تقييم اختبار ويدال Widal Test واختبار تعداد كريات الدم البيض في تشخيص جرثومة التايفوئيد *Salmonella typhi* في محافظة نينوى

محسن ايوب عيسى و بشرى دلي حمد

قسم علوم الحياة

كلية العلوم كلية التربية

جامعة الموصل

الاستلام القبول

12/12/2006 09/05/2007

Abstract

This study was conducted for evaluating laboratory diagnosis reality of *Salmonella typhi* which causes typhoid fever that is considered one of an important health problems in Iraq. Questionnaire study showed, that physicians depend on both of laboratory results and clinical symptoms in order to diagnose typhoid fever (83.6) % and there is an limited dependence on clinical symptoms only (13.7) % or laboratory results only (2.7)% . There are a high rate of these physicians (78)%stated that there were insufficient accuracy about Widal test which is considered the unique laboratory test used by laboratories, also, results showed that Widal test represents (95.6)% of laboratory methods which is used to diagnose *Salmonella typhi* and culturing methods is limited (4.4)% or not existed .

When Widal test results were evaluated which is done in different health analysing laboratories in Nenavah province by using Widal test (dilution method) the results showed great differences of results whether result type (positive or negative) or kind of antigens which showed positive results.

When leukocyte count was used as a test to support the diagnosis of typhoid fever, it was shown that there is a relation between typhoid fever and decreasing leukocyte count in these patients.

الخلاصة

اجريـت هـذه الدارسـة بهـدف تقـويم واقـع التـشخيص المختبـري لجرثومـة *Salmonella typhi* المسببة للحمى التايفوئيدية التي تعد احدى المشكلات الصحية المهمة في القطر ، اذ اظهرت الدراسة الاستبيانية ان هنالك اعتمادا كبيرا من الاطباء قيد الاستبيان على كل من نتائج المختبر والاعراض السريرية كليهما لاجل تشخيص مـرض حمـى التايفوئيـد

(83.6) % وان هنالك اعتمادا محدودا على الاعراض السريرية وحـدها (13.7) % او نتائج المختبر وحدها (2.7) % كما تشير نسبة عالية من هؤلاء الاطبـاء (78) % الـى الدقة غير الكاملة لاختبار ويدال Widal test كما اظهرت المعلومات الاستبيانية على العاملين في المختبرات ان فحص ويدال يمثل (95.6) % من الطرائـق المختبريـة التـي تُجـرى لتشخيص هذه الجرثومة وان طريقة الزرع محدودة (4.4) % او معدومة .

وعند دراسة تقويم نتائج فحص ويدال الذي يجرى في مختلف مختبرات التحليـل فـي محافظة نينوى باستخدام طريقة التخافيف تبين ان هنالك اختلافات كبيرة سواء في نوع النتيجة (سالبة او موجبة) او في نوع المستضدات التي اظهرت النتائج الموجبة .

وعند استخدام اختبار التعداد الكلي لكريات الدم البيض Leukocyte count بوصـفه أحد الفحوصات التي تدعم تشخيص الحمى التايفوئيدية اظهرت النتائج ان هنالك علاقـة بـين الاصابة بحمى التايفوئيد والنقص في تعداد كريات الدم البيض لدى المصابين .

المقدمة

تعد الحمى التايفوئيدية Typhoid fever احدى المشكلات الصحية الرئيسة في العالم وخاصة في الدول النامية اذ تنتشر هذه الاصابة على نحو واسع مؤدية الى نسب كبيـرة مـن الوفيات في حالة عدم توفر المعالجة او ضعفها وانتشار العزلات المقاومة للمضادات الحيويـة من الجرثومة المسببة للمرض (Basit وآخرون ، 1996) وتـشير الاحـصائيات الدوليـة الحديثة الى ان هنالك اكثر من (16) مليون اصابة سنوية بحمى التايفوئيـد علـى المـستوى العالمي تؤدي الى اكثر من (600.000) حالة وفاة سنوياً تشغل قارة اسيا المرتبة الاولـى فـي معـدل الاصـابات اذ تـصل الـى (500 – 1000) حالـة لكـل (100.000) نسمة سنوياً ويقع القطر العراقي ضمن هذا المعدل (WHO ، 2004).

وبناء على الاهمية والخطورة المتعلقة بمرض الحمى التايفوئيدية والمشار اليهـا انفـاً وكذلك بسبب تداخل اعراض الحمى التايفوئيدية مع اعراض امراض اخرى تشوش الـصورة على الاطباء عند تشخيص هذا المرض فقد سعى العلماء والباحثون بـصورة مـستمرة الـى اكتشاف وتطوير تقنيات التشخيص والعلاج للجرثومة المسببة للمرض وتستخدم على نحو عام مجموعة طرائق للتشخيص اهمها واكثرها تـداولاً طريقـة ويـدال Widal test المناعيـة المعتمدة على مبدأ التلازن الذي يحصل بين الاجسام المضادة وكل من المستـضد الجـسمي (O) والمستضد السوطي (H) ومستضد الظراوة (V i) الخاصـة بـ *S.typhi* وقـد تستخدم كذلك طريقة الزرع باستخدام عينات الدم او الخروج او الادرار ونخاع العظم وغيرها وقد تستخدم تقنيات التألق المناعي Immunofluorescence واختبار الاليزا وعد خلايا الدم

البـيض Leukocyte Count وكـذلك فعاليـة انـزيم Adenosine deaminase في دعم التشخيص فضلا عن تقنيات البايولوجي الجزيئي كاستخدام تقنية التفاعـل المتسلـسل لانزيم بلمرة الدنا Polymerase Chain Reaction (P C R) بنجاح في تشخيص هـذه الجرثومة وغيرها (Baron و Finegold ، 1990 ؛ Cohen وآخـرون ، 1993 ؛ Atlas وآخرون ، 1995).

ان معظم تقنيات التشخيص المتقدمة هي غير متداولة في الدول النامية ومنها العـراق لكلفتها الاقتصادية العالية نسبياً ولعل اكثر تقنيات التشخيص استخداماً هـي اختبـار ويـدال Widal test الذي يجرى عادةً بالطريقة التقليدية (طريقة الشريحة) التي ترافقـه وحاليـاً هنالك شكوك عديدة فيما يتعلق بمصداقية نتائج هذا الاختبار خاصة بعد ان اكـدت البحـوث حديثاً زيادة عيارية الاضداد الخاصة بهذه الجرثومة في دم الاصحاء بالمستوى الذي يعطـي نتائج موجبة كاذبة فضلاً عن انه اختبار غير نوعي مع عدد من السلبيات الاخرى التي تتعلق مجموعة منها بنوع المواد المستخدمة للاختبار وكفاءتها واخرى متعلقة بخبرة القائمين علـى هذا الفحص وكفاءتهم(Sood ، 1994 ؛ Salahuddin و Mubarak ، 1996 ؛ Keusch، 1998).

وقد اجري هذا البحث بهدف تقييم اختبار ويدال الذي يجرى في المختبرات الـصحية المختلفة الرسمية والاهلية لاجل تشخيص حمى التايفوئيد وكذلك تقييم امكانية استخدام فحـص تعداد كريات الدم البيض في دعم تشخيص هذا المرض .

المواد وطرائق العمل

1- الاستبيان

في الإستبيان الذي اجري في هذه الدراسة وبالاعتماد علـى إسـتمارات الإسـتبيان الموضحة في ادناه وقع الاختيار على مجموعة من الأطباء وصل عددهم إلـى (93) طبيبـاً وطبيبة معظمهم في اختصاص الباطنية اما فيما يخص العاملين في المختبرات فقـد اختيـرت كذلك مجموعة متنوعة وصل عدد افرادها الى (48) محللاً واسـتخدم فـي هـذا البحـث نموذجان من استمارات الإستبيان أحدهما خاص بالأطباء والآخـر خـاص بالعـاملين فـي المختبرات كما يتضح في أدناه :

أ- استمارة الاستبيان (1) خاصة بالأطباء : وكانت تتضمن الاسئلة الآتية :

1- هل تعتمد في تشخيص مرض التايفوئيد على :

الاعراض السريرية فقط ☐

نتائج تحليل المختبر ☐

كليهما ☐

2- ما هي مقترحاتكم بشأن تطوير تشخيص مرض التايفوئيد ؟

ب- استمارة الاستبيان (2) خاصة بالمختبر : وكانت تتضمن الاسئلة الآتية :

1- هل تعتمد في مختبرك في تشخيص مرض التايفوئيد على :

فحص ويدال بطريقة الشريحة ☐

فحص ويدال بطريقة التخافيف ☐

طريقة الزرع ☐

طرائق أخرى ☐

2- كيف تقوم بإجراء فحص ويدال ضمن إمكانات مختبرك ؟ وكيف تعد نتيجة الفحص موجبة ؟

3- ما هي معلوماتك بشأن الجرثومة المسببة لمرض التايفوئيد ؟

4- ما هي مقترحاتك بشأن تطوير التشخيص المختبري لمرض التايفوئيد ؟

2- المواد

أ. محاليل المستضدات التجارية المستخدمة في تجارب اختبار ويدال Widal test

1- أستخدمت المستضدات التجارية الآتية المجهزة من شركة :
(Plasmate Leboratory Products Limited.UK.)

Salmonella typhi O
Salmonella O paratyphi A
Salmonella O paratyphi B
Salmonella O paratyphi C

Salmonella typhi H
Salmonella H paratyphi A
Salmonella H paratyphi B
Salmonella H paratyphi C

2- محلول الملحي الفسيولوجي Normal Saline

ب. المحاليل المستخدمة في تعداد خلايا الدم البيض .

1- محلول تركي Turkey's fluid ويتكون من

أ- حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid (1.5) مل

ب- صبغة المثيل البنفسجي Methyl violet (1) مل (وبتركيز 1%)

ج- ماء مقطر (100) مل .

2- استخدمت شريحة قياس خلايا الدم (الهيموسايتوميتر) Haemocytometer وملحقاتها المؤلفة من :

أ- الممص الخاص بخلايا الدم البيض ويكون مقسماً على (0.5) ، (1) ، (11) ويحتوي على خرزة بيضاء ويكون متصلاً بأنبوب مطاطي لسحب الدم .

ب- شريحة زجاجية Improved Neubare تحوي مربعات بتقسيمات خاصة يحتوي المربع المركزي الكبير على (25) مربعاً متوسطاً يحتوي المربع المتوسط الواحد على (16) مربعاً صغيراً .

جـ- نوع خاص من غطاء السلايد Cover slid

3. طريقة العمل

أ. تقييم اختبار ويدال

قسمت عينات الدم المسحوبة من المرضى المشكوك بإصابتهم على قسمين :

القسم الأول اجري عليه فحص ويدال بطريقة الشريحة بعد فصل المصل وقد اجرته المختبرات وهو الفحص المتداول عادةً في هذه المختبرات وسجلت نتيجة الفحص التي توصلوا إليها . أما القسم الثاني فقد أجري عليه ضمن هذا البحث فحص ويدال بطريقة التخافيف بعد فصل المصل لغرض مقارنة نتائج المختبر وتقويمها وكانت طريقة الإختبار كما يأتي :

توضع أنابيب الإختبار على الحامل وترقم بالأرقام من (1-6) ويوضع (1.9) مل من محاول الملح الفسيولوجي في الأنبوب الأول ثم يوضع (1) مل من المحاول نفسه في بقية الأنابيب ، يضاف (0.1) مل من مصل المريض الى الأنبوب الأول ويمزج جيداً وبهذا يكون التخفيف (20:1) عمل تخفيف تضاعفي منه إلى بقية الأنابيب بالطريقة في أدناه وذلك بعد مزجه جيداً .

نقل (1) مل من الأنبوب (1) إلى الأنبوب (2) (40:1)

نقل (1) مل من الأنبوب (2) إلى الأنبوب (3) (80:1)

وهكذا حتى التخفيف (640:1) ثم نقل (1) مل من الأنبوب (6) خارجاً وذلك لكي يصبح الحجم في الانابيب جميعها متساوياً وأضيفت نقطة واحدة من المستضد المناسب إلى كل أنبوب من الأنابيب السابقة ثم وضعت الأنابيب في حمام مائي بدرجة حرارة (50)°م مدة (4-8) ساعات لمستضدات سالمونيلا (O) جميعا ومدة ساعتين لمستضدات سالمونيلا (H)

ونقرأ النتيجة حسب التلازن أو عدمه وتثبت النتـائج لمقارنتهـا بمـا يقابلهـا مـن نتـائج اختبـار ويـدال بطريقـة الـشريحة الـذي أجـري فـي المختبـرات وسـجلات النتـائج (John وآخرون ، 1974) .

ب. تقييم اختبار تعداد كريات الدم البيض

اختير عدد من عينات الدم التي اظهرت نتائجها من خلال فحص ويدال بطريقـة التخـافيف التي اجريت خلال البحث وأجري عليهـا تعـداد خلايـا الـدم البـيض لبيـان أهميـة هذا الفحص في تعزيز تشخيص مرض التايفوئيد وكانت طريقـة الاختبـار كمـا يـأتي (John وآخرون ، 1974) :

1- يتم التأكد من نظافة الشريحة والغطاء ولا يضغط على الغطاء لتفادي كسر الشريحة .
2- يسحب الدم إلى العلامة (0.5) بإستخدام ممص خلايا الدم البيض ثم يخفف جيداً باستخدام محلول تركي إلى حد العلامة (11) .
3- يمزج الدم المخفف جيداً وتوضع قطرة منه على شريحة التعداد بعـد إهمـال القطـرات الأولى وتترك الشريحة مدة دقيقتين لتستقر الخلايا .
4- يحسب عدد الخلايا البيض في المربع الكبير أي في (25) مربعاً متوسطاً تحت قوة التكبير الصغرى (10x) ويجب التأكد من عدم حساب خلايا الـدم الحمـر المتحطمـة أو ذرات الغبار .

ويحسب عدد خلايا الدم البيض كما يأتي :

عدد الخلايا في (1) ملم3 = ع × 10 × 20 = ع × 200

النتائج والمناقشة

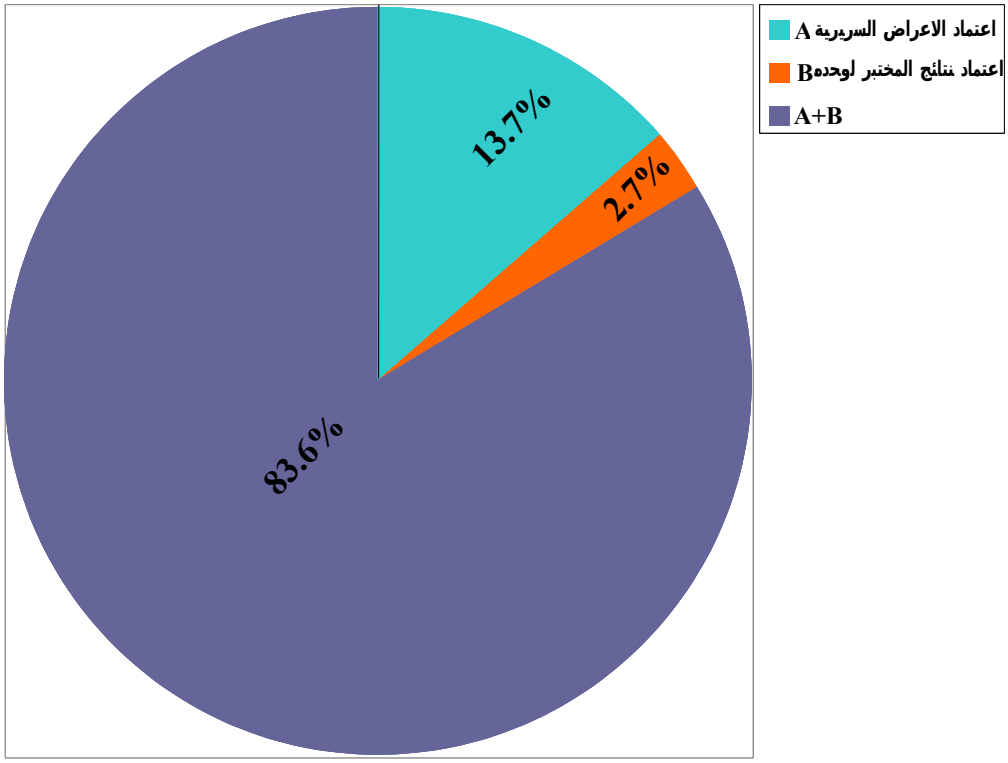
1- الدراسة الاستبيانية

اجريت الدراسة الاستبيانية بهدف التعرف على نحو دقيـق علـى واقـع التـشخيص المختبري لمرض التايفوئيد في محافظة نينوى وقد اختيرت كل من فئة الاطباء والعاملين فـي مختبرات التحليل الصحية للحصول على المعلومات الخاصة بهذه الدراسـة كـونهم الفئـات الاساسية فيما يتعلق بموضوع تشخيص هذا المرض .

ويوضح الشكل 1 النسب المئوية لمدى اعتماد الاطباء على الاعـراض الـسريرية او التحليل المختبري في تشخيص مرض التايفوئيد ويلاحظ ان الاعتماد على الاعراض السريرية وحدها بلغ (13.7) % ونتائج المختبر وحده (2.7)% وهي محدودة وان النسبة الاكبر مـنهم بلغت (83.6)% هي التي تعتمد على كل من الاعراض السريرية ونتائج المختبر في تشخيص

هذا المرض وهذا يدل على الدور الاساس للمختبر في مساعدة الاطباء على اتخاذ قرار التشخيص وما يتبع ذلك من إجراءات علاجية ، والسؤال في هذه الحالة .. ما مدى دقة المختبرات وكفاءتها في تشخيص جرثومة *S. typhi* ثم مساعدة الاطباء في اعطاء القرار الصحيح .

تشير المعلومات الاستبيانية الى ضرورة التشخيص المختبري للمرض بسبب التداخل والتشابه في الاعراض السريرية لعدد من الامراض (حمى مالطا وتايفس والملاريا ....) وخاصة في فصلي الربيع والصيف مع الاعراض السريرية لمرض التايفوئيد (Koneman وآخرون ، 1997) على الرغم من تحفظ هؤلاء الاطباء على طريقة ونتائج الفحوصات التي تجري في المختبرات لتشخيص جرثومة *S. typhi* وخاصة فيما يتعلق بفحص ويدال المناعي الاكثر استخداما في هذه المختبرات اذ يؤكد حوالي (78)% من الاطباء على الدقة غير الكاملة لنتائج هذا الاختبار بسبب استخدام طريقة الشريحة لاجراء الاختبار وتباين خبرات المحللين واستخدام المستضدات التجارية المنتهية المفعول وكذلك النتائج الموجبة الكاذبة لهذا الاختبار ... الخ ويذهب حوالي (20%) من هؤلاء الاطباء الى اقتراح حذف اختبار ويدال من المختبرات بوصفه فحصا غير ملائم وهذا الراي ينسجم مع التوجه الدولي الذي يؤكد على محاولة استبعاد هذا الفحص واستبداله بفحوصات اكثر دقة وتطوراً وحساسية (Basit واخرون ،1996 ؛ Edwards و Bouchier ، 2000) .

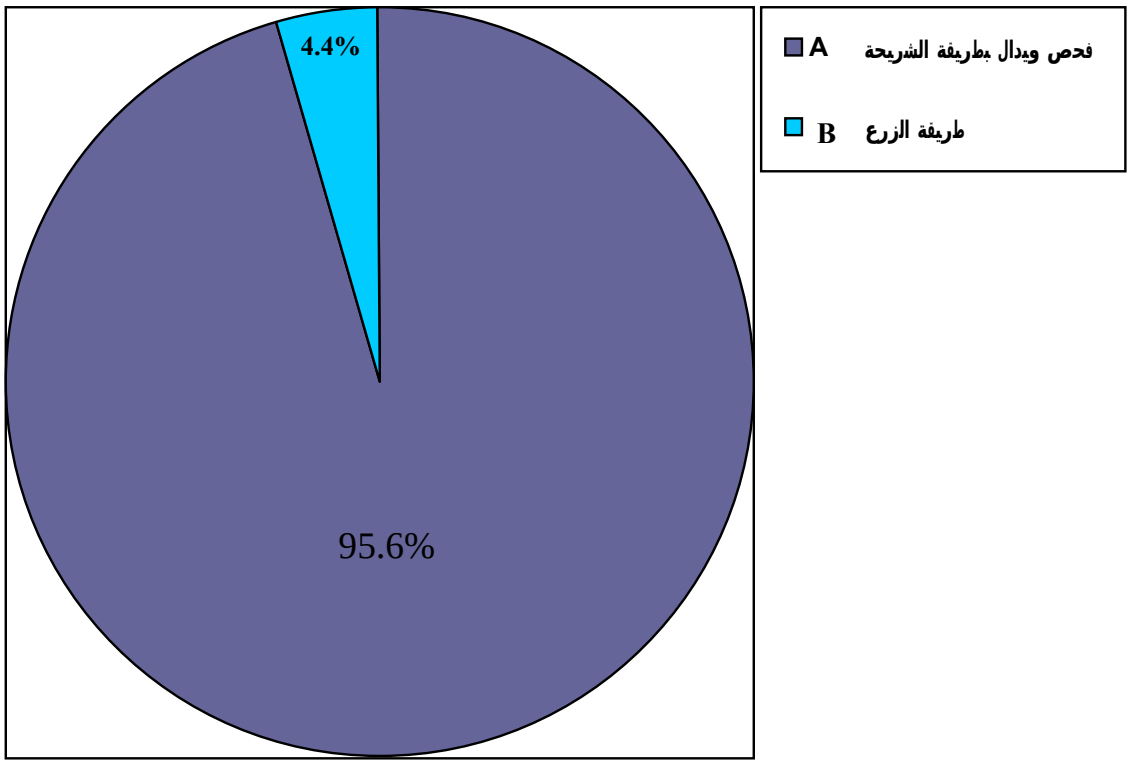


الـشكل 1 النـسب المئويـة لمـدى اعتمـاد الاطبـاء علـى الاعـراض الـسريرية او التحليل المختبري لتشخيص مرض التايفوئيد .

كما تشير المعلومات الاستبيانية للاطباء الى انهم يفضلون الاعتماد على نتائج طريقـة الزرع وخاصة مزارع الدم لتأكيد تشخيص جرثومة *S. typhi* فضلاً عن زرع بقية العينـات كالخروج والادرار بعد تحديد تأريخ بداية المرض علماً ان فحوصات الزرع في هذه الحالـة محدودة جداً في مختبرات محافظة نينوى كما هو موضح لاحقا وان هنالك اقتراحات وجيهـة من الاطباء في دعم هذه الفحوصات وتطويرها فضلا عن اضافة فحوصات جديدة ومتطـورة نظراً للاهمية الكبيرة التي تمثلها نتيجة فحص المختبرات في دعم تشخيص مرض التايفوئيد .

ويمثل الشكل 2 النسب المئوية للطرائق المختبرية المستخدمة في المختبرات المدروسة لغرض تشخيص جرثومة *S. typhi* (اوتشخيص حمى التايفوئيـد) اذ يلاحـظ ان الطريقـة الاساسية المستخدمة هي فحص ويدال بطريقة الشريحة (95.6)% وكانت طريقة الزرع نادرة ومحدودة جداً (4.4)% ولا يجرى اختبار ويدال بطريقة التخـافيف ولا توجـد أيـة طريقـة مختبرية اخرى مستخدمة لغرض تشخيص هذه الجرثومة وتشير المعلومات الاستبيانية الى ان معظم العاملين في المختبرات يجرون اختبار ويدال بالشريحة بطريقة مبسطة جداً لملاحظـة التلازن واعطاء العيارية حسب مايتوقعه ومن دون الرجوع الى حاله قياسية ويثبتون النتيجـة التي تشير الى وجود او عدم وجود اصابة علماً ان النتيجة تذكر بشكل تخافيف لم تجر اصلاً وفي هذه الحالة فان دقة النتائج سوف تعتمد على عوامل عديدة منها الخبرات التـي يمتلكهـا

المحال ذو العلاقة بالاسس العلمية الخاصة باجراء هذا الاختبار كذلك اسـتخدام المستـضدات التجارية الفعالة والحديثة ومعرفة تاريخ بدء الاصابة فضلا عن المعرفة العلميـة بالجرثومـة المسببة للاصابة اذ لوحظ من خلال الاستبيان وجود نسبة تقـدر بـ (37)% مـن هـؤلاء العاملين لايمتلكون معلومات واضحة عن الجرثومة المسببة للمـرض وان النـسبة المتبقيـة (63)% كانت معلوماتهم متوسطة خاصة فيما يتعلق بامراضية الجرثومة و تطور الاصابة .



الشكل 2 النسب المئوية للطرائق المختبرية المستخدمة في المختبرات المدروسة لغرض تشخيص جرثومة *S. typhi*

كما يشير الاستبيان الى ان استبعاد هذه المختبرات لطريقة ويدال بالتخافيف يعود الـى انها اكثر صعوبة واكثر كلفة وهذا ينطبق على موضوع الزرع ويستنتج من ذلك عدم وجـود موازنة بين موضوع الكلفة الاقتصادية والاهتمام بدقة النتائج الصادرة من هـذه المختبـرات (كلفة اقل مع نتائج اقل دقة) ومع ذلك فان مجموعة من المختبرات تقترح توفير الاوسـاط الزرعية الملائمة لغرض تأكيد نتائج اختباراتها ودعمها ، ويطمح عدد منها الى ادخال التقنيات الحديثة في مجال التشخيص سواء علـى المـستوى المنـاعي كاختبـار الاليـزا ELISA او الاختبار المناعي المشع Immuno flourescence او غيرها او اختبـارات البـايولوجي الجزيئي كفحص PCR المستخدمة على نحـو واسـع علـى المـستوى العـالمي وغيرهـا (Edwards و Bouchier ، 2000) .

2- تقييم اختبار ويدال

يبين الجدول 1 نتائج اختبار ويدال الذي يجري في المختبرات بطريقة الشريحة وكذلك نتائج اختبار ويدال الذي اجري للعينات نفسها في هذا البحث بطريقة التخافيف وقد اعتمد التخفيف (1/80) بوصفه نتيجة سالبة لهذا الفحص وتمثل النتيجة الموجبة التخافيف الأعلى من هذه النسبة (الجبوري ، 1990 ؛ Atlas وآخرون ، 1995) تم التركيز على الحالات الموجبة (28) عينة لأهمية تقويم هذه النتائج التي تشير إلى وجود إصابة بحمى التايفوئيد كما أن طريقة ويدال باستخدام التخافيف التي اعتمدت في هذه الدراسة تعد الطريقة العلمية الدقيقة لإجراء هذا الاختبار (Koneman وآخرون ، 1997) وقد استخدمت فيها أحدى الكتات الكفؤه وذات الصلاحية الفعالة والمنشأ الجيد لضمان النتائج الجيدة قدر الإمكان .

وبالعودة إلى الجدول نجد أن هنالك اختلافاً في معظم نتائج فحص العينات في عمل المختبرات ونتائج البحث سواء أكان الاختلاف في نوع النتيجة من حيث كونها سالبة أو موجبة أم في نوع المستضدات التي أظهرت النتائج الموجبة والتخفيف الموجب المتعلق بهذه النتائج ، اذ يلاحظ على نحو عام أن المختبرات تركز على مستضدات (TO، TH) الخاصة بجرثومة *S.typhi* كذلك مستضدات (BH،BO) الخاصة بجرثومة *S. paratyphi*B وإهمال نتائج بقية المستضدات أو عدم استخدامها أصلاً (المعلومات الاستبيانية) في حين وجد من خلال نتائج اختبار ويدال بالتخافيف في هذه الدراسة أن مستضدات *S .paratyphi*A تشترك على نحو واضح في هذه الاصابات وأن هنالك (22) عينة أظهرت نتيجة موجبة لهذه المستضدات معظمها تابع للمستضد السوطي (AH 18 عينة) وقد ظهر المستضد الجسمي (AO) في (11) عينة في حين لم يظهر هذا المستضد في نتائج المختبرات سوى في عينتين علماً أن المراجع العلمية تؤكد على أهمية هذا النوع من الجرثومة في إصابات حمى التايفوئيد المناظرة في المناطق الاسيوية (Molbak و Neimann ، 2002 ؛ WHO , 2004) .

كما يلاحظ كذلك أن هنالك اختلافاً في العيارية Titer أو التخفيف المتعلق بالمستضد الموجب وقد يعود هذا إلى الطريقة التخمينية أو التقديرية غير الدقيقة التي يعتمدها المحلل في تقدير النتيجة الموجبة للفحص وكلاً بحسب خبرته مقارنة بطريقة التخافيف التي تعطي نتيجة دقيقة وواضحة لآخر تخفيف تحصل فيه حالة التلازن. إن دقة تقدير التخفيف الخاص بالمستضدات في هذا الاختبار وما يتبع ذلك من تقدير صحيح أو خاطئ لنتيجة الفحص قد يعد من أهم المشاكلات المرتبطة بإجراء هذه الطريقة في المختبرات بسبب التفاوت في الخبرات لدى المحللين (الدراسة الاستبيانية) وعدم وجود فحوص سيطرة لتقييم نتائج هذه المختبرات وعدم استخدام الطريقة الصحيحة في إجراء فحص الشريحة من خلال حرص المحللين على

عدم استهلاك المستضدات بما يضمن كلفة اقتصادية ملائمة لهم لإجراء هـذا الفحـص وقـد تستخدم كذلك مستضدات (كتات) منتهية المفعول وغيرها .

الجدول 1 نتائج تقويم اختبار ويدال الذي اجري بطريقة الشريحة في المختبرات ونتائج البحث التي اجريت بطريقة التخافيف .

العينة	نتائج اختبار ويدال للمختبرات *			نتائج اختبار ويدال للبحث **		
	النتيجة النهائية	المستضد الموجب	درجة التخفيف	النتيجة النهائية	المستضد الموجب	درجة التخفيف
1	+	TO BO BH	1/320 1/160 1/160	-	- - -	- - -
2	+	TO	1/320	-	-	-
3	+	TO BO	1/320 1/320	+	TO AO	1/640 1/640
4	+	TO TH AH BO	1/320 1/320 1/320 1/320	+	AH	1/640
5	+	TO TH BO	1/320 1/320 1/320	+	TO TH BO BH	1/640 1/640 1/640 1/640
6	-	-	- - -	+	TO AH BO	1/640 1/640 1/160
7	+	TO BO	1/320 1/160	+	TO TH AH BO	1/640 1/640 1/640 1/640
8	+	TO TH BO	1/320 1/320 1/320	+	TO AH BO BH	1/640 1/640 1/640 1/320

العينة	نتائج اختبار ويدال للمختبرات *			نتائج اختبار ويدال للبحث **		
	النتيجة النهائية	المستضد الموجب	درجة التخفيف	النتيجة النهائية	المستضد الموجب	درجة التخفيف
9	+	TO TH BO	1/320 1/160 1/320	+	TO TH AH	1/640 1/640 1/640
10	+	TO TH BO BH	1/320 1/320 1/160 1/320	+	BO	1/160
11	+	TO	1/320	+	TO TH AH BH	1/320 1/160 1/320 1/160
12	+	TH BO	1/320 1/320	+	TO TH AO AH	1/320 1/640 1/320 1/640
13	+	TO TH	1/320 1/320	+	TH AO AH	1/160 1/160 1/160
14	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	+	TH AO AH BH	1/160 1/160 1/640 1/320
16	+	TO TH BO	1/320 1/160 1/320	+	TO TH AO AH BO	1/640 1/160 1/640 1/640 1/320
17	+	TO TH BO	1/320 1/320 1/320	+	TO TH AH	1/640 1/640 1/160

العينة	نتائج اختبار ويدال للمختبرات *			نتائج اختبار ويدال للبحث **		
	النتيجة النهائية	المستضد الموجب	درجة التخفيف	النتيجة النهائية	المستضد الموجب	درجة التخفيف
18	+	TO TH BO	1/320 1/320 1/320	-	-	-
19	+	BO BH	1/320 1/320	+	TH BO	1/320 1/160
20	+	TO TH BO	1/320 1/320 1/320	+	TO TH AH BO BH	1/320 1/640 1/640 1/160 1/320
21	-	-	-	+	TO TH AH BO BH	1/320 1/640 1/640 1/160 1/640
22	+	TO TH BO BH	1/160 1/320 1/320 1/320	+	TO TH AO AH BO BH	1/640 1/640 1/640 1/640 1/160 1/160
23	+	TO TH BO	1/320 1/320 1/320	+	TO TH AO AH BO BH	1/640 1/320 1/640 1/640 1/160 1/320
24	+	TO TH BO BH	1/320 1/320 1/320 1/320	+	TO TH AO BO BH	1/320 1/320 1/320 1/160 1/320

العينة	نتائج اختبار ويدال للمختبرات *			نتائج اختبار ويدال للبحث **		
	النتيجة النهائية	المستضد الموجب	درجة التخفيف	النتيجة النهائية	المستضد الموجب	درجة التخفيف
25	+	BO	1/230	-	-	-
26	+	TO TH BO	1/320 1/320 1/320	+	TO TH AO AH BO	1/640 1/640 1/640 1/640 1/640
27	+	TO TH BO BH	1/320 1/320 1/320 1/320	+	TH	1/640
28	-	-	-	+	TH AO AH	1/320 1/160 1/320
29	-	-	-	-	-	-
30	+	TO BO	1/320 1/160	+	TO AH BO	1/320 1/320 1/160
31	-	-	-	-	-	-
32	+	TH	1/160	-	-	-
33	+	TH	1/160	+	TH AO BH	1/160 1/160 1/160
34	+	TH AO BO BH	1/320 1/320 1/160 1/320	+	BO BH	1/640 1/320
35	+	TO BO	1/160 1/160	-	-	-

*إجراء اختبار ويدال بطريقة الشريحة

** إجراء اختبار ويدال بطريقة التخافيف

BO المستضد الجسمي لجرثومة *S.paratyphi*B

BH المستضد السوطي لجرثومة *S.paratyphi*B

TO المستضد الجسمي لجرثومة S.typhi

TH المستضد السوطي لجرثومة S.typhi

AO المستضد الجسمي لجرثومة S.paratyphiA

AH المستضد السوطي لجرثومة S.paratyphiA

يلاحظ من خلال النتائج في الجدول 1 أن معظم النتائج الموجبة يشترك فيها أكثر من مستضد يعود الى نوعي جرثومة السالمونيلا *S. typhi* واحدى أنواع *S. paratyphi* وهـذه الحالة لوحظت في نتائج المختبرات وكذلك نتائج البحث مما قد يشير إلى إصابة مشتركة فعلاً بهاتين الجرثومتين أو قد يكون هنالك تفاعل مشترك للاجسام المضادة الواحدة مع أكثـر مـن مستضد (Cross-reaction) نتيجة للتشابه بين هذه المستضدات وخاصة فيما يتعلق بالأنواع التابعة لجنس Salmonella أو حتى الأجناس التابعة للعائلة المعوية Enterobacteriaceae (Edward و Ewing ، 1972 ؛ Collee وآخرون ، 1996) .

تبين نتائج هذه الدراسة كذلك وجود اختلافات في نـوع النتيجـة النهائيـة للفحـص الجدول 1 فيلاحظ أن هنالك ست حالات ظهرت سالبة في نتائج البحث في حين كانت موجبة في نتائج المختبرات وفي المقابل فأن هنالك أربع حالات كانت سالبة في نتـائج المختبـرات وظهرت موجبة فـي نتائج البحث كمـا أن هنالك نتائـج للمختبرات تشير إلى وجود إصابة بجرثومة *S. typhi* (ثلاث حالات) وتبين في نتائج البحث أنها تعـود الـى جرثومـة *S. paratyphi* وقد يعزى هذا النوع من التباينات في النتائج على نحو او اخر إلى دقة المحللين في هذه المختبرات في التخمين وتقديرهم لنتائج التلازن ، ومع ذلـك فهنالـك نتـائج سـالبة مشتركة ظهرت في كلا الطريقتين تشير إلى احتمال عدم الاصابة فعلاً بهذه الجرثومة .

ان نتـائج اختبـار ويـدال مهمـا كانـت درجـة دقتهـا فإنهـا مرتبطـة دومـاً باحتمال أن تكون هناك نتائج موجبة كاذبة أو سـالبة كاذبـة (الجبـوري ، 1990 ؛ Atlas وآخرون ، 1995) اما النتائج الموجبة الكاذبة فقد تظهر لأسباب مختلفـة منهـا التعـرض المستمر للجرثومة من عدد من الأفراد مما يرفع من عيارية الأجسام المضادة لهذه الجرثومـة في دمهم وهذا ينطبق على المتعرضين لإصابة سابقة بحمى التايفوئيد فضلا عن الحاملين لهذه الجرثومة Carriers وقد يرتبط ظهور النتائج الموجبة الكاذبة بإصابات لجراثيم مـن العائلـة المعوية تمتلك مستضدات مشابهه لمستضدات جرثومة Salmonella وخاصة فيمـا يتعلـق بالمستضد الجسمي (O antigen) (Edward و Ewing ، 1972) ، وقد تظهر هذه النتائج عند الذين لقحوا بلقاح التايفوئيد في حالة توفره وغيرها من الأسباب .

واما النتائج السالبة الكاذبة فهي واردة كذلك وخاصة لدى للمصابين في الأسبوع الأول من الأصابة اذ لوحظ من خلال متابعة عمل المختبرات ومعلومـات دراسـة الاسـتبيان أن المريض لا يسأل عن هذا الموضوع و لايوجد اهتمام حقيقي لدى الطبيب أو المحلل بتحديـد تاريخ بداية الإصابة على الرغم من علاقتها المباشرة بنتيجة الفحـص المختبـري فالأجـسام المضادة لهذه الجرثومة ترتفع عادة إلى المستوى الذي يمكن التحري عنه والذي يحدد حدوث الإصابة عادة في خلال الأسبوع الثاني من الإصابة في الاقل (Sood ، 1994 ؛ Edwards

و Bouchier ، 2000) كما أن هنالك بحوثاً تـشير إلـى أن المرضـى الـذين يتعـاطون المضادات الحيوية خلال مدة إجراء الفحص قد لا ترتفع عندهم الأجسام المضادة إلى المستوى الـذي يحـدد الإصـابة وهـذه الحالـة تنطبـق علـى المرضـى المثبطـين مناعيـاً Immunosuppressed (Stites وآخرون ، 1982) الى غير ذلك من الأسباب التـي قـد ترتبط بطريقة إجراء الفحص وخبرات المحللين في هذه المختبرات مما تم التطرق إليه سـابقاً في هذه الدراسة .

3- دراسة تقويم كفاءة اختبار التعداد الكلي لخلايا الدم البيض في دعم تشخيص جرثومة *S.typhi* .

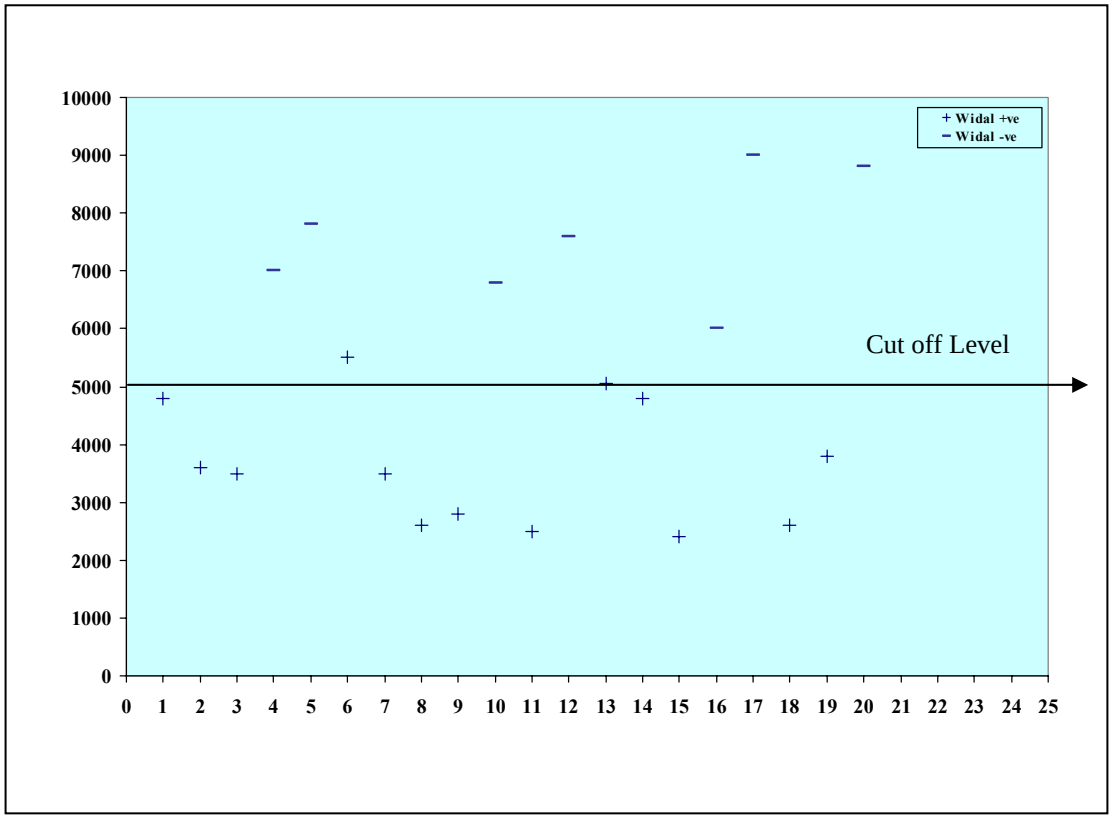
يوضح الشكل 3 نتائج إختبار تعداد خلايا الدم البيض لعشرين عينة دم اختبرت بعد إجراء فحص ويدال عليها باستخدام طريقة التخافيف وتم التركيز على العينات الموجبة (13) عينة لأهميتها في توضيح الهدف من إجراء الاختبار فضلاً عن (7) عينات سالبة لاختبار ويدال لغرض المقارنة .

وبينت النتائج على نحو عام أن هناك علاقة بين الإصابة بجرثومة التايفوئيد وإنخفاض أعداد خلايا الدم البيض لدى المصابين اذ لوحظ أن (11) عينة موجبة لفحص ويدال إنخفـض فيها عدد هذه الكريات إلى مـا دون (5000 كريـة / سـم3) الـذي يعـد الحـد الفاصـل Cut off level بيّن الحالـة الطبيعيـة وغيـر الطبيعيـة لأعـداد خلايـا الـدم البـيض (JohnD وآخرون ، 1974 ؛ Falkow و آخرون ، 1990) . وأن هناك عينتين موجبتين لفحص ويدال لم تنخفض فيهما الأعداد عن الحد الفاصل في أعلاه لسبب أو لآخر كما أظهرت العينات السالبة جميعها لفحص ويدال (الطبيعية) معدلات طبيعية فيما يتعلق بأعداد خلايا الدم البيض وهذه النتائج تتفق مع ما ذهب إليه الباحثون من أن الإصابة بحمى التايفوئيد تؤدي إلى إنخفاض في عدد كريات الدم البـيض Leukopenia (Freeman ، 1979 ؛ Koneman وآخرون ، 1997 ؛ Edwards و Boushier ، 2000) .

وعلى الرغم من النتائج الواضحة التي تم الحصول عليها في هذا الإختبـار فلايمكـن الإعتماد عليها وحدها دليلاً على الاصابة بحمى التايفوئيد بل من الممكن أن يكون داعماً لنتائج طرائق التشخيص المختبري الأخرى لأنه يعد فحصاً غير متخصص ذلك أن إنخفاض خلايـا الدم البيض يحصل في عدة إصابات جرثومية وغير جرثومية كحمى مالطا والملاريا وعـدد من الإصابات الفايروسية والسرطانية وغيرها (Collee وآخـرون ، 1996 ؛ Koneman وآخرون ، 1997) ويعزو الباحثون هذا الإنخفاض إلى التكسر الذي يحـصل لخلايـا الـدم البيض خلال محاولتها الدفاع والسيطرة على الإصابة ويعتقد أن خلايا الدم البيض مـن نـوع العدلة Neutrophil في حالة حمى التايفوئيد هي التي تعاني من الانخفاض من بين الأنـواع

الأخرى (Stites وآخرون ، 1982) وهناك مؤشرات على حدوث تكسر في خلايا الدم الحمر كذلك عند الإصابة بحمى التايفوئيد وإنخفاض في تركيز مادة الهيموكلوبين Haemoglobine وحدوث حالة فقر الدم Anaemia وقد يفسر التكسر في خلايا الدم الحمر الزيادة في تركيز عدد من الأنزيمات منها أنزيم Adenosine deaminase الذي تزداد فعاليته عند الإصابة بعدد من الأمراض من ضمنها حمى التايفوئيد كما أكدت هذه الحالة مجموعة من الدراسات (Hutton وآخرون ، 1981 ؛ Farrari وآخرون ، 1993 ؛ Harth وآخرون ، 1994 ؛ محمد ، 1996) .

إن نتائج هذه الدراسة تؤكد إمكان إستخدام هذا الفحص في تأكيد نتائج إختبار ويدال إلى حد ما مما يقلل الشكوك المتعلقة بنتائج إختبار ويدال علماً أن إمكانات إجراء هذا الإختبار يمكن توفرها في أي مختبر تحليل وإن كلا الإختبارين يعتمد على عينة الدم لأجرائه ويمكن أن ترفق النتيجة فيما بعد مع نتائج إختبار ويدال من أجل إعطاء مصداقية أكبر له .



الشكل 3 اعداد خلايا الدم البيض لعدد من المصابين بحمى التايفوئيد مقارنة بالحالة الطبيعية

المصادر

المصادر العربية

الجبوري ، محيمد عبدالله (1990) : علم البكتريا الطبية . وزارة التعليم العـالي والبحـث العلمي ، جامعة الموصل .

ميكائيل ، محمد حسين (1996) دراسة مقارنة لخواص وفعالية انزيم الادينوسين دي امينيز في دم الاشخاص الاصحاء وبعض الحالات المرضية رسـالة ماجـستير جامعـة الموصل العراق .

المصادر الاجنبية

Atlas, R. M., Brown, A. E. and Parks, L. C. (1995). Laboratory Manual. Experimential Microbiology, Mosby Comp.

Baron, E. J. and Finegold, S. M. (1990). Bailey and Scott's diagnostic Microbiology. 8th ed., C. V. Mosby company.

Basit, S., Mahmood, I. and Khalid, Q. (1996). Out break and management of enteric fever. J. College Phys Surg Pakistan., 6: 28-29.

Cohen, N. D., Neiberges, H. L., McGruuder, E. D., Witford, H. W., Behle, R. W., Ray, P. M. and Hargis, B. M. (1993). Genus Specific detection of *Salmonella* using the Polymerase chain reaction. J. Vent Diagn. Invest., 5: 368-371.

Collee, J. G., Fraser, A. G., Marmion, b. P. and Simmons, A. (1996). Macie and McCartney practical medical microbiolog. 14th ed. Churchill Livingstone Inc. New York.

Edward, P. R. and Ewing, W. H. (1972). Identifecation of Entrobacteriaceae. 3rd ed. Burgess publication Comp. Minneaoalis.

Edwards, C. R. W. and Bouchier, I. A. D. (2000). Typhoid and paratyphoid fever. In: Davidson's principles and practice of medicine 19th ed. Churchill Livingstone. London., : 122-132.

Farrari, G., Notarongelko, L. and Servida, P. (1993). The role of peripheral blood lymphocytes and bone marrow cell in the deveiopmeny of afunctional immun system after gen therapy for ADA deficient SCID. J. Cell Biochem., 6:187.

Freeman, B. A. (1979). The Enteric Bacilli: *Salmonella* Textbook of Microbiology, Philadelphia: W. B. Saunders Co. Chapter., 19: 518-537.

Harth, G., Clemens, D.L. and Horwitz, Q. (1994). Glutamate synthetase of M.tuberculosis:its activity. J. Bioch. 90:166-1669.

Hutton, J.J., Wigint, D.A., Coleman, M.S. and Fulkler, S.A. (1981). Biochemical and functional abnormalitis lymphocytes from an

ADA deficient patient during enzyme replacement therapy.J. Clin Invest. 68:413-421.

John, D. Bauer , Philip, G. Ackermann and Gelson Toro . (1974) . Eight Edition. The C. V. Mosby Company.

Keusch, G.T. (1998). Thypiod fever. In : Harrison's Principle of Internal Medicine. Fauci, A.S., Branwald, E., Isselbacher, K.J., wilson, J.D., Martin, J.B., Kasper, D.L., Houser, S.L., Longo, D.L. (eds). 14th ed. McGraw-Hill Book Company., 1: 951-954.

Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C. and Winn, W. C. (1997). Coloratlas and textbook of diagnostic microbiology. 5th ed. J. B. Lippincott company, New York.

Molbak, K. and Neimann, J. (2002). Risk Factors for sporadic infection with *Salmonella enteritidis*, Denmark, 1997-1999. Am. J. Epidemiol., 156(7): 654-661.

Salahuddin, N., Mubarak, B. (1996). Widal test in diagnosis of typhoid. Inf. Dis. J., 3 : 19 .

Sood, R. (1994). Medical Laboratory Technolog Methods and Interpretations. 4th ed. Medical publishers CPL, New Delhi. India., : 658-656.

The World Health Report. (2004). Fighting disease Fostering development. WHO, Geneva.