیار بالایی در فاز کریستالی ساخته شده است. با توجه به طیف موجود، هیچ پیکی مبنی بر اکسیداسیون آهن مشاهده نگردید و نمونه فاقد ناخالصی بود (شکل ۲).

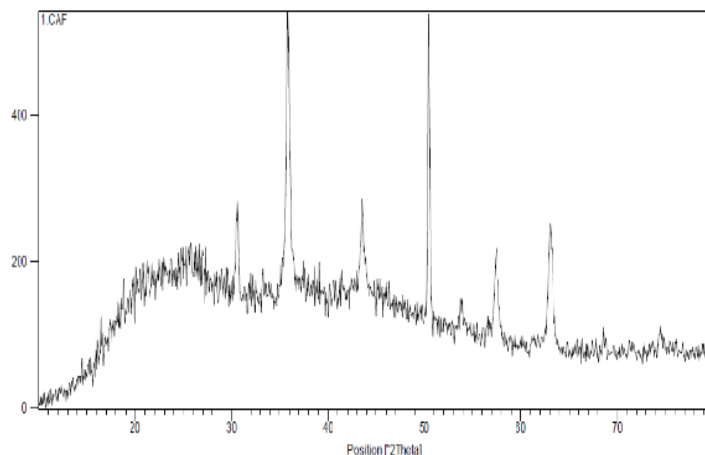


شکل ۱: میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نانوذرات اکسید آهن سنتز شده به روش هم‌رسوبی

(یخچال) قرار داده شدند و پس از جذب شدن محلول نانو درون محیط کشت، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس قطر هاله عدم رشد ایجاد شده بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردید. کمترین غلظت از نانوذره اکسید آهن که مانع رشد باکتری‌ها شده و هاله عدم رشد حداقل ۱۰ میلی‌متر را نشان می‌داد به عنوان MIC در نظر گرفته شد. از هاله عدم رشد این غلظت و غلظت‌های ماقبل آن روی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت خطی کشت داده شد. کمترین غلظت از نانوذره که مانع رشد باکتری روی محیط کشت مولر هینتون آگار گردید و همچنین حداقل غلظتی که پس از تلقیح باکتری پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون مانع رشد آن روی محیط کشت مولر هینتون آگار شد به عنوان حداقل غلظت کشندگی یا باکتری‌سایدی (MBC) نانوذرات سنتز شده در نظر گرفته شد [۲۰، ۲۱]. لازم به ذکر است که از حلال دی‌متیل سولفوکساید و متانول به عنوان کنترل منفی استفاده گردید [۲۱، ۲۲]. کلیه محیط‌های کشت و مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت Merck آلمان تهیه شدند.

#### تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های مورد استفاده که از نمونه‌های کشت‌های ادرار مثبت جدا شده از افراد مبتلا به عفونت ادراری بودند، به روش انتشار از دیسک روی محیط آگار مولر هینتون تعیین شد و هاله عدم رشد براساس جدول CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) مورد ارزیابی قرار گرفت [۲۳، ۲۴]. باکتری‌های جدا شده شامل: اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه، پروتئوس میرابیلیس، سودوموناس آئروژینوزا، سراثیا مارسنس و استافیلوکوکوس اورئوس بودند. از آنتی‌بیوتیک‌های نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم)، سفالکسین (۳۰ میکروگرم)، آمیکاسین (۳۰ میکروگرم)، نوروفلوکساسین (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، سولفامتازول (۱۰ میکروگرم) و آموکسی‌سیلین



شکل ۲: پراش اشعه ایکس (XRD) نانوذرات اکسید آهن

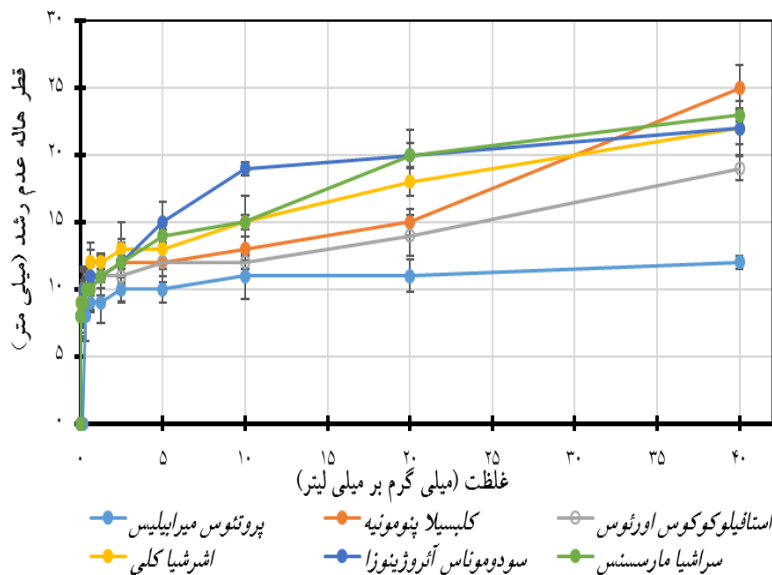
**نتایج خواص ضد باکتریایی نانوذرات اکسید آهن**

نانوذرات اکسید آهن ساخته شده علیه هر شش باکتری اشیریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه، پروتئوس میرابیلیس، سودوموناس آئروژینوزا، سراسشیا مارسسنس و استافیلوکوکوس اورئوس در کمترین غلظت مؤثر واقع شدند. همان طور که مشاهده می‌شود، قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت نانوذرات اکسید آهن رو به افزایش می‌باشد (شکل ۳). حداقل غلظت بازدارندگی از رشد نانوذره اکسید آهن که بر تمام باکتری‌ها مؤثر واقع شده است، معادل ۰/۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. حداقل غلظت ممانعت از رشد نسبت به پروتئوس میرابیلیس، کلبسیلا پنومونیه، استافیلوکوکوس اورئوس، اشیریشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا و سراسشیا مارسسنس به ترتیب ۰/۳۲، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۰۲ و ۰/۰۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت باکتری‌سیدی به ترتیب ۰/۱۶، ۰/۱۶، ۰/۰۸، ۰/۰۸، ۱/۲۵، ۰/۱۶

و ۰/۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید.

**نتایج آنتی‌بیوگرام**

بررسی نتایج اثر آنتی‌بیوتیک‌ها بر باکتری‌های جدا شده از کشت‌های ادرار مثبت از طریق مقایسه با جداول CLSI نشان داد که اکثر باکتری‌ها به ویژه اشیریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا، طیف گسترده مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به نه آنتی‌بیوتیک رایج مورد استفاده داشتند و نالیدیکسیک اسید به عنوان یک آنتی‌سپتیک ادراری فقط علیه دو باکتری کلبسیلا پنومونیه و سراسشیا مارسسنس مؤثر واقع شد (جدول ۱ و شکل ۴). در جدول ۱ نتایج قطر هاله بازدارندگی از رشد باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم به ترتیب با علامات S، I و R مشخص گردیده است.



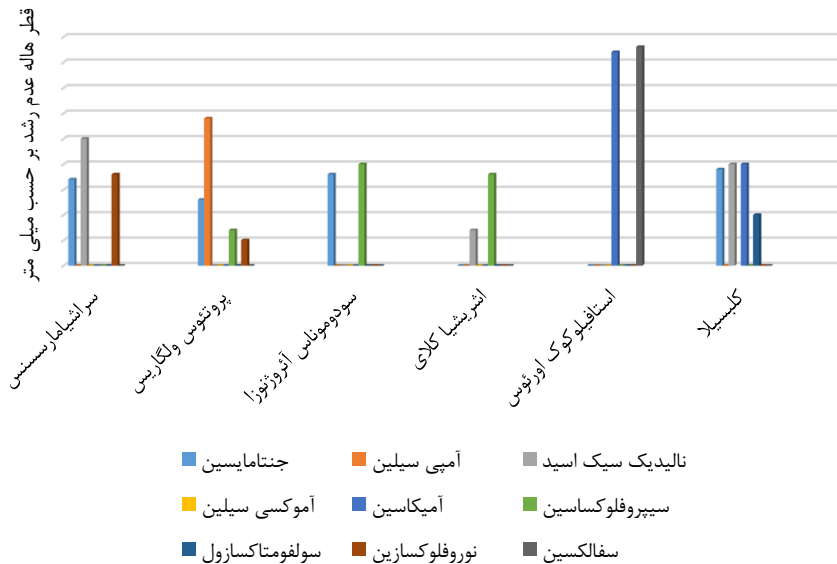
شکل ۳: مقایسه میانگین قطر عدم رشد (میلی متر) بر اساس غلظت نانوذره اکسید آهن (mg/mL)

**جدول ۱: آنتی‌بیوگرام به روش انتشار دیسک علیه باکتری‌های عفونت ادراری**

آنتی‌بیوتیک	باکتری					
	پروتئوس میرابیلیس	سودوموناس آئروژینوزا	اشیریشیا کلی	استافیلوکوکوس اورئوس	کلبسیلا پنومونیه	سراسشیا مارسسنس
جتامايسين	I۱۳	S۱۸	.	.	S۱۹	S۱۷
آمپی‌سیلین	S۲۹	.	.	.	.	.
نالیدیکسیک اسید	.	.	.	.	S۲۰	S۲۵
آموکسی‌سیلین	.	.	.	.	.	.
آمیکاسین	.	.	.	۴۲	S۲۰	.
سیپروفلوکساسین	.	I۲۰	R۱۸	.	.	R۲۰
سولفامتوکسازول	.	.	.	.	R۱۰	.
نورفلوکسازین	.	.	.	.	.	S۱۸
سفالکسین	.	.	.	۴۳	.	.

S: sensitive, R: Resistance, I: Moderate

اندازه هاله و میانگین قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر می‌باشد



شکل ۴: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های عامل عفونت ادراری به روش انتشار دیسک

## بحث

که قابلیت حل کردن بیشترین ماده مؤثره با خاصیت ضد میکروبی را داشته باشد. محققان دیگری فعالیت ضد قارچی و ضد باکتریایی نانوذرات اکسید آهن علیه قارچ‌های *آسپرژیلوس نیجر*، *فوزاریوم سلوانی*، *کاندیدا آلبیکانس* و باکتری‌های *اشیریشیا کلی* و *باسیلوس سوبتیلیس* را گزارش نمودند و نشان دادند که مقدار حداقل غلظت بازدارندگی از رشد نانوذرات اکسید آهن بین  $0.06$  و  $0.1$  میلی گرم بر میلی لیتر بوده است که با مقدار حداقل غلظت بازدارندگی از رشد برای پاتوژن‌های استاندارد مختلف قارچی قابل مقایسه می‌باشد [۳۱]. در این ارتباط، ایمانی و همکاران دریافتند که نانوذرات اکسید آهن در دوز پایین اثرات کمتری بر منحنی رشد باکتری تغییر ژن یافته دارد؛ اما در دوز مصرف بالاتر از  $500$  بخش در میلیون، فاز تأخیر رشد این باکتری را افزایش می‌دهند. از سوی دیگر از دوز  $2000$  بخش در میلیون به بالا، رشد باکتری در حضور این نانوذرات متوقف می‌شود. این پژوهشگران چنین استنتاج نمودند که اختلاف بین بار منفی میکروارگانیسم و بار مثبت نانوذره به صورت یک الکترومغناطیس جاذب بین میکروب و نانوذره عمل کرده و باعث اتصال نانوذره به سطح سلول می‌شود؛ در نتیجه می‌تواند باعث مرگ سلول شود [۳۲]. ترن و همکاران در آمریکا نشان دادند که اکسید آهن با غلظت  $3$  میلی گرم بر میلی لیتر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* را مهار می‌کند. در مطالعه حاضر نیز در این غلظت و حتی کمتر، نانوذره اکسید آهن بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مؤثر واقع گردید [۳۳]. هرچند مکانیسم‌های دقیق اثرات ضد میکروبی نانوذرات فلزی به درستی مشخص نشده است؛ اما می‌توان جذب یون‌های فلزی ساطع شده از نانوذرات به درون سلول و ایجاد اختلال در همانندسازی دی‌اکسی‌ریبونوکلئیک اسید و آسیب به سیستم‌های اکسیداتیو میکروب‌های هوازی را مطرح نمود. فعالیت مهارکننده نانوذرات

تحقیق و توسعه در زمینه‌های مختلف فناوری نانو رو به گسترش بوده و حوزه‌های علوم مختلف را درگیر نموده است [۲۶]. گزارشات متعددی مبنی بر اثرات ضد میکروبی نانوذرات اکسید آهن بر باکتری‌ها و قارچ‌ها وجود دارد [۲۷]. در این مطالعه فعالیت‌های مهارکنندگی و ضد باکتریایی غلظت‌های مختلفی از نانوذرات اکسید آهن علیه ایزوله‌های بالینی باکتری‌های مسبب عفونت‌های ادراری بررسی گردید. نتایج نشان دادند که نانوذرات اکسید آهن با قطر  $60$  نانومتر به شکل کروی در غلظت‌های بسیار پایین می‌توانند اثر مهارکننده رشد و همچنین اثرات باکتریسیدال نسبت به باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی داشته باشند و هر شش باکتری با وجود اینکه به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان دادند؛ اما نسبت به نانوذرات اکسید آهن حتی در غلظت‌های بسیار کم حساس بودند. حساسیت باکتری‌ها به نانوذرات فقط به ساختار دیواره سلولی مربوط نمی‌شود؛ بلکه ممکن است به پراکسیداسیون چربی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن نیز مربوط باشد [۲۸]. نانوذرات اکسید فلزی براساس نسبت سطح به حجم، خاصیت ضد باکتریایی متفاوتی را از خود نشان می‌دهند. یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از آن بودند که بین غلظت نانوذره و درصد حذف باکتری، ارتباط مستقیم وجود دارد [۲۹]. در پژوهش مشابهی مشخص گردید که نانوذرات آهن در غلظت  $100$  میلی گرم بر میلی لیتر باکتری *اشیریشیا کلی* را به سرعت غیر فعال نموده و منجر به آسیب فیزیکی قابل ملاحظه‌ای در غشای سلولی و به دنبال آن تراوش محتویات داخل سلولی می‌شود [۳۰]. احتمالاً با توجه به تفاوت غلظت مؤثر در این مطالعه و مطالعه حاضر می‌توان اذعان کرد که نوع روش سنتز نانوذره تفاوت داشته است. همچنین ممکن است محققان غلظت‌های پایین‌تر را امتحان نکرده و یا نتوانسته‌اند از محلولی استفاده کنند

در سنتز نانوذرات و نیز از کارکنان آزمایشگاه تحقیقاتی میکروبیولوژی دانشگاه، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نمایند.

### تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافی بین نویسندگان و نتایج مطالعه وجود ندارد.

### ملاحظات اخلاقی

این مطالعه دارای نامه تأییدیه اخلاق در پژوهش از دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان به شماره ۰۷/۲۵/۵/۲۸۰۹۸ مورخ ۹۸/۱۲/۲۱ می‌باشد.

### سهم نویسندگان

نویسنده اول (پژوهشگر اصلی): جمع‌آوری نمونه و داده‌ها، بازنگری متون، انجام آزمایشات و مشارکت در نگارش مقاله: ۳۰ درصد؛ نویسنده دوم (پژوهشگر اصلی): مسئول مکاتبات، طراحی مطالعه، تدوین نتایج و تفسیر داده‌ها، نگارش و ویرایش نهایی مقاله: ۵۰ درصد؛ نویسنده سوم (پژوهشگر همکار): روش‌شناسی، تفسیر و آنالیز داده‌ها: ۲۰ درصد

### حمایت مالی

مطالعه حاضر از سوی معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان پشتیبانی مالی شده است.

اکسیدهای فلزی می‌تواند به دلیل القای استرس اکسیداتیو، انتشار یون‌های فلزی و مکانیزم‌های غیر اکسیداتیو باشد. استرس اکسیداتیو ناشی از تولید انواع فرم‌های اکسیژن مانند سوپراکسید ( $O_2^-$ )، رادیکال‌های هیدروکسیل ( $-OH$ )، اکسیژن آزاد ( $O_2$ ) و پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) است. یون‌های فلزی که توسط برخی از نانوذرات اکسیدهای فلزی منتشر می‌شوند، از طریق غشای سلولی جذب می‌شوند و پس از آن تعامل با پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، حیات سلول‌های میکروبی را به مخاطره می‌اندازند [۳۴].

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر پیشنهاد می‌گردد از روش ساده سنتز نانوذرات  $Fe_3O_4$  مغناطیسی با روش هم‌رسوبی بدون استفاده از تجهیزات پیشرفته و روش‌های پیچیده که در مقایسه با روش‌های دیگر از دمای قابل ملاحظه پایین‌تر و زمان واکنش کوتاه‌تر به سنتز نانوذرات  $Fe_3O_4$  منجر خواهد شد، استفاده شود. همچنین این نانوساختار  $Fe_3O_4$  خواص ضد باکتری قابل ملاحظه‌ای دارد که می‌تواند انتخاب مناسبی برای اهداف کنترل میکروب‌های بیماری‌زا باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد میکروبی‌شناسی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان می‌باشد. بدین‌وسیله نویسندگان از دکتر رنجبر به دلیل همکاری

## REFERENCES

- Foxman B. The epidemiology of urinary tract infection. *Nat Rev Urol*. 2010;7(12):653-60. PMID: 21139641 DOI: 10.1038/nrurol.2010.190
- Mirhosseini M. Investigation of combination effect of magnesium oxide and iron oxide Nanoparticles on the growth and morphology of the bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in Juice. *Shahid Sadoughi Univ J Med Sci*. 2017;24(11):924-37. [Persian]
- Rizzello L, Cingolani R, Pompa PP. Nanotechnology tools for antibacterial materials. *Nanomedicine*. 2013;8(5):807-21. PMID: 23656266 DOI: 10.2217/nnm.13.63
- Salata O. Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J Nanobiotechnol*. 2004;2(1):3. PMID: 15119954 DOI: 10.1186/1477-3155-2-3
- 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.
- Woo K, Hong J, Choi S, Lee HW, Ahn JP, Kim CS, et al. Easy synthesis and magnetic properties of iron oxide nanoparticles. *Chem Mater*. 2004;16(14):2814-8. DOI: 10.1021/cm049552x
- Ghani S, Rafiee B, Sadeghi D, Ahsani M. Biosynthesis of iron nano-particles by bacillus megaterium and its antibacterial properties. *J Babol Univ Med Sci*. 2017;19(7):13-9. DOI: 10.22088/jbums.19.7.2
- Niemeyer CM. Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: biotechnology meets materials science. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2001;40(22):4128-58. PMID: 29712109 DOI: 10.1002/1521-3773(20011119)40:22<4128::AID-ANIE4128>3.0.CO;2-S
- Shen Y, Tang J, Nie Z, Wang Y, Ren Y, Zuo L. Preparation and application of magnetic  $Fe_3O_4$  nanoparticles for wastewater purification. *Sep Purif Technol*. 2009;68(3):312-9. DOI: 10.1016/j.seppur.2009.05.020
- Saji VS, Choe HC, Yeung KW. Nanotechnology in biomedical applications: a review. *Int J Nano Biomater*. 2010;3(2):119-39.
- Prasad R, Kumar V, Prasad KS. Nanotechnology in sustainable agriculture: present concerns and future aspects. *Afr J Biotechnol*. 2014;13(6):705-13. DOI: 10.5897/AJBX2013.13554
- Nasseri S, Mahvi A, Nabizadeh R, Esrafil A. Investigation of synthesized silica coating  $Fe_3O_4$  nanoparticles efficiency in removal of NOM from water. *Iran J Health Environ*. 2014;7(3):289-300. [Persian]
- Ivask A, Titma T, Visnapuu M, Vija H, Kakinen A, Sihtmae M, et al. Toxicity of 11 metal oxide nanoparticles to three mammalian cell types in vitro. *Cur Top Med Chem*. 2015;15(18):1914-29. PMID: 25961521 DOI: 10.2174/1568026615666150506150109
- Neyaz N, Siddiqui WA, Nair KK. Application of surface functionalized iron oxide nanomaterials as a nanosorbents in extraction of toxic heavy metals from ground water: a review. *Int J Environ Sci*. 2014;4(4):472-83. DOI: 10.6088/ijes.2014040400004
- Auffan M, Rose J, Bottero JY, Lowry GV, Jolivet JP, Wiesner MR. Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nat Nanotechnol*. 2009;4(10):634-41. PMID: 19809453 DOI: 10.1038/nnano.2009.242
- Cushing BL, Kolesnichenko VL, O'Connor CJ. Recent advances in the liquid-phase syntheses of inorganic nanoparticles. *Chem Rev*. 2004;104(9):3893-946. PMID: 15352782 DOI: 10.1021/cr030027b
- Cui H, Feng Y, Ren W, Zeng T, Lv H, Pan Y. Strategies of

- large scale synthesis of monodisperse nanoparticles. *Recent Pat Nanotechnol.* 2009;**3**(1):32-41. PMID: 19149753 DOI: 10.2174/187221009787003302
18. Winn WC. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
  19. Saha B, Bhattacharya J, Mukherjee A, Ghosh A, Santra C, Dasgupta AK, et al. In vitro structural and functional evaluation of gold nanoparticles conjugated antibiotics. *Nanoscale Res Lett.* 2007;**2**(12):614. DOI: 10.1007/s11671-007-9104-2
  20. Wiegand I, Hilpert K, Hancock RE. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc.* 2008;**3**(2):163-75. PMID: 18274517 DOI: 10.1038/nprot.2007.521
  21. Shakiba M, Kariminik A, Parsia P. Antimicrobial activity of different parts of Phoenix dactylifera. *Int J Mol Clin Microbiol.* 2011;**1**(2):107-11.
  22. Bonjar GH, Nik AK, Heydari MR, Ghasemzadeh MH, Farrokhi PR, Moein MR, et al. Anti-pseudomona and anti-bacilli activity of some medicinal plants of Iran. *DARU J Pharm Sci.* 2003;**11**(4):157-63.
  23. Bonev B, Hooper J, Parisot J. Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method. *J Antimicrob Chemother.* 2008;**61**(6):1295-301. PMID: 18339637 DOI: 10.1093/jac/dkn090
  24. Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27<sup>th</sup> ed. Wayne: Clinical and laboratory Standards Institute; 2017.
  25. Shokoohi R, Samarghandi M, Dargahi A, Alikhani MY, Roshanaei G, Golrokhi MM. Investigation of antibiotic resistance pattern of bacteria causing the urinary tract infection in urine samples of patients admitted in and referred to Shahid Beheshti Hospital in Hamadan. *Pajouhan Sci J.* 2018;**17**(3):34-40. DOI: 10.29252/psj.17.3.34
  26. Rai M, Duran N. Metal nanoparticles in microbiology. Berlin, Germany: Springer Science & Business Media; 2011.
  27. Prucek R, Tuček J, Kilianová M, Panáček A, Kvítek L, Filip J, et al. The targeted antibacterial and antifungal properties of magnetic nanocomposite of iron oxide and silver nanoparticles. *Biomaterials.* 2011;**32**(21):4704-13. PMID: 21507482 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.03.039
  28. Krishnamoorthy K, Manivannan G, Kim SJ, Jeyasubramanian K, Premanathan M. Antibacterial activity of MgO nanoparticles based on lipid peroxidation by oxygen vacancy. *J Nanopart Res.* 2012;**14**(9):1063. DOI: 10.1007/s11051-012-1063-6
  29. Martinez-Castanon G, Nino-Martinez N, Martinez-Gutierrez F, Martinez-Mendoza J, Ruiz F. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes. *J Nanopart Res.* 2008;**10**(8):1343-8. DOI: 10.1007/s11051-008-9428-6
  30. Lee C, Kim JY, Lee WI, Nelson KL, Yoon J, Sedlak DL. Bactericidal effect of zero-valent iron nanoparticles on *Escherichia coli*. *Environ Sci Technol.* 2008;**42**(13):4927-33. PMID: 18678028 DOI: 10.1021/es800408u
  31. Abdeen S, Isaac RR, Geo S, Sornalekshmi S, Rose A, Praseetha P. Evaluation of antimicrobial activity of biosynthesized iron and silver nanoparticles using the fungi *fusarium oxysporum* and actinomycetes sp. on human pathogens. *Nano Biomed Eng.* 2013;**5**(1):39-45. DOI: 10.5101/nbe.v5i1.p39-45
  32. Imani S, Zagari Z, Rezaei-Zarchi S, Zand AM, Dorodiyani M, Bariabarghoyi H, et al. Antibacterial effect of CrO and CoFe2O4 nanoparticles upon *Staphylococcus aureus*. *J Fasa Univ Med Sci.* 2011;**1**(3):175-81. [Persian]
  33. Tran N, Mir A, Mallik D, Sinha A, Nayar S, Webster TJ. Bactericidal effect of iron oxide nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. *Int J Nanomed.* 2010;**5**:277-83. PMID: 20463943 DOI: 10.2147/ijn.s9220
  34. Parveen S, Wani AH, Shah MA, Devi HS, Bhat MY, Koka JA. Preparation, characterization and antifungal activity of iron oxide nanoparticles. *Microb Pathog.* 2018;**115**:287-92. PMID: 29306005 DOI: 10.1016/j.micpath.2017.12.068