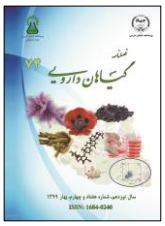
پژوهشکده گیاهان دارویی
جهاد دانشگاهی

فصلنامه گیاهان دارویی

Journal homepage: www.jmp.ir



مقاله تحقیقاتی

بررسی نقش ضدمیکروبی 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]، فریبا 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*

اطلاعات مقاله

گل‌واژگان:
زغال اخته
خاصیت ضدمیکروبی
مقاومت آنتی‌بیوتیکی
نانوکپسول

چکیده

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 ضدمیکروبی 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 ضدباکتریایی ترکیبات موردنظر جداسازی شد. از میوه زغال اخته، عصاره اتری متانولی تهیه شد. خواص ضدمیکروبی 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 ازعصاره 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 ضدمیکروبی 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 اداری 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 اداری، 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 به‌دنبال توسعه‌ی ارگانیسم‌های 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 ضدمیکروبی 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 ضدمیکروبی 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، بیوفلاوونوئیدها، مقدار زیادی ویتامین از جمله ویتامین ث و ارسولیک اسید می‌باشد. وجود انواع مختلف ترکیبات آنتی‌اکسیدانی شامل آنتی‌سیانین‌ها، فلاوونوئیدها 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 ضدمیکروبی، آنتی‌هیستامینی، آنتی‌آلرژیک، ضدالتهابی 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 ضدمیکروبی این ترکیبات شود. نانوکپسول‌ها شامل ذرات کلوئیدی 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 این‌گونه ساختارهای هسته- پوسته در سایز نانومتری به‌کار گرفته شده است. از آن جمله می‌توان پلیمریزاسیون در جا در سطح مشترک قطرات نانوامولسیون‌ها، تولید نانوکپسول‌ها با استفاده از پلیمرهای

پیش‌ساخته، نانوکپسول‌های لیپیدی و سنتز نانوکپسول به روش امولسیون – دیفیوژن را نام برد [۱۰]. در مطالعه اخیر جهت بررسی نقش ضدمیکروبی عصاره گیاه زغال اخته بر روی سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک عصاره گیاه به صورت خالص و همچنین نانوکپسول‌های سنتز شده به روش امولسیون مورد استفاده قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. *مواد مورد استفاده*

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

۲.۲. *جمع‌آوری نمونه از بیماران بستری در بیمارستان*

به منظور جمع‌آوری سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک از میان بیماران بستری در بیمارستان، نمونه‌گیری از بیماران بستری در بیمارستان‌های شهر تهران (آزمایشگاه بیمارستان عرفان، مفید، شهدا) انجام گرفت، بدین‌منظور نمونه‌های ادرار، خون، خلط و زخم جمع‌آوری شد و در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت.

نمونه‌های تهیه شده بلافاصله پس از نمونه‌گیری به آزمایشگاه منتقل شد و آزمون‌های موردنظر بر اساس محل نمونه گیری بر روی آنها انجام گرفت.

تعداد ۴۳۶ نمونه مورد بررسی قرار گرفتند و نمونه‌های جداسازی شده پس از انجام آزمون‌های متداول میکروبیولوژی و شناسایی سویه‌های مولد عفونت جهت بررسی‌های بعدی آماده شدند.

نمونه‌های جمع‌آوری شده بر روی محیط کشت‌های ائوزین متیلن بلو و بلاد آگار ۵ درصد کشت داده شدند و به مدت ۲۴ تا ۴۸ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند.

۳.۲. *تهیه محیط کشت ائوزین متیلن بلو*

این محیط کشت برای تشخیص باکتری اشریشیا کلی و باکتری‌های میله‌ای گرم منفی روده‌ای استفاده می‌شود، رشد باکتری اشریشیا کلی با مشاهده کلنی‌های تیره و صاف با جلای فلزی قابل مشاهده است.

۴.۲. *تهیه محیط کشت بلاداگار*

محیط کشت بلاد آگار برای جداسازی باکتری‌ها بر اساس خواص همولیتیکی (بتا همولیز، آلفا همولیز و گاما همولیز) استفاده می‌شود.

پس از بررسی نمونه‌های کشت داده شده پلیت‌های دارای رنگ جلای سبز رنگ حاصل از رشد باکتری‌ها معین می‌کند که به احتمال زیاد میکروارگانیسم مورد نظر اشریشیا کلی است اما به منظور تأیید نهایی آزمون‌های افتراقی و بیوشیمیایی باکتری‌ها انجام گرفت از سوی دیگر جهت شناسایی آسینتوباکتر، نمونه‌ها توسط آزمون‌های بیوشیمیایی و افتراقی مورد بررسی قرار گرفتند.

۵.۲. *آزمون‌های بیوشیمیایی جهت شناسایی باکتری اشریشیا کلی*

برای مشخص کردن خصوصیات بیوشیمیایی باکتری می بایست از کلنی‌های تک و ایزوله باکتری‌ها استفاده شود در این آزمون‌ها همزمان از سویه استاندارد اشریشیا کلی (ATCC25922) استفاده شد.

۲.۶. کشت در محیط اوره آز

۱.۶.۲. تهیه محیط اوره آز

این آزمون برای تشخیص باکتری‌های هوازی بر پایه توانایی هیدرولیز اوره می‌باشد. میکروارگانیسم‌هایی 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 می توان سه خاصیت مهم باکتری را در آن تشخیص داد، اگر باکتری حرکت داشته باشد، بعد از ۲۴-۱۸ ساعت محیط کاملا کدر می‌شود، اگر تحرک باکتری ضعیف باشد کدورت صرفا 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 آیرون (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-Vegesproskaure 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 آسینتوباکتر

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

۲.۶.۸. 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.

۲.۶.۹. محیط تریپل شوگرز آیرون (TSI)

۲.۶.۹.۱. 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. ارگانیسم‌هایی 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.

۲.۶.۹.۲. بررسی میزان مقاومت سویه‌های جداسازی 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 خالص‌سازی و دسترسی به کلنی‌های تک از آنها، به صورت متراکم بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار که بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده آن (مرکآلمان) 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 میلی‌گرمی)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میلی‌گرمی)، تری متوپریم- سولفامتاکسازول (۳۰ میلی‌گرمی)، سفازیدیم (۳۰ میلی‌گرمی)، پیپراسیلین-تازوباکتام (۳۰ میلی‌گرمی)، کوآموکسی کلاو (۱۰ میلی‌گرمی)، نیتروفورانتون (۳۰ میلی‌گرمی)، ایمیپنم (۱۰ میلی‌گرمی)، مروپنم (۱۰ میلی‌گرمی)، آمپی‌سیلین (۳۰ میلی‌گرمی)، سفوکسیتین (۳۰ میلی‌گرمی)، جنتامیسین (۱۰ میلی‌گرمی)، سفکسیم (۵ میلی‌گرمی)، سفپیم (۳۰ میلی‌گرمی) کاربنیسیلین (۱۰۰ میلی‌گرمی)، سفپروزیل (۳۰ میلی‌گرمی) و تتراسایکلین (۳۰ میلی‌گرمی) تعیین شد.

پس از استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های ذکر شده و بعد از گرماگذاری پلیت‌های مولر هینتون 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.

۲.۶.۳. تهیه میوه گیاه زغال اخته

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

۲.۶.۴. تهیه عصاره اتری- 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

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

۲.۹.۶.۵. مراحل آماده‌سازی نانوکپسول حاوی عصاره میوه گیاه زغال اخته

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

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

کلیه مراحل بالا در دمای اتاق انجام می‌گیرد و از آب مقطر استریل استفاده می‌شود. پس از تهیه نانوکپسول حاوی عصاره میوه زغال اخته به کمک دستگاه تقطیر در خلأ حلال آلی (استون) خارج می‌شود. بعد از سنتز نانوکپسول و خارج کردن حلال آن نمونه تهیه شده را به مدت ۲۰–۱۵ دقیقه در دستگاه اواترا سونیکیت قرار می‌دهیم (استفاده از دستگاه اولتراسونیک به منظور جدا کردن نانوذرات متصل شده به یکدیگر و جلوگیری از جمع شدن نانو ذرات در حین سنتز و همچنین در زمان خارج کردن حلال آلی می‌باشد) بعد از این مرحله نمونه حاوی نانوکپسول را با دور 11000 rpm سانتریفیوژ می‌کنیم و درنهایت نمونه‌ها را جهت بررسی سایز و ابعاد نانوذرات سنتز شده به کمک میکروسکوپ الکترونی (SEM) آماده کرده و میانگین اندازه نانوذرات و مورفولوژی نانوکپسول‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

۲.۹.۶.۶. تولید نانوکپسول با غلظت‌های مختلف عصاره

بدین‌منظور از غلظت‌های ۳/۲،۵/۵، ۴/۵ و ۵/۵ میلی‌گرم از عصاره زغال اخته استفاده شد و کلیه فاکتورهای دیگر دخیل ثابت در نظر گرفته شد، درنهایت نانوکپسول‌های سنتز شده از نظر سایز و ابعاد به کمک تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی (SEM) مورد بررسی قرار گرفت [۱۲].

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

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

۲.۹.۶.۸. تعیین حساسیت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیبات ضدمیکروبی

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

۹.۹.۶.۲. بررسی خواص ضدمیکروبی عصاره گیاه زغال اخته

جهت بررسی خواص ضدمیکروبی 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. بدین‌منظور از روش انتشار از دیسک و تهیه سریال رقت جهت بررسی خواص ضدمیکروبی عصاره استفاده شد.

۱۰.۹.۶.۲. روش انتشار از دیسک جهت بررسی خواص ضدمیکروبی گیاه زغال اخته

برای تهیه دیسک‌های حاوی عصاره گیاه زغال اخته از دیسک‌های بلانک استفاده شد. در ابتدا دیسک‌های بلانک را به میزان مورد نظر در نظر گرفته و تعداد آنها را شمارش می‌کنیم، سپس دیسک‌های شمارش شده را وزن کرده و جهت استریل کردن آنها را در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک پوند به مدت ۱۵ دقیقه قرار می‌دهیم سپس محلول حاوی عصاره میوه 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 هینتون آگار که بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده آن تهیه شده (مرک آلمان) سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک که قرار است میزان حساسیت آنها به عصاره میوه زغال اخته 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.

۱۱.۹.۶.۲. تهیه رقت‌های سریال در لوله جهت بررسی خواص ضدمیکروبی گیاه زغال اخته

سریال رقت‌هایی از عصاره زغال اخته را به میزان ۱۰۰۰–۱۰۰ µl/mL در محیط کشت مولر هینتون براث 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 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.

۱۲.۹.۶.۲. بررسی خواص ضدمیکروبی نانوکپسول‌های حاوی عصاره میوه گیاه زغال اخته

پس از تهیه نانوکپسول‌های حاوی عصاره میوه زغال اخته تأثیر آنها را بر روی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک جداساری 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 ضدمیکروبی نانوکپسول‌ها استفاده شد.

۱۳.۹.۶.۲. روش انتشار از دیسک جهت بررسی خواص ضدمیکروبی نانوکپسول‌های عصاره میوه گیاه زغال اخته

برای تهیه دیسک‌های حاوی نانوکپسول حاوی عصاره میوه زغال اخته از دیسک‌های بلانک استفاده شد. در ابتدا دیسک‌های بلانک را به میزان موردنیاز در نظر گرفته و تعداد آنها را شمارش می‌کنیم سپس دیسک‌های شمارش شده را وزن کرده و جهت استریل کردن آنها را در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک پوند به مدت ۱۵ دقیقه

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 هینتون 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 ضدمیکروبی نانوکپسول‌های حاوی عصاره میوه گیاه زغال اخته

سریال رقت‌هایی از نانوکپسول حاوی عصاره میوه زغال اخته به میزان ۱۰۰۰–۱۰۰ µl/mL در محیط کشت مولر هینتون براث 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 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.

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

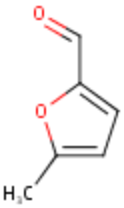
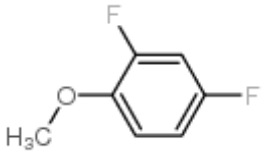
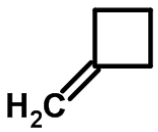
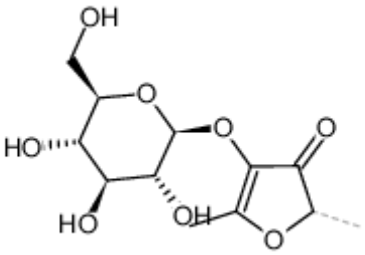
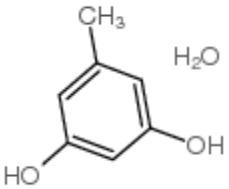
نمونه	باکتری‌های جدا شده از:	باکتری	آنتی‌بیوتیک								
۱	urine	*E. Coli*	NAL30	CO. 10	PI+Tz	CIPR5	CTX30	CTR30	CFM5	NI300	CFO30
۲	urine	*E. Coli*	CTX30	CO. 10	CFO30	NAL30	PI+TZ	CIPR5	CTR30	CFM5	NI300
۳	urine	*E. Coli*	IMI10	CO. 10	AMI30	CTR30	CTX30	CFM5	SXT25	*	*
۴	urine	*E. Coli*	AMI30	IMI10	CFO30	MRP10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

۳.۳. بررسی نتایج حاصل از استخراج عصاره میوه گیاه زغال اخته

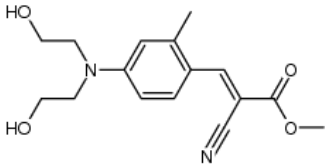
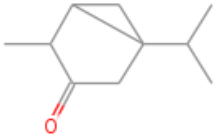
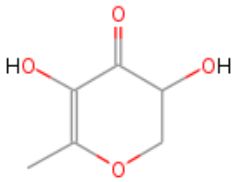
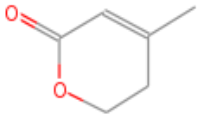
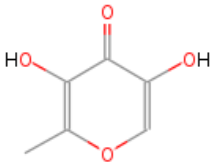
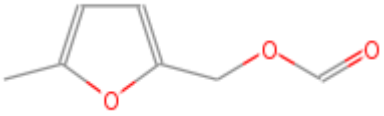
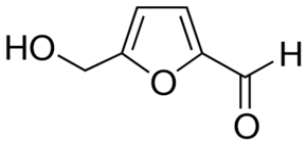
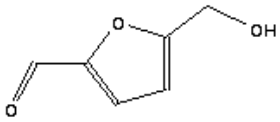
جهت بررسی خواص میوه زغال اخته عصاره اتری اتانولی تهیه شد و عصاره استخراج شده توسط دستگاه کروماتوگرافی جرمی آنالیز شد. نتایج مربوط به آنالیز ترکیبات در جدول ۲ گزارش شده است.

نتایج نشان داد که حضور ترکیبات اصلی و مؤثره گیاه زغال اخته نظیر آنتوسیانین، ارسولیک اسید، سیانیدین، دلفینیدین و پلاگرونیدین و همچنین ترکیبات دیگر، سبب ایجاد خواص آنتی‌هیستامینی، آنتی‌باکتریال، آنتی‌میکروبیال، ضدسرطان، ضدالتهاب و آنتی‌اکسیدانی این میوه با ارزش می‌شود. عصاره میوه این گیاه دارای سطح بالای کلسیم، پتاسیم، سدیم، زینک، آهن، منیزیم، مس و مقادیر فراوان ویتامین ای می‌باشد.

جدول ۲. مربوط به نتایج حاصل از کرواتوگرافی 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 کرواتوگرافی 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 ضدمیکروبی عصاره میوه گیاه زغال اخته

جهت بررسی خواص ضدمیکروبی گیاه زغال اخته عصاره آن، به کمک حلال اتری- متانولی تهیه شد و تأثیر آنها را بر روی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک جداساری 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 برروی 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 ضدمیکروبی 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 نانوکپسول های 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 غلظت های 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 حضورمقادیر متفاوت فاز آلی (استون)

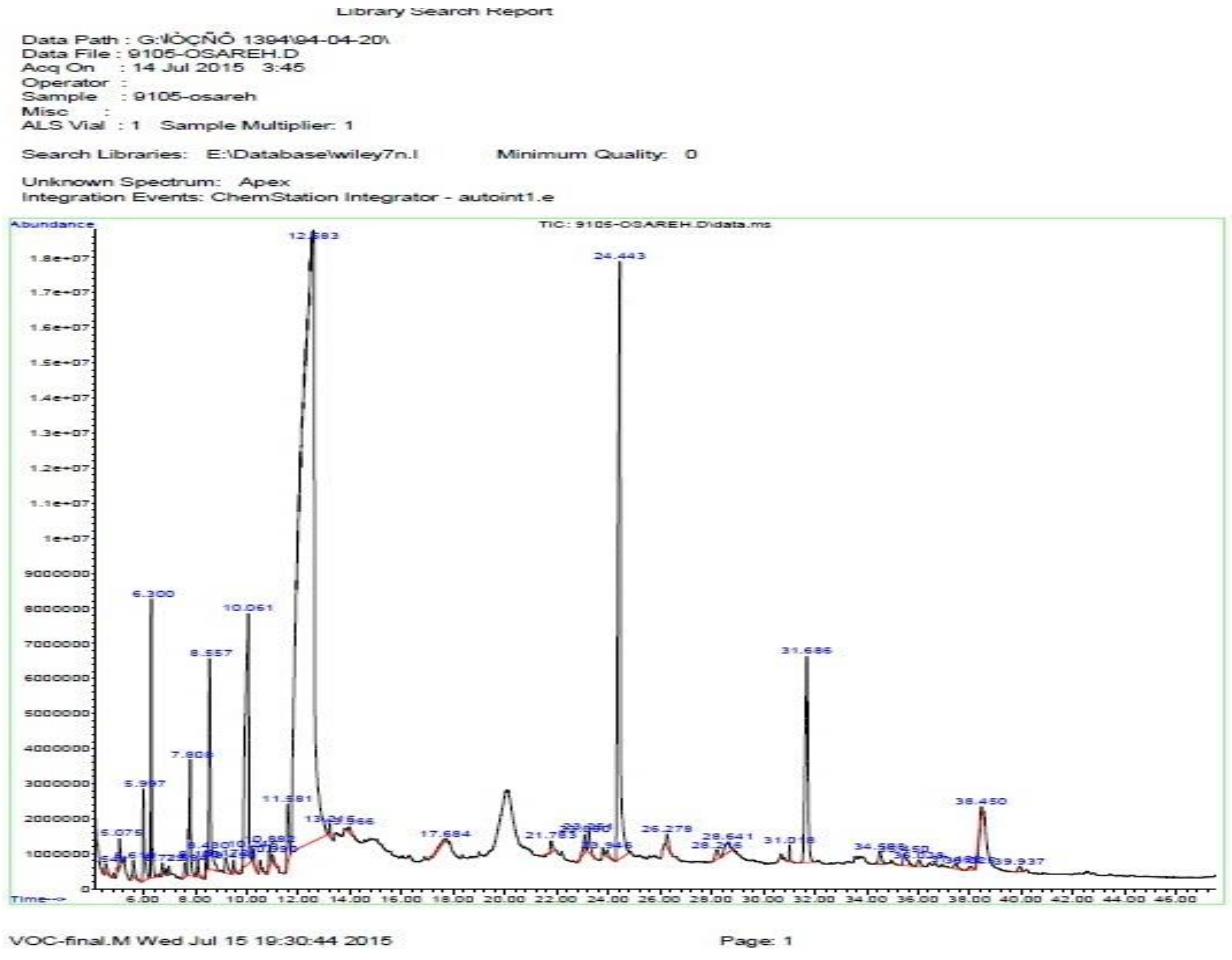
بدین‌منظور از غلظت ثابت ۲/۵ میلی‌گرم عصاره در حضور ۲، ۱۰، ۵ و ۱۵ میلی‌لیتر از حلال فاز آلی (استون) جهت سنتز نانوکپسول‌ها استفاده شد و نتایج حاصله نشان داد که با افزایش فاز آلی (استون) ابعاد نانوذرات کاهش می‌یابد. بدین صورت که در میزان ۱۵ میلی‌لیتر از حلال شاهد سنتز کوچکترین نانوکپسول با متوسط اندازه 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 ضدمیکروبی 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

حاوی عصاره گیاه زغال اخته بر روی ۵۲ درصد از سویه‌های مورد مطالعه مقاوم به آنتی‌بیوتیک دارای اثر مثبت بوده و این سویه‌ها به نانوکپسول سنتز شده حساس هستند.

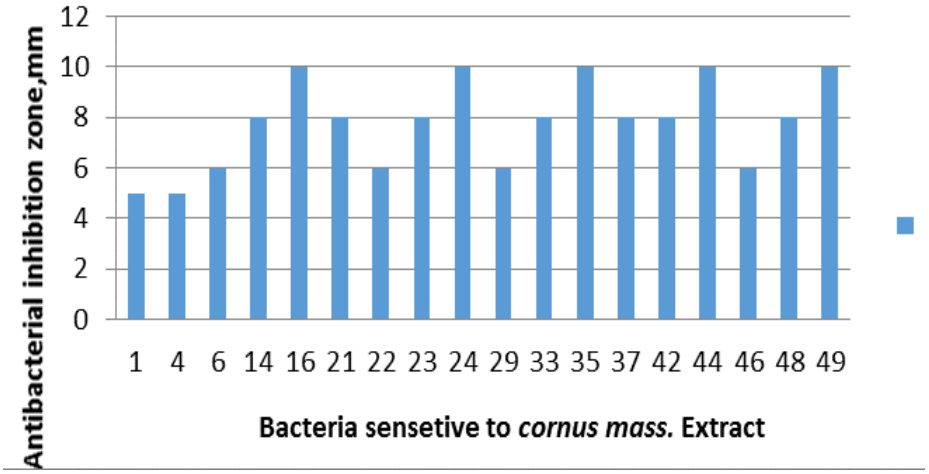
جدول ۶ نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد و تعیین MIC و MBC حاصل از تأثیر نانوکپسول سنتز شده حاوی عصاره زغال اخته بر روی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک جداسازی شده از بیماران بستری در بیمارستان، بررسی نتایج نشان داد که نانوکپسول زغال اخته بر روی ۵۲ درصد از سویه‌های مورد مطالعه دارای خاصیت ضدمیکروبی می‌باشد و بررسی قطر هاله عدم رشد در سویه‌های حساس به نانوکپسول نشان داد که بیشترین اندازه قطر هاله ۱۰ میلی‌متراست و کمترین اندازه قطر هاله عدم رشد ۴ میلی‌متر گزارش شد. از سوی دیگر بررسی‌های انجام شده نشان داد که نانوکپسول زغال اخته بر روی سویه‌های *E. coli* مولد عفونت ادراری و همچنین سویه *Acinetobacter* جداسازی شده از خط و ادرار بیماران دارای نقش ضدمیکروبی بوده است.



نمودار ۱. مربوط به کروماتوگرام عصاره میوه گیاه زغال اخته

جدول ۳. نتایج مربوط به خواص ضدمیکروبی عصاره گیاه زغال اخته بر روی سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک

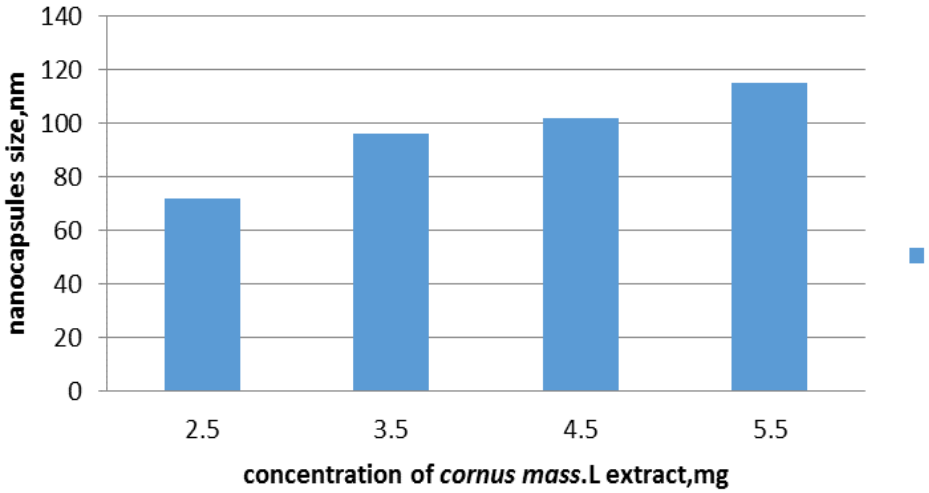
نمونه	قطر هاله		حداقل غلظت بازدارندگی بر حسب میلی‌لیتر	حداقل غلظت کشندگی بر حسب میلی لیتر	نمونه	قطر هاله		حداقل غلظت بازدارندگی بر حسب میلی‌لیتر	حداقل غلظت کشندگی بر حسب میلی لیتر
	عدم رشد					عدم رشد			
۲۱	۵		۸۰۰	۱۰۰۰	۲۶	–		–	–
۲	–		–	–	۲۷	–		–	–
۳	–		–	–	۲۸	–		–	–
۴	۵		۸۰۰	۱۰۰۰	۲۹	۶		۷۰۰	۱۰۰۰
۵	-		-	-	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	–		–	–



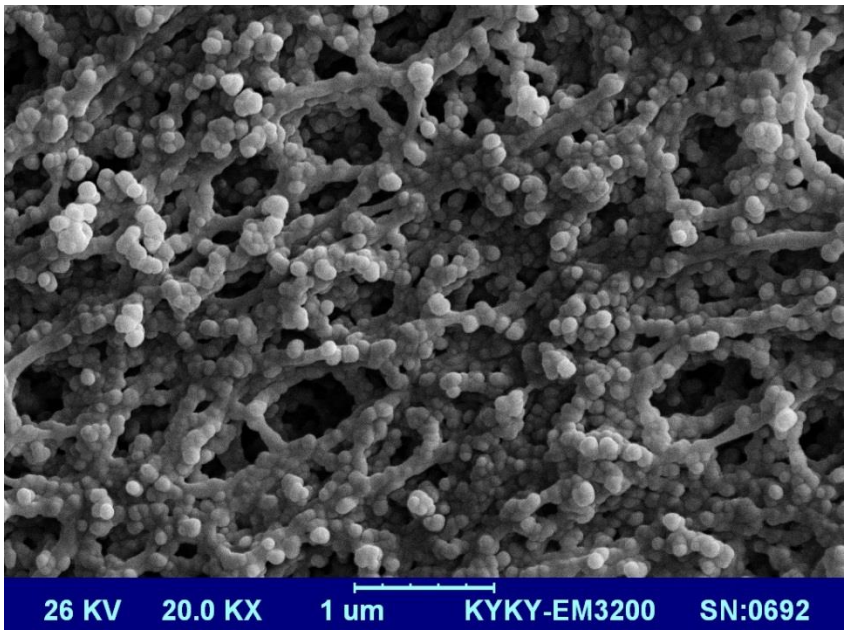
نمودار ۲. مربوط به بررسی قطر هاله عدم رشد سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک که به عصاره میوه زغال اخته حساس بوده‌اند. بررسی میزان حساسیت سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه به عصاره میوه زغال اخته

جدول ۴. بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره بر ابعاد نانوکپسول‌ها

نمونه	غلظت عصاره *Cornus mass*	Seboycolchloride (SC)	diethyltriamine (DETA)	سورفکتانت آبگریز Span20	حلال آلی (استون)	روغن زیتون Olive oil	گلیسیرین	حلال آبی (D/W) بر حسب میلی لیتر	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



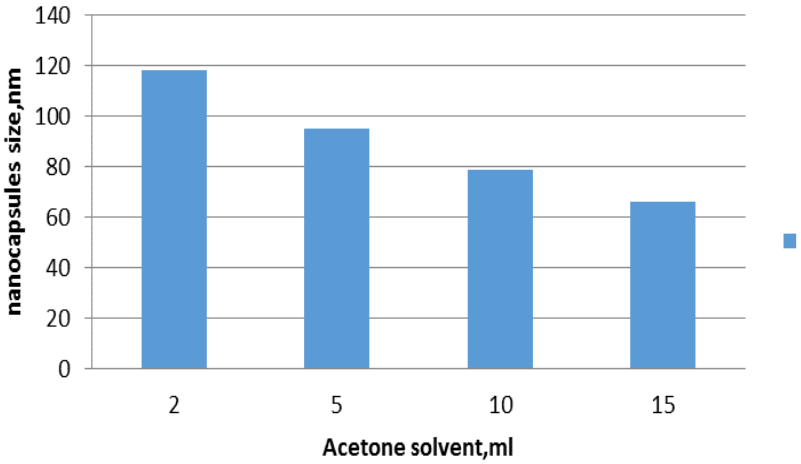
نمودار ۳. مربوط به تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره زغال اخته بر ابعاد نانوکپسول‌ها



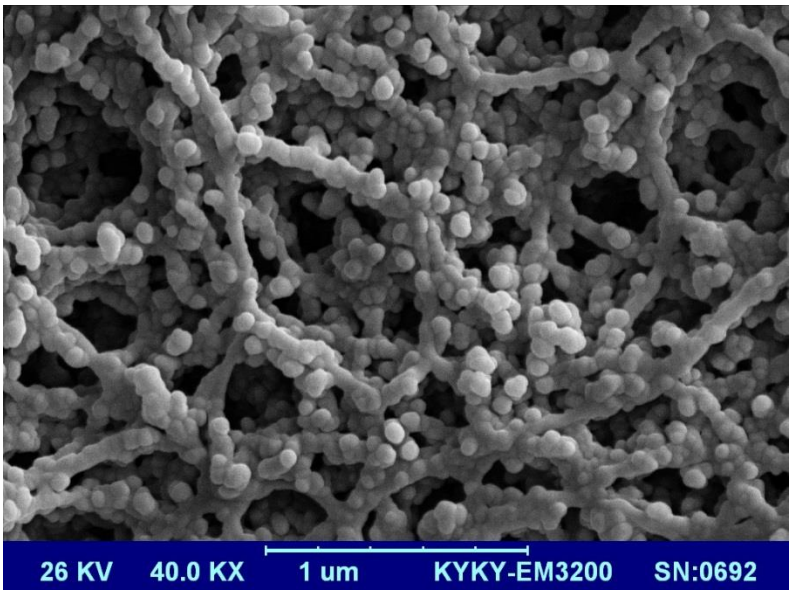
تصویر ۱. تهیه شده از نانوکپسول حاوی عصاره میوه زغال اخته با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم

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

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



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



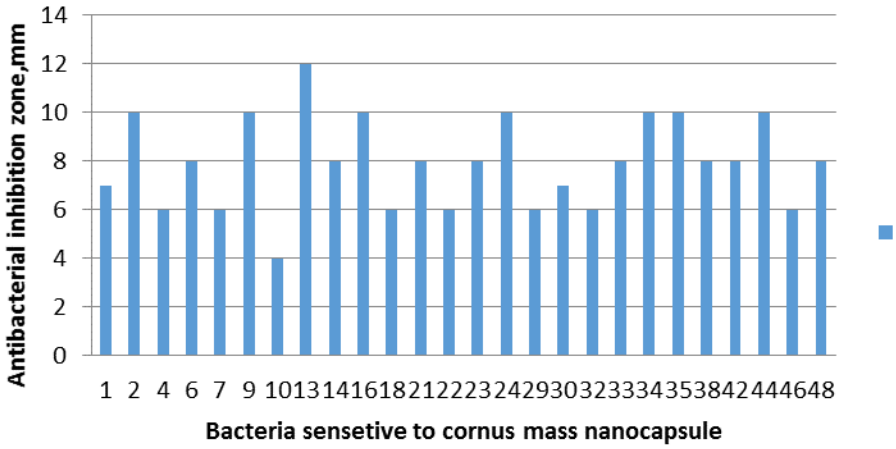
تصویر ۲. تهیه شده از نانوکپسول حاوی عصاره میوه زغال اخته با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در حضور ۱۵ میلی‌لیتر از حلال فاز آلی (استون)

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

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

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

نمونه	قطر هاله		حداقل غلظت بازدارندگی بر حسب میلی‌لیتر	حداقل غلظت کشندگی بر حسب میلی لیتر	نمونه	قطر هاله		حداقل غلظت بازدارندگی بر حسب میلی‌لیتر	حداقل غلظت کشندگی بر حسب میلی لیتر
	عدم رشد					عدم رشد			
۱۵	–		–	–	۴۰	–		–	–
۱۶	۱۰		۵۰۰	۸۰۰	۴۱	–		–	–
۱۷	–		–	–	۴۲	۸		۶۰۰	۸۰۰
۱۸	۶		۸۰۰	۱۰۰۰	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	–		–	–
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 ارگانیسم‌های مقاوم به ترکیبات آنتی‌بیوتیکی، امروزه شاهد گزارش‌های متعددی مبنی بر شیوع گسترده آنها در بخش‌های مختلف بیمارستان‌ها هستیم که غالبا 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. اشریشیا کلی 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 منتژیت 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. baumanii*) 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 اشریشیا کلی 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.

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.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ توسط میرنژاد و همکارانش بر روی ۴۰۰ سویه آسینتوباکتر 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 آسینتوباکتر جداسازی شده از نمونه‌های ادرای بوده‌اند در حالی که مطالعات میر نژاد و همکارانش نشان داد که بیشتر سویه‌های آسینتوباکتر 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 زغل اخته از عصاره اتری – متانولی آن استفاده شد و نتایج نشان

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

بر اساس مطالعاتی که Pawel و همکارانش در سال ۲۰۱۱ جهت بررسی خواص ضدمیکروبی گیاه زغال اخته انجام دادند، خواص ضدمیکروبی برگ، دانه و میوه گیاه مورد بررسی قرار گرفت. بدین‌منظور از عصاره‌های اتانولی و متانولی تهیه شده از زغال اخته جهت بررسی نقش ضدمیکروبی 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 میلی‌متر را دارند [۱۹].

نتایج بیان شده با نتایج به دست آمده در مطالعه اخیر نشان‌دهنده خواص ضدمیکروبی قسمت‌های مختلف گیاه زغال اخته است.

جهت دستیابی به ترکیبات مؤثر با خواص ضدمیکروبی، استفاده از نانوذرات به دلیل خواص ضدمیکروبی 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 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 می شود که کوچکترین اندازه مربوط به غلظت ۲/۵، ۳/۵، ۴/۵ و ۵/۵ میلی‌گرم با متوسط اندازه ۷۲ نانومتر و همچنین جهت بررسی تأثیر میزان فاز آلی (استون)، غلظت‌های ۲/۵ میلی‌گرم از عصاره زغال اخته 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 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 ضدمیکروبی 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 پلی‌لاکتیک‌اسید به عنوان پلیمر کپسوله‌سازی با استون استفاده شد و اتیل استات به عنوان حلال آلی، توئین ۲۰ و ژلاتین و پلورونیک در آب به عنوان تثبیت‌کننده، 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 میلی‌ولت تأیید شده توسط اسکن میکروسکوپ الکترونی و تکنیک روش پراکندگی پویا به دست آمد [۲۰].

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۲ توسط اسماعیلی و همکارانش صورت گرفت، توانستند نانوکپسول‌هایی به روش امولسیون از مخلوطی از Onorpordompicim 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 پلی‌استرتری 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 ضدمیکروبی نانوکپسول تهیه شده را بر علیه باکتری گرم منفی اشریشیاکلی و گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس مورد

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 ضدمیکروبی آنها مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان‌دهنده تأثیر مستقیم خاصیت ضدمیکروبی نانوکپسول‌هایی با ابعاد کوچکتر بر باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک بود.

۵. نتیجه‌گیری

با توجه به افزایش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک لزوم دستیابی به ترکیبات مؤثره گیاهی و نانوکپسول‌های سنتز شده از عصاره گیاهان جهت از بین بردن این سویه‌ها را نشان می دهد. در پژوهش حاضر تعداد ۴۳۶ نمونه از (ادرار، خلط، زخم و خون) بیماران بستری، جمع‌آوری شد وتعداد ۵۰ سویه که دارای بیشترین سطح مقاومت به آنتی‌بیوتیک بودند جهت بررسی خواص ضدباکتریایی ترکیبات مورد نظر جداسازی شد. نتایج مربوط به خواص ضدمیکروبی عصاره میوه و نانوکپسول حاوی عصاره نشان داد که به ترتیب بر۳۶ درصد، ۵۶ درصد از سویه‌های مورد مطالعه دارای خاصیت ضدمیکروبی می‌باشد. نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که عصاره گیاه زغال اخته و نانوکپسول‌های سنتز شده از آن دارای نقش ضدمیکروبی بالایی علیه سویه های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک 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 اخوان‌سپهی نظارت بر انجام پروژه و نگارش مقاله و بررسی سویه های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، صدیقه مهرابیان 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.

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.

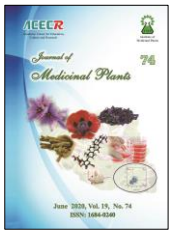
How to cite this article: Beladi M, Akhavansepahy A, Mehrabian S, Esmaili A, Sharifnia F. Antimicrobial role of nanocapsules containing cornus mass extract on antibiotic-resistant bacteria. ***Journal of Medicinal Plants*** 2020; 19(74): 84-107.
doi: 10.29252/jmp.19.74.84

J. Med. Plants 2020; 19(74): 84-107

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 Beladi[1], Abbas Akhavansepahy[1,*], Sedigeh Mehrabian[1], Akbar Esmaili[2], Fariba Sharifnia[1]

[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
Antibiotical 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 aceton, the size and dimension of nano-particles decreased to the extent that in a concentration using 15 mililitre of aceton, nano-particles equal to 66 nano meter was observed. **Conclution:** 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 Concenrtration; MBC, Minimum Bactericidal Concentration.

* Corresponding author: akhavansepahy@gmail.com

doi: 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/)