وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

الفعالية المضادة للمستخلص الكحولي للعكبر ضد بكتريا الراكدة البومانية المعزولة من قرحة القدم السكري

رسالة مقدمة

الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة/ علم الحيوان

كتبت بواسطة
هدى محمد صالح

بكالوريوس تربية علوم صرفة ــ علوم الحياة 2011
بإشراف

أ.م.د هيام عبد الرضا كريم العود

تموز 2023 م محرم 1445 هـ

بِسْمِ اللهِ الرَّحْمنِ الرَّحِيمِ

﴿وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْماً﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة طه : الآية (144)

قرار المقوم اللغوي

أشهدُ إن هذه الرسالة الموسومة بعنوان (الفعالية المضادة للمستخلص الكحولي للعكبر ضد بكتريا الراكدة البومانية المعزولة من قرحة القدم السكري) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير .

التوقيع:

الاسم: أ.د مسلم مالك الاسدي

المرتبة العلمية: استاذ

الكلية والجامعة: كلية العلوم الاسلامية / جامعة كربلاء

التاريخ: ٢٦ / ٩ / 2023

إقرار المشرف على الرسالة

نشهد ان اعداد هذه الرسالة الموسومة بعنوان (الفعالية المضادة للمستخلص الكحولي للعكبر ضد بكتريا الراكدة البومانية المعزولة من قرحة القدم السكري) قد جرى تحت اشرافنا في قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء ، وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان.

التوقيع:

الاســـم: أ.م.د. هيام عبد الرضا كريم العواد

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ: / /2023

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارةً الى التوصية اعلاه من الاستاذ المشرف، أُحيلت هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:

الاســم: أ.د. نصير ميرزا حمزة

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ: / /2023

إقرار لجنة المناقشة

نحن اعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه نشهد بأننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة بعنوان (الفعالية المضادة للمستخلص الكحولي للعكبر ضد بكتريا الراكدة البومانية المعزولة من قرحة القدم السكري) المقدمة من قبل الطالبة (هدى محمد صالح شاهين) كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة كربلاء ، وبعد اجراء المناقشة العلمية وجد إنها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعلية نوصي بقبول الرسالة بتقدير (امتياز) في علم الحيوان .

عضو لجنة المناقشة

التوقيع : 28/9/2023

الاسم : سعاد عبد الهادي عبد الرزاق

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

مكان العمل : جامعة الكوفة / كلية العلوم

التاريخ : 28/9/2023

رئيس لجنة المناقشة

التوقيع : 28/9/2023

الاسم : علاء عبد الحسين كريم

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

مكان العمل : جامعة كربلاء/كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : 28/9/2023

عضو لجنة المناقشة

التوقيع :

الاسم : أيسر عاشور خلف

المرتبة العلمية : مدرس دكتور

العنوان : جامعة كربلاء/ كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : 26/9/2023

المشرف

التوقيع :

الاسم : هيام عبد الرضا كريم العواد

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

العنوان : جامعة كربلاء/ كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : / /2023

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع :

الاسم : حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية : استاذ

التاريخ : 8/10/2023

الإهداء

إلى الرَّحْمنِ الرَّحيمِ اَلْعَلِيُّ اَلعَظيُمُ الجامع لكل اوصاف الكمال الآلهي الذي لايقهر...

الله

إلى القمر المنير والرمز الأعلى للفداء والتضحية...

سيدي ومولاي الأمام أبا الفضل العباس عليه السلام
إلى مستشفى الكفيل عليه السلام التخصصي

إلى جميع مرضى السكري...

إلى

من ساندتني في صلاتها ودعائها..... الى من شاركتني أفراحيي وآساتي

إلى نبع العطف والحنان الى اجمل إبتسامة واروع امرأة في الوجود:

جنة الارض أمـــــــــي الغـــــالية...

إلى اعـظـم واعـز رجـل في الـكون : الأمان أبي العزيز...

إلى عافيتي وسر نجاحي وتوفيقي وسبب وجودي في الحياة : بنـــــــاتي روحي...

إلى مصدر فخري... أخوتي وأخواتي

إلى السيد العميد الركن... خالي الحنون ...

إلى

أرواح الشهداء الأبرار

إلى روح الشهيد حسين محمد صالح ... أخي هنيئاً لك الجنة ...

إلى العلم... وطلابه ...لعله يكون بذرة لمشروع علمي جديد... إلى كل من علمني حرفاً...

إليهم جميعاً ...

...إهدي ثمرة جهدي...

الشكر والتقدير

بسم الله الرحمن الرحيم

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على خير خلقه محمد وآل بيته الطيبين الطاهرين.
الحمد لله العلي القدير حباً وشكراً ... الحمد لله الذي لولاه لما جرى قلمٌ ... ولاتكلَّمَ لسانٌ ...
الحمد لله الذي ماتم سعيٌ الابفضله وتوفيقه .

لايسعني ـــ بعد أن وفقني الله سبحانه وتعالى في إتمام هذا العمل – إلا أن أخر ساجدة لله عز وجل ، اعترافاً بفضله عليّ، حامدةً له نعمه عليّ وعلى ما اكرمني به من أتمام هذه الدراسة التي أرجو ان تنال رضاه .

ثم أتوجه بوافر الشكر وعظيم الامتنان إلى صاحبة القلب الكبير، والنفس الطويل، والعلم الوفير، التي غمرتني بعطفها، ورعتني بحسن توجيهها وإرشادها الاستاذ المساعد الدكتور هيام عبد الرضا كريم العواد المحترمة التي سعدت بإ شرافها على هذا البحث حفظها الله ورعاها وأسال الله تعالى أن يجزيكم كل خير على ماقدمتموه لي انه على ذلك لقدير.

اعترافاً بذوي الفضل والجميل ...

أتقدم بالشكر الجزيل والاحترام والتقدير إلى الأب العادل السيد رئيس جامعة كربلاء الاستاذ الدكتور: باسم خليل نايل السعيدي المحترم ... لمواقفهِ ولاتاحة الفرصة لي لأكمال دراستي.

أتوجه بخالص الشكر والامتنان إلى سماحة المتولي الشرعي للعتبة العباسية المقدسة السّيد: أحمد الصافي لموافقته بأكمال متطلبات البحث في مستشفى الكفيل ع التخصصي .

كما أتوجه بخالص الشكرو التقدير والاحترام إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة، لما بذلوه من جهد ، في سبيل تهيئة البيئة العلمية الملائمة للطلبة، وتذليل كل الصعوبات ،وإلى جميع اساتذة القسم.

واتقدم بجزيل شكري وتقديري إلى السيد رئيس قسم الدراسات العليا/ رئاسة الجامعة/ الاستاذ المساعد الدكتور حسن فيصل اليساري المحترم لمواقفهِ ودعمهُ لي لأكمال دراستي.

واتقدم بجزيل شكري وتقديري وامتناني إلى الدكتورة أيسر عاشور لتقديمها النصيحة والعون لأنجاز مايتطلبه البحث.

ومن دواعي الوفاء أن أوجه شكري وتقديري إلى مستشفى الكفيل التخصصي واخص بالذكر العاملين في قسم القدم السكري والمختبر وقسم العلاقات العامة السيد كمال الحسيني للتسهيلات التي قدموها لغرض تطبيق البحث .

ولايفوتني ان أتقدم بخاص الشكر والامتنان إلى جميع العاملين في مختبر ميدكا التخصصي وأخص بالذكر السيد المعاون البايولوجي علي رحيم مخيف لِما قدموه لي من مساعدة.

وأخيراً شكري وتقديري لكل من ساعدني ولو بالدعاء .

الباحثة

الخلاصة

الخلاصة

ركزت الدراسة الحالية على بكتريا الراكدة البومانية *Acinetobacter baumannii* الهوائية السالبة لصبغة كَرام Gram Negative التي تعد من المسببات المرضية الاكثر شيوعاً لتلوث Diabetic Foot Ulcer (DFU) وكذلك تم تسليط الضوء لمعرفة حساسية العزلات البكتيرية للمستخلص الكحولي للعكبر الخام (EEP) Extract of Propolis Ethanolic باعتباره مادة طبيعية مضادة للميكروبات مقارنة مع المضاد الحيوي المستعمل وكذلك معرفة نسب الاصابة بهذه البكتريا وعلاقة الاصابة بالعمر والجنس وتضمنت الدراسة جمع 50 عينة من قرحة القدم السكري للمرضى بعد تشخيصهم من قبل الطبيب المختص في مستشفى الكفيل عليه السلام التخصصي في محافظة كربلاء ، للمدة من شهر ايلول لسنة 2022 ولغاية شهر شباط لسنة 2023 ، وبأعمار تراوحت بين (35-69) سنة ولكلا الجنسين . زرعت العينات المأخوذة هوائياً على وسطي Blood agar وMaCconkey agar واجري لها الاختبارات البايوكيميائية ثم شخصت بجهاز فايتك Vitek-**2**COMPACT system. تم الحصول على 76عزلة من مجموع 50عينة وكانت اعلى نسبة 73.7% تعود لمجموعة البكتريا السالبة لصبغة كَرام وهي الاكثر عزلا لأخماج قرحة القدم السكري تلتها البكتريا الموجبة لصبغة كَرام والتي كانت بنسبة23.7% وعزلتين للكانديدا بنسبة 2.6%تعود للخمائر ، وتم تشخيص 16 (21.1 %) عزلة من الراكدة البومانية تم عزلها من الذكور (38 بنسبة 76%) ولم يتم عزلها من الاناث.

تم تقُّييم التأثُير المثبط للمستخلص الكحولي الخام للعكبر على بكتريا الراكدة البومانية وبخمسة تراكيز (25,12.5، 50، 100، 150 ملغم / مل) وكانت الأقطار التثبيطة (23.67,19.33,14,10,8.33) ملم على التوالي بطريقة الانتشار بالأقراص وتبين أن هناك علاقة طردية بين تراكيز العكبر وقطر تثبيط النموالبكتيري ضد البكتريا السالبة لصبغة كَرام *الراكدة البومانية* مقارنة مع السيطرة الموجبة المضاد البكتيري sulfamethoxazole-Trimethoprim. إذ تبين إن اكبر قطر من تثبيط النمو كان 23.67 ملم أظهره التركيز 150 ملغم/ مل في حين اظهر التركيز12.5 ملغم/مل اقل قطر تثبيط 8.33 ملم في حين اظهرت التراكيز 25،50،100 ملغم /مل اقطاراً من التثبيط مقدارها 10و14و19.3 ملم على التوالي في حين لم يظهر الكحول الاثيلي 70%المستعمل كسيطرة سالبة أي تأثير

يذكر في هذا الصدد .في حين سجل المضاد الحيوي - Trimetheprim sulfamethoxazole بتركيز(1.25/ 23.75µ g) المعتمد من قبل CLSI(2022) قطر تثبيط مقداره 14 ملم .كما تبين من التحليل الاحصائي هنالك فرق معنوي وعند مستوى احتمال 0.05 للتركيزين 100 مغلم/مل و150 ملغم/مل على المضاد الحيوي Trimetheprim sulfamethoxazole في حين أظهر التاثير التآزري لـ(EEP) مع محلول الديرماسين Dermacyn تثبيطاً واضحاً للبكتريا.

وأظهرت نتائج التركيز المثبط الادنى MIC Minimum inhibitory concentration أدنى تركيز مثبط لبكتريا *الراكدة البومانية* كان التركيز 25 ملغم /مل، بينما التركيز القاتل الادنى MBC Minimum bactericidal concentration كان عند التركيز 50ملغم/مل.

كما لوحظ في هذه الدراسة ظهور أو وجود مايسمى بالعدوى المزدوجة أو المرافقة Double infection في أحدى العزلات العائدة لبكتريا الراكدة البومانية فحوى الدراسة ، تبين أن العدوى متعددة الميكروبات التي يسببها اثنان أو أكثر من الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض أو مايسمى بالعدوى المرافقة تزيد من مقاومة البكتريا للأدوية المتعددة ومنها بكتريا من جنس الكليبسيلا *Klebsiella* المرافقة لبكتريا الركدة البومانية *Acinetobacter baumannii* والتي زادت من مقاومتها للمضادات وكانت المقاومة واضحة لجميع التراكيز الخمسة للمستخلص الكحولي والمضاد الحيوي المستخدم في حين كانت جميع العزلات حساسة لهذا المضاد وهذا أمر مثير للقلق لانه يحد من خيارات العلاج .

كذلك تم تحديد نسبة الاصابة ببكتريا الراكدة البومانية إذ تم توزيع النتائج حسب عمر المرضى بين(35 -69) كانت اقل نسبة اصابة بين الفئات العمرية 55-64 (25%) بينما كانت أعلى نسبة بين الفئات العمرية (35-44) و65 فاكثر بنسبة (37.5%) كما تبين أن لاعلاقة للعمر بنسب الاصابة ببكتريا الراكدة البومانية إذ بلغت 0.268 p value ، وان نسبة الاصابة في الذكور اعلى من الاناث ، وقد بينت النتائج أيضاً أن للعمر علاقة بمعدل نسبة الاصابة في القدم السكري التي تناولتها هذه الدراسة ،وشملت اعلى نسبة اصابة الفئات العمرية التي تتراوح بين(55-64) إذ بلغت قيمة *0.048 pvalue، نستنتج من الدراسة الحالية ان للمستخلص الكحولي للعكبر الخام تاثيراً ايجابياً على النمو البكتيري.وان الفعل التآزري للمستخلص مع محلول الديرماسين كان واضحاً في تثبيط هذه البكتريا . نستنتج ان الانواع البكتيرية السالبة

لصبغة كًرام الهوائية المعزولة من قرحة القدم السكرية أعلى نسبة من الانواع البكتيرية الموجبة لصبغة كَرام وأغلبها من النوع المقاوم للأدوية المتعددة ممايدل على أهمية هذه الأنواع في حدة الأصابة بالتهابات القدم السكري ، وبينت النتائج إن هنالك فرقاً معنوياً واضحاً بنسبة الاصابة في الذكور أعلى من الأناث حيث كانت قيمة **p 0.00024 .

المحتويات

التسلسل	العنوان	الصفحة
1	الخلاصة	iii - v
2	المحتويات	vi - xiii
3	قائمة الجداول	x
4	قائمة الاشكال	xi-xii
5	المختصرات	xii-xiii
	الفصل الأول	
1	**المقدمة**	1
	الفصل الثاني	
2	**استعراض المراجع**	5
1-2	مرض السكري Diabetes mellitus (DM)	5
2-2	مضاعفات مرض السكري Complication of diabetes mellitus	6
1.2.2	قرحة القدم السكري Diabetic foot ulcer	7
1.1.2.2	تصنيف قرحة القدم السكري Classification of diabetes foot ulcers	7
3-2	الاحياء الدقيقة المسببة لقرحة القدم السكري Microorganisms causing diabetic foot ulcers	8
1-3-2	البكتريا الموجبة لصبغة كَرام Gram positive bacteria	9
1-1-3-2	المكورات العنقودية.*Staphylococcus aureus*	9
2-3-2	البكتريا السالبة الكَرام Gram negative bacteria	10
1-2-3-2	الاشريشية القولونية *Escherichia coli*	10
2 -2-3-2	الكليبسيلا الرئوية *Klebsiella pneumoniae*	11
3-2-3-2	الزائفة الزنجارية hg*Pseudomonas aeruginosa*	11
4-2-3-2	الراكدة البومانية *Acinetobacter baumannii*	12
1-4-2-3-2	التسمية والتصنيف Nomenclature and Taxonomy	13

2-4-2-3-2	الإمراضية للراكدة البومانية Pathogenesis of *Acinetobacter baumannii*	14
3-4-2-3-2	الوبائية Epidemiology	15
4-4-2-3-2	العدوى المصاحبة والتاثير السريري للراكدة البومانية Associated Infections and Clinical Impactof. *Acinetobacter baumannii*	16
5-4-2-3-2	عوامل الضراوة Virulence Factors	16
6-4-2-3-2	الغشاء الحيويBiofilm	17
7-4-2-3-2	مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية Antibiotic Resistance	18
8-4-2-3-2	العلاج Treatment	18
4-2	العكبر propolis	20
	الفصل الثالث	
3	**المواد وطرائق العمل**	24
1-3	المواد Materials	24
	الاجهزة المستعملة في الدراسة	24
1-1-3	الادوات المستعملة في الدراسة	25
2-1-3	المواد الكيميائية Chemical Material	26
3-1-3	الاوساط الزرعية او الغذائية المستخدمة والغرض من استخدامها.	27
4-1-3	تصميم الدراسة Study design	28
2-3	طرائق العمل Methods	29
1-2-3	التعقيم Sterillization	29
1-1-2-3	التعقيم الرطب Moist Sterillization by Autoclave	29
2-1-2-3	التعقيم الجاف Dry Sterilization	29
2-2-3	تحضير الاوساط الزرعية Preparation of Culture Media	29
1-2-2-3	تحضير الاوساط الزرعية الجاهزة Preparation of culture synthetic media	29
2-2-2-3	وسط حفظ العزلات طويلة الامد Long Term Strong Media	30
3-2-2-3	وسط حفظ العينات قصير الامد Short Term Storage Media	30
4-2-2-3	وسط اكار الدم Blood Agar	30

5-2-2-3	وسط اكارمولر هنتون MullerHinton Agar	30
6-2-2-3	وسط مولر هنتون السائل MullerHinton Brooth	30
3-2-3	تحضير المحاليل Preparation of Solution	31
1-3-2-3	محلول ثابت العكورة القياسي مكفرلاند Mcfarland Standard Solution	31
2-3-2-3	المحلول الملحي الجاهزة بنسبة 0.9% w/v Normal Saline	31
3-3-2-3	صبغة كَرام Gram Stain	31
4 - 2-3	العزلات البكتيرية Bacterial Isolates	31
1-4 -2-3	جمع العينات البكتيرية Collection Bacterial Sample	31
2-4 -2-3	عزل وتشخيص البكتريا المسببة لقرحة القدم السكري(DFU)	32
3-4 - 2-3	عزل وتشخيص بكتريا *Acinetobacter baumannii*	33
1-3-4 -2-3	الفحوصات المظهرية Morphological Examinations	33
2-3-4 - 2-3	الفحوصات المجهرية Microscopic tests	33
3-3-4-2-3	الاختبارات الكيموحيوية Biochemical test	34
4-3-4-2-3	التشخيص بجهاز الفايتك compact Vitec-2	34
5-2-3	تحضير المستخلص الإيثانولي للعكبر Preparation Ethanolic Extract of propolis	35
6-2-3	اختبار حساسيه بكتيريا *Acinetobacter baumannii* ضد المستخلص الايثانولي من العكبر	36
1-6-3	طريقة الانتشاربالحفر Well diffution method	36
2- 6-3	طريقة الانتشار بالأقراص disc diffusion method	37
7-2-3	اختبار التركيز المثبط الادنى MC (Minimum Inhibiitory Concentration	37
8-2-3	التحليل الاحصائي Statistical Analasis	38
	الفصل الرابع	
4	**النتائج والمناقشة**	39
1-4	الفئات العمرية والجنس للمرضى and gender Patients age groups	39
2-4	عزل البكتريا المسببة لقرحة القدم السكري Isolation of pathogenic bacteria of diabetic foot ulcer (DFU)	42

3-4	التشخيص الزرعي للعزلات البكتيرية Cultural Diagnostic of Bacterial Isolates	45
1.3.4	الصفات المظهرية Morphological characteristics	45
2.3.4	التشخيص المجهري Microscopic identification	45
3.3.4	الاختبارات الكيمو حيوية Biochemical Tests	46
4.3.4	التشخيص بواسطة جهاز الفايتك Vitek-2 Compact system	46
4.4	حساسية بكتريا *Acinetobacter baumannii* للمستخلص الكحولي للعكبر الخام	49
1.4.4	طريقة الانتشار بالأقراص disc diffusion method	49
2.4.4	تحديد التركيز المثبط الادنى (MIC) للمستخلص الكحولي للعكبر الخام (EEP) ضد بكتريا *Acinetobacter baumannii*	52
5.4	العدوى المرافقة او المزدوجة infection-Double or co	55
	الفصل الخامس	
	الاستنتاجات Conclusion.:	57
	التوصيات Recommendations.:	58
	المصادر	59
	الملاحق	86
	Summary	i - iv

الجداول

الرقم	الجدول	الصفحة
1-2	مقارنة بين T1DM و T2DM (Butler and Misselbrook,2020).	6
2-2	تصنيف تقرحات القدم السكرية المقترحة عبر واغنر	8
1-3	الاجهزة المستخدمة في الدراسة	24
2-3	الادوات المستخدمة في الدراسة	25
3-3	المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة	26
4-3	الاوساط الغذائية	27
1-4	توزيع الاصابة حسب العمرفي القدم السكري	39
2 -4	توزيع الاصابة حسب النوع البكتيري	40
3-4	توزيع الاصابة لبكتريا الراكدة البومانية حسب العمر	41
4-4	توزيع العزلات حسب نوع صبغة كَرام	43
5-4	الاختبارات التشخيصية التي اجريت على بكتريا *Acinetobacter baumannii*	46
6-4	يوضح حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية	48
7-4	النسبة المئوية لمقاومة جميع العزلات البكتيرية للنوع *Acinetobacter baumannii* للمضادات الحياتية بجهاز الفايتك Vitek-2.	48
8-4	تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر الخام في تثبيط نمو بكتريا *Acinetobacter baumannii* في الأطباق الزرعية Culture Media	49
9 – 4	تأثير المستخلص الإيثانولي للبروبولس الخام ضد بكتريا *Acinetobacter baumannii* باستخدام الصفائح المعايرة الدقيقة Microtiter plate.	53

قائمة الاشكال والملاحق

الرقم	العنوان	الصفحة
1-2	تمثل مراحل تطور القدم (القدم السكرية).	8
2-2	الخصائص البيولوجية والعلاجية للعكبر propolis .	22
1-3	مخطط تصميم تجربة الدراسة	28
2-3	عزل وتشخيص البكتريا المسببة لتلوث قرحة القدم السكري	32
1-4	توزيع الاصابة حسب الجنس في القدم السكري	40
2-4	التراكيز المختلفة للمستخلص الايثانولي للعكبر الخام ضد بكتريا الراكدة البومانية *Acinetobacter baumannii* في الأطباق الزرعية	50
3-4	التراكيز المختلفة للمستخلص الايثانولي للعكبر الخام ومحلول الديرماسين ضد بكتريا *Acinetobacter baumannii* في الأطباق الزرعية بطريقة الحفر	52
4-4	التركيز المثبط الادنى وتركيز المستخلص القاتل للبكتريا المزروعة على وسط MacCoAnkyAgar	54
5-4	الفعل التآزري للمستخلص ومحلول الديرماسين على البكتريا المزروعة على وسط MacCoAnkyAgar	54
6-4	يوضح العدوى المرافقة.	56
الملاحق		
1	بكتريا *A.baumaBnnii* A- وسط اكَار الماكونكي MacCoAnkyAgar ,B- وسط اكَار الدم Blood Agar بدرجة حرارة 37م^{o} لمدة 24 ساعة	86
2	التشخيص المجهري شكل خلايا بكتريا *A.baumannii* A- قوة تكبير 1000Xمرة B- قوى تكبير 400X مرة.	86
3	رسم تخطيطي لتقرير نظام الفايتك 2- Vitek للبكتريا الموجبة لصبغة كَرام	87
4	رسم تخطيطي لتقرير نظام الفايتك 2- Vitek للبكتريا الموجبة لصبغة كَرام	88
5	رسم تخطيطي لتقرير نظام الفايتك 2- Vitek البكتريا الموجبة لصيغة كَرام	89
6	رسم تخطيطي لتقرير نظام الفايتك 2- Vitek للبكتريا الموجبة لصبغة كَرام	90
7	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام	91
8	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام	92
9	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2للبكتريا السالبة لصبغة كَرام	93
10	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام	94

11	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام	95
12	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام	96
13	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام	97
14	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام	98
15	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام	99
16	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام	100
17	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام	101
18	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام	102
19	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 لبكتريا *A.baumannii* السالبة لصبغة كَرام	103
20	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 لبكتريا *A.baumannii* السالبة لصبغة كَرام	104
21	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 لبكتريا *A.baumannii* السالبة لصبغة كَرام	105
22	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 لبكتريا *A.baumannii* السالبة لصبغة كَرام	106
23	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 لبكتريا *A.baumannii* السالبة لصبغة كَرام	107
24	رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 لبكتريا *A.baumannii* السالبة لصبغة كَرام	108

قائمة المختصرات

Term المصطلح	Symbol المختصر
Diabetes Mellitus	**DM**
Diabetes Foot	**DF**
ootDiabetes F ulcer	**DFU**
Gram Negative	**GN**
Diabetes Foot Infection	**DFIs**
Acinetobacter baumanni	***A.b***
Multiple Drug Resistance	**MDR**
Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*	**CRAb**
AntiMicrobial Resistance	**AMR**
extract Ethanolic of propolis	**EEP**

Minimum Inhibitory Concentration	**MIC**
Antibiotic Sensitivity Tests	**AST**
Gram Positive	**GP**
Minimum Bactericidal Concentration	**MBC**
Diabetes mellitus Type1	**T1DM**
Diabetes mellitus Type2	**T2DM**
International Diabetes Federation	**IDF**
Staphylococcus aureus	***S.***
methcillin resistant *staphylococcus aureus*	**MRSA**
Intensive car unit	**ICU**
Urinary tract infection	**UTIs**
Lypopoly saccharide	**LPS**
Extensively Drug Resistance	**XDR**
Carbapenems Resistance Enterobacteriaceae	**CRE**

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

المقدمة Introduction

إن انتشار الأمراض يهدد الصحة والأقتصاد والأمن ، ويستغرق الأمر الكثير من الوقت والجهد لمكافحة الأمراض جميعها و لتجنب مخاطرها،هناك العديد من الأمراض التي تهدد الصحة والتي يجب أن يكون تشخيصها وعلاجها محور البحث، و مرض السكري(DM) Diabetes Mellitus هو مشكلة صحية عامة خطيرة تتزايد وتتطلب استراتيجيات فعالة ، وفقًا للاتحاد الدولي للسكري (Saeedi *et al* .,2019) وتشير الاحصائيات العالمية إلى أن مايقرب من 537 مليون شخص يعانون حاليًا من مرض السكري (DM) ، من المتوقع أن يتضاعف هذا العدد إلى أكثر من 643 مليون شخص بحلول عام2030 (Wang *et al*.,2023) . وفي احصائية أخرى وجد أن اكثر من 15% من الاشخاص المصابون بـ (DM) يتعرضون إلى قرحة القدم السكري Diabetic Foot Ulcer (DFU) (Malepati *et al.*,2018).

تعد قدم السكري **Diabetic Foot (DF)** واحدة من المضاعفات الخطيرة لمرضى السكري (Hidalgo-Ruiz *et al*.,2023) وتحدث في المنطقة تحت كعب القدم وتعد السبب الرئيسي للعديد من الأمراض ، بمافي ذلك التهاب الأنسجة والمفاصل والأوتار ونخاع العظام والعضلات،وقد تتطور وتصبح اكثر خطورة بغزوها الأنسجة العميقة مسببة لها اضطراباً مناعياً ، يعد اعتلال الأعصاب المحيطية السبب الرئيسي لتكوين القرحة (قرحة الاعتلال العصبي)، بمجرد ظهور الحالة التقرحية يمكن للبكتيريا أن تستعمر منطقة التقرح (أكثر من 50٪ من الحالات) ، مع استجابة التهابية وعدوى جهازية، فإن العدوى موجودة في حالة وجود علامتين أو أكثر من علامات الالتهاب ، بما في ذلك الألم والدفء والتصلب والإفراز القيحي (Lipsky *et al*.,2020) يمكن أن تلعب العدوى دورًا مهمًا في نصف حالات بتر الأطراف السفلية الرئيسية، كما إن 84% من الذين يعانون من هذه القرحة ينتهي بهم المطاف لبتر سيقانهم (Hicks & Selvin *et al.*,2019) وتشير الدراسات الحديثة الى بعض عوامل الخطر لتطوير DFU وتشمل اكثر من 10 سنوات من الإصابة بمرض السكري ، الجنس من الذكور ، المرضى الأكبر سناً ، وجود أمراض مصاحبة بما في ذلك اعتلال الكلية ، والاعتلال العصبي، أمراض الأوعية الدموية الطرفية ، تاريخ تقرح القدم (Caldwell *et al*.,2020) يمكن للعديد من الكائنات الحية أن تسبب عدوى القدم السكرية ، لكن المكورات الموجبة لصبغة كَرام ، وخاصة المكورات العنقودية الذهبية ، هي أكثر مسببات الأمراض شيوعًا ، يعد الاعتلال العصبي المحيطي ، واعتلال الأوعية الدموية ، وقلة الاهتمام بنظافة القدم مثل استخدام

الأحذية غير المناسبة من العوامل الرئيسية في تطور العدوى و يمكن أن تكون الخدوش أو الكدمات والطفح الجلدي وفقدان سلامة الجلد بسبب العدوى الفطرية عوامل تسهل لعدوى القدم السكرية (Deng *et al*.,2023) .

تم توثيق الأنواع غير المخمرة السالبة لصبغة كَرام Gram negative ، وخاصة *Pseudomonas aeruginosa* و *Acinetobacter baumannii* منذ فترة طويلة على أنها مسببات الأمراض الشائعة والمتكررة التي تسبب DFU ،أذ بين Bassetti وجماعته (2021) بأنَ بكتريا الراكدة البومانية (Ab) *Acinetobacter baumannii* هي مستعمر نادر في جلد الإنسان وممرض انتهازي واسع الانتشار يسبب عدوى المستشفيات ويسبب العديد من الحالات المرضية مثل تعفن الدم والتهاب المسالك البولية والتهاب السحايا والالتهاب الرئوي وإصابات الحروق والجروح ويوجد في وحدات العناية المركزة ، وساهم ثباتها البيئي طويل الأمد مع القدرة على اكتساب المحددات لتصبح متعددة المقاومة للادوية Multidrug resisstans (MDR) وانتشار المرض ، وكذلك توجد في التربة ويصيب البشر و الحيوانات ، وتؤثر على الأشخاص الذين يعانون من ضعف المناعة وقد تتسبب في الوفاة (Yadav *et al*.,2020) وواحدة من اكثر العوامل شيوعاً المسببة لعدوى القدم السكري Diabetes Foot Infections (DFIs) (Khan *et al*.,2019) ، تتميز البومانية بكونها بكتريا سالبة لصبغة كَرام ، تتميز بشكل إلى عصوي كروي ، هوائية ، بكترياغير متحركة-Non motile ، غير مخمرة لسكر اللاكتوز ، العديد من العزلات البكتيرية البيئية تنمو بدرجة حرارة تتراوح مابين 20º م الى 30ºم بينما تنمو بكتريا الراكدة البومانية بدرجة حرارة 44ºم وتتميز بقدرتها على مقاومة الجفاف ويمكن لـ *A.baumannii* البقاء على قيد الحياة عند التعرض للمطهرات الشائعة – الفينولات الغلوكونات ، الكلورهيكسيدين على أطراف الأصابع أو الأسطح الجافة ، والمغذيات الطويلة بسبب قدرتها على تطوير الاغشية الحيوية ارتبطت هذه البكتيريا بدخول المستشفيات على المدى الطويل ، والمرضى، والوفيات (Raut *et al*.,2020) وتمتلك هذه البكتيريا العديد من عوامل الضراوة ، بما في ذلك قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية وتطوير الجنيوم genome evalotion، والتي تسهل بقائها في بيئة المستشفى ، وقدرتها على البقاء على قيد الحياة، تلتصق بالأسطح الحية وغير الحية ، وتعزز مقاومتها للمضادات الحيوية (Leitao,2020) وأدى الانتشار العالمي لبكتريا *A.baumannii* المقاوم للكاربابينيم (CRAb) Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* إلى ظهور مشكلة رعاية صحية عالمية لأن مرضى CRAb لديهم مخاطر أعلى للوفاة (Du *et al*.,2019) ،لذلك أدرجت

منظمة الصحة العالمية CRAb باعتباره العامل الممرض الأول للتطوير العاجل لخيارات العلاج الجديدة (Shrivastava *et al*.,2018) وأدرجت مراجعة عالمية لتحليل البيانات عام 2019 بأن بكتريا *A. baumannii* من بين مسببات الأمراض الستة الرئيسية للوفاة المرتبطة بمقاومة مضادات الميكروبات Anti Microbial Resistance (AMR) ، مع أكثر من100000 حالة وفاة في جميع أنحاء العالم (Murray *et al*.,2022) .

في الآونة الآخيرة استعملت المنتجات الطبيعية بوصفها مصادر مهمة للمضادات الحيوية بسبب امتلاكها فعالية حيوية لأنواع مختلفة من الأحياء الدقيقة وذلك يعزى لامتلاك هذه النباتات مركبات ثانوية فعالة مثل(الفلافونات Flavonoids ، التانينات Tannins ، التربينويدات Terpenoids، والقلويدات Alkaloids) وغيرها و بخصائصها المضادة للأكسدة والمايكروبات والالتهابات (Nandre *et al*.,2021) التي تتميز بفعالية عالية مضادة للمايكروبات (Jubair *et al*.,2021) وسلطت بعض الدراسات الضوء على منتج النحل العكبر propolis لامتلاكة هذه الخصائص، العكبر Propolis هو مادة راتنجية يصنعها النحل ، ويتم إنتاجها بوساطة خلط شمع العسل وإفرازات الغدد اللعابية مع الإفرازات التي يتم جمعها من النباتات، يشار أحيانًا إلى العكبر باسم بنسلين النحل (Gaber *et al* .,2020) وخلية النحل هي بيئة معقمة للغاية توجد في الطبيعة، لا يعمل العكبر كغراء فحسب ، بل يستعمل أيضًا لتنظيف وتطهير أقراص العسل (Mohammed *et al.*,2021) وأحد منتجات نحل العسل المعروف تاثيره على انتاج الأغشية الحيوية Biofilm de Souza Costa *et al*.,2022) ،استخدمه المصريون القدماء لحفظ الجثث أثناء التحنيط (Veiga *et al*.,2018) في الآونة الأخيرة ، أصبح العكبر موضوعًا مثيرًا للاهتمام ويحظى باهتمام متزايد من الكيميائيين وعلماء الأحياء على مر القرون ، كان له دور مهم في الطب التقليدي ولا يزال يستخدم حتى اليوم كبديل للمضادات الحيوية بسبب مشكلة مقاومة مضادات الميكروبات المتزايدة ، تعد المنتجات الطبيعية أكثر قيمة من المنتجات الصناعية بسبب انخفاض سميتها للخلايا، العكبر (غراء النحل) هو مادة لاصقة قوية لسد الثقوب والشقوق في خلية النحل ، وتقوية الخلية ، وتنعيم الجدران الداخلية (Šuran *et al*.,2021)

نظرًا لأن العكبر يجمعه النحل من نباتات مختلفة ، يمكن أن ترتبط خصائصه بالوقت الموسمي والموقع الجغرافي (Touzani *et al*.,2018) وجد أن التركيب الكيميائي للعكبر يمكن أن يتأثر بالأصل النباتي ومنطقة التجميع أذ تم تحديد أكثر من 150 مكونًا مثل البوليفينول والألدهيدات الفينولية والكينون والكومارين والأحماض الأمينية والمنشطات والمكونات غير العضوية في عينات العكبر ومن بين المركبات الفعالة والنشطة بيولوجياً في هذه العينات ،

الأحماض الفينولية والفلافونويد(Gaber *et al.*,2020 ; Harfouch *et al.*,2016) بالنظر لخطورة اخماج قرحة القدم السكري فقد هدفت هذه الدراسة إلى الحصول على مضاد بكتيري من مادة طبيعية كفوء في تثبيط بكتيريا *Acinetobacter baumannii* التي تشترك في إحداث هذه الأخماج، عبر تحقيق المحاور الآتية :

1 - عزل وتشخيص بكتريا *Acinetobacter baumannii* من مرضى قرحة القدم السكري .

2 – تحضير المستخلص الكحولي للعكبر.

3- تقييم الفعالية المضادة للمستخلص الكحولي للعكبر الخام (EEP) Extric of propolis Ethanolic ضد بكتريا الراكدةالبومانية *Acinetobacter baumannii* المعزولة من مرضى قرحة القدم السكري.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literatures Review

استعراض المراجع Literatures review

1-2.مرض السكري Diabetes mellitus (DM)

داء السكري ، أو مرض السكري DM، هو مجموعة من الاضطرابات الموصوفة عن طريق زيادة مستوى السكر في الدم والتي تنتج عن عيوب في إنتاج و / أو استخدام الأنسولين من قبل جسم المريض، ويعد مرض السكري والحالات ذات الصلة بمثابة مجموعة من متلازمة التمثيل الغذائي (Lehrke and Marx, 2017) وازداد DM بشكل سائد خلال العقود الأخيرة ، وفقًا للاتحاد الدولي للسكري International Diabetes Federation (IDF) ، ارتفع معدل الانتشار لمرض السكري (النوع 1 والنوع 2) معًا ، سواء تم تشخيصه أو عدم تشخيصه في الأشخاص الذين تتراوح أعمارهم بين 20 عامًا و 79 عامًا إذ يمكن ان تزداد توقعات حدوث مرض السكري إلى 592 مليونًا على مستوى العالم بحلول عام 2035 (Quinn *et al*., 2019). وسوف يقفز هذا الرقم عالميًا إلى 700 مليون (10.9٪) بحلول عام 2045 (IDF, 2019) يرتبط ارتفاع السكر في الدم على المدى الطويل بمضاعفات الأوعية الدموية الدقيقة والأوعية الدموية الكبيرة على المدى الطويل والتي تشمل خللًا في العديد من الأعضاء ، وخاصة الكلى والعينين والأعصاب والقلب ، التي تسبب مشكلة صحية كبيرة لمرضى السكري (Hsia *et al*., 2015). تم تصنيف DM إلى عدة أنواع ، وتشمل الأنواع الأكثر شيوعًا داء السكري من النوع الأول Type1 Diabetes mellitus (T1DM)، وداء السكري من النوع الثاني Type2 Diabetes mellitus (T2DM)، وسكري الحمل Gestational Diabetes، فضلاً عن أنواع أخرى من مرض السكري (Solis- Herrera *et al*.,2018). داء السكري من النوع 2 (T2DM) هو حالة طبية تتميز بمقاومة الأنسولين ، لايستجيب الجسم بشكل كامل للأنسولين ،إذ أن الأخيرلايعمل بالشكل الصحيح ويستمرتزايد ارتفاع مستوى السكر في الدم (الجلوكوز) وتطلق المزيد من الانسولين ممايؤدي في النهاية إلى استنفاذ البنكرياس، ممايؤدي إلى عدم قدرة الجسم على إنتاج كمية كافية من الأنسولين وبذلك يزداد ارتفاع مستويات السكر في الدم أو نتيجة السمنة التي تقلل من عدد الخلاياالمستقبلة للأنسولين (Abdullah *et al*.,2019). داء السكري من النوع 1 (T1DM) يمثل مرض السكري من النوع الأول حوالي 5-10٪ فقط من جميع حالات مرض السكري، ومع ذلك ، تزداد الاصابة به في جميع أنحاء العالم وله آثار خطيرة على المدى القصير والطويل، يسبب الاضطراب على مكون وراثي قوي ، موروث بشكل رئيسي بوساطة مركب

Human Lymphocyte Antigens (HLA)، لكن العوامل التي تؤدي إلى ظهور المرض السريري تظل غير معروفة إلى حد كبير، يصيب عادة الاطفال صغار السن ويتميز بأن الشخص لا يفرز كمية كافية من الانسولين لتنظيم مستوى السكر في الدم ، ولذلك يجب أن يتلقى الاشخاص المصابون بمرض السكري من النوع الأول الأنسولين طيلة حياتهم (García *et al*.,2016).ومن أسباب مرض السكري المعتمد على الانسولين هي العوامل الوراثية،العدوى الفايروسية viral infection، تناول بعض الاغذية المحتوية على بعض المواد الكيميائية ، تغذية الرضع على حليب الأبقارفي الشهور الأولى من الولادة.(Verma *etal*.,2020) .ويمكن تلخيص ذلك في الجدول (2-1).

جدول (2-1) مقارنة بين T1DM و T2DM (Butler and Misselbrook,2020).

الصفة	T1DM	T2DM
الحمض الكيتوني	شائع	نادر
شدة الأعراض	كثيرا ما يتم تمييزها	متغير ، ولكن بشكل نموذجي ليس شديد
فقدان الوزن	نعم (ولكن ليس دائمًا ،على سبيل المثال ، في نوع 1 بطيء البداية)	غير عادي
بداية	مفاجأة	تدريجي
الاجسام المضادة	نموذجيا ، موجود	غائب
العمر	الأغلبية تحدث في أطفال	الأغلبية تحدث في الكبار

2-2 : مضاعفات مرض السكري Complication of diabetes mellitus

يمكن أن يؤدي DM بجميع أنواعه إلى مضاعفات خطيرة في العديد من أعضاء الجسم ، كما يمكن أن يزيد من مخاطر الوفاة مبكرًا بشكل عام، تشمل المضاعفات المتوقعة لمرض السكري النوبات القلبية والسكتة الدماغية والفشل الكلوي والقدم السكري وتلف الأعصاب وكذلك فقدان البصر، في مدة الحمل ، تُظهر المرأة المصابة بمرض السكري الذي لا يتم التحكم فيه بشكل جيد ، زيادة في مخاطر فقدان الجنين بالاضافة الى العديد من المضاعفات الأخرى(Harding *et al*.,2019).

1.2.2 : قرحة القدم السكري Diabetic foot ulcer

إصابة القدم بالتقرح المصاحب للاعتلال العصبي ومرض الشرايين المحيطية للطرف السفلي عند مريض السكري، وإن الأصابة (DFUs)عادة ما تفشل في الشفاء وتؤدي إلى بتر الأطراف السفلية (Yazdanpanah *et al*., 2015). فضلاً عن ذلك ، فإن (DFU) واحدة من أكثر مشاكل الصحة العامة شيوعًا في أنحاء العالم جميعها، القرحات المزمنة التي تؤدي إلى البترهي حالة خطيرة تؤثر على حياة مرضى السكري ، لا تحدث قرحة القدم السكرية من تلقاء نفسها ، وعادة ما تحدث عندما يعاني المريض من نوع من الصدمة دون أن يلاحظها أحد، يمكن أن تحدث هذه الإصابات بسبب الأحذية غير الملائمة أو المشي حافي القدمين أو الأجسام الغريبة أو الحروق من الماء الساخن (Rathur and Boulton, 2007) يمكن أن تكون القرحة سطحية ، أي "آفة بسمك كامل للجلد لا تخترق أي بنية أعمق من الأدمة" ، أو عميقة ، أي "آفة بسمك كامل للجلد تخترق تحت الأدمة إلى الهياكل تحت الجلد التي تشمل اللفافة والعضلات ، وتر أو عظم ". تتضمن عملية التئام الجروح آلية بيولوجية معقدة ناتجة عن الإصابة ، وتتضمن أربع خطوات رئيسية: (1) التخثر (2) الالتهاب (3) انتشار (4) عوامل إعادة تشكيل الأنسجة التي تؤثر على التئام قرح القدم السكرية ، بما في ذلك موقع القرحة ومدة الإصابة. مسار المرض: مرض السكري ، ومدة القرحة ، وفشل القلب ، وأمراض الشرايين الطرفية (Elgzyri , 2014).

1.1.2.2 : تصنيف قرحة القدم السكري Classification of diabetes foot ulcers

قرحة القدم السكرية هي إحدى مضاعفات مرض السكري أيضًا ، يتم تصنيف DFU على أنه إما اعتلال عصبي ، عصبي أو إقفاري ischaemic (Turns,2011) ، يستخدم الأطباء أيضًا درجات واغنرWagner لوصف شدة القرحة، الغرض من درجات واغنر هو السماح للمختصين بمراقبة وعلاج قرح القدم السكرية بشكل أفضل، يصنف نظام الدرجات هذا قرح القدم السكرية باستخدام الأرقام، من 0 إلى 5.

جدول (2-2) تصنيف تقرحات القدم السكرية المقترحة عبر واغنر(Wagner and ONeal) 1983

الدرجة -0	لا توجد قرحة في القدم عالية الخطوره .
الدرجة -1	القرحة السطحية تشمل سماكة الجلد بالكامل ولكن لا تصيب الأنسجة الأساسية.
الدرجة -2	قرحة عمقية تخترق الاربطة / العضلات ، ولكن لاتوجد إصابة للعظام أو تكون خراج.
الدرجة -3	قرحة عميقة مع التهاب النسيج او تكوين خراج ، غالباً مع التهاب العظم والنقي.
الدرجة-4	الغرغرينا الموضعية.
الدرجة - 5	الغرغرينا الشديدة التي تصيب القدم بأكملها

صورة (2-1) تمثل مراحل تطور القدم السكرية (Elgzyri , 2014).

3-2:الاحياء الدقيقة Microorganisms which causing diabetic foot ulcers المسببة لقرحة القدم السكري

المرضى الذين يعانون من قرحة القدم السكرية DFU لديهم أكثر من 10 أضعاف عدوى مقارنة بغيرالمصابينDFIs و لديهم مخاطر عالية للإصابة بعدوى (Khan *et al.*,2019) بين Stappers وجماعته (2015) بأن الراكدة البومانية والبكتيريا الموجبة لصبغة كَرام مثل المكورات

العنقودية الذهبية والمكورات العقدية الحالة للدم بيتا هي أكثر أسباب الالتهابات الجلدية شيوعاً ،البكتيريا الهوائية الموجبة لصبغة كَرام على سطح الجلد ، مثل العقديات الحالة للدم (*Streptococcus pyogenes*، *Streptococcus agalactiae*) أو *S. aureus* ، والكائنات المسببة الأكثر انتشارًا، في المرضى الذين يعانون منDM الذين استخدموا المضادات الحيوية في آخر 30 يومًا ، وكذلك أولئك الذين يعانون من التهابات عميقة مهددة للأطراف أو جروح مستمرة غير قابلة للشفاء ، تكون العدوى بشكل عام متعددة الميكروبات،في الإفرازات الكريهة للجروح أو الغرغرينا ، توجد البكتيريا اللاهوائية بشكل شائع كجزء من الأمراض متعددة الميكروبات(Scott *et al*., 2016) . تعد الفطريات من جنس *Candida* الأكثر شيوعاً في قرحة القدم السكري (DFU) (Musyoki *et al*.,2022) .

2-3-1. البكتريا الموجبة لصبغة كَرام Gram positive bacteria

2-1-3-1. *Staphylococcus aureus*

المكورات العنقودية عبارة عن خلايا كروية الشكل يبلغ قطرها حوالي 0.5-1.5 ميكرومتر ، وعادة ما يتم تنظيمها في مجموعات غير منتظمة تشبه العنب. بشكل عام ، المكورات العنقودية هي موجبة الكَرام، وغير متحركة ، ولاتنتج ابواغاً ، و هوائية بشكل عام اختيارية (Brooks *et al*, 2012). تنتج المكورات العنقودية الكتاليز Catalase ، وتفاعلات إيجابية للفوسفاتيز القلوي ، تسبب تجلط الدم ، وأوكسيديز سالب (Logan and Devos, 2009). تنمو عند PH يتراوح بين 4.5-9.3 ولكن القيمة المثلى بين 7-7.5. يمكن أن تزيد في وجود 10٪ كلوريد الصوديوم وضعف في 15٪ كلوريد الصوديوم ولكن يتم تثبيطها باستخدام العديد من المواد الكيميائية مثل (3٪ سداسي كلوروفين). وهي محبة للحرارة ويمكن أن تتحمل درجة حرارة تتراوح بين 18-40 درجة مئوية مع 37 درجة مئوية كدرجة حرارة مثالية للنمو ، يحتوي جدار الخلية على ببتيدوغليكان وحمض تيكويك(Logan and Devos, 2009). نظرًا لأن نمو المكورات العنقودية يتطلب مكملات بأحماض أمينية مختلفة وعوامل نمو أخرى ، يتم زراعتها بشكل روتيني في وسط مدعم يحتوي على مرق مغذي و / أو أجار الدم (Lagier *et al*.,2015) والمكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين (MRSA) methcillin resistant *Staphylococcus aureus* هي أحد أكثر مسببات الأمراض شيوعًا المرتبطة بزيادة مقاومة مضادات المكروبات (Suhaili *et*

(2018 ,*al*.لوحظ في الاونة الأخيرة زيادة عدد حالات الإصابة بعدوى بكتيريا meth MRSA في جميع أنحاء العالم ، أذان حوالي 90٪ من المكورات العنقودية الذهبية البشرية ,.Hussain *et al*) (2019 عادة ما تكون MRSA مقاومة لمجموعة واسعة من المضادات الحيوية بما في ذلك ؛ الماكروليدات ,macrolides والأمينوغليكوسايد aminoglycoside واللينكوساميد , lincosamide وجميع β-lactams ، حدوث مقاومة الأدوية المتعددة (MDR) ب MRSA ، تجعل من الصعب علاجها(Mahmoudi *et al*., 2019) عادة ما يكون الاصابة MRSA بدون أعراض في الأشخاص الأصحاء(Yang *et al*., 2020) يختلف نمط وانتشار MRSA بشكل كبير في المستشفيات بين البلدان المختلفة أو داخل نفس البلد.(Hussain *et al*., 2019) تلقى MRSA اهتمامًا كبيرًا بالبحوث والممارسات الطبية بسبب التحديات المتزايدة في السيطرة عليها وعلاجها .(Alkharsah *et al*., 2018)

2-3-2. البكتريا السالبة لصبغة كَرام Gram negative bacteria

Enterobacteriaceae

1-2-3-2. *Escherichia coli*

الإشريشية القولونية هي من الجراثيم المعوية التي تسبب الالتهابات المختلفة في المستشفيات ، بما في ذلك التهابات داخل البطن والتهابات الجروح وتجرثم الدم والالتهاب الرئوي والتهاب السحايا الوليدي وتعفن الدم (Vila *et al.*, 2016) تم اختيار سلالات الإشريكية القولونية لديها القدرة على التسبب في التهابات خارج الأمعاء باعتبارها مسببة للأمراض خارج الأمعاء لتمييزها عن السلالات المسببة للأمراض المعوية extraintestinal pathogenic *E. coli* (EXPEC) ، وأشار معظمها إلى الإشريشية القولونية المسببة للأمراض المعوية كذلك قد تسبب الإشريكية القولونية المسببة للأمراض خارج الأمعاء العديد من العدوى خارج الأمعاء في مواقع تشريحية متعددة (Vila *et al*., 2016) فضلاً عن ذلك ، تعد الإشريشية القولونية سالبة لصبغة كَرام ، وهي بكتريا اختيارية على شكل عصيات هوائية ، وغير منتجة للابواغ ، ومعظمها متحرك ، وتوجد كبسولات في العديد من السلالات التي توجد عادة في الأمعاء السفلية للإنسان والحيوان .(Ryan and Ray, 2004).

Klebsiella pneumoniae -2 -2-3-2

Klebsiella هو جنس من البكتيريا السالبة لصبغة كَرام غير متحركة وغيرمنتجة للابواغ ولها كبسولة كبيرة وقد تخمر اللاكتوز وتثبت النيتروجين في ظل ظروف معينة تنمو في ظروف هوائية طولها 0.6-6 ميكرون ، مجاميع او منفردة ، في أزواج ، أو في سلاسل قصيرة (Podschun and Ullmann, 1998) *Klebsiella*. هي بكتيريا اختيارية وتظهر مستعمراتها مخاطية كبيرة ، على وسط اكارماكونكي MacConkey agar ، تخمر اللاكتوز وتوليد الحمض Orskov, 1984) يمكن أن توجد *K. pneumoniae* في البلعوم الأنفي وفي الأمعاء (Brisse *et al*., 2006) تعد هذه الكائنات الحية الدقيقة أهم سبب لعدوى المستشفيات بالنسبة للعدوى المكتسبة من المجتمع،لا تزال البكتريا الرئوية الأكثر انتشارًا في عدوى المستشفيات وربما تكون أكثر خطورة بسبب التطور السريع وانتشار مقاومة المضادات الحيوية في المستشفيات(Lundberg *et al*., 2013) تعد أنواع الـ *Klebsiella* من مسببات الأمراض الانتهازية التي تستعمر الأسطح المخاطية دون التسبب في أمراض ومع ذلك قد ينتشر من الغشاء المخاطي إلى الأنسجة الأخرى التي تسبب العدوى التي تهدد الحياة بما في ذلك قرحة القدم السكري والتهاب حوض الكلية المزمن والالتهاب الرئوي والتهابات المسالك البولية UTIs والتهابات مجرى الدم والإنتان (Paczosa and Mecsas, 2016).

Pseudomonas aeruginosa.3-2-3-2

تُعرف بكتريا *P aeruginosa* كمسبب شائع للعدوى المرتبطة بالرعاية الصحية (HCAI) Healthcare Associated Infections وقد تم تحديدها كسبب للعدوى في المستشفى(Ulrich, 2018). الزائفة الزنجارية عصيات هوائية سالبة لصبغة كَرام عرضها من 0.5 إلى 0.8 ميكرومتروطولها من 1.5 إلى 3.0 ميكرومتر(Abdullahi *et al*., 2013) ، غير مخمرة ، رمية ، غير منتجة للابواغ ويمكن أن تنمو بشكل لا هوائي إذا كان من الممكن الحصول على النترات كمستقبل نهائي للالكترونات(Govan, 2007) درجة الحرارة المثلى للنمو عند 37 درجة مئوية ، بينما أقصى درجة حرارة عند 42 درجة مئوية و يساعد النمو عند 42 درجة مئوية على تمييزها عن بقية *Pseudomonas* SP التي تنتج أصباغ الفلورسينت ، وأوكسيديز إيجابية ، ولا تخمر الكربوهيدرات وهناك العديد من السلالات تؤكسد الجلوكوز، وعادة ما يعتمد التحديد على شكل

المستعمرات وإيجابية الأوكسيديز ووجود أصباغ مميزة(Jawetz *et al*., 2013) ، عادة تكون سلالات *P aeruginosa* متحركة عن طريق سوط قطبي واحد (Fernandez-Olmos *et al*., 2012)، وهو عامل يؤدي الى تطوير مقاومة لغالبية المضادات الحيوية المتاحة للعلاج ،علاوة على ذلك ، فهو سبب رئيسي للعدوى المكتسبة من المستشفيات التي تهدد الحياة, اوضح Ramos *et al* (2013). أن *P aeruginosa* تمثل 10-20٪ من العدوى المكتسبة من المستشفيات ، وتعزى إليها النسبة المئوية المرتفعة للمرضى والوفيات و يصعب علاج الالتهابات المرتبطة بهذه البكتيريا بسبب القدرة على تطوير مقاومة المضادات الحيوية ،يمكن استبعاد المضادات الحيوية خارج الخلية عن طريق بروتينات ناقلة للغشاء تسمى مضخات التدفق، يمكن لمضخات التدفق أن تخرج من خلية البكتيريا بأشكال مختلفة لا علاقة لها من الناحية الهيكلية (Spengler *et al*., 2017). تنتج *P. aeruginosa* العديد من عوامل الضراوة التي تعزز الإمراضية ، وتشمل بعض هذه العوامل ؛ عديد السكاريد الدهني ، السوط ، نظام الإفراز من النوع الثالث ، السموم الخارجية أ ، البروتياز ، الجينات ، استشعار النصاب ، تكوين الأغشية الحيوية ، أنظمة إفراز النوع السادس ، هذه عوامل ضراوة رئيسية تعمل بطرائق مختلفة في التأثير بجهاز المناعة (Rocha *et al*., 2019) .

2-3-2-4.الراكدة البومانية *Acinetobacter baumannii*

أكثر الأنواع شيوعًا من *Acinetobacter* spp هي *Acinetobacter baumannii* ، وهي أول معزولة لـ *A. Baumannii* بواسطة العالم Baumann في عام 1968 ، تم عزلها من العينات السريرية البشرية مثل الدم والسائل الجنيني والبلغم والادرار (Kempf and Rolain,2012) *A.baumannii* هي كروية عصوية، سالبة لصبغة كَرام تعد في البداية من مسببات الأمراض الانتهازية ، والتي تلعب دورًا حيويًا كسبب رئيسي للعدوى المرتبطة بالرعاية الصحية، في السنوات الأخيرة ، أصبحت *A.baumannii* مقاومة للعوامل المضادة للميكروبات الأكثر فعالية مما تسبب في ارتفاع معدل الإصابة بالأمراض والوفيات خاصة في وحدة العناية المركزة في العديد من البلدان .(Moulana *et al*.,2020) تمتلك سلالات *A. baumannii* القدرة على استعمار العديد من المنافذ البيئية بما في ذلك التربة والمياه والحيوانات وكذلك البشر، كما أنها تعيش في ظل ظروف بيئية قاسية للغاية ويزداد انتشارها في المركبات العضوية النادرة (Yakkala *et al*., 2019) كثيرا ما توصف *A. baumannii* بأنها العامل المسبب لمرض اللالتهاب الرئوي المرتبط بجهاز

التنفس الصناعي ، والتهابات المسالك البولـــيــة ، والتهابات الجروح ، والتهابات مجرى الدم(Yadav *A. baumannii* .*et al*., 2020) واحدة من مسببات الأمراض الانتهازية المقاومة للأدوية المتعددة (MDR) ، ويرجع ذلك جزئياً إلى قدرتها العالية على اكتساب المقاومة لمجموعات متنوعة من المضادات الحيوية (Da Silva *et al*., 2016). تلعب الآليات المختلفة دورًا في اكتساب النمط الظاهري لمقاومة الأدوية المتعددة (MDR) بين سلالات *هذه البكتريا*، وذلك لأنها تمتلك نطاقًا واسعًا من الجينات التي يتم ترميزها لمقاومة المضادات الحيوية ، الجوهرية والمكتسبة. ذكر Shaheen وجماعته (2021) بأن عزل بكتريا الراكدة البومانية قد تم من 13 عينة من مرضى DFU يرقدون في المستشفى واثبتوا ان معدل وفيات المرضى الذين يعانون من DFU ارتبط بعدوى الراكدة البومانية (MDM) التي عادة ماتكون عدوى مكتسبة من المستشفيات.

1.4.2.3.2.التسمية والتصنيف Nomenclature and Taxonomy

اكتشفت بكتريا *A.baumannii* لاول مرة في عام 1911 من قبل عالم الاحياء الدقيقة من هولندا (Beijerinck,Marttinus Willem) وقد حدد عندما قام بعزلها من التربة باستخدام وسط خلات الكالسيوم Calcium acetate- mineral medium وسميت Micrococcus calcoaceticus (Doughari *et al*.,2011) تمتلك البكتريا مسميات عديدة اذ اقترح بومان (Munoza -pric e &Weinstein 2008) 1968 عـــام Acinetobacter اسم ان مـجـمـوعـة Acinetobacter سابقاً لم تكن معروفة ولوقت طويل جداً وقد صنفت الى العديد من الاصناف منها , Achromobacte anitratus ,Cytophaga , Diplococcus mucosus Bacterium anitratum Achromobacter mucosus, Alcaligenes Lingelsheimia , Mimapolymorpha , M ,، haemolysans, Herelleavaginicola Moraxella lwoffii وNeisseria winogradsk (Jung and Park,2015).

Kingdom : Bacteria
Phylum: Protobacteria
Class: Gamma Proteobacteria
Order: Pseudomonadales
Family : Moraxellaceae
Genus : *Acinetobacter*
Species: *Acinetobacter baumannii*
(Jung and Park, 2015)

2.4.2.3.2 الإمراضية للراكدة البومانية

***Acinetobacter baumannii* Pathogenesis of**

برز جنس *A. baumannii* لأنه يعد المسبب الرئيسي في التسبب في التهابات المستشفيات ، وخاصة في وحدات العناية المركزة (ICUs) في جميع أنحاء العالم، ترتبط قدرة هذا الكائن الحي على تلويث أسطح المستشفيات لمدة طويلة بتفشي المستشفيات(Shimose *etal.*,2016) . وقد اكتسب القدرة على الإصابة ليس فقط للمرضى في المستشفى ولكن أيضًا عامة السكان المراجعين في المستشفيات، فإنه يمنح معدل وفيات يصل إلى 26٪ و 43٪ في وحدات العناية المركزة ICUs *A. baumannii* (Greene *etal.*,2016) هي عامل رئيسي للالتهاب الرئوي المرتبط بأجهزة التنفس الصناعي ، والذي يمثل ما يقرب من 15٪ من جميع حالات العدوى المكتسبة في المستشفى ، مع أعلى معدلات أمراضية والوفيات في الأجنحة الطبية وخاصة في وحدات العناية المركزة، يمثل حوالي 50٪ من إجمالي استخدام المضادات الحيوية في وحدات العناية المركزة. Demirdal). (*etal.*,2016 لا تعد هذه البكتريا من مسببات الأمراض المجتمعية ، ولكن في الأفراد الذين يعانون من نقص المناعة و الأطفال ممن لديهم ثقب بالقصبة الهوائية(Tracheostomy) ، تملأ القصبة الهوائية ويمكن أن تسبب التهاب القصبات الهوائية (Tracheobronchitis) والتهاب القصيبات (Bronchiolitis) و المكتسب من المجتمع. كما ويشترك في الالتهاب الرئوي المكتسب من المجتمع مع الظروف الأساسية مثل التدخين (Smoking) وإدمان الكحول (Alcoholisms) وداء السكري Diabetes mellitus، ومرض الانسداد الرئوي المزمن Chronic obstructive pulmonary disease في المناطق الاستوائية في آسيا وأستراليا(Silva *etal.*,2012) عثر على هذه البكتريا في التهابات مجرى الدم في 10%-15%من الحالات بسبب (القسطرة داخل الأوعية الدموية أو الجهاز التنفسي ، الأنابيب). في 20% - 70% من عدوى *A. baumannii* ، يبقى مصدر العدوى غير معروف (Garnacho-Montero *et al.*,2015).

تشكل *A. baumannii* تهديدًا متزايدًا لمرضى جراحة المخ والأعصاب، وهي مسؤولة عن 4% من جميع حالات التهاب السحايا ، ومعدلات وفيات بنسبة 70% (Basri *et al.*,2015) وايضاً مسؤولة عن 2.1% من التهابات الجروح المكتسبة في وحدة العناية المركزة (ICU)، ومع ذلك فإن انتشارها أكثر وضوحًا وبنسبة (32%) في الإصابات في ساحات القتال في

أفغانستان والعراق ، إنها ليس عاملًا معتادًا لعدوى المسالك البولية (UTIs) ؛ ومع ذلك ، يمكن أن يسبب عدوى للمرضى المسنين المنهكين والمرضى الذين يعانون من التهابات ذات الصلة بالقسطرة لمدة طويلة في وحدات العناية المركزة (ICU) حيث يساهم بنسبة 1.6% من إجمالي المسالك البولية(Infection Trat Urinary (UTIs . قد يسبب التهاب الشغاف والتهاب القرنية والتهاب العيون بعد استخدام العدسات اللاصقة وجراحة العيون(Ayoub Moubareck & Hammoudi 2020), الاصابة بهذه البكتريا تؤدي إلى حدوث مضاعفات ثانويةSecondary complication تشمل الصدمة السمية (Septic shock)، عدوى جهازية منتشرة (Systemic disseminated infection) تنخر الأنسجة الرخوة(Soft tissues necrosis) التهاب مجرى الدم (Blood strem infection)، متلازمة الأمراض التنفسية الحادة (ARDS Acute respiratory diseases syndrome) وأخيراً الاصابة بها تؤدي إلى الموت -AL) Anazi *et al* ., 2012).

3.4.2.3.2. الوبائية Epidemiology

تعد بكتريا *A. baumannii* واسعة الانتشار في البيئات الاستوائية والكوارث البيئية اثناء وقوع الحروب والمستشفيات (Leung *etal*,.2006) خلال الحروب ، يمثل اللاجئون والجنود المصدران الرئيسيان للعدوى البكتيرية، يلعب التلوث البيئي وانتقال العدوى دورًا رئيسيًا في انتشار البكتيريا بين الجنود (Dijkshoorn *et al*.,2007). بالنسبة للكوارث الطبيعية ، هناك عدة عوامل مرتبطة بزيادة انتقال العدوى البكتيرية مثل نزوح أعداد كبيرة من الناس إلى ملاجئ مكتظة ، والتعرض الشديد لناقلات الأمراض ، ونقص المياه والصرف الصحي (NawfalDagher *et al*.,2020) بكتريا *A. baumannii* لها القدرة على البقاء لفترات طويلة أو عدة أسابيع في الأماكن الجافة أو بيئات غير حية ممايساعدها في تلوث بيئات المستشفيات بسهولة (Wendt *et al* .,1997) هذه البكتريا تعد الاكثر انتشاراً بين المرضى الراقدين في العناية المركزة (ICU) فضلاً عن ذلك فان الاصابة بالبكتريا في استراليا واسيا اكتسبت من العدوى اثناء الاصابات في الحروب والكوارث البيئية (Kanafani *et al*.,2018) الراكدة البومانية من المسببات المهمة للعدوى المكتسبة من بيئات المستشفيات على مستوى العالم في عام 2016 صدر تقريرمن الولايات المتحدة الامريكية استعرض فيه أن هذه البكتريا تعد من مسببات الأمراض المقاومة للمضادات الحيوية الاكثر شيوعاً

(Weiner *et al*.,2016) تعد هذهِ البكتيريا واحدة من أوائل مسببات الأمراض في المستشفيات التي تم الإبلاغ عن حدوثها خلال الصيف أو الأشهر الأكثر دفئًا (Richet , 2012).

4.4.2.3.2:العدوى المصاحبة والتاثير السريري للراكدة البومانية

Associated Infections and Clinical Impactof *Acinetobacter baumannii*

كما ذكر أعلاه ، فإن *A. baumanni* لديها ميلاً لتحمل البيئات المجهدة وفئات متعددة من المضادات الحيوية ، مما يجعلها قادرة على البقاء على قيد الحياة وانتشارها كممرض في المستشفيات ، خاصة في المرضى ذوي الحالات الحرجة ، مما يساهم في زيادة معدلات الأمراضية والوفيات (Antunes *et al*.,2014) أفادت الدراسات السابقة التي تناولت عوامل الخطورة لاكتساب *A. baumannii* العديد من الخصائص بما في ذلك الإقامة الطويلة في وحدة العناية المركزة ، أو الإقامة السابقة في المستشفى أو وحدة العناية المركزة ، أو العلاج السابق بمضادات الميكروبات ، أو التهوية الميكانيكية ، أو استخدام الأجهزة (القسطرة الساكنة ، أو الأنبوب الرغامي أو الأنبوب الأنفي المعدي) ، أو التقدم في السن، جراحة كبرى أو طارئة ، انخفاض الوزن عند الولادة أو الخدج ، غسيل الكلى ، والاستعمال المطول للتغذية الوريدية الكلية أو الدهون في الوريد (Kim *et al*.,2016 : Schweppe *et al*.,2015) في السنوات الأخيرة ، ظهرت عدوى *A. baumannii* التي تشمل الجهاز التنفسي ومجرى الدم والجلد والأنسجة الرخوة والمسالك البولية والجهاز العصبي المركزي باعتبارها مشكلة كبيرة في مؤسسات الرعاية الصحية.

5.4.2.3.2 .عوامل الضراوة Virulence Factors

ساعدت الأساليب التي تتضمن التحليل الجيني والمظهري والعدوى في تحديد عوامل الضراوة المهمة لإمراضية *A. baumannii* (Antunes *et al*.,2014) ومن اهم عوامل الضراوة لهذه البكتريا هو الالتصاق بالخلايا والسمية الخلوية وغزو ألانسجة و الدهون متعددة السكريات (LPS) Lypopolysaccharide وتكوين الغشاء الحيوي Biofilm formation وانزيم الفوسفو لايبيز phospholipase enzyme واستشعار النصابQuorumsensing والحركة movmentوتشمل Surface – associated motility و Twitching motility و(porins) outer membrane protenins والانزيمات Enzames مما يجعلها كائناً شديد الأمراضية

وقاتلاً(Vijayakumar *et al*.,2016) وانتاج انزيم الجيلاتينيز Gelatenase الذي يعد من أهم عوامل الضراوة التي تشكل خطراً على الإنسان عند الإصابة بها ، الذي يعمل على تنخر الأنسجة بفعل قدرته على تحلل الكولاجين Collagen في الانسجة تحت الجلد، يحدث خلال التهاب الجروح (Khan *et al*.,2018; Greene *et al*.,2016) ويمكن أن يعزى الكثير من نجاح هذه البكتريا بشكل مباشر إلى جينومها البلاستيكي plastic genome، والذي يتغير بسرعة عند مواجهة الضرر والتوتر(Harding *et al*.,2018) فشلت الدراسات المنهجية في تحديد عامل ضراوة معين مسؤول عن النجاح السريري لبكتريا *A. baumannii* وذلك لإمتلاكها إمكانات تكيفية قوية ويمكن أن تكون نتيجة للتكيف مع مواقع مختلفة من جسم الإنسان أو استراتيجيات مسببة للأمراض ,Sahl *et al.*; Galac *et al*.,2020 2011) .(

6.4.2.3.2 .الغشاء الحيوي Biofilm

يعرف الغشاء الحيوي على أنه من عوامل الضراوة الرئيسية للبكتريا المرضية وسبباً لمقاومتها للمضادات الحيوية وأيضاً هو تجمع معقد للكائنات المجهرية مغلف بمادة خارج خلوية تفرزها الخلايا البكتيرية (Ibrahim,2015) ويعد تكوين Bioflim على أسطح الأجهزة الطبية مصدرا رئيسيا للعدوى في المستشفيات في العالم (Stewart & Costerton,2001) قد يتم تسهيل البقاء أو الاستمرار البيئي لبعض مسببات الأمراض في المستشفيات عن طريق تكوين Bioflim على الأسطح غير الحيوية يساعد الغشاء الحيوي البكتريا على الالتصاق والبقاء على الأسطح الحيوية وغير الحيوية Biotic and abiotic surfaces كالالتصاق بالانسجة الظهارية للإنسان Human epithelial cells (Sechi *et al*., 2004) حيث تنشأ الالتهابات المزمنة من تكوين الاغشية الحيوية التي تلعب دوراً رئيسياً في الميكروبات المسببة للامراض وفي عام 1916 أفاد Sirijant إن اكثر من 65% من الالتهابات البكتيرية البشرية مرتبطة بتكوين الاغشية الحيوية Abd El-baky *et al*.,2020) العزلات السريرية لبكتريا الراكدة البومانية لها القدرة على البقاء لمدة طويلة على الاسطح غير الحيوية في ظل ظروف بيئية شديدة الجفاف وهذه سمة شائعة لها بين السلالات البكتيرية (Wendt ,1997) .

7.4.2.3.2. مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية Antibiotic Resistan

اصبحت بكتريا الراكدة البومانية واحدة من اكثر المسببات المرضية بسبب اكتسابها مقاومة المضادات الحيوية ،والعديد من العزلات البكتيرية التي تعود الى بكتريا الراكدة البومانية تمتلك مقاومة عالية للعديد من المضادات الحيوية السريرية الفعالة (Lin and Lan,2014) والعديد من آليات المقاومة منها الانزيمات والتي تعمل على ايقاف عمل المضادات الحيوية unactivating antibiotic enzames منها انزيمات البيتالاكتيميز ß-lactmase وكذلك أنزيمات محورة للامينوكلايكوسايد (Aminoglycoside modified enzymes) ، إضافة الى مضخات التدفق المتعددة (Multidrug efflux pumps) ، تغيرات في مواقع الهدف Alteration of target sites ونفاذية الغشاء permeability defects .أن وجود آليات المقاومة لهذه البكتريا يقلل إمكانية علاج الإصابة بهذه البكتريا بواسطة المضادات الحيوية (Asif *et al*.,2018 ; *et al* 2017 Lee) يمكن أن تساهم عدة اليات مختلفة لمقاومة أحد المضادات الحيوية أو العديد من المضادات الحيوية مثل مضادات البيتالاكتام ßeta-lactam ومنها مجموعة الكاربابنيم (Carbapenem group) التي تكون جزء من من مضادات البيتالاكتام التي تضم كل من المضاد Imipenem، مضاد meropenem ، ومجموعة السيفالو سبورينات (cephalosporins) التي تضم cefipem،ceftazidem، Cefotaxime ،ومضاد الكولسين (Colistin) والامبسيلينات (Ampicillins) ومجموعة مضادات FlouroquinOlons وتتضمن مضادات Norfloxacin ، ومجموعة مضادات الامينو كلايكو ساید (Aminoglycoside) التي تتضمن مضادات Amikacin ، Gentamycin،Tobramycin (Singh *et al*.,2013) .

8.4.2.3.2. العلاج Treatment

على الرغم من أن مضادات الكاربابينم Carbapenems تعد من أهم الخيارات التي اكتشفت لعلاج الاصابة في بكتريا *A. baumannii* ، لكن اكتشف في السنوات الأخيرة إن لهذة البكتريا مقاومة شديدة ضد هذه المضادات(Isler *et al*.,2019). يوجد القليل من الخيارات العلاجية حالياً متاحة لعلاج الاصابة او العدوى بهذة البكتريا(Lee *et al.,*2016) اثبتت العديد من البحوث والدراسات يمكن معالجة الاصابة بهذه البكتريا وذلك عن طريق الجمع بين العلاجات منها (Colistin/Imipeneme), (Colistin/sulbactam), (Colistin /rifampicin)

(Vázquez-López *et* (Colistin،tigacyclin), (sulbactam/ Imipeneme *al*.,2020 ; Lee *et al* ., 2017) بشكل عام كانت مجموعة مضادات carbapenem التي تضم المضادات، Meropenem,Imepinem,Doripenem ،تعد العلاج الاول لمعالجة الاصابة ببكتريا *A.baumannii* وذلك بسبب قلة تاثيراتها الجانبية و نشاطها الفعال في معالجة الجراثيم ، بالرغم من مقاومة عزلات *A.baumannii* لمضادات الكاربابينيم Resistins *A.baumannii* Carbapenem (CRAB) ايضاً تكون مقاومة للانواع الاخرى من المضادات الحياتية(Doi *et al*.,2015).

دراسات اخرى اثبتت ان هذه البكتريا تبقى حساسة لبعض انواع المضادات الحيوية التي منها poly myxin,Colistin,minocycline/tigecycline (Butler .,2019) في حين اثبتت دراسات اخرى ان مضادات Sulbactam,Imepenem,Colistin ,Meropenem تستعمل في معالجة الاصابة الشديدة ببكتريا *A.baumannii* منها التهاب الرئة Pneumonia والسحايا Meningitis (Tuon *et al*.,2015) يعد Sulbactam مضاد حيوي ينتمي الى مجموعة مضادات β -lactam الذي يستعمل كمثبط لانزيمات β - Lactmase يستهدف pencillin binding proteins لبكتريا *A.baumannii* (Rafailidis *et al* .,2007 ; Adnan *et al*.,2013) ومضاد Ampicillin مع Sulbactam يعد علاج مناسب لمعالجة التهاب مجرى الدم Blood stream Infection بسبب بكتريا *A.baumannii* (Gulen; Smolyakov *et a*l .,2003 *et al.,*2015) استعمال هذة المضادات ampicillin Sulbactamو Carpapenems معاً يمكن ان يستعمل في علاج حالات تجرثم الدم Bactremia (Zhou *et al*.,2019) وأيضاً علاج التهاب الجلد والانسجة الرخوة skin and soft tissue infection عند الاصابة ببكتريا *A.baumannii* المقاومة للكاربابنيم (El-Masry *et al*.,2018) في الآونة الأخيرة أصبحت هذه البكتريا تعرف بمقاومتها للعديد من الادوية (MDR)كذلك تعد Extensively Drug Resistance(XDR) لذلك أدرجت منظمة الصحة العالمية CRAb باعتباره العامل الممرض الأول للتطوير العاجل لخيارات العلاج الجديدة (Murray *et al*.,2022 ; Shrivastava *et al*.,2018). يشمل المعيار الذهبي لعلاج قرحة القدم السكرية تنضير الجرح ، وإدارة أي عدوى ، وإجراءات إعادة تكوين الأوعية الدموية عند الحاجة إليها، وتفريغ القرحة (Abbott *etal* .,2002). كما تم اقتراح طرق أخرى لتكون مفيدة

كعلاجات إضافية، مثل العلاج بالأوكسجين عالي الضغط ، واستعمال منتجات العناية بالجروح المتقدمة، وعلاج الجروح بالضغط السلبي (NPWT) negative-pressure-wound-therapy ومع ذلك ، لم تقدم البيانات حتى الآن أدلة كافية على فعالية وتاثير تكلفة هذه الأساليب العلاجية الإضافية (Hussein *et al*.,2020) ونظرًا لتنوع المواد الكيميائية في الطبيعة ، تعد المنتجات الطبيعية مصادر غنية للمركبات النشطة بيولوجيًا ذات الإمكانات الطبية والعلاجية الكبيرة (Atanasov,2021). ركز قدر كبير من الأبحاث على استكشاف المركبات في المنتجات الطبيعية وتقييم إمكاناتها البيولوجية، خاصةً في العلاج الدوائي لمختلف الأمراض الحادة أو المزمنة (Kim *et,al*.,2018) من بين المنتجات الطبيعية التي كثر الحديث عنها ، وجد أن العكبر بديل واعد بسبب آثاره المفيدة العديدة، في العديد من الدراسات التي أجريت في الجسم الحي وفي المختبر ، تم التأكيد على أن العلاج بالعكبر يمكن أن يقلل من أعراض العديد من الأمراض .

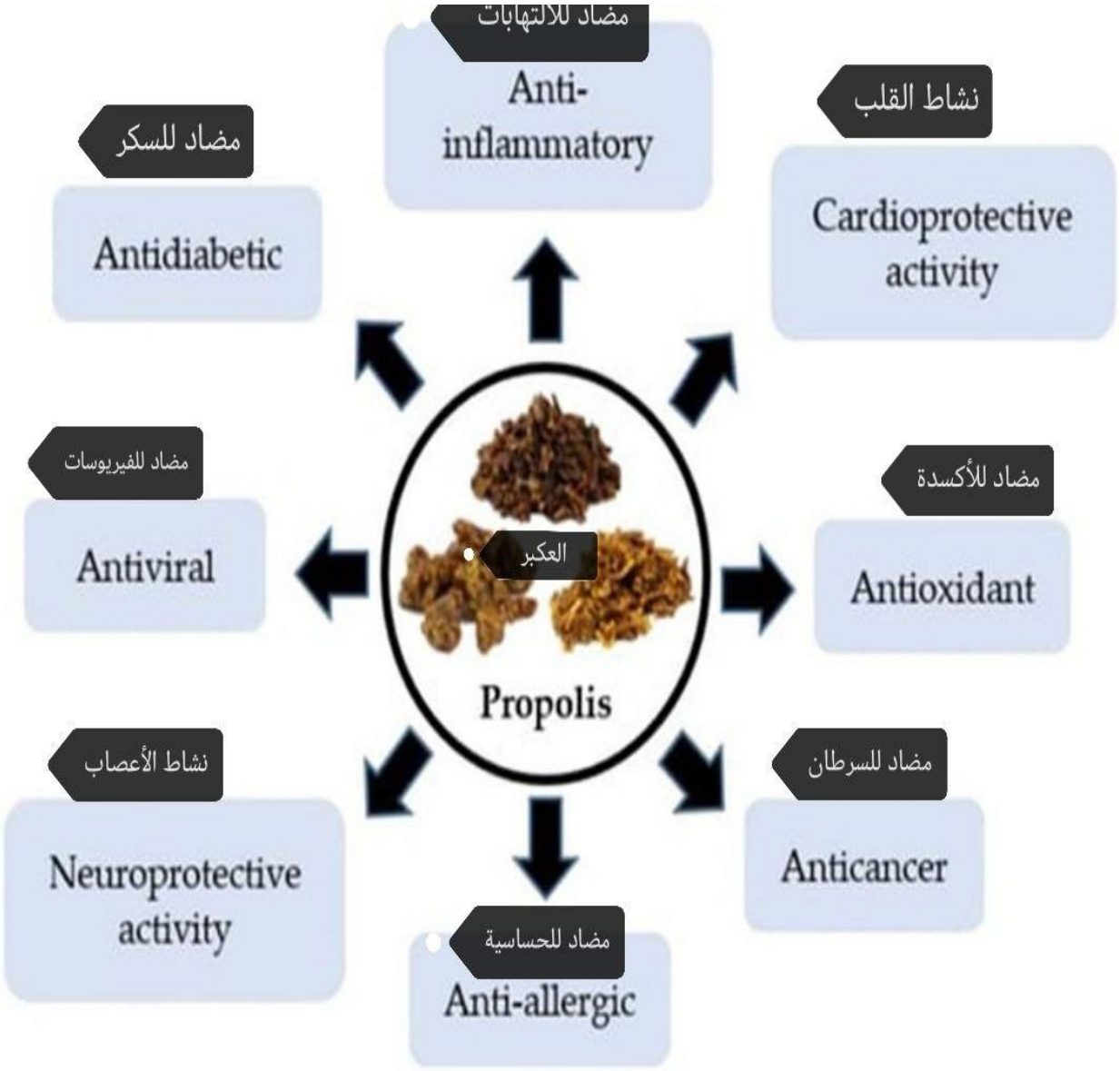
4-2 . العكبر Propolis

تم اشتقاق كلمة العكبر من اليونانية التي تعني فيها pro أمام أو عند مدخل بوليس polis تعني المجتمع أو المدينة (Aminimoghadamfarouj and Nematollahi ,2017) يجمع النحل العكبر من مصادر نباتية مختلفة بما في ذلك الزهور وبراعم الأوراق والإفرازات وحتى الصمغ ، يجمع الراتنجات وشمع العسل على وجه التحديد ، يستعملون اللعاب الإنزيمي لإثراء الخلية بهذه المواد التي تم جمعهاوأحد منتجات النحل البارزة هو العكبر (Salatino *et al*.,2021) الذي تنتجه أنواع مختلفة مثل قبيلة النحل غير اللاسع Apis mellifera ، ومن المثير للاهتمام أن تنوع كل نوع يؤدي إلى مجموعة واسعة من التركيبات الكيميائية داخل العكبر، فضلاًعن ذلك تلعب النباتات التي تبعد قليلاً عن خلايا النحل دورًا مهمًا في التركيب الفيزيائي والكيميائي للعكبر (Anjum *et al*.,2019)

العكبرمادة يستخدمها النحل يخدم مجموعة من الأغراض مثل سد الشقوق وحماية الخلية من التلف مع موازنة الرطوبة ودرجة الحرارة ومنع نمو الميكروبات (*et* Shanahan and Spivak *al*.,2021). يُعرف العكبر على نطاق واسع بخصائصه العلاجية وقد استخدمه المصريون واليونانيون والرومان عبر التاريخ تشمل الاستخدامات المسجلة للعكبر حفظ وتحنيط الجثث وتجميل الجلد ومواد حافظة وعلاج حالات مثل الإصابات والقروح (Kuropatnicki

(*et al*.2013 فضلاً عن ذلك أشتهر العكبر بآثاره التجميلية على البشرة في العصور الوسطى ، اعتمدت أوروبا الشرقية والشرق الأوسط بشكل كبير على البروبوليس كشكل من أشكال الطب العشبي (Ahangari *et al*.,2018) ،في العصر الحديث استند البحث عن العكبر بشكل مباشر إلى فهم أعمق لنشاطه البيولوجي ، وفي العديد من الدراسات السريرية ، ثبت أن مجموعة كبيرة من المركبات الطبيعية في العكبر هي عوامل محتملة مضادة للسرطان Anticancer ومضادة للبكتيريا Antibacterial ومضادة لمرض السكر Antidaibetic ومضادة للالتهابات Antiinflammatory ومضادة للأكسدة Antioxidant ومضادة للفيروسات Antiviral *et* (Abdullah *al*.,2019) الكشف عن مكونات العكبر propolis وثبت أنه يحتوي على أكثر من 500 مركب ، بما في ذلك مركبات الفلافونويد flavonoids والمركبات الفينولية phenoliccompounds والبوليفينول polyphenols والتربين terpenes والتربينويدات terpenoids والكومارين coumarins والستيرويدات steroids والأحماض الأمينية amino acids والأحماض العطرية aromatic acids (Toreti *et al*.,2013) فضلاًعن ذلك فإن العكبر غني بالمواد الكيميائية النباتية و الزيوت الأساسية والفيتامينات (C, and E A,B complexes,) والمعادن الهامة ، مثل الألومنيوم والصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والنحاس والمغنيسيوم والحديد والزنك (Pasupuleti *et al*.,2017) والتي تلعب أيضًا أدواراً مهمة من حيث النشاط البيولوجي (Abdullah *et al*.,2020) عندما يجمع النحل المواد الخام للعكبر من أجزاء مختلفة من النباتات توجد الأصباغ والمركبات التي تنتجها مجموعة متنوعة من النباتات في العكبر وتختلف التركيبات الكيميائية اعتمادًا على موقعها الجغرافي ومصادرها النباتية والموسم وأنواع النحل (Wieczorek *et al*.,2022) في الآونة الأخيرة مع التطور والتحسين في تكنولوجيا الأدوية كان هناك اهتمام متزايد بدراسة العكبر ومكوناته المتنوعة، فضلاً عن خصائصه الطبية والعلاجية لعلاج الأمراض المزمنة المختلفة فقد تم تطبيق العكبر بشكل فعال في علاج مرض السكري والحروق والجروح ومشاكل أمراض النساء وأمراض الحنجرة والأمراض الجلدية و العصبية وأمراض الجهاز الهضمي والأمراض المرتبطة بالجهاز التنفسي و اضطرابات القلب والأوعية الدموية وكذلك COVID-19 يتم عرض الاستخدامات المحتملة للعكبر في صحة الإنسان والأمراض

بشـــكل تخطيطـــي فـــي شـــكل رقـــم (3-2). (Campoccia *et al*.,2021)



شكل رقم (3-2) الخصائص البيولوجية والعلاجية للعكبر propolis (Campoccia *et al*.,2021)

أظهر عدد قليل من الدراسات أيضًا أن لاستعمال العكبر آثارًا كبيرة ، أّذ يقلل من مستويات الجلوكوز في الدم والأنسولين في الدم ومستويات الهيموغلوبين السكري أو الكلايكوسيلاتي haemoglobin glycosylated في الدم (HbA1c) لمرضى السكري النوع الثاني T2DM

(Samadi *etal*.,2017) يمكن أن يؤثر العكبر على استقلاب الجلوكوز من خلال تثبيط نشاط α-glucosidase المعوي في هضم الكربوهيدرات وتحفيز خلايا بيتا في جزر لانجرهانز في البنكرياس ، مما يؤدي إلى زيادة إفراز الأنسولين (Matsui *et al*.,2004) أشار Zakerkish وجماعته (2019) إلى أن المرضى الذين يعانون من T2DM الذين تلقوا مكملات العكبر لمدة 12 أسبوعًا لديهم مستويات أقل من الأنسولين ومقاومة الأنسولين كما أظهرت تقارير مختلفة أيضًا أن تطور ومضاعفات T2DM تتأثر بشدة بالجذور الحرة والإجهاد التأكسدي والجريبات الخلوية الالتهابية (Pahlavan *etal*.,2020) يمكن للمكونات النشطة في العكبر التخلص من الجذور الحرة وخفض مستويات الجلوكوز في الدم ، وتعديل التمثيل الغذائي للدهون في الدم (Rivera-Yañez.,2018; Fuliang *et al*.,2005) يعمل العكبر أيضًا على تحسين نسبة السكر في الدم والدهون لمرضى T2DM، مما يدل على أن العكبر هو عامل واعد في الوقاية من مرض السكري والسيطرة عليه (Samadi *et al*.,2017).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3- المواد وطرائق العمل Material Methods

3-1 المواد Materials

3-1-1 الاجهزة والادوات Equipment and instruments

أستعملت في هذه الدراسة الأجهزة المدونة في الجدول (3-1) والأدوات في الجدول (3-2).

جدول (3-1) الأجهزة المستعملة في الدراسة

ت	اسم الجهاز		الشركة المصنعة للجهاز	المنشأ
1	ثلاجة	(Refrigerator)	LG	Korea
2	جهاز التقطير	(Distiller)	GFL	Germany
3	جهاز الطرد المركزي	(Centerfuge)	Hettich	Germany
4	جهاز الفايتك	Vitek 2 compact system	Biomerieux	France
5	حاضنة	(Incubater)	Binder	Germany
6	صفيحة ساخنة	(Hot plate)	Witeg	Germany
7	فرن كهربائي	(Electeric Oven)	Eriotti	Germany
8	كابينة بايولوجية	(Laminar Flow Cabinet)	Jeio –Tech	Korea
9	مازج دوار	(Vortex)	Roma	Italy
10	مجهر ضوئي	(Light microscop)	Motic	Germany
11	مصباح بنزن	(Bunsen burner)	Jenway	Germany
12	مؤصدة	(Autoclave)	YX-280B	China
13	ميزان حساس	Sensitive Balance	Binder	Germany

جدول(3-2) الأدوات المستخدمة في الدراسة

ت	الادوات		الشركة المصنعة	المنشأ
1	اسطوانة زجاجية مدرجة	Grand glass cylinder	Supcorior	Germany
12	اغطية الشرائح	Cover Slip	Meheco	china
5	انابيب ابندروف	Eppendrof tubes	Biobasic	canada
13	اوراق ترشيح	Filter Paper Whatman.NO1	Meheco	China
7	دوارق زجاجية	Flasks glass	Meheco	china
11	شرائح زجاجية	Slides	Meheco	china
9	شريط غلق	Parafilim	Pechiney	USA
2	ماصة باستور	Pasteur pipette	Bioerieux	France
6	محاقن (5مل- 10مل)	Disposable syringes	Meheco	China
3	مرشحات غشائية	Milli Por Filters	Difcol	England
4	ماصات دقيقة باحجام مختلفة	Micropipettes	Human	Germany
8	ملقط	ForcePs	Behring	Germany
10	الناقل الزرعي	Wire Loop	Himedia	India

3-1-2- المواد الكيميائية Chemical Material

استخدمت في هذه الدراسة المواد الكيميائية المبينة في الجدول ادناه(3-3).

جدول (3-3) المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة

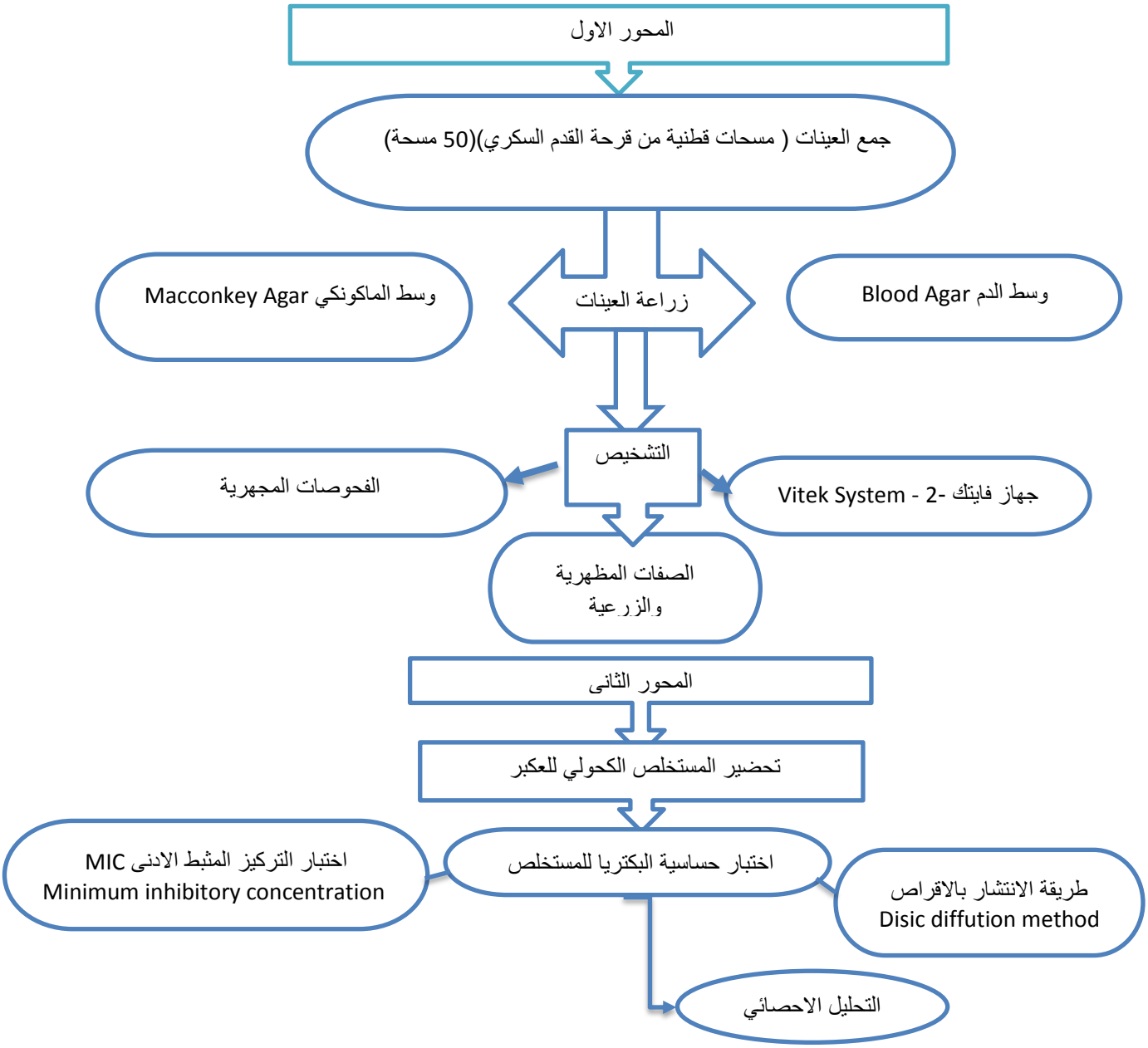
ت	المواد الكيميائية		الشركة المصنعة	المنشأ
1	المضاد البكتيري	Trimethoprim- sulfamethoxazole	Himedia	India
2	كاشف الاوكسديز	N-N-N-N-tetra methyle-p phenyel diamine dihydrochloreid	BDH	England
3	كليسرول	Glycerol	BDH	uk
4	الكحول الاثيلي 70%	Ethanol	BDH	UK
5	محاليل صبغة كَرام	Gram stain	Himedia	India
6	بيروكسيد الهيدروجين	Hydrogen Peroxide (H_2O_2)	BDH	England
7	محلول الملح الفسيولوجي	(Normal Saline Physiological)	BDH	UK
8	دم الانسان	Human Blood	Blood Bank	Iraq
9	قطرة زيتية	Oil immersion	Pechiney	USA

3-1-3-الأوساط الزرعية او الغذائية المستعملة والغرض من استعمالها.

جدول (3-4) الاوساط الغذائية.

ت	اسم الوسط	الشركة المصنعة	المنشأ	الغرض من الاستخدام
1	الماكونكي اكار الصلب Macconkey Agar	Himedia	India	تنمية البكتريا المخمرة للاكتوز(البكتريا السالبة لصبغة كرام) ولتثبيط البكترياالموجبة لصبغة كرام وتمييزها عن البكتريا السالبة
2	اكارنقيع القلب والدماغ Heart Brain infusion Broth(BIHB)	Himedia	India	لحفظ وتنشيط الخلايا لغرض استعمالها في الاختبارات
3	الاكار المغذي Nutrient Agar	Himedia	India	حفظ وتنمية البكتريا لغرض التشخيص
4	اكار الدم Blood Agar	Himedia	India	لتنمية الميكروبات او البكتريا الحساسة ولمعرفة انواع التحلل (بيتا- كَاما- الفا)
5	وسط مولر هنتون اكار Muller-Hinton Agar (MHA)	Himedia	India	اختبار حساسية الاحياء المجهرية للمضادات
6	وسط مولر هنتون السائل Muller-Hinton Broth(MHB)	Himedia	India	استخدام لاختبارMIC

3-1-4-تصميم الدراسة Study design



شكل (3-1) مخطط تصميم تجربة الدراسة

3-2- طرائق العمل Methods

3-2-1 التعقيم Sterillization

3-2-1-1- التعقيم الرطب Moist Sterillization by Autoclave

عقمت الاوساط الزرعية جميعها التي تم استعمالها في التجربة بوساطة جهاز المؤصدة Autoclave بدرجة حرارة 121م تحت ضغط 15 باوند /انج2 لمدة 15 دقيقة. (Greenwood *et al*.,2012) بينما عقمت المواد والمضادات الحيوية (التي لاتتحمل درجات الحرارة العالية) بالترشيح بمرشحات غشائية دقيقة (Milipores) بقطر 0.22 مايكرومتر.

3-2-1-2- التعقيم الجاف Dry Sterilization

عقمت الأدوات والزجاجيات بأستعمال الفرن الحراري (Electrical Oven) بدرجة حرارة (180م^{O}) ولمدة ساعتين (Greenwood *et al*.,2012)

3-2-2- تحضير الاوساط الزرعية Preparation of Culture Media

3-2-2-1-تحضير الاوساط الزرعية الجاهزة

Preparation of culture synthetic media

حضرت الأوساط الزرعية الصلبة والسائلة Solid and Liquid Culture media طبقاً لتعليمات الشركة المصنعة لها وتعقيمها في جهاز المؤصدة Autoclave بدرجة حرارة 121م تحت ضغط 15 باوند /انج2 لمدة 15 دقيقية ثم تركت لتصل إلى درجة 45ºم ثم صبت في الاطباق وأخذت عينة من الأوساط ووضعت في الحاضنة Incubator بدرجة حرارة 37º م لمدة 24 ساعة للتأكد من عدم تلوثها ثم تحفظ بدرجة حرارة 4˚ م لحين الاستعمال.

3-2-2-2 وسط حفظ العزلات طويلة الامد

Long Term Storage Media

حضر هذا الوسط بأضافة 15 %مل من مادة الكليسرول Glycerol وذلك باستعمال وسط نقيع القلب والدماغ السائل Brian Heart Infusion Broth, ثم وزع في أنابيب صغيرة الحجم محكمة بشكل جيد وبمعدل 5مل لكل انبوبة وثم تعقيمها بالمؤصدة Autoclave (Washington,2012).

3-2-2-3 - وسط حفظ العزلات قصير الامد

Short Term Storage Media

تم زراعة العينات التي تم تشخيصها على أنها *A.baumannii* على وسط الآكار المغذي Nutrient agar ، ثم حضنت بدرجة حرارة 37 م لمدة 24ساعة ويتم تجديدها كل شهر (Washington,2012).

3-2-2-4-وسط اكار الدم Blood Agar

حضر هذا الوسط باضافة دم الإنسان بنسبة 5% إلى وسط اكار الدم (Blood Agar) المجهز من شركة Himedia بعد تبريده ووصوله الى درجة حرارة(45º م) واستعمل هذا الوسط لعزل وتشخيص البكتريا من خلال الكشف عن انتاج انزيم الهيمولايسين (Heamolycin) ويعد وسطاً اغنائياً في عزل وتشخيص البكتريا.

3-2-2-5- وسط اكارمولر هنتون MullerHinton Agar

حضر حسب تعليمات الشركة المجهزة واستعمل لغرض اختبار فحص حساسية بكتريا *A.baumannii* للمستخلص الكحولي للبروبولس (EEP) بطريقة الانتشار بالحفر Well diffusion Method.

3-2-2-6-وسط مولر هنتون السائل MullerHinton Brooth

حضـر حسـب تعليمـات الشـركة المجهـزة واسـتعمل لغـرض اختبـار MIC Minimum inhibitory concentration.

3-2-3- تحضير المحاليل Preparation of Solution

3-2-3-1- محلول ثابت العكورة القياسي مكفرلاند Mcfarland Standard Solution

اسـتخدم جهـاز المطيـاف الضـوئي Spectrophotpmeter لقيـاس العكـورة . والحصـول علـى عكـورة تعـادل (1.5×10^{-8}) وحـدة مكونـة للمسـتعمرة /مـل (CFU/ML) لغرض معايرة عدد الخلايا البكتيرية.

3-2-3-2- المحلول الملحي الجاهز بنسبة 0.9% w/v Normal Saline

اسـتخدم المحلـول الملحـي الجـاهز بنسـبة 0.9% w/v لغـرض اعـداد التخـافيف المطلوبة في الدراسة .

3-2-3-3- صبغة كَرام Gram Stain

حضـرت صـبغة كَـرام وفقـاً لتعليمـات الشـركة المصـنعة لهـا ،لغـرض دراسـة الخصـائص المظهرية للبكتريا المعزولة .

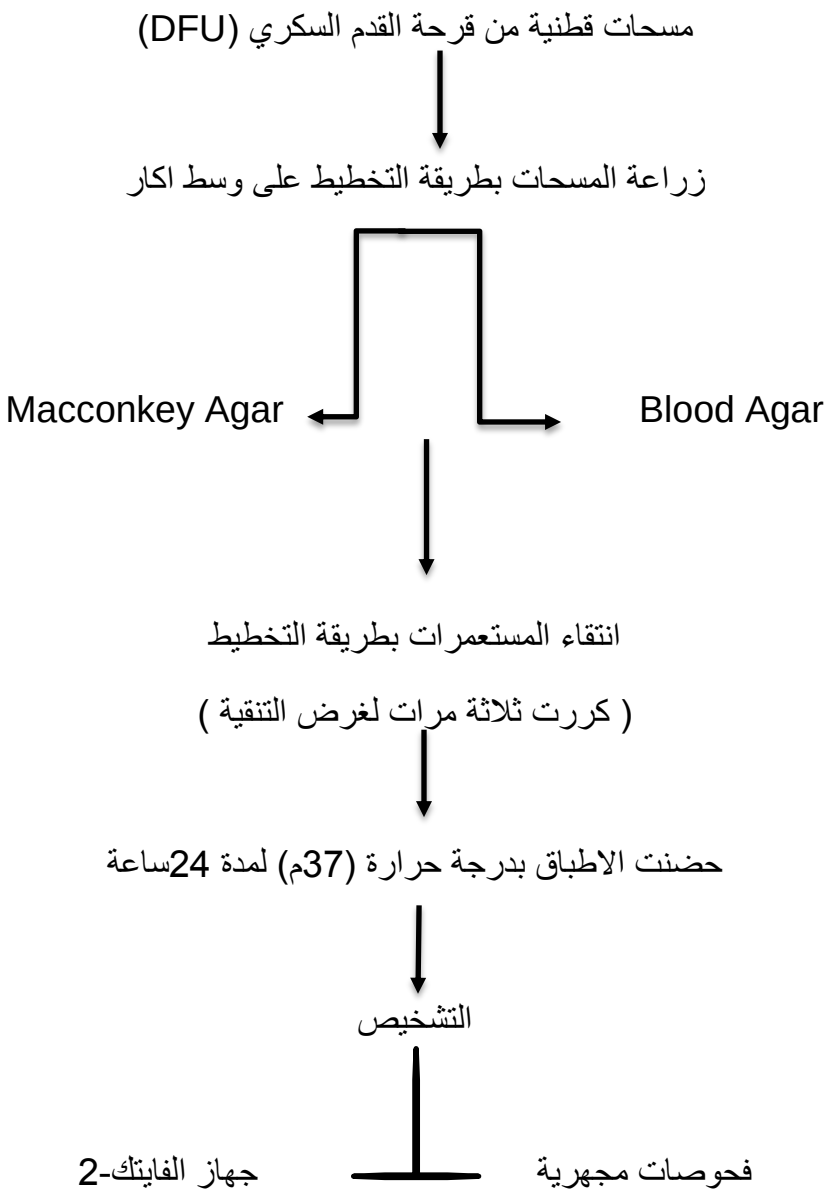
3-2-4- العزلات البكتيرية Bacterial Isolates

3-2-4-1- جمع العينات البكتيرية Collection Bacterial Sample

جمعـت 50 عينـة Sample مـن قرحـة القـدم السـكري DFU للاشـخاص المصـابين بـداء السـكري(ذكـور وانـاث) المـراجعين إلـى مستشـفى الكفيـل عليـه السـلام التخصصـي / قسـم القـدم السـكري تراوحـت أعمـارهم 35 سـنة الـى 69 سـنة للمـدة مـن (1\9\2022 ولغايـة 1\2\2023) تـم تشـخيص المرضـى بمـرض DM سـريرياً مـن قبـل الطبيـب المخـتص فـي القسـم فـي محافظـة كـربلاء المقدسـة . أخـذت بواسـطة مسـحات قطنيـة معقمـة Sterille Swabes وضـعت فـي الوسـط الناقـل ثـم نقلـت العينـات الـى المختبـر حيـث تـم تنميتهـا علـى أطبـاق بتـري الحاويـة علـى الاوسـاط الزرعيـة الصـلبة وسـط المـاكونكي ووسـط الـدم (Macconkey Agar, Blood Agar) وحضـنت هوائيـاً بدرجـة حـرارة 37ºم لمـدة 24 سـاعة لغـرض عـزل الأحيـاء المجهريـة السالبة والموجبة لصبغة كَرام المسببة لتلوث DFU وتشخيصها.

3-2-4-2- عزل وتشخيص البكتريا المسببة لقرحة القدم السكري(DFU)

مخطط رقم (3-2) يوضح عملية العزل والتشخيص للبكتريا المعزولة السالبة والموجبة



مخطط رقم(3-2) عزل وتشخيص البكتريا المسببة لتلوث قرحة القدم السكري

3-4-2-3 عزل وتشخيص بكتريا *Acinetobacter baumannii*

تم انتقاء المستعمرات الشبيه ببكتريا *A.baumannii* اذ تم تشخيصها من خلال عدم تخمرها لسكر اللاكتوز (Non-Lactose fermention) تظهر مستعمراتها عديمة اللون اوبلون وردي فاتح وشفافة ولماعة ومخاطية على شكل قبة ملساء على وسط اكار الماكونكي MaCconkey Agar Media بينما تظهر مستعمراتها غير محللة للدم، بيضاء اللون مائلة إلى اللون الرصاصي لماعة قطرها 1-2 ملمتر على وسط اكار الدم Blood Agar Media (Asif *et al*.,2018). فضلاً عن الفحوصات المجهرية وجهاز فايتك Compact Vitek-2system

1-3-4-2-3 الفحوصات المظهرية الراكدة البومانية

Acinetobacter baumannii Morphological Examinations

- وسط اكًار الماكونكي Macconkey Agar Medium

زرعت العينات على وسط اكًار الماكونكي وحضنت بدرجة (37 م^{O})لمدة 24ساعة ، تم ملاحظة قدرتها على تخمر10% سكر اللاكتوز (ALsehlawi ,2014).

- وسط اكًار الدم Blood Agar Medium

زرعت العينات البكتيرية على وسط اكًار الدم لغرض التحري عن انتاج البكتريا لانزيم الهيمولايسيين (Heamolycin) من خلال ملاحظة المناطق الشفافة حول المستعمرة البكتيرية النامية على وسط اكار الدم التي تعد غير محللة للدم Non-heamolysis (ALsehlawi ,2014).

2-3-4-2-3 الفحوصات المجهرية Microscopic examination

شخصت بكتريا *A.baumannii* باستعمال صبغة كًرام Gram Stain. اذ تم اخذ جزء من مستعمرة بكتيرية منفردة (Single Colony) تتميز بانها غير مخمرة لسكر اللاكتوز ومزروعة على Macconkey Agar Media ثم وضعت على شريحة زجاجية معقمة مع اضافة قطرة من الماء الملحي الفسيولوجي ثم فرشها على الشريحة Slide وتترك لتجف وتثبت بأمرارها على اللهب ومن ثم تصبيغها بصبغة كًرام حسب خطوات الشركة المجهزة لها ، وفحصت تحت المجهر الضوئي بقوةالعدسة

الزيتية (1000x) بعد اضافة Oil immersion لدراسة صفات البكتريا المجهرية من حيث شكلها وترتيب الخلايا واصطباغها بصبغة كَرام Gram Stain. (2017، Wagner).

3-2-3-3 الاختبارات البايوكيميائية Biochemical test

A- اختبار الكتاليز catalase test

تم فحص اختبار إنتاج الكتاليز باستعمال شريحة زجاجية نظيفة ومعقمة حيث تم نقل بعض المستعمرات النقية من MaCconkey Agar Media بواسطة اعواد خشب معقمة او Loop ثم أضيفت قطرات قليلة من 3٪ H_2O_2 الجاهزة من الشركة المصنعة، وظهور فقاعات الهواء هو دليل على ايجابية الاختبار. (Brown, 2012) .

B- اختبار الاوكسيديز Oxidase test

اخذ جزء من مستعمرة نامية على الوسط المغذي وذلك بوساطة عود خشبي stick إلى ورقة ترشيح معقمة واضيف لها قطرة من محلول كاشف الأوكسديز ومزجت مع الكاشف وإن تغير اللون الى إللون الغامق او البنفسجي يدل على أن أختبار الاوكسديز الايجابي (Brown, 2012).

3-2-3-4-التشخيص بجهاز الفايتك Vitec-2 compact system

فايتك -2 هو جهاز أوتوماتيكي وظيفته تحديد نوع الـorganism المسبب للمرض في العينة، اعتمادا على نوع البكتريا Gram Negative Bacteria ام Gram Positive Bacteria إو فطريات Yeast. كذلك القيام بفحوصات الحساسية (AST) Antibiotic Sensitivity Tests . تعتمد طريقة عمل نظام الفايتك- 2على بناء على تعليمات الشركة المصنعة للجهاز(bioMer'rieux) واستعمل عدة GP و GN كما استعمل كت AST لفحص حساسية البكتريا للمضادات الحيوية ،استعمل جهاز الفايتك خلال هذه الدراسة وذلك للتأكد من تشخيص العزلات بوساطة عدة تشخيصية تحتوي على ما يقارب 48 حفرة تحتوي بداخلها وسطاً ، وقد أجريت هذه الاختبارات على النحو الآتي :- زرعت البكتريا على وسط اكار الدم و حضنت هوائياً لمدة 24 ساعة و بدرجة حرارة 37 وبعد ذلك أخذت مستعمرة واحدة ووضعت في أنبوب يحتوي على 3 مل من المحلول الملحي (salin Normal) لعمل عالق (Suspension) وتم قياس كثافة العالق بواسطة جهاز(DensiCHEK) بحيث تكون

الكثافة تتراوح ما بين (0.5 -6.3) بعد ذلك تعطي النتيجة خلال (8- 6) ساعات(Khalaf & AL-Kaabi ,2023 ؛ Maina &Kagotho 2014)

3-2-5-تحضير المستخلص الإيثانولي للعكبر

اولاً: جمع مادة العكبر Collection of propolis

تم شراء عينة العكبر الخام وزن 100غم من السوق المحلي خلال شهري نيسان وايار. تم إزالة الشوائب الخشنة وقطع الشمع العالق بها. وضعت في المجمدة عدة ساعات للتخلص من لزوجة المادة بعدها قطعت إلى قطع صغيرة بهدف زيادة سطح التلامس بين العكبر والمذيب وبالتالي زيادة نسبة الانحلال. حفظت النماذج في عبوات نظيفة معتمة ومحكمة الغلق في الثلاجة لحين الاستعمال.

ثانيا: طريقة تحضير المستخلص الكحولي للعكبر

حضر بإذابة 25 غم من العكبر في 100 مل من الإيثانول بتركيز 70% في قنينة زجاجية معتمة ومعقمة وتم الاستخلاص عند درجة حرارة الغرفه بعد ثلاثة أيام مع الرج لمدة قصيرة وذلك في مكان مظلم ودافئ (يعاد الرج مرتين ع الاقل خلال اليوم) للحصول على مستخلص اكثر فعالية بعد ذلك تم ترشيح المستخلص بواسطة ورق ترشيح Whatman No .1 وحفظت بدرجة حرارة الثلاجة لحين تحضير تراكيز مختلفة منه وللحصول على نقاوه افضل استخدم جهاز الطرد المركزي centrifuge بسرعة 5000دورة / دقيقة لمدة 5 دقائق (Fernandes Júnior *et al*., 2005).

ثالثاً: تحضيرتراكيز مستخلص العكبر

1- حضر المحلول الخزين (Stock Solusion) للمستخلص الكحولي العكبر وذلك بوزن 1.5 غم من المستخلص المحضر مسبقاً(مستخلص العكبر الخام) .
2- اضيف 10مل له من الكحول الاثيلي 70% لتحضير التركيز 150 ملغم/مل .
3- حضر التركيز 100ملغم/مل بأخذ (2مل) من المحلول Solution واضيف له 1مل من الكحول الاثيلي 70% .
4- حضر التركيز 50 ملغم / مل وذلك بأخذ (1مل) من من المحلول واضيف له 2مل من الكحول الاثيلي 70%.

5- حضر التركيز 25 ملغم / مل وذلك بأخذ (0.5مل) من من المحلول واضيف له 2.5مل من الكحول الاثيلي 70%.

6- حضر التركيز 12.5 ملغم / مل وذلك بأخذ (0.25مل) من من المحلول واضيف له75. 2مل من الكحول الاثيلي 70%.

7-عقمت التراكيز باستخدام مرشحات غشائيةدقيقة Mllipors بقطر (0.22µm).

(الدعمي ، 2014. ;Wang *et al*., 2006)

رابعاً: تحضير اللقاح البكتيري

مزجت عده مستعمرات من بكتيريا *Acinetobacter baumannii* مع 5مل من المحلول الفسيولوجي الجاهز بنسبة 0.9% تم مطابقة عكورة العالق مع عكوره مكفرلاند القياسي 0.5 الذي يعادل 1.5×10^{-8} CFU /ml

3-2-6 اختبار حساسية بكتيريا *A. baumannii* ضد المستخلص الايثانولي من العكبر

تم اختبار فحص الحساسية بطريقتي.

3-2-6-1-طريقة الانتشاربالحفر Well Diffusion Method

الغرض فحص فاعليه المستخلص الكحولي الايثانولي للعكبر الخام. تم تحضير وسط مولر هنتون بعد تعقيمه بجهاز المؤصدة وترك يبرد إلى درجة 45 °م ثم غطست مسحات قطنية بالعالق البكتيري ثم خطط سطح الاجار مولر هنتون بالعالق وتركت الاطباق لمده 15 دقيقة لامتصاص المزيج من قبل الاجار بعدها عملت عده حفر في كل طبق بقطر 6ملم بواسطه ثاقب فليني معقم وضع في كل حفرة 50 مايكروليتر من كل من التراكيز المختلفة5 .12، 150,100,50,25ملغم/مل واستعمل محلول ديرماسين Dermacyn استعمل المذيب الكحولي الاثيلي بتركيز 70% Negative control ليمثل سيطرة سالبة في حين استعمل المضاد البكتيري sulfamethoxazole - Trimethoprim 1.25\23.75µm كسيطره موجبة حضنت بدرجة حرارة 37° م لمدة 24 ساعة بعدها قرأت أقطار المناطق التثبيطية (AL-Mohana *et al*. ،2008) .

2-6-2-3 طريقة الانتشار بالأقراص Disc Diffusion Method

تم تنفيذ هذه الطريقة باستعمال وسط مولر هنتون اكار المحضر حديثاً. تم تعقيم الأقراص الورقية 6 ملم بجهاز المؤصدة ونقعها في محلول المستخلص الايثانولي الخام للعكبر بتراكيز مختلفه كل على حدة (12.5,25,50,100,150) ملغم / مل طوال الليل ثم توضع هذه الأقراص بشكل منفصل في الطبق تحت ظروف معقمة تركت الأطباق بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين مايسمح بنشرالمحلول. ثم تحضن جميع الأطباق بدرجة حرارة 37درجه مئوية لمدة 24ساعة واستعمل المضاد الحيوي كسيطرة موجبة وبعد ذلك تم قياس قطر مناطق التثبيط حول الأقراص بواسطة مسطرة مدرجة ثم تكرار التجربة ثلاثَ مرات (Doro,2019)

2-3 -7 اختبار التركيز المثبط الادنى MI C (Minimum inhibitory Concentration

اجري اختبار الـ (MIC) و MIB بطريقة Microdilution methodالمعتمدة من قبل(2022) CLSI ، كما في الخطوات الاتية :

حدد أدنى تركيز مثبط MIC وأقل تركيز قاتل MBC للمستخلص الايثانولي للعكبر وذلك بتحضير سلسلة من التراكيز النصفية باستخدام وسط مولر هنتون السائل و كالآتي (3.12,6.25,12.5,25,50,100، 150) ملغم/ مل واستخدمت الصفيحة microtiter الحاوية على 96حفرة (Wells). وضع في كل حفرة(150) مايكرو ليتر من كل إلتراكيز التي حضرت ثم أضيف 50 مايكرو ليتر من العالق البكتيري المحضر مسبقاً لكل حفرة ، واستعمل محلول ديرماسين Dermacyn الجاهز من الشركة المصنعة الذي يستعمل حالياً في مستشفى الكفيل التخصصي لمرضى القدم السكري بشكل تآزري مع المستخلص الكحولي الخام للعكبر حيث تم اضافة 75 مايكرو ليتر من كلا المحلولين الى الحفرة الحاوية على 50 مايكروليتر من العالق ، وقورنت النتائج مع حفر السيطرة الحاوية على وسط مولر هنتون السائل فقط و الكحول الاثيلي فقط . ثم غطيت الصفيحة وحضنت بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24ساعة وسجلت النتائج على اساس وجود او عدم وجود العكورة في جميع الحفرحدد التركيز المثبط الادنى MIC بعد الحضن والذي يمثل أقل تركيز من المستخلص الكحولي للعكبر الخام حيث لم يلاحظ فيه نمو بكتيري مرئي. ثم حدد التركيز القاتل الأدنى على أنه اقل تركيز من المستخلص الكحولي للعكبر يمنع نمو البكتريا بنسبة 99.9%.

8-2-3 التحليل الاحصائي Statistical Analasis

حللت البيانات احصائياً باستخدام برنامج التحليل الاحصائي25 version (spss) وقورنت النتائج المتوسطات والتباين المعنوي والانحراف المعياري عند مستوى احتمال ($p\leq 0.05$) وتم استخدام طريقةANOVA one way لأستخراج LSD.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

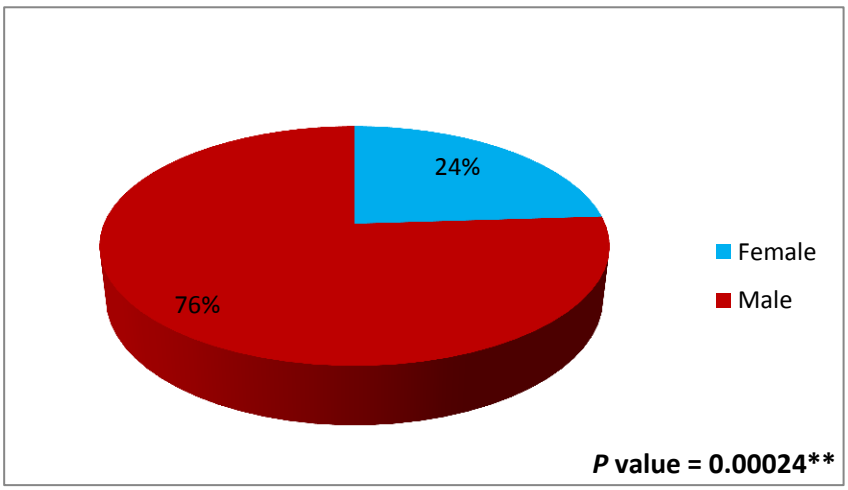
1-4 الفئات العمرية والجنس للمرضى Patients age groups and gender

بينت النتائج للدراسة الحالية بأن من بين 76عزلة تم الحصول على 56 عزلة سالبة لصبغة كَرام بنسبة (73.7%) شملت الاكثر شيوعاً 16عزلة من بكتريا *A. baumannii* بنسبة(21.1%) تم عزلها من الذكور (38 بنسبة 76%) ولم يتم عزل البكتريا من الأناث، في حين سجلت البكتريا الموجبة لصبغة كَرام بنسبة 18(723.%) إذ كانت عزلات بكتريا المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* الاعلى نسبة من العزلات الموجبة الأخرى وبنسبة(10.5 %) في هذه الدراسة وعزلتين من خميرة الكانددا كما لوحظ في الجدول (4-2). كما تبين ان للعمر علاقة بمعدل نسبة الأصابة ككل بالقدم السكري كما لوحظ في جدول (4-1) . اذ تم توزيع النتائج حسب عمر المرضى بين35-69 سنة كانت أقل نسبة حدوث بين الفئات العمرية 55-64 (25%) بينما كانت اعلى نسبة بين الفئات العمرية (35-44) و 65 فاكثر بنسبة (37.5%) في حين لم تسجل الفئة العمرية (45-54) أي حالة مرضية ولا يوجد علاقة للعمر بنسب الاصابة بهذا النوع البكتيري الذي ركزت عليها الدراسة الحالية كما في جدول (**4-3**).

جدول(4-1) توزيع الاصابة حسب العمر بالقدم السكري

العمر	العدد	النسبة المئوية
44 – 35	12	% 24.0
54 – 45	12	% 24.0
64 – 55	20	% 40.0
65≤	6	% 12.0
Total	50	% 100.0
^2X		7.920
P value		* 0.048

وجود فروق معنوية عند قيمة P ≤ 0.05*



وجود فروق معنوية عند قيمة P ≤ 0.05*

شكل (4-1) توزيع الاصابة حسب الجنس في القدم السكري

جدول(4-2) توزيع الاصابات حسب النوع البكتيري

العزلات	العدد	النسبة المئوية
A. baumannii	16	% 21.1
K. pneumoniae	12	% 15.8
Staph. aureus	8	% 10.5
K. oxytoca	4	% 5.3
Ps. aeroginosa	4	% 5.3
Morganella morganii	4	% 5.3
Psuedomonas.putida	2	% 2.6
Serratia fouticola	2	% 2.6
Achromobacter xylosoxidans	2	% 2.6
Sphingomonas paucimobilis	2	% 2.6
Protus mirabilis	2	% 2.6
Enterobacter aerogenes	2	% 2.6
Escherichia coli	2	% 2.6
Citrobacter braakii	2	% 2.6
Staphylococcus epidermids	2	% 2.6
Staphylococcus heamolyticus	2	% 2.6
Kocuria kristinae	2	% 2.6
Enterococcus faecalis	2	% 2.6
Streptococcus sorbrinus	2	% 2.6
Candida sp	2	% 2.6
Total	76	% 100
^2X		73.474
P value		* 0.0000

وجود فروق معنوية عند قيمة P ≤ 0.05 *

جدول(4- 3) توزيع نسبة الاصابة ببكتريا الراكدة البومانية حسب العمر

العمر	العدد	النسبة المئوية
44 – 35	6	% 37.5
54 – 45	0	% 0.00
64 – 55	4	% 25.0
65≤	6	% 37.5
Total	16	% 100.0
^2X		3.941
P value		0.268

وجود فروق معنوية عند قيمة P ≤ 0.05*

شملت الدراسة 50 مسحة كان 38 بنسبة (76%) من الذكور و12 بنسبة 24% من الإناث كما في شكل (4-1) هنالك فرقاً معنوياً واضحاً حيث كانت قيمة (p value 0.00024**) كما أظهرت النتائج إن الذكـــور اكـــثر اصابة ببكتريا *A. baumannii* بنسبة 16(21.1%) في حين الاناث لم تـسـجـــل اي اصابة وإن مما يثبت إن الذكور اكثر اصابة في هذا العمل يمكن تفسيره إن العراق ،اكثر تعرضاً لعوامل البيئة الخارجية بالاضافة للجنس وارتفاع السكر ويكون النساء اكثر اهتماماً بالرعاية الصحية والنظافة الشخصية. وإن زيادة اصابة الذكور اكثر من الأناث أعلى نسبة من نتائج Al - Allak وجماعته(2019) الذين اكدوا أن الإصابة بـــ *A. baumannii* كانت بنسبة (4.2) 2 وتتفق معهم بنسبة الاصابة في الذكور اعلى من الاناث حيث تم جمع 30 عينة من 22 ذكر و8 اناث تتراوح اعمارهم بين 35-85عاماً (Al- muhana *et la*.،2020) الذين لاحظوا أن الذكور اكثر تاثراً من الاناث (61.7%مقابل 38.3%) من اجمالي 120 مريض بالسكري يعانون من التهابات القدم ، وكانت نسبة الذكور الى الاناث 1:2مع عمر يتراوح من 36 – 76 سنة (Shekhar *et al*.,2014) واوضحوا أن الذكور سجلوا 72.2 %.قد يرتبط الذكر في قرحة القدم السكرية بعوامل عديدة مثل الاختلافات المرتبطة بالجنس في انماط الحياة والادوار المهنية التي تتطلب القدم لتحمل المزيد من الضغط بسبب العمل، ومستويات مرتفعة من العمل في الهواء الطلق واستخدام الاحذية السيئة ونسبة عالية من العلاج الذاتي للمريض بمضادات الميكروبات وعدم الامتثال الكافي لممارسات العناية بالقدم في مقارنة مع الأناث حيث يكون النساء اكثر اهتماماً بالرعاية الصحية والنظافة الشخصية (Wilkinson and Hardman, 2017) وبينت نتائج الدراسة الحالية ايضاً أن لاعلاقة للعمر بنسبة الإصابة ببكتريا *A. baumannii* ، اذ لم يكن هناك فرق ذو دلالة إحصائية كما هو واضح في جدول رقم(4-3) وهذا يعني أن الفئات العمرية جميعها معرضة للإصابة و ربما قد يكون تفسيره بسبب

تواجد هذا النوع البكتيري بشكل واسع الانتشار و لكونه ممرض انتهازي(*et al*.,2021 Bassetti) أو قد يعود ذلك الى ضعف المناعة لدى اغلب مرضى السكري ، وبينت النتائج ايضاً إن للعمر علاقة بمعدل نسب الاصابة في القدم السكري التي تناولتها الدراسة الحالية كما هو واضح في الجدول رقم (4-1). قد يعود ذلك الى ان بعض المرضى كانت لديهم امراض أخرى مرافقة لمرض السكري او اسباب وراثية او هرمونية مما يزيد من نسب الإصابة إذ شملت أعلى نسبة إصابة الفئات العمرية التي تتراوح بين(55-64)سنة في هذه الدراسة.

4-2: عزل البكتريا المسببة لقرحة القدم السكري

بينت النتائج أن البكتريا السالبة لصبغة كَرام المعزولة من قرحة القدم السكري الهوائية سجلت أعلى نسبة من البكتريا الموجبة لصبغة كَرام الهوائية ، حيث سجلت *A.baumannii* اعلى نسبة إصابة أو الاكثر شيوعاً عن بقية الأنواع البكتيرية الأخرى في الدراسة الحالية كما في الجدول (4-2) وهذا لا يتفق مع (Uçkay *et al*.,2015) النتائج التي أظهرت ان البكتريا السالبة لصبغة كًرام المعزولة من قرحة القدم السكري والاكثر شيوعاً *Psuedomonas aeruginosa* ربما يعود ذلك إلى المقاومة للعديد من الأدوية التي يمتلكها الممرض أو الأدارة غير المناسبة في أستخدام المضادات الحيوية ممايزيد من مقاومتها، إذ بينت النتائج الزرعية والاختبارات التشخيصية للعينات بأن 56 عزلة بنسبة 6 .73% تنتمي إلى مجموعة البكتيريا السالبة لصبغة كَرام Gram negative من المجموع الكلي للعزلات البالغ 76 عزلة بكتيرية وهي الأكثر عزلا لأخماج قرح القدم السكري و18 عزلة بنسبة23.7% تعود لمجموعة البكتريا الموجبة لصبغة كَرامGram positive وعزلتين *Candida* sp بنسبة(2.6%)جدول (4-4). إن سبب سيادة عزلات البكتريا السالبة لصبغة كرام في اخماج قرحة القدم السكري قد يعود إلى مقاومتها للعديد من المضادات الحيوية ولعوامل الضراوة مثل Endotoxins وهي مادة سامة في خلاياها ضمن جدرانها الخارجية والتي تطلق بعد تحلل جدران الخلايا البكتيرية، وآليات المقاومة منها الانزيمات والتي تعمل على ايقاف عمل المضادات الحيوية unactivating antibiotic enzames منها انزيمات البيتالاكتيميز ß-lactmase وكذلك أنزيمات محورة للامينوكلايكوسايد (Aminoglycoside modified enzymes) ، إضافة الى مضخات التدفق المتعددة (Multidrug efflux pumps) ، تغيرات في مواقع الهدف Alteration of target sites ونفاذية الغشاء permeability defects .أن وجود آليات المقاومة لهذه البكتريا يقلل إمكانية علاج الإصابة بهذه البكتريا بواسطة المضادات الحيوية (2017، Asif *et al*.,2018; Lee *et al* .)

جدول (4-4) توزيع العزلات حسب نوع صبغة كَرام

المجاميع البكتيرية	عدد العزلات	النسبة المئوية(%)
موجبة لصبغة كرام Gram positive	18	23.7
Staphylococcus aureus	8	10.5
Staphylococcus epidermids	2	2.6
Staphylococcus heamolyticus	2	2.6
Kocuria kristinae	2	2.6
Enterococcus faecalis	2	2.6
sorbrinus Streptococcus	2	2.6
سالبة لصبغة كرام Gram negative	56	73.7
Acinetobacter baumannii	16	% 21.1
Kl ebsilla pneumoniae	12	% 15.8
Klebsilla oxytoca	4	% 5.3
Pseudomonas aeruginosa	4	% 5.3
Morganella morganii	4	% 5.3
Pseudomonas putida	2	% 2.6
fouticola Serratia	2	% 2.6
Achromobacter xylosoxidans	2	% 2.6
Sphingomonas paucimobilis	2	% 2.6
Protus mirabilis	2	% 2.6
Enterobacter aerogenes	2	% 2.6
Escherichia coli	2	% 2.6
Citrobacter braakii	2	% 2.6
الخمائر	2	2.6%
Candida SP	2	2.6 %
المجموع	76	100

شملت العزلات الموجبة لصبغة كَرام 8عزلات بكتيرية بنسبة10.5 % تعود لبكتريا *S.aureus* و2عزلة بكترية بنسبة 2.6% تعود إلى كل من الأنواع البكتيرية *Staphylococcus epidermids*، *Staphylococcus heamolyticus*، *Kocuria kristinae*، *Enterococcus faecalis* ، *Streptococcus sorbrinus*.الجدول(4-4).

بينت نتائج الدراسة الحالية أن بكتريا *S.aureus* هي الأكثر عزلا بالنسبة للبكتريا الـمـوجـبـة لـصبغة كَرام في اخماج قرحة القدم السكري (Remy *et al.*, 2016) لامتلاكها العديد من عوامل الضراوة وتحدث الاصابات بمجرد ملامستها لسطح الأنسجة الجلدية للعائل او بواسطة الجروح تفرز انزيماتها الانزيم المحلل للدهون وانزيم Hyaluronidase المسؤول على انتشارها ذلك عن طريق تحطيم المادة الاساس للنسيج الرابط مما يحدث اضرابات وخلل في الانسجة (Janstova *et al.*,2012) وتم تشخـيـص الأنـواع البكتيرية الموجبة لصبغة كَرام عن طريق تقنية الفايتك-2 كذلك معرفة حساسيتها للمضادات الحيوية كما هو واضح في الملاحق شكل (3,4,5,6).

تـضم الـعزلات السالبة لصبغة كَرام 16 عزلة وبنسبة 21.1% *Acinetobacter baumannii*، 12عزلة بنسبة 15.8% *Klebsilla pneumoniae*،4 عزلات بنسبة 5.3% كل من *Klebsilla oxytoca* ، *Morganella morgannii*، *Pseudomonas aeruginosa*، 2 عزلة بنسبة 2.6% كل من *Psuedomonas.putida*، *Serratia fouticola*، *Achromobacter xylosoxidans*، *Sphingomonas paucimobilis*، *Protus mirabilis*، *Enterobacter aerogenes*، *Escherichia coli*، *Citrobacter braakii* جدول (4-4).

في دراستنا كانت البكتريا السالبة لصبغة كَرام هي أيضاً اكثر شيوعاً المعزولة من القدم السكرية تقترب من نتائج Shaheen وجماعته (2021) وتخالفها إذ اثبتوا أن البكتريا الاكثر شيوعاً *Portus* بنسبة 17عينة تليها *Klebsiella* , MRSA *A.baumannii* 13 عينة ومع ذلك في دراستنا الحالية فأن المرضى لديهم نسبة أعلى من *A. baumannii* والتي عادة ما تكون عدوى مكتسبة من المستشفيات المقاومة للأدوية المتعددة (MDR). وشخصت جميع العزلات البكتيرية السالبة لصيغة كَرام بجهاز الفايتك Vitek-2 ومعرفة حساسيتها للمضادات الحيوية كما هو مبين في الملاحق (7 -24).

وبينت نتائج الدراسة الحالية إن البكتريا الأكثر عزلا هي *A.baumannii* إذ عزلت بنسبة 21.1% من مجموع العزلات البالغ 56عزلة وهي البكتريا السائدة في اخماج قرحة القدم السكري وهذا لا يتفق مع دراسة (Dwedar *et al.*, 2015) إذ اشار الباحثون إلى سيادة بكتريا *Protus mirabilis* على بقية الأنواع البكتيرية المعزولة من اخماج قرحة القدم السكري في مصر والعراق بنسب بلغت (16.8، 26.3)على التوالي قد يعزى سبب سيادتها إلى امتلاكها العديد من عومل الضراوة التي تزيد من الأمراضية وتشمـل تـكـويـن الـغلاف الحيوي Biofilm formation الذي يزيد من قابلية البكتريا على الالتصاق فوق الاسطح الحية وغير الحية وانتاج الكبسولة متعدد

السكريات Capsular polysaccharides التي تزيد من مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية (*et* Brossard *al*.,2011) وانتاج انزيم الفوسفولايبيز (phospholipase) الذي يحلل جدارالخلية المضيف ويزيد من ضراوة البكتريا(AL- Jubory *et al* ., 2016) وبروتينات الغشاء الخارجي لها دور في عملية الموت الخلوي للخلية المضيف (مهدي ،2019).

3-4 التشخيص الزرعي للعزلات البكتيرية Cultural Diagnostic of Bacterial Isolates

لقد تم تحديد 16 عزلة بكتيرية لـ *A .baumannii* من اصل 50 عينة سريرية مأخوذة من مرضى يعانون من قرح القدم السكرية بناءً على الصفات المظهرية characteristics Morphological، التشخيص المجهري Microscopic identification، الاختبارات الكيموحيوية Biochemical Tests وجهاز الفايتك Vitek-2 COMPACT system للتشخيص النهائي.

1.3.4 الصفات المظهرية Morphological characteristics

شخصت العزلات البكتيرية بعد زراعتها على الاوساط الزرعية Culture media منها وسط اكَار الماكونكي MacConky Agar وسط اكَار الدم Blood Agar، حضنت الاوساط الزرعية بدرجة حرارة 37 درجة مئوية ولمدة 24 ساعة بينت النتائج على وسط اكَار الماكونكي انها تمتاز بمستعمرات ذات لون وردي فاتح مرتفعة قليلاً ملساء ذات قوام مخاطي. أما على وسط اكَار الدم وجد أنها تمتاز بمستعمرات ملساء وذات لون أبيض مائل إلى الرصاصي وغير محللة للدم Non haemolytic كما مبين في الملاحق شكل رقم (1) .

2.3.4 التشخيص المجهري Microscopic identification

شخصت بكتريا *A.baumannii* باستعمال صبغة كَرام Gram Stain بينت نتائج الفحص المجهري أنها تمتاز بالشكل العصوي الكروي Coccobacillary سالبة لصبغة كَرام Gram stain (ALsehlawi,2014)، كما مبين في الجدول (4-5)، والملحق شكل رقم (2).

3.3.4 الاختبارات الكيموحيوية Biochemical Tests

تبين بعد اجراء الاختبارات الكيموحيوية المعتمدة في التشخيص البكتيري التي منها اختبار انزيم الكتاليز ان جميع العزلات البكتيرية لـ *A .baumannii* أعطت نتيجة موجبة لاختبار (Catalase) وإن ظهور الفقاعات الهوائية يدل على قدرة البكتريا على تحطيم بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 وتحوله إلى اوكسجين وماء (H_2O and O_2) (Gupta *etal*.,2015) وكما مبين في الجدول رقم (4-5) .

جدول (4-5) الاختبارات التشخيصية التي اجريت على بكتريا *A .baumannii*

ت	الاختبار	النتيجة
1	فحص انزيم الكتاليز catalase test	+ev
2	فحص انزيم الاوكسيديز oxidase test	-ev
3	نمو البكتريا على وسط اكَار الماكونكي MacConky Agar	مستعمرات شفافة ذات لون وردي فاتح , غير مخمرة للاكتوز
4	نمو البكتريا على وسط اكَارالدم Blood Aga	مستعمرات ملساء وذات لون ابيض مائل الى الرصاصي وغير محللة للدم Non haemolytic
5	الشكل النهائي للبكتريا بعد تصبيغها بصبغة كَرام Gram stain	العصوي الكروي Coccobacillary سالبة لصبغة كَرام Gram stain

4.3.4 التشخيص وأختبار الحساسية للمضادات بواسطة جهاز الفايتك Vitek-2 Compact system

شخصت العزلات البكتيرية بشكل نهائي بوساطة جهاز الفايتك لغرض تاكيد التشخيص للعزلات البكتيرية المشخصة سابقاً باستخدام الطرائق الزرعية والكيموحيوية.كما في الملاحقرقم (19).

تم الحصول على 16 عزلة بكتيرية تعود للنوع *A .baumannii* أجري لجميع العزلات فحص الحساسية بجهاز الفايتك Vitek-2 لثمانية مضادات حيوية شملت Piperacillin/Tazobactam ،Meropenem ، Imipenem ، Cefepime ،Ceftazidime ، Cefotaxime، Gentamicin ، Ciprofloxacin ، Trimethoprim /Sulfamethoxazole واظهرت النتائج ان البكتريا مقاومة Cefotaxime بنسبة 93.75 % Piperacillin/Tazobactam بنسبة 56.25 % ، Gentamicin بنسبة% 43.75 ، Ciprofloxacin بنسبة 37.50 %، Cefepime، Ceftazidime بنسبة 31.25 %، mMeropene بنسبة 18.75 %، Imipenem بنسبة 12.50 %، وحساسة للـ Trimethoprim /Sulfamethoxazole على

التوالي ، اظهرت النتائج تبايناً واضحاً في مقاومتها للمضادات الحيوية اذكانت عزلات بكتريا *A .baumannii* مقاومة للمضادات Cefotaxime ، Ceftazidime ، Cefepime التي تعود الى مجموعة بيتا لاكتام β -lactams السيفالوسبورينات التي كانت نسبتها(93.75 %)و(31.25 %) و(31.25 %) على التوالي يعود ذلك لانتاج البكتريا لانزيمات البيتالاكتاميز(β -lactams) (Valcek *et al*.,2023) تعمل على تعطيل فعالية المضاد الحيوي بفعل هذة الانزيمات التي تحلل اواصر حلقة البيتالاكتام . كما اظهرت نتائج مقاومة للمضاد Gentamicin يعود الى مجموعة الامينوكلايكوسايد Aminoglycosides بنسبة (% 43.75) يعود السبب لارتباط هذه الانزيمات بمجموعة الهيدروكسيل والأمين الامينوكلايكوسايد وتؤدي إلى تحلل هذه المضادات (Shafigh *et al*.,2018) . وكانت مقاومتها للمضاد Ciprofloxacin الذي يعود الى مجموعة الفلوروكينولونات Fluoroquinolones بنسبة (37.50 %) هذه المضادات تثبط عملية تضاعف DNA ممايؤدي إلى تثبيط انقسام الخلايا البكتيرية (Zaki *et al.*,2018) وكانت مقاومة البكتريا للمضاد Piperacillin/Tazobactam الذي ينتمي إلى مجموعة البنسلينات Penicillinsبنسبة (56.25%) . وكانت مقاومة البكتريا لكلا المضادين Imipenem و Meropenem التابعة لمجموعة كاربابينيمات Carbapenems بنسبة (12.50 %) و (18.75 %) على التوالي أما مقاومة البكتريا للمضاد Trimethoprim /Sulfamethoxazole فقد بينت الدراسة الحالية ان نسبة مقاومة البكتريا لهذا المضاد هي (0.00 %) أي حساسية البكتريا للمضاد بنسبة 100% وبذلك يعد المضاد الحيوي Trimethoprim /Sulfamethoxazole العلاج الاول لهذه البكتريا حسب نتائج هذه الدراسة الحالية كون آلية عمل هذا المضاد هي منع البكتريا من انتاج حمض الفوليك الذي تحتاجه في القيام بوظائفها و يعمل على مجموعة كبيرة من الجراثيم السالبة لصبغة كَرام وبعض الموجبة لصبغة كَرام (Geisinger *et al*.,2015) كما مبين في الجدول رقم (4-6) و(4-7).

تختلف مع نتائج دراسة أخرى اجريت في كينيا كانت غالبية الكائنات الحية المعزولة عبارة عن بكتريا سالبة لصيغة كَرام والأكثر شيوعاً *E.coli* و *Proteus* و*K. Pneumonia* و *S.aureus* و*P. aeruginosa* ، واظهرت هذة البكتريا مقاومة للمضادات الحيوية الامبيسيلين والاموكسيسيلين والسيفتازيديم والبيبراسيلين وتازوبا كتام (Mutonga *et al*.,2019). وتقترب من نتائج دراسة Shaheen وجماعته (2021) الذين اثبتوا أن معدل وفيات مرضى السكري مع قرحة القدم السكري مرتبط بعدوى *A.baumannii* و *E.coli* .

جدول رقم 4-6) يوضح حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية

العزلة البكتيرية	المضادات الحياتية								
	Piperacillin/Tazobactam	**Cefotaxime**	**Ceftazidime**	**Cefepime**	**Imipenem**	**Meropenem**	**Gentamicin**	**Ciprofloxacin**	**Trimethoprim Sulfam/ethoxazole**
$_{1}$S	R	R	I	S	S	S	S	S	S
$_{2}$S	R	R	R	R	I	R	R	R	S
$_{3}$S	S	R*	S	S	S	S	S	R	S
$_{4}$S	S	R*	S	S	S	S	R	S	S
$_{5}$S	S	R*	S	S	S	S	S	S	S
$_{6}$S	R	R*	I	S	S	S	S	S	S
$_{7}$S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
$_{8}$S	R	R	I	S	S	S	S	S	S
$_{9}$S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
$_{10}$S	S	R	R	R	I	S	R	S	S
$_{11}$S	R	R	R	R	I	R	R	R	S
$_{12}$S	R	R	S	S	I	S	S	S	S
$_{13}$S	R	R	I	S	S	S	R	S	S
$_{14}$S	S	R	S	S	S	S	S	R	S
$_{15}$S	R	S	R	R	R	S	R	R	S
$_{16}$S	R	R	R	R	R	R	R	R	S

Acinetobacter baumannii =S1-16 =R Resistant I=Intermediate S=Sensitive

جدول (4-7) النسبة المئوية لمقاومة عزلات بكتيريا *A .baumannii* للمضادات الحياتية بجهاز الفايتك Vitek-2.

(%) S	(%) I	(%) R	Antibiotics
43.75 %	0.00 %	56.25%	Piperacillin/Tazobactam
6.25%	0.00 %	% 93.75	Cefotaxime
43.75 %	% 25.00	% 31.25	Ceftazidime
% 68.75	0.00 %	% 31.25	Cefepime
% 62.50	% 25.00	% 12.50	Imipenem
% 81.25	0.00 %	% 18.75	Meropenem
% 56.25	0.00 %	43.75 %	Gentamicin
% 62.50	0.00 %	% 37.50	Ciprofloxacin
% 100.00	0.00 %	0.00 %	Trimethoprim Sulfamethoxazole/

baumannii Acinetobacter =S1-16 =R Resistant I=Intermediate S=Sensitive

4.4 حساسية بكتريا الراكدة البومانية للمستخلص الكحولي للعكبر الخام

1.4.4 طريقة الانتشار بالأقراص Disc difusion method

تشير النتائج إلى أن المستخلص الكحولي لمادة العكبر المحلي تأثيراً مضاداً لنمو وتكاثر بكتريا *Acinetobacter baumannii* في الأطباق الزرعية مع اختلاف هذا التاثير اعتماداً على التركيز المستخدم.

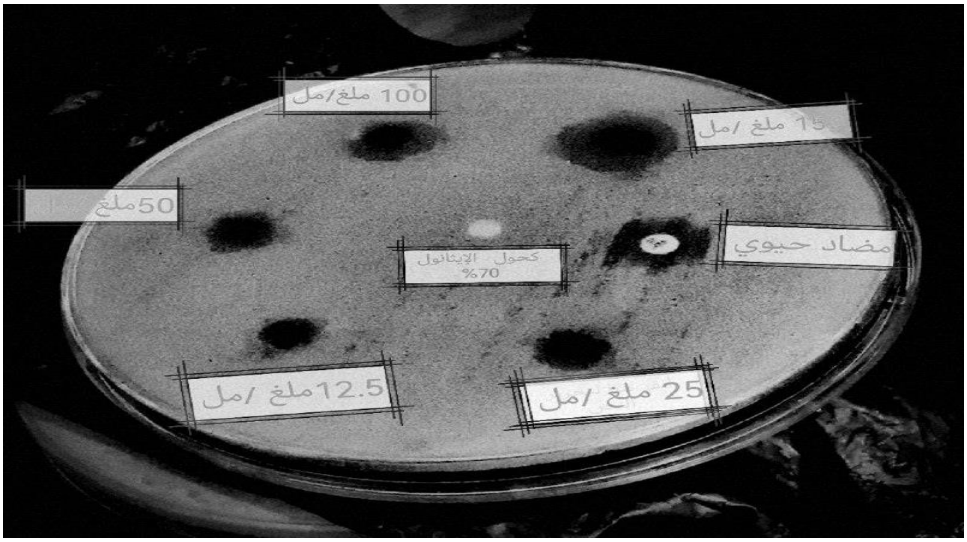
يوضح جدول (4 - 8) معدلات أقطار تثبيط النمو لثلاثة مكررات لتراكيز المستخلص الكحولي لمادة للعكبر الخام و المضاد الحيوي المستعمل في تثبيط نمو بكتريا *Acinetobacter baumannii* في الاطباق الزرعية إذ تبين أن اكبر قطر تثبيط للنمو كان 23.67±0.5 ملم أظهره التركيز 150 ملغم/ مل واظهر التركيز12.5 ملغم/ مل أقل قطر من تثبيط النمو 8.33 ± 0.94ملم وبينت التراكيز 25،50،100 ملغم / مل اقطاراً من تثبيط النمو مقدارها 10و14و19.33 ملم على التوالي و لم يظهر الكحول الاثيلي 70%المستخدم كمادة مخففة (سيطرة سالبة) أي تاثير يذكر في هذا الصدد صورة (4-2) .و سجل المضاد الحيوي - Trimetheprim sulfamethoxazole بتركيز(1.25/23.75 µg) المعتمد من قبل CLSI(2022) قطر تثبيط مقداره 14±0.47 ملم .

بين التحليل الاحصائي بأستعمال تحليل التباين وLSD وجود فرق معنوي وعند مستوى احتمالية 05 . 0 ≥p للتركيزين 100 مغلم/ مل و150 مغلم/ مل على المضاد الحيوي Trimetheprim sulfamethoxazole.

جدول (4-8) تأثير المستخلص الإيثانولي للعكبر الخام في تثبيط نمو بكتريا *Acinetobacter baumannii* في الأطباق الزرعية Culture Media.

التراكيز بوحدات ملغم / مل	معدلات الاقطار التثبيطية(mm) Mean +SD
12.5	0.94± 8.33
25	0.81± 10
50	0.47± 14
100	0.47± .19.33
150	0.5± 23.67
-Trimetheprim sulfamethoxazole)1.25/23.75µg) (Control Positive)	0.47 ± 14
Ethanolic Alcohol70%control Negative	-
P value	0.0000*
LSD	1.7778

(-) تعني لايوجد قطر تثبيط وجود فروق معنوية عند قيمة P ≤ 0.05*



صورة (4-2) التراكيز المختلفة للمستخلص الايثانولي للعكبر الخام ضد بكتريا الراكدة البومانية *Acinetobacter baumannii* في الأطباق الزرعية بطريقة الاقراص .

تبين من نتائج الدراسة الحالية أن للمستخلص الايثانولي لمادة العكبر الخام تأثيراً ملحوظاً على نموبكتريا الراكدة البومانية في جميع تراكيزه المستخدمة قيد الدراسة مع تباين هذا التأثير حسب التركيز المستخدم وهذه النتائج عند مقارنتها مع دراسات قام بها باحثون على مادة العكبر الذي تم جمعه من مناحل واقعة في بلدان عدة ضد نمو جميع البكتريا الموجبة أو السالبة لصبغة كَرام من غيربكتريا الراكدة البومانية التي لم تتناولها الدراسات السابقة إذ اشارت تلك الدراسات ايضاً الى فاعلية مادة العكبر المضادة للبكتريا خصوصا البكتريا الموجبة لصبغة كَرام.

اثبتت نتائج البحثين (Rhajaour *et al.*,2017 ; Hazem *et al*.,2001) أن لمادة العكبر المغربي المنشأ وخلاصاته فعالية مثبطة ضد نطاق واسع من المكورا ت والعصيات الموجبة لصبغة كرام وفاعلية محدودة ضد نمو العصيات السالبة لصبغة كَرام و في دراسة قام بها (*al*.,2001 Velikova *et* ;Sarıkahya *et al*.,2021)على عينتين من العكبر التركي المنشأ وعينة من العكبر البلغاري المنشأ و درس فاعليتها ضد بكتريا *Sttaphylococcus aureus* و *Escherichia coli* بطريقة الانتشار بالحفر اظهرت جميع العينات فاعلية عالية ضد بكتريا S. *aureus* وفاعلية محدودة ضد بكتريا *E.coli* ، بينما في هذه الدراسة تبين أن للمستخلص الكحولي تاثير واضح في تثبيط نمو بكتريا الراكدة البومانية السالبة لصبغة كرام مقارنة مع المضاد الحيوي المستخدم قيد الدراسة بشكل عام أثبت ان العكبر يظهر نشاطاً مضاداً للميكروبات أقوى ضد البكتريا السالبة لصبغة كَرام يعود ذلك إلى الموقع الجغرافي الذي جمع منه العكبر حيث التركيب الكيميائي للعكبر يختلف بشكل كبيرمن منطقة الى إخرى حسب غذاء النحل(-Silva; Dana Al-Shahf.,2021; Przybyłek & Karpiński ,2019Carvalho.,2015)

كما بين (Veiga وجماعته(2018) إن فعالية العكبر ضد الكائنات الحية الدقيقة الموجبة والسالبة الكَرام المقاومة للادوية المتعددة. يعود الفعل المؤثر الـذي اظهره المستخلص الكحولي لمـادةالعكبر الخام ضـد الراكدة البومانية لاحتـواءه علـى عـدد مـن المركبـات الفاعلـة خصوصـا الفلافونويـدات والفينـولات والتربينـات التـي اثبتـت دراسـات سـابقة احتـواء المستخلص الكحولي للعكبر الخام عليها(Harfouch *etal*.,2016; AL-Mohana,2008). وجد أن للعكبر القدرة على تعطيل الخلايا البكتيرية تماماً داخل مصفوفة الاغشية الحيوية بعد 18 ساعة من العلاج مما يدل على تلف شديد في جدار الخلية وبالتالي فان الية العمل هيكلية وليست وظيفية .(Bryan *et al.*,2016) فـي حـين أشـار Almuhayawi (2020) ان مكونات العكبر مثل المركبات الفلافونويدية واسترات الاحماض الفينولية لها تاثيراً مضاداً للبكتريا.

اثبتت نتائج البحثين (Mirzoeva *et al*.,1997 ; Salatino , 2022) إن لمـادة العكبر تـاثير علـى الغشـاء البلازمـي للكائنات الدقيقة كمـا إنهـا تعمل على تثبط حركتها و الفاعليـة الانزيميـة في حين لاحظ كـل مـن (Belmehdi *et al* .,2022;Takaisi - Kikuni & Schilcher(1994) في دراسـتهم علـى مادة العكبر بالاستعانة بالمجهـر الالكترونـي إن عمليـة الأنقسام الخلوي للميكروبات تتوقف بوجود المستخلص الكحولي للعكبر واقترحـا إن هذه القدرة لهذا المستخلص علـى ايقـاف عمليـة الانقسام الخلوي تاتي نتيجة لتثبـيط عمليـة انقسـام مـادة DNA للبكتريا ولكـون مادة العكبر تحتـوي على عدد كبير من المركبات الفاعلة ضد البكتريا يمكن ان تكون كفاءتـه العالية فـي تثبـيط نمـوها متأتية مـن اكثر من ميكانيكية،قد لـوحظ أيضـا مـن نتـائج هذه الدراسة جدول رقم (4-8) إن قطـر تثبـيط نمـو بكتريا الراكدة البومانية في الأطبـاق الزرعيـة يـزداد بزيـادة التركيز المستعمل أي إن هناك علاقة طرديـة بـين قطـر التثبـيط وتركيـزالمستخلص الكحولي المسـتخدم والـذي يفسر زيادة المواد المثبطة لنمو البكتريا بزيادة التركيز المستعمل وكذلك عن طريق البحث لاحظنا ان فعالية المستخلص تقل عند مرور اسبوع من تحضير تراكيز المستخلص هذا قد يفسر بعدم ثباتية المواد، يستحسن التحضير اليومي عند اجراء التجربة أو تكرارها في المختبر للحصول على نتائج افضل. كذلك نعتقد أن أغلب البكتريا المعزولة من القدم السكري هي ذات مقاومة عالية للعديد من المضادات الحيوية بإمكانها بعد معاملتها مع المضاد الحيوي تصبح مقاومة له بعد التعرف عليه ،في حين أنها تكون حساسة للمضادات البسيطة هذا يفسر أن بإمكان البكتريا أن تحور جيناتها ضد المضادات الحيوية الأكثر كفاءة أي لها القدرة على تغيير مسارها في حال كانت المضادات الحيوية الفعالة تؤثر عليها أو أنها تستعين بأنواع بكتيرية مقربة تزيد من مقاومتها في الوقت نفسه المضاد البسيط يثبط نموها.وعليه يجب أخذ الحذر عند التعامل مع هكذا نوع من البكتريا واجراء فحص الحساسية قبل وصف المضادات المناسبة لها كي لاتزداد مقاومتها بفعل الوصف غير الدقيق للمضادات الحيوية. كما استعمل محلول

الديرماسين لمعرفة تأثيره على بكتريا الراكدة البومانية اذ تبين ان لايوجد اي تاثير لمحلول الديرماسين بمفرده على البكتريا في الاطباق الزرعية كما هو واضح في صورة (4-3)،في حين اعطى الفعل التارزي لمحلول الديرماسين مع المستخلص الكحولي للعكبر الخام تأثير مثبط على بكتريا الراكدة البومانية صورة (4-5).

صورة (4- **3**) **التراكيز المختلفة للمستخلص الايثانولي للعكبر الخام ومحلول الديرماسين ضد بكتريا *Acinetobacter baumannii* في الأطباق الزرعية بطريقة الحفر**

2.4.4 تحديد التركيز المثبط الادنى (MIC)والتركيز القاتل الادنى(MBC) للمستخلص الكحولي للعكبر الخام (EEP) ضد بكتريا *A.baumannii*

استخدم مجموعة من التراكيز لحساب (MIC) بطريقة Microdilution Method كاللاتي (3.12- 6.25-12.5-25-50-100-150) ملغم/مل، سجل التركيز 25 ملغم/ مل كادنى تركيز مثبط M IC للمستخلص الايثانولي للعكبر الخام على نمو بكتريا *Acinetobacter baumannii* في حين سجل التركيز50 ملغم/ مل كاقل تركيز قاتل MBC له في حين اظهر الفعل التازري للمستخلص الكحولي للعكبر مع محلول الديرماسين تثبيطاً واضحاً على نمو البكتريا عند اختباره في الصفيحة Microtiter plate الحاوية ع 96 حفرة (wells96) كما مبين في جدول (4-9).

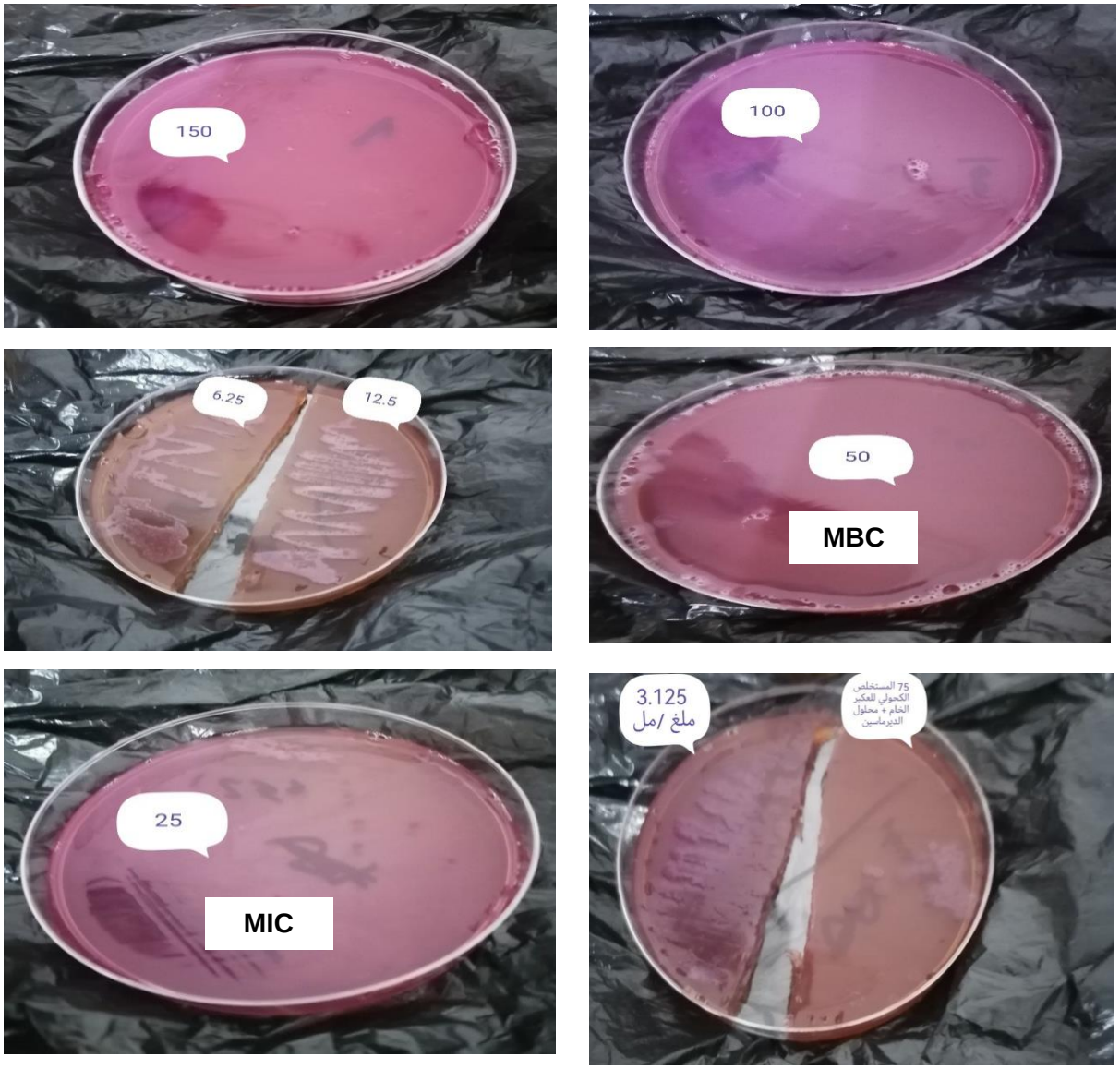
جدول رقم (4-9) التركيز المثبط الادنى والتركيز القاتل الادنى للمستخلص الإيثانولي للعكبر الخام ضد بكتريا *A.baumannii* باستعمال صفائح المعايرة الدقيقة Microtiter plate.

التراكيز ملغم /مل	نموالبكتريا
3.12	–
6.25	–
12.5	–
25	+
50	++
100	++
150	++
75 ديرماسين + 75 مستخلص	+

(-) تعني فعل غير مؤثر (+) تعني فعل مثبط للبكتريا (++) تعني فعل قاتل للبكتريا

تم التأكد من الاختبار MIC من خلال اخذ عينة من التراكيز المختلفة المستخدمة في الحفر و زراعتها على الوسط الزرعي MacConkey agar للتأكد من وجود أو عدم وجود نمو في الاطباق الزرعية صورة(4-4).

تقترب هذه النتائج مع (Béji-Srairi *et al.*,2020) حيث أظهر EEP التونسي نشاطاً قوياً كمضاد بكتيري على البكتريا السالبة لصبغة كَرام .



صورة (4-4) التركيز المثبط الادنى وتركيز المستخلص القاتل للبكتريا المزروعة على وسط MacConkey agar.

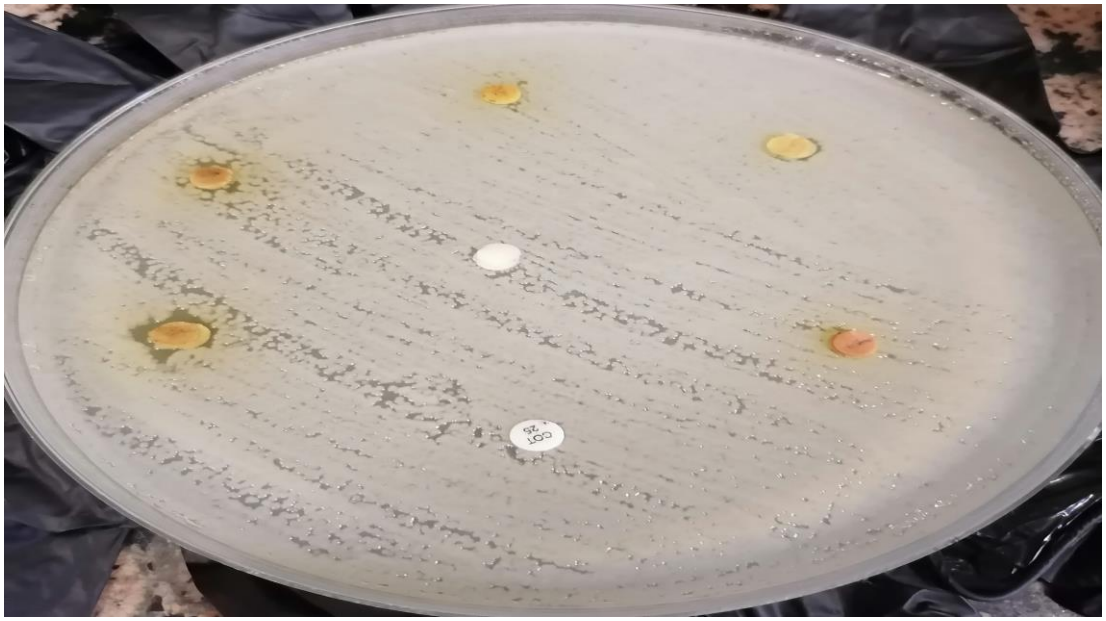
صور (4-5) الفعل التآزري للمستخلص ومحلول الديرماسين على البكتريا المزروعة على وسط MacConkey agar.

5.4 العدوى المرافقة او المزدوجة co-infection or Dobleinfection

في هذه الدراسة الحالية تبين في الصورة رقم(4-6) وجود العدوى المرافقة أو مايسمى المزدوجة في إحدى العزلات ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية والتي زادت من مقاومتها لأغلب المضادات حتى المضاد الحيوي الذي تتحسس منه ومنها بكتريا من جنس *Klebsiella sp* المرافقة لبكتريا *Acinetobacter baumannii* ،تحتوي هذه البكتيريا الكليبسيلا على مجموعة من الجينات المقاومة للمضادات الحيوية والتي يمكن نقلها أفقياً إلى البكتيريا الأخرى السالبة لصبغة كَرام (Ranjbar *et al*.,2016) هذا يمكن إن يفسر بأن البكتريا من جنس *Klebsiella* sp نقلت جيناتها إلى بكتريا الراكدة البومانية وهذا مايسمى بالنقل الافقي أو ما يسمى بالوراثة المكتسبة مما زاد من مقاومتها لجميع المضادات وهذا ما ذكره (Semenec *e t al.,*2023) ،يمكن أن تؤدي العدوى متعددة الميكروبات إلى زيادة الفوعة ومقاومة الميكروبات ،فضلاً عن ذلك اظهر اختبار حساسية المضادات الحيوية اقصى مقاومة للجيل الثالث من السيفالوسبورينات Cefotaxime بنسبة (93.75%) كما في الجدول (4-7) نتائج هذه الدراسة تقترب مع الدراسة التي اجراها Hasnawi -Al وجماعته (2020) في النجف والتي وجدت نسبة عالية (86.5٪) من مقاومة الجيل الثالث من السيفالوسبورينات. في دراسة أخرى اثبت AL-Rubiae وجماعته نسبة مقاومة *Klebsiella* sp للمضاد تريميثوبريم – سلفاميثوكسازول هي (61.1%) وهذا يفسر سبب المقاومة الواضح في الصورة رقم (4-6) ، ثبت إن العدوى المزدوجة بواسطة *A .baumannii* او *P.aeruginosa* في المرضى الذين يعانون اصابة Enterobacteriaceae المقاومة للكاربابينيم Carbapenems Resistance Enterobacteriaceae (CRE) قد زادت من مستويات مقاومة المضادات الحيوية ومعدلات الوفيات مقارنة بالعدوى المفردة .ان خطر اكتساب الكائنات الحية لمقاومة الكاربابينيم والبوليمكسين (Aghapour *et al.,* 2019) امر مثير للقلق لأنه يحد من خيارات العلاج (Venne *et al* .,2023; Shen *etal.,*2018 ; Mediavilla *et al*.,2016 ; Zheng *et al* .,2016).

في دراسات أخرى تمت دراسة آليات الفوعة لـ *A. baumannii* و *K. pneumoniae* على نطاق واسع على مر السنين في سياق الانواع الفردية وغالبًا ما يشكل كلا الممرضين أغشية حيوية في رئتي المريض (Willsey *et al* ,. 2018) هذا يحميهم من القيود الغذائية والافتراس والإجهاد التناضحي والعلاج بالمضادات الحيوية مما يمنحهم مرونة ملحوظة كلا السلالتين أيضًا تنتج حوامل حديدية تتيح امتصاصًا فعالًا للحديد في البيئات المضيفة المحدودة في الحديد (Harding *et al* .,2018) فماذا لو ثبت وجودهما معاً عدوى مزدوجة أو مرافقة فالتفاعل بين هذين النوعين المعزولين من عدوى واحدة داخل البيئة المضيفة قد يزيد من الفوعة ومقاومة المضادات الحيوية

ومصدر قلق يتطلب العديد من الدراسات لفهم آلية تواجد وتفاعل هذه الكائنات الدقيقة وعلاقتها مع بعضها البعض في حال تواجدهم في نفس الموقع .



صورة رقم (4-6) توضح العدوى المرافقة co-infection بكتريا الراكد البومانية مقاومة لجميع التراكيز المستخدمة نتيجة اكتسابها لجينات مقاومة من بكتريا االكليبسيلا.

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions

and

Recommendations

الاستنتاجات:.Conclusion

1-سيادة البكتريا السالبة لصبغة كرام المعزولة من القدم السكري في محافظة كربلاء المقدسة مقارنة مع البكتيريا الموجبة لصبغة كَرام .

2- إن الأنواع البكتيرية السالبة لصبغة كَرام الهوائية المعزولة من قرحة القدم السكري اغلبها من النوع المقاوم للأدوية المتعددة مما يدل على خطورة هذه الأنواع في حدة الإصابة بالتهابات القدم السكري.

3- أن بكتريا *Acinetobacter baumannii* المسبب المرضي الأكثر شيوعاً لقرحة القدم السكري وذات مقاو مة عالية للمضادات الحيوية.

4- إن نسبة قرحة القدم السكري في الذكور أعلى من الإناث.

5- للمستخلص الكحولي للعكبر الخام فعالية عالية وتأثير مثبط عالي ضد البكتريا *A. baumannii* .

6-الفعل التآزري للمستخلص الكحولي للعكبرالخام مع محلول الديرماسين أعطى ثبيط للبكتريا.

6- إن لاعلاقة للعمر بنسب الإصابة بهذه البكتريا بينما للاصابة علاقة بالجنس .

7- ان فعالية المستخلص تقل عند مرور اسبوع من تحضير تراكيز المستخلص هذا قد يفسر بعدم ثباتية المواد، يستحسن التحضير اليومي عند اجراء التجربة أو تكرارها في المختبر للحصول على نتائج افضل.

التوصيات :.Recommendations

1-أجراء دراسة في تأثير المستخلص الكحولي العكبر على الحيوانات المختبرية لتاكيد فعاليته عند استخدامه للبشر بدلاً من علاجات السكري التقليدية .

2- دراسة الفعالية التثبيطية للعكبر بفعل الأفرازات النباتية أم الفعل التآزري لأفرازات النحل مع الأفرازات النباتية وذلك بالمقارنة بين العكبر ونبات آخر للتأكد من فعالية العكبر.

3- دراسة لتتقيم تأثير العكبر على البكتريا اللاهوائية المسؤولة عن حدة قرحة القدم السكري

4- دراسة عن علاقة بكتريا الراكدة البومانية مع العدوى الأخرى في الاشخاص المصابين بالقدم السكري.

5- دراسة المكونات الكيميائية للعكبر وأستخراج الفعالة منها وتحميلها بتقنية النانو وبشكل ضماد وتطبيقها على الجروح خصوصاً كبار السن ممن يعانون من أمراضاً أخرى كالفشل الكلوي وضعف القلب وغيرها.

6- الفعل التارزي للعكبر مع مضادات اخرى وتقييم فعاليتها على المسببات المرضية.

7- اجراء دراسات جزيئية للكشف عن الجينات المكتسبة بين نوعين او اكثر من الاجناس البكتيرية المتواجدة في قرحة القدم السكري.

المصادر

المصادر العربية:

الدعمي ، علاء عبد الحسين (2104) . تنقية وتوصيف حامض الكوجك المنتج من عزلتين محليتين *Aspergillus flavus, Aspergillus fumigates*) اطروحة دكتوراه ، كلية التربية ،جامعة القادسية.

مهدي . اركان عدنان (2019). التحري عن بعض جينات مقاومة المضادات الحيوية وتعبيرها الجيني في بكتريا *Acinetobacter baumannii* المعزولة من حالات سريرية مختلفة . رسالة ماجستير . كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة بغداد.

المصادر الأجنبية:

Al-Anazi, K.A.; Abdulhamid, B.; Alshibani, Z.; Awad, K.; Alzayed, A.; Hassan, H.; Alsayiegh, M. (2012). *Acinetobacter baumannii* Septicemia in a Recipient of an Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Case Rep. Transplant., 2012: 646195.

Al-Allak, M. H., Al-Khafaji, N. S., and Al-Dahmoshi, H. O. (2019). Microbial and resistance profile among diabetic foot infections. EurAsian Journal of BioSciences, 13(2), 1953-1959.

Al-Hasnawi, H., J., and A. *Almohana*, M. (2020). Detection of Carbapenem Resistant Genes and Class I Integron among Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* from Main Hospitals in Al-Najaf, Iraq. Research Journal Of Pharmacy And Technology, 1966-1972.

Aghapour, Z., Gholizadeh, P., Ganbarov, K., Bialvaei, A. Z., Mahmood, S. S., Tanomand, A., ... & Kafil, H. S. (2019). Molecular mechanisms related to colistin resistance in Enterobacteriaceae. Infection and drug resistance, 965-975

Al-Jubory , S.S.; Al-Kadmy, I. and Al-Ani, Z.J.)2016(. Emergence of multidrugresistance

Alkharsah, K. R., Rehman, S., Alkhamis, F., Alnimr, A., Diab, A., & Al-Ali, A. K. (2018). Comparative and molecular analysis of MRSA isolates from infection sites and carrier colonization sites. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, *17*, 1-11.

AL-mohana , A.; Mahdi , O. and Ali , H. (2008) . Antibacterial activity of alcoholic extract of local Propolis against Listeria mono cytogens . J. Anbar . For Vet . Sci . 1 : 61 – 67 .

ALmuhana, M. R., & Al-Ammar, M. H. (2020). *Phenotypic and Genotypic Detection of Multidrug Resistane of Pseudomonas aeruginosa and*

Burkholderia cepecia Isolated from Patients with Diabetes Foot Ulcer in Al Najaf Province (Doctoral dissertation, Thesis, the Faculty of Science, University of Kufa).

Almuhayawi, M. S. (2020). Propolis as a novel antibacterial agent. Saudi journal of biological sciences, 27(11), 3079-3086.

AL-rubiae.N.N.K-andAL-Ameri.A.H.A (2017)the correlation between some Various Immu Genes andne Encodingvirulent Factors Encoding Parameters of Klebsiella pneumoniae and Escherishia coli Isolated from rinary Tract Infections. 5(2):31U.39

Al-Sehlawi, Z. S. (2014). Isolation and Identification of Acinetobacter baumannii Clinical Isolates using Novel Methods. J. Babylon Uni. Pure Appl. Sci., 22(3): 1041.

Abd El-Baky, R. M., Farhan, S. M., Ibrahim, R. A., Mahran, K. M., & Hetta, H. F. (2020). Antimicrobial resistance pattern and molecular epidemiology of ESBL and MBL producing *Acinetobacter baumannii* isolated from hospitals in Minia, Egypt. Alexandria Journal of medicine, 56(1), 4-13.

Abbott, C. A., Carrington, A. L., Ashe, H., Bath, S., Every, L. C., Griffiths, J., ... & Boulton, A. J. M. (2002). The North-West Diabetes Foot Care Study: incidence of, and risk factors for, new diabetic foot ulceration in a community-based patient cohort. Diabetic medicine, 19(5), 377-384.

Abdullah, N. A., Ja'afar, F., Yasin, H. M., Taha, H., Petalcorin, M. I., Mamit, M. H... & Usman, A. (2019). Physicochemical analyses, antioxidant, antibacterial, and toxicity of propolis particles produced by stingless bee Heterotrigona itama found in Brunei Darussalam. Heliyon, 5(9), e02476

Abdullah, N. A., Zullkiflee, N., Zaini, S. N. Z., Taha, H., Hashim, F., & Usman, A. (2020). Phytochemicals, mineral contents, antioxidants, and antimicrobial activities of propolis produced by Brunei stingless bees Geniotrigona thoracica,

Heterotrigona itama, and Tetrigona binghami. Saudi journal of biological sciences, 27(11), 2902-2911

Abdullahi, R., Lihan, S., Carlos, B.S., Bilung, M.L., Mikal, M .K., and Collick, F.(2013). Detection of oprL gene and antibiotic resistance of Pseudomonas aeruginosa from aquaculture environment. Euro. J. Exp. Bio.3(6):148-152.

Adnan, S., Paterson, D. L., Lipman, J., & Roberts, J. A. (2013). Ampicillin/sulbactam: its potential use in treating infections in critically ill patients. International journal of antimicrobial agents, 42(5), 384-389.

Ahangari, Z., Naseri, M., & Vatandoost, F. (2018). Propolis: Chemical composition and its applications in endodontics. Iranian endodontic journal, 13(3), 285.

Aminimoghadamfarouj, N., & Nematollahi, A. (2017). Propolis diterpenes as a remarkable bio-source for drug discovery development: A review. International journal of molecular sciences, 18(6), 1290Pickwell, Km.; Siersma, Vd.; Kars, M.; Holstein, Pe.And Schaper, Nc. Et Al. (2013). Diabetic Foot Disease: Impact Of Ulcer Location On Ulcer Healing. Diabetesmetab Res Rev 29: 377-383.

An, Z., Huang, X., Zheng, C., & Ding. W(2019) , outer membrane protein A induce HeLa cell autophagy via MAPK/JNK signaling pathway. International Journal of Medical Microbiology, 309(2), 97-107

Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., ... & Dash, C. K. (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. Saudi Journal of Biological Sciences, 26(7), 1695-1703.

Antunes, L. C., Visca, P., & Towner, K. J. (2014). *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. Pathogens and disease, 71(3), 292-301.

Asif, M., Alvi, I. A., & Rehman, S. U. (2018). Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. Infection and drug resistance, 11, 1249.

Atanasov, A. G., Zotchev, S. B., Dirsch, V. M., & Supuran, C. T. (2021). Natural products in drug discovery: advances and opportunities. Nature reviews Drug discovery, 20(3), 200-216.

Ayoub Moubareck, C., & Hammoudi Halat, D. (2020). Insights into *Acinetobacter baumannii*: a review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen. Antibiotics, 9(3), 119.

Basri, R.; Zueter, A.R.; Mohamed, Z.; Alam, M.K.; Norsa'adah, B.; Hasan, S.A.; Hasan, H. and Ahmad, F. (2015). Burden of bacterial meningitis: a retrospective review on laboratory parameters and factors associated with death in meningitis, kelantan malaysia. Nagoya J. Med. Sci., 77(1-2): 59-68.

Bassetti, M., Vena, A., Giacobbe, D. R., & Castaldo, N. (2021). Management of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative pathogens: recent advances and future directions. Archives of Medical Research, 52(8), 817-827.

Béji-Srairi, R., Younes, I., Snoussi, M., Yahyaoui, K., Borchard, G., Ksouri, R& Wided, M. K. (2020). Ethanolic extract of Tunisian propolis: chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative properties. Journal of Apicultural Research, 59(5), 917-927.

Belmehdi, O., El Menyiy, N., Bouyahya, A., El Baaboua, A., El Omari, N., Gallo, M., ... & Abrini, J. (2022). Recent advances in the chemical composition and biological activities of propolis. Food Reviews International, 1-5.

Brisse, S., Grimont, F. & Grimont, P. (2006). The Genus Klebsiella. Prokaryotes., 6: 159-196.

Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. Brown, A. E (2012) Benson's microbiological applications: laboratory manual in general microbiology, complete version. McGraw-Hill international edition.

Brossard, K.A. and Campagnari, A.A.)2011(The Acinetobacter baumannii biofilm-associated protein plays a role in adherence to human epithelial cells. Infect Immun., 80(1): 228—233)

Brown, A. E. (2012).Benson's microbiological applications: laboratory manual in general microbiology, complete version. McGraw-Hill international edition.

Bryan, J., Redden, P., & Traba, C. (2016). The mechanism of action of Russian propolis ethanol extracts against two antibiotic-resistant biofilm-forming bacteria. Letters in applied microbiology, 62(2), 192-198

Butler, A., and Misselbrook, D. (2020). Distinguishing between type 1 and type 2 diabetes. BMJ, m2998. https://doi.org/10.1136/bmj.m2998.

Butler, D. A., Biagi, M., Tan, X., Qasmieh, S., Bulman, Z. P., & Wenzler, E. (2019) . Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: resistance by any other name would still be hard to treat. Current infectious disease reports, 21, 1-17.

Caldwell, M. D. (2020). Bacteria and antibiotics in wound healing. Surgical Clinics, 100(4), 757-776.

Campoccia, D., Ravaioli, S., Santi, S., Mariani, V., Santarcangelo, C., De Filippis, A., ... & Daglia, M. (2021). Exploring the anticancer effects of standardized extracts of poplar-type propolis: In vitro cytotoxicity toward cancer and normal cell lines. Biomedicine & Pharmacotherapy, 141, 111895.

Cortés, G., Borrell, N., de Astorza, B., Gómez, C., Sauleda, J., & Albertí, S of the capsular polysaccharide and the contribution Molecular analysis of the side chain to the virulence of Klebsiella pneumoniae in lipopolysaccharide O 2590-2583 ،(5)*70* ،*Infection and immunity* .a murine model of pneumonia

Da Silva, G.J. and Domingues, S. (2016). Insights on the horizontal gene transfer of carbapenemase determinants in the opportunistic pathogen Acinetobacter baumannii. Microorganisms, 4(3):29.

Dana Al-Shahf. (2021). Evaluating the productivity of a local honey bee colony of propolis using the modern method and studying the factors affecting it in the southern region of Syria. Damascus University Journal of Agricultural Sciences, 37(3).

de Souza Costa, P., Mendes, V., Veiga, F. F., Negri, M., & Svidzinski, T. I. E. (2022). Relevant insights into onychomycosis' pathogenesis related to the effectiveness topical treatment. Microbial Pathogenesis, 169, 105640.

Demirdal, T.; Sari, U.S. and Nemli, S.A. (2016). Is inhaled colistin beneficial in ventilator associated pneumonia or nosocomial pneumonia caused by Acinetobacter baumannii? Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob., 15(1):1–6.

Deng, H., Li, B., Shen, Q., Zhang, C., Kuang, L., Chen, R., ... & Li, G. (2023). Mechanisms of diabetic foot ulceration: A review. Journal of Diabetes.

Dijkshoorn, L., Nemec, A., & Seifert, H. (2007). An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. Nature reviews microbiology, 5(12), 939-951

Doi, Y.; Murray, G. L. and Peleg, A. Y. (2015). Acinetobacter baumannii: evolution of antimicrobial resistance-treatment options. Semin. Respir. Crit. Care Med., 36: 85–98.

Doro, B. M. K. (2019). Activity of Honey and Propolis on Bacteria Isolated from Diabetic.

Doughari, H.J.; Ndakidemi, P.A.; Human, I.S. and Benade, S. (2011). The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: an overview. Microbes Environ., 26: 101–112.

Du, X., Xu, X., Yao, J., Deng, K., Chen, S., Shen, Z., ... & Feng, G. (2019). Predictors of mortality in patients infected with carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: a systematic review and meta-analysis. American journal of infection control, 47(9), 1140-1145.

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. 0)3): 95-102

Elgzyri, T. (2014). Outcome of ischaemic foot ulcers in patients with diabetes, with or without revascularization.

El-Masry, E. A., & El-Masry, H. A. (2018). Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit, Egypt. Egyp J Med Microbiol, 27, 85-91

Fernandes Júnior, A., Balestrin, E. C., Betoni, J. E. C., Orsi, R. D. O., Cunha, M. D. L. R. D. S. D., & Montelli, A. C. (2005). Propolis: anti-*Staphylococcus aureus* activity and synergism with antimicrobial drugs. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 100, 563-566.

Fernandez-Olmos, A., Garsia-Castillo, M., Morosini, M., Lamas, A., Maiz, L., and Canton, R. (2012). Maldi-TOF MS improves routine identification of non-fermenting gram-negative isolates from cystic fibrosis patients. J cyst fibros. 1, 59-62.

Fuliang, H. U., Hepburn, H. R., Xuan, H., Chen, M., Daya, S., & Radloff, S. E. (2005). Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus. Pharmacological research, 51(2), 147-152.

Gaber, S. N., Hemeda, E. E. M., Elsayeh, H. A. S., Wahed, W. Y. A., Khalil, M. A., & Ibrahim, E. G. (2020). Propolis extract: A possible antiseptic oral care against multidrug-resistant non-fermenting bacteria isolated from non-ventilator hospital-acquired pneumonia. J Pure Appl Microbiol, 14(1), 123-131.

Galac, M. R., Snesrud, E., Lebreton, F., Stam, J., Julius, M., Ong, A. C., ... & Mc Gann, P. (2020). A diverse panel of clinical Acinetobacter baumannii for research and development. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 64(10), e00840-20.

García, Y. G., Lao, E. H., Soublet, A. H., Domínguez, J. A. B., & Balmaseda, Z. D. (2016). Therapeutic education on diabetes for patients with first amputation caused by diabetic foot. Revista Cubana de Angiología y Cirugía Vascular, 17(1), 36-43.

Garnacho-Montero, J.; Amaya-Villar, R.; Ferrándiz-Millón, C.; DíazMartín, A.; López-Sánchez, J.M. and Gutiérrez Pizarraya, A. (2015). Optimum treatment strategies for carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii bacteremia. Expert Rev Anti Infect Ther., 13(6): 769–777.

Geisinger, E. and Isberg, R. R. (2015). Antibiotic modulation of capsular r baumannii. PLoS Pathog., exopolysaccharide and virulence in Acinetobacte e1004691 :11

Govan, J. R. (2007). Pseudomonas and non-fermenters, Medical Microbiology . 17th ed. Churchill Livingtone Elsevier.USA.

Greene, C.; Vadlamudi, G.; Newton, D.; Foxman, B. and Xi, C. (2016). The influence of biofilm formation and multidrug resistance on environmental survival of clinical and environmental isolates of Acinetobacter baumannii. Am. J. Infect Control., 44(5): 65–71.

Greenwood, D., Slack, R. C., Barer, M. R., & Irving, W. L. (2012). Medical microbiology e-book: A guide to microbial infections: Pathogenesis, immunity, laboratory diagnosis and control. with STUDENT CONSULT online access. Elsevier Health Sciences.

Gulen, T. A., Guner, R., Celikbilek, N., Keske, S., & Tasyaran, M. (2015). Clinical importance and cost of bacteremia caused by nosocomial multi drug resistant Acinetobacter baumannii. International Journal of Infectious Diseases, 38, 32-35.

Gupta,N.; Gandham, N.; Jadhav, S. and h Mishra, R. N. (2015). Isolation an ، species with special reference to antibiotic identification of Acinetobacter 62-resistance. J Nat Sci Biol Med., 6(1):159

Harding, C. M., Hennon, S. W., & Feldman, M. F. (2018). Uncovering the mechanisms of Acinetobacter baumannii virulence. Nature Reviews Microbiology, 16(2), 91-102.

Harding, J. L., Pavkov, M. E., Magliano, D. J., Shaw, J. E. and Gregg, E. W. (2019). Global trends in diabetes complications: a review of current evidence. Diabetologia, 62(1), 3-16.

Harfouch , R. M., Mohammad, R., & Suliman, H. (2016). Antibacterial activity of Syrian propolis extract against several strains of bacteria in vitro. World J. 46-Pharm. Pharmaceuti. Sci, 6, 42

Hazem,A ،Popescu ،. .Crișan, I. U. L. I. A. N. A., Popa, M., Chifiriuc, M. C ،. .818 Pircalabioru, S., & Lupuliasa, D. (2017). Antibacterial efficiency of

Hicks, C. W., & Selvin, E. (2019). Epidemiology of peripheral neuropathy and lower extremity disease in diabetes. Current diabetes reports, 19, 18.

Hidalgo-Ruiz, S., Ramírez-Durán, M. D. V., Basilio-Fernández, B., Alfageme-García, P., Fabregat-Fernández, J., Jiménez-Cano, V. M., ... & Gomez-Luque, A. (2023). Assessment of Diabetic Foot Prevention by Nurses. Nursing Reports, 13(1), 73-84.

Hsia, D. S., Larrivee, S., Cefalu, W. T., & Johnson, W. D. (2015). Impact of lowering BMI cut points as recommended in the revised American Diabetes Association's Standards of Medical Care in Diabetes—2015 on diabetes screening in Asian Americans. Diabetes care, 38(11), 2166 2168.

Hussain, M. S., Naqvi, A., and Sharaz, M. (2019). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). The Professional Medical Journal, 26(01): 122–127.

Hussein, A. E. R. A., Ahmed Hamdy, A. S., Abd El-Hafez, A., & El-Aziz, A. (2020). Outcomes of VAC versus conventional dressing in management of diabetic foot ulcer. Al-Azhar Medical Journal, 49(4), 1619-1628.

Ibrahim, A. M. (2015). The tragedy of the commons and prisoner's dilemma may improve our realization of the theory of life and provide us with advanced therapeutic ways. Re-searchGate, September.

International Diabetes Federation. (2019).Diabetes Atlas. Diabetes research and clinical practice, 157, 107843.

Isler, B., Doi, Y., Bonomo, R. A., & Paterson, D. L. (2019). New treatment options against carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii infections. Antimicrobial agents and chemotherapy, 63(1), e01110-18.

Janstova, B.; Necidova, L. and Janstova, B.)2012(. Comparing the growth of Staphylococcus aureus and Production of Staphylococcal Enterotoxin Cin

sheeps and goats milk. J. Microbiology Biotechnology and food sciences, pp: 758-768.

Jawetz, E., Karen, C. Carroll., Jeffery, A., Hobden, Steve, Miller, Stephen, A., Morse, Timothy, A., Mietzner., Barbara, Detrick., Thomas, G., Mitchell, James, H. McKerrow, Judy, A., and Sakanari. (2013). Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology Twenty-Seventh Edition .pp245.

Jubair, N., Rajagopal, M., Chinnappan, S., Abdullah, N. B., & Fatima, A. (2021). Review on the antibacterial mechanism of plant-derived compounds against multidrug-resistant bacteria (MDR). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2021.

Jung, J. and Park, W. (2015). Acinetobacter species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives. Appl. Microbiol. Biotechnol., 99: 2533 2548.

Kanafani, Z. A.; Kanj, S. S.; Calderwood, S. P. and Bloom, A.(2018). Acinetobacter infection: Treatment and prevention. UpToDate, Inc. and/or its affiliates. All Rights Reserved

Kempf, M. and Rolain, J. M. (2012). Emergence of resistance to carbapenems in Acinetobacter baumannii in Europe: clinical impact and therapeutic options. Int. J. Antimicrob. Agents, 39: 105–114.

Variation in the OC locus of .)2014(.Kenyon, J. J., Nigro, S. J., & Hall, R. M Acinetobacter baumannii genomes predicts extensive structural diversity in the e107833 ،)9(*9* ،*PloS one* .lipooligosaccharide

Khalaf, A. A., & AL-Kaabi, S. J. (2023, February). Survey of anaerobic bacteria isolated from gingival crevicular fluid with periodontitis patients. In AIP Conference Proceedings (Vol. 2414, No. 1, p. 020034). AIP Publishing LLC.

Khan, D. M., Manzoor, M. A., Rao, I. V., & Moosabba, M. S. (2019). Evaluation of biofilm formation, cell surface hydrophobicity and gelatinase activity in Acinetobacter baumannii strains isolated from patients of diabetic and non-diabetic foot ulcer infections. Biocatalysis and agricultural biotechnology, 18, 101007.

Khan, D.M.; Moosabba, M.S. and Rao, I.V. (2018). Changing Antibiogram profile of Acinetobacter baumannii in diabetic and non-diabetic foot ulcer Infections. J. Clin. Diagn. Res., 12: 12–16.

Kim, J. H., Kismali, G., & Gupta, S. C. (2018). Natural products for the prevention and treatment of chronic inflammatory diseases: integrating traditional medicine into modern chronic diseases care. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.

Kim, S. W., Oh, M. H., Jun, S. H., Jeon, H., Kim, S. I., Kim, K., ... & Lee, J. C. (2016). Outer membrane Protein A plays a role in pathogenesis of Acinetobacter nosocomialis. Virulence, 7(4), 413-426.

Kuropatnicki, A. K., Szliszka, E., & Krol, W. (2013). Historical aspects of propolis research in modern times. Evidence-based complementary and alternative medicine, 2013.

Lagier, J. C., Edouard, S., Pagnier, I., Mediannikov, O., Drancourt, M., & Raoult, D. (2015). Current and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology. Clinical microbiology reviews, 28(1), 208-236.

Lee, C. R., Lee, J. H., Park, K. S., Kim, Y. B., Jeong, B. C., & Lee, S. H. (2016). Global dissemination of carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods. Frontiers in microbiology, 895.

Lee, C. R., Lee, J. H., Park, M., Park, K. S., Bae, I. K., Kim, Y. B., ... & Lee, S. H. (2017). Biology of Acinetobacter baumannii: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. Frontiers in cellular and infection microbiology, 7, 55.

Lehrke, M. and Marx, N. (2017). Diabetes mellitus and heart failure. The American Journal of Cardiology; 120(1):S37-47.

Leitão J. H. (2020). Microbial Virulence Factors. International journal of molecular sciences,21(15), 532.

Leung, W.S.; Chu, C.M.; Tsang, K.Y.; Lo, F.H.; Lo, K.F. and Ho, P.L. (2006). Fulminant community-acquired *Acinetobacter baumannii* pneumonia as a distinct clinical syndrome. Chest., 29(1):102-109.

Lin, M. F. and Lan, C. Y. (2014). Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: from bench to bedside. World J. Clin. Cases., 2: 787–814.A

Lipsky, B. A., Senneville, É., Abbas, Z. G., Aragón-Sánchez, J., Diggle, M., Embil, J. M., ... & International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF). (2020). Guidelines on the diagnosis and treatment of foot infection in persons with diabetes (IWGDF 2019 update). Diabetes/metabolism research and reviews, 36, e3280.

Logan, N., & De vos, P. (2009). Family I. Bacillaceae. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol 3. https://doi.org/10.1007/b92997.

Lundberg, U.; Senn, B.M. ; Schüler, W.; Meinke, A. and Hanner, M. (2013). Identification and characterization of antigens as vaccine candidates against Klebsiella pneumoniae. Human Vaccines and Immunotherapeutics, 9(3):497-505.

Mahmoudi, S., Mamishi, S., Mohammadi, M., Banar, M., Ashtiani, M. T. H., Mahzari, M. et al. (2019). Phenotypic and genotypic determinants of

mupirocin resistance among Staphylococcus aureus isolates recovered from clinical samples of children: an Iranian hospital-based study. Infection and Drug Resistance, (12): 137-143

Maina, D., & Kagotho, E. (2014). Suitability of Vitek 2 System in Identification and Susceptibility Testing of Gram Negative Bacteremias by Direct Inoculation. East African medical journal, 91(4), 115-118 .

Malepati, S., Vakamudi, P., Kandati, J., & Satish, S. (2018). Bacteriological study of diabetic foot ulcer according to Wagner's classification: a one-year study. International Surgery Journal, 5(1), 98-104

Matsui, T., Ebuchi, S., Fujise, T., Abesundara, K. J., Doi, S., Yamada, H., & Matsumoto, K. (2004). Strong antihyperglycemic effects of water-soluble fraction of Brazilian propolis and its bioactive constituent, 3, 4, 5-tri-O-caffeoylquinic acid. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 27(11), 1797-1803.

Mediavilla, J. R., Patrawalla, A., Chen, L., Chavda, K. D., Mathema, B., Vinnard, C., ... & Kreiswirth, B. N. (2016). Colistin-and carbapenem-resistant Escherichia coli harboring mcr-1 and bla NDM-5, causing a complicated urinary tract infection in a patient from the United States. MBio, 7(4), e01191-16.

Mirzoeva, O. K.; Grishanin, R. N. & Colder, P. C.(1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: The effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. Microbial. Res.,152:239- 246. 20.

Mohammed, R. I., Alnuaman, A. Y., & Altobje, M. A. A. (2021). The Effect Of Propolis On Level Of Interleukin 17 And Interleukin 37 In Experimentally

Infected Mice With *Acinetobacter Baumannii*. NVEO-NATURAL VOLATILES & ESSENTIAL OILS Journal| NVEO, 2355-2365.

Moulana, Z., Babazadeh, A., Eslamdost, Z., Shokri, M. and Ebrahimpour, S. (2020). Phenotypic and genotypic detection of metallo-beta lactamases in Carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii.* Caspian Journal of Internal Medicine, 11(2):171.

Munoz-Price, L.S. and Weinstein, R.A. (2008). *Acinetobacter* infection. N. Engl. J. Med., 358: 1271–1281.

Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G. R., Gray, A., ... & Tasak, N. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. The Lancet, 399(10325), 629-655.

Musyoki, V. M., Mutai, W., Ngugi, N., Otieno, F., & Masika, M. M. (2022). Speciation and antifungal susceptibility of Candida isolates from diabetic foot ulcer patients in a tertiary hospital in Kenya. The Pan African Medical Journal, 41.

Mutonga, D. M., Mureithi, M. W., Ngugi, N. N., & Otieno, F. C. (2019). Bacterial isolation and antibiotic susceptibility from diabetic foot ulcers in Kenya using microbiological tests and comparison with RT-PCR in detection of S. aureus and MRSA. BMC Research Notes, 12(1), 1-6.

Nandre, V. S., Bagade, A. V., Kasote, D. M., Lee, J. H., Kodam, K. M., Kulkarni, M. V., & Ahmad, A. (2021). Antibacterial activity of Indian propolis and its lead compounds against multi-drug resistant clinical isolates. Journal of Herbal Medicine, 29, 100479

Nawfal Dagher, T., Al-Bayssari, C., Diene, S. M., Azar, E., & Rolain, J. M. (2020). Bacterial infection during wars, conflicts and post-natural disasters in Asia

and the Middle East: a narrative review. Expert review of anti-infective therapy, 18(6), 511-529.

Ørskov, I. (1984). Genus Klebsiella Trevisan 1885. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology., 1: 461-465. Krieg N. R., Holt J. G., ed. Baltimore:Williams & Wilkins.

Paczosa, M.K. and Mecsas, J. (2016). Klebsiella pneumoniae: going on the offense with a strong defense. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 80:629-661.

Pahlavani, N., Malekahmadi, M., Firouzi, S., Rostami, D., Sedaghat, A., Moghaddam, A. B., ... & Ghayour-Mobarhan, M. (2020). Molecular and cellular mechanisms of the effects of Propolis in inflammation, oxidative stress and glycemic control in chronic diseases. Nutrition & Metabolism, 17, 1-12.

Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., & Gan, S. H. (2017). Honey, propolis, and royal jelly: a comprehensive review of their biological actions and health benefits. Oxidative medicine and cellular longevity, 2017.

Podschun, R.; and Ullmann, U. (1998). Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin. Microbiol. Rev., 11:589–603.

Karpiński, T. M. (2019). Antibacterial properties of & ،.Przybyłek, I 2047 ،(11)24 Molecules, propolis.

Quinn, T. C., Piggott, D. A., Erlandson, K. M., Yarasheki, K. E., Vancampfort, D., Mugisha, J. and Stubbs, B. (2019). Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. Journal of Clinical Exercise Physiology; 8(2):86-90.

Rafailidis, P. I.; Ioannidou, E. N. and Falagas, M. E. (2007). Ampicillin/sulbactam: current status in severe bacterial infections. Drugs, 67: 1829–1849.

Ramos, G. P., Rocha, J. L., and Tuon, F. F. (2013). Seasonal Humidity may Influence Pseudomonas aeruginosa Hospital -Acquired Infection Rates. Int. J. Infect. Dis. 17, e757–e761.

Ranjbar, R.; Memariani, H.; Sorouri, R. and Memariani, M. (2016) Distr bution of genes and genotyping of CTX -M15- producing- *niaeKlebsiella pneumo* isolated from patients with urinary tract infection acquired(CA-UTI) community Microbial Pathogenesis .10:244-249

Rathur, Hm. And Boulton, Aj.(2007). The Diabetic Foot. Clin Dermatol .25.109-20.

Raut, S., Rijal, K.R., Khatiwada, S., Karna, S., Khanal, R., Adhikari, J.& Adhikari B.(2020). Trend and Characteristics of *Acinetobacter baumannii* Infections in Patients Attending Universal College of Medical Sciences, Bhairahawa, Western Nepal: A Longitudinal Study of 2018. Infect Drug Resist, 8,13:1631-1641.

Remy, C.; Essebe N.C.; Sotto, A. and Lavigne, J.P. (2016). Staphylococcus aureus Toxins and Diabetic Foot Ulcers: Role in Pathogenesis and Interest in Diagnosis. Toxins (Basel). 8(7): 1-20.

Rhajaouri, M.; Oumzil, H.; Faid, M.; Lyagubi, M.; Elyachioui, H. & Benjouad, A (2001).

Richet, H. (2012). Seasonality in Gram-negative and healthcare-associated infections. Clinical microbiology and infection, 18(10), 934-940.

Rivera-Yañez, N., Rodriguez-Canales, M., Nieto-Yañez, O., Jimenez-Estrada, M., Ibarra-Barajas, M., Canales-Martinez, M. M., & Rodriguez-Monroy, M. A.

(2018). Hypoglycaemic and antioxidant effects of propolis of Chihuahua in a model of experimental diabetes. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2018

Rocha, A. J., de Oliveira Barsottini, M. R., Rocha, R. R., Vitória Laurindo, M., de Moraes, F. L. L., and da Rocha, S. L. (2019). Pseudomonas aeruginosa: Virulence Factors and Antibiotic Resistance Genes. Braz. arch. biol. technol. 62.

Ryan, K.J and Ray, C.G. (2004). Sherris Medical Microbiology (4th ed) . Library of Congress.

Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., ... & IDF Diabetes Atlas Committee. (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the

Sahl, J. W., Johnson, J. K., Harris, A. D., Phillippy, A. M., Hsiao, W. W., Thom, K. A., & Rasko, D. A. (2011). Genomic comparison of multi-drug resistant invasive and colonizing Acinetobacter baumannii isolated from diverse human body sites reveals genomic plasticity. BMC genomics, 12(1), 1-12.

Salatino, A. (2022). Perspectives for uses of propolis in therapy against infectious diseases. 4594 ،(14)27 Molecules,.

Salatino, A., Salatino, M. L. F., & Negri, G. (2021). How diverse is the chemistry and plant origin of Brazilian propolis?. Apidologie, 1-23.

Samadi, N., Mozaffari-Khosravi, H., Rahmanian, M., & Askarishahi, M. (2017). Effects of bee propolis supplementation on glycemic control, lipid profile and insulin resistance indices in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind clinical trial. Journal of integrative medicine, 15(2), 124-134.

Sarıkahya, N. B., Gören, A. C., Okkalı G.S.,Coven ,F.O ,.Ormna ,B ,. Kırcı, D

& ... ،.Nalbantsoy, A(2021) Chemical scomposition and biological activities of propolis sample from different geographical regions of Turkey. Phytochemistry Letters 44,129-136.

Schweppe, D. K., Harding, C., Chavez, J. D., Wu, X., Ramage, E., Singh, P. K., ... & Bruce, J. E. (2015). Host-microbe protein interactions during bacterial infection. Chemistry & biology, 22(11), 1521-1530.

Scott, C. L., Zheng, F., De Baetselier, P., Martens, L., Saeys, Y., De Prijck, S., Lippens, S., Abels, C., Schoonooghe, S., Raes, G., Devoogdt, N., Lambrecht, B. N., Beschin, A., & Guilliams, M. (2016). Bone marro derived monocytes give rise to self-renewing and fully differentiated Kupffer cells. Nature communications, 7, 10321.

Sechi, L.A.; Karadenizli, A.; Deriu, A.; Zanetti, S.; Kolayli, F.; Balikci, E. and Vahaboglu, H. (2004). PER-1 type beta lactamase production in Acinetobacter baumannii is related to cell adhesion. Med. Sci. Monit., 10(6): 180 184.

Semenec, L., Cain, A. K, Dawson, C. J., Liu, Q., Dinh, H., Lott, H., ... & ،. Paulsen, I. T. (2023). Cross-protection and Cross-feeding between *Klebsiella pneumonia and Acinetobacter promotes* their co-*existence*. *Nature Communications* .14(1) ,702.

Shafigh, M.; Rajabnia,R,Yahyapour,Y,Shahandshti,E.F.;khafri,S.and ,Namvar .A.E. (2018)Evaluation of Aminoglycoside Resistance Genes in Acinetobacter baumannii Isolated from Different Parts of Babol Hospitals. Biomed. Sci.Tech. Res., 8(4): 6574-6578 .

Shaheen, M. M., Al Dahab, S., Abu Fada, M., & Idieis, R. (2021). Isolation and characterization of bacteria from diabetic foot ulcer: amputation, antibiotic resistance and mortality rate. International Journal of Diabetes in Developing Countries, 1-9.

Shanahan, M., & Spivak, M. (2021). Resin use by stingless bees: A review. Insects, 12(8), 719.

Sekhar,S.M.,Vyas,N.,Unnnikrishnan,M.K.,Rodrigues,G.S.,&Mukhopadhyay,C.(2014).Antimicrobial susceptibility pattern in diabetes foot ulcer :*a pilot study .Annals* of medical and health sciences research,4(5),742-745

Shen, Z., Hu, Y., Sun, Q., Hu, F., Zhou, H., Shu, L., ... & Wang, S. (2018) . Emerging carriage of NDM-5 and MCR-1 in *Escherichia coli* from healthy people in multiple regions in China: a cross sectional observational study. EClinicalMedicine, 6, 11-20 .

Shimose, L.A.; Masuda, E.; Sfeir, M.; Berbel Caban, A.; Bueno, M.X.; dePascale, D.; Spychala, C.N.; Cleary, T.; Namias, N.; Kett, D.H.; Doi, Y. and Munoz-Price, L.S. (2016). Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Concomitant Contamination of Air and Environmental Surfaces. Infect Control Hosp. Epidemiol., 37(7): 777-781.

Shrivastava, S. R., Shrivastava, P. S., & Ramasamy, J. (2018). World health organization releases global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Journal of Medical Society, 32(1), 76.

Silva, G.M.; Morais, L.; Marques, L. and Senra, V. (2012). Pneumonia adquirida na comunidade numa criança saudável por *Acinetobacter*. Revista Pneumologia., 18(2):96–98.

Silva-Carvalho, R., Baltazar, F., & Almeida-Aguiar, C. (2015). Propolis: a complex natural product with a plethora of biological activities that can be explored for drug development. Evidence-based complementary and alternative medicine

Singh, H.; Thangaraj, P. and Chakrabarti A. (2013). *Acinetobacter baumannii*: A Brief Account of Mechanisms of Multidrug Resistance and Current and Future Therapeutic Management. J Clin Diagn Res., 7(11): 2602-2605.

Smolyakov, R.; Borer, A.; Riesenberg, K.; Schlaeffer, F.; Alkan, M.; Porath, A.; Rimar, D.; Almog, Y. and Gilad, J. (2003). Nosocomial multi-drug resistant Acinetobacter baumannii bloodstream infection: risk factors and outcome with ampicillin-sulbactam treatment. J. Hosp. Infect., 54, 32–38.

Solis-Herrera, C., Triplitt, C., Reasner, C., DeFronzo, R. A. and Cersosimo, E. (2018). Classification of diabetes mellitus. In Endotext [Internet]. MDText. Com, Inc.

Spengler, G., Kincses, A., Gajdács, M., and Amaral, L. (2017). New roads leading to old destination: Efflux pumps as targets to reverse multidrug resistance in bacteria.Molecules.22,468.

Stappers, M., Hagen, F., Reimnitz, P., Mouton, J., Meis, J., and Gyssens, I. (2015). Direct molecular versus culture-based assessment of Gram positive cocci in biopsies of patients with major abscesses and diabetic foot infections. European Journal Of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 34(9), 1885-1892. https://doi.org/10.1007/s10096 015-2428-4.

Stewart, P. S., & Costerton, J. W. (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. The lancet, 358(9276), 135-138.

Suhaili, Z., Rafee, P. A., Mat Azis, N., Yeo, C. C., Nordin, S. A., Abdul Rahim, A. R., Mohd Desa, M. N. (2018). Characterization of resistance to selected antibiotics and panton-valentine leukocidin-positive Staphylococcus aureus in a healthy student population at a Malaysian university. Germs, 8(1):21–30. Surveillance : World Health Organization

Šuran, J., Cepanec, I., Mašek, T., Radić, B., Radić, S., Tlak Gajger, I., & Vlainić, J. (2021). Propolis extract and its bioactive compounds—From traditional to modern extraction technologies. Molecules, 26(10), 2930.

Takaisi-Kikuni, N. B. & Schilcher, H. (1994). Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of adefined propolis provenance. Planta. Med., 60: 222-227.

Tiku, V., Kofoed, E. M., Yan, D., Kang, J., Xu, M., Reichelt, M., ... & Tan, M. W.)2021(. Outer membrane vesicles containing OmpA induce mitochondrial fragmentation to promote pathogenesis of Acinetobacter baumannii. Scientific reports, 11(1), 618

Tipton, K. A., Chin, C. Y., Farokhyfar, M., Weiss, D. S., & Philip, N. Rather.)2018(.«Role of Capsule in Resistance to Disinfectants, Host Antimicrobials, and Desiccation in Acinetobacter baumannii». Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 62(12), 01188-18

Toreti, V. C., Sato, H. H., Pastore, G. M., & Park, Y. K. (2013). Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. Evidence-based complementary and alternative medicine.

Touzani, S., Al-Waili, N., El Menyiy, N., Filipic, B., Pereyra, A., Arabi, I. E., ... & Lyoussi, B. (2018). Chemical analysis and antioxidant content of various propolis samples collected from different regions and their impact on antimicrobial activities. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 11(7), 436.

Tuon, F.F.; Rocha, J.L. and Merlini, A.B. (2015). Combined therapy for multi-drug-resistant Acinetobacter baumannii infection – is there evidence outside the laboratory. J. Med. Microbiol., 64(9): 951-959.

Turns, M. (2011). The diabetic foot: an overview of assessment and complications. British Journal Of Nursing, 20(Sup8), S19-S25.

Uçkay, I., Aragon-Sanchez, J., Lew, D., & Lipsky, B. A. (2015). Diabetic foot infections: what have we learned in the last 30 years?. International Journal of Infectious Diseases, 40, 81-91.

Ulrich, N., Gastmeier, P., and Vonberg, R. (2018). Effectiveness of healthcare worker screening in hospital outbreaks with gram-negative pathogens: a systematic review. Antimicrobial Resistance and Infection Control. 7: (36).

Valcek, A., Philippe, C., Whiteway, C., Robino, E., Nesporova, K., Bové, M., ... & Van der Henst, C. (2023). Phenotypic characterization and heterogeneity among modern clinical isolates of Acinetobacter baumannii. Microbiology spectrum, 11(1), e03061-22.

Vázquez-López, R., Solano-Gálvez, S. G., Juárez Vignon-Whaley, J. J., Abello Vaamonde, J. A., Padró Alonzo, L. A., Rivera Reséndiz, A., ... & Barrientos Fortes, T. (2020). Acinetobacter baumannii resistance: a real challenge for clinicians. Antibiotics, 9(4), 205.

Veiga, F. F., Gadelha, M. C., Da Silva, M. R., Costa, M. I., Kischkel, B., de Castro-Hoshino, L. V., ... & Svidzinski, T. I. (2018). Propolis extract for onychomycosis topical treatment: From bench to clinic. Frontiers in microbiology, 9, 779.

Velikova, M.; Bankova, V.; Sorkun, K.; Popov, S. & Kujumglev, A.(2001). Chemical composition and biological activity of propolis from Turkish and bulgarian origin Mellifera. 1:57-59.

Venne, D. M., Hartley, D. M., Malchione, M. D., Koch, M., Britto, A. Y., & Goodman, J. L. (2023). Review and analysis of the overlapping threats of

carbapenem and polymyxin resistant E. coli and Klebsiella in Africa. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 12(1), 1-49.

Verma, A., Rajput, R., Verma, S., Balania, V. K., & Jangra, B. (2020). Impact of lockdown in COVID 19 on glycemic control in patients with type 1 Diabetes Mellitus. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews, 14(5), 1213-1216.

Vijayakumar, S.; Gopi, R; Gunasekaran, P.; Bharathy, M.; Walia, K.; Anandan, S. and Veeraraghavan, B. (2016). Molecular Characterization of Invasive Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii from a Tertiary Care Hospital in South India. Infect. Dis. Ther., 5(3): 379-387 (A)

Vila, J., Sáez-López, E., Johnson, J. R., Römling, U., Dobrindt, U., Cantón, R., Martínez-Medina, M. (2016). Escherichia coli: an old friend with new tidings. FEMS microbiology reviews, 40(4), 437-463 .

Wagner FW and O'Neal, LW.(1983). The Diabetic Foot, Mosby, St Louis. p.274. Brodsky JW.(1993).Outpatient diagnosis and care of the diabetic foot.J. Instr Course Lect. 42:121.

Wagner, A., Chavez, V., Huang, R., Wahed, A., Dasgupta, A., & Actor, J. K. (2017). Microbiology and molecular diagnosis in pathology: a comprehensive review for board preparation, certification and clinical practice.

Wang , L. ; Weller , C. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants . Trends in Food Sci. Technol. 17 (6) : 300 - 312.

Wang, G., Lin, Z., Li, Y., Chen, L., Reddy, S. K., Hu, Z., & Garza, L. (2023). Colonizing microbiota is associated with clinical outcomes in diabetic wound healing. Advanced Drug Delivery Reviews, 114727.

Washington, J. A. (Ed.). (2012). Laboratory procedures in clinical microbiology. Springer Science & Business Media.

Weiner, L. M., Webb, A. K., Limbago, B., Dudeck, M. A., Patel, J., Kallen, A. J., ... & Sievert, D. M. (2016). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014. *infection control & hospital epidemiology*, *37*(11), 1288-1301.

Wendt, C.; Dietze, B.; Dietz, E. and Rüden, H. (1997). Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. J. Clin. Microbiol., 35(6):1394-1397.

Wieczorek, P. P., Hudz, N., Yezerska, O., Horčinová-Sedláčková, V., Shanaida, M., Korytniuk, O., & Jasicka-Misiak, I. (2022). Chemical Variability and Pharmacological Potential of Propolis as a Source for the Development of New Pharmaceutical Products. Molecules, 27(5), 1600.

Wilkinson,H.N.&Haraman,M.J.(2017).The role of estrogen in cutaneous ageing and repair.*Maturitas,103*,60-64.

Willsey, G. G., Ventrone, S., Schutz, K. C., Wallace, A. M., Ribis, J. W., Suratt, B. T., & Wargo, M. J.)2018(. Pulmonary surfactant promotes virulence gene *Infection and .Klebsiella pneumoniae* expression and biofilm formation in 1128-10 ،)7(*86* ،*Immunity*

Yadav, S. K., Bhujel, R., Hamal, P., Mishra, S. K., Sharma, S., & Sherchand, J. B. (2020). Burden of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection in Hospitalized Patients in a Tertiary Care Hospital of Nepal. Infection and drug resistance, 13, 725–732.

Yakkala, H., Samantarrai, D., Gribskov, M. and Siddavattam, D. (2019). Comparative genome analysis reveals niche-specific genome expansion in *Acinetobacter baumannii* strains. PloS one, 14(6).

Yazdanpanah, L.; Nasiri, M. And Adarvishi, S (2015). Literature Review on The Management of Diabetic Foot Ulcer, 6(1):37–53.

Zakerkish, M., Jenabi, M., Zaeemzadeh, N., Hemmati, A. A., & Neisi, N. (2019). The effect of Iranian propolis on glucose metabolism, lipid profile, insulin resistance, renal function and inflammatory biomarkers in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized double-blind clinical trial. Scientific reports, 9(1), 1-11.

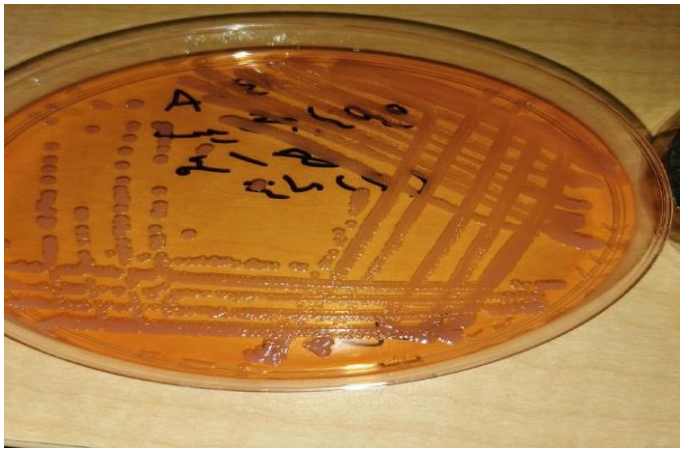
Zak i, M.E.S.; Abou ElKheir, N.; Mofreh, M.) 2018(. Molecular Study of gions of gyrA Gene and parC Genes Quinolone Resistance Determining Re doi: .122-in Clinical Isolates of Acintobacter Apr 30;12:116 PubMed PMID: 29785218; PubMed .18742858018120101116/10.2174 Central PMCID: PMC5958293

Zheng, B., Dong, H., Xu, H., Lv, J., Zhang, J., Jiang, X., ... & Li, L. (2016). Coexistence of MCR-1 and NDM-1 in clinical Escherichia coli isolates. Clinical Infectious Diseases, 63(10), 1393-1395.

Zhou, H., Yao, Y., Zhu, B., Ren, D., Yang, Q., Fu, Y., ... & Zhou, J. (2019). Risk factors for acquisition and mortality of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia: A retrospective study from a Chinese hospital. Medicine, 98(13).

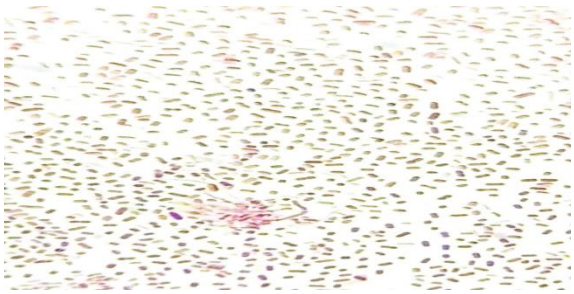
الملاحق

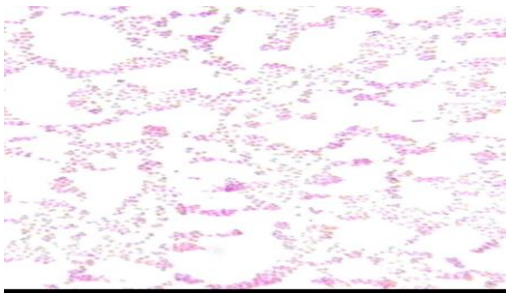
Appendixes



A **B**

الشكل (1) بكتريا *A.baumannii* A- وسط اكَار الماكونكي MacCoAnkyAgar, B- وسط اكَار الدم Blood Agar بدرجة حرارة 37م^{o} لمدة 24 ساعة





A **B**

الشكل (2) التشخيص المجهري شكل خلايا بكتريا *A.baumannii* A- قوة تكبير عدسة زيتية1000Xمرة B- قوى تكبير 400X مرة.

+

Organism Quantity:
Selected Organism : Staphylococcus aureus

Source: **Collected:**

Comments:	

Identification Information	**Analysis Time:**	7.78 hours	**Status:** Final
Selected Organism	88% Probability	**Staphylococcus aureus**	
	Bionumber:	070412073773231	
ID Analysis Messages			

Biochemical Details

2	AMY	-	4	PIPLC	-	5	dXYL	-	8	ADH1	+	9	BGAL	+	11	AGLU	+
13	APPA	-	14	CDEX	-	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	+
20	LeuA	+	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	-	26	PyrA	+	27	BGUR	-
28	AlaA	-	29	TyrA	-	30	dSOR	-	31	URE	+	32	POLYB	+	37	dGAL	+
38	dRIB	+	39	lLATk	+	42	LAC	-	44	NAG	+	45	dMAL	+	46	BACI	+
47	NOVO	+	50	NC6.5	+	52	dMAN	+	53	dMNE	+	54	MBdG	+	56	PUL	-
57	dRAF	-	58	O129R	+	59	SAL	-	60	SAC	+	62	dTRE	+	63	ADH2s	-
64	OPTO	+															

الشكل رقم (3) رسم تخطيطي لتقرير نظام الفايتك Vitek -2 للبكتريا الموجبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Staphylococcus aureus

Source: **Collected:**

Comments:	

Susceptibility Information	**Analysis Time:** 12.18 hours	**Status:** Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Cefoxitin Screen	POS	+	Erythromycin	>= 8	R
Benzylpenicillin	>= 0.5	R	Clindamycin	>= 8	R
Ampicillin			Teicoplanin	>= 32	R
Oxacillin	>= 4	R	Vancomycin	>= 32	R
Imipenem			Tetracycline	>= 16	R
Gentamicin High Level (synergy)			Tigecycline	0.5	S
Streptomycin High Level (synergy)			Fosfomycin		
Gentamicin	4	*R	Fusidic Acid	>= 32	R
Ciprofloxacin	>= 8	R	Rifampicin	>= 32	R
Moxifloxacin	1	I	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	80	R
Inducible Clindamycin Resistance	NEG	-			

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent

الشكل رقم (4) رسم تخطيطي لتقرير نظام الفايتك Vitek -2 للبكتريا الموجبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:

Selected Organism : Kocuria kristinae

Source: **Collected:**

Comments:	

Identification Information	**Analysis Time:**	4.83 hours	**Status:** Final
Selected Organism	99% Probability	**Kocuria kristinae**	
	Bionumber:	010030302000020	
ID Analysis Messages			

Biochemical Details																	
2	AMY	-	4	PIPLC	-	5	dXYL	-	8	ADH1	+	9	BGAL	-	11	AGLU	-
13	APPA	-	14	CDEX	-	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	-
20	LeuA	+	23	ProA	+	24	BGURr	-	25	AGAL	-	26	PyrA	-	27	BGUR	-
28	AlaA	+	29	TyrA	+	30	dSOR	-	31	URE	-	32	POLYB	-	37	dGAL	-
38	dRIB	-	39	lLATk	+	42	LAC	-	44	NAG	-	45	dMAL	-	46	BACI	-
47	NOVO	-	50	NC6.5	-	52	dMAN	-	53	dMNE	-	54	MBdG	-	56	PUL	-
57	dRAF	-	58	O129R	-	59	SAL	-	60	SAC	-	62	dTRE	+	63	ADH2s	-
64	OPTO	-															

الشكل رقم (5) رسم تخطيطي لتقرير نظام الفايتك Vitek -2 البكتريا الموجبة لصيغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Coagulase negative Staphylococcus

Source: urine **Collected:**

Comments:	

Susceptibility Information	**Analysis Time:** 11.47 hours	**Status:** Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Cefoxitin Screen	POS	+	Inducible Clindamycin Resistance	NEG	-
Benzylpenicillin	>= 0.5	R	Erythromycin	>= 8	R
Ampicillin			Clindamycin	>= 8	R
Oxacillin	>= 4	R	Teicoplanin	>= 32	R
Imipenem			Vancomycin	>= 32	R
Gentamicin High Level (synergy)			Tetracycline	8	*R
Streptomycin High Level (synergy)			Fosfomycin		
Gentamicin	<= 0.5	S	Fusidic Acid	>= 32	R
Ciprofloxacin	<= 0.5	S	Rifampicin	>= 32	R
Moxifloxacin	0.5	S	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	20	S

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent

الشكل رقم (6) رسم تخطيطي لتقرير نظام الفايتك Vitek -2 للبكتريا الموجبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Pseudomonas aeruginosa

Source: **Collected:**

Comments:	

Identification Information	**Analysis Time:**	4.77 hours	**Status:** Final
Selected Organism	97% Probability	**Pseudomonas aeruginosa**	
	Bionumber:	0043053143500040	
ID Analysis Messages			

Biochemical Details																
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	lARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	+	13	dGLU	+	14	GGT	+	15	OFF	-
17	BGLU	(-)	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	+
23	ProA	+	26	LIP	+	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	+	39	5KG	-
40	lLATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	lHISa	-	56	CMT	-	57	BGUR	-
58	O129R	-	59	GGAA	-	61	lMLTa	+	62	ELLM	-	64	lLATa	-			

الشكل رقم (7) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Pseudomonas aeruginosa

Source: **Collected:**

Comments:	

Susceptibility Information	**Analysis Time:** 11.62 hours	**Status:** Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL			Meropenem	>= 16	R
Ampicillin			Amikacin	>= 64	R
Amoxicillin/Clavulanic Acid			Gentamicin	>= 16	R
Cefotaxime	>= 64	R	Ciprofloxacin	>= 4	R
Ceftazidime	>= 64	R	Norfloxacin	>= 16	R
Cefepime	>= 64	R	Fosfomycin		
Ertapenem			Nitrofurantoin		
Imipenem	>= 16	R	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole		

AES Findings	
Confidence:	Consistent

الشكل رقم (8) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2للبكتريا السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae

Source: **Collected:**

Comments:	

Identification Information	**Analysis Time:**	4.03 hours	**Status:** Final
Selected Organism	99% Probability	**Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae**	
	Bionumber:	6607734773564010	
ID Analysis Messages			

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	+	4	PyrA	+	5	lARL	-	7	dCEL	+	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	+	15	OFF	+
17	BGLU	+	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	+	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	+	29	TyrA	+	31	URE	+	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	+	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	+	39	5KG	-
40	lLATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	+
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	+	53	lHISa	-	56	CMT	-	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	lMLTa	-	62	ELLM	-	64	lLATa	-			

الشكل رقم (9) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2للبكتريا السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae

Source: **Collected:**

Comments:	

Susceptibility Information	**Analysis Time:** 9.20 hours	**Status:** Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL	POS	+	Meropenem	<= 0.25	S
Ampicillin	>= 32	R	Amikacin	<= 2	S
Amoxicillin/Clavulanic Acid	8	S	Gentamicin	<= 1	S
Piperacillin/Tazobactam	<= 4	S	Ciprofloxacin	<= 0.25	S
Cefotaxime	>= 64	R	Norfloxacin	2	*R
Ceftazidime	8	I	Fosfomycin	<= 16	S
Cefepime	2	S	Nitrofurantoin	64	I
Ertapenem	<= 0.5	S	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	>= 320	R
Imipenem	<= 0.25	S			

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent

الشكل رقم (10) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2للبكتريا السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Klebsiella oxytoca

Source: Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time:	4.53 hours	Status:	Final
Selected Organism	99% Probability	Klebsiella oxytoca		
	Bionumber:	6707735777565010		
ID Analysis Messages				

Biochemical Details																
2	APPA	-	3	ADO	+	4	PyrA	+	5	lARL	+	7	dCEL	+	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	+	15	OFF	+
17	BGLU	+	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	+	22	BAlap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	+	29	TyrA	+	31	URE	+	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	+	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	+	39	5KG	+
40	lLATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	+
46	GlyA	+	47	ODC	-	48	LDC	+	53	lHISa	-	56	CMT	-	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	lMLTa	-	62	ELLM	-	64	lLATa	-			

الشكل رقم (11) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Klebsiella oxytoca

Source: Collected:

Comments:	

Susceptibility Information	Analysis Time: 9.18 hours	Status: Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL	NEG	-	Meropenem	<= 0.25	S
Ampicillin	16	*R	Amikacin	<= 2	S
Amoxicillin/Clavulanic Acid	<= 2	S	Gentamicin	<= 1	S
Piperacillin/Tazobactam	<= 4	S	Ciprofloxacin	<= 0.25	S
Cefotaxime	<= 1	S	Norfloxacin	<= 0.5	*R
Ceftazidime	<= 1	S	Fosfomycin	>= 256	R
Cefepime	<= 1	S	Nitrofurantoin	<= 16	S
Ertapenem	<= 0.5	S	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 20	S
Imipenem	<= 0.25	S			

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent

الشكل رقم (12) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:

Selected Organism : Serratia fonticola

Source: **Collected:**

Comments:	

Identification Information	**Analysis Time:**	4.37 hours	**Status:** Final
Selected Organism	87% Probability	**Serratia fonticola**	
	Bionumber:	4237710361642211	
ID Analysis Messages			

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	+	5	lARL	-	7	dCEL	+	9	BGAL	-
10	H2S	+	11	BNAG	+	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	+	15	OFF	+
17	BGLU	+	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	+	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	+	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	-	39	5KG	-
40	lLATk	-	41	AGLU	+	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	+
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	-	53	lHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	lMLTa	-	62	ELLM	+	64	lLATa	-			

الشكل رقم (13) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2للبكتريا السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Serratia fonticola

Source: Collected:

Comments:	

Susceptibility Information	Analysis Time: 8.20 hours	Status: Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL			Meropenem	<= 0.25	S
Ampicillin			Amikacin	<= 2	S
Amoxicillin/Clavulanic Acid	<= 2	S	Gentamicin	<= 1	S
Piperacillin/Tazobactam	<= 4	S	Ciprofloxacin	<= 0.25	S
Cefotaxime	<= 1	S	Norfloxacin	<= 0.5	S
Ceftazidime	<= 1	S	Fosfomycin	>= 256	R
Cefepime	<= 1	S	Nitrofurantoin	<= 16	S
Ertapenem	<= 0.5	S	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 20	S
Imipenem	<= 0.25	S			

AES Findings	
Confidence:	Inconsistent

الشكل رقم (14) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Escherichia coli

Source: **Collected:**

Comments:	

Identification Information	**Analysis Time:**	4.55 hours	**Status:** Final
Selected Organism	99% Probability	**Escherichia coli**	
	Bionumber:	0405610550426600	
ID Analysis Messages			

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	lARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	-
40	lLATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	lHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	+
58	O129R	-	59	GGAA	-	61	lMLTa	-	62	ELLM	-	64	lLATa	-			

الشكل رقم (15) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Escherichia coli

Source: **Collected:**

Comments:	

Susceptibility Information	**Analysis Time:** 10.47 hours	**Status:** Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL	NEG	-	Meropenem	>= 16	R
Ampicillin	>= 32	R	Amikacin	>= 64	R
Amoxicillin/Clavulanic Acid	>= 32	R	Gentamicin	>= 16	R
Piperacillin/Tazobactam	>= 128	R	Ciprofloxacin	>= 4	R
Cefotaxime	>= 64	R	Norfloxacin	>= 16	R
Ceftazidime	>= 64	R	Fosfomycin	<= 16	S
Cefepime	>= 64	R	Nitrofurantoin	256	R
Imipenem	>= 16	R	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	>= 320	R

AES Findings	
Confidence:	Consistent

الشكل رقم (16) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Achromobacter xylosoxidans

Source: Collected:

Comments:	

Identification Information	**Analysis Time:**	5.77 hours	**Status:** Final
Selected Organism	99% Probability **Bionumber:**	**Achromobacter xylosoxidans** 4041001101500011	
ID Analysis Messages			

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	+	5	lARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	+	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	-	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	-	39	5KG	-
40	lLATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	lHISa	-	56	CMT	-	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	lMLTa	-	62	ELLM	+	64	lLATa	-			

الشكل رقم (17) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 للبكتريا السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Achromobacter xylosoxidans

Source: Collected:

Comments:	

Susceptibility Information	Analysis Time: 10.42 hours	Status: Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL			Meropenem	>= 16	R
Ampicillin			Amikacin	>= 64	R
Amoxicillin/Clavulanic Acid			Gentamicin	>= 16	R
Piperacillin/Tazobactam	>= 128	R	Ciprofloxacin	>= 4	R
Cefotaxime	>= 64	R	Norfloxacin	>= 16	R
Ceftazidime	>= 64	R	Fosfomycin		
Cefepime	>= 64	R	Nitrofurantoin		
Ertapenem			Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 20	S
Imipenem	8	I			

AES Findings	
Confidence:	Analysis not performed

الشكل رقم (18) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2للبكتريا السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:

Selected Organism : Acinetobacter baumannii complex

Source: **Collected:**

Comments:	

Identification Information	**Analysis Time:**	6.02 hours	**Status:** Final
Selected Organism	99% Probability	**Acinetobacter baumannii complex**	
	Bionumber:	0201010103500212	
ID Analysis Messages			

Biochemical Details

2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	lARL	-	7	dCEL	+	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	+	39	5KG	-
40	lLATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	lHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	lMLTa	-	62	ELLM	-	64	lLATa	+			

الشكل رقم (19) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 لبكتريا *A.baumannii* السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Acinetobacter baumannii complex

Source: Collected:

Comments:	

Susceptibility Information	Analysis Time: 8.45 hours	Status: Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL			Meropenem	>= 16	R
Ampicillin			Amikacin		
Amoxicillin/Clavulanic Acid			Gentamicin	>= 16	R
Piperacillin/Tazobactam	>= 128	R	Ciprofloxacin	>= 4	R
Cefotaxime	>= 64	R	Norfloxacin		
Ceftazidime	>= 64	R	Fosfomycin		
Cefepime	>= 64	R	Nitrofurantoin		
Ertapenem			Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 20	S
Imipenem	>= 16	R			

AES Findings	
Confidence:	Consistent

الشكل رقم (20) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 لبكتريا *A.baumannii* السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Acinetobacter baumannii complex

Source: Collected:

Comments:	

Susceptibility Information	Analysis Time: 8.22 hours	Status: Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL			Meropenem	<= 0.25	S
Ampicillin			Amikacin		
Amoxicillin/Clavulanic Acid			Gentamicin	<= 1	S
Piperacillin/Tazobactam	>= 128	R	Ciprofloxacin	0.5	S
Cefotaxime	16	*R	Norfloxacin		
Ceftazidime	16	I	Fosfomycin		
Cefepime	8	S	Nitrofurantoin		
Ertapenem			Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 20	S
Imipenem	<= 0.25	S			

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent

الشكل رقم (21) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 لبكتريا *A.baumannii* السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Acinetobacter baumannii complex

Source: **Collected:**

Comments:	

Susceptibility Information	**Analysis Time:** 9.20 hours	**Status:** Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL			Meropenem	<= 0.25	S
Ampicillin			Amikacin		
Amoxicillin/Clavulanic Acid			Gentamicin	<= 1	S
Piperacillin/Tazobactam	<= 4	S	Ciprofloxacin	>= 4	R
Cefotaxime	8	*R	Norfloxacin		
Ceftazidime	4	S	Fosfomycin		
Cefepime	4	S	Nitrofurantoin		
Ertapenem			Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 20	S
Imipenem	<= 0.25	S			

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent

الشكل رقم (22) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 لبكتريا *A.baumannii* السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Acinetobacter baumannii complex

Source: **Collected:**

Comments:	

Susceptibility Information	**Analysis Time:** 8.77 hours	**Status:** Final

Antimicrobial	**MIC**	**Interpretation**	**Antimicrobial**	**MIC**	**Interpretation**
ESBL			Meropenem	<= 0.25	S
Ampicillin			Amikacin		
Amoxicillin/Clavulanic Acid			Gentamicin	<= 1	S
Piperacillin/Tazobactam	<= 4	S	Ciprofloxacin	<= 0.25	S
Cefotaxime	16	*R	Norfloxacin		
Ceftazidime	4	S	Fosfomycin		
Cefepime	4	S	Nitrofurantoin		
Ertapenem			Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 20	S
Imipenem	<= 0.25	S			

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent

الشكل رقم (23) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 لبكتريا *A.baumannii* السالبة لصبغة كَرام

Organism Quantity:
Selected Organism : Acinetobacter baumannii complex

Source: Collected:

Comments:	

Susceptibility Information	Analysis Time: 15.10 hours	Status: Final

Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL			Meropenem	<= 0.25	S
Ampicillin			Amikacin		
Amoxicillin/Clavulanic Acid			Gentamicin	>= 16	R
Piperacillin/Tazobactam	8	S	Ciprofloxacin	<= 0.25	S
Cefotaxime	8	*R	Norfloxacin		
Ceftazidime	4	S	Fosfomycin		
Cefepime	<= 1	S	Nitrofurantoin		
Ertapenem			Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	<= 20	S
Imipenem	<= 0.25	S			

*= AES modified **= User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent

الشكل رقم (24) رسم تخطيطي لتقرير نظام Vitek-2 لبكتريا *A.baumannii* السالبة لصبغة كَرام

Summary

Summary.

The current majors for bacteria *Acinetobacter baumannii* Gram-negative aerobes Which is one of the most common pathogens of contaminants DFU), Also, the sensitivity of bacterial isolates to the alcoholic extract of propolis (EEP) was highlighted as a natural antimicrobial substance compared to the used antibiotic, As well as knowing the rates of infection with this bacteria and the relationship of infection with age and sex.

The study included the collection of 50 samples of diabetic foot ulcers for patients after their diagnosis by the specialist doctor in Al-Kafeel Specialist Hospital in Karbala Governorate, for the period from September 2022 until February 2023, and the ages ranged between (35-69) years and for both sexes The samples taken from the air were cultured on the medium of Blood Agar and MaCconkey Agar, Biochemical tests were then conducted Vitek compact system-2 for bacterial diagnosis

The results of the current study showed that out of 76 isolates, 18 isolates were obtained, with a rate of 23.7% belonging to the group of Gram-positive bacteria two isolates of *Candida SP* with a percentage of 2 (2.6%), and 56 negative isolates for gram stain, with a percentage of 73.7%, is a bacterial isolate, which is the most isolated for infections of diabetic foot ulcers. It may be due to its resistance to many antibiotics and virulence factors such as Endotoxins, Biofilm.

The current study focused on the most common pathogen. The most included 16 isolates of *A. baumanni* bacteria, with a percentage of

21.1%. It was isolated from males (38, or 76%), and was not isolated from females.

The inhibitory effect of the crude alcoholic extract of propolis on *A. baumannii* was evaluated as follows for the five concentrations (25, 12.5, 50, 100, 150 mg/ml), respectively Diameters had inhibition (23.67, 19.33, 14, 10, 8.33) by two methods Well diffusion and disc diffusion and it was found that there is a direct relationship between the concentrations of propolis and the diameter of growth inhibition against Gram-negative bacteria *A.baumannii* compared with the Positive control Trimethoprim-sulfamethoxazole , As it was found that the largest diameter of growth inhibition was 23.67 mm, the concentration showed 150 mg / ml, while the concentration 12.5 mg / ml showed the least diameter of growth inhibition 8.33 mm, while the concentrations showed 100, 50, and 25 mg / ml in diameter. The 70% ethyl alcohol used as a diluent did not show any significant effect in this regard, while the antibiotic - Trimetheprim sulfamethoxazole at a concentration of (23.75µg/1.25) approved by the(CLSI) was recorded. 2022 The inhibition diameter is 14 mm.

As it was found from the statistical analysis, there is a significant difference at the level of probability 0.05 for the two concentrations of 100 mg / ml and 150 mg / ml on the antibiotic Trimetheprim sulfamethoxazole. While the synergistic effect of (EEP) with Dermacyn solution showed a clear inhibition of bacteria, and the results of the minimum inhibitory.

concentration (MIC) showed the lowest Minimum inhibitory concentration for *A. baumannii*, the concentration was 25 mg / ml. While the lowest lethalMinimum Bacteri concentration (MBC) was 100 mg/ml.

Summary

We conclude from the current study that the alcoholic extract of crude propolis had a positive effect on bacterial growth. The synergistic action of the extract with Dermacin solution was clear in inhibiting these bacteria.

It was also noted in this study the emergence or presence of the so-called double or concomitant infection in one of the isolates of *Acinetobacter baumannii*, the content of the study, it was found that polymicrobial infection caused by two or more disease-causing microorganisms or what is called co-infection increases the bacterial resistance to multiple drugs, including bacteria of the genus *Klebsiella* associated with *Acinetobacter baumannii*, which increased From its resistance to antibiotics, resistance was evident for all five concentrations of the alcoholic extract and the antibiotic used, while all isolates were sensitive to this antibiotic and all of them were single infections, and this is worrisome because it limits treatment options. Although this dual resistance is rare so far, it has been documented increasingly.

The incidence rates were also determined, as the results were distributed according to the age of patients between (35 and 65 years and over). The lowest incidence rate was among the age groups 55-64 (25%), while the highest incidence was among the age groups (35-44) and 65 and over (37.5%). The results showed that there is a clear significant difference in the percentage of infection in males higher than in females, where the p value was 0.00024**

It was also shown that there is no relationship to age with the rates of infection with this bacteria *A.baumannii*, which the current study

focused on. The results also showed that Which the current study focused on, and the results also showed that age has a relationship with the rate of infection rates for all species that were dealt with in this study, and it included the highest infection rate for the age groups ranging between (55-64), where the p value was 0.048* We conclude that the Gram-negative aerobic bacterial species isolated from diabetic foot ulcers have the highest percentage of other infections, and most of them are of the multidrug-resistant type and are characterized by an unpleasant odor, which indicates the importance of these species in the severity of diabetic foot infections, and that the infection rates in males are higher than in females, and this indicates However, males are more likely to develop diabetic foot ulcers, which may be due to the nature of their work, personal hygiene, male gender, and high diabetes. Therefore, many studies in this field of research are required.

Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Kerbala
College of Education for Pure Science
Department of Biology

Antibacterial Activity of Alcoholic Propolis Extract on *Acinetobacter baumannii* isolated from Diabetic Foot Ulcer

A thesis

submitted to the council of the College of Education for Pure Science University of Kerbala in partial fulfillmment of the requirement for the degree of Master of Biology – Zoology

By Written

Huda Mohammed Saleh

B.Sc. Biology / University of Kerbala 2011

Supervised by

Assist. Prof. Dr. Hiyame.Abdul Ridha Al – Awade

1445 A. H . **2023 A. D**