

## سنتر سبز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره قارچ *Ganoderma lucidum* و بررسی اثرات ضد باکتریایی آن بر جدایه های کلبسیلا پنومونیه مربوط به عفونت های ادراری

تاریخ دریافت مقاله: ۹۹/۲/۲۰؛ 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.

گانودرما 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 باکتریایی نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی قارچ گانودرما لوسیدوم به روش میکروداپلوشن انجام شد. جهت اندازه گیری ابعاد و شکل نانو ذرات نقره از میکروسکوپ الکترونی روشی استفاده گردید. همچنین جهت بررسی ترکیبات آلی احتمالی که در سنتر 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 (۹۳/۳۳ درصد/ ۲۸ 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 کدوغنی ثانی<sup>۱</sup>، مجید جمشیدیان مجاور<sup>۲</sup>، محدثه امیری<sup>۳</sup>، حمید 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 باکتری شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.  
<sup>۳</sup>استادیار موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، ایران.

### نویسنده مسئول:

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

۰۹۱۵۳۰۹۴۲۱۳۰  
E-mail: hrfarzin@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 پزشکی 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 جدایه های کلبسیلا 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 جدایه های مشکوک به کلبسیلا انتخاب شدند و پس از تایید به وسیله، آزمایش های بیوشیمیایی نظیر تست های (تست اوره، سیمون سیترات، TSI (Triple Sugar Iron و Motility) (Sulfid Indol) SIM (آلمان-مرک) جهت تأیید جدایه ها صورت پذیرفت.

جهت تعیین میزان مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های مورد بررسی، ابتدا یک کلنی از هر جدایه در مولر هیتتون برات (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 هیتتون آگار (آلمان-مرک) کشت داده شد. دیسک های آنتی بیوتیکی سیپروفلوکساسین (۵ میکرو گرم)، کوتریماسازول (۲۵ میکرو گرم)، جتتامایسین (۱۰ میکرو گرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکرو گرم)، نیتروفوراتوئین (۳۰۰ میکرو گرم)، آمپی سیلین (۱۰ میکرو گرم) و لووفلوکساسین (۵ میکرو گرم)، (پادتن طب-کرج) توسط پنس استریل روی پلیت مولر هیتتون آگار (آلمان-مرک) قرار داده شد. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. پس از انکوباسیون قطر هاله 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 ۳۰-۴۰ 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 کلبسیلا پنومونیه، اشریشیاکلی، پروتئوس 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 پزشکی 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 دارابودن 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 آلکالوئید 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 سانتی‌گراد انکوبه شد. از سوسپانسیون نهایی برای انجام آزمون حساسیت دارویی، انجام آزمون MIC (Minimum Inhibitory Concentration) استفاده می‌شود.

#### تست میکرودايلوشن برات برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibitory Concentration) (MIC)

جهت اندازه‌گیری و تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از روش رقت سازی سریالی به صورت سه مرتبه تکرار صورت پذیرفت. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هینتون برات (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 تهیه رقت های به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به چاهک های ۱ تا ۱۰ از 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 سانتی‌گراد 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 MBC (Minimum Bacteriocidal Concentration) 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 هینتون آگار (آلمان-مرک) به صورت خطی کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. عدم رشد باکتری در هر غلظت نشان دهنده MBC (Minimum Bacteriocidal Concentration) می‌باشد.

#### 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 بیاید. 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.

#### سنتر نانوذره نقره و قارچ گانودرما

جهت تهیه عصاره قارچ نقره ۰/۸۳ گرم از نترات 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 ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ (اپندورف-آلمان) 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 روبشی (SEM) (Scanning Electron Microscope) (ساخت کشور چک) و همچنین از دستگاه FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy) (ساخت کشور آلمان) استفاده شد.

#### تست MTT

بررسی اثر عصاره قارچ + نقره بر روی رشد و تکثیر سلول‌ها از روش رنگ سنجی MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide استفاده می‌شود. این روش بر اساس شکستن نمک تترازیلیوم توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌های زنده انجام شد. نتایج حاصله به صورت میزان بقایای سلولی و غلظتی که سبب مهار رشد سلولی تا میزان ۵۰ درصد می‌شود که به عنوان IC<sub>50</sub> لحاظ می‌گردد.

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

جدایه های مورد مطالعه را به محیط کشت مایع مولر هینتون برات

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
سیپروفلوکسازین	۴۰ درصد	۶ درصد	۴۰ درصد
لووفلوکسازین	۶۰ درصد	۱۳/۳۳ درصد	۲۶/۶۶ درصد
جتتامایسین	۶۳/۳۳ درصد	۰ درصد	۳۶/۶۶ درصد
کوتریماکسازول	۲۶/۶۶ درصد	۶/۶۶ درصد	۶۶/۶۶ درصد
نیتروفورانتوئین	۶۰ درصد	۰ درصد	۴۰ درصد
آمپی سیلین	۰ درصد	۶/۶۶ درصد	۹۳/۳۳ درصد

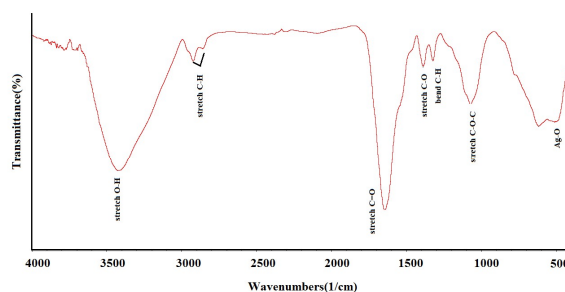
### نتایج

نتایج حاصله از این پژوهش نشان می دهد که بیشترین میزان مقاومت جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و کوتریماکسازول می باشد و آنتی بیوتیک های نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکسازین، 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  $3422 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاشات کششی

O-H می باشد. پیک مشاهده شده در ناحیه  $2924 \text{ cm}^{-1}$  ناشی از ارتعاشات کششی C-H می باشد. پیک های موجود در ناحیه  $1500-1700 \text{ cm}^{-1}$  از نمونه قارچ گانودرما به ارتعاشات پیوند آمیدی اشاره دارد که ناشی از ساختار پروتئینی است. باند مشاهده شده در ناحیه  $1644$  و  $1538 \text{ cm}^{-1}$  به ارتعاشات کششی C=O و نیز ارتعاشات خمشی N-H مربوط است. پیک های دوتایی مشاهده شده در ناحیه  $900-400 \text{ cm}^{-1}$  به ساختار کربوهیدراتی نمونه بر می گردد. پیک در ناحیه  $1389$  و  $1322$  و  $1072 \text{ cm}^{-1}$  به ترتیب به ارتعاش کششی C-O و ارتعاش خمشی C-H و ارتعاش کششی C-C=O اشاره دارد. مشاهدات تایید می کند که گروه های عاملی C=O و O-H مسئول تولید نانوذرات نقره هستند. پیک تیز در ناحیه  $550-450 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی Ag-O می باشد.



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

## بحث

امروزه، استفاده از نانوذرات با توجه به افزایش کارایی آن‌ها و همچنین پیدایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در پزشکی و علوم زیستی سهم قابل توجهی را به خود اختصاص داده است.<sup>۱۳</sup>

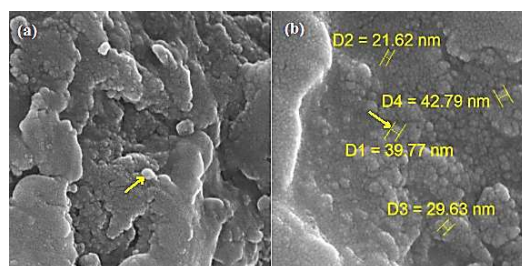
در این مطالعه ۳۰ نمونه از کشت‌های مثبت دارای عفونت اداری ارجاع شده از آزمایشگاه مستقر در بیمارستان امام رضا شهرستان بجنورد مورد بررسی قرار گرفت. جهت تعیین میزان مقاومت و حساسیت جدایه‌ها از روش کربی بائر استفاده شد. در این پژوهش بیشترین میزان مقاومت جدایه نسبت به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین به میزان ۹۳/۳۳ درصد بود و آنتی‌بیوتیک‌های کوتریماکسازول (۶۶/۶۶ درصد)، نالیدیکسیک اسید (۴۳/۳۳ درصد)، سپروفلوکساسین (۴۰ درصد)، نیتروفورانتوئین (۴۰ درصد)، جنتامایسین (۳۶/۶۶ درصد) و لووفلوکساسین (۲۶/۶۶ درصد) بعد از آن‌ها قرار گرفتند. همچنین در بررسی FTIR (Fourier - transform infrared spectroscopy) ابعاد بدست آمده نانو ذره نقره (Scanning Electron Microscope) SEM  $450-550\text{ cm}^{-1}$  بود و تصاویر SEM (Scanning Electron Microscope) ذرات نقره سنتزی دارای اندازه در محدوده ۲۰-۴۵ نانومتر بود.

رحیم زاده ترابی و همکاران در سال ۲۰۱۶ در فلاورجان به بررسی تأثیر آنتی‌باکتریایی نانوذرات طلا بر روی *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا پنومونیه* مقاوم به چندین آنتی‌بیوتیک 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 آنتی‌بیوتیک اریترومایسین (۹۲/۱۶ درصد) و بیشترین حساسیت نیز مربوط به آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (۴۲/۱۵ درصد) بوده است. همچنین بیشترین میزان مقاومت در جدایه‌های *اشریشیاکلی* مربوط به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین (۹۴/۱۲ درصد) و بیشترین حساسیت مربوط به آنتی‌بیوتیک کوآموکسی‌کلاو (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 انتروباکتریاسه بوده است.<sup>۱۴</sup> میانگین میزان حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل میزان کشندگی در *کلبسیلا پنومونیه* ۳۲۰ و ۶۴۰ بوده و در

## نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی FE-SEM

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

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



شکل ۲: تصاویر SEM (Scanning Electron Microscope)

## 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

MIC	MBC	نام باکتری مورد مطالعه
۲۱۸	۸۷۵	<i>کلبسیلا پنومونیه</i>

پژوهش مفاخری بیانگر اثر ضد میکروبی بر روی جدایه 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 باسازایی از عصاره ها بر جدایه های مورد مطالعه بوده ایم.

نبی پور و همکاران در سال ۲۰۱۵ در ایلام به بررسی مقایسه ای اثرات آنتی باکتریال نانو پاریتیکل 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 بیماری زا 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 پپتیدهای 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 اشریشیاکلی 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 کلبسیلا پنومونیه می باشد. همچنین در این پژوهش بوده میزان کشندگی در کلبسیلا پنومونیه ۸۷۵ و حداقل غلظت بازدارندگی 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 جدانشده از موارد ورم پستان گاو پرداختند. میزان مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه مورد مطالعه بر روی آنتی بیوتیک های اریترومايسين، جنتامایسین، استرپتومايسين و داکی سایکلین به ترتیب ۱۰۰، 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 متفاوت می باشد که این می تواند نشان دهنده میزان متابولسیم های دو گونه متفاوت باکتری های مورد استفاده باشد. همچنین میزان مهار کنندگی 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 ۲۷ تا ۶۹ نانومتر بود و در بررسی طیف سنج تبدیل فوریه مادون قرمز یون های نقره در محدوده  $cm^{-1}$  ۳۵۰۰-۵۰۰ 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-lactamases producing *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 ceftiofime 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-drug 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 Zinc 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