

بررسی اثر ضد میکروبی پپتید گیاهی MBP-1، با و بدون نانوذرات نقره، بر عفونت پوستی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا در شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی

فاطمه میرزایی^۱، دکتر مجتبی صلوتی^{۲*}، دکتر رضا شاپوری^۳، زهرا حیدری^۴

۱. کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان

۲. دانشیار، دکتری تخصصی فیزیک پزشکی، مرکز تحقیقات بیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان

۳. استادیار، دکتری تخصصی باکتری شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژیک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان

۴. دانشجوی دکتری بیوشیمی، مرکز تحقیقات بیولوژیک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان

چکیده

سابقه و هدف: سودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن فرصت طلب و مقاوم به بسیاری از آنتی بیوتیک ها و مواد ضد عفونی کننده می باشد که باعث عفونتهای شدید حاد و مزمن بیمارستانی در بیماران دچار نقص ایمنی، کاتاتری یا سوختگی می شود. MBP-1 یک پپتید ضد میکروبی گیاهی است که تاکنون فعالیت ضد میکروبی آن بر علیه بعضی از باکتری ها و قارچ های رشته ای گزارش شده است. همچنین اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره بر علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها نیز نشان داده شده است. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر ضد میکروبی پپتید MBP-1، نانوذرات نقره و ترکیب آنها بر علیه عفونت پوستی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا می باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه، بر اساس روش تست حساسیت ماکرودیولوشن و میکرودیولوشن، حداقل غلظت ممانعت از رشد و حداقل غلظت کشنده باکتری برای پپتید MBP-1، نانوذرات نقره و ترکیب آنها اندازه گیری شد. برای مطالعه در مدل حیوانی، در ۱۲ سر موش سوری عفونت پوستی با باکتری سودوموناس آئروژینوزا ایجاد شد و اثر پپتید MBP-1، نانوذرات نقره و اثر هم افزایی پپتید و نانوذرات نقره به صورت پماد بر روی عفونت ایجاد شده بررسی گردید.

یافته ها: میزان MIC و MBC نانوذرات نقره برای سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۳/۱۲ و ۶/۲۵ ppm بود. میزان MIC و MBC پپتید گیاهی MBP-1 برای این باکتری به ترتیب ۵۰۰ و ۶۰۰ µg/ml بود. MIC و MBC ترکیب پپتید و نانوذرات نقره بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب ۴۰۰ µg/ml، ۱/۵۶ ppm و ۵۰۰ µg/ml، ۳/۱۲۵ ppm به دست آمد. اثر ضد میکروبی پپتید گیاهی MBP-1، نانوذرات نقره و ترکیب پپتید گیاهی MBP-1 و نانوذرات نقره بر علیه عفونت پوستی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا در مدل موشی مشاهده شد. **نتیجه گیری:** نتایج نشان می دهند که پپتید گیاهی MBP-1 و نانوذرات نقره دارای اثر ضد میکروبی بر علیه سودوموناس آئروژینوزا بوده و همچنین ترکیب MBP-1 و نانوذرات نقره دارای اثر هم افزایی جهت بهبود سریعتر عفونت پوستی ناشی از آن در مدل موشی می باشد.

واژگان کلیدی: سودوموناس آئروژینوزا، بیماریهای عفونی پوستی، پروتئین MBP-1 ذرت، فرآورده های نقره، نانوذرات، اثر هم افزایی

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Mirzaei F, Salouti M, Shapouri R, Heidari Z. Antimicrobial effect of plant peptide MBP-1 and silver nanoparticles, along with their synergistic effect on skin infection due to *Pseudomonas aeruginosa*: in vitro and animal model.

Pejouhandeh 2013;18(2):64-8.

مقدمه

فرصت طلب مطرح است. دلیل اصلی برجستگی آن به عنوان یک پاتوژن، مقاومت ذاتی آن به اکثر آنتی بیوتیک های معمول است (۱). بسیاری از عفونتهای سودوموناس آئروژینوزا توسط عفونتهای پوستی ظاهر می شوند (۲). عفونتهای ایجاد شده با این نوع باکتری در جراحی ها و سوختگی ها ممکن است سپتی سمی، پنومونی، مننژیت و بیماریهای کشنده دیگر را به دنبال داشته باشد (۳ و ۴). عفونتهای مهم بالینی سودوموناس

سودوموناس آئروژینوزا یک باکتری گرم منفی است که همچنان به عنوان یکی از علل عمده عفونتهای بیمارستانی

*نویسنده مسؤل مکاتبات: مجتبی صلوتی؛ زنجان، اعتمادیه، خیابان شهید منصور، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زنجان، معاونت آموزشی دانشگاه؛ پست الکترونیک: saloutim@yahoo.com

سیستین آزاد بوده و عمدتاً به شکل ماریجی آلفا است. این پپتید غنی از آرژینین و گلوتامات و ۴ مولکول سیستین است. تسوالی آمینو اسیدی آن $RSGRGECRRQ^{10}$ RRG^{33} $ETQECMRRRCR^{30}$ $CLRRHEGQPW^{20}$ است. پپتید MBP-1 در محیط آزمایشگاهی فعالیت ضد میکروبی بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی و همچنین قارچ‌ها از خود نشان داده است (۷).

امروزه از نانوذرات نقره به طور وسیعی در پزشکی جهت مقابله با میکروب‌ها استفاده می‌شود. نانوذرات نقره خاصیت ضد میکروبی قوی بر علیه طیف وسیعی از باکتری‌ها از جمله سودوموناس آئروژینوزا از خود نشان می‌دهند (۱۱). با این که مکانیسم اثر نانوذرات نقره بر روی میکروب‌ها کاملاً مشخص نشده است، ولی احتمال می‌رود که یون‌های نقره باعث ایجاد آسیب‌هایی در غشای سلولی باکتری‌ها می‌شوند (۱۲). هم‌افزایی بین دو دارو یک برهمکنش مثبت است که وقتی دو دارو با هم ترکیب می‌شوند اثر یک‌دیگر را تقویت کرده و یک اثر مهاری بیشتر از مجموع اثر هر کدام از آنها به تنهایی ایجاد می‌کند و باعث کاهش دوز مصرف دارو می‌شود (۱۳ و ۱۴). هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر ضد میکروبی پپتید ضد میکروبی گیاهی MBP-1 و نانوذرات نقره در شرایط آزمایشگاهی و همچنین به صورت پماد موضعی و بررسی اثر هم‌افزایی خاصیت ضد میکروبی ترکیب پپتید گیاهی MBP-1 و نانوذرات نقره بر روی عفونت پوستی ناشی از باکتری سودوموناس آئروژینوزا است.

مواد و روشها

در این مطالعه سوش استاندارد سودوموناس آئروژینوزا ATCC:27853 از بانک میکروبی انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. تعداد ۱۲ سر موش سوری ماده ۸-۶ هفته‌ای از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. توالی و مشخصات پپتید گیاهی MBP-1 از طریق سایت phytamp.pfba-lab-tun.org/statistics.php تعیین و با ارائه توالی پپتید به شرکت BIOMATIK سنتز شد و برای تأیید صحیح بودن سنتز، HPLC و اسپکترومتری پپتید توسط شرکت فروشنده ارائه شد. سوسپانسون نانوذرات نقره با غلظت ۴۰۰۰ ppm و با نام تجاری NANOCOLLOID از کمپانی NANOCID تهیه گردید.

به منظور تعیین حداقل غلظت مهار کننده رشد (Minimum Inhibitory Concentration- MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (Minimum Bactericidal Concentration-MBC)

آئروژینوزا اغلب در برابر رژیم تک دارویی مقاوم هستند و بیشتر از یک پنی‌سیلین مانند تیکارسیلین، مزلوسیلین همراه با یک آمینوگلیکوزید مانند جنتامایسین و آمیکاسین علیه این باکتری استفاده می‌شود. با توجه به اثرات جانبی آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی و مقاومتی که سودوموناس آئروژینوزا در برابر آنها کسب نموده اند، استفاده از روشهای نوین و قطعی در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری ضروری به نظر می‌رسد (۱).

پپتیدهای ضد میکروبی از عوامل ضد میکروبی هستند که امروزه بسیار مورد توجه محققین هستند (۸-۵). پپتیدهای ضد میکروبی، پپتیدهای کوچک، کاتیونی و آمفی‌فیلیک هستند که توسط قارچ‌ها، گیاهان، بی‌مهرگان و مهره‌داران ترشح می‌شوند و فعالیت ضد میکروبی بر علیه باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و دیگر پاتوژن‌ها دارند و به عنوان سیستم‌های دفاعی غیراختصاصی میزبان و سیستم ایمنی ذاتی عمل می‌کنند. پپتیدهای ضد میکروبی با عملکرد و ساختارهای مختلفی با غشای سلولی برهم‌کنش کرده و موجب مختل شدن یکپارچگی غشا و در نهایت لیز و مرگ سلول می‌شوند (۸-۵). این پپتیدها از ریشه، دانه، گل و برگ گیاهان جدا شده و بر علیه فیتوپاتوژن‌ها و همچنین برخی باکتری‌های بیماریزای انسانی فعالیت نشان می‌دهند. در طول سالها پپتیدهای ضد میکروبی تبدیل به یک ابزار جالب برای توسعه تکنیک‌های جدید در تولید آنتی‌بیوتیک‌های مؤثرتر برای درمان عفونت‌های گوناگون انسانی شده‌اند. با این حال هنوز اطلاعات کمی در مورد چگونگی اثر این پپتیدها بر پاتوژن‌ها که منجر به مرگ سلولی یا مهار رشد می‌شوند وجود دارد.

جنسن و همکاران در سال ۲۰۰۶ اثر پپتیدهای ضد میکروبی و مکانیسم عملشان بر روی ویروس، باکتری و قارچ را بررسی کردند (۹). اولین پپتید ضد میکروبی گیاهی، یک pourothionin بود که از آرد گندم (*Triticum aestivum*) در سال ۱۹۷۲ جدا شد و توانایی مهار رشد برخی از پاتوژن‌های گیاهی را دارا بود (۱۰). واقعیت این است که تاکنون فقط ساختار چند پپتید مورد مطالعه قرار گرفته است که این موضوع فهم مکانیسم عمل استفاده شده توسط این پپتیدها برای آسیب به سلول‌های باکتریایی را مشکلتر می‌سازد (۶).

پپتید ضد میکروبی گیاهی MBP-1 برای اولین بار در سال ۱۹۹۱ توسط دوویک و همکاران از دانه ذرت (*Zea mays*) خالص‌سازی و جدا شد. آنها توانستند توالی و خصوصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی این پپتید را ثابت کنند (۷). وزن مولکولی آن ۴۱۲۷ بوده، دارای ۳۳ آمینواسید و فاقد

نانوذرات نقره که برای مهار رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا مورد نیاز است، از روش برات ماکرودیلوشن (Broth Macrodilution Method) استفاده شد. از استوک سودوموناس آئروژینوزا بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد و پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت که کولونی‌ها ظاهر شدند در سرم فیزیولوژی سوسپانسیونی از باکتری با کدورت ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. سپس کدورت ۰/۵ مک فارلند باکتری به نسبت ۱:۳۰۰ رقیق شد تا غلظت 5×10^5 CFU/ml تهیه شود. نانوذرات نقره با غلظت‌های ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲، ۳/۱، ۱/۵، ۰/۷۸ ppm در محیط کشت مولر هینتون برات تهیه گردید. باکتری مذکور با غلظت 5×10^5 CFU/ml در محیط دارای غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره اضافه شد. یک لوله فاقد نانوذرات نقره به عنوان لوله کنترل در نظر گرفته شد. تمامی لوله‌ها با پنبه استریل پوشانده شدند. لوله‌های آماده شده به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند.

تعیین MIC بدین صورت بود که ابتدا لوله‌ها در روی شیکر کاملاً مخلوط شدند و پس از آن از مایع داخل هر یک از لوله‌ها ۱۰۰ میکرولیتر با استفاده از سمپلر برداشته شد و بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل گردید و با استفاده از آنس استریل بر روی محیط کشت پخش گردید. پلیت‌های تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. اولین لوله از غلظت‌های پایین نانوذرات نقره که فاقد کدورت ناشی از رشد باکتری بود به عنوان غلظت MIC و اولین لوله از غلظت‌های نانوذرات نقره که در آنها ۹۹/۹٪ از مقدار اولیه باکتری‌های اضافه شده از بین رفته و در ساب‌کالچر فقط ۰/۱٪ از باکتری‌ها رشد کرده بودند به عنوان غلظت MBC برای نانوذرات نقره محاسبه گردید. تمام مراحل فوق با ۳ بار تکرار انجام گردید (۱۲ و ۱۵).

برای تعیین MIC و MBC پپتید گیاهی MBP-1 و ترکیب نانوذرات نقره و MBP-1 برای سودوموناس آئروژینوزا از روش میکرودیوشن استفاده شد. در این بررسی از غلظت‌های پپتید ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و $700 \mu\text{g/ml}$ استفاده گردید و به جای لوله از پلیت ۹۶ چاهکی مخصوص کشت سلولی استفاده شد. در هر چاهک ۵۰ میکرولیتر پپتید به همراه ۱۳۵ میکرولیتر محیط مولر هینتون برات دوپل و ۱۵ میکرولیتر سوسپانسیونی میکروبی ۵/۰ مک فارلند اضافه گردید تا حجم نهایی هر چاهک به ۲۰۰ میکرولیتر برسد. هر غلظت در سه چاهک تکرار شد. برای تهیه غلظت‌های مختلف ترکیب پپتید گیاهی MBP-1 و نانوذرات نقره در هر چاهک، ۵۰ میکرولیتر از محلول پپتید در

مقادیر ذکر شده به همراه ۱۵ میکرولیتر از سوسپانسیونی میکروبی ۵/۰ مک‌فارلند و حدود ۱۳۰ میکرولیتر محیط مولر هینتون برات دوپل که در مجموع ۱۹۵ میکرولیتر می‌شود و مابقی حدود ۵ میکرولیتر از نانوذرات نقره در مقادیر ذکر شده برای غلظت‌های مختلف به همراه آب مقطر اضافه شد تا حجم نهایی هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر شود (۱۶ و ۱۷). از آنجایی که بار کلی پپتید گیاهی MBP-1 مثبت ۸ می‌باشد و همچنین به دلیل داشتن آمینواسیدهای حساس به O_2 مانند متیونین، سیستئین و تریپتوفان، برای حل کردن پپتید از آب گاززدایی شده استریل استفاده شد.

برای تعیین بهبود عفونت پوستی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا در مدل حیوانی، ۱۲ سر موش سوری ماده ۸-۶ هفته‌ای خریداری و به ۴ گروه ۳ تایی تقسیم شدند. در ابتدا جهت انجام بیهوشی، مخلوط دو داروی کتامین (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر گرم وزن) و زایلازین (۵ میلی‌گرم به ازای هر گرم وزن) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. بعد از بیهوشی، ناحیه پشت گردن هر موش به وسیله پنبه الکلی به طور کامل استریل شد و با تیغ استریل موهای این ناحیه به صورت دایره‌ای به قطر ۱ سانتی‌متر تراشیده گردید. سپس برای ایجاد زخم در این ناحیه شکاری به طول ۱ سانتی‌متر ایجاد شد و مقدار نیم مک‌فارلند باکتری ($10^8 \times 1/5$) به محل زخم وارد شد (۱۸ و ۱۹). برای جلوگیری از لیسیدن محل زخم موشها توسط موش دیگر هر موش به قفس جداگانه‌ای منتقل شد و ۲ روز فرصت داده شد تا زخم موشها به طور کامل عفونی شود. دو روز بعد از عفونی شدن موشها درمان شروع شد. برای ایجاد پماد درمانی، از اوسرین به عنوان پماد پایه استفاده شد. به این صورت که برای ایجاد پماد برای درمان گروه پپتید، یک گرم پماد اوسرین با ۲۰۰ میکرولیتر پپتید با رقت MIC یعنی $500 \mu\text{g/ml}$ ترکیب شد؛ برای درمان موشهای گروه درمان با نانوذرات نقره یک گرم پماد اوسرین با ۲۰۰ میکرولیتر نانوذرات نقره با غلظت ۴۰۰۰ ppm ترکیب شد و برای درمان گروه اثر هم‌افزایی پپتید و نانوذرات نقره یک گرم اوسرین با ۲۰۰ میکرولیتر پپتید با رقت $500 \mu\text{g/ml}$ و ۲۰۰ میکرولیتر نانوذرات نقره با غلظت ۴۰۰۰ ppm ترکیب شد و به مدت دو روز درمان انجام گرفت؛ برای موش کنترل نیز تنها اوسرین استفاده شد. بعد از ۲ روز پماد زدن که چهارمین روز بعد از عفونی کردن محسوب می‌شد برای بررسی وضعیت عفونت و شمارش باکتری‌ها از محل زخم به وسیله سوآپ استریل نمونه‌گیری شد. بدین ترتیب که ابتدا سوآپ استریل با نرمال سالین استریل به طور کامل مرطوب و به

برای تعیین MIC و MBC پپتید گیاهی MBP-1 و ترکیب نانوذرات نقره و MBP-1 برای سودوموناس آئروژینوزا از روش میکرودیوشن استفاده شد. در این بررسی از غلظت‌های پپتید ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و $700 \mu\text{g/ml}$ استفاده گردید و به جای لوله از پلیت ۹۶ چاهکی مخصوص کشت سلولی استفاده شد. در هر چاهک ۵۰ میکرولیتر پپتید به همراه ۱۳۵ میکرولیتر محیط مولر هینتون برات دوپل و ۱۵ میکرولیتر سوسپانسیونی میکروبی ۵/۰ مک فارلند اضافه گردید تا حجم نهایی هر چاهک به ۲۰۰ میکرولیتر برسد. هر غلظت در سه چاهک تکرار شد.

برای تهیه غلظت‌های مختلف ترکیب پپتید گیاهی MBP-1 و نانوذرات نقره در هر چاهک، ۵۰ میکرولیتر از محلول پپتید در

یافته‌ها

میزان MIC و MBC برای پپتید به روش میکرودیلوژن برای سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب، $500 \mu\text{g/ml}$ و $600 \mu\text{g/ml}$ تعیین شد. میزان MIC و MBC نانوذرات نقره برای باکتری مذکور به ترتیب $3/12 \text{ ppm}$ و $6/25 \text{ ppm}$ گزارش شد. MIC و MBC ترکیب پپتید و نانوذرات نقره بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب $400 \mu\text{g/ml}$ ، $1/56 \text{ ppm}$ و $500 \mu\text{g/ml}$ ، $3/125 \text{ ppm}$ بود. نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات نقره و پپتید گیاهی MBP_1 دارای اثر هم‌افزایی بر روی سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد.

اختلاف معنی‌داری بین تعداد باکتری‌های شمارش شده در گروه کنترل با تعداد باکتری‌های گروه درمانی با پپتید، نانوذرات نقره و ترکیب پپتید و نانوذرات نقره وجود داشت ($P < 0/05$). همچنین مقایسه گروه پپتید و نانوذرات نقره با گروه ترکیب آنها نشان‌دهنده وجود اثر هم‌افزایی بین پپتید MBP-1 و نانوذرات نقره به صورت پماد موضعی بر علیه عفونت ناشی از سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد ($P < 0/05$ ، جدول ۱).

آرامی به محل زخم عفونی کشیده شد. سپس با کمک قیچی استریل، پنبه انتهای سوآپ برش داده شده و به ۲ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون برات موجود در لوله آزمایش که قبلاً آماده شده بود، منتقل شد. برای هر موش به طور جداگانه این کار انجام گرفت. سپس دهانه لوله‌ها با پنبه و فویل پوشش داده شد و تا ۲۴ ساعت اجازه رشد در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد داده شد (۱۹ و ۲۰). بعد از ۲۴ ساعت، از لوله‌های نمونه‌گیری رقت تهیه شد و سپس رقت‌های $0/0001$ ، $0/00001$ ، $0/000001$ در پلیت مولر هینتون آگار کشت داده شد. پس از این که پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند، شمارش کلنی‌ها انجام گرفت و نتایج به صورت CFU/ml گزارش گردید (۲۱) و (۲۲).

نتایج حاصل از این مطالعه با نرم‌افزار آماری SPSS 18 و آزمون آماری One Way ANOVA مورد تحلیل قرار گرفت. در این آزمون $P\text{-value} < 0/05$ در نظر گرفته شد.

جدول ۱. تعداد باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزای شمارش شده بعد از روز دوم درمان با پپتید گیاهی MBP-1، نانوذرات نقره و ترکیب آنها

ردیف	گروه	میانگین تعداد باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزای شمارش شده در دو روز بعد از تیمار بر حسب CFU/ml (انحراف معیار \pm میانگین)
۱	کنترل	$281 \times 10^7 \pm 450 \times 10^5$
۲	MBP-1 پپتید گیاهی	$63 \times 10^6 \pm 416 \times 10^4$
۳	نانوذرات نقره	$96 \times 10^5 \pm 692 \times 10^3$
۴	ترکیب پپتید MBP-1 و نانوذرات نقره	$73 \times 10^4 \pm 461 \times 10^2$

بحث

باکتری سودوموناس آئروژینوزا صورت نگرفته است و در این تحقیق این بررسی هم در شرایط *in vitro* و هم در مدل حیوانی بر علیه عفونت پوستی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا انجام گرفت. نتایج نشان داد که پپتید گیاهی MBP-1 هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در مدل حیوانی مبتلا به عفونت پوستی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا مؤثر است. همچنین در این تحقیق برای به دست آوردن ترکیب ضد میکروبی مؤثرتر بر روی اثر هم‌افزایی ترکیب پپتید گیاهی MBP-1 و نانوذرات نقره که امروزه کاربرد فراوانی در زمینه پزشکی و میکروبی‌کشی دارد مطالعه شد. در مطالعات مشابه قبلی، رودن و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی اثر هم‌افزایی نانوذرات نقره و پپتیدهای ضد میکروبی مطالعاتی انجام دادند. آنها اثر هم‌افزایی بین پلی‌میکسین B به عنوان پپتید ضد میکروبی و نانوذرات نقره را روی باکتری‌های گرم منفی نشان دادند (۲۳). از آنجایی که پپتیدهای ضد میکروبی نفوذپذیر به غشاهای باکتریایی هستند ممکن است به نانوذرات نقره برای

پپتیدهای ضد میکروبی به طور فزاینده‌ای در مبارزه با نسل‌های جدید باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک مورد توجه واقع شده‌اند. یکی از مهمترین مزایای پپتیدهای ضد میکروبی در مقابل آنتی‌بیوتیک‌های معمول این است که آنها می‌توانند اهداف مختلف با عملکردهای متفاوت را به طور هم‌زمان تهدید کنند. بنابراین مقاومت در برابر این قبیل مواد ضد میکروبی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های معمول به سختی پدید می‌آید. با این حال برخی از باکتری‌های بیماری‌زای انسانی قادر به توسعه مقاومت بر علیه پپتیدهای ضد میکروبی انسانی در طول تکامل شده‌اند. بنابراین پپتیدهای ضد میکروبی گیاهی می‌توانند در این زمینه بهتر از پپتیدهای انسانی باشند، چرا که هیچ تماسی با پاتوژن‌های انسانی برای القا مکانیسم‌های مقاومتی در آنها نداشته‌اند. پپتیدهای گیاهی در حال حاضر یک منبع مهم برای کشف و طراحی آنتی‌بیوتیک‌های جدید در نظر گرفته می‌شوند (۱۷). تاکنون هیچ مطالعه‌ای بر روی اثر ضد میکروبی پپتید گیاهی MBP-1 علیه

دو روز درمان با پمادهای پپتید MBP-1، نانوذرات نقره و ترکیب آنها بر روی عفونت پوستی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا در مدل حیوانی نیز نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی ترکیب آنها در بهبود سریعتر عفونت پوستی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان می‌دهند که ترکیب پپتید MBP-1 و نانوذرات نقره دارای اثر هم‌افزایی بر علیه عفونت پوستی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد.

دسترسی به سایت‌های هدف داخلی کمک کرده باشند. در سال ۲۰۰۹، ای و همکاران نشان دادند که لیزوزیم تشکیل نانوذرات نقره را کاتالیز می‌کند. آنها نشان دادند که کونژوگه لیزوزیم-نانوذرات نقره اثر ضد میکروبی قوی بر علیه باکتری‌های اشریشیا-کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس آنتراسیس، کاندیدا آلبیکنس و پروتئوس میرابیلیس نشان می‌دهد (۲۴). نتایج به دست آمده از MIC و MBC در این مطالعه نیز نشان‌دهنده وجود اثر هم‌افزایی خاصیت ضد میکروبی بین پپتید گیاهی MBP-1 و نانوذرات نقره بر علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد. همچنین مقایسه تعداد باکتری‌های شمارش شده بعد از

REFERENCES

- Hancock RE, Speert DP. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and impact on treatment. *Drug Resist Updat* 2000;3(4):247-255.
- Wu DC, Chan WW, Metelitsa AI, Fiorillo L, Lin AN. *Pseudomonas* skin infection: clinical features, epidemiology, and management. *Am J Clin Dermatol* 2011;12(3):157-69.
- Japoni A, Farshad S, Alborzi A. *Pseudomonas aeruginosa*: Burn infection, treatment and antibacterial resistance. *Iran Red Crescent Med J* 2009;11(3):244-53.
- Lambert PA. Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *J R Soc Med* 2002;95(Suppl 41):22-26.
- Butua B. Antimicrobial peptides—natural antibiotics. *Romanian Biotechnol Lett* 2011;16(3):6135-45.
- Barbosa Pelegrini P, Del Sarto RP, Silva ON, Franco OL, Grossi-de-Sa MF. Antibacterial peptides from plants: what they are and how they probably work. *Biochem Res Int* 2011;2011:250349.
- Duvick JP, Rood T, Rao AG, Marshak DR. Purification and characterization of a novel antimicrobial peptide from maize (*Zea mays* L.) kernels. *J Biol Chem* 1992;267(26):18814-20.
- Yeaman MR, Yount NY. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacol Rev* 2003;55(1):27-55.
- Jenssen H, Hamill P, Hancock RE. Peptide Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev* 2006;19(3):491-511.
- Caleya RF, Gonzalez-Pascual B, García-Olmedo F, Carbonero P. Susceptibility of phytopathogenic bacteria to wheat purothionins in vitro. *Appl Microbiol* 1972;23(5):998-1000.
- Kora AJ, Arunachalam J. Assessment of antibacterial activity of silver nanoparticles on *Pseudomonas aeruginosa* and its mechanism of action. *World J Microbiol Biotechnol* 2011;27(5):1209-16.
- 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(5):1531-51.
- Kumar SN, Siji JV, Nambisan B, Mohandas C. Activity and synergistic antimicrobial activity between diketopiperazines against bacteria in vitro. *Appl Biochem Biotechnol* 2012;168(8):2285-96.
- Biavatti MW. Synergy: an old wisdom, a new paradigm for pharmacotherapy. *Braz J Pharm Sci* 2009;45(3):371-78.
- Mohsen nezhad F, Zeigham H, MotA, Sattari M, Yadegar A. Antibacterial activity of eukalyptus extracts on methicillin resistance *Staphylococcus aureus*. *Res J Biol Sci* 2009;4(8):905-8.
- Rakotoniriana EF, Rajaonarison JF, Raoelison EG, Rajaonarivelo JP, Manga N, Solofoniaina M, et al. Antimicrobial activity of 23 endemic plants in Madagascar. *Trop J Pharm Res* 2010;9(2):165-71.
- Aliahmadi A, Roghanian R, Emtiazi G, Mirzajani F, Ghassempour A. Identification and primary characterization of a plant antimicrobial peptide with remarkable inhibitory effects against antibiotic resistant bacteria. *Afr J Biotechnol* 2012;11(40):9672-6.
- Dai T, Tegos GP, Zhiyentayev T, Mylonakis E, Hamblin MR. Photodynamic therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in a mouse skin abrasion model. *Lasers Surg Med* 2010;42(1):38-44.
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J. *Brock Biology of Microorganisms*. 10th ed. New Jersey: Prentice Hall Int. Ltd; 1997. p. 82-7.
- Festing FW. *International index of laboratory animals*. 4th ed. London: Lab. animals center; 1980.
- Naeini A, Khosravi A, Tadjbakhsh H, Ghazanfari T, Yaraee R, Shokri H. Evaluation of the immunostimulatory activity of *Ziziphora tenuior* extracts. *Comp Clin Pathol* 2010;19(5):459-63.
- Ansari MA, Khan HM, Khan AA, Malik A, Sultan A, Shahid M, et al. Evaluation of antibacterial activity of silver nanoparticles against MSSA and MRSA on isolates from skin infections. *Biol Med* 2011;3(2):141-6.
- Ruden S, Hilper K, Berditsch M, Wadhvani P, Ulrich AS. Synergistic interaction between silver nanoparticles and membrane-permeabilizing antimicrobial peptides. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:38-40.
- Eby DM, Schaeublin NM, Farrington KE, Hussain SM, Johnson GR. Johnson. Lysozyme catalyzes the formation of antimicrobial silver nanoparticles. *ACS Nano* 2009;3(4):984-94.