

«موالطیف»

دکتر اخ

باکتری شناسی جلد ۲۳ (قسمت ۲)

باکتری های بی هوازی بدون اسپور

✦ یک طبقه بندی (با تشکر از ایدار ۱۸۸ ایمون: دی)

باسیل های گرم منفی	باسیل های گرم مثبت	کوکسی های گرم مثبت	کوکسی های گرم منفی
<ul style="list-style-type: none">BacteroidesPrevotellaProphyromonasFusobacterium	<ul style="list-style-type: none">Actinomyces israeliPropionibacterium acnesEubacteriumMobiluncus	<ul style="list-style-type: none">PeptostreptococcusGemelia morbitlorum	<ul style="list-style-type: none">Veilonella Parvulla

✦ اکثر این باکتری ها که به عنوان بیماریزا معرفی می کنیم جزو فلور طبیعی انسان هستند و همه آن باکتری ها را دارند. مثلا پروفیروموناس در دهان عفونت های لاعلاجی ایجاد می کند. (واقعاً زحمت می کشد، دستش درد نکند!!) و همچنین این بیماری ها قابل سرایت از فردی به فرد دیگر نیستند چون که هر فردی دارای این باکتری هاست و این ها فقط بدنال فرصت هستند که آن را بطلبند و بیماری ایجاد کنند.

* نیاز های هوایی باکتری ها:

✦ هوازی اجباری: نیاز به ۲۱-۱۵٪ اکسیژن

✦ میکروآتروفیل: نیاز به ۶-۵٪ اکسیژن

✦ بی هوازی اختیاری: رشد هم در حضور و هم در غیاب اکسیژن

✦ بی هوازی اجباری: باید اکسیژن در محیط نباشد.

✦ بی هوازی تحمل کننده: وجود اکسیژن باعث کاهش رشدشان می شوند. (سیستم بی هوازی و میکروآتروفیل

دارند)

✦ کاپنوفیل ها: برای رشد و نمو به ۱۰-۵٪ CO₂ نیاز دارند.

✦ این باکتری ها صفت عمده ای که دارند پلی مورف بودن آنهاست.

این ارگانسیم ها برای رشد و نمو نیازهای مهمی دارند ، یعنی به سادگی در محیط های کشت آزمایشگاهی رشد نمی کنند و به محیط های کشت غنی شده با موادی مانند : عصاره مخمر ، خون ، سرم ، ویتامین K ، کربوهیدرات های قابل تخمیر ، همین و ... نیاز دارند . این محیط ها شامل تیوگلیکولات ، فیل اتیل الکل آگار (PEA) ، باکترئید بایل اسکولین آگار ، براث بی هوازی ، cooked meat ، chopped meat ، sheadler ، Anaerobic blood agar ، Kanamycin – Vancomycin laked blood agar (KVLB)

* سیستم های کشت بی هوازی :

۱. جار بی هوازی
 ۲. کیسه های غیر قابل نفوذ به اکسیژن
 ۳. سیستم Roll-tube
 ۴. جمبر های بی هوازی (Anaerobic chamber) که این سیستم مهمترین سیستم است.
- بی هوازی های شرکت کننده در عفونت های بالینی حساسیت کمتری نسبت به فلور بومی به اکسیژن دارند (در جار هم می شود کشت داد)

در این موارد پزشک بیشتر نیازمند به گرفتن نمونه است :

- ✓ آسپیره کردن (Aspiration) : با استفاده از سرنگ از قسمت های عمقی زخم نمونه برداری می کنند به گونه ای که سر سوزن را به اندازه ۲-۳ سانتی متر وارد زخم کرده ترشحات چرکی را آسپیره می کنند . یک پنبه سر سوزن قرار داده اکسیژن باقی مانده را خالی می کنند . سپس با پنس سر سوزن را خم می نمایند تا هوا وارد نشود و فوراً نمونه را به آزمایشگاه می فرستند .
- ✓ نمونه به سواب قابل قبول نیست چون هم خشک می شود و هم در ارتباط با هوا قرار می گیرد.

برای انتقال نمونه ها هم شرایطی وجود دارد :

- ✓ برای انتقال بافت ← باید از کیسه های عاری از اکسیژن (O₂-free transport bag) استفاده شود که دشوار است.
- ✓ برای انتقال خون ← از محفظه های بی هوازی (Anaerobic bottle) باید استفاده شود.

* فاکتور های ویرولانسی :

۱. برخلاف اسپوردار ها یا سم خارجی ندارند یا بسیار ضعیف است.
۲. LPS : - شبیه به LPS باکتری های گرم منفی (بی هوازی اختیاری) است ولی دقیقاً یکسان نیست و ساختمانش فرق می کند.

- اثرات : ۱- کاهش زمان لخته شدن (CT ↓) ۲- تسریع شکل گیری آبنه (در حیوانات)

- در فوزو باکتریوم ، پری ووتلا ، پورفیروموناس ، وولی نلا ، باکترئیدوویونلا

۳. کپسول : - اثرات : ۱- تولید آبسه در حیوانات تجربی ۲- ممانعت از فاگوسیتوز

- در باکترئید ، پریوتلا ، پورفیروموناس

۴. آنزیم های مختلفی که دارند ؛ مثل : کلاژناز ، هپاریناز ، هیالورانیدراز ، فیبرینولیزین ، ژلاتیناز و ...

۵. از همه مهمتر آنزیم های محافظت کننده از اکسیژن (؟!!) ، مثل کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیدودیسموتاز

۶. و مسئله ی دیگر (معمتر ۸۸: ۸۱) محصولات نهایی (End product) مسیر های متابولیک اینهاست که برای خود

این باکتریها مفید و برای ما مانند یک فاکتور ویرولانسی است .

یوتیرات ← پورفیروموناس ← سم برای سلول های پستانداران

سالیسیلیک اسید ← باکترئید ها ← مانع کشتار فاگوسیتیکی E.Coli

? چرا سالیسیلیک اسید تولید شده یک فاکتور ویرولانسی به حساب می آید؟؟

E.Coli هوازی است و اکسیژن محیط (زخم) را مصرف می کند و از این طریق شرایط را برای رشد بی هواری ها مناسب می کند (با بی هواری کردن محیط) . پس باکترئید متقابلا با تولید سالیسیلیک اسید از E.Coli محافظت می کند. به همین دلیل هم هست که جراحان زمانی که یک زخمی چرکی می شود سریعاً اقدام به تخلیه چرک می کنند زیرا می دانند در صورتی که این بی هواری های اختیاری در محیط رشد کنند با مصرف اکسیژن محیط را تبدیل به محیطی بی هواری و رشد باکتری هایی چون باکترئید و ... را که جزو فلور هستند ، امکان پذیر می نماید ؛ که در صورت رشد، زخم به mixed infection تبدیل می شود که درمان آن مشکل تر است و سپس باعث ایجاد مایونکروزیس می شود .

* Synergy :

این باکتری های بیهواری خاصیت Synergistic بودن دارند یعنی به تنهایی کاری را نمی توانند انجام دهند و دسته جمعی عمل می کنند . یعنی وقتی کنار هم جمع می شوند ، هر کدام یک خاصیت را در اختیار دیگری داشته تمام فاکتور ها را فراهم می کنند. مخصوصاً در افرادی که immune compromised هستند این کار بهتر انجام می شود و تعداد زیادی باکتری برای جمع شدن فاکتور ها لازم نیست . به عنوان مثال در عفونت آپاندیس (آپاندیسیت) ، عفونت های دستگاه تناسلی ، عفونت های بافت نرم .

○ مثال :

- نمونه ی بارز این را شما می توانید در پرویدنت ها ببینید ؛ لته بعضی افراد (که عفونی است) همیشه پر است از باکتری های متنوع که به درمان هم پاسخ مناسبی نمی دهند ؛ که پیوره نامیده می شوند .
- نیاز P.gingivalis به نفتاکینولون که توسط دیفتروئید های ترشح شده باث ایجاد عفونت می کند .
- یا توانایی ساکسینات(؟!!) برای تامین نیاز های کلسیلا نومونیا که خود برای پورفیروموناس جین جی والیس ضروری است .
- ممانعت از عمل فاگوسیتوز بر روی گرم منفی ها توسط باکترئید و ... (با رقابت برای اوپسونین؟)

این بی هوازی ها بتالاکتاماز تولید می کنند ، که باعث می شود دیگر بتالاکتام ها در این انواع از زخم ها موثر نباشند.

دقت کنید که ما نیاز نداریم این باکتری ها را از بیرون دریافت کنیم زیرا هر بخشی از بدن انسان ، دارای یک نوع بی هوازیست ؛ حتی پوست!!!

عفونت های ایجاد شده توسط این دسته از باکتری ها :

۵. عفونت های بافت های نرم
۶. سپتی سمی
۷. تعداد بسیار زیادی از عفونت ها (پوست و ...)

۱. عفونت های داخل شکمی
۲. عفونت های مامایی و بیماری های زنان
۳. عفونت های پلوروپولموناری
۴. عفونت هت ناحیه تنفسی فوقانی

* سه ویژگی اصلی عفونت های بیهوازی :

توسعه کند زخم (سرعت رشد پایین) . چرا؟؟؟ زیرا انرژی مورد نیاز خود را از طریق تخمیر بدست می آورند ، و به دلیل پایین بودن میزان انرژی تولیدی (ATP ۲) سرعت رشد نیز کم است .

بوی بسیار بد ← به این دلیل که در اثر فرمانتاسیون اقسام محصولات نهایی را تولید می کنند که دارای بوی بد است در حالی که باکتری های هوازی به علت تولید CO_2 و آب فاقد این بو هستند.

تولید گاز در زخم ها (بافت ها)

دقت کنید که پاتوژن گفته شده در مورد اسپور دار ها در بالا ، برای این ها هم صادق است .

آزمایشگاه ها برای بی هوازی ها کشت و آنتی بیوگرام انجام نمی دهند . آیا لازم است؟؟

✓ لازم است اما به دلایلی انجام نمی دهند :

- زخم ها خاصیت پلی میکروبی دارند و نمی توان آنها را آنتی بیوگرام کرد.
- چون باکتری ها دیر رشدند جدا کردن تک تک آنها و انجام آنتی بیوگرام زمان زیادی می برد .
- به متد های مخصوصی نیاز است .

توجه ۱: NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) که البته الان شده

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) ، تعیین MIC

(Minimum inhibitory concentration) را برای باکتری ها ضروری می داند . (پیروزه ۸)

توجه ۲: سابقا برای باکتری های بی هوازی می گفتند تعیین حساسیت لازم نیست چون اینها مقاومت کسب نمی کنند

ولی الان معلوم شده است که بالاترین مقاومت ها را این باکتری ها ممکن است کسب کنند . مثلا باکترئید فرازیلیس بالاترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها را دارد .

* درمان :

درناژ: که همان تخلیه و تمیز کردن زخم است یعنی جراحی و رفع بافت نکروزه همراه با آنتی بیوتیک تراپی .

اگر امکان جراحی و باز کردن زخم وجود نداشته باشد ، فقط آنتی بیوتیک تراپی .

در سستی سمی های بیهوازی (مخصوصا باکترئیدی) که میزان مرگ و میر بالاست ← آنتی بیوتیک تراپی (مکه کلا اینپوری درمان نمی کنیم) (۱۹۹)

درمان تزریقی به خوراکی ترجیح داده می شود زیرا در خوراکی تا جذب صورت بگیرد و سپس وارد گردش خون شود زمان می برد ← تزریق به عضله و مخصوصا ورید سریعتر است .

درمان طولانی مدت نیاز است .

➤ در درمان آنتی بیوتیکی باید به ۲ مسئله توجه شود :

۱. بسیاری از این ارگانسیم ها دارای آنزیم بتالاکتاماز هستند پس نسبت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام مقاومند و تجویز نمی کنیم .

☞ (اگر تجویز کنیم همراه یک مهار کننده بتالاکتاماز تجویز می کنیم مثل سولباکتوم ، کلارولینیک اسید)

۲. همه باکتری های بی هوازی به آمینوگلایکوزید ها (مانند جنتامایسین ، آمیکاسین ، فیرومایسین ، استرپتومایسین) که علیه بسیاری از بیهوازی های اختیاری به کار می رود ، مقاومند .

? چرا !!!

چون برای انتقال این دسته از آنتی بیوتیک ها به داخل سلول فرآیندی وجود دارد که نیاز به اکسیژن است و چون این باکتری ها بی هوازی هستند و اکسیژن نیست این باکتری ها کلا وارد سلول نمی توانند بشوند .

? چرا پس در درمان عفونت ها ، یک آمینوگلایکوزید هم تجویز می شود؟؟

چون همانطور که پیشتر اشاره شد عفونت های بی هوازی عمدتاً mixed infection هستند ؛ پس پزشک یک آمینوگلایکوزید به همراه یک بتالاکتام تجویز می کند تا بی هوازی های اختیاری نیز از بین بروند .

➤ آنتی بیوتیک های موثر در درمان بی هوازی ها :

مترونیدازول - ایمی پنم - کلرامفنیکل - کلیندامایسین - سفلاکسیم - پیپراسیلین (اغلب همراه با سول باکتوم و کلارولینیک اسید) اکسیژن با فشار بالا نیز قابل استفاده است . (پون توکسین تولید نفاذ شد .)

* باکترئیدس (Bacteroides) :

☞ باکترئید فراژیلیس (Bacteroides fragilis) : یک باکتری گرم منفی است ؛ این باکتری اگرچه LPS دارد اما یا فاقد لیپید A است ، یا مقدار کمی از آن را دارد .

همچنین عامل بیش از ۶۱٪ عفونت های باکترئیدی انسان مثل عفونت های داخل شکمی و ... است .

☞ باکترئید تتیاتومیكرون (Bacteroides thetaiotaomicron) عامل ۱۷٪ از عفونت های باکترئیدی است .

* پروتلا بیویا (Prevotella bivia) :

- ✓ یک باکتری گرم منفی ، غیر متحرک ، بی هوازی بدون اسپور (یوخی بابا!!) و به صورت کوکوباسیل دوتایی است.
- ✓ همین (hemin) را برای خودش نیاز دارد. (۱۸۸۱)
- ✓ جزو فلور طبیعی واژن است اما در واژینوزیس (عفونت واژن) هم نقش دارد .
- ✓ از عفونت های ناحیه ی تناسلی ایزوله می شود .
- ✓ بسیاری از سویه ها قادر به تولید بتالاکتاماز هستند که در نتیجه درمان بیماری با بتالاکتام ها رخ نمی دهد.

* فوزوباکتریوم ها (Fusobacterium) :

- ✓ گرم منفی هستند . فوزیفورم یا بشکل باکتری معمولی (امتلا منظور بی هوازی های اختیاریه) دیده می شوند . کلنی ها هم شبیه اند (بازم امتلا منظور بی هوازی های اختیاریه) . بعضی ها پیگمنت تولید می کنند که در زیر نور فرابنفش آجری رنگ است.
- ☞ همونطور که هلیکوباکترها کشف شده است که در کارسینوماهای معده انسان نقش دارند ، نقش این باکتری ها هم در سرطان های روده انسان در حال بررسی است.
- ☞ فوزوباکتریوم نکروفورام (necrophorum)
- ☞ فوزوباکتریوم نوکله آتوم (nucleatum)

* ایوباکتریوم ها (Eubacterium) :

- ✓ ایوباکتریوم لتوم (lentum) [که البته الان اگر تلا (Eggerthella lenta) نامیده می شود.] معمول ترین ایوباکتریوم در عفونت هاست .
- ✓ E.brachy, E.timidum, E.nodatum هر سه عامل پریدونتیت (periodontitis) دهان و اطراف لثه هستند.
- ✓ E.nodatum ← شبیه اکتینومایسس هاست ← عامل عفونت در خانمهایی است که از طرح های داخل رحمی برای جلوگیری از بارداری (مثل کوایل) استفاده می کنند. (وقتی که کوایل با این باکتری آلوده بشود ؛ ایجاد یک عفونت بسیار پیچیده)
- ☞ **جاوتز** (دوستان من فورم در مورد ایوباکتریوم ها یکم سردرگم شدم ! گفتم به جاوتز به نگاهی بیندازیم شاید حل شد !) :
- یوباکتریوم ، اگر تلا ، بیفیدوباکتریوم ، آرکلیا ؛ این ۴ جنس به صورت باسیل های گرم مثبت ، بی هوازی ، و پلی مورف می باشند. این باکتری ها ، کونه های متعددی دارند. در عفونت های مفلوط با فلورا اوروفارنکس و روده ای یافت می شوند .

* پروپیونی باکتریوم آکنس :

- ✓ ساکن طبیعی دستگاه گاسترواینتستینال و ناحیه ی پوست انسان است . اما می تواند عامل آکنه باشد ؛ همچنین در عفونت های مغزوپرده های مغز (مننژیت) و سپتی سمی هم ممکن است شرکت کند .

✓ گردن ، صورت و ... بعضی جوان ها پر از جوش است ؛ این جوش ها ۲ نوع اند :

■ غرور جوانی : عفونی نیستند ، در اثر تجمع چربی ایجاد می شوند و خود بخود هم رفع می شوند .

■ آکنه : عفونی است و منشا باکتریایی دارد .

☞ آکنه را در آزمایشگاه با کشت بررسی می کنند و اگر در جوش این باکتری باشد آنتی بیوتیک تراپی می کنند .

* موبیلونکوس (Mobiluncus) :

✓ در واژینیت نقش دارد و ۲ نوع است : M.curtisii و M.mulieris که هر دو در واژینیت غیر مخصوص نقش دارند.

✓ شکل پراتنزی دارند مثل ویبریوکلرآ و دارای فلاژل پری تریکوس هستند .

پایان قسمت ۲

پی نوشت نامه :

✓ اول از همه این که دوستان فسته نباشید و عذر می خوام که اینقدر دیر شد این جزوه و اینکه امیدوارم هممون تو امتحانای این ترم موفق بشیم .

✓ جزوه ی قسمت ۲ (بی هوازی های بدون اسپور) به خاطر شباهت بیش از حدش به جزوه ۸ عملی از روی اون نوشته شده و من فقط بعضی نکات رو اضافه و کم کردم و بعضیبارم اصلاح و جا داره که از خانم دکتر ها !!! جهان افروز ، افشتم ، قاسم زاده ، صدیقی ، ممدی ، نعمت الهی و اصفهانی بابت نوشتن این جزوه (جلسه ۱۷ - ۱۸) تشکر کنم.

✓ همچنین به تشکر دیکم می کنم (دی) از کسانی که واسه برنامه امتحانی این ترم زحمت کشیدن از جمله آقایان خوشباطن ، برادران عسن پور (اسلام و علی) ، قاسم زاده ، روح بخش و همه ی کسانی که کمک کردن و اسمشون برده نشده ، همچنین از خانم ها ساعتی و ویدرانی و آقای اسلام عسن پور که این ترم واسه هماهنگی جزوه های میکروبی زحمت کشیدن .

✓ و فیلیپی ممنون از همتون که به این قسمت از برنامه من توجه کردید ، امیدوارم همیشه تو زنگیتون شار و سربلند باشید .

علی ادیب

"بدون حضور خدایانی نرو؛ به خیالت که به آبادی میرسی؟"

نه.

چراغی که در سیاهی میدرخشد چشم گرگ است...!!!»

- ناشناس

Lecithinase test

General

Many bacteria have enzymes which can break down lipids, so-called lipases. Lecithinase, which is also called phospholipase C, is such an enzyme that splits the phospholipid lecithin (= e.g. phosphatidylcholine). Phospholipids, which are charged are usually soluble in water, but one of the products which is formed by the splitting, namely a diglyceride, is not charged and it has two long hydrocarbon chains. It is, therefore, insoluble in water and this is utilized in the lecithinase test, where bacteria are cultivated on egg yolk agar. Egg yolk contains a lot of lecithin.

Method

1. Apply the bacteria in the form of a streak onto the egg yolk agar.
2. Read the plate after 24 h.
 - **Positive test result:** Precipitation around the streak of bacteria.
 - **Negative test result:** No precipitation.

Nagler's reaction (Lecithinase test)

Nagler's reaction is a test for the identification of alpha toxin of *Clostridium perfringens*. The toxin is **lecithinase** which hydrolyses the phospholipid lecithin (a component of cell membranes). The activity of the alpha-toxin (**lecithinase**) can be demonstrated by growth on agar containing egg yolk (as a source of lecithin): **an opaque zone** representing insoluble diglyceride, becomes evident around colonies of *Clostridium perfringens* (the Nagler reaction). The activity of alpha-toxin is inhibited by anti-alpha-toxin antibody (generated by vaccination with alpha-toxoid).

