

بررسی ناقلین مزمن سالمونلاتیفی و پاراتیفی در بین کارکنان مراکز رفاه شهر تهران

دکتر صدیقه مهربان دکتر احمد مجد پرویز پناهی

مقدمه:

ناقلین مزمن سالمونلاتیفی (حصبه) که هیچیک از علائم بیماری را ندارند عامل عمده همه گیری این بیماری (تیفوئید) می باشند . آمار اخیر در آمریکا نشان می دهد که ناقلین مزمن این بیماری تا ۳۰ % در انتقال و انتشار این بیماری مؤثر بوده اند (۱) . یکی از راههای کنترل و شناخت ناقلین مزمن کشت متناوب مدفوع است . این عمل غالباً " با مشکلات فراوانی مواجه می شود زیرا تهیه مدفوع بدفعات متعدد و آزمایش آنها نه تنها مستلزم هزینه و وقت زیاد است ، بلکه بدلیل عدم آگاهی مردم و نداشتن شناخت کافی از موضوع ، جلب همکاری لازم جهت تهیه نمونه مدفوع آنها بدفعات زیاد غالباً " با اشکال مواجه می شود (۱ و ۲) .

البته به روشهای سرولوژیکی نیز می توان وجود آنتی بادی Vi در سرم خون ناقلین مزمن را مشخص کرد . بررسیهای زیاد در این زمینه نشان داده است که مطالعه سرولوژیکی گرچه دقت کمتری دارد ولی چون سریع و کم خرج بوده و بدست آوردن همکاری افراد سهل تر است از نظر بهداشت عمومی و کنترل با ارزش تر می باشد . (۱) تحقیقات متعدد نشان داده اند که شناخت و کنترل ناقلین مزمن بیماری حصبه امری ضروری و برای جلوگیری از انتشار بیماری مفید است . بدلیل اهمیت موضوع و بمنظور کمک به تشخیص ناقلین مزمن احتمالی طرحی با استفاده از هر دو روش فوق بمرحله اجرا گذاشته شد .

مواد و روش کار:

بررسی ناقلین مزمن سالمونلاتیفی و پاراتیفی بر روی ۸۱۰ نفر از ۱۰۰۵ نفر کارکنان ۳۵ مرکز رفاه که حاضر به همکاری جهت ارائه نمونه خون شدند صورت گرفته است . بررسی پرسشنامه های تکمیل شده بوسیله این افراد نشان می دهد که سن آنها از ۱۵ سال تا ۶۵ سال متغیر بوده است .

جدول شماره (۱) - گروه‌بندی سنی افراد مورد بررسی را نشان می‌دهد.

۶۵-۷۰	۶۰-۶۵	۵۵-۶۰	۵۰-۵۵	۴۵-۵۰	۴۰-۴۵	۳۵-۴۰	۳۰-۳۵	۲۵-۳۰	۲۰-۲۵	۱۵-۲۰	گروه‌های سنی
۱	۳	۱۲	۳۰	۷۰	۷۰	۱۰۷	۱۰۶	۲۴۰	۱۴۲	۲۸	تعداد افراد مورد آزمایش

افراد مذکور همگی بظاهر سالم بوده، ۱۰۵ نفر آنها زن و ۷۱۰ نفرشان مرد بودند، هیچکدام در برابر حصبه واکنش نشان ندادند و ۱۵۴ نفرشان در گذشته به حصبه مبتلا شده و ۹۹ نفر آنها نیز اقوام نزدیکیشان حصبه داشتند.

جدول شماره (۲)

درجه‌های الکترولیت‌های سئون			تعداد	تیتروم
ضعیف (+)	متوسط (++)	قوی (+++)		باتیتروم $\frac{1}{10}$ مثبت
۱۰	۲۴	۲۹	۷۳	
۲۷	۲۹	۳	۵۹	باتیتروم $\frac{1}{20}$ مثبت

روش سرولوژیکی:

از هر فرد با رعایت اصول بهداشتی حدود ۴ خون گرفته شد. نمونه‌های خون در لوله‌های استریل جمع‌آوری گردید و پس از انتقال به آزمایشگاه بوسیله سانتریفوژ سرم آنها جدا و سرمها در لوله‌های سرپوش‌دار استریل در یخچال ۲۰- درجه نگهداری شدند.

سرم بیمار حصبه‌ای بستری در بیمارستان امام خمینی که دوره نقاهت را می‌گذراند، و از نظر وجود آنتی‌بادی Vi مورد تأیید آزمایشگاه این بیمارستان بود. با آنتی‌ژن Vi مورد استفاده در این طرح نیز کنترل شد و بعنوان شاهد مثبت انتخاب گردید. از آنتی‌ژن Vi هم غلظت نیز بعنوان شاهد منفی (کنترل) استفاده شد. آزمایش اگلوتیناسیون Vi مطابق روش انستیتو پاستور پاریس* بر روی سرم هر فرد انجام شد. سرمها را با افزودن سرم فیزیولوژی و آنتی‌ژن Vi به نسبت $\frac{1}{10}$ (۱/۱۰ سرم داوطلب + ۴/۱۰ سرم فیزیولوژی + ۵/۱۰ آنتی‌ژن) و $\frac{1}{40}$ رقیق کرده و در ۳۰۰۰ دور بمدت ۵ دقیقه در حرارت آزمایشگاه سانتریفوژ کردیم، لوله‌ها را بملايمت تکان داده و در مقابل نور به مقایسه آنها با شاهد مثبت و منفی پرداختیم.

روش باکتریولوژی:

افراد مورد بررسی که در روش سرولوژیکی پاسخ مثبت داشتند جهت آزمایش کشت مدفوع به آزمایشگاه دعوت شدند. نمونه‌ها مطابق روشهای استاندارد Edward Ewing (۳) و Leminor (۴) ابتدا در محیط مایع سلنیت پرات Selenit broth و بعد در محیط‌های جامد ss (شیگلا سالمونلا آگار) و Do (ذراکی کولات سترات آگار) (Difico) کشت داده شدند. سپس کلنی‌های مشکوک در محیط‌های افتراقی ت سی آی TSI و اس ای ام SIM و اورا Urea کشت شدند. تست‌های بیوشیمیایی مختلفی برای تشخیص دقیق و تفکیک گروه‌های مختلف باکتریها بشرح زیر بعمل آمد:

تست B-galactosidas (بتا گالاکتوزیداز) برای باکتریهای لاکتوز منفی (سیتروباکترها):

تست اوره‌آز و فنیل آلانین دز آمیناز و تریپتوفان دز آمیناز برای پروتئوسها:

تست اکسیداز برای پseudomonasها:

استفاده از (Galerie Api) برای سالمونلاها. برای تعیین تحرک سالمونلاها کشت بر روی محیط Sven Gard نیز انجام شد. در مورد سالمونلاها علاوه بر مطالعات بیوشیمیایی مذکور آزمایشات کامل سرولوژی بروش اگلوتیناسیون روی لام نیز بعمل آمد و فرمول آنتی‌ژنی نهائی سالمونلاها مطابق روش Leminor (۴) و تابلوی Kauffman-White (۵) تعیین شد.

نتایج حاصله:

الف - نتایج سرولوژیکی:

در روش سرولوژیکی جمعا ۷۳ نفر از افراد مورد بررسی (۹% داوطلبین) با تیتراژ $\frac{1}{10}$ به آنتی‌ژن Vi جواب مثبت داشته‌اند، از بین این افراد ۵۹ نفرشان (۷% داوطلبین) با تیتراژ $\frac{1}{20}$ نیز دارای جواب مثبت بوده‌اند. جدول شماره ۲ نتایج حاصل از بررسیهای سرولوژیکی را مشخص می‌سازد.

* - روش کار در بروشوری که همراه با آنتی‌ژن Vi از انستیتو پاستور پاریس ارسال شده مشخص گردیده و فرانس خاصی ندارد.

جدول شماره ۳ - گروه سنی متوسط افرادی که با تیتر ۱۰ - پاسخ مثبت داشتند درصد آنها نسبت به گروه های سنی کلیه افراد مورد بررسی را نشان می دهد .

جدول شماره (۳)

گروه های سنی	۲۵-۲۰	۲۰-۱۵	۲۵-۲۰	۲۰-۲۵	۲۵-۲۰	۲۵-۲۰	۲۵-۲۰	۲۰-۲۵	۲۵-۲۰	۲۰-۲۵	۲۵-۲۰	۲۵-۲۰	۲۰-۲۵	۲۵-۲۰	۲۰-۲۵	۲۵-۲۰	۲۰-۲۵	۲۵-۲۰	۲۰-۲۵	۲۵-۲۰	۲۰-۲۵	۲۵-۲۰		
تعداد افراد مورد آزمایش	۱۴۲	۲۸	۱۴۲	۲۴۰	۱۰۶	۱۰۷	۷۰	۷۰	۱۰۶	۱۰۷	۷۰	۷۰	۱۰۶	۱۰۷	۷۰	۷۰	۱۰۶	۱۰۷	۷۰	۷۰	۱۰۶	۱۰۷	۷۰	۷۰
تعداد افراد مثبت	۱۰	۴	۱۰	۲۲	۴	۱۶	۴	۱۰	۱۶	۱۶	۴	۱۰	۱۶	۱۶	۴	۱۰	۱۶	۱۶	۴	۱۰	۱۶	۱۶	۴	۱۰
درصد	۷	۱/۴	۷	۹/۱	۳/۷	۱۴/۹	۱۴/۲	۱۴/۲	۱۴/۹	۱۴/۹	۵/۷	۲/۳	۸/۳	۲۳/۳	۲۳/۳	۸/۳	۲۳/۳	۲۳/۳	۸/۳	۲۳/۳	۲۳/۳	۲۳/۳	۸/۳	۲۳/۳

همانطور که ملاحظه می شود افراد دارای پاسخ مثبت بطور نسبی در گروه سنی ۲۵ تا ۴۵ سال قرار دارند .
 در جدول شماره ۴ توزیع افراد دارای پاسخ مثبت در روش سرولوژیکی (با تیتر ۱۰ - نسبت به جنس آنها مشخص شده است .

جدول شماره (۴)

تعداد کل افراد مورد بررسی	تعداد افرادی که با تیتر ۱۰ پاسخ مثبت داشتند	درصد
۱۰ نفر مورد آزمایش	۶۵ مورد	۹ %
۱۰۰ نفر مورد آزمایش	۸ زن	۸ %

همانطور که ملاحظه می شود از ۷۳ نفری که با تیترا $\frac{1}{10}$ پاسخ مثبت داشته اند ۶۵ نفر مرد و ۸ نفر زن بوده اند. درصد افراد مذکور نسبت به کل افراد مورد بررسی رابطه معنی داری بین جنس و نتایج مثبت حاصله را نشان نمی دهد.

جدول شماره ۵ نشان می دهد که از ۱۵۴ نفری که خود مبتلا به حصه بوده اند فقط ۱۰ نفرشان با تیترا $\frac{1}{10}$ به آزمایش سرولوژیکی Vi جواب مثبت داده اند. از ۹۹ نفری که اقوام نزدیکشان به این بیماری مبتلا شده بودند نیز ۱۱ نفر در آزمایش سرولوژیکی پاسخ مثبت داشته اند. مقایسه درصد این افراد با درصد کل افراد مورد بررسی که با تیترا $\frac{1}{10}$ پاسخ مثبت داشته اند (۹٪) مورد خاصی را روشن نمی کند.

جدول شماره (۵)

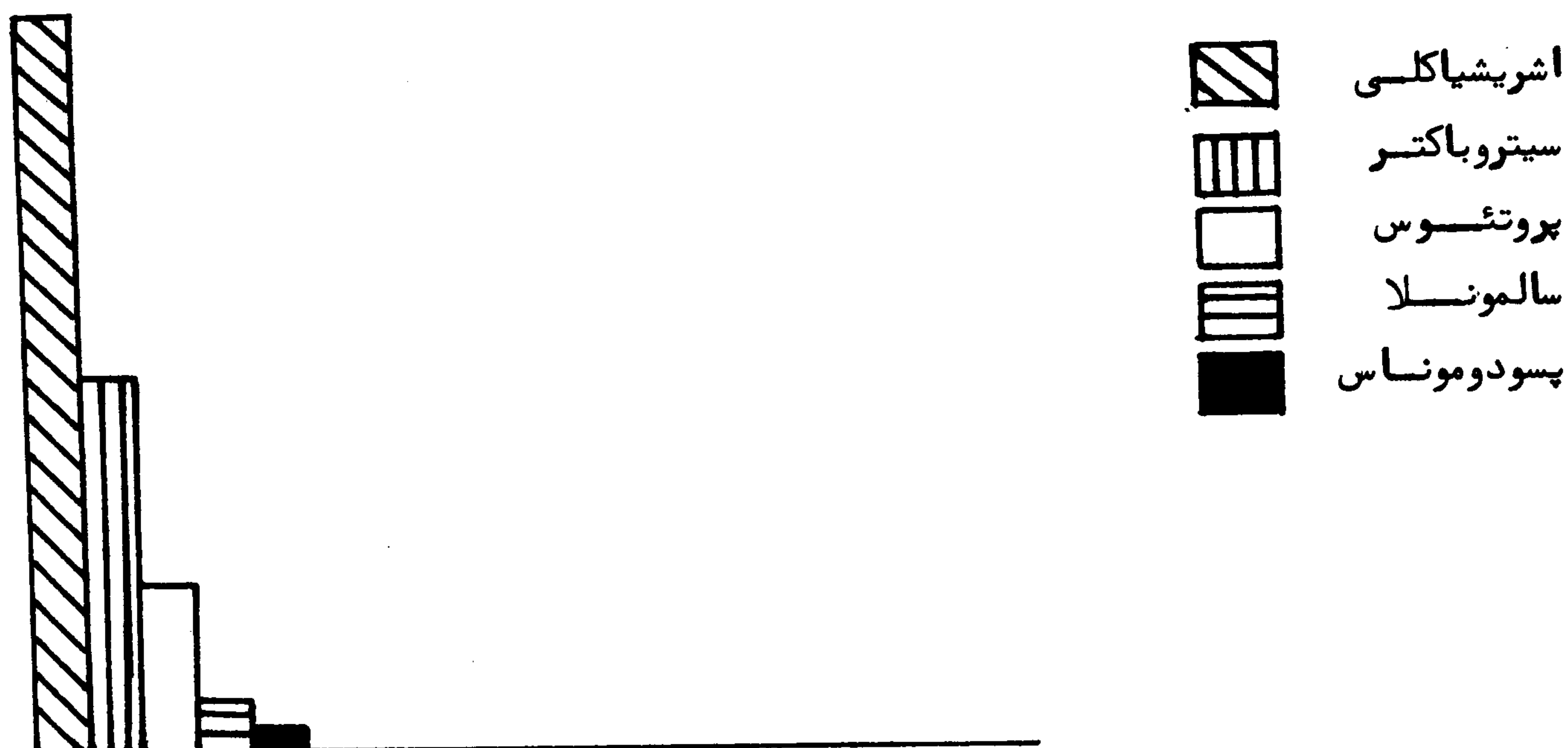
درصد	جواب مثبت با تیترا $\frac{1}{10}$	تعداد	
۶/۴٪	۱۰	۱۵۴	افرادی که قبلاً "مبتلا به حصه شده اند".
۱۱/۱٪	۱۱	۹۹	افرادی که اقوام نزدیکشان مبتلا بوده اند.

ب - نتایج حاصل از کشت مدفوع:

همانطور که انتظار می رفت برای کشت مدفوع افراد همکاری لازم را نداشتند بطوری که در نوبت اول کشت مدفوع از ۷۳ نفری که در روش سرولوژیکی با تیترا $\frac{1}{10}$ جواب مثبت داشته اند تنها ۵۲ نفر، در کشت دوم ۴۲ نفر و برای کشت سوم تنها ۱۷ نفر حاضر به همکاری شدند. جدول شماره ۶ و هیستوگرام شماره ۱ باکتریهای غالب فلور روده افرادی که با تیترا $\frac{1}{10}$ جواب مثبت داده اند نشان می دهد.

جدول شماره (۶)

دفعات کشت	تعداد	سالمونلا	پسودوموناس	پروتئوس	سیتروباکتر	اشریشیاکلی
مرحله اول	۵۲	۱	۱	۷	۹	۳۴
مرحله دوم	۴۲	۲	—	۶	۸	۲۶
مرحله سوم	۱۷	۲	۱	۱	۱۱	۲



نمودار شماره (۱)

فلور روده این افراد نرمال بوده و باکتری اشریشیاکلی در اغلب موارد باکتری غالب می باشد . موارد کشت خالص باکتریهای دیگر از جمله سیتروباکتر ، پروتئوس ، پseudوموناس ، تقریباً " بیش از نصف محیط کشت جامد را اشغال کرده است .

جدول شماره ۷ گروه سروتیپ سالمونلاهای جدا شده از مدفوع افراد مورد بررسی را نشان می دهد .

جدول شماره (۷)

تعداد سالمونلا	گروه	سروتیپ
۲	B	S.derby
۱	B	S.travis
۱	B	-
۱	-	not typeable

همانطور که ملاحظه می شود دو نمونه از سروتیپ S.derby و یک نمونه سروتیپ S.travis ، گروه نمونه دیگر مشخص شد . اما به هیچ یک از آنتی سرمهای O و H پاسخ نداد و گونه آن تعیین نشد . بالاخره دیگری not typeable بود و با سرمهایی که ما در اختیار داشتیم تیپ نشد ، احتمال دارد که گونه جدیدی باشد .

بحث و تفسیر:

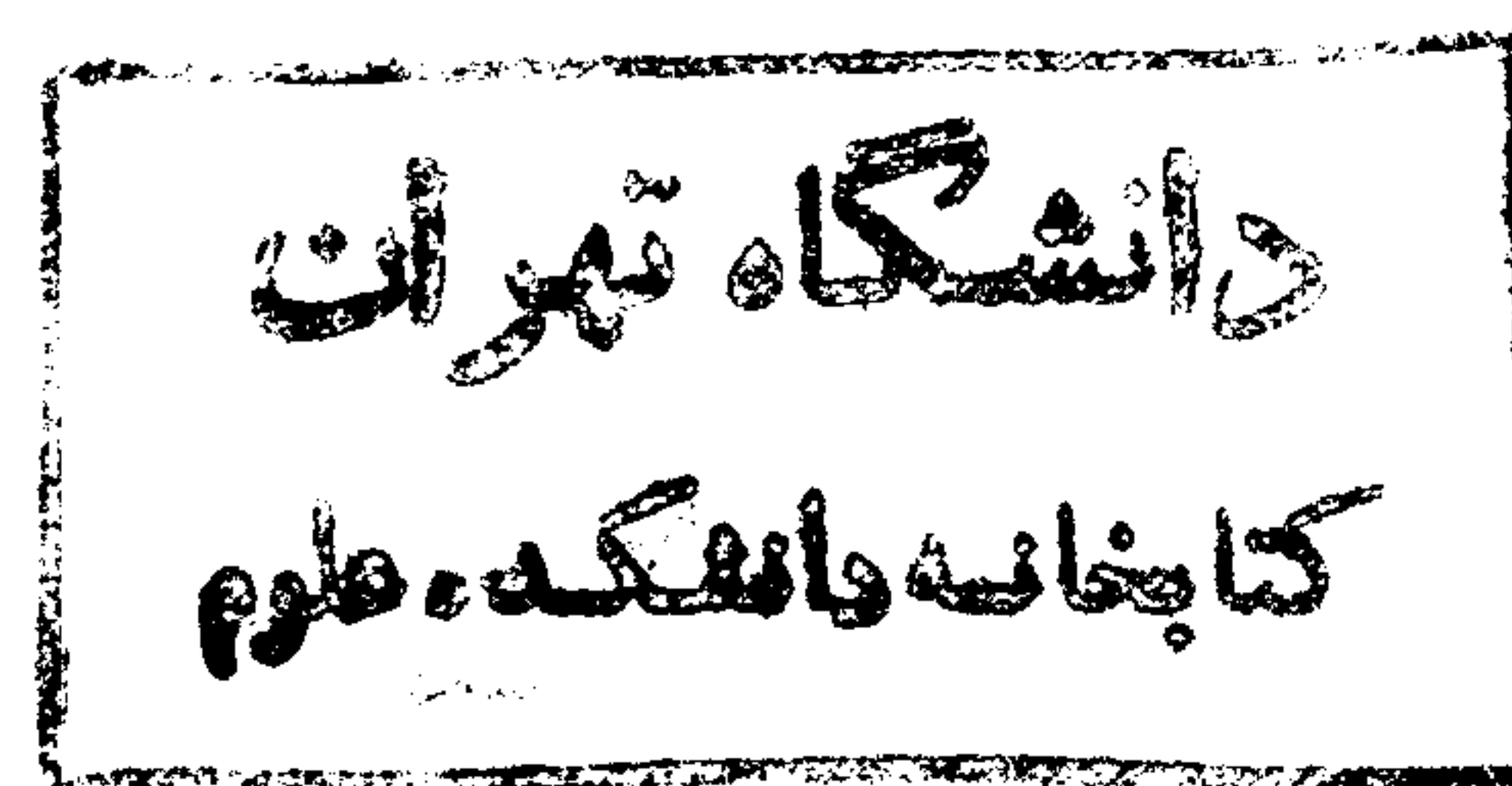
باتوجه به این موضوع که یکی از راههای کنترل بیماری حصبه شناسایی ناقلین مزمن، کنترل و معالجه آنها است، ما چنین بررسی‌ای را در بین کارکنان مراکز رفاه که تماس مستقیم با اطفال دارند مفید دانستیم. جهت انجام این بررسی روش کشت مدفوع مطمئن تر است اما لزوم آزمایشهای مکرر و همچنین عدم همکاری افراد تقریباً آنها ناممکن می‌سازد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که علاوه بر عوامل مختلف دیگر حداقل تیتراژ معنی‌دار با بومی بودن بیماری نیز بستگی دارد. تیتراژ معنی‌دار در کشور انگلستان که بیماری حصبه بومی نیست یا بندر هنگ‌کنگ که بیماری حصبه بومی آنجاست متفاوت می‌باشد (۷). ما در این مطالعه تعداد ۸۱۰ نفر از کارکنان مراکز رفاه را برای سرولوژی نمونه خون مورد آزمایش قرار دادیم. تیتراژ معنی‌دار را $\frac{1}{10}$ انتخاب نمودیم زیرا با تیتراژ بالا امکان اینکه ناقلین واقعی در روش سرولوژیکی پاسخ مثبتی ندهند وجود دارد. تعداد ۷۳ نفر از افراد مورد بررسی به تست اگلوتیناسیون با تیتراژ $\frac{1}{10}$ جواب مثبت دادند. که خوشبختانه هیچیک از این افراد مشکوک جزو ناقلین سالمونلاتیفی و پاراتیفی نیستند. ضمناً ما رابطه معنی‌دار خاصی بین پاسخهای مثبت روش سرولوژیکی با جنس افراد مورد بررسی یا ابتلا قبلی آنها به بیماری حصبه بدست نیاوردیم. پاسخ ۷۳ نفر از افراد مورد بررسی به تیتراژ $\frac{1}{10}$ آنتی‌ژن Vi را می‌توان معلول دلایل زیر دانست:

- ۱- وقتی تیتراژهای پایین مثلاً "تیتراژ $\frac{1}{10}$ بعنوان تیتراژ معنی‌دار انتخاب می‌شود احتمال اینکه افراد سالم بصورت مثبت‌های کاذب جلوه کنند وجود دارد (۷).
- ۲- بررسیهای انجام شده بوسیله محققین نشان می‌دهند که بسیاری از گونه‌های فامیل آنتروباکتریاسه نیز مانند سالمونلاتیفی و پاراتیفی دارای آنتی‌ژن مشابه با آنتی‌ژن Vi هستند (۸) که می‌تواند محرک تولید آنتی‌بادی باشند که با آنتی‌ژن Vi پاسخ مثبت ایجاد کند.
- ۳- بررسیهای ایمنولوژیک انجام شده نشان داده‌است که در افراد نرمال امکان وجود آنتی‌بادی وجود دارد اما مقدار آن از حداقل میزان قابل قبول کمتر است (۹).
- ۴- بعلاوه ایجاد واکنش متقابل (Cross reaction) بین گونه سالمونلا و سایر آنتروباکتریاسه‌ها و برخی باکتریهای گرم منفی مثل پseudomonas که معمولاً "جزو فلور نرمال روده‌اند امکان ایجاد آنتی‌بادی Vi در بدن وجود دارد (۱۰ و ۱۱) شاید همین عمل متقابل نیز یکی از دلایل ایجاد آنتی‌بادی Vi در عده‌ای از افراد مورد مطالعه بوده است.

خلاصه:

بمنظور تشخیص ناقلین مزمن احتمالی سالمونلاتیفی در بین کارکنان ۳۵ مرکز رفاه شهر تهران ۸۱ نفر از کارکنان این مراکز که ۷۱۰ نفر آنها مرد و ۱۰۰ نفرشان زن بوده‌اند با استفاده از روش سرولوژیکی (جستجوی آنتی‌بادی Vi در سرم خون) و روش باکتریولوژیک (کشت مدفوع بدفعات) تحت بررسی قرار گرفتند. از افراد مذکور ۷۳ نفر (۹٪) که سن آنها بین ۱۵ تا ۶۵ سال بود با تیتراژ نهایی $\frac{1}{10}$ نسبت به آنتی‌ژن Vi پاسخ مثبت داشتند. در بین ۱۵۴ نفر افرادی که قبلاً "به حصبه مبتلا شده بوده‌اند ۱۰ نفر (۶/۴٪) و در بین ۹۹ نفر افرادی که اقوام نزدیکشان در گذشته به بیماری حصبه مبتلا بوده‌اند ۱۱ نفر (۱۱/۱٪) به آنتی‌ژن Vi پاسخ مثبت داشته‌اند. از مجموع ۷۳ نفری که با تیتراژ $\frac{1}{10}$ به آنتی‌ژن Vi پاسخ مثبت داده‌اند

۶۵ نفر (۹ % مردان) مرد و ۸ نفر (۸ % زنان) زن بوده‌اند .
کشت مدفوع (تا سه نوبت) ۷۳ نفر از افراد فوق‌الذکر نشان‌داد که فلور روده آنها معمولا " نرمال
است ، و در برخی از آنان باکتری‌هایی از جمله سیتروباکتر ، پروتئوس ، پسودوموناس ، نیز تقریبا "نیمی از محیط‌کشت
جامد مدفوع را اشغال کرده بودند و در ۵ مورد نیز سالمونلا دیده شد . تست‌های مختلف بیوشیمیائی
(Galerie-Api) و سرولوژیک هیچیک از سالمونلاهای متعلق به گونه تیفی یا پاراتیفی را نشان ندادند
و به این ترتیب خوشبختانه هیچیک از افراد مورد بررسی از ناقلین مزمن سالمونلاتیفی و پاراتیفی نبودند .



REFERENCES

- 1- Charles M.Nolan, John.C.Feeley, Paul.C.White.Jr.Edith.A.Hambie Susan.L. Brown.and Kwel-Hay Wong (1980).Evaluation of a new assay for vi antibody in chronic carrier of salmonella typhi. J.Clin.Microbiol. 12.22-26.
- 2- Sharp.J.C.,M. (1966). Chronic enteric carriers: management of personal problem. Br.Med.J.2.551-555.
- 3- P.R. Edward and W.H. Ewing(1962) Identification of Enterobactriaceae.
- 4- Leon Leminor(1967) Diagnostic de laboratoire de Enterobactries.
- 5- Kauffmann(F) and White(L)(1969). Serological identification of the salmonella in Difco technical information.
- 6- Brodie.J.(1977). Antibodies and the aberdeen typhoid outbreak of 1964.1. the widal reaction.J.Hyg. 79.161-180.
- 7- P.Y. Chau and C.H. Chan(1967). Modified vi tests in screening of typhoid carriers. J.Hyg.Camb. 77.97-104.
- 8- Whiteside, R.E. and E.E.Baker(1959). The vi antigens of the enterobactriaceae. Immunologic and biologic properties. J.Immun. 83. 687.
- 9- F.Espersen.J.B.Hertz.N.Hoiby and H.H.Mogensen(1980).Quantition immnoelectrophoretic analysis of salmonella typhi antigens and of corresponding antibodies in human sera. Acta.Path.Microbiol. Scand.Sect.B,88. 237-242.
- 10-Brown. G.T.H.& Johnes, P.W.:(1980). Crossed immunoelectrophoresis and crossed-line immunoelectrophoresis of samonella dublin antigens. J.Gen.Microbiol. 116.315-322.
- 11-Espern.F.Hoiby.N.& Hertz. J.B.(1980). Cross rection between salmonella typhi and 24 other bactrial species. Acta. Path. microbio Scand. Sect. 88. 243-248.