

## بررسی خاصیت سینرژیسمی نانوذرات نقره و عصاره الکلی گیاه شلغم بر روی برخی از باکتری های بیماری زا در شرایط آزمایشگاهی

مهتاب نوریفرد<sup>1\*</sup>، هادی علیزاده<sup>2</sup>، ابراهیم حضرتی<sup>3</sup>

1: \*استادیار، دکتری تخصصی بیماری های عفونی و تب دار، مرکز تحقیقات بیماری های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران

E.mail: mahtabnoorifard94@gmail.com

2: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، اهر، ایران

3: استادیار، دکتری تخصصی، فلوشیپ مراقبت های ویژه، گروه بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران

### چکیده

با افزایش آگاهی مردم از عوارض خطرناک آنتی بیوتیک های سنتزی، میزان تقاضا برای جایگزین های طبیعی و نوین این داروها افزایش پیدا می کند. این مطالعه با هدف بررسی خاصیت سینرژیسمی نانو نقره و عصاره شلغم بر روی باکتری های بیماری زا صورت گرفت. در این مطالعه از گیاه شلغم با نام علمی *Brassica Napus L.* و نانو ذرات نقره استفاده شد. ابتدا عصاره الکلی گیاه تهیه شد و تاثیر غلظت های 400 mg/ml و 200، 100، 50 از این عصاره مورد بررسی قرار گرفت. سپس تاثیر غلظت های 80، 40، 20، 10، از نانوذرات نقره مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله آخر، غلظت های فوق با هم ترکیب شد و علیه باکتری های منتخب استفاده گردید. تمام آزمایشات با روش های انتشار از چاهک و تعیین MIC/MBC بر روی باکتری های *P. aeruginosa* و *E. coli*، *B. cereus*، *S. aureus* انجام پذیرفت. یافته ها نشان دادند که نانوذرات نقره در مقایسه با عصاره الکلی گیاه شلغم، خاصیت ضد باکتریایی بیشتری دارد. عصاره شلغم بر روی باکتری های گرم مثبت تاثیر بیشتری داشت در حالیکه نانو نقره بر روی باکتری های گرم منفی تاثیر زیادی داشت. تاثیر ترکیب عصاره شلغم و نانو نقره بسیار بیشتر از تاثیر هرکدام از آن ها بود. به طوریکه این ترکیب بیشترین تاثیر را بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا و کمترین تاثیر را بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس داشت. استفاده از ترکیب عصاره الکلی گیاه شلغم و نانو ذرات نقره، اثرات مهارکنندگی قابل ملاحظه ای بر رشد باکتری های بیماری زا دارد. به منظور کاربرد بالینی این ترکیب، انجام تحقیقات بالینی ضروری است.

کلیدواژه: *Brassica Napus L.*، نانو ذرات نقره، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد، باکتری های بیماری زا

### مقدمه

بیش از 50 سال است که از مصرف آنتی بیوتیک ها برای کنترل و درمان بیماری های عفونی می گذرد، ولی استفاده نادرست و مداوم از این مواد باعث بروز پدیده مقاومت به آنتی بیوتیک و پیدایش سویه های مقاوم در باکتری ها شده و درمان بیماری ها در انسان و دام را با مشکل مواجه کرده است (هدایتی، 1370).

گسترش روزافزون مقاومت دارویی در بین باکتری ها سبب شده است تا توجه بیشتری به یافتن روش های پیشگیری از بروز مقاومت و نیز یافتن داروهای مناسب با اثرات سمی و عوارض جانبی کمتر معطوف گردد و برای این منظور امروزه گیاهان دارویی و همچنین نانو ذرات و علوم نانو تکنولوژی مورد توجه خاص محققین قرار دارند (دادگر، 1386).

نظر به اینکه گیاهان دارویی در کشور ما پراکندگی وسیعی دارد، مطالعات روی این گیاهان از نظر خواص ضد میکروبی آن ها زمینه مناسبی را فراهم می کند که از نتایج این بررسی ها برای جایگزین نمودن داروهایی با منشأ طبیعی برای کنترل و درمان عفونت های باکتریایی استفاده نمود و این امر می تواند موجب کاهش مصرف داروهای شیمیایی و عوارض ناشی از آنها گردد (یزدی، 1386).

با توجه به موضوع مقاومت های میکروبی داروهای ضد باکتریایی معمول و عوارض جانبی سمی کمتر داروهای طبیعی مانند گیاه شلغم، امکان کاربرد عصاره الکلی شلغم در مواجهه با باکتری ها در شرایط خارج از بدن (*in vitro*) ارزشمند به نظر می رسد.

گیاهان خانواده Brassicacea به طور گسترده ای در سراسر جهان کشت داده شده و مورد استفاده قرار می گیرند. در این میان، گونه Brassica Napus دارای وارسته های مهمی از جمله شلغم می باشد. شلغم گیاهی از خانواده شبو بوده و نوع گیاه به صورت بوته است. شلغم گیاهی با برگ های ناصاف و بریدگی های زیادی به رنگ سبز و سفید است. ریشه آن غده ای و به شکل های گرد یا دراز به رنگ سفید با لکه های بنفش می باشد. شلغم در هوای سرد بسیار خوب رشد می کند و شاید علت آن باشد که برای درمان بیماری هایی که در فصل سرما زیاد است و بیماری های تنفسی بکار می رود. قسمت های قابل استفاده آن شامل: غده (ریشه)، برگ و دانه می باشد. ویتامین ها، املاح (آهن)، روغن فرار، راپین و گلوکوزینولات از مهمترین مواد موثر دارویی شلغم هستند (Sasaki and Takahashi, 2002).

تاکنون در مورد خاصیت ضد باکتریایی گیاه شلغم مطالعات مختصری صورت گرفته است، اما در مورد سایر خواص گیاه دارویی شلغم مثل: ضد توموری، ضد سرطانی، ضد دیابتی و آنتی اکسیدانی مطالعات مختلفی صورت گرفته است (علیزاده و همکاران، Mohajeri et al, 2012, 1392).

در مطالعه ای که توسط داستان و همکارانش در رابطه با خاصیت ضد سودوموناسی گیاه شلغم صورت گرفت، آن ها به این نتیجه رسیدند که عصاره متانولی گیاه شلغم از رشد باکتری سودوموناس در بافت های زخمی جلوگیری می کند و نشان دادند که عصاره متانولی این گیاه بسیار موثر تر از عصاره های کلروفرمی، اتانولی و n- هگزان می باشد (Dastan et al, 2011).

راهکار نوین دیگر در مقابله با میکروب ها بدون افزایش مقاومت های دارویی، استفاده از نانوتکنولوژی و فناوری تولید نانوذرات می باشد. محققان نانوتکنولوژی ابعاد وسیعی از کاربردهای نانوذرات را شناسایی کرده اند که ممکن است نقش بسیار زیادی در پزشکی، پیشگیری و درمان بیماری ها داشته باشد. یکی از این نانوذرات که آثار ضد میکروبی آن به اثبات رسیده، نانو ذرات نقره است که به روش های مختلفی تهیه می شود (Braydich-Stolle et al, 2005).

نقره در ابعاد نانو بر متابولیسم، تنفس و تولید مثل میکروارگانیسم اثر می گذارد. در مطالعات مختلف، خواص ضد میکروبی این نانوذرات و استفاده مفید از آن در زمینه بیوتکنولوژی و مهار اختصاصی میکروب ها بررسی شده است (Christian et al, 2008).

نانوذرات نقره بدون افزایش مقاومت دارویی، باعث مهار سیستم تنفسی باکتری ها می شود. این عنصر دارای خواص اختصاصی در میکروب زدایی بوده ولی تهیه آن مشکل و نیز گران قیمت است (Hussain et al, 2006). بنابراین محققان دریافته اند که استفاده از مواد دیگر و ترکیب آنها با نقره، یک راه عملی برای استفاده از خاصیت میکروب کشی نقره است. به همین دلیل دانشمندان تحقیقات گسترده ای بر روی سنتز نانوذرات نقره و ترکیب آن با سایر مواد انجام داده اند.

به کار بردن این دو ترکیب به صورت همزمان می تواند باعث حل بسیاری از مشکلات گردد و نتایج بهتر و مقرون به صرفه تری داشته باشد به همین دلیل این طرح تحقیقی انجام پذیرفته است.

## مواد و روش

این تحقیق تجربی و آزمایشگاهی طی زمستان 1391 در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر انجام پذیرفت. گیاه شلغم از مراتع، باغات و مناطق طبیعی اطراف شهر اهر در اواخر فصل پاییز جمع آوری شد. ریشه و برگ های گیاه به دور از نور خورشید و در درجه حرارت اتاق خشک شدند. سپس گیاه خشک شده توسط آسیاب برقی به صورت پودر درآمد. جهت عصاره گیری از روش سوکسوله استفاده گردید (Alizadeh et al, 2012). پس از آن جهت بدست آوردن عصاره خالص و بدون حلال، از دستگاه روتاری در دمای 40 درجه سانتی گراد و تحت خلاء استفاده شد. از عصاره های حاصله توسط حلال 5 درصد DMSO، غلظت های 50، 100، 200 و 400 میلی گرم بر میلی لیتر جهت استفاده در آزمون انتشار چاهک و تعیین MIC/MBC تهیه گردید.

17-18  
December 2015  
AEBS

سوش های باکتریایی مورد آزمایش شامل:

*Staphylococcus aureus* (ATCC:25923), *Bacillus cereus*(ATCC:1052) ،  
*Escherichia coli* (ATCC:25922), *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC:27853)

به صورت لیوفیلیزه از کلکسیون میکروبی موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه تهران تهیه گردید. نمونه های میکروبی براساس روش های استاندارد احیاء گردیدند. به منظور تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت تازه و جوان باکتری چند کلنی به محیط کشت مولر هینتون براث منتقل شد تا کدورت حاصله مشابه کدورت لوله 0/5 مک فارلند ( $1/5 \times 10^8$ ) باکتری در هر میلی لیتر) باشد.

#### آزمون 1:

برای بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره الکلی گیاه شلغم، ابتدا روش انتشار از چاهک در آگار انجام شد. بدین منظور سوآپ پنبه ای استریل را در کنار شعله و زیر هود لامینار وارد سوسپانسیون میکروبی تهیه شده با کدورت معادل لوله 0/5 مک فارلند کرده و به آن آغشته شد و با کشیدن سوآپ به جداره لوله، مقدار اضافی سوسپانسیون جذب گردید و کشت باکتریایی روی پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت سرتاسری انجام پذیرفت. سپس در سطح پلیت چاهک هایی به قطر 5 mm و به فاصله 2 cm از هم ایجاد گردید. هر یک از چاهک ها را بوسیله رقت های مختلفی از عصاره که در ابتدا به آن ها

اشاره شده است پر شد. به عنوان شاهد مثبت آزمایش از آنتی بیوتیک استرپتومایسین و به عنوان شاهد منفی از DMSO استفاده شد. بعد از اتمام کار، تمامی محیط کشت ها به مدت 24 ساعت در انکوباتور 37 سانتی گراد قرار داده شدند. پس از گذشت این مدت، کشت های باکتریایی از نظر تشکیل یا عدم تشکیل هاله عدم رشد بر حسب میلی متر توسط کولیس اندازه گیری شد (علیزاده و همکاران، 1392).

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) از رقت لوله ای استفاده گردید. جهت تعیین MIC، از عصاره الکلی تهیه شده، سری های رقت 200، 100، 50، 25، 12/5، 6/25، 3/125 و 1/56 میلی گرم در میلی لیتر در محیط کشت مولر هینتون براث تهیه شد. سپس به هرکدام از رقت ها 1ml از



سوسپانسیون میکروبی تهیه شده اضافه گردید. به عنوان شاهد مثبت لوله ای با محتویات (محیط کشت حاوی باکتری، بدون عصاره) و به

عنوان شاهد منفی لوله ای با محتویات (محیط کشت بدون باکتری) نیز تهیه شدند. بعد از اتمام کار، تمام لوله ها به انکوباتور با دمای 37 درجه سانتی گراد و به مدت 48-24 انتقال داده شدند.

پس از طی زمان انکوباسیون، لوله ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی گردیدند. کمترین رقت از عصاره که در آن کدورتی مشاهده نگردید (عدم رشد) به عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره ها (MBC) از تمامی لوله هایی که در آن ها عدم رشد مشاهده شده بود، در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. محیط های کشت تلقیح شده به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد انکوبه شدند، پلیت مربوط به لوله ای که حاوی کمترین غلظت عصاره بود و در آن رشد باکتری مشاهده نمی گردید به عنوان MBC آن غلظت از عصاره در نظر گرفته شد (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011).

## آزمون 2:

برای انجام تست های آنتی باکتریالی نانو ذرات نقره، از شرکت NANO SANY ENGINEERS نانو ذرات نقره به ابعاد 20nm تهیه گردید. سری های رقت مورد استفاده برابر با 10، 20، 40 و 80 میکروگرم بر میلی لیتر بود. در این تست نیز از روش های انتشار از چاهک و آزمون تعیین MIC در محیط کشت های مولر هینتون آگار و مولر هینتون برات استفاده شد. طریقه آماده سازی محیط های کشت، سوش های باکتریایی و روش انجام کار همانند روش های استفاده شده در تست عصاره الکی گیاه شلغم بود.

## آزمون 3:

مهمترین هدف این تحقیق علمی - عملی، بررسی خاصیت سینرژسمی (هم افزایی) نانوذرات نقره و عصاره الکی گیاه شلغم بر روی باکتری های پاتوژن منتخب بود. بدین صورت که سری های رقتی که در دو آزمون قبلی ذکر گردید به هم افزوده شدند و به عنوان یک غلظت مورد استفاده قرار گرفتند. روش کارهای تست همانند آزمون های قبلی بود.

17-18  
December 2015  
AEBS

## نتایج

### نتایج آزمون 1 «بررسی اثرات عصاره الکلی گیاه شلغم»:

با تاثیر غلظت های مختلف عصاره الکلی گیاه شلغم بر روی باکترهای بیماری زا، مشخص شد که این عصاره اثر بازدارندگی قابل ملاحظه ای بر روی هر چهار باکتری مورد آزمایش داشت و هر چقدر میزان غلظت عصاره الکلی افزایش می یافت اثر بازدارندگی نیز به صورت افزایش هاله عدم رشد بیشتر و چشمگیرتر می شد.

این مطالعه نشان داد که اثرات مهاری عصاره الکلی بر باکتری های گرم مثبت بیش از باکتری های گرم منفی بود. نتایج حاصل از تاثیر غلظت های مختلف عصاره الکلی گیاه شلغم به روش انتشار از چاهک در جدول 1 آمده است.

جدول 1: قطر هاله عدم رشد باکتری بر حسب میلی متر در غلظت های مختلف عصاره الکلی به روش انتشار از چاهک

شاهد مثبت	شاهد منفی	400 mg/ml	200 mg/ml	100 mg/ml	50 mg/ml	غلظت عصاره باکتری
17/50 mm	-	14 mm	13/32 mm	11/10 mm	10/70 mm	استافیلوکوکوس اورئوس
18 mm	-	14/64 mm	13/70 mm	12/32 mm	11 mm	باسیلوس سرئوس
14/60 mm	-	10/90 mm	7/10 mm	---	---	اشریشیا کلی
15 mm	-	11/70 mm	9/50 mm	8/20 mm	---	سودوموناس آئروژینوزا

آزمون تعیین MIC/MBC، نشان داد که در بین باکتری های مورد آزمایش، باکتری باسیلوس سرئوس بیشترین حساسیت و باکتری اشیریشیا کلی کمترین حساسیت را در برابر عصاره الکلی گیاه شلغم دارند. نتایج مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) عصاره الکلی گیاه شلغم علیه باکتری های منتخب به روش رقت لوله در جدول 2 آمده است.

جدول 2: حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی باکتری بر حسب mg/ml در غلظت های مختلف عصاره الکلی به روش لوله ای

MBC mg/ml	MIC mg/ml	غلظت عصاره باکتری
50	12/5	استافیلوکوکوس اورئوس
25	12/5	باسیلوس سرئوس
100	50	اشیریشیا کلی
50	25	سودوموناس آئروژینوزا

17-18  
December 2015  
AEBS

## نتایج آزمون 2 «بررسی اثرات نانوذرات نقره»:

نتایج تست های آنتی باکتریال برای نانو ذرات نقره به روش های انتشار از چاهک و تعیین MIC، به ترتیب در جدول های 3 و 4 آمده است.

جدول 3: قطر هاله عدم رشد باکتری برحسب میلی متر در غلظت های مختلف نانونقره به روش انتشار از چاهک

شاهد مثبت	شاهد منفی	80 $\mu\text{g/ml}$	40 $\mu\text{g/ml}$	20 $\mu\text{g/ml}$	10 $\mu\text{g/ml}$	غلظت نقره	باکتری
16 mm	-	15/90 mm	14 mm	12 mm	10 mm		استافیلوکوکوس اورئوس
16 mm	-	15/95 mm	14/60 mm	13 mm	10/32 mm		باسیلوس سرئوس
16/5 mm	-	16/32 mm	15 mm	11/50 mm	11 mm		اشریشیا کلی
16/64 mm	-	16/64 mm	15 mm	12/32 mm	12 mm		سودوموناس آئروژینوزا

نتایج تست چاهک نشان دهنده تاثیرات قوی نانو ذرات نقره در برابر باکتری های منتخب است بطوریکه بر روی تمام باکتری ها و بخصوص بر روی باکتری های گرم منفی اثرات بازدارندگی فوق العاده ای داشته است.

جدول 5: حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی باکتری برحسب  $\mu\text{g/ml}$  در غلظت های مختلف نانونقره به روش لوله ای

MBC $\mu\text{g/ml}$	MIC $\mu\text{g/ml}$	غلظت نانونقره	باکتری
100	50		استافیلوکوکوس اورئوس
50	50		باسیلوس سرئوس
25	12/5		اشریشیا کلی
12/5	6/25		سودوموناس آئروژینوزا

نتایج این تست نشان می دهد که نانو ذرات نقره بیشترین تاثیر را بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا و کمترین تاثیر را بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس داشته است.

## نتایج آزمون 3 «بررسی اثرات هم افزایی عصاره الکلی گیاه شلغم با نانوذرات نقره»:

با مخلوط کردن رقت های تهیه شده نانو نقره و عصاره الکلی گیاه شلغم در آزمون های قبلی یک غلظت ترکیبی به دست آمد. نتایج تست ضدباکتریایی این ترکیب در جداول 5 و 6 که با روش های انتشار از چاهک و تست MIC انجام گرفته شد آمده است.

17-18  
December 2015  
AEBS

جدول 5: قطر هاله عدم رشد باکتری بر حسب میلی متر در غلظت های مختلف ترکیب عصاره گیاه شلغم و نانونقره به روش انتشار از چاهک

شاهد مثبت	شاهد منفی	غلظت شلغم و نقره				باکتری
		+400 mg/ml 80 µg/ml	+200 mg/ml 40 µg/ml	+100 mg/ml 20 µg/ml	+50 mg/ml 10 µg/ml	
16/40 mm	-	16/62 mm	15 mm	13/42 mm	12 mm	استافیلوکوکوس اورئوس
16/50 mm	-	16/80 mm	14 mm	13/50 mm	11/80 mm	باسیلوس سرئوس
16 mm	-	17 mm	15 mm	12/90 mm	11 mm	اشربیشیا کلی
16/50 mm	-	17/50 mm	15/80 mm	14 mm	13 mm	سودوموناس آئروژینوزا

در روش چاهک نتایج نشان داد که افزایش شدیدی در اندازه هاله عدم رشد باکتری ها صورت پذیرفته است که این افزایش بیشتر در باکتری های گرم منفی دیده شد.

جدول 6: حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی باکتری بر حسب µg/ml و mg/ml در غلظت های مختلف نانونقره و عصاره شلغم به

#### روش لوله ای

MBC µg/ml mg/ml	MIC µg/ml mg/ml	غلظت عصاره شلغم و نانونقره	باکتری
25 mg/ml , 25 µg/ml	6/25 mg/ml , 6/25 µg/ml		استافیلوکوکوس اورئوس
12/5 mg/ml , 12/5 µg/ml	6/25 mg/ml , 6/25 µg/ml		باسیلوس سرئوس
12/5 mg/ml , 12/5 µg/ml	6/25 mg/ml , 6/25 µg/ml		اشربیشیا کلی
6/25 mg/ml , 6/25 µg/ml	3/125 mg/ml , 3/125 µg/ml		سودوموناس آئروژینوزا

نتایج این تست نشان می دهد که با ادغام نانو نقره و عصاره شلغم تمامی باکتری ها تحت تاثیر این ترکیب قرار گرفته به طوریکه حداقل غلظت ممانعت کنندگی و کشندگی باکتری ها در مقایسه با آزمون های قبلی کاهش معنی داری داشته است. این ترکیب بیشترین تاثیر را روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا داشته و کمترین اثر را روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس داشت.

#### بحث

شلغم گیاهی بسیار مورد توجه است زیرا که خواص درمانی آن گستردگی وسیعی دارد. این گیاه دارویی برای اولین بار حدود 4000 سال پیش کاشته شد و بعد از آن در تمامی نقاط دنیا مورد استفاده همگان قرار گرفت. استفاده از این گیاه بخصوص در فصل زمستان براساس خاصیتی که دارد بیش از سایر فصول سال است.





قرون متمادی است که بشر به خاصیت ضد میکروبی نقره دست پیدا کرده است. در زمان یونان باستان، داخل مواد آشامیدنی نقره اضافه می شد یا آب در ظروف نقره ای آشامیده می شد، زیرا یونانیان اعتقاد داشتند که نقره عمر آنها را افزایش خواهد داد. این همان خاصیت ضد میکروبی نقره است که علم امروز بشر آن را اثبات کرده است. نانوذرات دارای سطح بسیار زیادی اند و در مورد نقره به طور خاص، این افزایش سطح باعث خواهد شد که یک گرم از نانوذرات نقره برای ضدباکتری کردن یک صد مترمربع از سطح یک ماده کافی باشد.

در این تحقیق عملی مشخص گردید که عصاره الکلی گیاه شلغم اثرات مهاری قابل توجهی بر روی باکتری های مورد آزمایش داشت. در این بین اثرات مهاری برای باکتری های گرم مثبت بیش از باکتری های گرم منفی بود، به طوریکه در غلظت های پائین (50mg/ml)، باکتری های گرم منفی مقاومت زیادی داشتند در حالیکه باکتری های گرم مثبت حساسیت قابل توجهی از خود نسبت به عصاره الکلی نشان دادند و همینطور در غلظت های بالا (400mg/ml)، هر دو گروه باکتری ها بویژه گرم مثبت ها توانایی رشد نداشته و حساس بودند. همچنین مشخص شد که از بین چهار باکتری استفاده شده، باسیلوس سرئوس حساس ترین و اشیریشیا کلی مقاوم ترین باکتری ها در برابر عصاره گیاه بودند.

در بررسی آنتی باکتریال نانوذرات نقره، تاثیر نانوذرات نقره بر باکتری های گرم منفی بیشتر از باکتری های گرم مثبت است و یکی از دلایل این تاثیر متفاوت، می تواند این باشد که باکتری های گرم منفی یک دیواره سلولی به ضخامت 7 تا 8 نانومتر دارند که از یک لایه لیپوپلی ساکاریدی که فاقد استحکام و سختی است، پوشیده شده است. از طرف دیگر، باکتری های گرم مثبت مستحکم تر و ضخامت دیواره سلولی آنها 20 تا 80 نانومتر است که برای نفوذ نانو ذرات نقره بسیار سخت تر هستند. نانو ذرات نقره هم بر باکتری ها موثر بوده ولی قدرت مهارکنندگی آن اندکی کمتر یا تقریباً برابر با آنتی بیوتیک استرپتومایسین بود.

در بررسی آنتی باکتریال ترکیب عصاره الکلی گیاه شلغم همراه با نانو ذرات نقره، تاثیر بر تمام باکتری ها بیشتر شده بود به طوریکه در باکتری های گرم مثبت این تاثیر تقریباً برابر و اندکی بیشتر از آنتی بیوتیک شاهد (استرپتومایسین) بود و در باکتری های گرم منفی این تاثیر به مراتب بیشتر از آنتی بیوتیک شاهد بود.

در مطالعه ای که توسط داستان و همکارانش در رابطه با خاصیت ضدسودوموناسی گیاه شلغم صورت گرفت، نشان دادند که عصاره متانولی گیاه شلغم از رشد باکتری سودوموناس در بافت های زخمی جلوگیری می کند و همین طور عصاره متانولی این

17-18  
December 2015  
AEBS

گیاه بسیار موثرتر از عصاره های کلروفومی، اتانولی و n- هگزانی می باشد و تاثیراتی که بر روی باکتری سودوموناس نشان داده اند با اثراتی که در تحقیق حاضر روی این باکتری بدست آمده مطابقت دارد.

تحقیقات صادقی و همکاران در مقایسه آزمایشگاهی اثر ضد میکروبی محلول های نانوذرات نقره و کلرهگزیدین بر استرپتوکوک سانگوئیس و اکتینومایسس ویسکوزوس به این نتیجه رسید که میزان MIC محلول نانوذرات نقره و کلرهگزیدین علیه استرپتوکوک سانگوئیس به ترتیب 16 و 256 میکروگرم بر میلی لیتر و برای اکتینومایسس ویسکوزوس 4 و 64 میکروگرم در میلی لیتر بود. میزان MBC محلول نانو ذرات نقره و کلرهگزیدین علیه استرپتوکوک سانگوئیس 64 و 512 میکروگرم بر میلی لیتر و برای اکتینومایسس ویسکوزوس 16 و 102 میکروگرم در میلی لیتر بود. در حالت کلی نانوذرات نقره دارای فعالیت ضد میکروبی خوبی علیه دو باکتری مذکور است که این اثر در مقایسه با کلر هگزیدین با غلظت های پایین تری از محلول نانوذرات نقره حاصل می شود (صادقی و همکاران، 1390). در تحقیق صادقی و همکاران اثر نانوذرات نقره با کلرهگزیدین مقایسه شده ولی در تحقیق حاضر اثرات نانوذرات نقره با عصاره الکلی گیاه شلغم مقایسه شد و همچنین اثرات هم افزایی این دو ترکیب، علیه باکتری های منتخب بررسی گردید.

نیاکان و همکاران طی مقاله ای بنام «بررسی اثر بازاریابی نانوذرات نقره کلوئیدی با یک محلول ضد عفونی دندانپزشکی بر دو سویه باکتری» عنوان کردند که میزان تاثیر ضد میکروبی مواد به کار رفته با روش های MIC و MBC محلول نانوذرات نقره برای باکتری استاف اورئوس برابر با رقت 10ppm و حد MIC و MBC برای سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب برابر 100ppm و 500 است. اثر نانوذرات کلوئیدی و محلول دکونکس 53 پلاس برای باکتری استاف اورئوس به صورت کشتن باکتری بود لذا در این مطالعه میزان MIC و MBC به طور تقریبی برابر بود. اما درباره سودوموناس مقادیر MBC محلول دکونکس و نانونقره به ترتیب 5 و 20 برابر حد MIC آن بود. همچنین تاثیر ضدباکتریایی نانونقره علیه سودوموناس آئروژینوزا به نسبت استاف اورئوس بیشتر بود (نیاکان و همکاران، 1390). در تحقیق حاضر نیز نتایجی که برای دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا بدست آمده با نتایج نیاکان و همکاران تطابق دارد که تاثیر نانونقره بر سودوموناس بیشتر از استاف بود.

خسروی اقبال و همکاران با بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره و مس و مقایسه با هیپوکلریت سدیم بر روی سلول رویشی و اسپور باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس به این نتیجه رسیدند که باسیلوس سوبتیلیس بیشترین حساسیت را به هر دو نانو ذره در مقایسه با باسیلوس سرئوس دارد. بطوریکه MIC آن در نانونقره برابر با 7 ppm و در نانومس برابر 50 ppm و در



هیپوکلریت سدیم برابر 700 ppm است. اسپورهای باسیلوس سوبتیلیس در رقت های کمتر از مواد ضد میکروبی و در زمان صفر از بین رفتند. در نتیجه مشاهده شد که اسپور و سلول رویشی باسیلوس سوبتیلیس حساسیت بیشتری نسبت به نانوذرات نقره داشتند و این نتایج بیانگر این است که نانوذرات نقره نسبت به سایر مواد ضد میکروبی مورد بحث، موثر است (خسروی اقبال و همکاران، 1389). نتایج تحقیق حاضر نیز نشان می دهد نانونقره بهتر از عصاره الکلی گیاه شلغم است ولی ترکیب این دو مواد باهم، باعث گردید اثرات بهتر و موثرتری حاصل شود.

### نتیجه گیری

نتایج نشان می دهد که نانو ذرات نقره و عصاره الکلی گیاه شلغم هر دو بر روی باکتری های بیماری زا موثرند. اما استفاده توأم از این دو ترکیب باعث ایجاد خاصیت سینرژیسمی بین آن ها شده و در نتیجه اثرات ضدباکتریایی آنها به شدت افزایش می یابد.

### پیشنهادات

پیشنهاد می شود سایر محققین عصاره الکلی گیاه شلغم را با دیگر نانو ذرات ترکیب کنند تا اثرات هم افزایی آنها بررسی گردد. همچنین می توان با انجام و بکارگیری روش هایی، سمیت نانوذرات را تا حد قابل قبولی کاهش داد. قبل از تهیه داروهای سنتتیک از این ترکیبات، آزمایشات درون سلولی باید انجام بگیرد.

### تقدیر و تشکر

مولفین بر خود لازم می دانند از زحمات و همکاری های ریاست محترم واحد اهر جناب آقای دکتر نادر اسدی و ریاست محترم باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان واحد اهر کمال تشکر و قدردانی را داشته باشند.

### منابع

- [1] هدایتی، م.، 1370، کاربرد اسانس سه گیاه دارویی زنیان، کومین و پونه برای کنترل باکتری سالمونلا و مقایسه آن با آنتی بیوتیک استرپتومایسین، اولین همایش ملی فناوری نوین در کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، 2051-2045.
- [2] دادگر، ت.، 1386، بررسی اثربخشی شش گونه گیاه دارویی علیه باکتری استفیلوکوکوس آرنوس حساس و مقاوم به متی سیلین، فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد3، شماره1، 73-85.



- [3] یزدی، م.، 1386، ارزیابی اثر ضد میکروبی اسانس های *Myrtus Communis L.* و *zataria Multiflora* بر *Eucalyptus officinalis* استرپتوکوکوس پنومونیه، هموفیلوس آنفلوآنزا و مورکسیلا کاتارهایلیس با روش *In vitro*، فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد 23، شماره 4، 477-483.
- [4] علیزاده، ه.، قیامی راد م. و ابراهیمی اصل س.، 1392، اثر ضد باکتریایی عصاره الکلی گیاه شلغم بر روی تعدادی از باکتری های بیماری زا، مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز، دوره 35، شماره 6، 74-79.
- [5] صادقی، رخساره، و همکاران، 1390، مقایسه آزمایشگاهی اثر ضد میکروبی محلول های نانوذرات نقره و کلرهگزیدین بر استرپتوکوک سانگوئیس و اکتینومایسس ویسکوزوس، مجله دندان پزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان، دوره 23، شماره 4، 231-225.
- [6] نیاکان، محمد، و همکاران، 1390، بررسی اثر بازدارندگی نانوذرات نقره کلوئیدی با یک محلول ضد عفونی دندان پزشکی بر دو سویه باکتری، دومانه علمی-پژوهشی دانشور پزشکی، دانشگاه شاهد، سال 19، شماره 96، 8-1.
- [7] خسروی اقبال، رویا، و همکاران، 1389، بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره و مس و مقایسه با هیپوکلریت سدیم بر روی سلول رویشی واسپور باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس، مجله علمی - پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی، دوره 2، شماره 7، 37-44.
- [8] Sasaki K, Takahashi T. 2002, A flavonoid from Brassica rapa flower as the UV-absorbing nectar guide. *Phytochemistry*; **61**(3): 339-43.
- [9] Mohajeri D, Doustar Y, Mousavi G. 2012, Protective and antioxidant activities of turnip root ethanolic extract against cisplatin induced hepatotoxicity in rats. *Zahedan J Res Med Sci (ZJRMS)*; **13**(9): 8-15.
- [10] Dastan K. et al., 2011, Investigation of Antipseudomonal Activity of Brassica Napus L., *International Conference on Environmental and Computer Science, IPCBEE* vol.19.
- [11] Braydich-Stolle L, Hussain S, Schlager S JJ, Hofmann M. 2005, In Vitro Cytotoxicity of Nanoparticles in Mammalian Germline Stem Cells. *Toxicological Sciences*; **88**(2):412-419.
- [12] Christian P, Von der Kammer F, Baalousha M, Hofmann T. 2008, Nanoparticles: Structure, Properties, Preparation and Behaviour in Environmental Media. *Ecotoxicology*; **17**(5):326-343.
- [13] Hussain SM, Javorina MK, Schrand AM, Duhart HM, Ali SF, John J. Schlager, 2006, The Interaction of Manganese Nanoparticles with PC-12 Cells Induces Dopamine Depletion. *Toxicol Sci*; **92**(2):456-463.
- [14] Alizadeh H, Jafari B, Babai T, 2012, The Study of Antibacterial Effect of Capsella Bursa-Pastoris on Some of Gram Positive and Gram Negative Bacteria. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*; **2**(7): 6940-6945.
- [15] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, twenty first informational supplement M100-S21. CLSI Wayne, PA.