



## Comparison of Inhibitory Effects of Nisin, Glycine, Poly-L-lysine, Magnesium Oxide Nanoparticles and *Peganum harmala* Extract on Standard and Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Hamid Beyzaei<sup>1</sup>, Behzad Ghasemi<sup>2</sup>, Mojtaba Mirzaei<sup>3</sup>, Ghasem Sanjarani<sup>4</sup>

1. Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Zabol, Zabol, Iran

2. Torbat Jam Faculty of Medical Sciences, Torbat Jam, Iran

3. Young Researchers and Elite Club, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

4. Young Researchers and Elite Club, Zahedan Branch, Islamic Azad University, Zahedan, Iran

### Article Information

#### Article history:

Received: 2017/11/13

Accepted: 2018/02/12

Available online: 2018/02/19

#### Article Subject:

Antimicrobial Substance

IJMM 2018; 11(6): 210-216

#### Corresponding author:

Hamid Beyzaei

Department of Chemistry,  
Faculty of Science, University  
of Zabol, Zabol, Iran

Tel: 09153255282

#### Email:

hbeyzaei@yahoo.com



### Abstract

**Background and Aims:** *Pseudomonas aeruginosa* is one of the most important common causes of nosocomial infections that its standard and antibiotic-resistant strains can infect critical body organs such as the lungs and the urinary tract. In this study, inhibitory effects of nisin, glycine, poly-L-lysine, magnesium oxide nanoparticles and hydroalcoholic extract of *Peganum harmala* were assessed against standard and multidrug-resistant strains of *P. aeruginosa*.

**Materials and Methods:** MgO nanoparticles with sizes of around 30-50 nm were synthesized *via* wet chemical method. Their structure were characterized using X-ray diffraction (XRD) analysis and scanning electron microscope (SEM). *P. harmala* seed extract was prepared by soaking in water-ethanol 1:1. Solutions of glycine, poly-L-lysine and nisin were prepared, and sterilized using 0.22  $\mu$ m filter. Inhibitory effects of all compounds as inhibition zone diameter (IZD), the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) values were determined according to CLSI guidelines using disk diffusion and broth microdilution methods.

**Results and Conclusions:** No significant inhibitory effects against *P. aeruginosa* were observed at the highest used concentrations of glycine, poly-L-lysine, MgO nanoparticles and plant extract. Inhibitory effects against both standard and resistant strains were only recorded for nisin with inhibition zone diameter of 10.36, 13.08 mm, MIC of 64, 128  $\mu$ g/mL and MBC of 256, 512  $\mu$ g/mL. Nisin as a natural food preservative can be used alone or in combination with current antibiotics to treat diseases caused by *P. aeruginosa*.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, Antimicrobial Effects, Nisin, Glycine, Poly-L-lysine, Magnesium Oxide Nanoparticle, *Peganum harmala* Extract

Copyright © 2018 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

### How to cite this article:

Beyzaei H, Ghasemi B, Mirzaei M, Sanjarani G. Comparison of Inhibitory Effects of Nisin, Glycine, Poly-L-lysine, Magnesium Oxide Nanoparticles and *Peganum harmala* Extract on Standard and Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Iran J Med Microbiol. 2018; 11 (6) : 210-216



## مقایسه اثرات بازدارندگی نایسین، پلی ال لیزین، گلایسین، نانوذرات منیزیم اکسید و عصاره اسپند بر سودوموناس آئروژینوزا استاندارد و مقاوم چند دارویی

حمید بیضائی<sup>۱</sup>، بهزاد قاسمی<sup>۲</sup>، مجتبی میرزائی<sup>۳</sup>، قاسم سنجرائی<sup>۴</sup>

۱. گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲. دانشکده علوم پزشکی تربت جام، تربت جام، ایران

۳. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان ایران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران

۴. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان ایران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زاهدان، زاهدان، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

#### تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۲۲

پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۳

انتشار آنلاین: ۱۳۹۶/۱۱/۲۹

#### موضوع:

مواد ضد میکروبی

IJMM1396;11(6): 210-216

#### نویسنده مسئول:

حمید بیضائی

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه

زابل، زابل، ایران

تلفن: ۰۹۱۵۳۲۵۵۲۸۲

#### پست الکترونیک:

[hbezaei@yahoo.com](mailto:hbezaei@yahoo.com)

**زمینه و هدف:** سودوموناس آئروژینوزا از مهمترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی محسوب می‌شود که سویه‌های استاندارد و مقاوم آنتی‌بیوتیکی آن می‌توانند اندام‌های حیاتی بدن از قبیل ریه‌ها و سیستم ادراری را آلوده سازند. در این تحقیق، اثرات مهارکنندگی نایسین، گلایسین، پلی ال لیزین، نانوذرات منیزیم اکسید و عصاره هیدروالکلی اسپند بر سویه‌های استاندارد و مقاوم چند دارویی سودوموناس آئروژینوزا بررسی شده است.

**مواد و روش کار:** نانوذرات منیزیم اکسید به روش شیمیایی مرطوب در اندازه ۵۰-۳۰ nm تهیه گردیدند. ساختار نانوذرات توسط آنالیز پراش اشعه X (XRD) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تأیید شدند. عصاره گیری از دانه‌های اسپند به روش خیساندن در محلول آب-تانول ۱:۱ صورت پذیرفت. محلول‌هایی از گلایسین، پلی ال لیزین و نایسین تهیه شدند و توسط فیلتر ۰/۲۲ استریل گردیدند. اثرات بازدارندگی کلیه ترکیبات در قالب مقادیر قطر هاله مهارتی رشد (IZD)، حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با استفاده از روش‌های انتشار در دیسک و میکرو رقیق‌سازی برات طبق استانداردهای CLSI تعیین گردیدند.

**یافته‌ها و بحث:** اثرات مهارتی شاخصی از گلایسین، پلی ال لیزین، نانوذرات منیزیم اکسید و عصاره گیاهی در بالاترین غلظت به کاررفته بر سودوموناس آئروژینوزا مشاهده نشد. اثرات بازدارندگی فقط در مورد نایسین با قطر هاله عدم رشد ۱۳/۰۸ mm و ۱۰/۳۶ و MIC معادل ۱۲۸ و ۶۴، و MBC معادل ۵۱۲ و ۲۵۶ علیه دو سویه استاندارد و مقاوم ثبت گردید. نایسین به عنوان یک نگهدارنده طبیعی مواد غذایی می‌تواند به تنهایی یا در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌های رایج، در درمان بیماری‌های ناشی از سودوموناس آئروژینوزا بکار برده شود.

**کلمات کلیدی:** سودوموناس آئروژینوزا، اثرات ضد میکروبی، نایسین، پلی ال لیزین، گلایسین، نانوذرات منیزیم اکسید، عصاره اسپند

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

### مقدمه

است. یکی از مؤثرترین روش‌های مقابله با سویه‌های مقاوم، شناسایی و استفاده از ترکیبات ضدباکتریایی جدید مانند پپتیدها و نانوذرات می‌باشد.

پلی ال لیزین هموپلیمری از اسید آمینه لیزین است که عمدتاً توسط باکتری‌های خانواده استرپتومایسس به ویژه گونه استرپتومایسس آلبولوس تولید می‌شود، و اثرات مخرب از آن بر

سودوموناس آئروژینوزا یک باکتری گرم منفی، میله‌ای، متحرک و بیماری‌زا است که با تولید اگزوتوکسین‌ها و آنزیم‌های خارج سلولی در بروز عفونت‌های بیمارستانی در سیستم بینایی، ادراری و تنفسی نقش دارد (۱). استفاده گسترده و اغلب غیر ضروری از آنتی‌بیوتیک‌ها، سبب تسریع مقاومت این باکتری به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های رایج و حتی جدید شده است که افزایش هزینه‌های درمان و مرگ و میر بیماران را بدنبال داشته

۰/۰۰۸) به تدریج به این مخلوط ضمن همزدن شدید برای مدت زمان ۲ ساعت اضافه گردید. در ادامه مخلوط حاصل برای مدت زمان ۲۴ ساعت در دمای اتاق بدون همزدن حفظ شد. در نهایت سوسپانسیون برای مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. پس از سر ریز محلول، رسوبات ته نشین شده سه مرتبه با آب مقطر شستشو و در هر مرحله مجدداً سانتریفیوژ گردید. نانوذرات منیزیم هیدروکسید در کوره الکتریکی در دمای  $300^{\circ}\text{C}$  برای مدت ۴ ساعت قرار داده شد تا نانوذرات منیزیم اکسید تولید گردیدند. ساختار نانوذرات توسط تکنیک های پراش اشعه X (XRD) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تایید گردیدند. آنالیز XRD با استفاده از Bruker D8 X-ray diffractometer همراه با پرتو زایی  $\text{Cu-K}\alpha$  ( $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ ) در گستره  $10^{\circ}$ - $70^{\circ}$  و سرعت اسکن  $1/5^{\circ}/\text{min}$  انجام گرفت. میکروسکوپ الکترونی مدل Hitachi S4160 نیز جهت ثبت تصویر و تعیین ساختار نانوذرات بکار رفت.

#### تهیه و استریلاسیون محلول های گلیسین، پلی ال

##### لیزین و نایسین

محلول پلی ال لیزین ۰/۰۱٪ دارای جرم مولکولی g/mol ۷۰۰۰۰-۱۵۰۰۰۰ و پودر گلیسین از شرکت سیگما تهیه شدند، پس از محلول سازی با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ میکرون استریل گردیدند (۲،۳). نایسین با برند شرکت سیگما نیز جهت آماده سازی ابتدا در کلریدریک اسید ۰/۰۲٪ نرمال استریل حل گردید، سپس در بن ماری در دمای  $80^{\circ}\text{C}$  به مدت ۷ دقیقه حرارت داده شد. پس از سانتریفیوژ و استریلاسیون با فیلتر ۰/۲۲ میکرون، در دمای  $20^{\circ}\text{C}$ - نگهداری و ذخیره شد (۱۱).

##### تهیه عصاره هیدروالکلی گیاه اسپند

گیاه اسپند از بیابان های منطقه سیستان در بهار ۱۳۹۶ جمع آوری شد و در سایه خشک گردید. هویت گیاه توسط بخش زیست شناسی گیاهی دانشگاه زابل مورد تأیید قرار گرفت. ۵۰ gr از دانه های گیاه، توسط آسیاب برقی پودر شدند و پس از انتقال پودرها به ارلن، ۵۰۰ mL مخلوط حلال اتانول-آب ۱:۱ به آنها افزوده شد. محتویات توسط شیکر برای مدت ۷۲ ساعت در تاریکی همزده شد. سپس مخلوط توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴ صاف و حلال توسط دستگاه اواپراتور حذف گردید. جهت اطمینان از حذف کامل حلال، عصاره باقیمانده در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  برای ۲۴ ساعت دیگر نگهداری شد. پودر عصاره در حلال DMSO ۱۰٪ حل شد و با فیلتر ۰/۲۲ میکرون، استریل گردید (۱۲).

سیستم عصبی، ایمنی و تولید مثل حیوانات آزمایشگاهی گزارش نشده است (۲).

گلیسین دارای کمترین اثر سمی برای سلول های انسانی است و در برابر استرس های الکلی نقش محافظت کننده را دارد. اثرات مهارکنندگی این اسید آمینه بر هیلیکوباکتر پیلوری به اثبات رسیده است (۳).

پپتید نایسین از باکتری لاکتوکوکوس لاکتیک حاصل می شود. در سال های اخیر اثر مہاری این پپتید بر باکتری های گرم مثبت آلپسیکلوپاسیلوس اسیدوترستریس، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوزنز، و باکتری های گرم منفی سالمونلا تیفی موریم و اشریشیاکلی و قارچ کاندیدا/آلبیکاناس تایید شده است (۴-۶).

کاهش اندازه ذرات در مقیاس نانو سبب افزایش فعالیت سطحی و برهمکنش با محیط اطراف می شود و در میان این ذرات، نانوذرات فلزی به علت خواص گسترده درمانی در پزشکی و داروسازی بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته اند. از میان نانوذرات فلزی، نانوذرات منیزیم اکسید به جهت تهیه آسان، قیمت ارزان و طیف اثرگذاری متنوع بر باکتری های گرم منفی و گرم مثبت به عنوان عوامل ضدباکتریایی موثر مطرح شده اند (۷).

اسپند با نام علمی *Peganum harmala*، گیاهی علفی است که اجزا مختلف آن به خصوص دانه هایش کاربردهای درمانی متنوعی دارند (۸). اثرات مہاری عصاره دانه اسپند بر باکتری های گرم مثبت مانند لیستریا مونوسیتوزنز و یا باکتری های گرم منفی از قبیل اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی موریم تایید شده است (۹).

در این تحقیق قدرت مہاری ترکیبات طبیعی پلی ال لیزین، نایسین، گلیسین و عصاره اسپند، و ترکیب سنتزی نانوذرات منیزیم اکسید که از عوامل جدید ضدباکتریایی بشمار می روند، بر سویه های استاندارد و مقاوم چند دارویی سودوموناس آئروژینوزا تحت شرایط آزمایشگاهی بررسی و مقایسه شده است.

#### مواد و روش ها

این مطالعه از نوع توصیفی و به صورت مقطعی است که در خردادماه ۱۳۹۶ در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده علوم دانشگاه زابل صورت پذیرفته است.

##### تهیه نانوذرات منیزیم اکسید

نانوذرات منیزیم اکسید طبق روش شیمیایی مرطوب که در ادامه توضیح داده شده است، تهیه گردیدند (۱۰). سوسپانسیونی از نشاسته (g ۰/۱) و منیزیم نترات (g ۱۲/۸۳) در mL ۱۰۰ آب مقطر تهیه شد. سپس mL ۲۵ از محلول سدیم هیدروکسید (M

### تهیه سوسپانسیون باکتری

سویه استاندارد *Sodomonas* آئروژینوزا (PTCC ۱۳۱۰) از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران (PTCC) تهیه شد. سویه مقاوم به جنتامایسین، تتراسایکلین، تیرامایسین، سفنازیدیم، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین، ایمپنم و کاربنیسیلین (PTCC ۱۸۱۱) این باکتری که از همین مرکز تهیه گردیده است، از زخم سوختگی یک بیمار بستری در بیمارستان قطب الدین شیرازی توسط آقای دکتر کامیار زمریدیان عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی شیراز جداسازی شده است. باکتری‌ها ابتدا در محیط مولر-هینتون براث برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C کشت داده شدند. سپس تحت شرایط استریل، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر غلظت نیم مک فارلند ( $10^8 \times 1/5$  CFU/mL) از هر باکتری در همین محیط تهیه گردید و به عنوان منبع ذخیره در نظر گرفته شد (۱۳).

### تعیین مقادیر حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)

آزمایش MIC در پلیت ۹۶ خانه‌ای استریل و با روش براث میکرو رقیق‌سازی طبق استاندارد CLSI در محیط مولر-هینتون براث انجام شد. ۱۰۰  $\mu$ L از غلظت‌های مختلف عصاره اسپند، گلایسین، نایسین و نانوذرات منیزیم اکسید با غلظت اولیه  $\mu$ g/mL ۹۰۱۱ و از پلی ال لیزین با غلظت اولیه  $\mu$ g/mL ۱۰۰ توسط رقیق‌سازی پیوسته در چاهک‌های یک ردیف از پلیت ۹۶ خانه آماده گردید. محلولی از جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت با غلظت اولیه  $\mu$ g/mL ۱۷/۶ نیز تهیه شد. به کلیه چاهک‌ها مقدار ۱۰۰  $\mu$ L از محیط کشت براث و ۱۰  $\mu$ L از سوسپانسیون باکتریایی اضافه گردید. چاهک‌های مجزا نیز شامل سوسپانسیون باکتریایی، محیط کشت براث و DMSO به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. سپس پلیت ۹۶ خانه برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C در انکوباتور شیکردار قرار داده شد. پس از بررسی چاهک‌ها، کمترین غلظتی که در آن کدورت حاصل از رشد باکتری مشاهده نشد به عنوان MIC تعیین گردید (۱۳).

### تعیین مقادیر حداقل غلظت باکتری کشی (MBC)

به منظور تعیین MBC، از تمام چاهک‌های فاقد کدورت در مرحله MIC، نمونه‌هایی بر روی مولر-هینتون آگار کشت داده شد و پلیت‌ها مجدداً در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت در

انکوباتور قرار داده شدند. کمترین غلظتی که باکتری در آن رشد نکرده بود، به عنوان MBC گزارش گردید (۱۳).

### اندازه‌گیری مقادیر قطر هاله عدم رشد (IZD)

برای تعیین قطر هاله عدم رشد ابتدا ۱۰۰  $\mu$ L از سوسپانسیون باکتریایی در محیط مولر-هینتون آگار با سوآب کشت داده شد. سپس ۱۰  $\mu$ L از محلول‌های اولیه بر روی دیسک‌های بلانک استریل جایگذاری شده بر سطح ژل آگار، منتقل شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷°C، قطر هاله مهار رشد توسط کولیس اندازه‌گیری شد (۱۳).

### یافته‌ها و بحث

#### بررسی اثر ضد میکروبی

بررسی نتایج بدست آمده از آزمون‌های ضدباکتریایی، حاکی از عدم اثر مهاری نانوذرات منیزیم اکسید، گلایسین، پلی ال لیزین و عصاره هیدروآلکلی اسپند علیه *Sodomonas* آئروژینوزا بود. تنها اثر مهاری از نایسین به ترتیب بر سویه استاندارد و مقاوم با قطر هاله عدم رشد ۱۳/۰۸ و ۱۰/۳۶ و نیز MIC معادل  $\mu$ g/mL ۶۴ و ۱۲۸، و MBC معادل  $\mu$ g/mL ۲۵۶ و ۵۱۲ مشاهده گردید (جدول شماره ۱).

#### بررسی خصوصیات نانوذرات منیزیم اکسید تولیدشده

شکل ۱، الگوی پراش اشعه X نانوذرات را نشان می‌دهد که کاملاً منطبق بر الگوی استاندارد این ذرات است. میانگین اندازه نانوذرات بر اساس معادله شرر ۷/۷-۲۵/۲۳ nm محاسبه شد. جهت تعیین چگونگی توزیع، شکل هندسی و ابعاد ذرات از تکنیک SEM استفاده شد. شکل ۲، ساختار پولکی شکل متراکم نانوذرات را در گستره ۵۰-۳۰ nm به خوبی نشان می‌دهد.

استفاده بی‌رویه و بدون نظر کارشناسی از آنتی‌بیوتیک‌ها در دامداری‌ها، مرغداری‌ها، مراکز پرورش ماهی و صنایع غذایی موجب ظهور و گسترش سویه‌های مقاوم در بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا شده است. این باکتری‌های مقاوم می‌توانند به بیماری‌های خطرناک در انسان منجر شوند (۱۴). پیش‌بینی می‌شود که میزان مرگ و میر سالانه در جهان بر اثر مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها تا سال ۲۰۵۰ میلادی به رقم ۱۰ میلیون نفر برسد. محققین در تلاش جهت حذف آنتی‌بیوتیک‌ها و یا جایگزین کردن آنها با عوامل ضد میکروبی جدید به ویژه ترکیبات طبیعی هستند.

جدول ۱. اثرات مهارتی ترکیبات بر سویه استاندارد و مقاوم سودوموناس آئروژینوزا

سویه مقاوم			سویه استاندارد			ترکیبات
MBC ( $\mu\text{g/mL}$ )	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )	IZD (mm)	MBC ( $\mu\text{g/mL}$ )	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )	IZD (mm)	
-	-	-	-	-	-	گلابیسین
-	-	-	-	-	-	پلی ال لیزین
۵۱۲	۲۵۶	۱۰/۳۶	۱۲۸	۶۴	۱۳/۰۸	نایسین
-	-	-	-	-	-	عصاره اسپند
-	-	-	-	-	-	MgO نانوذرات
-	-	-	۰/۰۶۳	۰/۰۶۳	۲۵/۹۰	جتنامایسین

- عدم مشاهده اثر مهارتی در بالاترین غلظت استفاده شده

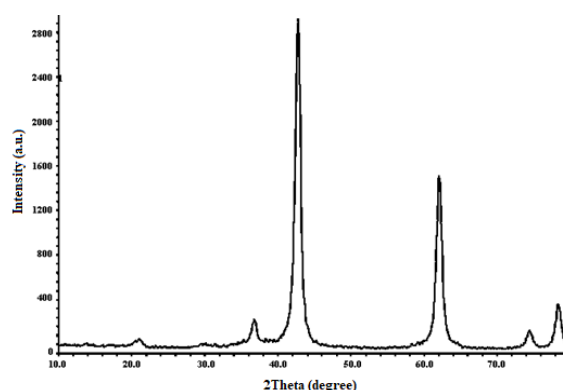
میکروارگانیسم‌ها محسوب می‌شود. به نظر می‌رسد که این نانوذرات کوچکتر سوزنی شکل، سطح تماس بیشتری نسبت به ذرات پولکی شکل داشته‌اند.

بر پایه گزارشاتی که قبلاً منتشر شده بود، اثرات ضد میکروبی بالایی از پلی ال لیزین علیه سودوموناس آئروژینوزا پیش‌بینی می‌شد. اما این اثرات در محلول‌های پلی ال لیزین غلیظ تر از  $100 \mu\text{g/mL}$  (حداقل  $2500 \mu\text{g/mL}$ ) مشاهده شده است (۱۶). این پپتید طبیعی از طریق جایگذاری کاتیون‌های دوظرفیتی، قادر به حذف فسفولیپیدهای دارای بار منفی غشای سلولی است که در نهایت نفوذپذیری در باکتری‌ها را افزایش می‌دهد (۱۷).

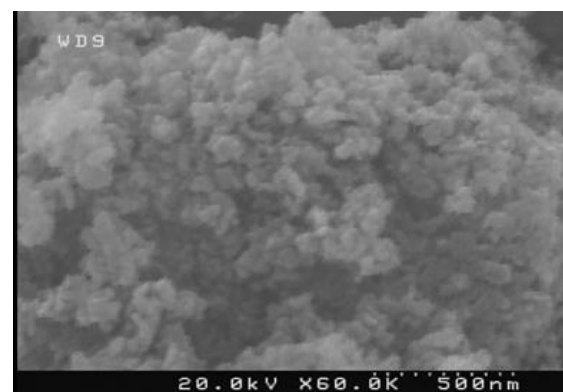
در نتایج حاصله هیچگونه اثر مهارتی از گلابیسین بر سودوموناس آئروژینوزا نیز مشاهده نگردید. بر اساس گزارشات پیشین، اثرات بازدارندگی گلابیسین بر این باکتری تنها در ترکیب با عوامل ضد میکروبی دیگر مشاهده شده است (۱۸). این اسید آمینه از طریق توقف تولید پپتیدوگلیکان دیواره سلولی رشد باکتری‌ها کاهش می‌دهد (۳).

اثرات مهارکنندگی رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا توسط عصاره هیدروالکلی دانه اسپند، ثبت نگردید. مشاهده فعالیت‌های ضد میکروبی از عصاره متانولی دانه اسپند با غلظت  $2 \times 10^5 \mu\text{g/mL}$  بر این عامل بیماری‌زا در تحقیقات گذشته نشان داد که اثرات بازدارندگی تنها در غلظت‌های بالا از عصاره وجود دارد (۱۹).

در مطالعه حاضر، نایسین تنها عامل مؤثر بر سویه استاندارد و مقاوم سودوموناس آئروژینوزا بود. اثرات بازدارندگی رشد این ترکیب عمدتاً بر باکتری‌های گرم مثبت مشاهده شده است (۲۰). این پپتید باکتریایی از طریق اتصال حلقه‌های A و B خود به غشای سلولی، سبب ایجاد منفذ در آن می‌شود و با اختلال در تولید ATP (Adenosine triphosphate) و بدنبال آن تغییر در غلظت یون‌های حیاتی، موجب مرگ این گونه‌ها می‌گردد (۲۱).



شکل ۱. طیف XRD نانوذرات MgO



شکل ۲. تصویر SEM نانوذرات MgO

در مطالعه حاضر فعالیت‌های ضد میکروبی چند ترکیب طبیعی و سنتزی بر سویه‌های استاندارد و مقاوم سودوموناس آئروژینوزا بررسی شده است. نتایج نشان داد که نانوذرات منیزیم اکسید در ممانعت از رشد این باکتری موفق نبودند. در پژوهشی، نانوذرات منیزیم اکسید سوزنی شکل در ابعاد ۳۰-۱۰ nm سنتز شدند. در بررسی اثرات ضد میکروبی آنها بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا، MIC معادل  $1000 \mu\text{g/mL}$  ثبت گردید (۱۵). ابعاد و ساختار نانوذرات از عوامل تعیین کننده اثربخشی آنها بر

همچنین تأثیر همراهی نانوذرات، پپتیدهای طبیعی دیگر و عوامل کلات کننده از قبیل EDTA و پیروفسفات، بر فعالیت بازدارندگی نایسین علیه سودوموناس آئروژینوزا و سایر باکتری‌های گرم منفی، می‌تواند در تحقیقات آتی مد نظر محققین قرار گیرد.

#### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق، استفاده از نانوذره اکسید مس و نایسین برای کاهش رشد باکتری‌ها، مؤثر به نظر می‌رسد و از آنجاکه نانوذرات به صورت متداول در صنایع غذایی استفاده می‌شوند و همچنین با توجه به استفاده روتین از باکتریوسین نایسین در مواد غذایی، شاید بتوان در آینده از نانوذره و نایسین به‌صورت ترکیبی برای بررسی بیشتر به جهت استفاده در صنایع غذایی بهره برد.

#### سپاسگزاری

این پروژه تحقیقاتی توسط دانشگاه زابل تحت شماره گرنت [UOZ-GR-9517-15] حمایت گردیده است.

#### تعارض منافع

بین نویسندگان تعارضی در منافع گزارش نشده است.

وجود غشای خارجی در باکتری‌های گرم منفی و دیواره سلولی در قارچ‌ها، سبب کاهش نفوذ نایسین و کاهش اثر مهاری این ترکیب بر آنها می‌شود. اثرات بازدارندگی نایسین بر سویه‌های گرم منفی *سالمونلا*، در ترکیب با عوامل کلات‌کننده از قبیل EDTA به میزان چشمگیری بهبود یافت (۲۲). همچنین محققین در بررسی اثرات بازدارندگی از رشد نایسین بر سویه‌های *شریشیاکلی* موفق شدند این اثرات را از طریق اتصال پپتیدهای ضد گرم منفی به آن افزایش دهند (۲۳). pH محیط همچنین از جمله عوامل تأثیرگذار بر فعالیت ضد میکروبی نایسین بر هر دو دسته باکتری گرم مثبت و گرم منفی است (۲۴). در واقع مشخص شده که جهت افزایش تأثیر نایسین بر باکتری‌های گرم منفی، بایستی ابتدا سد محافظ غشای خارجی باکتری، توسط فرایندهایی مانند شوک اسمزی حذف شود.

نایسین به عنوان یک ترکیب طبیعی ایمن در ایالات متحده آمریکا و بسیاری از کشورها عمدتاً در صنایع پنیسیلین جهت جلوگیری از تولید اسپوره‌های کلستری‌دیال بکار برده می‌شود. با توجه به اثبات فعالیت‌های بازدارندگی نایسین در برابر سویه‌های استاندارد و مقاوم چند دارویی *سودوموناس آئروژینوزا*، این ترکیب می‌تواند در درمان بیماری‌های مرتبط با این پاتوژن بکار برده شود.

## References

- Xie J, Yang L, Peters BM, Chen L, Chen D, Li B et al. A 16-year retrospective surveillance report on the pathogenic features and antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from FAHJU in Guangzhou representative of Southern China. *Microb Pathog*. 2017 Sep;110:37-41.
- Samadi M, Shekarforoush SS, Ghaisari HR. Antimicrobial effects of magnesium oxide nanoparticles and  $\epsilon$ -poly-L-lysine against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *Int J Med Microbiol*. 2016;10(2):33-41.
- Minami M, Ando T, Hashikawa SN, Torii K, Hasegawa T, Israel DA et al. Effect of glycine on *Helicobacter pylori* in vitro. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Oct;48(10):3782-8.
- de Oliveira Junior AA, de Araújo Couto HG, Barbosa AA, Carnellosi MA, de Moura TR. Stability, antimicrobial activity, and effect of nisin on the physico-chemical properties of fruit juices. *Int J Food Microbiol*. 2015 Oct;211:38-43.
- Stevens KA, Klapes NA, Sheldon BW, Klaenhammer TR. Antimicrobial action of nisin against *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharide mutants. *Appl Environ Microbiol*. 1992 May;58(5):1786-8.
- Akery B, Le-Lay C, Fliss I, Subirade M, Rouabhia M. In vitro efficacy of nisin Z against *Candida albicans* adhesion and transition following contact with normal human gingival cells. *J Appl Microbiol*. 2009 Oct;107(4):1298-307.
- Bindhu MR, Umadevi MM, Micheal K, Arasu MV, Al-Dhabi N. Structural, morphological and optical properties of MgO nanoparticles for antibacterial applications. *Mater Lett*. 2016;166:19-22.
- Mahmoudian M, Jalipour H, Dardashti PS. Toxicity of *Peganum harmala*: review and a case report. *Iran J Pharmacol Ther*. 2002;1(1):1-4.
- Zeinali T, Mohsenzadeh M, Rezaeian-Doloei R, Nabipour R. In vitro assessment of antimicrobial effect of methanolic extract of *Peganum harmala* against some important foodborne bacterial pathogens. *J Food Saf Hyg*. 2016;5(20):27-36.

10. Beyzaei H, Aryan R, Molashahi H, Zahedi MM, Samzadeh-Kermani A, Ghasemi B et al. MgO nanoparticle-catalyzed, solvent-free Hantzsch synthesis and antibacterial evaluation of new substituted thiazoles. *J Iran Chem Soc.* 2017;14(5):1023–31.
11. Safari R, Yaghoubzadeh Z. The combined effect of nisin, sodium acetate to increase the shelf life of trout (*Onchorhynchus mykiss*) in form completely empty stomach. *Iran Sci Fish J.* 2016;24(4):155–69.
12. Scoparo CT, Borato DG, Souza LM, Dartora N, Luisa M, Maria-Ferreira D et al. Gastroprotective bio-guiding fractionation of hydro-alcoholic extracts from green- and black-teas (*Camellia sinensis*). *Food Res Int.* 2017;64:577–86.
13. Beyzaei H, Ghasemi B. Study of antibacterial effect of thirty new heterocyclic derivatives against *Bacillus subtilis* and *salmonella enterica*. *Iran J Infect Dis Trop Med.* 2016;20(71):1–8.
14. Landers TF, Cohen B, Wittum TE, Larson EL. A review of antibiotic use in food animals: perspective, policy, and potential. *Public Health Rep.* 2012 Jan-Feb;127(1):4–22.
15. Krishnamoorthy K, Manivannan G, Kim SJ, Jeyasubramanian K, Premanathan M. Antibacterial activity of MgO nanoparticles based on lipid peroxidation by oxygen vacancy. *J Nanopart Res.* 2012;14(9):1063.
16. Wei L, Wu R, Wang C, Wu Z. Effects of  $\epsilon$ -polylysine on *Pseudomonas aeruginosa* and *Aspergillus fumigatus* biofilm in vitro. *Med Sci Monit.* 2017 Sep;23:4225–9.
17. Hyldgaard M, Mygind T, Vad BS, Stenvang M, Otzen DE, Meyer RL. The antimicrobial mechanism of action of epsilon-poly-L-lysine. *Appl Environ Microbiol.* 2014 Dec;80(24):7758–70.
18. Gerberick GF, Castric PA. In vitro susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to carbenicillin, glycine, and ethylenediaminetetraacetic acid combinations. *Antimicrob Agents Chemother.* 1980 Apr;17(4):732–5.
19. Mazandarani M, Ghaemi EA, Ghaffari F. Antibacterial survey of different extracts of *Peganum harmala L.* different parts in Northeast of Golestan province (Inche Borun). *J Plant Sci Res.* 2009;15(3):27–38.
20. Liu H, Pei H, Han Z, Feng G, Li D. The antimicrobial effects and synergistic antibacterial mechanism of the combination of  $\epsilon$ -polylysine and nisin against *Bacillus subtilis*. *Food Control.* 2015;47:444–50.
21. Dielbandhoesing SK, Zhang H, Caro LH, van der Vaart JM, Klis FM, Verrips CT et al. Specific cell wall proteins confer resistance to nisin upon yeast cells. *Appl Environ Microbiol.* 1998 Oct;64(10):4047–52.
22. Stevens KA, Sheldon BW, Klapes NA, Klaenhammer TR. Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other gram-negative bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 1991 Dec;57(12):3613–5.
23. Zhou L, van Heel AJ, Montalban-Lopez M, Kuipers OP. Potentiating the activity of nisin against *Escherichia coli*. *Front Cell Dev Biol.* 2016 Feb;4:7.
24. Khan A, Vu KD, Riedl B, Lacroix M. Optimization of the antimicrobial activity of nisin, Na-EDTA and pH against gram-negative and gram-positive bacteria. *Lebensm Wiss Technol.* 2015;61(1):124–9.