مقـــاله تحقیقی

بهینه‌سازی تولید پانسمان های نانوکریستال نقره جهت کنترل رشد باکتری‌های متداول در عفونت‌های سوختگی

نازنین پشوتن[1]، محبوبه مدنی[1]، لاله هویدا[1*]، مرجان انشاییه[2]

[1] گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

[2] گروه بیوتکنولوژی، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران.

* نشانی نویسنده مسئول:

گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

نشانی الکترونیک:

laleh hk@yahoo.com

چکیده

زمینه: پانسمان های نانوکریستال نقره به علت تاثیر بر روی باکتری های متفاوت موجود در عفونت زخم ها، اخیراً مورد توجه زیادی قرارگرفته اند. مهم ترین عامل در انتخاب پانسمان میزان تاثیر ضد عفونی کنندگی، میزان اثر آن بر اپتیلیزاسیون و توانایی آن در کنترل عفونت زخم می باشد. علاوه بر آن منجر به کاهش استفاده از عوامل مسکن و مخدر شده و استرس تعویض پانسمان را به میزان ۵۰% کاهش می دهد. تمامی این راهکارها نیازمند بهینه سازی برای رسیدن به بهترین شرایط با حداقل میزان زمان و هزینه می باشند.

روش کار: در این مطالعه آماده سازی نانو ذرات نقره، بررسی پارچه های نقره از لحاظ استریل بودن، طراحی آزمایش با استفاده از روش تاگوچی و بررسی پارچه نقره از لحاظ اثر بخشی میکروبی انجام داده شده است.

یافته‌ها: بهترین حالت پیش بینی شده توسط نرم افزار شامل ۴۵ گرم بر لیتر نیترات نقره، ۱۴ گرم بر لیتر گلوکز، ۲۸۰ میکرولیتر هیدروکسید سدیم، ۶۰ ثانیه زمان مخلوط شدن و ۴ ساعت زمان خشک شدن می باشد. در این حالت میانگین قطر هاله عدم رشد ۴/۵ سانتی متر پیش بینی گردید. در آزمایشگاه میانگین قطر هاله عدم رشد در این حالت معادل ۴/۲۵ به دست آمد.

نتیجه گیری: به دست آوردن راهکاری برای بهینه‌سازی تولید این پانسمان‌ها و بدست‌آوردن قطر هاله‌ی عدم رشد بیشتر که نشان دهنده ی موثرتر بودن عملکرد این پانسمان می باشد از اهمیت ویژه ای برخوردار است.

واژگان کلیدی: پانسمان نقره، بهینه سازی، طراحی آزمایش ها

مقدمه

تعویض پانسمان در بیماران دچار سوختگی و نیز در زخم بستر، تحمل دوره‌ی درمان را برای این بیماران دشوارتر می کند. لذا پانسمان‌های نانوکریستال نقره که نیاز به تعویض مداوم ندارند التیامی بر دردهای این بیماران است. این پانسمان هم اکنون در کشورهای پیشرفته در حال تولید است لکن دسترسی به این تکنیک با استفاده از روش تاگوچی در این مطالعه مورد بررسی قرار خواهد گرفت. نقره دارای اثر آنتی باکتریال بسیار قوی به ویژه در مورد میکروارگانیسم‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد. یون نقره طیف ضد میکروبی بسیار وسیعی داشته و زمانی که در غلظت مناسب استفاده شود بر مخمرها، قارچها، کپک‌ها و باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها تاثیر می گذارد (۱). پانسمان نقره به علت خاصیت ضدمیکروبی و حفظ رطوبت مناسب بر ترمیم زخم و کنترل عفونت تاثیر بسزایی دارد (۳ و ۲). پانسمان‌های نانوکریستال نقره به علت تاثیر بر روی باکتری‌های متفاوت موجود در عفونت زخم‌ها، اخیراً مورد توجه زیادی قرارگرفته‌اند. مهم‌ترین عامل در انتخاب پانسمان میزان تاثیر ضدعفونی کنندگی، میزان اثر آن بر اپیتلیزاسیون و توانایی آن در کنترل عفونت زخم می‌باشد (۶-۴). یون نقره طیف ضدمیکروبی بسیار وسیعی داشته و زمانی که در غلظت مناسب استفاده شود بر مخمرها، قارچها، کپک‌ها و باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها مثل استافیلوکوکوس آرئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) و انتروکوک‌های مقاوم به ونکومایسین (VRE) تاثیر می‌گذارد (۸ و۷). بدین ترتیب پانسمان نقره به علت خاصیت ضدمیکروبی و حفظ رطوبت مناسب که برای ترمیم زخم لازم است برکنترل عفونت تاثیر می‌گذارد. آزادسازی مداوم یون نقره در این پانسمان‌ها منجر به تاثیر ضد میکروبی سریع و قوی آنها می‌شود. علاوه بر آن منجر به کاهش استفاده از عوامل مسکن و مخدر شده و استرس تعویض پانسمان را به میزان ۵۰% کاهش می‌دهد (۴). پانسمان‌های نانوکریستال نقره به علت تاثیر بر روی باکتری های متفاوت موجود در عفونت زخم‌ها، اخیراً مورد توجه زیادی قرارگرفته‌اند.

این پانسمان‌ها معمولاً به صورت وارداتی تامین می شوند زیرا تولید آن بسیار هزینه بر می‌باشد. همچنین دستیابی به روشی مناسب برای تولید معمولاً در انحصار شرکت‌های خارجی مانند Acticoat است. لذا دستیابی به روشی بهینه برای تولید پانسمان‌های نانوکریستال نقره که برای بیماران دچار عفونت‌های سوختگی و یا بیماران دچار زخم‌های بستر ضروری است، از اهمیت بالایی برخوردار است. بهینه‌سازی تولید این پانسمان از اهمیت و الویت ویژه‌ای برخوردار است زیرا نیترات نقره بسیار گران قیمت بوده و رسیدن به پاسخی خوب در این زمینه با حداقل مقدار نیترات نقره بسیار با اهمیت است. همچنین به دلیل ضررهای جانبی نیترات نقره رسیدن به پاسخی خوب با مقدار مصرف کمتر این ماده بسیار با اهمیت است. این بیماران در هر بار تعویض پانسمان‌های معمولی متحمل درد و رنج فراوانی می‌شوند و زمان بهبود زخم آنها به تعویق می‌افتد لذا بررسی تولید این پانسمان می‌تواند راهکاری بر التیام دردهای آنها باشد.

این پانسمان در موارد متعددی کاربرد دارد: سوختگی‌های ضخیم اما جزئی (درجه دو)، زخم‌های عفونی و یا زخم‌هایی که در معرض عفونت هستند، زخم پای افراد دیابتی، زخم‌های پا و زخم‌های دردناک، زخم‌های ناشی از جراحی، زخم‌های جراحتی، زخم‌هایی که در معرض خون‌ریزی هستند و زخم‌های توموری، مانند تومورهای پوستی– قارچی، متاستازهای پوستی و سارکوما از موارد کاربرد این پانسمان هستند. البته در مورد افرادی که سابقه حساسیت به نقره، سدیم، کربوکسی متیل سلولز و یا نایلون دارند، نباید از پانسمان‌های نقره سوختگی استفاده کرد. علاوه بر آن لازم است موارد زیر رعایت گردد: این پانسمان، یک بار مصرف است. استفاده مجدد از آن، احتمال عفونت و آلودگی را افزایش می‌دهد، و ممکن است خصوصیات فیزیکی پانسمان برای استفاده مورد نظر، مطلوب نباشند. هنگام طی شدن روند بهبودی، بافت مرده از زخم خارج می‌شود، که باعث بزرگ‌تر شدن ظاهر زخم می‌شود. لازم است زخم را در هنگام تعویض پانسمان از نظر: عفونت (افزایش درد، قرمزی و ترشح)، خون‌ریزی تغییر رنگ و بوی زخم، التهاب و قرمزی، سفیدی پوست و عدم بهبودی بررسی شود. در سوختگی‌های ضخیم اما جزئی، چسبندگی پانسمان به بستر زخم یکی از ویژگی‌های مورد نظر است. از آنجایی که پانسمان نقره، محیط را مرطوب نگه می‌دارد، باعث رشد رگ‌های خونی جدید می‌شود، به همین دلیل احتمال دیده شدن ترشح خونی از زخم وجود دارد (۱۰و۹).

هدف از این مطالعه ایجاد پانسمان‌های نانو کریستال نقره و بهینه‌سازی میزان نقره موجود در آن و سایر پارامترهای موثر برای به دست آوردن بیشترین میزان هاله‌ی عدم رشد بر میکروارگانیسم‌های رایج در عفونت‌ها می‌باشد. با انجام این بهینه‌سازی می‌توان با صرف هزینه کمتر به بازدهی بالاتری دست یافت و هاله عدم رشد بیشتری را به دست آورد. به دست آوردن هاله عدم رشد بیشتر می‌تواند نشان دهنده تاثیر بیشتر نانوذرات نقره بر باکتری‌ها باشد و این تاثیر بیشتر بر عفونت زخم را نشان می‌دهد. استفاده از روش طراحی آزمایش‌ها امکان بررسی همزمان کلیه‌ی عوامل موثر بر قدرت ضد میکروبی پانسمان نقره را فراهم می کند؛ بدین ترتیب می توان با بهینه نمودن شرایط تولید، این روند را از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه نمود.

مواد و روش

آماده سازی نانو ذرات نقره

نقره موجود بر روی پارچه های پانسمان ضد میکروبی به صورت Ag0 می باشد. لذا لازم است یون نقره به نقره فلزی تبدیل شود. برای احیای یون نقره از گلوکز استفاده شد. این واکنش کند بوده و برای غلبه بر این مشکل، سود مورد استفاده قرار گرفت که با گلوکز وارد واکنش می شود. از پارچه ی نایلونی به عوان بستری برای نقره استفاده می گردد. برای هر سانتی متر مربع از این پارچه در ابتدا (قبل از وارد شدن به برنامه ی تاگوچی) حدود ۰/۴ mg نقره استفاده شد. ۱۵/۷ میلی گرم نیترات نقره

و ۸/۳ mg گلوکز را مخلوط کرده و در حدود ۲ ml آب اضافه شد، هر دو ترکیب کامل و سریع حل شدند. این دو ترکیب پس از افزودن سود به میزان ۱۰۰ میکرولیتر با یکدیگر واکنش می دهند. پس از آن پارچه خام در این محلول قرار داده شد. لازم است از حداقل میزان سود استفاده شود تا منجر به حذف یون نقره از روی پارچه نگردد. همزنی به صورت یکنواخت و سریع (به مدت ۳۰ ثانیه) صورت گرفت تا نقره در سراسر پارچه به صورت یکنواخت قرار گیرد. در نهایت اجازه داده شد تا پارچه خشک شود. مدت زمان خشک شدن نیز بر روی قدرت ضد میکروبی می تواند موثر باشد. پس از آن جهت به دست آوردن بهترین میزان نقره، گلوکز، هیدروکسید سدیم، مدت زمان مخلوط کردن و مدت زمان خشک شدن، از طراحی آزمایش ها به روش تاگوچی استفاده شد. در این روش امکان بررسی همزمان کلیه ی عوامل فراهم بوده و علاوه بر دادن نتیجه ی قطعی در آزمایش های بیولوژی فرایند را از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه می نماید. بدین ترتیب که عواملی که دارای درصد تاثیر پایین هستند حذف شده و همین امر باعث کاهش هزینه ها می گردد. علاوه بر این استفاده از این روش امکان بررسی اثر متقابل عوامل مختلف را فراهم می کند. بدین ترتیب که عاملی که به تنهایی دارای اثر زیادی نیست می تواند در ترکیب با عامل دیگر دارای اثر متقابل زیادی بوده که البته این تاثیر در مطالعات جزء به جزء عوامل موثر مفید می باشد(۱۲ و ۱۱).

بررسی پارچه‌های نقره از لحاظ استریل بودن

پس از این که پانسمان نقره در معرض اشعه گاما قرار گرفت از محیط کشت TSB جهت شمارش میکروبی استفاده شد. این محیط به مدت ۱۴ روز در انکوباتور ۳۵ C° قرار گرفت. علاوه بر آن از محیط کشت تیوگلیکولات نیز یک نمونه در جار بی هوازی و یک نمونه در خارج از جار در دمای ۳۷ C° به مدت ۱۴ روز قرار داده شد. عدم مشاهده کدورت دال بر استریل بودن پانسمان‌های نقره است (۱۳).

بررسی پارچه نقره از لحاظ اثر بخشی میکروبی

در ابتدا سوسپانسیون میکروبی با غلظت ۰/۵ مک فارلند (۱-۱/۵ × ۱۰^۸ ml/cfu) از استافیلوکوکوس آرئوس و اشرشیا کلی تهیه گردید. پس از آن سوسپانسیون مربوطه بر روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. پانسمان‌های نقره به صورت ۱ cm×۱ cm بریده و بر روی محیط‌های کشت داده شده گذاشته شد. پلیت‌ها به مدت زمان ۲۴ الی ۹۶ ساعت در انکوباتور ۳۷ C° قرار گرفتند. میزان هاله ایجاد شده در اطراف پارچه نشان‌دهنده فعالیت ضدمیکروبی پانسمان‌های نقره است، چنانچه قطر هاله‌ی عدم رشد بیشتر از ۳ cm باشد فعالیت ضدمیکروبی پانسمان نقره خوب بوده و قابل قبول است. هرچه قطر هاله‌ی عدم رشد بیشتر باشد نشان دهنده‌ی اثر ضدمیکروبی موثرتر پانسمان نقره می‌باشد (۱۳).

بهینه سازی تولید پانسمان نقره به روش تاگوچی

طراحی آزمایش با استفاده از روش تاگوچی با کمک نرم‌افزار Qualitek-4 صورت گرفت. در این مرحله فاکتورهای موثر بر تولید پانسمان نقره و سطوح آنها تعیین شد و به برنامه تاگوچی داده شد. عوامل موثر به این ترتیب می‌باشند. نیترات نقره، گلوکز، هیدروکسید سدیم، زمان مخلوط کردن و زمان خشک شدن همه عوامل دارای پنج سطح می باشند. جدول ۱ عوامل و سطح مختلف آنها را نشان می‌دهد.

جدول ۱- سطوح مرتبط با متغیرهای در نظر گرفته شده برای تولید پانسمان نقره

متغیرها	سطح اول	سطح دوم	سطح سوم	سطح چهارم
$AgNO_3$ (g)	۲۵	۳۵	۴۵	۵۵
Glucose (g)	۱۰	۱۴	۱۸	۲۲
NaOH (µL)	۱۲۰	۲۰۰	۲۸۰	۳۶۰
Mixing time (s)	۴۰	۶۰	۸۰	۱۰۰
Drying time (h)	۲	۳	۴	۵

به این ترتیب در روش آماری تاگوچی برنامه‌ی M۱۶ برای انجام آزمون در نظر گرفته شد. آرایه‌های مرتبط با این برنامه در جدول ۲ نشان داده شده است.

یافته ها

بهینه سازی با استفاده از روش تاگوچی

با استفاده از نرم افزار و برنامه تاگوچی بهترین حالت برای به دست آوردن پانسمان با کیفیت امکان پذیر است. با توجه به اینکه حالتی که در آن میزان هاله عدم رشد هر دو باکتری دارای اهمیت است، میانگین قطر هاله عدم رشد در مورد دو هاله وارد برنامه شده تا آنالیز مورد نظر به دست آید.

همان طور که در جدول ۳ نشان داده شده است آرایه ی دوازدهم بهترین نتیجه را داشته است. که در این حالت میزان نیترات نقره ی مورد استفاده ۴۵ گرم، میزان گلوکز ۱۸ گرم، میزان هیدروکسید سدیم ۲۰۰ میکرولیتر و زمان خشک شدن و زمان مخلوط کردن به ترتیب معادل ۴ ساعت و ۴۰ ثانیه بوده است. جدول ۴ نتایج آنالیز واریانس را نشان می دهد در این جدول و همین طور در شکل ۱ می توان میزان درصد تاثیر عوامل مختلف را مشاهده کرد. در شکل۱ محور x نمایش دهنده فاکتورهای مختلف و محور y مربوط به درصد تاثیر هریک از عوامل می باشد. همان طور که مشاهده می شود

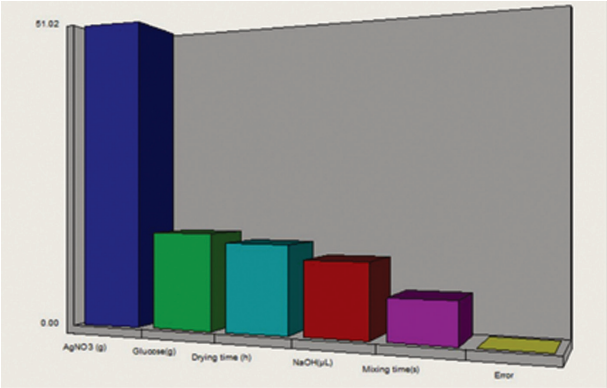
جدول ۲– آرایه‌های به دست آمده از طراحی M16 در طراحی آزمایش ها با روش تاگوچی

آرایه‌ها	$AgNO_3$ (g)	گلوکز(g)	NaOH (µL)	زمان مخلوط کردن (s)	زمان خشک شدن (h)
آرایه‌ی ۱	۲۵	۱۰	۱۲۰	۴۰	۲
آرایه‌ی ۲	۲۵	۱۴	۲۰۰	۶۰	۳
آرایه‌ی ۳	۲۵	۱۸	۲۸۰	۸۰	۴
آرایه‌ی ۴	۲۵	۲۲	۳۶۰	۱۰۰	۵
آرایه‌ی ۵	۳۵	۱۰	۲۰۰	۸۰	۵
آرایه‌ی ۶	۳۵	۱۴	۱۲۰	۱۰۰	۴
آرایه‌ی ۷	۳۵	۱۸	۳۶۰	۴۰	۳
آرایه‌ی ۸	۳۵	۲۲	۲۸۰	۶۰	۲
آرایه‌ی ۹	۴۵	۱۰	۲۸۰	۱۰۰	۳
آرایه‌ی۱۰	۴۵	۱۴	۳۶۰	۸۰	۲
آرایه‌ی۱۱	۴۵	۱۸	۱۲۰	۶۰	۵
آرایه‌ی۱۲	۴۵	۲۲	۲۰۰	۴۰	۴
آرایه‌ی۱۳	۵۵	۱۰	۳۶۰	۶۰	۴
آرایه‌ی۱۴	۵۵	۱۴	۲۸۰	۴۰	۵
آرایه‌ی۱۵	۵۵	۱۸	۲۰۰	۱۰۰	۲
آرایه‌ی۱۶	۵۵	۲۲	۱۲۰	۸۰	۳

جدول ۳– نتایج طراحی M16 در روش آماری تاگوچی در مورد میزان قطر هاله های عدم رشد

آرایه‌ها	قطر هاله‌ی گرم مثبت	قطر هاله‌ی گرم منفی	میانگین داده شده به تاگوچی
آرایه‌ی ۱	۲	۱/۲	۱/۶
آرایه‌ی ۲	۳/۶	۲/۸	۳/۲
آرایه‌ی ۳	۲/۳	۳/۷	۳
آرایه‌ی ۴	۱/۹	۲/۷	۲/۳
آرایه‌ی ۵	۳/۳	۲/۷	۳
آرایه‌ی ۶	۳/۵	۲/۹	۳/۲
آرایه‌ی ۷	۲/۶	۳/۶	۳/۱
آرایه‌ی ۸	۲/۳	۳/۷	۳
آرایه‌ی ۹	۲/۹	۳/۹	۳/۴
آرایه‌ی ۱۰	۳/۳	۳/۹	۳/۶
آرایه‌ی ۱۱	۳/۴	۴	۳/۷
آرایه‌ی ۱۲	۳/۵	۴/۱	۳/۸
آرایه‌ی ۱۳	۳/۲	۳/۴	۳/۳
آرایه‌ی ۱۴	۳/۴	۳/۶	۳/۵
آرایه‌ی ۱۵	۳	۲/۶	۲/۸
آرایه‌ی ۱۶	۲/۴	۲/۶	۲/۵

نیترات نقره دارای بیشترین تاثیر معادل ۵۱ درصد می باشد.
جدول ۵ تاثیر متقابل فاکتورهای مختلف را نشان می‌دهد. برنامه تاگوچی ۱۰ اثر متقابل را برای این عوامل در نظر گرفته است. در این جدول می‌توان مشاهده کرد که عواملی مثل NaOH و زمان مخلوط شدن که به تنهایی دارای اثری معادل ۱۲ و ۶/۷۷% به ترتیب هستند، در مقابل یکدیگر می‌توانند اثری معادل ۶۱/۳۶% داشته باشند. تاثیر متقابل فاکتورها بیشتر در مطالعات اثر یک عاملی به صورت بسیار دقیق موثر است. با توجه به نوع مطالعه چنانچه اثر متقابل دو فاکتور دارای اهمیت باشد باید سطوح پیشنهادی در این جدول را برای رسیدن به میزان بیشتر تولید انتخاب کرد.
شکل ۲ نمودارهای مربوط به تاثیر هریک از عوامل را نشان می‌دهد. شماره‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ بر روی محور xها نشان دهنده سطوح مختلف متغیرهاست و محور y نیز میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود میزان محدوده مورد انتخاب برای هر یک از مقادیر مناسب بوده است و این موضوع



شکل ۱ – درصد تاثیر عوامل مختلف بر میزان خاصیت ضد میکروبی پانسمان نقره

از شکل نمودارهای به دست آمده کاملاً مشخص است.
نمودار مذکور پلات کلی تمامی عوامل را نشان می‌دهد. در ادامه، نمودار هر یک از عوامل را به صورت جداگانه مورد بررسی قرار می دهد. در این نمودارها میانگین هاله در هر یک از سطوح پارامتر مورد

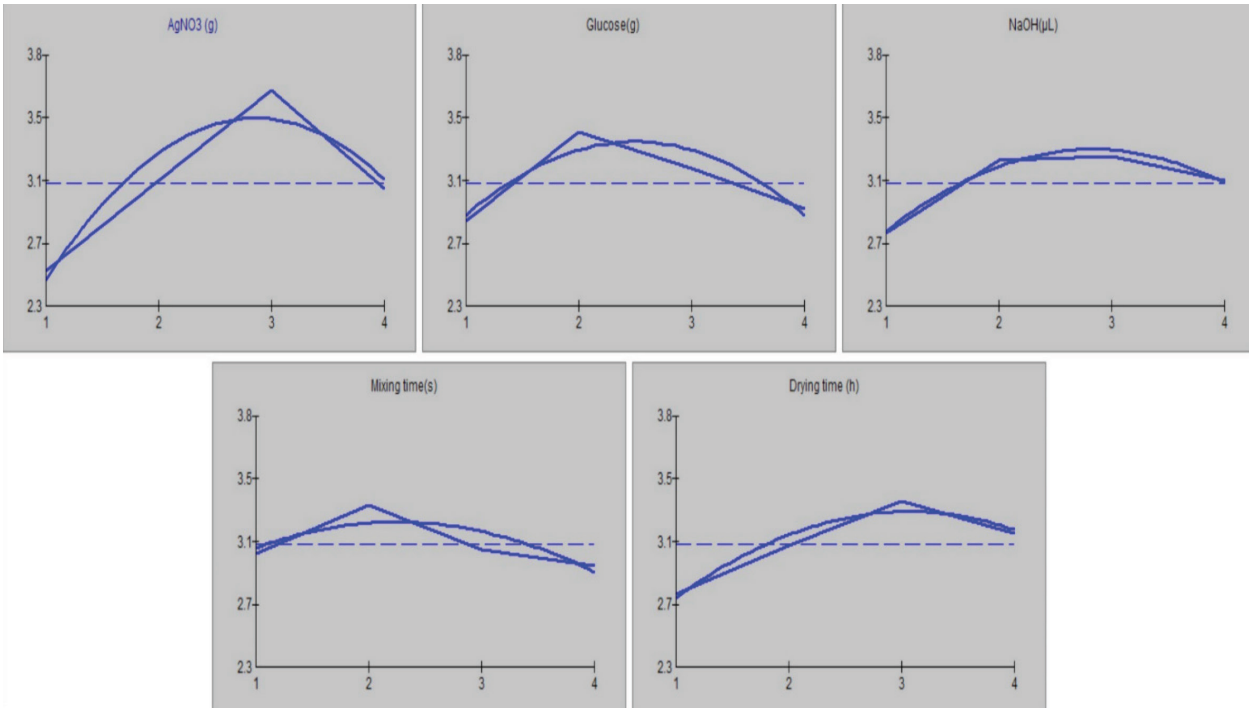
جدول ۴ – آنالیز واریانس اثر کلیه ی عوامل برمیزان اثر ضد میکروبی پانسمان نقره

عامل	درجه آزادی	مجموع مربعات(S)	واریانس	مجموع خالص مربعات(S´)	درصد تاثیر عامل
AgNO3 (g)	۳	۲/۴۲۷	۰/۸۰۹	۲/۴۲۷	۵۱/۰۲۳
گلوکز (g)	۳	۰/۷۵۲	۰/۲۵	۰/۷۵۲	۱۵/۸۱۶
NaOH (µL)	۳	۰/۵۷۲	۰/۱۹	۰/۵۷۲	۱۲/۰۳۳
زمان مخلوط کردن(s)	۳	۰/۳۲۲	۰/۱۰۷	۰/۳۲۲	۶/۷۷۸
زمان خشک شدن (h)	۳	۰/۶۸۲	۰/۲۲۷	۰/۶۸۲	۱۴/۳۴۵
اثرعوامل محیطی(خطا)	۰	----	----	----	-----
مجموع	۱۵	۴/۷۵۷	----	----	۱۰۰

جدول ۵– تاثیر متقابل فاکتور های مختلف مورد بررسی در روش تاگوچی

#	Interacting Factor Pairs (Order based on SI)	Columns	SI (%)	Col	Opt
1	NaOH (µL) x Mixing time (s)	3 x4	61.36	7	[2,1]
2	Glucose (g) x Drying time (h)	2 x 5	50	7	[4,3]
3	Glucose (g) x Mixing time (s)	2 x 4	45.45	6	[4,1]
4	AgNO3 (g) x NaOH (µL)	1 x 3	40.9	2	[3,2]
5	AgNO3 (g) x Mixing time (s)	1 x 4	38.63	5	[3,1]
6	AgNO3 (g) x Drying time (h)	1 x 5	34.09	4	[3,3]
7	AgNO3 (g) x Glucose (g)	1 x 2	31.81	3	[3,4]
8	Glucose (g) x NaOH (µL)	2 x 3	31.81	1	[4,2]
9	Mixing time (s) x Drying time (h)	4 x 5	29.54	1	[1,3]
10	NaOH (µL) x Drying time (h)	3 x 5	11.36	6	[2,3]

شاخص شدت اینتراکشن برای پارامترهای مختلف =SI
نشان دهنده ی سطوح مطلوب فاکتور ها برای شرایط بهینه سازی = Opt



شکل ۲– نمودارهای مربوط به اثر هر یک از عوامل بر قطر هاله ی عدم رشد (میزان خاصیت ضد میکروبی)

نظر بر روی نمودار نشان داده شده است و به این ترتیب میزان سطوح مختلف هر یک از پارامترها به صورت دقیق‌تری قابل مقایسه است. علاوه بر آن با کمک روش تاگوچی می توان حالت بهینه را پیش بینی نمود و حتی در صورتی که حالت بهینه بین آزمایش های انجام داده شده نباشد می توان آن را به کمک نرم افزار پیش بینی نمود. جدول ۶ حالت پیش بینی شده توسط نرم افزار را نشان می‌دهد.

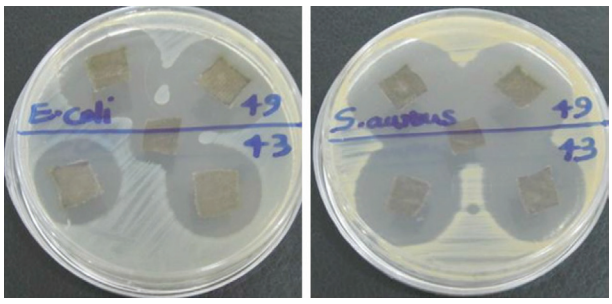
جدول ۶ – پیش بینی نرم افزار در مورد حالت بهینه

Column # / Factor	Level Description	Level	Contribution
1 AgNo3 (g)	45	3	.562
2 Glucose (g)	14	2	.312
3 NaOH (µL)	280	3	.162
4 Mixing time (s)	60	2	237
5 Drying time (h)	4	3	.262
Total Contribution From All Factors ...			1.535
Current Grand Average Of Rerformance ...			3.062
Expected Result At Optimum Condition ...			4.597

در حالت بهینه میانگین هاله عدم رشد در حدود ۴/۵۹ سانتی متر پیش بینی شده است. این حالت انجام داده شد و میزان هاله عدم رشد مورد سنجش قرار گرفت. در این حالت میانگین قطر هاله عدم رشد با سه بار تکرار در مورد شاخص باکتری های گرم منفی ۴/۲ و در مورد شاخص باکتری‌های گرم مثبت ۴/۴ به دست آمد و میانگین قطر این دو عدد معادل ۴/۲۵ به دست آمد که به میزان پیش بینی تاگوچی تا حدود زیادی نزدیک است. هاله‌های عدم رشد در شکل ۳ نشان داده شده است.

بحث و نتیجه گیری

روش تاگوچی تعداد آزمایش های مورد نیاز را نیز تا حد زیادی محدود می کند. اما در روش یک عامل در یک زمان تنها یک عامل به عنوان متغیر فرض شده و اثر آن بر نتیجه آزمایش سنجیده می‌شود و سایر عوامل به صورت ثابت نگهداشته می‌شود؛ ولی در طراحی آزمایش‌ها از روش کسری از فاکتوریل استفاده می‌شود. بدین معنی که به صورت انتخابی تعدادی از آزمایش‌ها انجام می‌گردد و حالت بهینه انتخاب می‌شود. این انتخاب براساس نتایج داده شده به روش آماری و تجزیه



شکل ۳– هاله های عدم رشد در اطراف قطعات پانسمان نقره. پلیت های سمت راست کشت استافیلوکوکوس اورئوس، به عنوان شاخص باکتری های گرم مثبت و پلیت های سمت چپ کشت اشرشیاکلی، به عنوان شاخص باکتری های گرم منفی را نشان می دهند. در بعضی نقاط هاله های عدم رشد با یکدیگر هم پوشانی پیدا کرده اند.

و تحلیل آن‌ها صورت می‌پذیرد. آن چه روش تاگوچی را در میان سایر روش‌های کسری از فاکتوریل برجسته می‌سازد کاهش تغییر در کیفیت در اثر وجود عوامل غیر قابل کنترل بدون حذف کردن آن‌ها می‌باشد. بنابراین بدون نیاز به حذف این عوامل از طریق تنظیم سطوح و کنترل تغییر عوامل دیگر، آثار آنها باعث کاهش کیفیت نمی‌شود. همان‌طور که مشاهده می‌شود نتایجی که از دو روش تاگوچی و روش تک فاکتوره گرفته می‌شود با هم مطابقت دارند، اما روش تاگوچی به دلیل تحلیل دقیق‌تر داده‌ها توسط نرم‌افزار، نتایج قابل اعتمادتری را در مدت زمان بسیار کمتر ارائه می‌دهد و برای استفاده در مقیاس بالاتر نظیر پروسه‌های صنعتی به دلیل بررسی همزمان کلیه‌ی عوامل بسیار مناسب‌تر است.

در درمان زخم‌ها زمانی موفق هستیم که عامل ایجادکننده را برطرف ساخته و همزمان به درمان عوارض ایجاد شده بپردازیم. در درمان مؤثر زخم، انتخاب پانسمان مناسب در کنار سایر درمان‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. پانسمان‌های سنتی شامل یک لایه‌ی غیر چسبناک در تماس با سطح زخم، یک لایه جاذب، و یک لایه نگهدارنده می‌باشد. قدمت زخم و درمان زخم به اندازه عمر بشر است. زخم به از هم گسیختگی ساختار نرمال آناتومیکی پوست اطلاق می‌شود،که ممکن است بافت نرم، ماهیچه و یا استخوان را نیز درگیر کند. طولانی شدن توقف در بیمارستان، گران شدن هزینه‌های درمانی، عفونت، خونریزی، باز شدن زخم و خطر بیرون ریختن احشاء از عوارض زخم می‌باشد (۱۴).

Sondi و همکارانش اثر ضد میکروبی نانوکریستال‌های نقره بر علیه باکتری اشرشیا کلی را به عنوان یک شاخص از باکتری‌های گرم منفی نشان دادند. پانسمان نقره باید دارای غلظتی از یون نقره باشد که اثر ضد باکتریایی مناسبی داشته باشد. از محلول نیترات نقره به علت خاصیت سمی آن استفاده نمی‌شود علاوه بر آن دارای نکات منفی نظیر تغییر بالانس یونی و نفوذ پایین به عمق می‌باشد. تلاش برای استفاده از خواص ضد میکروبی نقره و مرطوب نگهداشتن زخم از یک طرف و اجتناب از مضرات سولفودیازین نقره و نیترات نقره از طرف دیگر منجر به پیشرفت نسل جدیدی از پانسمان‌های نقره شده است. پانسمان‌های نقره دارای تاثیر درمانی بر روی سطح زخم هستند. پانسمان‌های آغشته به نقره جدید که در طول ۲۰ سال گذشته گسترش داده شده‌اند بسیاری از مضرات پارچه‌های نقره قبلی را ندارند (به ویژه در مورد غیر فعال شدن سریع نقره). در پارچه‌های نقره جدید زمانی که نقره به واسطه برخورد با سلول و یا به واسطه کمپلکس‌های پروتئینی و آنیونی در زخم‌ها غیر فعال می‌شود، نقره اضافی به زخم آزاد می‌گردد. ابداع موجود در این پارچه‌ها، میزان نقره استفاده شده در پانسمان می‌باشد. برای فعال بودن بیولوژیکی، ساختار نقره قابل انحلال باشد (۱).

Rajawat و Qureshi برای مشاهده‌ی اثر ضد میکروبی نانو ذرات نقره بر علیه سالمونلا تیفی (G-) روشی مشابه روش مورد استفاده در این پژوهش را به کار بردند. آنها از نانو ذرات نقره به همراه آنتی بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و جنتامایسین استفاده کرده و میزان اثر بخشی آن را با استفاده از قطر هاله‌ی عدم رشد مشاهده کردند. متوسط هاله‌ی عدم رشد را بین ۱/۷–۱/۵ سانتی‌متر به دست آوردند (۱۵). یافته های مطالعه ی دیگر نیز، علت تاثیر نانوذرات نقره را، تداخل در خاصیت نفوذپذیری انتخابی غشای سیتوپلاسمی می‌داند (۱۶). فعالیت پانسمان نقره به میزان زیادی به سایز و شکل ذرات نقره، مدت زمان مجاورت با زخم و ترکیب مواد بستگی دارد (۱۳). به این ترتیب به دست آوردن راهکاری برای بهینه‌سازی تولید این پانسمان‌ها و به دست آوردن قطر هاله‌ی عدم رشد بیشتر که نشان دهنده‌ی موثرتر بودن عملکرد این پانسمان می‌باشد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

منابع

1. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. J Colloid Interface Sci 2004;275(1):177-82.

2. Ashour AA, Raafat D, El-Gowelli HM, El-Kamel AH. Green synthesis of silver nanoparticles using cranberry powder aqueous extract: characterization and antimicrobial properties. Int J Nanomedicine 2015;10:7207-21.

3. Nam G, Purushothaman B, Rangasamy S, Song JM. Investigating the versatility of multifunctional silver nanoparticles: preparation and inspection of their potential as wound treatment agents. International Nano Letters 2016;6(1):51-63.

4. Lansdown AB. Silver. I: Its antibacterial properties and mechanism of action. J Wound Care 2002;11(4):125-30.

5. Vermeulen H, van Hattem JM, Storm-Versloot MN, Ubbink DT. Topical silver for treating infected wounds. Cochrane Database Syst Rev 2007;(1):CD005486.

6. Wright JB, Lam K, Burrell RE. Wound management in an era of increasing bacterial antibiotic resistance: a role for topical silver treatment. Am J Infect Control 1998;26(6):572-7.

7. Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN, Dibo SA. Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. Burns 2007;33(2):139-48.

8. Liedberg H, Lundeberg T. Assessment of silver-coated urinary catheter toxicity by cell culture. Urol Res 1989;17(6):359-60.

9. Nam G, Rangasamy S, Purushothaman B, Song JM. The application of bactericidal silver nanoparticles in wound treatment.

Nanomaterials and Nanotechnology 2015;5(Godište 2015):5-23.

10. Singaravelan R, Bangaru Sudarsan Alwar S. Electrochemical synthesis, characterisation and phytogenic properties of silver nanoparticles. Applied Nanoscience 2015;5(8):983-91.

11. Montazer M, Alimohammadi F, Shamei A, Rahimi MK. In situ synthesis of nano silver on cotton using Tollens' reagent. Carbohydrate Polymers 2012;87(2):1706-12.

12. Sureshkumar M, Siswanto DY, Lee CK. Magnetic antimicrobial nanocomposite based on bacterial cellulose and silver nanoparticles. Journal of Materials Chemistry 2010;20(33):6948-55.

13. Jung WK, Koo HC, Kim KW, Shin S, Kim SH, Park YH. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Appl Environ Microbiol 2008;74(7):2171-8.

14. Hoffmann S. Silver sulfadiazine: an antibacterial agent for topical use in burns. A review of the literature. Scand J Plast Reconstr Surg 1984;18(1):119-26.

15. Rajawat S, Qureshi MS. Comparative study on bactericidal effect of silver nanoparticles, synthesized using green technology, in combination with antibiotics on Salmonella typhi. J. Biomater. Nanobiotechnol 2012;3(4):480.

16. Lara HH, Garza-Treviño EN, Ixtepan-Turrent L, Singh DK. Silver nanoparticles are broad-spectrum bactericidal and virucidal compounds. J Nanobiotechnology 2011;9:30.