Downloaded from zums.ac.ir at 8:22 IRDT on Wednesday June 20th 2018

مجلــه‌ی علمــی، پژوهشــی دانشــگاه علــوم پزشــکی زنجــان
دوره‌ی ۲۳, شماره‌ی ۹۷, خرداد و تیر ۱۳۹۴, صفحات ۹۴ تا ۱۰۲

بررسی اثر آلیسین و نانوذرات نقره بر عفونت پوستی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* در مدل موشی

فاطمه میرزایی[۱]، دکتر مجتبی صلوتی[۲]، دکتر رضا شاپوری[۳]

نویسنده‌ی مسوول: زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی زنجان، معاونت آموزشی saloutim@yahoo.com

دریافت: ۹۲/۱۰/۳ پذیرش: ۹۳/۶/۸

چکیده

زمینه و هدف: *استافیلوکوکوس اورئوس یک پاتوژن مهم در ایجاد طیف گسترده ای از عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد که با توانایی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بالا شناخته شده است. ابداع روش‌های جدید با استفاده از فناوری نانو و ترکیبات موثری از مکانیسم‌های ضد میکروبی مختلف، می‌تواند راهکار مناسبی برای درمان بیماری‌های ناشی از این باکتری باشد. هدف از تحقیق حاضر بررسی خاصیت ضد میکروبی نانوذرات نقره، آلیسین و ترکیب آن‌ها بر علیه عفونت پوستی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس در مدل موشی می‌باشد.*

روش بررسی: *در این مطالعه، حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) برای نانوذرات نقره، آلیسین و ترکیب آن‌ها بر اساس روش تست حساسیت ماکرودایلوشن، بر روی استافیلوکوکوس اورئوس تعیین شد. در ۲۰ سر موش سوری عفونت پوستی با استفاده از استافیلوکوکوس اورئوس ایجاد شد و اثر نانوذرات نقره، آلیسین و ترکیب این دو به منظور بررسی اثر هم افزایی آن ها در عفونت پوستی به صورت پماد بررسی گردید.*

یافته‌ها: *نتایج نشان دادند که MIC و MBC نانوذرات نقره بر روی استافیلوکوکوس اورئوس به‌ترتیب ۶/۲۵ و ۱۲/۵ ذره در میلیون و MIC و MBC آلیسین بر روی باکتری مذکور به‌ترتیب ۱۰/۶۸ و ۲۱/۳۷ میکروگرم در میلی‌لیتر بودند. MIC و MBC ترکیب نانوذرات نقره و آلیسین بر روی استافیلوکوکوس اورئوس به‌ترتیب ۱/۳۳ میکروگرم در میلی‌لیتر، ۳/۱۲ ذره در میلیون و ۲/۶۷ میکروگرم در میلی‌لیتر، ۶/۲۵ ذره در میلیون بودند. مطالعه‌ی مدل موشی اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره، آلیسین و اثر هم افزایی ترکیب آن‌ها بر ضد عفونت پوستی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس را تایید کرد.*

نتیجه‌گیری: *نتایج نشان می‌دهد ترکیب آلیسین و نانوذرات نقره دارای اثر هم‌افزایی علیه عفونت پوستی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد.*

واژگان کلیدی: ***عفونت پوستی، استافیلوکوکوس اورئوس، آلیسین، نانوذرات نقره***

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس یک باکتری گرم مثبت و فرصت طلب شایع در بخش سوانح و سوختگی می‌باشد که به‌عنوان علت اصلی عفونت پوستی و بافت نرم در سراسر جهان شناسایی شده است. عفونت پوستی ناشی از این باکتری اغلب با جوش‌های جزیی و آبسه شروع می‌شود و ممکن است تا عفونت‌های شدید درگیر کننده‌ی عضلات و استخوان‌ها پیشرفت کرده و به ریه‌ها و دریچه‌های قلب انتشار یابد و باعث اندوکاردیت شود (۲و ۱). همچنین *استافیلوکوکوس*

۱- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان
۲- دکترای تخصصی فیزیک پزشکی، دانشیار مرکز تحقیقات بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان
۳- دکترای تخصصی باکتری شناسی، استادیار مرکز تحقیقات بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان

Downloaded from zums.ac.ir at 8:22 IRDT on Wednesday June 20th 2018

اورئوس شایع‌ترین علت عفونت در نوزادان تازه متولد شده، بیماران جراحی شده، افراد پیر و دچار سوء تغذیه، بیماران دیابتی و سایر بیماران مزمن بستری در بیمارستان می‌باشد (۳). استفاده‌ی بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به ظهور مقاومت‌های چند دارویی در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* شده‌است. امروزه ترکیبات ضدمیکروبی گیاهی در زمینه‌ی پزشکی مورد توجه واقع شده‌اند و با گسترش بیماری‌های عفونی، تعداد بیشتری از این گیاهان شناسایی و ترکیبات موثر آن‌ها در درمان بیماری‌ها استفاده می‌شود (۴). یکی از شایع‌ترین عصاره‌های گیاهی که برای اهداف دارویی استفاده می‌شود عصاره‌ی سیر است. سیر با نام علمی *Allium Sativum*، قرن‌هاست که مصرف دارویی دارد. آلیسین که برای اولین بار در سال ۱۹۴۰ از سیر جدا شده است، یکی از فعال‌ترین ترکیبات بیولوژیکی سیر می‌باشد (۵). اثر ضد میکروبی این ماده در برابر بسیاری از ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها گزارش شده است (۶). آلیسین در سیر تازه به‌صورت یک پیش ماده به نام آلئین می‌باشد. زمانی که غشای سلولی سیر با خردشدن یا جویدن تخریب می‌شود پیش ماده‌ی آلئین در تماس با آنزیم آلیناز قرار می‌گیرد و طی یک واکنش شیمیایی آلئین برای تشکیل یک مولکول آلیسین و دو مولکول دی‌سولفید هیدرولیز می‌شود (۷). احتمالا میان‌کنش ترکیبات گوگرددار مانند آلیسین با گروه‌های سولفور آنزیم‌های میکروارگانیسم‌ها مانند تریپسین و سایر پروتئازها، باعث مهار رشد باکتری‌ها می‌شود (۵). در مطالعه‌ی انجام شده توسط یان و همکارانش در سال ۲۰۰۷ اثر ضدمیکروبی ترکیب آلیسین و بتالاکتام‌ها بر روی *سودوموناس آئروژینوزا* و گونه‌های استافیلوکوکوس بررسی شد و آن‌ها وجود اثر هم‌افزایی بین آلیسین و بتالاکتام‌ها بر روی این باکتری‌ها را ثابت کردند (۸). آن‌ها نشان دادند که استفاده از آلیسین دارای عوارض جانبی کم و بدون آنتی‌ژنیسیته بوده و فعالیت ایمونومدولاسیون کمی از خود نشان می‌دهد. در مطالعه‌ی مشابهی خانم شهناز و همکارانش در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که اثر هم‌افزایی قوی بین آلیسین در ترکیب با سیپروفلوکساسین و اندوکساسین بر ضد *سودوموناس آئروژینوزا* وجود دارد (۹). همچنین نشان دادند که هم افزایی اثر ضد میکروبی بین آلیسین با ونکومایسین و کلاریترومایسین بر علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* وجود دارد. در سال ۲۰۰۷ اثر هم‌افزایی روغن سیر و الکل آللیل به‌دست آمده از آلئین سیر، بر روی مخمر توسط چانگ و همکارانش بررسی گردید و آن‌ها نتیجه گرفتند که هر دو به تنهایی خاصیت ضد میکروبی یکسانی دارند ولی در ترکیب با هم اثر ضد میکروبی قابل توجهی از خود نشان می‌دهند (۱۰). امروزه از نانوذرات نقره نیز به‌طور وسیعی در زمینه‌ی پزشکی و جهت مقابله با میکروب‌ها استفاده می‌شود. مطالعات بسیاری نیز عدم سمیت نانوذرات نقره را به‌صورت تماس پوستی تایید کرده‌اند (۱۲و ۱۱). نانوذرات نقره، خاصیت ضد میکروبی قویی علیه طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* از خود نشان می‌دهند (۱۳). در سال ۲۰۰۵ پینگ و همکارانش اثر هم‌افزایی خاصیت ضد میکروبی نانوذرات نقره و بتالاکتام ها را بر روی *اشریشیاکلی* بررسی کردند. آن‌ها نشان دادند که آموکسی سیلین و نانوذرات نقره در ترکیب با هم، اثر ضدباکتریایی قوی‌تری بر روی سلول‌های *اشریشیاکلی* نسبت به‌زمانی که به‌طور جداگانه استفاده می‌شوند، دارند (۱۴). با این‌که مکانیسم عمل نانوذرات نقره بر روی میکروب‌ها هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است ولی احتمالا یون‌های نقره باعث ایجاد آسیب‌هایی در غشای سلولی باکتری‌ها می‌شوند (۱۵). هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره، آلیسین و ترکیب آن‌ها بر ضد عفونت پوستی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌صورت پماد در مدل موشی می‌باشد.

Downloaded from zums.ac.ir at 8:22 IRDT on Wednesday June 20th 2018

روش بررسی

این مطالعه یک مطالعه‌ی تجربی- مداخله‌ای می‌باشد. برای این مطالعه سویه‌ی استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 29213 از مرکز تحقیقات بیولوژی دانشگاه آزاد زنجان تهیه شد. همچنین تعداد ۲۰ سر موش سوری ماده ۶ تا ۸ هفته‌ای از انستیتو پاستور ایران خریداری گردید. سوسپانسیون نانوذرات نقره با غلظت ۴۰۰۰ ذره در میلیون با نام تجاری Nano Colloid از کمپانی NANOCID ، تهران، ایران خریداری شد. برای به‌دست آوردن آلیسین از سیر، در ابتدا سیر خرد و در دمای ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد خشک گردید. بعد از آسیاب به ۸ گرم از پودر سیر ۲۰ میلی‌لیتر آب اضافه شد و به‌مدت ۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک با دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد (۱۶). پس از سانتریفیوژ (۳۰ دقیقه در ۲۰۰g)، ۱۰ میلی‌لیتر از مایع رویی با ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسید فرمیک و متانول مخلوط و مجددا سانتریفوژ گردید (۵ دقیقه در ۲۰۰g). محاسبه مقدار کمّی آلیسین موجود در عصاره‌ی استخراج شده به روش کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC) ذکر شده در بریتیش فارماکوپه توسط شرکت داروسازی کوثر انجام گرفت. برای استاندارد داخلی از بوتیل پاراهیدروکسی بنزوات (BPB) ۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در یک لیتر حجم مساوی از متانول و آب استفاده گردید و مقدار کمّی آلیسین با فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{آلیسین}\% = \frac{s_1 m_2 \times 22/75}{s_2 m_1}$$

S1: سطح زیر منحنی آلیسین

S_2: سطح زیر منحنی بوتیل پاراهیدروکسی بنزوات

m_1: مقدار ماده‌ی مورد آزمایش بر حسب گرم

m^2: مقدار بوتیل پاراهیدروکسی بنزوات

به‌منظور تعیین حداقل غلظت مهار کننده‌ی رشد Minimum inhibitory concentration (MIC) و حداقل غلظت کشنده Minimum bactericidal concentration (MBC) آلیسین، نانو ذرات نقره و ترکیب آن‌ها از روش براث ماکرودایلوشن استفاده شد. از کلونی‌های حاصل از کشت‌های ۲۴ ساعته بر روی محیط مولر هینتون آگار، در سرم فیزیولوژی سوسپانسیونی برابر ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. کدورت باکتریایی ۰/۵ مک فارلند به نسبت ۱:۳۰۰ رقیق گردید تا تعداد باکتری‌ها 5×10^5 CFU/ml شود. برای تعیین MIC و MBC، آلیسین با غلظت‌های ۱۷۱، ۸۵/۵، ۴۵/۷۵، ۲۱/۳۷، ۱۰/۶۸، ۵/۳۴، ۲/۶۷، ۱/۳۳، ۰/۶۶، ۰/۳۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر و نانوذرات نقره با غلظت‌های ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲، ۱/۵، ۰/۷۸ ذره در میلیون و ترکیب آلیسین و نانوذرات نقره با غلظت‌های ذکر شده از هر دو، در محیط کشت مولر هینتون براث تهیه گردید. *استافیلوکوکوس اورئوس* با غلظت 5×10^5 CFU/ml به محیط‌های کشت دارای غلظت‌های مختلف از آلیسین، نانوذرات نقره و ترکیب آلیسین و نانوذرات نقره اضافه شد. در هر سری آزمایش یک لوله به‌عنوان لوله‌ی کنترل در نظر گرفته شد که فاقد ترکیب ضد میکروبی مورد نظر بود. سپس لوله‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. برای تعیین MIC و MBC از مایع داخل هر یک از لوله‌ها ۱۰۰ میکرولیتر با استفاده از سمپلر برداشته و با استفاده از آنس استریل بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار به‌طور یکنواخت پخش و به‌مدت ۲۴ ساعت در همان شرایط انکوبه شد. اولین لوله از غلظت‌های پایین ترکیب ضد میکروبی مورد آزمایش که فاقد کدورت ناشی از رشد باکتری بود به‌عنوان غلظت MIC و اولین لوله از غلظت‌های ماده‌ی مورد آزمایش که در آن‌ها ۹۹/۹ درصد از مقدار اولیه باکتری‌های اضافه شده از بین رفته بودند و در ساب کالچر تنها ۰/۱ درصد از باکتری‌ها رشد کرده بودند به‌عنوان غلظت MBC تعیین گردید. تمام مراحل فوق ۳ بار تکرار شد (۱۸و ۱۷). در مدل حیوانی به‌منظور بررسی اثر درمانی آلیسین، نانوذرات

Downloaded from zums.ac.ir at 8:22 IRDT on Wednesday June 20th 2018

نقره و ترکیب آن‌ها بر روی عفونت پوستی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۲۰ سر موش سوری ماده ۶ تا ۸ هفته‌ای به ۴ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. برای ایجاد پمادهای درمانی، از پماد اوسرین آماده به‌عنوان پماد پایه استفاده گردید. گروه اول تیمار با پماد آلیسین، گروه دوم تیمار با پماد نانوذرات نقره، گروه سوم تیمار با پماد ترکیب آلیسین و نانوذرات نقره و گروه چهارم به‌عنوان گروه کنترل درنظر گرفته شدند. در شروع آزمایش جهت انجام بی‌هوشی، مخلوط دو داروی کتامین (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن) و زایلازین (۵ میلی‌گرم به ازای هر گرم وزن) به‌صورت داخل صفاقی به موش‌ها تزریق شد. سپس برای ایجاد زخم شیاری به طول ۱ سانتی‌متر (درم و اپی درم) ایجاد شد و مقدار نیم مک فارلند باکتری ($1/5\times10^{8}$ CFU/ml) به محل زخم وارد گردید. ۲ روز فرصت داده شد تا محل زخم به‌طور کامل عفونی شود (۱۹). پس از دو روز از عفونی شدن محل زخم در موش‌ها، درمان شروع شد (وجود ترشحات چرکی از محل زخم و کشت مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* موید عفونی شدن محل زخم بود). به این صورت که برای درمان موش‌های گروه درمان با آلیسین، یک گرم پماد اوسرین با ۲۰۰ میکرولیتر آلیسین (با غلظت ۱۷۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) ترکیب شد. برای گروه تیمار با نانوذرات نقره یک گرم پماد اوسرین با ۲۰۰ میکرولیتر نانوذرات نقره (با غلظت ۴۰۰۰ ذره در میلیون) ترکیب شد. همچنین برای گروه هم افزایی، مقدار یک گرم پماد اوسرین با ۲۰۰ میکرولیتر آلیسین و ۲۰۰ میکرولیتر نانوذرات نقره با غلظت‌های ذکر شده، ترکیب شد و برای گروه کنترل تنها از اوسرین استفاده شد. برای تسکین سوزش ناشی از آلیسین از داروی بی‌حس کننده لیدوکائین در محل درمان استفاده گردید. ۲ روز پس از تیمار موش‌ها با پمادهای مورد نظر (چهارمین روز بعد از عفونی کردن زخم)، از محل زخم به وسیله سوآپ استریل نمونه‌گیری و به ۲ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون براث موجود در لوله آزمایش منتقل و تا ۱۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد. بعد از ۱۲ ساعت، از لوله‌های نمونه‌گیری به‌منظور قابل شمارش کردن باکتری‌ها، رقت‌های 10^{-4}، 10^{-5} و 10^{-6} تهیه شد و در پلیت مولر هینتون آگار کشت داده شد (۲۰). به این صورت که ۰/۲ میلی‌لیتر از هر رقت توسط سمپلر برداشته و در پلیت استریل حاوی مولر هینتون آگار(در دمای ۴۴ درجه‌ی سلسیوس) ریخته شد و به روش پورپلیت به طور یکنواخت پخش شد و به مدت ۲۴ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه گردید. سپس شمارش کلنی‌ها انجام پذیرفت و نتایج به‌صورت CFU/ml گزارش شد (۲۱).

نتایج حاصل از این مطالعه با نرم‌افزار آماری SPSS 19 و آزمون آماری ANOVA مورد تحلیل قرار گرفت. در این آزمون $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میزان MIC و MBC آلیسین، نانوذرات نقره و ترکیب آلیسین و نانوذرات نقره بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: نتایج MIC و MBC آلیسین، نانوذرات نقره و ترکیب آن ها بر روی استافیلوکوکوس اورئوس

ماده ضدمیکروبی	MIC	MBC
آلیسین	۱۰/۶۸ ppM	۲۱/۳۷ µg/ml
نانو ذرات نقره	۶/۲۵ ppM	۱۲/۵ ppM
ترکیب آلیسین و نانو ذرات نقره	۳/۱۲ ppM، ۱/۳۳ µg/ml	۶/۲۵ ppM، ۲/۶۷ µg/ml

Downloaded from zums.ac.ir at 8:22 IRDT on Wednesday June 20th 2018

تحلیل آماری نتایج مشخص نمود که آلیسین و نانوذرات نقره به تنهایی دارای اثر ضد میکروبی بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشند. همچنین ترکیب آلیسین و نانوذرات نقره دارای اثر هم افزایی بر روی باکتری مذکور می‌باشد.

در مدل حیوانی، تعداد باکتری‌ها در روز دوم پس از شروع درمان شمارش و میانگین آن‌ها بر حسب CFU/ml تعیین شد که در جدول ۲ آورده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود تعداد باکتری‌های گروه کنترل اختلاف معنی‌داری با همه گروه‌ها دارد (P<۰/۰۵). از طرفی با مقایسه تعداد باکتری‌های شمارش شده در گروه‌های درمان با آلیسین، نانوذرات نقره و ترکیب نانوذرات نقره و آلیسین می‌توان نتیجه گرفت که ترکیب این دو ماده دارای اثر هم افزایی بر ضدعفونت پوستی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد (P <۰/۰۵).

جدول ۲: میانگین باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس شمارش شده دو روز بعد از درمان در مدل حیوانی

گروه	گروه‌های درمانی	میانگین تعداد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* شمارش شده در دو روز بعد از تیمار بر حسب CFU/ml انحراف معیار± میانگین
۱	کنترل	$۲۵۱\times۱۰^{۷}\pm۳۴۹\times۱۰^{۶}$
۲	آلیسین	$۸۵۰\times۱۰^{۵}\pm۷۲۳\times۱۰^{۴}$
۳	نانوذرات نقره	$۸۱۹\times۱۰^{۴}\pm۹۱۶\times۱۰^{۳}$
۴	ترکیب نانوذرات نقره و آلیسین	$۶۴۷\times۱۰^{۳}\pm۸۹۶\times۱۰^{۲}$

بحث

امروزه به علت آثار جانبی و ناخواسته‌ی شناخته شده بسیاری از داروهای شیمیایی، استفاده از مواد گیاهی و طبیعی جهت درمان عفونت‌ها مورد توجه قرار گرفته است. اثر ضدمیکروبی عصاره‌ی سیر و نانوذرات نقره، قبلا بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس* در محیط آزمایشگاهی بررسی شده است (۱۳-۷). ولی تاکنون هیچ مطالعه‌ای بر روی اثر ضد میکروبی آلیسین، نانوذرات نقره و ترکیب آن‌ها به‌صورت پماد موضعی بر علیه عفونت پوستی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام نشده است. براساس مطالعات انجام شده آلیسین به‌تنهایی خاصیت ضد میکروبی ضعیفی دارد ولی وقتی با عامل ضدمیکروبی دیگر ترکیب شود، می‌تواند اثر خوبی از خود نشان دهد. نتایج تعیین MIC و MBC به روش ماکرودیلوشن در مطالعه‌ی حاضر نشان داد که ترکیب آلیسین و نانوذرات نقره نسبت به هر کدام از این عوامل به‌تنهایی، دارای خاصیت ضدمیکروبی بیشتری بر روی *استافیلوکوک اورئوس* می‌باشد (جدول ۱). نتایج به‌دست آمده از آزمایشات انجام شده بر روی مدل حیوانی (جدول ۲) نیز نشان می‌دهد که آلیسین و نانوذرات نقره به‌صورت پماد موضعی در بهبود زخم عفونی شده توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* موثر بوده و به‌تنهایی دارای اثر ضدمیکروبی می‌باشند. همچنین مقایسه‌ی میانگین تعداد باکتری‌های شمارش شده در ۲ روز پس از درمان نشان می‌دهد که ترکیب آلیسین و نانوذرات نقره دارای اثر ضد میکروبی بیشتری از اثر هر کدام از آن‌ها بر روی عفونت پوستی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد. همان‌طوری‌که در جداول

Downloaded from zums.ac.ir at 8:22 IRDT on Wednesday June 20th 2018

۱ و ۲ نتایج ارایه شده است سینرژیسمی آلیسین با نـانو ذرات نقره مشخص می‌شود. در جـدول ۱ کـه مربـوط بـه MIC و MBC می‌باشد در استفاده‌ی توام از آلیسین و نانوذرات نقـره، غلظت آلیسین مورد نیاز برای MIC از ۱۰/۶۸ میکروگـرم بـر میلی‌لیتر به ۱/۳۳ میکروگرم بـر میلـی‌لیتـر و بـرای MBC از ۲۱/۳۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ۲/۶۷ میکروگرم بر میلی‌لیتـر رسیده اسـت. یعنـی کـاهش تـا حـدود یـک هـشتم و بـرای نانوذرات نقره این مقادیر از ۶/۲۵ ذره در میلیون بـه ۳/۱۲ در MIC و از ۱۲/۵ به ۶/۲۵ ذره در میلیون برای MBC رسـیده است یعنی کاهش تا یک دوم مقادیر نانوذرات نقره همچنـین در نتـایج بـه‌دسـت آمـده از آزمایـشات در مـدل حیـوانی (جدول ۲)، در استفاده توام آلـسین و نـانوذرات نقـره تعـداد باکتری‌ها در مقایسه ی بـا آلیـسین کـاهش ۱۰۰ برابـری و در مقایسه ی با نانوذرات نقره کاهش ۱۰ برابری داشته‌اند که ایـن نیز موید کاهش چشمگیر باکتری‌ها در اسـتفاده تـوام ایـن دو ماده و به معنـای سینرژیـسم مـی‌باشـد (جـدول ۲). در ایـن مطالعه، موش‌های مورد آزمـایش پـس از گذشـت دو مـاه از آزمایش در سلامت کامل بدون داشتن هیچ نوع ضایعه یا زخم جلدی و زیر جلدی به سر می‌بردنـد کـه ایـن مطلـب نـشان دهنده‌ی بهبودی کامل و از بـین رفـتن کامـل عفونـت در اثـر سینرژیسم بین آلیسین و نانوذرات نقره بوده است که می‌تـوان نتیجه گرفت هیچ‌گونه کلونیزاسیون باکتریایی زیر جلـدی نیـز در محل عفونت باقی نمانده بوده است.

در مجموع نتایج این مطالعه نـشان داد کـه ترکیـب نـانوذرات نقره و آلیسین، می‌تواند باعث از بـین رفـتن عفونـت پوسـتی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* شود و می‌توان امیدوار بـود تا در آینده بتوان با انجام آزمایش‌های تکمیلی در بالین از این ترکیب جهت درمان عفونت‌هـای پوسـتی در انـسان اسـتفاده نمود.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان می‌دهد ترکیب آلیسین و نانوذرات نقـره دارای اثر هم افزایی علیه عفونت پوستی ناشـی از *اسـتافیلوکوکوس اورئوس* در مدل موشی می‌باشد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقالـه از کارکنـان مرکـز تحقیقـات بیولـوژی و معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان که امکان اجرای این مطالعه را فراهم آوردند کمال تشکر و قـدردانی را دارند.

References

1- Mccaig F, Clifford Mcdonald L, Mandal S, Jernigant B. *Staphylococcus aureus* associated skin and soft tissue infections in ambulatory care. *Emerg Infect dis*. 2006; 12: 1715-23.

2- Harris G, Foster J, Richards G. An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifyings *S. aureus* Adhesins in relation to adhesion to biomaterials: *review. Eur cells Material*. 2002; 4: 29-60.

3- Uwazuoke J, Aririatu L. A survey of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* strains from clinical sources in Owerri. *J Appl Sci Environ*. 2004; 8: 67-69.

4- Kokoska L, Polesny Z, Rada V, et al. Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. *J Ethanopharmacol*. 2002; 82: 51-53.

5- Kathi J, Kemper M. Garlic (*Allium sativum*). Longwood Herbal Task Force. 2000: 1-49.

Downloaded from zums.ac.ir at 8:22 IRDT on Wednesday June 20th 2018

6- Aala F, Yusuf U, Jamal F, Rezaie S. Antimicrobial effects of allicin and ketoconazole on *Trichophyton rubrum* under in vitro condition. *Braz J Microbiol*. 2012: 786-92.

7- Culter R, Wilson P. Antibacterial activity of a new, stable, aqueous extract of allicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Br J Biomed Sci*. 2004; 61: 1-4.

8- Cai Y, Wang R, Pei F, Liang B. Antibacterial activity of allicin alone and in combination with b -Lactams against *Staphylococcus* spp. And *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antibiot.* 2007; 60: 335-38.

9- Shahnaz A, Javed K, Nasim A. Study of synergistic effect of allicin with antibacterials against micro-organisms. *J Annals*. 2009; 15: 138-40.

10- Chung I, Kwon S, Shim S, Kyung K. Synergistic antiyeast activity of garlic oil and allyl alcohol derived from alliin in garlic. *J Food Sci*. 2007; 72: 437-40.

11- Heydarnejad M, Yarmohammadi-Samani P, Mobini- Dehkordi M, Rahnama S. The influence of topical treatment of dermal wounds with silver nanoparticles on ALT and AST enzymes and hemoglobin in mice (Mus Musculus*). J Zanjan Univ Med Sci*. 2011; 21: 35-44.

12- Arbabi Bidgoli S, Mahdavi M, Rezayat M, Korani M, Amani A, Ziarati P. Toxicity assessment of nanosilver wound dressing in wistar rat. *Acta Medica Iranica*. 2013; 51: 203-8

13- Dabbagh MA, Moghimipour E, Ameri A, Sayfoddin N. Physicochemical characterization and antimicrobial activity of nanosilver containing hydrogels. *Iran J Pharm Res*. 2008; 7: 21-8.

14- Ping Li, JuanLi, ChangzhuWu, et al. Synergistic antibacterial effects of *β*-lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. *Nanotechnology*. 2005; 16: 1912-17.

15- Marambio-Jones C, Hoek EMV. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *J Nanopart Res*. 2010;12: 1531-51.

16- Delaha EC, Garagusi VF. Inhibition of mycobacteria by garlic extract *(Allium sativum). Antimicrob Agents Chem*. 1985; 27: 485-6.

17- Kora AJ, Arunachalam J. Assessment of antibacterial activity of silver nanoparticles on *Pseudomonas aeruginosa* and its mechanism of action. *World J Microbbi Biotechnlo.* 2011; 27: 1209-16.

18- Mohsen nezhad F, Zeighami H, Mota A, et al. Antibacerial activity of eukalyptus extracts on methicillin resistance *Staphylococcus aureus*. *Res J biol Sci*. 2009; 4: 905-8.

19- Dai T, Tegos GP, Zhiyentayev T, et al. Photodynamic therapy for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* Infection in a mouse skin abrasion model. *Laser Surg Med*. NIH-PA Author Manuscript. 2010; 42: 38-44.

20- Naeini A, Khosravi A, Tadjbakhsh H, et al. Evaluation of the immunostimulatory activity of *Ziziphora tenuior* extracts. *Comp Clin Pathol*. 2010; 19: 459-63.

21- Ansari MA, Khan HM, Khan AA, et al. Evaluation of antibacterial activity of silver nanoparticles against MSSA and MRSA on isolates from skin infections. *Biol Med*. 2011; 3: 141-6.

Downloaded from zums.ac.ir at 8:22 IRDT on Wednesday June 20th 2018

Downloaded from zums.ac.ir at 8:22 IRDT on Wednesday June 20th 2018

Effect of Allicin and Silver Nanoparticles on Skin Infections Due to *Staphylococcus aureus* in Mouse Model

Mirzaei F[1], Salouti M[2], Shapouri R[2]

[1]Dept. of Microbiology, Islamic Azad University of Medical Siciences, Zanjan Branch, Zanjan, Iran

[2]Biology Research Center, Islamic Azad University, Zanjan Branch, Zanjan, Iran

Corresponding Author: Salouti M, Biology Research Center, Islamic Azad University, Zanjan Branch, Zanjan, Iran

E-mail: saloutim@yahoo.com

Received: 24 Dec 2013 **Accepted:** 30 Aug 2014

Background and Objective: *Staphylococcus aureus* is an important pathogen causing a wide range of infections in hospitals and is known due to its resistance to antibiotics. Novel methods of nanotechnology and the effective combination of different antimicrobial mechanisms can be compelling approaches to treat infectious diseases. The aim of this study was to investigate the antimicrobial effect of silver nanoparticles, allicin and their combination on skin infections due to *Staphylococcus aureus* in mouse model.

Materials and Methods: Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of silver nanoparticles, allicin and their combinations were measured based on the microdilution susceptibility test. Skin infection was induced in 20 Syrian mice with *Staphylococcus aureus* and the effect of silver nanoparticles, allicin along with the synergistic effect of allicin as well as silver nanoparticle combinations were investigated.

Results: The results showed that minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of silver nanoparticle for *S. aureus* were 6.25 and 12.5 ppm, respectively. MIC and MBC of allicin for *S. aureus* were 10.68 and 21.37µg/ml, respectively. MIC and MBC combination of allicin and silver nanoparticles on *S. aureus* were 1.33 µg/ml, 3.12 ppm and 2.67 µg/ml, 6.25 ppm, respectively. Anti microbial effect of allicin, silver nanoparticles and the synergistic effect of their combination against skin infections due to *Staphylococcus aureus* confirmed in mouse model.

Conclusion: The results showed that allicin in combination with silver nanoparticles exhibit synergistic effect on skin infections due to *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Skin infection, Staphylococcus aureus, Allicin, Silver nanoparticles, Synergistic effect