



Evaluation of the Antibacterial Effects of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles against Gram-Positive and Gram-Negative Pathogenic Bacteria

Maryam Jamalán¹, Fatemeh ghaffarian Sayeli¹, Amin moradi-Hasanabad², Maryam Akbari³, Ali Sobhani Nasab^{4*}

¹ Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

² Autoimmune Disease Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

³ Trauma Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

⁴ Physiology Research Center, Institute for Basic Sciences, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

*Corresponding author: Ali Sobhani Nasab, Physiology Research Center, Institute for Basic Sciences, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Email: ali.sobhaninasab@gmail.com

Received: 30 December 2025 Revised: 19 May 2026 Accepted: 19 May 2026

Abstract

Background and Aim: Metal oxide nanoparticles, due to their unique physicochemical properties and significant antimicrobial activity, have emerged as promising agents against drug-resistant pathogens. This study aimed to synthesize ZnO nanoparticles using a local (in-house) method and evaluate their structural characteristics and antibacterial effects against Gram-positive and Gram-negative pathogenic bacteria.

Methods: ZnO nanoparticles were synthesized using a co-precipitation method. The structural and morphological properties of the synthesized nanoparticles were characterized using scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD), and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Antibacterial activity was assessed by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using the broth microdilution method.

Results: SEM images revealed that the ZnO nanoparticles formed clustered spherical particles with sizes ranging from 70 to 200 nm. XRD analysis confirmed a well-defined crystalline structure and high purity of the nanoparticles. FTIR spectra showed a characteristic peak at 811.1 cm⁻¹, confirming the formation of ZnO nanoparticles. The MIC values for the tested bacteria ranged from 0.15625 to 1.25 mg/mL, while the MBC values ranged from 0.3125 to 2.5 mg/mL.

Conclusion: The findings demonstrated that the synthesized ZnO nanoparticles possess desirable structural characteristics and significant antibacterial activity against pathogenic bacteria. These results provide a basis for further investigations into the biomedical and industrial applications of these nanoparticles as antibacterial agents.

Keywords: Nanotechnology, Zinc oxide nanoparticles, Bacterial resistance, Antibacterial activity, Pathogenic bacteria

Extended Abstract

Background and Objective

The emergence of multidrug-resistant pathogenic bacteria has become a critical global health challenge, necessitating the development of novel antimicrobial agents (Belay et al., 2024; El-Zamkan et al., 2021). Metal oxide nanoparticles, particularly zinc oxide (ZnO) nanoparticles, have attracted considerable attention due to their unique physicochemical properties, high surface-area-to-volume ratio, and significant antimicrobial activity against a broad spectrum of pathogens (Gudkov et al., 2021; Pushpalatha et al., 2022). ZnO nanoparticles exert antibacterial effects through multiple mechanisms, including membrane disruption, reactive oxygen species (ROS) generation, DNA damage, and interference with bacterial replication processes (Gudkov et al., 2021; Tiwari et al., 2025). Given the increasing prevalence of antibiotic-resistant bacteria and the potential applications of ZnO nanoparticles in biomedical and industrial settings, this study aimed to synthesize ZnO nanoparticles using a co-precipitation method, characterize their structural properties, and evaluate their antibacterial efficacy against clinically relevant Gram-positive and Gram-negative pathogenic bacteria.

Methods

ZnO nanoparticles were synthesized using a co-precipitation method. Briefly, a 0.2 M aqueous solution of zinc nitrate hexahydrate ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; Merck, Germany) was prepared using deionized water. A 0.4 M potassium hydroxide (KOH; Qatran Shimi) solution was slowly added to the zinc nitrate solution under constant stirring until a white suspension formed. The resulting precipitate was

centrifuged at an unspecified speed for 20 minutes (Universal 320/Hettich, Germany) and washed three times with distilled water. The obtained precipitate was then calcined at 500°C for 5 hours (heating rate not specified) to yield ZnO powder. The synthesized nanoparticles were characterized using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR; Thermo Avatar), X-ray diffraction (XRD; Normal Philips PW1730), and scanning electron microscopy (SEM; VEGA3) to confirm nanoparticle formation, crystallinity, purity, and morphology.

To prepare the nanoparticle suspension for antimicrobial testing, 0.35 g of ZnO powder was combined with 35 mL of sterile deionized water and sonicated at 20 kHz for 30 minutes in an ice bath (ultrasonic probe homogenizer, Iran) to obtain a uniform suspension with a concentration of 10 mg/mL. All subsequent concentrations were prepared from this stock suspension. The antibacterial activity of the synthesized ZnO nanoparticles was evaluated against six bacterial strains: Gram-positive bacteria including *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA); and Gram-negative bacteria including *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, and *Salmonella enterica* ATCC 14028. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined using the broth microdilution method according to CLSI guidelines. Serial two-fold dilutions of ZnO nanoparticles (ranging from 4.88 to 10,000 µg/mL) were prepared in Mueller-Hinton broth (MHB) in 96-well plates. Bacterial suspensions were adjusted to a final concentration of 5×10^5 CFU/mL using the 0.5 McFarland standard,

confirmed by spectrophotometry (Nanodrop Vis/UV, Roche/Biotek, USA). Plates were incubated at 37°C for 24 hours in a shaker incubator. The MIC was defined as the lowest concentration of nanoparticles that inhibited visible bacterial growth (absence of turbidity), and the MBC was determined as the lowest concentration that killed $\geq 99.99\%$ of bacteria, confirmed by subculturing on blood agar plates. All experiments were performed in triplicate.

Results

SEM imaging of the synthesized ZnO nanoparticles revealed the presence of small clusters of spherical particles with sizes ranging from 70 to 200 nm (Figure 2). The XRD pattern exhibited sharp, well-defined peaks, confirming the high crystallinity and purity of the ZnO nanoparticles (Figure 3). FTIR spectroscopy showed a characteristic peak at 811.1 cm^{-1} , indicating the formation of ZnO nanoparticles; additional peaks at higher wavenumbers were attributed to surface hydroxyl groups and adsorbed water molecules (Figure 4).

The antibacterial activity of the synthesized ZnO nanoparticles was assessed through MIC and MBC determinations (Table 1). The MIC values ranged from 0.15625 to 1.25 mg/mL, while MBC values ranged from 0.3125 to 2.5 mg/mL across the tested bacterial strains. The lowest MIC (0.15625 mg/mL) and MBC (0.3125 mg/mL) were observed against *Listeria monocytogenes*, indicating the highest susceptibility among the tested bacteria. The highest MIC values (1.25 mg/mL) were recorded for *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella enterica*, both Gram-negative bacteria, with corresponding MBC values of 2.5 mg/mL. For *Escherichia coli*, the MIC was 0.625 mg/mL and the MBC was 2.5 mg/mL.

Among the Gram-positive bacteria, MRSA showed an MIC of 0.3125 mg/mL and MBC of 0.625 mg/mL, while *Enterococcus faecalis* exhibited both MIC and MBC values of 0.625 mg/mL. Notably, the results demonstrated that Gram-positive bacteria (particularly *L. monocytogenes*) were generally more susceptible to ZnO nanoparticles than Gram-negative bacteria, likely due to the structural differences in their cell wall composition, with the outer membrane of Gram-negative bacteria acting as an additional permeability barrier.

Conclusion

ZnO nanoparticles synthesized by the co-precipitation method showed desirable nanoscale size (70–200 nm), high crystallinity, and purity, confirmed by SEM, XRD, and FTIR analyses. They exhibited strong antibacterial activity against both Gram-positive and Gram-negative pathogenic bacteria, with MIC values between 0.15625 and 1.25 mg/mL. Gram-positive bacteria were more susceptible, likely due to structural differences in their cell walls and the absence of the protective outer membrane found in Gram-negative bacteria. These findings support the potential of ZnO nanoparticles as effective antibacterial agents for biomedical and industrial applications, especially in addressing antibiotic resistance. However, the study was limited by the lack of antibiotic controls, toxicity evaluation, advanced characterization, and statistical analysis. Future studies should focus on detailed characterization, molecular mechanisms, cytotoxicity, biocompatibility, and combination therapies with conventional antibiotics to strengthen their clinical relevance.



ارزیابی اثرات ضدباکتریایی نانوذرات اکسید روی (ZnO) بر باکتری‌های بیماری‌زای گرم مثبت و گرم منفی

مریم جمالان^{۱*}، فاطمه غفاریان سایی^{۱*}، امین مرادی حسن آباد^{۲*}، مریم اکبری^{۳*}، علی سبحانی نسب^{۴*}

^۱ گروه میکروپ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
^۲ مرکز تحقیقات بیماری‌های اتوایمیون، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
^۳ مرکز تحقیقات تروما، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
^۴ مرکز تحقیقات فیزیولوژی، پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۱۰/۰۹ اصلاح مقاله: ۱۴۰۵/۰۲/۲۹ پذیرش مقاله: ۱۴۰۵/۰۲/۲۹

چکیده

زمینه و هدف: نانوذرات اکسید فلزی به دلیل ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی منحصربه‌فرد و فعالیت ضد میکروبی قابل توجه، به عنوان گزینه‌ای امیدبخش در مقابله با پاتوژن‌های مقاوم به عوامل ضدباکتریایی مطرح هستند. این مطالعه با هدف تولید نانوذرات ZnO به روش بومی و بررسی ویژگی‌های ساختاری و اثرات ضدباکتریایی آن‌ها علیه باکتری‌های بیماری‌زای گرم مثبت و گرم منفی انجام شد.

روش‌ها: نانوذرات اکسید روی به روش هم‌رسوبی سنتز شدند. ویژگی‌های ساختاری و مورفولوژیکی نانوذرات تولیدشده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، پراش پرتو ایکس (XRD) و طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) مورد ارزیابی قرار گرفت. فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات با تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) به روش میکرودايلوشن براث بررسی شد.

یافته‌ها: تصاویر SEM نشان دادند که نانوذرات ZnO به صورت خوشه‌هایی از ذرات کروی با اندازه‌ای در محدوده ۷۰ تا ۲۰۰ نانومتر تشکیل شده‌اند. نتایج XRD وجود ساختار کریستالی مناسب و خلوص بالای نانوذرات را تأیید کرد. همچنین طیف FTIR با حضور پیک مشخص در 811.1 cm^{-1} تشکیل نانوذرات ZnO را نشان داد. مقادیر MIC برای باکتری‌های مورد بررسی در بازه ۰.۱۵۶۲۵ تا ۱.۲۵ mg/mL و مقادیر MBC در بازه ۰.۳۱۲۵ تا ۲.۵ mg/mL تعیین شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که نانوذرات اکسید روی سنتز شده دارای ویژگی‌های ساختاری مطلوب و فعالیت ضدباکتریایی قابل توجه علیه باکتری‌های بیماری‌زا هستند. این یافته‌ها می‌تواند زمینه‌ساز مطالعات بیشتر برای توسعه کاربردهای ضدباکتریایی این نانوذرات در حوزه‌های زیست‌پزشکی و صنعتی باشد.

کلیدواژه‌ها: نانوتکنولوژی، نانوذرات اکسید روی، مقاومت باکتریایی، فعالیت ضدباکتریایی، باکتری‌های بیماری‌زا

*نویسنده مسئول: علی سبحانی نسب پست الکترونیک: ali.sobhaninasab@gmail.com

آدرس: مرکز تحقیقات فیزیولوژی، پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

مقدمه

نانوتکنولوژی علم طراحی، تولید و کاربرد مواد در مقیاس ۱ تا ۱۰۰ نانومتر است که امروزه در عملکردهای کلینیکی، بهداشتی، دارویی و بسیاری از زمینه‌های دیگر علمی پرکاربرد، خلاقانه و بسیار جذاب می‌باشد. با تولید ذرات نانو این امکان فراهم می‌شود که ناحیه سطحی وسیع تری در ماده وجود داشته و سنتز کنترل شده ما را قادر می‌سازد تا خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مطلوبی را در ارتباط با بیومولکول‌ها به‌دست آوریم. از این رو تولید و ساخت نانوذرات به ویژه نانوذرات فلزی به موضوعی جذاب در زمینه‌های مختلف از جمله کاربردهای ضد میکروبی تبدیل شده است. ویژگی‌های ضد میکروبی و مکانیسم‌های ضد میکروبی این نانومواد در مطالعات مختلف مورد بررسی بوده و تأیید شده است [۱]. استفاده از نانوذرات اکسید روی (ZnO) با مزیت‌های متعددی همراه است که شامل اثرات ضد میکروبی مناسب در غلظت‌های مطلوب بر باکتری‌های مختلف و هزینه تولید پایین می‌باشد. مکانیسم‌های ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی شامل تخریب غشاء، اتصال به پروتئین‌ها و مولکول DNA، تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، اختلال در فرایندهای در ارتباط با تکثیر DNA باکتریایی و تغییر در بیان ژن‌ها می‌باشد [۲]. سازمان (Food and Drug Administration) نانوذرات اکسید روی (ZnO) را در برخی کاربردهای صنعتی و دارویی به‌عنوان ماده‌ای با ایمنی قابل قبول قرار داده است [۳].

در عصر حاضر همچنان آنتی بیوتیک‌ها به عنوان "استاندارد طلایی" (Gold standard) در درمان بسیاری از عفونت‌های باکتریایی مورد استفاده بوده و از ضد عفونی کننده‌ها برای مقابله با میکروارگانیسم‌های پاتوژن در محیط استفاده می‌شود. اما اکثر میکروارگانیسم‌های پاتوژن عامل عفونت‌ها در انسان و حتی حیوانات، توانایی مقاومت به عوامل ضد میکروبی و آنتی بیوتیک‌ها را نشان می‌دهند و مکانیسم‌های مولکولی و ژنتیکی این مقاومت‌ها نیز مشخص گردیده است [۴، ۵]. جستجو و ارائه راهکارهایی برای مقابله با این باکتری‌های مقاوم به عوامل ضد میکروبی چالشی است که پیش روی محققین قرار دارد و استفاده از عوامل ضد میکروبی شامل نانوذرات اکسید فلزی تولید شده با فن آوری‌های نانو از روش‌های پیشنهادی می‌باشد.

از اینرو در این مطالعه نانوذرات ZnO تولید و خواص و ویژگی‌های این نانوذرات تولید شده با روش‌های مختلف مورد سنجش قرار گرفته و اثرات ضد میکروبی نانوذره تولید شده بر

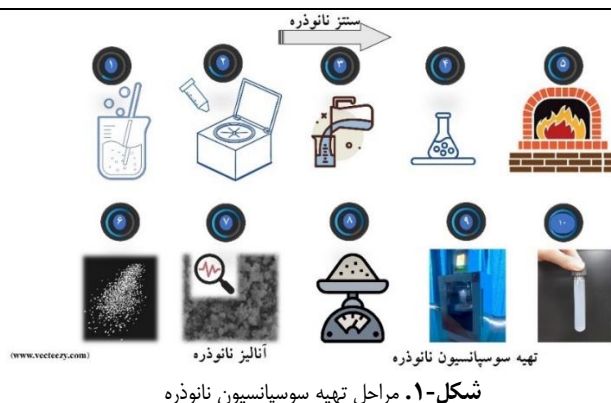
باکتری‌های گرم مثبت و منفی پاتوژن با مقاومت آنتی بیوتیکی با روش تعیین MIC (Minimum Inhibitory Concentration) و MBC (Minimum Bactericidal Concentration) مورد بررسی قرار گرفته است. فن آوری بومی در ارتباط با توانایی تولید این نانوذرات پرکاربرد در آزمایشگاه‌های دانشکده‌های پزشکی و آزمایشگاه‌های تحقیقاتی در سراسر کشور یکی از اهداف محققین در این زمینه است که نتایج این مطالعه نشان می‌دهد بخوبی محقق گردیده است.

روش‌ها

این مطالعه از نوع مداخله‌ای و حالت اجرایی آن مطالعات علوم پایه و آزمایشی می‌باشد. در ادامه مراحل انجام و روش کار مورد استفاده در این بررسی به ترتیب آورده شده است.

تولید نانوذره اکسید روی (ZnO) به روش هم‌رسوبی، بررسی خواص نانوذره و تهیه سوسپانسیون نانوذره

برای تولید نانوذرات اکسید روی به روش هم‌رسوبی، محلول KOH (0.4M) (قطران شیمی) به آرامی به محلول آبی (0.2M) نیترات روی (مرک، آلمان) تهیه شده با آب دیونیزه، با فرمول شیمیایی $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ افزوده شد. پس از شکل گیری سوسپانسیونی سفید رنگ، این محلول برای ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ (مدل ۳۲۰ Universal/Hettich ساخت آلمان) گردید و سپس سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شد. رسوب حاصل شده برای ۵ ساعت در ۵۰۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد. پودر حاصل جمع‌آوری گردید و بررسی‌های لازم شامل آنالیز FTIR (FTIR XRD Normal Philips)، (Thermo Avatar PW1730) و تهیه تصویر میکروسکوپ الکترونی (SEM VEGA3) جهت تأیید تولید نانوذره، روی این محصول انجام گرفت. برای تهیه سوسپانسیون از این نانوذره تولید شده برای بررسی خواص ضد میکروبی، در لوله فالکون استریل ۳۵ سی‌سی آب دیونیزه استریل و ۰.۳۵ گرم پودر نانوذرات ترکیب کرده، سپس به مدت ۳۰ دقیقه در فرکانس ۲۰۰۰۰ Hz در ظرف حاوی یخ سونیکاسیون (هموژنایزر التراسونیک پروبی، ساخت ایران) انجام شد تا سوسپانسیون یکنواختی حاصل شد. در این حالت سوسپانسیون نانوذره با غلظت ۱۰ mg/mL بدست آمده و همه غلظت‌های بعدی مورد نیاز از این سوسپانسیون تهیه شد (شکل-۱).



محاسبات آماری

با توجه به ماهیت داده‌ها و هدف پژوهش، محاسبات شامل تعیین MIC (حداقل غلظت بازدارندگی) و MBC (حداقل غلظت کشندگی)، بر پایه رقت‌سازی متوالی، بررسی کدورت ایجاد شده و شمارش کلنی باکتری‌های مورد بررسی در این مطالعه، صورت گرفته است. این محاسبات وابسته به توزیع آماری یا برآورد پارامترهای تصادفی نیستند و نتایج به صورت مقادیر مشخص گزارش شده است.

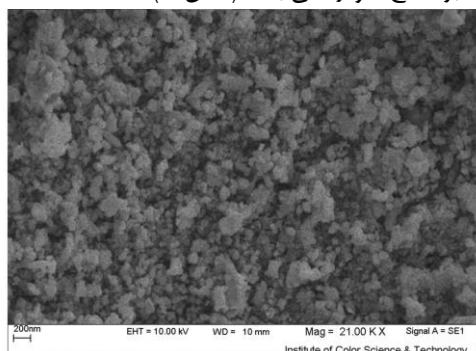
ملاحظات اخلاقی

این مطالعه با اخذ کد اخلاق از کمیته تخصصی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی، موسسه ملی توسعه تحقیقات علوم پزشکی جمهوری اسلامی ایران انجام شده است (کد اختصاصی مصوبه اخلاق این مطالعه: IR.NIMAD.REC.1404.104).

نتایج

آنالیز نانوذره تولید شده

تصویر میکروسکوپ الکترونی SEM از نمونه نانوذره ZnO تولید شده، تهیه گردید و وجود خوشه‌های کوچک از ذرات کروی و اندازه نانومتری ذرات (۷۰-۲۰۰nm) تأیید گردید (شکل-۲). وجود پیک‌های با نوک تیز در آنالیز XRD خلوص و کریستاله شدن مناسب نانوذره ZnO را نشان می‌دهد (شکل-۳). طیف‌های FTIR اندازه‌گیری شده برای نانوذره ZnO تولید شده در پیک ۸۱۱.۱ نشان دهنده تولید این نانوذره بود و پیک‌های در گستره بالاتر مربوط به هیدروکسیدهای سطحی مولکول‌های آبی به دلیل رطوبت بر سطح نانوذره می‌باشد (شکل-۴).



شکل-۲. تصویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) از نانوذرات ZnO تولید شده

سویه‌های باکتریایی مورد استفاده در این مطالعه

سویه‌های باکتری (موجود در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان) مورد استفاده در این بررسی شامل باکتری‌های گرم مثبت: سویه استاندارد لیستریا مونوسیتوزنر ATCC7644، انتروکوکوس فکالیس ATCC29212 و استافیلوکوکوس ارئوس سویه MRSA و سویه‌های گرم منفی: اشریشیا کلی ATCC25922، کلبسیلا پنومونیه ATCC700603، سالمونلا انتریکا ATCC14028 بود. از این باکتری‌ها کشت ۲۴ ساعته تهیه گردید و از این کشت تازه و کلنی‌های تک و خالص برای تهیه استاندارد نیم مک فارلند استفاده شد (با تأیید از طریق سنجش اسپکتروفتومتری (اسپکتروفتومتر Vis/UV نانودراپ، برند Roche مدل Biotech، ساخت آمریکا). برای تهیه سوسپانسیون نهایی (5×10^5 cfu/mL) مورد استفاده در تست میکرودیلاوشن براث و تعیین MIC و MBC بر اساس دستورالعمل استاندارد CLSI از سوسپانسیون نیم مک فارلند تهیه شده در مرحله قبل و با استفاده از رقیق‌سازی آن، استفاده گردید [۶-۸].

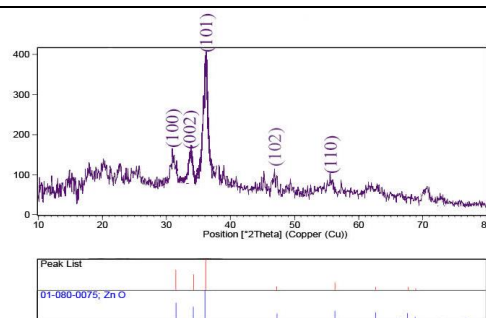
روش تعیین MIC و MBC

برای بررسی خاصیت ضد میکروبی نانوذره تولید شده، غلظت-های متفاوت نانوذره ($4.88 \mu\text{g/mL}$ تا 10000) به محیط کشت مولر هینتون براث (MHB) در پلیت ۹۶ خانه (SPL, Korea) Sterilized, Surface Treated افزوده شد. پس از تلقیح باکتری (میزان نهایی 5×10^5 cfu/mL) به چاهک‌ها، پلیت‌ها برای ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور شیکردار (مدل L/55، کشور سازنده ایران) انکوبه گردید. همه آزمایشات با سه بار تکرار انجام گردید. اولین غلظتی از نانوذره که موجب مهار رشد باکتری‌ها بود به عنوان MIC و غلظتی که موجب از بین رفتن ۹۹.۹۹ درصد از باکتری‌ها شد به عنوان MBC تعیین گردید. مهار رشد باکتری و تعیین غلظت MIC با توجه به عدم وجود کدورت میکروبی (عدم رشد باکتری در چاهک پلیت) و سپس تهیه کشت از این چاهک در محیط کشت بلاد آگار و رشد باکتری مشخص می‌شود. تعیین MBC نیز با عدم رشد باکتری پس از تهیه کشت از چاهک پلیت بدون کدورت، در محیط بلاد آگار معین می‌گردد.

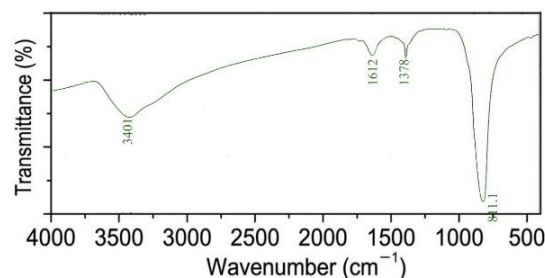
بحث

در این مطالعه نشان داده شد که نانوذره تولید و ارزیابی شده دارای اندازه مناسب است. همچنین اثر ضدباکتریایی آن در غلظت هایی کاربردی بر باکتری های پاتوژن مشهود می باشد. اثرات ضد میکروبی نانوذرات از جمله نانوذرات فلزی در مطالعات مختلف مورد بررسی و تأیید قرار گرفته است [۲، ۹-۱۲]. مکانیسم های ضدباکتریایی نانوذرات و کارایی روش های مختلف ساخت این نانوذرات نیز در مطالعات مختلف مشخص گردیده است [۲، ۹، ۱۳]. حتی اثر نانوذرات به صورت جزئی تر بر فعالیت های موجب ویرو لانس باکتریایی و حدت بیماری در عفونت ها همانند اثرگذاری بر بیان ژن های ویرو لانس (*algD*، *fimH* و ...) و جلوگیری از بیان آن ها، اثرگذاری بر تشکیل بیوفیلم باکتریایی، اثر بر بیان ژن های کنترل کننده فاکتورهای ویرو لانس باکتری ها (*agr* و ...) و اثرات سینرژیک این ترکیبات با سایر ترکیبات ضدباکتریایی نیز موضوع مطالعات مختلف بوده است [۱۴-۱۶]. ویژگی های نانوذرات مختلف و روش های تولید آن ها نیز با روش های مختلف از جمله تهیه تصاویر میکروسکوپ الکترونی SEM و TEM، بررسی از طریق روش های طیف سنجی FTIR، آنالیز پراش پرتو ایکس XRD، EDAX، DLS، اندازه گیری پتانسیل زتا و ... مورد بررسی قرار گرفته است [۱۷-۱۹]. در مطالعه حاضر نیز پس از بررسی خواص نانوذره تولید شده با روش های آزمایشگاهی، اثرات ضدباکتری این نانوذره مورد سنجش قرار گرفت و میزان شاخص-

های MIC و MBC با روش میکرودايلوشن برات ثبت گردید. در مطالعه Kalaba و همکارانش نانوذرات اکسید روی به روش سبز تولید شده و میزان MIC در این مطالعه برای باکتری های گرم مثبت و منفی 0.3125 mg/mL - 0.125 mg/mL بوده است که نشان دهنده عملکرد خوب نانوذره اکسید روی به عنوان ترکیبی ضدباکتری است [۲۰]. اما میزان MIC حاصل شده در این بررسی در مقایسه با مطالعه ما کمتر بوده است که می تواند به دلیل روش سنتز نانوذرات و اندازه متفاوت آن باشد. در مطالعه Abdelraheem و همکارانش روی تاثیر نانوذره ZnO بر ایزوله های مختلف مقاوم (MRSA، VRSA و LRSA) باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* میزان MIC از 0.128 mg/mL تا 2.048 mg/mL حاصل شده است که همسو با مطالعه ما نشان دهنده میزان متفاوت حساسیت باکتری ها حتی در سوبه های متفاوت یک گونه از باکتری ولی در هر صورت وجود خاصیت ضدباکتریال این نانوذره حتی علیه سوبه های مقاوم به آنتی بیوتیک باکتری ها است. در این مطالعه نانوذرات ZnO تولید شده به عنوان ماده ضد میکروبی و ضد بیوفیلمی علیه سوبه های مقاوم باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* پیشنهاد گردیده است [۲۱]. در مطالعه Kakian و همکارانش به بررسی میزان MIC و MBC برای دو نانوذره ZnO و نقره (Ag) علیه ایزوله های باکتری *آسیتوباکتر بومانی* جدا شده از نمونه های



شکل-۳. الگوی XRD نشان دهنده وجود پیک های نانوذره ZnO تولید شده



شکل-۴. طیف FTIR برای نانوذره ZnO تولید شده

تعیین میزان خاصیت ضدباکتریایی (MIC و MBC)

نانوذره تولید شده

نتایج مربوط به اثر بازدارندگی از رشد و کُشدگی نانوذره ZnO تولید شده بر سوبه های باکتری مورد استفاده در این مطالعه با استفاده از روش میکرودايلوشن برات (شکل ۵) در جدول ۱ آورده شده است (سه مرتبه تکرار). کمترین میزان MIC برابر با 0.15625 mg/mL برای باکتری لیستریا مونوسیتوژنز ثبت گردید و بیشترین آن $1/25$ mg/mL برای باکتری کلبسیلا پنومونیه و سالمونلا اتتریکا بود.



شکل-۵. تعیین میزان MIC و MBC با روش میکرودايلوشن برات

جدول-۱. اثر ضد میکروبی نانوذره ZnO (میزان MIC و MBC)

بakteri	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
لیستریا مونوسیتوژنز	0.15625	0.3125
MRSA*	0.3125	0.625
انتروکوکوس فکالیز	0.625	0.625
اشریشیا کلی	0.625	$2/5$
کلبسیلا پنومونیه	$1/25$	$2/5$
سالمونلا اتتریکا	$1/25$	$2/5$

*Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

استفاده در این بررسی دارای مقاومت ذاتی به دسته‌ای از آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان عفونت‌های انسانی است از اینرو محققین به دنبال ترکیباتی ضدباکتریایی برای مقابله با این باکتری می باشند. در این مطالعه پس از بررسی ویژگی‌های نانوذره ZnO تولید شده، میزان MIC و MBC برای سویه های باکتری *Sودوموناس آئروژینوزا* به میزان ۳ mg/mL و ۶ mg/mL محاسبه گردید. این میزان MIC و MBC بالاتر از میزان حاصل شده در مطالعه ما می باشد که می تواند به دلایلی پیشتر اشاره شده، حاصل گردیده باشد [۲۵].

نتیجه گیری

با توجه به بررسی های آزمایشگاهی انجام شده در این مطالعه مشخص گردید که نانوذره اکسید روی تولید شده دارای ویژگی های ذرات نانو، اندازه و خواص ضد میکروبی مناسب بوده و همسو با مطالعات پیشین انجام شده نشان داده شد که این ترکیب را می توان به عنوان ترکیبی ضدباکتریال برای کاربردهای مختلف پیشنهاد نمود.

تشکر و قدردانی: از کارشناسان محترم گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان برای مشارکت و همراهی و واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان شهید بهشتی کاشان تشکر می نمایم.

نقش نویسندگان: همگی نویسندگان در مراحل طراحی، انجام آزمایشات، نگارش و بازنگری مقاله همکاری داشته اند و با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می پذیرند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می کنند که هیچ گونه تضاد منافی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Ozdal M, Gurkok S. Recent advances in nanoparticles as antibacterial agent. *ADMET DMPK*. 2022;¹⁰(2):115-29. doi:10.5599/admet.1172 PMID:35350114
2. Gudkov SV, Burmistrov DE, Serov DA, Rebezov MB, Semenova AA, Lisitsyn AB, et al. A mini review of antibacterial properties of ZnO nanoparticles. *Front Phys*. 2021;9:641481. doi:10.3389/fphy.2021.641481
3. Fadwa AO, Albarag AM, Alkoblan DK, Mateen A. Determination of synergistic effects of antibiotics and ZnO NPs against isolated E. Coli and A. Baumannii bacterial strains from clinical samples. *Saudi J Biol Sci*. 2021;28(9):5332-7. doi:10.1016/j.sjbs.2021.05.057 PMID:34466112
4. Belay WY, Getachew M, Tegegne BA, Teffera ZH, Dagne A, Zeleke TK, et al. Mechanism of antibacterial resistance, strategies and next-

بالینی (چرک زخم؛ Wound pus)، پرداخته شده است. میزان MIC و MBC برای نانوذرات ZnO در محدوده mg/mL ۰/۱۲۵ تا ۰/۲۵ بوده است که در مقایسه با مطالعه ما میزان کمتری است که می تواند در ارتباط با متفاوت بودن باکتری مورد بررسی و اندازه نانوذرات تولید شده باشد. [۲۲]. در مطالعه Shakerimoghaddam و همکارانش اثر نانوذره ZnO استفاده از روش آگار دایلوژن بر باکتری *Uropathogenic Escherichia coli* (UPEC) بررسی شده است. در این مطالعه در ۶۳/۳ درصد از ایزوله های UPEC میزان MIC برابر با ۲/۵mg/mL بوده است و میزان میانگین در ایزوله های مورد بررسی به اندازه ۱/۲ ± ۲۷۹۱ μg/mL محاسبه گردیده است. در این مطالعه نشان داده شده است که سویه های مقاوم ESBLs سویه هایی با MIC بالاتر برای این نانوذره در مقایسه با سویه های غیر ESBL می باشند. در این مطالعه میزان MIC از مطالعه ما برای باکتری *اشریشیا کلی* بیشتر بود که می تواند به دلیل نوع سویه های با مقاومت به عوامل ضد میکروبی مورد استفاده در آن مطالعه و همچنین اندازه و ویژگی های متفاوت نانوذره ZnO مورد استفاده باشد [۲۳]. در مطالعه Momani و همکارانش اثر نانوذره ZnO و نقره سنتز شده به روش سبز با استفاده از گیاه اسپند (*Peganum harmala*) بر باکتری *پروپیونی باکتریوم آکسس* مورد بررسی قرار گرفته است. میزان MIC برای دو نانوذره Ag و ZnO علیه این باکتری به ترتیب به اندازه ۰/۱۲۵ mg/mL - ۰/۲۵ حاصل گردیده است که نشان دهنده اثرات ضدباکتریایی مناسب این نانوذرات علیه این باکتری می باشد. در نتیجه این بررسی امکان استفاده از این نانوذرات برای درمان آکنه که در اثر این باکتری در انسان ایجاد می شود، در این مطالعه پیشنهاد شده است [۲۴]. در مطالعه دیگری از Momani و همکارانش نانوذره ZnO به روش سبز با استفاده از زیتون اروپایی (*Olea europaea* (Common Olive)) سنتز شده و اثر آن بر باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* بررسی شده است. باکتری مورد

- generation antimicrobials to contain antimicrobial resistance: a review. *Front Pharmacol*. 2024;15:1444781. doi:10.3389/fphar.2024.1444781 PMID:39221153
5. El-Zamkan MA, Hendy BA, Diab HM, Marraiki N, Batiha GE-S, Saber H, et al. Control of virulent *Listeria monocytogenes* originating from dairy products and cattle environment using marine algal extracts, silver nanoparticles thereof, and quaternary disinfectants. *Infect Drug Resist*. 2021;2721-39. doi:10.2147/IDR.S300593 PMID:34290510
6. Balouri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal*. 2016;6(2):71-9. doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005 PMID:29403965
7. Shabaninia M, Khorasani M, Baniyaghoob S. Synthesis of Silver-Doped Titanium Dioxide Nanoparticles by Sol-Gel and Coprecipitation

Techniques: Evaluation of Antimicrobial Activity and Cytotoxic Effects. *ChemistrySelect*. 2024; 9(14):e202303358. doi:10.1002/slct.202303358

8. Vanegas D, Abril-Novillo A, Khachatryan A, Jerves-Andrade L, Peñaherrera E, Cuzco N, et al. Validation of a method of broth microdilution for the determination of antibacterial activity of essential oils. *BMC Res Notes*. 2021; 14(1):439. doi:10.1186/s13104-021-05838-8 PMid:34857039

9. Gudkov SV, Serov DA, Astashev ME, Semenova AA, Lisitsyn AB. Ag₂O nanoparticles as a candidate for antimicrobial compounds of the new generation. *Pharmaceuticals*. 2022; 15(8): 968. doi:10.3390/ph15080968 PMid:36015116

10. Pushpalatha C, Suresh J, Gayathri V, Sowmya S, Augustine D, Alamoudi A, et al. Zinc oxide nanoparticles: a review on its applications in dentistry. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022; 10: 917990. doi:10.3389/fbioe.2022.917990 PMid:35662838

11. Zhang S, Lin L, Huang X, Lu Y-G, Zheng D-L, Feng Y. Antimicrobial properties of metal nanoparticles and their oxide materials and their applications in oral biology. *J Nanomater*. 2022; 2022. doi:10.1155/2022/2063265

12. Poudineh M, Valian M, Jassim AY, Ghorbani Z, Khaledi A, Salavati-Niasari M. Synthesis, characterization, and biomedical applications (antibacterial, antibiofilm, anticancer and effects on hospital-acquired pneumonia infection) of copper titanium oxide nanostructures. *RSC Adv*. 2025; 15(7): 5124-34. doi:10.1039/D4RA08476D PMid:39963452

13. Tiwari AK, Pandey PC, Gupta MK, Narayan RJ. Nano-bio interaction and antibacterial mechanism of engineered metal nanoparticles: fundamentals and current understanding. *J Clust Sci*. 2025;36(1):5. doi:10.1007/s10876-024-02728-4

14. Jalil Sarghaleh S, Alizadeh Behbahani B, Hojjati M, Vasiee A, Noshad M. Evaluation of the constituent compounds, antioxidant, anticancer, and antimicrobial potential of Prangos ferulacea plant extract and its effect on *Listeria monocytogenes* virulence gene expression. *Front Microbiol*. 2023; 14: 1202228. doi:10.3389/fmicb.2023.1202228 PMid:37492261

15. Afrasiabi S, Partoazar A. Targeting bacterial biofilm-related genes with nanoparticle-based strategies. *Front Microbiol*. 2024;15:1387114. doi:10.3389/fmicb.2024.1387114 PMid:38841057

16. Arunachalam K, Pandurangan P, Shi C, Lagoa R. Regulation of *Staphylococcus aureus* virulence and application of nanotherapeutics to eradicate *S. aureus* infection. *Pharmaceutics*. 2023;15(2):310. doi:10.3390/pharmaceutics15020310 PMid:36839634

17. Ghosh Chaudhuri R, Paria S. Core/shell nanoparticles: classes, properties, synthesis mechanisms, characterization, and applications. *Chem Rev*. 2012;112(4):2373-433. doi:10.1021/cr100449n PMid:22204603

18. Wadhwa P, Sharma S, Sahu S, Sharma A, Kumar D. A review of nanoparticles characterization

techniques. *Curr Nanomater*. 2022;7(3):202-14. doi:10.2174/2405461507666220405113715

19. Altammar KA. A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Front Microbiol*. 2023;14:1155622. doi:10.3389/fmicb.2023.1155622 PMid:37180257

20. Kalaba MH, El-Sherbiny GM, Ewais EA, Darwesh OM, Moghannem SA. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) by *Streptomyces baarnensis* and its active metabolite (Ka): a promising combination against multidrug-resistant ESKAPE pathogens and cytotoxicity. *BMC Microbiol*. 2024;24(1):254. doi:10.1186/s12866-024-03392-4 PMid:38982372

21. Abdelraheem WM, Khairy RM, Zaki AI, Zaki SH. Effect of ZnO nanoparticles on methicillin, vancomycin, linezolid resistance and biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolates. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2021;20(1):54. doi:10.1186/s12941-021-00459-2 PMid:34419054

22. Kakian F, Arasteh N, Mirzaei E, Motamedifar M. Study of MIC of silver and zinc oxide nanoparticles, strong and cost-effective antibacterial against biofilm-producing *Acinetobacter baumannii* in Shiraz, Southwest of Iran. *BMC Infect Dis*. 2024; 24(1):593. doi:10.1186/s12879-024-09471-1 PMid:38886629

23. Shakerimoghaddam A, Ghaemi EA, Jamalli A. Zinc oxide nanoparticle reduced biofilm formation and antigen 43 expressions in uropathogenic *Escherichia coli*. *Iran J Basic Med Sci*. 2017; 20(4):451.

24. Al-Momani H, Massadeh MI, Almasri M, Al Balawi Da, Aolymat I, Hamed S, et al. Anti-bacterial activity of green synthesised silver and zinc oxide nanoparticles against *Propionibacterium acnes*. *Pharmaceuticals*. 2024;17(2):255. doi:10.3390/ph17020255 PMid:38399471

25. Al-Momani H, Al Balawi Da, Hamed S, Albiss BA, Almasri M, AlGhawrie H, et al. The impact of biosynthesized ZnO nanoparticles from *Olea europaea* (Common Olive) on *Pseudomonas aeruginosa* growth and biofilm formation. *Sci Rep*. 2023;13(1):5096. doi:10.1038/s41598-023-32366-1 PMid:36991258

How to Cite this Article:

Jamalan M, ghaffarian Sayeli F, Moradihasanabad A, Akbary M, Sobhaninasab A. Evaluation of the Antibacterial Effects of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles Against Gram-Positive and Gram-Negative Pathogenic Bacteria. *Feyz Med Sci J* 2026; 30(2):156-164. doi: 10.48307/FMSJ.2026.30.2.4