ISSN 1021 - 6812

(3)

مؤتة
للبحوث والدراسات

(السلسلة ب : العلوم الطبيعية والتطبيقية)

(موضوع العدد: أحياء)

مجلة علمية محكمة ومفهرسة

تصدر عن

عمادة البحث العلمي والدراسات العليا

جامعة مؤتة

مؤتة / الأردن

المجلد التاسع العدد الرابع جمادى الأول ١٤١٥هـ تشرين أول ١٩٩٤م

عزل وتشخيص الجراثيم من سوائل الأكياس المائية للانسان والمضائف الوسطية الأخرى

احسان عيدان السيمري [١] ، محمد عبد الستار الشيخلي [٢]

[١] قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة البصرة ، العراق

[٢] قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة بغداد ، العراق

تاريخ استلام البحث ١٩٩٢/١١/٤ تاريخ قبوله للنشر ١٩٩٣/٩/١٥

ABSTRACT

A 221 specimens of hepatic and pulmonary hydatid cyst fluids were collected from human and other intermediate hosts (camels, cattle, sheep and goats). Using differential tests and numerical taxonomy analysis, it was determined that the bacteria found in the infected hydatid cyst fluids were: Escherichia coli, Enterobacter spp., Proteus spp., Klebsiella spp., Serratia spp., Salmonella spp., Shigella spp., Streptococcus spp., and staphylococcus spp.

The existing ratio of these bacteria was varied in different intermediate hosts.

The infected hydatid cysts varied in its nature and location in the body of the intermediate hosts.

ملخص

تم جمع ٢٢١ عينة من الأكياس المائية الكبدية والرئوية للانسان والمضائف الوسطية الأخرى (الجمال، الأبقار، الأغنام، الماعز) واعتماداً على الاختبارات التشخيصية المختلفة وباستخدام طريقة التصنيف العددي أمكن تحديد الأنواع الجرثومية المتواجدة في سوائل الأكياس المائية المخمجة وهي : الأشريكية القولونية، المتقلبات، العصيات المعوية، الكليبسلا، السراتية، السالمونيلا، الشيغلة، المكورات العنقودية والمكورات العقدية (السبحية).

وقد تباينت نسب تواجد هذه البكتيريا في المضائف الوسطية المختلفة . كما وتختلف الأكياس المائية المخمجة بالبكتريا فيما بينها من حيث طبيعتها وموقعها في أعضاء جسم المضيف الوسطي .

* البحث هو جزء من اطروحة الماجستير للباحث الأول تمت في كلية العلوم –جامعة بغداد– العراق.

بالجرثومة E. coli ولم تجد اصابة جرثومية في ٢٥ كيس مائي مأخوذ من الأبقار و ٦ أكياس مأخوذة من الماعز و ٩ أكياس مأخوذة من الانسان وكيسين من الجمال وقد يعود سبب هذه النتائج إلى قلة العينات المدروسة والاختلاف في موقع الكيس وعمر الخمج ونوع الكيس المائي والاختلاف في عمر المضيف وسلالته وعدم كفاية فترة الحضن – ٢٤ ساعة– لظهور مستعمرات الجراثيم الحساسة (Fastidious bacteria).

كما أظهرت دراسات أخرى اصابة ٢٠ كيساً مائياً من مجموع ٦٠ كيساً مائياً مجموعاً من الانسان أي بنسبة ٣٣٪ بأنواع مختلفة من الجراثيم وهي Staph. Aure-، Proteus، E. Coli، Gram Positive ba-، Strept.viridans، Acid fast bacilli، Psedudomonas، us. cilli [١٠]. ويعتقد بأن نمو الأكياس المائية قد يتعرقل بفعل التشوب الجرثومي الحاصل في السائل [٨]. كما قد تسبب اصابة الكيس بالجراثيم إلى زيادة حجم الكيس وتؤدي إلى تحطيم الأكياس الداخلية Endocysts وتسبب تمزيق الأكياس السليمة من طبقتها الخارجية Adven-titia layer [١٢].

ويعتمد تواجد الجراثيم في سوائل الأكياس المائية بصورة جزئية على المكونات الكيموحيوية الموجودة في هذا السائل والتي تعتبر كمغذيات للأحياء المجهرية [٩].

أمّا من حيث الطرق المحتملة لأصابة الكيس المائي بالجراثيم فلقد اشارت الدراسات بأن الطرق الأكثر احتمالاً هي أن تكون اصابة الكيس المائي بالجراثيم عن طريق الدم، القناة الصفراوية، القصبات الهوائية [١٠]. أن أقرب تفسير لدخول الجزيئات الغريبة إلى داخل الكيس المائي يكون بعد مضي فترة طويلة من الزمن على الخمج بالأكياس المائية، أي عندما تكون الأكياس المائية قديمة داخل العضو المخمج. حيث يتجدد عدد كبير من خلايا جدار الكيس المائي وكل خلية تترك ثغرة مؤقتة في الجدار لحين حصول الارتباط بين الخلايا الجديدة المتكونة وهذه توفر فرصة كبيرة لدخول الجزيئات الغريبة والجراثيم إلى داخل الكيس المائي [٤].

كما أن الطبقة الصفائحية يمكن أن تساهم بهذه الاصابة باعتبارها طبقة غير حية وظيفتها تنظيم الجزئيات إلى داخل الكيس المائي وهذه الطبقة هي أساساً ناتجة عن تفاعل الترسيب بين نواتج التمثيل الغذائي للطبقة المولدة وبين الأجسام المضادة التي يكونها المضيف [٣]. بينما وجدت دراسات أخرى بأن نفاذ الجزيئات إلى داخل الكيس عبر طبقات الجدار يعتمد على الطاقة الميكانيكية الناتجة عن عمليات الانتشار البسيط [١١]. ومن المحتمل أن تكون اصابة الكيس المائي

المقدمة : Introduction

الكيس المائي يتسبب عن الطور اليرقي لأصغر دودة شريطية تابعة للجنس Echinococcus في المضائف الوسطية القابلة للاصابة. وبيّن [٨] بأن نمو الأكياس المائية قد يتعرقل بفعل التشوب الجرثومي الحاصل في السائل. وقد يعتمد تواجد الجراثيم في سائل الكيس المائي بصورة جزئية على المكونات البايوكيميائية الموجودة في هذا السائل والتي تعتبر كمغذيات للأحياء المجهرية [٩].

وقد أجريت دراسات قليلة حول موضوع الجراثيم المتواجدة في سوائل الأكياس المائية، حيث بيّنت دراسة [٢] حدوث تشوب جرثومي في أربعة أكياس مائية لأكباد الأغنام المصابة. وذكر [١٢] بأن الاصابة الجرثومية للكيس المائي قد تسبب زيادة في حجم الكيس، وتؤدي إلى تمزيق الأكياس السليمة. وأوردت دراسة أخرى بأن الطرق الأكثر احتمالاً هي أن تكون اصابة الكيس المائي بالجراثيم عن طريق الدم، القناة الصفراوية، والقصبات الهوائية [١٠]. تعتبر الدراسة الحالية أول دراسة شاملة تسلط الضوء على الأجناس الجرثومية الموجودة في سوائل الأكياس المائية الكبدية والرئوية للانسان والجمال والأبقار والماعز والأغنام وطرق عزلها وتشخيصها بالاعتماد على طريقة التصنيف العددي الحديثة.

المواد وطرائق العمل : Materials and Methods

اعتمدت طريقة [١] في الدراسة حيث أزيلت جميع الأنسجة المحيطة بالكيس المائي ثم عقم السطح الخارجي للكيس عدة مرات بالكحول ثم بالحرارة، وسحب (١٠ مل) من سائل الكيس بمحاقن بلاستيكية معقمة ووضعت في قناني نظيفة ومعقمة. وتم زرع السائل ابتداءً على أوساط اغنائية Enrichment media لتنشيط الجراثيم. ثم زرعت على أوساط الآجار المغذي Nutrient agar وآجار ماكونكي Macconkey agar ووسط آجار الدم Blood agar base ، وحضنت بدرجة حرارة ٣٧° م مدة ١–٣ أيام. وبعد ظهور المستعمرات الجرثومية أجريت عليها كافة الصفات التشخيصية : المزرعية، المجهرية، الفسيولوجية، الكيموحيوية المطلوبة، ثم حولت نتائج هذه الاختبارات إلى صيغ وصفية وادخلت في برنامج للحاسوب الالكتروني لغرض تحديد الأجناس الجرثومية المتواجدة في سوائل الأكياس المائية للمضائف الوسطية المختلفة ودراسة العلاقات التصنيفية ونسب التشابه والاختلاف فيها. وقد عزلت الجراثيم ايجابية الغرام عن الجراثيم سلبية الغرام ولكل مضيف وسطي على حدة لأجل تشخيصها بمعزل عن الأخرى، وأجريت هذه الاختبارات التصنيفية باتباع طرق [٥، ٦، ٧، ١٣].

الأكياس المائية للمضائف الوسطية المختلفة، وهي :

الجراثيم سلبية الغرام : الشيغلة Shigella / العصيات القولونية Enterobacter ، الكليبسلا Klebsiella السراتية Serratia، السالمونيلا Salmonella، المتقلبات Proteus ، الأشريكية القولونية Escherichia coli.

الجراثيم ايجابية الغرام : المكورات العنقودية Staphylococcus ، المكورات العقدية (السبحية) Streptococcus.

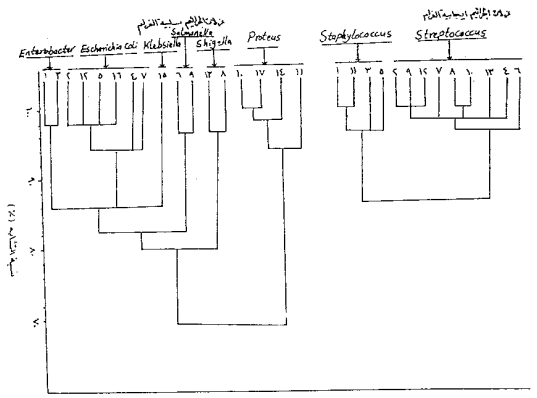
ويوضح الشكل (٦) مقارنة النسب المئوية لتواجد هذه الأجناس الجرثومية في الأكياس المائية للمضائف الوسطية المختلفة حيث كان عدد عزلات الجراثيم الكلية المأخوذة من سوائل الأكياس المائية للأغنام هي ٤٢ عزلة منها ٣٤ عزلة سلبية الغرام و ٨ عزلات ايجابية الغرام. وكان عدد عزلات الجراثيم الكلية للجمال هي ٣٠ عزلة منها ١٧ عزلة سلبية الغرام و ١٣ عزلة ايجابية الغرام. وكان عدد عزلات الجراثيم الكلية للأبقار هي ٣٠ عزلة منها ٢٤ عزلة سلبية الغرام و ٨ عزلات ايجابية الغرام. وكان عدد عزلات الجراثيم الكلية للماعز هي ٢٥ عزلة منها ١٩ عزلة سلبية الغرام و ٦ عزلات ايجابية الغرام. وكان عدد عزلات الجراثيم الكلية للانسان هي ٣٥ عزلة منها ٢٩ عزلة سلبية الغرام و ٦ عزلات ايجابية الغرام. وتفصيلاً كانت النسبة المئوية لتواجد الجراثيم سلبية الغرام في سوائل الأكياس المائية للأغنام والجمال والأبقار والماعز والانسان ٢٦,١٩٪، ٢٠٪، ٢١,٨٧٪، ٢٨٪، ٢٨,٥٧ على التوالي بالنسبة لجرثومة الأشريكية القولونية E. coli.

وكانت النسبة المئوية لتواجد جرثومة المتقلبات Proteus في سوائل أكياس الأغنام والجمال والأبقار والماعز والانسان ٩,٥٢٪، ١٣,٣٣٪، ١٨,٧٥٪، ١٦٪، ١١,٤٢٪ على التوالي.

بينما كانت النسب المئوية لتواجد جرثومة العصيات القولونية Enterobacter في سوائل أكياس الأغنام والجمال والأبقار والماعز والانسان ١٦,٦٦٪، ٦,٦٦٪، ٦,٢٥٪، ١٦٪، ٥,٧١٪ على التوالي.

وكانت جرثومة الكليبسلا Klebsiella موجودة في سوائل أكياس الأغنام والجمال والأبقار والماعز والانسان بنسب مئوية هي ٧,١٤٪، ٣,٣٣٪، ٣,١٢٪، ١٢٪، ٨,٥٧٪ على التوالي.

وكانت النسبة المئوية لتواجد جرثومة الشيغلة Shigella في سوائل أكياس الاغنام والأبقار والانسان هي ٢,٣٠٪، ٩,٣٧٪، ٨,٥٧٪ على التوالي. ولم تتواجد هذه الجرثومة في سوائل أكياس


Enterobacter
Escherichia coli
Klebsiella
Salmonella
Shigella
Proteus
Staphylococcus
Streptococcus

شكل رقم ١

10. Mahmoud, S. S., Ahmed, B. H., and Ali, R. Y. Recovery of bacteria and parasites from human hydatid fluid and its relationship to the cyst fertility. J. Fac. Med. Baghdad, (1990), 32(1). 65-71.

11. Morseth, D. J. The fine sturcture of the tegument of the adult Echinococcus granulosus, Taenia hydatigena, and Taenia pisiformis. J. parasitol., (1966), 54. 15-27.

12. Rady, A. M. Hydatidosis. Postgraduate Doctor (1980), 3. 330-336.

13. Seely, H. W., Vandemark, P. J. Microbes in Action. 3rd. ed. W. H. Freeman and Co., San Francisco. (1982).

Rererences : المصادر

1. Al-Saimary, I. E. Radiotherapeutic study for controlling hydatidosis with bacteriological, immunological, and chemical studies in some intermediate hosts. M. Sc. Thesis. Science College, Baghdad University. (1990).

2. Aziz, L. J. Chemical compositions study of hepatic hydatid cysts fluid of sheep, cattles, goats, human and camels. M. Sc. Thesis, Science Coll. Salahaldeen Univ. (1987).

3. Bortoletti, G., Ferretti, G. C. Ultrastructural aspect of fertile and sterile cysts of Echinococcus granulosus developed in host of different species. Int. J. Parasitol., (1978), 8. 421-431.

4. Carter, C. W., Coxon, R. V., Parsons, D. S., and Thompson, R. H. Biochemstry in relation to Medicine. Longmans, Green and Co., London. (1959).

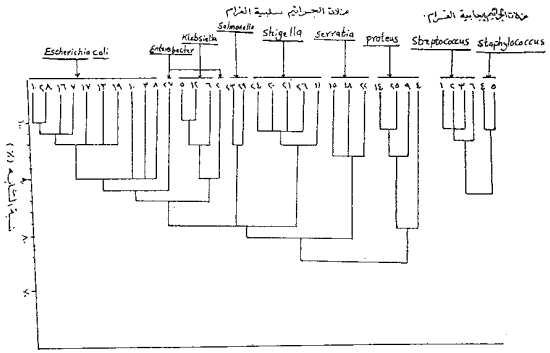
5. F. D. A. (Food and Drug Administration). Bacteriological analytical manual. Division of Microbiology. 5th. ed. Washington. (1978).

6. Finegold, S. M., Martin, W. J. Baily and Scotts diagnostic microbiology 6th. ed. The C. V. Mosby Company. London. (1982).

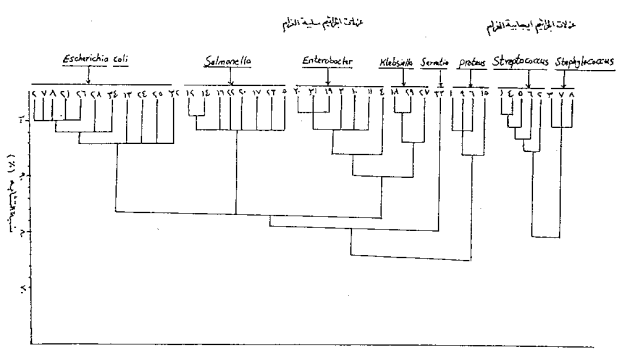
7. Harrigon, W. F., McCance, M. E. Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiolgyg. 7th. ed. Acad. Pre. London. (1987).

8. Hicken, N. F., James, M., John, H. C., and Frank, M. Echinococcsis of the liver and lung. Am. J. Surg., (1966), 122. 823-830.

9. Mahmoud, S. S., and Al-Janabi, B. M. Hydatid disease in children and youngs in Mosul, Iraq. Ann. Trop. Med. Parasitol., (1983) 77. 237-238.



شكل -٥٠: مخطط شجيري يبين الدورات التصنيفية بين الجراثيم المعزولة من سوائل الأكياس المائية للإنسان



شكل - ٣٠ : مخطط شجري يوضح العلاقات القرابية بين الجراثيم المعزولة من سوائل الأكياس المائية للإنسان

النتائج : Results

١- وصف الأكياس المائية وسوائلها:

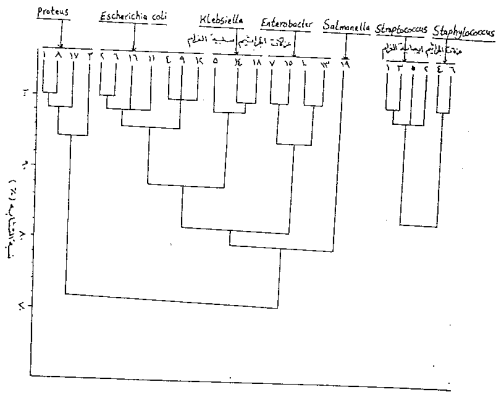
تميزت الأكياس المائية المشوبة بالجراثيم بأن معظمها من نوع الأكياس الخصبة Fertile cysts (الحاوية على رؤوس أولية) . ومن النادر وجود أكياس عقيمة Sterile cysts (عديمة الرؤوس الأولية) مخمجة بالجراثيم في جميع العينات التي جمعت من المضائف الوسطية المختلفة.

كما تميز سائل الكيس المائي المتشوب بالجراثيم بعكورته الشديدة ولونه المائل إلى الاصفرار الغامق مقارنة بسوائل الأكياس غير المشوبة بالجراثيم والتي كان أكثرها متميزاً بصفاءه ولونه المائي الشفاف.

كما وجد أن الطبقة الصفائحية والطبقة المولدة للأكياس المشوبة بالجراثيم كانت سميكة وذات تثخن متميز مقارنة بالأكياس المائية غير المشوبة والتي كانت فيها هاتين الطبقتين رقيقة نسبياً. أما من حيث موقع الاصابة في العضو المخمج فقد وجد بأن معظم الأكياس المائية المتشوبة تكون محاطة بأنسجة العضو أي تكون مغروزة في العضو المصاب مما يدل على أن اصابة هذا العضو بالأكياس المائية مضى عليها زمن طويل، بينما كانت الأكياس الأخرى غير المتشوبة بالجراثيم كانت خارجية ولم تكن مغروزة في العضو المصاب مما يدل على أن الاصابة بهذه الأكياس المائية حديثة وهذا أيضاً ما يبرر كونها عقيمة ولا تحتوي رؤوس أولية.

٢- الدراسة البكتريولوجية:

بعد إجراء كافة الاختبارات التشخيصية : المزرعية والفسيولوجية والكيموحيوية تم تحويل نتائجها إلى صيغ وصفية يمكن ادخالها في برنامج للحاسوب الالكتروني وتحليلها لايجاد نسب التشابه المئوي بين العزلات الجرثومية المختلفة، وقد اعتمد مستوى التشابه ٨٥٪ في تشخيص عزلات الجراثيم ايجابية الغرام و ٨٧٪ في تشخيص عزلات الجراثيم سلبية الغرام. وبعد ايجاد نسب التشابه المئوية هذه رسمت المخططات الشكلية أو الشجيرية Phenogram (Dendrogram) لتوضيح العلاقات التصنيفية بين الجراثيم المعزولة من سوائل الأكياس المائية ولكل مضيف وسطي على حدة وكما هو موضح في الأشكال ذات الأرقام (١، ٢، ٣، ٤، ٥). واعتماداً على المخططات الشكلية وجداول التشخيص السابقة تم تعيين اجناس الجراثيم المعزولة من سوائل



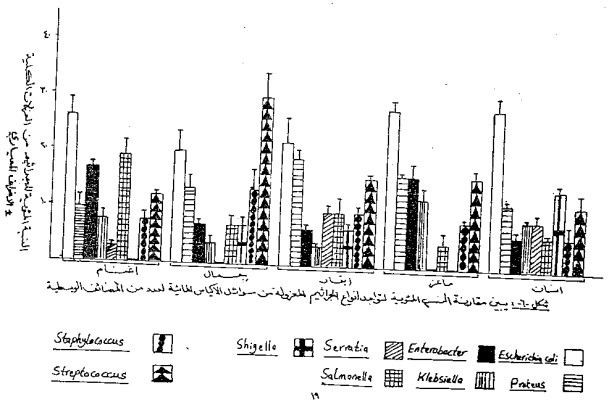
شكل (٤-١) مخطط شجري يوضح العلاقات التصنيفية بين البراثيم المعزولة من سيلان الأنف الخلفي للمصابين

```
10 DIM  A(N,N)
20 INPUT " THE STRAIN,";N
30 INPUT " THE FEATURE,";M
40 FOR I=1 TO N:FORJ=1 TO N
50 READ A(I,J): NEXT J:NEXT I
60 FOR I=1 TO N:FOR K=I+1 TO N
70 R=0:D=0:B=0
80 FOR J=1 TO M
90 C1=A(I,J):C2=A(K,J)
100 IF C1+C2=2 THEN S=S+1
110 IF C1+C2=0 THEN D=D+1
120 NEXT J
130 B=100*(S+D)/M:PRINT INT(B);
140 NEXT K : PRINT: PRINT:NEXT I
150 DATA 1,1,1,1,1,1,1,0,1,1,1,1,1,1,1,1
,0,0
160 DATA 0,0,0,1,0,0,1,1,1,0,1,1,1,0,0,0
,0,1
```

شكل -٧- البرنامج المستخدم في التصنيف العددي لدراسة العلاقات التصنيفية وايجاد النسب المئوية للتشابه بين البكتريا المعزولة من سوائل الاكياس المائية للمضائف الوسطية المختلفة. والبرنامج مكتوب بلغة البيسك ويمكن ادخاله الى اي نوع من انواع الحاسبات الالكترونية .

بالجراثيم ناتجة عن الجراثيم الانتهازية Apportunistic bacteria التي تتواجد في محيط الكيس المائي داخل جسم المضيف الوسطي والتي تتمكن من الدخول إلى داخل الكيس المائي عند تجدد خلايا طبقات جدار الكيس المائي، أو تكون الاصابة ناتجة عن عدم كفاءة طبقات جدار الكيس المائي بمنع دخول الجزيئات الغريبة إلى داخل الكيس، وذلك لشدة الخمج وتقدم الاصابة وتوسع الكيس المائي بدرجة كبيرة على حساب أنسجة المضيف، مما يجعله يفقد مرونته ومطاطية جداره، كما تبين ذلك من خلال النتائج التي حصلت عليها الدراسة الحالية وهي وجود تثخن في الطبقتين المولدة والصفائحية ووجود الكيس المائي محاطاً بأنسجة المضيف وعدم مرونته وسرعة تمزقه وذلك لقدم الاصابة.

نوصي باجراء دراسات بالمجهر الالكتروني لغرض تسليط الضوء على طبيعة أغلفة الكيس المائي وكيفية دخول الجراثيم خلالها ومدى اسهام المضيف في التشوب الجرثومي لسوائل الأكياس المائية وتحديد المواد والانزيمات التي تفرزها الجراثيم والتي تساعدها على الدخول واحداث هذا التشوب وما يصاحب ذلك من تغيرات كيميائية أو كيموحيوية في مكونات سائل الكيس المائي.



شكل (١): يبين مقارنة النسب المئوية لتواجد انواع الجراثيم المعزولة من سوائل الاكياس المائية لعدد من المضائف الوسطية

الجمال والماعز في جميع العينات المفحوصة.

أما جرثومة السالمونيلا Salmonella فلقد كانت نسبة تواجدها المئوية في سوائل الأغنام والجمال والأبقار والماعز والانسان هي ١٩,٠٤٪، ٦,٦٦٪، ٩,٣٧٪ ، ٤٪، ٥,٧٪ على التوالي.

وكانت النسبة المئوية لتواجد جرثومة السراتية Serratia في سوائل أكياس الجمال والأبقار والانسان هي ٦,٦٦٪، ٦,٢٥٪، ١٤,٢٨٪ على التوالي. ولم تتواجد هذه الجرثومة في سوائل أكياس الأغنام والماعز في جميع العينات المفحوصة.

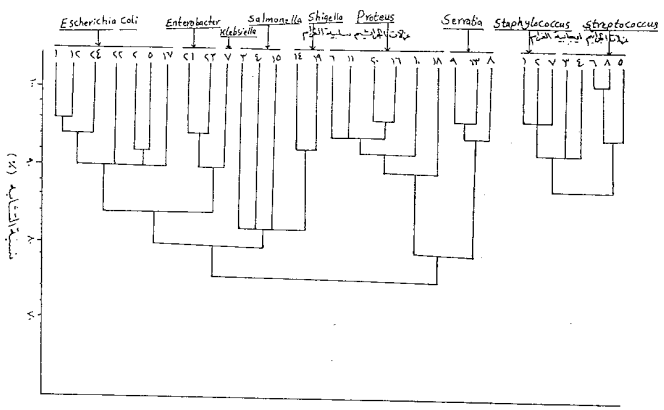
أمّا بالنسبة للجرائيم ايجابية الغرام فلقد كانت النسب المئوية لتواجد جرثومة المكورات العنقودية Staphylococcus في سوائل الأكياس المائية للأغنام والجمال، والأبقار والماعز والانسان هي ٧,١٤٪، ١٣,٣٣٪، ٩,٣٧٪، ٨٪، ٥,٧١٪ على التوالي.

أمّا جرثومة المكورات العقدية (السبحية) Streptococcus فلقد كانت النسب المئوية لتواجدها في سوائل أكياس الأغنام والجمال والأبقار والماعز والانسان هي ١١,٩٪، ٣٠٪، ١٥,٦٢٪، ١٦٪، ١١,٤٢٪ على التوالي.

وقد وجد من خلال التحليل الاحصائي لكافة البيانات والنتائج لهذه الدراسة أعلاه أن هناك فروقاً معنوية عالية بين عدد العزلات والنسب المئوية لتواجد مختلف الانواع الجرثومية في المضائف الوسطية المختلفة على مستوى ($P<0,001$) ووجود فروق معنوية بين عدد العزلات والنسب المئوية لتواجد الجرثومة المعينة في المضائف الوسطية المختلفة على مستوى ($P<0,01$) .

المناقشة :

ان نجاح العلاج الاشعاعي في تحديد الاصابة بالأكياس المائية أو السيطرة عليها والذي أكدته دراسة [١] سيبقى الكيس المائي في الجسم مشكلاً بؤرة وبيئة مناسبة لنمو أنواع مختلفة من الجراثيم، ولذا فإن الأهداف الرئيسية للدراسة الحالية باعتبارها أول دراسة شاملة ومتخصصة بهذا الموضوع هي تسليط الضوء على مقدار ونوع التشوب الجرثومي الحاصل في سوائل الأكياس المائية للانسان والمضائف الوسطية الأخرى، وتشخيص الأنواع الجرثومية المتواجدة في هذه السوائل باستخدام طريقة التصنيف العددي الحديثة. وبالمقارنة مع نتائج الدراسات السابقة، فلقد وجدت [٢] أن ٤ أكياس من مجموع ٧٤ كيس مائي مأخوذ من أكباد الأغنام مصاب



شكل ٢٠: مخطط شجري يبين الدورات التصنيفية بين الجراثيم المعزولة من سوائل الأكياس المائية للإنقاء