



<https://bjm.ui.ac.ir/?lang=en>

Journal of Microbial Biology  
E-ISSN: 3060-7647  
13<sup>rd</sup> Year, Vol. 13, No. 50, Summer 2024 pp. 81-103  
Received: 07/02/2022 Accepted: 26/12/2023

**(Research Paper)**

## Antimicrobial Effects of Samarium Oxide Nanoparticles Fabricated by Curcumin on Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* & *Staphylococcus aureus*

**Hossein Zahmatkesh Zakariaei**

PhD Candidate, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Lahijan Branch, Lahijan, Iran  
h\_zahmatkesh@liau.ac.ir

**Mirsasan Mirpour** 

Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Lahijan Branch, Lahijan, Iran  
mirpour@liau.ac.ir

**Hojjatolah Zamani**

Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran  
h\_zamani@guilan.ac.ir

**Behnam Rasti**

Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran  
rasti@liau.ac.ir

### Abstract

The use of nanotechnology in various fields of biomedicine and pharmaceutical is expanding rapidly. The aim of the current study was to analyze the biosynthesis of samarium oxide nanoparticles ( $\text{Sm}_2\text{O}_3$  NPs) using curcumin and to investigate its antimicrobial effects. In this study, curcumin was used as a reducing agent for the synthesis of samarium oxide nanoparticles. The synthesized NPs were examined using Transmission Electron Microscopy (TEM), X-ray diffraction (XRD), Energy Dispersive X-Ray (EDX), light dynamic diffraction (DLS), and zeta potential methods. Antimicrobial effects of  $\text{Sm}_2\text{O}_3$  NPs against clinical and standard strains of *Pseudomonas aeruginosa* PTCC 1430 and *Staphylococcus aureus* PTCC 1431 were investigated by disk diffusion methods with Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). Also, the effect of NPs on the production of virulence factors of pyocyanin pigment and alginate in *Pseudomonas aeruginosa* was investigated. Characterization of the synthesized  $\text{Sm}_2\text{O}_3$  NPs showed that the NPs had a cubic structure with an average size of 32.61 nm and a pure crystalline phase. Also, DLS and zeta potential analysis showed that the produced NPs had an average diameter of 90 nm and a charge

---

\* Corresponding Author

3060-7647/ © 2024 The Authors



This is an open access article under the CC BY-NC-ND/4.0/ License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).  
Zahmatkesh Zakariaei, H., Mirpour, M., Zamani, H., & Rasti, B. Antimicrobial Effect of Samarium Oxide Nanoparticles fabricated by Curcumin on multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* & *Staphylococcus aureus*. *Journal of Microbial Biology*, 2024; 13 (50): 81-103. <http://dx.doi.org/10.22108/bjm.2022.132621.1449>

of -9.4 mV. The disk diffusion method displayed the significant antibacterial activity of Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NPs against studied strains. According to the broth microdilution method, the lowest MIC value was obtained for the standard strain of *S. aureus* and the highest MIC value was obtained for the clinical strain of *P. aeruginosa* with concentrations of 3.12 and 25 µg/mL, respectively. Also, the study of the effect of nanoparticles on the production of pyocyanin and alginate showed promising results. In the present study, the antibacterial effect of Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NPs against multidrug-resistant strains of *P. aeruginosa* and *S. aureus* was investigated. Based on the results of this study, Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NPs synthesized using curcumin can be used as an effective antibacterial agent against clinical pathogens.

**Keywords:** Nanoparticles, Samarium Oxide, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, Antimicrobial.

## Introduction

*Pseudomonas aeruginosa* is a frequently encountered pathogen often found in individuals with conditions such as cystic fibrosis, and immune deficiencies. *Staphylococcus aureus* is an opportunistic Gram-positive pathogen associated with various infections in healthcare environments and the community. It is involved in a wide range of diseases, such as soft tissue infections, endocarditis, osteomyelitis, and urinary tract infections. The excessive use of antibiotics has resulted in the rise of multidrug-resistant (MDR) bacterial strains, contributing to the inheritance and transmission of infectious diseases. Antibiotic resistance stands as a major global health challenge. MDR-resistant strains have caused the ineffectiveness of traditional antimicrobial treatments, leading to prolonged disease persistence. Hence, there is a crucial need to explore novel antibacterial agents to combat drug-resistant bacterial strains. Existing literature suggests that the utilization of metallic nanoparticles has exhibited encouraging outcomes in addressing antibiotic resistance. Nanoparticles (NPs) possess distinctive characteristics, including a large surface area, small size, low toxicity, and high stability. Key effects of exposure to metallic NPs include the generation of reactive oxygen species (ROS), disruption of bacterial cell walls and extracellular polymeric substances (EPSs), DNA damage, inhibition of protein synthesis, and eventual bacterial cell death. Samarium, a significant member of the lanthanide family, holds importance in various health and medical applications owing to its low toxicity and high photostability. These applications include drug delivery, medical imaging, and its use as an antitumor agent. The primary objective of the present study is to assess, for the first time, the antibacterial capabilities of samarium oxide nanoparticles (Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs) against *P. aeruginosa* and *S. aureus*.

## Materials and Methods

The green synthesis of samarium oxide nanoparticles was carried out using curcumin. Transmission electron microscopy (TEM) was used to determine the size and morphology of nanoparticles. The crystalline structure of the synthesized NPs was examined using an X-ray diffractometer (XRD), and elemental analysis was carried out by energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS). The zeta potential and Dynamic Light Scattering (DLS) analyses were performed to evaluate the surface charge and hydrodynamic radius of the synthesized NPs. The

antibacterial potential of Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs against studied bacteria was carried out using the disk diffusion assay. The minimum inhibitory concentration (MIC) of Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs for *P. aeruginosa* and *S. aureus* was determined using the microdilution technique. To ascertain the minimum bactericidal concentration (MBC), 100 µL from wells without bacterial growth were sub-cultured on Muller–Hinton agar. After incubating at 37 °C for 24 hours, bacterial growth was assessed. The MBC was determined as the lowest concentration of Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs capable of killing bacterial cells. In addition, the effect of Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs on pyocyanin production by *P. aeruginosa* was evaluated using the chloroform-hydrochloric acid method. Briefly, a *P. aeruginosa* suspension (OD<sub>620</sub> = 0.04) was inoculated in nutrient broth without or with 0.5 MIC Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs. After 48 hours of incubation with shaking, the bacterial culture was centrifuged, and a cell-free supernatant was obtained. Pyocyanin from the cell-free supernatant was extracted with chloroform and then re-extracted into 0.1 N HCl. The absorbance of the pink layer was measured at 520 nm.

### Research Findings

The results of the study showed that, according to TEM images, the synthesized nanoparticles exhibited a cubic structure with a diameter of 32.61 nm. Examination of the X-ray diffraction pattern revealed that the synthesized nanoparticles matched the standard sample (JCPDS card) with the reference code 01-088-2166, confirming the accurate synthesis of samarium oxide nanoparticles. In addition, the zeta potential value for samarium oxide nanoparticles was recorded as -9.4 mV, which indicated relatively good colloidal stability of nanoparticles. The MIC and MBC values of Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs against the studied bacteria ranged from 3.12 to 25 and 6.25 to 50 µg/mL, respectively. Additionally, the concentration of pyocyanin significantly decreased after treating *P. aeruginosa* with a 0.5 MIC concentration of nanoparticles.

### Discussion of Results and Conclusions

The rapid emergence of multi-drug resistant bacteria in recent years has become a global problem, rendering the old generation of antibiotics ineffective. Nanotechnology is a potential solution for eliminating antibiotic-resistant microbes, as it can stimulate the synthesis of a new generation of antibiotics. In this research, curcumin was utilized as a regenerating agent to regenerate samarium nitrate ions and produce Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs. The results of the disk diffusion method demonstrated the strong antibacterial effects of samarium oxide nanoparticles against the tested strains. As the nanoparticle concentration increased, the diameter of the growth inhibition zone also increased. Notably, both standard and clinical strains of *S. aureus* exhibited greater sensitivity compared to their *P. aeruginosa* counterparts. This variation in inhibition suggests differences in the cell wall structure, where *S. aureus* possesses a thick layer rich in sugars and amino acids, while *P. aeruginosa* has multiple layers of proteins and lipids. The antibacterial effect of Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs may result from the release of metal cations from the nanoparticles, which are then absorbed by bacteria. The cations attached to the surface of bacterial phospholipids induce the release of cellular materials from bacteria, leading to oxidative stress, DNA damage, and ultimately bacterial cell death. Additionally, owing to their

small size, Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs can bind to the bacterial cell membrane and subsequently disrupt this structure. Pyocyanin, a pigment classified within the phenazine group, is synthesized by *P. aeruginosa* and serves as a virulence factor contributing to antibiotic resistance. Within eukaryotic cells, pyocyanin functions as a cellular signal, inducing alterations in cellular responses by impacting genes. Moreover, elevated concentrations of this pigment in the lungs of individuals with chronic cystic fibrosis infection can potentially impair the function of epithelial cells and diminish immune responses. According to the research findings, the MDR strain exhibited a notable decrease in pyocyanin concentration following treatment with Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs in comparison to the control group. The synthesis of pyocyanin is regulated by two quorum sensing pathways, namely rhl and pqs. The inhibitory effect of Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub>NPs on pyocyanin production may result from interference with the quorum sensing systems. The results obtained in this study suggest that samarium oxide nanoparticles can serve as an effective antibacterial agent against multi-drug-resistant clinical strains. Further studies are recommended to delve into the molecular mechanisms underlying the antibacterial activity of samarium oxide nanoparticles.

## اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید ساماریوم سنتز شده با کورکومین روی سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم چند دارویی

حسین زحمتکش زکریایی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران

h\_zahmatkesh@liau.ac.ir

میر ساسان میرپور\*، استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران

mirpour@liau.ac.ir

حجت‌اله زمانی، استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

h\_zamani@guilan.ac.ir

بهنام راستی، استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران

behnam.rasti@iau.ac.ir

### چکیده

استفاده از فناوری نانو در زمینه‌های مختلف زیست پزشکی و دارویی به سرعت در حال گسترش است. هدف از این مطالعه، سنتز زیستی نانوذرات اکسید ساماریوم با استفاده از کورکومین و بررسی اثرات ضد میکروبی آن است. مواد و روش‌ها: در این پژوهش، از کورکومین به عنوان عامل احیا کننده برای سنتز نانوذرات اکسید ساماریوم استفاده شد. نانوذرات سنتز شده با استفاده از روش‌های میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، پراش اشعه ایکس (XRD)، پراش انرژی پرتو ایکس (EDX)، پراش دینامیک نور (DLS) و آزمون پتانسیل زتا بررسی شدند. اثرات ضد میکروبی نانوذرات اکسید ساماریوم علیه سوبه‌های بالینی و استاندارد سودوموناس آئروژینوزا PTCC 1430 و استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 1431 با روش‌های انتشار از دیسک، کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC) و کمترین غلظت کشندگی (MBC) بررسی شدند. همچنین اثر نانوذرات بر تولید فاکتورهای بیماری زا بی رنگدانه پیوسیانین و آلژینات در سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد. نتایج: بررسی نانوذرات اکسید ساماریوم سنتز شده نشان داد نانوذرات دارای ساختار مکعبی با اندازه متوسط ۳۲/۶۱ نانومتر و فاز کریستالی خالص هستند. همچنین آنالیز DLS و پتانسیل زتا نشان داد نانوذرات تولیدی به طور متوسط قطر ۹۰ نانومتر و بار ۹/۴- میلی‌ولت دارند. نتایج حاصل از تست انتشار از دیسک، اثربخشی بالای نانوذرات اکسید ساماریوم علیه باکتری‌های مطالعه شده را نشان دادند. براساس روش میکرو دیالوژن براث، کمترین مقدار MIC برای سوبه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس و بیشترین مقدار MIC برای سوبه بالینی سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب با غلظت‌های ۳/۱۲ و ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. همچنین بررسی اثر نانوذرات بر تولید پیوسیانین و آلژینات، نتایج امیدوارکننده‌ای را نشان داد. بحث و نتیجه‌گیری: در این پژوهش اثر ضدباکتریایی نانوذرات اکسید ساماریوم علیه سوبه‌های مقاوم چند دارویی سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد. براساس نتایج، نانوذرات سنتز شده می‌توانند به عنوان یک عامل ضدباکتریایی مؤثر علیه پاتوژن‌های بالینی استفاده شوند.

**واژه‌های کلیدی:** نانوذرات، اکسید ساماریوم، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، ضد میکروبی



## مقدمه

فناوری نانو به عنوان بخشی پویا و در حال توسعه در جهان پدیدار شده است. نانوذرات به عنوان یک ذره در مقیاس نانو از ۱ تا ۱۰۰ نانومتر تعریف می‌شوند. نانوذرات به دلیل نسبت سطح به حجم بیشتر، خواص منحصر به فرد و بهبود یافته‌ای دارند (۱). نانوذرات دارای طیف وسیعی از کاربردها در زیست پزشکی، تغذیه، شیمی دارویی، سیستم‌های تحویل دارو و غیره هستند. محصولات مبتنی بر نانوذرات در زمینه‌های مختلفی از جمله زیست‌فناوری<sup>۱</sup>، بیوانفورماتیک و پزشکی استفاده می‌شوند. مواد بیوسنتزی مبتنی بر نانو برای کاربردهای پزشکی مفید، سازگار با محیط زیست، غیرسمی و ارزان هستند. نانومواد مزایای بی شماری در صنایع داروسازی ارائه می‌دهند. از نانوذرات فلزی در تشخیص بیماری برای ساخت دستگاه‌ها و همچنین کنترل بیماری‌هایی مانند سرطان و عفونت باکتریایی استفاده می‌شود (۲).

به منظور سنتز نانوذرات از روش‌های فیزیکی آسیاب گلوله‌ای، تبخیر حرارتی و لیتوگرافی و همچنین روش‌های مختلف شیمیایی نظیر الکترولیز، احیای شیمیایی، پیرولیز و سل-ژل استفاده می‌شود. از معایب این روش‌ها می‌توان به استفاده از مواد شیمیایی و سمی، استفاده از فشار، دما و انرژی‌های بالا در فرایند واکنش، هزینه تولید بالا و دشوار بودن تصفیه محصول نهایی اشاره کرد؛ با این حال، کوتاه بودن زمان سنتز، بازدهی بالا، باریک بودن محدوده توزیع اندازه ذرات، قابلیت تولید در مقیاس بالا و قابلیت کنترل اندازه و شکل نانوذرات از مزایای این روش‌ها به شمار می‌روند (۳).

سنتز سبز نانوذرات، با استفاده از عوامل زیستی مختلف مانند میکروارگانیسم‌ها، آنزیم‌ها یا عصاره گیاهی

به عنوان جایگزین‌های سازگار با محیط زیست برای روش‌های شیمیایی و فیزیکی پیشنهاد شده است. این روش یک واکنش تک مرحله‌ای است و یون‌های فلزی بدون نیاز به سورفکتانت و سایر عوامل پایدارکننده به نانوذره تبدیل می‌شوند (۴)؛ بنابراین، محققان در سال‌های اخیر برای سنتز نانوذرات به سیستم‌های زیستی روی آورده‌اند؛ برای مثال، مونیاپان<sup>۲</sup> و همکاران در سال ۲۰۲۱، از کورکومین استخراج شده از گیاه کورکوما سودوموناتا<sup>۳</sup> برای تولید نانوذرات طلا استفاده کردند (۲). همچنین نامیار<sup>۴</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۸، از کورکومین برای سنتز نانوذرات طلا استفاده کردند (۵).

کورکومین، دمتوکسی کورکومین و بیس دمتوکسی کورکومین، ترکیبات کورکومینوئیدی موجود در ریزوم گیاه زردچوبه<sup>۵</sup> با نام علمی کورکوما لونگاک<sup>۶</sup> هستند (۶). در این تحقیق از کورکومین برای سنتز نانوذرات اکسید ساماریوم<sup>۷</sup> استفاده شد. نانوذرات عناصر کمیاب خاکی مانند ساماریوم، سریم، ایتریوم، اربیوم و یوروپیوم به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد مغناطیسی و پایداری شیمیایی، در تشخیص پزشکی و زمینه‌های درمانی استفاده می‌شوند (۷). اکسید ساماریوم ( $Sm_2O_3$ )، یکی از مهم‌ترین اکسیدهای فلزی متعلق به سری لانتانید (III)، به ترتیب نقاط ذوب و جوش ۲۳۳۵ و ۴۱۱۸ درجه سانتی‌گراد دارد. پرتودرمانی متاستازهای استخوانی استئوبلاستیک، تحویل دارو، به عنوان ردياب در سیستم تحویل دارو و خواص ضدباکتریایی نمونه‌هایی از کاربردهای پزشکی و تشخیصی ترکیبات حاوی ساماریوم هستند (۸).

مقاومت آنتی‌بیوتیکی یکی از بزرگ‌ترین چالش‌های بهداشتی در سراسر جهان است. استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها به ظهور سویه‌های باکتریایی مقاوم به چند

جداگانه ای محلول ۰/۲ مولار کور کومین در ۲۰ میلی لیتر سود ۰/۵ مولار، تهیه و به صورت قطره ای به ۲۰ میلی لیتر محلول ۰/۱ مولار ساماریوم نیترات اضافه شد و روی همزن مغناطیسی با دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت قرار گرفت. با انجام واکنش های اکسیداسیون - احیا، احیای یون های ساماریوم به نانوذرات اکسید ساماریوم صورت گرفت. سپس سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه انجام گرفت و رسوب به دست آمده به ترتیب با آب و اتانول شستشو داده و به مدت ۱ ساعت در آون ۸۰ درجه سانتی گراد خشک شد. در نهایت، تکلیس<sup>۱۲</sup> در کوره صدا خفه کن<sup>۱۳</sup> به مدت ۴ ساعت در ۷۰۰ درجه سانتی گراد انجام گرفت (۱۳).

**بررسی ویژگی های نانوذرات:** با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری<sup>۱۴</sup> (TEM)، شکل نانوذرات سنتز شده شناسایی شد و با کمک نرم افزارهای imageJ و Origin اندازه متوسط نانوذرات به دست آمد. نانوذرات به منظور آماده سازی برای تصویربرداری، ابتدا در آب مقطر به صورت سوسپانسیون در آمدند و با استفاده از حمام اولتراسونیک، سونیکیت شدند. سپس یک قطره از آن روی شبکه مسی با پوشش کربن قرار گرفت و اجازه داده شد در دمای اتاق خشک شود؛ در نهایت، تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی عبوری (EM208S, 100 kV, Philips, Netherlands) انجام گرفت. همچنین با استفاده از پراش اشعه ایکس<sup>۱۵</sup> (XRD) (Philips PW 1730, Netherlands)، ساختار کریستالی نانوذرات، بررسی و از روش پراش انرژی پروتو ایکس (EDX)<sup>۱۶</sup> (EDS, Ultim Max, Oxford Instruments, UK) برای تجزیه و تحلیل عنصری نانوذرات سنتز شده استفاده شد. اندازه گیری فشار هیدرو دینامیکی و تعیین میزان بار الکتریکی نانوذرات

دارو<sup>۸</sup> منجر شده است که با انتقال به نسل های بعدی موجب گسترش بیماری های عفونی می شوند. این سویه های مقاوم، به عدم پاسخ باکتری ها به درمان استاندارد ضد میکروبی، ماندگاری بیماری و افزایش خطر مرگ منجر می شوند (۹)؛ بنابراین، برای جلوگیری از رشد باکتری ها باید به دنبال عوامل ضد باکتریایی جدید بود. در بسیاری از مطالعات، استفاده از نانوذرات فلزی نتایج امیدوار کننده ای را در برابر مقاومت آنتی بیوتیکی نشان داده است (۱۰).

*سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس*  
از عوامل بیماری زای مهم و عوامل شایع عفونت های بیمارستانی هستند که مقاومت آنها به آنتی بیوتیک های رایج به سرعت در حال افزایش است. این باکتری ها مسئول طیف وسیعی از عفونت ها نظیر عفونت های تنفسی، درماتیت، باکتری می، عفونت های گوارشی، ادراری، دستگاه تنفس تحتانی و فوقانی، سندرم شوک سمی، مننژیت، استئومیلیت و اندوکاردیت هستند (۱۱، ۱۲).  
مطالعات متعددی اثر ضد میکروبی نانوذرات مختلف را نشان داده اند؛ با این حال، مطالعات بسیار اندکی در رابطه با پتانسیل ضد باکتریایی نانوذرات اکسید ساماریوم انجام شده است. بنابراین در این مطالعه، هدف ما تعیین پتانسیل ضد باکتریایی نانوذرات اکسید ساماریوم علیه سویه های بالینی و استاندارد سودوموناس آئروژینوزا<sup>۹</sup> و استافیلوکوکوس اورئوس<sup>۱۰</sup> برای نخستین بار است.

## مواد و روش ها

**سنتز نانوذرات اکسید ساماریوم:** در این مطالعه، سنتز زیستی نانوذرات اکسید ساماریوم با استفاده از کور کومین انجام شد. در ابتدا محلول ۰/۱ مولار ساماریوم نیترات ۶ آبه<sup>۱۱</sup> در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر تهیه شد. در بشر

سطح محیط کشت قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرما‌گذاری شدند. پس از اتمام زمان گرما‌گذاری، اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد با استفاده از خط کش صورت گرفت و با استفاده از جدول استاندارد، وضعیت مقاومت و حساسیت هر یک از سویه‌های بالینی و استاندارد به هر یک از آنتی‌بیوتیک‌ها مشخص شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی استفاده‌شده در این مطالعه از شرکت پادتن طب تهیه شد که برای سودوموناس آئروژینوزا شامل ایمی پنم (۱۰)، جنتامایسین (۱۰)، سیپروفلوکساسین (۵) و نورفلوکساسین (۱۰) و برای استافیلوکوکوس شامل اورئوس سیپروفلوکساسین (۵)، کلیندامایسین (۲)، اریترومایسین (۱۵) و پنی‌سیلین (۱۰) بودند.

#### بررسی خاصیت ضد میکروبی نانوذرات با روش

**انتشار از دیسک:** به منظور بررسی خاصیت ضد میکروبی نانوذرات با روش انتشار از دیسک، ابتدا سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک‌فارلند از باکتری‌های مطالعه‌شده (بالینی و استاندارد) تهیه و در محیط مولر هینتون آگار توسط سوپ استریل به صورت یکنواخت کشت داده شد. سپس از هر رقت نانوذره (۲۰۰-۱/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به مقدار ۳۰ میکرولیتر روی دیسک‌های بلانک (قطر ۶ میلی‌متر) اضافه شد و روی کشت باکتری هدف قرار گرفتند. بعد از گرما‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد محاسبه شد (۱۴).

#### تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد و

**حداقل غلظت کشندگی:** حداقل غلظت بازدارندگی رشد<sup>۲۰</sup> نانوذرات با استفاده از روش میکرودایلوشن براث تعیین شد. برای این منظور از میکروپلیت استریل ۹۶ خانه‌ای Nest استفاده شد. ابتدا غلظت‌های سریالی ۲۰۰-

سنتز شده به ترتیب با استفاده از آزمون‌های پراکنش دینامیک نور (DLS)<sup>۱۷</sup> و پتانسیل زتا با دستگاه (SZ-100 Horiba nanoparticle analyzer, Japan) انجام شد. برای انجام آزمون DLS، نانوذرات در آب به صورت سوسپانسیون درآمدند و پس از سونیکیت شدن، زیر تابش نور لیزر قرار گرفتند؛ براساس پراکنش و تغییرات شدت نور، توزیع اندازه ذرات محاسبه شد.

#### باکتری‌های مطالعه‌شده: کشت‌های لیوفیلیزه

سویه‌های استاندارد سودوموناس آئروژینوزا PTCC 1430 و استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 1431 از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران تهیه شدند. برای فعال‌سازی سویه‌های لیوفیلیزه، سوسپانسیونی در محیط تریپتیک سوی براث<sup>۱۸</sup>، تهیه و در محیط تریپتیک سوی آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت دو بار کشت داده شد. همچنین سویه‌های مقاوم چند دارویی سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه خون بیماران مراجعه کننده به بیمارستان قائم شهرستان رشت دریافت شدند.

#### ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های

**مطالعه‌شده:** برای سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های مطالعه‌شده، از روش استاندارد کربی - بائر و طبق دستورالعمل کمیته ملی معیارهای آزمایشگاهی بالینی<sup>۱۹</sup> M100-S28 2018 استفاده شد (۱۴، ۱۵). بدین منظور از کشت ۲۴ ساعته باکتری‌ها، سوسپانسیونی با کدورت نیم مک‌فارلند در محیط مولر هینتون براث تهیه شد. سپس با استفاده از سوپ پنبه‌ای سترون از سوسپانسیون باکتریایی به صورت یکنواخت در سطح محیط مولر هینتون آگار تلقیح شد. پس از چند دقیقه، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با استفاده از پنس سترون در



دور در دقیقه جداسازی شد. سپس به ۶ میلی لیتر از مایع رویی کشت، ۳ میلی لیتر کلروفرم اضافه شد و ۱۰ مرتبه به مدت ۲ ثانیه توسط همزن ادغام شدند. کلروفرم در ته لوله قرار گرفت و به تدریج رنگ آن آبی مایل به سبز شد؛ زیرا پیوسیانین در کلروفرم حل می شود. نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه با چرخش ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و ۲ میلی لیتر از لایه آبی رنگ در ته لوله (کلروفرم و پیوسیانین) به لوله جدید، منتقل و ۱ میلی لیتر از اسید کلریدریک<sup>۳۳</sup> ۰/۱ نرمال به آن اضافه شد و توسط همزن ادغام شدند تا محیط اسیدی شود. رنگ محیط از آبی به صورتی تغییر کرد. نمونه ها به مدت ۲ دقیقه با چرخش ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. ۱ میلی لیتر از مایع صورتی رنگ به کووت انتقال داده و جذب آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد (۱۶). غلظت پیوسیانین با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

(حجم اسید کلریدریک) X ۱ (ضریب تضعیف مولی) X ۱۷/۰۷۲ X (۵۲۰ نانومتر) میزان جذب = غلظت پیوسیانین (میکرو گرم/میلی لیتر)

#### بررسی تولید آلزینات: سودوموناس آئروژینوزا

در محیط مولر هیتتون آگار بدون و همراه با غلظت ۰/۵ MIC نانوذرات کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری، گرانیوی<sup>۲۴</sup> آلزینات با استفاده از آزمون رشته ای<sup>۲۵</sup> بررسی شد (۱۷).

#### نتایج

##### بررسی ویژگی های نانوذرات: نتایج به دست آمده

از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) سنتز نانوذرات اکسید ساماریوم با ساختار مکعبی را تأیید کردند (شکل ۱). بررسی الگوی پراش اشعه ایکس

۱/۵۶ میکرو گرم بر میلی لیتر از نانوذره در مولر هیتتون برات تهیه شدند. سپس از هریک از غلظت های تهیه شده ۱۰۰ میکرو لیتر برداشته و داخل خانه های میکرو پلیت ریخته شد. سپس به خانه ها ۱۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون میکروبی<sup>۶</sup> X ۱/۵ اضافه شد. در یک ردیف تنها محیط کشت به عنوان کنترل منفی و یک ردیف محیط کشت و سوسپانسیون به عنوان کنترل مثبت اضافه شد. میکرو پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرما گذاری شد. سپس، چاهک ها از نظر کدورت بررسی شدند. چاهک حاوی کمترین غلظت نانوذره که هیچ کدورتی در آن مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی رشد در نظر گرفته شد.

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی<sup>۲۱</sup>، از چاهک هایی که کدورتی در آن مشاهده نشد روی محیط مولر هیتتون آگار کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت گرما گذاری، کمترین غلظتی از نانوذره که با کتری در آن رشد نکرد به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش شد (۱۵).

#### بررسی تأثیر نانوذرات ساماریوم بر تولید

##### فاکتورهای بیماری زایی (رنگدانه پیوسیانین و

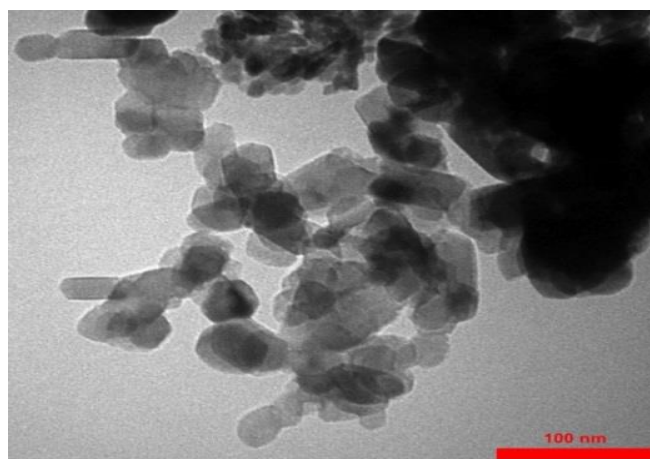
##### آلزینات) در باکتری سودوموناس آئروژینوزا

##### بررسی تولید رنگدانه پیوسیانین: از کشت تازه

سودوموناس سوسپانسیونی با کدورت ۰/۰۴ در دانسیته نوری ۶۰۰ نانومتر به ارلن های حاوی ۲۵ میلی لیتر مولر هیتتون برات بدون و همراه با غلظت ۰/۵ MIC نانوذره تلقیح شد. سپس ارلن ها به مدت ۴۸ ساعت در شیکر انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد، با چرخش ۲۰۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. پس از گرما گذاری، مایع رویی کشت<sup>۲۲</sup> توسط ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ با چرخش ۴۰۰۰

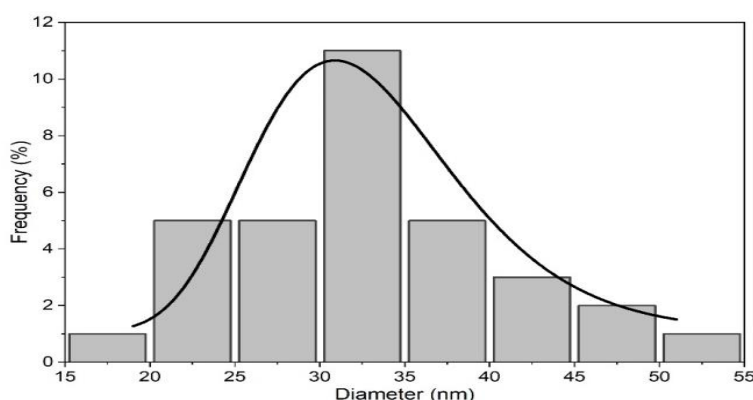
نانوذرات سنتز شده را تأیید کرد (شکل ۴). نتایج حاصل از آنالیز پراش دینامیک نور (DLS) نشان دادند نانوذرات به طور متوسط قطر ۹۰ نانومتر داشتند (شکل ۵). در واقع در این روش اندازه نانوذرات در محیط مایع بررسی می‌شود و به دلیل آگلومره شدن نانوذرات، اندازه به دست آمده در این روش بیشتر از اندازه نانوذرات در TEM است. همچنین مقدار پتانسیل زتا برای نانوذرات اکسید ساماریوم به طور متوسط  $-۹/۴$  میلی‌ولت ثبت شد که نشان دهنده پایداری کلوییدی نسبتاً خوب نانوذرات بود (شکل ۶).

نانوذرات سنتز شده که در زوایای  $2\theta = 10-80^\circ$  انجام شد، ۴ پراش در زوایای  $28.26^\circ$ ،  $32.74^\circ$ ،  $46.99^\circ$  و  $55.74^\circ$  به ترتیب مربوط به صفحات ۲۲۲، ۴۰۰، ۴۴۰ و ۶۲۲ را نشان داد که با نمونه استاندارد (JCPDS card) با کد مرجع ۰۱-۰۸۸-۲۱۶۶ مطابقت دارد و تأیید کننده سنتز صحیح نانوذرات اکسید ساماریوم است (شکل ۳). حضور عناصر ساماریوم و اکسیژن در نانوذرات سنتز شده با تجزیه و تحلیل طیف سنجی EDX، تأیید و پیک مربوط به اتم ساماریوم در محدوده ۱ Kev مشاهده شد. وجود نداشتن عناصر دیگر، خلوص



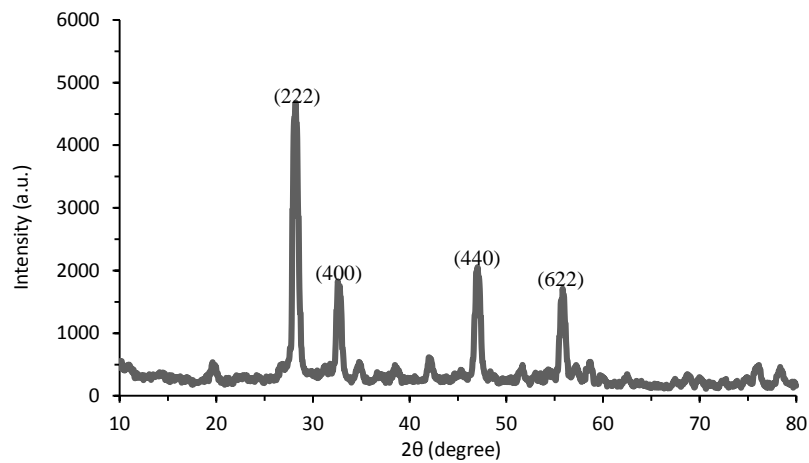
شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات اکسید ساماریوم

Figure 1- Transmission electron microscope image of samarium oxide nanoparticles



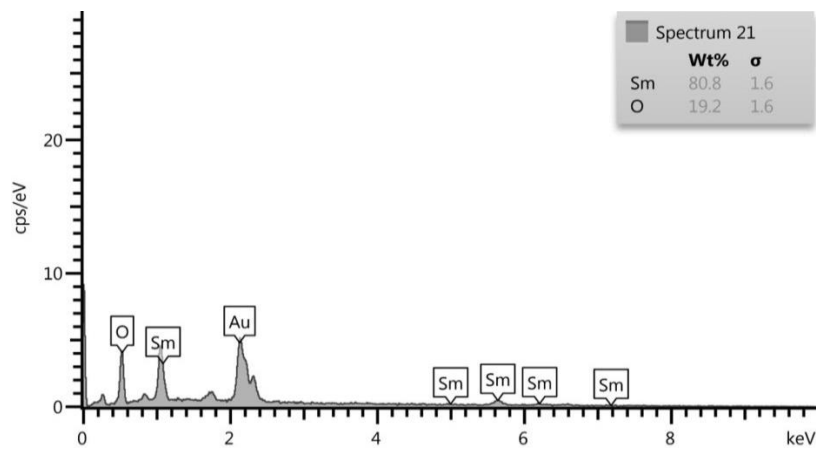
شکل ۲- نمودار میانگین اندازه نانوذرات اکسید ساماریوم بر اساس تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری

Figure 2- Size distribution histogram of samarium oxide nanoparticles based on transmission electron microscope image



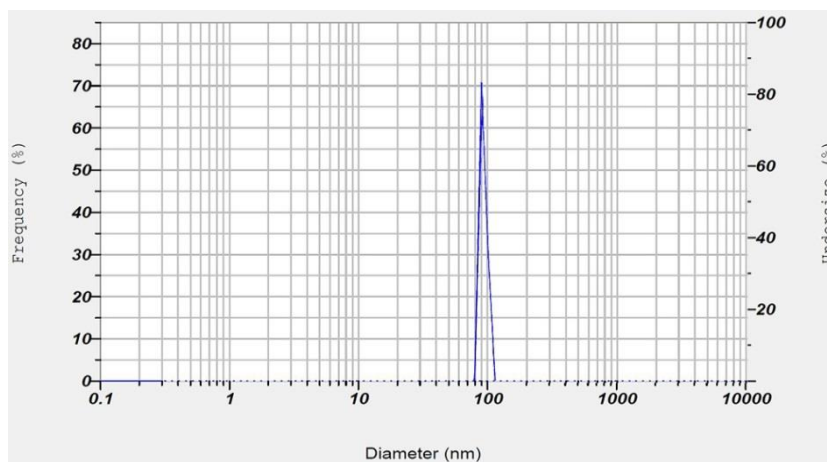
شکل ۳- الگوی پراش اشعه ایکس نانوذرات اکسید ساماریوم

Figure 3- X-ray diffraction pattern of samarium oxide nanoparticles



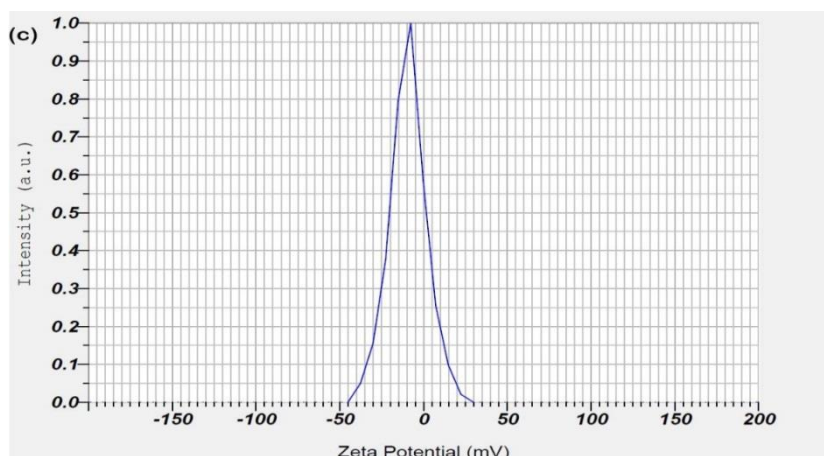
شکل ۴- نمودار پراش انرژی پرتو ایکس نانوذرات اکسید ساماریوم

Figure 4- X-ray energy diffraction diagram of samarium oxide nanoparticles



شکل ۵- شعاع هیدرودینامیکی نانوذرات اکسید ساماریوم حاصل از آنالیز تفرق نور پویا

Figure 5- Hydrodynamic radius of samarium oxide nanoparticles obtained from dynamic light scattering analysis



شکل ۶- نتایج آزمون پتانسیل زتا نانوذرات اکسید ساماریوم  
Figure 6- Zeta potential results of samarium oxide nanoparticles

در این مطالعه اثر ضد میکروبی نانوذرات اکسید ساماریوم علیه سویه‌های استاندارد و بالینی استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به روش هاله عدم رشد (انتشار از دیسک) بررسی شد (شکل ۹ و ۱۰). براساس نتایج حاصل از این مطالعه، نانوذرات سنتز شده به وسیله کورکومین، فعالیت ضد میکروبی مؤثری علیه سویه‌های مطالعه شده نشان دادند و سویه‌های بالینی نسبت به سویه‌های استاندارد خود حساسیت کمتری نشان دادند. سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس و سویه بالینی سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب بیشترین و کمترین میزان حساسیت را به نانوذرات داشتند. میزان هاله عدم رشد باکتری‌ها بر حسب میلی‌متر در جدول ۲ آمده است.

نتایج حاصل از تست حساسیت میکروبی مطابق شکل شماره ۷ نشان دادند سویه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا به تمام آنتی‌بیوتیک‌های استفاده شده در این مطالعه مقاوم‌اند. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، هیچ هاله عدم رشدی در سویه بالینی سودوموناس آئروژینوزا مشاهده نشد و تنها آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین باعث ایجاد هاله عدم رشد ۱۲ میلی‌متری در سویه بالینی استافیلوکوکوس اورئوس شد.

همچنین نتایج تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای سویه‌های استاندارد در جدول ۱ آورده شده‌اند. براساس نتایج، سویه‌های استاندارد سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس به تمام آنتی‌بیوتیک‌های استفاده شده حساس بودند (شکل ۸).



شکل ۷- تست آنتی بیو گرام سویه بالینی سودوموناس آئروژینوزا (چپ) و سویه بالینی استافیلوکوکوس اورئوس (راست)  
 Figure 7- Antibiogram test of clinical strain of *Pseudomonas aeruginosa* (left) and clinical strain of *Staphylococcus aureus* (right)

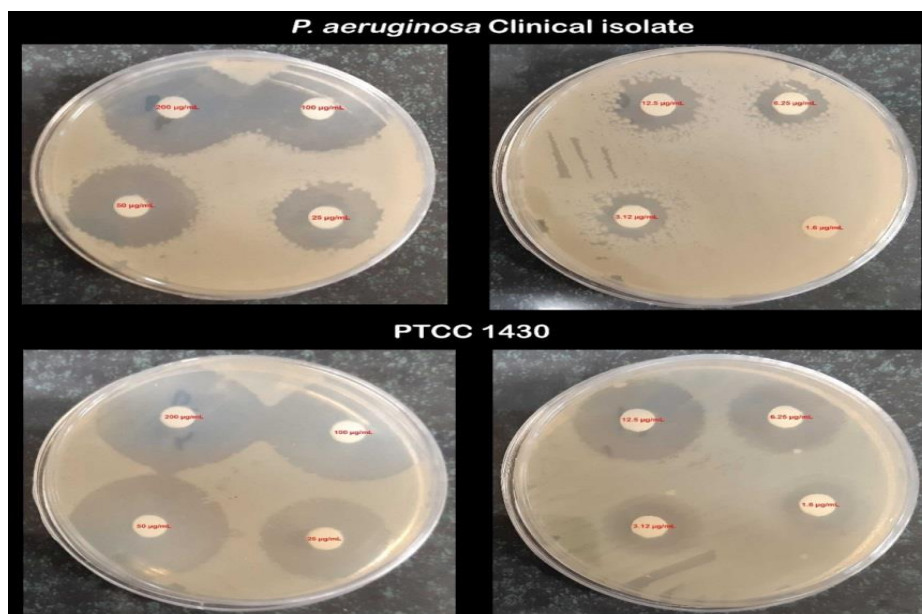


شکل ۸- تست آنتی بیو گرام سویه استاندارد سودوموناس آئروژینوزا (چپ) و سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس (راست)  
 Figure 8- Antibiogram test of *Pseudomonas aeruginosa* standard strain (left) and *Staphylococcus aureus* standard strain (right)

جدول ۱- نتایج حساسیت آنتی بیوتیکی سویه های استاندارد سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس

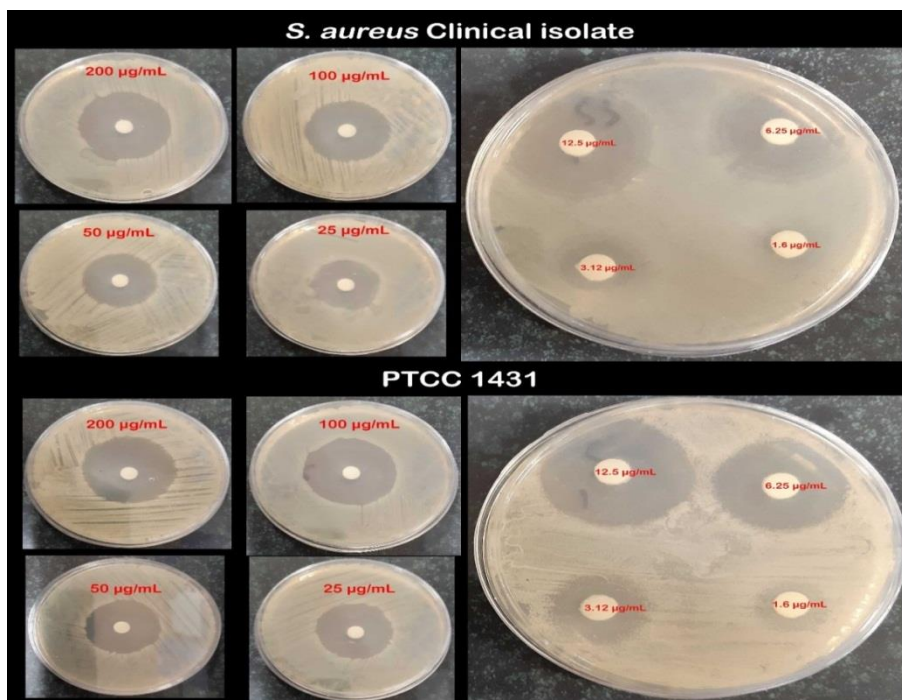
Table 1- Antibiotic susceptibility results of standard strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*

حساسیت	قطر هاله عدم رشد (mm)	آنتی بیوتیک	باکتری
حساس	۲۷	ایمی پنم (۱۰)	
حساس	۲۸	جتناما پسین (۱۰)	
حساس	۲۴	سپرو فلو کساسین (۵)	سودوموناس آئروژینوزا PTCC 1430
حساس	۲۹	نورفلو کساسین (۱۰)	
حساس	۳۴	سپرو فلو کساسین (۵)	
حساس	۲۵	کلیندامایسین (۲)	استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 1431
حساس	۳۴	اریترومایسین (۱۵)	
حساس	۳۹	پنی سیلین (۱۰)	



شکل ۹- هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف (۲۰۰-۱/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) نانوذرات اکسید ساماریوم علیه سویه‌های بالینی و استاندارد سودوموناس آئروژینوزا

Figure 9- Growth inhibition halo of different concentrations (1.6-200 mg/ml) of samarium oxide nanoparticles against clinical and standard strains of *Pseudomonas aeruginosa*



شکل ۱۰- هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف (۲۰۰-۱/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) نانوذرات اکسید ساماریوم علیه سویه‌های بالینی و استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس

Figure 10- Growth inhibition halo of different concentrations (1.6-200 mg/ml) of samarium oxide nanoparticles against clinical and standard strains of *Staphylococcus aureus*

جدول ۲- قطر هاله عدم رشد (میلی متر) ناشی از غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید ساماریوم علیه باکتری‌های آزمایش شده

Table 2- Diameter of the growth inhibition halo (mm) caused by different concentrations of samarium oxide nanoparticles against the tested bacteria

قطر هاله عدم رشد (mm)	غلظت نانوذره (µg/mL)	باکتری
۱,۵۲±۲۶	۲۰۰	سودوموناس آئروژینوزا سویه بالینی
۱,۵۲±۲۳	۱۰۰	
۱,۵۲±۲۱	۵۰	
۱,۵۲±۱۹	۲۵	
۱,۵۲±۱۵	۱۲/۵	
۱,۵۲±۱۱	۶/۲۵	
۱,۵۲±۷	۳/۱۲	
_____	۱/۶	
۱,۵۲±۳۴	۲۰۰	سودوموناس آئروژینوزا PTCC 1430
۱,۵۲±۳۰	۱۰۰	
۱,۵۲±۲۸	۵۰	
۱,۵۲±۲۵	۲۵	
۱,۵۲±۲۲	۱۲/۵	
۱,۵۲±۲۰	۶/۲۵	
۱,۵۲±۱۶	۳/۱۲	
۱,۵۲±۱۳	۱/۶	
۱,۵۲±۳۴	۲۰۰	استافیلوکوکوس اورئوس سویه بالینی
۱,۵۲±۳۰	۱۰۰	
۱,۵۲±۲۸	۵۰	
۱,۵۲±۲۶	۲۵	
۱,۵۲±۲۴	۱۲/۵	
۱,۵۲±۲۰	۶/۲۵	
۱,۵۲±۱۳	۳/۱۲	
۱,۵۲±۸	۱/۶	
۱,۵۲±۳۷	۲۰۰	استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 1431
۱,۵۲±۳۴	۱۰۰	
۱,۵۲±۳۰	۵۰	
۱,۵۲±۲۷	۲۵	
۱,۵۲±۲۳	۱۲/۵	
۱,۵۲±۲۱	۶/۲۵	
۱,۵۲±۱۷	۳/۱۲	
۱,۵۲±۱۵	۱/۶	

باکتری‌های مطالعه شده به ترتیب در محدوده ۲۵-۳/۱۲ و ۵۰-۶/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بود. کمترین مقدار MIC نانوذره مربوط به سویه استاندارد/استافیلوکوکوس اورئوس برابر با ۳/۱۲ میکروگرم بر میلی لیتر و بیشترین مربوط به سویه بالینی سودوموناس آئروژینوزا برابر با ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بود. همچنین کمترین و بیشترین میزان MBC به ترتیب مربوط به سویه استاندارد/استافیلوکوکوس اورئوس و سویه بالینی سودوموناس آئروژینوزا بود.

### حداقل غلظت بازدارندگی رشد و حداقل

**غلظت کشندگی:** در این پژوهش پس از سنتز نانوذرات اکسید ساماریوم، فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات تولیدی علیه سویه‌های بالینی و استاندارد/استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) نانوذرات اکسید ساماریوم سنتز شده و به دنبال آن آزمون تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) برای هر یک از نمونه‌ها انجام شد. همان طور که در **جدول ۳** نشان داده شده است، مقادیر MIC و MBC نانوذرات اکسید ساماریوم برای

جدول ۳- مقادیر حداقل غلظت مهارتی و حداقل غلظت کشندگی نانوذرات اکسید ساماریوم

Table 3- Minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration values of samarium oxide nanoparticles

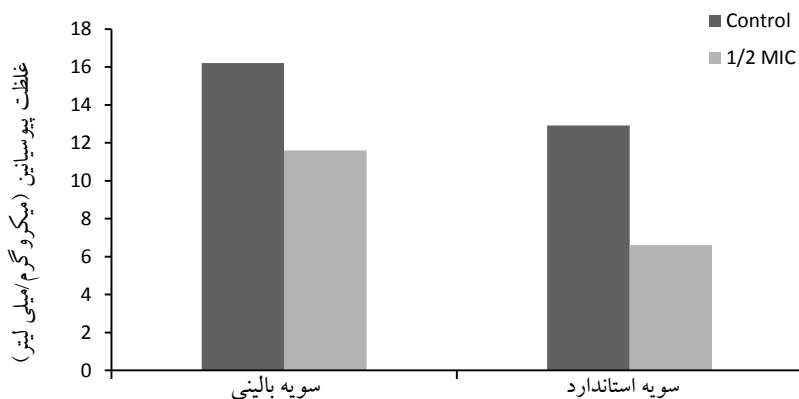
باکتری	MIC (میکروگرم/میلی لیتر)	MBC (میکروگرم/میلی لیتر)
سودوموناس آئروژینوزا PTCC 1430	۶/۲۵	۱۲/۵
سودوموناس آئروژینوزا سویه بالینی	۲۵	۵۰
استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 1431	۳/۱۲	۶/۲۵
استافیلوکوکوس اورئوس سویه بالینی	۱۲/۵	۲۵

بر اساس نتایج، غلظت پیوسیانین پس از تیمار با نانوذرات در سویه بالینی از  $16/20 \pm 0/10$  به  $11/60 \pm 0/10$  و در سویه استاندارد از  $12/92 \pm 0/07$  به  $6/61 \pm 0/07$  میکروگرم بر میلی لیتر کاهش یافت (شکل ۱۱).

### بررسی تأثیر نانوذرات اکسید ساماریوم بر

#### تولید رنگدانه پیوسیانین: در این مطالعه برای بررسی

اثر نانوذره بر تولید پیوسیانین، سویه‌های بالینی و استاندارد سودوموناس آئروژینوزا در محیط بدون و حاوی غلظت  $0/5$  MIC از نانوذره کشت داده شدند.



شکل ۱۱- غلظت پیوسیانین تولید شده توسط سویه‌های سودوموناس پس از تیمار با نانوذرات اکسید ساماریوم

Figure 11- Concentration of pyocyanin produced by *Pseudomonas* strains after treatment with samarium oxide nanoparticles



MIC از نانوذره در مقایسه با گروه کنترل دارای ویسکوزیته و چسبناکی بالا در سویه استاندارد را نشان دادند. همچنین غلظت ۰/۵ MIC از نانوذره باعث کاهش ویسکوزیته و چسبناکی سویه بالینی در مقایسه با گروه کنترل شد (شکل ۱۲-a-c).

**بررسی تولید آلژینات:** به منظور بررسی اثر نانوذره بر تولید آلژینات، پس از رشد سویه های بالینی و استاندارد سودوموناس در محیط بدون و حاوی غلظت ۰/۵ MIC از نانوذره، تولید آلژینات با مشاهده میزان ویسکوزیته و چسبناکی کلنی ها بررسی شد. نتایج این بررسی، مهار کامل تولید آلژینات توسط غلظت ۰/۵



شکل ۱۲- کاهش تولید آلژینات توسط سویه بالینی سودوموناس آنروژینوزا پس از تیمار با غلظت ۰/۵ MIC از نانوذرات اکسید ساماریوم (a) در مقایسه با گروه کنترل با ویسکوزیته بالا (b). مهار کامل تولید آلژینات در سویه استاندارد (c، سمت چپ) در مقایسه با گروه کنترل (c، سمت راست)

Figure 12- Reduction of alginate production by clinical strain of *Pseudomonas aeruginosa* after treatment with 0.5 MIC concentration of samarium oxide nanoparticles (a) compared to high viscosity control group (b). Complete inhibition of alginate production in the standard strain (c, left) compared to the control group (c, right)

## بحث و نتیجه‌گیری

ظهور باکتری‌های مقاوم چند دارویی در سال‌های اخیر به سرعت افزایش یافته و تبدیل به مشکل فزاینده‌ای شده است که جهان را تحت تأثیر قرار داده و عدم کارایی نسل قدیمی آنتی‌بیوتیک‌ها را به همراه داشته است. استفاده نادرست از آنتی‌بیوتیک‌های سنتی برای مبارزه با عفونت باکتریایی به چالش فعلی و عمده باکتری‌های مقاوم، به‌ویژه باکتری‌های مقاوم چند دارویی منجر شده است (۹). فناوری نانو راه‌حل بالقوه‌ای برای از بین بردن میکروب‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک است که می‌تواند سنتز نسل جدیدی از آنتی‌بیوتیک‌ها را تحریک کند. فناوری نانو نقش مهمی در تسهیل درمان بیماری‌های باکتریایی بسیار بدخیم دارد؛ به‌ویژه آنهایی که در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم‌اند و کنترل آنها با درمان‌های سنتی دشوار است (۱۰).

در این تحقیق از کورکومین به‌عنوان عامل احیاکننده برای احیای یون‌های ساماریوم نیترات و تولید نانوذرات اکسید ساماریوم استفاده شد. مطولاکشیمی و همکاران در سال ۲۰۱۹، از عصاره برگ *آندروگرافیس پانیکولاتا*<sup>۲۶</sup> برای سنتز نانوذرات اکسید ساماریوم استفاده کردند (۱۸). همچنین در مطالعه دیگری از عصاره برگ *کاسالپینیا پولچریمما*<sup>۲۷</sup> برای سنتز نانوذرات اکسید ساماریوم استفاده شد (۱۹).

مطالعات اندکی در ارتباط با اثر ضد میکروبی نانوذرات ساماریوم انجام شده است؛ برای مثال، در یک مطالعه، فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید ساماریوم در شرایط روشنائی در برابر سویه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *انتروکوکوس فکالیس*<sup>۲۸</sup>، *اشرشیا کلی*<sup>۲۹</sup> و *سودوموناس آئروژینوزا* بررسی شد. براساس نتایج، مقادیر MIC برای *سودوموناس آئروژینوزا* در شرایط

روشنائی ۶/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و در شرایط تاریکی ۱۶/۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. مقدار MIC برای *استافیلوکوکوس اورئوس* در شرایط نوری ۱۶/۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (۲۰). در مطالعه دیگری، فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات هیدروکسی آپاتیت الحاق‌شده با ساماریوم<sup>۳۰</sup> در برابر *اشرشیا کلی* ATCC 25922، *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 و *کاندیدا آلبیکنس*<sup>۳۱</sup> ATCC 10231 بررسی شد. نتایج مطالعه یک فعالیت ضد میکروبی قوی در برابر سویه‌های میکروبی آزمایش شده نشان دادند؛ به طوری که پوشش‌ها پس از ۴۸ ساعت گرماگذاری، رشد همه سویه‌های میکروبی آزمایش شده را با مقدار ۰/۶ لگاریتم واحد تشکیل‌دهنده کلنی در میلی‌لیتر مهار کردند (۲۱).

در این مطالعه فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید ساماریوم سنتز شده با کورکومین، علیه سویه‌های بالینی و استاندارد *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی شد. نتایج حاصل از روش انتشار از دیسک، اثرات ضدباکتریایی بالای نانوذرات اکسید ساماریوم علیه سویه‌های مطالعه‌شده را نشان دادند؛ به طوری که با افزایش غلظت نانوذرات، قطر هاله عدم رشد نیز افزایش یافت. همچنین سویه‌های استاندارد و بالینی *استافیلوکوکوس اورئوس* حساسیت بیشتری نسبت به سویه‌های استاندارد و بالینی *سودوموناس آئروژینوزا* نشان دادند. تفاوت در میزان مهار، حاکی از تفاوت در ساختار دیواره سلولی است. *استافیلوکوکوس اورئوس* یک لایه ضخیم حاوی قندها و اسیدهای آمینه دارد (۲۲)؛ در حالی که *سودوموناس آئروژینوزا* دارای لایه‌های متعددی از پروتئین‌ها و لیپیدها است (۲۳).

براساس نتایج، سویه‌های بالینی مقاومت بیشتری نسبت به سویه‌های استاندارد نشان دادند. به نظر می‌رسد

اثر ضد باکتریایی نانوذرات اکسید ساماریوم می تواند به دلیل انتشار کاتیون های فلزی از نانوذرات باشد که کاتیون های آزاد شده توسط باکتری ها جذب می شوند. کاتیون های متصل شده به سطح فسفولیپید های باکتریایی موجب آزاد سازی مواد سلولی از باکتری ها شده که با تنش اکسیداتیو، آسیب DNA و در نهایت مرگ سلول باکتریایی همراه است. همچنین نانوذرات اکسید ساماریوم به دلیل اندازه کوچک، قادر به اتصال به غشای سلولی باکتری و متعاقباً شکستن این ساختارند (۲۸، ۲۹). در مطالعه مطولا کشمی و همکاران، نانوذرات ساماریوم اکسید سنتز شده توسط عصاره برگ آندروگرافیس پانیکولاتا، اثر ضد باکتریایی خوبی علیه استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی نشان داد.

در این مطالعه، تأثیر نانوذرات اکسید ساماریوم بر تولید عوامل حدت شامل پیوسیانین و آلزینات توسط سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد. پیوسیانین رنگدانه ای متعلق به گروه فنالین است که توسط سودوموناس آئروژینوزا تولید شده است و به عنوان یک عامل حدت در مقاومت آنتی بیوتیکی نقش دارد. پیوسیانین، در سلول های یوکاریوتی به عنوان یک سیگنال سلولی، با تأثیر بر بین ژن ها تغییر پاسخ های سلولی را موجب می شود. همچنین غلظت این رنگدانه در ریه بیماران مبتلا به عفونت مزمن فیروز کیستیک ممکن است عملکرد سلول های اپی تلیال را مختل کند و پاسخ ایمنی را کاهش دهد (۳۰).

بر اساس نتایج، پس از تیمار سودوموناس آئروژینوزا با غلظت MIC ۰/۵ از نانوذرات اکسید ساماریوم، غلظت پیوسیانین در سویه بالینی و استاندارد به ترتیب ۲۸/۳۹ و ۴۸/۸۳ درصد در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. در مطالعه ای نانوذرات نقره به طور وابسته به غلظت تولید

یکی از دلایل مقاومت بالاتر سویه های بیماری زا، فعال بودن مکانیسم های بیماری زا یی در آنها و مکانیسم های مقاومت دارویی از جمله فعالیت بالاتر پمپ های افلاکس در آنها در مقایسه با سویه های استاندارد باشد. MexAB-oprM مهم ترین سیستم برای آزاد سازی ترکیبات ضد میکروبی از سلول ها و مقاومت دارویی ذاتی در سودوموناس آئروژینوزا است (۲۴). همچنین NorA و NorB از مهم ترین سیستم های افلاکس پمپ چند دارویی در استافیلوکوکوس اورئوس هستند که روی کروموزوم قرار دارند (۲۵).

مکانیسم های محافظت از بیوفیلم نیز در سویه های بالینی نسبت به سویه های استاندارد تکامل یافته تر هستند که موجب مقاومت بیشتر آنها می شوند. مواد پلیمری خارج سلولی (EPSs) نقش مهمی در حفاظت از بیوفیلم دارند. Pel، Psl، آلزینات، DNA خارج سلولی (eDNA)، لیپیدها و پروتئین ها، اجزای اساسی EPSs در سودوموناس آئروژینوزا هستند. Pel و Psl بیوفیلم را تثبیت و به عنوان داربستی برای ساختار بیوفیلم عمل می کنند. eDNA به عنوان ترکیب پیوندی سلول به سلول در توسعه اولیه بیوفیلم نقش داشته و همچنین یک منبع غذایی برای باکتری ها در طول گرسنگی است (۲۶). در استافیلوکوکوس اورئوس نیز چندین پروتئین سطحی از جمله پروتئین مرتبط با بیوفیلم Bap، SasG، SasC و پروتئین های متصل شونده به فیبرونکتین FnBPA و FnBPB، نقش اساسی در فاز تجمع بیوفیلم دارند (۲۷). سویه های استاندارد به دلیل ماهیت غیر بیماری زا یی معمولاً مقاومت کمتری در برابر ترکیبات ضد میکروبی نشان می دهند؛ اگر چه به منظور بررسی دقیق تر این موضوع، انجام مطالعات بیشتر ضروری به نظر می رسد.

سازگار با محیط زیست انجام شد. روش‌های طیف‌سنجی و بررسی میکروسکوپی، سنتز نانوکریستال‌های مکعبی با اندازه متوسط ۳۲/۶۱ نانومتر با پایداری خوبی را نشان دادند.

براساس نتایج، نانوذرات اکسید ساماریوم فعالیت ضدباکتریایی مؤثری علیه سویه‌های مطالعه‌شده نشان دادند؛ به طوری که با افزایش غلظت نانوذرات، فعالیت ضدباکتریایی آنها نیز افزایش یافت. همچنین، سویه‌های گرم مثبت و استاندارد در مقایسه با سویه‌های گرم منفی و بالینی حساسیت بیشتری نسبت به نانوذرات سنتز شده نشان دادند که بیان‌کننده فعال بودن مکانیسم‌های بیماری‌زایی و مقاومت دارویی بالاتر در سویه‌های بالینی در مقایسه با سویه‌های استاندارد بود.

براساس نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر، از نانوذرات اکسید ساماریوم می‌توان به‌عنوان یک عامل ضدباکتریایی مناسب علیه سویه‌های بالینی مقاوم چند دارویی استفاده کرد. همچنین انجام مطالعات بیشتر به‌منظور پی‌بردن به مکانیسم مولکولی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات اکسید ساماریوم پیشنهاد می‌شود.

رنگدانه پیوسیانین در سودوموناس آئروژینوزا را کاهش دادند؛ به طوری که غلظت‌های ۲۰-۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذره به ترتیب موجب کاهش ۱۵-۱۰۰ درصدی پیوسیانین شد (۳۱). در مطالعه‌ای دیگر اثر غلظت ۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات نقره بر میزان تولید پیوسیانین در سویه‌های بالینی سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد. براساس نتایج، غلظت پیوسیانین در تمام سویه‌ها به‌طور چشمگیری کاهش یافت که این کاهش برابر ۶۶/۶-۷۴/۶۴ درصد بود (۳۲).

آلژینات، پلیمر خطی بدون انشعاب حاوی پیوند بتا-۱ (۴ → دی-مانورونیک<sup>۳</sup> و آلفا-ال-گلوکرونیک<sup>۳</sup> اسید<sup>۳</sup> با نقش اصلی در ثبات ساختاری و حفاظت از بیوفیلم‌ها است. همچنین، تولید بیش از حد آلژینات می‌تواند به مقاومت آنتی‌بیوتیکی منجر شود (۳۳). در این مطالعه، سویه‌های بالینی و استاندارد سودوموناس پس از تیمار با نانوذرات سنتز شده از نظر وسیکوزیته بررسی شدند. نتایج این آزمون بیان‌کننده پتانسیل بالای نانوذرات در مهار تولید آلژینات بود.

در مطالعه حاضر از کورکومین به‌عنوان عامل کاهنده برای سنتز نانوذرات اکسید ساماریوم استفاده شد. احیای یون‌های ساماریوم در دمای اتاق با روشی ارزان و

## References

- (1) Khan I., Saeed K., Khan I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 2019; 12(7): 908-931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
- (2) Muniyappan N., Pandeewaran M., Amalraj A. Green synthesis of gold nanoparticles using *Curcuma pseudomontana* isolated curcumin: Its characterization, antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory activities. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 2021; 3: 117-124. <https://doi.org/10.1016/j.enceco.2021.01.002>
- (3) Ijaz I., Gilani E., Nazir A., Bukhari A. Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. *Journal of Green Chemistry Letters and Reviews*, 2020; 13(3): 223-245. <https://doi.org/10.1080/17518253.2020.1802517>
- (4) Sharma D., Kanchi S., Bisetty K. Biogenic synthesis of nanoparticles: A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 2019; 12 (8): 3576-3600. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.11.002>
- (5) Nambiar S., Osei E., Fleck A., Darko J.,

- Mutsaers A.J., Wettig S. Synthesis of curcumin-functionalized gold nanoparticles and cytotoxicity studies in human prostate cancer cell line. *Journal of Applied Nanoscience*, 2018; 8 (3): 347-57. <https://doi.org/10.1007/s13204-018-0728-6>
- (6) Hanai H., Sugimoto K. Curcumin has Bright Prospects for the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Current Pharmaceutical Design*, 2009; 18 (15): 2087-2094. <https://doi.org/10.2174/138161209788489177>
- (7) Atwood D. A. *The Rare Earth Elements: Fundamentals and Applications*. Wiley; 2013.
- (8) Michel C. R., Martínez-Preciado A. H., Parra R., Aldao C. M., Ponce M. A. Novel CO<sub>2</sub> and CO gas sensor based on nanostructured Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub> hollow microspheres. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2014; 20 (2): 1220-1228. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2014.06.038>
- (9) Wang L., Hu C., Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*, 2017; 12: 1227-1249. <https://doi.org/10.2147%2FIJN.S121956>
- (10) Aderibigbe B. Metal-Based Nanoparticles for the Treatment of Infectious Diseases. *Molecules*, 2017; 18 (15). <https://doi.org/10.3390/molecules22081370>
- (11) Jurado-Martin I., Sainz-Mejias M., McClean S. Pseudomonas aeruginosa: An Audacious Pathogen with an Adaptable Arsenal of Virulence Factors. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021; 22(6). <https://doi.org/10.3390%2FIjms22063128>
- (12) Cheung GYC., Bae J. S., Otto M. Pathogenicity and virulence of Staphylococcus aureus. *Journal of Virulence*, 2021; 12(1): 547-569. <https://doi.org/10.1080%2F21505594.2021.1878688>
- (13) Benelli G., Govindarajan M. Green-Synthesized Mosquito Oviposition Attractants and Ovicides: Towards a Nanoparticle-Based “Lure and Kill” Approach?. *Journal of Cluster Science*, 2017; 28(1): 287-308. <https://doi.org/10.1007/s10876-016-1088-6>
- (14) CLSI. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. 28th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne; 2018.
- (15) Bauer A. W., Kirby W. M., Sherris J. C., Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 1966; 45: 493–496. [https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4\\_ts.493](https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493)
- (16) Prithiviraj B., Bais H. P., Weir T., Suresh B., Najarro E. H., Dayakar B. V., et al. Down regulation of virulence factors of Pseudomonas aeruginosa by salicylic acid attenuates its virulence on Arabidopsis thaliana and Caenorhabditis elegans. *Journal of Infection and Immunity*, 2005; 73 (9): 5319-5328. <https://doi.org/10.1128%2FIAI.73.9.5319-5328.2005>
- (17) Mathee K, Ciofu O, Sternberg C, Lindum P. W, Campbell J. I, Jensen P, et al. Mucoicid conversion of pseudomonas aeruginosa by hydrogen peroxide: a mechanism for virulence activation in the cystic fibrosis lung. *Journal of Microbiology*, 1999; 145: 1349–1357. <https://doi.org/10.1099/13500872-145-6-1349>
- (18) Muthulakshmi V., Balaji M., Sundrarajan M. Biomedical applications of ionic liquid mediated samarium oxide nanoparticles by Andrographis paniculata leaves extract. *Journal of Materials Chemistry and Physics*, 2020; 242. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.122483>
- (19) Putri N., Yulizar Y., Umar A., Apriandanu D. O. B. Sm<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles preparation using caesalpinia pulcherrima leaf extract, characterization and photocatalytic activity. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2020; 902. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/902/1/012012>

- (20) Dědková K., Kuzníková E., Pavelek L., Matějová K., Kupková J., Čech Barabaszová K., et al. Daylight induced antibacterial activity of gadolinium oxide, samarium oxide and erbium oxide nanoparticles and their aquatic toxicity. *Journal of Materials Chemistry and Physics*, 2017; 197: 226-235. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.05.039>
- (21) Iconaru S. L., Groza A., Gaiaschi S., Rokosz K., Raaen S., Ciobanu S. C., et al. Antimicrobial Properties of Samarium Doped Hydroxyapatite Suspensions and Coatings. *Coatings*, 2020; 10 (11). <https://doi.org/10.3390/coatings10111124>
- (22) Idrees M., Sawant S., Karodia N., Rahman A. Staphylococcus aureus Biofilm: Morphology, Genetics, Pathogenesis and Treatment Strategies. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021; 18(14). <https://doi.org/10.3390%2Fijerph18147602>
- (23) Chevalier S., Bouffartigues E., Bodilis J., Maillot O., Lesouhaitier O., Feuilloley M. G. J., et al. Structure, function and regulation of Pseudomonas aeruginosa porins. *FEMS Microbiology Reviews*, 2017; 41(5): 698-722. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux020>
- (24) Ma M., Lustig M., Salem M., Mengin-Lecreux D., Phan G., Broutin I. MexAB-OprM Efflux Pump Interaction with the Peptidoglycan of Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021; 22(10): 5328. <https://doi.org/10.3390%2Fijms22105328>
- (25) Dashtbani-Roozbehani A., Brown M. H. Efflux Pump Mediated Antimicrobial Resistance by Staphylococci in Health-Related Environments: Challenges and the Quest for Inhibition. *Antibiotics*, 2021; 10(12): 1502. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121502>
- (26) Vetrivel A., Ramasamy M., Vetrivel P., Natchimuthu S., Arunachalam S., Kim G. S., et al. Pseudomonas aeruginosa Biofilm Formation and Its Control. *Biologics*, 2021; 1(3): 312-36. <https://doi.org/10.3390/biologics1030019>
- (27) Pant N., Eisen D. P. Non-Antimicrobial Adjuvant Strategies to Tackle Biofilm-Related Staphylococcus aureus Prosthetic Joint Infections. *Antibiotics*, 2021; 10(9): 1060. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091060>
- (28) Velsankar K., Sudhakar S., Parvathy G., Kaliammal R. Effect of cytotoxicity and antibacterial activity of biosynthesis of ZnO hexagonal shaped nanoparticles by Echinochloa frumentacea grains extract as a reducing agent. *Journal of Materials Chemistry and Physics*, 2020; 239. <https://doi.org/10.1016/J.MATCHEMPHYS.2019.121976>
- (29) Nastulyavichus A., Kudryashov S., Smirnov N., Saraeva I., Rudenko A., Tolordava E., et al. Antibacterial coatings of Se and Si nanoparticles. *Journal of Applied Surface Science*, 2019; 469: 220-225. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.11.011>
- (30) Alatraktchi F. A., Svendsen W. E., Molin S. Electrochemical Detection of Pyocyanin as a Biomarker for Pseudomonas aeruginosa: A Focused Review. *Sensors*, 2020; 20 (18). <https://doi.org/10.3390%2Fs20185218>
- (31) El Sayed M. T., El-Sayed A. S. A. Biocidal Activity of Metal Nanoparticles Synthesized by Fusarium solani against Multidrug-Resistant Bacteria and Mycotoxigenic Fungi. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2020; 30(2): 226-236. <https://doi.org/10.4014/jmb.1906.06070>
- (32) Ali S. G., Ansari M. A., Khan H. M., Jalal M., Mahdi A. A., Cameotra S. S. Crataeva nurvala nanoparticles inhibit virulence factors and biofilm formation in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. *Journal of Basic Microbiology*, 2017; 57(3):193-203. <http://dx.doi.org/10.1002/jobm.201600175>
- (33) Limoli D. H., Whitfield G. B., Kitao T., Ivey M. L., Davis M. R., Jr., Grahl N., et al. Pseudomonas aeruginosa Alginate Overproduction Promotes Coexistence with Staphylococcus aureus in a Model of Cystic Fibrosis Respiratory Infection. *mBio*. 2017; 8(2). <https://doi.org/10.1128/mbio.00186-17>

- 
- <sup>1</sup> Biotechnology
  - <sup>2</sup> Muniyappan
  - <sup>3</sup> *Curcuma pseudomontana*
  - <sup>4</sup> Nambiar
  - <sup>5</sup> Turmeric
  - <sup>6</sup> *Curcuma longa*
  - <sup>7</sup> Samarium oxide nanoparticles
  - <sup>8</sup> Multidrug-resistant (MDR)
  - <sup>9</sup> *Pseudomonas aeruginosa*
  - <sup>10</sup> *Staphylococcus aureus*
  - <sup>11</sup> Samarium (III) nitrate hexahydrate
  - <sup>12</sup> Calcination
  - <sup>13</sup> Muffle furnace
  - <sup>14</sup> Transmission Electron Microscopy
  - <sup>15</sup> X-Ray Diffraction
  - <sup>16</sup> Energy Dispersive X-ray Spectrometer
  - <sup>17</sup> Dynamic Light Scattering
  - <sup>18</sup> Tryptic soy broth
  - <sup>19</sup> Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)
  - <sup>20</sup> Minimum Inhibitory of Concentration: MIC
  - <sup>21</sup> Minimum Bactericidal Concentration: MBC
  - <sup>22</sup> Supernatant
  - <sup>23</sup> Acide chlorhydrique
  - <sup>24</sup> Viscosity
  - <sup>25</sup> String test
  - <sup>26</sup> *Andrographis Paniculata*
  - <sup>27</sup> *Caesalpinia pulcherrima*
  - <sup>28</sup> *Enterococcus faecalis*
  - <sup>29</sup> *Escherichia coli*
  - <sup>30</sup> Samarium doped hydroxyapatite nanoparticles (Sm:HAp-NPs)
  - <sup>31</sup> *Candida albicans*
  - <sup>32</sup> Extracellular polymeric substances (EPSs)
  - <sup>33</sup>  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) D-mannuronic
  - <sup>34</sup>  $\alpha$ -L-guluronic acid