

بررسی اثر باکتری کشی نانوذرات اکسید مس بر شیگلا سونئی و سالمونلا تیفی موریوم

سجاد بابایی (MSc)^۱، فرشید باجلانی (MSc)^۱، امید منصوری زواله (MSc)^۲، اردشیر عباسی (MSc)^۲، فرهاد عوبری (MSc)^{۳*}

۱- گروه میکروب شناسی، گروه علوم و تحقیقات سنج، دانشگاه آزاد اسلامی سنج

۲- گروه بیوشیمی، گروه علوم و تحقیقات سنج، دانشگاه آزاد اسلامی سنج

۳- گروه ایمنی شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

۴- مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

دریافت: ۹۶/۲/۲۳، اصلاح: ۹۶/۵/۲۴، پذیرش: ۹۶/۶/۳۰

خلاصه

سابقه و هدف: مقاومت میکروبی، از جمله مهم‌ترین چالش‌ها در مقابله با بیماری‌های عفونی است. از این روی، یافتن و یا سنتز مواد ضد میکروبی جدید بسیار حائز اهمیت است. اکسید مس (CuO) به دلیل اثر ضد باکتریایی خود در مقابله با مقاومت میکروبی مورد توجه است. در این مطالعه به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی نانوذرات اکسید مس بر روی باکتری هایشیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم که سویه‌های جدید آن‌ها با مقاومت میکروبی همراه شده‌اند، انجام گردید.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق بنیادی کاربردی، نانوذرات اکسید مس در اندازه‌های ۳۳ و ۵۶ نانومتر با استفاده از روش کاهش شیمیایی از سولفات مس سنتز شدند. سپس، اثرات ضد باکتریایی نانوذرات اکسید مس بر سوش استاندارد باکتری هایشیگلاسونئی (ATCC-۹۲۹۰) و سالمونلا تیفی موریوم (PTCC-۱۶۰۹) با استفاده از تکنیک‌های حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)، حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) و سینتیک مرگ باکتری‌ها بررسی شد.

یافته‌ها: MIC به‌دست‌آمده در تیمار شیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم با نانوذره ۳۳ نانومتری به ترتیب برابر با ۲۵۰۰ mg/ml و ۵۰۰۰ mg/ml بود و همین ارقام برای نانوذره با اندازه ۵۶ نانومتری برای هر دو باکتری برابر با ۵۰۰۰ mg/ml بود. MBC به‌دست آمده نیز در تیمار شیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم با نانوذره ۳۳ نانومتری به ترتیب برابر با $I.U/ml \geq 5000$ و $I.U/ml \geq 10000$ بود و همین ارقام برای نانوذره با اندازه ۵۶ نانومتری برای هر دو باکتری برابر با $I.U/ml \geq 10000$ بود.

نتیجه‌گیری: این تحقیق اثبات می‌کند که نانوذره اکسید مس بر روی باکتری‌های شیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم اثرات کشندگی دارد و اثرات کشندگی نانوذره کوچک‌تر قوی‌تر از نانوذره بزرگ‌تر بوده، در حالی که اثرات ضد باکتریایی بر روی شیگلاسونئی چشمگیرتر است.

واژه‌های کلیدی: نانوذره اکسید مس، شیگلاسونئی، سالمونلا تیفی موریوم، MIC، MBC، سینتیک مرگ باکتری.

مقدمه

باکتری‌های گرم منفی به‌طور فزاینده‌ای در حال مقاوم شدن نسبت به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های در دسترس هستند. از جمله باکتری‌های گرم منفی که رو به مقاوم شدن گذاشته‌اند، می‌توان به باکتری‌های شیگلاسونئی و سالمونلا تیفی موریوم اشاره کرد. باکتری شیگلا، از خانواده انتروباکتریاسه بوده و یک عامل عفونت‌زای قوی است (۱). در پروسه درمان عفونت شیگلایی، مشکل مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌هایی همچون آمپی‌سیلین، تری متوپریم و تتراسایکلین وجود دارد (۲). باکتری سالمونلا نیز به خانواده انتروباکتریاسه تعلق دارد (۳). امروزه ظهور سالمونلا تیفی موریوم‌های مقاوم به چند دارو (Multiple Drug Resistant Salmonella Typhi =MDRST) یک تهدید جهانی محسوب می‌شود (۴). بنابراین، یافتن و یا سنتز مواد ضد میکروبی جدید برای تقابل با مشکل مقاومت آنتی‌بیوتیکی از اهمیت بسیاری برخوردار است. از همین روی، امروزه توجهات بسیاری معطوف به نانوذرات است که به واسطه خواص فیزیوشیمیایی خود، که ناشی از اندازه کوچک و سطح ویژه بالای آنهاست، اثرات ضد میکروبی برجسته‌ای دارند. (۶). شرایط ویژه باکتری همانند دیواره سلولی،

مسیرهای متابولیکی و یا شرایط فیزیولوژیکی پلانکتونیک، تأثیرگذاری نانوذرات بر روی باکتری هدف مؤثر هستند. نانوذرات به طور کلی با تأثیرگذاری مخرب بر بار غشاء سلول باکتری و یکپارچگی آن و تولید رادیکال‌های اکسیژن آزاد (ROS) باعث نابود شدن باکتری هدف می‌شوند (۷). نانوذرات اکسید مس (CuO) اخیراً به‌عنوان یک ماده ضد میکروبی مدنظر قرار گرفته‌اند. ویژگی‌های باکتری کشی نانوذرات، وابسته به اندازه آنها، پایداری و غلظت مورد استفاده به عنوان ماده ضد باکتریایی است. نانوذرات به‌شدت یونی اکسید مس، می‌توانند در مورفولوژی‌های کریستالی و با سطح ویژه بالا سنتز شوند (۸، ۹). Ramyadevi و همکارانش، اثرات ضد میکروبی نانوذره مس را بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کولی و کلبسیلا پونومونیه سنجیدند که نتایج آن‌ها حاکی از تأثیرات ضد میکروبی نانوذره مس بود (۱۰). Akhavan و همکارانش اثرات نانوذره مس و اکسید مس که بر روی فیلم سیلیکا بارگذاری شده بود را گزارش کرده نازک و بیان داشتند که تأثیرات مهارتی نانوذره مس بر باکتری اشریشیاکولی، قوی‌تر از نانوذره اکسید مس است (۱۱). هدف از انجام تحقیق حاضر نیز با توجه به مقاوم

* مسئول مقاله: فرهاد عوبری

آدرس: کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی. تلفن: ۰۸۳-۳۴۲۳۳۴۵۲

E-mail: farhadobari@yahoo.com

و انکوبه شدند. غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید مس با استفاده از محیط تریپتون سوی براث (Merck-Germany) تهیه شد. غلظت ۰/۵ مک فارلند از سوسپانسیون باکتری تهیه شد. در ادامه از رقیق‌سازی به‌وسیله محیط پیتون واتر (Merck-Germany) استفاده شد و رقت‌های ۲ تا ۷ برابر رقت از محلول‌های اصلی نانوذره اکسید مس در لوله‌های حاوی BHI تهیه شد. سپس به میزان ۱۶۰ μl از BHI، ۲۰ ml از غلظت‌های تهیه‌شده نانوذرات اکسید مس و ۲۰ ml از تلقیح باکتریایی برای هر نانوذره و هر باکتری به‌صورت جداگانه به چاهک‌های میکروپلیت افزوده شد. برای کنترل مثبت ۲۰۰ μl از محیط BHI و نانوذرات و برای کنترل منفی ۱۸۰ μl از محیط BHI همراه با ۲۰ μl از تلقیح باکتریایی به چاهک‌ها افزوده شد. پس از انکوباسیون، اولین چاهک شفاف MIC و دومین چاهک شفاف MBC در نظر گرفته شدند.

بررسی سینتیک مرگ باکتری در محیط براث: برای انجام این تست، در چهار لوله آزمایش، ۸ ml میلی لیتر محیط BHI مایع ریخته شد و ۱ ml از کشت ۱۸ ساعته باکتری‌ها به محیط BHI مایع تلقیح شد. سپس با افزودن ۱ ml از محلول نانوذره اکسید مس (هر کدام از اندازه‌ها به‌صورت جداگانه) به لوله‌ها، رقت‌های ۰/۱ و ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ تهیه شد. به لوله چهارم به‌عنوان کنترل، سرم فیزیولوژی اضافه شد. سپس محیط‌ها در ۳۷ °C با دور ۱۵۰ rpm انکوبه گردیدند و در فواصل زمانی صفر، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه از هر کدام از غلظت‌های مورد نظر در زمان‌های مشخص شده رقت سازی انجام گرفته و در پلیت های حاوی محیط کشت BHI آگار کشت داده شد. در ادامه پلیت های انکوبه شدند و بعد از انکوباسیون تعداد باکتری‌های زنده مانده با استفاده از کلونی کانتیر شمارش گردید.

آزمون‌های آماری: جهت آنالیز آماری نتایج از آزمون‌های واریانس یک‌طرفه و دوطرفه و از آزمون تکمیلی scheffe استفاده شد و $p < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی اندازه و مورفولوژی نانوذرات اکسید مس: در بررسی اندازه نانوذرات سنتز شده اکسید مس به‌وسیله دستگاه زتا سایزر نشان داد که نانوذرات اکسید مس با دو اندازه تقریبی ۳۳ nm و ۵۶ nm سنتز شده‌اند (شکل ۱). بررسی‌های میکروسکوپ SEM گویای مورفولوژی ذره‌ای این نانوذرات بود (شکل ۱ و ۲). نتایج آزمون انتشار دیسک و آزمون انتشار چاهک: داده‌های به‌دست آمده گویای این هستند که نانوذره با اندازه کوچک‌تر (۳۳ nm) اثرات مهارکنندگی بیشتری بر روی هر دو باکتری مورد تحقیق نسبت به نانوذره با اندازه بزرگ‌تر (۵۶ nm) دارد و همچنین اثرات ضد باکتریایی نانوذره اکسید مس بر شیگلایسوتنی، بیشتر از تأثیر بر سالمونلاتیفی موریوم بود (جدول ۱).

نتایج آزمون MIC و MBC نانوذرات اکسید مس: داده‌های به‌دست آمده در تعیین MIC و MBC نشان می‌دهند که نانوذره اکسید مس دارای اثرات ضد باکتریایی قابل توجه بر روی باکتری‌های شیگلایسوتنی و سالمونلا تیفی موریوم است. نتایج آزمون نشان می‌دهند که تأثیر مهارتی نانوذره ۳۳nm بر باکتری شیگلایسوتنی بیشتر از سالمونلا تیفی موریوم است (جدول ۲).

نتایج آزمون سینتیک مرگ باکتری: در تیمار باکتری شیگلایسوتنی در رقت ۰/۱ بیشترین اثر مهارتی و در ۰/۰۰۱ کمترین اثر مهارتی نانوذره ۳۳nm مشاهده می‌شود (نمودار ۱ A) و در تیمار با نانوذره ۵۶nm در رقت ۰/۱ بیشترین اثر

شدن باکتری‌های گرم منفی و چالش‌های ناشی از آن، بررسی اثرات ضد باکتریایی نانوذره اکسید مس به عنوان یک ماده آنتی باکتریال جدید در دو اندازه مختلف و وابسته به غلظت‌های مختلف بر روی دو باکتری گرم منفی شیگلایسوتنی و سالمونلا تیفی موریوم است.

مواد و روش‌ها

مواد و سوش ها باکتری‌های مورد بررسی: این مطالعه از نوع بنیادی-کاربردی و پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه انجام پذیرفت. در این مطالعه از سوش باکتری شیگلایسوتنی (ATCC ۹۳۹۰) و سالمونلا تیفی موریوم (PTCC ۱۶۰۹) و محیط‌های کشت، مولر هینتون آگار، نوترینت براث، BHI، تریپتون سوی براث، آب پیتونه (پیتون واتر) و آگار مغزی استفاده شد. تمام محیط‌های کشت از کمپانی مرک (Merk) تهیه شدند.

سنتز و بررسی خصوصیات نانوذره اکسید مس

سنتز نانوذره اکسید مس: برای تهیه محلول آبی کلئید مس، از روش شیمیایی احیای تک‌مرحله‌ای Han و همکارانش استفاده شد (۱۲). در این روش از ۲ gr ۰/۲۵ سولفات مس ۵ آب (CuSO4.5H2O) محلول در ۱۰۰ ml آب مقطر و ۵ gr گرم پلی وینیل پیرولیدون (PVP-K30) (Merck-Germany) و نیز از ۰/۲۵ gr NaBH4 برای احیای اکسید مس استفاده شد. مقادیر مختلف اسکورییک اسید به‌منظور تهیه اکسید مس با اندازه‌های مختلف استفاده شد.

بررسی خصوصیات نانوذره: برای بررسی اندازه و مورفولوژی نانوذرات اکسید مس به ترتیب از دستگاه زتا سایزر (۲۵- Malvern zeta sizer nano) و میکروسکوپ الکترونی (SEM) (MIRA3 - TESCAN) استفاده شد.

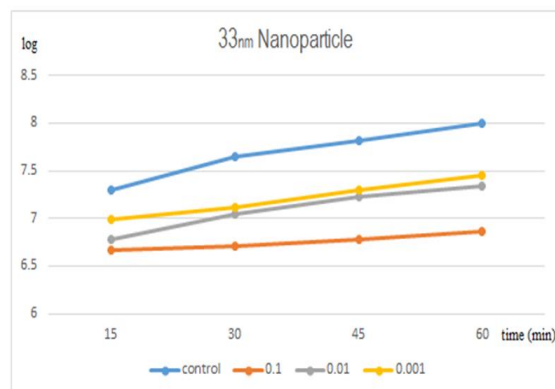
آزمایش‌های تعیین حساسیت ضد میکروبی نانوذره اکسید مس

آزمون انتشار دیسک: برای انجام این آزمون، کشت ۲۴ ساعته از باکتری‌های شیگلایسوتنی و سالمونلا تیفی موریوم در محیط BHI (Merck-Germany) تهیه گردید. سپس کدورت کشت باکتری‌ها با استفاده از روش استاندارد ۰/۵ مک فارلند (بهارافشان-ایران) به‌صورت چشمی و با استفاده از اسپکتروفتومتر تنظیم شد. سوش باکتری‌ها به‌صورت جداگانه از سواب سترون روی مولرین هینتون آگار (Merck-Germany) کشت داده شد و از هر دو نانوذره به مقدار ۲۰ μl روی دیسک‌های استاندارد (پادتن-ایران) سترون بارگذاری شد. برای شاهد نیز از دیسک‌های سترون (پادتن-ایران) لود نشده استفاده شد. پس از انکوباسیون قطر هاله عدم رشد اندازه گیری شد.

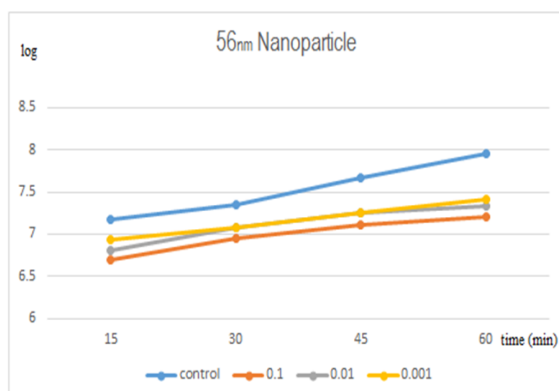
آزمون انتشار در چاهک آگار: برای انجام این آزمون، سوسپانسیون باکتریایی با غلظت ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. سپس نمونه باکتری بر روی مولرین هینتون آگار کشت داده شده و با استفاده از پانچ استریل در داخل پلیت، چاهک ایجاد شد. هر چاهک با ۱۰ mg/ml از هر دو نمونه نانوذره به‌طور جداگانه بر روی پلیت های جداگانه تلقیح شد و چاهک حاوی حلال DMSO (Merck-Germany) به‌عنوان شاهد تهیه شد. پس از انکوباسیون، قطر هاله عدم رشد اندازه گیری شد. آزمایش تعیین MIC و MBC: برای تعیین MIC و MBC از روش Broth Microdilution MIC Testing استفاده شد. در این روش از میکروپلیت های ۹۶ خانه‌ای (SPL-South Korea) با توجه به روش Raeisi و همکارانش استفاده شد (۱۳). هر دو باکتری شیگلایسوتنی و سالمونلا تیفی موریوم به‌صورت جداگانه در محیط BHI مایع (Merck-Germany) کشت داده‌شده

جدول ۲. نتایج MIC و MBC شیگلایسوسنی و سالمونلا تیفی موریوم در تیمار با دو اندازه از نانوذره اکسید مس

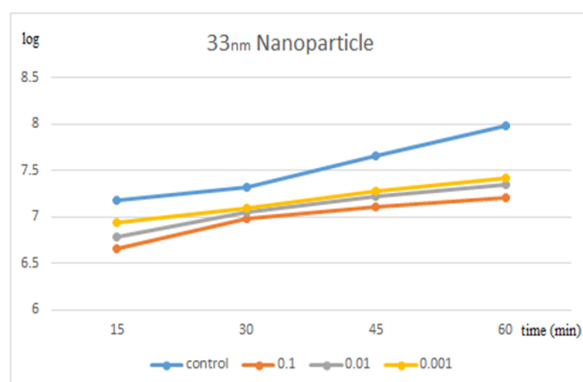
بakteri	۳۳ nm	۵۶ nm
شیگلایسوسنی	۲۵۰۰ mg/ml ≥۵۰۰۰ I.U/ml	۵۰۰۰ mg/ml ≥۱۰۰۰۰ I.U/ml
سالمونلا تیفی	۵۰۰۰ mg/ml ≥۱۰۰۰۰ I.U/ml	۵۰۰۰ mg/ml ≥۱۰۰۰۰ I.U/ml



نمودار A۱. نمودار سینتیک مرگ باکتری شیگلایسوسنی نسبت به تیمار با نانوذرات ۳۳nm برحسب زمان

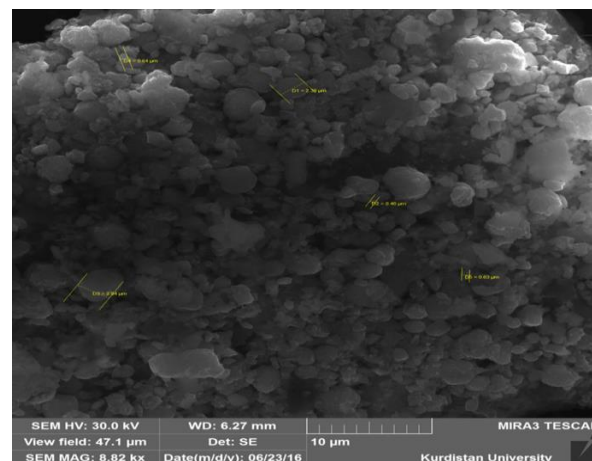


نمودار B۱. نمودار سینتیک مرگ باکتری شیگلایسوسنی نسبت به تیمار با نانوذرات ۵۶nm برحسب زمان



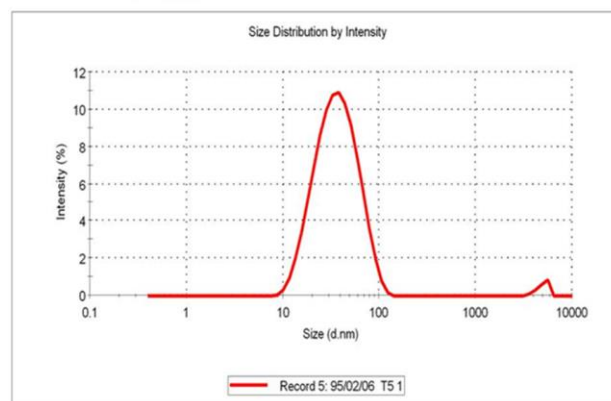
نمودار A۲. نمودار سینتیک مرگ باکتری سالمونلا تیفی موریوم نسبت به تیمار با نانوذرات ۳۳nm برحسب زمان

مهاریدررقت ۰/۰۰۱ کمترین اثر مهاری دیده می شود (نمودار ۱ B). در تیمار باکتری سالمونلا تیفی موریوم با نانوذره ۳۳nm، در رقت ۰/۱ بیشترین اثر مهاری و در ۰/۰۰۱ کمترین اثر مهاری مشاهده می شود (نمودار ۲ A) و در تیمار با نانوذره ۵۶nm، مشخص شد که اثر مهاری رشد در رقت ۰/۱ از نانوذره، دارای اثر چشمگیرتر خاصیت ضدباکتریایی نسبت به تیمارهای دیگر است (نمودار ۲ B).



شکل A۱. مورفولوژی نانوذره ۳۳nm اکسید مس با میکروسکوپ SEM

	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (d.nm): 33.35	Peak 1: 39.63	98.1	19.41
Pdl: 0.236	Peak 2: 4977	1.9	620.0
Intercept: 0.946	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality : Good			



شکل B۱. تعیین اندازه نانوذره ۳۳nm با دستگاه زتاسایزر

جدول ۱. نتایج آزمون های انتشار دیسک و چاهک در تیمار باکتری های شیگلایسوسنی و سالمونلا تیفی موریوم با دو اندازه مختلف از نانوذرات اکسید مس

بakteri	انتشار دیسک	انتشار چاهک	کنترل منفی در هر دو آزمون
شیگلایسوسنی	۳۳ nm ۲۵±۲mm	۳۱/۵±۱/۵ mm	•
•	۵۶ nm ۱۷±۲/۵mm	۲۳±۱/۵ mm	•
سالمونلا	۳۳ nm ۱۸±۲ mm	۲۶±۲ mm	•
تیفی	۵۶ nm ۱۵±۲ mm	۲۲±۲ mm	•

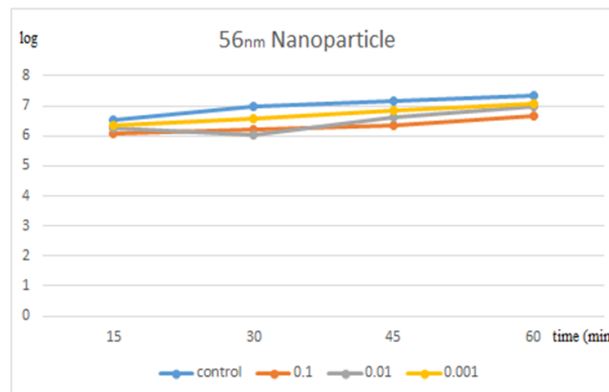
باکتریایی قوی‌تری از خود نشان می‌دهند (۶). در مطالعه حاضر سعی بر نشان دادن تفاوت در اثرات ضد باکتریایی دو اندازه مختلف از نانوذره اکسید مس شد. نتایج نشان دادند که نانوذره کوچک‌تر (۳۳nm) اثرات کشندگی بیشتری در غلظت و زمان مشخص نسبت به نانوذره بزرگ‌تر (۵۶nm) دارد. از جمله دلایل این موضوع می‌توان به این مورد اشاره کرد که نانوذرات کوچک‌تر لبه‌ها و گوشه‌های در معرض تری برای آزادسازی یون‌های خود دارند که این یون‌ها به نوبه خود اثرات کشندگی بیشتر را ایجاد می‌کنند.

افزون بر آن، اثرات ضد میکروبی نانوذره بر باکتری شیگلایکسوسنی چشمگیرتر است و همچنین نتایج ثابت می‌کنند که علاوه بر اندازه نانوذرات اکسید مس، غلظت مورد استفاده از آنها در مجاورت با باکتری‌های مورد تحقیق در میزان کشندگی این نانوذرات فاکتورهای طلایی محسوب می‌شوند. از طرفی آزاد شدن یون‌های Cu^{2+} در محیط کشت نوترینت به سهولت انجام می‌پذیرد (۸) که در مورد مطالعه اثرات ضد باکتریایی نانوذرات اکسید مس همانند مطالعه حاضر، آزادسازی تسهیل شده Cu^{2+} در محیط نوترینت می‌تواند بر اثرات باکتری کشی آن مؤثر بوده باشد. یک مزیت مهم در استفاده از نانوذرات مس در غلبه بر باکتری‌های مقاوم به دارو در این است که مقاوم شدن باکتری‌ها به این نوع مواد، از احتمال بسیار کمی برخوردار است.

چرا که مکانیسم ضد باکتریایی نانوذرات چند عملکردی بوده و به طور هم‌زمان دیواره سلولی، سیستم تنفس سلولی، مکانیسم ژنومی و فرآیند پروتئین‌سازی را هدف قرار می‌دهد. در واقع باکتری فرصت زمانی، پتانسیل ترمیم و امکان دست یافتن به رهیافت برای بقا را نخواهد داشت. با توجه به سنتز کم‌هزینه و اثرات ضد باکتریایی قابل توجه نانوذرات اکسید مس به نظر می‌رسد که توسعه و استفاده از این نانوذرات در اندازه‌های کوچک‌تر و یا بارگذاری شده بر روی سطوح به عنوان عامل ضد میکروبی در مقابله با سویه‌های مقاوم باکتریایی در گندزدایی اماکن درمانی و یا نظامی می‌تواند هدفی مناسب باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به سبب در اختیار نهادن امکانات آزمایشگاهی و همچنین از شرکت آرشاطب (سینا تشخیص) به دلیل تأمین مواد آزمایشگاهی تحقیق، تشکر و قدردانی می‌گردد.



نمودار ۲ B. نمودار سینتیک مرگ باکتری سالمونلا تیفی موریوم نسبت به تیمار با نانوذرات ۵۶nm برحسب زمان

تحلیل‌های آماری در مورد اثرات نانوذرات اکسید مس بر روی باکتری‌های شیگلایکسوسنی و سالمونلا تیفی موریوم گویای آن بودند که تفاوت معنی‌داری بین لگاریتم تعداد باکتری‌ها در زمان‌های مختلف و نیز در بین نانوذرات با اندازه‌های مختلف با گروه کنترل وجود دارد. همچنین تفاوت معنی‌داری بین اثر نانوذرات ۳۳nm و ۵۶nm وجود داشت ($p=0.000$).

بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که از نانوذره اکسید مس، می‌توان در غلبه بر باکتری‌های گرم منفی شیگلایکسوسنی و سالمونلا تیفی موریوم استفاده کرد. اثرات ضد میکروبی این نانوذرات وابسته به خواص فیزیکی و شیمیایی و عملکردی آن‌ها است (۱۴). به نظر می‌رسد که فاکتورهای کلیدی در اثرگذاری نانوذرات اکسید مس بر روی باکتری شامل اندازه، حلالیت، مدت زمان تیمار و ساختار نانوذره هستند و معمولاً مکانیسم‌های اثرگذاری مخرب آن شامل استرس‌های اکسیداتیو تأثیرات کوردیناسیون، تأثیرات غیر هموستازی و ژنو توکسیسیته است (۱۵). در مطالعه حاضر نیز مشابه با دیگر مطالعات که گویای تأثیرگذاری نانوذرات اکسید مس بر باکتری‌ها بود نشان داده شد که نانوذرات اکسید مس دارای خاصیت ضد باکتریایی چشمگیری هستند (۱۶). از آنجاییکه نانوذرات در اندازه‌های کوچک‌تر اثرات ضد

A Study of the Bactericidal Effect of Copper Oxide Nanoparticles on *Shigella Sonnei* and *Salmonella Typhimurium*

S. Babaei (MSc)¹, F. Bajelani (MSc)¹, O. Mansourizaveleh (MSc)², A. Abbasi(MSc)³, F. Oubari (MSc)^{*4}

1.Department of Microbiology, Department of Science and Research Sanandaj, Sanandaj Islamic Azad University, Sanandaj, I.R.Iran.

2.Department of Biochemistry, Department of Science and Research Sanandaj, Sanandaj Islamic Azad University, Sanandaj, I.R.Iran.

3.Department of Immunology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R.Iran.

4.Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, I.R.Iran.

J Babol Univ Med Sci; 19(11); Nov 2017; PP: 76-81

Received: May 13th 2017, Revised: Aug 15th 2017, Accepted: Sep 21th 2017.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Microbial resistance is one of the most important challenges in dealing with infectious diseases. Therefore, finding or synthesizing new antimicrobial agents is very important. Copper oxide (CuO) is considered for its antibacterial effect against microbial resistance. This study was conducted to investigate the antibacterial effects of copper oxide nanoparticles on *shigella sonnei* and *salmonella typhimurium* bacteria, which have new strains associated with microbial resistance.

METHODS: In this applied fundamental research, copper oxide nanoparticles were synthesized from copper sulfate in sizes of 33 and 56 nm, using a chemical reduction method. Then, the antibacterial effects of copper oxide nanoparticles on the standard strain of *shigella sonnei* (ATCC-9290) and *salmonella typhimurium* (PTCC-1609) were investigated using minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC) and bacterial death kinetics.

FINDINGS: The MIC obtained in *shigella sonnei* and *salmonella typhimurium* treatment with a 33 nm nanoparticle were 2500mg/ml and 5000 mg/ml, respectively, and the value for 56 nm nanoparticle for both bacteria was 5,000mg/ml. The obtained MBC in the treatment of *shigella sonnei* and *salmonella typhimurium* using 33 nm nanoparticle was 5000≤IU/ml and 10,000≤IU/ml, respectively, and the same for 56 nm nanoparticle for both bacteria was equal to 10,000≤IU/ml.

CONCLUSION: The research proves that copper oxide nanoparticles have a bactericidal effect on *shigella sonnei* and *salmonella typhimurium*, and that the bactericidal effect of smaller nanoparticles is greater than that of bigger nanoparticles, while the antibacterial effects on *shigella sonnei* was more significant.

KEY WORDS: Copper Oxide Nanoparticle, *Shigella Sonnei*, *Salmonella Typhimurium*, MIC, MBC, Bacterial Death Kinetics.

Please cite this article as follows:

Babaei S, Bajelani F, Mansourizaveleh O, Abbasi A, Oubari F. A Study of the Bactericidal Effect of Copper Oxide Nanoparticles on *Shigella Sonnei* and *Salmonella Typhimurium*. J Babol Univ Med Sci; 2017;19(11):76-81.

* Corresponding author: F. Oubari (MSc)

Address: Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, I.R.Iran.

Tel:+98 83 34243452

E-mail: farhadobari@yahoo.com

References

1. Schroeder G.N, Hilbi H. Molecular pathogenesis of shigellaspp: controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clin Microbiol Rew.* 2008;21(1):134-56.
2. McIver Ch, White P, Jones L, Karagiannis T, Harkness J, Marriott D, Rawlinson W. Epidemic strains of shigellasonnei biotype g carrying integrons. *J Clin Microbiol.* 2002;40(4):1538-40.
3. Andino A, Hanning I. Salmonella enterica: survival, colonization, and virulencedifferences among serovars. *Sci World J.* 2015.
4. Ugboko H, De N. Mechanisms of antibiotic resistance in salmonella typhi. *Int J Curr Microbiol App Sci.* 2014;3(12):461-76.
5. Cavallaro E, Medus C, Kim C, Phan Q, Adams J, GernerSmidt P, et al. Salmonella typhimurium infections associated with peanut products. *N Engl J Med.* 2011;365:601-10.
6. Hosseinkhani P, Zand AM, Imani S, Rezayi M, RezaeiZarchi S. Determining the antibacterial effect of ZnO nanoparticle against the pathogenic bacterium Shigelladysenteriae (type 1). *Int J Nano Dim.* 2011;1(4):279-85.
7. Beyth N, Houri-Haddad Y, Domb A, Khan W, Hazan R. Alternative antimicrobial approach:nano-antimicrobial materials. *Evid-Based Complement Alternat Med.* 2015;2015.
8. Shaffiey SF, Shapoori M, Bozorgnia A, Ahmadi M. Synthesis and evaluation of bactericidal properties of CuO nanoparticles against Aeromonashydrophila. *Nanomed J.* 2014;1(3):198-204.
9. Ren G, Hu D, Cheng E, Vargas-Reus M, Reip P, Allaker R. Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *Int J Antimicrob Agents.* 2009;33(6):587-90.
10. Ramyadevi J, Jeyasubramanian K, Marikani A, Rajakumar G, AbdulRahuman A. Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. *Mater Lett.* 2012;71(15):114-6.
11. Akhavan O, Ghaderi E. Cu and CuO nanoparticles immobilized by silica thin films as antibacterial materials and photocatalysts. *Sur Coat Technol.* 2010;219-23.
12. Han T, Song ZR, He JH, Li S. Influence of ascorbic acid on the stabilization of the copper suspension colloids. *Optoelectron Adv Mater* 2014;2:180-3.
13. Raeisi M, Tajik H, RazaviRohani SM, Tepe B, Kiani H, Khoshbakht R, ShirzadAski H, Tadrissi H. Inhibitory effect of Zataria multiflora Boiss. essential oil, alone and in combination with monolaurin, on Listeria monocytogenes. *Veter Res Forum.* 2016;7(1):7-11.
14. Yah CS, Simate GS. Nanoparticles as potential new generation broad spectrum antimicrobial agents. *DARU J Pharma Sci.* 2015;23:43.
15. Chang Y, Zhang M, Xia L, Zhang J, Xing G. The toxic effects and mechanisms of cuo and zno nanoparticles. *Materials* 2012;(5):2850-71.
16. Ahamed M, Alhadlaq HA, Khan MA, Karuppiah P, Al-Dhabi NA. Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles. *J Nanomater.* 2014.