وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية
كلية التربية
قسم علوم الحياة

دراسة مرضية لجرثومة

Proteus mirabilis

بحث تقدمت به الطالبة (نبأ مزهر سالم) إلى مجلس كلية التربية/ قسم علوم الحياة كجزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

بإشراف

د. أحلام علي صخي

1440 هـ

2019 م

الآية القرآنية

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ
دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة المجادلة: آية ١١

الإهـــداء

إلى مصباح الهدى وسفينة النجاة إلى من أنار بدمه دجى الحياة

... الإمام الحسين (عليه السلام)

إلى رمز المحبة وفيض الحنان

... والدي العزيز

إلى من ألهمني العزم وزرع في نفسي الأمل

... والدتي العزيزة

إلى شموع عمري وسندي في الحياة

... أخوتي وأخواتي

أهدي ثمرة جهدي المتواضع

نـــبأ

اللهم لكَ الحمد كما ينبغي لجلال وجهك الكريم وعظيم سلطانك والصلاة والسلام على خاتم الأنبياء محمد (ص) وعلى آل بيته الطيبين الطاهرين ومن تبعهم إلى يوم الدين والحمد لله تعالى لفضله ونعمته في غرس الشجاعة والثبات في نفسي لإتمام هذا البحث.

تثميناً للجهود التي ساهمت في إنجاز هذا البحث اتقدم بالشكر الجزيل والتقدير والامتنان إلى الدكتورة (أحلام علي صخي) لما أبدته من مساعدة في إنجاز هذا البحث وأدعوا الله تعالى له بطول العمر والصحة كي تبقى نبراساً للعلم.

وأقف بتقدير وامتنان خالصين إلى عائلتي ... والدي ... ووالدتي

صاحبّي الفضل الأكبر فأدعوا الله أن يساعدني على رد جميلهم فجزى الله الجميع عني خير الجزاء ...

والله نعم المولى والنصير...

نبأ

الخلاصة :

خلال الفترة من شهر تشرين الأول (٢٠١٨) ولغاية شهر شباط(٢٠١٩) ، تم جمع (١٢٠) عينة إدرار من إصابات المسالك البولية . وقد أظهرت الدراسة ان جرثومة Proteus mirabilis مسؤولة عن (١٦,٦%) من إصابات المسالك البولية ، كما أوضحت الدراسة ان نسبة عزل هذه الجرثومة من النساء كانت (٧,٥١ %) وهي أعلى من نسبة عزلها من الرجال والأطفال والتي بلغت (١,٥٨ %) و (٢,٧٦ %) على التوالي .

اجريت الدراسات الشكلية والاختبارات الكيمياحياتية لغرض تشخيص هذه الجرثومة ، فضلاً عن تشخيص باقي انواع الكائنات المجهرية المعزولة من اصابات المسالك البولية في هذه الدراسة من اجل تحديد نسبة عزلها من هذه الاصابات.

واظهرت نتائج هذه الدراسة ان العزلات الجرثومية ابدت مقاومة مطلقة وبنسبة (١٠٠ %) لكل من مضادات Ceftazidime , Cephalothin .

كما أوضحت الدراسة ان مضاد Ciprofloxacin هو اكثر المضادات فعالية ضد هذا النوع من الجراثيم ، حيث كانت النسبة المئوية لحساسية العزلات المحلية لهذا المضاد (٩٦,٧ %) ، يليه Cephotaxim , Gentamycin ، حيث كانت النسبة المئوية للعزلات الحساسة لهذه المضادات (٨٠ %) و (٧٦,٧ %) على التوالي .

كذلك تم دراسة بعض عوامل الفوعة التي تملكها هذه الجرثومة مثل انتاجها لأنزيمات البيتالاكتاميز والبيتالاكتاميز واسعة الطيف ، حيث أثبتت الدراسة إنتاج العزلات المحلية لهذه الأنزيمات وبنسبة (١٠٠ %) .

تمت دراسة قدرة الجرثومة على انتاج حالاّت الدم ، حيث كانت العزلات المحلية منتجة لها وبنسبة (١٠٠ %) .

اثبتت الدراسة دور الانزيم النازع لمجموعة الامين من الفينايل النين في امراضية الجرثومة للقناة البولية وخاصة تكوين الحصيات الفوسفاتية ، فضلاً عن دور الانزيم المحلل لليوريا . كما اثبتت الدراسة وجود علاقة ما بين عوامل الفوعة التي تنتجها هذه الجرثومة ، حيث اظهرت النتائج ان هناك علاقة ما بين قوة انتاج الجرثومة للانزيم النازع لمجموعة الامين من الفينايل النين والانزيم المحلل لليوريا وبين فوعة الجرثومة ، حيث كانت العزلات المنتجة لِهذين الانزيمين وبكفاءة عالية اكثر فوعة من العزلات الاخرى ذات الكفاءة الواطئة في انتاج هذين الانزيمين حتى لو كانت جميع العزلات مأخوذة من نفس المصدر .

المقدمة :-

تعتبر القناة البولية خالية من الفلورا الطبيعية ، بأستثناء الجزء الاخير من الاحليل الذي يحتوي على هذه الفلورا ولهذا السبب يعد الإدرار الموجود في الكليتين والحالبين والمثانة البولية من السوائل الجسمية المعقمة sterile body fluids والخالية من الأحياء المجهرية في الحالة الصحية الجيدة (Atlas , 1995) . يتميز الإدرار بالاس الهيدروجيني المنخفض و التركيز العالي لليوريا والاحماض العضوية والتي تعد من العوامل المثبطة للعديد من الجراثيم (Forbes *etal.*,1998) . ومن أهم الجراثيم التي يمكن ان تتواجد في الاحليل هي الـ E.coli وباقي انواع البكتريا القولونية ومنها جراثيم المتقلبات Proteus ، فضلاً عن أنواع أخرى كثيرة من الجراثيم مثل Lactobacillus ssp. ، Bacillus spp. ، α-hemolytic Streptococci ، Staphylococcus coagulase negative مثل S.epidermidis ، ،. وغيرها من الجراثيم (Jawetz *etal* .,1984) ، فضلاً عن أنواع من الخمائر وخاصة Candida albicans (Wyker & Gillenwater, 1975) . وتأتي التهابات المسالك البولية بالمرتبة الثالثة بعد التهابات المسالك التنفسية والإسهال. وتؤلف التهابات المسالك البولية حوالي ٤٠% من الإصابات المكتسبة من المستشفى nosocomial infection ، وتأتي بالمرتبة الثانية بعد التهابات المسالك التنفسية المكتسبة من جو المستشفى (Coleman ,1997). (Madigan *etal.*,2003) . إن نسبة حدوث U.T.Is في الإناث اكثر من نسبة حدوثه في الذكور وذلك بسبب قصر الاحليل في الاناث مقارنة بالذكور ، كما ان نسبة الإصابة تزداد في حالة الحمل وذلك بسبب التغيرات الهرمونية التي تحدث خلال هذه الفترة من حياة المرأة مما يؤثر على صحة الام والجنين على حدٍ سواء (Lefevre,2000 ; Forbes *etal.*,1998) ،) . وتعد جرثومة Proteus mirabilis من اهم الانواع الميكروبية المسببة للـ U.T.Is ، ويعد انتقال هذه الجرثومة داخلي المصدر endogenous ، كما انها يمكن ان تنتقل من مصادر خارجية exogenous كأستخدام الاجهزة الملوثة داخل المستشفيات مثل القثطرة catheter (Walter & Talbot,1996) . تملك هذه الجرثومة عدداً من عوامل الضراوة التي تساهم في امراضيتها وتثبيتها في انسجة المضيف (Corker *etal* .,2000) . كما تعد احدى مسببات التهاب الرئة وتجرثم الدم وخاصة في الاطفال وحديثي الولادة و الأشخاص المثبطين مناعياً مثل مرضى الايدز والسل الرئوي ، حيث تعد من البكتريا الانتهازية في إحداث المرض (Stock & Wiedemann,1997) .عدت الجرثومة من ملوثات صالات العمليات الجراحية. كما انها تسبب التهاب المجاري البولية خاصة لدى الافراد الذين يعانون من حصاة الكلى وكذلك في حالة قثطرة المجاري البولية والتثبيط المناعي والشيخوخة وقد تؤدي الاصابة بهذا النوع الى انتان الدم لمرضى المستشفيات (Gomez *etal.*,1991A)

أهداف الدراسة: تلخصت اهداف الدراسة بمايلي:-

١.عزل وتشخيص جرثومة Proteus mirabilis من حالات التهابات المسالك البولية في مدينة الديوانية ولفئات عمرية مختلفة وتحديد نسبتها، فضلا عن عزلها وتشخيصها من حالات الاسهال في الاطفال وباعمار مادون الثلاث سنوات .

٢. الكشف عن قدرة العزلات المحلية قيد الدراسة على انتاج انزيمات β-lactamase ودراسة حساسية الجرثومة لمجموعة من المضادات الحيوية الشائعة .

٣-دراسة بعض عوامل الضراوة للبكتيريا.

المواد وطرائق العمل Materials & Methods

العينات Specimens

بلغ مجموع العينات التي جمعت خلال فترة البحث من ١/١٠/٢٠١٨-١/١/٢٠١م (120) عينة توزعت كالتالي:-

عينات الادرار Urine specimens :-

جمع الادرار الوسطي (M.S.U.) (Engbaek *etal.,*1995)من المرضى الوافدين الى العيادة الاستشارية في مستشفى الديوانية التعليمي، ومن المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية المتكرر توزعت كالتالي :-

1 . عينات الادرار المأخوذة من النساء المصابات وباعمار تتراوح ما بين ٢٠-٥٠ سنة وبلغ عددها ٧٠ عينة .

2. عينات الادرار المأخوذة من الاطفال بأعمار ما بين شهر الى (١٢) سنة وبلغ عددها)٢٠(عينة .

3. عينات الادرار المأخوذة من الرجال المصابين وباعمار تتراوح ما بين ٣٠-٦٠ سنة وبلغ عددها (٣٠) عينة .

الأوساط الناقلة Transport Media

A : عينات الادرار :- جمعت العينات في قناني نظيفة معقمة وجلبت الى المختبر خلال اقل من ساعتين من اجل زرعها (Atlas *etal .,*1995) .

زرعت جميع العينات على وسطي اكار الدم واكار الدم المسخن واكار الماكونكي وحضنت هوائيا بدرجة (٣٧مْ) لمدة (٢٤) ساعة (Collee *etal.,*1996) .

فحوصات التحري Screening Tests

تم اجراء فحوصات التحري على المستعمرات التي أظهرت كل من العج على وسطي أكار الدم و اكار الدم المسخن ،وظهرت بشكل مستعمرات شاحبة غير مخمرة لسكر اللاكتوز على وسط ماكونكي واعطت رائحة السمك المتعفن (Collee *etal .,* 1996). وقد شملت فحوصات التحري ما يلي :

الفحص المجهري Microscopic Examination

حضرت مسحات من العزلات التي ظهرت مستعمراتها (شاحبة غير مخمرة لسكر اللاكتوز على وسط ماكونكي والتي أظهرت العج على وسط اكار الدم واكار الدم المسخن) على شرائح نظيفة ثم صبغت هذه الشرائح بصبغة كرام (Harley & Prescott , 1996) وفحصت بالمجهر الاعتيادي وذلك للتأكد من كون الجرثومة سالبة لصبغة كرام وذات شكل عصوي مكور Coccobacilli وقسم منها يظهر بشكل عصيات طويلة خيطية متعددة الأشكال pleomorphic وخاصة في المزارع الحديثة (Cruickshank *etal.,*1975).

الفحوصات الكيمياحياتية Biochemical Tests

أختبار انتاج الانزيم المحلل لليوريا Urease Test

لمعرفة فعالية هذا الأنزيم للعزلات قيد الدراسة تم صب وسط اكار اليوريا الأساس والمضاف له بعد التعقيم (٥) مل من محلول اليوريا بتركيز ٤٠ % في اطباق بتري معقمة وقسم كل طبق الى أربعة اقسام ولقح كل قسم بالعزلة المراد اختبارها ثم حضنت الأطباق بدرجة (٣٧ مْ) وقرئت النتائج ابتداءاً من الساعة الاولى من التحضين لغاية (٢٤)ساعة وسجلت النتائج بشكل جدول ، ففي حالة تغير لون الوسط من الاصفر الى الوردي يعد الفحص موجباً، حيث ان الامونيا المنتجة تغير الدالة الحامضية للوسط الى القاعدية.

اختبار انتاج الأنزيم النازع لمجموعة الامين من الحامض الاميني الفينايل النين

phenylalanine Deaminase test

تم تلقيح العزلات المراد اختبارها وحضنت الانابيب بدرجة (٣٧ مْ) لمدة (٢٤) ساعة وبعدها تم إضافة (٤-٥) قطرات من كاشف كلوريد الحديديك $FeCl_3$ بتركيز ١٠ % على سطح الوسط وتم تحريك الانابيب من اجل نشر الكاشف ثم قرئت النتائج وسجلت بشكل جدول خلال عشر دقائق ،ان ظهور اللون الاخضر دلالة على ايجابية الاختبار اما بقاء لون الكاشف اصفر دلالة على ان الفحص سالب (Harley & Prescott , 1996).

اختبار انتاج انزيم السايتوكروم اوكسديز Cytochrom Oxidase Test

يعد من الاختبارات التفريقية لأفراد العائلة المعوية والتي تكون عادة سالبة لهذا الاختبار (Koneman *etal* .,1997) . ، وقد استخدمت طريقة ورقة الترشيح الرطبة ،حيث تم ترطيب وتشبيع اوراق الترشيح نوع (Wattman No.1) بالكاشف ثم نقل جزء من المستعمرة المراد اختبارها والنامية على وسط الاكار المغذي الى سطح ورقة الترشيح وذلك بواسطة عود خشبي ومزجها جيداً ثم قرئت النتيجة خلال دقيقة وسجلت،ان ظهور اللون البنفسجي خلال دقيقة يشير الى النتيجة الموجبة وعدم ظهوره يعني ان الفحص سالب (Cruickshank *etal* ., 1975).

اختبار انتاج أنزيم الكتاليز Catalase test

وهو أحد الاختبارات التفريقية لأفراد العائلة المعوية والتي تكون عادة موجبة لهذا الاختبار ، ويتم إجراء هذا الاختبار باخذ جزء من المستعمرة المراد اختبارها بواسطة عود خشبي نظيف ووضعها على سطح شريحة زجاجية نظيفة ثم تضاف قطرة من كاشف H_2O_2 بتركيز ٣% وتمزج القطرة مع المستعمرة الموجودة على سطح الشريحة وتقرأ النتيجة خلال دقيقة وظهور فقاعات غازية دلالة على نتيجة موجبة (Macfaddin,1985).

اختبار اختزال النترات Nitrate Reduction Test

يعد اختباراً تفريقياً مهماً لأفراد العائلة المعوية والتي تكون عادة موجبة لهذا الاختبار (Jawetz *etal.,*1984) . ويتم إجراء هذا الاختبار بتلقيح العزلات قيد الدراسة في وسط مرق النترات المعقم Nitrate broth وبعدها تحضن الانابيب هوائياً بدرجة (٣٧ مْ) ولمدة (٢٤) ساعة وبعدها يتم إضافة قطرة من كاشف A الذي يتكون من acetic acid,sulfanilic acid وقطرة من كاشف B الذي يتكون من Dimethylenaphthylamine,acetic acid (Harley & Prescott, 1996) لكل أنبوب ورجت الأنابيب جيداً ثم قرئت النتيجة وسجلت حيث ان ظهور اللون الاحمر دلالة على النتيجة الموجبة(Bradshaw ,1979) .

اختبار إنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين والاندول والحركة (S.I.M)

Sulfide-Indol-Motility Test

لإجراء هذا الاختبار استخدم وسطSulfide Indol motility Agar (SIM) المستورد من شركة (Difco) والمحضر حسب تعليمات الشركة المصنعة . لقحت الانابيب المحتوية على هذا الوسط بمستعمرة فتية من العزلة المراد اختبارها و بطريقة الوخز الى عمق الوسط، وحضنت الأنابيب هوائياً بدرجة (٣٧ مْ) لمدة (٢٤) ساعة وبعد انتهاء فترة التحضين قرئت النتائج وسجلت ولاجل قراءة نتيجة الاندول تضاف بضع قطرات من كاشف كوفاكس Kovac's Reagent بعدها قرئت النتيجة وسجلت، في حالة تكون راسب اسود دلالة على انتاج H_2S وان انتشار النمو الجرثومي الى ابعد من خط التلقيح يدل على ان فحص الحركة موجب وظهور حلقة حمراء تطفو على سطح الوسط بعد اضافة الكاشف يدل على انتاج الاندول(Finegold & Martin , 1982).

اختبار المثيل الأحمر Methyle Red Test

استخدمت أنابيب حاوية على وسط ماء البيتون والفوسفات والكلوكوز glucose phosphate peptone water ولقحت الانابيب بالعزلات المراد اختبارها وحضنت بدرجة (٣٧ مْ) لمدة (٢٤)ساعة ولقراءة النتيجة يضاف لكل انبوب (٥) قطرات من كاشف المثيل الاحمر ثم قرئت النتيجة وسجلت وان تغير لون الوسط الى الاحمر يدل على النتيجة الموجبة وبقاء اللون الاصفر دلالة على النتيجة السالبة (Finegold *etal.*,1978).

اختبار فوكس بروس كاور Voges Proskaure Test

تم تلقيح العزلات قيد الدراسة في أنابيب اختبار حاوية على وسط ماء البيتون والفوسفات والكلوكوز وحضنت الانابيب هوائياً وبدرجة (٣٧ مْ) ولمدة (٢٤) ساعة بعدها تم اضافة (٦) قطرات من كاشف A وهو (٥%) الفانفثول محضرة في الكحول المطلق وقطرتين من كاشف B المتكون من (٣%) كرياتين و (٤٠%) هيدروكسيد البوتاسيوم في الماء المقطر الى كل انبوب ورجت الأنابيب لمدة دقيقة وتركت لتستقر بعدها قرئت النتائج وسجلت، ظهور اللون الاحمر دلالة على النتيجة الموجبة (Cruickshank *etal.,*1975) .

اختبار الحساسية للمضادات الحياتية Antibiotic sensitivity Test

تم اجراء اختبار حساسية العزلات قيد الدراسة للمضادات الحياتية حيث تم استخدام (١٢) مضاد حيوي بعضها تم الحصول عليها بشكل أقراص جاهزة من شركة (oxoid) والبعض الاخر تم تحضيره في المختبر بطريقة الاقراص الرطبة (Cruickshank *etal.*,1975) بحيث احتوت الأقراص المحضرة على التراكيز المستخدمة عالمياً من المضاد الحيوي وحسب ما جاء في توصيات منظمة الصحة العالمية (Vandepitte *etal.*, 1991) .تم استخدام وسط اكار مولر _هنتون Mueller Hinton Agar المجهز من شركة (oxoid) واتبعت طريقة Baure-Kirby المحورة (١٩٦٦) وحسب توصيات منظمة الصحة العالمية (Finegold *etal.,*1978). تم تحضير معلق الجراثيم الفتية في المحلول الملحي الفسيولوجي وتمت مقارنته مع الانبوب الاول من انابيب ماكفرلاند القياسية والذي عادة يحتوي على (١×١٠^{٨}) خلية لكل سم٣ بعدها غمرت ماسحة قطنية swabs معقمة في المعلق الجرثومي ثم نشرت البكتريا على سطح وسط مولر هنتون اكار بشكل متجانس ثم وزعت الاقراص على سطح الطبق وتركت فترة بدرجة حرارة الغرفة ليحصل التشرب ثم حضت الأطباق هوائياً وبدرجة (٣٧م) لمدة (١٨) ساعة وتم قياس قطر مناطق تثبيط النمو حول كل قرص وقورنت بالمعدلات القياسية الخاصة بكل مضاد وحسب توصيات منظمةW.H.O (Koneman *etal.,*1997).وعلى أساس ذلك تم تقسيم العزلات قيد الدراسة الى ثلاث مجاميع :العزلات المقاومة Resistant Isolates،العزلات الحساسة succeptible Isolates ،العزلات متوسطة الحساسية Moderately

(الجدول (١) يبين المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة مع رموزها وتراكيزها.

المضاد الحيوي	الرمز	التركيز (مايكرو غرام \القرص)
Amikacin	AN	٣٠
Ampicillin	AM	١٠
Cephalothin	CF	٣٠
Cephotaxim	CTX	٣٠
Gentamycin	GM	١٠
Ciprofloxacin	CIP	٣٠
Nitrofurantoin	NF	٣٠٠
Trimethoprim	TMP	٥
Co- trimoxazol	COT	٢٥
Nalidixic acid	NA	٣٠
Amoxicillin	AMX	٣٠
Ceftazidim	CA	٣٠

اختبار فعالية الأنزيم المحلل لحلقة البيتا لاكتام - Lactamase Test β

يعتمد مبدأ اختبار فعالية أنزيم البيتالاكتاميز على انتاج هذا الانزيم من قبل الجراثيم ويعمل هذا الانزيم على تكسير حلقة البيتالاكتام في مضادات البيتالاكتام مثل البنسيلين_جـ وبالتالي يبطل المفعول المؤثر لهذه المضادات (Braude,1981 ;حداد ،1991).ولاجراء هذا الاختبار اعتمدت طريقة (Lennette, 1985) حيث اتبعت الطريقة الايودومترية Iodometric Method حيث تم تحضير محلول البنسلين-جـ بتركيز ٦٠٠٠ مايكروغرام \ سم٣ في محلول الفوسفات المنظم بأس هيدروجيني (٦) ،كما حضر محلول النشأ بتركيز ١% في الماء المقطر مع الرج والتسخين حتى الغليان اما محلول الايودين فحضر باذابة (٢)غم من الايودين و(٥٣,٢٩غم) من يوديد البوتاسيوم في كمية من الماء المقطر واكمل الحجم الى ١٠٠مل ولأجراء هذا الاختبار وضع(١مل) من محلول البنسيلين –جـ في أنابيب اختبار صغيرة ومعقمة وتم تحضير معلق مركز من العزلة المراد اختبارها في هذا الأنبوب ثم حضنت الأنابيب بدرجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة ثم اضيف لكل انبوب قطرتان من محلول النشأ بتركيز ١% ومزجت جيداً ثم اضيفت قطرة واحدة من محلول الايودين لكل أنبوب فاصبح لون المحلول ازرق ثم رجت الأنابيب لمدة دقيقة ثم قرئت النتائج وسجلت خلال ١٠ دقائق مع تسجيل الوقت المستغرق لظهور النتيجة الموجبة سجلت النتائج بشكل جدول .

دراسة عوامل الفوعة Studying of Virulence Factor

اختبار إنتاج حالاّت الدم Haemolysin Production Test

تم الكشف عن قدرة العزلات الجرثومية قيد الدراسة على إنتاج حالاّت الدم وذلك باستخدام وسط اكار الدم الأساس Blood agar base (oxoid) والمحضر حسب تعليمات الشركة المجهزة والمضاف له الاكار وبنسبة ٣% مع نسبة من املاح الصفراء وبعد أن عقم الوسط وبرد إلى درجة (٤٥ مْ) أضيف له ٥ % من دم الأغنام وتم صبه في أطباق بتري معقمة وترك ليتصلب بعدها زرعت عليه العزلات الجرثومية وحضنت هوائياً بدرجة ٣٧ مْ لمدة (٢٤) ساعة وبعدها تم قراءة النتائج (Prescott *etal.,*1993 ;Bradshaw , 1979) .

اختبار الالتصاق Adherence Test

لإجراء هذا الاختبار حضر محلول الفوسفات المنظم بأس هيدروجيني (٧,٢) وحسب طريقة (Atlas *etal* ., 1995) وعقم بالموصدة وكذلك تم تحضير صبغة Giemsa stain حسب طريقة (Frei *etal.,* 1995) ، كما تم عزل الخلايا الطلائية البولية لاجل استخدامها في اختبار الالتصاق .

عزل الخلايا الطلائية البولية Uroepithelial Cells Isolation

لغرض عزل الخلايا الطلائية البولية اخذ الادرار الصباحي المركز من امرأة سليمة حوالى (٣٠ مل) ورشح الجزء الاكبر من الادرار باستخدام اوراق ترشيح بقطر (٢٠ ملم) ، أما الباقي من الإدرار وضع في أنابيب طرد مركزي وعمل له طرداً مركزياً ثم اخذ الراسب الحاوي على الخلايا الطلائية البولية ، غسلت هذه الخلايا ثلاث مرات باستخدام محلول الفوسفات المنظم و باستخدام جهاز الطرد المركزي لمدة (١٠) دقائق وبسرعة (١٠٠٠ دورة \ دقيقة) ، بعدها علقت الخلايا الطلائية البولية بمحلول الفوسفات المنظم ورشح المعلق باستخدام ورق ترشيح بقطر (٢٠ملم) مع قليل من الضغط ، بعدها نقلت ورقة الترشيح التي توزعت عليها الخلايا الطلائية البولية بشكل عشوائي إلى غطاء طبق بتري ووضعت عليها شرائح زجاجية نظيفة وضغطت الشرائح على ورقة الترشيح ، بعدها تركت الشرائح لتجف لمدة (١٥) دقيقة (Van-DenBosch *etal*.,1980) .

اختبار الالتصاق على الخلايا الطلائية البولية

حيث اجري اختبار التصاق كل من هذه العزلات على الخلايا الطلائية البولية وكما يلي :-

وضعت الشرائح)من المواد وطرائق العمل ، في أطباق بتري نظيفة ، ثم سكب معلق الخلايا البكتيرية والتابعة للنوع P. mirabilis وبتركيز (١×١٠^٨) خلية \سم ^٣ وتم وضع غطاء الطبق وحضنت الأطباق لمدة ساعة وبدرجة (٣٧ مْ) مع التحريك المستمر للمزيج وبعد انتهاء فترة التحضين أخرجت الشرائح وغسلت بمحلول الفوسفات المنظم لإزالة الخلايا البكتيرية غير الملتصقة ، ثم ثبتت الشرائح بالميثانول لمدة (١٥) دقائق ، بعدها صبغت بصبغة كمزا وذلك بغمر الشرائح المحضرة بالصبغة ولمدة نصف ساعة ، بعدها غسلت الشرائح بماء الحنفية وجففت وفحصت الشرائح بالمجهر الضوئي ، وتم حساب عدد الخلايا البكتيرية الملتصقة على ٥٠ خلية طلائية بولية وبشكل عشوائي (Knutton *etal.,*1989) باتجاه واحد واختبار دنكن (Steel & Torrie , 1980).

اختبار التلازن الدموي Haemagglutination Test

من اجل معرفة قدرة الجرثومة على احداث التلازن الدموي لكل عزلة قيد الدراسة ومن اجل معرفة نوع الأهداب (pilli) المشاركة في عملية الالتصاق وهي الخطوة الأولى للاستعمار البكتيري Bacterial colonization ، استخدمت اربع فصائل من دم الانسان وهي O^+,AB^+,B^+,A^+ . و لأجراء هذا الاختبار ، جمعت عينات الدم في أنابيب حاوية على مادة الـ E. D.T.A كمانع للتخثر من اجل فصل البلازما عن الكريات الدموية ، بعدها تم عمل طرد مركزي لعينات الدم لمدة (١٠) دقائق وبسرعة (١٠٠٠ دورة \ دقيقة) وذلك للحصول على كريات الدم الحمر وبعدها فصلت كريات الدم الحمر بأنابيب نظيفة ، ثم غسلت كريات الدم الحمر بالمحلول الملحي الفسيولوجي Normal saline بتركيز 0.85 % ثلاث مرات ، بعدها قسمت كريات الدم الحمر الى قسمين : القسم الاول عُلق بمحلول الملح الفسيولوجي وبنسبة ٠,٥% (حجم\حجم) ،أما القسم الثاني فعُلق بمحلول الملح الفسيولوجي والمضاف له ١% سكر المانوز وبنسبة ٠,٥%(حجم\حجم) ايضاً ،أما الخلايا البكتيرية قيد الدراسة والنامية على وسط casamino acid yeast extract broth ، فتم عمل طرد مركزي لها واخذ الراسب الحاوي على الخلايا البكتيرية وغسلت هذه الخلايا ثلاث مرات بمحلول الملح الفسيولوجي ، ثم علقت بهذا المحلول ، ولاجل اجراء اختبار التلازن الدموي وضعت قطرة من معلق الخلايا البكتيرية المراد اختبارها مع قطرة من عالق كريات الدم الحمر مع الملح الفسيولوجي مرة ، ومرة اخرى مع قطرة من عالق كريات الدم الحمر مع الملح الفسيولوجي المضاف له ١% سكر المانوز على شريحة زجاجية نظيفة ومزجت القطرتان بشكل جيد وحركت الشريحة لمدة دقيقتين بدرجة حرارة الغرفة ولمدة (٥) دقائق بدرجة (٤ مْ)

النتائج و المناقشة
Results & Discussion

تم جمع (١٢٠) عينة مرضية من الإدرار ومن فئات عمرية مختلفة في مدينة الديوانية ، حيث عزلت هذه الجرثومة بنسبة (١٦,٦%) من حالات التهابات المجاري البولية ، كما تم عزل عدة انواع من الكائنات المجهرية المسببة لالتهاب المجاري البولية في هذه الدراسة ، والجدول التالي يبين هذه الكائنات المجهرية مع نسب عزلها ، ثم اجريت على جميع العزلات قيد الدراسة ، الفحوصات التشخيصية والكيمياحياتية اللازمة. فضلاً عن تشخيص باقي انواع الكائنات المجهرية والمعزولة من حالات التهاب المسالك البولية في هذه الدراسة من اجل تحديد نسبة عزل كل منها وقد اعتمد في تحديد الجنس والنوع لكل منها على (Holt *etal* .,1994) وباستخدام الفحص المجهري والفحوصات الكيمياحياتية الروتينية.

جدول (٢)انواع الكائنات المجهرية المسببة لـ U.T.Is والمعزولة في هذه الدراسة مع النسب المئوية للعزل .

الكائن المجهري	العزلات الموجبة العدد (%)
Escherichia coli	٧٥(٦٢,٥)
Proteus mirabilis	٢٠(١٦,٦)
Klebsiella pneumonia	٨(٦,٦)
Proteus vulgaris	٦(٥)
Pseudomonas aeruginosa	٦ (٥)
Staphylococcus aureus	٥ (٤,١)
المجموع الكلي	١٢٠ (١٠٠)

من ملاحظة الجدول يتبين ان جرثومة E.coli تحتل المرتبة الاولى في احداث التهاب المسالك البولية، وهذا مطابق لما وجد في دراسة (علي ،١٩٩٨) والتي عزلت فيهاهذه الجرثومة بنسبة (٦٢,٧٤%) من حالات التهاب المسالك البولية وهذا قد يعزى الى كون هذه الجرثومة تتواجد بنسبة كبيرة ضمن الفلورا الطبيعية المستوطنة في القناة المعوية وتعد من الجراثيم الانتهازية ،حيث تتمكن من احداث امراضا مختلفة ومنها التهاب المسالك البولية وخاصة في حالة توفر الفرصة الملائمة لها، وان هذه النتيجة لا تتفق مع نتائج دراسة (Honkinen *etal*.,1999) والتي عزلت فيها هذه الجرثومة بنسبة (٧٩%) من حالات التهاب المسالك البولية وهي اعلى مما سجل في الدراسة الحالية وهذا قد يعود الى اختلاف موقع اجراء الدراسة واختلاف الظروف البيئية وطرق العمل المستخدمة في تحديد نسبة الالتهاب .كما نجد ان جرثومة P.mirabilis احتلت المرتبة الثالثة في احداث التهاب المسالك البولية ،حيث عزلت بنسبة (١٦,٦%) في هذه الدراسة وهذه النتيجة تتفق مع نتائج دراسة (علي ،١٩٩٨)والتي عزلت فيها هذه الجرثومة بنسبة(١٥,٩٧%) ،ويعزى سبب عزل جرثومة المتقلبة الرائعة بهذه النسبة الى كونها تعد احدى افراد عصيات القولون المتواجدة بشكل طبيعي في القناة

المعوية ولها القدرة على احداث امراضا انتهازية عند توفر الفرصة الملائمة لها مثل التهاب المسالك البولية. اما بالنسبة لدراسة (الجبوري ،٢٠٠٠) فقد عزلت فيها جرثومة P. mirabilis بنسبة(١٧,٦%) من حالات التهاب المسالك البولية وهذا مقارب لما وجد في الدراسة الحالية ، ان نسبة عزل جرثومة P. mirabilis اعلى من نسبة عزل جرثومة P. vulgarisوالتي عزلت بنسبة (٥%) من حالات التهاب المسالك البولية وهذه النتيجة تطابق ماذكرته دراسة (الجبوري ،٢٠٠٠) والتي عزلت فيها جرثومتي P. mirabilis و P.vulgaris وبالنسب (١٧,٦%) و(١,٦%) من حالات التهاب المسالك البولية على التوالي وهذه النتيجة بديهية جدا ،حيث ان عزل جرثومة P. mirabilis من العينات السريرية اكثر شيوعا من عزل جرثومة P. vulgaris والتي عادة ما تعزل من الاشخاص المثبطين مناعيا كمرضى الايدز والسرطان والاشخاص مستخدمي المضادات الحيوية لفترات طويلة (Chaudhry,1982 ;Koneman *etal*.,1997).

الجدول (٣) يبين النسب المئوية لعزل جرثومة P.mirabilis من حالات التهاب المسالك البولية ولفئات عمرية مختلفة.

الفئة العمرية	العدد ا للعينات	العزلات الموجبة العدد (%)
النساء البالغات (٢٠-٥٠) سنة	٧٠	٢٩(٧,٥١)
الرجال البالغين (٣٠-٦٠) سنة	٣٠	٤(١,٥٨)
الأطفال (شهر – ١٢) سنة	٢٠	٧(٢,٧٦)
المجموع الكلي	١٢٠	٣٠(١١,٨٥)

من ملاحظة الجدول (٢) يتبين ان نسبة عزل جرثومة P.mirabilis من النساء وباعمار تتراوح مابين (٢٠.٥٠) سنة كانت (٧,٥١%) وهي اعلى من نسبة عزلها من الاطفال والرجال وهذه النتيجة تتفق مع كثير من الدراسات ومنها (Delzell&Lefevre,2000;Stamey *etal*.,1971;Forbes *etal*.,1998) ،حيث ان نسبة حدوث التهاب المسالك البولية في النساء اكثر من نسبة حدوثه في الرجال والاطفال ،وذلك بسبب قصر الاحليل عند النساء فضلا عن توفرالدفيء والرطوبة والتي تعد من العوامل المهمة في تكاثر الجراثيم ،كما ان نسبة الاصابة تزداد عند النساء خاصة في فترة الحمل وذلك بسبب التغيرات الهرمونية التي تحدث خلال هذه الفترة ،حيث يقل افراز هرمون الايستروجين ويزداد افراز هرمون البروجيستيرون المثبت للحمل ،فضلا عن ان جرثومة P.mirabilis تعد من الجراثيم المتواجدة بشكل طبيعي في القناة المعوية والتي عند انتقالها الى منطقة الاحليل والمهبل تؤدي الى حدوث التهاب المسالك البولية وبالمسلك التصاعدي ،حيث تعد من الممرضات الانتهازية للجهاز البولي . اما نسبة عزل جرثومة P.mirabilis من حالات التهاب المسالك البولية في الاطفال وباعمار مابين (شهر .١٢) سنة فكانت (٢,٧٦%) وهذه النسبة تعود الى كون الاطفال باعمار شهر الى حد سنتين تكون مناعتهم ضعيفة ويكونون عرضة للاصابة بامراض والتهابات مختلفة ومنها التهابات المسالك التنفسية والتهابات المسالك البولية، كما ان قسما من الاطفال يكون لديهم تشوهات خلقية تركيبية او وظيفية في جهازهم البولي وخاصة منطقة اتصال الحالب بالمثانة وهذا يزيد من فرصة حدوث الالتهاب وهذا ماشار

اليه الباحثان McCracken و Ginsburg عام ١٩٨٢ ، حيث تبين ان (٧%) من الاطفال الذكور المصابين بالتهاب المسالك البولية لديهم تشوهات تركيبية في الجهاز البولي وخاصة منطقة اتصال الحالب بالمثانة ،كما تبين ان (٤٥%) من الاناث الصغيرات المصابات بالتهاب المسالك البولية لديهن تشوهات تركيبية في الجهاز البولي ،فضلا عن ان ختان الاطفال الذكور مبكرا يقيهم من الالتهاب ،حيث ان نسبة الاصابة تنخفض بمعدل (٣%) وهذا ما اشارت اليه دراسة & (Ginsburg McCracken, 1982 ;Forbes *etal* .,1998). اما نسبة عزل هذه الجرثومة من حالات التهاب المسالك البولية في الرجال فكانت (١,٥٨%) وهي اقل نسبة عزل سجلت في دراستنا هذه وهذا يعود الى فسلجة وتشريح الجهاز البولي للرجال ، فضلا عن وجود متعدد الامينات القاعدية مثل السبرمين والسبرمدين والتي يكون لها فعالية قاتلة للجراثيم وهذه النتيجة تتفق مع كثير من الدراسات ومنها دراسة (Forbes *etal*., 1998). من هذا نستنتج ان نسبة عزل جرثومة P.mirabilis من حالات التهاب المسالك البولية تختلف باختلاف الفئات العمرية .

اختبارات التحري والاختبارات الكيمياحياتية :-

اجريت هذه الاختبارات على العزلات قيد الدراسة والتي اظهرت صفة العج على اكار الدم وغير مخمرة لسكر اللاكتوز على وسط ماكونكي وتملك صفة رائحة السمك المتعفن ، حيث ظهرت افراد النوع P.mirabilis تحت المجهر بشكل عصيات مكورة قصيرة سالبة لصبغة كرام ، وقسم منها يظهر بشكل عصيات طويلة خيطية وخاصة عندما تكون المسحات مأخوذة من المزارع الحديثة .اما بالنسبة لنتائج الاختبارات الكيمياحياتية فكانت العزلات قيد الدراسة و التابعة للنوع P.mirabilis موجبة لاختبار تحليل اليوريا واختبار نزع الامين من الحامض الاميني الفينايل النين. كما كانت العزلات قيد الدراسة سالبة لاختبار الاوكسديز وموجبة لكل من اختبار الكتاليز واختزال النترات واختبار الحركة ، اما بالنسبة لاختبار انتاج H_2S فقد اظهرت (٨٣,٣ %) من العزلات نتيجة موجبة له و كانت سالبة لكل من اختبار الاندول وفوكس بروس كاور واختبار ازالة مجموعة الكاربوكسيل من الحامض الاميني الارجنين واللايسين . كما كانت العزلات قيد الدراسة موجبة لاختبار المثيل الاحمر واستهلاك السترات وتمييع الجيلاتين واختبار ازالة مجموعة الكاربوكسيل من الحامض الاميني الاورنثين وكذلك موجبة لاختبار تحلل الـ DNA . اما بالنسبة لاختبار تخمر الكاربوهيدرات فقد كانت جميع العزلات موجبة لاختبار تخمر الكلوكوز والفركتوز والزايلوز والكالاكتوز ، بينما كانت سالبة لاختبار تخمر المالتوز واللاكتوز والمانيتول والمانوز ، اما بالنسبة لاختبار تخمر السكروز فقد اظهرت (٧٣,٣%) من العزلات نتيجة سالبة لهُ . والصورة رقم(١) تبين تشخيص الجرثومة قيد الدراسة بأستخدام نظام API20E

التهابات المجاري البولية لها القدرة على تحليل اليوريا خلال ٣-٥ ساعات وهذا يؤكد على ان أنزيم اليوريز الذي تنتجه الجرثومة يشترك بشكل واضح في ضراوة الجرثومة في إحداث التهابات المجاري البولية وان الزمن ٣-٥ يدل على سرعة نمو الجرثومة وسرعة تحليلها لمركب اليوريا مما يساهم في تطور الاصابة وتكون الحصيات الفوسفاتية وخلال فترة قياسية من بدء الإصابة وهذه النتيجة تتفق مع نتائج (Li *etal* .,2002B ; Senior *etal*.,1980) وهذا يؤكد على أهمية هذا الأنزيم في امراضية الجهاز البولي وتكوين الحصيات الفوسفاتية .

نسبة (٥٣,٣ %) من العزلات قيد الدراسة والمعزولة من حالات التهابات المجاري البولية لها القدرة على انتاج الانزيم النازع لمجموعة الامين من الحامض الاميني الفينايل النين وخلال دقيقة واحدة من اضافة الكاشف ، وهذه النسبة تشير الى فعالية هذا الانزيم في احداث U.T.Is حيث يساهم مع انزيم اليوريز في ابراز فوعة الجرثومة على الجهاز البولي وتكوين الحصى وخاصة في المثانة البولية التي تحتوي كميات كبيرة من الإدرار ، وان الحالة تزداد تعقيداً في حالة احتباس الإدرار Urine Retention ، حيث تفرز الجرثومة الانزيم المحلل لليوريا والانزيم النازع لمجموعة الامين من الفينايل النين وهذا يؤدي الى تحليل كميات كبيرة من اليوريا وانتاج غاز الامونيا الذي يعتبر ساماً لخلايا الجهاز البولي ، ونتيجة لارتفاع قلوية الإدرار فان ذلك يعمل على ترسيب املاح الكالسيوم والمغنيسيوم وتكوين الحصى Urolithiasis ، وهذه النتيجة تتفق مع نتائج (Johnson *etal*.,1993) الذي اكد على دور هذين الانزيمين في تكوين الحصى واستعمار انسجة الجهاز البولي واحداث التهاب الكلى الحاد Acute pyelonephritis.

اختبار الحساسية للمضادات الحياتية

الجدول (٤) يبين نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحياتية المستخدمة في هذه الدراسة مع النسب المئوية للعزلات المقاومة ومتوسطة الحساسية والحساسة للعزلات قيد الدراسة والتابعة للنوع P.mirabilis .

المضاد الحيوي	رمزه	العزلات الحساسية S العدد(%)	العزلات متوسطة الحساسيةMS العدد(%)	العزلات المقاومة R العدد (%)
Amikacin	AN	١٧(٥٦,٧)	٧(٢٣,٣)	٦(٢٠)
Ampicillin	AM	٠(٠,٠)	٥(١٦,٧)	٢٥(٨٣,٣)
Cephalothin	CF	٠(٠,٠)	٠(٠,٠)	٣٠(١٠٠)
Cephotaxim	CTX	٢٣(٧٦,٧)	٧(٢٣,٣)	٠(٠,٠)
Gentamycin	GM	٢٤(٨٠)	٦(٢٠)	٠(٠,٠)
Ciprofloxacin	CIP	٢٩(٩٦,٧)	١(٣,٣)	٠(٠,٠)
Nitrofurantoin	NF	٠(٠,٠)	٢(٦,٧)	٢٨(٩٣,٣)
Trimethoprim	TMP	٢(٦,٧)	٣(١٠)	٢٥(٨٣,٣)
Co-trimoxazole	COT	٨(٢٦,٧)	٢(٦,٧)	٢٠(٦٦,٧)
Nalidixic acid	NA	١(٣,٣)	١٥(٥٠)	١٤(٤٦,٧)
Amoxicillin	AMX	١٤(٤٦,٧)	١٣(٤٣,٣)	٣(١٠)
Ceftazidime	CA	٠(٠,٠)	٠(٠,٠)	٣٠(١٠٠)

من ملاحظة الجدول (٤) يتبين ان العزلات الجرثومية قيد الدراسة اظهرت حساسيتها لكل من المضادات الحيوية Cephotaxim , Gentamycin , Ciprofloxacin وبالنسب (٩٦,٧%) ، (٨٠ %) ، (٧٦,٧ %) على التوالي ، بينما أظهرت العزلات قيد الدراسة حساسيتها لكل من مضادي Amoxicillin و Amikacin وبنسبة (٤٦,٧ %) و

(٥٦,٧%) على التوالي .من نتائج هذه الدراسة نستنتج ان مضاد Ciprofloxacin افضل المضادات الحيوية في علاج الامراض والالتهابات التي تسببها هذه الجرثومة وهذا يتفق مع ما ذكره (Cortter & Adley, 2001) بأ ن هذا المضاد من احسن المضادات الحيوية في علاج التهابات المسالك البولية. كما يتبين ان مضادي Gentamycin وCephotaxim من المضادات الحيوية الناجحة في علاج التهابات المسالك البولية التي تسببها هذه الجرثومة. كما نلاحظ انخفاض تأثير كل من مضادي Amoxicillin وAmikacin في علاج الامراض التي تسببها جرثومة P.mirabilis نتيجة للاستخدام الواسع والعشوائي لهذه المضادات وبدون استشارة الطبيب مما يساعد الجرثومة على اكتساب المقاومة ضد هذين المضادين تدريجيا لامتلاكها بلازميدات المقاومة.

كما أظهرت العزلات قيد الدراسة حساسية متوسطة لمضاد Nalidixic Acid وبنسبة (٥٠ %) وهذا يؤكد اكتساب الجرثومة للمقاومة نتيجة لتزايد استخدام هذا المضاد في علاج التهابات المسالك البولية ، حيث يعد هذا المضاد من المضادات الواسعة الاستعمال في علاج مثل هذه الحالات (Atlas,1995). كما اظهرت العزلات قيد الدراسة مقاومة مطلقة وبنسبة (١٠٠%) لكل من Ceftazidime و Cephalothin ، وهذا يشير الى امتلاك الجرثومة لما يسمى بأنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف وهذه النتيجة تتفق مع (Sanguinetti *etal*., 2003; Hryniewicz *etal*.,2001) ، كما يشير الى ان الجرثومة تتكشف مقاومتها للمضادات الحياتية بسرعة وذلك لاحتواءها كباقي افراد العائلة المعوية ما يسمى ببلازميدات المقاومة او عوامل المقاومة Resistance Plasmids أو Resistance (R-F) factor التي تشفر لجينات خاصة بمقاومة الجرثومة للمضادات الحياتية وهذه العوامل R-F ممكن ان تنتقل من السلالات المقاومة الى السلالات الحساسة لتصبح مقاومة لمضاد معين او لأكثر من مضاد (Koneman *etal*., 1997) ، وهذا ما يحدث في بيئة المستشفى في الردهات وصالات العمليات الجراحية حيث تتكشف مقاومة الجرثومة بسرعة وتنتقل من مريض الى أخر ، مما يؤدي الى صعوبة معالجة الامراض المتسببة عن السلالات المقاومة وقد تؤدي الى نسبة وفيات عالية خاصة في حديثي الولادة والرضع وكبار السن وضعيفي المناعة ومرضى الايدز ، من هذا نستنتج ان علاج الالتهابات والامراض التي تسببها هذه الجرثومة يكون صعباً وذلك لان حساسية الجرثومة للمضادات الحياتية متباينة وتتطور فيها المقاومة بسرعة ومن الضروري إجراء اختبارات الحساسية للمضادات لتقرير الدواء الانسب ، كما ان هناك مضادات يلاحظ لها تاثير فقط في حالة (In Vitro) بينما تكون قليلة التأثير او معدومة التأثير في حالة (In Vivo) . كما أظهرت العزلات قيد الدراسة مقاومتها لكل من المضادات , Co-trimoxazole , Trimethoprim Nitrofurantoin ، Ampicillin وبالنسب (٩٣,٣ %) ، (٨٣,٣ %) ، (٦٦,٧ %) ، (٨٣,٣%) على التوالي . ان نتائج هذه الدراسة لا تتفق مع نتائج دراسة (Jensen *etal*.,1997) والتي اثبتت ان (٣٢ %) من عزلات P.mirabilis المعزولة من حالات U.T.Is كانت مقاومة للـ Trimethoprim . كما ان نتائج هذه الدراسة لاتتفق مع نتائج دراسة (Daza *etal*.,2001) والتي اكدت ان (٥٢ %) من عزلات P.mirabilis المعزولة من حالات U.T.Is كانت مقاومة للـ Co-trimoxazole . كما أن نتائج هذه الدراسة لم تتفق مع نتائج دراسة (الدباغ ،٢٠٠٠) الذي وجد ان جرثومة P.mirabilis المسببة لالتهاب المجاري البولية كانت مقاومة بنسبة (٦٨,٧ %) لمضاد Gentamycin بينما كانت حساسيتها لـ Nalidixic acid (٩٣,٧ %) . لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما ذكر بان العزلات التابعة لجرثومة P.mirabilis كانت حساسيتها للمضادات الحيوية Amikacin و Ampicillin و Ceftazidime و Cephalothin

و Co-trimoxazole بالنسب (١٠٠ %) و (٩٤ %) و (١٠٠ %) و (١٠٠ %) و (٨٥ %) على التوالي (Koneman *etal* ., 1997) . ويعزى اختلاف نتائج هذه الدراسة عن الدراسات المذكورة انفاً الى كون هذه الدراسات قد اجريت تحت ظروف مختبرية وبيئية مختلفة عن تلك المستخدمة في هذه الدراسة ،وهذا يشير الى ان جرثومة P. mirabilis قد اكتسبت مقاومة متزايدة في السنوات الاخيرة نتيجة للاستخدام الواسع والعشوائي للمضادات الحيوية ، ومن الجدير بالذكر ان الجرثومة تملك ما يسمى ببلازميدات المقاومة والتي تساعدها على اكتساب المقاومة لمضاد معين او لاكثر من مضاد وهذا يعني ان الجرثومة تملك استجابة وراثية نتيجة للاستخدام المتكرر والمتزايد لمضادات معينة والذي يعكس قابلية الجراثيم على التطبع مع البيئة التي تعيش فيها من اجل الافلات من تأثير المضادات الحيوية عليها.

اختبار انتاج الانزيم المحلل لحلقة البيتالاكتام

أن جميع العزلات التابعة للنوع P. mirabilis والمعزولة من الإدرار لها القدرة على انتاج الانزيم المحلل لحلقة البيتالاكتامâ-Lactamase وهذا يتفق مع دراسة(Bush *etal*.,1995;Buchanan&Gibbons,1974) الذي اشار الى ان هذه الجرثومة لها القابلية على انتاج هذه الانزيمات وعليه فأن مضادات البيتالاكتام غير مؤثرة على العزلات التابعة لهذه الجرثومة ، حيث نلاحظ أن جميع العزلات المعزولة من الدم كانت سريعة في إنتاجها لهذا الانزيم ، حيث اعطت النتيجة الموجبة خلال دقيقة واحدة وبنسبة (١٠٠ %) ، بينما كانت عزلات البراز بطيئة في انتاج هذا الانزيم حيث اعطت النتيجة الموجبة بعد (١٠) دقائق وبنسبة (٥٥,٦ %) ، اما العزلات المعزولة من مصدر الاذن الوسطى فقد أعطت نتيجة متوسطة في إنتاجها لهذا الانزيم حيث ان (٥٠%) من عزلات الاذن الوسطى اعطت نتيجة موجبة خلال (٣) دقائق و (١٢,٥%) أعطت نتيجة موجبة خلال (٤) دقائق و(٣٧,٥%) اعطت نتيجة موجبة خلال (٦) دقائق ، من هذا نستنتج ان هناك فروقاً واضحة في انتاج الجرثومة للانزيم المحلل لحلقة البيتالاكتام تبعاً لعزلها من مصادر مختلفة .

كما نلاحظ ان (٦٦,٧%) من العزلات المعزولة من الإدرار (١) ، اعطت نتيجة موجبة لانزيم â-lactamase خلال دقيقة واحدة ، بينما اعطت العزلات المعزولة من الإدرار (٢) نتيجة موجبة خلال (٤) دقائق وبنسبة (١٠٠%) ، من هذا نستنتج ان عزلات جرثومة P.mirabilis المعزولة من الإدرار والتي تتميز بصفة اعطائها يوريز سريع ، لها القدرة على انتاج انزيم â-lactamase بوقت اسرع مما هو عليه في حالة العزلات التي تتميز بصفة اعطائها يوريز بطئ . كما نلاحظ ان (٥٠%) من العزلات المعزولة من الإدرار (٣) اعطت نتيجة موجبة لانزيم â-lactamase وخلال دقيقة واحدة ، بينما اعطت العزلات المعزولة من الإدرار (٤) نتيجة موجبة لهذا الانزيم خلال (٩) دقائق وبنسبة (١٠٠ %) ،وعليه فان عزلات جرثومة P.mirabilis المعزولة من الإدرار والتي تتميز بصفة اعطائها نتيجة موجبة سريعة لاختبار الانزيم النازع لمجموعة الامين من الحامض الاميني الفينايل النين تختلف عن العزلات التي تعطي نتيجة موجبة بطيئة لهذا الاختبار في انتاج هذه الأنزيمات .

من هذا نستنتج ان هناك علاقة بين قدرة الجرثومة على إنتاج الأنزيمات الايضية مثل الأنزيم المحلل لليوريا والأنزيم النازع لمجموعة الامين من الفينايل النين وبين قدرتها على مقاومة مضادات البيتا لاكتام حيث تساهم جميع هذه الانزيمات في القدرة الامراضية للجرثومة ، كما نستنتج ان انتاج هذه الأنزيمات يختلف تبعاً لمصدر عزل الجرثومة .

الكشف عن عوامل الفوعة

الكشف عن إنتاج حالاّت الدم

كانت جميع العزلات قيد الدراسة منتجة لحالاّت الدم من نوع بيتا â-haemolysin وبنسبة (١٠٠ %) أي تحلل كامل لكريات الدم الحمر ، حيث ظهرت هالة شفافة رائقة من التحلل الدموي الكامل حول المستعمرات ، وهذه النتيجة تتفق مع (Rozalski *etal.*,1997).

اختبار التلازن الدموي

. لوحظ جميع العزلات المحلية قيد الدراسة اظهرت تلازناً دموياً مع جميع فصائل الدم (O^+,AB^+,B^+,A^+) وبوجود سكر المانوز وبعدم وجوده ، وهذه النتيجة تؤكد امتلاك الجرثومة P.mirabilis للاهداب من النمط المقاوم للمانوز MR/P، فضلاً عن انواع اخرى من الاهداب مثل (PMF , U.C.A) والتي اظهرت تلازناً دموياً مع جميع انواع فصائل الدم وبعدم وجود سكر المانوز ، وهذه النتيجة تتفق مع (Rafael , 2003) ، كما نلاحظ انه لا توجد فروق واضحة ما بين عزلات P.mirabilis فيما يخص اختبار التلازن الدموي ، كما لوحظ عدم وجود فروق واضحة بين عزلات P.mirabilis التي تملك صفة اعطاءها يوريز سريع وازالة الامين من الفينايل النين سريع مع تلك العزلات التي تكون بطيئة لهذين الاختبارين ، حيث ان جميع العزلات اظهرت تلازناً دموياً مع الانواع المختلفة من فصائل الدم .

المصادر

المصادر العربية

الجبوري ،رسمية عمر سلطان (٢٠٠٠) . التحري عن انزيمات بيتالاكتاميز لعدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام المعزولة سريرياً وتأثير بعض المركبات الكيمياوية المحضرة على هذه الجراثيم . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة الموصل / العراق.

الجبوري ، محيميد مد الله (١٩٩٠) . علم البكتريا الطبية . كلية العلوم ، جامعة الموصل ،وزارة التعليم العالي والبحث العلمي / العراق .

الجلبي ، قصي عبد القادر (١٩٨٧). الكيمياء الحيوية . مديرية دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل / وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.

الجوراني ، خضر حسن علي (١٩٨٩) .أساسيات في علم الحياة الجزيئي .الجزء الثاني – العملي ، كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية ، وزارة التعليم العلي والبحث العلمي / العراق .

.

المصادر الأجنبية

Allison ,C.; Lai, H.C. and Hughes , C.(2007 A) . Co-ordinate expression of Virulence genes during Swarm cell differentiation and population migration of Proteus mirabilis .J. Mol. Microbial .Jun ; 6(12) :1583-91 .

Atlas, R.M.(1995) Principles of Microbiology . 1st . ed . Mosby – Year Book ,Inc.

Atlas, R.M.; Brown, A.E. and Parks , L.C. (1995) Laboratory Manual of Experimental Microbiology . Mosby-Year Book , Inc.

Bates , A .W & Smith , V.V. (2001). symptomatic diffuse colonic lipomatosis in Proteus syndrom . Histo. Path .J., Vol. 39, P.(103-104).

Beauloye , V.; Zain , F.; Malvaux , P. Rahier , J.; Gosseye , S . ; Honour , J. and Maes , M. (2001). Bilateral asynchronous adrenal adenoma in a girl with an incomplete form of Beckwith Wiedemann syndrom . Europ . J . Pediat , Vol . 160, P.(142-143).

Brooks , G.F.; Butel , J.S. and Morse , S.A. (2001) . Jawetz ,Melnick & Adelberg's Medical Microbiology . 22nd ed. Lange Medical Books /McGraw- Hill , Medical Publishing Division .

Buchsbaum, H.J.& Schmidt , J.D.(2009). Gynecologic and Obstetric Urology. W.B. saunders Company / Philadelphia / London / Toronto .

Cavero , J.A .; Castro , E.G .and Junco , L.(2000). Proteus Syndrom . International. J.Derma ., Vol . 39 , P .(707-709).

diagnosis in adulthood . B. J. Dermat. , Vol . 139 , P (320-322).

Choi , J.C.; Lee , M.W .; Chang , S.E .; Choi , J.H . ; Sung ,K.J.; Moon , K.C and Koh , J.K.(2002). Isolated plantar collagenoma . B.J. Derma. Vol. 146, p.(164-165).

Coleman , W.H.(1997) . Study Guide to accompany Microbiology. Dynamics & Diversity. Harcourt Brace & Company .

Collee , J.G.; Fraser, A.;Marmion, B.P. and Simmons, A. (1996) . Mackie & McCartney Practical Medical Microbiology .14th ed., Charchill Livingstone ,New York.

Collins , C.H.& Lyne P.M.(2008) .Microbiological methods . 5th ed . Butter worth & Co (publishers) Ltd .

Colowick, S.P.& Kaplan, N.O.(1955).Methods In Enzymology .Vol.1,Academic Press Inc.,Publishers, NewYork.

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

Cortter, G. & Adley , C.C.(2001). Ciprofloxacin Susceptibility testing of enterococcal urinary isolates in accordance with BSAC guideline . J.Antimicrob . Chemo . Therap. Vol. 48,P. (324-325).

Costa , T. ; Fitch , N . and Azouz , E.M. (1985) .Proteus syndrom : Report of two cases with pelvic lipomatosis . J. pediat., Vol .76, p.(984-989).

Daza , R.; Gutierrez , J.and Piedrola ,G.(2001) .Antibiotic Susceptibility of bacterial Strain isolated From patient with Community- acquired urinary tract infection Int .J. Antimicrob. Agents .Sep.;18(3): 211-5 .

Delzell , J.E & Lefevre, M.L.(2000) .Urinary tract infection During pregnancy . The American Academy of family physicians , Feb .1 .

De-Weerd , W .; Kimpen , J .L.L. and Miedema , C.J . (1997). spinal osteomyelitis caused by Proteus mirabilis inachild . Europ . J . pedia ., Vol . 156 ,P (33-34) .

Dixon , B (1990) . Scientifically Speaking: Bacteria & Arthritis .B .M.J., Vol. 301 , P.1043 .

Downer ,A .; Morris , N.; Feast, W.J. and Stickler ,D. (2003) . polymer surface properties and their effect on Adhesion of Proteus mirabilis. J. Engineering in Medicine, Vol. 217, P. (279-289).

Duguid , J.P.& Old , D.C.(1980) . Adhesive Properties of Enterobacteriaceae . In Beachey , E.H. Bacterial Adherence . Chapman and Hall Ltd.

Du-Toit , P.J .; Van –Aswegen , C.H.; Steyn , P.L .; Pols , A. and Du-Plessis , D.J . (1992). Effects of becteria involved with the pathogenensis in infection – induced urolithiasis on the urokinase and sialidase (Neuramindase) activtiy . Uro . Res . 20(6) ; 393-7.

Engbaek , K.; EL-Nageh, M.M. and Groen ,J.(1995) .Specimen collection and transport For microbiological investigation .W.H.O., Regional office for the Eastern Mediterranean.

Evans , D.G., Evans ,D.J. and Dupont , H.L. (1979) . Haemagglutination of Enteropathogenic and Enterotoxigenic Escherichia coli determined with human , bovine ,chicken , and guinea pig erythrocytes in the presence and absence of mannose. Infect . Immun .21:336-346 .

Evans , D.G.; Evans ,D.J .and Pierce ,N.F.(1973). Differences in the response of rabbit Small intestine to heat labile and heat stable Enterotoxin of Escherichia coli .Infect. Immun. 7:873-880.

Finegold , S.M.& Martin , W.J.(1982). Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 6th .ed , ,The C.V. Mosby Company .

Finegold ,S.M.; Martin , W.J. and Scott , E.G.(1978) . Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology . Atextbook for the isolation and idenification

.

Gabidullin , Z.G .; Batyrshin , R.A .; Zhukova , S .L.; Ezepchuk , I .U.V.; Sufiiarov , R.S and Bondarenko , V.M. (2011) . The enterocytogenic capacity of hemolysin producing strain of Proteus isolated in acute intestinal infection in children. Zh- Microbiol. Epidemiol . Immun.ol Aug,. (8): 49 – 53.

.

Gerber, L.H.;Chaudhry , U.And De Baun , M.(2001) . Joint Laxity , Scoliosis ,and thoracic cage abnormalities in Children with Beckwith- Wiedemann Syndrom. Europ .J. Pediat ., Vol . 160 , P.(143-144).

Geyhan ,A.; Gulhaney.; Cakan;T.; Adisen , Y . ; Turgut , O. and Unal,N .(2000) .Anaesthesia for Proteus Syndrom.Erop .J.Anaesth.,Vol.17 , P.(645-647).

Ginsburg , C.M& McCracken , G.H.(1982). Urinary tract Infection in Young Infants.Pediatrics , Vol. 69, No.4 , P.(409-412).

Goldblatt,D.&Thrasher , A.J . (2000).Chronic granulomatous diseases: Immunodeficiency review Clin . & Exper . Immuno ., Vol . 122 p.(1-9).

, F . and Nombela ,C. (1991B) . The genus Proteus : Pathogenic and epidemiologic aspects . Enferm . Infec . Microbiol . Clin. Aug. – Sep. ; 9 (7) : 425 – 32 .

Gomez,A.; Baquero , F. and Nombela ,C. (1991C) .The Genus Proteus : microbiological &clinical aspects.Enferm.Infec.Microbiol.Clin.9(9):567-75.

Guyer , D. M.; Mobley , H. L. T. and Gunther , N. W.(2001) . Secreted proteins and other features specific to Uropathogenic E. coli . J. Infec . Dis . Vol . 183 , issue 5 , P.532 – 4 .

Gygi, D.; Bailey , M.J.; Allison , C. and Hughes ,C.(1995B). Requirement for FlhA in flagella assembly and Swarm cell differentiation by Proteus mirabilis .J. Mol. Microbiol .Feb ; 15(4): 761-9.

Gygi,D.; Lai, H.C.; Carlson ,R.; Rahman , M.M.; Guard-Petter, J. and Hughes ,C.(1995A) .Acell-Surface Polysaccharides that Facilitates rapid population migration by differentiated Swarm cells of Proteus mirabilis .J. Mol .Microbiol.Sep.;17(6) : 1167-75.

Holt, J.G.; Krieg,N.R.; Sneath, P.H.A.; Staley ,J.T. and Williams , S.T.(1994) .Bergy's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Williams &Wilkins ,Baltimore,U.S.A.

Honkinen, O.; Lehtonen,O.P.;Ruuskanen, O.;Huovinen , P . and Mertsola , J .(1999).cohort study of bacterial species causing urinary tract infection and Urinary tract abnormalities in children.B.M.J.,318(7186):(770-771).

Hryniewicz ,K.; Szczypa, K.; Sulikowska ,A.; Jankowski , K.; Betlejewska , K. and Hryniewicz, W.(2001) . Antibiotics Susceptibility of bacterial Strains isolated from urinary tract infection in Poland . J. Ant. Microb. Chemo . Therap 47, P(773-780).

Izdebska , S.K.(1971) . Toxins of Proteus mirabilis. In Kadis , S.; Montie , T. and Ajl, S.J.Microbial Toxins . Vol .II A .Academic Press . New York and London .

Jansen , A.M.;Lockatell ,C.V.; Johnson , D.E. and Mobley ,H.L.T.(2003). Visualization of Proteus mirabilis Morphotypes in the Urinary tract : The Elongated Swarmer Cell Is Rarely observed in Ascening urinary tract Infection Infec .& Immun .Vol.71 ; No .6,P.(3607-3613) .

Jawetz , E.; Melnick , J.L. and Adelberge, E.A.(1980). Review of Medical Microbiology. 14th ed. Lange Medical Publications , Los Altos, ,California .

Jawetz ,E.; Melnick , J.L. and Adelberg , E.A.(1974). Review of Medical Microbiology. 11th ed . Lange Medical publication,Los Altos, California.

Jawetz, E.; Melnick , J.L.and Adelberg , E.A.(1984) . Review of Medical Microbiology . 16th ed . Lange Medical publications , Los Altos California .

Jiwa , S.(1981) .Probing for enterotoxigenicity among the Salmonellae : Anevaluation of Biological assay .J.Clin . Microbiol .14(5) :463-472 .

Johnson , D.E.; Russell,R.G.; Lockatell ,C.V.;Zulty, J.C.;Warren , J.W.and Mobley , H.L.(1993) . Contribution of Proteus mirabilis urease to Persistence , Urolithiasis , and acute Pyelonephritis in amouse model of ascending urinary tract infection . Infect. & Immun. Jul., Vol. 61, No.7, P.(2748-2754) .

Khalaf , S.H. (1975).Studies on Fish growth media for isolation of pathogenic bacteria Ph.D. Thesis , Unniv. of Istanbul .

Khmelevskaia , G.V. ; Devterova , L. V. ; Iagovkin , E.A. ; Shepelev, A. P. and . Martynenko , L. D. (1990) . The pathogenicity factors of the opportunistic bacteria that cause diarrhea . Zh Microbiol. Epidemiol . Immuno . Apr . (4): 97-102

Klink , M.; Sonn , C.H.; Kaca , W. and Kim , Y.S. (1999), Investigation of influence of Proteus mirabilis L.P.S polysaccharide part on the murine immuue cells activation.Arch.Immuno.Ther.Exp.Warsz.47(3): 195- 201.

Knutton , S.; McConnell , M.M.; Rowe , B. and McNeish , A.S. (1989).Adhesion and Ultrastructural properties of human enterotoxigenic Escherichia coli Producing Colonization factor antigensIII . Infect. Immun ., 57:3364-3371 .

Kohn , C .;Walton , B .D .;Hasty , S. and Henderson , C.W. (2003). Ure R activate Proteus mirabilis urease genes requied for virulence. Proteomics weekly, P .58.

Koneman, E. W. ; Allen , S. D. ; Janada , W. M. ; Schreckenberger , P. C. and Winn , W. C. (1997). Color atlas and text book of Diagnostic Microbiology . 5th . ed ., Lippincott-Raben publishers , Philadelphia , U.S.A.

Koval'chuk , V.K.; Parkhomenko, L.V . ; Sel'nikova , O.P. and Spoil' , A.V (1991) . The characteristics of the contact of proteolytic strains of Proteus mirabilis and Klebsiella pneumoniae with enterocytes in vivo. Zh, Microbiol. Epidemiol . Immunobiol . Oct (10): 2-5.

Koval'chuk ,V.K. & Parkomenko , L.V. (1991). The characteristics of the initial link in the intestinal lesion by opportunistic Proteus mirabilis bacteria. Zh.Microbiol. Nov-Dec ; 53 (6) : 78 – 82 .

Kumar , S. & Mathur , M.D. (1997) . Sensitivity to the bactericidal effect of huma Serum of Proteus Strains from Clinical specimens. Indian .J . Pathol . Microbiol. 40(3) : 335-8 .

Lehninger , A.L.(1973). Short Course in Biochemistry .Worth publishers , Inc. New York.

Lennette , E.H.(1985) .Manual of Clinical Microbiology .4th ed . American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Li , X.; Lockatell ,C.V. ; Johnson , D.E.; Lane , M.C.; Warren, J.W. and Mobley, H.L.T.(2004).Development intranasal vaccine To Pervent Urinary Tract Infection by Proteus mirabilis. Infec.Immun.Jan.,72(1):66-75.

Li , X.; Zhao,H.; Lockatell ,C.V.; Drachenberg ,C.B.; Johnson , D.E. and Mobley , H.L.T.(2002B). Visualization of Proteus mirabilis with the matrix of Urease – Induced Bladder Stones during Experimental Urinary tract Infection .Infec .& Immun .Vol .70, No.1,P.(389-394).

Li ,X.; Lockatell , C.V .; Johnson , D.E and Mobley , H.L.T. (2002A) .Identification of Mrp1 as the sole recombinase that regulates the phase variation of MR/P fimbriae , abladder colonization factor of uropathogenic Proteus mirabilis.J.Mol.Microbiol.Ag.Vol.45,P.(865-875).

Li ,X.;Johnson , D.E. and Mobley , H.L.T.(1999). Requirement of MrpH for Mannose-Resistant Proteus –like Fimbriae Mediated Hemagglutination by Proteus mirabilis . Infec & Immun .Vol. 67, No .6 ,P.(2822-2833).

Lobashevskii , A . L. (1992) .The hydrophobicity of gram – negative bacteria isolated from patients with inflammatory and suppurative destructive lung diseases. Microbiol. Epidemiol.Immunobiol . J . (9-10) : 24-6 .

Loomes , L.M. ; Senior , B.W. and Kerr , M. A. (1990). Aproteolytic enzyme secreted by proteus microbilis degrades immunoglobulins of the immunoglobulin A_1 (IgA_1), IgA_2 and IgG isotypes . Infect . Immun . 58(6): 1979-85.

Macfaddin , J.F.(1985) .Biochemical Tests for identification of Medical Bacteria.2nd ed., Waverly Press, Inc., Baltimore , U.S.A.

toxic exoproducts of Proteus morganni . Biologia . 40(3):297-304 .

Massad , G. ; Bahraini , F.K. and Mobley ,H.L.(1994). Proteus mirabilis fimbriae: identification, isolation and characterization of anew ambient temperature fimbriae . Infect . & Immun .62(5):1989-1994.

Mclean,R.J.&Nickel,J.C.(1991). Bacterial colonization behaviour: a new virulence Strategy in urinary infection.Med.hypothesis.Nov;36(3):269-72.

Milner ,K.C.; Rudbach ,J.A.and Ribi ,E.(1971) . General Characteristic of Endotoxin ,P.(27-56).In Weinbaum , G.; Kadis , S. and Ajl , S.J. Microbial Toxins Vol .IV . Academic Press , Inc. New York.

Mobley , H. L. & Chippendale, G. R. (1990). Hemagglatinin , Urease and hemolysin production by Proteus mirabilis from clinical sources . J. Infect . Dis . March ; 161 (3) : 525-30.

Mobley , H.L.& Belas ,R.(1995). Swarming and pathogenecity of Proteus mirabilis in the urinary tract infection .J. Trends. Microbial. Jul.; 3(7): 280-4.

Mobley ,H.L.; Belas , R., Lockatell ,V.; Chippendale, G.; Trifillis , A. L. ; Johnson , D.E. and Warren, G.W.(1996).Construction of aflagellum-negative mutant of Proteus mirabilis : effect on internalization by human renal epithelial cells and Virulence in amouse model of ascending Urinary tract infection .Infect. & Immun . Dec; 64(12) : 5332-40 .

Mobley, H. L.;Chippendale , G.R., Swihart , K.G. and Welch , R.A .(1991) cytotoxicity of HpmA Hemolysin and urease of Proteus mirabilis and Proteus vulgaris against cultured human renal proximal tubular epithelial cells . Infect. Immun. 59(6) : 2036-2042.

Morris , N.S & Stickler , D. J (2001) Dose drinking cranberry juice produce urine inhibitory to the development of crystalline , catheter – blocking Proteus mirabilis biofilms.B.J.U.international Aug.Vol.88,P.(192-197).

Neu, H.C & Swarz , H.(1969). Carbenicillin : Clinical and Laboratory Experience with a parenterally Administered penicillin for treatment of Pseudomonas infections.Annals of Internal Medicine.Vol.71,P(903-911).

O'Hara, C.M.; Brenner ,F.W. and Miller , J.M. (2000) . Classification , Identification and Clinical Significance of Proteus , Providence and Morganella .Clin . Microbiol . Revi . Vol.13 , No .4, P.(534-546) .

Ojeda , V . M .; Pacheco , A .; Elia, M.; Villaverde, R . and Baqurero , F .(1990) . Proteus mirabilis acause of recurrent lung infection in acystic fibrosis patient . Europ. J. Clin. Microbiol. Infec . Dis. 9(3) : 234-5 .

Parkhomenko , L.V. and Open'ko , L.V. (1990) . The phospholipases of Proteus mirabilis . Zh- Microbiol . Epidemiol . Immunobiol . Dec. (12) : 3-6 .

Parkhomenko , L.V.;Gorbenko , I.M. and Timoknina ,L.V. (1990) . Protens Adhesion to intestinal epithelium .Zh . Microbiol .May –June;52(3):80-4

Perepelov , A.;Ujazda,E.; Senchenkova , S.N.; Shashkov, A.S. ;Kaca, W.and Knirel, Y.A.(1999). Structural and Serological studies on the O-antigen of Proteus mirabilis O14 , anew polysaccharide Containing 2-[(R)-1- Carboxyethylamino] ethyl phosphate. Europ .J. Bio. Chem . part 2 ,Apr., Vol. 261 issue2 , P347-7.

Prescott, L.M.;Harely, J.P. and Klein , D.A. (1993). Microbogy . 2nd ed. WCB,Wm.C. Brown Publishers .

Rafael , P.(2003) . Proteus mirabilis fimbrial proteins used as antigens against U.T.Is Biotech . Week ., P.(155-156).

Sandefur , P.D.& Peterson ,J.W.(1976) . Isolation of Skin permeability factors from Culture filtrates of Salmonlla typhimurium Infect . Immun .,14:671.

Sanguinetti , M .; Posteraro , B.; Spanu ,T .; Ciccaglione , D.; Romano , R .; Fiori , B. ; Nicoletti , G.; Zanetti ,S. and Fadda , G.(2003) . characterization of Clinical Isolates of Enterobacteriaceae from Italy by the BD phoenix Extended spectrum β-lactamases Detection Method . J . Clin . Microbiol . Apr . , Vol . 41 , No .4 p.(1463-1468) .

Seeley ,R.R.;Stephens , T.D. and Tate , P.(200 2) . Anatomy & Physiology . 2nd ed . Mosby –Year Book , Inc.

Senior , B.W . (1997). The ability of a Proteus mirabilis strain to invade the blood stream is independent of it's proticine production / proticine Sensitivity type . J . Med . Microiol May ; 46 (5) : 407-12 .

Siddiqui, S. (2003). Proteus mirabilis & Urinary tract infection. www. bact .Wisc. edu : 81/Science Ed / Stories / story Redder $ 108-19K.

Slavotinek , A.M .; Vacha, S.J.; Peters , K.F .and Biesecker , L.G . (2000) . Sudden death caused by pulmonary thromboembolism in Proteus Syndrom . Clin . Gen . , Vol. 58,p(386-389).

Smith , A.L. (1977). Principles of Microbiology. 8th ed. The C.V. Mosby Company.

Stickler , D,.J .; Tones , G.L. and Russell , A.D .(2003) . control of encrustation and blockage of foley catheters . Lancet . Vol. 361 , P.(1435-1437).

Stock , I . & Wiedemann , B .(1997) . Proteus infection . Med . Monatsschr- Pharm . 20 (10) : 271-6.

St-Swierzko , A.; Kirikae , T .; Kirikae , F.; Hirata , M .; Cedzynski , M .; Ziolkwski ,A . ; Hirai , Y . Kusumoto , S.; Yokochi , T . and Nakano , M . (2000) . Biological activities of lipopolySaccharides of Proteus ssp. their interactions with polymyxin B and an 18-K Da cationic antimicrobial protein (CAP 18) – derived peptide . J. Med . Microbiol . 49(2) : 127-38.

Talaro , K.& Talaro , A.(1996).Foundations in Microbiology . 2nd ed.WCB,Wm . C. Brown Publihers .

Tewari , L.;Agarwal , S. K.; Khan ,A.M.; Kumar , A. and Methrotra , R.M.L. (1979). Enterotoxicity of Escherichia coli isolated form infantile diarhoea in rabbits infant mice . Indian .J. Med . Res . 69 : 231-239 .

Thornsberry,C.;Marsilio,M.K.; Jones, M.E; Tomfohrde , K.M.; Heller , B.H.; Piazza , G.and Sahm , D.F.(1999) .Current Activity of Ciprofloxacin Against Gram-Negative Bacilli in the United States . Drugs; Vol.58;Supp.2, issue 6,P.(186-187).

Tolson , D.L. ; Harrison ,B.A .; Latta , R.K .; Lee , K.K . and Altman , E .(1997) . The expression of non agglutinating Fimbriae and it's role in Proteus mirabilis Aherence to epithelial cells . Can J. Microbiol . Aug.; 34(8) : 709-17 .

Torzewska , A .;Staczek ,P.and Rozalski, A.(2003). Crystallization of urine mineral Components may depend on the Chemical nature of Proteus endotoxin polysaccharides .J. Med . Microbiol . Vol .52 ,P.(471-477).

Trindade , R.C.;Bonfim , A.R. and Resende ,M.A. (2000) .Conjunctival Microbial flora of Clinically Normal persons Who Work in Hospital Environment . Braz .J. Microbiol .Vol .31, No .1 .

Van-Den Bosch,J.F. ;Verboom-Sohmer,U.;Postma,P.;deGraaff,J. and Maclarn, D.M.(1980).Mannose sensitive and mannose resistant adherence to human uroepithelial cells and urinary virulence of E. coli .Infect.Immun.,29:226-233.