

Antibacterial and Cytotoxicity Activity Polypropylene Span band Non-Woven Fabric Coated by Nisin-Chitosan

Mahboubeh Mirhosseini¹

Maede Afzali^{2,3}

Hosein Molla Hoseini⁴

Batool Aghabagheri Tezerjani²

¹ Associate Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Iran

² MSc Biochemistry, Payame Noor University, Iran

³ PhD Students in Tissue Engineering, School of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ PhD in Textile Engineering-textile chemistry and fiber science, Education and Training Organization, Yazd, Iran

(Received August 8, 2023; Accepted May 25, 2024)

Abstract

Background and purpose: Activated textiles have created a new field of application apart from standard textile applications. Novel, functions, for example, antimicrobial properties have been enhanced in textiles. New textile application fields have been recognized for particular areas of healthcare as well as industry, sportswear, and, home textiles. Advances in the field of antibacterial textiles have fascinated enhancing attention because those are a means to solve serious health challenges such as bacterial overgrowth. A lot of research has been done in the field of adding synthetic and toxic materials to fabrics, such as nanosilver triclosan or other metals and organic materials to produce antimicrobial fabrics. These fabrics kill bacteria by binding to intracellular proteins and inactivating these proteins. Also, by using these chemicals, the content of heavy metals in these textiles can be increased. The application of heavy metals in antimicrobial textiles is limited by many environmental tags and standards. Therefore, it is recommended to use natural antimicrobial agents, such as nisin and chitosan to produce environmentally friendly and safe antimicrobial fabrics. Nowadays finishing process with the natural antibacterial agents that protect the environment and human health is gaining importance. Therefore, this study aims to produce fabric coated with chitosan and nisin and to investigate its antimicrobial properties.

Materials and methods: In this research, chitosan was used to bind nisin to the surface of polypropylene span band non-woven fabric. The fabric samples were coated with a solution containing chitosan and nisin using a pad-dry-cure method. The appearance, color, and softness of the coated fabrics were compared to the uncoated fabric. The nisin and chitosan binding properties on the fabric were explored by using the Fourier-transform infrared (FTIR) technique. The diffusion method in agar and the standard method (ASTME2149-01) were used to check the antimicrobial properties of fabric samples. The antibacterial effectiveness of fabric samples was tested against common bacteria such as *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, and *Enterococcus faecalis*. After ten washing cycles, the durability of the antimicrobial properties of these fabrics was checked by the method mentioned above. Also, the toxicity of this fabric on fibroblast cells was determined using the MTT colorimetry method after seven days.

Results: Fabrics coated with chitosan and nisin do not differ much from the control sample in terms of appearance and softness. The changes observed in the FTIR spectrum, such as the appearance of new absorption peaks and additional peaks associated with peptide bonds, confirm the successful incorporation of nisin and chitosan into the fabric. Antibacterial results have shown that nisin improved the antibacterial effect of coated fabrics versus *B. cereus*, *S. aureus*, and *P. aeruginosa*. The antimicrobial properties of the fabric coated with chitosan-nisin were maintained at some of the efficacy after washing against *B. cereus*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, and *P. aeruginosa* respectively. Also, the chitosan-nisin coating showed that it did not cause significant toxicity in fibroblast cells even after one week.

Conclusion: However, the results showed that the chitosan/nisin coating might be used for medical textiles and antibacterial textiles. It also offers an innovative solution to protect human health and the environment.

Keywords: textile finishing process, biomaterial, chitosan, nisin, antibacterial coating

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (234): 61-73 (Persian).

Corresponding Author: Mahboubeh Mirhosseini - Payame Noor University, Iran. (E-mail: m.mirhosseini@pnu.ac.ir)

بررسی فعالیت ضد باکتریایی و سمیت سلولی پارچه بی‌بافت اسپان‌باند پلی‌پروپیلن پوشش داده شده با نایسین-کیتوسان

محبوبه میرحسینی^۱

مأده افضلی^۲

حسین ملاحسینی^۴

بطول آقا باقری طزرجانی^۲

چکیده

سابقه و هدف: امروزه منسوجات فعال شده زمینه جدیدی از کاربرد را جدا از کاربردهای استاندارد نساجی ایجاد کرده‌اند. عملکردهای جدید این محصولات برای مثال، خواص ضد میکروبی در این منسوجات افزایش یافته است. زمینه‌های کاربردی نساجی جدید برای حوزه‌های خاصی از مراقبت‌های بهداشتی و همچنین صنعت، پوشاک ورزشی و منسوجات خانگی شناخته شده است. پیشرفت‌ها در زمینه منسوجات ضد باکتری توجه فزاینده‌ای را به خود جلب کرده است، زیرا این روش‌ها ابزاری برای حل چالش‌های جدی سلامت مانند رشد بیش از حد باکتری‌ها هستند. تحقیقات زیادی در زمینه افزودن مواد مصنوعی و سمی به پارچه‌ها مانند تریکلوزان نانو نقره یا سایر فلزات و مواد آلی برای تولید پارچه‌های ضد میکروبی انجام شده است. این پارچه‌ها با اتصال به پروتئین‌های داخل سلولی و غیرفعال کردن این پروتئین‌ها، باکتری‌ها را از بین می‌برند. هم‌چنین با استفاده از این مواد شیمیایی می‌توان گفت که محتوای فلزات سنگین در این منسوجات را افزایش می‌یابد. کاربرد فلزات سنگین در منسوجات ضد میکروبی توسط بسیاری از استانداردهای محیطی محدود شده است. بنابراین توصیه می‌شود از عوامل ضد میکروبی طبیعی مانند نایسین و کیتوسان برای تولید پارچه‌های ضد میکروبی سازگار با محیط زیست و ایمن استفاده شود. فرآیند تکمیل پارچه با عوامل ضد باکتری طبیعی که محیط زیست و سلامتی انسان را حفظ می‌کنند، امروزه اهمیت بیش‌تری پیدا کرده است. بنابراین هدف این مطالعه تولید پارچه پوشش داده شده با کیتوسان و نایسین و بررسی خاصیت ضد میکروبی آن است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، کیتوسان برای اتصال نایسین به سطح پارچه غیر بافته اسپان‌باند پلی‌پروپیلن استفاده شد. نمونه‌های پارچه با محلول حاوی کیتوسان و نایسین با استفاده از روش پد خشک پوشانده شدند. ظاهر، رنگ و نرمی پارچه‌های روکش شده با پارچه بدون روکش مقایسه شد. خواص اتصال، نایسین و کیتوسان روی پارچه با استفاده از تکنیک FTIR (تبدیل فوری مادون قرمز) مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی خواص ضد میکروبی نمونه‌های پارچه از روش انتشار در آگار و روش استاندارد (ASTME2149-01) استفاده شد. اثر ضد باکتریایی نمونه‌های پارچه در برابر باکتری‌های رایج مانند *اشریشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *انتروکوکوس فکالیس* اندازه‌گیری شد. سپس از ده دوره شستشو، دوام ویژگی ضد باکتری این پارچه‌ها بررسی شد. هم‌چنین، سمیت این پارچه بر روی سلول‌های فیروبلاست با استفاده از روش رنگ سنجی MTT پس از هفت روز تعیین شد.

یافته‌ها: پارچه‌های پوشش داده شده با کیتوسان و نایسین از نظر ظاهر و نرمی تفاوت چندانی با نمونه شاهد ندارند. تغییرات مشاهده شده در طیف FTIR، مانند ظهور پیک‌های جذب جدید و پیک‌های اضافی مرتبط با پیوند پپتیدی، ادغام موفقیت‌آمیز نایسین و کیتوسان را در پارچه تایید می‌کند. نتایج ضد باکتری نشان داد که نایسین اثر ضد باکتری پارچه‌های پوشش داده شده در برابر *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* را افزایش داده است. ویژگی‌های ضد باکتری پارچه‌های پوشش داده شده با کیتوسان-نایسین بعد از شستشو در برابر *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *انتروکوکوس فکالیس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *اشریشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* به ترتیب حفظ شد. هم‌چنین، پوشش کیتوسان-نایسین نشان داد که حتی پس از یک هفته، سمیت معنی‌داری در سلول‌های فیروبلاست ایجاد نمی‌کند.

استنتاج: لایه کامپوزیت کیتوسان-نایسین دارای پتانسیل بالایی برای کاربردهای ضد میکروبی در زمینه‌های مختلف، مانند امکانات مراقبت‌های بهداشتی و صنعت نساجی است. هم‌چنین، این روش یک راهکار نوآورانه برای حفاظت از سلامت انسان و محیط زیست ارائه می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: فرآیند تکمیل پارچه، بیومواد، کیتوسان، نایسین، پوشش ضد باکتری

E-mail: m.mirhosseini@pnu.ac.ir

مؤلف مسئول: محبوبه میرحسینی - تهران: دانشگاه پیام نور

۱. دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲. کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۳. دانشجوی دکتری مهندسی بافت، دانشکده فناوری‌های پیشرفته پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴. دکترای تخصصی مهندسی نساجی - گرایش شیمی نساجی و علوم الیاف، سازمان آموزش و پرورش، یزد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۵/۱۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۲/۶/۵ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۳/۵

مقدمه

پوشش‌های بی‌بافت (span band non-woven) محصولات بی‌بافتی هستند که ویژگی‌ها و عملکردهای خاص خود را دارند، اما در عین حال نقاط ضعفی نیز دارند. این مواد در اطراف ما وجود دارند و اغلب بدون این که بدانیم، هر روز از آن‌ها استفاده می‌کنیم. مواد بی‌بافت با توجه به نیاز، با خصوصیت‌های مختلفی مانند جاذب، قابل تنفس، انعطاف‌پذیر، مقاوم در برابر شعله، مقاوم در برابر حرارت، سبک، بدون پرز، قالب‌پذیر، نرم، پایدار، سفت، مقاوم در برابر پارگی، آبگریز و ... تولید می‌شوند. البته بدیهی است که همه ویژگی‌های ذکر شده، به خصوص آن‌هایی که متناقض هستند را نمی‌توان در یک ماده بی‌بافت ساده ترکیب کرد (۴-۱). این مواد چند منظوره هستند و در صنایع مختلفی مانند مراقبت و بهداشت شخصی، مراقبت‌های بهداشتی عمومی، پوشاک، خانه، خودرو، ساخت و ساز، فیلتراسیون، صنعت، کشاورزی، پیکنیک و مسافرت، مدرسه، اداره و غیره کاربرد دارند (۷-۳). یکی از انواع پوشش‌های بی‌بافت، پارچه بی‌بافت اسپان‌باند پلی‌پروپیلن است که از الیاف پلی‌پروپیلن ساخته شده است. این نوع پارچه بی‌بافت به دلیل وزن سبک، استحکام بالا و مقاومت در برابر رطوبت و مواد شیمیایی، بسیار مناسب برای استفاده در صنایع پزشکی و بهداشتی است. استفاده از پارچه بی‌بافت اسپان‌باند پلی‌پروپیلن با پوشش ضد باکتریایی، به دلیل خواص ضد باکتریایی و مقاومت در برابر عوامل خارجی، می‌تواند به کنترل عفونت‌ها و بهبود سلامتی افراد کمک کند. این پارچه‌ها معمولاً برای ساخت باندهای پزشکی، پوشش‌های ضد عفونی و مواد پوشش‌دهی در صنایع پزشکی استفاده می‌شود (۱، ۸).

اهمیت پیشگیری از انتقال بیماری در بیماران و پرسنل بیمارستان به دلیل فشارهای جدیدی که به وجود آمده است، افزایش یافته است. متخصصان مراقبت‌های بهداشتی به طور مداوم تحت فشار عوامل بیماری‌زای

جدید و ارگانیزم‌های دارای مقاومت دارویی چندگانه و هم‌چنین فشار اقتصادی برای کاهش عفونت‌های مرتبط با مراقبت‌های بهداشتی قرار دارند. ایجاد عفونت در محل جراحی یا عفونت‌های بیمارستانی، یعنی عفونت‌های به‌دست آمده در بیمارستان یا مراکز مراقبت‌های بهداشتی، یکی از مشکلات اساسی در بهداشت عمومی و یکی از علل اصلی عوارض و مرگ و میر پس از عمل جراحی است. این عفونت‌ها جزو ده علت اصلی مرگ و میر در کشورهای صنعتی هستند. مواد بی‌بافت به‌طور گسترده در زمینه پزشکی استفاده می‌شوند و به دلیل مزایای بی‌شماری که دارند هم‌باتوجه به نیازهای کاربر و هم ویژگی‌های مواد متمایز هستند (۸، ۹). در مورد سویه‌های باکتری‌ها و ویروس‌های دارای مقاومت دارویی چندگانه، مواد بی‌بافت می‌توانند در مبارزه با آلودگی متقاطع و گسترش عفونت در محیط‌های پزشکی یا جراحی کمک کنند. از جمله ویژگی‌های مثبت این مواد، می‌توان به اجتناب از نیاز به جابجایی و کاهش انتشار آلاینده‌ها، چرخه‌های تولید کوتاه‌تر، جذب بالا، نفوذپذیری عالی، انعطاف‌پذیری بیش‌تر، تطبیق‌پذیری و هزینه‌های تولید پایین‌تر اشاره کرد (۵، ۸).

در حوزه بهداشت و درمان، استفاده از مواد ضد باکتریایی و ضد عفونی‌کننده در محصولات پزشکی و پوشش‌های بی‌بافت بسیار اهمیت دارد زیرا عفونت‌های باکتریایی می‌توانند عوارض جدی برای بیماران و هم‌چنین افراد سالم ایجاد کنند (۴، ۸). یکی از موادی که به‌عنوان پوشش ضد باکتریایی استفاده می‌شود، نایسین-کیتوسان است که از ترکیب نایسین (یک آنتی‌بیوتیک طبیعی) و کیتوسان (یک پلی‌ساکارید طبیعی) تشکیل شده است. کیتوسان یک گلیکوپلیمر زیست‌سازگار، زیست‌تخریب‌پذیر و غیر سمی با منشأ زیستی است که به دلیل این خواص، در بسیاری از کاربردهای پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد و در مطالعات زیادی بر روی استفاده از آن تأکید شده است (۱۲-۱۰). کیتوسان در بدن تخریب‌پذیر، ایمن و غیر سمی است و در مهره‌داران، به

ویژه توسط لیروزیم و آنزیم‌های باکتریایی خاص در روده بزرگ تخریب می‌شود. هم‌چنین، می‌تواند توسط بسیاری از میکروارگانیسم‌های موجود در طبیعت تجزیه شود (۱۳).
 نایسین یک عامل ضد باکتریایی زیست فعال است که قبلاً برای پوشش‌های غذایی خوراکی مانند فیلم‌های آلزینات استفاده شده است (۱۴، ۱۵). این پپتید ضد میکروبی توسط سویه‌های لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه لاکتیس تولید می‌شود و به عنوان یک نگهدارنده زیستی و یک عامل بالقوه در محصولات دارویی، دامپزشکی و مراقبت‌های بهداشتی استفاده می‌شود. نایسین یک پپتید ۳۴ آمینو اسیدی با جرم مولکولی ۳۵۰۰ دالتون است و می‌تواند از رشد باکتری‌های گرم-مثبت مانند *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیژنر*، *کلوستریدیوم پرفرنژنس* و *باسیلوس سرئوس* جلوگیری کند. نایسین در سال ۱۹۸۸ توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) به عنوان افزودنی مجاز شناخته شد و اکنون به عنوان یک نگهدارنده زیستی در بسیاری از کشورهای جهان استفاده می‌شود (۱۱، ۱۴). از آن‌جا که نایسین می‌تواند از رشد باکتری‌های بیماری‌زا ممانعت کند، استفاده از آن به عنوان عامل دار کردن پارچه می‌تواند ابزار خوبی برای جلوگیری از اتصال میکروبی و آلودگی متقاطع باشد. خاصیت ضد باکتریایی نایسین توسط توانایی نفوذ باکتریوسین مشخص می‌شود و باکتری‌های حساس را از طریق یک فرآیند چند مرحله‌ای که باعث ناپایداری لایه دوگانه فسفولیپیدی سلول باکتریایی شده و منافذ گذرا ایجاد می‌کند، و باعث نشت مواد ضروری از سلول می‌شود، می‌کشد (۱۵).

در این مقاله، تحقیقاتی انجام شده است تا فعالیت ضد باکتریایی و سمیت سلولی پارچه بی‌بافت اسپان باند پلی پروپیلن پوشش داده شده با نایسین-کیتوسان برای اولین بار مورد بررسی قرار گیرد. این تحقیق می‌تواند بهبودی در زمینه استفاده از مواد ضد باکتریایی در صنایع پزشکی و بهداشتی به همراه داشته باشد و نقش

مهمی در کنترل عفونت‌ها و بهبود سلامتی افراد داشته باشد. این مطالعه می‌تواند به توسعه محصولات پزشکی و بهداشتی با خصوصیات ضد عفونی و بهبودی دهنده درمانی کمک کند و در نهایت به بهبود سلامتی جامعه کمک کند.

مواد و روش‌ها

سویه‌ها، محیط‌ها و مواد

روش تحقیق در این پژوهش به شیوه تجربی آزمایشگاهی بوده است که با کد اخلاق IR.PNU.REC1401.319 در دانشگاه پیام نور به تصویب رسیده است. در این تحقیق از سویه‌های باکتریایی *اشریشیا کلی* PTCC1395، *سودوموناس آئروژینوزا* PTCC 1074 (گرم منفی) و *استافیلوکوکوس اورئوس* PTCC1431، *باسیلوس سرئوس* PTCC1015، *لیستریا مونوسیژنر* ATCC19112 و *انتروکوکوس فکالیس* PTCC 1237 (گرم مثبت) که از مجموعه کلکسیون میکروارگانیسم‌های ایران (PTCC) خریداری شده بود، استفاده گردید. نایسین از شرکت سیگما خریداری شد. پارچه بی‌بافت اسپان باند پلی پروپیلن سفیدگری شده (پارچه پلی پروپیلن به وزن ۱۵ گرم بر متر مربع) توسط شرکت بهپاد یزد، یزد، ایران تولید شده بود. درجنت گل‌وش (شرکت سیاوشان، یزد، ایران) خریداری شده بود و کیتوسان از پوست میگو در تحقیقات قبلی سنتز شده بود (۱۱). کاربردهای تکمیل در مقیاس آزمایشگاهی انجام شد. مقدار مشخص نایسین در اسید کلریریک ۰/۰۲ مولار حل گردید و فیلتر شد (۱۶). این محلول به کیتوسان یک درصد در اسید استیک حل گردید به طوری که غلظت نهایی نایسین در این محلول ۲/۵۶ میلی گرم بر میلی لیتر باشد (۱۸-۱۶). سپس نمونه‌های پارچه بی‌بافت اسپان باند پلی پروپیلن به مدت ۳۰ دقیقه در این محلول پوشش داده شدند و سپس فرآیند خشک کردن در ۱۰۰ درجه سانتی گراد و پخت در ۱۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه انجام شد (۱۹، ۲۰).

توصیف پارچه‌های پوشش داده شده

شکل ظاهری، رنگ و نرمی پارچه‌های پوشش داده شده در مقایسه با پارچه بدون پوشش بررسی شد. حضور نایسین و کیتوسان (N/CS) در پارچه‌های پوشش داده شده با استفاده از تکنیک FTIR (طیف سنج Shimadzu IRPrestige-21) بررسی گردید (۲۱، ۱۹).

آزمایش‌های ضد باکتریایی

آزمایش انتشار در آگار

از روش انتشار در آگار برای بررسی خاصیت ضد میکروبی نمونه‌های پارچه استفاده شد. از کشت ۲۴ ساعته باکتری‌های *اشریشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *انتروکوکوس فکالیس* به‌طور جداگانه روی پلیت‌های TSA (Tryptic Soy Agar, merck) تلقیح شدند. سپس پارچه‌های پوشش داده شده به صورت مربع‌های با ابعاد ۱ سانتی‌متر (پارچه پلی‌پروپیلن وب پوشش داده شده، پارچه پلی‌پروپیلن وب با پوشش ثابت شده و پارچه پلی‌پروپیلن وب با پوشش شسته شده و پارچه پروپیلن وب بدون پوشش) روی پلیت‌های تلقیح شده قرار گرفتند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. منطقه بازدارندگی اطراف پارچه‌های پوشش داده شده برای نشان دادن فعالیت ضد باکتریایی هر نمونه پارچه استفاده شد (تصویر شماره ۱) (۲۴-۲۲). دوام فعالیت ضد باکتریایی پارچه به شیوه گفته شده در بالا پس از انجام ده چرخه شستشو در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ دور/دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در محلول ۲ درصد دترجنت غیر یونی ارزیابی شد (۲۱).

آزمایش کشت مایع

ابتدا پارچه‌های پوشش داده شده توسط اشعه ماوراء بنفش به مدت ۱ ساعت استریل شدند. فعالیت ضد میکروبی نمونه‌های پوشش داده شده براساس روش

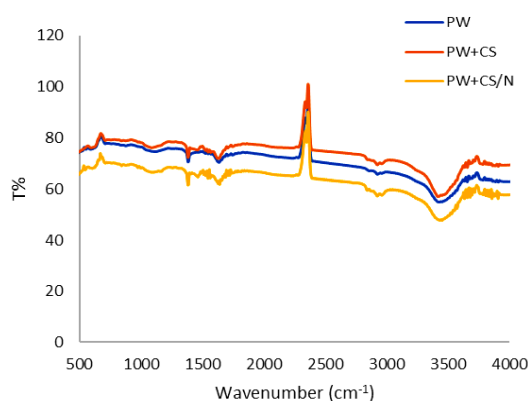
استاندارد (ASTME2149-01) که برای عوامل فعال دائمی بی حرکت روی پارچه توصیه شده است ارزیابی شد. پارچه‌های بدون بافت اسپان‌بند پلی‌پروپیلن با ۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتریایی *اشریشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *انتروکوکوس فکالیس* به ترتیب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۲۳۰ دور/دقیقه انکوبه شدند. تعداد باکتری‌ها در هر آزمایش حدود 1×10^7 سلول/میلی‌لیتر بود. برای تعیین خاصیت ضد میکروبی، قبل و بعد از ۲۴ ساعت قرارگیری پارچه‌های پوشش داده شده، از لوله‌های آزمایش نمونه‌برداری شد. این کشت‌های مایع به شکل سریالی در سوسپانسیون بافر استریل رقیق شدند، روی پلیت‌های TSA قرار گرفتند و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند تا تعداد باکتری‌های باقی‌مانده مشخص شود. فعالیت ضد میکروبی به عنوان درصد کاهش باکتری به صورت نسبت بین تعداد باکتری‌های زنده قبل و بعد از تماس با منسوجات پوشش داده شده با استفاده از فرمول زیر گزارش می‌شود که A و B به ترتیب میانگین تعداد باکتری‌ها قبل و بعد از تماس با منسوجات پوشش داده شده است (۲۴، ۲۱).

$$\text{کاهش باکتری (\%)} = ((A - B)/A) \times 100$$



تصویر شماره ۱: روش انتشار در آگار برای بررسی خاصیت ضد میکروبی

انجام شد. طیف‌های به دست آمده از پوشش‌های ضد میکروبی مختلف، الگوهای مشابهی را نشان دادند، همان‌طور که در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است.



نمودار شماره ۲: طیف FTIR (الف) پارچه پلی‌پرولین وب بدون پوشش، (ب) پارچه پلی‌پرولین وب پوشش داده شده با کیتوزان (CS) و (ج) پارچه پلی‌پرولین وب پوشش داده شده با نایسین/کیتوزان (N/CS) را نشان می‌دهد

در نمونه‌های کیتوزان، پیک‌های وسیع در 3400 سانتی‌متر $^{-1}$ و 1030 تا 1155 سانتی‌متر $^{-1}$ مشاهده شد که به ترتیب مربوط به کشش پیوندهای O-H و N-H و همچنین پیوندهای C-O است. علاوه بر این، پیک جذب به ترتیب در 2850 – 2950 سانتی‌متر $^{-1}$ ، حدود 1550 – 1650 سانتی‌متر $^{-1}$ ، و در 1400 سانتی‌متر $^{-1}$ شناسایی شد که نشان‌دهنده کشش C-H، گروه‌های آمین و گروه‌های کربوکسیل است. وجود نوارهای پلی‌ساکارید (کشش C-O-C) در 1060 سانتی‌متر $^{-1}$ نیز مشخص شد (۱۶). افزودن نایسین به پارچه پوشش داده شده با نایسین/کیتوزان منجر به تغییرات قابل توجهی در طیف FTIR شد. اوج جذب جدید در 3150 – 3450 سانتی‌متر $^{-1}$ ظاهر شد، که نشان‌دهنده حضور گروه OH- از پتیدها است. علاوه بر این، قله‌های اضافی در 1656 سانتی‌متر $^{-1}$ و 1537 سانتی‌متر $^{-1}$ مشاهده شد که عمدتاً به ترتیب با باندهای Amide I و Amide II مرتبط بودند. این تغییرات طیفی را می‌توان مستقیماً به پیوند پتیدی درون پارچه نسبت داد (۱۶، ۲۵).

دوام فعالیت ضد باکتریایی پس از شستشوی تمام نمونه‌های پارچه به روشی که در بالا ذکر شد در محیط مایع بررسی شد (۲۱).

ارزیابی سمیت سلولی

تکثیر سلول‌های فیروبلاتست بر روی نمونه‌های مختلف پارچه پوشش داده شده با استفاده از روش رنگ‌سنجی MTT پس از ۷ روز ارزیابی شد. نمونه‌های پارچه پوشش داده شده در پلیت‌های ۲۴ چاهکی قرار گرفتند و در زیر نور UV به مدت ۱ ساعت استریل شدند. سپس به همه نمونه‌ها ۳ میلی‌لیتر محیط رشد کامل (DMEM) تلقیح شده با فیروبلاتست‌های پوست ختنه‌گاه انسان (برگرفته از مرکز تحقیقات زیست‌شناسی سلول‌های بنیادی، پژوهشکده علوم تولید مثل یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران) اضافه گردید و پلیت‌ها در انکوباتور CO_2 دار در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ و ۷ روز انکوبه شدند. در پایان این دوره‌ها، رشد و تکثیر سلول‌های فیروبلاتست بر روی نمونه‌های مختلف پارچه پوشش داده شده با استفاده از روش رنگ‌سنجی MTT ارزیابی شد (۲۱).

آنالیز آماری

از برنامه SPSS (نسخه ۱۹) برای تمام آنالیزهای آماری استفاده شد. برای تعیین معناداری از آنالیز واریانس (ANOVA) و معنی‌داری تفاوت بین میانگین‌های آزمون دانکن ($P < 0.05$) استفاده شد.

یافته‌ها

توصیف پارچه‌های پوشش داده شده

پارچه‌های پوشش داده شده با کیتوزان و نایسین (CS/N) از نظر ظاهری و لطافت تفاوت چندانی با نمونه شاهد نداشتند. تجزیه و تحلیل FTIR برای شناسایی حضور نایسین/کیتوزان بر روی پارچه تیمار شده با نایسین/کیتوزان، با یا بدون افزودن کیتوزان و نایسین

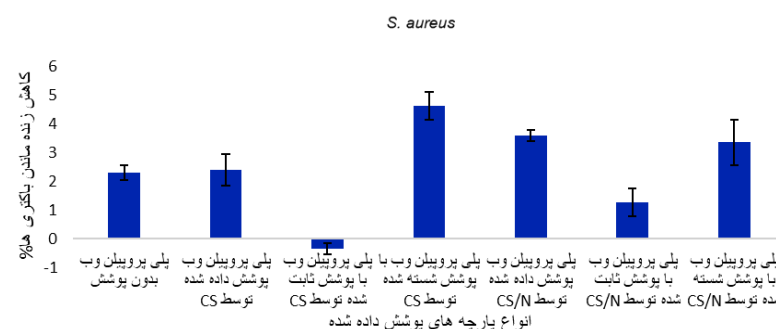
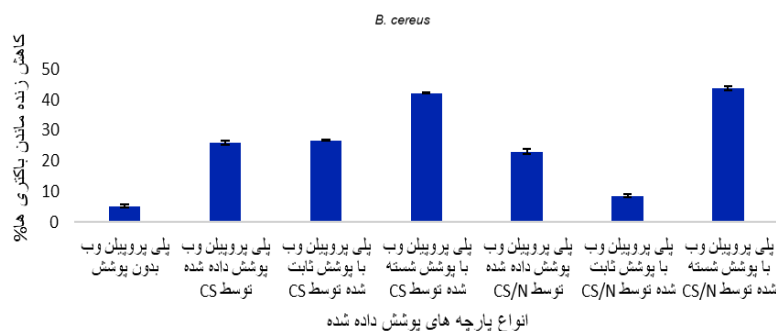
مطالعات ضد باکتریایی

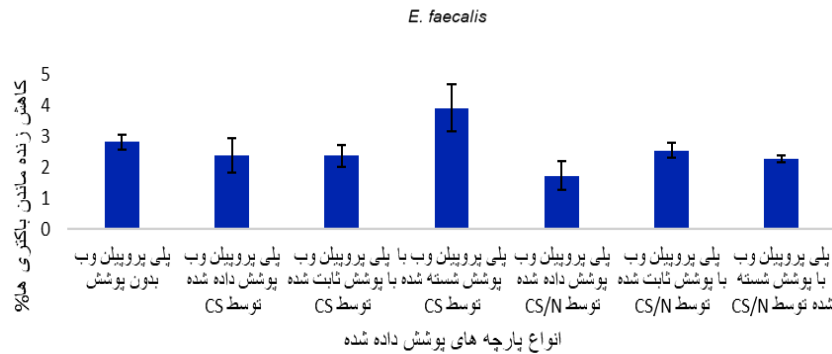
فعالیت ضدباکتریایی پارچه پلی پروپیلن وب پوشش داده شده، پارچه پلی پروپیلن وب با پوشش ثابت شده و پارچه پلی پروپیلن وب با پوشش شسته شده با استفاده از اشیریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسیژنوزا و انتروکوکوس فکالیس در مقایسه با پارچه پلی پروپیلن خالص مورد بررسی قرار گرفت (جدول شماره ۱)، نمودار شماره ۲). نتایج نشان داد که پارچه پلی پروپیلن وب پوشش داده شده، پارچه پلی پروپیلن وب با پوشش

ثابت شده و پارچه پلی پروپیلن وب با پوشش شسته شده دارای ناحیه بازدارندگی در مقابل باکتری های اشیریشیاکلی، لیستریا مونوسیژنوزا و انتروکوکوس فکالیس نیستند ($P \geq 0.05$). علاوه بر این، نتایج نشان داد که پارچه های پلی پروپیلن وب پوشش داده شده، پارچه های پلی پروپیلن وب با پوشش ثابت شده و پارچه های پلی پروپیلن وب با پوشش شسته شده دارای ناحیه بازدارندگی در مقابل باکتری های سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس هستند ($P \leq 0.05$).

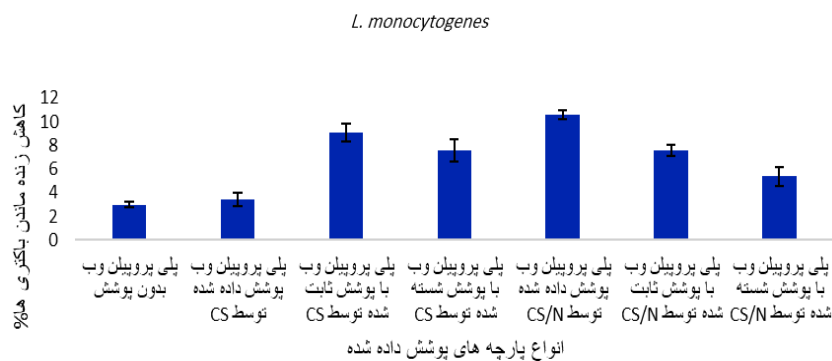
جدول شماره ۱: قطر ناحیه بازدارندگی پارچه پلی پروپیلن وب پوشش داده شده، پارچه پلی پروپیلن وب با پوشش ثابت شده و پارچه پلی پروپیلن وب با پوشش شسته شده (به میلی متر) در حضور اشیریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسیژنوزا و انتروکوکوس فکالیس

نمونه ها	انتروکوکوس فکالیس	لیستریا مونوسیژنوزا	سودوموناس آئروژینوزا	باسیلوس سرئوس	استافیلوکوکوس اورئوس	اشیریشیاکلی
پارچه پلی پروپیلن وب	۰	۰	۰	۰	۰	۰
پارچه پلی پروپیلن وب (لایه گذاری + خشک کردن + پخت)	۰	۰	۰	۰	۰	۰
پارچه پلی پروپیلن وب (لایه گذاری + خشک کردن + پخت + شستشو)	۰	۰	۰	۰	۰	۰
پارچه پلی پروپیلن وب حاوی کیتوسان (لایه گذاری + خشک کردن)	۰	۰	۰	۰	۰	۰
پارچه پلی پروپیلن وب حاوی کیتوسان (لایه گذاری + خشک کردن + پخت)	۰	۰	۰	۰	۰	۰
پارچه پلی پروپیلن وب حاوی کیتوسان (لایه گذاری + خشک کردن + پخت + شستشو)	۰	۰	۰	۰	۰	۰
پارچه پلی پروپیلن وب حاوی کیتوسان + نایسین (لایه گذاری + خشک کردن)	۰	۰	۰/۱۹ ± ۱۵	۰	۰/۵ ± ۱۱	۰
پارچه پلی پروپیلن وب حاوی کیتوسان + نایسین (لایه گذاری + خشک کردن + پخت)	۰	۰	۱۹ ± ۱	۱۷ ± ۲	۰/۵ ± ۱۴/۵	۰
پارچه پلی پروپیلن وب حاوی کیتوسان + نایسین (لایه گذاری + خشک کردن + پخت + شستشو)	۰	۰	۰/۳۳ ± ۱۵	۰/۴۳ ± ۱۳	۰/۴۳ ± ۱۰	۰

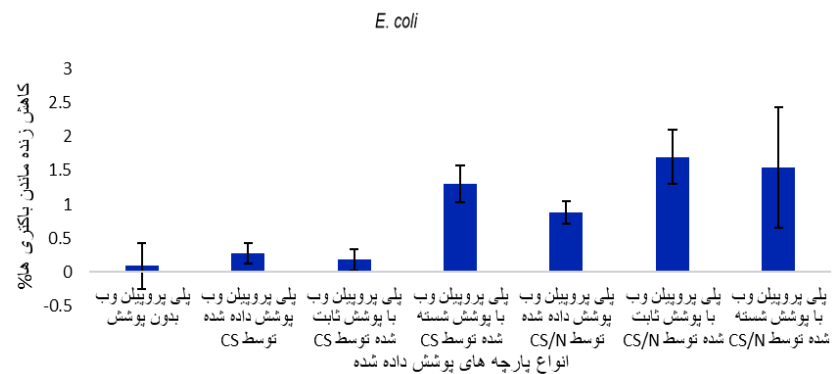




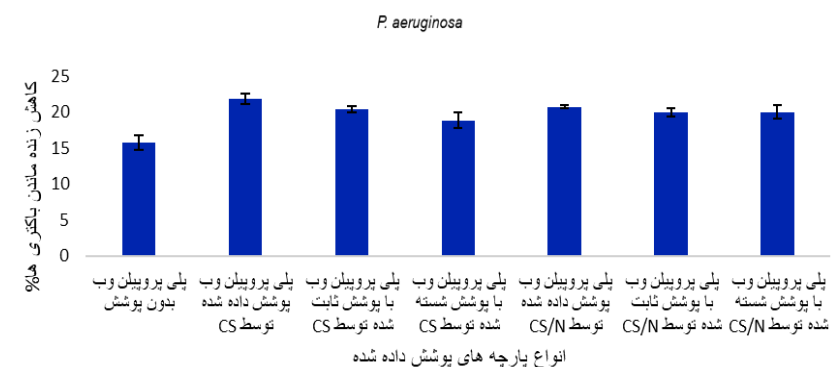
ج



د



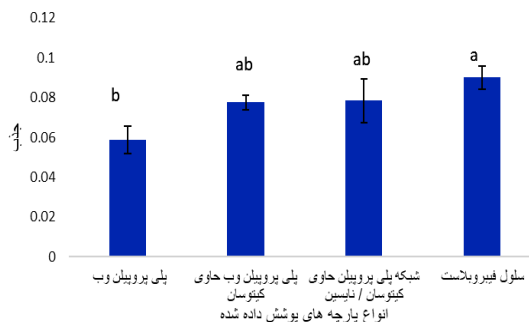
ذ



ر

نمودار شماره ۴: فعالیت ضد باکتریایی پارچه پلی پروپیلن پوشش داده شده، پارچه پلی پروپیلن با پوشش ثابت شده و پارچه پلی پروپیلن با پوشش شسته شده نسبت به الف: باسیلوس سرئوس، ب: استافیلوکوکوس اورئوس، ج: انتروکوکوس فکالیز، د: لیستریا مونوسیتوژنز، ذ: اشریشیا کلی و ر: سودوموناس آئرروژینوزا پس از ۲۴ ساعت تماس

فیبروبلاست به کم‌تر از ۶۵/۲۲ درصد کاهش یافت. طبق مقایسه، پارچه پلی‌پروپیلن وب پوشش داده شده با N/CS سمیت سلولی قابل توجهی را پس از ۷ روز نشان نداد ($P \leq 0.05$).



تصویر شماره ۴: فعالیت سمیت سلولی پارچه پلی‌پروپیلن وب پوشش داده شده، پارچه پلی‌پروپیلن وب با پوشش ثابت و پارچه پلی‌پروپیلن وب با پوشش شسته شده نسبت به سلول فیبروبلاست پس از ۷ روز تماس. حروف متفاوت a و b اختلاف معنی دار بین گروه‌ها را نشان می‌دهد ($P \leq 0.05$).

بحث

نتایج این مطالعه تحقیقاتی بینش‌های ارزشمندی را در مورد توسعه و اثربخشی یک لایه کامپوزیت کیتوسان-نایسین بر روی پارچه پلی‌پروپیلن وب برای کاربردهای ضد میکروبی ارائه می‌دهد. تجزیه و تحلیل FTIR برای شناسایی وجود نایسین / کیتوسان بر روی پارچه پوشش داده شده انجام شد. تغییرات مشاهده شده در طیف FTIR، مانند ظهور پیک‌های جذب جدید و پیک‌های اضافی مرتبط با پیوند پپتیدی، ادغام موفقیت‌آمیز نایسین و کیتوسان را در پارچه تایید می‌کند که این موافق نتایج به‌دست آمده توسط سایر محققین است (۲۵، ۱۶). بررسی خواص ضد میکروبی پارچه پلی‌پروپیلن وب با پوشش کیتوسان و نایسین نشان داد که این پارچه‌ها دارای اثر بازدارندگی در مقابل باکتری‌های باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا هستند. این پارچه‌ها در بین باکتری‌های مورد آزمایش، بیش‌ترین اثر بازدارندگی را در مقابل باکتری باسیلوس سرئوس نشان دادند (تصویر شماره ۳).

در بررسی اثر ضد باکتریایی پارچه‌های پلی‌پروپیلن وب با پوشش هیبریدی N/CS در مقابل شش گونه باکتریایی مهم از نظر پزشکی در محیط مایع، پوشش‌های N/CS به میزان متفاوتی، قابلیت زنده‌مانی / اثربخشی، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسیتوژنز و انتروکوکوس فکالیس را کاهش دادند (تصویر شماره ۱ و نمودار شماره ۲). پوشش N/CS به حداکثر فعالیت خود در برابر باسیلوس سرئوس دست یافت ($P \leq 0.05$).

دوام اثر ضد میکروبی

برای ارزیابی پایداری فعالیت ضد میکروبی پوشش‌ها، پارچه‌های پوشش داده شده در معرض ده چرخه شستشو در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و عملکرد ضد باکتریایی آن‌ها در برابر باکتری‌های آزمایش شده به همان شیوه قبلی بررسی شد. نتایج بر حسب درصد فعالیت ضد میکروبی باقیمانده در مقایسه با پارچه‌های شسته نشده بیان شده است (نمودار شماره ۲). طبق مقایسه، اثربخشی پوشش هیبرید در مورد باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، انتروکوکوس فکالیس، لیستریا مونوسیتوژنز و اثربخشی کلی به ترتیب بیش‌تر حفظ شد.

زنده‌مانی سلولی

سمیت سلولی بالقوه منسوجات پوشش داده شده برای کاربردهای پزشکی در تماس با پوست انسان ارزیابی شد (نمودار شماره ۳). روش MTT برای تعیین سمیت بالقوه‌ای که پوشش‌های CS یا N/CS ممکن است به کشت سلولی فیبروبلاست القا کنند، مورد استفاده قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت، سلول‌های فیبروبلاست کشت شده از نظر بیولوژیکی فعال بودند و هیچ تفاوتی در زنده‌مانی سلول‌ها در بین نمونه‌های پارچه مورد آزمایش مشاهده نشد. پس از ۷ روز تماس سلولی با پارچه پلی‌پروپیلن وب بدون پوشش، زنده‌مانی سلول‌های

ترکیب نایسین و کیتوسان (کامپوزیت) به دلیل ویژگی‌های ضد باکتریایی خود، می‌تواند بر روی باکتری گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* مؤثر باشد. نایسین یک آنتی‌بیوتیک است که به دلیل ویژگی‌های ضد باکتریایی خود، باعث ایجاد تغییرات در ساختار دیواره سلولی باکتری و از بین رفتن آن می‌شود (۲۶، ۱۴). کیتوسان نیز یک پلی‌ساکارید است که به دلیل ویژگی‌های ضد باکتریایی خود، باعث جذب و از بین رفتن باکتری‌ها می‌شود (۲۱). بنابراین، ترکیب این دو ماده می‌تواند به دلیل ویژگی هم افزایی در خاصیت ضد باکتریایی، بر روی باکتری گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* مؤثر باشد (۱۶). احتمالاً علت عدم مشاهده اثر ضد میکروبی این کامپوزیت بر روی *لیستریا منوسیتوژنز*، *اِنتروکوکوس فکالیس* و *اشریشیا کلی* می‌تواند به دلایل مختلفی باشد، از جمله مقاومت این سویه‌های باکتریایی به مواد ضد میکروبی مورد استفاده، ویژگی‌های مختلف فیزیولوژیکی و ساختاری این دو گونه باکتری باشد که باعث می‌شود ترکیب نایسین و کیتوسان بر روی آن‌ها به طرز متفاوتی اثر بگذارد (۲۷). هم‌چنین به علت خاصیت ابگریزی پارچه پروپیلن و وب و منافذ زیاد این پارچه است که مانع اتصال مناسب کامپوزیت کیتوسان و نایسین به آن شده است (۲۸). امروزه برخی از پارچه‌های اصلاح شده با ترکیبات شیمیایی برای افزایش عملکرد فعالیت ضد باکتریایی تولید شده‌اند. در مطالعات اخیر، محققین با استفاده از کمپلکس‌های هیبریدی یون‌های فلزی و کیتوسان پارچه‌های با خاصیت ضد میکروبی مناسب تولید کرده‌اند (۳۰، ۲۹، ۲۱). به علاوه نتایج نشان داده است که فعالیت ضد باکتریایی پارچه‌ها به طور مستقیم با مقدار یون‌های فلزی در این کمپلکس‌ها متناسب بود (۲۱).

بهاری و همکاران (۲۰۱۳) زیست فعالسازی پارچه‌های پلی اتیلن ترفتالات را با استفاده از پلیمر زیستی آلژینات و باکتریوسین نایسین انجام دادند. نتایج آن‌ها نشان داد پارچه تولیدی به وسیله کمپلکس نایسین - آلژینات خاصیت ضد باکتریایی در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* داشتند (۱۵).

در مطالعه Salam و همکاران (۲۰۱۹)، روشی ساده و سریع را براساس شیمی سبز برای پوشش‌دهی پارچه کتان با نانوذرات کیتوسان - نقره با استفاده از مولکول‌های زیستی موجود در عصاره تاج آناناس مانند گلوکز، فروکتوز و ساکارز ارائه گردید. پارچه‌های کتانی تولید شده با استفاده از نانوذرات کیتوسان - نقره دارای قابلیت رنگرزی و فعالیت ضد باکتریایی و به دام انداختن رادیکال‌های آزاد بودند. کیتوسان نه تنها به پوشش و پایدارسازی یون‌های نقره بر روی سطح پارچه کمک می‌کند، بلکه به دلیل هم افزایی با نانوذرات نقره، فعالیت ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی روی سطح پارچه را افزایش می‌دهد (۲۹).

علی‌رغم پیشرفت در تولید پارچه‌های ضد میکروبی، منسوجات بیمارستانی همچنان در حین استفاده آلوده می‌شوند. بنابراین شستشوی مکرر برای جلوگیری از انتقال عوامل بیماری‌زا ضروری است. دوام فعالیت ضد میکروبی با قرار دادن پارچه‌های پوشش داده شده در چرخه‌های شستشو ارزیابی شد. یافته‌ها نشان می‌دهد که پارچه پوشیده شده با نایسین و کیتوسان به طور موثری خواص ضد میکروبی خود را در برابر باکتری‌های *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* حتی پس از ۱۰ دوره شستشو حفظ کرد. این امر استحکام و طول عمر پوشش ضد میکروبی را برجسته می‌کند و آن را برای کاربردهای عملی که نیاز به شستشوی مکرر دارند، مناسب می‌کند. نتایج نشان داد که وجود نایسین پایداری خاصیت ضد میکروبی را در برابر شستشوی پوشش هیبریدی بهبود داده بود.

در مطالعه Gouda و Hebeish (۲۰۱۰) با موفقیت نانو کامپوزیت‌های کیتوسان و اکسید مس را سنتز کردند. سپس این نانو کامپوزیت‌ها بر روی پارچه‌های پنبه‌ای پوشش دادند و پارچه‌های پوشش داده شده با کیتوسان و اکسید مس از نظر فعالیت ضد باکتریایی با پارچه‌های پوشش داده شده با نانوذرات کیتوسان مقایسه شدند. نتایج آن‌ها نشان داد پوشش‌های ضد باکتری روی

پارچه‌ها حتی پس از ۳۰ دوره شستشو عملکرد ثابتی از خود نشان دادند (۳۱).

میرحسینی و همکاران (۲۰۲۳) پارچه پنبه‌ای با خاصیت ضد میکروبی به کمک کامپوزیت کیتوسان و نایسین تولید کردند نتایج آن‌ها نشان داد که این پارچه‌های تولید شده دارای خاصیت ضد میکروبی در مورد همه سوبه‌های باکتریایی لیستریا مونوسیتوژنز، باسیلوس سرئوس، اشریشیا کلی، انتروکوکوس فکالیس، سودوموناس آئروژینوزا بودند و حتی بعد از ۱۰ دور شستشو مقدار زیادی خاصیت ضد میکروبی آن‌ها در مقابل همه سوبه باکتریایی مورد آزمایش باقی مانده بود (۱۸). علت تفاوت در نتایج به علت انسجام بهتر پارچه پنبه‌ای و خاصیت آبدوستی آن نسبت به پارچه پروپیلن وب است که باعث اتصال بهتر کامپوزیت کیتوسان-نایسین به این پارچه شده است (۳۲). استفاده از فیروبلست‌های پوست ختنه‌گاه انسان در بررسی سمیت پارچه پوشش داده شده با کیتوسان و نایسین به دلیل شباهت این سلول‌ها به سلول‌های پوستی انسان بوده است. این سلول‌ها به عنوان یک مدل سلولی مفید در بررسی اثرات سمیت و ایمنی مواد شیمیایی برای انسان مورد استفاده قرار می‌گیرند. این مطالعه نشان داد که پوشش کیتوسان-نایسین باعث سمیت قابل توجهی در سلول‌های فیروبلست نمی‌شود، که نشان‌دهنده ایمنی بالقوه آن برای استفاده در لباس و سایر محصولات مبتنی بر پارچه است. کیتوسان به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی از تولید رادیکال‌های آزاد بالاتر از آستانه استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌کند (۲۱). باتوجه به این که شرایط آزمایشی این پژوهش محدود به شرایط خاصی است، تعداد و نوع نمونه‌های استفاده

شده در این پژوهش محدود است و شرایط آزمایشی با شرایط واقعی کاربرد محصول متفاوت است. این موضوع‌ها ممکن است باعث تفاوت در عملکرد محصول در شرایط واقعی شود. این محدودیت‌ها نشان‌دهنده ضرورت انجام تحقیقات بیش‌تر و گسترده‌تر در زمینه مورد بررسی است تا نتایج بهتر و قابل اعتمادتری به دست آید.

یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که ترکیب نایسین و کیتوسان در پارچه می‌تواند خواص ضد باکتریایی آن را بدون آسیب رساندن به سلول‌های انسانی افزایش دهد. این پیامدهای بالقوه‌ای برای توسعه منسوجات ضد میکروبی برای کاربردهای مختلف، از جمله لباس‌های پزشکی و محافظ دارد. تحقیقات و توسعه بیش‌تر در این زمینه می‌تواند منجر به تولید پارچه‌هایی با خواص ضد میکروبی بهبود یافته، کمک به پیشگیری از عفونت‌های باکتریایی و ارتقای سلامت عمومی شود.

سپاسگزاری

این پروژه توسط دانشگاه پیام نور حمایت شده است. این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی با عنوان تحلیل ضد باکتریایی پارچه اصلاح شده با کیتوسان-نایسین می‌باشد. نویسندگان از همکاری محترمانه مؤسسه پوشش‌های نانو ساختار دانشگاه پیام نور یزد، کد پستی ۷۴۵۵۹-۸۹۴۳۱، یزد، ایران تشکر می‌کنند. هم‌چنین نویسندگان از همکاری مرکز تحقیقات بیولوژی سلول‌های بنیادی (SCBRC)، پژوهشگاه علوم تولید مثل یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ایران به ویژه دکتر حبیب نیکوکار و دکتر بهروز افلاطونیان کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Gavin Gaynor J, Szlek DB, Kwon S, Tiller PS, Byington MS, Argyropoulos DS. Lignin Use in Nonwovens: A Review. *BioResources* 2022; 17(2): 3445-3488.
2. Kellie G. In: Developments in the use of nonwovens in packaging. Kellie G, editors. *Advances in Technical Nonwovens*: Woodhead Publishing; 2016: 423-442.

3. Uzun M. In: Developments in nonwovens for wound dressings. Kellie G. Advances in Technical Nonwovens: Woodhead Publishing; 2016: 443-472.
4. Gogoi N, Bhuyan S. Medical textiles: it, s present and prospects. Pharma Innovation J. 2020; 9(9): 160-163.
5. Sadeghi MR, Hosseini Varkiyani SM, Asgharian Jeddi AA. Machine learning in optimization of nonwoven fabric bending rigidity in spunlace production line. Scientific Reports 2023; 13(1): 17702.
6. Gharaei R, Russell SJ. In: Chapter 2- Overview of nonwoven product applications. Russell SJ, editor. 2thed. Handbook of Nonwovens: Woodhead Publishing; 2022. p. 13-47.
7. Wilson A. In: Chapter 1-Development of the nonwovens industry. Russell SJ, editor. 2th ed. Handbook of Nonwovens: Woodhead Publishing; 2022. p. 1-11
8. Rajendran S, Anand SC, Rigby AJ. In: 5- Textiles for healthcare and medical applications. Horrocks AR, Anand SC, editors. 2th ed. Handbook of Technical Textiles: Woodhead Publishing; 2016. p. 135-68.
9. Ajmeri JR, Ajmeri CJ. Nonwoven personal hygiene materials and products. In: Chapman RA, editor. Applications of Nonwovens in Technical Textiles: Woodhead Publishing; 2010: 85-102.
10. Baysal G, Olcay HS, Keresteci B, Özpınar H. The antioxidant and antibacterial properties of chitosan encapsulated with the bee pollen and the apple cider vinegar. J Biomater Sci Polym Ed 2022; 33(8): 995-1011.
11. Mirhosseini M, Afzali M, Ghasemabadi Ghotbuddini S. Characterization and Antibacterial Activity of Nanochitosan-Nisin Biocomposite Film Prepared from Shrimp Shells. Journal of Agricultural Science and Technology 2023; 25(2): 341-354.
12. Pirsā S, Mohammadi B. Conducting/ biodegradable chitosan-polyaniline film; Antioxidant, color, solubility and water vapor permeability properties. Main Group Chemistry 2021; 20(2): 133-147.
13. Erdogan S. Textile finishing with chitosan and silver nanoparticles against Escherichia coli ATCC 8739. Trakya Univ J Nat Sci 2020; 21(1): 21-32.
14. Małaczewska J, Kaczorek-Lukowska E. Nisin—A lantibiotic with immunomodulatory properties: A review. Peptides 2021; 137: 170479.
15. Behary N, Kerkeni A, Perwuelz A, Chihib N-E, Dhulster P. Bioactivation of PET woven fabrics using alginate biopolymer and the bacteriocin nisin. Textile Research Journal 2013; 83(11): 1120-1129.
16. Cé N, Noreña CPZ, Brandelli A. Antimicrobial activity of chitosan films containing nisin, peptide P34, and natamycin. CyTA-Journal of Food 2012; 10(1): 21-26.
17. Mirhosseini M, Afzali M. Investigation into the antibacterial behavior of suspensions of magnesium oxide nanoparticles in combination with nisin and heat against Escherichia coli and Staphylococcus aureus in milk. Food Control 2016; 68: 208-215.
18. Mirhosseini M, Afzali M, Molla Hoseini H, Khaleghizadeh S. Evaluation of Antimicrobial Effects of Nisin/Chitosan Composite on Cotton Fabric Textile. Avicenna J Clin Microbiol Infect 2023; 10(2): 58-64.
19. Montaser AS, Mahmoud FA. Preparation of chitosan-grafted-polyvinyl acetate metal nanocomposite for producing multifunctional textile cotton fabrics. International journal of biological macromolecules 2019; 124: 659-666.

20. Soykan Ş, Seventekin N, Özdoğan E, Kocatürk Z. Production of multifunctional woven cotton fabrics by a single step finishing process. *Textile and Apparel* 2017; 27(3): 266-274.
21. Petkova P, Francesko A, Fernandes MM, Mendoza E, Perelshtein I, Gedanken A, et al. Sonochemical Coating of Textiles with Hybrid ZnO/Chitosan Antimicrobial Nanoparticles. *ACS Applied Materials & Interfaces* 2014; 6(2): 1164-1172.
22. Benltoufa S, Miled W, Trad M, Slama RB, Fayala F. Chitosan hydrogel-coated cellulosic fabric for medical end-use: Antibacterial properties, basic mechanical and comfort properties. *Carbohydrate polymers* 2020; 227: 115352.
23. Mirhosseini M, Barzegari Firouzabadi F. Preparation of ZnO-Polystyrene composite films and investigation of antibacterial properties of ZnO-Polystyrene composite films. *Iranian journal of pathology* 2014; 9(2): 99-106.
24. Thomas V, Bajpai M, Bajpai S. In situ formation of silver nanoparticles within chitosan-attached cotton fabric for antibacterial property. *Journal of Industrial Textiles* 2011; 40(3): 229-245.
25. Qi X, Poernomo G, Wang K, Chen Y, Chan-Park MB, Xu R, et al. Covalent immobilization of nisin on multi-walled carbon nanotubes: superior antimicrobial and anti-biofilm properties. *Nanoscale* 2011; 3(4): 1874-1880.
26. Chi H, Holo H. Synergistic Antimicrobial Activity Between the Broad Spectrum Bacteriocin Garvicin KS and Nisin ,Farnesol and Polymyxin B Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Curr Microbiol* 2018; 75(3): 272-277.
27. Al-Kobaisi MF. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology 24th Edition. Sultan Qaboos University Medical Journal 2007; 7(3): 273-275.
28. Petrulyte S, Petrulis D. Modern textiles and biomaterials for healthcare. 2011: 1-35.
29. Salam S, Butola B, Verma D. Facile synthesis of chitosan-silver nanoparticles onto linen for antibacterial activity and free-radical scavenging textiles. *International journal of biological macromolecules* 2019; 133(6): 1134-1141.
30. Rilda Y, Safitri R, Agustien A, Nazir N, Syafiuddin A, Nur H. Enhancement of antibacterial capability of cotton textiles coated with TiO₂-SiO₂/chitosan using hydrophobization. *Journal of the Chinese Chemical Society* 2017; 64(11): 1347-1353.
31. Gouda M, Hebeish A. Preparation and evaluation of CuO/chitosan nanocomposite for antibacterial finishing cotton fabric. *Journal of Industrial Textiles* 2010; 39(3): 203-214.
32. Guo Y, Li C, Li X, Xu H, Chen W, Fang K, et al. Fabrication of superhydrophobic cotton fabric with multiple durability and wearing comfort via an environmentally friendly spraying method. *Industrial Crops and Products* 2023; 194: 116359.