دراسة جرثوميه ومصليه وتأثير بعض المضادات الحياتيه على مرضى الحمى التيفية في مدينة بغداد

عباس صبري المزرقجي و زهير غالب الشاهين

فرع العلوم الطبية الأساسية – كلية طب الأسنان – جامعة بغداد –بغداد – العراق

الخلاصة

جمعت 200 عينة دم وبرازلمرضى يعانون من أعراض سريرية مماثلة لأعراض الحمى التيفية، وفضلا عن نتيجه موجبه مصليا باستخدام أختبار الويدال (Widal test) وبأستعمال المستضدين السوطي والجسدي (H,O-Ag). وتركزت عيارية الضدات عند 80،160 لكلا المستضدين، وكانت نسبة إصابة الذكور أعلى مما عليه بالإناث (54%،46%) على التوالي وسجلت الفئة العمرية 15-29 سنه أعلى نسبة إصابة في الذكور والاناث(17.5%،24.5%) على التوالي . عزلت بكتريا الـ*Salmonella typhi* من 49 عينة دم و 12عينة براز وأظهرت الاختبارات المصلية أن (49) عزلة تعود للنمط المصلي 9,12-Vi-d و 12 عزلة تعود للنمط 9,12-d. أبدت المضادات الحيوية Cephalexin, Gentamycin, Chloramphenicol, Rifampicin, Streptomycin فاعلية عالية ضد عزلات بكتريا الـ*Salmonalla typhi*، في حين قاومت كافة العزلات المضادين الحيويين Erythromycin, Penicillin.

Bacteriological , serological and som antibiotics study of Typhoid fever in Baghdad province

AL-Mezrakje A.s and AL-Shaheen z.kh

Dept. of basic sciences – Dental college-Baghdad University- Baghdad- Iraq

Summary

Two hundreds suspected typhoid fever patients blood and stool samples were collected. The diagnosis of patients was concerned with the clinical symptoms and serologically obtained from Widal test by using both H,O-antigens. The titer of antibodies were concentrated at a levels 80, 160 against each antigens. Typhoid fever infect both sex, but the rate of infection among males was higher (54%) as compared with that of females (46%), while the highest rate of infection was encountered among the age 15-29 years old in males and females 24.5%, 17.5% respectively. Sixty one isolates of *Salmonella typhi* were isolated from the blood and feces specimens (49,12)

respectively. Serological characterization of isolates showed that 49 isolates belong to 9,12-Vi-d serotype and 12 isolates to 9,12-d serotype.

The antibiogram pattern against *Salmonella typhi* cultures showed different results. The majority of isolates were sensitive to Streptomycin, Rifampicin, Chloramphenicol, Gentamycin and Cephalexin and resistant to both Penicillin and Erythromycin.

المقدمة

ما زالت الحمى المعوية وبالأخص الحمى التيفية (Typhoid fever) المتسببة عن بكتريا *Salmonella typhi* (*S. typhi*) إحدى مشاكل الصحة العامة الرئيسة في بلدان العالم الثالث، إذ أمكن تقدير 13000000 حالة إصابة وأكثر من 500000 ألف حالة وفاة سنوياً في هذه البلدان (1).تعد بكتريا الـ*Salmonella typhi* جنساً مهما من أجناس عائلة البكتريا المعوية Enterobacteriaceae وتتصف بكونها عصيات سالبة لصبغة كرام، متحركة بأسواط محيطية، غير مكونة للسبورات، هوائية أو لا هوائية أختيارية (2). يشمل جنس الـSalmonella عدداً كبيراً من ممرضات الإنسان واللبائن معاً وتم حديثاً تمييز 2324 ضربا مصليا Serovars (4،3). هذه الضروب يمكن تفريقها بوساطة التحليل المستضدي (Antigenic analysis) لبكتريا الـ*Salmonella* التي تمتلك عدداً من المستضدات الجسدية Somatic antigens (O-Ags) والمستضدات السوطية Flagellar antigens (H-Ags) وبعض أنواعها مثل بكتريا *S. paratyphi* –C, *S.typhi* تمتلك مستضد الفوعة (Vi-Ags) (2).

يحدث خمج الحمى التيفية عند تناول الأطعمة والمياه الملوثة ببكتريا *S. typhi* ومعدل الجرعة الفعالة لحصول الخمج السريري في الإنسان يتراوح ما بين 10^5–10^8 خلية حية، وبعد عملية الابتلاع للبكتريا تمر إلى الأمعاء الدقيقة لتلتصق بالطبقة الطلائية المخاطية ثم اختراقها بسرعة لتصل طبقة الصفيحة الأولية، وتبقى قسم من الخلايا البكترية حية داخل الخلايا البلعمية لتنقلها إلى النسيج الشبكي البطاني (Reticuloendothelial system) وتحدث هذه الأحداث في الأسبوع الأول من المرض (5). تصل البكتريا مجرى الدم عن طريق العقد اللمفاوية المساريقية لتحدث تجرثم الدم (Bacteraemia) ثم تصل البكتريا أنسجة مختلفة فيحصل تضخم الكبد والطحال وممكن أن تدخل البكتريا نخاع العظم والصفراء والكلية والرئتين وقد تعود الخلايا البكتيرية عن طريق الصفراء إلى الأمعاء ثانية محدثة تقرحات في لويحات باير Peyer's patches (1).

ان للمضادات الحيوية فعلاً مهماً في علاج الحمى التيفية، فقد أكد (6) فاعلية المضادات Streptomycin, Amoxycillin,Chloramphenicol والـGentamycin أتجاه سلالات من بكتريا *S. typhi* . وبَين (7) فاعلية المضاد Chloramphenicol في علاج الحمى التيفية وبنسبة شفاء بلغت 89%. إلا أن (8) و (9) بينوا أن بكتريا *S. typhi* كانت حساسة بشدة للمضاد Gentamycin ومقاومة للمضادات Ampicillin, Streptomycin والـTrimethoprim.

وبالنظر لاهمية المرض لذا هدفت هذه الدراسة إلى عزل بكتريا *S. typhi* من نماذج سريرية مختلفة لمرض الحمى التيفية وتشخيصها بالطرائق الكيموحياتية والمصلية واختبار حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية المتوفرة لتحديد العلاج الأمثل للمرض في مدينة بغداد.

المواد وطرائق العمل

جمعت عينات الدم والبراز من 200 مريض يعانون من أعراض سريرية مشابهة للإصابة بالحمى التيفية فضلاً عن نتيجه موجبه مصلياً لاختبار فحص الويدال وبواقع عينة دم وعينة براز من كل مريض خلال الفترة الواقعة بين آب 1999 وكانون الثاني 2000 وشملت الدراسة المرضى المراجعين أو الراقدين في المراكز الصحية الآتية: م.العام في مدينة الصدر، م. أبن الخطيب، م. مدينة الطب، م. الأطفال (الإسكان)، م.الكرامة التعليمي، ومختبر الصحة العامة المركزي.

عينات الدم:

لقح الوسط الزرعي السائل Brain-heart infusion بـ2 مل من عينة الدم وحضنت هوائياً عند 37 ^{o}م لمدة 48 ساعة، بعدها نقل جزء من المزروع السائل إلى الأوساط الزرعية الصلبة الآتية: S. S. Agar, MacConkey Agar وحضنت هوائياً لمدة 24 ساعة.

عينات البراز

حـُلت كمية من البراز في المحلول الملحي الفسيولوجي المعقم، ثم نقل كمية منه على وسط الـMacConkey Agar ووسط Xylose-Lysin-Dextrose-Agar (XLD) وحضنت الأطباق لمدة 24 ساعة عند 37 ^{o}م. مستعمرات السالمونيلا حمراء ذات مركز أسود على وسط الـ(XLD) وشاحبة اللون غير مخمرة للاكتوز على وسط الـMacConkey.

تشخيص العزلات البكتيرية

إضافة إلى الفحص المجهري لجزء من المستعمرات النموذجية لبكتريا *S. typhi* والمصبوغة بصبغة كرام، أجريت الفحوصات الكيموحياتية الأساسية للعزلات وفقا لما ذكره كل من (2) و (10) وشملت هذه الفحوصات الأتي: Urease test, Sugar fermentation test, IMVC test, H2S Motility production test .

أجري الفحص المصلي للعزلات بطريقة التلازن على الشريحة الزجاجية باستعمال المصول الخاصة الآتية:

- مصول متعددة التكافؤ Polyvalent antisera الخاصة بالمستضد الجسدي (O-Ag) وشملت المصول الخاصة بالمجاميع G,E,D,C,B,A لبكتريا السالمونيلا.
- مصول متعددة التكافؤ الخاصة بالمستضد السوطي H-Ag.
- مصل خاص بمستضد الفوعة Vi-antisera.
- مصول أحادية التكافؤ الخاصة ببكتريا *S. typhi* للمستضدات الجسدية والسوطية.

الفحوصات المصلية الخاصة بالمرضى

فحص الويدال Widal test

والمجهز من معهد *S. typhi*استخدم العالق الملون الخاص بالمستضدين الجسدي والسوطي لبكتريا المصول واللقاحات/ بغداد والذي يحوي:

S. typhi H-D-H

S. typhi O-9, 12-O

تحديد عيارية الأجسام المضادة

استخدمت طريقة تلازن الشريحة Slide agglutination method لتحديد عيارية الضدات في المصول اذ مزجت قطرة واحدة من المستضدين (H,O) مع كميات من المصل لنحصل على تخافيف نهائية بلغت 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640.

فحص حساسية عزلات بكتريا *S. typhi* للمضادات الحيوية

استخدمت طريقة (11) لقياس مدى حساسية بكتريا *S. typhi* المعزولة محلياً لعدد من المضادات الحيوية المبينة في أدناه، وأستخدم لذلك وسط Muller Hinton Agar وفسرت النتائج وفقاً لما ورد

في دليل الـBioMerieux وذلك بمقارنة نتائجنا مع معدلات مناطق التثبيط التي يحدثها كل مضاد أتجاه العزلات القياسية. أما المضادات الحيوية المستخدمة فشملت:

المضاد الحيوي	الكميةµg/disc
Ampicillin	25
Carbenicillin	100
Cephalexin	30
Chloramphenicol	30
Colistin	10
Erythromycin	10
Gentamycin	10
Naldixic acid	30
Penicillin	10 IU
Rifampicin	30
Streptomycin	10
Tetracyclin	10
Trimethoprim - Sulfanamide	25

جميع المضادات الحيوية أعلاه مجهزة من شركة "Oxoid" عدا المضادين Chloramphenicol والـGentamycin فإنهما مجهزان من شركة "BioMerieux"

النتائج

بلغ عدد العينات الموجبة من بكتريا *S. typhi* 61 عينة من مجموعة 400 عينة دم وبراز بواقع 49 عينة دم و 12 عينة براز جمعت من المواقع التي شملتها الدراسة(جدول 1).

جدول (1): مواقع جمع العينات والعزلات الكلية لبكتريا *S. typhi*

مواقع جمع العينات	عدد العينات	عدد العينات الموجبة		عدد العزلات الكلية
		دم	براز	العدد (%)
م. العام في مدينة الصدر	88	14	3	17(19.31)
م. أبن الخطيب	72	10	2	12(16.66)
م. الأطفال (الإسكان)	40	4	1	5(12.5)
مختبر الصحة المركزي	80	11	3	14(17.5)
مدينة الطب	46	4	2	6(13.04)
م. الكرامة التعليمي	74	6	1	7(9.45)
المجموع	400	49	12	61(15.25)

م.= مستشفى

أظهرت النتائج أن الحمى التيفية تصيب الذكور والإناث على حد سواء، إلا أن نسبة انتشار المرض بالذكور كانت أعلى، إذ بلغت نسبة إصابة الذكور 54% والإناث 46%.وقد كانت كافة الفئات العمرية عرضة للإصابة، وبلغت أعلى نسبة لإنتشار المرض ضمن الفئة العمرية 15–29إذ بلغت 42%. (جدول 2).

جدول (2): توزيع مرضى الحمى التيفية حسب الجنس والفئة العمرية

الفئة العمرية	العدد	%	ذكور	%	إناث	%
14–0	57	28.5	30	15	27	13.5
29–15	84	42	49	24.5	35	17.5
44–30	40	20	21	10.5	19	9.5
45–فما فوق	19	9.5	8	4	11	5.5
المجموع	200	100	108	54	92	46

عند التحري عن وجود بكتريا *S. typhi* في عينات الدم والبراز المأخوذة من المرضى ، تم عزل هذه الجرثومة من عينات الدم بشكل أكبر من عزلها من عينات البراز. (جدول 3).

أن الفحوصات التشخيصية الكيموحياتية لها أهمية كبيرة في التشخيص الدقيق لبكتريا

S. typhi اذ ان لها صفات خاصة تميزها عن سائر الأنواع التابعة لجنس السالمونيلا وقد أظهرت نتائج دراستنا أن بكتريا *S. typhi* تنتج غاز H_2S بكميات قليلة في وسط (TSI) Triple Sugar Iron وأعطت نتيجة سالبة في أختبار الأندول والفوكس – بروسكاور وأستهلاك السترات، واليوريز، إلا أنها كانت موجبة في أختبار أحمر المثيل، والحركة، وكان تخمرها للكلوكوز مصحوباً بإنتاج الحامض والغاز.

ساد النمط المصلي 9,12,Vi-d بين عزلات بكتريا *S. typhi* المعزولة في هذه الدراسة وبلغ عدد العزلات التابعة لهذا النمط (49) عزلة بواقع 46 من الدم و 3عزلات من البراز، في حين بلغ عدد العزلات التابعة للنمط المصلي 9,12-d 12 عزلة بواقع 3 عزلة من الدم و 9 عزلات من البراز. (جدول 3).

جدول (3): الصيغة المستضدية لعزلات بكتريا *S. typhi* تبعاً لنوع العينة

الصيغة المستضدية	العدد الكلي	دم	براز
9,12-Vi-d	49	46	3
9,12-d	12	3	9
المجموع	61	49	12

أوضحت نتائج فحص الويدال أن غالبية دم المرضى تركزت عند عيارية للضدات بلغت 80 إذ بلغت نسبتهم 24.5 % ، 32.5 % وعند عياريه 160 بلغت النسبة 23%، 20.5% للمستضدين السوطي والجسدي على التوالي. في حين سجلت أوطأ نسبة عند عياريه 20 اذ بلغت12.5%،10.5% على الترتيب أيضا. (جدول 4).

جدول (4): توزيع المرضى حسب عيارية الضدات في مصولهم للمستضدين O,H مقاسة بطريقة الويدال

المستضد	عيارية الضدات				
	1/20	**1/40**	**1/80**	**1/160**	**1/320**
H	25 (12.5)*	43 (21.5)	49 (24.5)	46 (23)	37 (18.5)
O	21 (10.5)	40 (20)	65 (32.5)	41 (20.5)	33 (16.5)

*( ) النسبة المئوية، عدد المرضى= 200

أما بخصوص حساسية عزلات بكتريا *S. typhi* تجاه للمضادات الحيوية فقد بينت النتائج فاعلية المضادات الحيوية Chloramphenicol, Rifampcin Cephalexin, ,Streptomycin Gentamycin إذ بلغت النسبة المئوية للعزلات الحساسة لهذه المضادات مقدار 91.8% ، 90.1 %، 88.5%، 86.8%، 86.8% على التوالي، في حين بلغت النسبة المئوية للعزلات الحساسة للمضادات Sulfamethoprim , Tetracyclin Carbencillin , Colistin , Naldixic acid , Ampicillin مقدار (83.6%،81.9%،78.6%،72.1%،62.29%،27.8%) على التوالي (جدول 5). وقد قاومت كافة العزلات المضادات الحيوية Penicillin , Erythromycin .

جدول (5): النسبة المئوية لسلالات بكتريا *S. typhi* الحساسة والمقاومة لعدد من المضادات الحيوية

المضاد الحيوي	العزلات الحساسه		العزلات المقاومة	
	العدد	%	العدد	%
Ampicillin	48	78.68	13	21.31
Carbencillin	17	27.86	44	72.13
Cephalexin	53	86.88	8	13.11
Chloramphenicol	54	88.52	7	11.47
Colistin	38	62.29	23	37.70
Erythromycin	–	–	61	100
Gentamycin	53	86.88	8	13.11
Naldixic acid	44	72.13	17	27.86
Penicillin	–	–	61	100
Rifampcin	55	90.16	6	9.83
Streptomycin	56	91.80	5	8.19
Tetracyclin	51	83.60	10	16.39
Trimethoprim-Sulfonamide	50	81.96	11	18.03

المناقشة

لقد اظهرت النتائج اتفاقا مع ما ذكره كل من (7) و (12) بان الذكور أكثر عرضة للإصابة بمرض الحمى التيفية من الإناث وأن أكبر عدد من حالات الإصابة تظهر ضمن الفئة العمرية 15-35. وأشار كل من (2) و (13) و (14) الى أن مرض الحمى التيفية يحدث في جميع الفئات العمرية. كذلك أكده (15) في دراسته الوبائية لمرض الحمى التيفية في مدينة بغداد. أما (16) فقد ذكروا عدم وجود فرقاً معنوياً مهماً بين الذكور والإناث في التعرض للإصابة بهذا المرض.

ان عزل جرثومة *S. typhi* بشكل اكبر من عينات البراز يعزى إلى ان عزل بكتريا *S. typhi* من النماذج المأخوذة من المرضى مرتبط أرتباطا وثيقا بمرحلة المرض، فعندما يكون المرض في الأسبوع الأول فإن لنماذج الدم أهمية كبيرة في عزل البكتريا أما إذا تقدمت الإصابة فإن نماذج البراز والإدرار تصبح أكثر إيجابية (4،3). لقد كانت المواصفات الكيموحياتية لبكتريا *S. typhi* المعزوله خلال دراستنا متفقة مع ما ورد عند كل من (10 و 17) وقد ساد النمط المصلي 9,12,Vi-d بين عزلات بكتريا *S. typhi* المعزولة في هذه الدراسة. لقد بين (18) بأن تغايرات النمط المصلي لبكتريا *S. typhi* المعزولة من الدم والبراز تحدث بصورة طبيعية في مستضد الفوعة (Vi-Ag) وأن بعض هذه التغايرات تشابه تلك التي تحدث في سلالات المكورات السحائية والرئوية وفي بكتريا *Haemophilus influenza* type-b.

يعزى أرتفاع عيارية الضدات في دم المرضى المصابين بمرض الحمى التيفية إلى قابلية بكتريا *S. typhi* على تحفيز الأستجابة المناعية الخلطية ضد المستضدين السوطي والجسدي في نهاية الأسبوع الأول للمرض كرد فعل مناعي من قبل الجسم وإن لمرحلة المرض فعلاً مهماً في تحديد عيارية الضدات (2 و 4 و 19). إن طريقة الويدال على الرغم من كونها طريقة سريعة وقليلة الكلفة إلا أنها غير كفوءة في تشخيص مرض الحمى التيفية بشكل دقيق وقد يعزى ذلك لقلة حساسيتها (Sensitivity) للمستويات الواطئة من الـ IgG و الـIgM (20). فضلا عن قلة خصوصيتها ونوعيتها، وان ذلك قد يعزى لوجود تشابه في تركيب المستضد الجسدي لبكتريا السالمونيلا مع أفراد عوائل البكتريا المعوية لذلك فإن الإصابة بأحد أفراد هذه العائلة تؤدي إلى تولد ضدات تعطي تفاعلا تصالبيا (cross-reaction) مع المستضد الجسدي في فحص الويدال (3). كما أن التلقيح بلقاح التيفوئيد (TAB) يؤدي هو الأخر إلى أرتفاع عيارية الضدات للمستضدين السوطي والجسدي وإعطاء نتيجة خاطئة موجبة في فحص الويدال (7).

لقد اوضحت نتائجنا فاعلية المضادات الحيويةStreptomycin و Chloramphenicol وRifampcin و Cephalexin و Gentamycin ضد عزلات بكتريا *S. typhi* في حين بين كل

من (21) و (22) فاعلية المضادين Chloramphenicol و Carbencillin على بكتريا *S. typhi*وقد أشار كل من (23) و (24) إلى تفاوت حساسية عزلات بكتريا *S. typhi* للمضادات الحيوية Chloramphenicol و Ampicillin و Streptomycin وTetracyclin و Penicillin أن الأختلاف النسبي في نتائج فحص الحساسية للمضادات الحيوية في الدراسات المختلفة قد يعود إلى الاختلافات الوراثية بين السلالات البكتيرية الخاضعة لهذه الدراسات فضلا عن اختلافات طريقة اختبار الحساسية للمضادات الحيوية، وفي دراستنا الحالية استخدمنا طريقة الانتشار بالأكار كأساس لتقييم حساسية السلالات البكتيرية لعدد من المضادات الحيوية، وتخضع هذه الطريقة إلى عوامل متعددة تحدد قطر منطقة التثبيط منها كمية ونوع المضاد بالقرص، سمك وكمية ونوع الوسط الزرعي المستخدم، حجم الطعم الجرثومي، الآس الهيدروجيني وظروف الحضانة والتهوية، فضلاً عن كون التركيب الوراثي للسلالة البكتيرية يحدد حساسيتها أو مقاومتها للمضاد المعين، فقد أشار (3) إلى أن بكتريا *S. typhi* تمتلك طرائق متعددة لمقاومة المضادات الحيوية أهمها إفراز إنزيمات تبطل وتفكك عمل المضاد الحيوي كأنزيم الـBeta-lactamase الذي يكسر حلقة الـß-lactame وبالتالي يثبط عمل المضادين الحيويين Cephalosporin , Penicillin.

المصادر

1.Ivanoff, B.; Levine, M. M. and Lambert, P. H.(1994). Vaccination against typhoid fever. Bull, World Health Organ. 72 (6): 957-971.

2.Chopra, H.L. (1985). Textbook of medical microbiology, Seema publications. P.393-415.

3.Bhatia, R. and Pujani, R.L. (1994). Essential of medical microbiology. (JAYPEE). Chapter (40). P.370-376

4.Gillespie SH. and Hawkey PM. (2006). Principles and practice of clinical bacteriology 2nd ed. Wiley, England.

5.Jawetze, E.; Melnick, J. L. and Adelberg, E. A. (1987). Review of medical microbiology. 17th Ed. Appleton and Lange.

6.Rowe, B.; Warld, L.R. and Threlfal, E. J. (1990). Spread of multiresistante Salmonella typhi. Lancet. 336:1055.

7.Jaim, E.; Goig, O and Ruiz, L. (1993). Typhoid fever in rural Haiti. Bull. (4):382-388.

8.Mizra, S. H. and Hart, C. A. (1993). Plasmid encoded multidrugs- resistance in *Salmonella typhi* from Pakistan.Trop. Med. Parasitol., 87:373-377.

9.White, N.J. and Parry, C.M. (1996). The treatment of typhoid fever. Current Opinion in Infectious Diseases, 9: 298-302.

10. Koneman, E. W.; Allen, S. D.; Jawa, W. M. and Sachreckeber, P.C. (1992). Color Atlas and Text Book of Diagnosis Microbiology. 4th ed. J. B. Lippincott Company, Washington, Philadelphia. P. 135-137.
11. Bauer, A.W.; Kirby, W.M.; Sherris, J.C. and Truck, M. (1996). Antibiotic susceptibility testing by standarized single disk method. Am. J. Clin. Path. 43: 493-496.
12. Foot, S.C. and Hook, H. (1979). Salmonella including typhoid fever. In Principles and Practice of Infectious Diseases. By G. L. Mandell, New York, Toronto: a Wiley Medical publication. P. 1730-1750.
13. Geddes, A. M. (1980). Typhoid fever. Postgraduate Doctor-Middle East, 3 (9): 350-352.
14. Ward, L.R.,; Threlfall, J. and Smith, H.R. (2000). *Salmonella* enteritidis Epidemic. Science, 287:1753-1756.
15. Al-Aubaidi, K. M. (1988). Evaluation of Widal test in the diagnosis of typhoid fever in Baghdad. M. Sc. Thesis, College of Medicine, University of Al-Mustansriya.
16. Murad, M.M.; Murad, A. M.; Dhia Al-Deen. L. (1996). A study of typhoid fever in Saddam Central Teaching Hospital for Children. Iraq. J. Microbiol., 8 (2): 205-209.
17. Holte, J. G.: Krieg, N. R.; Sneeth, P. H.; Staley, J. T. and William, S. T. (1994). Bethy's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. William and Wilkins Co. Baltimor, London. P. 186-187.
18. Robbins, J. D. and Robbins, T. B. (1984). Reexamination of the protective role of the capsular polysaccheride (Vi-antigen) of *Salmonella typhi*. J. Infect. Dis., 15 (3): 436-449.
19. Robbins, J. D. and Robbins, T. B. (1984). Reexamination of the protective role of the capsular polysaccheride (Vi-antigen) of *Salmonella typhi*. J. Infect. Dis., 15 (3): 436-449.
20. Vitale, G.; Librizzi, R.; Mocciaro, I.; Blandino, E.; Usticano, V.; Mansueto, S.; Difiore, M.; Reina, G. and Gambino, G. (1990). An ELISA method in the diagnosis of typhoid fever. J. Vlin. Lab. Immunol., 31: 195-199.
21.. Sippel, J.E.; Hanafy, H. M.; Diab, A. S.; Prato, C. and Arroyo, R. (1998). Serodiagnosis of typhoid fever in pediatric patients by anti-LPS ELISA. Trans. R. Soc. Trop. Med., 81: 1022-1026.
22. Therfall, E.; Warld, L.; Row, B.; Raghupathi, S.; Schandrasekran, V.; (1980). Antibiotic resistance of *Salmonella typhi* in Inida. Europ. J. of Clin. Microbiol. and Infect. Dis., 11 (11): 990-993.
23. Screem, G.; Kanna, G.; Figen, G.; Akano, O.; Ceyhan, M. and Ecevite, Z. (1997). Olfaxacin versus co-trimoxazole in the treatment of typhoid fever in children Acta-Pediatr. Jpn., 39 (2): 218-221.

24. El-Shirbini, A. (1992). An out break of typhoid fever resistant to Chloramphenicol and other drugs in Gharbeya Governorate in Egypt. J. Trop. Pediat., 38 (6): 331-334.

25. Hiem, T.T.: Bethel, D. B. and Hoa, N.T. (1995). Short course of Oflaxacin for treatment of multi-drugs resistance typhoid. Clin. Infect. Dis., 20: 917-923.