

## کاربردهای پزشکی و بهداشتی نانوسلولز باکتریایی

الهام پیری<sup>۱</sup>، محمد هادی آریائی منفرد<sup>۲\*</sup>

۱ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده مهندسی چوب و کاغذ، گروه علوم و مهندسی کاغذ، دانشجوی کارشناس ارشد،  
۲ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده مهندسی چوب و کاغذ، گروه علوم و مهندسی کاغذ، استادیار،

### چکیده ...

سلولز، فراوانترین پلیمر زیستی، حاصل سنتز زیستی گیاهان، حیوانات و باکتری‌ها است. نانو سلولز ماده‌ای طبیعی و زیست تخریب پذیر است که از سلولز خام به دست می‌آید و به دلیل ویژگی‌های مطلوب مورد توجه قرار گرفته است. نانو سلولز انواع مختلفی مانند: نانو بلورسلولز، نانوالیاف سلولز، سلولز باکتریایی دارد. نانوسلولز باکتریایی ((Bacterial Nano Cellulose (BNC)) یا سلولز میکروبی، پلیمری زیستی است که توسط باکتری‌های متعلق به جنس‌های استوباکتر، گلوکوناستوباکتر، ریزوبیوم و سرسینا سنتز شده است. ((Bacterial Cellulose (BC)) دارای خلوص بسیار بالا است و هیچ ماده دیگری از جمله لیگنین، پکتین و همی سلولز موجود در سلولز گیاهی را ندارد. سلولز باکتریایی (BC) به دلیل زیست سازگاری، ساختار شبکه سه بعدی الیاف، خواص مکانیکی و نوری خوب، سطح ویژه بالا و ظرفیت جذب آب و همچنین درجه بلورینگی بالا و غیرسمی بودن به عنوان ماده زیستی مطلوب در کاربردهای پزشکی، مانند پوست مصنوعی، رگ‌های خونی مصنوعی و ریز جانداران، پانسمان زخم و ... استفاده می‌شود. علاوه بر این BC می‌تواند به آسانی اصلاح شود تا ویژگی‌های آن بهبود یابد و در نتیجه چندین نانوکامپوزیت بر پایه BC ایجاد شود.

### واژه‌های کلیدی:

نانوسلولز  
نانوسلولز باکتریایی  
زیست پزشکی  
زیست پلیمر  
زیست سازگاری

\*پست الکترونیکی مسئول مکاتبات:

hadiaryaie@gmail.com

## ۱ مقدمه

سلولز فراوان‌ترین ماده روی زمین است، وکل منابع سلولز در طبیعت به یک تریلیون تن می‌رسد. نانوسلولز را می‌توان با استفاده از روش‌های مکانیکی، شیمیایی یا آنزیمی از منابع مختلف گیاه لیگنوسلولزی استخراج کرد. زیست توده لیگنوسلولزی مواد زیستی پیچیده‌ای است که شامل سلولز، همی سلولز و لیگنین است. سلولز در زیست توده لیگنوسلولزی می‌تواند با استفاده از روش‌های مناسب به ابعاد نانوبرسد [۱].

سلولز عمدتاً از بیوستنز گیاهان، حیوانات و یا باکتری تولید می‌شود، اما اصطلاح عمومی نانوسلولز به عصاره‌های سلولزی اشاره دارد که دارای ابعاد ساختاری در مقیاس نانو هستند. خانواده نانوسلولز را عموماً به سه نوع: نانو بلور سلولزی، نانو کیف سلولزی، و سلولز باکتریایی تقسیم می‌کنند. تولید نانوسلولز بلوری و نانو سلولز لیفی از روش تبدیل واحدهای بزرگتر (cm) به واحدهای کوچکتر (nm) به دست می‌آید [۲].

نانو بلور سلولز (Cellulose Nanocrystals) از طریق آبکافت اسیدی سلولز خام که در آن ناحیه آمورف از بین می‌رود و ناحیه بلورین حفظ می‌شود، تولید می‌شود. ساختار نانوذرات CNC دارای قطر ۵-۳۰ نانومتر و طول ۱۰۰-۵۰۰ نانومتر (از سلولز گیاهی) یا طول ۱۰۰ نانومتر تا چند میکرومتر (از سلولز تونیکات و جلبک) است. ذرات سلولز نانو لیفی، لیفچه‌های سلولزی ظریف تری است، فرایند بیوستنز نانو لیفی شده یادآور لیفچه‌های اولیه چوب و گیاهان بوده، آنها متشکل از ۳۶ زنجیره سلولزی در ساختار بلوری هستند و سطح مقطع مربع شکل تقریباً ۱۰۰ درصد سلولزی دارند، و نواحی آمورف و بلوری

در آنها دیده می‌شود. در جدول (۱) مقایسه بین انواع نانوسلولز نشان داده شده است [۳].

تفاوت سلولز نانولیفی شده و سلولز میکرولیفی له شده در فرایندهای جداسازی الیاف است. ذرات تولیدشده سلولز نانولیفی له شده از سلولز میکروفیبریله شده کوچک‌تر است. باکتری نانوسلولز از سایر انواع نانوسلولز سازگاری بهتری دارد، همچنین به دلیل ویژگی‌های بی‌ظیری مانند تخلخل، جذب آب، زیست تخریب پذیری و سازگاری بالا، توجه زیادی را به خود جلب کرده است [۴].

## ۲ سلولز

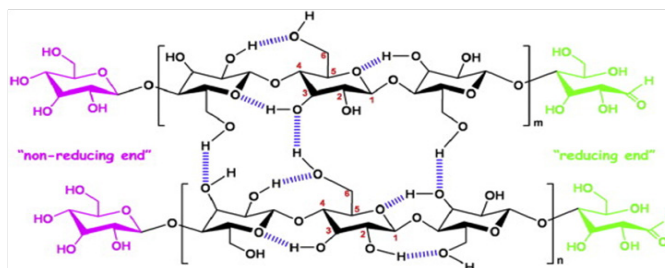
سلولز یک هوموپلی ساکارید تشکیل شده از واحدها B-D-گلوکوپیرانوزی است که بپیوندهای گلیکوزیدی ۱ به ۴ به یکدیگر متصل شده اند. مولکول سلولز کاملاً خطی هستند و تمایل شدیدی به تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی دارند. در نتیجه، دسته‌هایی از مولکول‌های سلولز با یکدیگر مجتمع می‌شوند و ریزلیفچه را تشکیل می‌دهند. در ریزلیفچه‌ها نواحی بسیار منظم و نواحی نسبتاً نامنظم به طور متناوب در مجاورت یکدیگر قرار دارند. از تجمع ریزلیفچه‌ها، لیفچه، و از تجمع لیفچه‌ها، لیف سلولزی تشکیل می‌شود. بر اثر همین ساختار لیفی و پیوندهای هیدروژنی محکم، سلولز از مقاومت کششی بالایی برخوردار است و در اغلب حلال‌ها نامحلول است [۵].

## ۳ تولید سلولز باکتریایی

سلولز باکتریایی، توسط باکتری‌های مختلفی مانند گلوکون

جدول ۱ مقایسه انواع نانوسلولز [۴]

نوع نانوسلولز	منبع	ابعاد	روش تهیه
NFC نانو سلولز الیاف	چوب، سیب زمینی، کتان، کنف	قطر ۵-۶۰ نانومتر و طول چند میکرومتر	از پیش ماده چوبی و ماده همگن کننده در فشار بالا
NCC میکرو سلولزهای میله-ای، بلور منفرد کوچک	چوب، کاه گندم، جلبک و باکتری	قطر ۵-۷۰ نانومتر و طول ۱۰۰-۲۵۰ نانومتر	به روش آبکافت اسیدی و محلول‌های غلیظ نمک‌های معدنی و اسیدسولفوریک و اسید کلریدریک
BNC سلولز زیستی و سلولز میکروبی	قندها و الکل با وزن مولکولی پایین	۲۰-۱۰۰ نانومتر	سنتر باکتریایی



شکل ۱ ساختار مولکولی سلولز [۵]

#### ۴ ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی

ساختار و خواص مکانیکی BC با خواص سلولز گیاهی، علی‌رغم ترکیبات شیمیایی یکسان متفاوت است. BC ویژگی‌های مکانیکی عالی در دو حالت خشک و خیس، استحکام کششی و مدول زیاد، ظرفیت نگه داشتن آب بالا، شکل پذیری، زیست تخریب پذیری، درجه بلورینگی زیاد و زیست سازگاری بالا با بافت دارد. همچنین درجه بلورینگی زیاد آن تغییرات ساختار سلولزی ناشی از درمان‌های شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی را کاهش می‌دهد. این ویژگی‌های مطلوب باعث شده است که از آن در کاغذسازی، منسوجات، لاستیک، کاغذ الکترونیکی، غشاهای جداکننده، استفاده شود. همچنین به دلیل زیست سازگاری، سمیت کم، غیرآلژیک بودن در زیست پزشکی به آن توجه ویژه می‌شود [۷،۸].

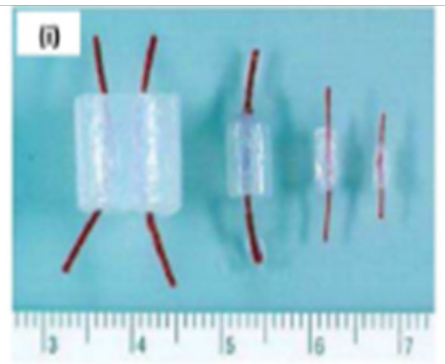
اندازه لیاف سلولزباکتریایی حدود ۱۰۰ مرتبه کوچک‌تر از سلولز گیاهی است این مرفولوژی نانوی بی نظیر در سطح مقطع بزرگ می‌تواند سبب ظرفیت بالای نگهداری آب و الاستیسیته‌ی زیاد، استحکام مرطوب بالا

استو باکترزای لنیوم (Gluconacetobacterxylinum)، آگروباکتریوم (Agrobacterium)، ریزوبیوم (Rhizobium)، سارسینا (Sarcina)، تولید می‌شود، که از میان آن‌ها گونه گلوکون استو باکترزایلینیوم بیشترین کاربرد را دارد.

استو باکتر زایلینیوم تنها گونه شناخته شده است که قادر به تولید سلولز در مقیاس تجاری است. این باکتری گرم منفی است که توانایی تولید مقدار زیادی سلولز با کیفیت بالا را دارد که به صورت نوارهای پیچیده در بسته‌های میکرولیفی قرار می‌گیرد. ساختار شیمیایی سلولزباکتریایی از زنجیرهای انیدرو دی گلوکوپیرانوزی با پیوندهای گلیکوزیدی ابه ۴ تشکیل شده است [۶]. سلولز باکتریایی کاملاً خالص است، دارای ۹۹/۸ درصد آن آب و ۰/۲ درصد آن پلی ساکارید خنثی است. در حالی که فاقد لیگنین، همی سلولز، پکتین و موم‌ها است. مرفولوژی BC را می‌توان با تغییر نوع گونه‌های باکتریایی، مواد مغذی اضافی به محیط، روش‌های مختلف شرایط رشد و روش‌های خشک کردن پس از پردازش تغییر داد [۷،۸]. در جدول ۲ مقایسه بین سلول‌های گیاهی و لیف BC نیز آمده است.

جدول ۲ مقایسه بین سلول‌های بنیادی گیاهی و لیف‌های BC [۷]

معیار	سلولز گیاهی	سلولز باکتریایی
زمان تولید	سال‌ها بستگی به نوع درخت	روزها، بسته به گونه‌های باکتریایی و سرعت رشد
شرایط رشد	شرایط خاک، مواد مغذی، شرایط آب و هوایی	شرایط کنترل راکتور زیستی: pH، دما، مخلوط کردن، هوادهی و مواد مغذی
ترکیب	اجزای اصلی چوب: سلولز، لیگنین، همی سلولز	سلولز خالص تولید شده پس از حذف سلول‌های باکتریایی، بدون لیگنین یا سایر اجزای موجود است.
مراحل فرایند	مراحل چندگانه فیزیکی، شیمیایی، مکانیکی و کاهش اندازه	مراحل اصلی فرایند زیستی شامل مصرف قندهای سلول‌های باکتریایی، جداسازی لیاف و حذف سلول‌هاست.



شکل ۲ لوله های BNC با قطرهای مختلف (قطر داخلی = ۰/۶-۶ میلی متر) برای کاربردهای پیوندزنی [۹]

جراحی پیوند عروق کرونر است، که برای تامین خون به بافت قلب با جایگزینی مناسب انجام می شود. نانو سلولز (مخصوصا BC) با داشتن مقاومت مکانیکی خوب (فشار خروجی تا ۸۸۰ میلیمتر جیوه) و زیست سازگاری با خون، می توان آن را به عنوان ماده ای برای لوله های مصنوعی برای پیوند عروق با اندازه های کوچک (کمتر از ۴ میلی متر) یا (بزرگتر از ۶ میلی متر) استفاده کرد، که در این صورت از پدیده لختگی و تنگی مجرا جلوگیری کند [۱۰]. با توجه به شرایط بالینی لختگی خون و انسداد، موادی که اغلب برای جایگزینی پیوند عروق استفاده می شوند، به دلیل کوچکی عروق خونی مناسب نیستند. پیگیری برای مواد غیر ترمبوز (Thrombogenic) جدید با خواص مکانیکی که شبیه به رگ های خونی بود منجر به شناسایی BC شد و آزمایش های بر روی رگ های خونی خوک، نشان داد خواص مکانیکی BC نسبت به شریان کاروتید خوک قابل مقایسه و بهتر از پلی تترافلورواتیلن بود [۱۱].

هیدروژل نانو سلولز باکتریایی به عنوان مواد بیولوژیکی امیدوار کننده برای عروق خونی مصنوعی پیشنهاد شده است. با این حال، برخی از خواص BNC به تمام الزامات رگ خونی طبیعی پاسخ نمی دهد. به همین منظور تانگ و همکاران (۲۰۱۵) برای بهبود خواص لوله های BNC، از پلی وینیل الکل (PVA) در لوله های BNC برای ساخت کامپوزیت ها استفاده کردند و نتایج نشان داد که PVA آغشته به لوله های BNC به طور قابل توجهی خواص BNC، به خصوص خواص مکانیکی و نفوذ پذیری آب را بهبود می بخشد. لوله

و قابلیت تطبیق پذیری شود. سطح لیف BC دارای سایت فراوان غنی از گروه های هیدروکسیل است که ویژگی آن جذب یون های فلزی یا نانو ذرات فلزی را امکان پذیر می سازد. لیف سلولز میکروبی دارای درجه بالایی از بلورینگی است. با استفاده از اندازه گیری مستقیم نانومکانیکی، مشخص شد که این لیف ها بسیار قوی هستند و در هنگام استفاده با مواد دیگر سازگار با مواد زیستی، باعث تولید نانوکامپوزیت ها به ویژه برای استفاده در داروهای انسانی و دامپزشکی می شوند. علاوه بر این، نانوساختار و شباهت های مرفولوژیکی BC با کلاژن، آن را برای تحمل سلول و حمایت سلولی جذب می کند [۸].

## ۵ کاربرد نانو سلولز باکتریایی

برخی از مهم ترین کاربردهای زیست پزشکی در ذیل آمده است:

### ۵-۱ قلب و عروق (Cardiovascular)

بیماری های قلبی عروقی یکی از علل مرگ و میر زنان و مردان در سراسر جهان است. به گفته سازمان بهداشت جهانی و بنیاد قلب بریتانیا، بیماری های قلبی عروقی به ترتیب ۳۰ درصد مرگ و میر در سراسر جهان و ۴۲ درصد در اروپا است. هر ساله هزاران بیمار جراحی بایپس قلبی انجام می دهند. به دلیل کمبود کاشتنی های بایپس مصنوعی تاکنون، عروق از پاها یا قفسه سینه بیماران گرفته شده است. کاشتنی های بایپس مصنوعی ساخته شده از پلی تترافلورو اتیلن، پلی اتیلن ترفتالات، پلی اتیلن و پلی اورتان برای جراحی قلب و عروق ناموفق بوده اند.

گروه های تحقیقاتی متعددی کاشتنی های مبتنی بر BNC را تولید کرده اند، که سازگاری با خون و بافت، رشد سلولی، جراحی، و روش های معمول ضد عفونی کردن مطابقت دارد. در مجموعه ای از تحقیقات، شکل اولیه لوله های BNC (نام تجاری BASYC) با قطرهای مختلف توسعه یافته؛ که می تواند برای برنامه های پیوند شریانی استفاده شود (شکل ۲). دیواره لوله BASYC دارای ۹۰ درصد آب یا بیشتر است. مطالعات اولیه نشان داد که لوله های BNC برای جراحی بسیار مناسب هستند و می توانند به روش های استاندارد ضد عفونی شوند [۹].

### ۵-۲ جایگزینی عروق خونی

یکی از رایج ترین درمان ها برای بیماری های قلبی عروقی

گاما نسبت به تاییده نشده بود [۱۲]. غشای BC نیز به عنوان نانوساختارهای جدید سامانه های تحویل برای دیکلوفناک سدیم (Diclofenac Sodium) مورد بررسی قرار گرفته شد، که در آن دیکلوفناک سدیم با غشای BC ترکیب شده و گلیسرول به عنوان نرم سازکننده مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که دیکلوفناک حاوی غشای BC کاملاً انعطاف پذیر، همگن و رفتار تورمی دارد و میزان نفوذپذیری آنها به نسبت محصولات تجاری دیگر بیشتر است [۱۶].

غشاء BC برای تحویل بربرین هیدروکلرید (Berberine Hydrochloride) و بربرین سولفات نیز استفاده شده است، بربرین ایزوکینولین آلکالوئید (Isoquinoline Alkaloid) مشتق شده از تعدادی از منابع گیاهی است، که فعالیت ضد قارچی است. محققان ادعا می کنند که استفاده از BC به عنوان حامل، زمان انتشار را در مقایسه با محصولات تجاری افزایش می دهد [۱۶].

## ۷ کاربرد در سامانه های اسکلتی، غضروف

### ۷-۱ پروتز استخوان

کلاژن، که توسط هیدروکسی آپاتیت (Hydroxyapatite) پوشیده می شود، بخش مهمی از ماتریس استخوان را تشکیل می دهد. بازسازی هدایت شده استخوان (Guided Bone Regeneration) عملی پزشکی است، که با استفاده از پرکننده ها و غشاهای استئوپروموتومی، رشد مجدد بافت استخوانی را در آزمایش های درون تنی In-vivo منجر می شود. الیاف BC به عنوان ماده کلاژن مانند، برای رشد HAp با هدف نهایی ساخت مواد پرکننده GBR، مورد استفاده قرار گرفتند. اندازه کوچک و ناهمگونی منافذ در هیدروژل های باکتری نانو سلولز (BNC) باعث محدودیت رشد درونی سلول ها و استفاده از آنها در مواد کاشتنی مهندسی بافت می شود [۱۶].

ساکا و همکاران (۲۰۱۱) از خواص بیولوژیکی غشاهای نانوکامپوزیت باکتری سلولز-هیدروکسی آپاتیت (BC-HA) برای بازسازی استخوان استفاده کردند. آنها نانوکامپوزیت هایی از غشای سلولز باکتریایی تهیه کردند که به صورت متوالی در محلول های  $\text{CaCl}_2$  و سپس  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  انکوباتور شد. غشاهای BC-HA در کمبود استخوان موش صحرائی ۱، ۴ و ۱۶ هفته مورد بررسی قرار گرفتند. در آزمایش های درون تنی پس از یک هفته واکنش التهابی نشان داده نشد. پس از ۴ هفته، مشاهده شد که با بافت

BNC خود نقش مهمی در عملکرد کامپوزیت ها به عنوان مواد پایه اسکلت ایفا کرده است. لوله های کامپوزیتی PVA-BNC می تواند گزینه های جدید زیست ماده برای پیوند عروق ایجاد کنند [۱۲].

تانگ و همکاران (۲۰۱۶) فرآیندهای زیست سنتز لوله های BNC را در دو نوع زیست راکتور، لوله دوتایی سیلیکون (D-BNC) و تک لوله سیلیکون (S-BNC) را در مقایسه با آماده سازی و خواص لوله های BNC با استفاده از فروکتوز یا گلوکز مقایسه کردند. دو زیست راکتور فرایندهای مختلف زیست سنتز تولید BNC را نشان دادند. زیست راکتور D-BNC به دلیل عرضه اکسیژن بیشتر، بازده بالا، عملکرد مکانیکی لوله ها را بهتر می کند. غلظت بالای فروکتوز منجر به افزایش تولید (D-BNC) شد. همچنین، پیوترا و همکاران دریافتند، که کشت BC در لوله های سیلیکون نفوذ پذیر با اکسیژن، با قطر داخلی کمتر از ۸ میلی متر باعث می شود، که ژل BC لوله ای با طول مورد نظر، قطر داخلی و ضخامت با الیاف تک محوری به دست آید. لوله ها خواص مکانیکی عالی را ارائه می دهند و می توان آنها را به عنوان مواد ریز رگ یا بافت نرم در برنامه های پزشکی و دارویی استفاده کرد [۱۳].

## ۶ تحویل رسانی دارو

تغییرات شیمیایی از جمله استری کردن، اتری کردن، آمید سازی یا فسفری کردن BNC می تواند آن را برای تغییرات انتشار و ثبات دارو با اتصالات پیوند کووالانسی، الکترواستاتیک یا آبگریز مورد استفاده قرار دهد. سلولز باکتریایی با ویژگی هایی همچون اندازه و توزیع نانو لیف، خواص مکانیکی، سازگاری و توانایی قالب سازی، ماده بیولوژیکی ضروری در بخش بهداشت است. بهبود نفوذ فیزیکی و شیمیایی می تواند در ارتباط با غشای باکتری سلولز برای تأمین سطح مطلوب دارو رسانی مورد استفاده قرار گیرد [۱۴].

تابش یونیزه منبع انرژی موثر برای اصلاح سطوح پلیمر است، تا سامانه های ترمیمی متفاوت با خواص رهایش راکتور کند. از اشعه گاما برای ایجاد تغییرات در غشاهای سلولزی باکتری استفاده کردند. انتشار و نفوذ دارو (تتراسایکلین) از غشاهای تابش شده و تابش نشده با استفاده از سلول انتشاری انجام شد، که نتیجه آن انتشار سریع تر دارو از غشاهای تاییده شده با اشعه

با RGD برای اولین بار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج پردازش پلازما و نتایج لخته شدن کامل خون نشان دهنده همبستگی BC بود [۲۰].

### ۷-۳ پرده صماخ

سوراخ شدن پرده صماخ (Tympanic Membrane) مشکلی رایج است که باعث کاهش شنوایی مزمن می شود. سوراخ های مزمن TM به جراحی هایی مانند مینرپلاستی یا تیمپانوپلاستی نیاز دارند. برنامه های کنونی مهندسی بافت جراحی های معمول را از بین می برد. با این حال، برای درک عوامل موثر در موفقیت و یا شکست درمان TM سوراخ کردن حیاتی است. به همین ترتیب، چندین داربست و زیست مولکول برای مهندسی بافت TM ارزیابی شده است. BC به عنوان جایگزینی ارائه شده، ایمن، زیست سازگار و غیرسمی است.

آزمایش بالینی تصادفی توسط سیلویرا و همکاران که در آن ۴۰ بیمار مبتلا به سوراخ شدن پرده صماخ ثانویه که درد مزمن داشتند و به صورت تصادفی در دو گروه قرار گرفتند، انجام شد: گروه آزمایشی اول، ۲۰ بیمار تحت درمان با پیوند BC و گروه شاهد ۲۰ بیمار تحت درمان با اتولوژیک موقتی (Autologous Temporal) قرار گرفتند. مدت زمان جراحی، مدت زمان بستری در بیمارستان، زمان اپیتلیالیزاسیون و میزان بستن سوراخ TM مورد بررسی قرار گرفت و هزینه های بیمارستان نیز مقایسه شد. با وجود این که بستن سوراخ ها در هر دو گروه مشابه بود، میانگین زمان عمل در گروه فیشا به ترتیب ۷۶/۵۰ دقیقه و ۱۴/۰۶ دقیقه برای BC بود. در نهایت، هنگامی که هزینه بیمارستان گروه فیشا با گروه BC مقایسه شد، ۹۲ درصد کاهش قابل توجه در سیستم بهداشت عمومی مشخص شد [۲۱].

### ۸ ترمیم بافت پوست و پانسمان زخم

پانسمان زخم برای تسریع التیام زخم و جلوگیری از عفونی شدن زخم انجام می شود. استفاده از پانسمان های مرسوم زمان ترمیم طولانی، تعویض دردناک زخم و... را شامل می شود. بنابراین محققان درصدد پانسمانی بودند، که ویژگی های مطلوبی داشته باشد، آنها از سلولز باکتریایی استفاده کردند، که شبیه به سلولز گیاهی است.

سلولز باکتریایی توسط باکتری های جنس استوباکتر به عنوان زیست فیلم ساخته می شود. در این جنس، گونه گزیلینوم بیشترین مقدار سلولز را تولید می کند. در طول

استخوانی جدید کامل شده است و غشاهای BC-HA برای بازسازی استخوان ها موثر بودند [۱۷].

BC می تواند ماتریس خوبی برای به دست آوردن انواع مختلف بلورهای کربنات کلسیم با بهبود سازگاری زیست محیطی باشد. استویکا و همکاران نیز از کلسیم کلرید و سدیم کربنات به عنوان آغاز کننده واکنش ها برای ترویج رسوب کربنات کلسیم در غشای BC استفاده کردند. غشای متشکل از BC و هیدروکسی آپاتیت (Hap) به عنوان زیست ماده برای بازسازی بافت استخوانی ایجاد شده که رشد پایدار سلول های استئوبلاست را افزایش می دهد و سطح بالای فعالیت آلکالین فسفاتاز و تشکیل گره های استخوان بیشتر می شود [۱۸]. ترکیب باکتری سلولز (BC) و آپاتیت استخوان بز (Goat Bone Apatite) با روش حلال ۴-متیل مورفولین ۴-اکساید (NMMO) به عنوان حلال برای BC استفاده شد. آپاتیت استخوانی بز به محلول NMMO از BC اضافه شد، تا شکل مواد به راحتی به تواند با استفاده از قالب های مناسب کنترل شود. کامپوزیت های مورد انتظار از NMMO با غوطه وری در حمام آب و توسط لیوفیلیزه شدن تشکیل شد. نتایج نشان داد، که کامپوزیت BC/GBA می تواند موجب افزایش تکثیر سلولی و تسهیل تمایز سلولی شود و همچنین زیست کامپوزیت BC/GBA آماده شده می تواند مواد پرکننده استخوان را برای تعمیر و ساخت نقص استخوان داشته باشد [۱۹].

### ۷-۲ پروتز قلبی

پروتز قلب شامل جایگزینی دریچه های قلبی بیمار با دریچه های مصنوعی مناسب است و عمل جراحی پیشرفته ای است که باعث کاهش مرگ و میر در بیماران قلبی می شود. مواد زیست پزشکی مختلف مورد آزمایش قرار گرفته اند و برخی از آنها در حال حاضر در عمل پزشکی قابل استفاده هستند. با این حال، مواد موجود محدودیت در استفاده طولانی مدت، مانند آهک سازی، واکنش های اکسایش با خون و عوارض جانبی شدید دارند. بنابراین تلاش های تحقیقاتی برای یافتن مواد جایگزین برای ساخت دریچه های قلب مصنوعی منجر به استفاده از BC و نانوکامپوزیت های آن برای تهیه دریچه مصنوعی شد. برای بهبود سازگاری مواد با خون، قبل از پوشش با تری پتید به کمک اندوتلیالیزه کردن (Endothelialize)، لختگی خون کاهش می یابد. سازگاری طبیعی خون و سلولز باکتریایی اصلاح شده

شبکه لیفی محکمی با منافذ کوچک تر از BC بود. همچنین هردو غشا برای نگه داشتن سطح رطوبت مناسب برای دوره‌ای طولانی بدون کم آب شدن حفظ می‌شوند. مطالعات کشت سلولی نشان داد که BC و BC-CH هیچ سمیت سلولی ندارد. آثار هردو بر ترمیم زخم پوست توسط مدول موش‌ها بررسی شد. معاینات نشان داد که زخم‌ها با BC-CH سریع‌تر از درمان با BC احیا و بهبود می‌یابد، بنابراین BC-CH به عنوان ماده برتر برای ماده‌های پوششی (پانسمن) زخم هستند.

لیاسکینا و همکاران (۲۰۱۷) از سلولز نانو باکتری به همراه آنتی بیوتیک اسید فوسیدیک که با آن اشباع شده بود، یک زلی شفاف و بی رنگ برای پانسمن زخم به دست آوردند. به علت ساختار شبکه‌ای سه بعدی منحصر به فرد نانو ذرات، BC دارای رطوبت زیاد، مقاومت مکانیکی بالا و قابلیت زیست سازگاری عالی است که همه آن را قادر می‌سازد تا به عنوان داربستی طبیعی برای بازسازی انواع بافت‌های مختلف به کار رود. و مشخصه مهم آن توانایی جذب ترشح التهاب در طی فرآیند پوشش و همچنین حذف آنها از سطح زخم پس از بهبودی است [۲۶].

### ۸-۱ درمان سوختگی

سوختگی، صدمات بسیار خطرناکی است که باعث آسیب جدی به بافت‌های پوست می‌شود. فرایند بهبود شامل بازسازی اپیدرم و ترمیم غشای میانی پوست است که هر دو باعث تشکیل بافت اسکار (Scar) یا همان بافتی که در اطراف زخم ایجاد شده، می‌شود. هدف اصلی در طول درمان بیماران سوختگی این است که سریعاً زخم را برای افزایش میزان بهبودی ببندیم و درد را کاهش دهیم. علاوه بر این، برای مدیریت زخم مناسب باید زخم را از ابتلا به آلرژی و خشکی دور کرد. علیرغم این واقعیت که بسیاری از پانسمن زخم‌های زیستی و مصنوعی مختلف در حال حاضر توسعه یافته است، اما نانو پوست سلولز باکتریایی تقریباً تنها محصولی است که تمام شرایط مورد نظر را مورد ارزیابی قرار می‌دهد. به علت ویژگی‌های منحصر به فرد آن، نانو زیست سلولز به عنوان مواد بسیار مؤثر برای پوشیدن زخم شناخته شده است که در شکل (۳) بهبود زخم را با نانو پوست باکتری سلولز نشان داده شده است [۲۷].

خواص سازگاری و خواص انعطاف پذیری TBC

زیست سنتز سلولز، این باکتری ترکیبات مختلف محیط شرام- هسترین را مصرف کرده، زنجیرهای خطی بتا و ۴ گلوکان را تولید می‌کند. این زنجیرها توسط منافذی از سطح سلول به خارج ترشح و با اتصال به یکدیگر نهایتاً نوارشل و ژلاتینه با ماهیت سه بعدی را تشکیل می‌دهند، که شامل نانولیف‌های فوق نازک و بسیار شفاف با مقاومت مکانیکی بالا است. ساختار ظریف و منظم در بافت سلولز باکتریایی و ظرفیت بالای نگهداری آب و مبادله بخار با محیط عامل برتری آن است [۲۲].

پوشش‌های سلولزی به صورت روکش موقتی برای درمان زخم‌هایی مانند: فشارهای دردناک، ایستایی و ریندی، زخم‌های اسکیمی و دیابتی و سوختگی‌های درجه دوم، محل‌های جراحی پوست، خراش‌های عمیق و پارگی‌ها استفاده می‌شود. هدف اصلی استفاده از آنها: هزینه کم، چسبندگی خوب بر روی زخم، نفوذپذیری بخار آب، کشسانی، مقاومت و ممانعت فیزیکی و دسترسی آسان با حداقل سرمایه‌گذاری است. مکانیسم عمل پوشش‌های زخم کاملاً مشخص نشده است، اما بعضی از محققان مکانیسم درد را شامل: دستگیری آنیون‌ها از طریق پیوندهای هیدروژنی سلولز یا نانوباکتری سلولز با شبکه سه بعدی در سطح پوست می‌دانند که شرایط بهینه‌ای برای التیام و احیای زخم ایجاد می‌کنند [۲۳].

اگرچه نانوسلولزهای باکتریایی (BNC) ممکن است به عنوان ایده‌ای برای پانسمن زخم به کار برده شوند، اما هیچ خصوصیات ضد باکتریایی را به خودی خود نشان نمی‌دهند. بنابراین، موریتز و همکاران (۲۰۱۴) از BNC و اکتینیدین که داروی ضد عفونی کننده است، استفاده کردند که ترکیبی از هر دو ماده منجر به پانسمن زخم با بهبودی سریع‌تر و خواص برتر مواد می‌شود، همچنین باعث کنترل کارآمد عفونت و عوارض جانبی ناخواسته را به حداقل می‌رساند [۲۴].

وانا و همکاران (۲۰۱۳) از ترکیب BC با کائولن (عامل لخته‌ی خون) که ماده‌ای برای التیام زخم در دوره‌های کوتاه مدت (کائولن) و بلند مدت (باکتری) است، استفاده کردند. سلولز باکتریایی عامل اتصال دهنده موثری برای ذرات کائولن است که ساختارهای شبکه‌ای را تشکیل می‌دهد [۲۵].

لین و همکاران ۲۰۱۳ غشای سلولز باکتریایی BC و غشای سلولز-کیتوزان باکتریایی (BC-CH) را در مقیاس وسیع تولید کردند. تصاویر SEM نشان داد که BC-CH دارای



شکل ۴ پوشش سلولز باکتری بر روی صورت و بدن سوخته [۲۸]

شبکه لیفی فوق العاده و بسیار خالص بود. خواص مکانیکی و توانایی جذب رطوبت ژل نانو سلولهای باکتریایی با سیرسین ابریشمی نسبت به ماسک کاغذی موجود در بازار بهبود یافته است. سیرسین ابریشمی می تواند از طریق ژل آزاد شود. علاوه بر این، ژل نانو سلولز باکتریایی سیرسین ابریشمی چسبندگی کم و غیر سمیت سلولی نسبت به ماسک کاغذی موجود در بازار است. آزمایش ایمنی درون تنی تایید کرد، که ژل نانو سلولهای باکتریایی سیرسین ابریشمی حساسیت زا نیست. بنابراین ژل نانو سلولز باکتریایی سیرسین ابریشمی عامل برجسته در استفاده از تیمارهای صورت است [۲۹].

## ۹ داربست

بافت و اندام آسیب دیده مشکلی هزینه بر در بهداشت و درمان است که در بعضی موارد با استفاده از درمانهای متداول پزشکی قابل حل نیست. روشهای مهندسی بافت برای اصلاح بافت و اندام آسیب دیده، جایگزین مناسب برای پیوند، پروتز و جراحی هستند. این رویکردها سلولهای کشت را بر روی داربستها قرار می دهند که در محل آسیب قرار می گیرند. داربست به عنوان پشتیبان از سلولها عمل می کند و چارچوبی سه بعدی برای سلولها برای تکثیر، تولید ماتریس خارج سلولی و ایجاد بافت فراهم می کند [۳۰].

تلاشهای قابل توجه برای توسعه داربستهای زیست سازگار با سازههای مهندسی بافت انجام شده



شکل ۳ سوختگی درجه دوم که بعد از ۷ روز از بین رفت [۲۷]

سطح بالایی از پیوند را با محل زخم ایجاد می کند. حتی به قسمت های متحرک مانند تنه و صورت، نیز قدرت پیوند دارد. برای بیمار با سوختگی شدید درجه دوم سطح صورت با بستن کامل زخم با قرار دادن یک ورق BC، که در آن سوراخ برای چشم، بینی و دهان ساخته شد (شکل ۴). پس از ۴۴ روز، صورت مجروح شده به طور کامل بدون نیازی به پیوند پوست و بدون نشانه های قابل توجه ای از زخم های گسترده، بهبود یافت. آزمایش های بالینی بر روی ۳۴ بیمار مبتلا به سوختگی های شدید حرارتی (درجه دوم A/B) که شامل ۹ تا ۱۸ درصد از کل سطح بدن آنها سوخته بود، انجام شد؛ ۲۲ نفر از بیماران BC را به عنوان گروه آزمایشی دریافت کردند. پیوستن غشای BC به سطح زخم در جلوگیری از فضاهای مرده عالی بود، این امر به انطباق پذیری بالای آن منجر شد، و هیچ گونه حساسیتی در بیماران در طول دوره درمان با BC وجود نداشت. در روز دهم دوره درمان، در ۷ بیمار از گروه آزمایشی (۵۸/۳٪)، در مقایسه با ۴ بیمار (۳۳/۳٪) از گروه شاهد، روند بازسازی دوباره شروع شد. این نتایج نشان داد که استفاده از پانسمان BC در درمان سوختگی های ضخیم، محیطی مناسب برای ترمیم زخم ایجاد می کند [۲۸].

ژل نانو سلولز باکتریایی آزاده شده از سیرسین ابریشمی (صمغ پیله ابریشمی) که به عنوان ماسک زیست فعال برای درمان صورت استفاده می شود، دارای ساختار شبکه های لیفی فوق العاده و بسیار خالص است که برای تولید ژل باکتری نانو سلولز مطلوب است و ژل نرم و پایدار با سطح صاف به وجود می آورد. برای بهبود خواص بیولوژیکی، ژل با سیرسین ابریشمی ترکیب شد. ژل نانو سلولز باکتریایی سیرسین ابریشمی دارای ساختار



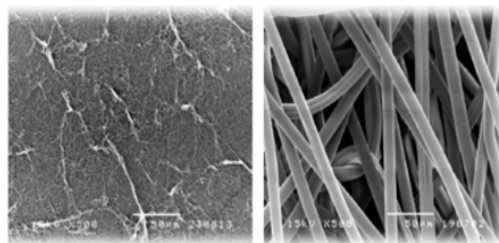
علاوه بر این، نانو سلولز باکتریایی اکسید شده می تواند برای تولید هیدروژل با پلی اتیلن (ELP) نیز به کار رود. هیدروژل هیبرید دارای خواصی مانند فاقد سمیت سلول و قابلیت کپسول کردن سلول هایی است که می توانند برنامه های کاربردی ویژه را در زمینه های زیست پزشکی پیدا کنند [۳۲].

اندرسون و همکاران (۲۰۱۰) داربست های سلولز باکتری متخلخل (BC) با استفاده از تخمیر و باکتر زایلنیوم در حضور کمی موم ذوب شده با قطر ۱۵۰-۳۰۰ میکرومتر تهیه کردند و این مواد متخلخل را به عنوان داربستی برای بازسازی غضروف ارزیابی کردند. کندروسیت های مفصلی از بیماران جوان بالغ و همچنین کندروسیت مفصلی نوزادان با روش های مختلف کاشت بر روی داربست های متخلخل BC استفاده شدند. تجزیه و تحلیل میکروسکوپ الکترونی (SEM) و تجزیه و تحلیل میکروسکوپ پاپوکال نشان داد که سلول ها به حفره های داربست وارد شده اند و به طور فزاینده ای منافذ را پر کردند و کندروسیت های مفصلی در منافذ BC زیاد شدند [۳۳].

با استفاده از روش های خشک کردن انجمادی و حرارتی ترکیبی از اسفنج و ژلاتین سلولز باکتریایی (GB)، به عنوان داربست در مهندسی بافت استفاده می شود. برای جلوگیری از مواد سمی و هزینه پیوندهای عرضی عامل ها، گلوکز برای پیوند عرضی ژلاتین از طریق واکنش میلارد استفاده شد و اثرات نسبت وزن ژلاتین به سلولز باکتریایی (BC) و شرایط اتصال (دمای و مدت زمان) بر روی اسفنج GB مورد بررسی قرار گرفت. ساختار متخلخل باز و بسیار به هم پیوسته برای اسفنج با ژلاتین به دست آمد. تخلخل بالای آن، خواص تورم خوب، استحکام ساختاری خوب در آب، عدم سمیت و سازگاری خوب با سلول و ویرو (Viro) آن را به عنوان داربست مناسب برای مهندسی بافت تبدیل کرده است [۳۴].

### ۱۰ کاربرد نانوسلولز باکتریایی در چشم پزشکی

استفاده از کامپوزیت های BC شامل توانایی آن برای پیوستن و افزایش تکثیر اپیتلیوم رنگی شبکه و کراتینوسیت ها است. پیوندهای BC می تواند به طور گسترده میزان رد شدن قرنیه های پیوند را کاهش دهد و درمان بیماری های چشم را با تقویت موضعی نئوواسکولاریزاسیون (Neovascularization) و کاهش عوارض جانبی و فواصل



شکل ۵ تصاویر ریزنگار SEM از ماسک تجاری کاغذی (الف) و ژل نانوسلولز باکتریایی سرسین ابریشم (ب) [۲۹]

است. داربست ها متخلخل و سازه های تجزیه پذیر ساخته شده از مواد طبیعی شامل (کلاژن، فیبرین) یا پلیمرهای مصنوعی (پلی لاکتید، پلی گلیکولید یا کوپلیمر پلی لاکتید و گلیکولید) هستند. در مهندسی بافت، جمعیت سلولی معمولا توسط کشت بر روی داربست تطبیق داده می شود و رشد و تکثیر سلول های جدید را در سه بعد گسترش می دهد.

بهینه سازی داربست ها که بر روی آن سلول ها کشت می شود، کلیدی برای تشکیل یکنواخت بافت ها است؛ زیرا پشتیبانی لازم برای تکثیر سلول ها و حفظ عملکرد متفاوت آن ها را فراهم می کند. معماری داربست شکل نهایی بافت جدید را مشخص می کند و تخلخل داربست انتقال مواد مغذی و مواد زائد را تنظیم می کند [۳۰]. به منظور بهبود ویژگی های مثبت BNC برای مرمت بافت، می توان از ترکیب آن ها با چندین کامپوزیت مانند کلاژن، ژلاتین، آلژینات، بنزالکونینوم کلرید، پلی اتیلن گلیکول، گاز پنبه ای و آلوئه ورا و یا ترکیب با مولکول های زیست فعال، به منظور تغییر در تخلخل و بلورینگی، شود [۳۱]. BNC اصلاح شده می تواند عملکرد داربست را برای بازسازی انواع بافت ها که احتمالا ماده بیولوژیکی جالب برای ابزار پزشکی و محصولات مصرفی است، بهبود دهد. داربست هایی که می توانند با استفاده از نانوسلولز های باکتریایی (BNC) آماده شوند، به دلیل ویژگی های منحصر به فرد آنها مانند تخلخل بالا، خواص مکانیکی مرطوب عالی، غیر سمی بودن و زیست سازگاری، ایده آل هستند. فیلم نانوسلولز (ترا متیل پیپیریدین -۱-اکسیل) اکسید شده نمایانگر چسبندگی سلولی عالی و تکثیر آن به عنوان نماینده برای توسعه مواد بیولوژیکی مورد استفاده قرار می گیرد.

بیوتیک‌ها یا داروهای دیگر به زخم سودمند است، در عین حال به عنوان مانع فیزیکی کارایی علیه هر عفونت خارجی داشته باشد [۳۷].

نقره از زمان‌های بسیار قدیم در قالب نقره فلزی، نترات نقره، سولفادیازین نقره ای برای درمان سوختگی‌ها، زخم‌ها و چندین عفونت باکتری استفاده شده است. اما با توجه به ظهور چندین آنتی بیوتیک، استفاده از ترکیبات نقره کاهش یافته است. فناوری نانو در قرن حاضر به دلیل توانایی تغییر فلزات در مقیاس نانویی خود، که به شدت خواص شیمیایی، فیزیکی و نوری فلزات را تغییر می‌دهد، در حال افزایش چشم‌گیر است. نقره فلزی به شکل نانوذرات نقره بازده قابل توجه‌ای را به عنوان عامل ضد میکروبی ساخته است. استفاده از نانوذرات نقره نیز مهم است، زیرا چندین باکتری پاتوژن را برای مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌های مختلف ایجاد کرده است. از این رو، نانوذرات نقره با استفاده از داروهای گوناگون پزشکی شامل سم زدایی نقره، دستگاه‌های دارویی نقره ای پوشش داده شده مانند نانوزل، نانوشوینده و غیره پدیدار شده‌اند [۳۸].

بیرندت و همکاران نیز از هیبرید نانوذرات باکتریایی (BNC) و نانوذرات نقره (AgNP) استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که هیبریدهای تولید شده می‌تواند به طور موثر فعالیت ضد میکروبی مناسب داشته باشد [۲۸]. کامپوزیت‌های BC-chitosan همچنین دارای فعالیت‌های ضد باکتری در برابر باکتری‌های گرم مثبت و منفی بودند. هنگامی که در تماس با مایع انسانی حاوی لیزوزیم قرار می‌گیرد، این کامپوزیت‌ها تجزیه می‌شوند و منجر به تشکیل واحدهای گلوکوزامین و N-استیل گلوکوزامین می‌شود که روند بهبود زخم را تسریع می‌کند [۴۰].

## ۱۲ نتیجه‌گیری

سلولز یکی از فراوان‌ترین ترکیبات ارگانیک در طبیعت است. که اغلب از گیاهان حاصل می‌شود، با این حال سلولز توسط انواع میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری‌ها، جلبک‌ها و قارچ‌ها نیز می‌تواند تولید شود. سلولز باکتریایی که توسط سویه‌هایی از استوباکترها تولید می‌شود، به عنوان یک زیست پلیمر بسیار مهم و متنوع به وفور در طراحی و توسعه محصولات نوآورانه از منابع تجدیدپذیر در صنایع مختلف از جمله پزشکی و غذایی

جراحی را بهبود می‌بخشد. بسیاری از کامپوزیت‌های مرتبط با BC قادر به حمایت از رشد سلول‌های استرومای قرنی (Corneal Stromal Cells) با حفظ دید کامل برای بیمار هستند. این مواد قابلیت زیادی برای داربست چشم دارند و جایگزین پلی متیل متاکریلات یا سامانه‌های هیدروکسی آپاتیت است که در حال حاضر در درمانگاه‌ها کاربرد دارد [۳۵]. BC همچنین یک قابلیت زیست مهندسی مناسبی برای بیماری‌های مرتبط با چشم ارائه می‌دهد؛ روش‌های مختلفی از فشار دادن به BC برای ایجاد اشکال محذب ایجاد شده است که می‌تواند در تولید لنزهای ثابت پایدار برای اصلاح پیر چشمی، آستیگماتیسم، دور بینی و نزدیک بینی استفاده شود. لنزهای تماس با BC ممکن است با داروها برای حفظ غلظت کافی در طول درمان عفونت‌های چشم و آلرژی‌ها بارگیری شوند. این مسائل اخیراً توسط کاویکی لی و همکاران مورد بررسی قرار گرفت. آنها غشاهای سلولز باکتریایی را با گاماسیکلودکسترین (Cyclodextrin) و سیپروفلوکساسین (Ciprofloxacin) با و بدون ۲-هیدروکسی پروپیل (2-Hydroxypropyl) آغشته کردند. غشاهای ترکیب شده برای بررسی سمیت و اثرات ژنتیکی مورد آزمایش قرار گرفتند و نتایج نشان داد که لنزهای تماسی تولید شده از BC، چشم انداز فوق‌العاده‌ای به عنوان پانسمان زخم پس از عمل جراحی چشم، به وجود می‌آورد. جایگزین قطره‌های آنتی بیوتیکی چشم می‌شود، یا سوزش چشم را بهبود می‌بخشند [۳۶].

## ۱۱ خواص ضد باکتری

عفونت زخم ناشی از سطوح بالای باکتری، به ویژه در زخم‌های سوختگی، آسیب‌های تکانشی و عمل‌های جراحی، دلیل مهمی برای بهبود این گونه زخم‌های طولانی است. چسبندگی و بقای باکتری‌های بیماری‌زا در سطح زخم‌ها که منجر به انتقال همزمان به میزبان جدید است در تکثیر پاتوژن‌ها موثر است، که به طور قابل توجه‌ای باعث تهدید سلامتی انسان می‌شود.

با توجه به افزایش آگاهی از بیماری‌های عفونی و مقاومت ضد بیوتیک، بسیاری از مطالعات به توسعه ضد عفونی سطحی مؤثر و مواد جایگزین حاوی ضد میکروبی و دیگر ویژگی‌های زیستی، پرداخته شده است. نانوسلولز می‌تواند ساختار شبکه متخلخل را در معماری مواد بیولوژیکی فراهم کند که برای انتقال موثر آنتی

شباهت‌های مرفولوژیکی BC با کلاژن آن را برای تحمل سلول و حمایت سلولی جذب می‌کند. بنابراین از نانوسلولز باکتریایی در زمینه‌های زیست پزشکی مانند داربست، ترمیم پوست، درمان سوختگی، رگ‌های خونی مصنوعی و پیوند قلبی و عروقی و ... استفاده می‌کنند.

ونساجی و... استفاده می‌شود. سلولز باکتریایی با همان فرمول سلولز گیاهی دارای ساختار سه بعدی متخلخل منحصر به فرد و شبکه پیچیده‌ای از نانو الیاف با ویژگی‌های مطلوب نظیر زیست سازگاری، سمیت کم، قابلیت شکل پذیری است. علاوه بر این، نانوساختار و

## مراجع

1. Mondal S., Preparation, Properties and Applications of Nanocellulosic Materials, *Carbohydrate Polymers*, 163, 301-316, **2016**.
2. Abitbol T., Rivkin A., Cao Y., Nevo Y., Abraham E., Ben-Shalom T., Lapidot SH., Shoseyov O., Nanocellulose, A Tiny Fiber with Huge Applications., *Science Direct*, 39, 76-88, **2016**.
3. Ferrer A., Pal L., Hubbe M., Nanocellulose in Packaging: Advances in Barrier Layer Technologies, *Industrial Crops and Products*. 95, 574-582, **2016**.
4. Lin N., Dufresne Nanocellulose in Biomedicine: Current Status and Future Prospect. *European Polymer Journal*, 59, 302-325, **2014**.
5. Sjostrom E., Wood Chemistry: Fundamentals and Application, 2nd Edition, Elsevier, Finland, **2013**.
6. Reiniati I., Andrew N., Margaritis H.A., Recent developments in The Production and Applications of Bacterial Cellulose Fibers and Nanocrystals, *Critical Reviews in Biotechnology*. 37, 1549-7801, **2015**.
7. Zhao H., Xia J., Wang J., Yan X., Wang C., Lei T., Xian M., Zhang H., Production of Bacterial Cellulose using Polysaccharide Fermentation Wastewater as Inexpensive Nutrient Sources, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32, 350-356, **2017**.
8. Araujo M.S., Silva R.R., Pacheco G., Lustrri W.R., Tercjak A., Gutierrez J., Junior J.R.S., Azevedo F. H.C., Figueredo G.S., Vega M.L., Ribeiro S.J.L., Barud H.S., Hydrothermal Synthesis of Bacterial Cellulose-Copper oxide Nanocomposites and Evaluation of Their Antimicrobial Activity, *Carbohydrate polymers*, 179, 1-29, **2017**.
9. Jorfi M., Foster E.J., Recent Advances in Nanocellulose for Biomedical Applications, *Journal Applied Polymer Science*, 13, 21-19, **2014**.
10. Gama M., Gatenholm P., Klemm D., Bacterial Nanocellulose: A Sophisticated Multifunctional Material. USA: CRC Press, Taylor & Francis Group, **2013**.
11. Bäckdahl H., Helenius G., Bodin A., Nannmark U., Johansson B.R., Risberg B., & Gatenholm P., Mechanical Properties of Bacterial Cellulose and Interactions with Smooth Muscle Cells, *Biomaterials*, 27, 2141-2149, **2006**.
12. Tang J., Bao L., Li X., Chen L., Hong F.F., Potential of PVA-doped Bacterial Nano-cellulose Tubular Composites for Artificial Blood Vessels. *Journal of Materials Chemistry*. 3, 8537-8547, **2015**.
13. Tang J., LiX., Bao L., Chen L., Hong F.F., Comparison of Two Types of Bioreactors for Synthesis of Bacterial Nanocellulose Tubes as Potential Medical Prostheses Including Artificial Blood Vessels, *Chemical Technology and Biotechnology*, 92, 1218-1228, **2016**.
14. Olyveira G.M., Costa L.M.M., Basmaji P., Physically Modified Bacterial Cellulose as Alternative Routes for Transdermal Drug Delivery, *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 3, 1-6, **2013**.
15. Ullah H., Wahid F., Santos H.A., Khan T., Advances in Biomedical and Pharmaceutical Applications of Functional Bacterial Cellulose-Based Nanocomposite, *Carbohydrate. Polymers*. 150, 330-352, **2016**.
16. Plackett D.V., Letchford K., Jackson J K., Burt H.M., A Review of Nanocellulose as a Novel vehicle for Drug Delivery, *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, 29, 105-118, **2014**.
17. Saska S., Barud HS., Gaspar A.M.M., Marchetto R., Ribeiro S.J.L., Messaddeq Y., Bacterial Cellulose-Hydroxyapatite Nanocomposites for Bone Regeneration, *International Journal of Biomaterials*, 1-8, **2011**.
18. Stoica A., Guzun M., Stroescu F., Tache T., Zaharescu E., Effect of Electron Beam Irradiation on Bacterial Cellulose Membranes Used as Transdermal Drug Delivery Systems, *Science Direct*, 265, 434-438, **2007**.
19. Fan X., Zhang T., Zhao Z., Zhao H., Zhang Q., Yan Y., L.V.G., Preparation and Characterization of Bacterial Cellulose Microfiber/goat Bone Apatite Composites for Bone Repair, *Int. Journal of Applied Polymer Science*, 129, 595-603, **2013**.
20. Mohammadi H., Nanocomposite Biomaterial Mimicking Aortic Heart Valve Leaflet Mechanical Behavior, *Journal of Engineering in Medicine*, 7, 718-722, **2011**.

21. Silveiraa F.A.S., Pinto F.C.M., Netoc S.S.C., Leal M.C., Cesario J., Aguiar J.L.A., Treatment of Tympanic Membrane Per Foration Using Bacterial Cellulose: A Randomized Controlled Trial. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 82, 203-208, **2015**.
22. Czaja W., Krystynowicz A., Bielecki S., Brown Jr R.M., Microbial Cellulose-the Natural Power to Heal Wounds, *Biomaterials*, 27,145-151, **2006**.
23. Kowalska-Ludwicka K., Cala J., Grobelski B., Modified Bacterial cCellulose Tubes for Regeneration of Damaged Peripheral Nerves, *Archives of Medical Science*, 9, 527-534, **2013**.
24. Moritz S., Wiegand C., Wesarg F., Hessler N., Müller F.A., Kralisch D., Hipler U., Fischer D., Active Wound Dressings Based on Bne, *International Journal Pharmaceutics*, 471, 45–55, **2014**.
25. Wanaa D., Alam C., Toivola D.M., Bacterial Cellulose- Kaolin Nanocomposites for Application as Biomedical Wound Healing Material. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 4, 1-4, **2013**.
26. Liyaskina E., Revin V., Paramonova E., Nazarkina M., Pestov N., Revina N., Kolesnikova S., Nanomaterials from bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. *Journal of Physics. Conference Series*, 1-7, **2017**.
27. Basmaji P., Nanoskin for Medical Application, Nano Science and Technology Institute, 3, 193-196, **2011**.
28. Fu L., Zhang J., Yang G., Present Status and Applications of Bacterial Cellulose-based Materials for Skin tissue Repair. *Carbohydrate Polymers*, 92, 1432– 1442, **2012**.
29. Aramwit P., The Characteristics of Bacterial Nanocellulose Gel Releasing Silk Sericin for Facial Treatment. *BMC Biotechnology*, 1-11, **2014**.
30. Courtenay G.S., Johns M.A., Galembeck F., Deneke C., Lanzoni E.M., Costa C.A., Scott J.L., Sharma R.I., Surface Modified Cellulose Scaffolds for Tissue Engineering. *Cellulose*, 24, 253–267, **2017**.
31. Parveen S., Krishnakumar K., Sahoo S.K., New Era in Health Care: Tissue Engineering. *Journal Stem Cells & Regenerative Medicine*, 18-24, 2006.
32. Barud H.S., Júnior A.M.A.,Saska S.,Mestieri L.B., Campos J.A.D.B.,Freitas R.M., Ferreira N.U.,Nascimento A.P.,Miguel F.G., Leite Vaz M.M.O., Barizon E.A., Marquele F., Gaspar A.M.M., Ribeiro S.J.L., Berretta A.A., Antimicrobial Brazilian Propolis (EPP-AF) Containing Biocellulose Membranes as Promising Biomaterial for Skin Wound Healing, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1-10, **2013**.
33. Andersson J., Stenhamre H., Bäckdahl H., Gatenholm P., and Behavior of Human Chondrocytes in Engineered Porous Bacterial Cellulose Scaffolds. *Journal of Biomedical*, 94, 1124–1132, **2010**.
34. Kirdponpattara S., Phisalaphong M., Kongruang S., Gelatin-Bacterial Cellulose Composite Sponges Thermally Cross-linked With Glucose Fortissue Engineering Applications. *Carbohydr.Polym.* 177, 361-368, **2017**.
35. Pichetha G.F., Pirich C.L., Sierakowski M.R., Woehl M.A., Sakakibaraa R.A.,Souza C.F., Martina A.A., Silvaa R., Freitas R.A., Bacterial Cellulose in Biomedical Applications: A review, *Int. J. Biol. Macromol.*, 97, 104–106, **2017**.
36. Cavicchioli M., Corso C.T., Coelho F., Saska M.S., Soares C.P., Souza F.O., Franchi L.P., Capote T.S.O., Scarel-Caminaga S.R., Messaddeq Y., Ribeiro S.J.L., Characterization and Cytotoxic, Genotoxic and Mutagenic Evaluations of Bacterial Cellulose Membranes Incorporated with Ciprofloxacin: Apotential Material for Use as Therapeutic Contact Lens, *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, 4, 1626-1647, **2015**.
37. Andresen M., Stenstad P., Mqretrq T., Langsrud S., Syverud K., Sisko L., Johansson L.S., Stenius P., Nonleaching Antimicrobial Films Prepared from Surface-Modified Microfibrillated Cellulose, *Biomacromolecules*, 8, 2149-2155, **2007**.
38. Rai M., Yadav A., Silver Nanoparticles as a New generation of Antimicrobials Mahendra, *Biotechnology Advances*, 27, 76–83, **2009**.
39. Berndt S., Wesarg F., Wiegana C., Kralisch D., Muller F.A., Antimicrobial Porous Hybrids Consisting of Bacterial Nanocellulose and Silver Nanoparticles, *Electronic Supplementary Material*, 20, 771-783, **2013**.
40. Ciechańska D., Multifunctional Bacterial Cellulose/ Chitosan Composite Materials for Medical Applications. *Institute of Chemical Fibres*, 12, 69-72, **2014**.

