Journal of
Inflammatory Diseases
(Previous Title: The Journal of Qazvin University of Medical Sciences)

August, September 2020. Vol 24. Num 3

Research Paper:

Antibacterial Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Standard Strains and Isolates of *Pseudomonas Aeruginosa* and *Staphylococcus Aureus*

Shima Naddafi[1], Alireza Partoazar[2], Zahra Dargahi[1], *Mohammad Mehdi Soltan Dallal[1, 3]

1. Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2. Experimental Medicine Research Center, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Naddafi S, Partoazar A, Dargahi Z, Soltan Dallal MM. [Antibacterial Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Standard Strains and Isolates of Pseudomonas Aeruginosa and Staphylococcus Aureus Antibacterial Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Standard Strains and Isolates of *Pseudomonas Aeruginosa* and *Staphylococcus Aureus* (Persian)]. Journal of Inflammatory Diseases. 2020; 24(3):234-245. https://doi.org/10.32598/JQUMS.24.3.4

https://doi.org/10.32598/JQUMS.24.3.4

CC BY NC

Received: 15 Fev 2020
Accepted: 15 Jun 2020
Available Online: 01 Aug 2020

Keywords:
Zinc oxide nanoparticles, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, Antibacterial activity

ABSTRACT

Background Studies have shown that metal nanoparticles are highly active and exhibits remarkable bactericidal activity against a wide range of bacteria.

Objective The aim of this study was to examine the antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles against standard strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* and their isolates in food products.

Methods This experimental study was conducted on the two pathogenic bacteria and their two standard strains. Zinc oxide nanoparticles were prepared from zeolite and their amount was determined using the XRF analyzer. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were measured using disk diffusion method .

Findings The MIC value of zinc oxide nanoparticles was 4 mg/mL for standard strain and isolate of *pseudomonas aeruginosa* and 2 mg/mL for standard strain and isolate of staphylococcus aureus. The MBC values for standard strain and isolate of *pseudomonas aeruginosa* were 16 and 8 mg/mL, respectively, while for the standard strain and isolate of *Staphylococcus aureus* it was reported 8 mg/mL.

Conclusion *Staphylococcus aureus* is more sensitive to zinc oxide nanoparticles that pseudomonas aeruginosa.

Extended Abstract

1. Introduction

Pseudomonads are non-fermenting bacteria that are widely distributed in the environment. Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa) is an important opportunistic pathogen that can quickly become resistant to drugs. It causes lung infections in people with cystic fibrosis and those need artificial respiration [1].

Staphylococci are among the first known human pathogens that colonize the skin and mucous membranes [3]. One of the most important species of this pathogen is Staphylococcus aureus (S. aureus) which has become one of the major public health concerns due to its inherent ability and resistance to antimicrobial agents and drugs [4].

In recent years, metal oxides such as zinc oxide (ZnO), have been considered as antimicrobial compounds. ZnO nanoparticles inhibit bacterial growth by producing hydrogen peroxide and penetrating the cell

Corresponding Author:
Mehdi Soltan Dallal
Address: Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Tel:
Tel: +98 (912) 1452646
E-Mail: msoltandallal@gmail.com

Journal of
Inflammatory Diseases
(Previous Title: The Journal of Qazvin University of Medical Sciences)

wall and destroying the membrane; but its mechanism of action is still unclear [7-9].

In the study by Azam et al., the antibacterial effect of several nanoparticles on gram-positive and gram-negative bacteria was investigated. Their results showed that nanoparticles of ZnO had a better effect on both groups of bacteria [11]. In a study by Liu et al., ZnO nanoparticles could potentially be used as an effective antibacterial agent to protect the agriculture and food safety [13]. Due to a daily need for food in humans, any change in the food quality and quantity can have a significant impact on the community health. Removal of microbial contamination from food is important at any stages of food production, storage and supply [16]. The aim of this study was to compare the antibacterial effect of ZnO nanoparticles on standard strains of P. aeruginosa and S. aureus isolated from food.

2. Materials and Methods

This experimental study was performed on two pathogenic and spoilage bacteria in meat and vegetable foods along with two standard strains of the same bacteria. In order to use the collected isolates, they were stored in a tryptic soy broth containing 15% of cultured glycerol at -70° C. The standard strains of P. aeruginosa (ATCC 27853) and S. aureus (ATCC 25923) used in this study were purchased from Zistroyesh Company in a freeze-dried form. In order to prepare the bacterial suspension for daily tests, McFarland suspension (1-1.5×10^8 mL) was prepared. To ensure the correct turbidity of the McFarland suspension, its absorption was measured by a spectrophotometer at a wavelength range of 620 nm [17].

First, 100 g of zeolite with 70 g of zinc acetate was poured into 500-m beaker and, then, 400 mL of deionized water was added to them. This beaker was then placed on a magnetic steering device. After 30 minutes, the beaker content was filtered using Whatman cellulose filter paper (Grade 40) and a white filter band (S&S 589/2: 12-25 µm, Germany) and washed by 500 mL of deionized water. Both filtered contents were then transferred to a glass plate and dried for 24 hours at room temperature. On the second day, the plate was incubated for 80 hours at 80° C and then was placed in a 120° C oven for 2 hours. The 400° C furnace was then used for calcinations of the obtained material for 2 hours [18]. Finally, to measure the amount of ZnO, the XRF analyzer (PW 2404, Philips Co., Holland) was used available at the laboratory of Tarbiat Modares University.

The lowest concentration of nanoparticle suspension that did not show turbidity in the tube was determined as the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of nanoparticle growth. In tubes with no growth, Minimum Bactericidal Concentrations (MBC) was determined by performing a re-culture on Müller-Hinton agar medium. These assessments were repeated three times [19]. All mediums used in this study were prepared from Merck Company in Germany. The antibacterial effect of ZnO nanoparticles on standard strains of P. aeruginosa and S. aureus isolated from food was evaluated by macrodilution method which includes the determination of MBC and MIC values and disk diffusion.

3. Results

Using the XRF analyzer, different percentages of elements in non-nano ZnO suspension and ZnO nanoparticle suspension were determined. The amount of ZnO non-nano ZnO suspension was obtained 8.358 and the amount of ZnO nanoparticle suspension was 25.149. The MIC of ZnO nanoparticle growth was reported 4 mg/mL for the standard strain and isolate of P. aeruginosa and 2 mg/mL for the standard strain and isolate of S. aureus. The MBC of ZnO nanoparticle suspension for the standard strain and P. aeruginosa was obtained 16 and 8 mg/mL, respectively, and for the standard strain and isolate of S. aureus was 8 mg/mL

4. Conclusion

The results of this study showed that ZnO nanoparticle suspension had better antimicrobial effects on all bacteria compared to zeolite (non-nano ZnO) . During this study, antibacterial activity increased with the increase in the concentration of the nanoparticle solution. Reddy et al. examined the antimicrobial effects of ZnO nanoparticles on S. aureus and Escherichia coli and found that gram-positive S. aureus was more sensitive to ZnO nanoparticles than gram-negative Escherichia coli, which is consistent with the results of our study [24]. Ramani et al. synthesized ZnO nanoparticles with different structures and examined its antibacterial properties on 4 strains of gram-positive bacteria and 4 strains of gram-negative bacteria, and observed that spherical ZnO nanoparticles had better antibacterial properties [24]. Seil et al. synthesized a composite of polyvinyl chloride and ZnO nanoparticles and studied its antibacterial effect on S. aureus and showed that ZnO improves the antibacterial properties of the study composite [25]. According to the results of the present study, it can be found that S. aureus was more sensitive to ZnO nanoparticles than P. aeruginosa.

It can be concluded that ZnO nanoparticles can be used in food packaging and storage as deterrents to pathogenic bacteria and food spoilage, leading to reduced consumption of raw materials and less waste in the packaging industry. The isolates of bacteria were more sensitive than the standard

strains. Standard strains were clinical samples and become resistant over time due to the use of antibiotics.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study obtained its ethical approval from the Ethics Committee of Tehran University of Medical Sciences (Code: IR.TUMS.VCR.REC.1397.484).

Funding

This study was extracted from the master thesis of first author, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences (Code: 39078).

Authors' contributions

Data collection, experiments, editing & review: Shima Naddafi, Zahra Dargahi; Data analysis and interpretation: Mohammad Mehdi Soltan Dallal, Alireza Partoazar; Initial draft preparation: Shima Naddafi.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

مقایسه فعالیت ضدباکتریایی نانوذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه پسودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک اورئوس از مواد غذایی

شیما ندافی[۱]، علیرضا پرتوآذر[۲]، زهرا درگاهی[۱]، *محمدمهدی سلطان دلال[۳،۱]

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۲. مرکز تحقیقات طب تجربی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۳. مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۲۶ بهمن ۱۳۹۸
تاریخ پذیرش: ۲۶ خرداد ۱۳۹۹
تاریخ انتشار: ۱۱ مرداد ۱۳۹۹

چکیده

زمینه مطالعات نشان‌دهنده آن است که نانواکسید فلزات بسیار فعال بوده و در مقابل طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها، فعالیت باکتری‌کُشی فوق العاده‌ای نشان می‌دهند.

هدف مطالعه حاضر با هدف مقایسه فعالیت ضدباکتریایی نانوذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه پسودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک اورئوس از مواد غذایی و بررسی تفاوت این دو باهم انجام شد.

مواد و روش‌ها این مطالعه تجربی بر روی دو باکتری عامل بیماری‌زا در کنار دو سویه استاندارد از همان باکتری‌ها انجام شد. نانوذره اکسید روی از زئولیت تهیه شد و مقدار آن با استفاده از X-Ray Fluorescence (XRF) تعیین شد. اثر ضدباکتریایی نانوذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه پسودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک اورئوس از مواد غذایی با روش ماکرودایلوشن و تعیین میزان Minimum Inhibitory Concentration (MIC) و Minimum Bactericidal Concentration (MBC) و دیسک دیفیوژن تعیین شد.

یافته‌ها مقدار MIC نانوذره اکسید روی برای سویه استاندارد و جدایه پسودوموناس آئروژینوزا و سویه استاندارد استافیلوکوک اورئوس ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای جدایه استافیلوکوک اورئوس ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. مقادیر MBC این ماده برای سویه استاندارد و جدایه پسودوموناس آئروژینوزا به ترتیب برابر با ۱۶ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای سویه استاندارد و جدایه استافیلوکوک اورئوس ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد و مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتیجه‌گیری با توجه به نتایج، می‌توان دریافت که باکتری استافیلوکوک اورئوس حساسیت بیشتری نسبت به پسودوموناس آئروژینوزا در برابر نانوذرات اکسید روی دارد.

کلیدواژه‌ها:

نانوذره اکسید روی، پسودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوک اورئوس، فعالیت

مقدمه

باکتری‌های پسودوموناس در خاک، آب، سطح گیاهان و گل‌ها، انواع مواد غذایی و همچنین مجرای گوارشی انسان به صورت همسفره موجود هستند. این باکتری‌ها غیرتخمیری‌اند و به صورت گسترده‌ای در طبیعت پراکندگی دارند. پسودوموناس آئروژینوزا[1] پاتوژن فرصت‌طلب مهمی است که می‌تواند به‌سرعت در برابر دارو مقاوم شود. پسودوموناس آئروژینوزا عامل عفونت‌های ریه در افراد مبتلا به سیستیک فیبروزیس و همچنین افرادی است که از دستگاه تنفس مصنوعی استفاده می‌کنند. این باکتری عامل عفونت‌های پوستی در افراد دچار سوختگی و عامل سپتی سمی در بیماران با سیستم ایمنی ضعیف است. ایجاد عفونت‌های موضعی و منتشر بعد از عمل جراحی و عفونت‌های انسداد مجرای ادراری در افراد دارای کاتتر از دیگر اشکال بالینی عفونت این باکتری است. این باکتری به طور وسیع در طبیعت وجود داشته و به طور شایع از محیط‌های مرطوب بیمارستانی جدا شده است [۱].

پسودوموناس‌ها توانایی قابل توجهی در شکل‌گیری بیوفیلم روی سطوح دارند و به‌راحتی جهت زنده ماندن با محیط‌های مختلف سازگار هستند. انسان آلوده به این باکتری می‌تواند از

1. *Pseudomonas aeroginosa*

* **نویسنده مسئول:**
محمدمهدی سلطان دلال
نشانی: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی.
تلفن: ۱۴۵۲۶۴۶ (۹۱۲) ۹۸+
رایانامه: msoltandallal@gmail.com

طریق بزاق خود عامل انتقال بیماری شود. به همین ترتیب می‌تواند موجب بیماری حیوانات شده و حیوان ناقل از طریق گوشت و شیر آلوده سبب انتشار بیشتر بیماری شود [۲].

استافیلوکوک‌ها از جمله باکتری‌های مقاوم با پراکندگی و گسترش بالا هستند. این باکتری‌ها از جمله نخستین پاتوژن‌های شناخته‌شده انسانی هستند که می‌توانند بر روی پوست و غشاهای مخاطی کلونیزه شوند [۳]. میان گونه‌های مختلف این جنس، استافیلوکوک اورئوس[۲] مهم‌ترین گونه پاتوژن است که به واسطه دارا بودن توانایی ذاتی و همچنین کسب مقاومت نسبت به عوامل و داروهای ضدمیکروبی به یکی از نگرانی‌های عمده سلامت عمومی مبدل شده است [۴].

بیماری‌هایی با منشأ مواد غذایی یکی از عوامل عمده در بهداشت و سلامت جامعه بوده و استافیلوکوک اورئوس از نظر اهمیت سومین عامل ایجادکننده بیماری با منشأ مواد غذایی است. استافیلوکوک اورئوس یک باکتری گرم مثبت و بدون اسپور است که با تولید انتروتوکسین عامل ایجادکننده گاستروانتریت در انسان است [۵]. افزایش روزافزون مقاومت‌های دارویی باکتری‌ها و به تبع آن گسترش عفونت‌های ناشی از آن‌ها در بیمارستان‌ها و جامعه، توجه مجامع علمی را به خود معطوف کرده است و عفونت‌های ناشی از استافیلوکوک‌های مقاوم به متی‌سیلین به یکی از معضلات بزرگ در درمان آنتی‌بیوتیکی مبدل شده است [۶].

در سال‌های اخیر، به اکسیدهای فلزی، مانند اکسید روی به عنوان ترکیبی ضدمیکروبی توجه شده است. نانوذرات اکسید روی با تولید پراکسید هیدروژن و نفوذ در دیواره سلولی و تخریب غشا، مانع از رشد باکتری‌ها می‌شوند، اما مکانیسم فعالیت نانوذرات اکسید روی دقیقاً مشخص نشده است [۷-۹]. اکسید روی با خواص فیزیکی و شیمیایی خاص، یک ماده چندعملکردی است که در صنایع مختلفی مثل الکترونیک، اپتوالکترونیک، لیزر و همین‌طور 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 [۱۰].

در تحقیق اعظم و همکاران اثر ضدباکتریایی چند نانواکسید بر باکتری‌های گرم مثبت و منفی بررسی شد که نتایج نشان داد نانوذره اکسید روی اثر بهتری بر هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و منفی داشته است [۱۱]. در مطالعه حسین‌خانی و همکاران نشان داده شد با استفاده از نانوذرات می‌توان رشد باکتری‌های بیماری‌زایی چون شیگلا دیسانتری را مهار کرد [۱۲]. در مطالعه لیو[۳] و همکاران نانوذرات اکسید روی به عنوان یک عامل ضد باکتری مؤثر برای حفاظت از امنیت غذایی کشاورزی و مواد غذایی می‌تواند به طور بالقوه استفاده شود [۱۳]. در مطالعه وانگ[۴] و همکاران اثرات ضدباکتریایی نانوذره اکسید روی بر باکتری اشریشیاکلی K88 نشان داد که این نانوذره با آسیب به غشا سبب مرگ باکتری می‌شود [۱۴]. گونالان[۵] و همکاران نانوذرات اکسید روی را سنتز کردند و خواص ضدباکتریایی و ضد قارچی آن را بر روی چهار سویه باکتری و چهار سویه قارچ مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها نشان دادند که فعالیت ضدمیکروبی نانو ذرات به دُز نانوذرات، زمان تماس، اندازه ذرات و روش سنتز بستگی دارد [۱۵].

به دلیل نیاز روزمره انسان به مواد غذایی هرگونه تغییر در کیفیت و کمیت مواد غذایی تأثیر بسزایی در بهداشت و سلامت جامعه خواهد داشت. زدودن آلودگی‌های میکروبی از مواد غذایی در هریک از مراحل تولید، نگهداری و عرضه مواد غذایی قابل اهمیت است [۱۶]. تاکنون مطالعه‌ای در مورد تفاوت سویه‌های بالینی با غذایی انجام نشده است؛ بنابراین این مطالعه با هدف مقایسه فعالیت ضدباکتریایی نانوذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه پسودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک اورئوس از مواد غذایی و بررسی تفاوت این دو باهم انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع تجربی روی دو باکتری بیماری‌زا و عامل فساد موجود در مواد غذایی گوشت و سبزی که در طی کارهای قبلی جدا شده بود در کنار دو سویه استاندارد از همان باکتری انجام شد. در مرحله بعدی به منظور استفاده ازجدایه ها در محیط تریپتیک سوی براث حاوی ۱۵ درصد گلیسرول کشت ذخیره داده شده و در دمای منهای ۷۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

سویه‌های استاندارد پسودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 و استافیلوکوک اورئوس ATCC 25923 استفاده‌شده در این پژوهش از شرکت تعاونی دانش‌بنیان زیست رویش که به صورت فریز خشک نگهداری شده بودند، تهیه شد. ابتدا سویه‌ها در محیط کشت تریپتیک سوی براث گذاشته شد و بعد از آن روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در گرم‌خانه با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

به منظور تهیه سوسپانسیون باکتریایی جهت انجام آزمایشات در هر روز، ابتدا نیم‌مک فارلند (۱۰۸×۱/۵-۱ عدد باکتری در هر میلی‌لیتر) تهیه شد. برای اطمینان از ایجاد کدورت صحیح سوسپانسیون نیم‌مک فارلند، جذب آن به وسیله اسپکتروفتومتر در محدوده طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۷].

ابتدا زئولیت از نوع کلینوپتیلولیت[۶] سدیم ـ پتاسیمی با خلوص متوسط ۸۰ درصد از شرکت افرازند واقع در سمنان تهیه شد. ۶۰۰ گرم از آن سه مرتبه با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه شست‌وشو

2. Staphylococcus aureus
3. Liu
4. Wang
5. Gunalan
6. Clinoptilolite

داده شد و به مدت یک شبانه‌روز در دمای محیط خشک شد و روز بعد با استفاده از انکوباتور ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت گرما داده شد تا کاملاً خشک شود.

مقدار ۱۰۰ گرم زئولیت با ۷۰ گرم استات روی در داخل بشر ۵۰۰میلی‌لیتری ریخته شد و ۴۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن اضافه شد. pH آن مورد سنجش قرار گرفت که میزان آن ۶ بود. سپس این ساختار درون بشر بر روی دستگاه مگنت استیرر[7] در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد و به‌آرامی به منظور بالا بردن اندازه pH به‌تدریج به ساختار مورد نظر سود ۲ مولار اضافه شد که pH به ۱۲ رسید و بعد از ثابت ماندن pH، یک ساعت روی دستگاه مگنت[7] قرار داده شد. سپس با استفاده از کاغذ صافی سلولزی واتمن ۴۰ و باند سفید (s&S589/2:12-25 um ساخت آلمان) محتوای بشر فیلتر شد.

ابتدا مقدار ۱۰۰ گرم زئولیت با ۷۰ گرم استات روی در داخل بشر ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و ۴۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن اضافه شد. این ساختار درون بشر بر روی دستگاه مگنت استیرر قرار داده شد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه با استفاده از کاغذ صافی سلولزی واتمن ۴۰ و باند سفید (s&S589/2:12-25 um ساخت آلمان)، محتوای بشر فیلتر و محتویات روی فیلتر با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه شست‌وشو داده شد. سپس هر دو محتوای فیلترشده به پلیت شیشه‌ای انتقال داده شد و به مدت یک شبانه‌روز در دمای محیط خشک شد. در روز دوم، پلیت به مدت ۲ ساعت در انکوباتور ۸۰ درجه سانتی‌گراد و سپس در فور ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار داده شد. سپس برای کلسینه کردن ماده حاصله، از کوره ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت استفاده شد [۱۸] و در آخر برای سنجش مقدار زینک اکساید، از دستگاه XRF (Model: PW 2404, Company: Philips, Country: Holland) موجود در آزمایشگاه دانشگاه تربیت مدرس استفاده شد.

از هر چهار نمونه، نانوذره اکسید روی و کامپوزیت غیرنانو اکسید روی و زئولیت و استات روی با غلظت‌های ۵، ۸، ۱۶ ، ۱، ۲، ۴، میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در محیط TSB تهیه و جهت حل شدن ورتکس شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط نگهداری شد. بعد از آن مایع رویی جدا شده و اتوکلاو شد. برای هر چهار باکتری به طور جداگانه از هشت لوله استریل که هرکدام حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط TSB استریل و سوسپانسیون نانوذره اکسید روی، سوسپانسیون کامپوزیت غیرنانو اکسید روی، زئولیت و استات روی بود، استفاده شد. سپس به همه لوله‌ها از سوسپانسیون میکروبی موردنظر با کدورت معادل نیم‌مک فارلند به میزان ۵۰ میکرولیتر اضافه شد (یک لوله به عنوان شاهد منفی بود و سوسپانسیونی در آن ریخته نشد). یک لوله حاوی سوسپانسیون میکروبی فاقد نانوذره به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و جواب با مشاهده کدورت و شفافیت به صورت رشد یا عدم رشد در نظر گرفته شد و به این ترتیب میزان MIC نانوذره اکسید روی برای هریک از میکروارگانیسم‌ها تعیین شد.

کمترین غلظت از سوسپانسیون نانوذره که کدورت در لوله را نشان نداد، به عنوان حداقل غلظت ممانعت‌کننده رشد نانوذره تعیین شد. در لوله‌هایی که عدم رشد داشتند با انجام یک کشت مجدد بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار، MBC تعیین شد، این بررسی‌ها سه‌بار تکرار شد [۱۹]. تمام محیط‌های مورد استفاده در این مطالعه از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

دیسک‌های بلانک استریل ۲۴ ساعت در غلظت‌های مختلف تهیه‌شده قرار گرفت. تعدادی دیسک در استات روی و آب‌مقطر به عنوان شاهد مثبت و منفی قرار داده شد. بعد از دیسک‌گذاری توسط پنس استریل، پلیت‌ها ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و در صورت مشاهده هاله‌های عدم رشد، قطر آن‌ها به وسیله خط‌کش و مشابه روش اندازه‌گیری دیسک‌های آنتی‌بیوگرام اندازه‌گیری و یادداشت شد [۱۷]. در این مطالعه اثر ضدباکتریایی نانوذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و جدایه پسودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک اورئوس از مواد غذایی با روش ماکرودایلوشن که شامل تعیین میزان MIC، MBC و دیسک دیفیوژن است، مورد ارزیابی قرار گرفت.

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری Graph-Pad Prism استفاده شد. داده‌های حاصل از تأثیر استات روی، آب‌مقطر و غلظت‌های مختلف سوسپانسیون نانوذرات اکسید روی بر روی باکتری‌های مورد بررسی با سه تکرار، با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه[8] مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

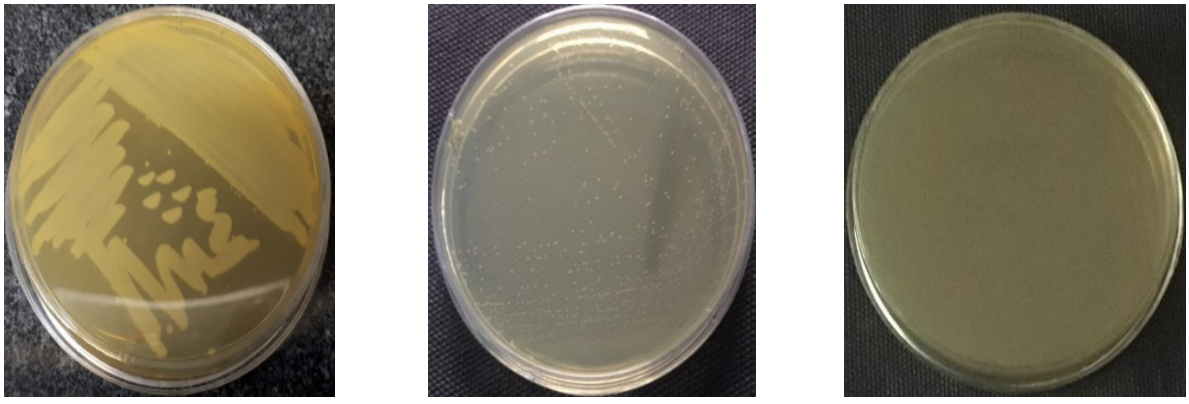
یافته‌ها

با استفاده از دستگاه XRF درصدهای مختلف عناصر موجود در سوسپانسیون غیرنانو اکسید روی و سوسپانسیون نانوذره اکسید روی تعیین شد که مقدار اکسید روی در سوسپانسیون غیرنانو اکسید روی ۸/۳۵۸ و مقدار اکسید روی در سوسپانسیون نانوذره اکسید روی ۲۵/۱۴۹ تعیین شد (جدول شماره ۱).

مقادیر حداقل غلظت بازدارنده رشد سوسپانسیون نانوذره اکسید روی برای سویه استاندارد و جدایه پسودوموناس آئروژینوزا و سویه استاندارد استافیلوکوک اورئوس ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای جدایه استافیلوکوک اورئوس ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و مقادیر حداقل غلظت بازدارنده رشد استات روی علیه همه باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و سوسپانسیون کامپوزیت غیر نانو اکسید روی و زئولیت فاقد

7. Magnet

8. One-way ANOVA



تصویر ۱. مقایسه نتایج بررسی ضد میکروبی سوسپانسیون نانو ذره اکسید روی با روش انتشار دیسک
A. تأثیر غلظت هشت سوسپانسیون نانوذره بر روی باکتری پسودوموناس، B. تأثیر غلظت هشت سوسپانسیون نانوذره بر روی باکتری پسودوموناس، C: تأثیر غلظت شانزده سوسپانسیون نانوذره بر روی باکتری پسودوموناس

مجله بیماری‌های التهابی

حداقل غلظت بازدارنده رشد، علیه تمامی باکتری‌های مورد آزمایش در این مطالعه بودند.

مقادیر حداقل غلظت کشندگی سوسپانسیون نانوذره اکسید روی برای سویه استاندارد و جدایه پسودوموناس آئروژینوزا به ترتیب برابر با ۱۶ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای سویه استاندارد و جدایه استافیلوکوک اورئوس ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد و سوسپانسیون کامپوزیت غیرنانو اکسید روی و زئولیت فاقد حداقل غلظت کشندگی علیه باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه بودند.

نتایج بررسی ضدمیکروبی سوسپانسیون نانوذره اکسید روی با روش دیسک‌گذاری در جدول شماره ۲ نشان داد که با کاهش غلظت نانوذره از اثرات مهاری آن کاسته شده است.

نتایج نشان می‌دهد سوسپانسیون نانوذره اکسید روی بر همه باکتری‌ها اثرات ضدمیکروبی بهتری نسبت به سوسپانسیون غیرنانو اکسید روی، زئولیت و استات روی دارد و با افزایش غلظت نانوذره در سوسپانسیون، برای همه باکتری‌ها فعالیت ضدباکتریایی افزایش می‌یابد.

سوسپانسیون نانوذره اکسید روی بر باکتری پسودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 به روش MBC با ۲۴ ساعت انکوباسیون در تصویر شماره ۱ (A، B و C) ملاحظه می‌شود. نمودارهای تأثیر استات روی[9]، آب‌مقطر (DW) و غلظت‌های مختلف سوسپانسیون نانوذرات اکسید روی[10] بر روی قطر هاله عدم رشد باکتری‌های مختلف در تصاویر شماره ۲ تا ۵ نشان داده شده است. داده‌ها بر اساس انحراف معیار± میانگین با سه تکرار برای همه گروه‌ها بررسی شده است.

9. Zn ac
10. ZnO Nano

جدول ۱. مقایسه درصدهای مختلف عناصر موجود در سوسپانسیون غیرنانو اکسید روی و سوسپانسیون نانوذره اکسید روی

	عناصر	L.O.I.	MgO	Al2O3	SiO2	P2O5	SO3	Cl	K2O	CaO	TiO2
سوسپانسیون غیرنانو اکسید روی	درصد	۹/۱۲	۰/۵۶۸	۸/۹۰۵	۶۵/۸۱۹	۰/۰۳۱	۰/۱۵۳	۰/۰۴	۱/۳۲۴	۳/۶۶۱	۰/۱۴۴
سوسپانسیون نانوذره اکسید روی	درصد	۹/۰۶	۰/۴۷۸	۷/۶۴۳	۵۰/۲۳۲	۰/۰۳	۰/۱۰۲	۰/۰۳۹	۱/۰۲۹	۴/۳۳۳	۰/۱۱۷

	عناصر	MnO	Fe2O3	Co	Ni	Cu	ZnO	Rb	Sr	Zr	Ba	Pb
سوسپانسیون غیرنانو اکسید روی	درصد	۰/۰۵۳	۱/۲۹۱	۰/۰۳	۰/۰۷۲	۰/۰۰۵	۸/۳۵۸	۰/۰۰۴	۰/۱۳۳	۰/۰۳۶	۰/۲۳۳	۰/۰۲
سوسپانسیون نانوذره اکسید روی	درصد	۰/۰۳۹	۱/۱۵۴		۰/۰۰۹		۲۵/۱۴۹	۰/۰۰۴	۰/۱۳۵	۰/۰۳۴	۰/۳۸۲	۰/۰۳۲

مجله بیماری‌های التهابی

جدول ۲. تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذره اکسید روی بر روی باکتری‌های پسودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک اورئوس، بر اساس قطر هاله عدم رشد

باکتری / غلظت میلی‌گرم / میلی‌لیتر	۰/۵**	۱	۲	٤	۸	۱٦	شاهد مثبت*	شاهد منفی#
پسودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853	۰	۰	۹	۱۰	۱۱	۱۳	۱۰	۰
جدایه پسودوموناس آئروژینوزا	۰	۰	۱۰	۱۱	۱۲	۱۵	۱۰	۰
استافیلوکوک اورئوس ATCC 25923	۰	۰	۱۱	۱۲	۱۴	۱۷	۱۰	۰
جدایه استافیلوکوک اورئوس	۰	۰	۱۲	۱۳	۱۶	۱۹	۱۰	۰

شاهد مثبت*: دیسک آغشته به استات روی با غلظت ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر
شاهد منفی#: دیسک آغشته به آب‌مقطر
**: قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر

بحث و نتیجه‌گیری

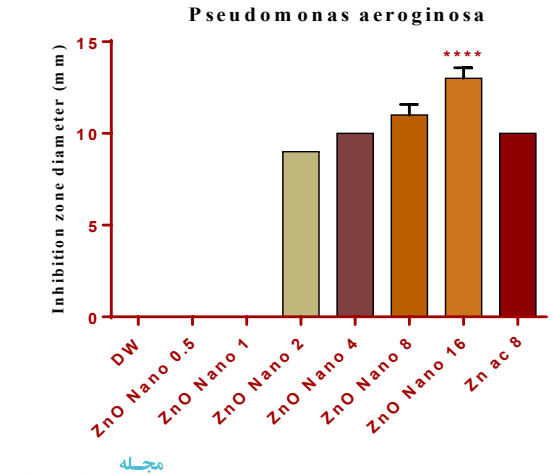
نتایج این مطالعه نشان داد که سوسپانسیون نانوذره اکسید روی بر همه باکتری‌ها اثرات ضدمیکروبی بهتری نسبت به سوسپانسیون کامپوزیت غیرنانو اکسید روی، زئولیت دارد. در طی این بررسی، با افزایش غلظت محلول نانوذره، فعالیت ضدباکتریایی افزایش یافت.

ساوایی[11] و همکاران با بررسی اثر ضدمیکروبی پودرهای اکسید روی، مس و منیزیم گزارش کردند که این سه اکسید فلزی قدرت ضدمیکروبی خوبی در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها دارند [۱۸]. کتابچی و همکاران در ارزیابی فعالیت مهارکنندگی نانوذره اکسید روی بر سویه‌های استاندارد و ایزوله اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس جداشده از مواد غذایی با مقادیر حداقل غلظت بازداری و باکتری‌کُشی نانوذرات اکسید روی برای میکروارگانیسم‌های حساس به ترتیب در محدوده ۳۱۲/۵-۷۸/۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۲۵۰۰-۱۵۶/۲۵ نشان دادند که از نانوذرات اکسید روی برای مهار باکتری‌های یادشده می‌توان استفاده کرد و پتانسیل مناسبی برای جایگزینی مواد نگه‌دارنده جهت جلوگیری از فساد مواد غذایی است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد [۱۷]. آدامز[12] و همکاران تولید گونه‌های حاوی اکسیژن فعال را یکی از مهم‌ترین دلایل فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی ذکر کرده‌اند [۱۹].

حسینی و همکاران اثر ضدقارچی نانوذره اکسید روی را بر مهار رشد سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس با روش میکرو براث دایلوشن در مقایسه با داروی فلوکونازول بررسی کردند و نشان دادند که استفاده از نانوذره اکسید روی به عنوان گزینه مناسب

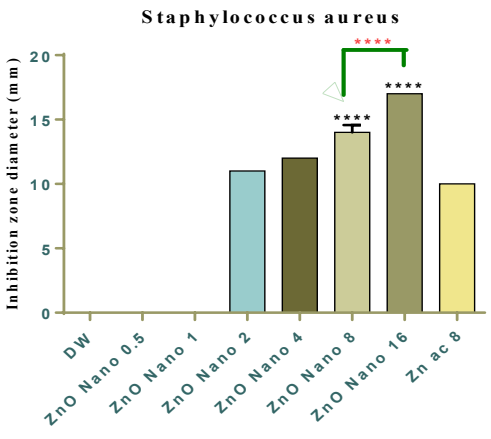
11. Sawai

12. Adams



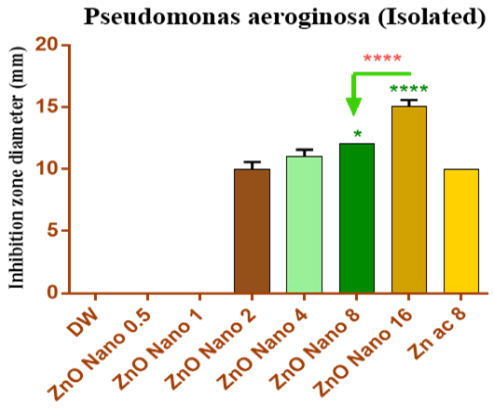
مجله بیماری‌های التهابی

تصویر ۲. تأثیر Zn ac، DW و غلظت‌های مختلف سوسپانسیون نانوذرات ZnO Nano بر روی قطر هاله عدم رشد باکتری Pseudomonas aeruginosa استاندارد. علامت * نشانگر مقایسه با گروه استات روی است (P≤ 0/0001****).



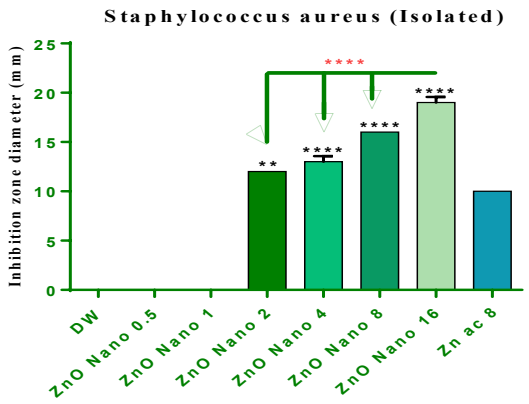
مجله بیماری‌های التهابی

تصویر ۳. تأثیر Zn ac، DW و غلظت‌های مختلف سوسپانسیون نانوذرات ZnO Nano بر روی قطر هاله عدم رشد جدایه باکتری Pseudomonas aerugino-sa از مواد غذایی. علامت * نشانگر مقایسه با گروه استات روی و * (قرمزرنگ) نشانگر مقایسه گروه‌های معنی‌دار با یکدیگر است (P≤۰/۰۰۰۱*، P≤ ۰/۰۰۰۱****، P≤۰/۰۵*).



مجله بیماری‌های التهابی

تصویر ٤. تأثیر DW، Zn ac و غلظت‌های مختلف سوسپانسیون نانوذرات ZnO Nano بر روی قطر هاله عدم رشد باکتری Staphylococcus aureus استاندارد. علامت * نشانگر مقایسه با گروه استات روی و * (قرمزرنگ) نشانگر مقایسه گروه‌های معنی‌دار با یکدیگر است (**P≤0/0001، ****P≤0/01).



مجله بیماری‌های التهابی

تصویر ٥. تأثیر DW، Zn ac و غلظت‌های مختلف سوسپانسیون نانوذرات ZnO Nano بر روی قطر هاله عدم رشد جدایه باکتری Staphylococcus aureus جداشده از مواد غذایی. علامت * نشانگر مقایسه با گروه استات روی و * (قرمزرنگ) نشانگر مقایسه گروه‌های معنی‌دار با یکدیگر است (****P≤۰/۰۰۰۱).

برای حذف کاندیدا آلبیکنس در حیطه پزشکی، به‌ویژه در ارتباط با وسایل پزشکی مناسب است که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد [۲۰]. ژانگ و چن[13] بیان داشتند که شرایط محیط و نور مرئی برای فعالیت ضدمیکروبی اکسید روی کافی است، در حالی که این فعالیت در شرایط تاریک با قدرت کمتری انجام می‌شود [۲۱].

سینها[14] و همکاران در بررسی اثرات ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی نشان دادند که گونه‌های گرم منفی انتروباکتر و مارینوباکتر حساسیت بیشتری به این نانو ذرات در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت باسیلوس سوبتلیس دارند. علت مقاوم بودن باکتری‌های گرم مثبت به وجود لایه‌های پپتید و گلیکانی ضخیم در این باکتری‌ها نسبت داده می‌شود [۲۲] که با مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد. ردی[15] و همکاران اثرات ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی را بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی بررسی و مشاهده کردند که باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با باکتری گرم منفی اشریشیاکلی حساسیت بیشتری نسبت به نانو ذرات اکسید روی دارد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد [۲۳].

رامانی[16] و همکاران نانوذرات اکسید روی را با ساختارهای متفاوت سنتز کردند و خواص ضدباکتریایی آن را بر روی چهار سویه باکتری گرم مثبت و چهار سویه باکتری گرم منفی مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که نانوذرات اکسید روی کروی‌شکل خواص ضدباکتریایی بهتری را از خود نشان می‌دهند [۲۴]. سیل[17] و همکاران کامپوزیتی از پلی وینیل کلراید و نانوذرات اکسید روی را سنتز کردند و خواص ضدباکتریایی آن را روی استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که اکسید روی باعث بهبود عملکرد خاصیت ضدباکتریایی کامپوزیت می‌شود [۲۵]. ما[18] و همکاران نانوذرات اکسید روی را به کمک امواج مایکروویو سنتز کردند و خواص ضدباکتریایی آن را بر روی کاندیدا آلبیکنس بررسی کردند و نشان دادند که خواص ضدباکتریایی نانوذرات به شکل و اندازه آن‌ها بستگی دارد [۲۶]. با توجه به نتایج می‌توان دریافت که باکتری استافیلوکوک اورئوس حساسیت بیشتری نسبت به پسودوموناس آئروژینوزا در برابر نانوذرات اکسید روی دارد.

بر اساس نتایج این پژوهش، نانوذرات اکسید روی می‌توانند بعنوان یک عامل بازدارنده در مقابل باکتری‌های بیماری‌زا و عامل فساد موجود در مواد غذایی در بسته‌بندی و نگهداری مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرند و از آلودگي و فساد آن‌ها جلوگیری کنند و در جهت بهبود صنعت بسته‌بندی منجر به کاهش مصرف مواد اولیه و مفید و ضایعات کمتر شوند. نتایج نشان داد که سویه‌های جدایه نسبت به سویه‌های استاندارد حساس‌تر هستند. سویه‌های استاندارد از نمونه‌های بالینی هستند و به‌مرور به دلیل مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این پژوهش در کمیته اخلاق دانشگاه علوم‌پزشکی تهران با کُد

13. Zhang & Chen
14. Sinha
15. Reddy
16. Ramani
17. Seil
18. Ma

اخلاق IR.TUMS.VCR.REC.1397.484 ثبت شد.

حامی مالی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول در گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران (کد: ۳۹۰۷۸) است.

مشارکت نویسندگان

جمع‌آوری داده‌ها، انجام آزمایشات و نتیجه‌گیری، اصلاح و بازبینی: شیما ندافی و زهرا درگاهی؛ تحلیل و تفسیر داده: محمدمهدی سلطان دلال، علیرضا پرتوآذر؛ پیش‌نویس مقاله: شیما ندافی.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

References

[1] Raposo A, Pérez E, de Faria CT, Ferrús MA, Carrascosa C. Food Spoilage by Pseudomonas spp. An Overview. In: Singh OV, editor. Foodborne pathogens and antibiotic resistance. 1th edition. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc; 2017 [DOI:10.1002/9781119139188.ch3]

[2] Japooni A, Alborzi A, Orafa F, Rasouli M, Farshad S. Distiribution patterns of methicillin resistance genes (mecA) in staphylococcus aureus Isolated from clinical speciments. Iran Biomed J. 2004; 8(4):173-8. http://ibj.pasteur.ac.ir/article-1-489-en.html

[3] Rahimi F, Bouzari M, Katouli M, Pourshafie MR. Antibiotic resistance pattern of methicillin resistant and methicillin sensitive Staphylococcus aureus Isolates in Tehran, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2013; 6(2):144-9. [DOI:10.5812/jjm.4896]

[4] Boerema JA, Clemence R, Brightwell G. Evaluation of molecular methods to determine enterotoxigenic status and molecular genotype of bovine, ovine, human and food isolates of staphylococcus aureus. Int j Food Microbiol. 2006; 107(2):192-201. [DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.07.008] [PMID]

[5] Pereira V, Lopes C, Castro A, Silva J, Gibbs P, Teixeira P. characterization for enterotoxin production, Virulence factors, and antibiotic susceptibility of staphylococcus aureus isolates from various foods in Portugal. Food Microbiol 2009; 26(3):278-82. [DOI:10.1016/j.fm.2008.12.008] [PMID]

[6] Emami-Karvani Z, Chehrazi P. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on gram positive and gram-negative bacteria. Afr J Microbiol Res. 2011; 5(12):1368-73. [DOI:10.5897/AJMR10.159]

[7] Dutta RK, Nenavathu BP, Gangishetty MK, Reddy AVR. Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation. Colloids Surf B Biointerfaces, 2012; 94:143-50. [DOI:10.1016/j.colsurfb.2012.01.046] [PMID]

[8] Xie Y, He Y, Irwin PL, Jin T, Shi X. Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles. J of Appl Environ Microbiol. 2011; 77(7):2325-31. [DOI:10.1128/AEM.02149-10] [PMID] [PMCID]

[9] Ravikumar S, Gokulakrishnan R, Boomi P. In vitro antibacterial activity of the metal oxide nanoparticles against urinary tract infectious bacterial pathogens. Asian Pac J Trop Dis. 2012; 2(2):85-9. [DOI:10.1016/S2222-1808(12)60022-X]

[10] Kołodziejczak-Radzimska A, Jesionowski T. Zinc oxide-from synthesis to application: A review. Materials (Basel). 2014; 7(4):2833-81. [DOI:10.3390/ma7042833] [PMID] [PMCID]

[11] Azam A, Ahmed AS, Oves M, Khan MS, Habib SS, Memic A. Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: A comparative study. Int J Nanomedicine. 2012; 7:6003-9. [DOI:10.2147/IJN.S35347] [PMID] [PMCID]

[12] Hosseinkhani P, Zand AM, Imani S, Rezayi M, Rezaei Zarchi S. Determining the antibacterial effect of ZnO nanoparticle against the pathogenic bacterium, Shigella dysenteriae (type 1). Int J Nano Dim. 2011; 1(4):279-85. [DOI:10.7508/IJND.2010.04.006]

[13] Liu Y, He L, Mustapha A, Li H, Hu Z, Lin M. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli O157: H7. J App Microbial. 2009; 107(4):1193-201. [DOI:10.1111/j.1365-2672.2009.04303.x] [PMID]

[14] Wang C, Liu L-L, Zhang A-T, Xie P, Lu J-J, Zou X-T. Antibacterial effects of zinc oxide nanoparticles on Escherichia coli K 88. Afr J Biotechnol. 2012; 11(44):10248-54. [DOI:10.5897/AJB11.3703]

[15] Gunalan S, Sivaraj R, Rajendran V. Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. Pro Nat Sci-Mater. 2012; 22(6):695-702. [DOI:10.1016/j.pnsc.2012.11.015]

[16] Alswat AA, Ahmad MB, Saleh TA, Hussein MZB, Ibrahim NA. Effect of zinc oxide amounts on the properties and antibacterial activities of zeolite/zinc oxide nanocomposite. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2016; 68:505-11. [DOI:10.1016/j.msec.2016.06.028] [PMID]

[17] Ketabchi M, Iessazadeh KH, Massiha A. Evaluate the inhibitory activity of ZnO nanoparticles against standard strains and isolates of Staphylococcus aureus and Escherichia coli isolated from food samples. J Food Microbiol. 2017; 4(1):63-74. [In Persian] http://jfm.iaushk.ac.ir/article_654468_8b3349bceb43296f4d28999b4a3fe05c.pdf

[18] Sawai J, Yoshikawa T. Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. J Appl Microbiol. 2004; 96(4):803-9. [DOI:10.1111/j.1365-2672.2004.02234.x] [PMID]

[19] Adams LK, Lyon DY, Alvarez PJJ. Comparative ecotoxicity of nanoscale TiO2, SiO2, and ZnO water suspensions. Watter Res. 2006; 40(19):3527-32. [DOI:10.1016/j.watres.2006.08.004] [PMID]

[20] Hosseini SS, Joshagani HR, Eskandari M. Colorimetric MTT assessment of antifungal activity of ZnO nanowires against candida dubliensis bioflm. Jundishapur J Health Sci. 2013; 12(1):69-80. [In Persian] http://pdfarchive.ir/pack-5/Do_52513928205.pdf

[21] Zhang H, Chen G. Potent antibacterial activities of Ag/TiO2 nanocomposite powders synthesized by a one-pot sol–gel method. Environ Sci Technol. 2009; 43(8):2905-10. [DOI:10.1021/es803450f] [PMID]

[22] Sinha R, Karan R, Sinha A, Khare SK. Interaction and nanotoxic effect of ZnO and Ag nanoparticles on mesophilic and halophilic bacterial cells. Bioresour Technol. 2011; 102(2):1516-20. [DOI:10.1016/j.biortech.2010.07.117] [PMID]

[23] Reddy KM, Feris K, Bell J, Wingett DG, Hanley C, Punnoose A. Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. Appl Phys Lett. 2007; 90(21):1-3. [DOI:10.1063/1.2742324] [PMID] [PMCID]

[24] Ramani M, Ponnusamy S, Muthamizhchelvan C. From zinc oxide nanoparticles to microflowers: A study of growth kinetics and biocidal activity. Mater Sci Eng. 2012; 32(8):2381-9. [DOI:10.1016/j.msec.2012.07.011]

[25] Seil JT, Webster TJ. Reduced Staphylococcus aureus proliferation and biofilm formation on zinc oxide, nanoparticle PVC composite surfaces. Acta Biomater. 2011; 7(6):2579-84. [DOI:10.1016/j.actbio.2011.03.018] [PMID]

[26] Ma J, Liu J, Bao Y, Zhu Z, Wang X, Zhang J. Synthesis of large-scale uniform mulberry-like ZnO particles with microwave hydrothermal method and its antibacterial property. Ceram Int. 2013; 39(3):2803-10. [DOI:10.1016/j.ceramint.2012.09.049]

This Page Intentionally Left Blank