Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

تقييم طرائق عزل وتشخيص جرثومة *Helicobacter pylori* المعزولة من مرضى القرحة المعدية

ايمان يوسف ذنون١ — اميرة محمود الراوي٢

١ . دائرة صحة نينوى
٢ . جامعة الموصل/ كلية العلوم/ قسم علوم الحياة

[1]emanyousif64@yahoo.com
[2]umnashwa@yahoo.com

الملخص

هدفت الدراسة الى تقييم طرق عزل وتشخيص جرثومة *H.pylori* بالطرق المعتمدة على الخزعة النسيجية لـ (٦٠) مريضا من فئات عمرية مختلفة تراوحت ما بين ١٠ إلى ٧٥ ولكلا الجنسين من مرضى القرح المعدية والاثني عشري باختباري اليوريز السريع والزرع الروتيني، تمثلت العينات التي جمعت من المرضى بخزعتين نسيجية بوساطة الملقط الخاص بجهاز الناظور. اجريت عملية التنظير للمرضى من قبل الطبيب المختص وتحت التخدير الموضعي، كما تم التحري عن مستضد الجرثومة في ١٠٠ عينة خروج من مرضى مشكوك باصابتهم بالقرح المعدية واعتمدت الاختبارات المظهرية والكيموحيوية لتشخيص الجرثومة

وبينت الدراسة كفاءة اختبار اليوريز السريع في التحري عن جرثومة *H.pylori* حيث أظهر كفاءته في الكشف عن وجود الجرثومة في ٤١ خزعة نسيجية واعطيت نتائج افضل في الزرع الروتيني حيث عزلت ٤٤ عزلة لجرثومة *H.pylori* من المرضى قيد الدراسة. وعند التحري عن مستضد الجرثومة من الخروج اظهرت نتائج موجبة عند٣٤ من أصل ١٠٠عينة خروج وبنسبة٣٤ %.

الكلمات الدالة: *H.pylori*، فحص اليوريز السريع، الزرع الروتيني، الكشف عن مستضد الجرثومة من الخروج.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

Evaluation of the isolation and identification methods for Helicobacter pylori bacterium, isolated from peptic ulcer patients

Eman Yousif Thanoon AL-Noaimi[1], Amera Mahmood Al-Rawi[2]

1 Iraqi Ministry of health\ Nineveh

2 University of Mosul\college of Science\Biology Department

emanyousif64@yahoo.com [1], umnashwa@yahoo.com [2]

ABSTRACT

This study was evaluated the isolation and identification of *H.pylori* using conventional methods of histological biopsy for 60 patients with different ages from 10-75 years old for both sexes with stomach and duodenal ulcers using urease test and classical culture. The biopsy samples were collected using laparoscopic. The endoscopy for patients was undergone by a specialist doctor and under local anesthesia and it has also been investigating the bacterial antigen in stool samples of patients with questionable caught the infectious ulcers and adopted phenotypic tests and biochemical diagnosis of the germ.

The study showed the efficiency of rapid urease test in screening for *H.pylori* where the efficiency shown in 41 tissue biopsy and were given the best results in the routine culture where isolated 44 isolates of *H.pylori* from patients under study. When screening for bacterial antigen exit showed positive results for 34 out of 100 stool samples with proportion 34%.

Keyword:H.pylori rapid urease test, routine culture, screening for bacterial antigen.

١-المقدمة(Introduction)

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

عزلت جرثومة الملوية البوابية *H.pylori* أول مرة في عام ١٩٨٢ من قبل العالمان الاستراليان مارشالMarshall و وارن Warren وتعد فاتحة لعصر جديد في علم الاحياء المجهرية الطبي للجهاز الهضمي[1] تستعمر الملوية البوابية *H.pylori* معدة ما يقارب نصف سكان العالم ٥٠% وتنتشر في انحاء العالم اجمع وتكون نسبة تواجدها في الدول النامية ٧٠-٩٠% اما نسبة انتشارها في الدول المتقدمة ٢٥-٥٠% [2][3]

يوصف الشكل المظهري لخلايا هذه الجرثومة بظاهرة تعدد الاشكال فهي اما ان تكون عصوية، منحنية، واوية، على هيئة تشبه اجنحة النورس، تأخذ شكل الحرف اللاتيني U ، كروية وفي الظروف الغير ملائمة تمارس ظاهرة التحول حيث تتحول من الاشكال العصوية الى الاشكال الكروية[4] يتراوح حجم الخلايا ما بين 0.5-1 مايكرومتر عرضا و3 مايكرومتر طولا وهي سالبة لصبغة كرام [5] متحركة باحتوائها اسواط متعددة تتواجد في احدى القطبين، تكون موجبة لاختبار انتاج انزيمي الكتاليز والاوكسديز وتحلل اليوريا بانتاجها انزيم اليوريز[6][7] محبة للهواء القليل Microaerophilic) ٢-٥% O_2 اوكسجين و٥-١٠% CO_2 ثاني اوكسيدالكاربون و ٠-١٠% H2 هيدروجين و83-87%N2 نتروجين) [8][9] تتصف مستعمراتها بصغر حجمها وتحدبها وذات شفافية تشبه قطرة الماء وتحتاج رطوبة عالية بمعدل ٩٥-٩٨% ،لغرض عزلها يضاف مضاد حيوي للوسط لتثبيط باقي انواع الجراثيم[10][11]..

تبقى الملوية البوابية احدى المسببات الجرثومية الاكثر شيوعا لإصابات الانسان حول العالم والمرتبطة بإحدى التهابات المعدة الحادة والمزمنة والقرحات المعدية والاثني عشري وسرطان المعدة وسرطان الانسجة اللمفية المرتبط بالأغشية المخاطية Mucosa-Associated Lymphoid Tissue (MALT) وفي احداث اضطرابات وظيفية معدية وعسر الهضم[12][13].

لنجاح تشخيص جرثومة الملوية البوابية يجب مراعاة جمع المعلومات الكاملة للمريض قبل إجراء الناظور والتاريخ العائلي وعلاقات التقارب وإصابة المريض بأمراض أخرى والانتباه إلى علامات تنذر بخطورة الحالة كخسارة الوزن والتقيء الدموي لعمر أكثر من ٤٥ سنة في الدول النامية وأكثر من ٥٥ سنة في الدول المتقدمة وكذلك حالة سوء الهضم المرتبط بأدوية Nonsteroid Antiinflammatory Drugs (NSATD) [14].

تصنف الوسائل التشخيصية لكشف الملوية البوابية إلى طرائق (Invasive) شائعة تعتمد على تنظير المعدة مع أخذ خزعات نسيجية للفحص النسيجي أو الزرع الروتيني أو الاختبار السريع لليوريز وطرائق غير شائعة (Non-invasive) تتضمن الفحوصات السيرولوجية واختبار التنفس بعد اخذ اليوريا وتحري المستضد الجرثومي في الخروج وتتركز الاختبارات المصلية على كشف الكلوبين المناعي (IgG) ضد الملوية البوابية في مصل دم للإنسان [15][16].

٢ - المواد وطرائق العمل (Materials and Methods)

تضمنت الدراسة (٦٠) مريضا من فئات عمرية مختلفة تراوحت ما بين ١٠ إلى ٧٥ سنة مشكوك باصابتهم بقرحة المعدة والاثني عشري، تمثلت العينات التي جمعت من المرضى بخزعتين نسيجية اخذت من جسم أو غار المعدة بوساطة الملقط الخاص بجهاز الناظور. اجريت عملية التنظير للمرضى من قبل الطبيب المختص وتحت التخدير الموضعي.

جمعت العينات من موقعين، الاول كان وحدة الناظور / قسم الباطنية التابع الى مستشفى بن سينا التعليمي في مدينة الموصل للفترة مابين منتصف تشرين الثاني من عام ٢٠١٣ ولغاية حزيران من عام ٢٠١٤ واستؤنف العمل في الموقع الثاني في وحده الناظور في مستشفى رزكاري التعليمي في مدينة اربيل مابين تشرين الثاني من عام ٢٠١٥ لغاية ايلول من عام ٢٠١٦. استعملت انابيب بلاستيكية صغيرة معقمة تحتوي كل منها على ٥ سم٣ من الوسط الناقل Tryptone soy broth لنقل الخزع النسيجية Biopsies ونقلت العينات الى المختبر مباشرةً لغرض التحري عن الجراثيم المأخوذة من المريض واجراء الاختبارات الاخرى قيد الدراسة.

تضمنت الدراسة ايضاً ١٠٠ مريض مشتبه بإصابتهم بالتهاب المعدة وقرحة المعدة والاثني عشري من كلا الجنسين بالطريقة الغير معتمدة على الخزعة النسيجية للتحري عن مستضدات جرثومة *H.pylori* حيث جمعت ١٠٠ عينة خروج من هؤلاء المرضى ووضعت في حاويات معقمة ونظيفة containers ونقلت مباشرة إلى المختبر لإجراء الاختبارات عليها.

تقنية أختبار اليوريز السريع للخزعة النسيجية من المعدة Rapid Urease Test (RUT):

تم أخذ عينة خزعة نسيجية من غار المعدة (Antrum) من قبل الطبيب الجراح المختص. تم فتح اللاصق الورقي الخلفي من شريط الفحص ووضعت الخزعة في موقع الفحص المحدد من

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

جهة الخلف ثم اعيد اللاصق الورقي على وضعه وتم الضغط بقوة على مكان وضع العينة وقرأت النتيجة خلال (١ ثانية-١ ساعة) بدلالة التغيير اللوني الحاصل وصورت النتائج فوتوغرافيا.

التحري عن جرثومة *H.pylori*

للتحري عن جرثومة *H.pylori* بطريقة الزرع الروتينية على الاوساط الغذائية بالاعتماد على طريقة [17] تم نقل عينات الخزع النسيجية Biopsies إلى مختبر المايكروبايولوجي خلال (2-1) ساعة في 5 سم^{٣} من مرق Tryptone soy broth كوسط ناقل وعند ايصالها الى المختبر وضعت العينات مباشرةً مع الوسط الناقل في أداة سحق الخزعة (هاون معقم) وسحقت جيدا ثم نقل 1 سم^{٣} من مزيج الخزعة النسيجية الى الانبوب الذي يحوي على الوسط الصلب المائل وسط كولومبيا يوريا اكار المحور(MCUA) وبذالك فان الوسط الناقل يعد الطور السائل Liquid phase ، تركت الانابيب لوقت قصير للسماح للمرق الممزوج مع الخزعة ليرطب السطح المائل العلوي من الانبوب قبل أن يستقر في القعر والنظام الناتج سيكون ثنائي الطور Diphasic Sold Liquid Phase ويكون الطور الصلب الأحادي Monophasic والطور السائل سيكون فوقه وبمعدل مكررين لكل عينة نسيجية.

حضنت الانابيب الملقحة في مرطبان (Jar جار) معقم يحتوي على عدة تحرير الغاز Gas generation kit لغرض توفير ظروف محبة للهواء القليل Microaerophilic القياسية والتي تتكون من ٢-٥% اوكسجينO_2 و ٥-١٠%ثاني اوكسيد الكاربون CO_2 و ٠-١٠% هيدروجين H_2 و٨٣-٨٧ % N_2 نتروجين عند 37 م° لمدة 24 ساعة وبعد ذلك تم متابعة تغير اللون من البرتقالي الى اللون الوردي في الطور الصلب إشارة الى فعالية انزيم اليوريز. تم نقل حملة لوب من العينات الموجبة لفحص اليوريز في انابيب ثنائية الطور من اسفل الانبوب بإتجاه الاعلى مروراً بكلا الطورين وتم نشرها بطريقة التخطيط (streaking) على وسط كولومبيا يوريا اكار المحور وحضنت تحت الظروف محبة للهواء القليل Microaerophilic عند ٣٧م° لمده ٣-٥ أيام، شخصت العزلات الجرثومية اعتماداً على الصفات المظهرية والتي تتضمن شكل المستعمرات ولونها وقوامها وحجمها على الاوساط المستخدمة.

تم التحري عن الصفات المجهرية للجرثومة حيث اخضعت جميع العزلات الى الفحص المجهري تحت العدسة الزيتية باستخدام طريقة صبغة كرام التقليدية للتعرف على شكل الجرثومة

وترتيبها وتفاعلها مع الصبغة فضلا عن ذلك اخضعت جميع المستعمرات المشكوك على انها جرثومة *H.pylori* بعد فحصها مجهرياً على اختبارات التحري عن الفعاليات والاختبارات الكيمو حيوية التي تضمنت:

* اختبار انزيم الكتاليز: Catalase test

* اختبار انزيم الاوكسيديز: Oxidase test

اجريت الاختبارات كما ورد في [18][19].

تقنية الكروموتوكرافي المناعي للمستضدات(*H.pylori* Antigen Test)

طريقة إجراء الاختبار حسب تعليمات الشركة المنتجة (Plasmatec(UK)):

١. حضر المعلق باخذ (٥-٦) عينات من الخروج من مواقع مختلفة من كل عينة وعلقت في محلول التخفيف ورجت جيدا.

٢. ازيل الغلاف القصديري عن الشريط عن طريق فتحة معلمة مع مراعاة إخراج شريط الفحص مباشرة قبل الأستخدام.

٣. اضيفت ٣ قطرات من العينة المخففة في كل حفرة من المعلق (١٠٠مايكرولیتر) لحين رؤية السائل يتحرك خلال منطقة التفاعل.

٤. قرأت النتيجة بعد ١٥ دقيقة وصورة النتائج فوتوغرافيا.

٣- النتائج والمناقشة (Results and discussion)

نتائج عزل جرثومة *H.pylori*

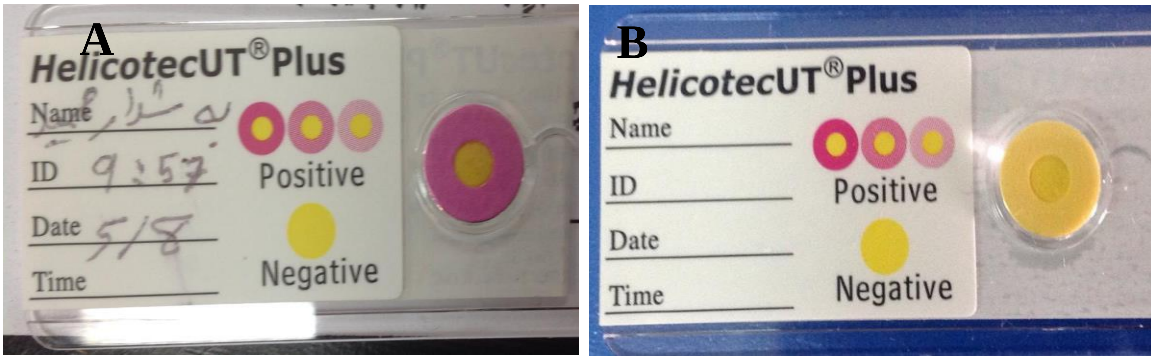
بينت نتائج العزل باستخدام اختبار اليوريز السريع (RUT) للكشف عن فعالية انزيم اليوريز المنتج من قبل الجرثومة في الغشاء المخاطي من المعدة عن طريق استئصال الخزعات النسيجية المأخوذة من الناظور حيث اعطت نتائج موجبة بلغت ٤١ عينة خزعة نسيجية وبنسبة ٦٨.٣ % بينما بلغت النتائج السالبة ١٩ عينة سالبة لاختبار اليوريز وبنسبة ٣١.٧ %.

كما اظهرت نتائج العزل الاولي للجرثومة ان من ٦٠ مريض مصابين بالقرحة (المعدة والاثني عشري) باستخدام التشخيص بالناظور من بينهم ٤٤ مريض موجب لوجود الإصابة بجرثومة *H.pylori* باستخدام طريقة الزرع الروتيني وبنسبة ٧٣.٣ % بينما ١٦ مريض سالب للاصابة بالجرثومة بنسبه ٢٦.٧ %.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

بينت نتائج عزل الجرثومة من ١٠٠ مريض باعتماد الكشف عن مستضد الجرثومة من عينات الخروج إن ٣٤ عينة اعطت نتائج موجبة وبنسبة ٣٤ % والنسبة الاكبر لم تظهر وجود مستضد الجرثومة لديهم.

بعد إخضاع الخزع النسيجية البالغة 60 خزعة لاختبار اليوريز السريع اعطى الاختبار نسبة نتائج موجبة ٦٨.٣% بينما بلغت نسبة النتائج السالبة ٣١.٧% والتي تتفق مع نتائج [20]حيث بلغت نسبة اختبار اليوريز السريع لدى مرضى قرحة المعدة ٦١% بينما كانت بنسبة ٧٠% مع مرضى قرحة الاثني عشري فيما حصل [21] نسبة عزل تفوق النسبة التي حصلنا عليها في دراستنا حيث بلغت نسبة التشخيص باختبار اليوريز السريع في دراسته ٨٦% وعند مقارنة النتائج الموجبة لاختبار اليوريز السريع البالغة (٤١) مع النتائج الموجبة للزرع الروتيني (٤٤) والتي ثبت فيما بعد على انهم مصابين بجرثومة *H.pylori* بلغت النسبة ٩٣.١% من مجموع المرضى وهذه النسبة تتفق مع[22] حيث بين ان نسبة التشخيص باستخدام اختبار اليوريز السريع RUT كانت ٩٦.٥% من المرضى المصابين بجرثومة *H.pylori*. يعد اختبار RUT من الفحوصات الموثوق بنتائجها والمعتمدة مقارنة مع طرق التشخيص[23][24]. إن تغير اللون من الاصفر الى اللون الوردي او الارجواني يعزى إلى قدرة الجرثومة على تحطم اليوريا مائياً بواسطة فعالية انزيم اليوريز الى امونيا والتي بدورها تحول الاس الهيدروجيني pH الى وسط قلوي شديد فيتغير لون كاشف الفينول الاحمر من اللون الاصفر الى اللون الاحمر وخلال دقائق، أما بقاء اللون الاصفر وعدم تغيره يعكس النتيجة السالبة للاختبار وهذا ما أكدته العديد من الدراسات[18][25] كما موضح في الصورة (١).



الصورة (١) : A- موجب للخزعة النسيجية B- سالب لاختبار انزيم اليوريز

وهذه الطريقة سهلة الاستخدام وسريعة ودقيقة ورخيصة والنتيجة عالية الحساسية، احيانا تعطي نتيجة خاطئة عند قراءة النتيجة بعد ٢٤ ساعة وكذلك عند مراحل تحولات الخلايا المعوية الى خلايا سرطانية metaplasia ولا تستخدم التقنية عند حصول نزيف داخل المعدة ويستخدم الفحص كتقييم شكلي لدقة فحص histopathology [26].

عند استخدام طريقة الزرع الروتيني أظهرت النتائج ان نسبة العزل بلغت ٧٣.٣ %، كما اظهرت دراستنا نسبة عزل الجرثومة تفوق نسب عزل الجرثومة في الدراسات المحلية حيث بلغت الدراسات [27]،[28]،[29] و[17] كما يلي 37.7 %،٤١%،٦٠% و٦٧.٦ % على التوالي، إن النسبة العالية للعزل تعكس الدقة الفائقة في توفير الظروف المثلى المناسبة لعزلها وتنقيتها. بين [30] ان مدى عزل الجرثومة واسع حيث يمثل النسبة ٢٣.٥ – ٩٧ % وان اختلاف النسب ترجع الى طرق تحضير الخزع النسيجية والدقة في توفير ظروف الزرع والاوساط الزرعية وظروف التحضين وكما وصفت طريقة الزرع بانها الطريقة القياسية الذهبية (Gold standard) لتأكيد تشخيص الاصابة بها ووجود الجرثومة وتعزيز عوامل الضراوة والكشف عن المقاومة للمضادات الحيوية لتحديد العلاج الامثل لاستئصال الجرثومة.

ويعتمد عزل الجرثومة على وقت نقل الخزعة النسيجية من وحدة الناظور للجهاز الهضمي الى المختبر لتلقيح الاوساط الزرعية بسبب حساسيتها للـ O_2 وهذا ما اوضحه [21].

وفي دراستنا تم نقل الخزع النسيجية المستأصلة من المعدة باستخدام الوسط الناقل Tryptone soy broth بوصفه وسط غني بمكونات غذائية تشجع نمو واستنبات الجرثومة كسائل يحميها من الظروف الهوائية حيث يمكن ان تستقر الجرثومة في قعر الانبوبة هروبا من الاوكسجين والذي يعد ساما لها، لعدم قدرة الجرثومة على معادلة مشتقات الاوكسجين السامة وهذا ما اشار اليه [31].

استخدمنا في عزل الجرثومة وسط ثنائي الطور حضر مختبرياً من اضافة الخزعة النسيجية الممزوجة مع الوسط الناقل Tryptone soy broth والذي يعد من الاوساط الغير انتقائية لجرثومة *H.pylori* ومع وسط كولومبيا يوريا اكار المحور ليعطي نسب عزل اولي عالية بطريقة الزرع الروتيني عند إعادة الاستنبات (subculture) وهذا ما اكده[32] من ان استخدام وسط ثنائي الطور (انتقائي وغير انتقائي) يؤدي إلى الحصول على نسبة عزل اولي تتراوح ٩٦ – ١٠٠%، فضلا عن ان اضافة مادة اليوريا لتحوير وسط الانتقائي وكمادة منشطة

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

لتفاعلات وأيض الجرثومة لإفراز انزيم اليوريز يعزز قدرة الجرثومة على انتاج كميات كبيرة من الانزيم سواء داخل الانسان او خارجه[33]. يعد اختبار اليوريز من الاختبارات التوصيفية المهمة للتحري عن جرثومة *H.pylori* وقد استدل على ايجابية التفاعل من تغير لون الكاشف الموجود ضمن الوسط ثنائي الطور من الاصفر الى الاحمر وتقرأ النتيجة بعد مرور ٢٤ ساعة من التحضين وهذا ما اشار اليه [17].

تعد جرثومة *H.pylori* من الجراثيم صعبة الارضاء (النحسة) bacteria fastidious إذ تحتاج للمغذيات لعدم قابليتها على تخليق متطلبات النمو، وتعتبر مادة الهيمن (Haemin) من المغذيات المهمة التي تضاف للوسط والتي تستخدم كمصدر وحيد للحديد وان اضافتها غير معقدة وتقلل من احتمالية حدوث تلوث بالمقارنة مع اضافة الدم الى الاوساط الغذائية، كما ان التحضين بدرجة حرارة ٣٧°م وبظروف محبة للهواء القليل حيث استخدمنا عدة تحرير الغاز gas generating kit من شركة Thermo اليابانية لتوفير ٢-٥% اوكسجين O_2 و٥-١٠%ثاني اوكسيد الكاربون CO_2 و ٠-١٠% هيدروجين H_2 و٨٣-٨٧ % N2نتروجين مشابهة للظروف داخل المعدة لان الجرثومة تستعمر خلايا الطبقة الطلائية المغطاة بالغشاء المخاطي للمعدة ذات المحتوى القليل من الاوكسجين ولكي تهرب من المكونات السمية للـO_2 وهذا ما وصفته دراسات عدة[8][9].

تشخيص جرثومة *H.pylori*

شكل المستعمرات

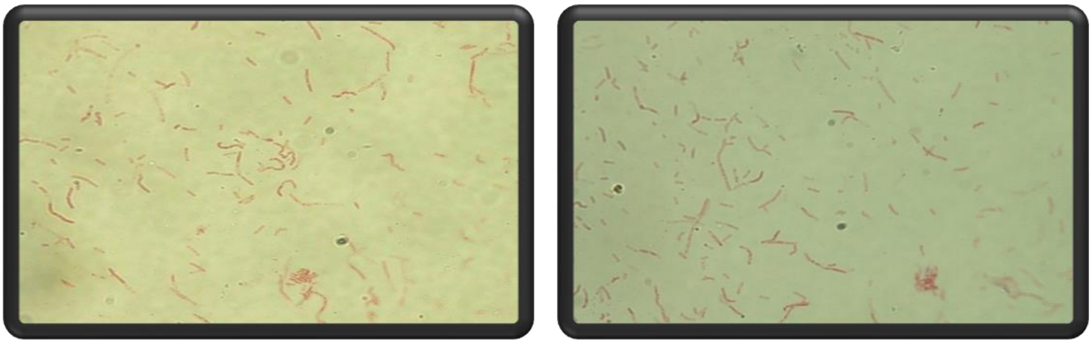
ظهرت مستعمرات جرثومة *H.pylori* نقية شبه شفافة دائرية محدبة وفيرة العدد كريمية اللون creamy بقطر (١-٢) ملم على وسط كولومبيا يوريا اكار المحور وهذا مطابق لوصف الجرثومة في العديد من الدراسات[5][10][17] كما موضح بالصورة (٢).

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

الصورة (٢) : اشكال مستعمرات جرثومة *H.pylori* على وسط كولمبيا يوريا اكار المحور

الفحص المجهري

صبغت جميع عزلات جرثومة *H.pylori* بصبغة كرام واظهر الفحص المجهري للمسحات المحضرة بانها جراثيم سالبة لصبغة كرام وتأخذ اشكال متغايرة عديدة حلزونية او على شكل حرف S او عصوية منحنية او بشكل جناح النورس ولا تحتوي على سبورات وكما موضح في الصورة (٣) وهذا يتفق مع ما اشار اليه الباحثون حول شكل خلايا الجرثومة [4][7].



الصورة (٣) : صورة مجهرية لخلايا جرثومة *H.pylori* مصبوغة بصبغة كرام (قوة التكبير 100x)

اظهرت نتائج التشخيص باعتماد الاختبارات الكيموحيوية لتأكيد هوية جرثومة *H.pylori* لكافة العزلات انها موجبة لفحص اليوريز في وسط ثنائي الطور وكذلك موجبة لاختباري الاوكسديز والكتاليز.

تعتمد النتائج على عدد الخزع وكذلك على العدد الكلي للجراثيم ومستواها في تكوين الانزيم وكذلك وجد ان التوزيع البقعي Patchy distribution للجرثومة في الطبقة المخاطية للمعدة يؤثر على اخفاق الاختبار في التحري على الجرثومة [21]. [اكتب اقتباساً من المستند أو من ملخص نقطة هامة. يمكنك وضع مربع النص في أي مكان في المستند. استخدم علامة التبويب "أدوات الرسم" لتغيير تنسيق مربع نص الاقتباس.]

نتائج الكشف عن مستضد الجرثومة.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

وفي دراستنا تم التحري عن مستضد الجرثومة في ١٠٠ عينة خروج، أظهرت نتائج الاختبار إن ٣٤ عينة أعطت تفاعلاً موجباً تحتوي على مستضد جرثومة *H.pylori* من اصل ١٠٠ عينة خروج وبنسبة ٣٤%.

تم تشخيص مستضد الجرثومة من عينات الخروج بالتحري عن ظهور خط الاختبار(test) إضافة إلى خط السيطرة (control(C))، ففي حالة عدم وجود الاصابة بالجرثومة يظهر خط السيطرة فقط والتي تتمثل بالنتيجة السالبة اما في حالة وجود الاصابة بالإضافة الى وجود خط السيطرة ظهور خط عند (Test (T)) التي تتمثل بالنتيجة الموجبة كما موضح في الصورة (٤).

يظهر هذا الفحص حساسية وخصوصية عاليتين في تشخيص جرثومة *H.pylori* بصورة مباشرة باستخدام الاضداد الملصقة على ورقة الترشيح داخل شريط الفحص ضد مستضد الجرثومة الموجود في الخروج.

توصلت الدراسة التي اجراها[27] إلى نتائج تفوق نتائج دراستنا الحالية حيث كانت نسبة الاصابة لجرثومة *H.pylori* في فحص مستضدات الخروج (٦٦.٧ %) وهذا الاختلاف يعتمد على انتشار *H.pylori* بين مجاميع المرضى وتوزيع الاصابة بينهم لان هذا الاختبار هو الاسرع في كشف الجرثومة ويستخدم كبديل لطرق الكشف بالناظور وفحص العينة النسيجية ويمكن ان يستعمل في كشف الاصابة الفعالة Active infection وكذلك في متابعة الحالة قبل وبعد العلاج ونسبة نجاح العلاج وخاصة في الاطفال كما يستخدم كبديل لاختبار التنفس بعد اخذ اليوريا[34].

يعد هذا الاختبار من الاختبارات المتطورة والسريعة والرخيصة الثمن للتحري عن مستضد جرثومة *H.pylori* في الخروج كأحد الاختبارات البسيطة التي تتطلب جهداً يسيرا لإنجازها فضلا عن امكانية استخدامها في المختبرات كاختبارات روتينية حيث لا تحتاج الى اجهزة كبيرة وكذلك سهولة جمع العينة إذ يمكن جمعها داخل البيت ثم نقلها الى المختبرات ولا يحتاج الى تحضير مسبق للمريض مثل فحص الناظور وكما يمتلك الاختبار حساسية ونوعية عالية حيث يتم اعطاء النتيجة خلال ١٥ دقيقة[35].

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

الصورة (٤) :

A- النتيجة سالبة للاختبار ، فقط خط السيطرة

B- النتيجة موجبة للاختبار ، خط السيطرة وخط الاختبار

(References)المصادر

[1] N. Ahmed , (2005)." ***23 years of the discovey of Helicobacter pylori: is the debate over?".*** Annals of clinical microbiology and antimicrobials 4(17):1-3.

[2] Willey; Sherwood and Woolverton, (2014)." ***Prescott's Microbiology".*** 9th edition. Mc Graw-Hill.Companies,Inc,USA.

[3] B. E. Dunn ; H. Cohen and M. J. Blaser, (1997). ***"Helicobacter pylori".*** American Society for Microbiology 10(4): 720–741.

[4] S. Percival ; R. Chalmers ; M. Embrey ; P. Hunter ; J. Sellwood ; P.Wyn-Jones, (2004)." ***Microbiology of waterborne diseases".*** 1st ed. Elsevier academic press.UK.

[5] R. Bhatia and R. L. Lchhpujani, (2008)." ***Essentials of Medical Microbiology".*** *4th edition.*Jaypee brothers medical publishers (p) LTD : 295 – 296.

[6] G. F. Brooks; K. C. Carroll; J. S. Butel ; S. A. Morse and T. A. Mietzner, (2013). ***"Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology".*** 26th edition. Mc Graw-Hill Lange.Companies,Inc,USA

[7] R. J. Owen, (1998)." ***Helicobacter – species classification and identification".*** British medical bulletin 54(1): 17 – 30.

[8] H. L.T. Mobley; G. L. Mendz and S. L. Hazell, (2001)." ***Helicobacter pylori: Physiology and Genetics".*** Washington (DC): ASM Press.USA.

[9] R. Ansorg; G. V. Recklinghausen; R. Pomarius and E. N. Schmid, (1991)." ***Evaluation of techniques for isolation, Sub cultivation, and preservation of Helicobacter pylori".*** Journal of clinical microbiology : 51 – 53.

[10] K. C. Carroll; S. A. Morse; T. Mietzner and S. Miller, (2016). ***"Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology".*** 27th edition. Mc Graw- Hill education Lange.USA.

[11] C. S. Goodwin ; E. D. Blincow ; J. R. Warren ; T. E.Waters; C. R. Sanderson and L. Easton, (1985). ***"Evaluation of cultural techniques for isolating Campylobacter pyloridis from endoscopic biopsies of gastric mucosa".*** Journal of clinalic pathology 38: 1127-1131.

[12] G. Sachs and D. R. Scott, (2012).***" Helicobacter pylori: Destruction or Preservation".*** F 1000 medicine reports 4(7): 1-5.

[13] M. J. M. Buckley and C. A. O'morain, (1998). ***"Helicobacter biology-discovery".*** British medical bulletin 54 (1): 7– 16.

[14] N. E. Daryani; M. Taher and S. Shirzad, (2011).***" Helicobacter pylori infection: A review"***.Iranian journal of clinical infectious disease 6(1): 56 – 64.

[15] S. K. Patel; CH. B. Pratap; A. K. Jain; A. K. Gulati, and G. Nath, (2014).***" Diagnosis of helicobacter pylori: what should be the gold standard?".*** World Journal of Gastroenterology 28. 20(36): 12847 –12859.

[16] Y. Glupczynski, (1998). ***"Microbiological and serological diagnostic tests for Helicobacter pylori: an overview".*** British medical bulletin 54 (1): 175 – 186.

[17] A. Al-Sulami; H. S. Al-kiat; L. K. Bakker and H. Hunoon, (2008). ***"Primary isolation and detection of Helicobacter pylori from dyspeptic patients : a simple rapid method"***. La revue de santé de la mediterranee orientale 14(2): 268-275.

[18] E. W. Koneman; S. D. Allen; W. M. Janda; P. C. Schreckenberg and W. C. Winn, G. W. Procop; G.L. Woods, (2006).***" Color Atlas & Textbook of Diagnostic Microbiology".*** 6th ed., Lippincott Williams and wilkins, ,USA.

[19] R. M. Atlas and J. W. Snyder, (2006). ***"Hand Book of Media for Clinical Microbiology".*** 2nd ed., CRC. , New York,USA.

[20] S. Kamiya; I. Taniguchi; T. Yamamoto; T. Shirai; S. Harasawa; T. Miwa and A. Ozawa, (1993). ***"EVALUATION OF RAPID UREASE TEST FOR DETECTION OF HELICOBACTER PYLORI IN GASTRIC BIOPSY SPECIMENS".*** European Journal of Epidemiology 9(4):450-452.

[21] A. S. Bakka; A. B. El-Gariani; F. M. AbouGhrara; B. A. Salih, (2002). ***"Frequency of Helicobacter pylori infection in dyspeptic patients in Libya".*** Saudi Med J 23(10):1261-1265.

[22] CY. Ho; TS. Chen; FY. Chang and SD. Lee, (2004).*" **Rapid urease test from non – ulcer part of stomach is superior to histology from ulcer in detection of Helicobacter pylori infection in patients with gastric ulcer".*** Hepatogastroenterology 51(60): 1877-1880.

[23] R. S. Abu-Sbeih; A. D. Hawari; D. S. Hassawi and H. I. Al-Daghistani, (2014). ***" Isolation and detection of Heliobacter*** pylori ***from patients suffering from peptic ulcer using Biochemical Tests and molecular techniques".*** American Journal of Biochemistry and Biotechnology 10(1): 58-68.

[24] F. Bermejo; D. Boixeda; JP. Gisbert; V. Defarges ; JM. Sanz ; C. Redondo; C. Martini de argila and A. Garcia plaza, (2002).*" **Rapid urease test utility for Helicobacter pylori infection diagnosis in gastric ulcer disease".*** Hepatogastroenterology 49(44):572 – 5.

[25] S. P. Misra; V. Misra ; M. Dwivedi ; P. A. Singh; V. Bhargava and P. Jaiswal, (1999). ***" Evaluation of the one-minute ultra-rapid urease test for diagnosing Helicobacter pylori".*** Postgrad Med J 75: 154-156.

[26] T. Uotani and D. Y. Graham, (2015).*" **Diagnosis of Helicobacter pylori using the rapid urease test".*** Annals of Translational medicine 3(1): 9 – 15.

[٢٧] أبرار علي حسين، هيام عبد الرضا كريم العواد ، ياسمين خضير الغانمي (٢٠١٦). ***دراسة مقارنة لتشخيص بكتيريا H.pylori المعزولة من الغائط باستخدام تقنية تفاعل PCR وفحص مستضدات Helicobacter.pylori.*** مجلة جامعة كربلاء العلمية. المجلد الرابع عشر. العدد الاول.

[28] رباب عمران، الاء هادي الخفاجي (٢٠١٣). ***المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية في بكتيريا Helicobacter pylori المعزولة من قرحة المعدة والاثني عشري.*** مجلة جامعة بابل / العلوم الصرفة والتطبيقية / العدد ١ – المجلد ١١.

[29] عروبة محمد سعيد ابراهيم، محمد خليل تراب. (٢٠١١). ***تأثير العكبر في تثبيط نمو جرثومة الملوية البوابية H.pylori المعزولة من مرضى القرحة الهضمية***. مجلة الكوفة للعلوم الطبية البيطرية – المجلد الثاني – العدد الاول.

[30] Y. Yin; L. He and J. Zhang, (2009). ***"Successful isolation of Helicobacter pylori after prolonged incubation from a patient with failed eradication therapy"***. World J gastroenterol 15(12): 1528-1529.

[31] B. J. Juven and L. Rosenthal (1985)." ***Effect of free-radical and oxygen scavengers on photochemically generated oxygen toxicity and on the aerotolerance of Campylobacter jejuni".*** J Appl Bacteriol 59(5):413-9.

[32] R. Piccolomini ; G. D. Bonaventura; D. Festi ; G. Catamo; F. Laterza and M. Neri, (1997)." ***Optimal Combination of Media for Primary Isolation of Helicobacter pylori from Gastric Biopsy Specimens".*** Journal of clinical microbiology 35(6): 1541-1544.

[33] P. Bauerfeind; R. Garner; B. E. Dunn and H. L. T. Mobley, (1997). ***"Synthesis and activity of Helicobacter pylori urease and catalase at low pH".*** Gut 40: 25 – 30.

[34] D. Antos; J. Crone; N. Konstantopoulos and S. Koletzko, (2005). ***"Evaluation of a novel rapid one-step immunochromatographic assay for detection of monoclonal Helicobacter pylori antigen in stool samples from children".*** Journal of clinical microbiology 43(6): 2598-2601.

[35] F. Megraud ; E. Bessede and Ph. Lehours, (2014)." ***Diagnosis of Helicobacter pylori infection".*** John wiley & sons ltd. Helicobacter 19 (1): 6 – 10.