

۱۳۴۷

شماره پایان نامه ۲۱۳۴

دانشگاه تهران
دانشکده داروسازی
پایان نامه

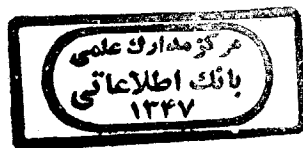
برای دریافت درجه دکتری از دانشگاه تهران

موضوع :

تحقیق درباره تعیین حساسیت پیلوکنکهای مولد
سوزاک نسبت به مواد ضد میکروبی

بمراهنمائی جناب آقای پرویز ادیب فر

نگارش : مهدی حاجی عبد الله . سال تحصیلی ۲۷-۲۰۲۶



تقدیم به :

استاد عالیقدر جناب آقای دکتر پرویز ادیب فر
که همواره راهنمای اینجانب بوده اند .

۱۰۱

تقدیم به سروران گرامی :

هیئات محترم قضات

تقدیم به :

کلیه اعضاء محترم گروه میکروشناسی و ایمنولوژی
دانشکده علوم پایه پزشکی .

تقدیم به :

خانم دکتر مینازند رئیس آزمایشگاه بیمارستان بوعلی
آقای دکتر آذیر
آقای کاتوزیان

باتشکر از خانم پروانه واحدی فر کارشناس بخش میکروشناسی
و ایمنولوژی دانشکده علوم پایه پزشکی .

تقدیم به :

مادر عزیزم که تحصیلات اندک خویش را مدیون فد اکاریهای

بیست و ریغ او هستم .

تقدیم به :

عموی عزیزم که الطاف او را هیچ وقت فراموش نخواهم کرد .

تقدیم به :

افسر عزیز که در تایپ و زبراکس این پایان نامه

از هیچ گونه کوششی دریغ ننمود .

تقدیم به :

شیرین عزیز

تقدیم به :

آقای امیرجباری که مرا مورد عنایت خویش قرار دادند .

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۱	بخش اول کلیات
۲	مقدمه
۲	تاریخچه
۳	تعریف
۳	جایگاه
۴	کشست
۴	مقاومت
۵	خواص بیوشیمیک
۵	ساختمان انتی ژنیک
۵	بیماریزائی تجربی
۶	بیماریزائی در انسان
۷	عوارض
۸	هویت
۸	تشخیص آزمایشگاهی
۱۲	اکسیداز تست
۱۳	سرولوژی
۱۶	منبع بیماری
۱۶	راه سرایت
۱۶	انتشار بیماری
۱۶	ایید میولوژی
۱۸	پیشگیری و کنترل
۱۹	درمان
	بخش دوم در اروهای ضد میکروبی
۲۱	تقسیم بندی
۲۱	سولفونامیدها
۲۵	نیتروفورانها
۲۵	انتی بیوتیکها
۲۸	پنی سیلینها
۳۴	سفالوسپورینها
۳۴	استرپتومايسين
۳۶	کلرامفنیکل
۳۷	تتراسیکلین
۳۸	اریترومایسین
۳۹	ریفامپین
۳۹	اسپکتینومايسين
۴۰	مکانیسم اثر در اروهای ضد میکروبی
۴۱	مقاومت
۴۴	طیغ شیمی درمانی
	بخش سوم انتی بیوگرام
۴۵	روش های تعیین حساسیت باکتریها نسبت به در اروها
	بخش چهارم کارهای انجام شده

صفحه

عنوان

۵
۵۲
۵۲
۶۲
۶۸
۷۱
۷۴

جمع آوری نمونه
مواد
تهیه محیط های کشت
روش انجام کار
بخش پنجم
نتیجه
بحث
بخش ششم
خلاصه

بمختص اول
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

مقدمه

انگیزه من در انتخاب موضوع رسانه بعلمت اهمیت است که امروزه آنتی بیوتیکها در امر درمان احراز کرده اند .

از ایام قدیم بشر با وسائل گوناگون و داروهای متفاوت با میکرب سوزاک مبارزه نموده است و گاهی وسیله این مبارزه سودمند بوده است ، ولی بشر با کشف پنی سیلین مجهز به سلاح مدرن و موثری گردید . و بعلمت وسعت دامنه اثر و شدت آن توانست دشمن دیرینه را مغلوب خویش سازد . پس از آن دانشمندان توانستند آنتی بیوتیکهای شدید الاثر دیگری را کشف نمایند ولی متاسفانه در بیشتر نقاط دنیا باین امر توجهی نشده که ممکن است میکرب سوزاک نیز برای حیات خویش زرهی در مقابل آنتی بیوتیک دست و پا کند .

سهولت انتشار سوزاک و هم چنین مقاوم شدن سریع آن نسبت به مواد ضد میکربی سبب شده است که امروزه این بیماری یکی از مشکلات خیلی جدی و پراهمیت در برنامه های کنترل بهداشت عمومی جوامع مختلف در دنیا شمرده شود .

بهر حال بکاربردن معالجه صحیح بیماران با مواد ضد میکربی مناسب میتواند رل بسیار مهمی در کنترل و مبارزه با این بیماری را ایفاء نماید .

از اینرو در این رساله سعی شده است اثر مواد ضد میکربی روی نمونه های مختلف گونوکوک مورد مطالعه قرار گیرند .

تاریخچه : برای اولین بار کالین (Galen) نام سوزاک

یاگسوره آ (Gonorrhoeae) را در سال ۱۳۰۰ میلادی بکار برد که بمعنی
"جریان دانه ها" است .

جان آردن (John Arden) پزشک مخصوص هنری ششم و ریچارد دوم در
سال ۱۳۷۶ باین بیماری پی برد . سه قرن طول کشید تا دانشمندان پس
به مقاربتی بودن این بیماری بردند و در ابتدا فکر میکردند این بیماری یکی از علائم سیفلیس
میباشد و یکی از طرفداران این فرضیه پزشک انگلیسی بنام جان هانتز (J. Hanter)
بود .

او در سال ۱۷۶۷ خود را با ترشحات چرکی مجرای ادرار یک بیمار آلوده نمود ولی متأسفانه
بیمار علاوه بر سوزاک به سیفلیس نیز مبتلا بود و این پزشک پس از ده سال بعلت سیفلیس
فوت کرد .

بالاخره هیل (Hill) در سال ۱۷۹۰ و بنجامین بل (Benjamin Bell)
در سال ۱۸۷۲ سوزاک و سیفلیس را از یکدیگر تشخیص دادند . در سال ۱۸۷۹ نیسر
(Neisser) توانست میکرب مولد سوزاک را در چرک ترشح مجرای ادرار کشف کرد .
و آنرا گونوکوک نامید و بالاخره در سال ۱۸۸۵ بام (Bumm) توانست آنرا در روی محیط
کشت مصنوعی رشد داده و کشت خالص آنرا تهیه نماید و از آن تاریخ تا بحال اطلاعات
خیلی کمی راجع به فیزیولوژی ، پاتوبیولوژی ، ایمنولوژی و ساختمان این میکرب بدست
آمده است و هنوز بیماری سوزاک در طب مسئله ایست .

نیسر یاگسوره آ یا گونوکوک (Neisseria Gonorrhoeae)

تعریف : کتوکک بصورت دایره های گرم منفی است شبیه به دانه لوبیا یا قهوه که
اندازه هر یک از آنها به بزرگی 0.8×0.6 می باشد و در انسان ایجاد بیماری
سوزاک را می نماید .

جایگاه : گونوک انک اجباری انسان بوده و در دستگاه تناسلی اداری بیماران سوزاکی یافت میشود .

شکل : گونوک بشکل دیلوکهای شبیه به دانه لوبیا یا قهوه بوده که دو بد و مقابل هم قرار گرفته اند و تقعر نشان روبروی یکدیگر میباشد و درد اخلا یا خارج لگو ستهسا مشاهده میشود . گونوک در کشت گاهی اتولیز پیدا میکند و اشکال گوناگون بخود میگیرد و -
یکواخت رنگ نمیشود .

این میکرب بی حرکت و بدون اسپور میباشد و وجود کپسول در آنها هنوز بطور واضح نشان داده نشده است ولی دارای یک آنتیژن پلی ساکاریدی (کا) میباشد که بصورت پوششی اطراف گونوکها قرار میگیرد .

ساختمان دقیق سیئوپلاسم و دیواره سلولی گونوک و منوکوک بسیار شبیه است . سلوال اطراف پرده سیئوپلاسمی را میپوشانند و از تهنهای زیر ساخته شده است .

۱ - یک قسمت تراکم (D, L) Dense Layer که احتمالا از پپتید و گلیکان ساخته شده است .

۲ - یک لایه خارجی (O.M) Outer Membran که روی پپتید و گلیکان قرار گرفته و از جنس لیپو پلی ساکارید میباشد .

۳ - لایه دیگری بین دو لایه فوق قرار دارد ولی بعلت نازکی و ساختمان مخصوص یا میکروسکوپ - الکترونی دیده نمیشود .

کشت : گونوکها روی محیط معمولی رشد نمیکنند زیرا در مقابل اثر سمی اسیدهای چرب و مقد ار کم فلزات که در پپتین و آگار وجود دارد حساسیت نشان میدهند و برای خنثی کردن این مواد سمی اضافه کردن خون سرم نشاسته و بازغال لازم است .

گونوک روی محیط تایرومارتین (Thayer - Martin) که در سال ۱۹۶۴ بوسیله تایرومارتین برای جد کردن نیسریاهای پانوزن ارائه شد بخوبی رشد میکند این محیط یک محیط انتخابی برای کشت گونوک میباشد .

در سال ۱۹۶۶ محیط فوق تغییراتی پیدا کرد و آن محیط کشت تغییر یافته تایر و مارتین یا جی . سی نام دادند و تنها فرقی با محیط قبلی در این است که در محیط کشت تغییر یافته ، آنتی بیوتیکهای وانکومایسین (Vancomycin) ، کولیستین (Colistin) و نیستاتین وجود دارد . این سه آنتی بیوتیک که بطور مختصر با V. C. N نشان داده میشوند ، بطور قابل ملاحظه ای جلوی رشد سایر میکربها را می گیرند .

گونوکک هوازی بوده ولی در مجاورت ۱۰-۳ درصد گاز کربنیک بهتر رشد میکند ، بهترین درجه حرارت برای گونوککها بین ۳۶-۳۵ درجه سانتی گراد میباشد و یائین تراز ۳۰ درجه و بالاتر از ۳۸/۵ درجه رشد نمی کنند .

انواع کلنی های گونوکک :

۱- تیپ ۱ و ۲ کوچک و پیکمانته هستند و برنگ طلائی پررنگ دیده میشوند . کلنی تیپ ۲ کوچکتر و تیره تر وسط آن درخشان و دارای لبه های منظم تری است و وقتی با میله پلاتین تماس داده شود باسانی پخش میشود .

۲- تیپ ۳ و ۴ از ۱ و ۲ بزرگترند ، تیپ ۳ قهوه ای تیره و ساختمان گرانولر دارد ، تیپ ۴ از ۳ کوچکتر و بی رنگ و شفاف میباشد .

۳- تیپ ۵ از ۳ کوچکتر و مانند تیپ ۲ درخشان و لبه های آن قهوه ای تیره و نامنظم است . در کلنی تیپ ۱ و تیپ ۲ پیلی وجود دارد ، در صورتیکه در تیپ ۳ و ۴ وجود ندارد . رابطه بین پیلی و بیماری زائی میکرب هنوز شناخته نشده است .

مقاومت : میکربهای حساسی هستند که خشکی و نور در مدت ۲-۱ ساعت آنها را از بین میبرد . حرارت ۴۲ درجه در مدت ۱۵-۵ دقیقه و حرارت ۵۵ درجه در مدت ۵ دقیقه آنها را میکشد ، در حرارت ۲۰ درجه پس از ۴۸-۲۴ ساعت از بین می روند ولی اگر محیط کشت در حرارت ۳۷ درجه نگهداری شود چند روز زنده میمانند . محلول نیترات آرژان چهار در هزار در محیط کشت پس از ۷/۵ دقیقه آنها را میکشد .

گونوککها نسبت به مواد ضد میکروبی حساسند و لی زود مقاومت پیدا میکنند .

خواص بیوشیمیک : گونوکک گلوکز را بدون ایجاد گاز تخمیر میکند و لی ساکاروز ، مالتوز و لولیز را تخمیر نمی کند . MR ، VP ، سترات ، اندل و SH2 منفی است . گونوکک اکسیداز و کاتالاز مثبت میباشد ، یعنی اگر محلول يك درصد تترا متیل پارا فنیلن دی آمین هیدروکلراید روی محیط کشت بریزند کلنی ها بزرگ ارغوانی در می آیند .

ساختمان آنتی ژنیک : گونوکک کپسول واضحی ندارد و لی يك آنتی ژن پلی ساکاریدی (K) دارد که بصورت پوششی در اطراف گونوککها قرار میگیرد . تا بحال طبقه بندی ایونولژیکی کپسولی بعلت از بین رفتن آنتی ژن پلی ساکاریدی در محیط کشت برای تشخیص گونوکک ها میسر نبوده است . اندوتوکسین گونوککها مورد مطالعه قرار گرفته و دو گونه آنتی ژنیک مختلف (a . b) - برای اندوتوکسین شناخته شده است .

آنتی ژن a شاید يك قسمت پلی ساکاریدی باشد و آنتی ژن b قسمت پروتئین جدا شده از اندوتوکسین است . گونوککها از نوع S به R تبدیل میشوند . همچنین گونوککهای مقاوم به سولفامیدها هم در لوله آزمایش وهم در بدن انسان دیده شده اند . موتانهای نسبتاً مقاوم به پنی سیلین از بیماران جدا گردیده اند . گونوککها میتوانند چند فرم مختلف در کلنی خود - نشان دهند ، اما مکانیسم ژنتیکی که باعث این تغییرات T1 T2 T3 T4 T5 ، میشود هنوز شناخته نشده است .

بیماریزائی تجربی :

بیماریزائی گونوککها بعلت نداشتن حیوان حساس کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است ، ولی اخیراً این بیماری با تزریق مصنوعی میکرب و یا از راه تماس طبیعی در شپانزه دیده شده است . درد اوطلبین انسانی گونوککهای متعلق به تیپ يك و دو تولید بیماری نموده اند در صورتیکه تیپ ۳ و ۴ و ۵ - بیماریزائی نداشته اند .

بیماری‌زائگی در انسان :

گونوکک فقط برای انسان بیماریزا بوده و در مخاط‌ها تولید عفونت میکند، این عفونت بخصوص در مجاری ادراری تناسلی ایجاد شده و به سوزاک موسوم است. گونوکک تمایل خاصی به مخاط‌هایی که از اپی‌تلیوم منشوری پوشیده شده اند دارد ولی قادر به آلوده کردن مخاط‌های پوشیده شده از اپی‌تلیوم مطبق سنگفرشی نیست. این میکربها بین سلول‌های اپی‌تلیال نفوذ کرده و ایجاد یک عفونت آماسی در بافت زیر اپی‌تلیال مینمایند. که نتیجه آن ترشحات چرکی اورترال و واژینال است و این یکی از علائم اولیه بیماری است که پس از یک دوره کمون ۲ تا ۵ روزه مشاهده میشود.

عفونت گونوککسی ایجاد آنتی‌بادیهائی در جریان خون مینماید ولی ایمنی قابل ملاحظه ای بوجود نمی‌آورد، زیرا سوزاک بطور مکرر در یک شخص دیده شده است. گونوکک در بزرگ سالان سوزاک در دخترچه‌ها و لوواژینیت (Vulvaginite) و در نوزادان ورم ملتحمه چرکی (Ophthalmia Neonatorum) ایجاد میکند.

سوزاک در مردها ابتدا از ناحیه قدامی مجرای ادرار و در زنان از مجرای ادرار و گردن رحم شروع میشود و در صورتیکه درمان نشود، عفونت بسایر قسمتهای دستگاه تناسلی منتشر میشود و مزمن میگردد. عفونت ممکن است از سطح مخاط بطرف خلفی مجرا، مثانه، پروستات، و زیکول سمینال، اپیدیدیم و بیضه توسعه یافته و یا ممکن است نسج پری اورترال را مورد هجوم قرار دهد و ایجاد واکنش التهابی و آبسه‌های پری اورترال و تنگی دائمی مجرا را بنماید.

اگر ورم اپیدیدیم و بیضه‌ها و طرفی باشد، شخص عقیم خواهد شد. در زنان مجرای ادرار و گردن رحم آلوده شده و بندرت مخاط واژن آلوده میشود، زیرا "اولاً" جدار واژن از اپی‌تلیوم شاخی است که در برابر عفونت مقاومت زیاد دارد، ثانیاً" در سلول‌های مخاط آن مقدار زیادی گلیکوژن موجود است که سبب رشد ونو لاکتو باسیل و در لاین (L. Doderlin) و اسیدی شدن واکنش مهبل گردیده و این محیط اسیدی اجازه رشد

به میکربهای بیماریزا نمی‌دهد . مقدار ترشح در زنان کم بوده و عفونت ممکن است
بطرف غد و سستیولر (Vestibuler) پیشرفته و ایجاد بار تولی نیست
(Bartholinite) و اسکیت (Skenite) نماید .

اگر عفونت به رحم و قسمتهای دیگر سرایت کند ایجاد سرویسیت (Cervicite) ،
پارامتریت (Parametrite) ، سالیپزیت (Salpingite) و
اوریت میکند حتی ممکن است صفاق مورد حمله قرار گرفته و ایجاد پیریتونیت پلوین -
(Peritonite Pelvine) کند . عفونت مقعد و حلق در زنان و مردان هر دو
ممکن است مشاهده شود .

در زنان باکتری از طریق انتشار ترشحات واژن بطرف مقعد این ناحیه را آلوده کرده ، در صورتیکه
در مردان هموسکسوسل آلودگی مقعد بیشتر از طریق مقاربت صورت میگیرد . عفونت حلق در کسانی که
مقاربت از راه دهان دارند مشاهده میشود . در دخترچه ها ولواژینیت همراه با عفونت مقعد مشاهده
میگردد . در دخترچه ها بد علت گونوکک میتواند در مهبل زندگی کند و ولواژینیت ایجاد نماید :
یکی آنکه سلولهای پوششی مهبل شاخی نیستند و مقاومت آنها در برابر عفونت کم است و دیگر اینکه گلیکوزن در
این سلولها وجود ندارد تا لاکتوباسیل دو در لاین بتواند در مهبل رشد و نمود کند .
در نوزادانی که مادرانشان مبتلا بسوزاک هستند ، ممکن است گونوکک در موقع وضع حمل وارد چشم
آنها شود و یک نوع ورم ملتحمه چرکی حاد بوجود آورد که اگر بسرعت معالجه نشود ، منجر به کوری میگردد .
این نوع ورم ملتحمه معمولا ً ۴۸ ساعت پس از تولد ظاهر میشود .

عوارض :

اندوکاردیت ، میوکاردیت ، پریکاردیت ، آرتریت چرکی ، تنوسینوویت و التهاب غنیه و جسم
مژگانسی از عوارض مهم آن میباشد . عارضه دیگر آن ورم ملتحمه گونوککی ثانویه میباشد که با انتقال عفونت
از اورتر بوسیله انگشتان اتفاق میافتد . اخیراً گزارشهایی در مورد درمانیت گونوککی عفونی داده -
شده که معمولا ً همراه با آرتریت و دردهای شدید مفصلی و تب میباشد . لژیونهای پوست بصورت

ارپتم، ماکول، پاپول، وزیکول و پوستول دیده میشود که بیشتر در اطراف مفاصل مشاهده میگردد و در زنان بیشتر از مردان است.

مصونیت :

سوزاک مصونیت ایجاد نمی کند، روی این افراد یک بطور مکرر مبتلا به سوزاک میگردد مشاهده میشوند. این امر ممکن است بعلمت نداشته شدن مصونیت موضعی و یا وجود انواع گونوکوک که از لحاظ سرولوژیکی باهم متفاوتند باشد، این مسئله هنوز مورد مطالعه است. مقاومت مخاط مجرای ادرار مردها نسبت به گونوکوک متفاوت است.

در بیشتر بیماران سوزاکی آنتیبادیهائی که از نوع IgG برضد آنتیژنهای سطحی حساس بحرارت و نوع Ig A برضد آنتیژنهای سماتیک مقاوم بحرارت گونوکوک بوجود میآیند، ولی بنظر نمی رسد که هیچ کدام از آنها از عفونتهای مجدد جلوگیری کند.

آنتیبادیهائی که برضد پیلوی گونوکوک ساخته میشود مورد مطالعه قرار گرفته و بنظر می رسد که از چسبیدن گونوکوکها به سلولهای اپی تلیال در مدت ۳ دقیقه جلوگیری نماید.

تشخیص آزمایشگاهی سوزاک :

از زمانیکه آلبرت و نیسر (Albert and Neisser) در سال ۱۸۷۹ موفق به کشف نیسریا گنوره آ (N. Gonorrhoeae) شدند روشهای بیشماری برای تشخیص این میکرب در بیماران مشکوک به سوزاک مورد استفاده قرار گرفته است. در زیر از روشهایی که امروزه - از آنها استفاده میشود، بحث خواهد شد.

۱- آزمایش مستقیم : این روش که اساس آن بر مشاهده میکروسکوپی گونوکوک بصورت پیلوککهای گرم منفی میباشد برای اولین بار در سال ۱۸۸۴ مورد استفاده قرار گرفت و هنوز یک روش آسان و حساس در تشخیص بیماری سوزاک بخصوص نزد مردان بشمار میرود.

در عفونت حاد باید در مردان از ترشحات مجرای ادرار گسترش تهیه نمود، بهتر است این عمل