CC BY

College of Basic Education Research Journal

www.berj.mosuljournals.com

Investigating the Combined Effect of Silver Nanoparticles Prepared from Aloe Vera with Some Antibiotics on the Pathogenic Bacteria Shigella sp and Salmonella sp

Hussein A. R. Abbood

Department of Biology,College of education for pure Science,kirkuk university,IRAQ.

Article Information

Article history:

Received: February 20,2024

Reviewer: April 14,2024

Accepted: April 16,2024

Available online

Keywords: *silver nanoparticles , Aloe vera , antibiotics*

Correspondence:

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the efficacy of silver nanoparticles (AgNPs) prepared with *aloe vera* leaf extract and several antibiotics against antibiotic-resistant *Shigella* and *Salmonella* bacteria. These bacteria were obtained from Kirkuk General Hospital and re-diagnosed based on reliable diagnostic sources. According to the study, *aloe vera* leaf extract reduces silver ions while changing the color of the solution to reddish brown. The silver nanoparticles produced by the *aloe vera* plant were detected using a UV-visible spectrophotometer and found to fall at wavelengths (430) nm The results of (111), (200), and (220) indicate that silver particles and antibiotic tablets extracted from *aloe vera* leaves (amoxicillin, chloramphenicol, erythromycin, and ciprofloxacin) have synergistic effects against drug-resistant bacteria such as *shigella* and *salmonella*. As a result, their antimicrobial efficacy was enhanced.

ISSN: 1992 – 7452

الكشف عن التأثير المشترك لجسيمات الفضة النانوية المحضرة من نبات *Aloe vera* مع بعض المضادات الحيوية على البكتيريا *Shigella sp* و *Salmonella sp* المسببة للأمراض

حسين عبد الرزاق عبود

قسم علوم الحياة ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة كركوك ، العراق

الخلاصة

تضمنت الدراسة إلى الكشف عن فعالية جزيئات الفضة النانوية (AgNPs) المحضرة بمستخلص أوراق *Aloe vera* وبعض المضادات الحيوية ضد البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية *Shigella sp* و *Salmonella sp* التي تم الحصول عليها من مستشفى كركوك العام في محافظة كركوك وإعادة تشخيصها بناء على مصادر تشخيصية موثوقة. تظهر الأبحاث أن مستخلص أوراق*Aloe vera* يقلل من أيونات الفضة مع تغيير لون المحلول إلى البني المحمر. تم الكشف عن جزيئات الفضة النانوية التي تنتجها نبتة *Aloe vera* باستخدام مقياس الطيف الضوئي المرئي فوق البنفسجي (UV–visble spectrophotometer) وتبين انها تقع على الطول الموجي (٤٣٠ نانوميتر) وأشعة X–Ray وأظهرت الأشعة السينية جزيئات شكل كروية بحجم 44 نانومتر مع ثلاثة زوايا (111) و (200) و (220) ، وأظهرت النتائج أن التأثير التآزري لجزيئات الفضة المستخلصة من اوراق *Aloe vera* وأقراص المضادات الحيوية (أموكسيسيلين، كلورامفينيكول، إريثرومايسين والسيبروفلوكساسين) ضد البكتيريا *Shigella sp* و*Salmonella sp* المقاومة للأدوية أدت إلى تعزيز التأثير المضادة للبكتيريا .

الكلمات الدالة :- جسيمات الفضة النانوية ، *Aloe vera* ، مضادات حيوية

مقدمة

تكنولوجيا النانو هو علم يتناول المواد التي يقل حجمها عن ١٠٠ نانومتر، وقد تطور هذا الموضوع بشكل سريع في مختلف المجالات (١) غيرت تكنولوجيا النانو تشخيص وعلاج والوقاية من الأمراض المختلفة في جميع جوانب حياة الإنسان. تعد جسيمات الفضة النانوية إحدى المواد النانوية الشائعة بين العديد من الجسيمات النانوية المستخدمة في التطبيقات الطبية الحيوية (٢) ويمثل تطبيق تقنية النانو خطوة مهمة في تطوير النشاط البيولوجي في تركيب مثل هذه الجزيئات من خلال الطرق البيولوجية والكيميائية والفيزيائية (٣) . هناك حاجة لاستخدام طرق منخفضة التكلفة وصديقة للبيئة للحصول على هذه الجزيئات(٤) ، وتشتمل الدراسات المختلفة على استخدام تقنية النانو للحصول على بدائل للمضادات الحيوية من خلال الطرق البيولوجية (٥) (٦) (٧) بالإضافة إلى الآثار الجانبية ، يعد تعاطي المضادات الحيوية مشكلة

شائعة في جميع أنحاء العالم. يمكن أن تؤدي التأثيرات السلبية إلى مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية القوية (٨). ولذلك كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد الآثار الجانبية للمضادات الحيوية. بدائل المضادات الحيوية ودراسة تأثير جزيئات الفضة النانوية مع بعض المضادات الحيوية على *Shigella sp*و *Salmonella sp* .

المواد وطرق العمل

جمع العينات السريرية

تم الحصول على عينات البكتريا (*Shigella sp* و *Salmonella sp*) المقاومة للمضادات الحيوية من النماذج السريرية المأخوذة من المراجعين والراقدين في مستشفيات مدينة كركوك والمشخصة في مختبرات الصحة العامة (٩) .

تحضير معلق البكتيريا

أخذ ٥ من المستعمرات نامية على وسط Nutrient Agar ووضعت بعد ذلك في انبوبة زجاجية تحتوي على ١٠مل من مرق مولر– هنتون (MHB) وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ °م لمدة ٦ – ٧ ساعات الى أن تظهر العكورة بعدها تم مقارنتها مع انبوبة أختبار ماكفورلاند ٠.٥ القياسية (١٠) .

تحضير خلاصة *Aloe vera*

جمعت أوراق *Aloe vera* الطازجة وشطفها عدة مرات بالماء المقطر لإزالة جزيئات الأوساخ، قبل تجفيفها بالشمس لإزالة أي رطوبة متبقية. في دورق زجاجي سعة ٥٠٠ مل، تم وزن ١٠ غم من أوراق *Aloe vera* المجففة والمفتتة بقضيب زجاجي، وأضف ٢٠٠ مل من الماء المقطر المعقم إلى الدورق الزجاجي، ثم غليها لمدة ٢٠ دقيقة، أو حتى يتغير لون المحلول المائي.الى اللون الاصفر بعد تبريد المستخلص، تم ترشيح المحلول من خلال ورق Whatman filter، وطرده مركزيًا لمدة نصف ساعة عند ٣٠٠٠ دورة في الدقيقة، وتم فصل الطبقة الطافية و حفظ مستخلص *Aloe vera* عند درجة حرارة ١٥ °م (١١).

تحضير جسيمات الفضة النانوية (AgNPs) باستخدام خلاصة Aloe vera

أجري إذابة ٠.١ ملم من نترات الفضة (AgNo3) في ١٠٠ مل من الماء المقطر وتم تحريكها لفترة قصيرة من الوقت. ثم قطرة قطرة أضيف ٥ مل من خلاصة *Aloe vera*. تم تحريك تركيبة المحلول في محرك مغناطيسي بسرعة ٦٥٠–٨٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ٧٢ ساعة و مراقبة تغيرات لون خليط التفاعل بشكل مستمر من خلال تغيير اللون من عديم اللون إلى الأصفر الفاتح ثم إلى البني الداكن و باستخدام مقياس الطيف الضوئي المرئي للأشعة فوق البنفسجية ذي الشعاع المزدوج عند أطوال موجية مختلفة

تتراوح بين ٢٥ و٦٥٠ نانومترو بعد ذلك طردها مركزيا بسرعة ٨٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق (١٢) .

فحص الجسيمات النانونية

أجري فحص جزيئات AgNPs بأستخدام مطياف الأشعة فوق البنفسجية المرئية (UV–visble spectrophotometer) وطيف الأشعة السينية X–Ray (shimadzu) في مختبر في قسم الفيزياء – كلية العلوم جامعة بغداد .

حساسية المضادات الحيوية

أجري في هذه الدراسة استخدام مسحة قطنية معقمة لنشر اللقاح البكتيري بشكل موحد (حوالي ١–٢ × ١٠٨ CFU / mL) على طبق بتري معقم يحتوي على أجار مولر هينتون. تم تثبيت اقراص المضادات الحيوية المستخدمة بالدراسة بواسطة ملقط معقم ، ومن ثم وضعت الأطباق في الحاضنة بدرجة ٣٧ °م لمدة ٢٤ ساعة ، بعدها تم قياس قطر التثبيط الناتجة بوحدة القياس الملم (١٣) .

الكشف عن النشاط المضاد للبكتيريا لجسيمات الفضة النانوية

باستخدام طريقة الانتشار، تم نقل (٠.١) مل من المعلق البكتيري لبكتيريا *Shigella sp* و *Salmonella sp* بعد ٢٤ ساعة مقارنة بمحلول ماكفارلاند القياسي ونشره على وسط أجار مولر–هينتون باستخدام قطعة قطن استخدمت مثقاب الفلين المعقم لعمل فتحة قطرها (٥) ملم في سطح الوسط بواقع ٤ فتحات، ومن ثم وضع محلول AgNPs المحضرة بتركيز 100 % في أحدى الثقوب الاربعة ثم وضع قرص المضاد الحيوي في الفتحة الثانية ومزيج الجسيمات النانونية والمضاد الحيوي في الفتحة الثالثة ثم الفتحة الرابعة كعامل سيطرة . تم تحضين ٧٠ ميكرولتر من جميع الأطباق التي تحتوي على البكتيريا المسببة للأمراض عند ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة، وبعد ذلك تم قياس قطر التثبيط بالمليمترات حول الثقب (١٤).

مزيج من جسيمات الفضة النانوية مع المضادات الحيوية:

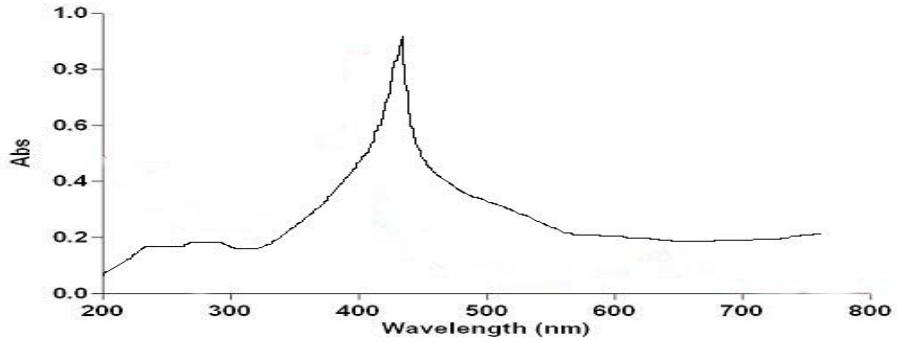
أجري في البحث غمر أقراص المضادات الحيوية في ٢٠ ميكرولتر من جسيمات الفضة النانوية المطلقة المحضرة بمستخلص *Aloe vera* وتم غمر الأقراص الأخرى في ٢٠ ميكرولتر من الماء المقطر كعنصر سيطرة. تم تجفيف جميع الأقراص بالكامل قبل التطبيق ، ثم تم وضع الأقراص على سطح Muller Hinton ager تم تحضين اللوحات عند ٣٧ درجة مئوية لمدة 24 ساعة. ثم تم قياس منطقة التثبيط بالمليمتر (١٥) .

النتائج والمناقشة

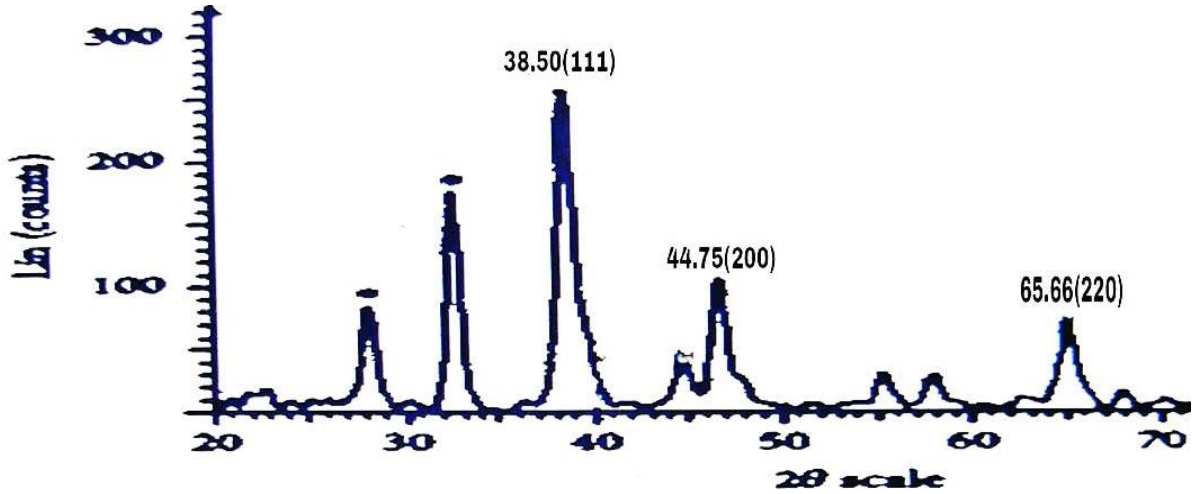
يمثل تخليق جسيمات الفضة النانوية عملية الاختزال حيث يتم أختزال أيون الفضة إلى جسيمات الفضة النانوية (٦). أظهرت النتائج أن تخليق جسيمات الفضة النانوية من خلال استخدام مستخلص *Aloe vera* ، من خلال اختزال نترات الفضة. هذه النتيجة تتفق مع (١١). في هذه الدراسة ، تم اكتشاف إنتاج الجسيمات النانوية الفضية أولا عن طريق تغيير اللون إلى اللون البني المحمر الصورة (١) .

الصور(١) التغير اللوني لمحلول نترات الفضة

فحصت جزيئات الفضة النانوية المحضرة باستخدام مستخلص *Aloe vera* عند طول موجي ٤٣٠ نانومتر، والذي يمثل ذروة امتصاص الفضة. الشكل (١) يتوافق مع (١٦) (١٧) ويوضح تخليق جسيمات الفضة النانوية بثلاثة أنماط حيود وهي (١١١) و (٢٠٠) و (٢٢٠) جسيمات الفضة النانوية الشكل (٢) . هذه النتيجة تتفق مع (١٦) حجم الجسيمات هو ٤٤ نانومتر وكروية أظهرت النتائج زيادة في قطر منطقة التثبيط حول أقراص المضاد الحيوي مقارنة بجسيمات الفضة النانوية وحدها في هذه الدراسة، بينما أظهر التآزر بين المضادات الحيوية وجسيمات الفضة النانوية زيادة في قطر التثبيط ضد *Shigella sp* الصورة (٢) والشكل (٣) و*Salmonella sp* الصورة (٣) والشكل (٤)وتتفق النتائج مع (١٨) (١٩) وبالتالي فإنها قد تمثل بدائل علاجية لعلاج البكتيريا المقاومة للأدوية.

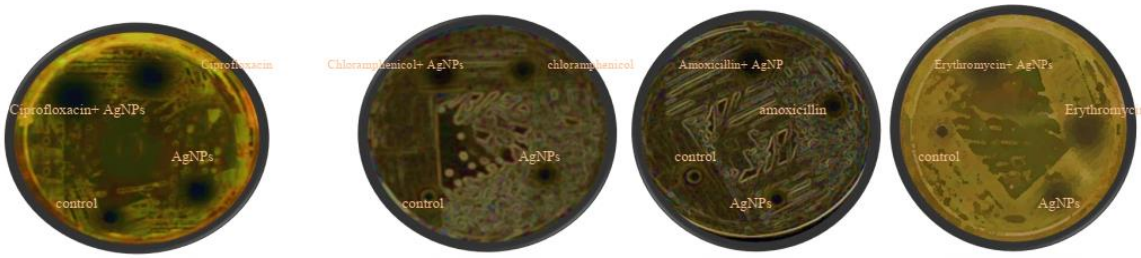


الشكل (١) طيف أمتصاص للأشعة فوق البنفسجية والمرئية

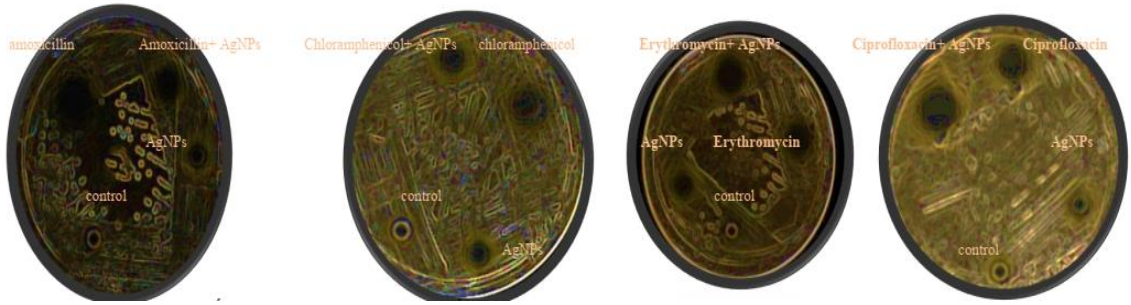


الشكل(2) طيف حيودالأشعة السينية لجسيمات الفضة النانوية

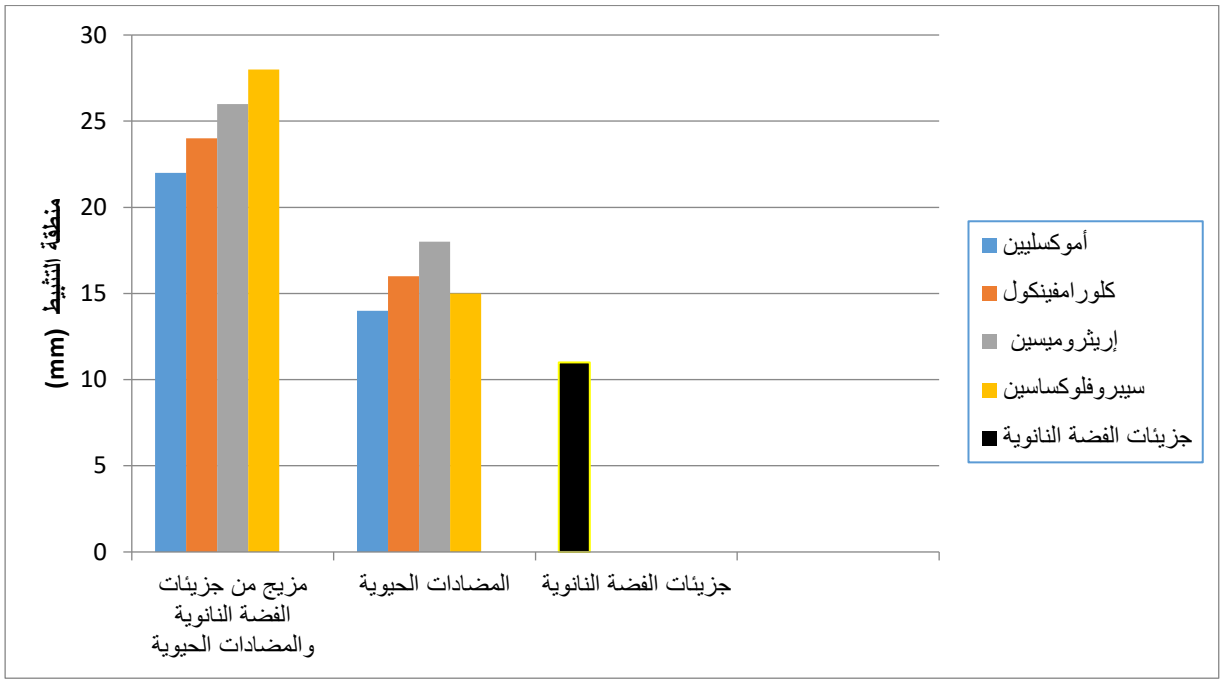
(٢٠) في هذه الدراسة، أظهر نتائج جيدة ضد *Shigella sp* و*Salmonella sp* الأنواع المختلفة من المضادات الحيوية المستخدمة في هذه الدراسة لها تأثيرات مختلفة على البكتيريا حيث يعمل الأموكسيسيلين والكلورامفينيكول والإريثروميسين والسيبروفلوكساسين عن طريق تثبيط تخليق جدار الخلية البكتيرية وتخليق البروتين وتكاثر الحمض النووي البكتيري على التوالي (٢١) . يحدث التأثير المضاد للبكتيريا لـ Ag–NPs من خلال التغيرات في نفاذية غشاء الخلية، والتشكل، وفصل الغشاء السيتوبلازمي عن جدار الخلية، وانحلال البلازما، وانهيار الحمض النووي، وتثبيط نشاط الجهاز التنفسي (٢٢) (٢٣). قد تعطل Ag–NPs بنية جدار الخلية البكتيرية وتوازن الشحنة السطحية، مما يؤدي في النهاية إلى تغيير نفاذية جدار الخلية البكتيرية حيث تتمتع المضادات الحيوية بفرصة أفضل للوصول إلى الخلايا البكتيرية الفردية. المتعلقة Biofilm (٢٤) (٢٥) .



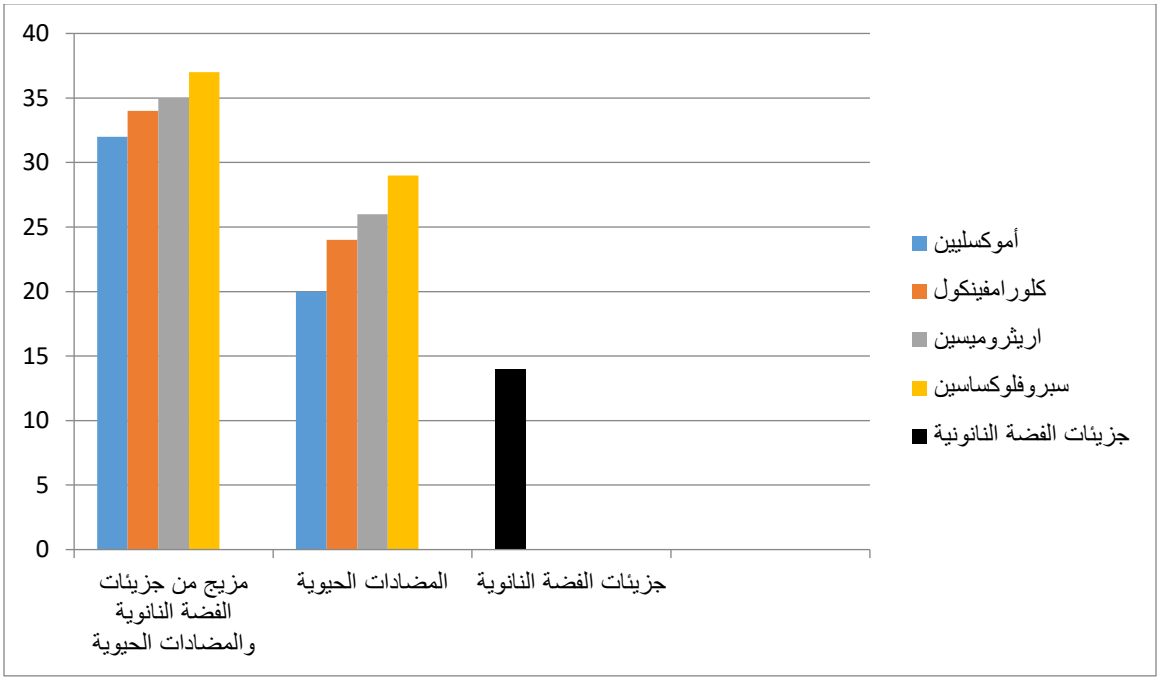
الصورة (٢) يمثل نشاط المضاد للبكتيريا ل AgNPs وعمله المشترك مع أربعة مضادات حيوية مختلفة (أموكسيسيلين ، كلورامفينيكول ، إريثروميسين وسيبروفلوكساسين) ضد نمو *Shigella sp* منطقة التثبيط المقاسة بوحدة (مم)



الصورة ٣ يمثل نشاط المضاد للبكتيريا ل AgNPs وعمله المشترك مع أربعة مضادات حيوية مختلفة (أموكسيسيلين ، كلورامفينيكول ، إريثروميسين وسيبروفلوكساسين) ضد نمو *Salmonella sp* منطقة التثبيط المقاسة بوحدة (مم)



الشكل ٣ حساسية نمو *Shigella sp* للمضادات الحيوية والجسيمات النانوية الفضية



الشكل ٤ حساسية نمو *Salmonella sp* للمضادات الحيوية والجسيمات النانوية الفضية

المصادر

1- Hansen, S.F., et al., Nanotechnology and human health: Scientific evidence and risk governance: Report of the WHO expert meeting 10–11 December 2012, Bonn, Germany. 2013.
2- Zhang, X.-F., et al., Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. International journal of molecular sciences, 2016. 17(9): p. 1534.
3- Jain, P.K., et al., Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine. Accounts of chemical research, 2008. 41(12): p. 1578-1586.
4- Benelli, G., Plant-mediated biosynthesis of nanoparticles as an emerging tool against mosquitoes of medical and veterinary importance: a review. Parasitology Research, 2016. 115(1): p. 23-34.
5- Habibi, B., et al., Green synthesis of Silver nanoparticles using the aqueous extract of Prangos ferulaceae leaves. International Journal of Nano Dimension, 2017. 8(2): p. 132-141.
6- Akhlaghi, H., Green synthesis of Silver nanoparticles using Pimpinella anisum L. seed aqueous extract and its antioxidant activity. Journal of Chemical Health Risks, 2018. 5(4).

7- Soares, M.R., et al., Biosynthesis of silver nanoparticles using Caesalpinia ferrea (Tul.) Martius extract: physicochemical characterization, antifungal activity and cytotoxicity. PeerJ, 2018. 6: p. e4361.
8- Nawafleh, H., et al., Misuse of Antibiotic Therapy among University Community in South Jordan. Health Science Journal, 2016. 10(6).
9- Sarah ,S.,et al., Isolation and identification of shigella from children in Kirkuk city and the studying some of the virulence characters invitro. University of Kirkuk , Journal-Scientific Studies, Volume 10, Issue 2, June 2015 , p.p(129-151).
10- John D. Turnidge, James H. Jorgensen, and Barbara A. Zimmer .(2023). Susceptibility Test Methods: General Considerations . Manual of clinical Microbiology .13th ed.
11- Hussein A. R ., et al ., Detection of combination effect of silver nanoparticles prepared with Pimpinella anisum and some antibiotics on some pathogenic bacteria. IJDDT, Volume 9 Issue 3 July 2019 – September 2019.
12- Joshua Narde,N et al., Green Synthesis of Silver Nanoparticles from Aloe Vera and Neem Leaf Extract and their Cytotoxic Effect evaluation. DOI: 10.47750/jptcp. (2023) .30.12.020.
13- Vandeppitte,J.;Engback,K,;Point,P,and Heuk,C.(1991).Basic Laboratory Procedures In Clinical Bacteriology.World Health Organization,Geneva.
14- Jahangirian, H., et al., Well diffusion method for evaluation of antibacterial activity of copper phenyl fatty hydroxamate synthesized from canola and palm kernel oils. Digest J. Nanomat. Biostructures, 2013. 8: p. 1263-1270.
15- Razmavar, S., et al., Antibacterial activity of leaf extracts of Baeckea frutescens against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. BioMed research international, 2014.
16- Hussain A.Abod, kalil I.Bander, Salah S. Zain-Al-Abddeen. The effect of silver nanoparticles prepared using Aspergillus niger in some pathogenic bacteria. University of Kirkuk , Journal-Scientific Studies,12(1),2017, 10.32894/kujss.2017.124850.
17- Hussein A. R .,et al., In vitro Antifungal efficacy of Saccharomyces Cerevisiae Mediated Nanoparticle Against Resistant Candida Albicans Isolates. Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology, January-March 2020, Vol. 14, No. 1
18- Barapatre, A., K.R. Aadil, and H. Jha, Synergistic antibacterial and antibiofilm activity of silver nanoparticles biosynthesized by lignin-degrading fungus. Bioresources and Bioprocessing, 2016. 3(1): p. 8.
19- Ildiz, N., et al., Synergistic effect of Coriandrum sativum L. extracts with cefoxitin against methicillin resistant Staphylococcus aureus, extended-

spectrum beta-lactamase producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. Medicine, 2018. 7(4): p. 777-80.

20- Hassan, M.,et al., extracts: Investigation of Antimicrobial Effect of Berberine on Ciprofloxacin and Imipenem Resistance Acinetobacter baumannii Isolated from Hamadan Hospitals . Iran J Med Microbiol 2020, 14(1): 44-54

21- Idelevich, E. A. & Becker, K. How to accelerate antimicrobial susceptibility testing. Clin. Micorbiol. Infect.25, 1347–1365 (2019).

22- Maria E.,et al .,Ultrastructural Analysis of Chitosan Antibacterial Activity against Clinical Isolates of Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Advances in Microbiology Vol.9 No.10, October 24, 2019 DOI: 10.4236/aim.2019.910055

23- Li WR, Xie XB, Shi QS, Duan SS, Ouyang YS, Chen YB (2011) Antibacterial effect of silver nanoparticles on Staphylococcus aureus. Biometals 24:135–141.

24- Fayaz AM, Balaji K, Girilal M, Yadav R, Kalaichelvan PT, Venketesan R (2010) Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. J Nanomed Nanotechnol 6:103–109.

25- Shaimaa N M , Ahmed M ,Elham H A . Effects of silver nanoparticles on multiple drug-resistant strains of Staphylococcus aureus from periodontal infection: An alternative approach for antimicrobial therapy. Indian Association of Biomedical Scientists (IABMS).VOL. 43 NO. 3 (2023): BIOMEDICINE: 2023; 43(3)