

## ستنز سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره قارچ *Ganoderma lucidum* بررسی اثرات خد بacterیایی آن بر جدایه های کلبسیلا پنومونیه مربوط به عفونت های ادراری

تاریخ دریافت مقاله: ۹۹/۰۲/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۱۳

### چکیده

**زمینه و هدف:** عفونت ادراری یکی از مهم ترین بیماری های عفونی است و در تمامی سنین مشاهده می گردد؛ همچنین این عفونت یکی از معضلات مهم پزشکی است. به علت افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی و میزان بالای بازگشت این بیماری منجر به آسیب های جدی به سلامت بیماران می شود.

گانودrama لوسیدوم یکی از موثرترین قارچ هایی است که دارای خواص درمانی متعدد بوده و موثرترین و بهترین قارچ دارای خواص درمانی می باشد. نانوذرات فلزی در زمینه های مختلف اعم از پزشکی و صنعت و غیره دارای اهمیت می باشند. در این بین نانو ذرات نقره به دلیل رسانایی خوب، پایداری شیمیایی، خواص زیاد دیگری مورد توجه ویژه ای می باشند.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه ۳۰ نمونه از کشت های مثبت دارای عفونت ادراری ارجاع شده به آزمایشگاه بیمارستان امام رضا شهرستان بجنورد، مورد بررسی قرار گرفت. بررسی مقاومت و حساسیت جدایه ها با روش دیسک دیفیوژن انجام گردید. در این مطالعه اثرات ضد بacterیایی نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی قارچ گانودrama لوسیدوم به روش میکرو دایلوشن انجام شد. جهت اندازه گیری ابعاد و شکل نانو ذرات نقره از میکروسکوپ الکترونی رویشی استفاده گردید. همچنین جهت بررسی ترکیبات آلتی احتمالی که در ستز نانو ذرات امکان دخالت را داشتند آنالیز طیف سنجی مادون قرمز انجام شد.

**یافته ها:** بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی مربوط به آنتی بیوتیک آمپی سیلین (۹۳/۷۳ درصد/ ۲۸/۰ جدایه) بود. نانو ذرات حاصله دارای ابعاد ۲۰ تا ۴۵ نانومتر بود.

**نتیجه گیری:** نانو ذرات تولید شده دارای خاصیت ضد میکروبی بوده و می توانند در مقادیر معین جایگزین خوبی در درمان بیماری های عفونی مقاوم به آنتی بیوتیک ها باشند.

**کلمات کلیدی :** عفونت ادراری، مقاومت آنتی بیوتیکی، نانوذرات نقره

سمیرا کدوغنى ثانی<sup>۱</sup>، مجید  
جمشیدیان مجاور<sup>۲</sup>، محمد امیری<sup>۳</sup>  
همید رضا فرزین<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته  
میکروب شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد  
اسلامی واحد سبزوار، ایران.  
<sup>۲</sup>دانش آموخته کارشناسی ارشد بacterی  
شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید  
بهشت کرمان، کرمان، ایران.  
<sup>۳</sup>استادیار موسسه تحقیقات واکسن و  
سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و  
ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، ایران.  
<sup>۴</sup>دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته  
آزمایشگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد  
سبزوار، ایران.

**نویسنده مسئول:**  
استادیار موسسه تحقیقات واکسن و  
سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش  
و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، ایران.

۰۹۱۵۳۰۹۴۲۱۳۰  
E-mail: hrifarzin@yahoo.com

## مقدمه

به علیه طیف گسترده ای از باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک ها هستند.<sup>۱۱</sup> فلز نقره در حجم و مقادیر زیاد دارای خاصیت واکنش دهی کمی است اما هنگامی که در مقادیر و حجم کمتر در حد نانو تبدیل شود خواص میکروب کشی آن نیز افزایش می یابد از این رو اهمیت خواص این فلز در پژوهش مورد بحث می باشد.<sup>۱۲</sup>

هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر آنتی باکتریال کمپلکس عصاره قارچ و نقره و اثر آن بر روی جایه های کلیسیلا جدا شده از موارد عفونت ادراری می باشد.

## مواد و روش کار

در این مطالعه ۳۰ نمونه از کشت های مثبت دارای عفونت ادراری ارجاع شده از آزمایشگاه مستقر در بیمارستان امام رضا شهرستان بجنورد مورد بررسی قرار گرفت. پلیت های دارای باکتری هایی که در محیط مک کانکی آگار (آلمان-مرک) دارای کلنی های صورتی رنگ و صاف و موکوئیدی بودند به عنوان جایه های مشکوک به کلیسیلا انتخاب شدند و پس از تایید به وسیله ، آزمایش های TSI بیوشیمیایی نظری تست های (تست اوره، سیمون سیترات، ) SIM (آلمان-مرک) (Sulfid Indol (Motility و Triple Sugar Iron)

جهت تأیید جایه ها صورت پذیرفت.

جهت تعیین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی جایه های مورد بررسی، ابتدا یک کلنی از هر جایه در مولر هیستون براث (آلمان-مرک) کشت داده شد و پس از رسیدن به کدورت نیم مک فارلند با استفاده از سوآب استریل از محیط مایع برداشت به صورت چمنی بر روی محیط مولر هیستون آگار (آلمان-مرک) کشت داده شد. دیسک های آنتی بیوتیکی سپرروفلوکساسین (۵ میکرو گرم)، کوتیریماکسازول (۲۵ میکرو گرم)، جنتامايسین (۱۰ میکرو گرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکرو گرم)، نیتروفورانتئوین (۳۰۰ میکرو گرم)، آمپی سیلین (۱۰ میکرو گرم) و لووفلوکساسین (۵ میکرو گرم)، (پادتن طب-کرج) توسط پنس استریل روی پلیت مولر هیستون آگار (آلمان-مرک) قرار داده شد. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از انکوباسیون قطر های ایجاد شده اندازه گیری شد و با جداول استاندارد CLSI مقایسه گردید.<sup>۱۳</sup>

عفونت های مجرای ادراری یکی از مهم ترین و رایج ترین عفونت هایی است که در دامنه سنی گسترده ای مشاهده می گردد. عفونت ادراری در جوامع پس از عفونت های تنفسی رتبه دوم را به خود اختصاص داده است. همچنین سهم قابل توجهی از مراجعه کنندگان به بیمارستان ها (حدود ۴۰-۳۰ درصد) را به خود اختصاص می دهد<sup>۱۴</sup>.

عفونت ادراری توسط بسیاری از عوامل بیماری زای باکتریایی (گرم منفی و گرم مثبت) و قارچی در دستگاه ادراری ایجاد می گردد. از مهم ترین باکتری های ایجاد کننده این عفونت می توان به کلیسیلا پنومونیه ، اشریشیاکلی، پروتتوس اشاره نمود.<sup>۱۵</sup>

مقاومت های آنتی بیوتیکی، یکی از چالش های مهم در پیشگیری، درمان و کنترل بیماری های عفونی است.<sup>۱۶</sup> مقاومت های دارویی که در مورد آنتی بیوتیک ها مطرح است، منجر به کاهش تاثیر بسیاری از آنتی بیوتیک های رایج بر روی میکروارگانیسم ها می گردد.<sup>۱۷</sup> از مهم ترین دلایل بروز این مشکل، استفاده بی رویه آنتی بیوتیک ها در صنعت پرورش دام، طیور و در عرصه پژوهشی است.<sup>۱۸</sup> استفاده مداوم از آنتی بیوتیک، موجب مرگ باکتری های حساس فلور طبیعی بدن می شود.<sup>۱۹</sup>

یکی از قارچ هایی که به لحاظ دارای بدن خواص درمانی متعدد به عنوان بهترین و موثرترین قارچ دارویی نام گذاری شده است قارچ گانودرما می باشد. این قارچ حاوی ترکیبات از قبیل استروئید، پلی ساکارید، لاکتون، پروتئین، تری ترپن و آلالکالوئید می باشد و اثرات دارویی این قارچ بر روی بدن به اثبات رسیده است.<sup>۲۰</sup>

ترکیباتی از قبیل پلی ساکارید و تری ترپن موجود در این قارچ که جز مهم ترکیبات زیست فعال تولید شده توسط این قارچ می باشد دارای فعالیت های مهم دارویی از قبیل خاصیت ضد سرطان، ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد التهاب و غیره می باشد.<sup>۲۱</sup>

امروزه پژوهشگران در جستجوی راه حل های جایگزین برای درمان عفونت های باکتریایی های مقاوم به دارو هستند. یکی از زمینه های کاربردی استفاده از نانوذرات در درمان عفونت های باکتریایی می باشد.<sup>۲۲</sup>

نانوذره نقره خواص فیزیکی و شیمیایی و فعالیت های بیولوژیکی ویژه ای از خود نشان می دهد. آن ها عوامل ضد باکتریایی مهمی

(آلمان-مرک) انتقال و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. از سوسپانسیون نهایی برای انجام آزمون حساسیت دارویی، انجام آزمون Minimum Inhibitory Concentration (MIC) استفاده می‌شود.

#### تست میکرودایلوشن براث برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibitory Concentration) (MIC)

جهت اندازه گیری و تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از روش رقت سازی سریالی به صورت سه مرتبه تکرار صورت پذیرفت. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هیتوون براث (آلمان-مرک) داخل یک ردیف از چاهک های میکرو پلیت ریخته شد. سپس به اولین چاهک به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از بالاترین غلظت محلول ترکیب نقره و قارچ اضافه گردید و خوب مخلوط شدند. 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 غلظت های مورد نظر ساخته شوند، پس از تعیین رقت های به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به چاهک های ۱ تا ۱۰ سوسپانسیون میکروبی اضافه گردید. همچنین از چاهک یازدهم به عنوان کنترل مثبت حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت و عصاره نقره و قارچ و از چاهک دوازدهم به عنوان کنترل منفی حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت استفاده گردید. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند و پس از طی مدت زمان انکوباسیون جذب نوری آن ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر توسط دستگاه قرائت گر الایزا (Biotek.USA) قرائت شد.

برای مشخص کردن Minimum Bacteriocidal Concentration (MBC) از چاهک های مربوط به MIC و چاهک های دارای غلظت های بیشتر که فاقد کدورت قابل تشخیص می باشند به میزان ۱ میکرولیتر برداشته و روی محیط مولر هیتوون آگار (آلمان-مرک) به صورت خطی کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. عدم رشد باکتری در هر غلظت نشان دهنده Minimum Bacteriocidal Concentration (MBC) می باشد.

#### تهیه عصاره آبی قارچ گانودرما

جهت تهیه عصاره آبی این قارچ به میزان ۲۵ گرم قارچ گانودرما را توسط هاون چینی خرد نموده تا به قطعات کوچک در بیايد. سپس به میزان ۱۰۰ سی سی 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 می دهیم. جهت استریل نمودن محلول بدست آمده آن را اتوکلاو می نماییم.

#### ستر نانوذره نقره و قارچ گانودرما

جهت تهیه عصاره قارچ نقره ۰/۸۳ گرم از نیترات نقره با ۱۰۰ سی سی آب مقطر مخلوط کرده و مقدار ۰/۵ سی سی از نقره با ۹/۵ سی سی عصاره آبی قارچ به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار داده شد. محلول حاصل را به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰ rpm سانتریفیوژ (اپندورف-آلمن) کرده و پس از چند بار شست و شو از رسوب حاصل برای انجام تست های تعیین حساسیت استفاده گردید.

به منظور تأیید تولید نانوذره نقره و اندازه گیری ابعاد و شکل نانوذرات نقره از دستگاه میکروسکوپ الکترونی رویشی (SEM) (Scanning Electron Microscope) (ساخت کشور چک) و همچنین از دستگاه Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) (ساخت کشور آلمان) استفاده شد.

#### تست MTT

بررسی اثر عصاره قارچ + نقره بر روی رشد و تکثیر سلول ها از روش رنگ سنجی 2,5-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-diphenyltetrazolium bromide استفاده می شود. این روش بر اساس شکستن نمک تترازو لیوم توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریابی سلول های زنده انجام شد. نتایج حاصله به صورت میزان بقایای سلولی و غلظتی که سبب مهار رشد سلولی تا میزان ۵۰ درصد می شود که به عنوان  $IC_{50}$  لحاظ می گردد.

**روش تهیه محلول سوسپانسیون میکروبی جهت تست MIC (Minimum Inhibitory Concentration)**

جدایه های مورد مطالعه را به محیط کشت مایع مولر هیتوون براث

جدول ۱: فراوانی مقاومت و حساسیت جدایه ها در برابر آنتی بیوتیک های مورد پژوهش

آنتی بیوتیک	حساس	نیمه حساس	مقاوم
نالیدیکسیک اسید	۳۶/۶۶ درصد	۲۰ درصد	۴۳/۳۳ درصد
سپروفلوکسازین	۴ درصد	۶ درصد	۴۰ درصد
لووفلوکسازین	۶۰ درصد	۱۲/۳۳ درصد	۲۶/۶۶ درصد
جنتامایسین	۶۳/۳۳ درصد	۰ درصد	۳۶/۶۶ درصد
کوتیریماکسازول	۲۶/۶۶ درصد	۶/۶۶ درصد	۶۶/۶۶ درصد
نیتروفورانتوئین	۶۰ درصد	۰ درصد	۴۰ درصد
آمپی سیلین	۰ درصد	۷/۶۶ درصد	۹۳/۳۳ درصد

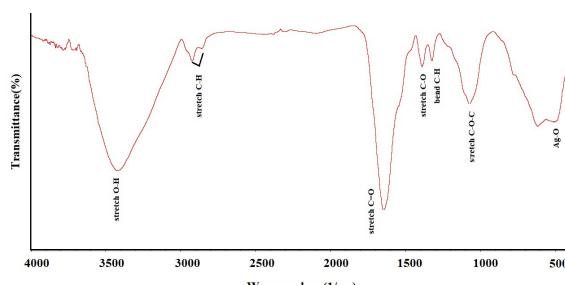
O-H می باشد. پیک مشاهده شده در ناحیه  $cm^{-1}$  ۲۹۲۴ ناشی از ارتعاشات کششی C-H می باشد. پیک های موجود در ناحیه  $cm^{-1}$  ۱۵۰۰-۱۷۰۰ از نمونه قارچ گانودرما به ارتعاشات پیوند آمیدی اشاره دارد که ناشی از ساختار پروتئینی است. باند مشاهده شده در ناحیه  $cm^{-1}$  ۱۶۴۴ و ۱۵۳۸ به ارتعاشات کششی C=O و نیز ارتعاشات خمشی N-H مربوط است. پیک های دوتایی مشاهده شده در ناحیه ۹۰۰-۴۰۰ به ساختار کربوهیدراتی نمونه بر می گردد. پیک در ناحیه  $cm^{-1}$  ۱۳۸۹ و ۱۳۲۲ و ۱۰۷۲ به ترتیب به ارتعاش کششی C-O و ارتعاش خمشی C-H و ارتعاش کششی C=O اشاره دارد. مشاهدات تایید می کند که گروه های عاملی O-C و O-H مسئول تولید نانوذرات نقره هستند. پیک تیز در ناحیه  $cm^{-1}$  ۵۵۰-۴۵۰ مربوط به ارتعاش کششی Ag-O می باشد.

## نتایج

نتایج حاصله از این پژوهش نشان می دهد که بیشترین میزان مقاومت جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و کوتیریماکسازول می باشد و آنتی بیوتیک های نالیدیکسیک اسید، سپروفلوکسازین، نیتروفورانتوئین، جنتامایسین و لووفلوکسازین بعد از آن ها قرار گرفتند.

## نتایج Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy

آنالیز FT-IR به منظور بررسی گروه های عاملی در ساختار و بررسی تغییرات پس از اصلاح ساختار انجام می گیرد. طیف IR نمونه عصاره قارچ گانودرما/ذرات نقره در شکل ۱ نشان داده شده است. پیک پهن در ناحیه  $cm^{-1}$  ۳۴۲۲ مربوط به ارتعاشات کششی



شکل ۱: طیف (Fourier-transform infrared) spectroscopy FT-IR

## بحث

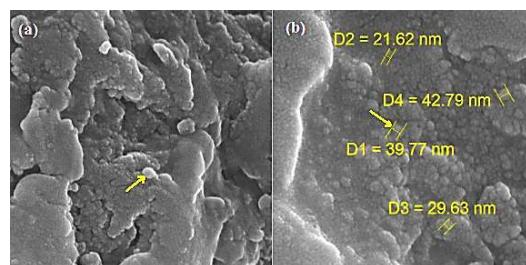
امروزه، استفاده از نانوذرات با توجه به افزایش کارایی آن‌ها و همچنین پیدایش مقاومت‌های آنتی بیوتیکی در پزشکی و علوم زیستی سهم قابل توجهی را به خود اختصاص داده است.<sup>۱۳</sup> در این مطالعه ۳۰ نمونه از کشت‌های مثبت دارای عفونت ادراری ارجاع شده از آزمایشگاه مستقر در بیمارستان امام رضا شهرستان بنجورد مورد بررسی قرار گرفت. جهت تعیین میزان مقاومت و حساسیت جدایه‌ها از روش کربی با این استفاده شد. در این پژوهش بیشترین میزان مقاومت جدایه نسبت به آنتی بیوتیک آمپی سیلین به میزان ۹۳/۳۳ درصد بود و آنتی بیوتیک‌های کوتريماكسازول (۶۷/۶۶ درصد)، نالیدیکسیک اسید (۴۳/۳۳ درصد)، سیپروفلوکساسین (۴۰ درصد)، نیتروفوراتانتوئین (۴۰ درصد)، جنتامايسین (۳۶/۶۶ درصد) و لووفلوکساسین (۲۶/۶۶ درصد) بعد از آن‌ها قرار گرفتند. همچنین در بررسی Fourier-FTIR ابعاد بدست آمده نانو ذره نقره (Scanning Electron Microscope SEM) ۴۵۰-۵۵۰ cm<sup>-۱</sup> بود و تصاویر (Scanning Electron Microscope SEM) (ذرات نقره سنتزی دارای اندازه در محدوده ۲۰-۴۵ نانومتر می‌باشد.

رحیم زاده ترابی و همکاران در سال ۲۰۱۶ در فلاورجان به بررسی بررسی تأثیر آنتی باکتریایی نانوذرات طلا بر روی اشريشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه مقاوم به چندین آنتی بیوتیک و تأثیر آن بر روی کبد موش پرداختند. نتایج حاصل از پژوهش رحیم زاده ترابی بیانگر این بود که بیشترین میزان مقاومت جدایه‌های کلبسیلا پنومونیه مربوط به آنتی بیوتیک اریترومایسین (۹۲/۱۶ درصد) و بیشترین حساسیت نیز مربوط به آنتی بیوتیک جنتامايسین (۴۲/۱۵ درصد) بوده است. همچنین بیشترین میزان مقاومت در جدایه‌های اشريشیاکلی مربوط به آنتی بیوتیک آمپی سیلین (۹۴/۱۲ درصد) و بیشترین حساسیت مربوط به آنتی بیوتیک کوآموکسی کلاو (۵۰ درصد) بوده است. همچنین اندازه نانو ذرات مورد استفاده در پژوهش رحیم زاده ترابی کروی با قطر ۱۰ نانومتر بوده است و دارای خاصیت ضد باکتریایی علیه باکتری‌های خانواده انتروباكتریا بوده است.<sup>۱۴</sup> میانگین میزان حداقل غلظت بازدارنگی و حداقل میزان کشنده‌گی در کلبسیلا پنومونیه ۳۲۰ و ۶۴۰ بوده و در

## نتایج میکروسکوپ الکترونی رویشی FE-SEM

تصاویر SEM (Scanning Electron Microscope) از نمونه سنتزی در شکل ۲ نشان داده شده است. تصاویر ۲a نانوذرات نقره را با مورفوЛОژی ذره ای نشان می‌دهد که در تصویر با فلاش زرد رنگ مشخص شده و در میان گونه زیستی با مورفوЛОژی صفحه ای قرار گرفته است.

نتایج حاصل از تصاویر SEM (Microscop $e$  SEM) در شکل ۲b نشان می‌دهد که ذرات نقره سنتزی دارای اندازه در محدوده ۲۰-۴۵ نانومتر می‌باشد.



شکل ۲: تصاویر (Scanning Electron) Microscope SEM

## نتایج MTT

مقدار Sig. با استفاده از آزمون ANOVA، صفر محاسبه شده است که نشان دهنده وجود تفاوت معنادار میان غلظت‌های مختلف و شاهد‌های مثبت و منفی می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲: نتیجه MTT

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			

جدول ۳: میانگین نتایج MIC و MBC

نام باکتری مورد مطالعه	MIC	MBC
کلبسیلا پنومونیه	۲۱۸	۸۷۵

پژوهش مفاخری بیانگر اثر ضد میکروبی بر روی جایه های مورد بررسی بوده. نتایج حاصل از مطالعه مفاخری و مطالعه پیش رو در اندازه ابعاد کمپلکس قارچ نقره و عصاره میخک نقره دارای تفاوت می باشد که این تفاوت می تواند نشان دهنده تفاوت در انتخاب ماده استفاده شده در دو تحقیق باشد اما در میزان کشندگی در هر دو مطالعه شاهد تاثیر اثر باسازی از عصاره ها بر جایه های مورد مطالعه بوده ایم.

نبی پور و همکاران در سال ۲۰۱۵ در ایلام به بررسی مقایسه ای اثرات آنتی باکتریال نانو پارتیکل های نقره و روی بر باکتری های پاتوژن سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس پرداختند. قطر نانو ذرات مورد استفاده در این پژوهش ۲۰ نانومتر بوده که تقریباً مشابه اندازه نانو ذرات مطالعه حاضر می باشد و در مطالعه نبی پور و همکاران سودوموناس آئروژینوزا سویه مقاوم و استاف اورئوس سویه حساس نسبت به خاصیت باکتریسیدال نانوذرات بودند.<sup>۱۷</sup>

## نتیجه گیری

با توجه به افزایش مقاومت باکتری های بیماریزا به آنتی بیوتیک ها نیاز به بررسی خاصیت ضد باکتری ترکیبات جدید ضروری می باشد. از این رو ترکیباتی مانند نانوذرات فلزات سنگین و یا پیتیدهای ضد میکروبی به علت برخورداری از خصوصیات و ویژگی های مناسب مانند کشندگی سریع، طیف وسیع فعالیت در دهه های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. بسیاری از محققان بر این باورند که توانایی ترکیبات فوق در چسبیدن به غشا های باکتریایی نقش بسیار مهمی در ایجاد خصوصیات منحصر به فرد در آن ها دارد.

باکتری اشريشيا کلی به ترتیب ۱۶۰ و ۳۲۰ بوده است. نتایج حاصل از پژوهش رحیم زاده ترابی و همکاران و این پژوهش دارای مشابهت هایی از قبیل اندازه نانو ذره و شکل آن و اثر نانو ذره نقره بر باکتری کلیسیلا پنومونیه می باشد. همچنین در این پژوهش بوده میزان کشندگی در کلیسیلا پنومونیه ۸۷۵ و حداقل غلظت بازدارنگی ۲۱۸ که دارای تفاوت با پژوهش رحیم زاده ترابی می باشد.

کاظمی و همکاران در سال ۲۰۱۴ به بررسی اثر ضد باکتریایی نانو ذرات نقره همراه با آنتی بیوتیک های مهار کننده سنتز پروتئین بر استافیلوکوکوس اورئوس جداشده از موارد ورم پستان گاو پرداختند. میزان مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه مورد مطالعه بر روی آنتی بیوتیک های اریترومایسین، جتابامایسین، استرپتومایسین و داکسی سایکلین به ترتیب ۱۰۰، ۲۲، ۲۲، ۱۰۰ و ۸ درصد بوده است. رشد ۹۸ درصد نمونه ها در پژوهش کاظمی و همکاران توسط نانو ذرات نقره مهار شده اند.<sup>۱۵</sup> نتایج این پژوهش با پژوهش کاظمی و همکاران در میزان مقاومت و حساسیت جدایه ها با یکدیگر مقاومت می باشد که این می تواند نشان دهنده میزان متابولیسم های دو گونه متفاوت باکتری های مورد استفاده باشد. همچنین میزان مهار کننده ای نانو ذرات نقره در هر دو پژوهش بالا بود و دارای تاثیر بر روی جدایه ها بوده است.

مفاخری و همکاران در سال ۲۰۱۷ در قزوین به بررسی تولید زیستی و اثر ضد باکتریایی نانو ذرات نقره تولید شده بوسیله عصاره متانولی گیاه دارویی میخک هندی پرداختند. نانو ذرات نقره تولید شده با استفاده از روش و مشاهده با میکروسکوپ الکترونی نگاره مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی توسط میکروسکوپ الکترونی نانو ذرات نقره با اشکال کروی و در محدوده اندازه ۶۹ تا ۲۷ نانومتر بود و در بررسی طیف سنج تبدیل فوریه مادون قمز یون های نقره در محدوده  $500-3500 \text{ cm}^{-1}$  بود.<sup>۱۶</sup> همچنین نتایج حاصل در

## References

1. Khalili MB, SharifiYazdi MK, Ebadi M, Sadeh M. Correlation between urine analysis and urine culture in the diagnosis of urinary tract infection in Yazd central laboratory. Tehran Univ Med J (TUMJ). 2007; 65(9): 53-58.
2. Grode N, Tveten Y, Kristiansen BE. Urinary Tract

infections in Norway: bacterial etiology and susceptibility, A retrospective study of clinical isolates. J Clin Microbiol Infect. 2001; 7(10): 543-547.

3. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nature Reviews

- Microbiology. 2015;13(5):269-84.
4. Daoud Z, Moubareck C, Hakime N, Doucet-Populaire F. Extended spectrum beta-lactamasesproducing *Enterobacteriaceae* in Lebanese ICU patients.
  5. Mlynarczyk G, Mlynarczyk A, Bilewska A, Dukaczewska A, Golawski C, Kicman A, et al. Effectiveness of the method with cefpirome in detection of extended-spectrum beta-lactamases in different species of gram-negative bacilli. Med Dosw Mikrobiol 2006; 58(1): 59- 65.
  6. 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.
  7. Johnson J R., Delavari P., Kuskowski M., Stell.A L: Phylogenetic distribution of extraintestinal virulence-associated traits in *Escherichia coli*. The journal of infectious disease 2001; 18(3):78-88.
  8. Zhang H, Juan Li w, Ping Nie sh, Yong Xie M. Structural characterisation of a novel bioactive polysaccharide from *Ganoderma atrum*. Carbohydrate Polymers. 2012; 8(8): 1047–1054.
  9. Chen Y, Yong Xie M, Ping Nie SH, Xing Wang Y. Purification, composition analysis and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of *Ganoderma atrum*. Food Chemistry 2008; 10(7): 231–241.
  10. Donelli G, Vuotto C. Biofilm based infections in long term care facilities Future Microbiol 2014; 9: 175-88.
  11. Doughari HJ, Ndakidemi PA, Human IS, Benade S. The ecology biology and pathogenesis of *Acinetobacter* spp. *Microbes Environ* 2011; 26: 101-12.
  12. Franci G, Falanga A, Galdiero S, Palomba L, Rai M, Morelli G, Galdiero M. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. *Molecules* 2015; 20: 8856-74.
  13. Clinical and Laboratory Standards Institute (2016) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second informational supplement. CLSI document M100-S22. Wayne, PA, USA.
  14. Rahimzade Torabi L, Doudi M, Noori A. Antibacterial effects of gold nanoparticles on multi-sdrug resistant *klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* and its effect on the liver of balb/c mice. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2016; 23(10): 1001-17.
  15. Kazemi, J., Ahmadi, M., Dastmalchi Saeed, H., Adibhesami, M. Antibacterial effect of silver nanoparticles along with protein synthesis-inhibiting antibiotics on *Staphylococcus aureus* isolated from cattle mastitis. *Biological Journal of Microorganism* 2014; 2(8): 15-22.
  16. Mafakheri S, Dehghan Nayeri F, Mir Hosseini 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.
  17. Nabipour Y, Rostamzad A, Ahmadi S. The Evaluation of Antimicrobial Properties of Zink and Silver Nanoparticles on Pathogenic Bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus Aureus*. scientific journal of ilam university of medical sciences 2015 Nov 10;23(5):173-81.

Samira Kadoghani sani<sup>1</sup>,  
Majid Jamshidian-  
Mojaver<sup>2</sup>, Mohadese  
Amiri<sup>3</sup>, Hamidreza Farzin<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Master of Microbiology,  
Department of Biotechnology,  
Sabzevar Branch, Islamic  
Azad University of Sabzevar,  
Sabzevar, Iran.

<sup>2</sup> Assistant Professor-Mashhad  
Branch, Razi Vaccine and  
Serum Research Institute,  
Agricultural Research,  
Education and Extension  
Organization (AREEO),  
Mashhad, Iran.

<sup>3</sup> MSc in Bacteriology, School of  
Veterinary Medicine, Shahid  
Bahonar University of  
Kerman, Kerman, Iran.

## Green Synthesis of Silver Nanoparticles Via Ganoderma lucidum Fungus Extract and its Antibacterial Effects on Klebsiella Pneumonia Isolates from Urinary Tract Infections

Received: 12 May 2020; Accepted: 1 Feb 2021

### Abstract

**Background:** Urinary tract infection is one of the most important infectious diseases and can be seen at all ages; it is also a major medical problem. Due to the increased antibiotic resistance and high rate of recurrence of the disease, it can cause serious damage to the health of patients.

Ganoderma leucidum is one of the most effective fungi with numerous therapeutic properties and is the most effective and best fungi with healing properties.

Metal nanoparticles are important in various fields, including medicine, industry, etc. Silver nanoparticles are of particular interest due to their good conductivity, chemical stability, and many other properties.

**Methods:** In this study, 30 specimens of positive cultures with urinary tract infection referred to Imam Reza Hospital Laboratory in Bojnourd were studied. Resistance and susceptibility of the isolates were determined by disk diffusion method. In this study, the antibacterial effects of silver nanoparticles were investigated using aqueous extract of Ganoderma leucidum by microdilution method. Vegetative electron microscopy was used to measure the size and shape of silver nanoparticles. FTIR analysis was also performed to investigate possible organic compounds that could interfere with the synthesis of nanoparticles.

**Results:** The highest antibiotic resistance was related to ampicillin (93.33% /28 isolates). The resulting nanoparticles were 20 to 45 nm in size.

**Conclusion:** The produced nanoparticles have antimicrobial activity and can be a good alternative in the treatment of antibiotic resistant infectious diseases.

**Keywords:** Urinary Tract Infection, Antibiotic Resistance, Silver nanoparticles

**\*Corresponding Author:**  
Assistant Professor-Mashhad  
Branch, Razi Vaccine and  
Serum Research Institute,  
Agricultural Research,  
Education and Extension  
Organization (AREEO),  
Mashhad, Iran

Tel: 09153094213  
E-mail: hrfarzin@yahoo.com