مجلة جامعة النهرين المجلد ١٤ العدد(3) أيلول، ٢٠١١ ص ٤٠-٤٥
العلوم

دراسة التأثير التثبيطي وتقدير كمية البروتين والتنقية الجزئية للبروتسين المستخلص من بكتريا *Proteus mirabilis* المعزولة من عينة إدرار

رغد حربي العزاوي ، رباب كزار و الاء رحيم
قسم علوم الحياة ، كلية العلوم، جامعة بغداد.

الخلاصة

تعد بكتريا *Proteus mirabilis* من أهم الأنواع التابعة لجنس المتقلبات *Proteus* ويأتي النوع *P. mirabilis* بعد *E. coli* في اصابات المجرى البولي. وقد تبين من النتائج بأن عزلة *P. mirabilis* كانت مقاومة للمضادات الحيوية Tetracyclin (30 µg) و Amoxicillin (25µg) و Gentamycin (30 µg) ولكنها حساسة فقط للمضاد Ciprofloxacin (5µg). وقد تميزت العزلة بإنتاجها للبروتسين وذلك بتثبيط النمو البكتيري لأنواع اخرى من المتقلبات وعزلات لاجناس اخرى مثل *Serratia* و *Pseudomonas* و *E.coli* وان البروتسين المستخلص من بكتريا *P. mirabilis* كان له تأثيرا تثبيطيا على البكتريا من نفس الجنس والأجناس الأخرى المستخدمة. وأظهرت النتائج بأن تركيز البروتسين في هذا المستخلص كان 0.47 ملغم/ مل .وفي البروتسين المنقى جزئيا بأستخدام الترشيح الهلامي بالمبادل الايوني (Sephcryl S1000) كان البروتين بتركيز ٠.١٥ ملغم/ مل وبفعالية نوعية مقدارها ٥١٣.٣ وحدة/ ملغم بروتين وبعدد مرات تنقية مقدارها ١٢.١ مرة.

الكلمات المفتاحية: *Proteus*، البروتسين، التهاب المجاري البولية، الترشيح الهلامي.

Keywords: *Proteus*, Proticin, UTI, Gel filtration.

المقدمة

تعد بكتريا *P. mirabilis* من أهم الانواع التابعة لجنس المتقلبات (*Proteus*) والذي يضم أربعة أنواع ثلاثة منها ذات أهمية سريرية *P. mirabilis* و *P. vulgaris* و *P. penneri* اما النوع الرابع *P. myxofaciens* فإنه يعزل من يرقات العث وليس له تأثير ممرض للإنسان [1]. تأتي بكتريا *P. mirabilis* بعد *E . coli* في اصابات المجرى البولي حيث تسبب التهاب المثانة (Cystitis) والتهاب الكلية والحويضة (Pyelonephritis) وتجرثم الدم (Bacteremia) [2] والفشل الكلوي وحصى الكلى والمثانة [3,4].

لقد حضي هذا النوع من البكتريا باهتمام الباحثين لما يملكه من عوامل ضراوة مهمة تجعله أكثر قدرة على إحداث الاصابة[2] .حيث تمتلك البكتريا قابلية على مقاومة مضادات الحياة مثل البيتالاكتام من خلال انتاج انزيمات β-lactamase التي تستهدف حلقة البيتالاكتام حيث تحطمها وتثبط عمل المضاد ومنها مضاد Amoxicillin وقد ظهرت مقاومة بكتريا *P. mirabilis* خلال السنوات الاخيرة بانتاج انزيم β-lactamase والذي يسميه الباحثون Extended spectrum beta-lactamase (ESBLs) والتي تكون مقاومة لأكثر مضادات البيتالاكتام فاعلية ألا وهي مشتقات سيفالوسبورينات الجيل الثالث [5]. وتساهم البلازميدات في انتقال صفات المقاومة بين خلايا البكتريا فقد أشار Shafi و Datta (1975) [6] الى ان بكتريا *P. mirabilis* تقاوم عددا من مضادات الامينوكلايكوسيدات باحتوائها على بلازميدات مقاومة للمضاد ومن هذه المضادات Garamycin و Tetracyclin [7].

وقد أشارت الدراسات الى ظهور سلالات مقاومة لمضادات الـ Fluoroquinolons ومنها مضادات الـ Ciprofloxacin (Martinez- Martinez *et al*.,1998) بالاضافة الى ذلك فإن بكتريا المتقلبات تنتج البكتريوسين (Bacteriocin) والذي يطلق عليه بروتسين (Proticin) وقد استخدم بشكل شائع في نظم التنميط [9,10]. البكتريوسين هو مادة مضادة للبكتريا تنتج من قبل معظم الانواع البكتيرية وهو فعال تجاه سلالات الجنس نفسه وكذلك السلالة المنتجة نفسها [11].

فعليه استهدف البحث: الى تشخيص البكتريا المعزولة من الادرار على انها *P. mirabilis*، دراسة مقاومة البكتريا المعزولة للمضادات الحيوية المختلفة، الكشف عن مدى قابلية العزلة في انتاج البروتسين، تأثير البروتسين المنتج على السلالة نفسها وعلى أجناس بكتيرية أخرى، و تقدير تركيز البروتين في كل من مستخلص البروتسين الخام والمنقى جزئيا.

طرائق العمل

تم الحصول على 20 عزلة نقية لبكتريا *Proteus* معزولة من الادرار والمشخصة من قبل مختبر الصحة المركزي/ بغداد ومن ثم أجريت الاختبارات المستعملة في تشخيص نوع عزلات البكتريا بناءاً على ما ورد في Holt وجماعته [12] وCollee وجماعته [13] وعلى الطرائق المستخدمة من منظمة الصحة العالمية (WHO) [14] حيث شخصت على انها *Proteus mirabilis* اعتمادا على الصفات المظهرية والفحوصات الكيموحيوية والمصلية في التشخيص.

فحص حساسية العزلة لمضادات الحياة

أجري هذا الاختبار باستخدام طريقة Kirby-Bauer والواردة في Prescott وجماعته [15] إذ نقلت بضعة مستعمرات بكتيرية نقية بعمر 24 ساعة وعلقت بـ (5 مل) من المحلول الفسيولوجي في أنابيب معقمة، ثم قورنت مع أنبوبة (MacFarland standard No. 5)، ومن ثم تم زرع المستعمرات على وسط أغار مولرهنتون وبعد مرور 5 دقائق تم توزيع أقراص مضادات الحياة (Tetracyclin (30 µg و Amoxicillin (25 µg) و(Gentamycin (30 µg و Ciprofloxacin(5 µg). حضنت الاطباق بدرجة 37م لمدة 24 ساعة ثم قيست أقطار مناطق التثبيط للنمو (بالمليمتر) حول أقراص المضادات وقورنت بالمعدلات القياسية الواردة في NCCLs[16].

اختبار عزلة *P. mirabilis* المنتجة للبروتسين

1- اختبار انتاج البروتسين

تم اختبار قابلية العزلات على انتاج البروتسين وحسب ما وصف في Senior [17].

- تم زرع البكتريا المنماة في وسط ماء التربتون على وسط أغار الماكونكي وتم تخطيطه على شكل خطوط مستقيمة وحضنت بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة.
- أزيل النمو البكتيري بوساطة غطاء شريحة زجاجية نظيفة ومعقمة وتحرك باتجاه واحد.
- عقمت الاطباق بوضعها بشكل مقلوب فوق طبق مملوء بالكلوروفورم ولمدة 10 دقائق. ثم أزيلت وترك لمدة نصف ساعة لكي يزال التأثير السمي لمادة الكلوروفورم.

نقلت ملء عروة الناقل (Loop) من مزروع بكتيري لعزلة *P. mirabilis* وعزلات أخرى في ماء التربتوفان وبعمر 3 ساعات وخطط باتجاه عمودي على التخطيط الاول وبزاوية قائمة. حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 م ولمدة 18 ساعة.

النتيجة الموجبة هي ظهور مناطق مثبطة للنمو عند نقطة تقاطع الخطوط.

2- استخلاص البروتسين

تم الحصول على مستحضر البروتسين باتباع طريقة Senior [18] المحورة عن [17].

- حضر مزروع بكتيري بعمر 18 ساعة في مرق مغذي ثم خفف بإضافة 5 مل من مرق (Proteose peptone) Pp3 وحضنت بحاضنة هزازة وبدرجة حرارة 37 م.
- أضيف Mitomycin-C بعد مرور 7 ساعات بتركيز نهائي 1 µg / ml مع استمرار الحضن في الظلام لمدة 16 ساعة، بعدها تم النبذ المركزي بسرعة 2000 دورة/ الدقيقة ولمدة 10 دقائق وأخذ الطافي ونقل الى أنابيب معقمة مغلقة. ثم عقم المستخلص ببضع قطرات من الكلوروفورم ومزج جيداً ثم خزن بدرجة حرارة 4م.

3- إختبار حساسية العزلات تجاه البروتسين

تم استخدام طريقة سنيور [18]

- تم عمل خطوط من المزروع البكتيري النامي في المرق المغذي وبعمر 18 ساعة على وسط أغار الماكونكي.
- وضعت قطرة بحجم 3 مايكروليتر من مستحضر البروتسين باستخدام ماصة دقيقة فوق خطوط المزروع البكتيري.
- حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 م ولمدة 18 ساعة.

فحصت الاطباق بمجرد ظهور النمو، النتيجة الموجبة حصول تثبيط للنمو بفعل مستخلص البروتسين.

4- تقدير تركيز البروتين:

تم تقدير تركيز البروتين بحسب طريقة Whitaker and Granum [19] وذلك بقياس امتصاص الضوء للمحلول بطول موجي (280 و 235) نانوميتر باستخدام 0.05 مولار من هيدروكسيد الصوديوم NaOH محلولا كفئاً (Blank) وتم حساب تركيز البروتين من المعادلة الاتية:

تركيز البروتين (ملغم/مل) =

مقدار امتصاص الضوء بطول موجي 235*nm*- مقدار امتصاص الضوء بطول موجي 280*nm*

2.51

..... (١)

٥-التنقية الجزئية للبروتسين

- تم ترسيب البروتين بأستخدام كبريتات الامونيوم بنسبة اشباع (٣٠-٥٠%) بعدها أجري النبذ المركزي المبرد بسرعة ٦٠٠٠xg لمدة ٢٠ دقيقة.
- أذيب الراسب في محلول الفوسفات الدارئ pH=7 بتركيز ٠.٢ مولار، ثم أجريت عملية ديلزة ضد الماء المقطر لمدة ٢٤ ساعة.
- تمت التنقية بأستخدام كروموتوغرافيا الترشيح الهلامي بأستعمال المبادل Sephacryl S1000 (بحجم عمود ١.٦* ٦٠ سم) وبسرعة جريان ٠.٧ مل/ دقيقة وبأستخدام دارئ Tris- HCl 20 mμ و 150 mμ NaCl pH= 7.7 [20].
- حسبت الفعالية البروتينية بالاعتماد على المنحنى القياسي للتايروسين.
- تم تقدير البروتين في الاجزاء المستردة على الطول الموجي 280 nm وقيست بعدها الفعالية النوعية وعدد مرات التنقية purification folds.

فعالية البروتين (وحدة/ مل) Specific activity =

الفعالية النوعية (وحدة/ ملغم بروتين)

تركيز البروتين (ملغم/ مل)

.....(٢)

عدد مرات التنقية (ملغم/ بروتين)=

الفعالية النوعية لخطوة التنقية

الفعالية النوعية للخطوةالاولى قبل التنقية

.....(٣)

النتائج والمناقشة

التشخيص

أخذت العزلات المشخصة على انها بكتريا *Proteus* والمعزولة من عينات الادرار لمعرفة نوعها وقد أثبتت النتائج بأن هناك عزلة واحدة فقط كانت*Proteus mirabilis* و ١٩ الباقية كانت *P.vulgaris* بالاعتماد على الفحوصات المجهرية والكيموحيوية على وفق مصنف بركي [12] وCollee وجماعته[13]. حيث شخصت المتقلبات بالاعتماد على صفات مستعمراتها على الاوساط الزرعية أذ تميزت العزلات المنماة على وسط (Blood agar) بظاهرة الانثيال (Swarming) وتم التأكد من التشخيص بأستخدام نظام (Api- system-20) المستخدم لتشخيص البكتريا السالبة والتي تعود للعائلة المعوية Enterobacteriaceae. وقد أستبعدت عزلات النوع *P.vulgaris* بعد تشخيصها بأستخدام اختبار الاندول Indol test والتي تكون موجبة بتكون حلقة حمراء في بكتريا *P.vulgaris* وذلك كون الباحثان Cradock وWatson ذكرا أن ٦١% من بكتريا *P.mirabilis* و١٠% من بكتريا *P.vulgaris* تكون منتجة للبروتسين على الوسط الصلب [21].

حساسية بكتريا *P.mirabilis* لمضادات الحياة

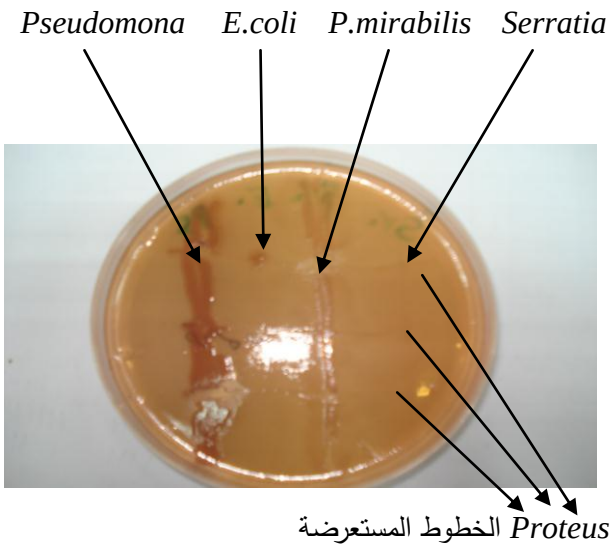
بينت النتائج الخاصة بمقاومة بكتريا *P.mirabilis* المعزولة من الادرار بأنها كانت مقاومة للمضادات Tetracyclin (30 µg)، Amoxicillin (25 µg) و Gentamycin (30 µg) وكانت حساسة فقط لل Ciprofloxacin (5 µg) وذلك بعد مقارنتها بجدول مناطق التثبيط وفقا الى NCCLs (2002) [16].

ويعود مضاد Ciprofloxacin الى مجموعة الكولينولونات التي تمتاز بتأثيرها واسع الطيف على الاحياء المجهرية وتستخدم بشكل واسع تجاه البكتريا المعوية [22]، وعلى سلالات مقاومة لمضادات الكولينولونات ضمن البكتريا المعوية حاملة لبلازميدات تشفر مورثاتها لمقاومة الـ Ciprofloxacinوحامض النالديكسك وبعض مضادات المجموعات الاخرى. أشار Szymaniak وجماعته (١٩٩٩)[23] الى وجود علاقة بين نمط البروتسين (P/S) (Proticin Production/Proticin Sensitivity) لبكتريا

P.mirabilis المعزولة من التهابات المجاري البولية وبين مقاومتها للعلاج بمضادات الحياة حيث لوحظت أنماط معينة من P/S أكثر تكرارا من غيرها بالاضافة الى كونها منتجة لأنزيم البيتالاكتاميز.

التحري عن أنتاج البروتسين

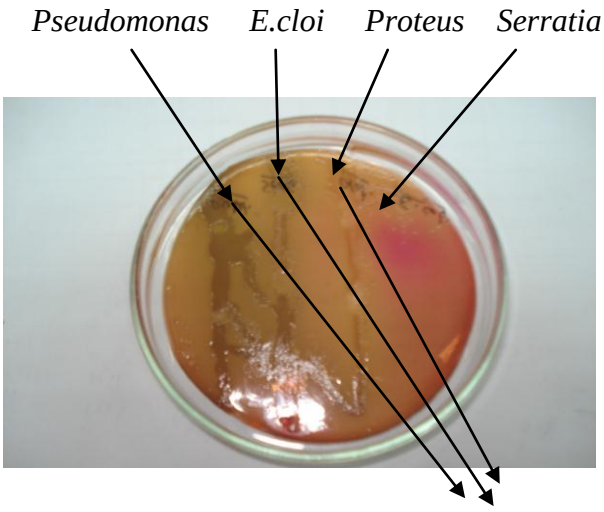
أستخدمت طريقة سنيور [18] في الكشف عن قدرة عزلات بكتريا *P.mirabilis* في أنتاج البروتسين على وسط ماكونكي وكما هو موصوف في طريقة العمل حيث تم الكشف عن العزلات المنتجة من خلال ظهور مناطق التثبيط للنمو البكتيري عند نقطة تقاطع الخطوط (شكل ١)، حيث وجد بأن عزلة *P.mirabilis* بأنها منتجة للبروتسين عند أختبارها ضد عزلات المتقلبات الاخرى وعزلات الاجناس *Pseudomonas* و *E.coli* , *Serratia*. ومن الشكل يتبين بأن البكتريوسين قد ثبط نمو بكتريا ال *Serratia* تماما وبكتريا *E.coli*. لقد أشار Senior (١٩٧٩)[24] الى ان السلالات المنتجة للبروتسين نوع ٣ تعزل بشكل شائع في اصابات الجزء العلوي من المجرى البولي. وفي دراسة لسلالات *P.mirabilis* المعزولة من ٤٩ مريض مصاب بالتهاب المفاصل الرثوي RA و٤٤ شخص سليم استخدموا كسيطرة، اختبرت السلالات تجاه ١٣ سلالة قياسية من *P.mirabilis* وجد ان جميع السلالات في مرضى RA منتجة للبروتسين، Wilson وجماعته [25].



شكل(١) تأثير البروتسين المنتج من بكتريا الـ *Proteus* على البكتريا نفسها وعلى الاجناس البكتيرية الاخرى.

الكشف عن البروتسين بطريقة Senior [18]

تم استخلاص البروتسين من العزلة المنتجة للبروتسين بطريقة سنيور[18] وبأستخدام محث الـ Mitomycin- C وأستخدام المستخلص لدراسة تأثيره في تثبيط النمو البكتيري لعزلات الـ *Proteus* و *Serratia* و *Pseudomonas* و*E.coli*. وقد لوحظ بأن المستخلص قد ثبط نمو الانواع السابقة كلها (الشكل ٢). وقد ثبط النمو تماما لبكتريا الـ *Serratia*. درس Senior (1983) [5] التركيب الجزيئي للبروتسين ووجد انه يشبه ذنب العاثيات وأن شكله هذا له علاقة وثيقة بفعاليته الحيوية. ويعزي Senior [18] سبب حساسية بعض *P.mirabilis* تجاه السلالات الاخرى المنتجة للبروتسين الى وجود نوع خاص من المستقبلات على السطح الخارجي للسلالة البكتيرية المختلفة، كما أن صفة انتاج البروتسين ثابتة حتى بعد مرور مدة زمنية من الخزن للسلالات المنتجة.



شكل(٢) تأثير مستخلص البروتسين من بكتريا الـ *Proteua* على نفس البكتريا وأجناس أخرى.

تقدير تركيز البروتين وتنقية البروتسين جزئيا

تبين من النتائج ان تركيز البروتين (ملغم/ مل) بحسب طريقة ويتاكر وكرانام [19](معادلة ١) في مستخلص البروتسين كان ٠.٤٧ ملغم/ مل. وبعد الترسيب بكبريتات المونيوم كان تركيز البروتين ١.٣ ملغم/ مل وبعد التنقية الجزئية باستخدام الترشيح الهلامي بالمبادل Sephacryl S-1000 فأن تركيز البروتين أصبح ٠.١٥ ملغم/ مل جدول (١). أما الفعالية الانزيمية فقد كانت (٢٠، ١٠٠، ٧٧)

وحدة/ مل على التتالي وأن الفعالية النوعية كانت (٤٢.٦، ٧٦.٩، ٥١٣.٣) وحدة/ مل على التتالي (معادلة ٢) وقد كانت عدد مرات التنقية ٣.٩ و ١٥.١ بعد الترسيب بكبريتات الامونيوم بنسبة أشباع (٣٠-٥٠) % والترشيح الهلامي باستخدام المبادل Sephacryl S-1000 على التتالي (معادلة ٣). وفي دراسة اخرى على بكتريوسين مستخلص من بكتريا *Serratia plymithicum* ويسمى Serracin P وكان البروتين بعدد مرات تنقية مقدارها ٤٨.٥ مرة وبأنتاجية نهائية مقدارها ٢٠.٨ %.[20] وقد أشارت الدراسات الى ان البروتسين يتألف من ١١ بروتينا وظهر من خلال الترحيل على الهلام بأستخدام SDS- Polyacrylamide اثنين من هذه البرتينات الرئيسة اساسية بأوزان جزيئية ٤٩*١٠^{3} و ٣٤*١٠^{3} اما التسعة الباقية فهي ثانوية [5].

جدول (١)

خطوات التنقية لبروتين البروتسين المنتج من العزلة *P.mirabilis* .

خطوة التنقية	الحجم (مل)	الفعالية البروتينية (وحدة/ مل)	تركيز البروتين (ملغم/ مل)	الفعالية النوعية (وحدة/ ملغم بروتين)	عدد مرات التنقية
المستخلص الخام Proticin	٢٠٠	٢٠	٠.٤٧	٤٢.٦	١
الترسيب بكبريتات الامونيوم بنسبة أشباع (٣٠-٥٥)%	٢٠	١٠٠	١.٣	٧٦.٩	١.٨
الترشيح الهلامي باستخدام المبادل Sephacryl S-1000	١٥	٧٧	٠.١٥	٥١٣.٣	١٢.١

References

[1] MacFadin,J.F. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd edition. Lippincott Williams and Wilkins. 2000.

[2] Jones,B.D. and Mobley, H.L.T.. *Proteus mirabilis* urease: genetic organization regulation and expression of structural genes. J.Bacteriol. 170(8), 1988, 3342-3346.

[3] Wray, S.; Hull, S.I; Cook, R.G; Barrish, J. and Hull, R.A. Identification and characterization of a uroepithelial cell adhesion from a uropathogenic isolate of *Proteus mirabilis*. Infect.Immun. 54(1), 1986, 43-49.

[4] Liaw, S.J.; Lai,H.C.; Luh, HO.K.T. and Wang, W.B.. Inhibition of virulence factor expression and swarming differentiation in *Proteus mirabilis* by P- J.Med.Microbiol. 49, 2000, 725-731.

[5] Luzzaro, F.; Perilli, M.; Amicosante, G.; Belloni, R.; Zollo, A.; Bianchi, C. and Toniolo, A. Properties of multidrug resistant. ESBL-Producing *Proteus mirabilis* isolates and possible role of beta-lactam/ beta- lactamase inhibitor combinations. Int. J.antimicrob. Agents. 17(2), 2001, 131-135.

[6] Shafi, M.S.; and Datta, N. Infection caused by *Proteus mirabilis* strains with transferable gentamicin resistance factors. Lancet.1, 1975, 1355-1357.

[7] Jawets,E.; Melnick, J.K. and Adelberg, E.A.. Enteric gram negative microorganisms: the *Proteus*, providential group, in review of Medical Microbiology 16th edition. Middleast edition, Beirut, London, 1984.

[8] Martinez-Martinez, L.: Pascual, A. and Jacoby, G.A. Quinolone resistance from a transferable plasmid. Lancet. 351, 1998, 797-799.

[9] Senior, B.W. and Larsson, P. A highly discriminatory multityping scheme for *Proteus mirabilis* and *Proteus vulgaris.* J.Med. Micribiol. 16, 1983, 193-202.

[10] Senior, B.W. Investigation of the types and characteristics of the photolytic enzymes formed by divers strains *Proteus* species. J.Med.Microbiol. 48, 1999, 623-628.

[11] Green Wood, D.; Slack, R. and Pentherer, J. Medical microbiology. 15th edition. Churchill, Livingstone. London, 1997.

[12] Holt, J.G.; Krieg, R.; Sneath, P.H.A. and Williams, S.T. Bergy's manual determination of bacteriology. (9th ed). Williams and Willkins, 1994.

[13] Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmion, B.P. and Simmons, A. Practical and Medical Micribiology. 14th ed.; Churchill Livingstone., 1996.

Abstract

Proteus mirabilis is one of the most important species of the genus *Proteus*, and it comes after *E. coli* in urinary tract infection. The results showed that the isolate of *P. mirabilis* was resistant to antibiotics of Tetracyclin (30 µg), Amoxicillin (25µg) and Gentamycin (30 µg), While it was sensitive to Ciprofloxacin (5µg). The isolate showed good proticine production that it was inhibit the bacterial growth of other *Proteus* and other genus like *Serratia* , *Pseudomonas* and *E.coli*, also the extracted proticine from *P. mirabilis* showed inhibition effect on bacterial growth of *Proteus* and other genus like *Serratia*, *Pseudomonas* and *E.col.* The amount of protein in this extract was 0.47 mg/ml.The proticin concentration in partially purified by gel filtration chromatography (Sephacryl S1000) was 0.15 mg/ ml and specific activity 513.3 U/ mg protein and with purification folds of 12.1 folds.

[14] World Health Organization. Guidelines for *Proteus* control. W.H.O. Reginal office for the Eastern Mediterranean, 1997.

[15] Prescott, L.M.; Harelry, L.P. and Klein, D.A. Microbiology 1st ed. W.M.C. Brown publisher. NewYork, 1990.

[16] NCCLs. Performance standared for antimicrobial susceptibility testing. 12th information supplement, 2002.

[17] Senior, B.W. Typing of *Proteus* strains by Proticine production and sensitivity. J.Med. Microbiol. 10, 1977, 7-16.

[18] Senior, B.W. The ability of *Proteus mirabilis* strain to invade the blood stream is independent of its proticine production/ proticine sensitivity type. J.Med. Microbiol. 46, 1997, 407-412.

[19] Whitaker, J.R. and Granum, P.E. An absolute method for protein determination based on difference in absorbance at 235 nm and 280 nm. Anal.Biochem.109, 1980, 156-159.

[20] Jabrane, A.; Sabri,A.; Compere,P.; Vandenberghe, I.; Van Beeumen, J.; and Thorant, P. Characterization of Serracin P; a phage-tail-like bacteriocin , and its activity against *Erwonia amylovora* ,the fire blight pathogen. Appl. Environ. Microbiol. 68(11), 2002, 5704.

[21] Al-Jumaili, I.J. Bacteriocine typing of *Proteus*. J.Clin. Pathol.28, 1975, 784-787.

[22] Ansdell, V.E. and Ericyson, C.D.. Prevention and empiric treatment of traveler's diahhria. Med. Clin. North Am. 83(40), 1999, 253-266.

[23] Szymaniak,L.; Aleksandrowicz, T.; Giedrys, K.; Alemba, S. Drug resistance and Proticinogenic types of *Proteus mirabilis* isolated from urinary tract infections. Med-DOSW-Mikrobiol. 51(3-4), 1999, 323-30(Abstract).

[24] Senior, B.W.(1979).The special affinity of particular types of *Proteus mirabilis* for the urinary tract.J.Med.Microbiol.46:39-44.

[25] Wilson, C.; Senior, B.W.; Tiwana,H.; Caparros-Wanderley,W.; Ebringer, A. (1998).Antibodies sensitivity and Proticin typing of *Proteus mirabilis* stains associated with rheumatoid arthritis. Rheumatol. Int. 17(5): 203-205.