بررسی اثرات ضد باکتریایی نانوذرات CuO بر روی باکتری *یرسینیا راکری* (*Yersinia ruckery*)

- **بهاره متان‌کپوری**: گروه منابع‌طبیعی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران
- **مریم شاپوری***: گروه منابع‌طبیعی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران
- **عباس بزرگ‌نیا**: گروه شیلات، واحد قایمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قایمشهر، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹٤ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۵

چکیده

استفاده از نانوذرات اکسید فلزی جهت مقابله با عفونت‌های باکتریایی به‌عنوان روش جایگزین آنتی بیوتیک‌ها می‌تواند موثر باشد. در این تحقیق خواص ضدباکتریایی نانوذرات اکسیدمس بر روی باکتری یرسینیاراکری بررسی شد. هدف از این بررسی معرفی خواص ضدمیکروبی و ضدباکتریایی، نانو ذرات CuO است. نانوذرات با تولید رادیکال آزاد O_2^- و OH سبب اکسیداسیون و تخریب غشای میکروارگانیسم‌ها می‌شوند. اثر ضدباکتریایی نانوذرات مس بر روی باکتری یرسینیاراکری، براساس قطر ناحیه بازداری از طریق آزمایش‌های چاهک و محیط آب‌گوشت با غلظت‌های مختلف ۰/۲، ۰/٤، ۰/٦، ۰/۸ و ۱ درصد به‌طور جداگانه بررسی شد. غلظت‌های بحرانی و تاثیرگذاری و سینتیک کشندگی نانوذرات با آنتی‌بیوتیک رایج اکسی‌تتراسایکلین مقایسه گردید. نسبت حداقل غلظت مهار رشد (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) در این محیط‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق مشخص نمود نانو ذرات CuO اثرات بازدارندگی بر علیه باکتری گرم منفی یرسینیاراکری دارند. قطر ناحیه بازداری اکسیدمس در حضور غلظت ۱٪، ٦ میلی‌متر و در برابر اکسی‌تتراسایکلین نیز ۷ میلی‌متر است. به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت نانوذرات اکسید مس بعد از آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین، به‌عنوان گزینه مناسب ضدمیکروبی، در زمینه ضدعفونی کردن آب‌های پرورشی، دیواره استخرها و پاک‌سازی محیط‌ها پیشنهاد می‌شود و از نظر بهداشتی و اقتصادی حایز اهمیت است.

کلمات کلیدی: *یرسنیاراکری*، نانوذرات، اکسیدمس، اثر ضدمیکروبی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: m_shapoori@iausk.ac.ir

مقدمه

این باور که نانوتکنولوژی عصر جدیدی از علوم است و تلفیقی از مهندسی، زیست‌شناسی، شیمی، پزشکی و فیزیک می‌باشد، را عموم دانشمندان پذیرفته‌اند (Hatchett و Josowicz، ۲۰۰۸). از این نظر در گذشته نانوذرات در دو بخش فلزی و غیرفلزی مورد بحث قرار می‌گرفته‌اند (Dreher، ۲۰۰۴). می‌توان گفت نانوذرات فلزی در حشره‌کش‌ها و باکتری‌کش‌ها کاربرد دارد. نانومواد در چرخه حیات و اکوسیستم، پایین‌ترین سطح سمیت را از خود نشان داده‌اند و در سال‌های اخیر موادآلی حاوی یون‌های فلزاتی چون مس، نقره، آهن، روی، تیتانیوم و غیره از خاصیت ضدباکتری‌کشی برخودار می‌باشند. بیماری‌های میکروبی تلفات شدیدی را در ماهیان وحشی و پرورشی به‌وجود آورده‌اند و سبب خسارات اقتصادی جدی شده‌اند، که بیش‌ترین عوامل بیماری‌زایی مربوط به باکتری گرم منفی است. باکتری *یرسینیا راکری* (*Yersinia ruckery*)، یک باکتری گرم منفی میله‌ای شکل بی‌هوازی اختیاری، فاقد اسپور است. بیماری یرسینیوزیس معروف به بیماری دهان قرمز انتروباکتریایی با عامل مولد *یرسینیا راکری* به‌صورت یکی از بیماری‌های مهم و مؤثر در محیط پرورشی آبزیان از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان مطرح است (Pyghan و Mashayi، ۲۰۰۹). این باکتری علاوه بر آزادماهیان در گونه‌های غیرآزادماهی از جمله تاس‌ماهیان، ماهی حوض، کپورمعمولی، آزاد سفیدمعمولی، ماهی‌قنات، سرچربی، شاه‌ماهی و هم‌چنین موش صحرایی، پرندگان ماهی‌خوار و برخی پستانداران مانند انسان و برخی بی‌مهرگان مانند خرچنگ‌دراز دیده می‌شود (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۳). نانو مواد به‌عنوان مواد مناسب برای مهار و از بین بردن باکتری می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند (Fortner و همکاران، ۲۰۰۵؛ Soltani و Kalbas، ۲۰۰۱). نانوذرات اکسید فلزی، براساس نسبت سطح به حجم، خاصیت ضدباکتریایی متفاوتی از خود نشان می‌دهند. باکتری گرم منفی در مقابل نانو ذرات فلزی، به‌دلیل دیواره سلولی مقاومتی از خود نشان نمی‌دهند. تحقیقات متعدد، نشان داده شده است که اختلاف بین بار منفی میکروارگانیسم و بار مثبت نانو ذره، به‌صورت یک الکترومغناطیس جاذب بین میکروب و نانو ذره عمل می‌کند و باعث اتصال نانو ذره به سطح سلول می‌شود و در نتیجه می‌تواند باعث مرگ سلول شود (Lin و Xing، ۲۰۰۷). تعداد زیادی از این تماس‌ها در نهایت، منجر به اکسیدشدن مولکول‌های سطحی میکروب‌ها و مرگ سریع آن‌ها می‌شوند. احتمال داده می‌شود یون‌های آزادشده از نانو مواد با گروه تیول پروتئین‌های سطحی سلول‌های باکتریایی واکنش دهند. تعدادی از این پروتئین‌های غشای سلول‌های باکتریایی عمل انتقال مواد معدنی از سطح دیواره به‌عهده دارند که نانو مواد با اثر بر روی این پروتئین‌ها باعث غیرفعال‌شدن و نفوذ ناپذیری غشاء می‌شوند (Lin و Xing، ۲۰۰۷). غیرفعال شدن تراوایی غشای در نهایت باعث مرگ سلول می‌شود. هم‌چنین نانو مواد چسبیدن سلول باکتری و تشکیل بیوفیلم را به‌تاخیر می‌اندازند که این عمل باعث می‌شود گروهی از باکتری‌ها نتوانند تثبیت شوند و تکثیر یابند. حسینی مشهد طرقی و همکاران (۱۳۸۹) با بررسی اثر ناخالصی بر ویژگی‌های ساختاری و ضدباکتری نانوذرات اکسیدمس تهیه شده به‌روش سل-ژل به این نتیجه رسیدند که با تهیه مخلوطی از نانوذرات اکسیدمس با درصدهای مختلفی از آهن برروی باکتری به یک ناخالصی رسیده که تأثیر افزودن ناخالصی بر خواص ساختاری و ضدباکتری نمونه‌ها، افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌دهد. اکسیدمس به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی بر روی گونه‌های مختلف باکتریایی مورد استفاده قرار گرفته است (Condorelli و همکاران، ۲۰۰۳). هم‌چنین نانو مواد در چرخه حیات و اکوسیستم، پایین‌ترین سطح سمیت را از خود نشان داده‌اند لذا استفاده از این مواد برای مبارزه با میکروب‌های بیماری‌زا می‌تواند انتخاب مناسبی باشد (Li و همکاران، ۲۰۰۵). نانومواد جایگزین بی‌ضرر و به‌عنوان یک ماده ضدعفونی و پاکسازی محیط، حوضچه‌های پرورش ماهی، ضدعفونی آب، دیواره استخرهای پرورشی و بسته‌بندی‌های محصولات دریایی نقش موثری ایفا می‌نماید. اگرچه تنها مطالعات اندکی درباره خواص ضدمیکروبی اکسیدمس گزارش شده با این‌حال، این گزارش‌ها نشان داده‌اند که نانو ذرات اکسیدمس توانایی بالقوه‌ای به‌عنوان یک عامل ضدباکتریایی دارند (Cioffil و همکاران، ۲۰۰۵). هدف از این تحقیق، بررسی اثر ضدباکتریایی نانو ذرات اکسیدمس بر رشد *یرسینیا راکری* به‌عنوان یک باکتری گرم منفی بود.

مواد و روش‌ها

مواد و سوش باکتری مورد بررسی: جهت مطالعه، سوش باکتریایی *یرسینیا راکری* (ATCC ۲۹۲۱۳) که از گروه میکروبیولوژی دانشگاه مازندران خریداری گردید، استفاده شد. جهت رشد نوترینت آگار (E Merck: Damstadt. Germany) و برای غنی‌سازی باکتری از نوترینت براث (E. Merck co: Dar stadt, Germany) و جهت شمارش کلنی از محیط کشت Count agar استفاده شد.

تهیه نانوذرات: مواد لازم برای سنتز نانوذرات از شرکت Nanoshell آمریکا خریداری شدند و در آزمایشگاه با روش سل- ژل (Du و همکاران، ۲۰۰۹) سنتز گردید. جهت بررسی اندازه‌های نانو ذرات عکس TEM (Transmission Electron Microscopy) و SEM (Scanning Electron Microscope) به‌وسیله میکروسکوپ

الکترونی گرفته شد تا اندازه نانو ذرات مشخص شود. متوسط اندازه نانو ذرات ۱۰ نانومتر که هماهنگی خوبی با نتایج XRD (X-ray diffraction) و TEM دارد در شکل ۱ آمده است. جهت توزیع نانو ذرات در محیط کشت، سوسپانسیون حاصل قبل از مصرف روی شیکر قرار داده شدند. هم‌چنین مقدار نانو ذرات مورد تلقیح در حدی نبود که رسوب دهد یا توزیع یکنواخت نداشته باشد (Petrunia و همکاران، ۲۰۰۸).

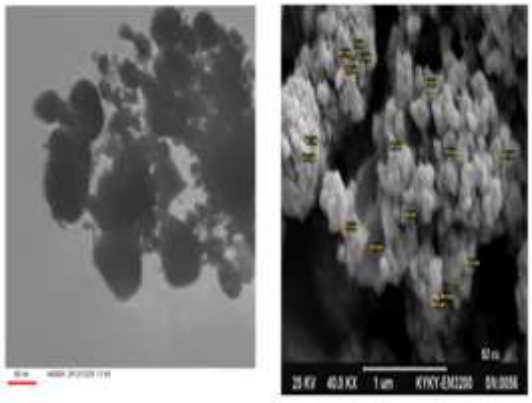
بررسی فعالیت ضدمیکروبی: برای تعیین و تاثیر آنتی‌بیوتیک و نانو مواد بر روی باکتری هدف، کنترل با دو روش رقت‌سازی در محیط آگاردار و رقت‌سازی در محیط مایع استفاده شد.

بررسی اثر ضدباکتریایی نانوذرات مس به‌روش رقت‌سازی در محیط آگاردار: به‌منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف نانو ذره CuO، ابتدا سواپ آغشته شده به سوسپانسیون میکروبی را در پلیت حاوی محیط کشت نوترینت آگار سه بار در زاویهٔ ۶۰ درجه کشت متراکم مانند آزمایش آنتی‌بیوگرام ($۱/۵ \times ۱۰^{۸}$) انجام شد (El-Rafie و همکاران، ۲۰۱۰). قطر استاندارد محیط کشت برای چاهک‌گذاری ۶ میلی‌متر بود که در این‌صورت هر چاهک قابلیت تلقیح ۸۰ میکرولیتر از اکسی تتراسایکلین، آب مقطر و سوسپانسیون با غلظت ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸و ۱ درصد از نانوذرات CuO را دارا می‌باشد. به‌منظور بررسی اثر اختلاط نانو ذرات اکسیدمس و آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و خواص ضدمیکروبی آن‌ها با نسبت‌های حجمی ۵۰ اکسید مس+۵۰ اکسی‌تتراسایکلین (۷ میلی‌گرم در لیتر) میزان بازداری آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی اثرات نانوذرات اکسیدمس بر روی رشد باکتری *پرسینیا راکری* باکتری در محیط آگاردار با ۱٪ نانو ذره CuO به‌طور جداگانه و با نسبت‌های مختلف از نانوذره‌بااکسی‌تتراسایکلین (۵۰٪اکسیدمس+۵۰٪اکسی‌تتراسایکلین) رشد داده شد. نمونه‌ها جهت رشد به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. این آزمایش ۳ مرتبه تکرار شد و میانگین نتایج گزارش گردید.

بررسی اثر ضدباکتریایی نانوذرات مس به‌روش رقت‌سازی در محیط مایع: در این روش اثرات باکتری‌کشی نانوذرات در محیط مایع از روش استاندارد میکرودایلوشن یا براث دیلوشن، استفاده گردید. برای این آزمایش از ۱۳ لوله استریل در ۳ تکرار استفاده شد. هر یک از لوله‌ها حاوی یک میلی‌لیتر محیط کشت نوترینت براث بود. سپس یک میلی‌لیتر از نانوذرات با غلظت اولیه (۱٪) به لوله یک اضافه نموده و نانوذره را با محیط کشت، توسط شیکر (مدل LD ۸۸۰۹) مخلوط گردید. سپس یک میلی‌لیتر از محلول را برداشته و به لوله دوم اضافه نموده و به‌همین ترتیب تا لوله یازدهم، نانو ذره‌ها رقیق شدند. از لوله یازدهم یک میلی‌لیتر از محلول را برداشته، بیرون ریخته شد. آن‌گاه از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده معادل نیم مک فارلند به اندازه ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به هر لوله اضافه گردید. لوله شماره ۱۲ حاوی محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی به‌عنوان شاهد مثبت و لولهٔ شماره ۱۳ حاوی محیط کشت و نانو ذره به‌عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. لوله‌ها در دمای ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شد. برای این منظور لوله‌های MIC که شفاف به‌نظر رسیدند یعنی نشانه‌ای از کدورت یا رشد باکتری در آن‌ها دیده نشد، برای بررسی MBC مورد استفاده قرار گرفت، بدین‌ترتیب که مقدار کمی از این لوله‌ها را توسط سمپلر به محیط نوترینت آگار منتقل کرده و پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری رشد یا عدم رشد باکتری بررسی شد. اولین رقتی که باکتری نتوانست در مجاورت آن بر روی محیط رشد نماید را به‌عنوان MBC در نظر گرفته شد. هم‌چنین با شمارش باکتری MIC تعیین گردید (Salopek-Sondi و Sondi، ۲۰۰۴).

نتایج

به‌منظور بررسی ریخت‌شناسی و قطر نانو ذرات و نسبت سطح به حجم این نانو ذرات تصاویر SEM و TEM این نانوذرات در شکل ۱ ارایه شده است.

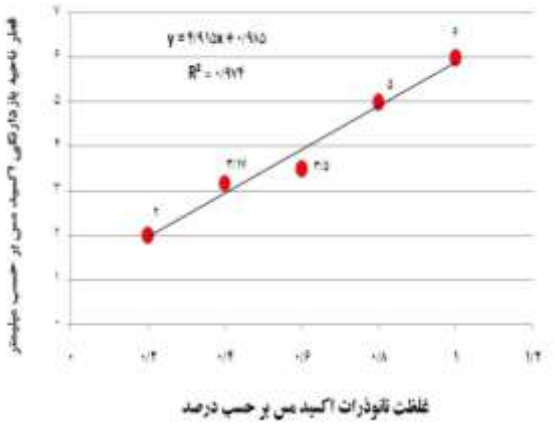


ب) الف)

شکل۱: الف) تصویر SEM به‌دست آمده از نانو ذرات اکسیدمس و ب) TEM به‌دست آمده از نانو ذارت اکسیدمس

نتایج بررسی روش انتشار چاهکی در آگار نشان داد که با افزایش غلظت و درصد نانوذرات در داخل چاهک‌ها، قطر هاله رشد یا ناحیهٔ بازداری گسترده‌تر و خاصیت ضدباکتریایی بیش‌تر شده است. نتایج بررسی حاضر نشان داد نانوذرات اکسیدمس دارای خواص ضدمیکروبی بر روی باکتری می‌باشد. از روی مقادیر بازداری میانگین هاله‌های عدم رشد یا قدرت حداقل رقت مهاری رشد، درصدهای مختلف حجمی

نانوذرات CuO به‌دست آمده است. زمانی‌که در اطراف بعضی چاهک‌ها، هاله‌های زیادی دیده می‌شود به‌دلیل اثرات آنتی‌بیوتیک و نانوذره، بعضی هاله‌ها با شعاع کوچک‌تر و بعضی هم هیچ شعاعی در اطراف آن تشکیل نشد. علت عدم تشکیل هاله اثر نکردن آنتی‌بیوتیک و نانوذرات می‌باشد. نسبت حداقل غلظت مهارکنندگی رشد به حداقل غلظت کشندگی (MIC/MBC) برای نشان دادن قدرت باکتری‌کشی نانو ذرات به‌روش چاهک‌گذاری و رقیق‌سازی میکروبی محاسبه شد. طبق شکل ۲ بیش‌ترین رقتی که از نانوذرات اکسیدمس بر روی سلول *یرسینیا راکری* مؤثر بوده است در غلظت ۰/۱٪ مشاهده می‌گردد و هم‌چنین رابطه خطی بسیار خوبی بین غلظت نانو ذرات اکسید مس و قطر ناحیه بازدارندگی مشاهده می‌شود (R^2= ۰/۹۷۴).



شکل ۲ : رابطه بین غلظت نانو ذرات اکسیدمس و قطر ناحیه بازدارندگی

با بررسی آزمایش‌های انجام شده، غلظت MIC برابر با ۰/۴٪ و غلظت MBC برابر ۰/۸٪ است. نتایج بررسی اثر ضدمیکروبی غلظت‌های نانوذرات اکسیدمس و آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین برای باکتری *یرسینیا راکری* در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: میانگین مقایر هاله‌های عدم رشد مربوط به نانو ذرات اکسید مس و تتراسایکلین بر روی *یرسینیا راکری* در غلظت‌های مختلف مورد استفاده بر حسب میلی‌متر

غلظت مواد ضدمیکروبی برحسب درصد	نانو ذرات اکسیدمس (میلی‌متر)	تتراسایکلین (میلی‌متر)	ترکیب اکسیدمس و تترا سایکلین (میلی‌متر)
۰/۲	۲	۷	۲/۱
۰/۴	۳/۱۷	۷	۲/۵
۰/۶	۳/۵	۷	۳/۵
۰/۸	۵	۷	۳/۸
۱	۶	۷	۴

قطر هاله‌های عدم رشد بیانگر میزان حساسیت باکتری‌ها به مواد ضدمیکروبی مورد استفاده است. نتایج به‌دست آمده در این بررسی حاکی از حساسیت باکتری *یرسینیا راکری* می‌باشد، زیرا این باکتری حتی در رقت‌های بسیار کم از نانوذرات مس در غلظت ۰/۲٪ هاله داده است. نانوذرات اکسیدمس نسبت به تتراسایکلین در غلظت‌های بالا اثر ضدمیکروبی نزدیک و در غلظت‌های پایین تفاوت قابل ملاحظه‌ای نشان دادند. این یافته‌ها بیان‌گر این است که نانوذرات اکسیدمس نسبت به تتراسایکلین اثر ضدمیکروبی کم‌تری دارد. در این آزمایش بهترین غلظت از نانوذرات اکسیدمس که بالاترین خاصیت باکتری‌کشی را دارد در حضور غلظت ۰/۱٪ CuO به‌دست آمد. به‌همین جهت به‌منظور بررسی اثر اختلاط نانوذرات بر روی خواص ضدمیکروبی با نسبت حجمی ۵۰:۵۰ CuO/TC سوسپانسیون تهیه شد. براساس نتایج ارائه شده می‌توان گفت که CuO چه در حالت منفرد و چه درحالت اختلاط دارای خاصیت ضدمیکروبی و بازدارندگی چشمگیری، نسبت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین نداشته است. قطر ناحیه ممانعت اکسید مس در حضور غلظت ۰/۱٪، ۶ میلی‌متر، در حالت اختلاط با تتراسایکلین ۴ میلی‌متر و ناحیه ممانعت تتراسایکلین در حالت منفرد ۷ میلی‌متر نشان داده شد (جدول ۱). قطر ناحیه بازداری، ممانعت از رشد، حاصل از ادغام نانو ذرات اکسیدمس و آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین ۴ میلی‌متر به‌دست آمد که افزایش قابل توجهی را در مقدار ناحیه بازداری از خود نشان نمی‌دهد.

بحث

روش تولید زیستی نانو ذرات یکی از راه‌های جدید، کم هزینه و کم خطر برای تولید نانوذرات می‌باشد که از دهه ۹۰ قرن بیستم به‌شدت مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است (Veerasamy و همکاران، ۲۰۱۱). در سال‌های اخیر بررسی‌های آزمایشگاهی نشان داده‌اند که برخی از داروها در فرم نانومتری دارای فعالیت ضدباکتری موثرتری هستند (Webb و همکاران، ۲۰۰۵). Shaffiey و همکاران (۲۰۱۴) اثرات ضدباکتریایی نانو ذرات مس را بر روی باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* بررسی نمودند و نشان دادند که نانو ذرات اکسیدمس و آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین نواحی ممانعت بزرگ‌تری را در مقایسه با اکسیدمس و هم‌چنین آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین به تنهایی ایجاد کرده‌اند که این بیانگر افزایش اثر و قدرت ضدمیکروبی مخلوط فوق می‌باشد. در این تحقیق فعالیت ضدمیکروبی غلظت‌های مختلفی از نانوذرات مس بر باکتری مورد نظر مطالعه گردید به این امید که بتوان در آینده از این مواد برای جایگزین شدن آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین در ضدعفونی‌کردن آب، محیط و تجهیزات پرورشی

که احتمال آلودگی در آن‌ها می‌رود، استفاده نمود. این نانومواد با نسبت‌های متفاوت نسبت به ممانعت از رشد باکتری عملکرد مناسبی داشتند، این مساله در سایر مطالعات نیز به‌دست آمده است (Sungkaworn و همکاران، ۲۰۰۷). مطالعات نشان داده، زمانی که از داروی تتراسایکلین برای رفع بیماری دهان قرمز روده‌ای (Enteric Redmouth Disease) به‌طور مداوم استفاده می‌گردد نتیجه مطلوبی نخواهد داد و باید آنتی‌بیوتیک دیگری جایگزین شود. Zhao و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی اثرات نانوذرات جایگزین آنتی‌بیوتیک، در برابر بیماری‌های واگیردار، بیان کرد به‌جای استفاده از آنتی بیوتیک‌ها بهتر است به سراغ معالجه به‌وسیله نانوذراتی رفته که بتوانند به راحتی بر بیماری‌ها مقابله نمایند. باکتری‌ها می‌توانند از نظر ژنتیکی خود را با داروهای آنتی‌بیوتیک سازش دهند، در نهایت موجب پدیدار شدن باکتری‌ها می‌شود که نسبت به داروها ایمن هستند (Williams، ۱۹۹۳). با بررسی خواص ضدمیکروبی نانومس و تتراسایکلین در غلظت‌های مختلف اثبات شده است که فعالیت ضدمیکروبی تتراسایکلین نسبت به نانومس بیش‌تر است. اثر غلظت‌های مختلف نانوپارتیکل بر باکتری در غلظت‌های (۰/۲، ۰/۴، ۰/۶٪) به‌مقدار کمی زیاد و در غلظت‌های (۰/۸، ۱٪)، چندان نیست. از اکسیدمس به‌عنوان یک ماده ضدمیکروبی می‌توان استفاده نمود. در بررسی خاصیت ضدمیکروبی از نانوذرات مشاهده شد که نانوذرات مس بر روی باکتری مورد نظر در غلظت‌های مختلف هاله‌های عدم رشد تشکیل شده است. در واقع می‌توان از نانو مس به‌عنوان یک مواد ضدمیکروبی در بعضی شرایط استفاده نمود. در سایر، تحقیقات نیز بیان گردید که اکسیدمس دارای خواص ضدباکتریایی می‌باشد، برای مثال مطالعات خسروی‌اقبال و همکاران (۱۳۸۹) نشان داد بیش‌ترین قطر هاله در غلظت‌های برابر ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر از نانو ذره اکسیدمس در باکتری *سرئوس* ۳۳ میلی‌متر گزارش شده است. هم‌چنین Kumar و همکاران (۲۰۰۴) بیان کردند که نانوذرات با دیواره سلولی باکتری واکنش داده و سبب توقف تنفس سلولی و سرانجام مرگ سلول می‌شود.

با توجه به نتایج حاصل از انتشار چاهک‌ها ملاحظه می‌شود که با افزایش غلظت‌های نانوذرات، قطر هاله عدم رشد باکتری افزایش یافته است. اما با این‌حال قطر هاله عدم رشد به دوز مصرفی نانوذرات مس بستگی دارد که نشان‌دهندهٔ تأثیر بر روی باکتری است. با این حال می‌توان نتیجه گرفت نانومس باعث مهار باکتری در غلظت‌های مختلف شد. اثر ضدمیکروبی برای حالت‌های ترکیب از نانوذره‌ها و آنتی‌بیوتیک متفاوت است. این هم به‌دلیل تفاوت در اثر مکانیسم نانو ذرات و آنتی‌بیوتیک می‌باشد. با این وجود نانوذرات می‌توانند عامل بالقوه ضدمیکروبی مساوی با آنتی‌بیوتیک بر علیه عفونت میکروبی عمل کنند که با نتایج به‌دست آمده با تحقیق Hilgren (۲۰۰۹) مشابهت دارد. در این آزمایش مشاهده شد که نانوذرات مس نیز باعث مهارکنندگی باکتری می‌گردد. با انجام آزمایش رقت‌سازی در محیط مایع نیز خواص ضدمیکروبی نانوذرات به اثبات رسیده است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد نانومس در غلظت‌های بالا اثر ضدمیکروبی بیش‌تری داشته است. بررسی‌های انجام شده با نتایج عطایی (۱۳۹۰)، Diao (۲۰۰۹) و Moore (۱۹۸۸) مطابقت دارد. در واقع می‌توان گفت نانوذرات اکسیدمس، اثر ضدمیکروبی دارد. نتایج حاصل نشان داد نانوذرات مس به‌عنوان یک ماده ضدعفونی میکروبی برای محیط‌ها و تجهیزات پرورشی، پاکسازی محیط، تصفیه آب‌ها که در برگیرندهٔ میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا هستند بسیار مفید و قابل پیشنهاد است.

منابع

۱. **حسینی‌مشهدطرقی، آ. و طهماسبی، ن.، ۱۳۸۹.** بررسی اثر ناخالصی بر ویژگی‌های ساختاری و ضدباکتری نانوذرات اکسیدمس تهیه شده به‌روش سل-ژل، کنگره ملی نانو داروها- اهواز. دوره ۱، صفحات ۱ تا ۳.

۲. **خسروی‌اقبال، ر.؛ اخوان‌سپهی، ع. و خنافری، آ.، ۱۳۸۹.** بررسی اثر ضدمیکروبی نانوذرات نقره و مس و مقایسه با هیپوکلریت سدیم بر روی سلول رویشی و اسپور *باسیلوس سوبتیلیس* و *باسیلوس سرئوس*. مجله زیست فناوری میکروبی. شماره ۲، صفحات ۳۷ تا ۴۴.

۳. **سلطانی، م.؛ موسوی، ش.؛ ابراهیم‌زاده موسوی، ح.؛ میرزرگر، س.؛ طاهری‌میرقاید، ع.؛ شفیعی، ش.؛ پولین، ش. و محمدیان، س.، ۱۳۹۳.** مطالعه مولکولی *یرسینیا راکری* عامل بیماری یرسینیوزیس در برخی از مزارع قزل‌آلای کشور. مجله دامپزشکی ایران. دوره ۱۰، شماره ۱، صفحات ۵۹ تا ۶۷.

۴. **عطایی، ر.؛ درخشان‌پور، ج.؛ مهرابی‌توانا، ع. و عیدی، ا.، ۱۳۹۰.** اثر ضدباکتریایی نانوذرات کربنات کلسیم بر *آکروباکتریوم تومفایس*. مجله طب نظامی. دوره ۱۳، شماره۲، صفحات ۶۵ تا ۷۰.

۵. **Cioffi, N.; Torsi, L.; Ditaranto, N.; Tantillo, G.; Ghibelli, L. and Sabbatini, L., ۲۰۰۵.** Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties. Chem Mater. Vol. ۱۷, No. ۲۱, pp: ۵۲۵۵-۵۲۶۲.

۶. **Condorelli, G.G.; Costanzo, I.L.; Fragala, I.L.; Giuffrida, S. and Ventimiglia, G., ۲۰۰۳.** A single photochemical route for the formation of both copper nanoparticles and patterned nanostructured films. J Mater Chem. Vol. ۱۳, No. ۱۰, pp: ۲۴۰۹-۲۴۱۱.

۷. **Diao, M. and Yao, M., ۲۰۰۹.** Use of zero-valent iron nanoparticles in inactivating microbes. Water research. Vol. ۴۳, No. ۲۰, pp: ۵۲۴۳-۵۲۵۱.

۸. **Dreher, K.L., ۲۰۰۴.** Health and environmental impact of nanotechnology: toxicological assessment of manufactured nanoparticles. Toxicological Sciences. Vol. ۷۷, No. ۱, pp: ۳-۵.

۹. **Du, A.; Zhou, B.; Shen, J.; Xiao, S.; Zhang, Z.; Liu, C. and Zhang, M., ۲۰۰۹.** Monolithic copper oxide aerogel via dispersed inorganic sol–gel method. Journal of Non-Crystalline Solids. Vol. ۳۵۵, No. ۳, pp: ۱۷۵-۱۸۱.

۱۰. **El-Rafie, M.H.; Mohamed, A.A.; Shaheen, T.I. and Hebeish, A., ۲۰۱۰.** Antimicrobial effect of silver nanoparticles produced by fungal process on cotton fabrics. Carbohydrate Polymers. Vol. ۸۰, No. ۳, pp: ۷۷۹-۷۸۲.

۱۱. **Fortner, J.D.; Lyon, D.Y.; Sayes, C.M.; Boyd, A.M.; Falkner, J.C.; Hotze, E.M. and Hughes, J.B., ۲۰۰۵.** C۶۰ in water: nanocrystal formation and microbial response. Environmental Science & Technology. Vol. ۳۹, No. ۱۱, pp: ۴۳۰۷-۴۳۱۶.

۱۲. **Hatchett, D.W. and Josowicz, M., ۲۰۰۸.** Composites of intrinsically conducting polymers as sensing nanomaterials. Chemical reviews. Vol. ۱۰۸, No. ۲, pp: ۷۴۶-۷۶۹.

۱۳. **Hilgren, J.; Swanson, K.M.J.; Diez-Gonzalez, F. and Cords, B., ۲۰۰۹.** Susceptibilities of *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, and avirulent *Bacillus anthracis* spores to liquid biocides. Journal of Food Protection. Vol. ۷۲, No. ۲, pp: ۳۶۰-۳۶۴.

۱۴. **Li, P.; Li, J.; Wu, C.; Wu, Q. and Li, J., ۲۰۰۵.** Synergistic antibacterial effects of β-lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. Nanotechnology. Vol. ۱۶, No. ۹, pp: ۱۲-۱۹.

۱۵. **Lin, D. and Xing, B., ۲۰۰۷.** Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. Environmental Pollution. Vol. ۱۵۰, No. ۲, pp: ۲۴۳-۲۵۰.

۱۶. **Moore, L.W., ۱۹۸۸.** Use of *Agrobacterium radiobacter* in agricultural ecosystems. Microbiological sciences. Vol. ۵, No. ۳, pp: ۹۲-۹۵.

۱۷. **Petrunia, I.V.; Frolova, O.Y.; Komarova, T.V.; Kiselev, S.L. Citovsky, V. and Dorokhov, Y.L., ۲۰۰۸.** Agrobacterium tumefaciens-induced bacteraemia does not lead to reporter gene expression in mouse organs. PloS one. Vol. ۳, No. ۶, pp: ۲۳-۵۲.

۱۸. **Pyghan, R. and Mashayi, M., ۲۰۰۹.** Growth and diseases of fish and shrimp Ahwaz, Shahid Chamran University. Ahvaz, Iran. ۵۱۶ p.

۱۹. **Shaffiey, S.F.; Shapoori, M.; Bozorgnia, A. adn Ahmadi, M., ۲۰۱۴.** Synthesis and evaluation of bactericidal properties of CuO nanoparticles against *Aeromonas hydrophila*. Nanomedicine Journal. Vol. ۱, No. ۳, pp: ۱۹۸-۲۰۴.

۲۰. **Kumar, V.S.; Nagaraja, B.M.; Shashikala, V.; Padmasri, A.H.; Madhavendra, S.S.; Raju, B.D. and Rao, K.R., ۲۰۰۴.** Highly efficient Ag/C catalyst prepared by electro-chemical deposition method in controlling microorganisms in water. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical. Vol. ۲۲۳, No. ۱, pp: ۳۱۳-۳۱۹

۲۱. **Soltani, M. and Kalbassi, M.R., ۲۰۰۱.** Protection of Persian sturgeon (*Acipenser pe rsicus*) fingerling against *Aeromonas hydrophila* septicemia using three different antigens. Bulletin European association of fish pathologists. Vol. ۲۱, No. ۶, pp: ۲۳۵-۲۴۰.

۲۲. **Sondi, I. and Salopek-Sondi, B., ۲۰۰۴.** Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. Journal of colloid and interface science. Vol. ۲۷۵, No. ۱, pp: ۱۷۷-۱۸۲.

۲۳. **Sun, Y.; Mayers, B.; Herricks, T. and Xia, Y., ۲۰۰۳.** Polyol synthesis of uniform silver nanowires: a plausible growth mechanism and the supporting evidence. Nano Letters. Vol. ۳, No. ۷, pp: ۹۵۵-۹۶۰.

۲۴. **Sungkaworn, T.; Triampo, W.; Nalakarn, P.; Triampo, D.; Tang, I.M.; Lenbury, Y. and Picha, P., ۲۰۰۷.** The effects of TiO۲ nanoparticles on tumor cell colonies: fractal dimension and morphological properties. International Journal of Biomedical Sciences. Vol. ۲, No. ۱, pp: ۶۷-۷۴.

۲۵. **Veerasamy, R.; Xin, T.Z.; Gunasagaran, S.; Xiang, T.F.W.; Yang, E.F.C.; Jeyakumar, N. and Dhanaraj, S.A., ۲۰۱۱.** Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. Journal of Saudi Chemical Society. Vol. ۱۵, No. ۲, pp: ۱۱۳-۱۲۰.

۲۶. **Webb, G.F.; D'Agata, E.M.; Magal, P. and Ruan, S., ۲۰۰۵.** A model of antibiotic-resistant bacterial epidemics in hospitals. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol. ۱۰۲, No. ۳۷, pp: ۱۳۳۴۳-۱۳۳۴۸.

۲۷. **Williams, N.D. and Russell, A.D., ۱۹۹۳.** Revival of biocide-treated spores of Bacillus subtilis. Journal of applied bacteriology. Vol. ۷۵, No. ۱, pp: ۶۹-۷۵.

۲۸. **Zhao, Y.K., Sung, W.P., Tsai, T.T. Wang, H.J., ۲۰۱۰.** Application of nanoscale silver-doped titanium dioxide as photocatalyst for indoor airborne bacteria control: a feasibility study in medical nursing institutions. Journal of the Air & Waste Management Association. Vol. ۶۰, No. ۳, pp: ۳۳۷-۳۴۵.