

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

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

تاریخ پذیرش: اردیبهشت 1395

تاریخ دریافت: بهمن 1394

چکیده

استفاده از نانوذرات اکسید فلزی جهت مقابله با عفونت‌های باکتریایی به عنوان 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 ضد میکروبی و ضد باکتریایی، 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، بر اساس قطر ناحیه‌بازداری از طریق آزمایش‌های چاهک و محیط آگار با غلظت‌های مختلف 0/2، 0/4، 0/6، 0/8 و 1 درصد به طور جداگانه بررسی شد. غلظت‌های بحرانی و تاثیرگذاری و سینتیک‌کشدگی 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 ناحیه‌بازداری اکسیدمس در حضور غلظت 1%، 6mm و در برابر اکسی‌تتراسایکلین نیز 7mm است. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت نانوذرات اکسید مس بعد از آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین، به عنوان گزینه مناسب ضد میکروبی، در زمینه ضد عفونی کردن آب‌های پرورشی، دیواره استخرها و پاکسازی محیط‌ها پیشنهاد می‌شود و از نظر بهداشتی و اقتصادی حایز اهمیت است.

کلمات کلیدی: یرسینیاراکری، نانوذرات، اکسیدمس، اثر ضد میکروبی

مقدمه

این باور که نانو تکنولوژی عصر جدیدی از علوم است و تلفیقی از مهندسی، زیست‌شناسی، شیمی، پزشکی و فیزیک می‌باشد، را عموم دانشمندان پذیرفته‌اند (Josowicz و Hatchett، 2008). از این نظر در گذشته نانوذرات در دو بخش فلزی و غیرفلزی مورد بحث قرار می‌گرفته‌اند (Dreher، 2004). می‌توان گفت نانوذرات فلزی در حشر مکش‌ها و باکتری‌کش‌ها کاربرد دارد. نانومواد در چرخه حیات و اکوسیستم، پایین‌ترین سطح سمیت را از خود نشان داده‌اند و در سال‌های اخیر مواد آلی حاوی یون‌های فلزاتی چون مس، نقره، آهن، روی، تیتانیوم و غیره از خاصیت ضدباکتری‌کشی برخوردار می‌باشند. بیماری‌های میکروبی تلفات شدیدی را در ماهیان وحشی و پرورشی بوجود آورده اند و سبب خسارات اقتصادی جدی شده‌اند، که بیشترین

عوامل بیماری‌زایی مربوط به باکتری گرم منفی است. باکتری یرسینیاراکری (*Yersinia ruckery*)، یک باکتری گرم منفی میله‌ای شکل بی‌هوازی اختیاری، فاقد اسپور است. بیماری یرسینیوزیس معروف به بیماری دهان قرمز انتروباکتریایی با عامل مولد یرسینیاراکری به صورت یکی از بیماری‌های مهم و موثر در محیط پرورشی آبزیان از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان مطرح است (Pyghan و Mashayi، 2009). این باکتری علاوه بر آزادماهیان در گونه‌های غیرآزادماهی از جمله تاسماهیان، ماهی حوض، کپور معمولی، آزادسفید معمولی، ماهی‌قنات، سرچربی، شاه‌ماهی و همچنین موش صحرایی، پرندگان ماهی‌خوار و برخی پستانداران مانند انسان و برخی بی‌مهرگان مانند خرچنگ‌دراز دیده می‌شود (سلطانی و همکاران، 1393). نانومواد به عنوان مواد مناسب برای مهار و از بین بردن باکتری می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند (Fortner و همکاران، 2005؛ Soltani و



تهیه نانوذرات: مواد لازم برای سنتز نانوذرات از شرکت Nanoshell آمریکا خریداری شدند و در آزمایشگاه با روش سل-ژل (Du et al., 2009) سنتز گردید. جهت بررسی اندازه‌های نانوذرات عکس TEM (Transmission Electron Microscopy) و SEM (Scanning Electron Microscope) به وسیله میکروسکوپ الکترونی گرفته شد تا اندازه نانوذرات مشخص شود. متوسط اندازه نانوذرات 10nm که هماهنگی خوبی با نتایج XRD (X-ray diffraction) و TEM دارد در شکل 1 آمده است. جهت توزیع نانوذرات در محیط کشت، سوسپانسیون حاصل قبل از مصرف روی شیکر قرار داده شدند. همچنین مقدار نانوذرات مورد تلقیح در حدی نبود که رسوب بدهد یا توزیع یکنواخت نداشته باشد (Petrunia و همکاران، 2008).

بررسی فعالیت ضد میکروبی: برای تعیین و تاثیر آنتی بیوتیک و نانو مواد بر روی باکتری هدف، کنترل با دو روش رقت سازی در محیط آگاردار و رقت سازی در محیط مایع استفاده شد.

بررسی اثر ضدباکتریایی نانوذرات مس به روش رقت سازی در محیط آگاردار: به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف نانو ذره CuO، ابتدا سوپ آغشته شده به سوسپانسیون میکروبی را در پلیت حاوی محیط کشت نوترینت آگار سه بار در زاویه 60 درجه کشت متراکم مانند آزمایش آنتی بیوگرام ($10^8 \times 1/5$) انجام شد (El-Rafie و همکاران، 2010).

قطر استاندارد محیط کشت برای چاهک گذاری 6mm بود که در این صورت هر چاهک قابلیت تلقیح 80 میکرولیتر از اکسی تتراسایکلین، آب مقطر و سوسپانسیون با غلظت 0/4، 0/6، 0/8 و 1 درصد از نانوذرات CuO را دارا می‌باشد.

به منظور بررسی اثر اختلاط نانو ذرات اکسیدمس و آنتی-بیوتیک تتراسایکلین و خواص ضد میکروبی آن‌ها با نسبت‌های حجمی 50 اکسید مس+50 اکسی تتراسایکلین (7 میلی گرم در لیتر) میزان بازداري آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

برای بررسی اثرات نانوذرات اکسیدمس بر روی رشد باکتری یرسینیاراکری باکتری در محیط آگاردار با 1% نانو ذره CuO به طور جداگانه و با نسبت‌های مختلف از نانو ذره با اکسی-تتراسایکلین (50% اکسیدمس+ 50% اکسی تتراسایکلین) رشد داده شد. نمونه‌ها جهت رشد به مدت 24 ساعت در دمای 25-22 درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. این آزمایش 3 مرتبه تکرار شد و میانگین نتایج گزارش گردید.

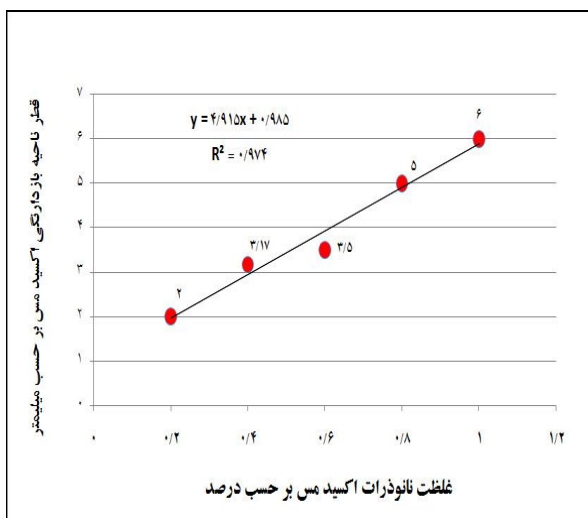
بررسی اثر ضدباکتریایی نانوذرات مس به روش رقت سازی در محیط مایع: در این روش اثرات باکتری‌کشی نانوذرات در محیط مایع از روش استاندارد میکرودايلوشن یا براث دیلوشن، استفاده گردید. برای این آزمایش از 13 لوله استریل در 3 تکرار استفاده شد. هر یک از لوله‌ها حاوی یک میلی لیتر محیط کشت نوترینت براث بود. سپس یک میلی لیتر از نانوذرات با غلظت اولیه (1%) به لوله یک اضافه نموده و نانوذره را با محیط کشت، توسط شیکر (مدل LD8809) مخلوط گردید. سپس یک میلی لیتر از محلول را برداشته و به لوله دوم اضافه نموده و به همین ترتیب تا لوله یازدهم، نانو ذره‌ها رقیق شدند. از لوله یازدهم یک میلی لیتر از محلول را برداشته، بیرون ریخته شد. آنگاه از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده معادل نیم مک فارلند به اندازه 100 میکرولیتر برداشته و به هر لوله اضافه

(Kalbas، 2001). نانوذرات اکسید فلزی، بر اساس نسبت سطح به حجم، خاصیت ضد باکتریایی متفاوتی از خود نشان می‌دهند. باکتری گرم منفی در مقابل نانوذرات فلزی، به دلیل دیواره سلولی مقاومتری از خود نشان نمی‌دهند. تحقیقات متعدد، نشان داده شده است که اختلاف بین بار منفی میکروارگانیسم و بار مثبت نانوذره، به صورت یک الکترومغناطیس جاذب بین میکروب و نانوذره عمل می‌کند و باعث اتصال نانوذره به سطح سلول می‌شود و در نتیجه می‌تواند باعث مرگ سلول شود (Xing و Lin، 2007). تعداد زیادی از این تماس‌ها در نهایت، منجر به اکسیدشدن مولکول‌های سطحی میکروب‌ها و مرگ سریع آن‌ها می‌شوند. احتمال داده می‌شود یون‌های آزاد شده 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 به عهده دارند که نانو مواد با اثر بر روی این پروتئین‌ها باعث غیرفعال شدن و نفوذناپذیری غشاء می‌شوند (Xing و Lin، 2007). غیرفعال شدن تراوایی غشای در نهایت باعث مرگ سلول می‌شود. همچنین نانو مواد چسبیدن سلول باکتری و تشکیل بیوفیلم را به تاخیر می‌اندازد که این عمل باعث می‌شود گروهی از باکتری‌ها نتوانند تثبیت شوند و تکثیر یابند. حسینی مشهد طرقي و همکاران در سال 1389 با بررسی اثر ناخالصی بر ویژگی‌های ساختاری و ضدباکتری نانوذرات اکسید مس تهیه شده به روش سل-ژل به این نتیجه رسیدند که با تهیه مخلوطی از نانوذرات اکسیدمس با درصد‌های مختلفی از آهن بر روی باکتری به یک ناخالصی رسیده که تاثیر افزودن ناخالصی بر خواص ساختاری و ضدباکتری نمونه‌ها، افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌دهد. اکسید مس به عنوان يك عامل ضد میکروبی بر روی گونه‌های مختلف باکتریایی مورد استفاده قرار گرفته است (Condorelli و همکاران، 2003). همچنین نانو مواد در چرخه حیات و اکوسیستم، پایین ترین سطح سمیت را از خود نشان داده‌اند لذا استفاده از این مواد برای مبارزه با میکروب‌های بیماری‌زا می‌تواند انتخاب مناسبی باشد (Li و همکاران، 2005). نانو مواد جایگزین بی‌ضرر و به عنوان یک ماده ضد عفونی و پاک سازی محیط، حوضچه‌های پرورشی ماهی، ضد عفونی آب، دیواره استخرهای پرورشی و بسته‌بندی‌های محصولات دریایی نقش موثری ایفا می‌نماید. اگر چه تنها مطالعات اندکی درباره خواص ضد میکروبی اکسید مس گزارش شده با این حال، این گزارش‌ها نشان داده‌اند که نانو ذرات اکسید مس توانایی بالقوه‌ای به عنوان يك عامل ضدباکتریایی دارند (Cioffili و همکاران، 2005). هدف از این تحقیق، بررسی اثر ضدباکتریایی نانوذرات اکسیدمس بر رشد یرسینیاراکری به عنوان یک باکتری گرم منفی بود.

مواد و روش‌ها

مواد و سوش باکتری مورد بررسی: جهت مطالعه، سوش باکتریایی یرسینیا راکری (ATCC 29213) که از گروه میکروبیولوژی دانشگاه مازندران خریداری گردید، استفاده شد. جهت رشد نوترینت آگار (E Merck: Damstadt. Germany) و برای غنی سازی باکتری از نوترینت براث (E. Merck co: Dar stad, Germany) و جهت شمارش کلنی از محیط کشت Count agar استفاده شد.

پرسینیاراگری مؤثر بوده است در غلظت 1% مشاهده می‌گردد و همچنین رابطه خطی بسیار خوبی بین غلظت نانو ذرات اکسید مس و قطر ناحیه بازدارندگی مشاهده می‌شود ($R^2=0/974$).



شکل 2: رابطه بین غلظت نانو ذرات اکسید مس و قطر ناحیه بازدارندگی

با بررسی آزمایش‌های انجام شده، غلظت MIC برابر با 0/4% و غلظت MBC برابر 0/8% است. نتایج بررسی اثر ضد میکروبی غلظت‌های نانوذرات اکسیدمس و آنتی بیوتیک تتراسایکلین برای باکتری پرسینیاراگری در جدول (1) نشان داده شده است.

جدول 1: میانگین مقایسه‌های عدم رشد مربوط به نانو ذرات اکسید مس و تتراسایکلین بر روی پرسینیاراگری در غلظت‌های مختلف مورد استفاده بر حسب میلی‌متر (mm)

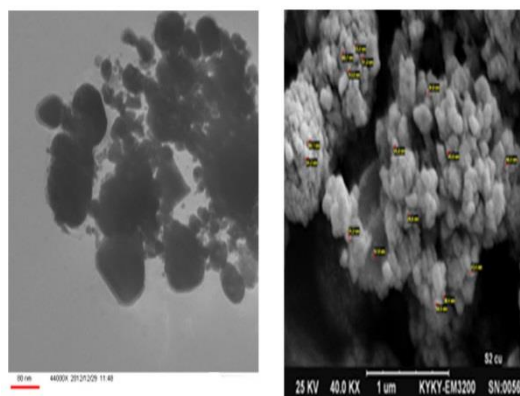
غلظت مواد ضد میکروبی بر حسب درصد	نانو ذرات اکسید مس (mm)	تتراسایکلین (mm)	ترکیب اکسید مس و تتراسایکلین (mm)
0/2	2	7	2/1
0/4	3/17	7	2/5
0/6	3/5	7	3/5
0/8	5	7	3/8
1	6	7	4

قطر هاله‌های عدم رشد بیانگر میزان حساسیت باکتری‌ها به مواد ضد میکروبی مورد استفاده است. نتایج بدست آمده در این بررسی حاکی از حساسیت باکتری پرسینیاراگری می‌باشد، زیرا این باکتری حتی در رقت‌های بسیار کم از نانوذرات مس در غلظت 0/2% هاله داده است. نانوذرات اکسیدمس نسبت به تتراسایکلین در غلظت‌های بالا اثر ضد میکروبی نزدیک و در غلظت‌های پایین تفاوت قابل ملاحظه‌ای نشان دادند. این یافته‌ها بیانگر این است که نانوذرات اکسیدمس نسبت به تتراسایکلین اثر ضد میکروبی کمتری دارد. در این آزمایش بهترین غلظت از نانوذرات اکسیدمس که بالاترین خاصیت باکتری‌کشی را دارد در

گردید. لوله شماره دوازده حاوی محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی به‌عنوان شاهد مثبت و لوله شماره سیزده حاوی محیط کشت و نانو ذره به‌عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. لوله‌ها در دمای 22-25 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت گرماگذاری شد. برای این منظور لوله‌های MIC که شفاف به نظر رسیدند یعنی نشانه‌ای از کدورت یا رشد باکتری در آن‌ها دیده نشد، برای بررسی MBC مورد استفاده قرار گرفت، بدین ترتیب که مقدار کمی از این لوله‌ها را توسط سمپلر به محیط نوترینت آگار منتقل کرده و پس از 24 ساعت گرماگذاری رشد یا عدم رشد باکتری بررسی شد. اولین رقتی که باکتری نتوانست در مجاورت آن بر روی محیط رشد نماید را به عنوان MBC در نظر گرفته شد. همچنین با شمارش باکتری MIC تعیین گردید (Sondi و Salopek-Sondi، 2004).

نتایج

به منظور بررسی مورفولوژی و قطر نانو ذرات و نسبت سطح به حجم این نانو ذرات تصاویر SEM و TEM این نانوذرات در شکل 1 ارائه شده است.



شکل 1: الف) تصویر SEM بدست آمده از نانو ذرات اکسید مس و ب) TEM بدست آمده از نانو ذرات اکسید مس

نتایج بررسی روش انتشار چاهکی در آگار نشان داد که با افزایش غلظت و درصد نانوذرات در داخل چاهک‌ها، قطر هاله رشد یا ناحیه بازدارندگی گسترده‌تر و خاصیت ضدباکتریایی بیشتر شده است. نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد نانوذرات اکسید مس دارای خواص ضد میکروبی بر روی باکتری می‌باشد. از روی مقادیر بازدارندگی میانگین هاله‌های عدم رشد یا قدرت حداقل رقت مهاری رشد، درصدهای مختلف حجمی نانوذرات CuO بدست آمده است. زمانی که در اطراف بعضی چاهک‌ها، هاله‌های زیادی دیده می‌شود به دلیل 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 نانوذرات به روش چاهک‌گذاری و رقیق‌سازی میکروبی محاسبه شد. طبق شکل 2 بیشترین رقتی که از نانوذرات اکسید مس بر روی سلول



(1%)، چندان نیست. از اکسید مس به عنوان یک ماده ضد میکروبی می‌توان استفاده نمود. در بررسی خاصیت ضد میکروبی 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 به عنوان یک مواد ضد میکروبی در بعضی شرایط استفاده نمود. در سایر، تحقیقات نیز بیان گردید که اکسید مس دارای خواص ضدباکتریایی می‌باشد، برای مثال مطالعات خسروی اقبال و همکاران (1389) نشان داد بیشترین قطر هاله در غلظت‌های برابر 1000 میکروگرم در میلی لیتر از نانو ذره اکسید مس در باکتری سرئوس 33 میلی‌متر گزارش شده است. همچنین Kumar و همکاران (2004) بیان کردند که نانوذرات با دیواره سلولی باکتری و اکشن 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 این حال قطر هاله عدم رشد به دوز مصرفی نانوذرات مس بستگی دارد که نشان دهنده تأثیر بر روی باکتری است. با این حال می‌توان نتیجه گرفت نانو مس باعث مهار باکتری در غلظت‌های مختلف شد. اثر ضد میکروبی برای حالت‌های ترکیب از نانوذرها و آنتی‌بیوتیک متفاوت است. این هم به دلیل تفاوت در اثر مکانیسم نانوذرات و آنتی‌بیوتیک می‌باشد. با این وجود نانوذرات می‌توانند عامل بالقوه ضد میکروبی مساوی با آنتی‌بیوتیک بر علیه عفونت میکروبی عمل کنند که با نتایج بدست آمده با تحقیق Hilgren (2009) مشابهت دارد. در این آزمایش مشاهده شد که نانوذرات مس نیز باعث مهارکنندگی باکتری می‌گردد. با انجام آزمایش رقت‌سازی در محیط مایع نیز خواص ضد میکروبی نانوذرات به اثبات رسیده است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد نانومس در غلظت‌های بالا اثر ضد میکروبی بیشتری داشته است. بررسی‌های انجام شده با نتایج عطایی (1390)، Diao (2009) و Moore (1988) مطابقت دارد. در واقع می‌توان گفت نانوذرات اکسیدمس، اثر ضد میکروبی دارد. نتایج حاصل نشان داد نانوذرات مس به عنوان یک ماده ضد عفونی میکروبی برای محیط‌ها و تجهیزات پرورشی، پاکسازی محیط، تصفیه آب‌ها که در برگیرنده میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا هستند بسیار مفید و قابل پیشنهاد است.

منابع

1. حسینی مشهد طرقي، آ. و طهماسبی، ن.، 1389. بررسی اثر ناخالصی بر ویژگی‌های ساختاری و ضدباکتری نانوذرات اکسیدمس تهیه شده به روش سل-ژل، کنگره ملی نانو داروها- اهواز، دوره 1، صفحات 1 تا 3.
2. خسروی اقبال، ر.؛ اخوان سپهی، ع. و خنفری، آ.، 1389. بررسی اثر ضد میکروبی 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 2، صفحات 37 تا 44.
3. سلطانی، م.؛ موسوی، ش.؛ ابراهیمزاده موسوی، ح.؛ میرزرگر، س.؛ طاهری میرقاید، ع.؛ شفیعی، ش.؛ پولین، ش. و محمدیان، س.، 1393. مطالعه مولکولی پریسینا راکری عامل

حضور غلظت 1% CuO بدست آمد. به همین جهت به منظور بررسی اثر اختلاط نانوذرات بر روی خواص ضد میکروبی با نسبت حجمی CuO/TC 50:50 سوسپانسیون تهیه شد. بر اساس نتایج ارائه شده می‌توان گفت که CuO چه در حالت منفرد و چه در حالت اختلاط دارای خاصیت ضد میکروبی و بازدارندگی چشمگیری، نسبت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین نداشته است. قطر ناحیه ممانعت اکسید مس در حضور غلظت 1%، 6mm، در حالت اختلاط با تتراسایکلین 4 mm و ناحیه ممانعت تتراسایکلین در حالت منفرد 7 mm نشان داده شد (جدول 1). قطر ناحیه بازداري، ممانعت از رشد، حاصل از ادغام نانو ذرات اکسید مس و آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین 4 میلی‌متر به دست آمد که افزایش قابل توجهی را در مقدار ناحیه بازداري 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 90 قرن بیستم به شدت مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است (Veerasamy و همکاران، 2011). در سال‌های اخیر بررسی‌های آزمایشگاهی نشان داده‌اند که برخی از داروها در فرم نانومتری دارای فعالیت ضد باکتری موثرتری هستند (Webb و همکاران، 2005). Shaffiey و همکاران (2014) اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات مس را بر روی باکتری آئروموناس هیدروفیلا بررسی نمودند و نشان دادند که نانو ذرات اکسید مس و آنتی بیوتیک تتراسایکلین نواحی ممانعت بزرگتری را در مقایسه با اکسید مس و همچنین آنتی بیوتیک تتراسایکلین به تنهایی ایجاد کرده‌اند که این بیانگر افزایش اثر و قدرت ضد میکروبی مخلوط فوق می‌باشد. در این تحقیق فعالیت ضد میکروبی 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 ضد عفونی کردن آب، محیط و تجهیزات پرورشی که احتمال آلودگی در آن‌ها می‌رود، استفاده نمود. این نانو مواد با نسبت‌های متفاوت نسبت به ممانعت از رشد باکتری عملکرد مناسبی داشتند، این مساله در سایر مطالعات نیز بدست آمده است (Sungkaworn و همکاران، 2007). مطالعات نشان داده، زمانی که از داروی تتراسایکلین برای رفع بیماری دهان قرمز رودهای (Enteric Redmouth Disease) به طور مداوم استفاده می‌گردد نتیجه مطلوبی نخواهد داد و باید آنتی‌بیوتیک دیگری جایگزین شود. Zhao و همکاران (2010) با بررسی اثرات نانوذرات جایگزین آنتی بیوتیک، در برابر بیماری‌های واگیردار، بیان کرد به جای استفاده از آنتی بیوتیک‌ها بهتر است به سراغ معالجه بوسیله 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، 1993). با بررسی خواص ضد میکروبی نانو مس و تتراسایکلین در غلظت‌های مختلف اثبات شده است که فعالیت ضد میکروبی تتراسایکلین نسبت به نانو مس بیشتر است. اثر غلظت‌های مختلف نانوپارتنیکل بر باکتری در غلظت‌های 0/2، 0/4، 0/6 (0%) به مقدار کمی زیاد و در غلظت‌های (0/8،

21. **Soltani, M. and Kalbassi, M.R., 2001.** Protection of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fingerling against *Aeromonas hydrophila* septicemia using three different antigens. Bulletin-European association of fish pathologists, Vol. 21, No. 6, pp: 235-240.
22. **Sondi, I. and Salopek-Sondi, B., 2004.** 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. 275, No. 1, pp: 177-182.
23. **Sun, Y.; Mayers, B.; Herricks, T. and Xia, Y., 2003.** Polyol synthesis of uniform silver nanowires: a plausible growth mechanism and the supporting evidence. Nano Letters, Vol. 3, No. 7, pp: 955-960.
24. **Sungkaworn, T.; Triampo, W.; Nalakarn, P.; Triampo, D.; Tang, I.M.; Lenbury, Y. and Picha, P., 2007.** The effects of TiO₂ nanoparticles on tumor cell colonies: fractal dimension and morphological properties. International Journal of Biomedical Sciences, Vol. 2, No. 1, pp: 67-74.
25. **Veerasamy, R.; Xin, T.Z.; Gunasagaran, S.; Xiang, T.F.W.; Yang, E.F.C.; Jeyakumar, N. and Dhanaraj, S.A., 2011.** Biosynthesis of silver nanoparticles using mangosteen leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. Journal of Saudi Chemical Society, Vol. 15, No. 2, pp: 113-120.
26. **Webb, G.F.; D'Agata, E.M.; Magal, P. and Ruan, S., 2005.** A model of antibiotic-resistant bacterial epidemics in hospitals. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Vol. 102, No. 37, pp: 13343-13348.
27. **Williams, N.D. and Russell, A.D., 1993.** Revival of biocide-treated spores of *Bacillus subtilis*. Journal of applied bacteriology, Vol. 75, No. 1, pp: 69-75.
28. **Zhao, Y.K., Sung, W.P., Tsai, T.T. Wang, H.J., 2010.** 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. 60, No. 3, pp: 337-345.
- بیماری پرسیپوزیس در برخی از مزارع قزل‌آلای کشور، مجله دامپزشکی ایران، دوره 10، شماره 1، صفحات 59 تا 67.
4. **عطایی، ر.; درخشان‌پور، ج.; مهرابی‌توانا، ع. و عیدی، ا., 1390.** اثر ضدباکتریایی نانوذرات کربنات کلسیم بر آکروباکتریوم تومفایس، مجله طب نظامی، دوره 13، شماره 2، صفحات 65 تا 70.
5. **Cioffi, N.; Torsi, L.; Ditaranto, N.; Tantillo, G.; Ghibelli, L. and Sabbatini, L., 2005.** Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties. Chem Mater., Vol. 17, No. 21, pp: 5255-5262.
6. **Condorelli, G.G.; Costanzo, I.L.; Fragala, I.L.; Giuffrida, S. and Ventimiglia, G., 2003.** A single photochemical route for the formation of both copper nanoparticles and patterned nanostructured films. J Mater Chem.; Vol. 13, No. 10, pp: 2409-2411.
7. **Diao, M. and Yao, M., 2009.** Use of zero-valent iron nanoparticles in inactivating microbes. Water research, Vol. 43, No. 20, pp: 5243-5251.
8. **Dreher, K.L., 2004.** Health and environmental impact of nanotechnology: toxicological assessment of manufactured nanoparticles. Toxicological Sciences, Vol. 77, No. 1, pp: 3-5.
9. **Du, A.; Zhou, B.; Shen, J.; Xiao, S.; Zhang, Z.; Liu, C. and Zhang, M., 2009.** Monolithic copper oxide aerogel via dispersed inorganic sol-gel method. Journal of Non-Crystalline Solids, Vol. 355, No. 3, pp: 175-181.
10. **El-Rafie, M.H.; Mohamed, A.A.; Shaheen, T.I. and Hebeish, A., 2010.** Antimicrobial effect of silver nanoparticles produced by fungal process on cotton fabrics. Carbohydrate Polymers, Vol. 80, No. 3, pp: 779-782.
11. **Fortner, J.D.; Lyon, D.Y.; Sayes, C.M.; Boyd, A.M.; Falkner, J.C.; Hotze, E.M. and Hughes, J.B., 2005.** C60 in water: nanocrystal formation and microbial response. Environmental Science & Technology, Vol. 39, No. 11, pp: 4307-4316.
12. **Hatchett, D.W. and Josowicz, M., 2008.** Composites of intrinsically conducting polymers as sensing nanomaterials. Chemical reviews, Vol. 108, No. 2, pp: 746-769.
13. **Hilgren, J.; Swanson, K.M.J.; Diez-Gonzalez, F. and Cords, B., 2009.** Susceptibilities of *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, and avirulent *Bacillus anthracis* spores to liquid biocides. Journal of Food Protection, Vol. 72, No. 2, pp: 360-364.
14. **Li, P.; Li, J.; Wu, C.; Wu, Q. and Li, J., 2005.** Synergistic antibacterial effects of β -lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. Nanotechnology, Vol. 16, No. 9, pp: 12-19.
15. **Lin, D. and Xing, B., 2007.** Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. Environmental Pollution Vol. 150, No. 2, pp: 243-250.
16. **Moore, L.W., 1988.** Use of *Agrobacterium radiobacter* in agricultural ecosystems. Microbiological sciences, Vol. 5, No. 3, pp: 92-95.
17. **Petrunia, I.V.; Frolova, O.Y.; Komarova, T.V.; Kiselev, S.L. Citovsky, V. and Dorokhov, Y.L., 2008.** Agrobacterium tumefaciens-induced bacteraemia does not lead to reporter gene expression in mouse organs. PloS one, Vol. 3, No. 6, pp: 23-52.
18. **Pyghan, R. and Mashayi, M., 2009.** Growth and diseases of fish and shrimp Ahwaz, Shahid Chamran University. Ahvaz, Iran. 516 p.
19. **Shaffiey, S.F.; Shapoori, M.; Bozorgnia, A. and Ahmadi, M., 2014.** Synthesis and evaluation of bactericidal properties of CuO nanoparticles against *Aeromonas hydrophila*. Nanomedicine Journal, Vol. 1, No. 3, pp: 198-204.
20. **Kumar, V.S.; Nagaraja, B.M.; Shashikala, V.; Padmasri, A.H.; Madhavendra, S.S.; Raju, B.D. and Rao, K.R., 2004.** Highly efficient Ag/C catalyst prepared by electro-chemical deposition method in controlling microorganisms in water. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, Vol. 223, No. 1, pp: 313-319

