

عزل وتشخيص بعض الجراثيم المعوية من حالات الإسهال عند الأطفال في مدينة الموصل ودراسة قابليتها على إنتاج الأنزيم البروتينيز*

أ.د. أدبية يونس شريف
قسم علوم الحياة - كلية العلوم
جامعة الموصل

عمر غياث محمد
قسم العلوم - كلية التربية الأساسية
جامعة الموصل

المؤتمر العلمي السنوي الأول لكلية التربية الأساسية (٢٣-٢٤/أيار/٢٠٠٧)

ملخص البحث :

تضمنت الدراسة الحالية عزل وتشخيص عدد من الانواع الجرثومية المسببة لحالات الاسهال في الاطفال دون سن الخمس سنوات ، اذ تم جمع ٥٠ عينة خروج من الاطفال الراقدين والوافدين الى مستشفى الخنساء للفترة من منتصف شباط الى منتصف نيسان ٢٠٠٥ ، زرعت العينات على الاوساط الانتقائية وشخصت الجراثيم النامية بالاعتماد على الصفات الشكلية والفحوصات الكيموحيوية ، اذ تم تشخيص 45 عزلة جرثومية تابعة للعائلة المعوية شملت ١٨ عزلة (٤٠%) للنوع *E.coli* ، ١٦ عزلة (٣٥.٥%) للنوع *Klebsiella pneumoniae* ، ٤ عزلات (٨.٨%) للجنس *Proteus* ، ٣ عزلات (٦.٦%) للجنس *Citrobacter* وعزلتين (٤.٤%) لكل من الجنس *Serratia* والجنس *Salmonella* . تم التحري عن انتاج انزيم البروتينيز الذي يعد من العوامل المحفزة لمرض الامعاء الالتهابي وتبين ان عزلات النوع *Serratia marcescens* و *Proteus mirabilis* والجنس *Salmonella* كانت قادرة على انتاج الانزيم في حين لم يظهر النوع *Klebsiella pneumoniae* أي قدرة لانتاج هذا الانزيم .

Isolation And Identification Of Some Enterobacterial Species From Children With Diarrhoea In Mosul And Studying Their Ability To Produce Protease Enzyme

Prof. Omar Gh. Mohammed
Department of Science, College of Basic Education

Dr. Adeba Y. Shareef
Department of Biology, College of Science
University of Mosul

(*) البحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الثاني

Abstract:

This study included the isolation and identification of some bacterial species causing diarrhea in children under five years old . Fifty stool specimens were collected from in and out patients of Al-Khansaa hospital during the period from the mid of February to the mid of April, 2005. Specimens were cultured on selected media and the growing colonies were identified using morphological characteristics and biochemical tests. Forty five bacterial isolates belongs to the family enterobacteriaceae were identified, 40%(18 isolates) of them were *E.coli*; 35.5% (16 isolates) were *Klebsiella pneumoniae*; 8.8%(4 isolates) of *Proteus*; 6.6% (3 isolates) of *Citrobacter* and 4.4% (two isolates) of *Serratia* and *Salmonella*.

Protease production, which is considered as one of the factors enhancing inflammatory bowel disease, was investigated and it has been found that *Serratia macescens* , *Proteus mirabilis* , and *Salmonella sp.* were able to produce this enzyme while *Klebsiella Pneumoniae* didn't.

المقدمة

تضم العائلة المعوية مجموعة كبيرة من العصيات السالبة الكرام هي مسببات رئيسة لأصابات القناة المعوية للإنسان، إذ يتسبب في احداث حالات الاسهال الذي يسبب وفاة ما يعادل خمس الاطفال دون سن الخمس سنوات في الاقطار النامية، وتعد سلالات الانواع التابعة لاجناس: *Salmonella, Shigella, Escherichia* من المسببات الاكثر شيوعا لالتهاب المعدة والامعاء . وتكمن ضراوة الانواع البكتيرية التابعة للعائلة المعوية في: امتلاك بعضها لشعيرات تمكنها من الالتصاق على خلايا المضيف، انتاجها للذيفان الداخلي ممثلا بطبقة متعدد السكريات الدهني والذيفان المعوي المرتبط بحالات الاسهال وانتاج العديد من الانواع لطبقة المحفظة التي تمكنها من تثبيط عملية البلعمة (Nester et al., 2004; Brooks et al., 2004) تحدث الاصابة عند تناول الاطعمة والمشروبات الملوثة بالجراثيم المعوية والتي لها القدرة على مقاومة الفعل القاتل للانزيمات الهاضمة والتغيرات في قيمة الحامضية. (Talaro and Talaro , 1996) يعمل الكائن الممرض عند وصوله إلى الأمعاء على اختراق الطبقة المخاطية ليبدأ بالتكاثر وقد تعمل عدد من الكائنات الممرضة علاننتاج الذيفان المعوي المسبب لحالات الاسهال وقد تحدث اصابات ثانوية لاسيما في حالة عبور الأمعاء.

(Lindsay ,1997; Tortora et al., 2004)

امراضية عدد من أجناس العائلة المعوية:

١. **الجنس *Serratia***: ينتمي هذا الجنس الى مجموعة اشباه القولونيات التابعة للعائلة المعوية (Jawetz et al., 1991) وتكمن امراضية النوع *S. marcescens* في انتاجه لعدد من عوامل الضراوة اهمها: انزيم البروتيز، انزيمات النيوكليز، انزيم الهيمولايسين، انزيم اللايبز، انزيم الليستينيز، وانزيم الجيلاتينيز. (Auckin and Pitt, 1998)
٢. **الجنس *Escherichia***: يعود هذا الجنس الى مجموعة اشباه القولونيات، ويعد النوع *E. coli* اكثر الانواع التابعة لهذا الجنس شيوعا التي تم عزلها من النماذج المرضية. وهي تشكل جزءا من النبيت الطبيعي للقناة المعوية لدى الاشخاص الاصحاء. تعد سلالات الايشريكية القولونية واحدة من اهم مسببات الاسهال وتكمن امراضية هذه السلالات في انتاج بعضها للذيفانات المعوية مثل الذيفان المعوي الثابت بالحرارة والذيفان المعوي التالف بالحرارة والذيفان المسمى بال verotoxin وغيرها.
- (Murray et al., 1999; Mims et al., 2004)
٣. **الجنس *Klebsiella*** : ينتمي هذا الجنس الى مجموعة اشباه القولونيات ويمثل النوع *Klebsiella pneumoniae* النوع الاكثر شيوعا من بين الانواع التابعة لهذا الجنس وهو يتواجد في القناة المعوية بصورة طبيعية بنسبة 5-35 % (Koneman et al., 1997; Braunwald et al., 2001) تتسبب الجرثومة في احداث حالات الاسهال الوبائي اذ تمتلك عدد من سلالاتها القدرة على اكتساب البلازميدات من جرثومة *E. coli*. (Jensen et al., 1997; Rassol et al., 2003) وتكمن ضراوة هذا النوع في : امتلاكه النمط الاول والثالث للشعيرات والتي تمكنها من الالتصاق على سطوح الخلايا الظهارية والاعشوية المخاطية للقناة المعوية والتنفسية والبولية (Hornick et al., 1995)
٤. **الجنس *Proteus***: تشكل افراد هذا الجنس جزءا من النبيت الطبيعي للأمعاء حيث تتواجد في القناة المعوية للانسان والحيوان كما تتواجد في التربة والمياه والفضلات (Jensen et al., 1997). تعزل سلالات هذا الجنس من خروج مرضى الزحار العصوي وتتواجد باعداد كبيرة في براز المرضى الذين يستخدمون المضادات الحيوية بصورة مستمرة (الجبوري، 1990) (Fingold & Martin, 1982) ويسبب هذا النوع تعفن الاغذية لذا فهو يعد من مسببات التهاب المعدة والأمعاء والتسمم الغذائي (Madigan et al., 2003) تمتلك سلالات النوع *Proteus mirabilis* عددا من عوامل الضراوة التي تساهم في امراضيتها: اذ انها تنتج العديد من الانزيمات: اهمها: انزيم اليوريز (Brooks et al., 2004) و انزيمات البروتيز التي تعمل على تحليل الكلوبولينات المناعية وبروتينات الاغشية الخلوية (Loomes et al., 1990).

٥. الجنس *Citrobacter*: ينتمي هذا الجنس الى مجموعة اشباه القولونيات، ويتواجد بصورة طبيعية في القناة المعوية للانسان (Murray et al., 1999) وقد شخص النوع *Citrobacter freundii* كمسبب لحالات الاسهال من قبل الباحث Guarino وجماعته 1987 اذ اثبتت الجرثومة قدرتها على انتاج الذيفان المعوي الثابت بالحرارة كما تتمكن الجرثومة من الالتصاق على سطوح الخلايا الظهارية للأمعاء من خلال امتلاكها النمط الاول من الشعيرات (Ernst et al., 1990).

٦. الجنس *Salmonella*: يعد هذا الجنس من اكثر الاجناس شيوعا اذ يأتي بالمرتبة الثانية بعد جنس *Campylobacter* كمسبب لحالات الاسهال المرتبط بالغذاء في العديد من البلدان المتقدمة كالولايات المتحدة الامريكية والمملكة المتحدة (Mims et al., 2004). ويعتقد الباحث Mims وجماعته 1993 ان الاسهال يظهر عند الاصابة بجرثومة *Salmonella* نتيجة لغزو هذه الجراثيم للطبقة الطلائية وان هذه الجرثومة لاتنتج اي ذيفان معوي فيما اثبتت دراسة (الشماع، 2001) ان امراضية هذه الجرثومة ترتبط بشكل كبير بقدرتها على انتاج الذيفان المعوي التالف بالحرارة ويأتي الغزو الجرثومي بالدرجة الثانية.

دور انزيم البروتيز كعامل ضراوة :

تعد معظم انزيمات البروتيز من عوامل امراضية الجراثيم اذ قد تتسبب في عدد من الأعراض التي تتراوح في حدتها بين آلام بسيطة إلى الصدمة الناتجة عن انتقال الخلية البكتيرية من منطقة الاصابة نتيجة تحلل النسيج المصاب بفعل الانزيم الى جهاز الدوران محدثة حالة انتان الدم (Maeda, 1996, Maeda and Yamamoto, 1996). تكمن ضراوة هذا الانزيم في قدرته على تحطيم الكلوبولينات المناعية نوع IgA المبطن للاغشية المخاطية و IgG، وتحطيم بروتينات الاغشية الخلوية، فضلا عن مقاومته لمثبطات البروتيز المتواجدة في بلازما الدم للمضيف وقدرته على تحطيمها وتنشيط فعاليتها (Loomes et al., 1990; Maeda, 1996). اشارت دراسة Cenac وجماعته 2002 الى انتشار مستقبلات انزيم البروتيز بصورة واسعة على سطح الخلايا الظهارية للأمعاء وان تنشيط هذه المستقبلات من خلال حقن انزيم التريسين داخل القولون يؤدي الى تحفيز حدوث مرض الأمعاء الالتهابي.

طرائق العمل جمع العينات المرضية :

جمعت العينات من حالات الأسهال المزمن للمرضى الراقدين والوافدين الى مستشفى الخنساء والذين يعانون من حالة الأسهال لمدة تزيد على اسبوعين من الاطفال ويعمر اقل من خمس سنوات . حيث جمعت 50 عينة وذلك باستخدام علب بلاستيكية (Collee et al.,1996) (ثم نقلت مباشرة الى المختبر . لقحت العينات على وسط اكار الماكونكي وحضنت هوائيا بدرجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة.

تشخيص الأحياء المجهرية :

شخصت الجراثيم النامية اعتمادا على صفاتها المزرعية والشكلية اذ فحصت المسحات المحضرة من المزارع النامية المصبوغة بصبغة كرام . فضلا عن الاعتماد على الاختبارات البايوكيميائية والتي اجريت حسب ما جاء في (McFaddin , 1985 , Lennette et al., 1985; Baron et al., 1994; Koneman et al., 1997) الانزيم الاوكسيديز و انزيم الكتاليز، اختبار اختزال النترات ، مجموعة اختبارات IMViC ، اختبار النمو على وسط اكار ثلاثي السكر والحديد TSI ، اختبار النمو على وسط SIM ، اختبار فعالية انزيم اليوريز ، واختبار نزع مجموعة الأمين من الحامض الأميني فينايل الانين. ولعدم توفر الامصال اللازمة للتشخيص الى مستوى السلالة للنوع *E.coli* لم نتمكن من اجراء التشخيص المصلي للسلالات المعزولة. استخدم نظام API 20 E للتأكد من تشخيص جرثومة *Serratia marcescens* قيد الدراسة اجري الاختبار اعتمادا على ما جاء في . (Atlas et al., 1995)

اختبار التحري عن انزيم البروتيز :

تم التحري عن قابلية سلالات الأنواع *Serratia marcescens*, *Salmonella sp.* *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* على انتاج انزيم البروتيز من خلال ملاحظة قدرتها لتحليل بروتين الحليب (الكازيين) وذلك بتلقيح العزلات الفتية لهذه الأنواع على وسط أكار الحليب منزوع الدسم وملاحظة ظهور المناطق الرائقة حول المستعمرات المنفردة بعد 24-48 ساعة من التحضين مما يدل على تحليل الكازيين بفعل انزيم البروتيز. (Lennette 1985)

النتائج والمناقشة العزل والتشخيص:

أظهرت نتائج الزرع الأولى على الأوساط الانتقائية (وسط اكار الماكونكي ووسط اكار الكلد) وبعد 24 ساعة من التحضين مستعمرات نامية بأقطار 1-2 ملم عدد منها مخمر لسكر اللاكتوز والعدد الآخر غير مخمر له، والتي شخّصت بالاعتماد على الصفات الشكلية، اذ حضرت مسحات رقيقة من المستعمرات النامية وصبغت بصبغة كرام فظهرت بشكل عصيات قصيرة سالبة للصبغة ، كما استخدمت العديد من الاختبارات البايوكيميائية في تشخيص الجراثيم النامية والموضحة في الجدول (١)

(Davis et al., 1980; Baron et al., 1994; Brooks et al., 1995)

الجدول (١)

الاختبارات الكيموحيوية المستخدمة في تشخيص العزلات البكتيرية

النوع البكتيري	الاوكسيدز	الكثايز	اختزال نترات	TSI			الاختلال	الميل الأحمر	فوكس بروسكور	استهلاك السترات	تحلل اليوريا	الحركة	نوع مجموعة الأمين	تحلل ال DNA
				S/but	gas	H2S								
<i>Escherichia coli</i>	-	+	+	A/A	+	-	+	+	-	-	-	+	ND	ND
<i>Klebsiella pneumonia</i>	-	+	+	A/A	+	-	-	+	+	+	+	-	-	ND
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	+	K/A	-	+	-	+	+	+	+	+	+	ND
<i>Citrobacter sp.</i>	-	+	+	K(A)/A	+	+	+	+	-	+	-	+	ND	ND
<i>Serratia sp.</i>	-	+	+	K(A)/A	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+
<i>Salmonella sp.</i>	-	+	+	K/A	+	+	-	+	-	+	-	+	-	ND

الرموز: +: نتيجة موجبة، -: نتيجة سالبة، A: حامضي، K: قاعدي ، ND: عدم اجراء الاختبار

(Brooks et al., 1995)

الجدول (2)

النسب المئوية للعزلات البكتيرية المعزولة من حالات الاسهال

النسبة المئوية	العدد	الأنواع البكتيرية
٤٠	١٨	<i>Escherichia coli</i>
٣٥.٤	١٦	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
٨.٨	٤	<i>Proteus sp.</i>
٦.٦	٣	<i>Citrobacter sp.</i>
٤.٤	٢	<i>Serratia sp.</i>
٤.٤	٢	<i>Salmonella sp.</i>
١٠٠	٤٥	المجموع

واعتمادا على النتائج التي تم الحصول عليها شخصت اشباه القولونيات بنسبة كبيرة بلغت % 86.5 من المجموع الكلي للعزلات والتي كانت موزعة على الأنواع الآتية: *E.coli* 40% , *Klebsiella pneumoniae* 35.5% , *Citrobacter sp* 6.6% , *Serratia sp.* 4.4% وكما موضح في الجدول (2). تتواجد اشباه القولونيات بصورة طبيعية في الانسان والحيوان كما ان عدد منها يتواجد في التربة والمياه والفضلات. وعلى الرغم انها ممرضات ذات ضراوة واطنة الا انها قد تصبح انتهازية عند ضعف الحالة المناعية وتحطيم دفاعات المضيف الطبيعية (Jensen et al., 1997) اظهر النوع *E.coli* أعلى نسبة عزل بلغت 40% (18عزلة) وهذه النسبة قد لا تكون عالية عند مقارنتها مع دراسة يونس (1989) الذي تمكن من عزل 760 عزلة لهذه الجرثومة من مجموع 304 عينة خروج من حالات الإسهال للأطفال الرضع. ويلعب هذا النوع دور كمسبب رئيس لحالات الإسهال لامتلاكه العديد من عوامل الضراوة التي تمكنه من أحداث حالات الإسهال والتي تتنوع بتنوع السلالات العائدة له.

كما سجلت الدراسة نسبة عزل عالية للنوع *Klebsiella pneumoniae* بلغت 35.5% (16 عزلة) تتواجد الجرثومة في القناة المعوية بشكل طبيعي بنسبة (5-35.5)% وتزداد نسبة توطنها في المرضى الراقدين في المستشفيات ولاسيما المثبطين مناعيا. وقد اشارت دراسة Rassol وجماعته 2003 الى دور هذه الجرثومة في أحداث الاسهال الوبائي اذ تمتلك عدد من سلالاتها القدرة على اكتساب البلازميدات من جرثومة *E.coli* ، كما بينت دراسة Braunwald وجماعته 2001 دور هذه الجرثومة في أحداث التهاب الأمعاء. تمتلك هذه الجرثومة العديد من

عوامل الضراوة التي تزيد من فوعتها وقدرتها على غزو انسجة المضيف فهي تمتلك النمط الاول والثالث من الشعيرات.

(Hornick et al., 1995; Brooks et al., 2004)

كما و اظهرت النتائج نسبة عزل قليلة للجنس *Proteus* بلغت 8.8% (4 عزلات) بالمقارنة مع دراسة القس ، ٢٠٠٢ ، التي تمكنت من عزلها بنسبة 26.6% من العدد الكلي للعزلات من حالات الاسهال للأطفال بعد سن الولادة ولغاية السنتين من العمر . قد يرتبط هذا الجنس بحدوث حالات الاسهال لدى الأطفال الرضع لأزدياد نسبة عزله من الأشخاص المصابين بالأسهال وبالاخص النوع *Proteus mirabilis* الذي يعد اكثر الأنواع شيوعا (الجبوري ، 1990) ، وكثيرا ما تعزل سلالات المتقلبات من خروج مرضى الزحار العصوي ، ويتواجد عادة في براز المرضى الذين يتعاطون المضادات الحيوية لمدة طويلة عن طريق الفم (Finegold and Martin ., 1982) . ويسبب النوع *Proteus mirabilis* تعفن الأغذية مما يؤيد دوره كمسبب لألتهاب المعدة والأمعاء *gastrienteritis* وللتسمم الغذائي (Madigan et al., 2003) . بلغت نسبة عزل الجنس *Citrobacter* 6.6 % (ثلاث عزلات) وعند مقارنة هذه النسبة مع نسب عزلها من حالات الاسهال للأطفال الرضع لعدد من الباحثين نجد : ان هذه النسبة كانت مقاربة لما توصل اليه الباحث Back وجماعته 1980 الذي وجد ان نسبة انتشار الجرثومة بين حالات الاسهال بلغت (5.5 %). اما Guarino وجماعته 1987 فقد عزلها بنسبة (14%) . ان هذا التباير في نسبة عزل الجرثومة قد يعود الى اختلاف الموقع الجغرافي والعوامل البيئية ونوع التغذية والحالة الصحية والمناعية . وتعد الاصابات التي يسببها الجنس *Citrobacter* من الاصابات الانتهازية المضاعفة والتي تؤدي إلى التهاب الأمعاء والإسهال الحاد وتنشأ هذا النوع من الاصابات عند الاصابة بأحد أنواع الابتدائيات اذ ترافقها الاصابة باحد انواع الجراثيم حيث تمكن Amenta وجماعته 1999 من تشخيص ثلاث عزلات من النوع *Citrobacter freundii* من الاصابة المفردة بالابتدائيات مثل *Cryptosporidium parvum* , *Blastocytosis hominis* . كما بلغت نسبة العزل للجنس *Salmonella* 4.4 % (عزلتين) وهذه النسبة مقاربة لنسب عزلها من حالات الإسهال للأطفال دون سن السادسة من قبل الشماع عام 2001 اذ عزلتها بنسبة (6 %) تعزى اصابة الأطفال ولاسيما الرضع الى التلوث البيئي وتناول المياه الملوثة الذين قد يكون لهما دور مهم في الاصابة بهذه الجرثومة لا سيما على الأطفال المعتمدين على الرضاعة الصناعية اذ يكونون اكثر عرضة للاصابة بهذه الجرثومة . (Schultz et al., 1998) سجلت الدراسة الحالية اصابات بجنس *Serratia* غير منتجة للصبغة كمسبب لحالات الاسهال لدى الأطفال بنسبة 4.4 % (عزلتين) على الرغم من انه لم يتسن الحصول الا على دراسة واحدة اكدت عزل النوع *S.marcescens* من حالات

الاسهال والاسهال الحاد للأطفال الرضع (Macias et al., 1999) الا ان عزل الجنس *Serratia* من مناطق مختلفة من الجسم لاسيما النوع *Serratia marcescens* يؤكد دور هذا النوع كمرض انتهازى ، لاسيما لدى الاشخاص المثبطين مناعيا كما تظهر السلالات العائدة لهذا النوع ولاسيما غير المنتجة للصبغة مقاومة كبيرة للمضادات الحيوية المختلفة وبضمنها السيفالوسبورينات (Matsumoto et al., 1984) فقد سجلت اصابات هذا النوع في مناطق مختلفة من الجسم اذ عزلت من اصابات القناة البولية ، اصابات عدسة العين ، التهاب شغاف القلب ، التهاب نخاع العظم ، تجرثم الدم ، اصابات الجروح ، اصابات القناة التنفسية . وتشير العديد من التقارير الى ظهور مثل هذه الاصابات في وحدات العناية المركزة ووحدات العناية بالأطفال حديثي الولادة . (Esel et al., 2002;)

تم تشخيص عزلة *Serratia* قيد الدراسة باستخدام نظام API 20E فوجد انها تعود للنوع *Serratia marcescens* وكما موضح في الصورة (١)

دراسة قدرة عدد من الانواع البكتيرية قيد الدراسة لانتاج انزيمات البروتيز :

توضح الصورة رقم (2) النتيجة الموجبة لاختبار التحري عن انزيم البروتيز اذ اظهرت عزلة *Serratia marcescens* قدرة واضحة على تحليل بروتين الحليب (الكازئين) وهذا يتفق مع دراسة Matsumoto وجماعته عام 1984 الذين اوضحوا قدرة سلالات هذا النوع المعزولة من حالات التهاب القرنية الحاد لانتاج اربعة انواع من انزيمات البروتيز . كما بينت الدراسة قدرة انواع *Proteus mirabilis* و *Salmonella* و *Klebsiella pneumoniae* نتيجة سالبة لهذا الاختبار . ان قدرة الجرثومة على انتاج انزيمات البروتيز يزيد فوعتها وقابليتها على غزو انسجة المضيف . اذ تعمل هذه الانزيمات على تحطيم الكلوبولين المناعي IgA والذي يعد الخط الدفاعي الاول للطبقة الطلائية المبطنة للقناة المعوية والقناة التنفسية ، فضلا عن تحطيم الكلوبولين المناعي IgG و تحطيم بروتينات الاغشية الخلوية . فقد وجد ان الانزيمات المحللة للبروتين لجرثومة *Proteus mirabilis* لها القدرة على تحليل اغشية الخلايا المعوية للفئران مما يؤدي الى خروج السوائل والاملاح الى التجويف المعوي مع حدوث نزف مما ينتج عنه حدوث اسهال معوي . (Loomes et al., 1990; Hume et al., 1999) كما اوضحت دراسة Cenac وجماعته 2002 وجود مستقبلات لانزيمات البروتيز على سطح الخلايا الطلائية للأمعاء بصورة واسعة وقد اشارت الدراسة الى ان تحفيز هذه المستقبلات باستخدام انزيمات الترسين يلعب دورا في احداث مرض الأمعاء الالتهابي للقولون .



الصورة (١)



الصورة (٢)

الاستنتاجات:

١. سجلت الدراسة نسبة عزل عالية لافراد مجموعة اشباه القولونيات بلغت 86.5 % شكلت جراثيم النوع *Klebsiella pneumoniae* نسبة عالية بلغت 35.5 % ، كما سجلت الدراسة عزلا لانواع الجنس *Serratia* بنسبة 4.4 % .
٢. اظهرت الدراسة قدرة اغلب السلالات المعزولة على افراز انزيم البروتياز مما يشير الى دور هذا الانزيم في إحداث حالة التهاب الأمعاء .

المصادر

١. الجبوري ، محميد مدا الله (1990) . علم البكتيريا الطبية ، دار الكتب للطباعة والنشر ، الموصل ، العراق .
٢. الشماع ، سراب داؤد سليمان يحيى . (2001). عزل وتنقية الذيفان المعوي لجراثيم *Salmonella* المعزولة من حالات الاسهال في مدينة الموصل . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة الموصل .
٣. يونس ، ضياء عبد الحي (1989).دراسة بكتيريا الأيشريكية القولونية الممرضة والسامة للأمعاء وحماة الروتا المعزولة من الأطفال المصابين بالإسهال ضمن مدينة الموصل، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.

الأجنبية:

4. Amenta, M.; Dalle-Nogare, E.R.; Colomba, C.; Perstilo, T.S.; Dilozenzo, F.; Fundaro, S.; Colomba, A. and Ferrieri, A. (1999) . Intestinal Protoa in HIV infected patient :effect of rifaximin in *Cryptosporidium parvum* and *Blastocytosis hominis* infections . J. Chemo- therapy . 11 (5) : 391-395.
5. Atlas, R.M. ; Brown, A.E. and Park, L.C. (1995) . Laboratory manule : Experimental Microbiology Mosby-Year Book .America. Pp.542-544.
6. Aucken, H.M. and Pitt, T. L. (1998). Antibiotic resistance and putative virulence factors of *Serratia marcescens* with respect to O and Kserotype. J. Med. Microbiol.47: 1105-1113. (Abstract)
7. Back, E.; Molby, R.; Kauser, B.; Stintizins, C.; Waostorm, T. and Habte , D. (1980) . *Enterotoxigenic Escherichia coli* and other Gram negative bacteria of infantile dirrhoea . Surface Antigens , heam-agglutinins , colonization factor antigen , and loss of enterotoxigenity. J. Infect. Dis. 142:318-327 .
8. Baron, E.J.; Peterson, L.R. and Finegold, S.M. (1994). Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 9th ed.,. Mosby-year book . Inc. p. 362 -384

9. Bettelheim, K. A. (1996) . EHEC : A new problem an old group of Organisms . J.Australian Veterinary . 73(1):20-26 .
- 10.Braunwald, E.; Hauser, S.L.; Fauci, A.S.; Lonho, D.L.; Kasper, D.L. and Jameson, J.L. (2001) . Harison's principles of Internal Medicine . 15th ed. McGraw-Hill company . USA .
- 11.Brooks, G.F. ; Butel, G.S. and Morse, S.A. (2004) . Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology.23th ed. Lange Medical books/McGraw-Hill . NewYork . pp.28, 248-268.
- 12.Brooks, G.F.; Jawetz, E.; Melnick, J.L. ; Butel, J.S.; Adelberg, E.A. and Ornston , L. N. (1995) . Jawetz , Melnick & Adelberg's Medical Microbiology .20thed. Appleton , asimon and Schuster company . pp. 206-217 .
- 13.Cenac, N.; Coelho, A.; Nguyen, C.; Compton, S. ; Andrade-Gordon , P.; MacNaughton, W.K.; Wallce, J.L.; Hollenberg, M.D.; Bunnett, N .W. ; Gracia-Villeur, R. ; Bueno, L. and Vergnolle, N. (2002) . Induction of intestinal inflammation in Mouse by activation of Proteinase-Activated reseptor-2. American J. of pathology. 161: 1903-1915
- 14.Collee , J.F. ; Fraser , A.G. ; Marmian, B.P. and Simons , A. (1996) . Mackie and Mcarteny . Practical Medical Microbiology . 14th ed. Churchill Livingston . Inc. NewYork. Pp.95-111;361-412.
- 15.Davis, B.D. ; Dulbecco, R. ; Eisen, H.N. and Ginsberg, H.S. (1980) . Microbiology.3rd ed. Harper and Row, Publishers. Inc. USA.p.649.
- 16.Ernst, R.K. ; Dombroski, D.M.; and Merrick, J.M.(1990). Anaerobiosis Type I fimbriae and growth phase are factors that affect invasion of *Salmonella typhimurium*. Infect.Immun. 58:2014
- 17.Finegold, S.M. and Martin, W.J. (1982). Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 6th ed. The C.V. Mosby Company.

- 18.Guarino, A.; Capano, G.; Malamisura, B.; Alessio, M.; Guandalini, S and Rubino, A. (1987) . Production of *Escherichia coli* Sta-like heat-stable endotoxin by *Citrobacter freundii* isolated from humans. J. Clin. Microbiol. 25 (1): 110-114.
- 19.Harley, J.P. and Prescott, L.M. (1996) . Laboratory exercises in Microbiology . 3rd ed. WCB / McGraw-Hill .
- 20.Hornick, D.B.;Thommandru, J.;Smits, W. and Clegg, S.(1995).Adherence properties of an mrkg-negative mutant of *Klebsiella pneumoniae*. Infect. Immun. 63:2026-2032 .
- 21.Hume, E. B. ; Conerly, L. L. ; Moreau, J.M. ; Cannon, B.M.; Engel, L.S.; Stroman, D.W.; Hill, J. M.; O'Callaghan, R.J. (1999) . *Serratia marcescens* Keratitis : strainspecific corneal pathogenesis in rabbits. Curr. Eye. Res, 19:525-532.
- 22.Jawetz, E.; Melnick, J.L.; Adelberg, E.A.; Brook, G.F.; Butel, J.S. and Ornston, L.N. (1991) . Jawetz , Melnik and Adelberg “Medical Microbiology” 19th ed. Printice-Hall intrnational .Inc.USA.p.212-223.
- 23.Jensen, M.M. ; Wright, D.N. and Robison, R.A. (1997). Microbiology For the health sciences ; Prentice-Hall , Inc. p.291-304 .
- 24.Koneman , E. W.; Allen , S. D.; Janda ,W. M ; Screckenberger, P.C. and Winn,W.C.(1997).Color atlas and textbook of diagnostic microbiology.5th ed. Lippin cott-Raven publishers. Philadelphia. USA.pp. 171-220.
- 25.Lennett, E.H.; Balow, A.; Haster, W.J. and Sandom, H.J. (1985) . a manual of clinical microbiology . 4th ed. American Society for Microbiology . Washington.D.C. p.1051-1107 .
- 26.Lindsay, J.A. (1997) Chronic sequelae of Foodborne Disease ; Emerging Infectious disease .3 (4):443-452 .

- 27.Loomes, L.M.; Senior, B.W.; and Ker, M.A.(1990). A proteolytic enzyme secreted by *Proteus mirabilis* degrades immunoglobulins of IgA1, IgA2 and IgG isotypes. Infect. Immune. 58 (6): 1979-1985.
- 28.Macias, A.E. ; Munoz, J.M. ; Brucknen , D.A. ; Galvan, A. ; Rodriguez , A.B. ; Guerrero , F. J. ; Medina , H.; Callaga, J.C. and Cortes, G. (1999) . Parenteral infusions bacterial contamination in a multiinstitutional survey in Mexico : considerations for nosocomial mortality . AJIC. 27(3):285-290 .
- 29.Madigan, M.T.; Martinko, J.M. and Parker, J. (2003) . Brock Biology of Microorganism . 10th ed. Pearson Education , Inc.
- 30.Madsen, K. L.; Doyle, J. S.; Tavernini, M. M.; Jewell, L.D.; Rennie, R. P. and Fedorak, R. N.(2000). Antibiotic therapy attenuates colitis in interleukin 10gene-deficient mice. Gastroenterology.118:1094–1105.
- 31.Maeda, H. (1996). Review: Role of microbial protease in pathogenesis . J. Microbiol. Immunol. 40(10): 685-699.
- 32.Maeda, H. and Yamamoto, T. (1996) . Review : Pathogenic mechanisms Included by microbial proteases in microbial infection . J. Biol. Chem. Hoope-Seyler. 377: 217-226.
- 33.Matsumoto, K.; Maeda, H.; Takata, K. ; Kamata, R. and Okamura, R. (1984). Purification and characterization of four proteases from a clinical isolate of *Serratia marcescens* Kums 3958. J. Bacteriol. 225-232.
- 34.McFaddin, J.F.M. (1985) . Biochemical test for identification of Medical bacteria, Williams & Willkins. Baltimore. USA .pp.100-105 .
- 35.Mims, C. ; Dockrell, H.M.; Goering, R.V. ; Roitt, I. ; Wakelin, D. and Zuckerman, M. (2004) . Medical Microbiology . 3rd ed. Elsevier Mosby . London . pp.277-290 .
- 36.Murray, P.R.; Baron, E.J.; Pfaller, M.A.; Tenover, F.C. and Tenover, R.H. (1999).Manual of Clinical Microbiology.7th ed. American

- society for Microbiology . Massachusetts Avenue . N.W. pp.442-494 .
(2) : 137-141. Abstract.
- 37.Nester, E. W.; Anderson, D. G. ; Robert Jr., C. E. ; Pearsall, N. N. and Nester, M.T. (2004) . Microbiology : A human prespective. 4th ed. McGraw – Hill Companies, Inc. Boston. p.610.
- 38.Rassol, S.A.; Ahmed, A.; Khan, S. and Wahab, A. (2003) .Plasmid borne antibiotic resistance factors among indigenous *Klebsiella* . Pak.J. Bot. 35:243-248 .
- 39.Schultz, G.E.; Kirby, R.S. ; Flick, E.L.;Stefanova, R.; Eisenach, K.D. and Cave, M.D. (1998) . Epidemiology and Molecular identification of *Salmonella* infection in children. Arch. Pediatr. Adolesc. Med.152: 659-664 .
- 40.Talaro, K. and Talaro, A. (1996) . Foundation in Microbiology . 2nd ed. W.M.C. Brown publisher USA . p.394 .
- 41.Tortora, G.J. ; Funke, R. B. and Case, C.L. (2004) . Microbiology An Introduction; 8th ed. Person Education , Inc.