

بسمه تعالی

کورینه باکتریوم

دکتر حسام علیزاده

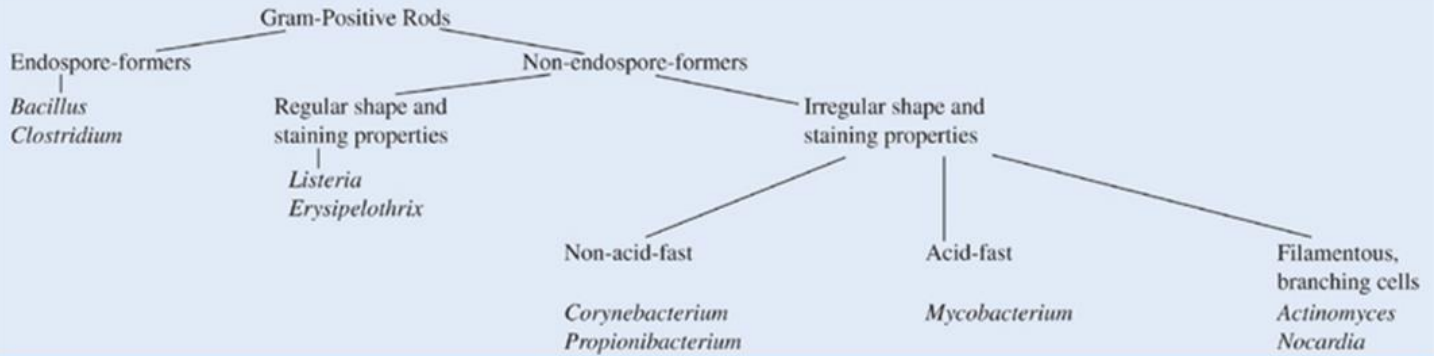
گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان

بطور کلی باسیل های گرم مثبت به دو گروه دارای اسپور و فاقد اسپور تقسیم بندی می شود.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

TABLE 19.1

Gram-Positive Bacilli

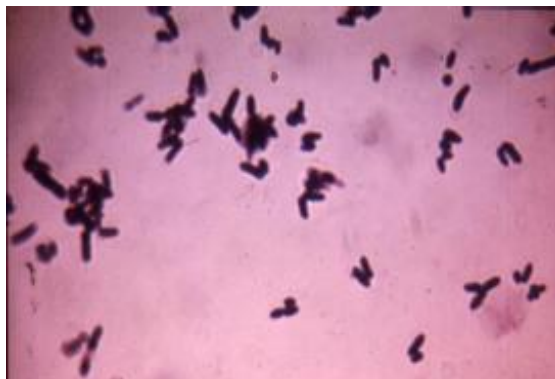


باسیل های گرم مثبت بدون اسپور، گروه متنوعی از باکتری ها را تشکیل می دهند. کورینه باکتریوم ها، هوازی اختیاری، غیرمتحرک و کاتالاز مثبت هستند. کورینه باکتریوم ها در حیوانات و گیاهان وجود دارند و معمولا به عنوان فلور طبیعی پوست، مجرای فوقانی تنفسی، مجرای گوارشی و دستگاه ادراری تناسلی انسان کلونیزه می شوند. باکتری های کورینه فرم (چماقی شکل) شکل نامنظم دارند. *Coryne* به معنای چماقی شکل و *Bacterion* به معنای باسیل کوچک است (باسیل کوچک چماقی شکل). کورینه باکتریوم ديفتريه مهمترين گونه اين گروه بوده که عامل بیماری ديفتري است. *Diphthera* به معنای چرم است (مربوط به غشای چرمی که ابتدا در گلو تشکیل می شود). انتقال بیماری ديفتري از طريق ترشحات تنفسي يا تماس پوستي از فردی به فرد دیگر صورت می گیرد. انسان ها تنها مخزن شناخته شده کورینه باکتریوم ديفتريه می باشند.

کورینه باکتریوم ديفتريه (*Corynebacterium diphtheriae*)

تاریخچه

دانشمندی بنام *klebs* در سال ۱۸۸۳ برای اولین بار کورینه باکتریوم را کشف کرد. در سال ۱۸۸۴ دانشمند دیگری به نام *loeffler* توانست باکتری را کشت دهد. آقای *Emil von Behring* در سال ۱۸۹۰ توانست آنتی توکسین علیه توکسین این باکتری را تولید کند و برای آن جایزه نوبل دریافت کرد. به همین دلیل به *Corynebacterium diphtheriae*، *Klebs-Löffler bacillus* هم میگویند. کورینه باکتریوم ديفتريه شکل نامنظمی دارند در زیر میکروسکوپ به صورت باکتری های متصل بهم و زاویه دار و یا اشکالی شبیه حروف چینی (Chinese letters) یا حروف W و V دیده میشود.



کوریینه باکتریوم ديفتريه در زیر میکروسکوپ

دومین ویژگی کوریینه باکتریوم ديفتريه این است که در سیتوپلاسم باکتری گرانول هایی به نام *metachromatic granule* یا *volutin granule* دارد. این گرانول ها حاوی پلی فسفات هستند و منبعی از انرژی برای باکتری اند. این گرانول ها توسط رنگ آمیزی اختصاصی آلبرت قابل مشاهده هستند. در این رنگ آمیزی باسیل به رنگ سبز و گرانول های پلی فسفات به رنگ ارغوانی یا قهوه ای تیره دیده میشوند. باکتری زیر میکروسکوپ به شکل خاصی دیده میشود و به آن *club shape* یا گرز مانند میگویند.

کوریینه باکتریوم ديفتريه بر اساس ویژگی های بیوشیمیایی، ظاهر کلنی و شدت بیماری زایی به چهار بیوتیپ (*Biotype*) تقسیم میشود (تقسیم بندی بیوتیپ بر اساس ویژگی های بیوشیمیایی باکتری صورت می گیرد):

۱. بیوتیپ گراویس (*Gravis*) شدیدترین فرم بیماری را ایجاد میکند و کلنی های بزرگ خاکستری رنگ دارد.
۲. بیوتیپ میتیس (*Mitis*) بیماری ملایمی ایجاد میکند و کلنی های محدب و سیاه رنگ و کوچکتری دارد.
۳. بیوتیپ اینترمیدیوس (*Intermedius*) بیماریزایی متوسطی دارد. کلنی های صاف، کوچک و خاکستری رنگی دارند.
۴. بیوتیپ بلفانتی (*Belfanti*) در ابتدا با بیوتیپ میتیس طبقه بندی می شد.

مکانیسم بیماریزایی

توکسین ديفتري مهمترين فاکتور ویرولانس کوریینه باکتریوم ديفتريه است. این اگزوتوکسین در محل عفونت تولید شده و سپس از طریق خون منتشر شده و موجب علائم سیستمیک ديفتري می گردد. این باکتری برای ایجاد بیماری نیاز به ورود به خون ندارد. اگزوتوکسین کوریینه باکتریوم ديفتريه شبیه به اگزوتوکسین A در سودوموناس آئروژینوزا می باشد. توکسین این دو باکتری از نظر مکانیسم اثر شبیه یکدیگر هستند ولی از نظر ساختار با هم متفاوت می باشند. تفاوت دیگر این است که اگزوتوکسین سودوموناس تاثیر بر روی کبد دارد ولی اگزوتوکسین ديفتري روی قلب، کلیه ها و اعصاب تاثیر میگذارد.

این دو اگزوتوکسین میتوانند پروتئین سازی را در سلول یوکاریوتی مهار کنند. این توکسین حساس به حرارت است و مقدار کشندگی آن 0.1 میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن است. اگزوتوکسین با غیرفعال کردن فاکتور تولید سازی (*Elongation factor 2 / EF2*) در مرحله ترجمه (*Translation*) سبب مهار پروتئین سازی می شود. این فاکتور در واقع یک ترانس لوکاز (*Translocase*) است و باعث جابجایی پپتید در حال سنتز از جایگاه A ریبوزوم به جایگاه P میشود.

علائم بیماری

آلودگی با کورینه باکتریوم دیفتریه ممکن است به کلونیزاسیون بدون علامت در افراد کاملاً ایمن، بیماری خفیف تنفسی در بیماران نسبتاً ایمن، منجر شده و گاهی نیز مرگ بیمار غیرایمن را در پی داشته باشد. بیماری دیفتری به ۳ فرم دیده میشود:

۱. دیفتری تنفسی (Nasopharyngeal)

۲. دیفتری جلدی (Cutaneous)

۳. عوارض سیستمیک (Systemic complications)

بیماری تنفسی از طریق قطرات تنفسی و حاملین پوستی منتشر شده و پس از دوره کمون ۲ تا ۴ روزه عفونت در لوزه ها و اوروفارنکس آغاز می گردد. بروز این بیماری ناگهانی است و با گلو درد و تب با درجه پایین شروع می شود. بیمار ممکن است دارای سرفه صدا دار و خس خس به هنگام نفس کشیدن داشته باشد. چند روز بعد تشکیل غشای کاذب (Pseudomembrane) که مشخصه بیماری دیفتری می باشد در ناحیه گلو دیده می شود. ترشحات سطح گلو در تشکیل غشا کاذب نقش داشته. یک غشای خاکستری رنگ است که شامل باکتری، لنفوسیت ها، پلازما سل ها، فیبرین و حتی سلول های اپیتلیال می باشد و علاوه بر آسیبی که در این ناحیه ایجاد میکند ممکن است با تولید توکسین عوارض سیستمیک هم ایجاد کند. این غشا معمولاً روی لوزه ها، کام، حلق و حنجره را می پوشاند و هر تلاشی برای برداشتن آن موجب پارگی مویرگ ها و خونریزی می گردد و ممکن است حتی سبب انسداد مجاری هوایی شود (مشخصه دیفتری تنفسی). هنگامی که بیمار بعد از گذشت یک هفته از شروع بیماری بهبود می یابد، غشا کاذب از سطح مخاط کنده شده و به خارج دفع می شود.



غشا کاذب در بیماری دیفتری

در این بیماری، غدد لنفاوی گردن نیز بزرگ می شود که اصطلاحاً به آن Bull neck یا گردن گاوی می گویند و همچنین ادم قابل توجهی در تمام گردن مشاهده می شود. کونژیکتیویت (Conjunctivitis یا Pink eye) که در اغلب بیماری های عفونی وجود دارد نیز مشاهده می شود. با ورود توکسین به خون ضایعاتی در بافت پارانشیمی و نکرور عضلات قلب (میوکاردیت، نارسایی احتقانی قلب، آریتمی قلبی و مرگ)، کلیه و غدد فوق کلیوی می شود. ضایعات عصبی توکسین دیفتری به صورت فلج کام نرم، اختلال در بلع، فلج عضلات چشم و فلج عضلات اندام های انتهایی (دست و پا) بروز می کند. باسیل دیفتری به ندرت وارد بافت های عمقی می شود و در خون دیده نمی شود.



علامت گردن گاوی در بیماری دیفتری



دیفتری زخم یا دیفتری پوست

اغلب در افراد بی خانمان و در مناطق گرمسیری اتفاق می افتد. بیماران هنگامی که با فردی که حامل پوستی کورینه باکتریوم دیفتریه است تماس پیدا کنند آلوده می شوند باکتری ها در داخل یک خراش کوچک که اغلب در ترکیب با استافیلوکوک اورئوس و استرپتوکوک پیوژنز رشد میکنند. زخم حالت قرمزی، متورم و دردناک دارد و غشای کاذب خاکستری رنگ نازکی روی آن قرار دارد که مانع ترمیم زخم می شود. در دیفتری پوستی علائم سیستمیک مشاهده نمیشود چون توکسین ایجاد شده به آهستگی جذب می شود.

تشخیص آزمایشگاهی

باید توجه داشت که درمان اختصاصی نباید برای گزارش آزمایشگاه به تعویق بیافتد به خصوص اگر علائم بالینی نمایانگر دیفتری باشد. نمونه برداری با استفاده از سواب گلو، ترشحات بینی و یا برداشت یک قطعه کوچک از غشا کاذب صورت می گیرد. نمونه ای که با سواب ناحیه ی گلو تهیه شده را در محیط انتقالی آمیز (Amies) به آزمایشگاه منتقل میکنیم. این محیط می تواند هم دارای شارکول (Charcoal) و هم فاقد آن باشد. نمونه ها در محیط های کشت غیر انتخابی نظیر بلاد آگار (جهت رد استرپتوکوک های همولیتیک) یا محیط هایی که به منظور جداسازی این باکتری تهیه شده اند مانند: سیستئین تلوریت بلاد آگار (CTBA)، تینسدال آگار و کلیستین نالیدیکسیک اسید آگار (CNA) کشت می دهند.

رشد کورینه باکتریوم دیفتریه در محیط بلاد آگار: کورینه باکتریوم دیفتریه مثل استرپتوکوک ها در محیط کشت بلاد آگار رشد میکند با این تفاوت که استرپتوکوک گروه A بتا همولیز دارد ولی کورینه باکتریوم دیفتریه فاقد همولیز است.

محیط کشت تلوریت پتاسیم (Potassium tellurite) دو نوع محیط کشت دارد: محیط کشت سیستئین تلوریت بلاد آگار (cystine-tellurite blood agar (CTBA) و محیط کشت تینسدال آگار (Tinsdale agar)

تلوریت سبب مهار رشد باکتری های فلور نرمال دستگاه تنفسی فوقانی را میگیرد. در محیط های حاوی تلوریت کلنی باکتری سیاه رنگ است چون باکتری تلوریت را احیا میکند. تجزیه سیستمین بوسیله فعالیت سیستمیناز کورینه باکتریوم دیفتریه هاله ای قهوه ای رنگ در اطراف کلنی ها ایجاد می کند. یکی دیگر از اصلی ترین محیط هایی که برای جداسازی کورینه باکتریوم دیفتریه استفاده می شود محیط کشت لوفلر (Loeffler) بوده. این محیط برای افزایش تولید گرانول های متاکروماتیک در باکتری ها استفاده می شود. محیط کشتی است که حاوی سرم، عصاره ی گوشت گوساله به همراه دکستروز است. کلنی ها معمولا در این محیط به حالت کرم یا شیری رنگ دیده میشوند.

میکروسکوپی

نتایج آزمایش های میکروسکوپی نمونه های بالینی قابل اعتماد نیستند. گرانول های متاکروماتیک در باکتری های رنگ شده با متیلن بلو مشاهده می شوند اما این ظاهر منحصر به کورینه باکتریوم دیفتریه نیست و ممکن است در سایر باکتری ها نیز مشاهده شود. نمونه ها را می توان مستقیماً با متیلن بلو یا رنگ آمیزی گرم در زیر میکروسکوپ به صورت حروف چینی و از نظر شکل گرز مانند مشاهده کرد. در رنگ آمیزی آلبرت نیز دانه های متاکروماتیک در انتهای باکتری دیده می شوند.

تست شیک (Schick test)

این تست پوستی جهت تعیین مصونیت فرد بر علیه توکسین مورد استفاده قرار می گیرد. به این صورت که روی ساعد یک دست ۰/۱ میلی لیتر به صورت زیر جلدی توکسوئید دیفتری یا همان توکسین غیرفعال شده و در ساعد دست دیگر توکسین دیفتری را تزریق می شود. بعد از ۲۴ - ۴۸ ساعت محل تزریق را مشاهده می شود. در دستی که توکسین تزریق شده برآمدگی، قرمزی و وزیکول ایجاد میشود. اما اگر شخص نسبت به دیفتری ایمن باشد علامتی در دستش ایجاد نمی شود. تزریق توکسوئید حالت کنترل دارد و ضایعه ای ایجاد نمی کند.



درمان و پیشگیری

به طور کلی دیفتری در کشور های توسعه یافته ریشه کن شده اما در کشور های در حال توسعه همچنان وجود دارد. معمولا در کودکان زیر یکسال به ندرت دیده میشود زیرا آنتی بادی مادرزادی علیه دیفتری در بدن نوزاد وجود دارد و به مرور زمان کاهش می یابد و بعد از ۱ سال فرد تقریباً مستعد بیماری میشود. توکسوئید دیفتری معمولا همراه با توکسوئید کزاز، واکسن سیاه سرفه، هموفیلوس آنفولانزای تیپ b و هپاتیت ب بعنوان واکسن پنجگانه به نوزادان و کودکان تجویز می شود. در گذشته واکسن سه گانه (DPT) استفاده میشد که حاوی دیفتری، کزاز، سیاه سرفه بود. بهتر است واکسیناسیون یادآور دیفتری به همراه واکسن کزاز هر ۱۰ سال انجام شود.

در بیماران دیفتری درمان کلیدی و موثر تجویز آنتی توکسین می باشد. آنتی توکسین دیفتری را از حیواناتی نظیر اسب، بز، گوسفند و خرگوش که قبلاً مورد تزریق مکرر توکسوئید خالص قرار گرفته اند به دست می آورند. آنتی توکسین باید در همان روز اول تشخیص بیماری تجویز شود و تکرار تزریق آن ضروری نیست. در مواردی که که بیماری خفیف است آنتی توکسین را می توان از راه عضلانی تزریق کرد.

استفاده از آنتی بیوتیک هایی مثل پنی سلین و اریترومايسين از رشد باسيل ديفتري جلوگیری می کنند. با اینکه داروهای مزبور هیچ گونه اثری در سیر بیماری ندارند، اما تولید توکسین را متوقف ساخته و موجب از بین رفتن استرپتوکوک ها و گونه های کورینه باکتریوم موجود در مجرای تنفسی بیماران و ناقلین می شود. هنگامی که از آنتی بیوتیک استفاده نشود ۱۵-۱ درصد از بیماران بهبود یافته به حاملین کورینه باکتریوم ديفتريه در بینی تبدیل می شوند. استراحت در بستر و جدا کردن بیمار از دیگران جهت جلوگیری از انتشار بیماری و کنترل مجرای تنفسی برای بیمارانی که مبتلا به ديفتري هستند بسیار اهمیت دارد. بعد از اینکه بیماری بهبود یافت، ایمن سازی با توکسوئید ضروری است زیرا بسیاری از بیماران بعد از عفونت طبیعی نمی توانند آنتی بادی محافظت کننده تولید کنند.