

سنتز سبز نانوذرات نقره با عصاره گیاه ماهور و بررسی اثر آن بر بیان ژن *BfmR* در

ایزوله های بالینی اسینتوباکتر بومانی

صدف صفاتی^۱، بیتا بهبودیان^۲، سمانه دولت آبادی^{۱*}^۱ گروه میکروبیولوژی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران، ^۲ گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

مسئول مکاتبات: سمانه دولت آبادی S_dolatabadi1436@yahoo.com

چکیده. اسینتوباکتر بومانی یک پاتوژن فرصت طلب مقاوم به چند دارو است که باعث عفونت های تنفسی و مجاری ادراری می شود. بنابراین، توسعه یک داروی جایگزین علیه اسینتوباکتر از اهمیت بالایی برخوردار است. هدف از این مطالعه بررسی فعالیت ضد باکتریایی نانو ذرات نقره که به روش سبز سنتز شده اند بر روی رشد اسینتوباکتر بومانی و بیان ژن *BfmR* می باشد. در این مطالعه نانوذرات نقره در ترکیب با عصاره گل ماهور (*Verbascum Thapsus*) سنتز شد و مشخصات آن توسط تفرق اشعه ایکس، اسپکتروفوتومتری، میکروسکوپ الکترونی TEM و آنالیز پتانسیل زتا مشخص گردید. فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات با استفاده از آنالیز MIC انجام گرفت. همچنین اثر نانوذرات روی بیان ژن *BfmR* با استفاده از real-time PCR بررسی شد. نتایج نشان داد نانوذرات سبز آماده شده، اندازه ی حدوداً ۳۰ نانومتر داشتند. با آنالیز MIC مشخص گردید که نانوذرات در برابر اسینتوباکتر بومانی از خود فعالیت ضد باکتریایی نشان می دهند. نتایج بیان ژن نیز نشان دهنده ی مکانیسم تنظیم کاهشی بیان ژن *BfmR* توسط نانو ذرات سنتز شده با گیاه ماهور می باشد که منجر به کاهش تشکیل بیوفیلم به صورت معنی دار می گردد. نانوذرات بر پایه فلز، به ویژه نانوذرات نقره، به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد و فعالیت ضدباکتریایی گسترده ای که دارند، محبوبیت زیادی را برای گزینه های ضد باکتری به دست آورده اند. نانوذرات بدست آمده از عصاره گل ماهور می توانند بیان ژن *BfmR* را کاهش داده و بدین ترتیب تشکیل بیوفیلم را مهار کرده و موجب اثرات ضدباکتریایی شوند.

واژه های کلیدی: اسینتوباکتر بومانی، گل ماهور، نانوذره، بیوفیلم، ژن *BfmR*

Green synthesis of silver nanoparticles using *Verbascum thapsus* extract and its effect on *BfmR* gene expression in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*

Sadaf Sefati¹, Bita Behboodian², Samaneh Dolatabadi¹¹Department of Microbiology, Neyshabur branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran, ²Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Corresponding author Samaneh Dolatabadi, S_dalatabadi1436@yahoo.com

Abstract. *Acinetobacter baumannii* is an opportunistic multidrug-resistant pathogen that causes respiratory and urinary tract infections. Therefore, the development of an alternative drug against *Acinetobacter* is of great importance. The aim of this study was to investigate the antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by a green method on the growth of *Acinetobacter baumannii* and the expression of the *BfmR* gene. In this study, silver nanoparticles were synthesized in combination with *Verbascum thapsus* extract and their characteristics were determined by X-ray diffraction, spectrophotometry, TEM electron microscopy and zeta potential analysis. The antibacterial activity of the nanoparticles was carried out using MIC analysis. In addition, the effect of nanoparticles on the expression of the *BfmR* gene was investigated using real-time PCR. The prepared green nanoparticles had a size of about 30 nm. The MIC analysis showed that the nanoparticles showed antibacterial activity against *Acinetobacter baumannii*. Gene expression results also indicate a mechanism of down-regulation of *BfmR* gene expression by nanoparticles synthesized from the marigold plant, which leads to reduced biofilm formation. Metal-based nanoparticles, especially silver nanoparticles, have gained widespread popularity as antibacterial options due to their unique physical and chemical properties and broad-spectrum antibacterial activity. Nanoparticles obtained from marigold flower extract can reduce *BfmR* gene expression, thereby inhibiting biofilm formation and exerting antibacterial effects.

Key words. *Acinetobacter baumannii*, *Verbascum Thapsus*, nanoparticle, biofilm, *BfmR* gene

Received 12.09.2023/ Revised 19.02.2025/ Accepted 19.02.2025/ Published 15.03.2025

دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۲۱/ اصلاح: ۱۴۰۳/۱۲/۰۱/ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۱/ انتشار: ۱۴۰۳/۱۲/۲۵

مقدمه

مایعات بدن انسان، افزایش حساسیت به فعالیت باکتری‌کشی با واسطه مکمل و مهمتر از همه، افزایش حساسیت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها را به همراه داشته باشد (Krasauskas, Skerniškytė, Armalytė, & Sužiedėlienė, 2019) یکی از روش‌هایی که در مسیر درمان باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها مورد توجه قرار گرفته است، استفاده از نانو ذرات نقره است.

به‌طور کلی، مکانیسم سمیت نانو ذرات فلزی از طریق انتشار گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است. خواص ضد باکتریایی نانو ذرات نقره نیز با اکسیداسیون آهسته‌ی آن و آزادسازی یون‌های نقره در محیط مرتبط است (Luceri, Francese, Lembo, Ferraris, & Balagna, 2023). علاوه بر این، اندازه‌ی کوچک این ذرات نفوذ آن‌ها را از طریق غشای سلولی تسهیل می‌کند تا فرآیندهای درون‌سلولی را از داخل تحت تأثیر قرار دهد. بررسی نانو ذرات متصل شده به غشا و نفوذ آن‌ها به داخل باکتری نشان داده است که این نانو ذرات با نفوذ به داخل سلول باکتری، باعث آسیب غشاء و در نهایت مرگ ارگانیزم می‌شوند. غشای باکتری پروتئین‌های حاوی گوگرد دارد و نانو ذرات نقره از طریق برهم‌کنش با آن‌ها و هم‌چنین با ترکیبات حاوی فسفر مانند DNA، اثرات خود را روی باکتری می‌گذارند (Bruna, Maldonado, Bravo, Jara, & Caro, 2021). نانو ذرات ترجیحاً به زنجیره‌ی تنفسی حمله می‌کنند که در نهایت منجر به مرگ سلولی می‌شود (Crisan et al., 2021).

پژوهش‌های کاربردی در زمینه شناسایی و بررسی اثرات مواد مؤثره گیاهان دارویی، زمینه استفاده روزافزون از آن‌ها را فراهم آورده است. به همین دلیل در بسیاری از کشورهای پیشرفته، مراکز تحقیقاتی خاص گیاهان دارویی تأسیس گشته است که این مراکز تحقیقاتی هر روز مواد مؤثره متعددی را در گیاهان همراه با اثرهای مطلوب آنها شناسایی و معرفی می‌کنند (Vanlalveni et al., 2021). یکی از مواد مؤثره بسیار مهم در گیاهان، ترکیبات فنولی و مشتقات آن می‌باشد. ترکیبات فنولی به علت دارا بودن گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل توانایی اتصال به فلزات را دارند و با محصور کردن آن‌ها در خود، کمپلکس تولید می‌کنند. براساس گزارش‌ها، این توانایی تشکیل کمپلکس ترکیبات فنولی به قدرت هسته دوستی بالای ترکیبات آروماتیک موجود در آنها بر می‌

طی دهه‌های گذشته اسینتوباکتر بومانی به عنوان پاتوژن مهم در سطح جهانی ظاهر شده است. اهمیت بالینی آن با توجه به مکانیسم مقاومت دارویی که کسب کرده است، می‌باشد و این ارگانیزم به یکی از موفقترین باکتری‌های مقاوم به چند دارو تبدیل شده است. اسینتوباکتر بومانی متعلق به خانواده موراکسال بوده و یک باکتری گرم منفی است که به‌طور عمده باعث عفونت‌های بیمارستانی می‌شود (Rosalino et al., 2020). مقاومت بالای آن به وسیله‌ی تنظیم توانایی این باکتری توسط ژن‌های آن است. این باکتری تمایل به تحمل محیط‌های استرس‌زا و کلاس‌های متعدد آنتی‌بیوتیک‌ها و هم‌چنین ظرفیت برای زنده ماندن طولانی مدت بر روی سطوح غیرزیستی را دارد (Lee et al., 2017). در سال‌های اخیر، عفونت‌های اسینتوباکتر بومانی که شامل دستگاه تنفسی، جریان خون، پوست و بافت نرم، دستگاه ادراری و سیستم عصبی مرکزی می‌شود، در بیمارستان‌ها و مراقبت‌های بهداشتی بسیار مشکل‌ساز بوده است (Ibrahim, Al-Saryi, Al-Kadmy, & Aziz, 2021).

امروزه نیاز به شناسایی ضد میکروب‌های جدید فعال، علیه اسینتوباکتر بومانی بیش از هر زمان دیگری ضروری است. بنابراین، به عنوان اولین گام برای شناخت اهداف دارویی جدید، شناسایی ژن‌های ضروری اسینتوباکتر بومانی در اولویت است.

یکی از ژن‌هایی که باعث توانایی‌های این باکتری می‌باشد ژن *BfmR* است. *BfmR* تنظیم‌کننده پاسخ یک سیستم انتقال سیگنال دو جزئی است که سیگنال را از پروتئین حس‌گر مربوطه هیستیدین کیناز *BfmS* منتشر می‌کند و به عنوان یک تنظیم‌کننده رونویسی عمل می‌کند (Russo et al., 2016). این تنظیم‌کننده پاسخ بر تعدادی از فنوتیپ‌های حیاتی از جمله افزایش تولید بیوفیلم، بیماری‌زایی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی نظارت می‌کند. بنابراین، نقش مرکزی *BfmS/R* در مقاومت ضد میکروبی، علاقه به ارزیابی محصولات ژنی تنظیم‌شده با *BfmR* را به عنوان اهداف دارویی احتمالی افزایش داده است (Farrow, Wells, & Pesci, 2018).

غیرفعال‌سازی موفقیت‌آمیز *BfmR* می‌تواند مزایای متعدد کاهش توانایی اسینتوباکتر بومانی برای زنده ماندن در

مواد و روش‌ها

تهیه ی عصاره ی آبی گیاه ماهور

گیاه از پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه و پس از شستشو، خشک گردید تا برای عصاره‌گیری در مراحل بعد مورد استفاده قرار گیرد. خشک کردن در آن با دمای °C ۷۰ و به مدت ۴۸ ساعت انجام شد و پس از آن، گیاه با آسیاب برقی پودر شد. ۵۰ گرم از پودر گیاه در یک بشر قرار داده شده و روی آن با ۲۰۰ میلیلیتر آب مقطر پر شد. این بشر به مدت دو ساعت و در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد روی هیتر استیرر قرار گرفت و در دمای مورد نظر هم خورد تا فرآیند استخراج انجام گیرد. در نهایت عصاره از فیلتر عبور داده شد تا ناخالصی‌های جامد جدا شوند.

تهیه ی نانو ذرات نقره از عصاره ی گیاه ماهور

عصاره تهیه شده در مرحله قبل به یک بشر حاوی محلول ۱۰ میلی مولار نقره اضافه گردید تا رسوب تشکیل گردد. از رسوب حاصله جهت ارزیابی نانو و در ادامه آزمون‌های بیولوژیک استفاده شد. تغییر رنگ محلول به دلیل انجام عمل احیاء، تایید کننده سنتز نانو ذرات نقره در طی واکنش بود. جذب نوری نانو ذرات ایجاد شده با استفاده از اسپکتروفوتومتر بررسی شد.

شناسایی نانوذرات نقره

تعیین اندازه نانوذرات

اندازه ذرات با پراکندگی نور دینامیکی و با استفاده از دستگاه زتا سایزر (UK, Malvern) اندازه گیری شد. مقدار مورد نظر از نانوذرات سنتز شده در ۷۰۰ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر فیلتر شده در pH= 4/7 رقیق و سپس اندازه ذرات سنجیده شد.

بررسی با آنالیز پراش پرتو ایکس (XRD)

این روش با اندازه‌گیری شدت و زوایای پراکندگی اشعه ایکس بازتابی، ساختار را تایید می‌کند. به این منظور از دستگاه XRD مدل Explorer ساخت ایتالیا استفاده شد. اشعه ایکس در دستگاه XRD مدل Explorer با استفاده از Cu-K α و با فیلتر نیکل انجام شد. محدوده‌ی 2 θ در آن در بازه‌ی ۲۰ تا ۸۰ درجه انتخاب شده است. گام شمارش زاویه در آن ۰/۰۲ درجه بود.

بررسی با استفاده از TEM

با استفاده از دستگاه TEM با قدرت بزرگ‌نمایی ۸۰ تا ۵۰۰۰۰۰ و قدرت تفکیک ۲ نانومتر، از نانو ذرات نقره‌ی

گردد (Mohammed, Alqahtani, & Ahmed, 2024).

دسته ای از این ترکیبات با قدرت الکترون دهندگی بالا فلاونوئیدها هستند. مجموعه عوامل ذکر شده می‌تواند توجیه کننده توانایی احیاکنندگی و در نتیجه تولید نانو ذرات فلزی توسط گیاهان باشد، که استفاده از مواد مضر و سمی در تولید نانو ذرات را در مقایسه با روش‌های دیگر کاهش می‌دهد (Kaabipour & Hemmati, 2021).

خانواده ی Verbascum حاوی ترکیبات فعال بیولوژیکی مانند فلاونوئیدها، گلیکوزیدهای فنیل اتانوئید، نئولینان، ساپونین‌ها، گلیکوزیدهای ایریدوئید و مونوترپن هستند. عصاره‌ها، جوشانده‌ها و دم کرده‌های این خانواده قرن‌هاست که تقریباً در تمام نقاط جهان در طب سنتی استفاده می‌شود برگ‌ها و گل‌های ورباسکوم دارای خواص خلط‌آور، موکولیتیک و تسکین‌دهنده هستند و در طب سنتی، برای درمان اختلالات تنفسی مانند برونشیت، سرفه‌های خشک، سل و آسم استفاده می‌شوند. اعضای این خانواده همچنین برای درمان هموروئید، درد روماتیسمی، عفونت‌های قارچی سطحی، زخم‌ها و اسهال استفاده می‌شود و فعالیت‌های مهارتی در برابر لوسمی لنفوسیتی موش و ویروس‌های آنفلوآنزای A2 و B دارد. روغن ساخته شده از گل‌ها برای کمک به تسکین گوش درد استفاده می‌شود و می‌توان آن را به صورت خارجی و سایر بیماری‌های پوستی برای بیماری‌های التهابی استفاده کرد. گزارش شده است که این گیاهان ادرار آور ضعیف هستند و اثر تسکین دهنده و ضد التهابی بر روی دستگاه ادراری دارند و همچنین به عنوان یک آرام بخش خفیف عمل می‌کنند (Gupta, Atkinson, Pandey, & Bishayee, 2022).

از آنجا که در زمان تشکیل بیوفیلم هزینه‌های درمان بالا رفته و درمان‌های فعلی برای مبارزه با بیوفیلم اسینتوباکتر گران و ناکارآمد هستند، استفاده از نانوذرات نقره برای درمان می‌تواند راهکار مناسبی تلقی شود. در این مطالعه سویه‌های مختلف باکتری اسینتوباکتر بومانی، پس از کشت در شرایط استاندارد، با نانو ذرات نقره تهیه شده از عصاره آبی گیاه ماهور تیمار شدند و اثر این نانو ذرات بر روی این سویه‌ها بررسی گردید.

سنتز شده عکس گرفته شد و ویژگی‌های ساختاری مانند قطر و بافت آن مورد بررسی قرار گرفت

جمع‌آوری نمونه و کشت باکتری

تعداد ۱۰۰ نمونه از بیماران بخش مراقبت‌های ویژه (نمونه‌ها از خون، ترشحات تنفسی، سوندها، زخم و ونتیلاتور) جمع‌آوری گردید. نمونه‌گیری توسط سواب استریل آغشته به سرم فیزیولوژی استریل انجام شد. هر نمونه به‌طور جداگانه روی محیط‌های Blood Agar، Mac Conkey Agar و BHI Agar کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری گردید. پس از ۲۴ ساعت، آزمون‌های بیوشیمیایی معمول جهت شناسایی انجام گرفت.

مقاومت آنتی‌بیوتیکی

جهت تأیید فنوتیپی تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBL)، از روش غربالگری دیسک ترکیبی استفاده شد. آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیک بر روی باکتری‌هایی که به عنوان اسنتیوباکتر بومانی شناسایی شدند، با استفاده از روش کربی-بایر دیسک دیفیوژن Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (Clinical) انجام شد. از کشت تازه این باکتری‌ها سوسپانسیون نیم مک فارلند تهیه و سپس روی محیط مولر هینتون آگار کشت چمنی داده شده و دیسک گذاری انجام شد. بعد از ۲۴ ساعت گرما گذاری در حرارت ۳۷ درجه سلسیوس، قطر هاله عدم رشد برای هر آنتی‌بیوتیک اندازه گیری گردید و نتایج برای هر آنتی‌بیوتیک مطابق با دستورالعمل CLSI به عنوان حساس، حد واسط و مقاوم ثبت شد.

بررسی اثرات نانو ذرات نقره بر روی مهار رشد باکتری اسینتوباکتر بومانی

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)

سوسپانسیون باکتریایی پس از کشت ۲۴ ساعته‌ی آن در محیط مولر هینتون برات آماده شد. سپس طیف غلظتی نانو ذرات نقره بین غلظت‌های ۲۰۰ تا ۳/۱۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر ($\mu\text{g/mL}$) آماده گردید. به این صورت که ابتدا ۴۰۰ میکروگرم از نانوذره به ۲ میلی‌لیتر از محیط مولر هینتون برات در میکروتیوب اضافه شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از آن به لوله بعدی انتقال داده شد که در آن از قبل ۱ میلی‌لیتر محیط وجود داشت؛ به این ترتیب غلظت آن نصف شد. به همین ترتیب غلظت‌ها نصف شد و در آخرین لوله به ۳/۱۲۵ رسید. در نهایت ۱ میلی‌لیتر از

آخرین لوله دور ریخته شد تا حجم تمام لوله‌ها برابر باشد و به هر لوله ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی که در ابتدا آماده شده بود اضافه شد. دو لوله نیز به ترتیب شامل محیط کشت همراه باکتری و بدون نانوذره به‌عنوان کنترل مثبت و شامل محیط کشت بدون باکتری به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. لوله‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت تحت گرماگذاری قرار گرفتند. سپس از آن‌ها برای تعیین MIC استفاده شد، بدین صورت که اولین لوله ای که در آن کدورتی مشاهده نشد به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد.

تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

حداقل غلظت کشندگی باکتری بر اساس حداقل غلظت بازدارندگی مشخص شد. بدین صورت که مقدار ۱۰ میکرولیتر از غلظت MIC و چند غلظت بالاتر از آن بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت بدون مهارکننده داده شد. سپس ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل و رشد باکتری در آن‌ها بررسی شد. پایین‌ترین غلظتی از فرمولاسیون نانو ذرات که ۹۹٪ باکتری در آن رشد نکرده بود، به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی یا MBC در نظر گرفته شد.

بررسی بیان ژن با روش Real time PCR

استخراج RNA از باکتری اسینتوباکتر بومانی به منظور بررسی بیان ژن *BmfR*، پس از تیمار با غلظت MIC و SubMIC نانوذرات نقره صورت گرفت. استخراج RNA توسط دستورالعمل شرکت پارس توس انجام گرفت. غلظت RNA مورد استفاده حدود ۱ تا ۲ میکروگرم در نظر گرفته شد. برای این منظور جذب نوری آن در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه گیری شد. همچنین جذب نوری در طول موج ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر برای اطمینان از عدم آلودگی پروتئینی سنجیده شد. ساخت cDNA از روی RNA استخراج شده، پس از تعیین مقدار و غلظت RNA حاصله، توسط دستگاه نانودراپ و مطابق کیت سنتز cDNA شرکت پارس توس و به کمک دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت. برای انجام تست Real time PCR از مسترمیکس حاوی سایبر گرین و از ژن 16s rRNA به عنوان ژن مرجع (کنترل داخلی) جهت بررسی بیان ژن *BmfR* در باکتری‌های تیمار شده با نانوذرات نقره استفاده شد. طراحی پرایمرها با نرم افزارهای Gene Runner و Express Primer انجام و با استفاده از توالی‌های موجود در بانک‌های ژنی و ابزار آنالاین BLAST.

شدند و توسط دستگاه RT-PCR Bio-RadCFX96 واکنش انجام گردید. برنامه زمانی و دمایی در جدول شماره ۲ آورده شده است.

صحت آن‌ها تایید شد. در جدول شماره ۱ توالی پرایمرها ذکر شده است. بر طبق دستورالعمل، مسترمیکس، پرایمرها و cDNA سنتز شده در حجم مناسبی مخلوط

جدول ۱- توالی پرایمرها

Table 1. Primer sequences

Sequence	Gene of interest	Line
GTTGGTGTAGAAACCGATGG	BmfR Forward	۱
CAAACAGCACTTCAAGCAGG	BmfR reversed	۲
TCAGGCTACTTCAAATTCATCACG	16srRNA Forward	۳
CACGATCACGCTCTGCTACTTG	16srRNA Reversed	۴

Real-time PCR جدول ۲ - برنامه زمانی و دمایی برای انجام

Table 2. Time and temperature schedule for performing Real-time PCR

Time and temprature	Stage
95C° - %5 min	Initial enzyme activation
95 C°- 20 sec	40 cycles
58 C° – 30 sec	Primer annealing
72 C° – 25 sec	Extension
72- 95 C°	Formation of melting curve

آنالیز آماری داده‌ها

تمام آزمون‌ها با سه بار تکرار انجام گرفت. نتایج در نرم افزار Excel به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد وارد گردید. سپس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS به صورت آزمون یک طرفه ANOVA و پس از آن آزمون توکی، در حداقل سطح آماری ۰,۰۵ درصد مقایسه شدند.

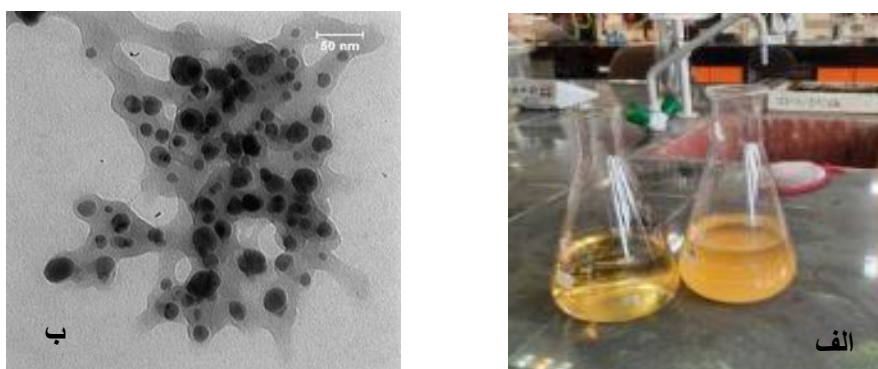
نتایج

نتایج شناسایی نانو ذرات نقره

واکنش احیاء محلول نیترات نقره در دمای اتاق بعد از اضافه کردن عصاره خشک شده به محلول نیترات نقره صورت گرفت و تغییر رنگ حاصل گردید؛ که این تغییر رنگ، نشان دهنده ساخت نانوذرات نقره بود (شکل ۱ الف). بعد از به دست آوردن رسوب نانوذرات نقره و چندین

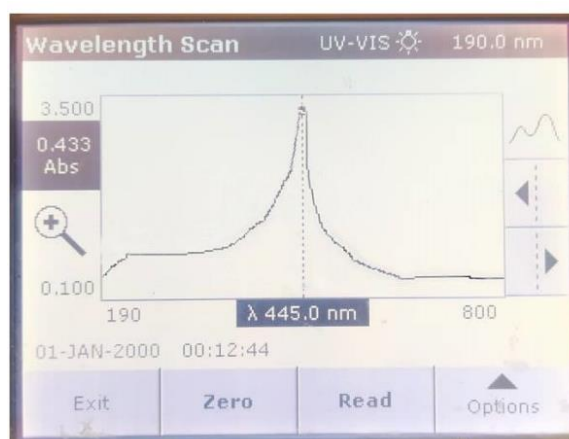
مشاهده میشود (شکل ۳). این پیکها مربوط به صفحات کریستالوگرافی ۱۱۱، ۲۰۰، ۲۲۰، ۳۱۱ و ۲۲۲ می‌باشند که نشانگر نقره تک فاز با نانو ذرات مکعبی است. پیک های اضافی مربوط به ناخالصی‌هایی است که در بافت گیاه وجود داشته و دارای ساختار کریستالی است. بر اساس نتایج محاسبه پتانسیل زتا، بار ذرات به دست آمده از عصاره آبی 28.66 ± 1.8 میلی ولت، مشخص شد. پتانسیل زتا به عنوان پارامتری که بار یک ذره را نشان می دهد، می تواند برای تعیین میزان پایداری بالقوه سیستم کلوئیدی موردتوجه باشد. هم چنین سایز و بار سطحی نانو ذرات از ویژگی های مهمی هستند که اثر مستقیمی بر روی میزان ورود این نانو ذرات به داخل باکتری می گذارند. نتایج در جدول ۳ و شکل ۴ نشان داده شده اند.

مرحله شست و شو، از پودر خشک شده نانوذرات نقره برای آنالیز TEM، XRD، اسپکتروفوتومتر و پتانسیل زتا استفاده شد. به منظور بررسی و آنالیز ریخت‌شناسی و اندازه نانوذرات نقره سنتز شده، از میکروسکوپ الکترونی TEM استفاده شد. نتایج TEM نشان داد که نانوذرات نقره سنتز شده دارای ساختار کروی و یکنواخت و دارای میانگین سایز ۳۰ نانومتر بود (شکل ۱ ب). همان طور که نتایج سنجش چگالی نوری نانوذرات نقره نشان می‌دهد، حداکثر میزان جذب محلول های حاوی نانوذرات نقره در طول موج ۴۴۵ نانومتر است (شکل ۲). طیف سنجی XRD به منظور اثبات نانوکریستال های فلزی نقره، انجام شد. پنج پیک پراش در θ های ۳۸/۴۲، ۴۴/۵، ۶۴/۸، ۷۷/۷ و ۸۱/۷ که نشان دهنده وجود نقره هستند، در نتایج XRD



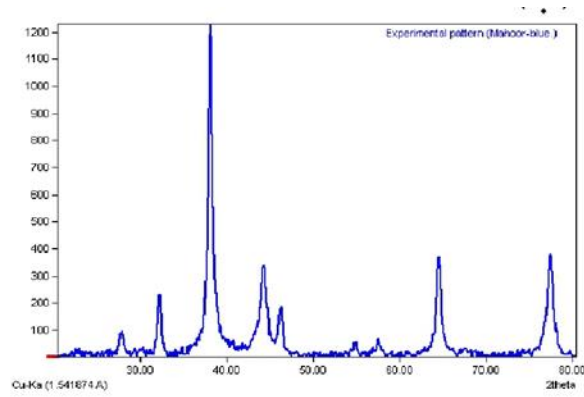
شکل ۱- الف: تغییر رنگ محلول استخراجی پس از سنتز نانو ذرات نقره با استفاده از آن محلول
ب: نتایج TEM نانو ذرات نقره سنتز شده

Figure 1. A: Color change of the extracted solution after synthesis of silver nanoparticles
B: TEM results of synthesized silver nanoparticles



شکل ۲- ماکزیمم جذب نانو ذرات نقره سنتز شده با عصاره آبی گیاه ماهور

Figure 2. Maximum absorption of synthesized silver nanoparticles with aqueous extract of the *Verbascum thapsus*



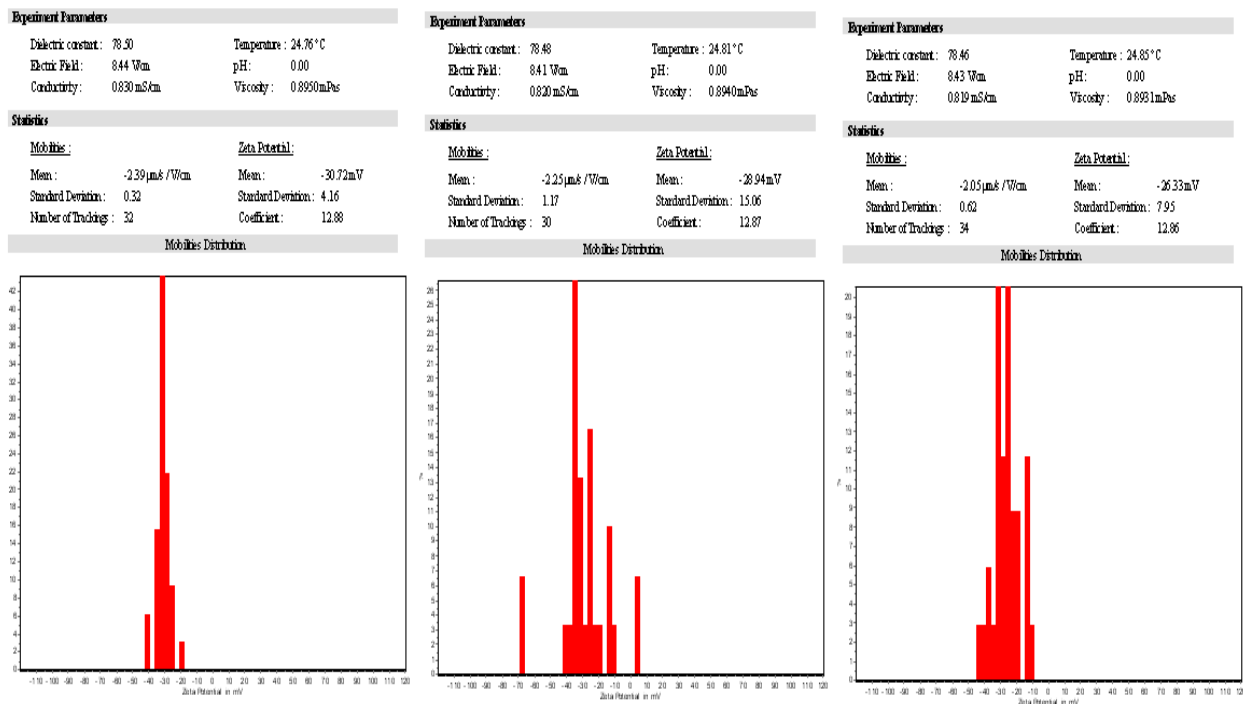
شکل ۳- نتایج XRD نانو ذرات نقره سنتز شده با عصاره آبی گیاه ماهور

Figure 3. XRD results of silver nanoparticles synthesized with aqueous extract of *Verbascum Thapsus*

جدول ۳- سایز نانو ذرات نقره سنتز شده با عصاره آبی گیاه ماهور

Table 3. Size of silver nanoparticles synthesized with aqueous extract of *Verbascum thapsus*

Cumulants method				Zaverage (nm):	864.45
Dv10:	467.86	Dv50:	1 071.80	Dv90:	2 951.99
PDI:				PDI:	0.3620
Dmean Intensity:	1 100.90	Dmean volume:	1 476.21	Dmean number:	470.19
Cumulants method				Zaverage (nm):	418.77
Dv10:	295.20	Dv50:	426.69	Dv90:	616.76
PDI:				PDI:	0.0920
Dmean Intensity:	440.11	Dmean volume:	447.96	Dmean number:	351.07
Cumulants method				Zaverage (nm):	655.66
Dv10:	389.15	Dv50:	741.51	Dv90:	1 479.50
PDI:				PDI:	0.2880
Dmean Intensity:	787.99	Dmean volume:	866.06	Dmean number:	397.85
Cumulants method				Zaverage (nm):	211.40
Dv10:	147.95	Dv50:	257.11	Dv90:	371.63
PDI:				PDI:	0.1170
Dmean Intensity:	225.70	Dmean volume:	256.25	Dmean number:	160.98



شکل ۴- پتانسیل زتای نانو ذرات نقره سنتز شده با عصاره آبی گیاه ماهور

Figure 4. Zeta potential of silver nanoparticles synthesized with aqueous extract of *Verbascum thapsus*

نتایج بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی

در ایزوله های اسپینتوباکتر بومانی با روش دیسک دیفیوژن نشان داده شده است.

نتایج بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی

نتایج حاصل از بررسی آزمون های مختلف بیوشیمیایی، حضور اسپینتوباکتر بومانی را در نمونه های بیمارستانی نشان داد. در جدول Error! No text of specified

جدول ۴- نتایج مقاومت به آنتی بیوتیک های مورد استفاده در سویه های اسینتوباکتر بومانی جدا شده از بیماران، به روش دیسک دیفیوژن
Table 4. Results of resistance to antibiotics used on *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients, by disk diffusion method

Resistance (%)	Antibiotic	Line
۱۰۰	Cefotaxim	۱
۱۰۰	Ceftazidime	۲
۱۰۰	Meropenem	۳
۱۰۰	Doripenem	۴
۱۰۰	Ertapenem	۵
۱۰۰	Ciprofloxacin	۶
۴۸	Ampicillin/Sulbactam	۷
۷۵	Amikacin	۸
۷۳	Gentamicin	۹
۱۰۰	Levofloxacin	۱۰
۱۰۰	Co-trimoxazole	۱۱

۵ خلاصه گردید. نانو ذرات سنتز شده از عصاره گیاهی، در تیمارهای مختلف از خود یکروند مهارکنندگی رشد باکتری نشان داده اند که با افزایش غلظت نانو ذرات استفاده شده، این اثر قوی تر نیز می گردد.

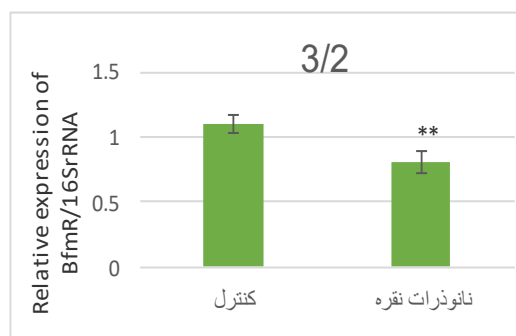
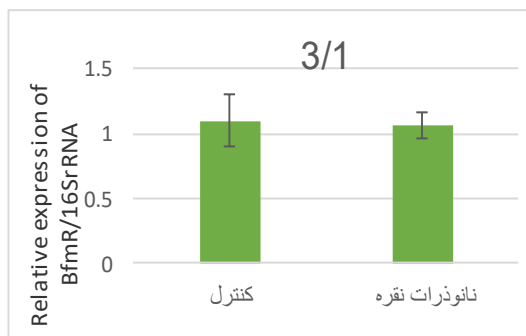
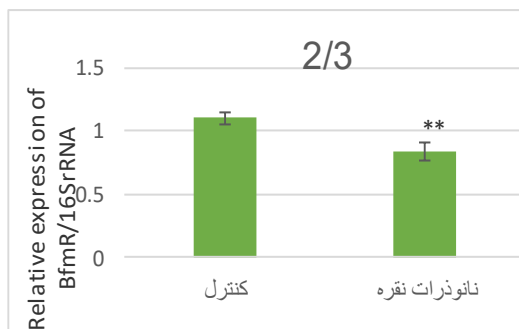
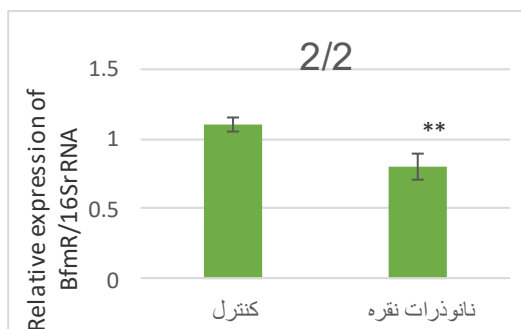
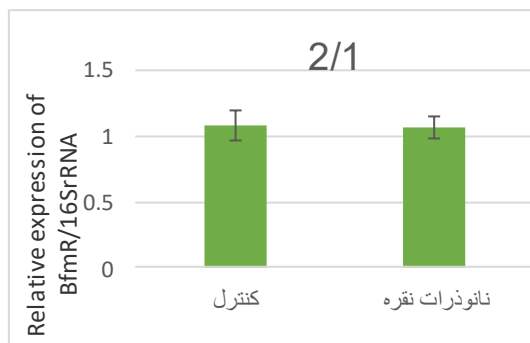
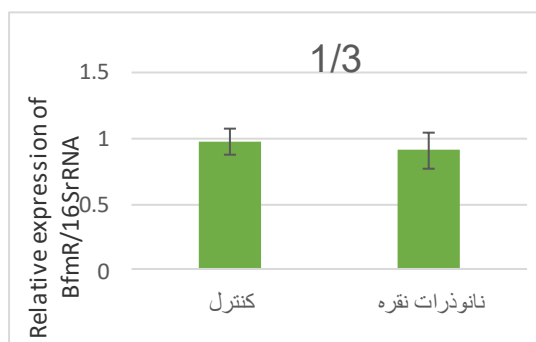
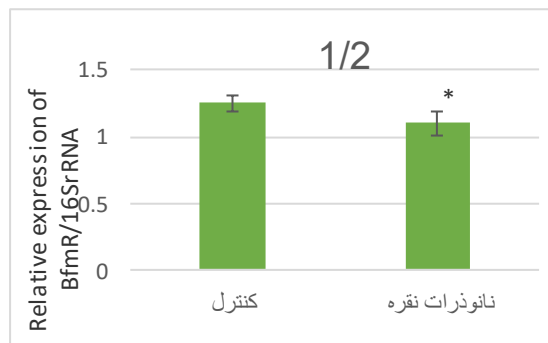
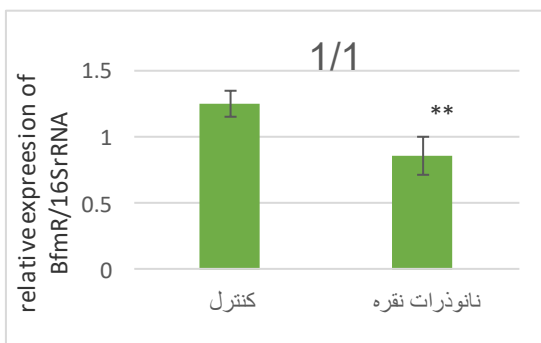
بررسی اثر مهارى نانو ذرات نقره روی باکتری اسینتوباکتر بومانی به روش تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

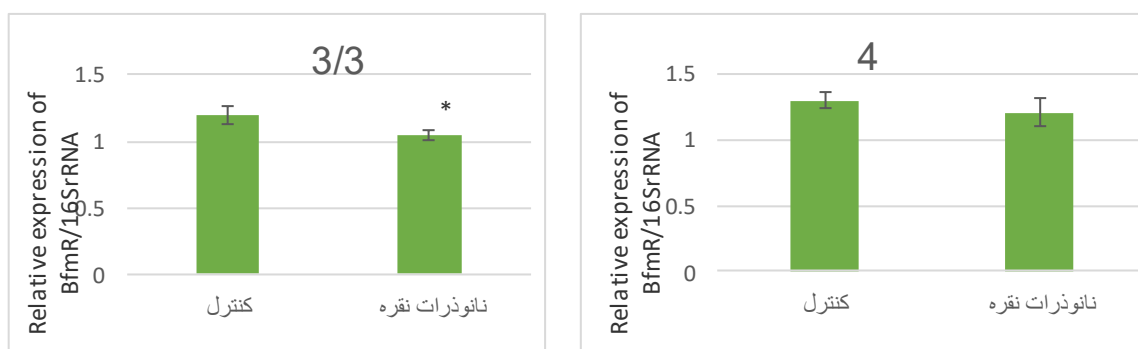
اثر مهارى نانو ذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره آبی گیاه ماهور بررسی شد و نتایج در جدول

نتایج بیان ژن

با بررسی نتایج حاصل از بیان ژن مشاهده می‌شود که نانوذرات نقره سنتز شده با عصاره آبی گیاه ماهور به طور کلی موجب کاهش بیان ژن *BfmR* در سویه های باکتری اسپینتوباکتر بومانی به صورت معنی دار شده‌اند

($P < 0.05$ و $P < 0.01$) اختلاف معنی‌دار بین گروه تیمار شده و گروه کنترل) که در شکل ۵ به نمایش گذاشته شده است.





شکل ۵- بررسی اثر مهاری نانو ذرات نقره سنتز شده بوسیله عصاره آبی گیاه ماهور توسط اندازه گیری تغییرات بیان ژن روی سویه های باکتری اسینتوباکتریومانی ($P < 0.05$ و $P < 0.01$ اختلاف معنی دار بین گروه تیمار شده و گروه کنترل). اعداد ۱/۱ تا ۴ مطابق جدول ۵، بیانگر کد سویه ها می باشد.

Figure 5. Investigation of the inhibitory effect of silver nanoparticles synthesized by aqueous extract of the *Verbascum thapsus* by measuring changes in gene expression on *Acinetobacter baumannii* strains ($P < 0.05$ and $P < 0.01$) significant difference between the treated and control groups. The numbers 1/1 to 4 according to Table 5 indicate the code of the strains.

(2021). در مطالعه دیگری که توسط چانگ و همکارانش انجام شد، نانو ذرات نقره با پوشش تری‌متیل‌کیتوزان سنتز شدند و اثرات این نانو ذرات بر روی باکتری‌های اسینتوباکتر بومانی، اشیریشیا کلای، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد. نتایج حاکی از آن بود که این نانو ذرات می‌توانند در غلظت‌های پایین باعث کشته شدن تمام باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی شده، و نیز اثرات خوبی علیه باکتری اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو، که از نمونه‌های بالینی جداسازی شده‌اند داشته باشد (Chang et al., 2017). بر این اساس، نانو ذرات نقره می‌توانند به‌عنوان یک روش درمانی بالقوه برای اثرگذاری بر روی باکتری‌های مقاوم به آنتی-بیوتیک‌های موجود مطرح باشند.

نقره در ابعاد بزرگتر فلزی خاصیت واکنش‌دهی کمی دارد، ولی زمانی که به ابعاد کوچکتر در حد نانومتر تبدیل می‌شود، خاصیت میکروب کشی آن افزایش می‌یابد، به همین دلیل در پزشکی به بررسی اثرات آن اهمیت داده می‌شود (Gherasim, Puiu, Bîrca, Burduşel, & Grumezescu, 2020). نانوذرات نقره به علت داشتن بار سطحی و نسبت سطح به حجم خود، آنزیم‌ها و DNA میکروارگانیسم‌ها را با تعادل الکترون بین گروه‌های دهنده الکترون مثل تیول، کربوکسیلات، آمید، ایمیدازول، اندول و هیدروکسیل غیر فعال می‌نماید. تغییرات ضد میکروبی که از رشد باکتری بیماریزا ممانعت می‌کنند،

بحث

اسینتوباکتر بومانی در مقابل درمان با آنتی‌بیوتیک‌های مختلف مقاومت بالایی داشته و درمان آن با مشکلات زیادی روبه‌رو است. در نتیجه طیف وسیعی از عفونت‌ها در پوست و بافت نرم، عفونت‌های دستگاه ادراری، مننژیت، باکتری‌می، و ذات‌الریه و سپتی‌سمی که در اثر این باکتری ایجاد می‌شوند، از اهمیت بالایی برخوردار هستند و درمان آن‌ها بسیار چالش برانگیز است. این مشکلات به دلیل قرار گرفتن اسینتوباکتر بومانی در گروه باکتری‌های مقاوم به چند دارو (MDR) تشدید شده و اهمیت توجه به مطالعه و بررسی روش‌های درمان این باکتری را بیش از پیش آشکار می‌نماید (Morris, Dexter, Kostoulas, Uddin, & Peleg, 2019). لذا در این مطالعه سویه‌های مختلف این باکتری، پس از کشت دادن در شرایط استاندارد، با نانو ذرات نقره تهیه‌شده از عصاره آبی گیاه ماهور تیمار شدند؛ تا اثر این نانو ذرات بر روی این سویه‌ها بررسی شود.

نتایج مطالعه ای نشان می‌دهد که سویه‌های باکتری اسینتوباکتر بومانی جداشده از عفونت زخم، پس از شناسایی، تحت تیمار با نانو ذرات نقره قرار گرفته و سرعت رشد باکتری در حضور نانو ذرات کاهش یافته است. همچنین مشاهده شد که نانو ذرات نقره می‌توانند میزان بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی و نیز تشکیل بیوفیلم در باکتری را کاهش دهند (Hetta et al.,

یک هدف مطلوب محسوب می شود (Crisan et al., 2021).

سنتز سبز که در واقع به معنی ترکیب نانو ذرات با گیاهان یا متابولیت‌های آن‌هاست، روشی است که موجب کاهش عوارض جانبی نانو ذرات می‌شود (Gour & Jain, 2019). در مطالعه‌ای که توسط وینتاچای و همکاران انجام شده است، پتانسیل نانو ذرات نقره سنتز شده با عصاره برگ *Eucalyptus critriodora*، در مسیر مهار عفونت ناشی از اسینتوباکتر بومانی مقاوم به چند دارو بررسی شده است. نتایج نشان داد که نانو ذرات نقره سنتز شده با عصاره برگ *E. critriodora* باعث القای مرگ سلول باکتریایی شده و تشکیل بیوفیلم را نیز کاهش می‌دهد (Wintachai, Paosen, Yupanqui, & Voravuthikunchai, 2019). اثر نانو ذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره گیاه *Neurada procumbens* بر روی باکتری‌های جداسازی شده از نمونه‌های بیمارستانی، نشان داد که این نانو ذرات می‌توانند رشد باکتری‌های کلبسیلا پنومونیه، اسینتوباکتر بومانی و اشریشیا کلای را کنترل نمایند (Alharbi & Alarfaj, 2020). نانو ذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره گیاه *Ferula asafetida* نیز، اثربخشی خیلی خوبی را بر روی اسینتوباکتر بومانی جداسازی شده از بخش مراقبت‌های ویژه نشان دادند، در حالی که با آن غلظت، بر روی سلول‌های رده انسانی اثر نداشتند (Abootalebi et al., 2021). بر اساس این مطالعات، می‌توان دریافت که نانو ذرات نقره می‌توانند بر روی باکتری‌های مقاوم به چند دارو و مخصوصاً بر روی باکتری اسینتوباکتر بومانی اثرات قابل توجهی داشته باشند. در صورت استفاده از سنتز سبز، می‌توان تا حد امیدوارکننده‌ای عوارض جانبی را در مقایسه با نانو ذرات سنتز شده با روش شیمیایی و غیر سبز کاهش داد. در این مطالعه نیز پس از سنتز سبز نانو ذرات نقره با استفاده از عصاره آبی نانو ذرات نقره، اثرات این نانو ذرات بر روی سویه‌های اسینتوباکتر بومانی بررسی شد و نتایج حاکی از اختلاف معنادار بین گروه کنترل و گروه تیمار شده با عصاره آبی در اکثر گروه‌ها بود.

یکی از ویژگی‌های کشور ایران داشتن شرایط اقلیمی مناسب برای رشد انواع متنوعی از گیاهان هست که این گیاهان می‌توانند خواص دارویی زیادی داشته باشند. بیش از ۸۰۰۰ گونه گیاهی متنوع با توجه به آب‌وهوای مناطق مختلف، بیش‌تر در مراتع طبیعی رشد می‌کنند. این مراتع

به‌عنوان خوراک دام و حفظ‌کننده خاک بسیار مهم هستند و می‌توان از آن‌ها گیاهان دارویی مختلفی را نیز جمع‌آوری کرد (Zare-Maivan, Khajehzadeh, & Ghanati, & Sharifi, 2015). یکی از زمینه‌هایی که گیاهان دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند، در درمان بیماری‌های باکتریایی هست. گیاه ماهور به‌عنوان یک گیاه موجود در ایران، ترکیباتی دارد که به آن خواص متنوع و گسترده‌ای می‌بخشند. از جمله ترکیبات اصلی این گیاه می‌توان به فلاونوئیدها، ساپونین‌ها، ایریدوئیدها، فنیل- اتانوئید گلیکوزید، مونوترپن گلوکوزید، استروئید، اسپرمن آلکالوئید، اسیدفنل، اسید چرب، تانن، کاروتن و چندین ترکیب دیگر اشاره کرد. فلاونوئیدهای این گیاه روند ترمیم زخم‌ها را بهبود می‌دهند و می‌توانند در از بین بردن رادیکال‌های آزاد از طریق مهار سنتز نیتریک، خواص آنتی‌اکسیدانی از خود نشان بدهند (Tatli, Akdemir, & Zeliha, 2004). بر اساس مطالعات اثرات ضدالتهابی، ضد میکروبی و اثرات مدر آن به دلیل وجود ترکیب‌های فنلی است. ترکیب‌های فنولی از حلقه‌های آروماتیک و یک یا چند گروه هیدروکسیل ساخته شده‌اند که با توجه به خاصیت کاهندگی که دارند، می‌توانند موجب حذف اکسیژن منفرد آزاد شده و از این طریق خاصیت آنتی-اکسیدانی و ضد میکروبی از خود نشان دهند (Tohma et al., n.d.). این خاصیت کاهندگی در مسیر سنتز نانو ذرات نقره نیز به کار آمده و با احیا نقره موجب سنتز نانو ذرات نقره می‌شود که این فرآیند با تغییر رنگ محلول همراه است. طول موج جذبی نانو ذرات نقره نیز حدود ۴۳۰ نانومتر است که با توجه به محیط و روش سنتز، این طول موج می‌تواند کمی تغییر نماید (Jegadeeswaran, Shivaraj, & Venkatesh, 2012). این تغییر رنگ در فرآیند سنتز نانو ذرات نقره در این پژوهش نیز مشاهده گردید. هم‌چنین طول موج جذبی حدود ۴۴۵ نانومتر بود که تاییدی بر سنتز نانو ذرات نقره بود.

اسینتوباکتر بومانی به‌عنوان یک باکتری مقاوم به چند دارو، از مکانیسم‌های مختلفی برای ایجاد مقاومت بهره می‌برد که یکی از مهم‌ترین‌ها تولید پروتئینی به نام Csu است. تولید این پروتئین در مسیر تولید پیللی و تشکیل بیوفیلم اهمیت دارد. بیان این پروتئین وابسته به یک تنظیم‌کننده‌ی پاسخ به نام *bfmR* است و غیرفعال کردن ژن *bfmR* منجر به توقف تولید پیللی، چسبندگی و تشکیل بیوفیلم می‌شود (Krasauskas et al., 2019). در

مقاومت کم‌تر در سویه ۳(۲) باشد. اما بررسی این ادعا نیاز به آزمایش‌های مولکولی بیش‌تر و بررسی دقیق‌تر دارد.

نتیجه‌گیری

با توجه به شیوع گسترده آلودگی به اسینتوباکتر بطور ویژه در محیط‌های درمانی، این امر منجر به استفاده نادرست از آنتی‌بیوتیک‌ها گردیده است. علاوه بر این نبود آنتی‌بیوتیک‌های جدید با کارایی مناسب، موجب بحران‌هایی برای سلامت انسان‌ها شده‌اند. تمام این موارد لزوم وجود عوامل آنتی‌بیوتیکی جدید با کارایی مناسب را مشخص می‌کنند و فناوری نانو و ترکیبات بر پایه گیاهان دارویی یکی از گزینه‌های جذاب در این حوزه هستند. همانطور که مطالعه حاضر نشان داد نانوذرات نقره گل‌ماهور از خود اثرات ضد باکتریایی نشان دادند که بخشی از این اثرات از طریق کاهش بیان ژن *BfmR* و در نتیجه کاهش تشکیل بیوفیلم می‌باشد که امیدواری را برای تولید آنتی‌بیوتیک جدید برای درمان در حوزه‌ی بیماری‌های عفونی فراهم می‌کند.

این مطالعه اثرگذاری نانو ذرات نقره تهیه‌شده بر روی میزان بیان ژن *BfmR* بررسی شد. بدین صورت که در سویه‌های مورد مطالعه پس از تیمار با غلظت MIC از نانوذره، میزان بیان ژن *BfmR* بررسی شد؛ نتایج حاکی از اختلاف معنادار بیان ژن بین گروه کنترل و گروه‌های تیمار شده بود. در نتیجه این نانو ذرات می‌توانند از طریق مهار این ژن، موجب کاهش بیان آن شده و در نتیجه اثرات ضد باکتریایی خود را داشته باشند.

نانو ذرات سنتز شده با عصاره آبی، بر روی تعدادی از سویه‌ها نسبت به گروه کنترل اثر بهتری داشتند. در دو نمونه از نانو ذرات سنتز شده با عصاره آبی، معناداری $P < 0.05$ بوده و در چهار نمونه نیز معناداری نتایج به صورت $P < 0.01$ بود. در چهار نمونه از آن نیز اختلاف معناداری مشاهده نشد. در مورد سویه‌های ۲(۱) و ۳(۱) اختلاف معناداری بین گروه‌های تیمار شده و گروه کنترل وجود نداشت، در حالی که در مورد گروه ۳(۲) بهترین اثر دیده شد و هر دو گروه تیمار شده با نانو ذرات حاصل از عصاره آبی و الکلی اختلاف معناداری به صورت $P < 0.01$ نشان دادند. این موضوع با توجه به مطالب ذکر شده پیشین احتمالاً می‌تواند به دلیل مقاومت بیش‌تر در مورد سویه‌های ۲(۱) و ۳(۱) و

References

- Abootalebi, S. N., Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Shorafa, E., Omidifar, N., & Gholami, A.** 2021. Antibacterial Effects of Green-Synthesized Silver Nanoparticles Using *Ferula asafoetida* against *Acinetobacter baumannii* Isolated from the Hospital Environment and Assessment of Their Cytotoxicity on the Human Cell Lines. *Journal of Nanomaterials*.
<https://doi.org/10.1155/2021/6676555>
- Alharbi, F. A., & Alarfaj, A. A.** 2020. Green synthesis of silver nanoparticles from *Neurada procumbens* and its antibacterial activity against multi-drug resistant microbial pathogens. *Journal of King Saud University - Science*, 32(2), 1346–1352. <https://doi.org/10.1016/J.JKSUS.2019.11.026>
- Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P., & Caro, N.** 2021. Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13).

- <https://doi.org/10.3390/ijms22137202>
- Chang, T. Y., Chen, C. C., Cheng, K. M., Chin, C. Y., Chen, Y. H., Chen, X. A., Chiueh, T. S.** 2017. Trimethyl chitosan-capped silver nanoparticles with positive surface charge: Their catalytic activity and antibacterial spectrum including multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 155, 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.03.054>
- Crisan, C. M., Mocan, T., Manolea, M., Lasca, L. I., Tăbăran, F. A., & Mocan, L.** 2021. Review on silver nanoparticles as a novel class of antibacterial solutions. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(3), 1–18. <https://doi.org/10.3390/app11031120>
- Farrow, J. M., Wells, G., & Pesci, E. C.** 2018. Desiccation tolerance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by the two-component response regulator *BfmR*. *PLoS ONE*, 13(10), 1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205638>
- Gherasim, O., Puiu, R. A., Bîrca, A. C.,**

- Burduşel, A. C., & Grumezescu, A. M.** 2020. An updated review on silver nanoparticles in biomedicine. In *Nanomaterials* (Vol. 10). <https://doi.org/10.3390/nano10112318>
- Gour, A., & Jain, N. K.** 2019. Advances in green synthesis of nanoparticles. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 47(1), 844–851. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1577878>
- Gupta, A., Atkinson, A. N., Pandey, A. K., & Bishayee, A.** 2022. Health-promoting and disease-mitigating potential of *Verbascum thapsus* L. (common mullein): A review. *Phytotherapy Research*, 36(4), 1507–1522. <https://doi.org/10.1002/PTR.7393>
- Hetta, H. F., Al-Kadmy, I. M. S., Khazaal, S. S., Abbas, S., Suhail, A., El-Mokhtar, M. A., Algammal, A. M.** 2021. Antibiofilm and antivirulence potential of silver nanoparticles against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Scientific Reports*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90208-4>
- Ibrahim, S., Al-Saryi, N., Al-Kadmy, I. M. S., & Aziz, S. N.** 2021. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* as an emerging concern in hospitals. *Molecular Biology Reports*, 48(10), 6987–6998. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06690-6>
- Jegadeeswaran, P., Shivaraj, R., & Venckatesh, R.** 2012. Green synthesis of silver nanoparticles from extract of *Padina tetrastratica* leaf. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 7(3), 991–998.
- Kaabipour, S., & Hemmati, S.** 2021. A review on the green and sustainable synthesis of silver nanoparticles and one-dimensional silver nanostructures. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 12, 102–136. <https://doi.org/10.3762/BJNANO.12.9>
- Krasauskas, R., Skerniškytė, J., Armalytė, J., & Sužiedėlienė, E.** 2019. The role of *Acinetobacter baumannii* response regulator BfmR in pellicle formation and competitiveness via contact-dependent inhibition system. *BMC Microbiology*, 19(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1621-5>
- Lee, C. R., Lee, J. H., Park, M., Park, K. S., Bae, I. K., Kim, Y. B., ... Lee, S. H.** 2017. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(MAR). <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00055>
- Luceri, A., Francese, R., Lembo, D., Ferraris, M., & Balagna, C.** 2023. Silver Nanoparticles: Review of Antiviral Properties, Mechanism of Action and Applications. *Microorganisms*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030629>
- Mohammed, A. A., Alqahtani, A. A., & Ahmed, M. M.** 2024. Application of green synthesized silver nanoparticles in Burn therapy: A review. *Pharmazie*, 79(3–5), 42–48. <https://doi.org/10.1691/ph.2024.3045>
- Morris, F. C., Dexter, C., Kostoulias, X., Uddin, M. I., & Peleg, A. Y.** 2019. The Mechanisms of Disease Caused by *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology*, 10(JULY). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01601>
- Rosalino, V., Georgina, S., Andr, L., Á, M. M., Nabil, E., Vega, L., ... Antonio, J.** 2020. *Acinetobacter baumannii* Resistance: A Real Challenge for Clinicians. *Antibiotics*, 9(205), 1–22. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32340386/>
- Russo, T. A., Manohar, A., Beanan, J. M., Olson, R., MacDonald, U., Graham, J., & Umland, T. C.** 2016. The Response Regulator BfmR Is a Potential Drug Target for *Acinetobacter baumannii*. *MSphere*, 1(3). <https://doi.org/10.1128/msphere.00082-16>
- Tatli, I. I., Akdemir, & Zeliha.** 2004. chemical cons. of *verbascum* L. species. *J. Pharm. Sci.*, 29, 93–107. Retrieved from <http://www.fabad.org.tr/eski/fabad.org/pdf/volum29/issue2/FABAD2004j.Pharm.Sci.,29,93-107,2004.pdf>
- Tohma, H., Köksal, E., Kılıç, Ö., Alan, Y.,**

- Yılmaz, M. A., Gülçin, I., ... Alwaseel, S. H. (n.d.).** 2019. RP-HPLC/MS/MS Analysis of the Phenolic Compounds, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Salvia* L. Species. <https://doi.org/10.3390/antiox5040038>
- Vanlalveni, C., Lallianrawna, S., Biswas, A., Selvaraj, M., Changmai, B., & Rokhum, S. L.** 2021. Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: a review of recent literature. *RSC Advances*, 11(5), 2804–2837. <https://doi.org/10.1039/d0ra09941d>
- Wintachai, P., Paosen, S., Yupanqui, C. T., & Voravuthikunchai, S. P.** 2019. Silver nanoparticles synthesized with *Eucalyptus critriodora* ethanol leaf extract stimulate antibacterial activity against clinically multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from pneumonia patients. *Microbial Pathogenesis*, 126, 245–257. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.11.018>
- Zare-Maivan, H., Khajehzadeh, M. H., Ghanati, F., & Sharifi, M.** 2015. Plant Distribution in Arid Ecosystems of Eastern Alborz Ranges at 36° Latitude. *International Journal of Biology*, 7(4). <https://doi.org/10.5539/ijb.v7n4p32>

How to cite this article:

Sefati, S., Behboodiani, B., Dolatabadi, S. 2025. Green synthesis of silver nanoparticles using *Verbascum thapsus* extract and its effect on BfmR gene expression in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Nova Biologica Reperta* 11: 67-81. (In Persian).

صفاتی. ص، بهبودیان. ب، دولت آبادی. س، ۱۴۰۳. سنتز سبز نانوذرات نقره با عصاره گیاه ماهور و بررسی اثر آن بر بیان ژن BfmR در ایزوله های بالینی اسینتوباکتر بومانی. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۱: ۶۷-۸۱.