تأثير حامض الخليك Acetic Acid في نمو بكتريا E.coli و Shigella dysenteriae المعزولة من إصابات الإسهال

م.م. أسامة عبد الكاظم مهدي العجيلي جامعة بابل/كلية التربية الأساسية

المقدمة:-

الإسهال Diarrhoeaهو عرض سريري Clinical Syndromeلالتهاب ألمعده والأمعاء الحاد الناتج عن خلل في امتصاص الماء والأملاح مسببا سرعة في حركة الفضلات الموجودة في الأمعاء، متمثلا ذلك بزيادة عدد نوبات الخروج لثلاث مرات أو أكثر في اليوم أو تغيير في قوام البراز أو كلاهما وغالبا ما يصاحبه قئ وحمى (Edwardset.al.,1991) وفي العراق قدرت نسبة الإصابة بالإسهال عند الأطفال دون سن الخامسة من العمر حوالي (5نوبة/طفل/السنة) وعدد الوفيات الناجمة عنة هي (8.5 طفل/١٠٠٠ طفل) في عام (١٩٨٥)، وقد وصلت إلى (14.4نوبة /طفل/السنة) في عام (1994) بسبب تدهور المؤسسات الصحية وشبكة الماء والمجاري (الجبوري، 1999).

وتعتبر بكتريا *E.coli* من أكثر الأنواع البكتيرية شيوعا وانتشارا حيث عزلت من التربة، والمياه، والمجاري، وفضلات الإنسان والحيوان، كونها جزءا من الفلورا الطبيعية (Normal flora) للأمعاء، وتعتبر من المسببات الرئيسية للإسهال عند الأطفال(Jawetz et.al,.1989; MyrviK and Weise,1988).

ويعد الماء عاملا مهما لانتقال المسببات المرضية لالتهاب الأمعاء والمعدة مثل بكتريا E.col، Shigella, salmonella التي تعد سببا مهما للإسهال عند الأطفال وأكثرها خطورة الإسهال الدموي (الحميداوي ، 2002) .

ان الإصابة بجرثومة Shigellaالتي تعود إلى عائلة البكتريا المعوية Enterobacteriaceae يمكن أن تظهر في جميع الأعمار إلا أنها تتركز في الأطفال دون سن الخامسة وأنها نادرة ما تصيب حديثي الولادة غير أنها ممكنة الحدوث (Griffin and Blake, 1995 ; Kolanz et.al.,1992). وتقدر سنويا معدل الوفيات في البلدان النامية من الأشخاص المصابين بالزحار البكتيري حوالي 5% في الحالات المعالجة ويرتفع إلى حوالي %(10 –20) في الحالات الغير معالجة (Waldman and Richards,1994). وبدأت تظهر سلالات لجرثومة Shigellaتملك مقاومة متعددة للمضادات الحيوية مثل Chloramphenicol Tetracyclin , Trimethoprim/ Sulfamethaxazole , Streptomycin , Ampicillin والتي تكون محمولة على نوعين من البلازميدات وظهر ذلك خلال تجارب نقل البلازميد الى بكتريا E.coli ، مما يدل على ان هذه الموروثات التي تحمل صفة المقاومة المتعددة قد تنتقل إلى الفلورا القولونية التي تعيش في نفس البيئة عن طريق الاقتران البكتيري Conjugation (Tuttle et.al., 1992 ; Shafran, 1988). وأوضح الباحثون خلال دراسة التحليل البلازميدي لبكتريا Shigella اشتراكها مع مجموعة بكتريا(EIEC) Enteroinvasive E.coli ضمن البلازميد 140MDوهو البلازميد المسؤول عن إحداث الامراضية لهذه البكتريا وعلى الرغم من هذا فأن مجموعة (EIEC لا تنتج ذيفانات كتلك التي تفرزها بكتريا Shigella (Klein et.al .,005 ; Johnson,2000).

ونظرا لخطورة البكتريا ومقاومتها للمضادات الحيوية جاءت هذه الدراسة لتهدف الى معرفة تأثير حامض ألخليك Acetic Acid في نمو هذه البكتريا.

المواد وطرق العمل:

١- جمع النماذج :

جمعت عينات البراز من الأطفال المصابين بالإسهال في مستشفى الإسكندرية العام – محافظه بابل ومستشفى الحسين (ع) – محافظة كربلاء ، تراوحت أعمار المرضى مابين (٦) أشهر إلى (6) سنوات، وفحصت بصريا وسجلت الملاحظات التي تتعلق بلون وقوام البراز، ونقلت كمية صغيرة من البراز بعود خشبي (Wooden Stick) على النصف الأول من شريحة زجاجية نظيفة ومزجت أولا مع قطرة من محلول الملح الفسلجي المعقم (Normal slaine) بعد ذلك مع قطرة أخرى من اليود على النصف الأخر من الشريحة الزجاجية وفحصت مجهريا (Baron et.al., 1994)

٢- العزل الجرثومي :

زرعت العينات البرازية المأخوذة في الفقرة (١) على الأوساط الزراعية الانتقائية والتشخيصية المعقمة وضمت (MaCconkey Agar ,Salmonella –shigella agar , Blood Agar , pepton water , Nutrient Agar , Desoxy-Cholate- Citrate agar, Brain-heart infusion broth , Muller-Hinton agar , Kligler iron (Baron et.al., 1994) agar , Urea agar

٣ – الفحوصات التشخيصية للعزلات :

بعد تنقية العزلات بتكرار استنباتها على الاوساط الزراعية خضعت العزلات للتشخيص بأجراء الاختبارات التالية :-

٣-١ فحص مجهري باستخدام صبغة كرام (Baron et.al., 1994)

٣-٢ أختبارات بايوكيمياوية شملت على :

Carbohydrate , Indole production Urease hydrolysis , Catalase test , Oxidase test fermentation,

٤- فحص حساسية العزلات للمضادات الحيوية :

اختبرت حساسية العزلات لاقراص المضادات الحيوية التالية.

ت	المضاد الحيوي	الرمز	التركيز
١	Tetracyclin	T	30Mcg/disc
٢	Gentamicin	GN	10Mcg/disc
٣	Trimethoprim-Sulfamethoxazole	TMP/SMX	1-5Mcg/disc
٤	Chloramphenicol	C	30 mcg/disc
٥	Rifampici	RD	2 Mcg/disc
٦	Ampicillin	Am	10 Mcg/disc
٧	kanamycin	k	30 Mcg/disc

وتم قياس أقطار مناطق التنشيط حسب طريقة (Baron et.al .,1994)

٥-٥- دراسة تأثير التراكيز والإحجام المختلفة من حامض الخليك في نمو بكتريا *E.coli* و *Shigella dysenteriae*

٥-١ تحضير اللقاح البكتيري :

استخدم محلول مكفرلاند Macfrland solution (0.5) للمقارنة في إعطاء عد تقريبي للخلايا وحسب ما ورد عن (Baron et.el.al. , 1990) .

٢- **تحضير الأوساط الزراعية لإجراء الاختبار :**

- حضر وسط Mutler – Hinton agar لاختبار حساسية العزلات .
- حضر وسط المرق المغذي الصلب وأضيف حامض الخليك وبتراكيز نهائية %(٣،٢،١) ولحجمين ١٠٠ مايكروليتر و ٢٠٠ مايكروليتر وبطريقة الحفر بواسطة الثاقب الفليني وبقطر ٥ ملم وحسب طريقة (Baron et.al . ,1994) وحضنت الاطباق لمدة (١٨) ساعة بعدها قرأت النتائج.

النتائج والمناقشة:

١- **العزل الجرثومي :**

اظهرت نتائج تشخيص العينات المعزولة من المستشفيات خمسة أنواع من البكتريا تعود إلى (٤٥) عزلة من اصل (٧٨) عينة ، شملت *Salmonella typhi 17.8% , proteus spp13.3% , klebsiella spp* 6.6% *, shigella dysenteriae 26.7% , Escherichia coli 35.6%* وعلى التوالي. وقد شكلت عزلات *E. coli* اعلى نسبة تلتها بكتريا *Shigella dysenteriae* , وهذا يتفق مع الباحثة (الكعبي ،١٩٩٨) .

٢- **اختبار حساسية العزلات للمضادات الحيوية :**

اظهرت عزلات *E.coli* و *shigella* مقاومة لكل من (Rifampicin , kanamycin) وهذا يتفق مع ما أوردة (الحميداوي، ٢٠٠٢)، بينما تباينت حساسية العزلات لمضادات (Tetracyclin , trimethoprim-sulfamethaxazole) وكانت العزلات وكما مبين في الجدول رقم (١) حساسة لمضادي (Chloramphenicol و Ampicillin) وهذا يتفق مع ما ذكره (Chion etal ،٢٠٠١).

جدول رقم (١) : حساسية العزلات البكترية للمضادات الحياتية

ت	اسم ورقم العزلة	المضادات الحيوية						
		T	Gn	Tmp-Smx	Am	C	K	RD
١	E.c. 5	R	S	S	S	S	R	R
٢	E.c. 7	S	S	R	S	S	R	R
٣	E.c. 26	R	S	R	S	S	R	R
٤	Sh.d. 8	S	S	R	S	S	R	R
٥	Sh.d. 12	R	R	R	S	S	R	R
٦	Sh.d.41	S	R	S	R	S	R	R

(R) مقاومة Resistance

(S) حساسة Susceptible .(Baron et.al.,1994)

٣- **تأثير التراكيز والحجوم المختلفة من حامض الخليك في نمو العزلات:**

درس تأثير حامض الخليك وكما مبين في الجدول (٢) ، ونظرا لما يعرف عن مقاومة العزلات للمضادات الحياتية والمعقمات. ظهرت انها حساسة لتراكيز وأحجام حامض الخليك المستخدمة في الدراسة، وان استخدام حجم ٢٠٠ مايكروليتر بتركيز ٣% أعطى اكبر اقطار تثبيط لجميع العزلات ويعود ذلك إلى تأثير الأس الهيدروجيني على الانزيمات التي تنتجها هذه العزلات مما يؤثر على الفعالية الحيوية لها وبالتالي على نموها وهذا يتطابق مع ما ذكره (الدليمي وآخرون، ٢٠٠٢).

جدول رقم (٢) اختبار استخدام حامض الخليك في نموالعزلات البكتيرية.

ت	اسم ورمز العزلة	معدل اقطار التثبيط (ملم)					
		١٠٠ مايكروليتر (حامض الخليك)			٢٠٠ مايكروليتر حامض الخليك		
		%١	%٢	%٣	%١	%٢	%٣
١	E.c. 5	١٢	١٤	١٦	١٤	٢٠	٢٣
٢	E.c. 7	١١	١٤	١٥	١٢	١٩	٢١
٣	E.c.26	١١	١٢	١٤	١٢	١٦	٢١
٤	Sh.d. 8	١٠	١٣	١٥	١٠	١٢	٢٢
٥	Sh.d.12	١٠	١٢	١٤	١٠	١٠	٢١
٦	Sh.d.41	١٠	١١	١٤	١٠	١٢	٢٠

Reference:-

1 -Baron, E.J.; Peterson, L.R. and Finegold, S.M. (1994). DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY. 9th . ed. Bailey & Scotts.

2- chion, c.s., hsu, W.B., Wei ,H.L. and chen,J.H.(2001).Moleculor Epidemiology of a *shigella flexneri* outbreak in amauntainous township in taiwan, Republic of china. 39(3) :1048-56.

3- Edwards, C.R. and Bouchier ,I.A other collabraters (1991) Davidsons Principles and practice of medicine: atext book for students and doctors. 16th.ed. Churchill, Livingstone, British .

4- Griffin, P.M. and Blake , P.A.(1995) .Shigellosis : disease spread by Food and water . WHO, CDD, Geneva, Switzerland .

5- Jawetz, E.; Melnick , J.L.;Adelberg, E.A.; Brooks, G.F.; Butel, J.S.and Ornston,L.N.(1989) Medical Microbiology 18 th . ed . Librairi Duliban Beirut.

6- Johnson ,J.R. (2000) *Shigella* and *Escherichia coli* at the crassroods machiuvellium masqueraders or taxonomic .J. med . microbial.49:583-5

7- klein , E.J., stapp, J.R.,clausen, C.R.,.shiga toxin –producing *E.coli* jnfections in the United states, 1983-2002.J.infect.DIS.2005,192:1422-9 (Abst).

8- Kolanz, m.; Sandifer, J.; Poundstone, J.; Stapleton, M.; Finger, R. (1992).Shigllosis in Child day-care centers, Lexington Fayette-County, Kentucky,1991. M.M.W.R.,41(25):440-442

9- Myrvik, N.Q; Weiser, S.R(1988). Fundamentals of Medical Mycology Bacteriology. 2nd . ed.

10- Shafran , S.D.(1988) . The basis of antimicrobial Resistance in bacteria .Med . Forum.J.28: 4-8.

11- Tuttle, J.; welty, T.K. and Tauxe R.V.(1992) . Shigellosis : treatmeut and prevention in native Americon communities. The prov.,17(8): 117-121

12- Waldman , R. and Richards, L. (1994). Epidemic dysentery .D.D., issue no.55:1-2.

المصادر العربية:-

١٣.الجبوري، حنان سلمان حسن، (١٩٩٩)، دراسة عن السالمونيلا والشكيلا من حالات الإسهال عند أطفال محافظة بابل، رسالة ماجستير، جامعة بابل، كلية العلوم .

١٤.-الحميداوي ، حيدر حميد متعب، (٢٠٠٢)، دراسة تشخيصية لبكتريا الشكيلا باستخدام مصول محضرة محليا ومصول تجارية، رسالة ماجستير، جامعة بابل كلية العلوم.

١٥.الدليمي ، خليل اسماعيل والعبيدي ، نبراس نزار وكورجي ، سوسن حسن عثمان .(٢٠٠٢) تاثير حامض الخليك Acetic acidفي نمو بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*المعزولة من اصابات الحروف بحث (المؤتمر العلمي الثامن لهيئة التعليم القني) . اذار ٢٠٠٢ / البحوث الطبية.

١٦.الكعبي ، أسيل راجح، (١٩٩٨)، دراسة وراثية عن مقاومة بكتريا *Shigella* للمضادات الحيوية ودور البلازميدات فيها، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.

١٩٩٤م ١٤١٣هـ