

فصلنامه علمی - پژوهشی طب مکمل، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۷

اثر نانوالیاف باسورین به همراه افلوکساسین در مراقبت از زخم سوختگی موش در شرایط مرطوب

فرناز نایب‌مراد^۱، ابوسعید رشیدی^{۲*}، رامین خواجه‌وی^۳، محمد کریم رحیمی^۴، عباس بهادر^۵

۱. دکترای مهندسی شیمی نساجی، گروه مهندسی نساجی، دانشکده فنی علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲. استاد، دکترای مهندسی نساجی، گروه مهندسی نساجی، دانشکده فنی علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۳. دانشیار، دکترای مهندسی نساجی، گروه مهندسی پلیمر و نساجی، دانشکده تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۴. دانشیار، دکترای میکروبیولوژی، گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۵. استاد، دکترای میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱۲

چکیده

مقدمه: کاهش زمان بهبود زخم‌های سوختگی یکی از اهداف مهم علم پزشکی است. امروزه استفاده از ترکیبات طبیعی بی‌ضرر و با آثار جانبی کمتر در درمان، بیش‌ازپیش مدنظر قرار گرفته است. هدف این تحقیق، معرفی پانسمانی از صمغ کتیرا با توانایی رهایش دارو به‌صورت توأمان جهت مراقبت از زخم در شرایط مرطوب است.

مواد و روش‌ها: بخش غیرقابل‌حل در آب کتیرا به نام «باسورین» با این ویژگی که در تماس با آب، آب را جذب می‌کند و به‌صورت ژل درمی‌آید از آن جدا شد و نانوالیاف به روش الکترورسی از آن تولید شد و به همراه پلیمر ثانویه به نام PEO تست شد. از داده‌های XRD در دستگاه اشعه ایکس استفاده شد و ارتعاش پیوندها به روش مادون‌قرمز بررسی شد. برای مشاهده ساختار شبکه‌ای لایه هیدروکلئیدی از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. آثار ضد میکروب با آزمون‌های کیفی و کمی بررسی شد.

یافته‌ها: استفاده از نانوالیاف باسورین و پلیمر ثانویه (PEO) به همراه افلوکساسین با قطر 135 ± 50 nm روی زخم‌های سوختگی درجه دو با افزایش جذب ترشحات و آزاد کردن دارو از عفونت احتمالی زخم جلوگیری کرد و محیط مناسبی را برای ترمیم پوست فراهم کرد. با افزودن نانونقره به همراه دارو، خواص مهار باکتری نیز ۹۰٪ بهبود یافت.

نتیجه‌گیری: می‌توان از گاز پنبه‌ای پوشش داده‌شده با نانوالیاف باسورین به همراه افلوکساسین، به‌عنوان گزینه‌ای مناسب در درمان سوختگی درجه دو سطحی استفاده کرد.

کلیدواژه‌ها: الکترورسی؛ صمغ کتیرا؛ باسورین؛ پلی‌اتیلن اکساید؛ نانوالیاف؛ زخم سوختگی.

*نویسنده مسئول: E.mail: rashidi50@yahoo.com

مقدمه

در شرایطی که درمان‌های رایج در تحریک بازسازی پوست به اندازه کافی رضایت‌بخش و کارآمد نیستند، ترمیم پوست، یک زمینه بسیار مهم در مهندسی بافت مخصوصاً در سوختگی‌های توسعه‌یافته است. در جهان هرساله صدها هزار نفر به دلیل آسیب‌های سوختگی در بیمارستان بستری می‌شوند (۱).

پس از یک سوختگی شدید، سطح آسیب‌دیده به علت کاهش سد محافظتی، در مقابل باکتری‌ها آسیب‌پذیر می‌شود. پوست نقش مهمی را در هموستاز خود و پیشگیری از تهاجم میکروارگانیسم‌ها ایفا می‌کند. در صورت آسیب پوست، پوشاندن سریع زخم با پانسمان امری ضروری است. حفظ محیط مرطوب در محل زخم، تهویه هوا، ممانعت از انتقال میکروارگانیسم‌ها و حذف ترشحات زخم از جمله ویژگی‌های پانسمان ایده‌آل است. همچنین پانسمان نباید سمی و آلرژی‌زا باشد.

بهبود زخم‌های سوختگی‌های شامل احیای روپوست‌سازی، تکثیر فیبروبلاستی و سنتز و پیدایش رگ‌های خونی است. با توجه به مطالب گفته‌شده کتیرا یک انتخاب امیدبخش برای بیمار سوخته است. کتیرا می‌تواند لایه‌ای ژله‌ای، جاذب آب و سازگار با محیط‌زیست را به‌عنوان ساختمانی ژلی شکل با بخش قابل‌حل و غیرقابل‌حل در آب ایجاد کند. کتیرا پلیمری طبیعی است که از تراوش نوعی گون آستراگالوس به دست می‌آید. این پلیمر، مخلوطی پیچیده از پلی‌ساکاریدهای محلول و نامحلول در آب به همراه مقادیر کمی پروتئین، نشاسته و مواد سلولزی است (۲). حدود ۶۰ تا ۷۰٪ وزن کتیرا را باسورین تشکیل می‌دهد که به‌صورت نامحلول در آب و یک هیدروژل کلراید است. جونز و همکاران گزارش کردند صمغ کتیرا مخلوطی پیچیده از پلی‌ساکاریدهای D- galacturonic Acid, D- L- fucose, D- galactose, xylose و L- arabinose است. متال گزارش کرد اجزای اسیدی عمدتاً به‌صورت نمک‌های پتاسیم، منیزیم و

کلسیم وجود دارند. چند سال بعد سلبای اعلام کرد برخی از بقایای Uronic acid صمغ کتیرا استری شده است و بخش متوکسیل آن محتوی -OMe ۳/۸٪ به فرم استرهای متیل است (۳).

سمیت و همکاران گزارش کردند حدود ۳۰ تا ۴۰٪ از صمغ کتیرا شامل تراکانتیک اسید و آرابینوگالاکتان است که قابل‌حل در آب هستند. در صورتی که بقیه آن، به نام باسورین، یک ژل بسیار قابل‌تورم در آب را تشکیل می‌دهد. اسپیرال و بالی تحقیقات بسیار زیادی را در مورد ساختار بخش محلول صمغ کتیرا به روش رسوب دادن مرحله‌ای انجام دادند. نتایج نشان داد تراکانتیک اسید شامل بقایای D- galacturonic acid, D- galactose, L- fucose, xylose و مقدار کمی هم D- glucuronic acid است (۴).

تا به امروز پانسمان‌های متفاوتی بر پایه مواد پلیمری طبیعی و مصنوعی جهت مراقبت از زخم عرضه شده‌اند که پانسمان‌های هیدروکلوئیدی - که در سال ۱۹۶۰ عرضه شدند - از مهم‌ترین آن‌ها محسوب می‌شوند. این نوع پانسمان‌ها که در روش‌های درمانی مرطوب زخم بسیار کاربرد دارند می‌توانند با جذب رطوبت و بستن آن محیط ایده‌آلی را جهت ترمیم زخم از نظر رطوبت و دما ایجاد کنند (۵). این نوع پانسمان‌ها بیشتر در زخم‌های سطحی با ترشح کم کاربرد دارند. صمغ کتیرا توانایی جذب بالای آب و تشکیل هیدروکلوئید را دارد؛ اما به دلیل سختی و شکنندگی ذاتی آن و نیاز آن به زمان طولانی جهت تشکیل هیدروکلوئید و ژل، امکان استفاده از آن به‌صورت معمول و فیلم در پانسمان هیدروکلوئیدی وجود ندارد.

صمغ کتیرا از سال ۱۹۶۱ در سطح ۲٪ تا ۱/۳٪ در بین مواد غذایی در ایالات متحده آمریکا شناخته شده است (GRAS). همچنین به‌عنوان یک افزودنی غذایی در اتحادیه اروپا تأیید شده و دارای شماره E ۴۱۳ در لیست مکمل‌های غذایی تأییدشده از سوی کمیته علمی مواد غذایی جامعه اروپایی است (۵). این بیوپلیمر

شده بر پایه تراگاکانت / پلی (E-کاپرولاکتون) و نانوالیاف با کورکومین تولید شد. آزمون‌های آنتی‌باکتریال نشان داد نانوفیبرها اثر ضدباکتری خوبی در برابر سوسپانسیون MRSA و ESBL دارند (۲۳). به نظر می‌رسد به مطالعات بیشتری در این باره بر اساس باسورین و خواص آن نیاز است.

افزایش خاصیت شاخص معمول نسل جدید داروها به دلیل هدایت به یک بافت خاص، کنترل سرعت آزاد شدن و حفاظت از عامل فعال است. در طی سه دهه کامپوزیت پلیمر به دلیل محرک‌های مختلف مانند ثبات، قابلیت بارگذاری برتر و کنترل خواص فیزیکی و شیمیایی به‌عنوان محموله دارو ارائه شده است. نظریه دیگری بیان می‌کند انتشار مواد دارویی محدودشده باعث می‌شود مواد ماکروسکوپی در نزدیکی محدوده هدف قرار گیرند.

در این راستا با توجه به ویژگی شخصیت غیرتهاجمی مواد زیستی و کاهش عوارض جانبی مرتبط با مدیریت محیطی و کنترل زیست‌توزیع این مواد، توجه به آن‌ها در محیط‌زیست بیشتر شده است (۲۴).

Oflxacin, 9-fluoro-2,3-dihydro-6-methyl-4-methyl-piperazinyl-1-oxo-H-pyridov

Benzoxazine-6-carboxylic acid (۲۵).

نسل دوم فلورین، یک مشتق از اسید کربوکسیلیک اسید پیریدون است که طیف گسترده‌ای از آثار ضد میکروبی در انواع مختلف عفونت‌های محیطی دارد (۲۸ - ۲۶) و سنتز باکتریایی DNA را با مهار DNA گیراز و توپوایزومر از IV متوقف می‌کند. مهار DNA گیراز مانع از آرام شدن DNA با غلظت مثبت می‌شود که برای تکرار طبیعی مورد نیاز است (۲۹).

در این تحقیق، هدف از تولید داربست‌های نانوالیافی از این پلیمر رفع موانع ذکر شده است. علاوه بر آن، ماده‌ای ضدباکتریایی نیز به داربست نانوالیافی کتیرا افزوده شد تا از عفونت احتمالی زخم طی دوره درمان جلوگیری کند. این تحقیق با توجه به وجود منابع غنی و قابل

زیست‌تخریب‌پذیر و زیست‌سازگار، آلژینیک، موتازنیک، تراوتونیک و سرطان‌زا نیست و آثار سمی نامطلوب در افراد غیرآلژینیک ندارد (۷ - ۵). محققان متعددی استفاده از صمغ کتیرا (GT) را در زمینه‌های مختلف مانند سنتز سبز نانوذرات نقره همچون عامل ماندگاری در پلاکت ویروسی (۹) و غشاهای هیدروژل (۱۰)، پانسمان برای بهبود زخم‌های سوختگی (۱۱)، سوپرهیدروژل جذبی (۱۲) و حامل برای کنترل تولید مواد دارویی و غیره (۱۳) گزارش کردند (۸). خاجوی و همکاران با استفاده از روش قلیایی و روش چرخش محلول، فیبرهای صمغ کتیرا را تولید می‌کنند. آنان اثر پارامترهای ریسندگی را بر خواص مکانیکی فیبرهای تولیدشده بررسی کردند (۱۴، ۱۵).

یک روش ساده و کارآمد برای به دست آوردن الیاف فوق‌العاده ظریف، روش الکتروریسی با قطره‌های مختلف از میکرومتر تا نانومتر است. بسیاری از خواص مانند سطح خاص و تخلخل بالا با اندازه منافذ کوچک را می‌توان از الیاف پارچه‌های الکتروریسی‌شده انتظار داشت. همچنین استفاده‌های ویژه از الکترواسپان، پانسمان زخم، مهندسی بافت و انتقال دارویی دارد. (۱۶ - ۱۸). بایو پلیمر کیتوزان قادر به بهبود زخم در انسان و نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌باکتریایی قابل توجه در برابر انواع باکتری‌های مختلف است (۱۸، ۱۹). امروزه انواع مختلفی از نانوالیاف و نانوذرات با خواص مختلف ضدباکتری و ضدقارچ برای استفاده در زمینه‌های زیست‌پزشکی تولید می‌شود. برای این منظور، مواد ضدباکتریایی مختلفی از کیتوزان برای استفاده در مواد دارویی در فرمول‌بندی نانوفیلترها وارد شده است (۲۰). در دهه‌های اخیر، آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان منبع شدید مواد مخدر در درمان عفونت شناخته می‌شوند (۲). در مطالعه‌ای مشابه، رنجبر محمدی و همکاران نانوالیاف PLGA/ صمغ کتیرا حاوی تتراسایکلین را برای بازسازی پرتوتال بررسی کردند. بر اساس نتایج، نانوالیاف تولیدشده توانست تتراسایکلین را به‌طور مؤثر آزاد کند و رشد باکتری‌ها را در هر دو نوع گرم منفی و مثبت مهار کند (۲۲). در مطالعه دیگری، نانوالیاف الکتروریسی

میکروسکوپ الکترونی (SEM) (مدل ZEISS DSM ۹۴۰) جهت مشاهده مورفولوژی‌ها استفاده شد. در این مطالعه از ۱۰ سر موش نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۳۰g استفاده شد. برای ایجاد سوختگی، موش‌ها با تزریق عضلانی کتامین و زایلازین با دوز ۵۰mg/kg و ۲۰ mg/kg برای هر کیلوگرم بی‌هوش شدند.

نحوه محاسبه دوز مؤثر دارو:

$$\text{کیلوگرم} \times \text{غلظت دارو} / (\text{وزن حیوان} \times \text{دوز مؤثر دارو}) = \text{کتامین}$$

$$\text{زایلازین ml}$$

سپس سوختگی به روش پیش گفته بر روی موش‌ها ایجاد شد. برای جلوگیری از ایجاد شوک، ۶ میلی‌لیتر نرمال سالین به داخل صفاق موش‌ها تزریق شد و پس از به هوش آمدن و برگرداندن حیوانات به داخل قفس‌ها و گذشت ۲۰ ساعت، متخصص پاتولوژی سوختگی‌ها را بررسی ماکروسکوپی کرد و با توجه به علائم بالینی، وجود سوختگی نوع دوم را در تمام موش‌ها تأیید کرد. سپس سوختگی‌ها پانسمان شد (شکل شماره ۱).

آماده‌سازی محلول

ابتدا با پمپ باد سرد، کلیه خاک‌های احتمالی موجود روی صمغ کتیرای درجه یک و مفتولی سفید از گونه آستراگانوس گاسپینوس پاک شد. سپس با دستگاه خردکن به صورت پودر با مش ۵۰۰-۲۰۰ μm درآمد. یک گرم پودر صمغ کتیرا داخل یک ارلن ۱۰۰ سی‌سی ریخته شد و روی گرم‌کن مغناطیسی به همراه مگنت قرار داده شد. کم‌کم آب دیونیزه به پودر کتیرا اضافه شد تا به حجم ۱۰۰ سی‌سی رسید. کلیه مراحل آزمایش در دمای اتاق انجام شد. عملیات همزن ادامه پیدا کرد تا محلول کاملاً صاف و شفاف شد. کتیرا پس از بازه زمانی ۲ ساعته کاملاً هیدرولیز شد و یک محلول ژلی، بی‌رنگ و شفاف تشکیل شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگه داشته شد.

بهره‌برداری صمغ کتیرا در کشور - که می‌توان به لحاظ اقتصادی از آن در جهت درآمدزایی و کارآفرینی در سطح کلان و ارزآوری استفاده کرد- و به دلیل نبود تحقیقات پیرامون موضوع پانسمان نانوالیاف کتیرا برای سوختگی‌های درجه دوم سطحی و به تبع آن عدم تولید این‌گونه پانسمان، انجام شد.

در طول این تحقیق آزمایش‌هایی در مورد باسورین و نانوالیاف تولیدشده شامل میکروسکوپ الکترونی روبشی، میکروسکوپ استریو، تفرق اشعه ایکس و تبدیل فوریه مادون قرمز، رطوبت بازیافتی، خواص رئولوژیکی و تست‌های ضد میکروبی و بالینی روی موش انجام شد. هدف این مطالعه بررسی اثر نانوالیاف باسورین به همراه افلوکساسین بر ترمیم و روند بهبود ناحیه سوختگی درجه دو بود.

بخش تجربی

مواد و روش‌ها

این مطالعه به روش تجربی انجام شد. کتیرای سفید درجه یک و مفتولی حاصل از صمغ گون مرغوب ایرانی گونه (Astragalus_gossypinus) از موسسه تحقیقات کشاورزی اصفهان و پودر خالص افلوکساسین و نانونقره و پلی اتیلن اکساید (PEO) با وزن مولکولی ۶۰۰۰۰۰ Mw از شرکت مرک آلمان تهیه شد. کلیه مواد دیگر نظیر نوترینت آگار محیط کشت از شرکت سیگماآلدریج آلمان خریداری شد. از دستگاه‌های لیوفیلیز مدل (Zirbus_technology_GmbH) اتوکلاو (شرکت کاوش، ابزار پزشکی)، انکوباتور مدل (LAB - LINE ۴۶۲۸) جهت برآورد خاصیت ضدداربست باکتری، دستگاه‌های تفرق اشعه ایکس «XRD» (Siemens) جهت برآورد میزان تبلور نمونه‌ها استفاده شد و «FTIR» طیف‌سنجی مادون قرمز (مدل S66IFS_BRUKE) جهت تشخیص گروه‌های عاملی و آرایش‌یافتگی پویسی و همچنین

تابش $\text{Cu K}\alpha 1$ ($\lambda=0.154056$) نانومتر در ولتاژ ۴۰ KV و ضخامت ۳۰ میلی آمپر ثبت شد. اسکن در منطقه ۲ از ۰ تا ۸۰ درجه در ۲٪ درجه بر دقیقه اجرا شد (۳۰). XRD با پودر GT، محلول باسورین و افلوکساسین خشک شد و با لیوفیلیز آزمایش شد.

۲-۶ آزمایش تبدیل فوریه مادون قرمز در روش مادون قرمز ارتعاش پیوندها بررسی می شود که در اثر تغییر طول پیوند و یا زاویه آن در مولکولها صورت می گیرد. به منظور شناسایی ترکیبات آلی و گروه های عامل محصولات که در ناحیه IR جذب دارند از این روش استفاده شد. روش کار بدین صورت بود که نمونه با پودر KBr و چند قطره روغن به صورت قرص درآمد و سپس در دستگاه سنجش FTIR قرار داده شد؛ اطلاعات حاصل در بخش نتایج گزارش شد. طیف سنجی فوتون فوریه (FTIR) از nanofibers electrospun با طیف سنج اسپکتروم RX I (PerkinElmer) (۳۱) انجام شد. از این آزمون برای نانوالیاف PEO / Ba و PEO / Ba / Ofx استفاده شد.

آزمایش میکروسکوپی الکترونی روبشی (SEM) برای مشاهده ساختار شبکه ای لایه هیدروکلوئیدی تهیه شده، از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. در این آزمایش الکترون ها به سطح نمونه تابیده می شوند و پس از منعکس شدن به وسیله شناساگر جمع می شوند و به فوتون نوری تبدیل می شوند تا تصویر مرئی ایجاد شود. حداکثر ولتاژی که به وسیله این نوع میکروسکوپ استفاده شد ۱۵ کیلوولت بود.

مورفولوژی نانوالیاف ساخته شده با استفاده از میکروسکوپ SEM مدل XL30-SFEG و FEI Philips از نانوکامپوزیت های PEO / Ba و PEO / Ofx / Ba و گاز پانسمان با پوشش نانوالیاف PEO / Ofx / Ba بررسی شد. برای این آزمون نمونه با طلا JEOL JFC-1200 coater و با ولتاژ شتاب دهنده ۲۰۰۰۰ وات پوشش داده شد (۳۱).

آزمایش های بررسی آثار ضد میکروب

جداسازی اجزای صمغ کتیرا محلول صمغ آماده شده در ظرف های مخصوص دستگاه سانتریفیوژ ریخته شد و در ظرف ها با ورقه پارافیلیم محکم شد. سپس دستگاه تنظیم شد و ظرف نمونه ها داخل دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد. عملیات جداسازی با دور ۵۰۰۰ rpm در ۲۰ min انجام شد. صمغ کتیرا دو بخش دارد؛ تراگاکانتین بخش قابل حل آن در آب است که درصد کمتری از صمغ را تشکیل می دهد و باسورین بخش غیر قابل حل آن در آب است که بیشترین درصد کتیرا را تشکیل می دهد. این بخش ترکیبی از اسیدهای پلی متوکسیله است و در آب متورم می شود ولی حل نمی شود بلکه آب را در خود حبس می کند و به شکل ژله درمی آید. در نهایت، قسمت باسورین جدا شد و با دستگاه لیوفیلیز خشک شد و برای عملیات بعدی ذخیره شد.

الکترورسی محلول پلیمری

از آنجاکه باسورین استخراج شده از صمغ کتیرا به تنهایی قابلیت ریسندگی نداشت از پلیمر PEO به صورت کامپوزیت استفاده شد که از نظر سنتزی با باسورین زیست سازگار بود و به دلیل ویژگی هایی چون زیست تخریب پذیری و غیر آنتی ژنیک بودن، کاربرد وسیعی در زمینه های پزشکی مثل پوشش و معالجه زخم و سیستم های انتقال دارو و مهندسی بافت دارد. پس از یافتن درصد مناسب از PEO با نسبت های مختلف، بهترین ترکیب از نظر یکنواختی در الیاف، با محلول باسورین ۱٪ و پلی اتیلن اکساید ۶/۵٪ با نسبت ترکیب ۵۰٪ وزنی - حجمی به نسبت ۱:۱ و نسبت افلوکساسین با MIC ۱۵٪ میلی گرم بر لیتر به دست آمد. شرایط الکترورسی با ولتاژ دستگاه ۱۵ KV فراهم شد و فاصله نوک سوزن تا صفحه جمع شونده ۲۰ cm و دبی ml/h ۱/۵ تعیین شد. استاندارد بستر الکترورسی گاز استریل پنبه ای ۳۰۶۱ ISIRI بود.

آزمایش تفرق اشعه ایکس

برای جمع آوری داده های XRD از دستگاه اشعه ایکس X'Pert Pro MPD استفاده شد. الگو با استفاده از

نتایج آزمون کیفی بررسی اثر ضدباکتریایی باند تولیدشده با استاندارد AATCC 147

آزمون کیفی بررسی اثر ضدباکتریایی پانسمان تولیدشده با استاندارد AATCC 147 با استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 66538) و اشرشیاکلی (ATCC 25922) انجام شد. ابتدا با قیچی نمونه‌هایی مستطیلی از پانسمان به قطر $5 \times 2/5$ سانتی‌متر بریده شد و به‌وسیله آنس لوب‌دار یک‌بار در سوسپانسیون باکتری قرار گرفت و ۵ خط موازی به فاصله یک سانتی‌متر در پلیت کشیده شد. سپس نمونه به‌صورت عمودی - به صورتی که تمام خطوط را در برگیرد - در پلیت قرار داده شد. بعد از قرارگیری نمونه به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه، با توجه به رشد باکتری در زیر پارچه و اطراف آن میزان کیفیت ضدباکتری پانسمان بررسی شد (۳۲).

نتایج آزمون کمی بررسی اثر ضدباکتریایی باند تولیدشده با استاندارد AATCC 100

در آزمون ضد میکروب از آزمون کمی (تعداد کلونی و درصد مهار) اثر ضدباکتریایی باند تولیدشده با روش استاندارد AATCC 100 استفاده شد؛ برای این منظور ابتدا به‌وسیله قیچی نمونه‌هایی دایره‌ای شکل از پانسمان به قطر ۵ سانتی‌متر تهیه شد و سپس ۱ سی‌سی از سوسپانسیون تهیه‌شده روی ۴ تکه پارچه از یک نمونه ریخته شد؛ با توجه به آزمایش انجام‌شده جهت تعیین تعداد نمونه موردنظر، ۴ نمونه پارچه با ۱ سی‌سی آب تهیه شد. البته هیچ آبی از نمونه خارج نشد؛ زیرا در غیر این صورت ایجاد خطا می‌کرد. در ادامه، محیط‌های کشتی که قبلاً آماده‌شده بود به زیر هود منتقل شد و پلیت‌های موردنیاز از باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی ۲۴ ساعت در زیر هود قرار داده شد. فرایند کشت باکتری بر روی محیط‌های آماده‌شده انجام شد و اثر ضد میکروبی نمونه‌ها برای کلیه باکتری‌ها بررسی شد و تعداد کلونی‌ها و درصد مهار باکتری‌ها با فرمول زیر مورد آزمون قرار گرفت (۳۳).

$$R = (B-A)/B \times 100$$

R: درصد مهار

B: تعداد کلنی‌ها در کنترل منفی

A: تعداد کلنی‌ها در نمونه

آزمایش بالینی بر روی موش

روش ایجاد زخم: برای ایجاد سوختگی، موش‌ها با تزریق کتامین و زایلازین داخل صفاقی بی‌هوش شدند و موهای ناحیه پشتی آن‌ها تراشیده شد. سپس ناحیه تراشیده‌شده با الکل ضدعفونی شد و با تماس ۲ ثانیه‌ای و بدون فشار یک قطعه آلومینیمی که در داخل آب جوش ۹۶ درجه قرار گرفته بود سوختگی درجه دو سطحی به مساحت ۲ سانتی‌متر مربع بر روی آن ایجاد شد. محل القای سوختگی اتاق پشتیبانی حیوان‌خانه بود. دما و زمان استفاده‌شده در این تحقیق، نتیجه اطلاعات به‌دست‌آمده از کارهای قبلی بود. بعد از ایجاد سوختگی با دمای ۹۶ درجه و تماس ۴ ثانیه‌ای، از یکی از موش‌ها نمونه‌گیری شد. سوختگی درجه دوم سطحی با لام سوختگی تأیید شد. برای جلوگیری از ایجاد شوک، ۳ میلی‌لیتر نرمال سالین به داخل صفاق موش‌ها تزریق شد و پس از به هوش آمدن و برگرداندن حیوانات به داخل قفس‌ها و گذشت ۲۴ ساعت، متخصص پاتولوژی سوختگی‌ها را بررسی ماکروسکوپی کرد و با توجه به علائم بالینی، وجود سوختگی نوع دوم را در تمام نمونه‌ها تأیید کرد. زخم‌ها هر ۲۴ ساعت پانسمان شد و حیوانات در طی روز از صبح تا زمانی که به‌طور کامل رپوست‌سازی انجام شود تحت مراقبت قرار گرفتند.

یافته‌ها

آزمایش میکروسکوپی الکترونی روبشی محلول باسورین خالص قابلیت تشکیل لیف و ریسیده‌شدن را ندارد اما در ترکیب با پلی‌اتیلن اکساید، الکتروریسی انجام و لیف تشکیل شد. در تصاویر شماره (۲) نشان داده شد که شکل (A) یا همان محلول خالص باسورین، به دلیل ویسکوزیته بالا قابلیت تشکیل لیف را نداشت و به‌صورت قطراتی روی صفحه جمع‌کننده تشکیل شد. شکل (B) همان نانوالیاف حاصل از محلول ۶/۵٪ وزنی - حجمی از پلی‌اتیلن اکساید است که الیاف نانویکنواخت را

طیف‌سنجی مادون قرمز پودر کتیرا وجود گروه‌های آبدوست هیدروکسیل‌دار را در طول موج 3478 cm^{-2} و گروه‌های هیدروکسیل‌کشی کربوکسیلیک اسیدها را در فاصله طول موج $3000-2500 \text{ cm}^{-2}$ نشان داد (شکل شماره ۴). همچنین وجود پیک باند کششی (C-H) که از گروه‌های متیلن ارتعاش شده بود و در طول موج 2931 cm^{-2} از گروه‌های کربونیل در صمغ کتیراست را نشان داد. در ناحیه طول موج 1635 cm^{-2} گروه کربوکسیلات نامتقارن و محدوده طول موج $1441-1364 \text{ cm}^{-2}$ که نشان‌دهنده پیک باند کششی متقارن با گروه‌های (C-H) است، نسبت داده می‌شود.

طیف‌سنجی نانوالیاف Bassorin/PEO و گروه‌های هیدروکسیل (OH) در طول موج 3385 cm^{-2} مشخص کرد که در مقایسه با طیف پودر کتیرا که در آن پیک گروه‌های هیدروکسیل صمغ کتیرا پهن‌تر است این نانوالیاف می‌تواند نشان‌دهنده فراوانی بیشتر گروه‌های هیدروکسیل نامنظم در پودر کتیرا باشد. به عبارتی، نظم این گروه‌ها بیشتر شد که می‌تواند به این علت باشد که نانوالیاف باسورین از محیط رقیق‌تری نسبت به صمغ کتیرا جمع شد و به شکل الیاف درآمد. با مقایسه طیف نانوالیاف Bassorin/PEO با همتای خود به همراه افلوکسازین مشخص شد گروه‌های هیدروکسیل‌کشی در ناحیه طول موج 1618 cm^{-2} طیف باسورین حاوی افلوکسازین محو می‌شوند. این موضوع می‌تواند مربوط به تعاملات هیدروکسیل‌گروه‌های کربوکسیلیک اسیدهای باسورین با داروی افلوکسازین باشد. تعاملات دارو با ماتریس پلیمر می‌تواند باعث رهاش تدریجی و کنترل‌شده دارو شود که نیاز به اندازه‌گیری افلوکسازین از هیدروکلئید باسورین در طول زمان دارد.

آزمایش‌های بررسی آثار ضد میکروب

نتایج آزمون کیفی بررسی اثر ضدباکتریایی باند تولیدشده با استاندارد AATCC 147

نتایج آزمون کشت خطوط موازی با توجه به شکل شماره ۱ تا ۵ نشان داد پانسمان‌های حاوی نانوالیاف کتیرا

تولید کرده است. شکل (C) نانوالیاف تولیدشده از بهترین نمونه با نسبت وزنی ۵۰/۵۰ Bassorin/PEO است که الیاف یکنواخت را تولید کرد.

پسچیدگی اصلی الکتروریسی باسورین خالص، ناشی از انحلال‌پذیری ضعیف باسورین و ویسکوزیته بالای آن است که با برهم‌کنش با PEO و به‌وسیله پیوند هیدروژنی، محلول قابل‌ریسندگی را ایجاد می‌کند. حضور PEO عامل مهمی در تهیه نانوالیاف به شمار می‌رود و به‌صورت ترکیب با باسورین، باسورین را قابل‌ریسیدن می‌کند. از محلول کامپوزیتی Bassorin/PEO با نسبت وزنی ۵۰/۵۰ الیافی به قطر $50 \pm 50 \text{ nm}$ به دست آمد.

آزمایش تفرق اشعه ایکس

آزمایش تفرق اشعه ایکس روی پودر صمغ کتیرا و باسورین و Bassorin/PEO به دلیل شناختن ساختار و حالت کریستالینیته انجام شد. شکل شماره (۳) نمودار XRD را برای هر سه نمونه با زاویه براگ 2θ بین 0° تا 90° درجه و مجهز به لامپ $(\lambda=0.154056 \text{ nm})$ و $\text{CuK}\alpha 1$ و ولتاژ 40 Kv و آمپر 30 mA نشان می‌دهد. شکل (A) مربوط به صمغ کتیراست که یک پیک در $2\theta=19^\circ$ این منطقه می‌تواند مربوط به کریستالی شدن قسمت‌هایی از کتیرا نظیر تراگاکانتیک اسید باشد و مناطق کریستالی جز در سطوحشان توانایی جذب آب را ندارند. همچنین منحنی XRD شکل (B) باسورین را نشان می‌دهد که در این منحنی پیکی مشاهده نمی‌شود. طیف تفرق اشعه ایکس باسورین پیک شارپی ندارد که نشان‌دهنده عدم کریستال در این پلیمر است؛ بنابراین با از بین رفتن منطقه شبه کریستالی، جذب آب بالا رفت و جذب ترشحات احتمالی زخم سوختگی نیز بیشتر خواهد شد.

منحنی XRD شکل (C) Bassorin/PEO را نشان می‌دهد که ساختار شبه کریستالی آن از بین رفت و ساختار آمورف آن افزایش یافت که این پدیده و ایجاد مناطق آمورف به بهبود خاصیت در جذب آب و ترشحات ناشی از زخم کمک خواهد کرد.

آزمایش تبدیل فوریه مادون قرمز

(به صورت خام) هیچ گونه تأثیر ضدباکتری بر روی دو باکتری مورد آزمایش نداشتند و باکتری توانست در تمام رقت‌ها در زیر و اطراف محل قرارگیری پارچه رشد کند. در نتیجه، پارچه خاصیت ضدباکتری نداشت. در پانسمان‌های حاوی نانوالیاف، باسورین و آنتی‌بیوتیک افلوکسازین پوشش‌دهی کردند و چنان‌که در شکل شماره ۱ تا ۵ آمده توانستند در محل قرارگیری پارچه به طور کامل مانع از رشد هر دو باکتری شوند. همچنین از خط کشت سوم تا پنجم، مقدار داروی منتشرشده از باند توانست مانع از رشد باکتری در اطراف محل پارچه شود و هاله عدم رشد ایجاد کند. طبق نتایج آزمایش، پوشش‌دهی باندهای حاوی نانوالیاف کتیرا همراه نانوذرات نقره بر روی آن‌ها مشابه مورد قبلی بود. نتیجه این شد که پارچه خاصیت ضدباکتری دارد و می‌تواند مواد ضدباکتری خود را در محیط اطراف پارچه منتشر کند.

نتایج آزمون استفاده هم‌زمان از افلوکسازین و نانوذرات نقره بر روی پانسمان نشان داد این ترکیب به خوبی بر هر دو سویه تأثیرگذار بود و از رشد باکتری‌ها در زیر و اطراف پانسمان جلوگیری کرد (شکل شماره ۱ - ۵)؛ بنابراین مشخص شد پارچه خاصیت ضدباکتری داشت و با توجه به هاله عدم رشد در اطراف آن، مواد ضدباکتری خود را در محیط اطراف خود منتشر کرد.

نتایج آزمون کمی (تعداد کلونی و درصد مهار) بررسی اثر ضدباکتریایی باند تولیدشده با استاندارد AATCC 100 جهت آزمون کمی، نمونه‌ها به شکل دایره‌هایی به قطر ۴/۸ برش داده شدند و در یک ظرف شیشه‌ای دردار به حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر قرار داده شدند. تعداد نمونه دایره‌ای در هر ظرف باید به اندازه‌ای می‌شد که اگر ۱ میلی‌لیتر محلول باکتری به آن تلقیح می‌شد، سوسپانسیون از سوی دیگر نمونه‌ها به ظرف نشت نکند و کل محلول تلقیح‌شده جذب نمونه شود (تعداد نمونه برای هر جنس متفاوت بود؛ به طور مثال این تعداد برای پارچه‌های پنبه‌ای ۴ عدد بود). در این آزمون برای کنترل منفی از پارچه پنبه‌ای خام استفاده شد. نمونه‌ها با اشعه UV به مدت ۲۰ دقیقه برای

هر نمونه استریل‌سازی شدند. به منظور انجام این آزمون از باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس استفاده شد. بدین منظور ۱ میلی‌لیتر از کشت شبانه باکتری بر روی نمونه‌ها درون ظرف شیشه‌ای تلقیح شد. سپس نمونه‌ها برای مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط نوترینت‌براث درون ظروف حاوی هر نمونه ریخته شد و ظرف برای مدت ۱ دقیقه به شدت تکان داده شد. سپس از محلول درون ظرف، رقت‌های سریالی ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ و ۰/۰۰۰۰۱ تهیه شد. برای شمارش باکتری در رقت‌های تهیه‌شده از روش پورپلیت استفاده شد. بدین منظور از هر رقت ۰/۱ میلی‌لیتر درون یک پلیت کشت باکتری ریخته شد و مولر هینتون آگار مذاب بر روی آن اضافه شد. به منظور پخش شدن همگن باکتری‌ها در محیط، پلیت به صورت عدد ۸ انگلیسی هم زده شد و تا زمان بستن ثابت ماند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و پس از آن کلونی‌های درون هر پلیت شمارش شد. نتایج حاصل از شکل شماره ۲ - ۵ در جدول شماره ۱ با سه تکرار برای باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس گزارش شد. تعداد کلونی در نمونه خام به صورت میانگین برای اشرشیاکلی ۱۹۶ بود. تعداد نمونه پانسمان به همراه داروی افلوکسازین ۱۱، تعداد نمونه پانسمان با نانوالیاف به همراه نانونقره ۴۳ و در نهایت، تعداد نمونه پانسمان نانوالیاف همراه افلوکسازین و نانونقره ۱ بود که نشان‌دهنده اثر سینرجیستیک با درصد مهار باکتری برابر ۹۸/۰۴٪ بر روی پانسمان تولیدشده بود. همچنین تعداد کلونی‌ها در برابر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به این ترتیب گزارش شد که تعداد کلونی در نمونه خام به صورت میانگین برای استافیلوکوکوس اورئوس ۱۱۷، برای نمونه پانسمان به همراه داروی افلوکسازین ۱۵ و برای نمونه پانسمان با نانوالیاف به همراه نانونقره ۴۱ و در نهایت برای نمونه پانسمان نانوالیاف همراه افلوکسازین و نانونقره ۳ بود که نشان‌دهنده اثر

سینرژیسیتیک با درصد مهار باکتری برابر ۹۷/۰۴٪ بر روی پانسما تولید شده بود.

آزمایش بالینی بر روی موش

روند پانسما در ۱۲ روز با لایه نانوالیاف حاوی افلوکساسین و نانونقره در جدول شماره ۲ و روند پانسما در ۱۲ روز با لایه نانوالیاف بدون دارو در جدول شماره ۳ با اندازه‌گیری زخم به وسیله خطکش متدرج گزارش شد که در درمان با پانسما نانوالیاف حاوی دارو، روند بهبود تقریباً دو برابر بود. و برای مقایسه بهتر، روند درمان در مدت زمان ۱۲ روز در شکل شماره ۶ به صورت نمودار رسم شده است.

بحث

سوختگی و آسیب‌های مربوط به آن به‌عنوان یکی از مهم‌ترین علل مرگ‌ومیر و ناتوانی، همواره در جوامع مختلف موجب آسیب‌های اجتماعی - اقتصادی و روانی شده است؛ لذا تحقیقات بسیاری در این زمینه انجام شده یا در حال انجام است. در این تحقیقات از مدل‌های تجربی مناسب مانند موش، موش بزرگ صحرائی و خرگوش برای تسریع در روند بهبود زخم‌های سوختگی استفاده شده است. مشخص است در صورتی که عاملی مانند دارو بتواند از طریق مکانیسم‌های بیوشیمیایی و فارماکولوژیک قادر به تغییر گردش خون بافتی در منطقه بدون حرکت باشد از عمیق شدن زخم سوختگی جلوگیری کرده روند ترمیم را با موفقیت به‌پیش می‌برد؛ بنابراین ضرورت انجام تحقیقات مختلف در این زمینه به‌خوبی احساس می‌شود و باید به‌عنوان اولویت تحقیقاتی مدنظر قرار گیرد. واکنشگر اکسیژن و کاهش فعالیت دفاع آنتی‌اکسیدان یکی از جنبه‌های مهم تحقیقاتی در زمینه سوختگی و ترمیم زخم است؛ به‌طوری که مطالعات زیادی در خصوص آن صورت گرفته و یا در حال انجام است. مطالعات متعدد نشان داده است سوختگی از طریق تولید رادیکال آزاد سبب واکنش‌های التهابی و ایجاد رادیکال‌های آزاد می‌شود که منجر به ضایعات بافتی می‌شود.

نتایج این تحقیق نشان داد نانوباسورین به همراه افلوکساسین به‌صورت توأم، موجب تسریع در بهبود زخم سوختگی درجه دو می‌شود و استفاده هم‌زمان از این دو ترکیب در درمان زخم‌ها سبب تقویت آثار آن می‌شود. امروزه توجه بعضی از محققان به داروهای گیاهی مانند عصاره سیر به‌عنوان آنتی‌اکسیدان مانع آسیب‌های حرارتی، برگ موز برای جلوگیری از اسکار در سوختگی درجه دو، ژل آلوئه‌ورا و عسل و کیتوسان برای کاهش التهاب و خاصیت ضد میکروبی آن در زخم‌های ناشی از سوختگی و برگ چای جلب شده است. بعضی از این داروها با افزایش عروق خونی، بالا بردن سطح رشد و تکثیر فیبروبلاست‌ها و ایجاد محیطی مرطوب، بهبود یا ترمیم زخم‌های ناشی از سوختگی را تسریع می‌بخشند. سولفادیازین نقره نیز داروی رایج برای بهبود زخم‌های سوختگی است. در این تحقیق علاوه بر خواص ژلی شدن صمغ در برابر آب، مشاهده شد که با تبدیل صمغ کتیرا و جداسازی بخش غیرقابل حل در آب آن به باسورین به فرم داربستی می‌توان از نانوالیاف برای کم کردن شکنندگی و سختی صمغ کتیرا استفاده کرد و از سوی دیگر زمان جذب آب آن را به‌واسطه افزایش سطح ارتقا داد. تصاویر تفرق اشعه ایکس نشان داد با این تبدیل، تجمعات شبه کریستالی کتیرا محو می‌شود. احتمال می‌رود این تجمعات در نتیجه غلظت بالای پلیمر باسورین در صمغ شکل گرفته باشد. طیف‌سنجی مادون قرمز وجود تعاملاتی را بین باسورین و داروی افلوکساسین نشان داد که نوع این تعامل مشخص نیست اما می‌تواند بین گروه‌های هیدروکسیل دارو و گروه‌های هیدروکسیل موجود در کربوکسیلیک اسیدهای باسورین ایجاد شده باشد. از این موضوع می‌توان جهت کنترل رهایش و آزادسازی دارو در این پانسما استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

این تحقیق با هدف تولید الیاف نانو و پانسما هوشمند از باسورین استخراج شده از صمغ کتیرا و دستیابی به تولید محصولی با کارایی و اثربخشی بالا در درمان عفونت‌های

مشاهده شد. با توجه به مطالب گفته شده در مورد خواص جذب آب و ضدباکتری و رهایش داروی باسورین، از پانسما تولید شده می توان به عنوان پانسما برای زخم سوختگی درجه ۲ استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با کد IR.IAU.SRB.REC. 1397.062 در کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران تصویب شد. از صبر و بردباری استادان ارجمند و همکاری گروه میکروبیولوژی و کارکنان آزمایشگاه تحقیقاتی حیوانات تشکر و قدردانی می شود.

ناشی از زخم های سوختگی درجه دو و جلوگیری از رشد باکتری ها از سطوح زخم و بهبود زخم به وسیله باسورین - که ماده ای طبیعی و غیرسنتتیک است و آثار جانبی کمتر و توانایی رهایش داروی افلوکسازین جهت بهبود سریع تر زخم های سوختگی درجه دوم را دارد- انجام شد.

برای تولید الیاف نانو، صمغ هیدروکلوئیدی باسورین از بخش غیرقابل حل پودر صمغ کتیرا با فرایند جداسازی در آب جدا شد که در تماس با آب به صورت ژل درآمد و متورم شد. سپس با استفاده از فرایند لیوفیلیزاسیون تبدیل به شبکه ای از الیاف شد. بعد رطوبت بازیافتی آن اندازه گیری شد. بدین ترتیب، الیاف نانو حاوی داروی افلوکسازین به روش الکتروریسی بر روی گاز استریل پنبه ای و نانونقره بر روی گاز پنبه ای تولید شد.

در طول این تحقیق، آزمایش هایی در مورد پودر و الیاف باسورین شامل میکروسکوپ الکترونی روبشی، میکروسکوپ استریو، تفرق اشعه ایکس و تبدیل فوریه مادون قرمز، خواص رئولوژیکی و تست های ضد میکروبی و بالینی بر روی موش انجام شد.

با توجه به نتایج سنجش ضد میکروبی، مشخص شد الیاف باسورین پس از قرار گرفتن در معرض زخم سوختگی به دلیل خاصیت جذب آب بالا قادر به جذب ترشحات زخم سوختگی و فراهم کردن محیط مناسب برای زخم از لحاظ رطوبت و دماست و با ایجاد pH مناسب باعث بهبود سریع تر زخم می شود. همچنین الیاف باسورین حاوی افلوکسازین علاوه بر فراهم کردن موارد یاد شده باعث جلوگیری از آلوده شدن و عفونت زخم سوخته نیز می شود. نتایج نشان داد بیشترین حساسیت، مربوط به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی بود. با به کارگیری داروی افلوکسازین به همراه نانونقره بر روی پانسما حاوی نانوالیاف باسورین، اثر سینرجیستیک خواص ضدباکتری مشاهده شد و آزمایش بالینی روند سریع بهبود را گزارش کرد. طبق نتایج پاتوبیولوژی در ۱۲ روز، بیشترین بهبود در موش پانسما شده با گاز پنبه ای استریل حاوی نانوباسورین و افلوکسازین و نانونقره

جدول شماره (۱) نتایج آزمون کمی بررسی اثر ضدباکتریایی باند تولیدشده با استاندارد AATCC 100

درصد مهار	نمونه باند + نانونقره + افلوکساسین		درصد مهار	نمونه باند نانو + نانونقره		درصد مهار	نمونه باند + افلوکساسین		نمونه باند نانو خام		تکرار	اشرشیاکلی		
	۱	۱		۴۳	۵۰		۱۱	۱۵	۱۹۶	۱۹۸			اول	
۹۸/۰۴%	۱	۱	۸۷/۱%	۴۳	۵۰	۹۴/۴%	۱۱	۱۵	۱۹۶	۱۹۸	تکرار	اشرشیاکلی		
		۱			۴۱					۹			۱۸۶	دوم
		۰			۳۹					۸			۲۰۰	سوم
۹۷/۰۴%	۳	۱	۶۵%	۴۱	۴۲	۸۷/۲%	۱۵	۱۶	۱۱۷	۱۱۱	تکرار	استافیلوکوکوس اورئوس		
		۲			۴۳					۱۷			۱۱۹	دوم
		۵			۳۹					۱۳			۱۲۲	سوم

جدول شماره (۲) روند بهبود موش‌ها با پانسمن نانوالیاف همراه دارو

روز اول	۲۰ میلی‌متر مربع
روز سوم	۱۷/۶۷ میلی‌متر مربع
روز ششم	۱۲/۲۲ میلی‌متر مربع
روز نهم	۹/۲۳ میلی‌متر مربع
روز دوازدهم	۷/۱۳ میلی‌متر مربع

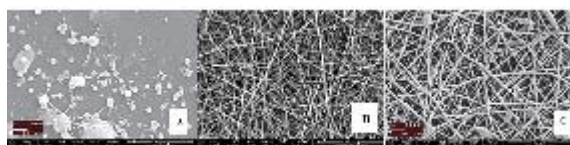
جدول شماره (۳) روند بهبود موش‌ها با پانسمن نانوالیاف بدون دارو

روز اول	۲۰ میلی‌متر مربع
روز سوم	۱۹/۸۳ میلی‌متر مربع
روز ششم	۱۸/۲۵ میلی‌متر مربع
روز نهم	۱۵/۵ میلی‌متر مربع
روز دوازدهم	۱۴ میلی‌متر مربع



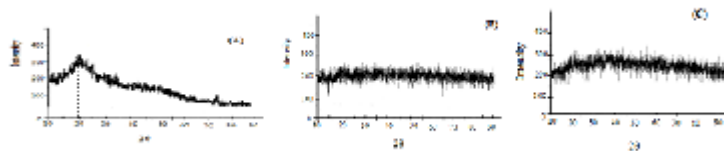
شکل شماره (۱)

(A) تراشیدن مو و ایجاد سوختگی در موش؛ (B) پانسمن موش‌ها؛ (C) بهبود سوختگی با پانسمن

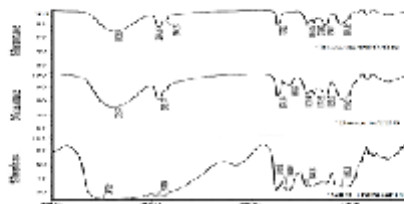


شکل شماره (۲)

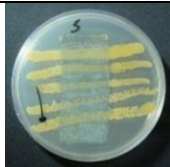
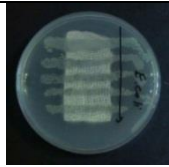
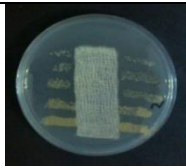
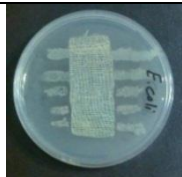
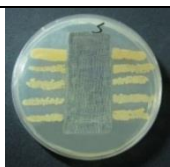
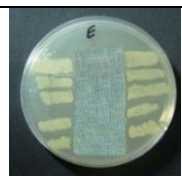
تصویر SEM از نانوالیاف تشکیل شده از روش الکتروریسی (A) باسورین خالص و (B) نانوالیاف حاصل از محلول ۶/۵٪ وزنی - حجمی از پلی اتیلن اکساید (PEO) و (C) نانوالیاف تولیدشده از کامپوزیت Bassorin/PEO با نسبت ۵۰/۵۰ وزنی با بزرگ‌نمایی 1000X



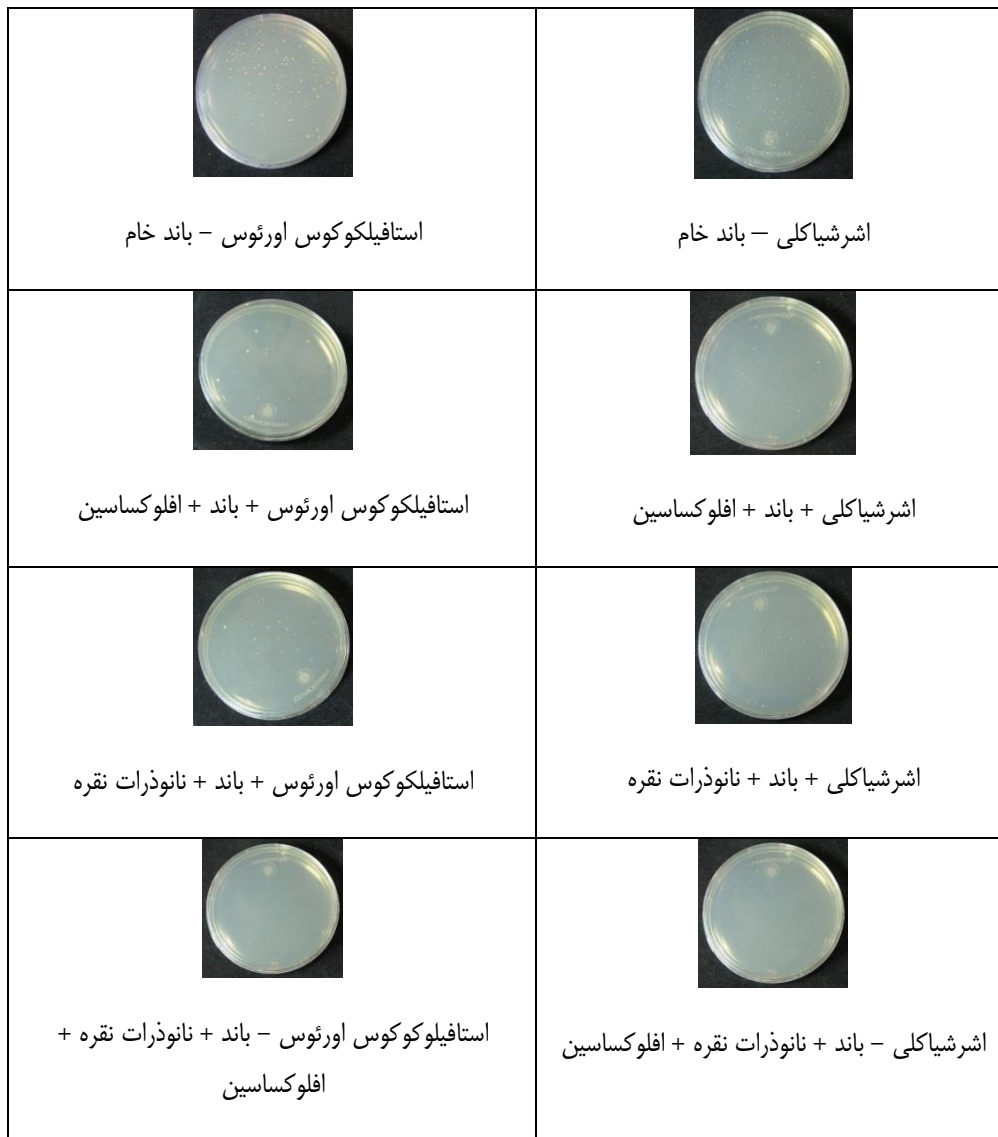
شکل شماره (۳) طیف XRD نمونه‌های (A) پودر کتیرا، (B) باسورین و (C) Bassorin/PEO



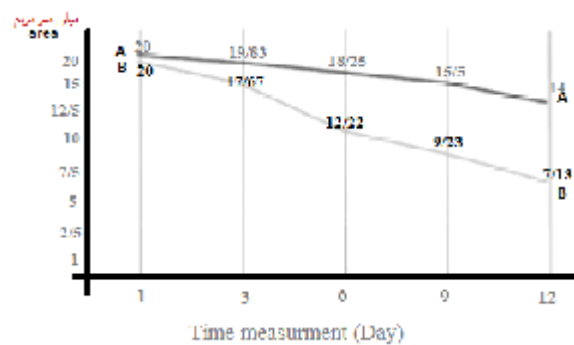
شکل شماره (۴) طیف FTIR پودر کتیرا و نانوالیاف Bassorin/PEO و نانوالیاف Bassorin/PEO/Ofx

 <p>استافیلوکوکوس اورئوس - باند خام</p>	 <p>اشرشیاکلی - باند خام</p>
 <p>استافیلوکوکوس اورئوس - باند + افلوکساسین</p>	 <p>اشرشیاکلی - باند + افلوکساسین</p>
 <p>استافیلوکوکوس اورئوس - باند + نانوذرات نقره + افلوکساسین</p>	 <p>اشرشیاکلی - باند + نانوذرات نقره + افلوکساسین</p>

شکل شماره (۱ - ۵) نتایج آزمون کیفی



شکل شماره (۲ - ۵) نتایج آزمون کمی



شکل شماره (۶)

مقایسه اثر پانسمان زخم در گروه شاهد، پانسمان نانوالیاف بدون دارو (A) و پانسمان نانوالیاف به همراه دارو (B)

References:

1. Seydim AC, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food research international*. 2006;39(5):639-44.
2. Mohammadifar MA, Musavi SM, Kiumarsi A, Williams PA. Solution properties of targacanthin (water-soluble part of gum tragacanth exudate from *Astragalus gossypinus*). *International Journal of Biological Macromolecules*. 2006;38(1):31-9.
3. Ranjbar-Mohammadi M, Bahrami SH. Electrospun curcumin loaded poly (ϵ -caprolactone)/gum tragacanth nanofibers for biomedical application. *International journal of biological macromolecules*. 2016;84:448-56.
4. Yokoyama A, Srinivasan KR, Fogler HS. Stabilization mechanism of colloidal suspensions by gum tragacanth: The influence of pH on stability. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1988;126 (1):141-9.
5. Basil A, Pruitt JR, Clean W, Goodwin JR. Burns: Including Cold, Chemical and Electric Injuries. In: Sabiston Text book of Surgery. Philadelphia: WB Saunders, 1997. 232-4.
6. Abbasi S, Rahimi S. Influence of concentration, temperature, pH and rotational speed on the flow behavior of Iranian gum Tragacanth (Katira) solution. *IJFST* 2006; 2: 42-49. [Persian]
7. Hassanzade Gh, Nori A, Hajiabadi M, Soltan K, Javadi A. Local effect of egg yolk on burn wound healing in rats Gorgan Medical University Journal. 2006; 7(2): 6-10. [Persian]
8. Raymond CR., Poul JS, Poul JW, editors. *Hand Book of Pharmaceutical Excipients*. 4th ed. London: Pharmaceutical Press; 2003.
9. Hojjati H, Kazemi K, Tanideh N, Sivani E. The effect of egg yolk gum tragacanth ointment on wound healing: an experimental study on rabbits. *Journal of Medical Research* 2003; 2: 15-17. [Persian]
10. Moghbel A, Naji M. Design and Formulation of tragacanth dressing bandage for burn. *Journal of Medical Research* 2008; 7:23-27. [In Persian]
11. Verbeken D, Dierckx S, Dewettink K. Exudate gums: occurrence, production and application. *Apply Microbiol Biotechnol* 2003; 63:10-21.
12. Williams EH. A new breed of hydrocolloid wound dressing. *Br J Nurse* 1998; 7:1337- 40.
13. Taylor C, Lylys Cl, Lemmon P, editors. *Taylor nursing principles, nursing clinical skills*. School of Nursing and Midwifery, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Translator. Tehran: Boshra Publication; 2002. [In Persian]
14. Peng X, Feng J, wang S. Effects of nitric oxide on platelet function in burned rats. *Zhonghua Zheng xing shao shang wai ke za zhi*. 1999.Nov; 15(6): 428-3.
15. Khajavi R, Mousavi pourgharabi SH, Kiumasi A, Rashidi A. Gum tragacanth fiber from astragaluse gummifer species: effect of influencing factor on mechanical properties of Fiber. *J Appl Sci* 2007; 7:2861-65.

16. Kenawy ER, Layman JM, Watkins JR, Bowlin GL, Matthews JA, Simpson DG, Wnek GE. Electrospinning of poly (ethylene-co-vinyl alcohol) fibers. *Biomaterials*. 2003; 24(6):907-13.
17. Verreck G, Chun I, Rosenblatt J, Peeters J, Van Dijck A, Mensch J, Noppe M, Brewster ME. Incorporation of drugs in an amorphous state into electrospun nanofibers composed of a water-insoluble, nonbiodegradable polymer. *Journal of controlled release*. 2003;92(3):349-60.
18. Xu CY, Inai R, Kotaki M, Ramakrishna S. Aligned biodegradable nanofibrous structure: a potential scaffold for blood vessel engineering. *Biomaterials*. 2004;25(5):877-86.
19. Kojima K, Okamoto Y, Miyatake K, Kitamura Y, Minami S. Collagen typing of granulation tissue induced by chitin and chitosan. *Carbohydrate polymers*. 1998;37(2):109-13.
20. Tavakol S, Nikpour MR, Hoveizi E, Tavakol B, Rezayat SM, Adabi M, Abokheili SS, Jahanshahi M. Investigating the effects of particle size and chemical structure on cytotoxicity and bacteriostatic potential of nano hydroxyapatite/chitosan/silica and nano hydroxyapatite/chitosan/silver; as antibacterial bone substitutes. *Journal of nanoparticle research*. 2014;16(10):2622.
21. Gonzales R, Bartlett JG, Besser RE, Cooper RJ, Hickner JM, Hoffman JR, Sande MA. Principles of appropriate antibiotic use for treatment of acute respiratory tract infections in adults: background, specific aims, and methods. *Annals of internal medicine*. 2001; 134(6):479-86.
22. Ranjbar-Mohammadi M, Zamani M, Prabhakaran MP, Bahrami SH, Ramakrishna S. Electrospinning of PLGA/gum tragacanth nanofibers containing tetracycline hydrochloride for periodontal regeneration. *Materials Science and Engineering*. 2016;58:521-31.
23. Ranjbar-Mohammadi M, Rabbani S, Bahrami SH, Joghataei MT, Moayer F. Antibacterial performance and in vivo diabetic wound healing of curcumin loaded gum tragacanth/poly (ϵ -caprolactone) electrospun nanofibers. *Materials Science and Engineering*. 2016;69:1183-91.
24. Sahoo S, Sasmal A, Nanda R, Phani AR, Nayak PL. Synthesis of chitosan-polycaprolactone blend for control delivery of ofloxacin drug. *Carbohydrate Polymers*. 2010;79(1):106-13.
25. Muzzarelli, R, Graham W. Gooday; *The Ecology of Chitin Degradation*. Chitin. New York: Pergamon Press (1977) (pp. 1–37).
26. Bassaris P, Akalin E, Calangu S, Kitzes R, Kosmidis J, Milicevic M, Noack H, Salewski E, Raz R, Sukalo M, Tos L. A randomised, multinational study with sequential therapy comparing ciprofloxacin twice daily and ofloxacin once daily. *Infection*. 1995; 23(4):227-33.
27. Park HR, Chung KY, Lee HC, Lee JK, Bark KM. Ionization and divalent cation complexation of quinolone antibiotics in aqueous solution. *Bulletin-Korean Chemical Society*. 2000 Sep 20;21(9):849-54.

28. Drlica K. Biology of bacterial deoxyribonucleic acid topoisomerases. *Microbiological reviews*. 1984 Dec;48(4):273.
29. Gellert M. DNA topoisomerases. *Annual review of biochemistry*. 1981;50(1):879-910.
30. Chen MH, Huang ZC, Wu GT, Zhu GM, You JK, Lin ZG. Synthesis and characterization of SnO-carbon nanotube composite as anode material for lithium-ion batteries. *Materials Research Bulletin*. 2003;38(5):831-6.
31. Hosseini MS, Hemmati K, Ghaemy M. Synthesis of nanohydrogels based on tragacanth gum biopolymer and investigation of swelling and drug delivery. *International journal of biological macromolecules*. 2016;82:806-15.
32. Liu X, Lin T, Fang J, Yao G, Zhao H, Dodson M, Wang X. In vivo wound healing and antibacterial performances of electrospun nanofibre membranes. *Journal of biomedical materials research Part A*. 2010;94(2):499-508.
33. Tomšič B, Simončič B, Orel B, Žerjav M, Schroers H, Simončič A, Samardžija Z. Antimicrobial activity of AgCl embedded in a silica matrix on cotton fabric. *Carbohydrate polymers*. 2009;75(4):618-26.

Investigating the effect of Nanofibers made of Gum Tragacanth with Ofloxacin on burn wounds in wet conditions in rat

Nayeb Morad F¹, Rashidi A^{*2}, Khajavi R³, Rahimi MR⁴, Bahador A⁵

1. PhD in Textile Engineering, Department of Textile Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Professor, Department of Textile Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Textile Engineering, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4. Assistant Professor, Department of Microbiology, Medicine Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
5. Professor, Department of Microbiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: 27 August, 2017; Accepted: 02 January, 2019

Abstract

Introduction: Gum Tragacanth (GT) obtained from *Astragalus gossypinus* is one of the most widely used natural gums which has found applications in many areas because of its attractive features such as biodegradability, nontoxic nature, natural availability, moisture absorption and creating a network of Hydrocolloid. It also has properties like maintenance and delivery of drugs, higher resistance to microbial attacks and long shelf-life.

Methods: In this study, nanofibers were prepared by mixing of 50 wt% Bassorin (extracted from Gum Tragacanth), 50 wt% Polyethylene Oxide and 0.01 wt% Ofloxacin (Ba/PEO/Ofx) through electrospinning. Nanofibers were coated on cotton gauze. The properties of Bassorin and produced nanofibers were examined via XRD, FTIR and SEM microscopy.

Results: The Antibacterial activity of nanofibers against *Staphylococcus aureus* as gram-positive bacteria and *Escherichia coli* as gram-negative bacteria was also investigated. Nanofibers are capable of easily absorbing wound's exocrine liquid due to their high specific area which is 4 to 5% more than that of cotton gauze without nanofibers. When nanofibers are turned to gel by moisture sorption, the release of loaded Ofloxacin would be enhanced.

Conclusion: The Antibacterial assay showed the cotton gauze coated with Ba/PEO/Ofx nanofibers could inhibit the growth of the both bacterial strains on burn wounds about 90%.

Key words: Electrospinning, Gum Tragacanth, Bassorin, Polyethylene Oxide, Nanofibers, Antibacterial, Burn wound.

*Corresponding author: E.mail: rashidi50@yahoo.com