

دانشگاه تهران - دانشکده بهداشت

پایان نامه:

برای دریافت درجه فوق لیسانس علوم بهداشتی M.S.P.H.

در رشته پاتوبیولوژی

موضوع:

" تعیین بیوتیپهای سوشهای سلولونلاتیفی موریم "

" و رابطه آنها با مقاومت دارویی در سالهای "

" ۱۳۴۱-۵۲ "

پراهمنائی:

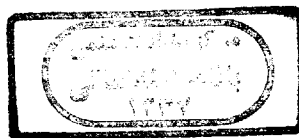
" سرکار خانم دکتر کناریک بدلیان دانشیار محترم دانشکده بهداشت "

نگارش:

مارینا ترسرکیسیان

سال تحویل:

۱۳۵۳-۵۴



۱۳۵۳

تقدیم به :

استاد ارجمند سرکار خانم دکترید لیسان
که همواره مرا با راهنمایی‌های نایب‌قیمت
خود یاری فرموده‌اند .

تقديم به :

هيئات محترم قضائيات

فهرست مندرجات

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۱-۸	مقدمه
۹	هدف
۱۰-۱۹	مواد و ارزکار
۲۰-۳۰	نتایج
۳۱-۴۱	بحث
۴۲-۴۳	خلاصه فارسی
۴۴-۴۵	خلاصه انگلیسی
۴۶-۴۶	منابع و ماخذ

تعیین بیوتیپهای سوشهای سالمونلاتیفی مورم و رابطه

آنها با مقاومت دارویی

در سالهای

۱۳۵۲-۱۳۴۱

مقدمه :

سالمونلاها گروه وسیعی از آنتریاکتریها را تشکیل میدهند که در استانداران، پسرندگان و حتی انسان تولید بیماری میکنند، این بیماری وعلائم آن ممکن است از یک ناراحتی خفیف روده‌ای به یک سپتی سمی حاد تغییر کند.

سالمونلاتیفی مخصوص انسان است و یا راتیفی A، B و C در انسان و حیوانات تولید بیماری میکند، لیکن اهمیت بیماریزائی این ارگانیزم در مورد انسان بیشتر است. سالمونلاتیفی مورم جزو مهمترین عوامل عفونت در حیوانات و انسان بشمار میرود.

خصوصیات بیوشیمی در تمامی سالمونلاها تقریباً یکسان است و سالمونلاهای حیوانات خونگرم و انسان دارای خصوصیات زیر میباشند:

همگی باکتری‌ها میل‌های شکل گرم منفی هستند که هیچوقت تولید اسپور نمیکنند
باکتری‌هایی هستند که طول آنها بین ۳-۱ میکرون و عرض آنها بین ۰/۶-۰/۴ میکرون

متغیر است و معمولاً متحرکند.

انواع مختلف سالمونلاها از نظر فولژی و رنگ آمیزی و مشخصات کشت یکسان است ولی میتوان آنها را بوسیله واکنشهای تخمیری و آزمایشهای سرولوژیکی جهت تعیین تایپ از هم تمیز داد .

برای تشخیص یعنی از سالمونلاها مانند سالمونلاتیفی میتوان از روشهای فلورسنت آنتی بادی هم استفاده کرد . معهد اد رحال حاضر روشهای بیوشیمیک و سرولوژیکی بهترین روش برای تشخیص سالمونلاها میباشد . (۱-۲) .

خصوصیات کشت :

سالمونلاها هوازی و بی هوازی اختیاری هستند و براحتی روی محیط های غذایی معمولی و در حرارت مناسبی که بین ۳۷-۳۰ درجه سانتی گراد است رشد میکنند ، البته میتوانند در حرارت ۴۵-۱۵ درجه سانتی گراد رانیز تحمل نمایند و پرشد خود ادامه دهند . (۱-۲) .

خصوصیات بیوشیمیک :

سالمونلاها دارای خصوصیات بیوشیمیک مشخصی هستند که بوسیله این خواص از سایر خانواده آنتر واکتریا سه تشخیص داد میشوند . یکی از مهمترین خواص سالمونلاها عدم تخمیر لاکتوز و ساکارز است ، ولی همه سالمونلاها گلوکز را تخمیر میکنند واکترا " همراه با تخمیر گلوکز ایجاد گاز مینمایند بجز سالمونلاتیفی و بعضی از انواع سالمونلاها . با استثناء عده معدودی از

سالمونلاها که در محیط KCN رشد میکنند سایرین این خاصیت را ندارند. همه این ارگانسیم ها دارای آنزیم لیزین دکربوکسیلاز هستند بجز سالمونلا پاراتیفی A و چند مورد دیگر.

اکثر سالمونلاها قادر بر ایجاد SH_2 در محیط مخصوص خود میباشند باستثناء

تعدادی مانند A - *S. sendai*, *S. seftenberg*, *S. paratyphi* A - *S. cholerae* (1-2)

صفات آنتی ژنیک :

سه آنتی ژن اصلی در سالمونلاها وجود دارد که بوسیله آنها تشخیص ای سرولژیکی صورت میگیرد.

۱- آنتی ژن H یا آنتی ژن فلاژلر؛ این آنتی ژن بوسیله حرارت های بالاتر از ۶۰ درجه سانتیگراد - الکل - واسیدها از بین میرود. آنتی ژن H ممکن است در یک سروتیپ بیک یاد و فرم بنام فازیک و فاز دو وجود داشته باشد. ارگانسیم کف فقط یک فاز را داشته باشد **منوفازیک** و ارگانسیم که هر دو فاز را داشته باشد دی فازیک نامیده میشود. معمولاً "دریک گشت" در فاز مخلوط با هم رشد میکنند، امکان دارد که یکی از این دو فاز قوی تر از دیگری باشد در این صورت باید قطره آنتی سیرم مربوطه عمل ممانعت از رشد فاز قوی را انجام داده و فاز ضعیف را تقویت میکنند. بمرور سالمونلاهای منوفازیک

عمل ممانعت لازم نیست •

۲- آنتی ژن ○ یا آنتی ژن سماتیک از روی آن میتوان تمام سالمونلاها را طبقه بندی

نمود • این آنتی ژن از جنس لیپولی ساکارید میباشد و علاوه بر خاصیت آنتی ژنیک

آند و توکسین باکتری نیز هست • این آنتی ژن در برابر حرارت - الکل و اسید مقاوم

است •

دیواره سالمونلاها مانند سایر باکتریهای گرم منفی از لیپولی ساکارید است ، که بعد

از لیز شدن باکتری این مواد آزاد میشوند و نقش آند و توکسین را بازی میکنند •

سالمونلاها فاقد اگزوتوکسین هستند • (۲) •

بیماری‌زایی :

در تمام عفونت‌های سالمونلائی باکتری از دستگاه گوارش وارد شده و ایجاد عفونت‌های کلینیکی

Clinical و ساب کلینیکی (Sub Clinical) میکنند • بیماری‌های

حاصله بوسیله سالمونلاها را میتوان به سه دسته مهم تقسیم کرد •

۱- Enteric fevers : که در این دسته میتوان از بیماری‌های حصبه و شبه حصبه

که بوسیله سالمونلاتیفی و سالمونلا پاراتیفی ایجاد میشوند نام برد • این ارگانیزم‌ها

از راه مواد خوراکی و آشامیدنی وارد بدن شده و ایجاد بیماری میکنند •

۲- Septicemia : برای مثال میتوان *S. Choleraesuis*

را بعنوان عامل مولد اسم برد که معمولا " در اینگونه مواقع این ارگانیزم ها بطور وسیع آلودگی هایی ایجاد میکنند مانند ، آبسه ها ، مننژیتها ، استئومیلیت ها پنومونی ها و آندوکاردیتها که مخصوصا " در رجه های عقب مانده این عوارض بیشتر ظاهر میشود .

۳- Gastroenteritis یا مسمومیت غذائی ؛ که اکثرا " بوسیله

S. enteritidis, S. derby, S. typhimurium

ایجاد میشود (۲) .

منابع بیماری :

منابع بیماری و عفونت ، مواد غذائی و آشامیدنی هستند که بوسیله سالمونلاها آلوده میشوند ، مانند آب ، شیر ، لبنیات ، صدف ، تخم مرغ ، گوشت ، فرآورده های گوشتی حیوانات خانگی ، آبهای سداجی و فاضلابها . در پراکندگی سالمونلوزیس ناقهیین و ناقلین نیز نقش بزرگی را بازی میکنند .

یکی از علل شیوع و ازدیاد مسمومیت غذائی سالمونلای استفادهاز فرآورده های غذائی حیوانات مختلف مانند ماهیها ، دوزیستان ، پستانداران و غیره است ، بعلاوه پیشرفت

سریع صنعت مواد غذایی و تهیه مواد خوراکی بصورت بودرمانند گرد تخم مرغ، بودر شیر خشک
و غیره را هم میشود یکی دیگر از علل شیوع و وقوع زیاد سالمونلوزوگاستروآنتریت دانست .
یکی دیگر از دلایل شیوع زیاد این ناراحتی عادی راسر سردنیا وجود سهولت در محل و نقل
مواد غذایی در بین کشورهای مختلف است (۲) .

مسمومیت غذایی که بصورت اپیدمی در ناحیه شمالی لندن در سال ۱۹۶۳ اتفاق افتاد
نشان دهند علل فوق الذکر است . تحقیقات انجام شده نشان داده است که منشأ
آلودگی مواد غذایی مربوط به یک کارخانه نان سازی و شیرینی سازی بوده است . شیرینها
و نانهای این کارخانه به تمام نقاط این منطقه ارسال شده و باعث ایجاد مسمومیت غذایی
بصورت همه گیر شده است . از تمام بیماران مبتلا به مسمومیت غذایی - *S. typhimurium*
phage type 1a جدا شده و همچنین از مواد خوراکی تهیه شده این کارخانه نیز همان
فاوت تایپ جدا شد .

تحقیقات بعدی برای پیدار شدن منشأ آلودگی نشان داد که وسائل و کارکنان آن کارخانه
عامل ایجاد این آلودگی مواد غذایی بودند . این ارگانیزم معمولاً " باعث مسمومیت های
غذائی در مراکز جمعیت مانند کافه ها ، کانتین ها و مخازن های مواد غذایی میگردد . (۳)
گاستروآنتریت های حاصل از سالمونلاها مخصوصاً " سالمونلاتیفی موریم امروزه یکی از مهمترین

مسائل بهداشتی دنیا بشمار میرود و هرروزه گزارشهای مختلفی مربوط به مسمومیت‌های غذایی حاصل از این ارگانسیم گزارش داد می‌شود .

بررسی‌هایی که در آمریکا در زمینه سالمونلوزیس توسط Aserkoff و همکارانش انجام شد نشان می‌دهد که در سال ۱۹۴۲ مواد سالمونلوز در آمریکا ۵۰۴ مورد بوده و در سال ۱۹۶۲ ، ۹۶۸۰ مورد و در بین سال‌های ۶۷-۱۹۶۳ موارد سالمونلوزیس ۲۰۰۰۰ مورد افزایش یافته است یعنی ۱۰ نفر از ۱۰۰۰۰ نفر مبتلا به سالمونلوز شده‌اند . البته ارقام داد شده نمی‌تواند بسیار دقیق باشد ولی مسلماً " نشان دهند ه از یاد شیوع و وقوع سالمونلوزیس است . علت گسترش آن‌ترتیب‌های باکتریایی در آمریکا معمولاً " در پیش از نصف موارد گزارش داد شده مربوط به مسمومیت‌های غذایی سالمونلاتیفی موریم می‌باشد . در حال حاضر کنترل سالمونلوزیس یکی از مهمترین مسائل در آمریکا بشمار میرود و برنامه‌های تحقیقاتی بسیار وسیعی برای کنترل این ناراحتی در دست اجرا است که می‌توان گفت نشان دهند ه همکاری بزرگی است در بهداشت عمومی ، دامپزشکی ، کشاورزی و صنایع غذایی (۴) - در فاصله بین سال‌های ۱۹۷۰-۱۹۵۸ - معالجاتی در فرانسه بر روی سالمونلاتیفی موریم شده نشان می‌دهد که موارد سالمونلاتی این کشور بین ۲۰-۱۵٪ متغیر بود و بالاترین رقم تمام سالمونلاتی‌ها ی‌جد اشد هو گزارش شده به مرکز ملی تحقیقاتی سالمونلاتی (Le Centre National des salmonella) در فرانسه می‌باشد .

آندرسن در سال ۱۶۶۹ بکمک فاژتایپینگ رابطه بین مسمومیت غذائی انسان و سالمونلوزیس مربوط به مرغان خانگی را نشان داد ، بموجب مطالعات انجام شده توسط نامبرده فاژتایپینگ ۱۴ یکی از مهمترین و شایعترین نوع فاژتایپین^{ین} جدا شده از مرغان خانگی بوده یعنی (۷۴٪) و نشان میدهد که از همان فاژتایپ (۵/۱۷٪) در انسان وجود دارد ، ولی از این فاژتایپ در گوسفند و گا و بید^ا نمیشود . برعکس فاژتایپ a ۲۰ سالمونلاتیفی^ی مگو که این نوع بعد از فاژتایپ ۱۴ غالبترین نوع در انسان است (۹/۱۵٪) ، در گله های گوسفند و گا و نیز دیده شده ، ولی در مرغان خانگی وجود ندارد (۶) .

در بررسی بیماریهای اسهالی که توسط دکتر لیمان در سالهای ۷۲-۷۰ در تهران روی از سنین^ی رسد رسا انجام گرفته سالمونلاتیفی موریم یکی از مهمترین عوامل بیماریهای اسهالی مخصوصاً در ریجه های ابقه پائین اجتماعی بوده (۸/۱۰٪) . (۷) .

بلاورکلی میتوان گفت که مسئله مسمومیت غذائی حاصل از سالمونلاتیفی موریم در سالهای اخیر یکی از مهمترین مسائل بهداشتی بشمار میرود و شاخص های اپیدمیولوژیکی مثل فاژتایپینگ ، تعیین بیوتیپ ، آزمایشهای حساسیت نسبت به آنتی بیوتیکها انتقال فاکتور مقاومت و بعضی از خواص آنتی ژنیکی برای پیدا کردن منشأ آلودگی و کنترل این بیماری مؤثر باشند .

هدف:

هدف از این مطالعه بررسی، تعیین بیوتیپهای سالمونلاتیفی مورم جدا شده از مدفوع بیماران اسهالی از موارد تک گیر (Sporadic) در فلات مرکزی، تیزسب مطالعهات بیوشیمی پیشرفته است. همچنین بررسی رابده حساسیت و مقاومت این سوشها در بیوتیپهای مختلفه نسبت به سولفا مهد و آنتی بیوتیکها مورد مطالعه قرار گرفته است. این مطالعه شامل بررسی های زیر میباشد:

- ۱- بررسی و تعیین بیوتیپهای مختلف سوشهای سالمونلاتیفی مورم که در طی سالهای ۱۳۴۱-۱۳۵۲ در فلات مرکزی در آزمایشگاه عفونتهای روده ای انستیتو تحقیقات بهداشتی جدا شده است.
- ۲- مطالعه حساسیت و مقاومت این سوشها نسبت به ۱۴ ماده دارویی که تعدادی از این آنتی بیوتیکها در کلینیک به مقدار زیاد برای معالجه آنتر و گاستریتها مصرف میشود.
- ۳- تعیین شیوع و وقوع بیوتیپهای مختلف در بین سالهای ۱۳۴۱-۱۳۵۲.
- ۴- تعیین سوشهای مقاوم و حساس سالمونلاتیفی مورم در بیوتیپهای مختلف در طی سالهای متوالی ۱۳۴۱-۱۳۵۲.
- ۵- تعیین روند تغییر حساسیت در سالمونلاتیفی مورم های جدا شده در ظرف ۱۱ سال در فلات مرکزی.

مواد و وظایف کار :

۱۴۷ نمونه سالمونلاتیفی موریم فقط تعداد معدودی از افراد بظواهر سالم ایزوله

شده بود ، بقیه همگی از موارد اسپهالی تک گیر (Endemic and Sporadic)

بودند در این بررسی مورد مطالعه قرار گرفتند .

این سوشها همگی تا سال ۱۳۴۸ یک یا دو بار کشت مکرر شده بود رلوله های باریک آگار در

حرارت آزمایشگاه نگهداری شده اند . بعد از سال ۱۳۴۸ سوشها بعد از ایزوله شدن

فقط در رلوله باریک آگار نگهداری شده و تا زمان مطالعه این سوشها کشت مکرر

(Sub-culture) نشده اند .

سوشها بعد از ایزوله کردن رلوله باریک در بیون کشت داد هوسپس به محیط SS آگار

(سالمونلا - شینگلا آگار) برده ، و بعد کلتی های مختلف لاکتوز منفی (حداقل ۵ - ۴ کلتی)

روی محیط های افتراقی (SIM, Urea, TSI) جهت تشخیص سالمونلا

تیفی موریم برده شده است پس از این مراحل از محیط TSI عمل سرولژی با آنتی

سرمهای پاستور باروش آگلوتینیا سیون روی لازم صورت گرفته است .

بعد از سرولژی کلتی عائی که در محیط SS به سرولژی جواب داد ه بودند جمع کرده

و برای ه العات بیوشیمی پیشرفته و تعیین بیوتیپ و نیز آزمایشهای حساسیت در ژلسوز

ساده کشت داده شدند .

• محیط اختصاصی در این مطالعه فقط SS آگار تهیه شده از دیفکو بود است (۸) .
محیط های افتراقی هم مانند SS آگار از کارخانه دیفکو تهیه شده بود که به ترتیب

عبارتند از محیط (Triple- Sugar - Iron- Agar) TSI

و Urea و محیط (SIM) (۸) .

برای تعیین بیوتایپ سوشهای سالمونلاتیفی مورم مورد مطالعه از روش Richard

و Cordano (۵) که بر اساس تخمیر قند های اینوزیتول و ترهالوز و واکنش های

D-Tartarate و نترات یونات رد و کتاز بود و مطابق جدول زیر استفاده

شده است :