

تقييم فعالية دقائق الفضة النانوية المخلقة حيويًا تجاه

بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح

الباحث سينا خليل ابراهيم ، أ.م.د. أسماء عزت سليم

الجامعة المستنصرية- كلية التربية الأساسية - قسم العلوم

drasezzat@yahoo.com²

مستخلص البحث :-

جمعت 20 عزلة سريرية لأصابات جروح مختلفة وأجريت الفحوص الكيموحيوية لتشخيص عزلات المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* ، ودرست الفعالية التثبيطية لدقائق الفضة النانوية التي تم تخليقها بطريقة أنتشار الحفر ضد عزلات بكتريا *Staphylococcus aureus* وبالتراكيز (2000, 4000, 8000, 16000, 32000, 64000) مايكروغرام/ مل ، ووجد أن التركيز الذي اعطى تثبيط لنمو 18 كان 4000 مايكروغرام/مل ، ودرس التركيز المثبط الأدنى ((MIC والتركيز القاتل الأدنى (MBC) ضد العزلات البكتيرية وبالتراكيز (2550, 6400, 3200, 1600, 800, 400, 200, 100 مايكروغرام/مل) ، ووجد أن أقل تركيز مثبط لدقائق الفضة النانوية المخلقة كان 100 مايكروغرام/مل ولمجموع 15 عزلة، أما التركيز القاتل الأدنى MBC فقد كان 200 مايكروغرام/مل ، ودرست الفعالية السمية لدقائق الفضة النانوية المخلقة حيويًا ووجد أن أفضل تركيز والذي لم يسبب تحلل لكريات الدم الحمراء هو التركيز 750 و 375 مايكروغرام / مل .

الكلمات المفتاحية: بكتريا *Staphylococcus aureus* ، دقائق الفضة النانوية المخلقة حيويًا، التركيز المثبط الأدنى ((MIC والتركيز القاتل الأدنى (MBC) ، الفعالية السمية لدقائق الفضة النانوية المخلقة حيويًا.

المقدمة:

نشأت في العقود الأخيرة مشكلة واجهتها القطاعات الطبية الا وهي ظهور البكتريا المقاومة للمضادات الحيوية، اذ جلبت الانظار في العقود الثلاثة الأخيرة كمسبب مرضي لقدرتها الجينية على مقاومة المضادات الحيوية (Holtfreter و اخرون، 2016)، و ذكر Ansari و اخرون (2014) بأن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* قد سجلت نسبة عالية من الاصابات بين المرضى المصابين بالجروح ، و ترتبط بكتريا *S. aureus* مع الاصابات الثانوية بالمرضات الاخرى و قد ازدادت معدلات المقاومة للمضادات الحيوية من قبل البكتريا الى مستويات عالية في بعض المستشفيات و اصبح من الصعب السيطرة عليها ، وتسبب بكتريا المكورات العنقودية الذهبية العديد من الامراض التي تشكل خطراً على الانسان مثل تجرثم الدم Bacteremia والتهاب شغاف القلب endocarditis ، التهاب رئوي pleuropulmonary والتهاب السحايا فضلاً عن التهاب المسالك البولية (Gnanamani urinary tract infection و اخرون، 2017). عرف معدن الفضة منذ آلاف السنين وتم ادراجه في الاستعمالات الطبية بل حتى قبل ان يدرك الانسان ان الأحياء المجهرية Microorganisms هي المسبب الرئيس في الاصابة (Medici و اخرون، 2019)، و مع اكتشاف التقانة النانوية و توظيفها في مختلف المجالات اكتشف الباحثون انه من الممكن انتاج دقائق الفضة النانوية Silver Nanoparticles (Ghareib و اخرون، 2016)، و توظيفها كمضاد بكتيري ذا فعالية عالية مقارنة مع المضادات الحيوية اذ تتميز بأارتباطها مع الخلية البكتيرية عن طريق الغشاء

الحيوي و بالتالي تخترق الخلية الى داخلها فتتأين بوجود الماء فتحرر ايونات الفضة ذات الفعالية الحيوية و التي تتميز بأنها ذات الفة للمجاميع الكبريتية و البروتينية المتواجدة في غشاء الخلية (Gokarneshan وآخرون ، 2012)، ومن الممكن تخليق دقائق الفضة النانوية بطرائق عدة منها الكيميائية و الفيزيائية اذ تعتمد هذه الطرائق على عدة ظروف لحدوث التفاعل ، و ان انظمة التفاعل هذه لها تأثير سلبي على الانسان و البيئة اذ تتطلب درجات حرارة عالية و ضغط و غيرها من ظروف التفاعل ، لذا اصبحت الحاجة ضرورية لأيجاد طريقة تكون نظيفة وامنة والتي تعرف ب(الكيمياء الخضراء Green chemistry) (للحصول على دقائق نانوية ممكن الاستفادة منها في المجالات الطبية Lee و Jun ، 2019) ، اذ استعملت المستخلصات النباتية و الأحياء المجهرية كمصادر لعملية التخليق الحيوي للدقائق النانوية (Ravichandran وآخرون، 2019) ، واثبتت العديد من البحوث ان دقائق الفضة النانوية ذا تأثير على البكتريا السالبة و الموجبة لملون كرام لقدرتها على ان تسلك كمضاد بكتيري (Ahmed و آخرون، 2019). و ذكرت العديد من البحوث و الدراسات النتائج المفيدة من استعمال دقائق الفضة النانوية، في حين بعض الدراسات اشارت الى انها من الممكن ان تسبب العديد من التأثيرات السلبية بسبب حجمها النانوي (Shaikh و آخرون، 2019) ، كما وتمتد هذه التأثيرات على كل من البيئة ، الانسان ، الحيوانات و النباتات خاصة عند الاستعمال المفرط لها (Kèdziora وآخرون ، 2013). هدف البحث هو تقييم فعالية دقائق الفضة النانوية المخلفة حيويًا تجاه بكتريا Staphylococcus aureus المعزولة من الجروح.

المواد وطرائق العمل :-

1- جمع العينات السريرية:-

جمعت 20 عزلة بكتيرية من المرضى الراقدين في مستشفيات مدينة الطب في بغداد. شملت الجروح في مناطق مختلفة من الجسم مثل الايدي ،الارجل ،الحوض ،البطن . توزعت كالاتي ، مستشفى بغداد التعليمي / مدينة الطب (6) عزلة، مستشفى التمريض الخاص / مدينة الطب (2) عزلة، المختبرات التعليمية / مدينة الطب (8) عزلة، مستشفى الكندي التعليمي (4) عزلة والمخصصة على انها بكتريا المكورات العنقودية الذهبية و باستعمال المسحات القطنية ذات الوسط الناقل Transport swabs نقلت مسحة من المزروع البكتيري و نقلت فيما بعد الى مختبر الدراسات العليا في كلية التربية الاساسية لغرض التأكد من تشخيص بكتريا S.aureus بأجراء الفحوص الكيموحيوية المطلوبة .

2- التخليق الحيوي لدقائق الفضة النانوية :-

1- تحضير المستخلص المائي الحار للنباتات قيد الدراسة:- تم وزن 10 غم من اجزاء النباتات قيد الدراسة اذ غسلت مرتين بالماء المقطر خالي الايونات ثم اضيف اليها 100 مليلتر من الماء المقطر و غُلي لمدة 10 دقائق ، ثم تم ترشيحه باستعمال ورقة ترشيح، و نُبذ الراشح باستعمال جهاز الطرد المركزي و بسرعة 2000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة ثم رشح باستعمال ورقة الترشيح مرة اخرى (Ramya وآخرون، 2017) وتم حفظ المستخلص المائي الحار في درجة حرارة 4 م لحين الاستعمال (Kokila وآخرون، 2018).

2- تخليق دقائق الفضة النانوية Synthesis of silver nanoparticles :- خُلقت دقائق الفضة النانوية باستعمال المستخلص المائي الحار لنباتات (1) ازهار اللافندر (2) اوراق النعناع (3) القرنفل (4) الميرمية، (5) اوراق الغار، اذ تم مزج 10 مل من المستخلص المائي الحار مع 90 مل من محلول نترات الفضة المحضر ذا تركيز 1 ملي مولاري ، 2 ملي مولاري وتركزت مزيج كلاً من (اللافندر، النعناع ، القرنفل ، الغار) بدرجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة بينما تم تسخين مزيج نبات

الميرمية مع نترات الفضة الى درجة حرارة 70 م لحين تغير اللون ، ان تغير لون محلول نترات الفضة الممزوج مع المستخلص النباتي من البني الفاتح الى اللون البني الغامق يعد دليلاً على عملية التخليق النانوي .

3- التخليق الحيوي لدقائق الفضة النانوية باستعمال نبات الميرمية :- تم مزج 10 مل من المستخلص المائي الحار لنبات الميرمية مع 90 مل من محلول نترات الفضة ذات تركيز 1 ملي مولاري و تم تسخينه على درجة حرارة 70 م مع الحركة المستمرة باستعمال Hot plate magnetic stirrer وفي ظروف معتمدة الى ان يتحول لون المزيج من اللون الاصفر الفاتح الى البني المخضر أذ يدل هذا التغير على عملية تخليق الدقائق النانوية وتم التأكد من النتائج باستعمال جهاز UV- Visible . وبأطوال موجية تراوحت 019-0011 نانومتر. (Corciova و Ivanescu, 2018).

4- اختبار الفعالية التثبيطية لدقائق الفضة النانوية المخلقة حيويًا غير المنقاة باستعمال المستخلص المائي الحار لنبات الميرمية *S.officinalis* قيد الدراسة:- لاختبار حساسية العزلات البكتيرية قيد الدراسة لدقائق الفضة النانوية المخلقة حيويًا غير المنقاة على العزلات البكتيرية قيد الدراسة ، تم نشر 100 مايكروليتر من العالق البكتيري المساوي لمحلول ثابت العكرة القياسي 0.5 على طبق الوسط المغذي الصلب وتركت الاطباق فترة من الزمن ، ثم تم عمل حفر في الوسط المزروع بواسطة ثاقب فليني قياس 6 ملم ، وتم نقل 100 مايكروليتر من دقائق الفضة النانوية الى احدى الحفر ، وفي الحفرة الثانية تم وضع 100 مايكروليتر محلول نترات الفضة وفي الحفرة الثالثة وضع 100 مايكروليتر من المستخلص المائي الحار لنبات الميرمية ، وتم وضع 100 مايكروليتر ماء مقطر في الحفرة الرابعة كمجموعة سيطرة ، ثم حضنت الاطباق في الحاضنة لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 م ، قيست اقطار مناطق التثبيط المحيطة بالحفر بالملمتر باستعمال المسطرة

5- تنقية دقائق الفضة النانوية المخلقة حيويًا:- تم وضع المحلول الحاوي على دقائق الفضة النانوية في انابيب اختبار ثم وضعت بجهاز النبذ المركزي بسرعة 10000 دورة/دقيقة ولمدة 20 دقيقة ، بعد انتهاء الوقت تم التخلص من الراشح و ترك الراشب في الانابيب و غسل الراشب ثلاث مرات بماء مقطر لا ايوني مع وضعه في جهاز النبذ المركزي بسرعة 10000 دورة/دقيقة و يتم التخلص من الراشح في كل مرة الى ان يصبح لون الراشح رائق بدون لون (Yu واخرون، 2019) . ثم جفف الراشب في زجاجة ساعة في الفرن الكهربائي وجمع ويحفظ لحين الاستعمال (Arulmoorthy واخرون ، 2015).

6-دراسة الفعالية التثبيطية لدقائق الفضة النانوية المنقاة ضد بكتريا *S.aures* باستعمال طريقة انتشار الحفر (Agar well diffusion) :- تم دراسة الفعالية التثبيطية لدقائق الفضة النانوية ، أذ اتبعت الطريقة المذكورة في (Liao واخرون، 2019)، تم تحضير عالق من تراكيز 64000 مايكروغرام/مل ، 32000 مايكروغرام/مل ، 16000 مايكروغرام/مل ، 8000 مايكروغرام/مل ، 4000 مايكروغرام/مل ، 2000 مايكروغرام/مل ، 1000 مايكروغرام/مل دقائق الفضة النانوية و ذوبت في 2 مل ماء مقطر معقم وعرضت لحمام الموجات فوق الصوتية لمدة تتراوح من 4-6 ساعات و بقوة ذبذبة 40 كيلو هيرتز لكي يتم توزيع الدقائق خلال المحلول و الحصول على عالق نانوي ، ثم نشر عالق بكتيري مساوي لمحلول ثابت العكرة القياسي يعطي عدداً تقريبياً للخلايا يساوي 1.5×10^8 و بكمية 50 مايكروليتر لكل طبق و ترك ليحف ، ثم عملت حفر في الطبق و تم وضع التراكيز المختلفة من المحاليل النانوية و بكمية 100 مايكروليتر في كل حفرة ، حضنت الاطباق لمدة

24 ساعة بدرجة حرارة 37م. إن ظهور منطقة تثبيط حول الحفرة الحاوية على أقل تركيز من دقائق الفضة النانوية يعد دليلاً على التركيز المثبط الأدنى.

7- دراسة التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MBC لدقائق الفضة النانوية المخلقة حيويًا باستعمال طريقة الانابيب Tubes method :- اتبعت الطريقة المذكورة في Krishnan و اخرون (2015) مع التعديل على الاوزان ، أذ تم وزن (25,50، 100، 200، 400، 800، 1600، 3200، 6400 مايكروغرام/مل) من دقائق الفضة النانوية المحضرة و اذابتها في 200 مايكروليتر ماء مقطر وعرض لحمام الموجات فوق الصوتية ولمدة 4-6 ساعات ثم اضيف لكل تخفيف وسط مغذي سائل مع اضافة عالق بكتيري 10 مايكروليتر مساوي لمحلول ثابت العكرة القياسي 0.5 لكل تخفيف ، ثم اخذ من كل تخفيف 10 مايكروليتر و زرع على طبق الاكار المغذي على شكل قطرة و حضن بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة، ثم قرأت النتائج أذ دل وجود نمو بكتيري بأقل تركيز على MIC بينما استدل على MBC من التركيز الخالي من النمو كلياً. كذلك تم تخفيف 1/2 مل من الوسط المغذي السائل Nutrient broth مع 1/2 مل ماء مقطر مع نمو بكتيري بمقدار 10 مايكروليتر وزرع على الوسط المغذي الصلب Nutrient agar كسيطرة موجبة و 1/2 مل وسط مغذي سائل مخفف بنصف مل ماء مقطر بدون نمو بكتيري استعمال كسيطرة سالبة .

8- دراسة الفعالية السمية لدقائق الفضة النانوية :
تم وزن (375، 750، 1500، 3000، 6000، 12000 مايكروغرام/مل) من دقائق الفضة النانوية المنقاة و اذابتها في 1.5 مليلتر من الماء الملحي الجاهز، ثم عرضت لحمام الموجات فوق الصوتية لمدة 4 ساعات لتكوين عالق نانوي، ثم اضيف لكل انبوبة من التراكيز 1.5 مليلتر عالق كريات الدم الحمراء ليصبح الحجم النهائي 3 مليلتر في كل انبوبة وحضن المزيج لمدة نصف ساعة وبدرجة حرارة 37 م ثم نبذت الانابيب بعد انتهاء فترة الحضانة باستعمال جهاز الطرد المركزي وبسرعة 1500 دورة / دقيقة ولمدة 10 دقائق ، وباستعمال جهاز UV- Visible Spectrophotometer تم قياس الرائق وعلى طول موجي 540 نانومتر ، وتم حساب السمية باستعمال المعادلة التالية :

$$\text{Hemolysis} = \frac{A_t - A_n}{A_c - A_n}$$

- تمثل امتصاصية النموذج او العينة A_t
- تمثل امتصاصية المحلول الملحي A_n
- تمثل امتصاصية الماء المقطر A_c

ثم اخذ ثلاثة انابيب وضع في كل منها 1.5 مل عالق كريات الدم الحمراء و وضع في احدها 5.1 مل محلول الملحي و في الانبوب الثاني 1.5 مل ماء مقطر و في الانبوب الثالث 1.5 مل Tryton X100 و قرأت الانابيب الثلاثة باستعمال UV - Visible spectrophotometer وطبقت النتائج في المعادلة اعلاه (Kumar و اخرون ، 2011).

النتائج و المناقشة Results and Discussion :-

1- جمع و تشخيص بكتريا Staphylococcus . aureus

جمع العزلات السريرية :- تم جمع (20) عزلة سريرية لأصابات الجروح لمرضى راقدين في المستشفيات في مدينة بغداد ابتداءً من الفترة 2019/1/2 و امتداداً للفترة 2019/4/20، اذ شملت العينات اصابات جرحية مختلفة مع اختلاف مسببات الجروح ومنها (عيارات نارية، عمليات جراحية ، حوادث ،عمليات الولادة)، والمشخصة على انها بكتريا S. aureus تعد بكتريا S. aureus من اكثر المسببات المرضية شيوعاً لأخماج الجروح ، الواسعة الانتشار في العالم (Stryjewski و

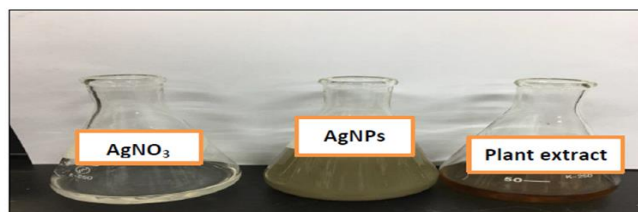
(Corey , 2014) بسبب امتلاكها العديد من عوامل الضراوة التي تساعد على أحداث امراضيتها كالذيفانات والأنزيمات والمستضدات السطحية (Lakhundi و 2018) , Zhang ولكونها تُعد نبيت طبيعي ولاسيما على المنخرين والجلد فضلا عن مقاومة هذه البكتريا للجفاف والانتشار عن طريق الهواء وعند تعرض الانسان لضعف في المناعة نتيجة الاصابة بأمراض أخرى تصبح هذه البكتريا انتهازية لها القابلية على التسبب بالعديد من الامراض ممايسبب سيادة بكتريا S.aureus (ياسين،2013) ومن النتائج اعلاه وجد أن بكتريا S.aureus عزلت بنسبة اكبر في الذكور 65%من الإناث بنسبة 35% تتفق هذه النتيجة مع ماذكره (Dilnessa و 2016, Bitew)، أن أختلاف نسب الجمع بين دراسة وأخرى قد يعزى الى مواقع الأصابة أو نوع الجروح كأن تكون جروح سببها انفجارات ،عيارات نارية وغيرها، وكذلك من مستشفى الى آخر ،والى أختلاف قدرة البكتريا على مقاومة الظروف المختلفة اذ تستطيع البقاء لعدة اسابيع داخل المستشفيات مسببة العدوى من خلال الانتقال من شخص الى آخر بالتصاقها على الادوات المختلفة او من خلال انتقالها من كوادالرعاية الصحية الى المرضى ،فضلا عن قدرتها في تطوير واكتساب المقاومة للعديد من المضادات الحيوية (Chamchod و2012,Ruan).

2- التخليق الحيوي لدقائق الفضة النانوية Biosynthesis Silver Nanoparticles :-

المستخلص المائي لنبات الميرمية:- بعد ان تم تصنيف النبات علمياً وباعتماد على الاسس التصنيفية للنباتات من قبل الاستاذ الدكتور سحر عبدالعباس مالك - كلية العلوم/جامعة البصرة (اختصاص تصنيف نبات) ، وتم التأكد من ان النبات هو نبات الميرمية *Salvia officinalis* ، تم استعمال اوراق النبات الجافة في الدراسة.

3- البناء الاخضر لدقائق الفضة النانوية Green Synthesis of Silver Nanoparticles :-

بينت نتائج عملية التخليق الحيوي باستعمال المستخلص النباتي المائي الحار لنباتات أوراق النعناع، البراعم الزهرية لنبات اللافندر ، البراعم الزهرية للقرنفل ، أوراق الغار، أوراق الميرمية، حدوث تغير لوني للمستخلصات النباتية الممزوجة مع محلول نترات الفضة بالتراكيز 1 ملي مولار، 2 ملي مولار، وعند قياس الكثافة البصرية للمحاليل باستعمال جهاز المطياف الضوئي UV -Visible Spectrophotometer لم تعطي المستخلصات النباتية لكل من (النعناع ، اللافندر ، القرنفل، الغار) بعد مزجها بمحلول نترات الفضة قراءات ضمن نطاق احجام المواد النانوية ، ولذا تم استبعادها ، فيما اظهرت نتائج قياس الكثافة البصرية للمستخلص المائي الحار لاوراق نبات الميرمية *Salvia officinalis* مع محلول نترات الفضة ذات تركيز 1 ملي مولار ، وبدرجة 70 حرارة م ولمدة ساعة مع التحريك المستمر على تخليق دقائق الفضة النانوية ، أذ دلت النتيجة الموجبة على عملية التخليق التغير اللوني للمحلول من البني الفاتح الى اللون الاخضر المحمر وكما تظهر في الشكل (1).



شكل (1) التخليق الحيوي لدقائق الفضة النانوية باستعمال المستخلص المائي الحار لأوراق الميرمية

اما في الظروف الاولى للتخليق فقد كانت بدرجة حرارة 70 م وبعد مرور ساعة مع تحريك مستمر ، اما عملية التخليق الحيوي لدقائق الفضة النانوية باستعمال المستخلص المائي الحار لأوراق نبات *Salvia officinalis* قد تعزى الى قدرة المركبات او المجاميع الفعالة الموجودة في النبات على اختزال ايونات الفضة وتحويلها الى دقائق نانوية، ان وجود العديد من نواتج الايض الثانوي في النبات كالمركبات الفينولية ، الاحماض الامينية جعلها تلعب دوراً مهماً في عملية الاختزال الحيوي *Bioreduction* لأيونات الفضة (Barbinta_ patrascu) وآخرون، (2013). العامل المختزل *reducing agent* الذي يقوم باختزال ايونات الفضة اثناء عملية التخليق الحيوي يكون معتمد على الجزيئات المنتجة من قبل (النباتات ، الطحالب ، الفطريات ، البكتريا) (Tran وآخرون ، 2013)، ومن هذه المواد الفينولات ، التانينات ، الفلافونيدات ، الكلايكوسيدات ، تمتلك المواد الفينولية مجاميع مثل مجاميع الكربوكسيل او الهيدروكسيل (C=O) او (OH-) (ولأيون الفضة Ag⁺ القدرة على الارتباط بهذه المجاميع التي تكون موجودة في المستخلص النباتي كأحد المكونات الرئيسية فتختزل الى الفضة النانوية (AgNPs Khandel وآخرون، 2018). كذلك تسلك هذه المركبات كعامل مثبت *stabilizer agent* والذي يثبت حجم الدقائق عند حجم معين (Mohammad lou وآخرون ، 2016). (وقد ذكر Yaseen وآخرون ، 2019) ان اوراق نبات الميرمية *S. officinalis* تحتوي على العديد من المركبات الفعالة وهذا يرجح حدوث التخليق الحيوي لدقائق الفضة النانوية في محلول نترات الفضة الحاوية على المستخلص المائي الحار لأوراق نبات *Salvia. officinalis*.

4- الفعالية التثبيطية لدقائق الفضة النانوية:-

تمت دراسة تأثير دقائق الفضة النانوية والمستخلص المائي الحار لنبات الميرمية *S.officinalis* ومحلول نترات الفضة بتركيز 1 ملي مولار كلاً على حدة على عزلات بكتريا *S.aureus* باستعمال طريقة انتشار الحفر *Agar well diffusion* ، وقد تبين ان المستخلص النباتي ليس له تأثير تثبيطي على العزلات قيد الدراسة ، أما تأثير محلول نترات الفضة على العزلات فقد كان اقل مقارنة مع المستخلص النانوي والذي كانت فعاليته التثبيطية واضحة جداً ، وكما تظهر في الجدول (1). ويعزى التأثير التثبيطي لدقائق الفضة النانوية ضد العزلات البكتيرية قيد الدراسة الى العديد من الاسباب اذ تمتلك AgNPs القدرة على الالتصاق بسطح الخلية البكتيرية نتيجة صغر حجمها ومساحتها السطحية الكبيرة فتتغير بذلك خصائص الغشاء الخارجي للخلية البكتيرية ، وتسبب ايضاً تلف الحامض النووي منقوص الاوكسجين نتيجة اختراقها للخلية البكتيرية كذلك ترتبط ايونات الفضة المتحررة من دقائق الفضة النانوية مع البروتينات الحاوية على الكبريت في الجدار الخلوي مما يؤدي الى اختلال وظيفته ، وبشكل عام تعد هذه التأثيرات هي الاليات الرئيسية التي تسلكها AgNPs في تأثيرها التثبيطي ضد الخلايا البكتيرية. (Reidy وآخرون، 2013).

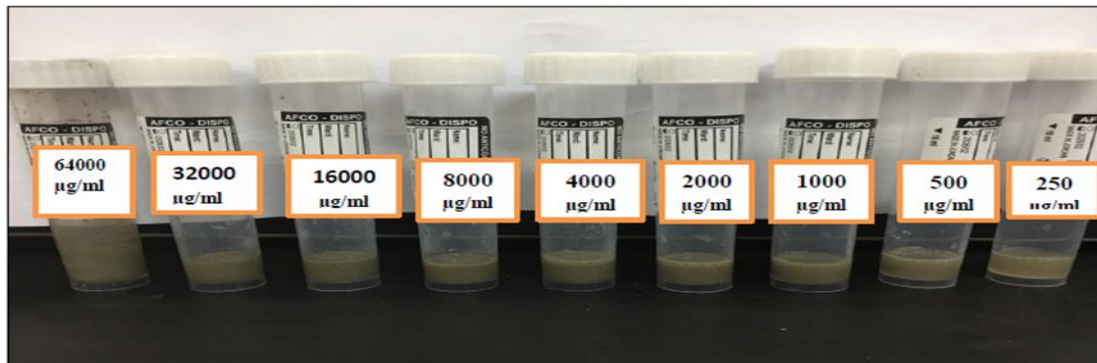
جدول (1) اقطار مناطق التثبيط للمستخلص المائي الحار ودقائق الفضة النانوية المخلقة حيويًا غير المنقاة ومحلول نترات الفضة بتركيز 1 ملي مولار كلاً على حدة مقاسة بالمليمتر.

رقم العزلة	المستخلص المائي الحار	محلول نترات الفضة 1Mm	دقائق الفضة النانوية المخلقة حيويًا غير المنقاة	ماء مقطر D.W
1	-	12	14	-
2	-	11	13	-
3	-	-	-	-
4	-	13	15	-
5	-	13	16	-
6	-	11	13	-
7	-	13	15	-
8	-	10	12	-
9	-	11	14	-
10	-	14	17	-
11	-	12	15	-
12	-	11	12	-
13	-	13	16	-
14	-	12	14	-
15	-	11	15	-
16	-	-	-	-
17	-	11	13	-
18	-	12	16	-
19	-	12	13	-
20	-	13	15	-

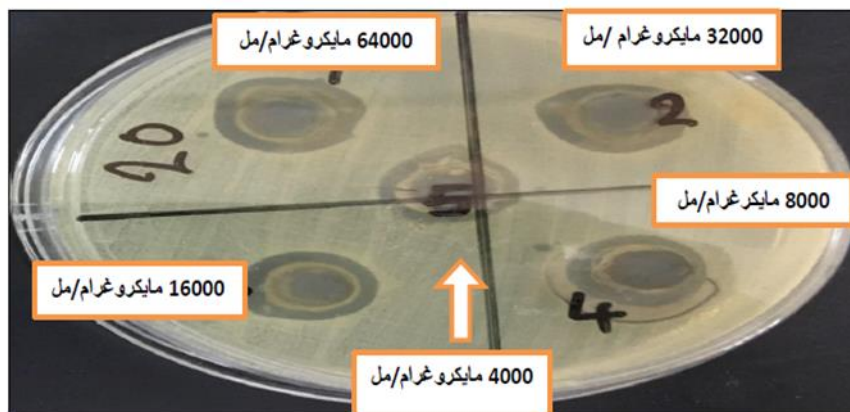
- عدم وجود تثبيط

5- الفعالية التثبيطية لدقائق الفضة النانوية المخلقة حيويًا ضد عزلات *S. aureus* باستعمال طريقة انتشار الحفر :-

اوضحت نتائج دراسة التركيز المثبط الأدنى لدقائق الفضة النانوية المخلقة حيويًا بطريقة انتشار الحفر (Agar well diffusion) و الذي علق بالماء و تم تعريضه لحمام الامواج فوق الصوتية Altrasonic لمدة 4-6 ساعات تقريباً و بتردد 40 كيلو هيرتز و ذلك لغرض انتشارها في المحلول ، أُنسَهَل تحولها الى الحالة الايونية في السائل و التي لا تحدث الا في حالة زيادة المساحة السطحية للمعدن و بما ان دقائق الفضة النانوية تتمتع بزيادة مساحتها السطحية فأن هذا يؤدي بدوره الى زيادة الفعالية التثبيطية (Nam و اخرون ، 2015) ، و للتركيز (250، 500، 1000، 2000، 4000 ، 8000 ، 16000 ، 32000 ، 64000) مايكروغرام/مليتر كما في الشكل (2)



شكل (2) عالق دقائق الفضة النانوية المخلفة حيويًا وبتراكيز تراوحت (250-6400) مايكروغرام/مل بعد التوزيع داخل المحلول باستعمال حمام الامواج فوق الصوتية. أن اقل تركيز اعطى قطر تثبيطي كان التركيز 4000 مايكروغرام/مل لمجموع 18 عزلة من اصل 20 عزلة لعزلات بكتيريا *S. aureus*. وكذلك التركيز 2000 مايكروغرام/مل لمجموع 11 عزلة والتركيز 1000 مايكروغرام/مل لمجموع 9 عزلات كما في الجدول (2)، الشكل (3)



شكل (3) التركيز المثبط الأدنى MIC لعالق دقائق الفضة النانوية بالتراكيز (250-6400) مايكروغرام/مل ضد عزلة بكتيرية *S. aureus* بطريقة Agar well diffusion وذكر Wypij وآخرون (2018) بأن اقل تركيز تثبيطي لدقائق الفضة النانوية AgNPs ضد بكتيريا *S. aureus* كان 256 مايكروغرام ضمن ظروف الدراسة، تختلف هذه النتائج عن نتائج هذه الدراسة وقد يعزى سبب الاختلاف الى شكل وحجم الدقائق المتخلفة، اذ ان حجمها وشكلها يعزز قوة سلوكها كمضاد بكتيري (Murphy وآخرون، 2015)، كما ان الفعالية ضد مايكروبيية لا تعتمد على الحجم فقط وانما على الشكل ايضاً وذلك لأن شكل الدقائق الفضية النانوية يحدد درجة اتحادها مع جدار الخلية البكتيرية، وان دقائق الفضة النانوية ذات الحجم 10 - 100 تمتلك خاصية ضد مايكروبيية قوية ضد البكتيريا السالبة والموجبة لملون غرام (Loo وآخرون، 2018)، وذكر Aravjo وآخرون (2011)

ان الفعالية التثبيطية للدقائق النانوية تتأثر بدرجة كبيرة بالحجم أذ صغر حجم الدقائق يؤدي الى زيادة المساحة السطحية وبالتالي زيادة تداخلها او تلامسها مع البكتيريا .ان دقائق الفضة النانوية فيما يبدو لها القدرة على ان تكون بديلاً عن المضادات الحيوية أذ بإمكانها ان تقضي على العديد من الانواع البكتيرية حتى الانواع ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية (Zhang وآخرون ، 2016) ، وان الآلية ضد مايكروبية التي تسلكها دقائق الفضة النانوية كمضاد بكتيري غير مفسرة بدقة الى الان (Awad وآخرون ، 2019)

جدول(2) اقطار مناطق التثبيط لعالق دقائق الفضة النانوية المحضر بتركيزات (2000-64000) مايكروغرام/مل على عزلات بكتريا *S. aureus* قيد الدراسة مقاسة بالملمتر.

W.D	250	500	1000	2000	4000	8000	1600	3200	6400	ت
-	11	11	13	14	13	14	16	14	15	1
-	11	11	11	13	13	15	16	15	18	2
-	10	11	12	13	12	14	14	14	15	3
-	-	10	11	13	13	13	14	14	16	4
-	-	-	-	-	12	13	16	14	14	5
-	10	12	11	12	13	12	13	14	15	6
-	-	-	-	-	13	12	13	14	14	7
-	-	-	-	-	13	12	13	15	15	8
-	-	10	11	12	13	13	14	14	14	9
-	-	10	11	12	12	13	12	14	14	10
-	-	-	-	13	14	13	17	15	15	11
-	-	-	-	15	14	14	15	17	16	12
-	-	11	10	12	12	13	14	14	15	13
-	-	-	-	-	12	14	13	15	15	14
-	-	-	10	10	13	14	15	16	18	15
-	-	-	-	-	13	13	13	14	15	16
-	-	-	-	-	13	14	14	15	16	17
-	-	-	-	-	-	12	15	16	16	18
-	-	-	-	-	-	13	15	16	15	19
-	-	-	-	11	14	14	14	16	17	20

* - عدم وجود تثبيط

6- التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MBC لدقائق الفضة النانوية بأستعمال طريقة الانابيب :-

اظهرت دراسة التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MBC لدقائق الفضة المتخلقة وبالتركيزات (25,50,100,200,400,800,1600,3200,6400 مايكروغرام / مل) ضد العزلات قيد الدراسة بأن اقل تركيز مثبط MIC كان التركيز (100) مايكروغرام / مليلتر لمجموع 15 عزلة من اصل 20 عزلة جدول(3) ، جاءت هذه النتيجة متوافقة مع ماذكره Al-sharqi وآخرون (2019) ، كذلك اظهرت الدراسة ان التركيز القاتل الأدنى لدقائق الفضة النانوية المتخلقة ضد عزلات بكتريا *S.aureus* كان بالتركيز 200 مايكروغرام / مليلتر، الجدول (3)، أذ يعد MBC التركيز الأدنى الذي تقتل عنده البكتيريا ونسبة 100% (Abul Qais وآخرون ، 2019 . ذكره Ansari و

(Al Zohairy 2018) ان اقل تركيز تثبيطي MIC واقل تركيز قاتل MBC من دقائق الفضة المتخلقة ضد بكتريا S.aureus كانت 10 مايكروغرام / مل و 17 مايكروغرام / مل على التوالي ، ان الفعالية ضد بكتيرية لدقائق الفضة النانوية تعتمد على العديد من العوامل منها تركيب الدقائق النانوية ، شكل الدقائق النانوية ، النقاوة وكذلك الانواع البكتيرية (Heydari وآخرون ، 2017) ، وان الفعالية ضد مايكروبية لجسيمات الفضة النانوية تزداد بزيادة تركيز دقائق الفضة النانوية (Alizadeh وآخرون ، 2014) وتكمن فعاليتها في تجمعها في جدار الخلية البكتيرية مما يؤدي الى تغيرات شكلية في جدار الخلية وبالتالي تغير في الوظيفة فضلاً عن ان التصاقها على الغشاء الخلوي مؤدياً الى تغير طبيعته فتتحل مكوناته مثل الاحماض الدهنية ، البروتينات كذلك تستطيع الارتباط مع بروتينات الغشاء (مثل بروتينات السلسلة التنفسية) والتي ستؤدي الى تداخلها مع نفاذية الغشاء ، السلسلة التنفسية ، انقسام الخلية وغيرها ، وتستطيع جسيمات الفضة النانوية اختراق البكتريا والتفاعل مع التراكيب الخلوية مثل DNA والجزيئات الحيوية مثل الدهون ، البروتينات فتؤدي الى تثبيط تخليق البروتين ، الاستنساخ وغيرها من الفعاليات الحيوية للخلية البكتيرية (Tang و Zheng ، 2018).

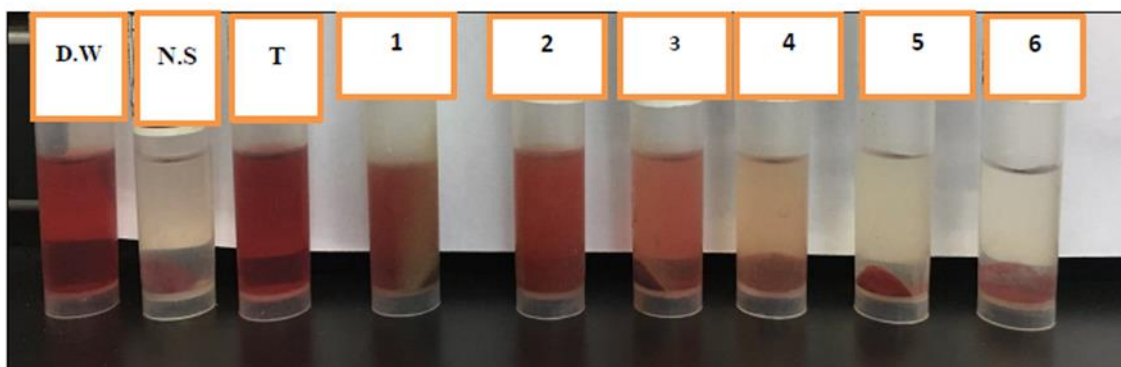
جدول (3) قيم التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MBC لدقائق الفضة النانوية المخلقة حيواً

رقم العزلة	μ25g/ml	50 μg/ml	100 μg/ml	200 μg/ml	400 μg/ml	800 μg/ml	1600 μg/ml	3200 μg/ml	6400 μg/ml
1	G	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G	N.G
2	G	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G	N.G
3	G	G	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G
4	G	G	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G
5	G	G	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G
6	G	G	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G
7	G	G	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G
8	G	G	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G
9	G	G	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G
10	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G	N.G	N.G
11	G	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G	N.G
12	G	G	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G
13	G	G	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G
14	G	G	G	MIC	MBC	N.G	N.G	N.G	N.G

N.G	N.G	N.G	N.G	N.G	MBC	MIC	G	G	15
N.G	N.G	N.G	N.G	MBC	MIC	G	G	G	16
N.G	N.G	N.G	N.G	N.G	MBC	MIC	G	G	17
N.G	N.G	N.G	N.G	N.G	MBC	MIC	G	G	18
N.G	N.G	N.G	N.G	N.G	MBC	MIC	G	G	19
N.G	N.G	N.G	N.G	N.G	N.G	MBC	MIC	G	20

7- الفعالية السمية لدقائق الفضة النانوية المخلفة حيويًا :-

استعمل اختبار انحلال كريات الدم الحمر لتقييم مدى سمية دقائق الفضة النانوية وبالتراكيز تراوحت من 375,750,1500,3000,6000,12000 مايكروغرام / مل ، كما تظهر في الشكل (4)، أذ أظهرت النتائج بأن التراكيز العالية منها كانت سامة بالنسبة لكريات الدم الحمراء وبدلالة تحلل كريات الدم الحمراء RBS كلياً ، ووجد ان افضل تركيز لها والذي لم يسبب تحلل لكريات الدم الحمراء هو التركيز 750 و 375 مايكروغرام / مل .



DW=Distilled water , N.S= Normal saline , T= Triton x100 ,

مايكروغرام/ مللتر (1=1200 , 2=6000 , 3=3000 , 4=1500 , 5=750 , 6=375)

شكل (4) تأثير دقائق الفضة النانوية المخلفة حيويًا على كريات الدم الحمراء RBC

وظهر ذلك واضحاً عند قراءة الامتصاصية التي تم تسجيلها بأستعمال جهاز UV-Visible لجميع التراكيز وعند الطول الموجي 540 نانومتر وبعد تطبيق المعادلة الخاصة لتقدير التحلل الدموي ، كما في الجدول (4)، ذكر Chen وآخرون (2015) بأن حجم الدقائق النانوية يعد اهم عامل من العوامل المؤثرة في تقدير سميتها وفضلاً عن تركيبها وشكلها وتركيز الدقائق النانوية أذ ان اغلب الدراسات اوضحت ان الجسيمات النانوية الصغيرة تمتلك فعالية انحلالية لكريات الدم الحمراء اعلى مقارنة بالكبيرة . وان الالية التي تسلكها الجسيمات الفضية النانوية في تحللها لكريات الدم الحمراء لم تفسر كلياً ، أذ ان الفعالية الانحلالية لها قد تعود الى تفاعلها وتداخلها المباشر مع خلايا الدم او تحرر ايونات الفضة او من الممكن ان تكون الالية تأزرية بين الاليتين . كذلك من الممكن ان تسبب ثقب في غشاء

كريات الدم الحمراء فتؤدي في النهاية الى تحليلها ازموزياً وايضاً ان التراكم المنخفضة من ايونات Ag^+ تستطيع ان تحث التحلل في RBC والتي من المحتمل ان ترتبط مع Reactive oxygen species (ROS)Huang (2016).

جدول (4) نسبة تحلل كريات الدم الحمراء بأستعمال دقائق الفضة النانوية بتركيزات مختلفة التركيز الامتصاصية نسبة التحلل %

التركيز	الامتصاصية	نسبة التحلل %
D.W	3.00	Control
N.S	0.04	Control
T	3.00	Control
12000	3.00	%100
6000	2.92	%97
3000	1.29	%42
1500	0.25	%7
750	0.08	%1
375	0.05	%0.3

T. Triton x100 محلول الملحي الفسلجي N.S= ماء مقطر D.W =

المصادر العربية:

- الحسو، محمود زكي و النعيمي ، انفال عبد السلام .(2007). دراسة حساسية جرثومة Staphylococcus aureus للمضادات الحيوية. مجلة التربية والعلم. 19(1):144-154.
- حسين، أزهار نوري وجبار ، علي أباد. (2014). دراسة بكتريولوجية لبكتريا Staphylococcus aureus المنتخبة من مجموعة البكتيريا المصاحبة لجروح مرضى السكري في مدينة الديوانية. مجلة علوم القادسية. 19(1).
- عيسى، اسراء حمزة ياسين. (2019). دراسة التنميط الجيني لبكتريا Staphylococcus aureus المقاومة للمثبيلين المعزولة من الحروق والجروح. رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة بغداد .
- المنصوري ، ريام وسام و الناشي ، علي عبدالرحيم. (2017). التحري عن الطراز المظهري والجزئي لعوامل الضراوة لبكتريا المكورات العنقودية Staphylococcus ssp. المحللة للدم والمعزولة من التهابات المسالك البولية في الديوانية. مجلة القادسية للعلوم الصرفة. 22(3):14-1.
- ياسين، هناء عبداللطيف. (2013). استخدام العسل في تثبيط بكتريا المكورات العنقودية الذهبية Staphylococcus aureus. مجلة جامعة الانبار. 11(2):418-410.
- Ahmad, S., Munir, S., Zeb, N., Ullah, A., Khan, B., Ali, J., and Ali, S. (2019). Green nanotechnology: a review on green synthesis of silver nanoparticles—an ecofriendly approach. International journal of nanomedicine, 14, 5087.

- Al_ Kazaz, E. , Melconian, A.K. and Kandela, N.J. (2014) . Extraction of Staphyloxanthin from Staphylococcus aureus Isolated From Clinical Sources to Determine its Antibacterial Activity Against Other Bacteria . Iraq Journal of science . 55(4B) : 1823_1832.
- Alizadeh, H., Salouti, M. and Shapouri, R.(2014). Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles on Intramacrophage Brucella abortus 544. Jundishapur J Microbiol.7(3):e9039.
- Al-Sharqi, A., Apun, K., Vincent, M., Kanakaraju, D. and Bilung, L.M.(2019). Enhancement of the Antibacterial Efficiency of Silver Nanoparticles against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria Using Blue Laser Light. International Journal of Photoenergy. doi.org/10.1155/2019/2528490.
- Ansari, M.A. and Alzohairy, M.A.(2018). One-Pot Facile Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Seed Extract of Phoenix dactylifera and Their Bactericidal Potential against MRSA. Evidence-BasedComplementar and Alternative Medicine.doi.org/10.1155/2018/1860280.
- Ansari, S., Nepal, H. P., Gautam, R., Rayamajhi, N., Shrestha, S., Upadhyay, G. and Chapagain, M. L. (2014). Threat of drug resistant Staphylococcus aureus to health in Nepal. BMC infectious diseases, 14(1), 157.
- Araujo, E.A., Andrade, N.J., Silva, L.H.M., Bernardes, P.C., Teixeira, C., Paulo, J.N., Junior, J.F. and Fernandes, P.E.(2011). Antimicrobial Effects of Silver Nanoparticles against Bacterial Cells Adhered to Stainless Steel Surfaces. Journal of Food Protection. doi:10.4315/0362-028X.JFP-11-276.
- Arulmoorthy, M. P., Vasudevan, S., Vignesh, R., Rathiesh, A. C., and Srinivasan, M. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles using medicinal sand dune plant Ipomoea pescaprae leaf extract. Int. J. Sci. Inven. Tod, 4(4): 384-392.
- Awad, M.A., Hendi, A.A., Ortashi, K.M.O., Alanazi, A.B., AL zahrani, B.A. and Soliman, D.A.(2019). Greener Synthesis, Characterization, and Anti microbiological Effects of Helba Silver Nanoparticle-PMMA Nanocomposite. International Journal of Polymer Science .
- Chakraborty, S.P., Mahapatra, S.K. and Roy, S. (2011) . Biochemical Characters and Antibiotic Susceptibility of Staphylococcus aureus Isolates . Asian Pac J Trop Biomd .1(3) : 212_216.

- Chamchod, F. and Ruan, S. (2012). Modeling methicillin - resistant Staphylococcus aureus in hospitals : Transmission dynamics , antibiotic usage and its history. Theoretical Biology and Medical Modeling. 9(1):25.
- Chen, Q.L., Fang, L., Ling, J., Ding, C.Z., Kang, B. and Huang, C.Z.(2015). Nanotoxicity of Silver Nanoparticles to Red Blood Cells: Size Dependent Adsorption, Uptake, and Hemolytic Activity. Chem. Res. Toxicol. 28:501–509.
- Corciova, A., and Ivanescu, B. (2018). Biosynthesis, characterization and therapeutic applications of plant - mediated silver nanoparticles. Journal of the Serbian Chemical Society, 83(5): 515-538
- Dilness, T. and Bitew, A. (2016). Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin mesistant Staphylococcus aureus isolated from clinical samples at yekatit 12 hospital medical college , Addis Ababa , Ethiopia . BMC infectious diseases. 16:398 .
- Ekrami A. and Kalantar E.(2007). Bacterial infections in burn patients at a burn hospital in Iran. Indian J Med Res.126: 541-544.
- Gnanamani, A., Hariharan, P., and Paul-Satyaseela, M. (2017). Staphylococcus aureus: Overview of bacteriology, clinical diseases, epidemiology, antibiotic resistance and therapeutic approach. Frontiers in Staphylococcus aureus, 4-28.
- Goebel, W., Chakrabarty, T. and Kreft, J. (1988) . Bacterial Hemolysins as Virulence Factor . Antonie Van Leeuwenhoek . 54 : 453_463.
- Gokarneshan, N., Gopalakrishnan, P. P., and Jeyanthi, B. (2012). Influence of nanofinishes on the antimicrobial properties of fabrics. ISRN Nanomaterials.
- Gole, A., Dash, C., Ramakrishnan, V., Sainkar, S., Mandale, A. and Rao, M.(2001). Pepsin– gold colloid conjugates: preparation, characterization, and enzymatic activity, Langmuir, 17:1674-1679.
- Habib, S. M. A., Fakhruddin, A. N. M., Begum, S. and Ahmed, M. M. (2012). Isolation and screening of thermo stable extracellular alkaline protease producing bacteria from Tannery Effluents. Journal of Scientific Research, 4(2): 515-522.
- Hemraj, V., Diksha, S., Avneet, G. (2013) . A Review on Commonly Used Biochemical Test for Bacteria . Innovare Journal of Life Science . 1(1): 1_7.
- Heydari, M.A., Mobini, M. and Salehi, M.(2017). The Synergic Activity of Eucalyptus Leaf Oil and Silver Nanoparticles Against Some Pathogenic Bacteria. Arch Pediatr infect Dis.5(4):e61654.

- Holtfreter, S., Grumann, D., Balau, V., Barwich, A., Kolata, J., Goehler, A., and Friebe, E. (2016). Molecular epidemiology of Staphylococcus aureus in the general population in Northeast Germany: results of the study of health in Pomerania (SHIP-TREND-0). Journal of clinical microbiology, 54(11), 2774-2785.
- Huang, H., Lai, W., Cui, M., LingLiang, L., Lin, Y., Fang, Q., Liu, Y. and Xie, L.(2016). An Evaluation of Blood Compatibility of Silver Nanoparticles. Scientific Reports, 6(1), 1-15.
- Hussain, B.K. (2017) . Antibioqram Patterns of Staphylococcus aureus Obtained rom Packaged Meat , Milk and Milk Products , Fruits and Vegetables of Various Supermatkets in Dhaka City . (Bachelor degree) . BRAC University _ Bangladesh.
- Joseph, N. M ., Sistla, S ., Dutta, T. K ., Badhe, A. S ., Rasitha, D. and Parija, S. C. (2011). Reliability of Kirby-Bauer disk diffusion method for detecting meropenem resistance among non-fermenting gram- negative bacilli. Indian J. Pathol. Microbiol. 54: 556-560
- Ghill, K.C., Kearney, C.J. O'Brien, F.J. and Kerrigan, S.W. (2018). Staphylococcal Osteomyelitis : Disease Progression , Treatment Challenges , and Future Directions . Clin Microbiol Rev . 31(2) : e00084_17.
- Kędziora, A., Gorzelańczyk, K., and Bugła-Płoskońska, G. (2013). Positive and negative aspects of silver nanoparticles usage. Biol. Int., 53, 67-76.
- Kokila, T., Ramesh, P. S., and Geetha, D. (2015). Biosynthesis of silver nanoparticles from Cavendish banana peel extract and its antibacterial and free radical scavenging assay: a novel biological approach. Applied Nanoscience, 5(8): 911-920.
- Ladhani, S. (2003). Understanding the mechanism of action of the exfoliative toxins of Staphylococcus aureus. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 39(2): 181-189.
- Lakhundi, S. and Zhang, K. (2018). Methicillin - Resistant Staphylococcus aureus : Molecular Characterization , Evolution and Epidemiology. Clin Microbiol Rev. 31(4) : 18-20.
- Liao, S., Zhang, Y., Pan, X., Zhu, F., Jiang, C., Liu, Q. and Chen, L. (2019). Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles against multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa. International journal of nanomedicine, 14: 1469–1487.

- Loo, Y.Y., Rukayadi, Y., Nor-khaizura, M.A., Kuan, C.H., Chieng, B.W., Nishibuchi, M. and Radu, S.(2018).In Vitro Antimicrobial Activity of Green Synthesized Silver Nanoparticles Against Selected Gram-negative Foodborne Pathogens.9.doi.org/10.3389/fmicb.2018.01555.
- Medici, S., Peana, M., Nurchi, V. M., and Zoroddu, M. A. (2019). Medical uses of silver: history, myths, and scientific evidence. Journal of medicinal chemistry, 62 (13), 5923-5943.
- Mohammed, W. H., Ali, W. K., and Al-Awady, M. J. (2018). Evaluation of in vitro drug release kinetics and antibacterial activity of vancomycin HCl-loaded nanogel for topical application. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 10(11): 2747-2756.
- Murphy, M., Ting, K., Zhang, X., Soo, C. and Zheng, Z.(2015). Current Development of Silver Nanoparticle Preparation, Investigation, and Application in the Field of Medicine. Journal of Nanomaterials.doi.org/10.1155/2015/696918.
- Ramya, B., Seetharaman, S., Indra, V., Perinbam, K., and Geetha, S. (2017). Synthesis of Silver Nanoparticles Used Adathoda vasica Aqueous Leaf Extract and Its Effect on bacterial activity.wjpr.669-661 : (3)6.
- Ravichandran, V., Vasanthi, S., Shalini, S., Shah, S. A. A., Tripathy, M., and Paliwal, N. (2019). Green synthesis, characterization, antibacterial, antioxidant and photocatalytic activity of Parkia speciosa leaves extract mediated silver nanoparticles. Results in Physics, 15, 102565.
- Reidy, B., Haase, A., Luch, A., Dawson, K. A. and Lynch, I. (2013). Mechanisms of silver nanoparticle release, transformation and toxicity: a critical review of current knowledge and recommendations for future studies and applications. Materials, 6(6): 2295-2350.
- Saising, J., Singdam, S., Ongsakul, M. and Voravuthikunchai, S.P.(2012). Lipase, protease, and biofilm as the major virulence factors in staphylococci isolated from acne lesions. BioScience Trends.6(4):160-164.
- Shaikh, S., Nazam, N., Rizvi, S. M. D., Ahmad, K., Baig, M. H., Lee, E. J., and Choi, I. (2019). Mechanistic insights into the antimicrobial actions of metallic nanoparticles and their implications for multidrug resistance. International journal of molecular sciences, 20(10), 2468.
- Singh, P. and Prakash, A. (2010) . Prevalence of Coagulase Positive Pathogenic Staphylococcus aureus in Milk and Milk Products Collected From Unorganized Sector of Agra . Acta agriculturae slovenica . 96(1) : 37_41.

- Tang, S., and Zheng, J. (2018). Antibacterial activity of silver nanoparticles: structural effects. *Advanced healthcare materials*, 7(13), 1701503.
- Wypij, M., Czarnecka, J., Swiecimska, M., Dahm, H., Rai, M. and Golinska, P.(2018). Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of biogenic silver nanoparticles synthesized from *Streptomyces xinghaiensis* OF1 strain. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 3:23-34.
- Yaseen, S.M., Hussien, A. A. and Al-Ezzy, R.M.(2019). Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Using *Salvia officinalis* Extract on Some Pathogenic Bacteria. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*.7:237-248.

Evaluation Of The Effectiveness Of Biosynthetic Silver Nanoparticles Against Staphylococcus Aureus Bacteria Isolated From Wounds

Researcher Sinai Khalil Ibrahim¹,

Assistant Professor Professor Asmaa Ezzat Salim²

Al-Mustansiriya University - College of Basic Education –

Department of Science

[²drasezzat@yahoo.com](mailto:drasezzat@yahoo.com)

Abstract:-

20 clinical isolates of various wound infections were collected and biochemical tests were conducted to diagnose *Staphylococcus aureus* isolates. The inhibitory effectiveness of silver nanoparticles that were synthesized using the etch diffusion method against *Staphylococcus aureus* isolates was studied at concentrations (64000, 32000, 16000, 8000, 4000, 2000) micrograms/ ml, and it was found that the concentration that inhibited the growth of 18 was 4000 micrograms/ml. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum lethal concentration (MBC) were studied against the bacterial isolates at concentrations (2550, 6400, 3200, 1600, 800, 400, 200, and 100 micrograms/ml). It was found that the minimum inhibitory concentration of the synthetic nanoparticles was 100 micrograms/ml for a total of 15 isolates, while the minimum lethal concentration (MBC) was 200 micrograms/ml. The toxicological effectiveness of the biosynthetic silver nanoparticles was studied and it was found that the best concentration that did not cause lysis of red blood cells was 750 and 375 micrograms/ml.

Keywords: *Staphylococcus aureus* bacteria, biosynthetic silver nanoparticles, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum lethal concentration (MBC), toxicological activity of biosynthetic silver nanoparticles.