جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ميسان

كلية التربية الاساسية/قسم العلوم العامة

الدراسات العليا

تأثير جسيمات أكسيد الزنك النانوية المحضرة بالطريقة الكيميائية وبعض الأحماض العضوية ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* و*Escherichia coli* مختبرياً

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية التربية الاساسية / جامعة ميسان

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم العامة التخصصية

من الطالبة

مسرة باسم عارف

إشراف

أ.م.د طه حسن جاسم

1447هـ 2025م

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ وَلَوْلَا فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ وَرَحْمَتُهُ لَهَمَّتْ طَائِفَةٌ
مِّنْهُمْ أَن يُضِلُّوكَ وَمَا يُضِلُّونَ إِلَّا أَنفُسَهُمْ وَمَا يَضُرُّونَكَ
مِن شَيْءٍ وَأَنزَلَ اللَّهُ عَلَيْكَ الْكِتَابَ وَالْحِكْمَةَ
وَعَلَّمَكَ مَا لَمْ تَكُن تَعْلَمُ وَكَانَ فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ
عَظِيمًا (١١٣) ﴾

صدق الله العظيم

(سورة النساء)

اقرار المشرف

أشـــهد أن إعداد هذه الرســـالة الموســـومة: **" تأثير جســـيمات أكســـيد الزنك النانوية المحضرة بالطريقة الكيميائية وبعض الأحماض العضوية ضد بكتريا Staphylococcus aureus و Escherichia coli مختبرياً "**، والمقدمة من الطالبة **(مســـرة بـــاســـم عـــــــــــارف)** قد تمت تحت إشرافي في كلية التربية الأساسية / جامعة ميسان جزءاً من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم العامة التخصصية.

التوقيع:

الاسم: أ.م. د طـــه حســـن جـــاســـم

اللقب العلمي: استاذ مساعد دكتور

التاريخ: / /2025

بناءً على التعليمات ارشح الرسالة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ. د. هاشم حنين كريم

اللقب العلمي: استاذ

رئيس قسم العلوم العامة/رئيس لجنة الدراسات العليا

التاريخ: / /2025

إقرار لجنة المناقشة

نشهد إننا أعضاء لجنة المناقشة قد اطلعنا على الرسالة الموسومة: **" تأثير جسيمات أكسيد الزنك النانوية المحضرة بالطريقة الكيميائية وبعض الأحماض العضوية ضد بكتريا Staphylococcus aureus و Escherichia coli مختبرياً"**، المقدمة من الطالبة **(مسرة باسم عارف)** وقد ناقشنا الطلب في محتوياتها وفيما له علاقة بها ونعتقد انها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في العلوم العامة التخصصية.

التوقيع: التوقيع:

الاسم واللقب العلمي: الاسم واللقب العلمي:

التاريخ: التاريخ:

رئيس اللجنة عضو اللجنة

التوقيع: التوقيع:

الاسم واللقب العلمي: الاسم واللقب العلمي:

التاريخ: التاريخ:

عضو اللجنة عضو اللجنة (المشرف)

صادق مجلس الكلية على قرار اللجنة في جلسته المرقمة ( ) والمنعقدة بتاريخ / /2025.

التوقيع:

الاسم واللقب العلمي:

التاريخ: / /2025.

عميد كلية التربية الاساسية

الإهـــــــــــداء...

إلى التي غرســـت في قلبي معاني النجاح والصـــبر، والتي أفتقدها في كل صـــعاب الحياة، وظل دعاؤها دومًا يحيطني ويمنحني القوة والنور في طريقي أمي الغالية، رحمها الله.

إلى من دفعني بعزيمته ودعمه إلى تحقيق هدفي، وكان دائمًا سـندي وملهمي والدي العظيم، أطال الله في عمره.

إلى من كانوا السند الذي يخفف عني أعبائي، وصبروا معي وقدموا لي دعمهم المتواصل إخوتي الأعزاء.

إلى من كانت كلماتهم العذبة وروحهم الطيبة دعمًا لي في أوقات الشدة أصدقائي الأوفياء.

إلى من علموني فـأجـادوا، وكـان لتعليمهم وجهودهم دورٌ بـالغ في إثراء معرفتي ودعمي خلال رحلتي العلمية أساتذتي الأفاضل.

إلى من كان لي دومًا خير داعم وسند، ولم يبخل عليّ بعلمه واهتمامه، فكان بحق أبًا ثانيًا لي في مسيرتي العلمية مشرفي الكريم، الدكتور طه حسن.

إلى كل من أضاء بعلمه عقل غيره، وكل من تمنى لي التوفيق في هذا المشوار، وكل من كان له أثر في هذا العمل لكم جميعًا خالص الشكر والامتنان...

مسرة

شكر وعرفان

أحمد الله تعالى أولاً وآخراً على ما منحني من توفيق وإلهام، وعلى تسهيله لي تجاوز الصعوبات التي واجهتني في إنجاز هذا العمل ونيل هذه الدرجة العلمية.

أتوجه بخالص الشكر والتقدير إلى أستاذي الفاضل الدكتور طه حسن جاسم الياسري، الذي لم يبخل عليّ بوقته وجهده، وكان إشرافه المتميز وتوجيهاته السديدة ونصائحه العلمية القيّمة من أهم أسباب إنجاح هذا البحث، فله مني عظيم الامتنان والتقدير.

كما أقدم شكري وامتناني العميق إلى قسم العلوم العامة (رئيساً وأساتذة) على دعمهم المستمر، وحرصهم على توفير بيئة علمية محفزة، والشكر موصول إلى عمادة كلية التربية الأساسية لتيسيرها الإجراءات اللازمة كافة.

ولا يفوتني أن أعبر عن امتناني الكبير لـ دائرة صحة ميسان، وخصوصاً مستشفى الطفل والولادة، على تعاونهم الكريم في توفير العزلات البكتيرية اللازمة للدراسة. وبالأخص السيدة الست زهراء مولى على روحها الطيبة وتعاونها المستمر، ولحرصها على تسهيل جميع الأمور لي. جزيل الشكر والتقدير لها على جهودها ودعمها الكريم.

كما أتقدم بخالص الشكر والتقدير إلى مختبر الصحة العامة، إدارةً ومنتسبين، وعلى رأسهم الأستاذ عباس والست سوزان، لما قدموه من توجيهات علمية ودعم متواصل، وكانوا مثالاً رائعاً في التعاون والإخلاص، وأسأل الله أن يجعل ذلك في ميزان حسناتهم.

ويطيب لي أن أخص بالشكر الدكتور أحمد سالم من جامعة الإمام الصادق (عليه السلام) على كرمه وروحه التعاونية ومساهمته العلمية القيّمة، والتي كان لها أثر بالغ في إتمام هذا البحث، فجزاه الله خير الجزاء.

ولا أنسى أن أتوجه بالشكر الجزيل إلى زملائي الأعزاء طلبة الدراسات العليا على دعمهم المستمر وروح التعاون والأخوة التي جمعتنا، متمنية لهم دوام التوفيق والنجاح.

وأخيراً، وبكل معاني الوفاء، أهدي أسمى آيات الامتنان والعرفان إلى عائلتي الكريمة، التي كانت السند والداعم الأكبر لي، فقد تحملت معي الكثير ووقفت بجانبي بمحبة وصبر لا حدود لهما.

وفي الختام، لا يسعني إلا أن أعبر عن بالغ الشكر والامتنان لكل من ساهم في إنجاز هذا البحث بأي شكل من الأشكال، سائلاً المولى عز وجل أن يجزيهم خير الجزاء ويبارك في جهودهم.

مسرة

المحتويات

قائمة الجداول

قائمة الاشكال

جدول المختصرات والرموز

المختصر أو الرمز	المعنى (بالعربية)	المعنى (بالإنجليزية / Explanation)
ZnO NPs	جسيمات أكسيد الزنك النانوية	Zinc Oxide Nanoparticles
E. coli	الإشريكية القولونية	Escherichia coli
S. aureus	المكورات العنقودية الذهبية	Staphylococcus aureus
XRD	حيود الأشعة السينية	X-Ray Diffraction
TEM	المجهر الإلكتروني النافذ	Transmission Electron Microscopy
SEM	المجهر الإلكتروني الماسح	Scanning Electron Microscopy
FTIR	مطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه	Fourier-Transform Infrared Spectroscopy
EDX	مطيافية تشتت الطاقة للأشعة السينية	Energy-Dispersive X-ray spectroscopy
DNA	الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين	Deoxyribonucleic Acid
rRNA	الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي	Ribosomal Ribonucleic Acid
CoNS	مكورات عنقودية سالبة لإنزيم الكواجيوليز	Coagulase-Negative Staphylococci
CoPS	مكورات عنقودية موجبة لإنزيم الكواجيوليز	Coagulase-Positive Staphylococci
MRSA	المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين	Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus
TSST	سم متلازمة الصدمة السمية	Toxic Shock Syndrome Toxin
EXPEC	الإشريكية القولونية الممرضة خارج الأمعاء	Extraintestinal Pathogenic E. coli
EHEC/STEC	الإشريكية القولونية المعوية النزفية/المنتجة لسموم شيجا	Enterohemorrhagic / Shiga toxin-producing E. coli
***ET*EC**	الإشريكية القولونية المسببة للتسمم المعوي	Enterotoxigenic E. coli

المعنى (بالإنجليزية / Explanation)	المعنى (بالعربية)	المختصر أو الرمز
Enteropathogenic E. coli	الإشريكية القولونية المسببة للأمراض المعوية	**EPEC**
Enteroinvasive E. coli	الإشريكية القولونية الغازية للأمعاء	**EIEC**
Enteroaggregative E. coli	الإشريكية القولونية المتجمعة المعوية	**EAEC**
Diffusely Adhering E. coli	الإشريكية القولونية الملتصقة بشكل منتشر	**DAEC**
Lipopolysaccharide	عديد السكاريد الشحمي	**LPS**
Reactive Oxygen Species	أنواع الأكسجين التفاعلية	**ROS**
Propionic Acid	حمض البروبيونيك	**P.A.**
Citric Acid	حمض الستريك	**C.A.**
Clinical & Laboratory Standards Institute	معهد المعايير السريرية والمخبرية	**CLSI**
Statistical Package for the Social Sciences	الحزمة الإحصائية للعلوم الاجتماعية	**SPSS**
Least Significant Difference	أقل فرق معنوي	**LSD**
Joint Committee on Powder Diffraction Standards	Joint Committee on Powder Diffraction Standards	**JCPDS**
Acid Dissociation Constant	ثابت تفكك الحمض	**Pka**
Proton Motive Force	القوة الدافعة للبروتون	**PMF**
Adenosine Triphosphate	أدينوسين ثلاثي الفوسفات	**ATP**
Coenzyme A	الإنزيم المساعد A	**CoA**
Food and Drug Administration	إدارة الغذاء والدواء الأمريكية	**FDA**
Hydrogen Peroxide	بيروكسيد الهيدروجين	**H_2O_2**

الخلاصة:

هدفت الدراسة إلى تحضير جسيمات نانوية من أكسيد الزنك (ZnO NPs) عبر تقنية السول-جل وتقييم فعاليتها المضادة للميكروبات بمفردها وعند خلطها مع الاحماض العضوية. تم تشخيص الخصائص الفيزيائية والكيميائية والفيزيائية - الكيميائية للمادة النانوية المُصنَّعة باستخدام حزمة تقنيات تشمل: حيود الأشعة السينية (XRD)، والمجهر الإلكتروني النافذ (TEM) ، والمجهر الإلكتروني الماسح (SEM)، ومطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR)، والتحليل الطيفي للطاقة المشتتة للأشعة السينية (EDX)، وقياس جهد زيتا .(Zeta) أكدت النتائج تشكل جسيمات نانوية متبلورة شبه كروية الشكل، يتراوح قطرها بين 20-50 نانومتر، مع تجانس ملحوظ في التوزيع. تم عزل سلالات بكتيرية من Staphylococcus aureus و Escherichia coli من مستشفى الطفل والولادة في ميسان، وجرى تأكيد هويتها عبر نظام Vitek 2، مدعوماً باختبارات كيميائية حيوية ومجهرية وزرعيه قياسية. اختُبرت الفعالية المضادة للبكتيريا لجسيمات أكسيد الزنك النانوية وحدها ومدمجة مع حمضي البروبيونيك (Propionic Acid) والستريك (Citric Acid)، مع تقييم مقارن لحساسية العزلات للمضادين: أزتريونام (Aztreonam) وأميكاسين (Amikacin) باستخدام اختبار الانتشار القرصي. أظهر التحليل الإحصائي ببرنامج SPSS (الإصدار 26) باستخدام ANOVA تأثيراً تآزرياً معنويًا ($p<0.05$) عند دمج الجسيمات النانوية مع الأحماض العضوية، تفوق مزيج (ZnO NPs + حامض الستريك) في تثبيط E. coli حيث وصل قطر منطقة التثبيط الى (28.0 ± 0.37 ملم) وS. aureus (26.5 ± 0.32 ملم). بينما سجل مزيج (حامض الستريك (ZnO NPs + فعالية أقل (26.4 ± 0.36) ملم لـ E. coli؛(24.6 ± 0.26 ملم) لـ S. aureus. ، كما لوحظ تفوق حامض البروبيونيك معنوياً على حمض الستريك في تعزيز النشاط المضاد للبكتيريا تجاوزت التركيبات النانوية المُحسَّنة فعالية المضادات الحيوية، حيث سجل الأزتريونام تثبيطًا لـE. coli (22.2± 0.63) ملم؛)22.7 ± 0.58 ملم)، وسجل الأميكاسين تثبيطاً لـ 21.0± 0.38) S.aureus ملم ، 21.5 ± 0.48 ملم). تُبرز هذه النتائج إمكانية استخدام الجسيمات النانوية لأكسيد الزنك المدعومة بالأحماض العضوية كبدائل واعدة للمضادات التقليدية.

الفصل الأول

المقـــــدمـــــة

Introduction

(1-1) المقدمةIntroduction:

تُعد الكائنات الحية الدقيقة، وخاصة البكتيريا، جزءًا لا يتجزأ من النظم البيئية على كوكب الأرض، وتنتشر على نطاق واسع في جميع البيئات، بما في ذلك داخل جسم الإنسان. (Deen, 2023)، تتميز البكتيريا ككائنات مجهرية وحيدة الخلية، بكونها الأقل تعقيدًا من الناحية البنيوية بين الكائنات الحية الدقيقة، إلا أنها تُظهر مرونة وتنوعًا هائلين، حيث يُقدر وجود أكثر من 50 شعبة بكتيرية بناءً على تسلسل 16S rRNAالمحفوظ. على الرغم من أن معظم أنواع البكتيريا غير ضارة أو حتى مفيدة، إلا أن بعضها يُعرف بقدرته على إحداث مجموعة واسعة من الأمراض الخطيرة التي تصيب البشر والحيوانات على حد سواء .(Maraz & Khan, 2021)

في سياق التطور المستمر للبكتيريا، برز تحدٍ عالميٌ ملح يتمثل في تنامي مقاومة المضادات الحيوية، مما يستلزم استكشاف وتطوير استراتيجيات جديدة ومبتكرة لمكافحة الميكروبات (Mbarga Manga *et al*., 2022) تُعتبر المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) و القولونية (*Escherichia coli*) من أبرز النماذج البكتيرية ذات الأهمية الطبية الكبيرة، حيث ترتبط كلتا البكتيريتين بمجموعة واسعة من الأمراض، تتراوح شدتها من الالتهابات الجلدية البسيطة (Fayisa & Tuli, 2023) ، إلى العدوى الجهازية الخطيرة التي قد تؤدي إلى الوفاة (Ghernaout *et al*. 2022)

هذه الأهمية السريرية المتزايدة للمكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية، فضلا" عن قدرتهما على تطوير آليات مقاومة للمضادات الحيوية، تضع ضغطًا كبيرًا على البحث العلمي لإيجاد حلول علاجية فعالة.

في هذا الإطار، يزداد الاهتمام بالدور المتزايد لتقنية النانو والأحماض العضوية كسبل واعدة لمكافحة العدوى البكتيرية. تُعرف تقنية النانو بأنها العلم والهندسة والتكنولوجيا التي تُجرى على مقياس النانو، لقد أحدثت هذه التقنية ثورة في العديد من المجالات العلمية، بما في ذلك الطب الحيوي (Hassan, 2018)، حيث تُعد الجسيمات النانوية، مثل جسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs)، أداة واعدة للغاية وقد برز الزنك (Zn) وأكسيد الزنك (ZnO)كعوامل مضادة للبكتيريا ذات فاعلية عالية، حيث يُستخدمان في العديد من التطبيقات، وذلك لثباتهما العالي وخصائصهما المضادة للميكروبات. تعمل هذه المواد على إتلاف جدران الخلايا البكتيرية، وتثبيط تكوين الخلايا، ومنع تخليق البروتين، وتقليل نفاذية الغشاء، وتعطيل العمليات الأيضية البكتيرية وذلك نتيجة لتفاعل أيونات الزنك مع الجزيئات البيولوجية .(El-Fallal *et al*., 2023).

تتمتع جسيمات أكسيد الزنك النانوية (Zinc Oxide Nanoparticle) (ZnO NPs) بتأثير مضاد للبكتيريا ، وهي أكثر تفاعلية من الزنك في صورته التقليدية، وذلك بفضل خصائصها الكيميائية والفيزيائية والبيولوجية الفريدة، مثل الخصائص الميكانيكية والمغناطيسية والكهربائية الانضغاطية، وقدرة الامتصاص القوية، والكفاءة التحفيزية العالية، والتوافق الحيوي، ونقطة التساوي الكهربائي العالية، وحركية نقل الإلكترون السريع، والذوبان والامتصاص الخلوي. ونظرًا لصغر حجمها ونسبة مساحة السطح إلى الحجم العالية، فإن جسيمات أكسيد الزنك النانوية تتميز بخصائص فريدة تميزها عن نظيراتها الأكبر حجمًا. وقد أظهرت الدراسات أن الجسيمات النانوية غير العضوية قادرة على اختراق الخلايا بسهولة عبر الثقوب الدقيقة في الأغشية البلازمية، وذلك بفضل مساحتها السطحية الهائلة. بالمقارنة مع الجسيمات النانوية الأخرى، أثبتت جسيمات أكسيد الزنك النانوية أنها الأكثر فعالية وقوة في مكافحة البكتيريا (El-Fallal *et al*., 2023). بالتوازي مع ذلك، تُعد الأحماض العضوية، وهي مركبات طبيعية ذات خصائص مضادة للميكروبات، بدائل فعالة للمضادات الحيوية التقليدية.

(2-1) هدف الدراسة:

تهدف هذه الدراسة إلى تحضير وتوصيف الجسيمات النانوية لأكسيد الزنك (ZnO NPs)، وتقييم تأثيرها التآزري عند مزجها مع الأحماض العضوية (حامض الستريك وحامض البروبيونيك) كمواد مضادة للميكروبات. ويركز البحث على تحديد فعاليتها ضد بكتيريا الإشريكية القولونية (*E.coli*) وبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*) في المختبر، مما يسهم في إيجاد بدائل مبتكرة وفعالة للمضادات الحيوية.

الفصل الثاني

استعراض المـــــــراجع

Literature review

(1-2) البكتريا(Bacteria)

البكتيريا كائنات مجهرية وحيدة الخلية توجد في كل مكان على وجه الأرض، بما في ذلك داخل جسم الإنسان ، ويضم جسم الإنسان تريليونات من البكتيريا، حيث تُعرف مجتمعة باسم الميكروبيوم البشري. تعيش هذه البكتيريا في أجزاء مختلفة من الجسم، بما في ذلك الجلد والفم والأمعاء والجهاز التناسلي(Deen, 2023) .، وهي الأقل تعقيدًا تركيبيًا بين الكائنات الدقيقة، ولكنها تتميز بمرونة أيضية عالية وتنوع كبير.

تعتبر البكتيريا بدائية النواة (Prokaryotic) , وذلك لأن مادتها الوراثية (DNA) لا توجد داخل نواة حقيقية. معظم البكتيريا تملك جدرانًا خلوية تحتوي على الببتيدوغلايكان (Peptidoglycan)، وتُوصف غالبًا بناءً على شكلها العام. تشمل الأشكال الشائعة الكروية ، العصوية ، أو الحلزونية/المنحنية ، يتراوح متوسط قطر البكتيريا بين 0.5-1 ميكرومتر وطولها بين 1-2 ميكرومتر، . تتميز بمعدلات عالية من التكاثر (يمكن لبكتيريا القولونية *E. coli* أن تتكاثر بالانشطار الثنائي في أقل من 10 دقائق)، وأيضا نسبة مساحة سطح إلى حجم عالية، وقابلية جينية للتكيف ، هذه البساطة النسبية تسمح للخلية البكتيرية بالاستجابة والتكيف السريع مع الظروف البيئية المتغيرة (Schloss & Handelsman, 2004).

(1-1-2) المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*)

تُعد المكورات العنقودية الذهبية من البكتيريا ذات الأهمية السريرية البالغة، وتتميز بخصائص مورفولوجية وفسيولوجية مميزة، بالإضافة إلى آليات إمراضية معقدة (Touaitia *et al*., 2025) .

(1-1-1-2) الخصائص المورفولوجية والفسيولوجية (Morphological and Physiological Characteristics):

تُصنف المكورات العنقودية الذهبية ضمن البكتيريا موجبة گرام ، وهي غير متحركة ولا تشكل أبواغًا. تتميز بشكلها الكروي الذي يتراوح قطره بين 0.5 و 1.5 ميكرومتر. نتيجة لنمط انقسامها الخلوي، تظهر هذه البكتيريا في أزواج أو رباعيات أو سلاسل أو مجموعات عشوائية، وغالبًا ما تتخذ مظهرًا غير منتظم يشبه عناقيد العنب. تُعتبر المكورات العنقودية الذهبية لاهوائية اختيارية، مما يعني قدرتها على النمو في وجود أو غياب الأكسجين، باستثناء بعض الأنواع اللاهوائية النادرة مثل *Staphylococcus sacchrolyticus* والنوع الفرعي اللاهوائي من *Staphylococcus aureus subspecies anaerobius*. (Salman, 2022)

تُظهر سلالات المكورات العنقودية الذهبية في الغالب نتائج إيجابية لاختبار الكاتليز ، على الرغم من الإبلاغ عن سلالات نادرة سلبية لهذا الإنزيم , كما أنها سلبية لأنزيم الأوكسيديز السيتوكروم، باستثناء أنواع محددة مثل *S. Sciuri* و *S. Vitulinus*. تتميز هذه البكتيريا بحساسيتها لأنزيم الليزوزتافين (lysostaphin)، وهو أنزيم معدني يحتوي على الزنك وله تأثير تحللي محدد على المكورات العنقودية الذهبية، إذ يعمل على تحليل روابط غليسين-غليسين (glycine-glycinebonds) في جدار الخلية الغني بالببتيدوجليكان المدمج بحمض التيكويك. (Salman, 2022)

تُظهر المكورات العنقودية الذهبية قدرة ملحوظة على النمو في بيئات ذات تركيز ملحي عالٍ، يصل إلى 10% من كلوريد الصوديوم، مما يصنفها ضمن الكائنات المحبة للملوحة. يمكنها النمو ضمن نطاق واسع من درجات الحرارة يتراوح بين 18 و 40 درجة مئوية، ويتمثل الأيض فيها في عمليتي التنفس والتخمر(Salman, 2022) .

(2-1-1-2) ظروف النمو والسمات التشخيصية (Growth Conditions and Diagnostic Characteristics)

تزدهر المكورات العنقودية الذهبية في أوساط الاستنبات تحت ظروف هوائية أو قليلة الأكسجين(Zurita *et al*., 2010), تبلغ درجة الحرارة المثلى لنموها 37 درجة مئوية (Laux *et al*., 2019) , عند زراعتها على الأوساط الصلبة، تنتج هذه المكورات أصباغًا عند درجة حرارة الغرفة (20-25 درجة مئوية)، وتظهر مستعمراتها مستديرة ولامعة وناعمة. تتميز المستعمرات بلونها الأصفر الذهبي المميز عند زراعتها على وسط مانيتول ملحي، كما تُظهر منطقة شفافة حول المستعمرة على وسط أكار الدم، وهي ظاهرة تُعرف بتحلل بيتا (β-hemolysis)، مما يدل على تحلل الدم الكامل. (Conceição *et al*., 2019) تخمر المكورات العنقودية الذهبية العديد من الكربوهيدرات ببطء، وتنتج حمضًا من دون غاز (Schaechter, 2010) تُظهر هذه البكتيريا مقاومة للجفاف ودرجات الحرارة العالية حتى 50 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة، لكنها تتأثر بالعديد من المواد الكيميائية مثل سداسي كلورو فين (hexachlorophene) بتركيز 3% (Al-Salmi *et al*., 2019)، يعود اللون الأصفر المميز للمكورات العنقودية الذهبية إلى إنتاجها لصبغة كاروتينية تُسمى ستافيلوكسانثين (staphyloxanthin) ، والتي تُعد أيضًا عامل ضراوة يُسهم في تقليل تعرض البكتيريا لتأثير أنواع الأكسجين التفاعلية التي تنتجها الخلايا المناعية للمضيف. (Bagnoli *et al*., 2017)

(3-1-1-2) التصنيف الوراثي (Genetic Classification)

تُصنف المكورات العنقودية الذهبية ضمن *Domain: Bacteria \rightarrow Kingdom: Eubacteria \rightarrow Phylum: Firmicutes \rightarrow Class: Bacilli \rightarrow Order: Bacillales \rightarrow Family: Staphylococcaceae \rightarrow Genera: Staphylococcus \rightarrow Species: Staphylococcus aureus*. هذا التصـــنيف وفقًا لنظام معلومات التصـــنيف المتكامل Integrated Taxonomic Information System (ITIS) (Jorgensen *et* al., 2015)

(4-1-1-2) الوبائية Epidemiology:

من الناحية الوبائية، تتواجد معظم أنواع المكورات العنقودية في الأغشية المخاطية والجلد للثدييات والكائنات الحية الأخرى (Carroll *et al*., 2017) , تُعد *S. aureus* من أكثر مســببات الأمراض البشـــرية شـــيوعًا ضـــمن عائلة المكورات العنقودية، وتشـــاركها في ذلك أنواع أخرى إيجابية لأنزيم الكواجيوليز Coagulase-Positive Staphylococci (CoPS) مثـل *Staphylococcus intermedius, Staphylococcus lutrae, Staphylococcus hyicus, Staphylococcus delphini*, و Staphylococcus pharmaceutical (Palavecino, 2007) , تُعتبر المنطقة الأمامية للأنف بيئة مثالية لاستيطان S. aureus، حيث تُظهر الدراسـات أن حوالي 50% من البشـــر يحملون هذه البكتيريا في تلك المنطقة، إما بشـــكل دائم أو مؤقت (Foster, 2004) , من هـذه المنطقـة، يمكن أن تنتقـل البكتيريـا إلى الجلـد ومنـاطق أخرى في الجســـم (Dumitrescu *et al*., 2011), يزداد معدل الإصـــابة بهذه البكتيريا بشـــكل ملحوظ لدى مرضـــى السـكري من النوع الأول المعتمدين على الأنسـولين، والمرضـــى الذين يتلقون غسـيل الكلى على المدى الطويل، وموظفي الرعاية الصـحية، ومتعاطي المخدرات غير المشـروعة (Gitau *et al*., 2018) , تُعـد المكورات العنقوديـة السـلبيـة للكواجيوليز Coagulase-Negative Staphylococci (CoNS) السـبب الأكثر شـيوعًا للعدوى المكتسـبة من المسـتشـفيات في مجرى الدم، وترتبط أحيانًا بالقسطرة الوريدية الطرفية (Rasheed & Hussein, 2021).

(5-1-1-2) الإمراضية (Pathogenicity):

تُعد المكورات العنقودية الذهبية كائنًا انتهازيًا يسـتوطن الأغشـية المخاطية والجلد، وقد تتحول إلى مسـبب للأمراض عند اختراق الحواجز الجلدية أو الظهارية نتيجة للصـدمات أو التدخلات الطبية. تُسـبب هذه البكتيريا مجموعة واسـعة من الأمراض للبشـر والحيوانات، وذلك بفضـل امتلاكها لعوامل ضـراوة

متعددة مثل المواد اللاصقة، الإنزيمات، والسموم. فضلا" عن ذلك، طورت المكورات العنقودية الذهبية استراتيجيات معقدة للهروب من الجهاز المناعي للمضيف.(Salman, 2022)

تُعد المقاومة المتزايدة للمضـــادات الحيوية، وخاصـــة مجموعة البنســلين، تحديًا كبيرًا في علاج عدوى المكورات العنقودية الذهبية، مما جعلها سببًا رئيسيًا لالتهاب الجلد والأنسجة الرخوة (SSTIs) (Skin and Soft Tissue Infections) (Salman, 2022) , تتضمن أمراضها الاستعمار، والانتشار الجهازي، والعدوى الموضعية، والعدوى المنتقلة ، والتسمم. عند دخول البكتيريا إلى الجلد، تستجيب خلايا الجهاز المناعي للمضيف، حيث تهاجر العدلات والبلعميات إلى موقع العدوى. ومع ذلك، تمتلك البكتيريا آليات معقدة لتجنب هذه الاستجابة المناعية، مثل عزل الأجسام المضادة للمضيف، ومنع التأكسي الكيميائي لخلايا الدم البيضاء، والاختباء من الكشف عن طريق تكوين كبسولات السكاريد أو الأغشية الحيوية، ومقاومة التحلل بعد الابتلاع الخلوي (Ray *et al*., 2013) .

يمكن أن تُشـــكل المكورات العنقودية الذهبية خراجات بكتيرية قيحية في الأنســـجة العميقة، مثل العضلات الأساسية و يمكن أن تنتشر البكتيريا لتكوين خراجات في المواقع البعيدة وتؤثر على أي جهاز عضوي تقريبًا (Rigby & DeLeo, 2012), تُصنف أمراض المكورات العنقودية الذهبية بشكل عام إلى ثلاث فئات رئيســـية: الأمراض الن اجمة عن الســـموم والالتهابات القيحية، والالتهابات المرتبطة بالأجسام الغريبة Foreign Body-Related Infections (FBRIS) ، والالتهابات التي تصيب الأعضاء والجهازية (Mohammed *et al*., 2017)

أظهرت دراســـة قام بها الباحث (Salman,2022)، والتي فحصـــت عزلات Staphylococcus aureus من مستشفيات مختلفة في محافظة بابل، أن استخدام جُسيمات أكسيد الزنك النانوية المُصنّعة كيميائياً (ZnO-NPs) كان له تأثير مُثبط ومُضاد على البكتيريا. مما يشير إلى أنها قد تعمل كمثبط لمقاومة المضادات الحيوية.أظهرت جُسيمات أكسيد الزنك النانوية المصنعة كيميائياً أعلى فعالية تثبيطية عند تركيز 100 ميكروغرام/مل، حيث بلغ متوسط قطر التثبيط 17 ملم ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus*.

(2-2) عوامل الضراوة البكتيرية (Virulence factors) :

تُعرف عوامل الضراوة بأنها جزيئات متخصصة، تتكون بشكل أساسي من بروتينات، تُنتجها الكائنات الحية الدقيقة الممرضة مثل البكتيريا، والفطريات، والفيروسات، والطفيليات الأولية. يتم ترميز هذه العوامل بواسطة جينات محددة تقع على الكروموسومات أو ضمن عناصر وراثية متحركة مثل العناصر المتحولة أو البلازميدات (Pakbin *et al*., 2021). في البكتيريا الممرضة، تُمكن عوامل

الضـــراوة هـذه الكـائنـات من التكيف مع بيئـات مختلفـة وإحـداث مجموعـة واســـعـة من الأمراض والاضطرابات (Foster-Nyarko & Pallen, 2022) .

(1-2-2) عوامل ضراوة المكورات العنقودية الذهبية (Staphylococcus aureus)

تمتلك المكورات العنقودية الذهبية مجموعة واســـعة من عوامل الضـــراوة التي تُمكنها من إحداث أمراض متنوعة، بدءًا من الالتهابات الجلدية البسيطة وصولًا إلى العدوى الجهازية المهددة للحياة.

(Touaitia *et al*., 2025)

(1-1-2-2) سموم العنقودية الذهبية (Staphylococcal Toxins):

تُفرز المكورات العنقودية الذهبية عدة أنواع من السموم التي تُسبب تلفًا للأغشية الخلوية وتُسهم في إمراضية البكتريا (Conceição *et al*., 2019).

1- السموم الخلوية (Cytotoxins) :

- **سموم ألفا (Alpha Toxins) (** (Balasubramanian *et al*., 2016
- **السموم بيتا (Beta Toxin)** (Gitau *et al*., 2018)
- **السموم دلتا (Delta Toxin)** (Pi *et al*., 2020).
- **السموم كاما (Gamma Toxin)**.)(Paternoster *et al*., 2023).
- **سم بانتون –فالنتاين الليوكوسيدين P-VL (Panton-Valentine Leucocid)**

(Löffler & Tuchscherr, 2021)،

2 -السموم التقشيرية (Exfoliative Toxins): تُعد هذه السموم العامل المسبب الوحيد لمتلازمة الجلد المحروق العنقودي، وهو مرض جلدي يُصـــيب الأطفال بشـــكل رئيســـي. يتميز هذا المرض بحدوث انفصـــال في الطبقات الســـطحية للبشـــرة، مما يؤدي إلى الجفاف والالتهابات الثانوية (Mariutti *et al*., 2017).

3- السموم المعوية Enterotoxins الداخلية

تقسم هذه السموم إلى عدة فئات منها (Schwan, 2019) :

- السموم المعوية أ(Staphylococcal Enterotoxin A)
- السموم المعوية ب (Staphylococcal Enterotoxin B)
- السموم المعوية ج (Staphylococcal Enterotoxin C) والسموم المعوية د (Staphylococcal :Enterotoxin D)

4- سم متلازمة الصدمة السمية Toxic Shock Syndrome Toxin (TSST): يتميز هذا السم بوزن جزيئي يقارب 22,000 دالتون، ويُصنف ضمن المستضدات الفائقة. يُعد مقاومًا للتحلل البروتيني، وسمًا خارجيًا وسيطيًا مُشفرًا بواسطة الجينات الكروموسومية. تشمل أعراض الصدمة السمية الحمى والطفح الجلدي. يتواجد الجين المسؤول عن إنتاج TSST في حوالي 20% من عزلات المكورات العنقودية الذهبية، بما في ذلك المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)

(Salman, 2022)

(2-1-2-2) الإنزيمات (Enzymes)

تُفرز جميع سلالات المكورات العنقودية تقريبًا العديد من الإنزيمات خارج الخلية التي يُعتقد أن وظيفتها هي تعطيل أنسجة المضيف وتعطيل آليات الدفاع المناعية. تشمل هذه الإنزيمات

(Sharaf *et* al., 2014)

- الكواجيولاز (Coagulase) (المرتبط والحر)
- الهيالورونيداز (Hyaluronidase):
- الليباز (Lipase): يُحلل الدهون.
- الستافلوكيناز (Staphylokinase)
- البنسليناز (Penicillinase) / بيتا لاكتاماز (Beta-lactamase)
- الليسيثيناز (Lecithinase) أو فوسفوليباز(Phospholipase C)

(3-1-2-2) بروتين السطح A (Surface Protein A) :

يُعد بروتين السطح A أحد البروتينات السطحية الوفيرة، ويمثل عامل ضراوة يُفرز في أثناء عملية انقسام الخلايا الطبيعية. يتميز هذا البروتين بقدرته على التفاعل مع الجزء Fc من الغلوبولين

المناعي IgG، ويُقمع الاستجابة المناعية التكيفية عن طريق الحد من إنتاج الأجسام المضادة بواسطة الخلايا البائية . (Becker *et al*., 2014)

(2-2-1-4) عديدات السكاريد الكبسولية (Capsular Polysaccharides):

الكبسولات البكتيرية هي الطبقة الخارجية التي يتفاعل معها الجهاز المناعي للمضيف أولًا. وقد وُجد أن المكورات العنقودية الذهبية تمتلك كبسولة مكونة من سلاسل طويلة من عديدات السكاريد، وتُعرف باسم عديدات السكاريد الكبسولية. يمكن رؤية الكبسولة البكتيرية مجهريًا، وتلعب دورًا كبيرًا في حماية البكتيريا من آليات الدفاع المناعي للمضيف (Willis & Whitfield, 2013) .

(2-2-1-5) الأغشية الحيوية (Biofilm):

الأغشية الحيوية عبارة عن مادة سكرية سميكة تُنتجها العديد من الكائنات الحية. تكمن أهميتها في منع العديد من المضادات الحيوية من اختراق الخلية البكتيرية، مما يُعطيها مقاومة ملحوظة. تعمل المصفوفة الخارجية على تهيئة بيئة محمية لا يمكن اختراقها نسبيًا بالعلاجات التقليدية بالمضادات الحيوية وآليات الدفاع المناعي للمضيف. (Otto, 2013).

(2-3) بكتريا القولون (Escherichia coli):

تُعد البكتريا القولونية من البكتيريا الشائعة التي توجد بشكل طبيعي في الجهاز الهضمي للإنسان(Govindarajan *et al*., 2020) تتميز هذه البكتيريا بخصائص مورفولوجية وفسيولوجية محددة، بالإضافة إلى تنوعها الكبير في الأنماط الممرضة (Khyoon, 2023) .

(2-3-1) الخصائص المورفولوجية والفسيولوجية Morphological and Physiological Characteristics:

البكتريا القولونية هي بكتيريا عصوية الشكل ذات نهاية مستديرة. تُصنف ضمن عائلة المعويات (Enterobacteriaceae) وجنس *Escherichia*. تتميز بكونها سالبة لصبغة گرام ، وغير مقاومة للأحماض، وغير مكونة للأبواغ، وتتصف بصبغة متجانسة. تمتلك معظم سلالاتها القدرة على الحركة بفضل أسواطها المحيطة بالخلية. تستطيع بكتريا القولون النمو في الظروف الهوائية واللاهوائية، وعلى الأوساط الغذائية في نطاق درجة حرارة يتراوح بين 18 و 44 درجة مئوية، بينما تتراوح درجة الحرارة المثلى لنموها بين 36 و 37 درجة مئوية. كما أنها تخمر اللاكتوز وتولد الغاز.

(Rajwar *et al*., 2016)

(2-3-2) السمات التشخيصية الرئيسية(Key Diagnostic Features) :

تتميز مستعمرات البكتريا القولونية بسطح أملس. عند نموها على وسط أكار إيوزين ميثيلين بلو Eosin Methylene Blue Agar (EMB) ، تظهر المستعمرات ببريق لامع، بينما تبدو وردية اللون وجافة ومسطحة على وسط أكار مكونكي. يتراوح الرقم الهيدروجيني الأمثل لنموها بين 4.4 و 9. تُعطي القولونية نتائج سلبية لاختبار الكاتليز، مما يميزها عن المكورات العنقودية الذهبية التي تُعطي نتائج إيجابية. كما أنها سلبية لاختبار الأوكسيديز، ومعظم سلالاتها تُعطي نتائج إيجابية لاختبار الأندول (Kodaka *et al*, 2004) .

(3-3-2) التصنيف الوراثي (Phylogenetic Classification):

تنتمي بكتريا القولون إلى عائلة البكتيريا المعوية (Enterobacteriaceae) وتُصنف وراثيًا كالتالي:

Domain: Bacteria \rightarrow Kingdom: Eubacteria \rightarrow Phylum: Proteobacteria \rightarrow Class: Gammaproteobacteria \rightarrow Order: Enterobacterales \rightarrow Family: Enterobacteriaceae \rightarrow Genus: Escherichia \rightarrow Species: Escherichia coli (Janda, 2021)

. وُصفت هذه البكتيريا لأول مرة في عام 1885 بواسطة ثيودور إيشيريش (Theodor Escherich) تحت اسم Bacterium coli، ثم أُعيد تسميتها لاحقًا إلى *Escherichia coli* نسبةً لمكتشفها (Tamerat *et al*., 2016), يضم جنس *Escherichia* أنواعًا متعددة أخرى مثل *E. senegalensis*, *E. albertii*, *E. hermanii*, *E. blattae*, *E. fergusonii* و *E. vulneris*، ويتم التمييز بين هذه الأنواع بناءً على الخصائص الكيميائية الحيوية (Khyoon, 2023).

أظهرت دراسة قام بها باحثون (Abu-Gharbieh *et* al., 2025)، والتي بحثت في التأثير المضاد للبكتيريا لجُسيمات أكسيد الزنك النانوية المُصنّعة حيوياً، أن هذه الجُسيمات كان لها تأثير مُثبط ومضاد على سلالة بكتريا القولون (*E. coli*) حيث بلغ أقل تركيز مثبط (MIC) لها 3.2 ملغم/مل وأقل تركيز قاتل للبكتيريا (MBC) قيمة 3.9 ملغم/مل، مما يشير إلى فعاليتها كعامل مضاد للبكتيريا من خلال إحداث خلل في سلامة الغشاء الخلوي وتحفيز الإجهاد التأكسدي.

(4-2) عوامل ضراوة بكتريا القولون (*Escherichia coli*):

طورت بكتريا القولون مجموعة متنوعة من عوامل الضـــراوة التي تســـمح لها بالتكيف مع بيئات مختلفة وتسبب مجموعة واسعة من الأمراض والاضطرابات.

(Foster-Nyarko & Pallen, 2022)

(2-4-1) الالتصاق (Adherence):

يُعد الالتصـــاق المرحلة الأولى في عملية اســـتعمار الكائنات الحية الدقيقة الممرضـــة لأنســـجة المضـــيف(Parvez & Rahman, 2018), تعتمد هذه العملية على الجينات التي تُشـــفر عوامل الالتصـــاق المهمة، وهي عبارة عن جزيئات ســـطحية أو هياكل مثل الزغيبات (fimbriae و pili). تُصـــنف الزغيبات إلى ثلاثة أنواع رئيســـية: الزغيبات S، والزغيبات P، والزغيبات F، وتُعد جميعها عوامل ضـراوة بالغة الأهمية. تُساعد هذه الزغيبات البكتيريا على الالتصـاق بالخلايا الظهارية للمضـيف (Raimondi *et al*., 2019; Spaulding *et al*., 2017),

(2-4-2) الكبسولة (Capsule):

تتمثل الوظيفة الأســاسـية للكبسـولة في تغطية وحماية البكتيريا من العديد من الظروف البيئية غير المواتيـة والاســـتجابـة المنـاعيـة للمضـــيف. تتكون الكبســـولـة بشـــكـل أســـاســـي من عـديـدات الســـكاريد(Jahandeh *et al*., 2015) , بناءً على ترتيب المجموعات الجينية الخاصـــة وعملية التخليق الحيوي والتجميع، يمكن تصـــنيف كبســـولات البكتريا القولونية إلى أربعة أنواع رئيســـية (Azurmendi *et al*., 2020), تُساهم الكبسولة في الحماية من البلعمة، وتُظهر تأثيرًا قاتلًا للبكتيريا بواسطة نظام المتممة، فضلا" عن نشاط مضاد للمصل ومقاومة للمضادات الميكروبية (Jahandeh *et al*., 2015)

(2-4-3) عوامل امتصاص الحديد (Iron Uptake Factors):

عوامـــل امتصـــاص الحديـــد هـــي مســـتقلبات ثانويـــة تســـتخدم الحديـــد لتعزيـــز نمـــو البكتيريـــا وتكاثرهـــا. يـــؤثر نقـــص الحديـــد علـــى قـــدرة البكتيريـــا علـــى التكيـــف مـــن خـــلال تعطيـــل بنيـــة الكبســـولات الخلويـــة وإنتاجهـــا. يُعـــد تـــوافر الحديـــد فـــي مصـــل الـــدم عـــاملًا بـــالغ الأهميـــة فـــي ســـياق حـــالات التهـــاب بطانـــة الأوعيـــة الدمويـــة الخارجيـــة (ExPEC)، وذلـــك بســـبب قـــدرة البكتريـــا القولونيـــة علـــى إحـــداث تســـمم الـــدم والتهابـــات فـــي العديـــد مـــن الأعضـــاء. عنـــدما تكـــون مســـتويات الحديـــد منخفضـــة، طـــورت ســـلالة القولونيـــة مجموعـــة

متنوعة من الآليات لاستخلاص الحديد من أنسجة المضيف المصاب. تتضمن هذه الآليات إنتاج خمسة أنواع رئيسية من حاملات الحديد: الكاتيكولات (Catecholates)، والفينولات (Phenols)، وأحماض الهيدروكساميك (Hydroxamicacids)، وهيدروكسي كاربوكسيلات (Hydroxycarboxylates)، بالإضافة إلى شكل مختلط يشتمل على أنواع متباينة من حاملات الحديد (Sora *et al*., 2021) .

(4-4-2) عديد السكاريد الدهنية (Lipopolysaccharide - LPS) :

عديد السكاريد الدهني هو مكون أساسي في جدار الخلية للبكتيريا سالبة گرام، يتكون من الوحدة الدهنية A (Lipid A)، وهو جزء محفوظ بدرجة عالية، ووحدات مستضد O (O-antigen) متكررة، والتي تختلف بشكل واسع بين السلالات اعتمادًا على جزيئات الجلوكوز وأنماط ارتباطها ضمن الوحدات الفرعية المتكررة(Di Lorenzo *et al*., 2022). يُعرف عديد السكاريد الدهني بقدرته على تنشيط الاستجابة المناعية للمضيف، وذلك عن طريق تحفيز إنتاج أكسيد النيتريك والسيتوكينات الالتهابية مثل إنترلوكين-1 بيتا Interleukin-1 b*eta* (IL-1 β) وعامل نخر الورم-ألفا Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF-α) مما يؤدي إلى إثارة الاستجابة الالتهابية (Jung *et al*., 2020)

(5-4-2) الأغشية الحيوية(Biofilms) :

الغشاء الحيوي هو عبارة عن تجمع الخلايا البكتيرية والتصاقها بالأسطح الصلبة، والتي تكون محاطة بمادة بينية خارج خلوية (Al-Saadi, 2019) ، تعتمد الكائنات الحية الدقيقة على تكوين الأغشية كآلية أساسية للبقاء على قيد الحياة. تشمل عملية تكوين الأغشية ثلاث مراحل رئيسية: الالتصاق الأولي للبكتيريا بالسطح، ومرحلة استشعار النصاب Quorum Sensing (QS) التي يُنظم فيها التعبير الجيني، ثم تكوين الكتلة الحيوية للغشاء الحيوي (Li *et al*., 2023) .

تُساعد الأغشية الحيوية في تثبيت الغشاء الحيوي، وتُساهم في عمليات إصابة المضيف وتزيد من قابلية البكتيريا على مقاومة المضادات الحيوية، وتُوفر الحماية للخلايا من الآليات الدفاعية للجسم مثل خلايا البلعمة (Soto, 2013)، تُعد الأغشية الحيوية عاملًا رئيسيًا في مقاومة بكتيريا القولونية للمضادات الحيوية، حيث تتميز البكتيريا داخل الأغشية الحيوية بمقاومة أعلى للمضادات الحيوية تصل إلى 1000 ضعف مقارنة بالخلايا البكتيرية الحرة.

(Nasrollahian *et al*., 2024)

(6-4-2) البروتياز (Protease):

تُعد البروتيازات من أهم فئات الإنزيمات التجارية.(Madhavi *et al*., 2011)، وتمثل ما بين 1% إلى 5% من جينومات البكتيريا والكائنات الحية الدقيقة المعدية الأخرى (Agbowuro *et al*., 2018) . تُشـــارك البروتيازات في مجموعة متنوعة من العمليات الكيميائية الحيوية والفســيولوجية في الكائنات الحية والخلايا، بما فيها النمو، والتغذية، والتكيف، والإنبات/التبويض، والموت الخلوي المبرمج (Khyoon, 2023), تلعب البروتيـازات دورًا محوريًا في إحداث العدوى، حيث تُعد من عوامل الضراوة الأساسية، وذلك لأنها تُعزز غزو الكائنات الحية عن طريق إتلاف أنسجة المضيف وتثبيط آلية الدفاع المناعي للمضيف(Sharma *et al* , 2007) يُعد نشاط البروتياز من أهم عوامل الضراوة في البكتيريا القولونية (Nanda & Nayak, 2020) .

(5-2) تقنية النانو والجسيمات النانوية(Nanotechnology and Nanoparticles):

أحدثت تقنية النانو ثورة في العديد من مجالات العلوم، وذلك لقدرتها على التعامل مع المادة على مستوى متناهي الصغر (Dewan, 2022) , تُعرف تقنية النانو بأنها العلم والهندسة والتكنولوجيا التي تُجرى على مقياس النانو، والذي يتراوح بين 1 و 100 نانومتر. يمكن تعريفها أيضًـــا بأنها دراســـة وتطبيق المواد المتناهية الصغر في مختلف مجالات العلوم، مثل الكيمياء، الأحياء، الفيزياء، علوم المواد، والهندسة. وقد عرّفها دريكسلر بأنها التلاعب بالمادة على المستوى الذري أو الجزيئي (مقياس النانومتر) لبناء هياكل وأجهزة وأنظمة جديدة. يُشـتق مصـطلح "نانو" من كلمة يونانية تعني "القزم"، وتشـير كلمة "تكنولوجيا" إلى إنشاء واستخدام الأدوات التقنية (Hassan, 2018).

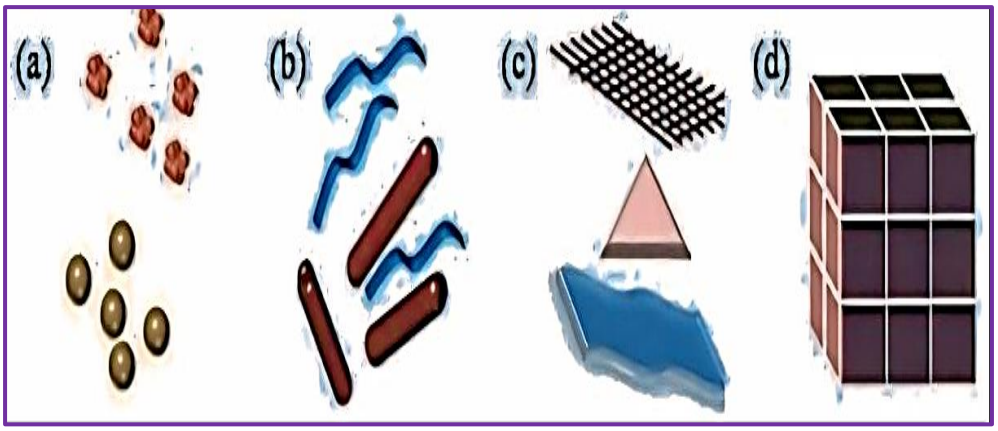
تُعد الجسـيمات النانوية (Nanoparticles - NPs) جسـيمات يكون على الاقل احد ابعادها اقل من 100 نانومتر. تُعد هذه الجسـيمات أداة واعدة ومجال بحث نشـط بسـبب خصـائصـها الفريدة التي تتغير بتغير أبعادها ويتم تصنيفها بشكل عام إلى عضوية ، وغير عضوية.

(Issa & Aadim, 2024)

(1-5-2) أبعاد وخصـــائص الجســـيمات النـانويـة الفريدة وتطبيقاتها العامـة (Dimensions, Unique Properties, and General Applications of Nanoparticles):

تُصنف المواد النانوية وفقًا لأبعادها إلى أربعة أنواع رئيسية:

- البنى النانوية صـــفرية الأبعاد (Zero-dimensional nanostructures): تُحدد هذه المواد بكون أن جميع أبعادها تقع ضـــمن النطاق النانوي، أي لا يتجاوز أي بعد فيها 100 نانومتر. تُعد الجسيمات النانوية من أبرز أمثلة هذا الصنف (Mekuye & Abera, 2023)
- البنى النانوية أحادية البعد (One-dimensional nanostructure): تتميز بوجود بعد واحد فقط خارج النطاق النانوي، مما يؤدي إلى ظهور مواد ذات شكل إبري. يشمل هذا الصنف الأنابيب النانوية، والأسلاك النانوية، والقضبان النانوية.(Mekuye & Abera, 2023)
- البنى النانوية ثنائية الأبعاد (Two-dimensional nanostructures): تُعرف بوجود بعدين خارج النطاق النانوي، وتظهر هذه المواد عادة في أشـكال صـفائحية. تشـمل هذه المواد الأغشـية النانوية، والطبقات النانوية، والطلاءات النانوية. (Mekuye & Abera, 2023)
- البنى النانوية ثلاثية الأبعاد (Three-dimensional nanostructures): تتميز بوجود ثلاثة أبعاد تتجاوز 100 نانومتر. تُظهر هذه المواد خصـائص نانوية أو بنى بلورية نانوية، حيث تتكون المواد النانوية ثلاثية الأبعاد ذات البنية البلورية النانوية من تجمعات لبلورات نانوية متعددة، والتي عادة ما تكون مرتبة في اتجاهات مختلفة. أما المواد النانوية ثلاثية الأبعاد ذات الخصـــائص النانوية، فهي تتضـمن طبقات نانوية متعددة، أو حزمًا من الأسـلاك والأنابيب النانوية، أو تشـتتات جسيمات نانوية كما في الشكل (2-1) . (Mekuye & Abera, 2023)



شكل رقم (2-1): تصنيف المواد النانوية (Mekuye & Abera, 2023)

تتميز الجسـيمات النانوية بمسـاحة سـطحية كبيرة، مما يزيد من تفاعليتها الكيميائية مقارنةً بالمواد الأكبر حجمًا. كما تمتلك مجموعة من الخصـــائص الكهربائية، والميكانيكية، والمغناطيســية، والحرارية،

والعازلة، والبصرية الفريدة (Dewan, 2022) , يؤدي دمج خصائص مواد متنوعة مع انخفاض حجم الجسيمات من البنية الكلية إلى البنية النانوية إلى زيادة نسبة المساحة السطحية إلى الحجم، وتغيير الخصائص الفيزيائية والكيميائية تمامًا. (Issa & Aadim, 2024)

(2-5-2) خصائص الجسيمات النانوية الرئيسية(Characteristics of Nanoparticles):

تُحدد خصائص الجسيمات النانوية بشكل كبير من خلال سماتها الفيزيائية والكيميائية الفريدة:

1. **الحجم (Size):** تختلف خصائص الجسيمات النانوية باختلاف الحجم، وتؤدي التغيرات في البنية الإلكترونية إلى اختلافات ملحوظة في الخصائص على المقياس النانوي. (Schiavo *et al*., 2023) أظهرت دراسات أن العديد من الخصائص الرئيسية للجسيمات النانوية تعتمد على حجمها، فمثلاً، المرحلة البلورية ذات ثبات أعلى والخصائص الإلكترونية للمواد تظهر الاعتماد على حجم الجسيمات النانوية. (Adekoya *et al*., 2018)

2. **الشكل (Shape):** يلعب شكل الجسيمات النانوية دورًا هامًا في تحديد خصائصها، حيث يؤثر الشكل على طيف امتصاص الجسيمات النانوية الكروية للمعادن النبيلة. تؤدي الاختلافات في الحجم والشكل إلى اختلافات في خصائص متنوعة، مثل النشاط البيولوجي، الميكانيكي، التوصيل الحراري، ونقطة الانصهار. (Fahimi Kashani *et al*., 2023).

3. **خصائص السطح (Surface Properties):** تُظهر الجسيمات النانوية مجموعة متنوعة من خصائص السطح منها التفاعلية، التركيب، الوظيفة، والشحنة.

(Bhattacharjee & Prasad, 2023)

4. **تجمع الجسيمات النانوية (Nanoparticle Aggregation):** تميل الجسيمات النانوية في البيئات المائية إلى التجمع، مما يؤدي إلى تكوين تجمعات أكبر من حجم الجسيمات النانوية الأصلية. يتأثر هذا الميل للتجمع بعدة عوامل، مثل الوظيفة، القوة الأيونية، التركيز، والرقم الهيدروجيني.

(Li *et al*., 2024)

5. **التركيز (Concentration):** نظرًا لكتلة الجسيمات النانوية الفردية، من الضروري معايرة تركيزات الجسيمات النانوية بدقة.(Leventi *et al*., 2023).

(2-6) تخليق الجسيمات النانوية وتطبيقاتها المضادة للميكروبات (Nanoparticle Synthesis and Antimicrobial Applications):

تُستخدم طرائق مختلفة لتخليق جسيمات نانوية ذات شكل وحجم وبنية وأبعاد نانوية متحكم بها. تُصنف هذه الطرق بشكل أساسي إلى منهجيتين رئيسيتين: التركيب التنازلي والتركيب التصاعدي. تُقسم هاتان المنهجيتان إلى فئات فرعية متعددة بناءً على الآليات الكيميائية والفيزيائية المعتمدة وظروف التفاعل المطبقة. (Kumari & Sarkar, 2021)

(2-6-1) منهجيات تخليق الجسيمات النانوية (NanoparticleynthesisMe*t*hodologies):

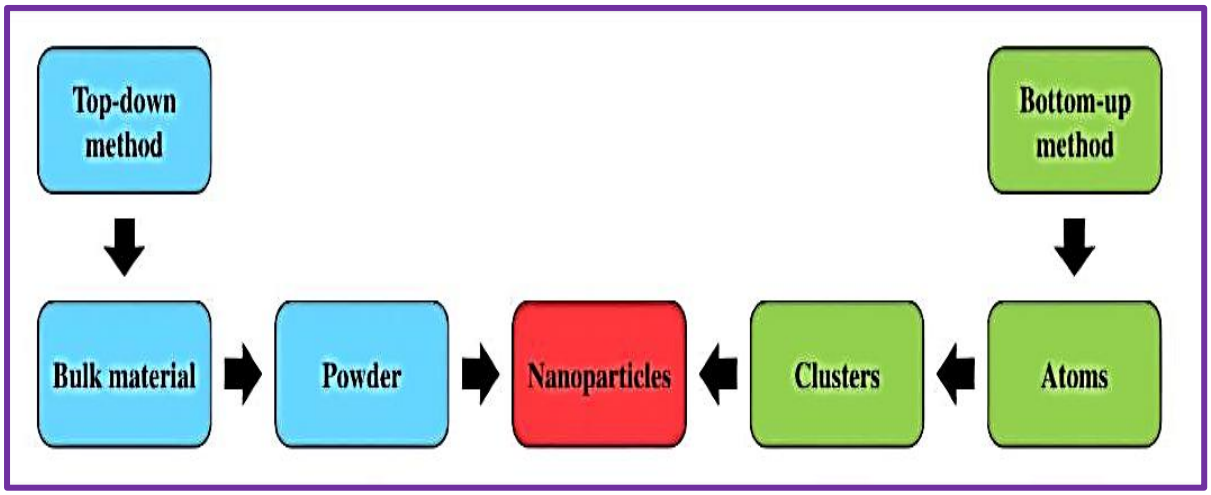
(2-6-1-1) منهجية التركيب التنازلي (Top-Down Synthesis):

تُعرف هذه المنهجية أيضًا باسم التفتيت. يُعد التركيب التنازلي أحد المناهج الأساسية في تصنيع المواد النانوية، ويتم فيه تفتيت المواد السائبة، التي تتكون من جزيئات كبيرة، إلى جزيئات أصغر، وصولًا إلى إنتاج الجسيمات النانوية المطلوبة. تشمل الطرق المعتمدة في هذا المنهج عمليات الطحن الدقيق، والترسيب الفيزيائي للبخار، والطحن عالي الطاقة، والاستئصال بالليزر، وطريقة الرش، والطباعة النانوية، وغيرها من الطرق التي تعتمد على تكسير الروابط بين الجزيئات.

(Todkar *et al*., 2023)

(2-6-1-2) منهجية التركيب التصاعدي (Bottom-Up Synthesis):

يُشار إلى هذه الطريقة أيضًا باسم التجميع الذري والجزيئي. وهي طريقة معاكسة لمنهجية التركيب التنازلي. في هذا المنهج، يتم استخدام مواد كيميائية أقل تعقيدًا بكثير لإنتاج جسيمات نانوية. تشمل الطرق المعتمدة في هذا المنهج طريقة الترسيب الكيميائي للبخار (CVD)، وطريقة السول-جل، وطريقة التحلل الحراري، والتخليق الحيوي، والتخليق الدوراني (Todkar *et al*., 2023) . وكما ذكر الباحث (Hassan, 2018) يتعامل النهج التصاعدي مع الجسيمات التي تُبنى من التجميع الكيميائي للذرات أو الجزيئات باتباع مبادئ التعرف الجزيئي، تمامًا مثل تخليق النيوكليوتيدات، وهي اللبنات الأساسية للحمض النووي من الجزيئات الأولية. كما في الشكل (2-2)



شكل(2-2) توضيح منهجيتي التركيب التنازلي (Top-Down Synthesis) والتصاعدي (Bottom-Up Synthesis) (Ealias & Saravanakumar, 2017)

(7-2) آليات عمل جسيمات أكسيد الزنك النانوية المضادة للبكتيريا (Mechanisms of Antibacterial Action of Zinc Oxide Nanoparticles)

أكسيد الزنك (ZnO) مادة غير عضوية، واعدة واستراتيجية، تُصنف من أشبـــــــاه الموصلات (II-VI)، حيث ينتمي الزنك (Zn) والأكســـجين (O) إلى المجموعتين الثانية والســـادســـة في الجدول الدوري على التوالي .يتميز أكسـيد الزنك بخواص فريدة مثل الخواص البصـرية، الموصـلية الكهربائية، والانضـــــغاطية(Shahrom *et* al., 2015) ، كما أنه غير قابل للذوبان في الماء لكنه يذوب في الأحماض والقواعد المخففة.(Kalra *et al*., 2022)

يمثل أكسيد الزنك دوراً حيوياً في جسم الإنسان، حيث يؤدي نقصه إلى أورام خبيثة، تلف الخلايا، وأمراض مرتبطة بالاستجابة المناعية كالعدوى والسرطان .(Jin & Jin, 2021) يُستخدم أكسيد الزنك كبديل للمضـادات الحيوية في الإسـعافات الأولية، من خلال مراهم تركيز 40% وكريم تركيز% 10 (Jin & Jin, 2021) كما يُعتبر آمنًا بشكل عام، ومعتمدًا من إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) (Kalra *et al*., 2022)، وكما ذكر الباحث (Salman, 2022) أن أكسـيد الزنك غير سـام عند ملامسته للجلد، مما يجعله مناسبًا للاستخدام في مستحضـرات التجميل مثل كريمات مكافحة الشيخوخة وواقيات الشمس.

أما جسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs)، فتظهر خصـائص فيزيائية وكيميائية استثنائية، تفســـر اســـتخداماتها المتعددة والمتطورة في الطب الحيوي (Al-Musawi, 2023). تُســـتخدم هذه الجسيمات في مجالات متنوعة تشمل العلاج بالمضـادات الحيوية، التشـخيص العلاجي، الأجهزة الطبية، وهندسة الأنسجة، نظرًا لفعاليتها القوية ضد الكائنات الحية الدقيقة الممرضة (Jin & Jin, 2021).

أظهرت دراسة قامت بها الباحثة (Al-Musawi,2023)، والتي استخدمت مستخلص ثمار نبات الكَبّار (Capparis Spinosa L.) كعامل اختزال حيوي لتصنيع جُسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) الكروية بمتوسط حجم 37.49 نانومتر، أن هذه الجُسيمات كان لها تأثير مضاد للبكتيريا ضد كل من بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (Staphylococcus aureus) (موجبة لصبغة غرام)، حيث بلغ قطر التثبيط لها 16 ملم، وبكتيريا الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*) (سالبة لصبغة غرام) بقطر تثبيط 13 ملم، مما يشير إلى فعاليتها كعامل مضاد للبكتيريا وكبديل حيوي له توافق حيوي عالٍ ونشاط مضاد للأكسدة.

تُعد جسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) عوامل فعالة مضادة للبكتيريا (Pulit-Prociak *et al.*, 2016).، ويُنظر إليها على أنها الجيل القادم من المضادات الحيوية لمكافحة مقاومة الأدوية المتعددة. (Sabir *et al.*, 2014) يظهر نشاطها ضد البكتيريا عبر آليات متعددة:

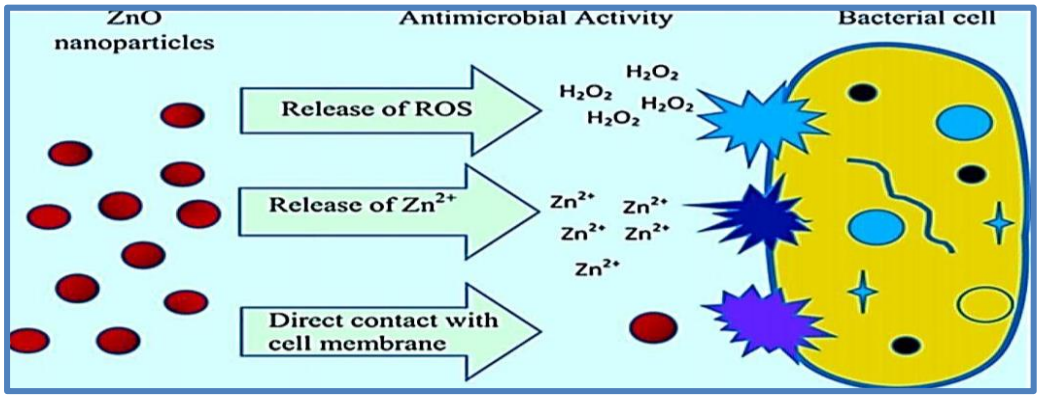
1. اختراق جدار الخلية البكتيرية وإلحاق الضرر بالحمض النووي (DNA): يعود جزء من هذا النشاط إلى أيونات الزنك (Zn2+) المنبعثة من الجسيمات النانوية. تلتصق هذه الأيونات بجدار الخلية وتُحدث خللاً في بنيته عن طريق تكسير السكريات والبروتينات والدهون المكونة للغشاء. بالإضافة إلى ذلك، يمكن لأيونات (Zn2+) أن تُسبب تلفًا في الحمض النووي البكتيري، وبالتالي تؤدي إلى إعاقة نموه وموته.

2. زيادة نفاذية الأغشية: يُعزز الحجم النانوي لجسيمات أكسيد الزنك من مساحة سطحها، مما يزيد من فعاليتها المضادة للبكتيريا. يُعتقد أن صغر حجمها يُسهل دخولها إلى الخلية البكتيرية. من الآليات المهمة الأخرى هي زيادة نفاذية الأغشية بفعل الأيونات، وهذا يسمح بدخول كميات أكبر من جسيمات أكسيد الزنك النانوية إلى داخل الخلية، وبالتالي يؤدي إلى تلفها وموتها.

3. تثبيط عمل القنوات الأيونية: تُعيق هذه الجسيمات عمل القنوات الأيونية في جدار الخلية أو تتفاعل أيونات الزنك (Zn^{2}+) معه عن طريق تفاعلات كهروستاتيكية.

4. إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية Reactive Oxygen Species (ROS) : يُعتقد أن النشاط المضاد للبكتيريا لجسيمات أكسيد الزنك ينتج عن ترسب أيونات الزنك في الأغشية الخلوية والسيتوبلازم، وأيضًا إلى إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) مثل بيروكسيد الهيدروجين (H2O2). يمكن لهذه الأنواع التفاعلية أن تتلف المكونات الخلوية الأساسية، مثل الأغشية الدهنية وجدران الخلايا، مما يؤدي إلى موت البكتيريا عند تجاوز قدرتها المضادة للأكسدة، تتأثر درجة نشاط

الجسيمات النانوية بعدة عوامل مثل حجم الجسيمات وتركيزها والمادة المستخدمة في تصنيعها. إن هذه الآليات المتعددة تجعل جسيمات أكسيد الزنك النانوية خيارًا واعدًا في مكافحة البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية، حيث تُقدم حلولًا تتجاوز آليات العمل التقليدية للمضادات الحيوية كما في الشكل (3-2). (Kalra *et al*., 2022)



شكل (3-2) آلية النشاط المضاد للميكروبات لجسيمات أكسيد الزنك النانوية(Reda *et al*., 2024)

(8-2) الأحماض العضوية تعريفها, تأثيراتها المضادة للميكروبات, تواجدها الطبيعي, تركيبها الكيميائي, خصائصها العامة Organic Acids: Definition, Antimicrobial Effects, Natural Occurrence, Chemical Structure, and General Properties :

تنتشر الأحماض العضوية على نطاق واسع في الطبيعة كمكونات طبيعية في الأنسجة الحيوانية والنباتية. تُعرف الأحماض العضوية بأنها أحماض كربوكسيلية عضوية صيغتها الكيميائية R-COOH، حيث تمثل R طول السلسلة الحمضية (Kim, 2015). بشكل عام، تُعد الأحماض العضوية أحماضًا ضعيفة تتفكك جزئيًا فقط في المحلول المائي(Khan & Iqbal, 2016)، وتُشكل توازنًا بين جزيئات الحمض غير المتغيرة وأنيوناتها وبروتوناتها المشحونة (Lopez *et al*., 2012), معظم الأحماض العضوية التي تمتلك نشاطًا مضادًا للميكروبات تكون قيمة الـ Pka (قيمة الأس الهيدروجيني التي يكون عندها الحمض نصف متفكك) في نطاق3 إلى 5. الأحماض ذات الوزن الجزيئي المنخفض مثل حمض الفورميك وحمض الأسيتيك قابلة للذوبان في الماء، بينما الأحماض العضوية ذات الوزن الجزيئي الأعلى مثل حمض البنزويك تكون غير قابلة للذوبان في شكلها الجزيئي (المتعادل). تشترك جميع الأحماض العضوية في وجود الكربون في تركيبها، وهي أقل تفاعلاً من الأحماض غير العضوية ولكنها قادرة على إذابة المعادن الموجودة في المخزون المعدني في التربة. تُصنف الأحماض العضوية إلى أحماض نقية (مثل حمض اللاكتيك، حمض البروبيونيك، حمض الأسيتيك، حمض الستريك، حمض البنزويك)

وأحماض منظمة (مثل أملاح الكالسيوم والصوديوم لأحماض البروبيونيك والأسيتيك والستريك والبنزويك)، وتُعتبر الأحماض المنظمة أكثر أمانًا في التعامل وأقل تآكلًا للآلات.
(AL-Yasiri, 2019)

كما ذكر الباحث (Hajati, 2018)، تُعد الأحماض العضوية خيارًا واعدًا وفعالاً كبديل لمُحفزات النمو المضادة الحيوية في تغذية الدواجن، وذلك بفضل تأثيرها القوي المضاد للميكروبات . وقد أشارت النتائج التي استعرضها الباحث إلى أن هذه الأحماض تعمل على تثبيط نمو البكتيريا المُمْرِضة مثل Salmonella spp. و E. coli في سياقات غذائية وصحية محددة؛ حيث تعتمد فعاليتها المضادة للميكروبات على آلية مزدوجة تشمل خفض مستوى الأس الهيدروجيني (pH) في القناة الهضمية، بالإضافة إلى قدرة الشكل غير المتأين من الحمض على اختراق الخلية البكتيرية وتدميرها. أكدت المراجعة أن الفعالية الكلية للأحماض العضوية تعتمد بشكل حاسم على نوع الحمض وتركيزه وظروف الوسط.

(2-8-1) آليات عملها كمضادات للبكتيريا (Mechanisms of action asantibacterials)

يُنظر حاليًا إلى الأحماض العضوية كبدائل فعالة للمضادات الحيوية في السنوات الأخيرة، وذلك بسبب نشاطها المضاد للميكروبات ضد مجموعة واسعة من البكتيريا المسببة للأمراض تُعتبر (Al-Yasiri, 2022) الآليات المتسلسلة المقترحة لفعل الأحماض العضوية كمضادات للبكتيريا كالتالي:

1. اختراق جدار الخلية: يمكن للشكل الحمضي غير المتفكك للأحماض العضوية أن يخترق جدار الخلية البكتيرية. (Lopez *et al*., 2012)

2. التفكك داخل الخلية: بمجرد دخولها، تتفكك الأحماض الضعيفة المخترقة داخل الخلايا البكتيرية إلى شكل القاعدة المقترنة، مما يؤدي إلى انخفاض في درجة الحموضة الخلوية (انخفاض الرقم الهيدروجيني الخلوي). (Lopez *et al*., 2012)

3. إجهاد البكتيريا: يُحدث هذا الانخفاض في درجة الحموضة داخل الخلية بيئة مرهقة للبكتيريا، مما يؤدي إلى اختلالات وظيفية خلوية وبالتالي منع نموها. (Lopez *et al*., 2012)

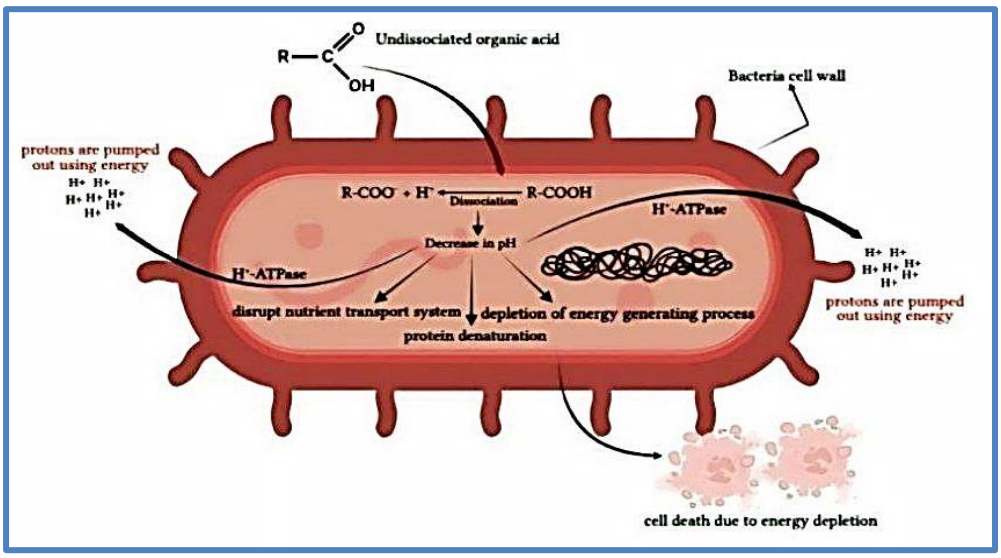
4. زيادة نفاذية الخلية: يزيد الحمض العضوي من نفاذية الخلية البكتيرية ويتداخل مع بروتينات الغشاء (Yadav *et al*., 2016) ، مما يُزعزع استقرار بروتينات الخلية.

(Price-Carter *et al*., 2005)

5. تراكم الأنيونات السامة: في الظروف الحمضية، تُعبر الأحماض العضوية غير المتفككة الغشاء الميكروبي بحرية إلى السيتوبلازم، حيث يؤدي ارتفاع درجة الحموضة إلى إطلاق البروتونات وزيادة حموضة السيتوبلازم، مما يؤدي إلى تراكم الأنيونات السامة داخل الخلية.

(Gravesen *et al*., 2004)

ينتج عن هذه الآليات مجتمعة سلسلة من التأثيرات على الخلية البكتيرية، تشمل تحمض المكونات الداخلية لأغشية الخلايا، وتدمير سلامة الأغشية الخلوية، وإعاقة غشاء البكتيريا (تسرب آليات النقل) مما يؤدي إلى فقدان النقل النشط للمغذيات عبر الغشاء، وتعطيل نقل الأحماض عن طريق تغيير نفاذية غشاء الخلية، وتثبيط التفاعلات الأيضية الأساسية (مثل تحلل الجلوكوز)، وتراكم الأنيونات السامة داخل الخلية، واستجابة البكتيريا بضغط طاقة لاستعادة التوازن الداخلي، وتثبيط لاستجابات الإجهاد الأخرى مثل استجابة الصدمة الحرارية كما في الشكل (2-4) (Al-Yasiri & Mohammed, 2019)



شكل (2-4) الآلية المضادة للميكروبات+463.

التي تمارس بها الأحماض العضوية تأثيراتها. (Chukwudi *et al*, 2024)

(2-8-2) حامض الستريك (Citric Acid):

حمض الستريك ($C_2H_2O+H_2O$) الذي اكتشفه العالم الكيميائي السويدي الألماني كارل فيلهلم شيل عام 1874، يلعب دورًا محوريًا كبيرًا في حياتنا اليومية. وهو يُصنف ضمن الأحماض العضوية الضعيفة، حيث أن قيمة الرقم الهيدروجيني تتراوح بين 3.0 و 6.0. يتواجد حمض الستريك بصورة طبيعية في مجموعة متنوعة من عصائر الحمضيات مثل عصير الليمون، والليمون الحامض، والأناناس، والطماطم، والتوت بأنواعه، والبروكلي. على المستوى الكيميائي، يُعرف حمض الستريك النقي بأنه

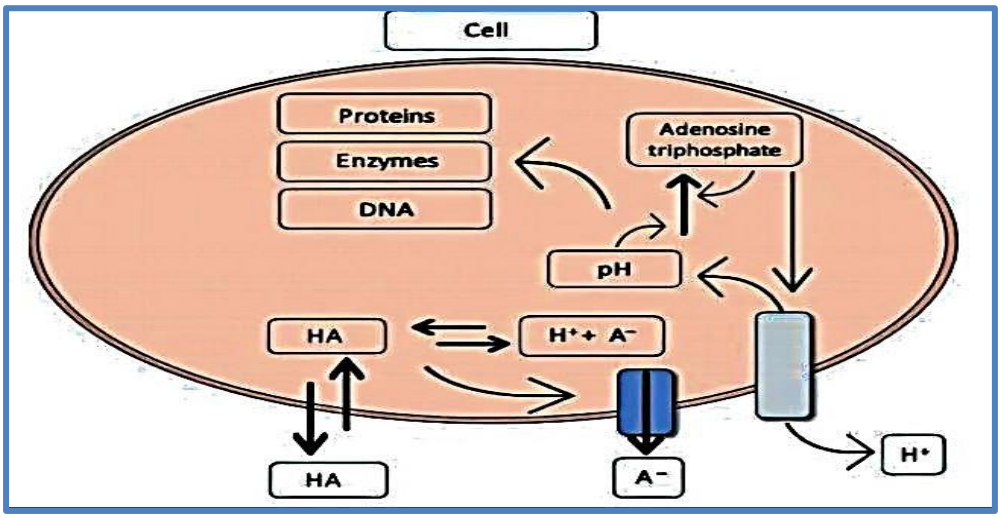
حمض ثلاثي الكربوكسيل (tricarboxylic acid)، وهو حمض عضوي يتميز بوجود ثلاث مجموعات وظيفية من الكربوكسيل (COOH) في تركيبه الجزيئي، ويبلغ وزنه الجزيئي 210.14 غرام/مول.

يتميز حمض الستريك بمجموعة من الخصائص الفيزيائية المميزة، فهو عديم اللون والرائحة، ويذوب بسهولة في الماء، ويمتلك مذاقًا حمضيًا لاذعًا. يوجد هذا المركب في الحالة الصلبة عند درجة حرارة الغرفة، ولكنه يتعرض للتحلل عند التعرض لدرجات حرارة مرتفعة. بالإضافة إلى ذلك، يُعد حمض الستريك مادة كيميائية قابلة للتحلل البيولوجي، وهذا ما يجعله خيارًا صديقًا للبيئة، وآمنًا، ومتعدد الاستخدامات في تطبيقات متنوعة. يُستخدم حمض الستريك على نطاق واسع في تحضير العديد من المستحضرات الصيدلانية التي تتضمن سترات طبية، وكما يُضاف إلى الأطعمة والمشروبات كمادة حافظة لزيادة مدة الصلاحية، وفضلا" عن موازنة الحموضة. (Ghai *et al*., 2023)

يتضمن نشاط حمض الستريك المضاد للبكتيريا اختراق الأغشية الخلوية، حيث يكون الرقم الهيدروجيني أعلى من البيئة المحيطة. ترتبط آلية عمل حمض الستريك المضاد للبكتيريا بتحمض السيتوبلازم، أو تعطيل العمليات الأيضية، أو تراكم الأيون الحمضي المنفصل إلى مستوى سام. يعتمد نشاط الأحماض العضوية الميكروبيولوجي على درجة التفكك، إذ إن تقليل الرقم الهيدروجيني يؤدي إلى زيادة تركيز الحمض، وتقليل قطبية الجزيئات، وتحسين انتشار الحمض عبر الأغشية الخلوية الميكروبية إلى الخلايا، وبالتالي زيادة النشاط المضاد للبكتيريا. تختلف فعالية عمل حمض الستريك المضاد للبكتيريا وتعتمد على العديد من العوامل، بما في ذلك تركيز الحمض وخصائصه ودرجة الحرارة ووقت التعرض وقابلية الميكروبات للتأثر. يُظهر حمض الستريك تأثيرات مضادة للبكتيريا مثالية في بيئة ذات درجة حموضة منخفضة، وفي درجات حرارة منخفضة، وعند استخدامه بتركيزات عالية.

(Książek, 2024) ذكرت الباحثة (Eliuz, 2020) في دراستها التي هدفت إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات لحامض الستريك أن الحامض أظهر فعالية ملحوظة ضد بكتيريا الإشريكية القولونية (Escherichia coli) والمكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*)، أن حمض الستريك أظهر فعالية تثبيطية أعلى ضد البكتيريا موجبة الغرام (*S. aureus*)، حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط 26.33{ ملم}، بينما كان تأثيره أقل نسبياً ضد البكتيريا سالبة الغرام (*E. coli*) بمتوسط 21.00{ ملم}. وايضا أكد الباحثون (Ji *et* al., 2023) في دراستهم التي هدفت إلى تقييم تأثير الأحماض العضوية على حاجز الخلية والأغشية الحيوية لبكتيريا الإشريكية القولونية (Escherichia coli)، أن حامض الستريك أظهر فعالية ملحوظة ضد هذه البكتيريا من خلال آليات تدمير خلوية مُحددة. وقد خلصت الدراسة إلى أن حامض الستريك أظهرا قدرة على إحداث ضرر

نوعي في جدار الخلية لبكتيريا E. coli، تم تأكيده عبر قياس تسريب إنزيم الفوسفاتيز القلوي، مما يشير إلى اختلال في سلامة الجدار الخلوي. كما أثبتت الأحماض العضوية، بما فيها حامض الستريك، قدرتها على تثبيط تكوين الأغشية الحيوية (Biofilm) وتقليل النشاط الخلوي داخلها كما في الشكل (2-5):



شكل(2-5) آلية عمل حمض الستريك على الخلية البكتيرية (Mani-López *et al*., 2012)

(2-8-3) حامض البروبيونيك (Propionic acid):

الاسم الشائع لحامض البروبيونيك مشتق من الكلمتين اليونانيتين "بروتوس" (protos) التي تعني "الأول" و "بيون" (pion) التي تعني "دهن"، وذلك لأنه كان أصغر حمض من صيغة $H(CH_2)nCOOH$ يُظهر خصائص الأحماض الدهنية الأخرى. حمض البروبيونيك هو حمض كربوكسيلي طبيعي المنشأ صيغته الكيميائية CH_3CH_2COOH، ويُسمى نظاميًا حمض البروبانويك. في حالته النقية، يكون سائلًا أكالًا عديم اللون ذو رائحة نفاذة. (Coral, 2008)

يمتلك هذا الحمض خواصًا فيزيائية وسيطة بين خواص الأحماض الكربوكسيلية ذات السلاسل الأقصر، مثل حمض الفورميك وحمض الأسيتيك، والأحماض الدهنية ذات السلاسل الطويلة. يُعد هذا المركب ممثلاً للخصائص العامة للأحماض الكربوكسيلية، حيث يُظهر قدرة على تكوين مشتقات الأميدات والإسترات والأنهيدريدات والكلوريدات. يتميز بقابليته للامتزاج مع الماء بأي نسبة، في حين تؤدي إضافة الأملاح إلى فصله عن الطور المائي. بالإضافة إلى ذلك، يتفاعل مع الكحولات والإسترات والأملاح العضوية، منتجًا الإسترات والأملاح العضوية الجديدة والأملاح على التوالي.

(Ahmadi, 2017)

يُستخدم حمض البروبيونيك، باعتباره حمضًا عضويًا قويًا نسبيًا، كعامل مضاد للميكروبات في المواد الغذائية مثل منتجات الألبان والمخبوزات، وفي حفظ أعلاف الحيوانات كبديل واعد للمضادات الحيوية التي تتسبب في مشكلة مقاومة المضادات. يمكن معالجة الأعلاف بواسطة حمض البروبيونيك لحمايتها من التحلل البكتيري والفطري. (Byrne *et al*., 2015)

يُعد البروبيونات أو حمض البروبيونيك من الجزيئات الواعدة لمكافحة العدوى، خاصة تلك التي تُسببها سلالات المقاومة للأدوية المتعددة Multi-Drug Resistant (MDR)

(Langfeld *et al*., 2021)

تكمن الآلية المضادة للميكروبات لحامض البروبيونيك في قدرته على النفاذ عبر الغشاء الخلوي في شكله غير المتفكك (Ahmadi, 2017). فبمجرد دخوله إلى السيتوبلازم، يطلق جزيئات البروتونات التي تحمّض البيئة الداخلية للخلية (Bushell *et al*., 2019). هذا التحميض يثبط نمو البكتيريا والخمائر والفطريات، كما يؤثر على تدرج درجة الحموضة عبر الغشاء الخلوي، مما يعيق نقل المغذيات الضرورية لحياة الكائن المجهري (Ahmadi, 2017). أكد الباحثون (Antone *et* al., 2023) في دراستهم أن حمض البروبيونيك أظهر تأثيراً فعالاً قوياً مضاداً للميكروبات ضد البكتيريا الممرضة، مما يؤكد دوره كعامل مضاد للبكتيريا . وأظهرت النتائج أن حامض البروبيونيك يمتلك نشاطًا قويًا ومحددًا ضد كل من بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (Staphylococcus aureus)، والزائفة الزنجارية (Pseudomonas aeruginosa)، والعصوية الرقيقة (Bacillus subtilis).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

(Materials and Methods)

3- المواد وطرائق العمل:

(3-1) المـــــــــــواد:

(3-1-1) المعدات والأجهزة :

جدول (3-1) : المعدات والأجهزة

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة	المنشأ
1	الميزان الحساس Sensitive Balance	Kern	المانيا
2	جهاز التقطير Water distillatory	GFR	المانيا
3	المحرك المغناطيسي Magnetic Stirrer	Corning	المانيا
4	جهاز الطرد المركزي Centrifuge	Hermle	المانيا
5	الفرن الكهربائي Electric Oven	Memert	المانيا
6	الحاضنة Incubator	Binder	المانيا
7	المؤصدة Autoclave	Hirayama	اليابان
8	فايتك Vitek Compact System 2	Bio Meryeux	فرنسا
9	كابينة زرع Inoculation Hood	Lab Tech	فرنسا
10	اطباق بتري Petri Dishes	Bio zek medical	هولندا
11	انابيب اختبار Test Tube	ALS	كندا
12	الثاقب الفليني Cork borer	Brand –W	المانيا
13	الماصة الإلكترونيةElectronic Pipette	Rainin	الولايات المتحدة الأمريكية
14	ابندروف Epindroff	Bio neer	كوريا
15	مقياس الرقم الهيدروجيني pH meter	Oakton	سنغافورا
16	مازج Vortex	Bionex	كوريا
17	جهاز حيود الأشعة السينية X-Ray diffraction	PHILPS	The Netherland
18	المجهر الألكتروني الماسح SEM Scanning electron microscopy	TESCAN	.Czechia

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة	المنشأ
19	مطياف الأشعة تحت الحمراء (Infrared media swap (FTIR	Perkin Elmer	USA
20	المجهر الألكتروني النافذ Transmission Electron Micoscope ((TEM	PHILPS	The Netherland
21	مطافية تشتت الطاقة للأشعة السينية EDX Energy –Dispersive X-ray spectroscopy	TESCAN	Czechia
22	جهاز قياس زيتا المحتملة: Analyzer ZetaPotential	Horiba	Japan
23	مقياس الرقم الهيدروجيني PH meter	Oakton	سنغافورة
24	اوراق ترشيح Filter Paper	Watman No.1	UK

جدول(3-2): المواد الكيميائية

ت	المواد الكيمائية	الشركة المصنعة	المنشأ
1	خلات الزنك Zinc Acetate	SRL	الهند
2	هيدروكسيد الصوديوم Sodium Hydroxide	SRL	الهند
3	ميثانول Methanol	Loba chemie	الهند
4	حامض البروبيونيك Propionic Acid	SRL	الهند
5	حامض السترك Citric Acid	THOMAS BAKER(CHEMICALS) PVT.LTD	الهند
6	بيروكسيد الهيدروجين H2O2	Solvochem	انكلترا

ت	المواد الكيمائية	الشركة المصنعة	المنشأ
7	كاشف الأوكسيديز NNNN Tetra methyl-p-phenylene diamine dihydro chloride	Difco	انكلترا
8	اوكسيد الزنك ZinC Oxide	LoBA cHEMIE pVT.LTD	الهند
9	البنفسجي كريستال Crystal violet	CHEM-LAB	بلجيكا
10	سافرانين Saphranin	CHEM-LAB	بلجيكا
11	الميثانول Methanol	Global chemie pvt,ltd	الهند
12	اليود Iodine	CHEM-LAB	بلجيكا

جدول (3-3) : المضادات الحياتية

ت	اسم البكتريا	المضادات الحيوية	الرمز	نقطة التوقف
1	المكورات العنقودية الذهبية Staphylococcus aureus	Amikacin	Ami	≥17
2	بكتريا القولونية Escherichia coli	Aztreonam	AZ	≥21

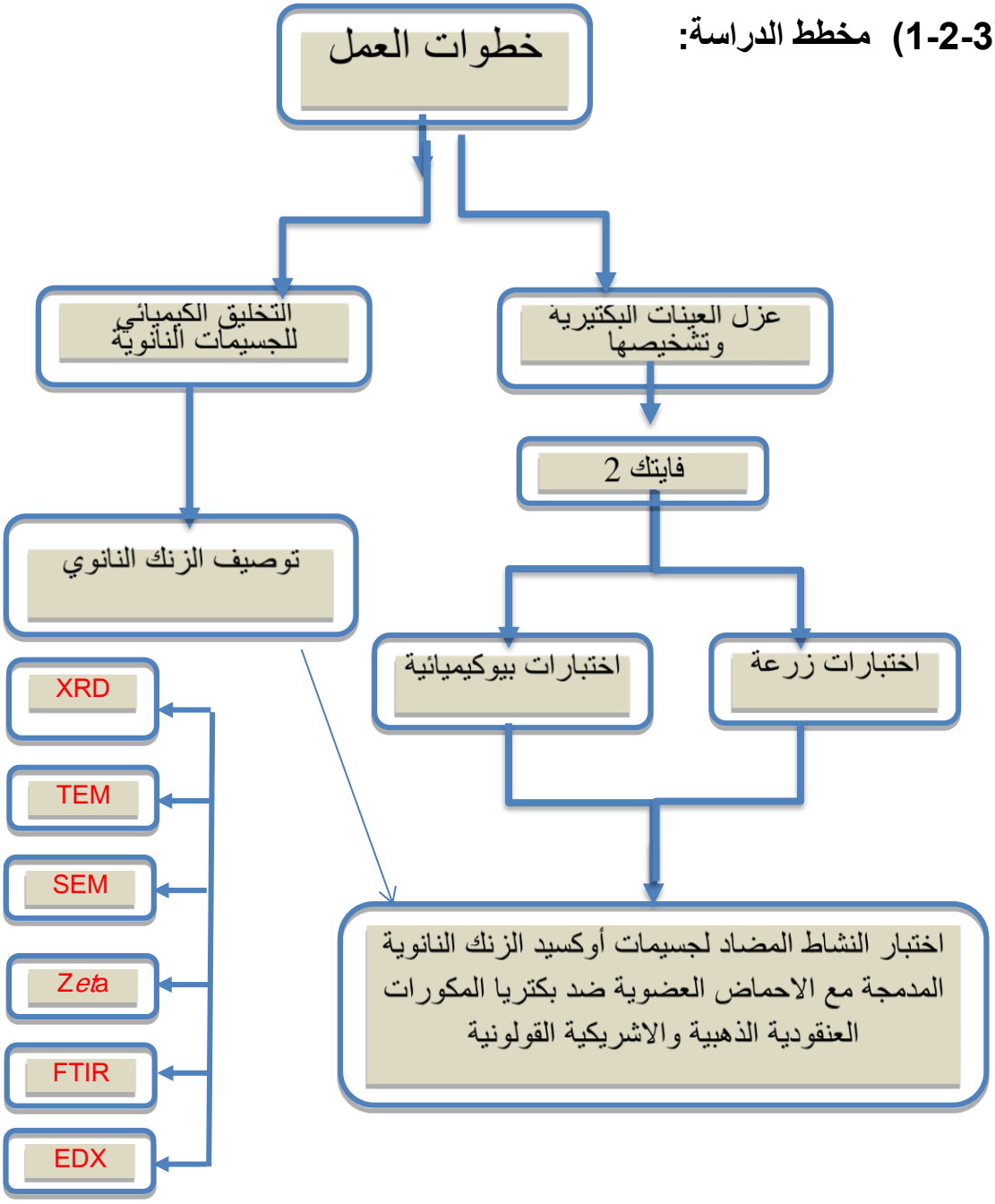
جدول (3-4) : الأوساط الزراعية

ت	الوسط الزرعي	الغرض	الشركة المصنعة	المنشأ
1	وسط اكار الدم Blood ager	يستخدم لدراسة قدرة البكتريا على تحلل الدم	HIMEDIA	الهند
2	وسط ملح المانيتول Mannitol Salt ager	يستخدم كوسط اختياري لنمو بكتريا المكورات العنقودية الذهبية كمخمر للمانيتول	IMMEDIA	الهند
3	وسط مولر هنتون Mueller Hinton ager	يستحدم لاختبار حساسية العزلات للمضادات الحيوية	Michigan	USA

4	وسط المكونكي Maconkey Ager	وسط تفريقي يستخدم لعزل وتفريق الكائنات الحية الدقيقة المعوية سالبة الكرام	Himedia	الهند
5	اكار ايوسين ازرق المثيلين Eosin methylene blue ager	وسط تفريقي يستخدم لعزل وتفريق الكائنات الحية الدقيقة المعوية سالبة الكرام	Himedia	الهند

(2-3) طرق العمل:

(1-2-3) مخطط الدراسة:



الشكل (1-3) الخطوات العملية المتبعة في الجزء العملي

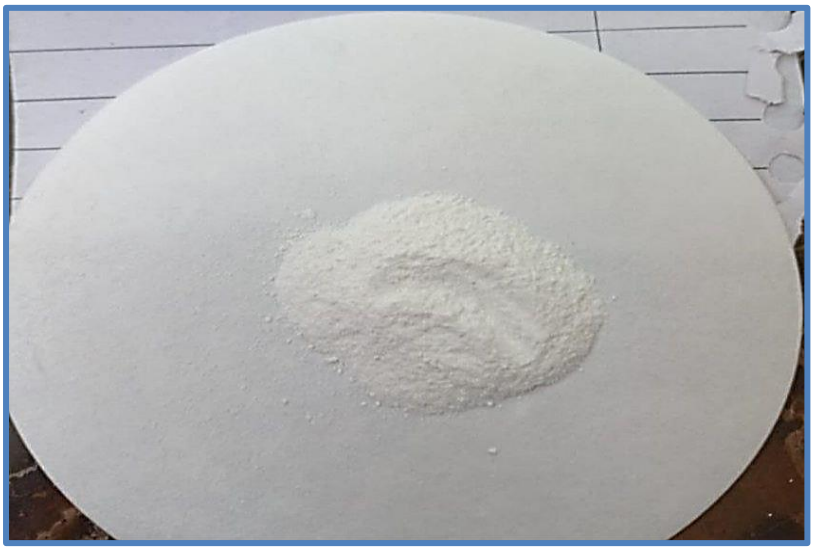
(2-2-3) التحضير الكيميائي لجزيئات أكسيد الزنك النانوية بطريقة الترسيب الكيميائي (Chemical Precipitation)

تم تحضير جزيئات أكسيد الزنك النانوية بطريقة السول - جل مع بعض التغييرات حسب الخطوات التالية وفقًا لـ (Hasnidawani *et al*., 2016):

1. تم اذابة 8g من ثنائي هيدرات أسـيتات الزنك ($Zn(CH3COO)2.2H2O$) في 60 mL من الماء المقطر مع تقليب المحلول لمده خمس دقائق تقريبًا بواسطة المحرك المغناطيسي
2. في وعاء منفصل تم إذابة 32g من هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) في 40mL من الماء المقطر مع التحريك المستمر لمده خمس دقائق تقريبا بواسطة المحرك المغناطيسي
3. تمت إضـافة محلول المحتوي على أسـيتات الزنك ($Zn\ (CH3COO)2.2H2O$) الى محلول هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) مع التحريك المستمر بواسطة محرك مغناطيسي لمدة خمس دقائق تقريبًا.
4. تم ملئ دورق زجاجي بـ(400) مل من المياثنول كما ذكر الباحث (Smajlagić, 2024) واضافته إلى المحلول الذي يحتوي على أسيتات الزنك و هيدروكسيد الصوديوم بعد التفاعل، تم تكوين راسب أبيض.

$$(Zn(CH3COO)2 \cdot 2H2O) + 2NaOH \rightarrow ZnO + 2NaCH3COO + H2O$$

5. ، بعد التفاعل، تم الحصول على راسب أبيض عن طريق الطرد المركزي تم تسخين الراسب الأبيض عند درجة حرارة 60 درجة مئوية لمدة أربع ساعات، لتكوين جسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) كما في الشكل (2-3) :



شكل (2-3) جسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs)

(3-3) توصيف الجسميات النانوية Characterization of the Nanoparticles:

تحدد المواد النانوية بطرق عديدة وأجهزة متنوعة، وتم إرسال جسيمات أكسيد الزنك النانوية إلى مختبرات متخصصة خارج العراق لإجراء فحوصات عليها، والفحوصات المستخدمة في هذا البحث تشمل ما يلي :

(3-3-1) التوصيف الفيزيائي للجسيمات النانوية

Physical Characterization of the Nanoparticles

- **تحليل حيود الأشعة السينية X-RAY Diffraction Analysis (XRD):**

تُستخدم هذه التقنية لتشخيص المواد النانوية وذلك عن طريق قراءة ترتيب الذرات وتجانسها مع بعضها البعض وما إذا كانت تشكل بلورات أم لا.

يتم تجهيز العينة عن طريق:

الطحن: تُطحن العينة إلى مسحوق ناعم جدًا باستخدام هاون ومدقة.

ملء الحامل : يُوضع المسحوق بالتساوي داخل حامل العينة لضمان التوزيع المتجانس.

التجفيف: إذا كانت العينة رطبة، يجب التأكد من تجفيفها بالكامل قبل القياس.

يتم تطبيق هذه التقنية عن طريق قياس الزوايا التي تشكلها هذه الأشعة لمعرفة المسافات البينية داخل أنسجة البلورة وحجم البلورات ، حيث يتم استخراج المسافات البينية عن طريق قانون براج للحيود (Bragg's Law):

$$\eta\lambda = 2d.\sin\theta$$ (قانون براج)

حيث n هو حجم الجسيم الصحيح، d هي المسافة بين المستويات الذرية في الطور البلوري، A هو طول موجة الأشعة السينية (باستخدام إشعاع Cu Kα λ=0.15406 nm)، اما ال D يمكن حسابها بواسطة صيغة شيرر.

$$D = \frac{K\lambda}{\beta\cos\theta}$$

وتكون شدة الأشعة المنعكسة على شكل قمم حادة واتجاهات تكون مختلفة، وتسمى قمم براج.
ويمكن إيجاد قمة براج عن طريق الاختلاف في زاوية المركب في التحليل.

إن وجود قمم عالية وحادة يدل على تجانس ذرات المركب وبنيته البلورية، فحين تكون القمم سميكة وصغيرة فهذا يدل على أن العينة غير متجانسة وليس لها بنية بلورية (Singh and Nanda, 2013)

المجهر الإلكتروني النافذ Transmission Electron Microscopy (TEM):

تستخدم تقنية المجهر الإلكتروني النافذ لتوفير معلومات عن التركيب البلوري والشكلي للعينات، حيث تستخدم على نطاق واسع في مختلف مجالات علم الأحياء وتكنولوجيا النانو وهي مفيدة بشكل خاص لمراقبة الجسيمات النانوية المعدنية (Hassan, 2018) . لإجراء التحليل بواسطة (TEM)، يجب أن تكون العينة رقيقة بما يكفي للسماح بمرور حزمة الإلكترونات من خلالها، ويتم ذلك باتباع الخطوات الأساسية التالية:

التقطيع الرقيق : تُقطع العينة إلى مقاطع رقيقة جدًا، بسمك يقل عادةً عن 100 نانومتر، باستخدام مشرط فائق الدقة.

النقل : تُوضع المقاطع الرقيقة بعناية على شبكة المجهر الإلكتروني النافذ ، وهي شبكة نحاسية أو كربونية مُدعمة.

التجفيف : يُراعى أن تكون المقاطع جافة وواضحة قبل إدخالها إلى حجرة الجهاز لتجنب تشويه الصور أو تشتيت حزمة الإلكترونات.

(2-3-3) التوصيف الكيميائي للجسيمات النانوية

Chemical Characterization of Nanoparticles

وتتضمن مايلي:

- مطياف الأشعة تحت الحمراء (**FTIR) (Fourier Transform Infrared Spectroscopy**)

توفر تقنية FTIR معلومات قيمة عن التركيب الكيميائي للمادة وايضا عن التغيرات السطحية التي قد تحدث فيها (Shi *et al*., 2017)، وهي تقتصر بشكل أساسي على تحديد المجموعات الوظيفية ولا يوفر معلومات كاملة عن البنية الجزيئية ثلاثية الأبعاد للمركب (Rafique *et al*., 2017). حيث تتميز هذة التقنية بالعديد من المزايا الهامة، بما في ذلك سرعة التحليل وإمكانية استخدامه لتحليل مجموعة متنوعة من العينات من دون تدميرها. (Shi *et al*., 2017).

تعتمد آلية عمل (FTIR) على مبدأ أن كل مركب عضوي يمتص ترددات مميزة من الأشعة تحت الحمراء تتوافق مع الاهتزازات المميزة لروابطه الكيميائية. وعندما يتعرض المركب لطاقة عالية، مثل الأشعة تحت الحمراء ، ينتج عن هذا التفاعل انبعاث طاقة يوضح تفاعلات الجزيئات.

يجمع مطياف الأشعة تحت الحمراء بتقنية تحويل فورييه مجموعة واسعة من البيانات الطيفية في نفس الوقت، مما يعطيه ميزة كبيرة على مطياف التشتت الذي يقيس الكثافة في نطاق صغير من الأطوال

الموجية. تُعد هذه التقنية مشتقة من تحويل فورييه (عملية رياضية)، والتي تقوم بتحويل البيانات الخام الأصلية إلى الطيف الفعلي.

يتم رسم النتائج تلقائيًا باستخدام أحد البرامج المضمنة في أجهزة التحليل الطيفي. وباستخدام الرسم البياني الناتج، يقوم الباحثون بتحليل الرسم البياني واكتشاف قمم مميزة يمكن تتبعها إلى مكونات المركب. يتراوح نطاق أطياف FTIR} النموذجية من 4000 إلى 400 سم1-

(Salman, 2022)

لإجراء القياس بواسطة (FTIR)، يتم تحضير العينة لضمان الحصول على طيف واضح وموثوق:

تحضير الغشاء أو القرص المضغوط: يمكن تحضير العينة إما كـ غشاء رقيق أو قرص مضغوط عن طريق خلط العينة مع بروميد البوتاسيوم وطحنها جيدًا.

الكبس: في حال استخدام الأقراص المضغوطة، تُكبس الخلطة باستخدام مكبس أقراص للحصول على قرص رقيق.

- مطيافية الأشعة السينية المشتتة للطاقة **Energy-Dispersive X-ray spectroscopy(EDX)**:

مطيافية الطاقة المشتتة تبحث في تحليل السطح وتوصيف العناصر للعينة. المبدأ الأساسي يتضمن دراسة الأشعة السينية المنبعثة من طاقات مختلفة القادمة من العينة عندما تضرب شعاع من الإلكترونات عناصرها. ويمكن التعرف بسهولة على تركيب وكمية الجسيمات النانوية المعدنية من سطح العينة المعطاة (Rades *et al*., 2014; Smuleac *et al*., 2015) لضمان الحصول على نتائج دقيقة في EDX ، يجب تحضير العينة بعناية وفق الخطوات التالية:

التثبيت: تُثبت العينة على قاعدة (Stub) موصلة للكهرباء.

الطلاء : إذا كانت العينة غير موصلة، تُطلى بطبقة رقيقة من الذهب أو الكربون لتجنب ظاهرة الشحن (Charging).

التجفيف: يجب التأكد من أن العينة جافة قبل وضعها في الجهاز.

- **المجهر الإلكتروني الماسح Scanning Electron Microscopy (SEM):**

يوفر المجهر الإلكتروني الماسح معلومات طبوغرافية وعناصرية للجسيمات النانوية ، وذلك عند تكبيرات مفيدة مع عمق مجال غير محدود تقريبًا. ويمكن استخدامه في تقييم التركيب العنصري للجسيمات النانوية، وأيضًا في حجم الحبيبات، والمسامية، والتجانس وتوزيعات الحجم، وفي خشونة السطح، والتوزيع والانتشار بين المعادن (Palmqvist, 2017).

لضمان الحصول على صور واضحة ودقيقة، يتم تحضير العينة بالخطوات التالية:

التثبيت: تُثبت العينة على قاعدة (Stub) موصلة للكهرباء.

الطلاء: إذا كانت العينة غير موصلة، تُطلى بطبقة رقيقة من الذهب أو الكربون لتجنب ظاهرة الشحن (Charging).

التجفيف: يجب التأكد من أن العينة جافة قبل وضعها في الجهاز.

آلية العمل تعتمد على مرور شعاع إلكتروني ممسوح بدقة عبر سطح العينة؛ ويولد هذا إلكترونات متناثرة وإلكترونات ثانوية و ايضا أشعة سينية مميزة. وعند جمعها بواسطة أجهزة الكشف، هذه الإشارات تشكل صورًا للعينة الممسوحة ضوئيًا المعروضة على شاشة أنبوب أشعة الكاثود (Hassan, 2018)

(3-3-3) التوصيف الفيزيائي - الكيميائي:

يشمل تحليل جهد زيتا (Zeta Potential): تحليل جهد زيتا هو تقنية لتحديد الشحنة السطحية للجسيمات النانوية في المحاليل (الغرويات). ،يُعد تحليل جهد زيتا أداة مهمة لفهم حالة سطح الجسيمات النانوية والتنبؤ باستقرارها على المدى الطويل.

إن فهم جهد زيتا ذات أهمية بالغة في التحكم في التشتت وفي تحديد استقرار تعليق الجسيمات النانوية إلى أي درجة سيحدث التجمع بمرور الوقت . (Mohammadi-Jam *et al*., 2022)

للحصول على قراءات دقيقة وممثلة لاستقرار المعلق النانوي، يتم تحضير العينة وفق الخطوات التالية:

التشتيت: تُعلّق العينة في مُذيب مناسب (مثل الماء المقطر) باستخدام خلاط مغناطيسي أو رجّاج (Shaker).

الحصول على تركيز مناسب: يُضمن أن يكون تركيز العينة مناسباً للقياس (عادةً ما يكون منخفضاً لتجنب التكتل/التجميع (Aggregation).

الترشيح: إذا وُجدت فقاعات أو جسيمات كبيرة، تُرشح العينة باستخدام مُرشح ناعم.

(4-3-3) التوصيف البيولوجي لجسيمات اوكسيد الزنك النانوية Biological Characterization of Zinc Oxide Nanoparticles :

تمت دراسة النشاط المضاد لهذه الجسيمات النانوية ضد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية (Staphylococcus aureus) الموجبة لصبغة غرام ، والبكتريا القولونية (Escherichia coli) السالبة لصبغة غرام .

(4-3) جمع العزلات Collection of isolates:

استُخدمت في هذه الدراسة عزلات بكتيرية من (*E. coli*) (سالبة لصبغة گرام) المعزولة من براز الأطفال المصابين، وعزلات من (*S. aureus*) (موجبة لصبغة گرام) المعزولة من عينات الدم. تم تشخيص هذه العزلات مبدئيًا بواسطة جهاز VITEK-2 Compact في مستشفى الطفل والولادة بميسان حيث يعتمد نظام VITEK 2 Compact على طريقة التشخيص الآلي الكامل ويهدف إلى تحديد نوع الكائنات الحية الدقيقة واختبار فاعلية المضادات الحيوية ضدها بسرعة ودقة.

يتلخص مبدأ عمل الجهاز في استخدام بطاقة اختبار بلاستيكية صغيرة (Miniaturized Test Card)، تحتوي على 64 حُفرة دقيقة (Microwells). تحتوي كل حفرة على مواد كيميائية مُجفّفة (ركائز/Substrates) تتفاعل مع البكتيريا قيد الدراسة. تسمح هذه التفاعلات بتقييم خصائص البكتيريا الأساسية، مثل:

الاختبارات البيوكيميائية: تقييم التفاعلات الأيضية للبكتيريا، بما في ذلك إنتاج الإنزيمات الهاضمة وتغيرات الوسط من حمضي أو قاعدي

اختبارات المقاومة: تحديد مدى قدرة البكتيريا على النمو والعيش في وجود مواد تمنع نموها ، وهو ما يحدد نوع المقاومة لديها.

لإجراء الاختبار، يُحضّر محلول بكتيري نقي ومركز من مستعمرات البكتيريا الحديثة (عمر 18-24 ساعة). يُعدّل تركيز هذا المحلول ليُطابق مقياس الكثافة الموحد، وهو 0.5 ماكفارلاند (0.5 McFarland Standar) ويتم التأكد من صحة الكثافة باستخدام جهاز فحص الكثافة . بعد ذلك، يتم تلقيم بطاقة VITEK 2 بهذا المحلول لبدء عملية التحليل الآلي. (Salman, 2022) ، ثم نُقلت هذه العزلات المشخصة إلى مختبر الصحة العامة في الشبانة لغرض تنميتها وتأكيد تشخيصها.

(5-3) تحضير الاوساط الزرعية Preparation of Culture Media:

تم تحضير جميع الاوساط حسب تعليمات الشركة المصنعة والمثبتة على العبوة وحسب ما يلي

1- وسط مولر هنتون (Mueller Hinton)

خطوات التحضير: يتم اذابة جميع المكونات في لتر من الماء المقطر. ويتم تحريكه جيدًا ويسخن حتى الذوبان الكامل.يعقّم الوسط بالمؤصدة عند 121°م، وضغط 1.5 باوند/انج² لمدة 15 دقيقة، ثم ترك ليبرد وصب في اطباق معقمه وحفظ في الثلاجه لحين الاستخدام

2- وسط ملح المانيتول (Mannitol Salt Agar)

خطوات التحضـــير : يتم اضـــافه المســـحوق إلى 1000 مل من الماء المقطر مع التحريك جيدًا.ويسخن المزيج مع التحريك حتى تذوب المكونات تمامًا ويصبح الوسط شفافًا.ويعقم بالمؤصدة عند 121°م، وضـــغط 1.5 باوند/انج² لمدة 15 دقيقة، ثم ترك ليبرد وصـــب في اطباق معقمه وحفظ في الثلاجه لحين الاستخدام

3- وسط اكار الدم (Blood Agar)

خطوات التحضير: يتم اذابة مسحوق الآكار كاملاً في الماء المقطر مع التحريك والتسخين حتى الذوبان التام.ويعقِّم الوسط بالمؤصدة عند 121°م، وضغط 1.5 باوند/انج² لمدة 15 دقيقة، ، بعد ذلك أُضيف إليه الدم بتركيز 5%، وحُرّك بعناية لتجنب تكسر كريات الدم ، وصُبّ في أطباق بتري معقمة، ثم تُرك ليتصلب (Ahmed, 2021).

4- وسط مكونكي (MacConkey Agar)

خطوات التحضـير: يتم اذابة جميع المكونات في لتر ماء مقطر.يسـخّن مع التحريك حتى الذوبان التام.ويعقّم بالمؤصـدة عند 121°م، وضـغط 1.5 باوند/انج² لمدة 15 دقيقة، ثم ترك ليبرد وصـب في اطباق معقمه وحفظ في الثلاجه لحين الاستخدام

5- أكار إيوسين أزرق الميثيلين(EMB)

خطوات التحضـــير : أضـــافة 1 غرام من الأزرق المثيلين إلى لتر ماء مقطر.ويحرّك جيداً حتى الذوبان الكامل.ويحفظ المحلول في زجاجة معتمة في درجة حرارة الغرفة ويتم التعقيم بالمؤصـــدة عند 121°م، وضـــغط 1.5 باوند/انج² لمدة 15 دقيقة، ثم ترك ليبرد وصـــب في اطباق معقمه وحفظ في الثلاجه لحين الاستخدام

6- اكار نيوترنت (Nutrient Agar)

يُذاب الأجار المغذي في الماء المقطر مع التحريك المسـتمر حتى يذوب تماماً ,ويعقّم بالمؤصـدة عند 121°م، وضـغط 1.5 باوند/انج² لمدة 15 دقيقة، ثم ترك ليبرد وصـب في اطباق معقمه وحفظ في الثلاجه لحين الاستخدام

(6-3) تشخيص العزلات البكتيرية Identification of bacterial isolates:

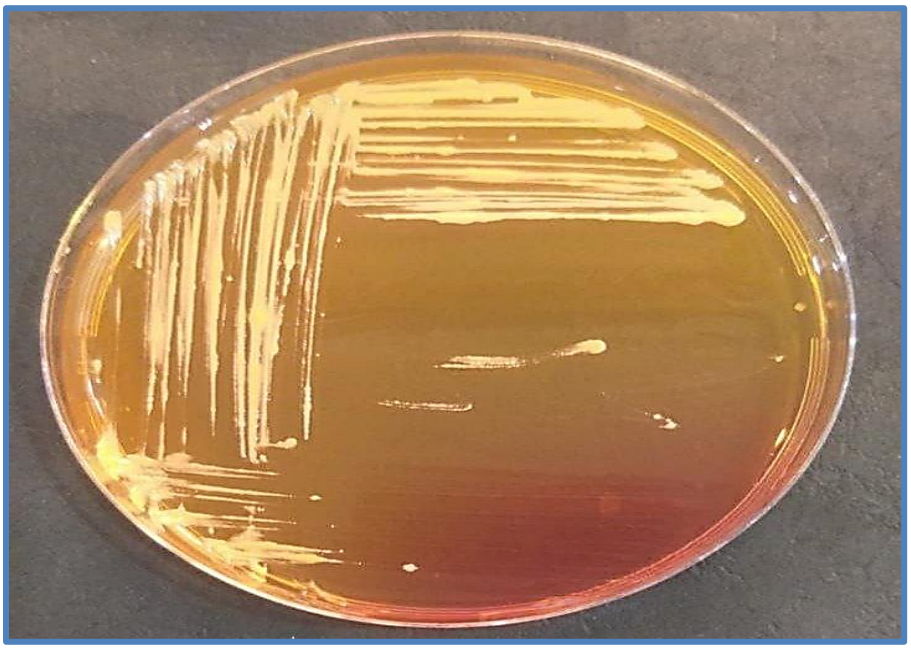
تم الحصول على العزلات البكتيرية **(E. coli , S. aureus)** مشخصة من مستشفى الطفل والولادة في ميسان، باستخدام جهاز **VITEK-2 Compact**.

يُستخدم الفحص بجهاز **VITEK-2 Compact** كاختبار تشخيصي تأكيدي، وبدقة تصل إلى 98%، إذ يقوم بإجراء ما يقرب من 64 اختبارًا كيميائيًا حيويًا للبكتيريا المراد اكتشافها. وعلى الرغم من حصولنا على العزلات مشخصة، ولكن لمزيد من التأكد من مطابقة العزلات، تم استخدام خطوات أخرى لتحديد هوية عزلات بكتيريا (***S. aureus***، ***E. coli***).

(1-6-3) تشخيص بكتريا المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*):

(1-1-6-3) الصفات المزرعية (Culture characteristics) :

تعتمد الخصائص المزرعية للمستعمرات النامية على الوسط من حيث لون المستعمرات وشكلها وحجمها ونوع حوافها وارتفاعها وكذلك تأثيرها في الوسط مثل تخمر المانتول وتم تنقيتها وذلك بإعادة زرعها على وسط الأكار المغذي ملح المانتول حضنت بدرجة حرارة (37) م ولمدة (24) ساعة. كما هو موضح في الشكل (3-3) :



شكل (3-3) بكتريا S. aureus المزروعة على وسط الأكار المغذي (Mannitol Salt Agar)

(2-1-6-3) الفحوصات الكيموحيوية Biochemical Test:

تم التحقق في الخصائص الكيميائية الحيوية من خلال إجراء بعض الاختبارات الكيميائية الحيوية بما في ذلك :

أ- فحص اختبار إنزيم الكاتليز (Catalase Test):

تم نقل جزء من مستعمرة صغيرة عمرها أقل من 24 ساعة بواسطة ناقل إلى شريحة زجاجية نظيفة ومعقمة، ثم تمت إضافة قطرة من بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بتركيز 3٪, ويتم ملاحظة النتائج اذا كانت النتيجة إيجابية (+): تكون مصحوبة بظهور فوران وفقاعات واضحة، وهذا يدل على وجود إنزيم الكاتليز في العينة.واذا كانت النتيجة سلبية (-): عدم ظهور الفقاعات، مما يعني غياب إنزيم الكاتليز.

(Atlas, 2018)

ب- اختبار انزيم الأوكسيديز (Oxidase Test):

تم نقل مستعمرة فتية بواسطة عصا خشبية معقمة إلى ورقة ترشيح مشبعة بالأوكسيديز. ويتم ملاحظة النتائج اذا كانت النتيجة إيجابية (+): ظهور لون أزرق داكن أو أرجواني خلال 10 ثوانٍ، مما يدل على وجود إنزيم الأوكسيديز. .واذا كانت النتيجة سلبية (-): عدم تغير اللون، يدل على غياب الإنزيم.

(Atlas, 2018)

ج- فحص إنتاج إنزيم محلل الدم (**Hemolysin Test**)

يتم هذا الاختبار عن طريق تلقيح وسط الدم الصلب (Blood agar) ببكتريا المكورات العنقودية الذهبية حيث يتم أخذ البكتريا من مزرعه حديثه ومن ثم تحضن عند 37 درجة مئوية ولمدة 24 ساعة. فإذا كان هناك تحلل للدم وضهرت منطقه شفافه فهذا يعني قدرة البكتريا على تحلل الدم وامتلاكها انزيم تحلل الدم واذا بقى الوسط أحمر طبيعي فيعني ان البكتريا لا تمتلك هذا الأنزيم

(Atlas, 2018)

(3-1-6-3) الخصائص المجهرية (Microscopical Characteristics)

لدراسة الخصائص المجهرية للبكتيريا المعزولة، أُجريت صبغة گرام وفقًا لطريقة (De la Maza *et al*., 2017) إذ أُخذت كمية صغيرة من مستعمرة بكتيرية ونُشرت بقطرة من محلول ملحي فسيولوجي على شريحة زجاجية، ثم ثُبّتت بالحرارة بتمريرها فوق اللهب عدة مرات وتم صبغها بصبغة الكريستال البنفسجية ، ثم عولجت باليود ، ثم أُزيل لونها بالكحول وأُضيف إليها السافرانين كخطوة أخيرة، ثم وُضع غطاء الشريحة ، وفُحصت تحت العدسة الزيتية للمجهر الضوئي . لدراسة خصائصها من حيث شكل الخلايا ، وتجمعها ،

وحجمها ، وترتيبها ، وتفاعلها مع الصبغة . اذا ظهرت بشكل كروي وذات لون بنفسجي واحتفظت باللصبغه فيدل هذا على ان هذه البكتريا هي بكتريا المكورات العنقودية الذهبية الموجبه الكرام المتحفضه بالصبغه

(2-6-3) تشخيص بكتريا *Escherichia coli* :

(1-2-6-3) الخصائص المزرعية (ColonialMorphology) والمظهرية (Morphological Characteristics):

تمت زراعة بكتيريا E. coli على وسط أگار مكونكي (MacConkey Agar) لتشخيص صفاتها المزرعية من حيث شكل المستعمرات وحجمها ولونها والرائحة الصادرة منها.

وتشمل الخصائص المورفولوجية شكل ونمو العزلات على وسط أگار إيوسين أزرق الميثيلين (EMB). تم أخذ مستعمرات على عروة معقمة وزرعها بشكل خطوط على آكار إيوسين أزرق الميثيلين وتم تسجيل الخصائص المظهرية بعد مدة حضانة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة.كما هو موضح في الشكل (3-4):

شكل (3-4) بكتريا *E.coli* المزروعة على وسط MacConkey Agar

(2-2-6-3) الفحص المجهري Microscopical Examination :

خضعت جميع العزلات للفحص تحت المجهر. تم إجراء صبغة گرام بوضع الحلقة بشكل كامل في المساحة المُحدَّدة من الماء على الشريحة. خلطت كمية صغيرة من البكتيريا مع الماء ونُشر الخليط، ثم

جُففت المسحة هوائياً وثُبِّتت بالحرارة بتمرير الشريحة ثلاث مرات بسرعة عبر لهب الموقد. بعد ذلك، صُبغت المسحة باستخدام صبغة كرام وتمت مشاهدتها تحت العدسة الزيتية.عندما تظهر بشكل عصوي وذات لون احمر او ارجواني فهذا يعني ان هذة البكتريا هي بكتريا القولون السالبة الغير محتفظة بالصبغة

(Moyes *et al*., 2009)

(7-3) تنشيط العزلات البكتيرية (Revitalization of Bacterial Isolates):

لتنشيط العزلات البكتيرية،ُحضَّر الوسط الغذائي السائل المناسب، مثل وسط نيوترنت بروث، وعقَّم باستخدام المؤصدة (Autoclave)، عند 121°C لمدة 15 دقيقة، وثم يُحضن البروث عند درجه حرارة 37°C لمدة 18-24 ساعة حتى تظهر المستعمرات البكتيرية.

(8-3) حفظ العزلات القصير الأمد Short term storage:

لقحت العزلات البكتيرية التابعة لبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية والبكتريا القولونية على وسط مولر هينتون بطريقة التخطيط، ثم تم حضن الأطباق لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37°م، وبعدها تم حفظها عند درجة حرارة 4°م. (Zhualnoon, 2019)

(9-3) التراكيز الفعالة (جسيمات أكسيد الزنك النانوية) ضد (*Staphylococcus aureus*) و(*Escherichia coli*):

باتباع الصيغة الرياضية للدراسة، تم تحضير وتحديد ثلاثة تراكيز من جسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) وهي : 75 ميكروغرام/مل، 150 ميكروغرام/مل، و250 ميكروغرام/مل وفقًا للمعادلة الرياضية الأتية :

$$C\left(\frac{g}{ml}\right) = \frac{W(g)}{V\,(ml)} \qquad (3-1)$$

تم فحص كل تركيز من جسيمات أكسيد الزنك النانوية باستخدام سلالتين قياسيتين من البكتيريا: المكورات العنقودية الذهبية (S. aureus) والإشريكية القولونية (E. coli).

لتقييم الفعالية التآزرية، تم دمج كل تركيز من جسيمات أكسيد الزنك النانوية مع حمضين عضويين بتركيز ثابت قدره 2%: حمض الستريك (Citric acid) وحمض البروبيونيك (Propionic acid)، بالإضافة إلى ذلك، تم تضمين مجموعة ضابطة تحتوي على جسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) فقط وايضا تم تضمين الحامض العضوي

ضمن مجموعة السيطرة (الضابطة) لتقييم تأثيره المستقل. تم بناء هذه المنهجية على أحدث الأساليب الموضحة في (Salman, 2022)، وكان الهدف منها تقييم الفعالية المثبطة لكل من العلاجات الفردية (ZnO NPs فقط) والعلاجات التآزرية (ZnO NPs مع الأحماض العضوية) وفقًا للإجراءات المخبرية القياسية المشار إليها في (Tilahun *et al*., 2023) .

بناءً على ما ورد في مراجعة (Sirelkhatim *et al*., 2015) فإن تراكيز ZnO النانوية 50 ميكروغرام/مل أو أعلى فهو الذي يبدأ عنده الظهور الحقيقي للتأثير المثبط أو القاتل لغالبية السلالات البكتيرية. بالتالي، تراكيز الدراسة (75 ميكروغرام/مل فما فوق) تقع ضمن النطاق الفعّال المعروف في الأدبيات العالمية، مما يدعم جدوى التركيزات المستخدمة في هذه الدراسة.

كما تم استخدام أكسيد الزنك (ZnO) مطابق لمواصفات دستور الأدوية الهندي (IP)، تم توفيره بواسطة شركة Loba Chemie Pvt. Ltd. حيث تم استخدامه بالتراكيز نفسها الثلاثه وتم مقارنه النتائج.

(3-10) اختبار منطقة التثبيط (Assay of Inhibition Zone) :

تم تلقيح الوسط الزرعي مولر هنتون اكار بالبكتيريا بطريقه الفرش لتغطية كامل سطح الوسط، ثم تم عمل حفر بواسطه الثاقب (5ملم) وتم ملئ الحفر ب100 مايكرولتر، حسب سمك الوسط من احد التراكيز المستخدمة لغرض المقارنة والتي هي:

1- ملئ حفرة واحده ب أكسيد الزنك النانوي ممزوج ب Distilled Water (D.W) كعنصر سيطرة

2- الأحماض العضوية المستخدمة (حامض الستريك و حامض البروبيونيك) بتركيز 2% كعنصر سيطرة

2- أكسيد الزنك النانوي + حامض السترك (Citric acid) ثم تم وضعها في الحاضنه لمدة 24 ساعة وعند 37 درجة مئوية.

وتم استخدام هذه التراكيز نفسها لكن هذه المرة تم ملئ الحفر جسيمات أكسيد الزنك النانوية مع حامض البروبيونيك (Propionic acid).

(3-11) اختبار حساسية المضادات الحيوية Antibiotic sensitivity testing:

تم تقييم حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية باستخدام طريقة أقراص الانتشار وفقًا لتوصيات معهد المعايير السريرية والمخبرية (**CLSI, 2021**) وطريقة كيربي-باور.

(**Kirby-Bauer, 2009**)

لإجراء الاختبار، تم تحضير معلق بكتيري لكل عزلة, تم أخذ مستعمرات معزولة بعمر 3-4 ساعات من طبق النمو وتم تعديل كثافة كل معلق بكتيري ليصبح مكافئًا لمعيار ماكفارلاند 0.5 باستخدام محلول ملحي فسيولوجي معقم.

تم بعد ذلك توزيع المعلق البكتيري بشكل متجانس على سطح أطباق بتري تحتوي على أكار مولرهينتون (**MH**) باستخدام مسحة معقمة لضمان تغطية كاملة للسطح. تُركت الأطباق لبضع دقائق (10-15 دقيقة) حتى يجف السطح. بعد ذلك، تم وضع مجموعة من أقراص المضادات الحيوية المختلفة بعناية على سطح الأكار باستخدام ملقط معقم ، مع التأكد من وجود مسافة كافية بين الأقراص لتجنب تداخل مناطق التثبيط. تم إجراء هذا الاختبار بشكل منفصل لكل من ***E. coli*** و ***S. aureus***.

حضنت الأطباق مقلوبة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 18-24 ساعة. بعد فترة التحضين، تم قياس قطر منطقة التثبيط لكل مضاد حيوي

قُورنت النتائج بالجداول العالمية المحددة من قبل **CLSI**، **FDA**، و **CDC** لتحديد مدى مقاومة أو حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية المختلفة. تم تسجيل النتائج لكل من ***S. aureus*** و ***E. coli*** بشكل منفصل.

(12-3) التحليل الإحصائي (Statistical analysis) :

تم إجراء التحليل الإحصائي للبيانات باستخدام تحليل التباين أحادي الاتجاه مع أقل فرق معنوي (Least Significant Difference) (LSD) باستخدام برنامج التحليل الإحصائي (برنامج الحزمة الإحصائية للعلوم الاجتماعية Statistical Package for Social Sciences (SPSS الإصدار 26، مع قيمة المعنوية $P \leq 0.05$.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results and discussion

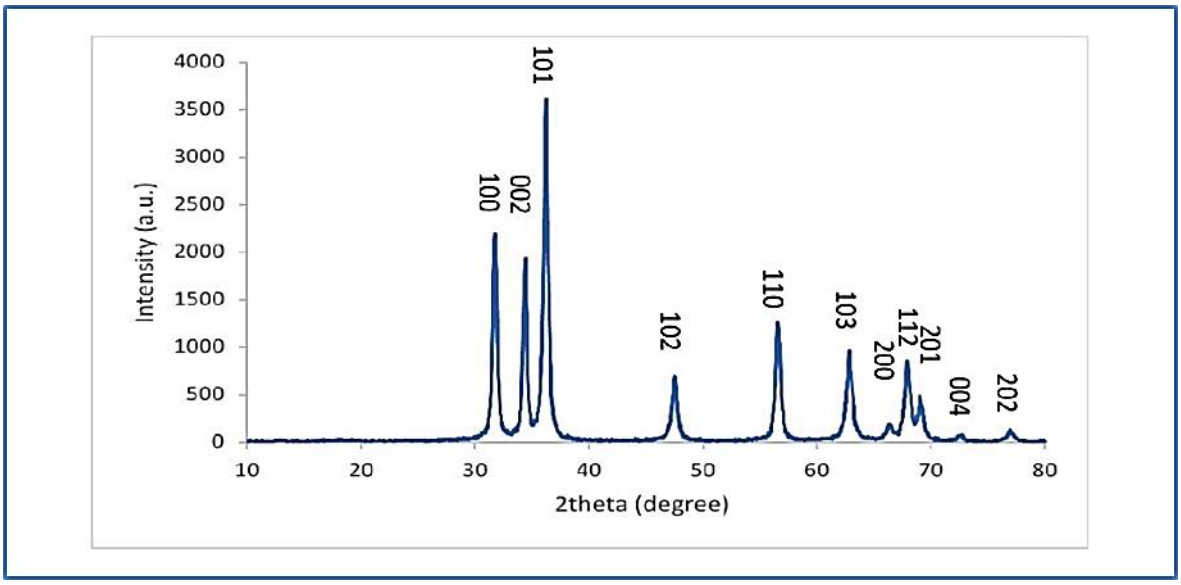
(4) النتائج:

(1-4) توصيف جسيمات أكسيد الزنك النانوية Characterization of Zinc Oxide Nanoparticles

(1-1-4) تحليل حيود الأشعة السينية (XRD) :

تم إجراء فحص حيود الأشعة السينية (XRD) للعينة المحضرة من أوكسيد الزنك النانوي بهدف تحديد التركيب البلوري وحجم البلورات النانوية. أظهرت النتائج ظهور قمم حيود حادة ومميزة عند زوايا (θ2) تساوي تقريبًا 31.7°، 34.4°، و36.3°وغيرها كما في الشكل رقم (1_4)، والتي تتوافق مع المستويات (100)، (002)، و(101) وفق بطاقة JCPDS رقم 36-1451 وهي مطابقة لأوكسيد الزنك النانوي، وتشير ايضا إلى أن العينة تمتلك بنية سداسية. تم حساب حجم البلورات باستخدام معادلة شيرر .

تؤكد النتائج التي تم الحصول عليها أن العينة تحتوي على بلورات بأحجام تتراوح بين نحو 19 إلى 39 نانومتر تقريبا. يشير تقارب حجم البلورات تجانسًا واضحًا في المادة المحضَّرة، مما يعكس دقة وضبط ظروف التحضير. كما أن الانتقال الطفيف في مواقع القمم مقارنة بالقيم القياسية قد يدل على وجود إجهادات مجهرية (microstrain) صغيرة في الشبكة البلورية أو شوائب قليلة جدا ناتجة من المواد المستخدمة بالتحضير. تؤكد هذه النتائج نجاح عملية التحضير وأن العينة المحضرة هي بالفعل أوكسيد الزنك النانوي ببنية سداسية مستقرة. الجدول رقم (1-4) يوضح زوايا القمم وما يقابلها من منتصف عرض القمة، معاملات ميلر وحجم البلورة بالنانومتر. وهذا يتفق مع ما وجده (Al-Janabi & Zhualnoon, 2019) (Salman, 2022) كما هو موضح في الشكل (1-4)



الشكل (1-4) نتائج تحليل حيود الأشعة السينية لجسيمات أكسيد الزنك النانوية

الجدول رقم (4-1) يوضح زوايا القمم وما يقابلها من منتصف عرض القمة، معاملات ميلر وحجم البلورة بالنانومتر.

تسلسل	2θ (°)	FWHM β	(hkl)	D حجم البلورة (nm)
1	31.7502	0.3542	(100)	23.32
2	34.4114	0.3149	(002)	26.41
3	36.2836	0.2755	(101)	30.34
4	47.6192	0.3149	(102)	27.57
5	56.6110	0.4723	(110)	19.10
6	62.8625	0.2362	(103)	39.42
7	66.4309	0.3936	(200)	24.13
8	67.9580	0.1574	(112)	60.87
9	69.0942	0.1574	(201)	61.28
10	72.6909	0.4723	(004)	20.88
11	76.9639	0.3936	(202)	25.78

الجدول (4-1) القمم في تحليل XRD

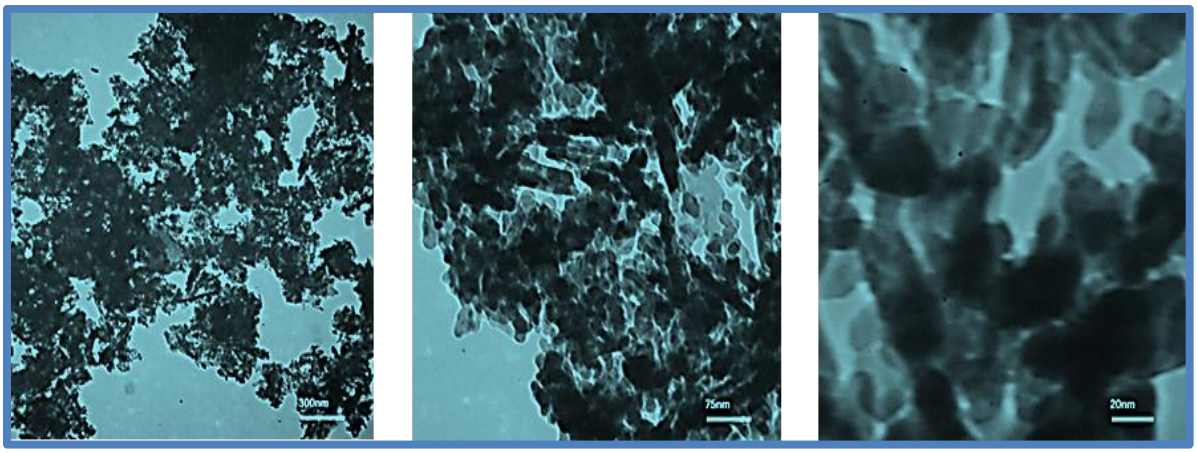
(4-1-2) نتيجة تحليل المجهر الإلكتروني النافذ (TEM) :

تم إجراء تحليل مجهري للجسيمات النانوية المحضّرة باستخدام المجهر الإلكتروني النافذ (TEM)، كما هو موضح في الشكل (4-2). تُظهر الصورة تكتلاً واضحًا لجسيمات نانوية ذات شكل غير منتظم يميل إلى الكروي والعصوي (rod-like)، بقطر يتراوح بين 20 إلى 50 نانومتر، وفقًا للمقياس (75 نانومتر). يشير التباين العالي في الصورة إلى أن المادة تتمتع بكثافة إلكترونية مرتفعة، ما يعكس غالبًا طبيعة معدنية أو أكسيدية للجسيمات مثل أكاسيد المعادن. كما يُلاحظ وجود تراكمات وتجمعات لجسيمات متعددة، مما قد يُعزى إلى قوى التداخل السطحي أو نقص في استخدام عوامل التثبيت أثناء التحضير. تتفق هذه النتائج مع ما توصل إلية

(Barzegari Firouzabadi *et* al., 2014)

تُعد هذه الخصائص المورفولوجية مهمة في تحديد كفاءة المادة النانوية في التطبيقات الطبية، حيث إن الحجم النانوي يسمح بالنفاذية العالية داخل الخلايا، كما أن الشكل العصوي أو الكروي قد يؤثر على آلية الامتصاص الحيوي وآلية التفاعل مع البكتيريا. ومن التطبيقات المحتملة لهذه الجسيمات استخدامُها في أنظمة توصيل الأدوية النانوية، أو كمضادات ميكروبية نانوية فعالة، نظرًا لقدرتها على اختراق الأغشية الخلوية وتعطيل الوظائف الحيوية للميكروبات. إن فهم التركيب البنيوي للجسيمات بهذا المستوى النانوي يوفّر أساسًا مهمًا لتقييم فعاليتها وسميتها الحيوية في التطبيقات الحيوية كما هو موضح في الشكل (4-2):

(Horgan *et* al., 2020)

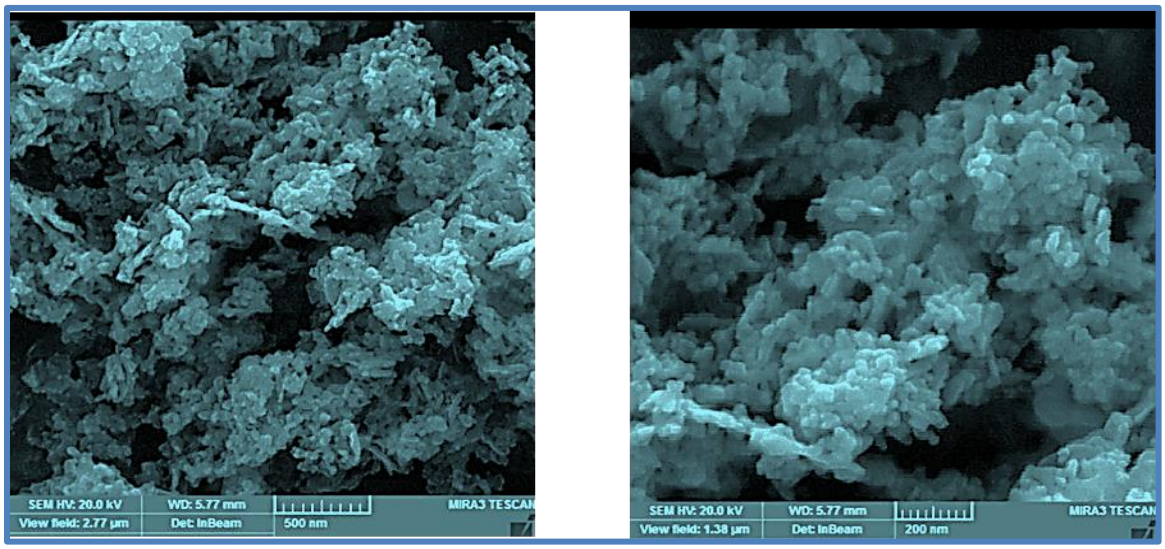


شكل (4-2) صور المجهر الإلكتروني النافذ (TEM) لجسيمات أكسيد الزنك النانوية

(4-1-3) نتيجة تحليل المجهر الإلكتروني الماسح (SEM) :

تم فحص عينة اكسيد الزنك النانوي المحضرة بتقنية الترسيب الكيميائي باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM)، وقد أظهرت الصور الناتج نجاح عملية التحضير بشكل واضح، حيث تبيّن أن معظم الجسيمات تقع ضمن النطاق النانوي، بتوزيع حجمي يتراوح بين 20 إلى 50 نانومتر كما مبين الشكل رقم (4-3). كما كشفت الصور عن تجانس نسبي في شكل الجسيمات، حيث كانت معظمها ذات شكل شبه كروية، مما يشير إلى انتظام جيد في عملية النمو البلوري اثناء عملية التحضير. إضافة إلى ذلك، لوحظ وجود مسامية واضحة على سطح العينة، وهو ما يُعد مؤشرًا مهمًا في تعزيز المساحة السطحية النوعية، وبالتالي زيادة الفعالية التفاعلية للمادة. تتفق هذه النتائج مع ما توصل إلية (Barzegari Firouzabadi *et* al., 2014)

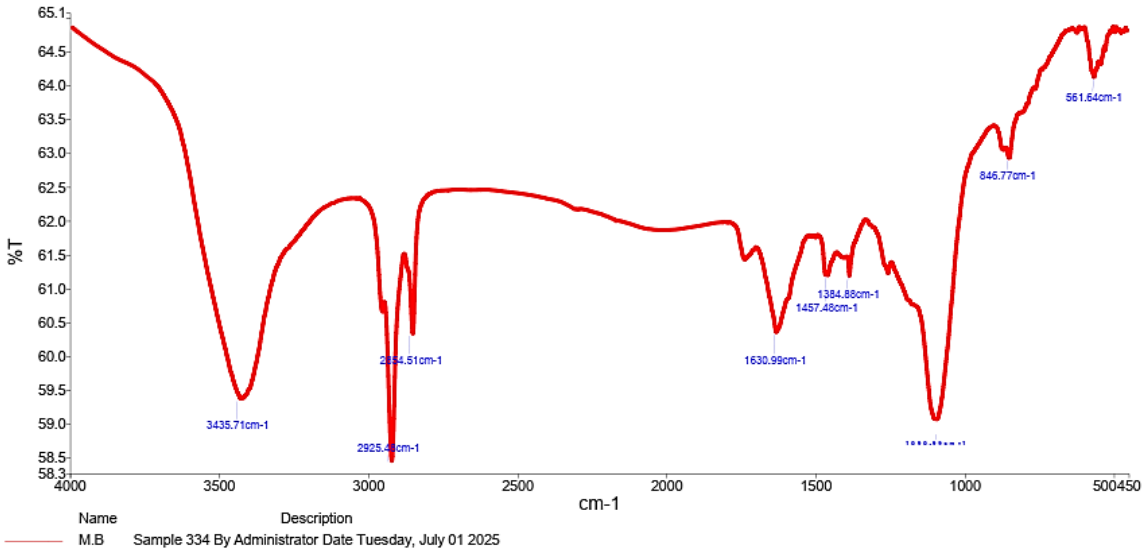
تُعد هذه الخصائص المورفولوجية ، والتي أظهرت خصائص بصرية وهيكلية داعمة للتطبيقات الحيوية. إن وجود هذه البنية النانوية المنتظمة والمسامية يعزز من قابلية استخدام المادة في التطبيقات الطبية والصحية، مثل أنظمة التوصيل الدوائي، والمواد المضادة للبكتيريا، والمستشعرات الحيوية، حيث تساهم البنية النانوية والمسامية في تعزيز التفاعل مع الخلايا أو الميكروبات المستهدفة. بناءً على هذه النتائج، يمكن تأكيد ملاءمة المادة المحضّرة للاستخدام في مجالات التكنولوجيا الحيوية والطب النانوي، مع إمكانية تطويرها مستقبلًا لتلائم تطبيقات أكثر تخصصًا.(Horgan *et* al., 2020) كما هو موضح في الشكل (4-3):



شكل (4-3): صور تحليل SEM لجسيمات أكسيد الزنك النانوية

(4-1-4) نتائج تحليل الأشعة تحت الحمراء بامتصاص فورييه (FTIR):

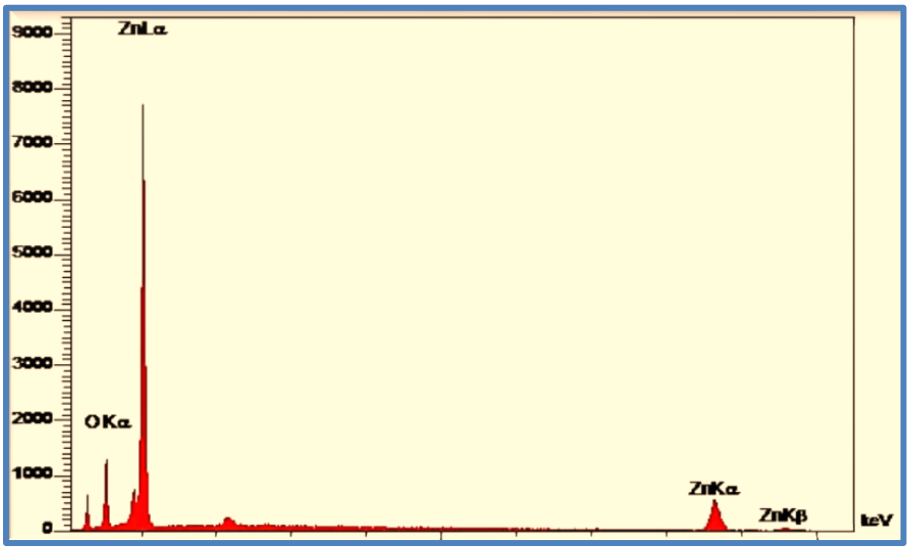
تم إجراء تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء (FTIR) لعينة أوكسيد الزنك النانوي المحضّرة، حيث أظهرت النتائج وجود عدة قمم مميزة تبين المجاميع الوظيفية الفعالة في العينة. ظهرت قمة عريضة عند 3435.71 cm^{-1} تعود إلى اهتزازات O–H التي يشير إلى وجود مجموعات الهيدروكسيل الناتجة عن امتصاص الماء أو الكحول المستخدم في التحضير. كما لوحظت قمم عند 2925.48 و2854.51 cm^{-1} تعود إلى اهتزازات C–H التمددية بالإضافة الى القمة 1630.99 cm^{-1} التي ُتعزى إلى اهتزازات C=O أو روابط C=C وهي مؤشر على وجود بقايا من المواد المستخدمة في التحضير. كذلك، ظهرت قمم عند 1457.48 و1384.88 cm^{-1} تعود إلى C–H لمجموعات الميثيل والميثيلين، والتي تعود المذيبات المستخدمة. القمة عند 1090.99 cm^{-1} تشير إلى اهتزازات C–O–C أو C–O، والتي تؤكد وجود مركبات كحولية. أما القمة عند 846.77 cm^{-1} تعود إلى اهتزازات لمجموعة =C–H في الحلقات الأروماتية. وأخيرًا، القمة المهمة عند 561.64التي cm^{-1} تُعزى إلى اهتزازات Zn–O، وهي القمة المميزة لأوكسيد الزنك، مما يؤكد تكون التركيب النانوي للمادة وتحقيق التركيب البنيوي المستهدف. تعكس هذه النتائج توافقًا واضحًا مع الخصائص الكيميائية المتوقعة لأوكسيد الزنك النانوي المحضّر، وتؤكد نجاح عملية التحضير كما هو موضح في شكل **(4-4)** .وهذا يتفق مع ما توصل إليه (Hosagowdar *et al.*, 2022) (Al-Musawi, 2023)



شكل (4-4) مخطط لنتيجة تحليل FTIR

(5-1-4) نتيجة تحليل تشتت الطاقة للأشعة السينية (EDX) :

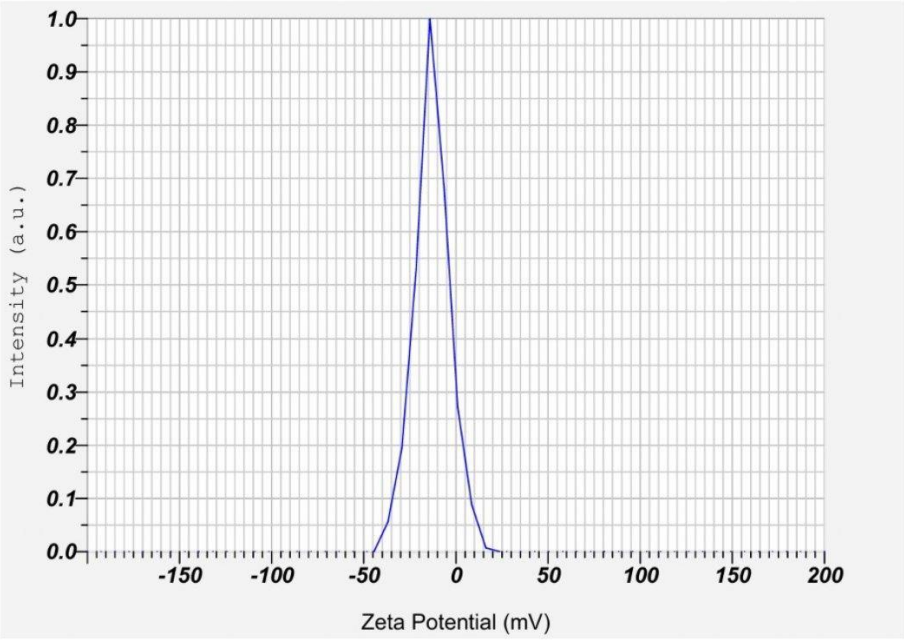
تم إجراء تحليل (EDX) للعينة لتحديد التركيب العنصري ودعم نتائج فحص حيود الأشعة السينية. أظهر الطيف وجود قمم مميزة لعناصر الزنك (Zn) والأكسجين (O)كما في الشكل (4-5)، مما يؤكد أن العينة تتكون أساسًا من أوكسيد الزنك من دون وجود شوائب ملحوظة. القمم الحادة للزنك تشير إلى نقاء عالٍ في التركيب، بينما تشير النسبة الذرية Zn:O إلى قربها من النسبة المثالية (1:1) لأوكسيد الزنك. عدم ظهور قمم لعناصر إضافية يدل على كفاءة عملية التحضير وعدم تلوث العينة في أثناء التحضير.تتفق هذه النتائج مع ما اتوصل إلية (Zahoor *et* al., 2023) كما هو موضح في الشكل **(4-5)**



شكل (4-5) طيف تحليل EDX يوضح توزيع عناصر Zn وO في عينة أكسيد الزنك النانوية

(6-1-4) نتيجة قياس فرق الجهد السطحي (Zeta Potential) لجسيمات أكسيد الزنك النانوية:

تم إجراء فحص الجهد السطحي (Zeta Potential) للمادة النانوية بهدف تقييم الاستقرار في المحلول الغروي للنظام النانوي، حيث أظهرت النتائج شحنة سالبة للجسيمات وبقيمة تقدر بحوالي 12.9- ملي فولت. تشير الشحنة السطحية السالبة للجسيمات وجود بعض التنافر الكهرو ستاتيكي بين الجسيمات في الوسط المعلق. ومع ذلك، فإن القيم المسجلة تقع ضمن النطاق الأقل من ±30 ملي فولت، والذي يُعتبر عادةً مؤشرًا على استقرار ضعيف إلى متوسط للمعلقات النانوية. بالتالي، فإن استقرار النظام النانوي محدود، مما قد يؤدي إلى حدوث تكتلات أو ترسيب بمرور الوقت. السبب القيمة القليلة الى الجهد السطحي للجسيمات يعود الى ظروف تحضير العينة، مثل الرقم الهيدروجيني، أو تراكيز العوامل المختزلة أو المثبِّتة، والتي تؤثر بدورها على شحنة السطح وخصائص التشتت. توضح هذه النتائج أهمية تحسين ظروف التحضير او إضافة مثبتات اثناء او بعد عملية التحضير لزيادة الاستقرار، خاصة في التطبيقات الحيوية أو البيئية التي تتطلب استقرارًا عاليًا للجسيمات. وهذا يتفق مع (Aadim & Abbas, 2023)و كما هو موضح في الشكل **(6-4)**

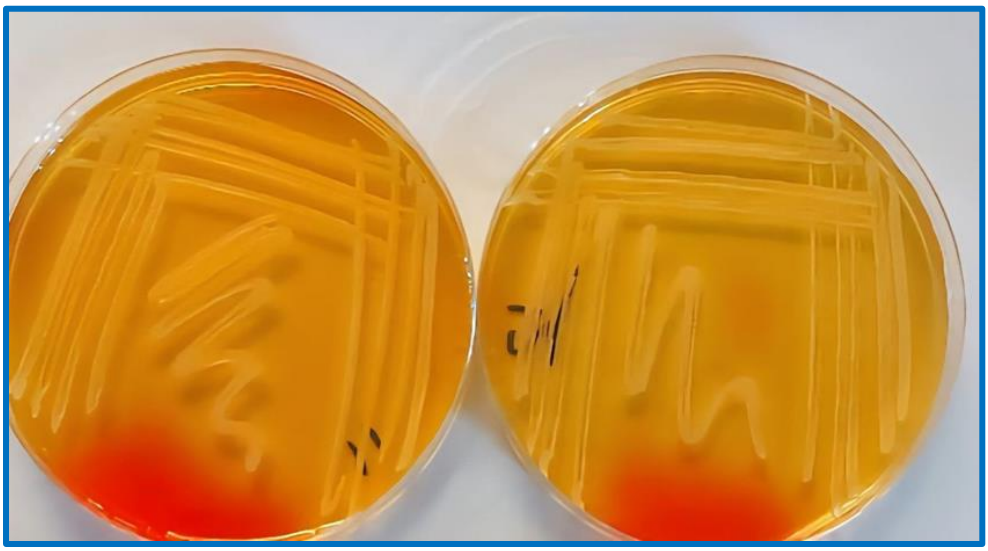


شكل (6-4) قياس فرق الجهد السطحي (Zeta Potential) لعينة من جسيمات أكسيد الزنك النانوية

(2-4) تشخيص بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية(*S.aureus*)

(1-2-4) الخصائص المزرعية (Colonial Morphology):

ظهرت المستعمرات البكتيرية على شكل مستعمرات صغيرة، ذات حواف حادة، محدبة، وذات لون أصفر ذهبي عندما نمت على وسط أكار المانيتول الملحي الذي يحتوي على 6.5% من الملح مع تخمير المانيتول، وتغير لون الوسط من الوردي إلى الأصفر كما هو موضح في الشكل (4-7)



شكل(4-7) نمو بكتيريا *S. aureus* على وسط أكار المانيتول الملحي (MSA).

(2-2-4) الفحوصات الكيموحيوية (Biochemical Test) :

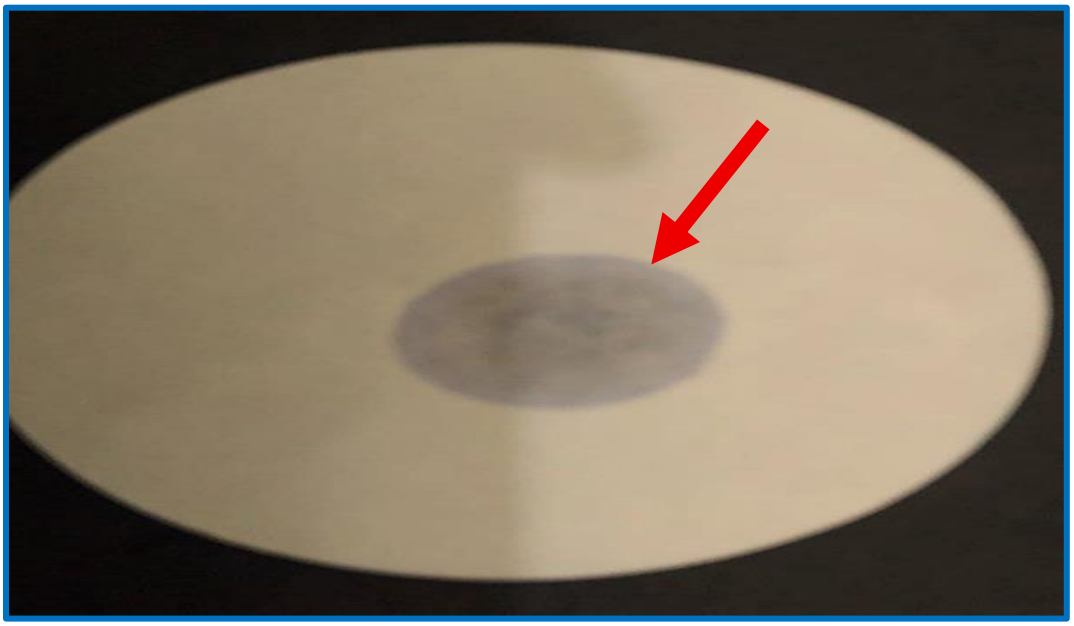
1- اختبار الكاتليز (Catalase Test):

أظهرت العزلات البكتيرية المختبرة نتيجة إيجابية لاختبارالكاتليز، إذ لوحظ ظهور فقاعات غازية فور إضافة بيروكسيد الهيدروجين، وهذا يشير إلى قدرتها على إنتاج إنزيم الكاتليز.**كما في الشكل (4-8)**

شكل (4-8) اختبار الكاتليز (Catalase Test)

2- اختبار انزيم الأوكسيديز (Oxidase Test) :

أظهرت العزلات البكتيرية المختبرة نتائج إيجابية لاختبار الأوكسيديز، إذ لوحظ تشكل اللون الأزرق خلال فترة تتراوح من(10 – 20)ثانية.كما هو موضح في **شكل (4-9)**



شكل (4-9) اختبار الأوكسيديز (Oxidase Test)

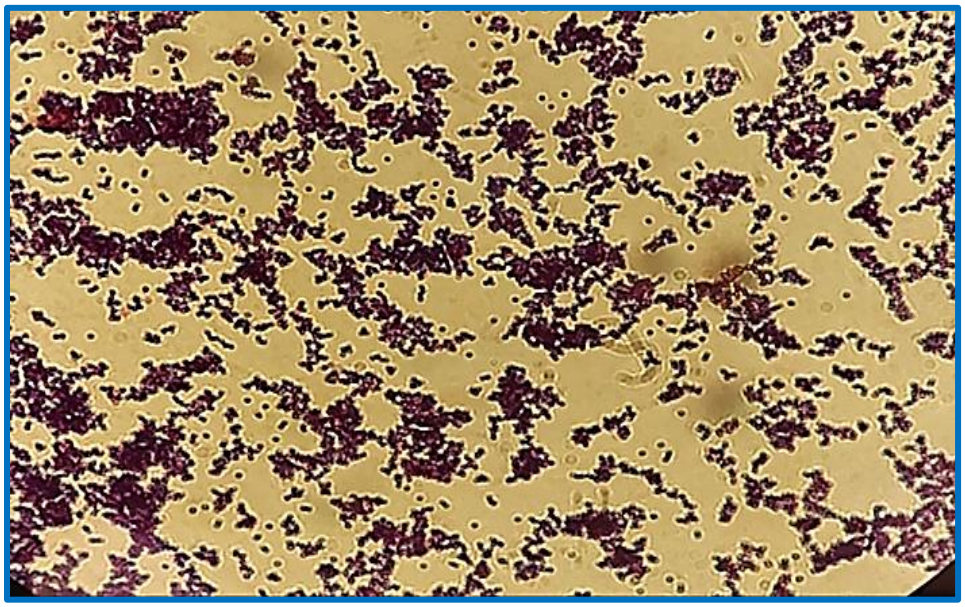
3- فحص إنتاج إنزيم محلل الدم (Hemolysin Test):

أظهرت العزلات البكتيرية المختبرة قدرة على إنتاج انزيم تحلل الدم من النوع بيتا (β)،حيث لوحظ تشكل مناطق شفافة كاملة حول المستعمرات على أكارالدم.كما في **شكل (4-10)**

شكل (4-10) : نمو المكورات العنقودية الذهبية على وسط Blood agar

(4-2-3) التشخيص المجهري (Microscopical Examination) :

أظهرت نتائج الفحص المجهري أن الخلايا البكتيرية المعزولة كروية الشكل، وتترتب في تجمعات عنقودية، وإيجابية لصبغة گرام، إذ فحصت تحت المجهر الضوئي (Alsalmi, 2014)، كما هو موضح في الشكل(4-11).



شكل (4-11) المكورات العنقودية الذهبية S. aureus تحت المجهر الضوئي

(4-2-4) فحص Vitek-2 Compact :

أُجريت اختبارات Vitek-2 Compact على العزلات وتم تحديد العزلات على أنها S.aureus وكانت النتائج كما في الشكل (4-12).

Identification Information	Analysis Time: 5.85 hours	Status: Final
Selected Organism	Staphylococcus aureus	
ID Analysis Messages		

Susceptibility Information	Analysis Time: 10.97 hours	Status: Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Benzylpenicillin	>= 0.5	R	Teicoplanin	8	S
Oxacillin	>= 4	R	Vancomycin	4	I
Gentamicin	4	*R	Tetracycline	>= 16	R
Tobramycin	2	*R	Tigecycline	0.5	S
Levofloxacin	2	I	Nitrofurantoin	32	S
Moxifloxacin	0.5	S	Fusidic Acid	16	R
Erythromycin	>= 8	R	Rifampicin	1	*R
Clindamycin	4	R	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 10	S

*= AES modified **= User modified

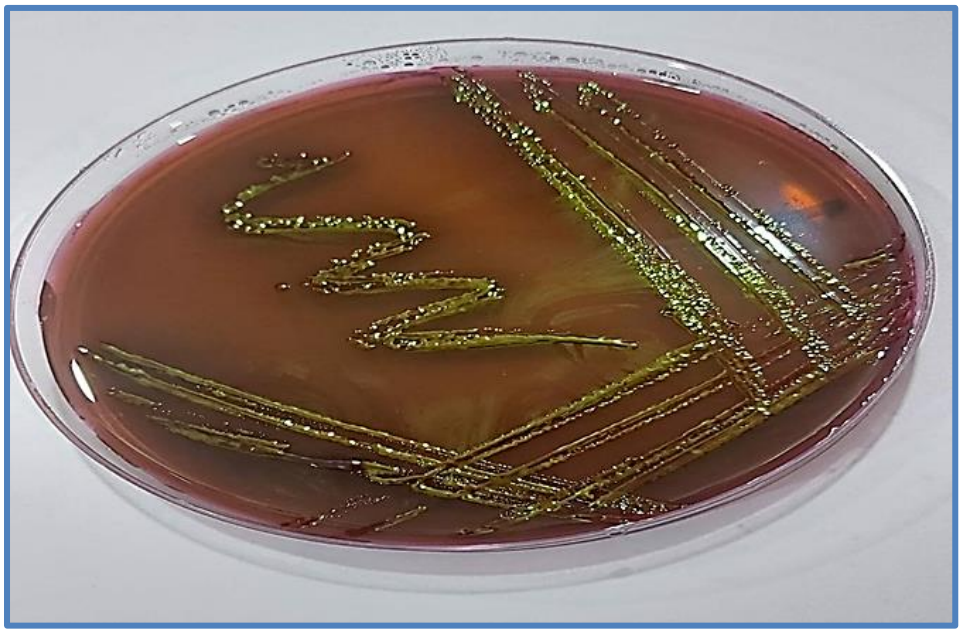
AES Findings	
Confidence:	Consistent

شكل (4-12) نتيجة جهاز Vitek 2 compact لتشخيص بكتريا المكورات العنقودية الذهبية (S.aureus)

(4-3) تشخيص بكتريا القولونية(*E.coli*):

(4-3-1) الخصائص المزرعية (Colonial Morphology) والمظهرية (Morphological Characteristics) :

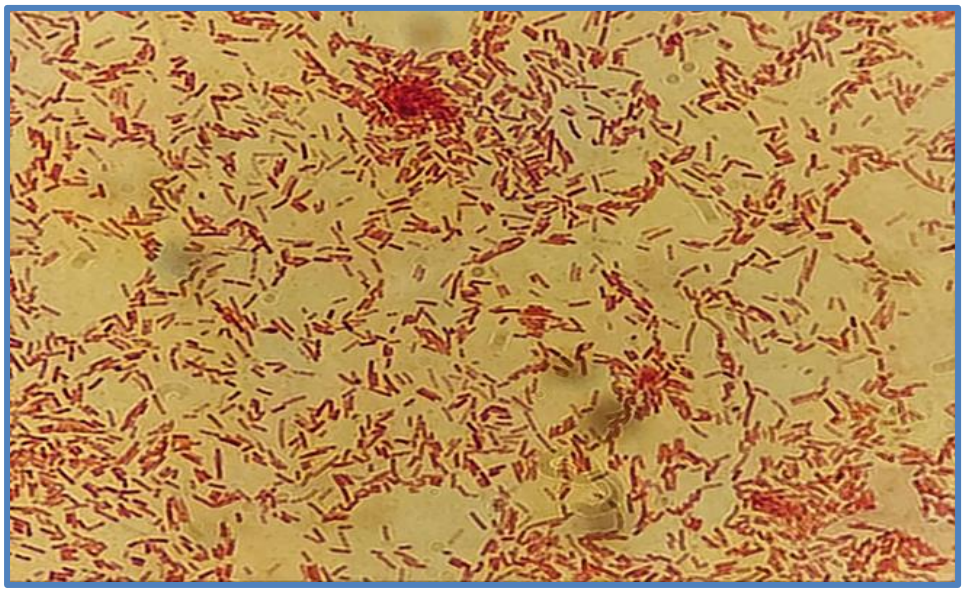
لغرض تشخيص بكتيريا (E. coli) ، تم التعرف على الخصائص المزرعية للعزلات وذلك بعد زراعتها على وسط ماكونكي (MAC) . أما صفاتها المظهرية ، فقد تم تقييمها بعد زراعتها على وسط أكار إيوسين أزرق الميثيلين (EMB) وبعد حضانة أطباق آجار EMB عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة، ظهرت المستعمرات ببريق أخضر معدني مميز، كما هو موضح في الشكل (4-13). و هذه الخاصية تُعد دليلاً رئيسياً ومؤكداً على وجود بكتيريا *Ecoli*. ، وهذا يتوافق مع (Pradeep *et al*., 2022)



شكل (4-13) بكتيريا الإشريكية القولونية (E. coli) على أكار EMB.

(4-3-2) التشخيص المجهري (Microscopical Examination) :

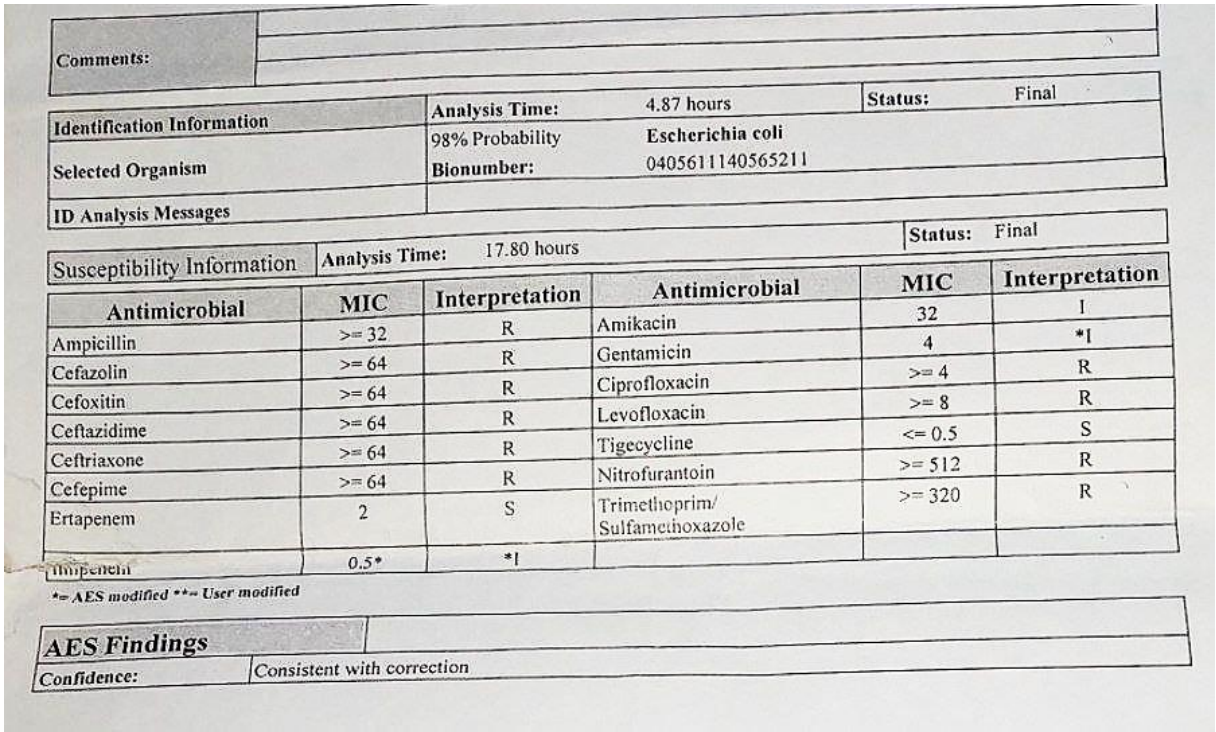
أظهرت نتائج الفحص المجهري ان الخلايا كانت على شكل عصيات وردية اللون، رفيعة أو بيضاوية الشكل، ذات أطوال قصيرة إلى متوسطة، مستقيمة أو منحنية قليلاً، وغير مكونة للأبواغ. قد تظهر بشكل فردي أو في أزواج. تشير هذه النتيجة إلى أن البكتيريا كانت بكتيريا سالبة لصبغة گرام (Levinson *et al*., 2018) كما موضح في الشكل **(4-14)**



شكل (4-14) الإشريكية القولونية *E.coli* تحت المجهر الضوئي

(4-3-3) فحص Vitek-2 Compact:

أُجريت اختبارات Vitek-2 Compact على العزلات وتم تحديد العزلات على أنها *Escherichia coli*. وكانت النتائج كما في الشكل (4-15)



Comments:

Identification Information	Analysis Time:	4.87 hours	Status:	Final
Selected Organism	98% Probability	Escherichia coli		
	Bionumber:	0405611140565211		
ID Analysis Messages				

Susceptibility Information	Analysis Time:	17.80 hours	Status:	Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Ampicillin	>= 32	R	Amikacin	32	I
Cefazolin	>= 64	R	Gentamicin	4	*I
Cefoxitin	>= 64	R	Ciprofloxacin	>= 4	R
Ceftazidime	>= 64	R	Levofloxacin	>= 8	R
Ceftriaxone	>= 64	R	Tigecycline	<= 0.5	S
Cefepime	>= 64	R	Nitrofurantoin	>= 512	R
Ertapenem	2	S	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	>= 320	R
Imipenem	0.5*	*I			

*= AES modified **= User modified

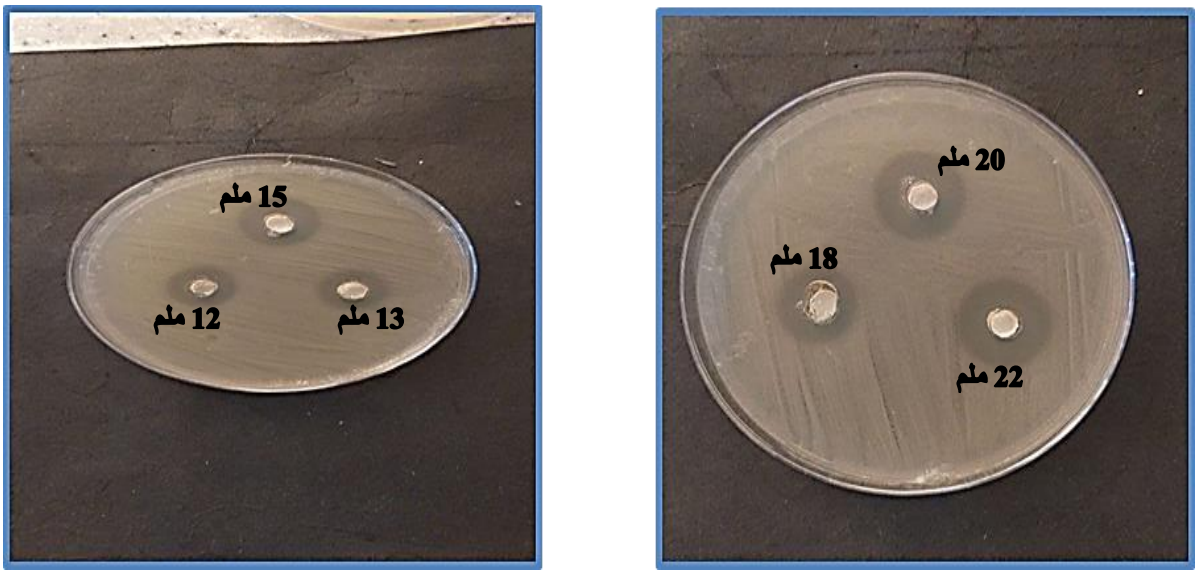
AES Findings

Confidence: Consistent with correction

شكل (4-15) نتيجة جهاز Vitek 2 compact لتشخيص بكتريا الإشريكية القولونية (*E. coli*)

(4-4) النشاط المضاد للبكتيريا Antibacterial Effect:

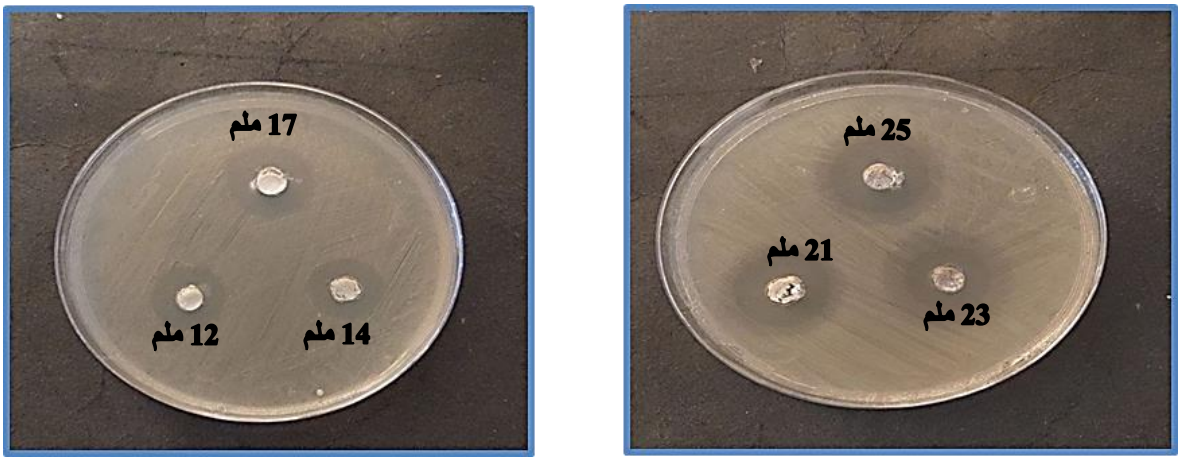
في هذه الدراسة، تم استخدام أكسيد الزنك غير النانوي ، بالإضافة إلى أكسيد الزنك النانوي المحضر مختبريا، حيث أُجريت مقارنة بين تأثير كلا الشكلين على تثبيط نمو بكتيريا القولونية والمكورات العنقودية الذهبية. وأظهرت النتائج تفوق أكسيد الزنك النانوي بفعالية أكبر في قتل البكتيريا، وهو ما يتوافق مع الأدبيات العلمية التي تشير إلى أن للجسيمات النانوية مساحة سطحية أكبر ونشاط مضاد بكتيري أعلى وتتوافق مع ما توصل إليه (Emami-Karvani & Chehrazi, 2011) الذي أثبت أن أكسيد الزنك النانوي أظهر تأثيرًا مضادًا للبكتيريا أعلى بكثير مقارنة بأكسيد الزنك التقليدي (غير النانوي).وكما موضح في الشكل (4-16) (4-17)



(A) (B)

شكل رقم (4-16)

(A) تأثير أكسيد الزنك غير النانوي على بكتيريا ***S. aureus***
(B) تأثير أكسيد الزنك النانوي على بكتيريا ***S. aureus***



(A) (B)

شكل رقم (4-17)

(A)تأثير أكسيد الزنك غير النانوي على بكتيريا القولونية (***E. coli***)

(B)تأثير أكسيد الزنك النانوي على بكتيريا الإشريكية القولونية (***E. coli***).

ولغرض زيادة فعالية أكسيد الزنك النانوي ضد البكتريا فقد تم مزجة في هذه الدراسة مع عدد من الأحماض العضوية .

(5-4) دراسة تراكيز مختلفة من المادة النانوية Study of different concentrations of nanomaterial:

في هذه الدراسة، تم استخدام ثلاثة تركيزات مختلفة من المادة الثانوية وهي 250 ميكروغرام/مل، 150 ميكروغرام/مل، و75 ميكروغرام/مل. ثم تم مزج هذه التركيزات مع نوعين من الأحماض العضوية، مع حمض البروبيونيك و مع حمض الستريك.

وتمت مقارنة التأثير التآزري لكل منهما مع المضادات الحيوية، حيث تم استخدام مضاد للبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية ومضاد للبكتيريا القولونية وذلك لنرى مدى فاعلية المواد المختبرة.

وأظهرت النتائج اختلافًا واضحًا في قدرة المواد المختبرة على تثبيط نمو البكتيريا وذلك حسب درجة التركيز وحسب نوع الحامض المستخدم في المزج .

(6-4) قابلية حامض البروبيونيك على تثبيط نمو بكتيريا القولونية(*E.coli*) :

توضح النتائج في الشكل المرفق أن تأثير حمض البروبيونيك وحده عند تركيز 2% على تثبيط نمو بكتيريا E.coli كان 12.8 ± 0.42 ملم.

(4-6- 1) قابلية اكسيد الزنك النانوي في تثبيط بكتريا القولون

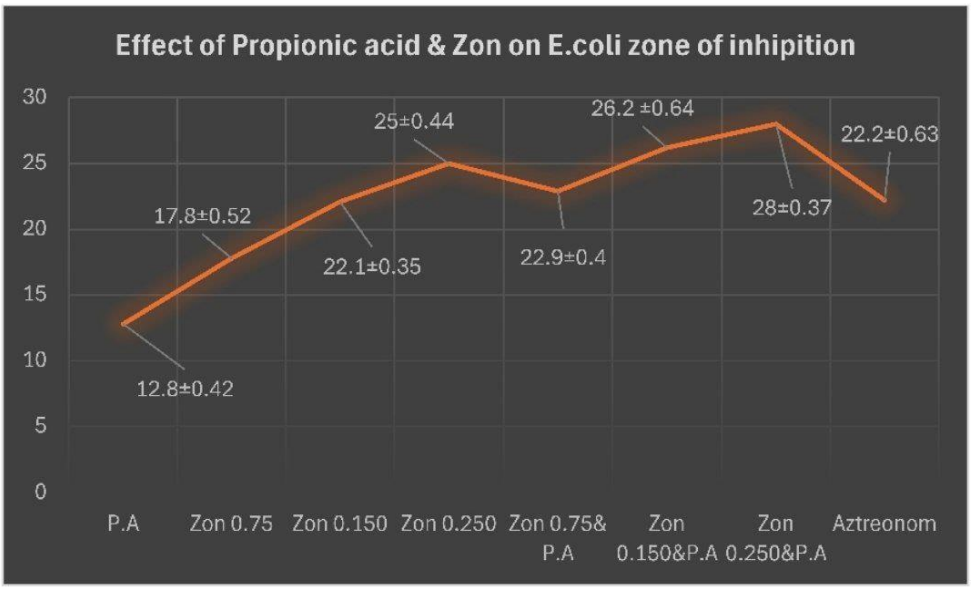
عند استخدام أكسيد الزنك النانوي أظهر فعالية افضل خاصة مع تزايد تركيزه. فعند التركيز 0.075، بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط 17.8 ± 0.52 ملم، وعند التركيز 0.150 وصل إلى 22.1 ± 0.35 ملم، واستمر بالارتفاع إلى 25 ± 0.44 ملم عند التركيز 0.250، وهذا يشير على وجود علاقة طردية بين تركيز أكسيد الزنك النانوي وفعاليته في تثبيط نمو البكتيريا.

(2-6-4) التأثير المدمج لحامض البروبيونيك و اكسيد الزنك النانوي في تثبيط بكتريا القولون

عند دمج حامض البروبيونيك مع أكسيد الزنك النانوي، فقد لوحظت تغيرات واضحة في الفعالية المثبطة. فعند التركيز 0.075 لأكسيد الزنك مع حمض البروبيونيك، بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط 22.9 ± 0.4 ملم، وهو يفوق التأثير الناتج عن استخدام كل منهما على حدة. وعند التركيز 0.150 ارتفع قطر التثبيط بشكل ملحوظ ليبلغ 26.2 ± 0.64 ملم، مما يشير إلى تأثير واضح جدا بين المادتين. ،وفي التركيز الأعلى 0.250 ارتفعت الفعالية لتصل إلى 28 ± 0.37 ملم، والذي يدل على تحسن أكبر ويشير إلى فعالية تثبط افضل عند هذا التركيز.

وبالمقارنة مع المضاد الحيوي القياسي، الأزتريونام (Aztrenom)، الذي بلغ متوسط قطر تثبيطه 22.2 ± 0.63 ملم، ومن هذا يتضح أن فعالية مزج أكسيد الزنك النانوي مع حمض البروبيونيك عند التركيزين 0.150 و0.250 قد فاقت فعالية المضاد الحيوي، فقد وصلت إلى 26.2 ± 0.64 ملم و28

± 0.37 ملم على التوالي. وهذا يشير إلى أن هذا المزيج يمكن أن يكون بديلاً معززًا أواعدًا للمضادات الحيوية التقليدية في مكافحة بكتيريا القولونية.كما هو موضح في الشكل **(4-18)**



شكل رقم (4-18): التأثير المثبط لحمض البروبيونيك (P.A) وأوكسيد الزنك النانوي (ZnO N) والمزيج منهما على بكتيريا *E. coli*.
يوضح الرسم البياني الخطي مقارنة بين تأثير كل مادة على حدة.

(A) (B) (C)

شكل رقم (4-19)

(A) تأثير حمض البروبيونيك بتركيز 2% على نمو بكتيريا الإشريكية القولونية (*E. coli*)

(B) التأثير المشترك لأكسيد الزنك النانوي وحمض البروبيونيك على نمو بكتيريا الإشريكية القولونية (*E. coli*)

(C) تأثير المضاد الحيوي أزتريونام (Aztreonam) على نمو بكتيريا الإشريكية القولونية (*E. coli*)

(4-7) قابلية حامض البروبيونك على تثبيط نمو بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*):

ظهرت النتائج في الشكل المرفق أن حمض البروبيونيك وحده بتركيز 2% قد أظهر تأثير ضعيفا على تثبيط نمو بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية، حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط 12.0 ± 0.37 ملم.

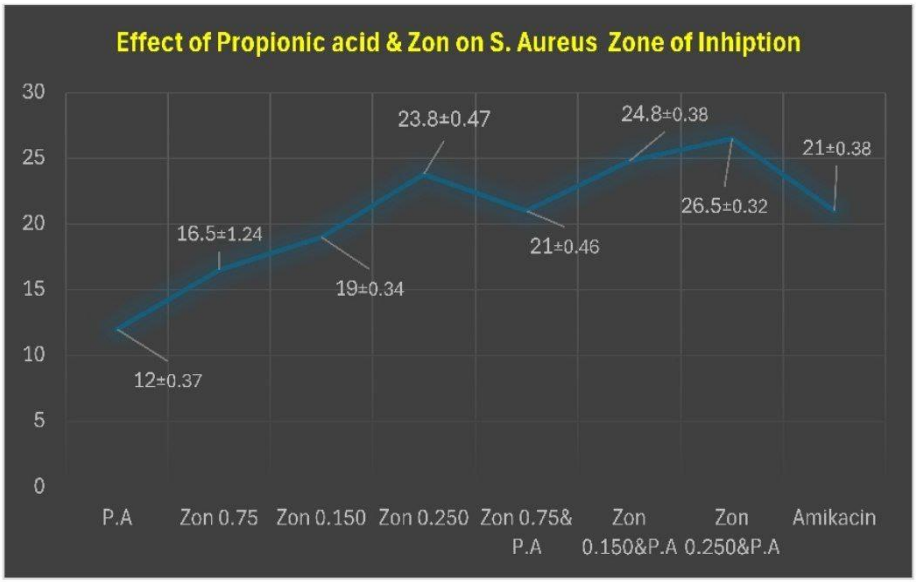
(4-7-1) قابلية اكسيد الزنك النانوي في تثبيط بكتريا المكورات العنقودية الذهبية

أكسيد الزنك النانوي أظهر فعالية واضحة وتزداد مع زيادة التركيز. فقد بلغ قطر التثبيط 16.5 ± 1.24 ملم عند التركيز 0.075، وارتفع إلى 19.0 ± 0.34 ملم عند التركيز 0.150، وكانت أقصى فعالية بقطر 23.8 ± 0.47 ملم عند التركيز 0.250، وهذا يدل على أن زيادة تركيز أكسيد الزنك النانوي تعزز من قدرته على تثبيط البكتيريا.

(4-7-2) التأثير المدمج لحامض البروبيونيك واوكسيد الزنك النانوي في تثبيط بكتريا المكورات العنقودية الذهبية

عند مزج حمض البروبيونيك مع أكسيد الزنك النانوي، فقد لوحظ تحسنا واضحا في مساحة تثبط المكورات العنقودية الذهبية. فعند التركيز 0.075 ابلغ قطر التثبيط إلى 21.0 ± 0.46 ملم مقارنةً بالفعالية عند استخدام أكسيد الزنك النانوي وحده. وعند التركيز 0.150 (P.A&Zon 0.150)، زادت فعاليته بشكل اوضح حيث بلغت 24.8 ± 0.38 ملم، وهذا يشير إلى تأثير إيجابي واضح بين المادتين عند خلطهما. واستمرت الفعالية في الزيادة لتصل إلى أعلى قيمة لها بقطر 26.5 ± 0.32 ملم عند التركيز الأعلى 0.250 ، وهذا يؤكد أن هذا المزيج في هذا التركيز يمتلك أقوى فعالية مثبطة ضد بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية.

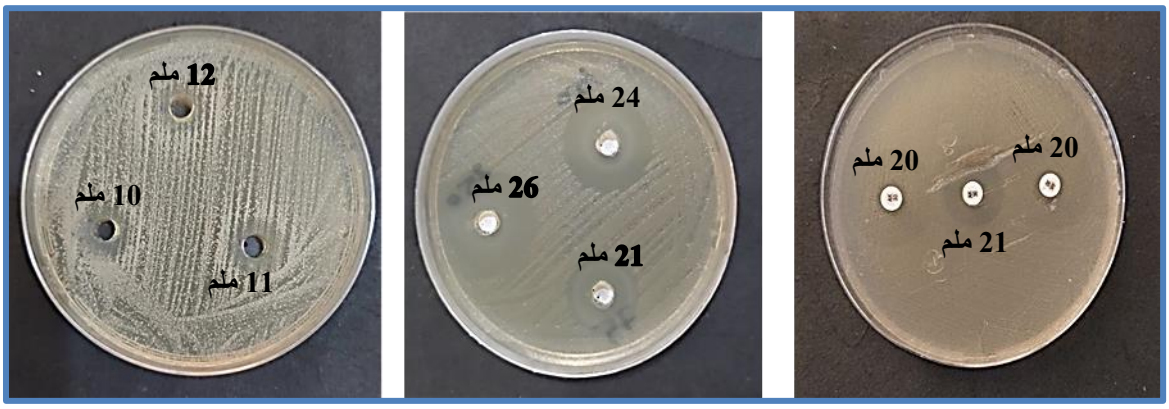
وبالمقارنة مع المضاد الحيوي الأميكاسين (Amikacin)، والذي أظهر قطر تثبيط يبلغ 21.0 ± 0.38 ملم، يتضح أن فعالية مزج حمض البروبيونيك مع أكسيد الزنك النانوي عند التركيز 0.150 (24.8 ± 0.38 ملم) و 0.250 (26.5 ± 0.32 ملم) فاقت بشكل كبير فعالية المضاد الحيوي القياسي، وهذا يشير إلى أن هذا المزيج يمكن أن يكون بديلاً واعدا في مكافحة بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية.كما هو موضح في الشكل **(4-20)**



شكل رقم (4-20): التأثير المثبط لحمض البروبيونيك (P.A) وأوكسيد الزنك النانوي (ZnO N) والمزيج منهما على بكتيريا S.aureus

(A)يوضح الرسم البياني الشريطي مقارنة بين تأثير كل مادة على حدة

(B)يوضح الرسم البياني الخطي مقارنة بين تأثير كل مادة على حدة.



(A) (B) (C)

شكل رقم (4-21)

(A) تأثير حمض البروبيونيك بتركيز 2% على نمو بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*)

(B) التأثير المشترك لأكسيد الزنك النانوي وحمض البروبيونيك على نمو بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*)

(C) تأثير المضاد الحيوي أميكاسين (Amikacin) على نمو بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*)

(8-4) تأثير تراكيز مختلفة من مزيج حمض البروبيونيك وجسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) على قطرمنطقة التثبيط لبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*) والإشريكية القولونية (*E. coli*).

تشير النتائج الموضحة إلى تأثير استخدام حمض البروبيونيك وأكسيد الزنك النانوي (ZnO NPs) بشكل منفرد، بالإضافة إلى التأثير التآزري للمزيج بينهما، على قطر منطقة التثبيط لبكتيريا S. aureus و E. coli.

لوحظ أن حمض البروبيونيك بمفرده عند تركيز 2% أحدث تثبيطًا طفيفًا على نمو بكتيريا *E. coli* بمتوسط قطر منطقة تثبيط بلغ حوالي 12.8 ± 0.42 ملم، بينما كانت الفعالية أقل على بكتيريا *S. aureus* حيث بلغ القطر حوالي 12.0 ± 0.37 ملم.

أما عند استخدام أكسيد الزنك النانوي وحده عند التركيز 0.075، فقد ارتفع متوسط قطر منطقة التثبيط إلى 17.8 ± 0.52 ملم على E. coli و16.5 ± 1.24 ملم على *S. aureus*، مما يعكس تحسنًا ملحوظًا مع بداية استخدام الجسيمات النانوية.

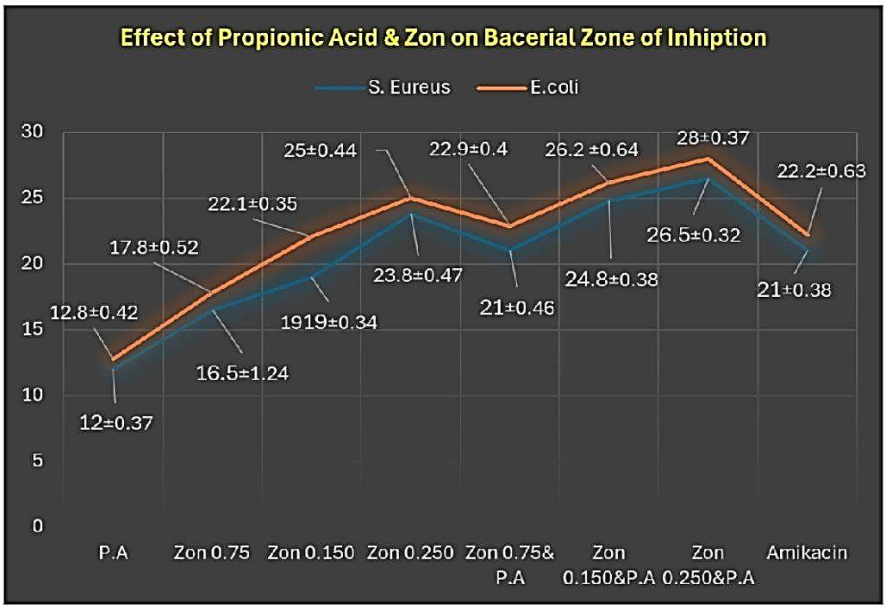
وبزيادة تركيز أكسيد الزنك النانوي إلى 0.150، ارتفع قطر التثبيط إلى 22.1 ± 0.35 ملم على E. coli و19 ± 0.34 ملم على *S. aureus*، واستمر في الارتفاع ليصل إلى 25 ± 0.44 ملم على بكتريا الإشريكية القولونية و23.8 ± 0.47 ملم على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية على التوالي وذلك عند التركيز 0.250، موضحًا علاقة طردية بين تركيز النانو وفعالية التثبيط. وان تأثير اكسيد الزنك النانوي كان اكثر البكتريا القولونية من المكورات العنقودية الذهبية وتتفق هذه النتائج مع دراسة قامت بها الباحثة (El-Fallal & Elfayoumy، 2023) حيث قامت بتصنيع جسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) باستخدام مستخلص فطر الكومبوتشا (Kombucha extract). وقد أظهرت الجسيمات النانوية المُحضّرة فعاليتها ضد مجموعة واسعة من السلالات المرضية. وبالتركيز على البكتيريا الشائعة، أثبتت النتائج تفوق النشاط التثبيطي لجسيمات أكسيد الزنك النانوية تجاه بكتيريا القولونية (E. coli) (سالبة الغرام)، حيث كان تركيزها المثبط الأدنى (MIC) هو 25{ ميكروغرام/مل} هذا، في حين احتاجت بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (S. aureus) (موجبة الغرام) إلى تركيز أعلى نسبياً وصل إلى 30{ ميكروغرام/مل} لتحقيق التثبيط، مما يشير إلى أن الجسيمات النانوية المصنعة حيوياً كانت أكثر فاعلية ضد سلالة الإشريكية القولونية. بينما لم تتفق هذه النتائج مع ماتوصلت الية نتائج دراسة (Babayevska *et* al., 2022) بعنوان "تأثير حجم وشكل أكسيد الزنك (ZnO) على نشاطه المضاد للبكتيريا ومظهر سميته الخلوية" على أهمية الخصائص الفيزيائية للجسيمات النانوية في تحديد فعاليتها الحيوية. وأشارت الدراسة إلى أن الجسيمات النانوية (NPs) من أكسيد الزنك أظهرت أقوى نشاط تثبيطي مقارنة بالجسيمات الميكروية. كما أثبتت النتائج أن سلالة البكتيريا إيجابية الغرام، المكورات العنقودية الذهبية (S. aureus)، كانت أكثر حساسية لجسيمات أكسيد الزنك من سلالة البكتريا القولونية (E.

coli). وأظهرت نتائج الاختبارات أن مناطق التثبيط لجسيمات ZnO النانوية ضد (S. aureus) تراوحت بين 14_12{ ملم} ، بينما كانت مناطق التثبيط للإشريكية القولونية (E. coli) أقل، وتراوحت بين 11_9{ ملم}

أما المزيج المشترك بين حمض البروبيونيك وأكسيد الزنك النانوي فقد أظهر تأثيرًا تآزريًا قويًا، فعند تركيز 0.075 بلغ قطر التثبيط 22.9 ± 0.4 ملم على بكتريا القولونية و21.0 ± 0.46 ملم على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية، وعند تركيز 0.150 بلغ قطر التثبيط 26.2 ± 0.64 ملم على بكتريا القولونية و24.8 ± 0.38 ملم على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية، وأكبر قطر لمنطقة التثبيط؛ فقد بلغ 28 ± 0.37 ملم على E. coli و26.5 ± 0.32 ملم على *S. aureus* عند تركيز 0.250 للمزيج، متجاوزًا بذلك تأثير كل من المركبين منفردين.

كما توضح النتائج أن بكتيريا E. coli كانت أكثر حساسية تجاه جميع المعالجات بالمقارنة مع S. aureus، حيث سجلت قطر منطقة تثبيط أكبر عند التراكيز نفسها.

وعند المقارنة بالمضادات الحيوية التقليدية، مثل الأميكاسين (Amikacin) الذي سجل متوسط قطر تثبيط قدره 21.0 ± 0.38 ملم، ومضاد الأزتريونام (Aztreonam) بقطر تثبيط 22.2 ± 0.63 ملم، يتبيّن أن العديد من تركيبات المزيج تفوقت بشكل واضح في تثبيط نمو البكتيريا، حيث وصل متوسط قطر التثبيط إلى 26.5 ± 0.32 ملم عند استخدام المزيج بتركيز 0.250 مع حمض البروبيونيك. وكما هو موضح في الشكل (4-22)



الشكل (4-22)

تأثير تراكيز مختلفة من حمض البروبيونيك وجسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) على قطرمنطقة التثبيط لبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*) والإشريكية القولونية (*E. coli*).

تشير هذه النتائج إلى أن المزيج بين أكسيد الزنك النانوي وحمض البروبيونيك يمكن أن يمثل بديلاً فعالاً أو مكملاً للمضادات الحيوية التقليدية، لا سيما في مكافحة البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية.

يمكن تفسير التفوق التآزري في تثبيط نمو بكتيريا الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية عند دمج حمض البروبيونيك مع جسيمات أكسيد الزنك النانوية بناء" على آليات كل منهما وكيفية تعاونهما في مواجهة بكتريا الموجبه الگرام *S.aureus* و السالبة الگرام *E.coli*

حمض البروبيونيك (PA)، كحامضٍ عضويٍ أحادي الكربوكسيل (Haque *et al*., 2009) يمتاز (PA) بقيمته pKa المرتفعة نسبيًا (~4.87) مقارنةً بقيم pKa الأساسية لأحماض أخرى، مما يعني وجود نسبة أعلى من PA في شكله غير المتفكك (HA) النفاذ للغشاء عند قيم pH شبه متعادلة، عند pH خارج الخلية البكتيرية (~7.0). ويؤكد (Russell,2008) أن الأحماض العضوية الضعيفة ذات قيم pKa الأقرب إلى pH السيتوبلازم (7.0-7.5) تُظهر نشاطًا مضادًا للميكروبات أكبر، وذلك لأن نسبة أكبر منها تبقى غير متفككة خارج الخلية، وهذا يسهل الانتشار السلبي عبر الغشاء (Ricke, 2003). وعند pH 7.0، يكون حوالي 10٪ من حمض البروبيونيك في الحالة غير المتفككة (HA)، وهي نسبة أعلى بعشر مرات من حمض الستريك، وبالتالي يؤدي إلى زيادة كبيرة في توصيل PA داخل الخلايا (Bushell *et al*., 2019).

فبمجرد دخوله إلى السيتوبلازم حيث يصل pH إلى 7.0-7.5، يتفكك PA إلى أيونات بروتونات (H^+) وأنيونات بروبيونات (A^-)، ويسبب تحمضًا داخليًا يعوق إنزيمات الحساسة للـ pH ويضعف القوة الدافعة للبروتون Proton Motive Force (PMF)، ما يعيق إنتاج ATP (Ricke, 2003; Bushell *et al*., 2019). وتمثل الأنيونات سمية بالغة من خلال تثبيط إنزيم Succinate Dehydrogenase المسؤول عن دورة Tricarboxylic Acid Cycle (TCA cycle) في إنتاج الطاقة (Hage *et al*., 2019) ، واستنزاف مخازن إنزيم Coenzyme A (CoA) بتكوين مركب Propionyl-CoA الذي يعطل أيض الأحماض الدهنية والأمينية (Ricke, 2003)، إضافة إلى تراكم ميثيل غليوكسال السام (toxic glyoxal) داخل خلايا Escherichiacoli (Hage *et al*., 2019).

هذا الإجهاد الخلوي الناتج عن حمض البروبيونيك من انخفاض حموضة وخلل تمثيل غذائي يجعل البكتيريا أكثر عرضة وتأثرًا، وخاصة عند التداخل مع آليات جسيمات أكسيد الزنك النانوية التي تهاجم الخلايا عبر إطلاق أيونات الزنك (Zn^{+2}) المخترقة لجدار الخلية والتي تُلحق ضررًا مباشرًا بالحمض النووي (DNA)، فضلاً عن زيادة نفاذية الأغشية الخلوية التي تسهل دخول الجسيمات إلى الداخل، وتعطيل عمل القنوات الأيونية من خلال

التفـاعلات الكهروسـتاتيكية، بالإضـافة إلـى إنتـاج أنـواع الأكسـجين التفاعليـة (ROS) التـي تسـبب تلفًا في الأنسجة الخلوية وتؤدي إلى موت البكتيريا. (Kalra *et al*., 2022)

فمن جهة، تولد الخلايا المجهدة كميات أكبر من أنواع الأكسجين التفاعلية Reactive Oxygen Species (ROS) بسبب نقص مضادات الأكسدة وضعف التنفس، واللذي يقلل من قدرتها على إزالة هذه السموم ويزيد الضرر التأكسدي داخل البكتيريا . ومن جهة أخرى، تؤدي أغشية الخلايا المتضررة بفعل PA إلى تسهيل تدفق أيونات الزنك (Zn^{2+}) إلى داخل الخلايا، وهذه الأيونات تثبط الإنزيمات الحيوية وتتلف الحمض النووي (DNA)، مما يعيق العمليات الحيوية للبكتيريا ويسبب موتها . وكما تؤدي حالة ضعف الأغشية إلى زيادة التصاق جسيمات الأكسجين التفاعلية والتلف الفيزيائي الناتج عن جسيمات ZnO-NP، مما يعزز التأثير المضاد للبكتيريا.

أظهرت دراسات عديدة (Liu *et al*., 2012; Schieber & Chandel, 2014) أن الأحماض العضوية التي تُحسّن نفاذية الغشاء تزيد بشكل كبير من تدفق أيونات Zn^{2+} وتلف أنواع الأكسجين التفاعلية الناتج عن جسيمات أكسيد الزنك النانوية. وهذا يدعم تأثير حمض البروبيونيك على الأغشية والتمثيل الغذائي و يعزز أثر جسيمات ZnO-NP التآزري. كما يشير (Russell,2008) إلى أن الأحماض التي تسبب تراكم الأنيونات مثل PA تُسبب "اضرار متعددة" على عملية الأيض، مما يجعل الخلايا أكثر عرضة لعوامل ضغط ثانوية مثل أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS)، وبالتالي يزيد الضرر الخلوي ويعزز التآزر مع جسيمات ZnO-NP (Ricke, 2003).بهذا الشكل، يتضح أن تآزر حمض البروبيونيك مع جسيمات أكسيد الزنك النانوية يعتمد على الجمع بين تأثير PA على زيادة نفاذية الغشاء وتسمم الأنيونات داخل الخلايا، إلى جانب قدرة جسيمات ZnO-NP على استغلال هذه الحالة الضعيفة للخلايا البكتيرية لإحداث ضرر مضاعف عبر الإجهاد التأكسدي والتلف المباشر للأغشية والحمض النووي.

تركيز PA أعلى غير مُفكك ← توصيل أكبر داخل الخلايا.

سمية مزدوجة داخل الخلايا (H^+ + أنيون بروبيونات) ← اختلال أيضي حاد.

ضعف خلوي شديد ← نشاط جسيمات أكسيد الزنك النانوية (ROS،Zn^{2+}، تلف الغشاء).

ان الاختلاف في الحساسية بين البكتيريا يرجع إلى بنية جدار الخلية، حيث تمتلك البكتيريا سالبة الگرام (E. coli) جدارًا خلويًا أرق يحتوي على طبقة واحدة من الببتيدوغليكان، مما يجعلها أكثر عرضة لاختراق الجسيمات النانوية وتلفها. في المقابل، يمتاز جدار البكتيريا موجبة الگرام (S. aureus) بسماكة أكبر وتكوينه من عدة طبقات من الببتيدوغليكان (Silhavy *et al*., 2010)، وهو ما يشكل حاجزًا أفضل يحميها من تأثير الجسيمات النانوية.

وكذلك البكتريا الموجبه الگرام تمتلك آليات تنظيمية متقدمة للتحكم في البيئة الحمضية الداخلية، حيث تقلل من نفاذ الأحماض وتُعيد توازن الرقم الهيدروجيني داخل الخلية من خلال آليات دفاعية متنوعة، وبالتالي يقلل من الأضرار التي قد تسببها البيئة ذات الرقم الهيدروجيني المنخفض

(Cotter & Hill, 2003). وهذا الاختلاف في تركيبة الأغشية يؤدي إلى استجابة تثبيطية أعلى للإشريكية القولونية عند التعرض لحامض البروبونيك.

(4-9) قابلية حمض الستريك على تثبيط نمو بكتيريا القولونية (*E. coli*):

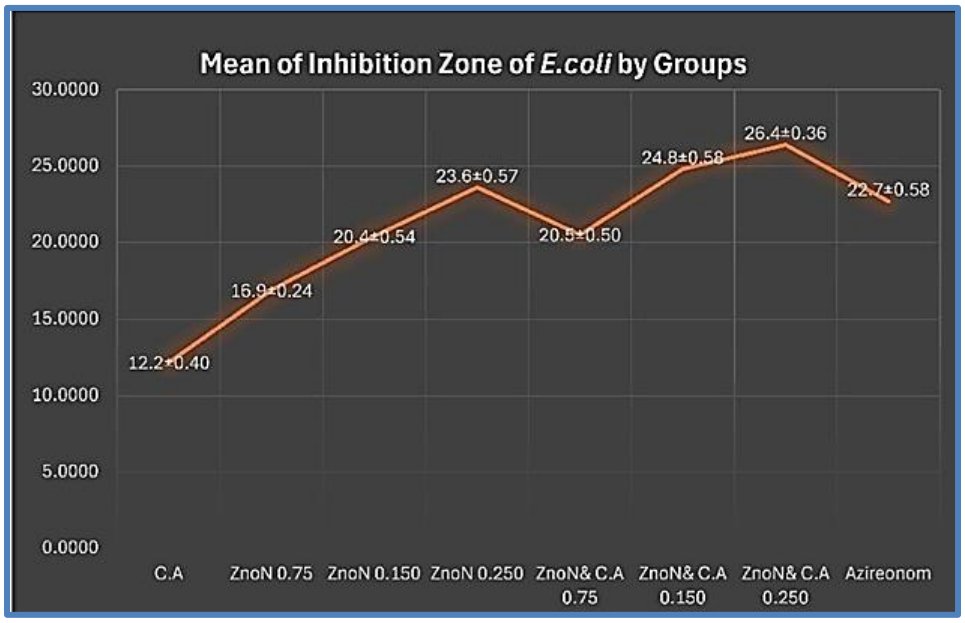
توضح النتائج أن استخدام حمض الستريك وحده أدى إلى أقل تأثير في تثبيط نمو بكتيريا القولونية، حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط 12.2 ± 0.40 ملم بتركيز % 2، مما يشير إلى فعالية معتدلة له.

(4-9-1) قابلية اكسيد الزنك النانوي في تثبيط بكتريا القولون

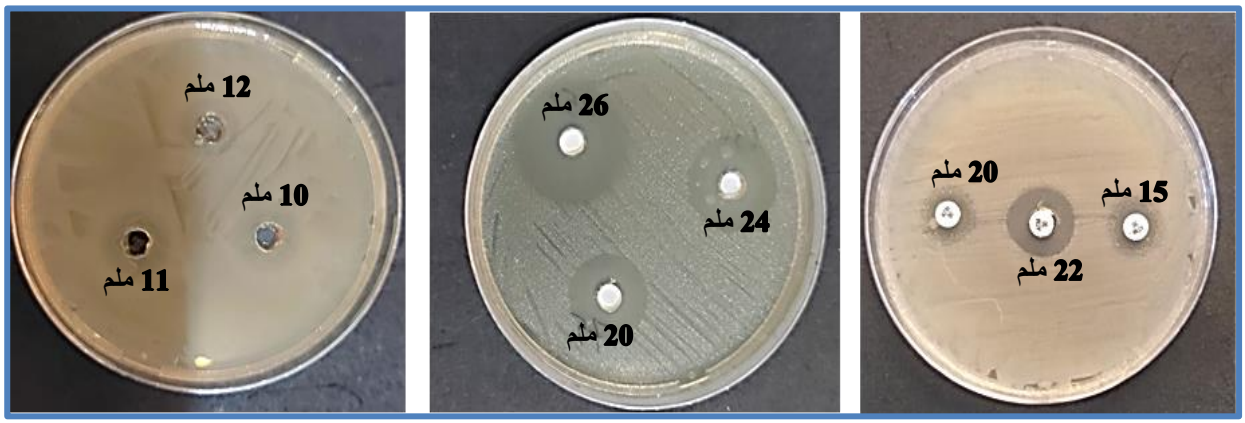
أكسيد الزنك النانوي فقد أظهر زيادة واضحة في تثبيط نمو البكتيريا مع ارتفاع تركيزه، حيث سجل قطرًا بلغ 16.9 ± 0.24 ملم عند التركيز 0.075، و20.4 ± 0.54 ملم عند 0.150، و23.6 ± 0.57 ملم عند 0.250، مما يدل على تحسن ملحوظ للفعالية بزيادة التركيز.

(4-9-2) التأثير المدمج لحامض البروبيونيك واكسيد الزنك النانوي في تثبيط بكتريا القولون

عند دمج أكسيد الزنك النانوي مع حمض الستريك، لاحظنا تعزيزًا بارزًا في القدرة المثبطة للبكتيريا، حيث وصل متوسط القطر إلى 20.5 ± 0.50 ملم عند تركيز 0.075، و24.8 ± 0.58 ملم عند 0.150، ووصل إلى أقصى فعالية بقطر 26.4 ± 0.36 ملم عند التركيز 0.250، ما يدل بوضوح على وجود تأثير تآزري يزيد من فعالية المادتين معًا بشكل يفوق تأثير كل منهما على حدة. من جهة أخرى، سجل المضاد الحيوي الأزتريونام (Aztreonam) متوسط قطر تثبيط 22.7 ± 0.58 ملم، وهو أقل من تأثير مزج أكسيد الزنك النانوي مع حامض الستريك في أعلى تركيز، مما يشير إلى إمكانية تفوق مزيج اكسيد الزنك النانوي مع حامض الستريك على المضاد الحيوي في تثبيط نمو الإشريكية القولونية ضمن ظروف هذه التجربة. تؤكد التحليلات الإحصائية أن حمض الستريك عزز الفعالية المثبطة في معظم الحالات بشكل معنوي، مما يدعم الاستنتاج بأن دمج أكسيد الزنك النانوي مع حمض الستريك يشكل استراتيجية فعالة لتعزيز تثبيط نمو البكتيريا القولونية، كما هو موضح في الشكل (4-23) و (4-24):



شكل رقم (4-23): التأثير المثبط لحامض الستريك وأوكسيد الزنك النانوي (ZnO N) والمزيج منهما على بكتيريا *E.coli*.
يوضح الرسم البياني الخطي مقارنة بين تأثير كل مادة على حدة



(A) (B) (C)

شكل رقم (4-24)

(A) تأثير حمض الستريك بتركيز 2% على نمو بكتيريا الإشريكية القولونية (*E. coli*)
(B) التأثير المشترك لأكسيد الزنك النانوي وحمض الستريك على نمو بكتيريا الإشريكية القولونية (*E. coli*)
(C) تأثير المضاد الحيوي أزتريونام (Aztreonam) على نمو بكتيريا القولونية (*E. coli*)

(4-10) قابلية حمض الستريك على تثبيط نمو بكتيريا العنقوديات الذهبية (*S. aureus*):

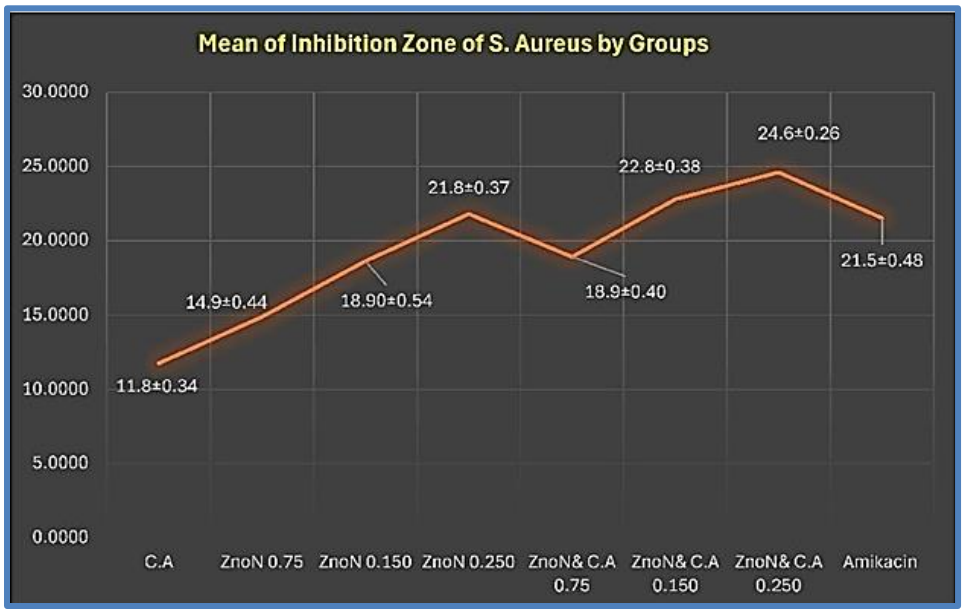
اظهرت النتائج أن استخدام حمض الستريك وحده بتركيز 2 % أدى إلى أقل تأثير في تثبيط نمو بكتيريا العنقوديات الذهبية، حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط حوالي 11.8 ± 0.34 ملم عند تركيز غير محدد، مما يشير إلى فعالية محدودة له.

(4-10-1) قابلية أكسيد الزنك النانوي في تثبيط بكتريا المكورات العنقودية الذهبية

أكسيد الزنك النانوي (ZnO N) فقد أظهر زيادة واضحة في تثبيط نمو البكتيريا، حيث سجل متوسط قطر التثبيط حوالي 14.9 ± 0.44 ملم عند التركيز 0.075، و18.90 ± 0.54 ملم عند التركيز 0.150، ثم 21.8 ± 0.37 ملم عند التركيز 0.250. هذا النمط يشير إلى تحسن ملحوظ للفعالية بزيادة تركيز أكسيد الزنك النانوي ضمن هذا النطاق.

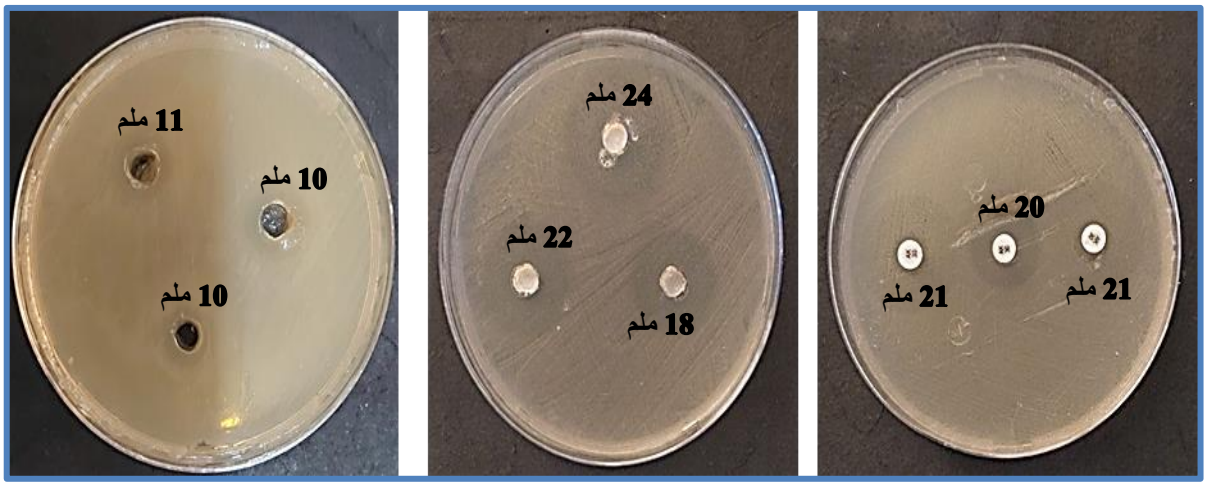
(4-10-2) تأثير المدمج لحامض البروبيونيك و اكسيد الزنك النانوي في تثبيط بكتريا المكورات العنقودية الذهبية

عند مزج أكسيد الزنك النانوي مع حامض الستريك، لوحظ تعزيز بارز في القدرة المثبطة للبكتيريا، حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط حوالي 18.9 ± 0.40 ملم عند التركيز 0.075، و22.8 ± 0.38 ملم عند التركيز 0.150، وبلغت الفعالية أقصى مستوياتها بقطر 24.6 ± 0.26 ملم عند التركيز 0.250، مما يدل بوضوح على وجود تأثير تآزري يزيد من فعالية المادتين معًا بشكل يفوق تأثير كل منهما على حدة، خاصة عند التركيز الأعلى.من جهة أخرى، سجل المضاد الحيوي الأميكاسين (Amikacin) متوسط قطر تثبيط 21.5 ± 0.48 ملم، وهو أقل بشكل واضح من تأثير دمج أكسيد الزنك النانوي مع حمض الستريك في أعلى تركيز (0.250). هذا يشير إلى إمكانية تفوق هذا المزيج على المضاد الحيوي القياسي في تثبيط نمو بكتيريا العنقوديات الذهبية ضمن ظروف هذه التجربة.كما موضح في الشكل **(4-25)**



شكل رقم (4-25): التأثير المثبط لحامض الستريك (C.A) وأوكسيد الزنك النانوي (ZnO N) والمزيج منهما على بكتيريا *S.aureus*.

يوضح الرسم البياني الخطي مقارنة بين تأثير كل مادة على حدة.



(A) (B) (C)

شكل رقم (4-26)

(A)تأثير حمض الستريك بتركيز 2% على نمو بكتيريا (*S. aureus*)
(B)التأثير المشترك لأكسيد الزنك النانوي وحمض الستريك على نمو بكتيريا (*S. aureus*)
(C)تأثير المضاد الحيوي Amikacin على نمو بكتيريا(*S. aureus*)

(4-11) تأثير تراكيز مختلفة من حمض الستريك وأكسيد الزنك النانوي (ZnO NPs) والمزيج المشترك على تثبيط نمو بكتيريتي المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*) والبكتريا القولونية (*E. coli*)

توضح النتائج أن حمض الستريك وحده أحدث تثبيطًا محدودًا لنمو البكتيريا، حيث بلغ قطر منطقة التثبيط حوالي 11.8 ± 0.34 ملم لبكتيريا S. aureus و12.2 ± 0.40 ملم لـ E. coli.

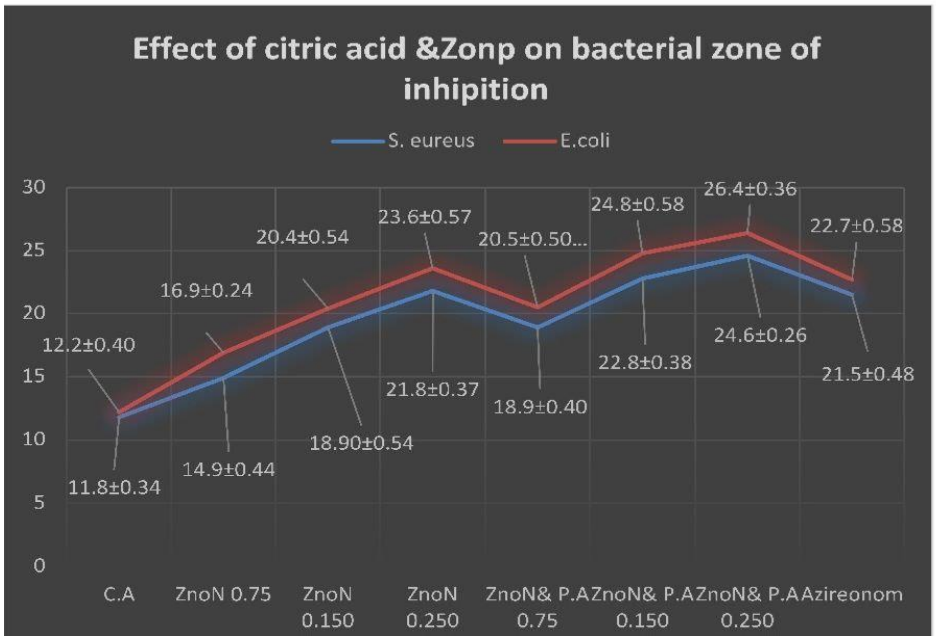
وعند استخدام أكسيد الزنك النانوي بمختلف التراكيز، لوحظ تحسن ملحوظ في تثبيط نمو البكتيريا، إذ ارتفع قطر منطقة التثبيط تدريجيًا مع زيادة التركيز؛ فكانت القيم على التوالي عند التركيزات 0.075، 0.150، و0.250 حوالي 14.9 ± 0.44، 18.9 ± 0.54، و21.8 ± 0.37 ملم على S. aureus، و16.9 ± 0.24، 20.4 ± 0.54، و23.6 ± 0.57 ملم على *E. coli*.

أما عند دمج حمض الستريك مع أكسيد الزنك النانوي، فقد شهد تأثيرًا تآزريًا واضحًا يعزز من نشاط التثبيط، حيث بلغ قطر منطقة التثبيط للمزيج عند تراكيز 0.075، 0.150، و0.250 على التوالي 18.9 ± 0.40، 22.8 ± 0.38، و24.6 ± 0.26 ملم على *S. aureus*، و20.5 ± 0.50، 24.8 ± 0.58، و26.4 ± 0.36 ملم على *E. coli*.

هذا يدل على أن مزيج جسيمات أكسيد الزنك النانوية وحمض الستريك يقدم أداءً متفوقًا عن كل من حمض الستريك وأكسيد الزنك النانوي بمفردهما.

وعند مقارنة هذه النتائج بالمضادات الحيوية التقليدية المستخدمة (الأميكاسين (Amikacin) الذي سجل قطر تثبيط حوالي 21 ± 0.48 ملم، والأزتريونام (Aztreonam) بقطر تثبيط 22.7 ± 0.58 ملم)، يظهر أن المزيج عند تركيز 0.250 تفوق بوضوح، مما يؤكد فعالية عالية للمزيج وقدرته على المنافسة أو الاستعاضة عن المضادات الحيوية في تثبيط نمو البكتيريا.

كما تُظهر البيانات أن بكتيريا الإشريكية القولونية كانت أكثر حساسية إلى جميع المعالجات مقارنة بالمكورات العنقودية الذهبية.كما موضح بالشكل **(4-27)**



شكل رقم(4-27) : تأثير تراكيز مختلفة من حمض الستريك وجسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) على قطر منطقة التثبيط لبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*) والبكتريا القولونية (*E. coli*).

يمكن تفسير التفوق التآزري في تثبيط نمو بكتيريا الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية عند دمج حمض الستريك مع جسيمات أكسيد الزنك النانوية بناء" على آليات كل منهما وكيفية تعاونهما في مواجهة بكتريا الموجبه الگرام S.aureus و السالبة الگرام*E.coli*

حامض الستريك كحامض ثلاثي الكربوكسيل (Ghai *et al*., 2023)، يحمل شحنة سالبة كبيرة عند درجة الحموضة الداخلية للخلايا، مما يحد من قدرته على اختراق أغشية الخلايا.

حيث ان آليات حمض الستريك (CA) تكون ذات تأثير محدود في النفاذية عبر غشاء الخلية البكتيرية، وبسبب انخفاض قيمة pKa له حوالي 3.14 (Russell, 1992)، فإن أقل من 1% فقط من جزيئات الحمض تكون في الحالة غير المتأينة القابلة للمرور عبر الأغشية عند pH 7.0 (Bushell *et al*., 2019) مما يجعل كمية حمض الستريك التي تدخل إلى داخل الخلايا قليلة للغاية.

وبالاضافة إلى ذلك فإن الأنيونات الناتجة عن تفكك حمض الستريك (سترات) تتميز بسُمية منخفضة، حيث يمكن لبعض أنواع البكتيريا، مثل الإشريكية القولونية، استخدام هذه الأنيونات كمصدر للكربون، مما يقلل من الضرر الخلوي الناتج عنها. و يعمل حمض الستريك أساسًا عبر استخلاب المعادن الحيوية مثل أيونات المغنيسيوم Fe^{3+} والمساعدة في إضعاف جدران الخلايا والليبوبوليسكاريدات خارج الخلية، دون أن يتسبب في ضرر مباشر كبير داخل الخلية نفسها (Wang *et al*., 2024).

في هذا السياق، يعزز حمض الستريك ارتباط جسيمات أكسيد الزنك النانوية (ZnO-NP) بالخلايا البكتيرية عبر استخلاب الكاتيونات المعدنية في جدران الخلايا وطبقة متعددة السكريات الدهنية LPS، مما يزيد من تقارب الجسيمات مع أسطح الخلايا ويعزز التأثير التآزري بين الحامض والجسيمات . (Jalal *et al*., 2021)

إلا أن تأثير حامض الستريك داخل الخلايا يبقى محدودًا نسبيًا، ويتميز بتآزر أقل حدة مع جسيمات أكسيد الزنك مقارنة بمواد أخرى ذات نفاذية وسمية ألاعلى.

على الرغم من فعالية جسيمات أكسيد الزنك النانوية/أكسيد الزنك، إلا أن ارتفاع قيمة pKa (والانتشار المحدود) والأنيونات الأقل سمية في CA يؤديان إلى إجهاد داخل الخلايا أضعف، مما يقلل من التآزر مع جسيمات أكسيد الزنك النانوية. يتوافق هذا التسلسل الهرمي الميكانيكي مع كل من البكتيريا موجبة الجرام (S. aureus) وسالبة الجرام (E. coli). ولكن تظهر بكتريا الإشريكية القولونية تأثيرا اكبر حيث يُعزى اختلاف حساسية هذه البكتيريا أساسًا إلى تركيب جدار الخلية، حيث تمتلك البكتيريا سالبة الجرام، مثل *E. coli*، جدارًا رقيقًا يتألف من طبقة واحدة من الببتيدوغليكان مصحوبة بغشاء خارجي (Silhavy *et al*., 2010)، مما يجعلها أكثر عرضة لاختراق الجسيمات النانوية. في المقابل، تمتلك البكتيريا موجبة الجرام، مثل *S. aureus*، جدارًا سميكًا متعدد الطبقات من الببتيدوغليكان (Silhavy *et al*., 2010)، يشكل حاجزًا أقوى يحميها ويقلل من تأثير الجسيمات النانوية. وهذا الاختلاف في بنية جدار الخلية يؤثر بشكل مباشر على تفاعل البكتيريا مع العوامل الخارجية مثل الأحماض والجسيمات النانوية.ولا تتفق هذه النتائج مع ماتوصل إلية الباحث (Barzegari Firouzabadi *et* al., 2014) لدراسة لتقييم التأثير التآزري لتعليقات الجسيمات النانوية لأكسيد الزنك (ZnO NPs) بالتزامن مع حمض الستريك كمضاد فعال للميكروبات ضد مسببات الأمراض المنقولة بالغذاء في عصير المانجو. أظهرت النتائج أن هذا العلاج المشترك كان فعالاً في تثبيط نمو كلتا البكتيريتين، ولكن لوحظ أن البكتريا القولونية (E. coli) (سالبة غرام) كانت الأكثر تأثراً وحساسية لهذا المركب من المكورات العنقودية الذهبية (S. aureus).

حيث أدى العلاج المشترك إلى تحقيق معدل تثبيط لوغاريتمي (Log Reduction) مرتفع جداً في أعداد البكتريا القولونية (E. coli) وصل إلى 5.0{ log}، بينما كان معدل التثبيط للمكورات العنقودية الذهبية (S. aureus) أقل وبلغ حوالي 3.5{ log}.

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

(5-1) الاستنتاجاتConclusions:

1. نجحت الدراسة في تحضير جسيمات أكسيد الزنك النانوية كيميائيًا بطريقة الترسيب الكيميائي بحجم نانوي متجانس، ووجدت أن دمج هذه الجسيمات مع الأحماض العضوية (حمض الستريك وحمض البروبيونيك) يحسن من نشاطها المضاد للبكتيريا.
2. أظهر مزيج اكسيد الزنك النانوي مع حمض البروبيونيك تأثيرًا مضادًا أكبر على كلتا البكتيريتين، وخاصة على الإشريكية القولونية مقارنة بالمكورات العنقودية الذهبية، بينما كان تأثير دمج أكسيد الزنك مع حمض الستريك أقل، لكن تأثير كلا المزيجين فاق تأثير المضادات الحيوية التقليدية المستخدمة في الدراسة.
3. الجسيمات النانوية عند تركيز 250 ميكروجرام كانت أكثر فاعلية كمثبط لنمو البكتيريا مقارنة بتركيزات أقل، مما يدل على تأثير التركيز في تحفيز النشاط المضاد للبكتيريا.
4. تؤكد هذه النتائج على أهمية استمرار البحث والتطوير في مجالات تقنية النانو وايضا استخدام الأحماض العضوية كبدائل أو عوامل مساعدة للمضادات الحيوية، وخاصة في مواجهة البكتيريا المقاومة للأدوية التقليدية.
5. هناك تفوق واضح عند مزج الأحماض العضوية مع اكسيد الزنك النانوي مما يعزز قدرتها على تثبيط النمو البكتيري بشكل كبير وتزيد التأثير التأزري للخليط

(5-2) التوصياتRecommendations:

1. إجراء دراسات مقارنة بين أنواع مختلفة من الجسيمات النانوية (مثل جسيمات الفضة، الذهب، التيتانيوم، وأكسيد الزنك) لتحديد الأنسب والأكثر فعالية في مكافحة البكتيريا المقاومة للمضادات.
2. توسيع جمع عينات بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*) والإشريكية القولونية (*E.Coli*)من مواقع الإصابة المختلفة لدراسة تأثير الأحماض العضوية والمواد النانوية بشكل أعمق وعلمي أدق.
3. دراسة الخصاصة السمية بعد تجريبها على حيوانات مختبرية
4. تبني هذه الدراسة لتطوير صناعة المضادات الحياتية وكبديل واعد للمضادات الحيوية التقليدية في مكافحة بكتيريا الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية، نظرًا لتفوق تأثيره المضاد على هذه البكتيريا مقارنة بالمضادات الحيوية المستخدمة.
5. تشجيع إجراء دراسات مستقبلية لفهم تأثير المواد النانوية، لا سيما دمج أكسيد الزنك النانوي مع الأحماض العضوية، على مقاومة البكتيريا للمنتج وعوامل ضراوة البكتيريا لتعميق المعرفة وتوسيع التطبيقات العلاجية.

6. اســـتعمال جرع اقل مع تراكيز أكبر وذلك لتقليل ســـمية المواد الكيميائية و زيادة تأثيرها المضـــاد للبكتريا
7. توصـي هذه الدراسـة باستخدام مزيج أكسيد الزنك النانوي مع حامض الستريك مزيج اكسيد الزنك النانوي وحامض البروبيونيك، حيث أظهرت النتائج أن هذا المزيج يمتلك تأثيرًا مضـــادًا للبكتيريا أعلى من تأثير مضـادات حيويه مثل الأزتريونام والأميكاسين. وبالتالي فإن اعتماد هذا المزيج يمكن أن يمثل بديلاً **فع مكافحة العدوى البكتيرية**

المصـــــــــادر

المصادر الاجنبية

1. Aadim, K. A., & Abbas, I. K. (2023). Synthesis and investigation of the structural characteristics of zinc oxide nanoparticles produced by an atmospheric plasma *jet*. Iraqi Journal of Science, 64(4), 1743–1752. https://doi.org/10.24996/ijs.2023.64.4.15
2. Abu-Gharbieh, M., Elsayed, M. F., Salem, G. M., Abdel Samie, W. M., & Elaraby, G. (2025). The antibacterial effect of biologically synthesized zinc oxide nanoparticles on uropathogenic Escherichia coli and the bioevaluation of physiological and histological changes. Scientific Reports.
3. Adekoya, J. A., Ogunniran, K. O., Siyanbola, T. O., Dare, E. O., & Revaprasadu, N. (2018). Band Structure, Morphology, Functionality, and Size- Dependent Properties of M*et*al Nanoparticles. InTech. Doi: 10.5772/intechopen.72761
4. Agbowuro, A. A., Huston, W. M., Gamble, A. B., & Tyndall, J. D. A. (2018). Proteases and protease inhibitors in infectious diseases. Medicinal research reviews, 38(4), 1295–1331. https://doi.org/10.1002/med.21475
5. Ahmadi, N., Khosravi-Darani, K., & Mortazavian, A. M. (2017). An overview of biotechnological production of propionic acid: From upstream to downstream processes. Electronic Journal of Biotechnology, 20, 67-79. https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2017.04.004
6. Ahmed, A. Q. (2021). Molecular d*et*ection of some virulence genes in E. coli isolated from women with urinary tract infections (Master's thesis, University of Diyala).
7. Al-Janabi, Y. S. Zhualnoon. (2019). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by locally isolated Zygorhiza species [master's thesis]. College of Science, University of Misan.
8. Al-Musawi, S. A. N. (2023). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using Capparis spinosa plant extract and study of biological activity [master's thesis]. University of Misan.
9. Alonso, S., Rendueles, M., & Díaz, M. (2015). Microbial production of specialty organic acids from renewable and waste materials. Critical reviews In biotechnology, 35(4), 497–513. https://doi.org/10.3109/07388551.2014.904269
10. Al-Saadi, Z. H. A. (2019). Phenotypic and molecular d*et*ection of efflux pumps systems in Escherichia coli isolated from urinary tract infections (Master's thesis). University of Baghdad, Baghdad, Iraq.

11. Alsalmi, B. T. S. (2014). Study of some factors affecting coagulase production by local isolates of Staphylococci (Master's thesis, University of Kerbala).
12. Al-Salmi, F. A., Hamza, R. Z., & El-Shenawy, N. S. (2019). The Interaction of Zinc Oxide/Green Tea Extract Complex Nanoparticles and its Effect on Monosodium Glutamate Toxicity in Liver of Rats. Current pharmaceutical biotechnology, 20(6), 465–475. https://doi.org/10.2174/1389201020666190408120532
13. Al-Yasiri, T. H. J. (2019). Effect of feeding local E. coli O157:H7 contaminated di*et*s treated with organic acid on the broilers performance [Master's thesis, University of Baghdad].
14. Al-Yasiri, T. H., & Mohammed, M. F. (2019). Influence of organic acids (Ac*et*ic, Citric acid and Blend) in vitro on growth of E. coli O157: H7 in Poultry feed. Research Journal of Pharmacy and Technology, 12(5), 2468-2472.
15. Alyasiri, Taha & Abdullah, Afaf & Isawi, Amer & Algazally, Moaed. (2022). Evaluation of Sesuvium Portulacastrum *Et*hanolic Extract on Growth of Salmonella Typhi in Vitro. Revista Electronica de V*et*erinaria. 23. 169-176.
16. Antone, U., Ciprovica, I., Zolovs, M., Scerbaka, R., & Liepins, J. (2023). Propionic acid fermentation—Study of substrates, strains, and antimicrobial properties. Fermentation, 9(1), 26.
17. Atlas, R. M. (2018). Handbook of microbiological media (4th ed.). CRC Press.
18. Bagnoli, F., Rappuoli, R., & Grandi, G. (Eds.). (2017). Staphylococcus aureus: Microbiology, pathology, immunology, therapy and prophylaxis (Vol. 409). Springer.
19. Balasubramanian, D., Ohneck, E. A., Chapman, J., Weiss, A., Kim, M. K., Reyes-Robles, T., Zhong, J., Shaw, L. N., Lun, D. S., Ueberheide, B., Shopsin, B., & Torres, V. J. (2016). Staphylococcus aureus Coordinates Leukocidin Expression and Pathogenesis by Sensing M*et*abolic Fluxes via RpiRc. mBio, 7(3), e00818-16. https://doi.org/10.1128/mBio.00818-16
20. Barzegari Firouzabadi, F., Noori, M., Edalatpanah, Y., & Mirhosseini, M. (2014). ZnO nanoparticle suspensions containing citric acid as antimicrobial to control Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Bacillus cereus in mango juice. Food Control, 42, 310–314.

21. Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014). Coagulase-negative staphylococci. Clinical microbiology reviews, 27(4), 870–926. https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13
22. Bhattacharjee, K., & Prasad, B. L. V. (2023). Correction: Surface functionalization of inorganic nanoparticles with ligands: a necessary step for their utility. Chemical Society reviews, 52(12), 4121. https://doi.org/10.1039/d3cs90048g
23. Bushell, F. M. L., Toner, P. D., & Jabbari, S. (2019, January 8). Synergistic Impacts of Organic Acids and pH on Growth of Pseudomonas aeruginosa: A Comparison of Parametric and Bayesian Non-parametric Methods to Model Growth. Frontiers in Microbiology, 9. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03196
24. Byrne, C. S., Chambers, E. S., Morrison, D. J., & Frost, G. (2015). The role of short chain fatty acids In appetite regulation and energy homeostasis. International journal of obesity (2005), 39(9), 1331–1338. https://doi.org/10.1038/ijo.2015.84
25. Carroll, D. E., Gaddi, R., & Natt, O. (2017). Staphylococcus aureus prostatic abscess: A clinical case report and a review of the literature. BMC Infectious Diseases, 17, Article 123.
26. Cho, C., Choi, S. Y., Luo, Z. W., & Lee, S. Y. (2015). Recent advances in microbial production of fuels and chemicals using tools and strategies of systems metabolic engineering. Biotechnology Advances, 33(7), 1455–1466.
27. Chukwudi, Prosper & Paulinus, Umeugokwe & Ikeh, Nnanna & Chigozie, Amaefule. (2024). The effects of organic acids on broiler chicken nutrition: A review. Animal Research and One Health. 3. 43-53. 10.1002/aro2.85.
28. CLSI. (2021). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (M100, 31st ed.). Clinical and Laboratory Standards Institute.
29. Conceição, T., Roe, R., & Kenard, S. (2019). Staphylococcus aureus nasal carriage among the homeless population in Lisbon, Portugal. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 38(11), 2037–2044.
30. Cooper, D., Denneulin, T., Bernier, N., Béché, A., & Rouvière, J. L. (2016). Mapovanie deformácií polovodičových vzoriek s rozlíšením na úrovni nm v transmisnom elektrónovom mikroskope. Micron, 80, 145-165.
31. Coral, J. (2008). Propionic acid production by Propionibacterium sp. Using low-cost carbon sources In submerged fermentation (Master's thesis, University of Parana). Curitiba, Brazil.

32. Cotter, P. D., & Hill, C. (2003). Surviving the acid test: Responses of Gram-positive bacteria to low pH. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 67(3), 429–453. https://doi.org/10.1128/mmbr.67.3.429-453.2003
33. Cotter, P. D., & Hill, C. (2003). Surviving the acid test: Responses of Gram-positive bacteria to low pH. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 67(3), 429–453.
34. De la Maza, L. M., Pezzulo, M. T., & Baron, E. J. (2017). Color Atlas of Diagnostic Microbiology. Mosby-Year Book, Inc.
35. Dean, J. (2023). A note on the bacteria in humans. Biomedical Sciences, 4(12), 001-003
36. Dewan, T. M. (2022). Biosynthesis of silver nanoparticles from some actinomyc*et*es and soil bacteria to d*et*ermination of antibacterial and anticancer activities (master's thesis). University of Misan, Iraq.
37. Di Lorenzo, F., Duda, K. A., Lanz*et*ta, R., Silipo, A., De Castro, C., & Molinaro, A. (2022). A journey from structure to function of bacterial lipopolysaccharides. Chemical Reviews, 122(20), 15767–15821. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c01321
38. Dumitrescu, O., Choudhury, P., Boiss*et*, S., Badiou, C., Bes, M., Benito, Y., Wolz, C., Vandenesch, F., *Et*ienne, J., Cheung, A. L., Bowden, M. G., & Lina, G. (2011). B*et*a-lactams interfering with PBP1 induce Panton-Valentine leukocidin expression by triggering sarA and rot global regulators of Staphylococcus aureus. Antimicrobial agents and chemotherapy, 55(7), 3261–3271. https://doi.org/10.1128/AAC.01401-10
39. Ealia, S. A. M., & Saravanakumar, M. P. (2017). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 263(3), 032019. https://doi.org/10.1088/1757-899X/263/3/032019
40. El-Fallal, A. A., Elfayoumy, R. A., & El-Zahed, M. M. (2023). Antibacterial activity of biosynthesized zinc oxide nanoparticles using kombucha extract. SN Applied Sciences, 5, 332. https://doi.org/10.1007/s42452-023-05546-x
41. Eliuz, E. A. E. (2020). Antimicrobial activity of citric acid against Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Candida albicans as a sanitizer agent. Eurasian Journal of Forest Science, 8(3), 295–301.
42. Emami-Karvani, Z., & Chehrazi, P. (2011). Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on gram-positive and gram-negative bacteria. African Journal of Microbiology Research, 5(12), 1368–1373. https://doi.org/10.5897/AJMR10.150

43. Fahimi Kashani, N., Orouji, A., Ghamsari, M., Sahoo, S. K., & Hormozi-Nezhad, M. R. (2023). Plasmonic noble m*et*al (Ag and Au) nanoparticles: From basics to colorim*et*ric sensing applications. In S. K. Sahoo & M. R. Hormozi-Nezhad (Eds.), Gold and Silver Nanoparticles (pp. 1–58). Elsevier.
44. Fayisa, W. O., & Tuli, N. F. (2023). Review on Staphylococcus aureus. International Journal of Nursing Care and Research, 12(3), 123-130.
45. Foster, T. J. (2004). The Staphylococcus aureus "superbug". Journal of Clinical Investigation, 114(12), 1693–1696. https://doi.org/10.1172/JCI23825
46. Foster-Nyarko, E., & Pallen, M. J. (2022). The microbial ecology of Escherichia coli in the vertebrate gut. FEMS microbiology reviews, 46(3), fuac008. https://doi.org/10.1093/femsre/fuac008
47. Ghai, M., Agnihotri, N., Kumar, V., Agnihotri, R., Kumar, A., & Sahu, K. (2023). Global organic acids production and their industrial applications. Physical Sciences Reviews, 9.
48. Ghernaout, D., Elboughdiri, N., & Hadj Lajimi, R. (2022). E. coli: Health impacts, exposure evaluation, and hazard reduction. Open Access Library Journal, 9, 1–28. https://doi.org/10.4236/oalib.1108860
49. Gitau, W., Masika, M., Musyoki, M., Museve, B., & Mutwiri, T. (2018). Antimicrobial susceptibility pattern of Staphylococcus aureus isolates from clinical specimens at Kenyatta National Hospital. BMC research notes, 11(1), 226. https://doi.org/10.1186/s13104-018-3337-2
50. Govindarajan, D. K., Visvalingam, N., Meganathan, Y., & Karideswamy, K. (2020). Adherence patterns of Escherichia coli in the intestine and its role in pathogenesis. Medicine in Microbiology, 5.
51. Gravesen, A., Kallipolitis, B., Holmstrøm, K., Høiby, P. E., Ramnath, M., & Knøchel, S. (2004). Pbp2229-mediated nisin resistance mechanism in Listeria monocytogenes confers cross-protection to class Iia bacteriocins and affects virulence gene expression. Applied and Environmental Microbiology, 70(3), 1669–1679. https://doi.org/10.1128/AEM.70.3.1669-1679.2004
52. Hage, R. E., Hernandez-Sanabria, E., Arroyo, M. C., Props, R., & Van de Wiele, T. (2019). Propionate-Producing Consortium Restores Antibiotic-Induced Dysbiosis in a Dynamic in vitro Model of the Human Intestinal Microbial Ecosystem. Frontiers in Microbiology, 10, 1206. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01206
53. Hajati, H. (2018). Application of organic acids in poultry nutrition. International Journal of Avian & Wildlife Biology, 3(4), 324-329.

54. Hasnidawani, J., Azlina, H., Norita, H., Bonnia, N., & Ratim, S. (2016). Synthesis of ZnO nanostructures using sol-gel m*et*hod. Procedia Chemistry, 19, 211–216.
55. Hassan, H. H. (2018). Biosynthesis and characterization of Ag nanoparticles from Klebsiella pneumoniae [Master's thesis, University of Kufa]. University of Kufa.
56. Horgan, A., Collins, G., Krok, A., Ahern, A. M., Klymov, O., Zholobak, N., & O'Driscoll, B. (2020). Exploring the Impact of Morphology on the Properties of Biodegradable Nanoparticles and Their Diffusion in Complex Biological Medium. Biomacromolecules, 21(8), 3290–3303.
57. Hosagowdar, S. B., Maddanimath, P., Tolamatti, R. M., Policepatil, A., & Patil, M. J. (2022). Synthesis, Characterization of ZnO Nanoparticles and their Application in Antibacterial Activity. Int. J. Adv. Sci. Eng., 9(2), 2745-2750.
58. Issa, M. A., & Aadim, K. A. (2024). A review of nanoparticles: Their synthesis, properties, application, and advantages. MINAR International Journal of Applied Sciences and Technology, 6(3), 38–45. https://doi.org/10.47832/2717-8234.20.4
59. Jahandeh, N., Ranjbar, R., Behzadi, P., & Behzadi, E. (2015). Uropathogenic Escherichia coli virulence genes: invaluable approaches for designing DNA microarray probes. Central European journal of urology, 68(4), 452–458.
60. Jalal, R., Al-Shemary, L. A., & Abdul-Karim, S. H. (2021). Bioengineered – CA's role in chelation-enhanced NP activity. Journal of Applied Nanoscience and Biotechnology, 15(3), 45-60.
61. Janda, J. M. (2021). Taxonomic Classification of Bacteria. In L. H. Green & E. Goldman (Eds.), Practical Handbook of Microbiology (4th ed.). CRC Press.
62. Ji, Q.-Y., Wang, W., Yan, H., Qu, H., Liu, Y., Qian, Y., & Gu, R. (2023). The effect of different organic acids and their combination on the cell barrier and biofilm of Escherichia coli. Foods, 12(16), 3011.
63. Jin, S.-E., & Jin, H.-E. (2021). Antimicrobial Activity of Zinc Oxide Nano/Microparticles and Their Combinations against Pathogenic Microorganisms for Biomedical Applications: From Physicochemical Characteristics to Pharmacological Aspects. Nanomaterials, 11(2), 263. https://doi.org/10.3390/nano11020263

64. Jorgensen, J. H., Carroll, K. C., Funke, G., Pfaller, M. A., Landry, M. L., Richter, S. S., & Warnock, D. W. (Eds.). (2015). Manual of clinical microbiology (11th ed.). ASM Press.
65. Jung, S., Park, J., & Ko, K. S. (2020). Lipopolysaccharide-induced innate immune responses are exacerbated by Prohibitin 1 deficiency and mitigated by S-adenosylmethionine in murine macrophages. PloS one, 15(11), e0241224. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241224
66. Kalra, K., Chhabra, V., & Prasad, N. (2022). Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles: a mini review. Journal of Physics: Conference Series, 2267, 012049. https://doi.org/10.1088/1742-6596/2267/1/012049
67. Karmakar, A., Dua, P., & Ghosh, C. (2016). Biochemical and Molecular Analysis of Staphylococcus aureus Clinical Isolates from Hospitalized Patients. The Canadian journal of infectious diseases & medical microbiology = Journal canadien des maladies infectieuses *et* de la microbiologie medicale, 2016, 9041636. https://doi.org/10.1155/2016/9041636
68. Khan, S. H., & Iqbal, J. (2016). Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition. Journal of Applied Animal Research, 44(1), 359–369.
69. Khyoon, A. R. (2023). Application of silver nanoparticles and Zingiber officinale extract for inhibition of protease purified from pathogenic Escherichia coli (Master's thesis, University of Baghdad, Department of Biotechnology).
70. Kim, J. (2015). Di*et*ary organic acids for broiler chickens: A review. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 28(2), 109–123. https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v28n2a01
71. Kodaka, H., Uesaka, Y., & Kashitani, F. (2004). Nissui glucose fermentative gram-negative rod identification system EB-20 gives a unique profile for typical non-sorbitol-fermenting Escherichia coli O157:H7. Journal of clinical microbiology, 42(1), 354–358. https://doi.org/10.1128/JCM.42.1.354-358.2004
72. Książek, E. (2024). Citric Acid: Properties, Microbial Production, and Applications in Industries. Molecules, 29(1), 22. https://doi.org/10.3390/molecules29010022
73. Lacoma, A., Usón, L., Mendoza, G., Sebastián, V., Garcia-Garcia, E., Muriel-Moreno, B., Domínguez, J., Arruebo, M., & Prat, C. (2020). Novel intracellular antibiotic delivery system against Staphylococcus aureus: cloxacillin-loaded poly(d,l-lactide-co-glycolide) acid nanoparticles.

Nanomedicine (London, England), 15(12), 1189–1203. https://doi.org/10.2217/nnm-2019-0371

74. Langfeld, L. Q., Du, K., Bereswill, S., & Heimesaat, M. M. (2021). A review of the antimicrobial and immune-modulatory properties of the gut microbiota-derived short chain fatty acid propionate - What is new?. European journal of microbiology & immunology, 11(2), 50–56. https://doi.org/10.1556/1886.2021.00005
75. Leventi, A. A., Billimoria, K., Bartczak, D., Laing, S., Goenaga-Infante, H., Faulds, K., & Graham, D. (2023). New Model for Quantifying the Nanoparticle Concentration Using SERS Supported by Multimodal Mass Spectrom*et*ry. Analytical chemistry, 95(5), 2757–2764. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c03779
76. Levinson, W. (2018). Review of Medical Microbiology & Immunology: A Guide to Clinical Infectious Diseases (15th ed.). McGraw-Hill Education.
77. Levinson, W. (2018). Review of Medical Microbiology & Immunology: A Guide to Clinical Infectious Diseases (15th ed.). McGraw-Hill Education.
78. Li, P., Yin, R., Cheng, J., & Lin, J. (2023). Bacterial Biofilm Formation on Biomaterials and Approaches to Its Treatment and Prevention. International Journal of Molecular Sciences, 24(14), 11680. https://doi.org/10.3390/ijms241411680
79. Li, X., Tian, Z., Kong, Y., Cao, X., Liu, N., Zhang, T., Xiao, Z., & Wang, Z. (2024). The suspension stability of nanoplastics in aquatic environments revealed using m*eta*-analysis and machine learning. Journal of hazardous materials, 471, 134426.
80. Liu, D., Liu, A.-H., He, C., Wang, J.-H., & Wang, Y.-A. (2012). Response of organic acids to zinc homeostasis in zinc-deficient and zinc-toxic apple rootstock roots. Pedosphere, 22(6), 803–814.
81. Löffler, B., & Tuchscherr, L. (2021). Staphylococcus aureus Toxins: Promoter or Handicap during Infection?. Toxins, 13(4), 287. https://doi.org/10.3390/toxins13040287
82. Lopez, J., Méndez, J., Espinach, F.-X., Julian, F., Mutjé, P., & Vilaseca, F. (2012). Tensile strength characteristics of polypropylene composites reinforced with stone groundwood fibers from softwood. BioResources, 7(3), 3188-3200. https://doi.org/10.15376/biores.7.3.3188-3200.
83. Madhavi, J., Srilakshmi, J., Rao, M. V., & Sambasiva Rao, K. R. S. (2011). Efficient leather dehairing by bacterial thermostable protease. International Journal of Bio-Science and Bio-Technology, 3(1), 11-26.

84. Mani-López, E., García, H., & López-Malo, A. (2012). Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products. Food Research International, 45, 713–721.
85. Maraz, K. M., & Khan, R. (2021). An overview on impact and application of microorganisms on human health, medicine and environment. GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 16, 89–104. https://doi.org/10.30574/gscbps.2021.16.1.0200
86. Mare, A. D., Ciurea, C. N., Man, A., Tudor, B., Moldovan, V., Decean, L., & Toma, F. (2021). Enteropathogenic Escherichia coli—A Summary of the Literature. Gastroenterology Insights, 12(1), 28-40. https://doi.org/10.3390/gastroent12010004
87. Mare, A. D., Ciurea, C. N., Man, A., Tudor, B., Moldovan, V., Decean, L., & Toma, F. (2021). Enteropathogenic Escherichia coli—A Summary of the Literature. Gastroenterology Insights, 12(1), 28-40. https://doi.org/10.3390/gastroent12010004
88. Mbarga Manga, J. A., Adjele, B. J., Souadkia, S., *et al*. (2022). Short review on the potential alternatives to antibiotics in the era of antibiotic resistance. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 12(1), 29-40. https://doi.org/10.7324/JAPS.2021.120102
89. Mekuye, B., & Abera, B. (2023). Nanomaterials: An overview of synthesis, classification, characterization, and applications. Nano Select, 4, 486-501. https://doi.org/10.1002/nano.202300038
90. Mohammadi-Jam, S., Waters, K. E., & Greenwood, R. (2022). A review of *zeta* potential measurements using electroacoustics. Advances in Colloid and Interface Science, 309, 102778.
91. Mohammed, S., Raji, S., & Shariq, A. (2017). Susceptibility profile of m*et*hicillin-resistant Staphylococcus aureus to linezolid in clinical isolates. International Journal of Health Sciences, 1–4.
92. Moyes, R. B., Reynolds, J., & Breakwell, D. P. (2009). Differential staining of bacteria: gram stain. Current protocols in microbiology, Appendix 3, . https://doi.org/10.1002/9780471729259.mca03cs15
93. Nanda, A. P., & Nayak, S. K. (2020). Virulence factors and drug resistance of gastrointestinal Escherichia coli isolated from different animals. Indian Journal of Animal Health, 59, 159–168. https://doi.org/10.36062/ijah.59.2.2020.159-168

94. Nasrollahian, S., Graham, J. P., & Halaji, M. (2024). A review of the mechanisms that confer antibiotic resistance in pathotypes of E. coli. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 14, 1387497. https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1387497
95. Otto, M. (2013). Staphylococcal infections: Mechanisms of biofilm maturation and d*et*achment as critical d*et*erminants of pathogenicity. Annual Review of Medicine, 64, 175–188. https://doi.org/10.1146/annurev-med-042711-140023
96. Palavecino, E. (2007). Clinical, epidemiological, and laboratory aspects of m*et*hicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) infections. M*et*hods in Molecular Biology (Clifton, N.J.), 391, 1–19. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-468-1_1
97. Palmqvist, N. G. M., Seisenbaeva, G. A., Svedlindh, P., & Kessler, V. G. (2017). Maghemite nanoparticles acts as nanozymes, improving growth and abiotic stress tolerance in Brassica napus. Nanoscale Research L*et*ters, 12(1), 631. https://doi.org/10.1186/s11671-017-2404-2
98. Paternoster, C., Tarenzi, T., Potestio, R., & Lattanzi, G. (2023). Gamma-Hemolysin Components: Computational Strategies for LukF-Hlg2 Dimer Reconstruction on a Model Membrane. International journal of molecular sciences, 24(8), 7113. https://doi.org/10.3390/Ijms24087113
99. Pi, Y., Chen, W., & Ji, Q. (2020). Structural Basis of Staphylococcus aureus Surface Protein SdrC. Biochemistry, 59(15), 1465–1469. https://doi.org/10.1021/acs.biochem.0c00124
100. Pradeep, R., Senthilkumar, A., & Sangaran, A. (2022). Isolation and molecular identification of enteropathogen E. coli In captive pheasants of Arignar Anna zoological park, Vandalur Chennai, Tamil Nadu. The Pharma Innovation Journal, SP-11(8), 1645–1647.
101. Price-Carter, M., Fazzio, T. G., Vallbona, E. I., & Roth, J. R. (2005). Polyphosphate kinase protects Salmonella enterica from weak organic acid stress. Journal of bacteriology, 187(9), 3088–3099. https://doi.org/10.1128/JB.187.9.3088-3099.2005
102. Pulit-Prociak, J., Chwastowski, J., Kucharski, A., & Bamach, M. (2016). Functionalization of textiles with silver and zinc oxide nanoparticles. Applied Surface Science, 385, 543-551.
103. Rades, S., Hodoroaba, V., Salge, T., Wirth, T., Lobera, M. P., Labrador, R. H., Natte, K., Behnke, K., Gross, T., & Unger, W. E. S. (2014). High-resolution imaging with SEM/T-SEM, EDX, and SAM as a combined

methodical approach for morphological and elemental analyses of single engineered nanoparticles. RSC Advances, 4, 49577–49587.

104. Rafique, M., Shaikh, A. J., & Rasheed, R. (2017). A review on synthesis, characterization and applications of copper nanoparticles using green method. Nano, 12
105. Raimondi, S., Righini, L., Candeliere, F., Musmeci, E., Bonvicini, F., Gentilomi, G., Starčič Erjavec, M., Amaretti, A., & Rossi, M. (2019). Antibiotic resistance, virulence factors, phenotyping, and genotyping of Escherichia coli isolated from the feces of healthy subjects. Microorganisms, 7(8), 251. https://doi.org/10.3390/microorganisms7080251
106. Rajwar, A., Srivastava, P., & Sahgal, M. (2016). Microbiology of Fresh Produce: Route of Contamination, Detection Methods, and Remedy. Critical reviews in food science and nutrition, 56(14), 2383–2390. https://doi.org/10.1080/10408398.2013.841119
107. Rasheed, N. A., & Hussein, N. R. (2021). Staphylococcus aureus: An overview of discovery, characteristics, epidemiology, virulence factors, and antimicrobial sensitivity. European Journal of Molecular and Clinical Medicine, 8(1), 1160-1183.
108. Ray, G. T., Suaya, J. A., & Baxter, R. (2013). Microbiology of skin and soft tissue infections In the age of community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Diagnostic microbiology and infectious disease, 76(1), 24–30.
109. Reda, A. T., Park, J. Y., & Park, Y. T. (2024). Zinc Oxide-Based Nanomaterials for Microbiostatic Activities: A Review. Journal of functional biomaterials, 15(4), 103. https://doi.org/10.3390/jfb15040103
110. Ricke S. C. (2003). Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. Poultry science, 82(4), 632–639. https://doi.org/10.1093/ps/82.4.632
111. Rigby, K. M., & DeLeo, F. R. (2012). Neutrophils In innate host defense against Staphylococcus aureus infections. Seminars in immunopathology, 34(2), 237–259. https://doi.org/10.1007/s00281-011-0295-3
112. Russell, J. B. (1992). Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: Anion accumulation versus uncoupling. Journal of Applied Bacteriology, 73(5), 363–370.
113. Russell, J. B. (2008). Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: Anion accumulation versus uncoupling. Journal of Applied

Microbiology, 73(3), 363–370. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1992.tb04990.x

114. Sabir, S., Arshad, M., & Chaudhari, S. K. (2014). Zinc oxide nanoparticles for revolutionizing agriculture: synthesis and applications. TheScientificWorldJournal, 2014, 925494. https://doi.org/10.1155/2014/925494
115. Salman, A. S. (2022). Assessment activity of ZnO nanoparticles against Staphylococcus aureus infections isolated from different clinical sites (Unpublished master's thesis). University of Al-Qadisiya.
116. Schaechter, M. (2010). Encyclopedia of microbiology (3rd ed.). Choice Reviews Online, 47(11), 47-59.
117. Schiavo, L., Cammarano, A., Carotenuto, G., Longo, A., Palomba, M., & Nicolais, L. (2023). An overview of the advanced nanomaterials science. Inorganica Chimica Acta, 121802.
118. Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. Current biology : CB, 24(10), R453–R462. https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034
119. Schloss, P. D., & Handelsman, J. (2004). Status of the microbial census. Microbiology and molecular biology reviews : MMBR, 68(4), 686–691. https://doi.org/10.1128/MMBR.68.4.686-691.2004
120. Schwan, W. R. (2019). Staphylococcus aureus Toxins: Armaments for a Significant Pathogen. Toxins, 11(8), 457. https://doi.org/10.3390/toxins11080457
121. Shahrom, A. S., Mahmud, A. A., Seeni, N. H. M. K., Ann-Siti Khadijah, M. B., Hasan, H., & Mohamad, D. (2015). Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. Nano-Micro L*et*ters, 7(3), 219–242.
122. Sharaf, E. F., El-Sayed, W. S., & Abosaif, R. M. (2014). Lecithinase-producing bacteria in commercial and home-made foods: Evaluation of toxic properties and identification of potent producers. Journal of Taibah University for Science, 8(3), 207-215.
123. Shariq, A., Tanvir, S. B., Zaman, A., Khan, S., Anis, A., Khan, M. A., & Ahmed, S. (2017). Susceptibility profile of m*et*hicillin-resistant Staphylococcus aureus to linezolid in clinical Isolates. International Journal of Health Sciences, 11(1), 1–4.
124. Sharma, S., Bhat, G. K., & Shenoy, S. (2007). Virulence factors and drug resistance in Escherichia coli isolated from extraintestinal infections. Indian journal of medical microbiology, 25(4), 369–373. https://doi.org/10.4103/0255-0857.37341

125. Shi, L. B., Tang, P. F., Zhang, W., Zhao, Y. P., Zhang, L. C., & Zhang, H. (2017). Green synthesis of CuO nanoparticles using Cassia auriculata leaf extract and in vitro evaluation of their biocompatibility with rheumatoid arthritis macrophages (RAW 264.7). Trep Journal of Pharmaceutical Research, 16.
126. Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The bacterial cell envelope. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 2(5), a000414.
127. Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The bacterial cell envelope. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 2(5), a000414.
128. Singh, P., & Nanda, A. (2013). Antimicrobial and antifungal potential of zinc oxide nanoparticles in comparison to conventional zinc oxide particles. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 5(11), 457–463.
129. Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., Hasan, H., & Mohamad, D. (2015). Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. Nano-Micro Letters, 7(3), 219–242. –
130. Smajlagić, A., Modrić-Šahbazović, A., Sakić, Z., & Babajić, E. (2024). Synthesis, characterization and optical morphology of ZnO nanoparticles. Open Journal of Applied Sciences, 14(7), 1330–1337. https://www.scirp.org/journal/ojapps
131. Smuleac, V., Xiao, L., & Bhattacharyya, D. (2015). Greener and other approaches to synthesize Fe and Pd nanoparticles In functionalized membranes and hydrogel. In P. S. Kumar (Ed.), ACS symposium series (vol. 1124, Chapter 3, pp. 41–58). American Chemical Society.
132. Sora, V. M., Meroni, G., Martino, P. A., Soggiu, A., Bonizzi, L., & Zecconi, A. (2021). Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli: Virulence Factors and Antibiotic Resistance. Pathogens (Basel, Switzerland), 10(11), 1355. https://doi.org/10.3390/pathogens10111355
133. Soto, S. M. (2013). Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. Virulence, 4(3), 223–229. https://doi.org/10.4161/viru.23724
134. Tamerat, N., Muktar, Y., & Shiferaw, D. (2016). Application of molecular diagnostic techniques for the detection of E. coli O157: H7: A review. Journal of Veterinary Science & Technology, 7(362), 1-9.
135. Tilahun, E., Adimasu, Y., & Dessie, Y. (2023). Biosynthesis and Optimization of ZnO Nanoparticles Using Ocimum lamifolium Leaf Extract

for Electrochemical Sensor and Antibacterial Activity. ACS omega, 8(30), 27344–27354. https://doi.org/10.1021/acsomega.3c02709

136. Todkar, S. A., Kharat, S. B., Bobade, S. S., Ghandge, A. N., & Borde, S. S. (2023). A review on nanotechnology and its classification, synthesis method and applications. International Journal of Research Publication and Reviews, 4(2), 1482–1490.
137. Touaitia, R., Mairi, A., Ibrahim, N. A., Basher, N. S., Idres, T., & Touati, A. (2025). Staphylococcus aureus: A review of the pathogenesis and virulence mechanisms. Antibiotics (Basel, Switzerland), 14(5), 470. https://doi.org/10.3390/antibiotics14050470
138. Wang, Z., Zhao, Y., Yang, M., Wang, Y., Wang, Y., Shi, C., Dai, T., Wang, Y., Tao, L., & Tian, Y. (2024). Glycated walnut meal peptide–calcium chelates: Preparation, characterization, and stability. Foods, 13(7), 1109.
139. Willis, L. M., & Whitfield, C. (2013). Structure, biosynthesis, and function of bacterial capsular polysaccharides synthesized by ABC transporter-dependent pathways. Carbohydrate Research, 378, 35–44.
140. Yadav, A., Kolluri, G., Gopi, M., Karthik, K., Malik, Y., & Dhama, K. (2016). Exploring alternatives to antibiotics as health promoting agents in poultry: A review. Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences, 4(3S), 368–383.
141. Zahoor, S., Sheraz, S., Shams, D. F., Rehman, G., Nayab, S., Ali Shah, M. I., Ateeq, M., Shah, S. K., Ahmad, T., Shams, S., & Khan, W. (2023). Biosynthesis and anti-inflammatory activity of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of Senecio chrysanthemoides. BioMed Research International, 2023, 3280708.
142. Zhualnoon, Y. S. Al-Janabi. (2019). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by locally isolated Zygorhiza species (Unpublished master's thesis). College of Science, University of Misan.
143. Zurita, J., Mejía, C., & Guzmán-Blanco, M. (2010). Diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Latin America. The Brazilian Journal of Infectious Diseases: An Official Publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases, 14(Suppl 2), S97–S106. https://doi.org/10.1590/s1413-86702010000800005

الملاحـــــــــق

جدول يوضح قيم PH الحامضي في مختلف المعاملات

نوع الحامض	تركيز الحامض	للحامضPH	تركيز ZNO	PH ZNO +الحامض
حامض البروبونيك	2%	4.7%	0.075 0.150 0.250	5.2 5.3 5.5
حامض الستريك	2%	4.8%	0.075 0.150 0.250	5.3 5.5 5.7

Abstract

The study aimed to prepare zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) using the sol-gel technique and evaluate their antimicrobial activity alone and when mixed with organic acids. The physicochemical properties of the synthesized nanomaterial were characterized using a suite of techniques including X-ray diffraction (XRD), transmission electron microscopy (TEM), scanning electron microscopy (SEM), infrared spectroscopy (FTIR), energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX), and z*et*a potential measurement. The results confirmed the formation of crystalline, quasi-spherical nanoparticles, with diam*et*ers ranging from 20–50 nm, with a marked homogeneity in distribution. Bacterial strains of Staphylococcus aureus and Escherichia coli were isolated from Maysan Children's and Maternity Hospital, and their identification was confirmed using the Vitek 2 system, supported by standard biochemical, microscopic, and cultural tests.

The antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles alone and combined with propionic acid and citric acid was tested, with a comparative evaluation of the susceptibility of the isolates to the two antibiotics: aztreonam and amikacin, using a disk diffusion test. Statistical analysis using SPSS (version 26) using ANOVA showed a significant synergistic effect ($p<0.05$) when the nanoparticles were combined with organic acids. The combination [ZnO NPs + propionic acid] was superior in inhibiting E. coli (inhibition zone diam*et*er: 28.0 ± 0.37 mm) and S. aureus (26.5 ± 0.32 mm). While the [ZnO NPs + citric acid] formulation recorded lower efficacy (26.4 ± 0.36 mM for E. coli; 24.6 ± 0.26 mM for S. aureus), propionic acid was significantly superior to citric acid in enhancing antibacterial activity.

The improved nanoformulations exceeded the antibiotic efficacy, with aztreonam inhibiting E. coli (22.2 ± 0.63 mM; 22.7 ± 0.58 mM), and amikacin inhibiting S. aureus (21.0 ± 0.38 mM; 21.5 ± 0.48 mM). These results highlight the potential of organic acid-supported zinc oxide nanoparticles as promising alternatives to conventional antibiotics.

The Republic of Iraq

Ministry of Higher Education and Scientific Research

University of Misan

College of Basic Education

Antimicrobial activity of secondary zinc molecules and organic acids against e. Coli and staphylococcus aureus in vitro

A Thesis

Submitted to the Council of the College of Basic Education, University of Misan

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master in General Sciences (Specialized General Sciences)

By:

Massara Bassim Arraif

Supervised by:

Asist. proph. Taha Hassan Jassim

2025A.H . **1447 A.D.**