

" بنام خدا "

بنام او که به همه چیز آگاه است ،

به جای هر جاننداری ،

به وزن هر ذره‌ای ،

به افتادن هر برگی ،

به آهنگ آرام هر نفسی ،

به چگونگی خلقت هر کودکی در شکم مادری ،

به چیزهایی که زیر پوششهاست و دیده نمیشود ،

به آنچه که تاریکی شب آن را پوشانده ،

به آنچه که آفتاب بر آن تابیده ،

به هر چه که پی در پی تاریکی و روشنی بر آن پرده کشیده ،

به .....

دانشگاه علوم پزشکی تهران  
دانشکده داروسازی

پایان نامه :  
برای دریافت درجه دکتری

موضوع :

" بررسی ایمنی نسبت به دیفتری در بالغین "

به راهنمایی :

استاد ارجمند جناب آقای دکتر محمد پزشکی

نگارش :

سینا چمن افروز

شماره پایان نامه : ۲۷۶۴

سال تحصیلی : ۱۳۶۹-۷۰

۱۴۱۹۹

**تقدیم بہ :**

استاد ارجمند جناب آقای داکتر محمد پزشکی

**تقدیم بہ :**

اساتید محترم ہیئت قضا ت :

جناب آقای داکتر محمد باقرا سلامی

سرکار خانم داکتر فاطمہ کمال

جناب آقای ناصر با دامی

**تقدیم به :**

پدر و مادر،

خواهران و برادران عزیز و مهربانم

که همگی شان را دوست دارم .

**تقدیم به :**

کلیه دوستان عزیزم

با تشکر و قدردانی از همکاران صمیمانه سرکار خانم مینوشهرستانی .

فهرست مطالب

=====

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۱	مقدمه و هدف فصل اول :
۲	- تعریف
۳	- تاریخچه
۵	- اتیولوژی
۷	ساختمان آنتی ژنیک
۸	سم
۱۰	فعالیت سمی
۱۱	رابطه ساختمان و اثر سم
۱۵	واحدا ندازه گیری سم
۱۶	بیما ریزائی در حیوان
۱۶	فاژتا پینگ
۱۷	- اپیدمیولوژی
۱۹	- پاتولوژی
۲۰	- پیش آگهی
۲۱	- درمان
۲۱	سرم درمانی در دیفتری
۲۱	تا شیرسرم در مداوای دیفتری
۲۳	آنتی توکسین دیفتری

فهرست مطالب

=====

صفحه	عنوان
۲۴	روش تزریق سرم دیفتری
۲۶	عاقبت سرم تزریق شده
۲۶	مشکلات درمان با سرم
۲۸	آنتی بیوتیک درمانی در دیفتری
۲۸	- پیشگیری
۳۲	- ایمنی
	فصل دوم :
۳۴	- واکنشهای متقابل آنتی ژن - آنتی بادی
۴۰	واکنشهای آگلوتیناسیون
۴۱	آگلوتیناسیون پاسیو
۴۲	- روشهای اندازه گیری آنتی توکسین دیفتری
۴۳	آزمایش شیک
۴۴	تست خنثی سازی توکسین درون جلدخرگوش
۴۵	تست هماگلوتیناسیون غیرمستقیم
	فصل سوم :
۴۹	- مواد دوروش کار :
۴۹	نمونه برداری

فهرست مطالب

=====

صفحه	عنوان
۴۹	مواد لازم
۵۲	تست هما گلوتینا سیون غیرمستقیم
۶۲	تست خنثی سازی توکسین درون جلدخرگوش
	فصل چهارم :
	- نتایج :
۶۴	الف : نتایج تیتراسیون نمونه‌های سرم بوسیله تست جلدی
۶۷	ب : نتایج تیتراسیون نمونه‌های سرم بوسیله تست هما گلوتینا سیون غیرمستقیم
۷۵	ج : برآوردها و فرضیه های آماری
۸۹	- بحث
۱۰۱	- خلاصه
۱۰۴	- رفرنس



## مقدمه و هدف :

=====

درقا موس علم پزشکی عصر حاضر را ههای جلوگیری از اشاعه بیماریهای واگیر در سه جهت اساسی ترسیم شده است. نخست مبارزه با بیماری "یعنی درمان بیماریها توسط وسایط از راه مداوای حاملین سالم عامل بیماری دوم " مسدود کردن راههای انتقال و انتشار بیماریها و واگیرها با لاکسره سوم " افزایش مقاومت فردی در مقابل بیماریها و واگیرها با ایمن سازی. امروزه واکسیناسیون علیه گروهی از بیماریهای حاد عفونی بعنوان کارسازترین و مهمترین راه کنترل این بیماریها مطرح است. بیماری دیفتری، از جمله این بیماریهاست که از دیرباز دشمن شماره یک کودکان بوده است. بهترین طریق مبارزه با دیفتری ایجاد ایمنی پرا داوم بوسیله تزریق واکن ضد دیفتری میباشد.

از آنجایی که مهمترین عامل تعیین کننده در خطر ابتلاء به دیفتری در میزان وجود آنتی توکسین میباشد ( ناشی از واکنسیناسیون یا در اشترا ابتلاء به عفونت آشکار یا نهان )، لذا ارزیابی وضعیت آسیب پذیری جمعیت نسبت به دیفتری از طریق اندازه گیری الگوی فعلی ایمنی در جامعه میسر میباشد. لزوم بدست آوردن این وضعیت آسیب پذیری بخصوص پس از گزارشات مکرر در مورد شکست ایمنی نسبت به دیفتری وقوع اپیدمیهای متعدد در گوشه و کنار جهان ( ۵۴ - ۴۶ ) بیشتر احساس میگردد. از طرفی شناخت الگوی فعلی ایمنی نسبت به دیفتری در جامعه میتواند نمود ورنمایی روشن را در جهت تعیین احتمال خطر بروز اپیدمیها اپیدمیها، ارزشیابی برنامه عمومی واکنسیناسیون و گسترش و تغییر و تحول در آن را برای دست اندرکاران بهداشت جامعه ترسیم نماید.

در این بررسی هدف این بوده است که به روش سرولوژیکی گروههای آسیب پذیر جامعه را نسبت به این بیماری مهلک شناسایی و دورنمایی از وضعیت ایمنی سایر گروههای جمعیتی ترسیم گردد.

## فصل اول

=====

## تعریف :

دیفتری بیماری عفونی حاد است که بوسیله کورینه باکتریوم دیفتری به ایجاد می‌شود. عامل بیماری معمولاً "در حلق، حنجره، و حفرات بینی و گاهی در پوست جایگزین شده و موجب علائم موضعی و عمومی می‌گردد. میکروب اغلب در محل عفونت تکثیر می‌یابد و نشانه‌های بیماری ناشی از توکسینی است که از انواع مولدسم این میکروب ترشح می‌شود. (۱)

## تاریخچه :

بر اساس شواهد تاریخی به نظر می‌رسد که بیماری در چهار قرن قبل از میلاد مسیح وجود داشته است. شرح بیماری را در تورات مقدس و نوشته‌های پزشکان قرون وسطی در خاور میانه و مصر و روم میتوان یافت. با شیوع بیماری در قرن ۱۵ و ۱۶ میلادی در اروپا گروه‌های زیادی از مردم به هلاکت رسیدند. ابتلا یکی از کودکان خانواده ناپلئون به دیفتری و مرگ او سبب شد که ناپلئون برای تجسس علت و مداوای مرض جوانی تعیین کند.

Bretonneau در سال ۱۸۲۶ میلادی هنگام شیوع دیفتری در فرانسه در نتیجه مشاهدات بالینی، نشانه‌های بیماری را به طور کامل شرح داد و نام دیفتریت (کلمه یونانی به معنی پرده) را بر آن نهاد. این دانشمندان اختلافات بین گلودرد مخرجی و دیفتری را توصیف و لارنژیست پرده را نوعی دیفتری دانست. در سال ۱۸۸۳ میلادی با سیل دیفتری

توسط Klebs کشف و یک سال بعد توسط Loeffler کشت داده شد. Roux و Yersin (۸) در سال ۱۸۸۸ نشان دادند که این باسیل یک اگزوتوکسین ترشح میکند که سبب پیدایش نشانه‌های مختلف بالینی بیماری میگردد. Behring در سال ۱۸۹۰ نشان داد که سم میکروب سبب پیدایش ضد سم در سرم میگردد و Franke در همین سال میکروب دیفتری را به حیوانات آزمایشگاهی تزریق کرد و سرم آنها را که از این آزمایش جان سالم بدر برده بودند به حیوانات مبتلابه دیفتری تزریق و آنها را از مرگ نجات داد. Behring و Wernicke در سال ۱۸۹۱ با تزریق سرم ضد دیفتری تهیه شده از گوسفند به یک دختر بچه آلمانی که به دیفتری مبتلابه بود و را از مرگ نجات دادند.

Roux در سال ۱۸۹۴ از اسب برای تهیه پادزهر استفاده کرد و Erlich در سال ۱۸۹۹ روش اندازه‌گیری سرمها و توکسین‌ها را پیشنهاد نمود و برای تحقیقات خود موفق به دریافت جایزه نوبل گردید.

Schick آزمایشات را در میک را برای بررسی ایمنی نسبت به دیفتری در سال ۱۹۱۳ ارائه داد و در سال ۱۹۲۳ را مون نشان داد که مخلوط سم با فرمالین (توکسوئید) برای ایمنی بهتر از مخلوط سم و ضد سم است. Freeman در سال ۱۹۵۱ دریافت که سم زایی باسیل دیفتری به آلودگی با باکتریوفاژی بنام بتافاژ مربوط میشود.

در کشور ما تا سال ۱۳۳۲ که واکسیناسیون دسته‌جمعی به میزان وسیع آغاز شد، دیفتری در تهران و شهرستانهای دور و نزدیک همه ساله هزاران کودک را نابود میکرد. اما به علت فقدان آمار بهداشتی کامل رقم مرگ و میر بر مردم و دولت پوشیده بود. برای درک اهمیت موضوع کافی است یادآور شویم که تنها در آنستیتورازی حصارک که مراجعات تشخیصی آن در آن زمانها

محدوده چندروستای اطراف مؤسسه و تا حدی از شهرستان کرج بود در طوسی  
 ۸ ماه اول سال ۱۳۳۱ چهل و دو مورد میکروب زهرزای دیفتری از گلوی کود-  
 کان جدا شده بود با این رقم میتوان حدس زد که بیماری در سرا سرکشور  
 چه وسعت و دامنه‌ای داشته است. (۷)

#### اتیولوژی:

با سیل کلیس - لفلر عامل دیفتری و از خانواده کورینه باکتریهاست  
 کرینه (Coryne) در لاتین به معنی جماع یا گزاست. و چون این  
 باکتریها تورم شبیه به گرز در انتهای خود نشان میدهند، بنا بر این نام کرینه  
 باکتریوم موسومند. (۲) با سیل دیفتری باریک، بدون حرکت و فاقد  
 کپسول و اسپور میباشند. این با سیل هوازی - بی هوازی اختیاری بوده،  
 گرم مثبت و دارای پلی مورفیسم (چند شکلی) است. گاهی به شکل خمیده  
 شاخه شاخه و زمانی توده مانند به نظر میرسد. با سیل دیفتری در رنگ آمیزی  
 رنگ بلودومتیلن را بطوریکه نواخت جذب نکرده بلکه در بعضی نقاط پسر  
 رنگ و در نقاط دیگری رنگ میشود. دانه‌های متاکرومیک مناطق رنگ شده  
 میباشند که از جنس پلی فسفات، نوکلئوپروتئین و لیپید میباشند. و تصور  
 میشود که در دوره پایانی رشد لگاریتمی باکتری عمل ذخیره سازی فسفاتهای  
 پرانرژی را به عهده دارند. (۹) با سیل دیفتری به حرارت حساس است  
 بطوریکه در ۵۸ درجه سانتی گراد در مدت ۱۰ دقیقه غیرفعال شده و در برابر  
 اکثر مواد ضد عفونی کننده نیز حساس میباشد. با سیل لفلر در برابر خشکی  
 نسبتاً "مقاوم" است.

با سیل دیفتری از نظر خصوصیات کشتی، فرم کلنی و قدرت بیماریزایی

سه تیپ است: گراویس (Gravis)، انترمدیوس (Intermedius) و می تیس (Mitis) که بترتیب شدت بیماری ریزایی و اهمیت کلینیکی آنها کم میشود. (۱۰) وجه تمایز تیپ های فوق در جدول شماره ۱ آمده است.

خصوصیات تیپ	گراویس	انترمدیوس	می تیس
شکل	کوتاه - هم شکل، یکواخت رنگ نمیشود، دانه متاکروماتیک کم.	بلند، مستقیم بهلی مرف یکواخت رنگ نمیشود، دانه های متاکروماتیک کمتر از می تیس. زیاد.	بلند، خمیده، بهلی مرف یکواخت رنگ می شود، دانه متاکروماتیک
خصوصیات کلنی با سیل دیفتری روی محیط تلوریت پتاسیم پس از ۲۴ ساعت	مرکز سیاه خاکستری اطراف کم رنگ. لبه مضرب با خطوط شعاعی، اندازه ۲-۳ میلیمتره گل مینا.	سیاه، خاکستری، صاف یا خشن، کوچکتر از یک میلیمتر، تخم قورباغه.	سیاه براق، لبه گرد و منظم، صاف، ۱-۲ میلیمتر، تخم مرغ نیمرو.
طرز رشد در آب گوشت	پرده در سطح، دانه درشت تفلوله، منظره کشت شفاف.	دانه ریز ته لوله، منظره کشت کدر.	کامل " کدر.
تغییرات pH در آب گوشت پس از رشد	زود	دیر	تغییر نمی کند.
تخمیر نشاسته	+	-	-

جدول شماره ۱: وجود تمایز سه تیپ مختلف با سیل دیفتری.

با سیل دیفتری هوازی - بی هوازی اختیاری بوده ولی در شرایط هوازی بهتر رشد میکنند. متابولیسم خود را هم از طریق فرمانتاسیون و هم از راه تنفس انجام میدهد. بین ۱۵ تا ۴۰ درجه سانتی گراد رشد میکنند ولی بهترین درجه حرارت برای رشد ۳۷ درجه می باشد. پی ملیک اسید، اسید نیکوتینیک و بتا آلانین تقریباً " برای تمام نمونه ها لازم است. بعضی از نمونه های با سیل دیفتری علاوه بر مواد فوق احتیاج به اسید پرا آمینو بنزوئیک یا

پورین نیز دارند .

بهترین محیط برای کشت با سیل دیفتری محیط سرم منقعهده لفلر است . و محیط ژل خوندارت لوریت پتاسیم و محیط آبگوشت از دیگر محیط های کشت با سیل دیفتری میباشند .

ساختمان آنتی ژنیک :

تمام توکسین های دیفتری از نظر آنتی ژنیک یکسانند . با سیل دیفتری از نظر آنتی ژنیک هتروژن بوده و دارای تیپ های آنتی ژنیک متفاوت میباشد . وقوع دیفتری در افراد مصون که در جریان خون ، دارای آنتی توکسین کمین قابل ملاحظه ای میباشد به علت وجود تیپ های آنتی ژنیک مختلف است . سه تیپ اصلی دیفتری گراویس ، انترمدیوسومی تیس در ترکیبات سطحی سلول دارای اختلاف بوده و در هر کدام گروه های فرعی متفاوتی وجود دارد . در گراویس حداقل ۱۳ تیپ ، در انترمدیوسومی ۴ تیپ ، و در می تیس حداقل ۴۰ تیپ مشخص شده است . تفاوت های دیگر اجزاء سطحی سلول بوسیله فاژتایپینگ و تولید باکتریوسین مشخص میشود . آنتی ژن های زیر در کورینه با کتریوم ها وجود دارد .

۱- آنتی ژن K : آنتی ژن پروتئینی حساس به حرارتی میباشد که در سطح سلول قرار دارد و اختصاصی تیپ است . از روی آگلوتیناسیون آنرا به ۸ سرو تیپ  $D_1$  تا  $D_8$  تقسیم می نمایند این آنتی ژن نقش مهمی در ایمنی و ازدیاد حساسیت دارد و از شاخص های اصلی تهاجم و ویرولا- نس با سیل دیفتری است .

۲- آنتی ژن O : که اختصاصی گروه بوده و در زیر آنتی ژن K قرار