

Investigation of the Effect of Gold Nanoparticles on Vital Factors of Isolated *Candida albicans* in Patients with Vulvovaginal Candidiasis In Vitro

Alipoor Zh¹, Madani M*¹, Naghsh N², Bayat M³

1. Department of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

2. Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

3. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Specialized Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

* **Corresponding Author.** Tel: +989134097629 Fax: +983137432601 E-mail: mmadani66@gmail.com

Received: Jul 9, 2014

Accepted: Mar 16, 2015

ABSTRACT

Background & objectives: In recent decades, nanotechnology has been developing in medical field, and most of the nanoparticles are highly valuable in hygienic care. Vulvovaginitis is an infectious disease giving rise to problem in genital tract and *Candida albicans* is the main cause of Vulvovaginitis.

Methods: In this study, laboratory effect of gold nanoparticles has been investigated on *Candida albicans* isolates obtained from patients with Vulvovaginitis. *Candida spp.* isolates were obtained from 200 patients referring to medical diagnostic laboratory in Isfahan city during 2013, and identified using mycological methods including germ tube, chlamydoconidia formation, and culturing on chrom agar media. Antifungal effect of gold nanoparticles was evaluated in concentration of 100, 50, 25, and 12.5 ppm on *Candida* isolates using well diffusion and microdilution methods. Fluconazole was used as a positive control and results were analyzed by SPSS15 software using Mann-Whitney, Kruskal-Wallis and average differences analysis tests.

Results: The most averages of clear zone diameter for gold nanoparticle were 18, 15, 12 millimeter, respectively. Minimum inhibitory and fungicidal concentration of gold nanoparticle was determined 6.25, 12.5 ppm and for fluconazole were 50.25±19.48 and 100.50±38.96, respectively. Based on obtained results antifungal activity of gold nanoparticle was dependent to concentration.

Conclusion: In current study, inhibitory effect of gold nanoparticles was evaluated against microorganism. Although the laboratories findings are promising, more investigation should be conducted for therapeutic standardization.

Keywords: Gold Nanoparticles, *Candida albicans*, Vulvovaginal Candidiasis.

بررسی تاثیر نانوذرات طلا بر عوامل حیاتی سویه‌های کاندیدا/آلبیکنس بیماران مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی در شرایط آزمایشگاهی

ژاله علیپور^۱، محبوبه مدنی^{۱*}، نوشین نقش^۲، منصور بیات^۳

۱. گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران ۲. گروه زیست شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران ۳. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۴۰۹۷۶۲۹ فاکس: ۰۳۱۳۷۴۳۲۶۰۱ پست الکترونیک: mmadani66@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: نانوتکنولوژی در دهه‌های اخیر در زمینه‌های پزشکی وارد شده و بسیاری از نانوذرات ارزش بالایی در مراقبت‌های بهداشتی دارند. ولوواژینیت کاندیدایی بیماری عفونی است که اندام‌های جنسی را درگیر می‌کند، عامل اصلی این عفونت مخمر کاندیدا/آلبیکنس می‌باشد. در این تحقیق بررسی آزمایشگاهی اثر نانوذرات طلا بر روی سویه‌های کاندیدا/آلبیکنس جدا شده از بیماران دارای عفونت ولوواژینیت کاندیدایی مطالعه شد.

روش کار: گونه‌های کاندیدا جدا شده از ۲۰۰ بیمار مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شهر اصفهان در سال ۱۳۹۲ با روش‌های قارچ‌شناسی شامل بررسی ایجاد لوله زایا، ایجاد کلامیدوکونیدی و رشد بر روی محیط کروم آگار شناسایی شدند. اثر ضدقارچی نانوذرات طلا (۱۰ نانومتر) در غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و ۱۲/۵ ppm بر روی سوش‌های جدا شده از بیماران با استفاده از روش‌های انتشار چاهک و میکروداپلوشن، بررسی شد. فلوکونازول به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. با استفاده از نرم افزار SPSS-15، آزمون ناپارامتری کراسکال وایس و آزمون ناپارامتری من ویتنی، آنالیز تفاوت میانگین‌ها بررسی شد.

یافته‌ها: بیشترین میانگین قطر هاله عدم رشد نانوذرات طلا در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۲/۵ ppm به ترتیب ۱۸، ۱۵، ۱۲ میلی‌متر بود. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی نانوذرات طلا به ترتیب ۶/۲۵ و ۱۲/۵ ppm و برای فلوکونازول به ترتیب ۵۰/۲۵±۱۹/۴۸ و ۱۰۰/۵۰±۳۸/۹۶ به دست آمد. بر اساس نتایج به دست آمده، فعالیت ضد قارچی نانوذرات طلا وابسته به غلظت بود.

نتیجه گیری: در پژوهش حاضر اثر مهارتی نانوذرات طلا بر روی میکروارگانیزم‌های مورد آزمایش در رقت‌های مورد نظر مشاهده شد. اگرچه نتایج آزمایشگاهی به دست آمده امیدوارکننده هستند، اما تحقیقات بیشتر جهت استاندارد کردن روش‌های درمانی لازم است.

کلمات کلیدی: نانوذرات طلا، کاندیدا/آلبیکنس، ولوواژینیت کاندیدایی

دریافت: ۹۳/۴/۱۸ پذیرش: ۹۳/۱۲/۲۵

مقدمه

کاندیدا/آلبیکنس^۱ به عنوان جزئی از میکروفلور طبیعی پوست و مخاطات بدن انسان در ۷۵٪ از جمعیت انسانی دیده می‌شود و در فضای روده، حفرات دهانی و نواحی ژنیتال بدون عوارض جانبی وجود دارد [۱]. در چند سال اخیر به دلیل افزایش

عوامل مستعدکننده و ابتلا به نقص سیستم ایمنی، عفونت‌های فرصت طلب حاصل از گونه‌های کاندیدا افزایش چشمگیری یافته است. گونه‌های کاندیدا از عوامل عمده ولوواژینیت^۲ زنان در سنین بلوغ و حاملگی می‌باشند [۲، ۳، ۴]. در ۸۵ تا ۹۰ درصد موارد، عامل کاندیدیازیس واژن گونه کاندیدا/آلبیکنس

² Vulvovaginitis

¹ *Candida albicans*

باشد. برخی از آنها به عنوان یک روش جدید برای انجام فرایندهای درمانی اختصاصی به حساب می‌آیند. نانوذرات طلا خاصیت ضد باکتریایی داشته که از این خاصیت در صنعت و پزشکی استفاده می‌شود [۱۷-۱۵]. بدین منظور در این مطالعه تاثیر نانوذرات طلا بر ایزوله‌های *کاندیدا آلبیکنس* بیماران مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد.

روش کار

این مطالعه از نوع نیمه تجربی می‌باشد.

ارگانیسم‌ها

این مطالعه بر روی ۵۰ گونه کاندیدا آلبیکنس جداشده از ترشحات واژینال ۲۰۰ بیمار مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی مراجعه‌کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شهر اصفهان در سال ۱۳۹۲ انجام شد. جهت تشخیص گونه‌ها از روش تولید جرم تیوب در محیط سرم، ایجاد کلامیدوکنیدی بر روی محیط کشت کورن میل آگار و ایجاد کلنی‌های رنگی روی محیط کشت کروم آگار کاندیدا استفاده شد [۱۸،۴]. همچنین از سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس ATCC3153 استفاده شد. مخمرها در محیط کشت سابورو دکستروز آگار (SDA) کشت داده شدند و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگه‌داری شدند. جهت تهیه سوسپانسیون میکروبی از نمونه‌های قارچی در سرم فیزیولوژی استریل سوسپانسیونی معادل ۰/۵ مک فارلند^۱ تهیه شد [۱۹].

آزمایش حساسیت در برابر عوامل ضد میکروبی

نانوذرات طلا

محلول کلوتیدی نانوذرات طلا به‌صورت محلول کلوتیدی در اندازه ۱۰ نانومتر و غلظت ۱۰۰ ppm به شکل کروی و به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر از شرکت

گزارش شده است. تخمین زده می‌شود که ۷۵٪ زنان تا پایان عمر حداقل یک بار به ولوواژینیت کاندیدیایی مبتلا می‌شوند [۵]. در ۵۰-۴۰ درصد موارد برای بار دوم، عود بیماری مشاهده می‌شود [۵،۶]. ولوواژینیت کاندیدیایی از شایع‌ترین عفونت‌های دستگاه اداری تناسلی زنان است و به دلیل پیدایش مقاومت به عوامل ضد قارچی تعیین طرح استراتژیک برای درمان بیماری‌های قارچی یک موضوع مهم در قارچ شناسی بالینی است. تقریباً ۱۰ درصد از بیماران مبتلا به واژینیت کاندیدیایی به درمان آغازین پاسخ نمی‌دهند. لذا در سال‌های اخیر نیاز به کشف ترکیبات جدید ضد قارچی اجتناب‌ناپذیر بوده است [۸،۷]. علایم بیماری ولوواژینیت کاندیدیایی معمولاً خارش، سوزش، مقاربت دردناک، ترشحات پنیری و قرمزی ولوواژن است [۹،۱۰]. درمان‌های طولانی و تکراری، باعث ایجاد ایزوله‌های مقاوم به فلوکونازول در میان گونه‌های کاندیدا شده است. لذا ممکن است مصرف مقادیر ترکیبی از داروهای ضد قارچی باعث کم شدن سمیت حاصل از مصرف دوزهای بالا و منفرد هر یک از ترکیبات به صورت جداگانه شود [۱۱،۳]. فناوری نانو، ساخت مواد در ابعاد نانومتری است. گروهی از این ساختارها که نانوذرات نامیده می‌شوند، حداقل یکی از ابعادشان کمتر از ۱۰۰ نانومتر است. نانوذرات فلزی به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد مورد توجه واقع شده‌اند [۱۲]. خواص اپتیکی و ترموفیزیکی نانوذرات طلا مورد بررسی قرار گرفته و به دلیل عدم سمیت آن‌ها در پزشکی نیز مورد توجه واقع شده‌اند. نانوذرات می‌توانند به عنوان عوامل ضد تومور، درمان لیشمانیای پوستی، ضد HIV، آنتی آنژیوژنز، ضد مالاریا و ضد درد مفاصل مورد استفاده قرار گیرند [۱۳،۱۴]. نانوذرات در چرخه اکوسیستم، پایین‌ترین سطح سمیت را از خود نشان داده‌اند. بنابراین استفاده از آن‌ها برای مبارزه علیه میکروارگانیسم‌های بیماریزا می‌تواند انتخابی مناسب

¹ Mac Farland

سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از انکوباسیون، چاهک‌ها از نظر کدورت بررسی گردیدند. چاهکی که رشد در آن صورت نگرفته بود، به عنوان MIC در نظر گرفته شد. از دو چاهک قبل از چاهکی که در آن رشدی مشاهده نشده بود، بر روی محیط کشت سابارودکستروز آگار کشت داده شد تا مقدار MFC^1 به دست آید [۲۱،۱۸]. در نهایت با استفاده از نرم‌افزار SPSS-15، آزمون ناپارامتری کراسکال وایس و آزمون ناپارامتری من ویتنی، آنالیز تفاوت میانگین‌ها بررسی و جداول و نمودارها با نرم‌افزار Excel 2010 رسم شد. نتایج در سطح معنی‌دار $p < 0.001$ بررسی شد.

یافته‌ها

نتایج تست چاهک حاصل از تاثیر نانوذرات طلا بر

روی نمونه‌های کاندیدا/آلبیکنس

نمودارهای ۱ و ۲ قطر هاله عدم رشد حاصل از تاثیر نانوذرات طلا بر روی ایزوله‌های کاندیدا/آلبیکنس بیماران را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از انتشار در چاهک نشان می‌دهد که قطر هاله عدم رشد نمونه‌های قارچی با افزایش رقت نانوذرات طلا افزایش می‌یابد. قطر هاله عدم رشد در مورد نانوذرات طلا (۱۰ نانومتر) بر روی ایزوله‌ها، صفر تا ۱۸ میلی‌متر و قطر هاله عدم رشد فلوکونازول صفر تا ۱۹ میلی‌متر بود. نتایج تاثیر فلوکونازول نشان‌دهنده مقاومت برخی از ایزوله‌ها به فلوکونازول بود. جدول ۱ میانگین و قطر هاله عدم رشد را در سه غلظت مورد بررسی نشان می‌دهد. میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۵۰ ppm بزرگتر از میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۲۵ ppm و غلظت ۱۲/۵ ppm می‌باشد. در مقایسه با فلوکونازول، هر سه غلظت بررسی شده در نانو طلا، میانگین قطر هاله عدم رشد کمتر است.

پارس آزما رشد تهران خریداری و رقت‌های ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ ppm از آن تهیه شد.

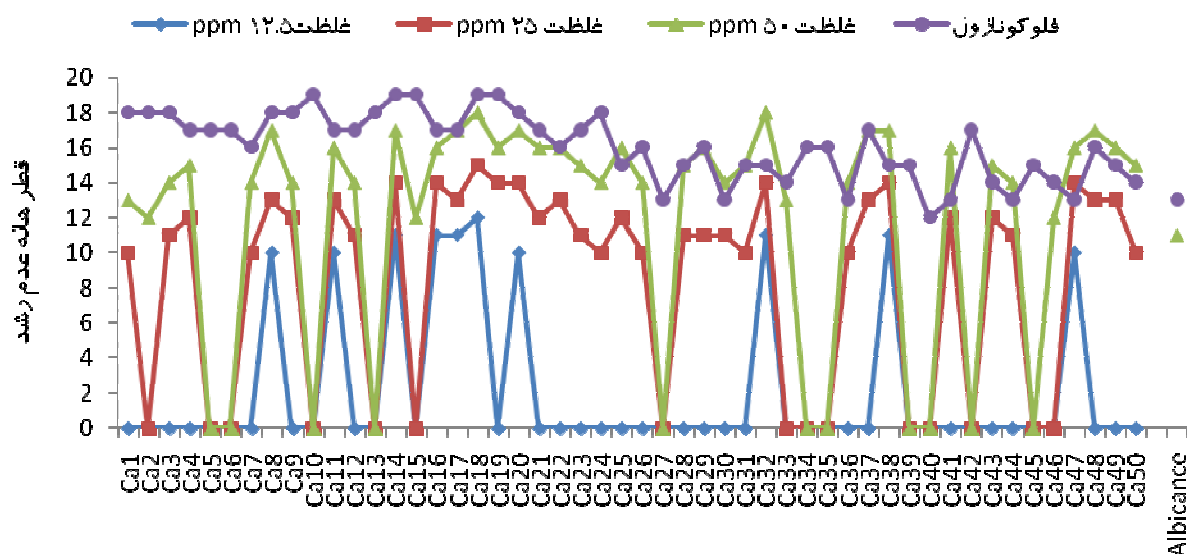
روش انتشار در آگار

از ۵۰ ایزوله کاندیدا/آلبیکنس و همچنین نمونه کاندیدا/آلبیکنس استاندارد ATCC3153 به طور جداگانه، در سطح محیط کشت سابورودکستروز آگار توسط سوپ پنبه‌ای استریل به طور یکنواخت کشت داده شد. سپس با انتهای پیپت پاستور، چاهکی به قطر ۶ میلی‌متر در محیط کشت ایجاد گردید. میزان ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های تهیه شده از نانوذرات طلا در غلظت‌های مورد نظر به طور جداگانه به هر چاهک اضافه شد. از آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی و از فلوکونازول (۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پودر فلوکونازول در دی متیل سولفوکساید ۱٪) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. آزمایش برای هر نمونه سه بار تکرار گردید و قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۲۰، ۴].

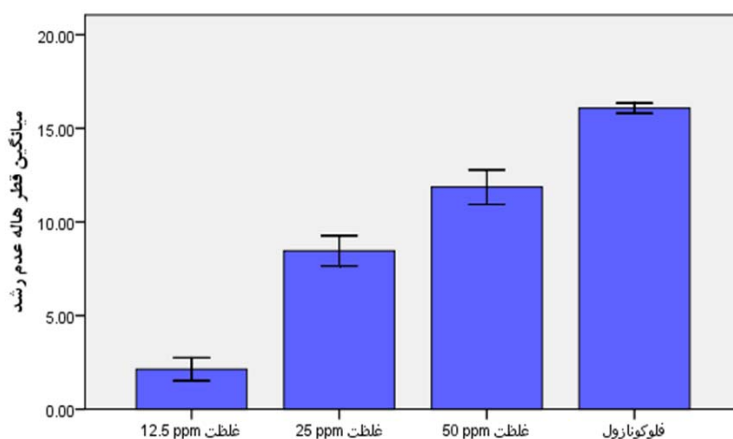
روش میکروداپلوشن

حداقل غلظت مهارکنندگی ماده مورد استفاده با روش میکروداپلوشن M27-A3 تعیین شد [۴]. در این روش ابتدا تحت شرایط آسپتیک، ۱۰۰ میکرولیتر از محیط سابوروز دکستروز برات (Scharlau, Spain) به هر یک از ۹۶ خانه چاهک میکروپلیت استریل اضافه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از رقت ۱۰۰ ppm نانوذره طلا به خانه اول میکروپلیت اضافه گردید و رقت ۵۰ ppm در خانه اول به دست آمد، سپس با سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر از خانه اول به خانه دوم اضافه شد و این عمل تا خانه آخر یعنی تا ۹ خانه تکرار شد تا رقت‌های مورد نظر (۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰...) به دست آید. خانه‌های ۱۰ و ۱۱ در میکروپلیت مربوط به کنترل مثبت و کنترل منفی می‌باشد. در نهایت به همه چاهک‌ها ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی مربوط به هر ایزوله اضافه شد. میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه

¹ Minimum Fungicidal Concentration



نمودار ۱. میانگین قطر هاله عدم رشد جدایه‌های بالینی ۵۰-۱۰-کاندیدا آلبیکنس در غلظت‌های ۵۰، ۲۵ و ۱۲/۵ ppm از نانوذرات طلا و فلوکونازول (بر حسب میلی‌متر)



نمودار ۲. میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های ۵۰ ppm، ۲۵ و ۱۲/۵ از نانوذرات طلا و فلوکونازول (بر حسب میلی‌متر)

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های ۵۰، ۲۵ و ۱۲/۵ (ppm) از نانوذرات طلا و فلوکونازول در غلظت ۲۵ (mg/ml) بر روی ۵۰ نمونه بالینی ایزوله کاندیدا آلبیکنس (بر حسب میلی‌متر)

غلظت	تعداد	کمترین مقدار	بیشترین مقدار	انحراف معیار ± میانگین	p-value
۵۰ (ppm)	۵۰	۰/۰۰	۱۸/۰۰	۱۱/۸۶ ± ۶/۵۲	< ۰/۰۰۱
۲۵ (ppm)	۵۰	۰/۰۰	۱۵/۰۰	۸/۴۶ ± ۵/۷۴	
۱۲/۵ (ppm)	۵۰	۰/۰۰	۱۲/۰۰	۲/۱۴ ± ۴/۳۳	
۲۵ (mg/ml)	۵۰	۱۲/۰۰	۱۹/۰۰	۱۶/۰۸ ± ۱/۹۲	

کراسکال والیس استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده از این آزمون مقدار آماره آزمون برابر $X^2 = 119/245$ با دو درجه آزادی و سطح معناداری آزمون تقریباً برابر صفر بود ($p < 0/001$). بنابراین

برای مقایسه مقادیر قطر هاله عدم رشد در سه غلظت ۵۰، ۲۵ و ۱۲/۵ ppm و مقادیر قطر هاله عدم رشد در فلوکونازول، و با توجه به عدم برقراری فرض نرمال بودن مشاهدات از آزمون ناپارامتری

در سطح خطای پنج درصد فرض برابری مقادیر قطر هاله عدم رشد در سه غلظت ۵۰، ۲۵ و ۱۲/۵ ppm و فلوکونازول رد شد. برای ارزیابی مقایسه‌ای دو به دو میان چهار گروه، بعد از اجرای آزمون کراسکال وایس از آزمون من ویتنی با تعدیل بونفرونی استفاده شد. برای مقایسه مقادیر قطر هاله عدم رشد نانوذرات طلا در این دو غلظت از آزمون ناپارامتری من ویتنی استفاده شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده از این آزمون مقدار آماره آزمون برابر $Z = -4/623$ و سطح معناداری آزمون تقریباً برابر صفر بود ($p < 0/001$). بنابراین در سطح خطای پنج درصد فرض برابری مقادیر قطر هاله عدم رشد در دو غلظت ۵۰ و ۲۵ ppm رد شد. مقادیر قطر هاله عدم رشد در غلظت ۵۰ ppm بطور معناداری بزرگتر از غلظت ۲۵ ppm بود. برای مقایسه مقادیر قطر هاله عدم رشد نانو طلا در این دو غلظت از آزمون ناپارامتری من ویتنی استفاده شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده از این آزمون مقدار آماره آزمون برابر $Z = -6/809$ و سطح معناداری آزمون تقریباً برابر صفر بود ($p < 0/001$). بنابراین در سطح خطای پنج درصد فرض برابری مقادیر قطر هاله عدم رشد در دو غلظت ۵۰ و ۱۲/۵ ppm رد شد. مقادیر قطر هاله عدم رشد در غلظت ۵۰ ppm بطور معناداری بزرگتر بود. برای مقایسه مقادیر قطر هاله عدم رشد نانو طلا در این دو غلظت از آزمون ناپارامتری من ویتنی استفاده شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده از این آزمون مقدار آماره آزمون برابر $Z = -5/423$ و سطح معناداری آزمون تقریباً برابر صفر بود ($p < 0/001$). بنابراین در سطح خطای پنج درصد فرض برابری مقادیر قطر هاله عدم رشد در دو غلظت ۲۵ و ۱۲/۵ ppm رد شد. مقادیر قطر هاله عدم رشد در غلظت ۲۵ ppm بطور معناداری بزرگتر بود. برای مقایسه مقادیر قطر هاله عدم رشد نانو طلا در این دو غلظت از آزمون ناپارامتری من ویتنی استفاده شد. بر اساس

نتایج به‌دست آمده از این آزمون مقدار آماره آزمون برابر $Z = -3/772$ و سطح معناداری آزمون تقریباً برابر صفر بود ($p < 0/001$). بنابراین در سطح خطای پنج درصد فرض برابری مقادیر قطر هاله عدم رشد در غلظت ۵۰ ppm و فلوکونازول رد شد. مقادیر قطر هاله عدم رشد در فلوکونازول از ۵۰ ppm بطور معناداری بزرگتر بود. برای مقایسه مقادیر قطر هاله عدم رشد نانو طلا در غلظت ۲۵ ppm از آزمون ناپارامتری من ویتنی استفاده شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده از این آزمون مقدار آماره آزمون برابر $Z = -7/909$ و سطح معناداری آزمون تقریباً برابر صفر بود ($p < 0/001$). بنابراین در سطح خطای پنج درصد فرض برابری مقادیر قطر هاله عدم رشد در غلظت ۲۵ و فلوکونازول رد شد. مقادیر قطر هاله عدم رشد در فلوکونازول بطور معناداری بزرگتر است. برای مقایسه مقادیر قطر هاله عدم رشد نانو طلا در غلظت ۱۲/۵ ppm از آزمون ناپارامتری من ویتنی استفاده شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده از این آزمون مقدار آماره آزمون برابر $Z = -8/919$ و سطح معناداری آزمون تقریباً برابر صفر بود ($p < 0/001$). بنابراین در سطح خطای پنج درصد فرض برابری مقادیر قطر هاله عدم رشد در غلظت ۱۲/۵ ppm و فلوکونازول رد شد. مقادیر قطر هاله عدم رشد در فلوکونازول بطور معناداری بزرگتر است.

نتایج MIC و MFC بر روی نمونه‌های کانیدید/آلبیکس جdasازی شده از بیماران به روش میکروداپلوشن

میانگین MIC و MFC نانوذرات طلا بر طبق این روش برای نمونه‌های کانیدید/آلبیکس تعیین شد. نتایج این میانگین‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. میانگین مقادیر MIC برای نانوذرات طلا $9/12 \pm 6/08$ و میانگین مقادیر MIC برای فلوکونازول $50/25 \pm 19/48$ به‌دست آمد. بر اساس

گرفت. غلظت‌های ۵۰ و ۲۵/۵ ppm از نانوذرات طلا باعث مهار رشد قارچ مذکور شد. تحقیقات بیانگر آن است که نانوذرات در محیط جامد نسبت به محیط مایع، اثر ضد باکتریایی بیشتری دارند که علت آن ترکیب نانوذره با پلیمرهای موجود در محیط و تشکیل کمپوزیت است [۲۳]. در تحقیق حاضر، مقایسه نتایج انتشار در چاهک و MIC نشان‌دهنده تاثیر بهتر نانوذرات طلا نسبت به فلوکونازول در محیط مایع است. به نظر می‌رسد که در محیط مایع قدرت مهارکنندگی نانوذرات افزایش داشته است.

چوالیبوگ^۲ و همکاران بیان کردند که نانوذرات نقره، نانوذرات طلا، نانو پلاتین (نانوذرات فلزی) برای باکتری‌ها و قارچ‌ها مضر هستند و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، تغییرات مورفولوژی حاصل از بر هم کنش میکروارگانیسم‌ها و نانوذرات را نشان دادند، این بر هم کنش باعث آسیب دیدن سلول‌های قارچ می‌شود. نانوذرات نقره به سطح سلول میکروبی متصل می‌شوند و این اتصال باعث تغییرات ساختمانی و آسیب سلول می‌گردد و به طور خاص فعالیت حیاتی سلول نظیر نفوذپذیری، اثر بر فعالیت آنزیم‌های زنجیره تنفسی و نهایتاً مرگ سلول را منجر می‌شود. نانوذرات نقره، رشد مخمر را مهار می‌کند و فعالیت ضد قارچی علیه گونه‌های مختلف کاندیدا دارد. همچنین نشان دادند که نانوذرات طلا و فلوکونازول پوشیده شده با نانوذرات طلا حداقل غلظت‌های مهارکنندگی متفاوتی را در برابر کاندیدا آلبيکس و آسپرژیلوس نایجر^۳ و آسپرژیلوس فلاووس^۴ نشان می‌دهد. نانوذرات طلا دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی را در کاندیدا آلبيکس تخریب می‌کند و باعث آزاد شدن مواد هوموژن شده و سپس به مواد فیلامنتی متصل شده و باعث متلاشی شدن سلول می‌گردد [۲۵، ۲۴]. در تحقیق زاوراه^۵ و

نتایج به‌دست آمده، بین مقادیر MIC در مقایسه بین فلوکونازول با اثر نانو طلا اختلاف معناداری مشاهده نشد ($p > 0.05$). میانگین مقادیر MFC برای نانوذرات طلا $17/25 \pm 10/38$ و میانگین مقادیر MFC برای فلوکونازول $100/50 \pm 38/96$ به‌دست آمد. برای مقایسه مقادیر MFC در نانوذرات طلا و فلوکونازول از آزمون کراسکال والیس استفاده شد.

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار MIC و MFC برای نانوذرات طلا و فلوکونازول

	MFC	MIC
نانوذرات طلا	$17/25 \pm 10/38$	$9/12 \pm 6/08$
فلوکونازول	$100/50 \pm 38/96$	$50/25 \pm 19/48$

بحث

نانوذرات می‌توانند به عنوان عوامل ضد باکتریایی و ضد قارچی عمل کنند. این تاثیر بر اساس اتصال به سطح سلول‌ها می‌باشد که باعث تغییر و آسیب ساختار سلولی و همچنین عملکردهای سلول نظیر قابلیت نفوذپذیری آن می‌شود. همچنین با ایجاد شکاف‌ها و حفره‌ها، اثر بر فعالیت آنزیم‌های زنجیره تنفسی باعث مرگ سلول می‌شوند [۱۷، ۱۹]. در پژوهش حاضر اثر مهاری نانوذرات طلا بر روی میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش در رقت‌های ppm ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ مشاهده شد، نانوذره طلای مورد استفاده در این تحقیق توانایی مهار رشد ایزوله‌های کاندیدا آلبيکس را نشان داد. نیرمالا^۱ و همکاران تاثیر داروهای ضد قارچی پوشیده شده با نانوذرات طلا را در رقت‌های متفاوت با فلوکونازول بر روی رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس بررسی کردند. بهترین فعالیت ضد قارچی در فلوکونازول پوشیده شده با نانوذره طلای ۴۰ ppm مشاهده شد. قطر هاله به‌دست آمده، ۱۲mm بود [۲۲]. در مطالعه حاضر، غلظت‌های مختلف نانوذرات طلا در برابر نمونه‌های کاندیدا آلبيکس مورد بررسی قرار

² Chwalibog

³ *Aspergillus niger*

⁴ *Aspergillus flavus*

⁵ Zawrah

¹ Nirmala

نانوذرات طلا بر روی میکروارگانسیم‌های مورد آزمایش در رقت‌های مورد نظر مشاهده شد.

نتیجه گیری

با توجه به توان بالقوه نانوذرات طلا در تاثیر بر ایزوله‌های بالینی *کاندیدا آلبیکنس*، امکان استفاده از آن‌ها در درمان بیماری می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. در صورتی می‌توان استفاده‌های گسترده‌ای از نانوذرات طلا برای از بین بردن میکروارگانسیم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها کرد که ابتدا بر روی حیوانات آزمایشگاهی مطالعاتی انجام شود و اثرات درازمدت این نانوذرات بررسی گردد. همچنین لازم است از نظر آلودگی محیط زیست، دلایلی بر عدم سمیت این ترکیبات بر روی محیط زیست به اثبات برسد. در آینده می‌توان به بررسی تاثیر نانوذرات طلا بر روی سایر قارچ‌های مقاوم به دارو و همچنین بررسی تاثیرات انواع نانوذرات و مقایسه تاثیرات ضد قارچی آنها با یکدیگر پرداخت.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجویی مصوب در شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان جهت اخذ کارشناسی ارشد می‌باشد. لذا از کلیه افرادی که در انجام تحقیق همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

همکاران در سال ۲۰۱۱ فعالیت ضد میکروبی نانوذرات طلا بررسی شد. نانوذرات طلا به سطح کاندیدا آلبیکنس متصل شده و باعث آسیب قابل مشاهده در سلول‌ها همراه با تخریب کامل فلاژل‌ها می‌شود [۱۹]. تحقیقات چووالیبوگ همچنین نشان داد که بهترین فعالیت ضد قارچی نانوذرات طلا در برابر *آسپرژیلوس نایجر* و *کاندیدا آلبیکنس* می‌باشد. توانایی ضد میکروبی نانوذرات طلا ممکن است به علت سایز بسیار کوچک آنها (۹-۱۹ nm) باشد. این خاصیت باعث می‌شود که راحت‌تر بتوانند به دیواره سلولی میکروارگانسیم‌ها متصل شده و باعث تخریب آنها شوند. نانوذرات طلا قادر هستند تا شکل و اندازه خود را در حلال حفظ کنند [۲۵،۲۴]. فرایند درمان بوسیله نانوذرات طلا می‌تواند باعث کمتر شدن طول دوره درمان و عوارض جانبی ناشی از داروها شود [۲۷،۲۶]. جبال و همکاران نیز خاصیت ضد قارچی نانوذرات طلای کروی را بر روی ایزوله‌های *کاندیدا آلبیکنس* و همچنین *کاندیدا آلبیکنس* استاندارد در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند [۲۸]. همچنین وانی و همکاران نشان دادند که نانوذرات طلا با مهار فعالیت ATPase در مخمرهای *کاندیدا آلبیکنس*، فعالیت ضد قارچی خود را علیه آنها انجام می‌دهند [۲۹]. با توجه به توان بالقوه نانوذرات طلا در تاثیر بر ایزوله‌های بالینی *کاندیدا آلبیکنس*، امکان استفاده از آن‌ها در درمان بیماری‌ها می‌تواند مورد توجه قرار گیرد [۱۷]. در پژوهش حاضر نیز اثر مهار

References

- 1- Richter SS, Galask RP, Messer SA. Antifungal susceptibilities of *Candida* species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. J Clin Microbiol. 2005 May; 43(5): 2155-2162.
- 2- Elizabeth RB. Alternative therapies for bacterial vaginosis: review and acceptability survey. Altern Ther Health Med. 2005 Sep; 11(5): 38-43.
- 3- Avijgan M, Mirzadeh F, Ahmadi Nia E. The comparative study of anti-fungal effect of pharmaceutical products containing hydroalcoholic extract of *Echinophora platyloba* DC and fluconazole in women with chronic recurrent vaginitis caused by *Candida albicans*. Research J Med Sciences. 2012 Mar; 1(17): 103-107.
- 4- Ahmad Khan MS, Malik A, Ahmad I. Anti-candidal activity of essential oils alone and in combination with amphotericin B or fluconazole against multi-drug resistant isolates of *Candida albicans*. Med Mycol. 2012 Jan; 50(1): 33-42.

- 5- Geiger AM, Foxman B, Gillespie BW. The epidemiology of vulvovaginal candidiasis among university students. *AM J Public Health*. 1995 Aug; 85(8 Pt 1): 1146-1148.
- 6- Ringdahl EN. Treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am fam Physician*. 2000 Jun; 61(11): 3306-3312.
- 7- Vincent JL, Anaissie E, Bruining H, Demajo W. Epidemiology, diagnosis and treatment of systemic *Candida* infection in surgical patients under intensive care. *Intensive Care Med*. 1998 Mar; 24(3): 206-216.
- 8- Yun-Liang Y. The trend of susceptibilities to Amphotericin B and fluconazole of *Candida* species from 1999 to 2002 in Taiwan. *BMC Infectious Diseases*. 2005; 5(1): 99-105.
- 9- Bahmani M, Ghorbani M, Momtaz H, Bahmani E, Rafieian M. The comparison of the in-vitro effects of *Scrophularia deserti* plant and amphotericin B on *Candida albicans*. *J Arak Univ Med Sci*. 2011; 13(4): 15-21(Full text in Persian).
- 10- Jamilian M, Mashadi E, Sarmadi F, Ghaznavi A, Bani Jamadi M, Farhadi E, et al. Frequency of vulvovaginal Candidiasis species in nonpregnant 15-50 years old women in spring 2005 in Arak. *J Arak Univ Med Sci*. 2007 Jul; 10(2): 1-8 (Full text in Persian)
- 11- Kantarcioglu AS, Yucel A. The presence of fluconazole-resistant candida dubliniensis strain among *Candida albicans* isolated from immunocompromised or otherwise debilitated HIV-negative Turkish patients. *Rev Iberoam Mycol*. 2002 Mar; 19 (1): 44-48.
- 12- Shuford K, Schatz G. Optical properties of gold nanospheres. *Nanoscape*. 2005 Apr; 2(1):2733.
- 13- Ortega MA, Rodriguez L, Castillo J, Piscitelli V, Fernandez A, Echevarrial L. Thermo optical properties of gold nanoparticles in colloidal systems. *J Opt A: Pure Appl Opt*. 2008 Sep; 10(10): 104024.
- 14- Bavand Z, Ghorbani SH, Honary S, Rahimi-Esboei B, Torabi N, Barabadi H. In vitro evaluation of the effect of gold nanoparticles on *Giardia lamblia* cyst. *J Arak Univ Med Sci*. 2013 Jan; 16(79): 27-37 (Full text in Persian).
- 15- Imani S, Zagari Z, Rezaei-Zarchi S, Zand AM, Dorodiyan M, Bariabarghoyi H, et al. Antibacterial Effect of CrO and CoFe2O4 Nanoparticles upon *Staphylococcus aureus*. *J Fasa Univ Med Sci*. 2011Oct; 1(3): 175-181 (Full text in Persian).
- 16- Elmi T, Gholami SH, Fakhar M, Azizi F. A review on the use of nanoparticles in the treatment of Parasitic infection. *J Mazand Univ Med Sci*. 2013 Jun; 23(102): 126-133 (Full text in Persian).
- 17- Panyala NR, Pena-Mendez EM, Havel J. Gold and nano gold in medicine: overview, toxicology and perspectives. *J Appl Biomed*. 2009 Jun; 7(1): 75-91.
- 18- Hanafy AM, El-Adl A, Alsarani AQ, Ashfaq M, El-Din A. Epidemiology of cutaneous mycosis in the Medina region of Saudi Arabia correlated with studying the effect of light-induced gold nanoparticles on the growth of dermatophytes in vitro. *AJMR*. 2012 Sep; 6(37): 6668-6677.
- 19- Zawrah MF, Abd El-moez SI. Antimicrobial activities of gold nanoparticles against major foodborne pathogens. *Life Science J*. 2011 Oct; 8(4): 37-44.
- 20- Yeo SSM, Tham FY. Anti-quorum sensing & antimicrobial activities of some traditional Chinese medicinal plants commonly used in South-East Asia. *Malays J Microbiol*. 2012; 8(1): 11-20.
- 21- Sokovic M, Van Griensven LJLD. Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. *Eur J Plant Pathol*. 2006 Sep; 116(3): 211- 224.
- 22- Nirmala Grace A, Pandian K. Antibacterial efficacy of aminoglycosidic antibiotics protected gold nanoparticles—A brief study. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng Aspects*. 2007 Oct; 1(3): 63-70.
- 23- Ataee RA, Derakhshanpour J, Mehrabi Tavana A, Eydi A. Antibacterial effect of calcium carbonate nanoparticles on *Agrobacterium tumefaciens*. *J Mil Med*. 2011 Jul; 13(2); 65-70 (Full text in Persian).
- 24- Chwalibog A, Sawosz E, Hotowy A, Szeliga J, Mitura S, Mitura K, et al. Visualization of interaction between inorganic nanoparticles and bacteria or fungi. *Int J Nanomedicine*. 2010 Dec; 6(5): 1085-1094.
- 25- Munro C. *Candida albicans* cell wall mediated virulence. In: Ashbee R, Bignell EM. *Pathogenic Yeasts*, Germany: Springer- vrlag, 2010:69-95.

- 26- Connor EE, Mwamuka J, Gole A, Murphy CJ, Wyatt MD. Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. *Small*. 2005 Mar; 1(3):325–327.
- 27- Zheng Y, Satchell L. Gold nanoparticles enhance DNA damage induced by anti-cancer drugs and radiation. *Small*. 2009 Jul; 172(1):114–119.
- 28- Jebali A, Hajjar FH, Pourdanesh F, Hekmatimoghadam S, Kazemi B, Masudi M, et al. Silver and gold nanostructures: antifungal property of different shapes of these nanostructures on *Candida* species. *Med Mycol*. 2014 Jan; 52(1): 65-72.
- 29- Wani IA, Ahmad T, Manzoor N. Size and shape dependant antifungal activity of gold nanoparticles: a case study of *Candida*. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2013 Jun; 101(1): 162-170.