

## تحديد الفعالية التثبيطية لجزيئات الفضة النانوية ضد بعض الأنواع البكتيرية المرضية المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية

ريام فارس صالح<sup>1</sup>، محمد نظير معروف<sup>2</sup>، حيدر موسى حمزة<sup>3</sup>

<sup>1</sup> قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة تكريت، تكريت، العراق

<sup>2</sup> قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة تكريت، تكريت، العراق

<sup>3</sup> قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة السليمانية، السليمانية، العراق

### المخلص

اجريت الدراسة لتحديد الفعالية التثبيطية لجزيئات الفضة النانوية المصنعة من قبل الفطر الخيطي *Fusarium mangiferae* ضد بعض انواع البكتريا المرضية ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية والتي أخذت من المختبر المركزي لمستشفى السليمانية التعليمي إذ اظهرت جزيئات الفضة النانوية فعالية تثبيطية تجاه الانواع البكتيرية المختلفة في هذه الدراسة بطريقتي الانتشار بالحفر Well diffusion method وتثبيط النمو Growth inhibition assay حيث أظهرت الجزيئات النانوية للفضة لمناطق تثبيطية بطريقة الحفر تجاه البكتريا المرضية (*Proteus mirabilis*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus epidermidis*، *Staphylococcus aureus*) وكانت نتيجة اقطار التثبيط بطريقة الانتشار بالحفر Well diffusion method للبكتريا المذكورة أعلاه على التوالي (16، 17.75، 20.5، 15.25) ملم اما طريقة تثبيط النمو فقد اظهرت جزيئات الفضة النانوية فعالية ضد الانواع البكتيرية المذكورة أعلاه بتركيز (50، 50، 50، 100) % على التوالي من خلال عدم وجود نمو للمستعمرات على سطح اطباق الاكار المغذي الصلب عند تلك التركيزات لذلك يمكن استخدام الجزيئات النانوية لبعض المعادن نتيجة خواصها التثبيط الفعالة التي تملكها هذه الجزيئات ضد البكتريا بشرط عدم وجود أي تأثيرات جانبية سلبية.

### المقدمة

البكتريا الممرضة المقاومة للمضادات الحيوية، حيث اصبح البعض من تلك المضادات عديم الفائدة في علاج الامراض لاسيما الامراض الحادة والمزمنة، إذ أن كثرة تعاطي المضادات الحيوية أو زيادة الجرعة عن الحد المسموح به أو قطع العلاج دون إكماله يسمح للبكتريا أن تصبح مقاومة لتلك المضادات بالإضافة الى سهولة الحصول على المضادات الحيوية أدى إلى اتساع رقعة المقاومة البكتيرية وتطورها إلى الحد الذي نتج عنه سلالات مقاومة لجميع المضادات الحيوية المتوافرة في العلاج فأصبح من الضروري إيجاد طرق علاجية بديلة لإنتاج مواد فعالة ذات فائدة صحية وبدون آثار جانبية وغير مكلفة اقتصادياً، ومن تلك الحلول البديلة الجزيئات النانوية ومنها جزيئات الفضة النانوية حيث لا يستطيع الكائن المجهرى ان يطور مقاومته للجزيئات النانوية بسهولة كما يحصل للمضادات الحيوية<sup>[9,8]</sup> حيث يمكن أن تعمل جزيئات الفضة النانوية على تثبيط تضاعف DNA أو احداث ضرر للغشاء البلازمي للبكتريا فتتفقد البكتريا المحتويات السايوتوبلازمية او من خلال تثبيط الانزيمات الحيوية للبكتريا<sup>[10]</sup>.

### الهدف من الدراسة

تحديد الفعالية التثبيطية لجزيئات الفضة النانوية تجاه بعض العزلات البكتيرية المرضية المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية.

### المواد وطرق العمل

#### تصنيع وتحضير جزيئات الفضة النانوية

تم الحصول على جزيئات الفضة النانوية AgNPs بتصنيعها من الفطر *Fusarium mangiferae* باستعمال نترات الفضة، إذ تم نقل

يعد علم الجزيئات النانوية من العلوم الحديثة النشوء تتضمن تصنيع وتطوير بعض المواد الى جزيئات نانوية كالفضة والذهب والبلاتين وقد اكتسب هذا العلم أهمية كبيرة بشكل سريع في عدة مجالات مثل الصحة، التغذية، الصناعة، الاجهزة الالكترونية، الادوية، البصريات، إذ اظهرت الجزيئات النانوية خصائص مميزة بالاعتماد على الشكل المظهري والحجم والتكوين الكيميائي لها، يتراوح معدل الحجم ما بين (1-100) نانوميتر<sup>[1,2]</sup>.

يتم تصنيع الجزيئات النانوية بالطرق الفيزيائية والكيميائية والبايولوجية لكن الطرق الفيزيائية والكيميائية مكلفة وذات آثار سلبية بيئية وصحية فضلاً عن كونها تحتاج الى توفر ظروف خاصة من ضغط عالي و طاقة حرارية ومواد كيميائية، لذلك يتم اللجوء الى الطريقة البايولوجية التي تعد اسهل لكونها غير مكلفة وأمنة وليس لها تأثير صحي او بيئي<sup>[5,4,3]</sup>.

أزداد التوجه نحو استخدام مصادر حيوية كالنبات والكائنات المجهرية لإنتاج الجزيئات النانوية ومنها الفطريات التي تمتاز عن بقية الكائنات المجهرية والنبات بكون المواد الابضية الأولية والثانوية عالية جداً، فضلاً عن النشاط الانزيمي الفعال حيث أن الإنزيمات خارج خلوية متعددة ، لذلك يمكن أن تستخدم لتصنيع الجزيئات النانوية من خلال اختزال المواد كالمعادن من قبل تلك الانزيمات الى جزيئات نانوية ويمكن ان يقاوم الفطر الحرارة العالية وظروف أخرى مثل pH وفترة التحضين والتهوية<sup>[7,6]</sup>. ومن تلك الجزيئات الفضة النانوية التي تعد من اكثر أنواع الجزيئات النانوية المعروفة ذات تطبيقات متعددة وتكلفة اقل فضلاً عن امتلاكها فعالية مضادة لمدى واسع من

**الفعالية التثبيطية لجزيئات الفضة النانوية ضد البكتيريا**  
**Antibacterial activity of AgNPs**  
اختبرت الفعالية التثبيطية لجزيئات الفضة النانوية ضد الأنواع البكتيرية (*Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus*، *Proteus*، *Pseudomonas aeruginosa*، *epidermidis* Well diffusion method) بطريقتي الانتشار بالحفر وطريقة تثبيط النمو Growth inhibition assay بعد تثبيت العدد للأنواع البكتيرية قيد الدراسة.

#### تثبيت العدد البكتيري

نميت العزلات البكتيرية قيد الدراسة في الوسط المغذي السائل Nutrient broth بدرجة حرارة 37°م لمدة (18-24) ساعة ثم أجريت عملية تثبيت العدد للبكتيريا قيد الدراسة إلى (10<sup>8</sup>×1) لكل مل إذ أجريت سلسلة تخفيف للبكتيريا المنمأة في وسط Nutrient broth تراوحت ما بين (10<sup>-1</sup> – 10<sup>-13</sup>) بإستعمال أنابيب احتوت على الوسط المغذي السائل المعقم ومن ثم قورنت عكورة النمو في الأنابيب مع انابيب حاوية على محلول ماكفرلاند والذي يساوي (1.5×10<sup>8</sup>) خلية/مل، ثم نقل 100 مايكرو لتر من التخفيف المطلوب إلى سطح أطباق الاكار المغذي المعقم الصلب ونشرت بواسطة استعمال L-shaped glass rod وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة ثم تمت عملية عد المستعمرات لتلك الأطباق بطريقة العد للأطباق plate count<sup>[13]</sup>

#### طريقة الانتشار Diffusion test method

تم عمل الطريقة بأجراء حفر على وسط Mueller Hinton Agar وبأبعاد متساوية بقطر 6 ملم وبأستعمال ناقب فلبيني معقم cork borer ثم نُشر 100 مايكرو لتر من العالق البكتيري المثبت عدده (10×10<sup>8</sup>) على سطح الوسط ومن ثم نقل 100 مايكرو لتر من التراكيز المختلفة (10, 25, 50, 75, 100) % من جزيئات الفضة النانوية AgNPs الى تلك الحفر فضلا عن نقل 100 مايكرو لتر من Supernatant الراشح الفطري في احد الحفر ثم حضنت بعد ذلك الاطباق على درجة حرارة 37°م لمدة 18 ساعة بعدها تم تقييم الفعالية التثبيطية على البكتيريا من خلال قياس قطر دائرة التثبيط، كررت التجربة 3 مرات وتم احتساب المتوسط الحسابي Mean والانحراف المعياري Standard Deviations (STDEV)<sup>[15,14]</sup>

#### طريقة تثبيط النمو Growth Inhibition Assay

أجريت هذه التجربة بنقل 120 مايكرو لتر من البكتيريا المرصدة المثبت عددها (10×10<sup>8</sup>) الى حفر الطبقات المتعدد الحفر Microtiter Plate Wells (الذي يحوي 96 حفرة) واضيف لها 80 مايكرو لتر من تراكيز جزيئات الفضة النانوية AgNPs في تلك الحفر (25، 50، 75، 100) % واستبعد تركيز 10% لكونه لم يظهر تأثير في تجربة تثبيط الانتشار بالحفر بينما نقل الى الحفرة الاخرى 120 مايكرو لتر من البكتيريا مع 80 مايكرو لتر من راشح الفطر supernatant (عينة سيطرة لملاحظة اذا كان لراشح الفطر تأثير

جزء من المزروع الفطري *Fusarium mangiferae* المنمأة على طبق (Potato dextrose agar (PDA) بدرجة 28°م لمدة 6 أيام بأبرة معقمة إلى دورق يحتوي 250 مل من وسط Malt MYPG Extract Yeast Extract Peptone Glucose Broth وحُضن الدورق بدرجة 28°م بالحاضنة الهزازة 150 دورة بالدقيقة لمدة 7 أيام، بعد ذلك تم فصل المايسيلوم (الكتلة الحيوية للفطر) بأستعمال اوراق ترشيع معقمة (Whatman filter paper NO1) وغسلت جيدا بالماء المقطر المعقم لإزالة بقايا الوسط 3 مرات ثم جففت (الكتلة الحيوية) Biomass ووزنت لغرض استخدامها في تصنيع الجزيئات النانوية، إذ استعمل للتصنيع 3 دوارق الدورق الأول أُضيف 10غم من الكتلة الحيوية مع 100 مل من الماء المقطر المعقم (عينة سيطرة) بينما الدورق الثاني أُضيف اليه 10غم من الكتلة الحيوية مع 100 مل من 1 ملي مولار من المعادن المستخدمة في الدراسة الحالية (المعقمة بطريقة الترشيح بمرشحات ذات حجم 0.22 μm) حيث اذا حصل تغير في اللون بعد فترة التحضين من الأصفر الى البني الداكن يدل على انتاج الجزيئات النانوية، اما الدورق الاخير احتوى على محلول المعدن فقط (عينة سيطرة) حضنت الدوارق بدرجة حرارة 28°م مع رج مستمر 150 دورة بالدقيقة لمدة 190 ساعة تحت ظروف مظلمة في حاضنة هزازة، أُجريت التجربة ثلاث مرات في أوقات مختلفة واحتسب المتوسط الحسابي Mean والانحراف المعياري Standard Deviation (STDE)

وحضرت تراكيز (10, 25, 50, 75, 100) % من الخزين لمحلول تلك الجزيئات وقد استعمل في تحضير التراكيز الماء المقطر المعقم وذلك بأخذ (10, 25, 50, 75, 100) مل من الجزيئات النانوية للفضة المصنعة ويضاف لها (90, 75, 50, 25) مل ماء مقطر معقم على التوالي اما 100 فهو التركيز الذي اخذ من الخزين دون تخفيف<sup>[11]</sup>.

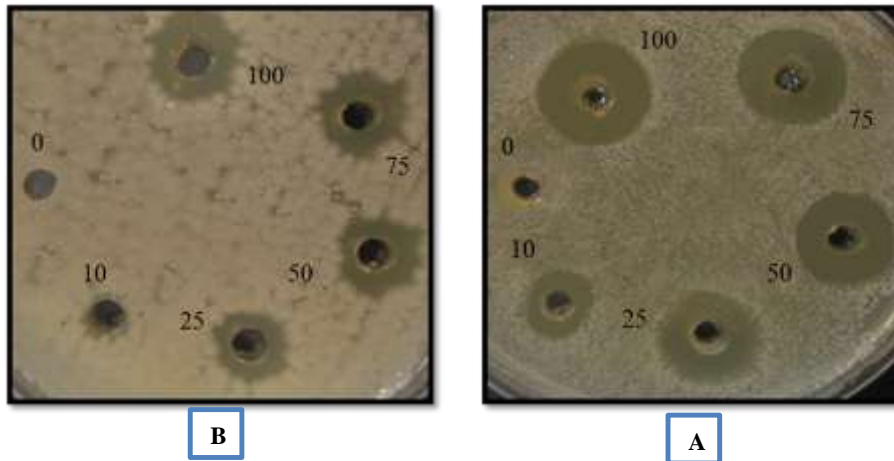
#### جمع وتشخيص العزلات البكتيرية

تم الحصول على العزلات البكتيرية المستعملة في هذه الدراسة من المختبر المركزي لمستشفى السليمانية التعليمي في محافظة السليمانية وحدد التشخيص للبكتيريا والمقاومة للمضادات الحيوية بواسطة جهاز (Vitek 2 compact system) وقد تم تأكيد التشخيص في المختبر ونقاوة العزلات البكتيرية المشخصة بتتميتها على الأوساط الزرعية من اكار الدم Blood Agar و الأكار المغذي Nutrient Agar وأكار الماكونكي MacConkey Agar ووسط أكار المانتول الملحي Mannitol Salt Agar ووسط اكار السترامايد Cetrinide agar ثم حضنت الاطباق عند درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة وبالإعتماد على الصفات الشكلية والزرعية المتضمنة حجم المستعمرات ولونها وحافاتهما وإرتفاعها ثم دراسة صفاتها تحت المجهر بعد صبغها بصبغة كرام لملاحظة استجابتها للصبغة وشكل الخلايا البكتيرية وحجمها وترتيبها فضلا عن بعض الاختبارات البايوكيميائية تم تأكيد التشخيص للعزلات وبحسب ما ذكره<sup>[12]</sup>.

### النتائج والمناقشة

الفعالية التثبيطية لجزيئات الفضة النانوية تجاه الأنواع البكتيرية المرضية قيد الدراسة

حددت الفعالية التثبيطية بطريقتي الانتشار Diffusion test method و تثبيط النمو growth inhibition assay إذ أجريت في طريقة الانتشار بالحفر دراسة الفعالية التثبيطية لجزيئات الفضة النانوية تجاه أربعة أنواع من البكتريا المتعددة المقاومة للمضادات إذ لوحظت الفعالية التثبيطية للجزيئات النانوية من خلال مناطق التثبيط التي حددت حول الحفر في الوسط المنماة عليه تلك الانواع وكما موضح في الجدول رقم (1) حيث سجلت البكتريا الموجبة لصبغة كرام المتمثلة بالنعين *Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus epidermidis* اقطار تثبيطيه (20.5،15.25) ملم على التوالي وكما وضحه الشكل رقم (1).



الشكل 1: المناطق التثبيطية لتراكيز جزيئات الفضة النانوية (100,75,50,25,10) %، (0) الراشح الفطري *Fusarium* ضد بكتريا (A) *Staphylococcus aureus* (B) *Staphylococcus epidermidis*

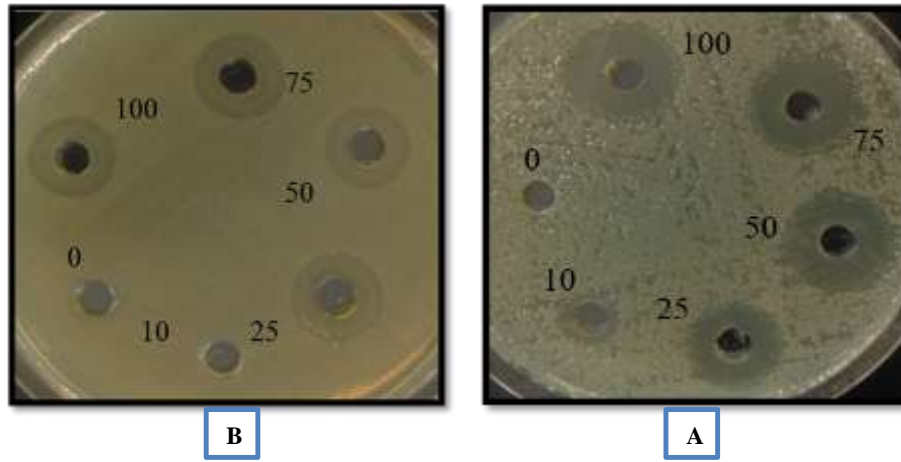
بينما *Staphylococcus aureus* 13.5 ملم كذلك Hussain [23] وجماعته 2014 لاحظوا أن جزيئات الفضة النانوية أحدثت قطر تثبيط 26 ملم ضد بكتريا *Staphylococcus epidermidis* وهي نتائج مقارنة لدراستنا. اما بالنسبة للبكتريا السالبة لصبغة كرام المتمثلة ببكتريا *Pseudomonas aeruginosa* وبكتريا *Proteus mirabilis* حددت الأقطار التثبيطية لها بحوالي 17.75، 16 ملم على التوالي وكما موضح في الشكل (2) وهي نتيجة اتفقت مع [24] Shelar and Chavan عام 2014 اللذان وجدوا أن القطر التثبيط لجزيئات الفضة النانوية ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* سجل 15 ملم بينما وجد Patil [19] عام 2014 أن القطر التثبيط لجزيئات الفضة النانوية يزداد بزيادة التركيز المستخدمة في دراسته وحدد القطر التثبيط ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* 14 ملم وهي نتائج مقارنة للنتيجة الحالية. اما بالنسبة لنتيجة بكتريا *Proteus mirabilis* اتفقت مع [25]

تثبيطي) فضلاً عن نقل 200 مايكرو لتر من العالق البكتيري بدون معاملة (عينة سيطرة) ثم حضن الطبق بدرجة 37° لمدة 24 ساعة بعدها أجريت عملية قياس الكثافة الضوئية (OD) بأستعمال جهاز Biotech  $\mu$ Quant™ ) Microplate Spectrophotometer (USA) وبعد تحديد قيم القياس، نقل 5 مايكرو لتر من كل حفرة على سطح طبق الاكار المغذي بطريقة التثبيط وحضنت الاطباق بدرجة 37° لمدة 24 ساعة ولوحظت نتائج النمو للعزلات قيد الدراسة، تم تكرار التجربة ثلاثة مرات وبأوقات مختلفة واحتساب المتوسط الحسابي Mean والانحراف المعياري (STDEV) Standard Deviations.

وهي نتيجة مقارنة لنتائج [17] Karthickraja and Avimanyu عام 2011 اللذان سجلا القطر التثبيط لبكتريا *Staphylococcus aureus* بحدود 14ملم باستعمال تركيز 60 مايكروغرام/مل من جزيئات الفضة النانوية وكذلك وجد [18] Thangapandiyan عام 2016 ان القطر التثبيط الذي أحدثته جزيئات الفضة النانوية ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* 14ملم بينما [19] Patil عام 2014 لاحظ بأن القطر التثبيط الذي أحدثته جزيئات الفضة النانوية ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* حدد بحوالي 11ملم ولاحظ [20] Chandrakanth وجماعته 2014 ان تركيز 25مايكروغرام/مل من الفضة النانوية أظهرت منطقة تثبيط حددت بحوالي 19 ملم ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* اما [21] Zaki and Husain عام 2016 بينا أن القطر التثبيط حدد بحوالي 11ملم ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* اما [22] Abdel Hafez وجماعته 2015 وجدوا بأن القطر التثبيط لجزيئات الفضة النانوية المصنعة من الفطر *Fusarium* ضد بكتريا *Staphylococcus epidermidis* حدد بحوالي 15.5ملم

الذي احدثته جزيئات الفضة النانوية بتركيز 25 مايكروغرام/مل تجاه بكتريا *Proteus mirabilis* 25 ملم .

التثبيطي الذي احدثته جزيئات الفضة النانوية تجاه بكتريا *Proteus mirabilis* كانت 14.5ملم كذلك جاءت مقارنة لنتائج Al-<sup>[26]</sup> Bahrani and Ghafil عام 2016 اللذان وجدا القطر التثبيطي



الشكل 2: المناطق التثبيطية لتراكيز جزيئات الفضة النانوية (10,25,50,75,100) %، (0) الراشح الفطري *Fusarium* ضد بكتريا (A) *Pseudomonas aeruginosa* (B) *Proteus mirabilis*

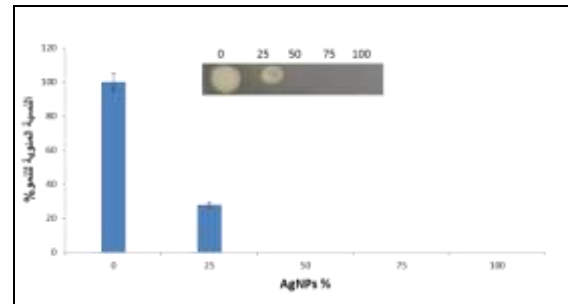
جدول رقم (1) يوضح الأقطار التثبيطية لتراكيز جزيئات الفضة النانوية

تراكيز جزيئات الفضة النانوية					الراشح الفطري	النوع البكتيري
%100	%75	%50	%25	%10	0	
15.25	13.25	12.75	11.5	6.75	0	<i>Staphylococcus aureus</i>
20.5	18.5	16.5	13.5	10	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
17.75	16.25	15.25	13.5	10	0	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
16	14.5	14	12.5	0	0	<i>Proteus mirabilis</i>

وهي نتيجة اتفقت مع Humberto<sup>[27]</sup> وجماعته 2010 الذين لاحظوا تثبيط جزيئات الفضة النانوية لبكتريا *Staphylococcus aureus* باستخدام طريقة MIC من خلال عدم وجود نمو على الاطباق بعد معاملة البكتريا بجزيئات الفضة النانوية وكما اتفقت مع Wady<sup>[28]</sup> وجماعته 2014 الذين لاحظوا عند معاملة بكتريا *Staphylococcus aureus* بسلسلة تراكيز من الفضة النانوية تراوحت ما بين 1 الى 3.91 مايكروغرام /مل ونقل جزء من تلك المعاملات على اطباق الاكار المغذي الصلب لاحظوا عدم وجود نمو يذكر بينما لوحظ وجود النمو عند التركيز الأدنى كذلك اتفقت مع نتائج<sup>[29-30]</sup>.

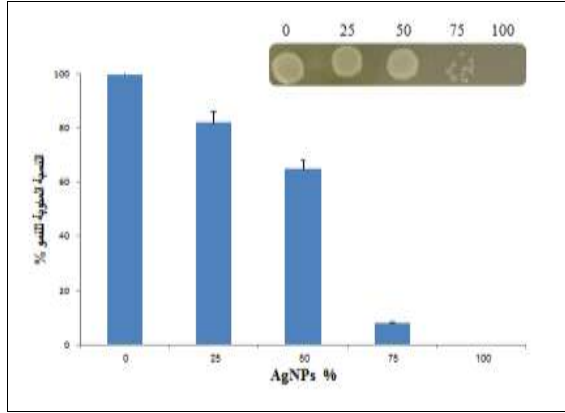
اما بالنسبة للنوع الاخر من البكتريا الموجبة لصبغة كرام *Staphylococcus epidermidis* قد ثبت عند التركيز 50% فلم يظهر نمو لها وكما موضح في الشكل رقم (4).

اما في الطريقة الثانية لتحديد الفعالية التثبيطية لجزيئات الفضة النانوية اتجاه البكتريا المرضية بطريقة تثبيط النمو Growth Inhibition assay فقد حددت فعالية تراكيز جزيئات الفضة النانوية (100,75,50,25)% في تثبيط الأنواع البكتيرية الأربعة قيد الدراسة من خلال تحديد نمو تلك العزلات (عينات السيطرة) لكل نوع مقارنة بعد معاملتها مع تلك التراكيز إذ أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن بكتريا الموجبة لصبغة كرام *Staphylococcus aureus* قد تثبتت عند التركيز 50% حيث لم يظهر نمو يذكر وكما موضح في الشكل رقم (3).



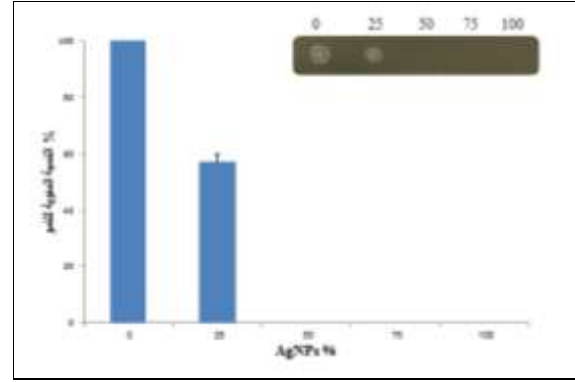
الشكل 3: تثبيط النمو لبكتريا *Staphylococcus aureus* بأستعمال تراكيز من جزيئات الفضة النانوية

مولار كذلك اتفقت مع [33] اما بالنسبة لبكتريا *Proteus mirabilis* فقد أظهرت نتيجة التثبيط بفعل جزيئات الفضة النانوية عند التركيز 75% نمو ضعيف بشكل مستعمرات قليلة بينما لم يظهر أي نمو عند تركيز 100% وكما يوضحه الشكل رقم (6).



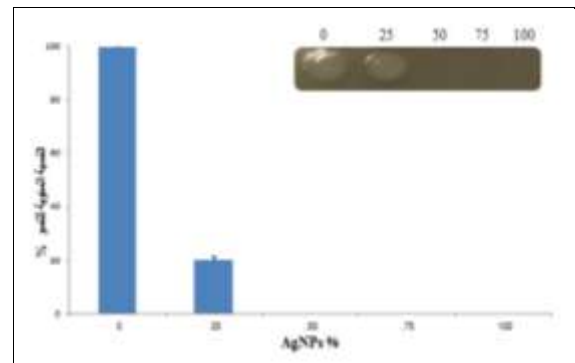
الشكل 6: تثبيط النمو لبكتريا *Proteus mirabilis* بتركيز من جزيئات الفضة النانوية

وهي نتيجة اتفقت مع [34] Chudasama وجماعته 2010 الذين وجدوا تثبيط لبكتريا *Proteus mirabilis* بطريقة Microdilution Method وعدم وجود نمو للمستعمرات بعد زرعها على الاطباق. بالرغم من تعدد طرق اثبات تثبيط النمو البكتيري من قبل الجزيئات النانوية الا أن المبدأ واحد إذ توجد فرضيات توضح تثبيط البكتريا من قبل الجزيئات النانوية إذ تمتلك هذه الجزيئات شحنة موجبة فترتبط بالشحنة السالبة لسطح الخلية البكتيرية فيؤدي تجمع الجزيئات على سطح الغشاء الخلوي الى تحوير في الصفات الفيزيائية والكيميائية للغشاء يحصل له ضرر يؤدي الى فقدان وظائفه كالتفادية وتنظيم الامموزية ونقل الالكترونات والتنفس [38,37,36,35] كما ان تجمع جزيئات الفضة النانوية في الغشاء البلازمي و انتاج ما يسمى الجذور الحرة تعطل وظيفة الغشاء بفعل تلك الجزيئات النانوية وتدخل الى داخل الخلية [40,39] بالإضافة الى أن قدرا معينا من ايونات الفضة الموجبة الشحنة يتم تحريرها من قبل الجزيئات النانوية داخل الخلية عندها يمكن ان ترتبط بالرابيوسوم البكتيري ويوقف تصنيع البروتين او يوقف عملية تضاعف المادة الوراثية للبكتريا من خلال ارتباط تلك الجزيئات النانوية بالمادة الوراثية وتدمير الحامض النووي الذي من شأنه أن يؤدي حتما إلى موت الخلية البكتيرية فضلاً عن تثبيط انزيمات السلسلة التنفسية وبيروتينات الخلية من خلال الارتباط بمجموعة الثايلول (SH) Thiol group للبروتينات وانتاج الجذور الحرة فيؤدي الى فقدان الخلية لمكوناتها الخلوية وموت الخلية [41,42,30].



الشكل 4: تثبيط النمو لبكتريا *Staphylococcus epidermidis* بأستعمال تراكيز من جزيئات الفضة النانوية

وهي نتيجة اتفقت مع نتائج [31] Ansari وجماعته 2015 الذين قاموا باستعمال تراكيز تراوحت ما بين (45-11.25) مايكروغرام/مل من الفضة النانوية ضد كل من بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus epidermidis* ولاحظوا عدم وجود نمو للمستعمرات على الاطباق كذلك اتفقت مع [32] Thomas وجماعته عام 2015 إذ لاحظوا تثبيط جزيئات الفضة النانوية لنمو مستعمرات بكتريا *Staphylococcus epidermidis* من خلال عدم وجود نمو للمستعمرات على الاطباق بعد المعاملة كذلك اتفقت مع [22] AbdelHafez وجماعته 2015 الذين لاحظوا عدم وجود نمو لمستعمرات بكتريا *Staphylococcus epidermidis* على اطباق الاكار المغذي الصلب بعد سلسلة معاملات لجزيئات الفضة النانوية مع البكتريا باستعمال الطبق المتعدد الحفر MTP اما بالنسبة لنتائج البكتريا السالبة لصيغة كرام فقد ثبت نمو بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* ولم يظهر أي نمو عند تركيز 50% وكما يوضحه الشكل رقم (5).



الشكل 5: تثبيط النمو لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بتركيز من جزيئات الفضة النانوية

وهي نتيجة اتفقت مع ماتوصل اليه [27] Humberto وجماعته 2010 الذين لاحظوا عدم وجود نمو يذكر لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بعد معاملتها بجزيئات الفضة النانوية بتركيز 100 ملي



## Reference

- (1)- Naveen, K.S.H.; Kumar, G.; Karthik, L. & Rao, K.V.B. (2010). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the filamentous fungus *Penicillium spp.* Arch. Appl. Sci. Res.2.P: 161–167.
- (2)- Mansur, H.S.; Grieser, F.; Marychurch, M.S.; Biggs, S.; Urquhart, R.S. & Furlong, D. (1995). Photoelectrochemical properties of 'q-state' cds particles in arachidic acid langmuirblodgett films. J Chem Soc Faraday Trans.91.P:665-672.
- (3)-Ravindran, A.; Chandran, P. & Khan, S.S. (2013). Biofunctionalized silver nanoparticles: advances and prospects. Colloids Surf B: Biointerfaces. 105.P:342–352.
- (4)-Singhal, G.; Bhavesh, R.; Kasariya, K.; Sharma, A.R. & Singh, R.P. (2011). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ocimum sanctum* (Tulsi) leaf extract and screening its antimicrobial activity, J. Nanopart. Res. 13.P:2981–2988.
- (5)- Thakkar, K.N. & Mhatre, S.S. (2010). Parikh, R.Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles. Nanomed. Nanotechnol.6.P:257–262.
- (6)- Rai, M.; Yada, A.; Bridge, P. & Gade, A. (2009). Myconanotechnology: A new and emerging science, in Applied Mycology. ed by Rai MK and Bridge PD. CAB International Publishers, New York.P:258-267.
- (7)- Rex, J.H.; Alexander, B.D.; Andes, D.; Arthington - Skaggs, B.; Brown, S.D.; Chaturvedi, V.; Ghannoum, M.A.; Espinel - Ingroff, A.; Knapp, C.C.; Zeichner, L.P.; faller, M.A.; Sheehan, D.J. & Walsh, T.J. (2008). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Standard-Third Edition. Clinical and Laboratory Standards Instituts C.a. L.S. Wayne, Pennsylvania, USA. 28.(14):P:1-25.
- (8)- Arvizo, R.R. (2012). Intrinsic therapeutic applications of noble metal nanoparticles: past, present and future. Chem.Soc.Rev.41.P: 29-43.
- (9)- Sosa, D.J.; Byarugaba, D.K.; Amabile, C. & Hsueh, P. (2010). In: Antimicrobial Resistance in Developing Counties, vol. 97. Springer, New York. P: 908–923.
- (10) - Zhou, Y.; Kong, Y.; Kundu, S.; Cirillo, J.D. & Liang, H. (2012). Antibacterial activities of gold and silver nanoparticles against *Escherichia coli* and *Bacillus Calmette - Gue´rin*. J. Nanobiotechnol. 10.P: 19–28.
- (11)- Ahmad, A.; Mukherjee, P.; Senapati, S.; Mandal, D.; Khan, M. I.; Kumar, R. & Sastry, M. (2003). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*, J. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 28(4): P:313-318.
- (12)- Forbes, B.A.; Sahm, D.F. & Weissfeld, A.S. (2007). Baily and Scott's Diagnostic Microbiology. 12thed. Mosby (Elsevier). USA.P:171-178.
- (13)- Michael, J. (2011). A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory 4thed.USA.
- (14)-Rajasha, S.; Dharanishanthib, V. & Vinoth Kannac, A. (2015). Antibacterial mechanism of biogenic silver nanoparticles of *Lactobacillus acidophilus*. J. Experi. Nanoscie.10(15):P:1143-1152.
- (15)- Namasivayam, S.j. K.R.; Jayakumar, D.; Kumar, R. & Bharani, R.S.A. (2015). Antibacterial and anticancerous biocompatible silver nanoparticles synthesised from the cold-tolerant strain of *Spirulina platensis*. Journal of Coastal Life Medicine. 3(4): P: 265-272.
- (16)- Salem, W.; Deborah, R.; Leitnera, F.G.; Zingla, G.S.; Ruth, P.; Goessler, W.; Reidla, J. & Schild, S. (2015). Antibacterial activity of silver and zinc nanoparticles against *Vibrio cholerae* and enterotoxic *Escherichia coli*. Int .J. Medical Microbiol. 305.P:85-95.
- (17)- Karthickraja, S. & Avimanyu, N. (2011). Silver nanoparticle synthesis from *Lecanicillium lecan II* and evaluationary treatment on cotton fabrics by measuring their improved antibacterial activity with antibiotics against *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) and *E.coli* (ATCC 25922) strains. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences . 3.P:190-195
- (18)- Thangapandiyan, S. (2016). Microbial medlated silver nanoparticles by *Pseudomonas aeruginosa* and their potent antibacterial activity combination with commercial antibiotics. World. J. Phaema. Ceutal Science. 5(3): P:703-714.
- (19)- Patil, S.R. (2014). Antibacterial activity of Silver Nanoparticles synthesized from *Fusarium semitectum* and Green extracts .I.J.S.E.R. 2(3):P140-145.
- (20)- Chandrakanth, R.K.; Ashajyothi, C.; Oli, A.; K. & Prabhurajeshwar, C. (2014). Potential Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles Synthesised from *Enterococcus* Species. Orient. J. Chem. 30(3): P:1253-1262.
- (21)- Zaki, H.N. and Husain, Z (2016). Enhanced antibacterial and anti - biofilm activities of biosynthesized silver nanoparticles against pathogenic bacteria. Journal of Gene C and Environmental Resources Conserva on. 4(3):P:197-203.
- (22)- AbdelHafez, E.H.; Ahmed, E.A.; Abbas, H.A. & Salah EID in, R.A. (2015). Efficacy of Antibiotics Combined with Biosynthesized Silver Nanoparticles on some Pathogenic Bacteria .International Journal of Science and Research (IJSR).78(96):P:1294-1303.
- (23)- Hussain, M.A.; Shah, A.; Jantan, I.; Shah, M.R.; Tahir, M.N.; Ahmad, R. & Bukhari, S.N.(2014). Hydroxypropy cellulose as a novel green reservoir for the synthesis, stabilization, and storage of silver nanoparticles. Open access peer-reviewed scientific and medical journals. original research. 10(1): P:2079-2088.
- (24)- Shelar, G.B. & Chavan. A.M.(2014). *Fusarium semitectum* mediated extracellular synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activity. International Journal of Biomedical And Advance Research. 05 (07):P:349-351.
- (25)- Packia Lekshmi, N.C.; J. Kalavathy, M.; Viveka, S.; Jeeva, S. & Brindha, J.R. (2013).

- Antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized extracellularly by soil micro flora. Turkish Journal of Science & Technology. 8(1):P:23-28.
- (26)- Al-Bahrani, R.M. & Ghafil, J.A. (2016). Evaluation of inhibition activity of silver nanoparticles activity against pathogenic bacteria. Iraqi Journal of Science.57(3):P:2203-2207.
- (27)- Humberto, H.; Lara, V.; Ayala-Nunez, N.V. Carmen, L.D. Ixtepan, T. & Cristina, R.P. (2010). Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. World. J. Micro. Biotechnol .26:P:615-621
- (28)- Wady, A.F.; Machado, A.L.; Foggi, C.C.; Zamperini, C.A.; Zucolotto, V.; Moffa, E.B. & Vergani, C.E. (2014). Effect of a Silver Nanoparticles Solution on *Staphylococcus aureus* and *Candida* spp. Journal of Nanomaterials. Research Article. 545 (279):P:7.
- (29)-Ansari, M.A.; Khan, H.M.; Khan, A.A.; Malik, A.; Sultan, A.; Shahid, M.; Shujatullah, F. & Azam, A. (2011). Evaluation of antibacterial activity of silver nanoparticles against MSSA and MSRA on isolates from skin infections. Biol. J. Med. 3:P:141-146.
- (30)-Shrivastava, S.; Bera, T.; Roy, A.; Singh, G.; Ramachandrarao, P. & Dash, D. (2007). Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. Nanotechnology.18(22):P:1-9.
- (31)-Ansari, M.A.; Khan, H.M.; Khan, A.A.; Cameotra, S.S. & Alzohairy, M.A. (2015). Anti biofilm efficacy of silver nanoparticles against MRSA and MRSE isolated from wounds in a tertiary care hospital. Indian J. Med. Microbiol.33.P:101-109.
- (32)- Thomas, R.; Soumya, K.R.; Mathew, J. & Radhakrishnan, E.K. (2015). Inhibitory effect of silver nanoparticle fabricated urinary catheter on colonization efficiency of Coagulase Negative *Staphylococci*. J. Photochem. Photobiol B.(149):P:68-77.
- (33)- Lkhagvajav, N.; Yasab, I. C.; elikc, E.; Koizhaiganova, M. & Saria, O. (2011). Antimicrobial activity of colloidal silver nanoparticles prepared by sol gel method. Dig. J. Nanomater Biostruct. 6.P: 149-154.
- (34)-Chudasama, B.; Vala, A.K.; Andhariya, N.; Mehta, R.V. & Upadhyay, R.V. (2010). Highly bacterial resistant silver nanoparticles: synthesis and antibacterial activities. J. Nano. Res. View at Publisher. View at Google Scholar. 12(5):P:1677-1685.
- (35)- Marambio - Jones, C.& Hoek, E.M.V.(2010).A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. Journal of Nanoparticle Research.12.P:1531-1551.
- (36)- Nel, A. E.; Meadler, L.; Velegol, D.; Xia, T.; Hoek, E. M. V.& Somasundaran, P. (2009). Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. Nature Materials, 8.P:543-557.
- (37)- Sondi, I. & Salopek - Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. Journal of Colloid and Interface Science.27(5):P:177-182.
- (38)-Su, H. L.; Chou, C. C.;Hung, D. J.; Lin, S. H.; Pao, I. C. & Lin, J. H. (2009). The disruption of bacterial membrane integrity through ROS generation induced by nanohybrids of silver and clay. Biomaterials. 30.P:5979-5987.
- (39)- McDonnell, G. & A.D. Russell. (1999). Antiseptics and disinfectants activity action and resistance. J. Clin. Microbiol. Rev.(12):P:147-179.
- (40)- Matsumura, Y.; Yoshikata, K.; Kunisaki, S.& Tsuchido, T.(2003).Mode of bacterial action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate. Appl. Environ. Microbiol.69(7):P:4278-4281.
- (41)- Morones, J.R.; Elechiguerra, J.L.; Camacho, A.; Holt, K.; Kouri, J.B. & Tapia, J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology.16(23):P:46-2353.
- (42)- Gogoi, S.K.; Gopinath, P.; Paul, A.; Ramesh, A.; Ghosh, S.S. & Chattopadhyay, A. (2006). Green Fluorescent Protein - Expressing *Escherichia coli* as a Model System for Investigating the Antimicrobial Activities of Silver Nanoparticles. Langmuir 22.P: 9322-9328.

Riyam F. Saleh<sup>1</sup> , Mohammed N. Maaroo<sup>2</sup> , Haider M. Hamzah<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Biology department, College of Sciences, Tikrit University, Tikrit University, Tikrit , Iraq

<sup>2</sup>Biology department, College of Education for Pure Sciences, Tikrit University, Tikrit , Iraq

<sup>3</sup>Biology department, College of Sciences, Sulaymaniyah University, Sulaymaniyah, Iraq

### Abstract

The study was done to determine the inhibitory effect of silver nanoparticles synthesized by the filamentous fungus *Fusarium mangiferae* against some multidrugs resistant pathogenic bacteria which were taken from the Central Laboratory of Sulaymaniyah Teaching Hospital. Silver nanoparticles showed their inhibitory effect on the various bacterial species in this study by two methods which are the well diffusion method and inhibition growth. Nanoparticles of silver showed inhibitory areas by Well diffusion method against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Proteus mirabilis*.

The Diameter of inhibition zones of the above mentioned bacteria were (15.25, 20.5, 17.75.16) mm while The method of inhibition of growth had shown that nanoparticles effective against the above bacterial species at concentrations (50, 50, 50, 100)% respectively through the lack of growth of the colonies on the surface of the nutrient agar. Therefore, the use of nanoparticles from some metals is the best solution for the treatment of infectious diseases due to the effective inhibiting properties of these nanoparticles against bacteria without negative side effects.