Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849

The effect of silver nanoparticles prepared using Aspergillus niger in some pathogenic bacteria

Hussain A.Abod[1], kalil I.Bander[2] , Salah S. Zain-Al-Abddeen[3]

[1,2]Department of Biology / College of Science / University of Tikrit , Iraq

[3]Department of Biology / College of Science / university of Kirkuk ,Iraq

doha_hussain29@yahoo.com[1] , Khalilibraheem189@yahoo.com[2] ,mts.m1963@gmail.com[3]

ABSTRACT

The fungus Aspergillus niger isolated from industrial area in Kirkuk city.was used to study its ability as reducing agent to prepare silver particals .The results showed that Ag NO_3 solution 1mM changed in colour to brown ,which indicate the formation of silver nanoparticales.

The spectrum of silver nanoparticles solution using Uvi,vis Spectroscopy was used as asecond step to confirm the production of nanoparticls ,Results showed that the absorbance at 430 nm also the X-ray diffraction showed peaks at 111,220,311 at the diffraction angles (31.77,46.11,57.21) respectively .The SEM images showed clear particales.delling with antibacterial activity the particles showed inhibitory effect against multi-antibiotic resistance Escherichia coli and Proteus mirabilis which found (33,33,32)mm and (35,35,34)mm respectively at the concentration 100% .

Keyword: *Aspergillus niger , silver nanoparticals , pathogenic bacteria*

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849

تأثير دقائق الفضة النانونية المحضرة بأستخدام *Aspergillus niger* في بعض البكتريا المرضية

حسين عبد الرزاق عبود [١] , خليل أبراهيم بندر [٢] , صلاح سلمان زين العابدين [٣]

[١،٢] جامعة تكريت/ كلية العلوم/علوم الحياة

[٣] جامعة كركوك / كلية العلوم/علوم الحياة

doha_hussain29@yahoo.com[1] , Khalilibraheem189@yahoo.com[2] ,mts.m1963@gmail.com[3]

الملخص

تم الحصول على عزلة من فطر *Aspergillus niger* من منطقة الحي الصناعي في مدينة كركوك. وأستخدم لدراسة قابليتها على تحضير جسيمات الفضة النانونية . بينت النتائج أن محلول نترات الفضة بتركيز 1Mm يتبدل لونه الى اللون البني والذي يعتبر دليل أولي على تكوين جسيمات الفضة النانونية .

درس طيف أمتصاص الاشعة البنفسجية والمرئية لمحلول جسيمات الفضة النانونية كخطوة ثانية في التأكد من تكوين الجسيمات وتبين أنها تقع على الطول الموجي (430)نانومتر كما تبين أن قمم الحيود الاشعة السينية كانت عند (111) و(220) و(311) عند الزوايا (31.77و46.11 و57.21) على التوالي .كما ظهرت الجسيمات بشكل دقائق واضحة في صور المجهر الالكتروني الماسح .تبين أن محلول جسيمات الفضة النانونية ذات تأثير تثبيطي واضح على نوعين من البكتريا *Escherichia.coli* و *Proteus mirabilis* ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية والتي بلغت (33,33,32) ملم ضد البكتريا *Escherichia.coli* عند تركيز100% و(5,6,5) ملم على ثلاث من عزلات *Escherichia.coli* وكانت (35,35,34) ملم عند التركيز 100% ضد *Proteus mirabilis*

الكلمات الدالة :- *Aspergillus niger* , دقائق الفضة النانونية , البكتريا المرضية

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849

١. المقدمة (Introduction)

يقصد بعلم النانو بأنه العلم الذي يهتم بدراسة وتوصيف المواد التي تتراوح إبعادها بين 10-100 نانومتر وفضلا عن تعيين خواصها الكيميائية والفيزيائية, والميكانيكية مع دراسة الظواهر المرتبطة الناشئة عن صغر أحجامها [1]وكذلك يعرف علم النانو بأنة علم المواد المتناهية في الصغر وذلك بسبب كونه يدرس المواد في السلم الذري أو الجزيئي والتي تختلف بشكل ملحوظ عن خواص نفس المواد في سلم اكبر[2] ويمكن الحصول على الدقائق النانونية بالطرق الحيوية والكيميائية من بكتريا وفطريات لها القدرة على أنتاج الجسيمات النانونية ذات الخصائص المضادة للاحياء المجهرية [3] و[4]

تعد أنواع جنس الفطر *Aspergillus* من الفطريات الخيطية الكيسية وتكون أما متطفلة ضعيفة أو رمية ، وهي واسعة الأنتشار ، إذ تتمكن من النمو في بيئات وظروف مختلفة ، إذ توجد على المواد العضوية كالفواكه و المربيات و الحبوب و الخضراوات و الخبز و الجلود و الأخشاب الرطبة وفي التربة و الهواء و تعزى سعة إنتشار أنواعه الى الأعداد الهائلة للكونيدات (السبورات) التي ينتجها هذا الفطر و الى إمتلاكه القابلية على تكوين العديد من الإنزيمات الخارج خلوية و التي تعمل على تحليل المادة الأساس و تحويلها الى مكوناتها الصغرى ليسهل إمتصاصها من قبل الفطر[5].

أن الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية وبشكل غير صحيح أدى الى زيادة مقاومة الجراثيم الى تلك المضادات والتي في السابق كانت حساسة لها مما أدى الى ظهور سلالات أمتازت بكونها متعددة المقاومة (Multiresistant).اثبتت الدراسات في الآونة الاخيرة من القرن العشرين قدرة البكتريا على اكتساب صفة المقاومة للمضادات الحيوية وهذا مؤشر واضح على تطوير البكتريا آليات عدة مكنتها من المقاومة قد تكون طبيعية كأمتلاكها غشاء خارجي يعمل كحاجز يقلل من نفاذية المضادات الحيوية أو مكتسبة ناتجة من تغير في الجينات أوأكتساب جينات مقاومة اذ تصبح البكتريا الحساسة مقاومة لها [6].

ومن هنا برزت الحاجة الى تصنيع جزيئات نانونية معدنية بواسطة أحياء مجهرية مختلفة والتي تعتبر مصنع نانوني أحيائي Bionanofabrication بسبب قدرتها الهائلة على أنتاج الدقائق النانونيةلانواع مختلفة من المعادن ومنها الفضة والذهب وأكسيد الزنك وغيرها والتي أستخدمت في مجالات حيوية عديدة ومختلفة وجد الجسيمات النانوية

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849

الفضية لها فعالية عالية مضادة للبكتريا والفطريات الممرضة [7]ونتيجة لما تقدم فقد هدفت الدراسة الى عزل وتشخيص فطر *Aspergillus niger* من التربة و اختبار قدرة هذا الفطرعلى إنتاج الدقائق النانوية Nanoparticles و التحري عن نسبة أنتشار الانواع البكتيرية المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية والمسببة لامراض عديدة من مصادر سريرية مختلفة ودراسة تأثير الدقائق النانوية على البكتريا المقاومة للمضادات الحيوية.

٢. طرائق العمل (Materials and Methods)

تم الحصول على عينات التربة من منطقة الحي الصناعي في مدينة كركوك. ولغرض تحضير معلق من التربة عوملت بكاربونات الكالسيوم CaCo3 بنسبة 10 :1حجم / وزن وحضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 37مْ ولمدة 4 ايام لغرض التجفيف حضرت سلسلة من التخافيف العشرية من عينة التربة ألى حد 4-10بأستخدام محلول رنكر ثم أخذ 0.5 مل من التخفيفين 3-10 و4-10 ووضعت في أطباق بتري معقمة وصب عليها وسط PDA المعقم والمبرد الى (45-50) مْ وحرك الطبق ليتجانس محلول التربة مع الوسط الزرعي ثم حضنت لمدة 4-6 أيام بعدها تم تنقية العزلات وتشخيصها أعتمادا على [8] و [9] .

تحضير ألكتله الحيوية الفطرية وتكوين الجسيمات النانوية الفضية :

تم تحضير الكتلة الفطرية وذلك بأخذ قرص من المستعمرة الفطرية النقية النامية باستخدام ثاقب فليني معقم بحجم 7ملم,حيث تم ثقب حواف المستعمرة النامية على طبق النمو الفطري .ووضعها في دورق مخروطي حاوي 100مل من وسط MYPG ((3) غم من malt extract و(5) غم من Peptone و(10) غم من glucose و(3) غم من Yeast extract وأستعمل لتحضير الحصيرة الفطرية) السائل حيث وضعت بهدوء وحذر ليصبح القرص على سطح الوسط وحركت فترة من الوقت ليستقر القرص على سطح الوسط السائل,بعدها وضعت في الحاضنة بدرجة 260م لمدة 5-7 أيام للحصول على حصيرة فطرية بأوزان مختلفة [10] و بعد تكون الحصيرة الفطرية رشحت الكتلة الفطرية باستخدام ورق ترشيح (Whatman filter paper NO 1) وغسلت جيدا بالماء المقطر المعقم لإزالة بقايا الوسط ,بعدها وضعت الكتلة الفطرية في دورق مخروطي حاوي

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849

على 100مل من الماء المقطر المعقم وتركت لمدة 24-72 ساعة في الحاضنة ,رشحت الكتلة الفطرية مرة أخرى باستخدام ورق الترشيح للتأكد من إزالة جميع مكونات الوسط ,بعدها جففت ورقة الترشيح في فرن كهربائي من نوع Memmert (Germany)عند درجة حرارة 50م بعدها تم قياس الوزن الجاف للفطر بفارق الوزن بين كتلة الورقة المجففة مع محتوياتها بعد الترشيح وكتلة ورقة الترشيح وهي مجففة قبل الترشيح. وزن 10غم من الكتلة الفطرية ثم وضع في 100مل من محلول نترات الفضة Ag NO3المحضرة بتركيز 1mM ووضعت في الحاضنة في ظروف مظلمة تماما وبعد التغير اللوني تم فحص جزيئات AgNPs بأستخدام مطياف الأشعة فوق البنفسجية-المرئية UV-visible spectrophotometer (JASCO) في المركز الصحي في مدينة كركوك وطيف الأشعة السينية X-Ray (shimadzu) في قسم الفيزياء – كلية العلوم جامعة بغداد كما تم أستخدام المجهر الالكتروني الماسح SEM(Scaning Electron Microscopy) (TESCAN-VEGA) في الجامعه التكنلوجية مركز ابحاث النانو.

جمع العينات السريرية:

تم الحصول على عينات البكتريا من النماذج السريرية المأخوذة من المراجعين والراقدين في مستشفيات مدينة كركوك .اذ زرعت العينات على وسطي أكار الدم وأكار الماكونكي وحضنت في 37 مْ لمدة 18-24ساعة.بعدها نقل عدد من المستعمرات المفردة الى وسط الاكار المغذي السائل وحضنت في 37 مْ لمدة 18-24ساعة وبعد ظهور النمو حفظت في 4 مْ لحين الاستخدام.

الفحوصات الكيموحيوية:

بهدف تشخيص العزلات البكتيرية تم أجراء عدد من الاختبارات البايوكيميائية المذكورة في مصادر التشخيص المعتمدة [11] و [12] أضافة الى تأكيد التشخيص بأستخدام نظام Api20Eالمجهزة من شركة Biomeriex.

فحص حساسية المضادات الحيوية:

أجري فحص الحساسية بأتباع طريقة الانتشار في الوسط الصلب وحسب ما جاء في [13] و [14] أذ تم أستخدام 14 نوع من المضادات الحيوية المجهزة من شركة Oxoide.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849

تم أختيار 4-5مستعمرات من العزلات البكتيرية ونقلت الى وسط المرق المغذي وحضنت في 37 مْ لمدة(14-18)ساعة . بعد النمو أخذ كمية من النمو وخفف مع المحلول الفسلجي وتم مقارنتها مع محلول ماكفرلاند القياسي ليعطي مايقارب عدد الخلايا (108)خلية / سم3 بعدها غمرت القطيلة في الانبوبة وشبعت بالمحلول ثم ضغطت القطيلة على جوانب الانبوبة لازالة الكمية الزائدة بعدها نشرت على سطح وسط مولر هنتون وتركت لفترة في درجة حرارة الغرفة .بعدها تم تثبيت أقراص المضادات الحيوية على سطح الوسط الزرعي بواقع 5-6أقراص في كل طبق وحفضت الاطباق في 37مْ لمدة(14-18)ساعة . بعدها تم قياس منطقة التثبيط حول الاقراص بالملليمتر [15] .

تحضير تخافيف من الجسيمات النانونية:

استعمل محلول جسيمات الفضة بعد ترشيحه من الفطر باستخدام ورق الترشيح المعقمة (Whatman filter paper No 1) وتعقيمه بواسطة وحدة الترشيح الدقيق 0.22ملم وحضرت بالتراكيز الآتية :

التركيز الأول: يحوي 1mM من محلول AgNPs واصبح بتركيز 100%.

التركيز الثاني حضر بأضافة 5مل من المحلول الاولي في 5 مل من الماء المقطر المعقم ليصبح التركيز ليصبح التركيز 50%

التركيز الثالث حضر بأضافة3.5 مل من المحلول الاولي وخفف في 6.5 مل من الماء المقطروليصبح بتركيز35%

التركيز الرابع حضر بأضافة 2.5 مل من المحلول الاولي وخفف في 7.5مل من الماء المقطر ليصبح تركيز 25%

دراسة تأثير الجسيمات النانوية على البكتريا المرضية:

تم تحضير العالق البكتيري بالمقارنة مع محلول ماكفرلاند القياسي وأستخدمت القطيلة في نشر العالق البكتيري على سطح الوسط الزرعي مولر هنتون.وتركت لمدة 30دقيقة في درجة الغرفة بعدها عمل حفر في الوسط الزرعي بأستخدام ثاقب الفليني بقياس 6ملم بواقع 4حفر في كل طبق ووضع في كل حفرة 60مايكروليتر من تخافيف محلول جسيمات الفضة النانونية المحضرة مسبقا .تركت الاطباق في درجةحرارة الغرفة لفترة ثم حضنت في 37مْ لمدة(18 - 24)ساعة. بعدها تم قياس منطقة التثبيط حول الحفر بالملليمتر [15]

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849

٣. النتائج والمناقشة (Results and Discussion)

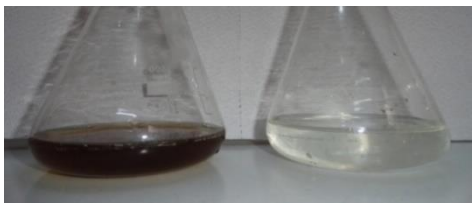
تم عزل فطر Aspergillus niger بطريقة التخافيف من تربة الحي الصناعي في من مدينة كركوك وظهرت المستعمرات الفطرية بعد 3-5 أيام من التحضين في درجة حرارة 25مo على وسط PDA حيث ظهرت المستعمرة الفطرية ناعمة أو صوفية قليلا ذات لون اسود ناشي عن لون الكونيدات , ,يظهرالرأس الكونيدي بلونها الأسود المخضر,و بينت نتائج الفحص ألمجهري وجود الرأس الذي يظهر بشكل كروي شعاعي أو متفرع (مشقق) ينقسم إلى عدة أعمده غير منتظمة أو عدد محدود من السلاسل, ويظهر الحامل الكونيدي ذي جدران سميكة ناعمة شفافة يتلون بلون بني,إما الكونيدات تظهر كروية أو اهليليجية الشكل ذات لون بني وكثيرة العدد [8] .

تكوين الجسيمات النانوية الفضية AgNPs

أن تكوين الجسيمات النانوية لوحظ من خلال عدد من المؤشرات وكما يلي :

1 - التغير اللوني Visual observation

أظهرت نتائج هذه الدراسة تكون جسيمات الفضة النانوية AgNPs باستخدام فطر Aspergillus niger الصورة (1) وذلك من خلال ملاحظة التغير اللوني الناتج عن اختزال نترات الفضة AgNO3 آذ أن هذا التغير اللوني ناتج عن أثارة سطح البلازمون (أساس هذا الاهتزاز هو لمجاميع توصيل الالكترون) في جسيمات الفضة النانوية [16]

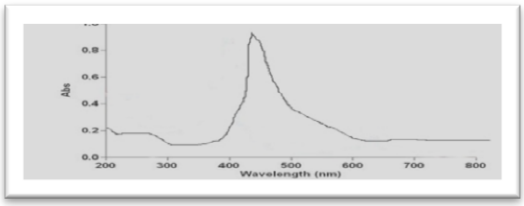


الصور(1) التغير اللوني لمحلول نترات الفضة

2-طيف الامتصاصية للأشعة فوق البنفسجية والمرئية Absorption UV- light spectroscopy

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849

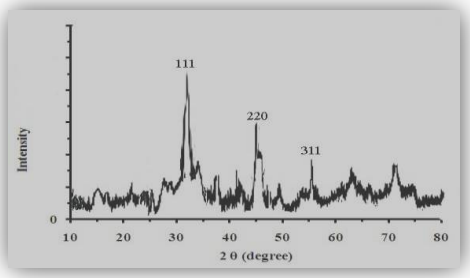
اظهرت نتائج الدراسة الحالية قدرة الفطر على إنتاج الجسيمات النانوية من خلال قياس طيف الامتصاصية للأشعة فوق البنفسجية والمرئية ضمن المدى (200-750 نانومتر) لمحلول نترات الفضة AgNO3 المستخدم لتحضير جسيمات الفضة النانوية(AgNPs) والتي تعد من إحدى التقنيات المهمة لكشف التراكيب النانوية ولوحظ أن قمة الامتصاص ظهرت عند الطول الموجي 430 نانومتر والتي تمثل قمة الامتصاص للفضة الشكل (1) وهذه تتفق مع [17] و [18]



الشكل (1) طيف أمتصاص للأشعة فوق البنفسجية والمرئية لمحلول جسيمات الفضة الناتج من فطر *A.niger*

3-حيود الأشعة السينية X-Ray Diffraction

يبين الشكل(2) طيف حيود الاشعة السينية لجسيمات الفضة النانوية (AgNPs) المحضرة باستخدام الفطر نوع *Aspergillus niger* المعزول من (الحي الصناعي)rونلاحظ من الشكل قمم الحيود (111) و(220) و(311) عند الزوايا(32.20و47.34و55.43) ووجد أن هذه الزوايا مقاربة للزوايا المذكورة مع بطاقة المركز الدولي لبيانات الحيود (JCPDS)وتتفق مع [19] و [18]

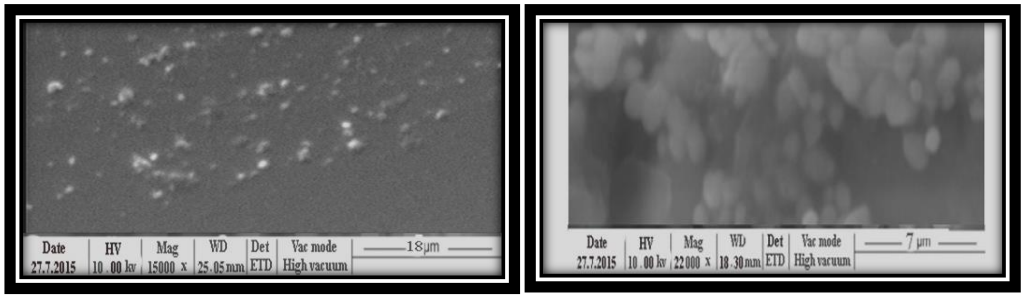


الشكل(2) طيف حيودالأشعة السينية (XRD) لجسيمات الفضة النانوية

4-المجهر الالكتروني الماسحScanning electron microscopy

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849

يبين الشكل (3) صور المجهر الاكتروني الماسح لجسيمات الفضة النانونية المتكونة بأستخدام الفطر *A.niger* والذي يظهر بشكل تجمعات والتي تثبت تكون جسيمات الفضة النانونية [20] و [19] و [21]



الشكل (3) المجهر الكتروني الماسح لجسيمات الفضة النانونية المتكونة بأستخدام فطر *A.niger* عند التكبير 15000Xو22000X

أنواع البكتريا المرضية المعزولة خلال الدراسة:

أظهرت نتائج الدراسة المتعلقة بعزل البكتريا المرضية من المرضى الى تشخيص (30)عزلة وبواقع 15 عزلة لكل من E.coli وP. mirabils وتبينت بعد الفحص المجهري والزرع المختبري والاختبارات البيوكيميائية ونظام API- 20E فقد كانت متطابقة كما ورد في انظمة التشخيص المعتمدة [22] و [23]

إختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية بطريقة الأقراص:

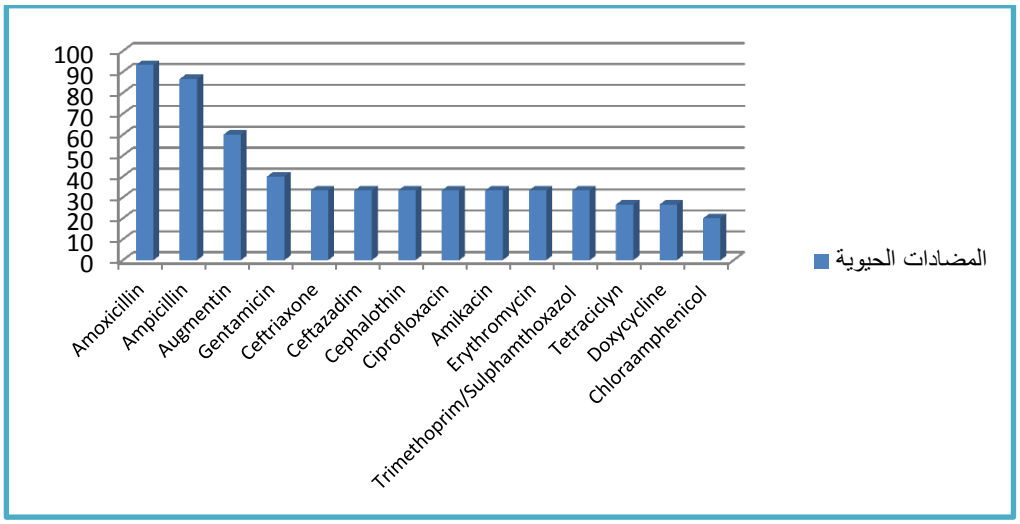
اجري فحص الحساسية للمضادات الحيوية لعزلات جرثومة E.coli وP.mirabils للمضادات الحيوية (Gentamicin10-Ciprofloxacin5- Augmentin30 - Amikacin30Ampicillin10 – Amoxcicillin 25 Chloraamphenicol30 Doxycyclin10 - Erythromycin10 - Ceftriaxone 10-Tetraciclyn15 - Ceftazidim10 – Cephalothin - Trimethoprim/Sulphamthoxazol30 (µg/disc) بطريقة الاقراص من خلال قياس منطقة قطر التثبيط ومقارنة النتائج مع الجداول القياسية الواردة في [14]

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849

بينت النتائج في الشكل (4) أن البكتريا E.coli أظهرت أعلى مقاومة تجاه المضادات الحيوية Ampicillin وAmoxicillinو Augmentin والتي بلغت (93.3 و 86.6 و60)% على التوالي في حين أقل مقاومة كانت تجاه المضاد الحيوي Chloraamphenicol والتي بلغت 20%.

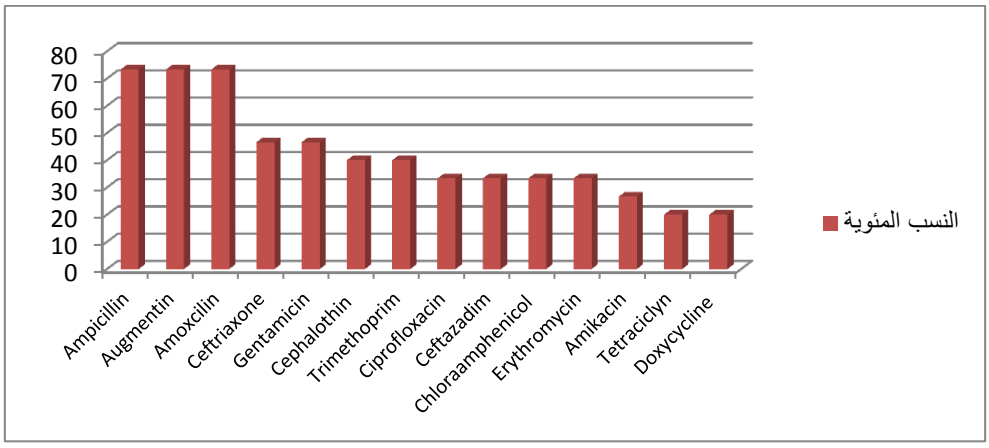
بينت النتائج في الشكل (5) أن بكتريا Proteus mirabilis أظهرت أعلى مقاومة تجاه المضادات الحيوية Ampicillinو Augmentin وAmoxcilin والتي بلغت 73% لكل منهم .في حين أن أقل مقاومة كانت تجاه Tetraciclyn و Doxycycline والتي بلغت 20% لكل منها .

أن المقاومة التي أظهرتها النوعين تجاه المضادات الحيوية المستعملة في الدراسة والتي تمتلك مضادات البيتالاكتام والامينوكلايكوسيدات والمايكروليدات والسلفوتاميد .قد تكون بسبب حدوث الطفرات التي تؤدي الى أكتساب البكتريا للمقاومة أو نتيجة لفقدان Penicillin Binding Proteins (PBPS) أو قلة النفاذية للمضادات الحيوية أو بسبب التأثير على DNA gyrase أو بسبب أنتاج البكتريا لانزيمات Beta lactamase [24] و [25] و [26]



الشكل (4) حساسية بكتريا *E.coli* تجاه المضادات الحيوية

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849



الشكل (5) حساسية بكتريا *P.mirabilis* للمضادات الحيوية.

يبين الجدولين 1 و 2 أن النوعين *E.coli* و*P.mirabilis* أظهرت المقاومة لاكثر من مضاد حيوي واحد ووجد أن عزلات *E.coli* (9,5,3) وعزلات *P.mirabilis* (13,11,4) كانت مقاومة لجميع المضادات الحيوية.

جدول (1) يمثل مقاومة وحساسية جرثومة *E.coli* للمضادات الحيوية المستخدمة

AX25	SXT	ERT15	TET	C30	DO10	AM10	CIP5	AK10	GN10	CEP30	CAZ10	CTX30	AMP 10	رقم عزلة
R	S	R	S	S	R	R	S	S	R	S	S	S	R	1
R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	2
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	3
R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	4
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	5
R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	6
R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	7
R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	8
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	9
R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	10
R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	11
R	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	12
R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R	S	R	13
S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	14
R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	S	R	R	15

حيث تشير R : الى صفة المقاومة للمضاد الحيوي. S : الى صفة الحساسية للمضاد الحيوي.

جدول (2) يمثل مقاومة وحساسية جرثومة *P.mirabilis* للمضادات الحيوية المستخدمة

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849

AX25	SXT	ERT	TET	C30	DO10	AM10	CIP5	AK10	GN10	CEP30	CAZ10	CTX30	AMC 30	رقم عزلة
R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	1
R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	2
R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	3
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	4
R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	5
R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	6
R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	7
R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	8
R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	9
R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	10
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	11
R	S	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S	R	12
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	13
R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	14
R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	15

حيث تشير R : الى صفة المقاومة للمضاد الحيوي. S : الى صفة الحساسية للمضاد الحيوي.

تأثير جسيمات الفضة النانوية AgNPs في بعض البكتريا المرضية :-

تبين من خلال الدراسة أن لجسيمات الفضة النانوية المنتجة من فطر *A.niger* فعالية عالية تجاه البكتريا *P. mirbilis* وكما موضح بالجدول (3) اذ عند التركيز 100 % بلغ قطر منطقة التثبيط (33,33, 32) ملم ضد الثلاث عزلات ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية وعند تخفيف 50 % بلغ قطرمنطقة التثبيط (21,20, 20) ملم في حين عنده تخفيف 35 % بلغ قطرمنطقة التثبيط (5,6,5) وكذلك الحال بالنسبة بكتريا *E.coli* الجدول (4)اذ عند تخفيف 100 % بلغ قطر منطقة التثبيط (35,35,34و35) وعند تخفيف 50 % بلغ قطرمنطقة التثبيط (17,23, 21) من العزلات (3) و(5) و(9) على التوالي في حين عنده تخفيف 35% بلغ قطرمنطقة التثبيط (8,8,8) . وأن لصغر حجم الدقائق النانونية ومساحتها السطحية الكبيرة حيث كلما صغر الحجم تجمعت بأعداد أكبر على سطح الخلايا مما يؤدي الى زيادة سميتها للكائنات الدقيقة من خلال تأثيرها على نفاذية الغشاء البلازمي للبكتريا وبالتالي موت الخلية [27] ان الالية التي يتم فيها تفاعل الدقائق النانونية مع الخلايا البكتيرية هي أن الكائنات الدقيقة تحمل شحنات سالبة بينما الاكاسيد المعدنية النانونية تحمل شحنة موجبة مما يخلق تجاذبا كهرومغناطيسيا بين البكتريا وسطح الدقائق وأن الدقائق النانونية

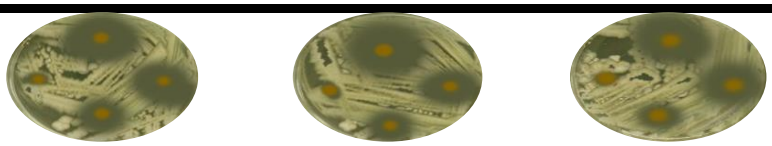
Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849

تطلق الايونات التي تتفاعل مع مجموعة الثايول (-SH) للبروتينات الناقلة للمواد الغذائية التي تبرز من غشاء الخلية البكتيرية ويخفض نفاذية الغشاء وبالتالي موت الخلية [28]

ان ميكانيكية تثبيط AgNPs لقابلية DNA على التضاعف والتعبير الجيني للبروتينات وكذلك مختلف البروتينات الخلوية والانزيمات الضرورية في انتاج ATP لذلك تصبح غير فعالة [29] وتهاجم AgNPs سطح غشاء الخلية وتعطل عملية النفاذية و وظائف التنفس في الخلية أو تتداخل مع مكونات نظام النقل الاكتروني للبكتريا [30] و [31]

تركيز اجسيمات النانونية المنتج من فطر *A.niger* %	عزلات *P.mirbilis* المقاومة		
	قطر منطقة التثبيط لعزلة رقم 4 (mm)	قطر منطقة التثبيط لعزلة رقم 11 (mm)	قطر منطقة التثبيط لعزلة رقم 13 (mm)
100	32	33	33
50	20	20	21
35	5	6	5
25	0	0	0

التأثير التثبيطي لجسيمات الفضة النانونية المحضرة بأستخدام *A.niger*

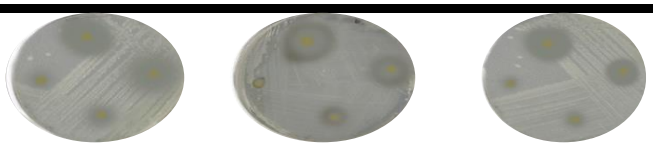


الجدول (3) تأثير للجسيمات النانونية بتراكيز مختلفة في *P.mirbilis*

الجدول (4) تأثير للجسيمات النانونية بتراكيز مختلفة على *E.coli*

تركيز اجسيمات النانونية المنتج من فطر A.niger%	عزلات *E.coli* المقاومة		
	قطر منطقة التثبيط لعزلة رقم 3 (mm)	قطر منطقة التثبيط لعزلة رقم 5 (mm)	قطر منطقة التثبيط لعزلة رقم 9 (mm)
100	34	35	35
50	21	23	17
35	8	8	8
25	0	0	1

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 1, January 2017
ISSN 1992 – 0849



المصادر (References)

[1] C . Buzea,.; I. Pacheco. and K. Robbie. (2007). ***Nanomaterials andNanoparticles: Sources and Toxicity***. Biointerphases**,** 2(4): 17-71

[2]نهى علوي الحبشي . ٢٠١١ ***. ماهي تقنية النانو***.مكتبة الملك فهد الوطنية. المملكة العربية السعودية.

[3] N .Duran ; P .Marcato; D. Conti ; R. D. Alves ; O. L. Costa ; F. M. and M .Brocchi,.(2010). ***Potential use of Silver Nanoparticles on pathogenic bacteria, their toxicity and possible mechanisms of action.*** *J. Braz. Chem.Soc.*, 21 (6):949-959.

[4] M .AbdulHameed .(2012).***Nanoparticles as Alternative to pesticides in Management Plant Diseass***-A Review.International Journal of Scientific and Research Publications.ISSN 2250-3153

[5] ابراهيم عزيز خالد السهيلي , قيصر نجيب صالح واسماعيل عبد اللطيف سالم.(1982)***.الفطريات***. جامعة الموصل . العراق.

[6] K .Todar. (2002).***Pseudomonas aeruginosa .****J. of Bacterial*, 22 (6): 330-355

[7] S. Saha ; D. Chattopadhyay and K. Acharya,.(2011***).Preperation of silver nanoparticles by bio-reduction using Nigrospora oryzae culture filtrate and its antimicrobial activity.***Digest Journal of nanomatirials and biostructures,6(4):1526-1535.

[8] N.Moubasher. (1993),***Soil fungi in Qatar and other arab countries***,Doha,Qatar.

[9] A. E. B .Bensons. (2005). ***"Microbiology Applications"*** 9th ed., Laboratory Manual in general, New York.

[10] M .Karbasian., S.M.Atyabi ; S.D.Siyadat ;S.B Momen, ,and D Norouzian,.(2008).***Optimizin Nano-silver Formation by Fusariumoxisporum PTCC 5115 Employing Response Surface Methodology***.AM.J.Agi and boil.3(1);433-437.

[11]C.Monica.(2009). ***District Laboratory Practice in Tropical Countries*** .part 2.2th. P. 63-71.

[12] A. E Brown**.** (2007). Benson`s ***Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology***. 10thed., P. 102-263. McGraw-Hill comp. Inc., USA

[13] J.A.Morello ; H.E. Mizer; & Granato. (2006). ***Laboratory Manual and Workbook in Microbiology Applications to Patient Care.18th.ed***. The McGraw-Hill Companies, Inc., New York: 95-99.

[14] CLSI, (Clinical & Laboratory Standards institute) (2014). ***Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty –first Informational Supplement***. M100-S21.31 (1):1-163.

[15] J.Vandepitte ; K. Engback ; P.Piot and G.Heuck. (1991). ***Basic laboratory procedures in clinical bacteriology***. WHO Switzerland

[16] V.C Verma ; Kharwar R.N; A.C.Gange.(2010).***Biosynthesis of Antimicrobial silver nanoparticles by the endophytic fungus Aspergillus clavatus***.Nanomedicine 5,33-40.

[17] N.Vigneshwaran ; N.M. Ashtaputr, P.V. Varadarajan, R.P. Nachane, K.M. Paralikar and R.H. Balasubramanya**.** 2007. ***Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus Aspergillus !avus***. Materials Letters 61: 1413–1418.

[18]N.Pavani and B.B. sangameswaran,2012. ***Synthesis of Lead Nanoparticles by Aspergillus species.*** 1, 61–63.

[19] V .Gopinath ; P . Velusamy (2013***). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using Bacillus sp. GP-23 and evaluation of their antifungal activity towards Fusariumoxysporum***. Spectrochim. ActaA 106:170-174

[20] B .Ashe.(2011***).Adetail investigation to observe the effect zinc oxide and silver nanoparticales in biology system.***M.S.c thesis.National Institute of Technology .India.

[21] N .Duran ; P.D. Marcato ; O.L Alves ; G.IH .De souza; j Esposito,.(2005) . ***Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several Fusarium oxysporium strains***.J.Nanobiotecnol.3,1-7

[22] W.Winn ; S.Allen ; W.Janda; E.Koneman ; G. Procop ; P Schreckenberger,. and G .Woods.(2006)***.Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology***. 6th Ed., Lippincott, Williams& Wilkins

[23] J . Wilson . (2004). ***Clinical Microbiology An introduction for Health ears Professionals***. British, *Journals and multimed in the health Science.,China*

[24] H .Hanaki . (2004).***Epidemiology and clinical effect against beta-lactam antibiotic induce*** *.J. Antibiotic*, 78 (8): 204-216.

[25] A.C.Fluit; M.R .Visser ; and F.J. Schmitz . (2001).***Molecular detection of antimicrobial resistance*** .Clinical Microbiology Reviews.Oct.836-871

[26] W .Zimmermann and A . Rosselet **.** (1977) ***function of the outer membrane of Escherichia colli as a permeability barrier to beta-lactam antibiotic , Antimicrobial agents and chemotherapy*** : 12 (3).368-372.

[27] I . Sondi and B . Salopek-Sondi . (2004). ***Silver Nanoparticles as Antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria***. *J Colloid Interface Sci*., 275:177–182.**7-**

[28] H. Zhang, and G.Chen. (2009). ***Potent Antibacterial Activities of Ag/TiO2 Nan composite Powders Synthesized by a One-Pot Sol-Gel Method***. *Environ Sci. Technol.*, 43(8): 2905-2910.

[29] M.K .Yamanaka ; T.Hara, and J.Kudo. (2005)**: *Bactericidal actions of a silver ion solution on Escherichia coli studied by energy filtering transmission electron microscopyand proteomic analysis***. Applied and Environmental Microbiology, 71:7589.

[30] V.K.Sharma ; R.A.Yngard, and Y.Lin. (2009)**: *Silver: Green synthesis and their antimicrobial activities***. Advances in Colloid and Interface Science, 145:83.

[31] S. L .Percival; P. G. Bowler and D.Russell (2005)*: **Bacterial resistance to silver in wound care***. Journal of Hospital Infection, 60: 1.