وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعـة القادسية /كلية العلـــــــوم
قســـــــــم علوم الحيـــــــــــاة

# عزل وتشخيص بكتريا *Proteus mirabilis* من مرضى التهاب المسالك البوليه

البحث مقدم الى كلية العلوم / قسم علوم الحياة كجزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس علوم حياة من قبل الطالبة :

رحاب حاكم غالي

بأشراف الأستاذة الفاضلة :-

سيوف خومان علوان الرماحي

٢٠١٦م ١٤٣٧هـ

بسم الله الرحمن الرحيم

{ قال رب أشرح لي صدري ويسرلي أمري

وأحلل عقدة من لساني يفقهوا قولي }

صدق الله العلي العظيم

(سورة طه)

- أ -

# الاهـــــــــداء

بدأنا بأكثر من يد وقاسينا اكثر من هم وعانينا الكثير من الصعوبات وها نحن اليوم والحمد الله نطوي سهر الليالي وتعب الايام وخلاصة مشوارنا بين دفتي هذا العمل المتواضع الى منارة العلم المصطفى الى سيد الخلق الى رسولنا الكريم سيدنا(محمد صلى الله عليه والله وسلم) .

الى الينبوع الذي لايمل العطاء الى من حاكت سعادتي بخيوط منسوجه من قلبها الى والدتي العزيزه الى من سعى وشقى لأنعم بالراحه والهناء الذي لم يبخل بشيء من أجل دفعي في طريق النجاح الذي علمني أرتقي سلم الحياة بحكمه وصبر الى والدي العزيز الى من حبهم يجري في عروقي ويلهج بذكراهم فؤادي أخواتي وأخواني .

الى من علمونا حروفا من ذهب وكلمات من درر وعبارات من أسمى وأجلى عبارات في العلم الى من صاغوا لنا علمهم حروفا ومن فكرهم منارة تنير لنا سيرة العلم والنجاح الى أساتذتنا الكرام

رحاب

- ب -

# الشكر والتقدير

**الحمدلله رب العالمين والصلاة والسلام على معلم البشريه وهادي الأنسانيه نبينا الأعظم(محمد صلى الله عليه وأله وسلم)ومن تبعهم بأحسان الى يوم الدين .**

**أتوجه بالشكر الجزيل لكل من ساهم في أخراج هذا البحث الى حين التنفيذ الى كل من كان سبباً في تعليمي وتوجيهي ومساعدتي الى الأستاذه الفاضله مشرفة البحث الدكتوره ( سيوف خومان علوان الرماحي )٠والى عميد كلية العلوم الدكتور (عبد الأمير سمير سعدون) .**

**والى رئاسة قسم علوم الحياة وبالخصوص الدكتور ( جاسم حنون هاشم ) لما بذله من جهود متواصله في المتابعه والتشجيع طيلة السنوات الأربع .**

**والى الكادر التدريسي في القسم أساتذتنا الأعزاء .**

**وأتقدم بالشكر الجزيل الى طالبتي الماجستير( نهى وعبير) .**

**اشكر كل هؤلاء .. مع المحبه**

الباحث



## الخلاصـــة Summary

تم في هذه الدراسة جمع ١٧٠ عينة وادرارمن المرضى المصابين بخمج المسالك البولية لكلا الجنسين ( ١١٠أناث و٦٠ ذكور)،الذين راجعوا مستشفى الديوانية التعليمي ومستشفى الولادة والاطفال في مدينة الديوانية ،للمدة ٢٠١٥/١٢/١ الى ٢٠١٦/٢/١للتحري عن بكتريا المتقلبات *Proteus* اذ بينت نتائج الاختبارات المظهرية الكيميوحيوية عائدية ٤٩ (٢٨,٨٢%) عزلة لبكتريا *P.mirablis* ،كما بينت النتائج بأن الاناث كنَّ اكثر عرضة للأصابة بخمج المسالك البولية من الذكور اذ كان عدد الاناث المصابات ٣٣ من اصل ٤٩ وبنسبة (٦٧,١٩%) اما عدد الذكورالمصابة بخمج المسالك البولية ١٦ وبنسبة (٣٢,٦٥).

# الفصل الاول

## المقدمة

### ١-١ نبذة تاريخية Historical Aspect

اكتشفت بكتريا المتقلبات Proteus لأول مرة العالم Hauser عام ١٨٨٥ م حيث قام بعزلها لأول مرة من البراز و مياه المجاري و المواد العضوية المتحللة و أسماها المتقلبات Proteus لامتلاكها ظاهرة تعدد الأشكال Pleomorphism (O'hara et al., 2000). إذ ينتمي جنس Proteus إلى المجموعة الخامسة (Group 5) بحسب تصنيف Bergy لعام ١٩٩٤ (Holt et al., 1994) . التي تضم مجموعة البكتريا العصوية السالبة لصبغة غرام و تحت المجموعة (subgroup1) العائلة المعوية Enterobacteriaceae والى القبيلة Tribe المعروفة بـ Proteae (Toth and Emody 2000 ; Karlowsky et al., 2003 ) وتضم قبيلة proteae ثلاثة اجناس هي: providencia, proteus والـ Morganella (Greenwood et al., 2002 ; Holt et al.,1994.ولقد ذكر في مصنف بركي للعام ١٩٧٤ان جنس المتقلبات يضم خمسة انواع هي P.mirabilis، P. vulgaris، P.rettgri ، P. morganii و P. inconstans (Buchanan and Gibbons, 1994).

بعد ذلك تغيرت مواقع هذه الانواع اذ تمكن العالم Henriksen عام ١٩٥٠ أنْ يميز بين جنسي Proteus و الـ Providencia بالاعتماد على الاختبارت الكيميوحيوية واوضح قابلية انتاجهما لانزيم Deaminase الذي لا تنتجه بقية افراد العائلة المعوية وبين ان جنس Proteus

ينتج انزيمي Lipase والـ Gelatinase وعدم قدرته على انتاج الحامض من تخمر السكريات المختلفة كأرابينـول ، والمانـوز ، والمانيتول علـى خلاف جنـس الـ Providence (Karlowsky et al.,2003;Swierzko et al.,2000 ).

واستناداً لدراسات تهجين (DNA) والاختلافات التركيبية في بروتينات معينة وكذلك الصفات المظهرية فقد نقل النوع Proteus rettgeri الذي اكتشفه Rettger عام ١٩٠٤الى جنس Providencia ليصبح النوع Providencia rettgeri (Penner,1981). ووضع النوع P.inconstans للأسباب السابقة نفسها ضمن جنس الـ Providencia وقسم الى نوعين : ( Providencia alcalifaciens، Providencia stuartii (Greenwood et al.,2002 ). وقد ادرج حاليا النوع P.morganii ضمن الجنس Morganella ليصبح M.morganii اعتمادا في ذلك على نسبة الكوانين و السايتوسين (G+C) التي تشكل ٥٠% وهذه النسبة تكون عالية في هذا النوع مقارنة بالأنواع الأخرى العائدة للجنس الـ *Proteus*و التي شكلت ٣٩% ( O'hara *et al*.,2000)

وعلى وفق التصنيف الحديث أصبح جنس الـ *Proteus* يضم خمسة أنواع و هي *P.mirablis* ,*P. penneri* , *P.vulgaris* , *P.myxofaciens* و *P. hauseri* و ذلك اعتمادا على التفاعلات الكيميائية الحيوية (O'hara *et al*., 2000) .

**١-٢ الصفات العامة للبكتريا General Characters**

توصف هذه البكتريا بأنّها عصيات قصيرة سالبة لصبغة كرام، قطرها يتراوح من (0.3 - 1.0) مايكرومتر و طولها ( 0.6-6.0) مايكرومتر ومتحركة غير مكونة للسبورات (2007 ,Abbott). كما ان هذه البكتريا مكونة للكبسولة وتحتوي على مخامل (Fimberiae) وكذلك تحتوي على الاسواط ( Flagellae )، سالبة لفحص الأوكسيديز، منتجة لانزيم اليوريز، منتجة لغاز كبريتيد الهيدروجين $H_2S$ عند نموها على وسط (kligler iron agar)وموجبة لفحص احمر المثيل (Methyl red) وسالبة لفحص (Vogus Proskaur) وكذلك بأمكانها تكوين (Phenyl Pyruvic acid) عند تنميتها على وسط حاوي على (Phenylalanine) بالاعتماد على انتـــاج انزيم (Phenylalanine deaminase) Greenwood *et al*., (2002) .وتكون موجبة لفحص الكاتليز وأنواع بكتريا المتقلبات تعطي فحصا سالبا للاندول ماعدا النوع *P.vulgaris* ، وتظهر مستعمرات بكتريا المتقلبات بلون اصفر باهت على وسط أكار ماكونكي لعدم تخمرها سكر اللاكتوز غير إنها تخمر كلا من سكر الكلوكوز والسكروز والكالاكتوز ( Holt *et al.*, 1994 ). وتـمـتاز بكـونـهـا هـوائـية (Cooker Abbott,2007; .(*et al*.,2000

تسلك بكتريا *P.mirabilis* شكلا من أشكال ظاهرة تعرف باسم الانثيال ويعتقد أن قدرتها على استيطان المسالك البولية تتحد مع حركة الانثيال (Jiang *et al*., 2010). إذ تتمايز من خلايا سابحة قصيرة تدعى بالخلية المنثالة (Swimmer cell) عند تلقيحها في وسط المرق المغذي، ولكن عند تلقيحها على وسط زرعي صلب تبدأ هذه البكتريا بالانقسام والتمايز الى خلايا منثالة

ضعف طول الخلية السابحة ومحاطة بألاف الاسواط المحيطية وتكون الخلايا متجمعة ومتشابكة الاسواط تتحرك سوية على الوسط بمعدلات عالية جدا (Carey *et al*.,2013). و من النادر ملاحظة المستعمرات على وسط اكار الدم أو الأكار المغذي إذ بدلاً من ذلك يلاحـظ انتشار واحتشاد امواج متوالية مع حلقات نمو كثيفة حول موقع التلقيح إذ يغطي النمو اسطح الوسط الصلب (Liaw *et al*., 2000;Greenwood *et al*., 2002). وقد وجد ان ظاهرة الانثيال تتاثر بالظروف البيئية المحيطة مثل وجود احماض امينية وببتيدات معينة (Gaisser and Hughes, 1997)

### ١-٣ الامراضية Pathogenicity :

على الرغم من كون هذه البكتريا جزء من النبيت الطبيعي (Normal flora) في القناة المعوية مع باقي انواع البكترية المعوية للاشخاص الاصحاء لكن من الممكن ان تؤدي الى اصابة الأفراد ضعيفي المناعة في الغالب عندما تنتقل اليهم (Kearns, 2010).ولكونها بكتريا أنتهازية (Opportunistic) لذا فهي تسبب كثيراً من الاصابات عند وجودها في غير موطنها الطبيعي كخمج المسالك البولية ( Pellegrino *et al*.,2013).

### ١-٣-١: خمج المسالك البولية Urinary tract infection

يشير خمج المسالك البولية الى وجود الكائنات الحية الدقيقة في المسالك البولية على الرغم من انه قد يكون من الصعب التميز بين التلوث والاستعمار او العدوى.(Verrier, 2000) ، ويعد خمج المسلك البولي من الاخماج الشائعة في المجتمع ويصيب الفئات العمرية كلها فضلا عن اصابة كلا الجنسين ذكوراً واناثاً (Orrett , 2001). إن الإصابة بالـ U.T.I تختلف باختلاف العمر و الجنس و تكون أكثر حدوثاً في الإناث مما هي عليه في الذكور في مختلف الأعمار عدا مرحلة الطفولة المبكرة ( أقل من ثلاثة أشهر) حيث تكون نسبة حدوثها في الذكور أكثرمما هي عليه في الإناث و تكون هذه النسبة ( 3-5%) في الإناث و (1%) في الذكور ( Egland and Egland , 2002). كما وجد ان الاصابة بالنسبة للفئات العمرية كانت اعلى نسبة للفئتين العمريتين للأطفال دون ١٠ سنوات والبالغين ٥١ سنة فأكثر اذ بلغت (٢٢,٢-٢٣,٧)%على التوالي (خميس،٢٠١٣). وان معظم اخماج المسالك البولية يكون سببها البكتريا السالبة لصبغة كرام مثل بكتريا القولون *E.coli*،المتقلبات *P.mirablis* و*P.vulgaris* وانواع من الكلبسيلا *Klebsiella spp* ،الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* ،كذلك يحدث خمج المسالك *Morganella morganii*و *Serratia*، *Acintobacter*،

البولية بفعل البكتريا الموجبة لصبغة كرام ومن هذة البكتريا المكورات المعوية *Enterococcus*،المكورات العنقودية *Staphylococcus* و*Streptococcus agalacticae* (Tangho and Mcaninch,2004). واشارت الدراسة التي توصل اليها خلف وكاظم ٢٠١٢ الى ان بكتريا *P. mirablis* مسؤولة عن (١١,٨٥%) من اصابات المسالك البولية كما بين ان نسبة عزل هذه البكتريا كانت في النساء اعلى مما في الرجال . و يمكن أنْ يحدث الخمج في أي جزء من المسالك البولية :الكلية (Kidney)، الحالب (Ureter)، المثانة (Bladder) ، والاحليل (Urethra) ، ويصنف بحسب موقع الاصابة الى اخماج حويض الكلى

(Pyelonephritis)، اخماج المثانة ( Cystits) ،اخماج الاحليل (Urethritis) وعندما تكون هناك تشوهات تركيبية و وظيفية أو وجود اجسام غريبة مثل بقاء القثتر البولي ( Urinary catheter) لمدة طويلة أو وجود الحصى (Stones ) فيعد الخمج معقداً (Masson *et al.*, 2009).

وقد وجد ان *P. mirabilis* تفضل اصابة الجزء العلوي من المسلك البولي مما قد ينتج منه اخماج الكلية والحويض (Pyelonephritis) (Liaw *et al.,* 2001) ، ويصاحب هذا الخمج بعض الاعراض مثل الحمى ، والغثيان ، والالم في منطقة البطن ووجد ان ٥٠ % من الاطفال المصابين باخماج الكلية والحويض يعانون من تلف الانسجة الكلوية (Craig,2004). وتتراوح شدة اخماج المسالك البولية بين أخماج بكتيرية لا عرضية الى أخماج قاتلة حيث يعد الـ U.T.I سببا مهما لحدوث انتنان الدم (Septicaemia) ومحدثاً نسبة عالية من الوفيات ولاسيما عند المسنين حيث يعد من المسببات الرئيسة لتجرثم الدم ( Bacteremia ) بالبكتريا السالبة لكرام (Mathai *et al* ., 2001). وقد اثبت ان بكتريا *P.mirabilis* مسؤولة عن احداث اخماج المسالك البولية لا سيما في الافراد الذين يعانون من تغيرات تركيبية غير طبيعية في القناة البولية أوفي المرضى المستعملين للقثطرة من خلال اليوريز الذي تنتجه البكتريا (Poore *et al*., 2001) . وتعتمد شدة الإصابة ومدتها على عوامل الضراوة التي تمتلكها البكتريا المسببة للمرض من ناحية ومن ناحية اخرى تعتمد على طبيعة الأجهزة الدفاعية لدى المضيف (Bass *et al*., 2003). ويعد اخماج المسالك البولية من اخطر العوامل التي تؤدي الى تطور القصور الكلوي (Elder , 2004 ) . بالإضافة الى اخماج المسالك البولية فهناك اخماج القناة التنفسية والحروق والجروح والاذنين والعينين والانف والحنجرة واخماج القناة الهضمية (Thaler and Kennedy, 2000). و تبين حديثاً دور بكتريا *P.mirbilis* بوصفها مسبباً لمرض خمج المفاصل الرثوي Rheumatoide Arthriti (RA) إذ لوحظ تكرار عزل البكتريا من ادرارالاشخاص المصابين بهذا المرض وأيضاً ارتفاع في مستوى اضداد بكتريا *P.mirabilis* ممايؤكد دور البكتريا في تطور هذا المرض (Rashid *et al*., 2001). فضلاً عن أصابات اخرى تشترك بها هذه البكتريا وهي خمج السحايا لدى الاطفال حديثي الولادة (Neonatal meningeocephalititis) ، وخمج العظام (Osteomyelitis ) . (O,hara *et al*.,2000)

**١-٣-١-١: تصنيف اخماج المسالك البولية**

**١-٣-١-١-١:تصنيف اخماج المسالك البولية من حيث الامراضية:**

**أ:اخماج المسالك البولية المعقد Complicatated U.T.I**

ان إصابات بكتريا المتقلبات *Proteus mirabilis* للمسالك البولية غالبا ما يكون مترافقا مع خمج المسالك البولية المعقدة إضافة الـى المرضى المقثطرين ويكون عادة مترافق مع التشوهات التركيبية في القناة البولية والانسدادات والتشوهات الولادية (Dattelbaum *et al*.,2003;Li *et al*.,2004 ).وهذا النوع من الاخماج صعب العلاج باستعمال المضادات الحيوية و ذلك بسبب وجود هذه البكتريا داخل قالب الحصوة (Torzewska *et al*.,2003).

**ب :اخماج المسالك البولية غير المعقد Uncomplicatated U.T.I**

يؤلف خمج المسلك البولي غير المعقد نسبة كبيرة من الاخماج ، ويحدث عندما لا يكون هناك تغيرات واختلالات تشريحية ووظيفية عصبية غير طبيعية في القناة البولية بحيث تؤدي الكلية وظائفها بشكل طـبـيعي فضلا عن أنه لا يـتوافق مع الاضـطرابات التي تؤدي الى عطـل في اليـات دفاع الجسم تشمل اخماج القناة البولية غير المعقدة بدورها كُلا من تجرثم الإدرار عديم الاعراض (Asymptomatic Bacteriuria) واخماج المثانة واخماج الكلية و حويضها (Gunther *et al.,* 2001).

**١-٣-١-١-٢:تصنف اخماج المسالك البولية بحسب مكان الاصابة الى**

**أ-اخماج المسالك البولية العليا Upper U.T.I**

يشمل اخماج الكلية وحوضها (Pyelonephritis) الناتجة من غزو البكتريا للطبقة البارنيكيمية للكلية (Wagenlehner *et al.*, 2009) تصاحب أخماج المسالك البولية العليا أعراض منها الحمى (Fever ) والقشعريرة ( Chills) والتعب والم الخاصرة واسفل الظهر مع قلة التبول وتكراره وفي بعض الأحيان تكون مصحوبة بالتقيؤ(Vomiting) والإسهال (Diarrhea) مع الم في البطن والغثيان (Nausea ) (Lane and Takhar ,2011). وتعد اخماج المسالك البولية العليا اكثر خطورة من اخماج المسالك البولية السفلى ولكنها اقل شيوعا منها ولهذا فإنّ تجنب اصابة الاحليل يمنع من وصول البكتريا إلى المثانة وإنّ عدم علاجها يؤدي إلى خمج المسالك البولية العليا (Reddy's, 2002).

**ب-اخماج المسالك البولية السفلى Lower U.T.I**

يتضمن كل من خمج المثانة (Cystitis) وخمج الأحليل (Urethritis) (Joseph dipiro *et al.*, 2011) .و يشكو مرضى خمج المثانة الحاد من مجموعة من الأعراض السريرية المتضمنة عسر البول Dysuria وكثرة عدد مرات التبول والحاجة للتبول Urgency وألم فوق منطقة العانة Suprapubic (Lane and Takhar ,2011).

**١-٣-١-١-٣: تصنيف اخماج المسالك البولية بحسب شدة الاصابة:**

**أ- الاخماج الأولية Primary infection**

يحصل هذا النوع من الاخماج نتيجة غزو البكتريا للمسالك البولية والاستيطان فيها لأول مرة، ومصحوب ذلك بأعراض كالحمى مع وجود خلايا قيحية (Pus cells) ، ويستدل عليها بوجود الخلايا الدموية البيضاء (Bethasda, 2002) ، فالاخماج الأولية :هي أول اصابة تحدث بالأشخاص سليمي الجهازالبولي من الناحية التشريحية والوظيفية وتسببها أحياء مجهرية حساسة لأغلب المضادات الحيوية ، ولا تستمر لفترة طويلة (Nicolle,2008 ) .

**ب-تكرار الخمج Re-infiction**

قد يرجع السبب في تكرار خمج المسالك البولية الى عدم استعمال علاج كاف او عدم الالتزام بالعلاج بالإضافة الى مقاومة الكائن الممرض للمضادات الحيوية ( Pewitt and Schaeffe,1997).

**جـ-الاخماج المتواصلة Persistent infection**

تعرف هذه الأخماج بأنّها حالة استمرار تواجد البكتريا المرضية بعد المعالجة ، وهذا يعني أنّ بؤرة الاصابة في المسلك البولي لم تُعالج بعد، و إنّ الكائن الممرض يستوطن في كثير من الأحيان في مواقع محمية من وصول المضادات الحيوية ، والمواقع المحمية هي غالبا ما تكون التشوهات التشريحية والحصاة البولية والأجسام الغريبة كالقثاطرالبولية (Urinary catheter) (Abrahams and Stoller ,2003 ;Schlager *et al*., 2001).

**١-٣-١-٢ :طرائق العدوى**

هناك ثلاث طرائق محتملة من قبل البكتريا التي يمكن ان تغزو وتنتشر داخل المسالك البولية (Soble and Kaye,2000) .وهي :-

أ-الطريق الصاعد ascending route

ب-الطريق الدموي hematogenous route

جـ-الطريق او المسار اللمفاوي lymphatic route

**١-٣-١-٣:العوامل المهيئة للاصابة بخمج المسالك البولية**

أن العامل الذي يعيق الجريان الطبيعي للادرار او التفريغ الكامل للمثانة او يسهل اقتراب الكائنات من المثانة يكون عاملاً مهيئاً للاصابة بالخمج ، اذ يرى الباحثون ان بقاء كمية في الادرار اكثر من (2-3 ) مليلتر يعد عاملاً مهيئاً لتكاثر الجراثيم (Mims *et al.* , 1993). كما تهيئ عملية القثطرة Catheterization الاصابة باخماج المسالك البولية وان حوالي (٢%) من حالات اخماج المسالك البولية المكتسبة من المستشفيات سببها قثطرة المثانة (Smith *et al*. , 2000) .أن غرس القثاطر قد يؤدي الى حمل الجراثيم مباشرة الى المثانة عن طريق الفراغ الموجود فيه أو عن طريق التلامس على طول السطح الخارجي للأغشية المخاطية بين القثطر وجدار الاحليل ( Nicolle , 2001 ). بينما هناك عوامل اخرى تؤدي الى الاصابة بالبكتريا وحدوث خمج المسالك البولية منها التغيرات الحاصلة في الضغط التناضحي (Osmolarity pressure) وتركيز اليوريا في الإدرار، ويؤدي تراكم السموم البولية المختلفة إلى تثبيط الفعاليات المستضدية لخلايا الدم الحبيبية والخلايا البلعمية، بالاضافة الى الاليات المناعية الأخرى (Reinhard *et al*., 2006) .

وان نسبة (٩٥%) من اخماج المسالك البولية مشخصة ضمن الحالات المرضية حيث تدخل عن طريق الاحليل urethra والمثانة (urinary bladder) ثم الحالب ureter والكلى kidney (Meryeir *et al*.,2000). وتصيب بكتريا *P.mirablis* الكبار والصغار من كلا الجنسين فضلا عن انها تسبب العديد من المضاعفات لانسجة الجهاز البولي (Zhao *et al*.,1999 ).تتطلب معيشة بكتريا *P.mirablis* وسطاً عالي القاعدية بمعنى محاليل ذات تركيز قلوي وان المحيط الذي يكون ذو pH قاعدي يعد مناسبا لنموها (Kellely *et al*.,2009).وباستطاعتها ان تسبب اضرارا كلوية خطيرة مثل

(Pyelonephritis) وحصوة الكلى اوالمثانة وتجرثم الدم (Bacterriemia) (Burall *et al.*, 2004 ). إذ ان الزوائد البروتينية التي تمتلكها هذه البكتريا التي تعرف بـ الخمل Fimbriae هي التي تساعدها في الالتصاق على الخلايا الطلائية البولية ، والخلايا الطلائية الكلوية واستيطانها (Li *et al.,* 2004). ويعد النوع *P. mirabils* اكثر انواع جنس المتقلبات تكرارا في احداث خمج المسالك البولية (Jacobsen , 2008) . وتعد هذه البكتريا من المسببات المرضية لاخماج المسلك البولي من النوع المعقد الجراحي ولاسيما في الافراد مستعملي القثطرة طويلة الامد او الذين يعانون من تشوهات او تغيرات تركيبية او وضيفية في القناة البولية (Li *et al.*, 2002A). وهذا النوع من الأخماج صعب العلاج باستخدام المضادات الحيوية وذلك بسبب وجود هذه البكتريا داخل قالب الحصوة

(Li and Mobley, 2002; Li *et al.*, 2002-b) إذ يصاحب هذا الخمج بعض الأعراض مثل الحمى، والغثيان، والالم في منطقة البطن (Craig, 2004).

ان الاصابة بهذه البكتريا إمّا أنْ يكون داخلي المصدر (Endogenous) أو قد يكون من مصادرخارجية (Exogenous) نتيجة التلوث الحاصل لأجهزة المستشفى (Li *et al.*,2004)

# الفصـــل الثاني

## ٢ . ـالمواد وطرائق العمل Materials and Methods

### ٢ـ١: المواد Materials

### ٢ـ١ـ١:الأجهزة والأدوات المختبرية Apparatus and Equipments

**جدول (٢ـ١) الأجهـزة والأدوات المختبرية المستعملة في الدراسة والشركات المُصنِعة لها.**

| ت | أســـــم الجـــهـاز | الشركة المصنعة |
|---|---|---|
| ١ | موصدة Autoclave | Marubeni (Japan) |
| ٢ | كابينة التعقيم Hood | |
| ٣ | ميزان ألكتروني حساس Sensitive electronic balance | |
| ٤ | حاضنة Incubator | Memmert (Germany) |
| ٥ | فرن كهربائي Oven | |
| ٦ | مصدر الأشعة فوق البنفسجية UV–Transilluminater | Scie – plas (Belgium) |

| | | |
|---|---|---|
| ٧ | ثلاجة Refrigerator | Concord (Lebanon) |
| ٨ | الناقل الزرعي القياسي Standard wire loop (1µ) | Himedia (India) |
| ٩ | أطباق بتري بلاستيكية مختلفة الاحجام Disposable petri dishes | Sun (China) |
| ١٠ | شرائح زجاجية Slides | Superestar (India) |
| ١١ | أنابيب إختبار Test tube | |

**٢-١-٢:الاوساط الزرعية الجاهزة Ready Prepared media**

**جدول (٢-٢): الأوساط الزرعية الجاهزة المستعملة في الدراسة والشركات المُصنِعة لها.**

| الاوساط الزرعية | الغرض | المنشأ |
|---|---|---|
| وسط اكار الدم Blood agar Base | استعمل هذا الوسط للتحري عن قابلية العزلات على انتاج Swarming انزيم الهيمولايسين وملاحظة ظاهرة الانثيال | Himedia (India) |
| ماء الببتون Pepton water | استعمل للكشف عن حلقة الاندول | |
| وسط السيمون ستريت Cimon citrate | استعمل للكشف عن البكتريا المخمرة للسترات بوصفه مصدراً وحيداً للكاربون | |
| وسط اكار الماكونكي MacConkey agar | استعمل بوصفه وسطا انتخابيا للبكتريا السالبة لصبغة غرام وللتفريق بين المستعمرات المخمرة وغير المخمرة لسكر اللاكتوز | |
| وسط الاكار المغذي Nutrient agar | منم عام | |
| وسط اكار اليوريا Urea agar | استعمل للتحري على قابلية البكتريا على انتاج انزيم اليوريز | |
| وسط كلكلر الحديد Kligler's Iron Agar | استعمل لتميز البكتريا على أساس انتاج كبيرتيد الهيدروجين وتخمر السكريات ا لثنائية الكلوكلوز واللاكتوز | |
| وسط المرق المغذي | منم عام | |

| | | |
|---|---|---|
| Nutrient broth | | |
| وسط المثيل الاحمر و فوكس بروسكاور Methyl red vogas–Proskaour | استعمل للكشف عن التحليل الكامل أو الجزئي للسكريات وانتاج الاستيل مثيل كاربون | |
| وسط نقيع القلب والدماغ Brain Heart Infusion Broth | استعمل كوسط ناقل و لغرض تنمية وتنشيط العزلات في التجارب. | Oxoid (England) |

## ٢-٢-٤:جمع العينات

تضمنت الدراسة الحالية جمع ١٧٠ عينة ادرار من المرضى المصابين بخمج المسالك البولية او من يشك بأصابتهم بخمج المسالك البولية وبحسب تشخيص الطبيب المختص من مستشفى الولادة والاطفال ومستشفى الديوانية التعليمي خلال المدة من ٢٠١٥/١٢/١ ولغاية ٢٠١٦/٢/١،شملت العينات المأخوذة عينات ادرار وعينات دم ،اذ حرص اثناء جمع العينات ان تهمل القطرات الاولى من الادرار وتؤخذ الكمية الوسطى منه وتحفظ في انابيب جمع خاصة معقمة ،وبعدها نقلت عينات الادرار الى المختبر لغرض زرعها وتشخيصها ، اذ زرعت في اطباق بتري حاوية على وسط الماكونكي وكذلك على وسط اكار الدم الصلب بطريقة التخطيط وحضنت الاطباق بدرجة حرارة٣٧ م ولمدة ١٨- ٢٤ساعة لغرض تشخيص البكتريا النامية على الاوساط.

## ٢-٢-٥ : تشخيص البكتريا المعزولة Identification of isolated bacteria

شخصت العزلات النامية على وسطي اكار الدم والماكونكي اعتماداً على الاسس التالية :

**A- الخصائص المزرعية**

شُخصت مستعمرات بكتريا *P.mirabilis* مبدئياً اعتماداً على الصفات المظهرية لها من حيث شكل وحجم ولون المستعمرات. إذ تم التركيز على المستعمرات التي تميزت بظاهرة الانثيال لبكتريا *P.mirabilis* على وسط اكار الدم. كذلك ظهرت بمستعمرات شاحبة غير مخمرة لسكر اللاكتوز على وسط اكار الماكونكي.أذ تم دراسة اشكال المستعمرات النامية وخصائصها المزرعية والنمو أو عدم النمو على الأوساط التفريقية (Macfaddin,2000).

**B- الخصائص المجهرية Microscopic characteristics**

تمت دراسة الخصائص المجهرية للخلايا البكتيرية من خلال اجراء صبغة غرام ،حيث أخذت مستعمرة مفردة نقية نامية على وسط الاكار المغذي بوساطة عروة ناقل معقم (Loop full) ، ووضعت على شريحة زجاجية مع بضع قطرات ماء معقمة ثم فرشت الخلايا وتركت لتجف ، وثبتت بإمرارها على اللهب ثلاث مرات بصورة سريعة .صبغت بصبغة غرام ، وتمت ملاحظة شكل وتجمع الخلايا بفحصها تحت المجهر الضوئي باستعمال العدسة الزيتية (Forbes *et al*.,2007).

## ٢-٢-٦: الفحوصات الكيموحيوية Biochemical test

### ٢-٢-٦-١: الكشف عن إنزيم الاوكسديز Oxidase test

رطبت ورقة ترشيح بقطرات من كاشف الاوكسيديز المحضر على وفق الفقرة (٢-٢ -2-2-1) ثم نقل جزء من المستعمرات بوساطة عيدان خشبية إلى ورقة الترشيح ، يعد ظهور لون بنفسجي خلال ١٠-٣٠ ثانية نتيجة موجبة (Forbes *et al*., 2007).

### ٢-٢-٦-٢: الكشف عن انزيم الكاتاليز Catalase test

نقل جزء من مستعمرة منماة لمدة ١٨ – ٢٤ ساعة على اكار المغذي بوساطة عيدان خشبية الى شريحة زجاجية نظيفة ثم اضيفت قطرة من $H_2O_2$ (٣%) على المستعمرة ، يعد ظهور فقاعات هوائية نتيجة موجبة للاختبار (Forbes *et al*., 2002).

### ٢-٢-٦-٣: الكشف عن حلقة الاندول Indole test

اجري تلقيح وسط ماء الببتون بالبكتريا المراد اختبارها وبعد مدة حضانة ٢٤ ساعة، أضيف (٠,٥) ملليتر من كاشف كوفاكس (Kovac's reagent) إلى الوسط ، ان تكون اللون الأحمر في شكل حلقة دائرية بين الوسط والكاشف الكحوليّ التي ترتفع إلى الأعلى دلالة على إيجابية الاختبار (Macfadden, 2000).

**٣-٢-٦-٤: اختبار المثيل الأحمر Methyl red test**

اجري الفحص بتلقيح الانابيب الحاوية على الوسط الزرعيّMR-VP Medium بالمزروع البكتيري وحضنت عند حرارة (٣٧) مْ لمدة ٢٤-٤٨ ساعة بعد ذلك تتم اضافة (5) قطرات من كاشف احمر المثيل، ان ظهور اللون الأحمر في الأنبوبة بعد ١٥ دقيقة دلالة على تخمر الكلوكوز الكامل أي ان الفحص موجب (Collee *et al*., 1996).

**٣-٢-٦-٥ :اختبار الفوكس بروسكور Voges proskaur test**

اجري الفحص بتلقيح الوسط الزرعي MR-VP Medium بالمزروع البكتيري وحضنت عند درجة حرارة (٣٧) مْ لمدة ٢٤-٤٨ ساعة بعد ذلك تم إضافة (٠,٦) ملليتر من كاشف الفانفثول و (٠,٢) ملليتر من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم إلى كلّ انبوبة. ان ظهور اللون الورديّ خلال ٢-٥ دقائق دلالة على النتيجة الموجبة التي تشير إلى التحلل الجزئيّ للسكر وإنتاج مركب إستيل مثيل كاربونيل (Acetyl methyl-carbonyl) (Collee *et al*., 1996) .

**٣-٢-٦-٦: اختبار استهلاك السترات Citrate Utilization Test**

استعمل هذا الاختبار للتحري عن قدرة البكتريا لاستهلاك السترات بوصفها مصدراً وحيداً للكاربون. لقح وسط Simmon citrate المائل بالعزلات البكتيرية وحضن لمدة (٢٤) ساعة بحرارة (٣٧) مْ. يعد تحول لون الوسط من الأخضر إلى الأزرق نتيجة موجبة (Macfaddin, 2000).

**٣-٢-٦-٧:التحري عن السكريات الثلاثية (Triple – sugar iron agar)**

استعمل هذا الاختبار للتحري عن قدرة البكتريا على تخمير سكريات (كلوكوز – سكروز – لاكتوز). لقح الوسط المائل بالعزلات البكتيرية المنماة على وسط اكار المغذي، وحضن لمدة (٢٤) ساعة بحرارة (٣٧) مْ . يعد تحول لون الوسط من الأحمر الى الأصفر في الجزء العميق نتيجة موجبة لتخمر سكر الكلوكوز فقط ، بينما تحول لون الوسط ككل الى الأصفر نتيجة موجبة لتخمر سكر اللاكتوز والسكروز ايضاً ، كذلك ان ظهور فقاعات غازية دلالة على انتاج غاز $CO_2$ وتكوين راسب اسود دلالة على انتاج كبريتيد الحديدوز(Macfaddin, 2000).

**٢-٢-٦-٨ الكشف عن انزيم الجلاتينيز Gelatin liquification test**

كشف هذا الاختبار عن قدرة البكتريا على انتاج انزيم الجيلاتينيز(Gelatinase) الذي يعمل على إسالة الجيلاتين اذ لقحت انابيب الوسط بطريقة الطعن وحضنت بحرارة (٣٧) مْ لمدة ٢٤ ساعة. تم التحري عن إسالة الجيلاتين بعد وضع الوسط في الثلاجة (٤) مْ مدة نصف ساعة ، إنّ حدوث التميع يشير الى فعالية الانزيم (Collee *et al*., 1996) .

**٢-٢-٦-٩:الكشف عن أنزيم اليوريز Urease test**

لقح وسط اليوريا بطريقة الطعن والتخطيط . حضنت الانابيب بدرجة (٣٧) مْ ولمدة من ٤٨ -٢٤ ساعة. ان النتيجة الموجبة لهذا الفحص هو تغير لون الوسط من اللون الاصفر إلى الوردي دلالة على تحلل اليوريز من قبل البكتريا ( Benson ,2002) .

**٢-٢-٦-١٠: الكشف عن انزيم البروتيز Protease test**

لقح وسط اكار الحليب المحضر على وفق الفقرة (٣-٢-٣-٢-٤) بنقل مستعمرة فتية بعمر١٨-٤٢ ساعة بلقاح على شكل بقع على وسط الحليب ، حضنت الإطباق في درجة حرارة (٣٥) مْ لمدة ٢٤ -٤٨ ساعة أن تكون منطقة شفافة حول منطقة التلقيح دليل على إيجابية الاختبار (Collee *et al*., 1996).

**٢-٢-٦-١١:الكشف عن انتاج الهيمولايسين Heamolysin test**

لقح وسط الدم الصلب ببكتريا المراد فحصها (١٨-٢٤) ساعة ، ثم حضنت الأطباق في درجة حرارة٣٧ °م لمدة ٢٤ ساعة . إن ظهور مناطق شفافة حول المستعمرات دلالة على قدرة البكتريا على تحليل الدم (Collee *et al.*, 1996) .

# الفصل الثالث

# النتائج والمناقشـــة

### ٣-١:عزل بكتريا الـ *P.mirablis* وتشخيصها

اثبتت الدراسة الحالية عائدية ٤٩ عزلة الى جنس الـ *P.mirablis* ،من خلال دراسة بعض الصفات الزرعية والمجهرية والفحوصات الكيميوحيوية وكما يلي:

### ٣-١-١:الصفات الزرعية Cultural characteristic

ظهرت المستعرات النامية على وسط اكار الماكونكي MacConkey Agar بشكل مستعمرات مفردة شاحبة اللون ، تكون متوسطة الحجم وذات حافات ملساء وغير مخمرة لسكر اللاكتوزفضلا عن رائحة النمو البكتيري التي تكون متشابهة لرائحة نموالسمك المتعفن، وظهرت الحركة التموجية او الأنثيال (Swarrming) على وسط اكار الدم Blood Agar والتي تعد صفة تشخيصية اولية لهذة البكتريا كما في الشكل (٤-١).وبعد ذلك شخصت هذة البكتريا على وسط الكروم اكار Chrom Agar وظهرت مستعمرات بلون بني Brown كما في الشكل (١-).

## ٣-١-٢:الصفات المجهرية Microscopic characteristic

أظهرت نتائج الفحص المجهري ان خلايا البكتريا المعزولة بشكل عصيات قصيرة سالبة لصبغة كرام ،غير مكونة للسبورات

## ٣-١-٣:الفحوصات الكيميوحيوية Biochmical Test

شُخصت العزلات النامية على وسط كروم اكار بالأعتماد على الفحوصات الكيميوحيوية حيث اظهرالجدول (٣-١) استجابة جميع العزلات لكل من اختبار الكاتليز ،اختبار احمر المثيل ،اختبار الجيلاتينيز،واختبار استهلاك السترات بوصفه المصدر الوحيد للكاربون اذ لوحظ تغير لون الوسط من الازرق الى الأخضر نتيجة لتغير لون البروموثايمول الى الازرق لزيادة الاس الهيدروجيني. فيما خُمرت بكتريا *P.mirablis* كل من سكر السكروز والكلوكوز وتكوين راسب اسود على الوسط دلالة على انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين $H_2S$ .

تباينت استجابة العزلات لاختبار تحلل DNAase أذا ظهرت ٣٢ عزلة نتيجة موجبة حيث تكونت هالة شفافة حول المستعمرة البكتيرية بعد اضافة كاشف محلل DNAase(HCL) بينما اعطيت العزلات كلها نتيجة سالبة لكل من فحص الاوكسديز وفحص فوكس – بروسكاور.

كما اظهرت العزلات قيد الدراسة عدم تكونها حلقة الاندول اذ تؤدي النتيجة الموجبة الى تكوين حلقة حمراء في طبقة الكحول الايزوميلي Isoamyl alcohol نتيجة تحلل الحامض الاميني (التربتوفان) وتكوين الاندول.

**جدول (٣-١) يوضح الاختبارات الكيميوحيوية التشخيصية لبكتريا *P.mirablis***

| نوع الاختبار | النتيجة |
|---|---|
| **الكاتليز** | + |
| **الاوكسديز** | - |
| **فوكس-بروسكاور** | - |
| **الجيلاتينيز** | + |
| **الاندول** | - |
| **احمر المثيل** | + |
| **تحلل الدنييز** | + |
| **استهلاك السترات** | + |

| | |
|---|---|
| اليوريز | + |
| انتاج H2S | + |
| النمو على وسط TSI | Acid /Alkaline |

**Positive - Negtive**

## ٣-٢:الاعداد والنسب المئوية لعزل بكتريا الـ *P.mirablis*

شخصت ٤٩ عزلة (بنسبة عزل ٢٨,٨٢% من مجموع العينات ) التي جمعت من المرضى المصابين بخمج المسالك البولية . كما بينت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة اصابة الأناث بخمج المسالك البولية كانت اعلى مما في الذكور كما في جدول (٤-٢) أذ كانت نسبة العزل في الاناث ٣٣(٦٧,١٩%) اما في الذكور كانت النسبة ١٦ (٣٢,٦٥%).

**جدول (٣-٢) الاعداد والنسب المئوية للذكور والاناث المصابين بخمج المسالك البولية**

| الجنس | المصابين | |
|---|---|---|
| | % | NO. |
| الاناث | ٦٧,٣٤ | ٣٣ |
| الذكور | ٣٢,٦٥ | ١٦ |
| الكلي | ١٠٠ | ٤٩ |

## ٣-٣: عزل بكتريا *P.mirablis* وتشخيصها

يشكل أخماج المسالك البولية في الوقت الحاضراهمية كبيرة لذا تمت عملية جمع العينات في الدراسة الحالية من مرضى خمج المسالك البولية .ويعد النوع *P.mirablis* من اكثر انواع المتقلبات شيوعا في اصابة الجهاز البولي ،وقد تم تشخيص العزلات البكترية قيد الدراسة تشخيصا اوليا من خلال دراسة بعض الصفات الزرعية والمجهرية تم زرع عينات الادرار على وسط اكار الماكونكـي MacConkey Agar للحصول على مستعمرات نقية شاحبة اللون ،متوسطة الحجم ذات حافات ملساء وغير مخمرة لسكر اللاكتوز، وذات رائحة تشبة رائحة السمك المتعفن ويستعمل وسط اكار الماكونكي لنمو بكتريا *P.mirablis* لكونها بكتريا سالبة ويميزها عن باقي الانواع البكتيرية الموجبة لصبغة كرام. وكذلك ظهرت الحركة التموجية (Swarrming)على وسط اكار الدم Blood Agar التي تعد صفة تشخيصية اولية لهذة البكتريا وكما في الشكل (٤-١) وهذه النتيجة تتفق مع ماذكرهُ O'hara (٢٠٠٠) و Dharmadhikariوجماعته (٢٠٠٩) و Al-Bassam و Al-Kazaz (٢٠١٣).

كما اظهرت نتائج الفحص المجهري ان خلايا البكتريا المعزولة تكون بشكل عصيات قصيرة سالبة لصبغة كرام وغير مكونة للسبورات وهذا متفق مع Holt وجماعته (١٩٩٤).

اما بالنسبة للفحوصات الكيميوحيوية التشخيصية التي استعملت كفحوصات تكميلية للتشخيص الاولي لبكتريا *P.mirablis* والغرض منها تأكيد تشخيص جنس البكتريا قيد الدراسة، فقد اوضحت النتائج المبينة في الجدول (٤-١) استجابة العزلات كلها قيد الدراسة لفحص الكاتليز دلالة على قدرتها على انتاج انزيم الكاتليز اذ كانت النتيجة الموجبة ظهور فقاعات هوائية بصورة مباشرة بعد اضافة بيروكسيد الهيدروجين $H_2O_2$ ، وكذلك كانت النتيجة موجبة لاختبار استهلاك السترات بوصفة المصدر الوحيد للكاربون اذ لوحظ تغير لون الوسط من الاخضر الى اللون الازرق نتيجة لتغير لون البروموثايمول الى اللون الازرق لزيادة الاس الهيدروجيني وهذه النتيجة كانت مطابقة مع Collee وجماعته (١٩٩٦)

وكما اعطت العزلات المشخصة فحصا موجبا لاختبار احمر المثيل وفحصا سالبا لاختيار الفوكس-بروسكاور وذلك لعدم تكوين المركب Acetyl-Methyl Carbinol من التحلل الجزيئي للسكروهذا مطابق مع Collee وجماعته (١٩٩٦).

اما بالنسبة لفحص الاندول فكانت النتيجة سالبة للعزلات قيد الدراسة ،ويستخدم هذا الفحص للتميز بين جنس *P.mirablis* وبقية انواع جنس المتقلبات اذ تكون النتيجة الموجبة تكوين حلقة حمراء نتيجة تحلل الحامض الاميني (التربتوفان) وتحوله الى الاندول ، وكذلك اعطت العزلات البكترية نتيجة سالبة لفحص الاوكسديز وذلك لعدم قدرتها على انتاج انزيم الاوكسديز وهذه النتائج مطابقة مع Holt وجماعتة (١٩٩٤) و Collee وجماعتة (١٩٩٦).

اظهرت جميع عزلات بكتريا *P.mirablis* قدرتها على تخمر كل من سكر السكروز والكلوكوز واعطت غازاً وراسباً اسود على الوسط دلالة على انتاج كبريتيد الهيدروجين $H_2S$ وهذ متفق مع Collee وجماعته (١٩٩٦).

## ٣-٤ :الاعداد والنسب المئوية لعزل بكتريا *P.mirablis*

عزلت بكتريا *P.mirablis* بنسبة (٢٨,٨٢%) في هذه الدراسة وكانت هذه النتيجة متقاربة مع Hussien(٢٠١٣) الذي بين في دراسة اجراها في مدينة النجف ان نسبة عزل هذه البكتريا من خمج المسالك البولية كانت (٢٦,٣%).اما دراسة Khurana وجماعته (٢٠٠٢) فقد عزلت فيها هذه البكتريا بنسبة (٣٣,٣%) وكانت هذه النتيجة ايضا متقاربة مع الدراسة الحالية .في حين اظهرت دراسة كاظم وخلف (٢٠١٢) ان نسبة عزل هذه البكتريا من خمج المسالك البولية كانت (١١,٨٥%) وهذه النتيجة اقل من الدراسة الحالية . كما وجد Hassan (٢٠٠٨) في دراسة اجراها في مدينة الناصرية ان نسبة عزل هذه البكتريا من خمج المسالك البولية كانت (٤٨,٨%).

وإنّ النتائج التي تم الحصول عليها في الدراسة الحالية تؤكد ان إمراضية بكتريا *P.mirabilis* للمسالك البولية جاءت نتيجة لاكتساب العديد من البكتريا مقاومة عالية للمضادات وذلك بسبب تعاطي المضادات قبل اجراء التحليلات المختبرية اللازمة و تطور المقاومة من قبل السلالات تجاه المضادات الحديثة (Corker *et al*., 2000).

قد يكون سبب الاختلاف في نسب العزل لهذه البكتريا هو عدد المستشفيات المشمولة في الدراسة وحجومها وكذلك موسم ومدة جمع العينات .

اذ لوحظ من خلال الدراسة الحالية ان نسبة اصابة الاناث كانت (٦٧,٣٤%) وهي اكثر مما في الذكورالتي بلغت (٣٢,٦٥%)، ربما قد يرجع السبب الى بقاء محيط الاحليل والمهبل رطبا مما شجع الى حدوث الاصابة وبالإضافة الى ذلك فإنّ قصر الاحليل يزيد من التعرض للإصابة عن طريق صعود المسبب المرضي الى المسالك البولية (Freedman ,2005). وفي دراسة اجراها خلف وكاظم (٢٠١٢) ان نسبة الاصابة للأناث كانت (٧,٥٢%) وهي ايضا اعلى مما في الذكور اذ كانت نسبة الاصابة لدراستهم (١,٥٨%).كما ان هذه البكتريا تكون متواجدة بشكل طبيعي في القناة المعوية وعند انتقالها الى الاحليل والمهبل تؤدي الى حدوث خمج المسالك البولية لذا تعد من الممرضات الانتهازية.

## المصادر


**خلف ، صبحي حسين ،كاظم ، بشرى علي.(٢٠١١)**.دراسة عن تنميط جرثوبة *Proteus mirablis* المعزولة من المسالك البولية.مجلة بغداد للعلوم.٩(٢).

**Abbott, S. L. (2007)**. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas*, and Other *Enterobacteriaceae*. In:Manual of Clinical Microbiology, Murray, P. R.; *Baron, E. J.; Jorgensen, J.*

H.; Landry M. L. and Pfaller, M. A.(eds.) 9th ed. ASM Press. Washington. USA, pp. 698-711 .

**Abrahams,H.M.;and Stoller, M.L. (2003) .** Infection and urinary stones**.***Curr Opin Urol*, **13**(1):63 – 67.

**AL-Bassam ,W. W. ; and Al-Kazaz,AK. (2013) .** The Isolation and Characterization of *Proteus mirablis* from different Clinical Sample.*Journal of Biotechoology Research center* .**2**(7):26

**Atlas, R.M. (1995)** :Principle of Microbiology. 1st.ed. Mosby-Year book company. USA.

**Bass, P. F.; Jarvis, J. A.;and Mitchell, C. K. (2003**). Urinary Tract Infections. Primary Care; *Clinics in Office Practice*, **30**(1): 41-61.

**Benson, H.J. (2002).** Microbiological Application Laboratory Manual in General.

**Bethesda, A. (2002).** Urinary tract infection in adults. NIH Publication . 2095-2097.

**Buchaman, R.E.;and Gibbous, N.E.(1994**). Berge's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed. Williams and Willkins Company. Baltimore.

**Burall L.S.; Harro, J.M. ; Li, X. ; Lockatell, C.V. ; Himpsl, S.D. ; Hebel, J.R. ; Johnson, D.E.and Mobley, H.L.T. (2004).** *Proteus mirabilis* genes that contribute to pathogenesis of urinary tract infection: identification of 25 signature-tagged mutants attenuated at least 100-fold. *Infect. Immun*., **72**(5): 2922-2938.

**Carey, S. Copeland, M.F. ; Sacotte, R. ; Tuson, H.H.and Weibel, D.B. (2013).** Flagellum density regulates *Proteus mirabilis* swarmer cell motility in viscous environments. *J. Bacteriol.*, **195**(2): 368-377.

**Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmiom, B. P.;and Simmon, A. (1996)**. Mackie and McCarteny Practical Medical Microbiology. 4th ed. Churchill Livingstone Inc; USA.

**Corker**, **C. ; Poore, C. A. ; Li , X. and Mobley , H. L. (2000) .** Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *Microbes Infect* ; **2**(12) : 1497-1505.

**Craig, J. C. (2004).** Treatment of acute pyelonephritis in children. Br. *Med. J.* 10: 179 – 180.

**Dattelbaum, J. D. ; Lockatell ,C. V.; Johnson, D. E. ; Harry ,L. and Mobley, T. (2003)**. UreR , the transcriptional activator of the *Proteus mirabilis* urease gene cluster is required for urease activity and virulence in experimental urinary tract infections. *Infections and Immunity.* **71**(2):1026-1030.

**Dharmadhikari , S. M. ; and Peshwe,A. S. (2009).** Molecular level studies on multiple antibiotic and serum resistance in UTI pathogens.*Indian J.Biotechnol*.**8**:40-50.

**Elder, J.S.( 2004)** .Urinary disorders in infants and children,In: Nelson Textbook of Pediatrics, Behrman, R.E.; Kleigman, R.M.; Jenson, H.B.(eds), 17th ed. , Saunders, New Delhi. 1785-1789.

**England ,A.C.and England,T.K.(2002).**Pediatrics ,Urinary tract Infection and Pylonephritis.Emed.Com,*Inc.J.Med*; **2** (6).

**Forbes , B. A. ; Sahm, D. F. and Wessifld, A. S. (2002) .** Diagnostic Microbiology. 10th ed. Bailey and Scotts'. Mosby. U.S.A., **1**: 509.

**Forbes , B. A. ; Sahm, D. F. and Weissfeld, A. S. (2007**). Diagnostic Microbiology 12th ed. Bailey and Scotts'. Mosby Elsevier. China., pp: 93-247.

**Freedman, A. L. (2005)**. Urologic Diseases in North America Project: trends in resource utilization for urinary tract infections in children. *J. Urol*., **173**(3)**:**949-954.

**Gaisser, S.and C. Hughes (1997).** A locus coding for putative non-ribosomal peptide / polyketide synthas functions and mutated in a swarming of *Proteus mirabilis* strain. *J. Bacteriol*., **181**: 2008 – 2016.

**Greenwood, D. ; R. C. B. Slack and J. F. Peuthere (eds) (2002)**. Medical Microbiology. A guide to microbial infections , pathogenesis , immunity , laboratory diagnosis and control. 16th ed. Edinburl, London , New York , Philadephia , Sydney , Toronto.

**Gunther , N.W. ; Virginia , L. ; David , E.and Harry , L.(2001).** *In Vivo* Dynamics of Type 1 Fimbriae Regulation in Uropathogenic *Escherichia coli* During Experimental Urinary Tract Infection . *Infec.and Innune* . **69**(5) : 2838- 2846 .

**Hassan,Talib Falah.(2008).**Study of *Proteus mirablis* Infections in AL-Nassiria City.*Journal of Thi-Qar University* **4**(3):9.

**Holt, J. G. ; Kreig , N. R. ; Sneath, P. H.A. ; Stanley, J. T. and Williams , S. T. (eds) (1994)** Bergy's manual of determinative bacteriology. 9th. ed Williams and Wilkins , *USA.* P. 532 – 553.

**Hussien,Ahmed Aleiwi (2013)**. Phenotypic detection of extended-spectrum beta-lactamase in *Proteus .mirablis* isolation from Patients With Significat Bacteriuria in Najaf Provina.*QMJ*. **16**(9):149.

**Jacobsen, S. M.; Stickler, D. J. Mobley,H. L. T and . Shirtliff, M. E. (2008).** Complicated Catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clin. Microbiol. Rev*. **1** (21):26–59 .

**Jiang, S., Lin, T., Wang, W., Liu, M., Hsueh, P.and Liaw, S. (2010)** .Characterization of UDP-Glucose dehydro-genaseand UDP-Glucose pyrophosphorylase mutants of *Proteus mirabilis*: Defectiveness in polymyxin B resis-tance, swarming, and virulence. *Antimicrob. Agents and Chemother*, **54**(5): 2000-2009.

**Karlowsky, J. A.; Jones, M. E.; Thornsberry, C.; Friedland, I. R. and Sahm, D. F. (2003)**. Trend in antimicrobial susceptibilities among enterobacteriaceae isolated from hospitalized patients in United States from 1980-2001. *Antimicrob Agents. chemother*. **47**(5):1672-1680.

**Kearns, D.B. (2010).** A field guide to bacterial swarming motility. *Nat. Rev. Microbiol*; **8**(9): 634-644

**Kelley, Struble.; Michael ,Stuart .Bronze.; Rhett, L. Jackson.and Gus. Gonzalez. (2009).** *Proteus* Infections: Overview, e.Medicine.

**Khurana, S.; Taneja, N. and Sharma, M. (2002).** Extended-spectrum beta-lactamase mediated resistance in urinary tract isolates of family enterobacteriaceae. Indian. *J. Med. Res*. Oct.**116**: 145-149.

**Lane, D.R. and Takhar, S.S. (2011)**. Diagnosis and management of urinary tract infection and pyelonephritis. *Emergency medicine clinics of North America***. 29** (3): 539–52.

**Li, X.,and Mobley, H. L. T. (2002).** Vaccines for *Proteus mirabilis* in urinary tract infection. *Int.J. Antimicrob. Agents*., **6**(190):461-465.

**Li, X.; Lockatel, C.V.; Johnson, D.E.; Lane, M.C.; Warren, J-W.; Mobley, H.L.T.(2004)**. Development of intranasal vaccine to prevent urinary tract infection by *Proteus mirabilis. Infect. Immun. Jan*. **72**(1): 66-75.

**Li, X.; Lockatell, V.; Johnson, D.E.; Mobley, H.L.T.(2002-b).** Identification of MrpI as the sole recombinase that regulates the phase variation of MR/P fimbria, a bladder colonization factor of uropathogenic *Proteus mirabilis. Molecular Microbiology*. **45**(3): 865-74.

**Li, X.; Zhao, H.; Lockatell, V.; Drachenberg, C.B.; Johnson, D.E.; Mobley, H.L.T.(2002-a).** Visualization of *Proteus mirabilis* within the matrix of urease-induced bladder stones during experimental urinary tract infection. *Infectionand Immunity*.,(70) :389-394.

**Li, X. ; Lockatel , C. V. ; Johnson , D. E. Lane ,M.C.Warren, J.W. and Mobely, H.L.T. (2004)** . Development of international Vaccine to prevent infection *Proteus mirablis* infection *J.Immune.clin*. **72**(1):66-75.

**Liaw, S. J.; La, H. C.; Ho, S. W. and Wang, W. B. (2000).** Inhibition of virulence factor expression and swaring differentiation in *Proteus mirabilis* by.P.nitrophnylglycerol. *Med. Microbiol*. **49**:725-731.

**Liaw, S.J., Lai, H.C.; Ho, S.W.; Luh, K.T.; Wang, W.B.(2001).** Characterization of *p*-nitrophenylglycerol-resistant *Proteus mirabilis* super-swarming mutants. *J. Med. Microbiology*. **50**: 1039-48

**Macfaddin, J.F. (2000**).Biochemical test for bacteria, 3nded.the Williams andWilkins. London. identification of medical Microbiology .8thed .The McGraw-Hill Companies.USA.

**Masson, P.; Matheson, S.; Webster, A.C.and Craig, J.C. (2009).** Meta-analyses in prevention and treatment of urinary tract infections. *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, **23**(2): 355-385.

**Mathai , D. ; Jones , R. N.; Pfaller , M. A. (2001) .** Epidemiology and frequency of resistance among pathogens causing urinary tract infection in 1,510 hospitalized patients : areport from the sentry antimicrobial surveillance program ( North America) Diagn , *Microbiol ,Infect* . *Dis. J*., **40**(3) :129-136

**Meyrier, A. (2000) .** Urinary tract Infection .The textbook of medical microbiology (9)third.Stough,London.P:124-150.

**Mims ,C.; Playfair ,J.; Roitt ,I.; Wakelin ,D.; Williams , R.; Anderson, R.M.(1993)** .Medical Microbiology. mosby .London .

**Nicolle ,L.E. (2001**) . The chronic indwelling catheter and urinary tract infection Long-Term care .facility residents in infect . *control , Hosp*; **22** : 316-322 .

**Nicolle, L.E. (2008).** Uncomplicated urinary tract infection in adults including uncomplicated pyelonephritis. *Urol. Clin. North Am*., **35** (1): 1–12.

**O'Hara, C. M. ; Brenner, F. M. ; Miller, J. M. (2000) .** Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia* and *Morganella*. Clinical Microbiology Reviews, **13**(4): 534-546.

**Penner, J. L. (1981).** The tribe proteeae P : 1204 – 1224 In:The Prokaryotes, Starr,M.p.; Stolp,H. ; Truper, H. G.; Balows,A. and Schlegel,H. C. (eds). Springer – Virlage , Berlin.

**Pewitt , E. B. and Schaeffer, A. J. ( 1997) .** Urinary tract infection in urology, including acute and chronic prostatitis.*Infect Dis Clin North Am.*, **11**(3):623–646.

**Poore, C.A.; Coker, C.; Dattelbaum, J.D. and Mobley, H.L.T. (2001)**. Identification of the domains of UreR, an Ara C-linke transcriptional regulator of the urease gene cluster in *Proteus mirabilis .J. Bacteriol*. 183 **(15):** 4526-4535.

**Rashid ,T.; Tiwana, H.; Wilson, C.and Ebringer ,A.(2001)**. Rheumatoid arthritis as an autoimmune disease caused by *Proteus* urinary tract infections: A proposal for a therapeutic protocol. *IMA J*. 3:675–680.

**Reddy's, S. (2002).** Urinary tract (Kidney and Bladder) infection. *J. of Infection Disease,* **159**(4): 400- 600..

**Reinhard Fünfstück ; Undine Ott; and Kurt ,G. Naber. (2006).** *International Journal of Antimicrobial Agents*, 28(Supplement 1): 72-77.

**Schlager, T.A.; Clark, M.andanderson, S.( 2001)** .Effect of a single-use sterile catheter for each void on the frequency of bacteriuria in children with neurogenic bladder on intermittent catheterization for bladder emptying. *Pediatrics*,**108**(4)**:**71–74.

**Senior,B.W. (1999).** Investigation of the types and characteristics of the proteolytic enzymes formed by diverse strains of *Proteus* species. *J. Med. Microbiol.* **48**(7):623-628.

**Smith ,P.W.; Siep ,C.W.; Schaefer , S. C. and Dixon ,C.B .(2000) .** Microbiologic survey of long term care facilities .*Infect , control .epidem* .**28** : 8-13 .

**Sobel .JD.;Kaye, D. (2000).** Urinary tract infections. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. (ed). Mandell, Douglas and Bennetts Principles and Practice of Infectious Diseases. (5th ed). *Philadelphia: Churchill Livingstone*; **62**: p 773-805.

**Swierzko, A.S.; Kirikae, T.; Kirikae, F.; Hirata, M.; Cedzynsk, M.; Ziolkowski, A.; Hirai, Y.; Kusumoto, S.; Yokochi, T.;and Nakano, M.(2000).** Biological Activities of Lipopolysaccharides Of *Proteus* Species & Their Interactions With Polymyxin-B and An 18-Kda Cationic Antimicrobial Protein (cap 18) Derived Peptide. *J.Med.Microbiology*. **49**(2): 127-138.

**Tangho, E. A. and Mcaninch, J. W. (2004) .** Bacterial infection of the genitourinary tract in General Urology .Smith (Edi).*United State of American:MC Graw-Hill Companies Inc*., 203-227.

**Thaler, E.R. ; and Kennedy , D.W. (2000) .** Cited in human ,H.D.; Dupont, H.L. Gradner,L.B. Griffin,J.W. Textbook of internal Medicine. 4thed. Wolters kluwer company.USA.

**Toth , V.; Emody, L. (2000) .** *Proteus* virulence: in-vement of the pore forming alpha-hemolysin. *Acta.Microbiol.Immunol.Hung*., **47**(4): 457-70.

**Verrier, J. K. (2000) .** Screening after urinary tract infection in childhood. *Arch Dis Child*; **2**: 123-124.

**Wagenlehner, F.M.; Weidner, W.and Naber, K.G. (2009).** An update on uncomplicated urinary tract infections in women. *Curr. Opin. Urol.*, **19**(4): 368-374.

**Zhao,H. ; Johnson,D. E. and Mobley,H.L. (1999).** Identification of *Proteus* and rponassociated genes of uropathogenic *Proteus mirablis* by negative selection in Mose model of ascending U.T.I. *Microbial*:**154**:185-95.

**وزارة التعليم العالي والبحث العلمي**

**جامعة القادسية /كلية العلـــــوم**

**قســـــــم علوم الحيـــــــــاة**

# عزل وتشخيص بكتريا Proteus mirabilis من مرضى التهاب المسالك البوليه

البحث مقدم الى كلية العلوم / قسم علوم الحياة كجزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس علوم حياة من قبل الطالبة :

رحاب حاكم غالي

بأشراف الأستاذة الفاضلة :ـ

سيوف خومان علوان الرماحي

٢٠١٦م ١٤٣٧هـ

**بسم الله الرحمن الرحيم**

**{ قال رب أشرح لي صدري ويسرلي أمري**

**وأحلل عقدة من لساني يفقهوا قولي}**

**صدق الله العلي العظيم**

**(سورة طه)**

- أ -

## الاهـــــــــداء

**بدأنا بأكثر من يد وقاسينا اكثر من هم وعانينا الكثير من الصعوبات وها نحن اليوم والحمد الله نطوي سهر الليالي وتعب الايام وخلاصة مشوارنا بين دفتي هذا العمل المتواضع الى منارة العلم المصطفى الى سيد الخلق الى رسولنا الكريم سيدنا(محمد صلى الله عليه والله وسلم) .**

**الى الينبوع الذي لايمل العطاء الى من حاكت سعادتي بخيوط منسوجه من قلبها الى والدتي العزيزه الى من سعى وشقى لأنعم بالراحه والهناء الذي لم يبخل بشيء من أجل دفعي في طريق النجاح الذي علمني أرتقي سلم الحياة بحكمه وصبر الى والدي العزيز الى من حبهم يجري في عروقي ويلهج بذكراهم فؤادي أخواتي وأخواني .**

**الى من علمونا حروفا من ذهب وكلمات من درر وعبارات من أسمى وأجلى عبارات في العلم الى من صاغوا لنا علمهم حروفا ومن فكرهم منارة تنير لنا سيرة العلم والنجاح الى أساتذتنا الكرام**

**رحاب**



## الشكر والتقدير

الحمدلله رب العالمين والصلاة والسلام على معلم البشريه وهادي الأنسانيه نبينا الأعظم(محمد صلى الله عليه وأله وسلم)ومن تبعهم بأحسان الى يوم الدين .

أتوجه بالشكر الجزيل لكل من ساهم في أخراج هذا البحث الى حين التنفيذ الى كل من كان سبباً في تعليمي وتوجيهي ومساعدتي الى الأستاذه الفاضله مشرفة البحث الدكتوره ( سيوف خومان علوان الرماحي )٠والى عميد كلية العلوم الدكتور (عبد الأمير سمير سعدون) .

والى رئاسة قسم علوم الحياة وبالخصوص الدكتور ( جاسم حنون هاشم ) لما بذله من جهود متواصله في المتابعه والتشجيع طيلة السنوات الأربع .

والى الكادر التدريسي في القسم أساتذتنا الأعزاء .

وأتقدم بالشكر الجزيل الى طالبتي الماجستير( نهى وعبير) .

اشكر كل هؤلاء .. مع المحبه

# الباحث

## - ت -