Journal of Microbial World
Volume 17, No. 1, June 2024

Short Communication

Comparable Antibacterial Effects of Zinc and graphene Oxide Nanoparticles on Urinary Calculi obtained after Percutaneous Nephrolithotomy

Zeinab Piravar [1] ,**Mehrdad Jafari Fesharaki** [2], **Hedieh Assar** [3]

[1] Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[2] Associate Professor, Department of Cardiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[3] MSc, Department of Cardiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Kidney stone disease and its associated infections have become a public health concern. Given the problem of bacterial resistance, the production of novel antimicrobial agents has always been of interest. Graphene oxide and zinc oxide nanoparticles have drawn the attention of researchers in the treatment of bacterial infections due to their antimicrobial properties. In this study, the antibacterial effects of zinc oxide and graphene oxide nanoparticles on bacterial infections caused by kidney stones isolated by nephrolithotomy were investigated.Kidney stones of 45 patients were removed from their kidneys by Percutaneous nephrolithotomy surgery at Shahid Labafi Nejad Hospital in Tehran. After culturing and identifying the bacteria in the stones, the antibacterial activity of ZnO and GO nanoparticles was investigated by determining the minimum inhibitory concentration and disk diffusion method. FeSEM, Zeta test and DLS of the nanoparticles showed the purity of the synthesized nanoparticles. The antibacterial effects of zinc oxide nanoparticles at a concentration of 1000 ppm showed maximum inhibitory effect and a 25 mm zone of inhibition, and graphene oxide at the same concentration and 18 mm zone of inhibition was obtained for *Escherichia coli* bacteria. The MBC results of zinc oxide nanoparticle were 228 µg/ml and graphene oxide 300 µg/ml and MIC of zinc oxide nanoparticles 180 µg/ml and graphene oxide 250 µg/ml were obtained. The synthesized zinc oxide and graphene oxide nanoparticles have antibacterial effects on the isolated bacteria and can be used in the treatment of infections caused by kidney stones.

Keywords: Graphene Oxide, Zinc Oxide, nanoparticles, urolithiasis, Bacterial infection.

Received: 28 March 2024 Revised: 3 May 2024 Accepted: 7 June 2024

Correspondence to: Zeinab Piravar

Tel: +98 9127015446

E-mail: Saba.piravar@gmail.com

Journal of Microbial World 2024, 17 (1): 62 - 72

Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.

مجله دنیای میکروب‌ها
سال هفدهم شماره اول (پیاپی ۵۸) بهار ۱۴۰۳
صفحات ۷۲ –۶۲

Short Communication

اثر آنتی‌باکتریال نانوذرات اکسید روی و اکسید گرافن بر سنگ‌های کلیوی خارج‌شده از بیماران بیمارستان لبافی‌نژاد تهران

زینب پیراور [۱*]، مهرداد جعفری فشارکی [۲]، هدیه عصار [۳]

[۱] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. [۲] دانشیار، گروه کاردیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. [۳] کارشناسی ارشد، گروه کاردیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

چکیده

بیماری سنگ کلیه و عفونت‌های ناشی از آن به یک مسئله بهداشت عمومی تبدیل شده است. با توجه به مشکل مقاومت باکتریایی، تولید مواد ضدمیکروبی جدید همواره مورد توجه بوده است. نانوذرات اکسید گرافن و اکسید روی به دلیل خواص ضدمیکروبی در درمان عفونت‌های باکتریایی مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند. در این مطالعه اثرات آنتی‌باکتریال نانوذرات اکسید روی و اکسید گرافن بر عفونت‌های باکتریایی ناشی از سنگ‌های کلیوی جدا شده به روش نفرولیتوتومی بررسی شد. سنگ‌های کلیه ۴۵ بیمار در بیمارستان شهید لبافی نژاد تهران طی عمل جراحی Percutaneous nephrolithotomy از کلیه آن‌ها خارج گردید. پس از کشت و شناسایی باکتری‌های موجود در سنگ‌ها فعالیت ضدباکتری نانوذرات ZnO و GO به روش تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد و انتشار از دیسک، مورد بررسی قرار گرفت. FeSEM، تست زتا و DLS نانوذرات نشان دهنده خلوص نانوذرات سنتز شده بود. اثرات ضدباکتری نانوذرات اکسید روی در غلظت ۱۰۰۰ppm دارای حداکثر مهارکنندگی و قطر هاله عدم رشد ۲۵mm و اکسید گرافن با همین غلظت و هاله عدم رشد ۱۸mm برای باکتری *اشریشیا کلی* به‌دست آمد. نتایج MBC نانو ذره اکسید روی ۲۲۸µg/ml و اکسید گرافن ۳۰۰µg/ml و MIC نانو ذرات اکسید روی ۱۸۰µg/ml و اکسید گرافن ۲۵۰µg/ml به‌دست آمد. نانوذرات سنتز شده اکسید روی و اکسید گرافن دارای اثرات آنتی‌باکتریال بر باکتری‌های جدا شده و می‌توانند در درمان عفونت‌های ناشی از سنگ‌های کلیه به کار روند.

کلمات کلیدی: اکسید گرافن، اکسید روی، نانوذرات، سنگ کلیه، عفونت‌های باکتریایی.

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۱/۹ ویرایش مقاله: ۱۴۰۳/۲/۱۴ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۳/۱۸

مقدمه

یکی از مشکلات اساسی و شایع دستگاه ادراری، بروز سنگ‌های ادراری است. مسائل مختلفی از قبیل تغذیه، آب و هوا، جنس، ژنتیک و باکتری‌های اوره‌آز مثبت در تشکیل آن دخالت دارند. شیوع این سنگ‌ها در جوامع مختلف بین ۳ تا ۴٪ می‌باشد (۱). میکرواورگانیسم‌های جدا شده از سنگ‌های ادراری شامل *اشریشیا کلی*، *استاف اورئوس*، *کاندیدیا*، *انتروباکتر*، *کلبسیلا*، *پرووویدنسیا*، *استاف اپیدرمیس* و *باسیلوس سابتیلیس* هستند. هر دو گروه باکتری‌های تولیدکننده اوره‌آز و فاقد آن، قادر به جمع آوری کریستال‌های کلسیم می‌باشند. اما

*) آدرس برای مکاتبه: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.
تلفن: ۰۹۱۲۷۰۱۵۴۴۶ پست الکترونیک: Saba.piravar@gmail.com

حقوق نویسندگان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد و تحت مجوز مالکیت خلاقانه (http://creativecommons.org/licenses/bync/4.0/) در فصلنامه دنیای میکروب‌ها منتشر شده است. هرگونه استفاده غیرتجاری فقط با استناد و ارجاع به اثر اصلی مجاز است.

اکثر سنگ‌های عفونی در مجاری ادراری توسط میکروارگانیسم‌هایی ایجاد می‌شوند که آنزیم اوره‌آز را سنتز می‌کنند (۲). آمونیاک در اثر هیدرولیز اوره توسط اوره‌آز ایجاد می‌شود، در نتیجه آن ادرار به مقدار زیاد قلیایی شده و کربنات آپاتیت تشکیل می‌شود. قرار گرفتن میکرواورگانیسم‌های عفونی درون سنگ در حال تشکیل، کانونی از عفونت را ایجاد می‌کند که معمولا به درمان ضدمیکروبی مقاوم است زیرا نفوذ آنتی‌بیوتیک‌ها به داخل سنگ‌ها تقریبا نا ممکن است و در اکثر موارد با باکتریوری پایدار همراه می‌باشد (۳). میکرواورگانیسم فاقد اوره‌آز نیز در بروز عفونت‌های مجرای ادراری موثر شناخته شده‌اند. این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند در تشکیل سنگهای مجرای ادراری دخالت داشته باشند. برای مثال *E.coli* در تشکیل هسته رسوب کریستال سنگ دخالت کرده و خاصیت شیمیایی ادرار را تغییر می‌دهد (٤). انواع مختلفی از پاتوژن‌های ادراری با اتصال به اپی تلیوم مجرای ادراری به آن آسیب می‌رسانند و باعث اتصال کریستال‌ها به اپیتلیوم مجرای ادراری می‌شوند. سنگهای ادراری در کشور ما نیز به‌عنوان یکی از مشکلات بهداشتی – درمانی مطرح بوده و بخش قابل توجهی ازمراجعات به بخش‌های اورولوژی بیمارستان‌ها را تشکیل می‌دهند (۵). مشکل بزرگی که در درمان سنگ‌های عفونی وجود دارد این است که سنگ‌ها به دلیل بزرگی در برابر آنتی بیوتیک‌ها مقاومت می‌کنند زیرا آنتی بیوتیک‌ها نمی‌توانند به داخل سنگ‌ها نفوذ کرده و باکتری عامل عفونت را از بین ببرند. مقاومت آنتی بیوتیکی و مصرف بی رویه داروها در باکتری‌های بیماری‌زای انسانی و به‌ویژه اثرات جانبی این داروها مشکل بزرگی در زمینه پزشکی محسوب می‌شود. بنابراین شناسایی ترکیبات ضدمیکروبی با اثرات ضدباکتریایی مطلوب اولویت مهم در زمینه تحقیقات پزشکی محسوب می‌شود (٦). استفاده از نانوذرات در زمینه حذف آلودگی‌های محیطی و میکروبی در نانو تکنولوژی اهمیت زیادی دارد. نانو ذرات در زمینه‌ای مختلفی مانند بسته بندی، افزودنی سوخت، داروسازی و پزشکی کاربردهای وسیعی دارند (۷). اندازه و شکل دو عامل بسیار مهم بر روی اثرآنتی باکتریال نانوذرات است. تغییر در واکنش پذیری و خواص نانوذرات به اندازه کوچک آن‌ها مرتبط است. اندازه کوچکتر و نسبت سطح به حجم بالا نشان می‌دهد که فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات تحت تأثیر اندازه آن‌ها است (۸). نانو ذرات به دوبخش فلزی و غیر فلزی تقسیم می‌شوند. نانو ذرات اکسید فلزی بر اساس نسبت سطح به حجم، خاصیت ضدباکتریایی متفاوتی را از خود بروز می‌دهند. از فناوری نانو در تولید نانوذرات مختلف مانند نانو ذرات فلزی نقره، آهن، روی، منگنز، طلا، مس و غیره استفاده می‌شود. استفاده از نانوذرات در زمینه حذف آلودگی‌های محیطی و میکروبی در نانو تکنولوژی اهمیت زیادی دارد. نانو ذرات در زمینه‌ای مختلفی مانند بسته بندی، افزودنی سوخت، داروسازی و پزشکی کاربردهای وسیعی دارد (۹). اندازه و شکل دو عامل بسیار مهم بر روی اثرآنتی باکتریال نانوذرات است. تغییر در واکنش پذیری و خواص نانوذرات به اندازه کوچک آن‌ها مرتبط است. اندازه کوچکتر و نسبت سطح به حجم بالا نشان می‌دهد که فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات تحت تأثیر اندازه آن‌ها است فراوانی اکسیدهای فلزی، از طرف دیگر، همراه با تمایل نانوذرات برای ایجاد مقاومت بسیار پایین تر از آنتی بیوتیک‌ها و مهار موثر در برابر طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها برای چندین نانو اکسید متشکل از یک فلز (Fe_3O_4 ، TiO_2، CuO، ZnO) کاملاً شناخته شده است (۱۰). همچنین، با وجود دامنه وسیعی که نانوذرات اکسید فلز به‌عنوان عوامل ضدباکتری دارند، با توجه به اثرات سمیت سلولی، در کاربردهای عملی از آن‌ها مشکلاتی به‌وجود می‌آید. از این‌رو، در نظر گرفتن اکسیدهای چند فلزی برای کاربردهای بیولوژیکی حتی بیشتر می‌شود، زیرا این‌ها می‌توانند اثرات هم افزایی را ایجاد کرده و بهترین خصوصیات فیزیکوشیمیایی اجزای آن‌ها را یکپارچه کنند. در حال حاضر، مقاومت میکروبی در برابر آنتی بیوتیک‌ها به حد بحرانی رسیده است. در بررسی گزینه‌های مختلف برای رفع این مشکل، نانومواد غیر آلی، مانند نانوذرات اکسید فلز، به‌عنوان گزینه امیدوار کننده ظاهر شده‌اند، زیرا در مقایسه با مواد آلی، دوام بیشتر، سمیت پایین‌تر و ثبات و انتخاب بیشتری دارند (۱۱). گرافن یک ماده جدید دو بعدی

است که به دلیل خصوصیات ویژه چون سطح مقطع بالا، رسانایی الکتریکی و حرارتی بالا، پایداری مکانیکی و شیمیایی بالا، سمیت سلولی پایین و سازگارپذیری و هزینه کم تولید در مقیاس بالا کاربردهای زیادی در الکترونیک و پزشکی پیدا کرده است. اکسیدگرافن به‌دلیل قابلیت تفکیک بسیار و تغییرپذیری آسان، امکان تنظیم دقیق گذردهی غشا را فراهم میکند (۱۲). اکسید روی با خواص فیزیکی و شیمیایی خاص خودش یک ماده چند عملکردی است که در صنایع مختلفی مثل الکترونیک، اپتوالکترونیک، لیزر و همین طور صنایع سرامیک، نساجی، کشاورزی، آرایشی و داروسازی کاربرد دارد و به خاطر سمیت پایین آن و قابلیت تجزیه زیستی یک ماده مناسب برای تحقیقات زیست پزشکی و سیستم‌های طرفدار محیط زیست است. اکسید روی به‌علت ویژگی‌های ضد میکروبی، ضدعفونی کنندگی و خشک کننده‌اش به‌طور گسترده در تولید انواع مختلف داروها استفاده می‌شود (۱۳). با توجه به اهمیت مقاومت‌های دارویی مخصوصا مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در پاتوژن‌ها و پارازیت‌ها در پروسه درمان و کاهش استفاده از آنتی بیوتیک‌های وسیع‌الطیف که هم باعث ایجاد مقاومت‌های دارویی می‌شوند و هم باعث ایجاد آسیب در فرد استفاده کننده می‌شوند، استفاده از نانوذرات برای تقویت اثر آنتی‌بیوتیک‌ها بر عوامل بیماریزا ضروری است (۱۴). در حال حاضر، هیچ رژیم درمانی برای رسیدگی به چالش‌های خاص عفونت‌های مرتبط با سنگ‌های کلیوی ایجاد نشده است. به نظر می‌رسد استفاده از نانوذرات فلزی به دلیل اندازه کوچک و احتمالا قدرت نفوذ بیشتر و ویژگی آنتی‌باکتریال زیاد، بتوانند جایگزین مناسب‌تری به جای آنتی بیوتیک‌ها باشند (۱۵). هدف از این تحقیق بررسی کاربرد خاصیت انتی باکتریال نانوذرات اکسید و اکسید گرافن علیه باکتری‌های موجود در سنگ‌های کلیوی جدا شده از بیماران است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی- مقطعی سنگ‌های کلیه حدود ۴۵ بیمار در بیمارستان شهید لبافی نژاد طی عمل جراحی PCNL (Percutaneous nephrolithotomy) طی ۶ ماه ازکلیه آن‌ها خارج گردید. سن بیماران از ۲۲ سال تا ۷۳ سال متغیر بود. ۴۹٪ مرد و ۵۱٪ زن بودند. برای جمع آوری سنگ‌ها از بیماران رضایت نامه کتبی دریافت گردید. این طرح در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد واحد تهران مرکز تصویب شده و دارای کد اخلاق (IR.IAU.CTB.REC.1400.065) می‌باشد. سنگ‌ها در نرمال سالین استریل به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه هر سنگ ۵ بار با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد. هر سنگ به دو قسمت تقسیم شد. نیمی از آن در هاون استریل به صورت پودر در آمده و با ۵cc سرم فیزیولوژی به صورت سوسپانسیون در آمد. نیمه دیگر سنگ جهت بررسی میزان نفوذ نانوذرات به داخل آن مورد بررسی قرار گرفت.

الف) تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جدا شده از سنگ‌های کلیوی: در شرایط استریل ۰.۰۰۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون سنگ بر روی محیط های بلاد آگار و ائوزین متیلن بلو آگار در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. کشت‌های مثبت از نظر نوع باکتری مورد ارزیابی قرار گرفتند. مورفولوژی کلنی‌های رشد یافته، اندازه آن‌ها و رنگ‌آمیزی گرم آنالیز گردید. برای شناسایی باسیل‌های گرم منفی از محیط‌های افتراقی مانند TSI و سیمون سیترات، SIM و MR-VP استفاده شد. برای تشخیص کوکسی‌های گرم مثبت آزمایش‌های کاتالاز استفاده گردید در صورت مثبت بودن تست، از تست‌های تخمیر مانیتول، DNase و کوآگولاز، آلکالین فسفاتاز و اوره‌آز استفاده گردید (۱۶). آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش انتشار دیسکِ کربی بائر روی محیط کشت مولر هینتون و سوسپانسیون میکروبی نیم مک فارلند و دیسک‌های نالیدیکسیک اسید (۳۰µg)، سفتریاکسون (۳۰µg)، کوتریموکسازول (۱/۲۵µg)، نیتروفورانتوئین (۳۰µg)، توبرامایسین (۱۰µg)، جنتامایسین (۱۰µg)، آمیکاسین (۲۰µg)، افلوکساسین (۵µg) و سیپروفلوکسازین (۵µg) انجام گرفت.

ب) آماده‌سازی نانوذرات اکسید گرافن: به‌منظور سنتز گرافن از پودر گرافیت با استفاده از روش تغییر یافته هامر استفاده شد.

این روش مشابه روش هامر می‌باشد با این تفاوت که در آن از اکسید کننده قوی تری مانند پتاسیم پرمنگنات به جای اسید نیتریک استفاده می‌شود (۱۷). به‌طور خلاصه اگرم از پودر گرافیت را با ۲۰ میلی‌لیتر از H2SO4 در ۸۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۵ ساعت مخلوط شده سپس ۰/۵ گرم NaNo به‌درون محلول اضافه می‌گردد و در یک حمام یخ به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شده، پس از این ۳ گرم KMnO4 به آهستگی به محلول اضافه و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرماگذاری می‌شود. محلول حاصل با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب رقیق شده و در نهایت ۵ میلی لیتر H2O2 ۳۰٪ به محلول اضافه می‌شود.

ج) آماده‌سازی نانوذرات اکسید روی: در این پژوهش نانوذرات اکسید روی به روش سُل –ژل سنتز شدند. ۲/۰ مول استات روی در محلولی شامل ۱۰ میلی‌لیتر اتانول و ۲۵/۰ میلی‌لیتر آب دو بار یونیزه حل شد و در دمای ۹۰ درجه سلسیوس توسط همزن حرارت داده شد. سل به‌دست آمده را در دمای ۱۵۰ درجه سلسیوس در هاون گذاشته تا خشک شود. پودر به‌دست‌آمده به مدت ٤ ساعت در دمای ۳۵۰ درجه سلسیوس در کوره قرار داده شد تا کلسینه شود. نانوذرات سنتز شده با روش‌های DLS، تست زتا و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) آنالیز شدند.

د) اثر نانوذرات بر باکتری‌های جدا شده به‌روش چاهک در آگار: از هر باکتری کشت خالص ۲٤ ساعته در محیط مایع تریپتیکاز سوی براث تهیه گردید و سوسپانسیون استاندارد با کدورتی برابر با محلول نیم مک فارلند در سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید .این کدورت دارای جذب نوری برابر با ۱ و طبق استاندارد نیم مک فارلند شمارش باکتری در آن $۱/۵\times ۱۰^{۸}$ واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر می‌باشد. هر باکتری به طور جداگانه در محیط مولر هینتون آگار کشت شد. غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ppm از نانوذرات تهیه گردید و چاهک‌هایی به قطر ٤mm در محیط کشت مولر هینتون آگار تعبیه شده و ۲۰ میکرولیتر از از رقت‌های تهیه شده نانوذرات داخل چاهک ریخته شد. پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرماگذاری شدند. قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (۱۸).

ه) تعیین حداقل غلظت مهاری(MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC): روی محیط ائوزین متیلن بلو آگار یک کشت تک کلنی به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس ایجاد کرده و سپس از این محیط یک لوپ به محیط نوترینت براث منتقل و به مدت ۲٤ ساعت در ۳۷ درجه گرماگذاری شد. برای تعیین MIC و MBC یک سری ۸ تایی لوله تهیه شد. ٦ لوله برای رقت سازی، ۱ لوله کنترل مثبت (محیط کشت و نانوذرات) و یک لوله کنترل منفی (سوسپانسیون باکتریایی و محیط کشت) در نظر گرفته شد. در هر لوله ۱cc محیط کشت نوترینت براث ریخته به لوله اول ۱cc از نانو ذرات با بالاترین غلظت اضافه و سپس ۱cc از لوله اول برداشته به لوله دوم اضافه شد. از لوله دوم نیز ۱cc برداشته به لوله سوم اضافه و به همین ترتیب تا لوله آخر رقت‌سازی انجام شد. به تمام لوله‌ها سوسپانسیون باکتری به میزان ۵۰ میکرولیتر اضافه و لوله‌ها را به مدت ۲٤ ساعت درون انکوباتور گذاشته شد. پس از خارج کردن نمونه‌ها از انکوباتور برای هر نمونه اولین لوله بدون کدورت به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد. تمام لوله‌هایی که بدون کدورت بودند روی محیط مولر هینتون آگار کشت شدند و اولین غلظتی که در آن باکتری رشد نکرده بود به‌عنوان MBC در نظر گرفته شد (۱۹).

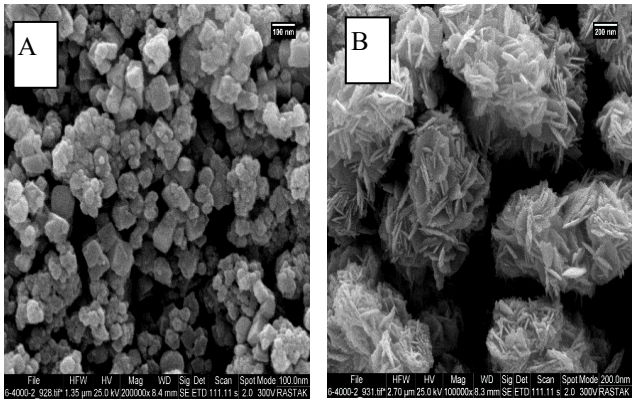
یافته‌ها

در کشت سنگ‌های جدا شده از ٤۵ بیمار به روش PCNL، کشت ۱۰ بیمار از نظر وجود باکتری مثبت شد. در مجموع ٦۳/٦٪ باکتری‌های جدا شده گرم منفی و ۳٦/٤٪ باکتری‌ها گرم مثبت بودند. فراوان‌ترین باکتری جداشده، *اشریشیاکلی* با فراوانی ٤۵/٤٪ و کمترین فراوانی مربوط به *انتروباکترآئروژنز*، *انتروباکتر پیرینوس*، *استافیلوکوکوس کوهنی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* با فراوانی ۹/۱٪ به‌دست آمد (جدول ۱).

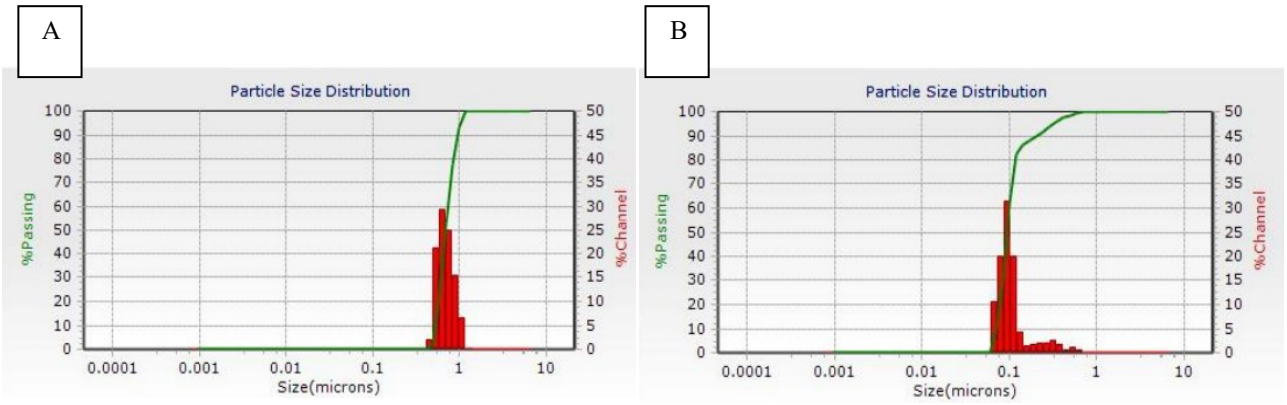
جدول ۱: فراوانی باکتری‌های جدا شده از کشت سنگ جدا شده از کلیه بیماران.

نوع باکتری	درصد
اشریشیاکلی	٪۴۵/۴
انتروباکترآئروژنز	٪۹/۱
انتروباکتر پیرینوس	٪۹/۱
استافیلوکوکوس کوهنی	٪۹/۱
استافیلوکوکوس اورئوس	٪۹/۱
استافیلوکوکوس کوپرا	٪۱۸/۲
مجموع	٪۱۰۰

درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جدا شده از سنگ‌های کلیه بیماران در جدول ۲ خلاصه شده است. آنالیز نانوذرات اکسید روی و اکسید گرافن توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) در شکل ۱ نشان داده شده است. آنالیز DLS نشان داد که اندازه نانوذرات سنتز شده اکسید روی 500nm و نانوذرات اکسید گرافن 70nm است (شکل ۲).



شکل ۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) نانوذرات اکسید روی (A) و نانوذرات اکسید گرافن (B).



شکل ۲: تست DLS اندازه نانوذرات اکسید روی (A) و نانورذرات اکسید گرافن (B).

جدول ۲: درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جدا شده از سنگ‌های کلیه بیماران.

باکتری‌ها	سیپروفلوکسازین (Ciprofloxacin)	آمیکاسین (Amikacin)	جنتامایسین (Gentamycin)	نالیدیکسیک اسید (Nalidixic acid)	ونکومایسین (Vancomycin)	سفتریاکسون (Ceftriaxone)
اشریشیاکلی	۳۷/۵	۳۰/۵	۲۷/۴	۵۳/۲	–	۴۱/۱
استافیلوکوکوس کوهنی	۲۷/۴	۱۸/۷	۳۵/۵	۴۴/۲	۲۶/۳	۲۵/۲
انتروباکترآئروژنز	۴۵/۲	۱۵/۵۱	۳۸/۲	۴۴/۶	۲۴	۵۵/۷
استافیلوکوکوس اورئوس	۳۶/۵	۱۵/۵	۲۴/۵	۴۳/۹	۱۷/۳	۳۲/۲
انتروباکتر پیرینوس	۶۶/۸	۲۴/۳	۴۴/۳	۶۳/۴	۱۳/۵	۶۴/۳
استافیلوکوکوس کوپرا	۲۳/۹	۱۶/۱	۳۱/۸	۴۹/۸	۱۲/۵	۳۴/۳

مهمترین نقش پتانسیل زتا در رفتار نانوذرات، تاثیر آن بر میزان پایداری و مقاومت آن‌ها در محیط‌های آبی است. از آنجایی که ذرات کوچکتر تمایل بیشتری به تجمع و انباشته شدن دارند در نتیجه باید پتانسیل زتای بالاتر و درنتیجه دافعه بیشتری داشته باشند تا پایداری شان افزایش یابد. در این مطالعه پتانسیل زتا برای نانوذرات اکسید روی ۱۴/۹- و برای نانوذرات اکسید گرافن ۱۸/۲- محاسبه گردید (جدول ۳).

جدول ۳: تست زتا برای نانوذرات اکسید روی (A) و اکسید گرافن (B).

A: Run 1	Run 2	Run 3	B: Run 1	Run 2	Run 3
-۱۵/۱	-۱۴/۹	-۱۴/۷	-۱۸/۲	-۱۷/۹	-۱۸/۶

تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی و اکسید گرافن نانوذرات اکسید روی در حداکثر غلظت 1000ppm، بیشترین بازدارندگی را روی باکتری *اشریشیاکلی* برابر با 25mm و در نانوذرات اکسید گرافن با همین غلظت برابر با 18mm برای همین باکتری نشان دادند (جدول ٤ و٥).

جدول ٤: تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید گرافن بر باکتری‌های جدا شده از سنگ براساس اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد (mm).

غلظت نانوذره (ppm) / باکتری	۲۵	۵۰	۱۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰
اشریشیاکلی	۱۱/۵	۱۳	۱۳	۱۵/۵	۱۸
انتروباکترآئروژنز	۱۱	۱۱/۵	۱۲	۱۳	۱۵/۵
انتروباکتر پیرینوس	۷/٤	۱۰/۳	۱۳	۱۵/۵	۱۷/۳
استافیلوکوکوس کوهنی	۸/٤	۱۱	۱۰/۵	۱۲/۵	۱۵/۵
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۲/۲	۱۳/۳	۱۲/۷	۱۵/۵	۱۷/۵
استافیلوکوکوس کوپرا	۱۰/۵	۱۲	۱۳	۱٤/۵	۱٦/۵

با توجه به شیب غلظت نانوذرات، هر دو نانوذره اثر آنتی‌باکتریال را بر روی باکتری‌های جدا شده داشتند. نتایج MBC و MIC نانوذرات سنتز شده بر روی باکتری‌ها نشان داد MIC نانوذره اکسید روی در غلظت 180µg/ml و MBC 228µg/ml و MIC اکسید گرافن 250µg/ml و MBC 300µg/ml بر *انتروباکترآئروژنز* به‌دست آمد (جدول ٦ و٧).

جدول ٥: تاثیر غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی بر باکتری‌های جدا شده از سنگ براساس اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد (mm).

غلظت نانوذره (ppm) / باکتری	۲۵	۵۰	۱۰۰	۵۰۰	۱۰۰۰
اشریشیاکلی	۱۲/۵	۱۵	۱٤/۵	۱۸/٤	۲۵
انتروباکترآئروژنز	۱۱/۵	۱۲/٤	۱۵/۵	۱۸	۲۱
انتروباکتر پیرینوس	۱۳	۱٤	۱۵	۱۷/۵	۱۹/۵
استافیلوکوکوس کوهنی	۱۰/۳	۱۲/٤	۱۲/۵	۱۳/۵	۱۷/۵
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۱	۱۱/۵	۱۳	۱۵/٤	۱۸/۳
استافیلوکوکوس کوپرا	۹/۵	۱۰	۱۱	۱۲/۵	۱۷

جدول ٦: نتایج MIC و MBC حاصل از تاثیر نانوذرات اکسید روی بر باکتری‌ها بر حسب µg/ml.

باکتری	MIC	MBC
اشریشیاکلی	٤۰۰	۵۵۰
انتروباکترآئروژنز	۲۵۰	۳۰۰
انتروباکتر پیرینوس	۳۲۰	٤۰۰
استافیلوکوکوس کوهنی	٤۱۰	۵۵۰
استافیلوکوکوس اورئوس	۳۹۰	۳۸۰
استافیلوکوکوس کوپرا	٤۵۰	۵۲۰

جدول ٦: نتایج MIC و MBC حاصل از تاثیر نانوذرات اکسید گرافن بر باکتری‌ها بر حسب µg/ml.

باکتری	MIC	MBC
اشریشیاکلی	۲۲۰	۳۸۰
انتروباکترآئروژنز	۱۸۰	۲۲۸
انتروباکتر پیرینوس	۲۱۸	۲۳۸
استافیلوکوکوس کوهنی	۳۱۸	۳٤۳
استافیلوکوکوس اورئوس	۲۳۸	۲۸٤
استافیلوکوکوس کوپرا	۳۲۰	۳۵۲

بحث

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد، ۲۲.۲ درصد سنگ‌های جدا شده از کلیه بیماران بیمارستان لبافی نژاد تهران دارای آلودگی باکتریایی بودند. باکتری‌های جدا شده مربوط به ٦ سویه متفاوت بودند که سه گونه مربوط به باکتری‌های گرم مثبت شامل *استافیلوکوکوس کوهنی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس کوپرا* بودند و سه گونه دیگر از باکتری‌های گرم منفی غالب شامل *اشریشیاکلی*، *انتروباکترآئروژنز* و *انتروباکتر پیرینوس* می‌باشند. نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها نشان داد بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های گرم منفی مربوط به سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید و سفتریاکسون و بیشترین حساسیت مربوط به آمیکاسین است. در باکتری‌های گرم مثبت بیشترین مقاومت مربوط به نالیدیکسیک اسید و بیشترین حساسیت مربوط به ونکومایسین است. تحقیق و توسعه در زمینه‌های مختلف فناوری نانو رو به گسترش بوده و حوزه‌های علوم مختلف را درگیر نموده است. گزارشات متعددی مبنی بر اثرات ضدمیکروبی نانوذرات فلزی بر باکتری‌ها و قارچ‌ها وجود دارد (۲٤-۲۰). در سال‌های اخیر مقاومت به دارو یک نگرانی جهانی است زیرا مصرف نامناسب و غیر منطقی داروهای ضدمیکروبی، شرایط مناسبی را برای ایجاد میکروب‌های مقاوم به دارو فراهم می‌کند که منجر به طولانی شدن بیماری و افزایش خطر مرگ می‌گردد (۲٤). نانومواد به‌علت افزایش سطح به حجم و فعالیت واکنشی بالا از اهمیت زیادی برخوردار هستند. از طرفی در شرایط نامساعد مانند دمای بالای استریلیزاسیون که منجر به غیر فعال شدن آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود، فعال هستند (۲۵). در این مطالعه فعالیت‌های مهارکنندگی و ضدباکتریایی نانوذرات اکسید گرافن و اکسید روی علیه باکتری‌های جدا شده از سنگ کلیه بیماران بررسی گردید. نتایج نشان دادند که نانوذرات اکسید گرافن با قطر ۷۰ نانومتر و اکسید روی با قطر ۵۰۰ نانومتر در غلظت‌های بسیار پایین می‌توانند اثر مهارکننده رشد و همچنین اثرات باکتریسیدال نسبت به باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی داشته باشند. حساسیت باکتری‌ها به نانوذرات فقط به ساختار دیواره سلولی مربوط نمی‌شود؛ بلکه ممکن است به پراکسیداسیون چربی و تولید گونه های فعال اکسیژن نیز مربوط باشد (۲٦). نانوذرات اکسید فلزی براساس نسبت سطح به حجم، خاصیت ضدباکتریایی 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. اکسید گرافن دارای تعداد زیادی گروه‌های فعال اکسیژن مانند هیدروکسیل و کربوکسیل است و دارای سطح مقطع وسیعی است و در نتیجه در اندازه‌های نانومتری دارای تراکم و تجمع کمتری است. همین ویژگی باعث خواص ضدباکتریایی زیاد اکسید گرافن می‌باشد (۲۷). اکسید روی نیز دارای خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی است. نانوذرات اکسید روی با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و تخریب پروتئین‌های غشایی و DNA باکتری‌ها، خواص ضدباکتریایی را نشان می‌دهند. پتانسیل زتای نانوذرات اکسید روی نشان می‌دهد که این نانوذرات تمایل به تجمع و متراکم شدن از خود نشان می‌دهند که می‌توان با استفاده از سورفاکتانت‌ها و ترکیباتی که ذرات را پراکنده می‌کنند، جلوی تجمع و انباشت این نانوذرات را گرفت و خواص آنتی‌باکتریال آن‌ها را افزایش داد (۲۸).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که دو نانوذره مذکور اثرات آنتی‌باکتریال قابل توجهی دارند. اثرات متفاوت این دو نانوذره به دلیل بر هم کنش‌های متفاوت آن‌ها با اجزای تشکیل دهنده باکتری‌ها است. از انجایی که اکسید روی و گرافن پایداری و زیست سازگاری زیادی نسبت به نانوذرات فلزی دیگری مانند نقره و آهن دارند، گزینه‌های مناسبی برای درمان‌های عفونت‌های باکتریایی می‌باشند. در مطالعه حاضر مقایسه MBC و MIC نانوذرات اکسید گرافن و روی نشان داد نانوذرات اکسید روی اثر آنتی‌باکتریال قوی‌تری نسبت به اکسید گرافن دارند. در مجموع هر دو نانوذره می‌توانند انتخاب مناسبی برای اهداف کنترل میکروب‌های بیماریزا باشند و بین درصد غلظت نانوذرات و حذف باکتری‌ها ارتباط مستقیم وجود دارد، به

طوری که در غلظت‌های بالاتر خاصیت ضدباکتریایی قوی‌تری را نشان می‌دهند.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان این مقاله کلیه موارد اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه و تحریف داده‌ها را رعایت کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی و جناب آقای دکتر عابدنژاد پرسنل فعال و پر تلاش آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه زیست شناسی قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

وجود ندارد.

References

1. Prezioso, D., et al., Dietary treatment of urinary risk factors for renal stone formation. A review of CLU Working Group. Arch Ital Urol Androl, 2015. 87(2): p. 105-20.
2. Zhang, D., et al., Urinary stone composition analysis and clinical characterization of 1520 patients in central China. Sci Rep, 2021. 11(1): p. 6467.
3. Preclinical and Clinical Evidence and Molecular Mechanisms. Int J Mol Sci, 2018. 19(3).
4. Moslemi, M.K., H. Saghafi, and S.M. Joorabchin, Evaluation of biochemical urinary stone composition and its relationship to tap water hardness in Qom province, central Iran. Int J Nephrol Renovasc Dis, 2011. 4: p. 145-8.
5. Diez-Pascual, A.M., Antibacterial Action of Nanoparticle Loaded Nanocomposites Based on Graphene and Its Derivatives: A Mini-Review. Int J Mol Sci, 2020. 21(10).
6. Zhang, S., H. Gao, and G. Bao, Physical Principles of Nanoparticle Cellular Endocytosis. ACS Nano, 2015. 9(9): p. 8655-71.
7. Mirzaei, A., et al., Synthesis, Characterization and Gas Sensing Properties of Ag@alpha-Fe(2) O(3) Core-Shell Nanocomposites. Nanomaterials (Basel), 2015. 5(2): p. 737-749.
8. Jin, S., H. Lee, and S. Yim, Enhanced capacitive properties of all-metal-oxide-nanoparticle-based asymmetric supercapacitors. RSC Adv, 2019. 9(55): p. 31846-31852.
9. Hoshyar, N., et al., The effect of nanoparticle size on in vivo pharmacokinetics and cellular interaction. Nanomedicine (Lond), 2016. 11(6): p. 673-92.
10. Zhang, X.F., et al., Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. Int J Mol Sci, 2016. 17(9).
11. Liao, C., Y. Li, and S.C. Tjong, Bactericidal and Cytotoxic Properties of Silver Nanoparticles. Int J Mol Sci, 2019. 20(2).
12. Rhazouani, A., et al., Synthesis and Toxicity of Graphene Oxide Nanoparticles: A Literature Review of In Vitro and In Vivo Studies. Biomed Res Int, 2021. 2021: p. 5518999.
13. Agban, Y., et al., Characterization of Zinc Oxide Nanoparticle Cross-Linked Collagen Hydrogels. Gels, 2020. 6(4).
14. Amreddy, N., et al., Recent Advances in Nanoparticle-Based Cancer Drug and Gene Delivery. Adv Cancer Res, 2018. 137: p. 115-170.
15. Phan, M.H., et al., Exchange Bias Effects in Iron Oxide-Based Nanoparticle Systems. Nanomaterials (Basel), 2016. 6(11).
16. Ghoomdoost Noori H., et al., The effect of Tomatidine alkaloid on biofilm formation and expression of quorum sensing associated genes in Pseudomonas aeruginosa. Journal of Microb World.2023.16(2).
17. Hammer K., et al., Antimicrobial activity of essential oil and otherplant extract. J Appl Microbiol. 1999. 86(6).

18. Farahani A., et al., Antibiotic resistance and presence of Integron class1 and class2 genes amongst *Escherichia coli* isolates of urine specimens. 2023. 16(3).
19. Abasi M., et al., Evaluation of biodegradation of phenanthrene by *Basilus mojavensis* from the contaminated soils of Darkhovin oil region. 2024. 16(4).
20. Aqeel, T. and A. Bumajdad, Facile and Direct Preparation of Ultrastable Mesoporous Silica with Silver Nanoclusters: High Surface Area. ChemistryOpen, 2020. 9(1): p. 87-92.
21. Jedrzejczyk, R.J., et al., Antimicrobial Properties of Silver Cations Substituted to Faujasite Mineral. Nanomaterials (Basel), 2017. 7(9).
22. Qindeel, M., et al., Nanomaterials for the Diagnosis and Treatment of Urinary Tract Infections. Nanomaterials (Basel), 2021. 11(2).
23. Shakerimoghaddam, A., E.A. Ghaemi, and A. Jamalli, Zinc oxide nanoparticle reduced biofilm formation and antigen 43 expressions in uropathogenic *Escherichiacoli*. Iran J Basic Med Sci, 2017. 20(4): p. 451-456.
24. Rahuman, H.B.H., et al., Bioengineered phytomolecules-capped silver nanoparticles using Carissa carandas leaf extract to embed on to urinary catheter to combat UTI pathogens. PLoS One, 2021. 16(9): p. e0256748.
25. Liao, S., et al., Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Int J Nanomedicine, 2019. 14: p. 1469-1487.
26. Song, W. and S. Ge, Application of Antimicrobial Nanoparticles in Dentistry. Molecules, 2019. 24(6).
27. Luo, J., et al., The application prospect of metal/metal oxide nanoparticles in the treatment of osteoarthritis. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2021. 394(10): p. 1991-2002.
28. Chausov, D.N., et al., Synthesis of a Novel, Biocompatible and Bacteriostatic Borosiloxane Composition with Silver Oxide Nanoparticles. Materials (Basel), 2022. 15(2).