

Safety and efficacy of antimicrobial nanostructured textiles: comparison with 11070 national standard

Afrah Sepehr¹, Sepideh Arbabi-Bidgoli², Seyyed Reza Hosseini Doost³,

¹MSc, Pharmaceutical Sciences Research Center, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University (IAUTMU), Tehran, Iran

²Professor, Department of Toxicology, Faculty of Pharmacy, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University (IAUTMU), Tehran, Iran

³ Professor, Department of Microbiology, Faculty of Advance Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University (IAUTMU), Tehran, Iran

Abstract

Background: This study aimed to evaluate the efficacy and safety of five randomly selected nanostructured products by the National Standard of No. 11070.

Materials and methods: Antibacterial activities of five different nanostructured textiles were assessed on specific microorganisms to human skin and environment. The physicochemical properties were determined by FTIR spectrum and the dermal toxicity was assessed by skin and eye irritation and corrosion test (OECD 404,405).

Results: Each of the 5 samples at concentrations of 0, 0.5, 1, 1.5, 2 and 5% had strong antibacterial activity compared to control treatments. Mild and reversible irritations were observed at all three concentrations of nanosilver (5, 50, and 500 ppm) after 24 hours exposing to yarn and tissue samples on female rabbits, and the FTIR test related to 5 products showed no change in group, before and after the treatments e.g. washing and contact with the test animals (rabbits). Tissues containing nano-silver particles had no irritating effect and eye lesions in rabbits.

Conclusion: According to the results, in addition to complying with the properties mentioned in the health license, the nanostructured textiles complied with the standard features of 11070.

Keywords: Nanostructured textiles, Skin, irritation, Corrosion, Effects, Antimicrobial effects.

Cited as: Sepehr A, Hosseini Doost SR, Arbabi-Bidgoli S. Safety and efficacy of antimicrobial nanostructured textiles: Comparison with 11070 national standard. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2020; 30(2): 174-184.

Correspondence to: Sepideh Arbabi-Bidgoli

Tel: +98 21 88003470

E-mail: s.arbabi@iautmu.ac.ir

ORCID ID: 0000-0003-4830-8680

Received: 20 May 2019; **Accepted:** 3 Sep 2019

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی

دوره ۳۰، شماره ۲، تابستان ۹۹، صفحات ۱۷۴ تا ۱۸۴

بررسی مقایسه‌ای وضعیت شاخص‌های ایمنی منسوجات نانوساختار دارای اثر ضد میکروبی با شاخص‌های تعریف شده در استاندارد ملی ۱۱۰۷۰ ایران

افراح سپهر^۱، سپیده اربابی بیدگلی^{۱،۲}، سید رضا حسینی دوست^۳^۱ کارشناس ارشد سم شناسی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران^۲ استاد، گروه سم شناسی داروشناسی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران^۳ استاد گروه میکروبی شناسی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: جهت ارزیابی کارایی و ایمنی محصولات نانوساختار دارای پروانه بهداشتی تولید و توزیع موجود در بازار کشور، ۵ نمونه از محصولات فوق به طور تصادفی انتخاب و با استاندارد ملی شماره ۱۱۰۷۰ ایران انطباق داده شدند.

روش بررسی: پس از تهیه نمونه محصولات از بازار، اثرات آنتی باکتریال دستمال کاغذی، جوراب، دستمال توالت، نخ آنتی باکتریال و زیرپوش نانو بر روی سه سوبه میکروارگانیزم مختص پوست انسان و میکروارگانیزم‌های محیطی بررسی شد و طیف FTIR خواص تحریک و تخریش جلدی و چشمی این منسوجات در مقایسه با نمونه شاهد با استفاده از دستورالعمل‌های بین‌المللی OECD 404 و OECD 405 ارزیابی شد.

یافته‌ها: هریک از ۵ نمونه در غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۵ درصد دارای فعالیت‌های ضد باکتری قوی در مقایسه با تیمارهای شاهد بودند. تحریک و تخریش پوستی نمونه‌های نخ و دستمال آنتی باکتریال بر روی خرگوش ماده در سه غلظت ۵، ۵۰ و ۵۰۰ ppm با پاسخ‌های خفیف و برگشت همراه بود و آزمون FTIR مرتبط با ۵ محصول مورد ارزیابی، نشان از عدم تغییر در گروه‌های عاملی، قبل و پس از انجام تیمارها داشت. دستمال کاغذی حاوی ذرات نانو نقره، علاوه بر موارد فوق، فاقد اثر تحریکی و ضایعات چشمی در خرگوش بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده از آزمون‌های فوق، منسوجات نانوساختار علاوه بر تطابق با خواص ذکر شده در پروانه بهداشتی با ویژگی‌های استاندارد ۱۱۰۷۰ منطبق بودند.

واژگان کلیدی: منسوجات نانوساختار، آنتی باکتریال، تحریک و تخریش پوستی، استاندارد ملی ۱۱۰۷۰ ایران.

مقدمه

کارایی بالا، فرایند های رو به رشدی را در جهت کاربردهای پیشرفته‌تر بویژه مصارف پزشکی به خود اختصاص داده‌اند (۱). از آنجایی که منسوجات مورد مصرف، در معرض تماس با طیف وسیعی از باکتری‌ها هستند؛ لذا خود بستری مناسب برای رشد باکتریها محسوب گردیده، هزینه‌های قابل توجهی باید برای ضدعفونی کردن آنها صرف شود. بنابراین استفاده از سامانه‌های نانو مقیاس، در فرآیندهای متداول نساجی نظیر تولید لیاف، تکمیل، پوشش دهی و رنگرزی می‌توانند روش قابل قبول و کاملاً اقتصادی جهت ارتقای کارایی منسوجات و کاهش ریسک رشد میکروارگانیزم‌ها محسوب شوند (۲). در واقع، امروزه صنعت نساجی به یکی از زمینه‌های اصلی برای

امروزه استفاده از نانو مواد و فناوری نانو در صنایع مختلف از جمله حوزه علوم پزشکی رشد قابل توجهی داشته است. در این راستا، صنعت نساجی نیز از مزایای بی‌شمار به کارگیری این فناوری بی بهره نمانده و منسوجات فناوری نانو، متشکل از لیاف نانوکامپوزیتی، نانوالیاف و نانوپوشش‌های پلیمری با

آدرس نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، سپیده

اربابی بیدگلی (email: s.arbabi@iautmu.ac.ir)

ORCID ID: 0000-0003-4830-8680

تاریخ دریافت مقاله: ۹۸/۱/۲۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۸/۶/۲۶

کاربرد فناوری نانو در تولید محصولات و بهبود فرآیندها تبدیل شده است. تولید لباس‌ها و منسوجات خانگی خود تمیزشونده، ضد آب، ضد لک، ضد چروک، پوشاک محافظ در برابر اشعه ماوراءبنفش، بانداژهای حاوی نانوذرات نقره برای زخم‌های سوختگی و لباس‌های ورزشی ضد بو و ضد باکتری، شماری از تحولات ایجاد شده در صنعت نساجی با کمک فناوری نانو هستند. به طور کلی نوآوری‌های تاثیر گذار در بازار صنعت نساجی ایران و جهان شامل مواردی می‌شوند که یا توسعه محصولات جدیدی را مطابق با تقاضای مصرف کننده در پی داشته باشند و یا اینکه ضمن ایجاد تحول در فرآیندهای تولید، موجب کاهش قیمت، افزایش ظرفیت تولید و ارتقاء کیفیت محصول شده باشند (۳). در سال‌های اخیر، محققان و صنعتگران زیادی در راستای افزودن نانوذرات فلزی به نانو الیاف پلیمری، برای ساخت فیلم و پارچه‌های ضد باکتری شروع به فعالیت کرده‌اند که حاصل این فعالیت‌ها استفاده گسترده از منسوجات آنتی باکتریال در بیمارستان‌ها، درمانگاه‌ها، داروخانه‌ها، هتل‌ها و حتی منازل بوده است (۴). در واقع پیش از روی آوردن به این طیف از محصولات نوآورانه، اتصال میکروارگانسیم‌های بیماری‌زا به این منسوجات نساجی خودسر منشا تشدید آلودگی و انتقال میکروارگانسیم‌های بیماری‌زا از افراد بیمار یا مکان‌های آلوده به افراد سالم و سایر مکان‌های غیرآلوده بوده است، اما با استفاده از فناوری نانو و تولید منسوجات دارای خواص ضد میکروبی بر روی الیاف یا پارچه از طریق وارد کردن ترکیبات ضد میکروبی در ساختار آنها، تحول جدیدی در زمینه پیشگیری از بیماری‌های عفونی و تا حدی درمان آنها ایجاد شد (۵).

برای ارزیابی کیفی هریک از منسوجات حاضر با کاربردهای تعریف شده، باید ابزارهایی وجود داشته باشند که به وسیله آنها بتوان نقایص، کمبودها و گاهی نقاط قوت یک فرآورده را مشخص کرده و در صورت لزوم با یکدیگر مقایسه کرد. استانداردهای ملی مرتبط با منسوجات نانو ساختار، میزان‌ها و ابزارهایی هستند که با استفاده از آنها می‌توان خدمات این صنعت را سنجش، ارزیابی و با یکدیگر مقایسه کرد. یکی از پیش نیازهای تجاری سازی محصولات و ورود آنها به بازارهای ملی و جهانی، اخذ استانداردهای ملی و بین المللی و مشارکت تولیدکنندگان در فرآیند تدوین این استانداردها است. در واقع فقدان هریک از این پروتکل‌ها و استانداردهای ملی و بین المللی مربوط به روش‌های اندازه گیری، کارایی و خواص جدید محصولات نانو و فقدان استانداردهای مربوط به جنبه های ایمنی این نوع محصولات، موجب شده است که سازمان

استاندارد ایران همپای سایر کشورها، استانداردسازی منسوجات نانو را به عنوان یکی از برنامه‌های اصلی توسعه فناوری نانو قرار داده و نسبت به تدوین استانداردهای تخصصی این حوزه اقدام کند (۶، ۵).

علی رغم تهیه مستندات توسط شرکت‌های سازنده منسوجات آنتی باکتریال، ارائه آنها به کمیته نانو فناوری سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی و صدور تاییده‌های بهداشتی کوتاه مدت برای این محصولات، متون علمی و پیش‌های میدانی دلالت بر عدم وجود مطالعه‌ای در خصوص انطباق کارایی و ایمنی منسوجات آنتی باکتریال مطابق با استاندارد ملی شماره ۱۱۰۷۰ ایران دارد. از آنجایی که طیف وسیعی از شرکت‌های تولید کننده منسوجات نانو آنتی باکتریال با ارائه مدارک نسبت به اخذ تاییده بهداشتی از سازمان غذا و دارو اقدام کرده و درصدی از آنها موفق به اخذ تایید بهداشتی و فروش محصولات خود در بازار کشور شده‌اند، هدف از انجام این تحقیق، بررسی کیفیت این محصولات پس از ورود به بازار بود. در واقع این مطالعه برای اولین بار به بررسی میدانی ویژگی‌های اثربخشی و ایمنی تعدادی از این محصولات و انطباق آنها با شاخص‌های استانداردسازی منسوجات با شاخص‌های استاندارد ملی در سطح جامعه آماری موردنظر، اطمینان حاصل گردد.

مواد و روشها

این بررسی یک ارزیابی آزمایشگاهی با نمونه‌برداری میدانی از منسوجات نانو ساختار با محورهای اثر بخشی و ایمنی بود که نمونه‌های مورد آزمون با معرفی کمیته نانو فناوری سازمان غذا و دارو به شرح ذیل انتخاب شدند:

۱- لباس زیر تهیه شده از نخ آنتی باکتریال

۲- زیرپوش آنتی باکتریال

۳- جوراب آنتی باکتریال

۴- دستمال جعبه ای کاغذی

۵- دستمال توال

این محصولات به عنوان معرف خواص مجموعه منسوجات نانو ساختار در هر نوع بهره برداری در نظر گرفته شده و به طور تصادفی از بازار خریداری و یا در صورت عدم توزیع و دسترسی به ماده اولیه از طریق شرکت تولیدکننده انتخاب شدند. برای هر نمونه انتخاب شده، در تمام مراحل آماده سازی و آنالیز نمونه، یک نمونه شاهد (نمونه مشابه فاقد نانو ذره) نیز از شرکت سازنده

درخواست شد و با همکاری داوطلبانه ایشان تهیه و تحویل شد. مستندات مربوط به این منسوجات که به وسیله آزمایشات مرتبط با شاخص‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و سمیت تهیه شده بود عمدتاً تکرار و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در نهایت نتایج به دست آمده با استانداردهای ملی مطابقت داده شد.

آزمون FTIR

به منظور بررسی تغییرات ساختاری در بین گروه‌های عامل حاصل از الیاف نانو ساختار موجود در این منسوجات، پس از شستشو و رهائش ناشی از عرق بدن انسان، آزمون‌های FTIR به منظور بررسی تغییر گروه‌های عاملی در بین ۵ نمونه مورد مطالعه در اثر این تیمارها و همچنین نمونه شاهد انجام شد. طیف FTIR منسوجات آنتی باکتریال، پس از ساخته شدن توسط دستگاه IR prestige 21 ساخت شرکت Shimadzu و با استفاده از قرص پتاسیم بروماید خشک ثبت شد (۷، ۸).

آماده سازی و آزمون نمونه‌ها

به منظور آماده سازی و آزمون نمونه بر مبنای ماتریکس و نوع نانوذره به کار رفته، از استانداردهای ملی و بین المللی مرتبط در این زمینه استفاده شد (۹، ۱۰).

آزمون‌های میکروبی

محیط کشت و باکتری‌های استفاده شده

سویه‌های باکتری استفاده شده در این آزمایش شامل موارد ذیل بودند:

۱- استافیلوکوکوس اورئوس ۱۱۱۲ PTCC

۲- اشریشیاکلی ۱۳۳۰ PTCC

۳- پseudomonas آئروجینوزا 1074 PTCC

۴- کورینه باکتریوم زروسیس 373 ATCC

باکتری‌های نام برده از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران وابسته به پژوهشکده زیست فناوری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (IROST) تهیه شدند. آمپول محتوی باکتری‌های نام برده تا زمان استفاده در دمای منفی ۸۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. باکتری‌ها بر روی محیط کشت TSA کشت و در ۹۷ درجه سانتی‌گراد و تا زمان استفاده در صفر تا ۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱). این مطالعه به صورت تجربی از زمستان ۱۳۹۶ تا پائیز ۱۳۹۷ در آزمایشگاه میکروبی شناسی مرکز تحقیقات علوم دارویی واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی انجام شد.

روش تعیین حداقل غلظت باکتری کشی MBC (Minimum Bactericidal Concentration)

در روش استاندارد (مرجع) پس از انجام تست رقیق سازی و تعیین MIC (Minimum Inhibitory Concentration) با روش

استاندارد، از هریک از لوله‌های فاقد رشد، ۵۰ میکرولیتر نمونه برداشته و به محیط کشت TSA (Tryptocase Soy Agar) انتقال داده شد. کشت سطحی پس از قرار دادن پلیت‌ها به مدت یک شب در دمای ۹۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور صورت گرفت و تعداد کلنی‌های رشد یافته بر روی پلیت‌ها شمارش شدند. پس از یک شب انکوباسیون نمونه در گرمخانه با دمای ۹۷ درجه سانتی‌گراد، پلیتی که حاوی رقیق‌ترین محلول کلونیدال بود و در آن تعداد کلنی‌ها به میزان یک هزارم رسیده بود، به عنوان MBC در نظر گرفته شد (۱۱).

بررسی اثر ضد میکروبی الیاف و منسوجات نانو ساختار بر باکتری‌های مورد آزمون

در این آزمایش از روش رقت لوله‌ای و قطره پلیت برای شمارش میکروبی‌ها و از روش شیک فلاسک جهت ارزیابی فعالیت ضد میکروبی الیاف معمولی و نیز الیاف ضد میکروبی با درصد‌های مختلفی از ماده نانو ساختار استفاده شد. به این منظور، در ارلن-های استریل حاوی ۴۹/۵ میلی لیتر بافر فسفات، ابتدا ۰/۵ میلی لیتر از باکتری مورد نظر با غلظت مشخص (CFU/ml 105 x5/1) تهیه شد و سپس ۰/۵ گرم از انواع منسوجات مورد آزمایش اضافه شد. آنگاه با مخلوط کردن در زمان صفر، اولین رقت مناسب از سوسپانسیون حاصل شد. به منظور شمارش کلنی‌ها به روش قطره پلیت، پلیت‌های حاوی آگار به سه قسمت مساوی تقسیم شد و توسط سمپلر ۱۰ میکرولیتری از یک سوسپانسیون (با رقت مشخص) در یک قسمت از یک پلیت آگار که مربوط به آن رقت خاص بود، پنج قطره ۱۰ میکرولیتری اخذ شد. این عمل در دو قسمت دیگر پلیت نیز تکرار شد و در نهایت بعد از جذب قطرات روی پلیت، پلیت‌های مورد نظر به مدت میانگین ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس شمارش کلنی‌ها صورت گرفت. به منظور شمارش کلنی بعد از ۲۴ ساعت، بررسی پلیت‌های تمام کلنی‌ها در هر قطره شمارش و میانگین گرفته شد (از نظر آماری تعداد ۳ تا ۳۰ کلنی در هر قطره قابل قبول است). این عمل ۶ و ۲۴ ساعت بعد از زمان صفر و هوادهی ارلن‌ها بر روی شیکر با ۹۵-۸۵ دور در دقیقه نیز تکرار شد. یک ارلن حاوی باکتری و بافر فسفات، به عنوان شاهد، طی هر یک از آزمایشات مورد بررسی و شمارش قرار گرفت تا میزان رشد هر یک از باکتری‌ها در بافر فسفات نیز مشخص شود (۱۲).

تست هاله

برای بررسی خاصیت ضد باکتری منسوجات نانو ساختار نسبت به باکتری‌های مورد اشاره در مباحث قبلی، ابتدا پلیت‌های حاوی محیط کشت مربوطه به صورت شطرنجی کشت داده شد و بلافاصله نمونه پارچه مورد نظر در سطح پلیت قرار گرفته و پلیت

روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعت استفاده شد. به منظور تغذیه حیوانات، از رژیم معمول آزمایشگاه، همراه با میزان نامحدود آب استفاده شد (۱۳).

انجام آزمون

یک مربع ۲ در ۲ با مقداری معادل ۰/۵ گرم از نمونه را به عنوان آزمون روی قسمت کوچکی از پوست (تقریباً ۵ سانتیمتر) قرار داده و با یک گاز زخم بندی بسته و با چسبی که تحریک زا نبود، در موضع ثابت شد. برای هر نمونه سه حیوان مورد آزمون قرار گرفتند. ابتدا آزمون (یعنی هر یک از نمونه های منسوجات تهیه شده در بازار) به مدت ۴ ساعت بر روی حیوان اول قرار داده شد تا در صورتی که علائم تحریک و خوردگی مشاهده شود، نیازی به استفاده از حیوان دوم و سوم نباشد. در پایان مدت تماس، منسوج برداشته شده و محل آزمون، با آب یا محلول شستشوی مناسب دیگر، بدون ایجاد تغییر در پاسخ مشاهده شده شسته شد (۱۳، ۱۴).

مشاهدات بالینی و درجه بندی واکنش های پوستی

همه حیوانات از نظر وجود علائم قرمزی (اریتم)، ادم و زخم بررسی شدند و پاسخ های مشاهده شده در زمان های ۱ و ۳ دقیقه و ۱، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از برداشتن آزمون ثبت کرده و ارزیابی شدند (۱۳).

تحلیل آماری

به منظور جمع آوری نمونه ها از شرکت های تولید کننده و یا مراکز پخش محصولات استفاده شد و کلیه آزمایشات مطابق با توضیحات یاد شده صورت گرفت. جامعه آماری از میان منسوجات اشاره شده در متن به صورت تصادفی و آزمون های هر تیمار با دو تکرار در بازه زمانی ۱ ماهه صورت گرفت. حجم نمونه برای ۵ کالای موردنظر و برای هر تیمار با دو تکرار با توجه به

در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. ایجاد هاله عدم رشد در اطراف منسوج، نشان دهنده حساسیت میکروب به ماده مذکور و خاصیت ضد میکروبی آن بود (۱۳).

بررسی عوارض ناشی از تماس پوستی

تحریک و تخریش پوستی

هدف از اجرای این آزمون، بررسی امکان ایجاد تحریک و تخریش پوستی با روش های درون تن ناشی از تماس منسوج ضد میکروبی مورد آزمون با پوست بود.

تحریک و تخریش پوستی - روش آزمون درون تن

اساس آزمون

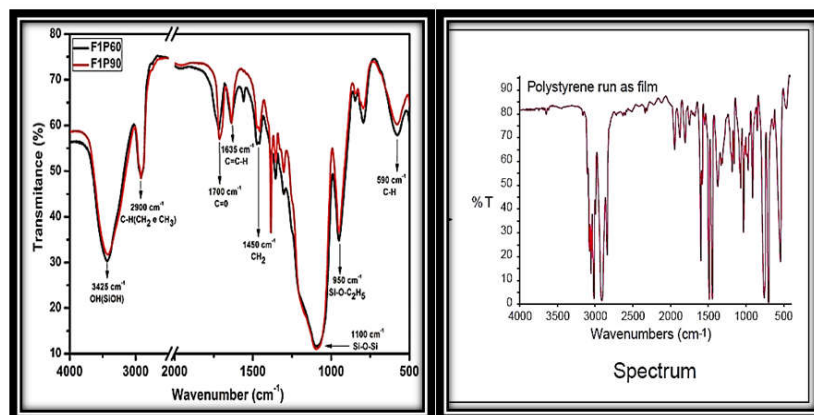
نمونه نهایی آزمایشگاهی مورد آزمون مستقیم روی پوست خرگوش آلبینوی ماده و بالغ گذاشته شده و قسمت مشابهی از پوست حیوان که مورد تیمار قرار نگرفته، به عنوان کنترل مورد استفاده قرار گرفت، یعنی از سطح مجاور بدن حیوان به عنوان شاهد استفاده شد. درجه تحریک/تخریش پوستی در زمان های مشخص و با فواصل زمانی مرتب خوانده و ثبت شد (مطابق با OECD 404 و استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۰۷۰) (۱۳، ۱۴).

آماده کردن حیوان مورد آزمون

از خرگوش آلبینو بالغ به عنوان حیوان مورد آزمون استفاده شد و ۲۴ ساعت قبل از شروع آزمون، موی ناحیه پشتی حیوانات تراشیده و دقت شد تا به پوست آنها صدمه ای وارد نشود.

شرایط نگهداری و تغذیه حیوانات مورد آزمون

حیوانات را در قفس های جداگانه مورد نگهداری و دمای اتاق نگهداری حدود 22 ± 2 درجه سانتی گراد انتخاب شد. رطوبت نسبی اتاق حداقل ۳۰ درصد و به جز در زمان شستشو بالاتر از ۶۰ درصد نشد. در اتاق حیوانات از نور مصنوعی، و با تناوب



شکل ۱. نمونه ای از طیف تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) گروه های عاملی مرتبط با جوراب آنتی باکتریال، قبل و بعد از انجام ۱۰ بار شستشو (نمونه شاهد و تیمار شده)

آزمون‌های مورد بررسی ۵۰ نمونه و تیمار به همراه نمونه شاهد بود.

یافته‌ها

طیف FTIR برای منسوجات نانوساختار

در شکل ۱ نمونه‌ای از طیف FTIR برای محصولات با الیاف نانو، قبل و پس از شستشو و تیمار ۷۲ ساعته در برابر رهایش با عرق نمایش داده شده است. در مقایسه نمونه تیمار شده با نمونه شاهد، نتایج شکل ۱ نشان دهنده عدم تغییر در باندها و پیوندهای گروه‌های عاملی نانوساختار در منسوجات، قبل و پس از شستشو بود که نشان دهنده عدم تغییرات شیمیایی و تغییرات در ساختار باندها در اثر فعالیت عوامل میکروبی در محیط تیمار است.

آزمون میکروبی منسوجات نانوساختار

نتایج درج شده در جدول‌های ۱ الی ۶ اثرات ضد میکروبی نمونه نخ آنتی باکتریال را با روش انتشار در آگار نمایش داده است. مطابق روش کار، از تعداد 10^7 سلول بر میلی

لیتر باکتری اشرشیا کلی، پseudomonas آئروجینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس در سطح TSA که به طور جداگانه تلقیح شده بودند، نمونه‌هایی با غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۵ درصد در مجاورت سوبه‌های مورد آزمایش قرار داده شدند (۱۴-۱۱).

آزمون تحریک و تخریب

در بخش مقایسه با استاندارد و نتایج حاصله از آن، با توجه به شواهد قبلی در خصوص نخ آنتی باکتریال مورد مصرف در زیرپوش ارسالی شرکت زر نخ تهران و بر اساس تست انجام شده، پاسخ‌های تحریک جلدی خفیف بر روی خرگوش ماده پس از ۴ و ۲۴ ساعت مشاهده شد که این پاسخ‌ها در یکی از ۲ حیوان مشاهده شده و در دوران ریکاوری حیوان مرتفع شدند. هیچگونه پاسخ مثبت در سه بخش قرمزی، زخم و ادم در حیوانات مورد آزمون دیده نشد و در شرایط آزمون، حیوان سوم نیز بدون علامت بود. با توجه به شرایط مورد بررسی و آزمون که به طور نمونه در اینجا به منظور آشنایی با نحوه تطابق با استاندارد و نمونه

جدول ۱. نتایج آزمایشات میکروبی مرتبط با اثرات آنتی باکتریال نخ پس از ۱۰ بار شستشو

نوع باکتری	استافیلوکوکوس اورئوس	اشرشیا کلی
شماره سوبه	۲۵۹۲۳	۲۵۹۲۲
غلظت مایه تحقیق (CFU/ml)	$1/5 \times 10^8$	$1/5 \times 10^8$
حجم مایع تزریقی	۱۰ cc	۱۰ cc
حجم باکتری در سوسپانسیون اولیه	5×10^8	5×10^8
تعداد سلول باکتری (پس از ۷۲ ساعت)	3×10^4	3×10^3
روش اندازه گیری	SOP داخلی	SOP داخلی
نوع ماده نمونه	نخ	نخ
روش سترون سازی	اتوکلاو	اتوکلاو
زمان گرمخانه گذاری	۷۲ ساعت (۳۷°C)	۷۲ ساعت (۳۷°C)

*روند کاهش باکتری در این نمونه‌ها بسیار سریع و از لحاظ آماری معنی‌دار است ($p < 0.05$).

جدول ۲. نتایج آزمایشات میکروبی مرتبط با اثرات آنتی باکتریال جوراب مهیار (ادعای شرکت: حاوی ۳۰٪ نانو)

نوع باکتری (پseudomonas آئروجینوزا)	نمونه کنترل	نمونه آزمایش
شماره سوبه	ATCC15442	ATCC15442
غلظت مایه تحقیق (CFU/ml)	4×10^6	4×10^6
حجم مایع تزریقی	۱۰ cc	۱۰ cc
تعداد سلول باکتری (پس از ۲۴ ساعت)	3×10^6	2×10^3
تعداد سلول باکتری بلافاصله پس از تلقیح	$2/5 \times 10^6$	-
روش اندازه گیری	استاندارد ۱۰۹۰۰	استاندارد ۱۰۹۰۰
نوع ماده نمونه	جوراب مهیار	جوراب مهیار
روش سترون سازی	اتوکلاو	اتوکلاو
زمان گرمخانه گذاری	۲۴ ساعت (۳۷°C)	۲۴ ساعت (۳۷°C)

بحث

مطالعات متعدد در خصوص ایمنی مواد اولیه و محصولات نانو در جهان و ایران انجام شده است که از این میان می‌توان به تحقیقات نویسنده مسئول این مقاله در زمینه ایمنی نانو سیلور در مدل خوکچه هندی (۱۷، ۱۸)، و یا کارایی آن اشاره کرد (۱۹). اما براساس اطلاعات موجود این اولین مطالعه مدون در خصوص انطباق ویژگی‌های کارایی و ایمنی تعدادی از محصولات با شاخص‌های استاندارد در سطح کشور است. یکی از فعالیت‌های اصلی کمیته فنی استانداردهای فناوری نانو، تدوین استانداردهای ملی با توجه به اولویت‌ها و نیازهای کشور است.

با توجه به حجم فزاینده معرفی منسوجات آنتی باکتریال حاصل از فناوری نانو، ضرورت تدوین استاندارد موضوع این مطالعه وجود داشت. در واقع در تدوین استانداردهای ملی

کنترل مطرح گشت، نمونه مورد آزمون ارسالی از شرکت به آزمایشگاه کنترل کیفی فاقد خاصیت تحریک و تخریش جلدی ارزیابی گشت و نتایج این بخش از مطالعه مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۱۱۹۵ بود (۱۵، ۱۶).

تست‌های سمیت مخاطی و حساسیت چشمی (مطالعه موردی: دستمال کاغذی و توالت حاوی نانوذرات نقره)

در این بخش، دستمال کاغذی و توالت ریز شده به وزن تقریبی ۱۰ میلی گرم برای هر چشم با تکرار متناوب تماس با دوز حداکثری ۱۰۰ میلی گرم برای هر چشم بر روی خرگوش آلبینو ماده (۳ عدد) در سه تکرار در مجموع ۹ حیوان مطابق با دستورالعمل مربوطه مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۵). نتایج نشان داد که در هیچ یک از تست‌های به عمل آمده، اثری از تحریک و تخریش چشمی در ۹ حیوان مورد آزمون مشاهده نشد. ماده تست فاقد پتانسیل آسیب زایی چشمی بود. نتایج این بررسی در جدول‌های ۷ تا ۹ آورده شده است.

جدول ۳. نتایج آزمایشات میکروبی مرتبط با اثرات آنتی باکتریال زیرپوش مهنام (ادعای شرکت: حاوی ۳۰٪ الیاف نانو)

نوع باکتری	کورینه باکتریوم زروسیس	پسودوموناس آئروجینوزا
شماره سویه	Skin isolate	ATCC15442
غلظت مایه تحقیق (CFU/ml)	$1/5 \times 10^5$	$1/5 \times 10^5$
مقدار رشد ($F=lgC_t-LgC_0$)	-۰/۱۸	-
مقدار رشد ($G=lg T_t-LgT_0$)	-۲/۵	-
مقدار فعالیت ضد باکتریایی ($A=F-G$)	۲/۳۲	۲/۴
روش اندازه گیری	روش شمارش کلنی در پلیت	روش شمارش کلنی در پلیت
نوع ماده نمونه	زیرپوش مهنام	زیرپوش مهنام
روش سترون سازی	اتوکلاو	اتوکلاو
زمان گرمخانه گذاری محیط کشت	۲۴ ساعت ($37^\circ C$) نوترینت آگار	۲۲ ساعت

*روند کاهش باکتری در این نمونه ها بسیار سریع و از لحاظ آماری معنی دار است ($p < 0/05$).

جدول ۴. نتایج آزمایشات میکروبی مرتبط با اثرات آنتی باکتریال دستمال (کاغذی)

نوع باکتری	اشرشیا کلی	پسودوموناس آئروجینوزا
شماره سویه	Skin isolate	ATCC15442
غلظت مایه تحقیق (CFU/ml)	$1/4 \times 10^5$	$1/5 \times 10^5$
مقدار رشد ($F=lgC_t-LgC_0$)	-۰/۱۶	-
مقدار رشد ($G=lg T_t-LgT_0$)	-۲/۵	-
مقدار فعالیت ضد باکتریایی ($A=F-G$)	۲/۲۲	۲/۳
روش اندازه گیری	روش شمارش کلنی در پلیت	روش شمارش کلنی در پلیت
نوع ماده نمونه	دستمال کاغذی	دستمال کاغذی
روش سترون سازی	اتوکلاو	اتوکلاو
زمان گرمخانه گذاری محیط کشت	۲۴ ساعت ($37^\circ C$) نوترینت آگار	۲۲ ساعت

جدول ۵. نتایج آزمایشات میکروبی مرتبط با اثرات آنتی باکتریال دستمال (توالت)

نوع باکتری	اشرشیا کلی	استافیلوکوکوس اورئوس	پسودوموناس آئروجینوزا
شماره سویه	ATCC1053	ATCC6538	ATCC15442
غلظت مایه تحقیق (CFU/ml)	$1/5 \times 10^5$	$1/5 \times 10^5$	$1/5 \times 10^5$
حجم آزمون کنترل	۱gr	۱gr	۱gr
اختلاف نهایی ۳ آزمون (ساعت)	۲۲ ساعت گرمخانه گذاری	۲۲ ساعت گرمخانه	۲۲ ساعت
مقدار رشد ($F=lgC_t-LgC_0$)	۰/۳ - ۰/۴	۰/۴ - ۰/۵	۰/۳ - ۰/۴
مقدار رشد ($G=lg T_t-LgT_0$)	+۱/۲	+۰/۸	+۳/۲
مقدار فعالیت ضد باکتریایی ($A=F-G$)	۲	۲/۴	۲/۳
روش اندازه گیری	شمارش کلنی در پلیت	شمارش کلنی در پلیت	شمارش کلنی در پلیت
نوع ماده نمونه	دستمال	دستمال	دستمال
روش سترون سازی	اتوکلاو	اتوکلاو	اتوکلاو
زمان گرمخانه گذاری	۲۲ ساعت ($37^\circ C$)	۲۲ ساعت ($37^\circ C$)	۲۲ ساعت ($37^\circ C$)

جدول ۶. نتایج آزمایشات میکروبی مرتبط با اثرات آنتی باکتریال دستمال کاغذی

نوع باکتری	استافیلوکوکوس اورئوس	استافیلوکوکوس اورئوس
شماره سویه	۲۵۹۲۳	۲۵۹۲۳
غلظت مایه تحقیق (CFU/ml)	$1/6 \times 10^6$	$1/6 \times 10^6$
حجم مایع تزریقی	۱۰cc	۱۰cc
حجم باکتری	R.Log=2.6; 82.89%	R.Log=2.6; 82.89%
روش اندازه گیری	SOP داخلی	SOP داخلی
نوع ماده نمونه	دستمال	دستمال
روش سترون سازی	اتوکلاو	اتوکلاو
زمان گرمخانه گذاری	۷۲ ساعت ($37^\circ C$)	۷۲ ساعت ($37^\circ C$)

*رشد کاهش باکتری در این نمونه ها بسیار سریع و از لحاظ آماری معنادار می باشد ($P>0/05$). *حجم تزریقی برای نمونه شاهد $10^6 \text{ cfu/ml} \times 9/6$ بود. R.Log = Reduction Logarithm

بر اساس مطالعات FTIR، مشاهده ثبات محصولات دلالت بر مطابقت ویژگی ها با استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۹۵ بود (۱۵). از نظر انطباق ویژگی های نمونه های مورد بررسی با استاندارد ملی، با توجه به تست هاله انجام شده، نمونه های دستمال کاغذی و دستمال توالت بررسی شده، دارای بیشترین اثرات ضد میکروبی بودند، در حالی که این اثر برای نمونه های جوراب و زیرپوش ضعیف تر بود. در واقع بر اساس کشت میکروبی انجام شده نمونه های جوراب و زیرپوش، میزان انتشار هاله کمتر و درجه تاثیر ضد میکروبی پایین تری در برابر باکتری ها دیده شد. نتایج حاصل از این آزمون که در حضور نور با ارائه میزان رشد هاله باکتری های پسودوموناس آئروجینوزا، استافیلوکوکوس و اشریشیاکلی، در دو دوره زمانی ۲۴ و ۷۲ ساعته گزارش شده است، نشان می دهد که نانوذرات استفاده شده در منسوجات مورد بررسی، با توجه به مقدار کم استفاده شده، توانایی توقف کامل رشد باکتری ها را ندارند، اما باعث کند شدن فرآیند رشد باکتری ها در نمونه های ساخته

ایران در زمینه منسوجات نانو ساختار از جمله استاندارد ملی ۱۱۰۷۰ (۱۴)، ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی های خاص کشور، از آخرین پیشرفت های علمی، فنی، صنعتی و استانداردهای بین المللی بهره برداری شده است. در انجام این تحقیق، ضمن بررسی میدانی منسوجات نانو ساختار دارای پروانه بهداشتی از سازمان غذا و دارو، از انطباق شاخص های فنی ضروری برخی از کالاها و منسوجات نانو ساختار ایران با استفاده از استاندارد مربوطه در سطح جامعه آماری مورد نظر اطلاع حاصل شد که نتایج این بررسی می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در استاندارد ملی، برای حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت، ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی در راستای اجرای استانداردهای ملی تدوین شده برای محصولات تولیدی داخل کشور و یا اقلام وارداتی با کمک و تصویب شاخص های به دست آمده از مطالعه، مورد استفاده قرار گیرد.

جدول ۷. نتایج آزمایشات درجه بندی بر اساس ضایعات چشمی (دستمال کاغذی و توالت)

درجه	قرنیه
	کدورت: درجه تراکم
	کدورتی وجود ندارد
+	مناطق پراکنده یا مختصری از کدورت: جزئیات عنبیه قابل تشخیص است
-	منطقه شفافیه که براحتی قابل تشخیص است: جزئیات عنبیه مختصری محو شده
-	منطقه شفاف و براق: جزئیات عنبیه مختصری محو شده
-	قرنیه کدر: عنبیه را در پشت کدورت نمی توان مشاهده کرد
مورد تایید است	حالت طبیعی

جدول ۸. نتایج آزمایشات درجه بندی بر اساس ضایعات چشمی (دستمال کاغذی و توالت)

درجه	قرنیه
	ملتحمه
	سرخی (به ملتحمه پلکی و مربوط به غیر از قرنیه و عنبیه)
ندارد (-)	طبیعی
+	مختصری پرخونی عروق
ندارد	رنگ قرمز پررنگ بصورت منتشر: عروق را به آسانی نمیتوان تشخیص داد
ندارد	رنگ قرمز گوشتی منتشر

جدول ۹. نتایج آزمایشات درجه بندی بر اساس ضایعات چشمی (دستمال کاغذی و توالت)

درجه	قرنیه
ندارد (-)	تورم (مربوط به پلک یا پرده های پوشاننده)
-	تورم مختصری از حد نرمال
ندارد	تورم مشهود و واضح همراه با برگشتن پلک ها به خارج
ندارد	تورم همراه با نیمه بسته شدن پلک ها
ندارد	تورم همراه با بسته شدن بیشتر پلک ها
۱۲۳±۲۶۵۶	میانگین وزنی خرگوش ها در طی ۲۱ روز

جذب اتمی تحویل داده شد، نشان دهنده تطبیق آن با استاندارد به شماره ۲۱۱۹۵ (۲۰) بود و میزان نقره در تمامی نمونه ها کمتر از ۰/۱ ppm به دست آمد. آزمون میکروبیولوژیکی که مهم ترین آزمون در این پروژه محسوب می شود، با استفاده از باکتری های مورد اشاره به روش انتشار در محیط آگار، در دو شرایط متفاوت، یکی در حضور نور مرئی و دیگری در شرایط تاریکی صورت پذیرفت. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که نانوذرات منسوجات مورد بررسی در حضور نور با توجه به خاصیت فتوکاتالیستی آن توانایی کنترل رشد باکتری را داشته، اما در شرایط تاریکی با توجه به مقادیر کم استفاده شده در منسوجات تأثیر کمتری بر جلوگیری از رشد باکتری دارند.

در بخش ارزیابی ایمنی این منسوجات از نتایج به دست آمده بر روی زیرپوش و جوراب محتوی نخ آنتی باکتریال حاوی نانو ذره نقره، تولید شرکت زرنخ تهران به منظور تعیین قابلیت

شده می شوند و این توانایی با افزایش مقدار و درصد نانوذرات در نمونه های منسوجات با ادعای شرکت سازنده افزایش می یابد. نتایج به دست آمده از تکرار این آزمون در شرایط تاریکی تأثیر چندانی را در کنترل و کند کردن رشد و تکثیر میکروارگانیسم ها نشان نداد که دلیل اصلی آن می تواند مکانیسم اثر نانوذرات باشد (۱۷). در واقع، اکسیداسیون فتوکاتالیستی نانوذرات یکی از اصلی ترین دلایل بروز خاصیت ضد باکتری نانو ذرات عنوان شده است. نتایج مورد بررسی در آزمون این نمونه ها مطابق با ادعای شرکت سازنده جوراب (مهیار)، دستمال کاغذی (نانوتکس) و نخ (زرنخ) و همچنین در تطابق با آزمون شستشوی نخ نایلون آنتی باکتریال به منظور بررسی پساب حاصله جهت تعیین میزان نانونقره آزاد شده توسط دستگاه جذب اتمی مطابق استاندارد شستشو ISO C01-105 و دستورالعمل بود. نتایج آزمایش با ۶ تکرار، که در آزمایشگاه آنالیز دستگاهی دانشگاه تربیت مدرس جهت آزمون

نتایج به دست آمده مطابق با استاندارد ملی به شماره ۱۱۰۷۰ بود (۱۴).

در مجموع و با استفاده از نتایج به دست آمده از بررسی‌های انجام شده، پژوهش حاضر فعالیت ضد میکروبی الیاف و منسوجات مورد بررسی را در پیشگیری و کنترل عفونت‌های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و پseudomonas آئروجینوزا در تمام نمونه‌های مورد بررسی را مورد تایید قرار می‌دهد. البته، امکان کاربرد این منسوجات و الیاف برای مصارف درمانی در مقابل سایر میکروارگانیسم‌ها، غلظت و تنوع نانوذرات به کار رفته در منسوجات و همچنین اثر همپوشانی این الیاف و نانوذرات منسوجات با سایر الیاف به کار رفته در منسوجات و عدم حساسیت پذیری، تحریک و تخریب این منسوجات در مصارف درمانی برای بیماران با شرایط خاص مثل گروه‌های دیابتی (به علت تاثیر این منسوجات بر زخم‌های ایجاد شده در پا) و مصارف درمانی در آینده نزدیک و بعد از انجام مطالعات بالینی بیشتر برای ارزیابی اثر آن بر پوست و سایر ارگان‌های بدن، باید فراهم شود.

تقدیر و تشکر

از همکاری و حمایت کمیته فناوری نانو، سازمان غذا و دارو، و وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی بابت همکاری در به انجام رسیدن این تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

تحریک و تخریب پوستی ناشی از تماس حاد بخشی از این زیرپوش آنتی باکتریال با استفاده از روش ارزیابی OECD 404 و با استفاده از حیوان مورد آزمایش خرگوش آلبینوی ماده در شرایط نگهداری و آماده سازی با استفاده از تکنیک پیچ پوستی تهیه شده از نمونه‌های ارسالی استفاده شد. این تست در ۳ مرحله بر روی سه حیوان مختلف انجام و هر مرحله ۳ بار تکرار شد. در بخش مقایسه با استاندارد و نتایج حاصله از آن نیز، با توجه به شواهد قبلی در خصوص نخ آنتی باکتریال مورد مصرف در زیرپوش و جوراب ارسالی شرکت زر نخ تهران و بر اساس تست انجام شده، پاسخ‌های تحریک جلدی خفیف بر روی خرگوش ماده پس از ۴ و ۲۴ ساعت مشاهده شد که این پاسخ‌ها با امتیاز حداکثر ۲ در یکی از ۲ حیوان مشاهده شده، در دوران ریکواری حیوان مرتفع شد. هیچ گونه پاسخی با امتیاز بالاتر از ۲ در سه بخش قرمزی، زخم و ادم در حیوانات مورد آزمون دیده نشد و در شرایط آزمون حیوان سوم (نمونه کنترل که نمونه‌های دیگر مورد آزمون با آن مقایسه می‌شوند) بدون علامت بود. با توجه به شرایط مورد بررسی و آزمون که به طور نمونه در اینجا به منظور آشنایی با نحوه تطابق با استاندارد و نمونه کنترل مطرح شد، نمونه مورد آزمون ارسالی از شرکت به آزمایشگاه کنترل کیفی فاقد خاصیت تحریک و تخریب جلدی و چشمی ارزیابی شد. نتایج حاصل از این آزمایش دلالت بر مطابقت محصولات با استاندارد مربوطه را داشته و هیچ گونه تحریک معنی‌داری در نمونه تیمار شده در مقایسه با نمونه شاهد مشاهده نشد. بنابراین به نظر می‌رسد

REFERENCES

- Chen CY, Chiang CL. Preparation of cotton fibers with antibacterial silver nanoparticles. *Mater Lett* 2008; 62: 3607-609.
- Duncan T, Pillai, K. Release of engineered nanomaterials from polymer nanocomposites: diffusion, dissolution, and desorption. *ACS Appl Mater Interfaces* 2014; 7: 2-19.
- Maurer EI, Sharma M, Schlager JJ, Hussain, SM. Systematic analysis of silver nanoparticle ionic dissolution by tangential flow filtration: toxicological implications. *Nanotoxicology* 2014; 8: 718-727.
- Mc Gillicuddy E, Murray I, Kavanagh S, Morrison L, Fogarty A, Cormican M, et al. Silver nanoparticles in the environment: Sources, detection and ecotoxicology. *Sci Total Environ* 2007; 375: 231-246.
- Zhao X, Bian F, Sun L, Cai L, Li L, Zhao Y. Microfluidic generation of nanomaterials for biomedical applications. *Small*. 2019:e1901943.
- Zhang Z, Shen W, Xue J, Liu Y, Liu Y, Yan P, et al. Recent advances in synthetic methods and applications of silver nanostructures. *Nanoscale Res Lett* 2018; 13:54.
- Naik K, Kowshik M. The silver lining: towards the responsible and limited usage of silver. *J Appl Microbiol* 2017; 123:1068-1087.
- Mitrano DM, Rimmel E, Wichser A, Erni R, Height M, Nowack B. Presence of nanoparticles in wash water from conventional silver and nano-silver textiles. *ACS Nano* 2014; 8: 7208-19.
- Lombi E, Donner E, Scheckel KG, Sekine R, Lorenz C, Von Goetz N, et al. Silver speciation and release in commercial antimicrobial textiles as influenced by washing. *Chemosphere* 2014; 111: 352-58.

10. ASTM E 2859:2011- Standard Guide for Size Measurement of Nanoparticles Using Atomic Force Microscopy. Available from: astm.org/DATABASE.CART/HISTORICAL/E2859-11.htm
11. Duncan TV, Pillai K. Release of engineered nanomaterials from polymer nanocomposites: diffusion, dissolution, and desorption. *ACS Appl Mater Interfaces* 2015;7:2-19.
12. Lombi E, Donner E, Scheckel KG, Sekine R, Lorenz C, Von Goetz N, et al. Silver speciation and release in commercial antimicrobial textiles as influenced by washing. *Chemosphere* 2014; 111:352-8.
13. OECD Guideline for testing of Chemicals: TG 404- 2015: Acute Dermal Irritation/Corrosion. Available from: <https://www.oecd.org/env/test-no-404-acute-dermal-irritation-corrosion-9789264242678-en.htm>
14. National Standard of Iran 11070- Textile - Determination of Antibacterial Activity in Textile Goods. First revision. Available at: <https://www.oecd.org/env/test-no-405-acute-eye-irritation-corrosion-9789264185333-en.htm>
15. National Standard of Iran 21195- Nanotechnology - Antimicrobial Textile Goods - Test Methods. Available from: https://nano.ir/index.php?ctrl=news&actn=news_view&site_id=1&lang=1&id=57483
16. OECD Guideline for testing of Chemicals: TG 405. Available from: <https://www.oecd.org/env/test-no-405-acute-eye-irritation-corrosion-9789264185333-en.htm>
17. Korani M, Rezayat SM, Gilani K, Arbabi Bidgoli S, Adeli S. Acute and subchronic dermal toxicity of nanosilver in guinea pig. *Int J Nanomedicine* 2011;6:855-62.
18. Korani M, Rezayat SM, Arbabi Bidgoli S. Sub-chronic dermal toxicity of silver nanoparticles in Guinea pig: special emphasis to heart, bone and kidney toxicities. *Iran J Pharm Res* 2013;12:511-9.
19. Ghaffari S, Alihosseini F, Rezayat Sorkhabadi SM, Arbabi Bidgoli S, Mousavi SE, Haghghat S, et al. Nanotechnology in wound healing; semisolid dosage forms containing curcumin-ampicillin solid lipid nanoparticles, in-vitro, ex-vivo and in-vivo characteristics. *Adv Pharm Bull* 2018;8:395-400.
20. Azizi-Lalabadi M, Ehsani A, Alizadeh-Sani M, Khezerlou A, Mirzanajafi-Zanjani M, Divband B, et al. Nanoparticles and zeolites: Antibacterial effects and their mechanism against pathogens. *Curr Pharm Biotechnol* 2019 8.