Investigating the Antibacterial Effect of Zinc Oxide / Banana Peel Bionanoparticles on Multidrug-resistant Uropathogenic Bacteria Isolated from Children Under Two Years of Age

Maryam Bagheri Mohammad Gholipour [1], Monir Doudi[1*], Ali Mohammad Ahadi[2], Gholam Reza Amiri[3]

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

2. Department of Genetics, Shahrekord University, Shahrekord, Chaharmahal and Bakhtiari, Iran

3.Department of Basic Sciences, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Falavarjan, Isfahan, Iran

Abstract

Aim and Background: Urinary tract infections have significant complications and high costs and can lead to death. Appropriate treatment has been challenged due to high drug resistance. The aim of the present study was the biosynthesis of zinc oxide nanoparticles/banana peel on multi-drug resistant uropathogenic bacteria in children under two years of age.

Material and methods: In this study, bionanoparticles of zinc oxide/banana peel were synthesized and the structural, optical, morphological, and particle size characteristics were investigated using X-ray diffraction, ultraviolet absorption spectrum, and scanning electron microscopy. Biochemical tests and Colony-PCR technique were used to identify bacteria. The antibacterial properties of the synthesized nanoparticles were evaluated by the Agar dilution method on isolated bacteria.

Results: According to the XRD, SEM, and UV-Vis results, the synthesized zinc oxide had a hexagonal structure with a size of 100 nm and absorption at a wavelength of 258 nm. Bacterial strains of *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* and *Klebsiella pneumoniae* multidrug-resistant Uropathogenic bacteria were identified using morphological, biochemical, and molecular characteristics. The results of antibacterial tests showed that bionanoparticles of zinc oxide/banana peel at a concentration of 0.6 g/L were effective against all bacteria.

Conclusion: The findings of this research showed that zinc oxide/banana peel bio-nanoparticles had an effective antibacterial effect against multi-drug resistant UTI bacteria in children under two years of age.

Keywords: Urinary Tract Infections, Drug Resistance, Biosynthesis, Zinc Oxide, Iau Science.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

Corresponding author:
Department of Microbiology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Falavarjan, Isfahan, Iran
Email: Doudi@iaufala.ac.ir

مقاله پژوهشی

بررسی اثر ضد باکتریایی بیونانوذرات اکسیدروی / پوست موز بر باکتری های مسبب عفونت ادراری مقاوم به چند داروی جدا شده از کودکان زیر دو سال

مریم باقری محمدقلی پور[۱]، منیر دودی[۱*]، علی محمد احدی[۲]، غلامرضا امیری[۳]

۱.گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، فلاورجان، اصفهان، ایران
۲.گروه ژنتیک، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، چهارمحال و بختیاری، ایران
۳.گروه علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، فلاورجان، اصفهان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: عفونت‌های ادراری عوارض قابل توجه و هزینه‌های بالایی دارند و می‌توانند منجر به مرگ و میر شوند. درمان مناسب به‌دلیل مقاومت دارویی بالا، با چالش مواجه شده است. هدف از پژوهش حاضر بیوسنتز نانوذرات اکسیدروی / پوست موز و بررسی اثر ضدباکتریایی آن بر باکتری‌های اوروپاتوژنیک مقاوم به چند دارو در کودکان زیر دو سال می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه بیونانوذرات اکسیدروی/ پوست موز به روش شیمیایی مرطوب سنتز شد و مشخصات ساختاری، اپتیکی، مورفولوژیکی و اندازه ذرات با استفاده از پراش اشعه ایکس، طیف جذبی فرابنفش و میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت. جهت شناسایی باکتری‌های مقاوم به چند داروی مسبب عفونت ادراری در کودکان از آزمون‌های بیوشیمیائی و روش Colony-PCR استفاده شد. خواص ضدباکتریایی نانوذرات سنتز شده با روش آگار دایلوشن مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: با توجه به نتایج XRD، SEM و UV-Vis، اکسیدروی سنتز شده دارای ساختار شش وجهی با اندازه ۱۰۰ نانومتر و دارای جذب در طول موج ۲۵۸ نانومتر بود. سویه های باکتریایی *اشریشیا کلی*، *پروتئوس میرابیلیس* و *کلبسیلا پنومونیه‌ی* اوروپاتوژنیک مقاوم به چند دارو با استفاده از خصوصیات مرفولوژی، بیوشیمیائی و مولکولی شناسایی شدند. نتایج آزمون‌های ضدباکتریایی نشان داد که بیونانوذرات اکسیدروی/ پوست موز در غلظت ۰/۶گرم بر لیتر بر همه باکتری‌ها موثر بود.

نتیجه‌گیری: یافته های این پژوهش نشان داد که بیو نانوذرات اکسیدروی/پوست موز دارای اثر ضد باکتری موثری بر علیه باکتری‌های مسبب عفونت ادراری مقاوم به چند دارو در کودکان زیر دو سال بود.

واژگان‌کلیدی: عفونت دستگاه ادراری، مقاومت دارویی، بیوسنتز، اکسیدروی، Iau Science.

مقدمه

عفونت دستگاه ادراری[1] وضعیتی است که در آن هر قسمت از دستگاه ادراری (مجرای ادرار، مثانه، حالب و کلیه) با برخی از میکروب‌های بیماری‌زا که از سد دفاعی میزبان فرار کرده و در مجرای ادراری کلونیزه شده اند، آلوده می شود (۱). این عفونت، شایع‌ترین بیماری اورولوژیکی و کلیوی است که میزان قابل توجهی از عوارض و هزینه‌های بالای پزشکی را به همراه دارد و همچنین می تواند منجر به مرگ و میر فراوانی شود (۲،۳). اعضای خانواده انتروباکتریاسه، شایع‌ترین پاتوژن‌های عفونت دستگاه ادراری هستند که در طبیعت، در حیوانات (به ویژه پستانداران)، دستگاه گوارش انسان و محصولات غذایی و سبزیجات آلوده وجود دارند

نویسنده مسئول:
گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، فلاورجان، اصفهان، ایران.
پست الکترونیکی: Doudi@iaufala.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۳

[1] Urinary tract infection- UTI

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

(۴،۵). ٪۷۰-۹۵ موارد عفونت ادراری، ناشی از *اشریشیا کلی* و ۲۰-۵٪ موارد توسط *کلبسیلا پنومونیه* و تعدادی از موارد نیز توسط *پروتئوس میرابیلیس* ایجاد می شود (۶). امروزه مقاومت ضد میکروبی به یک نگرانی بزرگ تبدیل شده است که بسیاری از پیشرفت های پزشکی را در قرن بیست و یکم تهدید می‌کند. میکروارگانیسم‌های اوروپاتوژنیک نیز از این امر مستثنی نیستند. نرخ مقاومت ضد میکروبی در بین انتروباکتریاسه‌ها در سطح جهانی در حال افزایش است (۷) و درمان مناسب در برابر عفونت های ادراری به دلیل مقاومت بالا به آنتی بیوتیک‌های معمول تجویز شده و شیوع روزافزون جهانی میکروارگانیسم‌های مقاوم به چند دارو که باعث عفونت ادراری می شوند، چالش برانگیز شده است (۸). فناوری نانو یک دامنه علمی چند رشته ای است که به بررسی مواد در محدوده ی نانو، عموما بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر پرداخته و در زمینه‌های مختلف علمی از جمله شیمی، فیزیک، زیست، دندان پزشکی، داروسازی و علم مواد مورد استفاده قرار گرفته است (۹،۱۰). برای سنتز نانوذرات، چندین روش فیزیکی و شیمیایی گزارش شده است، اما امروزه نیاز به توسعه روش‌های سنتز سازگار با محیط زیست که در طی فرایند از مواد سمی استفاده نمی‌کنند و انرژی کمی مصرف می‌کنند، افزایش یافته است (۱۱). روش های فیزیکی دارای مشکلاتی همچون؛ استفاده از تجهیزات گران قیمت، دما و فشار بالا و فضای وسیع برای راه اندازی ماشین آلات می باشند و روش‌های شیمیایی نیز دارای معایب استفاده از مواد شیمیایی سمی است که می-تواند برای محیط زیست و کاربر خطرناک باشد (۱۲،۱۳). اخیراً برای سنتز نانوذرات، روش های جدید و پایدار تحت عنوان "نانوبیوتکنولوژی" توسعه یافته‌اند (۱۴). نانوتکنولوژی سبز راه حل مناسبی برای کاهش اثرات منفی تولید و کاربردهای نانومواد و کاهش خطرات نانوتکنولوژی می باشد (۱۵،۱۶). بیشترین تولید جهانی در میان اکسیدهای فلزی نانو، برای TiO_2، SiO_2 و ZnO تخمین زده شده است. نانوذرات اکسیدروی (ZnO)[۲] علیه میکروارگانیسم‌ها مؤثر هستند و مکانیسم عمل آن‌ها به فعال شدن توسط نور و توانایی تجزیه غشای سلولی و تجمع در سیتوپلاسم که باعث مرگ سلولی می‌شود، نسبت داده شده است. نانوذرات ZnO به دلیل زیست سازگاری عالی و سمیت کم، به ویژه به عنوان ضد سرطان و ضد باکتری، به دلیل توانایی بالا در تحریک تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن[۳] ، آزاد کردن یون‌های روی و القای آپوپتوز سلولی، در زیست پزشکی استفاده می شوند (۱۷،۱۸). علاوه بر این، ZnO به دلیل خواص غیر سمی، توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده ایمن شناخته شده است. در نتیجه، استفاده از آن برای انسان و حیوانات بی‌خطر می‌باشد (۱۹). سنتز نانوذرات اکسیدروی از طریق روش بیولوژیکی با استفاده از آنزیم‌ها، میکروارگانیسم ها، گیاهان و عصاره آن ها به عنوان روشی بدون هزینه مطرح شده است. این روش سازگار با محیط زیست به دلیل عدم استفاده از مواد شیمیایی سمی و ترکیبات با انرژی بالا در فرایند سنتز، توجه زیادی را به خود جلب می‌کند و جایگزینی برای روش‌های شیمیایی و فیزیکی است (۲۰). گیاهان دارویی از دیرباز مورد استفاده مردم برای درمان بوده‌اند. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که گیاهان کاندید بسیار مناسب برای بیوسنتز نانوذرات در مقیاس بزرگ هستند و سرعت سنتز آن‌ها در مقایسه با سایر موجودات سریع‌تر است (۱۶). به همین دلیل، از عصاره های گیاهان می توان برای توسعه ترکیبات ضد میکروبی جدید با ساختارهای شیمیایی مختلف و مکانیسم های عمل جدید، برای ایجاد مانع در برابر گونه های مقاوم به چند دارو از میکروارگانیسم‌ها استفاده کرد (۲۱). بر اساس معیارهای تعیین شده توسط موسسه ملی استاندارد سرطان[۴]، عصاره پوست موز برای سلول های طبیعی انسان غیر سمی می‌باشد بنابراین، آن را می‌توان به عنوان منبع طبیعی آنتی اکسیدان‌ها برای افزایش ارزش مواد غذایی استفاده کرد. موز به عنوان یک گیاه گرمسیری با تولید مقادیر زیادی آنتی اکسیدان از خود در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از نور خورشید و درجه حرارت بالا محافظت می کند (۲۲). موز علاوه بر نسبت بالای مشتقات قند، اسیدهای چرب اشباع نشده، استرول ها و مواد معدنی (مانند پتاسیم) و ویتامین‌های مختلف (به عنوان مثال، پرویتامین A، B_1، B_2، C) ، دارای غلظت بالایی از مواد شیمیایی فعال زیستی مانند گلیکوزیدها، و اسیدهایی مانند اسید اگزالیک و اسید مالیک است (۲۳). سالانه بیش از ۱۱۴ میلیون تن موز تولید می شود. پوست میوه تقریباً یک سوم وزن میوه را تشکیل می‌دهد، با توجه به اینکه معمولاً به عنوان دورریز در صنایع غذایی دور ریخته می‌شود، ارزان، در دسترس، غیر سمی و دوستدار محیط زیست بوده و همچنین طبق بررسی های محققین، دارای خواص ضدمیکروبی موثری در برابر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت می باشد، در نتیجه، ثابت می‌شود که می‌توان

[2] Zinc oxide- ZnO
[3] Reactive Oxygen Spicies- ROS
[4] National Cancer Standard Institute

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

از عصاره پوست موز به عنوان منبع مناسبی برای سنتز آنتی بیوتیک‌های جدید استفاده نمود (۲۴،۲۵).

از میان روش‌های سنتز نانوذرات، روش شیمیایی مرطوب دارای مزایایی همچون؛ سنتز در دمای پایین، تولید محصولاتی با خلوص بالا، راندمان نسبتا بالای تولید و مقرون به صرفه می باشد (۲۶). از روش رقت سازی آگار یا آگار دایلوشن[5] برای بررسی مناطق عدم رشد میکروارگانیسم ها در یک نمونه مخلوط استفاده می‌شود، که قبل از انجماد به یک محیط آگار مذاب اضافه می‌شود. این روش به دلیل پخش یکنواخت نانوذرات در تمامی قسمت های پلیت و ارتباط موثر نانوذرات با باکتری‌ها می تواند به عنوان یک روش جهت ارزیابی قدرت ضدمیکروبی نانوذرات مورد استفاده قرار بگیرد که در برخی از رفرانس‌ها محققین به استفاده از این روش اشاره کرده اند (۲۷،۲۸). هدف از این مطالعه، بررسی اثر ضدمیکروبی بیونانوذرات اکسیدروی /پوست موز سنتز شده با روش شیمیایی مرطوب بر باکتری های شایع مسبب عفونت های ادراری و مقاوم به چند آنتی بیوتیک شامل : *اشریشیا کلی*، *پروتئوس میرابیلیس* و *کلبسیلا پنومونیه* بود.

مواد و روش‌ها

سنتز سبز نانوذرات اکسیدروی (ZnO)

جهت سنتز سبز نانو ذرات اکسیدروی، ابتدا پوست‌های موزهای خریداری شده از سیستان و بلوچستان ایران با آب مقطر استریل شستشو داده شد و سپس درون آون ۵۰ درجه سلسیوس قرار گرفت و پس از خشک شدن آسیاب گردید. در مرحله بعد، ۵ گرم از پودر پوست های خشک شده به همراه ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای۶۰ درجه سلسیوس جوشانده شد و در دمای اتاق (۲۵ درجه سلسیوس) سرد شد، جهت جداسازی عصاره از سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ rpm استفاده شد (۲۹). مواد شیمیایی مصرف شده در این پژوهش از شرکت مرک آلمان تهیه شده است. در مسیر سنتز، یک گرم نیترات روی ۶ آبه ($Zn(NO_3)_2.6H_2O$) در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر استریل حل شد. سپس محلول نیترات روی در ظرف واکنش (که یک بالون تک دهانه بود) ریخته شد و در حین هم خوردن یکنواخت با همزن مغناطیسی، ۵۰ میلی لیتر عصاره پوست موز قطره قطره (هر ۳ ثانیه یک قطره) از طریق سوکسله وارد بالن شد. در این آزمایش، تنظیم جریان به گونه ای بود که در هر ۳ ثانیه یک قطره عصاره به بالن وارد می شد. براساس تجربه، در این نرخ، توزیع اندازه ذرات باریک تر است. در این مرحله و پس از گذشت چند دقیقه، آثار تشکیل نانوذرات در بالن قابل مشاهده بود. نرخ ورود محلول ها، سرعت چرخش مگنت و دیگر پارامترها تا پایان آزمایش بدون تغییر باقی ماندند تا همه ی نانوذرات در شرایط یکسان تولید گردند، سپس نانوذرات ZnO شروع به رسوب درون ظرف نمود. محصول به دست آمده ۴ بار با آب مقطر شست و شو داده شد و جهت خشک شدن، به مدت ۲۴ ساعت در آون ۵۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. سرانجام رسوب بدست آمده به مدت یک ساعت در کوره ۵۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. محصول بدست آمده توسط XRD ، Uv-Vis و SEM مورد بررسی قرار گرفت. سپس جهت بررسی خاصیت ضد باکتریایی از روش کیفی آگار دایلوشن که در برخی از رفرانس‌ها جهت ارزیابی خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات به آن اشاره شده است، استفاده شد (۲۷،۲۸).

مشخصه یابی نانوذره اکسید روی

پراش پرتو اشعه ایکس- (X-ray Diffraction XRD)

برای بررسی ساختار بلوری بیونانوذرات سنتز شده، پودر به دست آمده، تحت آزمون پراش اشعه ایکس (XRD) قرار گرفت

(Bruker D۸ ADVANCE λ = ۰/۱۵۴ nm Cu Kα radiation)

و داده‌های به دست آمده توسط نرم افزار Xpert High Score مورد بررسی قرار گرفت (۹).

طیف سنجی جذبی (Ultraviolet–visible spectroscopy -UV-Visible)

جهت مطالعه خاصیت اپتیکی نانو ذرات سنتز شده از طیف سنجی جذبی (UV-Visible) استفاده شد. دستگاه طیف سنجی جذب ، ضریب جذب ماده را به ازای تابش طول موج‌های مرئی و فرابنفش (از ۲۰۰ تا۶۰۰ نانومتر) اندازه گیری و رسم می نماید. از نانو ذرات تولید شده در حالت کلوییدی در حالتی طیف جذبی گرفته شد که دستگاه نسبت به آب مقطر کالیبره شده بود، تا اطمینان حاصل شود که طیف جذب حاصله تنها مربوط به نانوذرات نیمه رساناست. آنچه به عنوان ورودی به دستگاه داده می‌شود

[5] Agar dilution method.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

محلولی بسیار رقیق است که درون ظرفی از جنس کوارتز که در ناحیه طیفی فوق، جذبی ندارد ریخته شد. دستگاه مورد استفاده طیف سنجی مدل SPECORD S ۶۰۰ شرکت Analytik Jena بود (۱۰).

میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning Electron Microscopy -SEM)

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از مناسب‌ترین وسایل برای آزمایش و آنالیز مورفولوژی نانو ساختارها و شناسایی ترکیبات شیمیائی است و همچنین دارای توانایی بی‌نظیر برای بررسی سطح مواد بوده و حائز برتری‌های فراوانی نسبت به میکروسکوپ‌های نوری است. به همین علت، از میکروسکوپ الکترونی روبشی برای تعیین مورفولوژی و اندازه بیونانوذرات سنتز شده استفاده شد (۲۰). بیونانوذرات سنتز شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی ساخت شرکت LEO آلمان مدل VP۱۴۵۵ مورد بررسی قرار گرفت.

جمع آوری نمونه

نمونه‌های کشت ادرار مثبت کودکان ۲-۱ سال مبتلا به عفونت ادراری از دو آزمایشگاه تشخیص طبی در اصفهان طی یکسال از ۱۵ فروردین ۱۳۹۹ تا ۱۵ فروردین ۱۴۰۰ جمع‌آوری شد. جمع‌آوری نمونه در این پژوهش با محدودیت‌هایی از قبیل؛ همکاری فقط دو آزمایشگاه تشخیص طبی و محدودیت سنی بیماران مواجه بود. نمونه‌های ادرار به‌صورت سوپراپوبیک یا کاتتریزاسیون از طریق پیشابراه از کودکان کمتر از ۲ سال و با استفاده از نمونه ادرار میانی در بیماران ۲ ساله در ظروف استریل جمع‌آوری شد. سپس با استفاده از لوپ کالیبره شده ی استاندارد (۰/۰۱ میلی لیتر) روی محیط های بلاد آگار و EMB آگار کشت داده شدند و پلیت ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. نتیجه برابر یا بیشتر از 10^5 CFU/ml و آنالیز ادرار از طریق تشخیص میکروسکوپی باکتریوری و گرانولوسیت‌ها یا لکوسیت‌های پلی مورفونوکلئر (≥ 10leukocytes/mm^3) به عنوان UTI مثبت در نظر گرفته شد و نتایج کمتر از 10^2 CFU/ml به عنوان UTI منفی تفسیر شد. نتیجه 10^2-10^4 CFU/ml تکرار شد (۳۰،۳۱).

شناسایی بیوشیمیائی و مولکولی باکتری ها و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی

ایزوله‌ها با استفاده از ویژگی‌های مرفولوژی، آزمون‌های بیوشیمیائی و مولکولی شناسایی و تعیین هویت شدند. برای شناسایی بیوشیمیائی از تست‌های افتراقی رنگ آمیزی گرم، اوره آز، تولید اندول، تست حرکت، سیترات، تولید H_2S، TSI و متیل رد ووگس- پروسکوئر (MR-VP) مطابق جدول ۱. استفاده شد (۳۲). برای شناسایی مولکولی باکتری های مورد مطالعه، با استفاده از تکنیک Colony-PCR، قطعه ای از ژن ۱۶S rRNA با استفاده از پرایمرهای یونیورسال AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG :**۸F** و GTA TTA CCG CGG CTG CTG G :**۵۱۸R** تکثیر و جهت تعیین توالی به شرکت پیشگام (تهران، ایران) ارسال شد (۳۵،۳۴،۳۳). توالی‌های حاصله به کمک سرور BLAST مورد ارزیابی همولوژی قرار گرفت (۳۶). طول قطعه هدف پرایمر حدود ۵۳۰bp می‌باشد که در شکل۱ نشان داده شده است. مواد و مقادیر مورد نیاز برای انجام Colony-PCR در جدول ۲. و برنامه ی PCR در جدول ۳. ارائه شده است. الکتروفورز روی ژل آگارز برای تفکیک و تعیین ماهیت و خالص سازی قطعات DNA استفاده می شود و در این مطالعه به منظور تایید وجود و اختصاصی بودن قطعات تکثیرشده با PCR از ژل آگارز یک درصد استفاده شد. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های مورد مطالعه با بکارگیری ۱۴ دیسک آنتی‌بیوتیکی (پادتن طب، ایران) شامل؛ سفتازیدیم، ۳۰ میکروگرم (CAZ)، آمپی سیلین، ۱۰ میکروگرم (AM)، آمیکاسین، ۳۰ میکروگرم (AN)، کلرامفنیکل، ۳۰ میکروگرم (C)، نالیدیکسیک اسید، ۳۰ میکروگرم (NA)، سفپیم ۳۰ میکروگرم (FEP)، نیتروفورانتوئین، ۳۰۰ میکروگرم (FM)، آموکسی سیلین، ۲۵ میکروگرم (AMX)، سیپروفلوکساسین، ۵ میکروگرم (CP)، جنتامایسین، ۱۰ میکروگرم (GM)، ایمیپنم، ۱۰ میکروگرم (IPM)، سفتریاکسون ۳۰ میکروگرم (CRO)، تتراسیکلین ۳۰ میکروگرم (TE) و تری متوپریم/سولفامتوکسازول ۱،۲۵/۲۳،۷۵ میکروگرم (SXT) پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی معادل استاندارد مک فارلند (10^8 CFU/mL×۱/۵) بر روی محیط مولر-هینتون آگار (MHA) به روش انتشار دیسک در آگار (Kirby-Bauer) انجام شد و میانگین قطر هاله ی عدم رشد (برحسب میلی متر) بعد از سه بار تکرار گزارش شد و نتایج مطابق با دستورالعمل موسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI 2020) بررسی گردید. از سوش‌های استاندارد *اشریشیا کلی PTCC ۱۳۹۹*، *کلبسیلا پنومونیه PTCC ۱۲۹۰* و *پروتئوس*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

میرابیلیس *PTCC*۱۰۷۹ برای کنترل مثبت و از دیسک-های بلانک آغشته به سرم فیزیولوژی جهت کنترل منفی استفاده شد (۸،۳۷،۳۸).

بررسی فعالیت ضد باکتریایی بیونانوذرات

جهت بررسی اثرات ضدباکتریایی بیونانوذرات سنتز شده بر باکتری‌های شایع مسبب عفونت ادراری در کودکان زیر دو سال شامل: *اشریشیا کلی*، *پروتئوس میرابیلیس* و *کلبسیلا پنومونیه* ی مقاوم به چند داروی جدا شده از ادرار کودکان از روش آگار دایلوشن، بر اساس چند رفرانس استفاده شد (۲۷). ابتدا ۶ غلظت مختلف از بیونانوذرات سنتز شده شامل (۰/۰۷۵ گرم بر لیتر، ۰/۱۵ گرم بر لیتر، ۰/۳ گرم بر لیتر، ۰/۶ گرم بر لیتر، ۱/۲ گرم بر لیتر، ۲/۴ گرم بر لیتر) در حلال آب مقطر استریل تهیه، ورتکس و اتوکلاو شد. پس از ورتکس مجدد، هرکدام در پتری دیش استریل (۱۰ سانتی متری) ریخته و ۱۹ میلی لیتر محیط کشت مذاب مولرهینتون آگار استریل که حرارت آن به حدود ۴۵ درجه سلسیوس رسیده بود، به هر کدام از پتری دیش‌ها اضافه و با حرکات دورانی محیط با رقت‌های مختلف بیونانوذرات کاملا مخلوط گردید. پلیت کنترل منفی فاقد نانوذره بود. و جهت کنترل مثبت از پودر تجاری جنتامایسین تهیه شده از شرکت سیگما با رقت ۰/۰۷۵ گرم بر لیتر استفاده شد. در مرحله بعد، پس از بسته شدن محیط‌های کشت با غلظت‌های مختلف نانوذرات، سوسپانسیون باکتری‌های مورد نظر، معادل نیم مک فارلند (۱/۵ ×۱۰^{۸} CFU/mL) تهیه و به صورت کشت چمنی در کنار شعله زیر هود لامینار کلاس دو بر روی پلیت‌ها کشت داده شد و در نهایت به مدت ۲۴ ساعت در دمای انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شد.

تحلیل آماری

جهت آنالیز آماری داده‌ها از آزمون One-way ANOVA، آزمون Tukey's post hoc و آزمون مربع کای استفاده شد و سپس نتایج با استفاده از نرم افزار Graphpad prism ۸ تجزیه و تحلیل شد. مرز معنی داری روی P<۰/۰۵ قرار داده شد.

یافته‌ها

در این پژوهش، در مجموع ۲۵ کشت ادرار مثبت مربوط به کودکان زیر دو سال و مقاوم به چند دارو، مورد بررسی قرار گرفت، که ۱۶ (٪۶۴) مورد مربوط به *اشریشیا کلی*، ۶ (٪۲۴) مورد مربوط به *کلبسیلا پنومونیه* و ۳ (٪۱۲) مورد مربوط به *پروتئوس میرابیلیس* بود و پس از شناسایی بیوشیمیائی، با تست‌های افتراقی، بر اساس نتایج Colony-PCR ایزوله‌ها که با تکثیر ژن ۱۶S rRNA در ژل آگارز ٪۱ به دست آمد، مورد ارزیابی و شناسایی دقیق قرار گرفتند. نتایج شناسایی بیوشیمیائی و مولکولی باکتری‌های شایع مسبب عفونت های ادراری در کودکان در جدول ۱، شکل ۱ و تست آنتی بیوگرام ایزوله‌ها در جدول۴ ارائه شده است. مطابق با نتایج جدول ۴، بیشترین موارد مقاومت مربوط به آنتی بیوتیک‌های آمپی سیلین (٪۱۰۰)، آموکسی سیلین (٪۱۰۰)، تتراسایکلین (٪۱۰۰) و بیشترین حساسیت مربوط به آنتی بیوتیک‌های کلرامفنیکل، جنتامایسین، تری متوپریم/ سولفامتوکسازول بود. اختلاف معنی دار آماری (P<۰/۰۵) بین میزان شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌ها به آنتی بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، تتراسایکلین و آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، جنتامایسین، تری متوپریم/ سولفامتوکسازول مشاهده شد. طبق آنالیز آماری نتایج آنتی بیوگرام، خطای استاندارد میانگین[۶] باکتری‌های *اشریشیا کلی*، *پروتئوس میرابیلیس* و *کلبسیلا پنومونیه* به ترتیب، ۱/۱۴۵، ۱/۵۷۵ و ۱/۵۴۴ بود. در این تحقیق نانوذرات اکسیدروی به روش شیمیایی مرطوب با استفاده از عصاره پوست موز سنتز شد. نتایج XRD در شکل ۲ بر اساس مرجع (۲۲۰۵-۷۹-ZnO JCPDS) نشان داد که، الگوی پراش اشعه X مربوط به بیونانوذرات اکسیدروی بوده و بیشینه‌های ناشی از صفحات (۱۱۱)، (۱۰۰)، (۰۰۲)، (۱۰۱)، (۱۰۲)، (۱۱۰)، (۱۰۳) و (۲۰۱) به وضوح در آن مشاهده شد. همچنین بر اساس نتایج طیف‌سنجی جذبی و میکروسکوپ الکترونی روبشی، بیونانوذرات اکسیدروی سنتز شده دارای جذب در طول موج ۲۵۸ نانومتر و دارای ساختار شش وجهی با اندازه ۱۰۰ نانومتر بود (شکل های ۴و۳). خواص ضدباکتریایی بیونانوذرات اکسیدروی/ پوست موز سنتز شده بر علیه تمامی باکتری‌ها با روش آگار دایلوشن ارزیابی شد به‌طوری که غلظت ۰/۶ گرم بر لیتر بیونانوذرات اولین و مناسب ترین غلظت موثر بود که منجر به مهار رشد تمامی باکتری‌ها شده بود (P<۰/۰۵) و غلظت ۲/۴ گرم بر لیتر، بیشترین مهار رشد باکتری ها را به صورت معنی دار نشان داد (p<۰/۰۰۱).

[6] Standard Error- SE

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

جدول۱. نتایج تست های بیوشیمیایی باکتری های اوروپاتوژن جدا شده از عفونت های ادراری کودکان زیر دو سال در دو آزمایشگاه تشخیص طبی اصفهان.

تست	جدایه		
	اشریشیا کلی	***کلبسیلا پنومونیه***	***پروتئوس میرابیلیس***
واکنش گرم	–	–	–
اوره آز	–	+	+
تولید اندول	+	–	–
تست حرکت	+	–	+
سیترات	–	+	+/–
تولید H_2S	–	–	+
TSI	–	–	+
متیل رد	+	–	+
ووگس– پروسکوئر	–	+	+/–

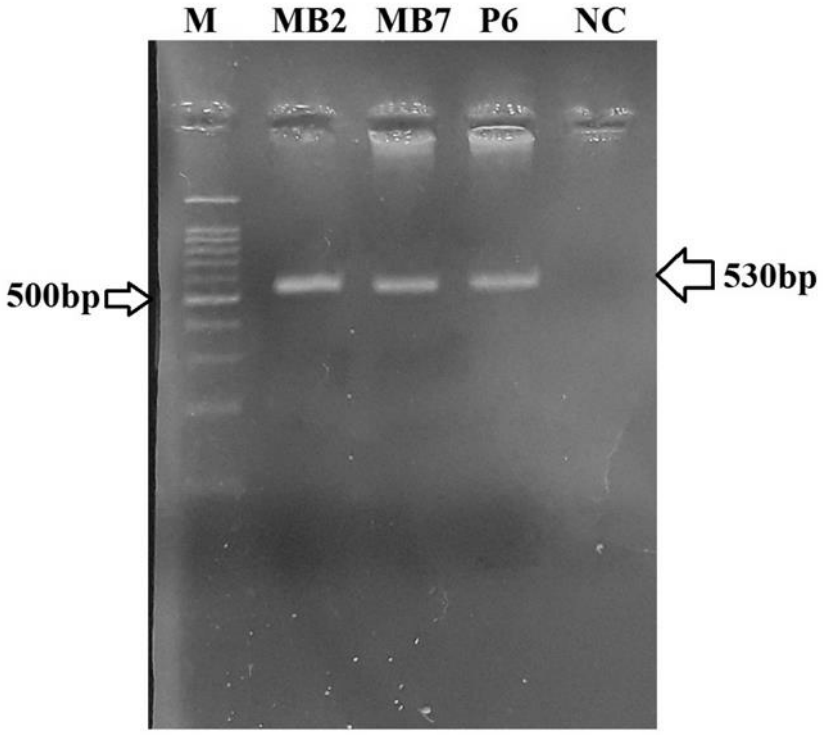
جدول ۲. مواد و مقادیر مورد نیاز برای انجام Colony-PCR.

ماده	غلظت استوک	PCR غلظت برای واکنش	حجم نهایی در۲۵ میکرولیتر
آب مقطر تزریقی استریل	-	-	۱۸/۰۵ میکرولیتر
بافرPCR	۱۰ X	۱ X	۲/۵ میکرولیتر
کلرید منیزیم	۵۰ میلی مولار	۱/۵ میلی مولار	۰/۷۵ میکرولیتر
dNTP	۱۰ میلی مولار	۲۰۰ میکرومولار	۰/۵ میکرولیتر
پرایمر پیشرو	۱۰ میکرومولار	۰/۴ میکرومولار	۱ میکرولیتر
پرایمر معکوس	۱۰ میکرومولار	۰/۴ میکرومولار	۱ میکرولیتر
مقداری از یک کلنی باکتری مورد نظر	متغیر	۱	۱ میکرولیتر
Taqپلیمراز	۵ یونیت پرمیکرولیتر	۱ یونیت	۰/۲ میکرولیتر
حجم نهایی			۲۵ میکرولیتر

جدول ۳. برنامه دمایی PCR.

تعداد سیکل	زمان	دما
۱ Cycle	۵ min	۹۴ °C
۳۵ Cycle	۳۰ sec	۹۴ °C
	۳۰ sec	۵۵ °C
	۳۰ sec	۷۲ °C
۱ Cycle	۵ min	۷۲ °C
۱ Cycle	۱ min	۱۰ °C

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]



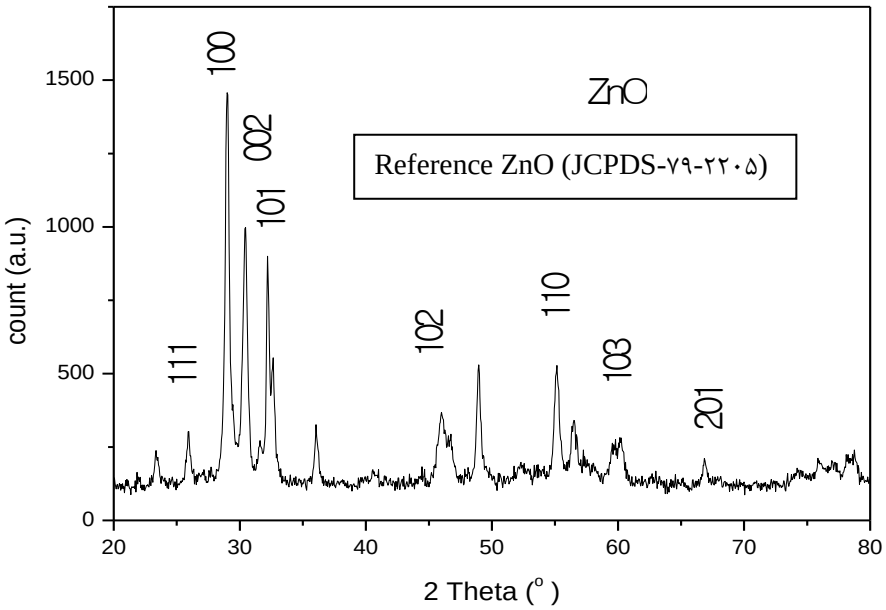
شکل۱. Colony-PCR: تکثیر ژن ۱۶S rRNA در ژل آگارز ۱٪. M: مارکر وزنی (۱۰۰bp)، MB2، MB7 و P6 ایزوله های مورد بررسی *اشریشیا کلی*، *پروتئوس میرابیلیس* و *کلبسیلا پنومونیه*. NC : کنترل منفی

جدول۴. میانگین نتایج آنتی بیوگرام باکتری های اوروپاتوژن جدا شده از عفونت‌های ادراری کودکان زیر دو سال در دو آزمایشگاه تشخیص طبی اصفهان.

SE= ۱/۱۴۵			SE= ۱/۵۷۵			SE= ۱/۵۴۴		
اشریشیا کلی			***پروتئوس میرابیلیس***			***کلبسیلا پنومونیه***		
آنتی بیوتیک	**حساس**	**نیمه حساس**	**مقاوم**	**حساس**	**نیمه حساس**	**مقاوم**	**حساس**	**نیمه حساس**	**مقاوم**
سفتازیدیم (CAZ ۳۰ µg)			*	* (۲۷mm)					*
آمپی سیلین (AM ۱۰ µg)			*			*			*
آمیکاسین (AN ۳۰ µg)			*	* (۲۰mm)			* (۱۹mm)		
کلرامفنیکل (C ۳۰ µg)	* (۲۰mm)			* (۲۰mm)			* (۲۲mm)		
نالیدیکسیک اسید (NA ۳۰ µg)			*			*		*(۱۵mm)	
سفپیم (FEP ۳۰ µg)	* (۳۰mm)			* (۳۳mm)					*
نیتروفورانتوئین (FM ۳۰۰ µg)	* (۲۳mm)					*	* (۲۱mm)		

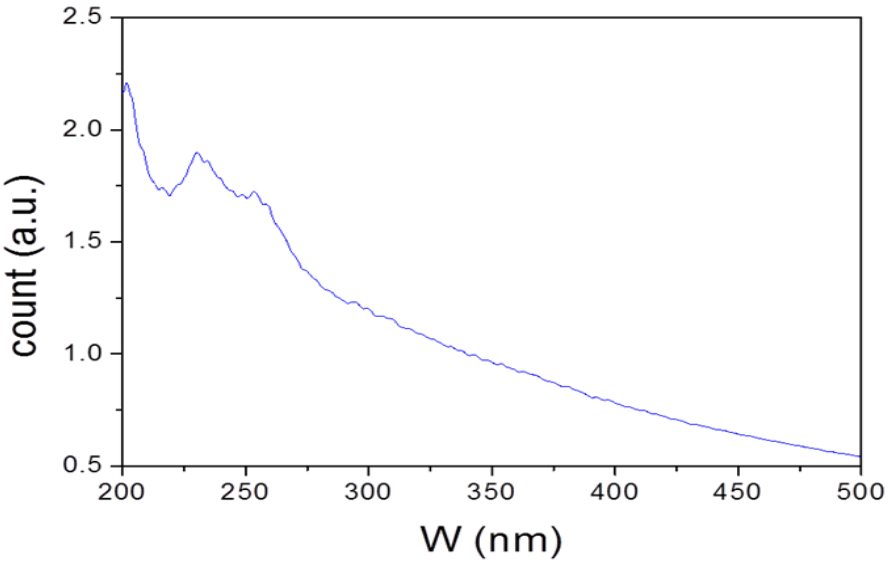
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

آموکسی سیلین (۲۵ µg AMX)			❊			❊			❊
سیپروفلوکساسین (۵ µg CP)				❊ (۲۳mm)		❊		❊(۲۸mm)	
جنتامایسین (GM ۱۰ µg)	❊ (۱۸mm)				❊ (۱۸mm)			❊ (۱۹mm)	
ایمیپنم (IPM ۱۰ µg)					❊ (۲۵mm)	❊			❊ (۲۱mm)
سفتریاکسون (۳۰ µg CRO)					❊ (۳۲mm)	❊			❊
تتراسیکلین (TE ۳۰ µg)			❊			❊			❊
تری متوپریم/سولفامتوکسازول (۱/۲۵ µg / ۲۳/۷۵ µg SXT)	❊ (۲۰mm)				❊(۲۷mm)			❊(mm ۱۷)	

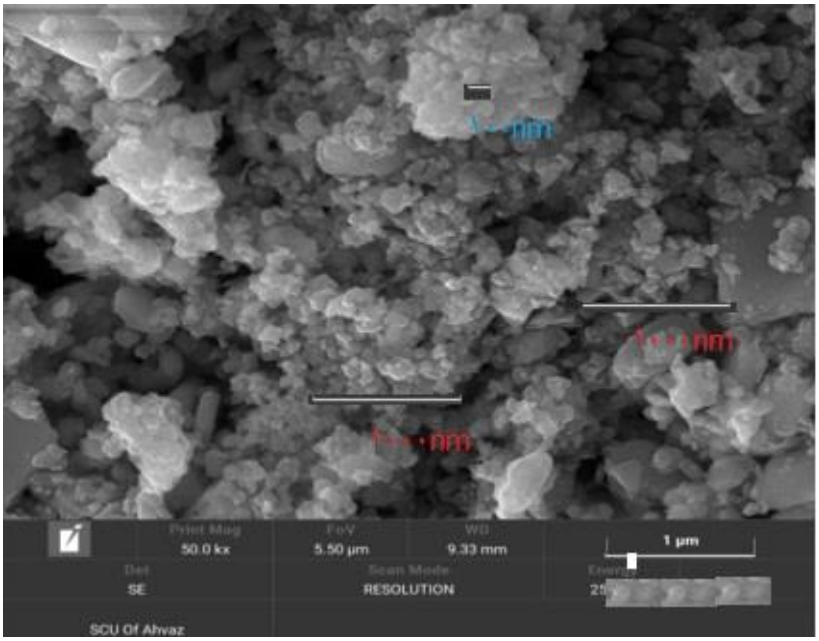


شکل۲. الگو پراش اشعه ایکس (XRD): پیک ها مربوط به بیونانوذرات اکسیدروی/ پوست موز.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]



شکل ۳. طیف جذبی فرابنفش (Uv.Vis): بیونانوذرات اکسیدروی/پوست موز.



شکل ۴. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی بیونانوذرات اکسیدروی /پوست موز: سایز نانوذرات ۱۰۰ نانومتر.

بحث

بیماری‌های عفونی به دلیل افزایش مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی، به عنوان یک مشکل بهداشت عمومی در سراسر جهان باقی مانده اند. این مشکلات نیاز به دوزهای بالای آنتی بیوتیک را افزایش می دهد که اغلب منجر به سمیت غیرقابل تحمل می شود. عفونت دستگاه ادراری یکی از شایع ترین عفونت ها در انسان به خصوص در کودکان است که می تواند در هر قسمتی از سیستم ادراری رخ دهد و عوارض قابل توجه مانند نارسایی کلیوی، باکتریمی و شوک سپتیک و هزینه های پزشکی بالایی به خصوص برای بچه‌های زیر دو سال در بر دارد و همچنین می‌تواند منجر به مرگ و میر فراوانی شود (۳۹،۴۰). عفونت مجاری ادراری در نوزادان دختر و نوزادان پسر ختنه نشده، به علت غلظت فلور باکتریایی پوست در زیر پوشک در نوزادی،

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

نزدیکی مقعد و دهانه مجاری ادراری در دختران، سطح پوست ختنه‌گاه در پسران ختنه نشده شایع تر است. از این رو تشخیص و درمان این عفونت در کودکان زیر دو سال اهمیت بسزایی دارد (۴۱). درمان مناسب عفونت‌های دستگاه ادراری به دلیل مقاومت بالا به آنتی‌بیوتیک‌های معمول تجویز شده و افزایش شیوع جهانی میکروارگانیسم‌های مقاوم به چند دارو که باعث عفونت‌های دستگاه ادراری می‌شوند، با چالش مواجه شده است (۸). از این رو، استراتژی‌های جایگزین برای درمان عفونت‌های باکتریایی جستجو شد. نانوبیوتکنولوژی راهکارهای جدیدی برای مبارزه با باکتری‌های مقاوم به انواع داروها از طریق تولید ذرات سبز در مقیاس نانو به عنوان عوامل ضد میکروبی جدید معرفی کرده است. این بیونانوذرات با اتصال مناسب و مؤثر به سطح سلول‌های باکتری‌ها از راه دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی با باکتری ها مقابله می کنند. نانوذرات سبز علاوه بر خاصیت ضدمیکروبی مناسب، دارای مزیت هایی مانند اندازه یا سایز بسیار کوچک و عدم ایجاد مقاومت و مقرون به صرفه بودن جهت تولید داخلی نیز هستند. مهمترین مزیت این نانوذرات عدم ایجاد مقاومت در باکتری‌ها است. زیرا این ذرات بر روی قسمت های مختلف باکتری‌ها و آنزیم‌های متعددی مؤثر هستند و عوارض جانبی ندارند و دارای ماندگاری زیاد می‌باشند (۴۲،۴۳،۴۴). پوست موز زیست تخریب پذیر، زیست سازگار، غیر توکسیک و دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی بدون عارضه است همچنین، تحقیقات محققان نشان داده است که عصاره پوست موز بر روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت مسبب عفونت ادراری مؤثر بوده است، به همین دلیل استفاده از عصاره ی پوست موز برای سنتز نانوذرات مناسب می‌باشد (۲۴،۲۵). نانوذرات اکسیدروی به عنوان سمی‌ترین و مؤثرترین نانوذرات در برابر باکتری‌های مسبب عفونت‌های دستگاه ادراری به‌ویژه *اشریشیا کلی* معرفی شده‌اند (۴۵). مشابه با یافته‌های این پژوهش، Brosh-Nissimov و همکاران در سال ۲۰۱۹، *اشریشیا کلی* را با فراوانی ۶۴ درصد شایع ترین میکروارگانیسم جدا شده از عفونت ادراری کودکان و سپس *کلبسیلا پنومونیه* و *پروتئوس میرابیلیس* را به ترتیب با فراوانی ۲۴ درصد و ۱۲ درصد اعلام کردند (۴۶). نتایج تحقیق اکرمی و همکاران در سال ۱۴۰۰ در اهواز (مشابه نتایج تحقیق حاضر) نشان داد که، بیشترین سویه جدا شده از ادرار کودکان، مربوط به *اشریشیا کلی* با فراوانی ۵۷ درصد بود و بالاترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آمپی سیلین بود (۴۷). نتایج این پژوهش تقریباً مشابه با مطالعه Duicu و همکاران طی سال‌های ۲۰۱۸-۲۰۱۶ در رومانی بر روی گونه‌های جدا شده از کشت ادرار کودکان زیر ۵ سال بود که بالاترین مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک‌های آمپی سیلین و آموکسی سیلین نشان داده بودند (۴۸)، مقاومت بالای باکتری‌ها به آنتی بیوتیک‌های رایج زنگ خطری می‌باشد جهت مداوای بیماران و اخطاری به پژوهشگران جهت سنتز و ساخت آنتی بیوتیک های نوترکیب با ارزیابی خواص توکسی‌سیتی آنها در شرایط درون تنی بر روی حیوانات آزمایشگاهی جهت استفاده انسان‌ها می‌باشد. ZnO یک ماده چند منظوره با کاربردهای فراوان است که در کرم‌های ضد آفتاب، لوازم آرایشی، تصفیه آب و فاضلاب، تجهیزات پزشکی، دندانپزشکی و صنایع دارویی بسیار مورد استفاده قرار گرفته است (۴۹). همچنین دارای اثرات ضد باکتریایی علیه طیف وسیعی از باکتری‌های بیماری‌زای انسانی و حیوانی با سمیت کم برای سلول‌های پستانداران می‌باشد (۵۰). نتایج مطالعه Pantidos و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مورد سنتز بیولوژیکی نانوذرات فلزی نشان داد که روش های سنتز سبز به انرژی و هزینه کمتری نیاز دارد و دارای سمیت بسیار پایین یا فاقد اثرات سمی است (۵۱). در سال ۲۰۱۵، Varghese & George با استفاده از عصاره برگ *آلوئه ورا*، نانوذرات اکسیدروی را به شکل شش وجهی با اندازه ۲۲/۱۸ نانومتر سنتز کردند که اگر چه از نظر اندازه با مطالعه ی حاضر متفاوت بود، اما از نظر شکل نانوذرات و طریقه سنتز سبز و تاثیرات ضدباکتریایی مناسب، با این مطالعه مطابقت داشت (۵۲). در سال ۲۰۱۶، Dobrucka & Dugaszewska، نانوذرات اکسیدروی را با استفاده از عصاره گل شبدر قرمز (*Trifolium pratense*) بیوسنتز کردند، اندازه نانوذرات سنتز شده در این مطالعه بین ۱۰۰ تا ۱۹۰ نانومتر بود و این نانوذرات فعالیت ضد باکتریایی موثری را در برابر سویه‌های بالینی *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*)، *سودوموناس آئروجینوزا* (*Pseudomonas aeruginosa*) و *اشریشیا کلی* نشان داده بودند، نتایج این محققین از نظر سنتز سبز نانوذرات و اندازه و شکل نانوذرات و خواص ضدباکتریایی بسیار شبیه پژوهش حاضر بود (۵۳). بر اساس مطالعه رفیعی و همکاران در سال ۲۰۱۸، نشان داده شد که عصاره آبی برگ *اکالیپتوس* قادر به تولید نانوذرات اکسیدروی از سولفات روی با خواص ضد باکتریایی مناسب بود (۵۴). Faisal و همکاران در سال ۲۰۲۱، با استفاده از عصاره آبی میوه جوز هندی (*Myristica fragrans*)، نانوذرات اکسیدروی را سنتز کردند. نانوذرات سنتز شده توسط پراش اشعه ایکس، طیف سنجی جذبی عبوری و میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که نانوذرات، خالص، دارای اندازه ۴۱/۲۳ نانومتر، به شکل کروی و دارای خواص ضد باکتریایی مناسبی

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

بودند که از نظر شکل نانوذرات با این مطالعه، تفاوت و از نظر دارا بودن خواص ضدباکتریایی، مطابقت داشت (۵۵). زینی وند و همکاران در سال ۱۴۰۱، مطابق با مطالعه ی حاضر، سنتز نانوذرات را با روش زیستی انجام دادند و برای ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات سنتز شده از روش آگار دایلوشن استفاده کردند (۵۶). در مطالعه حاضر نیز از عصاره آبی پوست موز، نانوذرات اکسیدروی از نیترات روی، سنتز شد که این بیونانوذرات دارای فعالیت ضد باکتریایی مناسبی بودند، ولی به نظر می رسد جهت تکمیل نمودن مطالعه حاضر و تعمیم آن برای مصارف انسانی نیاز به ارزیابی بیونانوذرات سنتز شده در شرایط درون‌تنی بر روی حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، در مجموع ۲۵ ایزوله باکتری مقاوم به چند دارو از نمونه ادرار کودکان زیر ۲ سال مبتلا به عفونت ادراری از دو آزمایشگاه تشخیص طبی در اصفهان جمع‌آوری و با تست‌های بیوشیمیایی تعیین هویت شدند و همچنین با روش مولکولی Colony-PCR و استفاده از ژن ۱۶S rRNA نیز مورد تائید قرار گرفتند. *اشریشیا کلی* با فراوانی ۶۴٪ شایع‌ترین علت عفونت ادراری در کودکان زیر دو سال معرفی شد. با توجه به نتایج این مطالعه و مقایسه با مطالعات قبلی، کلرامفنیکل، جنتامایسین و تری متوپریم/سولفامتوکسازول همچنان داروهای موثری برای درمان تجربی عفونت‌های ادراری در کودکان هستند. در این تحقیق مشخص شد که عصاره آبی پوست موز توانایی تولید نانوذرات اکسیدروی از نیترات روی را به روش شیمیایی مرطوب دارد. با توجه به نتایج XRD، SEM و UV-Vis، ثابت شد که اکسیدروی سنتز شده دارای ساختار شش وجهی با اندازه ۱۰۰ نانومتر و دارای جذب در طول موج ۲۵۸ نانومتر بود. سپس با استفاده از روش آگار دایلوشن مشخص شد که تاثیر ضد باکتریایی این بیونانوذرات وابسته به غلظت می باشد و غلظت حداقل ۰/۶ گرم بر لیتر، فعالیت ضد باکتریایی مناسبی بر علیه تمامی باکتریها (*اشریشیا کلی*، *پروتئوس میرابیلیس* و *کلبسیلا پنومونیه*) که به چندین آنتی بیوتیک مقاوم بودند، داشت و موثر شناخته شد. بنابراین، انتظار می رود که بیونانوذرات سنتز شده در این مطالعه، به عنوان یک عامل ضد باکتریایی در کاربردهای پزشکی در آینده پس از آزمایشات *Invivo* و پردازش و عمل آوری توسط داروسازان جهت درمان باکتری هایی که به چند آنتی بیوتیک مقاوم شده اند و از عفونت های مختلف جداسازی و شناسایی شده اند مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این پژوهش حاصل قسمتی از پایان نامه دکتری رشته میکروبیولوژی با کد ۱۷۲۳۰۵۰۷۹۸۱۰۰۱ و شناسه اخلاق IR.IAU.FALA.REC.1399.013 از دانشکده علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان می‌باشد. نویسندگان این مقاله از مسئولین محترم آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان به منظور حمایت‌های اجرایی و از پرسنل دو آزمایشگاه تشخیص طبی در اصفهان جهت جمع آوری نمونه ها کمال تشکر و امتنان را دارند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

منابع

1. Das S. Natural therapeutics for urinary tract infections—a review. FJPS. 2020 Dec;6(1):1-13.
2. Raeispour M, Ranjbar R. Antibiotic resistance, virulence factors and genotyping of Uropathogenic *Escherichia coli* strains. Antimicrob. Resist. Infect. Control. 2018 Dec;7(1):1-9.
3. Shah C, Baral R, Bartaula B, Shrestha LB. Virulence factors of Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) and correlation with antimicrobial resistance. BMC Microbiology. 2019 Dec;19(1):1-6.
4. Petty LA, Henig O, Patel TS, Pogue JM, Kaye KS. Overview of meropenem-vaborbactam and newer antimicrobial agents for the treatment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. Infect Drug Resist. 2018 Sep; 11:1461.
5. Mohseni Afshar Z, Miladi R, Janbakhsh A, Mansouri F, Sayad B, Vaziri S, Afsharian M, Zamanian MH, Shirvani M, Yavari S, Tarlan M. The Prevalence and Pattern of *Enterobacter* Antibiotic Resistance in the Patients Admitted to Imam Reza Hospital in Kermanshah, Iran (2016-2018). J Kermanshah Univ Med Sci. 2021 Mar;25(1):1-6.
6. Rafalskiy V, Pushkar D, Yakovlev S, Epstein O, Putilovskiy M, Tarasov S, Glazunov A, Korenev S, Moiseeva E, Gorelysheva N. Distribution and antibiotic resistance profile of key Gram-negative bacteria that cause community-onset urinary tract infections in the Russian Federation: RESOURCE multicentre surveillance 2017 study. JGAR. 2020 Jun; 21:188-194.
7. Hrbacek J, Cermak P, Zachoval R. Current antibiotic resistance patterns of rare uropathogens: survey from Central European Urology Department 2011–2019. BMC Urology. 2021 Dec;21(1):1-8.
8. Vazouras K, Velali K, Tassiou I, Anastasiou-Katsiardani A, Athanasopoulou K, Barbouni A, Jackson C, Folgori L, Zaoutis T, Basmaci R, Hsia Y. Antibiotic treatment and antimicrobial resistance in children with urinary tract infections. JGAR. 2020 Mar; 20:4-10.
9. Gour A, Jain NK. Advances in green synthesis of nanoparticles. Artif. Cells Nanomed. Biotechnol. 2019 Dec;47(1):844-851. doi.org/10.1080/21691401.2019.1577878.
10. Umavathi S, Mahboob S, Govindarajan M, Al-Ghanim KA, Ahmed Z, Virik P, Al-Mulhm N, Subash M, Gopinath K, Kavitha C. Green synthesis of ZnO nanoparticles for antimicrobial and vegetative growth applications: A novel approach for advancing efficient highquality health care to human wellbeing. SJBS. 2021 Mar;28(3):1808-1815.
11. Modi S, Fulekar MH. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using garlic skin extract and its characterization. J Nanostruct. 2020 Jan;10(1):20-27.
12. Jan H, Shah M, Usman H, Khan A, Muhammad Z, Hano C, Abbasi BH. Biogenic synthesis and characterization of antimicrobial and anti-parasitic zinc oxide (ZnO) nanoparticles using aqueous extracts of the Himalayan columbine (*Aquilegia pubiflora*). Frontiers in Materials. 2020 Aug; 7:249.
13. Agarwal H, Kumar SV, Rajeshkumar S. A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles–An eco-friendly approach. Resource-Efficient Technologies. 2017 Dec;3(4):406-413.
14. Naikoo GA, Mustaqeem M, Hassan IU, Awan T, Arshad F, Salim H, Qurashi A. Bioinspired and green synthesis of nanoparticles from plant extracts with antiviral and antimicrobial properties: A critical review. J. Saudi Chem. Soc. 2021 Sep;25(9):1-17.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

15. El Shafey AM. Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles from plant leaf extracts and their applications: A review. GREENPS. 2020 Jun;9(1):304-339.

16. Selim YA, Azb MA, Ragab I, Abd El-Azim MH. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using aqueous extract of *Deverra tortuosa* and their cytotoxic activities. Sci. Rep. 2020 Feb;10(1):1-9.

17. Jiang J, Pi J, Cai J. The advancing of zinc oxide nanoparticles for biomedical applications. Bioinorg Chem Appl. 2018 Oct; 2018:1-18.

18. Vimercati L, Cavone D, Caputi A, De Maria L, Tria M, Prato E, Ferri GM. Nanoparticles: An experimental study of zinc nanoparticles toxicity on marine crustaceans. General overview on the health implications in humans. Front. Public Health. 2020 May; 8:192.

19. Yusof HM, Mohamad R, Zaidan UH. Microbial synthesis of zinc oxide nanoparticles and their potential application as an antimicrobial agent and a feed supplement in animal industry: a review. J. Anim. Sci. 2019 Dec;10(1):1-22.

20. Surendra TV, Roopan SM, Al-Dhabi NA, Arasu MV, Sarkar G, Suthindhiran K. Vegetable peel waste for the production of ZnO nanoparticles and its toxicological efficiency, antifungal, hemolytic, and antibacterial activities. NRL. 2016 Dec;11(1):1-10.

21. Saleem M, Saeed MT. Potential application of waste fruit peels (orange, yellow lemon and banana) as wide range natural antimicrobial agent. J. King Saud Univ. Sci. 2020 Jan;32(1):805-810.

22. Chakraborty C, Bandyopadhyay K. Banana Peel Wastes: Potential Source of Antioxidant in Banana Chips. IJASR. 2017 Apr;7(2):73-80.

23. Mostafa HS. Banana plant as a source of valuable antimicrobial compounds and its current applications in the food sector. JFS. 2021 Sep;86(9):3778-3797.

24. Putra NR, Aziz AHA, Faizal ANM, Che Yunus MA. Methods and Potential in Valorization of Banana Peels Waste by Various Extraction Processes: In Review. Sustainability. 2022 Aug;14(17):1-18.

25. Saleem M, Saeed MT. Potential application of waste fruit peels (orange, yellow lemon and banana) as wide range natural antimicrobial agent. J. King Saud Univ. Sci. 2020 Jan;32(1):805-810.

26. Dien ND. Preparation of various morphologies of ZnO nanostructure through wet chemical methods. Adv Mater Sci.2019; 4:1-5. doi: 10.15761/AMS.1000147.

27. Sanders ER. Aseptic laboratory techniques: plating methods. JoVE. 2012 May; 63: e3064.

28. Kumar A, Murthy LN, Jeyakumari A. Plating methods used in microbiology. Mumbai Research Centre of ICAR-Central Institute of Fisheries Technology, Vashi, India. 2019 ;8-12.

29. Ananthalakshmi R, Xavier Rajarathinam SR, Lavanya A, Mohammed Sadiq A, Gomathi AC. Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using aqueous extract of Banana Peel (*Musa acuminata L.*). IJBASR. 2017 ;7(12):98-107.

30. Benhadj M, Touaitia R, Ouanadi Y. Frequency and Antibiotic Resistance of Enterobacteriaceae Isolated in Community Urinary Tract Infections at Tebessa Region. BJSTR. 2019 Dec;12(2): 9098-9101.doi: 10.26717/ BJSTR.2018.12.002223.

31. Goudarzi M, Sabzehali F, Tayebi Z, Azad M, Boromandi S, Hashemi A, Seyedjavadi SS. Prevalence of blaCTX-M gene in multi-resistant *Escherichia coli* isolated from Urinary Tract Infections, Tehran, Iran. NBM. 2014 Jan;2(4): 107-113.doi:10.22037/nbm.v2i4.6776.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

32. Mousavi MM, Tazari F. Evaluating the prevalence antibiotic resistance pattern of bacteria isolated from urinary tract infection in Savadkuh city from the beginning of April 2020 to the end of September 2020. NCMBJ. 2022 Mar;12(46):55-64. [In Persian].

33. Eden PA, Schmidt TM, Blakemore RP, Pace NR. Phylogenetic analysis of *Aquaspirillum magnetotacticum* using polymerase chain reaction-amplified 16S rRNA-specific DNA. Int. J. Syst. Evol. 1991 Apr;41(2):324-325.

34. James G. Universal bacterial identification by PCR and DNA sequencing of 16S rRNA gene. In PCR for clinical microbiology. Springer, Dordrecht. 2010 Jan;209-214.

35. Jiang H, Dong H, Zhang G, Yu B, Chapman LR, Fields MW."Microbial diversity in water and sediment of Lake Chaka, an athalassohaline lake in northwestern China". Appl. Environ. Microbiol. 2006 Jun;72(6):3832–3845.

36. Najafi M, Nakhaei Moghaddam M. and Yousefi E. The effect of silver nanoparticles on pyocyanin production of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens. AJMB. 2021 Apr;13(2):98-103.

37. Pourakbari B, Mamishi S, Shokrollahi M, Heydari H, Mahmoudi S, Banar M, Sadeghi RH, Movahedi Z. Molecular characteristics and antibiotic resistance profiles of *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections in children admitted to children's referral hospital of Qom, Iran. Ann Ig. 2019 Apr;31(3):252-62. doi:10.7416/ai.2019.2288.

38. Pirouzi A, Foruozandeh H, Farahani A, Shamseddin J, Mohseni H, Abdollahi A, Rezaee E, Forouzandeh Z, Mohseni P, Fariyabi F. Investigation of Antimicrobial Resistance Pattern Among *Escherichia coli* Strains Isolated from Patients Referred to Amir Al-Momenin Hospital, Gerash, Iran. Gene, Cell and Tissue. 2020 Jan;7(1):1-6. doi:10.5812/gct.97554.

39. Doern CD, Richardson SE. Diagnosis of Urinary Tract Infections in Children. JCM. 2016 Sep;54(9):2233-2242.

40. Okarska-Napierała M, Wasilewska A, Kuchar E. Urinary tract infection in children: Diagnosis, treatment, imaging–Comparison of current guidelines. J. Pediatr. Urol. 2017 Dec;13(6):567-573.

41. Kaufman J, Temple-Smith M, Sanci L. Urinary tract infections in children: an overview of diagnosis and management. BMJ paediatrics open. 2019 Sep;3(1):1-9.

42. Naikoo GA, Mustaqeem M, Hassan IU, Awan T, Arshad F, Salim H, Qurashi A. Bioinspired and green synthesis of nanoparticles from plant extracts with antiviral and antimicrobial properties: A critical review. J. Saudi Chem. Soc. 2021 Sep;25(9):1-17.

43. Vimercati L, Cavone D, Caputi A, De Maria L, Tria M, Prato E, Ferri GM. Nanoparticles: An experimental study of zinc nanoparticles toxicity on marine crustaceans. General overview on the health implications in humans. Frontiers in Public Health. 2020 May; 8:1-19.

44. Jiang J, Pi J, Cai J. The advancing of zinc oxide nanoparticles for biomedical applications. Bioinorg Chem Appl. 2018 Oct; 2018:1-18.

45. Shakerimoghaddam A, Ghaemi E.A, Jamalli A. Zinc oxide nanoparticle reduced biofilm formation and antigen 43 expressions in uropathogenic *Escherichia coli*. IJBMS. 2017 Apr;20(4):451-456.

46. Brosh-Nissimov T, Navon-Venezia S, Keller N, Amit S. Risk analysis of antimicrobial resistance in outpatient urinary tract infections of young healthy adults. JAC. 2019 Feb;74(2):499-502.

47. Akrami S, Mavalizade SM, Ghandali MV, Dezfuli AAZ, Farshadzadeh Z, Avarvand AY. Prevalence and antibiotic resistance of uropathogens in children with urinary tract infections referring to Abuzar hospital in Ahvaz. J Curr Biomed Rep. 2021 Sep;2(3):136-141.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

48. Duicu C, Cozea I, Delean D, Aldea AA, Aldea C. Antibiotic resistance patterns of urinary tract pathogens in children from Central Romania. ETM. 2021 Jul;22(1):1-7.

49. Spoială A, Ilie CI, Truşcă RD, Oprea OC, Surdu VA, Vasile BŞ, Ficai A, Ficai D, Andronescu E, Dițu LM. Zinc Oxide Nanoparticles for Water Purification. Materials. 2021 Aug;14(16):1-15.

50. Alekish M, Ismail ZB, Albiss B, Nawasrah S. In vitro antibacterial effects of zinc oxide nanoparticles on multiple drug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*: An alternative approach for antibacterial therapy of mastitis in sheep. WVJ. 2018 Nov;11(10):1428-1432. doi: 10.14202/vetworld.2018.1428-1432.

51. Pantidos N, Horsfall LE. Biological synthesis of metallic nanoparticles by bacteria, fungi and plants. JNN. 2014 Sep;5(5):1-10.

52. Varghese E, George M. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles. IJARSE. 2015 ;4(1):307-314.

53. Dobrucka R, Długaszewska J. Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using *Trifolium pratense* flower extract. SJBS. 2016 Jul;23(4):517-523.

54. Rafiee B, Ghani S, Sadeghi D, Ahsani M. Green synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using *Eucalyptus mellidora* Leaf Extract and Evaluation of its Antimicrobial Effects. JBUMS. 2018 Oct;20(10):28-35. [In Persian].

55. Faisal S, Jan H, Shah SA, Shah S, Khan A, Akbar MT, Rizwan M, Jan F, Wajidullah Akhtar N, Khattak A. Green synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles using aqueous fruit extracts of *Myristica fragrans*: their characterizations and biological and environmental applications. ACS omega. 2021 Mar;6(14):9709-9722.

56. Zeinivand M, Aghaei SS, Zargar M, Ghasemzadeh MA. Synthesis of Gold Nanoparticles Using Exopolysaccharide from *Lactobacillus Paracasei* and Evaluation of their Antibacterial, Anti-biofilm, and Antioxidant Properties. BJM. 2022 Jun;11(42):67-83. [In Persian].

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]