Vol. 4, No. 7 and 8, P. (143-153)A, 2016

# عزل وتشخيص بكتريا المتقلبة الرائعة من الأشخاص المصابين بخمج السبيل البولي ودراسة بعض عوامل ضراوتها

ذكرى عدنان جواد، حنين زهير علي
قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة كربلاء، كربلاء، العراق.

تاريخ الاستلام: 18 / 11 / 2015
تاريخ قبول النشر: 7 / 1 / 2016

## Abstract

This study involved isolation and identification bacterial causes of the urinary tract infections (UTI), as it was collected 65 urine sample from patients suffering from urinary tract, in the holy city of Karbala (Al-Hussein Hospital, children and women and obstetrics) for the period from October 2014 to March 2015, these isolates (urine samples) were cultured on selective and differential media and identified biochemicaly by using tapes Epi 20 E, the majority of isolates was Proteus mirabilis as formed (40%) and the bacterium Pseudomonas aeruginosa by (31.42%), and Serratia marcescens by (8.57%) in addition to the Escherichia.coli which formed (20%) of the isolation results. Antibiotic susceptibility testing was done for the Proteus mirabilis isolates to determine the most effective against these isolates, the results showed that the most effective antibiotic is ciprofloxacin (CIP), amikacin (AK) and imipenem (IPM), while most of the isolates were resistant to Ampicillin and Tetracycline.The study has the minimum inhibitory concentration for three different antibiotics, and showed MIC values of ciprofloxacin (0.25-32) µg / ml. While MIC values of amikacin (8-128) µg/ ml, While it was the Imipenem ranging between (1-32) µg / ml. Some associated virulence factors of isolates were studied, it was found that the selected isolates showed the ability to adhesion on epithelial cell surfaces at a rate between (22.33-51.66) cell / epithelial cell, as well as bacterial cell surface hydrophobicity test, as the percentage of these isolates are (64.00,27.56,55.35,27.88,31.01) % . As for the test swarming movement (Swarming phenomenon), the study demonstrated the ability of bacteria to swarm on enriched agar plate (1.5-2.0 % agar).

## Keywords

Proteus mirabilis, Bacterial adhesion, Swarming Cell surface hydrophobicity.

## الخلاصة

تضمن البحث عزل وتشخيص المسببات البكتيرية لخمج السبيل البولي (UTI)، اذ تم جمع (65) عينة ادرار من المرضى المصابين بخمج السبيل البولي في مدينـــة كربلاء المقدسة ( مستشفى الحسين(ع)، الاطفال و النسائية و التوليد ) للفترة من تشرين الأول 2014 الى آذار.2015 زرعت العينات التي تم الحصول عليها على الاوســاط الانتقائية والتفريقية كما تم تشخيصها كيموحيوياً باستخدام اشرطة Epi 20 E فتبين ان النسبة الاكبر لنتيجة العزل كانت Proteus mirabilis اذ شكلت (40%) وبكتريــا Pseudomonas aeruginosa بنسبة (31.42 %)، و marcescens Serratia بنسبة (8.58%) إضافة الى بكتريا Escherichia coli والتي شكلت (20%) من نتــائج العزل. تم اختبارحساسية عزلات بكتريا P. mirabilis للمضـادات الحيوية لتحديد المضاد الأكثر فاعلية ضد هذه العزلات كذلك تحديد المضـادات التي تقــاومها هذه البكتريا ووجد أن المضاد الأكثر فاعلية هو السبروفلوكساسين(CIP) والاميكاسين (AK) والاميبينيم (IPM) وأكثر المضادات التي قاومتها البكتريا هي الأمبيسيلين والتتراسايكلين.

كما تمت دراسة التركيز المثبط الادنى لثلاثة مضادات حيوية مختلفة، واظهرت قيم MIC لمضاد السبروفلوكساسين بين ( 0.25-32) مايكروغرام / مل. بينما تراوحت قيم MIC لمضاد الاميكاسين بين (8-128) مايكروغرام/ مل. في حين كانت لمضـــاد Imipenem متراوحة بين (1 - 32) مايكروغرام / مل.درست بعض العوامل المرتبطة بضراوة العزلات المدروسة، اذ تبين ان للعزلات المنتخبة القدرة على الالتصاق على سطوح الخلايا الظهارية بمعدل يتراوح بين (22.33-51.66) خلية / خلية ظهارية، فضلاً عن اختبارالعزلات البكتيرية للخاصية الراهبة للماء (Cell surface hydrophobicity) اذ بلغت النسبـــة المئوية لهذه العزلات (31.01,27.88,55.35,27.56,64.00) %.اما فيما يخص اختبار حركة العج (Swarming phenomenon)، فقد أثبتت الدراسة قدرة العزلات المدروسةعلى احداث ظاهرة العج ولاسيما انها نامية على وسط الغراءالمغذي فيه نسبة الاكاراعتيادية (1.5-2.0 %).

## الكلمات المفتاحية

المتقلبة الرائعة، التصاق البكتيريا، الخاصية الراهبة للماء.

## 1. المقدمة

إن حالات خمج السبيل البولي (Urinary tract infection) هي من الأمراض الشائعة عند الانسان والتي تسببها أنواع مختلفة من الكائنات المجهرية الممرضة توصف لعلاجها العديد من الأدوية والمهدئات و المضادات الحيوية [1].

تعد الأمراض الناتجة عن هذه الالتهابات من المشاكل الطبية الكبيرة التي تعاني منها العديد من دول العالم وبمختلف المستويات المعاشية في كل من الدول الغنية والفقيرة، إذ يكون تأثيرها على كلا الجنسين ولمختلف الأعمار [2]، وتزداد صعوبة علاجها عندما يرافقها امراض أخرى مثل مرض داء السكري ونقص المناعة المكتسبة والأورام السرطانية التي تؤدي إلى ضعف مقاومة دفاعات الجسم ضد عوامل مرضية جديدة [3] .

للبكتريا النصيب الأكبر من بين الكائنات المجهرية الممرضة في إحداث خمج السبيل البولي وتمثل العصيات السالبة لصبغة كرام النسبة الأكبر والتي تنتمي للعائلة المعوية Enterobacteriacae، وتعد بكتريا Proteus mirabilis واحدة من أهم الأجناس البكتيرية المهمة في هذا المجال فهي تأتي بالمرتبة الثانية بعد بكتريا Escherichia coli من حيث نسبة الإصابة ، فهي من الممرضات المهمة في القناة البولية خاصة المرضى الذين تجرى لهم عمليات القسطرة حيث يوصف لهم استخدام إنبوب القسطرة لفترات طويلة [4] ومن مضاعفات هذه البكتريا تكوين الحصى وتجرثم الدم [5].

أشارت العديد من الدراسات الى ظهور سلالات مقاومة من البكتريا المعوية لأكثر من مضاد حياتي، والتي تعد مشكلة متزايدة من الناحية الطبية لصعوبة السيطرة على الامراض نتيجة عدم إختيار العلاج المناسب والأستخدام العشوائي لمضادات الحياة [6]. وهذه المقاومة عادة تكون محمولة على بلازميد أو أكثر تملكه البكتريا وقدرتها على نقل هذه الصفة إلى أنواع أو أجناس أخرى، ومن الأمثلة على ذلك هو امتلاك العديد من البكتريا وخاصة السالبة لصبغة كرام صفة انتاج أنزيمات البيتالاكتاميز ونقل هذه الصفة فيما بينها، ووجود مضخات الدفق (Efflux-pumps) وأيضاً تناقص نفاذية الغشاء الخارجي وهذه الصفات وغيرها تمنكنها من احداث إصابات خطيرة [7].

إن وجود ظاهرة العج (Swarming) في بكتريا Proteus mirabilis تمنحها القدرة على الحركة، كذلك قدرتها على الالتصاق البكتيري بالخلايا الطلائية المبطنة للقناة البولية [8]، إضافة الى إنتاج أنزيم اليوريز من قبل هذه البكتريا الذي يعمل على شطر مادة اليوريا إلى آمونيا وثاني أوكسيد الكاربون ومن ثم تكون فوسفات الكالسيوم والمغنيسيوم والتي تعد أرضية لتكوين الحصى التي تستخدمها كمكان لتستوطنه وتتخفى فيه من المضادات الحيوية والاستجابة المناعية وتنشط منها لأحداث ما يسمى بإعادة الإصابة (relaps of infection) [9]، وإن انتاج انزيم الهيمولايسين جعلها من الممرضات المهمة في التهابات المجاري البولية [10].كما أشار الباحث [11] الى ان العديد من الأجناس البكتيرية لديها نفس الخاصية مع امتلاك هذه الاجناس للاسواط وهذا مؤشرعلى دور الاسواط في ظاهرة العج.

## 2. أهداف البحث:

نظراً لزيادة نسبة الاصابة بخمج السبيل البولي في السنوات الأخيرة وزيادة نمط مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية تم دراسة مايلي:-

1. عزل وتشخيص بكتريا Proteus mirabilis من الاشخاص المصابين بخمج السبيل البولي بإعتبارها أحد

الانواع البكتيرية المسببة لهذا الخمج .

**2.** دراسة نمط المقاومة للمضادات الحيوية وقياس التركيز المثبط الأدنى (Minimum inhibition concentration) في العزلات قيد الدراسة.

**3.** التحري عن عوامل الضراوة المختلفة التي تنتجها العزلات البكتيرية قيد الدراسة.

## 3. المواد وطرائق العمل:

**1.3. جمع العينات:** تم جمع (65) عينة ادرار من المرضى المصابين بخمج السبيل البولي في مدينة كربلاء المقدسة للفترة من تشرين الأول (2014 الى آذار2015). وجمعت العينات في انابيب اختبار معقمة وذات غطاء محكم وزرعت مباشرة على الاوساط الانتقائية الخاصة بالعزل.

**2.3. عزل وتشخيص البكتريا:** تم زرع كل عينة على وسط (Blood agar) ووسط (Mackonkey agar) وحضنت بدرجة حرارة (37)م لمدة (24) ساعة، اختبرت المستعمرات النموذجية النامية على هذه الاوساط واجريت لها الاختبارات التاكيدية الفسلجية والكيموحيوية وذلك بتحضير مزروع سائل (وسط المرق المغذي)من هذه العزلات واجري لها الاختبارات الآتية كما ذكر في (12) (13):

**1.2.3. الفحص المجهري المباشر:** بعمل شريحة وتصبيغها بصبغة غرام.

**2.2.3. الاختبارات الكيموحيوية:** اختبار الأوكسيديز، اختبار الكاتاليز، اختبار استهلاك السترات، اختبار الاندول، اختبار احمر المثيل، اختبار الفوكاس بروسكاور، اختبار الحركة، اختبار النمو على وسط (TSI)، اختبارالنمو على وسط King A، اختبار تحليل اليوريا، التخمرلسكرالكلوكوز.

**3.3. اختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية:** اجري فحص الحساسية للمضادات الحيوية بطريقة الصب بالأطباق بأستخدام وسط (Muller-Hinton agar) وتم اختبار حساسية العزلات لعشر مضادات حيوية وفقاً للتراكيز الموضحة في الجدول رقم (1) .إذ تم تحضير مزرعة بكتيرية لكل عزلة بتركيز ($1*10^8$) خلية / مل بمقارنته بأنبوب ماكفرلاند القياسي (0.5). سجلت النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط بالمليمتر حول كل قرص بعدها قورنت النتائج القياسية لقطر منطقة التثبيط للمضادات الحيوية والمعتمدة عالمياً[14].

**4.3. تقدير التركيز المثبط الادنى وماتحته :**

أتبعت طريقة التخافيف المضاعفة المتسلسلة لخمس عزلات بكتيرية نقية لحساب التركيز المثبط الادنى (MIC) للمضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة الحالية وتم تقديره لثلاثة مضادات وهي (Imipenem، Ciprofloxacin، Amikacin) اعتماداً على الطريقة الموصوفة في [15].

**5.3. إختبار ظاهرة العج (Swarming phenomenon):**

استخدم هذا الاختبار للكشف عن قابلية العزلات البكتيرية قيد الدراسة على تكوين ظاهرة العج وأجري هذا الفحص باستخدام طريقة الأوساط الزرعية الصلبة واعتمدت طريقة (8) لاجراء الاختبار .

**6.3. الالتصاق البكتيري على الخلايا الطلائية للمجاري البولية :**

اتبعت الطريقة المذكورة من قبل [16] والتي تتضمن تحضير عالق الخلايا الطلائية للانسان حيث أُخذت عينات من الإدرار الوسطي (Mid-stream urine) لاشخاص غير مصابين بخمج السبيل البولي، وبعدها نبذت عينات الادرار بسرعة (3000) دورة / لمدة (5) دقائق، غسل الراسب الحاوي على الخلايا الطلائية بمحلول دارئ

الفوسفات الملحي وبواقع (4)مرات ثم علقت الخلايا بالدارئ نفسه .تم التأكد من عدم وجود خلايا بكتيرية ملتصقة بالخلايا الطلائية المحضرة اعلاه من خلال الفحص المجهري بأستخدام شريحة زجاجية معقمة، وتم اختبار الالتصاق البكتيري بمزج (0.5) مل من مزروع بكتيري بعمر (24) ساعة محضر في وسط نقيع القلب والدماغ السائل مع (0.5) مل من عالق الخلايا الطلائية، حضن المزيج بدرجة حرارة 37م لمدة 60 دقيقة مع التحريك. غسل المزيج بعد فترة الحضن (4) مرات باستخدام محلول دارئ الفوسفات الملحي مع تكرار النبذ المركزي للتخلص من البكتريا غير الملتصقة بالخلايا الطلائية، اخذت قطرة من المزيج المعلق بمحلول دارئ الفوسفات الملحي ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة ،وصبغت جميع الشرائح بصبغة غرام . فحصت الشرائح بالمجهر الضوئي وثبتت النتائج بحساب معدل الخلايا البكتيرية الملتصقة بالخلايا الطلائية .

### 7.3. التحري عن الرهابية المائية السطحية: Cell Surface Hydrophobicity

أتبعت الطريقة الموصوفة من قبل [17] لأجراء الاختبار. اظهرت الدراسة الحالية عند استعمال الزايلين (Xylene) كمذيب عضوي لتقدير الخاصية الراهبة للماء وذلك بقياس الامتصاص الضوئي للطبقة المائية على طول موجي (600) نانومتر بالاعتماد على طريقة (BATH) Bacterial adherence to hydrocarbon.

## 4. النتائج والمناقشة:

تم التحري عن بكتريا Proteus mirabilis في (65) عينة إدرار لاشخاص مصابين بخمج السبيل البولي حيث تم الحصول على (14) عزلة والتي شكلت نسبة (40 %)، وتقترب نتائج الدراسة مع ما لاحظه [18] إذ كانت (25%) من مجموع العزلات البكتيرية المسببة لخمج السبيل البولي تابعة إلى جنس المتقلبات. وذكر [1] إن عزل هذه البكتريا في حالة إصابات المجاري البولية الغير معقدة اكثر من (10%)، وتختلف عن نتائج [19] إذ بلغت نسبة الإصابة (5- 10%). اما بكتريا P. aeruginosa فقد شكلت نسبة (31.42 %)، وS. marcescens بنسبة (8.58%) إضافة الى بكتريا E. coli والتي شكلت (20%) من نتائج العزل.

زرعت العينات على وسط غراء الماكونكي، اذ تظهر مستعمرات P. mirabilis عليه محدبة، لزجة، وشاحبة اللون لانها غير مخمرة لسكر اللاكتوز، وعند نموها على وسط غراء الدم الذي يعد وسطاً عاماً لنمو الجراثيم من جهة ولتحديد قابلية الجراثيم على تحلل الدم ونوع التحلل من جهة اخرى، وقد ظهرت الجراثيم بأنها محلله للدم تحللاً تاماً (β-Hemolysis) اذ تكونت هالة شفافة حول المستعمرات النامية على سطح هذا الوسط المذكور[20]. وكذلك رائحة المستعمرات النامية التي تشبه رائحة السمك المتعفن على وسط أكار الدم [21] . وعند الفحص المجهري كانت البكتريا بشكل خلايا سالبة للون غرام، عصوية (Bacilli ) الشكل، مفردة أو متجمعة بشكل سلاسل قصيرة. كما أظهرت نتائج الاختبارات الكيموحيوية وكما موضح في الجدول رقم (2).كما تم تاكيد التشخيص باستعمال عدة التشخيص Epi 20E.

### 1.4. حساسية عزلات P.mirabilis للمضادات الحيوية:

اظهرت نتائج فحص الحساسية بطريقة كيربي وباور ان اغلب العزلات كانت حساسة (100%) لأكثر من مضاد حيوي شملت : السبروفلوكساسين والاميكاسين والاميبينيم.

وبنسبة (60%) لمضاد حامض النالدكسك وبنسبة (40%) و(35%) و(46%) لكل من مضاد السيفتازيديم والبولي ميكسين والنايتروفيورانتوين على التوالي. جاءت هذه النتائج متطابقة مع كثير من الدراسات التي اشارت الى المقاومة العالية للمضادات ولعل الاستخدام الواسع والعشوائي أدى إلى ارتفاع المقاومة المتعددة ضد المضادات الحيوية، ويعود السبب إلى امتلاك العزلات البكتيرية قدرة على إنتاج إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف [22]، كما تعزى المقاومة لامتلاك البكتريا لأنظمة مضخات الدفق (Efflux- pump system)، أو من خلال التحوير في حاجز النفاذية (Alteration in permeabil-ity Barrier) للغشاءالخارجي وبالتالي يصعب دخول المضاد إلى داخل الخلية البكتيرية (6) .وجاءت نتائج الدراسة الحالية منسجمة مع دراسة أجريت بالولايات المتحدة الامريكية من قبل[23] حيث وجدا بأن معظم العزلات المدروسة كانت حساسة تجاه مجموعة مضادات الكوينولونات والتي من ضمنها السبروفلوكساسين واعتبرا هذا المضاد من المضادات المثلى في معالجة خمج السبيل البولي، أيضاً تتفق نتائج هذه الدراسة مع [24] في دراسة أجريت في ماليزيا على (50) طفل ورضيع وحديثي الولادة مصابون بأصابات بكتيرية متعددة المقاومة حيث وجد أن نسبة المقاومة لمجموعة مضادات الكينولونات كانت قليلة في العزلات المدروسة. أما حامض النالديكسك فقد أظهرت العزلات من جنس المتقلبات نسبة مقاومة (40%) وهي نتيجة تقترب من نتائج [25] التي سجلت عزلاتها المحلية نسبة مقاومة (30%)، ولاتتفق مع نتائج[26] التي أظهرت عزلاتها المحلية بنسبة مقاومة (4%). تقاوم أنواع المتقلبات وبشكل طبيعي مضاد الحياة Polymyxin B (مضاد حيوي يعمل على الجدار السيتوبلازمي Cytoplas-mic. membrane، عديد الببتيد حيث يكون تأثيره من خلال تداخله مع مركب عديد السكريد الشحمي في الغشاء الخارجي للخلية) ويعتقد أن سبب المقاومة وجود AraN في تركيب متعدد السكريد الشحمي كما أن وجود سلسلة O-polysaccharide في متعدد السكريد الشحمي تحميه من الفعل المدمر لمضاد الحياة Polymyxin B [27].

### 2.4. تقدير التركيز المثبط الادنى وماتحته لعدد من المضادات الحيوية:

تم تقدير التركيز المثبط الادنى والذي يمثل أقل تركيز من هذا المضاد لم يلاحظ فيه ظهور نمواً بكتيرياً مرئياً.. وأعتمدت نقطة التوقف (Break point) الموضوعة من قبل [14] كأساس لحساب الاستجابة والتي تعرف بالتركيز الامثل الذي يمكن ان يصله المضاد في الادرار بحيث يوفر اعلى حد للمعالجة [28]. إذ يعد الكائن مستجيبا (Sus-ceptible) عندما تكون مقادير MICs المحسوبة اقل من نقطة التوقف وتم تحديد MICs بطريقة التراكيز المضاعفة المتسلسلة بطريقة الأطباق وكما ورد في طرائق العمل. وتشير النتائج الموضحة في الجدول (3) الى ابداء العزلات حساسية عالية لمضاد Ciprofloxacin حيث استطاعت (3)عزلات من النمو في تراكيز اقل من نقطة التوقف (≥1) وكانت قيم (MIC) لها (1،0.5،0.25) مكغم / مل على التوالي، فيما كانت عزلتين مقاومة لنموها بتراكيز اعلى من نقطة التوقف (4 ≤)، وبذلك جاءت نتائجنا مؤيدة لدراسة اجراها [29] التي اظهرت قيم MIC للمضاد Ciprofloxacin 64 -(2) مكغم/ مل قد دعمت ما توصلنا اليه في دراستنا هذه، حيث تراوحت اغلب القيم ضد هذا المضاد ضمن هذه النسبة.

بلغت قيم الـ MIC لمضاد Imipenem بين (1-32) مكغم / مل، وتتفق نتائج هذه الدراسة جزئياً مع [30] إذ

بلغت قيم MIC (0.12 - 2) ملغم / لتر، وكـــانت هذه النتائج متقاربة مع ماتوصل اليه الباحثان [31] اللذان وجدا بأن نسبة الحساسية لبكتريا المتقلبات المعزولة من التهاب المجاري البولية للاميبنيم كـــانت 99%، إذ بلغت قيم MIC عند دراستهم لهذا المضاد (16-2) مكغم / مل، واظهرت النتائج ان مضاد Imipenem اقل فعالية تجاه هذه العزلات حيث كانت عزلتان فقط حساسة استطاعت النمو في تراكيز اقل من نقطة التوقف وكانت قيم MIC لها (1،1) مكغم / مل وثلاث عزلات مقاومة لنموها بتراكيز اعلى من نقطة التوقف بلغت قيمة MIC لها (8،16،32) مكغم / مل على التوالي، اما بالنسبة لمضاد الاميكاسين فقد ظهرت عزلة مقاومة و(3) عزلات حساسة وعزلة متوسطة المقاومة والتي بلغت قيمة (MIC) 32 مكغم / مل وكما موضح في الجدول (4).

### 3.4. اختبار قابلية العزلات على تكوين ظاهرة العج Swarming phenomenon:

أظهرت نتائج الدراسة الحـــالية ان جميع عزلات P.mirabilis اي بنسبة (100%) قادرة على إحداث ظاهرة العج عند نموها على وسط الغراء المغذي فيه نسبة الاكار(agar) اعتيادية %(1.5-2) وكما موضح في الجدول (5). ظهرت هذه الحركة بشكل امواج متحدة المركز . وهذا يؤيد النتائج التي توصلت اليه [33] في الدراسة التي اجرتها إذ كانت نسبة قدرة البكتريا المعزولة من اخماج المجـاري البوليـــة على تكوين ظاهرة العج 100%.

وتبدأ حركة العج من خلال الخلايا المهدبة (المتحركة) والتي تعدّ الخلايا المتمايزة للخلايا النشطة [34]. كما تطابقت هذه النتيجة مع (8) عندما قاموا بتنمية نفس العزلات على وسط زرعي حاو (1.5) اكار لاحظوا ظاهرة العج من قبل هذه البكتريا، كما اتفقت مع [35] الذي وجد ان (46) عزلة بكتيرية وبنسبة (100%) قادرة على احداث الحركة التموجية.لوحظت كثافة النمو الجرثومي للعزلات القادرة على الانتشار اوالحركة بشكل دائري من مركز الطبق الى الحـافة، وتزداد هذه الحـركة بزيادة فترة الحضن وكانت النتائج متباينة نتيجة لاختلاف كمية الاكار المضافة الى الوسط الزرعي وكما نلاحظ في الجدول (5) إن هناك علاقة عكسية بين كمية الاكار وحركة العج، كون الاكار مادة صلبة تعيق حركة الجراثيم على الـوسط الزرعي.

### 4.4. دراسة التصاق عزلات P.mirabilis على الخلايا الطلائية للمجاري البولية للانسان:

اظهرت النتائج قابلية عزلات P.mirabilis قيد الدراسة على تحقيق الالتصاق بالخلايا الطلائية للانسات وبنسبة 100%، استخدمت خلايا طلائية من الادرار الوسطي لأشخاص غير مصابين بخمج السبيل البولي اذ اظهرت العزلات قدرة جيدة للالتصاق بلغت قيم معدل الالتصاق للعزلات قيد الدراسة (38.00،51.66،28.33،41.33 ,22.33) بكتريا / خلية طلائية. إن هذه القدرة العالية للالتصاق تفسر قدرة بكتريا P.mirabilis على استعمار خلايا المضيف واحداث الاصابة وهذا يعني ان لهذه الجرثومة القدرة على احداث التهاب المجاري البولية مهما كان مصدر عزلها، حيث انها تتميز بالقدرة الانتهازية على احداث المرض، كما انها يمكن ان تنتقل من المصادر الداخلية والخارجية endogenous and exogenous sources، وهذه النتيجة تتفق مع [36]. فضلاً عن ذلك فأن هذه الجرثومة لها القدرة على الالتصاق بالخلايا الطلائية المعوية والخلايا الطلائية للاذن الوسطى والخلايا الطلائية لملتحمة العين، حيث انها تسبب جملة من الالتهابات ، منها التهاب

الاذن الوسطى والتهاب الامعاء والتهاب ملتحمة العين ، فضلاً عن التهاب المسالك البولية [37,38]. وهذا يؤكد امتلاك الجرثومة للالتصاق من النوع الانتهازي opportunistic adherence.

## 5.4. اختبار الخاصية الراهبة للماء Cell surface hydrophobicity:

أشارت الدراسات السابقة الى وجود اختلافات واضحة في نسبة الشحنات السالبة والخاصية الراهبة للماء إعتماداً على نوع البكتريا وطبيعة جدارها الخلوي ونوع الوسط الزرعي الذي نمت عليه البكتريا.وقد بين [39] ان البكتريا التي تمتلك سكريات متعددة طويلة لها القابلية على الالتصاق في انسجة المضيف بشكل كبير جداً كما أشار الباحث نفسه الى ان البكتريا تمتلك خاصية محبة للماء في طورها اللوغارتيمي أكثر من طور الثبات ويعزى ذلك الى وجود السلاسل السكرية المتكونة بين جدار البكتريا والغشاء البلازمي بينما أشار [40] الى ان السكريات المتعددة الدهنية تزيد من الخاصية المحبة للماء في حين تزيد الاسواط من الخاصية الراهبة للماء [41]. كما اشار [42] الى ان زيادة الخاصية الراهبة للماء يزيد من قابلية التصاق البكتريا بالمضيف، وان معاملة البكتريا بالمضادات الحيوية يقلل من هذه الخاصية وبالتالي يقلل من التصاق البكتريا بالمضيف [43]، كما ان معاملة البكتريا بأنزيمات البروتييزات تقلل من الخاصية الراهبة للماء أيضاً [44].اذ بلغت النسبة المئوية لهذه لعزلات (31.01،27.88، 64.00،27.56،55.35)% لهذه الخاصية.

## المصادر References :

[1] Pfaller, M.A., Mujeeb, I., Hollis, R.J., Jones R.N., and Doern, G.V. Evaluation of Discriminatory powers of the Dienes Test and Ribotyping as typing metheds for Proteus mirabilis . J. clin. Microbiol. (38):1077- 1080. (2000).

[2] Asscher,A.W. challenge of U.T.I. academic press Inc.(London). P.115. (1980).

[3] Anandkumar,H.; Dayanand, A.; Vinodkumar, C.S.; and Kapur, I. Invitro activity of norfloxacin against uropathogens and drug efficacy is stamulated bladder model under diabetic condition, Indian, J. Med. Microb.(21):37-42. (2003).

[4] Mobley, H.L., and Warren, J.W. Urease-positive bacteriuria and obstruction of long-term urinary catheters. J. clin. Microb.(25):2216- 2217. (1987).

[5] Shwu-Jen, L.;Hisn-Chin, L.;Shen-Wu, Ho.;Kwen-Tay, L. and Won-Bo, W. Role of RsmA in the regulation of swarming motility and virulence facter expression in Proteus mirabilis .J.Med. microbial., 52(1):19-28. (2003).

[6] العبيدي، رغد عبد اللطيف عبد الرزاق .دراسة بعض عوامل الضراوة للبكتريا المعزولة من ردهات الأطفال الخدج ومقاومتها للمضادات الحياتية والمطهرات، رسالة ماجستير – كلية العلوم – الجامعة المستنصرية. (2006).

[7] Tokajian, S.; Timani, R.Issa, A.andArag, G. Molecular characterization, Multiple drug resistant, and virulence Determination of pseudomonas aeruginosa Isolated from Lebanon. Britich Microbiology Research Journal. 2(4):243-250. (2012).

tute .Wayne. PA, USA . (2012).

[15] Baron, E. J.; Lancer., R.P.; and Sydney, M.F. Dignostic Microbiology, 10th ed .Balley and Scotts. Mosby Co. Baltimor, Boston. (2004).

[16] Forbes,B.A.; Sahm, D.F. and Weissfeld, A.S. "Baily&Scott s". Diagnostic Microbiology. 11th edition.Mosby, Company, Baltimore .USA. (2002).

[17] Rosenberg, M.; Gubnick, D.and Rosenberg, E. Adherence of bacteria to hydrocarbons: A simple method for measuring cell surface hydrophobicity. FEMS Microbiol., (9): 29-33. (2008).

[18] Asad, U.K.& Amna, Musharraf, Plasmid- mediated multiple antibiotic resistance in Proteus mirabilis isolated from patients withUrinary tract infection, Med. Sci. monit. (10) 598-602. (2004).

[19] Sen, N.; Motthias, A.; and Raj, J.P. Role of critical care in urological sepsis.Indian, J. urology 22(2):105- 112. (2006).

[20] Cruickshank, R.; Duguid, J.D.; Maramar, B.R. and Swain, R.H.A. Medical microbiology 12th ed. Churchill Livingstone. London. (1975).

[21] العبيدي، شهباء حميد مجيد. دراسة وراثية لمقاومة بكتريا Pseudomonas eruginosa, Proteus spp. المعزولة من الجروح والحروق لعدد من مضادات البيتالاكتام القديمة والحديثة.رسالة ماجستير- الجامعة المستنصرية. (2001).

[22] Mariagrazia, Perilli., Bernardetta,

[8] Liaw, S.J.; Lia, H.C.; LIIH, K.T. and Wang, W.B. Inhibition of virulence factor expression and swarming differentiation in P.mirablis by PNPG .J.Med. Microb.49:725-73L. (2000).

[9] Brain,V.J., Mahenthiraligan, E., Sabbuba, N.A., and SticklerD. J.Role of Swarming intheformation of crystalline Proteus mirabilis biofilms on urinary catheter, J. Med.microbiol., (54):807-813. (2005).

[10] Iwalokun, B.; Olukosi, Y.; Adejoro, A.; Olaye, J. and Fashade, O. Comparative biochemical and molecular evaluation of Swarming of Proteus and effects of anti-swarm agents, Afr.J. Biotecnol. 3(1):99-104. (2004).

[11] Robert, B., and Rooge, S. The ability of Proteus mirabilis to sense surfaces and regulate virulence gene expressin involves FliL, aflagellar basal body protein.J. of Bacteriol., 187(19):6789- 6803. (2005).

[12] Macfaddin, J.F. Biochemical tests for identification of medical bacteria .1st ed., the Williams and Wilkins, Baltimore, USA. (2000).

[13] Collee, J.G.; Marmion, B.P.; Fraser, A.G.and Simmons, A. Mackie and MacCartney Med.Micr. .14th ed., The ChurchillLivingstone. Inc. USA. (1996).

[14] CLSI Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition. 32(1). Clinical Laboratory standards insti-

(CAP 18) – derived peptide – J. Med. Microbiol. 49: 127-138.(2000).

[28] Harnett, S.J.; Fraise, A.P.; Andrews, J.M.; Jevons, G.; Brenwald, N.P. and Wise, R.Comparative study of the in vitro activity of a new fluoroquinolones, ABT-492. J.Antimicrobiol. Chemother., 53:783-792. (2004).

[29] المرجاني، محمد فرج دراسة المقاومة المتعددة للمضادات وبعض عوامل الضراوة لبكتريا Proteus mirabilis ودراسة المحتوى البلازميدي فيها .رسالة ماجستير – كلية العلوم – الجامعة المستنصرية. ( 2000).

[30] Alambra A, Caudrous JA, Gomez-Garces JL, Alos JI In-vitro susceptibility of recent antibiotic resistant urinary pathogens toertapenen and other 12 other antibiotics. J. Antimicrobial. Chemother. 53(6): 1090-1094. (2004).

[31] Battikhi, M.N. and Ammar, S.I. Otitis externa infection in Jordan. Clinical and microbiological features. Saudi. Med. J. 25 (9): 1199-1203. (2004).

[32] Stephen, M. D. Technical Report: Urinary tract infection in febrile infant and young children. Pediatrics. 103 (4): 54.60. (1999).

[33] البياتي، سروى عزيز خالد. دراسة بكتريولوجية ووراثية لأنواع بكتريا Proteus spp. المسببة لاخماج المسالك البولية في منطقة تكريت. رسالة ماجستير. جامعة تكريت – كلية العلوم. (2010).

[34] الكعبي، سهام جاسم؛ مطرود، انعام جواد. تأثير

Segatore.,Maria, Rosaria, Maria, Letizia, Ciro, B., Alessandro, Z.Gian, M., and Gianfranco, A., TEM-72, a New Extended-spectrum B-Lactamase detected in Proteus mirabiis and Morganella morgani in Italy, J. Antimicrobial Agent and Chemotherapy(44); 2537- 2539. (2000).

[23] Gaspari, R. and Bosker, G. Urinary tract infection: Risk stratification, Clinical evaluation and Evidence-Based antibiotic therapy. From Primary Care Consensus Reports. (2003).

[24] Kee, T. Infection caused by ESBL- Producing organisms in neonatal. Pediatr. Infect. Dis. 25(9): 24-26. (2001).

[25] AL-Jebouri, K.K.W. Astudy on antibiotic resistant bacteria isolated from patients with urinary tract infection M.S.C. Thesis college of Science Baghdad University. Baghdad. Iraq. (2001).

[26] Kareem. I. J. A study of pathogenesis of Proteus mirabilis isolated from human urinary tract infection by tissue culture technique and laboratory animals. M.S.C in biotechnology. Thesis of university of Baghdad Iraq. (2001).

[27] Swierzko, S; Kirikae, T.; Kirikae, F.; Hirata, M.; Cedzynsk,M.; Zioliowski, A.; Hirai, Y.; Kusumoto, S.; Yokochi, T. and Nakano, M. Biological activties of lipopolysaccharides of Proteus spp. and their interactions with polymyxin B and an 18:KDa cationic antimicrobial Protein

اليوريا والايثانول على ظاهرة الإنثيال في عزلة محليـــة لبكتريا Proteus mirabilis.مجلـــة جـامعة ذي قار العلمية. 9-1 (2):7. (2012).

[35] الطائـي، هـادي رحمن رشـيد. دراسـة بكتريولوجية وكيموحيويـة وجزيئيـة لبكتريـا Proteus mirabilis المعزولـة مـن إلتهابات المجـاري البوليـة في بعض مستشـفيات بغـداد. رسـالة دكتـوراه، كليـة العلـوم، الجامعة المستنصرية. (2005).

[36] Walter, J.B. & Talbot, I. C. Walter and Talbot General Pathology. 17th. ed., Churchill Livingstone, Medical Division of Pearson Professional Limited. (1996).

[37] Guyer, D. M.; Gunther, N. W.and Mobley, H. L. T. and Secreted proteins and other features specific to Uropathogenic E. coli. Journal of Infectious Diseases. 183 (1) : 532 – 534. (2001).

[38] Bodur, H.; Colpan, A.; Gozukucuk, R.; Akinci, E.; Cevik, M.A. and Balaban, N. Venous sinus thrombosis after Proteus vulgaris meningitis and Concomitant Clostridium Abscess formation. Scan .J. Infec. Dis . 34(9): 694-696. (2002).

[39] Lawson, A. J.; Chart, H.; Dassama, M. U. and Threlfall, E. J. Heterogencity in expression of lipopolysaccharide by strains of Salmonella enterica serotype typhimurium definitive phage type 104 and related phage types. Lett. Appl. Microbiol. 34: 428-32. (2002).

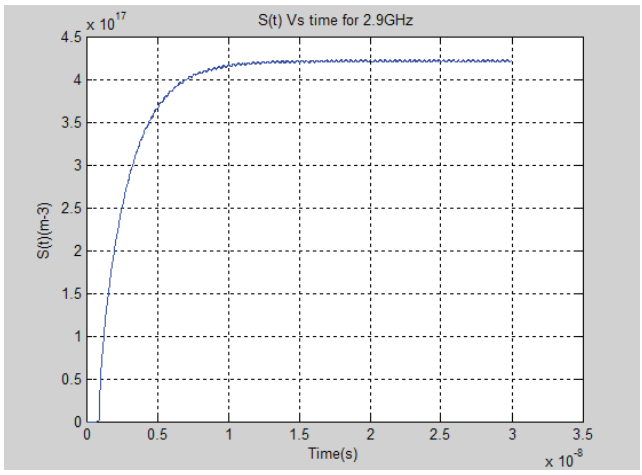
[40] Oliveira, R.: Azeredo, J.; Teixeira, P. and Fonseca, A.P. The Role of Hydrophobic-ity in bacterial adhesion. Bioline Pp11-22. (2001).

[41] Obuekwe, C. O.; Al-Jadi, Z. K. and Al-Saleh, E. S. Sequential hydrophobic of cell pseudomonas aeroginosa gives rise to variants of increasing cell surface hydrophobicity FEMS Microbiology letter .270(2):214-221. (2007).

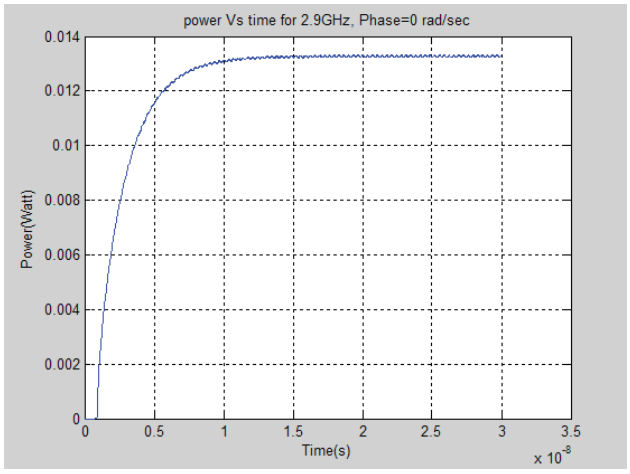
[42] Wibawan, I. T.; Lammler, C. and Pasaribu, F. H. Role of hydrophobic surface proteins in mediating adherence of group B Streptococci to epithelial cells. J. General Microbiol. ,138(6):1237-1242. (1992).

[43] Kustos, T;Kustos, I; Kilár, F. Rappai, G. and Kocsis, B.Effect of antibiotics on cell surface hydrophobicity of bacteria causing orthopedic wound infections.49:237-242. (2003).

[44] Kim, H.N; Hong,Y.; Lee, I.; Bradford, S.A. and Walker, S.L. Surface Characteristics and Adhesion Behavior of Escherichia coli O157:H7: Role of Extracellular Macromolecules.10(9):2556-2564. (2009).




(c)




(d)

**Fig.(3): outputs from SCL with modulation frequency of (2.9)GHz and phase of (0)rad/sec (with optical feedback)**

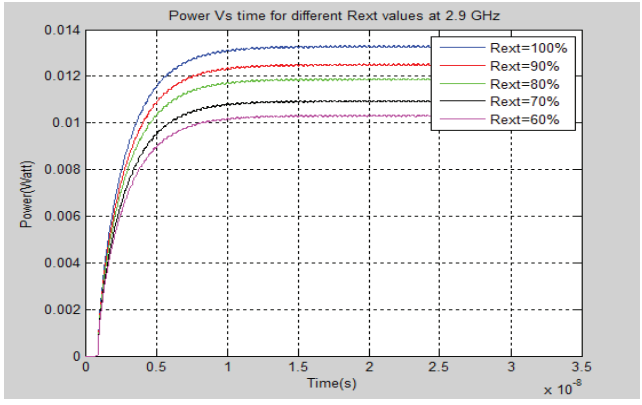



**Fig.(4): Semiconductor laser output for different values of reflectivity $R_{ext}$ Rext**

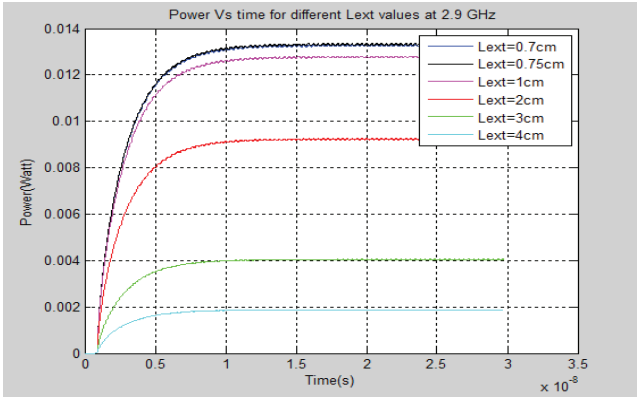



**Fig.(5): Photon density as function of time for different external cavity length**

Williamsburg, Virginia April (2003).

[6] K. Petermann, "LASER DIODE MODULATION AND NOISE". Advances in optoelectronics. Tokyo (1988).

[7] A. Bakry, F. Koyama, M. Ahmed, M. S. Alghamdi and R. Altuwirqi, "Intensity noise in ultra-high frequency modulated semiconductor laser with strong feedback and its influence on noise Fig. of RoF links", J. Europ. Opt. Soc. Rap. Public. 8, 13064 (2013).

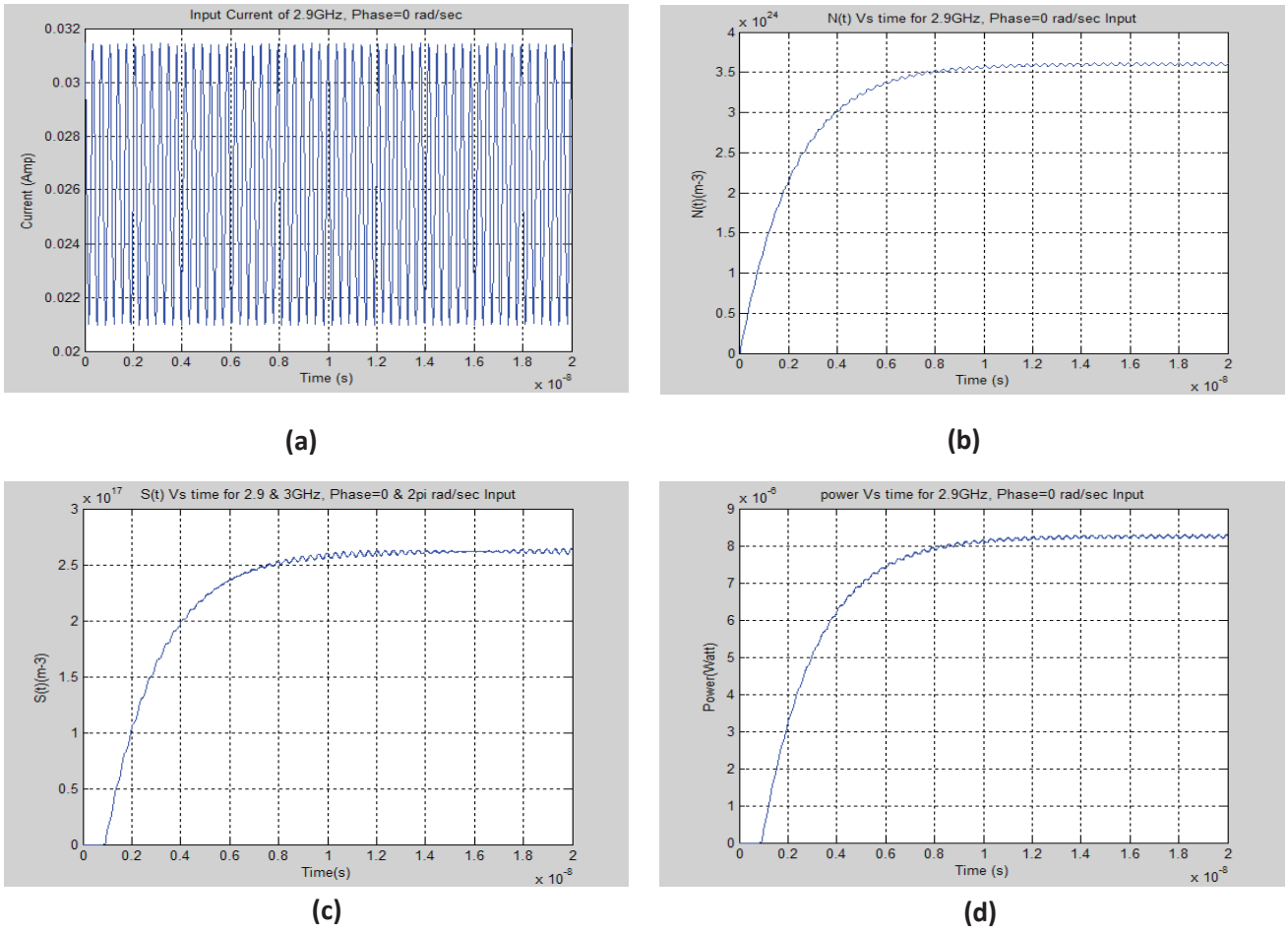
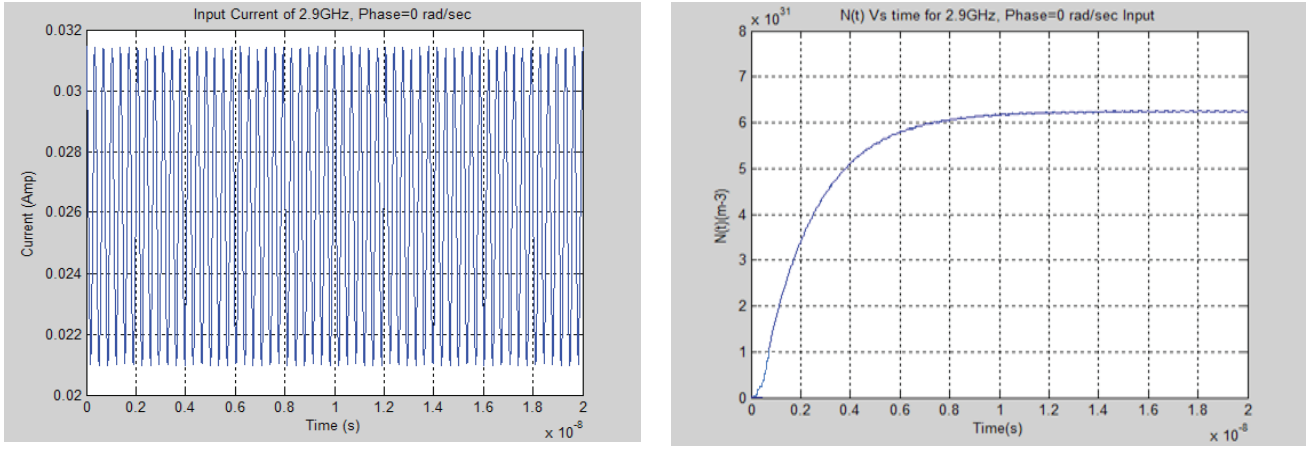



**Fig.(2): outputs at modulation frequency of (2.9)GHz and phase of (0)rad/sec (without optical feedback)**



tion between current and time with modulation frequency (2.9)GHz. Fig. (3b) represents the relation between carrier density and time with one modulation frequency of (2.9) GHz and phase of 0rad/sec. When the current is injected in the cavity, the carrier numbers become to operate and the carrier numbers are increased, while the compression and relaxation are reduced due to the effect of optical feedback. Fig. (3c) represents the relation between photon density and time with one modulation frequency of (2.9) GHz and phase of (0)rad/sec. It can be seen that the injected current reaches its threshold value, the photon numbers become to operate. The photon numbers are increased and the compression and relaxation are reduced due to the effect of optical feedback.

Fig. (3d) represents the relation between output power and time with one modulation frequency of (2.9) GHz and phase of (0) rad/sec. The output power of SCL is increased and the noise is decreased with using optical external feedback (External Mirror). In all these figures the compression and relaxation has been reduced due to the effect of optical feedback and the noise decreased using optical external feedback (External Mirror).

Fig. (4) represents the relation between output power and time for different values of external mirror reflectivities. It can be seen that as the mirror reflectivity increased the optical power was increased and the maximum output power can be obtained with R=100%.

Fig. (5) represents the relation between photon density and time at a modulation frequency of (2.9)GHz and phase of (0)rad/sec for different external cavity lengths. It can be seen that as the external length decreased the photon density increased and the maximum output power was obtained at an external length of (0.7-0.75)cm.

## 4. Conclusion

In conclusion, the dynamical behavior of directly modulated semiconductor laser utilizing optical feedback has been simulated numerically using MATLAB software . The results show that the effects of diode lasers can be performed depending on a number of parameters: the amount of feedback, the facet reflectance, the pumping rate, and the distance between laser cavity and the optical external cavity. The effect of external mirror reflectivity on the output power has been studied and it's found that as the reflectivity increased the output power was increased. Also the effect of distance between semiconductor laser cavity and optical external cavity has been studied and the maximum output power has been obtained at an external length of (0.7- 0.75) cm.

## References

[1] NADER. A. NADERI, "EXTERNAL CONTROL OF SEMICONDUCTOR NANOSTRUCTURE LASERS", Engineering, University of New Mexico. July, (2011).

[2] Sheng-Kwang Hwang, "Modulation and Dynamical Characteristics of High Speed Semiconductor Laser Subject to Optical Injection". University of California. Los Angeles (2003).

[3] Fnu Traptilisa. "Characterization and development of an extended cavity tunable laser diode". San Jose State University, (2014).

[4] Deb M. Kane and Jon S. Lawrence, "Nonlinear Dynamics of a Laser Diode with Optical Feedback Systems Subject to Modulation". IEEE journal of quantum electronics, Vol. 38, No. 2, FEBRUARY (2002).

[5] Matthew Charles Schu, "External Cavity Diode Lasers Controlling Laser Output via Optical Feedback",

rier density, g0is the differential gain, ε is the gain suppression factor, and β is the probability of spontaneous emission of a photon.

By adding the external cavity factors such as G, $\tau_L\ \tau_L$, $\tau_{ext}\tau_{ext}$, $R_{ext}R_{ext}$, $L_{ext}L_{ext}$, $K_{ext}K_{ext}$, $R_{sp}R_{sp}$, $K_{tot}$ and $R_{sp}R_{sp}$ in the rate equations (RE) model, the RE model can be expressed as [6]:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{S}{\tau_P}(G-1) + K_{tot}R_{sp} + \frac{S}{\tau_L}K_{ext}\sqrt{S(t)S(t-\tau_{ext})}\cos(\omega_0\tau_{ext} + \phi(t) - \phi(t-\tau_{ext})) + F_S(t) \quad \ldots (3)$$

$$\frac{dN}{dt} = \frac{I(t)-I_{th}}{qV} - \frac{1}{\tau_C}(N-N_0) - \frac{GS}{V\tau_P} + F_S(t) \ldots (4)$$

where G is normalized gain, $\tau_L\ \tau_L$ is laser cavity round trip time in (ps), $F_s(t)F_s(t)$is Langevin noise, $R_{sp}R_{sp}$ is spontaneous emission rate, $K_{tot}\ K_{tot}$ is the spontaneous emission enhancement factor accounting for the finite mirror reflectivities and the lateral wave guiding and $\tau_{ext}\tau_{ext}$ is external round-trip delay which is expressed as:

$$\tau_{ext} = \frac{2L_{ext}}{C} \quad \ldots (5)$$

Where $L_{ext}L_{ext}$ is the distance between laser cavity and external cavity. $K_{ext}K_{ext}$ is coupling coefficient between external cavity and laser cavity which is expressed as [7]:

$$K_{ext} = (1-R_1)\sqrt{\eta\frac{R_{ext}}{R_2}} \quad \ldots (6)$$

Where $R_{ext}R_{ext}$ is reflectivity of external mirror and $R_1R_1$ is facet reflectivity of mirror one.

## 3. Results and Discussions

The rate equations (1) and (2) has been solved numerically using MATLAB software to track the net fluctuations in both carrier density $N(t)$ and photon density $S(t)$ which are supplied by the injected current $I(t)$ and stimulated emission. Fig. (2a) represents the relation between current and time with modulation frequency (2.9)GHz, in this Fig. there is a compression and relaxation which are increased with increasing modulation frequencies due to the interaction occurs within modulation frequencies. Fig. (2b) represents the relation between carrier density and time. When the current injected in the cavity, the carriers become to operate and increase with time, so there is a compression and relaxation due to the presence of the noise in semiconductor laser. Fig. (2c) represents the relation between photon density and time with modulation frequency of (2.9)GHz and phase of (0)rad/sec. When the current injected in the cavity, the carriers become to operate and increase with time. It can be seen that the injected current reaches its threshold value and the photons becomes to operate with some of compression and relaxation due to the presence of noise in semiconductor laser, and the interaction occurring within modulation frequencies and Fig. (2d) represents the relation between power and time for one modulation frequency of (2.9)GHz and phase of (0)rad/sec. The output of semiconductor laser is increased with time above threshold.

It can be seen that as the injected current increased, the carriers became to operate and increased with time. Until the current reach its threshold value the photons became to operate and increased with time above threshold so the output power increased with time. In all these Figures there is some compression and relaxation due to the presence of some noise in SCL and the interaction occurring within modulation frequencies. To enhance the performance of SCL, an external mirror (optical feedback) has been used to reduce these noise. Fig. (3a) represents the rela-

## 1. Introduction

Directly-modulated semiconductor lasers have become one of the most efficient candidates for high-speed communication in microwave frequencies because of their compactness and relatively low fabrication cost [1]. Direct modulation involves changing the current input around the bias level above threshold [1].High speed direct modulated semiconductor laser has potential application in digital and analog transmission links. The nonlinearity occurred at a frequency less than (1) GHz for a high-frequency modulation application, the nonlinear interaction between electrons and photons in the laser cavity is the main cause for nonlinear distortion [2]. To overcome these distortions, optical feedback technique (External Mirror) can be used. External cavity diode laser system consists primarily of a semiconductor diode laser with two anti-reflections coated and a collimator for coupling the output of the diode laser, and an external mirror [3]. The mechanism of the external mirror (optical feedback) is shown in Fig. (1).

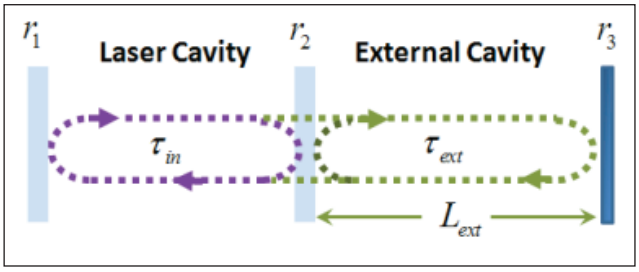



**Fig.(1) Schematic of the laser diode with external mirror optical feedback [4].**

The process of optical feedback can be done when the reflection part of the rays that falls on the mirror is reflected back to the laser cavity. In this work a numerical model for semiconductor laser diode that predicts laser performance in high-speed optical interconnects applications has been used. The model is based on the temporal numerical simulation of the rate equation for semiconductor laser diodes. The popular MATLAB package has been used to simulate the dynamic behavior of carrier and photon density with and without the effect of external optical feedback.

In this work, the dynamical behavior of directly semiconductor laser has been studied and the rate equations have been solved numerically using MATLAB software package. The parameters that performed the behavior of semiconductor laser namely: the amount of feedback, the facet reflectance, the pumping rate, and the distance between laser cavity and the external cavity have been examined to enhance the characteristics of the semiconductor laser.

## 2. Theoretical Model

The numerical model introduced in this paper is based on the semiconductor laser diode rate equations [5]. This set of two differential equations can describe the temporal interaction of the carrier density N(t) and the photon density S(t) within the laser cavity. It reveals that an injection current can cause stimulated photon emission. The operation of a single mode laser can be described by:

$$\frac{dS}{dt} = \left[\Gamma g_o (N - N_1)(1 - \varepsilon S) - \frac{1}{\tau_P}\right] S + \frac{\beta N}{\tau_C} \quad \ldots(1)$$

$$\frac{dN}{dt} = \frac{I(t)}{q V} - \frac{N}{\tau_C} - g_o (N - N_1)(1 - \varepsilon S) \quad \ldots(2)$$

Where, the variable parameters, N is the density of carrier, S the density of photon, I(t) the injection current. The constant parameters, Γ is the confinement factor, τc is the carrier lifetime, τP is the photon lifetime, N1is the transparent car-

## Abstract

In this work, dynamical behavior of directly modulated semiconductor laser utilizing optical feedback has been simulated using MATLAB software package. The results show that the carrier density and photon numbers have been increased with external optical feedback (external cavity). The effect of external mirror reflectivity on the output power has been studied and it's found that as the reflectivity increased the output power was increased. Also, the effect of distance between semiconductor laser cavity and the optical external cavity has been studied and the maximum output power has been obtained at an external length of (0.7- 0.75) cm.

## Keywords

semiconductor lasers, direct modulation, optical feedback.