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

أ.د. أديبة يونس شريف
قسم علوم الحياة –كلية العلوم

عمر غياث محمد
قسم العلوم - كلية التربية الأساسية

جامعة الموصل

المؤتمر العلمي السنوي الأول لكلية التربية الأساسية (23-24/أيار/2007)

ملخص البحث :

تضمنت الدراسة الحالية عزل وتشخيص عدد من الانواع الجرثومية المسببة لحالات الاسهال في الاطفال دون سن الخمس سنوات ، اذ تم جمع 50 عينة خروج من الاطفال الراقدين والوافدين الى مستشفى الخنساء للفترة من منتصف شباط الى منتصف نيسان 2005، زرعت العينات على الاوساط الانتقائية وشخصت الجراثيم النامية بالاعتماد على الصفات الشكلية والفحوصات الكيموحيوية ، اذ تم تشخيص 45 عزلة جرثومية تابعة للعائلة المعوية شملت 18عزلة(40%)للنوع *E.coli* ،16 عزلة(35.5%)للنوع *Klebsiella pneumoniae*،4 عزلات (8.8%) للجنس *Proteus* ، 3 عزلات (6.6%) للجنس *Citrobacter* وعزلتين (4.4%) لكل من الجنس *Serratia* والجنس *Salmonella* .تم التحري عن انتاج انزيم البروتييز 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.
Dr. Adeba Y. Shareef
Department of Biology, College of Science

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

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.

المقدمــة

تضم العائلة المعوية مجموعة كبيرة من العصيات السالبة الكرام العديد منها هي مسببات رئيسة لأصابات القناة المعوية للإنسان،اذ 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 علىانتاج 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:

1. **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 النيوكلييز ، انزيم الهيمولايسين ، انزيم اللايبيز، انزيم اللسيثنيز، وانزيم الجيلاتينيز.(Auckin and Pitt, 1998)
2. **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 بالverotoxin وغيرها.
(Murray *et al*., 1999; Mims *et al*., 2004)
3. **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 والاغشية المخاطية للقناة المعوية والتنفسية والبولية (Hornick *et al*., 1995)
4. **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 الكلوبيولينات المناعية وبروتينات الاغشية الخلوية (Loomes *et al*., 1990) .

5. **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 وجماعته1987 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) .
6. **الجنس *Salmonella*** *:*يعد هذا الجنس من اكثر الاجناس شيوعا اذ ياتي 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 البروتييز كعامل ضراوة :

تعد معظم انزيمات البروتييز 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 Yamamato, 1996) .تكمن ضراوة هذا الانزيم في قدرته على تحطيم الكلوبيولينات المناعية نوع IgA المبطن للاغشية المخاطية و IgG ،وتحطيم بروتينات الاغشية الخلوية، فضلا عن مقاومته لمثبطات البروتييز المتواجدة في بلازما الدم للمضيف وقدرته على تحطيمها وتثبيط فعاليتها (Loomes *et al*., 1990; Maeda, 1996) .اشارت دراسة Cenac وجماعته 2002 الى انتشار مستقبلات انزيم البروتييز بصورة واسعة على سطح الخلايا الظهارية للأمعاء وان تنشيط هذه المستقبلات من خلال حقن انزيم التربسين 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 وبعمر 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 حرارة37مه ولمدة 24ساعة.

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) واهمها : الكشف عن انزيم 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 البروتييز :

تم التحري عن قابلية سلالات الأنواع *Serratia marcescens, Salmonella sp.* *Proteus mirabilis,Klebsiella pneumoniae* المعزولة على انتاج انزيم البروتييز من خلال ملاحظة قدرتها لتحليل بروتين الحليب (الكازايين) 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 الكازايين بفعل انزيم البروتييز. (Lennette *et al.*, 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 مخمرة لـه، والتي شخصت 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 (1)

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

الجدول (1)

الاختبارات الكيموحيوية المستخدمة في تشخيص العزلات البكتيرية

النوع البكتيري	الأوكسيز	الكتاليز	اختزال النترات	TSI			الاندول	المثيل الأحمر	فوكس بروسكور	استهلاك السترات	تحلل اليوريا	الحركة	نزع مجموعة الأمين	تحلل ال DNA
				S/but	gas	H2S								
Escherichia coli	−	+	+	A/A	+	−	+	+	−	−	−	+ −	ND	ND
Klebsiella pneumonia	−	+	+	A/A	+	−	−	+ −	+	+	+	−	−	ND
Proteus mirabilis	−	+	+	K/A	−	+	−	+	+	+	+	+	+	ND
Citrobacter sp.	−	+	+	K(A)/A	+	+ −	+ −	+	−	+	−	+	ND	ND
Serratia sp.	−	+	+	K(A)/A	−	−	−	−	+	+	−	+	−	+
Salmonella sp.	−	+	+	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

الأنواع البكتيرية	العدد	النسبة المئوية
Escherichia coli	18	40
Klebsiella pneumoniae	16	35.4
Proteus sp.	4	8.8
Citrobacter sp.	3	6.6
Serratia sp.	2	4.4
Salmonella sp.	2	4.4
المجموع	45	100

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 واطئة 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 احداث 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 احداث 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 ، 2002 ، التي تمكنت من عزلها بنسبة 26.6% من العدد الكلي للعزلات من حالات الأسهال 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 لمدد 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 التغاير 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 انوع 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 لاسيما 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 كممرض انتهازي ، 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 (1)

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

توضح الصورة رقم (2) النتيجة الموجبة لاختبار التحري عن انزيم البروتييز اذ اظهرت عزلة *Serratia marcescens* قدرة واضحة على تحليل بروتين الحليب (الكازائين) 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 البروتييز. كما بينت الدراسة قدرة انواع *Proteus mirabilis* وجنس *Salmonella* لانتاج هذا الانزيم في حين اظهر النوع *Klebsiella pneumoniae* نتيجة سالبة لهذا الاختبار .ان قدرة الجرثومة على انتاج انزيمات البروتييز يزيد فوعتها وقابليتها على غزو انسجة المضيف . اذ تعمل هذه الانزيمات على تحطيم الكلوبيولين المناعي IgA والذي يعد الخط الدفاعي الاول للطبقة الطلائية المبطنة للقناة المعوية والقناة التنفسية ، فضلا عن تحطيم الكلوبيولين 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 البروتييز على سطح الخلايا الطلائية للأمعاء بصورة واسعة وقد اشارت الدراسة الى ان تحفيز هذه المستقبلات باستخدام انزيمات التربسين يلعب دورا في احداث مرض الأمعاء الالتهابي للقولون.

الصورة (1)

الصورة (2)

الاستنتاجات:

1. 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 % .
2. اظهرت الدراسة قدرة اغلب السلالات المعزولة على افراز انزيم البروتييز مما يشير الى دور هذا الانزيم في إحداث حالة التهاب الأمعاء .

المصادر

1. الجبوري ، محيميد مدا الله (1990) . علم البكتيريا الطبية ، دار الكتب للطباعة والنشر ، الموصل ، العراق .
2. 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 .
3. يونس ، ضياء عبد الحي (1989).دراسة بكتيريا الأيشريكية القولونية الممرضة والسامة للأمعاء وحمات 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.; Dilorenzo, F.; Fundaro, S.; Colomba, A. and Ferrieri, A. (1999) . Intestinal Protoa in HIV infected patient :effect of rifaximin in *Cryptospori- dium 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 enterotoxi-genity. 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 fimbrae 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* isloated from humans. J. Clin. Microbiol. 25 (1): 110-114.

19. Harly, 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 Adelbrg "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 Yolken, R.H. (1999).Manual of Clinical Microbio1logy.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.