مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۲۲، خرداد ۱۴۰۲، ۲۳۶-۲۲۳

اثر نانوسامانه نیوزومی حاوی جنتامیسین بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*: یک مطالعه آزمایشگاهی

فائزه امیری[۱]، نادیا کاظمی‌پور[۲]

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۰۹/۱۳ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۱۴۰۱/۱۰/۲۱ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۱۴۰۲/۰۲/۳۱ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۳/۰۲

چکیده

زمینه و هدف: مقاومت آنتی‌بیوتیکی یکی از چالش‌های اصلی در درمان بیماری‌های عفونی مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد. نانوسامانه نیوزومی یک سیستم دارورسانی جدید است که پتانسیل فعالیت ضدمیکروبی آنتی‌بیوتیک‌ها را افزایش می‌دهد. هدف از این پژوهش تعیین اثر سامانه دارورسانی نیوزومی حاوی جنتامیسین بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی، نیوزوم‌های مختلف شامل اسپن ۶۰، توئین ۶۰، کلسترول و جنتامیسین با نسبت مولی متفاوت با روش هیدراتاسیون لایه نازک سنتز شدند و شناسایی نانوسامانه‌های نیوزومی ساخته شده با میکروسکوپ نوری و دستگاه پراکندگی پرتو نور لیزر دینامیکی انجام شد. فعالیت ضدباکتریایی نیوزوم‌های سنتز شده به روش‌های چاهک و حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (*Minimum inhibitory concentration; MIC*) بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۱۱۲ :*PTCC*) بررسی گردید. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی *Tukey* تجزیه‌وتحلیل شد.

یافته‌ها: نانوسامانه‌های نیوزومی به صورت وزیکول‌های کروی شکل و در سه فرمولاسیون با اندازه ذره‌ای به ترتیب با میانگین و انحراف معیار ۰/۷۶ ±۹/۰۹، ۱۵/۲۰±۲۷/۵۹ و ۰/۳۰±۹/۱۰ میکرومتر مشخص شدند. نتایج نشان داد که فرمول با نسبت مولی ۴۰:۶۰ بیشترین درصد محبوس سازی جنتامیسین (۹۰/۸۲ درصد) و هم‌چنین فرمولاسیون نیوزومی ۴۰:۶۰ با نصف غلظت محلول جنتامیسین تجاری موجود، هاله عدم رشد مشابهی را بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* داشتند (P=۰/۶۵۸).

نتیجه‌گیری: رهایش مداوم و کنترل شده جنتامیسین از نانوسامانه نیوزومی، همراه با افزایش نفوذ دارو سبب کاهش رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌شود. بر این اساس نانوسامانه نیوزومی دارای پتانسیل خوبی به‌عنوان یک سیستم انتقال دارو است.

واژه‌های کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس*، جنتامیسین، نیوزوم

۱-کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، ایران
۲- (نویسنده مسئول) استادیار میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، ایران
تلفن: ۳۱۳۲۱۳۳۴-۰۳۴، دورنگار: ۳۳۲۱۰۰۵۱-۰۳۴، پست الکترونیکی: nadia_kazemi@yahoo.com

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]

مقدمه

مقاومت باکتریایی به دلیل مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتک ها در حال افزایش است. درمان عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس به دلیل ماهیت و توانایی بیماری‌زایی ذاتی آن مشکل‌ساز شده است و گزینه‌های درمانی فعلی برای درمان عفونت‌ها به دلیل مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها محدود می‌شود. استفاده از یک سیستم حامل برای کپسوله کردن داروهای مؤثر در درمان برای تحویل هدفمند دارو به محل عفونت می‌تواند، عملکرد موجود را بهبود بخشد [۱].

جنتامیسین به عنوان یک آنتی‌بیوتیک ضدباکتری از گروه آمینوگلیکوزید است که از سنتز پروتئین در باکتری جلوگیری می‌کند و در برابر ارگانیسم‌های گرم منفی و بعضی از ارگانیسم‌های گرم مثبت مؤثر است [۲]. استفاده از آن به دلیل عوارض جانبی بالقوه جدی، معمولاً در سمیت گوش و سمیت کلیوی محدود شده است. در سال‌های اخیر مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به این گروه نیز ایجاد شده است؛ علاوه بر این، نیمه عمر این دارو پایین است. یکی از مهم‌ترین نانوحامل‌ها در دارورسانی، نانوسامانه نیوزوم (Niosome nanosystem) است. این نانوسامانه می‌تواند مولکول‌های دارویی با حلالیت‌های مختلف را در خود قرار دهد [۳].

نیوزوم‌ها وزیکول‌های سورفکتانتی غیریونی هستند که به عنوان نانوسامانه، ویژگی‌های جذابی دارند. برای مثال دارای پایداری، سمیت کمتر، تهیه آسان و ارزان، زیست سازگار و زیست تخریب‌پذیر هستند. نیوزوم‌ها دارای پتانسیل کپسوله کردن داروها و مواد آب‌دوست و چربی‌دوست هستند و فعالیت ضدمیکروبی و شاخص درمانی آنتی‌بیوتیک‌ها را بهبود می بخشند. علاوه بر این، باعث آزاد شدن مداوم دارو در محل عفونت و کاهش مصرف دوز دارو می‌شود [۴]. نیوزوم به غشاء سلول باکتری ملحق شده و دارو محبوس شده را روی یا داخل سلول باکتریایی تخلیه می‌کند [۵]. نیوزوم‌ها را می‌توان برای انواع داروها با روش‌های مختلف مصرف مانند خوراکی، داخل وریدی و موضعی تهیه نمود [۶].

فناوری دارورسانی طیف گسترده‌ای دارد که به طور مداوم با سرعت شگفت انگیزی در حال ارتقاء است [۷]. نیوزوم برای رسانش کنترل شده آنتی‌بیوتیک‌های محلول در آب مانند جنتامیسین نیز مناسب است [۸]. لذا هدف از مطالعه حاضر تعیین اثر نانوسامانه نیوزومی حاوی جنتامیسین بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه آزمایشگاهی در سال ۱۴۰۱ در گروه میکروبیولوژی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی کرمان و دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمان طی سه مرتبه تکرار انجام شد. هم‌چنین، این مطالعه دارای کد اخلاق از دانشگاه آزاد اسلامی کرمان به شماره ثبت IR.IAU.KERMAN.REC.1401.009 می‌باشد.

تهیه نانوسامانه‌های نیوزومی به روش هیدراتاسیون لایه نازک انجام شد (جدول ۱). در مرحله اول سورفکتانت‌ها شامل اسپن ۶۰، توئین ۶۰ و کلسترول به همراه کلروفرم (مرک، آلمان) در بالن دستگاه تبخیر روتاری (۱۱۳، اواپلاس، ایتالیا) در ۵۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۲۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در شرایط خلاء قرار گرفت. سپس در مرحله دوم آب مقطر استریل و آنتی‌بیوتیک جنتامیسین ۱ درصد با حجم

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]

نهایی ۵ میلی‌لیتر به بالن اضافه شد و چرخش در ۱۲۰ دور در دقیقه و ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه بدون شرایط خلاء قرار گرفت. در نهایت وزیکول‌های لیپیدی حاوی دارو تشکیل شده، در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت در ویال‌های شیشه‌ای نگه‌داری شد. سپس به منظور کاهش اندازه نیوزوم‌های ساخته شده، در دستگاه سونیکاتور (التراسونیک هموژنایزر آپ، ۱۰۰ اچ، هیلسچر، آلمان) با قدرت ۱۰۰ وات طی ۴ دوره ۱۵ ثانیه‌ای قرار داده شد [۹].

جدول ۱- فرمولاسیون‌های تهیه نانوذرات نیوزوم در ۳۰۰ میکرومول کلروفرم

ماده	وزن مولکولی (گرم/مول)	نسبت مولی ۷۰:۳۰ (۳۵S+۳۵T) ۳۰C	نسبت مولی ۶۰:۴۰ (۳۰S+۳۰T) ۴۰C	نسبت مولی ۵۰:۵۰ (۲۵S+۲۵T) ۵۰C
توئین ۶۰ (T)	۴۳۱	۰/۹۱	۰/۷۸	۰/۶۵
اسپن ۶۰ (S)	۱۳۱۰	۱/۳۸	۱/۱۸	۰/۹۸
کلسترول (C)	۳۸۷	۰/۷۰	۰/۹۳	۱/۱۶

وزیکول‌ها از نظر مورفولوژیکی با میکروسکوپ نوری (لایکا دی ام، ۵۰۰، آلمان) مجهز به دوربین دیجیتال با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر مشخص شدند. برای تعیین اندازه ذره‌ای از دستگاه پراکندگی نور دینامیکی (Dynamic laser light scattering; DLS) (مالورن، انگلستان) استفاده شد که از تکنیک پرش پرتوی اشعه لیزر استفاده گردید.

محبوس سازی دارو در نیوزوم‌ها به روش سانتریفیوژ (با دستگاه فناوری آزمایشگاهی ویت گمب، کره) در دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در مدت زمان ۹۰ دقیقه انجام شد. داروی آزاد در مایع بالایی (A) و داروی محبوس در رسوب باقی ماند [۱]. در مرحله بعد برای محاسبه درصد محبوس‌سازی دارو در نیوزوم، رسوب به دست آمده با ۵ سی‌سی ایزوپروپیل الکل حل شد تا ساختار نیوزومی از هم جدا شده و داروی محبوس شده آزاد گردد. سپس ۲ سی‌سی از محلول به دست آمده را با آب مقطر استریل به حجم ۲۵ سی‌سی (B) رسانده و میزان جذب آن و هم‌چنین جذب داروی آزاد مایع رویی (A) با دستگاه اسپکتروسکوپی فرابنفش-مرئی (۲۷۰ نانومتر) (لامبدا ۲۵، پرکین المر، آمریکا) خوانده شد. با استفاده از فرمول زیر درصد محبوس سازی محاسبه گردید [۹]:

درصد محبوس‌سازی = [B / (B+A)] × 100

برای تأیید و شناسایی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تهیه شده از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی (PTCC: ۱۱۱۲)، آزمایشات رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، کوآگولاز، DNase و مانیتول سالت آگار انجام شد [۱۰]. آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی (آنتی‌بیوگرام) با روش دیسک گذاری مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا روی محیط کشت مولر هینتون آگار به روش چمنی (معادل نیمه مک فارلند) از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس کشت داده شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی آمپی‌سیلین (AM)، جنتامیسین (GM)، سیپروفلوکساسین (CP)، آمیکاسین (AN) و سفپیم (FEP) به فاصله ۲ سانتی‌متر از یکدیگر روی آن قرار داده شدند و در انکوباتور (بهداد، ایران) ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گذاشته شدند [۱۲-۱۱].

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]

جهت بررسی اثر نیوزوم حامل جنتامیسین ساخته شده، نیوزوم بدون دارو (کنترل منفی) و داروی جنتامیسین آزاد (کنترل مثبت) بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از روش حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (Minimum inhibitory concentration; MIC) در میکروتیترپلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون براث استفاده شد و رقت‌های به‌کار رفته بر اساس پروتکل مؤسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالین (Clinical and Laboratory Standards Institute; CLSI) (غلظت‌های ۲ تا ۱۰۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر) استفاده شدند و در نهایت میکروتیترپلیت در شیکر انکوباکتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و دور ۸۰ دور در دقیقه قرار داده شد [۱۳].

به دلیل رنگی بودن نانو سامانه نیوزومی حاوی دارو و جهت تأیید تست MIC، هر یک از پلیت‌های مولرهینتون آگار را به ۸ قسمت تقسیم نموده و در هر قسمت یک لوپ از غلظت‌های ۲ تا ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، پلیت‌ها با یکدیگر مقایسه گردید [۱۴].

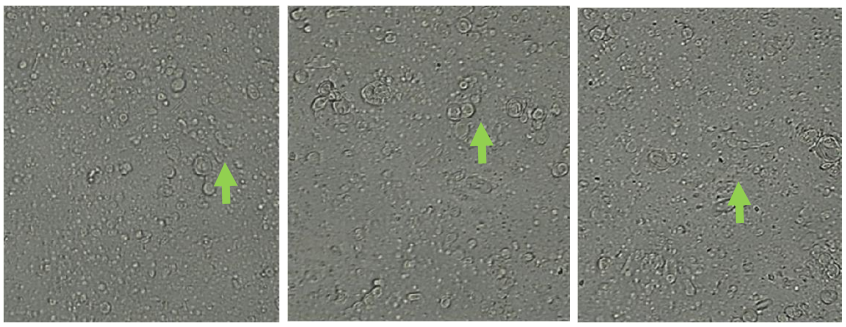
پس از کشت باکتری روی محیط مولرهینتون آگار، ۵ چاهک با فاصله ۲ سانتی‌متر با قطر ۸ میلی‌متر در محیط کشت ایجاد شد. در چاهک‌ها داروی جنتامیسین به صورت آزاد (کنترل مثبت) و نیوزوم بدون دارو (کنترل منفی) و نیوزوم‌های بارگذاری شده با دارو با نسبت های متفاوت اضافه شدند. محیط کشت‌ها در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. سپس به وسیله خط‌کش میلی‌متری قطر هاله عدم رشد باکتری طی ۱ تا ۶ روز ندازه‌گیری شد [۱۵، ۱۳].

در این پژوهش تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شد. نرمال بودن توزیع فراوانی داده‌ها با آزمون ناپارامتریک Kolmogorov-Smirnov و تساوی واریانس گروه‌ها نیز با آزمون Levene مورد ارزیابی قرار گرفت و تخطی از این پیش‌فرض‌ها مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از تهیه و ساخت نیوزوم‌ها پس از انجام هیدراتاسیون لایه نازک، در کف بالن لایه نازک لیپیدی مشاهده گردید. نیوزوم‌ها با نسبت‌های مختلف حاوی دارو جنتامیسین به صورت کروی شکل، دو یا چند لایه‌ای (شکل ۱) با استفاده از دوربین دیجیتال متصل به میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابری مشاهده شد.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]

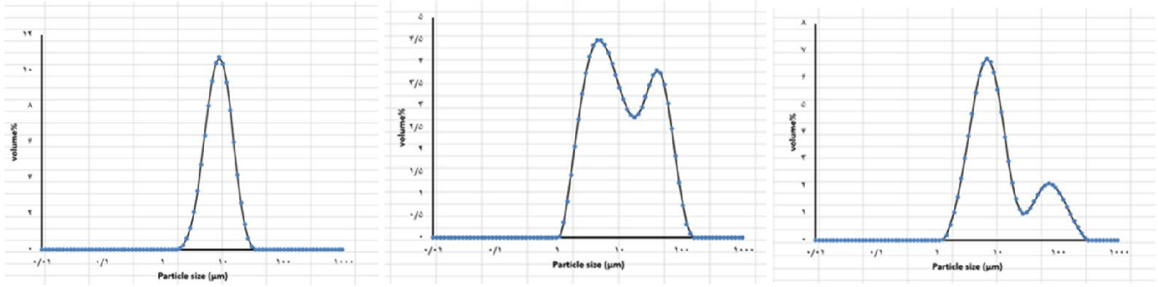


(الف) (ب) (ج)

شکل ۱- تصویر نیوزوم‌ها زیر میکروسکوپ نوری ٤٠X

الف) نیوزوم نسبت ٦٠:٤٠، ب) نیوزوم نسبت ٥٠:٥٠، ج) نیوزوم نسبت ٧٠:٣٠

نتیجه بررسی اندازه نیوزوم‌ها با استفاده از دستگاه DLS (مالورن، انگلستان)، با نمودار توزیع اندازه ذره‌ای دو محوری نشان داده شده است. محور عمودی درصد فراوانی و محور افقی قطر برحسب میکرومتر را نشان می‌دهد (نمودار ۱). هرچه نمودار توزیع اندازه ذره‌ای دارای پهنای پیک کمتری باشد (حالت توزیع نرمال آماری)، ذرات اندازه یکنواخت‌تری دارند و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن‌ها بیشتر شبیه یکدیگر است. در نمودار توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون ۶۰:۴۰ (نمودار ۱، الف) پهنای پیک نسبت به دو فرمول دیگر (نمودار ۱، ب و ج) کمتر است که نشانه یکنواختی بیشتر ذرات از نظر سایز و به تبع آن پایداری نیوزوم‌ها و رهایش کنترل شده دارو بهتر است.



(الف) (ب) (ج)

نمودار ۱- الف) نمودار توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون نسبت ٦٠:٤٠، ب) نمودار توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون نسبت ٥٠:٥٠، ج) نمودار توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون نسبت ٧٠:٣٠

پس از بررسی نمودار توزیع اندازه ذره‌ای نیوزوم‌ها با استفاده از دستگاه DLS، قطر حجمی نیوزوم‌ها به دست آمده است (جدول ۲). بر اساس آزمون تعقیبی Tukey، میانگین قطر حجمی در فرمولاسیون ۶۰:۴۰ و ۷۰:۳۰ از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت، اما با فرمولاسیون ۵۰:۵۰ تفاوت آماری معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۰۱$).

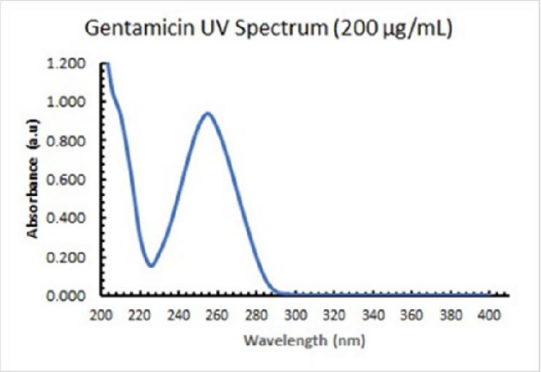
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]

جدول ۲- توزیع اندازه ذره‌ای نیوزوم‌ها برحسب داده‌های نمودارها

نام فرمولاسیون	قطر حجمی ۱۰٪ (میکرومتر)	قطر حجمی ۵۰٪ (میکرومتر)	قطر حجمی ۹۰٪ (میکرومتر)	قطر حجمی (میکرومتر) انحراف استاندارد ± میانگین	مقدار P*
نیوزوم حاوی دارو نسبت ۵۰:۵۰	۳/۱۲	۲۷/۵۹	۱۰۸/۳۵	^{a}۲۷/۵۹ ± ۱۵/۲۰	
نیوزوم حاوی دارو نسبت ۶۰:۴۰	۴/۴۷	۹/۱۰	۱۶/۹۷	^{b}۹/۱۰ ± ۰/۳۰	< ۰/۰۰۱
نیوزوم حاوی دارو نسبت ۷۰:۳۰	۳/۴۸	۹/۰۹	۸۵/۸۴	^{b}۹/۰۹ ± ۰/۷۶	

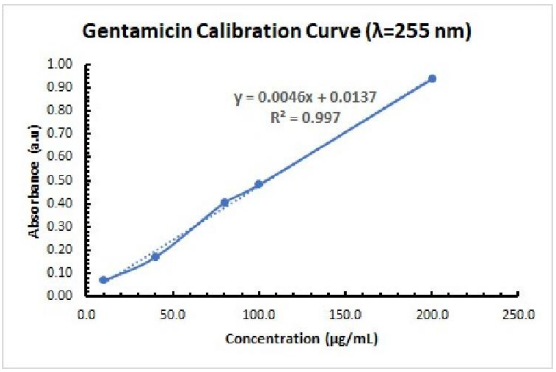
**** آنالیز واریانس یک‌طرفه، P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار. در مقایسه قطر حجمی (آزمون تعقیبی Tukey)، فرمولاسیون‌های با حروف انگلیسی متفاوت دارای اختلاف آماری معنی‌داری در میانگین قطر حجمی می‌باشند (P<۰/۰۰۱).***

نتیجه بررسی محبوس سازی دارو در نیوزوم‌ها با روش سانتریفیوژ در این مرحله انجام گردید (نمودار ۲) طیف جذب uv جنتامیسین بر اساس طول موج (نانومتر) نشان می‌دهد.



نمودار ۲- طیف جذب UV جنتامیسین

نمودار ۳، میزان غلظت جنتامیسین به دست آمده برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر را نشان می‌دهد.



نمودار ۳- منحنی استاندارد میزان جنتامیسین (برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر)

بررسی میزان جذب هر کدام از نسبت‌های نیوزومی طبق فرمول محبوس‌سازی در جدول ۳ نشان داده شده است. در نتایج به دست آمده، نیوزوم نسبت ۶۰:۴۰ بیشترین میزان درصد محبوس سازی داروی جنتامیسین دارا می‌باشد.

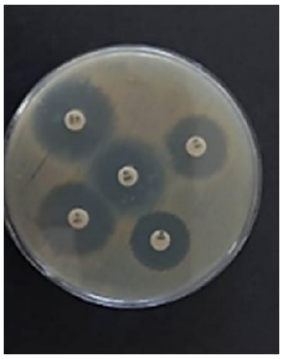
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]

جدول ۳- مقایسه درصد محبوس سازی جنتامیسین در نیوزوم‌های حاوی دارو با نسبت‌های مختلف و نیوزوم بدون دارو

میکروتیوب	جذب دستگاه UV	غلظت (میکروگرم/مول)	فاکتور رقیق سازی	مقدار دارو (میکروگرم)	درصد محبوس سازی
نیوزوم حاوی دارو نسبت ۵۰:۵۰	۰/۳۹۹	۸۲/۹۰	۶۲/۵۰	۵۱۸۱/۳۳	۵۱/۸۱
نیوزوم حاوی دارو نسبت ۶۰:۴۰	۰/۶۸۹	۱۴۵/۳۱	۶۲/۵۰	۹۰۸۱/۵۷	۹۰/۸۲
نیوزوم حاوی دارو نسبت ۷۰:۳۰	۰/۵۷۷	۱۲۱/۲۰	۶۲/۵۰	۷۵۷۵/۲۷	۷۵/۷۵
نیوزوم بدون دارو	۰/۰۲۰	۱/۳۵	۶۲/۵۰	۰/۰۰	۰/۰۰

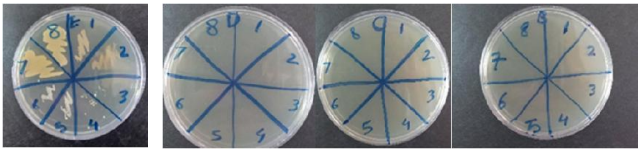
نتایج شناسایی و تشخیص باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد کوکسی خوشه انگوری گرم مثبت و دارای تست کاتالاز، کوآگولاز و DNase و مانیتول سالت آگار مثبت بود.

طبق نتایج به دست آمده از تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی، اثر ضد میکروبی آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (AM)، جنتامیسین (GM)، سیپروفلوکساسین (CP)، آمیکاسین (AN) و سفپیم (FEP)، بر روی استافیلوکوکوس اورئوس، نشان داد این باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامیسین و سیپروفلوکساسین حساس است و به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و آمیکاسین و سفپیم نیمه حساس است (شکل ۲).



شکل ۲- نتیجه تست آنتی‌بیوگرام دیسک آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (AM)، جنتامیسین (GM)، سیپروفلوکساسین (CP)، آمیکاسین (AN) و سفپیم (FEP)

نتایج به دست آمده از تست تأییدیه MIC طبق شکل ۳، نیوزوم بدون دارو هیچ خاصیت ضدباکتریایی نداشت و رشد باکتری را نشان می‌دهد. اما نیوزوم‌های حاوی دارو با نسبت ۷۰:۳۰ و ۶۰:۴۰ و ۵۰:۵۰ خاصیت ضدباکتریایی در غلظت‌های ۲ تا ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر داشته‌اند و عدم رشد باکتری در هر سه نسبت نیوزوم‌ها مشاهده گردید.



(الف) **(ب)** **(ج)** **(د)**

شکل ۳- الف) نیوزوم بدون دارو، ب) نیوزوم حاوی دارو با نسبت ۷۰:۳۰، ج) نیوزوم حاوی دارو با نسبت ۶۰:۴۰، د) نیوزوم حاوی دارو با نسبت ۵۰:۵۰

طبق نتایج تست هاله عدم رشد در پلیت‌های کشت باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، چاهک‌های دارای نیوزوم حاوی دارو همگی قطر هاله عدم رشد قابل توجهی را داشتند و پس از گذشت ۳ روز به طور آهسته کاهش قطر هاله‌های عدم رشد مشاهده گردید (شکل ۴).

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]

(الف) (ب)

شکل ٤- الف) نتیجه هاله عدم رشد با نیوزوم‌ها پس از ٢٤ ساعت انکوباسیون، ب) نتیجه هاله عدم رشد با نیوزوم‌ها پس از ٦ روز

طبق نتایج تست هاله عدم رشد، برای فرمول‌های نانوسامانه نیوزومی (۶۰:۴۰، ۵۰:۵۰ و ۷۰:۳۰) ساخته شده، جنتامیسین آزاد (کنترل مثبت) و نیوزوم بدون دارو (کنترل منفی) بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که در روز چهارم نانوسامانه نیوزومی (۶۰:۴۰) میانگین قطر هاله عدم رشد بیشتری نسبت به سایر موارد داشت. جدول ۴، داده‌های مربوط به قطر هاله عدم رشد و جدول ۵ داده‌های آنالیز آماری را نشان می‌دهد.

بر اساس جدول ۶، نتایج به دست آمده از آزمون تعقیبی Tukey در روز چهارم نشان داد، نیوزوم بدون دارو (کنترل منفی) هاله عدم رشدی بر روی باکتری مورد نظر ایجاد نکرد و فرمولاسیون نیوزومی ۶۰:۴۰ با غلظت نصف محلول جنتامیسین موجود در بازار دارویی کشور (کنترل مثبت)، میانگین قطر هاله عدم رشد مشابهی (از نظر آماری) بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس داشتند (P=۰/۶۵۸).

جدول ٤- میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در برابر آنتی‌بیوتیک جنتامیسین و نیوزوم‌های مورد بررسی

فرمولاسیون	میانگین	انحراف معیار	درصد ضریب تغییرات
محلول جنتامیسین موجود در بازار دارویی (با غلظت دو برابر فرمولاسیون نیوزومی)	۲۹	۱/۸	۶/۲
نیوزوم بدون دارو	۵/۱	۰/۲	۳/۹
نیوزوم حاوی دارو نسبت ۵۰:۵۰	۲۵	۱/۹	۷/۶
نیوزوم حاوی دارو نسبت ۶۰:۴۰	۳۱	۲/۰	۶/۴
نیوزوم حاوی دارو نسبت ۷۰:۳۰	۲۴	۱/۹	۷/۹

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]

جدول ۵- نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه در روز چهارم به منظور تأثیر فرمول نانو سامانه‌های نیوزومی ساخته شده بر روی قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

متغیر	منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	مقدار P*
قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	بین گروه	۱۲۸۶/۴۰۰	۴	۳۲۱/۶۰۰	۱۰۰/۵۰۰	< ۰/۰۰۱
	درون گروه	۳۲/۰۰۰	۱۰	۳/۲۰۰	-	
	کل	۱۳۱۸/۴۰۰	۱۴	-	-	

**** آنالیز واریانس یک‌طرفه، P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار***

جدول ٦- نتایج آزمون تعقیبی Tukey در روز چهارم به منظور تأثیر فرمول نانو سامانه‌های نیوزومی ساخته شده بر روی قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

نام فرمولاسیون	نام فرمولاسیون	مقدار P
نیوزوم بدون دارو	جنتامیسین (با غلظت دو برابر فرمولاسیون نیوزومی)	< ۰/۰۰۱
	نیوزوم حاوی دارو نسبت ۶۰:۴۰	< ۰/۰۰۱
	نیوزوم حاوی دارو نسبت ۵۰:۵۰	< ۰/۰۰۱
	نیوزوم حاوی دارو نسبت ۷۰:۳۰	< ۰/۰۰۱
دارو جنتامیسین (با غلظت دو برابر فرمولاسیون نیوزومی)	نیوزوم حاوی دارو نسبت ۶۰:۴۰	۰/۶۵۸
	نیوزوم حاوی دارو نسبت ۵۰:۵۰	۰/۱۱۷
	نیوزوم حاوی دارو نسبت ۷۰:۳۰	۰/۰۴۱
نیوزوم حاوی دارو نسبت ۶۰:۴۰	نیوزوم حاوی دارو نسبت ۵۰:۵۰	۰/۰۱۴
	نیوزوم حاوی دارو نسبت ۷۰:۳۰	۰/۰۰۵
نیوزوم حاوی دارو نسبت ۵۰:۵۰	نیوزوم حاوی دارو نسبت ۷۰:۳۰	۰/۹۵۵
نیوزوم حاوی دارو نسبت ۷۰:۳۰	نیوزوم حاوی دارو نسبت ۵۰:۵۰	۰/۹۵۵

P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار

بحث

از جمله مزایای آنتی‌بیوتیک‌های نانو نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های معمولی می‌توان به کپسوله کردن داروهای ضد میکروبی در نیوزوم‌ها با افزایش اثر درمانی مورد نظر با دوزهای کمتر دارو اشاره کرد [۱۷-۱۶]. در فرضیه‌های بسیاری که از مکانیسم‌های ضدمیکروبی نانو¬آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد؛ به نظر نانو¬آنتی‌بیوتیک‌ها به دلیل ویژگی منحصربه فرد خود، خروج دارو از باکتری را کاهش می‌دهند [۱۸]. سورفکتانت‌هایی با تعادل آبدوست و چربی دوست بالا (Hydrophilic lipophilic balance; HLB) و وجود مقادیر کافی کلسترول در تشکیل وزیکول‌ها نیوزوم حیاتی است [۴]. نوع و غلظت سورفکتانت‌های مورد استفاده در سنتز نیوزوم‌ها، نقش مهمی در محصورسازی و رهایش دارو از نانوذرات دارند.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]

با افزایش طول زنجیره سورفکتانت، میزان اندازه نیوزوم‌ها بیشتر می‌شود [۶].

نتایج اولیه مطالعه حاضر نیز نشان داد که اندازه نیوزوم با ترکیب دو سورفکتانت (اسپن ۶۰ و توئین ۶۰) و افزایش غلظت کلسترول بیشتر می‌شود. در این تحقیق تحلیل انجام شده تأیید نمود که طی تهیه و ساخت نیوزوم‌ها با مخلوط دو سورفکتانت‌های اسپن ۶۰ و توئین ۶۰ با HLB بالاتر منجر به ساختار متعادلی در تشکیل نیوزوم‌ها گردید.

کلسترول بر روی خواص وزیکول‌ها از قبیل بازه کپسولاسیون، زمان نگه‌داری رهایش و پایداری تأثیر می‌گذارد [۱۹]. نانوذرات نیوزوم تهیه شده با اسپن و توئین ساختاری کروی بیان کرد که با تغییر میزان کلسترول در هرسه فرمول، سرعت و میزان رهایش تغییر می‌یابد. کلسترول در ساختار غشاء نیوزومی باعث افزایش استحکام و کاهش سرعت خروج دارو می‌شود [۲۰]. Thabet و همکاران، مواد افزودنی مانند کلسترول را با هدف تثبیت و ایجاد استحکام مورد استفاده قرار داد که نشت دارو را کاهش می‌دهد. حضور کلسترول در ساختار دولایه منجر به شکل‌گیری نیوزوم‌هایی با نفوذپذیری کمتر می‌شود [۲۱]. هم‌چنین، با افزایش کلسترول از ۳۰ درصد به ۵۰ درصد اندازه‌ی ذره‌ای افزایش یافت که می‌تواند به علت تشکیل لایه‌های لیپیدی بیشتر باشد (جدول ۲).

در این بررسی مشاهدات میکروسکوپی ذرات نیوزوم، کروی شکل و چند لایه بودند و استفاده از کلسترول در این فرمولاسیون‌ها جهت استحکام و پایداری نیوزوم‌ها بوده است و از طرفی سه فرمولاسیون ۶۰:۴۰ و ۵۰:۵۰ و ۷۰:۳۰ و شناسایی نیوزوم‌ها نشان داد که کاهش کلسترول منجربه کاهش پایداری ساختار نیوزوم‌های شکل گرفته شده است و درصد محبوس سازی فرمولاسیون ۷۰:۳۰ که کلسترول کمتری دارا است، نسبت به فرمولاسیون ۶۰:۴۰ و ۵۰:۵۰ کاهش یافته است.

در این تحقیق مطابق با فرضیات نیوزوم‌ها، از سورفکتانت‌های غیر یونی و کلسترول در نسبت‌های مولی مختلف تشکیل شده‌اند و قابل توجه است که در نیوزوم‌های ۵۰:۵۰ و ۷۰:۳۰ نیز عملکرد بسیار خوبی مشاهده شد، اما در نیوزوم ۶۰:۴۰ تعداد وزیکول‌های لیپیدی تشکیل شده بیشتر بود. هم‌چنین بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل اندازه، بیشتر وزیکول‌های لیپیدی در حضور کلسترول چند لایه بودند.

مطابق با فرضیات محققان، نانوحامل‌های نیوزومی برای آنتی‌بیوتیک‌های محلول در آب مناسب است [۲۳-۲۲]. تحقیق حاضر تأیید نمود که تهیه و ساخت نیوزوم‌های حامل آنتی‌بیوتیک جنتامیسین، به عنوان یک داروی محلول در آب، و شناسایی نیوزوم‌ها با هر سه فرمولاسیون، بیش از ۵۰ درصد دارو را در خود جای داده‌اند.

در تحقیق دیگری، سامانه سنتز شده با فرمولاسیون دوم، به دلیل بارگذاری و مقدار رهایش کمتر، هاله عدم رشد کوچک‌تری ایجاد کرد. رهایش کم دارو در این فرمولاسیون نیز به باکتری‌ها فرصت تکثیر می‌دهد و به همین دلیل قطر هاله به سرعت کاهش می‌یابد. نانو ذرات نیوزومی سنتز شده با فرمولاسیون سوم به دلیل بارگذاری بیشتر سفازولین از روز نخست اثر مهاری بیشتری در برابر هر باکتری استافیلوکوکوس

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]

اورئوس دارد. با رهایش مداوم و کنترل شده سفازولین از این نانو ذرات، اثر ضد باکتریایی با گذشت زمان نیز مشاهده می‌شود. نانو ذرات حاوی سفازولین به طور معنی‌داری رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را مهار می‌کنند. باکتری‌ها با مکانیسم‌های دفاعی خود مانند تولید بتالاکتاماز و افزایش بیان پمپ‌های وابسته به غلظت، ساختار آنتی‌بیوتیک را تخریب کرده و سبب کاهش غلظت آن در محیط می‌شوند. سپس باکتری‌هایی که از اثر دارو فرار کرده‌اند به سرعت تکثیر می‌شود. یکی از مهم‌ترین اثرات بارگذاری آنتی‌بیوتیک در نانو ذرات، پایداری و حفظ ساختار دارو است [۲۴].

در پژوهش حاضر، مطالعه نانو ذرات نیوزومی حاوی آنتی‌بیوتیک جنتامیسین با استفاده از ۳ فرمولاسیون متشکل از اسپن ۶۰، توئین ۶۰ و کلسترول در نسبت‌های مختلف سنتز شده و مشخصات نانوذرات و فعالیت ضدباکتریایی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت و قطر هاله عدم رشد باکتری (با اندازه‌های مختلف) برای نیوزوم‌های حامل جنتامیسین در برابر استافیلوکوکوس اورئوس به دست آمد. نتایج نشان داد فرمولاسیون نیوزومی ۶۰:۴۰ حاوی جنتامیسین در مقایسه با محلول تجاری موجود در بازار دارویی ایران توانست با نصف غلظت، هاله عدم رشد یکسانی (به لحاظ آماری) ایجاد کند که نشان می‌دهد استفاده از این سیستم منجر به افزایش کارایی داروی جنتامیسین می‌شود.

با توجه به کمبود بعضی از تجهیزات و حیوانات آزمایشگاهی در این پژوهش، پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های بیشتری برای بررسی اثر ضد بیوفیلمی نیوزوم ها و آزمایشات درون تنی (In vivo) بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس انجام شود.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد مورفولوژی نانوذرات سنتز شده کروی و درصد محبوس سازی آنتی‌بیوتیک در نانوذرات با فرمولاسیون ۶۰:۴۰، ۷۰:۳۰ و ۵۰:۵۰ به ترتیب ۹۰/۸۲ درصد، ۷۵/۷۵ درصد و ۵۱/۸۱ درصد بود. فرمولاسیون ۶۰:۴۰ به لحاظ درصد محبوس‌سازی فرمول برتر است، در نتیجه بعد از مثبت بودن تحقیقات درون تنی (In vivo) در آینده، نیوزوم بارگذاری شده با جنتامیسین احتمالاً می‌تواند به عنوان یک کاندید امیدوارکننده برای درمان عفونت‌های استافیلوکوکوس اورئوس در نظر گرفته شود.

تشکر و قدردانی

با سپاس و تقدیر ویژه از جناب آقای پروفسور عباس پرداختی دوخانی و دکتر محمدامین رئیسی استبرق در دانشکده داروسازی کرمان بابت راهنمایی و توضیحات ایشان در ساخت نیوزوم و تجزیه و تحلیل آماری و هم‌چنین دکتر نیما نخعی بابت تجزیه و تحلیل آماری این پژوهش، قدردانی نماییم.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]

References

[1] Jankie S, Johnson J, Adebayo AS, Pillai GK, Pinto Pereira LM. Efficacy of levofloxacin loaded nonionic surfactant vesicles (niosomes) in a model of *Pseudomonas Aeruginosa* infected Sprague Dawley rats. *Adv Pharmacol Sci* 2020; 2020.

[2] Amini K, Shojaei sadi B, Estabraghi E. Antibiotic Resistance, Biofilm and Forms of L. Staphylococcal Coagulase Positive and Negative Strains Isolated from Clinical Specimens by E-test and ELISA. *AUMS* 2021; 10(3): 317-28. [Farsi]

[3] Ghaderi RS, Kazemi M, Soleimanpour S. Nanoparticles are more successful competitor than antibiotics in treating bacterial infections: a review of the literature. *IJMM* 2021; 10; 15(1): 18-45. [Farsi]

[4] Yaghoobian M, Haeri A, Bolourchian N, Shahhosseni S, Dadashzadeh S. The impact of surfactant composition and surface charge of niosomes on the oral absorption of repaglinide as a BCS II model drug. *Int J Nanomedicine* 2020; 8767-81.

[5] Akbarzadeh I, Keramati M, Azadi A, Afzali E, Shahbazi R, Norouzian D, et al. Optimization, physicochemical characterization, and antimicrobial activity of a novel simvastatin nano-niosomal gel against *E. coli* and *S. aureus*. *Chem Phys Lipids* 2021; 234: 105019.

[6] Estabragh MA, Pardakhty A, Ahmadzadeh S, Dabiri S, Afshar RM, Abbasi MF. Successful Application of Alpha Lipoic Acid Niosomal Formulation in Cerebral Ischemic Reperfusion Injury in Rat Model. *Adv Pharm Bull* 2022; 12(3): 541.

[7] Duan Y, Dhar A, Patel C, Khimani M, Neogi S, Sharma P, et al. A brief review on solid lipid nanoparticles: Part and parcel of contemporary drug delivery systems. *RSC Adv* 2020; 10(45): 26777-91.

[8] Faridizadeh G, Abdollahzadeh A. A Review of Biological Surfactants: Characterization and Application. *COPE* 2020; 19(109): 2-26. [Farsi]

[9] Thabet Y, Elsabahy M, Eissa NG. Methods for preparation of niosomes: A focus on thin-film hydration method. *Methods* 2022; 199: 9-15.

[10] Ghasemi Basir HR, Keramat F, Moradi A, Khani Z, Saadatmand A. Comparison of Antibiogram Results of Two Types of Antibiotic Discs and Validation by E. test Method on Bacteria with High Antibiotic Resistance Patterns. *Avicenna J Clin Med* 2021; 28(1): 59-65. [Farsi]

[11] Dowler KK, Vientós-Plotts A, Giuliano EA, McAdams ZL, Reinero CR, Ericsson AC. Molecular and microbiological evidence of bacterial contamination of intraocular lenses commonly used in canine cataract surgery. *Plos one* 2022;17(11): e0277753.

[12] Bagheri T, Rahimi K, Bagheri Lotfabad T. Effects of Cream Containing Rhamnolipid Microbial Surfactants

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]

from Pseudomonas aeruginosa MR01 on Growth Inhibition of Staphylococcus aureus. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2020; 30(184): 14-27. [Farsi]

[13] Shirvany A, Rezayan A H, Alvandi H, Barshan Tashnizi M, Sabahi H. Preparation and Evaluation of a Niosomal Drug Delivery System Containing Cefazolin and Study of Its Antibacterial Activity. *Iran J Med Microbiol* 2021; 15(6): 638-57. [Farsi]

[14] Latifi Y, Behzadinia M, Qara S, Parhizkar P, Abbasi M, Jafari Z. Antimicrobial Effects of Hydroalcoholic Extract of Sour Lemon Peel on G- Bacteria and G+ Bacteria. *FSCT* 2021; 18(116): 55-65. [Farsi]

[15] Riedel S, Morse SA, Mietzner TA, Miller S. Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology 28 edition. McGraw Hill Professional; 2019: 346-420.

[16] Moazami A. Nanotechnology as a new tool against antimicrobial resistance. *RJMS* 2019; 26(10): 57-75. [Farsi]

[17] Khan S, Akhtar MU, Khan S, Javed F, Khan AA. Nanoniosome-encapsulated levoflaxicin as an antibacterial agent against Brucella. *J Basic Microbiol* 2020; 60(3): 281-90.

[18] Kashef MT, Saleh NM, Assar NH, Ramadan MA. The antimicrobial activity of ciprofloxacin-loaded niosomes against ciprofloxacin-resistant and biofilm-forming *Staphylococcus aureus*. *Infect Drug Resist* 2020; 1619-29.

[19] Heydari khormizi N, Kavussi H R, Miresmaeili SM, Nikoonahad Lotfabadi N. Niosomes from Preparation to Application in Drug Delivery. *JSSU* 2020; 28(2): 2324-33. [Farsi]

[20] Allam A, Elsabahy M, El Badry M, Eleraky NE. Betaxolol-loaded niosomes integrated within pH-sensitive in situ forming gel for management of glaucoma. *Int J Pharm* 2021; 598: 120380.

[21] Thabet Y, Elsabahy M, Eissa NG. Methods for preparation of niosomes: A focus on thin-film hydration method. *Methods* 2022; 199: 9-15.

[22] Kumar GP, Rajeshwarrao P. Nonionic surfactant vesicular systems for effective drug delivery-an overview. *Acta Pharm Sin B* 2011; 1(4): 208-19.

[23] Bagheri A, Chu BS, Yaakob H. Niosomal drug delivery systems: Formulation, preparation and applications. *World Appl Sci J* 2014; 32(8): 1671-85.

[24] Yang X, Xia P, Zhang Y, Lian S, Li H, Zhu G. et al. Photothermal nano-antibiotic for effective treatment of multidrug-resistant bacterial infection. *ACS Appl Bio Mater* 2020; 3(8): 5395-406.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]

The Effect of Niosomal Nanosystem Containing Gentamicin on the *Staphylococcus Aureus*: A Laboratory Study

Faezeh Amiri[1], Nadia Kazemipour[2]

Received: 04/12/22 Sent for Revision: 11/01/23 Received Revised Manuscript: 21/05/23 Accepted: 23/05/23

Background and Objectives: Antibiotic resistance is known to be the main challenge against treatment of infectious diseases related to *Staphylococcus aureus (S.aureus)*. Niosomal nanosystems are the new drug delivery systems which enhance antimicrobial potential activity of antibiotics. The aim of this study was to determine the effect of a niosomal drug delivery system containing gentamicin against *S.aureus*.

Materials and Methods: In this laboratory study, different niosomes including Span 60, Tween 60, and cholesterol in combination with gentamicin with different molar ratio were synthesized using the thin film hydration method. Synthesized niosomal nanosystems were identified by light microscope and dynamic laser light scattering (DLS) technique. Antibacterial activity of synthesized niosomes against *S.aureus* (PTCC: 1112) was evaluated by well diffusion and minimum inhibitory concentration (MIC) methods. Data was analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post hoc test.

Results: Niosomal nanosystems were identified in spherical vesicles and in 3 formulations with average particle sizes of 9.09±0.76, 27.59±15.20 and 9.10±0.30 µm, respectively. The results revealed that the formulation with 60:40 molar ratio had higher gentamycin encapsulation efficiency (90.82%) and also, 60:40 niosomal formulation with half the concentration of commercially available gentamicin solution had the same inhibition of growth on *Staphylococcus aureus* bacteria (p=0.658) .

Conclusion: Controlled and continuous release of gentamicin from the niosomal nanosystem, along with enhanced drug penetration could reduce the growth of *S.aureus*. Accordingly, niosomal nanosystem has a good potential to be an effective drug delivery system.

Key words: *Staphylococcus aureus*, Gentamycin, Niosome

Funding: This study did not have any funds.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Islamic Azad University, Kerman Branch, approved the study (IR.IAU.KERMAN.REC.1401.009).

How to cite this article: Amiri Faezeh, Kazemipour Nadia. The Effect of Niosomal Nanosystem Containing Gentamicin on the *Staphylococcus Aureus*: A Laboratory Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2023; 22 (3): 223-36. [Farsi]

1- MSc in Microbiology, Dept.of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran
2- Assistant Prof. of Microbiology, Dept. of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran, ORCID:0000-0002-15695744
(Corresponding Author) Tel: (034) 31321334, Fax: (034) 33210051, E-mail: nadia_kazemi@yahoo.com

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1402.22.3.2.0]
[DOI: 10.52547/jrums.22.3.2]