مقاله پژوهشی

بررسی اثرات ضد باکتریایی نانو ذره نقره سنتزشده با استفاده از عصاره گیاه گرگ تیغ

الهام رمضانی[1]،مسعود یوسفی[1]،سمیرا اقبالی[2]،ابراهیم شفائی[1]،امیر توکلی کارشک[1]*

۱- مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
۲-گروه فارماکوگنوزی و داروسازی سنتی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.22, No.2, Summer 2024

چکیده

مقدمه: با توجه به گسترش نگران‌کننده مقاومت به عوامل ضد میکروبی کلاسیک، روش درمانی نوآورانه برای مبارزه با عوامل بیماری‌زای مقاوم به آنتی‌بیوتیک مانند ترکیبات مشتق‌شده از گیاهان و نانو ذرات ضروری به نظر می‌رسد. هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی خواص ضدمیکروبی نانو ذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره گیاه گرگ تیغ بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی اثرات ضدباکتریایی عصاره گرگ تیغ به تنهایی و در ترکیب با نانوذره نقره برای باکتری‌های *اشریشیاکلی* (ATCC25922)، *سودوموناس آئروژینوزا* (ATCC27853)، *کلبسیلا پنومونیه* (ATCC9997)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC25923) و *انتروکوکوس فکالیس* (ATCC29212) مورد بررسی قرار گرفت. عصاره متانولی گیاه گرگ تیغ تهیه و نانوذرات نقره به وسیله عصاره گیاه گرگ تیغ سنتز گردید. میزان MIC نانوذره نقره به تنهایی و در ترکیب با گیاه گرگ تیغ با استفاده از روش میکرودایلوشن براث برای باکتری‌های مورد مطالعه با استفاده از روش میکرودایلوشن براث مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نانوذره سنتز شده با عصاره آبی گیاه گرگ تیغ بر روی سه باکتری اشریشیا کلی، *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به طور معنی‌داری در مقایسه با عصاره آبی به تنهایی اثر مهاری داشته است ($P<0/05$). همچنین بیشترین فعالیت باز دارندگی عصاره گیاه گرگ تیغ برای دو باکتری *کلبسیلا پنومونیه* و *انتروکوکوس فکالیس* با MIC 2.5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. از طرفی نانوذرات نقره بیوسنتز شده در برابر باکتری *اشریشیاکلای* با MIC 1.25 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشترین فعالیت باز دارندگی باز دارندگی را از خود نشان داد. در مجموع نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گرگ تیغ اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی بر باکتریهای مورد مطالعه در مقایسه با نانوذره نقره به روش شیمیایی و همچنین گیاه گرگ تیغ به تنهایی داشته است.

نتیجه‌گیری: نانوذرات نقره سنتزشده با عصاره گیاه گرگ تیغ دارای اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی هستند که می‌توان از این ترکیب پس از انجام مطالعات بیشتر بر روی مدل های حیوانی به عنوان یک گزینه درمانی مناسب با توجه به عوارض آنتی بیوتیک‌ها جهت درمان برخی از عفونت های ضد میکروبی استفاده کرد.

واژگان کلیدی: نانوذرات نقره، اثرات ضد باکتری، گرگ تیغ، حداقل غلظت مهاری رشد

Pars J Med Sci 2024;22(2):24-35

مقدمه

بیماری‌های عفونی از مهم ترین بیماریهای شایع در جهان هستند که بار مالی فروانی را به جوامع بشری تحمیل می‌نماید. آنتی‌بیوتیک‌های ساختگی در دهه‌های گذشته هر چند توانسته‌اند نقش مهمی را در درمان بیماری‌های عفونی ایفا نمایند، اما مشکلاتی که در رابطه با بروز مقاومت‌های میکروبی آنتی‌بیوتیک‌ها به وجود آمده، باعث گردیده است تا به مصرف هر چه بیشتر داروهای گیاهی گرایش پیدا شود [۱]. استفاده از اسانس و عصاره های گیاهی به عنوان جایگزین مواد محافظ ساختگی جای خود را در صنایع غذایی به خوبی پیدا کرده است. لذا به منظور دستیابی به مواد طبیعی ضد میکروبی، غربالگری اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. در همین راستا مطالعات انجام شده نشان داده است که گیاه گرگ تیغ یکی از گیاهان دارویی مهم از خانواده Solanaceae است که در طب سنتی تبت به عنوان گیاهی متداول ثبت گردیده است [۲]. در طب سنتی این گیاه دارای مصارف متعددی از جمله درمان ناراحتی‌های قلبی و چشمی، بهبود عملکرد و تقویت کلیه

* نویسنده مسئول، نشانی: ۱مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
تلفن تماس: ۰۹۱۵۳۰۰۹۰۵۷ پست الکترونیک:atk9388@gmail.com
دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۷ اصلاح:۱۴۰۳/۰۵/۶ پذیرش:۱۴۰۳/۶/۳۰

و کبد می‌باشد. ترکیبات طبیعی عمده یافت‌شده در این جنس عبارت است از آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، استرول و استروئیدها می‌باشند. همچنین این گیاه دارای خاصیت ضد ویروسی، ضد باکتریایی و ضد قارچی می‌باشد [۳].

نتایج مطالعات گذشته نشان داده که عصاره و ریشه اتیل استاتی و آبی میوه‌ی این گیاه دارای خواص ضد باکتریایی بوده به طوری که شدت اثر عصاره‌ها بر باکتری‌های گرم مثبت بیش‌تر از باکتری‌های گرم منفی بوده است [۳].گیاهان به علت فراوانی و عدم نیاز به شرایط و مواد غذایی خاص برای رشد، گزینه‌ای مناسب برای سنتز سبز نانوذرات محسوب می شوند [۴]. کامل بودن واکنش، کم‌بودن زمان واکنش، تولید نانوذرات با اشکال مختلف و یکنواخت بودن اندازه آنها از دیگر مزایای استفاده از گیاهان برای سنتز نانوذرات محسوب می‌شود. در میان نانو مواد و نانوذرات، نانوذرات نقره به دلیل ویژگی وابسته به اندازشان توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده‌اند که از جمله آن‌ها می‌توان به خواص نوری، شیمیایی، الکتریکی، کاتالیستی و ضدمیکروبی اشاره نمود. نانو ذره نقره تولید شده با روش زیستی دارای ویژگی‌های مفیدی مانند میزان سطح بالا، اندازه کوچک و پراکندگی بالا می‌باشند که مجموعه این عوامل سبب شده تا اثرات ضدمیکروبی نانوذرات نقره در مقایسه با نقره افزایش چشمگیری داشته باشد [۵].

با توجه به افزایش اثرات ضدمیکروبی نقره در مقیاس نانو، می توان از نانوذرات نقره برای مبارزه با عوامل بیماریزای مختلف استفاده نمود به طوری که امروزه با توسعه علم نانوتکنولوژی و تولید نانوذرات نقره، این نانوذرات کاربردهای فراوانی در علوم مختلف مانند پزشکی، داروسازی، آرایشی و بهداشتی پیدا کرده‌اند و استفاده از نقره و نانوذرات آن به عنوان ماده باکتری‌کش قدرتمند، گسترش یافته است [۶، ۷].

خواص ضدمیکروبی نانوذرات نقره و استفاده مفید از آن در بیوتکنولوژی و مهار اختصاصی میکروب ها در مطالعات مختلفی بررسی و به اثبات رسیده است، به طوری که ناتوذرات نقره می‌توانند با مهار سیستم تنفسی باکتری‌ها بر متابولیسم و نیز فرآیندهای تولید مثل میکروارگانیسم‌ها اثرگذار باشند و باعث ایجاد آسیب‌هایی در غشای سلولی باکتری‌ها گردند [۸، ۹]. باتوجه به اهمیت کاربرد نانوذرات در ترکیب با عصاره‌ها برای اهداف ضد میکروبی هدف از مطالعه حاضر مطالعه سنتز سبز نانو ذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه گرگ تیغ و بررسی اثرات ضدباکتریایی آن خواهد بود.

روش کار

این مطالعه از نوع تجربی و آزمایشگاهی در فاصله اردیبهشت تا مرداد سال ۱۴۰۲ در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند انجام شده است.

روش تهیه عصاره گیاه گرگ تیغ

گیاه گرگ تیغ پس از شستشو به کمک آب مقطر، در سایه خشک گردید. پس از خشک کردن به منظور عصاره‌گیری، ۲۰ گرم از پودر خشک شده گیاه در ۲۰۰ سی سی متانول به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر با 100 g قرار داده شد. سپس به کمک کاغذ واتمن صاف گردید و در ادامه به کمک دستگاه روتاری، تغلیظ گردید. عصاره حاصل در پایان به منظور جدا کردن تمامی متانول، در درون انکوباتو با دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد تا زمانی که کاملا خشک گردد. پودر بدست آمده در دمای ۴ درجه برای استفاده‌های بعدی ذخیره شد.

نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه گرگ تیغ

سنتز نانوذرات نقره به کمک عصاره گیاه گرگ تیغ طبق مطالعات انجام شد [۱۰]. به منظور سنتز، ۲۴ میلی‌گرم نیترات نقره در بشری حاوی ۱۰ سی‌سی آب مقطر دیونیزه بر روی استیرر تحت هم‌زدن شدید در دمای محیط قرار گرفت. همزمان ۱۰۰ میلی‌گرم از عصاره گیاه درون بشر دیگری به همراه ۱۰ سی‌سی آب مقطر دیونیزه به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط سونیک شد و سپس از کاغذ صافی عبور داده شد و pH سوسپانسیون حاصل با استفاده از سدیم هیدروکساید ۲ مولار به ۱۲ رسانده شد. عصاره گیاه با 12 pH، پس از حل شدن کامل نیترات نقره درون آب مقطر، به صورت قطره قطره به درون بشر تحت هم‌زدن شدید اضافه گردید. پس از اضافه کردن اولین قطرات عصاره، رنگ سوسپانسیون به قهوه‌ای تیره بدل شد که این تغییر رنگ تاییدی بر کاهش یون‌های نقره و سنتز نانوذرات نقره بود. سوسپانسیون فوق به مدت زمان ۳۰ دقیقه بر روی استیرر هم زده شد.

به منظور مطالعه بیشتر، نمودار جذب سوسپانسیون حاصل با استفاده از دستگاه UV-Vis (NanoDrop, BioTek model Epoch, USA و در طول موج ۳۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر اندازه گیری شد. سپس نانوذرات نقره خشک شده توزین و غلظت آن به صورت تقریبی بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. رنگ محلول مورد نظر پس از تولید شدن نانو ذرات به قهوه‌ای تیره تغییر می‌کند. این تغییر نشانه تولید نانو ذرات نقره می‌باشد. پس از مشاهده تغییر رنگ، نانوذرات تولید زیستی شده به منظور تشخیص بهتر و مشخص شدن خصوصیات با سایر روش‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

به منظور به دست آوردن بهترین شرایط برای سنتز نانو ذرات نقره به کمک عصاره گیاه گرگ تیغ، سه پارامتر شامل غلظت نقره، pH و دما مورد آزمایش قرار گرفت. در هر مرحله سوسپانسیون حاصل در طیف جذبی ۵۰۰–۳۰۰ نانومتر توسط دستگاه UV–Vis خوانش گردید که ایده‌آل‌ترین شرایط برای سنتز نانوذرات مشخص شود. به منظور بررسی ایده‌آل ترین شرایط در سنتز نانوذرات نقره، غلظت گیاه گرگ تیغ ثابت فرض شد و سپس ابتدا غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ میلی‌مولار نیترات نقره مورد آزمایش قرار گرفت و در ادامه پس از تعیین ایده‌آل‌ترین غلظت نیترات نقره به کمک بررسی طیف جذبی در هر غلظت، سنتز نانوذرات با استفاده از ایده‌آل‌ترین غلظت نیترات نقره در زمان‌های مختلف شامل ۳۰،۲۰ ، ۴۵ و ۶۰ دقیقه ادامه یافت. در پایان نیز در غلظت‌های ایده‌آلی از نیترات نقره به همراه زمان ایده‌آل برای انجام واکنش، سنتز نانوذرات در دماهای مختلف شامل دمای اتاق، ۵۵ درجه سانتی گراد و ۸۵ درجه سانتی گراد انجام شد و بهینه ترین شرایط سنتز نانوذرات نقره به کمک عصاره متانولی گیاه گرگ تیغ تعیین گردید.

آنالیز نانوذرات

آنالیز سایز به منظور میزان احیای یون‌های نقره (+Ag) و تأئید ساخت نانوذرات نقره، بعد از اضافه‌کردن محلول یک میلی‌مولار نیترات نقره به عصاره و مشاهده تغییر رنگ، ۰/۲ میلی‌لیتر از نمونه برداشته و با ۲ میلی‌لیتر آب مقطر استریل مخلوط شد و جذب آن توسط دستگاه طیف‌سنج فرابنفش- مرئی در طول موج‌های ۳۰۰–۷۰۰ نانومتر خوانده شد. مورفولوژی و اندازه نانوذرات نقره در این تحقیق با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی تعیین شد. برای این منظور، رسوب حاصله از برهم کنش سه مرتبه و با سرعت ۱۷۰۰۰g سانتریفیوژ، و از رسوب حاصل توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی عکس‌برداری شد.

بررسی اثر ضدباکتریایی

اثرات ضد باکتریایی با تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی یا MIC(Minimum inhibitory concentration) نانوذرات بیوسنتز شده با استفاده از روش Micro-broth dilution (رقت‌سازی در چاهک) بررسی شد. برای این منظور، از میکرو پلیت‌های استریل ۹۶ خانه‌ای (SPL Lifesciences، کره) استفاده شد. ابتدا غلظت‌های سریالی از نانوذرات تهیّه گردید. سپس از هر یک از غلظت‌های تهیه شده، ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و داخل خانه‌های میکروپلیت ریخته شد. چون ۷ رقت از هر عصاره تهیه شده بود (۳/۱۲، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، ۷ خانه از میکروپلیت نیز با ۱۰۰ میکرولیتر نانوذره پر شد. سپس ۹۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث (MERCK, Germany) و ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند به ۷ چاهک میکروپلیت حاوی عصاره، افزوده شد. یعنی حجم نهایی در هر خانهٔ پلیت ۲۰۰ میکرولیتر بود. در یک ردیف، از تمام رقت‌های نانوذره، همراه محیط کشت بدون تلقیح باکتری جهت در نظر گرفتن کدورت ناشی از نانوذره استفاده شد. در یک چاهک نیز باکتری به همراه محیط کشت بدون تلقیح نانوذره ریخته شد (به عنوان شاهد مثبت) و تأثیر نانوذرات بر روی رشد باکتری‌های مورد آزمون با کدورت این چاهک مقایسه گردید. پس از کشت، میکروپلیت‌ها روی شیکر (IKA، آلمان) به مدت سه ثانیه قرار داده شدند تا مخلوط کاملا یکنواخت گردد. سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور (Shinsaeng، کره)، انکوبه شدند. آزمایش برای هر کدام از غلظت‌های مختلف اسانس ۳ بار تکرار گردید و پس از مدت زمان انکوباسیون، کدورت چاهک‌ها توسط دستگاه ELISA Reader (مدل800 ELX ساخت شرکت BioTek آمریکا) در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. وجود کدورت (در مقایسه با ردیف کنترل منفی) حاکی از رشد باکتری و شفافیت نشان‌دهنده عدم رشد باکتری می‌باشد. با مقایسه کدورت چاهک‌های تحت تیمار با نانوذره و باکتری و چاهک‌های شاهد، رشد باکتری در مقابل نانوذرات مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت میزان MIC مشخص شد. پایین‌ترین غلظتی از نانوذره که در آن هیچ‌گونه رشدی از باکتری مشاهده نشد (فاقد کدورت ناشی از رشد باکتری) به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی یا MIC در نظر گرفته شد و به صورت میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش گردید. قابل ذکر است در این مطالعه سوسپانسیون میکروبی با غلظت نهایی ۱۰۵ CFU/ml به هر چاهک اضافه شده است. از محیط کشت به تنهایی و سوسپانسیون باکتریایی به تنهایی به ترتیب به عنوان کنترل منفی و کنترل مثبت استفاده شد. از باکتری بدون عصاره به عنوان کنترل مثبت و از محیط کشت به تنهایی به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. قابل ذکر است از آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین برای مقایسه اثرات ضدباکتریایی آن با ترکیبات مورد مطالعه استفاده شد.

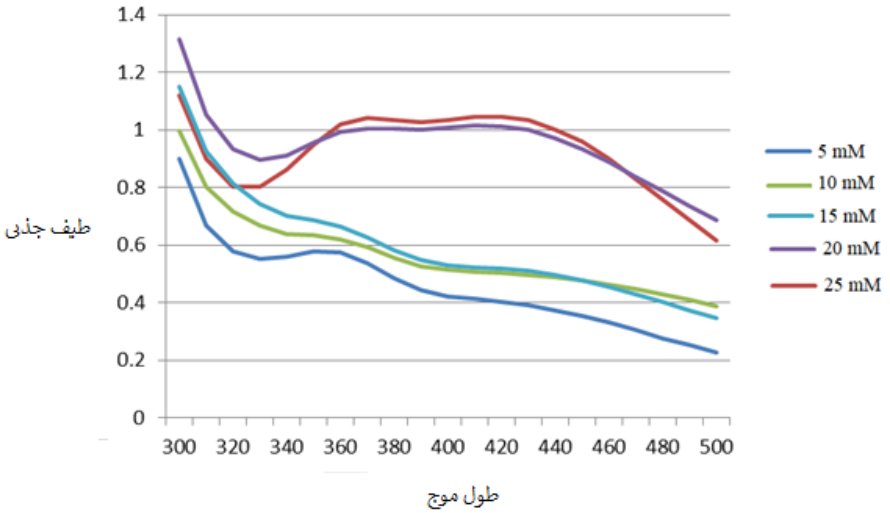
تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های مربوط به سایز نانوذرات نقره سنتزشده به روش شیمیایی و نانوذرات نقره سنتزشده با عصاره گیاه گرگ تیغ، به وسیله دستگاه DLS با سه بار تکرار اندازه‌گیری و میانگین حاصل به عنوان نتیجه در این مطالعه ثبت گردید. همچنین نتایج اثرات ضد میکروبی با استفاده از آزمون Chi-squared مورد ارزیابی قرار گرفت. سطح معنی داری در این آزمون 0.05 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

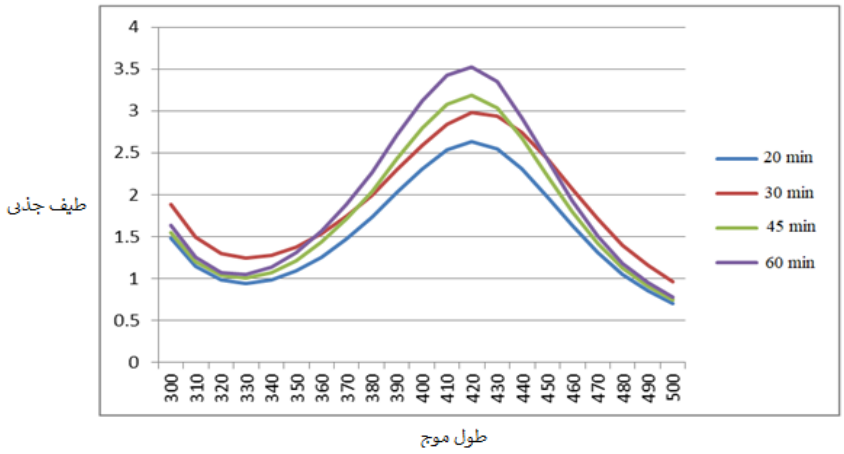
تعیین مشخصات نانوذرات سنتز شده

آنالیز UV-Vis: در این مطالعه به منظور تأیید تشکیل نانوذرات نقره و تعیین تاثیر پارامترهای مختلف در تشکیل نانوذرات از طیف UV-Visدر طول موج ۳۰۰–۵۰۰ نانومتر استفاده گردید. به منظور تعیین بهینه‌ترین غلظت نیترات نقره برای تشکیل نانوذرات به کمک عصاره گیاه، غلظت‌های ۲۵–۵ میلی مولار نیترات نقره مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات گذشته نشان داده است که با افزایش غلظت نیترات نقره، نانوذرات بیشتری تشکیل می‌شود. بررسی‌های طیف جذبی نانوذرات (نمودار ۱) نشان دهنده افزایش شدت نوار جذبی با افزایش غلظت نیترات نقره تا غلظت ۲۵ میلی مولار بوده بنابراین ۲۵ میلی مولار بهترین غلظت بهینه نیترات نقره می‌باشد. می توان نتیجه گرفت که وقتی شدت پیک با افزایش غلظت نیترات نقره افزایش می‌یابد، رنگ محلول تیره‌تر می‌شود.



نمودار ۱. طیف جذبی نانوذرات سنتز شده در غلظت‌های مختلف نیترات نقره

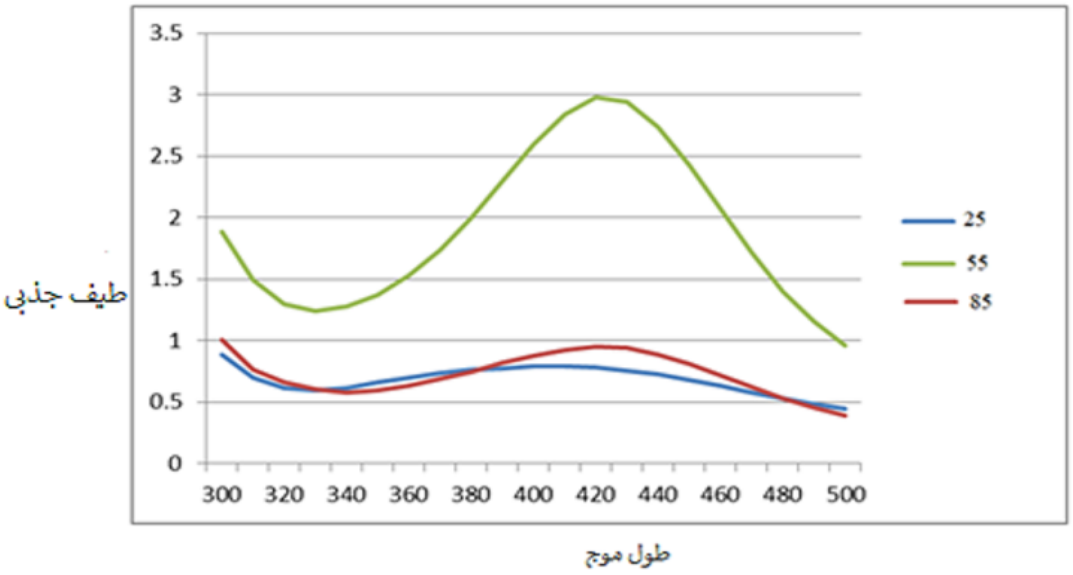
نمودار ۲ جذب UV محلول نانوذره را در زمان‌های مختلف نشان می‌دهد. همان گونه که مشاهده می‌شود با افزایش زمان شدت جذب نیز افزایش می‌یابد و در مدت زمان ۶۰ دقیقه بیشترین شدت جذب مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده بهینه‌ترین زمان واکنش برای انجام این واکنش است.



نمودار ۲. طیف جذبی نانوذرات سنتز شده در زمان‌های مختلف نیترات نقره

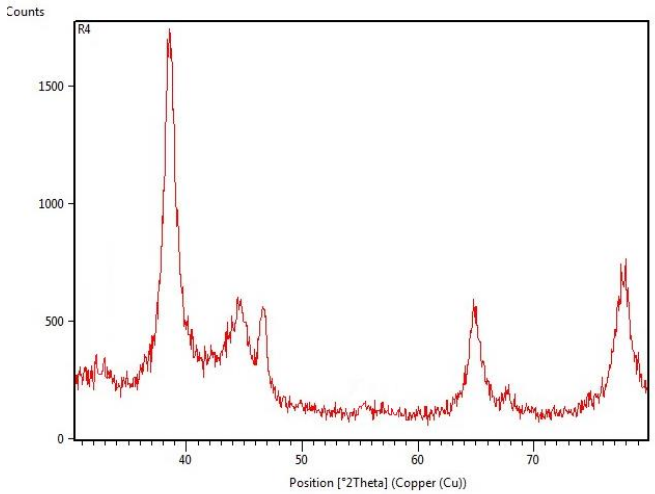
نمودار ۳ نشان‌دهنده بررسی تشکیل نانوذرات در دماهای مختلف می‌باشد. تجزیه و تحلیل طیف جذبی نانوذرات در دماهای مختلف نشان داد با افزایش دما تا ۵۵ شدت جذب افزایش یافته و همچنین پیک جذبی نیز به سمت طول موج‌های کوتاهتر گرایش

پیدا کرده است که نشان‌دهنده کاهش سایز نانوذرات می‌باشد. بنابراین دما ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای انجام این واکنش به عنوان بهترین دما در نظر گرفته شد.



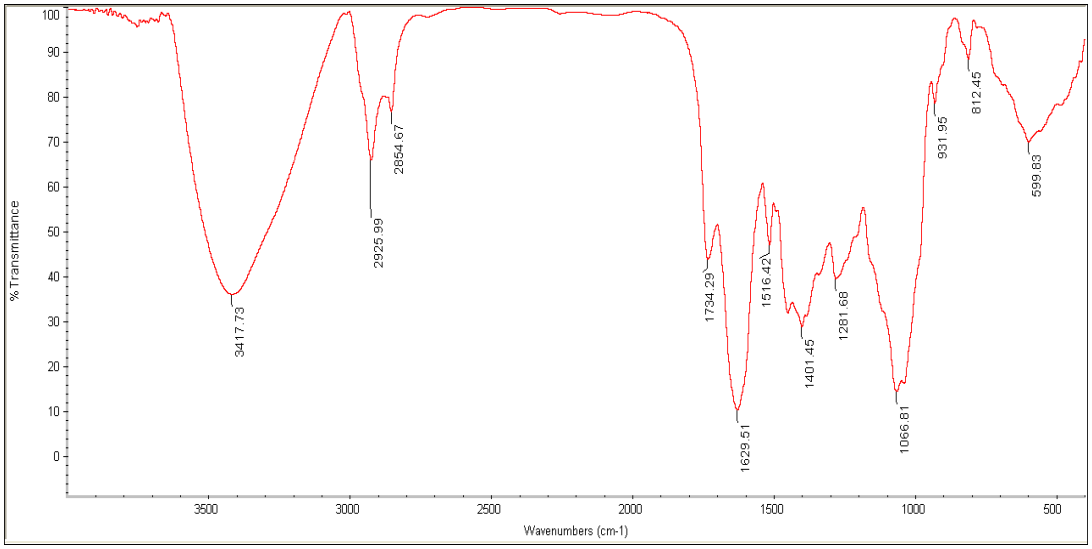
نمودار۳. طیف جذبی نانوذرات سنتز شده در دماهای مختلف نیترات نقره

آنالیز XRD: به منظور تعیین ساختار کریستالی و خلوص نانو ذرات سنتز شده، از آنالیز XRD استفاده شد. نتایج آنالیز XRD در شکل ۱ قابل مشاهده است. همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است هیچ‌گونه ناخالصی‌ای در طیف XRD مشاهده نمی‌شود و تمامی پیک‌ها مربوط به نانوذرات نقره سنتز شده می‌باشد که نشان دهنده خلوص بالای نانوذرات سنتز شده است و مطابق با پراش استاندارد نقره می‌باشد (JCPDS 01-087-0717). نتایج XRD پیک‌هایی در زوایای ۳۸,۲، ۴۴,۴، ۶۴,۸ و ۷۷,۸ نشان می‌دهد که به ترتیب مربوط به ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰ و ۳۱۱ صفحات براگ می‌باشد.

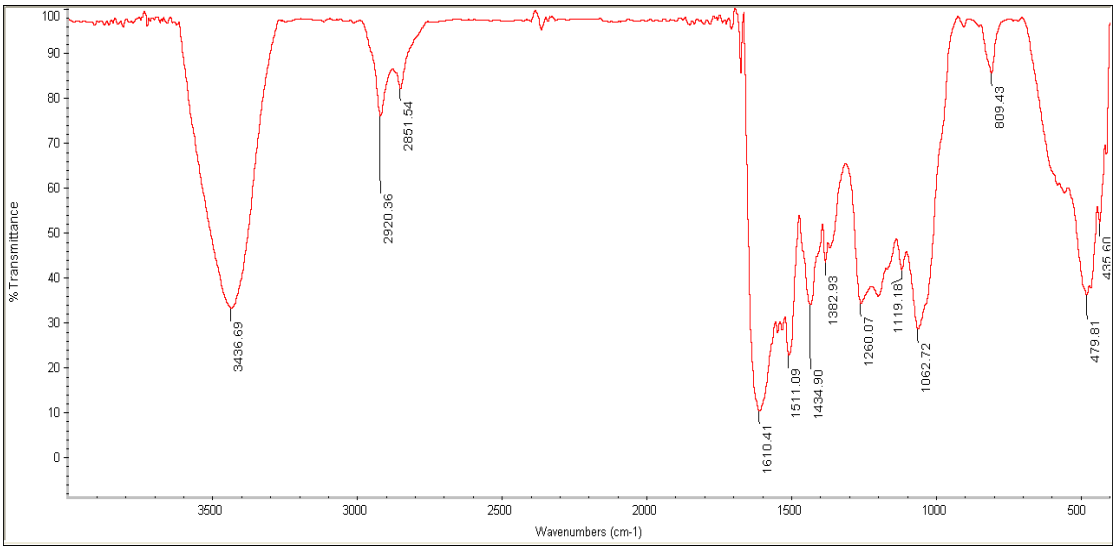


شکل ۱. الگوی پراش اشعه ایکس نانو ذرات نقره سنتز شده با عصاره برگ گیاه گرگ تیغ

آنالیز طیف FT-IR: نتایج آنالیز FT-IR مربوط به عصاره گیاه و نانوذرات سنتزشده در شکل۲ و۳ به ترتیب قابل مشاهده است. آنالیز FT-IR نشان دهنده گروه‌های عملکردی موجود در عصاره گیاه و همچنین نانوذرات سنتز شده است. طیف FT-IR عصاره گیاه (شکل۲) باندهای جذبی در ۳۴۱۷٫۷، ۲۹۲۵٫۹، ۱۶۲۹٫۵، ۱۴۰۱٫۴، ۱۲۸۱٫۶، ۱۰۶۶٫۸ و ۸۱۲٫۴ نشان می‌دهد که به ترتیب مربوط به کشش OH، کشش C-H، کشش C=O، آروماتیک C-H، C-O، C-O-C و C-H مربوط به گروه آلکن‌ها می‌باشد. علاوه بر این شکل۳ طیف FT-IR مربوط به نانوذرات سنتز شده با استفاده از عصاره گیاه را نشان می‌دهد.

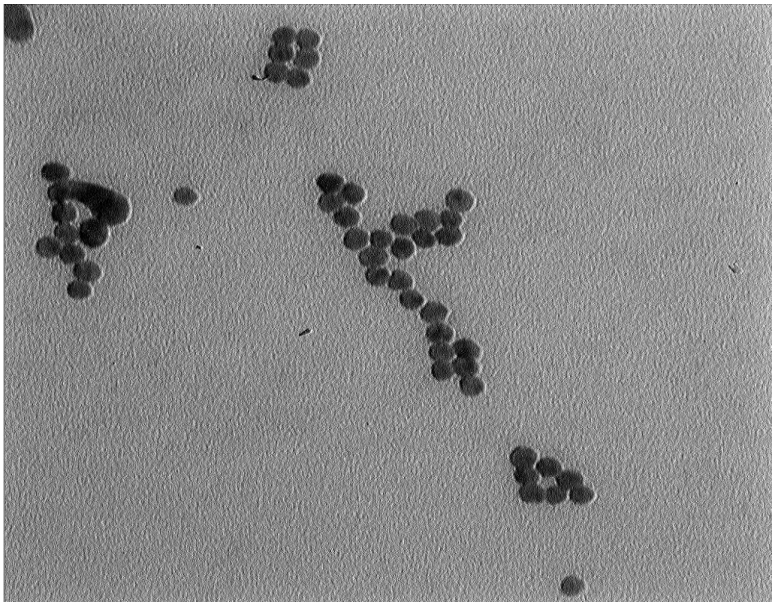


شکل۲. طیف FT-IR عصاره گیاه گرگ تیغ



شکل۳. طیف FT-IR نانوذرات نقره سنتز شده

آنالیز TEM: از آنالیز TEM به منظور بررسی دقیق اندازه و مورفولوژی نانوذرات استفاده می‌شود. تصاویر TEM (شکل ۴) نانوذرات سنتزشده نشان می‌دهد که نانوذرات سنتز شده ساختاری کروی در حدود اندازه ۲۵–۱۵ نانومتر می‌باشند.



شکل٤. تصویر TEM نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره برگ گیاه گرگ تیغ

نتایج حاصل از تعیین حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC)

در این مطالعه، اثر ضدباکتریایی عصاره آبی گیاه گرگ تیغ به تنهایی، عصاره آبی گیاه گرگ تیغ همراه با نانوذره نقره و نانوذره نقره به تنهایی به ترتیب با غلظت‌های ۲۰، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر جهت بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی بر روی باکتری‌های *اشریشیاکلای، سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه، استافیلوکوکوس اورئوس و انتروکوکوس فکالیس* مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان MIC نانوذرات نقره شیمیایی و عصاره گیاه گرگ تیغ برای باکتریهای مورد بررسی در جدول۱ بیان شده است. کوچکتر بودن میزان MIC به معنی بالاتر بودن اثر آنتی‌باکتریال است. نتایج آن بیان می‌کند که نانوذرات نقره و عصاره گیاه گرگ تیغ هر یک به تنهایی اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی بر باکتری‌های مورد مطالعه نداشته، درحالی که نانوذره نقره بیوسنتز شده با گیاه گرگ تیغ اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی بر باکتریهای مورد مطالعه داشت. این مطالعه نشان داد که نانوذره سنتز شده با عصاره آبی گیاه گرگ تیغ بر روی سه باکتری *اشریشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس* به طور معنی‌داری در مقایسه با عصاره آبی به تنهایی اثر مهاری داشته است ($P<۰/۰۵$). در این مطالعه نانوذره نقره بیوسنتزشده با گیاه گرگ تیغ فعالیت بازدارندگی قوی با MIC ۱/۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر بویژه در برابر باکتری‌های *اشریشیاکلای، سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه و انتروکوکوس فکالیس* از خود نشان داد. همچنین بیشترین فعالیت بازدارندگی عصاره گیاه گرگ تیغ برای دو باکتری کلبسیلا پنومونیه و انتروکوکوس فکالیس با MIC ۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. از طرفی نانوذرات نقره بیوسنتز شده در برابر باکتری *اشریشیاکلای* با MIC ۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین فعالیت باز دارندگی باز دارندگی را از خود نشان داد.

میزان MIC آنتی‌بیوتیک (تتراسایکلین) برای باکتری‌های مورد بررسی در جدول ۱ نشان می‌دهد که میزان MIC آنتی‌بیوتیک مورد استفاده به میزان قابل توجهی برای دو باکتری *اشریشیا کلای و استافیلوکوکوس اورئوس* کمتر از عصاره گرگ تیغ به تنهایی و همچنین نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه گرگ تیغ است. در حالی که میزان MIC آنتی‌بیوتیک مورد استفاده برای سه باکتری *سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه و انتروکوکوس* فکالیس بیشتر از عصاره گرگ تیغ به تنهایی و همچنین نانوذرات نقره سنتزشده با عصاره گیاه گرگ تیغ است. در مجموع نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گرگ تیغ اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی بر باکتری‌های مورد مطالعه در مقایسه با نانوذره نقره به روش شیمیایی و همچنین گیاه گرگ تیغ به تنهایی داشته است.

جدول ۱. مقدار MIC عصاره آبی گیاه گرگ تیغ به تنهایی، عصاره آبی گیاه گرگ تیغ همراه با نانوذره نقره و نانوذره نقره به تنهایی بر روی سویه‌های باکتری‌های مورد نظر

میکروارگانیسم	تتراسایکلین	نانوذره نقره + عصاره (5mg/ml)	عصاره گرگ تیغ (20mg/ml)	نانوذره نقره (10mg/ml)	pvalue
اشریشیا کلای ATCC25922	۰/۹۷	۱/۲۵	۵	۱/۲۵	P<۰/۰۵
سودوموناس آئروژینوزا ATCC27853	۳/۹	۱/۲۵	۵	۲/۵	P<۰/۰۵
کلبسیلا پنومونیه ATCC9997	۷/۸	۱/۲۵	۲/۵	۵	P<۰/۰۵
استافیلوکوکوس اورئوس ATCC25923	۰/۹۷	۲/۵	۱۰	۵	P<۰/۰۵
انتروکوکوس فکالیس ATCC29212	۷/۸	۱/۲۵	۲/۵	۲/۵	P<۰/۰۵

بحث

با افزایش مقاومت باکتری‌ها به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها، مطالعات مختلفی جهت دستیابی و استفاده از ترکیبات گیاهی جهت درمان بیماریهای مختلف صورت گرفت. امروزه تمایل محققان و پژوهشگران به سمت ترکیبات طبیعی و گیاهای با خواص ضدمیکروبی معطوف شده است. انواع مختلفی از گیاهان و عصاره‌ها و اسانس‌های آن در مهار رشد باکتری در شرایط آزمایشگاهی موفق بوده اند. از جمله دلایل تمایل و تمرکز بر گیاهان کم خطر بودن، در دسترس بودن و فراوان بودن آنها است [۱۱]. در این مطالعه با استفاده از عصاره گیاه گرگ تیغ به روش احیای زیستی، نانوذرات نقره سنتز گردید. احیای یون‌های نمک آنها و در واقع خنثی شدن بار الکتریکی اساس سنتز نانوذرات می‌باشد. عصاره گیاه گرگ تیغ دارای ترکیبات پلی‌ساکاریدی، آنتی‌اکسیدانی، آلکالوئیدها، گلیکوپپتیدها، گلیکوپروتئین ها و توکوفرول ها و همچنین به مقدار اندکی در میوه‌ی این گیاه فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک، استرول‌ها و بتائین وجود دارد که می‌تواند پتانسیل بالایی برای کاهش نانوذرات از جمله نقره داشته باشد. پیک جذبی نانوذرات نقره حدوداً در طول موج ۴۳۰ نانومتر می‌باشد که بسته به شرایط و اندازه ذرات، محل پیک جذبی تغییر می‌کند. در واقع، دانستن محدوده پیک جذبی به ما اطلاعاتی در مورد اندازه ذرات هم میدهد. طیفهای Vis-UV ثبت شده به طور کامل نشان دهنده افزایش ارتعاشات پلاسمون سطحی در طول موج ۴۳۰ نانومتر است که با نتایج حاصل از پژوهش Walelign WubetMelkamu و همکاران مشابه بود. نقره در حالت تودهای دارای پیک جذبی در طول موج ۳۱۶ نانومتر است. در حالی که پیک تشکیل شده در طول موج ۴۰۰ تا ۴۵۰ نانومتر، نشان دهنده تشکیل نانوذرات نقره و مربوط به رزونانس پلاسمون سطحی (Surface plasmon resonance) نانوذرات نقره می‌باشد که به القای الکترونهای آزاد در نانوذرات نسبت داده می‌شود. بنابراین، پیکی که در حدود ۳۱۶ نانومتر در مطالعه حاضر دیده شده مربوط به نقره تودهای می‌باشد و تنها پیک در طول موج ۴۳۰ نانومتر به نانوذرات نقره مربوط میشود. اکسایش گروههای عاملی عصاره گیاه گرگ تیغ مانند هیدروکسیل، کربونیل، آلدئید میتواند باعث کاهش یون‌های نقره و پدیده رزونانس پلاسمون سطحی شود که نتیجه این امر تولید نانوذرات نقره می‌باشد. آنالیز طیف سنجی فرو سرخ تبدیل فوریه (FTIR) جهت شناسایی گروه‌های فعال و گروه‌های عاملی احیاکننده یونهای نقره استفاده شد. با مقایسه این دو طیف (شکل۱ و۲) می‌توان به وجود گروه‌های عاملی فراوان در ترکیب سنتز شده با استفاده از عصاره نسبت به روش شیمیایی پی برد، گروه‌های همچون فنولی و غیره. همانطور که مشاهده می‌شود، نوارهای موجود در طول موج ۳۳۲۳ می‌تواند مربوط به وجود پیوند کششی گروه هیدروکسیل فنولها و الکل‌ها، نوارهای موجود در طول موج ۲۹۲۴ می‌تواند مربوط به گروه‌های CH آلکان، نوارهای موجود در طول موج ۱۶۵۲ می‌تواند مربوط به گروههای کربونیل، نوارهای موجود در طول موج ۱۴۴۹ می‌تواند مربوط به گروه‌های کششی CH3-، نوارهای موجود در طول موج ۱۲۷۶ می‌تواند مربوط به گروههای آمین باشد. نوارهای موجود در طول موج ۱۰۷۶ می تواند مربوط به گروه‌های C-O کربوکسیلیک اسید باشد. لذا باتوجه به مقایسه نمودارهای نانوذرات می‌توان بیان نمود که خاصیت بیشتر ضدباکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه گرگ تیغ به علت وجود گروههای فنولی، استری، آمیدی و پیوندهای C-H می‌باشد. اثرات ترکیبات فنولیک بصورت تخریب دیواره سلولی و پروتئین منجر به تداخل در کار آنزیم‌های غشایی و بر روی سنتز DNA و RNA اثرگذار است. براساس نتایج مطالعه حاضر میزان MIC عصاره

گیاه گرگ تیغ برای باکتری اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا برابر با ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در حالی که برای کلبسیلا پنومونیه و انتروکوکوس فکالیس برابر با ۲,۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و نهایتا برای استافیلوکوک اورئوس برابر ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد. در مطالعه محمد دوستعلی و همکاران بررسی اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی عصاره‌ی اتیل استاتی ریشه و عصاره‌های اتیل استاتی وآبی‌میوه گیاه گرگ تیغ بر روی برخی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی، مخمر کاندیدا آلبیکنز و قارچ آسپرژیلوس نیگر در شرایط آزمایشگاهی انجام شد [۱۲]. نتایج آنها نشان داد که بیان شد که MIC هرسه عصاره مورد نظر از گیاه گرگ تیغ بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد که کمتر از عدد گزارش شده توسط مطالعه ما، بود که با مطالعه انجام شده توسط ما همخوانی داشت. همچنین میزان MIC عصاره اتیل استاتی از ریشه و میوه گیاه گرگ تیغ بر روی باکتری اشریشیاکلی ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر و MIC عصاره آبی‌میوه گیاه گرگ تیغ بر روی این باکتری ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد که کمتر از عدد گزارش شده توسط مطالعه ما، بود. از طرف دیگر میزان MIC عصاره اتیل استاتی و عصاره آبی از میوه گیاه گرگ تیغ بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا برابر با ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد .همچنین MIC عصاره اتیل استاتی از ریشه این گیاه بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا برابر با ۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد که این عدد هم کمتر از عدد گزارش شده توسط مطالعه ما، بود. در مطالعه‌ی آنها نشان داده شده که عصاره های این گیاه اثرات ضدمیکروبی قابل توجهی بر روی میکرو ارگانیسم‌های مورد نظر دارد. نتایج مطالعه توسط Andrei Mocan و همکاران که اثرات ضدمیکروبی عصاره گل گیاه گرگ تیغ بر روی تعدادی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بررسی شد، نشان داد که MIC عصاره گل گیاه گرگ تیغ بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس ۷۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر که به طور قابل توجهی بیشتر از مطالعه حاضر بود که از این نظر با مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد، از طرف دیگر مطالعه‌ی آنها نشان داد که MIC عصاره گل گیاه گرگ تیغ بر روی باکتری اشریشیاکلی ۱۰۰< میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که از این جهت با نتایج پژوهش حاصل مطابقت داشت. در کل نتیجه آنها نشان داد که بهترین فعالیت ضد باکتریایی عصاره گل گیاه گرگ تیغ در برابر استافیلوکوکوس اورئوس بود، اما برعکس در مطالعه حاضر کمترین فعالیت عصاره گیاه گرگ تیغ در برابر استافیلوکوکوس اورئوس بود. در مطالعه انجام شده توسط Andrei Mocan و همکاران بیان شد که MIC عصاره پلی فنلی گیاه گرگ تیغ بر روی باکتری استافیلوکوک اورئوس ۱۰۰< میکروگرم بر میلی لیتر بود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد [۱۳] از طرف دیگر مطالعه آنها نشان داد که MIC عصاره گل گیاه گرگ تیغ بر روی باکتری *اشریشیاکلی* ۱۰۰ ug/ml بود که این عدد کمتر از نتایج مطالعه حاضر است.به طور کلی نتایج مطالعه‌ی آنها که هم راستای مطالعه حاضر است نشان داد که استافیلوکوک اورئوس کمترین حساسیت را به عصاره‌ی پلی‌فنلی گیاه گرگ تیغ دارد. از جمله دلایل این عدم همخوانی در مطالعات مختلف می‌توان به تفاوت در محل رشد متفاوت گیاه گرگ تیغ، روش عصاره گیری و همچنین نوع عصاره اشاره کرد. در مطالعه انجام شده حاضر بیشترین اثرضدباکتریایی نانوذرات نقره بر روی باکتری *اشریشیاکلی* (کمترین MIC) نسبت به باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا، انتروکوک فکالیس، کلبسیلا پنومونیه* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد.در مطالعه انجام شده توسط Maribel Guzman. و همکاران تحت عنوان " بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره علیه باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی" نشان داد که میزان MIC برای هر سه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا* ۱۴,۳۸µg/ml بود که نسبت به مطالعه حاضر بسیار کمتر بود و احتمالا به دلیل تفاوت در روش سنتز نانوذره نقره با مطالعه حاضر همخوانی نداشت [۱۴]. نتایج مطالعه انجام‌شده توسط Maribel Guzman و همکاران نشان داد که میزان MIC باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*(MIC=۱۵۰۰µg/ml) نسبت به *اشریشیاکلی* (MIC=۱۷۰۰µg/ml)، *سودوموناس آئروژینوزا* (۱۶۰۰µg/ml =MIC) کمتر بود (حساسیت این باکتری نسبت به نانوذرات در مقایسه با سایر باکتری‌ها نسبت به نانوذرات نقره بیشتر بود) که با مطالعه انجام شده توسط مطالعه حاضر در یک راستا نبود. از جمله دلایل تفاوت در مطالعات مختلف به علت تفاوت در سایز، قطر و شکل نانوذرات است. دلیل اثرات نانوذرات نقره بر روی باکتری‌ها را می‌توان به کوچک بودن قطر یونهای نقره و در نتیجه نفوذپذیری بیشتر این نانوذرات نسبت داد. Moudgi و همکارانش نشان دادند که تأثیرات نانوذرات بر روی سلولهای موجودات زنده به قطر، اندازه و شکل نانوذرات بستگی دارد. نانوذرات نقره به دلیل اندازه کمی که دارند، سطح تماس بیشتری با فضای بیرون داشته و تأثیر بیشتری برغشای سلولها می‌گذارند [۱۵].کاهش اندازه و افزایش نسبت سطح به حجم به عنوان عامل افزایش واکنش‌پذیری نانوذره شده و متقابلا به عنوان مهمترین فاکتور برای افزایش سمیت نانوذرات ذکر شده است. نانو ذرات نقره به دلیل اندازه کوچکتر، در نتیجه سطح تماس بیشتری با محیط و میکروارگانیسمها پیدا می‌کند، که این امر منجر به افزایش فعالیت بیولوژیک و شیمیایی آنها می‌شود و در نتیجه تاثیر بیشتری بر غشای سلول می‌گذارد

[۱۸-۱۶] .در غلظت های پایین نانو – ذرات به دلیل کم بودن تعداد نانوذرات، میزان برهم کنش ذرات با غشاء سلولی باکتری کم و در نتیجه قدرت بازدارندگی نانو – ذرات پایین است، در نتیجه میزان باز دارندگی و تشکیل هاله کمتر است. به همین دلیل همواره غلظتی متعادل از نانو ذرات جهت مقابله با رشد باکتریها مطلوب است .علاوه بر این ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانو ذره نیز بر عملکرد آنها بسیار موثر است. [۱۹-۲۰]. بهینه سازی روش تولید و تعیین مناسب‌ترین شرایط که شامل غلظت نمک نیترات نقره و مدت زمان موثر در معرض بودن نور آفتاب بر مهمترین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نانوذره یعنی پایداری، شکل و اندازه اثرگذار است. بنابراین بهینه سازی هریک از این شرایط نقش تعیین کننده‌ای در بهترین عملکرد ضدمیکروبی نانوذره دارد. نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد مکانیسم مهارکنندگی نانوذرات نقره به عملکرد یونهای نقره در محلول کلوئیدی برمی‌گردد. [۲۳-۲۱] مکانیسم عمل نقره را به برهمکنش آن با ترکیبات گروه تیول موجود در آنزیم‌های تنفسی سلول‌های باکتریایی ارتباط می‌دهند. نقره به دیواره سلولی و غشاء سلول باکتری متصل شده و فرآیند تنفس را مهار می‌کند. تمایل زیاد نقره به گوگرد و فسفر کلید اصلی خواص ضدباکتری آن است. گوگرد و فسفر به وفور در سراسر غشای سلولی باکتری یافت می‌شوند.[۲۶-۲۴] نانوذرات نقره با پروتئین‌های حاوی سولفور در داخل یا خارج از غشای سلولی واکنش می‌دهند که این به نوبه خو د روی زنده ماندن سلول‌ها تاثیر می‌گذارد. همچنین شکل نانوذره (کروی، ستارهای، میله‌ای) و اندازه آن در چگونگی اثرات فیزیولوژیک آن بر سلول‌های زنده اثر می‌گذارد[۲۷ -۲۸]. از جمله خصوصیات مهم ذرات نانوذره نقره می‌توان به تأثیر بسیار زیاد و سریع، پایداری زیاد، سازگاری با محیط زیست، مقاومت در برابر حرارت، عدم ایجاد و افزایش مقاومت و سازگاری میکروارگانیسم اشاره نمود [۲۹] . همچنین نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن بود که میانگین میزان MIC نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره گیاه گرگ تیغ بر روی باکتری‌های مورد بررسی در مطالعه کمتر از نانوذرات نقره سنتز شده به روش شیمیایی و همچنین عصاره گیاه گرگ تیغ به تنهایی بود. این موضوع در چندین مطالعه دیگر از جمله مطالعه‌ی Khatoon و همکاران در سنتز نانو ذرات نقره با استفاده از عصاره گیاه نعناع فلفلی (Mentha piperita) ، Zargar و همکاران از عصاره گیاهی هنده بید (Vitex negunda) جهت تهیه نانوذرات نقره و مطالعه هاشمی نژاد و همکاران در سنتز نانو ذرات نقره با استفاده از عصاره میوه گیاه زنیان نشان داده شده است [۳۰ -۳۳]. علت این موضوع ذرات نانوسیلور با باکتری‌ها و قارچها مواجه شوند، سیستم تنفسی آنها را از کار می‌اندازند، که این عمل باعث می شود متابولیسم سلولی آنها مختل شده و از رشدسلول جلوگیری شود.نانوذرات نقره با القای مرگ برنامه ریزی‌شده سلولی (Apoptosis) نیز می‌تواند باعث تخریب تخصصی باکتری‌ها گردد [۳۶-۳۴.]

نتایج نشان داد که غلظت نیترات نقره، دما و زمان واکنش نقش مهمی در اندازه و سایز نانوذرات تشکیل شده دارد. همچنین تشکیل نانوذرات نقره به وسیله آنالیزهای مختلفی تایید شد. آنالیز XRD و TEM تشکیل نانوذراتی با خلوص بالا و مورفولوژی کروی و بیضوی با اندازه میانگین ۲۵-۱۵ نانومتر را تایید کرد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نانوذرات نقره سنتزشده با عصاره گیاه گرگ تیغ دارای اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی هستند که می‌توان از این ترکیب پس از انجام مطالعات بیشتر بر روی مدل‌های حیوانی می‌تواند به عنوان یک گزینه درمانی مناسب با توجه به عوارض آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان برخی از عفونت‌های ضدمیکروبی استفاده کرد.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچگونه تضاد منافعی وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله حاصل پایان‌نامه دکتری با شناسه اخلاق IR.BUMS.REC.1400.032 از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بیرجند می باشد.

تقدیر و تشکر

پژوهشگران و نویسندگان این مقاله بر خود ملزم می‌دانند مراتب تقدیر و تشکر خود را از همکاران آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی، به ویژه آقای افتخاری که ما را در به ثمر رساندن این تحقیق یاری نمودند، به آگاهی برسانند.

References

1. Frieri M, Kumar K, Boutin A. Antibiotic resistance. J Infect Public Health. 2017;10(4):369-78.
2. Wang H, Li J, Tao W, Zhang X, Gao X, Yong J, et al. Lycium ruthenicum studies: molecul biol, phytochemistry and pharmacol. Food Chem 2018;240:759-66.
3. Hasan S. A review on nanoparticles: their synthesis and types. Res J Recent Sci.2015;2277:2502.
4. Xu L, Wang Y-Y, Huang J, Chen C-Y, Wang Z-X, Xie H. Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. Theranostics. 2020;10(20):8996.
5. Yin IX, Zhang J, Zhao IS, Mei ML, Li Q, Chu CH. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. Int J Nanomed 2020;15:2555.
6. Rao S, Kang X, Li J, Chen J. Induction, identification and characterization of tetraploidy in Lycium ruthenicum. Breed Sci 2019;18144.
7. Franci G, Falanga A, Galdiero S, Palomba L, Rai M, Morelli G, et al. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. Molecules 2015;20(5):8856-74.
8. Inweregbu K, Dave J, Pittard A. Nosocomial infections. Continuing Education in Anaesthesia, Crit Care Pain. 2005;5(1):147.
9. Emori TG, Gaynes RP. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. Clin Microbiol Rev. 1993;6(4):428-42.
10. Zabihi M, Eghbaliferiz S, Khorashadizadeh M, Mortazavi-Derazkola S, Yousefi M. Green synthesis of non-toxic silver nanoparticles using Salvia tebesana Bunge extract: Optimization, cytotoxicity, and antibacterial activities. Results Chem. 2024;7: 101510.
11. Sikora A, Zahra F. Nosocomial infections. 2023; StatPearls [Internet]: Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559312/
12. Darvishi M, Forootan M, Nazer MR, Karimi E, Noori M. Nosocomial Infections, Challenges and Threats: A Review Article. Iranian J Med Microbiol 2020;14(2):162-81.
13. Samuel S, Kayode O, Musa O, Nwigwe G, Aboderin A, Salami T, et al. Nosocomial infections and the challenges of control in developing countries. African J Clin Exp Microbiol 2010;11(2).102-10.
14. Guzman M, Dille J, Godet S. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. Nanomed. 2012;8(1):37-45.
15. Seibert G, Hörner R, Meneghetti BH, Righi RA, Forno NLFD, Salla A. Nosocomial infections by Klebsiella pneumoniae carbapenemase producing enterobacteria in a teaching hospital. Einstein (São Paulo). 2014;12:282-6.
16. Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C. Escherichia coli in Europe: an overview. Int J Environ Res Public Health. 2013;10(12):6235-54.
17. Obritsch MD, Fish DN, MacLaren R, Jung R. Nosocomial infections due to multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa: epidemiology and treatment options. Pharmacotherapy: J Human Pharmacol Drug Ther. 2005;25(10):1353-64.
18. Kao PHN, Kline KA. Dr. Jekyll and Mr. Hide: how Enterococcus faecalis subverts the host immune response to cause infection. J Molecular Biol. 2019;43(16):2932-45.
19. Kramer TS, Schröder C, Behnke M, Aghdassi SJ, Geffers C, Gastmeier P, Remschmidt C. Decrease of methicillin resistance in Staphylococcus aureus in nosocomial infections in Germany-a prospective analysis over 10 years. J Infect 2019;78(3):215-19.
20. Aslam B, Wang W, Arshad MI, Khurshid M, Muzammil S, Rasool MH, et al. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. Infect Drug Resist 2018;11:1645.
21. Yelin I, Kishony R. Antibiotic resistance. Cell. 2018;172(5);1136.
22. Sultan I, Rahman S, Jan AT, Siddiqui MT, Mondal AH, Haq QMR. Antibiotics, resistome and resistance mechanisms: a bacterial perspective. Front Microbiol. 2018;9:2066.
23. Wilson DN, Hauryliuk V, Atkinson GC, O'Neill AJ. Target protection as a key antibiotic resistance mechanism. Nat Rev Microbiol 2020;18(11):637-48.
24. Sahoo N, Manchikanti P, Dey S. Herbal drugs: standards and regulation. Fitoterapia. 2010;81(6):462-71.
25. Zheng J, Ding C, Wang L, Li G, Shi J, Li H, et al. Anthocyanins composition and antioxidant activity of wild Lycium ruthenicum Murr. from Qinghai-Tibet Plateau. Food Chemis. 2011;126(3):859-65.
26. Valizadeh H, Mahmoodi Kordi F, Koohkan R, Bahadori MB, Moridi Farimani M. Isolation and structure elucidation of coumarin and cinamate derivatives from Lycium ruthenicum. Iran Chem Commun. 2014;2(4):236-325.
27. Koohkan r, mahmoudikordi f, bahadori m, valizadeh h. phytochemical investigation of lycium ruthenicum from iran. 3rd National Cong Med Plant. 2014.
28. Jiang Y, Fang Z, Leonard W, Zhang P. Phenolic compounds in Lycium berry: Composition, health benefits and industrial applications. J Func Foods 2021;126(3):859-65.
29. Panigrahi S, Kundu S, Ghosh S, Nath S, Pal T. General method of synthesis for metal nanoparticles. J Nanoparticle Res. 2004;6(4):411-4.
30. Mulfinger L, Solomon SD, Bahadory M, Jeyarajasingam AV, Rutkowsky SA, Boritz C. Synthesis and study of silver nanoparticles. J Chem Edu. 2007;84(2):322.
31. Wei L, Lu J, Xu H, Patel A, Chen Z-S, Chen G. Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. Drug Dis Today. 2015;20(5):595-601.
32. Abbasi E, Milani M, Fekri Aval S, Kouhi M, Akbarzadeh A, Tayefi Nasrabadi H, et al. Silver nanoparticles: synthesis methods, bio-applications and properties. Critic Rev Microbiol. 2016;42(2):173-80.
33. Abou El-Nour KM, Eftaiha Aa, Al-Warthan A, Ammar RA. Synthesis and applications of silver nanoparticles. Arab j of chem. 2010;3(3):135-40.
34. Ghorbani HR, Safekordi AA, Attar H, Sorkhabadi S. Biological and non-biological methods for silver nanoparticles synthesis. Chem Biochem Engin Quarter 2011;25(3):317-26.
35. Singh R, Shedbalkar UU, Wadhwani SA, Chopade BA. Bacteriagenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications. Applie Microbiol Biotechnol. 2015;99(11):4579-93.
36. Askarifar f, Shafaie E, Sedighi M, Tavakoli kareshk A. Green Synthesis of SilverNanoparticles by Hypericum perforatum extract and Berberine and Evaluation of Their Antibacterial Effects. J Ardabil Univ Med Sci 2023;23(2):262-2

Original Article

Investigating the antibacterial effects of synthesized silver nanoparticles Murry plant using the extract of *Lycium ruthenicum*

Elham Remezani [1], Masoud yousefi[1], Samira eghbali[2], Ebrahim shafaie[1] Amir Tavakoli Kareshk [*1]

Received:16.06.2024 Revised: 27.07/2024 Accepted: 20.09.2024

1. Infectious Diseases Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.
2. Department of Pharmacognosy and Traditional Pharmacy, School of Pharmacy, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.22, No.2, Summer 2024

Pars J Med Sci 2024;22(2):24-35

Abstract:

Introduction: Due to the concerning increase in resistance to traditional antimicrobial drugs, new therapies to fight antibiotic-resistant microorganisms, such as plant-based compounds and nanoparticles, appear necessary. The goal of this research was to examine the antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized using Lycium ruthenicum extract.

Methods & Materials: In this experimental study, Escherichia coli (ATCC25922), Pseudomonas aeruginosa (ATCC27853), Klebsiella pneumoniae (ATCC9997), Staphylococcus aureus (ATCC25923) and Enterococcus faecalis (ATCC29212) were studied. Aqueous extract of L. ruthenicum was prepared. Silver nanoparticles were prepared in combination with L. ruthenicumextract. The MIC of silver nanoparticles was investigated alone and in combination with the L. ruthenicumplant using the broth microdilution method for Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus and Enterococcus faecalis.

Results: The nanoparticle synthesized with the aqueous extract of the Lycium ruthenicum plant had a significant inhibitory effect on E. coli, P. aeruginosa, and S. aureus compared to the aqueous extract alone ($P<0.05$). Also, the highest inhibitory activity of L. ruthenicum extract was for K.pneumoniae and E. faecalis with MIC 2.5 mg / ml. On the other hand, biosynthesized silver nanoparticles against E. coli with MIC 1.25 mg / ml showed the highest inhibitory activity. In general, silver nanoparticles synthesized with L. ruthenicum extract had significant antibacterial effects on the studied bacteria, in comparison with silver nanoparticles by chemical method as well as the plant L. ruthenicum alone.

Conclusion: Silver nanoparticles synthesized with L. ruthenicum extract have significant antibacterial effects, which can be used as a suitable treatment option for antibiotics due to the side effects of antibiotics after further studies on animal models.

Keywords: Silver Nanoparticles, Antibacterial Effects, L. Ruthenicum Extract, Minimal Inhibitory Concentration

* Corresponding author Email: atk9388@gmail.com