

The Antifungal Effect of Silver, Copper Nanoparticles, and Their Combination and in combination with Amphotericin B against Candida albicans In Vitro and in Animal Model

Hossein Soltani¹, Mojtaba Salouti^{2*}, Rasoul Shokri¹

¹Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

²Biology Research Center, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

***Corresponding Author:**
Mojtaba Salouti, Biology Research Center, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

Email:
saloutim@yahoo.com

Resived:1 May, 2017

Accepted: 31 Oct, 2017

Abstract

Background and Objectives: *Candida* is a genus of yeasts and is considered as the most common cause of fungal infections in the medical world. In this research, the antifungal activity of silver nanoparticles, copper nanoparticles, and their combination and with amphotericin B, was investigated in order to produce an effective antimicrobial drug against against infections caused by *Candida albicans*.

Methods: In this experimental study, the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) for silver nanoparticles, copper nanoparticles, and their combination form and in combination with amphotericin B, was performed based on microdilution method. Then, their antifungal effect was investigated in infected mouse model.

Results: MIC and MFC of silver nanoparticles for *Candida albicans* were, respectively, 8 ppm and 15.50 ppm, of copper nanoparticles were 62.50ppm and 125 ppm, and of their combination form were 31 ppm and 62.50 ppm. MIC and MFC of silver nanoparticles in combination with amphotericin B for *Candida albicans* were, respectively, 15.50ppm and 31ppm, and for the combination of copper nanoparticles and amphotericin B against *Candida albicans* was obtained 8ppm and 15.50ppm. The mouse model study confirmed the antifungal effect of the nanoparticles against *Candida albicans*; so that silver nanoparticles, copper nanoparticles, and their combination showed the highest antifungal effect, and combination of silver or copper nanoparticles with amphotericin B had the lowest antifungal effect in the animal model.

Conclusion: The results showed that silver, copper nanoparticles, and their combination form have higher antimicrobial effect compared to antifungal amphotericin B.

Keywords: *Candida albicans*; Antifungal agents; Nanoparticles; Amphotericin B.

اثر ضدقارچی نانوذرات نقره، مس و ترکیب آن‌ها با یکدیگر و آمفوتریسین B علیه کاندیدا/آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی

حسین سلطانی^۱، مجتبی صلوتی^{۲*}، رسول شکری^۱

چکیده

زمینه و هدف: کاندیدا یک جنس از مخمرها و شایع‌ترین عامل عفونت‌های قارچی در دنیای پزشکی محسوب می‌شود. در این تحقیق خاصیت ضدقارچی نانوذرات نقره، مس و ترکیب آن‌ها با یکدیگر و با آمفوتریسین B، به‌منظور تولید یک داروی ضد میکروبی مؤثر بر علیه عفونت‌های ناشی از کاندیدا/آلبیکنس بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده قارچ (MFC) برای نانوذرات نقره، مس و ترکیب آن‌ها با یکدیگر و با آمفوتریسین B براساس روش مایکرودايلوشن انجام شد. سپس اثر ضدقارچی آن‌ها در مدل موشی آلوده بررسی گردید.

یافته‌ها: MIC و MFC نانوذرات نقره برای کاندیدا/آلبیکنس به ترتیب ۸ ppm و ۱۵/۵۰ ppm، نانوذرات مس برای کاندیدا/آلبیکنس به ترتیب ۶۲/۵۰ ppm و ۱۲۵ ppm و ترکیب نانوذرات مس و نقره بر روی کاندیدا/آلبیکنس ۳۱ ppm و ۶۲/۵۰ ppm بود. MIC و MFC ترکیب نانوذرات نقره با آمفوتریسین B بر روی کاندیدا/آلبیکنس، ۱۵/۵۰ ppm و ۳۱ ppm و ترکیب نانوذرات مس و آمفوتریسین B بر روی کاندیدا/آلبیکنس، ۸ ppm و ۱۵/۵۰ ppm به دست آمد. مطالعه مدل موشی، اثر ضدقارچی نانوذرات بر علیه عفونت ناشی از کاندیدا/آلبیکنس را تأیید کرد؛ به‌طوری‌که نانوذرات نقره، مس و ترکیب آن‌ها، دارای بیشترین اثر ضدقارچی و ترکیب نانوذرات نقره یا نانوذرات مس با آمفوتریسین B دارای کمترین اثر ضدقارچی در مدل حیوانی بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد نانوذرات نقره، مس و ترکیب آن‌ها، دارای اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به ضدقارچ آمفوتریسین B می‌باشد.

کلید واژه‌ها: کاندیدا/آلبیکنس؛ داروهای ضدقارچی؛ نانوذرات؛ آمفوتریسین B.

^۱گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده علوم، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

^۲مرکز تحقیقات بیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

مجتبی صلوتی، مرکز تحقیقات بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

saloutim@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۲

تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۲۳

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Soltani H, Salouti M, Shokri R. The antifungal effect of silver, copper nanoparticles, and their combination and in combination with Amphotericin B against Candida albicans in vitro and in animal model. Qom Univ Med Sci J 2018;11(12):17-24. [Full Text in Persian]

مقدمه

قارچ کاندیدا به صورت فلور طبیعی عمدتاً در پوست، دستگاه گوارش و مجاری تناسلی وجود دارد و با کاهش واکنش دفاعی میزبان به شکل بیماریز درآمده و باعث ایجاد عفونت‌های حاد و تحت حاد کاندیدایازیس می‌شود. در میان گونه‌های کاندیدا، مهم‌ترین عامل ایجاد عفونت، قارچ کاندیدا آلبیکس است (۱). کاندیدا آلبیکس قارچ چندشکلی است که تشکیل‌دهنده میکروبیوم طبیعی انسان می‌باشد؛ با این حال به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب نیز می‌تواند عامل عفونت‌های کاندیدایازیس باشد (۲). کاندیدایازیس با وجود داروهای ضدقارچی همانند پلی‌ان‌ها (polyenes) و آزول‌ها (Azoles)، به طور قابل توجهی علت درصد بالایی از مرگ و میرها می‌باشد (۳). سویه‌های قارچی که به طور طبیعی تماس قبلی با داروهای ضدقارچی دارند، همچنین سویه‌های قارچی که به داروهای ضدقارچی حساسند، با ایجاد جهش یا دگرگونی توانسته‌اند در خود مقاومت ایجاد کنند. در مقابل، اختلال در عملکرد سیستم ایمنی می‌تواند موجب کاهش اثرات دارو و افزایش بیماری گردد (۴،۵). آمفوتریسین B از مشتقات پلی‌ان است و به طور وسیع در درمان عفونت‌های قارچی به کار می‌رود. نام دیگر آمفوتریسین B، فانجی‌زون (Fungizone) بوده که در سال ۱۹۵۶ از گونه استروپتومیس به نام /استروپتومیس نودوزوس گرفته شد. این دارو را می‌توان از راه تزریق داخل ورید، نخاع و یا به طور موضعی مصرف کرد. این دارو در بعضی از افراد با عوارضی همچون سردرد، تب، تهوع، کم‌خونی و نفريت همراه است. آمفوتریسین B با وجود اینکه درمانی استاندارد برای عفونت‌های جدی مربوط به گونه‌های کاندیدا محسوب می‌شود، ولی ممکن است با سمیت قابل توجهی همانند سمیت کلیوی همراه باشد (۱،۶،۷). نانوذرات نقره علاوه بر باکتری‌ها می‌تواند بر روی قارچ‌ها، مخمرها، ویروس‌ها، حتی انگل‌ها نیز اثر ضد میکروبی داشته باشد؛ به طوری که اثر ضد ویروسی نانوذرات نقره بر روی ویروس HIV-1 نیز اثبات شده است (۸،۹). نتایج بررسی‌ها بیانگر آن است که نانوذرات نقره با اختلال در ساختار غشای سلولی و فرآیند جوانه‌زنی طبیعی، به دلیل تخریب یک پارچگی غشا، یک فعالیت ضدقارچی از خود نشان می‌دهد؛ در نتیجه به منظور کاربردهای بالینی این نانوذرات، بررسی بیشتری

لازم است (۱۲-۱۰). نانوذرات مس نیز دارای خواص مختلفی از جمله خاصیت ضد میکروبی است. در نانوذرات مس از روش مکانیسم یونی برای از بین بردن باکتری‌ها و مهار رشد آن‌ها استفاده می‌شود؛ به طوری که با آزاد کردن کاتیون‌های Cu^{2+} باعث می‌شود تا این کاتیون‌ها به باندهای سولفیدریل (SH) موجود در پروتئین‌های مختلف سلول باکتریایی از جمله پروتئین‌های آنزیمی و سطحی غشا، متصل و با ایجاد تغییراتی در ساختار پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و پروتئین‌های غشایی، غیرفعال شوند که در نتیجه واکنش‌های مهم آنزیمی و خاصیت نفوذپذیری غشای سلول دچار مشکل شده و موجب از بین رفتن باکتری‌ها می‌شود (۱۳،۱۴). باتوجه به اینکه اثرات ضد میکروبی نانوذرات نقره و مس بر روی میکروب‌های مختلف تأیید شده است؛ مطالعه حاضر با هدف سنجش میزان فعالیت نانوذرات نقره، مس و اثر ترکیبی آن‌ها با یکدیگر و با آمفوتریسین B به عنوان روش جدید مقابله با عفونت‌های حاصل از قارچ کاندیدا آلبیکس در شرایط آزمایشگاهی و در مدل حیوانی انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، سویه استاندارد کاندیدا آلبیکس IFRC119 (از انیستیتو پاستور تهران)، نانوذرات نقره با غلظت ۴۰۰ ppm (واحد در میلیون = $10^{-6} \times 1$) و شکل کروی با قطر ۵۰-۶۰ نانومتر (با نام تجاری Nanocolloid، از شرکت Nano Nasb Pars)، نانوذرات مس به صورت پودر با قطر ۲۰ نانومتر (از شرکت نانو مهرگان شیمی) و محیط‌های کشت مورد استفاده (از شرکت، Multimedia، محصول کشور مجارستان) تهیه گردید. موش‌های سوری ماده ۶ الی ۸ هفته‌ای (با وزن تقریبی ۲۵±۵ گرم) از مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج خریداری شدند.

ابتدا برای تهیه سوسپانسیون قارچی در شرایط استریل، از کلنی‌های تک رشد کرده که دست کم دارای یک میلی‌متر قطر بودند، با استفاده از آنس استریل برداشته شد و به ۲ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه گردید. در نهایت، با استفاده از لام نتوبار تعداد اسپورها شمارش شدند و سوسپانسیون مورد نظر با تعداد $10^3 \times 2/5$ CFU/ml تهیه گردید (۱۵).

نانوذرات نقره (با غلظت ۴۰۰۰ppm و قطر ۵۰-۶۰ نانومتر)، نانوذرات مس (با قطر ۲۰ نانومتر)، آمفوتریسین B و ترکیب آن‌ها در آب مقطر دیونیزه در میکروتیوب‌های استریل تهیه شد. به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکننده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده قارچ (MFC)، از روش مایکرودایلوشن (رقت در برات) در ۶ مرحله جدا، به شرح زیر استفاده گردید:

۱- بررسی اثر نانوذرات نقره بر روی کاندیدا/آلبیکس:

در این مرحله ابتدا غلظت‌های ۴۰۰۰، ۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵۰، ۳۱، ۱۵/۵۰، ۸، ۴، ۲ و ۱ppm از نانوذرات نقره با قطر ۵۰-۶۰ نانومتر به روش رقت‌سازی سریال تهیه شدند؛ به طوری که از محیط کشت آماده سابرو دکستروز برات به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر داخل ۱۵ چاهک موردنظر از میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته شد. در ادامه، به اولین چاهک، ۱۰۰ میکرولیتر نانوذرات نقره با غلظت ۴۰۰۰ppm اضافه شد، سپس از چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر محلول برداشته و به چاهک دوم اضافه گردید. این روند تا چاهک سیزدهم انجام شد تا تمامی غلظت‌های موردنظر ساخته شوند. در نهایت، به همه چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون قارچی اضافه گردید. در ضمن، دو مورد از چاهک‌ها، یکی حاوی محیط کشت و نانوذرات نقره به عنوان شاهد منفی و دیگری حاوی محیط کشت و سوسپانسیون قارچی به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شدند. در آخر میکروپلیت به مدت ۲۰ دقیقه بر روی شیکر قرار داده شد و پس از آن میکروپلیت به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. بعد از ۷۲ ساعت، چاهک‌ها از لحاظ کدورت ناشی از رشد قارچ تلقیح شده بررسی شدند و اولین غلظتی که در آن هیچ گونه کدورتی قابل تشخیص نبود، به عنوان MIC در نظر گرفته شد. در پایان، از تمامی چاهک‌ها که در آن‌ها رشدی مشاهده نشد به مقدار ۱۰ میکرولیتر در پلیت حاوی محیط کشت سابرو دکستروز آگار کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند.

بعد از ۷۲ ساعت، پلیت حاوی کمترین غلظت نانوذرات نقره که در آن عدم رشد مشاهده گردید، به عنوان MFC در نظر گرفته شد. تمامی مراحل این روش با ۳ بار تکرار انجام گرفت (۱۶، ۱۵).

۲- بررسی اثر نانوذرات نقره و ضدقارچ آمفوتریسین B

(اثر ترکیبی) بر روی کاندیدا/آلبیکس: در این مرحله، تمامی مراحل همانند روش فوق (۱) انجام شد. با این تفاوت که به چاهک اول ۵۰ میکرولیتر نانوذرات نقره با قطر ۵۰-۶۰ نانومتر و ۵۰ میکرولیتر ضدقارچ آمفوتریسین B با غلظت ۴۰۰۰ppm اضافه گردید، در نهایت، دو مورد از چاهک‌ها، یکی حاوی محیط کشت، نانوذرات نقره و ضدقارچ آمفوتریسین B (به صورت ترکیبی) به عنوان شاهد منفی و دیگری حاوی محیط کشت و سوسپانسیون قارچی به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شدند. تمامی مراحل این روش با ۳ بار تکرار انجام شد (۱۶، ۱۵).

۳- بررسی اثر نانوذرات مس بر روی کاندیدا/آلبیکس:

در این مرحله، تمامی مراحل همانند روش فوق انجام گرفت. در نهایت، دو مورد از چاهک‌ها، یکی حاوی محیط کشت و نانوذرات مس با قطر ۲۰ نانومتر به عنوان شاهد منفی و دیگری حاوی محیط کشت و سوسپانسیون قارچی به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شدند. تمامی مراحل این روش با ۳ بار تکرار انجام شد (۱۶، ۱۵).

۴- بررسی اثر نانوذرات مس و ضدقارچ آمفوتریسین B

(اثر ترکیبی) بر روی کاندیدا/آلبیکس: در این مرحله، تمامی مراحل همانند روش فوق انجام گرفت که در نهایت دو مورد از چاهک‌ها، یکی حاوی محیط کشت و نانوذرات مس با قطر ۲۰ نانومتر و ضدقارچ آمفوتریسین B (به صورت ترکیبی) به عنوان شاهد منفی و دیگری حاوی محیط کشت و سوسپانسیون قارچی به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شدند. تمامی مراحل این روش با ۳ بار تکرار انجام شد (۱۶، ۱۵).

۵- بررسی اثر نانوذرات مس و نقره (اثر ترکیبی) بر

روی کاندیدا/آلبیکس: در این مرحله، تمامی مراحل همانند روش فوق انجام گرفت که دو مورد از چاهک‌ها، یکی حاوی محیط کشت و نانوذرات مس با قطر ۲۰ نانومتر، نانوذرات نقره با قطر ۵۰-۶۰ نانومتر (به صورت ترکیبی) به عنوان شاهد منفی و دیگری حاوی محیط کشت و سوسپانسیون قارچی به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شدند. تمامی مراحل این روش با ۳ بار تکرار انجام شد (۱۶، ۱۵).

۶- بررسی اثر ضدقارچ آمفوتریسین B بر روی کاندیدا آلبیکنس:

در این مرحله، تمامی مراحل همانند روش فوق انجام گرفت؛ در ضمن، دو مورد از چاهک‌ها، یکی حاوی محیط کشت و آمفوتریسین B به‌عنوان شاهد منفی و دیگری حاوی محیط کشت و سوسپانسیون قارچی به‌عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شدند. تمامی مراحل این روش با ۳ بار تکرار انجام شد (۱۶، ۱۵).

در مدل حیوانی، از موش‌های سوری ماده ۶ الی ۸ هفته‌ای (با وزن تقریبی 25 ± 5 گرم) استفاده گردید. ۲۱ سر موش سوری ماده به ۷ گروه ۳ تایی شامل:

- ۱- گروه تیمار با ضدقارچ آمفوتریسین B؛ ۲- گروه تیمار با نانوذرات نقره (با قطر ۵۰-۶۰ نانومتر)؛ ۳- گروه تیمار با نانوذرات نقره و ضدقارچ آمفوتریسین B (به‌صورت ترکیبی)؛ ۴- گروه تیمار با نانوذرات مس (با قطر ۲۰ نانومتر)؛ ۵- گروه تیمار با نانوذرات مس و ضدقارچ آمفوتریسین B (به‌صورت ترکیبی)؛ ۶- گروه تیمار با نانوذرات مس و نقره (به‌صورت ترکیبی) و ۷- گروه شاهد تقسیم شدند.

برای ایجاد عفونت تجربی در موش‌های انتخابی، از کشت ۷۲ ساعته قارچی (محیط کشت سابرو دکستروز آگار)، سوسپانسیون قارچی در شرایط استریل به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به‌صورت داخل صفاقی به همه گروه‌های موردنظر تزریق شد و سه شبانه‌روز به موش‌ها فرصت ایجاد عفونت داده شد.

در این مرحله به موش‌ها در همه گروه‌ها، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت MFC هر ماده به‌صورت درون صفاقی تزریق شد. بعد از گذشت ۷ شبانه‌روز دوره درمان، هریک از موش‌ها در دسیکاتور حاوی اتر کشته شدند و طحال موش‌ها در شرایط استریل خارج و در ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل هموژنیزه گردید، سپس از سوسپانسیون هموژنیزه طحالی به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر بر روی محیط سابرو دکستروز آگار کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند که درنهایت، شمارش کلنی‌های کاندیدا آلبیکنس با استفاده از شمارش‌گر کلنی انجام گرفت (۱۶، ۱۵).

نتایج حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱، آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی LSD تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تعیین MIC و MFC با روش میکرودیلوژن در غلظت‌های ۱-۴۰۰۰ ppm از نانوذرات نقره (با قطر ۵۰-۶۰ نانومتر)، نانوذرات مس (با قطر ۲۰ نانومتر)، ضدقارچ آمفوتریسین B و ترکیب آن‌ها در محیط سابرو دکستروز براث انجام شد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: میزان MIC و MFC نانوذرات نقره، مس، ضدقارچ آمفوتریسین B و اثرات ترکیبی آن‌ها بر روی کاندیدا آلبیکنس

غلظت	MIC	MFC
نانوذرات نقره	۸ ppm	۱۵/۵۰ ppm
نانوذرات مس	۶۲/۵۰ ppm	۱۲۵ ppm
نانوذرات مس و نانوذرات نقره	۳۱ ppm	۶۲/۵۰ ppm
نانوذرات نقره و آمفوتریسین B	۱۵/۵۰ ppm	۳۱ ppm
نانوذرات مس و آمفوتریسین B	۸ ppm	۱۵/۵۰ ppm
آمفوتریسین B	۱۵/۵۰ ppm	۳۱ ppm

بین شش گروه تیماری مختلف و گروه کنترل مثبت مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری وجود داشت که نشان داد همه گروه‌های تیماری اثر ضد میکروبی داشته‌اند.

آنالیز آماری نتایج مربوط به بررسی اثر ضدقارچی نانوذرات نقره، مس، ضدقارچ آمفوتریسین B و اثر ترکیبی آن‌ها بر روی کاندیدا آلبیکنس در مدل موشی ماده در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول شماره ۲: نتایج شمارش کلنی و اثر مهاري آمفوتریسین B، نانوذرات نقره، مس و اثر ترکیبی آن‌ها بر روی موش‌های سوری آلوده به کاندیدا/آلیککس

نتایج	میانگین $\pm$ انحراف معیار
نانوذرات نقره	$78 \pm 16/9$
نانوذرات مس	$100 \pm 28/3$
نانوذرات مس و نقره	$85 \pm 21/2$
نانوذرات نقره و آمفوتریسین B	$500 \pm 77/8$
نانوذرات مس و آمفوتریسین B	$750 \pm 91/9$
آمفوتریسین B	$850 \pm 104/7$
کنترل مثبت	$12500 \pm 1626/3$

بحث

درمان کاندیدیازیس به واسطه ظهور سویه‌های کاندیدیایی که به عوامل ضدقارچی رایج مورد استفاده مقاوم هستند، یک مسئله پیچیده است. عوامل ضدقارچی رایج مورد استفاده نه تنها تعداد محدودی دارند؛ بلکه خیلی از آن‌ها سمی و بسیار گران هستند. افزایش عفونت‌های کاندیدیایی بسیار شایع بوده و این مسئله بار درمانی این عفونت فرصت طلب را بالا می‌برد. بنابراین، نیاز به توسعه عوامل ضدقارچی جدید، به منظور گسترش طیف فعالیت‌ها علیه کاندیدا و مبارزه با سویه‌های مقاوم به ضدقارچ‌های در دسترس، افزایش یافته است (۱۷). ولی تاکنون، مطالعه چندانی بر روی اثر ضدقارچی نانوذرات نقره، مس و اثر ترکیبی آن‌ها با ضدقارچ آمفوتریسین B علیه عفونت ناشی از کاندیدا/آلیککس، به خصوص در مدل حیوانی انجام نشده است. براساس مطالعه حاضر، نانوذرات نقره به تنهایی بسیار مؤثرتر از سایر گروه‌ها به ویژه ضدقارچ آمفوتریسین B است. نانوذرات مس، ترکیب نانوذرات نقره، همچنین نانوذرات مس با ضدقارچ آمفوتریسین B و در نهایت، ترکیب این دو نانوذرات باهم، اثر هم‌افزایی چشمگیری نداشته و نمی‌توانند جای نانوذرات نقره را بگیرند، ولی می‌توان با استفاده از آن‌ها، میزان استفاده از ضدقارچ را کاهش داد. در مطالعه حاضر نتایج تعیین MIC و MFC به روش مایکرودیالوژن نشان داد نانوذرات نقره (با قطر ۵۰-۶۰ نانومتر) نسبت به هر کدام از عوامل به تنهایی، دارای خاصیت ضدقارچی بیشتری بر روی کاندیدا/آلیککس می‌باشد. این یافته‌ها با نتایج حاصل از پژوهش Khatoon و همکاران که مطالعه مشابهی را بر روی پاتوژن‌های قارچی فرصت طلب کاندیدا/آلیککس، کاندیدا/گالابراتا و کاندیدا/تروپیکالیس انجام دادند، همخوانی

داشت (۱۸). نتایج روش مایکرودیالوژن نشان داد نانوذرات نقره در غلظت‌های پایین می‌تواند از رشد قارچ کاندیدا/آلیککس جلوگیری کند که این نتایج با یافته‌های حاصل از تحقیقات Yan و همکاران که بر روی عفونت‌های چشمی ایجاد شده به وسیله قارچ‌هایی مانند *آسپرژیلوس فلاووس*، *آسپرژیلوس نایجر* و *آلترناریا* در شرایط آزمایشگاهی انجام دادند، همخوانی داشت (۱۹). در مطالعه‌ای که El-Rafie و همکاران انجام دادند توانستند باکتری‌های *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* را با استفاده از نانوذرات نقره در محصول پنبه کنترل کنند (۲۰). Theivasanthi و همکاران نیز برای نخستین بار با بررسی فعالیت آنتی‌باکتریال نانوذرات مس بر روی باکتری‌های گرم مثبت و منفی، فعالیت ضدباکتری *اشرشیاکلی* با استفاده از انرژی الکتریکی و تغییرات نسبت سطح به حجم نانوذرات مس و اثرات آن بر فعالیت‌های ضدباکتری، نشان دادند تغییرات جزئی نسبت سطح به حجم در افزایش فعالیت ضد میکروبی مؤثر است (۲۱). نتایج حاصل از آزمایش‌های انجام شده بر روی مدل حیوانی نیز نشان می‌دهد نانوذرات نقره در موش‌های سوری ماده می‌تواند آثار ضدقارچی خود را بر روی عفونت ناشی از کاندیدا/آلیککس حفظ کرده و به تنهایی دارای اثر ضدقارچی است. همچنین آنالیز آماری نتایج مدل حیوانی نشان داده است نانوذرات نقره دارای خاصیت ضدقارچی بیشتری علیه عفونت‌های حاصل از کاندیدا/آلیککس نسبت به ضدقارچ آمفوتریسین B می‌باشد. با افزایش غلظت نانوذرات نقره، رشد قارچ کاهش می‌یابد، لذا می‌توان گفت اثر نانوذرات نقره وابسته به دوز مصرفی بوده و با افزایش غلظت آن، اثر ضدقارچی آن نیز افزایش می‌یابد. در مطالعه حاضر با مقایسه نتایج مربوط به مدل حیوانی و گروه‌های تیماری

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد نانوذرات نقره، مس و ترکیب آن‌ها، دارای اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به ضدقارچ آمفوتریسین B هستند که می‌توانند در آینده به‌عنوان جایگزین مطرح شوند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی مسئولین محترم مرکز تحقیقات بیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان تشکر و قدردانی می‌شود.

مورد آزمایش، مشخص گردید بین گروه‌های تیماری نانوذرات مس (با قطر ۲۰ نانومتر)، نانوذرات نقره (با قطر ۶۰-۵۰ نانومتر) و اثر ترکیبی آن‌ها، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد، ولی بین گروه‌های مذکور با گروه‌های تیماری ترکیب نانوذرات نقره و یا نانوذرات مس و ضدقارچ آمفوتریسین B، اختلاف معنی‌دار بود. همچنین بین گروه‌های تیماری ترکیب نانوذرات نقره و آمفوتریسین B، ترکیب نانوذرات مس، آمفوتریسین B و ضدقارچ آمفوتریسین B نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

References:

- Moetamedi SM, Nejatelah F, PoorKarimi HR. Mycologist with color atlas for students of Medical Sciences. Shiraz: Kousha Mehr Pub; 1998. p. 164. [Text in Persian]
- Calderone RA, Clancy CJ. Candida and candidiasis. 2nd ed. Washington DC: ASM Press; 2012.
- Morgan J. Global trends in candidemia review of reports from 1995–2005. Curr Infect Dis Rep 2005;7(6):429-39.
- Kanafani ZA, Perfect JR. Resistance to antifungal agents: Mechanisms and clinical impact. Clin Infect Dis 2008;46(1):120–28.
- Rex JH, Pfaller MA, Galgiani JN, Bartlett MS, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, et al. Clin Infect Dis. Development of interpretive breakpoints for antifungal susceptibility testing: Conceptual framework and analysis of in vitro-in vivo correlation data for fluconazole itraconazole, and Candida infections. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the National Committee for Clinical Laboratory Standards. Clin Infect Dis 1997;24(2):235-47.
- Filomena S, Susana F, Andreia D, Dina I, Mendonca F, Domingues C. Antifungal activity of Coriandrum sativum essential oil, its mode of action against Candida species and potential synergism with amphotericin B. Phytomedicine 2011;19(1):42-7.
- Fisher MA, Shen SH, Haddad J, Tarry WF. Comparison of in vivo activity of fluconazole with that of amphotericin B against Candida tropicalis, candida glabrata, and candida krusei. Antimicrob Agents Chemother 1989;33(9):1443-6.
- El-Badawy A, Feldhake D, Venkatapathy R. State-of-The-Science Review: Everything nanosilver and more. Washington, DC: Environmental Protection Agency; 2010. p. 114-31.
- Kilic S, Dizbay M, Hizel K, Arman D. In vitro synergistic activity of antibiotic combinations against Brucella melitensis using E-test methodology. Braz J Microbiol 2008;39(2):233–7.
- Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent, a case study on E. coli as a model for gram-negative bacteria. J Colloid Interface Sci 2004;275(1):177-82.
- Kim KJ, Sang SW, Suh BK, Moon SK, Choi JS, Kim JG, et al. Antifungal activity and mode of action of silver nanoparticles on Candida albicans. Biometals 2009;22(2):235-42.
- Higa LH, Schilrreff P, Perez AP, Morilla MJ, Romero EL. The intervention of nanotechnology against epithelial fungal diseases. J Biomater Tissue Eng 2012;3:1-19.

13. Ponce AA, Klabunde KJ. Chemical and catalytic activity of copper nanoparticles prepared via metal vapor synthesis. *J Mol Catal A: Chem* 2005;225(1):1-6.
14. Stoimenov PK, Klinger RL, Marchin GL, Klabunde KJ. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir* 2002;18(17):6679-86.
15. Rajabi Meian Lange M. Evaluation of antifungal activity of silver nanoparticles and amphotericin B on fungus *Aspergillus fumigatus* in vitro and animal model. [MSc Thesis]. Faculty of Science and Zanjan Islamic Azad University; 2015. p. 38-44. [Text in Persian]
16. Bahdari A. Antifungal Effect of silver nanoparticles and amphotericin B on fungus *Aspergillus flavus* in vitro and animal model. [MSc Thesis]. Faculty of Science and Zanjan Islamic Azad University; 2015. p. 30-4. [Text in Persian]
17. Runyoro DK, Ngassapa OD, Matee MI, Joseph CC, Moshi MJ. Medicinal plants used By Tanzanian traditional healers in the management of Candida Infections. *J Ethnopharmacol* 2006;106(2):158-65.
18. Nafeesa K, Abhijeet M, Hammad A, Nikhat M, Meryam S. Biosynthesis, Characterization, and Antifungal Activity, of the Silver Nanoparticles against Pathogenic Candida species. *Bio Nano Sci* 2015. Available From: https://www.researchgate.net/profile/Nafeesa_Khatoon/publication/271762383_Biosynthesis_Characterization_and_Antifungal_Activity_of_the_Silver_Nanoparticles_Against_Pathogenic_Candida_species/links/54e21a270cf296663794a023/Biosynthesis-Characterization-and-Antifungal-Activity-of-the-Silver-Nanoparticles-Against-Pathogenic-Candida-species.pdf. Accessed October 5, 2013.
19. Yan X, Chuanwen G, Xiaohua L, Yi H, Lutan Z, Guangren P, et al. In vitro antifungal activity of silver nanoparticles against ocular pathogenic filamentous fungi. *J Ocul Pharmacol Ther* 2013;29(2):270-4.
20. El-Rafie MH, Mohamed AA, Shaheen TI, HeBeish A. Antimicrobial effect of silver nanoparticles produced by fungal process on cotton fabrics. *Carbohydr Polym* 2010;80(3,5):779-82.
21. Theivasanthi T, Alagar M. Studies of copper nanoparticles effects on micro-organisms. *Scholars research library. Annals Biol Res* 2011;2(3):368-73.