

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي ،عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي* ،عباس عبود فرحان** و زويدة كاظم خضير***

*قسم علوم الحياة-كلية العلوم
**قسم علوم الحياة-كلية التربية للعلوم الصرفة
***معهد تقني بعقوبة

الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة عزل و تشخيص بعض انواع البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل من خلال فحص 410 عينة (مسحات مهبلية) من نساء حوامل ، غير حوامل ، عقيمت ترولحت أعمارهن من (15-65) سنة في مدينة بعقوبة وضواحيها يعانون من التهاب المهبل للفترة 2015/9/1 لغاية 2015/12/31م. بينت النتائج ارتفاع نسبة الإصابة لدى النساء الحوامل إذ شكلت نسبة 65% بينما نسبة الإصابة لغير الحوامل و العقيمت كانت 30%، 5% على التوالي، اخضعت العزلات للفحوصات الكيموحيوية والبكتريولوجية إذ تبين ان بكتريا *Escherichia coli* 24% تليها *Protease mirabilis* بنسبة 20%، وتم تأكيد التشخيص باستخدام نظام VITEK2، أوضحت نتائج التحري عن بعض عوامل الضراوة لعزلات *Escherichia coli* وعزلات *Proteus mirabilis* ان العزلات منتجة للهيموليسين بنسبة 65%، 90% على التوالي، أما فيما يخص انتاج انزيمي اليوريز و البروتيز فقد إظهرت النتائج قابلية عزلات *Proteus mirabilis* لأنزيم اليوريز بنسبة 100% و 45% لأنزيم البروتيز أما عزلات *Escherichia coli* فكانت غير منتجة لكلا الانزيمين، أوضحت الدراسة الحالية على قدرة التصاق عزلات *Escherichia coli* بالخلايا الطلائية البولية وبنسبة 100% بينما التصاق *Proteus mirabilis* بنسبة 85%. حدد التركيز المثبط الأدنى MIC ل6 من مضادات الحياة وهي Tetracycline، Gentamycin ، Cefotaxim، Ampicillin، Amikacin، Amoxicillin من 32-1024، 4-128، 4-64، 4-512 مكغم/مل على التوالي. حدد التركيز المثبط الأدنى MIC لكل من اليود الكحولي 10% Povidone Iodine والكوروزايلينول (الديتول) 3% وقد تراوحت التراكيز من 50، 100، 200، 300، 400، 500 مكغم/مل على التوالي. اختبرت حساسية العزلات الجرثومية قيد الدراسة تجاه (13) مضاد حياتي، أظهرت جميع العزلات مقاومة لمضادي Ampicillin و Amoxicillin وبنسبة 100%، اما بالنسبة للمضادين Amikacin، Gentamycin فقد كانت نسبة المقاومة 12.5%، 16.6%، وأن Imipenem هو المضاد الحياتي الأكثر تأثيرا على العزلات قيد الدراسة و بنسبة 100%.

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي ، عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

بينت النتائج ان خلط المضاد Gentamycin و المحلول المطهر Povidone Iodine 10% يثبط التصاق البكتريا بالخلايا الطلائية.

الكلمات المفتاحية: التهاب المهبل البكتيري، عوامل الضراوة، البكتريا السالبة لملون غرام

Bacteriological Characterization OF Some Gram Negative Bacteria Isolated From Vaginal Infections

Hadi R Rasheed AL-Taai*, Abass A. Frhan** and Zwiida K. Khadur***

*Biology department - College of Science - Diyala University

**Biology department-College of Education for pure Science - Diyala University

***Baquba medical Institute - Middle Technical

Received 28 September 2016 ; Accepted 25 January 2017

Abstract

This study included collection 410 samples of vaginal swabs from patients woman's in hospitals of Baquba city for the period from 1/9/2015 to 31/12/2015. The results showed that the highest percentage of vaginitis in pregnant woman (65%) than in both nonpregnant and nonfruitl (30%, 5%) respectively. The results refer that (24%) *Escherichia coli*, (20%) *Proteus mirabilis* by using diagnostic phenotypic, biochemical test and confirm the diagnosis using VITEC 2 analyser. The results of the investigation of some virulence factors showed the isolates of *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* produce of haemolysin with percentage (50%) and (90%) respectively. The results showed that all isolates of *Proteus mirabilis* were produced urease by (100%), while the results detect that the isolates of *Escherichia coli* is not able to produce this enzyme. The results showed that isolates of *Proteus mirabilis* produced protease by (45%), while *Escherichia coli* have not ability to produce this enzyme. Results showed that all isolates of *Escherichia coli* have ability to adhesion surface of epithelial cells of human by (100%), while the isolates *Proteus mirabilis* showed ability to adhesion by (85%). The minimum inhibitory concentration MIC for 6 antibiotics, that Ampicillin,

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي ،عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

Amoxicillin ,Amekacin ,Cefotaxime,Gentamycin ,Tetracyclin was determined .The MIC values of these antibiotics ranged between $(512-1025 \geq)$, $(32-1024 \geq)$, $(4-64)$, $(8-1024)$, $(4-128)$, $(4-512) \mu\text{ml}$, respectively. The minimum inhibitory concentration MIC for disinfectant povidone iodine 10%, chloroxyzlenol 3% $(50,100,200,300,400,500) \mu\text{ml}$, respectively. Results Combination antibiotic Gentamycin and disinfectant povidone iodine 10% reduced the ability of isolates for adherence. The results showed averiance as far their resistance to these antibiotics of *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* showed highest resistance rate 100% for Ampicillin and Amoxicillin.

Key word: Bacterial Vaginosis, Virulence Factor, Gram negative bacteria

المقدمة

يعد التهاب المهبل البكتيري جزء من عدوى الجهاز التناسلي *Rproductive tract infection* (RTI) وهو أحد اهم الأمراض التناسلية الانثوية وأكثرها شيوعاً لدى النساء في عمر الأنجاب (Mckinny, 2007). تلعب التغيرات الهرمونية الحاصلة في المهبل دوراً كبيراً في النبيت الطبيعي الموجود في المهبل، إذ يعد المستوى الطبيعي لهرمون الاستروجين ضرورياً للمحافظة على توازن المهبل ومقاومته للأمراض الجرثومية (Valenzea وآخرون، 2010). ويشكل التهاب المهبل البكتيري أحد اهم المشاكل الحقيقية لدى الام الحامل إذ يؤدي الى مضاعفات صحية خطيرة مثل الاسقاط وولادة مبكرة و التهاب السائل الأمنيوسي المحيط بالجنين وتمزق الغشاء الجنيني المبكر وقلة وزن الجنين عند الولادة (Giaraldo وآخرون، 2012)، مما يؤدي الى ارتفاع معدل وفيات الأجنة قبل الولادة (Briery وآخرون، 2011). وتشير الدراسات الى إن 300 مليون امرأة في العالم تعاني من التهاب المهبل البكتيري و الإصابة بالخمائر و داء المشعرات لكن التهاب المهبل البكتيري هو الإصابة الأكثر شيوعاً الذي يصيب الاناث بعمر البلوغ الجنسي (Rathod وآخرون، 2011). تعد البكتريا السالبة لملون غرام من أفراد العائلة المعوية أحد الاسباب الرئيسية لالتهاب المهبل البكتيري إذ تضم الكثير من الأنواع البكتيرية المخمرة للسكر و غير المخمرة (Alikhani وآخرون، 2013). تمتلك البكتريا السالبة لملون غرام العديد من عوامل الضراوة منها انتاج انزيمات بيتالاكتاميز (Boussoualim وآخرون، 2014). كذلك انتاج اليوربيز و الهيمولايسين و الغشاء الحيوي والبكتريوسينات (AL-Chrakh، 2011). تلعب المحاليل المطهرة دوراً مهماً في قتل الخلايا البكتيرية الهدف (Lee وآخرون، 2012). وأن عملية خلط المضادات الحياتية مهمة جداً وذات تأثير تآزري في علاج الكثير من الاخماج (Aflayan و Olajuyigbe، 2012). أصبحت مقاومة المضادات الحياتية مشكلة عالمية ومصدر قلق متزايد على صحة الانسان (Aboh وآخرون، 2013)، تشير الدراسات أن (10) مليون وفاة سنوياً سببها مقاومة

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي ،عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

البكتريا وتتجاوز الوفيات بسبب البكتريا عدد الوفيات بسبب السرطانات في عام 2050 (O' neill،2014) و لاهمية هذا الموضوع جاءت هذه الدراسة لتسلط الضوء على اهم الانواع البكتيرية المسببة لالتهابات المجاري البولية.

المواد و طرائق العمل

جمع العينات

جمعت 410 مسحة مهبلية من نساء حوامل و غير حوامل وعقيمات تراوحت أعمارهن ما بين (15-65) سنة يعانين من اعراض وعلامات سريرية لألتهاب المهبل في مستشفى البتول للولادة والاطفال التعليمي في مدينة بعقوبة للفترة من 1/9/2015 لغاية 31/12/2015 جمعت العينات عن طريق أخذ (2)مسحة مهبلية Vaginal swabs باستخدام مسبار طبي Speculum معقم (لمنع تلوث المسحة خلال مرورها بالجزء السفلي من المهبل) بوساطة مسحة قطنية معقمة Sterile cotton swab جاهزة تدخل بهدوء وتحرك بحركة دورانية بلطف لمدة 5-10 ثواني للسماح بامتصاص القيح والسوائل الأخرى (عيدان و اخرون،2014). ووضع المحلول الفسلجي بمقدار (1) مل في احدى المسحات لكونه مادة حافظة تساعد على استمرار بقاء البكتريا مدة طويلة وتسمى المسحة الرطبة . اما باقي المسحات تركت بدون اضافة المحلول وتسمى المسحة الجافة (AI-Habib واخرون،2005). زرعت العينات (المسحات المهبلية) بشكل مباشر على وسط أكار الدم وسط أكار الماكونكي و وسط الأيوسين مثلين الأزرق ، و تم تنقية العزلات على وسط الماكونكي أكار بطريقة التخطيط و حضنت كافة الأطباق هوائياً بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة، أجري بعدها الفحوصات التشخيصية المظهرية و الكيموحيوية للعزلات قيد الدراسة.

التحري عن بعض عوامل الضراوة في البكتريا:

التحري عن أنتاج الهيموليسين Haemolysin Production

تم الكشف عن قابلية العزلات البكتيرية قيد الدراسة على إنتاج الهيموليسين من خلال زرع هذه العزلات على وسط أكار الدم،حضنت الأطباق بعد التلقيح بالحاضنة على درجة حرارة (37) م ولمدة (24) ساعة،قرأت النتائج بملاحظة نوع التحلل (Atlas و اخرون،1995).

اختبار أنتاج أنزيم اليوربيز Urease Production Test:

لقت الأنابيب الحاوية على وسط أكار اليوريا،بطريقة الطعن و التخطيط على المائل ثم حضنت بدرجة حرارة (37) م و لمدة (24) ساعة تحول لون الوسط إلى اللون الوردي دليل أن النتيجة موجبة (Colle,1996).

اختبار انتاج البروتيز Protease enzyme production test:

تم الكشف عن قدرة العزلات البكتيرية قيد الدراسة على انتاج الانزيم الحال للبروتين حيث لقع وسط اكار الحليببالعالق البكتيري للعزلات بطريقة الحفر ،حضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة،بعدها قرأت النتائج بظهور مناطق شفافة حول الحفر دليلا على أن النتيجة موجبة ،عدم ظهورها يدل على أن النتيجة سلبية (Senior,1999).

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي، عباس عبود فرحان و زويده كاظم خضير

اختبار الالتصاق بالخلايا الطلانية :

أجري الاختبار بأخذ (0.5) مليلتر من المزرع البكتيري بعمر (24) ساعة و أضيف الى (0.5) مليلتر من عالق الخلايا الظهارية ، ثم مزج الخليط و حضن بدرجة حرارة (37) م لمدة ساعة واحدة مع التحريك كل (10) دقائق . غسلت الخلايا الظهارية (4) مرات بالمحلول الملحي الفسلجي مع الطرد المركزي في كل مرة للتخلص من الجراثيم غير الملتصقة . أخذت قطرة من العالق النهائي على شريحة زجاجية و تركت لتجف في درجة حرارة الغرفة (25) م و ثبتت الشريحة بحرارة اللهب و صبغت بصبغة غرام و لوحظت نتائج الالتصاق باستخدام العدسة الزيتية و أستخدم المحلول الملحي الفسلجي مع الخلايا الظهارية كسيطرة (Iwahi و اخرون، 1983). مقاومة البكتريا للمضادات الحياتية تزيد من امراضيتها و في نفس الوقت تسبب خطراً حقيقياً على الصحة العامة للمجتمع (Melnyk و اخرون، 2014)، إذ تحدث مقاومة المضادات الحياتية عندما تتحول الخلية البكتيرية الحساسة لمضاد حياتي معين الى مقاومة له و يحدث ذلك نتيجة حدوث طفرة وراثية في الكروموسوم او اكتساب جينات مقاومة من مصادر خارجية بواسطة البلازميدات او بواسطة جينات قافزة تكتسب من جينات موجودة بالوسط (Odumous و أخرون، 2013). ان الاستعمال المتكرر للمضادات الحياتية عند حدوث الإصابة و استعمال الدواء بشكل عشوائي ادى الى زيادة مقاومة الممرضات للمضادات الحياتية وخصوصا في عدوى المستشفيات (Alam و اخرون، 2014).

تحديد التركيز المثبط الادنى للمضادات الحياتية التالية :

استعملت طريقة التخفيف المتضاعفة المتسلسلة Double Dilution Method Serial لحساب التركيز المثبط الادنى لعدد من المضادات الحياتية في وسط مولر - هنتون الصلب اعتمادا على ما ورد في (Ridgway و Stocks، 1987) و كما يلي:

- حضرت تراكيز متسلسلة متضاعفة تراوحت قيمها ما بين 0.5 - 1024 مايكرو غرام / مل لكل من المضادات الحياتية التالية، Ampicillin, Amoxicillin , Amikacin , Cefotaxime , Gentamycin, Tetracycline، بإضافة نسب مختلفة من هذه المضادات من محاليلها الخزينة المحظرة مسبقا المذكورة إلى وسط مولر- هنتون المعقم و المبرد إلى 50م.
- رُجت الأوساط جيدا بعد اضافة المضاد الحياتي ، و صببت في أطباق معقمة ، و حفظت بدرجة حرارة 4م في الثلاجة لحين الاستعمال و استعملت خلال 24 – 48 ساعة.
- حضرت التخفيف العشرية 10^2 لمزارع البكتريا كافة باستعمال المحلول الملحي الفسلجي المعقم.
- سُحب 5 مايكرو ليتر من التخفيف 10^2 بواسطة ماصة دقيقة و أُنحت الاوساط الزرع الحوية على المضادات الحياتية به.
- كررت العملية للمزارع كافة بالتسلسل (مكررين للتسلسل الواحد)، و تركت الأطباق لمدة في درجة حرارة الغرفة لتجف القطرات قبل قلب الأطباق، و حضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة.

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي، عباس عبود فرحان و زويذة كاظم خضير

6. حُسب التركيز المثبط الأدنى MIC على أنه أقل تركيز من المضاد الحيائي الذي يمنع ظهور النمو البكتيري بعد حضانة 18-24 ساعة بدرجة حرارة 37م.

تم مقارنة النتائج مع نقطة التوقف Break Point وتمثل أقل تركيز يمكن ان يصله المضاد في المصل ليعطي أعلى فعالية و بعده يصبح مقاوماً.

تحديد التركيز المثبط الأدنى للمحلول المطهر اليود الكحولي (10% Povidone iodine) و المحلول المطهر كلوروزايلينول (ديتول) 3% :

حدد التركيز المثبط الأدنى للمطهرين PovidoneIodine10% و المطهر كلوروزايلينول باستعمال طريقة التخفيف بالأكار و حسب ما ورد في (CLSI, 2011) وكما يلي:

حُضرت تراكيز مختلفة من المطهر Povidone Iodine 10% ما بين (500,400,300,200,100,50) مايكروغرام/مل و اضيفت إلى وسط مولر- هنتون الصلب المعقم و المبرد إلى درجة حرارة 50م، رُجت الأوساط جيداً و صببت في أطباق معقمة و حفظت في درجة حرارة الثلجة لحين الاستعمال، حُضرت تخافيف عشرية من المزارع البكتيرية باستعمال المحلول الملحي الفسيولوجي المعقم و قورنت عكورته مع محلول ثابت العكرة القياسي Macfarland، سُحِب 5مايكروليتر من العالق البكتيري و زرع على الأوساط الحاوية على تراكيز مختلفة من المحاليل المطهرة أعلاه، و تركت لمدة معينة في درجة حرارة الغرفة لتجف القطرات قبل قلب الأطباق،بعدها حضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة، و حدد التركيز المثبط الأدنى على أنه أقل تركيز من المادة يمنع ظهور النمو البكتيري،قورنت النتائج مع السيطرة.

تشبيط الالتصاق البكتيري بواسطة التركيز تحت المثبط الأدنى (Sub MIC) للمضاد الحيائي Gentamycin و المحلول المطهر 10% Povidone iodine بحسب ما ورد في (Stock و Ridgway, 1987) وكما مبين أدناه:

تم تحضير مجموعة من الانابيب تحتوي على وسط مرق نقيع القلب و الدماغ السائل و الذي يحوي على تحت التركيز (Sub MIC) لكل من المضاد الحيائي Gentamycin تراوحت ما بين 2-32 مايكروليتر/مل و المحلول المطهر اليود الكحولي 10% Povidone iodine تراوحت قيمتها ما بين (5-40) مايكروليتر/مل،لقحت الانابيب بمزروع بكتيري لعزلات *Escherichia coli* و *Proteusmerabilis* بعمر 24ساعة،حضنت الانابيب الملقحة بالحاضنة على درجة حرارة 37م و لمدة 24ساعة،بعد انتهاء الحضان اجري اختبار الالتصاق البكتيري،السيطرة اجريت باستعمال العزلات المنتخبة المنماة في وسط مرق نقيع القلب و الدماغ السائل الخالي من تحت التركيز للمضاد الحيائي و المحلول المطهر اعلاه.

فحص الحساسية للمضادات الحيائية Antibiotic Susceptibility test:

استعملت طريقة Bauer and Kerby القياسية لاختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيائية (Vandepitte و اخرون، 1991) و كالتالي:

استعملت طريقة Bauer and Kerby القياسية لاختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيائية

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي، عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

1. لقمح 5 من وسط المرق المغذي ب 2-3 مستعمرات من مزارع بكتيرية نقية بعمر 24 ساعة.
2. رجت الانابيب جيدا، وحضنت بالحاضنة بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة.
3. قورنت عكورة النمو بعكورة المحلول ثابت العكرة لاعطاء عدد تقريبي مساوي 1.5×10^8 خلية/ملز
4. نقل 0.1 مل من العالق البكتيري و نشر على وسط اكار مولر-هنتون، ترك لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة الغرفة لحين جفاف المزروع.
5. نقلت اقراص المضادات الحيوية الى سطح الوسط الزراعي بواسطة ملقط معقم بمعدل 6-7 اقراص لكل طبق.
6. حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م لمدة 18-24 ساعة.
7. قيست اقطار مناطق التثبيط حول كل قرص، عدت عدد البكتريا الحساسة (S) أو مقاومة (R) أو متوسط (I) حسب المواصفات القياسية في (PSAST, 2013).

جدول (1) المضادات الحيوية ورمزها وتراكيزها

تركيز القرص Mg/ml	الرمز	المضاد الحيوي
10	AMP	Ampicillin
10	AMX	Amoxicillin
30	AZT	Aztreonam
30	AK	Amikacin
5	CIP	Ciprofloxacin
5	CFM	Cefepime
30	CTX	Cefotaxime
10	GEN	Gentamycin
10	IMP	Imipenem
300	NIT	Nitrofurantoin
30	NA	Nalidixic acid
5	TR	Trimethoprim
30	TET	Tetracycline

النتائج و المناقشة

العزل: Isolation:

اظهرت نتائج النمو الجرثومي 180 عينة (43.90%) نموًا سلبيًا للزرع البكتيري و 230 عينة (56.10%) نموًا موجبًا للزرع البكتيري من اصل 410 مسحة مهبلية، من نساء مصابات بالتهاب المهبل (حوامل، غير حوامل، عقيمات)، تم الحصول على 100 عينة من البكتريا السالبة و الموجبة لصبغة غرام من مجموع (230) عينة أظهرت نموًا موجباً . و كما مبين في الجدول (1) وبنسبة 24 عزلة (*E.coli* 24%) و 20 عزلة (*P.mirabilis* 20%)، أخذت من نساء مريضات حوامل، غير

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي ، عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

حوامل، عقيمات في استشارية وصلات الولادة و ردهات النسائية في مدينة بعقوبة للفترة من 2015/9/1 لغاية 2015/12/31.

جدول (2) العزلات البكتيرية المعزولة من المهبل ونسبها المنوية

النسبة المنوية	عدد العزلات	الانواع البكتيرية
24%	24	<i>Escherichia coli</i>
20%	22	<i>Proteus mirabilis</i>
100%	100	المجموع

توزيع الاصابة بين النساء المريضا:

بينت نتائج الدراسة الحالية ان التهاب المهبل البكتيري يشكل أعلى نسبة في النساء الحوامل مقارنة عند غير الحوامل و العقيمات إذ كانت (65) حالة موجبة للزرع البكتريولوجي بنسبة (65%) عند النساء الحوامل بينما كانت (30) حالة موجبة بنسبة 30% لغير الحوامل و (5) حالة موجبة بنسبة (5%) لنساء عقيمات وكما مبين جدول (2).

جدول (3) الاعداد و النسب المنوية لالتهاب المهبل البكتيري عند النساء الحوامل و غير الحوامل و العقيمات

النسبة المنوية	عدد العينات الموجبة	عدد العينات	عدد المريضا	المجموعة
65%	65	170	200	نساء حوامل
35%	35	100	150	نساء غير حوامل
5%	5	30	60	عقيمات
100%	100	300	410	المجموع الكلي

ان الاصابات البكتيرية شكلت النسبة الاكبر في اصابات المهبل عند النساء الحوامل ، وقد يعود الى التغيرات التشريحية و الوظيفية وصعوبة المحافظة على النظافة الشخصية خلال فترة الحمل مما يرفع من خطر الاصابة بأخماج المسالك البولية التناسلية (Marelli و اخرون 2008).

توزيع الاصابات حسب الفئات العمرية:

تراوحت أعمار النساء التي شملتها الدراسة ما بين (15-65) سنة و تم توزيعها الى (5) فئات عمرية. جدول (3) إن أعلى نسبة إصابة كانت في الفئة العمرية الثانية بنسبة (45%) و من ثم تليها الفئة العمرية الاولى بنسبة (25%) و من ثم الفئة العمرية الثالثة بنسبة (15%) و من ثم الفئة العمرية الرابعة بنسبة (10%) أما الاعمار من عمر 56-65 سنة فما فقد شكلت أوطأ نسبة للإصابة وهي (5%).

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي ،عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

جدول (4) الاعداد و النسب المنوية للإصابات المهبلية حسب الفئات العمرية للنساء المراجعات

النسبة المنوية	عدد العينات المفحوصة	الفئات العمرية بالسنين
% 25	25	25-15
% 45	45	35- 26
% 15	15	45- 36
%10	10	55-46
% 5	5	65 -56
%100	100	المجموع الكلي

ان سبب ارتفاع نسب الاصابات المهبلية في الفئتين العمريتين (25-15) و (35-26) سنة، وهذا قد يعود الى ان هذه الاعمار تمثل السنين المبكرة للزواج التي يزداد فيها النشاط الجنسي، فضلاً عن وصول الهرمونات التكاثرية إلى أعلى مستوياتها، والتغيرات الفسلجية و الكيميائية التي تحصل في جسم المرأة بهذه المرحلة من عمر المرأة أما بالنسبة للأعمار المتقدمة من سن (45) فما فوق حيث يقل النشاط الجنسي و يعود الاس الهيدروجيني pH للمهبل إلى الحامضية المنخفضة (2010,AANP).

حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية

قد أظهرت النتائج تبايناً واضحاً في مدى أستجابة العزلات قيد الدراسة للمضادات المستعملة. إذ كانت جميع عزلات بكتريا *E.coli* مقاومة للمضاد الحيوي Ampicillin بنسبة 100%، أما بالنسبة للمضادات Cefepime، Cefotaxime، Aztreonem كانت بنسبة (54.1%)، (83%)، (75%) على التوالي، أما بالنسبة لعزلات بكتريا *P.mirabilis* فقد كانت نسبة مقاومتها للمضاد الحيوي Ampicillin بنسبة 100%. أما بالنسبة للمضاد الحيوي Amoxicillin فقد كانت نسبة مقاومة العزلات البكتيرية *E.coli* و *P.mirabilis* بنسبة 100%. أما بالنسبة لمضادات المجموعة الأمينوكلايكوسيدية Gentamycin، Amikacin فكانت نسبة المقاومة لعزلات بكتريا *E.coli* (12.5%)، (16.6%) على التوالي. و يستعمل المضاد الحيوي Gentamycin في الجراثيم السالبة لملون غرام و خصوصاً المسببة لالتهاب المسالك البولية – التناسلية إذ تكون حساسة له (Brooks و اخرون، 2010) و يعتبر من النوع القاتل للجراثيم Bactericidal. أما بالنسبة لمضادات مجموعة الكوينولونات المفلورة، المضاد الحيوي Ciprofloxacin فقد كانت نسبة المقاومة (12.5%)، أما للمضاد الحيوي Trimethoprim بلغت نسبة المقاومة له 79.1%. أما بالنسبة للمضادان الحيويين Nitrofurantoin و Imipenem فقد كانت نسبة المقاومة للمضاد الحيوي Nitrofurantoin بنسبة (16.5%)، أما

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي ،عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

بخصوص المضاد الحياتي Imipenem فقد كانت نسبة المقاومة 0%. اما بالنسبة للمضاد الحياتي Nalidixic acid فقد كانت نسبة مقاومة عزلات بكتريا *E.coli* 54.2%. اما بالنسبة للمضاد الحياتي Tetracycline فقد كانت نسبة المقاومة 53%. أما فيما يخص حساسية بكتريا *P.mirabilis* فقد كانت المقاومة لمضادات Ampicillin و Aztreonam و Cefotaxim و Cefepime (100%)، (75%)، (85%)، (80%)، يعد انتاج انزيمات البيتا لاكتاميز-β (lactamases) من آليات المقاومة للمضادات الحياتية التي تقف بالمرتبة الاولى و باتت تشكل مشكلة تهدد قطاع الرعاية الصحية و الصحة العامة في انحاء واسعة من العالم (Chuma و اخرون، 2013) وتدعى الجينات المشفرة لهذه الانزيمات *bla genes* وقد تكون محمولة بلازميديا او كروموسوميا (Smet و اخرون، 2010). أما المضاد الحياتي Imipenem فقد كانت نسبة المقاومة له 0%. أما بالنسبة لمضادات المجموعة الامينوكلايوسيدية Gentamycin و Amikacin فقد كانت نسبة المقاومة (30%)، (25%) على التوالي ، أما بالنسبة لمضادات مجموعة الكوينولونات المضاد الحياتي Ciprofloxacin بلغت نسبة المقاومة (10%)، و فيما يخص المضاد الحياتي Trimethoprim فقد بلغت نسبة المقاومة (50.2%)، أما بالنسبة للمضاد الحياتي Nitrofurantoin فقد كانت نسبة المقاومة 20%. اما بالنسبة للمضاد الحياتي Tetracycline فقد بلغت نسبة مقاومة العزلات البكتيرية للمضاد 55%.

الجدول (5) يوضح النسب المئوية لحساسية العزلات قيد الدراسة للمضادات الحيوية المختلفة

<i>P.mirabilis</i>			<i>E.coli</i>			المضادات الحيوية
R	I	S	R	I	S	نوع المضاد الحياتي
%100	0	0	%100	0	0	Ampicillin
%75	%10	%15	%54.2	%12.5	%33.3	Aztreonam
%85	%10	%5	%83	%13	%4	Cefotaxime
%80	%14.6	%5.4	%75	%17	%8	Cefpime
%30	%0	%70	%12.5	%4.1	%83.4	Gentamycin
%25	%5	%70	%16.5	%12.5	70.9%	Amikacin
%10	%5	%85	%12.5	%4.1	%83.4	Ciprofloxacin
%50	%5	%45	%79.1	%4.1	%16.9	Trimethoprim
%0	%0	%100	%0	%0	%100	Imipenem
%20	%10	%70	%16.6	%12.5	70.9	Nitrofurantoin
50%	%15	%35	%55	%12.3	%32.7	Nalidixic acid
%55	%15	%30	%53	%12	%35	Tetracyclin
%100	0	0	%100	0	0	Amoxicillin

Resistance =R ، Intermediate =I، Sensitive=S

انتاج الهيمولايسين:

أظهرت النتائج ان عدد عزلات بكتريا *E.coli* المنتجة لانزيم الهيمولايسين بصورة عامة (12) عزلة بنسبة (50%) بينما عدد عزلات *P.mirabilis* المنتجة لانزيم الهيمولايسين (18) و بنسبة (90%). ان افراز السموم كالهيمولايسين يسبب تلف في

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي ،عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

انسجة العائل و احداث الامراضية وتكون باتجاهات مختلفة كأن تكون مباشرة عن طريق تحليل كريات الدم الحمراء و تحرير الهيموكلوبين و المواد مهمة لنمو وتكاثر العائل (Wiles و اخرون 2008).

إنتاج أنزيم اليوريز (Urease production)

بينت نتائج الدراسة الحالية أن بكتيريا *P. mirabilis* لها القابلية على أنتاج هذا الأنزيم بنسبة 100) اما بكتيريا *E.coli* فقد كانت غير منتجة لهذا الانزيم اشار (Friedrich و اخرون 2005) في دراسة لهم ان عزلة واحدة من مجموع 58 عزلة لبكتيريا *E.coli* كانت منتجة لهذا الانزيم وان الانتاج غير معروف السبب

انزيم البروتيز Protease enzyme

أظهرت نتائج الدراسة الحالية قدرة عزلات بكتيريا *P. mirabilis* على انتاج الانزيم الحال للبروتين وبنسبة (45%) . في حين ان عزلات بكتيريا *E.coli* غير قادرة على انتاج هذا الانزيم.

قابلية العزلات بكتيرية على الالتصاق بالخلايا الطلانية

اظهرت عزلات بكتيريا *E.coli* وبالبالغ عددها (24) عزلة قابلية الالتصاق بالخلايا الطلانية اي بنسبة (100%) . أما بكتيريا جنس المنقلبة *P. mirabilis* فقد كان عدد العزلات البكتيرية القادرة الالتصاق بالخلايا الطلانية (17) عزلة بنسبة (85%) يبدأ الالتصاق عندما تقوم البكتيريا بتثبيت نفسها و التكاثر وتكوين نمو عديد الطبقات (Mulcahy و اخرون 2011) .

جدول (6) عوامل الضراوة

عوامل الضراوة	الهيمولايسين	اليوريز	البروتيز	الالتصاق
العزلات البكتيرية	18(90%)	20(100%)	9(45%)	17(85%)
<i>Proteus mirabilis</i>				

تحديد التراكيز المثبطة الدنيا (MICs) لعدد من المضادات الحيوية للعزلات البكتيرية قيد الدراسة:

تشير النتائج في الجدول (6) إلى أن قيم التراكيز المثبطة الدنيا MICs للمضاد الحياتي Aoxicillin تراوحت ما بين (1024 - 1024) مايكروغرام /مل لعزلات بكتيريا *P.mirabilis* و تراوحت ما بين (<32 - 1024) مايكروغرام /مل لعزلات بكتيريا ، أما بالنسبة للمضاد الحياتي Ampicillin تشير الدراسة الحالية إلى أن قيم MICs لعزلات بكتيريا *E.coli* تراوحت ما بين (1024 – 512) مايكروغرام / مل و (<1024 - 1024) لعزلات بكتيريا *P.mirabilis* أما بالنسبة للمضاد الحياتي Cefotaxime فقد سجلت قيم MIC ما بين (8–1024) مايكروغرام / مل لعزلات بكتيريا *E. coli* و (4 – 1024) مايكروغرام/ مل لعزلات *P.mirabilis*، قد يعود سبب مقاومة العزلات البكتيرية لمجموعة المضادات

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي ،عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

الحياتية البنسلينات Penicillins و السيفالوسبورينات Cephalosporines إلى الإنتاج العالي للجراثيم لانزيمات بيتا لكتاميز الكروموسومية و البلازميدية معا التي تعمل على ابطال فعالية هذه المضادات عن طريق كسر حلقة البيتا لكتام الموجودة في كلا المجموعتين (Bush و Jacoby، 2010). أما بالنسبة للمضادين الحياتيين Gentamycin و Amikacin فقد كانت قيم MICs (4 – 128) مايكروغرام/مل لعزلات بكتريا *E. coli* و (4 – 64) مايكروغرام/مل لعزلات بكتريا *P. mirabilis* ، أما بالنسبة للمضاد الحياتي Tetracycline فقد كانت قيم MICs (8 – 512) مايكروغرام/ مل لعزلات بكتريا *P. mirabilis* و (4 – 512) مايكروغرام /مل لعزلات *E. coli*.

جدول رقم (7) قيم التراكيز المثبطة الدنيا لبعض المضادات الحياتية للعزلات البكتيرية قيد الدراسة

TET	AK	CTX	GEN	AMP	AMX	المضاد العزلة
≥8	≥64	≥64	≥16	≥8	≥16	نقطة التوقف
512	4	8	128	1024	≤1024	E1
256	128	16	128	1024	≤1024	E2
512	128	1024	32	1024	<1024	E3
256	128	1024	128	1024	<1024	E4
128	128	128	128	1024	<1024	E5
512	64	512	64	1024	1024	E6
128	128	1024	64	1024	1024	E7
512	128	64	16	1024	1024	E8
256	32	32	32	1024	1024	E9
128	4	1024	32	1024	1024	E10
512	64	1024	128	1024	1024	E11
64	128	8	128	1024	1024	E12
32	128	64	128	1024	1024	E13
16	16	1024	128	512	1024	E14
8	8	1024	128	1024	1024	E15
4	128	024	128	1024	1024	E16
512	64	512	64	1024	1024	E17
512	64	256	32	1024	1024	E18
512	128	256	128	1024	1024	E19
256	32	1024	128	1024	1024	E20
512	64	1024	16	1024	1024	E21
256	128	1024	8	1024	1024	E22
512	128	512	32	1024	1024	E23
512	128	512	32	≤1024	1024	E24

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي ، عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

512	4	1024	8	1024	1024	P25
256	16	1024	16	≤1024	1024	P26
256	8	4	32	1024	1024	P27
512	64	512	32	1024	1024	P28
512	64	1024	32	≤1024	1024	P29
8	64	1024	64	1024	1024	P30
16	32	256	64	1024	1024	P31
32	32	128	4	1024	1024	P32
64	32	1024	18	1024	1024	P33
512	64	64	8	1024	1024	P34
128	64	1024	32	1024	1024	P35
128	16	512	64	1024	1024	P36
512	64	32	4	1024	32	P37
256	64	1024	16	1024	1024	P38
16	64	512	32	1024	1024	P39
256	32	1024	32	1024	1024	P40
32	4	256	64	1024	1024	P41
64	8	16	64	1024	1024	P42
512	16	1024	64	1024	1024	P43
256	32	4	64	1024	1024	P44

E-E.coli, *P-P.mirabilis*, AMX-Amoxicillin, AMP-Ampicillin, GEN-Gentamycin, CTX-Cefotaxime, AK-Amikacin, TET-Tetracyclin

قياس التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمحلول المطهر اليود الكحولي 10% Povidone iodine والمحلول المطهر كلوروزايلينول (الديتول) 3%:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية كما في الجدول (8) أن قيم MIC التي اظهرتها العزلات *E.coli* و *P.mirabilis* لليود الكحولي 10% Povidone Iodine تراوحت ما بين (50-500) مايكروغرام /مل ، و أظهرت جميع العزلات قيد الدراسة مقاومتها لمحلول كلوروزايلينول 3% إذ بلغت قيم MIC مساو الى 500 مايكروغرام/ مل. إما قيم الـ MICs للكلوروزايلينول (الديتول) فقد كانت (500) مايكروغرام/ مليلتر..

ويمكن تفسير عدم عمل المحلول المطهر الكلوروزايلينول (الديتول) إلى الاستعمال المستمر وبشكل عشوائي وتراكيز غير محسوبة أدى إلى حدوث طفرات ، وهذه الطفرات قد تكون غيرت في تركيب القنوات البروتينية المعروفة بالبورينات (Porins) او تغير في تركيب الجدار الخلوي للخلية البكتيرية مما سبب في الحد من دخول الكثير من المضادات الحياتية إلى داخل الخلية ومنعها من الوصول إلى الموقع الهدف الذي تعمل عليه، أو قد يعزى السبب إلى حدوث تغيير في موقع الهدف الذي يعمل عليه المضاد مما جعلها مقاومة له، أو قد يعود السبب إلى حدوث تغيير في مضخات الدفع

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي ،عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

إذ وجد إنها تلعب دوراً رئيساً في زيادة مقاومة العديد من البكتريا للعديد من المواد المضادة للميكروبات (Levy و اخرون 2002). أما ما يخص المحلول المطهر Povidoneiodone 10% فقد كان فعال و بتأثير قاتل على العزلات البكتيرية قيد الدراسة في اقل التراكيز. وقد استعملت المطهرات منذ عقود من الزمن في علاج اخماج المهبل من خلال تأثيرها على الغشاء الخلوي، إذ ان هذا الغشاء يمتاز بنفاذية اختيارية للمواد الغذائية إذ تحصل من خلاله عملية النقل الفعال، و بذلك يسيطر على انتقال المواد المهمة من والى الخلية، كذلك يحتوي الغشاء على مجموعة من الانزيمات المسؤولة عن عملية النقل (Lachapella و اخرون، 2013).

جدول (8) التركيز المثبط الادنى (MIC) للبيود الكحولي والكلوروزايلينول

رقم العزلة	التركيز المثبط الادنى (MIC) مايكروغرام/مل ل Iodine 10% Povidone	التركيز المثبط الادنى (MIC) مايكروغرام/مل لكلوروزايلينول
E.1	50	500
E.2	100	500
E.3	200	500
E.4	50	500
E.5	200	500
E.6	500	500
E.7	300	500
E.8	100	500
E.9	50	500
E.10	50	500
E.11	300	500
E.12	500	500
E.13	50	500
E.14	400	500
E.15	500	500
E.16	400	500
E.17	50	500
E.18	50	500
E.19	100	500
E.20	50	500
E.21	50	500
E.22	50	500
E.23	50	500
E.24	100	500
P.25	500	500
P.26	50	500
P.27	50	500

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي، عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

500	300	P28
500	400	P29
500	500	P30
500	50	P31
500	100	P32
500	100	P33
500	50	P34
500	200	P35
500	200	P36
500	50	P37
500	100	P38
500	300	P39
500	500	P40
500	100	P41
500	50	P42
500	100	P43
500	50	P44

E:*E.coli*,P:*P.mirabilis*,MICs:Minimal Inhibitory Concentration

قياس التركيز تحت المثبط الأدنى للمضاد الحياتي Gentamycin و المحلول المطهر 10% Povidone Iodine:

تمت دراسة التراكيز تحت المثبطة الدنيا (SubMics) لكل من المضاد الحياتي Gentamycin و المحلول المطهر 10% Povidone Iodine و التي اختيرت بالاعتماد على نتائج اختبار الحساسية والتركيز المثبط الأدنى لكل من المضادات الحياتي و المحاليل المطهرة .و يمثل التركيز المثبط تحت الأدنى (SubMics) ما تحت التركيز المثبط الأدنى (MICs) الذي يلاحظ نمو بكتيري فيه وكانت قيم SubMics لكل من المضاد الحياتي Gentamycin ما بين (0.5-8) ميكروغرام/مل و المحلول المطهر 10% Povidone Iodine (5-10) مايكروغرام/مل جدول (9) . يمتلك التركيز تحت المثبط الأدنى اهمية في تثبيط التصاق الجراثيم المرضية مما حدا بزوي الاختصاص اجراء الكثير من الدراسات إذ بينت هذه الدراسات ان مضادات حياتي و محاليل مطهرة استعملت ضد الجراثيم الممرضة اثرت على عملية التصاق البكتريا بالخلايا الطلائية للمضيف بتركيز تحت المثبط الأدنى (Sub MICs) ومنسقة مع ازدياد عملية الالتهام وان استعمال المضادات الحياتي بجرع واطنة من (SubMICs) ولمدة طويلة تؤدي الى تحسن صحة المرضى (Kawamura-Sato و اخرون،2000).

التوصيف البكتريولوجي لبعض اجناس البكتريا السالبة لملون غرام المعزولة من أخماج المهبل في مدينة بعقوبة وضواحيها

هادي رحمن رشيد الطائي ،عباس عبود فرحان و زويدة كاظم خضير

جدول(9)التراكيز تحت المثبط الادنى (Sub Mic) للمضاد الحياتي Gentamycin و المحلول المطهر Povidone iodine10% بالميكروغرام/ مل

Povidone iodine10%		Gentamycin		العزلة
Sub Mic	MIC	Sub Mic	MIC	
5	200	2	32	E.5
5	500	4	32	E.6
5	300	0.5	32	E.11
5	500	2	32	E.12
5	500	4	32	E.15
5	400	8	32	P.29
10	500	0.5	32	P.30
5	200	4	32	P.35
10	300	4	32	P.39
10	500	2	32	P.40

E: *E. coli*, P: *P. mirabilis*, SubMic: SubMinimal Inhibitory Cocentration

تثبيط التصاق البكتريا بواسطة التركيز تحت المثبط الادنى (Sub MIC) للمضاد الحياتي Gentamycin و المحلول المطهر Povidone Iodin 10% بحسب ما ورد في (1987, Stock and Ridgway): أظهرت النتائج وجود فروقا في معدلات التصاق الخلايا البكتيرية المنماة كلا" على حده في وسط نقيع القلب و الدماغ السائل الحاوي على تحت تركيز Sub MICs للمضاد الحياتي و المحلول المطهر و بين معدلات التصاق نفس العزلات المنماة في وسط نقيع القلب و الدماغ السائل الخالي من تراكيز المضاد و المحلول المطهر (السيطرة). كان لمضاد Gentamycin فعالية جيدة في تقليل معدلات التصاق البكتريا *E. coli* لسطوح الخلايا الطلائية و بوجود Sub Mic للمحلول المطهر Povidone Iodine 10% ، و كان لخط المضاد الحياتي Gentamycin و المحلول المطهر Povidone Iodine 10% فعالية ممتازة في تثبيط التصاق البكتريا *E. coli* لسطوح الخلايا الطلائية. أما بالنسبة لـ *P. mirabilis* فقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية فعالية جيدة للمضاد الحياتي Gentamycin في تقليل التصاق البكتريا بالخلايا الطلائية مقارنة مع السيطرة، في حين بلغت معدلات التصاق العزلات بوجود Sub Mic للمحلول المطهر Povidone Iodine 10% فعالية جيدة في تقليل التصاق البكتريا بالخلايا الطلائية ، وتبين ان لخط المضاد الحياتي و المحلول المطهر فعالية ممتازة في تثبيط التصاق الخلايا البكتيرية. ان هذه النتائج تشير الى التأثير الذي قد يحدثه خلط المضاد و المحلول المطهر في الغشاء السايئوبلازمي و تأثيرهما على قدرة العزلات على الالتصاق مع المستقبلات الموجودة على اسطح الخلايا الطلائية (Ishii و اخرون 2004).

المصادر

1. عيدان، اخلاص مشرف ؛ جاسم ، آمنة نصيف وادحية ، علي حسين. (2014). دراسة منحى النمو والتغيرات الشكلية لطفي المشعرات المهبلية في وسطيين زرعيين مختلفين . مجلة بغداد للعلوم، 11(2): 761-767.

References

1. Aboh, M. I., Oladosu P., Ibrahim, K (20013). Antimicrobial activity of some brands of household disinfectants marketed in Abuja municipal area council, federal capital territory, Nigeria. *American Journal of Research communication*, 1(8): 172-183.
2. AL-Charrakh ,A.H.; Yousif, S.Y. and AL-Janabi, H.S. (2011). Antimicrobial Spectrum of the action of bactriocines from *Klebsiella* isolation from Hilla/Iraq. *J. Microbial.* 2,Nuo.5, 1-11.
3. AL-Habib,H.;AL-Dabbagh,N.and AL-Daheen,G.(2005).The Prevalence of *Trichomonasvaginalis* in association with other microorganisms among women with vaginal discharge in *Mosul.ANN.Coll.Med.*,31(1):37-44.
4. Alam, M.and Imran, M. (2014). Multiple antibiotic resistances in metal tolerant *Escherichia coli* from hospital waste water, *Bioinformation*, 10(5):267-272.
5. Alikhani, M.Y., Hashemi, S.H., Aslani, M.M., Farajnia, S. 2013. Prevalence and antibiotic resistance patterns of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from adolescents and adults in Hamedan, Western Iran. *Iranian J.Microbiol.*, 5(1): 42.
6. American Academy of Nurse practitioners (AANP) (2010):Health promotion, risk reduction and disease prevention. *Journal of American Academy of nurse practitioners*; 22: 57-9.
7. Atlas, R. M. (1995). Principle of microbiology. 1st ed. Mosby-Year book, Inc. St. Louis. USA.

8. Bush, G. and Jacoby, A. (2011). "Updated functional classification of beta-lactamases", *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54, 969-76.
9. Boussoulim, N. ;Trabsa, H. ; Krache, I. ; Arrar, L. ; Khenouf, S. and Baghiani, A. (2014) . Anti-bacterial and β -lactamase inhibitory effects of *Anchusaazurea* and *Globulariaalypum* extracts . *Res. J. Phar. Bio. Che. Sci.* 5(1): 742-749
10. Briery, C.M, Chauhan, S.P, Magann, E.F, Cushman, J.L and Morrison, J.C .(2011). Treatment of bacterial vaginosis does not reduce preterm birth among high-risk asymptomatic women in foetal fibronectin positive patients. *Journal of the Mississippi State Medical Association*, 52: 72–75.
11. Brooks, G.F.; Carroll ,K.C; Butel ,J.S.; Mores, S.A. and Mietzner ,T.A . (2010) .Jawetz ,Melnich and Adelbergs *Medical Microbiology* .25th ed.thr.
12. Chuma T., Miyasako D., Dahshan H., Takayama T., Nakamoto Y., Shahada F., et al. . (2013). Chronological change of resistance to beta-Lactams in *Salmonella enterica* serovar infantis isolated from broilers in Japan. *Front. Microbiol.* 4:113. 10.3389/fmicb.2013.00113.
13. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute.(2011). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. CLSI Document M 100-S21. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. Collee , J. G. ; Fraser , A. G. ; Marmion , B. P. and Simmons , A. (1996) . Mackie and McCartney practical medical microbiology . 14th ed. Churchill Livingston . 173-174.
14. Kawamare Sato, K.; Hruma, Y.; Hasegawa, T.; Hoeii, T.; Yamashino, T. and Ohta, M. (2000). Effect of subinhibitory Concentration of macrolidase on expression of flagellin in *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*. *J. Antimicrobiol. Agent. Chemother* 44(1):2869-2872.
15. Friedrich, A.W.; Koch, R.; Bielaszewska ,M.; Zhang, W.; Karch, H. and Mathys ,W. (2005). Distribution of the urease gene cluster among and urea activity of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 Isolated from humans. *J. of Clinical Microbiology* . Vol 43, No. 2: pp.546-50.

16. Geraldo PC, Araújo ED, Junior JE, do Amaral RL, Passos MR, Gonçalves AK. (2012). The prevalence of urogenital infections in pregnant women experiencing preterm and fullterm labor. *Infect Dis ObstetGynecol*: 878241.
17. Ishii S.;KokiJ.U.nno.H.and Hori K.(2004).Two morphological types of cell appendage on a strongly adhesive bacterium. *Acinetobactersppstrain Tol 5 App.Env.Microbiol*,70:5026-9.
18. Iwahi,T. ;Abe,R. ; Nako, M. and Imado,A.(1983).Role of type -1 fimberiae in the pathogenesis of ascending UTI by *E. coli* in mice. *Infect. and Immun.*,39:1307-1315.
19. Lee.Ye JoS,KimG,KimY, LeeD,ParkS,BaeD, Chungm,Bahk G and Ha D..(2012).Effect of Chlorine Concentration and Washin Conditions on the reduction of microbiological contamination in lettuce.*Journal of the Korean society for Applide Biological Review of medicalmicrobiology and Immunology warren*.
20. Levy, S. B. (2002). Active efflux, a common mechanism for biocide and antibiotic resis.
21. Lachapella,J.;Caste,l.O.;Casado,A.F.;Leroy,B.;Micali.G.;Tennstedt.D.(2013).Antiseptics in the era of bacterial resistance 2:a *Focus on povidone iodine clin parct* -10,579-592.10.2217/cpr .13-50
22. Marelli, G.;Papaleo, E. and Ferrari, A.(2008). Lactobacilli for prevention of urogenital infections: A Review. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 8: 87-95
23. McKinney, L. N. (2007). Low libido in postmenopausal women. *Advance for Nurse Practitioners*, 15(1), 28–35.
24. Melnyk,A.H;Wong,A.and Kassen,R.(2014).The fitness costs of antibiotic resistance mutations.Centre for Advanced Research in Environmental Genomics,*Department of biology,University of Ottawa,ON,Canada*.Mulcahy, H., Sibley, C. D., Surette, M. G. and Lewenza, S. (2011). *Drosophila melanogaster* as an Animal Mode for the Study of *Pseudomonas aeruginosa*Bioflim Infection *In vivo PLoSPathog.*, 7 (10): e102299.
25. Olajuyigbe, O. O. and Afolayan, A. J. (2012). Synergistic Interactions of Methanolic Extract of *Acacia mearnsii* De Wild. with Antibiotics against Bacteria of Clinical Relevance. *Int. J. Mol. Sci.*13(7): 8915-8932.

26. O'Neill, J. (2014). Review on Antimicrobial Resistance - Tackling a crisis for *the health and wealth of nations*.
27. Odumous, B.T. ; Adeniyi, B.A. and Chandra, R. (2013) . Analysis of interons and associated gene cassettes in clinical isolates of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* from southwest nigeria . *Ann. Cli. Mic. Ant. 12(29): 1-12*.
28. PSAST) .Performance Standars For Antimicrobiol Susceptibility Testing(2013).
29. Rathod, S.; Krupp, K.; Klausner, J.; Arun, A.; Reingold, A. and Madhivanan, P. (2011). Bacterial vaginosis and risk for *Trichomonasvaginialis* infection: a longitudinal analysis.*SexTransm. Dis.*, 38(9): 882–886.
30. Senior, B.W. (1999) . Investigation of the types and characteristics of the proteolytic enzyme formed by diverse strains of *Proteus* species. *J. Med. Microbiol.* 48: 623 -628 .31- Smet, A.; Martel, A.; Persoons, D.; Dewulf, J.; Heyndrickx, M.; Herman, L.; Haesebrouck, F.; Butaye, P. (2010). Broad-spectrum β -lactamases among *Enterobacteriaceae* of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on *public health*. *FEMS Microbiol. Rev.* 34:295-316.
31. Stock,E.J., and Ridway,G.L.(1987).Handling clinical specimens for microbiology studies 5thed.Churchil living stone.(Cited). 173-201.
32. Valenza G, Nickel S, Pfeifer Y, Eller C, Krupa E, Lehner-Reindl V, Holler C. Extendedspectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* as intestinal colonizers in the German community. *Antimicrob Agents Chemother.* (2014);58(2):1228-30 .
33. Vandepitte,J.;Engback,K.;Piot,P.and Hench,CC.(1991).Basic laboratory procedures in Clinical bacteriology.*World Health organization*,Geneva ,Switzerland, 31-36,78-95.
34. Wiles,T.J.;Kulesus,R.R.and Mulvey,M.A.(2008).Origins and virulence Mechanisms of uropathogenic*Eschirechiacoli*.*EXP Mole.path.*85(1):11-19.