دراسة المسببات البكتيرية لمرضى الاسهال الحاد

رنا علي حسن* طالب عبدالله حسين*

استلام البحث 20، كانون الاول، 2012
قبول النشر 3، اذار، 2014

الخلاصة:
تم جمع 500 عينة براز اسهال لافراد من فئات عمرية مختلفة (دون السنة – لحد سن 45) في مدينة بغداد ولكلا الجنسين ، اذ جمعت العينات من (مستشفى العلوية للاطفال ومستشفى الكندي ومختبر الصحة العامة المركزي وبعض المختبرات الاهلية) للفترة من (1/10/2010-1/11/2009) لدراسة المسببات البكتيريـــة للاسهال .
تم عزل 9 انواع بكتيرية سالبة لصبغة كرام تعود للعائلة المعوية *Enterobacteriaceae* واظهرت النتائج ان اعلى نسبة عزل كانت لبكتريا *Escherichia coli* اذ بلغت (4.8 %) تلتها بكتريا *Salmonella typhi* بنسبة (4.6 %) اما اقل نسبة عزل فقد كانت لبكتريا *Citrobacter freundii*اذ بلغت (0.4 %) اما بقيت الانواع المشخصة فقد تراوحت نسب العزل ما بين تلك النسبتين . وقد تم عزل بكتريا *Plesiomonas shigelloides* والتي تعد من الانواع البكتيرية التي لم تحظ بالدراسة بشكل موسع على المستوى المحلي .
شخصت الانواع البكتيرية بمختلف الطرق منها الزرعية على اوساط زرعيةتفريقيةواغنائية،واستخدمت الاختبارات الكيموحيوية المختلفة المتمثلة بعدة API 20 E، كما استخدمت في هذه الدراسة الاختبارات التوكيدية المتمثلة بعدة تشخيصية مهمة استخدمت لأول مر ة في تشخيص البكتريا المعوية وهي عدة (Rapid ID 32) التي يستخدم معها جهاز Mini API حيث تقرأ النتائج اليا.

الكلمات المفتاحية:Acute Diarrhea , API 20 E , Rapid ID 32

المقدمة:

يعد الاسهال من الامراض الشائعة في العالم لاسيما في الدول النامية، اذ يأتي بالمرتبة الثانية بعد الالتهابات التنفسية ويعرف الاسهال على انه زيادة في عدد مرات افراز الامعاء في اليوم اذ يتحول البراز من شكله الأعتيادي الى الشكل اللين[1]. ويمكن عده عارضا سريريا يحدث نتيجة خلل في امتصاص الماء والاملاح مسببا حركة غير طبيعية للامعاء تكون نتيجتها زيادة في عدد مرات التبرز الى ثلاث اواكثر في اليوم[2].ويعد واحد من اهم المشاكل في العالم لما يسببه من استنزاف للعناصر الغذائية المهمة مما يؤدي الى تدهور الحالة الصحية للفرد ومن ثم الموت للحالات غير المعالجة خصوصا الاطفال تنتقل العدوى بالاسهال عن طريق الماء والغذاء الملوثين، اذ تعد عملية غسل اليدين من العوامل الاساسية التي لها تأثير كبير في منع انتقال العدوى من شخص الى اخر[3].هنالك العديد من انواع البكتريا التي تسبب الاسهال فقد تكون البكتريا موجبة لصبغة غرام كما في بكتريا *Bacillus cereus*اما البكتريا السالبة لصبغةغرام فتنتمي الى العائلة المعوية *Enterobacteriaceae* [4]ان اغلب البكتريا المنتمية لهذه العائلة تسبب الاسهال وتكون اما من النوع المائي كما في الاصابة ببكتريا ETE*.coli*اومن نوع الاسهال الدموي كما في الاصابة ببكتريا *Shigella dysenteriae*[5]

المواد وطرائق العمل:

جمع وعزل البكتريا من عينة البراز
تم جمع500عينة براز من اشخاص مصابين بالاسهال ولاعمار مختلفة للمدة من 1/11/2009 ولغاية1/10/2010من (مستشفى العلوية للاطفال ومستشفى الكندي ومختبر الصحة العامة المركزي ومختبرات الاهلية) وتم اجراء فحص الخروج العام لها بعزل البكتريا المعوية المسببة للاسهال تم اخذ جزء من البراز ووضع في وسط ماء الببتون و وسط المرق المغذي و وسط ماء الببتون القاعدي اذ توفر هذه العملية خاصية الاغناء للاعداد القليلة من البكتريا الموجودة في عينات الخروج والمسببة للاسهال مثل الشيكيلا والسالمونيلا والايروموناس والكوليرا [6] .
اذ حضنت هذه الانابيب لمدة 24 ساعة عند درجة 37 مºوبعد انتهاء مدةالحضانة زرعت العينات على اطباق تحتوي اوساط MacConkey agarو S.S agarو Blood agar و .T.C.B.S وحضنت هذه الاطباق لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37 مºوبعد نمو البكتريا زرعت على الاوساط الزرعية بعدها تم اجراء الفحوص الكيموحيوية وذلك لتشخيص البكتريا بعد ذلك خضعت العزلات البكتيرية لفحص الاوكسديزوالكاتاليزثم اكمل التشخيص وصولا للنوع و للتوكيد تم استخدام عدة (Rapid ID 32

*قسم علوم الحياة ، كلية العلوم للبنات ، جامعة بغداد

و 20 API) لتشخيص وتوكيد البكتيريا المشخصة.

تحضير الاوساط الزرعية

1-وسط ماء الببتون القاعدي Alkaline peptone water

تمت اذابة (10)غم peptone و(5)غم Sodium chlorid و(2) مل Sodium Hydroxideويعدهذا الوسط وسطااغنائيالنمو *V.cholerae*

2- وسط اغار المغذي Nutrient agar

يستخدم هذا الوسط لتنشيط وتكثير البكتريا.

3-وسط اكار الدم Blood agar

استخدم هذا الوسط لعزل وتشخيص البكترياوذلك بملاحظة نوع التحلل الذي يظهر على الوسط بعد تنمية البكتريا. اذ حُضّر من استخدام Blood base agar ثم عقم بالموصدة وبعد ان اصبح مبرد بدرجة حرارة(45مº) اضيف له (7%) دم انسان.

4-وسط الماكونكيMacConkey agar

استعمل هذا الوسط لعزل وتشخيص البكتريا السالبة لصبغة غرام وبالاخص المخمرة لسكر اللاكتوز.

5-وسط T.C.B.S(Thiosulfate-Citrate-Bil-Salts Sucrose.

يعد من افضل الاوساط الزرعية لعزل وتشخيص الضمات [7] .

الكواشف

كواشف عدة Api20 E

استعمل كاشف TDA اضيف الى التربتوفان للكشف عن افراز Tryptophanedeaminase وكاشف vp1 وvp2 اضيف الى Sodium pyrovateللكشف عن انتاج Acetoinprudection وJames اضيف الى التربتوفان للكشف عن Indole production .

كواشف عدةRapid ID 32 E

استعمل كاشف James اضيف الى التربتوفان للكشف عن Indole production .

تشخيص العزلات

1- دراسة الصفات الزرعية على مختلف الاوساط الزرعية

2-الفحص المجهري

3-الاختبارات الكيموحيوية وتشمل اختبار الاوكسيديزوالكاتاليز

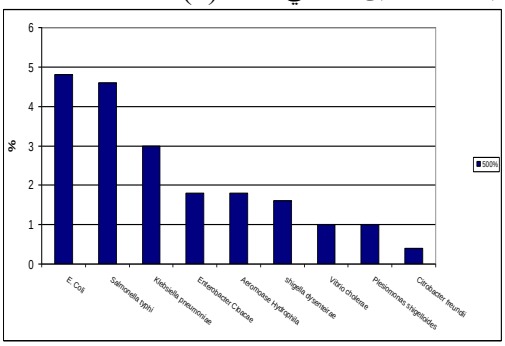
4-نظام Api20 E

5-التشخيص التوكيدي باستخدام عدة Rapid ID 32 E وبجهاز Mini Api

النتائج:

1-عزل البكتريا

عُزلت وشُخّصت (100) عزلة بكتيرية ممرضة مختلفة تعودالى العائلةالمعوية*Enterobacteriacae*تضمنت نحو24 عزلة بكتيرية بنسبة (4.8%) تعود لبكتريا *E.coli* والتي تعد اعلى قيمة عزل اما اقل قيمة عزل فكانت لبكتريا *C.freundii* بـ (2)عزلة بنسبة (0.4 %) وتراوحت بقية العزلات بينتلك النسبتين كما في الشكل(1)



شكل (1) النسب المئوية للعزلات البكتيريةمن المرضى المصابين بالاسهال

تشخيص البكتريا:

1-الصفات الزرعيةCultural Features

تطلبت عملية التشخيص مبدئياً استخدام اوساط زرعيةتفريقيةواغنائية متمثلة بـ MacConkey agar و Blood agarوانتخابية متمثلةبـ TCBSالخاص بتشخيص بكتريا*V.cholera*

شُخّصت البكتريا اعتمادا على صفات المستعمرات، فبعضها مخمر لسكر اللاكتوز والاخر غيرمخمر[8].

1- الاختبارات الكيموحيوية

اظهرت نتائج الفحوصات الكيموحيوية الموضحة في الجدول (1)

البكتريا	Oxidase	Catalase
E.coli	_	+
S. typhi	_	+
K. pneumoniae	_	+
E. cloacae	_	+
A. hydrophila	+	+
S. dysenteriae	_	+
P. shigelloides	+	+
V. cholerae	+	+
C. freundii	_	+

(+) النتيجة موجبةك(-) النتيجة سالبة

3-الاختبارات التوكيدية

أ-اختبارApi 20 E

تم تشخيص البكتريا بشكل مؤكد من خلال نظام Api 20 E، وهو اختبار توكيدي يتضمن (20) اختباراًبايوكيميائياً لتشخيص نوع وجنس البكتريا كما موضح في الشكلين (2) و(3).

شكل(2)البكتريا المشخصة بأختبار Api 20 E

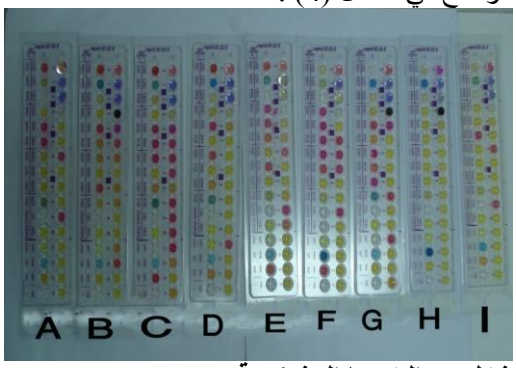
A- C. freundii ; B-E.coli ; C-S.dysenteriae ; D-S.typhi

شكل (3) البكتريا المشخصة بأختبار Api 20 E

A- *K.pneumoniae*;B- *A.hydrophila*;C- *V.cholerae*;D- *P. shigelloides*;E- *E. cloacae*

ب -الفحص التوكيدي بأستخدام عدة Rapid ID32 E وبجهاز الـ Mini API

يعد هذا الاختبار اكثرواحدث توكيداً للتأكد من جنس ونوع البكتريا اذ تستعمل فيه عدةRapidID32E التي تمت قراءتها بأستخدام جهاز MiniAPIالذي تتم القراءة فيه الياً كما موضح في الشكل (4) .



شكل(4) البكتريا المشخصة بـ Rapid ID32 E

A-*E.coli* B-*A. hydrophila*
D-*P. shigelloides* C-*V. cholera*
F-*S. typhi* E-*S.dysenteriae*
H- *K.pneumoniae* G-*E. cloacae*
C. freundii

المناقشـــــة:

اذ اشارت نتائجنا الى ان اعلى نسبة عزل كانت لبكتريا *E.coli* بنسبة (4.8 %) وجاءت النتائج متفقة مع [9] في دراسة اجرتها لبيان التأثير البكتيري والمناعي للمعزز الحياتي المعزول من الاطفال الرضع الى ان هذه البكتريا عزلت بنسبة (34.58 %) وهي اعلى نسبة عزل بين البكتريا المعوية المعزولة خلال هذه الدراســـــه، كذلك اتفقت مع [10]في دراسة اجرتها على بكتريا *E.coli* المعزولـــة من اطفال مصابين بالاسهال في بغدادكما اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان اقل نسبة عزل تمثلت ببكتريـــــا *C.freundii* بنسبة (0.4 %) في حين اشارت [11]الى ان نسبة عزل هذه البكتريا من عينات البراز للاطفال حديثي الولادة المصابين بالاسهال قد بلغت (6.6 %).

المصادر:

1.Benjamin, F. A.; John, M. &colford, J. R.2007 Treating water with chlorine at point – of – use to improve water quality and reduce child diarrhea in developing countries: Asystmaticreviw and meta – analysis. The American society of tropical medicine and hygiene, Am. J. Trop. Med. Hyg76(2): 354 – 364.

2.World Health Organization. 2009 Health Topics .Diarrhoea

3.Kandakai – Olukemi, Y. T.; Mawak, J. D. &Onojo, M. M. 2009 Isolation of enteropathgenic*Escherichia coli* from children with diarrhea attending the national hospital in Abuja, Nigeria. Shiraz. E – Medical. J. 10(3): 99 – 106. (Abst).

4.Koh, H.; Baek, S.Y.; shin, J. L. L.; chung, K. S. &Jee, Y. M. 2008 Coinfection of viral agents in korean children with acute watery diarrhea. J. Korean. Med. Sci. 23: 937 – 940.

5.Sean, W.; Ski, P.; l.; Warren, C. A.&Guerrant, R. 2008 Diagnosis and treatment of acute or persistent diarrhea. Gastroenterology. 136: 1874 – 1886.

6.السماك، مهدي. 1983التقنية المختبرية في الجراثيم المرضية، وزارة الصحة، العراق

7. Henry, J. B. 1996 Clinical diagnosis and management by laboratory

methods. 19th ed. Philadelphia: Chapter 18.
8.Ewing, W. H 1986 Edwards and ewing's identification of enterobacteriaceae. 4thed.PP. 135 – 172. Elsevier science publishing, New York.
9. بوهان، إزهار جيار.2010 بعض التأثيرات البكتيرية والناميية للمعزز الحياتي *Lactobacillus ssp* المعزول من الأطفال الرضع. أطروحة ماجستير، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد.
10. إبراهيم، أسيل محمود. 2010 دراسة تشخيصية ووراثية لبعض عزلات بكتريا *Escherichia coli* المسببة للاسهال عند الأطفال. رسالة ماجستير، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.
11.المسلماوي، ذكرى عدنان جواد . 2007 دراسة بعض صفات الكيموحيوية والحياتية والأمراضية لعديد السكر يد ألشحمي المستخلص من جرثومة *Citrobacterfreundil*. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة بغداد.

A study for Bacterial Infection in Acute Diarrhea Patients

Rana A. Hassan* ***Talib A. Hussein ****

*Department of Biology ,College of Science for Women,University of Baghdad

Abstract:

500 samples of diarrhea stool were collected from different ages(less than 1year – upto30years) and for both genders from some patients in (Alwiya hospital for children, Al-kendi, central health public laboratory and some gavernarated labs) period(1/11/2009—1/10/2010). Kinds of bacteria and parasites agents were isolated and identified from patients with diarrhea.

Nine species of gram negative bacteria from enterobacteriaceae were isolated, *E. coli* isolated are the higher ratio 4.8% of all, then *Salmonella typhi*4.6% while the lowest ratios is *Citrobacterfreundii* 0.4%, while the other identified species were be among the previous rotios. also *Plesomonasshigelloides* was isolated which concedride one of the bacterial local studies.many methods were depend on in order to identifiy; growth on media like (Enrichment ,differentials and differetials) media.

Biochemical test represents with API20E, also. Some confirmed tests represent with a modern and important identical tools was used for first time to identify the entericbacteria, by (Rapid ID 32) usually used with mini API system where the results record automatically.