مقاله پژوهشی

اثر ضد باکتریایی ترکیبات جدید علیه لاکتوکوکوس گارویه

عباس رهدار[1*]، بهزاد قاسمی[2]، سید هادی هاشمی[3]، محمدرضا مقدم منش[4]

۱- گروه فیزیک، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲- دانشکده علوم پزشکی تربت‌جام، تربت‌جام، ایران
۳- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۴- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان ایران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۱۱/۰۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۳/۱۸

چکیده

زمینه و هدف: لاکتوکوکوس گارویه از مهم‌ترین پاتوژن‌های آبزیان است که صنعت آبزی‌پروری را تهدید می‌کند. شناسایی، بررسی و کاربرد ترکیبات جدید ضد باکتری می‌تواند راه‌حلی کارا و مهم برای کنترل این پاتوژن باشد. در این مطالعه اثر ضد باکتریایی مشتقات تیواتر، نانوذرات روی، نایسین، پلی الایزین، گلایسین و عصاره‌های هیدروالکلی رزماری و برگ گیاه جغجغه بر روی لاکتوکوکوس گارویه بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: پس از تهیه ترکیبات، جهت بررسی اثرات ضد باکتریایی این ترکیبات از روش انتشار در دیسک جهت اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد، از روش براث میکرو دایلوشن جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC) و همچنین از روش تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) استفاده گردید.

نتایج: هیچ‌گونه اثر مهاری از نایسین، پلی الایزین، گلایسین و عصاره هیدروالکلی رزماری بر لاکتوکوکوس گارویه مشاهده نشد. اثر ضد باکتریایی دو مشتق تیواتر، نانوذرات روی و عصاره هیدروالکلی برگ گیاه جغجغه با قطر هاله مهار رشد ۹/۴۸-۱۸/۳۵ میلی‌متر، MIC ۳۲-۴۰۹۶ و MBC ۶۴-۲۰۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید. بهترین اثر مهاری مربوط به مشتق تیواتر ۴e بود.

نتیجه‌گیری: اثر مهاری مشتقات تیواتر، نانوذرات روی و عصاره هیدروالکلی برگ گیاه جغجغه بر لاکتوکوکوس گارویه اثبات گردید. لیگاندها و کمپلکس‌های جدیدی در تحقیقات آتی می‌توانند بر اساس تیواترهای آزمایش‌شده، طراحی گردند که خواص ضدمیکروبی را بهبود بخشند.

کلمات کلیدی: اثر ضد باکتریایی، ترکیبات جدید، لاکتوکوکوس گارویه

مقدمه

لاکتوکوکوس گارویه باکتری گرم مثبت هوازی اختیاری است که سبب بیماری لاکتوکوکوزیس با علائمی چون رفتارهای عصبی، تیرگی بدن، بیرون زدن چشم‌ها همراه با خونریزی داخلی یا سطحی بخصوص در نواحی آبششی و باله‌ها در طیف وسیعی از ماهیان چون کفال، کفشک، گیش دم زرد، تیلاپیا، گربه‌ماهی، زمرد ماهی و ماهی صخره می‌گردد (۱). ین پاتوژن از شیر و گوشت سایر پستانداران نیز جداشده است و در انسان به‌خصوص در کودکان و افراد مسن می‌تواند سبب بروز اندوکاردیت شود (۲). طی سال‌های اخیر گزارش‌های جهانی حاکی از مقاومت دارویی این پاتوژن به برخی آنتی‌بیوتیک‌ها چون کانامایسین، نئومایسین، تتراسایکلین و استرپتومایسین به‌واسطه انتقال پلاسمید، ارائه شده است که این ضرورت شناسایی ترکیبات ضد باکتریایی جدید برای مهار سویه‌های مقاوم را بیش از قبل نشان می‌دهد (۳).

شناسایی و سنتز انواع نانوذرات به‌خصوص نانوذرات فلزی در چند سال اخیر، مبدأ تحولات عظیمی را در صنایع الکترونیک، انرژی، بیوتکنولوژی، زیست‌محیطی، پزشکی و دارویی شده است

*نویسنده مسئول: **عباس رهدار**، گروه فیزیک، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، زابل، ایران
Email: a.rahdarnanophysics@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-4766-9214

(۴). نانوذرات روی باوجود خواصی چون تصفیه هوا و فاضلاب، تولید شامپوها و کرم‌ها، عنصر ضروری در عملکرد مناسب غدد درون‌ریز و عضلات، اثر آنتی‌اکسیدانی، اثر ضد سرطانی، کنترل قند خون، محافظت از نفرون‌ها و کاربرد درروش ایمنوفلورسنس، از مهم‌ترین نانوذرات پرکاربرد در پزشکی و صنایع دارویی محسوب می‌گردد (۵). نانوذرات روی از مهم‌ترین و قوی‌ترین ضد میکروب‌ها در میان نانوذرات فلزی محسوب می‌شوند و اثرات مهاری آن‌ها بر پاتوژن‌هایی چون اشرشیاکلی، آسپرژیلوس نیجر و کاندیدا آلبیکنس گزارش‌شده است (۶).

استفاده درمانی از گیاهان قدمتی به طول تاریخ بشریت دارد و عواملی چون عوارض کم و تهیه سریع و ارزان گیاهان دارویی سبب شده استفاده از آن‌ها در مقایسه با داروهای سنتزی نه‌تنها محدود نگردد بلکه گسترش یابد (۷). گیاه جغجغه (Prosopisfarcta) از خانواده حبوبات (leguminacea) باقابلیت رشد در مناطق خشک و نیمه‌خشک مثل ایران است (۷). درمان اسهال، سرفه و سرماخوردگی از اثرات درمانی برگ این گیاه در طب سنتی است (۸). تحقیقات علمی خواصی چون کنترل دیابت، ضد اسپاسم و ضدالتهاب را برای برگ گیاه جغجغه گزارش کرده‌اند (۸). تحقیقات جدید نشان داده است عصاره این گیاه دارای اثر ضد باکتریایی بر برخی پاتوژن‌ها چون کلبسیلا پنومونیه، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و کاندیدا آلبیکنس دارد (۹).

رزماری بانام علمی Rosmarinus officinalis از خانواده نعناعیان، گیاهی است بوته‌ای، چندساله و همیشه‌سبز که در کشورمان و بسیاری از کشورهای جهان کشت می‌گردد (۱۰). این گیاه به‌عنوان یک طعم‌دهنده غذا که فاقد اثرات سمیت بر سلول‌ها است شناخته می‌شود و تحقیقات اثرات این گیاه را در مهار التهاب، انواعی از سرطان‌ها، آترواسکروسیز، زخم‌های معده و بیماری‌های تنفسی گزارش کرده‌اند (۱۰). رزماری به علت داشتن ترکیبات فنولی دارای اثرات ضد میکروبی بوده و محققین اثرات عصاره اتانولی آن را بر پاتوژن‌هایی چون استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و سودوموناس آئروژینوزا نشان داده‌اند (۱۱).

ساده‌ترین اسیدآمینه و سمیت پایین برای انسان از ویژگی‌های مهم گلایسین است. محققین اثر آنتی‌اکسیدانی این اسیدآمینه را گزارش کرده‌اند. مطالعات اثر ضد باکتریایی گلایسین را بر پاتوژن مهم هلیکوباکترپیلوری نشان داده‌اند (۱۲).

پلی الایزین یک هموپلیمر باکتریایی است که از اسیدآمینه‌های لایزین تشکیل می‌شود و بی خطری آن بر سیستم عصبی، ایمنی و تولیدمثلی به تائید رسیده است (۱۳). در برخی کشورهای شرق آسیا، از این ترکیب به‌منظور بالا بردن مدت نگهداری مواد غذایی چون برنج و سبزی استفاده می‌گردد و تحقیقات قدرت ضد باکتریایی این ترکیب را نشان می‌دهند (۱۳).

نایسین یک پپتید سبک با ۳۴ اسیدآمینه است که از باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس تولید می‌گردد (۱۴). نایسین به علت عدم اثر سرطان‌زایی، عدم اثر بر فلور روده و عدم‌تغییر طعم غذا، مجوز استفاده در مواد غذایی را از سازمان بهداشت جهانی دریافت کرده است. محققین اثر مهاری این پپتید در شرایط آزمایشگاهی بر روی پاتوژن‌هایی مانند استافیلوکوکوس ارئوس، سالمونلا تیفی‌موریوم و کاندیدا آلبیکنس را نشان داده‌اند (۱۵).

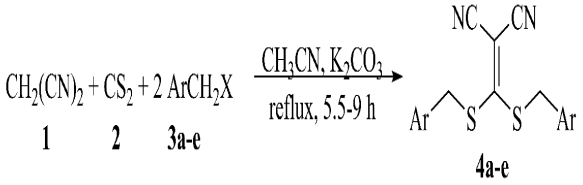
ترکیبات آلی حاوی پیوندهای C-S-C به‌عنوان سولفید یا تیواتر شناخته می‌شوند. این گروه‌های عاملی به‌تنهایی یا همراه با سایر گروه‌ها در داروها و مولکول‌های فعال بیولوژیکی متعدد حضور دارند. L-متیونین یک آمینواسید پروتئینی است که در رشد و توسعه عروق خونی نقش حیاتی ایفا می‌کند. مشتقات تیواتر یک مکمل مفید در درمان بیماری‌های اسکیزوفرنیا، آسم، مسمومیت الکلی، پارکینسون، مسمومیت مس، آلرژی و افسردگی است. بی تیونول یک دی آریل تیواتر است که علیه عفونت‌های ترماتودی و سستودی به کار می‌رود (۱۶). این دارو بایستی در انسان بااحتیاط تجویز گردد زیرا بر پوست اثرات فتوسنتزی دارد (۱۷). سفوتیام یک آنتی‌بیوتیک از خانواده سفالوسپورین است (۱۸). بوتوکونازول نیترات (گینازول-۱) در درمان عفونت‌های قارچی واژن تجویز می‌گردد (۱۹). آروتینولول نیز در درمان فشارخون و گرفتگی غیرعادی عضلات مورداستفاده قرار می‌گیرد (۲۰). پروبوکول یک عامل آنتی‌اکسیدان است که سطح کلسترول در خون را کاهش می‌دهد (۲۱). کربوسیستئین که از آلکیلاسیون سیستئین توسط کلرو استیک اسید تهیه می‌شود، در رفع علائم ناخوشایند انسداد مزمن ریوی و برونشیت مؤثر هستند (۲۲). اثر مهاری مشتقات تیواتر بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی چون استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتلیس، اشرشیاکلی و سالمونلا تیفی گزارش‌شده است (۲۳).

در این مطالعه اثر ضد باکتریایی مشتقات تیواتر، نانوذرات روی، نایسین، پلی الایزین، گلایسین و عصاره‌های هیدروالکلی رزماری و برگ گیاه جغجغه بر روی لاکتوکوکوس گارویه بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

سنتز مشتقات تیواتر

۰/۶۶ گرم مالونونیتریل (۱) (۱۰ میلی مول)، ۰/۷۶ گرم کربن دی سولفید (۲) (۱۰ میلی مول)، ۲/۷۶ گرم پتاسیم کربنات (۲۰ میلی مول) و بنزیل هالیدهای ۳a-e (۲۰ میلی مول) در ۲۰ میلی‌لیتر استونیتریل برای ۹-۵ ساعت تحت رفلاکس قرار گرفتند. سپس مخلوط واکنش تا دمای اتاق خنک گردید. به مخلوط مقدار ۲۰ میلی‌لیتر آب افزوده شد و محتویات طی دو مرحله توسط ۱۰ میلی‌لیتر دی اتیل اتر استخراج گردید. محلول استخراج‌شده چندین بار با آب شستشو گردید و هر بار فاز آبی دور ریخته شد. فاز آلی باقیمانده توسط منیزیم سولفات خشک گردید و حلال تبخیر شد. در خاتمه نیز تبلور مجدد برای جامدات باقیمانده از محلول آب- اتانول صورت گرفت (۲۴).



Ar = a: 4-O_2N-C_6H_4; b: 2-O_2N-C_6H_4; c: 2,4-$(Cl)_2$-C_6H_3; d: 2-Cl-C_6H_4; e: C_6F_5

۲-(بیس((۴-نیتروبنزیل)تیو)متیلن)مالونونیتریل (۴a)

۲-(بیس((۲-نیتروبنزیل)تیو)متیلن)مالونونیتریل (۴b)

۲-(بیس((۴،۲-دی کلروبنزیل)تیو)متیلن)مالونونیتریل (۴c)

۲-(بیس((۲-کلرو بنزیل)تیو)متیلن)مالونونیتریل (۴d)

۲-(بیس((۴-بنزیل)تیو)متیلن)مالونونیتریل (۴e)

سنتز CNTs/Zn:ZnO@Ni2P-NCs

۰/۷۹ گرم از نانوکامپوزیت Zn:ZnO@Ni_2P (شکل ۱) با ۰/۱۹ گرم از نانولوله‌های کربنی عامل دار شده مخلوط شد که در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲۰ میلی‌لیتر پلی‌اتیلن گلیکول متعاقباً به مدت ۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد اولتراسونیک شده و بر روی یک شیکر با دور ۱۰۰ به مدت ۲۲ ساعت هم زده شد. محصول نهایی تحت خلأ صاف شد و چندین مرتبه با آب مقطر شسته و در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در آون خشک گردید (۲۵).

تهیه عصاره‌های گیاهی

برگ گیاه جغجغه و رزماری از عطاری تهیه شد و توسط متخصص گیاه‌شناسی تائید شدند. سپس توسط ترازوی دیجیتال به میزان پنجاه گرم توزین شدند. پس از پودر کردن بر سطح هرکدام از آن‌ها ۵۰۰ سی‌سی از حلال (۵۰ درصد اتانول ۹۶ درصد و ۵۰ درصد آب مقطر) ریخته شد تا کاملاً پودر را بپوشاند. بعد از پوشاندن سر ارلن‌ها با ورقه آلومینیومی به مدت ۷۲ ساعت در محیط تاریک قرار داده شدند، نمونه‌ها در این مدت مرتباً مخلوط گردیدند و سپس توسط کاغذ صافی (واتمن شماره ۴) صاف شدند. حذف حلال توسط دستگاه اواپوراتور انجام گردید. جهت اطمینان از حذف کامل حلال، عصاره‌های باقی‌مانده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری شدند تا حلال از عصاره به‌طور کامل خارج گردد. پودر عصاره در حلال DMSO حل شد و با فیلتراسیون با فیلتر ۰/۲۲ میکرون ویال‌های استریل جهت بررسی اثر ضد باکتریایی به دست آمد (۹).

تهیه گلاسین، پلی الایزین و نایسین

پودر گلایسین و پودر پلی الایزین از شرکت سیگما تهیه گردید، پس از محلول سازی و فیلتراسیون ۰/۲۲ میکرون، آماده استفاده شدند (۱۲ و ۱۳).

نایسین با برند شرکت سیگما تهیه گردید. برای آماده‌سازی در اسیدکلریدریک ۲ درصد استریل حل گردید، سپس در بن ماری در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه حرارت دید. پس از سانتریفیوژ و فیلتراسیون مایع رویی با فیلتر ۰/۲۲ میکرون تا هنگام مصرف در دمای ۲۰- نگهداری گردید (۱۵).

باکتری موردمطالعه لاکتوکوکوس گارویه (IBRC-M 10900) از دانشکده شیلات دانشگاه زابل تهیه گردید. باکتری برای رشد اولیه بر روی محیط مولر هینتون براث (مرک آلمان) کشت و برای ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس انکوبه شدند. سرانجام در شرایط استریل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر غلظت نیم مک فارلند (۱/۵ ×۱۰^۸ CFU/ml) از هر باکتری در محیط مولر هینتون براث (مرک آلمان) به دست آمد که بعد از رقیق‌سازی غلظت ۱/۵ ×۱۰^۶ CFU/ml که به‌عنوان منبع ذخیره در نظر گرفته می‌شود (۲۴).

آزمایش MIC در پلیت ۹۶ خانه‌ای استریل و با روش براث میکرو دایلوشن طبق استاندارد CLSI در محیط مولرهینتون براث انجام شد. غلظت ابتدایی مشتقات ۸۱۹۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای همه ترکیبات تهیه شد. در خانه آخر هر ردیف (خانه دوازده) سوسپانسیون باکتریایی به ترکیب محیط کشت مولر هینتون براث و DMSO به‌عنوان کنترل منفی اضافه گردید. سپس پلیت ۹۶ خانه برای ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در انکیباتور شیکردار قرار داده شد. بعد از انکبواسیون،

کمترین غلظتی که در آن کدورت حاصل از رشد باکتری مشاهده نشد به‌عنوان MIC تعیین شد (۲۴).

به‌منظور تعیین MBC، از تمام چاهک‌های فاقد کدورت در محیط مولرهینتون اگار کشت و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون گردید. کمترین غلظتی که باکتری در آن رشد نکرده بود به‌عنوان MBC گزارش گردید (۲۴).

برای تعیین قطر هاله عدم رشد ابتدا در محیط مولر هینتون آگار با سواپ آغشته به سوسپانسیون باکتریایی، کشت سطحی باکتری صورت گرفت سپس با استفاده از سمپلر، ۱۵ میکرولیتر از حداکثر غلظت تهیه‌شده برای ترکیبات (برای کنترل منفی ۱۵ میکرولیتر DMSO) روی دیسک‌های بلانک استریل ریخته شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۲۸ درجه سلسیوس قطر هاله مهار رشد توسط کولیس اندازه‌گیری شد (۲۴).

تمامی آزمایش‌ها سه بار انجام شد.

نتایج

نتایج نشان داد نایسین، پلی الایزین، گلایسین و عصاره هیدروالکلی رزماری فاقد اثر مهاری بر لاکتوکوکوس گارویه می‌باشند. اثر مهاری دو مشتق تیواتر، نانوذرات روی و عصاره هیدروالکلی برگ گیاه جغجغه با قطر هاله مهار رشد ۱۸/۳۵-۹/۴۸ میلی‌متر، MIC ۳۲-۴۰۹۶ و MBC ۶۴-۲۰۴۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید که بیشترین اثر مهاری مربوط به تیواتر ۴e بود (جدول ۱)

جدول ۱- بررسی اثر ضد باکتریایی مشتقات تیواتر، نانوذرات منیزیم، نایسین، پلی الایزین، گلایسین و عصاره الکلی برگ گیاه جغجغه و رزماری علیه لاکتوکوکوس گارویه

ترکیبات	قطر هاله مهار رشد (mm)	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)
نانوذرات روی	۹/۴۸	۴۰۹۶	۲۰۴۸
گلایسین	_	_	_
نایسین	_	_	_
پلی الایزین	_	_	_
عصاره الکلی برگ گیاه جغجغه	۱۴/۷۲	۲۵۶	۲۵۶
عصاره الکلی رزماری	_	_	_
تیواتر ۴a	_	_	_
تیواتر ۴ b	۱۶/۴۱	۵۱۲	۵۱۲
تیواتر ۴ c	_	_	_
تیواتر ۴ d	_	_	_
تیواتر ۴e	۱۸/۲۴	۳۲	۶۴
سیپروفلوکساسین	۲۳/۶	۴	۸

_: عدم مشاهده اثر مهاری

بحث

هرچند تمامی ترکیبات مطالعه برای اولین بار بر لاکتوکوکوس گارویه تست گردیدند، بررسی مکانیسم اثر هریک از ترکیبات می‌تواند به فهم برتر نتایج حاصل کمک کند.

پلی الایزین فاقد اثر مهاری بر لاکتوکوکوس گارویه مشاهده گردید. سبب نشت یون‌ها از سلول باکتری و برهم خوردن چرخه سوخت‌وساز سلول از مکانیسم‌های احتمالی است که برای اثر ضد باکتریایی پلی الایزین مطرح می‌شود و افزایش دما و کاهش pH در بالا بردن قدرت ضد باکتریایی این ترکیب مؤثر هستند (۲۵). پلی الایزین بر روی سطح، مورفولوژی، چرخه الکترونی و پمپ‌های غشایی باکتری‌های گرم مثبت اثرگذار است اما تنوع اثر این ترکیب بر باکتری‌های گرم مثبت گوناگون گزارش‌شده است (۲۶).

اثر مهاری از نایسین بر لاکتوکوکوس گارویه ثبت نگردید. نایسین این پپتید باکتریایی با ایجاد منفذ در غشای سلولی سبب اختلال در تولید ATP و تغییرات در غلظت یون‌های حیاتی سبب مهار باکتری‌ها می‌شود (۲۷). تحقیقات جدید نشان داده است

نایسین برای تأثیر قابل‌ملاحظه بر برخی پاتوژن‌های گرم مثبت نیاز به حامل‌هایی مانند فلوراید و کلرهگزیدین دارد که احتمالاً وجود این حامل‌ها می‌تواند در اثرگذاری نایسین مؤثر واقع گردد (۲۸).

گلایسین نیز فاقد اثر مهاری بر لاکتوکوکوس گارویه بود. گلایسین با مهار سنتز پپتیدوگلیکان دیواره باکتری‌ها، اثر مهاری خود را اعمال می‌کند (۲۹). مطالعات نشان داده است گلایسین بر برخی پاتوژن‌ها اثر مهاری ندارد و افزودن برخی ترکیبات فنل دار مانند ان فیتلوایل دی فنیل هیدروزامید در افزایش اثر مهاری گلایسین مؤثر واقع گردد (۳۰).

عصاره هیدروالکلی رزماری فاقد اثر ضد باکتریایی بر لاکتوکوکوس گارویه بود. رزماری از ترکیباتی چون بورنئول، لیمونن، کامفن، ۱ و ۸ سینئول، کامفر، وربنون، آلفاپی نن، اسید روزماریک، اسید کافئیک و اسید کلروژنیک تشکیل‌شده است که آب‌وهوا، ترکیب خاک و سن گیاه بر میزان هر یک از ترکیبات مؤثر است و محققین ۱ و ۸ سینئول، وربنون و آلفاپی نن را مهم‌ترین ترکیبات ضد باکتریایی رزماری می‌دانند که با مکانیسم افزایش نفوذپذیری غشا باکتری اثر خود را اعمال می‌کنند (۳۱). عصاره و اسانس رزماری در مطالعات گوناگون دارای اثرات متنوعی بر پاتوژن‌ها بوده است به‌طوری‌که اثرات این گیاه بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس MIC ۱۴۰۰ تا ۲۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بر باکتری گرم منفی اشرشیاکلی MIC ۳۲۰۰ تا ۱۲۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش‌شده است که احتمال دارد اثر عصاره هیدروالکلی رزماری در غلظت‌های بالاتر بر لاکتوکوکوس گارویه مشاهده شود (۳۱ و ۳۲).

در این مطالعه قدرت مهاری عصاره هیدروالکلی برگ جغجغه بر لاکتوکوکوس گارویه مشاهده گردید. اسیدهای چرب غیراشباع، پروتئین‌ها و ترکیبات فنولی مهم‌ترین ترکیبات عصاره جغجغه را تشکیل می‌دهند و محققین اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های استات و هگزانی این گیاه را گزارش کرده‌اند (۳۳). مهار آنزیم‌ها و افزایش نفوذپذیری دیواره سلولی باکتریایی را به‌عنوان مکانیسم‌های مهاری عصاره جغجغه بیان می‌کنند (۳۳). اثر ضد باکتریایی عصاره هگزانی و متانولی میوه و دانه جغجغه بر باکتری گرم مثبت استرپتوکوکوس اینایی نشان داده شد البته اثر مهاری با MIC ۲۵۰۰۰ و MBC ۵۰۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بسیار بیشتر از اثر عصاره هیدروالکلی برگ جغجغه است (۳۴).

در این مطالعه قدرت مهاری نانوذرات روی بر لاکتوکوکوس گارویه مشاهده گردید. تولید پراکسید هیدروژن و یون Zn^{2+}، از کار انداختن پمپ‌های غشایی و ایجاد منافذ در غشا از مهم‌ترین مکانیسم‌های مهاری نانوذرات روی بر باکتری‌ها است (۳۵). مطالعات نشان داده است وجود لایه پپتیدوگلیکان ضخیم در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت در کاهش اثر مهاری نانوذرات روی بر این پاتوژن‌ها نقش مهمی دارد (۳۵). Soren و همکاران اثر ضد باکتریایی نانوذرات روی را بر باکتری‌هایی چون استرپتوکوکوس پیوژنز، ویبریوکلرا و سالمونلا تیفی با اندازه‌گیری MIC نشان دادند (۳۶). Vijayakumar و همکاران با اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد اثر نانوذرات روی را بر باکتری‌هایی چون باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا گزارش کردند (۳۷).

اثر ضد باکتریایی مشتقات تیواتر ۴a و ۴e بر باکتری لاکتوکوکوس گارویه مشاهده گردید. مشتقات تیواتر با مهار متابولیسم پورین‌ها (آدنین و گوانین) از تولید ماده ژنتیک در باکتری‌ها جلوگیری می‌کنند و وجود اتصالات جانبی در افزایش قدرت ضد میکروبی آن‌ها نقش مؤثری دارند (۳۸). در مطالعه Singh و همکاران اثر مهاری برخی مشتقات تیواتر بر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتلیس گزارش شد، همچنین در این مطالعه وجود اتصال فنل و کوئنوزالین در تقویت اثر مهاری مشتقات بر پاتوژن‌ها مؤثر بوده است (۳۸). Bhalgat و همکاران اثر مهاری مشتقات تیواتر با اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد در غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر روی دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا نشان دادند و در این مطالعه مشتقات دارای اتصال تیازول، نتروفنیل و هیدروکسی فنیل بیشترین اثر مهاری را بر باکتری‌ها داشتند (۳۹). تحقیق Ling و همکاران در مورد تأثیر اتصالات جانبی مشتقات تیواتر براثر ضد باکتریایی آن‌ها بر سویه استاندارد و مقاوم استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که اتصال حلقه‌های ۶ ضلعی به‌خصوص پیریدین نسبت به حلقه‌های پنج‌ضلعی سبب تقویت بیشتر اثر ضد باکتریایی می‌گردند و وجود اتم نیتروژن نیز عاملی مؤثر در این افزایش اثر مهاری است (۴۰).

نتیجه‌گیری

عصاره هیدروالکلی جغجغه، نانوذرات روی و مشتقات تیواتر که بر لاکتوکوکوس گارویه دارای اثر مهاری بودند، هریک از سه نوع خانواده متنوع ترکیبات ضد باکتریایی هستند که با مکانیسم‌های گوناگون سبب مهار رشد باکتری‌ها می‌گردند، شناخت دقیق اثر هر ترکیب در مرحله اول و سپس بررسی‌های آزمایشگاهی اثرات درمانی و سمیت آن‌ها بر روی آبزیان، حیوانات آزمایشگاهی و سلول‌های انسانی در مراحل بعدی، می‌تواند شناخت کافی از هر ترکیب به‌منظور جایگزینی آن‌ها با آنتی‌بیوتیک‌های قدیمی را در پزشکی و دامپزشکی فراهم سازد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه زابل بابت حمایت مالی تشکر و قدردانی می‌شود. کد مقاله در دانشگاه زابل UOZ-GR-9618-40 است.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Venderell D. Lactococcus garvieaein fish: A review. Comparative Immunology, Microbiology, and Infectious Diseases. 2006;29:177-198.
2. Gibello A, Galan-Sanchez F, MarBlanco M, Rodriguez-Iglesias M, Dominguez L, Fernandez Garayzabal JF. The zoonotic potential of Lactococcus garvieae: An overview on microbiology, epidemiology, virulence factors and relationship with its presence in foods. Research in Veterinary Science. 2016;109:59-70.
3. Fernandez E, Alegria A, Delgado S, Mayo B. Phenotypic, genetic and technological characterization of Lactococcus garvieae strains isolated from a raw milk cheese. International Dairy Journal. 2010;20(3):142-148.
4. Kolodziejczak A, Jesionowski T. Zinc oxide from synthesis to application. Materials. 2014;7:2833-81.
5. Bogutska KI, Sklyarov YP, Prylutskyy YI. Zinc and zinc nanoparticles: biological role and application in biomedicine. UkrainicaBioorganicaActa. 2013;1:9-16.
6. Arshad M, Qayyum A, Shar GA, Soomro GA, Nazir A, Munir B. Zn-doped SiO_2 nanoparticles preparation and characterization under the effect of various solvents: Antibacterial, antifungal and photocatlytic performance evaluation. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2018;185:176-183.
7. Parekh J, Chanda S. In vitro antibacterial activity of the crude methanol extract of Woodfordia fruticose kurz. Flower (Lythraceae). Brazilian Journal of Microbiology. 2007;38:204-207.
8. Al-Quran S. Taxonomical and pharmacological survey of therapeutic plants in Jordan. Journal of Natural Products. 2008;1:10-26.
9. Mamatha. R, Khan S, Salunkhe P, Satpute S, Kendurkar SV, Prabhune A, et al. Rapid synthesis of highly monodispersed silver nanoparticles from the leaves of Salvadora persica. Materials Letters. 2017;205:226-229.
10. Wang W, Wu N, Zu YG, Fu YJ. Antioxidative activity of Rosmarinus officinalis L. essential oil compared to its main components. Food Chemistry. 2008;108(3):1019-1022.
11. Amarala GP, Mizdalb CR, Stefanelloa ST, Loureiro-Mendezc AS, Punteld RL, Campos MMA. Antibacterial and antioxidant effects of Rosmarinus officinalis extract and its fractions. Journal of Traditional and Complementary Medicine 2018;doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.10.006.
12. Masaaki M, Takafumi A, Shin-nosuke H, Keizo T. Effect of Glycine on Helicobacter pylori In Vitro. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2004;48(10):3782-3788.
13. Samadi M, Shekarforoush SS, Ghaisari HR. Antimicrobial effects of magnesium oxide nanoparticles and ε-poly-L-lysine against Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2016;10(2):33-41.
14. Pan D, Zhang D, Hao L, Lin S, Kang Q, Liu X, et al. Protective effects of soybean protein and egg white protein on the antibacterial activity of nisin in the presence of trypsin. Food Chemistry. 2017;239:196-200.
15. Safari R, Yaghoubzadeh Z. The combined effect of nisin, sodium acetate to increase the shelf life of trout in form Completely empty stomach. Iranian Scientific Fisheries Journal. 2016;24(4):155-169. [In Persian]
16. Sanada Y, Senba H, Mochizuki R, Arakaki H, Gotoh T, Fukumoto S, et al. Evaluation of Marked Rise in Fecal Egg Output after Bithionol Administration to Horse and its Application as a Diagnostic Marker for Equine Anoplocephala perfoliata Infection. Journal of Veterinary Medical Science. 2009;71:617-620.
17. Leonardi W, Zilbermintz L, Cheng LW, Zozaya J, Tran SH, Elliott JH. Bithionol blocks pathogenicity of bacterial toxins, ricin, and Zika virus. Scientific Reports. 2016;6:344-375.

18. Muller R, Bottger C, Wichmann G. Suitability of Cefotiam and Cefuroxime Axetil for the Perioperative Short-term Prophylaxis in Tonsillectomy Patients. Arzneimittelforschung. 2003;53:126-132.
19. Seidman LS, Skokos CK. An Evaluation of Butoconazole Nitrate 2% Site Release® Vaginal Cream (Gynazole-1®) Compared to Fluconazole 150 mg Tablets (Diflucan®) in the Time to Relief of Symptoms in Patients With Vulvovaginal Candidiasis. Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology. 2005;13:197-206.
20. Lee KS, Kim JS, Kim JW, Lee WY, Jeon BS, Kim D. A multicenter randomized crossover multiple-dose comparison study of arotinolol and propranolol in essential tremor. Parkinsonism & Related Disorders. 2003;9:341-347.
21. Matsuzawa SY. Where are we with probucol: a new life for an old drug. Atherosclerosis. 2009; 207:16-23. 22. Esposito A, Valentino MR, Bruzzese D, Bocchino M, Ponticiello A. Effect of CArbocisteine in Prevention of exace Rbation of chronic obstructive pulmonary disease (CAPRI study): An observational study. Pulmonary Pharmacology and Therapeutics. 2016;37:85-88.
23. Rajesha G, Mahadevan KM, Satyanarayan ND, Bhojya-Naik HS. Synthesis, Antibacterial, and Analgesic Activity of Novel 4-Hydroxy-3-(phenylthio)-2H-chromen-2-ones and4-Hydroxy-3-[imidazol/tetrazolo-2-yl)thio]-2H-chromen-2-ones. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements 2011;186(8):1733-1743.
24- Beyzaei H, Baranipour P, Aryan R, Karimi P, Sanchooli M, Samareh Delarami H. Multicomponent Solvent-Free Synthesis, Antibacterial Evaluation and QSAR Study of 2-(Bis(benzylthio)methylene) malononitriles. Acta Chimica Slovenica. 2018;65:757-767.
25. Ye R, Xu H, Wanb C, Peng S, Wang L, Xu H, et al. Antibacterial activity and mechanism of action of e-poly-L-lysine. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2013;439:148-153.
26. Li YQ, Feng JL, Tian WL, Mo HZ. Antibacterial characteristics and mechanisms of 3-poly-lysine againstEscherichia coli andStaphylococcus aureus. Food Control. 2014;43:22-27.
27. Liu H, Pei H, Han Z, Feng G, Li D. The antimicrobial effects and synergistic antibacterial mechanism of the combination of ε-Polylysine and nisin against Bacillus subtilis. Food Control. 2015;47:444-450.
28. Tong Z, Ni c L, Ling J. Antibacterial peptide nisin: A potential role in the inhibition of oral pathogenic bacteria. Peptides. 2014;60:32-40.
29. Saei-Dehkordi SS, Fallah AA, Moshtaghi H, Molanouri-Shamsi S, Karimi-Dehkordi S. Antimicrobial interactions between essential oil of Stachys lavandulifolia Vahl, with nisin and glycine on food borne pathogens and food spoilage organisms. Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences. 2010;4(1):9-19. [In Persian]
30. Matijevi J, Cvetni Z. Antimicrobial activity of N-phthaloylamino acid hydroxamates. Acta Pharmaceutica. 2005;55:387-399.
31. Solta-Dallal MM, Ghorbanzade-Mashkani M, Yazdi M H, Agha-Amiri S, Mobasseri G, AbediMohtasab TP, et al. Antibacterial effects of Rosmarinus officinalis on Methicillin -resistant Staphylococcus aureus isolated from patients and foods. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2011;16(1):73-80. [In Persian]
32. Malakootian M, Hatami B. Survey of Chemical Composition and Antibacterial Activity of Rosmarinus Officinalis Essential oils on Escherichia Coli and Its Kinetic. Journal of Toloo-e-behdasht. 2012;12(1):1-13. [In Persian]
33. Khadija kM, Sazan QM, Pshteewan AH. Detection of Sphingomonas paucimobilis and antibacterial activity of Prosopis farcta extracts on it. Karbala International Journal of Modern Science. 2018;4(1):100-106.
34. Sanchooli N, Rigi M. The effect of plant extracts Prosopis farcta, Datura stramunium and Calotropis procera Against three species of Fish Pathogenic Bacteria. Journal of Veterinary Research. 2015;70(4):455-462.
35. Aflatoonian M, Khatami M, Sharifi I, Pourseyedi S, Khatami M, Yaghobi H. Evaluation antimicrobial activity of biogenic zinc oxide nanoparticles on two standard gram positive and gram negative strains. Tehran University Medical Journal. 2017;75(8):562-9. [In Persian]
36. Soren S, Kumar S, Mishra S, Jena P, Verma S, ParhiP. Evaluation of antibacterial and antioxidant potential of the zinc oxide nanoparticles synthesized by aqueous and polyol method. Microbial Pathogenesis. 2019;119:145-151.
37. Vijayakumara S, Mahadevana S, Arulmozhia P, Sriramb S, Praseetha PK. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Atalantia monophylla leaf extracts: Characterization and antimicrobial analysis. Materials Science in Semiconductor. 2018;82(1):39-45.
38. Singh DCP, Hashim SR, Singhal RG. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New Thioether Derivatives of Quinoxaline. E-Journal of Chemistry. 2011;8(2):635-642.
39. Bhalgat CM, Ramesh B. Synthesis, antimicrobial screening and structure–activity relationshipof novel pyrimidines and their thioethers. Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University. 2018;147:11-19.
40. Ling C, Fu L, Gao S, Chu W, Wang H, Huang Y. Design, Synthesis, and Structure−Activity Relationship Studies of Novel Thioether Pleuromutilin Derivatives as Potent Antibacterial Agents. Journal of Medicinal Chemistry 2014;57(11):4772-4795.

Original Article

Antibacterial Effect of New Compounds Against Lactococcus garvieae

Rahdar A[1*], Ghasemi B[2], Hashemi SH[3], Moghaddam-Manesh MR[4]

1. Department of Physics, Faculty of Science, University of Zabol, Zabol, Iran
2. Torbat Jam Faculty of Medical Sciences, Torbat Jam, Iran
3. Department of Basic Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary, University of Zabol, Zabol, Iran
4. Young Researchers and Elite Club, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

Received: 29 Jan 2019 Accepted: 08 Jun 2019

Abstract

Background & Objective: Lactococcus garvieae is one of the most important zoonotic pathogens that threatens the aquaculture industry. The recognition and use of new antibacterial compounds is one the best ways to control this pathogen. In this study, inhibitory effects of Zn nanoparticles, thioethers derivatives, poly-*L*-lysine, nisin, glycine and hydroalcoholic extracts of Rosemary and Prosopis farcta leaves were assessed against L. garvieae.

Materials & Methods: Antibacterial effect of all compounds were evaluated via the disk diffusion and broth microdilution methods. The results were reported as inhibition zone diameter (IZD), the minimum inhibitory concentration (MIC), and the *minimum bactericidal concentration (MBC*) values.

Results: Any significant inhibitory effect was observed on L. garvieae with poly-*L*-lysine, nisin, glycine and hydroalcoholic extracts of Rosemary. Antibacterial effectof twothioethers derivatives, Zn nanoparticles and hydroalcoholic extracts of Prosopis farcta leaves was observed with IZD = 9.48-18.35 mm, MIC = 32-4096 µg/ml and MBC = 64-2048 µg/ml. The best inhibitory effect was belonged to thioethers derivative 4e.

Conclusion: Antibacterial effect of thioethers derivatives, Zn nanoparticles and hydroalcoholic extracts of Prosopis farcta leaves were proven on L. garvieae invitro. New ligands and complexes can be designed according tested thioethers especially derivative 4e in future researches to improve antimicrobial properties.

Keywords: Antibacterial Effect, New Compounds, L.garvieae

***Corresponding Author: Rahdar Abbas**, Department of Physics, Faculty of Science, University of Zabol, Zabol, Iran
Email: a.rahdarnanophysics@gmail.com
https://orcid.org/0000-0003-4766-9214

Journal of Fasa University of Medical Sciences 9 (2019): 1605-1612