

ارزیابی هیبرید سیلیکون متخلخل-ژلاتین برای بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی با استفاده از طیف سنجی تبدیل فوریه تداخل بازتابی

شیمای ابرقویی^۱، فرشته رحیمی*^۱، نظامی دوران^۲، علی ابویی مهریزی^۳ و مهسا صدیقی^۴

۱- گروه نانویوتکنولوژی و زیست تقلید، دانشکده مهندسی علوم زیستی، دانشکده‌گان علوم و فناوری‌های میان رشته‌ای، دانشگاه

تهران، تهران، ایران، shima.abarghoe@gmail.com, rahimi.f@gmail.com

۲- گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه مصطفی کمال هاتای، آتناکیا-هاتای، ترکیه، nizamduran@hotmail.com

۳- گروه فناوری پزشکی و مهندسی بافت، دانشکده مهندسی علوم زیستی، دانشکده‌گان علوم و فناوری‌های میان رشته‌ای، دانشگاه

تهران، تهران، ایران، Abouei@ut.ac.ir

۴- گروه فارماسیوتیکس و نانوفناوری، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران،

m.sedighi67@yahoo.com

خلاصه

باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها مشکلی جدی در حوزه بهداشت عمومی در سراسر جهان بشمار می آیند. آزمایش‌های حساسیت آنتی بیوتیکی روش‌هایی هستند که برای تعیین حساسیت باکتری‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌ها استفاده می‌شوند. به دلیل زمان‌بر بودن روش‌های موجود، هدف پژوهش حاضر، استفاده از یک نانوحسگر نوری برای کاهش زمان انجام آزمایش است. در این پژوهش ابتدا نمونه‌های سیلیکون متخلخل ساخته و برای لایه‌نشانی ژلاتین اصلاح سطح شد. پس از لایه‌نشانی ژلاتین بر روی نمونه‌های متخلخل، تصاویر میکروسکوپ الکترونی، حضور لایه‌ای از ژلاتین را به ضخامت چندین میکرون بر روی سطح تایید نمود. طیف‌سنجی EDAX نیز نفوذ ژلاتین را به درون حفرات، از طریق تایید وجود عناصر کربن، اکسیژن و نیتروژن در آن‌ها ثابت نمود. طیف‌سنجی تبدیل فوریه تداخل بازتابی تشکیل یک دولایه-ای نازک را از طریق نشان دادن سه قله در طیف تبدیل فوریه تایید نمود. با بررسی پرتو بازتاب شده و طیف‌سنجی تبدیل فوریه تداخل بازتابی از هیبرید سیلیکون متخلخل-ژلاتین در حضور غلظت‌های مختلف باکتری، به علت تورم لایه ژل درون حفرات لایه متخلخل در اثر اسیدی شدن محیط مقدار $\Delta EOT/EOT_0$ افزایش یافت. نتایج نشان داد که ساختار حاصل، قدرت تشخیص تغییرات pH محیط و همچنین رشد باکتری را در محدوده غلظت‌های $10^4 \times 25$ تا 10^6 کلنی بر میلی لیتر داراست. همچنین با افزودن غلظت ۲ میکروگرم بر میلی لیتر از آنتی بیوتیک سفکسیم به باکتری مقدار EOT کاهش بیشتری داشت که نشان-دهنده اثر مهارر رشد باکتری توسط آنتی بیوتیک می‌باشد.

کلمات کلیدی: حساسیت آنتی بیوتیکی، ژلاتین، سیلیکون متخلخل، طیف‌سنجی تبدیل فوریه تداخل بازتابی

۱. مقدمه

بیماری‌هایی که توسط باکتری‌ها ایجاد می‌شوند، تهدیدی جهانی برای سلامت عمومی هستند. امروزه، رشد باکتری‌ها در آب و مواد غذایی و سپس انتقال به انسان، به عنوان یکی از مهمترین عوامل مرگ و میر در جوامع بشری شناخته شده‌اند. اگر چه عفونت‌های باکتریایی با آنتی‌بیوتیک‌ها قابل درمان هستند اما باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها توانایی ما را در درمان بسیاری از بیماری‌ها مختل کرده و یک مشکل جدی بهداشت عمومی در سراسر جهان بشمار می‌روند [۱]. از این رو، تشخیص به موقع نوع و غلظت آنتی‌بیوتیک می‌تواند بقا بیماران مبتلا به بیماری‌های عفونی را افزایش داده و نقش بسیار مؤثری را در جلوگیری از مرگ و میر ایفا کند. از روش‌های مرسوم تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی می‌توان به روش‌هایی مانند انتشار دیسک^۱، رقیق‌سازی^۲ و روش‌های آزمون E^۳ اشاره کرد. اگر چه این روش‌ها، قابل اعتماد هستند، اما حساسیت کم، نیاز به مقادیر زیاد باکتری‌ها، زمان‌بر بودن کشت باکتری‌ها و آماده‌سازی‌های پیچیده از جمله عواملی هستند که این تکنیک‌ها را محدود می‌سازند [۲-۴]. بنابراین، تعیین سریع حساسیت آنتی‌بیوتیکی برای درمان بیماری‌های عفونی در شرایط اضطراری ضروری است. هیدروژل‌ها از زنجیره‌های پلیمری آبدوست تشکیل شده‌اند که با پیوندهای عرضی به یکدیگر متصل شده‌اند. این ساختار به آن‌ها اجازه می‌دهد تا آب را جذب کرده و در خود نگهداری کنند [۵]. هیدروژل‌های حساس به pH، پلیمرهای هوشمندی هستند که در پاسخ به تغییرات pH محیط، تغییراتی در ساختار و حجم خود ایجاد می‌کنند. این تغییرات به دلیل گروه‌های جانبی قابل یونیزاسیون هستند. این گروه‌های جانبی، می‌توانند اسید ضعیف (مانند مشتقات اسیدهای کربوکسیلیک) یا باز ضعیف (مانند آمینو یا ایمین) باشند که در شرایط اسیدی یا بازی پروتونه یا دیپروتونه شده و بارهای مثبت یا منفی روی آن‌ها ایجاد می‌شود. این بارها، منشاء دافعه بین زنجیره‌ها، نفوذ مولکول‌های آب و در نهایت تورم هیدروژل‌های حساس به pH هستند [۶-۹]. تاکنون انواع مختلفی از پلیمرهای طبیعی و مصنوعی حساس به pH معرفی شده‌اند که از میان آن‌ها ژلاتین به دلیل، قابل دسترس و ارزان‌قیمت بودن بسیار مورد توجه قرار گرفته است. ژلاتین یک پلیمر طبیعی آبدوست است که از هیدرولیز طبیعی کلاژن استخراج می‌شود. ژلاتین شامل ۱۸ نوع آمینواسید با بارهای مثبت و منفی می‌باشد که خاصیت کاتیونی آن ناشی از وجود اسید آمینه‌های آرژنین و لیزین می‌باشد [۱۰، ۱۱]. از روش‌های تشخیص باکتری که امروزه در پژوهش‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند، توجه بر محصولات متابولیک در حین رشد باکتری‌ها می‌باشد. گلوکز منبع اصلی انرژی برای بسیاری از باکتری‌ها در طول رشد و تکثیر می‌باشد. متابولیسم گلوکز منجر به آزادسازی اسیدهای آلی همانند (اسیدهای پیروویک، سیتریک و لاکتیک) شده که باعث اسیدی شدن محیط رشد باکتریایی می‌شود. بنابراین تورم هیدروژل‌های حساس به pH برای سنجش رشد باکتریایی از جمله مواردی است که مورد توجه برخی از پژوهشگران قرار گرفته است [۱۱، ۱۲]. در سال‌های اخیر نانو ساختارها^۴ به دلیل خواص فیزیکوشیمیایی منحصر به فردشان مانند نسبت سطح به حجم بالا، حساسیت نوری، هدایت الکتریکی و حرارتی اهمیت پیدا کرده‌اند. در میان این مواد، سیلیکون متخلخل^۵ ویژگی‌های امیدوارکننده‌ای از جمله روش‌های ساخت و عامل‌دarsازی ساده، صرف زمان و هزینه کم، زیست تخریب‌پذیری و زیست سازگاری قابل‌توجهی را نشان می‌دهد [۱۳-۱۵]. در میان انواع مختلف روش‌های نوری، طیف‌سنجی تبدیل فوریه تداخل بازتابی^۶، یک روش

¹ Disk diffusion

² Dilution

³ E Test

⁴ Nanostructures

⁵ Porous Silicon

⁶ Reflectometric Interference Fourier Transform Spectroscopy (RIFTS)

طیف‌سنجی است که بازتاب امواج نور در ناحیه مرئی و فروسرخ را از یک لایه (چند لایه) نازک، بررسی می‌کند. طیف بازتاب حاصل، حساس به ضریب (ضرایب) شکست و ضخامت (ضخامت‌های) لایه (چند لایه‌ای) نازک است [۱۶]. به گونه‌ای که وقتی تبدیل فوریه طیف بازتاب محاسبه شود، در منحنی تبدیل فوریه، قله (قله‌هایی)، ظاهر می‌شود (می‌شوند) که مکان آن (آن‌ها)، مقدار ضخامت نوری مؤثر (EOT) ^۷ لایه (لایه‌ها) را نشان می‌دهد. این مقدار، توسط رابطه زیر تعریف می‌شود:

$$EOT = 2nL \quad (1)$$

که در رابطه فوق n ضریب شکست و L ضخامت لایه می‌باشد. مبانی نظری این روش در مورد یک تک‌لایه‌ای نازک [۱۷] و دولایه‌ای نازک [۱۶] قبلاً مورد بررسی قرار گرفته است. حال اگر لایه مورد بررسی، از نوع سیلیکون متخلخل باشد، با ورود مولکول آنالیت به درون حفره، تغییر در ضریب شکست لایه متخلخل، باعث تغییر طیف بازتاب و در نتیجه تغییر ضخامت نوری مؤثر خواهد شد. در این پژوهش، از هیدروژل ژلاتین به عنوان یک هیدروژل حساس به pH استفاده شد و لایه‌ای از آن بر روی سیلیکون متخلخل قرار گرفت. سپس از دولایه‌ای حاصل به عنوان بستری برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش طیف‌سنجی تبدیل فوریه تداخل بازتابی استفاده شد. به دلیل گرانشی بسیار کمتر ژلاتین نسبت به هیدروژل‌های به کار رفته در پژوهش‌های قبلی، بخشی از این هیدروژل به راحتی وارد حفرات سیلیکون متخلخل شده و نیازی به روش پیچیده‌تر تولید هیدروژل در درون حفرات لایه متخلخل نیست [۱۸] که با رشد باکتری و اسیدی شدن محیط مقدار EOT افزایش یافته و زمانی که باکتری در معرض آنتی‌بیوتیک قرار گرفت به علت اثر مهارتی که بر رشد باکتری داشت در نتیجه میزان محصولات متابولیکی تولید شده توسط باکتری کاهش یافته و محیط کمتر اسیدی شده که باعث کاهش تورم ژلاتین و مقدار EOT شد.

۲. مواد و روش تحقیق

۲-۱- ساخت و اصلاح سطح سیلیکون متخلخل

در این مطالعه از ویفر سیلیکون نوع p^+ (آلایده با بور) با ضخامت 25 ± 525 میکرومتر و مقاومت ویژه $0.001-0.009$ اهم سانتی‌متر که از شرکت لتچ سنگاپور خریداری شد مورد استفاده قرار گرفت. ویفر سیلیکونی توسط دستگاه برش لیزری به قطعاتی با ابعاد 8×8 میلی‌متر مربع برش داده شد. آلودگی‌های محیطی و حذف لایه مزاحم از سطح ویفر سیلیکونی همانند پژوهش پیشین انجام شد [۱۹]. برای ساخت سیلیکون متخلخل به روش الکتروشیمیایی، از محلول الکترولیت اسید هیدروفلوریک (۴۸٪، مرک آلمان) و اتانول (۹۷٪، مرک آلمان) به نسبت (۳:۱) استفاده شد. سایر جزئیات روش مطابق پژوهش پیشین بوده است [۲۰]. به منظور افزایش پایداری و اصلاح سطح سیلیکون متخلخل، اکسیداسیون گرمایی، شیمیایی و برای افزودن گروه‌های آمین با ۳-آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان (APTES) ^۸ (۹۸٪، مرک آلمان) به سطح مطابق پژوهش پیشین استفاده شد [۱۹].

۲-۲- ساخت هیدروژل ژلاتین و لایه‌نشانی سیلیکون متخلخل با ژلاتین

در فرآیند تهیه هیدروژل ژلاتین، از پودر ژلاتین خاکی نوع A (سیگما آلدریج) استفاده شد. ابتدا محلول ۵٪ ژلاتین در آب دیونیزه تهیه گردید و به مدت یک ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد با مغناطیسی بر روی استیر هم‌زده شد تا ژلاتین به‌طور کامل حل شده و محلول شفاف حاصل شود. سپس محلول ۲/۵٪

⁷ Effective Optical Thickness

⁸ 3- Aminopropyl Triethoxysilane

گلوتارآلدهید (GA)^۹ (۲۵٪، مرک آلمان) به عنوان عامل اتصال‌دهنده به آرامی به محلول ژلاتین افزوده شد تا با گذشت زمان، هیدروژل ژلاتین تشکیل شود. قبل از تکمیل فرآیند ژل‌سازی و قبل از آن که ژل به طور کامل بسته شود، مقداری کمی از محلول ژلاتین روی سطح سیلیکون متخلخل قرار داده شد. سپس، نمونه به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد تا حلال تبخیر شده و سطح آن کاملاً خشک گردد.

۲-۳- مشخصه‌یابی هیبرید سیلیکون متخلخل-لاتین

بررسی ساختار هیبرید سیلیکون متخلخل-ژلاتین با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)^{۱۰} و طیف‌سنجی پراش انرژی پرتو ایکس (EDAX)^{۱۱} انجام شد. جهت تصویربرداری از مقطع عرضی سیلیکون متخلخل قبل و بعد از لایه‌نشانی ژلاتین از SEM (شرکت زایس^{۱۲} آلمان و هیتاچی^{۱۳} ژاپن) استفاده شد و EDX (شرکت هیتاچی ژاپن) برای بررسی نفوذ ژل به درون حفرات از استفاده شد.

۲-۴- تهیه محلول باکتری

باکتری اشریشیاکلی (*E. coli*) O55: k 59 از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد. ابتدا با برداشت مقدار کمی از کلنی باکتری به صورت ۴ مرحله‌ای کشت انجام شد. در مرحله آخر پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور قرار داده شد و سپس سوسپانسیون باکتریایی با رقیق-سازی سلول‌های باکتریایی در محیط کشت مولر هینتون برات تهیه شد که باید با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند (1×10^8 cfu/ml) مطابقت داشته باشد. سپس از لوله ۰/۵ مک فارلند رقت‌های سریالی باکتری تهیه شد.

۲-۵- آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی

به منظور نشان دادن کاربرد نانوحسگر برای آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی، ابتدا سوسپانسیون باکتری اشریشیاکلی بدون حضور آنتی‌بیوتیک به عنوان کنترل روی سطح نمونه قرار گرفت. در مرحله نمونه باکتری با غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک سفکسیم (۰/۵، ۱، ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در محیط مولر هینتون برات کشت داده شدند. دمای آزمایش در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. طیف‌های بازتابی در هر دقیقه ثبت و تغییرات EOT با استفاده از نرم‌افزار IGOR بررسی شد.

۲-۶- طیف‌سنجی تبدیل فوری تداخل بازتابی

برای بررسی طیف بازتابی هیبرید سیلیکون متخلخل-ژلاتین، از دستگاه طیف‌سنج نوری USB400 (اوشن اپتیک آمریکا) استفاده شد. پرتو بازتابی در بازه ۳۵۰ تا ۱۱۰۰ نانومتر و با دقت یک نانومتر مطابق پژوهش پیشین ثبت شد. طیف تداخل بازتابی با استفاده از نرم‌افزار IGOR (ویومتریکس آمریکا) به منحنی فوری تبدیل شد.

۳. نتایج و بحث

⁹ Glutaraldehyde

¹⁰ Scanning Electron Microscope

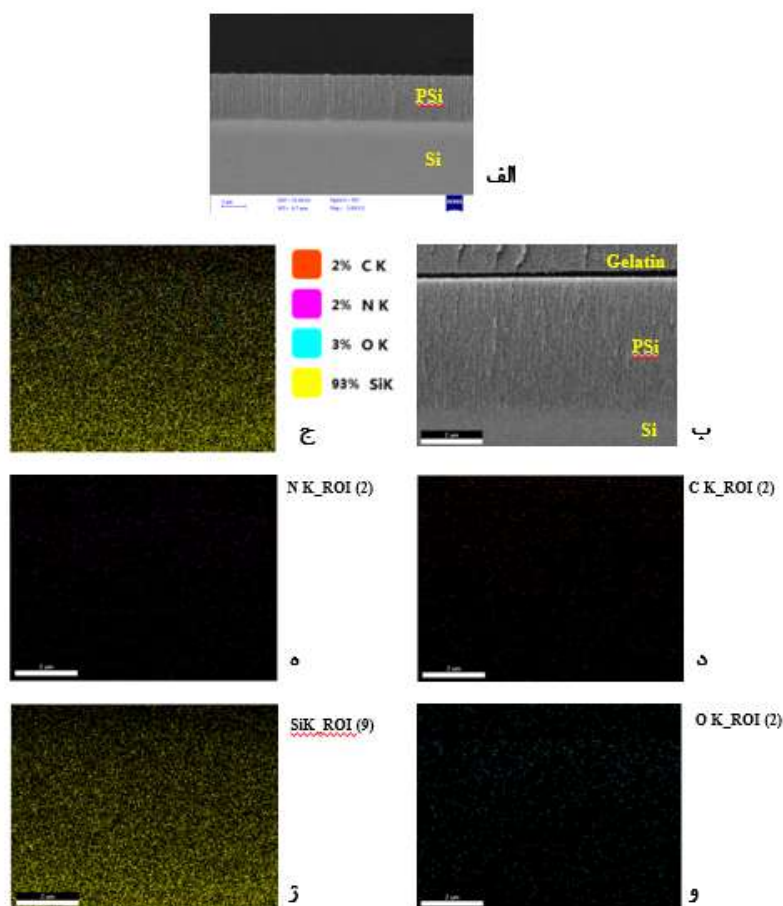
¹¹ Energy-dispersive X-ray Spectroscopy

¹² Zeiss

¹³ Hitachi

۳-۱- مشخصه‌یابی هیبرید سیلیکون متخلخل-ژلاتین

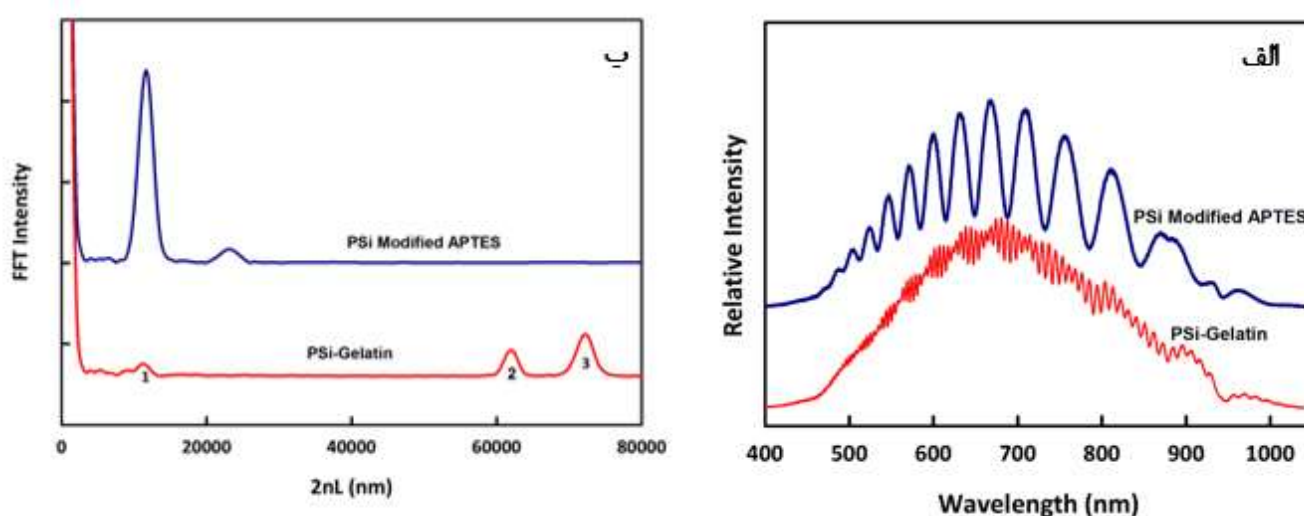
مشخصه‌یابی هیبرید سیلیکون متخلخل-ژلاتین با SEM و EDAX مورد مطالعه قرار گرفت. شکل ۱-الف مقطع عرضی سیلیکون متخلخل را قبل از لایه‌نشانی ژلاتین نشان می‌دهد. همانطور که دیده می‌شود، حفرات به صورت عمود بر سطح، شکل گرفته‌اند و به صورت یکنواخت پیشرفته‌اند. شکل ۱-ب بخشی از مقطع عرضی سیلیکون متخلخل را بعد از لایه‌نشانی ژلاتین نشان می‌دهد. شواهدی از وجود عناصر کربن، نیتروژن و اکسیژن در داخل منافذ توسط EDAX مشاهده شد که توزیع عناصر را نشان می‌دهد. نقشه‌برداری از مقطع عرضی سیلیکون متخلخل وجود عناصر کربن، نیتروژن و اکسیژن به داخل منافذ سیلیکون متخلخل که نشان‌دهنده نفوذ مقداری از ژلاتین به درون حفرات سیلیکون متخلخل می‌باشد به ترتیب در (شکل ۱-د، ه، و) نشان داده شده است.



شکل ۱) تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی و نقشه برداری پراش انرژی پرتو ایکس از مقطع عرضی سیلیکون متخلخل. الف) مقطع عرضی سیلیکون متخلخل، ب) مقطع عرضی سیلیکون متخلخل با لایه نشانی ژلاتین، ج) تصویر نقشه برداری از سیلیکون متخلخل، د) توزیع کربن در سیلیکون متخلخل، ه) توزیع نیتروژن در سیلیکون متخلخل، و) توزیع اکسیژن در سیلیکون متخلخل.

۳-۲- طیف سنجی تبدیل فوریه تداخل بازتابی قبل و بعد از لایه نشانی ژلاتین

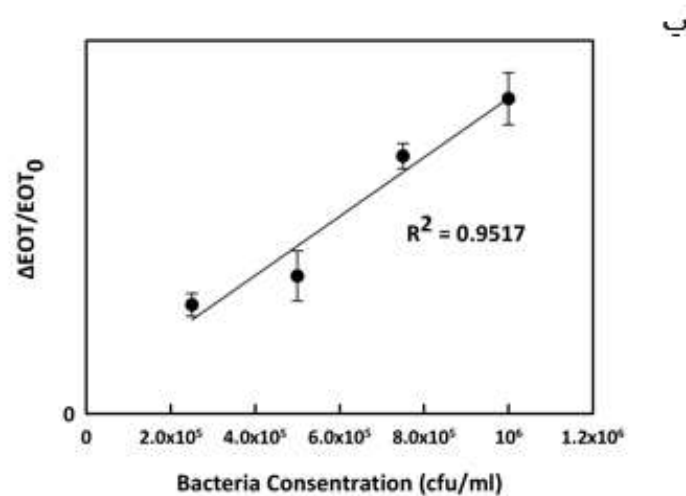
شکل ۲-الف طیف‌های بازتاب شده از نمونه سیلیکون متخلخل اصلاح شده با APTES و لایه‌نشانی با ژلاتین را نشان می‌دهد. شکل ۲-ب نشان‌دهنده منحنی‌های تبدیل فوریه از طیف‌های شکل ۲-الف می‌باشد. مکان قله‌های مشاهده شده کمیت EOT مربوط به لایه‌ها را نشان می‌دهد. مقدار EOT مربوط به لایه اصلاح شده حدود ۱۱۷۰۰ بود که بعد از اضافه شدن لایه‌ای از ژلاتین، منحنی تبدیل فوریه ۳ مقدار EOT را نشان می‌دهد که قله شماره ۱ مربوط به سیلیکون متخلخل هیبرید شده با ژلاتین، قله شماره ۲ مربوط به لایه ژلاتین و قله شماره ۳ مربوط به دولایه‌ای سیلیکون متخلخل-ژلاتین است. بعد از وارد کردن محلول بافر و باکتری در مراحل بعد، با توجه به تورم لایه ژلاتین باقیمانده در روی لایه متخلخل باعث افزایش ضریب شکست حفرات لایه متخلخل شده و مقدار EOT افزایش یافته است.



شکل ۲ (الف) طیف‌های بازتاب تداخلی از سیلیکون متخلخل اصلاح سطح شده با APTES و هیبرید سیلیکون متخلخل-ژلاتین (ب) طیف‌های تبدیل فوریه مربوط به آن‌ها.

۳-۳- ارزیابی اثر باکتری اشريشیاکلی بر روی هیبرید سیلیکون متخلخل-ژلاتین

شکل ۳-الف میزان تغییرات $\Delta EOT/EOT_0$ بر حسب زمان با توجه به غلظت‌های مختلف باکتری را نشان می‌دهد. بافر سالین فسفات با pH=7.4 به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت باکتری، به علت اسیدی شدن بیشتر محیط ناشی از تجمع متابولیت‌ها، تورم هیدروژل ژلاتین نیز بیشتر شده و بر مقادیر EOT افزوده شد. این مشاهده، به علت تورم لایه ژل و نزدیک شدن ضریب شکست این لایه به ضریب شکست محیط پیرامونی اتفاق می‌افتد و با نتایج نظری تطابق کامل دارد. اسیدی شدن محیط، می‌تواند باعث تورم ژلاتین داخل حفرات شود، از سوی دیگر به علت تورم لایه ژلاتین که بر روی سطح سیلیکون متخلخل قرار گرفته است، ژلاتین بیشتری وارد حفرات شود. در نهایت سبب افزایش ضریب شکست لایه متخلخل شده و افزایش EOT را به دنبال دارد.

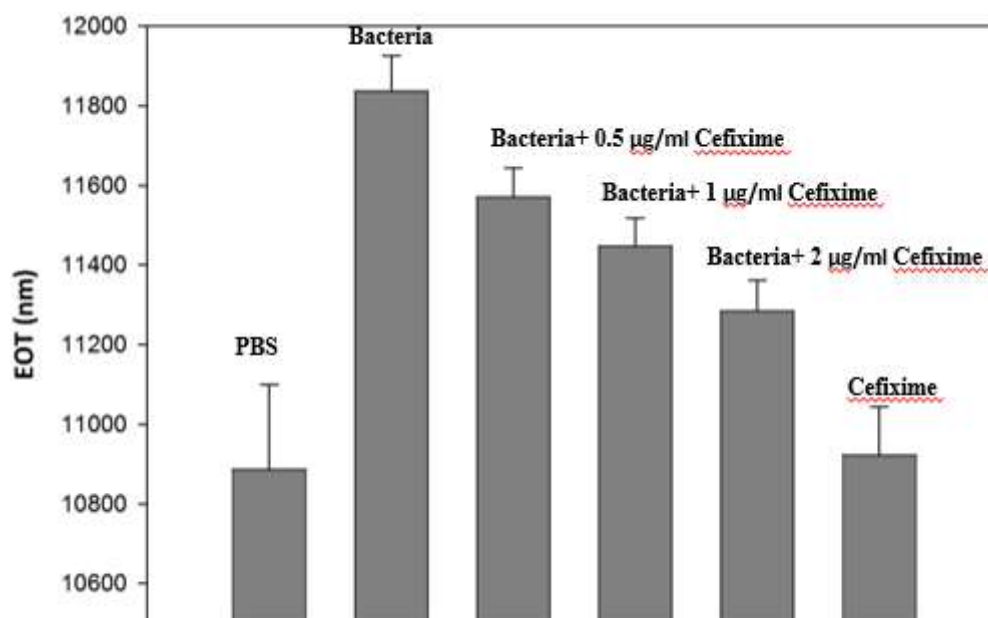


شکل ۳ (الف) تغییرات $\Delta EOT/EOT_0$ هیبرید سیلیکون متخلخل-ژلاتین در حضور غلظت‌های مختلف باکتری بر حسب زمان، (ب) نمودار کالیبراسیون حسگر برای غلظت‌های مختلف باکتری.

۳-۴- ارزیابی اثر آنتی‌بیوتیک سفکسیم بر روی باکتری اشریشیاکلی

آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند باعث کاهش سرعت متابولیسم گلوکز و در نهایت مهار رشد باکتری شوند. همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده است، در مقایسه با کنترل (سوسپانسیون باکتری بدون آنتی‌بیوتیک)، مقدار EOT در همه نمونه‌های حاوی آنتی‌بیوتیک به میزان قابل توجهی کاهش یافته است. هنگام بررسی اثر غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک سفکسیم بر روی سیلیکون پوشش داده شده با ژلاتین که در معرض سوسپانسیون باکتری قرار گرفته بود، مشاهده شد که هر قدر غلظت آنتی‌بیوتیک افزایش یابد (از ۰/۵ تا ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) میزان

EOT کاهش بیشتری داشته است که اثر مهارکنندگی آنتی‌بیوتیک در رشد باکتری که ناشی از کاهش تولید محصولات متابولیک توسط باکتری است مشخص شد.



شکل ۴) مقایسه میزان تغییرات EOT هیبرید سیلیکون متخلخل-ژلاتین در حضور PBS، باکتری و غلظت-های مختلف آنتی‌بیوتیک سفکسیم.

۴. نتیجه‌گیری

در این مطالعه، یک نانوحسگر نوری مبتنی بر هیبرید سیلیکون متخلخل-ژلاتین برای بررسی تغییرات اسیدی محیط رشد باکتری و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی طراحی و مشخصه‌یابی شد. پس از ساخت سیلیکون متخلخل، اصلاح سطح این ساختار توسط APTES و لایه‌نشانی با ژلاتین طیف‌های بازتابی و تبدیل فوری آن‌ها ثبت شد. آنالیز EDAX نشان داد که نفوذ ژلاتین به درون حفرات انجام شده است. تورم هیدروژل ژلاتین تحت تغییرات pH محیط است که با کاهش pH مقدار $\Delta EOT/EOT_0$ افزایش می‌یابد که به دلیل افزایش ضریب شکست لایه متخلخل در اثر تورم ژلاتین بر روی سطح و نفوذ آن به درون حفرات است. از آنجا که تورم ژلاتین تابعی از pH محیط است، بررسی طیف‌های بازتاب شده از نمونه‌ها در ناحیه مرئی و فروسرخ و سپس تبدیل فوری آن‌ها نشان داد که EOT (به همین ترتیب ضریب شکست) لایه متخلخل با کاهش pH محیط، افزایش و با افزایش آن، کاهش می‌یابد. افزایش ضریب شکست لایه متخلخل می‌تواند باعث نفوذ بیشتر ژلاتین به درون حفرات باشد. از این خاصیت نمونه‌های هیبریدی سیلیکون متخلخل-ژلاتین برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی استفاده شد. برای این منظور، نمونه‌ها ابتدا در معرض غلظت‌های مختلف باکتری و سپس در معرض ترکیب باکتری و آنتی‌بیوتیک سفکسیم قرار گرفتند. نتایج نشان داد که غلظت ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر سفکسیم اثر مهارتی بیشتری بر رشد باکتری داشته و مقدار EOT کاهش یافته است.

۵. قدردانی

این پروژه با حمایت مالی مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی بین‌المللی وزارت علوم تحقیقات و فناوری و بنیاد و ستاد توسعه زیست فناوری و ستاد توسعه علوم و فناوری‌های پزشکی بازساختی و سلول‌های بنیادی INSF: Iran National Science Foundation (کد طرح: ۴۰۲۵۸۳۱) انجام شده است.

۶. مراجع

1. Liu, C. Y., Han, Y. Y., Shih, P.H., Lian, W N., Wang, H.H., Lin, C.H., ... and Wang, Y. L. (2016), "Rapid Bacterial Antibiotic Susceptibility Test Based on Simple Surface-Enhanced Raman Spectroscopic Biomarkers," *Scientific Reports*, **6**(1), p 23375.
2. Kuper, K.M., Boles, D.M., Mohr, J.F. and Wanger, A. (2009), "Antimicrobial Susceptibility Testing: A Primer for Clinicians," *Pharmacotherapy*, "The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy", **29**(11), pp 1326-1343.
3. Tang, Y.W., Stratton, C.W., and Tang, Y.W. (2013), "Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology," Springer.
4. Váradi, L., Luo, J.L., Hibbs, D.E., Perry, J.D., Anderson, R.J., Orenge, S., and Groundwater, P.W. (2017), "Methods for the Detection and Identification of Pathogenic Bacteria," *Chemical Society Reviews*, **46**(16), pp 4818-4832.
5. Kocak, G., Tuncer, C.A.N.S.E.L., and Bütün, V.J.P.C. (2017), "PH-Responsive Polymers," *Polymer Chemistry*, **8**(1), pp 144-176.
6. Sun, X., Agate, S., Salem, K.S., Lucia, L., and Pal, L. (2020), "Hydrogel-Based Sensor Networks: Compositions, Properties, and Applications—A Review," *ACS Applied Bio Materials*, **4**(1), pp 140-162.
7. Ma, J., Zhong, J., Sun, F., Liu, B., Peng, Z., Lian, J., ... and Zhang, T. (2024), "Hydrogel Sensors for Biomedical Electronics," *Chemical Engineering Journal*, **481**, p 148317.
8. Sun, X., Ding, C., Qin, M., & Li, J. (2024), "Hydrogel-Based Biosensors for Bacterial Infections," *Small*, **20**(11), p 2306960.
9. Deen, G.R. and Loh, X.J. (2018), "Stimuli-Responsive Cationic Hydrogels in Drug Delivery Applications," *Gels*, **4**(1), p 13.
10. Mushtaq, F., Raza, Z.A., Batool, S.R., Zahid, M., Onder, O.C., Rafique, A., and Nazeer, M. A. (2022), "Preparation, Properties, and Applications of Gelatin-Based Hydrogels (GHs) in the Environmental, Technological, and Biomedical Sectors," *International Journal of Biological Macromolecules*, **218**, pp 601-633.
11. Shajari, G., Fathi, M., and Erfan-Niya, H. (2024), "In Situ Gelling Hydrogels Based on Biodegradable Polymers for Effective Ocular Drug Delivery: A review," *Iranian Journal of Polymer Science and Technology*, **36**(6), pp 575-604.
12. Tang, Y., Zhen, L., Liu, J., and Wu, J. (2013), "Rapid Antibiotic Susceptibility Testing in a Microfluidic PH Sensor," *Analytical Chemistry*, **85**(5), pp 2787-2794.
13. Rahimi, F. (2021), "Porous Silicon Biosensors Based on Reflectometric Interference Fourier Transform Spectroscopy-Theoretical Foundations and Experimental Results," *Iranian Journal of Physics Research*, **21**(2), pp 251-262.

14. Moretta, R., De Stefano, L., Terracciano, M., and Rea, I. (2021), "Porous Silicon Optical Devices: Recent Advances in Biosensing Applications," *Sensors*, **21**(4), p 1336.
15. Sailor, M.J. (2012), "Porous Silicon in Practice: Preparation, Characterization and Applications," John Wiley and Sons.
16. Mehmandoust, S., & Rahimi, F. (2023), "BRCA1 Detection by Porous Silicon Double-Layer via Reflectometric Interference Fourier Transform Spectroscopy," *Sensors and Actuators A: Physical*, **364**, pp 114795.
17. Yaghoubi, M., Rahimi, F., Negahdari, B., Rezayan, A.H., & Shafiekhani, A. (2020), "A Lectin-Coupled Porous Silicon-Based Biosensor: label-free optical detection of bacteria in a real-time mode," *Scientific reports*, **10**(1), p 16017.
18. Perelman, L.A., Moore, T., Singelyn, J., Sailor, M.J., and Segal, E. (2010), "Preparation and Characterization of a PH-and Thermally Responsive Poly (N-Isopropylacrylamide-co-Acrylic Acid)/Porous SiO₂ Hybrid," *Advanced Functional Materials*, **20**(5), pp 826-833.
19. Mohammadi, S., Rahimi, F., Rezayan, A.H., Mehrizi, A.A., and Sedighi, M. (2022), "CRP and TNF- α Detection Using Porous Silicon Substrate Based on Reflectometric Interference Fourier Transform Spectroscopy," *Advanced Materials in Engineering*, **41**(3).
20. Ghiasi Tarzi, M., Rahimi, F., Abouei Mehrizi, A., Jalili Shahmansouri, M., and Ebrahimi Hoseinzadeh, B. (2022), "Real-time Biosensing of Growth Hormone on Porous Silicon by Reflectometric Interference Fourier Transform Spectroscopy Applied," *Physics A*, **128**, pp 1-8.