جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية العلوم

# التخليق الحيوي وتوصيف بعض الجسيمات النانوية باستخدام المستخلصات النباتية ودراسة خصائصها المثبطة للميكروبات ضد البكتريا المسببة للامراض المعزولة من الجروح والحروق

رسالة
مقدمة إلى مجلس كلية العلوم - جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالب
**علي حسن محمود**
بكالوريوس علوم الحياة/جامعة ديالى ( 2017)

إشراف
أ.د. زينب محمد نصيف

1442هـ 2020 م

# Introduction

Wounds and Burns Infection can be characterized as a damage of epithelial membrane-protective skin, bone , muscle, or nerve connective tissue injury. It could be induced by surgery, chemical, heat blast, cold, pain, cutting, tension, friction, shaving, or other disease (Mukherjeeet *et al*., 2017 ; Wang *et al*., 2018).Wounds and burns are classified as a difficult clinical issue, with early and late problems leading to recurrent morbidity and mortality (Velnar *et al*., 2009).

Wound infections are typically infected by several pathogens and can be caused by the natural flora of the patient or by environmental or skin bacteria of medical personnel whih considered to be the most significant causes of morbidity and death worldwide (Forson *et al*., 2016; Hope *et al*., 2019). Around 180,000 deaths occur annually due to burns, and the majority of these deaths occur in low or middle income developing countries (Burns, 2018).

There is an increased risk of infections due to altered immunity which may lead to sepsis (Farina *et al*., 2013).There are many factors which lead to infections in burn patients, such as exposed body surface, immuno compromised state, invasive procedures carried out in the health care facility, and prolonged hospital stay (Saaiq *et al*., 2015) .

Factors related to a patient, such as age, total body surface area (TBSA), and depth of burn wound, and factors related to microbiological organisms, such as type and number, enzyme/toxin production, and motility of organisms, both determine invasive infection. Superficial bacterial contamination can cause sepsis in burn patients and both are directly correlated with one anothe (Chaudhary *et al*., 2019).

Medicinal plants have active compounds that are the primary source of medicinal use. Plants were used in medicine since ancient times as a main source of medicinal and nutritious materials for action and used in the pharmaceutical substances for the treatment of many diseases (Shakya *et al*., 2016). The recent studies have shown the efficacy of medicinal plants and their secondary metabolites as effective microbial inhibitors ( Ehmaan *et al*., 2013). Production or modification of new antimicrobial compounds available to enhance antibacterial activity for treatment, disinfection or antisepsis is a high importance field of study.

In this study, Nanotechnology offers a way of altering the core features of various materials, including metal nanoparticles **(**Boisseau *et al*., 2011).
Nanoparticles (NPS) are small sized particles having a size range of 1-100 nm, which play an important role in our daily lives, furthermore, it has pronounced importance in the fields of biotechnology such as food, medical and pharmaceutical industry (Kaur *et al*., 2012).

In microbiology, nano-sized antimicrobials are extremely responsive and preferred over original sized antimicrobial agents largely because of their high surface area, researchers approved that NPS have antimicrobial properties against various bacterial, fungal and other microbial species (Wang *et al*., 2017).

The nanoparticles including zinc oxide and silver nanoparticles; these particles have anti-microbial activity, as they have a wide surface area which provides good connectivity to bind to bacterial membrane and then penetrate into the cell, that the passage of this metal particles across the plasma membrane, bacteria lose control over the membrane permeability of incoming materials of bacteria, which leads to their death (Jones *et al*., 2008; Hendiani *et al.,* 2015).

Metallic NPs can be produced via chemical, physical or Biological methods. The biological methods in the preparation of nanoparticles are more likely compared to the chemical and physical ones because they are enviromentally friendly and cost-effective, and there is no need to use special conditions like high temperature, energy or any toxic or hazardous chemicals (Yedurkar *et al*., 2016).

The benefits of using plant or plant extract as reducing and coating agents during synthesizing nanoparticles is the preferred one over other biological methods, other biological methods, because it is a one-step biosynthesis process, shorten the long process of culturing and preserving of the cell, safe for human therapeutic use, and can also be scaled up for synthesis of large-scale nanoparticles (Liu *et al*.,2011 ; Al-Ogaidi, 2017).

**The current study aimed to:**

- Identify the common bacteria species isolated from burns and wounds infection.
- Identify the isolates that are resistance to antibiotics
- Determine the biocontrolling method for inhibiting the growth of multidrug resistance bacteria by using green tea (*Camellia sinensis)* and graviola (*Annona muricata***)** extracts.
- Using the plant extracts for preparing the nanoparticles.
- Characterize of nanoparticles by using different technique like Fourier Transform Infra-Red Spectroscopy(FT-IR), X-ray Diffractometer (XRD), UV-VIS spectrum, Atomic force microscopy (AFM) and Scanning electron microscope (SEM).
- Determine the minimum inhibitory concenteration of the nanoparticles against bacterial isolates causing wound infections (multidrug resistance).

# الخلاصـــة

## الخلاصة


اشتملت الدراسة الحالية على جمع 225 عينة سريرية (حروق وجروح) من فئات عمرية مختلفة خلال الفترة من أيلول 2019 إلى كانون الأول 2019 من مستشفى بعقوبة التعليمي في ديالى ومدينة الطب في بغداد .

بعد زراعة العينات على الاوساط الزرعية, تم الحصول على 210 عينة نمو للبكتريا. تم استخدام الاوسائط الانتقائية والتفريقية والفحص المجهري والاختبارات البايوكيميائية ونظام Vitek 2 لتحديد الأنواع البكتيرية. أظهرت النتائج توزيع العزلات البكتيرية على 63(30%) من عزلات المكورات العنقودية الذهبية و38(18%) من عزلات المكورات العنقودية البشروية و 47 (22.2%) من عزلات الزائفة الزنجارية و 30 (14.2%) من عزلات الكلبسيلا الرئوية و 22 (10.4%) من عزلات الاشريكية القولونية و 11(5.2%) من عزلات المتقلبة.

تم اختبار حساسية هذه العزلات قيد الدراسة لـ 12 مضاد حيوي لكل بكتيريا. أظهرت النتائج أن بكتيريا العنقودية الذهبية و العنقودية البشروية و الزائفة الزنجارية و الكلبسيلا الرئوية و الاشريكية القولونية و المتقلبة أظهرت مقاومة عالية ضد (73%) Clarithromycin و (58%) Azithromycinو(45%) Piperacillin و(82%) Cefpodoxime و (91%) Trimethoprim و( 81%) Nitrofurantoin على التوالي.

تم استخدام أربعة تراكيز (25 ، 50 ، 75 ، 100) مجم /مل لإيجاد التأثير المثبط للمستخلصات المائية والكحولية للشاي الاخضر والاناناس الهندي وأظهرت النتائج أعلى قطر تثبيط للعزلات عند التركيز (100) مجم / مل, وأقل قطر بتركيز (25)مجم/مل.

تم تصنيع الجسيمات النانوية أكسيد الزنك بالطريقة الخضراء مع خلات الزنك كمولد والمستخلص مائي للشاي الاخضركعامل اختزال ، وكان تغيير اللون إلى الأبيض الباهت مؤشرا على تكوين جسيمات اوكسيد الزنك النانوية. تم إجراء التخليق الحيوي لجسيمات الفضة النانوية بواسطة نترات الفضة (AgNo3) كمولد والمستخلص الكحولي من الاناناس الهندي كعامل اختزال ، وكان اللون الذي تغير من الأصفر الفاتح إلى البني الغامق مؤشراً على تكوين جسيمات الفضة النانوية.

تم الكشف عن جسيمات اوكسيد الزنك والفضة النانوية بواسطة الفحص المجهري للقوة الذرية (AFM) و مطيافية فوريه لتحويل الأشعة تحت الحمراء (FTIR) و مطيافية الأشعة المرئية وفوق البنفسجية و حيود الأشعة السينية (XRD) والمجهري الماسح الإلكتروني (SEM).

# الخلاصـــة

تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا لـجسيمات اوكسيد الزنك والفضة النانوية وبتراكيز مختلفة (12,5 ، 25 ، 50 ، )100 مجم / مل وأظهرت النتائج أن أعلى قطر تثبيط للعزلات بتركيز (100) مجم / مل وأقل قطر عند التركيز ( 12.5) مجم / مل. تم تحديد تركيز المثبط الادنى (MIC)لـ ZnO و Ag NP ضد بكتيريا العنقودية الذهبية و العنقودية البشروية و الزائفة الزنجارية و الكلبسيلا الرئوية و الاشريكية القولونية و المتقلبة والتي كانت (2.5،2.5،5،2.5،5،2.5) و (2.5،5،5،5،2.5،5،5) ميكروغرام / مل على التوالي.