



تولید و اثر بخشی ضدباکتریایی پانسمنان های نانوکریستال نقره

مرجان انشاییه^{۱*}، آزاده عبدلی^۱، رضا منتظری^۲

^۱ کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، اصفهان، ^۲ کارشناس، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان.

چکیده

سابقه و هدف: در سال های اخیر پانسمنان های نقره به دلیل تاثیر بر روی باکتری های گرم منفی و مثبت مورد توجه زیادی قرار گرفته اند. عوامل موثر در انتخاب پانسمنان ها شامل میزان تاثیر ضد عفونی کنندگی، میزان اثر آن بر اپیتلاسیون و توانایی آن در کنترل عفونت زخم می باشد. این مطالعه با هدف ارزیابی تولید و اثر بخشی پانسمنان های نانوکریستال نقره بر کنترل رشد برخی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه با استفاده از پارچه های نایلونی و یون نقره، پانسمنان نانو کریستال نقره تولید شد. سپس اثر ضد میکروبی آن بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی بررسی گردید. از طراحی آزمون تاگوچی به منظور بررسی میزان تاثیر عوامل مختلف بر قدرت ضد میکروبی پانسمنان نقره استفاده شد.

یافته ها: پانسمنان نقره اثر بسیار خوبی بر روی عدم رشد باکتری های یاد شده داشت. به طوری که موجب ایجاد هاله عدم رشد به قطر میانگین ۵/۵ سانتی متر در اطراف قطعات پانسمنان شد. مهمترین عامل در شدت قدرت ضد میکروبی پانسمنان نقره میزان نیترات نقره مورد استفاده با تاثیر ۶۵ درصد بود.

نتیجه گیری: پانسمنان های نانوکریستال نقره نقش موثری در مهار رشد باکتری های مورد پژوهش داشت. همچنین استفاده از آزمون تاگوچی نقش موثری در بهینه سازی اثر بخشی تاثیر نانو ذرات ایفا نمود.

واژگان کلیدی: پانسمنان نقره، روش تاگوچی، استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کلی.

پذیرش برای چاپ: بهمن ماه ۹۴

دریافت مقاله: آذر ماه ۹۴

مقدمه

گردد (۴ و ۵). از نانوکریستال های نقره در پانسمنان های مدرن استفاده می شود که شامل کریستال های قابل حل نقره است که به راحتی توانایی آزادسازی در محیط زخم را دارند. اندازه بسیار کوچک این ذرات تضمین کننده سطح تاثیر ضد میکروبی گسترده آن ها می باشد (۶). نانوکریستال های نقره بیان فاکتور نکروز دهنده تومور را تعدیل می کنند و این موضوع به بهبود زخم کمک می کند (۷ و ۸). یون نقره به دلیل بار مثبت خود به پروتئین ها، DNA، RNA و یون های کلرید حمله می کند. علاوه بر آن یون های نقره به پروتئین ها و کلرید موجود در

نقره دارای اثر ضد باکتریایی بسیار قوی به ویژه در مورد میکروارگانیسم های مقاوم به آنتی بیوتیک ها می باشد (۱ و ۲). مکانیسم های تاثیر یون نقره بر متابولیسم باکتری متفاوت است. به صورتی که احتمال بقای باکتری را بسیار کاهش می دهد. به این ترتیب باکتری برای ادامه بقا به چندین موتاسیون مختلف نیازمند است تا بتواند بر اثر ضد میکروبی نقره غالب گردد (۳ و ۴). غلظت نقره مورد استفاده باید با توجه به حداقل غلظت ممانعت کننده مورد نیاز برای عدم رشد باکتری ها تعیین

(* آدرس برای مکاتبه: اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان.

مواد و روش ها

الف) آماده سازی نانو ذرات نقره: نقره موجود بر روی پارچه های پانسمان ضد میکروبی به صورت Ag^0 می باشد. بنابراین ضرورت تبدیل یون نقره به نقره فلزی وجود دارد. در این مطالعه برای احیای یون نقره از گلوکز استفاده گردید. این واکنش کند بوده و برای غلبه بر این مشکل، سود مورد استفاده قرار گرفت تا با گلوکز وارد واکنش شود.

از پارچه نایلونی به عنوان بستری برای نقره استفاده می گردد. برای هر سانتی متر مربع از این پارچه در ابتدا (قبل از ورود به برنامه ی تاگوچی) حدود 0.4 mg نقره استفاده شد. $15/7$ میلی گرم نیترات نقره و $8/3 \text{ mg}$ گلوکز با یکدیگر مخلوط و در 2 میلی لتر آب حل شدند. این دو ترکیب پس از افزودن سود به میزان 100 میکرولیتر با یکدیگر واکنش می دهند. سپس پارچه خام در این محلول قرار داده شد.

لازم است از حداقل میزان سود استفاده شود، تا حذف یون نقره از روی پارچه را به دنبال نداشته باشد. هم زدن یکنواخت و سریع (به مدت 30 ثانیه) به منظور توزیع یکنواخت نقره در سراسر پارچه انجام شد. در نهایت اجازه داده شد تا پارچه خشک شود. مدت زمان خشک شدن نیز بر روی قدرت ضد میکروبی می تواند موثر باشد.

برای به دست آوردن بهترین میزان نقره، گلوکز، هیدروکسید سدیم، مدت زمان مخلوط کردن و مدت زمان خشک شدن، از طراحی آزمون تاگوچی استفاده شد. در این روش امکان بررسی هم زمان تمامی عوامل فراهم شد و علاوه بر دادن نتیجه قطعی در آزمون های بیولوژی فرآیند را از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه می نماید. بدین ترتیب که عوامل دارای درصد تاثیر پایین حذف شدند. این مساله کاهش هزینه ها را در پی خواهد داشت. علاوه بر این استفاده از این روش امکان بررسی اثر متقابل عوامل مختلف را فراهم می کند. بدین ترتیب که عاملی که به تنهایی دارای اثر زیادی نیست می تواند در ترکیب با عامل دیگر دارای اثر متقابل زیادی بوده که البته این تاثیر در مطالعات جزء به جزء عوامل موثر مفید می باشد ($22-24$).

ب) بررسی استریل بودن پارچه های نقره: پس از این که

مایعات زخم اتصال یافته و ورود میکروارگانیسم ها را مشکل می سازند (۹).

یون نقره خاصیت ضد میکروبی بسیار وسیعی داشته و زمانی که در غلظت مناسب استفاده شود بر روی مخمرها، قارچ ها، کپک ها و باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک ها مانند استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA) و انتروکوک های مقاوم به ونکومایسین (VRE) تاثیر می گذارد. نقره با مهار چرخه تنفسی در سطح سیتوکروم ها و انتقال الکترون موجب اثر باکتری کشی می گردد (۱۰).

همچنین با واسرشت کردن اسیدهای نوکلئیک و مهار تکثیر DNA، نفوذ پذیری غشای سلولی را نیز تغییر می دهد (۱۱). قابل توجه است که نیترات نقره می تواند اثر منفی بر روی فیروپلاست ها داشته باشد (۱۲). اما با استفاده از پانسمان های نانوکریستال نقره این اثرات به حداقل ممکن کاهش می یابند. بنابراین نقره دارای ویژگی های ضد عفونی کننده، ضد میکروبی و ضد التهابی است و بسیار وسیع الطیف نیز می باشد (۱۹-۱۳).

نقره به صورت بیولوژیکی زمانی که به فرم محلول باشد (Ag^+ و Ag^0) فعال است (۱۷). پانسمان نقره به دلیل خاصیت ضد میکروبی و حفظ رطوبت مناسب برای ترمیم زخم، بر کنترل عفونت تاثیر می گذارد. آزاد سازی مداوم یون نقره در این پانسمان ها منجر به تاثیر ضد میکروبی سریع و قوی آن ها می شود. علاوه بر آن موجب کاهش استفاده از عوامل مسکن و مخدر شده و استرس تعویض پانسمان را کاهش می دهد (۲۰ و ۲۱).

استفاده از روش آماری تاگوچی امکان بررسی هم زمان تمامی عوامل موثر بر قدرت ضد میکروبی پانسمان نقره را فراهم می کند. بدین ترتیب می توان با بهینه سازی شرایط تولید، این فرآیند را از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه نمود.

هدف از این مطالعه، ایجاد پانسمان های نانو کریستال نقره و بهینه سازی شرایط تولید برای به دست آوردن بیشترین میزان هاله عدم رشد در مورد باکتری های متداول تر در ایجاد عفونت زخم بود.

که پارچه ها نیز ۱ سانتی متری بودند، شعاع هاله عدم رشد از محل پارچه تا محل عدم رشد معادل ۰/۵ سانتی متر بود که نیاز به بهینه سازی و اصلاح داشت. در جدول ۳، نتایج آزمون تاگوچی نشان داده شده است. باید به این نکته توجه نمود که قطر هاله عدم رشد در مورد سویه گرم مثبت و گرم منفی به صورت هم زمان مهم است. حالت بهینه حالتی است که در آن هر دو مورد در نظر گرفته شده باشد. برای این منظور هاله عدم رشد گرم مثبت و منفی را در قسمت نتایج برنامه تاگوچی وارد شد و میانگین آن ها توسط برنامه، به منظور آنالیز های بعدی اعمال می شود.

جدول ۱: سطوح مرتبط با متغیرهای در نظر گرفته شده برای تولید پانسما ن نقره.

| متغیرها | سطح اول | سطح دوم | سطح سوم | سطح چهارم |
|-----------------------|---------|---------|---------|-----------|
| AgNO ₃ (g) | ۱۶ | ۲۴ | ۳۲ | ۴۰ |
| Glucose (g) | ۸ | ۱۲ | ۱۶ | ۲۰ |
| NaOH (μL) | ۱۰۰ | ۲۰۰ | ۳۰۰ | ۴۰۰ |
| Mixing time (s) | ۳۰ | ۶۰ | ۹۰ | - |
| Drying time (h) | ۲ | ۴ | - | - |

جدول ۲: آرایه های به دست آمده از طراحی L16 در طراحی آزمون

تاگوچی.

| آرایه ها | زمان مخلوط کردن (s) | AgNO ₃ (g) | زمان خشک شدن (h) | گلوکز (g) | NaOH (μL) |
|------------|---------------------|-----------------------|------------------|-----------|-----------|
| آرایه ی ۱ | ۳۰ | ۱۶ | ۲ | ۸ | ۱۰۰ |
| آرایه ی ۲ | ۳۰ | ۲۴ | ۲ | ۱۲ | ۲۰۰ |
| آرایه ی ۳ | ۳۰ | ۳۲ | ۴ | ۱۶ | ۳۰۰ |
| آرایه ی ۴ | ۳۰ | ۴۰ | ۴ | ۲۰ | ۴۰۰ |
| آرایه ی ۵ | ۶۰ | ۱۶ | ۲ | ۲۰ | ۳۰۰ |
| آرایه ی ۶ | ۶۰ | ۲۴ | ۲ | ۱۶ | ۴۰۰ |
| آرایه ی ۷ | ۶۰ | ۳۲ | ۴ | ۱۲ | ۱۰۰ |
| آرایه ی ۸ | ۶۰ | ۴۰ | ۴ | ۸ | ۲۰۰ |
| آرایه ی ۹ | ۹۰ | ۱۶ | ۴ | ۱۲ | ۴۰۰ |
| آرایه ی ۱۰ | ۹۰ | ۲۴ | ۴ | ۸ | ۳۰۰ |
| آرایه ی ۱۱ | ۹۰ | ۳۲ | ۲ | ۲۰ | ۲۰۰ |
| آرایه ی ۱۲ | ۹۰ | ۴۰ | ۲ | ۱۶ | ۱۰۰ |
| آرایه ی ۱۳ | ۳۰ | ۱۶ | ۴ | ۱۶ | ۲۰۰ |
| آرایه ی ۱۴ | ۳۰ | ۲۴ | ۴ | ۲۰ | ۱۰۰ |
| آرایه ی ۱۵ | ۳۰ | ۳۲ | ۲ | ۸ | ۴۰۰ |
| آرایه ی ۱۶ | ۳۰ | ۴۰ | ۲ | ۱۲ | ۳۰۰ |

پانسما ن نقره در معرض اشعه گاما قرار گرفت، از محیط کشت TSB (مرک، آلمان) به منظور شمارش میکروبی استفاده شد. این محیط به مدت ۱۴ روز در گرمخانه °C ۳۵ قرار گرفت. علاوه بر آن از محیط کشت تیوگلیکولات نیز یک نمونه در جار بی هوازی و یک نمونه در خارج از جار در دمای °C ۳۷ به مدت ۱۴ روز قرار داده شد. عدم مشاهده کدورت نشان دهنده استریل بودن پانسما ن های نقره است.

ج) بررسی اثر بخشی میکروبی پارچه نقره : در ابتدا سوسپانسیون میکروبی با غلظت ۰/۵ مک فارلند (1-1/5 × 10⁸ cfu/ml) از استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی تهیه گردید. پس از آن سوسپانسیون مربوطه بر روی محیط مولر هیتون آگار کشت داده شد. پانسما ن های نقره به صورت ۱cm×۱cm بریده و بر روی محیط های کشت قرار گرفت. پلیت ها به مدت ۲۴ تا ۹۶ ساعت در گرمخانه °C ۳۷ قرار گرفتند. میزان هاله ایجاد شده در اطراف پارچه نشان دهنده فعالیت ضد میکروبی پانسما ن های نقره است. قطر هاله عدم رشد بیشتر از ۳ سانتی متر، به عنوان فعالیت ضد میکروبی پانسما ن نقره خوب و قابل قبول در نظر گرفته شد. بیشتر بودن قطر هاله عدم رشد، نشان دهنده اثر ضد میکروبی موثرتر پانسما ن نقره بود (۲۵).

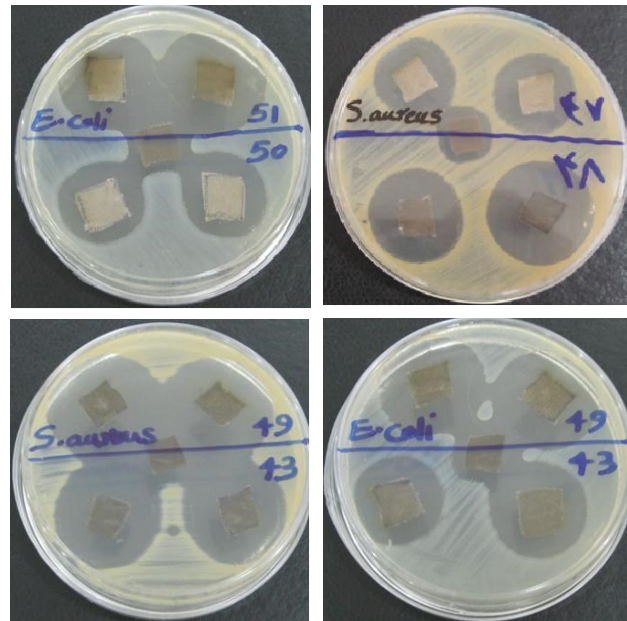
د) طراحی آزمون با استفاده از روش تاگوچی: در این مرحله عوامل موثر بر تولید پانسما ن نقره و سطوح آن ها تعیین گردید و به برنامه تاگوچی وارد شد. عوامل موثر شامل نیترات نقره، گلوکز، هیدروکسید سدیم، زمان مخلوط کردن و زمان خشک شدن بودند. ۳ عامل اول دارای ۴ سطح، عامل چهارم ۳ سطح و عامل آخر، ۲ سطح بود (جدول ۱). به این ترتیب در روش آماری تاگوچی برنامه L16 برای انجام آزمون در نظر گرفته شد. در جدول ۲، آرایه های مرتبط با این برنامه نشان داده شده است.

یافته ها

در این مطالعه قطر هاله عدم رشد در آزمون های ابتدایی قبل از بهینه سازی حدود ۲ سانتی متر به دست آمد. با توجه به این

جدول ۳: نتایج طراحی L16 در روش آماری تاگوچی در مورد میزان قطر هاله های عدم رشد.

| آرایه ها | قطر هاله گرم مثبت | قطر هاله گرم منفی | میانگین داده شده به تاگوچی |
|------------|-------------------|-------------------|----------------------------|
| آرایه ی ۱ | ۳/۶ | ۵/۲ | ۴/۴ |
| آرایه ی ۲ | ۴/۵ | ۵/۵ | ۵ |
| آرایه ی ۳ | ۵/۶ | ۵/۴ | ۵/۵ |
| آرایه ی ۴ | ۱/۸ | ۲/۲ | ۲ |
| آرایه ی ۵ | ۴/۲ | ۳/۸ | ۴ |
| آرایه ی ۶ | ۴/۳ | ۴/۷ | ۴/۵ |
| آرایه ی ۷ | ۵/۶ | ۵ | ۵/۳ |
| آرایه ی ۸ | ۳/۱ | ۳/۳ | ۳/۲ |
| آرایه ی ۹ | ۲/۹ | ۳/۱ | ۳ |
| آرایه ی ۱۰ | ۵/۱ | ۵/۳ | ۵/۲ |
| آرایه ی ۱۱ | ۵ | ۵/۸ | ۵/۴ |
| آرایه ی ۱۲ | ۴/۴ | ۳/۸ | ۴/۱ |
| آرایه ی ۱۳ | ۳/۲ | ۲/۶ | ۲/۹ |
| آرایه ی ۱۴ | ۵/۱ | ۴/۳ | ۴/۷ |
| آرایه ی ۱۵ | ۴/۸ | ۵/۶ | ۵/۲ |
| آرایه ی ۱۶ | ۳/۹ | ۴/۹ | ۴/۴ |



شکل ۱: هاله های عدم رشد در اطراف قطعات پانسمان نقره. پلیت های سمت راست کشت استافیلوکوکوس اورئوس، به عنوان شاخص باکتری های گرم مثبت و پلیت های سمت چپ کشت اشریشیا کلی، به عنوان شاخص باکتری های گرم منفی را نشان می دهند. در برخی نقاط هاله های عدم رشد با یکدیگر هم پوشانی پیدا کرده اند.

جدول ۴: آنالیز واریانس اثر تمامی عوامل بر میزان اثر ضد میکروبی پانسمان نقره.

| عامل | درجه آزادی | مجموع مربعات (S) | واریانس | نسبت F | مجموع مربعات (S') | درصد تاثیر عامل |
|-----------------------|------------|------------------|---------|--------|-------------------|-----------------|
| زمان مخلوط کردن (s) | ۲ | ۰/۰۸۳ | ۰/۰۴۱ | ۰/۸۰۴ | ۰ | ۰ |
| AgNO3 (g) | ۳ | ۱۰/۷۸۴ | ۳/۵۹۴ | ۶۹/۰۳۲ | ۱۰/۶۲۸ | ۶۵/۳۶۷ |
| زمان خشک شدن (h) | ۱ | ۱/۶۸۹ | ۱/۶۸۹ | ۳۲/۴۵۱ | ۱/۶۳۷ | ۱۰/۰۷۳ |
| گلوکز (g) | ۳ | ۰/۵۳۴ | ۰/۱۷۸ | ۳/۴۲۴ | ۰/۳۷۸ | ۲/۳۲۹ |
| NaOH (μL) | ۳ | ۳/۰۱ | ۰/۰۰۳ | ۱۹/۲۶۶ | ۲/۸۵۳ | ۱۱/۵۵ |
| اثر عوامل محیطی (خطا) | ۳ | ۰/۱۵۵ | ۰/۰۵۱ | --- | --- | ۴/۶۸ |
| مجموع | ۱۵ | ۱۶/۲۵۹ | --- | --- | --- | ۱۰۰ |

در این جدول مشاهده می شود نیترات نقره دارای بیشترین تاثیر معادل ۶۵ درصد می باشد. دول ۵ تاثیر متقابل فاکتورهای مختلف را نشان می دهد. برنامه تاگوچی ۱۰ اثر متقابل را برای این عوامل در نظر گرفته است. در این جدول می توان مشاهده کرد که عواملی مانند NaOH و زمان خشک شدن (که به ترتیب دارای اثری معادل ۱۱/۵ و ۱۰ درصد هستند) در مقابل یکدیگر می توانند اثری معادل ۵۰ درصد داشته باشند. همچنین عاملی مانند زمان مخلوط کردن که به تنهایی هیچ تاثیری را در جدول

در شکل ۱ هاله های عدم رشد مربوط به سویه های اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس قابل مشاهده است. همان طور که در جدول ۳ نشان داده شده است آرایه سوم بهترین نتیجه را داشته است. در این حالت میزان نیترات نقره مورد استفاده ۳۲ گرم، میزان گلوکز ۱۶ گرم، میزان هیدروکسید سدیم ۳۰۰ میکرولیتر و زمان خشک شدن و زمان مخلوط کردن به ترتیب معادل ۴ ساعت و ۳۰ ثانیه بود. جدول ۴ نتایج آنالیز واریانس را نشان می دهد. همان گونه که

شکل ۲ نمودار های مربوط به تاثیر هریک از عوامل را نشان می دهد. شماره های ۱، ۲، ۳ و ۴ بر روی محور x ها نشان دهنده سطوح مختلف متغیرهاست و محور y نیز میانگین قطر هاله عدم رشد را نشان می دهد.

بحث

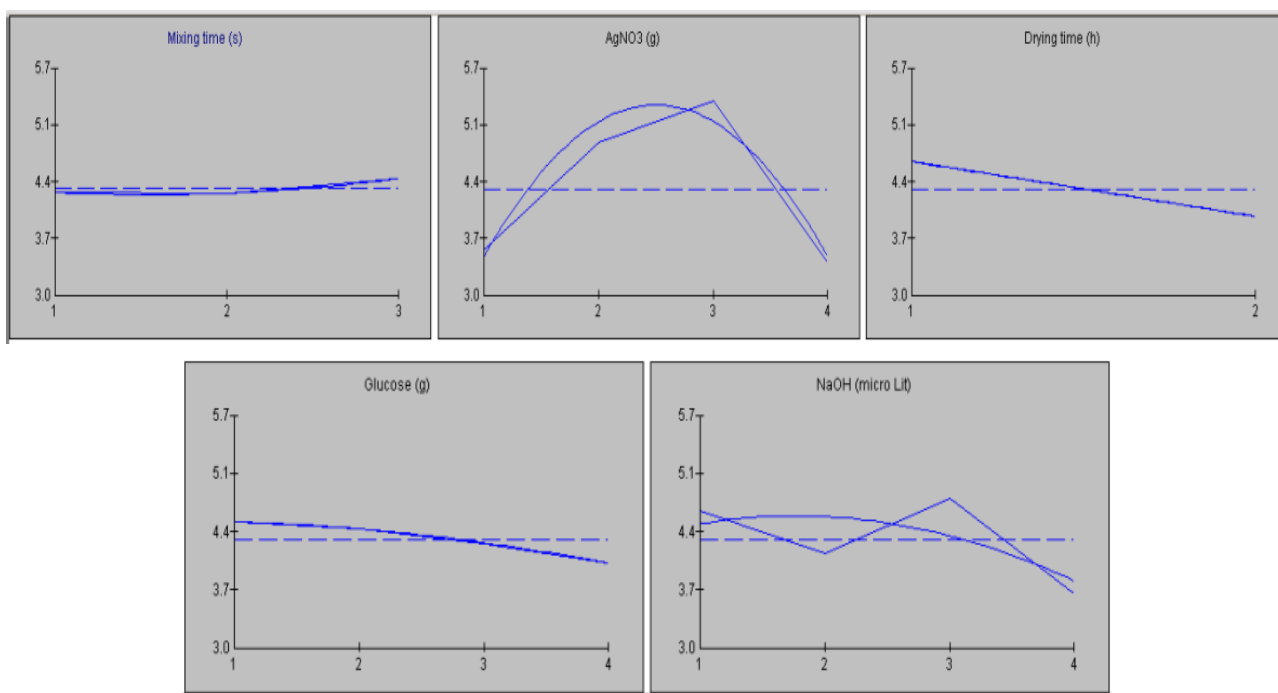
پانسمان نقره باید دارای غلظتی از یون نقره باشد که اثر ضد باکتریایی مناسبی داشته باشد. از محلول نیترات نقره به علت خاصیت سمی آن استفاده نمی شود. علاوه بر آن دارای نکات منفی مانند تغییر بالانس یونی و نفوذ پایین به عمق نیز می باشد. پانسمان های نقره دارای تاثیر درمانی بر روی سطح زخم هستند. پانسمان های آغشته به نقره جدید که در طول ۲۰ سال گذشته گسترش داده شده اند بسیاری از مضرات پارچه های نقره قبلی را ندارند (به ویژه در مورد غیر فعال شدن سریع نقره). در پارچه های نقره جدید زمانی که نقره به واسطه برخورد با سلول و یا به واسطه کمپلکس های پروتئینی و آنیونی در زخم ها غیر فعال می شود، نقره اضافی به زخم آزاد می گردد. ابداع موجود در این پارچه ها، میزان نقره استفاده شده

آنالیز واریانس نشان نمی دهد در ترکیب با عاملی مانند زمان خشک شدن و یا گلوکز دارای به ترتیب ۵۰ و ۴۵ درصد تاثیر می باشد. تاثیر متقابل فاکتورها بیشتر در مطالعات اثر یک عامل به صورت بسیار دقیق موثر است. با توجه به نوع مطالعه، در صورت اهمیت اثر متقابل دو فاکتور، باید سطوح پیشنهادی در این جدول را برای رسیدن به میزان بیشتر تولید انتخاب کرد.

جدول ۵: تاثیر متقابل فاکتور های مختلف مورد بررسی در روش ناگوچی.

| فاکتورهای متقابل | SI (%) | Opt |
|--------------------------------|--------|-------|
| زمان خشک شدن*هیدروکسید سدیم | ۵۰/۸۷ | (۳.۲) |
| زمان مخلوط کردن*زمان خشک شدن | ۵۰ | (۱.۱) |
| زمان مخلوط کردن*گلوکز | ۴۵/۸۳ | (۴.۳) |
| زمان مخلوط کردن*هیدروکسید سدیم | ۳۱/۲۵ | (۲.۳) |
| نیترات نقره*زمان خشک شدن | ۲۵/۸۹ | (۲.۳) |
| نیترات نقره*هیدروکسید سدیم | ۲۵/۷۱ | (۳.۳) |
| نیترات نقره*گلوکز | ۱۷/۱۴ | (۳.۳) |
| زمان مخلوط کردن*نیترات نقره | ۱۴/۵۸ | (۳.۳) |
| گلوکز*هیدروکسید سدیم | ۱۲/۸۵ | (۳.۳) |
| زمان خشک شدن*گلوکز | ۱/۷۲ | (۱.۱) |

SI: شاخص شدت برهم کنش برای پارامترهای مختلف،
Opt: نشان دهنده سطوح مطلوب فاکتور ها برای شرایط بهینه سازی



شکل ۲: نمودارهای مربوط به اثر هر یک از عوامل بر قطر هاله عدم رشد (میزان خاصیت ضد میکروبی).

زیادی به اندازه و شکل ذرات نقره، مدت زمان مجاورت با زخم و ترکیب مواد بستگی دارد (۲۸).

صادقی (Sadeghi) و همکاران از نانوذرات نقره برای کنترل رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* استفاده نمودند. آن‌ها دریافتند که فعالیت ضد میکروبی ذرات نقره به شکل و اندازه آن‌ها بستگی دارد و اندازه سطحی ذرات نقره عامل موثری در از بین بردن میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (۲۹). رادزینگ (Radzing) و همکاران گزارش دادند سویه‌هایی از *اشریشیا کلی* که دچار موتاسیون در ژن‌های مسئول ترمیم DNA (ژن‌های *mutY mutM mutS mutT* و *nth*) شده‌اند، نسبت به نانوذرات نقره کمتر از سویه‌های وحشی مقاوم هستند. این موضوع به دلیل احتمال حضور این ژن‌ها در ترمیم آسیب‌های ناشی از نانوذرات نقره می‌باشد. علاوه بر آن سویه‌هایی از *اشریشیا کلی* که دچار نقص در پورین‌های OmpF و OmpC شده‌اند در مقایسه با سویه‌های وحشی ۴ تا ۸ برابر بیشتر به نانوذرات نقره مقاوم هستند (۳۰). لارا (Lara) و همکاران نیز علت تاثیر نانوذرات نقره را تداخل در خاصیت نفوذپذیری انتخابی غشای سیتوپلاسمی گزارش نمودند (۳۱). راجاوات (Rajawat) و همکاران برای مشاهده اثر ضد میکروبی نانو ذرات نقره در برابر *سالمونلا تیفی* روشی مشابه روش مورد استفاده در این پژوهش را به کار بردند. آن‌ها از نانو ذرات نقره به همراه آنتی بیوتیک‌های آمپی سیلین و جنتامایسین استفاده کرده و میزان اثر بخشی آن را با استفاده از قطر هاله عدم رشد مشاهده کردند. متوسط هاله عدم رشد بین ۱/۷-۱/۵ سانتی متر گزارش شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود وجود پانسماں به عنوان بستری مناسب برای نانو ذرات نقره، موجب افزایش قطر هاله عدم رشد خواهد شد (۳۲).

نتیجه گیری

در مطالعه حاضر اثر بخشی مناسب پانسماں های نانوکریستال نقره علیه باکتری های شاخص گرم مثبت و گرم منفی مشخص گردید. قطر هاله عدم رشد به دست آمده در این پژوهش بسیار مناسب بود و پتانسیل بالای این روش را برای کاربرد در تولید

در پانسماں می‌باشد (۶، ۹ و ۱۰). گلوکز استفاده شده برای احیای یون نقره دارای یک بنیان آلدئیدی است که می‌تواند با اکسیداسیون به کربوکسیلیک اسید تبدیل شود. میزان تغییرات عدد اکسیداسیون بسیار مهم است. به عبارت دیگر، این موضوع که هر مول گلوکز چند مول الکترون تولید می‌کند، دارای اهمیت می‌باشد.

پتانسیل مربوط به واکنش احیای نقره مثبت است، اما انجام آن به راحتی امکان پذیر نیست. در این مطالعه برای غلبه بر آن از سود استفاده شد. میزان هریک از عوامل یاد شده در نتیجه به دست آمده تاثیر زیادی خواهد داشت. در پژوهش حاضر برای بهینه نمودن این عوامل و رسیدن به نتیجه مطلوب از روش تاگوچی استفاده گردید. روش تاگوچی باعث کاهش تغییر کیفیت در اثر وجود عوامل غیر قابل کنترل می‌شود. این روش بدون این که عوامل غیر قابل کنترل را حذف کند، می‌تواند از طریق تنظیم سطوح و کنترل سایر عوامل اثر آن‌ها را به حداقل برساند. علاوه بر این روش تاگوچی تعداد آزمون‌های مورد نیاز را نیز تا حد زیادی محدود می‌نماید. در آزمون یاد شده، از روش کسری از فاکتوریل استفاده می‌شود. بدین معنی که به صورت انتخابی تعدادی از آزمایش‌ها انجام می‌گردد و حالت بهینه انتخاب می‌شود. این انتخاب بر اساس نتایج داده شده به روش آماری و تجزیه و تحلیل آن‌ها صورت می‌پذیرد. تجاری کردن یک فرآیند نیاز به اقتصادی کردن آن و کاهش هزینه‌ها دارد. کاربرد طراحی آزمایش‌ها مانند روش تاگوچی منجر به افزایش میزان بازدهی، کاهش هزینه، صرف زمان کمتر و کاهش قابلیت تغییر و انطباق بیشتر نسبت به مقادیر مورد انتظار می‌شود. سوندی (Sondi) و همکاران اثر ضد میکروبی نانوکریستال های نقره بر علیه باکتری *اشریشیا کلی* را به عنوان یک شاخص از باکتری های گرم منفی نشان دادند (۲۶). کلابوند (Klabunde) و همکاران نشان دادند که نانوذرات فلزی اکسید شده دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی هستند (۲۷). تعداد سویه‌های مقاوم به نقره بسیار ناچیز است. مدت زمان زیادی است که اثر سمی یون‌ها و ترکیبات نقره بر علیه باکتری‌ها نشان داده شده است. فعالیت پانسماں نقره به میزان

انبوه نشان می دهد. روش آماری تاگوچی نیز در بهینه سازی
فرآیند بسیار موثر عمل نمود. در نتیجه با کمک نانوتکنولوژی
و باکتری شناسی می توان مواد ضد میکروبی جدیدی را
به وجود آورد.
تشکر و قدردانی نویسندگان این مقاله از باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان
دانشگاه فلاورجان به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این
پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Lansdown ABG. Silver I: its antibacterial properties and mechanism of action. J Wound Care. 2002; 11(4): 125–130.
2. Wright JB, Lam K, Burrell RE. Wound management in an era of increasing bacterial antibiotic resistance: a role for topical silver. Am J Infect Control. 1998; 26: 572–575.
3. Vermeulen H, Ubbink DT, Storm-Versloot MN. Topical silver for treating infected wounds (Protocol). Cochrane Database Syst Rev. 2005; (1): 54- 86.
4. Warriner R, Burrell R. Infection and the chronic wound: A focus on silver. Adv Skin Wound Care. 2005; 18: 2–12.
5. Li XZ, Nikaido H, Williams KE. Silver-resistant mutants of *Escherichia coli* display active efflux of Ag⁺ and are deficient in porins. J Bacteriol. 1997; 179(19): 6127–6132.
6. Dowsett C. An overview of Acticoat dressing in wound management. Br J Nurs. 2003; 12(19): 44–49.
7. Paddock HN, Schultz GS, Perrin KJ. Clinical assessment of silver-coated antimicrobial dressings on MMPs and cytokine levels in non-healing wounds. Wound Repair Regen. 2002; 10: 45- 52.
8. Wright JB, Lam K, Buret AG, Olson ME, Burrell RE. Early healing events in a porcine model of contaminated wounds: effects of nanocrystalline silver on matrix metalloproteinases, cell apoptosis, and healing. Wound Repair Regen. 2002; 10: 141–151.
9. Mooney EK, Lippitt C, Friedman J. Silver dressings [safety and efficacy reports]. Plast & Reconst Surgery J. 2006; 117(2): 666–669.
10. Khundkar R, Malic C, Burge T. Use of acticoat dressings in burns: what is the evidence? Burns. 2010; 36(6): 751–758.
11. Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN, Dibo SA. Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. Burns. 2007; 33(2): 139–148.
12. Liedberg H, Lundberg T. Assessment of silver-coated urinary catheter toxicity by cell culture. Urological Res. 1989; 17 (6): 359–362.
13. Hoffman S. Silver sulfadiazine: an antibacterial agent for topical use in burns. Scand J Plast Reconst Surgery. 1984; 18: 119-124.
14. Klasen H. A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver. Burns. 2000; 26: 131-136.
15. Demling R, DeSanti L. The role of silver technology in wound healing: Part 1: Effects of silver on wound management. Wounds. 2001; 13: 131-146.
16. Lansdown A. Silver I: its antibacterial properties and mechanism of action. J Wound Care.

- 2002; 11:125-128.
17. Dunn K, Edwards-Jones V. The role of Acticoat™ with nanocrystalline silver in the management of burns. *Burns*. 2000; 1: 1-9.
 18. Orvington L. The truth about silver. *Ostomy Wound Manage*. 2004; 50: 1-10.
 19. Fong J. The use of silver products in the management of burn wounds: change in practice for the burn unit at Royal Perth Hospital. *Primary Intention*. 2005; 13: 16-28.
 20. Ang E, Glasg F, Lee T, Edinb F, Christine S, Gan G. Pain control in a randomized, controlled, clinical trial comparing moist exposed burn ointment and conventional methods in patients with partial-thickness burns. *J Burn Care Rehabil*. 2003; 24(5): 289-296
 21. Atiyeh BS, Dibo SA, Hayek SN. Wound cleansing, topical antiseptics and wound healing. *Int Wound J*. 2009; 6(6): 420-430.
 22. Stepanov AL, Popok VN, Hole DE. Glass physics and chemistry. *Russian Aca of Sci & Inst of Silicate Chem*. 2002; 28(2): 90-98.
 23. Dessy YS, Cheng-Kang L. Magnetic antimicrobial nanocomposite based on bacterial cellulose and silver nanoparticles Manthiriyappan Sureshkumar. *J Mater Chem*. 2010; 20: 6948-6955.
 24. Montazer M, Alimohammadi F, Shamei A, Rahimi MK. In situ synthesis of nano silver on cotton using Tollens' reagent. *Carbohydrate Polymers*. 2012; 87: 1706-1712.
 25. Jung WK, Koo HC, Kim KW, shin S, Kim SH, Park YH. Antibacterial activity and mechanism of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherchia coli*. *Appl Environ Microbiol*. 2008; 74: 2171-2178.
 26. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci*. 2004; 275: 177-182.
 27. Stoimenov PK, Klinger RL, Marchin GL, Klabunde KJ. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir. American Chem Soc*. 2002; 18(17): 6679-6686.
 28. Kędziora A, Gorzelańczyk K, Bugła-Płoskońska G. Positive and negative aspects of silver nanoparticles usage. *Biol Int*. 2012; 53: 68-76.
 29. Sadeghi B, Gamaroudi FS, Hashemi M, Nezhad HR, Nasrollahi M, Ardalan S. Comparison of the anti-bacterial activity on the nanosilver shapes: nanoparticles, nanorods and nanoplates. *Advanced Powder Technol*. 2012; 23(1): 22-26.
 30. Radzig MA, Nadochenko VA, Koksharova OA, Kiwi J, Lipasova VA, Khmel IA. Antibacterial effects of silver nanoparticles on gram-negative bacteria: Influence on the growth and biofilms formation, mechanisms of action. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2013; 102: 300-306.
 31. Lara H, Garza-Treviño E, Ixtepan-Turrent L, Singh DK. Silver nanoparticles are broad-spectrum bactericidal and virucidal compounds. *J Nanobiotech*. 2011; 9: 3155-3159.
 32. Rajawat S, Shums Qureshi M. Comparative study on bactericidal effect of silver nanoparticles, synthesized using green technology, in combination with antibiotics on *Salmonella typhi*. *J Biomaterials Nanobiotech*. 2012; 3: 480-485.



The production and antibacterial effectiveness of silver nanocrystalline dressing

Marjan Enshaeieh¹, Azadeh Abdoli¹, Reza Montazeri²

¹MS.c., Young Researchers and Elite Club, Falavarjan branch, Islamic Azad University, Esfahan, Iran,

²BS.c., Department of Biology, Science branch, Esfahan University, Esfahan, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Since the wound infections caused by gram positive and negative bacteria are very common, application of Nanocrystalline silver in wound healing bands is recently of one of points of research interests. The epithelization effect and control of wound infection are the most important factors for selection of disinfecting factors in these bands. This study was performed to produce nanocrystalline silver bands and to investigate their efficiency on control of selected gram positive and negative bacteria.

Materials & Methods: In this study, silver nanocrystalline dressing was produced using nylon dressing and silver ions. Thereafter, we evaluate its antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The experiments were designed based on Taguchi method for investigation different parameters on antimicrobial effect of silver dressing.

Results: The silver dressing showed an impressive effect on inhibition of the growth of mentioned bacteria and leads to the inhibition zone diameter of 5.5 cm around the dressing pieces. AgNO₃ was the most important parameter in determination of the antimicrobial effect of silver dressing (approximately 65% efficiency).

Conclusion: Silver nanocrystalline dressing was effective on inhibition of microorganisms growth. Furthermore, application of Taguchi method was highly effective in optimization process of this investigation.

Keywords: Silver dressing, Taguchi method, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

Correspondence to: Marjan Enshaeieh

Tel: +98 9131040145

E-mail: m_enshaeieh@yahoo.com

Journal of Microbial World 2016, 9(1): 62-70.