

## مقارنة بين اختبار الويدال وتقنية الزرع المختبري في تشخيص الحمى المعوية في

### محافظة بابل .

عادل عبيد حسوني سيلان حسين صكر هديل عباس حسن

جامعة الفرات الاوسط- الكلية التقنية المسيب

[hadeelbiology@yahoo.com](mailto:hadeelbiology@yahoo.com) [selanhusseingov@yahoo.com](mailto:selanhusseingov@yahoo.com) [adil\\_abead@yahoo.com](mailto:adil_abead@yahoo.com)

### الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في محافظة بابل للفترة من 2015/7/1 ولغاية 2015/11/1. وقد تم اختيار المرضى عشوائيا من العيادات والمختبرات الاهلية والخاصة في ناحية الاسكندرية وبعض المناطق الاخرى في محافظة بابل لمرضى يعانون من اعراض يشبه بانها لحمى التايفوئيد . اذ تم جمع ( 106 ) نموذج من الدم والادرار والبراز لاشخاص يعانون من اعراض الاصابة بحمى التايفوئيد (Typhoid fever) اذ توزعت هذه النماذج على 42 نموذجا من الدم و32 نموذجا للادرار و32 نموذجا من البراز . وظهرت النتائج ان 30 حالة مرضية من هذه النماذج كانت مصابة بالحمى التايفوئيدية من بين المرضى الذين يتوقع انهم مصابون بهذه الحمى الذين تم اختيارهم بصورة عشوائية بحسب الاعراض السريرية لهؤلاء المرضى ولمختلف الاعمار من الذكور والاناث . واثبتت الدراسة ان 20 حالة مرضية من بين المجموع الكلي للمرضى اعطت نتيجة موجبة لفحص الويدال في حين العشرة حالات الاخرى اعطت نتيجة سالبة لهذا الاختبار ، وكانت اعلى عيارية للاضداد في فحص الويدال هي 320/1 مقارنة مع السيطرة السالبة 20/1 . ومن خلال النتائج التي تم التوصل اليها فقد كانت نسبة الاصابة للاناث 60% في حين بلغت نسبة الاصابة في الذكور 40% . وكانت نسبة 45% من بين هذه الحالات لمرضى تتراوح اعمارهم بين 15 - 35 سنة . ونسبة 23% للذين تتراوح اعمارهم بين 10 - 15 سنة . في حين كانت نسبة 12% تمثل معدل الاعمار من 35 - 50 . اما الاعمار التي تراوح معدلها بين 55 - 60 سنة فقد بلغت نسبة المصابين بها نسبة 20% .

وبينت نتائج الدراسة ان اغلب النماذج التي تم زرعها على الاوساط الزرعية كانت نتيجتها سالبة ، اذ كانت نسبة الاطباق السالبة التي لم يظهر فيها نمو لبكتريا السالمونيلا ( 85 % ) من مجموع النماذج التي تم زرعها . بينما كانت نسبة النماذج التي اعطت نتيجة موجبة لبكتريا السالمونيلا التيفية *Salmonella typhi* و *Salmonella paratyphi* هي ( 15 % ) . اما في فحص الويدال فقد كانت اكثر العزلات تشير الى وجود هاتين النوعين من البكتريا في مصل الشخص المصاب بحمى التايفوئيد .

**الكلمات المفتاحية:** سالمونيلا ، ويدال ، تايفوئيد ، الحمى المعوية .

### Abstract

This study was conducted in the price the setting from 1/7/2015 to 1/11/2015. Patients were selected randomly from the clinics and private sector in Alexandria and some other areas in the province of Babylon, for patients suffering from symptoms of suspected typhoid fever. As it was collected 106 samples of blood, urine and feces of people suffering from symptoms of typhoid fever , as these samples consisted of 42 sample of blood and 32 of urine and 32 feces sample.

The results showed that 30 medical condition of these samples were infected typhoid fever among patients who expect that they are infected

with this fever who were randomized according to the clinical symptoms of these patients and for all ages , male and female .

The study revealed that 20 condition from among the total number of patients given positive widal test , while ten other cases gave a negative result of this test , with the highest antibody titer in the examination widal is 1/320 compared with negative control 1/20 . Through the results that have been reached infections were 60% for females , while the males reached 40% . The 45% of these cases among patients aged between 15-35 years . 23% for those aged between 10-15 years. While the rate of 12% represents the average age of 35-50 . The age range of the study group between 55-60 years has been the proportion of people living with the ratio of 20% .

The results of the study showed that most of the samples that have been culture were negative result , as the percentage dishes , does not appear was (85%) of the total samples that have been cultured . While the samples which gave a positive result for *Salmonella typhi* and *Salmonella paratyphi* was the ratio of (15%) . Either in the examination widal were more isolates indicate the existence of two types of bacteria in the serum of an infected person with typhoid fever.

**Key word :** Salmonella , Widal , Typhoid . Enteric fever .

## المقدمة Introduction

يوجد حوالي 1500 نوع من بكتيريا السالمونيلا (*Salmonella*) تم اكتشافها لحد الان وسببت هذه البكتيريا الكثير من حالات الخوف لدى المجتمعات في السنوات الأخيرة لما لها من مخاطر على حياتهم، وبالنظر للزيادة الحاصلة في اعداد المسافرين ورحلاتهم الى خارج بلدانهم فقد ادى ذلك الى ازدياد مخاطر التسمم الناتج من تناول الطعام الملوث بسموم البكتيريا ومع ذلك فإن العلماء والمختصين بمجال البكتريولوجي لديهم المعرفة الكاملة بكل مايتعلق بمجموعة الجراثيم التي تسبب التسمم بالسالمونيلا والطرق الكفيلة بمنع حصول هذا التسمم ومع ذلك فان تزايد حالات التسمم بالطعام بسبب جراثيم السالمونيلا يحدث في بعض الاحيان بصورة مفاجئة،يمكن تقسيم جراثيم السالمونيلا إلى مجموعتين أحدها تسبب حمى التيفوئيد وحمى متصلة بها بينما تكون المجموعة الأخرى مسؤولة عن تسمم الطعام بالسالمونيلا ( Baker et al., 2010 ).

تتصف بكتيريا السالمونيلا *Salmonella* بانها عبارة عن خلايا عصوية (Short bacilli)، سالبة لصبغة كرام (Gram negative bacilli)، تتحرك بوساطة الاسواط (flagella)، لا تكون كبسولة (non-capsulated). ولبكتيريا السالمونيلا أكثر من 1400 نوع مصلي Serotypes بعضها يسبب أمراضاً للإنسان. ومن الانواع ذات الاهمية الطبية لبكتيريا السالمونيلا هي *S. typhi* و *S. paratyphi* والتي تسبب الحمى المعوية (Enteric fever) للإنسان وتوجد انواع اخرى مثل *S. typhimurium* و *S. enteritidis* التي تسبب التسمم الغذائي (Food poisoning) والتهاب القولون (Enterocolitis)، و *S. choleraesuis* الذي يسبب التسمم الدموي (Septicaemia). (Charles et al., 2012). تنمو وتتكاثر بكتيريا السالمونيلا في الماء اي انها تستطيع العيش في الحليب ومشتقاته او في المسابح المائية لهذا السبب تنتشر حمى التيفوئيد في فصل الصيف ليس بسبب الشمس كما هو مشاع عنها بل هو عبارة عن تلوث بالبكتيريا وفي اغلب الاحيان تنتقل هذه البكتيريا عبر اشخاص حاملين لها في اجسادهم وخاصة هؤلاء الذين يعملون في المطاعم او اعداد الطعام وتصنيع المواد الغذائية فهذه البكتيريا تستوطن كيس المرارة لدى الاشخاص المصابين بها وخاصة الذين يعانون من اصابات بحصى المرارة. ويعزى السبب الرئيس في انتشار حمى التيفوئيد الى انخفاض مستوى النظافة الشخصية والعامة وسوء الخدمات والمرافق الصحية (Charles et al., 2012).

اما الخصائص المصلية Serological characters لهذه البكتيريا فنجد بانها تحوي ثلاثة أنواع من المستضدات (antigens) وهما المستضد الجسدي (somatic antigen) الذي يرمز له ب (O antigen) والمستضد السوطي (flagellar antigen) ويرمز له ب (H antigen) والكبسولة (المحفوظة) (capsulate) ويرمز لها ب (K antigen). تقاوم هذه البكتيريا الممرضة المناعة الطبيعية لجسم الإنسان وذلك بمنعها للبلعمة والإلتهاام وكذلك بإفرازها للسم الداخلي (Endotoxin) وقد تفرز هذه البكتيريا أيضا سم خارجي (Exotoxine). وتعتبر حمى التيفوئيد من الامراض المعدية والخطيرة وتحدث في المناطق الأقل تطورا في العالم وخصوصا البلدان النامية او بلدان العالم الثالث تصيب كذلك حتى المجتمعات الراقية والمتطورة ولكن بنسبة اقل من البلدان المتخلفة صحيا، واصبحت هذه الحمى مشكلة صحية عامة ورئيسية في العديد من دول العالم (Barrow and Feltham, 1993).

تسبب بكتيريا السالمونيلا مايقارب 16 مليون حالة اصابة من التيفوئيد سنويا في العالم، وسجلت اكثر من 13 مليون حالة اصابة بحمى التيفوئيد في آسيا، وتُسبب هذه الحمى في وفاة أكثر من 6% من الاشخاص المصابين سنوياً على مستوى العالم ( Beyene et al., 2008 ; Gizachew, 2011 ).

عدوى هذه الحمى عبر الشخص الحامل لها ، فهذا المرض يستوطن داخل جسم الانسان وقد يظل حاملا له حتى لو اختفت الاعراض وينتقل هذا المرض في المناطق التي لا يحافظ سكانها على النظافة العامة او تناول الطعام المكشوف والملوث فهو ينتقل من يد المصاب بهذا المرض الى الطعام او الشراب ثم ينتقل الى الشخص الاخر الذي تناول هذا الطعام او ينتقل عبر البراز فهو ينتقل عن طريق شرب الماء الملوث في المناطق التي يتلوث ماؤها بماء الصرف الصحي. اما الاعراض السريرية لحمى التايفوئيد فان المرض يمر بعدة مراحل، ففي الأسبوع الأول تبدأ أعراض المرض وعلاماته متمثلة بالنحول و آلام المفاصل ويصاحبه صداع وفقدان الشهية والقشعريرة ، وتبدأ الحرارة بالارتفاع تدريجيا في ما يسمى ب( الحرارة متسلقة السلم)، حيث تصل الى 40 م مع نهاية الأسبوع الأول، ويصاحب الحرارة تباطؤ في ضربات القلب ، ويعاني المريض كذلك من آلام البطن خلال هذا الأسبوع، أما في الأسبوع الثاني فان درجات الحرارة تستمر بالارتفاع، وضربات القلب تبقى في حالة تباطؤ، وبصورة عامة عند حدوث الالتهابات فان درجة الحرارة كلما ارتفعت تزداد معها نبضات القلب، ولكن في حالات الاصابة بحمى التيفوئيد فان نبضات القلب لاتحصل لها زيادة وهو ما يسمى ب ( التباطؤ النسبي) ، ويعاني كذلك المريض من ازدياد مظاهر التعب و آلام في البطن ، ومن الممكن ظهور طفح جلدي لكن سرعان ما يختفيأما العلامات التي تظهر في الفحص السريري في الأسبوع الثاني من الاصابة فأهمها تضخم بسيط في الكبد والطحال، وكذلك زيادة الألم في البطن والشعور بالآلام عند قيام الطبيب بملامسة بطن المريض ، ومع بداية الأسبوع الثالث وفي حالة ترك المريض من دون علاج تبدأ حالته تزداد سوءا ، اذ يعاني المريض من الجفاف والازرقاق ومن فقدان الوعي و أحيانا الغيبوبة ، ويصبح المريض يعاني من الاسهال في هذه المرحلة ، وفي بعض الحالات يعاني المريض من نزف معوي حاد مع حدوث تقرحات في الأمعاء (Hohman , 2011).

يبدأ المريض بالتحسن التدريجي عند البدء بتناول العلاج، واثبتت بعض الدراسات أن نسبة الوفيات من المرضى المصابين بحمى التايفوئيد تبلغ 30% في الدول النامية، و10% من الاشخاص المتماثلين للشفاء من الاصابة يعانون من إعادة نشاط البكتريا وتكرار المرض في المستقبل ، هذا بالمقارنة مع نسبة وفيات 1- 2 % بالولايات المتحدة الأمريكية. وبعد الشفاء من المرض ، يبقى 5-10% يحملون البكتيريا ويطلق عليهم بحاملي المرض في فترة النقاهة، ويقون حاملين للبكتيريا لعدة أشهر، بينما يبقى 1-4% من المرضى حاملين لهذه البكتيريا بشكل مزمن، وعادة يتم طرح البكتيريا المسببة لحمى التايفوئيد الى خارج الجسم عن طريق العصارة الصفراوية المفردة من الحويصلة المرارية ومن ثم طرحها في الجهاز الهضمي ثم الى الخارج عن طريق البراز، ان التطور في العلاج الطبي والدوائي عبر وصف المضادات الحيوية المناسبة من حيث الجرعة العلاجية وفترة التداوي لمدة 10-14 يوم يعطي نتائج جيدة في الشفاء ومنع عودة المرض مجددا وايضا من خلال اعطاء اللقاحات في المناطق المتوتنة مثل العراق وان اول لقاح للتايفوئيد اكتشف في عام 1897، من قبل ايريت إدوارد ، اذ تمكن من تطوير لقاح فعال اطلق عليه تسمية اللقاح الحي الذي يؤخذ عن طريق الفم. وفي عام 1909، قام فريدريك راسل، طبيب الجيش الأمريكي ، بتطوير لقاح ضد حمى التيفوئيد الأمريكية وسمي لقاح الحمى التيفية متعدد السكريات ويعطى للشخص عن طريق الحقن تحت الجلد وبعد ذلك بعامين أصبح له برنامج التلقيح الأول الذي اعطى مناعة كاملة لافراد الجيش الامريكي من الاصابة بحمى التايفوئيد التي اعتبرها سببا مهما ورئيسيا في حصول الاعتلال والوفيات في الجيش الأمريكي وقد قامت شركات الادوية المختلفة بتطوير لقاح ضد هذه الحمى عن طريق استخدام تقنية الهندسة الوراثية والتي تكون مضاعفاتها قليلة نسبيا ، واجرى المختصون بهذا المجال العديد من حملات التلقيح في المعسكرات والمدارس واعطاء الطلاب والجنود اجازة بسبب التلقيح لما

يسببه من الم عضلي وارتفاع درجة الحرارة ،ولكن مع تطور اللقاحات في الوقت الحالي اصبحت الامور اكثر سهولة و ميسرة بصورة افضل من الماضي (Gizachew , 2011).

يجب على المريض المصاب بحمى التايفوئيد ان يتناول الاغذية السهلة الهضم مثل عصير البرتقال والليمون والعسل الاسود واللبن والبطاطا المسلوقة والموز والحساء ويتغذى بصورة اعتيادية مع تحسن حالته الصحية، ان التشخيص السريري لحُمى التيفوئيد لايعطي نتائج ذات اهمية ، اما التشخيص المؤكد لهذه الاصابات فيجب ان يكون عن طريق اجراء عزل البكتريا من نماذج الدم ونخاع العظم وذلك بزراعها على اوساط غذائية خاصة للتأكد من وجود بكتريا السالمونيلا في الاشخاص المصابين رغم ان هذه التقنية تعد غالية الثمن ولكنها الطريقة الافضل في تشخيص بكتريا التايفوئيد (Nsutebu *et al.*, 2003) .

ويعد اختبار الويدال (Widal test) هو الإختبار البديل والطريقة الاقدم في تشخيص حمى التايفوئيد في الدول النامية لكونها رخيصة الثمن وسريعة النتائج ويتبقي استخدامها على نحو واسع (Ley *et al.*, 2010).

## المواد وطرائق العمل Material and Methods

### جمع العينات Sample Collecting

أجريت هذه الدراسة في محافظة بابل للفترة من 2015/7/1 ولغاية 2015/11/1، وقد تم اختيار المرضى عشوائيا من العيادات والمختبرات الاهلية والخاصة في ناحية الاسكندرية وبعض المناطق الاخرى في محافظة بابل لمرضى يعانون من اعراض يشتبها بانها لحمى التايفوئيد . اذ تم جمع 42 عينة دم من المرضى المشتبه باصابتهم بحمى التايفوئيد والمشخصين سريريا من قبل الاطباء اعتمادا على الاعراض السريرية المتمثلة بارتفاع في درجات الحرارة لمدة لاتقل عن يومين وصداع شديد مع غثيان والام في البطن والمفاصل وجمعت 32 عينة من البراز في الاسبوع الثاني من الاعراض المرضية و32 عينة من الادرار في الاسبوع الثالث من الاصابة. وتم ارسال هذه النماذج الى المختبر لغرض اجراء الاختبارات البكتريولوجية.

### الايوساط الزرعوية Culture media

استخدمت الاوساط الزرعوية لغرض تنمية العزلات البكتيرية التي تعود الى بكتريا السالمونيلا اذ شملت هذه الاوساطوسط الاكار المغذي الصلب (Nutrient agar) ووسط (Xylose-Lysine Deoxycholate) (XLD) او (Salmonella Shigella Agar) (SS agar) او (Brilliant Green Agar) (BGA) او (BSA)Bismuth Sulfite Agar (Barrow and Feltham 1993) .

### الزرع البكتريولوجي Bacteriological Culture

تم زرع نماذج الدم على الوسط المغذي الصلب Nutrient agar وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعه . فحصت الاطباق الحاوية على الوسط الزرعوي لملاحظة نمو البكتريا ، بعدها نقلت مستعمرة من النمو البكتيري ونشرت على الاوساط الزرعوية الاختيارية التالية:

(Xylose – Lysine Deoxycholate) (XLD) او (Salmonella Shigella Agar) (SS agar) او (Brilliant Green Agar) (BGA) او (BSA)Bismuth Sulfite Agar .

وتم متابعة النمو البكتيري للتأكد من وجود او عدم وجود بكتريا السالمونيلا في دم الاشخاص المصابين. جمعت نماذج البراز في الاسبوع الثاني من الحمى. في حين جمعت عينات الادرار في الاسبوع الثالث من الحمى ونقلت

هذه العينات مباشرة الى المختبر لغرض اجراء الزرع البكتريولوجي لهذه العينات على الاوساط الزرعية الخاصة ببكتريا السالمونيلا للتأكد من وجود هذه البكتريا وتشخيصها بصورة نهائية في المختبر .

#### الفحوصات البايوكيموحيوية Biochemical test

بعد 24 ساعة من الحضانة للاوساط الزرعية الحاوية على البكتريا على مرق الصويا ( Tryptic soy broth) على اكار الـ XLD (OXOID ، انكلترا) ، تم إجراء تخطيط بواسطة العروة الناقلة (Loop) للعزلات البكتيرية المعزولة من مرق الصويا. وبعد اكتمال فترة الحضانة لمدة 24 ساعة ، استخدمت الاطباق الزرعية التي ظهر فيها النمو البكتري والتي اعطت نمو بكتريا في حين حضنت الاطباق التي لم يظهر فيها نمو بكتريا لمدة سبعة أيام للتأكد من عدم وجود نمو بكتري فيها. تم فحص المستعمرات التي يتوقع ان تعود لبكتريا السالمونيلا وذلك باجراء الاختبارات الكيموحيوية عليها للتأكد من نوع البكتريا اذ تم اجراء اختبار H<sub>2</sub>S باستخدام أكار الحديد السكر الثلاثي (Triple Sugar Iron agar TSI)، واختبار السترات (citrate utilization test) ، اختبار الاندول (Indole) ، واختبار (lysine decarboxylation test (LDC) واختبار احمر المثيل (Methyle red) ، وفوكس بروسكر VP، وفحص الاورنثين Ornithine .

#### زرع الادرار والخروج Stool and urine culture

فحصت عينات من البراز والبول، على الرغم من أن عزل بكتريا السالمونيلا *S. typhi* من أي من هذه العينات قد يشير بشكل مجرد الى أن المريض هو الناقل لحمى التايفوئيد ، وقد يحتوي البراز على السالمونيلا في الاسبوع الثاني من الاصابة وكذلك الادرار يمكن ان يحتوي على بكتريا السالمونيلا خلال الاسبوع الثالث من العدوى. اما في حالة العدوى ببكتريا السالمونيلا الباراتايفي *Salmonella paratyphi*، قد يكون المسار السريري أقصر بكثير مما كانت عليه في التيفوئيد. وقد يحدث الإسهال في وقت مبكر وزرع البراز غالبا ما تكون إيجابيا في الأسبوع الأول من المرض.

#### عزل وتنقية البكتيريا Isolation and purification of bacteria

تم تحديد جميع العزلات باستخدام الاختبارات البكتريولوجية وذلك باستخدام صبغة غرام (Gram stain)، اختبار الحركة (motility test) ، اختبار تخمر السكر (sugar fermentation) و KIA ، واختبار الإندول (indole test)، اختبار اليوريز (urease test)، واختبار السترات (citrate utilization test) و اختبار أوكسيديز (oxidase test) لغرض التأكد من نقاوة العزلات البكتيرية المستخدمة في الدراسة .

#### التصبغ Staining

نقلت مستعمرة بكتيرية من الوسط الزرعي ومزجت مع قطرة الملح الفزيولوجي normal saline وتركت المسحة حتى تجف ثم صبغة بصبغة كرام gram stain وفحصت بالمجهر تحت العدسة الزيتية للتأكد من شكل وترتيب الخلايا البكتيرية .

#### فحص الويدال Widal test

يعد اختبار الويدال (Widal test) من الفحوصات السيرولوجية المهمة المستخدمة في المختبرات والتي لها اهمية كبيرة في التعرف على اصابة المرضى بحمى التايفوئيد وتم ذلك عن طريق وضع الدم في انبوبة اختبار وفصل السيرم بواسطة جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) والغرض من اجراء فحص الويدال هو الكشف عن وجود الاجسام المضادة لبكتريا السالمونيلا في سيرم المرضى وملاحظة ظهور التلازن (agglutination) بالعين المجردة والنتيجة الموجبة هي ظهور التلازن على الشريحة والتحرري عن وجود المستضدات السوطية (H antigen) والمستضدات الجسدية (O antigen). ان معلقات المستضدات لبكتريا السالمونيلا الخاصة

بفحص الوبدال متوفرة بصورة تجارية باحجام 5 مليلتر وهذه الكواشف مناسبة للاختبارات السريعة على الشريحة او الانبوبة.

اذ تضاف قطرة من Anti TO و Anti TH الى سيرم المريض الحاوي على اعداد سالمونيل التايفوئيد .ويتم بعد ذلك التحري عن عيارية الاضداد بعد مرور دقيقة من اجراء الاختبار فاذا حصل التلازن في الدقيقة الاولى تكون النتيجة 1/320 وفي الدقيقة الثانية 1/160 . لكلا المستضدين Anti O او ال Anti H . ومن خلال هذه النتائج يمكن التعرف على وجود الاجسام المضادة في مصل الشخص المصاب ام لا . ويعتمد هذا الاختبار على الاسس التالية :

اولا: تحضر جميع المحاليل Reagents وعينات المرضى (مصل Serum) على درجة حرارة الغرفة. ثانيا: يوضع 20 ميكروليتر من Positive control في الحجرة الأولى Well على شريحة اللاتكس و20ميكروليتر من Negative control في الحجرة الثانية وذلك من أجل المقارنة بعد ظهور نتائج الاختبار مع الكنترول والتأكد من أن المحاليل Reagents سليمة وصالحة للاستخدام. ثالثا: يستخدم 8 حجرات لكل عينة (يوجد 8 أنواع من الأنتجين) وذلك بوضع 20 ميكروليتر من المصل Serum في كل حجرة Well.

رابعا: تمزج محاليل اللاتكس المحتوية على الأنتيجينات لكل أنواع السالمونيل الثمانية بالتقليب ثم تؤخذ 40 ميكروليتر (قطرة واحدة Drop) منه إلى كل حجرة المحتوية على مصل المريض. خامسا: تمزج بشكل دائري باستخدام الأعواد المناسبة. سادسا : توضع شريحة اللاتكس على الهزاز Shaker او تمزج بالتحريك الدوراني لمدة 1-3 دقائق اذ يظهر التلازن تحت ضوء مناسب ولا تؤخذ النتيجة بعد مرور اكثر من 3 دقائق لأن بدء جفاف العينة قد يؤدي إلى ظهور نتيجة ايجابية كاذبة Positive False. النتيجة:

- (+) : حدوث تلازن (Agglutination (Ab-Ag Reaction)\*\*\*
- (-) : عدم حدوث تلازن (Non Agglutination (Ab-Ag Non Reaction)
- \*\*\* في حالة حدوث تلازن Agglutination لابد من عمل التخفيف للعينة Dilution of Sample :
- يفضل عمل التخفيف في أنابيب Tubes ويوضع في كل أنبوب 100 ميكروليتر من ال Normal Saline ويوضع في الأنبوب الأول 100 ميكروليتر من عينة المصل Serum وتمزج وينقل إلى الأنبوب الثاني 100 ميكروليتر وهكذا إلى آخر أنبوب في أنابيب التخفيف بعد ذلك ينقل من كل أنبوب 100 ميكروليتر إلى الحجرات في شريحة اللاتكس ويضاف المحلول Reagents على كل الحجرات Wells .
- يتم تسجيل آخر تخفيف ظهر فيه التفاعل إيجابي (+) كنتيجة نهائية للاختبار (قد تختلف مقدار وطريقة التخفيف من شركة مصنعة لأخرى).

## النتائج والمناقشة Results and Discussions

### النتائج Results

#### الزرع البكتريولوجي Bacteriological culture

اظهرت نتائج الزرع البكتريولوجي على الاوساط الزرعية بعد حضانة الاطباق لمدة 24- 48 ساعة ان المستعمرات البكتيرية النامية على الاوساط الزرعية الاختيارية كانت كالاتي :

- على وسط XLD : شفافة ذات مركز اسود.
- على وسط BSA : سوداء مع لمعان معدني او ذات مركز اسود مع حافات عديمة اللون.
- على وسط BGA: وردية حمراء او عديمة اللون محاطة بطبقة حمراء براقية.
- على وسط SS agar : شفافة ذات مركز اسود غير ملونة او وردية باهتة.

#### الفحص المجهري microscopic examination

انصفت بكتيريا السالمونيلا *Salmonella spp.* المصبوغة بصبغة كرام بانها عبارة عن خلايا عصوية ،سالبة لصبغة كرام (Gram negative bacilli) .

#### الاختبارات الكيموحيوية Biochemical test

اوضحت نتائج الاختبارات الكيموحيوية لبكتريا السالمونيلا التيفية *S.typhi* المبينة في جدول ( 1 ) ان البكتريا كانت موجبة لاختبار ال (H2s)، واختبار اللايسين (Lysine)، واختبار احمر المثيل (Methyl red) . بينما كانت سالبة لاختبار الستريت (Citrate)، واورنثين (Ornithine)، والاندول (Indole) . اما بكتريا السالمونيلا الباراتفية فقد اثبتت النتائج ان البكتريا كانت موجبة لاختبار الاورنثين واحمر المثيل بينما اعطت الاختبارات الاخرى نتائج سالبة وهي اختبار (VP , Indole , Lysine , Citrate , H2s) .

جدول ( 1 ) يبين الاختبارات الكيموحيوية لبكتريا السالمونيلا التيفية والباراتفية

No	Test	<i>S. typhi</i>	<i>S. paratyphi</i>
1	H2s	+	-
2	Citrate	-	-
3	Lysine	+	-
4	Ornithine	-	+
5	Indole	-	-
6	Methyl red	+	+
7	VP	-	-

#### فحص العينات

تم اختيار المرضى عشوائيا من العيادات والمختبرات الاهلية والخاصة في ناحية الاسكندرية وبعض المناطق الاخرى في محافظة بابل لمرضى يعانون من اعراض يشته بانها لحمى التايفوئيد . اذ استخدمت في هذه الدراسة 42 عينة من دم المرضى الذين يشته في وجود حمى المعوية و32 عينة من الادرار و32 عينة من البراز وتم اجراء اختبار الويدال لغرض تطابق الاعراض مع النتيجة .

أظهرت النتائج ان 30 حالة مرضية كانت مصابة بالحمى التايفوئيدية من بين المرضى الذين يتوقع انهم مصابون بهذه الحمى الذين تم اختيارهم بصورة عشوائية حسب الاعراض السريرية لهؤلاء المرضى ولمختلف الاعمار من الذكور والاناث .

واثبتت الدراسة ان 20 حالة مرضية من بين المجموع الكلي للمرضى اعطت نتيجة موجبة لفحص الويدال بينما العشرة حالات الاخرى اعطت نتيجة سالبة لهذا الاختبار ، وكانت اعلى عيارية للاضداد في فحص الويدال هي 320/1 مقارنة مع السيطرة السالبة 20/1 .

اثبتت الدراسة من خلال النتائج التي تم التوصل اليها ان نسبة الاصابة للاناث كانت 60%، بينما نسبة الاصابة في الذكور فقد بلغت 40% . و كانت نسبة 45% من بين هذه الحالات المصابة لمرضى تتراوح اعمارهم بين 15 - 35 سنة . ونسبة 23% للذين تتراوح اعمارهم بين 10 - 15 سنة . بينما كانت نسبة 12% تمثل معدل الاعمار من 35 - 50 سنة . اما الاعمار التي تراوح معدلها بين 55 - 60 سنة فقد بلغت نسبة المصابين بها نسبة 20% .

اوضحت النتائج ان اغلب النماذج التي تم زرعها على الاوساط الزرعية كانت نتيجتها سالبة ، اذ كانت نسبة الاطباق السالبة التي لم يظهر فيها نمو لبكتريا السالمونيلا ( 85 % ) من مجموع النماذج التي تم زرعها . بينما كانت نسبة النماذج التي اعطت نتيجة موجبة لبكتريا السالمونيلا التيفية *S. paratyphi typi* هي ( 15 % ) .

اما في فحص الويدال فقد كانت اكثر العزلات تشير الى وجود هاتين النوعين من البكتريا في مصل الشخص المصاب بحمى التايفوئيد .

## المناقشة Discussion

تعتبر حمى التيفوئيد من الامراض التي لها آثار اجتماعية و اقتصادية كبيرة على المجتمع ، وان التشخيص الدقيق لهذا المرض في مرحلة مبكرة يكون مهما، وهذه الاهمية لا تأتي من ناحية تشخيص المسبب المرضي فقط بل أيضا لتحديد الاشخاص الذين قد يكونون من الحاملين المحتملين لهذه البكتريا ومن المحتمل قد يكون لهم دور فعال في تفشي حمى التيفوئيد الحاد في المجتمع الذي يعيشون فيه .

وقد تم اجراء اختبار ويدال لهؤلاء المرضى واطهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن هناك 30 مريضا مصابون بالحمى المعوية في حين كانت نتائج الزرع البكتريولوجي تشير الى ان هؤلاء المرضى في الغالب كانت نتائجهم سالبة اي لم يظهر نمو لبكتريا السالمونيلا وبنسبة تعادل (85 % من البكتريا المعزولة). واعتمادا على هذه النتائج، نستنتج أن عيارية كبيرة من الأجسام المضادة في مصل المريض اكتشفت عن طريق اختبار الويدال والتي تدل على وجود حمى التيفوئيد، وكانت النتائج التي توصلنا إليها متطابقة مع دراسة أجراها Wain وآخرون، (2008) والتي استخدم فيها اختبار ويدال لتشخيص حمى التايفوئيد. و على الرغم من ان استخدام طريقة اختبار ويدال لأكثر من قرن من الزمان، فإن التشخيص النهائي والدقيق لحمى التيفوئيد يعتمد على عزل بكتريا السالمونيلا التيفية من الدم ، البراز ، البول و سوائل الجسم الأخرى . (Shrivastava et al., 2011)

اوضحت الدراسة الحالية ان معظم المرضى المصابين بحمى التايفوئيد كانت اعمارهم تتراوح بين 15 - 35 سنة اذ كانت نسبة الاصابة تقدر بحوالي 45 % من بين الاشخاص الذين تمت

دراساتهم . وهذا يدل على ان معظم الاصابات التي تسببها بكتريا السالمونيلا *S. typhi* هي للفئات العمرية البالغة اكثر مما تصيب الاشخاص ذات الاعمار غير البالغة او في مرحلة الطفولة . واتفقت هذه النتائج مع ماتوصل اليه (Wain and Hosoglu, 2008) من ان زيادة الاصابة بحمى التايفوئيد تزداد مع زيادة العمر . ولكنها لا تتفق مع دراسة قام بها (Gizachew, 2011) من ان الاصابة تحدث في كافة الاعمار وبنسبة اكبر لدى الاطفال . ان نسبة النتائج التي يطلق عليها موجبة كاذبة False positive في عيارية الاضداد لتحليل الويدال widal test كانت كبيرة في دراستنا اذ بلغت تقريبا 80% وهذه النتيجة حسب ماتشير المصادر قد تكون مرتبطة بتفاعل الاضداد الموجودة في مصل المريض الحاوي على الليفين (fibril) (Nsutebu et al., 2003).

نستنتج من خلال هذه النتيجة ان فحص الويدال الموجب كان ذات حساسية قليلة في الكشف عن الاصابة الموجبة لحمى التايفوئيد اما النتيجة السالبة لاختبار الويدال فكانت دليل جيد يمكن الاعتماد عليه في تأكيد عدم وجود اصابة بحمى التايفوئيد للاشخاص الذين لديهم اعراض مشابهة لحمى التايفوئيد . لذلك من الضروري جدا وحسب النتائج التي تم التوصل اليها ان نعتمد بصورة كبيرة على تقنية الزرع البكتريولوجي في تشخيص الاصابات بحمى التايفوئيد .

## References

- Baker S, Favorov MO, and Dougan G (2010). Searching for the elusive typhoid diagnostic. BMC Infect. Dis. 10:45.
- Barrow GI, Feltham RK (1993). Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria, 3rd Ed, Cambridge University Press.
- Beyene G, Asrat D, Mengistu Y, Aseffa A, and Wain J (2008). Typhoid fever in Ethiopia. J. Infect. Dev. Ctries. 2(6):448-453.
- Charles AM, Adam MH, Gad, El Rab MO, Morshed MG, and Shakoor Z (2012). Detection of salmonella typhi agglutinin in sera of patients with other febrile illnesses and healthy individuals. J. Afr. Med. 10(1):41-44.
- Gizachew A (2011). A comparative study of blood culture and Widal test in the diagnosis of typhoid fever in febrile patients, Department of Microbiology, Immunology and Parasitology. J. Med. Microbiol. 1(1):9-22.
- Hohman EL (2011). Approach to patient with non-typhoid salmonella in a stool culture .Accessed 03-02-2013.
- Ley B, Mtove G, Thriemer K, Thriemer K, Amos B, Seidlein LV, Hendriksen I, Mwambuli A, Shoo A, Malahiyo R, Ame SM, Kim DR, Ochiai LR, Clemens JD, Reyburn H, Wilfing H, Magesa S, and Deen JL (2010). Evaluation of the Widal tube agglutination test for the diagnosis of typhoid fever among children admitted to a rural hospital in Tanzania and a comparison with previous studies. BMC Infect. Dis. 10:180.
- Nsutebu EF, Martins P, and Adiogo D (2003). Prevalence of typhoid fever in febrile patients with symptoms clinically compatible with typhoid fever in Cameroon. Trop. Med. Int. Health 8(6):575-578
- Shrivastava B, Shrivastava V, and Shrivastava A (2011). Comparative study of the diagnostic procedures in salmonella infection, causative agent of typhoid fever. An overview study. Int. Res. J. Pharm. 2(9):127-129.
- Wain J, Diep TS, Be Bay PV, Walsh AL, Vinh H, Duong NM, Ho VA, Hien TT, Farrar J, White NJ, Parry CM, and Day NPJ (2008). Specimens and culture media for the laboratory diagnosis of typhoid fever. J. Infect. Dev. Ctries. 2(6):469-474.
- Wain J, and Hosoglu S (2008). The laboratory diagnosis of enteric fever. J. Infect. Dev. Ctries. 2:421-425.