

تحقیقی

اثر مهارکنندگی نانو ذرات نقره به همراه عصاره اتانولی اکالیپتوس بر رشد باکتری *E.coli*

دکتر نوشین نقش^{۱*}، صفورا سلیمانی^۲، سمیرا ترکان^۳

۱- دکتری فیزیولوژی جانوری، استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان. ۲- کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان. ۳- کارشناس بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان.

چکیده

زمینه و هدف: یکی از زمینه‌های کاربردی نانوبیوتکنولوژی استفاده از نانو ذرات نقره (Nanosilver particles) به منظور راهکاری نوین در درمان عفونت‌های میکروبی است. در گذشته گیاهان دارویی با خواص شناخته شده مانند اکالیپتوس به میزان زیادی مورد توجه بوده‌اند. این مطالعه به منظور تعیین اثر نانو ذرات نقره توأم با عصاره اتانولی اکالیپتوس بر مهار رشد باکتری *E.coli* انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه آزمایشگاهی برای کشت باکتری *E.coli* از محیط کشت Nutrient Agar استفاده شد. ابتدا به هر پلیت ۵۰ میکرولیتر از باکتری تلقیح شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوگرام آغشته به غلظت‌های ۳/۱، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ ppm نانوذرات نقره با قطر متوسط ۴/۵ نانومتر به همراه عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس در پلیت قرار داده شدند. قطر هاله عدم رشد ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و در ادامه در روز ششم و هشتم اندازه‌گیری و با پلیت کنترل مقایسه گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-15 و آزمون‌های آماری One-way ANOVA و Tukey تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: قطر هاله عدم رشد باکتری *E.coli* در روز ششم در گروه کنترل ۰/۵ میلی‌متر و در گروه‌های تجربی با غلظت‌های ۳/۱، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ ppm نانوذرات نقره توأم با عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس به ترتیب ۰/۵۵، ۰/۵۸، ۰/۸۲، ۰/۸۳ و ۱/۰۲ میلی‌متر تعیین شد و این تفاوت در گروه‌های ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ ppm نانوذرات نقره نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که مناسب‌ترین زمان اثر مهارکنندگی رشد باکتری *E.coli* شش روز بعد از تیمار با ترکیب توأم نانوذرات نقره در غلظت ۵۰ ppm با عصاره گیاه اکالیپتوس است.

کلید واژه‌ها: نانو ذرات نقره، عصاره اتانولی اکالیپتوس، اثرات مهارتی، اشرشیا کلی

* نویسنده مسؤول: دکتر نوشین نقش، پست الکترونیکی naghsh@iaufala.ac.ir و n_naghsh@yahoo.com

نشانی: فلاورجان، بلوار بسیج، بلوار دانشگاه، صندوق پستی ۸۴۵۱۵/۱۵۵، تلفن ۵-۳۱۲۰۱۳۴-۳۱۲۰۳۱۲، نمابر ۳۱۳۲۶۰۱
وصول مقاله: ۹۰/۹/۲۰، اصلاح نهایی: ۹۲/۲/۲۱، پذیرش مقاله: ۹۲/۳/۱۲

مقدمه

مصرف مدام و بی‌رویه ترکیبات دارویی شیمیایی باعث ایجاد پدیده مهم مقاومت نسبت به میکروارگانیسم‌ها شده است. با ایجاد این پدیده اثر داروها ضعیف و یا خنثی شده و در نهایت باعث افزایش مقدار مصرف دارو و تمایل به استفاده از ترکیبات با فرمولاسیون جدیدتر و قوی‌تر می‌شود. عیب دیگر استفاده از این داروها افزایش اثرات جانبی آنها بوده که منجر به ایجاد بیماری‌هایی می‌شود که از بیماری اولیه خطرناک‌تر است (۱).

باکتری اشرشیا کلی (*E.coli*) جزو باکتری‌های گرم منفی است و دارای دیواره سلولی به ضخامت ۷-۸ نانومتر بوده که از یک لایه لیپولی ساکاریدی فاقد استحکام پوشیده شده است. این باکتری در بروز نوعی اسهال و اختلال در سیستم گوارشی و دستگاه تناسلی

دخالته دارد (۲).

با توجه به استفاده از روش‌های نوین درمان ترکیبی و همچنین کاربردهای شناخته شده گیاهان دارویی مانند اکالیپتوس در درمان عفونت‌های میکروبی، کاربرد این ترکیبات با روش‌های نوین درمانی مانند نانوتکنولوژی ضروری به نظر می‌رسد. در حال حاضر با توجه به از بین رفتن مرزهای موجود بین علوم مختلف، کاربردهای نانوتکنولوژی در علوم پزشکی غیر قابل انکار است. نانوتکنولوژی به عنوان یکی از نمونه‌های پیشرفت در علم و تکنولوژی به حوزه سلامت انسان راه یافته است. از فلزات در ابعاد نانو به منظور مصارف ضد میکروبی در تکنولوژی جدید نانو به میزان زیادی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳ و ۴). از جمله پرکاربردترین نانوذرات پس از نانولوله‌های کربنی، نانوذرات نقره

نانوذرات نقره با قطر متوسط ۴/۵ نانومتر، از شرکت نانو نصب پارس تهران خریداری شدند. اندازه قطر نانو ذرات با توجه به اطلاعات مربوطه از جمله TEM و اندازه گیری اندازه نانو ذرات با دستگاه Nanoparticle Size Analyzer تعیین شد.

با توجه به نتایج حاصله از مطالعه قبلی (۱۲)، غلظت های ۳/۱، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ ppm از مخلوط نانو ذرات نقره و عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس تهیه شد.

در شرایط استریل دیسک های Blank آنتی بیوگرام با غلظت های مختلف مخلوط نانو ذرات نقره و عصاره اتانولی اکالیپتوس آغشته گردید. در این مطالعه پنج گروه آزمایش و یک گروه کنترل تعریف شدند. دیسک Blank حاوی آب مقطر برای ایجاد گروه کنترل در نظر گرفته شد. در گروه اول عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس به همراه نانو ذرات نقره با غلظت ۳/۱ ppm، گروه دوم عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس به همراه نانو ذرات نقره با غلظت ۶/۲۵ ppm، گروه سوم عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس به همراه نانو ذرات نقره با غلظت ۱۲/۵ ppm، گروه چهارم عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس به همراه نانو ذرات نقره با غلظت ۲۵ ppm و گروه پنجم عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس به همراه نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰ ppm تلقیح شد. به هر دیسک ۵۰ میکرو لیتر از هر غلظت نانو ذرات و عصاره اتانولی اکالیپتوس به صورت ترکیبی و همزمان تلقیح شد. دیسک های آنتی بیوگرام در فور به مدت یک ساعت با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند.

سپس از باکتری کشت شده ۲۴ ساعته معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند که حاوی تعداد مشخصی باکتری است؛ تهیه شد. برای افزایش دقت عمل، میزان جذب نوری ۰/۵ مک فارلند توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. سپس به هر پلیت حاوی محیط کشت، ۵۰ میکرو لیتر از باکتری (معادل ۰/۵ مک فارلند) تلقیح گردید. پس از اتمام پوشش دادن محیط با باکتری با استفاده از کشت چمنی، دیسک های خشک شده حاوی غلظت مورد نظر روی محیط کشت در فواصل مناسب قرار داده شدند. سپس قطر هاله عدم رشد در پلیت های آزمایش ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد و در ادامه در روز ششم و هشتم اندازه گیری و با پلیت کنترل مقایسه گردید.

طرح استفاده شده در این مطالعه کاملاً تصادفی بود. در هر گروه ۴ پلیت در ۱۶ تکرار مستقل بررسی شدند. تعداد تکرار کلی نمونه های باکتری *E. coli* به صورت تصادفی در تمام گروه های مورد مطالعه ۱۶ تکرار بود.

داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-15 و آزمون های آماری One-way ANOVA و Tukey تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

(Nanosilver particles) بوده که دارای مصارف متعددی در عرصه پزشکی است (۵).

مطالعات متعددی برای شناخت اثرات ضد میکروبی نانو ذرات نقره انجام شده است (۶-۸ و ۹). در فناوری نانو نقره (Nanosilver technology) موادی متشکل از یون های نقره به صورت کلونیدی در محلولی به شکل سوسپانسیون قرار دارند.

نانوذرات نقره دارای خواص فیزیکی و شیمیایی ویژه ای بوده که به افزایش خاصیت ضد میکروبی آن کمک می نماید. با ظهور باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک به نانو ذرات نقره در مصارف ضد میکروبی توجه خاصی شده است (۹ و ۱۰). مهم ترین مکانیسم نانو ذرات نقره حمله به زنجیره تنفسی میکروارگانیسم و تحت تاثیر قرار دادن سایر فرآیندهای سلولی بوده و در نهایت منجر به مرگ سلولی می شود (۱۱).

اثرات ضد باکتریایی نانو ذرات نقره و گیاه اکالیپتوس به تنهایی مورد بررسی قرار گرفته اند. تاثیر نانو ذرات نقره بر روی باکتری *E. coli* در مطالعه دیگری توسط نویسندگان در غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ ppm انجام شده است (۱۲). مطالعات دیگری نیز در مورد اثر گیاه اکالیپتوس بر روی باکتری *E. coli* انجام شده است (۱۳ و ۱۴)؛ اما گزارش دقیقی در مورد اثر گذاری توأم این دو بر مهار رشد میکروارگانیسم ها به ویژه باکتری *E. coli* یافت نشد. لذا این مطالعه به منظور تعیین اثر نانو ذرات نقره توأم با عصاره اتانولی اکالیپتوس بر مهار رشد باکتری *E. coli* انجام شد.

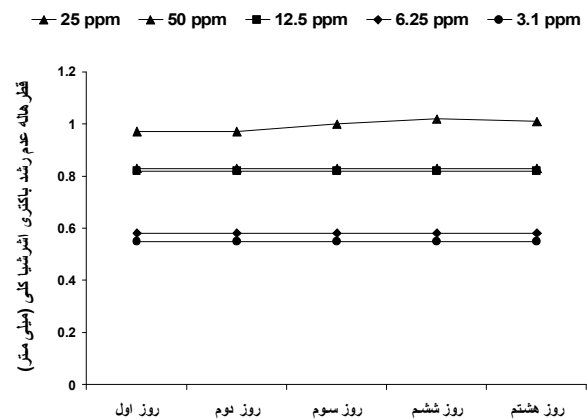
روش بررسی

این مطالعه آزمایشگاهی در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان طی سال های ۸۹-۱۳۸۸ انجام شد. نمونه اصلی باکتری *E. coli* با مشخصات ۱۲۷۰ PTCC از انستیتو پاستور تهران خریداری شد. برای کشت باکتری *E. coli* از محیط کشت Nutrient Agar استفاده شد.

برگ های گیاه اکالیپتوس به صورت خشک شده از آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان تهیه شد. برگ ها تمیز و سپس با آسیاب برقی پودر شدند. از دستگاه سوکسیله در تهیه عصاره اتانولی این گیاه استفاده شد. بدین صورت که به میزان ۴۰ گرم از پودر ساییده شده این گیاه در کاغذ صافی استوانه ای شکل قرار داده شد و ۲۰۰ سی سی اتانول خالص به بالن ژوژه دستگاه افزوده گشت. محتویات فوق به مدت ۴۸ ساعت در درجه حرارت ۵۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد. الکل اتانول مورد استفاده با استفاده از روتاری و قرار گرفتن در معرض هوا از عصاره حاصله حذف گردید و پودر عصاره در آب مقطر استریل در حجم ۱۰۰ میلی لیتر حل شد.

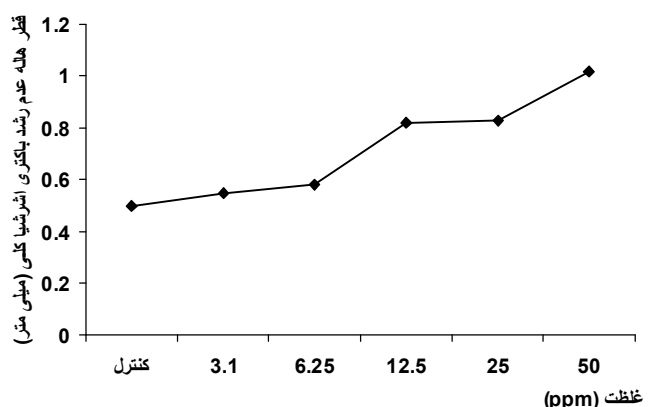
یافته‌ها

قطر هاله عدم رشد باکتری *E.coli* در ترکیب توأم نانوذرات نقره در غلظت ۲۵ ppm و عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس در مقایسه با کنترل تفاوت آماری معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). قطر هاله عدم رشد در غلظت توأم برابر با 0.83 ± 0.07 mm بود و در روزهای مختلف پس از تیمار که قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد؛ تغییری مشاهده نگردید (نمودار یک).



نمودار ۱: اثرات مهارتی نانو ذرات نقره در غلظت‌های ۳/۱، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ ppm و عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس بر میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری *E.coli* ۱، ۲، ۳، ۶ و ۸ روز بعد از تیمار

در گروه ترکیب توأم نانوذرات نقره در غلظت ۵۰ ppm و عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس قطر هاله عدم رشد باکتری *E.coli* ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت پس از تیمار 0.97 ± 0.07 mm بود و در روزهای سوم، ششم و هشتم پس از تیمار به 1 ± 0.07 mm تغییر کرد (نمودار یک).



نمودار ۲: اثرات غلظت‌های مختلف ترکیب نانوذرات نقره و عصاره اتانولی اکالیپتوس بر قطر هاله عدم رشد باکتری *E.coli* در روز ششم

قطر هاله عدم رشد باکتری *E.coli* در روز ششم در گروه کنترل ۰/۵ میلی‌متر و در گروه‌های تجربی با غلظت‌های ۳/۱، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ ppm نانوذرات نقره توأم با عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی اکالیپتوس به ترتیب ۰/۵۵، ۰/۵۸، ۰/۸۲، ۰/۸۳ و ۱/۰۲ میلی‌متر تعیین شد (نمودار ۲). این تفاوت در گروه‌های ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ ppm نانوذرات نقره نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

بحث

در این مطالعه مناسب‌ترین زمان اثر مهارکنندگی باکتری *E.coli* شش روز بعد از تیمار در غلظت ۲۵ ppm از نانوذرات نقره توأم با عصاره اتانولی اکالیپتوس بود. این در حالی است که در بخشی از مطالعه انجام شده قبلی (۱۲) میزان قطر هاله عدم رشد در حالت ترکیبی در مقایسه با حالت منفرد نانوذره نقره و عصاره اتانولی اکالیپتوس و همچنین در مقایسه با کنترل در این غلظت افزایش نشان داده است. پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و نیز در روزهای ششم و هشتم پس از تیمار، تغییری در میزان قطر هاله عدم رشد ایجاد نشد که نشان داد زمان اثر چندانی بر تغییر قطر هاله عدم رشد در این غلظت نداشته است؛ اما در مورد غلظت ۵۰ ppm این نتیجه به میزان بسیار کمی با سایر حالات در خصوص تغییر قطر هاله عدم رشد با گذشت زمان متفاوت بود. در مورد اثر متغیر غلظت‌های مختلف نتایج حاصله حاکی از آن است که در غلظت ۲۵ ppm ترکیبی نانو ذرات و عصاره اتانولی اکالیپتوس، میزان قطر هاله عدم رشد نسبت به حالت منفرد (0.83 mm) ثبت شد.

مکانیسم‌های ضد میکروبی گیاهان دارویی و از جمله اکالیپتوس در موارد متعددی مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۸-۱۵). در مطالعه Sriram و همکاران نانو ذرات نقره، آنزیم‌های کاسپازی به خصوص Caspase3 را در سلول‌های لنفوما فعال نمود و سبب مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌ها گردید (۱۹). با توجه به اثبات اثرات نقره بر مرگ سلول‌های لنفاوی سرطانی توسط Sriram و همکاران (۱۹)، احتمالاً در مطالعه حاضر نیز این نانوذرات با مکانیسم مشابهی با آزادسازی رادیکال‌های آزاد ناشی از نانو ذرات نقره به سلول‌های میکروارگانیسم‌های مورد بررسی حمله نموده و باعث دگرگون سازی آنها به وسیله تبدیل پیوندهای SH به S-Ag شده است. در این مکانیسم ذرات نانو نقره فلزی به مرور زمان یون‌های نقره از خود ساطع می‌کنند. این یون‌ها طی واکنش جانشینی، باندهای SH را در جداره میکروارگانیسم به باندهای S-Ag تبدیل می‌کنند که نتیجه واکنش از بین رفتن میکروارگانیسم است (۲۰).

پیشنهاد می‌شود از ترکیب توأم نانوذرات نقره در غلظت ۲۵ ppm به همراه عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی گیاه اکالیپتوس در شرایط in vitro برای درمان بیماری‌های باکتریایی منتقل شده توسط

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب (شماره ۲۸۶۸-۳۰۱) دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان بود و با حمایت مالی معاونت پژوهشی آن دانشگاه انجام شد. بدین وسیله از همه کارکنان آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان و معاون محترم پژوهشی خانم دکتر منجمی سپاسگزاری می‌نمایم.

References

1. Pinto RJ, Marques PA, Neto CP, Trindade T, Daina S, Sadocco P. Antibacterial activity of nanocomposites of silver and bacterial or vegetable cellulosic fibers. *Acta Biomater.* 2009 Jul;5(6): 2279-89.
2. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci.* 2004 Jul;275(1):177-82.
3. Singh N, Manshian B, Jenkins GJ, Griffiths SM, Williams PM, Maffei TG, et al. NanoGenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials.* 2009 Aug; 30(23-24):3891-914.
4. Jeng HA, Swanson J. Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2006;41(12):2699-711.
5. Takenaka S, Karg E, Roth C, Schulz H, Ziesenis A, Heinzmann U, et al. Pulmonary and systemic distribution of inhaled ultrafine silver particles in rats. *Environ Health Perspect.* 2001 Aug; 109(4):547-51.
6. Sarkar S, Jana AD, Samanta SK, Mostafa G. Facile synthesis of silver nano particles with highly efficient anti-microbial property. *Polyhedron.* 2007; 26: 4419-26.
7. Hussain SM, Javorina AK, Schrand AM, Duhart HM, Ali SF, Schlager JJ. The interaction of manganese nanoparticles with PC-12 cells induces dopamine depletion. *Toxicol Sci.* 2006 Aug; 92(2):456-63.
8. Freunsh P, Van Duyne RP, Schneider S. Surface-enhanced Raman spectroscopy of trans-stilbene adsorbed on platinum- or self-assembled monolayer-modified silver film over nanosphere surfaces. *Chemical Physics Letters.* 1997; 281(4): 372-8.
9. Lagarón JM, Cabedo L, Cava D, Feijoo JL, Gavara R, Gimenez E. Improving packaged food quality and safety. Part 2: nanocomposites. *Food Addit Contam.* 2005 Oct;22(10):994-8.
10. Geho DH, Jones CD, Petricoin EF, Liotta LA. Nanoparticles: potential biomarker harvesters. *Curr Opin Chem Biol.* 2006 Feb;

باکتری *E. coli* در حیوانات و سپس در انسان استفاده گردد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که مناسب ترین زمان اثر مهارکنندگی رشد باکتری *E. coli* شش روز بعد از تیمار با ترکیب توأم نانوذرات نقره در غلظت ۲۵ ppm با عصاره ۱۰۰ درصد اتانولی گیاه اکالیپتوس است.

10(1):56-61.

11. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv.* 2009 Jan-Feb; 27(1):76-83.
12. Naghsh N, Safari M, Hajmehrabi P. [Investigating the Effect of Silver Nanoparticles on *E. coli* Growth]. *Qom Univ Med Sci J.* 2012; 6(2): 65-8. [Article in Persian]
13. Tyagi AK, Malik A. Antimicrobial potential and chemical composition of Eucalyptus globulus oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. *Food Chemistry.* 2011; 126(1): 228-35.
14. Prabuseenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complement Altern Med.* 2006 Nov 30;6:39.
15. Sadlon AE, Lamson DW. Immune-modifying and antimicrobial effects of Eucalyptus oil and simple inhalation devices. *Altern Med Rev.* 2010 Apr;15(1):33-47.
16. Sikkema J, de Bont JA, Poolman B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J Biol Chem.* 1994 Mar; 269(11):8022-8.
17. Hsu YL, Hou MF, Tsai Em, Kuo PI. Tricetin, a Dietary Flavonoid, Induces Apoptosis through the Reactive Oxygen Species/c-Jun NH2-Terminal Kinase Pathway in Human Liver Cancer Cells. *J Agric Food Chem.* 2010;58(23):12547-56.
18. Paux E, Carocha V, Marques C, Mendes de Sousa A, Borralho N, et al. Transcript profiling of Eucalyptus xylem genes during tension wood formation. *New Phytol.* 2005 Jul;167(1):89-100.
19. Sriram MI, Mani Kanth SB, Kalishwaralal K, Gurunathan S. Antitumor activity of silver nanoparticles in Dalton's lymphoma ascites tumor model. *Int J Nanomedicine.* 2010; 5:753-62.
20. Sriram MI, Barath S, Kanth M, Kalishwaralal K, Gurunathan S. Antitumor activity of silver nanoparticles in Dalton's lymphoma ascites tumor model. *Int J Nanomedicine.* 2010; 5:753-62.

Original Paper

Inhibitory effect of alcoholic eucalyptus extract with nanosilver particles on *E.coli* growth

Naghsh N (PhD)*¹, Soleymani S (MSc)², Torkan S (BA)³

¹Assistant Professor, PhD in Physiology, Department of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran. ²MSc in Biochemistry, Department of Chemistry, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran.

³Department of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Nanosilver particles are one of the functional nanotechnology filed. These nanoparticles have antibacterial characteristics. Combination therapy is one of new and specific therapeutic regiment in medicine. Eucalyptus plant is useful in growth inhibition of bacteria. This study was done to evaluate the inhibitory effect of alcoholic eucalyptus extract with nanosilver on *E.coli* growth.

Materials and Methods: In this laboratory study, *E.coli* was cultured in nutrient agar medium. Primarily 50 µl of bacteria was inoculated in each plate, antibiograms disc contaminated with 3.1, 6.25, 12.5, 25 and 50 ppm concentration of nanosilver accompanied with 100% of etanolic extract of eucalyptus were placed in each plate subsequently. Diameter of inhibitory zone were evaluated following 24, 48, 72 hrs in 6th and 8th days. Data were analyzed using SPSS-15, ANOVA and Tukey tests.

Results: After six days, inhibitory growth zone diameter of *E.coli* was 0.5 mm. This diameter in experimental group with 3.1, 6.25, 12.5, 25 and 50 ppm of nanosilver in combination with etanolic extract of eucalyptus were 0.55, 0.58, 0.82, 0.83 and 1.02 mm. Inhibitory growth zone in group of 12.5, 25 and 50 ppm of nanosilver was significant in compared to the control (P<0.05).

Conclusion: The most proper time of inhibitory effect on *E.coli* growth is six day after treatment in combination of 50 ppm nanosilver particles with extract of eucalyptus.

Keywords: Nanosilver, Alcoholic eucalyptus extraction, Inhibition effect, *E.coli*

* Corresponding Author: Naghsh N (PhD), E-mail: naghsh@iaufala.ac.ir & n_naghsh@yahoo.com

Received 11 December 2011

Revised 11 May 2013

Accepted 2 June 2013