عزل Proteus vulgaris المنتجة لليوريز من اطفال مصابين بالتهابات المجاري البولية

هادي رحمن رشيد الطائي

جامعة ديالى / كلية العلوم

الخلاصة

جمعت 709 عينة أدرارمن أطفال يعانون إعراض التهابات المجاري البولية للفترة من آذار الى أيلول / 2007 ، وأظهرت النتائج إن (514) عينة بنسبة72.4 % كانت موجبة للفحص البكتريولوجي، منها (87) عينة بنسبة 16.9 % مصابة ببكتريا جنس المتقلبات . كان توزيع الإصابة 70.11% إناث و 29.8 % ذكور، وكانت نسبة عزل بكتريا Proteus vulgaris 18.4% ، وأتصفت جميع العزلات بقدرتها على أنتاج أنزيم اليوريز حيث كانت الفعالية النوعية لليوريز لاكفأ العزلات 1.74 وحدة/ ملغم بروتين . أظهرت نتائج تحمل العزلات للمعادن الثقيلة ان نسبة33.33% و 25 % و50% و16.66% و16.66% و 25% من العزلات تحملت تراكيز (0.1 ،1.5،2، 3 ،0.03، 1.5) ملي مول لكل من الزئبق والكادميوم والخارصين والنحاس والكروم والكوبلت على التوالي .أوضحت دراسة حساسية العزلات لثلاثة عشر مضادا حيويا أن أعلى مقاومة كانت لمضاد Ampicillin بنسبة100 % بينما بلغت مقاومة Ciprofloxacin 0% ، وأظهرت نتائج التركيز المثبط الأدنى(M.I.C) أن البكتريا أبدت مقاومة لمجموعة البيتالاكتام مابين (128–1024) مكغم / مل ولمجموعة السيفالوسبورينات مابين (16– 512) مكغم / مل . كما أظهرت النتائج ان اعلى نسبة ارتباط بين المضادات الحياتية والمعادن الثقيلة بنسبة 91.66 % بين الامبسلين والتتراسايكلين والزئبق .

الكلمات المفتاحية :– المتقلبات . يوريز. مضادات حياتية.معادن ثقيلة.

المقدمة

تعد التهابات المجاري البولية احد المشاكل الطبية التي تعاني منها معظم دول العالم حيث تأتي بالمرتبة الثانية بعد التهابات المجاري التنفسية آذ يتعرض الذكور والإناث للإصابة بهذا المرض لاسيما وانه يعد من المسببات الرئيسة لوفاة الأطفال الرضع [1] . تعد بكتريا Proteus من أهم العوامل المسببة لالتهابات المجاري البولية لاسيما وإنها تحطم اليوريا مما يؤدي إلى ترسيب كميات من أملاح الفوسفات على جدران المثانة التي بدورها تعمل كنواة لتكوين الحصى[2 ،3].تصنف التهابات المجاري البولية من حيث الامراضية (Pathogeneses) إلى التهابات المجاري البولية المعقدة Complicated U.T.I والتهابات المجاري البولية غير المعقدة] Uncomplicated U.T.I 4 ، 5].

يضم جنس المتقلبات خمسة انواع هي P.mirabilis، P.penneri، P.vulgaris ، P. myxoffciens ،P . hauserوذلك بالاعتماد على الفحوصات الكيموحيوية [6] .

تعد بكتريا المتقلبات Proteus من النبيت الطبيعي(Normal flora) في القناة المعوية للأشخاص الأصحاء أي أنها تكون رمية Saprophyte و ممكن أن تتواجد كممرضات انتهازية (Opportunistic) Pathogens مسببة العديد من الالتهابات عند مغادرتها مكانها الطبيعي [7].

جنس المتقلبات Proteus عصيات قصيرة سالبة لصبغة غرام ذات طول (2-3) مايكرون وعرض (0.8- 4) مايكرون وتمتاز بظاهرة تعدد الإشكال (Pleomorphisum) منها عصيات كروية قصيرة غير متحركة أوبشكل خيطي طويل الذي يمتاز بحركة نشطة بواسطة اسواط محيطية ، لاتحتوي على محفظة (Capsule) وغير مكونة للابواغ[8 ، 9]. تمتلك بكتريا Proteus vulgaris العديد من عوامل الضراوة التي تساعدها على أحداث الالتهابات ومنها أنتاج اليوريز وإنتاج الهيمولايسين والقابلية على الالتصاق بالخلايا الطلائية والحركة بشكل أمواج (الانثيال) وإنتاج البكتريوسينات [10 ، 11]. أن الاستعمال العشوائي المتزايد لمضادات البيتالاكتام في علاج الالتهابات المختلفة ومنه التهابات المجاري البولية أدى إلى زيادة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية من قبل البكتريا المسببة للالتهابات [12] . تعد بعض المعادن كالنحاس والخارصين والكوبلت والنيكل والحديد عناصر ضرورية للفعاليات الايضية للخلايا البكتيرية وبتراكيز منخفضة في حين يعد الزئبق والكادميوم من العناصر غير الضرورية والتي تكون

سامة لتلك الإحياء المجهرية وان كانت بتراكيز ضئيلة [13] . تستطيع البكتريا التكيف للعيش مع وجود بعض عناصر المعادن الثقيلة وهذا التكيف عن طريقين أولهما امتلاك بعض انواع البكتريا قابلية وراثية لمقاومة التراكيز العالية للمعادن الثقيلة وثانيهما اكتسابها للبلازميدات الحاملة لجينات مقاومة المعادن [14] . ولأجل تكوين صورة واضحة عن أهمية هذه البكتريا من الناحية المرضية جاء هذا البحث ليسلط الضوء على مقاومتها للمضادات الحياتية وتحملها لبعض المعادن الثقيلة

المواد وطرائق العمل

1. العزل والتشخيص

تم جمع عينات الإدرار للفترة من آذار 2007 الى أيلول 2007 من أطفال مرضى يعانون من التهابات المجاري البولية من مستشفيات مختلفة في مدينة بغداد . زرعت العينات بطريقة التخطيط على الوسط الاغنائي أكار الدم والوسط التفريقي أكار الماكونكي ، ثم خضعت العزلات للتشخيص بأتباع التشخيص المظهري والكيموحيوي ونظام api-20E ، وحفظت العزلات باستخدام وسط الاكار المائل ووسط نقيع القلب والدماغ المضاف اليه الكليسرول بنسبة 15% [15].

2. قياس فعالية اليوريز في عزلات Proteus vulgaris

حضرت المحاليل المستخدمة لقياس فعالية إنزيم اليوريز بأتباع طريقة [17,16] وقيست الفعالية الانزيمية حسب طريقة الاندوفينول[17]، أذ رسم المنحنى القياسي لقياس الفعالية وذلك برسم العلاقة بين تركيز الامونيا والامتصاصية على طول موجي 625 نانوميتر . قدرتركيز البروتين باتباع طريقة برافورد [18] وبالاستناد الى منحنى البومين المصل البقري القياسي ورسم المنحنى القياسي بالعلاقة بين التركيز والامتصاصية على طول الموجي 595 نانوميتر .

وحدة فعالية الأنزيم (Enzyme unit) تعرف بانها كمية الانزيم اللازمة لتحويل مايكرومول من اليوريا الى الامونيا في دقيقة واحدة عند درجة حرارة 37 م .

3. اختبار حساسية العزلات للمعادن الثقيلة:

اتبعت طريقة [19 ، 20]،لتحديد حساسية العزلات لمعادن (بشكل املاح) الزئبق و الكادميوم و الخارصين و الكوبلت و النحاس و الكروم بتراكيز تراوحت مابين (0.025 – 6) ملي مول . حضنت الأوساط بدرجة 37 م ولمدة 24 ساعة .

4.فحص الحساسية للمضادات الحيوية:

أجري فحص الحساسية باستخدام طريقة اقراص المضادات الحياتية أذ استخدم لذلك (13) نوعا من المضادات الحياتية Tetracyclin Erythromycin (E/15µg), Chloramphenicol (C/30µg), Cephalexin (KF/30µg), Cefotaxim (CTX/30µµg) , Ciprofloxacin (CIP/5µug) , Ofloxacin(OF/5µg) , Amikacin (AK/30ug) , Gentamycin (GM/10µg) , Nalidixic acid(NA/30 µg) Piperacillin (PIP/100µg) Ampicillin (A10/µg) , Amoxicillin (AMX/10µg وباستخدام وسط مولر هنتون الصلب أذ حضنت الأوساط بدرجة 37 م ولمدة 18 ساعة . قورنت النتائج مع ماورد من قياسات عالمية حسب ماجاء في [21].

5. قياس التركيز المثبط الادنى (M.I.C)

أتبعت الطريقة التي وردت في [22] لقياس M.I.C واجريت التجربة على المحاليل الامبسلين وألاموكسسلين والببراسلين والسيفوتاكسيم وسيفالكسين والسبروفلوكسسين والجنتاميسين بتركيز نهائي 10 ملغم / مل. ولمقارنة النتائج استخدمت السلالتان القياسيتان E. coli ATCC 25922 و E. coli JRP4 كسيطرة بكتيرية سالبة وموجبة على التوالي

النتائج والمناقشة

1. العزل والتشخيص

تم التحري عن وجود بكتريا المتقلبات Proteus المسببة لالتهابات المجاري البولية وذلك في 709 عينة ادرارمن اطفال بعمر (1–14) سنة يشكون من أعراض تدل على اصابتهم بالتهابات المجاري البولية . كانت النتائج الموجبة

للزرع البكتريولوجي 514 عينة أي بنسبة 72.4% منها 87 حالة إصابة ببكتريا جنس المتقلبات Proteus أي بنسبة 16.9% ، حيث كان توزيع الإصابات بين الاناث 70.11% اما الإصابات لدى الذكورفكانت 29.89 % ،أما بقية العينات الـ 427 والتي اعطت نتائج موجبة للزرع البكتريولوجي فقد كانت تعود الى اجناس اخرى، وتتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه [23] الذين وجدوا ان النسبة المئوية للعينات التي اعطت نتيجة موجبة 70.7 % ومع ماتوصل اليه [12] الذين وجدوا ان نسبة اصابة الاناث 74.6 % و الذكور 25.8 % . كما اظهرت الدراسة ان بكتريا Proteus vulgaris كانت 16 عزلة من أصل 87 اي بنسبة 18.4% ، بينما شكلت بكتريا Proteus mirabilis 71 عزلة من اصل 87 اي بنسبة 81.6% , ولكثرة الدراسات بالعراق حول البكتريا الاخيرة ارتأينا دراسة بكتريا Proteus vulgaris لخطورتها وقلة الدراسات عنها بالعراق .

شخصت هذه العزلات بالاعتماد على ظاهرة الانثيال (Swarming) على وسط اكار الدم وكذلك رائحتها المميزة على هذا الوسط التي تشبه رائحة السمك فضلا عن لون المستعمرات الشاحب على الوسط التفريقي الماكونكي اكار كونها غير مخمرة لسكر اللاكتوز وكان التشخيص التاكيدي باستعمال عدة التشخيص api- 20 E وكذلك اعتمدت الفحوصات الآتية جدول (1) للحصول على Proteus vulgaris .

جدول (1) الفحوصات الكيموحيوية المستعملة للتفريق بين عزلات Proteus mirabilis و Proteus vulgaris

Isolates	Indol	Maltose Fermentation	Ornithine decarboxylase
Proteus vulgaris	+	+	–
Proteus mirabilis	–	–	+

2 .

قياس فعالية أنزيم اليوريز في عزلات Proteus vulgaris .

أتصفت جميع العزلات قيد الدراسة بقدرتها على انتاج انزيم اليوريز حيث كانت الفعالية الانزيمية لاكفأ العزلات 5423.8 وحدة / مل وكانت الفعالية النوعية 1.74 وحدة /ملغم بروتين ، بينما كانت اقل العزلات كفاءة ذا فعالية أنزيمية بلغت 1776.6 وحدة / مل وفعالية نوعية 0.57 وحدة /ملغم بروتين .

3 تحديد العزلات المتحملة للمعادن الثقيلة

درست قابلية بكتريا Proteus vulgaris على تحمل ستة معادن واظهرت النتائج ان نسبة 33.33 % من العزلات لها القابلية على تحمل (0.1) ملي مول من الزئبق جدول (2) وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه [20]عندما اشاروا الى ان البكتريا Proteus mirabilis قد تحملت (0.12) ملي مول واشار الباحث[24] الى ان مقاومة البكتريا لمركبات الزئبق تكون بفعل الانزيم Mercuric reductase المشفر من قبل جينات مرتبة بشكل اوبرون محمولة على بلازميدات مقترنة، كما أشارت النتائج إن نسبة 25% من العزلات قيد الدراسة تحملت الكادميوم (1.5) ملي مول ، واظهرت النتائج ان نسبة 50%من

العزلات استطاعت تحمل (2) ملي مول من معدن الخارصين وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه [20]عندما أشاروا الى أن البكتريا Proteus لها القدرة على تحمل (2) ملي مول من الخارصين . اوضحت الدراسة ان البكتريا استطاعت تحمل معدني النحاس والكروم بتركيز (3) ملي مول و 0.03 ملي مول على التوالي بنسبة 16.66% ،وقد تحملت هذه البكتريا 1.5 ملي مول من الكوبلت بنسبة 25 %، وتتفق هذه النتائج في نواحي وتختلف في اخرى مع ما توصل اليه [25]عندما درسوا مقاومة البكتريا Pseudomonas aeruginosa المعزولة من احدى الاصابات النسيجية في المستشفيات فوجد ان 31% من هذه العزلات مقاومة للزئبق و12% مقاومة للزرنيخ و3% مقاومة للكروم، وربما يعود هذا الاختلاف اوالاقتراب في النتائج الى مكان العزل ووظيفة ونوع الكائن الخاضع للدراسة.

جدول (2) النسبة المئوية Proteus vulgaris المتحملة للمعادن الثقيلة

التحمل للمعادن الثقيلة (ملي مول)	النسبة المئوية %

الزئبق (0.1)	33.33
الكادميوم (1.5)	25
الخارصين (2)	50
النحاس(3)	16.66
الكروم (0.03)	16.66
الكوبلت (1.5)	25

4. حساسية العزلات للمضادات الحيوية

تم اختبار حساسية عزلات Proteus vulgaris للمضادات الحيوية والبالغ عددها (13) واظهرت النتائج من خلال قياس قطر منطقة تثبيط النمو ومقارنته بما ورد من قيم الاقطار القياسية في NCCLS أن اعلى مقاومة كانت لمضادات Ampicillin وTetracycline و Amoxicillin و Erythromycin و Chloramphenicol اذ بلغت نسبة المقاومة 100% و 91.66% 83.33% و83.33% و75 % على الترتيب جدول (3) وكانت اقل نسبة مقاومة لمضادات Ciprofloxacin و Ofloxacin إذ بلغت 0% و 8.3% على الترتيب ، أما المقاومة للمضادات المنتمية الى مجموعة السيفالوسبورينات فقد كانت 16.66% لمضاد Cefotaxim بينما كانت المقاومة عالية لمضاد Cephalexin اذ بلغت 58.33%، اما مضادات مجموعة امينوكلايكوسيدات فقد بلغت نسبة المقاومة 16.66% و 41.66% لمضادات Amikacin و Gentamycin على الترتيب ،وأظهرت العزلات مقاومة متوسطة لمضادات Piperacillin و Nalidixic acid حيث بلغت 33.33% و 25% على التوالي .

جدول(3) النسب المئوية لمقاومة عزلات Proteus vulgaris للمضادات الحياتية المستخدمة في فحص الحساسية

النسبة المئوية %	عد د العزلات المقاومة للمضاد	المضاد الحياتي
0	0	Ciprofloxacin
8.33	1	Ofloxacin
16.66	2	Amikacin
16.66	2	Cefotaxim
25	3	Nalidixic acid
33.33	4	Piperacilin
41.66	5	Gentamcin
58.33	7	Cephalexin
75	9	Chloramphencol
83.33	10	Erthromycin
83.33	10	Amoxicillin
91.66	11	Tetracyclin
100	12	Ampicillin

5. تحديد التراكيز المثبطة الدنيا لعدد من المضادات الحيوية

تم تحديد التركيز المثبط الادنى M.I.C لبعض المضادات الحياتية والتي اختيرت كونها تمثل المضادات الاكثر استعمالا (Drug of Choices) لمعالجة التهابات المجاري البولية حيث اعتمدت نقطة التوقف (Break Point) الموصوفة من قبل [22] كأساس لحساب الاستجابة . أظهرت النتائج ان العزلات قيد الدراسة جميعها ابدت مقاومة للامبسلين والاموكسسلين أذ تراوحت قيم M.I.C مابين 128 –1024 مكغم /مل مقارنة مع السيطرة الموجبة المتمثلة بالسلالة E. coli J53RP4 والسيطرة السالبة E.coli ATCC 25933 جدول (4)، وهذا وارد لكون معظم السلالات المعوية تحمل صفة مقاومة الامبسلين والاموكسسلين كونها تمتلك انزيمات Penicillinase نوع TEM-1 والمشفر بواسطة جينات محمولة على بلازميد R. اما بالنسبة لمضاد الببراسلين فقد استطاعت (3 عزلات من اصل 12 عزلة) مقاومة المضاد بتركيز 256–512 مكغم / مل وقد يعزى ذلك لامتلاك البكتريا أنزيمات تعمل على تحطيم

مضاد الببراسيلين فقد اشار الباحث[26]الى ان العزلات المنتجة لانزيم TEM بمقدورها تحطيم الببراسلين ، كما اظهرت (7) عزلات مقاومة للسيفالكسين وهو من الجيل الاول للسيفالوسبورينات أذ تراوحت قيم M.I.C مابين16 – 512 مكغم / مل، بينما اظهرت غالبية العزلات حساسية للسيفوتاكسيم باستثناء عزلة واحدة اظهرت مقاومة

جدول(4) قيم M.I.C لبعض المضادات الحياتية المستخدمة في علاج التهابات المجاري البولية المتسببة عن Proteus vulgaris

المضاد / رقم العزلة	Ampicilin	Amoxicillin	Cefotaxim	Cephalexin	Ciprofloxin	Gentamycin	Pipracillin
نقاط التوقفµg/ml	≥32	≥16	≥32	≥8	≥4	≥8	≥128
Pv1	512	128	16	16	2	4	64
Pv2	512	512	4	4	2	128	64
Pv3	128	128	8	4	2	4	64
Pv4	128	128	4	4	2	4	32
Pv5	1024	1024	128	512	2	256	512
Pv6	1024	512	16	64	2	128	512

64	4	2	64	16	512	512	Pv7
64	4	2	32	16	512	512	Pv8
32	4	2	4	4	128	128	Pv9
32	4	2	4	4	128	512	Pv10
64	128	2	256	16	512	1024	Pv11
256	128	2	256	16	512	1024	Pv12
4	2	2	4	2	8	4	E.coli ATCC 25922
8	4	2	8	2	1024	1024	E.coli ATCC JRP4

أذ بلغت قيم M.I.C 128 مكغم / مل وقد يعزى ذلك الى انتاجها انزيمات واسعة الطيف .كما أوضحت النتائج ان (5) عزلات كانت مقاومة للجنتاميسين حيث تراوحت قيم M.I.C مابين 128 – 256 مكغم / مل .

6. أرتباط مقاومة المضادات الحياتية والمعادن الثقيلة

أظهرت النتائج أن اعلى نسبة ارتباط بين المضادات الحياتية والمعادن الثقيلة كانت بين الامبسلين والتتراسايكلين والزئبق وكذلك الامبسلين والكلورومفنيكول والزئبق أذ كانت نسبة الارتباط 91.66% و 66.66% على التوالي وأن اقل نسبة ارتباط كانت بين الامبسلين والتتراسيكلين والزئبق والكوبلت عندما بلغت 25% (جدول 5) ، وتشير هذا النتائج

الى ان هناك ارتباط كبير بين مقاومة معدن الزئبق والمضادات الحياتية لاسيما بين الامبسلين والتتراسايكلين والزئبق وهذه النتيجة تتفق مع ماأشار اليه [20] بان اكثر من نصف سلالات البكتريا المعوية مقاومة لمضادات الامبسلين والكلورومفينكول والتتراسيكلين والستربتومايسين ومتحملة لتركيز 0.1 ملي مول من معدن الزئبق ، بينما اشار الباحث[27] الى وجود علاقة ايجابية بين تحمل البكتريا لمعدن النحاس والرصاص والخارصين والكادميوم والمقاومة المتعددة للمضادات الحياتية Multiple –antibiotic resistant M.A.R .يتضح من كل ماسبق ان عزلات بكتريا Proteus vulgaris المعزولة محليا جميعها منتجة لانزيم اليوريز ذات الاهمية بتكوين حصى الكلى كما انها متحملة لتراكيز عالية من المعادن الثقيلة وأن مضادات الامبسلين والاموكسسلين والكلورومفنيكول لم تعد فعالة ضد هذه العزلات عكس مضادات السبرفلوكسسين وافلوكسسين ذات الفعالية العالية ضد عزلات Proteus vulgaris لذا نوصي بأكمال الدراسةالكيموحيوية لانزيم اليوريزودراسة باقي عوامل الضراوة .

جدول (5) ارتباط مقاومة المضادات الحياتية مع المعادن الثقيلة التي أبدتها Proteus vulgaris

النسبة المئوية %	عدد الخلايا المقاومة	الصفة المظهرية لمقاومة المضادات الحياتية والمعادن الثقيلة
91.66	11	Ampicillin-Tetracyclin-Hg
66.66	8	Ampicillin Chloramphencol –Hg
66.66	8	Ampicillin – Tetracyclin –Chloramphencol-Hg
58.33	7	Ampicillin – Tetracyclin-Hg-Zn
50	6	Ampicillin – Tetracyclin-Hg-Cd
25	3	Ampicillin – Tetracyclin-Hg-Co

References

1. Zunino, P.; Piccini, C. & Legnani-Fajard, C. (1999). Growth, Cellu lar Differentiation And Virulance Factor Expression By Proteus mirabilis In Vitro And In Vivo. J.Med.Microbiol. 48: 527-34.
2. Mobley, H.L.T. & Hausinger, R.P. (1989). Microbial Urease: Significance, Regulation & Molecular Characterization. Microbiological Reviews. 53(1): 85-108.
3. AL-Taai, H.R.R. Bacteriological ,Biochemical and Molecular Study of Proteus mirabilis isolated from urinary tract infections in some Hospital of Baghdad city .Ph.D. thesis submitted to the college of science AL- Mustansiriya university (In Arabic) .
4. Torzewska, A.; Staczek, P. & Rozalski, A.(2003). Crystallization of urine mineral components may depend on the chemical nature of Proteus endotoxin polysaccharides. J.Med. Microbiology. 52(6): 471-7.
5. 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.

6. O'hara, C.M.; Brenner, F.M.& Miller, J.M.(2000). Classification, identification, and clinical significance of Proteus, Providencia and Morganella. Clinical Microbiology Reviews. Oct. 13(4): 534-46.

7. Davis, B.D.; Dulbecco, R.; Eisen, H.N.; & Ginsberg, H.S. (1990). Microbiology. (4th) ed. Philadelphia.

8. Liaw, S.J., Lai, H.C.; Ho, S.W.; Luh, K.T.& Wang, W.B. (2003). Role of RsmA in the regulation of swarming motility and virulence factor expression in Proteus mirabilis .J.Med.Microbiology. 52: 19-28.

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

10. Liaw, S.J., Lai, H.C.; Ho, S.W.and Wang, W.B. (2000). Inhibition Of Virulence Factor Expression and Swarming Differentiation In Proteus mirabilis by p-nitrophenylglycerol. J. Med. Microbiology. 49: 725-31.

11. Swierzko, A.S.; Kirikae, T.; Kirikae, F.; Hirata, M.; Cedzynsk, M.; Ziolkowski, A.; Hirai, Y.; Kusumoto, S.; Yokochi, T.; & Nakano, M.(2000). Biological Activities Of Lipopolysaccharides Of Proteus Species & Their Interactions With Polymyxin-B, & An 18-Kda Cationic Antimicrobial Protein (cap 18) Derived Peptide. J.Med.Microbiology. 49: 127-38 .

12. Raka, L.; Mulliqi,-Osmani, G.; Berisha, L.; Begolli, L.; Omeragiq, S.; Parsons, L.; Salfinger, M.; Jaka, A.; Kurti, A.& Jakupi, X.(2004). Etiology and susceptibility of urinary tract isolates in Kosova. Int.J.Antimicrob.Agents. Mar.23 (Suppl 1): 2-5.

13.Morcillo. MA.&Santamaria, J (1995). Whole-body retention and urinary and Faecul excretion of mercucy rats. Biochem.J 8: 301- 308.

14. Silver, S. (1983) Bacterial interactions with mineral cations and anions: Good ions and bad. In : Biomineralisation and Biological metal accumulation, PP. 439-457. Edited by P.westbroek and E.W. Jong. D. Reided Publishing Company.

15.Baron, E.J; Peterosn, L.R; Finegold, S.M. (1998). Microorganisms Encountered In Urinary Tract in Baily & Scott, s Diagnostic Microbiology. (10th) ed. Mosby Company U.S.A

16. Mobley, H.L.T., & Jones, B.D.(1987). Genetic and biochemical diversity of urease of Proteus, Providencia, and Morganella species isolated from urinary tract infection. Infection and Immunity. Sep. 55(9): 2198-203

17. Weatherburn, M.W.(1967). Phenol-Hypochlorite Reaction For Determination Of Ammonia. Analytical Biochemistry. 39(8): 971-4 .

18. Bradford, M.M.(1976). A rapid and sensitive methode for the quantation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analyt. Biochem. 72: 248-55.

19. Bhattacherjee, J.W., Pathak, S.P. & Gaur, A. (1988). Antibiotic resistance and metal tolerance of Coliform bacteria isolated from Gomati river water at lucknow

city .J. Gen. Appl. Microbiol. 34: 391 – 399.

20.Filali, B.K., Taoufik, J.; Zeroual, R. Dzairi, F.Z.; Tslbi, M. & Blaghen, M. (2000). Waste water Bacterial isolates resistant to heavy metals and antibiotics. Current. Microbiol, (91): 151-156.

21.National Committee For Clinical Laboratory Standareds (1988). Performance Standared For Antibiotic Susceptibility Testing NCCLS. Villanova P.A.

22.National Committee For Clinical Laboratory Standareds (2002). Perfomance Standared For Antibiotic Susceptibility Testing NCCLS. Villanova P.A.

23.. Kumamato, Y.; Tsukamoto, T.; Hirose, T.; Yokoo, A.& Takahashi,T. (1997). Comparative Studies On Activities Of Antimicrobial Agents Against Causative Organisms, Isolated From Patients With U.T.Is. 11 Backgrounds Of Patients. Japn. J. Antibiotic. 50: 251- 64.

24. Summers, A.O. (1985). Bacterial resistance to toxic elements. Trends Biotech. 3: 122-125.

25. Cervantes-vega, C.; Chavez, J.; Cordora, N. More, P. & Velasco, A. (1986). Resistances to metals by Pseudomonas aeurgenosa clinical isolate. Microbios .48: 159 –1.

26.Neu, H.C. (1985). Contribution Of Beta-lactamases To Bacterial Resistance and Mechanisms to Inhibit Beta-lactamases. The American Journal of Medicine. 79 (Suppl.) 1-11.

27.Calomiris, J. J.; Armtrong, J. & Seidler, R. P. (1984). Association of metal tolerance with multiple resistance of bacterial isolated from drinking water. Appl. Environ. Micrbiol. 47: 1238 – 1242.

Isolation Of *Proteus vulgaris* urease Producer From Children Infected with Urinary Tract Infections

Hadi Rahman Rasheed AL-Taai

College of Science Diyala university/

Abstract

709 urine sample were collected from children suffering urinary tract infection through period March - September 2007. The results indicated that(514) 72.4% of the samples were Positive for bacteriological culture, and(87)16.9 %of isolates were *Proteus* .The distribution infection was 70.11% female and 29.89% male ,and18.4% of isolates were *Proteus vulgaris*. All isolates were urease producer, and specific activity 1.74 unit/mg protein for active isolates. Different concentration of selected heavy metals were used to assess tolerance of *Proteus vulgaris* to their toxic ions, results indicated that (33.33, 25, 50, 16.16, 16.16, 25)% of isolates were tolerant (0.1, 1.5, 2, 3, 0.03, 1.5) mM from Hg , Cd , Zn ,Cu , Cr ,Co) respectively . The sensitively of these isolates were tested against (13) antibiotics. The results showed that antibiotic Ampicillin was non effective with percentage of resistance(100%) , while the antibiotic Ciprofloxacin was found to be the most effective against local isolates with a percentage of resistances 0% . The M.I.C was determined for Ten antibiotics, results showed differences values of M.I.C among isolates, some was able to resist (128-1024) µg/ ml β-lactam antibiotics, while their resist (16-512) µg / ml cephalosporin antibiotics. Results showed linkage between antibiotics and heavy metals with percentage 91.66 % Ampicillin, Tetracycline and Mercury.

Key words: *Proteus vulgaris* . Urease. Antibiotic. Heavy metals