

باسیل های گرم مثبت بدون اسپور

دکتر رضا خاشعی

باسیل های گرم مثبت بدون اسپور: شامل طیف زیادی از باکتری های هوازی و بی هوازی بود، که در بین انواع هوازی اجناس مایکوباکتریوم و کورینه باکتریوم مهمترین آنها از نظر پزشکی هستند.

کورینه باکتریوم (*Corynebacterium*):

باکتری هایی هستند چماقی شکل (کورینه به معنای گرز یا چماق است = club shape)، یعنی باسیل هایی که یک طرف آنها به صورت گرز یا چماقی شکل است و طرف دیگر نازکتر است. از ویژگی های تشخیصی این باکتری ها حضور دانه های متاکروماتیک (volutin) بوده که از جنس پلی متافسفات بوده و جزء inclusion bodies (مواد اندوخته ای) هستند. این رنگ دانه ها ذخیره ای از فسفات هستند ولی منبع انرژی باکتری نیستند.

این جنس دارای گونه های زیادی است که اکثر آنها فلور نرمال بدن (در غشای مخاطی nasopharynx، دستگاه genital، چشم، سطح پوست) بوده و به دیفتروئیدها یا کورینه فرم ها موسومند. تنها پاتوژن آن در انسان کورینه باکتریوم دیفتریه (*C. diphtheriae*) است که عامل بیماری دیفتری (عمدتاً در کودکان) می باشد.

آرایش و نحوه قرارگیری باسیل ها بین دیفتروئیدها و عامل دیفتری فرق دارد. طرز قرارگیری باسیل های مولد دیفتری به صورت حروف چینی یا Y، Z و X است ولی در دیفتروئیدها به صورت پشت سر هم و شبیه به پله های نردبان هستند (palisades form).

ویژگی های *C. diphtheriae*:

رنگ آمیزی اختصاصی برای مشاهده دانه های متاکروماتیک در کورینه باکتریوم ها رنگ آمیزی آلبرت است. دانه های متاکروماتیک در دیفتریه عمدتاً در دو قطب باکتری قرار می گیرند و شکل سنجاق قفلی به باکتری می دهند ولی در دیفتروئیدها معمولاً نامنظم (irregular) بوده و ممکن است در بخش های مختلف باسیل قرار بگیرند. کورینه باکتریوم دیفتریه یک باسیل هوازی بوده و روی اغلب محیط های معمول رشد می کند. مهمترین محیط های کشت به کار رفته برای جداسازی آن عبارتند از:

(۱) محیط (B.A) Blood agar: کلنی های کوچک و خاکستری رنگ ایجاد می کند. احتمال دارد biotype میتیس

(mitis) کورینه باکتریوم دیفتریه، روی این محیط ایجاد همولیز بتا (β) کند.

(۲) محیط loeffler: اولین بار لوفلر این محیط را ابداع کرد. او باکتری را در محیط سرم منعقد گاو کشت داد که این محیط بهترین محیط کشت برای مشاهده باسیل ها در زیر میکروسکوپ، افتراق دادن کلنی های انواع بیوتیپ ها و نیز دیدن دانه های متاکروماتیک است.

(۳) محیط آگاردار حاوی سیستئین و تلوریت پتاسیم: در واقع محیط ژلوز خونداری ای است که دارای ۰/۰۴ درصد تلوریت پتاسیم است. باکتری به خاطر احیاء کردن یون تلوریت به تلوریوم در سلول باعث ایجاد کلنی های خاکستری متمایل به سیاه رنگ همراه با یک هاله قهوه ای (ناشی از تولید سیستئیناز و تجزیه سیستئین) می شود که دارای ارزش تشخیصی می باشد. (البته استافیلوکوک ها و استرپتوکوک ها نیز می توانند چنین کلنی هایی بر روی این محیط تولید کنند).

(۴) محیط Tinsdale

(۵) Colistin-nalidixic agar (CNA)

C. diphtheriae دارای چهار بیوتایپ بوده که بر اساس ویژگی های رشدی (مورفولوژی کلنی)، واکنش های بیوشیمیایی و شدت بیماری طبقه بندی می شوند:

(۱) gravis: به نظر می رسد که این بیوتایپ ویرولانسی بیشتری دارد (به خاطر داشتن فاکتورهای اضافی علاوه بر توکسین). ولی این موضوع ثابت نشده و همه آنها با هم هیچ فرقی ندارند.

(۲) mitis, (۳) intermedius, (۴) belfanti

بیماری زایی (Pathogenesis):

دیفتری یک بیماری منتقله از طریق upper respiratory tract (دستگاه تنفسی فوقانی) است. محل استقرار باسیل ها در nasopharynx است، که از یک فرد آلوده به یک فرد سالم منتقل می شود. به علاوه، محل قرارگیری آن می تواند روی پوست های صدمه دیده افراد باشد که به آن دیفتری پوستی یا جلدی می گویند که در همه جهان شیوع ندارد و فقط در نواحی گرمسیری دیده می شود.

بیماری زایی کورینه باکتریوم دیفتریه ناشی از یک اگزوتوکسین قوی به نام دیفتریاتوکسین (DT) است که فقط سویه های لیزوژنیک، این ژن tox را دارند و به عبارتی سویه های لیزوژن tox⁺ هستند.

لیزوژن:

یعنی باکتری‌هایی که حامل فاز هستند. در واقع ژن فازها در داخل DNA باکتری جایگزین (integrated) شده که به این باکتری‌ها، لیزوژن می‌گویند. مهمترین فاز باکتری دیفتری، باکتریوفاز β است. البته انواع دیگری مانند γ و δ هم است ولی مهمترین آن β است. دیفتری یک بیماری است که در اثر همیاری و سینرژیستی دو ارگانیسم ایجاد می‌شود:

(۱) فاز

(۲) کورینه باکتریوم دیفتریه

تولید توکسین به هنگام القاء شدن فاز در ژنوم integrated باکتری لیزوژن و نهایتاً لیز سلول رخ می‌دهد. اگر چه سم زایی تحت کنترل ژن فازی است ولی تهاجم (نه به معنای وارد شدن باکتری به خون) تحت کنترل ژن‌های باکتری است.

تغییر در اثر لیزوژنی (Lysogenic conversion):

اولین بار pittman نشان داد که این مسئله در مورد کورینه باکتریوم دیفتریه وجود دارد. یعنی اگر سویه‌های توکسیژنیک در مجاورت آنتی سرم اختصاصی فاز قرار داده شوند، سویه‌ها قابلیت تولید توکسین را از دست می‌دهند و به صورت سویه‌های بدون توکسین در می‌آیند (tox^-). اگر مجدداً این سویه‌ها در مجاورت باکتریوفاز β قرار داده شوند، دوباره توانایی تولید توکسین را پیدا خواهند کرد (tox^+). که به این پدیده تغییر در اثر لیزوژنی می‌گویند.

شرایط تولید توکسین در محیط *in vitro* آزمایشگاه

(۱) اکسیژن باید بسیار فراوان باشد (شرایط هوازی زیرا باکتری aerobic است).

(۲) محیط کشت قلیایی (pH حدود ۷/۸-۸) باشد.

(۳) میزان آهن باید کمتر از حدی باشد که برای رشد نرمال باکتری مورد نیاز است، به عبارتی باکتری باید در مضعه آهن قرار بگیرد ($0.14 \mu\text{g/ml}$).

(۴) فشار اسمزی، غلظت اسیدهای آمینه و در دسترس بودن منابع کربن و نیتروژن مناسب.

ولی فاکتورهای موثر در تولید توکسین در شرایط *in vivo* (بدن انسان) به خوبی معلوم نشده است.

- دیفتریاتوکسین (DT): یک توکسین پپتیدی با وزن مولکولی ۶۲ کیلودالتون بوده که دوز کشنده آن $0.1 \mu\text{g}$ به ازای هر کیلوگرم وزن بدن انسان است. این توکسین پلی پپتیدی در ساختمان خود دارای دو جزء (fragment) است:

(۱) قطعه A (active): بخشی که در حد مولکولی عمل می کند و در بیماری زایی دخیل است.

(۲) قطعه B (binding): بخشی که در اتصال توکسین به سلول های بدن نقش دارد.

در واقع دیفتریاتوکسین وقتی وارد خون انسان می شود تحت تاثیر پروتئازها تجزیه شده و در اثر شکسته شدن دو پیوند دی سولفیدی موجود در آن به دو قطعه جداگانه تقسیم می شود:

(۱) قطعه A مقاوم به حرارت

(۲) قطعه B حساس به حرارت

قطعه B خود از دو جزء تشکیل شده:

(۱) receptor domain که به غشاء سلول های هدف (سلول های قلبی، عصبی و کلیوی) متصل می شود.

(۲) translocation domain که باعث ایجاد منفذ (pore) در غشاء آندوزوم (endosome) در داخل سلول شده و قطعه A را از منفذ عبور داده تا وارد سیتوزول شود.

رسپتورهای توکسین دیفتری:

(۱) Heparin binding epidermal growth factor (HBEGF) (فاکتور رشد اپی درمی متصل شونده به هپارین = HBEGF).

(۲) مولکول CD9

وقتی توکسین از طریق قطعه B به سلول هدف متصل شد، از طریق اندوسیتوز وابسته به رسپتور وارد سلول می شود. در واقع وارد حفره ای می شود که بعداً توسط غشاء پوشیده می شود که به آن endosome می گویند که یک نوع واکوئل است. به محض ورود توکسین، pH آندوزوم به تدریج اسیدی شده و translocation domain از قطعه B فعال می شود و یک منفذ (pore) در غشاء ایجاد می کند. قطعه A به سمت سیتوزول منتقل شده و باعث توقف سنتز پروتئین در سلول ها می شود و سلولی که سنتز پروتئین در آن مهار شود محکوم به مرگ است.

مکانیسم عملکرد سم دیفتری از طریق غیر فعال شدن یا ریبوزیله کردن elongation factor 2 (EF2) است (در واقع ADP ریبوزیله کردن EF2). این فاکتور برای انتقال پلی پپتیدیل-tRNA از جایگاه پذیرنده به جایگاه دهنده در ریبوزوم های یوکاریوتی مورد نیاز است) که این کار را در مجاورت NAD⁺ انجام می دهد. از طرفی سنتز DT توسط یک المنت کروموزومی به نام سرکوب کننده توکسین دیفتری (diphtheria toxin repressor = DTxR) تنظیم می شود. این پروتئین در حضور غلظت های زیاد آهن به اپراتورژن tox متصل و مانع از تولید توکسین می شود.



در باکتری سودوموناس آئروجینوزا سمی وجود دارد به نام اگزوتوکسین A، که عملکرد آن شبیه توکسین دیفتتری است ولی از نظر جایگاه عملکردی متفاوت است (عمدتاً هپاتوسیت ها) کبد پاتولوژی:

دیفتتری یک بیماری بومی (endemic) در کودکان است و تظاهرات بالینی آن به دو صورت است:

(۱) فرم pharyngitis: شایع ترین فرم بیماری

(۲) فرم cotaneous (جلدی): در نواحی گرمسیری دیده می شود.

وقتی باکتری وارد مخاط بینی- حلق (nasopharynx) می شود، در مخاط گلو، بعد از ۶-۲ روز سم تولید می کند (البته در سویه های tox مثبت زیرا سویه های tox- هم موجودند که ایجاد علائم بالینی شدیدی نخواهند کرد و نهایتاً عفونت های subclinical ایجاد می کنند). توکسین تولید شده توسط باکتری وارد دستگاه گردش خون شده و به سلول هدف خود می رسد و اثر خود را اعمال می کند. یکی دیگر از عوارض سم، روی خود سلول های مخاطی گلو است. سم باعث تخریب اپی تلیوم های ناحیه حلق، حنجره و روی زبان می شود که منجر به تشکیل غشاء کاذب می شود.

غشاء کاذب (Pseudomembrane):

مجموعه باکتری ها، سلول های تخریب شده اپی تلیومی، رشته های فیبرین و گلبول های سفید را غشاء کاذب می گویند که به رنگ آبی مایل به خاکستری است و یک حالت چرمی مانند دارد و این ورقه چرمی روی زبان و حنجره وجود دارد، که بر خلاف چرک ناشی از استرپتوکوک گروه A به راحتی برداشته نخواهد شد و برداشتن آن با درد و خونریزی همراه است که این موضوع یک معیار تشخیصی برای پزشکان است. دیگر علائم بیماری به صورت گلو درد، تورم غدد لنفاوی بناگوشی می باشد. عوارض دیفتتری عمدتاً به دو صورت است:

(۱) myocarditis

(۲) دمیلینه شدن اعصاب

یافته های بالینی:

تب، گلودرد، ناهماهنگی در ریتم قلبی، مشکلاتی در بینایی و صحبت کردن و اگر درمان با تاخیر صورت گیرد ممکن است فلج موقت هم ایجاد شود. زخمی که در دیفتتری جلدی ایجاد می شود، نسبتاً شدید است و حالت اولسر

ایجاد می کند و این زخم معمولاً التیام نمی یابد. ولی از طرفی میزان توکسینی که در دیفتری جلدی ایجاد می شود کم بوده و جذب پائین تری هم دارد و به همین علت افراد دارای یک تیترا آنتی توکسین نسبتاً بالایی در خونشان خواهند شد.

در کل ویرولانسی باکتری به توانایی آن جهت استقرار عفونت، رشد سریع و تولید توکسین نسبت داده می شود. کورینه باکتریوم دیفتریه، یک باکتری invasive (تهاجمی) نیست بلکه در محیط خودش به صورت موضعی باقی می ماند و سم آن وارد خون می شود ولی هیچ گاه خود باکتری وارد زیر مخاط و خون نخواهد شد.

تشخیص آزمایشگاهی:

2
پزشک، بیمار مشکوک به دیفتری را به آزمایشگاه ارجاع داده که در آنجا ابتدا دو سواب داکرونی از نازوفارنکس گرفته می شود و بعد از تهیه گسترش (smear) با رنگ های آلبرت و گرم برای دیدن دانه های متاکروماتیک و آرایش حروف چینی رنگ آمیزی می شوند.

از طرفی یکی دیگر از سواب ها در ژلوز خوندار (BA) یا B.A حاوی تلوریت پتاسیم یا B.A حاوی سیستئین-تلوریت (CTBA) کشت داده می شود و بعد از ظاهر شدن کلنی ها باید toxigenicity ایزوله ها مشخص شود، یعنی آیا کورینه باکتریوم جدا شده tox+ یا tox- است. برای این کار چند روش وجود دارد:

(۱) Elektest: در قدیم فقط همین روش وجود داشت که یک تست فنوتیپی و gold standard جهت تشخیص توکسین است.

یک نوار کاغذ (strip) را به آنتی توکسین باکتری آغشته کرده و سپس این نوار کاغذ روی محیط کشت گذاشته شده و بعد با لوپ از بالا تا مجاورت این کاغذ سه باکتری کشت داده می شود:



(۱) سویه tox+ reference (به عنوان کنترل مثبت)

(۲) سویه tox- reference (به عنوان کنترل منفی)

(۳) باکتری جدا شده از بیمار

سپس پلیت را به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شده و بعد نتیجه قرائت می شود. در پلیت آنتی توکسین و توکسین وجود دارد (حداقل در مورد سویه refrence مثبت که tox+ است). در طول این مدت، چون آگار نرم است هر دو منتشر می شوند و در محل تلاقی آنتی توکسین و توکسین یک خط رسوبی (precipitation line) ایجاد می شود، که اگر این خط رسوبی تشکیل شود، نشان دهنده این است که باکتری سم

داشته است. پس در سویه مثبت این خط ایجاد می شود و در سویه منفی چون اصلاً سمی وجود نداشته پس هیچ خط رسوبی ایجاد نمی شود. حال اگر در سویه جدا شده از بیمار این خط رسوبی وجود داشت نتیجه می گیریم که سویه مورد نظر $tox+$ و اگر وجود نداشت $tox-$ بوده است.

(۲) PCR: امروزه با PCR و با استفاده از پرایمرهای ژن tox می توان سویه توکسی ژنیک را شناسایی کرد.

(۳) روش ELISA

(۴) روش immunochromographic strip

درمان (Treatment):

- (۱) مهمترین و اولین اقدام در درمان، تزریق آنتی توکسین است (ایمن سازی غیر فعال).
 - (۲) تجویز آنتی بیوتیک برای اینکه باکتری ها سم تولید نکنند و باکتری های گلو از بین بروند.
- دیفتری یک فوریت پزشکی (emergency) است یعنی بیمار مبتلا به دیفتری را مثل مننژیت باید بلافاصله تحت درمان قرار داد و پزشک منتظر آزمایشگاه نخواهد ماند. مهمترین اقدام serotherapy است. یعنی تزریق پاد زهر (آنتی بادی یا آنتی سرم) به بدن یک شخص بیمار، چون تمام عوارض و علائم دیفتری ناشی از سم آن است. این آنتی توکسین فقط توکسینی که در خون باشد را خنثی می کند. یعنی اگر دیر اقدام به درمان شود و توکسین جذب سلول ها شده باشد، با عوارضی همراه خواهد بود.

کنترل:

اولین اقدام، جداسازی بیماران و تحت درمان قرار دادن آنها و برای پیشگیری از بیماری واکسیناسیون (ایمن سازی فعال) انجام می شود. اگر بیماری زایی یک باکتری ناشی از تولید سم باشد (مثل دیفتری) برای تهیه واکسن به روش زیر عمل می کنند: به طور کلی سم دارای دو خاصیت است:

(۱) خاصیت سمی (toxic) (۲) خاصیت آنتی ژنیک

اگر سم در معرض مواد شیمیایی مثل فرمالدئید یا گلو تارآلدئید قرار داده شود، خاصیت سمی آن از بین رفته ولی خاصیت آنتی ژنیک آن باقی می ماند. در این حالت سم به ماده ای به نام توکسوئید (toxoid) تبدیل شده که فقط خاصیت آنتی ژنیک و تحریک کنندگی سیستم ایمنی را دارد. حال توکسوئید دیفتری را همراه با توکسوئید تتانوس (کزاز) و باسیل های کشته شده پرتوسیس (سیاه سرفه) در قالب واکسن ثلاث یا سه گانه یا DPT (دیفتری، سیاه سرفه و کزاز) به کودکان تزریق می شود.

این واکسن در ۲ ماهگی، ۴ ماهگی، ۶ ماهگی، ۱۸ ماهگی و بدو ورود به دبستان تزریق شده و بهتر است هر ۱۰ سال یک بار دوز یادآور تزریق شود.

در واکسن های یادآور (booster injection)، واکسن به صورت دوگانه است (Td). در واقع جزء پرتوسیس (سیاه سرفه) از آن حذف شده است.

سایر کورینه باکتریوم ها:

دیفترئوئیدها یا به عبارتی کورینه فرم ها (coryneforms) که فلور نرمال پوست و غشاهای مخاطی انسان هستند از نقطه نظر نیازمندی آنها به چربی به دو دسته تقسیم می شوند:

(۱) گونه های چربی دوست (lipophilic)

(۲) گونه های غیر چربی دوست (nonlipophilic).

مهمترین گونه های غیر چربی دوست *C. ulcerans* و دیگری *C. pseudotuberculosis* می باشند که مهمترین ویژگی این دو گونه داشتن احتمالی ژن *tox* است (به عبارت دیگر ممکن است *tox+* باشند). گونه سودوتوبرکولوزیس فقط در حیوانات است ولی *C. ulcerans* ممکن است تظاهراتی شبیه به دیفتری در انسان ایجاد کند.

در این دسته گونه هایی چون *C. xerosis* (در پلک چشم و پوست وجود دارد بنابراین ممکن است در عفونت های چشمی دخیل باشد)، *C. minutissimum* (در پوست وجود دارد ولی تحت شرایطی همچون وجود بیماری های زمینه ای مثل دیابت، عرق کردن های زیاد و چاقی در انسان ایجاد بیماری اریتراسما می کند که یک عفونت قارچی سطحی است)، *C. auris* (مخصوص عفونت گوش) و یا *C. pseudodiphthericum* (مخصوص عفونت دستگاه تنفسی) نیز وجود دارند.

یک گونه نسبتاً مهم دیگر *C. glucuronolyticum* است. مهمترین ویژگی این باکتری وجود آنزیم اوره آز و لذا شرکت در عفونت های دستگاه ادراری است چون این آنزیم اوره موجود در ادرار را تجزیه و به آمونیاک و CO_2 تبدیل می کند. آمونیاک باعث قلیایی شدن ادرار می شود در نتیجه حلالیت یون های Ca و Mg کاهش می یابد و لذا در ایجاد عفونت ها نقش دارد.

در چربی دوست ها مهمترین آنها یکی *C. jeikeium* است که فلور طبیعی پوست بدن است ولی در افرادی که به مدت طولانی در بیمارستان بستری می شوند یا افرادی که نقص سیستم ایمنی دارند عفونت های فرصت طلب را ایجاد می کند و مهمترین ویژگی اینها مقاومت نسبت به اکثر آنتی بیوتیک ها است (drug resistance (DR)).

گونه دیگر *C. urealyticum* است که تولید آنزیم اوره آز کرده و در عفونت های دستگاه ادراری با افزایش pH نقش دارد که اثراتش شامل ایجاد کریستال های ادراری و دلمه های (encrusted) شدن سلول ها است. کورینه باکتریوم های بی هوازی، پروپیونی باکتریوم (*Propionibacterium*) نامیده می شوند. این باکتری ها بر روی پوست انسان وجود دارند که مهمترین گونه آن *P. acnes* بوده که عامل بیماری آکنه است و مهمترین فاکتور بیماری زایی آن آنزیم لیپاز است که در نواحی چربی دار بدن که جوش هم در این مناطق دیده می شود، چربی ها را تجزیه می کند و آنها را به اسید چرب تبدیل می کند که همین اسیدهای چرب باعث ایجاد آکنه می شوند و علت مصرف آنتی بیوتیک نیز جلوگیری از فعالیت لیپولیتیک آنها می باشد.

از آنجایی که این باکتری بر روی پوست زندگی می کند لذا اگر به هنگام گرفتن نمونه خون محل نمونه گیری به خوبی ضد عفونی نشود، وارد خون شده و باعث مثبت شدن کشت خون می شود و از طرفی در افراد مستعد (همچون ضعف ایمنی یا دارای اختلالات دریچه های قلبی) می تواند در نواحی مختلف بدن از جمله دریچه های قلبی مستقر شده و ایجاد عفونت کنند (آندوکاردیت).

Listeria

جنس دیگر لیستریا است که به صورت یک باسیل کوتاه گرم مثبت بدون اسپور و بی هوازی اختیاری می باشد. دارای گونه های زیادی است و در طبیعت، خاک، آب و بدن برخی حیوانات زندگی می کند. مهمترین گونه آن که در انسان و حیوانات بیماری زا است گونه مونوسایتوژنز (*L. monocytogenes*) می باشد. این باکتری دو تفاوت با جنس کورینه باکتریوم دارد:

(۱) متحرک است ولی فقط در درجه حرارت اتاق (۲۸-۲۲ درجه) و حرکتش به صورت غلطان (tumbling) است و در ۳۷ درجه سانتی گراد متحرک نیست و به عبارتی تازه هایشان را از دست می دهند.

(۲) ایجاد هاله بتاهمولیز باریک اطراف کلونی های لیستریا ^B

از ویژگی های این باکتری بقاء در pH پائین، غلظت های بالای نمک و افزایش رشد آن در ۴ درجه سانتی گراد است. از این ویژگی در آزمایشگاه به این صورت که ماده بالینی یا ماده غذایی مورد نظر را ابتدا در یخچال به مدت دو هفته می گذارند و بعد در محیط های مناسب، کشت می دهند تا کلنی ها به صورت خالص ظاهر شوند، استفاده می شود. به عبارتی در ۴ درجه سانتی گراد باکتری ها غنی می شوند که به این تکنیک cold enrichment (غنی سازی در سرما) گفته می شود.

لیستریا از نظر ویژگی های آنتی ژنیکی تازه (H) و سوماتیک (O) به چندین تیپ تقسیم می شود که مهمترین آنها $1/2a$ ، $1/2b$ و $4b$ هستند (عمده ترین تیپ هایی که در عفونت های انسانی دخیلند) به ویژه تیپ $4b$ که اکثر عفونت های انسانی ناشی از این تیپ است و اولین بار هم در یک اپیدمی که در اثر خوردن پنیرهای تهیه شده از شیرهای غیر پاستوریزه در آمریکا روی داد مشاهده شد که تیپ $4b$ دخیل است. به بیماری های ناشی از لیستریا، لیستریوز گفته می شود (listeriosis).

پاتوژن لیستریا:

باکتری عمدتاً از راه دستگاه گوارش وارد بدن انسان می شود (شیر نجوشیده یا پاستوریزه نشده و یا محصولات لبنی تهیه شده از شیر نجوشیده و سبزیجات شسته نشده) ولی از طریق مدفوع دفع می شود و تحت شرایط خاصی ایجاد بیماری می کند (لیستریا یک انگل اختیاری داخل سلولی است). به عبارتی شرایط رشد باکتری در بدن در داخل سلول است.

سلول های هدف لیستریا سلول های اپی تلیال، اندوتلیال و هیاتوسایت ها (سلول های کبدی) هستند. باکتری دارای چندین پروتئین اتصال مثل Ami، FbpA و فلاژلین بوده که در اتصالش به سلول های میزبانی و ویروالانس نقش دارند. باکتری توسط یک پروتئین سطحی دیواره سلولی به نام اینترنالین A و B (internalin) به رسیپتور خاص خود به نام ای-کادهرین (E-cadherin) متصل می شود که یک آدهسین وابسته به کلسیم است و بعد از اتصال توسط آندوسیتوز وابسته به رسیپتور وارد سلول شده و در داخل فاگوزوم قرار می گیرد و pH فاگوزوم ها اسیدی می شود که این باعث فعال شدن همولیزین باکتری به نام لیستریولیزین O (LLO) و دو آنزیم فسفولیپاز C² می شود. عفونت در انتروسیت ها یا M cells در پلاک های پایر (Peyer) شروع می شود.

با تولید LLO غشای فاگوزوم پاره می شود و لذا باکتری در سیتوزول قرار می گیرد و شروع به تکثیر می نماید. در این هنگام یک پروتئین سطحی به نام ActA باعث فعال شدن پلیمریزاسیون اکتین سلولی شده و اکتین های سلول را مانند یک دم پشت خود حمل می کند و باعث هل دادن باکتری به سمت غشای سلول می شود و این مسئله منجر به تشکیل برآمدگی هایی در غشاء سلول شده که filopod نامیده می شود. بدین ترتیب باکتری می تواند خود را به سلول مجاور برساند که به این نحوه انتقال، انتشار سلول به سلول (cell to cell transmtion or dissemination) گفته می شود. چنین ویژگی از انتشار در *shigella flexneri* و ریکتسیاها نیز دیده می شود. زن

های دخیل در لیز غشایی، تکثیر داخل سلولی و حرکت سلول به سلول همگی در یک دسته ژنی موسوم به prfA قرار دارد (Positive regulatory factor).

حال این ویژگی انتشار سلول به سلول برای باکتری چه فایده ای دارد؟

در معرض سیستم ایمنی بدن و آنتی بیوتیک ها قرار نمی گیرد.

لیستریوز برای دو دسته افراد مهم است:

(۱) افراد مبتلا به انواع بدخیمی ها و سرطان ها یا دارای پیوند، زیرا سیستم ایمنی سرکوب و تضعیف (suppress) شده است.

(۲) باکتری لیستریا تمایل خاصی به بافت جفت و جنین دارد (زنان باردار)

ایمنی موثر در لیستریا ایمنی سلولی است و ایمنی هومورال تاثیری ندارد.

علائم بالینی (Clinical findings):

(۱) در بزرگسالان: در افراد نرمال ایجاد نمی شود یا به صورت غیر سمپتوماتیک است، ولی در افراد ایمونوکامپرومايز به صورت مننگوانسفالیت (meningoencephalitis)، باکتری می و به ندرت عفونت های کانونی دیده می شود. در افراد صلاحیت دار ایمنی (نرمال)، به دنبال ورود باکتری به بدن از طریق گوارش ممکن است علائمی دیده نشود یا اینکه یک گاستروانتریت تب دار را از خود نشان می دهند (دوره کمون ۴۸-۶ ساعت). علائم آن شامل تب، لرز، سردرد، دردهای عضلانی، درد شکمی و اسهال می باشد. بیماری خود محدود شونده است و معمولاً کشت باکتری از نمونه های مدفوع انجام نمی شود.

(۲) perinatal: بسته به اینکه چه زمانی وارد جنین شود دو نوع تظاهرات داریم:

- شروع زودرس بیماری (early onset-syndrome)

- شروع دیررس بیماری (late onset-syndrome)

(۱) شروع (تظاهرات) زودرس بیماری:

تظاهرات زودرس بیماری به این ترتیب است که اگر مادری باردار باشد و لیستریا وارد بدنش شود چون ضعیف است (در بعضی خانم ها لیستریا می تواند در قسمت واژینال استقرار یابد)، لیستریا از طریق جفت خود را به جنین می رساند و در داخل سلول های جنین رشد و تکثیر خود را ادامه می دهد در نتیجه باعث بیماری granulomatosis

infantiseptica می شود که با سپتی سمی (عفونت خون) همراه با تشکیل ضایعات گرانولومائی در احشاء مختلف بدن چون کبد، طحال، ریه ها، کلیه ها و سیستم عصبی ویژگی می یابد که در نتیجه بچه مرده به دنیا می آید و یا سقط شده و یا با ناهنجاری های جنینی متولد می شود (مرگ نوزاد قبل از تولد و یا طی ۳-۵ روز صورت می گیرد).

۲) شروع (تظاهرات) دیررس بیماری:

در تظاهرات دیررس بیماری اگر مادر با باکتری کولونیزه باشد بچه به هنگام عبور از کانال تولد، باکتری وارد بدنش شده و حداکثر تا سه هفته بچه مبتلا به مننژیت های شدید می شود. اکثر این عفونت ها توسط سروتیپ 4b ایجاد می شود.

تشخیص آزمایشگاهی لیستریا توسط کشت (خون، CSF، بافت های رحمی) انجام می شود (برای خانم هایی که سقط جنین مکرر دارند نیز می تواند انجام شود). برای درمان هم از آمپی سیلین، اریترومايسين یا کوتريموکسازول و یا از آمپی سیلین + جنتامایسین استفاده می شود.

اریزیپلوتریکس (Erysipelotherix):

باسیل گرم مثبت بدون اسپور که گونه پاتوژن آن در انسان روزیوپاتی (*E. rhusiopathiae*) است. این باکتری در محیط مانند خاک و در بدن برخی حیوانات به طور طبیعی زندگی می کند. عمدتاً عامل بیماری در حیوانات است مثلاً در خوک، بوقلمون، اردک و گوسفند عامل بیماری باد سرخ است ولی عامل این بیماری در انسان استریپتوکوک پایوژنز است. باد سرخ

این باکتری عامل بیماری اریزوپلوئید (شبیه باد سرخ) در انسان است که در افراد خاصی به اقتضای شغلی دیده می شود، مثلاً کسانی که با حیوانات سروکار دارند چون دامداران، ماهیگران یا قصاب ها که به بیماری حاصله در انسان اریزوپلوئید یا شبیه باد سرخ یا انگشت شیر دریایی یا انگشت وال (seal finger یا whale finger) گفته می شود (به خاطر تماس مستقیم شکارچیان وال و شیر دریایی با ترشحات این حیوانات).

در اثر تماس مستقیم با ترشحات حیوانات آلوده (در صورتی که زخم یا خراشی در پوست موجود باشد) باکتری وارد بدن انسان شده و بعد از یک دوره کمون یک تا هفت روز حالت التهاب، تورم، قرمزی متمایل به بنفش ایجاد می شود ولی تفاوت بارز این بیماری با سایر عفونت های استافیلوکوکی و استریپتوکوکی در این است که در اریزوپلوئید جریک وجود ندارد و با پنی سیلین به راحتی قابل درمان است (ضایعات عمدتاً روی انگشتان دست است).

دسته دیگری از باکتری های گرم مثبت بدون اسپور، اکتینومایست ها (Actinomycetes) هستند. اکتین در لغت یعنی شعاع، همان طور که از اسم این دسته از باکتری ها پیداست، آرایش شعاعی و رشته ای دارند. در واقع این باکتری ها پس از تقسیم به صورت متصل به هم باقی می ماند ولی بعداً "قطعه قطعه (fragmented)" شده و به صورت قطعاتی به قطر یک میکرون در می آیند که این ویژگی در کورینه باکتریوم ها هم وجود دارد.

به طور کلی این باکتری ها به طور ساپروفیت در خاک، آب و ... و نیز برخی به عنوان فلور طبیعی در غشای مخاطی انسان وجود دارند. سه جنس مهم اکتینومایست ها عبارتند از:

(۱) Actinomyces شعاع

(۲) Streptomyces رشته ای

(۳) Nocardia

اکتینومایست ها شامل انواع هوازی و بی هوازی بوده که مهمترین اجناس هوازی شامل Mycobacteria، Streptomyces، Nocardia، Rhodococcus و Actinomadura می باشند ولی جنس Actinomyces بی هوازی می باشد. اگر چه این باکتری ها از نظر ساختمان دیواره سلولی شبیه باکتری های گرم مثبت هستند ولی با روش رنگ آمیزی ذیل - نلسون یا اسید فاست (مقاوم اسید = Acid fast) که مخصوص مایکوباکتریوم ها است، رنگ آمیزی می شوند. با این روش رنگ آمیزی، مایکوباکتریوم ها (AFB) قرمز Acid Fast Bacilli هستند. در بین اکتینومایست ها جنس های Nocardia و Rhodococcus partially AFB هستند یعنی ممکن است در رنگ آمیزی اسیدفاست بعضی از انواع آنها آبی و بعضی قرمز رنگ بگیرند. ولی جنس های Actinomyces و Actinomadura اسید فاست منفی اند (No AFB).

این باکتری ها به صورت فرصت طلب در انسان ایجاد سه نوع بیماری می کنند که عبارتند از:

- Nocardiosis

- Actinomycetoma

- Actinomycosis

(۱) نوکار دیوز (Nocardiosis):

این بیماری توسط نوکار دیا ایجاد می شود که در آب و خاک زندگی می کند و هوازی است. دارای آنزیم اوره آز می باشد و مهمترین ویژگی آنها وجود پیگمان های مختلف است؛ یعنی در محیط کشت باعث ایجاد کلنی هایی به

رنگ سفید تا قرمز و به حالت مومی مانند (waxy) می شود. شایع ترین گونه های آن که در ارتباط با عفونت های بالینی هستند عبارتند از: *N. brasiliensis* و *N. farcinica* *N. asteroides* *N. nova* کمپلکس

نوکاردیا از طریق استنشاق ذرات آئروسول حاوی باکتری وارد نازوفارنکس می شود و ایجاد عفونت فرصت طلب به صورت نوکاردیوز ریوی می کند. باکتری در افراد سالم نمی تواند ایجاد بیماری کند و در افرادی که سیستم ایمنی آنها ضعیف است مثل بیماران مبتلا به ایدز یا افراد الکلی، پیوند اعضا، بیماری سل، درمان با کورتیکوستروئیدها و ضعف ایمنی سلولی باعث ایجاد عفونت حاد یا مزمن ریوی می کند که عمده ترین تظاهرات آن به صورت پنومونی است. در مواردی که ایمنی سلولی خیلی ضعیف باشد، عفونت می تواند به مغز یا پوست راه یابد. بنابراین نوکاردیوز مغزی و پوستی نیز به دنبال نوکاردیوز ریوی محتمل است. با این حال باکتری می تواند به کلیه ها و دیگر نقاط نیز منتشر شود.

در نوکاردیوز ریوی، علائم بالینی شبیه به بیماری سل است یعنی کاهش وزن، درد قفسه سینه (chest pain)، سرفه، تب ولی تشکیل گرانولوما و پنیری شدن به ندرت دیده می شود. هر چند در تصویربرداری های اشعه X می توان بیماری را تا حدودی تشخیص داد ولی راه اصلی تشخیص از طریق آزمایش است. مهمترین آسیب در نوکاردیوز ایجاد آبسه است. نوکاردیوز بیماری مسری نیست.

تشخیص آزمایشگاهی:

بسته به نوع بیماری (پوستی، مغزی یا ریوی) نوع نمونه ها نیز فرق می کند. در نوع ریوی، نمونه بالینی خلط می باشد و در نوع مغزی CSF خواهد بود و در نوکاردیوز پوستی بیوپسی پوست بهترین نمونه می باشد.

در رنگ آمیزی ذیل - نلسن، نوکاردیاهای partially AFB هستند ولی اگر به جای محلول اسید - الکل از اسید سولفوریک ۱ تا ۴ درصد استفاده کنیم، کاملاً شبیه به باکتری سل می شوند، یعنی absolute AFB می شوند.

درمان: درمان نوکاردیوز با داروی تری متوپریم - سولفامتاکسازول (کوتریموکسازول = Cotrimoxazol) است.

DNA DNA

آکتینومایکوز (Actinomycosis):

این بیماری به صورت یک عفونت مزمن و گرانولوماتوز همراه با ضایعات چرکی که توسط مجاری (duct) یا سینوس ها به یکدیگر مرتبطند، در بدن دیده می شود. این ضایعات حاوی گرانول هایی بوده که در واقع میکروکلنی های باکتری در بافت هستند.

عامل این بیماری آکتینومایسزهای فلور نرمال بدن هستند که ایجاد ضایعه در تمام بدن مخصوصاً در دهان می کنند. سه نوع مهم آکتینومایسز فلور نرمال بدن که عامل این بیماری اند *A. gerencseriae*، *A. naeslundii* و *A. israelii* هستند. بیماری به چهار صورت دیده می شود:

(۱) صورتی- گردنی (cervicofacial)

(۲) قفسه صدري (thoracic)

(۳) شکمی (abdominal)

(۴) تناسلی (genital)

ویژگی های باکتری:

باسیل های گرم مثبت و بی هوازی مطلق یا اختیاری اند که قطعه قطعه (fragmented) شده و به صورت باسیل های کوچک به قطر ۱ میکرومتر دیده می شوند که شبیه به دیفتروئیدها می باشند.

عفونت های ناشی از آنها به صورت ضایعات چرکی و به صورت فیستول (fistula) می باشد که از آنها دانه های گوگردی، خون و چرک خارج می شود. دانه های گوگردی به رنگ زرد می باشند و علت زردی آنها به علت حضور ماکروفاژها است. در این دانه ها علاوه بر ماکروفاژها، خود باکتری، دیگر سلول های بافتی و رشته های فیبرین نیز وجود دارد. در بررسی با میکروسکوپ روی این گرانول ها یک برآمدگی گرز مانند یا چماقی شکل ائوزینوفیلیک دیده می شود که اینها خود باکتری هستند که روی گرانول ها متمرکز شده اند.

بیماری زایی (Pathogenesis):

از آنجائیکه این باکتری ها فلور نرمال بدن هستند، لذا به صورت عفونت فرصت طلب عمل می کنند، یعنی در اثر تروما به بافت دهان در کارهای دندانپزشکی یا هر گونه دستکاری بافت دهان یا مسواک زدن شدید، التهاب لثه (gingivitis) و پوسیدگی دندان وارد بافت می شوند و بعد از برقراری شرایط بی هوازی در بافت باکتری ها رشد سریعی خواهند داشت و باعث القاء یک پاسخ التهابی شده و به صورت فرصت طلب ایجاد ضایعه می کنند. این ضایعه گسترش یافته، به بیرون سر باز کرده و تشکیل fistula می دهد و از این فیستول دانه های گوگردی به همراه چرک و خون خارج می شود. در نتیجه فک و کام به ویژه فک تحتانی، ملتهب و متورم، نرم و آبدار می شود. ممکن است در اثر پیشرفت بیماری بافت استخوان و غدد لنفاوی ناحیه سر و گردن نیز درگیر شوند.

گاهی اوقات اکتینومایسزهای ناحیه nasopharynx در اثر aspiration، وارد ریه ها شده و ایجاد thoracic actinomycosis می کنند. علائم این بیماری شبیه یک عفونت تحت حاد ریوی است یعنی تب، سرفه و خلط های چرکی.

Abdominal actinomycosis عمدتاً به دنبال آپاندیس های ناره شده یا یک اولسر ایجاد می شود. نوع genital به دنبال آسیبی که به هنگام گذاشتن IUD (جهت پیشگیری از بارداری) در رحم ایجاد می شود که به دنبال آن باکتری ها وارد بافت شده، پدیدار می شود. شایع ترین نوع اکتینومایکوز، نوع صورتی-گردنی و نادرترین آن نوع genital است.

تشخیص آزمایشگاهی:

پس از خروج ترشحات از ضایعات، دانه های گوگردی را جدا و شستشو داده و زیر میکروسکوپ مشاهده می کنیم و پس از له کردن آنها بین دو لام، باکتری ها را به صورت رشته های گرم مثبت می بینیم. همچنین می توان دانه های له شده را در محیط thioglycolate broth کشت بی هوازی داد که پس از چند روز محیط کشت کدر شده و باکتری ها را می توان مورد بررسی قرار داد. کلنی این باکتری ها بر روی محیط های جامد به صورت شبیه دندان های آسیا (molar tooth) می باشد.

درمان: طول مدت درمان ۶-۱۲ ماه است که می توان از پنی سیلین یا سایر آنتی بیوتیک ها استفاده کرد. همچنین گاهی با جراحی بایستی ضایعات را برداشت کرد.

پیشگیری: برای این بیماری پیشگیری مطلق نداریم چرا که عامل آن نرمال فلورای بدن است. استفاده از پنی سیلین به صورت پیشگیرانه در پروسه های دندانپزشکی (در افراد با عفونت های عود کننده) می تواند احتمال بیماری را کاهش دهد.

:Actinomycetoma

مایستوما (Madura foot) یک عفونت مزمن لوکالیزه و پیشرونده کندی است که در بافت های زیرجلدی شروع شده و به بافت های مجاور منتشر می شود. بیماری به صورت مخرب و اغلب بدون درد است. این بیماری مزمن می تواند ناشی از قارچ یا باکتری باشد. فرم باکتریایی آن ناشی از اکتینومایست ها می باشد که به آن Actinomycotic mycetoma می گویند و فرم قارچی آن به Eumycotic mycetoma مصطلح است. این بیماری به صورت یک عفونت زیرجلدی است. عامل ایجاد کننده آن که در خاک زندگی می کند در اثر خراش وارد بدن شده و

در ابتدا ایجاد یک ندول می کند. ندول ها از طریق مجاری (sinus ها) به هم متصل شده و ایجاد یک ضایعه واحد می کنند که در نهایت خون، چرک و گرانول از آن خارج می شود. عوامل ایجاد کننده این گرانول ها می توانند عوامل قارچی یا باکتریایی باشند. در این بیماری، تا زمانی که تاندون ها و عصب درگیر نشوند درد وجود ندارد. اگر ضایعه به اعصاب برسد، درد ایجاد می شود.

عوامل باکتریایی ایجاد کننده بیماری: جنس های آکتینومادورا، نوکاردیا و استرپتومایسز می باشند که همگی رشته ای شکل هستند. *N.brasiliensis* ممکن است AFB باشد.

درمان:

دراپونام *streptomycin*، *Co-trimoxazole* و *Dapsone* استفاده می شود که طول مدت درمان طولانی است و نیاز به drainage ترشحات نیز است.

آکتینومایست های نو ظهور:

Gordonia and *Tsukamurella*: هر دوی آنها قبلاً جزء *Rhodococcus* طبقه بندی می شدند که به خاطر مورفولوژی شبیه به آنها و ویژگی *Partially acid-fast* بوده است. به طور طبیعی در خاک بوده و عامل عفونت های فرصت طلبی در افراد بستری شده و دارای نقص سیستم ایمنی همچون عفونت های ریوی، جلدی و بیمارستانی مثل استفاده از کاتترهای وریدی (*Gordonia*) و عفونت های کاتتری (*Tsukamurella*) هستند.