

عزل وتشخيص أنواع من البكتيريا اللاشائعة من أخماج مختلفة والتحري عن بعض عوامل ضراوتها

محمد نظير معروف

قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة تكريت

لؤي مناع ابراهيم الدوري

الجامعة التقنية الشمالية

(أستلم 2018/9/30 ؛ فُبل 2018/11 /1)

الملخص

جُمع (220) عينة من مصادر أخماج مختلفة من مرضى مستشفى تكريت التعليمي ومستشفى سامراء التعليمي والذين ظهرت عليهم أعراض الأصابة ومن كلا الجنسين وبفئات عمرية مختلفة للفترة ما بين شهر نيسان 2017 الى كانون الثاني 2018. أظهرت نتائج العزل أن عدد العينات التي ظهر فيها نمو بكتيري موجب على الأوساط المستخدمة هي 135 عينة بنسبة (61.4%)، في حين أن 85 عينة بنسبة (38.6%) من مجموع العينات الكلية لم تعطي نمو بكتيري يذكر، احتلت العزلات الشائعة في دراستنا العدد الأكبر من العزل النوعي بمجموع 111 عينة بنسبة (82.2%)، أما بالنسبة للعزلات اللاشائعة أظهرت 24 عينة نمو بكتيري (17.8%)، بينت النتائج ان بكتيريا *Morganella morganii* شكلت النسبة الأكبر من العزلات اللاشائعة وبواقع 3 عزلات (12.5%)، تلتها *Aerococcus urinae*، *Pseudomonas stutzeri*، *Micrococcus luteus* بعزلتين (8.2%)، أما بقية الأنواع فقد تم الحصول على عزلة واحدة فقط بنسبة (4.2%)، أوضحت النتائج إن جميع العزلات أظهرت حساسية مطلقة بلغت (100%) للمضاد Imipenem، ومقاومة مطلقة (100%) تجاه 10 مضادات، أظهرت النتائج إمتلاك كل من بكتيريا *Ochrobactrum anthropi*، *Kocuria kristinae*، لثلاثة عوامل ضراوة وهي *Urease*، *Protease*، β -lactamase، في حين إشتراك الأنواع البكتيرية *Sphingomonas paucimobilis*، *Gemella sanguinis*، *Aerococcus urinae*، *Pseudomonas fluorescens*، *Pseudomonas stutzeri*، في إنها أعطت نتيجة موجبة لأختباري إنتاج β -lactamase، بينما امتلكت *Morganella morganii*، *Alloiococcus Otitis* عاملين. *Urease*، β -lactamase، أما بالنسبة للعزلتين *Kocuria rosea*، *Pantoea agglomerans* فقد أظهرت قدرتها على إنتاج نوع واحد فقط من β -lactamase.

الكلمات الدالة: عزل ، اخماج ، بكتيريا.

Isolation and Identification of Uncommon Bacteria from Different Infections with Detection some Virulence Factors

Luai M.I. Al-Douri

Northern Technical University

Mohammed N. Maarooof

Department of Biology/ College of Education for Pure Science
University of Tikrit

ABSTRACT

A total of 220 samples were collected from different sources of infection from the patients of Tikrit Hospital and Samarra Teaching Hospital who showed symptoms of infection, both sexes and different age groups for the period from April 2017 to January 2018. The results of the isolating showed that the number of samples that showed positive bacterial growth on the used media was 135 samples (61.4%), while 85 samples (38.6%) of total samples did not produce significant

bacterial growth, The common bacteria isolates in our study were the highest number of isolates with a total of 111 samples and 82.2%, the uncommon bacterial isolates showed in 24 growth samples (17.8%). The results showed that *Morganella morganii* had the highest percentage of isolates by 3 isolates (12.5%), followed by *Aerococcus urinae*, *Pseudomonas stutzeri*, *Micrococcus luteus* with isolates (8.2%), for other species, only one isolate (4.2%) was obtained, All isolates showed an absolute sensitivity of 100% for Imipenem and 100% absolute resistance to 10 antibiotics, the results showed that both bacteria *Kocuria kristinae*, *O. anthropi*, have three virulence factors, Protease, Urease, β -lactamase, While the bacterial species *Sphingomonas paucimobilis*, *Gemella sanguinis*, *Aerococcus urinae*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas fluorescens*, gave a positive test result for the production of β -lactamase, Hemolysin, while *Morganella morganii*, *Alloicoccus Otitis* have two factor, Urease, B-lactamase. As for the isolates *Pantoea agglomerans*, *Kocuria rosea* has shown its ability to produce only one type of β -lactamase.

Keywords: Isolation, Infections, Bacteria.

المقدمة

تعرف الأخماج بأنها دخول وتضاعف الكائن الحي المجهري داخل جسم المضيف والذي يولد تفاعل معين في جسم المضيف، إن أهم الأخماج المرضية المكتسبة للإنسان داخل المستشفيات هي أخماج الجروح Wound infection وأخماج الجهاز التنفسي Respiratory tract infection، كما و تُعد الإصابة بالتهابات المسالك البولية (UTI) Urinary Tract Infection من أكثر الاصابات البكتيرية في الانسان ولكافة الفئات العمرية المختلفة (Godaly et al., 2015; Mahon et al., 2007). تعد البكتيريا من المسببات الرئيسية والمهمة لهذه الأخماج وتتنوع البكتيريا المسببة للخمج بين البكتيريا واسعة الانتشار (الشائعة) الأكثر شيوعاً *Klebsiella* ، *Pseudomonas.aeruginosa* ، *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* ، *Proteus mirabilis* ، *pneumonia* (Tortora et al., 2004 ; Haghi et al., 2004). والبكتيريا ذات التواجد الضئيل (اللائحة) مثل أنواع الجنس *Kocuria* ، *Aeromonas* (Janda and Abbott, 2010) ، *Acinetobacter* ، *Micrcoccus* ، *Citrobacter* ، والتي تمتاز بامتلاكها عوامل الضراوة المتنوعة من خلال انتاجها للذيفانات وانزيم الـ Urease ، أنزيم Protease ، والقدرة على تحلل كريات الدم من خلال إنتاج إنزيم الـ Hemolysin (Tortora et al., 2004). عرفت المضادات الحيوية بأنها مركبات عضوية تنتج بواسطة أنواع معينة من الإحياء المجهرية بصورة طبيعية أو مصنعة وتستطيع هذه المواد وبتراكيز ضئيلة قتل أو تثبيط أحياء مجهرية أخرى ،من خلال آليتين الأولى اعاقه التكامل البنائي حيث يمنع بناء الغشاء البلازمي والجدار الخلوي، والثانية البناء الأيضي مثل بناء الأحماض النووية وصناعة البروتينات المختلفة والتي تلعب دوراً رئيساً في حياة الخلية البكتيرية (Balat and Hill, 2003). تضم المضادات الحيوية مجاميع كبيرة من المضادات ومنها البيتا لاكتام وتشترك هذه المجاميع بأحتوائها على حلقة البيتا لاكتام تتفرع الى أربع مجاميع رئيسة هي الـ Penicillin، Cephalosporins، Carbapenems، Monobactams (Haghi et al., 2004). اذ تعد الأكثر استعمالاً وشيوعاً بسبب تأثيرها العالي بالقضاء على البكتيريا وقللة التأثيرات الجانبية وسميتها المنخفضة على خلايا الإنسان مقارنة مع المجاميع الأخرى (Helio et al., 2005). تعد مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية بأنتاجها لأنزيمات البيتا لاكتام وانتاجها لعوامل الضراوة من السموم وانزيمات *Protease* ، *Urease* ، وتحليلها لكريات الدم واحدة من المشاكل الصحية الرئيسية ومن أخطر الظواهر الوبائية على المجتمع البشري والتي تسبب انتشار واسع للبكتيريا، لذا هدفت دراستنا عزل الأنواع البكتيرية اللاشائعة والكشف عن قدرتها على انتاج عوامل الضراوة ومقاومتها للمضادات الحيوية للحد منها والسيطرة عليها.

المواد وطرائق العمل

جمع العينات Specimens Collection

جمعت (220) عينة من مصادر مختلفة المصابين بالـ(UTI) والجروح والتهاب الأنف والأذن والحنجرة، للفترة ما بين 2017/4/1 الى 2018/1/1 ومن كلا الجنسين بفئات عمرية مختلفة من الراقدين والمراجعين لمستشفى سامراء ومستشفى تكريت التعليمي والذين يعانون من اعراض الاخماج المختلفة. سجلت المعلومات المتعلقة بالعمر والجنس ووجود إصابات سابقة بالخمج وتناول المضادات الحيوية لكل مريض على حدة .

تشخيص العزلات البكتيرية Bacterial identification

الفحص المجهرى Microscopic examination

أخذت مسحة من مستعمرات كل مزرعة بكتيرية ومزجت مع قطرة من الماء المقطر الموضوعه على شريحة زجاجية وصبغت بصبغة كرام Gram stain ثم فُحصت بالمجهر الضوئي باستخدام العدسة الزيتية بقوة تكبير نهائي X100 لملاحظة استجابة الخلايا للصبغة وشكلها وترتيبها.

الأختبارات الكيموحيوية: (Forbes et al., 2002; Koneman et al., 1997).

1 - مجموعة اختبارات الـ IMViC .

أ. اختبار إنتاج الاندول Indole Production Test .

ب- اختبار المثلث الاحمر (M.R.) Methyl Red Test .

ج - اختبار فوكس بروسكور (V.P.) Voges-Proskaur Test .

د- اختبار استهلاك السترات Citrate Utilization Test .

2 - اختبار الكاتاليز Catalase test .

3 - اختبار الاوكسيديز Oxidase test .

4- اختبار تخمر المانيتول Mannitol fermentation test .

تأكيد التشخيص باستخدام جهاز Vitek 2 compact system

استخدم هذا الجهاز في تأكيد تشخيص العزلات بعد تشخيصها في الطرق الاعتيادية، إذ يستخدم لتشخيص اغلب انواع البكتريا من خلال عدد تشخيصية خاصة بالجهاز، تحتوي هذه التشخيص على 47 حفرة تلقح بمعلق بكتيري بعمر 24 ساعة ويحضان لمدة 24 ساعة ويسجل الجهاز التغيرات اللونية الحاصلة نتيجة لنمو البكتريا.

فحص الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic sensitivity test

اجري اختبار الحساسية باستعمال (20) نوعا من المضادات الحيوية على العزلات البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة كرام قيد الدراسة بطريقة الانتشار بالإقراص على وسط مولر-هنتون وبحسب طريقة (Kirby-bauer, method) المعدلة والموصوفة من قبل منظمة الصحة العالمية (Vandepitte et al., 2003).

التحري عن انتاج عوامل الضراوة

أختبرت قدرة العزلات اللاشائعة على تحليل كريات الدم الحمراء واليوريا وتحليل البروتينات والمقاومة للمضادات الحيوية باستخدام الأختبارات (Atlas and Synder, 2013 & Macfaddin, 2000):

1 - اختبار إنتاج إنزيم اليوريز Urease test .

2 - اختبار انتاج انزيم البيتالاكتاميز β - Lactamase production test .

3 - اختبار إنتاج الهيموليسين Hemolysin production test .

4 - اختبار انتاج البروتيز Alkaline protease test.

العزل والتشخيص Isolation and Identification

أظهرت النتائج بأن عدد العينات التي ظهر فيها نمو بكتيري موجب على الأوساط المستخدمة هي 135 عينة أي بنسبة (61.4%) من مجموع العينات للمرضى المصابين بالأخماج المختلفة، في حين أن 85 عينة بنسبة (38.6%) من مجموع العينات الكلية لم تعطي نمو بكتيري يذكر، هذه النتيجة مقارنة مع النتائج التي حصل عليها (2015) Al Jomard في دراسته لأخماج الجروح والجهاز التنفسي والمسالك البولية في كركوك الذي وجد أن النتيجة الموجبة للنمو هي (62.22%) وعدم وجود نمو لـ 68 عزلة بنسبة (37.77%). وقد احتلت العزلات الشائعة في دراستنا العدد الأكبر من العزل النوعي بمجموع 111 عينة وبنسبة (82.2%)، أما بالنسبة للعزلات اللاشائعة أظهرت 24 عينة نمو بكتيري (17.8%)، وهي تتطابق مع ماتوصل اليه الباحث Faraj، (2017) بحصوله على 23 عزلة من البكتريا اللاشائعة المشابهة لأنواع عزلات دراستنا من بين 286 عزلة.

شخصت العزلات النامية بالاعتماد على الفحوصات المجهرية والمظهرية والأختبارات الكيموحيوية، (الجدول 1) وجهاز الـ Vitek2، حيث اظهرت نتائج التشخيص الأختلاف في أنواع البكتريا المعزولة وأعدادها ونسبها وكما مبين في (الجدول 2).

الجدول 1: الأختبارات الكيموحيوية للبكتريا اللاشائعة المعزولة من عينات سريرية مختلفة.

الأختبارات الكيموحيوية							البكتريا اللاشائعة
Simmons Citrate	Methyl Red	Voges Proskaur	Indole	Lactose fermentation	Oxidase	Catalase	
+	+	-	-	+	-	+	<i>Citrobacter freundii</i>
+	+	-	+	+	-	+	<i>Citrobacter koseri</i>
+	-	-	-	-	-	+	<i>Acinobacter calcoaceticus</i>
+	-	-	-	-	-	+	<i>Acinobacter baumannii</i>
-	-	-	-	-	-	+	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
-	+	-	+	-	-	+	<i>Morganella morgani</i>
+	-	-	-	+	-	+	<i>Enterobacter ludwigii</i>
-	+	+	+	-	+	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
-	+	-	+	-	+	+	<i>Aeromonas salmonicida</i>
+	-	+	-	-	-	+	<i>Pantoea agglomerans</i>
-	-	-	-	-	+	+	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
-	-	-	-	-	+	+	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
					+	+	<i>Kocuria rosea</i>
					+	+	<i>Kocuria kristinae</i>
					+	+	<i>Micrococcus luteus</i>
					-	+	<i>Alloiococcus otitis</i>
					-	-	<i>Gemella sanguinis</i>
					-	-	<i>Streptococcus sobrinus</i>
					-	-	<i>Aerococcus urinae</i>

الجدول 2: الأنواع البكتيرية اللاشائعة المعزولة ونسبها المئوية.

النسبة المئوية للعزل النوعي **	النسبة المئوية للعزل الإجمالي *	عدد العزلات	مصدر العزل	عزلات البكتيريا اللاشائعة
4.2	0.45	1	الإدرار	<i>Citrobacter freundii</i>
4.2	0.45	1	الإدرار	<i>Citrobacter koseri</i>
4.2	0.45	1	الإدرار	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
4.2	0.45	1	الجروح	<i>Acinetobacter baumannii</i>
4.2	0.45	1	الإدرار	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
12.4	1.36	3	الإدرار الجروح	<i>Morganella morganii</i>
4.2	0.45	1	الإدرار	<i>Enterobacter ludwigii</i>
4.2	0.45	1	القشع	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
8.2	0.91	2	الإدرار	<i>Aerococcus urinae</i>
4.2	0.45	1	الإدرار	<i>Pantoea agglomerans</i>
4.2	0.45	1	الإدرار	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
8.2	0.91	2	الإدرار والجروح	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
4.2	0.45	1	الإدرار	<i>Kocuria rosea</i>
4.2	0.45	1	الإدرار	<i>Kocuria kristinae</i>
8.2	0.91	2	الإدرار	<i>Micrococcus luteus</i>
4.2	0.45	1	الجروح	<i>Aeromonas salmonicida</i>
4.2	0.45	1	الجروح	<i>Alloiococcus otitis</i>
4.2	0.45	1	الإدرار	<i>Gemella sanguinis</i>
4.2	0.45	1	الإدرار	<i>Streptococcus sobrinus</i>
%100		24		المجموع

أظهرت النتائج أن بكتيريا *Morganella morganii* شكلت النسبة الأكبر من العزلات المتحصل عليها ويواقع 3 عزلات (12.5%)، عند الفحص المجهرى وجدت بشكل عصيات قصيرة مائلة الى الشكل الكروي سالبة لصبغة كرام، ان هذه النتائج جاءت متقاربة لنتائج ماتوصل اليه الباحثان (Auda and Al-Grawi، 2009) بحصولهم على عزلتين من بين 220 عذلة في دراستهم المحلية في مدينة بغداد، في حين اختلفت النتائج بشكل كبير مع الدراسة العالمية التي قام بها الباحث Chen وآخرون (2012) بحصوله على 1219 عذلة من النوع البكتيري *Morganella morganii* من أخماج الجروح والمسالك البولية في

مستشفيات تايلند وللفترة من 2007-2011 إن سبب هذا الاختلاف قد يعزى للموقع الجغرافي لمنطقة العزل أو اختلاف الظروف البيئية.

كما وجدت عزلة واحدة لبكتريا *Citrobacter koseri* وبنسبة (4.2%) من أحد المصابين بالتهاب المسالك البولية وإنها مخمرة للاكتوز على الوسط الزراعي، سالبة لكرام عند الفحص المجهرى، كما يوضح (الجدول 2) ظهور عزلة وحيدة وبنسبة (4.2%) تابعة للنوع *Citrobacter freundii* مخمرة للاكتوز على وسط الماكونكي MacConkey agar ذات مستعمرات صغيرة ومشابهة في نتائج الاختبارات الكيموحيوية للنوع *Citrobacter koseri* ما عدا انها سالبة لأختبار الأندول. تقاربت هذه النتائج مع دراسة الباحث Baral et al. (2012) في النيبال بحصولهم على 5 عزلات تتبع الجنس *Citrobacter spp* اثنان تعود للنوع *Citrobacter koseri* و 3 عزلات عائدة للنوع *Citrobacter freundii* من مجموع 219 عزلة للمصابين بالUTI.

كما يشير (الجدول 2) الى أعداد ونسب عزلات بكتريا *Pseudo.stutzeri* وبواقع عزلتين وبنسبة (8.2%) من مجموع العزلات اللاشائعة، ظهرت بشكل عصيات سالبة لكرام تحت المجهر وغير مخمرة لسكر اللاكتوز على الـ MacConkey agar أما على وسط الـ Nutrient agar فكانت مستعمراتها صغيرة ومتراصة مع بعضها البعض بشكل كبير، خشنة، جافة، غير منتجة للصبغات تكون ذات لون أبيض شفاف لكلا العزلتين، موجبة لأختباري الكاتليز والأوكسيديز، وعند تشخيصها بجهاز الـ Vitek وجد عدم إمتلاكها للـ β -galactosidase واحتمالية التشخيص كانت 98% و 99% على التوالي للعزلتين. إقتربت الدراسة الحالية مع الباحث Park وآخرون (2013) عند دراستهم لتلوث القناطر والمسالك البولية حيث تحصلوا على 191 عزلة تتبع الجنس *Pseudomonas* وكانت نسبة 8% من نصيب النوع *Pseudo.stutzeri*.

كما أظهرت النتائج وجود عزلة واحدة وبنسبة (4.2%) تعود الى النوع *Pseudo.fluorescens*، تم عزلها من القشع، كانت سالبة لكرام عند فحصها مجهرياً وبشكل عصيات واضحة، وغير مخمرة للاكتوز، موجبة للأوكسيديز والكاتليز، أن الدراسات العديدة المحلية والعالمية التي قام بها الباحثين بينت إختلاف مع دراستنا من ناحية مصدر العزل الخمجي، حيث أشارت الدراسة المحلية في محافظة ذي قار للباحث (Abas and Salih 2014) الى حصولهم على عزلة واحدة من *Pseudo.fluorescens* معزولة من الجروح، وكذلك الدراسة التي قام بها كل من (Ghane and Azimi 2014) بحصولهم على عزلة واحدة لنفس النوع عزلت من الجلد الخارجي لأحد المرضى الراقدين في مستشفيات إيران.

كما أشارت النتائج وجود عزلة وحيدة للنوع *Ochrobactrum anthropi* بواقع (4.2%) من العزل النوعي وجدت بشكل عصيات سالبة عند التصبيغ والفحص تحت المجهر الضوئي، ذات تحذب منخفض، ملساء، مستعمراتها دائرية صغيرة الحجم على الوسط المغذي وغير منتجة للصبغات، تقاربت هذه النتائج نسبياً مع الدراسة المحلية التي قامت بها الباحثة العبيدي (2017) في محافظة صلاح الدين بدراستها لمسببات التهاب المسالك البولية لدى الحوامل بحصولها على نسبة (6.5%).

كما تم الحصول على عزلتين تابعة للجنس *Acinetobacter* لنوعين من هذا الجنس وهما عزلة للنوع *Acinetobacter baumanii* وبنسبة (4.2%) عزلت من الجروح وعزلة أخرى تابعة للنوع *Acinetobacter calcoaceticus* بنفس نسبة العزل عزلت من الأدرار، حيث أظهرت هذه العزلتان تشابه كلي بالصفات التي تحملها من ناحية ظهورها بشكل عصوي مائل للكروي سالبة لصبغة كرام تحت المجهر، إن تشابه الصفات بين النوعين يصعب على الباحث تشخيصها بدقة ولكن يمكن تشخيصها بواسطة الـ Vitek أو بالأعتماد على التشخيص الوراثي الجزيئي.

أظهرت النتائج الحصول على عزلة واحدة من بكتريا *Sphingomonas paucimobilis* وبنسبة (4.2%)، ظهرت بشكل عصيات وعند التصبيغ كانت سالبة لكرام، موجبة لأختبار الكاتليز وسالبة للأوكسيديز ولأختبارات الكيموحيوية، توافقت دراستنا مع الدراسة العالمية للباحث (Krishna et al. 2011) في الهند والذي حصل على عزلة واحدة من *Sphingomonas*

paucimobilis من أحد المرضى الذي قام بزرع الكلية. في حين اختلفت مع الباحث (Kumar, 2015) بحصوله على نسبة فاقت الـ(20%) لعزل هذا النوع من التهاب المسالك البولية.

كذلك تم الحصول على عزلة واحدة بواقع نسبة عزل (4.2%) تابعة لبكتريا *Enterobacter ludwigii* وهذا يتطابق مع مذكره الباحث (Tuama, 2006) في دراسته المحلية التي أجراها في كربلاء على الأطفال حيث حصل على عزلة واحدة من هذا النوع قام بعزلها من التهاب المسالك البولية، كما أظهرت نتائج العزل من المصابين بالتهاب الجروح Wound infection الحصول على عزلة تابعة للنوع *Aeromonas salmonicida* بنسبة (4.2%) والتي تشير البحوث بأنها غير ممرضة للإنسان، أظهرت تشابهه في قدرتها على النمو بدرجة حرارة محصورة بين 22-37 م° ولم تكون الصبغات حتى بعد نموها على الأكار لمدة 72 ساعة وأكثر، كما أظهرت الأختبارات الكيموحيوية موجبة لأختبار الأندول والمثيل الأحمر، وموجبة لأختباري الأوكسيديز، والكتاليز، وهذا ماتم تأكيده عند إعادة تشخيص العزلة بجهاز Vitek. تطابقت النتيجة المتحصل عليها مع دراسة الباحثان سلمان وحسين (2015) عند حصولهم على 17 عزلة تتبع الجنس *Aeromonas* واحدة فقط من هذه العزلات تابعة للنوع *Aeromonas salmonicida* عزلت من الجروح في دراستهم لأخماج مختلفة في مستشفيات مدينة الديوانية وبأستخدام جهاز Vitek، فيما أشارت دراسة أخرى قامت بها الباحثة العبيدي (2017) الى إمكانية عزلها من مصدر آخر غير الجروح حيث حصلت على 3 عزلات مصدرها التهاب عنق الرحم.

كما تم الحصول على عزلة واحدة وبواقع (4.2%) من بكتريا *Pantoea agglomerans* تابعة لأحد المرضى الأطفال المصابين بالتهاب المسالك البولية (UTI)، كانت موجبة لأختبار الـ Catalase وسالبة للأوكسيديز Oxidase، وأظهرت الأختبارات الكيموحيوية ايجابية للسترات والفوكس بروسكر، وكما جاء في تقرير جهاز Vitek عند تأكيد تشخيصها وبنسبة تشخيص بلغت 99%. أشارت دراسة قام بها الباحث Cruz et al. (2007) في مستشفى Houston للأطفال في ولاية تكساس الأمريكية من خلال مراجعة سجلات تشخيص البكتريا وبأستخدام جهاز Vitek من يناير للعام 2000 الى ديسمبر 2006 وجدوا تشخيص 88 طفل مصاب بالـ *Pa. agglomerans* من مصادر مختلفة عزلتين مصدرها خمج المسلك البولي وهو مقارب لما وجد في دراستنا، في حين اختلفت مع الباحث (Habsah et al. 2005) بحصوله على 18 عزلة من الأطفال الرضع الراقدين في مستشفى الأطفال بماليزيا.

كما أظهر (الجدول 2) الخاص بالبكتريا اللاشائعة ظهور عزلتين من بكتريا، *Aerococcus urinae*، عزلت من الأدرار بنسبة عزل بلغت (8.2%)، التصبيغ والفحص المجهرى أثبت إيجابيتها لصبغة كرام وظهرت بعده أشكال كروية مفردة وبشكل ازواج كروية، وسلاسل قصيرة، سالبة للأختبار الكتاليز والأوكسيديز، جاءت هذه النسبة مقارنة لما توصل اليه الباحث (2017) Faraj في دراسته المحلية بحصوله على عزلة وحيدة من الأدرار للـ *Aerococcus urinae* من بين 286 عزلة وبأستخدام جهاز Vitek في التشخيص بدقة 89%.

تميزت دراستنا بالحصول على عزلتين من الجنس البكتيري *kocuria* غير الممرضة للإنسان الا في حالات ضعف المناعة، اذ عزل من الأدرار نوعين هما عزلة للنوع *K.rosea* وعزلة للنوع *K.kristinae* بنسبة عزل بلغت (4.2%) لكل عزلة، إن العديد من البحوث التي إجريت لأنواع الجنس *kocuria* بينت إمكانية عزل أنواع هذا الجنس من أخماج مختلفة عن التهاب المسلك البولي. منها دراسة (Lai et al. 2011) حيث قام بعزلها من تجرثم الدم، والدراسة التي قام بها (Rushani et al. 2013) والذي حصل على النوع *K.rosea* من أحد الأطفال المصابين بالتهاب شغاف القلب، في حين بينت دراسة حديثة قام بها (2016) et Venkataramana al. حصوله لأول مرة على عزلة من النوع *K.rosea* معزولة من إدرار أحد المرضى البالغ من العمر 65 عام في الهند وبأستخدام تقنية Vitek بالتشخيص، كما أشار الباحث (Tewari et al. 2013) لحصوله لأول مرة على بكتريا

K.kristinae من إدرار أحد المرضى المصابين بخمج المسالك البولية والذي يبلغ من العمر 20 عام، وهذا ما يتطابق مع دراستنا حصولنا على عزلتين من المصابين بالتهاب المسالك البولية بواقع عزلة لكل نوع.

كما أشار (الجدول 2) الى أعداد ونسب عزلات بكتريا *Micrococcus luteus* وبواقع عزلتين من الأدرار وبنسبة (8.2%) من مجموع العزلات اللاشائعة، تقاربت الدراسة الحالية مع دراسة عالمية للباحث (Ayoade et al. (2011 عند حصولهم على عزلتين تابعة للنوع *Micrococcus luteus* من بين 55 عزلة معزولة من إدرار المرضى المصابين بخمج المسلك البولي في إحدى مستشفيات نيجيري، وأوجدت النتائج وجود عزلة واحدة بنسبة (4.2%) تتبع النوع *Gemella sanguinis*، أظهرت نمو بشكل مستعمرات صغيرة جداً بعد 24 ساعة من التحضين بدرجة 37°C على وسط الـ Nutrient agar وإكمل نموها بعد 48 ساعة من التحضين وكانت مستعمراتها بشكل دائري، لمساء، لونها أبيض مائل الى شفاف ولم تفرز أي صبغات تذكر.

كما تم الحصول على عزلة (4.2%) من بكتريا *Allioccoccus otitis* ظهرت موجبة لصبغة كرام كروية الشكل مترتبة بشكل أزواج ورباعيات tetrads، وعند زراعتها على الوسط المغذي إستغرقت أكثر من 72 ساعة لظهور النمو، سالبة للـ Oxidase، موجبة لأختبار الـ Catalase ومن خلاله تم تفريقها عن النوع *Streptococcus sobrinus* للتشابه الكبير بينهما عند الفحص المجهرى والمظهري لكلا النوعين، وتم تأكيد تشخيصها بالـ Vitek وبدقة بلغت 89%. تقاربت هذه النتيجة مع النتيجة المتحصل عليها في الدراسة العالمية في جنوب أفريقيا من قبل الباحث (Frank et al. (2003 عند حصوله على عزلتين من *Allioccoccus otitis* من المرضى المصابين بجروح قريبة من الأذن وتم تشخيصها وراثياً بأستخدام الـ PCR.

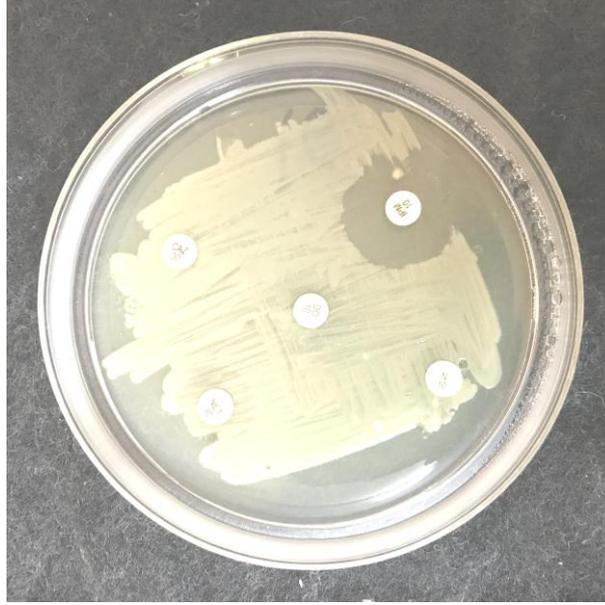
وأخيراً تم الحصول على عزله واحدة من البكتريا اللاشائعة بنسبة (4.2%) من بكتريا *Streptococcus sobrinus* كانت موجبة لصبغة كرام كروية الشكل مترتبة بشكل أزواج وسلاسل، وعند زراعتها على الوسط المغذي لوحظت مستعمرات صغيرة الحجم، لمساء، ذات لون أبيض شفاف، وسالبة لأختباري الـ Oxidase، والـ Catalase، وتم تأكيد تشخيصها بجهاز الـ Vitek وبدقة بلغت 93%. وهذا ماجاء متوافق مع دراسة (Faraj (2017 عند تشخيصه للعزلات الموجبة لصبغة كرام بجهاز الـ Vitek حيث إستطاع من الحصول على عزلة واحدة من *Streptococcus sobrinus* عزلت من عينه إدرار أحد المرضى الراقدين في مستشفى مدينة السليمانية وبدقة 89%.

الحساسية للمضادات الحيوية

أظهرت نتائج أختبار الحساسية ان جميع العزلات اللاشائعة المدروسة السالبة والموجبة لصبغة كرام مقاومة بصورة مطلقة بلغت (100%) تجاه 10 مضادات من المضادات المستخدمة وهي Cephalothin، Ampicillin/Cloxacillic، Oxacillic، Metronidazole، Piperacillin، Ceftazidime، Aztreonam، Carbenicillin، Neomycin، Rifampin، وحساسية تامة (100%) بالنسبة لمضاد واحد فقط للمضاد Imipenem، كما موضح في الصورة (1) ولجميع العزلات السالبة والموجبة.

أن العزلات المدروسة أظهرت تبايناً ملحوظاً في مدى الحساسية والمقاومة للمضادات الحيوية، حيث أظهرت عزلات الأنواع البكتيرية *Acinobacter calcoaceticus*، *Enterobacter ludwigii*، *Citrobacter freundii*، *Acinobacter*، *Aeromonas salmonicida*، *baumanii* مقاومة مطلقة لـ 19 مضاد (95%)، بينما كانت حساسة لمضاد واحد هو الـ Imipenem.

إن جنس الـ *Kocuria* المعزول بنوعين من الأدرار أظهر تقارب كبير في مقاومة المضادات الحيوية، حيث أظهر النوع *Kocuria kristinae* مقاومة إتجاه 14 (70%) مضاد وحساسية لكل من Levofloxacin، Norfloxacin، Ofloxacin، Meropenem، Doxycycline، بينما لوحظ مقاومة النوع *Kocuria rosea* إتجاه 13 (65%) وحساس بالنسبة لنفس المضادات الحيوية للنوع *Kocuria kristinae*، بالإضافة لحساسيتها للمضاد Oxytetracycline.



الصورة 1: حساسية بكتريا *E.ludwigii* للمضاد Imipenem ومقاومتها للمضادات الاخرى.

أظهرت عزلات أنواع الجنس *Pseudomonas* تشابهه اتجاه مقاومة المضادات، حيث اظهر النوع *Pseudo. fluorescens* المعزول من القشع، والنوع *Pseudo. stutzeri* المعزول من المرضى المصابين بالتهاب الجروح والتهاب المسالك البولية، مقاومة عالية إتجاه 17 مضاد بلغت (85%)، وحساسة للمضادين Doxycycline، Azithromycin . على الرغم من عزل النوع البكتيري *Morganella morganii* من مصدرين مختلفين من الأخماج الأدرار والجروح، إلا إن نتيجة فحص الحساسية للمضادات الحيوية للعزلات الثلاثة أثبتت مقاومتها لنفس المضادات وواقع 15(75%)، وحساسة إتجاه المضادات Doxycycline، Ofloxacin، Norfloxacin، Levofloxacin.

كما أظهرت عزلتا بكتريا *Micrococcus luteus* المعزولتين من إدرار المصابين بالمسالك البولية تشابهاً ملحوظاً حيث وجدت مقاومة لـ 16(80%) نوع من المضادات، وحساسة إتجاه كل من Doxycycline، Ofloxacin، Levofloxacin. بينما لوحظ مقاومة لـ 12 مضاد حيوي فقط بنسبة (60%) من قبل عزلي النوع *Aerococcus urinae* المعزولة من الأدرار أيضاً، بينما أظهرت تأثرها بالمضادات Doxycycline، Ofloxacin، Norfloxacin، Levofloxacin بالإضافة الى Oxytetracycline، Lincomycin، Meropenem.

بينما أظهرت العزلات الأخرى من البكتريا اللاشائعة والمعزولة بواقع عزلة مفردة تباين في مقاومتها للمضادات المدروسة، حيث كان النصيب الأكبر لبكتريا *Sphingomonas paucimobilis* بمقاومتها 18(90%) مضاد حيوي وحساسة للمضاد Meropenem بالإضافة الى الـ Imipenem الذي وجدت له حساسية تامة من جميع العزلات اللاشائعة المعزولة كما ذكر سابقاً. تلتها بكتريا *Pantoea agglomerans* بنسبة مقاومة (85%) إتجاه 17 مضاد، وحساسة لأنواع Levofloxacin، Ofloxacin. كما وجدت مقاومة لـ 16 مضاد من قبل بكتريا *C.koseri* بنسبة (80%)، حيث أظهرت بكتريا *C.koseri* تأثرها بالمضادات Doxycycline، Meropenem، Ofloxacin، Lincomycin، Levofloxacin.

في حين وجد تطابق في نسبة المقاومة للمضادات والتي بلغت (75%) إتجاه 15 مضاد من قبل الأنواع البكتيرية المعزولة من الأدرار وهي *Gemella sanguinis*، *Streptococcus sobrinus* لكنها اختلفت في نوع المضاد الحيوي الحساسه له، حيث أظهرت *G.sanguinis* حساسية إتجاه Netilmicin، Levofloxacin، Oxytetracycline.

.Doxycycline. بينما أظهرت بكتريا *Strp.sobrinus* تأثرها بالمضادات Ofloxacin ، Azithromycin ، Doxycycline ، Oxytetracycline.

كما وجد عزلة واحدة تتبع النوع *Ochrobactrum anthropi* وعزلة واحدة للنوع *Alloiococcus otitis* لهما نفس شدة المقاومة بنسبة 14 (70%) للمضادات، حيث كان النوع *O.anthropi* حساس إتجاه كل من Doxycycline ، Doxycycline ، Oxytetracycline ، Ofloxacin ، Azithromycin ، Levofloxacin. وعدم قدرة بكتريا *Alloiococcus otitis* على مقاومة المضادات، Ofloxacin ، Levofloxacin ، Netilmicin ، Doxycycline ، Meropenem.

إن الدراسات البحثية التي تضمنت حساسية البكتريا اللاشائعة للمضادات الحيوية قليلة نسبياً نذكر منها، دراسة الباحث Kumar (2015) في الهند الذي إستخدم 10 مضادات لفحص مقاومة وحساسية بكتريا *Sphingomonas paucimobilis* حيث وجد نسبة مقاومة إتجاه 9 مضادات بلغت (90%) وحساسية إتجاه مضاد واحد هو Cotrimoxazole ولكنها اختلفت بكونه وجد مقاومة إتجاه المضاد Imipenem وهذا ما يتضاد مع دراستنا بحصولنا على حساسية مطلقة لنفس المضاد، كما أشار الباحثان Ghane and Azimi,(2014) في دراستهم 61 عزلة من أنواع الجنس *Pseudomonas* في شمال إيران الى وجود مقاومة للمضاد Imipenem بنسبة (10%) ومقاومة للمضادات الأخرى بنسب مختلفة Oxytetracycline (67%) ، Doxycycline (83%)، فيما توصل الباحث Park et al.,(2013) في العاصمة الكورية سيول Seoul الى إمكانية علاج النوع البكتيري *Pseudo. stutzeri* من خلال ظهور حساسية مطلقة (100%) للمضادات المستخدمة وهي Imipenem ، Levofloxacin ، Meropenem ، Piperacillin ، Aztreonam، أشار Cruz et al.,(2007) في دراستهم لبكتريا *Pantoea agglomerans* الى وجود حساسية لهذه البكتريا بنسبة (92.5%) إتجاه المضادات Meropenem ، Trimethoprim ، ampicillin ، Ofloxacin.

انتاج عوامل الضراوة

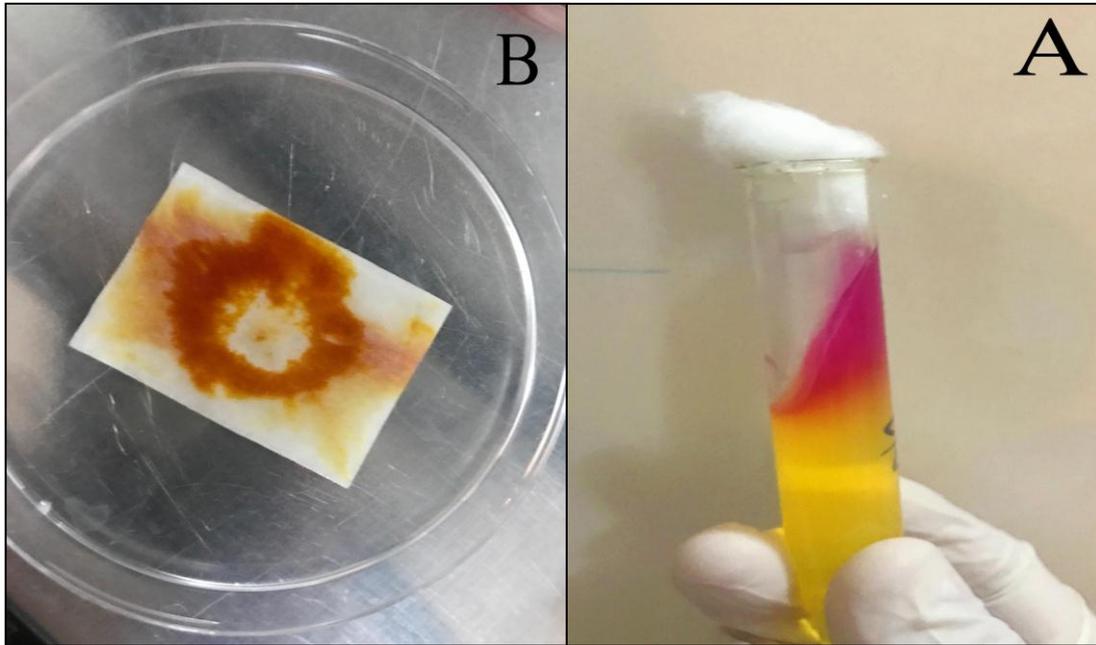
اختبرت قدرة 11 عزلة من البكتريا اللاشائعة والمعزولة من أخماج مختلفة على إنتاج 4 عوامل ضراوة وهي: تحليل كريات الدم الحمراء من خلال إنتاج إنزيم الهيمولاسين Hemolysin enzyme، إنزيم اليوريا Urease ، تحليل البروتينات بواسطة إفرازها لأنزيم Protease ومقاومتها للمضادات الحيوية من خلال تشفيرها لأنزيم البييتالاكتاميز β -Lactamase الذي يعمل على كسر حلقة البييتالاكتام في المضاد الحيوي وتثبيط فاعليته، وكما هو موضح بـ(الجدول 3).

الجدول 3: عوامل الضراوة للعزلات البكتيرية اللاشائعة.

عوامل الضراوة				الأنواع البكتيرية
β -lactamase	Hemolysin	Protease	Urease	
+	-	-	+	<i>Morganella morganii</i>
+	-	+	+	<i>Kocuria kristinae</i>
+	-	+	+	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
+	-	-	+	<i>Alloiococcus Otitis</i>
+	+	-	-	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
+	+	-	-	<i>Gemella sanguinis</i>
+	+	-	-	<i>Pseudomonas Fluorescens</i>
+	+	-	-	<i>Aerococcus urinae</i>

	+	+	-	-	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
	+	-	-	-	<i>Pantoea agglomerans</i>
	+	-	-	-	<i>Kocuria rosea</i>

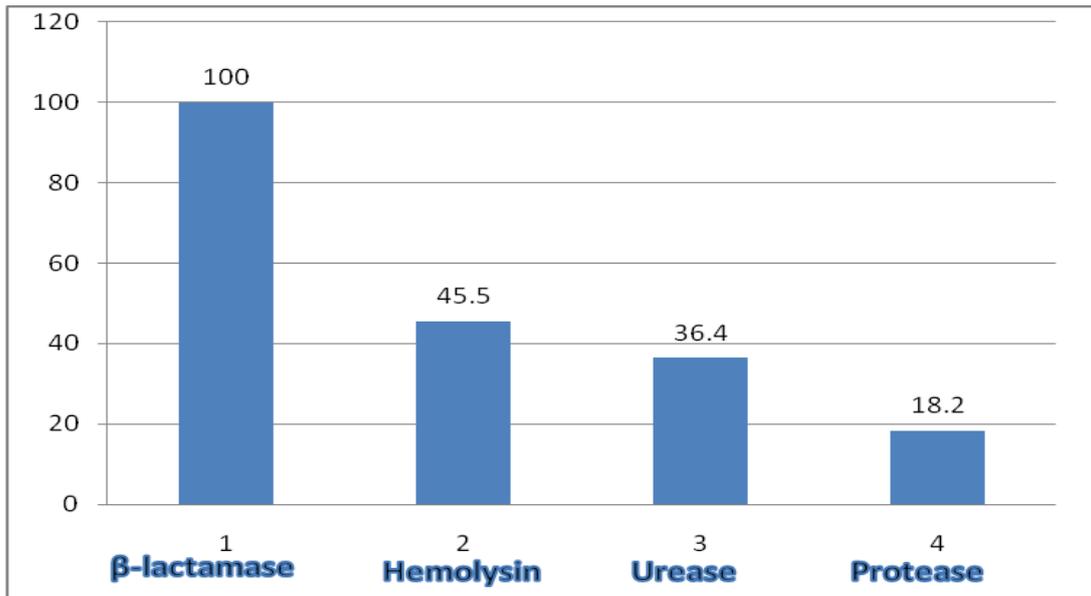
بينت النتائج للكشف عن عوامل الضراوة إمتلاك كل من بكتريا *Kocuria kristinae*، *Ochrobactrum anthropi*، لثلاثة عوامل ضراوة وهي *Protease*، β -lactamase، *Urease*، وعدم قدرة هاتين العزلتين على إنتاج الـ *Hemolysin* بينما أظهر العدد الأكبر من البكتريا اللاشائعة وبواقع 7 عزلات إيجابية لعاملين فقط من عوامل الضراوة حيث أظهرت كل من بكتريا *Morganella morganii*، *Alloiococcus Otitis* قابليتها على إنتاج الـ *Urease*، والـ β -lactamase وكما هو موضح في الصورة (2)، وسالبة لأنتاج *Protease* وتحليل الدم بواسطة الـ *Hemolysin*، وقد إشتربت الأنواع البكتيرية *Sphingomonas paucimobilis*، *Gemella sanguinis*، *Aerococcus urinae*، *Pseudomonas stutzeri*، *Pseudomonas fluorescens*، في إنها أعطت نتيجة موجبة لأختباري إنتاج الـ β -lactamase والـ *Hemolysin* من نوع التحلل الكامل بيتا- *hemolysin*، وكانت سالبة لأنتاج *Urease*، *Protease*، أما بالنسبة للعزلتين الأخيرتين *Pantoea agglomerans*، *Kocuria rosea* فقد أظهرت قدرتها على إنتاج نوع واحد فقط من عوامل الضراوة المدروسة بأيجابية للـ β -lactamase، ولم تبدي أي تفاعل إتجاه *Urease*، *Protease*، ولم تظهر أي نوع من أنواع التحلل عند زراعتها على وسط الـ *Blood agar* لعدم إحتواءها على انزيم *Hemolysin*.



الصورة 2: عوامل ضراوة بكتريا *Morganella morganii*. *Urease* (A). β -lactamase (B).

إن الكشف عن إنتاج عوامل الضراوة في البكتريا اللاشائعة قد بين إختلاف في قدرة البكتريا على إنتاج هذه الأنزيمات بأختلاف البكتريا المعزولة حيث كانت بنسب مختلفة، فقد أظهرت جميع العزلات القدرة على إنتاج انزيم β -lactamase بنسبة (100%)، بينما كانت 5 عزلات لها القدرة على إنتاج إنزيم *Hemolysin* وبنسبة بلغت (45.5%) من مجموع العزلات التي درست، تلتها 4 عزلات تمكنت من إنتاج إنزيم *Urease* بواقع (36.4%)، في حين إن عزلتين فقط أثبتت قدرتها على إنتاج الـ

Protease وبنسبة قد بلغت (18.2%) من العزلات المدروسة في قدرتها على إنتاج عوامل الضراوة، وكما هو موضح في الشكل (1).



المصادر العربية

- سلمان، صفاء منعم؛ حسين، أزهار نوري (2015). دراسة جزيئية لأنواع جرثومة *Aeromonas* المعزولة من عينات سريرية وبيئية. مجلة جامعة القادسية للعلوم الصرفة، 20(2).
- العبيدي، إيمان موفق عزيز (2017). عزل وتشخيص بعض أنواع الجراثيم من النساء المصابات بالتهابات المسالك البولية وعنق الرحم في محافظة صلاح الدين. رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة تكريت.

المصادر الأجنبية

- Abas Y.A.; Khudaier ; Salih, Y.A. (2014). Detection of Multidrug Resistant *Pseudomonas* spp. in Clinical Cases and Hospital Environments at Thi-Qar Province. *J. Edu. P. Sci.* 4.
- Al Jomard, M.M.K.(2015). Possible association between Quorum sensing Genes and Antibiotics Resistance among Isolates from different Clinical Sources master Thesis College of Science. Tikrit University.
- Andrea, T.C.; Andreea, C.C.; Coburn, H.A. (2007). *Pantoea agglomerans*, a Plant Pathogen Causing Human Disease. *J. C.Microbiology.*, 45 (6), 877-882.
- Atlas, R.M.; Snyder, J.W.(2013). "Handbook of Media for Clinical and Public Health Microbiology". New York, CRC Press. 578 p.
- Auda, J.Gh.; Al-Grawi, I.Gh. (2009). Isolation, identification, and antimicrobial susceptibility of uropathogenic *Morganella Morganii* Al- Kindy *Col Med. J.*, 5 (1),32-35.
- Ayoade, F.; Osho, A.; Fayemi, S.O.; Oyejide, N.E.; Ibikunle, A.A.(2013). Unusually high prevalence of asymptomatic bacteria among male university students on redemption . Ogun State, Nigeria. *AFR. J. Clin. Microbial.* 14(1),19-22.
- Balat, A.; Hill, L.(2003). Genitourinary abnormalities is children with urinary tract infection. *J. Med. Sci.* 29, 59-63.
- Baral1, S.N.; Bishnu, P.M.; Kashi, R.; Binod Le, G.; Basudha, S. (2012). High prevalence of multidrug resistance in Bacterial uropathogens from Kathmandu, Nepal. *BMC Research Notes* 1756-0500/5/38.
- Chen, Y.T.; Peng, H.L.; Shia, W.C.; Hsu, F.R.; Ken, C.F.; Tsao, Y.M.(2012). Whole-genome sequencing and identification of *Morganella morganii* KT pathogenicity-related genes. *BMC Genomics.*13 (7).

- Faraj, R.K.(2017) Isolation and identification of uncommon bacterial species in different clinical sample by new automated system and PCR technique using specific primers designed for their virulence factor. PhD Thesis, College of Education for Pure Sciences, Tikrit University.
- Forbes, B.A.; Sahm, D.F.; Weissfeld, A.S. (2002). "Bailey and Scott's, Diagnostic Microbiology". 11th ed. Mosby, Inc. St. Louis. USA.
- Frank, D.; Spiegelman, G.; Davis, W.; Wagner, E.; Lyons, E.; Pace, N. (2003). Culture-independent molecular analysis of microbial constituents of the healthy human outer ear. *J. Clin. Microbiol.* **41**, 295–303.
- Godaly, G.; Ines, A.; Catharina, S.(2015). Innate immunity and genetic determinants of urinary tract infection susceptibility. *J. Wal. K. Health.* **28** (1).
- Habsah, H.; Zeehaida, M.H.; Van Rostenberghe, R.; Noraida, W.I.; Wan Pauzi, I.; Fatimah, A.R. Rosliza, N.Y. Nik Sharimah, ; H. Maimunah(2005). An outbreak of *Pantoea* spp. in a neonatal intensive care unit secondary to contaminated parenteral nutrition. *J. Hosp. Infect.* **61**,213–218.
- Haghi-Ashteiiani, M.; Sadeghifard, N.; Abedini, M.; Soroush, S.; Taheri-Kalani, M. (2007) Etiology and antibacterial resistance of bacterial urinary tract infections in children's medical center, Tehran, Iran., *Acta. Medica. Iranica.* **45**(2),153-157.
- Helio, S.; Sadera, B.; Ronald, N.; Jonesa, C. (2005). Review; Antimicrobial susceptibility of uncommonly isolated non-enteric Gram negative bacilli. *Intern. J. Anti. Agents.* **25**, 95–109.
- Janda, J.M.; Abbott, S.L. (2010).The genus *Aeromonas* taxonomy, pathogenicity and infection. *Clin. Microbiol. Rev.*, **13** (23), 35-73.
- Koneman, E.W.; Allen, S.D.; Janda, W.M.; Schreckenber, P.C.; Winn, W.C. (1997). "Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology". 5th ed., J. B. Lippincott Com., Philadelphia. New York.
- Krishna, S.; Ciraj, A.; Bairy, I.; Shobha, K. (2011). *Sphingomonas paucimobilis* urinary tract infection in a renal transplant recipient: A rare case. *Int. J. Med. Public Health.* **1**,47-9.
- Lai, C.; Wang, J.; Lin, S. (2011). Catheter-related bacteraemia and infective endocarditis caused by *Kocuria* species. *Clin. Microbiol. Infect.* **17**,190–2.
- Macfaddin, J.F. (2000). Biochemical test for identification of medical bacteria. 3rd ed. The Williams and Wilkins-Baltimore USA. pp. 51-482.
- Mahon, C.R.; Lehman, D.C.; Manuselis, G.(2007). "Textbook of Diagnostic Microbiology". 3rd ed. U.S.A.
- Ghane, M.; Azimi, Z. (2014). Isolation, Identification and Antimicrobial Susceptibility of *Pseudomonas* spp. Isolated from Hospital Environment in Tonekabon, North of Iran, *J. Envi. Microbiology.* **2**(4), 97-101.
- Kumar, M. (2015). *Sphingomonas paucimobilis* urinary tract Infection in an immunocompetent patient. *Inter. J. Medi. P. Health*, **5**(2), DOI: 10.4103/2230-8598.153840.
- Rushani, D.; Kaufman, J.S.; Ionescu-Ittu, R.(2013). Infective endocarditis in children with congenital heart disease: cumulative incidence and predictors. *Circulation.* **128**,1412–9.
- Park, S.W.; Seoung, Ji.H.; Joon, W.L.; Chun, S.; Gyung, H.; Moon-Jackie, E. (2013). Successful antibiotic treatment of *Pseudomonas stutzeri*-induced peritonitis without peritoneal dialysis catheter-related movalin continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney Res. Clin. Pract.* **32**, 81–83.
- Tewari, R.; Dudeja, M.; Das, A.K.; Nandy, S. (2013). *Kocuria kristinae* in catheter associated urinary tract infection: a case report. *J. Clin. Diag. Res.* **7**(8),1692-1693.
- Tortora, G.J.; Funke, B.R.; Case, C.L.(2004). "Microbiology an Infection". 8th ed.; pearson Benjamin Cummings, sanfrancisco, boston, New York, Sanfrancisco.
- Tuama, M.A. (2006). Urinary tract infection in children in pediatric under five years hospital of karblla. Thesis Ph D. University of Babylon.
- Vandepitte, J.; Verhaegen, J.; Engbaek, K.; Rohner, P.; Piot, P.; Heuck, C. (2003). " Basic laboratory Procedures in Clinical Bacteriology ". 2nd ed .WHO. Geneva.
- Venkataramana, K.; Padmawali, P.; Ritu, V.; Vinod, K.; Maheshwar, R.; Ki, Mohan, R.B.(2016). A case of urinary tract infection caused by *Kocuria* species and identified by conventional methods. *Perspectives in Medical Research.* **4**(2).