

فصلنامه گیاهان دارویی

Journal homepage: www.jmp.ir



پژوهشکده گیاهان دارویی
جهاد دانشگاهی

مقاله تحقیقاتی

بررسی نقش ضد میکروبی نانوکپسول‌های حاوی عصاره زغال اخته سنتز شده به روش امولسیون بر باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک

مریم بلادی^۱، عباس اخوان‌سپهی^{۱*}، صدیقه مهرابیان^۱، اکبر اسماعیلی^۲، فریا شریف‌نیا^۱

^۱ دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

^۲ دانشکده شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

گل‌واژگان:

زغال اخته

خاصیت ضد میکروبی

مقاومت آنتی‌بیوتیکی

نانوکپسول

مقدمه: با توجه به افزایش سویه‌های باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک لزوم دستیابی به ترکیبات مؤثره گیاهی و نانوکپسول‌های سنتز شده از عصاره گیاهان جهت از بین بردن این سویه‌ها را نشان می‌دهد. هدف: پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر ضد میکروبی عصاره میوه زغال اخته و نانوکپسول‌های سنتز شده از آنها بر سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک صورت گرفت. روش بررسی: تعداد ۴۳۶ نمونه از (ادرار، خلط، زخم و خون) بیماران بستری، جمع‌آوری شد و تعداد ۵۰ سویه که دارای بیشترین سطح مقاومت به آنتی‌بیوتیک بودند، جهت بررسی خواص ضد باکتریایی ترکیبات مورد نظر جداسازی شد. از میوه زغال اخته، عصاره اتری متانولی تهیه شد. خواص ضد میکروبی ترکیبات مورد نظر به کمک روش‌های MIC و MBC مورد بررسی قرار گرفت. نتایج: نتایج نشان داد که از میان این ۵۰ سویه در ۸۰ درصد از موارد باکتری *E. coli* و در ۲۰ درصد از موارد باکتری *Acinetobacter* مولد عفونت بوده‌اند. نتایج سنتز نانوکپسول‌ها نشان داد که در غلظت‌های مختلف عصاره ابعاد نانوذرات متفاوت بوده، با افزایش غلظت عصاره ابعاد نانوکپسول‌ها بزرگ‌تر شده به طوری که در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم از عصاره نانوذراتی با ابعاد ۷۲ نانومتر گزارش شد. همچنین در غلظت‌های ثابت عصاره در حضور میزان بیشتر استون ابعاد نانوذرات کوچک‌تر شده به طوری که در میزان ۱۵ میلی‌لیتر از استون نانوذراتی معادل ۶۶ نانومتر مشاهده شد. نتیجه‌گیری: نتایج مربوط به خواص ضد میکروبی عصاره میوه و نانوکپسول حاوی عصاره نشان داد که به ترتیب بر ۳۶ و ۵۶ درصد از سویه‌های مورد مطالعه دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشد.

مخفف‌ها: MIC، حداقل غلظت بازدارندگی؛ MBC، حداقل غلظت کشندگی.

* نویسنده مسؤول: akhavansepahy@gmail.com

تاریخ دریافت: ۲۸ دی ۱۳۹۶؛ تاریخ دریافت اصلاحات: ۲۲ آبان ۱۳۹۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۸ آذر ۱۳۹۷

doi: 10.29252/jmp.19.74.84

© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

۱. مقدمه

عفونت‌های بیمارستانی و ادراری جزء یکی از معضلات بزرگ جهانی محسوب می‌شوند. عفونت‌های بیمارستانی به دنبال بستری شدن طولانی مدت بیماران در بیمارستان و استفاده از وسایلی نظیر کاتترهای ادراری، داخل عروقی و مصرف آنتی‌بیوتیک‌های مختلف ایجاد می‌شود از سوی دیگر افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سویه‌های مولد عفونت‌های بیمارستانی، درمان اینگونه از عفونت‌ها را با مشکل روبرو کرده است [۱].

از زمان شناخت باکتری‌ها، بشر همواره در پی یافتن دارویی مؤثر علیه عفونت‌های ناشی از آنها بوده است و باکتری‌ها نیز به مکانیسم‌های مؤثری جهت از بین بردن آنتی‌بیوتیک‌ها دست یافتند به دنبال توسعه‌ی ارگانسیم‌های مقاوم به ترکیبات آنتی‌بیوتیکی، امروزه شاهد گزارش‌های متعددی مبنی بر شیوع گسترده آنها در بخش‌های مختلف بیمارستان‌ها هستیم [۲]. استفاده از ترکیبات مؤثر گیاهی با خواص ضد میکروبی جهت از بین بردن باکتری‌های مولد بیماری از زمان‌های بسیار قدیم متداول بوده است و گیاهان دارویی مختلفی جهت درمان مورد استفاده قرار می‌گرفته است [۳].

امروزه نیز به دلیل ناکارآمد بودن آنتی‌بیوتیک‌های متداول و همچنین افزایش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، استفاده از ترکیبات مؤثره استخراج شده از گیاهان توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است و شناسایی ترکیبات مؤثره ضد میکروبی به دست آمده از مواد طبیعی مانند گیاهان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. یکی از این گیاهان دارویی، گیاه زغال اخته می‌باشد که به دلیل داشتن ترکیبات مختلف از جمله تانن و اسیدهای آلی، آنتوسیانین‌ها گروهی از فلاونوئیدها بویژه از خانواده‌ی فلاون و ایزوفلاون، کاروتنوئیدها، آنتی‌اکسیدان، ملاتونین می‌تواند مفید باشد [۴].

از گیاه زغال اخته در طب سنتی در درمان اسهال، ورم روده‌ها، رفع تب، درمان بیماری مالاریا، دفع سنگ کلیه و همچنین برای درمان عفونت‌های کلیه و مثانه استفاده می‌شود [۵]. میوه زغال اخته حاوی گلوکز، فروکتوز، لاکتوز، اسیدهای آلی، تانن، بیوفلاونوئیدها، مقدار زیادی ویتامین از جمله ویتامین ث و ارسولیک اسید می‌باشد. وجود انواع مختلف ترکیبات آنتی‌اکسیدانی شامل آنتی‌سیانین‌ها، فلاونوئیدها و مقادیر بالای ویتامین سبب شده است تا تحقیقات گوناگونی روی این گونه و گونه‌های دیگر این جنس صورت گیرد [۶]. به طوری که خواص ضد میکروبی، آنتی‌هیستامینی، آنتی‌آلرژیک، ضد التهابی و تأثیرات آن در آترواسکلروزیس و غیره این گیاه گزارش شده است [۷].

مصرف عصاره گیاه زغال اخته برای پیشگیری از بروز عفونت در مجاری ادراری می‌تواند مفید باشد [۸]. یکی از متداول‌ترین عفونت‌ها، التهاب مثانه است که بویژه در خانم‌ها شایع است. به نظر می‌رسد اسید بنزوئیک موجود در زغال اخته نیز در ایجاد این خواص درمانی و پیشگیری نقش داشته باشد؛ این مولکول از اتصال باکتری‌ها، به دیواره مثانه و مجاری ادراری جلوگیری می‌کند و به این ترتیب، از رشد و تکثیر باکتری و ایجاد عفونت، جلوگیری می‌کند [۴]. از سوی دیگر استفاده از نانوکپسول‌های سنتز شده حاوی ترکیبات مؤثره گیاهی می‌تواند سبب افزایش خاصیت ضد میکروبی این ترکیبات شود. نانوکپسول‌ها شامل ذرات کلونیدی می‌شوند که دارای ساختار هسته- پوسته هستند. هسته به عنوان یک منبع مایع برای ذخیره دارو عمل می‌کند. پوسته معمولاً از پلیمرها بخصوص زیست تخریب‌پذیرها تشکیل شده است [۹].

روش‌های متعددی برای پایه‌ریزی این گونه ساختارهای هسته- پوسته در سایز نانومتری به کار گرفته شده است. از آن جمله می‌توان پلیمریزاسیون در جا در سطح مشترک قطرات نانوامولسیون‌ها، تولید نانوکپسول‌ها با استفاده از پلیمرهای

مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شدند.

۳.۲. تهیه محیط کشت /توزین متیلن بلو

این محیط کشت برای تشخیص باکتری اشريشيا کلي و باکتری های میله ای گرم منفی روده ای استفاده می شود، رشد باکتری اشريشيا کلي با مشاهده کلنی های تیره و صاف با جلای فلزی قابل مشاهده است.

۴.۲. تهیه محیط کشت بلاداگار

محیط کشت بلاداگار برای جداسازی باکتری ها بر اساس خواص همولیتیکی (بتا همولیز، آلفا همولیز و گاما همولیز) استفاده می شود.

پس از بررسی نمونه های کشت داده شده پلیت های دارای رنگ جلای سبز رنگ حاصل از رشد باکتری ها معین می کند که به احتمال زیاد میکروارگانیزم مورد نظر اشريشيا کلي است اما به منظور تأیید نهایی آزمون های افتراقی و بیوشیمیایی باکتری ها انجام گرفت از سوی دیگر جهت شناسایی آسیتوباکتر، نمونه ها توسط آزمون های بیوشیمیایی و افتراقی مورد بررسی قرار گرفتند.

۵.۲. آزمون های بیوشیمیایی جهت شناسایی باکتری اشريشيا کلي

برای مشخص کردن خصوصیات بیوشیمیایی باکتری می بایست از کلنی های تک و ایزوله باکتری ها استفاده شود در این آزمون ها همزمان از سویه استاندارد اشريشيا کلي (ATCC25922) استفاده شد.

پیش ساخته، نانوکپسول های لیپیدی و سنتز نانوکپسول به روش امولسیون - دیفیوژن را نام برد [۱۰]. در مطالعه اخیر جهت بررسی نقش ضد میکروبی عصاره گیاه زغال اخته بر روی سویه های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک عصاره گیاه به صورت خالص و همچنین نانوکپسول های سنتز شده به روش امولسیون مورد استفاده قرار گرفت.

۲. مواد و روش ها

۱.۲. مواد مورد استفاده

سیبویکل کلرید (SC)، دی اتیل تری آمین (DETA)، روغن زیتون، استون، اتیل استات (EA)، دی متیل سولفور اکسید (DMSO)، اسپن، توپین ۲۰، ژلاتین از شرکت مرک کشور آلمان خریداری شده است.

۲.۲. جمع آوری نمونه از بیماران بستری در بیمارستان

به منظور جمع آوری سویه های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک از میان بیماران بستری در بیمارستان، نمونه گیری از بیماران بستری در بیمارستان های شهر تهران (آزمایشگاه بیمارستان عرفان، مفید، شهدا) انجام گرفت، بدین منظور نمونه های ادرار، خون، خلط و زخم جمع آوری شد و در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت.

نمونه های تهیه شده بلافاصله پس از نمونه گیری به آزمایشگاه منتقل شد و آزمون های مورد نظر بر اساس محل نمونه گیری بر روی آنها انجام گرفت.

تعداد ۴۳۶ نمونه مورد بررسی قرار گرفتند و نمونه های جداسازی شده پس از انجام آزمون های متداول میکروبیولوژی و شناسایی سویه های مولد عفونت جهت بررسی های بعدی آماده شدند.

نمونه های جمع آوری شده بر روی محیط کشت های اتوزین متیلن بلو و بلاداگار ۵ درصد کشت داده شدند و به

۶.۲. کشت در محیط اوره آز

۱.۶.۲. تهیه محیط اوره آز

این آزمون برای تشخیص باکتری‌های هوازی بر پایه توانایی هیدرولیز اوره می‌باشد. میکروارگانیزم‌هایی که دارای آنزیم اوره آز هستند، اوره موجود در محیط کشت را هیدرولیز کرده و آن را به آمونیاک، انیدرید کربنیک و آب تبدیل می‌کنند. آمونیاک تولید شده باعث قلیایی شدن محیط می‌شود بنابراین با استفاده از یک معرف pH می‌توان قلیایی شدن محیط و در نتیجه تولید آمونیاک را نشان داد.

۲.۶.۲. کشت در محیط SIM (Sulfide-Indol-Motility)

محیط نیمه جامدی است که می‌توان سه خاصیت مهم باکتری را در آن تشخیص داد، اگر باکتری حرکت داشته باشد، بعد از ۱۸-۲۴ ساعت محیط کاملاً کدر می‌شود، اگر تحرک باکتری ضعیف باشد کدورت صرفاً در امتداد آنس ایجاد می‌شود.

تولید H₂S: برخی از باکتری‌ها قادرند از ترکیبات آلی گوشودار که در محیط‌های کشت وجود دارند و یا ترکیبات معدنی گوگرددار مانند تیوسولفات که به محیط اضافه می‌شوند H₂S تولید کنند که نشانه توانایی باکتری در احیای گوگرد است. تولید Indol که این واکنش در اثر موارد زیر صورت می‌گیرد، پروتئاز روی پروتئین اثر می‌کند و تریپتوفان آزاد می‌شود و از تجزیه تریپتوفان ایندول تولید می‌شود که بوسیله معرف کواکس تشخیص داده می‌شود و اگر رنگ قرمز در سطح محیط ایجاد شود واکنش مثبت خواهد بود.

۳.۶.۲. کشت در محیط سیمون سیترات

اگر باکتری بتواند به عنوان منبع کربن از سیترات محیط استفاده کند رنگ محیط به دلیل وجود معرف آبی شده و نتیجه آزمون مثبت است. در غیر این صورت رنگ محیط همچنان سبز باقی می‌ماند.

۴.۶.۲. محیط تریپل شوگرز آبیرون (TS I)

تخمیر کربوهیدرات، با تغییر رنگ قابل مشاهده معرف pH یعنی فنل رد (از قرمز به زرد) نشان داده می‌شود. تولید سولفید هیدروژن با ایجاد رسوبی که محیط را در عمق لوله سیاه می‌کند و نتیجه افزودن سولفات فروس به محیط است، نشان داده می‌شود.

۵.۶.۲. محیط کشت متیل رد-وژوسپروسکار (Methylred-Vegesproskare broth (MR-VP)

آزمون MR: به میزان ۴ تا ۵ قطره از معرف MR به محیط افزوده و کاملاً هم زده می‌شود اگر رنگ قرمز مشاهده شود نشان‌دهنده مثبت بودن آزمون و اگر زرد شود آزمون منفی است.

آزمون VP: با اضافه کردن معرف باریت به محیط کشت و همزدن محیط اگر در ابتدا بالای محیط کشت تبدیل به رنگ صورتی ارغوانی شود نتیجه آزمون مثبت خواهد بود و اگر در رنگ محیط تغییری ایجاد نشود نتیجه آزمون منفی است.

۶.۶.۲. محیط کشت لیزین دکربوکسیلاز (Lysine decarboxylase broth)

به دنبال مصرف اسید آمینه موجود در محیط رنگ بنفش ظاهر می‌شود و در صورت عدم مصرف اسید آمینه رنگ زرد مشاهده می‌شود.

۷.۶.۲. آزمون‌های افتراقی برای شناسایی آسیتوباکتر

برای انجام آزمون‌های افتراقی باکتری می‌بایست از کلنی‌های تک و ایزوله باکتری‌ها استفاده شود در این آزمون‌ها همزمان از سویه استاندارد آسیتوباکتر بومانی (ATCC19606) استفاده شد.

۱.۶.۲. آزمون اکسیداز

در صورتی که بعد از دو دقیقه دیسک اکسیداز بنفش رنگ شد باکتری اکسیداز مثبت و اگر تغییر رنگی مشاهده نشود اکسیداز منفی است.

۹.۶.۲. محیط تریپل شوگرز آیرون (TSI)

۱.۹.۶.۲. آزمون OF

کشت باکتری بر روی این محیط به شکل خطی و عمقی در دو لوله حاوی محیط کشت انجام می‌گیرد، سپس بر روی سطح یکی از لوله‌ها به مقدار ۲ - ۱ سانتی‌متر، پارافین مایع استریل اضافه می‌شود تا رشد باکتری در شرایط بی‌هوازی قرار گیرد، اصول این آزمایش بر اساس تغییر رنگی است که به دلیل تغییر pH محیط که ناشی از متابولیزه شدن کربوهیدرات‌ها می‌باشد، استوار است. ارگانسیم‌هایی که توانایی تخمیر قند را دارند سبب تغییر رنگ محیط از سبز به زرد می‌شوند و معمولاً جهت تشخیص باکتری‌های هوازی از بی‌هوازی کاربرد دارد.

۲.۹.۶.۲. بررسی میزان مقاومت سویه‌های جدا سازی شده به آنتی‌بیوتیک

جهت بررسی هاله عدم رشد و تعیین میزان حساسیت به آنتی‌بیوتیک در ابتدا کلیه سویه‌ها که شامل ۴۳۶ نمونه بودند پس از خالص سازی و دسترسی به کلنی‌های تک از آنها، به صورت متراکم بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار که بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده آن (مرکالمان) تهیه شده بود، کشت داده شدند، سپس با استفاده از روش انتشار از دیسک (Kirby Bauer) و جدول استاندارد CLSI حساسیت ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم (۳۰ میلی گرمی)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میلی گرمی)، تری متوپریم - سولفامتاکسازول (۳۰ میلی گرمی)، سفازیدیم (۳۰ میلی گرمی)، پیراسیلین-تازوباکتام (۳۰ میلی گرمی)،

کوآموکسی کلاو (۱۰ میلی گرمی)، نیتروفرانتون (۳۰ میلی گرمی)، ایمپنم (۱۰ میلی گرمی)، مروپنم (۱۰ میلی گرمی)، آمپی‌سیلین (۳۰ میلی گرمی)، سفوکسیتین (۳۰ میلی گرمی)، جنتامیسین (۱۰ میلی گرمی)، سفکسیم (۵ میلی گرمی)، سفپییم (۳۰ میلی گرمی) کاربنسیلین (۱۰۰ میلی گرمی)، سفپروزیل (۳۰ میلی گرمی) و تتراسایکلین (۳۰ میلی گرمی) تعیین شد.

پس از استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های ذکر شده و بعد از گرماگذاری پلیت‌های مولر هیتون آگار به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام با بررسی قطر هاله و اندازه‌گیری قطر هاله مشخص شد. از میان ۴۳۶ سویه مورد بررسی ۵۰ سویه که دارای بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های موردنظر را داشتند به عنوان سویه‌های مقاوم جهت ادامه بررسی‌ها جداسازی شدند.

۳.۹.۶.۲. تهیه میوه گیاه زغال اخته

به منظور تهیه میوه تازه گیاه زغال اخته بهترین زمان در انتهای فصل بهار و ابتدای فصل تابستان است. بدین منظور به میزان لازم از میوه‌های سالم این گیاه جهت تهیه عصاره استفاده شد.

۴.۹.۶.۲. تهیه عصاره /تری- متانولی از میوه گیاه زغال اخته جهت تهیه عصاره ابتدا باید میوه را با هسته وزن کرده (وزن اولیه معادل ۴۰ گرم) و سپس هسته میوه را جدا کرده و وزن نهایی میوه بدون هسته را نیز ثبت کرده (وزن نهایی ۳۱/۵۰ گرم) و بعد از آن میوه را کاملاً درون هاون سنگی از قبل استریل شده، له کرده و ساییده می‌شود به صورتی که کاملاً یکدست شود در ادامه به نسبت ۳ به ۱ از اتر و متانول استفاده کرده و گیاه ساییده شده را درون ظرف حاوی حلال ریخته و نمونه را به مدت دو تا سه روز در دمای محیط قرار داده و بعد از آن نمونه را از صافی رد کرده به کمک دستگاه

جلوگیری از جمع شدن نانو ذرات در حین سنتز و همچنین در زمان خارج کردن حلال آلی می باشد) بعد از این مرحله نمونه حاوی نانوکپسول را با دور 11000 rpm سانتریفیوژ می کنیم و در نهایت نمونه ها را جهت بررسی سایز و ابعاد نانوذرات سنتز شده به کمک میکروسکوپ الکترونی (SEM) آماده کرده و میانگین اندازه نانوذرات و مورفولوژی نانوکپسول ها مورد بررسی قرار گرفت.

تقطیر تحت خلأ حلال اضافی را از نمونه خارج کرده و در نهایت نمونه آماده شده بوسیله دستگاه کروماتوگرافی جرمی مورد آنالیز قرار می گیرد. از عصاره اتری - متانولی به دست آمده در روش بالا جهت تهیه نانوکپسول حاوی عصاره میوه زغال اخته و همچنین جهت بررسی خواص ضد میکروبی عصاره زغال اخته استفاده شد.

۵.۹.۶.۲. مراحل آماده سازی نانوکپسول حاوی عصاره میوه گیاه زغال اخته

در این مطالعه نانوکپسول های پلی آمیدی حاوی عصاره میوه گیاه زغال اخته به روش امولسیون - دیفیوژن تهیه شد [۱۱].

در ابتدا ۱ گرم پلیمر سیویکل کلرید (SC)، ۲/۵ میلی گرم روغن زیتون و ۱/۵ میلی گرم از اسپن را درون یک بشر کوچک به کمک ترازوی حساس وزن کرده و سپس ۲/۵ میلی گرم از عصاره میوه زغال اخته را در ۵ میلی لیتر از متانول حل کرده و ترکیبات ذکر شده را در ۱۰ میلی لیتر حلال آلی (استون) بر روی همزن مغناطیسی حل کرده در بشر دیگری ۱/۵ میلی گرم توئن ۲۰، ۴ میلی گرم منومر دی اتیل تری آمین و ۱/۵ میلی گرم گلیسرین را به کمک ترازوی حساس وزن کرده و به آنها ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه می کنیم و فاز آلی را به صورت قطره قطره با فواصل زمانی مناسب به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر که درون یک بشر قرار دارد و روی همزن مغناطیسی با دور بالا قرار گرفته است، می افزایشیم.

کلیه مراحل بالا در دمای اتاق انجام می گیرد و از آب مقطر استریل استفاده می شود. پس از تهیه نانوکپسول حاوی عصاره میوه زغال اخته به کمک دستگاه تقطیر در خلأ حلال آلی (استون) خارج می شود. بعد از سنتز نانوکپسول و خارج کردن حلال آن نمونه تهیه شده را به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه در دستگاه اواترا سونیکیت قرار می دهیم (استفاده از دستگاه اولتراسونیک به منظور جدا کردن نانوذرات متصل شده به یکدیگر و

۶.۹.۶.۲. تولید نانوکپسول با غلظت های مختلف عصاره

بدین منظور از غلظت های ۵/۵، ۳/۲، ۴/۵ و ۵/۵ میلی گرم از عصاره زغال اخته استفاده شد و کلیه فاکتورهای دیگر دخیل ثابت در نظر گرفته شد، در نهایت نانوکپسول های سنتز شده از نظر سایز و ابعاد به کمک تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی (SEM) مورد بررسی قرار گرفت [۱۲].

۷.۹.۶.۲. تولید نانو کپسول با میزان متفاوت حلال فاز آلی (استون)

بدین منظور از استون به ترتیب به میزان ۲۰، ۱۵، ۱۰، ۵ میلی لیتر به منظور سنتز نانوکپسول استفاده شد و نانوکپسول های سنتز شده از نظر سایز و ابعاد به کمک تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی (SEM) مورد بررسی قرار گرفت [۱۰].

۸.۹.۶.۲. تعیین حساسیت باکتری ها به آنتی بیوتیک ها و ترکیبات ضد میکروبی

تعیین حساسیت باکتری به ترکیبات ضد میکروبی (عصاره میوه زغال اخته و نانوکپسول سنتز شده حاوی عصاره زغال اخته) به روش تعیین MIC و MBC مورد بررسی قرار گرفت.

و بعد از گذشت این زمان نتایج حاصل که شامل بررسی قطر هاله عدم رشد می باشد را بررسی می کنیم.

۹.۶.۲.۱۱. تهیه رقت های سریال در لوله جهت بررسی خواص ضد میکروبی گیاه زغال اخته

سریال رقت هایی از عصاره زغال اخته را به میزان $100-1000 \mu\text{L/mL}$ در محیط کشت مولر هیتون برات که مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده آن (مرک آلمان) تهیه شده را آماده می کنیم سپس میزان ۱ میلی لیتر از هر کدام از باکتری های مورد نظر را به هر لوله جداگانه تلقیح کرده و نمونه های آماده را در انکوباتور با دمای 37°C درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار می دهیم و بعد از گذشت این زمان نتایج حاصل را بررسی می کنیم.

۹.۶.۲.۱۲. بررسی خواص ضد میکروبی نانوکپسول های حاوی عصاره میوه گیاه زغال اخته

پس از تهیه نانوکپسول های حاوی عصاره میوه زغال اخته تأثیر آنها را بر روی سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک جداسازی شده از نمونه بیماران بستری در بیمارستان مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از روش انتشار از دیسک و تهیه سریال رقت جهت بررسی خواص ضد میکروبی نانوکپسول ها استفاده شد.

۹.۶.۲.۱۳. روش انتشار از دیسک جهت بررسی خواص ضد میکروبی نانوکپسول های عصاره میوه گیاه زغال اخته

برای تهیه دیسک های حاوی نانوکپسول حاوی عصاره میوه زغال اخته از دیسک های بلانک استفاده شد. در ابتدا دیسک های بلانک را به میزان مورد نیاز در نظر گرفته و تعداد آنها را شمارش می کنیم سپس دیسک های شمارش شده را وزن کرده و جهت استریل کردن آنها را در اتوکلاو با دمای 121°C درجه سانتی گراد و فشار یک پوند به مدت ۱۵ دقیقه

۹.۶.۲.۹. بررسی خواص ضد میکروبی عصاره گیاه زغال اخته جهت بررسی خواص ضد میکروبی گیاه زغال اخته عصاره آن، به کمک حلال اتری - متانولی تهیه شد و تأثیر آنها را بر روی سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک جداسازی شده از نمونه بیماران بستری در بیمارستان مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از روش انتشار از دیسک و تهیه سریال رقت جهت بررسی خواص ضد میکروبی عصاره استفاده شد.

۹.۶.۲.۱۰. روش انتشار از دیسک جهت بررسی خواص ضد میکروبی گیاه زغال اخته

برای تهیه دیسک های حاوی عصاره گیاه زغال اخته از دیسک های بلانک استفاده شد. در ابتدا دیسک های بلانک را به میزان مورد نظر در نظر گرفته و تعداد آنها را شمارش می کنیم، سپس دیسک های شمارش شده را وزن کرده و جهت استریل کردن آنها را در اتوکلاو با دمای 121°C درجه سانتی گراد و فشار یک پوند به مدت ۱۵ دقیقه قرار می دهیم سپس محلول حاوی عصاره میوه زغال اخته را درون یک پلیت شیشه ای (از پلیت شیشه ای استفاده می شود که احتمال واکنش ترکیبات با پلیت را به حداقل برسانیم) ریخته و تعداد مورد نظر از دیسک های بلانک استریل شده را درون این پلیت ها می ریزیم که مواد موجود را به خود جذب کنند. سپس وزن نهایی دیسک ها را به کمک ترازوی حساس به دست آورده و از وزن اولیه آنها کم می کنیم تا میزان ماده جذب شده را به دست آوریم. بعد از آن بر روی محیط کشت های حاوی مولر هیتون آگار که بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده آن تهیه شده (مرک آلمان) سویه های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک که قرار است میزان حساسیت آنها به عصاره میوه زغال اخته را بررسی کنیم به صورت متراکم کشت می دهیم. بعد از کشت آنها دیسک های آغشته به ترکیبات مورد نظر را مشابه دیسک های آنتی بیوگرام بر روی سطح پلیت قرار می دهیم و پلیت ها را به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری می کنیم

جداگانه تلقیح کرده و نمونه‌های آماده را در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار می‌دهیم و بعد از گذشت این زمان نتایج حاصل را بررسی می‌کنیم.

۳. نتایج

۱.۳. نتایج جمع‌آوری نمونه از بیماران بستری در بیمارستان بدین‌منظور از نمونه‌های ادراری، خلط، خون و زخم بیماران بستری در بیمارستان نمونه تهیه شد و از میان ۴۳۶ نمونه تهیه شده پس از انجام آزمون‌های مورد نیاز میکروبیولوژی، تعداد ۵۰ سویه که دارای بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک بودند جهت ادامه پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند.

بررسی‌های انجام شده نشان داد که از میان این ۵۰ سویه که بیشترین سطح مقاومت آنتی‌بیوتیکی را داشتند در ۸۰ درصد از موارد باکتری *E. coli* و در ۲۰ درصد از موارد باکتری *Acinetobacter* مولد عفونت گزارش شده است.

۲.۳. نتایج مربوط به بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا‌سازی شده از بیماران بستری در بیمارستان

بررسی ۵۰ ایزوله مقاوم به آنتی‌بیوتیک مورد مطالعه نشان داد که به ترتیب ۷۲، ۱۲، ۱۰ و ۶ درصد از نمونه‌های تهیه شده از ادرار، خلط، زخم و خون جدا شده‌اند.

نتایج مربوط به بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده بر روی ۵۰ سویه نهایی در جدول ۱ گزارش شده است.

قرار می‌دهیم سپس محلول حاوی نانوکپسول زغال اخته را درون یک پلیت شیشه‌ای (از پلیت شیشه‌ای استفاده می‌شود که احتمال واکنش ترکیبات با پلیت را به حداقل برسانیم) ریخته و تعداد مورد نظر از دیسک‌های بلانک استریل شده را درون این پلیت‌ها می‌ریزیم که مواد موجود را به خود جذب کنند. سپس وزن نهایی دیسک‌ها را به کمک ترازوی حساس به دست آورده و از وزن اولیه آنها کم می‌کنیم تا میزان ماده جذب شده را به دست آوریم. بعد از آن بر روی محیط کشت‌های حاوی مولر هیتون آگار که بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده آن تهیه شده (مرک آلمان) سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک که قرار است میزان حساسیت آنها به نانوکپسول‌ها را بررسی کنیم به صورت متراکم کشت می‌دهیم. بعد از کشت آنها دیسک‌های آغشته به ترکیبات مورد نظر را مشابه دیسک‌های آنتی‌بیوگرام بر روی سطح پلیت قرار می‌دهیم و پلیت‌ها را به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری می‌کنیم و بعد از گذشت این زمان نتایج حاصل که شامل بررسی قطر هاله عدم رشد می‌باشد را بررسی می‌کنیم.

۱۴.۹.۶.۲. تهیه رقت‌های سریال در لوله جهت بررسی خواص ضد میکروبی نانوکپسول‌های حاوی عصاره میوه گیاه زغال اخته

سریال رقت‌هایی از نانوکپسول حاوی عصاره میوه زغال اخته به میزان $1000-100 \mu\text{L/mL}$ در محیط کشت مولر هیتون برات که مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده آن (مرک آلمان) تهیه شده را آماده می‌کنیم سپس میزان ۱ میلی‌لیتر از هر کدام از باکتری‌های مورد نظر را به هر لوله

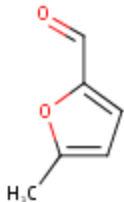
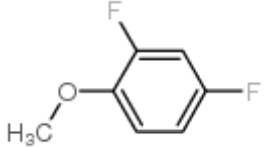
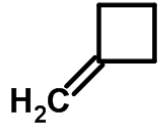
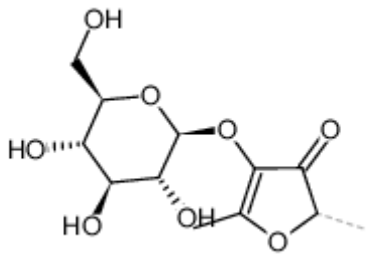
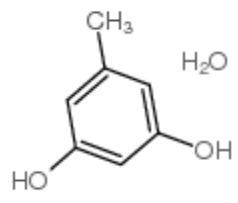
جدول ۱. مربوط به دیسک‌های آنتی‌بیوگرام مورد استفاده و سویه‌های باکتری ایزوله شده از بیماران بستری در بیمارستان

باکتری‌های											
آنتی‌بیوتیک			باکتری		جدا شده		نمونه				
							از:				
۱	urine	<i>E. Coli</i>	NAL30	CO. 10	PI+Tz	CIPR5	CTX30	CTR30	CFM5	NI300	CFO30
۲	urine	<i>E. Coli</i>	CTX30	CO. 10	CFO30	NAL30	PI+TZ	CIPR5	CTR30	CFM5	NI300
۳	urine	<i>E. Coli</i>	IMI10	CO. 10	AMI30	CTR30	CTX30	CFM5	SXT25	*	*
۴	urine	<i>E. Coli</i>	AMI30	IMI10	CFO30	MRP10	SXT25	NI30	CAZ30	*	*
۵	urine	<i>E. Coli</i>	SXT25	IMI10	CIPR5	PI+TZ	CFO30	CAZ30	AMI30	*	*
۶	urine	<i>E. Coli</i>	CIPR5	FEP30	MRP10	CFM5	AMI30	CF030	CO. 10	*	*
۷	Blood	<i>Acinetobacter</i>	CB100	FEP30	PI+TZ	GEN10	CFM5	CAZ30	CFO30	MRP10	*
۸	urine	<i>E. Coli</i>	CTX30	CTR30	MRP10	CO.10	MRP10	CFM5	NI300	*	*
۹	urine	<i>E. Coli</i>	AMP10	CTX30	NAL30	CTPR5	CFM5	AMI30	NI300	*	*
۱۰	urine	<i>E. Coli</i>	CFO30	IMI10	CAZ30	MRP10	AMI30	NI300	CFM5	*	*
۱۱	urine	<i>E. Coli</i>	CO.10	SXT25	NAL30	NI300	CAZ30	CFO30	CTR30	*	*
۱۲	urine	<i>E. Coli</i>	CIPR5	CTR30	PI+TZ	CAZ30	IMI10	CTX30	*	*	*
۱۳	urine	<i>E. Coli</i>	CTX30	FEP30	PI+TZ	CTR30	SXT25	CTR30	CAZ30	*	*
۱۴	urine	<i>E. Coli</i>	CIPR5	CFO30	PI+TZ	MRP10	CO.10	IMI10	*	*	*
۱۵	urine	<i>E. Coli</i>	CIPR5	CAZ30	MRP10	CFM5	CTR30	PI+TZ	*	*	*
۱۶	urine	<i>E. Coli</i>	CIPR5	DOX30	IMI10	CO.10	AMI30	FEP30	MRP10	*	*
۱۷	urine	<i>E. Coli</i>	AMI30	FEP30	CTX30	SXT25	CTR30	PI+TZ	CAZ30	*	*
۱۸	urine	<i>E. Coli</i>	MRP10	CFM5	CTR30	CAZ30	PI+TZ	CIPR5	*	*	*
۱۹	sputum	<i>Acinetobacter</i>	CFM5	MRP10	CTR30	TET30	CB100	CO.10	FEP30	SXT25	CTX30
۲۰	sputum	<i>Acinetobacter</i>	CB100	CO. 10	FEP30	AMI30	CTX30	SXT25	CFO30	IMI10	CEGN10
۲۱	urine	<i>E. Coli</i>	CIPR5	IMI10	CAZ30	PI+TZ	CTR30	CIPR5	CTX30	*	*
۲۲	urine	<i>E. Coli</i>	FEP30	AMI30	SXT25	GB100	CO.10	CFM5	MRP10	GEN10	*
۲۳	urine	<i>E. Coli</i>	CFO30	CIPR5	IMI10	MRP10	CO.10	PI+TZ	*	*	*
۲۴	urine	<i>E. Coli</i>	CTR30	NI300	CTX30	PI+TZ	AMI30	SXT25	CTR30	*	*
۲۵	urine	<i>E. Coli</i>	MRP10	NAL30	CAZ30	CIPR5	CFM5	FEP30	IMI10	CFO30	
۲۶	wound	<i>Acinetobacter</i>	FEP30	CTX30	CFO30	CAZ30	CIPR5	PI+TZ	GEN10	MRP10	IMI10
۲۷	urine	<i>E. Coli</i>	MRP10	FEP30	CFO30	PI+TZ	CTPR5	CAZ30	CTX30	IMI10	*
۲۸	urine	<i>E. Coli</i>	CFM5	NT300	CTX30	AMI30	SXT25	CTR30	CFM5	PI+TZ	*
۲۹	urine	<i>E. Coli</i>	CFM5	NAL30	AMP10	CFO30	CO.10	PI+TZ	CAZ30	NT300	*
۳۰	sputum	<i>Acinetobacter</i>	CF030	PI+TZ	CAZ30	CFM5	GEN10	CO.10	CB100	*	*
۳۱	sputum	<i>E. Coli</i>	CTX30	PI+TZ	NAL30	CO.10	CTR30	AMI30	*	*	*
۳۲	sputum	<i>Acinetobacter</i>	AMI30	CO. 10	SXT25	PI+TZ	CFM5	FEP30	CTX30	CTR30	*
۳۳	urine	<i>E. Coli</i>	PI+TZ	SXT25	CO.10	AMI30	CTX30	FEP30	CFM5	CTR30	*
۳۴	urine	<i>E. Coli</i>	NAL30	NI300	CIPR5	CAZ30	AMP10	MRP10	IMI10	CFO30	*
۳۵	urine	<i>E. Coli</i>	CFM5	SXT25	AMI30	NI300	CTR30	CTX30	CFO30	CO.10	*
۳۶	wound	<i>E. Coli</i>	CFM5	CTR30	CTX30	CFO30	SXT25	AMI10	CO.10	*	*
۳۷	urine	<i>E. Coli</i>	NAL30	CO. 10	CTR30	CAZ30	CTX30	PI+TZ	AMI30	*	*
۳۸	wound	<i>Acinetobacter</i>	MRP10	GEN10	PI+T2	CO.10	CAZ30	CB100	CFM5	*	*
۳۹	Blood	<i>Acinetobacter</i>	CB100	GEN10	MRP10	CO.10	CAZ30	PI+TZ	*	*	*
۴۰	Blood	<i>Acinetobacter</i>	GEN10	TET30	DOX30	CB100	CAZ30	CO.10	MRP10	PI+TZ	*
۴۱	urine	<i>E. Coli</i>	FEP30	CF030	PI+TZ	CTPR5	CAZ30	CTX30	MRP10	IMI10	*
۴۲	urine	<i>E. Coli</i>	CTR30	AMI30	PI+TZ	NAL30	NI300	CAZ30	FEP30	*	*
۴۳	urine	<i>E. Coli</i>	SXT25	MRP10	CTPR5	CFM5	CF030	IMI10	CTX30	CO.10	NI300
۴۴	urine	<i>E. Coli</i>	CTR30	AMI30	PI+TZ	CAZ30	NI300	NAL30	FEP30	*	*
۴۵	wound	<i>E. Coli</i>	CTR30	FEP30	CFM5	IMI10	SXT25	CAZ30	CFO30	CIPR5	*
۴۶	urine	<i>E. Coli</i>	CTR30	IMI30	CO.10	SXT25	CFM5	CTX30	MRP10	PI+TZ	*
۴۷	wound	<i>E. Coli</i>	CTX30	PI+TZ	CTR30	CAZ30	AMI30	FEP30	CO. 10	*	*
۴۸	urine	<i>E. Coli</i>	SXT25	CFM5	IMI10	CIPR5	NAL30	MRP10	CFO30	NT300	*
۴۹	urine	<i>E. Coli</i>	CTX30	PI+TZ	CTR30	CAZ30	AMI30	FEP30	CO. 10	*	*
۵۰	sputum	<i>Acinetobacter</i>	GEN10	CB100	IMI10	CIPR5	AMI30	FEP30	CO. 10	CTR30	*

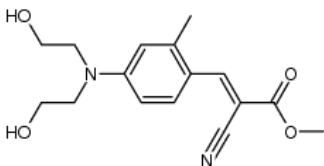
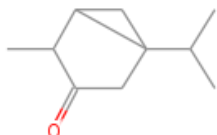
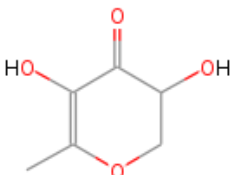
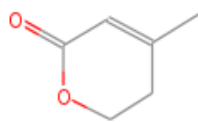
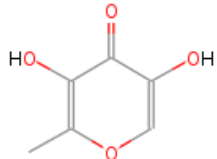
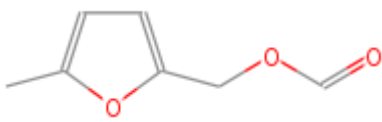
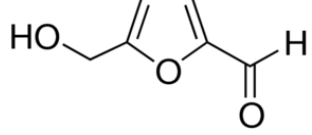
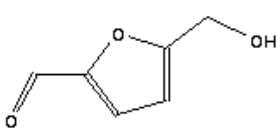
زغال اخته نظیر آنتوسیانین، ارسولیک اسید، سیانیدین، دلفینیدین و پلاگرونیدین و همچنین ترکیبات دیگر، سبب ایجاد خواص آنتی هیستامینی، آنتی باکتریال، آنتی میکروبیال، ضد سرطان، ضد التهاب و آنتی اکسیدانی این میوه با ارزش می شود. عصاره میوه این گیاه دارای سطح بالای کلسیم، پتاسیم، سدیم، زینک، آهن، منیزیم، مس و مقادیر فراوان ویتامین ای می باشد.

۳.۳. بررسی نتایج حاصل از استخراج عصاره میوه گیاه زغال اخته جهت بررسی خواص میوه زغال اخته عصاره اتری اتانولی تهیه شد و عصاره استخراج شده توسط دستگاه کروماتوگرافی جرمی آنالیز شد. نتایج مربوط به آنالیز ترکیبات در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج نشان داد که حضور ترکیبات اصلی و مؤثره گیاه

جدول ۲. مربوط به نتایج حاصل از کروماتوگرافی جرمی عصاره میوه زغال اخته

شماره	روتیشن تایم (دقیقه)	منطقه	اسم شیمیایی	ساختار
۱	۵/۹۹۶	۱/۰۷	2 - Furancarboxaldehyde, 5 - methyl-	
۲	۶/۲۹۷	۱/۹۲	Difluorobenzene, 1 - methoxy	
۳	۷/۵۹۴	۰/۱۸	2 - methylenecyclobutanone	
۴	۸/۱۰۳	۰/۲۲	2, 5 - Dimethyl-4-hydroxy-3 (2 H) - furanone	
۵	۸/۴۳	۰/۱۲	3,5 - Dihydroxytoluene	

ادامه جدول ۲ - مربوط به نتایج حاصل از کروماتوگرافی جرمی عصاره میوه زغال اخته

شماره	روتیشن تایم (دقیقه)	منطقه	اسم شیمیایی	ساختار
۶	۸/۵۵۴	۲/۶۴	Acrylic acid, 3-amino-3-cyano-, methyl ester	
۷	۹/۱۷۲	۰/۳۳	Bicyclo [3.1.0] hexan - 3 - one (CAS)	
۸	۱۰/۰۵۹	۶/۵۳	4H-Pyran-4-one, 2, 3 - dihydro - 3 , 5 - dihydroxy-6 - methyl	
۹	۱۰/۲۴۶	۰/۱۲	Dehydromevalonic lactone	
۱۰	۱۰/۸۸۴	۰/۱۹	4H - Pyran - 4 - one, 3,5 - dihydroxy - 2 - methyl-	
۱۱	۱۰/۹۸۸	۰/۱۳	Cyclohexanol, 4 - methyl -, trans-	
۱۲	۱۱/۵۷۹	۰/۷۱	5 - Formyl - 2 - furfurylmethanoate	
۱۳	۱۲/۵۸۱	۶۴/۲۳	2 - Furancarboxaldehyde, 5 - (hydroxymethyl) -	
۱۴	۲۳/۹۴۴	۰/۱۵	2 - Furancarboxaldehyde, 5 - (hydroxymethyl)- (CAS) \$HMF r	

۴.۳. بررسی نتایج مربوط به خواص ضد میکروبی عصاره میوه گیاه زغال اخته

جهت بررسی خواص ضد میکروبی گیاه زغال اخته عصاره آن، به کمک حلال اتری- متانولی تهیه شد و تأثیر آنها را بر روی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک جداسازی شده از نمونه بیماران بستری در بیمارستان مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از روش انتشار از دیسک و تهیه سریال رقت استفاده شد، این نتایج نشان داد که ۳۶ درصد از سویه‌های مورد مطالعه به عصاره اتری اتانولی تهیه شده از عصاره میوه گیاه زغال اخته حساس هستند و عصاره مورد نظر نقش بازدارندگی از رشد را بر روی این ۳۶ درصد باکتری نشان داد (جدول ۳).

۵.۳. نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد و تعیین MIC و MBC حاصل از تأثیر عصاره زغال اخته بر روی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک جداسازی شده از بیماران بستری در بیمارستان

بررسی نتایج نشان داد که عصاره میوه زغال اخته بر روی ۳۶ درصد از سویه‌های مورد مطالعه دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشد و بررسی قطر هاله عدم رشد در سویه‌های حساس به عصاره زغال اخته نشان داد که بیشترین اندازه قطر هاله ۱۰ میلی‌متر است و کمترین اندازه قطر هاله عدم رشد ۵ میلی‌متر گزارش شد. از سوی دیگر بررسی‌های انجام شده نشان داد که عصاره زغال اخته بیشترین تأثیر را بر روی سویه‌های *E. coli* عامل عفونت ادراری، مقاوم به آنتی‌بیوتیک در بیماران مورد مطالعه دارد.

۶.۳. نتایج مربوط به سنتز نانوکپسول‌های حاوی عصاره میوه نانوکپسول‌های حاوی عصاره میوه زغال اخته بر طبق دستورالعمل ذکر شده در بخش مواد و روش‌ها سنتز شده و پس از سنتز نانوکپسول‌های مورد نظر نمونه‌های تهیه شده را جهت بررسی با میکروسکوپ الکترونی (SEM) آماده کرده و نتایج حاصل را بررسی کرده و همچنین جهت دستیابی به

نانوکپسول‌های بهینه با تغییر یک فاکتور در شرایط ثابت بودن سایر موارد، ابعاد نانوکپسول‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۷.۳. نتایج بررسی نانوکپسول‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره میوه زغال اخته

بدین منظور غلظت‌های ۲/۵، ۳/۵، ۴/۵ و ۵/۵ میلی‌گرم از عصاره مورد استفاده قرار گرفت و کلیه فاکتورهای دیگر ثابت نگه داشته شد که نتایج نشان داد که افزایش غلظت عصاره سبب افزایش اندازه نانوکپسول‌های سنتز شده می‌شود که کوچکترین اندازه مربوط به غلظت ۲/۵ میلی‌گرم با متوسط اندازه ۷۲ نانومتر و بزرگترین اندازه مربوط به غلظت ۵/۵ میلی‌گرم با متوسط اندازه ۱۱۵ نانومتر گزارش شد. نتایج حاصله در جدول ۳ گزارش شده است.

۸.۳. نتایج بررسی نانوکپسول‌های حاوی غلظت‌های ثابت عصاره زغال اخته در حضور مقادیر متفاوت فاز آلی (استون)

بدین منظور از غلظت ثابت ۲/۵ میلی‌گرم عصاره در حضور ۲، ۱۰، ۵ و ۱۵ میلی‌لیتر از حلال فاز آلی (استون) جهت سنتز نانوکپسول‌ها استفاده شد و نتایج حاصله نشان داد که با افزایش فاز آلی (استون) ابعاد نانوذرات کاهش می‌یابد. بدین صورت که در میزان ۱۵ میلی‌لیتر از حلال شاهد سنتز کوچکترین نانوکپسول با متوسط اندازه ۶۶ نانومتر و همچنین در غلظت ۲ میلی‌لیتر از حلال نانوکپسول‌هایی با متوسط سایز ۱۱۸ نانومتر سنتز شده است. نتایج مربوط به ابعاد نانوکپسول‌های سنتز شده در حضور مقادیر متفاوت حلال در جدول ۵ گزارش شده است.

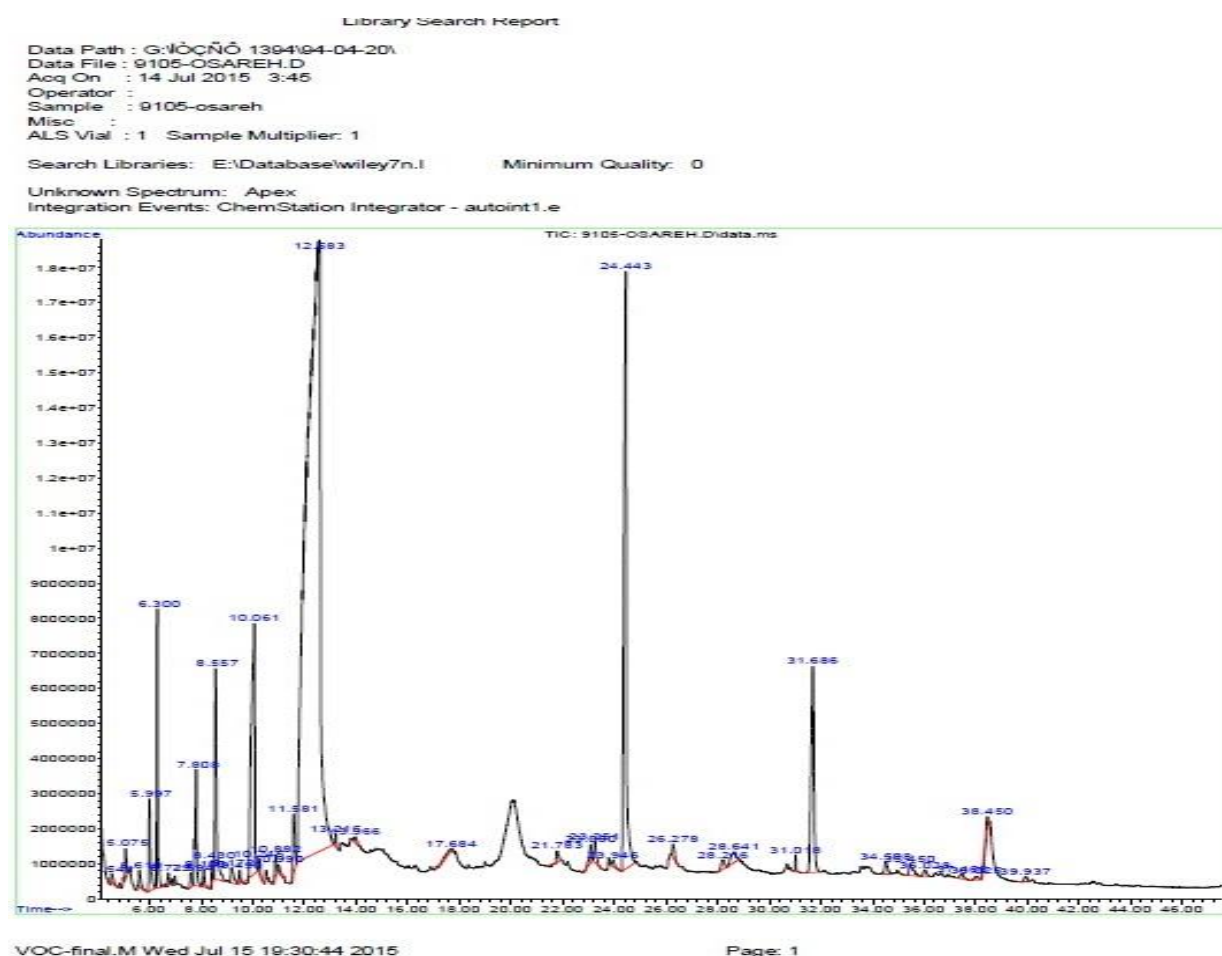
۹.۳. بررسی نتایج مربوط به خواص ضد میکروبی نانوکپسول تهیه شده از عصاره گیاه زغال اخته

بررسی هاله عدم رشد (MIC) دیسک‌های آغشته شده به نانوکپسول زغال اخته نشان داد که نانوکپسول سنتز شده

مطالعه دارای خاصیت ضد میکروبی می باشد و بررسی قطر هاله عدم رشد در سویه های حساس به نانوکپسول نشان داد که بیشترین اندازه قطر هاله ۱۰ میلی متر است و کمترین اندازه قطر هاله عدم رشد ۴ میلی متر گزارش شد. از سوی دیگر بررسی های انجام شده نشان داد که نانوکپسول زغال اخته بر روی سویه های *E. coli* مولد عفونت ادراری و همچنین سویه *Acinetobacter* جداسازی شده از خط و ادرار بیماران دارای نقش ضد میکروبی بوده است.

حاوی عصاره گیاه زغال اخته بر روی ۵۲ درصد از سویه های مورد مطالعه مقاوم به آنتی بیوتیک دارای اثر مثبت بوده و این سویه ها به نانوکپسول سنتز شده حساس هستند.

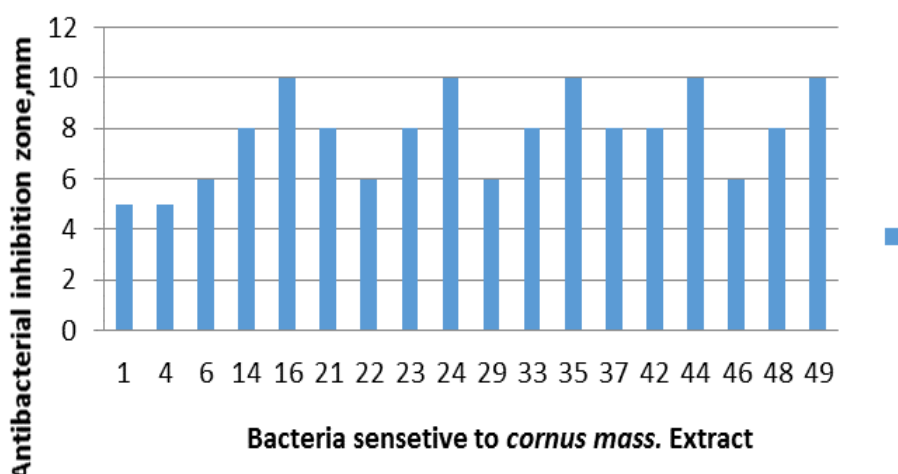
جدول ۶ نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد و تعیین MIC و MBC حاصل از تأثیر نانوکپسول سنتز شده حاوی عصاره زغال اخته بر روی سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک جداسازی شده از بیماران بستری در بیمارستان، بررسی نتایج نشان داد که نانوکپسول زغال اخته بر روی ۵۲ درصد از سویه های مورد



نمودار ۱. مربوط به کروماتوگرام عصاره میوه گیاه زغال اخته

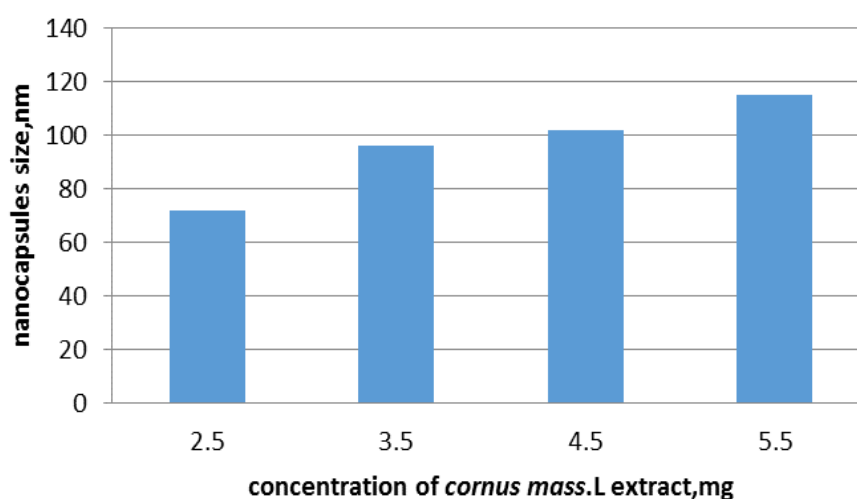
جدول ۳. نتایج مربوط به خواص ضد میکروبی عصاره گیاه زغال اخته بر روی سویه های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک

نمونه	قطر هاله	حداقل	حداقل	نمونه	قطر هاله	حداقل	حداقل
		غلظت	غلظت			غلظت	غلظت
		بازدارندگی	کشندگی بر			بازدارندگی	کشندگی بر
	عدم رشد	بر حسب میلی لیتر	حسب میلی لیتر		عدم رشد	بر حسب میلی لیتر	حسب میلی لیتر
۲۱	۵	۸۰۰	۱۰۰۰	۲۶	—	—	—
۲	—	—	—	۲۷	—	—	—
۳	—	—	—	۲۸	—	—	—
۴	۵	۸۰۰	۱۰۰۰	۲۹	۶	۷۰۰	۱۰۰۰
۵	—	—	—	۳۰	—	—	—
۶	۶	۸۰۰	۱۰۰۰	۳۱	—	—	—
۷	—	—	—	۳۲	—	—	—
۸	—	—	—	۳۳	۸	۵۰۰	۸۰۰
۹	—	—	—	۳۴	—	—	—
۱۰	—	—	—	۳۵	۱۰	۶۰۰	۸۰۰
۱۱	—	—	—	۳۶	—	—	—
۱۲	—	—	—	۳۷	۸	۸۰۰	۱۰۰۰
۱۳	—	—	—	۳۸	—	—	—
۱۴	۸	۸۰۰	۱۰۰۰	۳۹	—	—	—
۱۵	—	—	—	۴۰	—	—	—
۱۶	۱۰	۵۰۰	۸۰۰	۴۱	—	—	—
۱۷	—	—	—	۴۲	۸	۶۰۰	۸۰۰
۱۸	—	—	—	۴۳	—	—	—
۱۹	—	—	—	۴۴	۱۰	۵۰۰	۸۰۰
۲۰	—	—	—	۴۵	—	—	—
۲۱	۸	۷۰۰	۹۰۰	۴۶	۶	۷۰۰	۹۰۰
۲۲	۶	۷۰۰	۱۰۰۰	۴۷	—	—	—
۲۳	۸	۶۰۰	۸۰۰	۴۸	۸	۷۰۰	۹۰۰
۲۴	۱۰	۶۰۰	۸۵۰	۴۹	۱۰	۶۰۰	۹۰۰
۲۵	—	—	—	۵۰	—	—	—

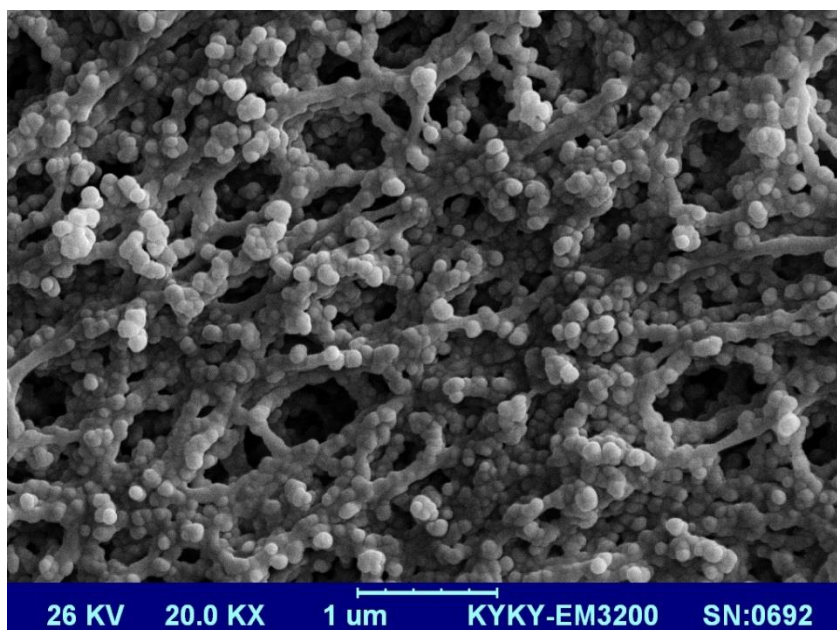


نمودار ۲. مربوط به بررسی قطر هاله عدم رشد سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک که به عصاره میوه زغال اخته حساس بوده‌اند. بررسی میزان حساسیت سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه به عصاره میوه زغال اخته
جدول ۴. بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره بر ابعاد نانوکپسول‌ها

نمونه	غلظت عصاره <i>Cornus mass</i>	Seboycolchloride (SC)	diethyltriamine (DETA)	سورفکتانت آبگریز Span20	حلال آلی (استون)	روغن زیتون Olive oil	گلیسرین	حلال آبی (D/W)	ابعاد نانوذرات بر حسب نانومتر
۱	۵ mg	۱ mg	۴ mg	۵ mg	۱۰ ml	۵ mg	۵ mg	۱۰۰	۷۲
۲	۵ mg	۱ mg	۴ mg	۵ mg	۱۰ ml	۵ mg	۵ mg	۱۰۰	۹۶
۳	۵ mg	۱ mg	۴ mg	۵ mg	۱۰ ml	۵ mg	۵ mg	۱۰۰	۱۰۲
۴	۵ mg	۱ mg	۴ mg	۵ mg	۱۰ ml	۵ mg	۵ mg	۱۰۰	۱۱۵



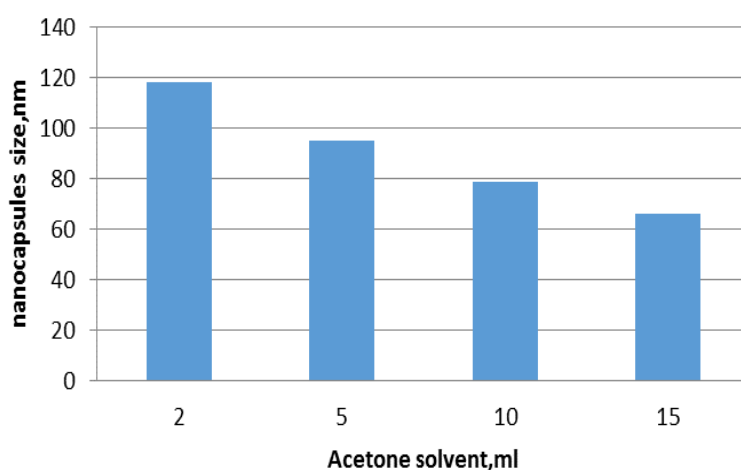
نمودار ۳. مربوط به تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره زغال اخته بر ابعاد نانوکپسول‌ها



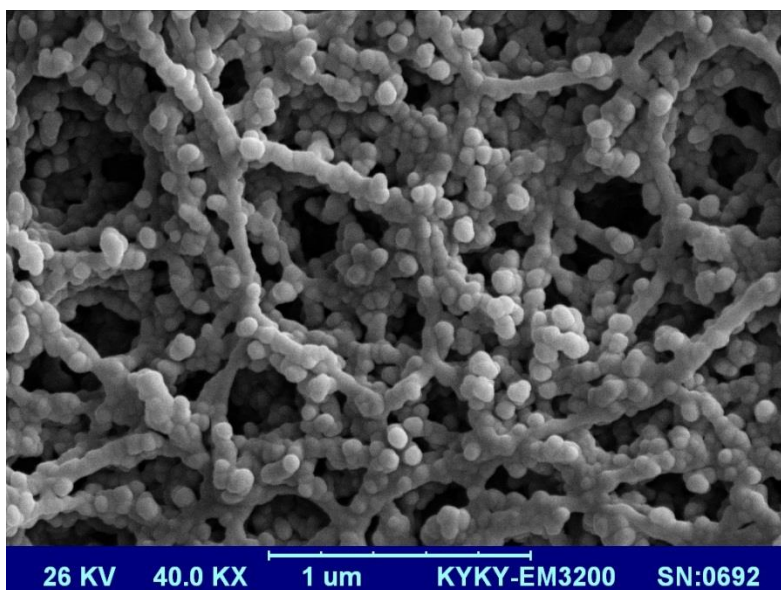
تصویر ۱. تهیه شده از نانوکپسول حاوی عصاره میوه زغال اخته با غلظت ۲/۵ میلی گرم

جدول ۵. بررسی ابعاد نانوکپسول‌های سنتز شده در حضور مقادیر متفاوت حلال فاز آلی (استون)

ابعاد نانوذرات	حلال آبی (D/W)	گلیسرین	روغن زیتون Olive oil	حلال آلی (استون)	سورفکتانت Span20 آگریز	دی اتیل تری آمین (DETA)	سبویکولکلراید (SC)	غلظت عصاره cornus mass	نمونه
۱۱۸ nm	۱۰۰ ml	۱/۵ mg	۲/۵ mg	۲ ml	۱/۵ mg	۴ mg	۱ mg	۲/۵ mg	۱
۹۵ nm	۱۰۰ ml	۱/۵ mg	۲/۵ mg	۵ ml	۱/۵ mg	۴ mg	۱ mg	۲/۵ mg	۲
۷۹ nm	۱۰۰ ml	۱/۵ mg	۲/۵ mg	۱ ml	۱/۵ mg	۴ mg	۱ mg	۲/۵ mg	۳
۶۶ nm	۱۰۰ ml	۱/۵ mg	۲/۵ mg	۱۵ ml	۱/۵ mg	۴ mg	۱ mg	۲/۵ mg	۴



نمودار ۴. مربوط به تأثیر میزان حلال فاز آلی (استون) بر ابعاد نانوکپسول‌ها

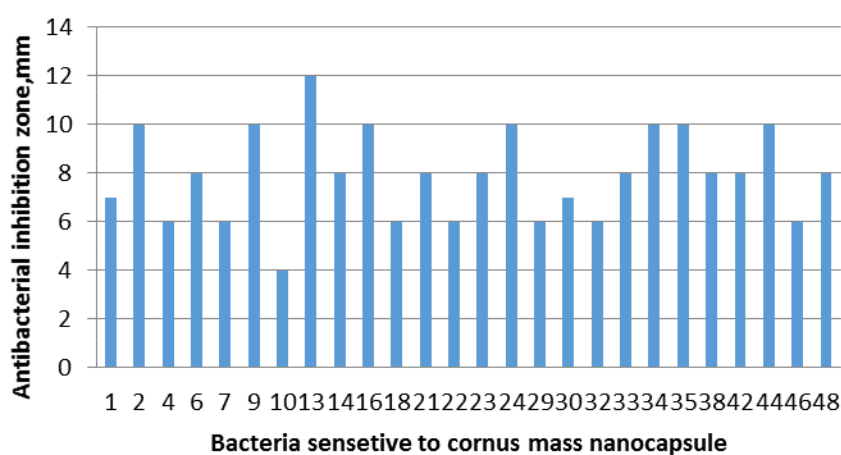


تصویر ۲. تهیه شده از نانوکپسول حاوی عصاره میوه زغال اخته با غلظت ۲/۵ میلی گرم در حضور ۱۵ میلی لیتر از حلال فاز آلی (استون)
جدول ۶. نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد و تعیین MIC و MBC حاصل از تأثیر نانوکپسول های حاوی عصاره زغال اخته بر روی سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک جداسازی شده از بیماران بستری در بیمارستان

حداقل غلظت کشندگی بر حسب میلی لیتر	حداقل غلظت بازدارندگی بر حسب میلی لیتر	قطر هاله عدم رشد	نمونه	حداقل غلظت کشندگی بر حسب میلی لیتر	حداقل غلظت بازدارندگی بر حسب میلی لیتر	قطر هاله عدم رشد	نمونه
۸۰۰	۶۰۰	۷	۱	۸۰۰	۶۰۰	۷	۲۶
۸۰۰	۵۰۰	۱۰	۲	۸۰۰	۵۰۰	۱۰	۲۷
—	—	—	۳	—	—	—	۲۸
۱۰۰۰	۸۰۰	۶	۴	۱۰۰۰	۷۰۰	۶	۲۹
۹۰۰	—	—	۵	۷۰۰	۷۰۰	۷	۳۰
—	۸۰۰	۸	۶	—	—	—	۳۱
۱۰۰۰	۷۰۰	۶	۷	۷۰۰	۷۰۰	۶	۳۲
۸۰۰	—	—	۸	۵۰۰	۵۰۰	۸	۳۳
۸۰۰	۵۰۰	۱۰	۹	۵۰۰	۵۰۰	۱۰	۳۴
۸۰۰	۸۰۰	۴	۱۰	۶۰۰	۶۰۰	۱۰	۳۵
—	—	—	۱۱	—	—	—	۳۶
۱۰۰۰	—	—	۱۲	۸۰۰	۸۰۰	۸	۳۷
—	۷۰۰	۱۲	۱۳	—	—	—	۳۸
—	۱۰۰۰	۸	۱۴	—	—	—	۳۹

ادامه جدول ۶. نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد و تعیین MIC و MBC حاصل از تأثیر نانوکپسول‌های حاوی عصاره زغال اخته بر روی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک جداسازی شده از بیماران بستری در بیمارستان

حد اقل غلظت	حد اقل غلظت	قطر هاله	حد اقل غلظت	حد اقل غلظت	قطر هاله	نمونه	نمونه
کشدگی بر حسب میلی لیتر	بازدارندگی بر حسب میلی لیتر	عدم رشد	کشدگی بر حسب میلی لیتر	بازدارندگی بر حسب میلی لیتر	عدم رشد	نمونه	نمونه
—	—	—	—	—	—	۱۵	۴۰
—	—	—	۸۰۰	۵۰۰	۱۰	۱۶	۴۱
۸۰۰	۶۰۰	۸	—	—	—	۱۷	۴۲
—	—	—	۱۰۰۰	۸۰۰	۶	۱۸	۴۳
۸۰۰	۵۰۰	۱۰	—	—	—	۱۹	۴۴
—	—	—	—	—	—	۲۰	۴۵
۹۰۰	۷۰۰	۶	۹۰۰	۷۰۰	۸	۲۱	۴۶
—	—	—	۱۰۰۰	۷۰۰	۶	۲۲	۴۷
۹۰۰	۷۰۰	۸	۸۰۰	۶۰۰	۸	۲۳	۴۸
—	—	—	۸۵۰	۶۰۰	۱۰	۲۴	۴۹
—	—	—	—	—	—	۲۵	۵۰



نمودار ۵. بررسی میزان حساسیت سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه به نانوکپسول حاوی عصاره میوه زغال اخته

۴. بحث

از زمان شناخت باکتری‌ها، بشر همواره در پی یافتن دارویی مؤثر علیه عفونت‌های ناشی از آنها بوده است و باکتری‌ها نیز به مکانیسم‌های مؤثری جهت از بین بردن آنتی‌بیوتیک‌ها دست یافتند. امروزه با پیدایش مقاومت دارویی در میان باکتری‌های بیماریزا، درمان این دسته از بیماری‌های عفونی با مشکلات بسیاری مواجه شده است به دنبال توسعه‌ی ارگانیزم‌های مقاوم به ترکیبات آنتی‌بیوتیکی، امروزه شاهد گزارش‌های متعددی مبنی بر شیوع گسترده آنها در بخش‌های مختلف بیمارستان‌ها هستیم که غالباً به دلیل مصرف داروهای بتالاکتام وسیع‌الطیف می‌باشد [۲].

بستری شدن طولانی مدت بیماران و استفاده از وسایلی از جمله کاتترهای ادراری و داخل عروقی از دیگر عوامل افزایش الگوی مقاومت دارویی در بیمارستان می‌باشد. از جمله باکتری‌هایی که دارای ژن مقاومت هستند می‌توان به اشریشیا کلی، سودوموناس آئروژنوزا، آسینتوباکتر، کلبسیلا، پروتئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و ... اشاره کرد [۱].

اشریشیاکلی عضو اصلی خانواده انتروباکتریاسه و از ساکنین طبیعی روده‌ی انسان و حیوان به شمار می‌رود، اما در آب، خاک و حتی گیاهان نیز یافت می‌شود. اشریشیاکلی یکی از شایع‌ترین عوامل باکتریایی است که از عفونت‌های انسانی جدا شده است. مقاومت دارویی این باکتری اهمیت زیادی بخصوص در بیماران بستری در بیمارستان‌ها دارد. این باکتری از مهم‌ترین علل میکروبی شایع در عفونت‌های ادراری است و عامل بسیاری از عفونت‌های بیمارستانی از قبیل سپسیس، عفونت‌های زخم، گاستروانتریت و مننژیت نوزادی به شمار می‌رود [۱۳]. اشریشیاکلی یکی از پاتوژن‌های فرصت طلب بیمارستانی می‌باشد و به علت کسب پلاسمیدهایی که کد کننده‌ی بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف هستند، به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مقاوم شده‌اند. به همین دلیل، درمان

عفونت‌های ناشی از اشریشیاکلی با مشکل مواجه شده است [۱۴].

باکتری آسینتوباکتر، گروهی از باکتری‌های گرم منفی و هوازی بوده که در آب و خاک پراکنده هستند. آسینتوباکتر بومانی (*A. baumannii*) شایع‌ترین گونه شناسایی شده این باکتری می‌باشد. این باکتری‌ها به صورت کوکسی بوده و اشکال میله‌ای شکل از آنها نیز دیده شده است. آسینتوباکتر اغلب به صورت کومنسال بوده و عامل عفونت‌های بیمارستانی است آسینتوباکتر بومانی از خون، خلط، پوست، مایع جنب، زخم و ادرار جداسازی شده است. گونه‌های مختلف آن اغلب به آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی مقاوم بوده و افزایش مقاومت در بین سویه‌های مختلف آن گزارش شده است [۱۵]. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در اشریشیاکلی و آسینتوباکتر در سرتاسر جهان گزارش شده است و سرعت افزایش مقاومت در این باکتری‌ها، نیاز به ترکیبات مؤثره گیاهی و شیمیایی مختلف غیر از آنتی‌بیوتیک‌های رایج را نشان می‌دهد [۲].

با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان سویه‌های مولد عفونت‌های ادراری و بیمارستانی، جداسازی و شناسایی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، جهت بررسی تأثیر ترکیبات گیاهی، شیمیایی و نانوذرات الزامی است. در تحقیق حاضر جهت بررسی نقش ضدمیکروبی و تأثیر عصاره میوه زغال اخته و همچنین نانوکپسول‌های سنتز شده حاوی این ترکیبات، جداسازی و شناسایی میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک در بین سویه‌های ایزوله شده از بیمارستان صورت گرفت. بدین صورت که از بین ۴۳۶ سویه جداسازی شده پس از انجام آزمون‌های میکروبیولوژی لازم و همچنین بررسی نتایج آزمون‌های آنتی‌بیوگرام آنها، تعداد ۵۰ سویه که دارای بالاترین سطح مقاومت آنتی‌بیوتیکی بودند، جداسازی شد.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ توسط میرنژاد و همکارانش بر روی ۴۰۰ سویه آسیتوباکتر بومانی جداسازی شده از بیمارستان‌های تهران انجام دادند، مشخص شد که غالب سویه‌ها از نمونه‌های خون جداسازی شد و میزان حساسیت این سویه‌ها به ۱۱ آنتی‌بیوتیک از طریق روش انتشار از دیسک مورد بررسی قرار گرفت و تعداد ۱۰۰ سویه که دارای بیشترین سطح مقاومت به آنتی‌بیوتیک بودند جداسازی شد و نتایج نشان داد که ۲۰ درصد از سویه‌های مورد مطالعه دارای ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام هستند [۱۸].

نتایج حاصل از تحقیق اخیر نشان داد که بیشترین نمونه‌های آسیتوباکتر جداسازی شده از نمونه‌های ادراری بوده‌اند در حالی که مطالعات میرنژاد و همکارانش نشان داد که بیشتر سویه‌های آسیتوباکتر جداسازی شده از نمونه خون به دست آمده‌اند.

با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سویه‌های مولد عفونت‌های ادراری و بیمارستانی، حجم وسیعی از مطالعات محققین در راستای دسترسی به ترکیبات مؤثر ضدمیکروبی معطوف شده است که در این میان استفاده از ترکیبات مؤثره گیاهی و همچنین نانوکپسول‌های تهیه شده از آنها از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است.

استفاده از میوه زغال اخته به دلیل داشتن ترکیبات مفید و متنوع برای پیشگیری از بروز عفونت در مجاری ادراری مفید است. زغال اخته به خروج باکتری‌ها از بدن کمک و از رشد و تکثیر باکتری و ایجاد عفونت جلوگیری می‌کند که از چسبیدن باکتری بیماریزای اشریشیاکلی به دیواره مجرای ادرار جلوگیری می‌کند و موجب دفع آن از طریق ادرار می‌شود [۴].

در مطالعه حاضر جهت بررسی خواص ضدمیکروبی زغال اخته از عصاره اتری - متانولی آن استفاده شد و نتایج نشان

نتایج بررسی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک نشان داد که از میان ۵۰ سویه ایزوله شده که بیشترین سطح مقاومت به آنتی‌بیوتیک را داشتند، میزان ۸۰ درصد از سویه‌ها *E. coli* و ۲۰ درصد باکتری *Acinetobacter* مولد عفونت‌های ادراری و بیمارستانی بوده‌اند. همچنین بررسی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، مورد مطالعه نشان داد که به ترتیب ۲، ۱۲، ۱۰ و ۶ درصد از نمونه‌های تهیه شده از ادرار، خلط، زخم و خون جدا شده‌اند.

بر اساس مطالعاتی که فاضلی و همکارانش در سال ۲۰۰۸ بر روی ۲۷۸ سویه ایزوله شده از بیماران بستری در بیمارستان انجام دادند، مشخص شد که میزان ۶۲ درصد از سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک از نمونه‌های ادرار بیماران جدا شده است. در این مطالعه از میان سویه‌های مورد بررسی، تعداد ۵۰ سویه مقاوم جداسازی شده بود که بررسی‌ها نشان داد که *E. coli* و *Acinetobacter* عامل ۷۲ درصد از عفونت‌های ادراری مقاوم به آنتی‌بیوتیک هستند [۱۶].

نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر و نتایج فاضلی و همکارانش نشان داد که باکتری‌های *E. coli* و *Acinetobacter* بیشترین سویه‌های مولد عفونت‌های ادراری بوده است.

بر اساس مطالعاتی که Kaftandzhieva و همکارانش در سال ۲۰۰۹ بر روی ۲۱۲ سویه *E. coli* ایزوله شده از بیماران بستری در بیمارستان انجام دادند، مشخص شد که از میان این ۲۱۲ سویه، ۱۱/۸ درصد از نمونه‌های مورد بررسی به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مقاومت نشان دادند و میزان ۷/۲ درصد از سویه‌های مورد مطالعه از نمونه‌های ادراری بیماران تهیه شده بود [۱۷].

نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که عامل ۸۰ درصد از عفونت‌های ادراری و بیمارستانی در میان سویه‌های مورد مطالعه، باکتری *E. coli* است که با نتایج کار سایر پژوهش‌ها در این زمینه همسو است.

عصاره سبب افزایش اندازه نانوکپسول‌های سنتز شده، می‌شود که کوچکترین اندازه مربوط به غلظت ۲/۵ میلی گرم با متوسط اندازه ۶۷ نانومتر گزارش شد، نتایج نشان داد که نانوکپسول زغال اخته بر روی ۵۲ درصد از سویه‌های مورد مطالعه که شامل سویه‌های *E. coli* مولد عفونت ادراری و همچنین سویه *Acinetobacter* جداسازی شده از خط بیماران دارای نقش ضد میکروبی بوده است.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ توسط Salam و همکارانش صورت گرفت، نانوکپسول آلفا لینولنیک اسید با روش امولسیون - انتشار و با بهره‌بری ۹۳ درصد آماده شد و پلی لاکتیک اسید به عنوان پلیمر کپسوله‌سازی با استون استفاده شد و اتیل استات به عنوان حلال آلی، توئن ۲۰ و ژلاتین و پلورونیک در آب به عنوان تثبیت کننده، دو نسبت با هر یک از حلال‌های آلی به آبی با حلال و پایدارکننده مورد استفاده قرار گرفت و نانوکپسول‌هایی با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر و پتانسیل زتای بالای ۳۳ میلی ولت تأیید شده توسط اسکن میکروسکوپ الکترونی و تکنیک روش پراکندگی بویا به دست آمد [۲۰].

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۲ توسط اسماعیلی و همکارانش صورت گرفت، توانستند نانوکپسول‌هایی به روش امولسیون از مخلوطی از *Onoropordompicim* استخراج شده از *onopordom leplepis*.DC، پلیمر، استون و روغن زیتون در فاز آبی بدون استفاده از سورفکتانت سنتز کنند در این مطالعه ترکیبات گیاهی در نانوکپسول‌ها با پلی استرتری بلاک لود شدند. تحقیقات انجام شده نشان داد که اندازه نانوکپسول‌ها به عوامل مختلفی از جمله نسبت پلیمر / روغن، غلظت پلیمر و غلظت عصاره بستگی دارد [۱۱].

بر اساس مطالعاتی که قائم پور و همکارانش در سال ۲۰۱۴ جهت سنتز نانوکپسول انجام دادند نانوکپسول حاوی روغن نعناع را بر پایه بیوپلیمر آلژینات تهیه کردند و فعالیت ضد میکروبی نانوکپسول تهیه شده را بر علیه باکتری گرم منفی اشریشیاکلی و گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مورد

داد که ۳۶ درصد از سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک مورد مطالعه به عصاره زغال اخته حساس هستند.

بر اساس مطالعاتی که Pawel و همکارانش در سال ۲۰۱۱ جهت بررسی خواص ضد میکروبی گیاه زغال اخته انجام دادند، خواص ضد میکروبی برگ، دانه و میوه گیاه مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از عصاره‌های اتانولی و متانولی تهیه شده از زغال اخته جهت بررسی نقش ضد میکروبی آنها استفاده کردند و بر روی دو سویه از باکتری‌های گرم مثبت *staphylococcus aureus*، *streptococcus pyogenes* و دو سویه گرم منفی *E. coli*، *pseudomonas aeroginusa* مطالعات خود را انجام دادند و نتایج بررسی هاله عدم رشد نشان داد که بیشترین تأثیر را عصاره دانه بر روی *staphylococcus aureus* و *E. coli* با قطر هاله عدم رشد ۱۵ - ۱۰ میلی متر را دارند [۱۹].

نتایج بیان شده با نتایج به دست آمده در مطالعه اخیر نشان دهنده خواص ضد میکروبی قسمت‌های مختلف گیاه زغال اخته است.

جهت دستیابی به ترکیبات مؤثر با خواص ضد میکروبی، استفاده از نانوذرات به دلیل خواص ضد میکروبی بالای آنها توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است.

در این مطالعه همچنین نانوکپسول‌هایی پلی آمیدی، حاوی عصاره میوه زغال اخته به روش امولسیون - دیفیوژن تهیه شد. جهت بررسی تأثیر غلظت بر سایز نانوکپسول‌های سنتز شده، غلظت‌های ۲/۵، ۳/۵، ۴/۵ و ۵/۵ میلی گرم از عصاره مورد استفاده قرار گرفت و کلیه فاکتورهای دیگر ثابت نگه داشته شد که نتایج نشان داد که افزایش غلظت عصاره سبب افزایش اندازه نانوکپسول‌های سنتز شده می شود که کوچکترین اندازه مربوط به غلظت ۲/۵، ۳/۵، ۴/۵ و ۵/۵ میلی گرم با متوسط اندازه ۷۲ نانومتر و همچنین جهت بررسی تأثیر میزان فاز آلی (استون)، غلظت‌های ۲/۵ میلی گرم از عصاره زغال اخته مورد استفاده قرار گرفت و کلیه فاکتورهای دیگر ثابت نگه داشته شد که نتایج نشان داد که افزایش غلظت

جداسازی شد. نتایج مربوط به خواص ضد میکروبی عصاره میوه و نانوکپسول حاوی عصاره نشان داد که به ترتیب بر ۳۶ درصد، ۵۶ درصد از سویه‌های مورد مطالعه دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشد. نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که عصاره گیاه زغال اخته و نانوکپسول‌های سنتز شده از آن دارای نقش ضد میکروبی بالایی علیه سویه های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک هستند و می‌توان از نانوکپسول‌های سنتز شده جهت درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده کرد. همچنین تحقیقات بیشتر جهت بررسی سایر ویژگی‌های این ترکیبات پیشنهاد می‌شود.

مشارکت نویسندگان

مریم بلادی انجام پروژه تحقیقاتی و نگارش مقاله، عباس اخوان سپهری نظارت بر انجام پروژه و نگارش مقاله و بررسی سویه های مقاوم به آنتی بیوتیک، صدیقه مهربان کمک به طراحی پروژه، اکبر اسماعیلی طراحی سنتز نانوکپسول به روش امولسیون و نظارت بر سنتز نانوکپسول‌ها، فریبا شریف‌نیا انتخاب گیاه زغال اخته جهت بررسی خواص ضد میکروبی آن و بررسی ترکیبات موجود در عصاره گیاه.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

بررسی قرار دادند. آنها جهت بررسی اندازه نانوکپسول تهیه شده از میکروسکوپ الکترونی SEM استفاده کرده و همچنین پایداری عصاره را به کمک کروماتوگرافی گازی آنالیز کردند [۲۱].

بر اساس مطالعات انجام شده در مقاله اخیر مشخص شد که در سنتز نانوکپسول‌های حاوی عصاره میوه گیاه زغال اخته افزایش غلظت عصاره سبب افزایش اندازه نانوکپسول‌های سنتز شده شد و همچنین افزایش میزان فاز آلی (استون) سبب کاهش ابعاد نانوذرات می‌شود، با توجه به افزایش راندمان نانوکپسول‌های دارای ابعاد کوچکتر در این مطالعه نانوکپسول‌های بهینه شده نیز سنتز شد و نقش ضد میکروبی آنها مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان‌دهنده تأثیر مستقیم خاصیت ضد میکروبی نانوکپسول‌هایی با ابعاد کوچکتر بر باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک بود.

۵. نتیجه‌گیری

با توجه به افزایش سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک لزوم دستیابی به ترکیبات مؤثره گیاهی و نانوکپسول‌های سنتز شده از عصاره گیاهان جهت از بین بردن این سویه‌ها را نشان می‌دهد. در پژوهش حاضر تعداد ۴۳۶ نمونه از (ادرار، خلط، زخم و خون) بیماران بستری، جمع‌آوری شد و تعداد ۵۰ سویه که دارای بیشترین سطح مقاومت به آنتی بیوتیک بودند جهت بررسی خواص ضد باکتریایی ترکیبات مورد نظر

منابع

1. Wang H, Guo P, Sun H, Wang H, Yang Q, Chen M and et al. Molecular epidemiology of clinical isolates of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from Chinese hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*: 2007; 51 (11): 4022.
2. Al-Jasser AM. Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs): A Global problem. Kuwait. *Med J*. 2006; 38 (3): 171-85.
3. Rodriguez JA, Astudillo L, Schmeda - Hirschmann G. 2003. Oleanolic acid promotes healing of acetic acid-induced chronic gastric lesions in rats. *Pharmacol. Res*. 48: 291-4.

4. Dulger B and Gonduz A. Antimicrobial activity of some Turkish medicinal plants. *Pak. J. Biol. Sci.* 2009; 7, 1559-62.
5. Vareed, Muntha K, Shaiju K, Reddy, Robert E, Schutzki and Muraleedharam G. 2006. Anthocyanin cornus alternifolia, Cornus controversa, Cornus Kousa and cornus florida fruits with health benefits. Volume 78, issue 7, 11 january. pp: 777-84.
6. Ercisli S, Yilmaz S, Gadze J, Dzubur A, Hadziabulic S and Aliman Y. Some Fruit Characteristics of Cornelian Cherries (*Cornus mas* L.). *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj.* 2011; 39 (1): 255-9.
7. Funatogawa K, Hayashi S, Shimomura H, Yoshida T, Hatano T, Ito H and Hirai Y. Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against helicobacter pylori. *Microbiol. Immunol.* 2004; 48 (4): 251-61.
8. Rios JL, Recio, MC. Medicinal plants and antimicrobial activity. 2005; 100: 80-4.
9. Couvreur P, Barrati G., Fattal E., Legrand P and Vauthier C. Nanocapsule technology. *Drug Carl, Syst*, 2002; 19(2): 99-134.
10. Esmaeili A and Niknam S. Characterization of nanocapsules containing *Elaeagnus angustifolia* L. extract prepared using an emulsion – diffusion process. *Flavour Frag. J.* 2013; 28: 309-15.
11. Esmaeili A and Sarmnia B. prepration of extract-loaded nanocapsules from onopordonleptolepis DC., *Inductrial crop and products, Elsevier.* 2012, 259-63.
12. Esmaeili A and Ebrahimzadeh M. Polymer-based of extract-loaded nanocapsules *Aloe vera* L. delivery. *Synth. React. Inorg. Metal-Org. Nano-Met. Chem.* 2014. (in press).
13. Baum Von H and Marre R. Antimicrobial resistance of Escherichia coli and therapeutic implications. *Int. J. Med. Microbiol.* 2005; 295: 503-11.
14. Fernández A, Pereira MJ, Suárez JM, Poza M, Treviño M, Villalón P and et al. Emergence in Spain of a Multidrug-resistant Enterobacter Cloacae Clinical Isolate Producing SFO - 1 Extended-spectrum Betalactamase. *J. Clin Microbiol.* 2011; 49 (3): 822-8.
15. Fournier PE and Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin. Infect. Dis.* 2006; 42: 692-9.
16. Fazeli, H., Hoseini, M. and Mohammadi, P. Frequency and antibiotic susceptibility of ESBL-producing Escherichia coli in clinical samples isolated from Alzahra Hospital in Esfehan, Iran. *Sharkord J. Med. Sci.* 2008; 10: 58-64.
17. Kaftandzieva A, Kotevska V, Cekovska Z, Jankoska G, Kjurcik-Trajkovska B. and Petrovska M. Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing E. coli and Klebsiella pneumoniae at University Clinics in Skopje. *Acta Morphol.* 2009; 6 (2): 66-71.
18. Mirnejad R and Vafaei S. Antibiotic resistance patterns and the prevalence of ESBLs among strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical specimens. 2013. Volume 2013, 8 Pages doi:10.5899/2013/jgmi-00002.
19. Paweł K, Mirosław K, Maciej G, Dorota O and Wirginia K. Antimicrobial activity of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.), *Pak. J. Biol. Sci.* 2011; 7: 1559-62.
20. Salam H and [et al]. Nanocapsulation of alpha-linolenic acid with modified emulsion method, *Jam oil chem. Soc, springer.* 2011, P: 1033-40.
21. Ghayempour S, Mortazav SM. Antibacterial activity of peppermint fragrance

micro – nanocapsules prepared with a new electrospraying method. Departeman of textil Engineering Isfahan University of technology. *Isfahan. Iran*. 2014; 6 (1): 103-9.

How to cite this article: Beladi M, Akhavansepahy A, Mehrabian S, Esmaili A, Sharifnia F. Antimicrobial role of nanocapsules containing cornus mass extract on antibiotic-resistant bacteria. ***Journal of Medicinal Plants*** 2020; 19(74): 84-107. doi: 10.29252/jmp.19.74.84



Institute of
Medicinal Plants

Journal of Medicinal Plants

Journal homepage: www.jmp.ir



Research Article

Evaluation of antimicrobial role of nanocapsules containing *Cornus mass* extract synthesized by emulsion method on antibiotic resistant bacteria

Maryam Beladi¹, Abbas Akhavansepahy^{1,*}, Sedigeh Mehrabian¹, Akbar Esmaili², Fariba Sharifnia¹

¹ Faculty of Biology, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran

² Faculty of Chemical, Islamic Azad University, Tehran North Branch, PO Box 19585/936, Tehran, Iran

ARTICLE INFO

Keywords:

Cornus mass
Antibiotic resistance
Antimicrobial
Nano capsules

ABSTRACT

Background: Due to the increase in the strains of antibiotic-resistant bacteria, it is necessary to obtain effective herbal compounds and nanocapsules synthesized from plant extracts to eliminate these strains. **Objective:** The present research study was conducted to examine the antibacterial effects of *Cornus mass* extract and its synthesized nano-capsules on the bacterial strains resistant to antibiotics. **Methods:** Samples including a combination of (urine, sputum, wounds and blood) of 436 hospitalized patients was collected and a number of 50 strains which demonstrated the highest resistance to antibiotics was separated to examine the antibacterial characteristics of the innovative compositions under study. **Results:** The findings showed that from among the 50 strains under study in 80% of the cases the *E. coli* bacteria and in 20% of the cases the *Acinetobacter* were the cause of infections. with the increase in the concentration of the extract, the size and dimension of nano-capsules increased so much so that in a concentration of 2.5 mg of extract, nano-particles as large as 72 nanometers was reported. Also, in fixed concentration of extracts diluted in more acetone, the size and dimension of nano-particles decreased to the extent that in a concentration using 15 millilitre of acetone, nano-particles equal to 66 nano meter was observed. **Conclusion:** The findings relating to the antimicrobial characteristics of the *Cornus mass* extracts and its synthesized nano-capsules showed that respectively 36% and 56% of the strains under study possess antibacterial characteristics.

Abbreviations: MIC, Minimum Inhibitory Concentration; MBC, Minimum Bactericidal Concentration.

* Corresponding author: akhavansepahy@gmail.com

doi: [10.29252/jmp.19.74.84](https://doi.org/10.29252/jmp.19.74.84)

Received 18 January 2018; Received in revised form 13 November 2018; Accepted 9 December 2018

© 2020. Open access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)