

بررسی اثر ضد قارچی نانوذره اکسید روی بر مهار رشد بیوفیلیم سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس در کاتتر

ناهید دارابی صوفیان^۱، شهلا رودبارمحمدی^۲، حسین نادری منش^۳، علی مصطفائی^۴، محمود وحیدی^۵

تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۱۳۹۱/۴/۶

تاریخ اعلام وصول: ۱۳۹۰/۱۲/۸

چکیده

سابقه و هدف: کاندیدا آلبیکنس معمول ترین پاتوژن قارچی در ارتباط با کلونیزاسیون و تشکیل بیوفیلیم در وسایل پزشکی از جمله کاتتر است. بیوفیلیم های کاندیدیایی به شدت متشابه «به درمان های ضد قارچی معمول مقاوم هستند. از آنجا که تعویض مداوم این وسایل مشکل و پرهزینه است دست یابی به راهکارهایی جهت شناسایی سریع و کنترل عفونت های بیوفیلیم ضروری است. هدف از این مطالعه بررسی استفاده از نانوذرات اکسید روی در ساخت کاتتر و بررسی اثر مهاری آن در مانع از تشکیل بیوفیلیم بود. **مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی ابتدا در ساخت کاتترهای پلی وینیل کلراید، نانوذرات اکسید روی با غلظت ۲/۰۲۷ میکروگرم بر میلی لیتر استفاده شد. تشکیل بیوفیلیم در فاصله های زمانی ۲، ۴، ۶، ۱۰، ۲۴، ۴۸ ساعت از طریق تست احیای XTT که یک روش نیمه کمی است و اندازه گیری وزن خشک بررسی شد. **یافته ها:** در بررسی های انجام شده XTT با گذشت زمان در کاتترهای حاوی اکسید روی افزایش تراکم سلولی (افزایش جذب نوری) کمتری نسبت به کاتترهای فاقد آن دیده شد. در اندازه گیری وزن خشک نیز نتایج مشابهی مشاهده گردید. **بحث و نتیجه گیری:** با توجه به تشکیل بیوفیلیم بر روی وسایل و تجهیزات پزشکی مانند: انواع کاتتر، ایمپلنت، دندان مصنوعی، دریچه های مصنوعی قلب و غیره می توان از نانوذره اکسید روی به عنوان یک عامل مهاری رشد بیوفیلیم در بسیاری از سطوح و ابزار پزشکی بهره گرفت.

کلمات کلیدی: کاندیدا آلبیکنس، بیوفیلیم، نانوذره اکسید روی، XTT، عفونت های بیمارستانی

مقدمه

است (۱-۴). میکروارگانیسم های مختلف که توانایی تشکیل بیوفیلیم را دارند می توانند روی این مواد چسبیده و با کلونیزاسیون و ایجاد عفونت مشکلات خاصی را سبب می شوند. بیوفیلیم در واقع به معنی اتصال، تجمع و تراکم پیچیده ارگانیسم ها بر روی سطوح مختلف به خصوص پلیمریک است (۳، ۴). آزاد شدن این میکروارگانیسم ها به درون خون می تواند باعث یک عفونت منتشره شود این در حالی

حساسیت ذاتی به وسایل پزشکی رو به افزایش است. تکنولوژی مدرن امکان استفاده از وسایل جدید پزشکی را فراهم کرده و ترکیبی از عوامل افزایش جمعیت بیماران و استفاده از وسایل پزشکی که در بدن به کار می روند (ایمپلنت، پروتز، کاتتر، دریچه های مصنوعی قلب و غیره) سبب افزایش عفونت های بیمارستانی مرتبط گردیده

۱- پژوهشگر، تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه فارم شناسی پزشکی
۲- استادیار، تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه فارم شناسی پزشکی (نویسنده مسئول)
تلفن: ۰۲۱-۸۲۸۸۴۵۴۰ آدرس الکترونیک: sh.mohammadi@modares.ac.ir
۳- استاد، تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه، گروه بیوفیزیک
۴- استاد، تهران، کرمانشاه، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، گروه ایمنی شناسی
۵- مربی، تهران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، دانشکده پیراپزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی

می‌باشد. اتیلن گلیکول باید در طول زمان واکنش به محلول اضافه گردد تا به طور یکنواخت در محلول پخش گردد. شکل نانوذرات کلوئیدی اکسیدروی تاثیر پذیری زیادی از غلظت استات روی دارد. با تغییر غلظت استات روی احتمال عدم تشکیل نانوذرات کروی و یکنواخت وجود دارد.

اضافه کردن محلول کلوئیدی به گرانول

در این مرحله گرانول‌های خام را در محلول کلوئیدی نانوذرات اکسیدروی به مدت ۱ ساعت غوطه‌ور کرده و در حمام التراسونیک قرار داده تا نانوذرات اکسیدروی، روی گرانول‌ها قرار گیرند. سپس گرانول‌ها از محلول خارج شده و درون خشک‌کن در دمای 70°C خشک می‌شود. دوباره گرانول‌ها در محلول کلوئیدی نانوذرات اکسیدروی غوطه‌ور و این کار برای ۵ مرتبه انجام می‌شود (هر مرحله غوطه‌وری به مدت ۱ ساعت و در هر مرحله عمل خشک کردن انجام می‌شود). در این مرحله پخش شدگی نانوذرات روی گرانول‌ها بسیار مهم می‌باشد. زیرا اگر نانوذرات به طور مناسب و یکنواخت روی گرانول‌ها پخش نشده باشند؛ خاصیت ضد قارچ و باکتری آنها بسیار کاهش می‌یابد. بنابراین این مرحله بسیار با اهمیت می‌باشد؛ و بایستی کنترل به گونه‌ای صورت پذیرد که نانوذرات به طور یکنواخت روی گرانول‌ها پخش شوند. برای کنترل در این مرحله از حمام آلتراسون استفاده می‌گردد. با تنظیم بسامد آلتراسون و دمای آن نانوذرات اکسیدروی به طور منظم و یکنواخت روی گرانول‌ها پخش می‌گردد. در این کار از محلول کلوئیدی نانوذرات اکسیدروی به جای نانوپودر اکسیدروی استفاده می‌شود، زیرا در این روش پخش شدگی نانوذرات در پلیمر به صورت یکنواخت صورت گرفته و از کلوخه‌شدگی نانوذرات جلوگیری می‌شود. پخش شدگی نانوذرات در پلیمر یکی از پارامترهای مهم در خواص ضدقارچی پلیمرن‌هایی می‌باشد. بنابراین اگر از نانوپودر اکسیدروی استفاده شود، نانوذرات در پلیمر به صورت غیریکنواخت پخش شده و خواص ضدقارچی به شدت کاهش می‌یابد.

در پایان گرانول‌های خشک‌شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی برای مشاهده مورفولوژی و پخش یکنواخت نانوذرات اکسیدروی مشخصه‌یابی می‌شوند. در این مطالعه از میکروسکوپ الکترونی SEM مدل فیلیپس آلمان در دانشگاه تربیت مدرس استفاده

است که در مان عفونت‌های منتشره حاصل از این میکروارگانیسم‌ها به واسطه وجود بیوفیلم مشکل است (۵). چرا که دفاع میزبان و همچنین درمان دارویی را با اختلال روبرو می‌کند. در واقع تشکیل بیوفیلم به ارگانیسم توان رقابت با فلور نرمال موجود در حفرات بدن را می‌دهد، همچنین به عنوان یک مخزن مطمئن در رهاسازی سلول‌های عفونت‌زا عمل می‌کند (۶، ۷، ۸، ۹). عفونت‌های ادراری، گوش میانی، پلاک‌های دندان، پوشش لنزهای تماسی، اندوکاردیت و سیستیک فیبروزیس از جمله فرایندهای عفونت‌زایی باشند که بیوفیلم در ارتباط با آنهاست. ماهیت شیمیایی سطوح تماس تا حد زیادی در تشکیل بیوفیلم نقش دارد (۱۰، ۱۱، ۱۲). مثلاً آلودگی سطوح لاتکس یا پلی وینیل کلراید خیلی بالا ولی پلی اورتان و سیلیکون کمتر است (۱۳). بنابراین با تغییر جنس این وسایل می‌توان از تشکیل بیوفیلم کاندیدیایی ممانعت کرد. توجه به خواص ضد قارچی و باکتریایی، نانوذرات اکسید روی در ساختمان کاترهای به کار رفته و تاثیر آن در ممانعت از تشکیل بیوفیلم بررسی خواهد شد (۱۴).

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، ابتدا سویه استاندارد کاندیدا آلبیکانس ATCC ۱۰۲۳۱، در دمای 37°C و به مدت ۱۸ ساعت در محیط سابوردکستروز آگار کشت داده شد و سپس یک لوپ پر از کلنی رشد کرده به محیط YNB با ۵۰ میلی مولار گلوکز منتقل و بعد از ۱۸ ساعت، سلول‌ها (که در انتهای فاز لگاریتمی هستند) جمع‌آوری گردید و ۲ بار با PBS ($\text{pH}=7.2$) شسته شد و دوباره به محیط YNB حاوی ۱۰۰ میلی‌مالار گلوکز منتقل و از آن سوسپانسیون استاندارد سلولی $1 \times 10^7 \text{ ml/cell}$ (که در طول موج ۵۲۰ نانومتر جذب نوری ۰/۸ دارد) تهیه شد.

تولید نانوذرات کلوئیدی اکسیدروی

ابتدا استات روی در حلال آب حل شده و روی هم‌زن مغناطیسی در دمای 80°C قرار می‌گیرد. سپس اتیلن گلیکول به صورت قطره قطره به محلول اضافه شده و بعد از گذشت ۲ ساعت از زمان واکنش نانوذرات کلوئیدی در محلول شکل می‌گیرد. برای اطمینان از تشکیل نانوذرات کلوئیدی از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) استفاده می‌شود. در این مرحله کنترل قطر نانوذرات بسیار مهم

ریخته ۷ دقیقه سانتیفریژدر ۴ درجه سانتی گراد با دور ۱۰۰۰۰ انجام شد. بعد بلافاصله تریپسین را خالی و ۱۰۰ میکرولیتر محیط YNB اضافه گردید و ۱۰ دقیقه در ۴ درجه سانتیگراد با دور ۱۲۰۰۰ سانتیفریژ شد. محلول رویی تخلیه و دوباره ۱۰۰ میکرولیتر محیط افزوده و بعد از ورتکس به پلیت های ۹۶ خانه های منتقل شد به هر چاهک ۵۰ میکرولیتر کوانزیم Q و ۱۰۰ میکرولیتر XTT اضافه شد. ۳ ساعت در ۳۷°C در جای تاریک قرار گرفت و سپس از هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر به پلیت جدید منتقل و ۱۰۰ میکرولیتر ۵٪ DMSO اضافه شد و بعد از ۱۰ دقیقه در پلیت ریدر تغییر کالرنگ متری در طول موج ۴۹۲ نانومتر قرائت گردید.

همچنین آنالیز آماری از طریق آزمون آماری t-test صورت پذیرفت.

یافته ها

جهت بررسی ساختار کریستالی نانو ساختارهای اکسیدروی از تکنیک XRD استفاده گردید که با توجه به شرایط تولید و افزایش دمای رشد، شدت پیک ها افزایش یافته و تیزتر شدند. (شکل ۱) از میکروسکوپ الکترونی جهت شناسایی نانو ذرات استفاده شد. قدرت تفکیک SEM نزدیک به چند نانومتر است و بزرگنمایی این ابزارها بین ۱۰ تا ۳۰۰۰۰۰ می باشد. (شکل ۲)

اندازه گیری وزن خشک بیوفیلم بالغ بعد از ۴۸ ساعت انجام شد این اندازه گیری ۴ بار تکرار شد و میانگین \pm انحراف استاندارد، در بیوفیلم کاترهای فاقد نانو ذرات اکسید روی 0.083 ± 0.0021 گرم و در کاترهای حاوی اکسید روی 0.025 ± 0.002 گرم حاصل گردید ($P=0.006$).

سنجش احیای رنگ تترازولیوم در ساعت های مختلف انجام و منحنی آن رسم شد. (شکل ۳) با گذشت زمان میزان جذب یعنی تراکم سلولی افزایش یافت. بعد از ۸ ساعت افزایش فعالیت متابولیکی دیده شد (هر چند بیوفیلم بالغ بعد از ۴۸ ساعت تشکیل می شود) در بررسی با میکروسکوپ نوری در ۲ ساعت اول سلول ها به صورت مخمری بود بعد از ۴ ساعت جوانه زده و شروع به تشکیل فیلامان و هایفای کاذب و گاه هایفای واقعی کردند و بعد از ۸ ساعت کلنی ها توسعه یافت و کاملاً فرم رشته ای دیده شد این بررسی در کاترهای

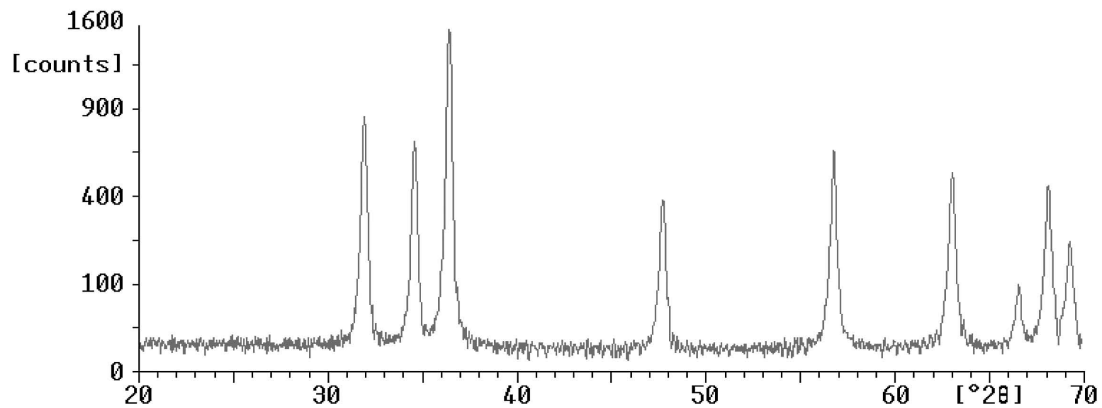
شد. تست های ضد قارچ و باکتری نیز روی نمونه ها انجام می شود. برای انجام تست های ضد قارچ و باکتری ابتدا قارچ و باکتری مورد نظر کشت داده می شود و این گرانول ها در معرض این قارچ و باکتری ها قرار می گیرند. بعد از ۲۴ ساعت نمونه ها با میکروسکوپ مشاهده شده و میزان رشد قارچ و باکتری اندازه گیری می شود تشکیل بیوفیلم در *in vitro*: کاندیدا آلبیکانس در محیط YNB که حاوی ۵۰ میلی مولار گلوکز است کشت و یک شب در ۳۷°C انکوبه گردید. سپس از آن یک سوسپانسیون سلولی با غلظت 1×10^7 cell/ml تهیه شد. کاترهای حاوی نانو ذرات اکسیدروی با $2/0.27$ MIC میکروگرم بر میلی لیتر به قطر $1/5$ سانتی متر مربع بریده و در پلیت های ۱۲ خانه ای کشت بافت، حاوی سرم جنین گاوی برای ۲۴ ساعت در ۳۷°C قرار گرفت. سپس به دیسک ها 80μ سوسپانسیون سلولی 1×10^7 ml/cell افزوده و ۹۰ دقیقه در ۳۷°C انکوبه گردید در مرحله بعد شستشو با PBS جهت حذف سلول هایی که متصل نشده اند انجام شد؛ و به پلیت های جدید که حاوی ۴ میلی لیتر YNB با ۵۰ میلی مولار گلوکز منتقل و ۴۸ ساعت در ۳۷°C نگهداری شد.

جهت جلوگیری از خطای کاری این آزمایش سه بار تکرار گردید و همزمان از کاترهای فاقد اکسید روی به عنوان کنترل استفاده شد.

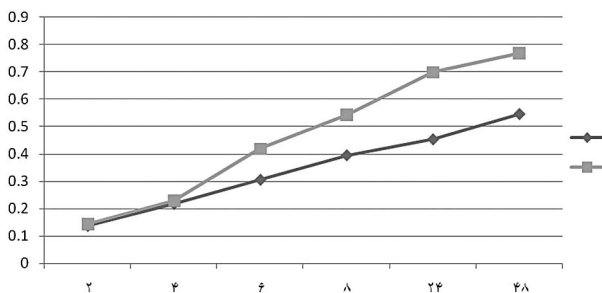
اندازه گیری بیوفیلم

۱- اندازه گیری وزن خشک: ابتدا دیسک های کاتر قبل از تلقیح توزین شد. ۴۸ ساعت بعد از تلقیح دیسک ها از محیط خارج و ۲ بار با $\text{pH}=7/2$ (جهت حذف سلول های متصل نشده) شسته شد سپس یک شب در دمای اتاق در تاریکی قرار گرفت تا خشک شود و بعد وزن آن اندازه گرفته شد. تفاضل وزن قبل از تلقیح و بعد از آن وزن بیوفیلم است.

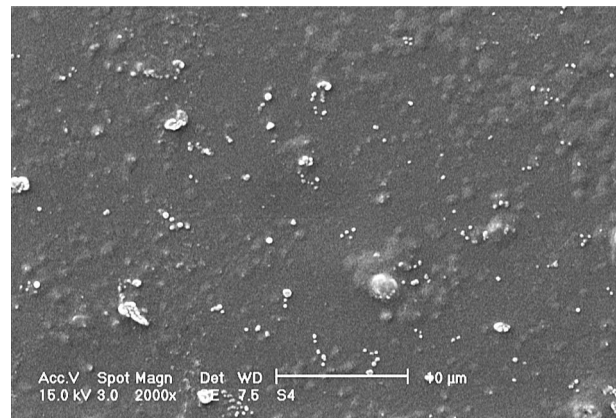
۲- سنجش احیای رنگ تترازولیوم (XTT): ابتدا غلظت mg/ml $0/25$ از XTT در PBS تهیه و با فیلتر $0/2$ صاف شد. محلول کوانزیم ۵Q میلی گرم در ۱ میلی لیتر PBS تهیه شد (بلافاصله قبل از هر تست آماده شد). بعد از تشکیل بیوفیلم، دیسک ها ۲ بار با PBS برای خارج کردن سلول های متصل نشده شسته شد و سپس جهت جدا سازی سلول های مخمری از سطح دیسک ها از تریپسین استفاده شد بدین ترتیب که ابتدا در دو طرف تریپسین



شکل ۱- شمای XRD از نانوذره اکسید روی



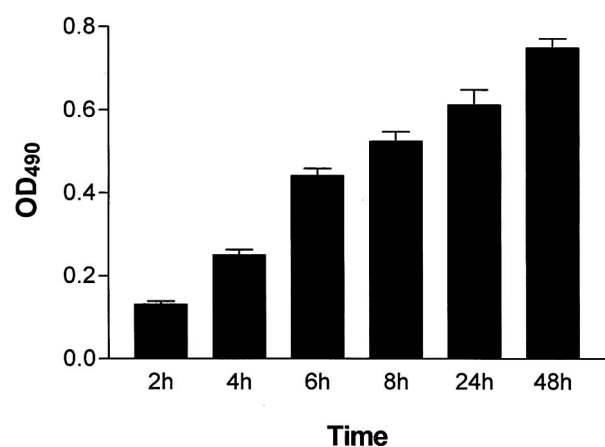
شکل ۴- مقایسه جذب نوری در کاتترهای حاوی اکسید روی و فاقد آن



شکل ۲- شمای میکروسکوپ الکترونی کاتتر حاوی نانو ذرات اکسید روی

بحث

کاندید آلبيکانس معمول ترین پاتوژن قارچی در ارتباط با کلونیزاسیون و تشکیل بیوفیلم در وسایل پزشکی از جمله کاتتر است. بیوفیلم های کاندیدیایی به درمان های ضد قارچی معمول مقاوم هستند (۱۵). تخمین زده شده ۲ تا ۱۲ درصد از کاتترها باعث عفونت می شوند و کمیته نظارت بر عفونت ها بیمارستانی نشان داده که ۸۷ درصد از عفونت های اولیه خونی در ارتباط با کاتترها می باشد (۶). بیوفیلم های کاندیدیایی به درمان های ضد قارچی معمول مقاوم هستند از آنجا که تعویض مداوم این وسایل مشکل و پرهزینه است دست یابی به راهکارهایی جهت شناسایی سریع و کنترل عفونت های بیوفیلم ضروری است. در این تحقیق جهت مهار تشکیل بیوفیلم بر روی کاتتر از نانوذرات اکسید روی استفاده شد، اکسید روی یک ترکیب غیر آلی محلول در آب است و خواص ضد باکتری و ضد قارچی آن به اثبات رسیده است این نانوذره با اتصال به غشا میکروارگانیسم ها فاز تأخیری چرخه رشد را طولانی کرده و سبب طولانی شدن مدت زمان جوانه زنی ارگانیسم ها می شود (۱۶). قارچ ها پس از



شکل ۳- سنجش احیای رنگ ترازولیوم در ساعت های مختلف (افزایش جذب نوری با گذشت زمان مشاهده شد)

حاوی اکسید روی نیز انجام شد که در این کاتترها جذب نوری با گذشت زمان به میزان کمتری افزایش یافت و در بررسی میکروسکوپی تراکم کمتر سلول ها مشاهده گردید. (شکل ۴)

استفاده از روش نیمه کمی رنگ سنجی (احیای XTT) اثر نانوذرات اکسید روی مورد بررسی قرار گرفت. این روش متکی بر توانایی دهیدروژناز میتوکندری در تبدیل نمک تترازولیوم به رنگ فورموزان قابل اندازه گیری با اسپکتروفتومتر می باشد (۱۷). این اندازه گیری به وضوح تفاوت قابل ملاحظه‌ای را متناسب با تراکم سلولی بیوفیلم در ساعت‌های مختلف در کاتترهای حاوی اکسید روی و فاقد آن نشان داد (شکل ۴). اندازه گیری وزن خشک در بیوفیلم کاتتر در هر دو حالت، (کاتترهای فاقد نانوذرات اکسید روی 0.083 ± 0.0021 / گرم و در کاتترهای حاوی اکسید روی 0.025 ± 0.002) نیز مؤید تاثیر نانو ذرات می باشد (۱۸).

با توجه به آزمون آماری t-test که بین گروه‌های مورد آزمایش و گروه کنترل منفی صورت پذیرفت اختلاف معناداری بین گروه‌های مورد آزمون و کنترل مشاهده شد با $(p < 0.05)$.

با توجه به اثرات شناخته شده ضد قارچی و ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی، می توان با به کار گیری علم نانو تکنولوژی از آن بر روی سطوح آلی و غیر آلی و بسیاری از وسایل و تجهیزات پزشکی مانند: انواع کاتتر، ایمپلنت، دندان مصنوعی، دریچه‌های مصنوعی قلب و غیره به عنوان یک عامل خود پاک کننده در زدودن آلودگی در بسیاری از سطوح و ابزار پزشکی بهره گرفت.

۱۲۰ دقیقه تماس با اکسید روی تخریب می شوند. همچنین روش فتوکاتالیتیک ZnO می تواند روش سودمندی برای مهار قارچ‌ها باشد و ترکیب نانوذره ZnO و ایوگانول بر علیه کاندیدا آلبیکنس در محیط آزمایشگاه (In vitro) مورد ارزیابی قرار گرفته و اثرات آن به اثبات رسیده است.

خصوصیات ضدقارچی ترکیبات کربنی کرومی با اکسیدروی نیز مورد بررسی قرار گرفته است و مشخص شده که با افزایش دما فعالیت ضد قارچی ترکیبات کربنی با اکسیدروی افزایش نیافته، بلکه با افزایش غلظت پودر فعالیت ضدقارچی افزایش پیدا خواهد کرد. از دیگر مصارف اکسید روی در پزشکی به موارد زیر می توان اشاره کرد:

مخلوط آن با ۵٪ اکسید آهن تحت عنوان کالامین نام دارد. در مخلوط با اوزنول به عنوان یک آنتی سپتیک موضعی به کار می رود. همچنین از آن به صورت کرم در درمان بشورات قنذاقی استفاده می شود یا بر روی نوارهایی تحت عنوان نوارهای اکسید روی جهت پیشگیری از تخریب بافت نرم در طول درمان جراحات بکار می رود.

با توجه به تحقیق‌های انجام شده از اکسیدروی با MIC $2/0.27$ میکروگرم بر میلی لیتر در کاتتر استفاده شد و بعد از اطمینان از توزیع یکنواخت آن در سطح کاتتر از طریق انجام پراکنش XRD و میکروسکوپ الکترونی (SEM)، تاثیر آن بر تشکیل بیوفیلم با

References

- Ramage G, Saville SP, Thomas DP, Lopez-Ribot JL. Candida biofilms: an update. *Eukaryot Cell* 2005; 4(4): 633-8.
- Pruthi V, Al-Janabi A, Pereira BM. Characterization of biofilm formed on intrauterine devices. *Indian J Med Microbiol* 2003; 21(3): 161-5.
- Kojic EM, Darouiche RO. Candida infections of medical devices. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17(2): 255-67.
- Peterson TS. Treatment and prevention of fungal infection. focus on candidemia. New York: applied clinical education: 2007. P. VII-VIII.
- Samaranayake YH, Ye J, Yau JY, Cheung BP, Samaranayake LP. In vitro method to study antifungal perfusion in Candida biofilms. *J Clin Microbiol* 2005; 43(2): 818-25.
- Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol* 2001; 183(18): 5385-94.
- Nett JE, Guite KM, Ringeisen A, Holoyda KA, Andes DR. Reduced biocide susceptibility in *Candida albicans* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(9): 3411-3.
- Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol* 2001; 183(18): 5385-94.
- Kuhn DM, Ghannoum MA. Candida biofilms: antifungal resistance and emerging therapeutic options. *Curr Opin Investig Drugs* 2004; 5(2): 186-97.
- Zhao X, Daniels KJ, Oh SH, Green CB, Yeater KM, Soll DR, et al. *Candida albicans* Als3p is required for wild-type biofilm formation on silicone elastomer surfaces. *Microbiology* 2006; 152(Pt 8): 2287-99.
- Vediyappan G, Chaffin WLJ. Non-glucan attached proteins of *Candida albicans* biofilm formed on various surfaces. *Mycopathologia* 2006; 161(1): 3-10.

- 12- Nobile CJ, Nett JE, Andes DR, Mitchell AP. Function of *Candida albicans* adhesin Hwp1 in biofilm formation. *Eukaryot Cell* 2006; 5(10): 1604-10.
- 13- Crump JA, Collignon PJ. Intravascular catheter-associated infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19(1): 1-8.
- 14- Cassanho AC, Fernandes AM, Oliveira LD, Carvalho CA, Jorge AO, Koga-Ito CY. In vitro activity of zinc oxide-eugenol and glass ionomer cements on *Candida albicans*. *Braz Oral Res* 2005; 19(2): 134-8.
- 15- McGinnis MR, Sigler L, Rinaldi MG. Some medically important fungi and their common synonyms and names of uncertain application. *Clin Inf Dis* 1999; 29(4): 728-30.
- 16- Atmaca S, Gul K, Cicek R. The effect of zinc on microbial growth. *Turkish Journal of Medical Sciences* 1998; 28(6): 595-7.
- 17- Ramage G, Vande Walle K, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Standardized method for in vitro antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(9): 2475-9.
- 18- Peltroche-Llacsahuanga H, Goyard S, d'Enfert C, Prill SK, Ernst JF. Protein O-mannosyltransferase isoforms regulate biofilm formation in *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(10): 3488-91.

Antifungal effect of Zinc oxide nano_particles of the standard strains of candida albicans biofilm growth on catheters

Nahid Darabi¹, *Shahla Roudbar Mohammadi², Hossein Naderi Manesh³, Ali Mostafai⁴, Mahmood Vahidi⁵

Received: 27 Feb 2012

Accepted: 26 Jun 2012

Abstract

Background: *Candida albicans* is an important human pathogen that can cause systemic infections, predominantly among populations with weak immune systems. *Candida* spp. produces biofilms on synthetic materials such as catheter, which facilitates adhesion of the organisms to devices. Since the frequent replacement of these devices is difficult and expensive to achieve, solutions for rapid identification and control of biofilm infections is essential. The purpose of this study is; the use of zinc oxide nanoparticles in the manufacture of catheter and evaluation of its inhibitory effect in preventing of the biofilm formation.

Materials and Methods: In this experimental study, the catheters in poly vinyl chloride, ZnO nanoparticles with a concentration of 2.027 µg/ml were used. Biofilms were formed over a series of time intervals (2, 4, 6, 8, 24 and 48 h). At each time interval, biofilm formation was measured with the XTT and biomass assay and concurrently assessed by light microscopy.

Results: Results showed that catheters containing zinc oxide increases with time in cell density (absorbance increase) were lower than those without catheters. Similar results were also measured in dry weight.

Conclusion: This study demonstrated the antifungal activity of ZnO. Therefore, biofilm formation on medical equipment such as catheters, implants, dentures, artificial heart valves, etc can be inhibited by ZnO nanoparticles.

Keywords: *Candida Albicans*, Nanoparticle ZnO, XTT assay, Biofilm

1- Researcher, Medical Mycology Department, Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2- (*Corresponding Author) Assistant Professor, Medical Mycology Department, Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. Tel: +98 21 82884540 E-mail: sh.mohammadi@modares.ac.ir

3- Professor, Biophysics Department, Faculty of Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

4- Professor, Immunology Department, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

5- Instructor, Laboratory Sciences Department, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran