عزل وتشخيص بعض انواع الاحياء المجهرية المسببة لاصابات القناة التناسلية الانثوية ودراسة التأثيرالتثبيطي لبعض المستخلصات النباتية والمضادات الحياتية عليها

ياس خضير عباس ايناس رزاق كاظم
قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة ذي قار

الخلاصة

جمعت (225) عينة من افرازات القناة التناسلية الانثوية من المراجعات للعيادة الاستشارية في مستشفى الولاده والاطفال في الناصرية للفترة الزمنية 1 / 9 / 2012 لغاية 1 / 3 / 2013. أظهرت نتائج الزرع البكتيري للعينات (39)عزله تعود الى *Eschrichia coli* و(36)عزله تعود الى *Staph.aureus* و(28) عزلة تعود الى *Klebsiella pneumonae* و(18) عزلة تعود الى *Pseudomonas aeurogenosa* و(10) عزلات تعود الى *Proteus mirabilis* و(70)عزله تعود الى خميرة *Candida sp* منها (33)عزله تعود الى *C.albicans*. وكان تأثير التركيزين(100.200) % للمستخلص المائي والكحولي المحضرين من مسحوق العفص وقلف البلوط فعاليه تثبيطيه لجميع العزلات ولقد دلت نتائج اختبار الحساسيه البكتيريا الممرضه ضد عدد من مضادات الحيويه ان جميع العزلات مقاومه لـ *Amoxacillin* وعلى العكس فقد اظهرت المضادات Caprofloxacin,Meropenem و Levofloxacin فعاليه جيده فيما تباينت العزلات في حساسيتها لمضاد Gentamycin.

المقدمة

خلق الله تعالى جسم الانسان بتنظيم عالي الدقة بما يكفل حمايته من غزو الكائنات المجهرية الممرضةوتتضح هذه الحقيقة عند دراسة الفلورا الطبيعية للقناة التناسلية الانثوية وان كثرة بكتيريا Lactobacillus الذي يعمل على تحويل الكلايكوجين الى حامض اللاكتيك ويعطي ph حامضي للمهبل وانتاج H_2O_2 الذي له دور في منع واستعمار البكتيريا المرضية [1], يعد التهاب المهبل من اكثر اصابات القناة التناسلية GTI شيوعا عند النساء في سن الاخصاب اذ تنتشر الاصابات المهبلية المصحوبة بافرازات مرضية غير طبيعيه تسبب الالم والرائحه الكريهه بصورة واسعة, وان سبب هذه الافرازات وجود التهابات داخليه في الجهاز التناسلي[2] ومن العوامل الرئيسية المسببة للالتهابات بشكل متكرر اثناء حياة المرأة هي الخلل في التوازن للميكروبي بين الاحياء المجهرية المتواجدة في المهبل وزيادة نوع معين من تلك الاحياء اعلى من مستواه الطبيعي من جهة واختزال عدد افراد Lactobacillus من جهة اخرى ويعد هذا العامل الاساسي لحصول الالتهابات المهبلية [3], فضلا عن عوامل اخرى مثل تناول المضادات الحياتية او الفطرية والعلاج بالهرمونات الستيرويديه وعقاقير كبح المناعة وتناول حبوب منع الحمل والاصابة بداء السكري او الحمل والاسقاط والعقم وامراض الضعف المناعي كالأيدز [3] . [4] وتلعب التغيرات الهرمونيه الحاصلة في المهبل دور كبير في تغير النبيت الطبيعي الموجود مما يؤدي الى حدوث الالتهاب حيث يعتبر المستوى الطبيعي لهرمون الاستروجين ضروري للمحافظة على توازن المهبل ومقاومة للالتهابات الجرثومية على اساس ان هذا الهرمون يحفز وينشط نمو وتكامل الغشاء الطلائي للمهبل [5] وان للتداخل الميكروبي المعقد في محيط المهبل لاشتراك الانواع البكتيرية الهوائية واللاهوائية من العوامل المساعدة في احداث الاصابة في القناة التناسلية الانثوية ويساعد هذا التداخل في تثبيط عوامل دفاع جسم المضيف من خلال تثبيط عمل الخلايا البيض والخلايا متعددة اشكال النوى وتوفير المواد الغذائية الضرورية للنمو وذلك لامتلاكها انزيمات محلله لانسجة المضيف اضافة الى تهيأة المحيط البيئي المناسب لنموها من خلال تقليل تأثير الظروف البيئية عليها[6] وتحث معظم الاصابات (GTI) بسبب اصابات بكتيرية Bacterial vaginosisمثل Nisseria gonorrheae فضلاً عن انواع بكتيريه اخرى مثل Staphylococcus.sp, Streptococci.sp , Enterobacteraceae وغيرها او يسبب اصابات فطرية ناتجة عن انواع جنس Candida واكثرها شيوعاً C.albicans وتسمى Candidiasis او اصابة طفيلية ناتجة عن طفيلي Trichomons vaginalis وتسمى Trichomonioniasis.[7] وان علاج مثل هذه الاصابات بالمضادات الحيوية ولفترة زمنية طويلة قد يكون عامل الخطر الرئيسي للاصابة بالجراثيم

المقاومة للمضادات الحيوية وهذا يؤدي الى انتشار الاصابة وزيادة شدتها فقد سجلت ارتفاع في الحالات المرضية الخطيرة في بلدان العالم سببها الانماط المقاومه للمضادات الحيوية اذ ان صفة المقاومة هذه يشفر لها بواسطة جينات محمولة على البلازميدات يتم اكتسابها نتيجة كثرة الاستعمال للمضادت الحيوية [8] لذا زاد الاهتمام في السنوات الاخيرة بالنباتات والاعشاب الطبيعية بأستخدامها كمصادر رئيسية لأنتاج العقاقير الطبية او كمصدر للمواد الفعالة التي تدخل في تركيب الدواء وتعود فعالية هذه النباتات الى احتوائها على مركب فعال واحد او اكثر [9] فضلاً عن ان المواد الفعالة في النباتات مخفضة وسهلة ويمكن للاجسام التفاعل معها بصورتها الطبيعية وقلة تأثيراتها الجانبية او انعدامها [10] ولقد اثبت بصورة مطلقة ان العديد من المستخلصات النباتية تمتلك خصائص تثبيطية او قاتلة للممرضات المختلفة وهذا يرشحها لانتاج عقاقير ميكروبية جيدة ولكن بعد التاكد من خلوها من المواد السامة لخلايا المضيف [11].

المواد وطرائق العمل

1- جمع العينات:-

تم جمع (225) مسحة باستخدام قطيلة قطنية معقمة (swab) من مواقع مختلفة من القناة التناسلية الانثوية لسيدات مصابات بالتهاب القناة التناسليه الانثويه (GTI) مراجعات للعيادات الاستشاريه في مستشفى بنت الهدى في الناصرية للفتره مابين 1/9/2012 الى1/3/2013 وتراوحت اعمار النساء مابين (50-17)سنه وتم اختبار المريضة على اساس وجود الاعراض المرضيه السريرية (Symptoms) التي شخصت من قبل الطبيبه الاخصائية والتي تشمل وجود (الافرازات المهبلية, الرائحة,القرحة, الحكة، الحرقة والحمى).

2- العزل والتشخيص:-

زرعت المسحات الماخوذة من المريضات على الاوساط الزرعية (Sabouroud dextrose agar,Mannitol salt agar,Blood agar,Macconkey agar) وحضنت الاطباق في الحاضنة بدرجة (37مْ) لمدة (48-24) ساعة, ثم فحص النمو بعد تلك الفتره ثم عمل زرع ثانوي (Sub culture) من الاطباق التي اظهرت نتيجه موجبة. اما الفحص المباشر (Direct Examination) فحصت النماذج مباشرة, وذلك بعمل شريحتين الاولى صبغت بصبغة كرام لملاحظة خلايا الخمائر الموجبه لهذه الصبغه اما الشريحه الثانيه فوضع عليها قطره من المحلول الفسلجي وفحصت تحت القوه(40x) بعد وضع غطاء الشريحه عليها لملاحظة خلايا الخمائر وطفيلي Trichomonas vaginalis وخلايا الدم البيض WBC والخلايا الطلائية Epithelial cells [12] وخضعت جميع العزلات البكتيرية والفطرية لبعض الفحوصات الكيموحيوية التشخيصية فضلا عن اختيار صبغة كرام ودراسة اشكال والوان وحواف المستعمرات النامية على الوسط الغذائي والنمو على وسط اكار الدم وانتاج الهيمولايسين[7] واجريت الفحوصات الكيموحيوية التي تضمنت فحص تكوين الانبوب الجرثومي Germ tube test [13] واختبار الكاتليز[13] وفحص Coagulase[14] وفحص الاوكسديز Oxidase[15] وتخمر المانيتول[16] واختبار IMVIC [13] وانتاج اليوريا[7] واستخدام عدة التشخيص Api candida,Api 20E,Api staph للتشخيص النهائي للعزلات وحسب تعليمات الشركه المصنعه.

3- تحضير المستخلص المائي الحار:-

حضر بإذابة (50) غم من المسحوق النباتي في (500) مل ماء مقطر يغلي في درجة حراره(100)مْ وترك عشر دقائق بعدها رشح خلال اوراق ترشيح واتمان رقم(1) ثم صب في اطباق زجاجيه وترك في الحاضنه بدرجة حراره(37مْ) لحين الحصول على مسحوق جاف ثم حفظ المسحوق في الثلاجه لحين الاستعمال[17].

4- تحضير المستخلص الكحولي البارد:-

حضر المستخلص وفقا لما ورد في [18] وذلك بنقع 50غم من المسحوق النباتي في 500 مل من كحول الايثانول(70%) لمدة 24 ساعه في جهاز المحرك المغناطيسي بعدها رشح المزيج باوراق واتمان نوع(1) واتبعت الخطوات السابقه في تحضير المستخلص المائي الحار.

5- اختبار الحساسيه لمضادات الحياة:-

تم التحري عن استجابة الاحياء المجهريه لمضادات الحياة حسب طريقة[19] وذلك باستخدام 5 مضادات حيوية المجهره من قبل شركة Bioanulys وهي Meropenem, Ciprofloxacin, Amoxicillin, (Levofloxacin, Gentamycin) اذ تم تحضير عالق لخلايا الاحياء المجهريه المنشطة بعد تشخيصها ونشر

بواسطة فطيلة معقمة على وسط Muller-Hinton Agar بطريقة التخطيط ثم ترك الطبق لمدة 15دقيقه لجفاف المزروع وزرعت الاقراص على الوسط الزرعي بمعدل 5-4 اقراص لكل طبق وحضنت بدرجة حراره 37مْ لمدة 24 ساعة ثم قياس قطر منطقة تثبيطالنمو حول كل قرص وعدت البكتيريا حساسه S او مقاومه R حسب المواصفات القياسيه الوارده في[20].

6- الكشف الكيميائي عن المواد الفعّاله في النباتات المدروسة:-

الكشف عن الفينولات Phenols

تم الكشف باستخدام محلول كلوريد الحديديك (Ferric chloride)1% ,اضيف 3مل من المستخلص النباتي لكل من (العفص وقلف البلوط) الى2مل من محلول كلوريد الحديديك 1% ان ظهور اللون الاخضر المزرق دلاله على ايجابية الكشف[21].

الكشف عن القلويات Alcaloids

لاجراء هذا الكشف وضع3مل من المستخلص النباتي لكل من (العفص وقلف البلوط) في انبوبة اختبار واضيف له 2مل من الكاشفين:-

أ- كاشف ماركيز الذي يعطي اللون الرمادي المحبب دليل على ايجابية الكشف .

ب- كاشف ماير الذي يعطي راسبا ابيض دليل على وجود الفلوريدات[21]

الكشف عن الفلافونات Flavones

اعتمدت الطريقة الواردة في{22] وكالاتي :-

وضع 1مل من المستخلص النباتي لكل من العفص وقلف البلوط في انبوبة اختبار واضيفت له قطرات من حامض الكبريتيك المركز H_2SO_4 اذ يدل ظهور اللون البني المعتمد على ايجابية البحث.

الكشف عن التانينات Tannins

اتبعت الطريقة التي وردت في [21] وكالاتي :-

تم غلي (10)غم من المسحوق النباتي في 50مل من الماء المقطر .ثم رشح المحلول وترك ليبرد.بعدها قسم الراشح الى قسمين اضيف للقسم الاول محلول(1%) خلات الرصاص للاستدلال على وجود التانينات بظهور راسب ابيض هلامي القوام بينما اضيف للقسم الثاني محلو(1%) كلوريد الحديديك اذ يدل ظهور اللون الاخضر المزرق على وجود التانينات.

الكشف عن الراتنجات Resins

اتبعت الطريقة التي وردت في{23] للكشف عن الراتنجات باخذ 10مل من كل مستخلص واضيف له 20 مل ماء مقطرمحمض بحامض HCL (4%) وقد استدل على وجود الراتنجات بظهور العكورة.

الكشف عن التربينات Terpenoid

تمت اذابة 1مل من المستخلص في قليل من الكلوروفورم بعدها اضيفت اليه قطرة من مادة حامض الخليك اللامائي,وقطره من حامض الكبريتيك المركز, وظهور لون بني دليل على احتواء المستخلص على تربين[24]

7- دراسة تأثير المستخلصات النباتية على نمو البكتيريا والفطريات:-

استخدمت طريقة الانتشار في الحفر(Agar well diffusion) لملاحظة تأثير المستخلصات المائية والكحولية لكل من العفص وقلف البلوط وبتركيزين 100ملغم/مل و 200ملغم/مل على نمو البكتيريا وخميرة C.albicanc المعزوله من القناة التناسلية الانثوية ولقح وسط مولد هنتون الصلب بواسطة قطيلة قطنية معقمة من العالق البكتيري الحاوي على 5×108 خليه/مللتر. ولقح وسط SDA بالعالق الفطري,عملت حفر على وسط الوسط الزرعي المزروع بواسطة ثاقب فليني ووضعت التراكيز المحضره لكل مستخلص بمقدار(0.1) مللتر لكل حفره مع استخدام الماء المقطر كسيطره.وتركت الاطباق في درجة حرارة الغرفه لمدة 20دقيقه,ثم حضنت الاطباق بدرجة حراره37مْ لمدة 24ساعه وبمعدل ثلاث مكررات لكل عزله حددت الفعالية للمستخلص بقياس قطر منطقة التثبيط Inhibition zone حول كل حفره بالملمتر وتم حساب معدل المكررات الثلاث[25][26].

التحليل الاحصائي

اجريت التجربة باستخدام التصميم العشوائي وبثلاث مكررات لكل معاملة ثم قورنت المتوسطات باستخدام اقل فرق معنوي L.S.D {Least significant difference test][27}.

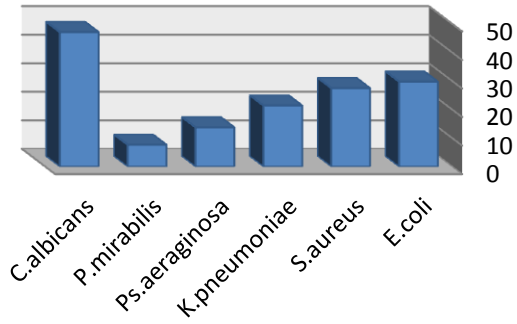
النتائج والمناقشة

1- العزل والتشخيص

بينت نتائج التشخيص المختبري (جدول 1) ظهور39(29.77%) عزلة لبكتيريا E.coli وهي عصيات سالبه لصبغة كرام ,وجاءت النتائج مقاربه [28] الذي وجدها بنسبة (40%) كما جائت النسبه مقاربه [29] حيث وجدتها بنسبة (18%) وايضا تتفق الدراسه مع [30] حيث عزلها بنسبة(27.69%),ويكون هذا الجنس شائع في عزلات الدم للنساء المصابات بمرض الصدمة السمية والتهاب اغشية الرحم وايضا تقرحات القناة التناسليه البوليه [31], واظهرت نتائج التشخيص المختبري عصبات سالبه لصبغة كرام محاطه بمحفظه تعود الى جنس Klebsilla pnummoniae بنسبة 28 (21.37%) وجاءت النتائج اقل من نسبة [32] حيث عزلها بنسبة (51.6%) ولكن اكثر من نسبة عزل [33] حيث عزلتها بنسبة (1.2%) ومقاربه لـ (30) عزلها بنسبة (14.57%) ويعود سبب الاختلاف في نسبة عزلها لاختلاف طرائق جمع العينات واختلاف مكان وزمان الجمع بالاضافه الى اختلاف طرائق عزل البكتيريا, وتم عزل هذه البكتيريا من النساء المصابات بالعقم والحمل خارج الرحم وايضا التهاب البربتون المرتبط مع سرطان عنق الرحم وخراجات الحوض المرتبط مع سرطان الرحم[34], وظهرت 18 (13.74%) عزلة عصيات سالبة كرام محلله للدم وتفرز صبغة Pyocyanin الزرقاء المخضره في الوسط الزرعي تعود الى جنس Psedomonas aeurogenosa,وتوافقت النتائج مع نتيجة [29] التي وجدتها بنسبة(14.8%) ويسبب هذا الجنس (22.73%) من التهابات القناة التناسليه البولية, [35], وظهرت ايضا عصيات سالبه لصبغة كرام تتميز بظاهرة الانشيال Swarming التي تعود الى Proteus mirabilis على الوسط الزرعي بنسبة 10(7.63%) وتتفق النتائج مع[29] التي عزلتها بنسبة (5%) ويسبب هذا الجنس التهاب السائل الامينوني وتحطم الاغشيه المتكرر ويعزل من حالات التهاب الخلايا (Cellulitis) المرتبط مع سرطان عنق الرحم والتهاب النبيبات الكلوية ويسبب ايضا تكون الحصى وزيادة الامونيا في الدم Hyperamonaenia [36], وايضا ظهرت 36(27.48%) عزلة موجبة لصبغة كرام على شكل مكورات عنقوديه مخمره للمانيتول ومحلله للدم وموجبه لفحص Coagulase تعود الى جنسStaph.auerus وتتفق النتائج مع[29] التي عزلتها بنسبة(25.61%) ولكن اقل من نسبة عزل [28] التي عزلها بنسبة (10%) وايضا اقل من [33] التي وجدتها بنسبة (6.3%), ويعود سبب هذا الاختلاف في نسبة العزل الى عدد العينات المدروسة. ويسبب هذا الجنس هدم الظهارة الطلائية للمهبل واصابتها بالتقرح ulcertation ويعود هذا الى استخدام بعض العوامل الميكانيكية مثل استخدام tampone وIUD اضافة الى انخفاض مستوى هرمون الاستروجين خلال سن اليأس الذي يخلق الظروف الملائمه لتقرح المهبل وتسبب ايضا متلازمة الصدمه السميه(TSS)[37], وظهرت 70 (34.82%) عزله موجبه لصبغة كرام مكونه خيوط فطريه كاذبه وذات حجم كبير تعود الى جنس Candida.sp منها 33(47.14%) مكونة لـ Germ tube والابواغ الكلاميدية تعود الى جنس C.albicans وتتفق الدراسة مع [38] التي عزلتها بنسبة(38.5%), ويعد هذا الجنس المسبب الرئيسي للسلاق المهبلي Vaginal Thrush ويمكن للمبيضان ان تطول الاجنه خلال مدة الحمل ويتبع عن ذلك التهاب المشيمة [36].

جدول(1): النسبة المئوية للاحياء المجهرية المعزولة من القناة التناسلية الانثوية

الاحياء المجهرية المعزولة	العدد	النسبة المئوية
Eshereichia coli	**39**	**29.77**
Staphylococcus aureus	**36**	**27.48**
Klebsiella pneumonia	**28**	**21.37**
Pseudomonas aeruginosa	**18**	**13.74**
Proteus mirabilis	**10**	**7.63**
Candida sp	**70**	**34.82**
Candida albicans	**33**	**47.14**
Total positive samples	**201**	**89.33**
Total samples	**225**	



شكل (1): النسبة المئوية للاحياء المجهرية المعزولة من القناة التناسلية الانثوية

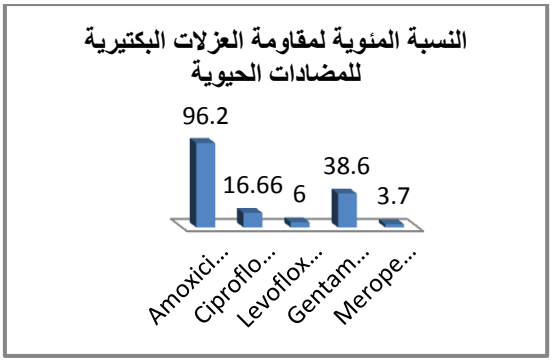
2- اختبار الحساسية تجاة المضادات الحياتية

تم اختبار حساسية جميع العزلات البكتيريه تجاه 5 انواع من المضادات الحياتيه وهي Amoxillin(AMC), Gentamicin(GN), Levofloxacin(LEV), Cibrofloxacin(CIP), Meropenem(MEM).

وكانت نسبة مقاومة بكتيريا E.coli للمضادات على التوالي (0 ,17.9 ,2.5 ,46.1 ,97.4)% اما بكتيريا k.pneumoniae فكانت نسبة المقاومه (0,10.7 ,35.7 ,100)% وبكتيريا Ps.aeruginosa (11,1 ,27.7 ,16.6 ,44.4 ,11.1)% اما نسبة المقاومه للمضادات الحياتيه لبكتيريا Proteus mirabilis (0, 10, 0, 30, 90)% وكانت نسبة المقاومه بالنسبه لبكتيريا Staph.aureus هي 33.33, (8.3 ,16.66 ,11.1 , 94.4)% على التوالي نلاحظ تفاوت في مديات المقاومة لهذه المضادات الحياتية وكان اكثرها فعاليه المضادات (LEV,CIP,MEM) واقلها فعاليه (AMC,GN) ويعزى سبب المقاومة للمضاد AMC الى قدرة البكتيريا على التقليل من نفاذية الغشاء الخلوي او تغير الموقع الهدف من خلال بناء بروتينات اضافيه ذات الفه قليله جدا للمضادات وايضا قدرتها من تخليق انزيمات البيتا لاكتيز التي تثبط عمل المضاد [39] اما سبب المقاومة للمضاد (GN) هو وجود عناصر وراثيه على كروموسوم الخليه البكتيريه تشفر لانزيمات مثبطه للمضاد حيث تعمل هذه الانزيمات على تحوير المجموعه الامينية او المجموعه الهايدروكسيه لمضادات الامينوكلايكوسيديه او تكون المقاومه عن طريق تغير موقع ارتباط المضادات بالريبوسومات اثناء عملية تخليق البروتين من خلال حدوث طفره في الوحده الرايبوسوميه (16Sr RNA)[40].

جدول(2): النسبة المئوية لمقاومة المضادات الحياتية لجميع العزلات

المضاد الحيوي	نسبة المقاومة
Meropenem	**3.7**
Ciprofloxacin	**16.6**
Levofloxacin	**6**
Gentamicin	**38.6**
Amoxacillin	**96.2**



3- الكشف الكيميائي لبعض المواد الفعالة في النباتات المستخدمة:-

بينت نتائج الكشف الكيميائي التمهيدي احتواء المستخلص المائي والكحولي لثمار العفص Thuja occidentallis وقلف البلوط Quercus aegilops على الفينولات وفلافونيدات والتانينات اما القلويدات والراتنجات والتربينات فتوجد في قلف البلوط فقط.

جدول(3): المواد الفعالة في مستخلصات العفص وقلف البلوط

ت	المواد الفعاله	قلف البلوط	العفص
1	الفينولات	+	+
2	القلويدات	+	-
3	الفلافونيدات	+	+
4	التانينات	+	+
5	التربينات	+	-
6	الراتنجات	+	-

4- فعالية المستخلص المائي الحار والكحولي البارد لقلف البلوط وثمار العفص ضد الاحياء المجهرية المعزولة:

اظهرت النتائج ان جميع العزلات البكتيريه وايضا خميرة *C.albicans* كانت حساسه للمستخلص المائي والحار الكحولي لنبات قلف البلوط والعفص كما موضح في الجداول (4)(5). وبينت نتائج التحليل الاحصائي تحت مستوى معنويه (0,05) ان هناك فروق معنويه بين طريقة الاستخلاص وايضا معامل التركيز في الفعاليه التثبيطيه حيث اظهر المستخلص الكحولي لقلف البلوط والعفص فعاليه عاليه مقارنة بالمستخلص المائي وتزداد هذه الفعاليه بزيادة التركيز ويعزى ذلك الى ان المواد الفعاله للنباتين لاتذوب بشكل جيد في الماء وانما تذوب بصوره جيده في المذيبات العضويه كالايثانول وتزداد المواد الفعاله عند زيادة التركيز [41] واظهر مستخلص قلف البلوط فعاليه تثبيطيه عاليه حيث بلغ اعلى معدل للتثبيط للمستخلص الكحولي عند التركيز (200ملغم/ملم) ضد البكتيريا *Staph.aureus* حيث بلغ (24.3ملم) وايضا بلغ(21.2ملم) ضد خميرة *C.albicans* اما اقل معدل للتثبيط بلغ (9.7ملم) ضد بكتيريا *Klebsilla pneumonia* ويعزى ذلك لامتلاك البكتيريا السالبه لصبغة كرام طبقه من الغشاء الخارجي outer memmbrance المكونه من Lipopoly saccharide التي تجعل نفاذية المواد اقل سميه قياسا بالبكتيريا الموجبه لصبغة كرام [42] وتعزى فعالية مستخلصات قلف البلوط لاحتوائه على الكثير من المواد الفعاله التي لها فعاليه في تثبيط نمو الاحياء المجهريه منها المركبات الفينوليه التي تمتاز بوجود مجموعه الهيدروكسيل (OH) التي تكون قاتله او مثبطه لنمو الاحياء المجهريه بسبب قدرتها على الاتحاد مع بروتين الخليه وترسيبه فتغير من طبيعته وتعمل بوصفها مذيبا جيدا للمواد الدهنيه اي انها تسبب التحطيم الكامل للاغشيه والجدران الخلويه للجراثيم [43] وايضا احتوائه على التربينات التي لها فعاليه تثبيطيه للاحياء المجهريه لانها تعمل على تمزيق الاغشيه بواسطة المواد المحبه للشحوم Lipophilic وايضا احتوائه على القلويدات التي لها فعاليه في تثبيط بناء الكايتين في خميرة *C.albicans* في شكلها الاحادي الخليه او الخيطي mycelia [44]واظهر المستخلص الكحولي لثمار العفص فعاليه تثبيطيه جيده حيث بلغ اعلى معدل

تثبيط (21.8ملم) ضد بكتيريا *Staph.aureus* عند التركيز(200ملغم/مل) وبلغ(14.8ملم) ضد *C.albicans* عند نفس التركيز. اما اقل معدل تثبيط بلغ (7ملم) ضد بكتيريا *E.coli* عند التركيز (100ملغم/مل) للمستخلص المائي. وتعزى فعالية مستخلصات ثمار العفص لاحتوائه على عدد من المركبات الفعاله مثل الفينولات والفلافونات والتي لها دور مهم في تثبيط نمو البكتيريا حيث تعمل على تثبيط الانزيمات المسؤوله عن التفاعلات الايضيه الاساسية بتداخلها غير المتخصص مع البروتينات مما يؤدي الى مسخ البروتين(protein denaturation) وهذا يؤدي الى موت البكتيريا[45] وايضا احتوائه على التانينات التي لها فعاليه تثبيطية للبكتيريا والخمائر والفيروسات لقدرتها على تحفيز الخلايا البلعميه (phagocytic cells) وايضا له فعاليه في تحطيم البروتينات والتراكيب الاخرى المتواجده على جدار الخليه البكتيريه التي تستخدمها البكتيريا للالتصاق بخلاياالمضيف[46}.وتتفق الدراسه مع كل من,[28],[9],[49],[48],[47] في قدره المستخلصات النباتيه في تثبيط نمو الاحياء المجهريه المعزولة.

جدول(4): الفعالية التثبيطية لمستخلصات قلف البلوط

الكحولي البارد		المائي الحار		الاحياء المجهريه المعزوله
200ملغم/مل	100ملغم/مل	200ملغم/مل	100ملغم/مل	
18.8	15.5	17.6	*12.3	*E.coli*
15.9	12.2	14	9.7	*K.pneumoniae*
24.3	20.3	21.9	17.5	*Staph.aureus*
19.6	15.8	17.5	13.1	*Ps.aeruginosa*
19.4	16.9	17.7	14	*Proteus mirabilis*
21.2	17	18.4	15.2	*C.albicans*

*القيم تمثل معدل ثلاث مكررات.

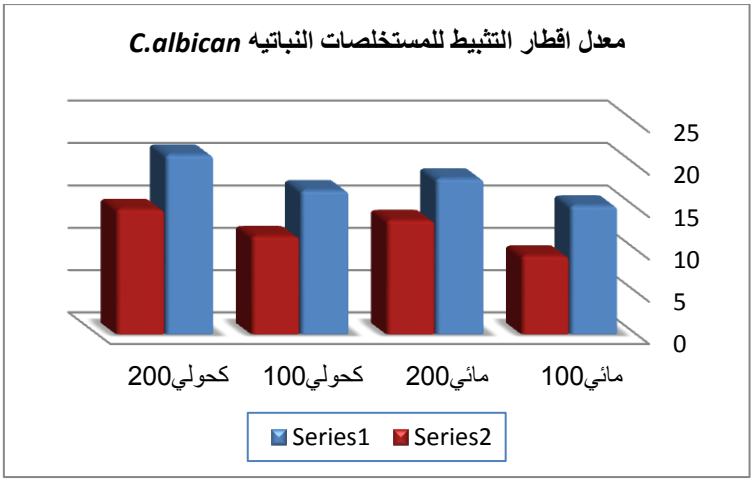
0.03 = للعزلات R.L.C.D 0.04 = للطريقه R.L.C.D 0.04 = للتركيز R.L.C.D

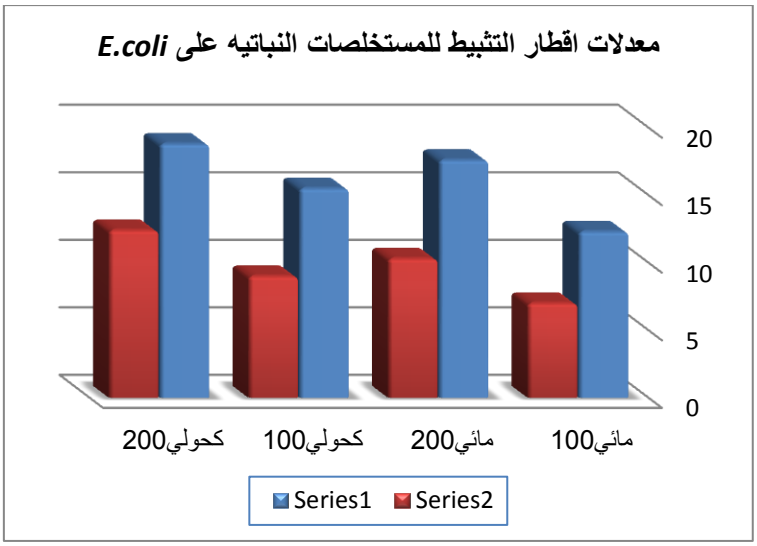
جدول(5): الفعالية التثبيطية لمستخلص العفص

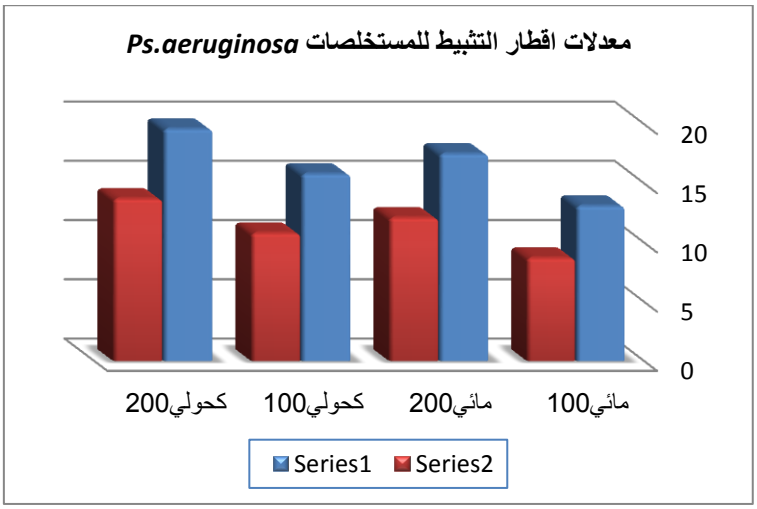
الكحولي البارد		المائي الحار		الاحياء المجهريه المعزوله
200ملغم/مل	100ملغم/مل	200ملغم/مل	100ملغم/مل	
12.4	9	10.3	*7	*E.coli*
14	11.1	12.1	8.3	*K.pneumoniae*
21.8	18.6	20.2	16.2	*Staph.aureus*
13.7	10.8	12.1	8.7	*Ps.aeruginosa*
18.8	15.6	16.2	13.2	*Proteus mirabilis*
14.8	11.6	13.4	9.3	*C.albicans*

*القيم تمثل معدل ثلاث مكررات.

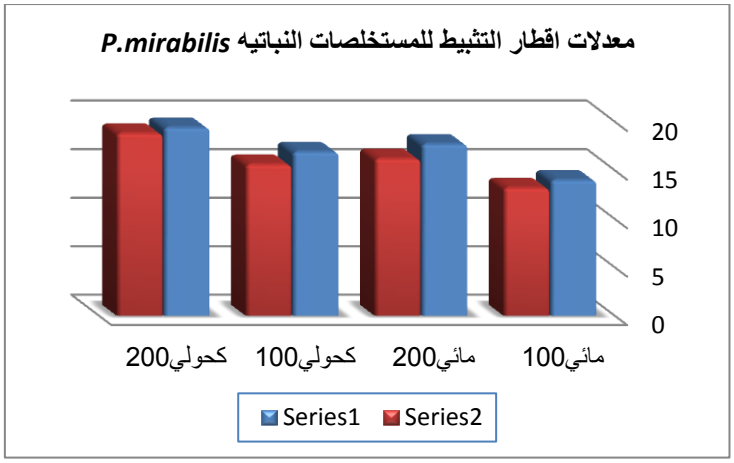
0.2 = للعزلات R.L.C.D 0.02 = للطريقه R.L.C.D 0.02 = للتركيز R.L.C.D

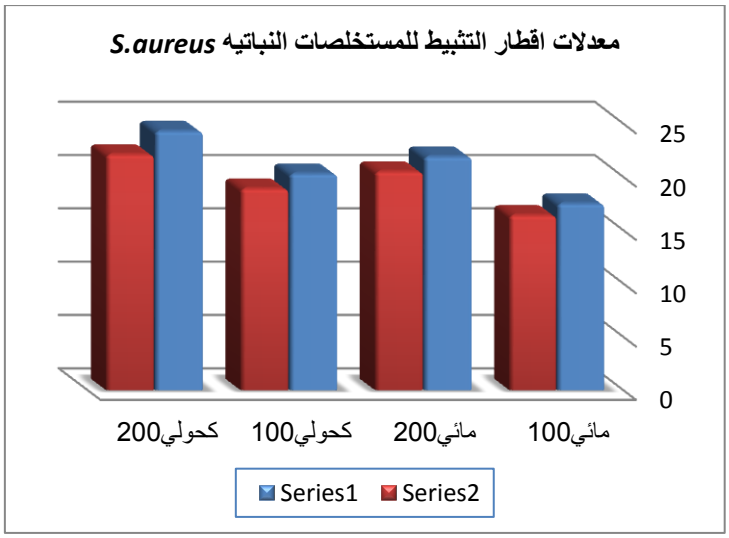


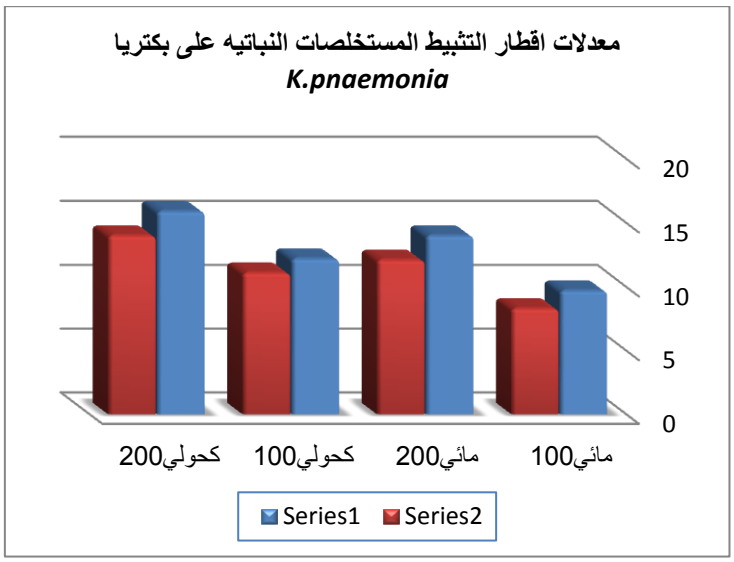




سلسلة (1): تمثل قلف البلوط ، سلسلة (2) تمثل العفص







سلسلة (1) تمثل قلف البلوط ، سلسلة (2) تمثل العفص

المصادر

(1) Brooks, A. F.; Butel, A. S. and Morse, T. A. (1998). "Jawetz, Melnik, and Adelberg's Medical Microbiology". 21st ed. Appelton and Lange, California.

(2) Sim R. B. , Thorkildson P., Gates, M. A. and Kozel, T.R (2006). Recognition of *Candida albicans* by mannan-binding lectin in vitro and in vivo. J. Infect. Dis. 193:1589-1597.

(3) Nester, E. W.; Roberts, C. E.; Pearsall, N. N.; Anderson, D. G. and Nester, M. T. (1998). Microbiology. 2nd ed. Wcb. McGraw-Hill, USA.

(4) العزاوي، أحلام عجاج احمد علي .2006. دراسة تأثير مستخلصات نبات الاشنان*Seidlitzia* في نمو بعض الجراثيم المرضية المسببة للألتهابات المهبلية. رسالة *rosmarinus*

(5) Reid,G.;Burton,J.;Hammond,J.A.and Bruce,A.W.(2004).Nucleic acid-based diagnosis ofbacterial vaginosis andimprove dmanagementusing probiotic Lactobacilli.J.Med.Food.7(2):223-8.

(6) Mushrif,S.; Eley,A.; and Jones,BM.(2000) . Inhibition of chemotaxi by organic acids from anaerobes may prevent a purulent response in bacterial vaginosis . J Med.Microbiol.; 49: 1023-1030.

(7) Jawetz,E.;Melinck,J.A.;Adelberge,E.A.;Brooks,G.F.;Butel,J.S.and Morse.S.A.(2007). Medical Microbiology. 24th ed.Mc.Graw-Hill companies,New York.pp:818.

(8) Rezzoug SA, Boutekedjiret C, Allaf K. Optimization of operating conditions of Rosemary essential oil extraction by a fast controlled pressure drop process using response surface methodology. Journal of Food Engineering La Rochelle/Algiers, Vol. 71, 2005;pp:9-17.

(9) المياح، عبدالرضا اكبر علوان (2001). النباتات الطبية والتداوي بالاعشاب. الطبعه الاولى، مركز عبادي للدراساتوالنشر،صنعاء.291صفحه.

(10) الزبيدي، زهير نجيب وبابان، هدى عبد الكريم وفليح، فارس كاظم. (1996) دليل العلاج بالاعشاب الطبية العراقية، شركة آب للطباعة الفنية المحدودة، بغداد

(11) Latomski, J., Kedzia, B., & Holderna, S., (1988). Assessment of anti microbial activity of the complex garlic preparation wang 1000 Kombi-cold capsules. Herba Pol.4-5151.58.

(12) Milne, L.J.R. (1989). Direct Microscopy in: Medical Mycology A practical approach .E.G.v. Evans and M.D.Richardson (eds) IRI.Oxford Univ .pp.299.

(13) Baron,E.J.; Peterson,LR.; and Finegold SM.(1994). Diagnostec Microbiology .9th .Ed.Mosby.United States of America.; 97-123,353-86.

(14) Harley, J.P. and Prescott, L.M. (1997). Laboratory Exercisein microbiology, 3th ed. Newyork Sanfracisco. California St. Lonis ،Missouri.

(15) MacFaddin, J. F. (2000). Biochemical test for identification of medical bacteria. 3rd ed. The Williams and Wilkins. Baltimore, USA.

(16) Betty, A.; Forbes, Danich, F.; Sahm, H. and Weiss, Feld. (1999). Dignostic Microbiology. 10th ed, Mosby, Newyork, p502-508.

(17) Anesininy, C. and Perez, C. (1993. Screening of plant used in Agrentine folk medicine for antimicrobial activity. J. Ethanopharmacol., 39 (2): 119-128.

(18) Swamy , S.M.(2000) . Cytogenetic and Immunopotential effect of ethanolic extract of *Nigella sativa* seed .J. Ethanopharma 70(1):1-7.

(19) Bauer,A.W. and Kirby,W.M.(1966).Antibiotic susceptibility testing byastandarized single disc method.The American .J.of clinical pathology,45(4):493-496

(20) NCCLS (National Committee for Laboratory Standards) (2007). Performance standard for antimicrobial susceptibility testing; twelfth informational supplement M100-S12

(21) Harbone, J.B. (1973). Phytochemical methods. Chapman and Hall. London.

(22) Cannell , P. (1998). How to Approach the isolation of Natural products – 1st ed Human – press . inc .

(23) Shihata, I.M. (1951). A pharmalogical study of Anagllis arvensis. M.D. Vet. Thesis, Cairo University.

(24) Al-Abid, M.R. (1985). Zurrzusamme mse turungder Abschla B membrane in *Phoenix dactylifera*. Wurzburg University. Wuzzburg, F.R. of Germany.Pp: 153-140 .

(25) Prescott, L.M. ; Harley, J.P. and Klein, D.A. 1993 .Microbiology; 2nd.ed. W.M.C. Brown. Publishers, London, Chicago

(26) الراوي ،خاشع محمود .2000.مدخل إلى الإحصاء .الطبعة الثالثة،كلية الزراعة والغابات،جامعة الموصل

(27) Francesco, L., Marilina, M., Claudia, M., Mariagrazia, P., Stefania,S.,Gianfranco,A.,Gian,M.R. and Antonio,T.(2006).Trends in Production of Extended-Spectrum ß-Lactamases among Enterobacteria of Medical Interest: Report of the Second Italian Nationwide Survey. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 44, No. 5 : Pp: 1659 –1664

(28) فرحان، عباس عبود؛ جميل،غسان حمدان؛ سلمان، افاق رشيد؛ (2012) مقارنه تاثيرمستخلص فطر Calvatia craniformis مع بعض المضادات الحياتية الشائعة الاستعمال في علاج البكتريا المسببة لالتهاب بطانة الرحم في نساء مدينة بعقوبة؛ مجلة ديالى للعوم الزراعيه.4(2):1-10.

(**29)-AL-thwani**،Amina N؛Bushra J،Mohamed:(2010)،Detection of pathogenic bacteria and mixed infections with yeasts which cause vaginitis and Its relationship with age in Iraqi women ؛Iraqi Journal of Science,51(4):577-581

(30) Florica Popescu,phD(2013)؛Micobiology Study of antepartum and Postpartum vaginal flora .Clinical and laboratory research and therapeutical particularities:University of Medicine and pharmacy of Craiova faculty of medicine:1-16

(31) Reddy, M.D.and Vinay, N.; (1999). Urinary tract (Kidney and bladder infection). Dr. Reddy's; pediatric office, Houston, Texas.

(32) المشهداني، وليد شمسي حسين (2006)؛ انتشار صفه المقاومه لمضادات البنسلينيات واليفالوسبورينات لبعض انواع البكتريا السالبه لصبغه كرام المنتجه لانزيمات البيتا لاكتام في النساء الذين يعانون من التهاب المهبل .اطروحه دكتوراه-كليه العلوم –الجامعه المستنصريه.

(33) علي، منى جلال: (2010):دراسه عوامل الضراوه المسببه لالتهاب المهبل البكتيري لدى النساء؛المعهد التقني الحويجه .قسم تقنيات الموارد المائيه؛7(1):58-73

(34)Davis, B.D.; Dulbecco, R.; Eisen, H.N.; and Ginsberg, H.S.; (1990a). Microbiology. J.B.,2 ed Lippincott company, Philadelphia.

(35) Muhsin ،E.A.(2010)Astudy of some immunological aspectsin children with renal disease .M.S.C.thesis .college of science ,AL-mustansiriya university

(36) Levinson, W. and Jawetz, E. (2000). Medical Microbiology & Immunology :Examination & Board Review (6th ed). Mc Graw- Hill,U.S.A. p. 85-89.

(37) Jawetz, E. ; Brook, G.F. ; Butel, J.S. and Mores, S.A. (2001). Jawets, Melnik and Adelberg's Medical Microbiology. 22th.ed. Appelton and Land, New York.

(38) حبيب, خالد عبد الرزاق؛ مجيد,هديل عبد اللطيف؛ جاسم, امنه نصيف: (2010)؛ تاثير بعض العوامل المهيئة للاصابه بداء المبيضات المهبلي؛ مجلة بغداد للعلوم,7(3):1087-1090.

(39) Martins , A.P. ; Salgueiro , L. and Concalves , M.J. (2001). Essential oil compostion and antimicrobial activity of three zingiberaceae from S. Tome principle . Planta Med. , 67 : 580 – 584.

(40) Fernandes, M. f. ; Baris , S. & Barbes , C. (2003) . probiotaproperties of human Lactobacilli Strains to be used in the Gastrointestinal tract

(41) Abu- Shanab, B., G. Adwan, D.Abu-Safiya, N. Jarrar, and K. Adwan.(2004). Antibacterial activities of some plant extracts utilized in popular medicine in Palestine. *Turk. J. Biol*., 28:99-102.

(42) Youn J, Lee KH, Won J. Beneficial effects of rosemarinic acid onsuppression of collagen induced arthritis. J Reumatol. 2003;7:30-45.

(43) Al-Ani, A. B.; Nadi, M. and Al-Khazraji, N. (1996). antimicrobial activity of volatile oils isolated from some Iraqi plants . Al-Anbar University j., 1(1):82-8

(44) Barre, J.T. ; Bowden , B.F. ; Coll, J.C. Jesus, V.E. ; Fuente, G.C. and Ragasa , C.Y.(1997). Abioactive triterpene from *Lantana camara*.Phytochemistry 45; 321-324.

(45) Mason,T.L.and Wasserman , B.P.(1987) .*Inactivation of red beta Glucan Synthase by native and Oxidized phenolic compounds*.Phytochemistry 26 : 2197-2202.

(46) Cowan, M.M.(1999). *Plant products as antimicrobial agents* J. clinical Biology ..American Society for Microbiology , Miami University . Oxford. Ohio.12 : (4) ; 564-582.

(47) الساعدي، هادي علوان محمد؛ الزبيدي، نجم عبد الله جمعه؛ دنبوس،ابتهال قاسم محمد (2012)؛ الفعاليه التثبيطيه للمستخلصات النباتيه الخام لنبات الزعتر والنعناع ضد الفطر *candida albican*؛مجله ديالى للعلوم الزراعيه.4(1):139-128

(48) النعيمي، حنان عدنان؛ الثويني، امنه نعمه؛ الطحان، فريد جميل (2008) تقييم فعاليه المستخلصين المائي والكحولي لاوراق اليوكالبتوز في تثبيط نمو البكترياالمرضيه الموجبه لصبغه كرام المعزوله من مرضى مصابون بالتهاب لبلعوم واللوزتين؛المجله العراقيه للعلوم49(2)89-82.

(49) الحبوبي، زينب عبد المحسن؛ الزيادي،سندس وفي غني(2007)؛دراسه تاثيرمستخلص نبات *Myrtus communis* في تثبيط نمو فطر *Candida alicans*؛مجله جامعه ذي قار .105-100(3)3.

Isolation and Diagnosis of Microbial Causing Genital Tract Infection and Study for the Inhibitory Effect of Some Plant Extract and Antibiotics

Abstract

(225) Samples of Genital tract infection. (GTI) secretions were be collected from women attending at gynecological&paediatric hospital in naseiryia city and it's peripheries for the time period 1/9/2012 to 1/3/2013.Cultureing of baasterial samples revealed (39) isolates for *Escherichia coli* and (36) isolates for *Staph.aureus* and (28) isolates for *Klebsiella pneumonia* and (18) isolates for *Pseudomonas aeuroginosa* and (10) isolates for *Proteus mirabilis* and (70) isolates yeasts for *Candida sp* and (33) isolates for *C.albicans*. The effect of the following concentration (100, 200) %alcoholic and water plant extract which were prepared from *Thuja occidentallis* and *Quercus aegilops* were active against that all isolates. The results of bacterial susceptibility test showed that all isolates were resistant to amoxicillin, as well as,meropenem and levoflaxacin and ciprofloxacin showed good activity against.but these were diffrention sensitivity for Gentamycin.