Evaluation the inhibitory efficiency of hybrid nano levofloxacin against some gram negative bacteria isolated from diabetic foot ulcer

تقييم الكفاءة التثبيطية للمضاد ليفوفلوكساسين النانوي الهجين ضد بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة غرام المعزولة من قرحة القدم السكري

*ساره محسن كاظم[1] علي عبد الكاظم الغانمي[1] أميرة محمد جبر[2]
[1]جامعة كربلاء / كلية العلوم / قسم علوم الحياة [2]مختبر الصحة العام / كربلاء المقدسة
*البحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الأول[1]

المستخلص :

تم تقييم الكفاءة التثبيطية للمضاد ليفوفلوكساسين النانوي الهجين Magnesium- Aluminum-Levofloxacin- Layered Double Hydroxide (Mg-Al-LEV-LDH) والمضاد ليفوفلوكساسين الحر بطريقة الانتشار في الاكار ضد عزلات بكتريا *Proteus mirabilis* و *Escherichia coli* و *Pseudomonas spp.* المتحصل عليها من قرحة القدم السكري وأوضحت النتائج أن اعلى فعالية تثبيطية كانت ضد عزلتي بكتريا *Proteus mirabilis* (17a و17b) بمعدل تثبيط مقداره (40.535 و40.035) ملم ،على التوالي . في حين كانت عزلة بكتريا *Escherichia coli* (102) الاقل تأثرا بالفعل التثبيطي للمضاد بمعدل تثبيط مقداره (3.464) ملم . تم اجراء اختبار الحساسية الدوائية لأربعة عشر مضاد حيوي وكانت نتائج حساسية البكتريا للمضادات الحيوية مختلفة باختلاف العزلات البكتيرية المختبرة ، وجد ان المضادين الحياتيين Amikacin وImipenem هما الاكثر كفاءة بنسبة 100 % ضد بكتريا *Escherichia coli* وبصورة عامة وجدت نسبة عالية من المقاومة للمضادات الحياتية المختبرة .

الكلمات الافتتاحية: البكتريا السالبة لصبغة غرام، اختبار الحساسية، المضاد النانوي الهجين، الكفاءة التثبيطية، التأثير التآزري .

Abstract:

The inhibitory activity of each of nano antibiotic levofloxacin Magnisum-Alaminum – Levofloxacin – Layered Double Hydroxide (Mg-Al-LEV-LDH) and free levofloxacin (LEV) were assessed by diffusion agar method against bacterial isolates *Proteus mirabilis* , *Escherichia coli* and *Pseudomonas spp*. isolated from diabetic foot ulcer. Result showed that highest inhibitory activity was obtained against *Proteus mirabilis* 17a and 17b isolates with average inhibition zones of 40.535 and 40.035 mm, respectively, while the *Escherichia coli* 102 isolate was the lowest affected with average zone of 3.464 mm. The antimicrobial susceptibility test was carried out for 14 antibiotics and the results of the bacterial susceptibility to different antibiotics varied depending on the tested bacterial isolates. Amikacin and Imipenem were the most effective antimicrobial agents against *Escherichia coli*. Generally, high resistance among the tested isolates was detected.

Key words: Gram negative bacteria, Antibiotic Sensitivity test, Hybrid nano levofloxacin, The Inhibitory efficiency, synergistic effect.

المقدمة :

تشير احدى الأحصائيات العالمية الى أن 15% من المصابين بمرض السكر عالميا يتعرضون لقرحة القدم السكري (Diabetic foot ulcer) التي تعد مصدرا للعديد من الاعتلالات المرضية . تشترك أنواع مختلفة من الأحياء المجهرية في احداث الأخماج (Infections) لقرحة القدم المذكورة وتقف البكتريا في طليعتها عبر امتلاكها لعوامل ضراوة مختلفة أولا ومقاومتها للمضادات الحيوية ثانيا . فالأخماج الحادة تكاد تقتصر على نوع مفرد من البكتريا الكروية الموجبة لصبغة غرام ، بينما تتميز الأخماج المزمنة بوجود (3-5) أنواع بكتيرية فيما تقوم بكتريا *Staphylococcus* السالبة لأنزيم التجلط وانواع *Corynebacterium* بأستعمار الأنسجة الرخوة ، فضلا عن ذلك فقد تسمح قرحة القدم حتى بتواجد بعض انواع البكتيريا اللاهوائية والفطريات [1] .

تعد مضادات Fluroquinolones واحدة من أهم المضادات المستخدمة في تثبيط الأحياء المجهرية المتواجدة في قرحة القدم السكري بألنظر لأمتلاكها طيفا تثبيطيا واسعا ضد الممرضات المهمة سريريا المسؤولة عن الكثير من الاخماج الشائعة مثل اخماج

المجاري البولية و الأخماج المعوية واخماج المجاري التنفسية والأمراض المنقولة جنسيا فضلا عن اخماج الجلد والأنسجة الرخوة وغيرها [2] و [3] و [4] .

وينتمي المضاد ليفوفلوكساسين (Levofloxacin) الى الجيل الثالث من مضادات Flouroquinolones ويتميز بفعاليته المضادة واسعة الطيف ضد البكتريا ، اذ يطال تأثيره المثبط كلا من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام على حد سواء [5] . وقد اتجهت التقنية النانوية في السنوات الاخيرة نحو ايجاد الحلول الكفيلة بتوصيل المركب العلاجي (Delivery therapeutic compound) الى موقع الهدف بشكل كفوء لذا فقد تم تحميل الأدوية (Drugs) على حوامل نانوية (Nanocarriers) اذ تتصف الأخيرة بسهولة استقبالها من قبل الخلايا مقارنة بالجزيئات الأكبر منها لذا فقد تم استخدام تلك الحوامل بنجاح كأدوات توصيل (Delivery tools) للمركبات الفعالة حيويا اذ أن طريقة اتحاد الدواء بالحامل النانوي واستراتيجية وصوله الى الهدف تعد مهمة جدا لأستخدامه في العلاج [6] .

وبالنظر لخطورة أخماج قرحة القدم السكري فقد هدفت هذه الدراسة الى تقييم الكفاءة التثبيطية للمضاد المحضر نانويا ضد بعض أنواع البكتريا السالبة لصبغة غرام .

المواد وطرائق العمل :

تم الحصول على 18عزلة بكتيرية من قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة كربلاء.اشتملت هذه العزلات على10 عزلات من بكتريا *Proteus mirabilis*و4 عزلات *Escherichia coli* و4 عزلات *Pseudomonas spp.* كانت3منها *Pseudomonas fluorescence* وواحدة *Pseudomonas aeurogenosa* علما بأنها كانت معزولة من قرحة القدم السكري .

تم اختبار حساسية العزلات البكتيرية السالبة لصبغة غرام المستخدمة في هذه الدراسة تجاه عدد من المضادات الحيوية وفق طريقة انتشار الاقراص (Disk diffusion test) لتحديد حساسية البكتريا المعزولة للمضادات الحيوية على وفق ما جاء في [7] اشتملت على Tobramycin و Amoxicillin – Clavulanic acid و Imipenem و Tetracycline و Gentamicinو Ceftriaxone و Trimethoprim-Sulfamethoxazole و Aztreonam و Ampicillin و Chloramphenicol و Ceftazidime و Netilmicin و Amikacin و Doxycycline .

تم الحصول على مضاد نانوي هجين من الليفوفلوكساسين المحمل على طبقات ثنائية الهيدروكسيد Magnesium-Aluminum-Levofloxacin-Layered Double Hydroxide (Mg-Al-LEV-LDH) اذ ان المضاد النانوي المذكور مُحضر في دراسة سابقة [8] ، كما أستخدم المضاد الحر لغرض المقارنة ، فضلا عن ذلك فقد تم التوليف بين المضاد النانوي والمضاد Cefixime .

تم اختبار الفعالية التثبيطية للمضاد النانوي الهجين Mg-Al-LEV-LDH والمضاد الحر ضد البكتريا السالبة لصبغة غرام وفق طريقة الانتشار في الاكار [9] كما تم تحديد معدل التثبيط الادنى للمضاد النانوي ضد انواع البكتريا قيد الدراسة وذلك باستخدام تراكيز من المضاد بلغت (3-0.005) ملغم / مل .

التحليل الاحصائي (Statistical Analysis)

حللت النتائج إحصائياً بهدف معرفة الفروقات المعنوية بين معدل التثبيط للعوامل المدروسة ضد عزلات بكتريا *P. mirabilis* و *E. coli* و *Pseudomonas spp.* المتحصل عليها من قرحة القدم السكري تمثلت هذه العوامل بالمضاد : Levofloxacin بنوعيه الحر والنانوي الهجين فضلاً عن المضاد Cefixime الحر أولاً و العزلات البكتيرية ثانياً فضلاً عن التراكيز المستعملة من المضادات أعلاه ثالثاً ، و قد حددت الفروق المعنوية على مستوى احتمالية 0.01 إذ شمل التحليل الإحصائي تحليل تجارب العاملية 2×10×7 للجدول **3** و 2 ×8×7 للجدولين **4** و **5** و 10×7 للجدول **6** وبمكررين ، كما تم اختبار الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار أقل فرق معنوي LSD وعلى مستوى احتمالية 0.01 [10] .

النتائج والمناقشة :

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول **1** ان جميع عزلات بكتريا *Proteus mirabilis* كانت مقاومة 100 % لمضادات Tetracycline (TE) و Amoxicillin – Clavulanic acid (AMC) و Ceftriaxone (CRO) و Ampicillin (AM) وبنسبة 90 % لكل من Sulfamethoxazole -Trimethoprim (TS) و Doxycycline (DO) و وبنسبة 50 % للمضاد Aztreonam (AT) و بنسبة 40 % لكل من المضادين Chloramphenicol (C) و Tobramycin (TOB) بينما كانت العزلات أكثر حساسية للمضادين Gentamicin و Amikacin بنسبة مقاومة بلغت 10 % .

تُصنف مضادات AMC و CRO و AM و IMP و CAZ و AZT ضمن مجموعة β -lactams ، ويمكن ان تتحقق مقاومة البكتريا لهذه المضادات بثلاث آليات الأولى تتمثل بافراز انزيمات β – Lactamases التي تعمل على تحلل حلقة البيتا لاكتام الموجودة في المضاد والثانية تقليل نفاذية البكتريا للمضادات وبالتالي تمنعها من الدخول الى داخل الخلية اما الثالثة فتعتمد على تغيير الهدف المحدد للمضاد الموجود في الخلية مما يتعذر على المضاد الارتباط بالهدف المرسوم له، وبالتالي عدم قتل البكتريا [11] .

تتفق نتائج دراستنا الحالية في جزء منها مع ما حصل عليه [12] إذ أن بكتريا *P.mirabilis* المعزولة من قرحة القدم لمرضى السكر في غانا كانت مقاومة لمضادات Ampicillin و Tetracyclin بنسب بلغت (100) % . كما تتفق نتائج دراستنا أيضاً مع ما حصل عليه [13] إذ أن بكتريا *Proteus spp* المعزولة من قرحة القدم السكري في احد المستشفيات في

البرازيل كانت مقاومة للمضادات Amoxicillin–Clavulanic acid و Ampicillin و Aztreonam بنسبة (60 و 90 و 60) % ، على التوالي .

تم اختبار حساسية عزلات بكتريا *E. Coli* تجاه المضادات نفسها المستخدمة في اختبار حساسية بكتريا *P. mirabilis* واظهرت النتائج الموضحة في الجدول **2** ان جميع عزلات بكتريا *E. Coli* كانت حساسة بنسبة 100 % للمضادين Amikacin و Imipnem و بنسبة 50 % لمضاد Doxycycline في حين كانت هذه العزلات مقاومة بنسبة 100% للمضادات Tobramycin و Amoxicillin–Clavulanic acid و Ceftriaxone و - Trimethoprim Sulfamethoxazole و Aztreonam و Ceftazidime و Ampicillin . وقد جاءت هذه النتائج موافقة لما توصل اليه [14] إذ كانت عزلات بكتريا *E. coli* المعزولة من قرحة القدم السكري من أحد المستشفيات في مصر حساسة بنسبة 100 % للمضاد Imipenim و مقاومة للمضاد Ampicillin بالنسبة ذاتها .

تنتمي مضادات Tobramycin و Gentamicin و Netilmicin و Amikacin الى مجموعة Amimoglycosides وتقاوم البكتريا هذه المضادات من خلال عدة آليات تتضمن : الأولى : تثبيط المضاد من خلال أنزيم يعمل على تغيير تركيب المضاد عن طريق نقل مجموعة فعالة (Functional group) للمضاد مثل مجاميع acyl و ribosyl و phosphoryl او Thiol عن طريق تغيير تركيب المضاد بفعل انزيم Nucleotide transferase والثانية : تتمثل بتحوير الهدف للمضاد الحيوي بواسطة عملية Methylation على الحامض النووي 16S rRNA، والثالثة : تقليل نفاذية جدار البكتريا للمضادات الحيوية وبالتالي تمنعها من الدخول الى داخل الخلية البكتيرية [11] .

الجدول 1: اختبار حساسية عزلات بكتريا *Proteus mirabilis* تجاه مضادات الحيوية

P. mirabilis										اسم العزلة	
13b	13a	16a	15c	15b	16b	53b	53a	17b	17a	رقم العزلة / المضاد الحيوي	ت
S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	TOB	1
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	AMC	2
I	I	I	I	S	S	S	S	I	I	IPM	3
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	TE	4
R	R	R	S	S	S	I	R	S	S	C	5
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	CRO	6
R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	TS	7
R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	DO	8
I	I	R	R	S	R	I	I	R	R	AT	9
S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	GEN	10
S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	CAZ	11
S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	NET	12
S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	AK	13
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	AM	14

Intermediate (I) ، Resist (R) ، Sensitive (S)

تم اختبار حساسية عزلات بكتريا *Pseudomonas* تجاه عدد من المضادات الحيوية واظهرت النتائج الموضحة في الجدول **2** ان بكتريا *P. fluorescins* (15a) كانت مقاومة بنسبة 100 % لكل المضادات الحيوية المستخدمة في هذه الدراسة ، في حين كانت العزلة 15c1 حساسة فقط للمضاد Ceftazidime ، فيما كانت العزلة 6b حساسة للمضادات Imipnem و Amikacin و Gentamicin في حين اظهرت مقاومة متوسطة للمضادات Ceftazidime و Netlimicin و Chloramphenicol، بينما كانت مقاومة لبقية المضادات المستخدمة في هذه الدراسة .

اما بكتريا *P. aueroginosa* فقد كانت حساسة للمضادات Tobramycin و Imipnem و Gentamicin و Ceftazidime و Netlimicin و Amikacin ، بينما كانت مقاومة لبقية المضادات المستخدمة في هذه الدراسة .

الجدول 2 : اختبار حساسية عزلات بكتريا *Pseudomonas spp.* و *E . coil* تجاه المضادات الحيوية

P. fluorescins			*P. aueroginosa*	*E. coli*				اسم العزلة	
6b	15a	15c1	73	14b	14a	102	101	رقم العزلة / المضاد الحيوي	ت
R	R	R	S	R	R	R	R	TOB	1
R	R	R	R	R	R	R	R	AMC	2
S	R	R	S	S	S	S	S	IPM	3
R	R	R	R	S	S	R	S	TE	4
I	R	R	R	S	S	R	S	C	5
R	R	R	R	R	R	R	R	CTR	6
R	R	R	R	R	R	R	R	TS	7
R	R	R	R	S	S	R	R	DO	8
R	R	R	R	R	R	R	R	AT	9
S	R	R	S	S	S	S	I	GEN	10
I	R	S	S	R	R	R	R	CAZ	11
I	R	R	S	S	S	R	I	NET	12
S	R	R	S	S	S	S	S	AK	13
R	R	R	R	R	R	R	R	AM	14

Intermediate (I) ، Resist (R) ، Sensitive (S)

تتفق نتائج دراستنا الحالية في جزء منها مع ما حصل عليه [15] الذي اشار الى أن بكتريا *Pseudomonas spp.* المعزولة من أحدى المستشفيات في تركيا كانت حساسة للمضادات Imipnem و Amikacin و Ceftazidime بنسبة (50 و 68 و 63) % على التوالي .

تقاوم البكتريا المضادين Tetracycline و Doxycyclin بآليتين هما الاخراج الفعال (Active efflux) للمضاد من البكتريا مما يؤدي الى تخفيف تركيز المضاد داخل الخلية فضلاً عن الآلية الأقل شيوعاً المتمثلة بإيقاف فعالية المضاد عن طريق عمليات الاكسدة و الاختزال (Redox process) [11] .

تم دراسة الفعالية التثبيطية للمضاد ليفوفلوكساسين بنوعيه الحر والنانوي الهجين ضد 18 عزلة من البكتريا السالبة لصبغة غرام اشتملت على 10 عزلات من بكتريا *Proteus mirabilis* و 4 عزلات *Eschrechia coli* و 4 عزلات *Pseudomonas spp.* كانت 3 منها *Pseudomonas fluorescence* وواحدة *Pseudomonas aeurogenosa* ويتضح من النتائج المبينة في الجداول (**3** و**4** و**5**) ان هناك تباينا في تأثير المضاد الحر والنانوي الهجين على انواع البكتريا المدروسة اذ يتضح من ملاحظة الجدول **3** أن الفعل التثبيطي للمضاد الحر قيد الدراسة كان اقوى ضد عزلات بكتريا *P. mirabilis* في حين كانت العزلة 102 لبكتريا *E.coli* هي الأقل تأثرا بالفعل التثبيطي للمضاد النانوي الهجين .

لم تتوفر دراسات سابقة عن الفعل التثبيطي لليفوفلوكساسين النانوي الهجين ضد بكتريا *Proteus mirabilis* . في حين اشارت العديد من الدراسات الى الفعل التثبيطي لليفوفلوكساسين الحر ضد البكتريا ذاتها ، ففي دراسة قام بها [16] عن استخدام الليفوفلوكساسين ضد بكتريا *Proteus mirabilis* المعزولة من قرح القدم لمرضى السكر من احد المستشفيات في الهند ، تبين أن هذا المضاد كان فعالاً ضد البكتريا قيد الدراسة بمعدل تثبيط مقداره 31 ملم .

في حين كانت هناك دراسات سابقة عن الفعل التثبيطي لليفوفلوكساسين النانوي الهجين ضد بكتريا *E. coli* و *P.aeruginosa*ففي دراسة قام بها [17] اتضح ان التراكيز المثبطة الدنيا للمضاد LEV المحمل على CS-AgNp ضد بكتيريا *E. coli* بلغت 1.6 ملغم/ملم . كما تمكن [18] من أختبار الفعالية التثبيطية لليفوفلوكساسين المحمل نانويا على الفضة ضد عدد من عزلات بكتريا *P. aeruginosa* وقد بلغ قطر التثبيط للعزلات المدروسة (14) ملم .

يتضح من النتائج المبينة في الجدول **3** ان عزلات بكتريا *P. mirabilis* (17a و17b و 15c) هي الاكثر تأثرا بفعل المضاد الحـر بأقطار تثبيط (47 و 46.75 و45.25) ملم ، فيما كانت العزلات (13bو 13a و 16b و 15c) هي الاكثر تأثرا بفعل المضاد النانوي الهجين بأقطار تثبيط بلغت (34.75 و 34.5 و 30.5 و 30.5) ملم ، على التوالي باستخدام التركيز 3 ملغم/ مليلتر . وقد جاءت نتائج التحليل الاحصائي تأكيدا لهذه النتائج اذ كانت العزلات المشار اليها اعلاه هي الاكثر حساسية للمضادات المدروسة بالنظر لأعطاءها اعلى معدل تثبيط من بين عزلات *P. mirabilis* .

تبين النتائج في الجدول **4** ان العزلـة (14b) *E.coli* هي الاكثر تأثرا بالفعل التثبيطي للمضاد LEV بنوعيه الحر والنانوي الهجيـن بأقطار تثبيط بلغت (26.5 و 13.75) ملم عند التركيز 3 ملغم/ مليلتر . اما نتائج التحليل الاحصائي فقد اظهرت هي الاخرى ان العزلة 14b هي الاكثر تأثرا بالفعل التثبيطي للمضاد الحر بمعدل تثبيط بلغ 14.392 ملم ، فيما كانت العزلتان 101 و 14a هما الاكثر تأثرا بالفعل التثبيطي للمضاد النانوي الهجين بمعدل بلغ (7.678 و 7.392) ملم ، على التوالي .

يتضح من الجدول **5** ان المركب النانوي الهجيـن Mg/Al-LEV-LDH يبـدي أعلى فعالية تثبيطيـة ضـد العزلـة 73 *Pseudomonas spp.* بقطر تثبيط مقداره 41.5 ملم عند التركيز 3 ملغم/ مليلتر بينما كانت أعلى فعالية تثبيطية للمضاد LEV الحر ضد العزلة ذاتها بقطر تثبيط مقداره 47.5 ملم عند التركيز المستخدم ذاته في حين كانت العزلة 15c الأقل تأثراً بكل من الليفوفلوكساسين النانوي الهجين والحر بقطر تثبيط مقداره (15.75) ملم عند التركيز ذاته لكل منهما. وقد أكـدت نتائج التحليل الإحصائي النتائج ذاتها اذ ان العزلة 73 كانت أكثر حساسية تجاه المركبين المدروسين بمعدل تثبيط بلغ (34.25 و 32.714) ملم ، لكل من المضادين الحر والنانوي الهجين على التوالي .

بالنظر لسيادة نوع بكتريا *P. mirabilis* على الانواع البكتيرية الاخرى المعزولة من قرحة القدم لمرضى السكر في محافظة كربلاء المقدسة لذا فقد تم أختيار عزلات هذا النوع لأختبار الفعل التثبيطي التآزري للمضادات الحيوية النانوية الهجينة المحضرة في هذه الدراسة ضد العزلات البكتيرية الموصوفة أعلاه .

درس الفعل التثبيطي التآزري بين المضاد النانوي الهجيـن LEV-LDH والمضاد Cefixime الحر ضد البكتريـا *P. mirabilis* المعزولة في هذه الدراسة . يظهر من النتائج الموضحة في الجدول **6** ان العزلتين 53a و16b هما الاكثر تأثرا بالفعل التثبيطي التآزري للمضاد Levofloxcin النانوي المتآزر مع Cefixime الحر بأقطار تثبيط بلغت (39.5 و 37) ملم ، على التوالي .

أبدى التوليف بين المضادين النانوي والحر فعلاً تثبيطياً تآزرياً ضد بعض العزلات فيما أبدى فعلاً تضادياً ضد البعض الآخر . فقد كان التأثير تآزرياً ضد العزلات 17a و 17b و15b و 15c و 16b و 51a و 53b على التوالي باقطار تثبيط مقدارها (36 و 33.25 و 23.5 و 32.75 و 37 و 39.5 و 27.5) ملم ، على التوالي أيضاً وباستخدام التركيز 3 ملغم / مل . بينما كان التأثير تضادياً ضد العزلات 16a و 13a و 13b ، على التوالي بأقطار تثبيط بلغت (19.5 و 28.5 و 31.5) ملم ، على التوالي أيضاً وباستخدام التركيز ذاته من المضادين .

وجاءت نتائج التحليل الاحصائي مطابقة تأكيدا لهذه العزلات المشار اليها اعلاه هي الاكثر حساسية للمضادات المدروسة نظرا لاعطائها اعلى معدل تثبيط من بين عزلات *P. mirabilis* .

يمتلك المضاد Cefixime تأثيرا قاتلا للبكتريا نتيجة تثبيط تصنيع جدار الخلية . اذ يرتبط هذا المضاد بواحد من البروتينات المثبطة للبنسلين (penicillin binding proteins,(PBPs مما يحول دون اكتمال الخطوة النهائية

transpeptidation من تصنيع الببتيدوكلايكان في جدار الخلية البكتيرية ، فيتوقف التصنيع الحيوي لجدار الخلية مما يؤدي إلى موت الخلية البكتيرية [19] .

الجدول 3 : الفعالية التثبيطية للمضاد النانوي LEV-LDH و المضاد الحر LEV ضد بكتريا *Proteus mirabilis* المعزولة من قرحة القدم السكري

المضاد	العزلة البكتيرية	تركيز المضاد(ملغم/مل)							$LSD_{0.01}$ لتركيز المضاد
		0.005	0.01	0.1	0.25	0.5	1	3	
		قطر التثبيط بالملم							
LEV- FREE	17a	33.25	37	38.5	40	42.5	45.5	47	0.278
	17b	29.5	31	40	42.5	44.5	46	46.75	
	16a	0	0	0	18.5	20.5	25.75	31.5	
	16b	0	0	20.5	28.25	30	33	39	
	15b	0	12	13	15	21	24.5	30	
	15c	32	36	37.5	41.5	42.25	44	45.25	
	13a	15	25	29.5	32	33	35	40.5	
	13b	0	0	23.5	28	32.5	34.25	40	
	51a	0	15.25	16	17	20.25	24.5	32	
	53a	0	0	21	29.5	32	34	37.75	
LEV –LDH	17a	0	0	21	24.25	26	27.5	29	
	17b	0	0	21	25.5	27.25	28.5	30	
	16a	0	0	0	14.5	17	18.5	21	
	16b	0	0	21.5	27	28	29	30.5	
	15b	0	9.5	10.75	14	15.5	17.5	20.5	
	15c	0	0	22.25	25	27	28.5	30.5	
	13a	0	15.5	25	27.5	30.5	33.25	34.5	
	13b	0	10	23	25.5	30	31	34.75	
	51a	0	0	0	14.75	16	19.5	23	
	53a	0	0	15	16	17.5	21	22	
$LSD_{0.01}$ للمركبات		0.148							

العزلة	17 a	17 b	16 a	16 b	15 b	15 c	13 a	13 b	51 a	53 a	$LSD_{0.01}$ للعزلات
المعدل للحر	40.535	40.035	13.75	21.535	16.5	39.785	30	22.607	17.857	22.035	0.332
المعدل للنانوي	18.25	18.892	10.142	19.428	12.535	19.035	23.75	23.321	10.464	13.071	

الجدول 4 : الفعالية التثبيطية للمضاد النانوي LEV –LDH والمضادات الحرة LEV ضد بكتريا *E. coli* المعزولة من قرحة القدم السكري

المضاد	العزلة البكتيرية	تركيز المضاد(ملغم/مل) 0.005	0.01	0.1	0.25	0.5	1	3	$LSD_{0.01}$ لتركيز المضاد
		قطر التثبيط بالملم							
LEV- Free	101	0	0	0	0	13	17.5	22	0.314
	102	0	11	11.75	13	14.5	19.5	23	
	14a	0	0	13	16.5	19.5	22.75	25	
	14b	0	0	14	17.25	20	23	26.5	
LEV- LDH	101	0	0	7.5	10	11.25	12	13	
	102	0	0	0	0	0	11.5	12.75	
	14a	0	0	0	11	12.25	13.5	15	
	14b	0	0	0	0	11	13	13.75	
$LSD_{0.01}$ للمركبات		0.168							

العزلة	101	102	14 a	14 b	$LSD_{0.01}$ للعزلات
المعدل للحر	7.5	13.25	13.821	14.392	0.238
المعدل للنانوي	7.678	3.464	7.392	5.392	

الجدول 5 : الفعالية التثبيطية للمضاد النانوي LEV –LDH والمضاد الحر LEV ضد بكتريا *Pseudomonas spp.* المعزولة من قرحة القدم السكري

المضاد	العزلة البكتيرية	تركيز المضاد(ملغم/مل)							$LSD_{0.01}$ لتركيز المضاد
		0.005	0.01	0.1	0.25	0.5	1	3	
		قطر التثبيط بالملم							
LEV Free	6b	0	0	0	11	11.5	17.25	19.5	0.330
	15a	0	0	9.5	11	13.5	15.25	16.5	
	15c	0	0	0	0	0	13.5	15.75	
	73	0	24	39	41.25	42	46	47.5	
LEV-LDH	6b	0	0	12.5	16	17.25	17.5	19.5	
	15a	0	0	0	10.5	12.5	15.5	16.25	
	15c	0	0	0	11	12.5	14	15.75	
	73	15.5	25.5	34.5	36	37	39	41.5	
$LSD_{0.01}$ للمضادات	0.176								

العزلة	6 b	15 a	15 c	73	$LSD_{0.01}$ للعزلات
المعدل للحر	8.464	9.392	4.178	34.25	0.249
المعدل للنانوي	11.821	7.821	9.035	32.714	

الجدول 6 : الفعالية التثبيطية التآزرية للمضاد النانوي LEV-LDH ضد بكتريا *P. mirabilis* المعزولة من قرحة القدم السكري

LSD$_{0.01}$ لتركيز المضاد	Lev-LDH/cefixime Free							المضاد
	3	1	0.5	0.25	0.1	0.001	0.005	تركيز المضاد (ملغم/مل)
	قطر التثبيط بالملم							العزلة البكتيرية
0.435	36	31.5	28.5	27	24.5	18.5	16.5	17a
	33.25	30.5	27.5	25.25	24.25	18	15	17b
	19.5	17.5	16	14.5	12	0	0	16a
	37	32.25	28.5	25.25	25	18.5	17	16b
	23.5	21	19.5	18	17	15.75	0	15b
	32.75	30.5	26.5	23	20	0	0	15c
	28.5	25	24	23	21	18.5	15.5	13a
	31.5	29.5	27.5	25.5	23	16	14	13b
	39.5	30.5	23.5	20.5	19	0	0	51a
	27.5	24.5	23.15	21	18	0	0	53b
	0.520							LSD$_{0.01}$ للعزلات

المصادر:

1- Lipsky, B.A.; Berendt, A.R.; Deery, H.G.; Embil, J.M.; Joseph, W.S.; Karchmer, A.W.; Lefrock, J.L.; Lew, D.P.; Marder, J.T.; Norden, C.; Tan, J.S. (2004). Diagnosis and treatment of diabetic foot infection. Clinical Infectious Diseases. 39(1): 885-910.

2- Abraham, D.J. (2003). Quinolone, in Burger's Medicinal Chemistry Drug Discovery. John Wiley and Sons, Hoboken, NewJersey. 582-587.

3- Guneysel, O.; Onur, O.; Erdede, M. and Dehizbasi, A. (2009). Trimethoprim/sulfa methoxazole resistance in urinary tract infections. J. Emerg. Med. 36, 338.

4- Blondeau, J.M. (1999). Expanded activity and utility of the new fluoroquinolones: a review. Clin. Ther. 21(1):3-40.

5- Sarisaltik, D.; Teksin, Z.S. (2007). Bioavailability File: Levofloxacin. FABAD J. Pharm Sci. (32) : 197-208.

6- Suri, S.S.; Fenniri, H. and Singh, B. (2007) . Nanotechnology – based drug delivery systems . Joccup Med Toxicol, 2 :16.

7- Morello, J.A.; Mizer, H.E.; and Granato. (2006). Laboratory manual and workbook in microbiology applications to patient care. 18th.ed. the McGraw-Hill Companies, Inc., New York: 95-99.

8- Alhussaini, S.M. (2017). Preparation of nanocompoud for some antimicrobial agents and determination their inhibitory action against bacteria isolated from diabetic foot ulcer.

9- Egorove, N.S. (1985). Antibiotics a scientific approach. Mir Publishers, Moscow.

10- الإمام ، محمد محمد الطاهر (2007) . تصميم و تحليل التجارب . دار المريخ للنشر . المملكة العربية السعودية .

11- Kumar, S. and Varela, M.F. (2013). Molecular mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education (A. Méndez-Vilas, Ed.).

12- Brenyah, R.C.; Ephraim, R.K.D.; Jnr, B.A.E. and Asamoah, J. (2014). Bacterial Profile of Diabetic Foot Ulcers of Patients Visiting a Specialist Diabetic Clinic at Komfo Anokye Teaching Hospital, Kumasi, Ghana. British Journal of Medicine & Medical Research. 4(27): 4501-4510.

13- Perim, M.C.; Borges, J.D.C.; Celeste, S.R.C.; Orsolin, E.D.F.; Mendes, R.R.; Mendes, G.O.; Ferreira, R.L.; Carreiro, S.C. and Pranchevicius, M.C.D.S. (2015). Aerobic bacterial profi le and antibiotic resistance in patients with diabetic foot infections. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 48(5):546-554.

14- Dwedar, R.; Ismail, D.K. and Abdulbaky, A. (2015). Diabetic foot Infection: Microbiological Causes with Special Reference to their Antibiotic Resistance Pattern. Egyptian Journal of Medical Microbiology. (3): 95-102.

15- Turhan, V.; Mutluoglu, M.; Acar, A.; Hatipoğlu, M.; Önem, Y.; Uzun, G.; Ay, H.; Öncül, O. and Görenek, L. (2013). Increasing incidence of Gram-negative organisms in bacterial agents isolated from diabetic foot ulcers. J Infect Dev Ctries. 7(10):707-712.

16- Pandaya, H. and Chandak, N. (2016). Biosynthesis, Characterization and Study of Antimicrobial Activity of Copper and Silver Nanoparticles. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences. 11(6): 01-12.

17- Namasivayam, S.K. and Jams, J. (2015). Biocompatible polymer chitosan stabilized silver nanoparticles-Azithromycin (CS-AgNp-AZ) and levofloxacin (CS-AgNp-LF) drug nano conjugate fabricated wound dressing for the improved antibacterial activity against human pyogenic bacteria. Scholar Research Library. 7 (2):100-111.

18- Namasivayam, S.K.; Flora, A.M.; Nandhini, S.; Hussain, S.N. and Gnanaraj, S. (2016). Starch Based Coating Influence on Antibacterial Activity and *in-vitro* Drug Release Profile of Silver Nanoparticles Loaded Levofloxacin Nano Drug Conjugate (AgNp-LF). Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 7(5): 2242.

19- Raja, B. and Rao, A. (2013). Development and validation of novel hplc method for simultaneous estimation of cefixime and moxifloxacin in combined tablet dosage form. International journal of pharmacy. 3(3): 621-627.