الكشف عن وجود الشعيرات Fimbriae في جراثيم سالمونيلا المعزولة محليا من مرضى في مدينة كركوك باستخدام المجهر الالكتروني النافذ ودراسة قابليتها على الالتصاق بالخلايا المعوية للجرذان ومقارنتها مع بعض السلالات القياسية .

(د.هاجر علي شريف /أ.د.صبحي حسين خلف الجبوري / أ.د.اديبة يونس شريف)

جامعة كركوك- كلية العلوم / جامعة الموصل-كلية التمريض /جامعة الموصل -كلية العلوم

الخلاصة

تضمن هذا البحث الكشف عن وجود الشعيرات باستخدام المجهر الالكتروني النافذ في ثلاثة انواع من جراثيم سالمونيلا المحلية وهي *S.typhi* و *S.typhimurium* و*S.montevideo* ومقارنتها مع السلالات القياسبة *S.typhi* و*S.paratyphi B* و *S.paratyphi C* على التوالي . اظهرت النتائج وجود الشعيرات على سطوح الخلايا لجميع عزلات السالمونيلا (المحلية والقياسية)، وبينت الدراسة ان هذة الشعيرات وفي جميع جراثيم سالمونيلا هي من النوع الاول Type 1 Fimbriae . كما وتناولت الدراسة التصاق العزلات (المحلية والقياسية) بالخلايا المعوية للجرذان ، واظهرت النتائج قدرة جميع العزلات على الالتصاق ، وكانت معدلات الالتصاق للسلالات القياسبة اعلى من معدلات الالتصاق للعزلات المحلية ، ألا ان التحليل الاحصائي بين عدم وجود فرق معنوي بين معدلات الالتصاق للسلالات القياسية والعزلات المحلية من جراثيم سالمونيلا.

المقدمة

تعد القدرة على الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية والأغشية المخاطية للمضيف خطوة ضرورية وأساسية للاستعمار الناجح للجراثيم . وتعتمد قابلية الالتصاق على وجود عضيات بروتينية مختلفة الاشكال تبرز من سطح الخلايا الجرثومية تدعى الشعيرات fimbriae (Thorns., 1995) . وهي توجد في معظم عزلات جرثومةسالمونيلا ، وتظهر في السلالات بعمر (24-48) ساعة ، ولا يمكن ملاحظتها في السلالات بعمر (6) ساعات (Old., 1996) . ومن أكثر الأنواع التي تنتج هذه الشعيرات وبأنماط مختلفة هي *S. typhimurium* و *S. enteritidis* . وتشير الدراسات إلى ان هذه الملصقات تؤدي دوراً مهماً في غزو الطبقة المخاطية للأمعاء داخل وخارج الخلية (Lockman & Curtiss., 1992; Baumler, *et al*., 1996b;1996a; Baumler, *et al*., 1997) .

ترتبط الشعيرات بالمستقبلات الخاصة التي توجد على سطوح الخلايا الظهارية للفم والأمعاء والمجاري البولية وعلى خلايا الدم الحمر . وتتباين في أعدادها بين

الافراد وفي الأنسجة المختلفة . وكذلك تتباين في توزيعها من خلية إلى أخرى (Knutton, *et al*., 1984; Feutrier, *et al*., 1986) . وهي تتأثر بالحرارة والمواد الكيمياوية ونوع الوسط والدالة الحامضية (pH) والسطح الذي تلتصق عليه (Thorns, *et al*., 1992; McDermid, *et al*., 1996; Giron., 1996; Wolf., 1997; Dibb-fuller, *et al*., 1999; Walker., 1999) وقد تم تنميط الشعيرات وراثياً إلى أربعة أنماط وهي :

١- شعيرات النمط الأول (Type-1) Type 1 fimbriae .

٢- الشعيرات الطويلة القطبية (LPF) Long Polar Fimbriae .

٣- الشعيرات المشفرة عن طريق البلازميد (PEF) Plasmid-Encoded Fimbriae .

٤- الشعيرات المجمعة (agf) Thin aggregative fimbriae .

وقد أشار الباحث (Van der Veldon) وجماعته (1998) إلى الدور التآزري لهذه الأنماط في أثناء الاصابة .

تختلف الأوزان الجزيئية للشعيرات وهي تقدر بـــ (15–30) كيلو دالتون (Krogfelt., 1991) . وتختلف في الوظيفة ايضاً ، إذ تكون قسماً من الشعيرات مسؤولا عن التصاق الجرثومة بالخلايا الظهارية للأمعاء والبلعوم والمرارة ، وتوجد هذه الشعيرات في العديد من الجراثيم السالبة لصبغة كرام وخاصة أفراد العائلة المعوية (Feutrier, *et al*., 1986; Lindquist, *et al*., 1987; Edward, *et al*., 2000; Dibb-Fuller & Wood ward., 2000) .

<u>المواد و طرائق العمل</u>

اولا – المواد

أ- الاوساط الغذائية الجاهزة

١- وسط مرق التتراثايونيت Tetrathionate Broth (Oxoid)

٢- وسط آكار سالمونيلا – شيكلا Salmonella-Shigella Agar (SSA) (Oxoid)

٣- وسط آكار زايلوز – لايسين ديوكسي كوليت Xylose-Lysine Deoxycholate (XLD) (Oxoid)

٤- وسط آكار البزموث Bismuth Sulfate Agar (BSA) (Oxoid)

ب-الاوساط الغذائية المحضرة

١ - وسط آكار لوريا برتاني Luria Bertanni Agar (LBA)

تم تحضيره من المكونات التالية :

تربتون	Trypton	10غم
مستخلص الخميرة	Yeast Extract	5غم
كلوريد الصوديوم	NaCl	5غم
الآكار	Agar	5غم

٢- مرق لوريا برتاني Luria Bertanni Broth (LB)

حضر من نفس المواد المذكورة في الفقرة (١) بدون اضافة الآكار .

اذيبت المواد في لتر من الماء المقطر وعقمت بالموصدة عند درجة حرارة 121مْ ولمدة 15دقيقة (Sigma-Aldrich brand product., 2002) .

ج-المحاليل

١- محلول الغسل (محلول الفوسفات المنظم PBS)

وبدالة حامضية pH = 7.4 . والمحضر من المواد التالية :

- كلوريد الصوديوم NaCl	8غم
- فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين KH_2PO_4	0.2غم
- فوسفات الصوديوم أحادية الهيدروجين المائية Na2HPO4.12H2O	2.8غم
- كلوريد البوتاسيوم KCl	0.2غم

أذيبت المواد في لتر من الماء المقطر وعقم المحلول بالموصدة .

٢- محلول دارئ العزل Isolation Buffer

استخدم في تجارب الالتصاق على الخلايا المعوية وحضر من المواد التالية :

- بايروفيت الصوديوم بتركيز 5ملي مولر
- فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين بتركيز 2ملي مولر
- كلوريد البوتاسيوم بتركيز 6ملي مولر
- كلوريد الصوديوم بتركيز 9.8ملي مولر
- كلوكوز بتركيز 11.5ملي مولر
- كلوتاميت الصوديوم بتركيز 5ملي مولر
- فيوماريت الصوديوم بتركيز 6ملي مولر
- البومين مصل البقر بتركيز 0.2% (وزن/حجم)
- حامض كلوتامين بتركيز 2ملي مولر
- خليط من الأحماض الأمينية بتركيز 0.2%

أذيبت المواد في لتر من الماء المقطر وضبطت الدالة الحامضية عند 7.4 وعقم المحلول بالترشيح باستخدام المرشحات الغشائية بقطر (0.45مايكرومتر) (Lindques, *et al.*, 1987) .

ثانيا – طرائق العمل

١– العينات

تم انتخاب الانواع *S.typhi* و *S.typhimurium* و *S.montevideo* من جراثيم سالمونيلا والعائدين الى المجاميع المصلية (D) و (B) و (C) على التوالى ، والتي تم عزلهم محليا من (410) عينة براز للمرضى الوافدين الى مستشفى ازادي العام في مدينة كركوك واللذين يشك باصابتهم بالحمى التايفوئيدية والمعوية ، وتم تشخيص هذة الانواع بملاحظة الصفات المزرعية للمستعمرات النامية على الاوساط الغذائية الانتخابية (SSA ، XLD ، BSA) وباستخدام الاختبارات الكيموحيوية والمصلية . ودعمت نتائج التشخيص باستخدام نظام API 20 E ، وحدد نوع الجراثيم من قبل مختبر الصحة العامة المركزي – شعبة البكتريا المعوية في بغداد ، وذلك للكشف عن وجود عامل الضراوة (الشعيرات Fimbriae) باستخدام المجهر الالكتروني النافذ وتحديد قابلية الالتصاق بالخلايا المعوية للجرذان في هذة الجراثيم ومقارنتها مع السلالات القياسية.

– السلالات القياسية

تم الحصول على السلالات القياسية Standard strains التالية من قسم علوم الحياة –كلية العلوم جامعة الموصل مصدرها معهد باستور والحاملين للارقام الاتية :

Salmonella typhi	Code No.	5535
Salmonella paratyphi B	Code No.	5542
Salmonella paratyphi C	Code No.	α-55108

٢- الكشف عن وجود الشعيرات Fimbriae باستخدام المجهر الالكتروني النافذ (TEM)

تم تنمية السلالات قيد الدراسة على أطباق من وسط آكار LB وحضن بدرجة حرارة ٣٧مْ لمدة ٢٤ ساعة ، جمعت المستعمرات النامية وغسلت بالمحلول الفسلجي باستخدام جهاز الطرد المركزي . علق الراسب بالمحلول نفسه . وللكشف عن وجود الشعيرات fimbriae باستخدام المجهر الالكتروني النافذ ، حضر غشاء من محلول formaver وذلك باضافة قطرات من هذا المحلول إلى طبق بتري حاوي على ماء مقطر ، وثبت الغشاء على المشبك النحاسي (Grid) ، وبواسطة ملقط خاص بالمجهر الالكتروني رفع المشبك ووضع على ورق ترشيح وترك ليجف واضيف حوالي (15) مايكروليتر من المعلق الجرثومي إلى الغشاء الموجود على المشبك وترك دقيقتين وذلك للسماح للجرثومة بالالتصاق ، جفف بورق ترشيح ، ثم صبغ الغشاء بصبغة حامض الفوسفوتنكستك Phospho tungstic وترك ١٥ ثانية ، بعدها ثبت المشبك في المجهر الالكتروني النافذ نوع Philips CM10 وبفولتية قدرها (60) فولت وتم الفحص والتصوير (Dibb-Fuller., 1997; Vanderveldn, *et al*., 1998) .

٣- اختبار التصاق جراثيم سالمونيلا على الخلايا المعوية Enterocyte adherence test

٣-١ عزل الخلايا المعوية

اتبعت طريقة كل من (Lindquist, *et al*., 1987) وطريقة (السراج ،2001) ، والتي تتلخص بما يأتي:

أخذت مقاطع من الأمعاء الدقيقة لذكور جرذان بالغة وتم تنظيفها من الدهون ، وذلك بغسلها من الداخل والخارج بمحلول الفوسفات المنظم المبرد عند درجة حرارة (4) ْم ، ثم فتحت طولياً وغسلت مرتين بتدويرها بلطف في (5) سم^{3} من محلول دارئ العزل Isolation buffer. علقت المقاطع في المحلول نفسه، وأجريت لها عملية كشط

(Scraping) بواسطة حافة شريحة زجاجية لازالة الخلايا المعوية ، ثم رشحت خلال أربع طبقات من قماش نايلون للتخلص من الأنسجة والتجمعات الخلوية الكبيرة . بعد ذلك أجريت عملية طرد مركزي بسرعة 1500 دورة/دقيقة ولمدة دقيقتين، أهمل الراشح وعلق الراسب في محلول العزل . حددت حيوية الخلايا المعوية باضافة صبغة تريبان الزرقاء (Trypan Blue) ، إذ عدّت الخلايا المصبوغة خلايا ميتة .

٣-٢ تحضير المعلق الجرثومي

لقح (10) سم٣ من وسط مرق LB وحضن بدرجة حرارة 37مْ لمدة 36 ساعة ثم رسب بالطرد المركزي بسرعة 10.000Xg لمدة (10) دقائق ، غسل الراسب مرتين باستخدام محلول الفوسفات المنظم وعلق في محلول العزل المحضر حديثاً .

اضيف (0.5) سم٣ من معلق الخلايا المعوية بتركيز (10) خلية/سم٣ إلى (0.5) سم٣ من المعلق الجرثومي بتركيز 10-10 خلية/سم٣ في انبوبة اختبار . وحضن المزيج بدرجة حرارة ٣٧مْ ولمدة ٣٠ دقيقة مع التحريك المستمر ، بعدها غسلت الخلايا مرتين بمحلول الفوسفات المنظم وباستخدام جهاز الطرد المركزي لازالة الجراثيم غير الملتصقة .

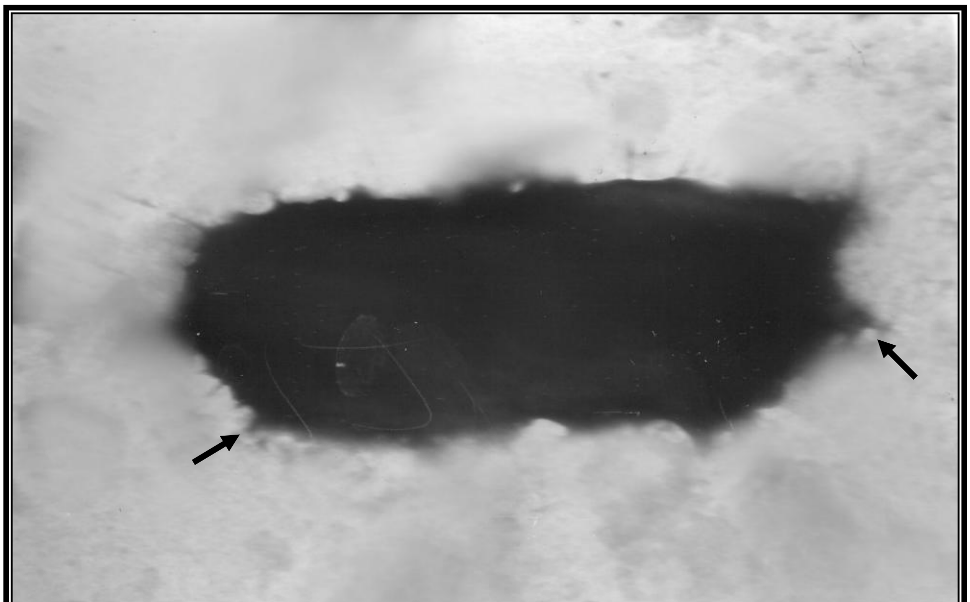
حضرت مسحة من المعلق على شريحة زجاجية وثبتت بالميثانول لمدة 15 دقيقة ، ثم غسلت الشرائح مرتين بمحلول الفوسفات المنظم ، وصبغت بصبغة كيمزا بتركيز (30%) وتركت الشرائح لمدة (20) دقيقة ، بعدها أزيلت الصبغة وغسلت الشرائح بالماء المقطر وجففت بالهواء . فحصت الشرائح بالمجهر الضوئي تحت العدسة الزيتية .

تم اختيار (50) خلية معوية بشكل عشوائي ، وحسب عدد الجراثيم الملتصقة بكل خلية معوية ، ثم حسب المعدل والخطأ القياسي وأجري التحليل الاحصائي . أجري اختبار السيطرة المحضر من الخلايا المعوية بدون اضافة الجراثيم اليها .

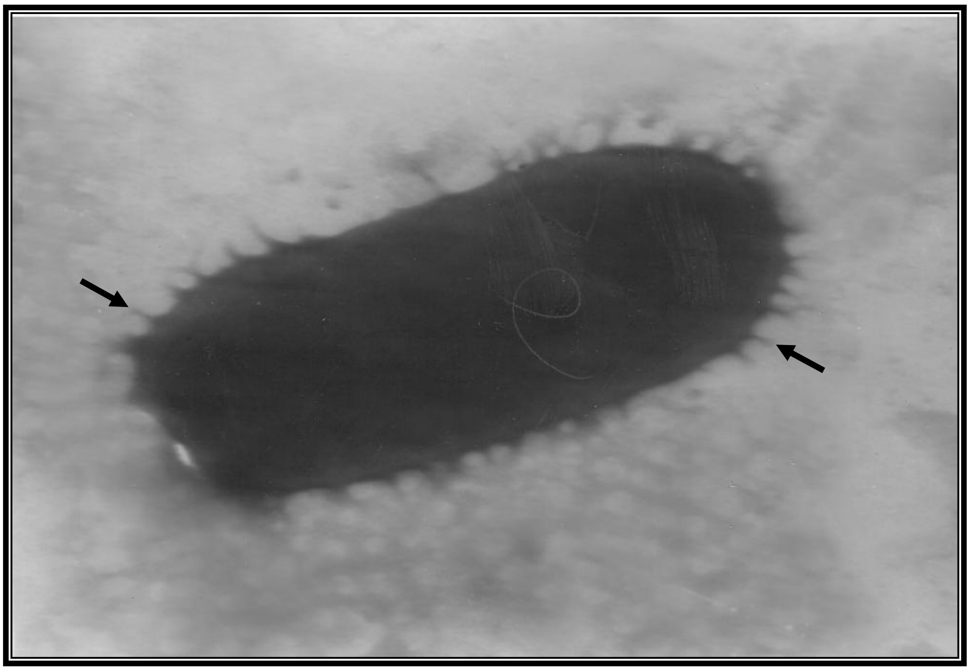
النتائج والمناقشة Results and Discussion

١- الكشف عن وجود الشعيرات باستخدام المجهر الالكتروني النافذ

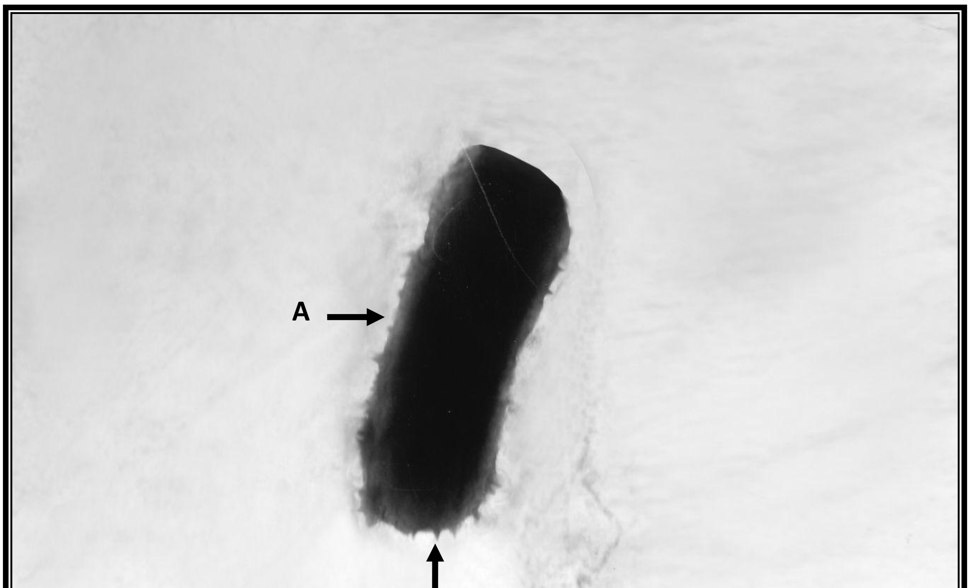
بينت تحضيرات المجهر الالكتروني النافذ (TEM) باستخدام صبغة Phosphotungstate ، وجود شعيرات على سطوح الخلايا لجميع عزلات سالمونيلا المحلية (*S. typhi* ، *S. typhimurium* ، *S. montevideo*) والسلالات القياسية (*S. typhi* ، *S. paratyphi* B ، *S. paratyphi* C) على التوالي . (الصور1 ، 2 ،3 ، 4 ، 5 ،6) على التوالي . وقد أوضحت الدراسات ظهور الشعيرات بالمجهر الالكتروني النافذ في جراثيم سالمونيلا والمشابهة لتلك التي لوحظت في جراثيم سالمونيلا قيد الدراسة (Feutrier, *et al*., 1986; Dibb-Fuller, *et al*., 1997; Vanderveldn., 1998; White, *et al*., 2003) . وبينت الدراسة ان هذه الشعيرات وفي جميع جراثيم السالمونيلا هي من النوع الأول Type 1 fimbriae والتي تم التأكد منها من خلال تنمية السلالات في وسط مرق لوريا بريتاني LB وتحضينها عند درجة حرارة 37مْ لمدة 7-10 أيام ، إذ ان السلالات التي تنتج شعيرات النوع الأول تكون قشور Pellicle على سطح المزرعة الهوائية الساكنة Static aerobic cultures . وقد أنتجت جميع سلالات السالمونيلا المحلية والقياسية هذه القشور على سطح المزرعة السائلة . وهذا يشابه ما وجده عدد من الباحثين (Old, *et al*., 1968; Old, *et al*., 1970; Korhonen, *et al*., 1980; Feutrier, *et al*., 1986; Althouse, *et al*., 2003) . الذين أشاروا إلى ان سلالات السالمونيلا التي تنتج شعيرات النوع الأول تكون قشور على سطح المزرعة الهوائية الساكنة وتكون ذات قشور زرعية كبيرة مقارنة بالسلالات التي لا تكون الشعيرات .



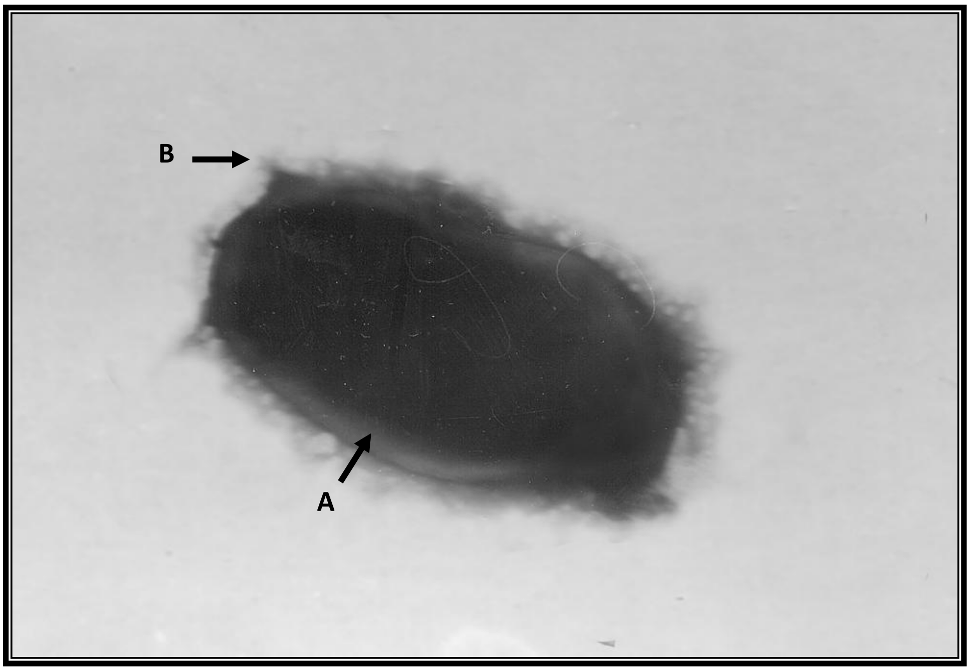
الصورة (1) : توضح الشعيرات على السطح الخارجي لسلالة *S. typhi* المحلية . (41,500X)



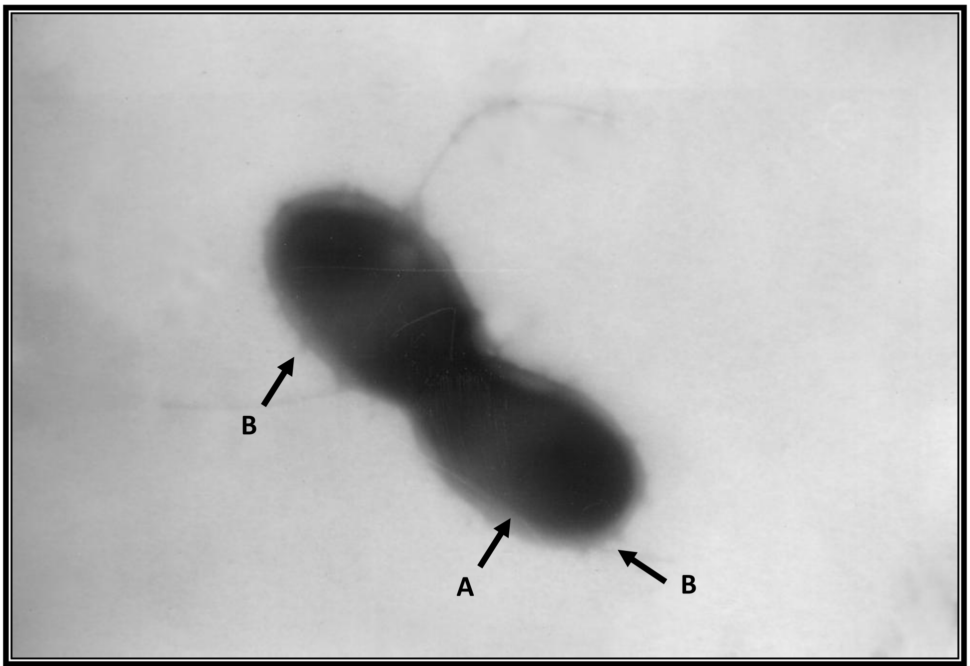
الصورة (2) : توضح الشعيرات على السطح الخارجي لسلالة S.typhi القياسية . (16000X)



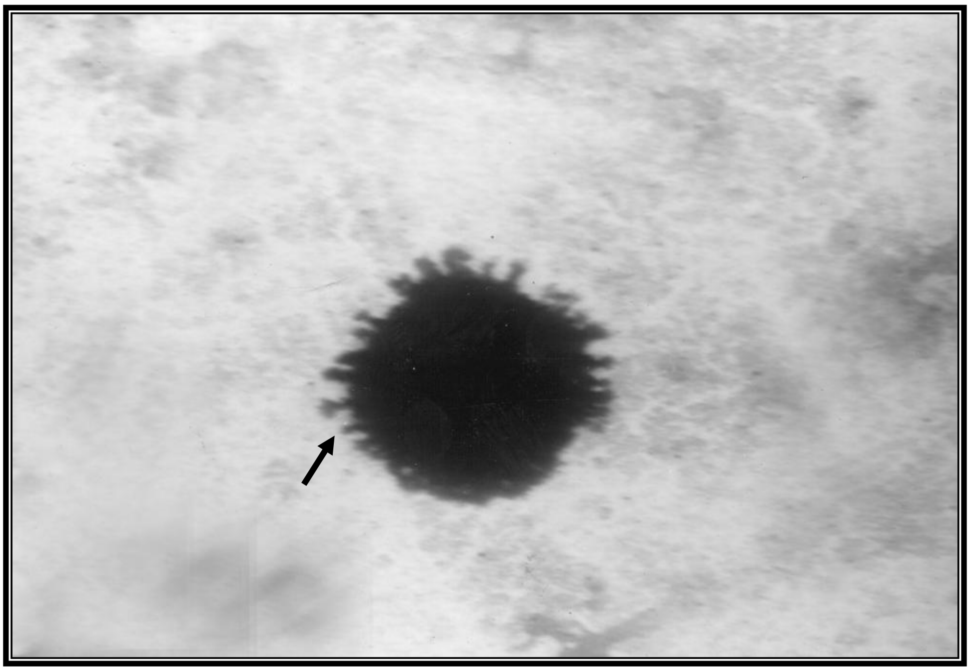
الصورة(3) : توضح A- المحفظة و B- الشعيرات على السطح الخارجي لجرثومة *S. typhimurium* المحلية . (2400X)



الصورة (4) : توضح A- المحفظة و B- الشعيرات على السطح الخارجي لجرثومة *S. paratyphi* B القياسية . (41000X)



الصورة (5) : توضح A− المحفظة و B− الشعيرات على السطح الخارجي لجرثومة *S. montevideo* المحلية . (12,500X)



الصورة (6) : توضح الشعيرات على السطح الخارجي لسلالة *S. paratyphi* C القياسية . (41000X)

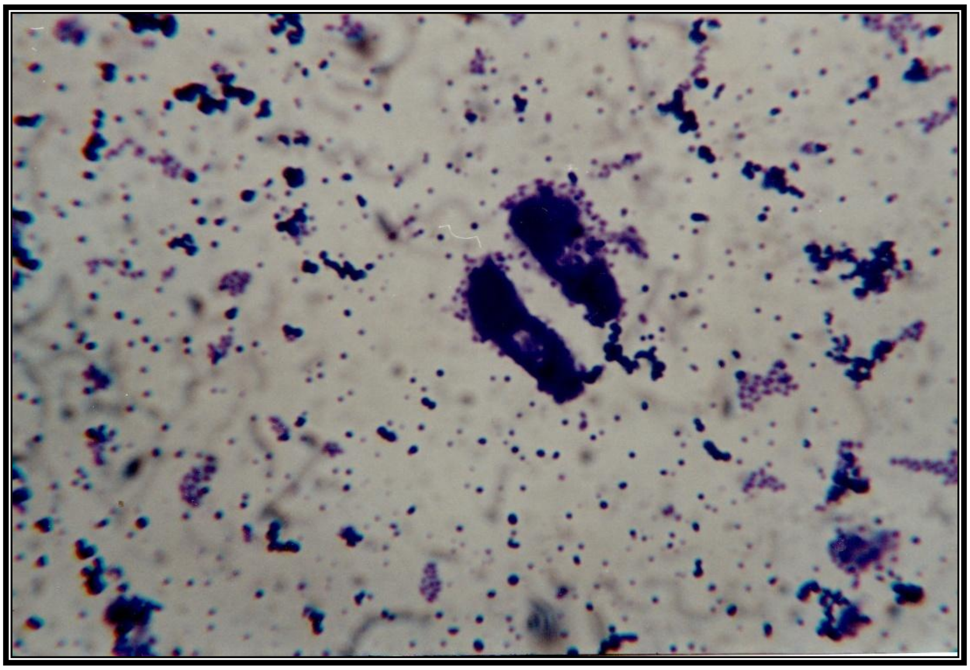
٢− دراسة التصاق جراثيم سالمونيلا على الخلايا المعوية للجرذان

نظراً لأهمية عملية الالتصاق في جراثيم سالمونيلا على الخلايا المعوية (enterocyte) سواء عند الانسان أو الحيوان ، فقد تناولت الدراسة الحالية التصاق جراثيم سالمونيلا (المحلية والقياسية) بالخلايا المعوية للجرذان ، أظهرت النتائج قدرة كل من جراثيم سالمونيلا (المحلية والقياسية) على الالتصاق بالخلايا المعوية للجرذان الصور (7) و (8) ، وكانت معدلات الالتصاق للسلالات القياسية أعلى من معدلات الالتصاق لجراثيم سالمونيلا المحلية ، وقد يعود ذلك إلى احتواء السلالات القياسية على شعيرات النوع الأول بأعداد أكبر مقارنة بالأنواع المحلية ، وهذا ما أكدته صور المجهر

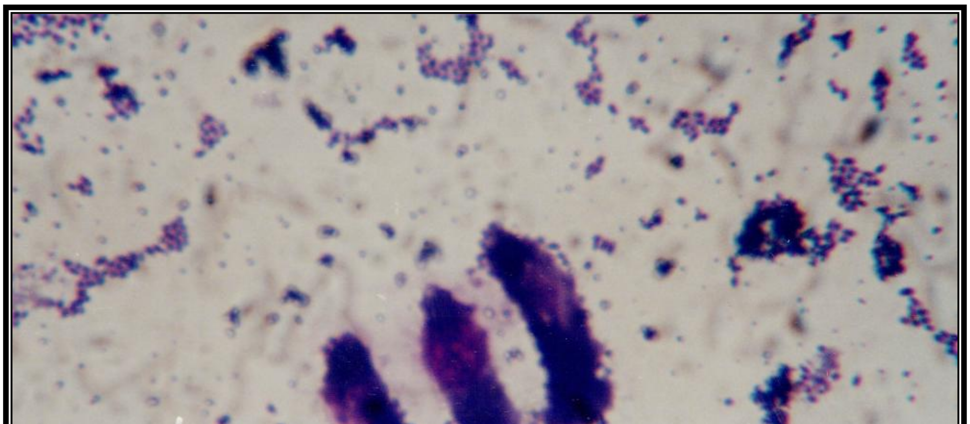
الالكتروني النافذ . الا ان التحليل الاحصائي بين عدم وجود فرق معنوي بين معدلات الالتصاق للسلالات القياسية والأنواع المحلية من جرثومة سالمونيلا ، إذ بلغ معدل الالتصاق للسلالات . القياسية (*S. typhi* و *S. paratyphi* B ، *S. paratyphi* C) (±30.7 6.182) و(±20.10 1.765) و(±29.8 5.425) جرثومة/خلية معوية على التوالي . وللأنواع المحلية (*S. typhi* ، *S. typhimurium* و *S. montevideo*) (±29 6.298) و(± 17.2 4.272)و (±28 3.20) جرثومة/خلية معوية على التوالي(الجدول ١) . وقد أشار عدد من الدراسات إلى قدرة جراثيم سالمونيلا للالتصاق بالخلايا المعوية للانسان و لحيوانات المختلفة(Feutrier, *et al*., 1986; Kuster, *et al*., 1993; Weinstein, *et al*., 1998) . وقد يعود هذا إلى امتلاكها شعيرات النوع الأول والتي تلعب دوراً مهماً في التصاق الجراثيم بالخلايا المعوية ، وهذا ما أكده الباحث(Lindquist)جماعته (1987) عند دراستهم لقدرة السلالات المشعرة وغير المشعرة لجرثومة *S. typhimurium* ، فقد وجدوا ان معدلات الالتصاق للسلالات المشعرة قد تراوحت بين (18.5–25.1) جرثومة/خلية معوية ، بينما للسلالات غير المشعرة تراوحت بين (2.7–9) جرثومة/خلية معوية .

كما يلاحظ من النتائج الموضحة في الجدول (1) أن أعلى قابلية للالتصاق أظهرتها جرثومة *S. typhi* (المحلية والقياسية) وأقل قابلية أظهرتها جرثومة *S. typhimurium* . وهذا ينتج عن احتواء هذه الجرثومة على الشعيرات بأعداد أكثر مقارنة بالأنواع الأخرى وهذا ما أكدته صور المجهر الالكتروني النافذ . الصورة (1) . ويؤكد هذه النتيجة الباحث (Weinstein) وجماعته (1998) الذين أشاروا في دراستهم إلى قدرة الجرثومة العالية للالتصاق والغزو بالخلايا الظهارية المعوية للانسان والحيوان مقارنة بالنوعين *S. typhimurium* و *S. dublin* ، حيث وجدوا ان هذه الجرثومة تحفز افراز IL–٦ من قبل الخلايا المعوية بكميات أكبر مقارنة بالنوعان الآخران مما يزيد من كفاءة ارتباطها بالخلايا المعوية . أما الباحثون (Lyczak & Pier., 2002; Lyczak., 2003) فقد أشاروا إلى ان الخلايا المعوية عند اصابتها بجرثومة *S. typhi* فانها تزيد من افراز البروتين Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) على الغشاء البلازمي للخلايا الظهارية ، والتي تستخدم بمثابة مستقبل من قبل جرثومة *S. typhi* وهذا مما يزيد من قدرتها للارتباط بالخلايا المعوية .

وتبين من خلال الفحص المجهري ان التصاق جراثيم سالمونيلا كان على كل سطوح الخلايا المعوية ولم يكن محدد فقط على الحافات الهدبية أو الجوانب القاعدية . الصور (8،7) . .



الصورة (7): صورة مجهرية توضح التصاق جرثومة *S. typhi* باعداد كثيرة على الخلايا المعوية للجرذان . الصبغة كيمزا . (1000X)



الصورة (8) : صورة مجهرية توضح التصاق جرثومة *S. typhimurium* بأعداد قليلة على الخلايا المعوية للجرذان . الصبغة كيمزا . الاسهم تشير إلى التصاق الجرثومة على الحافات الهدبية . (1000X)

الجدول (1) : معدلات التصاق جراثيم سالمونيلا المحلية والقياسية على الخلايا المعوية للجرذان .

النـــــوع	معدل الالتصاق (عدد الجراثيم الملتصقة لكل خلية معوية) جرثومة/خلية		
	المعدل	±	الخطأ القياسي
S. typhi *S. typhi* (قياسية)	29.0 30.7	± ±	6.298 6.182
قيمة *t*	t = 0.193 NS		
S. typhimurium *S. paratyphi* B (قياسية)	14.7 20.1	± ±	4.272 1.765
قيمة *t*	t = 0.585 NS		
S. montevideo *S. paratyphi* C (قياسية)	28.0 29.8	± ±	30.20 5.425
قيمة *t*	t = 0.286 NS		

References المصادر

المصادر العربية :

* السراج ، ضياء عبدالحي يونس (2001) . تأثير بعض العوامل على التصاق جراثيم الايشيريكيا القولونية السامة للأمعاء والممرضة للمجاري البولية المعزولة من المرضى المصابين بالاسهال والتهاب المجاري البولية في مدينة الموصل . أطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، العراق .

References:-

* Althouse, C.; Patterson, S.; Fedorka-Cray, P. and Isaacson, R. E. (2003): Type 1 fimbriae of *S. enterica* serovar *typhimurium* bind to enterocytes and contribute to colnization of swine *in vivo*. Infect. Immun. 71(11): 6446-6452.

*Baumler, A. J.; Tsolis, R. M. and Heffron, F. (1996):Contribution of fimbrial operons to attachment to and invasion of epithelial cell lines by *Salmonella typhimurium*. Infect. Immun. 64:1862-1865.

*Baumler, A. J.; Tsolis, R. M. and Heffron, F. (1996): The lpf fimbrial operon mediates adhesion to murine peyers patches. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93: 279-283.

*Baumler, A. J.; Tsolis, R. M.; Valentine, P. J.; Ficht, T. A. and Heffron, F. (1997). Synergistic effect of mutations in invA and lpfC on the ability of *Salmonella typhimurium* to cause murine typhoid. Infect. Immun. 65: 2254-2259.

*Dibb-Fuller,M. P. and Woodwrad, M. J. (2000): Contribution of fimbriae and flagella of *Salmonella entertidis* to colonization and invation of chicks. Avian pathology. 29: 295-304.

*Dibb-Fuller,M. P.; Allen-Vercoe, E.; Thorns, C. J. and Woodward, M. J. (1999): Fimbriae-and flagella-mediated association with and invasion of cultured epithelial cells by *Salmonella enteritidis*. Microbiology. 145: 1023-1031.

*Edwards, R. A.; Schifferli, D. M. and Maloy, S. R. (2000): A role for Salmonella fimbriae in intraperitoneal infections. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 97(3): 1258-1262.

*Feutrier, J.; Kay, W. W. and Trust, T. J. (1986): Purification and characterization of fimbriae from *Salmonella enteritidis*. J. Bacteriology. 168(1): 221-227.

*Giron, J. A.(1996): Fimbriae of enteropathogenic *Escherichia coli*. Rev. Microbiol. Sao Paulo. 27(supp.1): 72-76.

*Knutton, S.; Lioyd, D. R.; Candy, D. C. A. and McNeish, A. S. (1984): *In vitro* adhesion of Enteropathogenic *Escherichia coli* to human intestinal epithelial cells from mucosal biopsis. Infect. Immun. 44: 514-158.

*Korhonen, T .K.; Lounatmaa, K.; Ranta, H. and Kuusi, N. (1980): Characterizations of type 1 pili of *Salmonella typhimurium* LT2. J. Bacteriol. 144: 800-805.

*Krogfelt, K. A. (1991): Bacterial adhesion: genetics, biogenesis and role in pathogenesis of fimbrial adhesine of *E. coli*. Rev. Infect. Dis. 13: 721-735.

*Kusters, J. G.; Mulders-Kremers, G. A. W. M.; Van doornik, C. E. M. and Van der Zeust, B. A. M. (1993): Effects of multipicity of infection bacterial protein synthesis and growth phase on adhesion to and invasion of human cell lines by *Salmonella typhimurium*. Infect. Immun. 61(12): 5013-5020.

*Lindquist, B. L.; Lebenthal, E.; Lee, P.; Stinson, M. W. and Merrick, J. M. (1987): Adherence of *Salmonella typhimurium* to small intestinal; enterocytes of the rat. Infect. Immun. 65(12): 3044-3050.

*Lockman, H. A. and Curtiss, R. III. (1992): Virulence of type1-fimbriated and non fimbriated, non flagellated *Salmonella typhimurium* mutants in murine typhoid fever. Infect. Immun. 60: 491-496.

*McDermid, A. S.; Mckee, A. S.; Dowsett, A. B. and Marsh, P. D. (1996). The effect of environmental pH on the physiology and surface structure of *Salmonella* serotype *enteritidis* phage type 4. J. Med. Microbiol. 45: 452-458.

*Old, C. (1996). Mackie and McCartney, Practical Medical Microbiology. 14th ed. Churchill Livingstone.

*Old, D. C. and Duguid, J. P. (1970): Selective outgrowth of fimbriate bacteria in static liquid medium. J. Bacteriol. 103: 447-456.

*Old, D. C.; Corneil, I.; Gibson, L. F.; Thomson, A. D. and Duguid, J. P. (1968): Fimbriation, pellicle formation and the amount of growth of Salmonellas in broth. J. Gen. Microbiol. 51: 1-16.

*Thorns, C. J. (1995): Salmonella fimbriae: Novel antigens in the detection and control of Salmonella infections. British Veterinary J. 151: 643-658.

*Thorns, C. J.; Sojka, M. G.; Mclaren, I. M. and Dibb-Fuller, M. P. (1992): Characterization of monoclonal antibodies against a serogroup D Salmonellae and their application as Serotyping reagent. Res. Vet. Sci. 53: 300-308.

*Van dervelden, A. W. M.; Bumler, A. J.; Tsolis, R. M. and Heffron, F. (1998): Multiple fimbrial adhesions are required for full

virulence of *Salmonella typhimurium.* in mice. J. Infect. Immun. 66(6): 2803-2808.

*Walker, S. L.; Sojka, M.; Dibb-Fuller, M. P. and Woodward, M. J. (1999): The effect of pH temperature and surface contact on the elaboration of fimbriae and flagella by *Salmonella enteritidis*. J. Med. Microbiol. 48: 1-9.

*Weinstein, D. L.; Oneill, B. L.; Hone, D. M. and Metcalf, E. S. (1998): Differential early interactions between *Salmonella enterica* serovar *typhi* and two other pathogenic *Salmonella* serovars with intestinal epithelial cells. Infect. Immun. 66: 2310-2312.

*White, A. P.; Gibson, D. L.; Collinson, S. K.; Banser, P. A and Kay, W. W. (2003): Extracellular polysaccharides associated with thin aggregative fimbriae of *Salmonella enterica* serovar *enteritidis*. J. Bacteriol. 185(18): 5398-5407.

*Wolf, M. K. (1997): Occurrence, distribution and associations of O and H serogroup colonization factor antigens and toxin of enterotoxigenic *Escherichia coli*. Clin. Microbiol. Rev. 10: 569-584.

The detection of fimbriae by Transmission electron microscope in Salmonella isolated locally from patient in Kirkuk city and compared with some standard isolates .

(Dr.Hager Ali Shareef \ Prof.Dr.Subhi H.K.Al-jubouri \Prof.Dr.Adeeba Younis Shareef)

(University of Kirkuk-College of Science \University of Mosul-College of Nursing \University of Mosul-College of Science)

Summery

This study include the detection of fimbriae by Transmission electron microscope in three type of locall isolates of Salmonella (S.typhi , S.typhimurium, S.montevideo) and compared with their standard strains (S.typhi , S.paratyphi B , S. paratyphi C) respectively. The results showed that all isolates of Salmonella possessed type 1 fimbriae .

The study also determind the ability of these microorganism to adhered to Rat enterocyte , the statistical analysis reveled that there was no significant differences in adhesion rates to Rat enterocyte between locall isolates and their standard strains .