

## Antibacterial effects of cadmium sulfide nanoparticles produced by two methods of chemical precipitation and microwave on *Escherichia coli* isolates

Mohamadi golafshani, Z.<sup>1</sup>, Shayegh, J.<sup>2</sup>, Tofangdarzadeh, Sh.<sup>3\*</sup>

1- D.V.M. Graduate, Faculty of Veterinary Medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran.

2- Associate Professor, Department of Veterinary, Faculty of Veterinary Medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran.

3- Assistant Professor, Faculty of Basic Science, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran.

\*Corresponding author's email: shahin.tofangdar@gmail.com

(Received: 2022/9/7 Accepted: 2022/12/28)

### Abstract

Several decades have passed since the use of antibiotics in the treatment of infectious diseases, including coli-bacillosis. In recent years, inappropriate use of antibiotics has caused the emergence of bacteria resistant to antibiotic treatment, which is a global problem in the public health of human and animal societies. Due to their small size and high surface-to-volume ratio, nanoparticles have high microbial killing effects, and therefore they can be used as antibacterial, antifungal and antiviral agents. In this study, the antibacterial effects of Cadmium sulphide nanoparticles were investigated by chemical precipitation and microwave methods on *Escherichia coli* bacteria isolated from poultry. For this purpose, *Escherichia coli* bacterial samples were collected from poultry clinics in Tabriz during May and June 2021. The synthesized Cadmium sulphide nanoparticles were first analysed by XRD, UV and SEM and then were exposed to cultured *E. coli* by both precipitation and microwave methods. Results were determined based on the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). The MIC and MBC of the precipitation method was 1.653% and 2.051% respectively. Also, the MIC and MBC of 2.051% and 1.653% was determined respectively using the microwave method. The results of this study indicated that Cadmium sulphide nanoparticles have good antimicrobial effects on *Escherichia coli*; however, no significant difference was observed between the synthesis method of these nanoparticles for bactericidal and bacteriostatic effects.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** Antibiotic, Cadmium sulfide, *Escherichia coli*, Nanoparticles.

## بررسی اثرات ضدباکتریایی نانوذرات سولفیدکادمیوم به دو روش ترسیب شیمیایی و مایکروویو بر جدایه‌های اشریشیاکولای

زهرا محمدی گل‌افشانی<sup>۱</sup>، جلال شایق<sup>۲</sup>، شاهین تفنگدارزاده<sup>۳\*</sup>

۱- دانش آموخته دکترای حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران.

۲- دانشیار گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران.

۳- استادیار گروه علوم پایه، دانشکده علوم پایه، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران.

\*نویسنده مسئول مکاتبات: shahin.tofangdar@gmail.com

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۶/۱۶ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۱۰/۷)

### چکیده

چندین دهه از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های عفونی از جمله کلی‌باسیلوز می‌گذرد. در سال‌های اخیر، مصرف نابجای آنتی‌بیوتیک‌ها، سبب پیدایش باکتری‌های مقاوم به درمان آنتی‌بیوتیکی شده‌است که به‌عنوان یک معضل جهانی در بهداشت عمومی جوامع بشری و حیوانی مطرح می‌باشد. نانوذرات به دلیل اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالا، تاثیرات کشندگی میکروبی بالایی دارند و بنابراین می‌توان از آن‌ها به‌عنوان عوامل ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدویروسی بهره برد. در مطالعه حاضر اثرات ضدباکتریایی نانوذرات سولفیدکادمیوم به ۲ روش ترسیب شیمیایی و مایکروویو، روی اشریشیاکولای‌های جداشده از طیور مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور نمونه‌های لازم طی اردیبهشت و خرداد سال ۱۳۹۹ از کلینیک‌های شهر تبریز از طیور مبتلا به کلی‌باسیلوز جمع‌آوری شد. نانوذرات سولفیدکادمیوم سنتز شده به ۲ روش ترسیب و مایکروویو، ابتدا با روش‌های پراش اشعه ایکس، طیف‌سنجی ماورای بنفش و تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد ارزیابی قرار گرفته و در ادامه با جدایه‌های باکتری اشریشیاکولای مواجهه داده شده و نتایج اثرات ضدباکتریایی نانوذرات سنتز شده مذکور، براساس حداقل غلظت مهار رشد باکتری (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) تعیین گردید. میزان MIC به‌روش ترسیب ۱/۶۵۳ درصد و میزان MBC نیز با همان روش ۲/۰۵۱ درصد تعیین گردید. همچنین میزان MIC و MBC به‌روش مایکروویو، به ترتیب ۲/۰۵۱ و ۱/۶۵۳ درصد به‌دست آمد. نتایج حاصله از تحقیق حاضر نشان داد که نانوذره سولفیدکادمیوم روی باکتری اشریشیاکولای خاصیت ضد میکروبی مناسبی دارد، اگرچه تفاوت معنی‌داری میان روش سنتز این نانوذره بر اثرات باکتری‌کشی و باکتریواستاتیکی آن مشاهده نشد.

کلیدواژه‌ها: نانوذرات، سولفیدکادمیم، روش سنتز، اثرات ضدباکتریایی، اشریشیاکولای.

## مقدمه

صنعت دام و طیور با توجه به نقش و اهمیت به‌سزایی که در تأمین پروتئین‌های حیوانی مورد نیاز انسان دارد، در چند سال اخیر رشد چشمگیری داشته است. میزان تولید گوشت مرغ و گوشت قرمز در سال ۱۳۹۸ به ترتیب، ۲۴۰۰ هزار تن و ۸۶۰ هزار تن بوده است (Pais et al., 2023). تغذیه متعادل و موثر، مهم‌ترین اصل جهت دستیابی به تولید اقتصادی طیور می‌باشد. به این منظور یک‌سری افزودنی‌های محرک رشد در جیره جوجه‌های گوشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد که می‌توان به آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد، اسیدهای آلی، مکمل‌های آنزیمی، گیاهان دارویی و عصاره‌های آن‌ها، پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها اشاره نمود (Castro et al., 2023). در هشتاد سال گذشته، افزودنی‌های خوراکی آنتی‌بیوتیکی (antimicrobial food additives) برای افزایش بهره‌وری در صنعت طیور مورد استفاده قرار گرفته‌اند. به‌طور کلی برآورد شده است که تا سال ۲۰۳۰، مجموع ۱۰۷ تن، افزودنی‌های خوراکی آنتی‌بیوتیکی در تولید خوراک حیوانات در سرتاسر جهان مصرف خواهد شد. غالباً از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه دام و طیور به منظور پیشگیری و درمان بیماری‌های عفونی استفاده شده ولی استفاده طولانی‌مدت و نامنظم از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به ایجاد سویه‌های مقاوم از پاتوژن‌های بیماری‌زا شده است. مقاومت میکروارگانیسم‌ها ممکن است در اثر کاهش نفوذپذیری غشاء، دفع فعال ترکیبات ضد میکروبی، تغییر در جایگاه اتصال، تغییر در گیرنده‌های غشاء، تولید بیش از حد آنزیم‌های هدف و موتاسیون ایجاد شود. وجود باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی

در فرآورده‌های دامی از جمله طیور و مصرف آن توسط انسان از طریق زنجیره غذایی باعث بروز واکنش‌های آلرژیک، تب، اسهال، گرفتگی ماهیچه‌های شکمی، اثرات مخرب بر متابولیسم مواد در دستگاه گوارش می‌شود (Ansari et al., 2013).

باکتری اشریشیاکولای در دام‌های جوان می‌تواند بیماری‌هایی ایجاد کند که منجر به مشکلات در روده (کلی‌باسیلوز روده‌ای و اسهال نوزادان)، سپتی‌سمی (کلی‌سپتی‌سمی و کلی‌باسیلوز عمومی) و توکسمی (توکسمی باسیلی) و همچنین سبب عفونت‌های موضعی غیرروده‌ای در دام‌های بالغ در قسمت‌های دستگاه اداری، پستان و رحم شود (Quinn et al., 2011).

به اشریشیاکولای‌های بیماری‌زای پرندگان (Avian pathogenic *Escherichia coli*; APEC) گفته می‌شود. البته همه اشریشیاکولای‌ها برای پرندگان بیماری‌زا نیستند. به هر عفونت موضعی یا سیستمیک که به‌صورت کامل یا جزئی توسط اشریشیاکولای پاتوژنیک پرندگان ایجاد شود، کلی‌باسیلوز گفته می‌شود. کلی‌باسیلوز در طیور سبب ایجاد چند نوع بیماری می‌شود که عبارتند از: بیماری هجاره یا کلی‌گرانولوما، عفونت کیسه زرده، سلولیت، تورم چشم، التهاب صفاق، بیماری کیسه‌هوایی، سندروم کله‌بادی، کلی‌باسیلوز مقاربتی، التهاب مفاصل، سالپنژیت و تورم ناف. کلی‌باسیلوزهای طیور از نظر اقتصادی دارای اهمیت زیادی می‌باشند. اکثر سویه‌های جداشده از پرندگان برای آن‌ها بیماری‌زا می‌باشند ولی سویه‌های جداشده از پرندگان معمولاً برای حیوانات و انسان‌ها بیماری‌زا نمی‌باشند (Gorbani et al., 2019; Azam et al., 2019).

ضدمیکروبی نانوذرات گوناگون پیشنهاد شده‌است. در رابطه با اثرات ضدمیکروبی نانوذرات، مطالعات زیادی در خارج و داخل کشور طی دهه اخیر صورت گرفته است که بیشتر آن‌ها پیرامون نانوذرات نقره (AgNPs)، طلا (AuNPs)، اکسید آهن ( $Fe_3O_4$ ) و تیتانیوم دی‌اکسید ( $TiO_2$ NPs) و سایر نانوذرات فلزی مشابه بوده‌است (Ashrafi et al., 2022).

نانوذره سولفید کادمیم جزو نانوذرات فلزی می‌باشد که دارای خواص فیزیکی، شیمیایی و ساختاری منحصر به فرد نسبت به حالت توده‌ای هستند. نقطه ذوب، طیف جذب نوری، ساختار بلوری و دیگر خواص نانوذرات سولفید کادمیوم، همگی تحت تأثیر اندازه نانوذرات است. از کاربردهای نانوذرات سولفید کادمیوم می‌توان به ساخت نانوبیوسنسورهای الکتروشیمیایی، سیستم‌های تحویل دارو با قابلیت حمل دزهای مؤثری از دارو به سلول‌های بافت هدف و همچنین تجزیه آب و تولید هیدروژن به منظور ایجاد توسعه منابع انرژی پاک و جایگزین جدید مانند تولید فوتوکاتالیتیکی هیدروژن از منابع طبیعی نظیر آب و انرژی خورشید، اشاره نمود (Ashrafi et al., 2022). علی‌رغم سمیت کادمیوم برای بسیاری از میکروارگانیسم‌ها، تعدادی از آن‌ها نه تنها در برابر کادمیوم مقاوم هستند بلکه قادر به احیای آن به صورت نانوذرات سولفید کادمیوم و اکسید کادمیوم می‌باشند (Banerjee et al., 2003; Berry et al., 2011). دامرون و همکاران اولین کسانی بودند که در سال ۱۹۸۹ با استفاده از مخمرهای *Schizosaccharomyces pombe* و *Candida glabrata*، کشت داده شده در حضور نمک‌های کادمیوم، موفق به سنتز درون سلولی نانوذرات

امروزه، گسترش و پیشرفت هر روزه بیماری‌های عفونی که از باکتری‌های مقاوم به دارو به وجود می‌آیند، به یک نگرانی جهانی در زمینه بهداشت عمومی تبدیل شده‌است. متأسفانه هر ساله قریب به ۲۵۰۰۰ نفر در اروپا به علت مبتلا شدن به عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم جان خود را از دست می‌دهند (Azam et al., 2019). صنایع دارویی در چند دهه گذشته آنتی‌بیوتیک‌های معدودی را ارائه داده‌اند و مقاومت میکروارگانیسم‌ها به این داروها روز به روز در حال افزایش است. از طرف دیگر، آینده استفاده از داروهای ضدمیکروبی از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها هنوز هم با هاله‌ای از ابهام روبه‌رو است. سنتز و کاربرد نانومواد به عنوان یک راهبرد جدید و شایع در کنترل فعالیت باکتری‌های مقاوم به داروها مبدل شده‌است. استفاده از نانوذرات به عنوان عوامل ضدمیکروبی می‌تواند در غلبه بر انواع سازوکارهای مقاومت باکتریایی مؤثر باشد، زیرا ماهیت ضدمیکروبی نانوذرات ناشی از تماس مستقیم آن‌ها با دیواره سلول باکتری است. از طرف دیگر، افزایش مقاومت باکتری‌ها به نانوذرات کمتر از توسعه مقاومت آن‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های متفاوت است. بنابراین، نانوذرات می‌توانند به عنوان مواد ضدمیکروبی مناسب در حوزه درمان مطرح شوند. نانومواد، گستره وسیعی از فعالیت‌های ضدمیکروبی را در برابر انواع باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، مایکوباکتریوم‌ها و حتی قارچ‌ها نشان می‌دهند. البته فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات بسته به نوع آن‌ها متفاوت است. هنوز سازوکارهای سمیت نانوذرات، به‌طور واضح مشخص نشده و این امر نیازمند مطالعات بیشتری است. با این وجود، نظریه‌های مختلفی برای فعالیت‌های

نیمه‌های سولفیدکادمیوم شدند. نامبردگان گزارش دادند که تشکیل نانوذرات سولفید کادمیوم بستگی به مرحله‌ای از رشد باکتری دارد که طی آن یون‌های کادمیوم اضافه می‌شود و هنگامی که یون کادمیوم در مرحله رشد لگاریتمی اضافه گردد، حداکثر تولید نانوذره به دست خواهد آمد (Dameron et al., 1989). سنتز درون سلولی و برون سلولی زیستی نانوذرات سولفید کادمیوم در طیف وسیعی از سویه‌های مختلف میکروبی متعلق به جنس‌های کلبسیلا، کلستریدیوم و گونه‌های اشریشیاکولای، سودوموناس فوراریوم گزارش شده است (Babincova et al., 2000a; Babincova et al., 2000b).

روش‌های مختلفی برای سنتز نانوذرات از جمله نانوذرات سولفیدکادمیوم وجود دارد که می‌توان به روش‌های شیمیایی مانند هم‌رسوبی، روش‌های حالت جامد مانند سل-ژل و هیدروترمال و در نهایت روش‌های مایکروویو اشاره کرد. (Sahiner et al., 2011).

با توجه به بررسی‌های انجام شده توسط نویسندگان مقاله حاضر، تاکنون مطالعه‌ای در جهت تعیین تاثیر روش تهیه سولفیدکادمیوم علیه باکتری اشریشیاکولای انجام نگرفته است، از این رو در طی تحقیق حاضر، نانوذرات سولفیدکادمیوم را به ۲ روش مایکروویو و ترسیب سنتز نموده و خاصیت ضد میکروبی آن‌ها براساس تعیین حداقل غلظت مهاری رشد (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) در خصوص

اشریشیاکولای‌های جدا شده از طیور، مورد بررسی قرار گرفت (Azam et al., 2011; Gavidel et al., 2016).

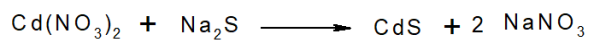
### مواد و روش‌ها

مطالعه توصیفی-مقطعی حاضر، در سال ۱۳۹۹ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر در قالب یک پایان‌نامه دکترای حرفه‌ای در رشته دامپزشکی انجام شده است.

- نمونه‌گیری: بدین منظور، ابتدا کلینیک‌های تخصصی درمانی پرندگان (طیور) سطح شهرستان تبریز مشخص و به صورت تصادفی در ماه‌های اردیبهشت و خرداد سال ۱۳۹۹ به آن‌ها مراجعه و نمونه‌برداری لازم انجام شد، به نحوی که جهت جداسازی اشریشیاکولای‌های مورد نظر، از ضایعات تپیک مرغان مبتلا به کلی باسیلوز مانند پری‌کاردیت، پری‌هپاتیت و کیسه‌های هوایی عفونی، از سوپ پنبه‌ای استریل استفاده گردید. تعداد ۹ نمونه جمع‌آوری شده و جهت تشخیص و تعیین هویت جدایه‌ها به عنوان باکتری اشریشیاکولای، به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر ارسال شد.

-آماده‌سازی نمونه‌های اخذ شده: نمونه‌های تحویل شده به آزمایشگاه، بلافاصله تحت شرایط استریل، در محیط کشت ائوزین متیلن بلو آگار (شرکت مینولب، ایران) به روش خطی منطقه‌ای کشت داده شده و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری گردیدند و زمانی که در سطح محیط مذکور، جلای سبز رنگ فلزی مشاهده شد، نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در یخچال اولترا فریز ۷۰- درجه

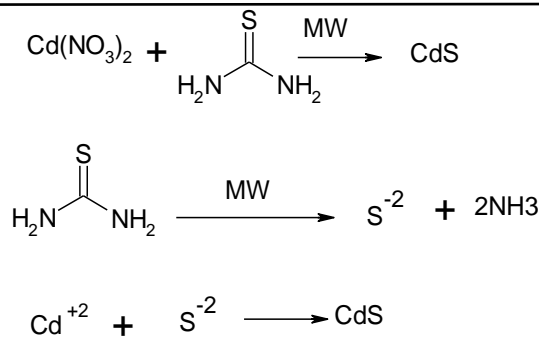
واکنش ۱-



-روش تهیه نانوذرات سولفیدکادمیم به روش میکروویو: در این روش با استفاده از دستگاه مایکروویو (مدل MM01، شرکت نوین فن‌آوری مهنج، ایران) از نیترات کادمیم به عنوان منبع کادمیم و از تیواوره با درجه خلوص ۸۵ درصد (مرک، آلمان) به عنوان منبع سولفید و نیز از مخلوط حلال اتیلن گلیکول با وزن مولکولی متوسط ۵۰۰ گرم بر مول (مرک، آلمان) و آب به نسبت برابر (۵۰:۵۰)، مطابق واکنش ۲ استفاده شد. بدین منظور، در یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری، مخلوطی از ۱۰۰ میلی‌مول نیترات کادمیم و ۱۰۰ میلی‌مول تیواوره در ۵۰ میلی‌لیتر از اتیلن گلیکول و ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه تهیه گردید. در ادامه ارلن مذکور در دستگاه مایکروویو در توان ۳۶۰ وات به مدت ۵ دقیقه و سپس در توان ۶۸۰ به مدت ۳ دقیقه قرار گرفت. سپس مخلوط حاصله شامل رسوب زرد رنگ سولفیدکادمیم از دستگاه خارج شده و به مدت ۱ ساعت رها شد، سپس با استفاده از صاف‌کردن تحت خلأ، رسوب زرد طلایی حاصله جدا شده و بعد از آسیاب کردن در آون، در دمای ۹۰ درجه سلسیوس خشک گردید (Zou et al., 2009).

سلسیوس (شرکت اکسیرسازه رازی، ایران) ذخیره شدند.

-روش تهیه نانوذرات سولفیدکادمیم به روش ترسیب شیمیایی: نانوذرات سولفیدکادمیم طبق واکنش ۱، براساس روش هم‌رسوبی سنتز شد. بدین منظور، ابتدا ۱۰۰ میلی‌مول از نیترات کادمیم (Cadmium nitrate) با درجه خلوص ۹۹ درصد (مرک، آلمان)، در دمای اتاق، در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه حل شد. سپس به محلول حاصله، سولفید سدیم با درجه خلوص ۹۹ درصد (مرک، آلمان)، در مدت ۱ ساعت، تحت عمل همزن مکانیکی قوی (مدل C5، شرکت بلسان، ایران) با سرعت ۶۰۰ دور در دقیقه اضافه شده و در نتیجه، رسوب زرد رنگ سولفیدکادمیم به آرامی تشکیل گردید. در ادامه، برای مدت ۴ ساعت دیگر مخلوط حاصله با همزن مکانیکی به شدت به هم زده شد. سپس سوسپانسیون زرد رنگ حاصله، به مدت ۲۴ ساعت بدون همزدن، ثابت باقی ماند. رسوب زرد طلایی نانوذرات سولفیدکادمیم (CdS) به وسیله صاف‌کردن تحت خلأ (شرکت هایدولف، انگلستان) جدا شد و به طور مکرر با آب مقطر دیونیزه شستشو داده شد. در پایان رسوب مذکور در آون خشک‌کننده با دمای ۹۰ درجه سلسیوس خشک گردیده و در هاون چینی آسیاب شد (Şaylan et al., 2023).



واکنش ۲-

(به دلیل این‌که غلظت نانوذره در گوده اول خالص باشد). سپس از محتویات چاهک دوم ۱۰۰ میکرولیتر برداشته به چاهک سوم و در ادامه از چاهک سوم به چاهک چهارم و الی تا چاهک ۹، این کار تکرار شد. از چاهک گوده ۹ نیز به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر خارج گردید و به چاهک ۱۲ هم ۵۰ میکرولیتر از نانوذره مورد آزمایش اضافه شد. با توجه به این‌که کدورت سوسپانسیون باکتریایی استفاده شده در روش فوق بایستی از استاندارد لوله نیم مک‌فارلند پیروی کند، لذا در مرحله سوم MIC، ابتدا از کشت ۲۴ ساعته باکتری اشریشیاکولای، کدورت مذکور که حاوی  $10^8 \text{ cfu}$  بود تهیه شد و سپس از آن رقت ۱ درصد تهیه گردیده و به تمامی چاهک‌ها، به غیر از چاهک‌های ۱۱ و ۱۲، مقدار ۱۰ میکرولیتر از آن اضافه شد. بعد از ۱۵ ساعت گرمخانه‌گذاری میکروپلیت با درب در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، در مرحله چهارم از معرف رزازورین (Resazurin) ۰/۱ درصد (مرک، آلمان) به مقدار ۳۰ میکرولیتر به تمامی چاهک‌ها اضافه شده و مجدداً میکروپلیت مذکور به مدت ۴ ساعت دیگر در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری گردید. در نهایت هم نتایج حاصله، به‌طور چشمی قرائت گردید. نظر براین‌که در روش استفاده شده، چاهک ۱۰ به عنوان شاهد مثبت،

-**تعیین مشخصات نانوذرات سنتز شده:** تایید سنتز نانوذره سولفید کادمیوم، بر اساس روش پراش اشعه ایکس (X-ray powder diffraction; XRD)، با استفاده از دستگاه مدل ۷۰۰۰ شیمادزو- ژاپن دانشگاه تبریز انجام گردید. برای اثبات تهیه نانوذره هم از روش طیف‌سنجی ماوراء بنفش با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر REYLIGH مدل ۱۸۰۰ دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر استفاده شد. همچنین برای تعیین مورفولوژی و سایز ذرات نانو، از روش تصویربرداری روبشی (scanning electron micrograph; SEM) به کمک میکروسکوپ الکترونی ZEISS آلمان- مدل EVO، مستقر در دانشگاه تبریز استفاده شد.

- **تعیین حداقل غلظت مهار از رشد (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) نانوذرات سولفید کادمیوم:** بدین منظور از میکروپلیت ۹۶ چاهکی کریستالی درب‌دار (شرکت رویان، ایران) و بر اساس روش رقت‌سازی سریال استفاده شد. در مرحله اول در هر چاهک به غیر از چاهک اول، به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هیتون برات (بیومارک، هندوستان) اضافه شد. در مرحله دوم به چاهک‌های اول و دوم، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از نانوذرات سنتز شده با غلظت اولیه ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر افزوده شد

نانوذره از نظر آلودگی در این گوده (محیط کشت به‌علاوه ۵۰ میکرولیتر نانوذره و معرف رزازورین) بایستی رنگ آبی (به معنای منفی) مشاهده گردد (Şaylan *et al.*, 2023). گوده ۱۰ شاهد باکتری و گوده ۱۱ شاهد محیط کشت است. بنابراین در این گوده‌ها نانوذره اضافه نشده است. لازم به ذکر است که همه مراحل فوق، برای هر ۲ نانوذره سنتز شده، در ۲ روش متفاوت انجام گردید.

جهت کنترل باکتری و معرف رزازورین در نظر گرفته شده‌بود، لذا در چاهک فوق به همان مقادیر ذکر شده، محیط کشت به‌علاوه باکتری و معرف ریخته‌شد، که بایستی طی آزمایش، رنگ قرمز یا احیاء رنگ را نشان می‌داد. همچنین در چاهک ۱۱ به عنوان شاهد منفی، که جهت کنترل محیط کشت در نظر گرفته شده‌بود، به همان مقادیر ذکر شده، محیط کشت به‌علاوه باکتری و رزازورین ریخته‌شد، که بایستی طی آزمایش، رنگ آبی را نشان می‌داد. در چاهک ۱۲ شاهد جهت کنترل

جدول ۱- مراحل رقت‌سازی برای اجرای آزمایش MIC

شماره گوده												
۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	اضافه‌شده به گوده
شاهد	شاهد	شاهد	۰/۳۹	۰/۷۸	۱/۵۶	۳/۱۲	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	درصد نانو ذره نهایی
نانوذره	محیط کشت	باکتری										
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰	۱۰	.	محیط کشت
۵۰	.	.								۱۰	۱۰۰	نانوذره
										.		
.	.	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	رقت ۱/۱۰۰
۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	رزازورین

تغییر رنگ)، بوسیله آنس نمونه برداشته و در سطح محیط کشت BHI agar (Brain Heart Infusion agar) (مینولب، ایران) به‌طور نقطه‌ای کشت داده‌شد و بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری (در دمای ۳۷ درجه سلسیوس)، رشد باکتری بررسی شد. در هر کدام از محل‌های کشت که رشد باکتری در آن منفی بود، رقت

- تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) نانوذرات سولفیدکادمیوم: برای انجام آزمایش MBC از همان چاهک‌های آزمایش MIC استفاده شد. بدین منظور ابتدا چاهکی که تغییر رنگ بینابین داده‌بود، مشخص گردید. در ادامه از محتویات چاهک مذکور، چاهک بعدی (حاوی رنگ قرمز) و همچنین چاهک ماقبل آن (بدون



(*t*-student) انجام شد. سطح معنی‌داری اختلافات هم،  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

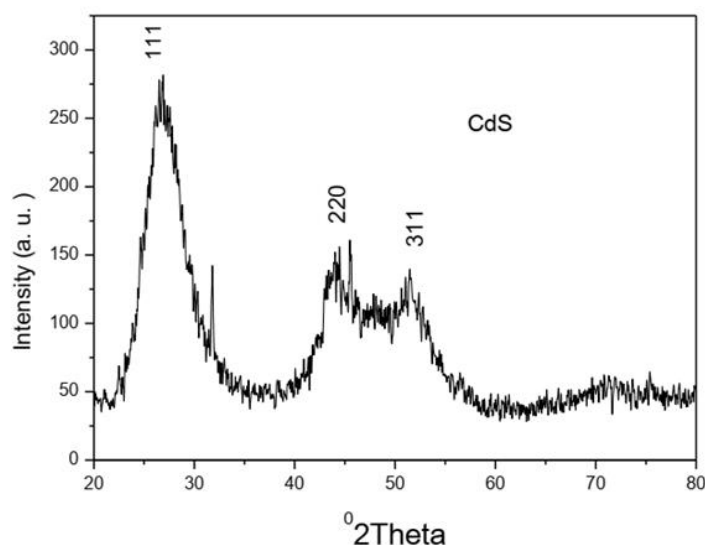
### یافته‌ها

- ساختار کریستالی و سایز نانوذرات سولفید کادمیوم: برای بررسی ساختار شبکه کریستالی نانوذره سنتز شده به روش ترسیب، اندازه ریزدانه‌ها و تک‌فاز بودن آن‌ها، از روش طیف‌سنجی پراش اشعه ایکس (XRD) استفاده شد که نمودار حاصله از آن، در شکل ۱ ارائه شده که پیک مورد نظر در نواحی ۱۱۱، ۲۲۰ و ۳۱۱ طیف XRD مشخص می‌باشد.

مربوطه، نتیجه MBC نانوذرات سولفید کادمیوم سنتز شده تلقی شد (جدول ۱).

لازم به ذکر است که همه مراحل فوق، برای هر ۲ نانوذره سنتز شده در ۲ روش متفاوت استفاده شده در تحقیق حاضر، انجام گردید.

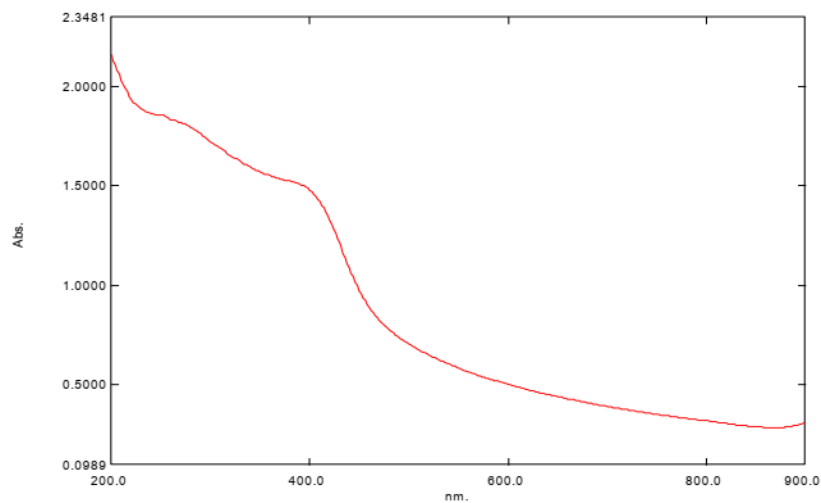
- تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های حاصله از آزمایش‌های تعیین MIC و MBC ترکیبات مورد آزمایش، به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شدند و با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ (۲۰۰۹) مورد واکاوی قرار گرفت. همچنین مقایسه نتایج با یکدیگر با استفاده از آزمون تی



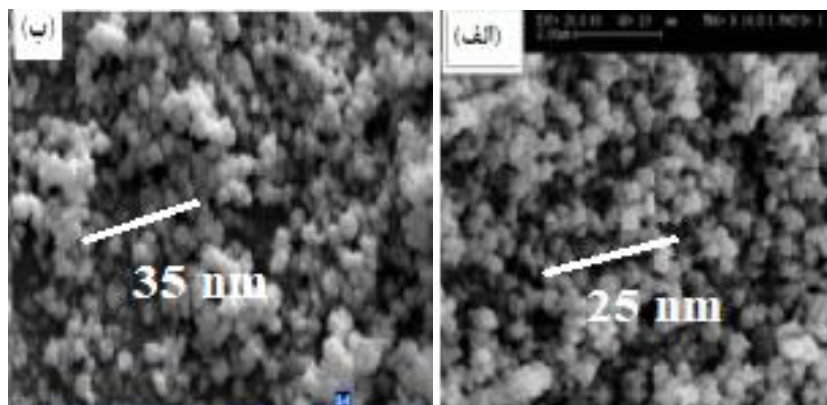
شکل ۱- طیف XRD نانوذرات سولفید کادمیوم حاصله از روش ترسیب (در حالت ماکروویو نیز دقیقاً پیک‌های مشابهی وجود دارد).

همچنین تصاویر روبشی میکروسکوپ الکترونی (SEM) نانوذرات به دست آمده از دو روش ترسیب و مایکروویو، در شکل ۳ ارائه شده است.

در شکل ۲ نیز طیف UV جذبی نانوذرات سنتز شده به روش ترسیب، نشان داده شده است. ملاحظه می‌گردد که بیشینه جذب در حوالی طول موج ۴۱۰ نانومتر کاملاً مشهود است.



شکل ۲- طیف UV نانوذرات سولفید کادمیم حاصله از روش ترسیب (نمودار حالت ماکروویو نیز دقیقاً مشابه حالت ترسیب است).



شکل ۳- تصویر میکروسکوپ الکترونی نانوذرات سولفید کادمیم: (الف) به روش ترسیب، (ب) به روش مایکروویو.

۱/۶۵ درصد می‌باشد. همچنین با توجه به مشاهده نتایج مشابه MIC و MBC در مورد نانوذرات سولفید کادمیم سنتز شده به روش مایکروویو، لذا نتایج به دست آمده برای MIC، برای MBC آن نیز قابل تعمیم می‌باشد (شکل ۴).

- یافته‌های آزمون‌های MIC و MBC نانوذرات سولفید کادمیم سنتز شده به روش ترسیب: نتایج تعیین MIC و MBC نانوذرات سولفید کادمیم سنتز شده به

- یافته‌های آزمون‌های MIC و MBC نانوذرات سولفید کادمیم سنتز شده به روش مایکروویو: نتایج تعیین MIC و MBC نانوذرات سولفید کادمیم سنتز شده به روش مایکروویو، در جدول ۲ ارائه شده است. ردیف اول جدول ۲ نتایج مربوط به MIC باکتری استاندارد و سایر ردیف‌ها (۲ الی ۱۰) MIC جدایه‌ها را نشان می‌دهند. با بررسی جدول مشخص است که MIC بین رقت‌های ۲/۶۵ درصد تا ۰/۳۳ درصد و میانگین آن‌ها

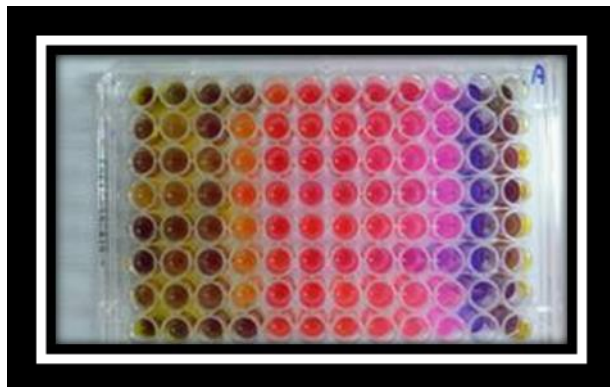
روش ترسیب در جدول ۳ ارائه شده است. ردیف اول جدول ۳ نتایج مربوط به MIC باکتری استاندارد و سایر ردیف‌ها (۲ الی ۱۰) MIC جدایه‌ها را نشان می‌دهند. ملاحظه می‌گردد که بیشترین رقت گزارش شده

۰/۳۳ درصد و کمترین آن ۱/۳۲ درصد و میانگین مربوطه هم ۲/۰۵۱۰ درصد می‌باشد.

جدول ۲- نتایج آزمون‌های MIC و MBC نانوذرات سولفید کادمیوم سنتز شده به روش مایکروویو روی جدایه‌های باکتری *E. coli* و باکتری استاندارد PTCC-1330

ردیف آزمون	درصد نانوذره									
	۰/۰۴۱	۰/۰۸۲	۰/۰۱۶	۰/۳۳	۰/۶۶	۱/۳۳	۲/۶۵	۵/۳	۱۰/۶	
۱	+	+	+	+	+	+	-	-	-	MIC
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MBC
۲	+	+	+	+	+	+	-	-	-	MIC
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MBC
۳	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MIC
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MBC
۴	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MIC
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MBC
۵	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MIC
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MBC
۶	+	+	+	+	-	-	-	-	-	MIC
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MBC
۷	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MIC
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MBC
۸	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MIC
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MBC
۹	+	+	+	+	+	+	-	-	-	MIC
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MBC
۱۰	+	+	+	+	+	+	-	-	-	MIC
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MBC

(#) علامت + به معنای رشد باکتری و علامت - به معنای عدم رشد باکتری می‌باشد. منظور از شاهد ماده نانوذره می‌باشد. ردیف اول مربوط به آزمایش باکتری استاندارد PTCC-1330 است.



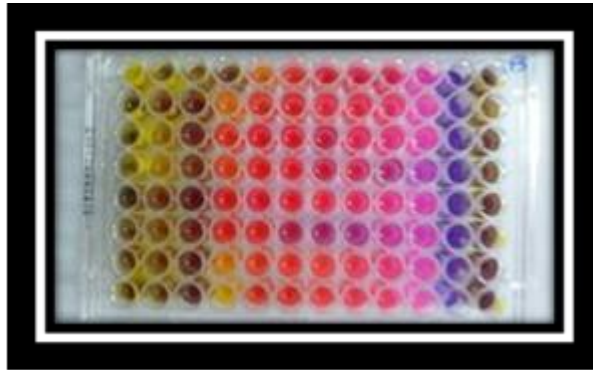
شکل ۴- تصویری از نتایج مشاهده‌شده در آزمون MIC نانوذرات سولفیدکادمیم سنتز شده به روش مایکروویو.

جدول ۳- نتایج آزمون‌های MIC و MBC نانوذرات سولفیدکادمیوم سنتز شده به روش ترسیب بر جدایه‌های *E. coli* و باکتری استاندارد PTCC-1330

شاهد نانوذره	شاهد محیط	شاهد باکتری	درصد نانوذره										آزمون	ردیف
			۰/۰۴۱	۰/۰۸۲	۰/۰۱۶	۰/۳۳	۰/۶۶	۱/۳۳	۲/۶۵	۵/۳	۱۰/۶			
-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MIC	۱	
-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MBC		
-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MIC	۲	
-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MBC		
-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MIC	۳	
-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	MBC		
-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	MIC	۴	
-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	MBC		
-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MIC	۵	
-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MBC		
-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MIC	۶	
-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MBC		
-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MIC	۷	
-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MBC		
-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MIC	۸	
-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	MBC		
-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	MIC	۹	
-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	MBC		
-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	MIC	۱۰	
-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	MBC		

علامت + در جدول به معنای رشد باکتری و علامت - به معنای عدم رشد باکتری می‌باشد. منظور از شاهد ماده نانوذره می‌باشد. ردیف اول مربوط به آزمایش باکتری استاندارد PTCC-1330 است.

همچنین باتوجه به مشاهده نتایج مشابه MIC و روش ترسیب، لذا نتایج به‌دست آمده برای MIC، برای MBC در مورد نانوذرات سولفیدکادمیوم سنتز شده به MBC آن نیز قابل تعمیم می‌باشد (شکل ۵).



شکل ۵ - تصویری از نتایج مشاهده شده در آزمون MIC نانوذرات سولفیدکادمیم سنتز شده به روش ترسیب.

یافته‌های آزمون *t*-student برای مقایسه تاثیر روش سنتز نانوذره در ممانعت از رشد باکتری، بر اساس آزمون MIC: تفاوت معنی‌داری بین استفاده از روش ترسیب و مایکروویو در تهیه نانوذره سولفیدکادمیوم به لحاظ

خاصیت ضد میکروبی نانوذره از لحاظ آماری به‌دست آمد ( $p=0/419$ ) (جدول ۴).

جدول ۴- نتایج آزمون *t*-student برای مقایسه تاثیر روش سنتز نانوذره در ممانعت از رشد باکتری، بر اساس آزمون MIC

ارزش $p$	مقدار آماره $t$	انحراف معیار	میانگین	نوع نانوذره
0/419	0/828	0/71751	1/653	سولفیدکادمیوم سنتز شده به روش ترسیب
		1/34326	2/051	سولفیدکادمیوم سنتز شده به روش مایکروویو

نتایج آزمون *t*-student برای مقایسه تاثیر روش سنتز نانوذره در میزان باکتری‌کشی، بر اساس آزمون MIC: باتوجه به مشاهده نتایج مشابه MIC و MBC در مورد نانوذرات سولفیدکادمیوم سنتز شده به هر دو روش

ترسیب و مایکروویو، لذا نتایج به‌دست آمده برای MIC، برای MBC نانوذرات مذکور نیز قابل تعمیم می‌باشد (جدول ۵).

جدول ۵- نتایج آزمون *t*-student برای مقایسه تاثیر روش سنتز نانوذره از نظر باکتری‌کشی، بر اساس آزمون MBC

ارزش $p$	مقدار آماره $t$	انحراف معیار	میانگین	نوع نانوذره
0/419	0/828	0/71751	1/653	سولفیدکادمیوم سنتز شده به روش ترسیب
		1/34326	2/051	سولفیدکادمیوم سنتز شده به روش مایکروویو

## بحث و نتیجه‌گیری

طبق یافته‌های مطالعه حاضر، طیف XRD نمونه نانوذره سولفیدکادمیوم سنتز شده به روش ترسیب، نشانگر حالت بلوری در آن می‌باشد و با مقایسه کارت مرجع ۰۵۸۱-۰۷۵-۰۱، بر اساس وجود پیک‌های ۱۱۱، ۲۲۰ و ۳۱۱ (شکل ۱) ساختار مکعبی نانوذره مذکور قابل تایید است (Castro et al., 2023). لازم به ذکر است در نانوذره سولفیدکادمیوم سنتز شده به روش ترسیب نیز دقیقاً این پیک‌ها مشاهده می‌شود. همچنین با بررسی طیف UV نانوذره تهیه شده به روش ترسیب (شکل ۲)، نظر بر این که بر اساس منابع معتبر، بیشینه پیک نشری نانوذرات سولفیدکادمیوم در طول موج‌های ۴۱۳ تا ۴۴۳ نانومتر می‌باشد و با بیشینه پیک نشری که در مطالعه حاضر به دست آمده (حدود ۴۱۰ نانومتر)، منطبق است. لازم به ذکر است در حالت ترسیب نیز دقیقاً چنین نتایجی به دست آمده است، لذا نشانگر تهیه موفق نانوذرات سولفیدکادمیوم به روش ترسیب و مایکروویو می‌باشد (Karimi et al., 2011). از طرف دیگر، تصویر میکروسکوپ الکترونی ارائه شده در شکل ۳ بیان می‌کند که متوسط سایز نانوذرات سولفیدکادمیوم تولید شده به روش مایکروویو، ۳۵ نانومتر و به روش ترسیب، به طور متوسط، ۲۵ نانومتر می‌باشد. از تصویر مذکور می‌توان دریافت که نانوذرات فوق دارای شکل کروی بوده و از توزیع یکنواختی برخوردارند. لازم به ذکر است که توزیع یکنواخت اندازه نانوذرات در کاربردهای بیولوژیکی بسیار مهم می‌باشد، زیرا اندازه و شکل یکی از پارامترهای مهم تعیین کننده توزیع بیولوژیکی آن‌ها می‌باشد. آیوفان و همکاران در سال ۲۰۰۹ بیان کردند که بین اندازه و میزان خاصیت

ضدمیکروبی نانوذرات، یک رابطه معکوس برقرار است، اگرچه اطلاعات متناقض نیز در این زمینه یافت می‌شود. ذرات کوچک، نسبت سطح به حجم زیادی دارند که این موضوع می‌تواند توضیحی برای رابطه معکوس بین اندازه و خاصیت ضدمیکروبی باشد (Auffan et al., 2011). در مطالعه حاضر با توجه به این که اندازه نانوذرات سولفیدکادمیوم حاصله از روش ترسیب ریزتر بودند (شکل ۳)، انتظار می‌رفت که این نانوذرات خاصیت باکتری کشی بیشتری روی باکتری *اشریشیاکولای* نسبت به نانوذرات حاصله از روش مایکروویو داشته باشند که وجود تفاوت مشاهده شده این فرض را تا حدی تایید می‌کند (میانگین MIC برای نانوذرات سنتز شده به روش ترسیب ۱/۶۵۳ درصد و به روش مایکروویو ۲/۰۵۱ درصد)، اما این تفاوت از لحاظ آماری معنی دار نبود (جدول ۴).

همچنین در طی تحقیق حاضر، در سنتز نانوذرات سولفیدکادمیوم به روش مایکروویو، نتایج حاصله از MIC نشان داد که MIC در رقت‌های بین ۲/۶۵ درصد تا ۰/۳۳ درصد متغیر می‌باشد و میانگین آن در رقت ۱/۶۵ می‌باشد. همچنین نتایج حاصل از روش MIC مربوط به سنتز سولفیدکادمیوم به روش ترسیب هم نشان داد که بیشترین رقت گزارش شده ۰/۳۳ درصد و کمترین آن ۱/۳۲ درصد می‌باشد، که میانگین حاصله هم ۲/۰۵۱۰ درصد بود. لازم به ذکر است که در هر ۲ روش سنتز نانوذرات سولفیدکادمیوم (مایکروویو و ترسیب)، با توجه به نتایج یکسان MIC و MBC، میانگین‌های ذکر شده برای MIC، برای ارزیابی میزان MBC نانوذرات مذکور نیز صادق است. شانگ و همکاران در سال ۲۰۱۱ به سنتز نانوذرات

داخل بدن طیور می‌باشد، لذا باید تحقیقات بیشتری مبنی بر بررسی اثرات نانوذرات مذکور بر اندام‌ها و فاکتورهای خونی طیور به طور گسترده و در بازه زمانی بیشتر و با استفاده از اندازه‌های متفاوت نانوذرات فوق، پس از تیمار در شرایط درون‌تنی (*in vivo*) انجام شود.

### سپاسگزاری

اطلاعات ارائه شده در این مقاله، برگرفته از نتایج پایان‌نامه دکترای حرفه‌ای رشته دامپزشکی با کد پژوهشی ۱۹۵۲۹۱۳۷۸۱۶۷۲۲۷۹۱۳۹۸۹۰۴۰۰ می‌باشد. نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر به جهت کمک و مساعدت در انجام تحقیق حاضر، قدردانی می‌نمایند.

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافی ندارند.

سولفید کادمیوم و سولفات مولیبدن جهت بررسی اثر آن‌ها بر باکتری اشریشیاکولای پرداختند و به این نتیجه دست یافتند که نانوذره سولفید کادمیوم در مقایسه با نانوذره دیگر، تاثیر ضدباکتریایی بیشتری دارد (Shang *et al.*, 2017)، که این گزارش با نتایج تحقیق حاضر هم‌راستا می‌باشد (جداول ۴ و ۵).

به‌طور کلی، نتایج حاصله از انجام مطالعه حاضر، نشان‌دهنده تاثیر ضد میکروبی مناسب نانوذره سولفید کادمیوم بر باکتری اشریشیاکولای است، اگرچه تفاوتی بین اثرات باکتری‌کشی و باکتری‌استاتیک آن ملاحظه نمی‌گردد و روش استحصال این نانوذره نیز تاثیر معنی‌داری بر اثرات ضد میکروبی آن ندارد. لذا باتوجه به یافته‌های تحقیق حاضر و گزارش‌های به‌دست‌آمده از مطالعات دیگر محققین، می‌توان نتیجه گرفت که نانوذرات سولفید کادمیوم سنتز شده به روش‌های مختلف، در جلوگیری از رشد باکتری بیماری‌زا و بسیار شایع اشریشیاکولای بسیار موثر می‌باشد. البته نظر بر این‌که محل فعالیت این باکتری در

### منابع

- Ansari, M.M., Khan H.A., Khan A.K., Ahmad K.A., Mahdi A., Pal, R., *et al.* (2013). Interaction of silver nanoparticles with *Escherichia coli* and their cell envelope biomolecules. *Journal of Basic Microbiology*, 54(9): 905-915.
- Ashrafi, M., Bayat, M., Mortazavi, P., Hashemi, J. and mohamadpour, A. (2022). Antimicrobial effect of chitosan silver copper nanocomposite on *Candida albicans* in immunosuppressive rats. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 16(61): 15-27. [In Persian]
- Azam, A., Ahmed, A., Oves, M., Khan, M.S. and Memic, A. (2012). Size-dependent antimicrobial properties of CuO nanoparticles against Gram-positive and -negative bacterial strains. *International Journal of Nanomedicine*, 7(10): 3527-3535.
- Auffan, M., Rose, J., Wiesner, M.R. and Bottero, J.Y. (2009). Chemical stability of metallic nanoparticles: a parameter controlling their potential cellular toxicity in vitro. *Environmental Pollution*, 157(4): 1127-1133.
- Banerjee, S.S. and Chen, D.H. (2007). Fast removal of copper ions by gum Arabic modified magnetic nano-adsorbent. *Journal of Hazardous Materials*, 147(3): 792-799.

- Babincova, M., Leszczynska, D., Sourivong, P. and Babinec, P. (2000a). Selective treatment of neoplastic cells using ferritin-mediated electromagnetic hyperthermia. *Medical Hypotheses*, 54(2): 177-179.
- Babincova, M., Sourivong, P., Leszczynska, D. and Babinec, P. (2000b). Blood-specific whole-body electromagnetic hyperthermia. *Medical Hypotheses*, 55(6): 459-460.
- Bauer, A. W. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(1): 149-158.
- Berry, C.C. and Curtis, A.S. (2003). Functionalization of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 36(13): 198-212.
- Castro, F.L., Chai, L., Arango, J., Owens, C.M., Smith, P.A., Reichelt, S., DuBois, C. and Menconi, A. (2023). Poultry industry paradigms: connecting the dots. *Journal of Applied Poultry Research*. 32(1): 1003-1010.
- Dameron, C.T., Reese, R.N., Mehra, R.K., Kortan, A.R., Carroll, P.J., Steigerwald, M.L., *et al.* (1989). Biosynthesis of cadmium sulphide quantum semiconductor crystallites. *Nature*, 338(6216): 596-597.
- Ghavidelaghdam, E., Narimanirad, M. and Lotfi, A. (2016). Effects of silver nanoparticles synthesized through chemical reduction on plasma superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes in rat model. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 10(37): 69-79. [In Persian]
- Ghorbani, E. and Azadikhah, D. (2019). Identification and determination of prevalence of saprophytic fungi in the larval stage of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in hatcheries of west Azarbaijan province. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 13(49): 91-99. [In Persian].
- Hashemi, S.R. and Davoodi, H. (2012). New antibiotic replacements as growth and health promoters. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*, 13(4): 1-10. [In Persian]
- Karimi, M.A., Hagdar, R.S., Asadinia, R., Hatefie, M.A.A., Mashhadizadeh, M.H., Bhjatmanesh, A.R., *et al.* (2011). Synthesis and characterization of nanoparticles and nanocomposite of ZnO and MgO by sonochemical method and their application for zinc polycarboxylate dental cement preparation. *International Nano Letters*, 1(1): 43-51.
- Liu, Y.J., He, L.L., Mustapha, A., Li, H., Hu, Z.Q. and Lin, M.S. (2009). Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of Applied Microbiology*, 107(4): 1193-1201.
- Mi, C., Wang, Y., Zhang, J., Huang, H., Xu, L., Wang, S. and Xu, S. (2011). Biosynthesis and characterization of CdS quantum dots in genetically engineered *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology*, 153(3-4): 125-132.
- Pais, S., Costa, M., Barata, A.R., Rodrigues, L., Afonso, I.M. and Almeida, G. (2023) Evaluation of antimicrobial resistance of different phylogroups of *Escherichia coli* isolates from feces of breeding and laying hens. *Antibiotics*. 12(1): 20-28.
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Leonard, F.C., Hartigan, P., Fanning, S. and Fitzpatrick, E. (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. New jersey: John Wiley & Sons, pp: 88-100.
- Şaylan, M., Metin, B., Akbıyık, H., Turak, F., Çetin, G. and Bakırdere, S. (2023). Microwave assisted effective synthesis of CdS nanoparticles to determine the copper ions in artichoke leaves extract samples by flame atomic absorption spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 115(1): 104965-10974.
- Shang, E., Niu, J., Li, Y., Zhou, Y. and Crittenden, J.C. (2017). Comparative toxicity of Cd, Mo, and W sulphide nanomaterials toward *E. coli* under UV irradiation. *Environmental Pollution*, 224(8): 606-614.
- Sahiner, N., Sel, K., Meral, K., Onganer, Y., Butun, S., Ozay, O. and Silan, C. (2011). Hydrogel templated CdS quantum dots synthesis and their characterization. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 389(1-3): 6-11.
- Zou, L., Fang, Z., GU, Z. and Zhong, X. (2009). Aqueous phase synthesis of biostabilizer capped CdS nanocrystals with bright emission. *Journal of Luminescence*, 129(5): 536-540.