



دانشگاه علوم پزشکی کرمان



دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد
در رشته میکروبیولوژی شناسی پزشکی

عنوان:

بررسی اثر ضد میکروبی نانو ذره نقره بر روی ایزوله های پseudomonas آئروژینوزا
جدا شده از عفونت های زخم و سوختگی و تعیین اثر آن بر روی میزان تولید بیوفیلم و
بیان ژن *rhlR* مرتبط با بیوفیلم در طی سال ۹۴-۹۵

توسط: ملیکا غلامرضا زاده

استاد راهنما: دکتر محمدرضا شکیبایی

سال تحصیلی: ۱۳۹۶-۱۳۹۷



Kerman University of Medical Sciences

Faculty of Medicine

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Master of Science in:
Medical Microbiology

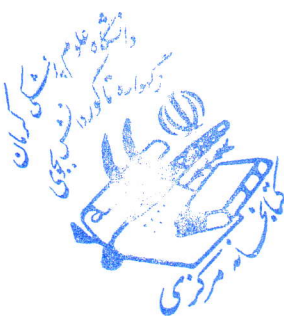
Title:

Evaluation of antimicrobial activity of nanosilver particles on *Pseudomonas aeruginosa* isolates recovered from wound and burn infections and analysis of its effect on biofilm formation and expression of *rhlR* gene during 2015-2016.

By: Melika Gholamrezazadeh

Supervisor: Dr. Mohammad Reza Shakibaie

Year: 2017



چکیده فارسی :

نتیجه: با توجه به اهمیت باکتری پseudomonas در ایجاد عفونت های بیمارستانی و به دلیل افزایش مقاومت آن به چند دارو (MDR)، هدف این طرح تحقیقاتی پیدا کردن راه موثری برای جلوگیری از تشکیل بیوفیلم توسط نانوذره نقره در بیماران آلوده شده با باکتری پseudomonas آئروژینوزا بود. اگرچه اثر ضد بیوفیلمی نانوذره نقره در مطالعات قبلی بررسی شده است اما تاکنون ارتباط بین ژن *rhIR* که یک ژن کنترلی است که میزان بیوفیلم را تنظیم می کند در حضور نانو نقره گزارش نگردیده است. لذا در این تحقیق علاوه بر اثر ضد میکروبی و ضد بیوفیلمی نانوذره نقره، اثر آن بر میزان بیان ژن *rhIR* نیز بررسی گردید.

مواد و روش ها: تعداد ۲۸ ایزوله پseudomonas آئروژینوزا از بخش سوختگی بیمارستان شفا کرمان جداسازی شد. کمترین غلظت مهارکنندگی از رشد (MIC) و کمترین غلظت کشندگی از رشد (MBC) نانوذره نقره بر اساس دستورالعمل موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) به روش میکرودايلوشن برآت انجام گرفت. تشکیل بیوفیلم و اثر ضد بیوفیلمی نانوذره نقره به روش میکروتیتر انجام گرفت. نهایتاً میزان بیان ژن *rhIR* را توسط تکنیک -relative quantitative real-time PCR (qRT-PCR) در حضور و عدم حضور نانوذره نقره مورد بررسی قرار دادیم.

نتایج: نانوذره نقره در ابعاد ۲۰ نانومتر اثر ضد میکروبی قوی داشت و قادر بود رشد ایزوله های بالینی پseudomonas آئروژینوزای جمع آوری شده از بخش سوختگی بیمارستان شفا را بطور قابل ملاحظه ای کنترل نماید. نتایج همچنین نشان داد که نانو ذره نقره در غلظت sub-MIC باعث کاهش بیوفیلم بطور چشمگیری گردید. در حالی که بیان ژن *rhIR* در حضور نانوذره نقره به میزان دو برابر افزایش داشت.

نتیجه گیری: بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که نانوذره نقره دارای خاصیت ضد میکروبی و ضد بیوفیلمی مناسبی می باشد. اگرچه رابطه ای بین میزان بیان ژن *rhIR* به عنوان یک تنظیم کننده مرتبط با بیوفیلم و توانایی تشکیل بیوفیلم پیدا شد، برای اینکه این ژن دو برابر افزایش بیان داشت. احتمالاً مکانیسم های تنظیمی دیگری نیز ممکن است در تشکیل بیوفیلم موثر باشند. لذا برای پی بردن به مکانیسم اثر نانوذره نقره در تشکیل بیوفیلم مطالعات بیشتری لازم می باشد.

کلمات کلیدی: پseudomonas آئروژینوزا، بیوفیلم، نانوذره نقره، ریل تایم پی سی آر کمی

Abstract:

Introduction: Considering the importance of *Pseudomonas* bacteria in the development of hospital infections and its increased resistance to multiple drugs (MDRs), the aim of this research was to find an effective way to prevent the formation of biofilms by silver nanoparticles in patients infected with *Pseudomonas aeruginosa*. Although the anti-biofilm effect of silver nanoparticles has been studied in previous studies, the relationship between *rhlR* gene, a control gene that regulates biofilm levels, has not been reported in the presence of nano silver. Therefore, in addition to the antimicrobial and anti-biofilm effect of silver nanoparticles, its effect on the expression of *rhlR* gene expression was also investigated.

Methods: 28 isolates of *pseudomonas aeruginosa* were isolated from the burn ward of Shafa hospital in Kerman. The minimum inhibitory concentration of growth (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of silver nanoparticles were performed according to the clinical and laboratory standards institute (CLSI) guidelines by broth micro-dilution broth method. Biofilm formation and anti-biofilm effect of silver nanoparticles were performed by microtiter method. Finally, we examined the expression of *rhlR* gene expression by quantitative real-time PCR (qRT-PCR) technique in the presence and absence of silver nanoparticles.

Results: Silver nanoparticles in the 20-nanometer dimension had a strong antimicrobial effect and could significantly control the growth of clinical isolates of *pseudomonas aeruginosa* collected from the healing ward's burn area. The results also showed that the silver nanoparticles in the sub-MIC concentration reduced the biofilm significantly. While *rhlR* gene expression increased twice in the presence of silver nanoparticles.

Conclusion: In general, the results of this study showed that silver nanoparticles possess antimicrobial and anti-biofilm properties. Although there was no relationship between the expression of *rhlR* gene expression as a biofilm regulator and the ability to form biofilm, it was twice as pronounced for the gene. Other regulatory mechanisms may also be effective in biofilm formation. Therefore, more studies are needed to find out the mechanism of silver nanoparticle effect in biofilm formation.

Keywords: *P. aeruginosa*, biofilm, nano-Ag, relative quantitative RT-PCR.