جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الأنبار / كلية العلوم التطبيقية / هيت

قسم الفيزياء الحياتية

تأثيرات التآزر والتضاد للجسيمات النانوية مع المضادات الحيوية ضد بعض البكتيريا المرضية المعزولة من مستشفى الرمادي

بحث مقدم الى مجلس كلية العلوم التطبيقية/هيت – جامعة الأنبار وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس

بحث تقدم به:

رونق عادل رشيد | نور فواز إبراهيم

إبراهيم احمد صالح | نور الهدى ستار جبير

إشراف

م. مروان محمود صالح

١٤٤٢ هـ | ٢٠٢١م

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿نَرۡفَعُ دَرَجَٰتٖ مَّن نَّشَآءُۗ وَفَوۡقَ كُلِّ ذِي عِلۡمٍ عَلِيم﴾

صدق الله العظيم

الأية: يوسف ٧٦

الإهداء

إهداء جُهدَنا المتواضع الى من قال فيها خير الأنام (صلى الله عليه وسلم):لما سُئِلَ ,من احق الناس بصحبتي يارسول الله ؟ قال امك, قال ثم من ؟قال امك ,قال ثم من, قال امك ,قال ثم من ؟قال ابوك.

الى رمز الحنان والعطف والحب اللاتي نَشئْنَ الأجيال وصَنَعْنَ الرجال وانتظرن هذه اللحظة بفارغ الصبر. "أُمهــاتنا"

الى رمز العطاء والبذل والسخاء والتضحية الى من يشرفهم نجاحنا وتفوقنا "أبـــاؤنـــا"

الى المشاعل التي تحترق لتضيء لنا الدروب الى الذين يستحقون التبجيل لقاء جهودهم المبذولة في سبيل النهوض بهذه الامة الى كل من علمنا حرفاً من المرحلة الابتدائية الي مرحلة الجامعة "أساتِذَتُنا"

الى الذين يُمِدوننا بكل الوِد والمحبة الى الذين ساندونا طيلة مسيرتنا العلمية "إِخواني وأخواتي"

الى كل من قطعنا معهم في خندق واحد الى الذين قطعوا الاميال والمسافات لطلب العلم "زُمَلاؤنا"

الى كل من لم تسمح لهم اوقاتهم بالتجول بين صفحات هذا البحث ,نهديهم ثمرة هذا العمل المتواضع

الشكر والتقدير

لا يَسَعُني بَعْدَ الإنْتِهاءِ مِنْ إعْدادِ هَذا البَحْثُ إلا أنْ أتَقَدَم بِجَزِيلِ الشُكْرِ وَالتَقْدِيرِ إلى عَميد الكلية الفاضِل وإلى رئيس القِسم وإلى لِجْنَة المُناقَشَة وإلى (م. مروان محمود صالح)

الذي تفضل وأشرف على بحثي وقدم لي كل النصائح والإرشادات

الخلاصة:

أُجريت هذه الدراسة في مستشفى الرمادي التعليمي العام من تاريخ ٢٠٢٠/١٢/٢٤الى غاية ٢٠٢١/٤/١٩، تُقدم هذه الدراسة تقريراً أوليا عن التأثير التازري للجسيمات النانوية مع المضادات الحيوية ضد السلالات المسببة للأمراض المختلفة

(Escherichia Coli), (Pseudomonas Aeruginosa)

,(Staphylococcus Aureus), ,(Streptococcus Pneumoniae),(Candida)

حيث تضمنت جمع (٢٥) عزلة من مرضى مختلفين بالأعمار والأجناس وبعد ذلك زُرِعت هذه العزلات على أوساط MacConkey agar, Blood Agar ولوحظت الصفات المظهرية للمستعمرات وأُجريت الفحوصات الكيموحيوية القياسية لتشخيص العزلات البكتيرية وقد تم تأكيد التشخيص بإستخدام جهاز الـ (Vitek) واختبار المثل واستهلاك السترات والأندول وإختبار الأوكسيديز، أظهرت البكتيريا مقاومتها لبعض أنواع المضادات عند زراعتها على وسط (Muller – Hinton agar) وكانت حساسة للبعض، حيث لوحظ أن تأثير تأزري أكثر عند الدمج مع (Ampicillin) مقارنة بالـ (Gentamicin)ثم أظهر الفطر تأثير إضافي. تم إستخدام الجسيمات النانوية(Nps) لإظهار نشاط مضاد للميكروبات لجسيمات (ZnoNps,AuNps)ضد الفطريات والبكتيريا(Gram Negative and Gram Positive) حيث اظهرت النتائج التجريبية أن الجسيمات النانوية للذهب بنسبة تركيز ١٠٠٪ اعطت أقصى تأثير مضاد للميكروبات مقارنة بنسبة ٥٠٪ ,٧٥ % وتم دمج جسيمات النانوية بتركيز ١٠٠٪ مع المضادات الحيوية ضد البكتيريا (Gram Negative and Gram Positive) والفطر وأظهرت فعالية أكبر مقارنة بالمضادات الحيوية ضد البكتيريا. إن الجمع بين المضادات الحيوية.

والجسيمات النانوية يعيد قدرتها على تدمير الميكروبات التي اكتسبت مقاومة لها فقد ثبت أن الجسيمات النانوية الموسومة بالمضادات الحيوية تزيد من تركيز المضادات الحيوية في موقع البكتيريا والمضادات الحيوية، وتسهل ارتباط المضادات الحيوية بالكائنات الحية الدقيقة (Allahverding et al.,2011)

قائمة المحتويات

الموضوع	الصفحة
الخلاصة	IV
الفصل الأول	١ - ٢
١-١.المقدمة	١
١-٢.أهداف البحث	٢
الفصل الثاني: إستعراض المراجع	٣ - ١٩
٢-١. استعراض المراجع	٣
٢-١-١.بكتيريا الزائفة الزنجارية	٣
١- الصفات العامة لجرثومة الزائفة الزنجارية	٤ - ٥
٢- إمراضية الزائفة الزنجارية	٥-٦
٢-١-٢.بكتيريا E.coli	٦
١- الصفات العامة لبكتيريا E.coli	٧
٢- إمراضية بكتيريا E.coli	٧ - ٩
٢-١-٣.المكورات العنقودية الذهبية	٩-١٠
١- الصفات العامة لبكتيريا المكورات العنقودية	١٠
٢- إمراضية بكتيريا المكورات العنقودية	١٠
٢-١-٤.بكتيريا العقدية الرئوية	١١
٢-١-٥.Candida	١١-١٢
٢-٢.تقنية النانو	١٢ - ١٣
- مبادئ ومميزات تقنية النانو	١٣-١٤
- أوكسيد الزنك النانوي	١٤-١٥
- جسيمات الذهب النانوية	١٥-١٦
٢-٣.المضادات الحيوية	١٦
٢-٣-١.ألية عمل المضادات الحيوية	١٦-١٧
٢-٤.أليات مقاومة المضادات الحيوية	١٧
٢-٤-١.ألية المقاومة Staphylococcus arueus	١٧
٢-٤-٢.ألية المقاومة Psedo للمضادات الحيوية	١٧-١٨
٢-٤-٣.ألية المقاومة لبكتيريا E.coli	١٨
٢-٤-٤.الية المقاومة لبكتيريا Streptpcoccus	١٨
٢-٤-٥. الية مقاومة Candida	١٨-١٩
الفصل الثالث: المواد والطرق	٢٠ - ٣٠
٣-١.المواد وطرق العمل	٢٠

٣-١-١.الأجهزة المستخدمة	٢٠
٣-١-٢.الأوساط الزرعية	٢١
٣-١-٣.أقراص المضادات الحيوية	٢١
٣-٢.تحضير الأوساط الزراعية	٢٢
٣-٢-١.وسط أكار الدم	٢٢
٣-٢-٢.وسط ماكونكي اكار	٢٢
٣-٢-٣.وسط ماء الببتون	٢٢
٣-٢-٤.وسط Brain – Heart infution broth	٢٣-٢٢
٣-٢-٥. وسط اكار مولر هنتون	٢٣
٣-٣.تخفيف نانو أوكسيد الزنك	٢٤
٣-٤.تخفيف نانو الذهب السائل في المختبر	٢٥
٣-٥.جمع العينات	٢٥
٣-٦.زراعات العينات	٢٦
٣-٧.حفظ وادامة العزلات البكتيرية	٢٦
٣-٨.تشخيص العزلات	٢٦
٣-٨-١.خصائص المستعمرات المظهرية	٢٦
٣-٨-٢.الخصائص المجهرية	٢٦
٣-٩.الصفات البكتيرية لكل نوع من البكتيريا	٢٦
٣-٩-١.Candida	٢٧-٢٦
٣-٩-٢.E.coli	٢٧
٣-٩-٣.Staphyloccus aureus	٢٧
٣-٩-٤.Psedo	٢٧
٣-٩-٥.Streptococcus Pneumonia	٢٧
٣-١٠.Gram stain	٢٨
٣-١٠-١.محاليل صبغة غرام	٢٨
٣-١١.الإختبارات الكيموحيوية	٢٨
٣-١١-١.الأندول	٢٨
٣-١١-٢.إختبار المثيل	٢٩
٣-١١-٣.إستهلاك السترات	٢٩
٣-١١-٤.إختبار Oxidase	٢٩
٣-١٢.إختبار الحساسية للمضادات الحيوية	٣٠-٢٩
٣-١٣.التشخيص بجهاز Vitek compact	٣٠
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة	٣١
٤-١ النتائج	٣٨-٣١
المناقشة	٤٠-٣٩
• المصادر	٥١-٤٢

قائمة الجداول

الرقم	الموضوع	الصفحة
١	أهم المبادئ والمميزات لتقنية النانو	١٤
٢	الأجهزة المستخدمة والشركات المصنعة لها	٢١
٣	الأوساط الزراعية واستخداماتها والشركات المصنعة لها	٢٢
٤	أقراص المضادات الحيوية والشركات المصنعة لها	٢٢
٥	العزلات مع المضادات الحيوية	٣٢
٦	فعالية نانو الذهب	٣٣
٧	نتائج نانو الذهب مع المضادات	٣٥
٨	فعالية أوكسيد الزنك	٣٧
٩	نتائج أوكسيد الزنك مع المضادات	٣٨

الفصل الأول

المقدمة

الفصل الأول

١-١.المقدمة :

تُعَرَف تقنية النانو بأنها تصميم وتصنيع وتطبيق المواد ذات الشكل والحجم النانوي التي يتراوح بين (١ – ١٠٠) نانومتر وله خصائص فريدة من نوعها كالحجم والشكل والمساحة فمثلاً لون الذهب اصفر ولكن عند تحويله الى جسيمات نانوية يصبح لونه أحمر لذلك تصنف الجسيمات النانوية إعتماداً على أبعادها والشكل المظهري والتركيب والتماثل(Arvizo et at , Jinlia , 2012). ساهم تطور تقنية النانوا على تغيير القواعد الطبية المُتبعة في منع الأمراض وتشخيصها وعِلاجها وأصبحنا نعيش عصر التقنية النانوية فمثلاً تقدمت تقنية النانو وفق طرق جديدة لحاملات الدواء داخل الجسم تكون قادرة على استهداف خلايا مختلفة في الجسم ولتقنية النانو أهمية في زيادة تعزيز الأدوية وكفاءتها والتخلص من مشكلة المقاومة المتعددة للبكتريا التي تبديها تجاه المضادات الحياتية(Jabir et at , 2012). أُستخدم في العراق عدة مسارات لتصنيع وتطبيق الجسيمات النانوية في المجال السريري(Abd,2014)، استخدمت الجسيمات النانوية لأُكسيد الزنك لِتثبيط نمو (Candida), (Staphylococcus Aureus), (E.coli), (Pseudomonas) (Aeruginosa) and (streptococcus) في اللعاب الفموي البشري بينما أشار(xiaoning et at ,2014) الى ان جسيمات الذهب النانوية عامل قوي ومؤثر جداً تجاه مجموعة من البكتريا الموجبة والسالبة لملون گرام المسببة لأمراض الجهاز البولي والمقاومة للعديد من المضادات الحياتية وأظهرت الجسيمات سُمية منخفضة جداً لخلايا اللبائن ولم يلاحظ المقاومة البكتيرية بعد ٢٠ جيل كذلك تعد صفة المقاومة للمضادات الحيوية التي تمتلكها الأنواع المختلفة من البكتريا إحدى اهم المشاكل الصحية والاقتصادية في العالم، الأمر الذي دفع الباحثين للتحري عـن مضادات جديدة للتغلب على السلالات البكتيرية المقاومة إذا تؤدي الإصابة البكتيرية الى المقاومة للمضادات الحيوية منها (Mhlit – Durg Resistant) (MDR) و(Extersirely – Durg Resistant) (XDR) و (Pan – Durg Resistant) (PDR) حيث تعد المقاومة من نوع (MDR) تعني ان البكتيريا تكون مقاومة على الأقل لواحد من بين ثلاث مضادات حيوية والمقاومة من نوع (XDR) تعني ان البكتيريا مقاومة لاثنتين او كل المضادات الحيوية المأخوذة أما المقاومة من نوع (PDR) تعني ان البكتيريا تكون مقاومة لجميع المضادات الحيوية(Basak et at ,2016).

١-٢.أهداف البحث:

١- تهدف هذه الدراسة الى تحديد فعالية الجسيمات النانوية مع المضادات الحيوية ضد الكائنات الحية الدقيقة.

٢- عزل وتشخيص أحياء مجهرية مختلفة من حالات مرضية مختلفة.

٣- تحديد مقاومة هذه الأحياء للمضادات الحياتية.

٤- تقدير فعالية جسيمات الذهب واوكسيد الزنك النانوية ضد تلك الاحياء المختلفة

٥- تقدير التازر والتضاد بين المضادات الحياتية والجسيمات النانوية ضد الاحياء المجهرية.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

الفصل الثاني

٢- إستعراض المراجع

٢-١.إستعراض المراجع Literature Review

٢-١-١.بكتيريا الزائفة الزنجارية Pseudomonas Aeruginosa :

وهي عبارة عن جراثيم عصوية الشكل أو منحنية سالبة لملون غرام هوائية موجبة لفحص الأوكسيديز متحركة. تضم هذه العائلة عشرة أجناس ينتمي إليها 180 نوع يعتبر الجنس الشائع لعائلة الزوائف هو جنس الزائفة Pseudomonas يعد هذا الجنس من أكثر الأجناس إنتشاراً وتنوعاً في البيئة تنتشر أنواعه في البيئات البرية والبحرية بالإضافة الى إنتشارها بين النباتات والحيوانات تعتبر جرثومة الزائفة الزنجارية Pseudomonas aeruginosa النوع الشائع لجنس الزائفة يختلف هذا النوع عن غيره من أنواع الزائفة بسبب قدرته الإمراضية للبشر والترتيبات الاخرى.

(Garrity et al.,2004; Rehm et al.,2008)

سميت جرثومة الزائفة الزنجارية Pseudomonas Aeruginosa لأول مرة من العالم Schroeter عام 1872، قام بعزلها بشكل مزرعة نقية من جروح متقيحة ثم قام العالم الفرنسي Gassard بإجراء عدة دراسات إذ قام بعزل جراثيم الزائفة الزنجارية تحت إسم عصيات القيح الأزرق Bacillus Pyocyaneus من مرضى مصابين بجروح جلدية كانت مصحوبة بإنتاج قيح ذو لون أخضر مزرق (Gessard,1984) وهذا ما يفسر تسمية جرثومة P.aeruginosa في بداية إكتشافها بعصيات القيح الأزرق Bacillus Pyocyaneus إذ تشير كلمة Bacillus إلى الشكل العصوي الذي تمتلكه الجرثومة وكلمة Pyo تعني القيح pus اما كلمة cyaneus فتشير الى لون الصبغة الزرقاء التي تفرزها هذه الجرثومة. أما تسمية هذه العصيات بالزائفة الزنجارية Pseudomonas aeruginosa فيرجع إلى الاسم Pseudo في الإغريقية يعني كاذبة. وإن Monas تعني مفردة أما المقطع Aeruginosa في الإغريقية يسمى الزنجار (الصدأ). **(Brooks et al., 2010)**

١. الصفات العامة لجرثومة الزائفة الزنجارية

:General characters of Pseudomonas Aeruginosa

توصف جرثومة الزائفة الزنجارية على أنها جرثومة انتهازية Opportunistic عصوية الشكل يتراوح طولها بين (1–5) مايكرومتر وعرضها (0.5–1) مايكرومتر، سالبة لملون غرام هوائية اجباريا Obligatory aerobic غير مكونة للأبواغ Asporogeous تتحرك بسوط قطبي واحد أو عدة اسواط وتحتوي على المحفظة (Capsule).

(Todar, 2010; Bhaws And singh, 2014)

تكون هذه الجرثومة على شكل عصيات مفردة أو على شكل تجمعات زوجية أو على هيئة سلاسل قصيرة وتفرز العديد من الصبغات منها صبغة البايوسيانين Pyocyanin ذات اللون الأزرق المخضر وصبغة البايوفردين Pyoverdin ذات اللون الأصفر المخضر وتظهر هذه الصفة تألَّقاً عند تعرضها للأشعة فوق البنفسجية Ultra violete وتكون هذه الصبغات غير سامة. **(Jawetz et al., 2001)**

وتنتج بعض السلالات صبغات اخرى مثل صبغة البايروبين الحمراء Pyorubin وصبغة البايوميلانين Pyomelanin السوداء. **(Carroll et al ., 2016)**

تستطيع جرثومة الزائفة الزنجارية أن تنموا في مدى حراري واسع يتراوح بين (10–44) درجة مئوية اما النمو المثالي فيتم في درجة حرارة (37±2) تنموا على وسط الماكونكي وتظهر غير مخمرة لسكر اللاكتوز Non Lactose Fermenter كذلك تنموا على وسط الدم الصلب وتظهر محللة للدم وذلك لإنتاجها للهيمولايسين. تنتج اغلب مستعمرات جراثيم الزائفة الزنجارية رائحة تشبه الأستر Ester – like Odar وهي رائحة مميزة لهذا النوع. أما الرقم الهيدروجيني المثالي لهذه الجراثيم فيتراوح بين (7±0.5) **(Gillespie and Hawkey ,2006;Aravindhan et al.,2014)**

تظهر جراثيم الزائفة الزنجارية نتيجة موجبة في فحص الأوكسيديز Oxidase والكاتاليز Catalase واليوريز Urease وإختبار إستهلاك السترات ونتيجة سالبة لفحص الأندول Indol

واختبار احمر المثل Methyl red وكذلك Vogas – proskaur تعمل هذه الجرثومة على أكسدة بعض السكريات مثل الكلوكوز، المانتول والزايلول. (Forbes et al, 2002; Collee et al., 1996)

تمتلك جرثومة الزائفة الزنجارية طبقة مخاطية بسبب إنتاجها لمادة الألجنيت Alginate Slime Layer فضلاً عن طبقة متعددة السكريات الخارجية Extra Cellular Poly Saccharide **(Toder,2011)** والتي تشكل الغشاء الحيوي Bio film لجراثيم الزائفة الزنجارية إذ تقوم هذه الأغشية الحيوية بحماية الجراثيم من مضادات الحياة إذ يعتبر الغشاء الحيوي حاجزاً فيزيائياً

(Rezaee et al.,2002) بالإضافة الى كون طبقة الالجينيت تعمل على تثبيط عملية البلعمة

(Toder, 2008; carroll et al, 2016) تنتج جرثومة الزائفة الزنجارية نوعين من المستعمرات.

النوع الاول : المعزولة من الماء والتربة وتكون عبارة عن مستعمرات صغيرة وخشنة اما المعزولة سريرياً فتكون على نوعين من المستعمرات الاولى تكون كبيرة وملساء وذات حافات مستوية ومظهر مرتفع والثانية غالبا ما يتم عزلها من المجاري البولية والتنفسية وتكون ذات مظهر مخاطي.

(Toder, 2004)

٢.إمراضية الزائفة الزنجارية Pathogenesis of P.aeruginosa

تعد جرثومة الزائفة الزنجارية من الجراثيم المهددة للصحة العامة عند البشر اذ تمتاز بكونها مُمرضة إنتهازية Opportunistic pathogen وتكون مترممة على الإنسان Common Human Saprophyte ومن النادر ان تسبب إصابات للأشخاص الاصحاء الا أنها تستطيع ان تسبب اصابات خطيرة في المضائف المصابة بالكبت المناعي Immuno Compromised Hosts وتسبب الاصابات المصاحبة لنقل الأعضاء Organ Ttransplant Infection.

(Mittal et al.,2009;chen,2014) وتعد مسؤولة عن العديد من الامراض التي تصيب اجهزة الجسم كإخماج الجروح والحروق والعين والمجرى البولي والمجرى التنفسي واخماج الأذن الوسطى والجريبات الشعرية Folliculitis infechon وتجرثم الدم Bacteremia واخماج الجهاز العصبي. **(Gillespie and Hawkey, 2006)**

وتصيب المرضى المصابين بالسرطان او الأيدز والمرضى المصابون بالتليف الكيسي.

(Senturk et al., 2012)وهي احدى مسببات ذات الرئة، وان جرثومة الزائفة الزنجارية تسبب التهاب شغاف القلب واخماج العظام والمفاصل واخماج المعدة والامعاء واخماج الجلد والانسجة الرخوة (Salimi et al., 2010; Todar, 2012) .وعند دخول جرثومة الزائفة الزنجارية الى جسم المضيف تبدا مرحلة الإلتصاق والإستعمار الجرثومي Bacterial a Hatchment and Colonizationفي الخلايا بواسطة الاهلاب Pilli ثم انتاج عوامل الضراوة التي تسبب الإمراضية ومن عوامل الضراوة هذه إنتاج الأنزيم الحال للبروتين Proteaseالذي يحلل الالياف البروتينية ليكشف المستقبلات للخلايا الجرثومية (Stones and Krachler, 2015)

بعدها تبدأ مرحلة الغزو الموضعي Local Invasion للأنسجة الذي يعتمد بشكل كبير على إنتاج سموم خارج خلوية والانزيمات التي لها القدرة على تحطيم دفاعات المضيف بعد ذلك يحدث الانتشار الجهازي للمرض Disseminated systemic من خلال مجرى الدم ويساعدها على الانتشار هو ومقاومتها للأجسام المضادة ولعملية البلعمة Phagocytosis. ((Okuda et al., 2010).

٢-١-٢.بكتيريا Escherichia coli

تعد من أهم أفراد العائلة المعوية وتنموا كنبيت طبيعي Normal Flora في الجهاز الهضمي كما انها تعد من البكتيريا الانتهازية الممرضة Opportunistic Pathogen إذ تسبب الاسهال Diarrheal Diseases فتسمى Diarrheagenic E.coli (DEC) فضلا عن العديد من الامراض خارج مواطنها الطبيعية منها إلتهاب السحايا للأطفال حديثي الولادة Neonatal Meningitis، تسمم الدم Sepsis وإصابات المسالك البولية Urinary Tract in Fection فتسمى بكتيريا Uropathogenic E.coli (UPEC)، تسبب حوالي (90%) من اصابات المسالك البولية، ويمكن ان تنتقل بسهولة من منطقة الشرج الى المسالك البولية والمثانة التي تكون اكثر شيوعاً في الإناث منها في الذكور حوالي(14) مرة بسبب قصر الإحليل في الاناث **(Levinson,2016) .**

١- الصفات العامة لبكتيريا Characterization of E.coli :

هي عبارة عن عصيات سالبة لصبغة غرام متحركة بواسطة الاسواط المحيطية Peritrichous Flagella التي تحيط بكامل الجسم وغير مكونة للانواع. مستعمراتها ملساء ناعمة ومحدبة قليلا، رطبة، غير مخاطية او مخاطية عند امتلاكها لتركيب المحفظة Capsule ذات حافة حادة كاملة وردية لماعة على وسط أكار المكونكي MacConkey Agar خضراء معدنية لماعة Green metallic sheen على وسط الايوسين مثلين الازرق Eosin Methylene Blue وايضا تكون مستعمرات وردية على وسط أكار الكروماجين اورنتيشن Cromagar Orientation، غير مخمرة لسكر السليلونايوز Cellulobios واكثر من (80%) مخمرة لسكر الرامينوز Remenose، واكثر من (90%) منها مخمرة لسكر السوربيتول Corbetole كما انها غير مُحللة للجيلاتين Gelatin وغير منتجة لغاز كبريتيد الهيدروجين H_2S في وسط ثلاثي السكر والحديد(Triple Sugar Iron Agar (TSI ، معظمها منتجة لأنزيم B – Glucuronides

(GUD)، ولا تنمو بوجود سيانيد البوتاسيوم (KCN) وتنموا في أس هيدروجيني يتراوح بين (4.4–9) ودرجة الحرارة المثلى لنموها هي (36–37) مئوية

(Jawetz et al., 2016; Wanger et al., 2017)

كما انها تكون موجبة لاختبار الكتاليز Catalase وسالبة لاختبار الاوكسيديز Oxidase واليوريز Urease وموجبة لاختبار الاندول Indole الذي يعد الاختبار الافضل الذي يميزها عن افراد العائلة المعوية الاخرى فضلاً عن انها غير مستهلكة للسترات Citrate كمصدر وحيد الكاربون كما انها موجبة لاختبار المثيل الاحمر Methyl Red وسالبة لاختبار الفوكس بروسكاور Vogase – Proskauer. **(Hemraj et al., 2013)**

٢- إمراضية بكتريا Pathogenicity of E.coli :

لهذه البكتيريا القدرة على إحداث العديد من الامراض داخل الامعاء وخارجها ومن هذه الامراض:

أ- الأمراض المعوية او الإسهال Enteric Of Diarrheal Diseases في لحظة الالتصاق نتنج البكتيريا السموم المعوية Enterotoxins ويوجد ثلاثة انواع من هذه السموم، إثنان منها تسبب الاسهال المائي Watery Diarrheal هما السموم المتكتلة بالحرارة Heat – Labile Toxin الشبيهة بسموم بكتيريا الكوليرا Vibrio Cholera والسموم الثابتة

بالحرارة Heat – Stable Toxin اما السموم الشبيهة بسموم بكتيريا Shigella التي تُدعى Shiga Toxin فتسبب الاسهال الدموي Bloody Diarrheal ويمكن ان تسبب البكتيريا نفسها وليس سموما الاسهال الدموي وذلك بعد انغرا زها في بطانة الامعاء مسببة مرض يدعى الديزنتري Dysentery.

(Levinson, 2016)

ب- التهاب السحايا/تسمم الدم Menengtis/Septicemia مرض التهاب السحايا عند الاطفال الرضع تسببه بكتيريا E.coli التي تمتلك نوعا متخصصاً من المستضدات المحفظية يدعى K1 اما تسمم الدم فتسببه بكتيريا E.coli التي تمتلك السموم الداخلية Endotoxin وتكون الإصابة اكثر شيوعا في الاطفال الرضع بسبب فقدانهم الجسم المضاد من نوع (IGM) Immunoglobulin M وقد يحدث كإصابة ثانية نتيجة الإصابة بإصابات المسالك البولية.

(Soltani et al.,2018; Jaweetz et al., 2016)

ت- اصابات المسالك البولية Urinary Tract Infection تعد من اهم واكثر الامراض شيوعا اذ تحدث نتيجة الاصابات بالبكتيريا وتكاثرها في الجهاز البولي الذي يتكون من السالك البولية السفلى

(الاحليل والمثانة) والمسالك البولية العليا (الحالبين والكليتين)، يبدأ الالتهاب عادة بالمسالك البولية السفلى فيسمى بالتهاب المثانة Cystitis والتهاب الاحليل Urethritis الذي يحدث بعد تجرثم البول بالبكتيريا Asymptomatic Bacteriuria ويكون بدون اعراض، والتهاب المسالك البولية المرتبطة بالقسطرة Associated Urinary Tract Infection Catheter. ويمكن ان يتطور الى المسالك البولية العليا مسبباً التهاب الحالبين واصابات الكلى وحوض الكلى Phyelonephritis وتعد الاصابة ببكتيريا E.coli المسببة لأمراض المسالك البولية المصدر الرئيسي للاصابة بتجرثم الدم Bacteremia.

(Forsyth et al., 2018; Foxman, 2014) تعد بكتيريا E.coli من اكثر افارد العائلة المعوية المسببة لإصابات المسالك البولية اذ تشكل حوالي (90%) من اصابات المسالك البولية. **(Jawetz et al., 2016)** فضلا عن انواع اخرى من البكتيريا التي تسبب اصابات المسالك البولية هي:

(Streptococcus group B, Pseudomonas Spp, Klebsiella Pneumonia, Serratia Spp, Enterobacter Spp, Protuse Mirabiles, Staphylococcus Saprophyticus).**(foxman, 2014; Mirzarzi, 2013)**

٢-١-٣.المكورات العنقودية الذهبية Staphylococcus Aureus:

تعد بكتيريا S.aureus أهم الانواع التابعة لجنس المكورات العنقودية من الناحية السريرية والتي تكون موجبة لأنزيم تجلط البلازما (Coagulase) ومع ذلك هناك سلالات نادرة منها قد تكون سالبة لهذا الانزيم علما ان بعض الانواع المسببة لأمراض الحيوانات الاخرى مثل S.intermedius و S.hyicus تكون موجبة لأنزيم تجلط البلازما. **(Deepak et al, 2000)**

تتواجد هذه البكتيريا في جسم الانسان بشكل نبيت ميكروبي طبيعي(Normal Microflora)، وابرز اماكن تواجدها الجلد، تجويف الانف، والبلعوم الانفي، ومنطقة الابطين وما بين الفخذين، في المستقيم، المنطقة التناسلية، والمنطقة الشرجية، ويمكن ان تستعمر في مختلف السطوح الظهارية او المخاطية **(Forbes et al.,2002)** تخمر العديد من السكريات منتجة الحامض وتفرز إنزيم الكاتاليز(Catalase) وتمنع هلام الجيلاتين (Gelatin Liquefy) وهي تحلل الدم عند تنميتها على بيئة أكار الدم (دم الارنب او الخروف) كما تنموا هذه البكتيريا على وسط غذائي ملحي يحتوي على (15%) من (NaCl) وهو وسط لا تنمو عليه البكتيريا السالبة لصبغة غرام بسبب تركيزه العالي. وتستعمل هذه الخاصية في عزل هذه البكتيريا بين خليط من الانواع المختلفة.

(Toder, 2005;Johnson et al.,2002) يصل معدل تعايشها لدى الافراد الى (20%) وعند حدوث اي تشققات او خدوش بالجلد فان هذه البكتيريا تتسبب في بعض الالتهابات كالقروح، الدمامل لا سيما في المناطق المُشْعِرة مثل الرأس ، تحت الإبطين، ومنطقة العانة.**(Ayliffe, 1998)** بالنسبة للمرضى لأذين يكون النبيت الميكروبي Microflora لأمعائهم متغايراً بواسطة العناصر المضادة للميكروب ونوعية الغذاء فإنه قد تتواجد البكتيريا العصوية السالبة لغرام لاكثر مقاومة والمكورات العنقودية الذهبيةS.aureus **(Forbes et al. ,2002)**عندما تصيب تلك البكتيريا ذوي المناعة الضعيفة مثل حديثي الولادة والأطفال او كبار السن او المرضى المصابين بداء السكري، حالات زراعة الأعضاء، المرضى بالسرطان **(Green wood et al. ,1997)**

فإنها تسبب في اصابات خطيرة مثل حالات خمج الجلدية العميقة وقد تنفذ الى الدم وسائر أعضاء الجسم مسببة حدوث تسمم الدم او التهابات رئوية، التهابات صمامات القلب، التهابات العظام وغيرها وقد تؤدي الى الوفاة احياناً. (Benson, 2002)

١- الصفات العامة لبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية General Characteristics Of Staphylococcus Aureus Bacteria :

المكورة العنقودية Staphylococcus هي جنس من الجراثيم موجبة الغرام وتبدو نحن المجهر على شكل عناقيد مكورة تشبه شكل حبات العنب ,جدرانها سميكة وتنموا على الاوساط الصلبة والسائلة الغنية، جراثيم هوائية لا هوائية مخمرة غير متحركة وغير مخمرة ولا تحتوي على ابواغ وخلايا كروية.

٢- إمراضية المكورات العنقودية الذهبية Pathogenicity Of Staphylococcus Aureus :

تعد المكورات العنقودية الذهبية من أكثر انواع المكورات العنقودية إمراضية تكون بكتيريا S.aureus جزء من النبيت الطبيعي (Normal flora) للجلد والانف والبلعوم والقناة الهضمية والتناسلية للإنسان والحيوانات الاخرى، إلا أنها تطرح ايضاً في الهواء وعلى الأدوات Fomites ومن الحالات المرضية ومن الحاملين لها Carries. **(Paul et al., 2004)**

كما انها تمتلك قدرة كبيرة على إحداث اخماج انتهازية Opportunistic Infections تتفاوت بين اخماج الجلد البسيطة نسبياً الى الامراض الوظيفية المهددة للحياة

(Levinson and Jawetz ,2000) (Life – threatening systemic illness) ,

خصوصاً عندما تتوفر الظروف الملائمة لها مثل وجود خلل في قوى الدفاع المناعية، إصابات الجلد، الإصابة بكائنات مرضية اخرى كالفيروسات، وجود امراض مزمنة كالسرطان.

(Shapiro et al., 2000)

في حالة إصابات الجلد والتي عادةً ما تحدث للمواليد الحديثة، تسبب السموم التقشرية تسلخاً واسعاً في الغلاف الخارجي للجلد لتنتج أثراً شبيهاً بالحرق. إن تفاقم هذه العوامل هو المسؤول المباشر عن إصابات الجلد.

٢-١-٤.بكتيريا العقدية الرئوية sterptococcus Pneumoniae :

بكتيريا ايجابية الغرام وهي عضو من جنس العقديات لا هوائي اختياري بسبب انحلال الدم من النوع ألفا (تحت الظروف اللاهوائية)**(Sherris Madical, 2004)**. وعادة ما توجد في أزواج ولا تشكل ابواغ كما انها غير متحركة وبإعتبارها جرثومة ممرضة بشرية مهمة، تم اعتبار المكورة الرئوية كسبب رئيسي للالتهاب الرئوي المكتسب من المجتمع والتهاب السحايا في الأطفال والمسنين**(van de Beek,2006)** وتسمم الدم في المصابين بفيروس نقص المناعة البشرية وتسبب البكتيريا أيضاً العديد من عدوى المكورات الرئوية بخلاف الالتهاب الرئوي وتشمل الامراض الرئوية هذه : إلتهاب الأنف ، والتهاب الجيوب الانفية الحاد، والتهاب الاذن الوسطى، والتهاب الملتحمة، والتهاب السحايا، والتهاب العظم والقي، والتهاب المفاصل الانتاني، والتهاب الشغاف، والتهاب النسيج الخلوي، وخراج المُخ**(Siemieniuk,2011)**. والجروح المختلفة وإصابات الانسجة العميقة التي تسببها المكورات العنقودية الذهبية بشكل شائع. وبغض النظر عن موقع الإصابة الاولي، فإن الطبيعة الغازية لهذا الكائن تُظهر دائماً تهديداً لإصابة الانسجة العميقة والتسبب بتجرثم الدم، إنتشار الإصابة لواحد او اكثر من الاعضاء الداخلية وقد تهدد الحياة اذا لم تعالج ويُسَيطر عليها بسرعة. **(Gillespie and Hawkey, 2006)**

تنشأ إمراضية بكتيريا مكورات العنقودية جراء التأثير المشترك لعدد من العوامل المفرزة خارج الخلية (الذيفانات والأنزيمات) مع خصائص الغزو للسلالة. **(Todar,2008)** تمتلك السلالات المعزولة من الإخماج الخطرة العديد من هذه العوامل مقارنة مع سلالات الجاملين لها (Carriers)كذلك فان استعمال المضادات الحيوية في المستشفيات أدى الى ظهور سلالات مقاومة لتلك المضادات والتي غالباً ما تُحمل من قبل الكادر الطبي او المرضى. **(Brooks et al., 2001)**

٢-١-٥ :Candida

يعد جنس المبيضات جزء من النبيت الطبيعي للجسم(Normal Human Flora)

يتواجد بشكل طبيعي في تجويف الفم في العديد من الاشخاص الاصحاء(Healthy Individuals) ولكن بأعداد قليلة اذ أن العديد من الدراسات تشير الى أن مستعمرات خميرة المبيضات تتواجد في تجويف الفم عند (٢٠٪) الى (٤٠٪) من الاشخاص الاصحاء فضلاً عن تواجده في المهبل والقناة التنفسية وغيرها.(Lewis,2000) ولكن تحول الخميرة من

كائن متعايش الى ممرض بوصفها انتهازية نتيجة لما تمتلكه الكانديدا من عوامل ضراوة مثل الالتصاق بسطوح الخلايا الطلائية وإنتاج الانزيمات الهاضمة للدهون والبروتينات وتكوين إنبوبة الإنبات.(Panagod et al ., 2001) لا تسبب خميرة (Candida) في الحالة الطبيعية المرض لكنها تنشط عند تثبيطها الجهاز المناعي او حصول إختلال في توازن النبيب المجهري(Pires – Goncalves, R.H, ,2007). تنتج خميرة الكانديدا عوامل ضراوة مهمة تتمثل بإفراز انزيمات تحلل مائي خارج خلوي Extra Cellular Hydrolytic Enzymes وهي من عوامل الضراوة المهمة لهذه الخميرة. (Ge et al.,2011)

٢-٢.تقنية النانو Nanotechnology

تقنية النانو تشمل الأبحاث والتطورات التقنية على المستويات الذرية والجزيئية في مجال طولي حوالي

(1–100) نانومتر، لتوفير فهم أساسي للظواهر والمواد على مقياس النانو وهي التي تصنع وتستخدم تركيبات لديها خصائص فريدة نظراً لصغر حجمها(**(Leyde ckey,S. (2008)**

تكنولوجيا النانو: وهي خلق تقنيات قادرة على تحقيق درجات عالية من الدقة في مجالات الطب والأدوية والصناعة والزراعة والهندسة والاتصالات والدفاع والفضاء وغيرها وذلك من خلال إختزال مكوناتها في شرائح صغيرة تؤدي الى قِمة الأداء والدقة **(Taniguchi. N. et al.,1996)** وترى نوال شلبي (2011) بانها علم يعنى بتعديل الجزيئات والذرات لصنع منتجات جديدة وهو من مجالات العلوم التطبيقية ويغطي مجموعة واسعة من الموضوعات، الموضوع الرئيسي له هو السيطرة على أي حجم أصغر من المايكرومتر ، كذلك تصنيع الأجهزة على نفس الحجم، وهو ميدان متعدد الاختصاصات المعرفية (الفيزياء – الكيمياء – البيولوجي – الهندسة)

توفر الطبيعة متعددة الوظائف للجسيمات النانوية أيضاً نهجاً جديداً لمراقبة الديناميكيات الدوائية وحركية الدواء في الوقت الفعلي. **(Wolf,. 2000)** يعتبر طب النانو " أحد اهم المجالات التطبيقية لتقنية النانو، بل وأعظمها على الاطلاق، يرجع ذلك لارتباطها المباشر بحياة وصحة الانسان، وقد ساعد التطور الحديث في تقنيات النانو على تفسير القواعد الطبية المتبعة في منع الامراض وتشخيصها وعلاجها".

تقنية النانو تتعامل مع تجمعات ذرية تتراوح من **(David H Geho et al.,2006)** خمس ذرات الى الف ذرة، حيث إن تقنية النانو هي ابعاد أقل كثيراً من ابعاد البكتيريا والخلايا الحية.**(محمد بن صالح الصالحي، د. عبدالله بن صالح،٢٠٠٧)**

- **مبادئ ومميزات تقنية النانو:**

هناك العديد من المبادئ التي تتميز بها تقنية النانو عن التقنيات المعروفة لدينا وهي سبب اهتمام العلماء بالوصول الى هذه الحجم النانوي، جدول رقم (١) يوضح اهم المبادئ والمميزات لتقنية النانو والفائدة منها:**(نهى علوي أبو بكر الحبشي، ٢٠١١)**

جدول رقم (١) أهم المبادئ والمميزات لتقنية النانو

المبدأ	الميزة
١- إمكانية التحكم بتحريك الذرات الصغرى بدقة وإعادة ترتيبها. ٢- الخصائص الفيزيائية والكيميائية للمادة عند مقياس النانومتر تختلف عن خصائص نفس المادة عند مقياسها الطبيعي. ٣- تعتمد تقنية النانو على مبادئ الفيزياء والكيمياء والاحياء والهندسة الكهربائية والالِكترونية. ٤- إمكانية التحكم بالذرات المنفردة بدقة وإعادة ترتيبها في صنع المواد والألات وتنقيتها من الشوائب وتخليصها من العيوب. ٥- تعتمد تقنية النانو على الأبحاث العلمية التي تتصف في إمكانية تطبيقها في اختراعات ومفيدة.	- إمكانية بناء أي مادة لان الذرة هي وحدة البناء لكل المواد. - إكتشاف خصائص مميزة للمواد يستفاد منها الكثير من الاختراعات والمجالات التطبيقية. - ربط العلوم وتشجيع الجميع باختلاف تخصصاتهم العلمية على الدخول في مجالها والتعامل فيما بينهم. - تصبح خصائص الآلات والمواد افضل فهي أصغر وأخف وأقوى وأسرع وأرخص وأقل استهلاكا للطاقة. - تحول الخيال العلمي الى واقع حقيقي.

يعد مجال تقنية النانو أحد أكثر المجالات شيوعاً للبحث والتطوير في جميع التخصصات بشكل أساسي.

(Paul, D,R., and Robeson, L.M.(2008))

وذلك لما يتميز به من خصائص مثل القوة العالمية، الوزن الخفيف، وكذلك التفاعل الكيميائي الممتاز والحجم الصغير جداً، فضلاً عن المساحة السطحية العالية، والاستقرار العالي.

(Mayes A.K., Hamida E., and Hanaa A.A (2019))

- **أوكسيد الزنك النانوي ZnoNps**

من بين المواد النانوية الأكثر استعمالاً، اكتسب أوكسيد الزنك اهتماماً كبيراً في المجتمعات العلمية والطبية، نظراً لاستعماله المهم في العديد من التطبيقات الطبية والحيوية والمضادة للبكتيريا ويرجع ذلك الى خواصها الكيميائية والفيزيائية **(Noor, H.A., et al., 2017)** مثل معامل الارتباط الكهرو كيميائي العالي واستقرار ضوئي وكيميائي عالي.

(Kolodziejczak – Radzimska, A., and Jesiono wski,T.2014)

يصنف أوكسيد الزنك من اشباه الموصلات ضمن المجموعة (II,VI) بين اشباه الموصلات والأيونية والتساهمية، يمكن العثور على أوكسيد الزنك في بنى أُحادية الابعاد، نائية الابعاد وثلاثية الابعاد وتكون الهياكل ذات البُعد الواحد اكثر من غيرها (5–6). يظهر Zno بنيةً Wurzite (تناظري سداسي)

او (تناظر مكعبي) هيكل الملح الصخري Rock Salt Structure ولكن بلورات Zno تكون اكثر شيوعاً

وثباتاً مع بنية (Wurzite 7).

هناك عدة طرق مختلفة لتحضير أوكسيد الزنك النانوي ZnoNps ، بما في ذلك الطرق الفيزيائية والكيميائية مثل التبخر الحراري، ترسيب البخار الكيميائي (CDV)، ترسيب البخار الفيزيائي، ترسيب سول جل (Sol – gel)، الترسيب الكهرو كيميائي والإستئصال بالليزر النبضي **(Chen,W.J.,et al.,2007)** هناك حاجة متزايدة للبحث عن طرق بديلة لصياغة أنواع جديدة من المضادات الحيوية الأمنة والفعالة من حيث التكلفة للقضاء على العوامل الممرضة والسيطرة عليها، نظراً لأن معظم العمليات البيولوجية تتم على مستوى النانو، فإن الجهود المشتركة لتقنية النانو وعلم الاحياء يمكن ان تحل مشكلات طبية حيوية مهمة. ومن بين العديد من اشباه الموصلات تُعتبر اكاسيد المعادن وخاصة أوكسيد الزنك، أمنة بيولوجيا وفعالة من حيث التكلفة، غير سامة، ومفيدة جداً ضد البكتيريا المسببة للأمراض. **(Mirzaei,H.K., and Darraudi, M.2017)** أظهرت الدراسات أن الجسيمات النانوية Zno – Nps يمكن ان تكون شديدة السمية للخلايا السرطانية او البكتيريا وخلايا اللوكيميا، وتم فحص المواد

النانوية Zno – Nps كمركبات لتوصيل الادوية وتوصيل الجينات والاستشعار الحيوي ايضاً تمت دراستها لعلاج السرطان.(Zhang.Y. et al., 2013)

- **جسيمات الذهب النانوية Gold Nano – Particles (GNPs) :**

يمكن تصنيع جسيمات الذهب النانوية بأشكال وأحجام محتفلة، وبطرائق كيميائية وفيزيائية وبيولوجية، وان الذهب في الطبيعة يكون صلباً وعنصرا خاملاً، في حين ان جسيمات الذهب النانوية تكون بشكل محلول ذي لون يشابه لون عصير العنب الأحمر ويتغاير هذا اللون باختلاف حجم الجسيمات، وسجلت العديد من الأبحاث الفعالية لجسيمات الذهب النانوية بوصفه مضاداً جرثومياً ومضاد أكسدة ونجح في علاج العديد من الأورام السرطانية. **(Deb et al.,2011)** يتراوح حجم جسيمات الذهب النانوية بين (1–300) نانومتر وذات اشكال مختلفة كالشكل الكروي، رباعي، ثماني، ذي عشرة وعشرين وجهاً، والشكل المبروم، وغير منتظمة الشكل، مثلثات، موشورات، قضبان نانوية.**(Ganesh Kumar et al., 2012)** إكتسبت جسيمات الذهب النانوية اهتماما متزايداً بسبب خصائصها الخاصة كالخصائص البصرية والإلكترونية غير العادية، والاستقرار العالي والتوافق البيولوجي، ومقاومتها للأكسدة، وفعاليتها العالية وسميتها القليلة جداً وسهولة الكشف عنها.**(Tiwari et al., 2011)** توجد العديد من الطرائق لتصنيع جسيمات الذهب النانوية ويعتمد الحجم والشكل والخصائص الفيزيائية للجسيمات على نوع الطريقة المتبعة في التصنيع، ولابد من اختيار التقنية الملائمة للتصنيع بعناية، وهذا لا يعتمد فقط على كلفة الإنتاج بل يعتمد على خصائص الجسيمات النانوية اللازمة لتطبيق معين.**(Tsuzuki, 2009)** وهناك العديد من تطبيقات جسيمات الذهب النانوية في المجال الطبي**(Shakeel et al.,2016)**

1- Drug Delivery
2- Sensors
3- Biomaging
4- Catalysts
5- Gene Delivery
6- Anti-microbial
7- Tumour imaging
8- Bio – assay
9- Bio – sensor

ان اهم ما يميز جسيمات الذهب النانوية هو المساحة السطحية الكبيرة نسبة الى الحجم، وان السطوح مهمة جداً فإنها تؤثر على الخصائص البيولوجية والكيميائية والبصرية، اما سلوك المواد النانوية فإنه يعتمد على حجمها، وان سلوك المحلول يختلف باختلاف حجم الجسيمات النانوية.**(Arvizzo et al., 2010)**

٢-٣.المضادات الحيوية Antibiotics

تُعرف المضادات الحيوية بانها النواتج الايضية الثانوية الخاصة او المحورة والتي تُنتَج من قبل مجاميع مختلفة من الاحياء المجهرية وتمتلك فعالية ضد الأحياء المجهرية أخرى وكذلك تُعرف على انها مواد كيميائية عضوية تُنتج من قبل مجموعة من الاحياء المجهرية والتي لها فعالية تثبيطية ضد احياء مجهرية أخرى دون تأثير على خلايا الجسم وتشمل المضادات المنتجة بواسطة التحوير الكيميائي للمضادات الطبيعية او بواسطة التحوير الاحيائي للمواد المصنعة .**(الشويخ، ٢٠١٦)** كان لاكتشاف المضادات الحيوية الأثر الكبير في انخفاض معدل الإصابات البكتيرية ولكن التوسع في استخدام مضاد حيوي معين أدى الى ضهور سلالات جديدة مقاومة له باليات مختلفة.**(Normak, 2002)**

٢-٣-١.الية عمل المضادات الحيوية Mechanisms Of Action Antibiotic

هناك أربعة اليات لعمل المضادات الحيوية في تثبيط ونمو البكتيريا وذلك من خلال تثبيط تكوين الجدار الخلوي وترابط بمستقبلات خاصة موجودة على سطح الخلية البكتيرية اذ تقوم بتثبيط عمل الانزيم الناقل للببتيد Trans Peptidase الذي له دور فعال في تكوين الروابط الببتيدية وبذلك تؤدي الى تثبيط بناء طبقة الببتيد وكلايكان الذي يعد احد مكونات جدار البكتيريا.**(Zervosen et al., 2012)** وكذلك هناك مجموعة من المضادات الحيوية تسبب تثبيط بناء الحامض النووي حيث تحتوي هذه المجموعات من المضادات على حلقة الكينولون 4 Quinolone – وتعمل على تثبيط تخليق (DNA) البكتيري وذلك من خلال إعاقة انزيم DNA Gyrase مما يؤدي الى موت الخلية البكتيرية كما في مضادات الكوينولينات.

(Tortora et al., 2010)

ومن الاليات الأخرى التي تثبط بها المضادات نمو البكتيريا هي وجود مجموعة من المضادات كل منها يعمل على تثبيط بناء البروتين بطريقة مختلفة كمضادات الامينوكلايوسيدات Aminogly Cosidse

وهي مجموعة من المضادات التي تكون ذات تأثير قاتل Bactericidal كمضاد Gentamicin و Tobramycin و Amikacin تعمل هذه المضادات على تثبيط عملية تصنع البروتين من خلال ارتباطها بالوحدة الرايبوسومية الصغيرة ومضاد أخر يعمل على تثبيط بناء البروتين داخل الخلية من خلال ارتباطه بالوحدة الرايبوسومية الكبيرة كمضاد.**(Books et al., 2010)**

٢-٤.أليات مقاومة المضادات الحيوية:

٢-٤-١.الية المقاومة Staphylococcus Aureus للمضادات الحيوية:

أشارت الدراسات الحديثة الى ان مقاومة بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية لأغلب المضادات الحياتية تحصل بسبب قدرة هذه البكتيريا على انتاج العديد من الأنزيمات والجينات التي تؤدي دوراً أساسياً في مقاومة البكتيريا للمضادات فقد وجد ان مقاومة البكتيريا للبنسلين (Penicillin) ولسيفالوسبورين

(Cephalosporin) ناتجة عن قابليتها على انتاج انزيم B – Lactamase الذي يحطم حلقة

B – Lactam لجزيئة البنسلين.**(Katzug, 2001)**في حين وجد ان مقاومة البكتيريا للمثيسيلين Methicillin تحصل بسبب امتلاك البكتيريا جينات تدعى (MecAgen) التي تعتبر بديلاً عن البنسلين المرتبط بالبروتين وبذلك يصبح اقل أُلفة للارتباط مع B – Lactam وكذلك وجد ان بكتيريا المكورات العنقودية المقاومة للمثيسيلين تمتلك نوعاً خاصاً من البروتينات المرتبطة بالبنسلين(PBPs) يدعىPBP_2 والذي لا يوجد في سلالات المكورات العنقودية الحساسة للمثيسيلين. **(Henesien et al., 2001)**

٢-٤-٢. الية المقاومة Pseudomonas Aeruginosa للمضادات الحيوية:

تتميز بكتيريا الزوائف الزنجارية بقدرتها على مقاومة ثلاث أنواع على الأقل من المضادات الحياة تابعة لثلاثة مجاميع مختلفة وبشكل أساسي وهي مجموعة البنسلينات والسيفالويوينات والامينوكلايكوسيدات بالإضافة الى بعض المجاميع الأخرى كمجموعة الكاربنيم والفلوركينولوثات.

(Hirsch and Tam, 2010)

(Odumousu et al., 2013) كما تعود هذه المقاومة الى ضخامة جينوم جرثومة الزائفة الزنجارية وامتلاك هذه الجراثيم العديد من اليات المقاومة كأنظمة مضخات الدفق وقلة عدد

قنوات اليورين في الجدار وأخيراً ان اهم اليات المقاومة عند هذه الجراثيم هي قدرتها على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز التي تؤمن لها المقاومة تجاه مضادات البيسلينات والسفالبيورينات والكاربايمينات

٢-٤-٣.الية المقاومة لبكتيريا E.coli:

تعد صفة المقاومة لهذه البكتيريا اما فطرية او معدنية تكتسبها عن طريق الطفرات في الجينات او تكتسبها عن طريق انتقال المادة الوراثية من بكتيريا الى أخرى بعدة طرق اما عن طريق الاقتران البكتيري ويتم فيها انتقال المادة الوراثية بين خلية وأخرى مباشرة مثل البلازميدات او عن طريق التحول Trans Formation ويتم فيها اخذ الجينوم البكتيري المتحرر من البكتيريا الميتة وقد أدت الطفرات الى زيادة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية وكانت سابقاً مقاومة لما يقارب (70%) من التتراسايكلين Tetracycline و الستربتومايسين Streptomycin والسلفيزوكسازول Sulfisoxazole لكن بعد حصول الطفرات وانتقال بلازميدات المقاومة لها أصبحت مقاومة ايضاً الى الامبسيلين Ampicillin والكناماسين Kanamycin والتيكارسيلين Ticarcillin. **(Afzal,2017;Sharif et al., 2013)**

٢-٤-٤.الية المقاومة لبكتيريا Streptococcus Pneumonia:

سجلت اول مرة مقاومة من قبل سلالات العقدية الرئوية للبنسلين لأول مرة عام 1970حتى انتشرت السلالات المقاومة للبنسلين في جميع انحاء العالم بالإضافة الى مقاومتها أيضا أنواعاً أخرى من المضادات الحيوية مثل الاريثروميسين والنتراسيكلين والكلورامفينيكول، بكتيريا العقدية تكتسب جينات مقاومة المضادات الحيوية متعددة من خلال الطفرات والتطور مع الاستخدام المتزايد للمضادات الحيوية حيث تؤثر الطفرات في بروتينات الارتباط بالبنسلين على البنسلين الذي يقتل البكتيريا من خلال منع تكوين الجدار الخلوي تستخدم المضادات الحيوية لعلاج المكورات الرئوية لكن هناك بعض السلالات البكتيرية طورت مقاومتها لبعض الادوية المستخدمة لمكافحتها يمكن لمقاومة الادوية ان تعرقل العلاج وتزيد من مدة المكوث في المستشفى.

٢-٤-٥.الية المقاومةCandida :

استخدمت العديد من المضادات الفطرية للتقليل من الإصابات الفطرية لدى الأشخاص المصابون الا ان الاستخدام العشوائي للمضادات وبشكل متكرر أدى الى ظهور سلالات مقاومة لهذه المضادات.

ان مقاومة السلالات الممرضة للمضادات يرجع الى امتلاكها **(Paranhos et al.,2000)** عدة اليات منها وراثية تتغير لأليات مقاومة المضادات كما تمتلك المرضية العديد من الوسائل لمقاومة المضادات الحيوية منها تغير حاجز النفاذية وتغيير موقع الهدف الى غير ذلك.

الفصل الثالث

المواد وطرق العمل

الفصل الثالث

المواد وطرق العمل

٣-١.المواد وطرق العمل Materials And Methods

٣-١-١.الأجهزة المستخدمة:

جدول رقم(٢) الأجهزة المستخدمة والشركات المصنعة لها

الشركة المصنعة والمنشأ	الجهاز
Hiragama (Japan)	الموصدة Autoclave
U.S.A	حاضنة Incubator
Avcelik (turkey)	ثلاجة Refrigerator
Kern (Japan)	ميزان حساس Sensitive Balance
Bio Mexieux (Franc)	جهاز الفايتك Vitek
Sartorlus (England)	مصباح بنزين Benzen flame

الشركة المصنعة	الادوات
C Townson (Franc)	أطباق بلاستيكية (Diposable Petevdishes)
Sartorlus (England)	دورق مخروطي Conical Flasks
Towson (Japan)	tib
Towson (Japan)	pipeti
Towson (Japan)	Can tube
Towson (Japan)	Swap
Towson (Japan)	Loop

٣-١-٢.الأوساط الزرعية Culture media:

جدول رقم(٣) الأوساط الزراعية واستخداماتها والشركة المصبعة لها

اسم الوسط	الإستخدام	الشركة المصنعة
١- وسط ماكونكي أكار Macconkeys agarmediam	- يستخدم لعزل العصيات السالبة لصبغة غرام والتفريق بين العزلات المخمرة لسكر اللاكتوز عن غير المخمرة.	-Himedia (India)
٢- وسط الدم Blood agar	-وسط غذائي للاستينات وتمييز البكتيريا المحلل للدم وكذلك يستخدم لتشخيص وعزل البكتيريا الموجبة لصبغة غرام والسالبة.	-Himedia (India)
٣- أكار مولر – هنتون Muller - hinton	- لإختبار حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية	-Oxoid (England)
٤- وسط ماء البيبتون Pepton water mediam	-للتحري عن قابلية البكتيريا على تحليل الحامض الأميني Tryptophan وإنتاج الاندول.	-Himedia (India)
٥- مرق نقيع القلب والدماغ Brain – Heart infusion broth	-لحفظ العزلات البكتيرية النقية لفترات طويلة دون احتمال تعرضها لفقدان بعض مواصفاتها الوراثية	-Oxoid (England)

٣-١-٣.أقراص المضادات الحيوية Antibiotics Disks:

جدول رقم (٤) أقراص المضادات الحيوية والشركات المصنعة لها

المضاد الحيوي	الرمز	تركيز القرص Mugl disc	الشركة المصنعة
١- Gentamicin	CN	10	UK
٢- Cetazidime	CAZ	30	UK
٣- Cefixime	CXM	30	UK
٤- Rifampicin	RIF	5	UK
٥- Ciprofloxacin	CRP	5	UK
٦- Ampicillin	IPM	10	UK

٣-٢.تحضير الأوساط الزرعية:

حُضرت الأوساط الزراعية وفقاً لتعليمات الشركة المصنعة والمثبتة على العبوات وتم بعدها ضبط الأُس الهيدروجيني الى (7) وعقمت بدرجة حرارة 121C° وضغط (15باوند / إنج٢) لمدة 15دقيقة وتم توزيعها في اطباق بترى معقمة وتترك الاطباق لعدة دقائق لتتصلب وحُضِرت الاطباق لمدة ٢٤ ساعة بدرجة حرارة

37C° للتأكد من كفاءة التعقيم بعدها حفظت في الثلاجة عند درجة حرارة 4C° لحين الاستعمال وحُضرت بقية الأوساط كما يلي:

٣-٢-١.وسط اكار الدم Blood Agar:

حُضر هذا الوسط بحسب تعليمات الشركة المصنعة المثبتة على العبوة ثم عقم بالموصدة وبُردَ الى

45 C° واضيف صنف الدم البشري بنسبة (5%) ومزج جيدا وصب في اطباق معقمة وترك ليتصلب في درجة حرارة الغرفة وحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام، استخدم للكشف عن قدرة البكتيريا على انتاج الهيمولايسين الحال لكريات الدم الحمراء.

٣-٢-٢.وسط ماكونكي اكار MacConkey Agar:

حُضرَ هذا الوسط بحسب تعليمات الشركة المصنعة والمثبتة على العبوة ثم عقم بالموصدة وتم تبريده الى درجة حرارة ٤٥C° وصب في اطباق معقمة واستخدم للعزل التفريقية للبكتيريا السالبة لصبغة غرام وتشخيصها من حيث قابليتها على انتاج سكر اللاكتوز. **(Collee et al., 1996)**

٣-٢-٣.وسط ماء الببتون:

حُضر بإذابة (10) غرام من الببتون و (5) غرام من كلوريد الصوديوم في لتر من الماء المقطر عقم بالموصدة بعد ضبط الاس الهيدروجيني الى(7.4) استخدم هذا الوسط للكشف عن انتاج الاندول. **(Koneman et al., 1992)**

٣-٢-٤.وسط Brain – Heart Infution broth:

تم زراعة هذا الوسط للإحتفاظ بالعزلات لوقت طويل حتى تحافظ على صفاتها المظهرية والتركيبية حيث تم التحضير في المختبر وذلك بوزن (3.7g) من الوسط المراد تحضيره، وتم مزجه في (100ml) من الماء المقطر ثم وضعها في جهاز Autoclave لحين إتمام العمل وبعد ذلك تركت لتبرد وصبها في الوايت تيوب، عند الصب صُبَ (5ml) لكل وايت تيوب وبعد

ذلك تم وضع الكليسرول المادة التي تحافظ على رطوبة وشكل العينة، الكمية المضافة من الكليسرول (1.5ml) وبعد ذلك زرعت العينات بواسطة Loop مع مراعاة التعقيم ووضع الانابيب بشكل مائل ووضعها في الحاضنة لمدة يوم مع مراقبة النمو.

٣-٢-٥.وسط اكار مولر هنتون Muller Hintone Agar:

حُضر هذا الوسط بحسب تعليمات الشركة المصنعة والمثبتة على العبوة وعقم بالموصدة وبرد وصُب في أطباق معقمة وحفظ في الثلاجة لحين الإستعمال.

- حضرت الأوساط Muller – Hintone Agar, MacConkey Agar, Blood Agar:

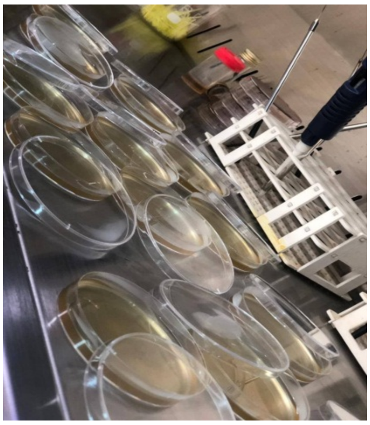
بإضافة (25ml) من الماء ثم إضافة كمية من الأوساط بعد اجراء عليها ما يأتي:

1-Blood: $\frac{37.5}{4}$ =9.37 g

1- Macconkey: $\frac{51.5}{4}$ =12.8 g

2- Muller: $\frac{38}{4}$ =9.5 g

Blood Agar and MacConkey Agar



Muller Hinton Agar

Brain – Heart Infution Agar

٣-٣.تخفيف نانو أوكسيد الزنك في المختبر:

لتحضير نانو أوكسيد الزنك قمنا أولا باختبار مذيب مناسب لإذابة النانو وهو الإيثانول حيث قمنا بتخفيف الإيثانول حيث أُخذ (25%) من الايثانول مع (75%) من الماء المقطر وبعد ذلك وزنا النانو الباودر المراد تحضيره بتراكيز مختلفة كما موضح في الاتي:

١- لتحضير 0.75ml من نانو أوكسيد الزنك:

$$M = \frac{Wt}{M(wt)} \times \frac{1000}{U(ml)}$$

$$0.75 = \frac{Wt}{81.37} \times \frac{1000}{20ml} = 1.2 \text{ g}$$

اخذ التركيز الناتج وقمنا بإذابتها في 20 مليغرام من الايثانول.

٢- لتحضير 1ml من نانو أوكسيد الزنك:

$$1 = \frac{Wt}{81.37} \times \frac{1000}{20ml} = 1.6 \text{ g}$$

وايضا اخذ التركيز الناتج وقمنا بإذابتها في 20 مليغرام من الايثانول.

٣- لتحضير 1.5mlمن نانو أوكسيد الزنك:

$$1.5 = \frac{Wt}{81.37} \times \frac{1000}{20ml} = 2.4 \text{ g}$$

وايضا اخذ التركيز الناتج وقمنا بإذابتها في 20 مليغرام من الايثانول.

٣-٤.تخفيف نانو الذهب السائل في المختبر:

حضر نانو الذهب السائل بتراكيز مختلفة حتى يتم اختبار فعاليته على وسط Muller بعد زراعة البكتيريا عليه حيث حضر التركيز الاول 100% يأخذ 1ml من نانو الذهب بدون تخفيف وحضر التركيز الثاني 75% بإضافة 750 مليغرام من النانو السائل مع 250 مليغرام من الماء المقطر وحضر التركيز الثالث 50% بإضافة 500 مليغرام من نانو الذهب مع 500 مليجرام من الماء المقطر.

٣-٥.جمع العينات Collection of Samples :

جمعت 25 عزلة من حالات مرضية مختلفة و تم جمعها من مصادر مختلفة ايضا حيث تضمنت 10عينات تم اخذها منUrine و12 عينة تم اخذها بواسطة Swab و 2 عينة من Wound و عينة واحدة من Stol حيث تم جمع العينات من مستشفى الرمادي التعليمي من الفترة 24/12/2020ولغاية 19/4/2021حيث سُجِلت المعلومات المتعلقة بالمريض فيما كان راقداً في المستشفى او مراجعاً للمستشفى وسجل العمر والجنس ومصدر العينة وبعدها زراعة النماذج مباشرة بعد اخذ العينة لغرض التشخيص.

٣-٦ زراعة العينات Samples Culture:

زرعت العينات مختلفة المصادر (مسحات جروح، مسحات الاذن)عينات الادرار والخروج مباشرة بعد الجمع على وسط الدم ووسط الماكونكي وحضنت الاطباق هوائيا بدرجه حراره 37Cº لمدة 24 ساعة اجري بعدها عدد من الفحوصات التشخيصية المظهرية و الكيموحيوية للبكتيريا المعنية بالدراسة.

٣-٧.حفظ وإدامة العزلات البكتيرية:

حفظت العزلات البكتيرية بعد تشخيصها على اوساط زراعية مائلة Slant من الوسط المغذي الصلب في درجة حرارة 4Cº واستمرت عملية الإدامة بشكل دوري شهريا واستخدم مرق نقيع القلب والدماغ Brain – Heart Infusion Broth المضاف اليه كليسيرول بنسبه 15% لحفظ العزلات مدة طويلة

وثم حفظها في درجة حرارة 20Cº- لحين الاستعمال. **(Fugelsangand Edwards, 2007)**

٣-٨.تشخيص العزلات البكتيرية:

٣-٨-١.خصائص المستعمرات المظهرية:

لوحظت الصفات المظهرية للمستعمرات النامية اشكالها ولونها وسطح المستعمرة وقوامها وشفافيتها وكذلك نمط التحلل على اكار الدم وتخمرها للسكريات في الأوساط.

(Macfaddin,2000 and Benson, 2002)

٣-٨-٢.الخصائص المجهرية:

تم عمل مسحات من المستعمرات النقية على شرائح زجاجية وصُبغت بصبغة غرام وفحصت تحت المجهر بالقوى الكبرى في المجهر الضوئي ولوحِظَت اشكال الخلايا ونوع البكتيريا وتركيبها وكذلك استجابتها لصبغة غرام السالبة او الموجبة.**(Macfddin, 2000)**

٣-٩.الصفات البكتيرية لكل نوع من البكتيريا:

٣-٩-١.Candida:

نلاحظ عند فحص عزلة من Candida حيث ظهرت الخلايا بشكل بيضاوي الى كروي او بيضاوية الى متطاولة او اسطوانية الشكل الخميري للفطر وهذه النتيجة جاءت متطابقة مع Boon وجماعته في ٢٠١٣ وانه ظهور خلايا Candida مصبوغة باللون الازرق

وانه ظهور خلايا Candida مصبوغة باللون الازرق نتيجة الاحتفاظ طبقة Peptidoglyconالموجودة في الجدار الخلوي بهذه الصبغة.**(Sudbery et al., 2004)**

٣-٩-٢.E.coli:

تمتاز هذه البكتيريا عند فحصها بالمجهر بعدة صفات مميزة حيث اننا نلاحظ لون مستعمراتها حمراء وردية وهي صفة بالغة الأهمية في تشخيصها مختبريا ويرجع اصطباغ هذا اللون الى قدرة هذه البكتيريا علي تخمر سكر اللاكتوز ويكون حامض اللبن المتكون نتيجة للتخمر، يتغير لون كاشف المادة وهي الحمرة المتعادلة الي اللون الاحمر الوردي وهي لاهوائية اختيارية.**(Sanz, 2004)**

٣-٩-٣.Staphylococcus Aureus:

تمتاز عند تشخيصها تحت المجهر بان تظهر مستعمراتها دائرية ذات لون اصفر الى ذهبي و مخاطية القوام وهي محدبة منتظمة الحواف وتمتاز انها تنمو في ظروف هوائية على وسط المانيتول الملحي محولا اياها الى اللون الاصفر لقدرتها على تخمر هذا السكر وفي حالة نموها في ظروف لاهوائية يكون نموها ضعيف جداً بينما نلاحظ عندما تُزرع على وسط Nutrient agar تكون دائرية معتمة ذات لون ابيض و وتكون غير متحركة وعاده مكونة للمحفظة Capsulated.

(Kenneth, 2002;Humpherys, 1997)

٣-٩-٤.Pseudomonas Aeruginosa:

تمتاز هذه البكتيريا عند فحصها مجهرياً حيث تظهر ذات شكل مستقيم ورفيع وتوجد بشكل مفرد او مزدوج وتكون هذه البكتيريا هوائية اجبارية حيث تَستعمل الاوكسجين كمستقبل نهائي للإلكترون وكذلك تستطيع ان تتنفس لا هوائياً فقط عند وجود مستقبل نهائي للإلكترون بديل عن الاكسجين مثل النتريت اوكسيد النتروز.

(Geiser et al., 2001)

٣-٩-٥.Streptococcus Pneumonia:

تمتاز هذه البكتيريا عند فحصها تحت المجهر بانها تظهر بشكل كروي وعلى شكل سلاسل او ازواج وتتميز بانها سالبه لفحص الكاتليز هوائية (لاهوائية اختيارية) ولا هوائية مجبرة ونلاحظ عند زراعتها على الوسط السائل تعطي عَكرةً منتظمة نمو حبيب يكون راسب.

٣-١٠.Gram stain:

تعتبر هذه الصبغة وسيلة للتمييز وتصنيف البكتيريا الى مجموعتين كبيرتين البكتيريا الموجبة غرام والسالبة غرام وقد جاءت تسمية هذه الصبغة على اسم عالم البكتيريا الدنماركي هانزكريستان كراك الذي طور هذه التقنية ليميز تلوين جرام للبكتيريا عن طريق الخصائص الكيميائية والفيزيائية لجدارها الخلوي حيث تحتوي الخلية الموجبة على طبقة سميكة من Peptidoglycanفي جدار الخلية والتي تحافظ على البقع الاولية البنفسجية البلورية وتحتوي الخلايا سالبة جرام على طبقة ارق منPeptidoglycan تسمح للبنفسج الكريستالي بالاختفاء عند اضافة الايثانول حيث يعتبر تلوين غرام من الخطوات لتحديد للكائن البكتيري و كذلك يعتبر اداة تشخيصيه قيمة من الاعدادات السريرية والبحثية.

٣-١٠-١.محاليل صبغة كرام Grams Stain Solutions :

أ- محلول صبغة البنفسج البلوري Crystal Violet: وتحضر باذابة 2mol من الكحول الاثيلي وبرتكيز 95% وإذابة g 0.8 من اوكزالات الامونيوم في 10ml من الماء المقطر كلا على انفراد ثم خلط المحلولان معاً واكمال الى 100ml بالماء المقطر وحفظ المحلول لمدة 24 ساعة قبل الاستعمال.

ب- محلول الايودين Grams Lodine Solution :يحظر بإذابة 1gمن Lodine Crystals و 2gمنPotassium Lodineفي300ml من الماء المقطر.

ت- محلول صبغة السفرانين Safranin Solution:يحظر بإذابة 0.25g من صبغة السفرانين في 10mlمن الكحول الاثيلي بتركيز 25% ثم اكمل الحجم الى 100ml من الماء المقطر.

٣-١١.الإختبارات الكيموحيوية Biochemical Test:

٣-١١-١.الاندول Indole Test:

تم تلقيح وسط ماء البيبتون بالبكتيريا المراد اختبارها وحضنت عند درجة حرار37C° لمدة 48ساعة واضيف 0.5 من الكاشف Kovacs Reagent الى الانبوبة الملقحة ورجت بلطف، ان ظهور حلقة حمراء دليل على إيجابية الاختبار.**(Colle, 1996)**

٣-١١-٢.اختبار المثيل Methyl Red Test:

لقح وسط MR – VP بالبكتيريا وحضن عند درجة حرارة 37Cº لمدة 48 ساعة اضيف الى الوسط 5قطرات من الكاشف الأحمر المثيل وتغير لون الوسط الى الأحمر يدل على التحلل الكامل للسكر وإنتاج الحامض، اما اذا تغير اللون الى الأصفر فهذا يدل على النتيجة السالبة للاختبار.

٣-١١-٣.استهلاك السترات Citrate Unitization:

لقح وسط اكار السترات بالبكتيريا المراد اختبارها ثم حضنت عند درجة حرار37Cº لمدة 24ساعة إن تغير لون الكاشف من الأخضر الى الأزرق يدل على إيجابية الاختبار أي استهلاك السترات كمصدر وحيد للكاربون.(Macfaddin, 2000)

٣-١١-٤.اختبار Oxidase:

هو اختبار يُستخدم لتحديد البكتيريا التي تنتج سيتوكروم سي اوكسيديز ويستخدم ايضاً كعامل مساعد للتميز بين أنواع محددة من البكتيريا حيث يتم اخذ ورقة ترشيح رطبة مبللة بتركيز من رباعي مثيل فنيلين ديامين ويتم وضع عليها عينة من البكتيريا المعزولة بقطعة زيتية ويتم الانتظار لمدة10–30 ثانية حيث ان ظهر اللون الارجواني الداكن خلال 10ثواني هذا يعني ان الاختبار يحتوي على الانزيم اما عدم ظهور اللون الارجواني أي انه لا يحتوي على هذا الانزيم.

٣-١٢.إختبار الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotics Sensitivity Test:

أُختبرت حساسية العزلات تجاه عدد من المضادات الحيوية شائعة الاستعمال طبياً والتي استعملت بشكل تقراص جاهزة اذ استعملت طريقة الانتشار والمعروفة على وسط المولار هنتون اكار والتي تضمنت:

١- يحضر عالق بكتيري وذلك باخذ جزء من مستعمرة مفردة نقية بواسطة عروة نقل ونقلت الى الوسط المرق وحضنت الانابيب عند درجة 32Cº لمدة2– 5ساعات ولحين ظهور العكرة.
٢- عزل تركيز الخلايا الجرثومية في الوسط باستخدام انبوبة ماكفرلاند القياسية (0.5).
٣- زرعت على وسط Muller Hinton الصلب باستعمال مسحة قطنية Cotton swap مبللة بالعالق الجرثومي وبثلاثة اتجاهات لغرض نشر البكتيريا على سطح الوسط والحصول على نمو متجانس.

٤- تُركت الاطباق مدة3– 5 دقائق حتى تجف ووضعت بعدها أقراص المضادات الحيوية (5أقراص للطبق الواحد) بإستخدام ملقط معقم وضغطت الأقراص بلطف.

٥- ضنت الاطباق عند درجة حرارة 32Cº لمدة 24 ساعة بعد ذلك تمت قراءة النتائج بقياس اقطار التثبيط حول أقراص المضادات الحيوية بواسطة مسطرة قياس عادية ومقارنتها بالمعادلات القياسية.

٣-١٢.التشخيص بجهاز Vitek Compact:

استُعْمل جهاز Vitek المجهز من قبل شركة Biomerieux لعمل اختبارات الكيموحيوية للعزلات الجرثومية اذ يتضمن هذا الجهاز 48 اختبار من الاختبارات الكيموحيوية التي تستعمل في تشخيص الجراثيم بحيث تقل دقة هذا التشخيص الى 99% كذلك يمكن اجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية بهذا الجهاز.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

٤-١. النتائج:

٤_٢.العزلات مع المضادات الحيوية:

جدول رقم (5) العزلات مع المضادات الحيوية

IPM	CN	CPR	CAZ	RIF	CXM	التشخيص	المصادر	العزلات
S	S	R	S	S	R	Candida	Urine	A
S	S	R	R	S	R	Candida	Urine	B
S	S	R	S	R	R	Candida	Urine	C
S	R	R	R	S	R	Candida	Urine	D
S	R	R	S	S	R	Candida	Urine	E
S	S	S	S	R	R	E.coli	Urine	A
S	R	R	S	R	R	E.coli	Swab	B
S	S	R	S	R	R	E.coli	Urine	C
S	S	S	S	R	S	E.coli	Urine	D
S	S	R	S	R	R	E.coli	Urine	E
S	S	S	R	S	S	Staphylo	Swab	A
S	S	S	R	R	R	Staphylo	Wound	B
S	S	S	R	S	R	Staphylo	Wound	C
S	S	S	R	R	R	Staphylo	Swab	D
S	S	S	S	R	R	Staphylo	Swab	E
S	S	S	S	R	R	Psedo	Stol	A
S	S	S	S	R	S	Psedo	Swab	B
S	S	S	S	R	R	Psedo	Swab	C
S	S	S	R	S	R	Psedo	Swab	D
S	S	S	S	R	R	Psedo	Swab	E
R	S	R	S	S	R	Strep	Urine	A
R	R	S	R	S	R	Strep	Sputum	B
R	R	R	S	R	S	Strep	Urine	C
R	R	R	S	R	S	Strep	Urine	D
S	S	S	S	R	S	Strep	Urine	E

اصبحت المضادات الحيوية مقاومة بنسبة 70% ضد بعض البكتريا السالبة غرام والموجبة غرام والفطر وظهرت نسبة الحساسة منها 80% تجاه بعض البكتريا السالبة غرام والموجبة غرام وايضاً الفطر كما في الجدول اعلاه

٣-٤. فعالية نانو الذهب مع العزلات :

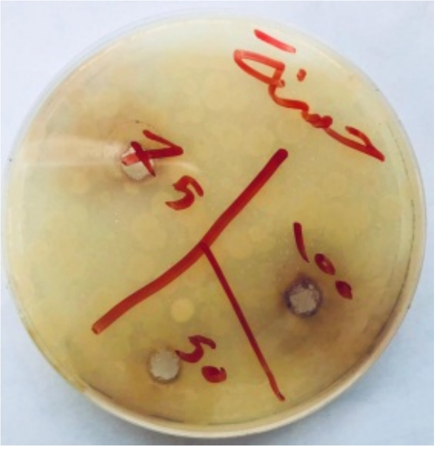
فعالية نانو الذهب(6) جدول رقم

اسم البكتيريا	العزلات	التركيز الأول 100%	التركيز الثاني 75%	التركيز الثالث 50%
Candida	- A	17	15	13
	- B	15	13	14
	- C	16	12	14
	- D	15	13	12
	- E	17	13	15
Staphylococcus aureus	- A	16	16	14
	- B	17	16	14
	- C	21	16	15
	- D	16	18	12
	- E	20	14	16
Streptococcus pneumonia	- A	17	16	13
	- B	21	19	18
	- C	12	15	19
	- D	18	19	19
	- E	14	13	13
E.coli	- A	18	20	15
	- B	17	14	10
	- C	17	13	15
	- D	15	14	14
	- E	19	17	12
Pseudomonas Aeruginosa	- A	17	15	10
	- B	17	16	14
	- C	13	12	10
	- D	16	13	12
	- E	14	15	10

- بينت النتائج أن نانو الذهب كان فعال ضد البكتيريا الموجبة غرام و البكتيريا السالبة غرام والفطر وبتراكيز % 50 و % 75 و % 100 حيث اعطى التركيز % 100 اكثر فاعلية للعزلات البكتيرية السالبة غرام والموجبة غرام والفطر بالنسبة لتركيز ، % 75 اعطي اقل فعالية بينما تركيز % 50 أعطاه فعالية قليلة جدا ضد البكتيريا السالبة غرام والموجبة غرام والفطر كما في الجدول اعلاه (٦) :

Staphylococcus

E.coli



Candida

Pseudomouas

٤-٤. نتائج نانو الذهب مع المضادات الحيوية:

جدول رقم (٧) نتائج نانو الذهب مع المضادات

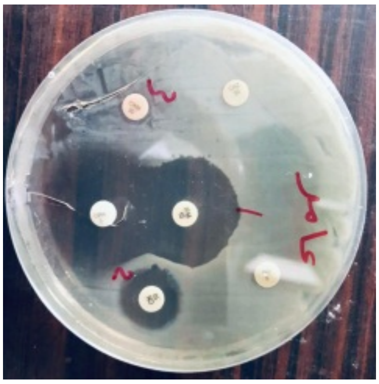
IPN	CN	CPR	CAZ	RIF	CXM	العزلات	اسم البكتيريا
R	S	R	R	R	R	- A	**Candida**
R	S	R	R	R	S	- B	
S	R	S	R	R	R	- C	
S	S	S	R	R	R	- D	
R	R	R	R	R	R	- E	
S	S	S	S	S	S	- A	**E.coli**
S	S	R	R	R	R	- B	
S	S	R	S	R	R	- C	
S	R	S	R	R	S	- D	
R	R	R	R	S	R	- E	
S	S	S	S	R	R	- A	**Staphylococcus aureus**
S	S	R	S	R	S	- B	
S	S	R	R	R	R	- C	
R	R	R	S	R	S	- D	
S	R	S	S	R	S	- E	
S	S	S	S	S	S	A	**Streptococcus pneumonia**
S	S	S	S	S	R	- B	
R	R	R	S	R	R	- C	
S	S	S	R	S	R	- D	
R	R	S	S	R	R	- E	
S	S	S	S	S	S	- A	**Pseudomonas Aeruginosa**
S	S	R	R	R	R	- B	
S	S	R	S	R	R	- C	
S	R	S	R	R	S	- D	
R	R	R	R	S	R	- E	

حيث اظهرت نتائج نانوالذهب مقارنة مع المضادات الحيوية وبين ان Ampicillin and Gentamicin أعطت اكثر فعالية للعزلات البكتيرية السالبة غرام والموجبة غرام، ومن ثم أعطت المضادات الحيوية (Ciprofloxacin , Cefuroxime , Rifampicin ,Ceftazidime) اقل فعالية للعزلات البكتيرية السالبة غرام والموجبة غرام والفطر ولكن الامبيسيلين (Ampicillin) لم يكن فعال ضد الفطر ولقد اظهر الـ (Gentamicin) اكثر فاعلية عند الفطر ، كما في الجدول اعلاه (٧):

Staphylococcus

E.coli

Streptococcus



Pseudomonas

٣-٤.نتائج نانو أوكسيد الزنك مع المضادات:

جدول رقم (٨) نتائج نانو أوكسيد الزنك مع المضادات

IPM	CN	CPR	CAZ	RIF	CXM	العزلات	اسم البكتيريا
R	S	S	S	R	R	- A	**Candida**
S	R	S	S	R	S	- B	
S	S	R	S	R	S	- C	
S	R	S	S	R	S	- D	
S	R	R	S	R	S	- E	
S	S	S	S	R	S	- A	**E.coli**
S	S	S	S	R	S	- B	
S	S	R	S	S	R	- C	
S	S	S	S	R	S	- D	
S	S	R	S	S	S	- E	
S	S	S	R	R	R	- A	**Staphylococcus aureus**
S	S	R	R	S	S	- B	
S	S	R	S	R	R	- C	
S	S	R	S	S	R	- D	
S	S	S	R	R	S	- E	
S	S	R	R	R	R	- A	**Streptococcus pneumonia**
S	S	S	R	S	S	- B	
S	S	S	R	S	R	- C	
S	S	R	R	R	S	- D	
S	S	S	R	R	S	- E	
S	S	S	R	R	S	- A	**Pseudomonas Aeruginosa**
S	S	S	R	R	R	- B	
S	S	S	R	R	R	- C	
S	S	S	R	R	R	- D	
S	S	S	S	R	S	- E	

- تم من خلال دراستنا لانواع مختلفة من العزلات البكتيرية لعلاقة نانو اوكسيد الزنك مع المضادات الحيوية وقد لاحظنا الكثير من الاختلافات في الفعالية بسبب تنوع العزلات واخذها من مختلف الاعمار حيث لوحظت النتائج التي تم الحصول عليها من خلال الدراسة التي قمنا بها حيث تبين ان المضادين (Ampicillin ,Gentamicin)اعطت فعالية جيدة للعازلات السالبة والموجبة الغرام وكذلك أعطت كل من (Ceftazidime, Ciprofloxacin, Cefrroxime)فعالية اقل من المضادين السابقين للعزلات البكتيرية السالبة والموجبة غرام بينما اظهر الفطر فعالية مع المضادين (Rifampicin, Ciprofloxain) وكانت فعالية قليلة مع المضادات و (Ampicillin) هكذا تم اثبات الفعالية لنانو أكسيد الزنك مع مختلف المضادات الحيوية ومع عزلات بكتيرية مختلفة كما في الجدول اعلاه (٨):

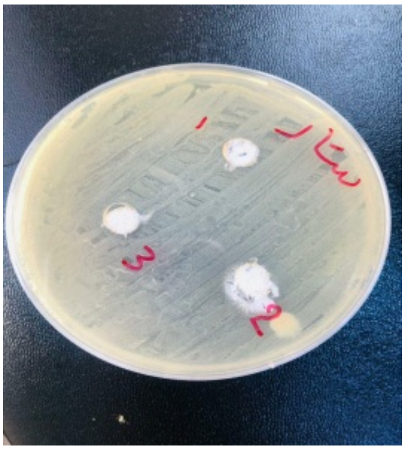
٥-٤فعالية اوكسيد الزنك مع العزلات :

جدول رقم (٩) فعالية أوكسيد الزنك

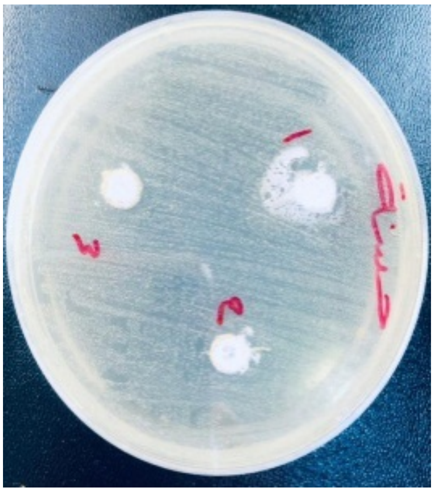
اسم البكتيريا	العزلات	التركيز الأول 0.75	التركيز الثاني 1	التركيز الثالث 1.5
Candida	A -	0	0	0
	B -	0	0	0
	C -	0	0	0
	D -	0	0	0
	E -	0	0	0
Staphylococcus aureus	A -	0	0	0
	B -	0	0	0
	C -	0	0	0
	D -	0	0	0
	E -	0	0	0
Streptococcus pneumonia	A -	0	0	0
	B -	0	0	0
	C -	17	19	21
	D -	0	0	0
	E -	0	0	0
E.coli	A -	0	0	0
	B -	0	0	0
	C -	0	0	0
	D -	0	0	0
	E -	0	0	0
Pseudomonas Aeruginosa	A -	0	0	0
	B -	0	0	0
	C -	0	0	0
	D -	0	0	0
	E -	0	0	0

من خلال النتائج العملية التي حصلت على اثبات فعالية نانو اوكسيد الزنك حيث ثبتت فعاليته مع (Streptococcus pneumonia) ولم يظهر اي فعالية مع العزلات البكتيرية الاخرى والفطر المستخدمة في البحث كما في الجدول اعلاه.

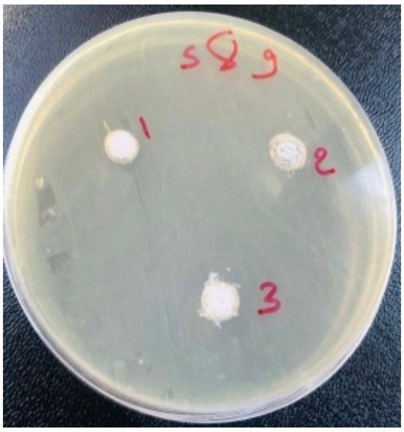
E.coli



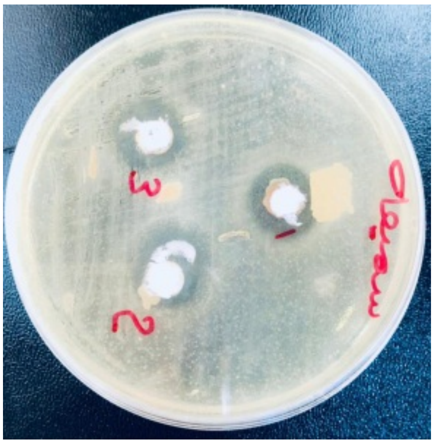
Staphylococcuss



Candida



Pseudomonas



Sterptococcus

المناقشة

بين ظهور الكائنات الحية الدقيقة المقاومة للمضادات الحيوية الى مشاكل صحية خطيرة على مستوى العالم، كما أظهرت البحوث التي نشرت نتائجها في المجلة Optical materials Express أن جسيمات الذهب النانوية تتسم بخاصية امتصاص الضوء وتحويله سريعاً الى حرارة تقتل الخلايا السرطانية والبكتيريا، حيث أظهرت الدراسات أن الجسيمات النانوية Zno – Np_s يمكن ان تكون شديدة السمية للخلايا السرطانية او البكتيريا وتم فحص المواد النانوية Zno – Np_s كمركبات لتوصيل الادوية وتوصيل الجينات والاستشعار الحيوي ايضاً تمت دراستها لعلاج السرطان.

(Zhang et al., 2013) مع تطوير الجسيمات النانوية للذهب واوكسيد الزنك لقد ثبت ان بعض المضادات الحيوية تزيد من فعالية بعض المضادات الحيوية ضد بعض مسببات الامراض وتأثيرها على مقاومة الأدوية المتعددة ضد البكتيريا السالبة غرام البكتيريا الموجبة الغرام استهدفنا اكتشاف النشاط المضاد للميكروبات بجسيمات الذهب النانوية واوكسيد الزنك بمفردها او بالاقتران مع المضادات الحيوية ضد البكتيريا الموجبة غرام والبكتيريا السالبة غرام ظهر MIC ضد السلالات البكتيرية والفطرية المختلفة للاختبار. ان الجسيمات النانوية لها تأثير اقل اهميه على نمو البكتيريا موجبة غرام من البكتيريا سالبة غرام ويرجع ذلك الى الاختلاف الهيكلي في تكوين جدار الخلية البكتيريا موجبة الغرام وسالبة الغرام تحتوي البكتيريا سالبة غرام على طبقة من عديدات السكاريد الدهنية في الخارج تليها طبقة رقيقة من الببتيدوكليكان.**(Madigan and Martinko. 2005)** على الرغم من ان عديدات السكاريد الدهنية تتكون من دهون و عديدات السكاريد مرتبطة تساهميا الا ان هناك نقصاً في القوة والصلابة. تنجذب الشحنات السالبة الى عديدات السكاريد الدهنية نحو الشحنة الموجبة الضعيفة المتوفرة على جسيمات Zno النانوية **(Sui et al., 2006)** من ناحية اخرى يتكون جدار الخلية في البكتيريا موجبة الغرام اساساً من طبقة حوالي (20 – 80 نانومتر) من الببتيدوگليگان تتكون من سلاسل عديدة السگاريد الخطية المترابطة بواسطة ببتيدات قصيرة لتشكيل بنية صلبة ثلاثية الابعاد **(Baron, 1996)**.

ان الصلابة والربط المتقاطع الممتد لا يمنحان جدران الخلايا عددا اقل من مواقع التثبيت للجسيمات النانوية Zno, بل يجعلان ايضا من الصعب اختراقها. في ما يتعلق بالفطريات يمكن اعتبار الجسيمات النانوية عامل مضاد للفطريات. حيث اظهر ان الجمع بين الجسيمات النانوية والمضادات الحيوية لا يقلل فقط من سمية كل من العوامل تجاه الخلايا البشرية عن طريق تقليل

متطلباتها او الجرعات العالية، بل يعزز ايضا خصائصها المضادة للميكروبات. كما ان الجمع بين المضادات الحيوية والجسيمات النانوية يعيد قدرتها على تدمير الميكروبات التي اكتسبت مقاومة لها. فقد ثبت ان الجسيمات النانوية الموسومة بالمضادات الحيوية تزيد من تركيز المضادات الحيوية في موقع التفاعل بين البكتيريا والمضادات الحيوية وتسهل ارتباط المضادات الحيوية الحيوية الكائنات الحية الدقيقة **(Allahverdiyer et al., 2011)** ان للجسيمات الذهب النانوية فعالية عالية ضد البكتيريا السالبة غرام والموجبة غرام والفطر جميع العزلات كانت فعالة لجسيمات الذهب النانوية واشار الباحث **(Vimbela et al., 2017)** الى الفعالية القوية لجسيمات الذهب و تثبيط نمو مجموعة من البكتيريا متعددة المقال المضادات الحياتية شملت (candida), (Streptococcus Pneumonia), (Pseudomonas aeruginosa), (Staphylococcus aureus), .(E.coli

- **الاستنتاجات:**

١- اظهرت البكتيريا مقاومتها لبعض انواع المضادات الحيوية عند زراعتها على وسط Muller Hinton agar.

٢- اظهرت النتائج التجريبية ان لجسيمات الذهب النانوية تأثير مضاد للميكروبات.

٣- في تقنية النانو زيادة تعزيز الادوية وكفاءتها والتخلص من مشكلة المقاومة المتعددة للبكتيريا.

٤- اظهرت النتائج وجود فعل تآزري بين أوكسيد الزنك النانوي وبعض المضادات الحياتية مما زاد من قطر التثبيط.

- **التوصيات:**

١- اجراء دراسة شاملة لفعل التآزر بين المركبات النانوية واصناف المضادات الحياتية.

٢- دراسة سمية نانو الذهب واوكسيد الزنك.

٣- استحداث تقنيات لإمكانية تحميل المضادات على المواد النانوية.

٤- دراسة تأثير المواد النانوية على التعبير الجيني.

قائمة المصادر

قائمة المصادر

- **العربية:**

١- شويخ , رنا مجاهد عبدالله , (٢٠١٦) المضادات الحيوية واستعمالاتها، الطبعة الاولى , عمان

ــ دار دجلة للنشر والتوزيع. ٩-٣٩.١-١٣.١_١_٢.

٢- نهى علوى أبوبكرالحبشى "ماهي تقنيه النانو" مقدمة مختصرة، السعودية، وزارة الثقافة والاعلام، ٢٠١١ صـ١١.

٣- نوال محمد شبلى (٢٠١١): تصور مقترح لدمج النانو تكنولوجي في مناهج العلوم في التعليم العام، القاهرة، المركز القومي للبحوث التربوية والتنمية.

- **المصادر الأجنبية:**

1- ALLAHVERDIYEV AM, KON KV, ABAMOR ES, BAGIROVA M AND RAFAILOVICH M. 2011. Coping with antibiotic resistance: combining nanoparticles with antibiotics and other antimicrobial agents. Expert Rev Anti Infect Ther 9 (11): 1035-1052.

2- Ayliffe, G.A.J.(1998). methicillin -resistant Staphylococcus aureus (MRSA) update .Postgraduate doctor middle east . 15, (3), 84-89.

3- ARAVINDHAN, R.; NAVEEN, N.; ANAND, G.; RAGHAVA RAO, J. and UNNI NAIR, B. (2014). kinetics of biodegradation of phenol and a polyphenolic compound by a mixed culture containing pseudomonas aeruginosa and bacillus subtilis. Applied Ecology and Environmental Research.12(3): 615-25.

4- Arvizzo, R. R., Miranda, O. R., Thompson, M. A., Pabelick, C. M.,

5- Afzal, A. M. S. (2017). Antibiotic Resistance Pattern of Escherichia coli and Klebsiella Species in Pakistan: A Brief Overview. J Microb. Biochem. Technol . 9٢٧٧ :(٦)-279.

6- Aenz, Y. (2004) Caracterización fenotípica e genotípica de la resistência a antibióticos en cepas de Escherichia coli nos patógenos de alimentos de la microflora intestinal de humanos y animales. Dissertação deDoutorado na área de Bioquímica e Biologia Molecular. Universidade de La Rioja.

7- Baron S. 1996. Structure (Salton MRJ, Kim KS). Medical microbiology. 4th ed., Galveston: University of Texas Medical Branch, Chapter 2: 1-19.

8- Basak, S.; Singh, P. and Rajurkar,M (2016). Multidrug Resistant and Extensively Drug Resistant Bacteria: A Study. Journal of Pathogens . 1-5.

9- bd, S. T. (2014). Effect of zinc oxide nanoparticles on Streptococcus mutans, Candida albicans and total salivary peroxidase activity of human saliva (in vitro study), MSc thesis, College of Dentistry, Baghdad University.

10- Benson ,H.J.(2002). Microbiological Application Laboratory Manual in General Microbiology . 8 th ed. McGraw-Hill. U.S.A:366-375.

11- Bhattacharya, R., Roberston, J. D., Rotello, V. M., Prakash, Y. S., and Mukherjee, P. (2010). Effect of nanoparticle surface charge at the plasma membrane and beyond. Nano. Letters. 10: 2543-2548

12- BHAWSAR, N. A . and SINGH M. (2014). Isolation And Characterization of Pseudomonas aeruginosa From Waste Soybean Oil as Biosurfactants Which Enhances Biodegradation of Industrial Waste With Special Reference To Kosmi Dam, Betul District, (M.P.). Inter. J. Advan. Res. 2(6): 778-83.

13- Brooks, G. F.; Butel, J. S. & Morse, S. A. (2001). Staphylococci. In: Medical Microbiology.22thed. Lange Medical publication.179-203.

14- BROOKS, G. F.; CARROLL, K. C.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. (2010) Medical Microbiology. 25th.ed. McGraw-Hill Companies, new york. P: 240 Carroll,K.C.;Morse,S.A.;Mietzner,T.;Miller,S.; and et al.(2016).Pseudomonads and Acinetobacter.In:Jawetz,Melinick and Adelbergs Medical Microbiology,27 th . ed. A lange medical book.

15- Chen, S.S. (2014) . Pseudomonas infection . infect. Dis. J. 31: 1-5.

16- Chen,W.J.,Liu,W.L.,Hsien,S.H.,&Tsai,T.K.(2007) Preparation of Nano sized Zno using ,brass. Applied surface.S cience,253(16),6749-6753.

17- Chelsea Marie and Theodore C.White.,2010.Genetic Basic af Anti fungai Drug Resistance curr fungai infect Rep.1;1;3(3):163-169.

18- Collee , J. G. ; Fraser , A. G. ; Marmion , B. P. and Simmons , A. (1996) . Mackie and McCartney practical medical microbiology . p.173-4 . 14th ed. Churchill Livingston.

19- David H Geho,Lance A Liotta.Nano particles: potential biomarker harvesters .current opinion in chemical Biology ,2006.

20- Deepak, S.; Samantha, S. A. and Urhekar, A. D. (2000). Study of coagulase positive and negative Staphylococci in clinical samples. Indian. J. Med. Sci. 53:425-428.

21- Forbes, B.A.; Sahm, D.F. and Weissfeld, A.S. (2002). Bailey and Scott,s Diagnostic Microbiology. 11th ed. 384-98. Mosby Company. Missouri

22- Forsyth, V. S. Armbruster, C. E.; Smith, S. N.; Pirani, A.; Springman, A.; Walters, M. S.; Nielubowicz, G. R.; Himpsl, S. D.; Snitkin, E. S.; Mobley, H. L. T. (2018). Rapid Growth of Uropathogenic Escherichia coli During Human Urinary Tract Infection. M bio. 9(2): 1-13.

23- Foxman, B. (2014). Urinary Tract Infection Syndromes Occurrence, Recurrence, Bacteriology, Risk Factors, and Disease Burden. Infect Dis Clin N Am. 28: 1–13.

24- Fugelsang, K.C. and Edwards, C.G. (2007) . Wine microbiology practical applications and procedures . 2nd. ed. Springer . New York.

25- GARRITY, G. M.; BELL, J. A.and LILBURN, T. G. (2004). Taxonomic Outline of the Prokaryotes. Springer, New York. 94-102.

26- GESSARD, C. (1984). Classics in infectious diseases. On the blue and green coloration that appears on bandages. Rev. Infect. Dis. 6(3): 775–6

27- Ge,Y,P.;Lu,G.X.;shen,Y.N.andLiu,W.D.,Mycopathologia,172: 429-438(2011).

28- GILLESPIE, S. H. and HAWKEY, P. M. (2006). Principles and practice of clinical bacteriology, Second Edition, John Wiley & Sons Ltd, Southern Gate, Chichester, England.

29- Greenwood, D. ; Slack, R.C.B. & Peutherer, J.F.(1997). Medical Microbiology . 15th ed. Churchill , Livingstone.

30- Geiser, T.K.; Kazmierczak, B.I.; Ryan, L.K.; Matthay, M.A. and Engel, J.N. (2001). PseudomonasaeruginosaExoT inhibits invitro lung epithelial. J Bacteriol. 175(8): 126-129.

31- Hahn,Y.B.(2011).zinc oxide nano structures and their applications.korean Journal of chemical Engineering ,.28(9),1797.

32- Hemraj, V.; Diksha, S. and Avneet, G. (2013). A Review on Commonly Used Biochemical Test for Bacteria. IJLS. 1(1): 1-7.

33- HIRSCH, E. B. and TAM, V. H. (2010). Impact of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa infection on patient outcomes. Expert. Rev. Pharmacoecon Outcomes Res. 10(4): 441–451. TAM, V. H.; ROGERS, C. A.; CHANG, K. T.; WESTON, J .S.; CAEIRO, J P.and GAREY K W.(2010).Impact of Multidrug-Resistant

Pseudomonas aeruginosa Bacteremia on Patient Outcomes. Antimicrob. Agents. Chemother.54(9): 3717-22.

34- Jacques-Antoine H., Marie-Laure D., and Sylviane D. (2012). Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS Microbiol Rev. Vol 36: 815–836

35- Jawetz, E.; Melnick, J. A. and Adelberg, E. A. (2016). Review of Medical Microbiology 27thed . McGraw-Hill education , Inc : 851pp.

36- Jawetz, M; Adelberg, E.A.; Brooks, G.F.; Butel, J.S. and Morse, S.A. (2001). Medical Microbiology. 22nd. ed) McGraw-Hill Company, New York.

37- Jinlian, H. U. (2012) Adaptive and functional polymer, textiles and their applications. USA: Imperial World Scientific Publishing Co. Pte. Lte, P109, British Library. ISBN-10 1-84816-475-0

38- Johnson, A. G.; Zieglar, R. J.; Lukasewycz, O. A. & Hawley, L. B. (2002). Board Review Series Microbiology and Immunology.4th ed. Lippincott Williams and Wilkins Awolters Kluwer Company: 80-88.

39- Katzung , B. G. (2001) . Basic
and clinical Pharmacology . (8th) ed. lange medical books . Mc Graw –Hill. New York . 4_1Hebeisen , P.; Heinze, I.; Angehrn, P.; Page, M.P.G.; Then ,R.L. (2001). In vitro and in vivo properties of Ro 63-9141 , anovel broadspectrum cephalosporin with activity against methicillin resistant Staphylococci . antimicrobial agents and chemotherapy .Mar. 45 : 825 – 836.

40- Kenneth, T . (2002) . The bacterial flora of Human , University of Wisconsin – Madison . Department of bacteriology . Humphreys,H. (1997) . Staphylococcus : Skin infection : Osteomylitis Food poisoning , Foreign body infections . Medical Microbiology.5th ed.,Churchil Lidingston .USA

41- Koneman, E.W; Allen, S.D; Janda, W.M; Schreckenberger, P.C and Winn, W.C.J.(1992). Color Atlas and Textbook Of Diagnostic Microbiology. 4th ed. J.B.Lippincott Company. Philadelphia.

42- kolodziejczak-Radzimska,A.,& Jesionowski , T(2014),Zinic oxide -from synthesis to application :a review Materials ,7(4) ,2833-2881.

43- Leydecker,S.(2008).Nano Materials in Architecture. Interior Architecture and Desig. . ,Birkhauser Germany.

44- Levinson, W. & Jawetz, E. (2000). Medical Microbiology & Immunology :Examination & Board Review (6th ed). Mc Graw-Hill,U.S.A: 85-89.

45- Levinson, W. (2016). Review of Medical Microbiology and Immunology. 14thed. McGraw-Hill education, Inc. PP 821.

46- Macfaddin, J.F.(2000). Biochemical test for identification of medical bacteria. 3 rd.ed. The Williams and Wilkins . Baltimore, USA. *Benson , H.G.(2002) . Microbiological Applications (Laboratory Manual in General Microbiology) . 8th. ed. published by McGraw – Hill , New York

47- Madigan M and Martinko J. 2005. Brock biology of microorganisms. 11th ed., Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, p. 1-34

48- Mayes A.K.,Hamida E.S.,&A.A(2019) .Adsorption of Albumin and creatinine on Zno Nanoparticles .International Jourual of pharmaceutical Quality Assurance ,10(04),689-695.

49- Mirzarazi, M.; Rezatofghi, S. E.; Pourmahdi, M. and Mohajeri, M. R. (2013), Antibiotic Resistance of Isolated Gram Negative Bacteria from Urinary Tract Infections (UTIs) in Isfahan. Jundishapur J Microbiol. 6(8): 1-5.

50- Mishra PK, Mishra H, Ekielski A, Talegaonkar S, Vaidya B, Zinc oxide nanoparticles: a promising nanomaterial for biomedical

applications. Drug Discov Today. 2017;22(12):1825-1834.doi:10.1016/j.drudis.2017.08.006.

51- Mittal, R.; Aggarwal, S. ; Sharma, S. ; Chhibber, S. and Harjai, K. (2009) . Urinary tract infections caused by Pseudomonas aeruginosa . Amini review J.

52- Macfaddin, J.F.(2000). Biochemical test for identification of medical bacteria. 3 rd.ed. The Williams and Wilkins . Baltimore, USA

53- Noor,H.A.,Mohamed,H.,&Nehad,A.A(2017). preparation and surface Modification of zinc oxide Naonparticles .Journal of Babylon university,25,497503.

54- Normark, B.H.and Normark,S.(2002).Evolution and spread of antibiotic resistance.J.Intern.Med.252:91_106

55- Okuda, J. ; Hayashi, N. ; Okamoto, M. ; Sawada, S. ; Minagawa, S. ; Yano, Y. and Gotoh, N. (2010) . Translocation of Pseudomonas aeruginosa from the intestinal tract is mediated by the binding of Exo S to an Na , K-ATPase regulator , FXYD3 . Infection Immunity . 78(11): 4511-4522.

56- Paranhos, Y. T. ; Cambel, S. ; Samarany & Bush, F.,2000. Resistant of some antibiotics by some species of yeast exposure for randomized concentrations of drugs . J. Med. Mycol. 38 (10): 449-451

57- paul,D.R.,&Robeson,L.M.(2008) polymer nanotechnology ;Nano composites polymer ,49(15),3187-3204.

58- Paul, S. M.; Pasquariello, A.; Kacek, O.; Fisher, A. & Thomson, R. (2004). Direct detection of Staphylococcus aureus from adult and neonate nasal swab specimens using real-time polymerase chain reaction. J. Mol. Diagn. 6(3): 191-196.

59- pires-Gonçalves ,R.H.;Miranda,E.T.;Baeza,L.C.;Matsumoto ,M.T;zaia,J.E.and Menedes -Giannini,M.J.S.,Mycopathologia, 164:255-263,(2007).

60- REHM, B. H. A.(2008). Pseudomonas Model Organism, Pathogen, Cell Factory. Wiley-Vch, Weinheim. 1.

61- Rezaee, M. A.; Nejad, Q. B.; Pirayeh, Sh. N. and Owlia, O. (2002). Higher aminoglycoside resistance in mucoid Pseudomonas aeruginosa than in Non- mucoid strains. P. Owlia phD. Department of microbiology, faculty of medicine, Shahed University.No. 29, keshavarz bivd., Tahran, Iran

62- Ryan KJ,Ray CG(editors)(2004).Sherris Medical Microbiology(4th ed.).McGraw Hill.

63- Salimi, H. ; Yakhchal, B. ; Owlia, P. ; and Lari, A. R. (2010) . Molecular Epidemiolog and Drug Susceptibility of Pseudomonas aeruginosa strain isolated from burn patients . J. Labmedicine . 41(9): 540-50.

64- Senturk , S.S.U and Gulgun, B.T. A. and Ulusoy ,S .(2012). Quorum sensing and virulence of Pseudomonas aeruginosa during urinary tract infections. J.Infect. Dev.Ctries. 6(6):501-7

65- Shapiro, M.; Smith, K. J.; James, W. D.; Giblin, W. J.; Margolis, D. J.; Foglia, A. N.; McGinley, K. & Leyden, J. J. (2000). Cutaneous microenvironment of human immmuno deficiency virus (HIV+) seropositive and (HIV-) seronegative individuals with special reference to Staphylococcus aureus colonization. J. Clin.Microbiol. 38: 174-178.

66- Shariff, A.; Shenoy, M. S.; Yadav, T. and Radhakrishna, M. (2013). The Antibiotic Susceptibility Patterns of Uropathogenic Escherichia coli, with Special Reference to the Fluoroquinolones. J Of Clin And Dia Res. 7(6): 1027-1030. 7.

67- Sherris Medical. (2004),Ryan KJ, Ray CG. 0_8385_8529_9 Microbiology. McGraw Hill.

68- Siemieniuk, Reed A.C.; Gregson, Dan B.; Gill, M. John (Nov 2011).

69- Soltani, S.; Emamie, A. D.; Dastranj, M; Farahani, A.; Davoodabadi, A. and Mohajeri, p. (2018). Role of Toxins of Uropathogenic Escherichia coli in Development of Urinary Tract Infection. JPRI. 21(1): 1-11 Stones, D.H. and Krachler, A. (2015) . Fatal attraction: how bacterial adhesins affect host signaling and what we can learn from them . Int. J. Mol. Sci. 16: 2626-2640.

70- Sui ZM, Chen X, Wang LY, Xu LM, Zhuang WC and Chai YC. 2006. Capping effect of CTAB on positively charged Ag nanoparticles. Physica E 33: 308-314.

71- Sudbery,p;Gow;and Berman, J;2004.Trend Microbial.

72- Taniguchi,N.(1996):Nano Technology:Integrated processing systems from ultra precision And ultra fine products ,Oxford university press.,U.S.A.

73- Tarçin,B,G.,J.Mar.uni.Iust Health sci.,1(2):140-148,(2011).

74- Todar,K.(2005). Staphylococcus .Todar's online textbook of bacteriology(http:/www.textbookofbacteriology.net/Staph.html).

75- Todar, K. (2004). Pseudomonas aeruginosa. Todar online textbook of Bacteriology . Wisconsin University . U.S.A. Infec. publ. Heal. 2: 101-11.

76- Todar, K. (2008). Pseudomonas aeruginosa. Todar's Online textbook of Bacteriology. University of Wisconsin- Madison Department of Bacteriology.

77- Todar, K. (2011). Pseudomonas aeruginosa. Todar's Online textbook of Bacteriology. University of Wisconsin- Madison Department of Bacteriology.

78- Todar, K. (2012). Pseudomonas aeruginosa. Todar's Online textbook of Bacteriology. University of Wisconsin- Madison Department of Bacteriology.

79- Tortora,G.J.; Funke,D.R.an Case,C.l.(2010).Microbiology An ed.; Pearson Benjamin Cummings USA. Pp:355_402. rd intr.

80- van de Beek, Diederik; de Gans, Jan; Tunkel, Allan R.; Wijdicks, Eelco F.M. (5 January 2006).

81- Vimbela GV, Ngo SM, Fraze C, Yang L, Stout DA. Int J Nanomedicine. 2017;12:3941–3965.

82- Walf ,W.(2000) introduction and over view of noninvasive drug monitoring .Adv.Drug Deliv .Rev.14,1-5.

83- Wanger, A.; Chavez, V.; Huang, R. S. P.; Wahed, A.; Actor, J. K. and Dasgupta, A. (2017). Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology. Elsevier Inc. All Rights Reserved. 300pp.

84- Xiaoning Li, Sandra M. R., Akash G., Krishnendu S., Ziwen J. D. Moyano A. S., Margaret A. R., and Vincent M. R. (2014). Functional Gold Nanoparticles as Potent Antimicrobial Agents against Multi-Drug- Resistant Bacteria. American Chemical Society. VOL. 8, NO. 10, 10682–10686.

85- Zervosen, A. ; Sauvage, E. ; Frere, J. ;Charlier, P. and Luxen, A. (2012) . Development of new drugs for an old target – the penicillin binding prpteins . J. Molecules . 17: 12478-12505.

86- Zhang, Y., R Nayak, T., Hong, H., & Cai, W. (2013). Biomedical applications of zinc oxide nanomaterials. Current molecular medicine, 13(10), 1633-1645 .

Abstract

This study was conducted at Al-Ramadi General Teaching Hospital from 12/24/2020 to 4/19/2021. This study presents a preliminary report on the synergistic effect of nanoparticles with antibiotics against different pathogenic strains (Escherichia coli), (Pseudomonas aeruginosa). (Staphylococcus aureus), (Streptococcus pneumoniae), (Candida), which included a collection of (25) isolates from patients of different ages and sexes, and then these isolates were cultured on MacConkey's acar blood media, and the phenotypic characteristics of the colonies were observed. The diagnosis was confirmed by using (Vitek) device, example test, consumption of citrate and indole and oxidase test. The bacteria showed resistance to some types of antibiotics when grown on (Muller_Hinton agar) medium and were sensitive to some, where it was noted that the synergistic effect was more when combined with (Ampicillin) compared to (Gentamicin) Then the fungus showed an additional effect. Nanoparticles (Nps) were used to show the antimicrobial activity of (ZnoNps, AuNPs) against fungi and bacteria (gram-positive and gram-negative). The experimental results showed that gold nanoparticles with a concentration of 100% gave the maximum anti-microbial effect compared to 50%, 75% The nanoparticles were combined with a concentration of 100% with antibiotics against bacteria (gram-positive and gram-negative) and fungi and showed greater efficacy compared to antibiotics against bacteria. The combination of antibiotics and nanoparticles restores their ability to destroy microbes that have acquired resistance to them. Antibiotics increase the concentration of antibiotics at the site of bacteria and antibiotics, and facilitate the binding of antibiotics to microorganisms (Allahverding et al., 2011)

The Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research
College of Applied Sciences-Heet
Environment Department

Synergistic and antagonistic effects of nanoparticles with antibiotics against some pathogenic bacteria isolated from Ramadi Hospital

search submitted by

Rawnaq Adel Resheed

Noor Fawaz Ebrahreem

Noor Alhuda Sattar Jubayr

Ebrahim Ahmed Saleh

Supervisor

Ms.Marwan M. Saleh

1442 **2021**