متوفرة على الموقع: http://www.basra-science-journal.org

ISSN –1817 –2695

الاستلام 28-1-2015، القبول 7-4-2015

دراسة المسببات البكتيرية لمرضى إلتهاب الزائدة الدودية في محافظة البصرة

هدى عبد الرحيم مذكور و محمد عبد الامام المازني ونوري حنون جاسم

قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة البصرة

البصرة / العراق

المستخلص

أجريت الدراسة الحالية للكشف عن البكتريا المسببة لألتهاب الزائدة الدودية . تضمنت الدراسة 90 عينة من الزوائد الدودية المستأصلة من المرضى الذين شخصت حالتهم بأنهم مصابين بألتهاب الزائدة الدودية من قبل الأطباء الأختصاص في مشفى البصرة العام ومشفى الصدر التعليمي للفترة من 18/9/ 2013 ولغاية 10/6/2014 . بلغت نسبة العينات التي أعطت نتيجة موجبة للزرع البكتيري 88.9 %في حين بلغت العينات التي لم تظهر نمو 11.1 %، وتم عزل 15 نوعا من البكتريا المتواجدة في الزائدة الدودية وكانت بكتريا *Escherichia coli* هي البكتريا السائدة *44.9* % كذلك عزلت أنواع أخرى بنسب أقل *Shigella dysenteria* 7.9 % و *Salmonella enterica* *5.6* % و *Pseudomonas aeruginosa* *4.5*% و *Klebseilla Pneumonia* *4.3* % و *Klebseilla oxytoca* *1.7* % و *Morganella morganii* *3.9*% و *Neisseria spp.* *3.4* % و *Enterobacter cloaca* *2.2* % و *Serreatia spp.* *1.7*% و *Citrobacter ferundii* *1.1*% و *Proteus vulgaris* *0.6* % و *Staphylococcus spp.* *7.9*% و *Streptococcus* *6.7*% و *Bacillus subtilis* *4.5*%. وقد تم تشخيص هذه الأنواع من خلال الفحص المجهري وأجراء الاختبارات الكيموحيوية أضافة الى أستعمال نظام API–20 E لتشخيص العائلة المعوية.

الكلمات المفتاحية : المسببات البكتيرية ، ألتهاب الزائدة الدودية ، العائلة المعوية ، API–20 E

1. المقدمة

يعد التهاب الزائدة الدودية من أكثر حالات آلام البطن الحادة شيوعا التي يتم أستقبالها في ردهات الطوارئ في المستشفيات الجراحية [1] . وعلى الرغم من كثرة هذه الحالات إلا إنه يصعب تشخيصها بشكل دقيق على الرغم من تطور التقنيات الرائدة في مجال الطب وذلك بسبب تداخل الأعراض والعلامات السريرية مع حالات مرضية أخرى [2] . ويعد إلتهاب الزائدة الدودية أحد الأمراض الشائعة التي تصيب الأنسان بمختلف الأعمار وتؤثر في صحته وله عدة مسببات وتعتبر البكتريا أحد أسباب حدوث الألتهاب والذي ينتج عن حدوث تضخم في جدران الزائدة يتبع أنسدادها بالفضلات والأجسام الغريبة والطفيليات وأحيانا الأورام [3] .

وتعرف الزائدة الدودية بأنها عبارة عن تركيب مغلق من أحد نهايتيه يبرز من منطقة الأعور في منطقة أتصال الأمعاء الدقيقة بالأمعاء الغليظة [4] . ويشار للزائدة على أنها عضو غير وظيفي ولكن قد يؤدي دورا في اللإستجابة المناعية [6,5]. وتتكون الزائدة الدودية نسيجيا من الطبقة المصلية Serosa والطبقة العضلية Muscularisوالطبقة تحت المخاطية Submucosa والطبقة المخاطية Mucosa [7].

يصعب تشخيص أنواع البكتريا المتواجدة في الزائدة الدودية والتي تكون جزء من النبيت الطبيعي للأمعاء والمعروف منها 400 نوع مختلف الى هذا اليوم [8] لتداخله مع بكتريا القولون . وان هذا التشخيص يساهم في فهم عملية حدوث الإلتهاب وكيفية التعامل معه من خلال تحديد صفات هذه البكتريا وعوامل الضراوة الخاصة بها.

هناك دراسات بكتريولوجية عديدة أجريت على الزائدة الدودية لمعرفة أنواع البكتريا المتواجدة في الزائدة الدودية والتي تكون جزء من إلتهابها وعادة تكون هذه البكتريا جزء من النبيت الطبيعي للأمعاء، وتكون البكتريا الأساسية المتواجدة في الزائدة الطبيعية، وفي الإلتهاب الحاد لها وفي الزائدة الدودية المنثقبة هي *E.Coli* و *Bacteroids fragilise* ، وعادة يكون هناك إختلاف واسع في كلا البكتريا الهوائية والأختيارية و اللاهوائية التي تظهر في إلتهاب الزائدة الدودية والتي تكون متعددة العزلات Polymicrobial isolates [9] .

تهدف الدراسة الحالية لعزل البكتريا الهوائية واللاهوائية الأختيارية المسببة لإلتهاب الزائدة الدودية وتشخيصها من نماذج الزوائد الدودية المستأصلة جراحيا في مستشفيات مدينة البصرة.

2. المواد وطرائق العمل

2.1.جمع العينات

تمت الدراسة على 90 عينة من الزوائد المستأصلة جراحيا من المرضى الراقدين في مشفى البصرة العام ومشفى الصدر التعليمي في محافظة البصرة،وضعت الزوائد في أنابيب زجاجية معقمة تحوي على وسط النقل مرق نقيع القلب–المخ BHI ، مع تسجيل المعلومات المتعلقة بالمريض (الأسم ،العمر ، الجنس ، محل السكن). نقلت الزوائد بعد فترة وجيزة الى المختبر لغرض الزرع البكتريولوجي .

بعد أن سجلت الملاحظات عن المظهر العام لنماذج الزوائد الدودية وطولها وقطرها ، تم غمر العينات بمحلول الكحول الأثيلي 70 % لعدة دقائق لغرض التعقيم والتخلص من البكتريا الملتصقة بها وبعد رفعها من الكحول شقت طوليا بأستعمال المشرط الجراحي المعقم وأخذت مسحة (swab) من المكونات القيحية داخلها للحصول على مستعمرات مفردة يسهل عزلها وتشخيصها ، وزرعت المسحة على أوساط الآكار المغذي ، وسط آكار الماكونكي ، وسط آكار الدم ، وسط آكار السالمونيلا– الشيكلا ، وسط آكار المانيتول ثم حضنت الأطباق بدرجة 37 م لمدة 24–48 ساعة . تم تشخيص المستعمرات البكتيرية بشكل مبدئي مظهريا من حيث (الشكل ، القوام ، الرائحة) وتحديد العزلات السالبة والموجبة لصبغة غرام من ملاحظة ظهور وعدم ظهور

النمو على وسط آكار الماكونكي ، وتسجيل العزلات المحللة وغير المحللة للدم للمستعمرات النامية على وسط آكار الدم وتفريق بكتريا *Salmonella* عن بكتريا *Shigella* للمستعمرات النامية على وسط (S-S Agar) التفريقي ، وظهور بكتريا *Staphylococcus* على وسط آكارالمانتول بالأضافة الى إستعمال تقنية صبغة غرام لتفريق البكتريا الموجبة عن البكتريا السالبة والتعرف على أشكال الخلايا وترتيبها . وبعد ذلك أخذت المستعمرات المختلفة مظهريا وتم تنشيطها على وسط الأكار المغذي ومن ثم إجراء الأختبارات الكيمو حيوية التالية (أختبار أنتاج أنزيم الأوكسديز ، أختبار الكاتاليز ، أختبار أنتاج أنزيم اليوريز ، أختبار أستهلاك السترات ، أختبار أنتاج حلقة الأندول ،أختبار وسط آكار كلكلر-الحديد ، وأختبار (MR-VP) لتشخيص الأنواع المختلفة من البكتريا وتم التأكد من التشخيص بأستعمال أختبار تشخيصي API- 20Eالخاص بتشخيص العائلة المعوية الذي جهزته شركة Biomeriux الفرنسية .

3. النتائج والمناقشة

تم عزل 15 نوعا بكتيريا إعتمادا على الصفات الزرعية وأشكال الخلايا مجهريا والأختبارات الكيموحيوية إضافة الى التشخيص بنظام ال API-20E لتشخيص هذه الأنواع وقورنت مع نتائج MacFaddin [10].

جدول (1) الأعداد والنسب المئوية للبكتريا المعزولة من نماذج الزوائد الدودية

تقسيم البكتريا اعتمادا على صبغة غرام	الأنواع البكتيرية	العدد	النسبة المئوية
البكتريا السالبة لصبغة غرام % 80.9 (144)	*Escherichia Coli*	80	% 44.9
	Shigella dysenteriae	14	% 7.9
	Salmonella enterica typhi	10	% 5.6
	Pseudomonas aeruginosa	8	% 4.5
	Klebseilla Pneumoniae	6	% 3.4
	Klebseilla oxytoca	3	% 1.7
	Morganella amorganii	7	% 3.9
	Neisseria spp.	6	% 3.4
	Enterobacter cloaca	4	% 2.2
	Serratia spp.	3	% 1.7
	Citrobacter ferundii	2	% 1.1
	Proteus vulgaris	1	% 0.6
البكتريا الموجبة لصبغة غرام % 19.1 (34)	*Staphylococcus spp.*	14	% 7.9
	Streptococcus spp.	12	% 6.7
	Bacillus subtilis	8	% 4.5

يظهر من النتائج في الجدول أعلاه إن بكتريا *E.coli* هي البكتريا السالبة لصبغة غرام الوحيدة التي أمتازت بتواجدها في جميع المسحات المأخوذة من الزوائد المستأصلة وهذا متوقع كونها تشكل أعلى نسب العزل بالمقارنة مع باقي الأنواع ،وقد جاءت هذه النتائج متفقة مع دراسات أخرى تمكنت من عزل بكتريا *E.coli* من جميع عينات الزوائد الملتهبة التي أظهرت نتائج للزرع الجرثومي [11][12] .

أعتمدت الخصائص الزرعية البكتيرية وأشكال المستعمرات في عملية عزل العزلات البكتيرية من خلال

الزرع على مجموعة من الأوساط الزرعية في وقت واحد . جاءت الدراسة الحالية متفقة مع العديد من الدراسات التي أثبتت إن اغلب حالات ألتهاب الزائدة الدودية البكتيري تسببه مجموعة من الأنواع البكتيرية polymicrobial وليس نوع مفرد ، إن ظهور هذه النسب العالية للمزارع الخليطة ربما يعود الى التركيز العالي لبكتريا النبيت الطبيعي داخل الجهاز الهضمي إضافة الى تباين عوامل الضراوة لتلك البكتريا مما يجعلها بكتريا إنتهازية قادرة على التغلغل في أنسجة وجدر الإصابة [13].

شخصت جميع العزلات السالبة لصبغة غرام مبدئيا إعتمادا على نموها على وسط آكار الماكونكي كما أن المسحات البكتيرية المحضرة على الشرائح الزجاجية والمصبغة بصبغة غرام بينت نوع البكتريا ، كذلك إعتمدت الدراسة الحالية في التشخيص المبدئي للبكتريا على قدرتها لإفراز الإنزيمات الحالة للدم Haemolysin وتحديد نوع التحلل من خلال نموها على وسط آكار الدم ، فقد صاحب نمو بعض العزلات ظهور تحلل واضح من النوعين α ، β في حين لم تعطي أنواع بكتيرية أخرى أي تحلل على ذلك الوسط . إذ أن هذا الوسط إغنائي وله القدرة علة تنمية أغلب الأنواع البكتيرية [14] .

تتميز مستعمرات كل نوع ببعض الصفات المورفولوجية التي تعطي إنطباعا أوليا عن النوع فمستعمرات بكتريا *E. coli* وردية لتخميرها سكر اللاكتوز على وسط آكار الماكونكي ، جافة ، محدبة ، متوسطة الى صغيرة الحجم وتمكنت هذه الدراسة من التحري عنها بصورة سريعة من خلال زرع المسحات على وسط الأيوسين المثيلين الأزرق EMB والتي تتميز عليه مستعمرات بكتريا *E.coli* عن باقي أنواع العائلة المعوية بلونها الأخضر اللماع ، أما مستعمرات النوع *Enterobacter cloacae* فهي مشابهة بالحجم واللون لمستعمرات النوع السابق لكنها مخاطية نوعا ما لأحتوائها على المحفظة ، في حين تكون مستعمرات *K.pneumoniae* كثيفة النمو مخاطية القوام قد تندمج مع بعضها أحيانا شاغلة مساحة الطبق الزرعي عند تنميتها على وسط الآكار المغذي . أما النوعين *Salmonella* و *Shigella* فكانت مستعمراتها على وسط آكار السالمونيلا – الشيكلا (S-S agar) مميزة ، كلاهما ذات مستعمرات وردية صغيرة إلا أن جنس *S.typhi* أحتوت مستعمراته على مركز أسود نتيجة لإفراز كبريتيد الهيدروجين H2S مع إنبثاق رائحة السمك التالف .

لوحظ النوع *Ps.aeruginosa* بسهولة فائقة من خلال تغيير لون وسط الآكار المغذي ، لأنها تفرز صبغات ذائبة في الوسط مغيرة إياه الى اللون الأخضر إضافة الى إنبثاق رائحة تشبه رائحة العنب المتخمر .

تمكنت الدراسة الحالية من تشخيص بكتريا *Neisseria* بشكل مبدئي إعتمادا على شكل الخلايا عند تحضير مسحة منها وفحصها تحت المجهر ظهرت بشكل أزواج كروية سالبة لصبغة غرام ولتمييزها عن الأنواع الأخرى تم تنميتها على وسط آكار الجوكليت chocolate agar الذي يشجع نموها لتحرر مكونات كريات الدم الى الخارج أثناء تحضير الوسط ، ومن الأنواع الأخرى المعزولة المكورات العنقودية *staphylococcus* والتي تم التأكد منها من خلال قدرتها على النمو على وسط آكار المانيتول إذ ظهرت مستعمراتها دائرية صغيرة الحجم صفراء او ذهبية اللون منتشرة على الطبق ، وقد لوحظت مستعمرات *Bacillus subtilis* بشكلها غير المنتظم وقد أخذت اللون الرمادي على وسط آكار الدم إضافة الى شكل الخلايا العصوي وموقع السبور داخلها لتمييزها عن بكتريا *Clostridium* .

كما تم تمييز بكتريا *Streptococcus* من خلال شكلها المسبحي ومستعمراتها الشبيهة برأس الدبوس النامية على وسط آكار الدم .

تعد الإختبارات الكيموحيوية طريقة مهمة لتشخيص العزلات البكتيرية وقد شملت هذه الإختبارات :

– إختبار الأوكسديز الذي أعتمد في تمييز بكتريا *Ps.aeruginosa* عن العزلات الأخرى من خلال تحول لون الكاشف Tetra methyl paraphenylene diamine hydrochloride)) من عديم اللون الى البنفسجي ، وقد كان سالبا للأنواع الأخرى.

– أعطى فحص إنزيم اليوريز نتيجة موجبة لكل من بكتريا *Enterobacter cloacae* و *K.pneumoniae* التي تتميز بإفراز إنزيم اليوريز ، من خلال تغيير لون الوسط من الأصفر الى الوردي دلالة على إيجابية الإختبار في حين كانت النتيجة سالبة للأنواع *E.coli* و *S.typhi* و *Ps.aeruginosa* والأنواع الأخرى.

– أظهر فحص إستهلاك السترات تباينا بأختلاف العزلات إذ أظهر نتيجة موجبة لعدد من العزلات *S.typhi* و *Sh.desynteria* و *Enterobacter cloacae* و *K.pneumoniae* وسالبة للأنواع الأخرى.

– أعطى فحص تكون حلقة الأندول على سطح وسط ماء الببتون دلالة على إيجابية الإختبار فقد كانت النتيجة موجبة للأنواع *E.coli* و *S.typhi* و *Sh.desynteria* و *Ps.aeruginosa* وسالبة للأنواع الأخرى.

– شملت الإختبارات أيضا فحص الكاتاليز للتمييز بين الأنواع *Staphylococcus spp.* و *Streptococcus spp.* والذي كان موجبا لبكتريا المكورات العنقودية وسالبا للمكورات المسبحية ، إذ أن تكون الفقاعات دلالة على قابلية البكتريا على إفراز بيروكسيد الهيدروجين كأحد النواتج الأيضية لها أثناء التنفس وعند إجراء هذا الفحص على أنواع العائلة المعوية جميعها أظهرت نتيجة موجبة عدا بكتريا *Neisseria spp.* .

–أجري الفحص الأخير على وسط آكار كلكلر الذي يحوي الحديد ونوعين من السكريات وتعتمد النتيجة الموجبة عند تغيير لون الوسط من البرتقالي المحمر الى الأصفر لكل الوسط دلالة على إستهلاك السكريات وانتاج الحامض وأحيانا يصاحبه إفراز فقاعات غازية تبدو واضحة في الوسط وكانت بنتيجة الإختبار موجبة للأنواع *E.coli* و *K.pneumoniae* و *Enterobacter cloacae* . تباينت النتيجة لبقية الأنواع . أظهرت بعض العزلات قدرة على ترسيب كبريتيد الهيدروجين H2S في قعر الوسط وبالإعتماد على الصفات الأخرى تبين أن هذه العزلات تمثل بكتريا *S.typhi* .

كما تم إعتماد نظام API-20E لتشخيص العائلة المعوية كونه يمثل خطوة مهمة للتشخيص الدقيق للسلالات البكتيرية بعد تنقيتها من العزل الأولي ، سجلت النتائج الموجبة عند حصول تغير لوني بعد إنتهاء فترة الحضن واضافة الكواشف بشكل جدول وقورنت مع الدليل المرفق مع العدة للوصول الى نوع البكتريا وسلالتها .

أن أرتفاع نسب أنواع العائلة المعوية والبالغة 73% لاسيما *E.coli* التي تبلغ نسبتها 44.9 % قد لاتمثل المسبب الرئيسي للإلتهاب ، لأنه من المحتمل أن تكون هذه الأنواع قد تكاثرت بعد إنسداد الزائدة لأسباب أخرى ، إذ تكون الأنواع البكتيرية الموجودة داخل التجويف مماثلة لما هي عليه في الأمعاء فتزداد إنقساماتها ويصبح الوسط مهيأ لنمو الأنواع الأخرى التي لا تتمكن من النمو قبل الإنسداد [15] .

كما أن تباين أنواع البكتريا المعزولة في الدراسة الحالية قد يعزى لأسباب أخرى منها التباين البيئي للأنواع البكتيرية ومكان أخذ المسحة للزرع وطرائق عزل وتشخيص تلك الأنواع أو قد يعود الى مناعة الشخص المصاب وفقدان قدرته على التخلص منها حتى وان وجدت بنسبة قليلة 27 % وبذلك فإن تنوع الأنواع البكتيرية في الزائدة يمثل أحد عوامل إنسدادها والتهابها وهذا يتفق مع ما أثبته [16] الذي بين إن أي نوع بكتيري يوجد في القناة الهضمية للإنسان يمكن أن يسبب إلتهاب الزائدة الدودية . وقد تعود قلة النسبة الخاصة بعدم ظهور النمو 11.1 % الى أن سبب إلتهاب الزائدة الدودية بفعل البكتريا اللاهوائية وربما هناك أسباب أخرى غير بكتيرية [17] .

References **المصادر**

1.World Health Orginization WHO, Map of graphic,(2004), Countries by Mortality, Acute Appendicitis .

2-Birnbaum B.A. and Stephanie R.W. (1999), Appendicitis at the millennium. Radiol. J., 215: 337-348.

3- Hassan M.M. , (2008) , Appendiceal infection by *Entamoeba histolytica* presenting like acute appendicitis , Al-Anbar Medical Journal , 6 (1) , 8-12.

4- Naher H.S. and Ktab F.K.,(2013), Bacterial Profile Associated with Appendicitis , International Research Journal of Medical Sciences . 1(2), 1-4 .

5- Williams, R. A. and Myers, P. (1994), Pathology of the appendix.Chapman and Hall Medical: New York, NY.

6- Zuercher A.W., Coffin S.E., Thurnheer M.C., Fundowa P.and Cebra J.J., (2002), Nasal associated lymphoid tissue a mucosa linductive site for virus, Specific humoral and cellular immune responses, J. Immuno., 168, 796-803 .

7-Kumar T.S, (2006), Diagnostic Scoring (Alvarado) In Acute Appendicitis. MSC Thesis Submitted to Rajiv Gandhi University.

8- Juric I., Primoriac D., Zagar Z. et al., (2001), Frequency of portal and systemic bacteremia in acute appendicitis ., Pediatrics International 43, 125-156 .

9- Ijeri S.K., (2010), Evaluation of Modified Alvarado Score in the diagnosis of Acute Appendicitis ., MSC Thesis Submitted to Rajiv Gandhi University.

10- - MacFaddin, J.F. (2000), Biochemical tests for identification of medical bacteria.3rd ed. Awolters Kluwer Company . Baltimore, 78-424.

11- Bennion, R.S.; Thompson, J.E.;Baron, E.J and Finegold, S.M. (1990), Gangrenous and perforated appendicitis with peritonitis: treatment and bacteriology ., Clin . Ther., 12(1) : 31-44

12- Tomohiro, I.; Yutaro, M.; Nobuyuki , S. and Noriaki , O. (2007), An analysis of peritoneal cultures and the activity of antibiotics against the bacteria is of perforated appendicitis in children.Int.J.,38(4):688-694.

13- Bradley, J.S. (2003), Appendicitis and mesenteric lymphadenitis. Int. Principles and practice of pediatric infectious diseases.2nd ed.P:413-417..

14- Brooks, G.F.; Carroll, K.C.; Butel, J.S. and Morese, S.A. (2007).Jawets, Melnick & Adelberg,s, Medical Microbiology. 24ed. McGraw-Hill Companies. U.S.A.PP: 818.

15- Robbins, S.L.; Cotran,R.S. and Kumar, V.E. (1996).Pathologic Bases of Disease. 4th ed. Philiadelphia W.B.Sauders company.

16- Mizurov , N.A. (1978) . Characteristics of the microbial flora of the abdominal cavity in acute appendicitis . Vestn Khir Im II Grek ., 121(10) :76-80 .

17- Rautio, M.; Saxen , H.; Siitonen , A.; Nikku, R. and Jousimies-somer,H. (2000). Bacteriology of histopathologically defined appendicitis in children. Ped. Infect.Dis.J ., 19(11) : 1078-1083.

Bacterial Etiology Agents for Appendicitis in Basrah Governorate

Huda A. Mathkoor, M. A. Al-Mazini and Noori H. Jasim

Department of Biology, college of Science, Basrah University, Basrah,Iraq

Abstract

The present work has been done to discover the bacteria which responsible for Appendicitis. The study includes ninety samples of Appendicitis taken form patients diagnosed to be candidate for appendicitis infection by specialist doctors in general Basrah hospital and Al-Sadir teaching hospital for the period between 18th –September- 2013 and 10th – June- 2014. The samples ratio, which give a positive for bacterial plantation is 88.9% while, ratio for samples which do not show any growth is 11.1%. Fifteen types of bacteria which are present inside the appendix have been selected. These bacteria were *Escherichia coli* 44.9% which predominate, *Shigella dysenteria* 7.9%, *Salmonella enterica 5.6 %, Pseudomonas aeruginosa 4.5 % , Klebseilla Pneumonia % 4.3 , Klebseilla oxytoca % 1.7, Morganella morganii, %3.9 Neisseria spp. 3.4% , Enterobacter cloaca 2.2 % ,Serreatia spp %1.7 Citrobacter ferundii %1.1 Proteus vulgaris %0.6 Staphylococcus spp.7.9 % Streptococcus 6.7% and subtilis Bacillus4.5 %*. It is found that, these types have been diagnosed by microscopic test, biochemical test and the use of API-20E system to reach the best correct diagnose .

Keywords: Bacterial etiology**,** Appendicitis, Enterobacteraceae, API-20 E.