۲۴۹۱

دانشگاه تهران

دانشکده بهداشت

پایان نامه

برای دریافت درجهٔ فوق لیسانس بهداشت عمومی (M.P.H.)

موضوع :

مطالعه همراهی اکتینومایسس بوویس با سیستی سرکوس بوویس

براهنمائی :

استادمحترم دکتر ایرج موبدی

نگارش :

دکتر نسرین مظفری

سال تحصیلی ۵۹-۱۳۵۸

مرکز مدارک علمی
بانک اطلاعاتی
۱۳۴۷

۳۴۹۱

با تشکر وسپاس فراوان از آقای دکتر ایرج موبدی ـ آقای دکترمسعود ما می

و آقای دکتر اسماعیل قدیریان که درتهیه و تنظیم این پایان نامه مرا

یاری کرده‌اند

و نیز از کمکهای آقای حسن رسا و قسمت سمعی بصری دانشکده بهداشت

سپاسگزاری مینمایم

۳۴۹۱

فهرست مندرجات

عنوان	صفحه
مقدمه	۱
تاریخچه	۳
طبقه‌بندی	۷
مرفولژی	۱۱
ساختمان اکتینومایسس با میکرسکپ الکترونی	۱۴
واکنش های بیوشیمیائی	۱۷
دیواره‌ای سلولی گونه‌های اکتینومایسس	۲۴
بررسی هیستوشیمیایی	۲۵
محیط های کشت	۲۸
سرم شناسی	۴۲
اکتینومایکوزدرحیوانات	۴۵
اکتینومایکوز تجربی	۴۸
وسایل و روش کار	۴۹
نتایج	۵۴
بحث	۵۸
خلاصه فارسی	۶۳
خلاصه انگلیسی	۶۴
رفرانس	۶۵

بنـــام خـــدا

مقـــدمـــه :

درسال ۱۸۹۱ ولف وایسرائیل "Wolff & Israel" ازضایعات گاو مبتلی به اکتینومایکوزیس "Actinomycosis" اکتینومایسس بـــوویس "Actinomyces bovis" راجداکردند. این محققین برخلاف نظر بوستـــروم "Bostroems" که اعتقاد به تئوری منبع خارجی بیماری داشته است معتقد بودندکه عامل بیماری بی هوازی بوده ومنبع آن میکروارگانیسمی است کـــه در داخل بدن وجوددارد.

درسال ۱۹۰۵ رایت "Wright" براساس مطالعات خودمسئله داخلی بودن بیماری راتائیدکردواظهارعقیده نمودکه محل میکروارگانیسم بطورطبیعی دهان ورودهٔ گاومیباشد. احتمالا هنگامیکه تخم انگل تنیاساژیناتا توسط گاو خورده میشودوجنین ۶ قلابه درروودهٔ میزبان آزادمیگردد، جنین ازروده همراه خود میکروارگانیسم اکتینومایسس بوویس رابافت میزبان برده وهنگام استقرار سیستی سرک (لاروانگل نامبرده) آغشته به اکتینومایسس بوویس میباشد.

دراین رابطه اپادتن بلوکه کننده "Blocking antibody" توسط انگل شناسان گزارش شده که احتمالا آنتی ژنی استکه برعلیه فلورروده ایجادگردیده است و نیز خواص آنتی ژن مشترک برای بافت اطراف انگل وخـــود انگل گزارش شده است .مثلامشاهده شده که آنتی سرم بدست آمده از خـــرگوش برعلیه حلزون له شده (میزبان واسط سرکر) باسرکرهای داخل بافت مـــوش

واکنش مثبت میدهد. ویا دیده شده است که میمونهایی که قبلابرعلیه بافت کبدموش زینها رشده بودند کرمهای شیستوزومای منتقله ازهمان موش را درمدت کمی دفع میکنند، درحالیکه درمیمونهای شاهدکرمهای منتقله برشدطبیعی خود ادامه میدهند.

تـــاریخچـــــه :

درسال ۱۸۷۷ هارز "Harz" اولین بارنام اکتینومایسس بوویس را به میکروارگانیسمی که تصورمیکردقارچ باشددادکه درگرانولی درگاو مبتلا بـــه زبان چوبی "Wooden Tongue" مشاهده کرده بود. درهمان سال هـارز بیماری ناشی ازاکتینومایسس بوویس راکه همان نمونه‌یی بودکه بولینجـــر "Bolinger" مطالعه میکردبدون آنکه‌میکروارگانیسم راجدانمایداکتینـو- مایکوزیس نامید.

درسال ۱۸۹۰ بوستروم "Bostroem" ودرسال ۱۸۹۱ ولف وایسرائیل دومقاله‌درمورد اکتینومایکوزیس منتشر کردند.

بوستروم تعداد ۱۱ نمونه از گاو و۳ نمونه از انسان راجدانمود ایـن میکروارگانیسم رشته‌یی ، اسپرزاوهوازی بوده ودرمحیط معمولی قارچ شناسی قابل رشد بودوهم چنین درحیوانات‌آزمایشگاه ایجاد بیماری نمیکرد.درحالی که میکروارگانیسمی که توسط ولف‌و ایسرائیل جداشده بودبی هوازی ورشته‌یی بوده‌ولی ایجاد اسپرنمیکرد. این میکروارگانیسم درمحیط غنی رشدچندانـــی نداشته وبرای حیوانات‌آزمایشگاه مانند خرگوش وخوکچه بیماریزابوده‌است.

بنابراین بنظرمیرسدکه‌این دومحقق دوعامل بیماریزای متفاوت بـــرای اکتینومایکوزیس‌گاو پیداکرده‌باشند.بوستروم که یک عامل هوازی خارجی برای بیماری فرض میکردتصورمینمودکه این میکروارگانیسم ازطریق زخم داخل بدن

میشود. سپس درسالهای ۱۸۹۵-۱۸۹۴ گاسپرینی "Gasperini" این میکرو-ارگانیسم هوازی را بطور معمول درطبیعت شرح داد وازنظر اتیولژی خارجی بودن عامل بیماری مورد قبول واقع شد. ولی محل زندگی درطبیعت همچنان نامشخص باقی ماند. تا اینکه درسال ۱۸۹۶ کروز "Kruse" این دومیکروارگانیسم راکاملا جداگانه از یکدیگر تقسیم بندی کردونام اکتینومایسس حقیقی به میکروارگانیسم بوستروم ونام استرپتوتریکس ایسرائیلی-Streptothrix "israeli" رابه میکروارگانیسم ولف وایسرائیل اطلاق نمود.

درسال ۱۹۰۵ رایت "Wright" براساس مطالعهٔ ۱۳ مورد انسانی و ۲ مورد گاوی میکروارگانیسم بی هوازی ولف وایسرائیل راتائیدنمود. چه تمام میکروارگانیسمهای جداشده توسط وی مشابه میکروارگانیسم ولف و ایسرائیل بوده است.

رایت میکروارگانیسم جداشده خودرا اکتینومایسس بوویس نامیدودرنشریه جداگانه‌یی میکروارگانیسم جداشده توسط بوستروم رایک آلودگی خواند. اگرچه وی میکربهای هوازی رابعنوان عامل بیماریزا برای حیوان ردنکردولی معتقد بودکه این میکربها نمیتوانندضایعهٔ اکتینومایکوزیس مشخص با دانه‌های گوگردی درچرک ایجادکنند. بنظر رایت عوامل بیماریزای هوازی جزو نوکاردیاها بوده و عفونت آنها را نوکاردیازیس نامید. همچنین رایت محل طبیعی اکتینومایسس بوویس رادهان ورودهٔ گاو دانست.

درسال۱۹۰۷ برگی "Bergey" اولین بار میکروارگانیسمی شبیه اکتینومایسس ازدهان فرد سالم ودرسال ۱۹۱۰ لرد "Lord" همان عامل را از دندانهای کرم خورده ولوزهٔ انسان جدا نمودند.

درسال ۱۹۲۰ کل بروک "Colbrook" از ۲۴ فرد مبتلی به اکتینومایکوزیس عاملی جدا نمودکه ۲۱ موردآن با میکروارگانیسم ولف و ایسرائیل مطابقت داشته این میکروارگانیسم ها باسرم افرادبیمار اکتینو-مایکوتیکی شدیدا آگلوتینه میشدند.

درسال ۱۹۲۵ نئوزیلند "Naeslund" باکشت دادن جرم دندان وجودعوامل شبیه میکروارگانیسم‌های بی هوازی بیماریزا را دردهان انسان نشان دادودرسال ۱۹۳۱ نشریه‌یی دراین مورد منتشرکرد. این محقق برای اثبات ارزش نظریه بوستروم اقدام به‌جدا نمودن میکروارگانیسم‌های بوستروم‌ازضایعات غیراکتینومایکوزی نمودکه از۴ مورد که‌یک موردزخم استافیلوککی ویک مورد ازریه بعداز مرگ بوده است توانست عامل مزبور راجدا نماید.

بنابراین باشروع این بررسیها وبررسیهای مشابه نظریهٔ اتیولوژی عامل خارجی بودن بیماری " بوستروم" که کل بروک (۱۹۳۱) ازآن طرفداری میکرد ارزش خودرا ازدست داد. طرفداران این نظریه معتقد بودندکه عامل عفونت اکتینومایکوزیس درروی غلات و سبزیجات بصورت انگلی زندگی میکندکه ممکن است انسان وحیوان باخوردن آن به بیماری اکتینومایکوزیس مبتلاگردند.

بنا براین اکثرمحققین میکرورا رگا نیسم ولف وایسرائیل را بعنـــوان عامل بیماری اکتینومایکوزیس قبول کردندو مطالعات بیشتر باعث شدشناخت بهتری درتقسیم بندی آن بدست آورند.

تـاآن زمان بدرستی مشخص نشده بودکه عامل اکتینومایکوزیس گاو و انسان یکی است یا با هم اختلاف دارند. درحال حاضر عوامل اکتینومایکوزیس عبارتنداز اکتینومایسس بوویس (هارز)، اکتینومایسس بوویس " ولـــــف و ایسرائیل " و اکتینومایس ایسرائیلی" کروز" ضمنا نامهای دیگری مانند کونیستریتوتریکس "Cohnistreptothrix" پیونی،۱۹۱۳"برای آن پیشنهادشده است.

درسال ۱۹۴۰ اریکسون "Erikson" باجداکردن ومطالعهٔ ۱۵ سوش ازانسان وحیوان باروشهای توام مرفولژی ، بیوشیمیائی وسرولژی دونام جداگانهٔ اکتینومایسس ایسرائیلی واکتینومایسس بوویس رابترتیب بـــرای گونه انسانی وحیوانی تعیین نمود.

سپس مطالعات ساختمان دیوارهٔ سلولی توسط کومنس وهاریس "Cummins, Harris" نشان دادکه اکتینومایست ها ارگانیسمهایی هستندکه ازقارچها متمایز میباشند.

مطالعات توام دیوارهٔ سلولی وسرم شناسی دقیق تصویرواضح تری از تقسیم بندی گونه‌ها درتمام جنس های اکتینومایستاسه داده است.(۱)

طبقه بندی :

بطورکلی اکتینومایسه‌تس "Actinomycetes" به یازده‌فامیل تقسیم‌میشودکه فامیل های مهم دراین گروه عبارتنداز اکتینومایستاسه "Actinomycetaceae" ،مایکوباکتریاسه "Mycobacteriaceae" ، نوکاردیاسه "Nocardiaceae" و استرپتومایستاسه . "Strepto-mycetaceae"

فامیل اکتینومایستاسه "Actinomycetaceae" ازمیکرو-ارگانیسم های رشته‌یی منشعب یا بشکل باسیل ، ویرگول یاکوکسی، گرم مثبت ، غیر اسیدفاست ، غیرمتحرک ، فاقد میسلیوم هوایی واسپر ، اغلب بی هوازی اجباری،تعدادی هوازی اختیاری وتعدادکمی هوازی مطلق بوده ، گاز انیدرید کربنیک معمولا باعث تسریع رشداین میکروارگانیسم ها میشود . قندها توسط این عوامل تخمیرشده ، کاتالاز منفی وگاهی کاتالاز مثبت میباشند.

دراین فامیل ۵ جنس بشرح زیر قرارگرفته است :

الف ـ اکتینومایسس هارز :

دراین جنس تمام گونه‌ها گرم مثبت ، غیراسید فاست ، شکل آنها بصورت میسلیوم که تولید مثل آنها بصورت جوانه زدن یا عناصر دیفتری شکل باشکال مختلف Y و λ وگاهی میکروارگانیسم چماقی شکل استه اغلب بی هوازی بوده وگاز انیدریدکربنیک به رشداین عوامل کمک میکند. این میکروارگانیسم ها غیرمتحرک و غیر اسپرزا و بندرت پروتئولیتیک میباشند.اغلب کاتالازمنفی و

بندرت کاتالاز مثبت بوده اکثر آنها قندها را تخمیرکرده وایجاد اسیدبدون ایجاد گاز میکنند. محصول آخر تخمیر عبارت از اسید استیک ، فرمیک ، لاکتیک ، سوکسنیک و پروپیونیک میباشد.

دراین جنس ۷ گونه بترتیب زیر شرح داده شده است :

۱ـ اکتینومایسس بوویس عامل بیماری اکتینومایکوزیس درگاو.

۲ـ اکتینومایسس ادونتولیتیکوس "A.odontolyticus" بتی " "Batty" ۱۹۵۸" که از دندان کرم خورده انسان جداشده است.

۳ـ اکتینومایسس ایسرائیلی عامل اکتینومایکوزیس انسان که برای حیوانات آزمایشگاه بیماریزا است.

۴ـ اکتینومایسس نئوزیلندی ابتدا از فلور طبیعی دهان، لثه ودندانها وسپس از اعضای بدن بیمار جداشده است.

۵ـ اکتینومایسس ویسکوزوس "A.viscosus" تنها گونهٔ کاتالاز مثبت دراین جنس است .این گونه ازسگ جداگردیده است.

۶ـ اکتینومایس اریکسونی "A.eriksonii" اسلاک وجرنسر (۲) معتقدندکه این گونه جزوجنس بیفیدوباکتریا ها است زیرا آخرین مادهٔ شیمیائی حاصل از تخمیرقندها ونیز تشابه دیوارهٔ سلولی این گونه را باین جنس نزدیکتر میکند. لذا آنها این گونه را بیفیدوباکتریا اریکسونی تجدید نامگذاری کردند. گونهٔ مزبور همانند اکتینومایسس ایسرائیلی دربافت

انسان ایجاد دانه‌های گوگردی مینماید. این عامل تاکنون ازلوزه‌وریـــــهٔ انسان جداشده است.

۷ـ اکتینومایس هومی فروس "A.humiferus" تنها گونه‌یی‌است که ازخاک جداشده است و حداکثر رشدآن در۳۰ درجهٔ سانتیگراد میباشدونیز به لیزوزیم حساس است. دارای ساختمان سلولی متفاوت بوده لذا اســـلاک و جرنسر (۲) آنرا درجنس جداگانه‌یی قراردادهاند.

دوگونهٔ کم اهمیت تر دیگریکی اکتینومایسس سوئیس که گونه صددرصد مطمئنی نیست و دیگری اکتینومایسس پروپیونیکوس که آنرا درجنس آراکنیـــا قراردادهو بنام آراکنیا پروپونیکا نامیده‌اند. این گونه درانســـــان ضایعاتی شبیه اکتینومایسس ایسرائیلی ایجاد میکندونیز قندراتخمیر کرده و ایجاد اسید پروپیونیک مینماید.

هاول ودیگران(۳) میکروارگانیسم رشته‌یی رااز دندان کرم خـــوردهٔ ها مسترجداکردندو آنرا تحت یک جنس جداگانه قراردادندو بنام ادونتومایسس ویسکوزوس نامگذاری کردندکه این گونه شبیه اکتینومایسس ویسکوزوس ومانند گونهٔ مزبورکاتالاز مثبت میباشد.

ب ـ جنس آراکنیا :

آراکنیا پروپیونیکا چنانکه ذکرشدکاملا شبیه اکتینومایسس ایسرائیلی است و مانندا ینگونه ایجاد اکتینومایکوزیس با دانه‌های گوگردی مشخص مینماید.

تنها اختلاف آن بااکتینومایسس ایسرائیلی دردیوارهٔ سلولی غیرمتشابه و تخمیر قندآن است که ایجاد اسیدلاکتیک و اسید پروپیونیک نموده وبطورکلی فلور طبیعی دهان انسان راتشکیل میدهد.

ج- جنس باکتریونما : "Bacterionema"

باسیلهای دراز گرم مثبت که طول آنها گاهی به ۲۰۰ میکرن رسیده و درتخمیر قندها ایجادگاز میکند. ممکنست کاتالاز منفی یا مثبت باشد. نیترات رابه نیتریت تبدیل نموده و نشاسته راهیدرولیزکرده فلورطبیعی دهان انسان راتشکیل میدهدوبرای حیوانات آزمایشگاه بیماریزا نیست.

د - جنس بیفیدوباکتریوم اورال: "Bifidobacterium.oral"

این جنس دارای گونه‌های متعدد است که ازروده، دهان وواژن انسان، شکمبهٔ گاو وگوسفندو حتی از رودهٔ زنبور عسل نیز جداشده است.

هـ - جنس روتیا : "Rothia"

این جنس ایجاد میسلیوم کرده وبصورت باسیل یا کوکسی نیزدیده میشود. میکروارگانیسم گرم مثبت و کاتالاز مثبت بوده برای تسریع رشدآن گاز انیدریدکربنیک موردنیاز نمیباشد. گونهٔ مهم آن عبارت از روتیادنتوکاریوزا "R.dentocariosa" بوده که برای حیوانات بیماریزا نیست. از دهان و بندرت از خون، آبسه ومایع نخاعی انسان جداشده است و میتوان مواردکلینیکی آنرا باروش فلئورسنت آنتی بادی نشان داد. قبلا این گونه را باسم اکتینومایسس دنتوکاریوزا گزارش میدادند.

مـــرفـــولـــوژی :

بطورکلی تمام گونه‌های اکتینومایسس‌ها گرم مثبت ، غیراسیدفاست ، غیرمتحرک و بدون اسپرهستند.از نظر مرفولژی ارگانیسم هایی رشته‌یـــی بعرض کمتراز یک میکرومتر ولی طول آنها بطورقابل ملاحظه‌یی متغیر میباشد میله‌های کوتاه معمولا باشکال دیفتروئید هستند. رشته‌ها ممکنست مستقیـم یاموجی شکل بوده‌ومعمولا بلندو باریک واحتمالا انتهای آنها چماقی شکـــل "Clubs form" میشود. شاخه‌های حقیقی درتمام گونه‌ها دیده‌میشوداگر چه ممکنست در بعضی مواقع مشاهدهٔ آن مشکل باشد.

کثرت نسبی میله‌های دیفتروئید یارشته‌ها بستگی به عواملی نظیـــر شرایط کشت و نیز تنوع سوش ها وگونه‌ها دارد. درنمونه‌های رنگ آمیزی شده باروش گرم ، رنگ آمیزی ممکنست یک شکل و عمیق و یانامرتب وبعضی اوقـات اشکال تسبیح مانند یامیله‌یی رانشان دهد. آثاری از سیتوپلاسم دانـه‌دار که ممکنست بارنگ آمیزی نامرتب درسلولهای رنگ نشده در "Dark field" دیده‌شود مشاهده‌میگردد. دراکتینومایسس بوویس معمولا میله‌های‌دیفتروئید مانند بیشتراست . میله‌های شاخه‌یی کوتاه بوده‌امارشته‌های چندشاخه‌یی بلند ندرتا مشاهده‌میشود. گاهگاه‌سوشها باکلنی‌های نامنظم آکتینومایسس بـــوویس که درنمونه‌های رنگ آمیزی شده چنین رشته‌های شاخه‌یی رانشان میدهد جـدا گردیده‌اند. برخلاف وضعیت محیط کشت رشته‌های شاخه‌یی معمولا دربـــــدن در

آلودگیهای طبیعی وتجربی با اکتینومایسس بوویس دیده میشود. (۲)

دانه های تشکیل شده بوسیلهٔ اکتینومایسس بوویس دربافت واکسودا ازنظر مرفولژی ازدانه‌های اکتینومایسس ایسرائیلی غیر قابل تشخیص میباشد. اجرام اکتینومایسس بوویس شکننده تراز اجرام اکتینومایسس ایسرائیلی بوده وتمایل به خردشدن بصورت اجسام باسیل مانندکوتاه دارد. تزریق‌تجربی به هامستر " پاین وهمکاران ، ۱۹۶۰" نشان دادکه درحالیکه اکتینومایسس بوویس اجسام میسلیال شاخه‌یی مشخص تشکیل میدهد قدرت آن برای تشکیل میسلیوم دربدن کمتراز اکتینومایسس ایسرائیلی است . اکتینومایسس بوویس درمحیط BHI جامدکلنی‌های کاملا اختصاصی ایجادمیکندوبسهولت از کلنی های اکتینومایسس ایسرائیلی و نئوزیلندی قابل تشخیص میباشد. دونوع‌کلنی نامنظم وصاف دراکتینومایسس بوویس مشاهده میشود. کلنی‌های صاف بعداز ۲۴ ساعت رشد کوچک و گردبالبهٔ کامل بوده سطح آن نرم و بطور خفیف محدب ومرطوب است . مرکز کلنی برجسته بوده بشکل رشته‌یی انبوهی دیده میشود. کلنی‌های نوع صاف کوچکتروبسهولت بایک سوزن شکسته میشود اما کلنی‌های بزرگتر درچنین شرایطی ساختمانشان راحفظ میکنند.

کلنی‌های نوع نامنظم طی رشد ۴۸-۲۴ ساعت بصورت توده‌یی باکناره‌های نامرتب تروظاهردانه‌دار دیده میشود.

بتدریج‌که این کلنی‌ها کهنه میشوند بطورقابل ملاحظه‌یی‌بلندترازکلنی‌های