دراسة تشخيصية ووراثية لبكتريا *Proteus mirabilis* المعزولة من حالات خمج المسالك البولية في الطفال دون سنالخامسة لمدينة الديوانية

مروة راهي عبد المنعم الجناحي **ا.م.دازهار نوري حسين الموسوي**

كلية التربية/ جامعة القادسية

بحث مستل من رسالة ماجستير

الملخص

جمعت (200) عينة ادرار لغرض التحري عن بكتريا*Proteus mirabilis* المسببة لخمج المسالك البولية Urinary Tract Infection (U.T.I)في الاطفال دون سن الخامسة من العمر . قسمت العينات الى مجموعتين (100 عينة من الاطفال الذين شخصوا بان لديهم خمج المسالك البولية و100 عينة اخرى للأطفال غير المخمجين) .اظهرت النتائج ان بكتريا *P. mirabilis* مسؤولة عن (20%) من خمج المسالك البولية في الاطفال ،كما اوضحت ان نسبة هذه البكتريا بالإناثكانت (12%) وهي اعلى من نسبة عزلها من الذكور والتي بلغت(8%).تم التحري عن قابلية العزلات على انتاج انزيمات البيتالاكتاميزباستخدامطريقة الايودينوكانت نتائج الاختبار موجبة لجميع العزلات . تميزت هذه العزلات بإنتاجها بعض الجينات المشفرة لأنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيفمنهاالجينانbla_{TEM}وbla_{SHV}باستخدام تقنية سلسلة تفاعل انزيم البلمرةاذ اظهرت النتائج امتلاك جميع العزلات على جيني bla_{TEM}وbla_{SHV}بنسبة (100%) ، كما تميزت بإنتاجها الجين*ureC* المشفر لانزيم اليوريزالذي يمثل احد عوامل الضراوة لأهميتهلبقاء هذه البكتريا واستمرار الاصابة وان نسبة تواجده في العزلات هي (100%).

المقدمة

يُعد خمج المسالك البولية (U.T.I) من الاصابات البكتيرية التي تصاب بها المسالك البولية والتي يكون لها اثر واضح بين المرضى الذين يزورون المستشفيات والمراكز الصحية (1) ، وتبرز اهميته بشكل خاص في الاطفال وذلك لان حدوثه يكون في بعض الاحيان مصاحب لبعض التشوهات التشريحية او الوظيفية للمسالك لبولية ومما يؤدي إلى الاصابة المتكررة بالخمج متسببا بذلك الإضرار بالمسالك البولية (2) . تعد بكتريا *P.mirabilis*(المتقلبة الرائعة) سبب رئيسي في خمج المسالك البوليةالمعقد من خلال انتاجها لانزيم اليوريز الذي يمثل احد عوامل الضراوة المهمة لهذا النوع من البكتريا) (3 ،إذ يقوم انزيم اليوريز بتحفيز تحلل اليوريا في وجود الماء مما ينتج عن ذلك الأمونيا Ammonia و جزيئة اوكسيد الكاربون في نهاية التفاعل ونتيجة لتحرر الامونيا يزداد الوسط قاعدية منتجا بذلك رفع قيمة الpH مما يؤدي الى ترسيب ايونات الكالسيوم والمغنيسيوم قليلة الذوبان و تتكون بلورات وتكبر بالحجم لتسبب حصى الكلية والمثانة وهذه الاصابة تكون مؤشرا للإصابةبأجناس المتقلبات (4). ان احدى الاليات المختلفة لمقاومة المضادات تتم من خلال انتاج بعض الانزيمات ، ومن اهمها واكثرها انتشارا هو انتاج انزيمات البيتالاكتاميزواسعة الطيف (ESBLs)والتي تعطل نشاط مضادات البيتالاكتامكالبنسليناتوالسيفالوسبوريناتوالمونوباكتاموالكاربنيم (5)، معظم انزيمات البيتا لاكتام تنظم الى الصنف (A) الذي يتالف من ثلاث مجاميع رئيسية من الانزيمات هي TEM ، SHV و CTX-M (6) .هنالك دراسات تناولت الجينات المشفرة لأنزيمات البيتالاكتاميز لكن في انواع بكتيرية اخرى لذا ارتأت هذه الدراسة الكشف عن الجيناتالمشفرة لأنزيمات البيتالاكتاميز في بكتريا *P.mirabilis* فظلا عن عدم دراسة الجين المشفر لانزيم اليوريز في مدينة الديوانية من قبل .

المواد و طرائق العمل

العزل و التشخيص: جمعت 200 عينة ادرار من الاطفال الوافدين إلى العيادات الاستشارية و الراقدين في مستشفى النسائية والأطفال لمدينة الديوانية والمصابين بخمج المسالك البولية (U.T.I)،أومن يشك بإصابتهم وبحسب تشخيص الطبيب المختص. و لكلا الجنسين دون سن الخامسة ، للفترة من 18-12-2011 ولغاية 1-5 -2012.اجري تشخيص العزلات بالاعتماد على(7) و(8)فضلا عن استخدام نظام التشخيص Api 20 E لهذه البكتريا ،فضلاعناختبارقابلية العزلات على انتاج انزيم اليوريز.

التحري عن انتاج انزيماتالبيتالاكتاميز

1-طريقة اليود القياسية:حضرت محاليل هذه التجربة وفقا لما ذكره (9)

اذحضرمحلول بنسلين G بإذابة (0.6)غم من مسحوق المضاد الحيوي بنسلين G في (50) ملليتر من دارئ الفوسفات واكمل الحجم الى(100) ملليتر ،عقم المحلول بالترشيح وعدل ال pH الى(7.2) وحفظ في درجة(20)مْ . بعد ذلك حضر محلول النشا(1%) من الماء المقطر ثم وضع المزيج في حمام مائي في درجة (10)دقائق و حضر محلول اليودبإذابة (2.03) غم من اليود ،و (5.32) من يوديد البوتاسيوم في (90) ملليتر منالماء المقطر بعدها اكمل الحجم الى(100) ملليتر ،ثم وضع في قنينة معتمة وحفظ في (4)مْ نقلت عدد من المستعمرات بواسطة العروة إلى حفر الـ Microtiter plate الحاوية على 100مايكروليتر من البنسلين وخُلطت جيداً مع المحلول. وحُضنت لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة 37ْم. ثم أَضيفَ 50مايكروليتر من محلول النشا، ومُزج جيداً مع محتويات الحفرة أُضيف 20مايكرليتر من محلول اليود، إذ نتج لون أزرق غامق من تفاعل اليود مع النشا احتسبت النتيجة موجبة عند حصول تغير لوني وسريع من الأزرق الغامق إلى الأبيض بعد مرور أقل من دقيقة.

2- تقنية سلسلة تفاعل انزيم البلمرة (PCR)

أستخدم جهازالدورات الحرارية للكشف عن وجود جينات المقاومة الخاصة بانزيماتالبيتالاكتاميزbla_{TEM} وbla_{SHV}والكشف عن الجين المشفرلانتاج انزيم اليوريز*ureC* ،بعد استخلاص الدنا حسب التعليمات المرفقة مع العدة المجهزة من شركة (Geneaid,USA)، من بكتريا *P. merabils*وبأستخدام بادئات متخصصة تنتج حزم بحجوم معينة (10،11)موضحةبالجدول (1) .أجريت طريقة العمل باستعمال عدة ال PCR PreMix وحسب تعليمات شركة *Pioneer*(KoreaSouth) .

جدول (1) البادئات النوعية لـDNA (DNA primers): المستخدمة في الدراسة

اسم البادئ	تسلسل القواعد النتروجينية('3-'5)		ناتج التضخيم (زوج قاعدي)	المصدر
bla_{TEM}	ATAAAATTCTTGAAGACGAAA	F	1079	10
	GACAGTTACCAATGCTTAATCA	R		
bla_{SHV}	TCGGGCCGCGTAGGCATGAT	F	660	
	AGCAGGGCGACAATCCCGCG	R		
ureC	CCGGAACAGAAGTTGTCGCGGA	F	533	11
	GGGCTCTCCTACCGACTTGATC	R		

(F)forwardالبادئ الامامي :

(R)Reverse: البادئ العكسي

النتائج والمناقشة

بينت النتائج انهتم الحصول على (20) عزلةبنسبة (20%) عزلة لبكتريا *P.mirabilis* المسببة لخمج المسالك البولية في الاطفال،اذ تعد هذه البكتريا من الممرضات الشائعة التي تسبب خمج المسالك البولية المكتسب من المستشفيات وغير المكتسب (12،13) ، لقد اوضحت اغلب الدراسات ان نسبة اصابة المسالك البولية ببكتريا *P.mirabilis*اصبح متزايدا وقد اكد ذلكالعديد من الدراسات اذ عُزلت هذه البكتريا بنسبة(18%) من حالات خمج المسالك البولية في دراسة اجراها(14)، وحصلت (15) على نسبة عزل (19%) لهذه البكتريا، كما جاءتنتائج الدراسة الحالية متوافقة مع نتائج الدراسات التي ذكرت. إلا ان نتائج الدراسة غير متفقة مع ما توصلت اليه(16) ، اذ حصلت على نسبة عزل لبكتريا *P . mirabilis* (% 5.38) من مجموع خمج المسالك البولية.ان النتائج التي تم الحصول عليها في الدراسة الحالية تؤكد ان إمراضية بكتريا *P .mirabilis* للمسالك البولية اصبحت مشكلة خطرة وموجودة بقوة في المجتمع كما توكدالدراسة ان اغلب العينات التي تم الحصول عليها جمعت من اطفال جاءوا من القرى والارياف وهذا دليل على انعدام الوعي الصحي في تلك المناطق بالإضافة الى ان البكتريا اكتسبت مقاومة وذلك بسبب تعاطي المضادات قبل اجراء التحليلات المختبرية اللازمة و تطور المقاومة من قبل سلالات جديدة تجاه الأدوية المنتجة(12).

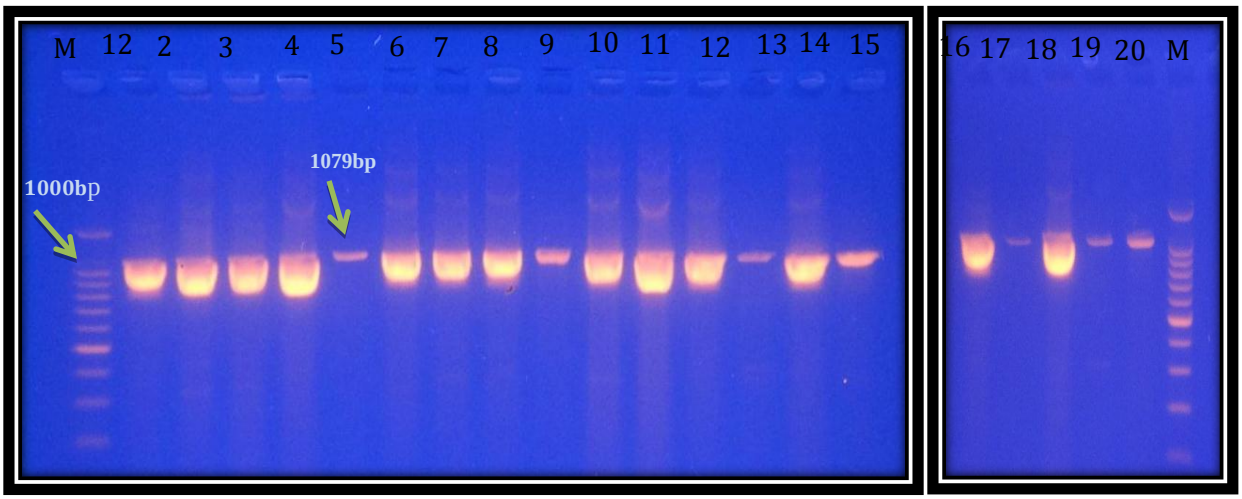
التحري عن اتناج انزيمات البيتالاكتاميز

اظهرت النتائج قابلية جميع عزلات *P. mirabilis*على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز بنسبة(100%) ،وكانت نسبة انتاج أنزيمات البيتالاكتاميز في الدراسة الحالية اعلى من نسبة كلاً من (17،18) بلغت نسبة انتاج الانزيمات بين عزلاتهم (75%)و(60%) على التوالي،ومن الملاحظ في الدراسة الحالية ارتفاع نسبة انتاج انزيمات البيتالاكتاميز وربما يعزى 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.

التحري عن الجين المسؤول عن انتاج انزيمات البيتالاكتاميزبتقنية (PCR)

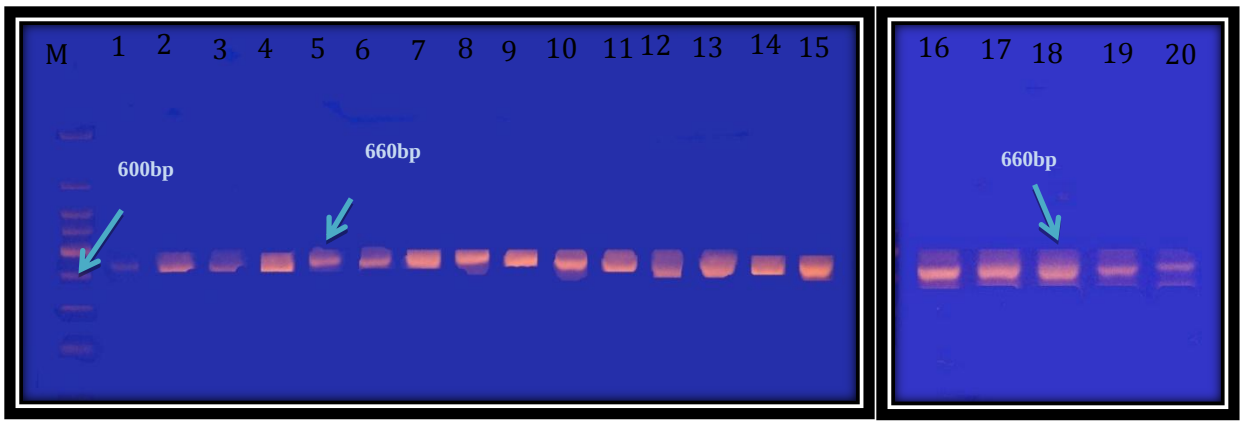
اعطت نتائج التحري عن جينات البيتالاكتاموجود نسبة عالية لهذه الجينات بين العزلات قيد الدراسة اذ احتوت على الجينbla_{TEM} وبنسبة 20\20 (100%) وبحجم (1079pb)، اتفقت هذه النسبةمع نسبة (19) الذين وجدوا ان جميع عزلات بكتريا *P .mirabilis* قد احتوت على الجينbla_{TEM} بنسبة (100%) ، وتقترب نسبة الدراسة الحالية مع نسبة الدراسةالتياجراها (20) في شمال شرق البرازيلوجد فيها نسبة الجينbla_{TEM} (93.3%)، بينما كانت نسبة هذا الجين في دراسة (21) التي اجريت في نيجيريا هي (0.7%) وهي مخالفة للدراسة الحالية في حين لم يحصل (22) في دراستهم التي اجريت في اليابان على اي نسبة بهذا الشأن . فيما يخص التحري عن انزيم الـ SHV اذ توصلت الدراسة الحالية الى ان جميع العزلات البكتيرية قد احتوت على الجينbla_{SHV} بنسبة (100%) وبحجم (660pb)،و جاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصل له (23) والذي وجد بان جميع عزلاته احتوت علىالجينbla_{SHV}في حين جاءت نسبة الدراسة الحالية اعلى من نسبة (24)اذ وجدوا ان(15.3%) من عزلات *P. mirabilis* ابدت احتوائها لانزيم الـ SHV-5 في حين كانت نسبة الدراسة الحالية مخالفة لما توصل اليه(25)و(26) لم يسجلوا أي نسبة في دراساتهم ،لذا فان جينات SHV واسعة الطيف تحمل على البلازميدات(27)، اما فيما يخصدراسة (28) والتي اجريت في جامعة الكوفة فلم يسجل فيها تواجد الجينbla_{TEM}بينعزلاتبكتريا *P. mirabilis* والبالغة 6 عزلات فيما سجل الجينbla_{SHV}بنسبة(33.3%) بين عزلاته . ومن الدراسات المحلية في مدينة الديوانية في دراسة للجينات المقاومة لمضادات البيتالاكتام اكد (29) ان بكتريا *Ps. aeruginosa*،*K. pneumoniae*، *E. coli* امتلكت الجين الـbla_{TEM} وبنسبة (28%)،(14.3%)، (6.7%) على التوالي، اما الجين الـbla_{SHV} فكانت نسب احتوائها على هذا الجين هي(56%)،(33.3%)،(6.7%). اما دراسة(30)التي اجريت في الكوفة وجد ان نسبة امتلاك بكتريا الـ*E.coli*لجينات bla_{TEM} وbla_{SHV} كانت (18.8%)و (100%) على التواليومن خلال ما تقدم تبين النتائج ان نسبة تواجد الجينات bla_{TEM} , bla_{SHV} عالية جدا في بكتريا

*P.mirabilis*و قد يعود السبب في ذلك ربما الى كون هذه البكتريا تتواجد بصورة مستمرة مع انواع البكتريا السالبة لصبغة غرام الاخرى مثل *E. coli*،*K. pnuemoniae*والتي تكون فيها انزيمات ال TEM وSHV ذات الطيف الواسعمتواجدة بشكل رئيسي وهذا امر مثير للاهتمام كون هذه البكتريا لا تستجيب للعلاج واصبحت اكثر مقاومة للمضادات ،كما ان الاختلافات الحاصلة في الدراسة الحالية مقارنة بالدراسات الاخرى فيما يخص انزيماتالبيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) ربما تعود لعدة اسباب منها الاختلاف في اوقات جمع العيناتوكذلك اختلاف نوع الاصابات التي يصاب بها الاشخاصو الى كيفية جمع العينات والموقع الجغرافي(31) .



شكل (1) الترحيل الكهربائي للجينbla_{TEM}المضخم باستخدام تقنية (PCR) لبكتريا *P. mirabilis*.

المسار: (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20) تمتلك الجينbla_{TEM}
(M) : السلم القياسي Marker (100bp)
ظروف الترحيل الكهربائي :الأكاروز(1.5) غم ، الوقت (1) ساعة بفرق جهد قدره (80) فولت

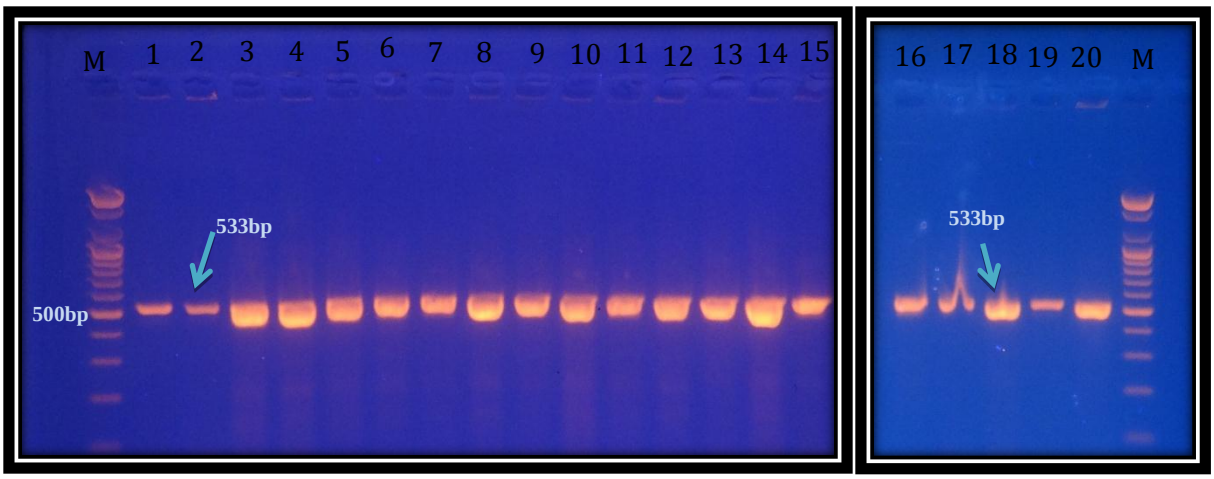


شكل (2) الترحيل الكهربائي للجينbla_{SHV}المضخم باستخدام تقنية (PCR) لبكتريا *P. mirabilis*

المسار: (20,19,18,17,16,15,14,13,12,11,10,9,8,7,6,5,4,3,2,1) تمتلك الجينbla_{SHV}
(M) : السلم القياسي Marker (100bp)
ظروف الترحيل الكهربائي :الأكاروز (1.5) غم ، الوقت (1) ساعة بفرق جهد قدره (80) فولت

التحري عن الجين المسؤول عن انتاج انزيم اليوريز بتقنية (PCR)

اختبرت جميع عزلات *P. mirabilis* قيد الدراسة لمعرفة قابليتها على انتاج انزيم اليوريزبالاعتماد على تقنية (PCR) ،اذ اظهر الشكل (3) ان جميع عزلات *P. mirabilis* اثبتت انتاجها للجين*ureC*بنسبة(100%) المشفر لانتاج انزيم اليوريز في بكتريا*P. mirabilis*وبحجم Pb(533)،جاءت هذة النتيجة متوافقة مع نتيجة (11)في دراستهم اذ بينوا انتاج الجين*ureC* من قبل بكتريا *P. mirabilis* وكذلك اوضحوا امتلاكالعزلات الناتجة من زرع الادرار وزرع الحصى على انزيم اليوريز ، كما اكد (32) في دراستهم التي اجريت في بولندا ان جميع عزلات *P. mirabilis* اظهرت انتاجها للجين*ureC* . ان امراضية البكترياتطورت من خلال العديد من عومل الضراوة لتتكيف مع بيئة المضيف ،وان ضراوة بكتريا *P. mirabilis* تزيد من فهمنا عن كيفية قدرة النبيت الطبيعي على غزو و اصابة المسالك البولية . وهذا ما اكداه (33) من خلال دراستهما بيَّنا ان انزيم اليوريز الذي ينتج التحلل المائي لليوريا مسؤول عن تكوين الحصى في المسالك البولية ، إذ لوحظ ان له تأثيرات مرضية في بيئة المسالك البولية نتيجة لارتفاع تركيز اليوريا فيها؛ إذ يبلغ تركيزها حوالي (0.4-0.5) مول/لتر، في حين يمكن ان يكون للبكتريا المنتجة تأثيرات تعايشية(Symbiosis) في القناة المعدية المعوية كما اكدا ان تطفير الجين*ureC*لبكتريا *P. mirabilis* ينتج عنه تكون انزيم يوريز فاقد الفعالية وغير قادر على احداث اوالحث على تكون الحصى.



شكل (3) الترحيل الكهربائي لجين*ureC* المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لبكتريا*P. mirabilis*

المسار: (20,19,18,17,16,15,14,13,12,11,10,9,8,7,6,5,4,3,2,1) تمتلك الجين*ureC*

(M) : السلم القياسي Marker (100bp)

ظروف الترحيل الكهربائي :الأكاروز (1.5) غم ، الوقت (1) ساعة بفرق جهد قدره (80) فولت

المصادر العربية

14- **طعمــة، منير عبد الرسول(2006)** . دراســة في التهاب المجاري البوليـة عند الأطفال دون سن الخامسة من العمرفي مستشفى الأطفال في كربلاء .رسالة ماجستير . كلية الطب .جامعة بابل

15- **ياسين. نجلاء نبهان (200)**. دراسة تأثير الاوزون المذاب في الماء على بكتريا *Proteus mirabilis* المعزولة من المصابين بجروح وحروق مختلفة وعلى عملية شفاء الحيوانات المختبرية المصابة بالبكتريا نفسها .رسالة ماجستير. كلية العلوم .جامعة بغداد

16- **خورشيد، ثري أحمد (2005).**دراسة جرثومية لبعض مسببات أخماج المسلك البولي للمرضى في مستشفى آزادي العام في مدينة كركوك.رسالة ماجستير. كلية التربية . جامعة تكريت.

17- **السراج، لبنى صلاح الدين (2007).**دراسة تأثير ليزر الدايود على المحتوى البلازميدي وبعض الخصائص لبكتريا *Escherichia coli*و*Proteus mirabilis*المعزولة محليا. رسالة ماجستير .معهد الليزر للدراسات العليا .جامعة بغداد.

18- الموسوي,ازهار نوري حسين.(2006).العزل والتثبيت الوراثي للخمج البكتيري والفطري في المسالك البوليه وعلاقته بمرض السكري بين النساء الحوامل في محافظة القادسيه .اطروحة دكتوراه .كلية التربيه . جامعة القادسيه

29- **حران ،عمر حسين (2012)**. التحري عن جينات المقاومة لمضادات البيتالاكتام من البكتريا المعزولة من بعض الاصابات السريريةفي مدينة الديوانية .رسالة ماجستير –كلية العلوم -جامعة القادسية .

المصادر الاجنبية

1-Audu, J.A. (2007). Personal Communication.Consultant Obstetrics.andGynaecology, MilitaryHospital, Port Harcourt, Nigeria.

2-Kalantar, E.; Motlagh, M.; Lornejad, H. &Reshadmanesh, N. (2008). Prevalence of urinary tract pathogens and antimicrobial susceptibility patterns in children at hospitals in Iran.*Iran. J. Clin. Infect. Dis*,3(3):149-153.

3-Jonathan, D.; Dattelbaum, C.; Lockatell, V.; Johnson, D. E.; and Mobley, H. L. 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. Infection and Immunity,**71:** 1026-1030.

4-**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.Infection and Immunity.vol. 389-9 .

5-Hall, B. G. & Barlow, M. (2004). Evolution of the serine ß-lactamases: past, present and future. *Drug Resistance Updates*, *7*: 111-123.

6-Bonnet, R. (2004). Growing group of extended-spectrum ß-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob. Agents Chemother, 48:1-14.

7-Forbes,B.A.; Sahm,D.F. and Weissfeld,A.S. (2007). Diagnostic microbiology.12th ed. Mosby Elsevier. China. PP. 93-247.

8-Macfaddin, J.F. (2000). Biochemical test for identification of medical bacteria, 3nd.ed the Williams &Wilkin London.

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

10-Quinteros ,M. ; Radice, M. ;Gardella, N.; Rodriguez, M.M.;Costa, N.; Korbenfeld, D.&Couto, E. (2003). Extended-Spectrum β-Lactamases in Enterobacteriaceae in Buenos Aires, Argentina, Public Hospitals.Antimicrob. Agents Chemother, 47:2864-2867.

11-Takeuchi ,H.; Yamamoto ,S.; Terai, A.;Kurazono, H.; Takeda ,Y.; Okada ,Y&Yoshida, O. (1996) Detection of Proteus mirabilis urease gene in urinary calculi by polymerase chain reaction. Int. J .Urol, 3:202–206

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

13-**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.MicrobiolRev* ,**21**: 26-59

19-Cao, V. T.; Lambert, D. Q.; Nhu, H. K. ;Loan, N. K.; Hoang, G.; Arlet, and Courvalin, P.(2002). Distribution of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Vietnam.Antimicrob. Agents Chemother., 46**:**3739-3743

20-Abreu, A.G.; Marques, S.G.; Monteiro-Neto ,V.; Carvalho, R.M.L.&Gonçalves, A.G. (2011) . Nosocomialinfection and characterization of extended-spectrum b-lactamase producing *Enterobacteriaceae*in northeast Brazil. Rev. Soc. Bras. Med .Trop., 44: 441-446.
21Akinduti,P.A.;Oluwadun,A.;Iwalokun,B.A.;Oluwaseun,E.&Onagbesan,K.O.(2011).clonal dissemination of beta-Lactamase strains among enteric isolates in Abeokuta, Nigeria.Research.J.ofMicrobiol.,6(12):919-925
22-Nagano, N.; Shibata, N.; Saitou, Y.; Nagano, Y. & Arakawa, Y.(2003**).**Nosocomial outbreak of infections by Proteus mirabilis that produces extended-spectrum CTX-M-2 type β-lactamase. J. Clin .Microbiol., 41: 5530–5536.
23-Dropa,M.; Balsalobre,L.C.; Lincopan, N.; Mamizuka ,E.M.; Murakami ,T.; Cassettari ,V.C.; Franco ,F.; .Guida , S.M.; Balabakis ,A .J.; Passadore ,L.F . ; Santos ,S.R.; Matté, G. R.; &Matté ,M .H. (2009). Extended-Spectrum beta-Lactamases among *Enterobacteriaceae*isolated in a public hospital in Brazil, *51(4):203-209*

24Ho,P.L.;Ho,A.Y.;Chow,K.H.;Wong,R.C.W.;Duan,R.S.;Ho,W.L.;Mak,G.C.;Tsang,K.W.; Yam,W.C&Yuen,K.Y. (2005) .Occurrence and molecular analysis of extended-spectrum β -lactamase-producing Proteus mirabilis in Hong Kong, 1999–2002. J. Antimicrob .Chemother, 55: 840–5.
25-Tonkic, M.; Mohar ,B.; Sˇisˇko-Kraljevic ,K.; Mesˇko-Meglicˇ,K.; Goic´ -Barisˇ ic,I.; Novak,A.; Kovacˇ ic,A.;&Punda-Polic,V.(2010). High prevalence and molecular characterization of extended-spectrum b-lactamase-producing *Proteus mirabilis* strains in southern Croatia . J. Med. Microbiol ., 59: 1185–1190

26-Wang, P.; Hu,F.; Xiong,Z.; Ye,X.; Zhu,D.; Wang,Y.F .&Wang,M. (2011) . Susceptibility of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae*According to the New CLSI Breakpoints .J ClinMicrobiol.,49: 3127–3131.
27-Turner, M. S.; Andersson, P.; Bell, J. M.; Turnidge, J. D.; Harris, T. &Giffard, P. M. (2009). Plasmid-borne *bla*(SHV) genes in *Klebsiella pneumonia* are associated with strong promoters. *J. of AntimicrobChemother,64*: 960-964.
28-Al-Muhannak, F. H. N. (2010). Spread of some Extended-Spectrum Beta-Lactamases in Clinical Isolates of Gram-Negative Bacilli in Najaf.M.sc. Thesis. College of medicine.Kufauniversity.
30-Al-Hilali, S. A. M. H. (2010). Occurrence and Molecular Characterization of EnteropathogenicEsherichia coli (EPEC) Serotypes Isolated from Children with Diarrhea in Najaf. M.sc. Thesis. College of medicine.Kufauniversity .
31-Al-Agamy ,M.H.M.; Shibl ,A.M.;Tawfik, A.F. (2009). Prevalence and molecular characterization of extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*in Riyadh, Saudi Arabia. Ann. Saudi Med., 29: 253-257.

32 -Stankowska, D.; Kwinkowski, M.&Kaca ,W. (2008). Quantification of *Proteus mirabilis* virulence factors and modulation by acylatedhomoserine lactones. J. Microb. Immunol Infect. 41:243–253.

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

Genetic and diagnostic study of*Proteus mirabilisisolated* from urinary tract infection in children less than 5 years old in AL-Diwanyia city.

Marwa R. A.AL Janahy Azhar N. H. AL Mussawy

Abstract

Two hundred of Urine samples were gathered for investigating*Proteus mirabilis*that causes urinary tract infection (U.T.I) in children less than five years old ,These samples were divided into two groups (100 samples for children having (U.T.I) and 100 samples for non-infected children as control) .The results showed that the *P. mirabilis* was the mainly cause of 20% of (U.T.I) in children and in females the proportion of bacteria was higher (12%) than in males (8%) . The ability of isolations for producing Extended-Spectrum Beta-lactamases (ESBLs) enzymes was examined by using iodometric method ,and the results were positive for (ESBLs) inall tested isolates. These isolates were distinguished in producing some encoded gens for (ESBLs) enzymes ,From these were *bla*$_{TEM}$ and *bla*$_{SHV}$ by usingPolymerase Chain Reaction (PCR) . The results showed that all isolations had*bla*$_{TEM}$ and *bla*$_{SHV}$*in*a ratio (100%)and *ureC* encoded gens for Urease in a ratio(100%).