بررسی اثر مهاری نانوکمپلکس عصاره قارچ گانودرما و نقره بر بیوفیلم‌های باکتری‌های ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی

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

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی سبزوار، سبزوار، ایران.
۲و۳- استادیار مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، مشهد، ایران.
۴- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته باکتری‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

دریافت مقاله: ۱۰ دی ۱۳۹۹، بازنگری: ۲۴ بهمن ۱۳۹۹، پذیرش نهایی: ۱۴ اسفند ۱۳۹۹

چکیده

به‌طور کلی عفونت‌های بیمارستانی به آن دسته از عفونت‌هایی اطلاق می‌شود که به‌صورت محدود یا منتشر و در اثر واکنش‌های بیماری‌زای مرتبط با خود عامل عفونی یا سموم آن در بیمارستان ایجاد می‌شود به شرطی که حداقل ۴۸ تا ۷۲ ساعت بعد از پذیرش بیمار در بیمارستان ایجاد شود و در زمان پذیرش، فرد نباید علائم آشکار عفونت مربوطه را داشته باشد و یا در دوره نهفتگی بیماری خود نباشد بدین منظور در این مطالعه به بررسی اثر مهاری نانوکمپلکس عصاره قارچ گانودرما و نقره بر بیوفیلم‌های باکتری‌های ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی پرداخته شده است. باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش شامل سوش‌های استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 14028)، *اسینتوباکتر بومانی* (ATCC 6538) و *استرپتوکوکوس پایوژنز* (ATCC 19606) و *سودوموناس آئروژینوزا* (ATCC 27853) بودند. باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش به محیط‌های اختصاصی خود شامل مک کانکی آگار (سودوموناس آئروژینوزا)، بردپارکر آگار (*استافیلوکوکوس اورئوس*)، بلادآگار (*استرپتوکوکوس پایوژنز*) و شکلات آگار (*اسینتوباکتر بومانی*) انتقال داده شدند. جهت اندازه‌گیری ابعاد و شکل نانوذرات نقره از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده گردید. همچنین جهت بررسی ترکیبات آلی احتمالی که در سنتز نانوذرات امکان دخالت داشتند آنالیز طیف سنجی مادون قرمز انجام شد. جهت پی‌بردن به تأثیر نانوکمپلکس قارچ و نقره در مهار تشکیل بیوفیلم باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش از روش میکروپلیت استفاده شد. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش بیانگر این بود که ارتباط معناداری بین تشکیل بیوفیلم در حضور نانوکمپلکس عصاره قارچ گانودرما و نقره وجود دارد، که در این بین باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای بیوفیلم ضعیف، *اسینتوباکتر بومانی* فاقد تشکیل بیوفیلم، *سودوموناس آئروژینوزا* دارای بیوفیلم ضعیف و *استرپتوکوکوس پایوژنز* دارای بیوفیلم قوی بودند. نانو کمپلکس قارچ و نقره دارای فعالیت آنتی‌باکتریال در غلظت‌های گوناگون بوده و همچنین این کمپلکس دارای غلظت مهارکنندگی رشد و نیز دارای توانایی مهار تشکیل بیوفیلم می‌باشد. با توجه به فعالیت خوب آنتی‌باکتریال این ترکیب می‌توان از این ترکیب در کاربرد گوناگون پزشکی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: *بیوفیلم، عفونت بیمارستانی، گانودرما، نقره، نانوذره*

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

مقدمه

عفونت بیمارستانی به عفونتی گفته می‌شود که بیمار در زمان بستری دچار آن عفونت نبوده و حتی در دوره نهفتگی آن عفونت هم نبوده باشد. عفونت‌های بیمارستانی یک معضل بزرگ و جدی و یکی از عوامل مرگ و میر در مراکز بهداشتی درمانی می‌باشند و سالانه هزینه‌های هنگفتی را به بیماران بستری شده و مراکز بهداشتی درمانی وارد می‌نماید. امروزه میزان این عفونت‌ها در کشورهای پیشرفته، در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه رؤیت می‌گردد که میزان فراوانی عفونت‌های بیمارستانی در کشورهای در حال توسعه سهم بیشتری را به خود اختصاص می‌دهد (۱، ۲). دستگاه ادراری، دستگاه تنفسی و سیستم گردش خون را می‌توان به‌عنوان سه محل اصلی برای ایجاد عفونت‌های بیمارستانی نام برد. عفونت‌های ایجاد شده در محل‌های ذکر شده شامل پنومونی، عفونت سیستم ادراری و سپتی‌سمی می‌باشد (۲). میکروارگانیسم‌های گوناگونی باعث ایجاد عفونت‌های بیمارستانی می‌گردند. از مهم‌ترین باکتری‌های ایجاد کننده‌ی عفونت‌های بیمارستانی می‌توان به *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *آسینتوبمانی* و غیره اشاره نمود (۳، ۴).

بیوفیلم، ساختاری متشکل از جمعیت باکتریایی است که به‌وسیلهٔ ماتریکس پلی‌ساکاریدی باکتری‌ها محصور شده است و به علت داشتن ویژگی‌های خاص فیزیولوژی و ساختاری، باعث مقاومت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها و مکانیسم‌های دفاعی میزبان می‌شود (۵، ۶).

نانوذرات از طریق واکنش الکترواستاتیکی به غشای باکتری‌ها متصل می‌گردند و با ایجاد اختلال در غشاء سبب تخریب غشاء باکتری‌ها به‌طور کامل می‌شوند (۷). از مکانیسم‌های ضد میکروبی نانوذرات، می‌توان واکنش آمین و گروه‌های کربوکسیل با پپتیدوگلیگان دیوارهٔ باکتری‌ها را نام برد که واکنش فوق سبب آسیب دیدن دیوارهٔ سلولی آنها می‌شود (۸).

نانوذرات معمولاً دارای خواص و عملکرد بهتری از نمونه همان عنصر را از خود بروز می‌دهند، به دلیل این‌که نانوذرات دارای سطح ویژه بالاتری نسبت به ذرات درشت‌تر هستند. در مورد نانوذرات ضد باکتری نقره نیز این موضوع صدق می‌کند و مقدار کمی از این مواد، تأثیرات ضد باکتری زیادی دارند. نانوذرات نقره در غلظت پایین به‌عنوان ابزار درمانی برای عفونت‌های ایجاد شده توسط باکتری‌ها به‌شمار می‌آیند و در حوزه‌ی درمانی حائز اهمیت می باشند (۹). گانودرما لوسیدم یک قارچ با خواص دارویی است. گانودریک اسید مهم‌ترین ماده و دارای خواص مهم و فواید زیادی است که توسط این قارچ تولید می‌شود و دارای اثرات مهمی در زمینه دارویی است (۱۰). در سال‌های اخیر، مشخص شده است که برخی از محصولات طبیعی جدا شده از قارچ‌های جنس *گانودرما* دارای اثرات ضد تومور، محافظت از کبد، ضد التهاب، تنظیم ایمنی، ضد اکسیداسیون، ضد ویروسی، ضد قند خون و ضد چربی خون هستند (۱۱).

هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر مهاری نانو کمپلکس عصاره قارچ گانودرما و نقره بر بیوفیلم‌های باکتری‌های ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره آبی قارچ گانودرما: جهت تهیه عصاره‌ی آبی قارچ گانودرما میزان ۲۵ گرم قارچ *گانودرما* توسط هاون چینی خرد شد سپس به میزان ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر به آن اضافه شد محلول فوق به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد و پس از طی این مدت جهت صاف نمودن محلول از کاغذ صافی عبور داده شد. همچنین جهت استریل نمودن محلول از فیلتر استفاده شد (۱۲).

سنتز نانوذره نقره و قارچ گانودرما: جهت تهیه عصاره قارچ نقره ۰/۸۳ گرم از نیترات نقره با ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر مخلوط شد و مقدار ۰/۵ سی‌سی از نقره را با ۹/۵ سی‌سی عصاره آبی قارچ به مدت ۲۴ ساعت رو شیکر قرار داده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ (اپندورف-آلمان) شد و پس از چند بار شستشو از رسوب حاصل برای انجام تست‌های تعیین حساسیت استفاده گردید. به منظور تأیید تولید نانوذره نقره و اندازه‌گیری ابعاد و شکل نانوذرات نقره از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (ساخت کشور چک) و همچنین از دستگاه FTIR (ساخت کشور آلمان) استفاده شد (۱۲).

بررسی اثر مهاری نانوکمپلکس قارچ و نقره بر تشکیل بیوفیلم: باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش شامل سوش‌های استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC14028) ، *اسینتوباکتر بومانی* (ATCC 6538) و *استرپتوکوکوس پایوژنز* (ATCC 19606) و *سودوموناس آئروژینوزا* (ATCC 27853) بودند. باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش به محیط‌های اختصاصی خود شامل مک کانکی آگار (سودوموناس آئروژینوزا)، برد پارکر آگار (*استافیلوکوکوس اورئوس*)، بلادآگار (*استرپتوکوکوس پایوژنز*) و شکلات آگار (*اسینتوباکتر بومانی*) انتقال داده شدند.

برای پی بردن به تأثیر نانوکمپلکس قارچ و نقره در مهار تشکیل بیوفیلم باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش از روش صفحه کشت بافت استفاده گردید. بدین منظور باکتری‌های موردِ استفاده در محیط کشت مایع TSB (مرک-آلمان) کشت شدند و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند.

جهت پی بردن به تأثیر نانوکمپلکس قارچ و نقره در مهار تشکیل بیوفیلم باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش از روش رقت سازی سریالی به صورت سه مرتبه تکرار صورت پذیرفت.

ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت TSB (مرک-آلمان) داخل یک ردیف از چاهک‌های میکروپلیت ریخته شد سپس به اولین چاهک به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از بالاترین غلظت محلول ترکیب نقره و قارچ اضافه گردید و به خوبی مخلوط شد، از چاهک اول به میزان ۱۰۰ میکرولیتر محلول برداشته شد و به چاهک بعدی که فقط دارای ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت بود اضافه گردید این روند از چاهک دوم به سوم و به همین ترتیب تا چاهک دهم ادامه پیدا کرد تا تمامی غلظت‌های مورد نظر ساخته شوند، پس از تهیه‌ی رقت‌ها به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به چاهک‌های ۱ تا ۱۰ از سوسپانسیون میکروبی اضافه گردید. همچنین از چاهک یازدهم به‌عنوان کنترل مثبت حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت و عصاره ی نقره و قارچ و از چاهک دوازدهم به‌عنوان کنترل منفی حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت استفاده گردید. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و پس از طی مدت زمان انکوباسیون میکروپلیت‌ها برگردانده شدند تا محیط کشت موجود در تمامی چاهک‌ها خالی شود، سپس چاهک‌ها سه بار با بافر فسفات استریل شسته شدند تا باکتری‌هایی که بیوفیلم تشکیل نداده‌اند، از میکروپلیت خارج شوند. پس از آن میکروپلیت‌ها به صورت وارونه به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند تا خشک شوند. پس از خشک شدن میکروپلیت ۲۰۰ ماکرولیتر از محلول کریستال ویوله ۰/۲ درصد به تمامی چاهک‌ها افزوده گردید و میکروپلیت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد پس از طی مدت زمان مذکور رنگ درون میکروپلیت‌ها خالی گردید و چاهک‌ها با بافر فسفات شستشو داده شدند. پس از خشک شدن میکروپلیت به هر چاهک به میزان ۲۰۰ میکرولیتر محلول سی درصد اسید استیک اضافه گردید تا رنگ باند شده با باکتری‌های تشکیل دهنده‌ی بیوفیلم نمایان شود. جذب نوری میکروپلیت در طول موج

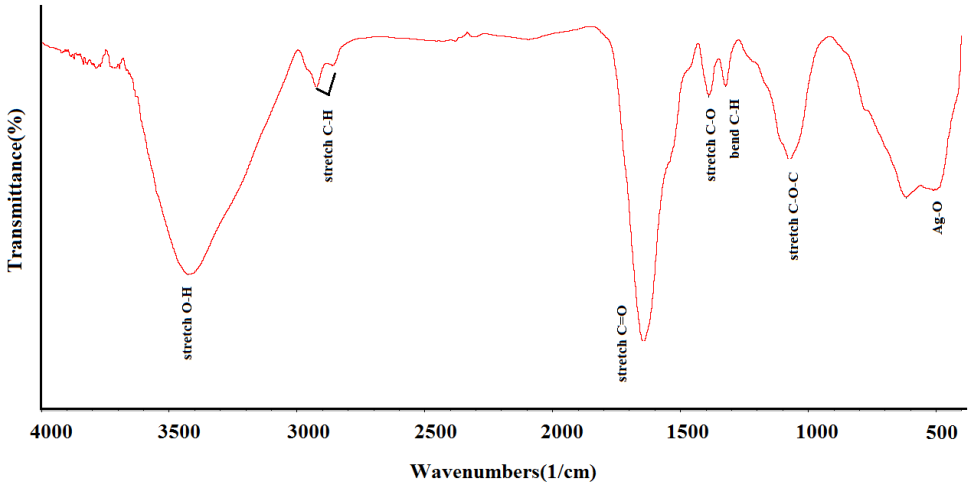
۵۹۵ نـــانومتر توســـط دســـتگاه قرائـــت‌گر الایـــزا (Biotek.USA) قرائـت شـد و نتـایج حاصـل براسـاس جدول شماره ۱ آنالیز شد.

جدول ۱- طبقه‌بندی توانایی تولید بیوفیلم به وسیله روش میکروتیتر پلیت

توانایی تشکیل بیوفیلم	محاسبه میزان تولید بیوفیلم	نتایج حاصل از میانگین حداکثر جذب نوری OD
قوی	OD>۴*ODC	OD>۰/۳۳۲
متوسط	۲*ODC<OD<=۴*ODC	۰/۱۶۶<OD<=۰/۳۳۲
ضعیف	ODC<OD<=۲*ODC	۰/۰۸۳<OD<=۰/۱۶۶
عدم اتصال	OD<=۰/۰۸۳	OD<=۰/۰۸۳

نتایج

نتایج آنالیز FT-IR: آنالیز FT-IR به منظور 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 ۳۴۲۲ cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی O-H می‌باشد. پیک مشاهده شده در ناحیه ۲۹۲۴ cm^{-1} ناشی از ارتعاشات کششی C-H می‌باشد. پیک‌های موجود در ناحیه ۱۷۰۰-۱۵۰۰ cm^{-1} از نمونه قارچ گانودرما به ارتعاشات پیوند آمیدی اشاره دارد که ناشی از ساختار پروتئینی است. باند مشاهده شده در ناحیه ۱۶۴۴ cm^{-1} و ۱۵۳۸ به ارتعاشات کششی C=O و نیز ارتعاشات خمشی N-H مربوط است. پیک‌های دوتایی مشاهده شده در ناحیه ۹۰۰-۴۰۰ به ساختار کربوهیدراتی نمونه برمی‌گردد. پیک در ناحیه ۱۳۸۹ cm^{-1} و ۱۳۲۲ و ۱۰۷۲ به ترتیب 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 ۴۵۰-۵۵۰ cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی Ag-O می‌باشد.

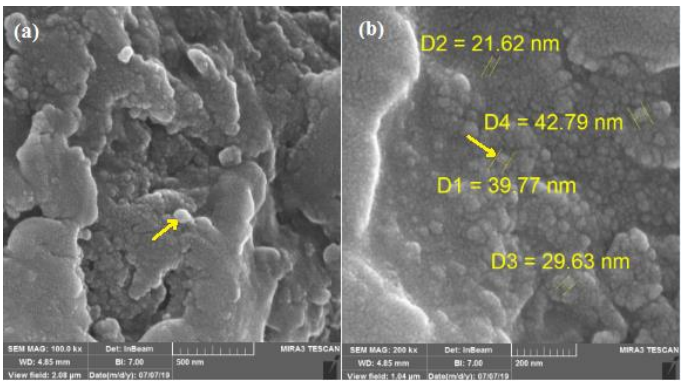


شکل ۱_ آنالیز FT-IR

نتایج میکروســـکوپ الکترونی روبشـــی FE-SEM : تصاویر SEM از نمونه سنتزی در شکل ۲ نشان داده شده اســـت. تصـــاویر ۲a نانوذرات نقره را با مورفولوژی ذره‌ای نشان می‌دهد که در تصویر با فلش زرد رنگ مشخص شده و در میان گونه زیستی با مورفولوژی صفحه‌ای قرار گرفته ا ست. نتایج حا صل از ت صاویر SEM در شکل ۲b ن شان

می‌دهد که ذرات نقره ســـنتزی دارای اندازه در محدوده ۴۵-۲۰ نانومتر می‌باشد.

نتایج بیوفیلم: نتایج حاصل از تشکیل بیوفیلم به روش بیوفیلم نمایانگر این بود که سویه‌های مورد مطالعه دارای بیوفیلم قوی و ضعیف می‌باشند.



شکل ۲_ میکروسکوپ الکترونی روبشی FE-SEM

جدول ۲- نتایج تست بیوفیلم

باکتری	قدرت تشکیل بیوفیلم
استافیلوکوکوس اورئوس	ضعیف
استرپتوکوکوس پایوژنز	قوی
اسینتوباکتر بومانی	عدم اتصال
سودوموناس آئروژینوزا	ضعیف

مهار تشکیل بیوفیلم توسط باکتری‌های مورد مطالعه در حضور غلظت‌های مختلف نانو کمپلکس قارچ و نقره: مهار تشکیل بیوفیلم توسط باکتری‌های مورد مطالعه در حضور غلظت‌های مختلفِ نانوکمپلکس قارچ و نقره در جدول زیر نشان داده شده است.

جدول ۳- مهار تشکیل بیوفیلم باکتریه ی مورد مطالعه در حضور غلظت‌های مختلف نانوذره عصاره قارچ +نقره در رقت‌های گوناگون

سویه	کنترل منفی	کنترل مثبت	غلظت نانوذره						
			۱۷۵۰	۸۷۵	۴۳۷/۵	۲۱۸/۷۵	۱۰۹/۳۷۵	۵۴/۶۸	۲۷/۳۴	۱۳/۶۷
استرپتوکوکوس پایوژنز	۰/۱۷۶ ± ۰/۰۲۴	۰/۲۳۸ ± ۰/۰۱۸	۰/۱۸۰ ± ۰/۰۲۶	۰/۲۱۳ ± ۰/۰۰۹	۰/۲۱۵ ± ۰/۰۱۰	۰/۱۴۴ ± ۰/۰۸۶	۰/۱۵۵ ± ۰/۰۵۴	۰/۱۴۳ ± ۰/۰۵۶	۰/۱۴۲ ± ۰/۰۰۲	۰/۱۲۵ ± ۰/۰۳۷
اسینتوباکتر بومانی	۰/۱۴۴ ± ۰/۰۱۴	۰/۱۴۱ ± ۰/۰۰۴	۰/۱۶۸ ± ۰/۰۲۶	۰/۱۶۱ ± ۰/۰۲۱	۰/۱۴۵ ± ۰/۰۱۳	۰/۱۳۸ ± ۰/۰۰۶	۰/۱۶۲ ± ۰/۰۲۱	۰/۱۳۰ ± ۰/۰۰۵	۰/۱۲۸ ± ۰/۰۱۹	۰/۱۲۲ ± ۰/۰۲۲
سودوموناس آئروژینوزا	۰/۴۵۹ ± ۰/۰۳۰	۰/۲۲۷ ± ۰/۰۱۶	۰/۲۷۸ ± ۰/۰۲۴	۰/۲۸۷ ± ۰/۰۰۵	۰/۲۴۳ ± ۰/۰۰۷	۰/۲۲۲ ± ۰/۰۱۲	۰/۲۱۸ ± ۰/۰۰۱	۰/۲۰۶ ± ۰/۰۱۸	۰/۲۲۲ ± ۰/۰۲۳	۰/۲۲۲ ± ۰/۰۳۱
استافیلوکوکوس اورئوس	۰/۴۴۲ ± ۰/۰۲۴	۰/۲۵۱ ± ۰/۰۱۸	۰/۲۹۲ ± ۰/۰۲۶	۰/۳۲۱ ± ۰/۰۰۹	۰/۴۰۱ ± ۰/۰۱۰	۰/۳۷۳ ± ۰/۰۸۶	۰/۳۹۷ ± ۰/۰۵۴	۰/۳۲۶ ± ۰/۰۵۶	۰/۳۳۷ ± ۰/۰۰۲	۰/۳۷۵ ± ۰/۰۳۷

بحث

عفونت بیمارستانی یکی از رایج‌ترین و عمده‌ترین مشکلات درمانی در تمام بیمارستان‌ها و همچنین یکی از عفونت‌های رایج در میان بیماران بستری در مراکز درمانی می‌باشد. میکروارگانیسم‌هایی که باعث عفونت بیمارستانی می‌شوند با توجه به محل عفونت و بروز بیماری متفاوت بوده و عوامل گوناگونی مانند ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی مؤثر می‌باشند (۱۳). بیوفیلم باکتری‌ها دارای نقش به‌سزایی در ایجاد بیماری‌های عفونی مخصوصاً بیماری‌های مزمن در بدن میزبان‌های گوناگون می‌باشند. میزان شدت بسیاری از عفونت‌ها در بدن دارای ارتباط مستقیم با تشکیل بیوفیلم در بدن بیماران می‌باشد حدود ۸۰ درصد بیماری‌های عفونی ناشی از تشکیل بیوفیلم در میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (۱۴).

نصرتی و همکاران در سال ۲۰۱۷ در تهران به بررسی تشکیل بیوفیلم در سویه‌های *یورپاتوژن اشریشیاکلی* به سه روش صفحه کشت بافت، کنگورد آگار و لوله پرداختند. نتایج حاصل از این پژوهش در روش صفحه کشت بافت (میکروپلیت) بیانگر این بود که ۴۰ درصد جدایه‌ها دارای بیوفیلم قوی، ۲۲ درصد دارای بیوفیلم متوسط و ۲۰ درصد دارای بیوفیلم ضعیف بودند (۱۵).

عباس والی و همکاران در سال ۲۰۱۷ در شهرکرد به بررسی اثر مهاری نانوذرهٔ اکسید روی در تشکیل بیوفیلمِ برخی باکتری‌های بیماری‌زا پرداختند. در این پژوهش اثر نانوذرهٔ اکسید روی در تشکیل بیوفیلمِ بر روی باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *باسیلوس سرئوس* به روش میکروپلیت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که باکتری *اشریشیاکلی* دارای بیوفیلم متوسط، *استافیلوکوکوس اورئوس* دارای بیوفیلم ضعیف، *سالمونلا تیفی موریوم* دارای بیوفیلم ضعیف و *باسیلوس سرئوس* دارای بیوفیلم ضعیف بودند (۱۶).

نیکبخت و همکاران در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۵ در شاهرود انجام دادند به بررسی تولید زیستی و اثر ضد باکتریایی نانوذرات نقره تولید شده به وسیله عصاره آبی و متانولی گیاه عناب پرداختند. نتایج حاصل از پژوهش نیکبخت بیانگر ان بود که نانوذرات تولید شده اثر مناسبی بر روی چهار باکتری (*اشرشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*) مورد آزمایش آنان داشته است. نانوذرات حاصله در مقایسه با محلول شاهد و نیز عصاره خالص گیاهان خواص ضد میکروبی بهبود یافته‌ای را دارا بودند و به نظر می‌رسد که تولید زیستی نانوذرات با استفاده از عصاره گیاهان می‌تواند به افزایش خواص دارویی آنها کمک کند (۱۷).

حبیبی و همکاران در سال ۲۰۱۷ به بررسی فعالیت ضد قارچی نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس علیه گونه‌های مختلف آسپرژیلوس (آسپرژیلوس فلاووس، فومیگاتوس، نیجر و پارازیتیکوس) در شیراز پرداختند. در پژوهش حبیبی نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید مس به روش شیمیایی تولید شدند و مورفولوژی و اندازه آنها توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری و همچنین روبشی، پراش اشعه ایکس و زتاسایزر بررسی شد. نتایج حاصل از پژوهش حبیبی نشان داد که اندازه نانوذرات بین ۱۰ الی ۶۰ نانومتر بوده و بیشترین خاصیت ممانعت کنندگی و کشندگی این نانوذرات به ترتیب بر روی آسپرژیلوس نیجر و فومیگاتوس بود (۱۸).

References

1- Kadoughani Sani, S., Jamshidian-Mojaver, M., Farzin, H., Amiri, M. Investigation of the effect of fungal and copper nanocomplexes on bacteria causing nosocomial infections. New Findings in Veterinary Microbiology, 2020; 3(1): 39-46.

2- World Health Organization. Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide (2011).

3- Peymani A, Farajnia S, Nahaei MR, Sohrabi N, Abbasi L, Ansarin K, *et al*. Prevalence of Class 1 Integron among Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii in Tabriz, Northwest of Iran. Pol J Microbiol 2012; 61(1):57-60

5- Besharati S, Owlia P. Evaluation of biofilm production capacity in salmonella isolated from chicken meat in Tehran municipally daily fruit and vegetable markets. Daneshvar Medicine. 2020; 28(1):62-72.

6- Ciofu O, Mandsberg LF, Wang H, Høiby N. Phenotypes selected during chronic lung infection in cystic fibrosis patients: implications for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections. FEMS Immunol Med Microbiol. 2012; 65(2): 215-25.

7- Schneider G, Schweitzer B, Steinbach A, Pertics BZ, Cox A, Kőrösi L. Antimicrobial Efficacy and Spectrum of Phosphorous-Fluorine Co-Doped TiO2 Nanoparticles on the Foodborne Pathogenic Bacteria *Campylobacter jejuni*, *Salmonella Typhimurium*, *Enterohaemorrhagic E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Shewanella putrefaciens*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. Foods. 2021;10 (8):1786.

8- Bogdanović U, Lazić V, Vodnik V, Budimir M, Marković Z, Dimitrijević S. Copper nanoparticles with high antimicrobial activity. Mater Lett 2014; 12(8): 75-8.

9- Humberto HL, Garzatrevino EN, Ixtepanturrent L, Singh DK. Silver nanoparticles are broad spectrum bactericidal and virucidal compounds. J Nanobiotechnol 2011; 9: 1-8.

10- Mayzumi F, Okamoto H & Mizuno T. Cultivation of Reishi (*Ganoderma lucidum*). Food Rev. Int. 1997; 13: 365 - 82.

11- Cao Y, Xu X, Liu S, Huang L, Gu J. Ganoderma: a cancer immunotherapy review. Frontiers in pharmacology. 2018; 9(5):1217.

12- Kadoughani Sani S, Jamshidian-Mojaver M, Farzin H, Amiri M. Investigation of the effect of fungal and copper nanocomplexes on bacte-ria causing nosocomial infections. New Findings in Veterinary Microbiology. 2020; 3(1):39-46.

13- Mehrabi Tavana A. Nosocomial infections: A global problem. Hakim Health Sys Res. 2016;19(2):100-02.

14- Mamishi S, Pourakbari B, Teymuri M, Babamahmoodi A, Mahmoudi S. Management of hospital infection control in Iran: a need for implementation of multidisciplinary approach. Osong public health and research perspectives. 2014;5(4):179-86.

15- Nosrati N, Honarmand Jahromy S, Zare Karizi S. Comparison of Tissue Culture Plate, Congo red Agar and Tube Methods for Evaluation of Biofilm Formation among *Uropathogenic E. coli* Isolates. Iran J Med Microbiol.2017;11(3):49-58.

16- Abbasvali M, Ebrahimi Kahrizsangi A, shahriyari F. Evaluation of the Inhibitory Effects of Zinc Oxide Nanoparticles on Biofilm Formation of Some Foodborne Bacterial Pathogens. Iran J Med Microbiol. 2017; 11(5):115-124.

17- Nikbakht M, Pourali P. Survey of biological and antibacterial effects of silver nanoparticles of aqueous and methanol extracts of Berberis Vulgaris. MEDICAL SCIENCES. 2015; 25 (2) :112-118.

18- Habibi N, Gheisari H, Aminlari M, Sedaghati F. The study of antifungal activities of magnesium oxide and copper oxide nanoparticles against different species of Aspergillus. JABS. 2017; 7 (3) :317-327.

The Inhibitory Effect of Nanocomplex of Ganoderma and Silver Fungus Extract on Biofilms of Bacteria that Cause Nosocomial Infections

Samira Kadoughani Sani[1], Hamidreza Farzin[2], Majid Jamshidian-Mojaver[3*], Mohadeseh Amiri[4]

1- Master of Microbiology, Department of Biotechcology, Sabzevar Branch, Islamic AzadUniversity of Sabzevar, Sabzevar, Iran.
2,3- Mashhad Branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, iran.
4- Master of Bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University ofKerman, Kerman, Iran.

Receive: December 30, 2020; Revise: February 12, 2021; Accept: March 4, 2021

Summary

In general, nosocomial infections are those infections that are limited or diffuse and are caused by pathogenic reactions related to the infectious agent or its toxins in the hospital, provided that they occur at least 48 to 72 hours after admission, the patient should be hospitalized and at the time of admission, the person should not have obvious signs of infection or be in the latent period of the disease. The causes of nosocomial infections are discussed. The bacteria used in this study included standard strains of *Staphylococcus aureus* (ATCC 14028), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 6538) and *Streptococcus pyogenes* (19606 ATCC) and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). The bacteria used in this study were transferred to their specific media including McConkey agar (*Pseudomonas aeruginosa*), Parker agar board (*Staphylococcus aureus*), blood agar (*Streptococcus pyogenes*) and chocolate agar (*Acinetobacter baumannii*). Scanning electron microscope was used to measure the dimensions and shape of silver nanoparticles. Infrared spectroscopy was also performed to investigate possible organic compounds that could be involved in the synthesis of nanoparticles. Microplate method was used to investigate the effect of fungal and silver nanocomplexes in inhibiting the biofilm formation of bacteria used in this study. The results showed that there was a significant relationship between biofilm formation in the presence of nano-complex of *Ganoderma* and silver extracts; among them, *Staphylococcus aureus* had a weak biofilm, *Acinetobacter baumannii* had no biofilm, *Pseudomonas aeruginosa* had a weak biofilm and *Streptococcus pyogenes* had a strong biofilm. Fungal and silver nanocomplexes have antibacterial activity in various concentrations and also this complex has a growth inhibitory concentration and also has the ability to inhibit biofilm formation. Due to the good antibacterial activity of this compound, it can be used in various medical applications.

Keywords: *Biofilm, Nosocomial infection, Ganoderma and silver and nanoparticles*