دراسة انواع البكتريا المعزولة من الاطفال المصابين بالاسهال وحساسيتها للمضادات الحيوية

م.م. منى جلال علي
قسم تقنيات الموارد المائية ، المعهد التقني الحويجة

تاريخ استلام البحث:2010/9/5 - تاريخ قبول النشر: 2011/2/10

الخلاصة

تضمنت الدراسة جمع (262) عينة براز من الاطفال المرضى المراجعين الى مستشفى الحويجة العام في مدينة الحويجة للفترة من بداية كانون الثاني 2009 الى نهاية حزيران 2009.الذين تراوحت اعمارهم اقل من خمس سنوات حيث يشكل الذكور نسبة (62.5%) (120) اصابة ، والاناث (37.5%) (72) اصابة.

اظهرت نتائج النمو البكتيري ان (192) عينة براز بنسبة (37.3%) كانت موجبة الفحص بينما عدد العينات التي لم تظهر نمو للميكروبات هي (70) عينة بنسبة (26.7%) .

اخضعت العزلات للفحوصات المظهرية ، المجهرية ، كذلك التشخيص بنظام Api، ومن الممرضات البكتيرية التي ظهرت بنسبة عالية (66.6%) هي *E.coli* ، تليها Salmonella بنسبة (15.6%) ، ومن ثم Shigella بنسبة (9.3%) ، *Proteus mirabilis* (2.6%)، *Klebsiella pneumoniae* بنسبة (2.1%) وبلغت النسبة (1.6%) لبكتريا *Compyiobacter jejuni* ، في حين ظهرت بكتريا *Staphlococuus aureus* , Pseudomonas بنسبة (1.1%) لكل منهما .

تم دراسة بعض العوامل المؤثرة على نسبة انتشار الاصابة بالاسهال لدى الاطفال مثل العمر والجنس ، الاصابات الشهرية. حيث ظهرت اعلى نسبة للاصابة في الفئة العمرية الاولى (اقل من سنة) اعلى نسبة للاصابة (64.6%) . تليها الفئة العمرية (1 سنة – 2 سنة) مشكلة (17.8%) ، بينما اظهرت الفئة العمرية (2 سنة – 3 سنة)(8.3%) ، في حين كانت الفئة العمرية (3 سنة – 4سنة) (7.3%) ، بينما اقل نسبة في عمر (4سنة – 5سنة) وهي 2% . اما الاصابات الشهرية فقد بلغت ذروتها في شهر حزيران نسبة (38.9%) .

اختبرت حساسية العزلات البكتيرية تجاه المضادات الحيوية ، اظهرت جميع العزلات مقاومة عالية لمضاد Ampicillin، بينما اظهرت معظم العزلات حساسية عالية تجاه مضادات , Erthromycin chloramphenicol , Co-trimoxazol .

Abstract

This study includes 262 samples of stool gathered from patients children visiting Hawijah public hospital (Hawijah city) for the period Jaunuary 2009 to June of the same year . The ages of these children were less than five years , males were (62.5%) (120) infections , females were (37%)(72)infections Results of the bacterial growth showed that 192 samples were positive 37.3% , while the other showed no bacterial growth (70 samples 26.7%) , specimen were microscopically examined and diagnosed by Api system , the highest bacterial pathogens were *Escherichia coli* (66.6%) , Salmonella(15.6%) , Shigella (9.3%) , *Proteus mirabilis*(2.6%), *Klebsiella pneumoniae*(2.1%) , *Compyiobacter jejuni*(1.6%) , and *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (1.1%)respectively. Some of effective factors have been studied especially of the spreading of diarrhea among children, like age , sex , monthly infections . The highest infection ratio was among infant children (64.6%) , (1 year – 2 years) (17.8%) , (2years-3years)(8.3%) , (3years -4years) (7.3%) ,and (4years-5years) 2% , while monthly infections reached its peak in June with (38.9%) .

The sensitivity of isolates were examined for antibiotics, the isolates showed ahight resistance for Ampicillin ,while the others showed highest sensitivity for Co – trimoxazol ,Erthromycin , Chloramphenicol.

المقدمة

يعد الاسهال (Diarrhea) من الامراض الخطيرة والواسعة الانشار في العالم ، اذ يتعرض الاطفال الذين تقل اعمارهم عن خمس سنوات للاصابة بهذا المرض وتتركز الاصابة لدى الاطفال الرضع الذين تتراوح اعمارهم من ستة اشهر الى سنتين (1) . وتكون الحالات الشديدة للاسهال احدى الاسباب الرئيسية في وفات الاطفال في العالم وتحدث في البلدان النامية بين 700-1000مليون حالة اسهال سنويا" مسببة وفاة 5 ملايين طفل في كل سنة (2) .

ان السبب الرئيسي للوفاة في الحالات الشديدة من الاسهال يعود الى الجفاف (Dehydration) الناتج من فقدان الجسم للسوائل الضرورية اذ يعد الاسهال سببا" مهما" لسوء التغذية malnutrition لذلك فأن الاسهال وسوء التغذية يعدان من الاسباب الرئيسية لحدوث الوفيات في بلدان عديدة (3)

ان مسببات المرض عديدة منها : البكتيري Bacterial agents كما في بكتريا *E.coli* و Salmonella spp. و Shigella spp.وCompyiobacter ومنها الفايروسي viral agents كما في *Rota virus* و *Corona virus* و *Adeno virus* الى جانب المسببات الطفيلية ، واهمها *Entamoeba histolytica* و *Giardia lamblia* والخمائر مثل *Candida albicans* (4) .

تأتي الاصابة بالاسهال نتيجة لدخول المسببات المرضية الى الجوف المعوي للاطفال عن طريق الاغذية والمشروبات او الايدي الملوثة بتلك المسببات المرضية او نتيجة تحول بعض اعضاء النبيت الطبيعي (normal flora) الى مسببات مرضية عند ازدياد نسبتها عن الحد الطبيعي بسبب حدوث تغيير في بيئة الامعاء نتيجة لتناول عقار معين او اصابة الطفل بأحد المسببات المرضية مما يسهل على هذه الاحياء المجهرية احداث المرض (5).

ان خطر مقاومة البكتريا للمضادات الحياتية في الممرضات البكتيرية المعوية هي مشكلة غالبة ومرتبطة بالسيطرة على الاسهال .

ان العديد من الباحثين قد ذكروا معدلات عالية لمقاومة البكتريا للعديد من المضادات الحيوية المستعملة عادة في علاج الاسهال الالتهابي مثل Ampicillinو Titracyclin و Co- trimoxazol (6) لذا فأن هنالك اهمية كبيرة لتحديد النوع ونمط المقاومة للمضادات الحيوية لمختلف العوامل البكتيرية المسببة للاسهال في قضاء الحويجة لجعل المضادات الحيوية المعطاة لعلاج حالات الاسهال الالتهابي اكثر ملائمة في علاج هؤلاء الاطفال ومن هنا فقد استهدفت الدراسة الحالية عزل وتشخيص بعض المسببات البكتيرية للاسهال الالتهابي في قضاء الحويجة وتعين حساسيتها تجاه بعض المضادات الحيوية المستعملة في علاج حالات الاسهال الالتهابي ، دراسة تأثير بعض العوامل كالعمر والجنس والاصابات الشهرية على انتشار حالات الاصابة بالاسهال

المواد وطرائق العمل

1- جمع العينات : تم جمع العينات من الاطفال المرضى المراجعين الى مستشفى الحويجة العام في مدينة الحويجة ممن تتراوح اعمارهم اقل من خمس سنوات وللمدة من كانون الثاني عام 2009 ولغاية حزيران 2009 . اذ جمعت العينات من الاطفال في حاويات بلاستكية صغيرة نظيفة وجافة .

الفحوصات المختبرية لعينة البراز تشمل

2- الفحص المباشر للبراز : سجلت الملاحظات حول كل عينة من البراز والتي تتضمن القوام (consistency)، واللون(colour)، وجود المخاط (mucus) ، الدم والاس الهيدروجيني pH.

3- الفحص العام للبراز مجهريا" : اخذت شريحة زجاجية نظيفة ووضع عليها مسحة من عينة البراز مزجت مع قطرة من محلول الملح الفسلجي 0.1 مل وقد فحصت النماذج تحت المجهر للكشف عن pus cell، RBC والطور المتكيس والمتغذي للا E.histolytica وG.lamblia ، خلايا الخمائر Yeast cell

4- زرع العينات : زرعت العينات بالسرعة القصوى حال جلبها الى المختبر تلافيا" لحصول التحلل او التعفن للنموذج او موت البكتريا خلال مدة قصيرة كما يحدث مع Shigella .spp.

اذ زرعت عينات البراز بشكل مباشر على وسط MaCconkey agar ، salmonella – shigella agar medium ، blood agar medium ، skirrow's، EMB agar وحضنت بدرجة 37م° لمدة 24 ساعة

5- تشخيص العزلات البكتيرية: تم تشخيص العزلات البكتيرية من خلال مايأتي

* الصفات الزرعية: بعد ظهور المستعمرات المزروعة على الاوساط الزرعية تم ملاحظة حجمها ولونها وشكلها ويعد هذا التشخيص تشخيصا" اوليا" .

*الفحص المجهري : تم عمل مسحة من مستعمرة بكتيرية منفردة من كل مزرعة بوساطة الناقل المعقم ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة ثم تثبيتها وصبغها بصبغة كرام وبعد جفاف الشريحة فحصت مجهريا" تحت العدسة الزيتية .

* الاختبارات البايوكيمائية : شملت هذه الاختبارات على اختبار كتاليز واختبار الاوكسيديز واختبار الاندول ، اختبار استهلاك السترات ، اختبار احمر المثيل ، اختبار الفوكس – بروسكاور ، اختبار انتاج غاز H_2O ، انتاج انزيم اليوريز ، تحلل الجيلاتين ، تخمر السكريات ، الحركة .

* تشخيص البكتريا بأستخدام Api 20E kit.

اختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية

اجري اختبار الحساسية للمضادات الحيوية بطريقة الاقراص على وسط اكار مولر هنتن Muller- Hinton باستخدام اقراص المضادات الحيوية المتمثلة بـ (Erythromycin, Gentamicin , Ampicillin , Rifampicin, Tetracyclin , Chloramphenicol , Co- trimoxazole, Nitrofuration, cefotaxime) لاجراء فحص الحساسية للعزلات البكتيرية قيد الدراسة .

حضرت المزارع البكتيرية بنقل مستعمرة مفردة الى (5) مل من وسط المرق المغذي Nutrient broth، وحضن بدرجة حرارة (37م°) لمدة (24) ساعة ، قورنت عكرة النمو مع عكرة محلول ثابت العكرة القياسي . نشر (0.1) من المزروع البكتيري اعلاه في وسط اكار مولر هنتن بوساطة مسحة معقمة ، تركت الاطباق لتجف بدرجة حرارة الغرفة (10-15) دقيقة نقلت اقراص المضادات بملقط معقم الى الاطباق بواقع 5 اقراص للطبق الواحد حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة . قراءت النتائج بملاحظة مناطق التثبيط حول اقراص المضادات الحيوية وفسرت النتائج حسب ماجاء في (7)

النتائج والمناقشة

جدول (1) نتائج العزل الاولي لعينات براز الاطفال ونسبها المئوية

نتائج العزل	العدد	النسبة المئوية
نمو	192	%73.3
لايوجد نمو	70	%26.7
مجموع	262	%100

تم عزل (262) عينة براز لاطفال مصابون بالاسهال راجعوا مستشفى الحويجة العام والذين تراوحت اعمارهم اقل من خمس سنوات للفترة من 1-1-2009 ولغاية 30-6-2009 . زرعت العينات على الاوساط الزرعية المناسبة . ان العينات التي اعطت نموا" بكتيريا" كانت (192) عينة وبنسبة (73.3%) ، في حين لم تعطي (70) عينة نسبة (26.7%) أي نمو بكتيري وكما موضح في الجدول رقم (1) .

الجراثيم المعزولة من الاطفال المصابين بالاسهال

جدول (2) الانواع البكتيرية المعزولة من الاطفال المرضى المصابين بالاسهال

الانواع البكتيرية	عدد العزلات	النسبة المئوية
Escherichia coli	128	%66.6
Salmonella spp	30	%15.6
Shigella spp	18	%9.3
Proteus mirabilis	5	%2.6
Klebsiella pneumoniae	4	%2.1
Compyiobacter jejuni	3	%1.6
Pseudomonas aeruginosa	2	%1.1
Staphylococcus aureus	2	%1.1
المجموع	192	%100

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وكما مبين في الجدول رقم (2) ان بكتريا *Escherichia coli* هي اكثر انواع البكتريا انتشارا" حيث تم عزلها من 128 اصابة مرضية بنسبة 66.6%، تليها بكتريا Salmonella spp. بالمرتبة الثانية بواقع (30) عينة ونسبة (15.6%) ، بينما تراوحت نسبة عزل بكتريا Shigella spp. (9.3%) والتي تمثل (18) حالة اصابة في الموقع الثالث ، جاءت نسبة الاصابة ببكتريا *Proteus mirabilis* في المرتبة الرابعة بنسبة (2.9%) والتي تمثل (5) حالات اصابة ، ظهرت بكتريا *Klebsiella pneumoniae* بعدد (4) عزلات بنسبة (2.1%) ، اما بالنسبة لبكتريا *Compyiobacter jejuni* كانت (3) عزلات نسبة (1.6%) ، فقد كانت النسبة (1.1%) لكل من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* وبكتريا *Staphylococcus aureus* بواقع عزلتين لكل منهما وجاءت هذه النتائج متفقة مع (8) .

ويرجع سبب سيادة بكتريا *Escherichia coli* لامتلاكها عوامل ضراوة عديدة من اهمها (AEF Attachment and Effacing Factor) وFAF(Fimbrial Adherence Factor) والتي تمكنها من الالتصاق الى الخلايا الطلائية المبطنة للامعاء وكذلك قدرتها لانتاج السموم المعوية enterotoxins. فضلا" عن كونها احد اجناس العائلة المعوية والتي تستعمر القناة المعدية المعوية للانسان اذ تكون الامعاء المستودع الرئيسي لهما (9) .

اما الاصابة ببكتريا Salmonella spp فكانت في المرتبة الثانية ويعود ذلك الى امتلاك بكتريا السالمونيلا عوامل ضراوة عديدة ومنها القدرة على انتاج السموم الداخلية وامتلاكها للاهداب والاسواط فضلا" عن تواجد مستضد الفوعة او الضراوة وهو المسؤول عن القدرة العالية لبكتريا السالمونيلا على غزو الانسجة والتي لها اهمية ودورا" كبيرا" في احداث حالات الاسهال (10) .

توافقت نتيجة الدراسة الحالية مع ماتوصل اليه (11) والذين عزلوا بكتريا Shigella spp وجاءت بالمرتبة الثالثة ويرجع سبب ذلك الى انها تمتلك عوامل ضرارة عديدة منها شدة غزوها للخلايا الطلائية المخاطية المبطنة للامعاء . كما

بأمكانها انتاج السموم المختلفة الفعالة اضافة الى قدرة Shigella dysenteriae type 1 على انتاج السم الخارجي exotoxinالذي تعود اليه الضراوة العالية هذا النوع من الشيكلا (12) .

عوامل الوبائية

1- العمر :

جدول (3) توزيع الاصابات بالاسهال حسب الفئات العمرية

الفئة العمرية	العدد	عدد الاصابة	النسبة المئوية
اقل من سنة	145	124	64.6
1 سنة – 2 سنة	42	34	17.8
2 سنة – 3 سنة	32	16	8.3
3 سنة – 4 سنة	25	14	7.3
4 سنة – 5 سنة	18	4	2
المجموع	262	192	100

يتبين من الجدول (3) توزيع الاصابات حسب الفئات العمرية أذ شكلت الفئة العمرية اقل من سنة اعلى نسبة للاصابة 64.6% تليها الفئة العمرية (1 سنة – 2سنة) مشكلة 17.8% بينما اظهرت الفئة العمرية (2 سنة -3 سنة) نسبة 8.3% ، في حين كانت الفئة العمرية (3 سنة – 4 سنة) قد شكلت نسبة 7.3% بينما كانت اقل نسبة في الفئة العمرية (4 سنة – 5 سنة) وهي2% أي ان الاصابة بالاسهال قد انخفضت مع ازدياد العمر ولقد اتفقت هذه النتيجة مع ماتوصل اليه (13) اذا كانت اعلى نسبة بالاسهال لديه في الفئة العمرية الاولى نسبة 53.5% ولعل السبب في ظهور اعلى نسبة للاصابة في الفئة العمرية الاولى يعود الى عدم اكتمال الجهاز المناعي ، ضعف البنية الجسدية فضلا" عن صعوبة التشخيص عند الاطفال بهذه الاعمار الصغيرة (14) .

وربما يعود سبب انخفاض الاصابات بالاسهال مع ازدياد العمر الى نضوج وتطور الجهاز المناعي لدى الاطفال فضلا" عن التحول من الرضاعة الى الطعام الاعتيادي خلال الفطام وذلك كله يجنب الطفل الملوثات المختلفة التي تنتقل اليه عن طريق الحليب الصناعي (15)

2- الجنس : يوضح الجدول رقم (4) ان الاصابة تنتشر في الذكور نسبة (62.5%) (120) اصابة اكثر مما عليه في الاناث (37.5%) (72) اصابة ، قد يتعلق الامر بعوامل وراثية لدى الاطفال اضافة الى اشتراك عادات صحية سيئة في احداث الاصابة بالاسهال لدى الاطفال والتي تتعلق بالام والطفل معا" ، هناك صعوبة في السيطرة على نظافة الاطفال وايديهم مع الاشارة الى زيادة نشاط الاطفال الذكور عن الاناث . كذلك غالبة المصادر العلمية لم تذكر اية تفسيرات علمية منطقية حول اسباب اختلاف نسبة الاصابة بالاسهال بين الذكور والاناث . وتتفق هذه النتيجة مع ماتوصل اليه (5).

جدول رقم (4) توزيع الاصابات بالاسهال حسب الجنس

الجنس	العدد	النسبة المئوية
ذكور	120	%62.5
اناث	72	%37.5
المجموع	192	%100

3- اشهر السنة : تم دراسة توزيع اصابات الاسهال للفترة من (1-1-2009 ولغاية 30-6-2009) ، حيث اظهرت نتائج الدراسة اعلى نسبة للاصابة (38.9%) في شهر حزيران ، ولعل ذلك يرجع الى ان معدلات الاصابة بالاسهال ترتفع خلال فصل الصيف اذ ان ارتفاع درجات الحرارة يشجع نمو البكتريا وخاصة اذا ما اقتربت من الدرجات المثلى للنمو كما انها تساعد على زيادة تكاثر الحشرات والتي تلعب دورا" مميزا" في نقل المرض . اضافة الى ان هناك اسبابا" عديدة للاسهال ومنها انخفاض الوعي الصحي لدى الام وبخاصة فيما يتعلق بالطفل والنظافة الشخصية له (12)

مقاومة العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية

اجري فحص الحساسية بأستخدام تسعة مضادات حيوية من المضادات المستعملة لمعالجة الاسهال لـ 192 عزلة بكتيرية معزولة من اطفال مصابون بالاسهال وكما موضح في الجدول رقم (5) .

دراسة انواع البكتريا المعزولة من الاطفال المصابين بالاسهال وحساسيتها للمضادات الحيوية

م.م. منى جلال علي

اظهرت نتائج الدراسة الحالية بأن عزلات بكتريا *Escherichia coli* اظهرت اعلى مقاومة لمضاد Ampicillin بنسبة 100% ، في حين اقل مقاومة اعطتها البكتريا كانت (14.1%) لمضاد Erthromycin . اما بالنسبة لبكتريا Salmonella قد اظهرت اعلى مقاومة لمضاد Ampicillinبنسبة 100% ، في اظهرت العزلات البكتيرية حساسية عالية لمضادي Erthromycin , Co- trimoxazol نسبة (26.6%) . كانت جميع عزلات Shigellaمقاومة لمضاد Ampicillinبنسبة 100% ، في حين اظهرت العزلات البكتيرية اقل مقاومة لمضاد Erthromycin نسبة (16.6%) .

اما عزلات بكتريا*Proteus mirabilis* فقد اظهرت اعلى مقاومة لمضاد Ampicillinبنسبة 100% ، في حين كانت اقل مقاومة لمضادات Chloramphenicol , Erthromycin , Co- trimoxazol نسبة 20% لكل منهما ، فيما يخص بكتريا *Klebsiella* فقد كانت جميع عزلاتها مقاومة لمضادات Erthromycin , Co- trimoxazol Chloramphenicol نسبة 25% لكل منهما .

اما بالنسبة لبكتريا *Compyiobacter* فقد ابدت جميع عزلاتها مقاومة عالية لمضادات Gentamycin , Rifampicin , Ampicillinبنسبة 100% ، اما اعلى حساسية سجلت لعزلات *Compyiobacter* كانت لمضادات Erthromycin , Co- trimoxazol . فيما يخص بكتريا *Pseudomonas* فقد ابدت عزلتيها اعلى مقاومة لمضادات Cefotaxime , Nitrofuranation , Tetracycline Ampicillin نسبة100% في حين كانت عزلتي بكتريا *Pseudomonas* حساسة لمضادات Erthromycin ، Chloramphenicol ، Co- trimoxazol . اما عزلتي *Staphylococcus aureus* فقد ابدت مقاومة عالية لمضاد Ampicillin نسبة 100% ، في حين اظهرت العزلتين حساسية عالية لمضادات Chloramphenicol ، Erthromycin ، Co- trimoxazol .

يتضح من نتائج الدراسة الحالية ان جميع العزلات البكتيرية كانت تمتلك صفة المقاومة العالية لمضاد Ampicillin يرجع سبب ذلك الى قدرة البكتريا على انتاج انزيم البيتالاكتاميز . بالاضافة الى الاستعمال غير المحدد والعشوائي لمثل هذه العلاجات فلقد اشارت احدى الاحصائيات في امريكا الى ان اكثر من 50% من المضادات الحياتية توصف للمرضى من دون اجراء فحوصات التحري عن مسببات المرض واختبار فحص الحساسية لهذه المضادات (15) .

كما ان الجينات المسؤولة عن صفة المقاومة للمضادات يمكنها الانتقال بواسطة طرق انتقال المعلومات الوراثية وان هذه الجينات محمولة على بلازميدات المقاومة R- plasmidالمشفرة لمقاومة العديد من المضادات الحياتية (9) .

طابقت نتيجة الدراسة الحالية مع ماتوصل اليه (12) حيث وجدوا ان معظم العزلات البكتيرية كانت حساسة تجاه المضاداتChloramphenicol ، Erthromycin ، Co- trimoxazol واعتبروا هذه المضادات العلاج الامثل للاصابة بالاسهال .

جدول (5) مقاومة البكتريا المعزولة من حالات الاصابة بالاسهال للمضادات الحيوية

Staphylococcus aureus 2	*Pseudomonas aeruginosa* 2	*Compyiobacter jejuni* 3	*Klebsiella pneumoniae* 4	*Proteus mirabilis* 5	Shigella 18	Salmonella 30	*Escherichia coli* 128	انواع العزلات البكتيرية وعددها / المضادات الحيوية
50	50	100	50	60	38.8	40	42.9	Gentamycin
50	50	100	50	80	55.5	33.3	58.5	Rifampicin
100	100	100	100	100	100	100	100	Ampicillin
50	100	66.6	75	89	66.6	73.3	78.1	Tetracycline
-	-	-	25	20	22.2	26.6	23.4	Co- trimoxazol
50	100	66.6	75	60	66.6	90	39.1	Nitrofuranation
-	-	33.3	25	20	27.7	33.3	17.1	Chloramphenicol
-	-	-	25	20	16.6	26.6	14.1	Erthromycin
50	100	66.6	100	80	83.3	93.3	85.9	Cefotaxime

المصادر

- AL-Kaby ,F.J.(2000).Astudy on diarrhea in relation to malnutrion in children under 2 years in Baghdad . ,M.se.Thesis stbmitted of the college of medicine university of AL-Mustansiriya.

-Behrman,R.E.;Kliegman ,R.M.and Jenson,H.B.(2000) .Nelson textbook of pediatrics.16th ed .W.BSaunders company ,Philadelphia,London , Toronto ,Montreal ,Sydney and Tokyo

–Ribeiro H.J.(2000). Diarrheal disease in a developing nation .Am.J.gastroenterol.95(1):514-515

-Jawetz E., Mechnick J.L.,Adelbreg E.A.,Brooks G.F.,Butel J.S.,and Morse S.A(2004) .Medical microbiology .23th ed . McGraw-Hill Education .Singapore .ISBN007-12398-9.

- Pabst W.L.,M.Altwegg, C. Kind,S.Mirjanic,D.Hardegger and D.Nadal .(2003) .Prevalence of enterroaggregative *E.* coli among children with and without diarrhea in Switzerland .J.Clin.Microbiol.41:2289-2293 .

–David J.D.(2006).Prevention and self – treatment of travelers diarrhea .Clinical microbiology reviews.19(3);583-594.

- National Committee For Clinical Laboratory standareds (2002).Performance standared for antibiotic susceptibility testing NCCLS.Villanovap.A

-Nielsen M.,Hoogvorst A.,Konradsen F.,Mudasser M.,and Hoek W.(2001) Childhood diarrhea and hygiene :Mothers perception and practices in the Punjab , Pakistan .International water management institute.25;1-21.

-Qadri,F.,Das,S.K.,Faruque A.S.,Fuchs G.J.,Albert M.J.,Sack R.B.,and SvennerhKolm A.M.(2000) .Prevalence of toxin types and colonization factors in enterotoxigenic *E.* coli isolated during a 2-year period from diarrheal patients in Bangladesh .J.Clin.Microbiol. 38:27-31.

–Ismaeel A.Y.,Afaf E.J.,Ahmed Q.,Yousif M.AL-Otaibi ,and Giuseppe A.B.(2002). Causative pathogns of severe diarrhea in children. Saudi Med .J.23(9):1064-1069.

–Al-Ani R.T.M.(2004)Microbial causes of diarrhea in Neonates and Infant in Ramady city . M.Sc.Thesis .The collage of medicin. University of Al-Anbar.

-Gascon J., Vargas M.,Schellenberg D.,Urassa H.,Casals C.,Kahigawa E.,Apont J.J.,Mshineda H., and Vila J.(2000).Diarrhea in children under 5 years of age from Ifakara , Tanzania : acase-control study .American Society for Microbiology .38(12);4459-4462

-Nataro J.P.(2005).Enteroaggregative *E.* coli pathogenesis. Curr.Opin.Gasteoenterol.21:4-8.

–Karch H.,Tarr P.,Bielaszewska M.(2005).Enterohaemorrhagic *E.* coli in human medicin .Int.J.Med.Microbiol 295(6-7):405-18.

-Bhutta A.,Bird S.M.,Black R.E.,(2000) .Therapeutic effects of oral zinc in acute and persistant diarrhea ; pooled analysis of randomized clinical trials .Am .J.Clin.Nutr.72:151-2