بررسی اثر آنتی‌باکتریال نانوکمپلکس عصاره قارچ گانودرما+نقره برروی باکتری‌های *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *آسینتوباکتربومانی* و بررسی سمیت نانوکمپلکس بر رده‌ی سلولی ورو

فائزه شکوهی[۱]، مجید جمشیدیان مجاور[۲*]، حمید رضا فرزین[۲]، سیدالیاس طباطبایی‌زاده[۲]، سمیرا کدوغنی ثانی[۳]، محدثه امیری[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی بیوتکنولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.
۲- استادیار، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، مشهد، ایران.
۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.
۴- مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، مشهد، ایران.

دریافت مقاله: ۱۰ اردیبهشت ۱۴۰۱، بازنگری: ۲۰ خرداد ۱۴۰۱، پذیرش نهایی: ۲۴ خرداد ۱۴۰۱

چکیده

هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات آنتی‌باکتریال نانوکمپلکس عصاره قارچ گانودرما+نقره بر روی باکتری‌های ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی اعم از *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *آسینتوباکتر بومانی* پرداخته شده است. در پژوهش حاضر در ابتدا نانوذره نقره بر روی عصاره قارچ گانودرما بارگزاری شد. سپس جهت تأیید بارگزاری نانوذرات نقره برروی عصاره قارچ گانودرما تست‌هایی از قبیل FTIR و بررسی توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی انجام گرفت. سپس اثرات نانوکمپلکس برروی رده‌ی سلولی ورو بررسی شد تا سمیت این ترکیب بر روی سلول مشخص گردد همچنین خاصیت ضد باکتریایی نانوکمپلکس عصاره قارچ گانودرما+نقره برروی باکتری‌های *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *آسینتوباکتربومانی* بررسی گردید. نتایج MIC نانوکمپلکس عصاره قارچ+نقره بر باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *آسینتوباکتر بومانی* به‌ترتیب به میزان ۸۷۵، ۷۵، ۲۱۸، ۳۷۵، ۱۰۹، ۶۸ و ۵۴ مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که این کمپلکس اثر سمیت بر رده سلول یوکاریوتی ندارد. بنابراین سنتز نانوکمپلکس عصاره قارچ گانودرما+نقره می‌تواند در زمینه پزشکی و صنایع غذایی به‌عنوان عامل ضد میکروبی نوآورانه، اقتصادی و محیط زیست قابل استفاده باشد.

واژه‌های کلیدی: *قارچ گانودرما*، *نانوذره نقره*، *خاصیت ضد باکتریایی*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: m.jamshidian@rvsri ac.ir

مقدمه

یکی از مشکلات رایج در درمان بیماری‌های عفونی و عفونت‌های بیمارستانی در سرتاسر جهان درمان عفونت‌های باکتریایی با افزایش مقاومت آنها به آنتی‌بیوتیک‌های رایج می‌باشد (۱). باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در بیماری‌های عفونی سبب مرگ و میر چشمگیری در مقایسه با سایر باکتری‌های غیر مقاوم در سرتاسر جهان می‌شوند. در بین باکتری‌های گرم‌منفی شایع مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها در عفونت‌های گوناگون می‌توان به *سودوموناس*، *استینتوباکتر* و *انتروباکتریاسه* اشاره نمود و در بین باکتری‌های گرم‌مثبت شایع در ایجاد عفونت‌ها و مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توان به گونه‌های *استافیلوکوک*، *استرپتوکوک* و *انتروکوک* اشاره کرد (۲). امروزه مقاومت آنتی‌بیوتیکی به یک چالش مهم در درمان و کنترل بیماری‌های عفونی تبدیل شده است (۳). مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌عنوان یک تهدید برای سلامتی عمومی تلقی می‌گردد و تلاش در پی جایگزین کردن درمان‌های نو و خلاقانه در سراسر جهان در حال انجام است. از جمله درمان‌های نو می‌توان به استفاده از نانوذرات و یا استفاده از گیاهان دارویی سازگار با بدن انسان‌ها اشاره نمود (۴، ۵).

نانوذرات نقره به دلیل تاثیر ضد میکروبی بالایی که در برابر باکتری‌ها و ویروس‌ها دارند به‌عنوان یکی از نانوذرات پرکاربرد در عرصه‌های گوناگون مانند پزشکی و بیوتکنولوژی، شیمی مواد غذایی و کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶). افزایش استفاده از این نانوذره پرکاربرد به دلیل کاربردهای گوناگون آن در پزشکی مانند مقاومت آنتی‌بیوتیکی و کمبود اثربخشی بعضی از باکتری‌ها نسبت به طیفی از آنتی‌بیوتیک‌ها حائز اهمیت می‌باشد. استفاده از این نانوذرات باید به طور صحیح و در مقداری تعیین شده در درمان بیماری‌های عفونی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده گردد تا برای سلامتی بیمار خطر آفرین نباشد (۸). به سبب سهولت انجام کار با قارچ‌ها و فراوانی و همچنین سازگاری با محیط، امروزه مطالعات گوناگونی در زمینه اثر ضد میکروبی قارچ‌ها و نانوذرات انجام شده است. قارچ گانودرما به لحاظ دارا بودن خواص درمانی متعدد مانند کاهش قند خون، کاهش کلسترول خون، خواص آنتی‌اکسیدان، خواص ضد میکروبی و غیره به‌عنوان بهترین و موثرترین قارچ دارویی شناخته شده است. این قارچ یکی از مهم‌ترین قارچ‌های دارای خواص دارویی است که به شاخه بازیدیومیست‌ها تعلق دارد (۹).

هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات آنتی‌باکتریال نانوکمپلکس عصاره قارچ گانودرما +نقره برروی باکتری‌های ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی اعم از *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *آسینتوباکتر بومانی* پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

بارگزاری نانوذره نقره بر عصاره قارچ گانودرما: جهت بارگزاری نانوذره نقره بر عصاره قارچ گانودرما ابتدا ۲۵ گرم قارچ گانودرما با ۱۰۰ سی‌سی آب استریل فیلتر شد سپس۰/۸۳ گرم از نیترات نقره (مرک_آلمان) با ۱۰۰سی‌سی آب مقطر مخلوط شد و مقدار ۰/۵ سی‌سی از نقره با ۹/۵ سی‌سی عصاره قارچ به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار داده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ (اپندورف آلمان) شد و پس از چند بار شستشو از رسوب حاصله برای انجام تست‌های تعیین حساسیت استفاده گردید. به‌منظور بررسی ترکیبات آلی احتمالی موجود در عصاره قارچ گانودرما از دستگاه سنجی مادون قرمز (FT-IR، ساخت کشور آلمان) و جهت اندازه‌گیری ابعاد و اشکال نانوذرات به دست آمده از

میکروسکوپ الکترونی روبشی (FE-SEM ، ساخت کشور چک) استفاده گردید.

سویه‌های باکتریایی و روش بررسی اثر نانوذرات نقره و قارچ بر آنها: در این مطالعه اثر ضد میکروبی نانوکمپلکس قارچ نقره بر روی سوش‌های استاندارد (انستیتو پاستور ایران)، *استرپتوکوکوس پیوژنز* (ATCC 19615)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC: 6538)، سوش استاندارد *سودوموناس آئروژینوزا* ATTCC: 27853) و سوش استاندارد *آسینتوباکتر بومانی* (ATCC:BAA-747) به روش میکرودایلوشن و هاله عدم رشد (چاهک) مورد بررسی قرار گرفت.

همچنین جهت بررسی اثر عصاره قارچ +نقره برروی رشد و تکثیر سلول‌ها از روش رنگ سنجی MTT استفاده شد. این روش بر اساس شکستن نمک تترازولیوم توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های زنده انجام می‌شود که نتایج حاصله به‌صورت میزان بقایای سلولی و غلظتی که سبب مهار رشد سلولی تا میزان ۵۰ درصد می‌شود که به‌عنوان IC۵۰ لحاظ می‌گردد.

روش تهیه محلول سوسپانسیون میکروبی: آمپول‌های لیوفیلیزه باکتری ابتدا در شرایط سترون باز و به محیط کشت مایع مولر هینتون براث (مرک_آلمان) انتقال داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. از سوسپانسیون به‌دست آمده برای انجام آزمون میکرودایلوشن و هاله عدم رشد (چاهک) استفاده گردید.

تعیین MIC به روش میکرودایلوشن: در این روش از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای مسطح استریل استفاده گردید. بعد از درست کردن کدورت نیم مک فارلند باکتری‌های مورد مطالعه، درون هر ردیف از شماره‌های ۲ تا ۱۱ مقدار ۵۰ ماکرولیتر محیط مولرهینتون براث (مرک-آلمان) استریل ریخته شد. از شماره ۲ تا ۹ به تمام چاهک‌ها مقدار ۵۰ ماکرولیتر از عصاره قارچ +نقره پاساژ داده شد و به تمام چاهک‌های شماره ۱ تا ۱۰ مقدار ۵۰ ماکرولیتر سوسپانسیون میکروبی اضافه شد، سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در داخل انکوبه شدند. بعد از گذشت این زمان میکروپلیت‌ها از انکوباتور خارج و هم به صورت چشمی و هم توسط دستگاه قرائت‌گر الایزا در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت گردیدند. چاهکی که مانع رشد باکتری مورد نظر گردیده بود به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد.

تعیین MBC: جهت مشخص کردن MBC از چاهک‌ها مقدار ۱ ماکرولیتر برداشته و به محیط مولرهینتون آگار (مرک-آلمان) انتقال داده و کشت داده شدند. عدم رشد باکتری در هر غلظت نشان‌دهنده‌ی MBC می‌باشد.

انتشار در چاهک: در این روش سوسپانسیون میکروبی را در سطح پلیت آگار طوری پخش نموده که به‌طور یکنواخت تمام سطح پلیت را بپوشاند. سپس یک سوراخ با قطر ۸-۶ میلی‌متر در شرایط استریل با پانچ استریل در روی پلیت ایجاد شد، غلظت معین عامل ضد میکروبی تهیه شده و داخل حفره‌ها ریخته شد.

پلیت‌ها را به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور قرار داده و سپس نتیجه بر اساس هاله‌های ایجاده شده اطراف حفره‌ها بررسی می‌شود.

تست MTT: جهت انجام این تست ابتدا سوسپانسیون سلولی از رده‌ی سلولی ورو در ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت DMEM داخل پلیت ۹۶ خانه کشت داده شد. میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند، پس از طی مدت زمان انکوباسیون میکروپلیت را در زیر میکروسکوپ بررسی نموده تا از اتصال سلول‌ها به کف میکروپلیت اطمینان حاصل نمائیم. از ردیف اول میکروپلیت

به‌عنوان شاهد و از ردیف دوم به‌عنوان کنترل استفاده شد.

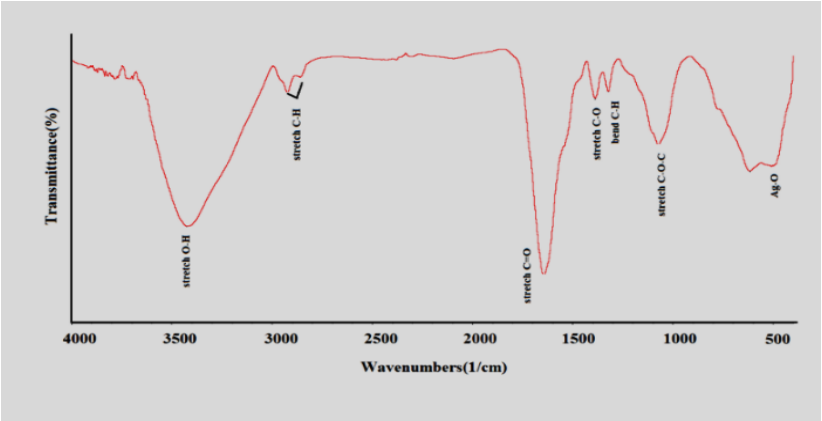
در این پژوهش از غلظت‌های 10^{-1} تا 10^{-8} میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌ی قارچ و نانوذره تهیه شد و میکروپلیت را به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید پس از طی مدت زمان مذکور محیط کشت درون پلیت ۹۶ خانه‌ای تخلیه گردید و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت فاقد FBS (سرم جنین گاو) به همراه ۱۵ میکرولیتر محلول MTT اضافه شد و پلیت به مدت ۴ ساعت درون انکوباتور انکوبه گردید. پس از اتمام مدت زمان انکوباسیون محیط‌های درون گوده‌های پلیت تخلیه شد و به هر گوده‌ی پلیت ۹۶ خانه به میزان ۲۰۰ میکرولیتر (Dimethyl sulfoxide) DMSO اضافه شد و جذب سلول‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه قرائت گر الایزا (Biotek.USA) خوانده شد.

نتایج

طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریر

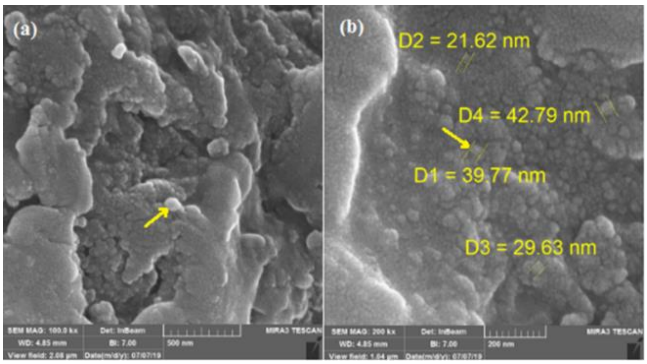
(FTIR): طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریر FTIRابزاری قدرتمند برای مطالعات بیولوژیک است. پیک‌های نشانگر مورد بحث از انجام یک سری معادلات ریاضی برروی طیف FTIR به‌منظور کسب منحنی دوز پاسخ حاصل شده و با روشی سریع و ساده اطلاعات فارماکولوژیک و توکسیکولوژی کمی را فراهم آورده است (شکل شماره ۱).

نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز اجزای اصلی سازنده عصاره قارچ +نقره را نشان می‌دهد. آنالیز FT-IR به‌منظور بررسی گروه‌های عاملی در ساختار و بررسی تغییرات پس از اصلاح ساختار انجام می‌گیرد. طیف IR نمونه عصاره قارچ گانودرما/ذرات نقره در شکل ۱ نشان داده شده است. پیک پهن در ناحیه 3422 cm-1 مربوط به ارتعاشات کششی O-H می‌باشد. پیک مشاهده شده در ناحیه 2924 cm-1 ناشی از ارتعاشات کششی C-H می‌باشد. پیک‌های موجود در ناحیه 1500-1700 cm-1 از نمونه قارچ گانودرما به ارتعاشات پیوند آمیدی اشاره دارد که ناشی از ساختار پروتئینی است. باند مشاهده شده در ناحیه 1644 cm-1 و ۱۵۳۸ به ارتعاشات کشش C=O و نیز ارتعاشات خمشیN-H مربوط است. پیک‌های دوتایی مشاهده شده در ناحیه ۴۰۰-۹۰۰ به ساختار کربوهیدراتی نمونه بر می‌گردد. پیک در ناحیه 1389 cm-1و ۱۳۲۲و ۱۰۷۲به‌ترتیب به ارتعاش کششی C-O و ارتعاش خمشی C-H و ارتعاش کششی C-O-C اشاره دارد. مشاهدات تأیید می‌کند که گروه‌های عاملی C=O و O-H مسئول تولید نانوذرات نقره هستند. پیک تیز در ناحیه 450-550 cm-1 مربوط به ارتعاش کششی Ag-O می‌باشد.



شکل ۱- طیف‌سنجی مادون قرمز اجزای اصلی سازنده عصاره قارچ+نقره

نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی FE-SEM: نمونه سنتزی در شکل ۲ نشان داده شده است. شکل ۲a نانوذرات نقره را با مورفولوژی ذره‌ای نشان می‌دهد که در شکل با فلش زردرنگ مشخص شده و در میان گونه زیستی با مورفولوژی صفحه‌ای قرار گرفته است. نتایج حاصل از شکل SEM در شکل ۲b نشان می‌دهد که ذرات نقره سنتزی دارای اندازه در محدوده ۴۵-۲۰ نانومتر می‌باشد (شکل ۲).



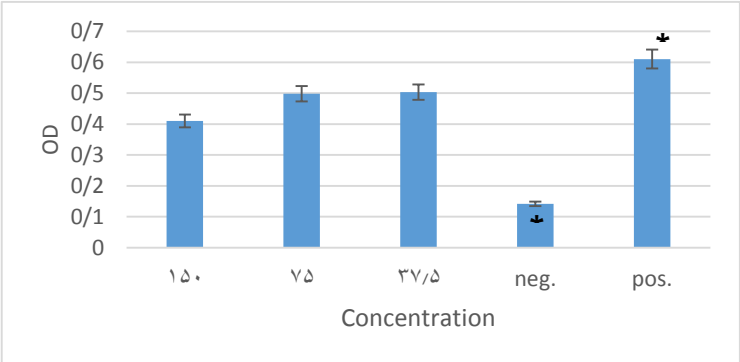
شکل ۲- نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی FE-SEM

نتایج MTT: برای بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره قارچ +نقره بر رده‌های سلولی مختلف از نرم‌افزار SPSS و تست آماری ANOVA استفاده شد.

برای بررسی اثر کشندگی نانوکمپلکس بر رده سلولی ورو آزمایش با سه بار تکرار انجام شد. نتایج تحلیل آماری نشان داد که سطح معناداری برای عصاره قارچ +نقره کمتر از ۰/۰۵ بود و بنابراین عصاره قارچ+نقره اثر کشندگی بر سلول‌ها نداشتند. نتایج در ادامه بیان شده است (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج آنالیز عصاره قارچ+نقره بر رده‌ی سلولی با استفاده از نرم‌افزار SPSS

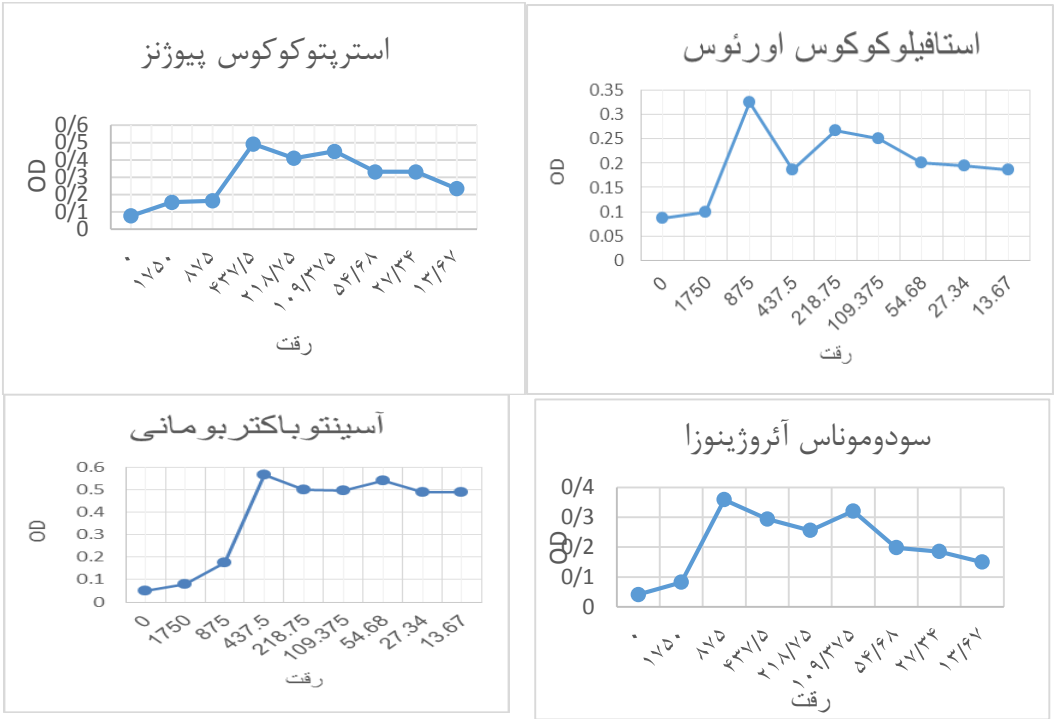
OD	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.377	4	.094	17.046	.000
Within Groups	.055	10	.006		
Total	.432	14			



نمودار ۱- نتایج تاثیر عصاره قارچ+نقره برروی رده سلولی در غلظت‌های مختلف به همراه گروه کنترل

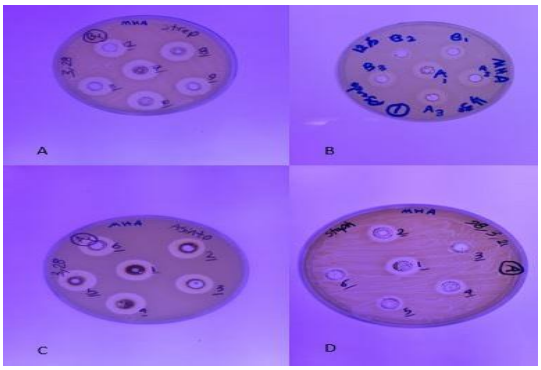
نتایج MIC به روش میکرودایلوشن: MIC سوش باکتری‌ها به روش میکرودایلوشن تعیین شد. چاهک‌های شماره ۱ که حاوی باکتری است به‌عنوان کنترل منفی و چاهک‌های شماره ۱۱ که حاوی محیط است به‌عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد.

نتایج MBC: برای تعیین MBC، بعد از تعیین MIC (آخرین چاهک شفاف)، رقت‌های قبل و بعد از آن برروی محیط مولر هینتون آگار (مرک-آلمان) منتقل و کشت داده شد. بعد از زمان انکوباسیون اولین رقتی که در پلیت آگار رشدی نداشته باشد به‌عنوان MBC گزارش می‌شود که نتایج آن بدین‌گونه دیده شد، مقدار MIC باکتری *استافیلوکوکوس اروئوس* در غلظت ۸۷۵ و در غلظت ۲۱۸/۷۵ مقدار MBC، مقدار MIC باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* در غلظت ۴۳۷/۵ و در غلظت ۱۰۹/۳۷۵ مقدار MBC، مقدار MIC باکتری *آسینتوباکتر بومانی* در غلظت ۴۳۷/۵ و در غلظت ۵۴/۶۸ مقدار MBC، مقدار MIC باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* در غلظت ۸۷۵ و در غلظت ۱۰۵/۳۷۵ مقدار MBC تعیین گردید.



نمودار ۲- نتایج MIC و MBC برای باکتری‌های *استرپتوکوکوس پایوژنز*، *سودوموناس آئروژینوزا* ، *آسینتوباکتر بومانی* و *استافیلوکوکوس اروئوس*

نتایج انتشار در چاهک سویه‌های مورد مطالعه:



شکل ۳- انتشار در چاهک: هاله‌ی عدم رشد باکتری‌های: *استرپتوکوکوس پیوژنز* (A)، *سودوموناس آئروژینوزا* (B)، *آسینتوباکتر بومانی* (C) و *استافیلوکوکوس اروئوس* (D)

بحث

باکتری‌های مقاوم در برابر داروهای رایج در درمان عفونت‌های گوناگون یک مشکل جدی در سلامت عمومی در سرتاسر جهان است. گسترش ظهور مقاومت در باکتری‌ها و هزینه‌های بالای داروهای ضد میکروبی، پژوهشگران را تشویق به جستجو برای داروهای با طیف گسترده با خاصیت ضد باکتری و مؤثر و اقتصادی می‌کند. بنابراین، توسعه ترکیبات قوی ضد میکروبی جدید بسیار مهم است (۱۰).

نتایج این پژوهش نشان داد که نانوکمپلکس عصاره قارچ +نقره بر روی باکتری‌های بیماری‌زا خاصیت ضد باکتری دارد. میزان نتایج MIC نانوکمپلکس عصاره قارچ+نقره بر باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *آسینتوباکتر بومانی* به‌ترتیب میزان ۸۷۵، ۷۵، ۲۱۸، ۳۷۵، ۱۰۹، ۶۸ و ۵۴ مشاهده شد.

نانوکمپلکس عصاره قارچ+نقره بیشترین اثر کشندگی را بر باکتری *آسینتوباکتربومانی* داشته است. همچنین نتایج آنالیزهای MTT نشان داد که نانوکمپلکس عصاره قارچ+نقره برروی رده سلول‌های یوکاریوتی خاصیت کشندگی و اثر سمیت ندارد.

مفاخری و همکاران در سال ۲۰۱۹ در قزوین به بررسی تولید زیستی و اثر ضد باکتریایی نانوذرات نقره تولید شده به‌وسیله عصاره متانولی گیاه دارویی میخک هندی پرداختند. در این مطالعه اثر ضد باکتری و ضد قارچی نانوذرات نقره تولید شده به دو روش دیسک و چاهک مورد آزمایش قرارگرفت و برای برای تأیید تولید نانوذرات نقره از دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج 300 تا 600 نانومتر استفاده شد. همچنین به‌منظور بررسی (SEM) ابعاد و شکل نانوذرات از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شده بود. نتایج حاصل از FTIR نشان داد که ترکیبات آلی احتمالی در سنتز نانوذرات دخالت دارند همچنین نانوذرات تولید شده به‌وسیله عصاره متانولی میخک هندی، کروی بوده و در محدوده ۲۷ تا ۶۹ نانومتر قرار داشتند و نانوذرات تولید شده، فعالیت ضد میکروبی مؤثری علیه باکتری‌های این پژوهش داشته است (۱۱).

اعظمی و همکاران در سال ۲۰۱۸ در شاهرود به بررسی تولید و بررسی خواص آنتی‌باکتریال نانو ذرات نقره توسط قارچ Fusarium oxysporum در شرایط مختلف محیطی پرداختند. در این مطالعه خواص آنتی‌باکتریال نانوذرات روی باکتری‌های *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* بررسی شد. در این مطالعه توسط اسپکتروفتومتر، میکروسکوپ الکترونی عبوری و پراش اشعه ایکس ویژگی‌ها و اندازه نانوذرات تولید شده بررسی و تایید شد. نتایج اسپکتروفتومتری بدین‌صورت بود که نانوذرات نقره دارای حداکثر پیک جذب در حدود طول موج ۴۰۰ - ۴۵۰ بودند. عکس‌های TEM حاکی از شکل کروی، مثلثی چند ضلعی نانوذرات بودند (۱۲).

Shamkar و همکاران در سال ۲۰۰۴ از عصاره گیاه چریش جهت سنتز نانوذرات نقره در مطالعه‌ی خود استفاده کردند. اندازه نانوذرات در مطالعه‌ی Shamkarبین۵ تا ۳۵ نانومتر و شکل نانوذرات کروی گزارش گردیده است (۱۳).

نتیجه‌گیری

با توجه به افزایش مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، لزوم جستجو برای ترکیبات جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها احساس می‌شود. قارچ گانودرما به لحاظ دارا بودن خواص درمانی متعدد به‌عنوان بهترین و موثرترین قارچ دارویی نامگذاری شده است و بر روی طیف گسترده‌ای از گونه‌های گرم مثبت و منفی تأثیرگذار می‌باشد. کمپلکس عصاره قارچ+نقره بر باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*،

استافیلوکوکوس اورئوس، *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *آسینتوباکتر بومانی* خاصیت آنتی‌باکتریال داشت. نتایج مطالعه حاضر فعالیت آنتی‌باکتریایی کمپلکس عصاره قارچ+نقره را نشان می‌دهد و از طرفی نتایج نشان داد که این کمپلکس اثر سمیت بر رده سلولی یوکاریوتی ندارد. بنابراین سنتز نانوکمپلکس عصاره قارچ گانودرما+نقره می‌تواند در زمینه پزشکی و صنایع غذایی به‌عنوان عامل ضد میکروبی نوآورانه، اقتصادی و محیط زیست قابل استفاده باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان از کارکنان آزمایشگاه تحقیقات مؤسسه"تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی"شعبه شمال شرق کشور که از هیچ کوششی در راستای انجام این مطالعه دریغ ننمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1- Babypadmini S, Appalaraju B. Extended spectrum β-lactamases in urinary isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*-prevalence and susceptibility pattern in a tertiary care hospital. *Indian Journal of medical microbiology*. 2004; 22(3): 172-4.

2- Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *American journal of infection control*. 2006; 34(5): 20-8.

3- Bhatta DR, Hamal D, Shrestha R, Supram HS, Joshi P, Nayak N, Gokhale S. Burden of multidrug resistant respiratory pathogens in intensive care units of tertiary care hospital. *Asian Journal of Medical Sciences*. 2019; 10(2): 14-9.

4- Amiri M, Jajarmi M, Ghanbarpour R. Prevalence of resistance to quinolone and fluoroquinolone antibiotics and screening of qnr genes among Escherichia coli isolates from urinary tract infection. *International Journal of Enteric Pathogens*. 2017; 5(4): 100-5.

5- Mandal C, Sahu M. Application of Metal and Metal Oxide Nanoparticles as Potential Antibacterial Agents. InNanomaterials and Nanocomposites for Environmental Remediation. 2021: 121-140.

6- Gholami A, Arabestani MR, Ahmadi M. Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanol extracts of Allium Jesdianum plant on a number of pathogenic bacteria resistant to antibiotics. *Pajouhan Scientific Journal*. 2016; 14(4): 18-26. [In Persian]

7- Caratto V, Ball L, Sanguineti E, Insorsi A, Firpo I, Alberti S, Ferretti M, Pelosi P. Antibacterial activity of standard and N-doped titanium dioxide-coated endotracheal tubes: an in vitro study. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*. 2017: 55-62.

8- Kołodziejczak-Radzimska A, Jesionowski T. Zinc oxide—from synthesis to application: a review. *Materials*. 2014; (4): 2833-81.

9- Moghaddam K. An introduction to microbial metal nanoparticle preparation method. *Journal of Young Investigators*. 2010; 19(1).

10- Keypour S, Riahi H, Rafati H. A Review on the Biological Active Compounds and Medicinal Properties of Ganoderma lucidum. *Journal of Medicinal Plants*. 2013; 12(46): 13-24. [In Persian]

11- Kadoughani SS, Jamshidian MM, Farzin HR, Amiri M. Investigation of the effect of fungal and copper nanocomplexes on bacteria causing nosocomial infections. [In Persian]

12- Ahmed AA, Hamzah H, Maaroof M. Analyzing formation of silver nanoparticles from the filamentous fungus Fusarium oxysporum and their antimicrobial activity. *Turkish Journal of Biology*. 2018; 42(1): 54-62.

13- Shankar SS, Rai A, Ahmad A, Sastry M. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (Azadirachta indica) leaf broth. *Journal of colloid and interface science*. 2004; 275(2): 496-502.

Antibacterial effect of Ganoderma+silver nanocomplex extract on *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* and Evaluation of nanocomplex toxicity on Vero cell line

Faezeh Shokouhi[1], Majid Jamshidian mojaver[2]*, Hamid Reza Farzin[2], Seyed-Elias Tabatabaeizadeh[2], Samira Kadughani Sani[3], Mohadeseh Amiri[4]

1- Graduated of Biotechnology, Faculty of Basic Sciences, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.
2- Assistant professor, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad Branch, Mashhad, Iran.
3- Master of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
4- Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad Branch, Mashhad, Iran.

Accept: April 30, 2022, Receive: June 10, 2022, Revise: June 14, 2022

Summary

The aim of this study was to investigate the antibacterial effects of Ganoderma+silver extract complex nanocomplex on bacteria causing nosocomial infections including *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. In the present study, silver nanoparticles were first loaded on Ganoderma extract. Then, tests such as FTIR and scanning electron microscopy were performed to confirm the loading of silver nanoparticles on Ganoderma extract. Then, the effects of nanocomplexes on Vero cell line were investigated to determine the toxicity of this compound on the cell. Also, the antibacterial properties of nanocomplexes of Ganoderma+silver extract on the studied bacteria were investigated. The MIC results of the fungus+silver nanocomplex were observed on *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* and *Acinetobacter baumannii* at 875, 218.75, 109.375 and 54.68, respectively**.** The results of this study showed that this complex has no toxic effect on eukaryotic cell line. Therefore, the synthesis of Ganoderma+silver nanocomplex can be used in medicine and food industry as an innovative, economical and environmental antimicrobial agent**.**

Key words: *Ganoderma fungus, silver nanoparticles, antibacterial properties*