

بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین و اثر ضد باکتریایی نانو ذرات نقره و مس بر روی آن در شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی

سیده صبا هاشمی^۱، رسول شکری^۲

۱- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات زیست شناسی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

۲- استادیار، مرکز تحقیقات زیست شناسی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران. نویسنده مسئول: rsh.bio42@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۰۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۸

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به مقاومت دارویی بالای استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، این مطالعه برای بررسی اثر نانو ذرات نقره، مس و اثر ترکیبی آن ها بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی انجام پذیرفت.

مواد و روش ها: برای تشخیص موثرترین آنتی بیوتیک، روش انتشار در آگار انجام شد. برای تعیین حداقل غلظت مهاري (MIC) و کشندگی (MBC) از روش رقت در برآث استفاده شد. همچنین برای بررسی تاثیر نانو ذرات و آنتی بیوتیک، آزمایشات لازم در مدل حیوانی انجام گرفت. بدین منظور پس از تلقیح داخلی صفاقی سوسپانسیون باکتریایی، غلظت های MBC بدست آمده از روش رقت در برآث نانو ذرات، ترکیب آن ها و آنتی بیوتیک به موش های مورد بررسی تزریق و پس از کشت طحال، شمارش کلنی انجام گردید.

نتایج: موثرترین آنتی بیوتیک بر روی باکتری مذکور، آنتی بیوتیک ونکومايسين بود. MIC نانو ذرات نقره، مس، ونکومايسين، نانو ذرات نقره-مس، نانو ذرات نقره-ونکومايسين، نانو ذرات مس-ونکومايسين به ترتیب ۱۲۵۰ ppm، ۲۵۰۰ ppm، ۷۸/۱۲ ppm، ۶۲۵ ppm و ۳۵ ppm و ۲۵۰ ppm بود. در مدل حیوانی کمترین تعداد کلنی مربوط به نانو ذرات نقره و سپس ترکیب نانو ذرات نقره - ونکومايسين می باشد.

نتیجه گیری: نتایج نشان می دهد که اثر ضد میکروبی نانو ذرات نقره نسبت به ونکومايسين و نانو ذره مس بیشتر می باشد. همچنین ترکیب نانو ذرات نقره و مس باعث افزایش قدرت ضد میکروبی آن ها می گردد. همچنین ترکیب نانو ذرات نقره-ونکومايسين پس از انجام آزمایشات تکمیلی می تواند کاندیدی برای درمان عفونت های حاصل از این باکتری ها باشد.

کلمات کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، نانو ذرات نقره، نانو ذرات مس، ونکومايسين

مقدمه

یکی از مشکلاتی که در جامعه با آن مواجه هستیم بحث مقاومت دارویی در باکتری ها و مصرف روز افزون داروهای شیمیایی می باشد. مقاومت دارویی در گونه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از بزرگترین مشکلات بخش درمانی می باشد (۱). استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم ترین دلایل عفونت های بیمارستانی است که باعث بروز برخی از بیماری ها مثل سندروم شوک سمی، استئومیلیت، پنومونی، کورک، کفگیرک و سایر بیماری ها می شود. (۲) به خاطر مقاومت بالای استافیلوکوکوس اورئوس به برخی آنتی بیوتیک ها مثل پنی سیلین و سفالوسپورین، آنتی بیوتیک مناسبی برای درمان قطعی عفونت های ناشی از این باکتری در دسترس نیست. (۳) طبق استانداردهای CLSI در سال ۱۹۹۲ میزان مقاومت به متی سیلین ۳۵/۹ درصد و در سال ۲۰۰۳ میزان ۶۴/۴ درصد بود. (۴) به دلیل مقاومت باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به اکثر آنتی بیوتیک ها و شیوع باکتری مقاوم در جامعه، محققان و پژوهشگران به فکر جایگزینی مناسب به جای آنتی بیوتیک ها افتادند و نانو ذره نقره به دلیل قدمت چند هزار ساله مجدداً مورد مطالعه پژوهشگران قرار گرفت و از نانو ذرات نقره برای از بین بردن برخی باکتری ها استفاده شد. (۶و۷) نانو ذره مس دارای خصوصیات منحصر به فردی از جمله فعالیت های کاتالیزوری، ضد قارچی و ضد باکتریایی می باشند. خاصیت کاتالیزوری نانو ذرات مس بسیار قوی می باشد. با توجه به اینکه نانو ذره مس دارای اندازه کوچک و تخلخل بزرگ می باشند، دارای خصوصیات ضد باکتریایی و ضد قارچی می باشند. (۸) هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر نانو ذرات نقره، مس، آنتی بیوتیک و ترکیب آن ها بر روی باکتری

استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی می باشد.

مواد و روش ها

مواد شیمیایی و محیط کشت از شرکت مرک آلمان تهیه شده و پلیت ۹۶ خانه ای، پلیت یک بار مصرف و سمپلر و پلیت ها از شرکت فراز بین طب ایران تهیه شده است. سویه ی استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از بانک میکروبی انستیتو پاستور ایران (ATCC:43300) تهیه گردید. پس از تکثیر سویه باکتریی مورد نظر در محیط کشت مولر هینتون آگار، جهت نگهداری باکتری، از محیط مولر هینتون برات حاوی ۱۵ درصد گلیسرول استفاده و در میکروتیوب های استریل و در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید. جهت تهیه غلظت های مختلف نانو ذرات مس، ۴ گرم پودر نانو ذرات مس با ۱۰۰ سی سی آب مقطر دیونیزه مخلوط و با دستگاه اولتراسونیک (مدل UP200H شرکت hielscher) به مدت نیم ساعت با قدرت k60 مخلوط و غلظت $40000 \mu\text{g/ml}$ از آن ساخته شد. محلول نانو ذرات نقره به صورت آماده (شرکت نانو نصب پارس) با قطر ۳ الی ۱۸ نانومتر و با غلظت $4000 \mu\text{g/ml}$ تهیه شده و جهت ایجاد غلظت های مختلف، از آب مقطر استریل استفاده گردید. یک گرم پودر آنتی بیوتیک ونکومایسین (شرکت بیوبیسیک کانادا) با ۲۵ سی سی آب مقطر استریل مخلوط و غلظت 40000 حاصل شد و سایر غلظت های مورد نیاز از آن تهیه گردید. (۹)

جهت تهیه سوسپانسیون باکتریایی یک میلی لیتر آب مقطر استریل داخل لوله آزمایش استریل ریخته و در آن از سویه استاندارد باکتری مورد نظر کدورتی معادل با نیم مک فارلند تهیه شد.

دیگر نانو ذرات مس و در آخرین میکروپلیت آنتی بیوتیک و نکومایسین ریخته شد و سپس داخل تمام خانه ها، ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری اضافه گردید. لازم به ذکر است که در میکروپلیت هایی که اثر ترکیبی بررسی می شد، داخل هر چاهک مخلوطی از ترکیبات مورد نظر به مقدار ۵۰ میکرولیتر از هر ترکیب افزوده شد. همچنین برای هر کدام از گروه های ذکر شده یک چاهک کنترل مثبت با افزودن باکتری بدون دارو و یک چاهک کنترل منفی بدون حضور باکتری در نظر گرفته شد. (۱۲) در پایان میکروپلیت ها ۲۰ دقیقه داخل شیکر قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند و پس از مدت زمان لازم، چاهک ها از لحاظ کدورت بررسی شدند (شکل ۱).

بررسی اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نقره، مس، و نکومایسین و ترکیب آن ها در مدل حیوانی

برای انجام این مرحله از ۳۵ سر موش سوری ماده بالغ ۶ الی ۸ هفته ای به وزن ۲۵ گرم استفاده گردید. موش ها به ۷ دسته ۵ تایی تقسیم شدند و ۵ سر موش برای هر کدام از گروه های مورد مطالعه شامل نانو ذرات نقره، نانو ذرات مس، و نکومایسین، نانو ذرات نقره - مس، نانو ذرات نقره - نکومایسین، نانو ذرات مس - نکومایسین و ۵ سر به عنوان شاهد مورد آزمایش قرار گرفتند. ابتدا برای ایجاد عفونت، تحت شرایط استریل و کنار شعله ۲ سی سی سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده معادل نیم مک فارلند به صورتی درون صفاقی به همه ۳۵ سر موش تزریق شد. بعد از گذشت ۴۸ ساعت از ایجاد عفونت، ۲۰۰ میکرولیتر از محلول گروه های مورد بررسی (با غلظت MBC حاصل از روش رقت در براث) به موش های مورد نظر بصورت درون صفاقی تزریق گردید و ۴۸ ساعت بعد جهت بررسی اثر ضد

تعیین حساسیت دارویی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین با روش دیسک دیفیوژن

برای بررسی حساسیت باکتری مورد نظر به انواع آنتی بیوتیکها از تست آنتی بیوگرام به روش دیسک دیفیوژن (Diffusion Disk) استفاده گردید. (۸) بدین ترتیب که از سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند از باکتری مورد آزمایش، تلقیح بر روی محیط مولر هینتون آگار انجام شد. پس از مدت کوتاهی از تلقیح باکتریها، توسط پنس استریل دیسک های آنتی بیوتیکی مورد نظر بر روی محیط کشت قرار داده شد. در انجام این تست از ۱۲ دیسک آنتی بیوتیکی ذیل استفاده شد. (۱۴)

سیروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، اگزاسیلین (۱ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۱۲/۵ میکروگرم)، ریفامپین (۳۰ میکروگرم)، متی سیلین (۳۰ میکروگرم)، پنی سیلین (۱۰ واحد)، سفنازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفالوتین (۳۰ میکروگرم) و کلواگزاسیلین (۵ میکروگرم). سپس پلیت ها را در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرارداده و بعد از ۲۴ ساعت، قطر هاله عدم رشد با توجه به استاندارد CLSI بررسی گردید (۱۱ و ۱۰).

بررسی اثر ضد باکتریایی نانو ذرات نقره، مس، و نکومایسین و ترکیب آن ها بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین به روش مایکرودیبلوشن

برای انجام این آزمایش، در میکروپلیت های ۹۶ خانه ای ابتدا داخل هر خانه ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مایع مولر هینتون براث ریخته و به هر یک از خانه ها به طور مجزا در یک میکروپلیت نانو ذرات نقره، در میکروپلیت

آماري ANOVA انجام گرفت. مرز معنی داری روی $P < 0/05$ قرار داده شد.

نتایج

در تست تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی، قطر هاله بوجود آمده اطراف دیسک ها اندازه گیری و حساسیت و مقاومت باکتری براساس استاندارد CLSI مشخص شد و آنتی بیوتیک ونکومايسين با قطر هاله ۱۲mm به عنوان حساس ترین آنتی بیوتیک شناخته شد. با مشخص شدن این آنتی بیوتیک، پودر آن جهت انجام آزمایشات بعدی تهیه و غلظت های مختلف آن تهیه گردید.

باکتریایی، موش ها با استفاده از محلول اتر کشته شده و پس از خارج کردن طحال و توزین آن، ابتدا طحال موش ها با استفاده از قیچی جراحی هموژنیزه شده و در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، شمارش کلنی انجام گردید. (۴) نتایج این تحقیق در شرایط آزمایشگاهی به صورت میانگین با ۳ بار تکرار انجام گرفته و در مدل حیوانی با تعداد گروه های ۵ تایی ارائه شده است. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار spss و آزمون



شکل ۱- تست مایکرودیولوشن جهت تعیین MIC و MBC گروه های درمانی

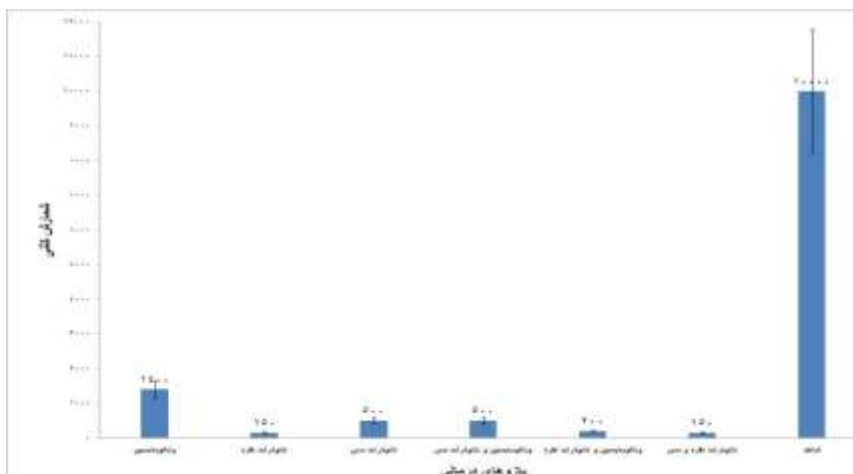
در کل نانو ذرات نقره با کمترین میزان MIC و MBC در مقایسه با نانو ذرات مس، ونکومايسين و گروه های ترکیبی، اثر ضد باکتریایی قوی تری از خود نشان داد. در آزمایش مدل حیوانی و طبق نمودار ۱ کمترین تعداد کلنی مربوط به موش هایی بود که با نانوذرات نقره تحت درمان قرار گرفته بودند. پس از نانوذرات نقره، کمترین تعداد کلنی مربوط به ترکیب نانوذرات نقره - ونکومايسين و پس از آن ترکیب نانوذرات نقره - نانوذرات مس می باشد. در این مطالعه اختلاف معنی داری بین متوسط شمارش کلنی در گروه های ذکر شده مشاهده گردید ($P < 0/05$).

طبق نتایج به دست آمده از آزمایش رقت در برات، کمترین MIC و MBC به ترتیب با مقادیر $8 \mu\text{g/ml}$ و $16 \mu\text{g/ml}$ مربوط به نانو ذرات نقره و بیشترین MIC و MBC به ترتیب با $250 \mu\text{g/ml}$ و $500 \mu\text{g/ml}$ بطور مساوی مربوط به نانو ذرات مس و ونکومايسين می باشد (شکل ۱).

علاوه بر این از گروه های درمانی ترکیبی مورد آزمایش، تاثیر ضد باکتریایی مطلوب در ترکیب نانوذرات نقره - ونکومايسين با MIC و MBC به ترتیب با $68 \mu\text{g/ml}$ و $34 \mu\text{g/ml}$ مشاهده گردید (جدول ۱).

جدول ۱- میزان MIC و MBC نانو ذرات نقره، مس، ونکومايسين و ترکیبی آنها (میکروگرم بر میلی لیتر)

	نانو ذرات نقره	نانو ذرات مس	ونکومايسين	نانو ذرات نقره - مس	نانو ذرات نقره - ونکومايسين	نانو ذرات مس - ونکومايسين
MIC	۸	۲۵۰	۲۵۰	۶۴	۳۴	۲۵۰
MBC	۱۶	۵۰۰	۵۰۰	۱۲۵	۶۸	۵۰۰



نمودار ۱- نتایج حاصل از شمارش کلنی از نمونه‌های طحال جدا شده از موش‌های مورد بررسی

بحث:

سال ۱۹۶۰ جدا شد و در حال حاضر نیز رو به افزایش است. (۴) در سال ۲۰۰۴ سوندی و همکارانش فعالیت ضد میکروبی نانو ذرات نقره در برابر *اشرشیا کلی* را به عنوان مدلی برای باکتری‌های گرم منفی بررسی کردند. (۱۳) در سال ۲۰۰۹ جویینگ کیم و همکارانش توانایی تولید نانو ذرات نقره و همچنین طبقه بندی و قدرت ضد میکروبی آن‌ها را مورد بررسی قرار دادند و مشخص شد که این نانو ذرات، اثرات مهاری مناسبی را در برابر انواع باکتری‌های پاتوژن و غیر پاتوژن دارا می‌باشند. (۱۴) در پژوهش حاضر نیز نانو ذرات نقره نسبت به نانو ذرات مس و ونکومایسین اثر ضد باکتریایی قوی تری داشتند. در مطالعه ای که خالد و همکاران در سال ۲۰۱۵ به بررسی اثر هم افزایی و ضد باکتریایی نانو ذرات نقره بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین پرداختند به این نتیجه رسیدند که نانو ذرات نقره اثر درمانی بالا در برابر باکتری داشته و می‌تواند جایگزین آنتی‌بیوتیک شود. (۱۵) البته با توجه به سمیت نانوذرات، بایستی آزمایشات گسترده ای برای بررسی سمیت نانوذرات و تکنیک‌های احتمالی کاهش سمیت مورد توجه و بررسی قرار گیرد. تاکنون اثر سینرژیسم نانوذرات نقره و مس به همراه آنتی‌بیوتیک به

در این پژوهش مشخص شد که نانوذرات نقره با MIC و MBC به ترتیب $8\mu\text{g/ml}$ و $16\mu\text{g/ml}$ دارای بیشترین اثر بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین بوده و ترکیب گروه‌های درمانی شامل نانو ذرات نقره - مس به ترتیب $64\mu\text{g/ml}$ و $125\mu\text{g/ml}$ ، و نانو ذرات مس - ونکومایسین به ترتیب $250\mu\text{g/ml}$ و $500\mu\text{g/ml}$ می‌باشد. *استافیلوکوکوس اورئوس* از عوامل اصلی عفونتهای بیمارستانی است که شیوع آن نیز رو به ازدیاد است. این باکتری سبب ایجاد طیف وسیعی از بیماریها از جمله اندوکاردیت، استئومیلیت، پنومونی و سندرم شوک سمی می‌شود (۱). به علت گسترش روز افزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، روز به روز تعداد آنتی‌بیوتیک‌های در دسترس برای درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری کاهش می‌یابد. به طوری که در حال حاضر اغلب سویه‌های این باکتری نسبت به پنی‌سیلین و سفالوسپورین‌ها مقاوم شده‌اند و به فاصله کوتاهی بعد از عرضه متی‌سیلین که یکی از پنی‌سیلین‌های مقاوم به پنی‌سیلیناز است، سویه‌های مقاوم به آن ایجاد شدند و اولین سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین در

مقاوم به متی سیلین می باشد. پیش بینی می شود که با توجه به اختلالی که نانو ذرات در دیواره سلولی و غشاء سیتوپلاسمی باکتری ایجاد می کنند، آنتی بیوتیک ونکومايسين توانایی بیشتری در ورود به سلول باکتری یافته و اثرات میکروب کشی خود را اعمال می نماید (۱۴).

تعارض منافع

نویسندگان مقاله تعارض در منافع ندارند.

تشکر و قدردانی

از پرسنل مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان که با نویسندگان همکاری صمیمانه ای داشتند کمال تشکر و قدردانی بعمل می آید.

فهرست منابع

1. Rezazadeh M, Yousefi M, Sarmadyan H, Ghaznavi rad E. Antibiotic profile of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with multiple-drug resistances isolated from nosocomial infections in Vali-Asr hospital of arak. Arak Medical University Journal. 2013; 16(71): 29-37. (Persian)
2. Shopsin B, Kreiswirth B.N. Molecular epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Emerging Infectious Disease. 2001; 7(2):1-8.
3. Brabger C, Gardye C, Galdbart J.O, Deschamps C, Lambert N. Genetic Relationship between methicillin-sensitive and Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains from france and from International sources: Delineation of Genomic Groups. Journal of clinical microbiology. 2003; 14(7): 2946-2951.
4. Klevens RM, Edwards JR, Tenover FC, McDonald LC, Horan T, Gaynes R . Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive cure units in hospital.

صورت گسترده مورد مطالعه واقع نشده است و در مطالعات محدود انجام شده در این زمینه، مکانیسم مولکولی خاصی پیش بینی نگردیده است. اما در این پژوهش علاوه بر بررسی اثر نانو ذرات نقره و مس بر روی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین، اثر ترکیبی آن ها نیز به همراه آنتی بیوتیک ونکومايسين مورد بررسی قرار گرفت.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که با ترکیب نانو ذرات

نقره و مس با ونکومايسين، تاثیر ضد باکتریایی ونکومايسين افزایش می یابد. این امر نشان دهنده فعالیت ضد باکتریایی بسیار خوب نانو ذرات نقره و مس به همراه آنتی بیوتیک ونکومايسين بر علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

1992-2003. Clin Infect Dis. 2006; 42: 389-91.

5. Nagal, R. Singla. Nanoparticles in different delivery systems: A brief review. Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences. 2013; 3 (2): 96-106.

6. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnol Adv. 2009;(1)27: 83-76.

7. Ahmadi F, Abolghasemi S, Parhizgar N, Moradpour F. Effect of silver nanoparticles on common bacteria in hospital surface. 2013; 6(3): 209-14.

8. Ramyadevi, J.; Jeyasubramanian, K.; Marikani, A.; Rajakumar, G.; Rahuman, A. A. Synthesis and anti microbial activity of copper nanoparticles. Mater. Lett. 2012; 71: 114–116.

9. Howden BP, Ward PB, Charles PG, Korman TM, Fuller A. Treatment Outcomes for Serious Infections Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* with Reduced Vancomycin Susceptibility. Clinical Infectious Diseases 2004; 38: 521–8.

10. Shokri R, Salouti M, Sorouri Zanjani R, Heidari Z. Frequency of meticillin resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical samples in Mousavi Hospital Zanjan and recognition *mec A* gene using PCR. Journal of Microbial World. 2014; 7(1): 58-65. [In Persian]

11. Khosravi D. Explore the antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles and compared with vegetative cells and spores of *Bacillus subtilis* and sodium hypochlorite on *Bacillus cereus*, microbial biotechnology Journal of Islamic Azad University. 2010; 7(2): 37-44. (Persian)

12. Mirnejad R, Erfani M, Sadeghi B, Piranfar V. Synergistic effect of silver nanoparticles with streptomycin on the streptomycin-resistant *Brucella abortus*.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences. 2013; 15(5): 72-79.[In Persian]

13. Sondi I, sondi BS. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for gram negative bacteria, Journal of Colloid and Interface Science. 2004July; 275(1): 177-182.

14. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, et al. Antimicrobial effects of silver

nanoparticles. Nanomed. 2007 Mar; 3(1): 95-101.

15. Khalid A, Ahmed M. Bactericidal and Antibiotic Synergistic Effect of Nanosilver Against Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus* . 2015; 8(11): 258-267.



The Antibiotic Resistance Pattern of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* and Antibacterial Effect of Silver and Copper Nanoparticles on that In vitro and Animal model

Saba Hashemi¹, Rasoul Shokri²

1- Msc, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University Zanjan, Iran.

2- Associate Professor, Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University Zanjan, Iran.

Corresponding Author : rsh.bio42@gmail.com

Received:2022.10.10

Accepted: 2022.11.23

Abstract

Background & aim: Considering the high resistance to drug in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, this study was performed to investigate the effects of silver and copper nanoparticles and their combined effect on the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in vitro and animal models.

Materials & Methods: To determine the most effective antibiotics, disk diffusion method was performed. The microdilution method is used for determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of copper and silver nanoparticles and their combination . Then, to examine the effect of nanoparticles and the antibiotic, experiments were performed in the animal models. For this purpose, after intraperitoneal inoculation of bacterial suspension, MBC concentrations obtained from microdilution method were injected to the mice and after the cultivation of spleen, colony count was performed.

Results: The most effective antibiotic on bacteria was vancomycin. The MIC of silver and copper nanoparticles, vancomycin, silver and copper nanoparticles, silver nanoparticles-vancomycin and copper nanoparticles- vancomycin were 1250 ppm, 2500 ppm, 78/12, 625 ppm, 35 ppm and 250 ppm respectively. In animal model, the lowest number of colonies is related to silver nanoparticles and then silver nanoparticles-vancomycin.

Conclusion: The results show that antimicrobial effect of silver nanoparticles is more than vancomycin and copper nanoparticles. Also the combination of silver and copper nanoparticles increases their antimicrobial strength and the combination of silver and vancomycin after complementary experiments, can be a option for the treatment of infections caused by these bacteria.

Keywords: Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, silver nanoparticles, and copper nanoparticles, vancomycin