



Research Note Article - Extended Abstract

Evaluation of the Effect of Titanium Dioxide Nanoparticles on MDR Bacteria In Vitro and Male Wistar Rats Liver In Vivo

Rozita Hosein Abbasi ¹, Ali Noori ^{2*}, Monir Doudi ³

¹ M. Sc. Student, Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Falavarjan, Isfahan, Iran

² Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Falavarjan, Isfahan, Iran

³ Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Falavarjan, Isfahan, Iran

*Corresponding Author's Email: ali.noori55@gmail.com (A. Noori)

Paper History:

Received: 2021-02-15

Revised in revised form: 2021-08-27

Scientific Accepted: 2021-09-14

Keywords:

Titanium Dioxide Nanoparticles,
Macrodiffusion,
Liver Enzymes,
Well Plate,
Wistar Rats

Abstract

The main objective of the current study was to investigate the effects of titanium dioxide nanoparticles on some Multi-Drug Resistant (MDR) bacteria and consequently, on the liver of male Wistar rats. In this experimental study, nanoparticles in the form of spheres of 20 nm in diameter were synthesized through co-precipitation method, and their antibacterial effect on several bacterial strains was evaluated based on agar well diffusion and macrodilution methods. In addition, the activities of liver enzymes, i.e., ALT, ALP, and AST, and liver tissues in the mice were examined. The obtained data were compared using one-way ANOVA. The results confirmed the ability of these nanoparticles with the concentration of 640 (mg/L) to inhibit the growth of clinical and standard strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, and *Staphylococcus aureus*. In the case of the activities of liver enzymes AST and ALP, the mentioned concentration of nanoparticles caused a significant decrease in the structure of liver tissue with some disorders. The findings of this study revealed that these nanoparticles halted the growth of some pathogenic bacteria. However, after intraperitoneal injection into the mice body, the mentioned nanoparticles reduced the activity of liver enzymes and tissue abnormalities.



<https://doi.org/10.30501/jamt.2021.265267.1149>

URL: https://www.jamt.ir/article_136897.html

1. INTRODUCTION

Titanium dioxide (TiO₂) is one of the metal nanoparticles that is characterized by remarkable photocatalytic properties beneficial for environmental cleaning and strong disinfection with numerous applications in biological and medical fields such as drug and gene transfer [1]. Today, with the emergence of drug resistance in many pathogenic bacteria, treatment of such infectious diseases is facing many problems [2]. The antimicrobial effects of nanoparticles can be useful in controlling the advancement of these diseases [3]. In this respect, the main objective of the current study was to investigate the effects of titanium dioxide nanoparticles on some Multi-Drug Resistant (MDR) bacteria and then on the liver of male Wistar rats.

2. MATERIALS AND METHODS

In this experimental study, nanoparticles in the form of spheres of 20 nm in diameter were synthesized through co-precipitation method [4]. To this end, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), and *Enterococcus faecium* (ATCC 700221) from the Collection of Industrial Microorganisms of Iran and clinical items were purchased from Nobel Boarding Medical Laboratories located in the south of Isfahan. Then, their antibacterial

effect on several bacterial strains were evaluated based on agar well diffusion and macrodilution methods. Further, the activities of liver enzymes, i.e., ALT, ALP, AST, and liver tissue in the studied mice were examined [5]. Data were compared using one-way ANOVA.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Specifications of TiO₂ nanoparticles

Findings from the images of the synthesized TiO₂ nanoparticles using TEM electron microscopy showed that the particles were spherical in shape and about 20 nm in size with uniform distribution. The X-Ray Diffraction (XRD) image also included peaks used for measuring the crystals and calculating the nanoparticle size.

3.2. Findings from inhibiting bacterial growth

The results indicated that inhibition of the growth of *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), and *Enterococcus faecium* (ATCC 700221) in both standard and clinical conditions under the influence of high concentrations of TiO₂ nanoparticles was acceptable. Of note, upon increasing the concentration of nanoparticles, the diameter of the non-growth halos would also increase, meaning that nanoparticles with

Please cite this article as: Hosein Abbasi, R., Noori, A., Doudi, M., "Evaluation of the effect of titanium dioxide nanoparticles on MDR bacteria in vitro and male Wistar rats liver in vivo", *Journal of Advanced Materials and Technologies (JAMT)*, Vol. 11, No. 1, (2022), 55-68. (<https://doi.org/10.30501/jamt.2021.265267.1149>).



concentrations of 520 and 640 mg /l are more effective in inhibiting the bacterial growth.

The results also showed that these nanoparticles with the concentration of 640 (mg/L) were able to inhibit the growth of clinical and standard strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, and *Staphylococcus aureus*. Fakhari et al. in their studies remarked that zinc oxide nanoparticles with the concentration of 640 ppm inhibited the growth of multidrug-resistant clinical *Pseudomonas aeruginosa* [6]. In addition, the effect of antibacterial activity of the coated titanium dioxide on a number of human pathogenic bacteria was confirmed in 2017 [7].

3.3. Results of hepatotoxicity

This concentration of nanoparticles on the activity of liver enzymes (AST, ALP) caused a significant decrease in the structure of liver tissue with some disorders.

According to the obtained results, these nanoparticles halted the growth of some pathogenic bacteria. However, after intraperitoneal injection into the mice body, they reduced the activity of liver enzymes and tissue abnormalities.

4. CONCLUSION

In the present study, the synthesized TiO₂ nanoparticles with spherical morphology of 20 nm in diameter and high concentrations were able to partially inhibit the growth of clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus fascium*, and *Staphylococcus aureus* resistant to several drugs. However, the clinical and standard aspects of *Acinetobacter baumannii* were not affected even at high concentrations. In-vivo studies of male Wistar mice also showed that these nanoparticles with the concentration of 640 (mg /l) adversely affected the activity of liver enzymes AST, ALT, and ALP and also caused histological changes and liver tissue disorders. Due to the less mortality rate in animals, liver disorders may be largely eliminated over time after treatment. However, further research on this subject is required to confirm this statement.

5. ACKNOWLEDGEMENT

This article is the result of a part of the master's dissertation in the field of microbiology with the ID 17230507952039 of Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Iran. The author would like to thank the esteemed officials of the research laboratory and Mr. Sadeghi for their cooperation in injecting and collecting blood from mice.

REFERENCES

1. Jeon, H., Min, Y. J., Ahn, S. H., Hong, S. M., Shin, J. S., Kim, J. H., Lee, K. B., "Graft copolymer templated synthesis of mesoporous MgO/TiO₂ mixed oxide nanoparticles and their CO₂ adsorption capacities", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Vol. 414, (2012), 75-81. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.08.009>
2. Yu, B., Leung, K. M., Guo, Q., Lau, W. M., Yang, J., "Synthesis of Ag-TiO₂ composite nano thin film for antimicrobial application", *Nanotechnology*, Vol. 22, No. 11, (2011), 115603. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0957-4484/22/11/115603/meta>
3. Roy, A. S., Parveen, A., Koppalkar, A. R., Prasad, M. A., "Effect of nano-titanium dioxide with different antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*", *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, Vol. 1, No. 1, (2010), 37. <https://doi.org/10.4236/jbnb.2010.11005>
4. Pandey, N. K., Tiwari, K., Roy, A., "ZnO-TiO₂ nanocomposite: Characterization and moisture sensing studies", *Bulletin of Materials Science*, Vol. 35, No. 3, (2012), 347-352. <https://doi.org/10.1007/s12034-012-0290-x>
5. Xiao, G., Yang, J., Yan, L., "Comparison of diagnostic accuracy of aspartate aminotransferase to platelet ratio index and fibrosis-4 index for detecting liver fibrosis in adult patients with chronic hepatitis B virus infection: a systemic review and meta-analysis", *Hepatology*, Vol. 61, No. 1, (2014), 292-302. <https://doi.org/10.1002/hep.27382>
6. Fakhari, S., Jamzad, M., Kabiri Fard, H., "Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: a comparison", *Green Chemistry Letters and Reviews*, Vol. 12, No. 1, (2019), 19-24. <https://doi.org/10.1080/17518253.2018.1547925>
7. Caratto, V., Ball, L., Sanguineti, E., Insorsì, A., Firpo, I., Alberti, S., Ferretti, M., Pelosi, P., "Antibacterial activity of standard and N-doped titanium dioxide-coated endotracheal tubes: An in vitro study", *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, Vol. 29, (2017), 55-62. <https://doi.org/10.5935/0103-507X.20170009>



مقاله یادداشت پژوهشی

بررسی اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیم در شرایط برون‌تنی بر باکتری‌های MDR و درون‌تنی بر کبد موش‌های نر نژاد ویستار

رزیتا حسین عباسی^۱، علی نوری^{۲*}، منیر دودی^۳^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، فلاورجان، اصفهان، ایران^۲ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، فلاورجان، اصفهان، ایران^۳ استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، فلاورجان، اصفهان، ایران

تاریخچه مقاله:

ثبت اولیه: ۱۳۹۹/۱۱/۲۷

دریافت نسخه اصلاح‌شده: ۱۴۰۰/۰۶/۰۵

پذیرش علمی: ۱۴۰۰/۰۶/۲۳

کلیدواژه‌ها:

نانوذرات TiO₂

رقت لوله‌ای

آنزیم‌های کبدی

چاهک پلیت

موش ویستار

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیم (TiO₂) بر چند سویه باکتری مقاوم به چند دارو و سپس بر کبد موش‌های نر نژاد ویستار انجام شد. در این مطالعه تجربی، نانوذرات کروی به قطر ۲۰ میلی‌متر، به روش هم‌رسوبی، سنتز و اثر ضدباکتریایی آن بر چند سویه باکتری با روش‌های انتشار چاهک در آگار و رقت لوله‌ای (Macrodilution) ارزیابی شد. فعالیت آنزیم‌های کبدی ALT، ALP و AST و بافت کبد در موش‌ها مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way Analysis of Variance) مقایسه شد. نتایج نشان داد غلظت ۶۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات TiO₂، قادر به مهار رشد سویه‌های بالینی و استاندارد سودوموناس آئروژینوزا، اتروکوکوس فاسیوم و استافیلوکوکوس آئروس و نیز کاهش معنادار فعالیت آنزیم‌های کبدی (ALT و ALP) و برخی اختلالات در ساختار بافت کبد می‌شود. یافته‌ها نشان داد که رشد برخی از باکتری‌های بیماری‌زا تحت تأثیر این نانوذرات، متوقف و پس از تزریق درون صفاقی به موش‌ها باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های کبدی و ناهنجاری‌های بافتی می‌شود.

<https://doi.org/10.30501/jamt.2021.265267.1149>URL: https://www.jamt.ir/article_136897.html

۱- مقدمه

مقاومت آنتی‌بیوتیکی برخی از باکتری‌ها با گذشت زمان و دشوار شدن درمان عفونت‌ها، بررسی این مشکل در جامعه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است تا با ارائه راهکارهایی، بتوان از شیوع استقرار^۲ باکتری‌های مقاوم در بیماران و بیمارستان‌ها کاست و با تجویز داروهای بی‌خطر و مؤثر در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های مقاوم به دارو، موجب کاهش مقاومت دارویی باکتری‌ها شد [۳]. نانومواد در پزشکی به‌عنوان معجزه شناخته‌شده در عصر جدید محسوب می‌شوند. بهترین آنتی‌بیوتیک‌هایی که تاکنون سنتز شده‌اند، قادرند ۲۰۰ تا ۲۵۰ نوع از عوامل بیماری‌زا را از بین ببرند؛ درحالی‌که نانومواد حدود

نانومواد بر پایه یون‌های فلزی دارای فعالیت ضد میکروبی گسترده‌ای هستند که علیه بسیاری از میکروارگانیسم‌ها فعالیت دارند. این مواد به‌علت داشتن بار سطحی مناسب و نسبت سطح به حجم زیاد قادرند آنزیم‌ها و دی‌ان‌آ^۱ میکروارگانیسم‌ها را با عدم تعادل الکترون بین گروه‌های دهنده الکترون، غیرفعال کنند و برای مبارزه با میکروب‌های بیماری‌زا می‌توانند انتخاب مناسبی باشند [۱]. عفونت‌های باکتریایی به گسترش همه‌گیری این آلودگی‌ها در جامعه منجر شده است [۲]. باتوجه به افزایش

^۱ DNA^۲ Colonization

*عهده دار مکاتبات: علی نوری

نشانی: ایران، اصفهان، فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست‌شناسی، تلفن: ۰۳۱-۳۲۲۶۶۴۰۵، دورنگار: -

پیام‌نگار: ali.noori55@gmail.com

۶۵۰ نوع از عوامل بیماری‌زا را از بین می‌برند [۴]. همچنین غلظت‌های پایین نانوذرات به دلیل غیرسمی بودن، جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها به‌شمار می‌آیند [۵].

دی‌اکسید تیتانیم (TiO_2) یکی از نانوذرات فلزی است که خواص قابل‌توجه فوتوکاتالیستی در پاک‌سازی محیط‌زیست، ضد عفونی‌کنندگی قوی و کاربردهای متعددی در زمینه‌های بیولوژیکی و پزشکی نظیر انتقال دارو و ژن دارد [۶]. از زمان شناخت باکتری‌ها، بشر همواره در پی یافتن دارویی مؤثر علیه عفونت‌های ناشی از آن‌ها بوده است و باکتری‌ها نیز به سازوکارهای مؤثری جهت از بین بردن آنتی‌بیوتیک‌ها دست‌یافته‌اند [۷]. امروزه با پیدایش مقاومت دارویی در میان بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا، درمان این دسته از بیماری‌های عفونی با مشکلات بسیاری مواجه شده است. نانوزیست‌فناوری^۱ نیروی محرک اصلی برای ایجاد و اعمال تغییرات جدید در زمینه ضدمیکروبی محسوب می‌شود [۸]؛ به‌طوری‌که رویی^۲ و همکاران [۸] در سال ۲۰۱۰ نشان دادند باکتری‌های *استافیلوکوکوس آئروس*^۳ و *لیستریا منوسایتوژنز*^۴ نسبت به باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس*^۵، *اشریشیا کلی*^۶ و *سودوموناس آئروژینوزا*^۷ حساسیت بیشتری به نانوذرات نقره و TiO_2 نشان می‌دهند. همچنین آگیلار^۸ و همکاران [۹] با بررسی فعالیت ضدباکتری TiO_2 روی سلول‌های *سودوموناس آئروژینوزا* نشان دادند که TiO_2 به‌عنوان فوتوکاتالیست دارای اثر ضدباکتریایی بهتری در مقایسه با نانوکامپوزیت ساخته‌شده از TiO_2 است. در تحقیقات دیگری ضمن بررسی خواص نانوذرات [۱۰] به بررسی اثر مهار^۹ نانوذرات TiO_2 و خاصیت فتوکاتالیستی آن بر *استافیلوکوکوس آئروس*، *اشریشیا کلی* و *آسپرگیلوس فلاووس*^{۱۰} (زردافشانکچه) پرداخته شد و مشخص گردید که نانوذرات فوتوکاتالیست TiO_2 پس از فعال‌شدن توسط نور، به اکسایش ترکیبات آلی و معدنی ساختار میکروارگانیسم‌ها در محلول‌های آبی منجر می‌شوند [۱۱]. بنابراین اثر مهارکنندگی

نانوذرات TiO_2 بر رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به اثبات رسید. در مطالعه دیگری فعالیت‌های ضدباکتری نانوذرات اکسید تیتانیم بر *اشریشیا کلی* انجام گرفت، نتایج بیانگر کاربرد بالقوه نانوذرات TiO_2 در زمینه‌های پزشکی و فعالیت ضدباکتریایی این نانوذرات در برابر باکتری‌های بیماری‌زا بود [۱۲]. بررسی خاصیت ضدباکتریایی کامپوزیت‌های ساخته‌شده با TiO_2 نیز نشان داد که نانوکامپوزیت‌های TiO_2 دارای اثر مهار بر رشد باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس آئروس* است [۱۳]. باوجود بررسی‌های انجام‌شده، تاکنون اثر این نانوذرات بر سلامتی انسان به‌طور کامل بررسی نشده است [۱۴]. پیش‌بینی می‌شود که نانومواد می‌توانند با مولکول‌های زیستی وارد واکنش شوند و بر رفتار و خصوصیات سلول و بدن موجود زنده اثر زیادی بگذارند [۱۵]. بنابراین اهمیت مطالعه آنزیم‌های کبدی در این است که تغییر فعالیت‌های این آنزیم‌ها، به‌عنوان شاخص آسیب بافتی، استرس محیطی یا وضعیت بیماری ناشی از اثر ماده آگروژن، محسوب می‌شوند [۱۶]. در این پژوهش باتوجه به ویژگی‌های اختصاصی نانوذرات TiO_2 و مقاومت باکتری‌ها در برابر بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها، تأثیر این نانوذرات بر مهار رشد باکتری‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد و در مورد اثر جانبی آن بر پستانداران، فعالیت آنزیم‌های کبدی (AST^{11} ، ALT^{12} و ALP^{13}) و ساختار آسیب‌شناسی^{۱۴} بافت کبد موش‌های نر نژاد ویستار پس از تزریق درون صفاقی نانوذرات مطالعه شد.

۲- روش تحقیق

۲-۱- آماده‌سازی نانوذرات TiO_2

به‌منظور ساخت نانوذرات TiO_2 ، ۵۰ میلی‌لیتر پیش‌ماده TiCl_4 (Code 257168, CAS Number 7550-45-0C) که از شرکت سیگما-آلدریچ تهیه شد به‌همراه ۳۰ گرم NaOH ، ۶۰ میلی‌لیتر HCl و ۱۰۰ میلی‌لیتر NH_3 در آب دیونیزه حل شد و پس از انجام واکنش‌های هیدرولیزاسیون^{۱۵} و بَسپارش^{۱۶}،

⁹ Inhibitory

¹⁰ *Aspergillus flavus*

¹¹ Aspartate Transaminase

¹² Alanine Aminotransferase

¹³ Alkaline Phosphatase

¹⁴ Pathology

¹⁵ Hydrolyzation

¹⁶ Polymerization

¹ Nanobiotechnology

² Roy

³ *Staphylococcus aureus*

⁴ *Listeria monocytogenes*

⁵ *Bacillus subtilis*

⁶ *Escherichia coli*

⁷ *Pseudomonas aeruginosa*

⁸ Aguilar

باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا* (ATCC 27853)،
استافیلوکوکوس آئروس (ATCC 25923)، *آسینتوباکتر بومانی*^۸
 (ATCC 19606) و *انتروکوکوس فاسیوم*^۹ (ATCC 700221) از
 مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران وابسته به
 سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه^{۱۰}
 و باکتری‌های بالینی از آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شبانه‌روزی
 نوبل واقع در جنوب اصفهان خریداری شدند.

۲-۴- آماده‌سازی حیوانات

این پژوهش به‌طور تجربی روی ۲۰ رأس موش نر نژاد
 ویستار^{۱۱} که از لانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد
 فلاورجان خریداری شده بود، انجام شد. این حیوانات در درجه
 حرارت مناسب آزمایشگاهی (۲۲-۲۰ درجه سلسیوس) و نور
 کافی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری
 شدند. موش‌ها دارای میانگین وزنی 170 ± 10 گرم بودند و به
 دو گروه ده‌تایی (یک گروه کنترل و یک گروه تیمار) تقسیم
 شدند. دوز مورد استفاده جهت تزریق درون صفاقی به موش‌ها
 براساس میانگین وزن موش‌ها تهیه شد. در شرایط استریل، گروه
 تیمار، میزان ۱۰ میلی‌لیتر نانوذرات TiO_2 را به ازای هر کیلوگرم
 وزن بدن به‌صورت درون صفاقی دریافت کرد که معادل دوز
 مؤثر بر مهار رشد باکتری‌ها بود و به گروه شاهد نیز به میزان ۱
 میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به‌صورت درون صفاقی و در ۷ روز
 متوالی تزریق شد [۱۷]. پس از دوره ۷ روزه تیمار، بیهوشی با
 کتامین^{۱۲} و زایلازین^{۱۳} (کتامین ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم
 وزن بدن موش + زایلازین ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم
 وزن بدن موش) صورت گرفت و سپس خون‌گیری در دو مرحله
 (مرحله اول، ۷ روز پس از آخرین روز تزریق، از گوشه چشم و
 مرحله دوم، ۲۱ روز پس از آخرین تزریق، از قلب) انجام شد.
 در نهایت سرم خون‌های جمع‌آوری شده پس از ۱۵ دقیقه
 سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه جداسازی شد [۱۸].

نانوذرات TiO_2 کلوئیدی به‌دست آمد. این محلول به مدت ۳
 ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس درون کوره قرار گرفت تا
 پودر سفیدرنگی حاصل شود. سپس با استفاده از روش‌های
 XRD^1 و TEM^2 (آزمایشگاه مرکزی دانشگاه اصفهان) اندازه،
 خلوص و شکل نانوذرات بررسی شد.

۲-۲- سنجش فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات و آنتی‌بیوتیک‌ها

برای بررسی سنجش حساسیت باکتری‌ها در برابر
 نانوذرات TiO_2 از روش‌های کیفی چاهک پلیت و کمی رقت
 لوله‌ای^۳ (آماده‌سازی رقت سریالی در لوله) استفاده شد. برای این
 هدف، ابتدا محلول‌هایی با کاهش غلظت تدریجی از نانوذرات
 TiO_2 با غلظت‌های (۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۶۰، ۳۲۰، ۵۲۰، ۶۴۰،
 ۱/۲۵ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر) تهیه شد. به کمک روش رقت
 لوله‌ای، حداقل غلظت بازدارنده رشد باکتری‌ها^۴ (MIC) و
 حداقل غلظت کشنده باکتری‌ها^۵ (MBC) تعیین شد. همچنین
 برای بررسی مقاومت دارویی از آزمون پادزی‌نگاره^۶ و روش
 استاندارد کربی-بائر^۷ و آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (P:10
 $\mu\text{g}/\text{disc}$)، ونکومايسين (V:30 $\mu\text{g}/\text{disc}$)، تتراسایکلین (TE:30
 $\mu\text{g}/\text{disc}$)، جنتامایسین (GE:10 $\mu\text{g}/\text{disc}$)، کلرامفنیکل (C:30
 $\mu\text{g}/\text{disc}$)، سیپروفلوکساسین (CP:5 $\mu\text{g}/\text{disc}$)، سولفامتوکسازول
 تری-متوپریم (SXT: 25 $\mu\text{g}/\text{disc}$)، سفتازیدیم کلاولانیک اسید
 (CAC:30 $\mu\text{g}/\text{disc}$) و مروپنم (MEN: 10 $\mu\text{g}/\text{disc}$) استفاده شد
 (تمامی دیسک‌های آنتی‌بیوتیک متعلق به شرکت پادتن طب
 بودند) [۱۰]. در این پژوهش از آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و سرم
 فیزیولوژی به‌ترتیب جهت کنترل مثبت و منفی استفاده شد.
 در این مطالعه خاصیت ضدباکتریایی TiO_2 در طی ۷
 روز مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۳- روش آماده‌سازی نمونه‌های باکتریایی استاندارد

⁸ *Acinetobacter baumannii*

⁹ *Enterococcus faecium*

¹⁰ Lyophilized

¹¹ Wistar Rat

¹² Ketamine

¹³ Xylazine

¹ X-Ray Diffraction

² Transmission Electron Microscopy

³ Macro-Tube Dilution

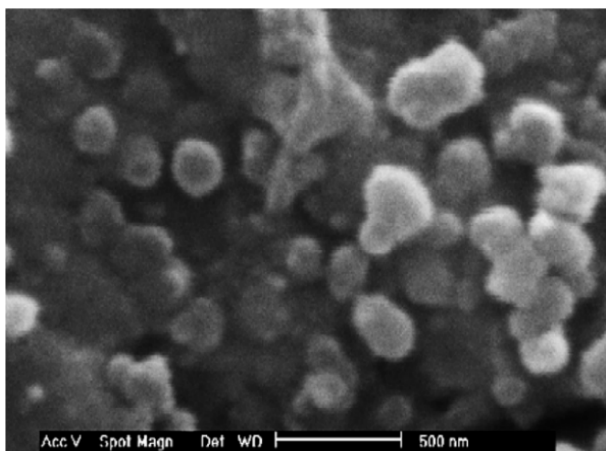
⁴ Minimum Inhibitory Concentration

⁵ Minimum Bactericidal Concentration

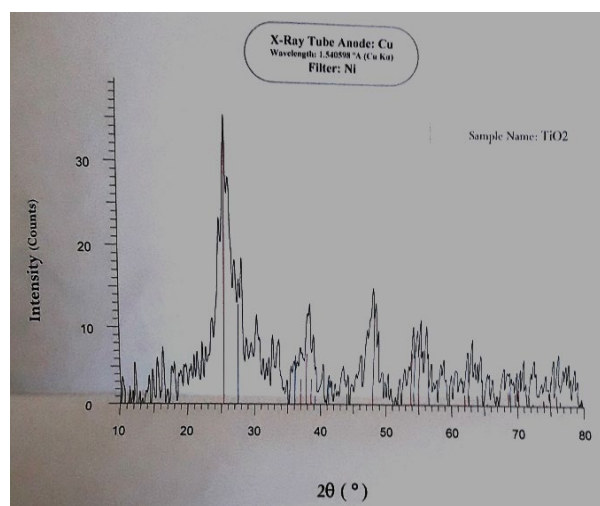
⁶ Antibigram

⁷ Kirby-Bauer Test

استافیلوکوکوس آرتروس (ATCC 25923)، آسیتوباکتر بومانی (ATCC 19606) و انتروکوکوس فاسیوم (ATCC 700221) انجام شد.



شکل ۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی نانوذرات TiO_2 سنتز شده



شکل ۲. پراش پرتو ایکس نانوذرات TiO_2 سنتز شده

باکتری‌های مورد مطالعه در حضور غلظت‌های ۱۶۰، ۲۴۰، ۵۲۰ و ۶۴۰ (میلی گرم بر لیتر) از نانوذرات TiO_2 قرار گرفتند و چون نانوذرات در غلظت‌های پایین‌تر مؤثر نبود، این غلظت‌ها مورد ارزیابی قرار نگرفتند. نتایج جدول ۱ نشان داد که مهار رشد باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا (ATCC 27853)، استافیلوکوکوس آرتروس (ATCC 25923) و انتروکوکوس فاسیوم (ATCC 700221) در دو حالت استاندارد و بالینی تحت تأثیر غلظت‌های بالای نانوذرات TiO_2 قابل قبول است.

سنجش فعالیت آنزیم‌های کبدی آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) با استفاده از کیت‌های آنزیمی (پارس آزمون، کرج، ایران) و به روش (The International Federation of IFCC) با دستگاه اتو آنالایزر^۱ BT.2008 انجام شد [۱۹].

کبد موش‌ها بلافاصله بعد از خون‌گیری دوم (۲۱ روز پس از آخرین تزریق) به منظور بررسی آسیب‌شناسی بافتی^۲، از بدن خارج شد و برش‌های بافتی تهیه و به روش هماتوکسیلین-اوتوزین^۳ رنگ‌آمیزی شد. سپس با میکروسکوپ نوری (Olympus CX23, Japan) مجهز به دوربین (Canon SX70, Japan) مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۸]. تمام مراحل کار با حیوانات از نظر اخلاق پژوهشی مورد تأیید معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان قرار گرفت.

۲-۵- آنالیز آماری

داده‌های حاصل در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ با استفاده از آزمونهای آماری ANOVA و t-test تجزیه و تحلیل شد. سطح معناداری در تمامی آزمون‌ها کمتر یا مساوی ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مشخصات نانوذرات TiO_2

یافته‌های تصویربرداری از نانوذرات سنتز شده TiO_2 با استفاده از میکروسکوپ الکترونی TEM نشان داد که ذرات به شکل کروی، به اندازه ۲۰ نانومتر و با توزیع یکسان و یکنواخت هستند (شکل ۱). همچنین تصویر پراش پرتو ایکس (XRD) در شکل ۲ شامل پیک‌هایی بود که برای اندازه‌گیری بلورها و محاسبه اندازه نانوذرات استفاده شد.

۳-۲- یافته‌های حاصل از مهار رشد باکتری‌ها

این پژوهش به صورت تجربی روی ۸ ایزوله باکتریایی، شامل ۴ ایزوله بالینی و ۴ ایزوله استاندارد مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک (MDR) سودوموناس آئروژینوزا (ATCC 27853)،

³ Haematoxylin and Eosin (H&E)

¹ Auto Analyzer

² Histopathology

جدول ۱. میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر) در غلظت های مختلف نانوذرات TiO_2 مطابق با روش چاهک پلیت در نمونه های باکتریایی بالینی (MDR) و استاندارد

[illegible]

نتایج سنجش غلظت‌های مختلف نانوذرات TiO_2 به روش رقت‌لوله‌ای روی باکتری‌های مورد آزمایش در جدول ۲ ارائه شده است. مطابق این جدول، بالاترین میزان غلظت مهاري رشد (MIC) در دو حالت استاندارد و باليني در بالاترين غلظت

[illegible]

جدول ۳. نتایج حاصل از مقاومت و حساسیت باکتری‌های گرم مثبت به کمک آزمون آنتی‌بیوگرام

آنتی‌بیوتیک / باکتری	کلرامفینیکل (C) (۳۰ µg/disc)	پنی‌سیلین (P) (۱۰ µg/disc)	ونکومايسين (V) (۳۰ µg/disc)	تتراسایکلین (TE) (۳۰ µg/disc)	جنتامایسین (GE) (۱۰ µg/disc)	سیپروفلوکساسین (Cp) (۵ µg/disc)
استافیلوکوکوس آرنوس (ATCC 25923)	S (۲۶/۳ میلی‌متر)	R	S (۲۱/۶ میلی‌متر)	S (۲۰/۳ میلی‌متر)	R	S (۲۲/۶ میلی‌متر)
استافیلوکوکوس آرنوس بالینی	R	R	S (۲۲/۶ میلی‌متر)	R	S (۲۳ میلی‌متر)	S (۳۹/۶ میلی‌متر)
انتروکوکوس فاسیوم (ATCC 700221)	R	R	S (۲۱/۶ میلی‌متر)	S (۲۲ میلی‌متر)	R	R
انتروکوکوس فاسیوم بالینی	S (۳۶/۶ میلی‌متر)	S (۳۰ میلی‌متر)	S (۳۶/۶ میلی‌متر)	S (۸/۶ میلی‌متر)	S (۲۴ میلی‌متر)	R

R: (Resistant) مقاومت باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها

S: (Sensitive) حساسیت باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها

جدول ۴. نتایج حاصل از مقاومت باسیل‌های گرم منفی به کمک آزمون آنتی‌بیوگرام

آنتی‌بیوتیک / باکتری	سولفامتوکسازول تری متوپریم (SXT) (۲۵ µg/disc)	تتراسایکلین (TE) (۳۰ µg/disc)	مروپنم (MEN) (۱۰ µg/disc)	سفتازیدیم کلاولانیک (CAC) (۳۰ µg/disc)	جنتامایسین (GE) (۱۰ µg/disc)	سیپروفلوکساسین (Cp) (۵ µg/disc)
سودوموناس آئروژینوزا (ATCC 27853)	R	S (۱۸ میلی‌متر)	R	R	S (۲۲/۳ میلی‌متر)	S (۳۶ میلی‌متر)
سودوموناس آئروژینوزا بالینی	S (۱۳ میلی‌متر)	S (۱۸/۳ میلی‌متر)	R	R	S (۲۴ میلی‌متر)	S (۴۰ میلی‌متر)
آسیتوباکتر بومانی (ATCC 19606)	S (۱۵/۶ میلی‌متر)	S (۲۵/۳ میلی‌متر)	R	R	R	R
آسیتوباکتر بومانی بالینی	R	S (۱۷/۳ میلی‌متر)	R	R	R	R

R: (Resistant) مقاومت باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها

S: (Sensitive) حساسیت باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها

۳-۳- نتایج حاصل از سمیت کبدی

فعالیت آنزیم ALP در مرحله دوم خون‌گیری کاهش معناداری نسبت به مرحله اول خون‌گیری در گروه تیمار داشت ($p < 0.05$)؛ ولی تأثیر نانوذرات TiO_2 بر فعالیت آنزیم‌های کبدی (ALT)، اختلاف معناداری را بین دو مرحله خون‌گیری نشان نداد (جدول ۵).

در این مطالعه، نانوذرات TiO_2 باعث افزایش معنادار فعالیت آنزیم کبدی (AST) در مرحله دوم خون‌گیری (پس از ۲۱ روز) نسبت به مرحله اول و گروه شاهد شدند. همچنین

جدول ۵. غلظت سرمی آنزیم‌های گروه کنترل و گروه آزمایشی موش‌های نر نژاد ویستار دریافت‌کننده نانوذرات TiO_2 به مدت هفت روز

زمان خون‌گیری	گروه‌ها	آلانین آمینوترانسفراز	آسپاراتات آمینوترانسفراز	آلکالین فسفاتاز
۷ روز پس از آخرین تزریق	شاهد	$67/9 \pm 10/4$	$137/5 \pm 12/02$	$586/8 \pm 121/8$
	تجربی	$73/9 \pm 11/1$	$99/7 \pm 18/6$	$585/5 \pm 112/05$
۲۱ روز پس از آخرین تزریق	شاهد	$66/7 \pm 10/4$	$148/7 \pm 23/6$	$621 \pm 130/6$
	تجربی	$62/1 \pm 10/7$	$167/4 \pm 33/3$	$431/9 \pm 152/6$ *

گروه‌های شاهد دریافت‌کننده سرم فیزیولوژی

گروه‌های تجربی دریافت‌کننده درون صفاقی نانوذرات TiO_2 به مدت ۷ روز

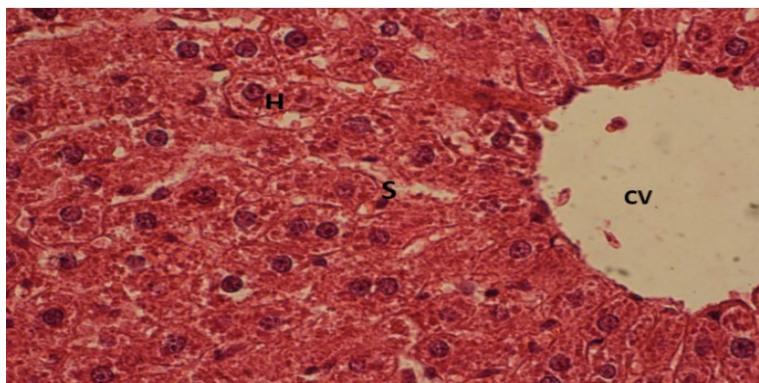
ایزوله بالینی سودوموناس آئروژینوزا به‌ترتیب با غلظت‌های بالاتر از (۶۴۰ ppm و ۵۲۰) در برابر نانوذرات TiO_2 است. مطالعات فخاری و همکاران [۱۹] نشان داد که غلظت ۶۴۰ ppm نانوذرات اکسید روی باعث مهار رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزای بالینی مقاوم به چند دارو شده است. همچنین در سال ۲۰۱۷ فعالیت ضدباکتری تیتانیم دی اکسید پوشش‌دارشده روی تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زای انسانی ثابت گردید [۲۰].

مطابق با جدول ۳، سویه‌های بالینی و استاندارد باکتری‌های استافیلوکوکوس آئروس و انتروکوکوس فاسیوم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و سیپروفلوکساسین مقاوم بودند. در پژوهش نوربخش و همکاران [۲۱]، مشابه این تحقیق، استافیلوکوکوس آئروس‌های بالینی و استاندارد با شناسه (ATCC 25923) نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها به‌خصوص در برابر انواع پنی‌سیلین‌ها مقاوم بودند.

به‌منظور بررسی اثر نانوذرات TiO_2 بر ساختار بافت کبد، لام‌های متعددی مورد مطالعه قرار گرفت و اختلالات گوناگونی مطابق شکل‌های (۳ تا ۸) مشخص شد.

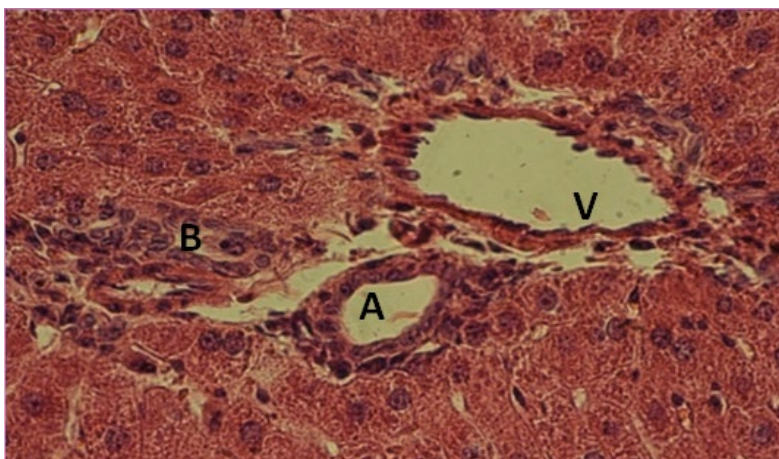
در پژوهش حاضر به‌دلیل خواص ضدباکتریایی نانوذرات، اقدام به سنتز نانوذرات TiO_2 و بررسی تأثیر آن بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا، آنزیم‌ها و بافت کبد موش‌های تحت تیمار شد. یافته‌های حاصل از این پژوهش (جدول ۱) نشان داد که نانوذرات TiO_2 به‌شکل کروی و به‌اندازه ۲۰ نانومتر در بالاترین غلظت مورد آزمایش (۶۴۰ ppm)، بیشترین اثر مهاری را بر سویه‌های بالینی و استاندارد انتروکوکوس فاسیوم داشته است؛ درحالی‌که بر سویه‌های بالینی و استاندارد آسیتوباکتر بومانی که یک بیماری‌زای^۱ فرصت‌طلب بوده و به‌تازگی باعث عفونت‌های زیادی در بیمارستان‌ها شده است، هیچ تأثیری نداشته است. این درحالی است که از نظر آماری، اختلاف‌ها بین غلظت‌های مختلف نانوذرات و قطر هاله‌ها معنادار است ($P < 0.001$).

مطابق با جدول ۲، یافته‌های این پژوهش نشان داد که بیشترین MIC و MBC، مربوط به باکتری آسیتوباکتر بومانی و

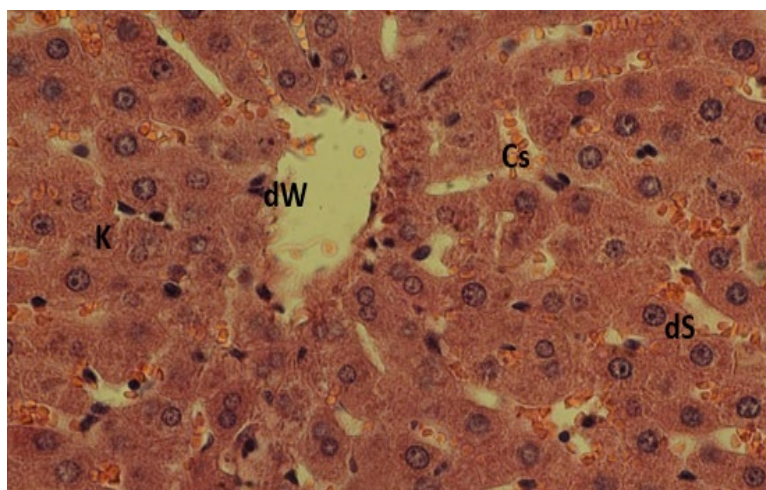


شکل ۳. مقطع بافت کبد گروه کنترل، بزرگنمایی (۴۰۰ برابر)، رنگ‌آمیزی H&E، (CV): سیاهرگ مرکزی، (H): هپاتوسیت‌ها

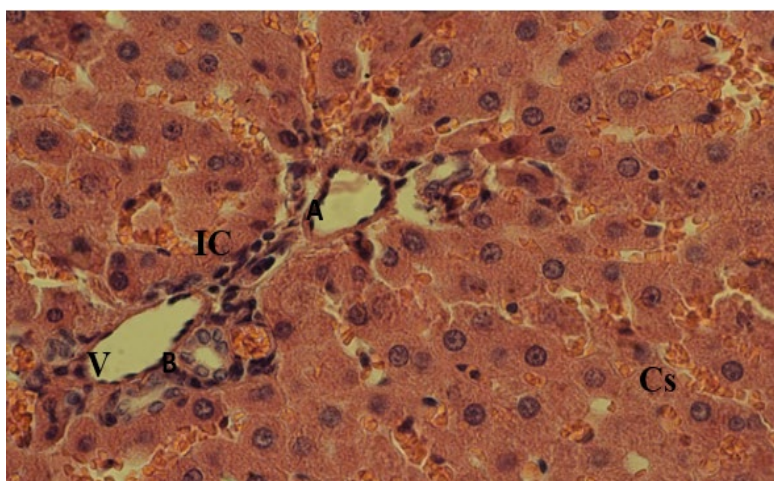
¹ Pathogenic



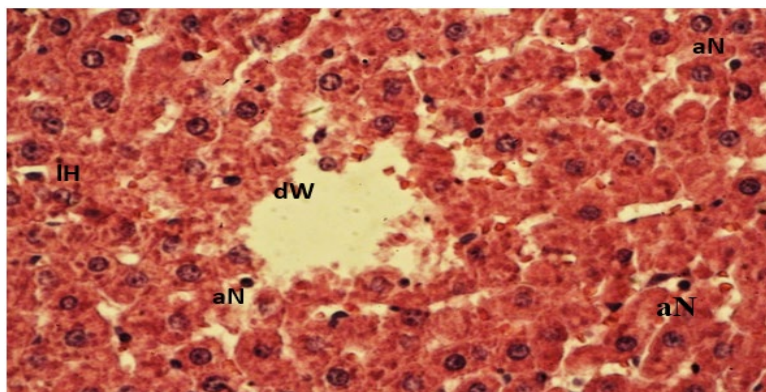
شکل ۴. مقطع بافت کبد گروه کنترل، رنگ‌آمیزی H&E، بزرگنمایی (۴۰۰ برابر)، (A): فضای پورت سرخرگ (دیواره ضخیم و عضلانی)، (V): سیاهرگ کبدی (حفره‌های متسع و دیواره‌های کم و بیش نازک‌تر)، (B): مجرای صفراوی (بافت مکعبی ساده)، (هسته‌های سیاه‌رنگ): تجمع کم و بیش پایینی از سلول‌های التهابی، رنگ‌آمیزی H&E، بزرگنمایی (۴۰۰ برابر)، (dW): تخریب جداره سیاهرگ مرکز لوبولی، (K): سلول‌های کوپفر (ماکروفاژهایی که از جریان خون وارد کبد شده‌اند)، (dS): اتساع و بی‌نظمی سینوزوئیدها، (Cs): تجمع خون در برخی سینوزوئیدها



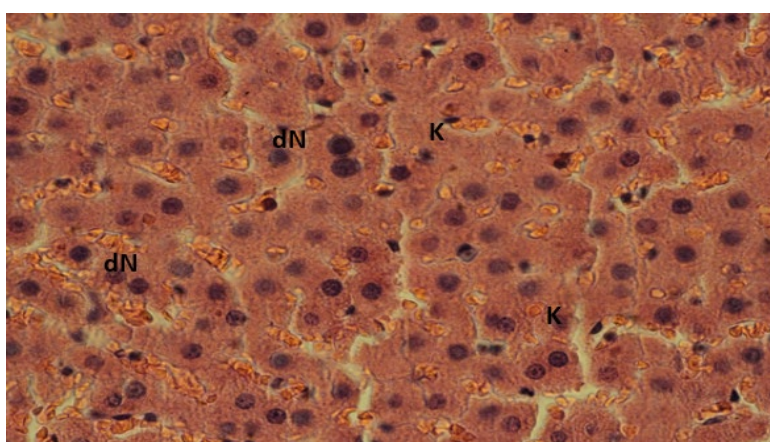
شکل ۵. مقطع بافت کبد گروه تیمار با نانوذرات TiO_2



شکل ۶. مقطع بافت کبد موش‌های گروه تیمار با نانوذرات TiO_2 ، رنگ‌آمیزی H&E، بزرگنمایی (۴۰۰ برابر)، (IC): تجمع سلول‌های التهابی (بازوفیل‌ها و نوتروفیل‌ها) در ناحیه پورتال، (Cs): پرخونی سینوزوئیدها، (A): سرخرگ کبدی، (V): سیاهرگ کبدی، (B): مجرای صفراوی



شکل ۷. مقطع بافت کبد گروه تیمار با نانوذرات TiO_2 ، رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی (۴۰۰ برابر)، (dW): تخریب جداره سیاهرگ مرکز لوبولی، (IH): هپاتوسیت‌های لیز شده، (aN): آتروفی هسته هپاتوسیت‌ها



شکل ۸. مقطع بافت کبد گروه تیمار با نانوذرات TiO_2 ، رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی (۴۰۰ برابر)، (K): سلول‌های کوپفر، (dN): هپاتوسیت‌های دوهسته‌ای (لیز و رها شدن هسته‌ها)

مقاومت این باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌های گلیکوپتیدی در بین *انتروکوکوس* ها به‌خصوص *انتروکوکوس فاسیوم* رو به افزایش است [۲۵]. در این پژوهش نیز مشابه نتایج اربابی و همکاران [۲۵] و محمدی و همکاران [۲۶] مشخص شد که آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر بر مهار رشد این باکتری، نه تنها شامل آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، جنتامایسین، ونکومایسین و تتراسایکلین هستند بلکه مطابق با جداول ۱ و ۲، نانوذرات TiO_2 باعث مهار رشد این باکتری شده‌اند.

در این مطالعه مطابق با جدول ۴، مشخص شد که ایزوله‌های بالینی و استاندارد باکتری‌های گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* و *آسیتوباکتر بومانی* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفنازیدیم کلانولانیک اسید و مروپنم به‌طور مشترک مقاوم هستند؛ ولی باکتری *آسیتوباکتر بومانی* علاوه بر آنتی‌بیوتیک‌های فوق در برابر سیپروفلوکساسین و جنتامایسین هم کاملاً مقاوم

سویه باکتری مقاوم به پنی سیلین و نیز مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های بالینی *استافیلوکوکوس آئروس* در برابر آنتی‌بیوتیک‌های پنی سیلین، کلیندامایسین، تورامایسین و تتراسایکلین توسط رحیمی و همکاران [۲۲] نیز گزارش شده است. از آنجائی‌که این باکتری‌ها در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی و عفونت‌های موجود در جامعه، طیف گسترده‌ای را در بر می‌گیرند و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها از طریق کروموزوم‌ها، پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها حمل می‌شود، این نوع از مقاومت‌ها با مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها نیز افزایش می‌یابد [۲۳ و ۲۴].

باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* نیز به‌صورت ذاتی مقاومت کم و بیش بالایی را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها نشان داده است و توانایی کسب ژن‌های مقاومت را نیز از طریق پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها دارد؛ به‌طوری‌که امروزه مشاهده شده است،

افزایش می‌دهد که این افزایش شاید به دلیل اعمال سمیت غلظت‌های بالای نانوذرات TiO_2 بر هپاتوسیت‌ها باشد. همچنین فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز کاهش معناداری را نسبت به گروه کنترل نشان داد؛ اما یافته‌های حاصل از بررسی آنزیم آلانین آمینوترانسفراز تغییرات معناداری را در جهت تعیین سمیت نانوذرات TiO_2 ارائه نداد.

۴- نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، نانوذرات سنتز شده TiO_2 با ریخت‌شناسی کروی و به‌اندازه ۲۰ نانومتر در غلظت‌های بالا توانست تاحدودی مانع رشد سویه‌های بالینی باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *انتروکوکوس فاسیوم* و *استافیلوکوکوس آئروس* مقاوم به چند دارو شود؛ هرچند متأسفانه بر سویه‌های بالینی و استاندارد آسیتوباکتر بومانی حتی در غلظت‌های بالا مؤثر نبود. همچنین مطالعات درون‌تنی^۲ موش‌های نر نژاد ویستار نشان داد که این نانوذرات در غلظت ۶۴۰ (میلی گرم بر لیتر) بر فعالیت آنزیم‌های کبدی ALT، AST و ALP اثر نامطلوبی دارد و نیز موجب تغییرات بافت‌شناسی و اختلال در بافت کبد موش‌های تحت تیمار می‌شود. با توجه به عدم مرگ و میر در حیوانات، ممکن است با گذشت زمان بیشتری از تیمار، اختلالات کبدی تا حد زیادی برطرف شود که اثبات آن به پژوهش‌های بیشتری نیاز دارد.

۵- سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی با شناسه ۱۷۲۳۰۵۰۷۹۵۲۰۳۹ دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان است و بدین‌وسیله از مسئولین محترم آزمایشگاه تحقیقاتی و نیز از جناب آقای صادقی به‌خاطر همکاری در انجام تزریقات و خون‌گیری از موش‌ها قدردانی و سپاسگزاری می‌شود.

مراجع

1. Stoll, K. R., Scholle, F., Zhu, J., Zhang, X., Ghiladi, R. A., "BODIPY-embedded electrospon materials in antimicrobial photodynamic inactivation", *Photochemical & Photobiological Sciences*, Vol. 18, No. 8, (2019), 1923-1932. <https://doi.org/10.1039/c9PP00103d>

است. نتایج این پژوهش و بسیاری از محققین نشان داده است که سویه‌های این باکتری نسبت به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم است [۲۷ و ۲۸]. مطابق با جداول ۱ و ۲، در این پژوهش هم مشاهده شد که نانوذرات TiO_2 سنتز شده روی این باکتری هیچ تأثیری نداشته است. همچنین، تفاوت چشمگیری بین آثار ضدباکتریایی نانوذرات TiO_2 روی باکتری‌های بالینی مقاوم به چند دارو (MDR) و سویه‌های استاندارد این باکتری‌ها وجود دارد. چنین به نظر می‌رسد که سازوکارهای مقاومت در برابر داروها که به باکتری‌ها این توانایی را می‌دهد که از آنتی‌بیوتیک‌ها اجتناب و دوری کنند، بر عدم کارایی نانوذرات هم تاحدودی مؤثر بوده است [۲۹].

از آنجایی که آمینوترانسفرازها به‌عنوان شاخصی برای سلامت کبد به‌شمار می‌روند و در مراحل اولیه تخریب کبد، آنزیم‌های سیتوپلاسمی هپاتوسیت‌ها ممکن است از سلول‌ها به داخل جریان خون نشت کنند و نفوذپذیری غشاء افزایش یابد [۳۰]، در پژوهش‌های متعدد به‌منظور تشخیص چگونگی تأثیر نانوذرات فلزی بر عملکرد کبد، فعالیت آنزیم‌های کبدی مورد بررسی قرار گرفته است؛ به‌گونه‌ای که نتایج حاصل از مطالعه علیپور و همکاران [۳۰] نشان داد که غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید منیزیم باعث افزایش معناداری بر فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز و همچنین تغییرات بافت‌شناسی کبد موش‌های باردار نژاد NMRI می‌شود. مهدیه و همکاران [۳۱] نشان دادند که افزایش غلظت نانوذرات کروی شکل TiO_2 به‌اندازه ۴۰ نانومتر، باعث افزایش غلظت آنزیم‌های ALT، AST و ALP در موش‌های نر نژاد ویستار می‌شود. در پژوهش دیگری پس از بررسی اثر سمیت نانوذرات اکسید روی و TiO_2 بر تغییرات آسیب‌شناسی بافت^۱ کبد موش‌های سفید آزمایشگاهی نر مشخص گردید که افزایش دوز نانوذرات، تخریب بافت کبد را به‌همراه دارد [۳۲]. از این‌رو، نتایج به‌دست‌آمده از بررسی اثر سمیت نانوذرات TiO_2 بر میزان آنزیم‌های کبدی در این پژوهش نشان داد که این نانوذرات باعث تغییرات معناداری در غلظت‌های این آنزیم‌ها می‌شود؛ به‌گونه‌ای که این نانوذرات پس از گذشت ۲۱ روز بر فعالیت آنزیم اسپارات آمینوترانسفراز سرم اثر گذاشته و فعالیت این آنزیم را

² In vivo

¹ Histopathology

- Journal*, Vol. 90, No. 2, (2006), 619-627. <https://doi.org/10.1529/biophysj.105.061895>
17. Sheydaei, P., Bayrami, A., Azizian, Y., Parvinroo, S., "Study on the toxicity effects of zinc oxide nanoparticles on hematological and serum parameters in mice", *Journal of Arak University of Medical Sciences*, Vol. 19, No. 10, (2017), 39-47. <http://jams.arakmu.ac.ir/article-1-4598-en.html>
 18. Sun, B., Wang, X., Ji, Z., Wang, M., Liao, Y. P., Chang, C. H., Li, R., Zhang, H., Nel, A. E., Xia, T., "NADPH oxidase-dependent NLRP3 inflammasome activation and its important role in lung fibrosis by multiwalled carbon nanotubes", *Small*, Vol. 11, No. 17, (2015), 2087-2097. <https://doi.org/10.1002/sml.201402859>
 19. Fakhari, S., Jamzad, M., Kabiri Fard, H., "Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: A comparison", *Green Chemistry Letters and Reviews*, Vol. 12, No. 1, (2019), 19-24. <https://doi.org/10.1080/17518253.2018.1547925>
 20. Caratto, V., Ball, L., Sanguineti, E., Inorsi, A., Firpo, I., Alberti, S., Ferretti, M., Pelosi, P., "Antibacterial activity of standard and N-doped titanium dioxide-coated endotracheal tubes: an in vitro study", *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, Vol. 29, (2017), 55-62. <https://doi.org/10.5935/0103-507X.20170009>
 21. Nourbakhsh, F., Momtaz, H., "Detection of antibiotic resistance patterns in *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients admitted to Isfahan hospitals during 2014-2015", *KAUMS Journal (FEYZ)*, Vol. 19, No. 4, (2015), 356-363. <http://feyz.kaums.ac.ir/article-1-2788-en.html>
 22. Rahimi, F., Bouzari, M., Katouli, M., Pourshafie, M. R., "Antibiotic resistance pattern of methicillin resistant and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* isolates in Tehran, Iran", *Jundishapur Journal of Microbiology*, Vol. 6, No. 2, (2013), 144-149. <https://doi.org/10.5812/jjm.4896>
 23. Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., Chorosz-Krol, I., "Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: Recent reports", *Gut Pathogens*, Vol. 11, No. 1, (2019), 1-16. <https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0>
 24. Simjee, S., White, D. G., McDermott, P. F., Wagner, D. D., Zervos, M. J., Donabedian, S. M., English, L. L., Hayes, J. R., Walker, R. D., "Characterization of Tn1546 in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated from canine urinary tract infections: Evidence of gene exchange between human and animal enterococci", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 40, No. 12, (2002), 4659-4665. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.12.4659-4665.2002>
 25. Arbabi, L., Boustanshenas, M., Adabi, M., Fathizadeh, S., Rasouli Koochi, S., Afshar, M., Rahbar, M., Majidpour, A., Talebi, M., Talebi Taher, M., "Isolation and antibiotic susceptibility pattern among vancomycin resistant *Enterococci* isolated from clinical samples of different parts of Rasoul-E-Akram hospital", *Journal of Arabil University of Medical Sciences*, Vol. 15, No. 4, (2016), 404-413. <https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?id=485025>
 26. Mohammadi, F., Tabaraie, B., Davudian, E., Maleki, A., Maleknia, S., Nejati, M., Tabaraie, T., "Evaluation of drug resistance frequency among *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains and detection of vanA/B genes in vancomycin resistance isolated by PCR method in Ilam and Kermanshah hospitals", *Iranian Journal of Medical Microbiology*, Vol. 5, No. 1, (2011), 14-18. <http://ijmm.ir/article-1-172-en.html>
 27. Schreiber IV, H. L., Conover, M. S., Chou, W. C., Hibbing, M. E., Manson, A. L., Dodson, K. W., Hannan, T. J., Roberts, P. L., Stapleton, A. E., Hooton, T. M., Livny, J., "Bacterial virulence phenotypes of *Escherichia coli* and host susceptibility determine risk for urinary tract infections", *Science Translational Medicine*, Vol. 9, No. 382, (2017). eaaf1283. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf1283>
 28. Wang, J., Zhou, G., Chen, C., Yu, H., Wang, T., Ma, Y., Jia, G., Gao, Y., Li, B., Sun, J., Li, Y., Jiao, F., Zhao, Y., Chai, Z., "Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration", *Toxicology Letters*, Vol. 168, (2007), 176-185. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.12.001>
 29. Xiao, G., Yang, J., Yan, L., "Comparison of diagnostic accuracy of aspartate aminotransferase to platelet ratio index and fibrosis-4 index for detecting liver fibrosis in adult patients with chronic
 30. Pandey, N. K., Tiwari, K., Roy, A., "ZnO-TiO₂ nanocomposite: Characterization and moisture sensing studies", *Bulletin of Materials Science*, Vol. 35, No. 3, (2012), 347-352. <https://doi.org/10.1007/s12034-012-0290-x>
 31. Narayanamma, A., Rani, A., Raju, M. E., "Natural synthesis of silver nanoparticles by banana peel extract and as an antibacterial agent", *Journal of Polymer and Textile Engineering*, Vol. 3, (2016), 17-25. <https://pdfs.semanticscholar.org/37f0/322904dfb6115963e9b404759363ca05c2e4.pdf>
 32. Ahmed, T., Shahid, M., Noman, M., Niazi, M. B. K., Mahmood, F., Manzoor, I., Zhang, Y., Li, B., Yang, Y., Yan, C., Chen, J., "Silver nanoparticles synthesized by using *Bacillus cereus* SZT1 ameliorated the damage of bacterial leaf blight pathogen in rice", *Pathogens*, Vol. 9, No. 3, (2020), 160. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030160>
 33. Alzahrani, K. E., Niazy, A. A., Alsweileh, A. M., Wahab, R., El-Toni, A. M., Alghamdi, H. S., "Antibacterial activity of trimetal (CuZnFe) oxide nanoparticles", *International Journal of Nanomedicine*, Vol. 13, (2018), 77-87. <https://doi.org/10.2147/IJN.S154218>
 34. Jeon, H., Min, Y. J., Ahn, S. H., Hong, S. M., Shin, J. S., Kim, J. H., Lee, K. B., "Graft copolymer templated synthesis of mesoporous MgO/TiO₂ mixed oxide nanoparticles and their CO₂ adsorption capacities", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Vol. 414, (2012), 75-81. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.08.009>
 35. Yu, B., Leung, K. M., Guo, Q., Lau, W. M., Yang, J., "Synthesis of Ag-TiO₂ composite nano thin film for antimicrobial application", *Nanotechnology*, Vol. 22, No. 11, (2011), 115603. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0957-4484/22/11/115603/meta>
 36. Roy, A. S., Parveen, A., Koppalkar, A. R., Prasad, M. A., "Effect of nano-titanium dioxide with different antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*", *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, Vol. 1, No. 1, (2010), 37. <https://doi.org/10.4236/jbnb.2010.11005>
 37. Diez-Aguilar, M., Morosini, M. I., del Campo, R., Garcia-Castillo, M., Zamora, J., Cantón, R., "In vitro activity of fosfomycin against a collection of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates from 16 Spanish hospitals: Establishing the validity of standard broth microdilution as susceptibility testing method", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 57, No. 11, (2013), 5701-5703. <https://doi.org/10.1128/AAC.00589-13>
 38. Pandey, N. K., Tiwari, K., Roy, A., "ZnO-TiO₂ nanocomposite: Characterization and moisture sensing studies", *Bulletin of Materials Science*, Vol. 35, No. 3, (2012), 347-352. <https://doi.org/10.1007/s12034-012-0290-x>
 39. Alhadrami, H. A., Al-Hazmi, F., "Antibacterial activities of titanium oxide nanoparticles", *Journal of Bioelectronics and Nanotechnology*, Vol. 2, No. 1, (2017). <https://pdfs.semanticscholar.org/2225/691484ea44ab9b731a1177d67f8d12e586c8.pdf>
 40. Feng, S., Zhang, F., Ahmed, S., Liu, Y., "Physico-mechanical and antibacterial properties of PLA/TiO₂ composite materials synthesized via electrospinning and solution casting processes", *Coatings*, Vol. 9, No. 8, (2019), 525. <https://doi.org/10.3390/coatings9080525>
 41. Ochiai, T., Fujishima, A., "Photoelectrochemical properties of TiO₂ photocatalyst and its applications for environmental purification", *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, Vol. 13, No. 4, (2012), 247-262. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2012.07.001>
 42. Saptarshi, S. R., Duschl, A., Lopata, A. L., "Interaction of nanoparticles with proteins: Relation to bio-reactivity of the nanoparticle", *Journal of Nanobiotechnology*, Vol. 11, No. 1, (2013), 1-12. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-11-26>
 43. Brun, E., Barreau, F., Veronesi, G., Fayard, B., Sorieul, S., Chanéac, C., Carapito, C., Rabilloud, T., Mabondzo, A., Herlin-Boime, N., Carrière, M., "Titanium dioxide nanoparticle impact and translocation through ex vivo, in vivo and in vitro gut epithelia", *Particle and Fibre Toxicology*, Vol. 11, No. 1, (2014), 1-16. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-11-13>
 44. Zharov, V. P., Mercer, K. E., Galitovskaya, E. N., Smeltzer, M. S., "Photothermal nanotherapeutics and nanodiagnostics for selective killing of bacteria targeted with gold nanoparticles", *Biophysical*

- nanoparticles on liver histology in mice", *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, Vol. 8, No. 4, (2016). 1313-1316. https://www.researchgate.net/publication/336086963_The_effects_of_titanium_dioxide_nanoparticles_on_liver_histology_in_mice
32. Arbabi, S., Bayrami, A., Sheidaii, P., "An investigation of the toxicity of zinc oxide and titanium oxide nanoparticles on some liver enzymes in male mice" *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, Vol. 16, No. 7, (2017), 633-644. <http://journal.rums.ac.ir/article-1-3690-en.html>
 30. Seyedalipour, S. B., Fattahi, R., Khanbabaee, R., Abdollahpour, R., "The effect of MgO nanoparticles on histopathological and biomarker changes of liver injuries (ALT, ALP, and AST) in pregnant NMRI mice", *Journal of Advances in Medical and Biomedical Research*, Vol. 24, No. 102, (2016), 44-56. <http://zums.ac.ir/journal/article-1-3412-en.html>
 31. Yoosefi, M., Shariat, S., Golabi, M. R., Bahrami, A., Dareshouri, H., Ansaripour, M., Modaresi M., "The effects of titanium dioxide hepatitis B virus infection: A systemic review and meta-analysis", *Hepatology*, Vol. 61, No. 1, (2014), 292-302. <https://doi.org/10.1002/hep.27382>