مقاله پژوهشی

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره بر روی *اسینتوباکتر بومانی*

سیده نسیم کریمی پور[۱]، اصغر تنومند[۲*]، صادق رستم نیا[۳]

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه، ایران
۲- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پزشکی مراغه، دانشگاه علوم پزشکی مراغه، مراغه، ایران
۳- گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۰۷/۱۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۱/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: به دلیل مقاومت *اسینتوباکتر بومانی* نسبت به داروهای ضد میکروبی در این مطالعه تأثیر نانوذرات نقره بر مهار رشد آن موردبررسی قرارگرفته است.

مواد و روش‌ها: نانوذره با اندازه تقریبی ۲۰nm از شرکت نانوتکنولوژی پیشتازان (ایران- مشهد) و نانوذره پودری با اندازه تقریبی ۵nm از گروه شیمی دانشگاه مراغه تهیه گردید و غلظت آن با روش طیف‌سنجی در دانشکده شیمی دانشگاه تبریز تعیین شد. خواص ضد میکروبی نانوذرات با روش MIC و MBC (میکروبراث دیلوشن)، دیسک دیفیوژن و ول دیفیوژن تعیین شد. با این روش ۲۰ سویه بیمارستانی تهیه‌شده از بیمارستان امام رضای تبریز، موردبررسی قرار گرفت.

نتایج: بر اساس نتایج، میزان MIC و MBC به ترتیب ۱۲۵۰ppm و ۲۵۰۰ppm برای نانوذرات با اندازه ۲۰nm و ۱۵۶ppm و ۳۱۲ppm برای نانوذرات نقره با اندازه ۵nm تعیین شد. میزان MIC و MBC به‌دست‌آمده برای سویه‌های *اسینتوباکتر بومانی* بالینی و NCTC 12516، تفاوت معنی‌داری نشان نداد. همچنین در روش دیسک دیفیوژن مقدار هاله عدم رشد برای نانوذرات ۲۰nm در غلظت ۲۰۰۰۰ppm در *اسینتوباکتر بومانی* بالینی و NCTC 12516 (۱۱ میلی‌متر) و در روش ول دیفیوژن در همین غلظت ۹/۵ میلی‌متر به دست آمد. در نانونقره ۵nm در روش دیسک دیفیوژن و ول دیفیوژن در غلظت ۲۵۰۰ppm و ۹/۵ میلی‌متر به دست آمد.

نتیجه‌گیری: *اسینتوباکتر بومانی* به نانو ذرات نقره حساس بوده، یکسان بودن MIC و MBC در گونه‌های بالینی متعدد نشان می‌دهد که مقاومتی برای نانو ذرات نقره وجود ندارد.

کلمات کلیدی: *اسینتوباکتر بومانی*، نانوذرات نقره، MIC و MBC

مقدمه

در سال‌های اخیر فناوری نانو توانسته است تحولات عمیقی در زمینه پژوهش و تولید محصولات ایجاد کند (۱). در این فناوری از مواد در ابعاد نانومتری جهت تولید محصولات جدید استفاده می‌شود (۲). اندازه مواد در نانوتکنولوژی مهم است، برای نمونه در اندازه‌های ۱۰۰-۰/۲ در مقیاس نانومتر. به‌علاوه درصدی از اتم‌ها در سطح این مواد وجود دارد که اهمیت بیشتری دارند. نانو ذرات معمولاً دارای قطر ۱۰۰-۱ نانومتر هستند. با کاهش اندازه‌ی مواد به سطح اتمی، خواص آن تغییر می‌کند. نانوذرات داری خواص منحصربه‌فرد فیزیک و شیمیایی، نوری و بیولوژیکی هستند (۳). در حال حاضر نانوتکنولوژی در زمینه نانوآنتی‌بیوتیک نیز سودمند است، این تکنولوژی به‌وسیله دست‌کاری در اندازه و مقیاس باعث افزایش عملکرد این مواد می‌شود (۴). سطح نانوذرات نسبت به حجم آن‌ها زیاد است، ماده در ابعاد نانو در مقایسه با همان ماده در ابعاد بزرگ‌تر، خواص متفاوتی نشان می‌دهد. یکی از محصولات فناوری نانو، نانوذرات نقره می‌باشد. اثرات ضد میکروبی نقره از گذشته شناخته‌شده است. بااین‌حال خاصیت ضد میکروبی نانوذرات نقره نسبت به نقره بیشتر می‌باشد (۵-۶). نتایج بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد برخلاف آنتی‌بیوتیک‌های رایج که معمولاً فقط روی باکتری‌ها اثر کشندگی و مهاری دارند، نانوذرات نقره علاوه بر باکتری‌ها اثرات کشندگی بر روی قارچ‌ها، پروتوزوا و حتی ویروس‌ها نیز دارند (۷-۸). تحقیقات متعدد، مبتنی بر

* **نویسنده مسئول: اصغر تنومند**، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پزشکی مراغه، دانشگاه علوم پزشکی مراغه، مراغه، ایران Email: tanomanda@tbzmed.ac.ir

واکنش‌های احتمالی بین نانوذرات با ماکرومولکول‌های موجودات زنده انجام‌گرفته است. اختلاف بین بار منفی میکروارگانیسم و بار مثبت نانوذره، به‌صورت یک الکترومغناطیس جاذب بین میکروب و نانوذره عمل کرده و باعث اتصال نانوذره به سطح سلول شده و در نتیجه می‌تواند باعث مرگ سلول شود که در نهایت تعداد زیادی از این تماس‌ها منجر به اکسید شدن مولکول‌های سطحی میکروب‌ها شده و باعث مرگ سریع آن‌ها می‌شوند. احتمال داده می‌شود یون‌های آزادشده از نانومواد با گروه‌های تیول (-SH) پروتئین‌های سطحی سلول‌های باکتریایی واکنش دهند. تعدادی از این پروتئین‌های غشای سلول‌های باکتریایی عمل انتقال مواد معدنی از سطح دیواره را به عهده‌دارند؛ که نانومواد با اثر بر روی این پروتئین‌ها باعث غیرفعال شدن و نفوذناپذیری غشاء می‌شوند (۹)، غیرفعال شدن تراوایی غشاء در نهایت باعث مرگ سلول می‌شود. همچنین نانومواد چسبیدن سلول باکتری و تشکیل بیوفیلم را به تأخیر می‌اندازد که این عمل باعث می‌شود گروهی از باکتری‌ها نتوانند تثبیت شوند و تکثیر یابند (۱۰).

تغییرات ضد میکروبی که از رشد باکتری بیماری‌زا ممانعت می‌کنند، یک هدف مطلوب محسوب می‌شود. عوامل ایجادکننده عفونت‌ها می‌توانند متعدد باشند؛ تشکیل کلنی، رشد سلول باکتری و تشکیل ماتریکس‌های بیوفیلمی فشرده میکروبی، باکتری‌ها را در مقابل سیستم دفاعی میزبان مقاوم می‌کند؛ که نانوذرات از تشکیل این عوامل دفاعی میکروب در برابر سیستم ایمنی میزبان جلوگیری می‌کند. نانومواد که پایه آن‌ها از یون‌های فلزی است، دارای فعالیت سلول کشی گسترده‌ای هستند که علیه باکتری، قارچ و ویروس فعالیت دارند. نانومواد و به‌خصوص نانومواد فلزی به علت داشتن بار سطحی و نسبت سطح به حجم خود، آنزیم‌ها و DNA میکروارگانیسم‌ها را با تعادل الکترون بین گروه‌های دهنده الکترون مثل تیول، کربوکسیلات، آمید، ایمیدازول، اندول و هیدروکسیل غیرفعال می‌نمایند (۱۱-۱۲).

مواد و روش‌ها

تهیه نانوذرات

در این مطالعه ابتدا دو نوع نانوذره نقره به‌صورت پودری با اندازه حدود ۲۰ نانومتر خریداری‌شده از شرکت نانوتکنولوژی پیشتازان (ایران-مشهد) و با اندازه حدود ۵nm (سنتز شده به روش شیمیایی) از گروه شیمی دانشگاه مراغه تهیه شد.

مواد و میکروب‌های مورد بررسی

اسینتوباکتر بومانی (NCTC 12516) و ۲۰ مورد *اسینتوباکتر بومانی* از بیمارستان امام رضای تبریز تهیه شد. برای تعیین هویت باکتری آزمایش‌های لازم (انجام رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز و اکسیداز و PCR) انجام گرفت. محیط کشت مولر هینتون آگار در روش ول دیفیوژن و دیسک دیفیوژن و نوترینت براث برای تهیه رقت سریال مورداستفاده قرار گرفت.

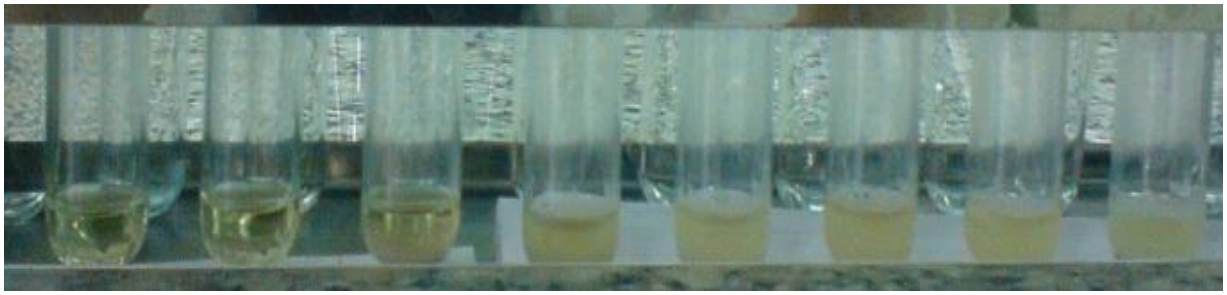
بررسی خواص ضد میکروبی

الف - تعیین MIC (Minimum inhibition concentration) و MBC (Minimum bactericidal concentration) نانوذرات نقره: ابتدا از هریک از نانوذرات (اندازه ۲۰nm و ۵nm) مقدار ۰/۰۸ گرم وزن کرده و در ۲ میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت براث حل شد. پس‌ازآن رقت‌های سریال (۴۰۰۰۰ppm، ۲۰۰۰۰، ۱۰۰۰۰، ۵۰۰۰، ۲۵۰۰، ۱۲۵۰، ۶۲۵، ۳۱۲، ۱۵۶، ۷۸، ۳۹، ۱۹) تهیه گردید. سپس به هر یک از لوله‌ها ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی *اسینتوباکتر بومانی* معادل ۰/۵ مک فارلند ($1/5\times10^8$CFU) اضافه و به‌این‌ترتیب مقدار ثابت باکتری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره قرار گرفت. لوله‌های تهیه‌شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور شیکردار قرار داده شد. پس‌ازآن از مایع داخل هر یک از لوله‌ها به مقدار ۱۰ میکرولیتر در ۱۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی رقیق‌سازی و برای شمارش کلنی‌ها در محیط مولر هینتون اگار انتقال داده و توسط آنس استریل بر روی محیط کشت پخش گردید. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس رشد کلنی باکتری در پلیت بررسی و MIC و MBC نانوذرات تعیین گردید. غلظتی که ۹۹/۹۹ درصد میکروب‌ها کشته‌شده بودند به‌عنوان MBC و لوله شفاف به‌عنوان MIC انتخاب شد.

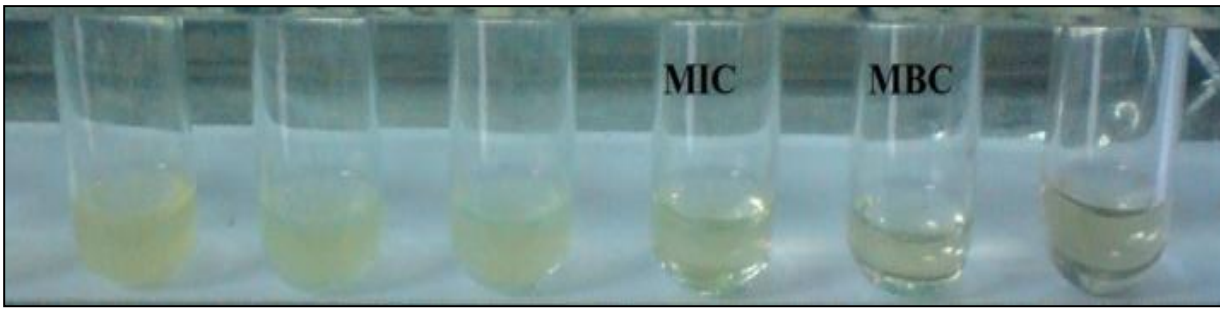
ب ـ بررسی آثار ضد باکتریایی نانوذرات با روش ول دیفیوژن و دیسک دیفیوژن:

به‌منظور بررسی حساسیت باکتری بر نانوذرات نقره با روش ول دیفیوژن (well diffusion) و دیسک دیفیوژن (dick diffusion)، ابتدا *اسینتوباکتر بومانی* را در لوله حاوی محیط نوترینت براث کشت داده و رسوب میکروب توسط سانتریفیوژ جدا شد و با استفاده از سرم فیزیولوژی سوسپانسون میکروبی معادل نیم مک فارلند تهیه گردید. سپس بعد از فروبردن سوآپ استریل در سوسپانسیون میکروبی، اضافه محلول را با فشار دادن

سوآپ به کنار لوله گرفته و سپس در سطح پلیت حاوی مولر هینتون آگار، ۳ بار در حالت زاویه ۶۰ درجه، از گونه‌های باکتریایی موردنظر کشت داده و سپس ۲۰ میکرولیتر از رقت شد به‌طوری‌که فاصله نقطه‌های تلقیح شده از همدیگر حداقل ۱۵ میلی‌متر بود. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس‌ازآن قطر هاله‌های عدم رشد

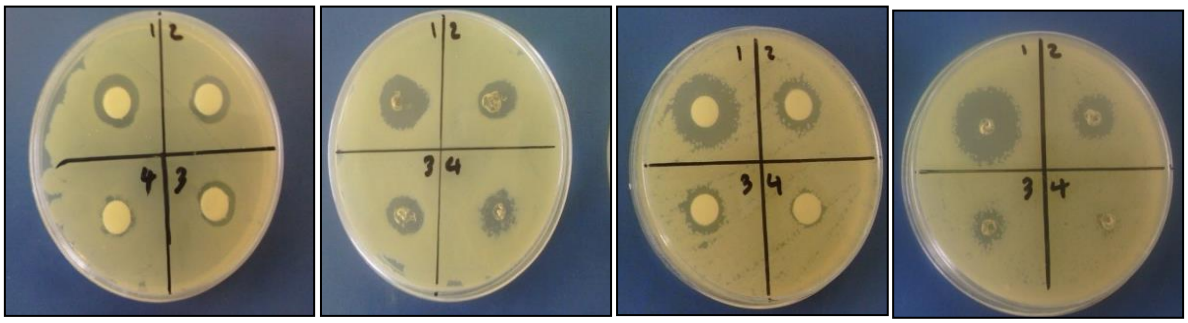


شکل ۱- مهار رشد باکتری *اسینتوباکتر بومانی* توسط نانوذرات نقره ۲۰ نانومتری



شکل ۲- مهار رشد باکتری اسینتوباکتر بومانی توسط نانوذره ۵ نانومتریچ

نانوذره ۲۰nm (۴۰۰۰۰ppm، ۲۰۰۰۰، ۱۰۰۰۰، ۵۰۰۰) و رقت سریال نانوذره ۵nm (۵۰۰۰ppm، ۲۵۰۰، ۱۲۵۰، ۶۲۵) به‌طور جداگانه مستقیماً به‌صورت نقطه‌ای به سطح محیط کشت تلقیح اندازه‌گیری شد. در روش دیسک دیفیوژن در هر پلیت ۴ دیسک خام در شرایط استاندارد قرار داده شد. سپس از هر رقت نانوذره به مقدار ۳۰ میکرولیتر بر روی دیسک های موجود در روی



الف- ۲۰ نانومتر ب- ۵ نانومتر

شکل ۳- آثار ضد باکتریایی ۲۰ میکرولیتر از رقت‌های (40000ppm، 20000، 10000، 5000) نانوذره نقره بر روی *اسینتوباکتر بومانی* در روش دیسک دیفیوژن و ول دیفیوژن۱- ۴۰۰۰۰ppm ۲- ۲۰۰۰۰ppm ۳- ۱۰۰۰۰ppm ۴- ۵۰۰۰ppm

محیط کشت ریخته شد. سپس بعد از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد محاسبه گردید. تمام مراحل فوق ۳ بار تکرار و میانگین نتایج ثبت گردید.

نتایج

نتایج بررسی MIC و MBC در محیط نوترینت براث نشان داد که میانگین MIC و MBC نانو ذرات نقره در اندازه ۲۰

جدول ۱- میزان MIC و MBC نانوذرات نقره رویه جدایه‌های بالینی و سویه استاندارد (NCTC12516) *اسینتوباکتر بومانی*

سویه‌های موردمطالعه *اسینتوباکتر بومانی*	نانوذره نقره حدود ۲۰nm		نانوذره نقره حدود ۵nm	
	MIC	MBC	MIC	MBC
۱	۲۵۰۰	۵۰۰۰	۱۵۶	۳۱۲
۲	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۳۱۲	۶۲۵
۳	۳۱۲	۶۲۵	۷۸	۱۵۶
۴	۶۲۰	۱۲۵۰	۱۵۶	۳۱۲
۵	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۷۸	۱۵۶
۶	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۱۵۶	۳۱۲
۷	۳۱۲	۶۲۵	۳۱۲	۶۲۵
۸	۶۲۵	۱۲۵۰	۷۸	۱۵۶
۹	۶۲۵	۱۲۵۰	۱۵۶	۳۱۲
۱۰	۲۵۰۰	۵۰۰۰	۷۸	۱۵۶
۱۱	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۳۱۲	۶۲۵
۱۲	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۱۵۶	۳۱۲
۱۳	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۱۵۶	۳۱۲
۱۴	۲۵۰۰	۵۰۰۰	۱۵۶	۳۱۲
۱۵	۳۱۲	۶۲۵	۱۵۶	۳۱۲
۱۶	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۷۸	۱۵۶
۱۷	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۱۵۶	۳۱۲
۱۸	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۱۵۶	۳۱۲
۱۹	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۷۸	۱۵۶
۲۰	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۱۵۶	۳۱۲
سویه استاندارد (NCTC12516)	۱۲۵۰	۲۵۰۰	۱۵۶	۳۱۲

نانومتر برای *اسینتوباکتر بومانی* به ترتیب ۱۲۵۰ppm و ۲۵۰۰ppm و در اندازه ۵ نانومتری ۱۵۶ppm و ۳۱۲ ppm تعیین گردید (شکل ۱، ۲ و جدول ۱).

همچنین نتایج مربوط به روش انتشار چاهک نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات نقره، قطر هاله عدم رشد باکتری افزایش می‌یابد. تغییرات میانگین هاله عدم رشد در *اسینتوباکتر بومانی* در غلظت‌های تهیه‌شده درشکل ۳ نشان داده شده است.

نتایج مربوط به روش دیسک دیفیوژن همانند ول دیفیوژن نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات نقره، قطر هاله عدم رشد باکتری افزایش می‌یابد. تغییرات میانگین هاله عدم رشد در *اسینتوباکتر بومانی* در غلظت‌های تهیه‌شده به‌صورت زیر است (شکل ۳).

بحث و نتیجه گیری

اسینتوباکتر جزء باکتری گرم منفی و کوکوباسیل و بی‌حرکت است. *اسینتوباکتر بومانی* به‌ندرت عامل عفونت‌های سخت در افراد با سطح ایمنی طبیعی شده، همچنین کمتر به‌عنوان فلور طبیعی بدن شخص سالم شناخته‌شده است. سویه‌های مختلف *اسینتوباکتر بومانی* اغلب به داروهای ضد میکروبی مقاوم بوده که این مقاومت می‌تواند ذاتی و یا از طریق به دست آوردن عـــوامل ژنتیکی مقـــاومت باشد. مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که اسینتوباکترهای بالینی جداشده از بیمارستان‌های ایران به‌شدت به چندین کلاس آنتی‌بیوتیک مقاوم می‌باشند. استفاده از نانوذرات جهت مقابله با عفونت‌های باکتریایی یکی از مؤثرترین روش‌ها است.

در تحقیق حاضر اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره موردبررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج حاصل از روش براث دیلوشن نشان داد که نانوذرات نقره در غلظت‌های پایین می‌تواند از رشد باکتری *اسینتوباکتر بومانی* جلوگیری کند که این نتایج با یافته‌های Sondi و همکاران که بر روی *اشریشیاکلی* کارکردند همخوانی دارد. Sondi و همکاران نشان دادند که نانوذرات نقره بر روی سلول‌های باکتری E.Coli انباشته می‌شوند و برخی به داخل سلول نفوذ می‌کنند که تفاوت در توزیع نانوذرات در داخل سلول می‌تواند ناشی از اندازه نانو ذرات باشد (۱۳).

در روش دیسک دیفیوژن و ول دیفیوژن، با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، مشاهده شد که با افزایش غلظت نانوذرات نقره، قطر هاله عدم رشد باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*، افزایش می‌یابد؛ که این ممکن است به خاطر عدم انتشار در محیط جامد باشد زیرا نانوذات نقره به‌سرعت به هم متصل شده و به میکروب‌ها برخورد نمی‌کند، بااین‌حال قطر هاله عدم رشد کاملاً وابسته به دوز مصرفی نانوذرات نقره است. این نتایج مشابه یافته‌های kim و همکاران در سال ۲۰۰۷ روی *استافیلوکوک اورئوس* و *اشرشیاکلی* است (۱۰). به‌علاوه Niakan و همکاران در سال ۲۰۱۳ مقدارMIC و MBC را در نانوذرات حدود ۳۴-۶ نانومتر برای *اسینتوباکتر بومانی* مقاوم به دارو تعیین کردند که این نتایج مشابه نتایج مطالعه ما می‌باشد (۱۴).

در مطالعه‌ای که Alizadeh و همکاران در سال ۱۳۹۰ بر اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره بر روی باکتری *بروسلا ملی تنسیس* در شرایط آزمایشگاهی و حیوانی انجام دادند، نشان دادند که *بروسلا ملی تنسیس* به نانوذرات نقره حساس است و مقدار حساسیت در دوزهای مختلف نانوذره متفاوت می‌باشد (۱۵)، که تأثیر نانوذرات نقره وابسته به دوز، در مطالعه ما نیز مشاهده شد.

در مطالعه‌ای که توسط Humberto و همکاران در سال ۲۰۱۰ در مورد اثر مهاری نانوذرات نقره بر روی باکتری‌های مقاوم به چند دارو (*سودوموناس آئرو ژینوزا*، *اشریشیاکلی* مقاوم به امپی سیلین، *استر پتوکوک پیوژنز* مقاوم به اریترومایسین) صورت گرفت، اثر باکتریواستاتیک نانوذرات نقره روی باکتری‌ها را تائید کردند این در حالی است که *سودوموناس آئرو ژینوزا* دارای تعداد زیادی از فاکتورهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی باواسطه پلاسمید و کروموزوم است و درمان آنتی‌بیوتیکی آن را با مشکل مواجه ساخته و آنتی‌بیوتیک‌های جدید نیز مرگ‌ومیر ناشی از آن را کاهش نداده‌اند. نفوذپذیری پایین غشاء خارجی باکتری و حضور پمپ‌های افلاکس دارویی متعدد از مکانیسم‌های عمده مقاومت دارویی آن است (۱۶). همچنین Morones و همکاران در سال ۲۰۰۵ فعالیت آنتی باکتریای نانوذرات نقره را بر روی ۴ نوع باکتری گرم منفی (*سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلاتیفی*، *ویبریوکلرا* و *اشرشیاکلی*) بررسی کردند، دریافتند که نانوذرات نقره به سطح دیواره سلولی باکتری‌ها متصل و باعث تخریب غشا شده و نفوذپذیری غشا را با آزادسازی یون نقره مختل می‌کند (۱۷). همچنین تأثیر اندازه نانوذرات در فعالیت آنتی باکتریای توسط Baker و همکاران همانند سایر محققین موردمطالعه قرار گرفت و نشان دادند که ذرات کوچک با افزایش سطح نسبت به

حجم دارای فعالیت ضد میکروبی بیشتری است (۱۸).

بر اساس این نتایج می‌توان گفت نانوذرات نقره دارای خاصیت ضد میکروبی قوی می‌باشند و باکتری‌های مقاوم به دارو مانند *اسینتوباکتر بومانی* نیز نسبت به آن حساس می‌باشند و فعلاً در برابر نانوذرات نقره هیچ مقاومتی در این باکتری به وجود نیامده است که نتایج مطالعه ما همانند اکثر مطالعه‌های دیگر این موضوع را تائید کرد اما به دلیل سمیت آن در سلول یوکاریوتیک از کاربردهای درمانی هنوز با احتیاط می‌توان سخن گفت.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه آزاد واحد ارومیه و دانشکده علوم پزشکی مراغه استخراج‌شده است، بدین‌وسیله از کارکنان معاونت محترم پژوهشی دانشکده علوم پزشکی مراغه به‌خصوص از همکاری صمیمانه آقایان یونس پروین و حمید مصطفی زاده تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

متن مقاله مورد تائید همه نویسندگان مقاله بوده و نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافع با همدیگر ندارند.

References

1. Colvin V. The potential environmental impacts of engineered nanomaterials. Nature Biotechnol J. 2003; 21(10):1166-1170.
2. Gleiter H. Nanostructured materials: Basic concepts and microstructure. Acta Materialia. 2000; 48(1): 1-29.
3. Eustis S, E-Sayed MA. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. Chemical Society Reviews. 2006; 35(3):209-217.
4. Athirah Nur A. Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles on Multi Drug Resistant Pseudomonas Aeruginosa. World Academy of Science, Engineering and Technology. 2012; 6(7):258-261.
5. Heivasanthi T, Alagar M. Anti-bacterial Studies of Silver Nanoparticles, General Physics authors, 2011, Available from: arXiv:1101.0348.
6. Alivisatos AP. Semiconductor clusters, nanocrystals and quantum dots. Science. 1996; 271(5251): 933-937.
7. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomed J. 2007;3(1): 95-101.
8. Sun L, Singh AK, Vig K. Silver Nanoparticles Inhibit Replication of Respiratory Syncytial Virus. J Biomed Biotechnol. 2008;4 (2):149-158.
9. Lin DH, Xing BS. Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root elongation. Environ. J Pollut. 2007;150(2):243-250.
10. Martel S. Method and system for controlling micro-objects or micro-particles. United States patent US 20100215785. 2005; Appl. 11/145,007.
11. Jones GL, Muller CT, O'Reilly M, Stickler DJ. Effect of Triclosan on the development of bacterial biofilms by urinary tract pathogens on urinary catheters. J Antimicrob Chemother. 2006;57(2):266-272.
12. Amanda S, Mohammad F, John J, Schlager D, Syed A. Metal-based nanoparticles and their toxicity assessment. J Nanomed Nanobiotechnol. 2010;2(5):544-568.
13. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. Journal of Colloid and Interface Science. 2004; 275(1):177-82.
14. Niakan S. Comparison of the Antibacterial Effects of Nanosilver With 18 Antibiotics on Multidrug Resistance Clinical Isolates of Acinetobacter baumannii, Jundishapur Journal of Microbiology. 2013; 6(5):1-5.
15. Alizadeh H, Salouti M. Antibacterial effects of silver nanoparticles on Brucella melitensis 16M in an animal model in Vitro. Arak Medical University Journal. 2012: 14(6 Suppl 3): 64-70.[In persian].
16. Humberto H. Lara, Nilda V. Ayala-Núñez, Liliana del Carmen Ixtepan Turrent, Cristina Rodríguez Padilla. Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. World J Microbiol Biotechnol. 2010;26(4):615-621.
17. Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Tapia J, et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology. 2005;16(10):2346–2353.
18. Baker C, Pradhan A, Pakstis L, Pochan DJ, Shah SI. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles. J Nanosci Nanotechnol. 2005:5(2), 244-249.

Original Article

The Antibacterial Activity Evaluation of the Nanoparticles of Silver on *Acinetobacter Baumannii*

Karimipour SN[1], Tanomand A[2]*, Rostamnia S[3]

1- Microbiology Department, Islamic Azad University, Urmia branch, Urimia, Iran
2- Microbiology Department, Maragheh Faculty of Medical Sciences, Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran
3- Department of Chemistry, Basic Sciences Faculty, Maragheh University, Maragheh, Iran

Received: 04 Oct 2015 Accepted: 04 Feb 2016

Abstract

Background & Objective: Due to the high drug resistance in *Acinetobacter baumannii*, in this research, antibacterial properties of nano silver was evaluated for *Acinetobacter baumannii*.

Materials & Methods: The nano silver with approximate diameter of 20 nanometer from Pishtazan Inc. Mashad, Iran and 5 nanometer from the Department of Chemistry in Maragheh University were prepared. Its concentration was determined by spectroscopy method in Tabriz Chemistry University. Antimicrobial effects were determined by Mean Inhibitory Concentration (MIC) and Minimal Bacterial Concentration (MBC) by micro-broth-dilution method, disc diffusion and well diffusion methods. Anti-bacterial activity of nano-silver was tested for *Acinetobacter baumannii NCTC12516* on 20 clinical strains (collected from Imam Reza Hospital in Tabriz).

Results: The results showed the MIC and MBC of 20nm nanoparticles were 1250 ppm and 2500 ppm, respectively. On the other hand, the MIC and MBC of 5 nm nanoparticles were 156 ppm and 312 ppm, respectively. According to these findings, the MIC and MBC identified for clinical *Acinetobacter baumannii* strains under study along with the *NCTC12516* strain did not show a significant difference. Yet the amount of inhibition for the 20nm nanoparticles in the density of 20000 ppm of clinical *Acinetobacter baumannii* and NCTC12516 strains was 11 millimeter with the disc diffusion method and 9.5 millimeter for the well diffusion method with the same concentration. The amount of inhibition of 5nm nanoparticles in the 250-ppm concentration with both disc diffusion and well diffusion methods was 9.5 millimeter.

Conclusions: *Acinetobacter baumannii* is susceptible to nano-silver. Also the same MIC and MBC in multiple clinical strains suggests that there is not resistance to silver nanoparticles in *Acinetobacter baumannii*

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, Silver nanoparticles, MIC, MBC

***Corresponding author:** **Asghar Tanomand,** Microbiology Department, Maragheh Faculty of Medical Sciences, Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran.
Email: tanomanda@tbzmed.ac.ir