بررسی تاثیر نانو کمپلکس قارچ و مس بر روی باکتری‌های ایجاد کننده‌ی عفونت بیمارستانی

سمیرا کدوغنی ثانی[۱]، مجید جمشیدیان مجاور[۲*]، حمیدرضا فرزین[۲]، محدثه امیری[۴]

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

دریافت مقاله: ۲۵ تیر ۱۳۹۹، بازنگری: ۵ شهریور ۱۳۹۹، پذیرش نهایی: ۲۵ شهریور ۱۳۹۹

چکیده

عفونت بیمارستانی یکی از عمده‌ترین و اساسی‌ترین مشکلات درمانی در تمام بیمارستان‌ها تلقی می‌گردد و به طور میانگین ۵ تا ۱۰ درصد بیماران بستری را درگیر می‌نماید. از عوامل تشدید کننده‌ی عفونت بیمارستانی می‌توان به استفاده‌ی مکرر از ابزارها و همچنین تماس‌های پی‌درپی با کادر درمانی اشاره نمود. در این مطالعه اثرات ضد باکتریایی نانوذرات مس با استفاده از عصاره‌ی آبی قارچ *گانودرما لوسیدوم* بر روی سوش‌های استاندارد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اسینتوباکتر بومانی* و *استرپتوکوکوس پایوژنز* و *سودوموناس آئروژینوزا* که عامل ایجاد کننده‌ی عفونت‌های بیمارستانی می‌باشند مورد بررسی قرار گرفت. جهت اندازه‌گیری ابعاد و شکل نانو ذرات مس از میکروسکوپ الکترونی استفاده گردید. همچنین جهت بررسی ترکیبات آلی احتمالی که در سنتز نانو ذرات امکان دخالت را داشتند آنالیز طیف‌سنجی مادون قرمز انجام شد. جهت مشاهده‌ی میزان اثربخشی این نانوکمپلکس تست MTT بر روی دو رده‌ی سلولی vero و رده‌ی سلولی فیبروبلاست929 L صورت پذیرفت. نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی این پژوهش نشان داد که نمونه عصاره دارای مورفولوژی کاملاً یکنواخت می‌باشد. نانو ذرات مس کروی و در محدوده ۳۰-۲۰ نانومتر می‌باشند. همچنین در بررسی تست mtt آزمون ANOVA نشان داد که مقدار Sig برابر صفر است که نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میان غلظت‌های مختلف و نمونه‌های شاهد مثبت و منفی است. طبق نتایج این مطالعه نانو کمپلکس قارچ و مس دارای اثر ضد باکتریایی قوی علیه باکتری‌های مولد عفونت‌های بیمارستانی بوده است.

واژگان کلیدی: *سوش‌های استاندارد باکتریایی، قارچ گانودرما لوسیدوم، عفونت بیمارستانی، نانو ذرات مس*

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

مقدمه

به طور کلی عفونت‌های بیمارستانی به آن دسته از عفونت‌هایی گفته می‌شود که در زمان پذیرش بیماران به مراکز درمانی در فرد وجود نداشته و پس از مراجعه، به آن عفونت به طور اکتسابی از بیمارستان دچار شده است. عفونت‌های بیمارستانی اغلب پس از ۷۲ ساعت از مراجعه‌ی بیمار به مراکز درمانی تظاهر می‌نماید (۱). میزان شیوع عفونت‌های بیمارستانی در بخش‌های گوناگون بیمارستان متفاوت می‌باشد و در بخش مراقبت‌های ویژه میزان شیوع ۵ تا ۱۰ برابر بیشتر از شیوع عفونت در بخش‌های دیگر می‌باشد (۲). از عمده‌ترین و حساس‌ترین محل‌های ایجاد عفونت‌های بیمارستانی می‌توان به سیستم ادراری، سیستم تنفسی و جریان خون اشاره نمود (۳). عفونت‌های بیمارستانی می‌توانند در اثر متقابل و ارتباط با کادر درمانی بیمارستان، بیماران مبتلا به عفونت‌های گوناگون، لوازم و تجهیزات آلوده و همچنین باکتری‌هایی از قبیل *استرپتوکوکوس پایوژنز*، *اسینتوباکتر بومانی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اینتروباکترها* و *انتروکوک‌ها* اشاره نمود (۴). امروزه مقاومت آنتی‌بیوتیکی یکی از معضلات و مشکلات و همچنین یکی از چالش‌های مهم در درمان و کنترل بیماری‌های عفونی و عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد (۵). گسترش روز افزون علم نانوتکنولوژی، فرصت‌های نو و جدیدی را برای کشف تأثیرات ضد باکتریایی نانو ذرات فلزی ایجاد کرده است (۶). از مزایای مواد ضد باکتری معدنی نسبت به مواد ضد باکتری آلی می‌توان به دارای پایداری فوق‌العاده، سمیت کمتر، قابلیت انتخاب گسترده و مقاوم در برابر حرارت آنها اشاره کرد (۷).

نانو ذره اکسید روی با ایجاد مکانیسم‌های ضد میکروبی مانند القای استرس اکسیداتیو به دلیل تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال که واکنش رادیکال‌ها با اجزایی مانند پروتئین‌ها و لیپیدها سبب مرگ سلول باکتریایی می‌شود و یا با از بین بردن آرایش غشا سبب بروز و تجمع در میکروارگانیسم‌ها می‌شوند (۸).

هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات آنتی‌باکتریال نانوکمپلکس عصاره قارچ گانودرما و مس بر روی باکتری‌های *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *آسینتوباکتر بومانی* و همچنین بررسی سمیت نانو کمپلکس بر رده‌ی سلولی ورو و رده‌ی سلولی فیبروبلاست L 929 می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره آبی قارچ گانودرما: جهت تهیه عصاره‌ی آبی این قارچ به میزان ۲۵ گرم قارچ *گانودرما* توسط هاون چینی خرد نموده تا به قطعات کوچک در بیاید سپس به میزان ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر به آن اضافه گردید، محلول فوق را به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده و پس از طی این مدت آن را از کاغذ صافی عبور می‌دهیم. جهت استریل نمودن محلول به‌دست آمده آن را اتوکلاو می‌نماییم.

سنتز نانو ذره مس و قارچ گانودرما: جهت تهیه عصاره قارچ و مس ۰/۸۳ گرم ازمس با ۱۰۰سی‌سی آب مقطر مخلوط کرده و مقدار ۰/۵ سی‌سی از مس را با ۹/۵ سی‌سی عصاره آبی قارچ به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شد. محلول حاصل را به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ (اپندورف-آلمان) کرده و پس از چند بار شستشو از رسوب حاصل برای انجام تست‌های تعیین حساسیت استفاده گردید.

به منظور تأیید تولید نانو ذره مس و اندازه‌گیری ابعاد و شکل نانو ذرات مس از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM (ساخت کشور چک) و همچنین از دستگاه FTIR (ساخت کشور آلمان)

استفاده شد.

تست MTT: جهت بررسی اثر عصاره قارچ + مس بر روی رشد و تکثیر سلول‌ها از روش رنگ‌سنجی MTT استفاده گردید. این متد تشخیص حساس، کمی و قابل اعتماد برای اندازه‌گیری میزان زنده بودن، تکثیر و فعالیت سلول‌ها می‌باشد. اساس این تست شکسته شدن نمک زرد رنگ تترازولیوم توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های زنده و تولید بلورهای بنفش رنگ و نا محلول فورمازان است. هر چه تعداد سلول‌های زنده بیشتر باشد شدت رنگ تولید شده بیشتر خواهد بود و بر عکس (۹).

در این پژوهش جهت سنجش سمیت سلولی از آزمون MTT استفاده گردید. جهت انجام این تست ابتدا سوسپانسیون سلولی از رده‌ی سلولی فیبروبلاست929 L در ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت DMEM (Grand Island, NY) 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 به عنوان شاهد و از ردیف دوم به عنوان کنترل استفاده شد.

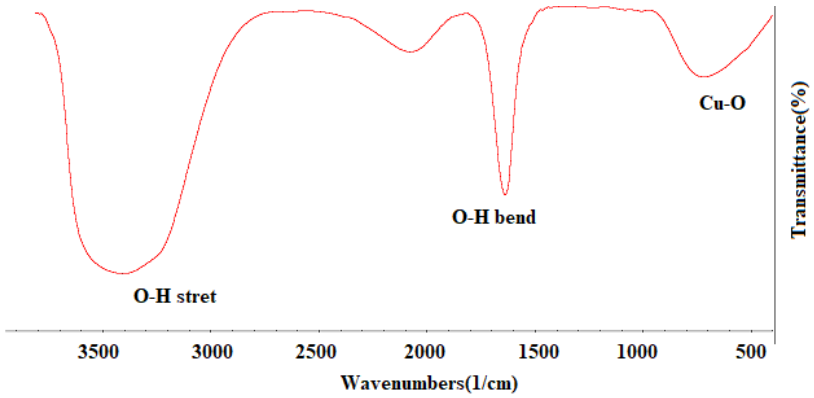
در این پژوهش از غلظت‌های 10^{-1} تا 10^{-8} میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌ی قارچ و نانو ذره تهیه شد و میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید پس از طی مدت زمان مذکور محیط کشت درون پلیت ۹۶ خانه‌ای تخلیه گردید و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت فاقد FBS (سرم جنین گاو) به همراه ۱۵ میکرولیتر محلول MTT اضافه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

نتایج

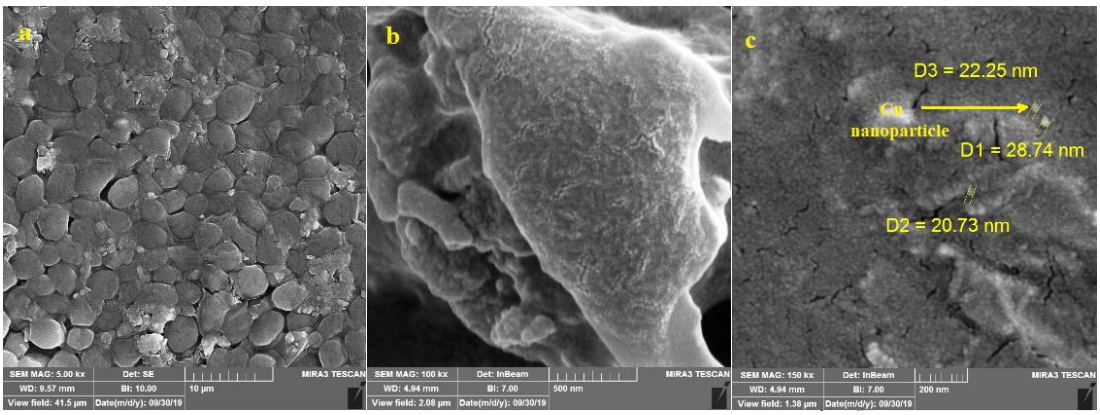
نتایج آنالیز FT-IR: به منظور شناسایی گروه‌های عاملی، ساختار شیمیایی و نیز برهمکنش‌های بین اجزای کامپوزیتی، آنالیز FT-IR به‌کار گرفته شد. طیف IR نمونه عصاره قارچ گانودرما/مس کلرید در شکل ۱ نشان داده شده است. ارتعاش کششی هیدروکسیلی O-H که ناشی از آب جذب سطحی شده در نمونه است، در cm^{-1} ۳۴۰۸ دیده می‌شود و ارتعاش خمشی آن در cm^{-1} ۱۶۳۸ قابل شناسایی است. از آنجا که ارتعاشات فلز-اکسیژن در نواحی cm^{-1} ۴۰۰-۷۵۰ قرار می‌گیرند پیک مشاهده شده در cm^{-1} ۷۱۸ به ارتعاش کششی مس- اکسیژن نسبت داده می‌شود. عدم حضور پیک‌های مربوط به قارچ احتمالاً به درصد کمتر آن در نمونه کامپوزیتی مربوط است.

نتایج میکروسکوپ الکترونی FE-SEM

روبشی: تصاویر SEM نمونه عصاره قارچ گانودرما/مس کلرید را نشان می‌دهد. همان‌طور که از شکل ۲ مشاهده می‌شود، نمونه عصاره درای مورفولوژی کاملاً یکنواخت می‌باشد. شکل ۲b، حضور نانو ذرات مس را نشان می‌دهد که طبق نتایج به‌دست آمده در محدوده ۳۰-۲۰ نانومتر است.



شکل۱- طیف FT-IR نمونه کامپوزیتی



شکل ۲- تصاویر SEM از نمونه کامپوزیتی با بزرگ نمایی‌های متفاوت

نتایج MTT: آزمون ANOVA نشان داد که مقدار Sig برابر صفر است که نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میان غلظت‌های مختلف و نمونه‌های شاهد مثبت و منفی است (P<0.05).

جدول شماره ۱- نتیجه تست MTT بر روی رده‌ی سلولی فیبروبلاست L 929

OD	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.050	4	.012	83.029	.000
Within Groups	.001	10	.000		
Total	.051	14			

جدول شماره ۲- نتیجه تست MTT روی رده‌ی سلولی vero

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			

بحث

مقاومت میکروارگانیسم‌ها در برابر داروهای رایج مورد استفاده در درمان عفونت‌های گوناگون یک مشکل جدی در سلامت عمومی در سراسر جهان است. گسترش روز افزون ظهور مقاومت در باکتری‌ها و همچنین هزینه‌های بالای داروهای ضد میکروبی در درمان عفونت‌های میکروبی، محققان را تشویق به جستجو برای داروهای با طیف وسیع و خاصیت ضد باکتری قوی‌تر و مؤثر و مقرون به صرفه‌تر می‌کند. بنابراین، توسعه ترکیبات قوی ضد میکروبی جدید بسیار مهم است (۱۰).

نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی این پژوهش نشان داد که نمونه عصاره دارای مورفولوژی کاملاً یکنواخت می‌باشد. نانو ذرات مس کروی و در محدوده ۳۰-۲۰ نانومتر می‌باشند. همچنین در بررسی تست mtt آزمون ANOVA نشان داد که مقدار Sig برابر صفر است که نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میان غلظت‌های مختلف و نمونه‌های شاهد مثبت و منفی وجود دارد. همچنین نانو کمپلکس قارچ و مس دارای اثر ضد باکتریایی نسبتاً قوی علیه باکتری‌های مولد عفون های بیمارستانی بوده است.

یوسفی و همکاران در سال ۲۰۱۳ در اصفهان به بررسی میزان اثر آنتی‌باکتریال نانو ذرات مس بر روی سوش‌های باکتریایی و استاندارد در عفونت‌های بیمارستانی پرداختند. آنها در این پژوهش اثر نانو ذره مس را بر روی باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *کلبسیلا*، *استافیلوکوکوس آرئوس* و *انتروکوکوس فکالیس* مورد بررسی قرار دادند . آنالیز جهت تأیید شکل‌گیری نانو ذرات و همچنین تشخیص اشکال نانو ذرات صورت پذیرفت. در آنالیز نانو ذرات مس با روش تبخیر قوس الکتریکی قطر به‌دست آمده نانو ذرات ۲۰ نانومتر مشاهده گردید. همچنین نتایج به‌دست آمده در این پژوهش نشان داد که سویه‌های *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس آرئوس* دارای حساسیت نسبت به نانو ذرات مس می‌باشند (۱۱).

روپارلیا و همکاران در سال ۲۰۰۸ به بررسی تأثیر آنتی میکروبی نانو ذرات مس و نقره بر سه سوش *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس آرئوس* و *باسیلوس سابتیلیس* پرداختند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که نانو ذرات مس دارای توان کمتری نسبت به نانو ذرات نقره در مقابله با رشد باکتری‌ها بودند (۱۲).

دهقان نیری و همکاران در سال ۲۰۱۷ در قزوین به بررسی اثر ضد باکتری و ضد قارچی نانو ذرات نقره تولید شده با استفاده از عصاره آبی اندام‌های هوایی کنجد به دو روش دیسک و چاهک پرداختند. در مطالعه‌ی دهقان نیری و همکاران جهت تأیید تولید نانو ذرات نقره از دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج ۳۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر و جهت اندازه‌گیری ابعاد و شکل نانو ذرات از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان داد که ذرات حاصل کروی بوده و در محدوده ۱۸ تا ۷۰ نانومتر قرار داشتند. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، نانو ذرات تولید شده به‌وسیله عصاره آبی گیاه کنجد فعالیت ضد میکروبی مؤثری علیه مخمر ساکارومایسز سروزیه، باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Bacillus subtilis* و قارچ بیماری‌زای *کاندیدا آلبیکنز* نشان دادند (۱۳).

مفاخری و همکاران در سال ۲۰۱۹ در قزوین به بررسی تولید زیستی و اثر ضد باکتریایی نانو ذرات نقره تولید شده به‌وسیله عصاره متانولی گیاه دارویی میخک هندی پرداختند. در این مطالعه اثر ضد باکتری و ضد قارچی نانو ذرات نقره تولید شده، به دو روش دیسک و چاهک مورد آزمایش قرار گرفت و برای تأیید تولید نانو ذرات نقره از دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج ۳۰۰ تا ۶۰۰ نانومتر

استفاده شد. همچنین به منظور بررسی SEM ابعاد و شکل نانو ذرات از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. نتایج حاصل از FTIR نشان داد که ترکیبات آلی احتمالی که در سنتز نانو ذرات دخالت دارند و همچنین نانو ذرات تولید شده به وسیله عصاره متانولی میخک هندی کروی بوده و در محدوده ۲۷ تا ۶۹ نانومتر قرار داشتند و نانو ذرات تولید شده، فعالیت ضد میکروبی مؤثری علیه باکتری‌های این پژوهش داشتند (۱۴).

شفیعی و همکاران در سال ۲۰۱۵ در قائم‌شهر به بررسی سنتز نانو ذرات اکسید مس و بررسی خصوصیات باکتری‌کشی آن بر روی باکتری *آئروموناس هیدرو فیلا* پرداختند. در این پژوهش مورفولوژی و قطر نانو ذرات و نسبت سطح این نانو ذرات به‌وسیله تصاویر TEMو SEM مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن نشان داد که نانو ذرات اکسید مس دارای قطر تقریبی ۵ تا ۶ نانومتر بودند. همچنین در این پژوهش به بررسی حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) و حداقل غلظت بازداری (MIC) و بررسی خلوص نانو ذرات توسط طیف پراش پرتو-X پرداخته شد (۱۵).

سپاسگزاری

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- Ghotbi F, Raghibmotlagh M, Valaie N. Nosocomial sepsis in NICU department in Taleghani hospital, 2001-2002. Research in Medicine. 2005 Dec 10; 29(4): 313-7. [In Persian].

2- Bienve nido D,Alora, M.D, Manuel B, Zacarias M.D, et al.,Nosocamial Infection in santo Tomas university Hospital. J Microbiol Infect Dis1984; 13(1):36-48.

3- Berenholtz S.M, Pronovost P.J, Lipsett P.A, et al, Eliminating catheter-related bloodstream infections in the intensive care unit. Crit Care Med 2004; 32(10):2014–2020.

4- Emilia Ma, Baleva A, Adrian C. Catheter-Related Intravascular Infections in Critical Care Units. Infect Diseases & Tropical Med 1990; 26(2): 251-54.

5- 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. Int J Enteric Pathog. 2017;5(4):100-5. [In Persian].

6- Roy N, and Barik A. Green Synthesis Of Silver Nanoparticles From The Unexploited Weed Resources. IJNT 2010; 4: 95–101.

7- Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. J Nanomedicine. 2007; 3(1): 95-101.

8- Ketabchi M, Iessazadeh Kh, Massiha A. Evaluate the inhibitory activity of ZnO nanoparticles against standard strains and isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolated from food samples. JFM 2017; 4(1): 63-74.

9- Mosmann,T. (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. Immunol. Methods; 65:55-63.

10- Mayeur, S., Spahis, S., Pouliot, Y., & Levy, E. (2016). Lactoferrin, a pleiotropic protein in health and disease. Antioxidants & redox signaling, 24(14), 813-836.

11- Yousefi E, Rafienia M, Fazeli H, Zaman Kasai M. In-Vitro Effects of Copper Nanoparticles on Common Bacterial Strains Implicated in Nosocomial Infections. J Isfahan Med Sch 2013; 31(240): 830-42. [In Persian].

12- Ruparelia JP, Chatterjee AK, Duttagupta SP, Mukherji S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. Acta Biomater 2008; 4(3): 707-16.

13- Dehghan Nayeri, F., Mirhosseini, M., Mafakheri, S., Zarrabi, M. Antibacterial and antifungal effects of silver nanoparticles synthesized by

the aqueous extract of sesame (Sesamum indicum L.). Journal of Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology), 2018; 31(1): 16-26. [In Persian].

14- Mafakheri, S., Dehghan Nayeri, F., Mirhosseini, M. study the biological production and antibacterial and antifungal effects of silver nanoparticles synthesized by the methanolic extract of clove (Syzygium aromaticum). JMBS. 2017; 8 (2) :93-103. [In Persian].

15- Shaffiey SF, Ahmadi M, Shaffiey SR, Shapoori M, Varshoie H, Azari F. Synthesis of copper oxide (CuO) nanoparticles and surveying its bactericidal properties against Aeromonas Hydrophila bacteria. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2015; 5(1):36-43. [In Persian].

Investigation of the effect of fungal and copper nanocomplexes on bacteria causing nosocomial infections

Samira Kadoughani Sani[1], Majid Jamshidian-Mojaver [2*], Hamidreza Farzin[2], Mohadese Amiri[3]

1- Master of Microbiology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University of Sabzevar, Sabzevar, Iran.
2- Mashhad Branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran.
3- Mashhad Branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran.

Receive: July 15, 2020; Revise: August 26, 2020; Accept: September 15, 2020

Summary

Nosocomial infection is considered as one of the major and most basic medical problems in all hospitals and affects an average of 5 to 10% of hospitalized patients. Exacerbating factors of nosocomial infections include frequent use of tools as well as repeated contacts with medical staff. In this study, the antibacterial effects of copper nanoparticles using aqueous extract of *Ganoderma lucidum* on standard strains of *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* and *Streptococcus pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa* which are the cause of nosocomial infections were investigated. Electron microscopy was used to measure the dimensions and shape of copper nanoparticles. Infrared spectroscopy was also performed to investigate possible organic compounds that could be involved in the synthesis of nanoparticles. Also, to observe the effectiveness of this nanocomplex, MTT test was performed on two vero cell lines and L 929 fibroblast cell line. The results of scanning electron microscopy in this study showed that the sample of the extract in morphology is completely uniform. Copper nanoparticles are spherical and in the range of 20-30 nm. Also, in the study of MTT test, ANOVA test showed that the value of Sig is zero, which indicates a significant difference between different concentrations and positive and negative control samples. According to the results of this study, fungal and copper nanocomplexes had a relatively strong antibacterial effect against bacteria that cause nosocomial infections. The non-toxicity proposal of copper nanoparticles should be investigated in laboratory spaces in order to use the antibacterial properties of these nanoparticles in human applications.

Keywords: *Copper nanoparticles , Ganoderma lucidum, Nosocomial infection, Standard bacterial strains*