مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (٥) العدد (٣) 2021
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies- Basic Sciences Series Vol. (5) No. (3) 2021

عزل وتصنيف النوعين الجرثوميين *klebsiella pneumoniae* و *Escherichia coli* من عينات بول لنساء حوامل في مشفى تشرين الجامعي

أميمة الناصر*
ديما محمد**
ولاء الابراهيم***

(تاريخ الإيداع ٢٤ / ١ / ٢٠٢٠ . قُبل للنشر ١٨ / ٨ / ٢٠٢١)

الملخص

شملت الدراسة 50 عينة بول من خمسين امرأة حامل تراوحت أعمارهن بين (24-37) مع استبعاد كل حامل تناولت صاد حيوي خلال فترة سبعة أيام سابقة لتاريخ أخذ عينة البول.

بيّنت نتائج الدراسة عزل وتصنيف نوعين من الجراثيم من العينات البولية لمجموعة من النساء الحوامل المراجعات لمشفى تشرين الجامعي في محافظة اللاذقية تبعاً للاختبارات البيوكيميائية (اختبار الكاتالاز، الجيلاتين، الاندول وغيرها)، واختبار تخمر السكريات (اللاكتوز، المالتوز، السكروز، وغيرها)، والتلوين بصبغة غرام، وتبعاً إلى خصائص الزرع والنمو على الأوساط المغذية النوعية والانتقائية وذلك استناداً إلى تصنيف بيرجي، ومن خلال تفاعل الـ PCR (polymerase chain reaction) تم تحديد وتصنيف نوع العزلتين الجرثوميتين بناءً على تسلسل الحمض النووي DNA وهما : *Escherichia coli* (A1)، *klebsiella pneumonia* (A2)

الكلمات المفتاحية: التهاب المسالك البولية، *klebsiella pneumonia*، *Escherichia coli*، الالتهابات عند النساء الحوامل، PCR.

---

* أستاذ مساعد- قسم الوقاية البيئية- المعهد العالي لبحوث البيئة- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية
** مدرس- قسم العقاقير -كلية الصيدلة- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية
*** طالبة ماجستير- قسم الوقاية البيئية- المعهد العالي لبحوث البيئة- جامعة تشرين-اللاذقية-سورية

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية_ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (٥) العدد (٣) 2021

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies- Basic Sciences Series Vol. (5) No. (3) 2021

Isolation and identification of *klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* bacteria from urine samples of pregnant women at Tishreen University

Omeima Nasser *
Dima Mohammad **
Walaa Al-Ibrahem***

(Received 24 / 1 / 2020 . Accepted 18 / 8 / 2021)

ABSTRACT

The study was caried out with 50 samples of pregnant women whose ages ranged between (24-37 years old), with excluding of each pregnant who took antibiotic during the period of seven days prior to the date of collecting the sample.

The aim of this study was to isolate and classify of two bacterial species from the urine samples of a group of pregnant women at Tishreen University Hospital in Latakia province. The two bacterial isolates were identified and classified based on a group of tests which are: a group of biochemical tests (catalase test, gelatin, Indole, etc), sugar fermentation test (lactose, maltose, saccharose, etc), gram stain reaction and according to the chromatic detection on the selective culture mediums based on Bergey's Manual. And according to the PCR (polymerase chain reaction) which were carried out at the Atomy energy Commission, two bacterial isolates were identified according to the sequence of nucleic acid (DNA), and the two isolates were: A1: *Escherichia coli*, A2: *Klebsiella pneumonia*.:

Key words: Urinary Tract infections (UTIs), *Escherichia coli*, *klebsiella pneumonia*, infections in pregnant women, PCR.

*Professor, Department of Environmental Protection, Higher Institute of Environmental Research, Tishreen University, Lattakia, Syria

** Doctor Teacher, drugs Department, Pharmacy Faculty, Tishreen University, Lattakia, Syria.

*** Master students, Department of Environmental Protection, Higher Institute of Environmental Research, Tishreen University, Lattakia, Syria

المقدمة:

تعدّ التهابات المسالك البولية Urinary Tract infections (UTIs) أحد الأمراض الالتهابية الناتجة من التضاعف العالي للعديد من مسببات الأمراض في الجهاز البولي، مما يؤدي إلى إحداث تغيرات في الوظيفة المثالية للمسالك البولية والكلى (Hojati *et al*., 2015)، و تشكل عدوى المسالك البولية مشكلة صحية عالمية وخاصة لدى النساء الحوامل، حيث تم تقدير نسبة النساء الحوامل المصابين بهذه العدوى بحوالي أكثر من 50% Adyin *et al.*,2015).

يقلل زيادة حجم البلازما أثناء الحمل من التركيز البولي حتى 70% مما يشجع على نمو الجراثيم في البول (AL-Haddad.,2005). إذ تتعرض النساء الحوامل لخطر الإصابة بعدوى المسالك البولية ابتداءً من الأسبوع السادس من الحمل وتبلغ ذروة الإصابة في الأسابيع ال(22-24) (Delzell *et al*., 2000).

يوجد ثلاثة أنواع سريرية من التهاب المسالك البولية عند الحوامل: التهاب المسالك البولية غير العرضي Asymptomatic bacteriuria، والتهاب المسالك البولية السفلى Acute cystitis، والتهاب المسالك البولية العليا Acute pyelonephritis (Szweda,Jozwik.,2016).

يرتبط حدوث الإنتان البولي بتكاثر الجراثيم في المسلك البولي ويعرف بشكل عام وجود 100 ألف جرثوم أو أكثر في 1 مل من عينة منتصف عينة التدفق البولي MSU (Edwards *et al*., 1995).

تمثل الـ *Escherichia coli* ٨٠-٩٠٪ من الجراثيم المسببة لالتهابات المسالك البولية أثناء الحمل بالإضافة إلى عصيات أخرى سالبة صبغة غرام، مثل *Klebsiella pneumonia* و *Proteus mirabilis* (Timothy *et al*., 2008)

توجد جراثيم *E.coli* في الطبيعة وهي عصيات سالبة صبغة غرام تنتمي إلى فصيلة Enterobacteriaceae وهي جراثيم متعايشة Commensals في أمعاء الإنسان والحيوان، كما توجد في التربة، والمياه، والمواد الغذائية، وتتحول إلى جراثيم انتهازية Opportunism، وتسبب أمراضاً للإنسان كالإسهال، والتهاب المسالك البولية، والتهاب السحايا Meningitis، والتهاب الحويصل الصفراوي (Toval *et al*., 2014; kaper *et al*., 2004; Guentzel, 1996).

تنتشر *klebsiella pneumonia* في الجهاز التنفسي والأمعاء بنسبة 5% لدى الأشخاص الأصحاء، وتعد جراثيم *K. pneumoniae* أحد المسببات الرئيسة لالتهابات الرئة، وينتج عن ذلك تكون الخراج abscesse، وغالباً ما تكون هذه الإصابات انتهازية، وتحدث لدى الأشخاص الذين يعانون من مشاكل في الجهاز المناعي immunocompromised وأمراض صدرية ومرضى السكري ومرضى سوء التغذية (Tsai *et al*., 2010). وبذلك فهي تلعب دوراً هاماً في إحداث عدوى المستشفيات nosocomial infection كما يمكن أن تسبب التهاب المسالك البولية وتعفن الدم bacteremia والتهاب الجروح، والتهاب السحايا وخراج الكبد والتهابات معوية شديدة لدى الأطفال (Tsai *et al*., 2010). غالباً تكون العزلات الخاصة بالمستشفيات مقاومة للعديد من الصادات الحيوية لامتلاكها بلازميدات المقاومة لعدّة أدوية multi-Drug Resistance (MDR) plasmids كالبنسلينات cephalosporins, monobactams, carbapenems وحتى الصادات المقاومة لأنزيمات بيتا لاكتاماز β-Lactamases (وهي أنزيمات تنتجها الجراثيم إيجابية وسالبة صبغة غرام وهي المسؤولة عن مقاومة صف واسع من الصادات الحيوية التي تمتلك حلقة بيتالاكتام كالبنسلينات والسيفالوسبورينات)، وتعدّ واحدة من أكثر الأحياء الدقيقة

المنتجة للبلازميدات التي تشفر أنزيمات بيتا لاكتاماز واسعة الطيف Extended-Spectrum β-lactamases (ESBLs) (Biradar & Roopa, 2015; Vuotto *et al*., 2014; Brisse *et al*., 2006)

أهمية البحث وأهدافه:

- أهمية البحث:

تعد الانتانات البولية أكثر الانتانات الجرثومية شيوعاً عند النساء الحوامل إذأن معدل حدوث الإنتان البولي عند النساء الحوامل قد يكون أعلى ثماني مرات من معدل حدوثه عند النساء غير الحوامل، وهذا وينجم عن الإنتان البولي اختلاطات ومضاعفات هامة تؤثر على الأم والجنين، ومن هنا تبرز أهمية زرع البول وعزل الجراثيم الممرضة وتنقيتها للحصول على التشخيص المؤكد للجرثوم المسبب.

- أهداف البحث:

١-زرع وعزل بعض أنواع الجراثيم من العينات البولية للنساء الحوامل المراجعات لمشفى تشرين الجامعي في محافظة اللاذقية.

٢-تحديد وتنميط الجراثيم المعزولة من العينات المختبرة بتقانة الـ API وتفاعل البلمرة المتسلسل PCR

٣-تشخيص الجراثيم المعزولة اعتماداً على الخصائص البيوكيميائية وتحديد نوعها باستخدام تقنية الـ PCR.

طرائق البحث ومواده:

1- عينة الدراسة:

شملت الدراسة ٥٠ امرأة حامل من مراجعات العيادات النسائية في مشفى تشرين الجامعي باللاذقية خلال الفترة الممتدة من شباط حتى تموز عام ٢٠٢٠ وقد تم اختيار الحوامل بطريقة عشوائية مع استبعاد كل حامل تناولت صاداً حيوياً خلال فترة ٧ أيام سابقة لتاريخ أخذ عينة البول. تم جمع العينات من منتصف التدفق البولي وإجراء زرع جرثومي للعينات.

2- الأجهزة المستخدمة:

جهاز الصاد الموصد (J.P Selecta, s. a)، غرفة عزل جرثومي (Telstar,Bio II A)، مجهر ضوئي(Olympus CX 41) ، مكبرة ضوئية (Optika)، جهاز قياس الأس الهيدروجيني pH.

3-البيئات الغذائية المستخدمة لتنمية الجراثيم:

الأوساط العامة:

الآغار المغذي السائل Nutrient Broth (NB)، والآغار المغذي الصلب Nutrient agar (NA) كوسطين عامين

الأوساط التفريقية :

Simmons citrate agar، Eosin methylene blue، MacConkey agarN .

4- زراعة وعزل الجراثيم وتوصيفها:

A. تبعاً لخصائص الزرع والتلوين والفحص المجهري:

تمت عملية عزل الجراثيم والكشف عن هويتها ، حيث نُقل من كل تخفيف مقدار إبرة تلقيح إلى ثلاثة أطباق تحتوي الوسط المغذي الصلب (Nutrient Agar)، وتركت بالحاضنة بالدرجة (37) درجة مئوية لمدة (24–72) ساعة، ودرست الأطباق التي ظهر فيها نمو جرثومي، حيث عزلت باستخدام طريقة التخطيط على الوسط المغذي، وحضنت بالدرجة (37) مئوية لمدة (48) ساعة.

الجدول (1) نتائج عمليات الزرع على الأوساط الجرثومية

عدد العينات	العينات الايجابية	العينات السلبية	النسبة المئوية للعينات الإيجابية
50 عينة	**40 عينة**	**10 عينة**	**% 80**

ثم تم زرع العينات على أوساط اصطفائية، وأجري لها التلوين بطريقة صبغة غرام، وبعد الحصول على مستعمرات نقية، تم انتقاء مستعمرات مفردة، حيث تم حلها بمحلول واقي (PBS X1) حسب عكارة (Mcfarland2).

B. تبعاً للاختبارات الكيميائية مجموعة التشخيص التحليلي **(API)**:

أجري لها اختبارات بيوكيميائية باستخدام تقانة المسطرة البيوكيميائية لتسهيل عملية التمييز بين الأنواع، وأجريت للعينات اختبارات تخمير السكريات، وحضنت بدرجة حرارة (37) درجة مئوية لمدة (24) ساعة، وتمت مراقبة النتائج لمدة (72) ساعة إضافية للتأكد من عملية التخمر.

C. تبعاً لتفاعل البوليميراز التفاعل التضخمي المتسلسل(PCR):

تعتمد هذه الطريقة في تصنيف الجراثيم على محتواها من الأحماض النووية DNA وتسلسلها. (Ehrmann & Vogel, 2005) وتتمتع هذه الطريقة بدقة أكبر في تحديد الأنواع وتحت الأنواع ، لأنها تمتلك تنوعاً واختلافاً كبيرين في المادة الوراثية، وبالتالي يساعد هذا في تميزها عن بعضها. إذ تعتمد الطريقة الحديثة على تضخيم المادة الوراثية للجراثيم ثم ترحيلها على هلامة آغاروز، ويطبق ضمن الرحلان الكهربائي (gel–electrophoresis) بعد القيام بعملية تضخيم مورثي لمورثة محافظة. (Rajesh *et al.*, 2015)

الجدول (٢): تسلسل بعض المرئسات المستخدمة في هذه الدراسة

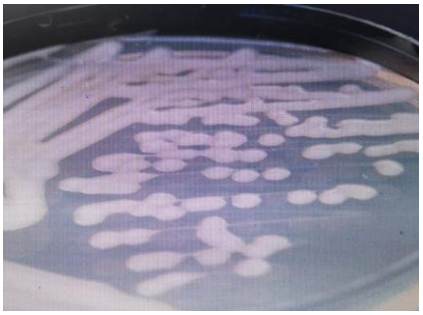
Bacteria	Sequence5`–3`	Gene recognized	Size bp
K. pneumoniae	ACCCACTACGGTCGCGTATG	*16s rDNA*	500
	TTTAGCCACGGCAGTAACACC		
E. coli	5'– CAAGACATCATGGCCCTTAC–3'	*Shiga toxin*	170
	5'–ACTTCATGGAGTCGAGTTGC–3'		

النتائج ومناقشتها:

1- الخصائص الزرعية للعزلات :

عُزلت الجراثيم وتم الكشف عن هويتها، حيث بينت النتائج ظهور أعداد كبيرة من المستعمرات بعد زراعة العينات على الأوساط المغذية العامة والاصطفائية.

تم عزل وتفريق الجراثيم بطريقة التخطيط على الطبق وذلك من أجل الحصول على عينات جرثومية نقية، وذلك على الوسط المغذي الآغار المغذي.

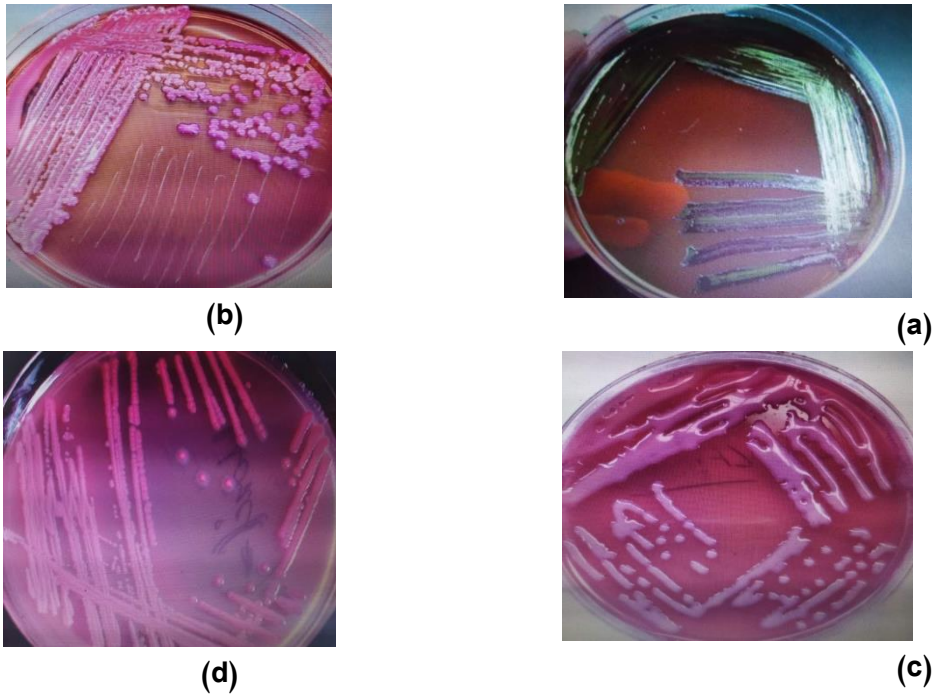


(a)

(b)

الشكل (١): (a) نمو الجراثيم على الوسط المغذي العام nutrient agar، (b) **طريقة التخطيط لتفريق وعزل الجراثيم**

بعد إجراء عملية العزل الانتقائي والحصول على العزلتين الجرثوميتين (A1) و (A2)، زرعت على الأوساط الاصطفائية الآتية وسط الأيوزين أزرق الميتيلين (EMB)ووسط MacConkey agar، حيث حققت العزلة الجرثومية الأولى (A1) نموعلى وسط **EMB** وتظهر بشكل مستعمرات ذات لمعة معدنية خضراء وعلى وسط **MacConkey** ظهرت بشكل مستعمرات وردية، والعزلة الجرثومية الثانية **(A2)** حققت نمو على وسط **EMB** حيث تظهر المستعمرات ذات لون وردي، وعلى وسط **MacConkey** ظهرت بشكل مستعمرات حمراء مع هالة وردية.

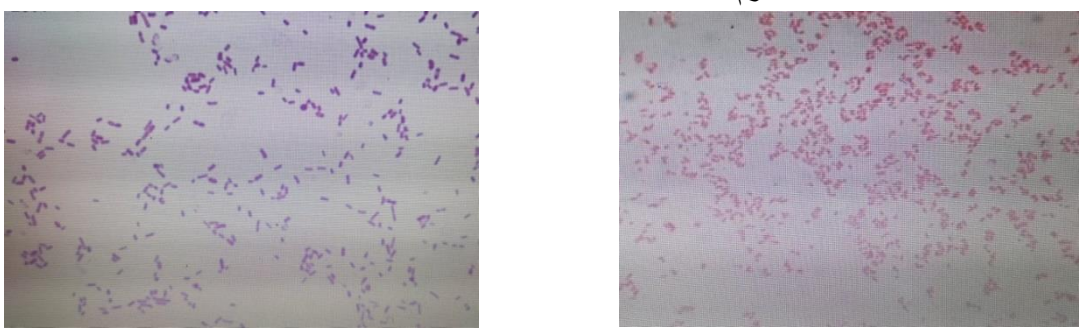


الشكل (٢) النمو على الوسط EMB و MacConkey agar

حيث (a) **نمو العزلة** (A1) **على وسط** EMB ، (b) **نمو العزلة** (A1) **على وسط** MacConkey ، (c) **نمو العزلة** (٢A) **على وسط** EMB ، (d) **نمو العزلة** (A2) **على وسط** MacConkey.

2- نتائج التلوين والفحص المجهري:

تم تلوين العزلات بصبغة غرام، حيث ظهرت العزلة الجرثومية الأولى (A1) والعزلة الجرثومية الثانية (A2) بشكل عصيات سالبة صبغة غرام.



الشكل (٣) (a) شكل خلايا العزلة الأولى بعد التلوين بصبغة غرام (A1)، (b) شكل خلايا العزلة الثانية (A2) بعد التلوين بصبغة غرام

الجدول (3) بعض الصفات الشكلية والمجهرية للعزلتين الجرثوميتين

اسم العزلة / الصفة	A1	A2
النمو على وسط EMB	+	+
النمو على وسط MacConkey	+	+
الحركية Motility	+	+
شكل الخلايا	عصيات	عصيات
صبغة غرام	–	–
تكوين الأبواغ	–	–

بعد التأكد من نقاوة المستعمرات تم انتقاء مستعمرات مفردة وحلها بمحلول PBS 1x حسب عكارة Mcfarland2، وتم إجراء الاختبارات البيوكيميائية لهذه المستعمرات كما هو موضح في الجدول (4):

الجدول (4) الاختبارات البيوكيميائية للعزلتين الجرثوميتين

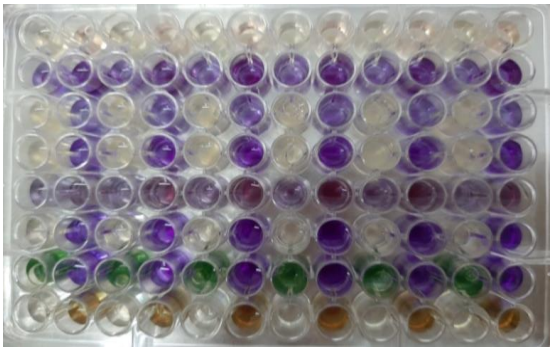
العزلة / الاختبار	*Escherichia coli*	*Klebsiella pneumonia*
الكاتالاز Catalase	+	+
الأوكسيداز Oxidase	–	–
الارجنينArginine	–	–
نتراتNitrate	+	+
أحمر الميتيل Methyl red	–	+
فوكس بروسكار Voges–Proskauer	–	+
الاندول Indol	+	–
H_2S	–	–
الاسيتات Acetate	+	+
السترات Citrate	–	–
الجيلاتين Gelatine	–	–

بالإضافة لإجراء اختبارات تخمير السكريات على الصفيحة حيث حضنت بحرارة ٣٧ ْم لمدة ٢٤ ساعة، وتمت

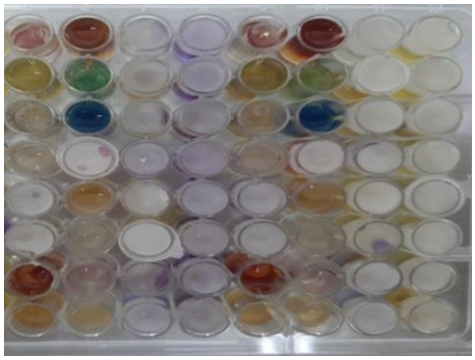
مراقبة النتائج لمدة ٧٢ ساعة إضافية للتأكد من عملية التخمير، والنتائج موضحة كالآتي:

الجدول (5) تخمر السكريات للعزلتين الجرثوميتين

العزلة / الاختبار	*Escherichia coli*	*Klebsiella pneumonia*
ارابينوز Arabinose	+	+
سيللوبيوز Cellebiose	–	+
غليسيرول Glycerol	–	+
جلوكوز Glucose	+	+
اينوزيتول Inositol	–	+
لاكتوز Lactose	+	+
مالتوز Maltose	–	+
مانيتول Mannitol	+	+
مانوز Mannos	–	+
رافينوز Raffinose	–	+
سوربيتول Sorbitol	+	+
سكروز Sucrose	–	+
تريهالوز Trehalose	+	+
زيلوز Xylose	–	+



(a) الشكل العام للصفيحة قبل إجراء الاختبار

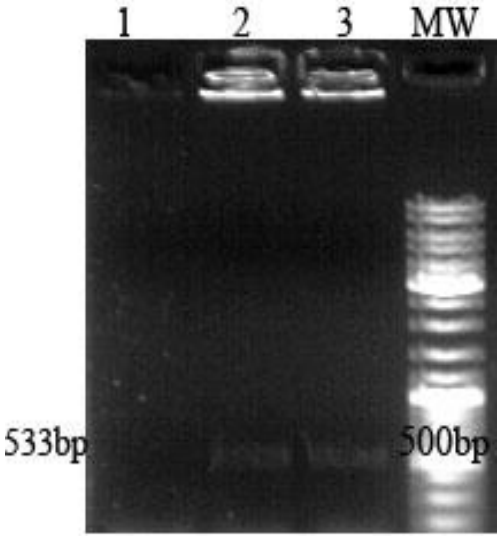


(b) شكل الصفيحة بعد إجراء الاختبارات وإضافة الكواشف

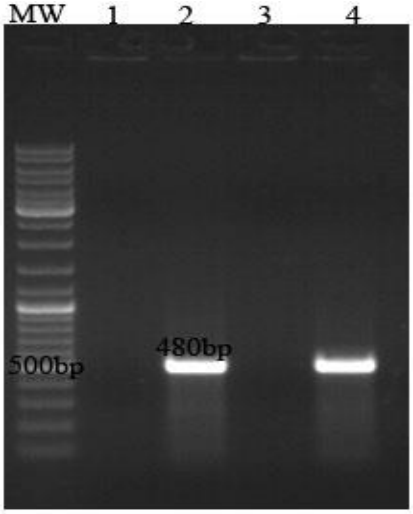
الشكل (4) **صفيحة اختبارات تخمر السكريات حيث** (a) **الشكل العام للصفيحة قبل إجراء الاختبار،** (b) **شكل الصفيحة بعد إجراء الاختبار**

نتائج تفاعل البلمرة (PCR):

بينت النتائج كما هو موضح في الشكل (5) والشكل (6) تسلسل المرئسات التي اسْتُخْدِمَت في هذه الدراسة للتصنيف الجزيئي للعزلات الجرثومية المدروسة من العينات المرضية.



الشكل (5): رحلان كهربائي هلامة آغاروز 1% للعينة إذ المسارات ١: شاهد سلبي (بدون DNA)؛ ٢: عزلة ١ (*E.coli*)؛ ٣: شاهد ايجابي عزلة عيارية *E.coli*، MW : واسم جزيئي معياري ١٠٠ bp.



الشكل (6) رحلان كهربائي هلامة آغاروز ١% للعينة إذ المسارات: ٢: عزلة ٢ (*K. pneumonia*)؛ ٣: شاهد سلبي (بدون DNA)؛ ٤: شاهد ايجابي عزلة عيارية *K. pneumonia*؛ MW: واسم جزيئي معياري ١٠٠ bp.

يتبين مما سبق وبعد إجراء جميع الاختبارات البيوكيميائية وتفاعل الـ PCR على العزلتين الجرثوميتين المأخوذة من عينات البول للنساء الحوامل، أن العزلتين الجرثوميتين هما:

١- العزلة *Escherichia coli* (A1): جراثيم عصوية سالبة الغرام لاهوائية اختياراً.

٢- العزلة *Klebsiella pneumonia* (A2): جراثيم عصوية سالبة الغرام لاهوائية اختيارياً.

وتوزعت العينات إلى حوالي ٨٠% انتانات بولية ناجمة عن الـ *Escherichia coli*، وحوالي ٢٠% ناجمة عن الـ *klebsiella pneumonia*.

وهذه النتيجة جاءت مقاربة لما توصلت إليه دراسة (Raksha *et al.*,2003) بأن بكتيريا *E.coli* تشكل القسم الأكبر من إصابات الإنتانات المسالك البولية عند الحامل، وهذا يعود إلى أن *E.coli* لها قدرة عالية على الارتباط بالخلايا الظهارية للمسالك البولية بواسطة عوامل التصاق متخصصة.(Kaczmarek *et al.*,2012)

تتوافق نتائج هذه الدراسة مع نتائج (بلاش وآخرون، ٢٠٠٦) الذي حصل على الجنسين *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumonia* عند دراسة الجراثيم المعزولة من عينات بولية لنساء حوامل.

وفي دراسة (Forson *et al.*,2018) بيَن أن البكتيريا الأكثر شيوعاً المسببة للإنتانات البولية خلال فترة الحمل هي *Escherichia coli* وخاصة في الثلث الثاني والثالث من الحمل.

الاستنتاجات:

١- عزل وتنميط نوعين من الجراثيم من العينات البولية لنساء حوامل وهما الأولى: *Escherichia coli*، والثانية: *Klebsiella pneumonia*.

٢- كانت نسبة عزلات *E.coli* 80% من مسببات الإنتانات البولية للنساء حوامل، في حين كانت نسبة *k.pneumonia* 20%.

التوصيات:

١- متابعة العمل على تشخيص الأنواع الجرثومية المسببة للإنتانات البولية عند الحوامل لكونها تشكل خطراً على الحامل والجنين.

٢- التأكيد على وجود إجراء زرع بول في أول زيارة للحامل لدى الطبيب، كما يجب إعادة زرع البول في الثلث الثالث من الحمل.

٣- التأكيد على قواعد الصحة العامة ورفع مستوى الوعي الصحي لدى الحامل.

المراجع :

١- بلاش، عمر؛ عبدالرحمن، أحمد (٢٠٠٦). *الانتانات البولية عند الحوامل أهم الجراثيم المسببة وتحسسها للصادات*. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية (٢٨) (١).

2- Adyin, Ahmed, Khan,Dasgupta.(2015) Recurrent Urinary Tract Infection in women. International Urogynecology journal.

3- AL-Haddad M Ahmed (2005). *Urinary Tract Infection among pregnant women AL-Mukalla district, Yemen*. Eastern Mediterranean health journal.

4- BIRADAR, S. and ROOPA, C. Isolation and Antibiogram of Klebsiella species from Various Clinical Specimens. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, Vol. 4, No. 9, 2015, P. 991-995.

5- BRISSE, S.; GRIMONT, F.; PATRICK, A.D.; GRIMONT, P.A.D. The Genus Klebsiella. Prokaryotes, Vol. 6, 2006, P. 159–196.

6- Edwards, C.R.W, Bouchier I.A.D, Haslett C, Chilvers E.R– *Davidson's principles and Practice of Medicine*, 17th edition, churchill Livingstone,Londn,1995, 1203p .

7- Delzell, John E ,M.D,JR,Lefever, Michael (2000).*Urinary Tract Infections during Pregnancy.*Amrican Family Physician,Vol.61,No.3713-720.

8- Forson Akua Obeng, Tsidi Wilson Bright, Nana-Adjei David.(2018) Escherichia coli bacteriuria in pregnant women in Ghana: antibiotic resistance patternsand virulence factors. BMC Research Notes.

9- Guentzel, M.N. (1996). *Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Serratia,Citrobacter, and Proteus.* In: Baron's Medical Microbiology (Baron S *et al*., eds.), 4th ed., Univ of Texas Medical Branch. (via NCBI Bookshelf) ISBN 0-9631172-1-1.

10- Hojati,Z. ; Zamanzad,B.; Hashemzadeh,M.; Molaie,R. and Gholipour, A. (2015). *Detection of FimH Gene in Uropathogenic Escherichia coli B. Strains Isolated From Patients With Urinary Tract Infection*.Jundishapur J Microbiol.; 8(2): e17520.

11- Kaper, J.B.; NATARO, J.P.; MOBLEY, H.L.T. *Pathogenic Escherichia coli.* Microbiology. Vol. 2, 2004, P. 123-140.

12- Kaczmarek, A.; Budzynska, A. and Gospodarek, E. (2012). Prevalence of genes encoding virulence factors among *Escherichia coli* with K1 antigen and non-K1 E. coli strains. J Med Microbiol.;61(Pt 10):1360–5.

13- Rajesh Upadhyay; Milind Y Nadkar; A Muruganathan; Mangesh Tiwaskar; deepak Aarapurkar; NH banka; Ketan k metha; BS Sathyaprakash. (2015). API Recommendations for the Management of Typhoid Fever. *Journal of The Association of Physicians of India*.Vol. 63, November; 77-96.

14- Szweda,H; Jozwik.M.(2016). *Urinary Tract Infection during pregnancy- AN Updated overiew.*DEV period MED-2016 ixx,4:263-272.

15- Tiomthy M; Robin G; Praticia M.(2008) *Urinary Tract Infection in pregnancy*. the obstetrician & Gynaecologist 2008;10:156-162.

16- TSAI, S.; SUN, J.; HSU, B.R.; HUANG, Y. Characteristics of Klebsiella pneumoniae Bacteremia in Community-acquired and Nosocomial Infections in Diabetic Patients. Chang Gung Med J, Vol. 33, No. 5, 2010, P. 532-539.

17- Toval, F.; Kohler, C.; Vogel, U.; Wagenlehner, F.; Mellmann, A.; Fruth, A.; Schmidt, M.A.; Karch, H.; Bielaszewska, M.; Dobrindta, U. *Characterization of Escherichia coli Isolates from Hospital Inpatients or*

Outpatients with Urinary Tract Infection. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 52, No. 2, 2014, P. 407–418.

18- VUOTTO, C.; LONGO, F.; BALICE, M.P.; GIANFRANCO DONELLI, G.; VARALDO, P.E. Antibiotic Resistance Related to Biofilm Formation in Klebsiella pneumoniae. Pathogens, Vol. 3, 2014, P. 743-758.