

تأثیر آمپی سیلین و جنتامایسین کونژوگه با نانوذرات طلا بر روی تشکیل بیوفیلم پسودوموناس آئروژینوزا

علی جوادی^۱، مهدی رستمی راد^{۲*}، محمدرضا زندمنفرد^۳، فریبا دستجانی فراهانی^۴،
اعظم حیدرپور^۵، محمد خداداد مطلق^۶

چکیده

زمینه و هدف: سودوموناس آئروژینوزا یک باکتری گرم منفی و پاتوژن فرصت طلب مهم با فاکتورهای ویروالانس فراوان است. این باکتری از پاتوژنهای مشترک در عفونت‌های بیمارستانی، به خصوص در بیماران مبتلا به سیستمیک فیروزیس می‌باشد، همچنین از مکانیسم‌های مهم در بقای این پاتوژن در بیماری ریه می‌توان به تولید بیوفیلم اشاره کرد. این مطالعه با هدف تعیین غلظت‌های sub-MIC دو آنتی‌بیوتیک آمپی سیلین و جنتامایسین به همراه فرم کونژوگه با نانوطلا در برابر تشکیل بیوفیلم در سویه موکونیدی پسودوموناس آئروژینوزا انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه، ابتدا نانوذرات طلا به وسیله تری سترات سدیم به روش احیای شیمیایی سنتز شد، سپس شکل و اندازه نانوذرات طلا به وسیله میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) تعیین گردید. کونژوگاسیون نانوذرات طلا با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و آمپی سیلین از طریق مخلوط کردن آنها با هم صورت گرفت. تست تأثیر ترکیبات بر روی تشکیل بیوفیلم نیز به روش میکروپلیت انجام شد.

یافته‌ها: در این بررسی اندازه تقریبی نانوذرات، ۱۰ نانومتر تعیین شد. در تصویر الکترونی (در حالت کونژوگه)، تجمع نانوذرات مشاهده گردید. همچنین نانوذرات طلا کونژوگه با داروها، تأثیر بهتری نسبت به حالت آزاد داروها بر روی بیوفیلم داشت.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه، نانوذرات طلا با افزایش تجمع دارو در اطراف خود باعث تأثیر بهتری بر روی تشکیل بیوفیلم نسبت به حالت آزاد داروها می‌شود.

کلید واژه‌ها: سودوموناس آئروژینوزا؛ نانوذرات؛ آمپی سیلین؛ جنتامایسین‌ها؛ فعالیت ضدبیوفیلمی.

^۱ دانشجوی دکتری باکتری‌شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

^۲ دانشجوی دکتری میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

^۳ کارشناس ارشد شیمی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران.

^۴ کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران.

^۵ مربی میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

^۶ دانشجوی دکتری باکتری‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات:

مهدی رستمی راد، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

mehdirostami1984@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۳/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۱۰

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Javadi A, Rostamirad M, Zand Monfared MR, Dastjani Farahani F, Heidarpour A, Khodadad Motlagh M. The effect of ampicillin and gentamicin conjugated with gold nanoparticles on the formation of biofilms in *Pseudomonas aeruginosa*. Qom Univ Med Sci J 2015;9(5):35-41. [Full Text in Persian]

مقدمه

پسودوموناس آئروژینوزا، باکتری میله‌ای گرم منفی و یک پاتوژن فرصت طلب است. سویه‌های موکوتید این باکتری با تولید لایه گلیکوکالیکس با ویسکوزیته بالا که آلترینات نام دارد، در برابر عوامل ضد میکروبی و سیستم ایمنی بدن، سد دفاعی ایجاد می‌کند. این باکتری، عامل عفونت‌های متنوع و گسترده‌ای، به ویژه در افراد مبتلا به نقص ایمنی، بیماران سرطانی، ایدزی، سیستمیک فیروزیس و سوختگی‌ها می‌باشد (۱). یکی از مشکلات درمانی در بیماران مبتلا به عفونت‌های ناشی از این باکتری، مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری به درمان‌های رایج آنتی‌بیوتیکی بوده که این مقاومت‌ها در بسیاری از موارد با تولید بیوفیلم ارتباط دارند. بیوفیلم باکتری، از باکتری‌های محصور در ساختار آلترینات به وجود آمده که در طی اتصال به سطح ایجاد می‌شود و سبب مقاومت آنتی‌بیوتیکی و پایداری در برابر سیستم ایمنی و فاگوسیت‌ها می‌گردد (۲). به عبارتی ساده، می‌توان گفت بیوفیلم جمعیت‌هایی متشکل از یک گونه یا گونه‌های متنوع باکتری به صورت چسبیده به یکدیگر و یا به سطوح زنده و غیرزنده در زمینه‌ای از پل دی‌ساکاریدهای خارج سلولی است. همچنین توسعه بیوفیلم یک فرآیند پیچیده بوده که نیازمند رفتارهای جمعی باکتری می‌باشد و در مقایسه با زندگی منفرد، فواید زیادی را برای باکتری دربردارد. مراحل تشکیل بیوفیلم شامل اتصال ابتدایی برگشت‌پذیر و برگشت‌ناپذیر به سطوح، تشکیل میکروکلنی‌ها و در نهایت، بلوغ میکروکلنی‌ها همراه با تشکیل اگزوپلی‌ساکاریدها (Exopolysaccharides) می‌باشد. هنگامی که باکتری‌ها در شرایط محیطی ویژه‌ای از جمله فشار اسمزی، آهن، فشار اکسیژن، دما و pH قرار می‌گیرند؛ فرآیند تشکیل بیوفیلم آغاز می‌شود، هرچند جزئیات تأثیر این شاخص‌ها روی توسعه بیوفیلم از یک میکروارگانیسم به میکروارگانیسم دیگر متفاوت است (۳).

مطالعات متعدد نشان داده است غلظت‌های کمتر از حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد که به اصطلاح sub-MIC نامیده می‌شوند، موجب بازدارندگی تولید فاکتورهای فوق در باکتری‌ها می‌شود. به طور مثال این اثر بر روی اتصال، هیدروفوبیسیته سطوح سلول، تشکیل بیوفیلم و حرکت نشان داده شده است (۴).

مطالعات گوناگونی پیرامون جنبه‌های مختلف بیوفیلم، به خصوص در زمینه بحث مقاومت آنتی‌بیوتیکی و شکست این ساختار به وسیله مکانیسم‌های مختلف انجام شده است، از جمله مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۵ توسط Agarwal و همکاران در زمینه بررسی تأثیر جنتامایسین و سیپروفلوکساسین بر روی تشکیل بیوفیلم با باکتری *پسودوموناس آئروژینوزا* انجام گرفت (۵). در بررسی‌های دیگر، از نانوذرات برای سرکوب فاکتورهای ویروالانس باکتریایی استفاده شده است. در مطالعه Brown و همکاران (سال ۲۰۱۲) مشخص گردید نانوذرات نقره به تنهایی روی ایزوله‌های مقاوم *پسودوموناس آئروژینوزا* و *انتروباکتر آئروژنز* اثر داشته و هنگام ترکیب با آمپی سیلین قدرت بیشتری خواهد داشت. در صورتی که نانوذرات طلا تنها در فرم کوئزوگه با آمپی سیلین، توانایی تأثیر بر روی ایزوله‌های مقاوم را دارد (۶). مطالعات متعدد در زمینه بررسی تأثیر فرم کوئزوگه نانوذرات مختلف به تنهایی و در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی بیوفیلم باکتریایی صورت گرفته است، از جمله اینکه Ansari و همکاران با بررسی "اثر نانوذرات نقره بر روی بیوفیلم *اشرشیا کلی* و *کلبسیلا پنومونیه* مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف" طی گزارشی از موفقیت خود در زمینه حذف بیوفیلم خبر دادند (۷). بر همین اساس این مطالعه با هدف تعیین غلظت‌های sub-MIC دو آنتی‌بیوتیک آمپی سیلین و جنتامایسین به همراه فرم کوئزوگه با نانوطلا در برابر تشکیل بیوفیلم در سویه موکوتیدی *پسودوموناس آئروژینوزا* انجام شد.

روش بررسی

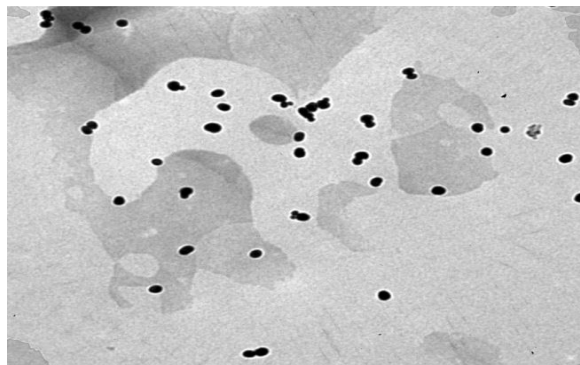
برای سنتز نانوذرات طلا به روش احیای شیمیایی (Turkevich method)، ابتدا ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول استوک HAuCl_4 داخل ارلن ریخته شد، سپس ۹۲/۵ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر به آن اضافه گردید، پس از جوشاندن محلول با استفاده از هات پلیت، همزن روشن شده و قطره قطره به میزان ۲/۵ میلی‌لیتر تری‌سیترات سدیم به آن افزوده شد. پس از ایجاد رنگ قرمز یاقوتی، دستگاه خاموش و محلول مورد نظر در ظرف تیره در ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد، سپس جهت تعیین شکل و اندازه، از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده گردید (۸). جهت کوئزوگاسیون، ۵ میلی‌لیتر از محلول آمپی سیلین و

حل شدن رنگ‌های متصل به سلول باکتری دخیل در بیوفیلم، ۲۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۵٪، اضافه گردید، سپس پلیت در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (۸). در این مطالعه، تأثیر غلظت‌های متفاوتی از آمپی سیلین و جنتامایسین به تنهایی و به فرم ترکیب با نانوذرات طلا بر روی تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* بررسی گردید. در مورد آمپی سیلین و فرم کونژوگه، غلظت‌ها شامل دوز ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود و در جنتامایسین و فرم کونژوگه آن شامل دوز ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند که به همراه ۱۰۰ لاندازا سوسپانسیون ۰/۵ مک‌فارلند به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای تلقیح شده و ۲۴ ساعت در ۳۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند (۹، ۱۰).

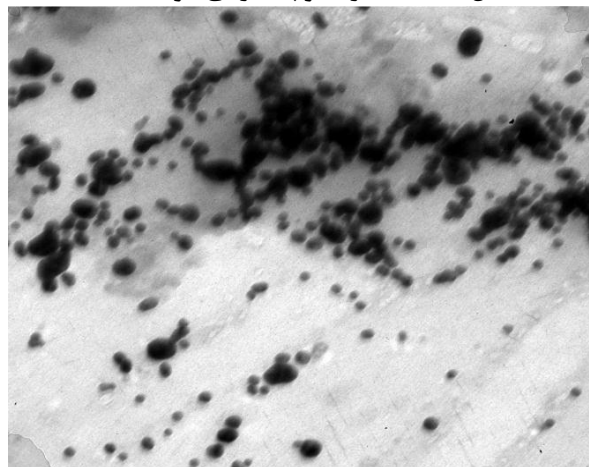
یافته‌ها

در این مطالعه، نانوذرات طلا با اندازه تقریبی ۱۰ نانومتر و به شکل دایره تشکیل شد (شکل شماره ۱). در تصویر الکترونی در حالت کونژوگه با داروها، تجمع نانوذرات طلا مشاهده گردید (شکل شماره ۲).

جنتامایسین (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به‌طور جداگانه با ۱۰ میلی‌لیتر از محلول نانوذرات طلا مخلوط و به مدت ۲ ساعت با دستگاه همزن مگنت‌دار همزده شد، پس از تغییر رنگ، محلول با میکروسکوپ الکترونی عبوری آنالیز گردید (۹). برای سنجش فعالیت ضدبیوفیلمی از یک‌سویه استاندارد تولیدکننده بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* با شماره ATCC 27853 استفاده شد. جهت انجام آزمایش بیوفیلم، ایزوله‌ها در محیط لوریا برتانی به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد کشت داده شدند. سپس برای تمامی ایزوله، سوسپانسیون میکروبی در محیط لوریا برتانی با جذب نوری حدود ۰/۱ در ۶۰۰ نانومتر تنظیم گردید. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی ایزوله‌ها، به پلیت ۹۶ خانه استریل از جنس پلی‌استیرن (Falcon) منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۰ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. سپس پلیت ۹۶ خانه‌ای با آب، ۳ بار شسته شد و سپس خشک گردید، در مرحله بعد، با افزودن ۲۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۱٪ (به مدت ۱۵ دقیقه) رنگ‌آمیزی شد؛ مجدداً جهت حذف رنگ اضافه، عمل شست‌وشو (سه بار با آب) و خشک کردن انجام شد. برای



شکل شماره ۱: میکروسکوپ الکترونی نانوذرات طلا



شکل شماره ۲: میکروسکوپ الکترونی حالت کونژوگه

آمپی سیلین در غلظت ۲۵۶ میکروگرم بر میلی لیتر موجب کاهش تشکیل بیوفیلم باکتری و در غلظت ۵۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر تقریباً مانع تشکیل بیوفیلم شد. اما در فرم کونژوگه (ترکیب نانوذرات طلا به تنهایی هیچ تأثیری نداشت (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: بررسی تأثیر آمپی سیلین و آمپی سیلین- نانوذرات طلا بر روی تشکیل بیوفیلم

نام عامل ضدباکتریایی	حد اقل غلظت ممانعت کننده از رشد	۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر	۳۲ میکروگرم بر میلی لیتر	۶۴ میکروگرم بر میلی لیتر	۱۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر	۲۵۶ میکروگرم بر میلی لیتر	۵۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر
آمپی سیلین	+	+	+	+	+	-	-
آمپی سیلین / نانوذرات طلا	+	+	+	+	-	-	-
نانوذرات طلا به تنهایی	بی تأثیر	بی تأثیر	بی تأثیر	بی تأثیر	بی تأثیر	بی تأثیر	بی تأثیر

جنتامایسین در غلظت برابر ۴ میکروگرم بر میلی لیتر بر روی تشکیل بیوفیلم، اثر مهاری به جای گذاشت، این در حالی بود که فرم کونژوگه (جنتامایسین/نانوذرات طلا) در غلظت یک

جدول شماره ۲: تأثیر جنتامایسین و جنتامایسین- نانوذرات طلا بر روی تشکیل بیوفیلم

نام عامل ضدباکتریایی	حد اقل غلظت ممانعت کننده از رشد	۰/۵ میکروگرم بر میلی لیتر	۱ میکروگرم بر میلی لیتر	۲ میکروگرم بر میلی لیتر	۴ میکروگرم بر میلی لیتر	۸ میکروگرم بر میلی لیتر
جنتامایسین	+	+	+	+	-	-
جنتامایسین / نانوذرات طلا	+	+	-	-	-	-
نانوذرات طلا به تنهایی	بی تأثیر	بی تأثیر	بی تأثیر	بی تأثیر	بی تأثیر	بی تأثیر

علامت (+): تشکیل بیوفیلم؛ علامت (-): عدم تشکیل بیوفیلم

بحث

پseudomonas آئروژینوزا عامل مهم عفونت های بیمارستانی (Nosocomial Infection)، مرگ و میر در مبتلایان به ضعف سیستم ایمنی مانند ایدز، بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه (ICU)، مبتلایان به نقص ژنتیکی سیستمیک فیبروزیس (Cystic Fibrosis) و سوختگی ها به شمار می رود (۱۱). بنابراین، کنترل و درمان عفونت ناشی از این باکتری و سایر باکتری ها نظیر استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس به دلیل افزایش سویه های مقاوم به چند آنتی بیوتیک (Multi Drug Resistant, MDR) و تولید بیوفیلم، به خصوص بر روی ابزار پزشکی و ابزاری از قبیل به کارگیری وسایل مصنوعی و کار گذاشتن در بدن مانند سوندهای درون سیاهرگی، سوندهای ادراری، دریچه های مصنوعی قلب، لنزهای تماسی و داخل چشمی، همچنین سوختگی های شدید، از مشکلات اصلی در بیمارستان ها می باشد (۱۲، ۱۳). مطالعات مختلف، بیانگر وقوع عفونت دستگاه ادراری ناشی از بیمارستان در افراد دریافت کننده سوند می باشد.

اغلب باکتری های موجود در این عفونت ها، باکتری های مولد بیوفیلم از جمله پseudomonas آئروژینوزا، اشرشیا کلی و پروتئوس ها هستند که در بسیاری از موارد با تشکیل بیوفیلم بر روی سوندها وارد دستگاه ادراری شده و ایجاد عفونت می کنند (۱۳، ۱۴). جهت جلوگیری یا مهار این مشکلات، تحقیقات بسیاری بر روی بیوفیلم، به خصوص در بحث مهار آن انجام شده که با موفقیت ها و شکست هایی همراه بوده است. اما نکته اصلی این است که شکست بیوفیلم، امری بسیار سخت و دشوار می باشد. در بررسی انجام شده توسط Musk و همکاران (سال ۲۰۰۶) مشخص گردید آنتی بیوتیک آمپی سیلین با MIC نسبتاً پایین موجب شکست بیوفیلم کلبسیلا پنومونیه می شود، این در حالی است که غلظت دو برابر MIC این آنتی بیوتیک نیز به همین شکل عمل می کند (۱۵). البته در مواردی نیز تأثیر مواد ضد میکروبی خاصی موجب سرکوب بیوفیلم؛ حتی در غلظت برابر با غلظت MIC آنتی بیوتیک شده است. در مطالعه ای که توسط Agarwal و همکاران (سال ۲۰۰۵) انجام شد مشخص گردید جنتامایسین

فرم آزاد باکتری یا پلانکتونی اثر مهاری داشت، درحالی که این حالت در مورد بیوفیلم باکتری برابر ۲۵۶ میکروگرم بر میلی لیتر بود اما نکته مهم این است که نانوذرات طلا در تقویت این واکنش نقش داشته، به طوری که غلظت MIC برای آمپی سیلین/ نانوذرات طلا، ۱۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر بوده است.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد نانوذرات طلا با اثر تقویتی بر عملکرد داروهای مورد بررسی باعث کارآیی بهتر آنها بر ضدبیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* می شود.

اثر مشابهی با فرم پلانکتونیک بر فرم بیوفیلمی این باکتری دارد (۵)، که این نتیجه با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت. بر این اساس غلظت MIC جنتامایسین بر روی فرم پلانکتونیک *پسودوموناس آئروژینوزا* ATCC 27853 برابر با ۲ میکروگرم بر میلی لیتر بود، درحالی که MIC ضدبیوفیلمی آن به تنهایی ۴ میکروگرم بر میلی لیتر بوده و در فرم کوژوگه با نانوذرات طلا نیز یک میکروگرم بر میلی لیتر می باشد. در این بررسی، نتیجه حاصله از تأثیر آمپی سیلین و آمپی سیلین/نانوذرات طلا بر روی تشکیل بیوفیلم، متفاوت از نتیجه جنتامایسین بود. بدین صورت که فرم خالص آمپی سیلین در غلظت ۱۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر بر روی

References:

- Aslani MM, Hashemipour M, NikBin VS, Shahcheraghi F, Eydi A, Sharafi Z. PCR identification of *Pseudomonas aeruginosa* based on two outer membrane lipoprotein *oprI*, *oprL*, and exotoxin A gene. *J Med Sci Lorestan* 2009;11(2):21-6. [Full Text in Persian]
- Aslani MM, Sharafi Z, Shahcheraghi F, Nik Bin V, Hashemi Poor M, Ebrahimi Poor Gh. Molecular detection and identification of virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from wound and burn infections. *Pajouhbandeh* 2010;15(6):287-92. [Full Text in Persian]
- Kamali A, Ahmadzade A, Behbodi K. Investigation on biofilm formation stages in some strains of *pseudomonas fluorescens* and the influence of some nutritional factors on biofilm formation of selected strain. *Iran J Plant Path* 2011;47(4):153-4. [Full Text in Persian]
- Vallet I, Olson JW, Lory S, Lazdunski A, Filloux A. The chaperone/usher pathways of *Pseudomonas aeruginosa*: Identification of fimbrial gene clusters (*cup*) and their involvement in biofilm formation. *Proc Natl Acad Sci* 2001;98(12):6911-6.
- Agarwal G, Kapil A, Kabra S, Das BK, Dwivedi S. In vitro efficacy of ciprofloxacin and gentamicin against a biofilm of *Pseudomonas aeruginosa* and its free-living forms. *Nati Med J India* 2005;18(4):184-6.
- Brown AN, Smith K, Samuels TA, Lu J, Obare SO, Scott ME. Nanoparticles functionalized with ampicillin destroy multiple-antibiotic-resistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter aerogenes* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Appl Environ Microbiol* 2012;78(8):2768-74.
- Ansari MA, Khan HM, Khan AA, Cameotra SS, Ruchita P. Antibiofilm efficacy of silver nanoparticles against biofilm of extended spectrum β -lactamase isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Appl Nanosci* 2014;4(7):859-68.
- Nirmala Grace A, Pandian K. Antibacterial efficacy of aminoglycosidic antibiotics protected gold nanoparticles-A brief study. *Colloids Surfaces A: Physicochem Eng Aspect* 2007;297(1):63-70.
- Huang C-T, James G, Pitt WG, Stewart PS. Effects of ultrasonic treatment on the efficacy of gentamicin against established *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Colloid Surfaces B: Biointerfaces* 1996;6(4):235-42.
- Ceri H, Olson M, Stremick C, Read R, Morck D, Buret A. The Calgary Biofilm Device: New technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J Clin Microbiol* 1999;37(6):1771-6.

11. Leid JG, Willson CJ, Shirtliff ME, Hassett DJ, Parsek MR, Jeffers AK. The exopolysaccharide alginate protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria from IFN- γ -mediated macrophage killing. *J Immunol* 2005;175(11):7512-8.
12. Kadry AA, Fouda SI, Shibl AM, El-Asrar AA. Impact of slime dispersants and anti-adhesives on in vitro biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* on intraocular lenses and on antibiotic activities. *J Antimicrob Chemother* 2009;63(3):480-4.
13. Potera C. Forging a link between biofilms and disease. *Science* 1999;283(5409):1837-39.
14. Trautner BW, Darouiche RO. Role of biofilm in catheter-associated urinary tract infection. *Am J Infect Control* 2004;32(3):177-83.
15. Musk DJ Jr, Hergenrother PJ. Chemical countermeasures for the control of bacterial biofilms: Effective compounds and promising targets. *Curr Med Chem* 2006;13(18):2163-77.

The Effect of Ampicillin and Gentamicin Conjugated with Gold Nanoparticles on the Formation of Biofilms in Pseudomonas aeruginosa

Ali Javadi¹; Mehdi Rostamirad^{2*}; Mohammad Reza Zand Monfared³; Fariba Dastjani Farahani⁴; Azam Heidarpour⁵; Mohammad Khodadad Motlagh⁶

¹PhD Student of Medical Bacteriology, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

²PhD Student of Microbiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

³Master of Sciences in Chemistry, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

⁴Master of Sciences in Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

⁵Instructor of Microbiology, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

⁶PhD Student of Bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

***Corresponding Author:**
Mehdi Rostami Rad,
Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Email:
mehdirostami1984@gmail.com

Received: 10 Jun, 2013

Accepted: 1 Dec, 2014

Abstract

Background and Objectives: *Pseudomonas aeruginosa* is a gram-negative bacterium and an opportunistic pathogen with several virulence factors. This bacterium is one of the common pathogens in nosocomial infections, particularly in patients with cystic fibrosis. Also, one of the important mechanisms of the survival of this pathogen in the pulmonary disease is biofilm formation. This study was conducted with the purpose of determining the sub-MIC concentrations of two antibiotics, ampicillin and gentamicin, along with the form conjugated with gold nanoparticles on the formation of biofilms in mucoid strain of *Pseudomonas aeruginosa*.

Methods: In this study, gold nanoparticles were synthesized using trisodium citrate in a chemical reduction method, then the shape and size of gold nanoparticles were determined by transmission electron microscopy (TEM). Conjugation of gold nanoparticles with ampicillin and gentamicin antibiotics was performed by mixing them together. To test the effect of compound on biofilm formation, micro plate method was performed.

Results: In this study, approximate size of nanoparticles was determined to be 10nm. In electronic image (in conjugated form), accumulation of nanoparticles was observed in the image. Also, gold nanoparticles conjugated with the drugs, had better effect on biofilm formation compared to free form of the drugs.

Conclusion: According to the results of this study, gold nanoparticles by increasing the concentration of drug around themselves result in better inhibitory effect of drug on the biofilm formation compared to the free form of drug.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*; Nanoparticles; Ampicillin; Gentamicins; Antibiofilm activity.