



مقدمه: مایکو یعنی قارچ و علت نام گذاری مایکو باکتریوم این بود که در کشت هایی که اوایل انجام میدادند دیدند که در بعضی از محیط های کشت این باکتری رشته هایی شبیه میسیلیوم قارچ ها به وجود آمد.

در خانواده مایکو باکتریاسه یک جنس داریم به نام مایکوباکتریوم. این جنس بیش از 140 گونه دارد.

Order → actino mycetales

Family → mycobacteriaceae

Genus → mycoloaeterium

ماکو باکتریوم ها، باکتریهای گرم مثبت و هوازی و باسیلی شکل هستند که اسپور تشکیل نمیدهند.

تعداد محدودی از این ها برای انسان بیماریزا هستند. (پاتوزن اجباری یا مطلق)

مانند باسیل mycobacterium tuberculosis و باسیل جزام (m. leprea).

بعضی پتانسیل بیماری زایی دارند.

در پزشکی ان ها را به سه گروه تقسیم می کنیم:

1: مایکو باکتریوم توبر کلوزیس – عامل سل

2: مایکو باکتریو لپره – عامل جزام

3: مایکو باکتریو غیر سلی – (non tubercles mycobacterae) NTM

این ها به لحاظ اپیدمیولوژیک، نحوه انتقال و داروهای مورد استفاده برای درمان با هم فرق می کنند.

داروهای سلی روی غیر سلی ها بی تاثیر هستند. به جز یکی دو مورد که ممکن است به ریفامپسین جواب دهند مابقی داروهای اختصاصی خود را دارند. عامل سل از طریق عطسه و سرفه میتواند منتقل شود. (person to person transmision). اما Intm این گونه نیست. فراوانی ntm خیلی کمتر است اما درمان ان سخت تر است و داروهای محدود تری برای ان وجود دارد. عامل سل جز یک complex است که این 3\_4 زیر گروه دیگر هم دارد که به هم نزدیکند مانند: عامل سل گاوی (m. bovis), (m. africanum, microtii)

Ntm می تواند عفونت دستگاه تنفس بدهد. گاهی هم علایمی شبیه سل دارد ولی به دارو های ضد سل جواب نمیدهد. از لحاظ شروع سل حرف اول را می زند. 1/3

بیمار نیستند. در درصد زیادی از مردم وقتی سل وارد بدنشان می شود سیستم ایمنی ان را از بین میبرد. تنها 5 تا 10 درصد مردم در همان مراحل اول دچار بیماری می شوند. (در بقیه یا باسیل سل از بین می رود یا به صورت نهفته باقی میماند تا در شرایط مساعد مثلا در پیری



نقص ایمنی، دیابت یا عفونت های ریوی مجددا بروز کند). با ورود عامل سل به بدن ایمنی با واسطه سلولی فعال میشود و در پی آن نشانه هایی نیز بروز میکند که می توان از آن ها در تشخیص استفاده کرد. سل از هر نوعی باشد برای تشخیص آن از تست ppd استفاده می شود. به منظور انجام این تست به صورت intradermal مشتقات پروتئینی خالص شده از TB مثل توبر کولین را تزریق میکنند. اگر فرد مسلول باشد به انتی زن های موجود در محل تزریق واکنش نشان میدهد که واکنش از نوع (ازدیاد حساسیت تاخیری با واسطه ایمنی سلولی) است.

(در سل انسانی ایمنی سلولی اهمیت بیشتری دارد هر چند انتی بادی هم تولید می شود ولی انتی بادی ها protective نیستند). در نتیجه ی این واکنش 48\_72 ساعت بعد محل تزریق متورم و قرمز میشود. افرادی که واکسن BCG زده اند نتیجه تست ppd ها مثبت می شود. ولی قطر ناحیه تزریق برای آن ها 5\_10 میلی متر است در حالی که افراد مشکوک به سل چیزی حدود 10\_25mm است و قطر حدود 25mm بیانگر قطعی بودن سل است. هر چقدر بیشتر باشد پاسخ ایمنی قوی تر بوده. بنا بر این ppd هم برای سل ریوی و هم برای سل خارج ریوی و هم افراد واکسینه شده مثبت است و می توان از آن به عنوان تست غربالگری استفاده کرد. ولی حساسیت آن کم است چون افراد واکسینه شده را که سالمند به غلط مثبت اعلام می کند.

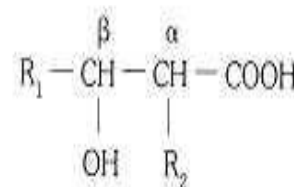
در راسته actinomycetals – اعضای آن دو ویژگی خیلی مهم دارند:

1: مقدار GC (گوانین\_ سیتوزین) زنوم آن ها بالاست. بالغ بر 50 درصد تا 80 درصد هم میرسد.

2: اغلب اعضای آن یک اسید چرب مخصوص به نام مایکولیک اسید دارند. که یک اسید چرب بلند زنجیر و با انشعابات فرعی می باشد که طول زنجیره آن بر حسب جنس متفاوت میباشد C60\_ C90 در مایکو باکتریوم و C40\_ C56 در نوکاردیا. مایکولیک اسید در فیزیولوژی باکتری موثر است هم چنین مایکولیک اسید target بسیار خوبی برای انتی بیوتیک هایی است که ضد دیواره سلولی مایکوباکتریوم عمل میکنند.

همچون تیروزین امید و ایزونیازید. مایکولیک اسید به باسیل سل کمک می کند که به بعضی عوامل فیزیکی، شیمیایی، خنثی و اسید ها و باز ها مقاوم باشد. در ساختار مایکولیک اسید R1 و R2 از گروه های کربوکسیل تشکیل شده اند.

Mycolic acid structure



مهمترین خاصیت مایکولیک اسید دادن خاصیت اسید فست بودن به باسیل سل است. در واقع وجود این در cell wall باعث می شود باکتری نسبت به اسید الکل مقاوم شود.

برای نفوذ رنگ به درون باکتری دو راه وجود دارد. یک: روی لام فنول می ریزند؛ دو: در آزمایشگاه ابتدا باکتری را با فوشین بازیک CONCENTRATED Carbon Fuchsin رنگ می کنند. پس از آن لام را حرارت می دهند (حدود ده دقیقه) به نحوی که سه مرتبه از آن بخار بند شود ولی نجوشد. و به این ترتیب رنگ فوشین به دیواره باکتری نفوذ می کند. حال اگر ما روی این باکتری ها اسید -الکل بریزیم. دیگر رنگ جذب شده را پس نمی دهند و در زیر میکروسکوپ باسیل سل به صورت باسیل های قرمز (به علت رنگ فوشین) در زمینه آبی (مربوط به بلودومیلن) رویت خواهد



شد. البته غلظت اسید الکل به کار برده شده مهم می باشد. اگر از اسید الکل رقیق استفاده کنیم ممکن است برخی باکتری های دیگر هم خاصیت اسید فست ضعیف از خود نشان دهند. مصلا در رنگ آمیزی اسید فست اصلاح شده، یا modified ziehl nelson برای باکتری نوکاردیا که نوعی اکتینومیست استاز اسید الکل رقیق استفاده می شود و نوکاردیا در این رنگ آمیزی اسید فست خواهد بود و قرمز می شود ولی اگر اسید الکل غلیظ به کار ببریم، نوکاردیا دیگر قرمز نمی ماند ولی TB هم چنان اسیدفستی خود را حفظ خواهد کرد. Acid Fastness از ویژگی های پایدار TB است؛ به طوری که حتی با اتوکلاو و یا متلاشی کردن TB با امواج فراصوت بازهم این ویژگی دیواره سلولی TB پایدار خواهد ماند

هرچه تعداد کربن های مایکولیک اسید بیشتر باشد، این خاصیت بیشتر می شود که در باسیل سل خیلی زیاد است. باکتری های دیگری که مایکولیک اسیدشان کوچک است مانند برخی از اکتینوماست ها یا نوکاردیا ها ظریف اند. حالا می خواهیم شرایط رشد و کشت باسیل سل را بدانیم.

برای کشت باسیل سل و رشد آن باید شرایط مناسب را برایش مهیا کرده و باکتری های مزاحم را از بین ببریم. (Decontamination) حال ما چگونه باکتری های مزاحم را از بین ببریم؟ برای این کار نمونه خلط گرفته شده را با سود (4% NaOH) برای مدت 15 دقیقه مخلوط می کنیم و می گذاریم خوب با هم تماس داشته باشند. (البته بر اساس توصیه WHO به ازای 4% NaOH، 15 دقیقه و برای 2% آن باید آن را 30 دقیقه با نمونه مخلوط کرد) وقتی مخلوط بشوند و زمان کافی 15 دقیقه به آن ها داده شود، سود در این زمان دو کار انجام می دهد. یک باعث هضم خلط می شود و از حالت چسبندگی و لزجی آن را خارج می کند. 2. باکتری های غیر سل را از بین می برد ولی چون باسیل سل مقاومت می کند می ماند و از بین نمی رود. استاد در جواب یکی از دوستان که پرسید آیا مقاومت تنها ویژگی باسیل سل است یا ساید باکتری های اسید فست را هم شامل می شود، فرمودند که هر چند مقاومت مایکوباکتریوم ها از سایر اکتینومیست ها بیشتر است، و حتی می توانیم غیر سل و آنتیبیک ها را هم جدا کنیم ولی جز مایکوباکتریوم ها سایر باکتری های به سود حساس اند، تازه در مورد باسیل سل هم اگر زمان مجاورت با سود از 15 دقیقه بیشتر شود بیشتر از بین می رود و هم چنین نباید غلظت سود بیشتر از 4% باشد. اگر بیشتر شود شما موارد منفی کاذب خواهید داشت چون باسیل سل هم از بین می رود. اگر غلظت سود از یک حدی کم شود آنوقت در محیط کشت آلودگی (contamination) زیاد می شود و در سطح محیط کشت قارچ ها و باکتری های دیگر رشد می کند و سل رشد نمی کند. بعضی ها می آیند زمان مجاورت را اضافه نموده ولی غلظت سود را کم می کنند در عوض چون به خاطر غلظت کم سود، قدرت هضم ماده لزج خلط پایین آمده، به محیط ماده دیگری می زنند که یک نوع detergent است به نام N-استیل-L-سیستین یا NALC.

پس از مجاورت 15 دقیقه نمونه با 4% NaOH ممکن است 70% باسیل های نمونه از بین بروند و برای جلوگیری از مرگ تمام باسیل ها باید سپس در حضور معرف فنول فتالین با HCL محیط را خنثی کنیم سپس نمونه را در 4 درجه سانتیگراد به مدت 20 دقیقه سانتریفوژ می کنیم.

و در ته لوله رسوب کند. رسوب را در محیط کشت درون گرمخانه قرار می دهیم. اگر روی نمونه باسیل وجود داشت، بعد از دو تا شش هفته رشد می کند و کلونی ظاهر می شود و اگر نمونه از سوش های مقاوم به دارو باشد رشد کمتری دارد. زمان دو برابر شدن باسیل سل حدود 18-24 ساعت است. برای این که باسیل سل را کشت دهیم، توصیه کرده اند که در دو محیط مختلف کشت دهیم که یکی از آن ها حتما مایع باشد. یکی دیگر از ویژگی های باسیل سل این است که نسبت به نور خورشید حساس و ناپایدار است و نور مستقیم خورشید آن را ظرف مدت 10 دقیقه غیر فعال می کند. ولی همین میکروب اگر به مواد پروتئینی با آلی درون خاک آغشته شود، تا 15 روز هم می تواند باقی بماند و اگر نور به آن نخورد تا چندین ماه باقی خواهد ماند. همچنین دمای پاستوریزه کردن، مایکوباکتریوم بویس را از بین می برد. این صفات فیزیکی میکروب ها در کنترل اپیدمی آن ها کمک کننده است.



باسیل سل می تواند از طریق هوا در طی سرفه یا عطسه به دیگران منتقل شود. سل دو فرم دارد، ریوی و خارج ریوی که 25-27٪ کل موارد مربوط به سل خارج ریوی است.

علائم و نشانه های سل ریوی (pulmonary): سرفه همراه با خلط، تب ملایم، عرق شبانه، کاهش وزن، کسالت و خستگی و لاغری

علائم بالینی سل خارج ریوی: Lymphadenitis (تورم غدد لنفاوی)؛ درگیری کلیه؛ استخوان، مفاصل و یا انتشار سل در خون (disseminated) که با آن سل military یا ارزنی گفته می شود. زمانی که باسیل سل در خون هست بسیار کوتاه مدت هست و باکتری می در سل بسیار کم است و بعد در اندام ها می رود و موضعی می شود و می گویند بذریاشی می شود و میکروب مانند دانه های ارزن روی اندام ها دیده می شوند. حال این میکروب های پخش شده می تواند ذرات توبرکل یا ذراتی که مربوط به تشکیل یک گرانولوم است را به وجود آورد. بدین طریق که باسیل سل رشد و تکثیر کرده و بدن سعی می کند بدور آن لایه ای از سلول های ایمنی تشکیل دهد. سل میلیربدخیم است. معمولاً در افرادی که نقص ایمنی دارد، احتمال گرفتن سل میلیرب زیاد است که در آن پاسخ به PPD منفی است چون ایمنی آنقدر فعال نیست که پاسخ بدهد. این نشان می دهد که CMI ضعیف شده. اگر قوی باشد ازدیاد حساسیت تاخیری را خواهیم داشت ولی نمونه خون ارزش زیادی برای تست های آزمایشگاهی ندارد. طریقه پخش شدن سل همین گونه است. در صورت ورود به ریه از طریق غدد لنفاوی آن وارد مجاری لنفاوی، سپس قلب راست شده و از طریق خون به اندام ها پخش می شود. یکی از نمونه های مورد بررسی خلط بیمار است که از خلط از چرکی که حالت پنیری و خونی دارد، نمونه می گیریم و کشت می دهیم. نمونه که کشت داده می شود فقط خلط نیست. هم نمونه ریوی داریم و خارج ریوی که از طریق بیوپسی، برونکوسکوپی، کست ادرار، به دست می آید.

جاوتز: نمونه ها شامل خلط تازه، شست و شوی معده، ادرار، مایع جنب، مایع مغزی نخاعی، مایع مفصلی، مواد بیوپسی، خون یا سایر مواد مشکوک می باشد. از ادرار برای وجود باسیل سل در کلیه استفاده می کنند. سل بسیار پیچیده است و می تواند اندام بسیاری را درگیر کند. از جمله پوست، چشم، ستون فقرات مفاصل، استخوان ها و ...

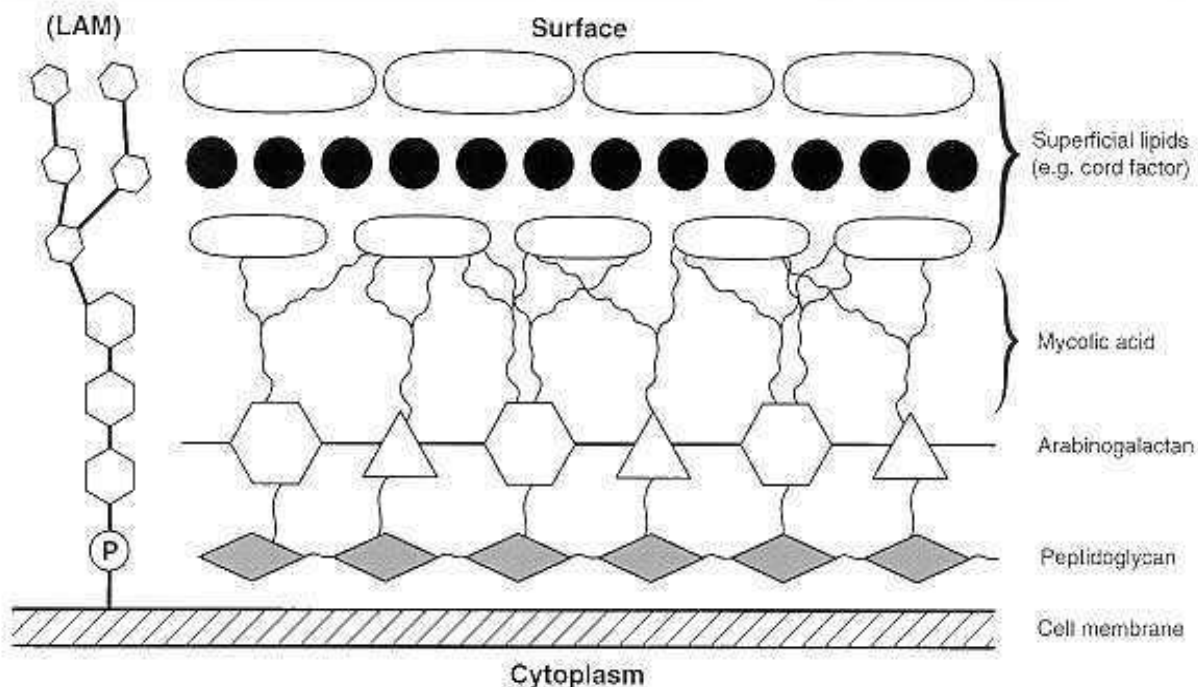
قابل ذکر است که فرم خارج ریوی سل در افرادی که دچار سرکوب سیستم ایمنی شده اند بسیار زیاد است مثلاً افراد دیالیزی، افراد پیر، افراد دچار سوء تغذیه و مخصوص در HIV<sup>+</sup> ها. در مورد بیماران ایدزی، یکی از اولین میکروب ها نهفته ای که فعال می شود در آن ها همین باسیل سل است.

Cell Wall : لایه های مختلف دیواره از غشای پلاسمایی به سمت سطح:

بر روی غشا، PPG وجود دارد که ضخیم است ( به همین دلیل TB را گرم مثبت در نظر می گیرند)

علاوه بر PPG، ترکیبی که نام LAM و (Lipoarabino Mannan) هم روی غشا وجود دارد که تا سطح دیواره کشیده شده است. بر روی پیتیدو گلیکان، واحد هایی به نام آرابینو گالاکتان وجود دارد که بر روی آن، مایکولیک اسید وجود دارد. بر روی مایکولیک اسید چربی های سطحی وجود دارند. مثلاً cord factor که باعث ایجاد رشته های طنابی شکل (cord formation) در باکتری ها می گردد. همچنین در ویرولانسی باکتری TB نقش دارد. همچنین آن هایی که حدت میکروب را افزایش می دهند در LAM تغییرات می دهند. همچنین ساختمان دیواره سلولی است که باکتری ها را از لحاظ رنگ پذیری و مقاومت متمایز می کند.

Complex cell wall structure of mycobacteria



88: در پی وارد شدن مایکو باکتریوم به بدن و تحریک شدن سیستم ایمنی سلولی در آن قسمت ما ضایعات گرانولومایی داریم.

اجزای گرانولوما:

1: mononuclear infiltration: اینفلتراسیون مونوسیت ها در مرکز

2: سلول های اپیتلوئیدی در اطراف و به دنبال آن multinucleotic giant cell یا همان سلول های لانگ هانس.

3: و در اطراف و پیرامون لایه های بالا ممکن است ماکروفاژ و فیبرو بلاست ها نیز باشد. به ضایعه ی گرانولوما در مورد شل، توبرکل می گویند. پس واژه Tuberculosis به معنی آن است که ضایعات توبرکلی تشکیل می شود. ضایعه توبرکل ممکن است به سوی نکروز پنیزی پیش برود. ( Caseus Necrosis) و یا ممکن است در مراحل پیشرفته ضایعه دچار کلسیفیکاسیون شود که در حقیقت بدن در حال دفاع است و در این حالت اگر یک عقده لنفاوی را با اسکالپل برش دهیم صدای گرانولوماهای کلسیفیه شده را می توان مثل دانه های شن که خرد می شوند را شنید و اصلا در کشتارگاه برای بهداشت گوشت، لاشه گاوی که عقده های لنفاوی مدیاستینوم آن در حین برش صدای شن دهد، آلوده به سل است. جراحی پنیری که تشکیل شد می تواند توسط بدن دچار liquefaction (مایع شدن) یا حل شدن بشود، و اگر این اتفاق بیافتد، آن ضایعه توبرکل پنیری هضم می شود و با سرفه  $10^{11}$  باسیل سل بیرون می آید و به جای آن غار های سلی (cavity) تشکیل می شود. در افرادی که مقاوم هستند، توبرکل در نهایت کلسیفیه می شود. کلسیفیکاسیون گاهی اوقات با از بین بردن باکتری هم همراه است ولی همیشه این طور نیست.

نیاز های تغذیه ای میکروب برای کشت در محیط *in vitro* چیست؟ این میکروب در محیط خون معمولی در blood agar رشد نمی کند. باید مواد مغذی و ترکیبات پیچیده ی خاصی به محیطش بزنیم که این یا در تخم مرغ کامل هست یا در سرم گاوی. پس محیط هایی که استفاده می کنند یا باید بر پایه تخم مرغ باشد یا سرم.



محیط های بر پایه تخم مرغ حتما جامدند و جامد شدن وابسته شدن به خاطر انعقاد تخم مرغ است. یکی از محیط های بر پایه تخم مرغ محیط LA (Lowenstein Jensen) می باشد. در لوله آزمایش می ریزند و لوله را به صورت مایل در دستگاه می گذارند تا شیب تشکیل شود. با 90 درجه حرارت که منعقد شود. بعد مانند محیط آگار باسیل سل را روی آن کشت می دهند. رنگ آن سبز است چون به آن رنگ مالاخیت می زنند. سبز مالاخیت برای مهار سایر باکتری ها هم به کار می رود.

محیط بر پایه سرم گاوی را محیط آبگوشت می گویند که می تواند مایع یا جامد باشد. مانند middle brook 7H9 یا اختصارا 7H9 که محیط مایعی است که حاوی سرم گاوی است.

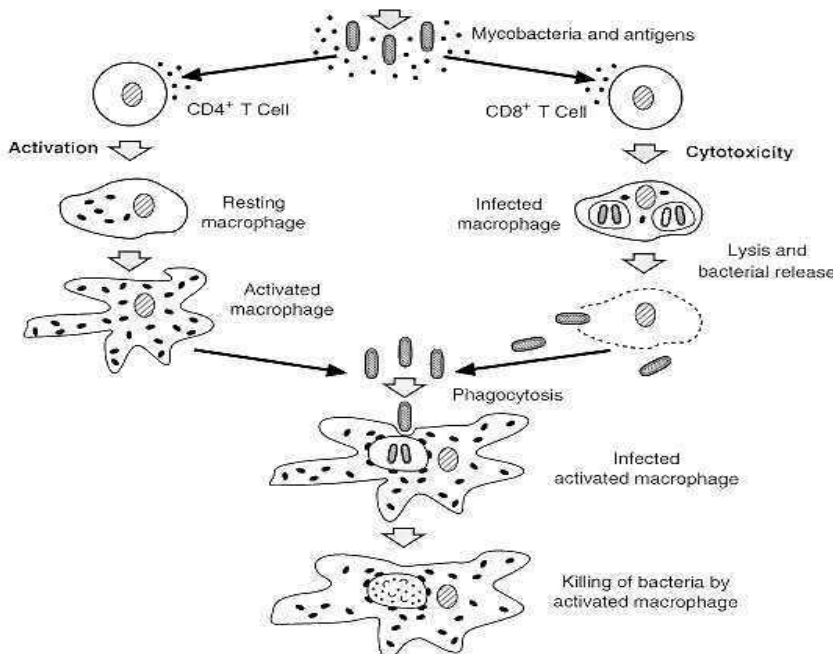
تکنیک های جدید که سرعت تشخیص را زیاد کرده همه بر پایه ی استفاده از محیط مایع است. آمریکایی ها و اروپایی ها در استفاده از محیط مایع روز به روز بیشتر تلاش می کنند. WHO بخاطر سهولت و ارزانی کار محیط بر پایه تخم مرغ را به کشور های جهان سوم توصیه می کند. در محیط LA اگر پیرووات بزنند، باسیل سل گاوی رشد می کند. باسیل سل انسانی هم رشد می کند. در محیط LA اگر گلیسرول بزنند در این صورت فقط باسیل سل انسانی رشد می کند. به این موضوع باید توجه شود چون ممکن است فردی مسلول با سل گاوی باشد ولی آزمایشگاه جواب منفی دهد چون محیط کشت گلیسرول داشت و سل گاوی رشد نکرده، باید حتما پیرووات داشته باشد. حال اگر شرایط استاندارد باشد، تا 3-4 هفته طول می کشد تا کلونی قابل رویت داشته باشد. در بهترین حالت 3 هفته. در کشور هایی که از محیط مایع استفاده می کنند؛ گفته اند که این زمان به 2 هفته رسیده یا 11 روز. برای بررسی آنتی بیگرام 4-6 هفته زمان نیاز است. اگر فردی مسلول باشد و سل آن مقاوم به دارو باشد 52 روز طول می کشد تا جواب آزمایش بیاید. و این زمان تاخیر بسیار مهم است چون در این مدت هم بیمار بد حال تر می شود هم در جامعه پخش می شود. بنا بر این باید به روش های سریع تشخیص روی آورد

روش های سریع مثل PCR یکی اینکه باید زمان تشخیص را بسیار کاهش دهد مثلا حتی تا 4 ساعت. همچنین باید مشخص کند که فرد مسلول هست یا نه. اگر هست مقاوم به ربفامپین هست یا نه. و همچنین چه تعداد باسیل سل در نمونه هست. گاهی پزشک تمام علائم سل را در بیمار می بیند اما جواب آزمایشگاه منفی است. پزشک باید در نظر داشته باشد خطای آزمایشگاهی هم ممکن است پیش بیاید و آزمایشگاه منفی کاذب داده باشد. در این حال اگر فرد مبتلا باشد و درمان نشود آن را از طریق سرفه در اجتماع پخش می کند. همچنین اگر آزمایشگاه و دکتر تشخیص اشتباه سل بدهند، بیمار 6-9 ماه تحت درمان ضد سل قرار گرفته و عوارض عصبی، کلیوی و... زیادی دارد. در myco bactercium complex ، حتی گونه ها یحیوانی می توانند انسان را آلوده کنند .

سل انسانی به شدت هوازی و کاپروفیلیک است و در سطح محیط کشت رشد می کند و همچنین بافت های پر اکسیژن مثل ریه رشد کنند اما سل گاوی میکروآیروفیلیک است و در عمق محیط کشت رشد می کنند. آزمون نیاسین مثبت برای مایکوباکتریوم توبرکلوزیس احیای نیترات تولید اوره از یا کاتالاز، آزمون آریل سولفاتاز و بسیاری دیگر. قابل ذکر است که عال سل گاوی در انسان ها علائمی مانند سل انسانی ایجاد می کنند. منشأ اصلی سل ناشی از عامل سل گاوی مصرف محصولات لبنی آلوده مخصوصا شیر است پس سل از طریق دستگاه گوارش م به اسنان منتقل می شود و در این صورت ابتدا عقده های لنفاوی مزانتریک را به شدت درگیر می کنند. راه اصلی مبارزه با این نوع سل پاستوریزه کردن شیر است. از راه های تشخیص این نوع سل هم می توان از نمونه برداری شیره معده نام برد. باسیل سل رنگدانه ندارد. رنگ باسیل سل مثل رنگ سنگ گوهر است و تقریبا کرم رنگ (نخودی) است. و این روی سطح محیط LA خود را نشان می دهد. همچنین کلونی های آن خشن زبر و برآمده است.



باسیل سل وقتی وارد ریه شد توسط ماکروفاژهای آلوئولار به دام می افتد. این ماکروفاژها فعال و اختصاصی نیستند و نمی توانند باسیل سل را از بین ببرند. باسیل سل رون سلول باقی می ماند و خود میکروب مانع از الحاق فاکتورزوم - لیزوزوم شده و از آن فرار می کنند. بعضی از اجزای مایکوباکتریوم ها مانند CORD factor می توانند اثرات مستقیم سایتوکسیک روی ماکروفاژها داشته باشند. برای مقابله با سل ایمنی سلولی کمک کننده است نه آنتی بادی. دفاع CMI یا ایمنی با واسطه سلولی به خود میزبان هم آسیب می زند. مایکوباکتریوم وقتی وارد بدن شد و ایمنی سلول تحریک شد در آن قسمت ضایعات گرانولومایی داریم. آنتی ژن های CD باسیل سل ، می توانند لنفوسیت ها را تحریک کنند در ایمنی سلولی در برابر باسیل سل دو لنفوسیت CD4 & CD8 دخیل هستند. مثلا لنفوسیت CD8 را تحریک کردند و این لنفوسیت اگر تحریک شود چون لنفوسیتی سایتوتوکسیک است، می آید و ماکروفاژ هایی را که به باسیل سل آلوده کنند را شناسایی نموده و آن ها را معدوم می کند تا باسیل سل را بیرون بریزند و بدین ترتیب نمی گذارند باسیل سل درون ماکروفاژهای آلوده مخفی بماند. مثلا ماکروفاژهای آلوئولی از این گروه هستند و هنوز اختصاصی و فعال نیستند. در واقع باسیل های آزاد شده از این طریق خوراک ماکروفاژهای فعال می شوند. در عوض CD4 ابتدا توسط آنتی ژن ها تحریک می شود سپس باعث می شود ماکروفاژها از حالت استراحت و خفتگی در آمده و به حالت فعال تبدیل شوند. به نوعی این CD4 آنتی ژن ها را به ماکروفاژ معرفی میکند. ماکروفاژ فعال شده قوی و خشمگین هست و اهی وقتها به آن Angry macrophage می گویند. و این ماکروفاژ به باسیل سل حمله نموده و از تخصص و فعالیت لازم برای نابودی باسیل سل برخوردار است و آن مقدار که در دسترس هست را بلعیده و توسط آنزیم های خودش باسیل ها را معدوم می کند. دو لنفوسیت CD4 و CD8 می توانند Subset های دیگر را هم فعال کنند که شامل T helper 1 و T helper 2 می شوند. T helper 1 باعث تولید اینترلوکین 2 و گاما اینترفرون می شود و در نهایت CMI را تقویت می کنند (ایمنی با واسطه سلولی). پس CD4 این تأثیر را خواهد داشت. T helper نوع 2 باعث ساخته شدن اینترلوکین های 4 و 5 و 10 می شود و باعث می شود که ایمنی هومورال تقویت شود. در افراد مسلول تیتراژ آنتی بادی ضد سللی هم بالاست ولی این تیتراژ به در حفات نمی خورد پس T helper 1 = تقویت ایمنی با واسطه سلولی و T helper نوع 2 = تقویت ایمنی هومورال. جالب است بدانید در افرادی با نقص ایمنی مانند ایدز و افراد immunocompromised از نظر پاسخ های ایمنی هومورال در میزبان و از نظر بیان (expression) در انگل (باسیل) با افراد سالم فرق دارند. یعنی باسیل سل اگر وارد بدن یک فرد سالم شود در آنجا نمی تواند یک سری ژن ها را روشن کند پس همیشه host-parasite interaction دوطرفه است. یعنی انگل برای روزن کردن یک سری ژن های خاص از میزبان تأثیر می پذیرد، در واقع دیدند در فرد HIV+ یک سری آنتی بادی هایی ساخته می شود که در فرد سالم در پاسخ بهسل ساخته نمی شود. مقاومت به باسیل بیشتر وابسته به موادی است که از T helper 1 تولید می شوند.





-جمعیت در معرض خطر: افراد پیر- افرادی که سوء تغذیه ی مزمن دارند (الکلی ها- افراد فقیر)

Over crowding یعنی جمعیت زیاد در یک محیط کوچک به افزایش سل کمک کند، همچنین مهاجرت هم می تواند باعث افزایش سل شود.

اشکال خارج ریوی سل با HIV بیشتر ارتباط دارد (شیوع سل ریوی از خارج ریوی بیشتر است)

در ایران 4٪ افرادی که HIV + بودند، سل هم داشتند. (همزمانی سل و HIV هم داریم)

سل انسانی در اوایل HIV به سراغ انسان می آید و سل حیوانی در مرحله ی انتهایی بیماری ایدز به سراغ فرد می آید. در روده ی یک فرد به طور گذرا سل وجود دارد اما در افرادی که سیستم ایمنی افت پیدا می کند، وارد خون می شود و علائم بیماری سل آغاز می شود. همچنین این میکروب از مدفوع همه ی افراد قابل جدا شدن است.

در مورد TB باسیل هم، منشا آمیلوژن؟ بیشتر است. فردی در مدت خیلی دور مسموم شده ولی این به صورت نهفته مانده و ایمنی آن را مهار کرده. HIV با تغییر سیستم ایمنی باعث برداشته شدن مهار می شود. در جامعه، افراد مسلول حتما باید شناخته شوند و اینکه آیا عفونت فرد، عفونت مزمن و قدیمی است و آیا قبلا درمان شده؟

در سالمندان، اگر سل داشته باشند به احتمال زیاد reactivation در نظر گرفته می شود و عفونت اخیرا به وجود نیامده و در نوجوانان و جوانان به احتمال زیاد عفونت اخیرا وجود داشته و reactivation نیست.

این مهم است که به عنوان پزشک بتوان تشخیص داد که عفونت سل در منطقه به چه شکلی است. آیا عفونت جدید هست یا Recent transmission است و یا در نهایت reactivation است؟ عفونت جدید یعنی این که فرد تازه عفونت را گرفته و از قبل نداشته، reactivation یعنی از قبل عفونت را داشته و الآن فعال شده. Recent transmission برای کنترل مهم است یعنی عفونت در جامعه منتقل می شود و باید کنترل کنیم که به بقیه منتقل نشود و باید آن منبع پخش کننده عفونت را پیدا کرد. ابزارهایی هست که کمک می کند بفهمیم عفونت از کدام نوع می باشد. معمولا افرادی که در سنین بالا دچار سل می شوند مثلا در سنین بالای 80-90 سال، سل را الآن نگرفته اند مثلا 50 سال پیش گرفته اند و الآن خودش را نشان می دهد، ولی ممکن است فرد دیگری از او سل را بگیرد، این مسئله بخصوص در جوامع بسیار مهم است، در جاهایی که تجمع زیاد است به عنوان مثال در زندان ها، زندان جایی است که ما در آن همواره Recent transmission را داریم و افراد در سنی هستند که عفونت آنها معمولا برای قدیم نیست و اخیرا عفونت منتقل شده است همچنین اگر سل به درمان مقاوم بود باید بدانیم مقاومت به درمان اخیرا بوده یا از همان اول سل مقاوم وارد بدن شده اگر مقاوم بود و به درمان پاسخ نداد باید بفهمیم که این مقاومت اخیرا بوجود آمده یا قبلا سابقه داشته همچنین مقاوم شدن یا primary resistance یا acquired resistance. باید بفهمیم که آیا درمان مناسب بوده؟؟ آیا دارو ها مناسب بوده؟ آیا بیمار همکاری کرده؟ که درد باعث failure شده.

اولین بار که استرپتومایسین پیدا شد (1950) از استرپتومایسین برای درمان سل استفاده کردند و بیماری به صورت مقطعی بهبود پیدا کرد ولی دوباره بیماری برگشت که این مربوط بود به بحث مقاومت داروی پیدا شده... که دوباره دارو را عوض کردند و نهایتا به این نتیجه رسیدند که درمان چند دارویی انجام شود که مانع از انجام شدن select شدن موتان ها شود.

برای تشخیص سل، تهیه لام هم می تواند از خلط باشد و هم از مایع مغزی-نخاعی. دیدن حتی یم باسیل در مایع مغزی-نخاعی بسیار ارزشمند است و چنین افرادی باید زود تر تحت درمان قرار بگیرند.

در لام باید حداقل 5000-10000 باسیل در هر CC خلط باشد. که لام + شود. اما در کشت این رقم به 100 نمی رسد یعنی اگر 100 تا باشد، کشت + می شود. پس حساسیت کشت بیشتر است و روی کشت می توان آنتی بیوگرام و تعیین حساسیت دارویی انجام داد.

آزمون نیاسین+ برای مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، احیای نیترات، تولید اوره آز یا کاتالاز، آزمون آریل سولفاتاز و بسیاری دیگر قابل ذکر است که عامل سل گاوی در انسان ها علائمی همانند سل انسانی ایجاد می کند. منشا اصلا سل ناشی از عامل سل گاوی و مصرف محصولات لبنی آلوده مخصوصا شیر است پس سل از طریق دستگاه گوارش هم به انسان منتقل می شود و در این صورت ابتدا عقده های لنفاوی مزانتریک را به شدت درگسر می کند.

راه اصلا مبارزه با این نوع سل، پاستوریزه کردن شیر است. از راه های تشخیص این نوع سل هم می توان از نمونه برداری شیره ی معده نام برد.





## Nucleic acid based techniques

### Other techniques

- Commercial chemiluminescent DNA probes, gas-liquid chromatography, high-performance liquid chromatography, and thin-layer chromatography allow identification of a few species of mycobacteria within hours after sufficient growth is present on solid or in a liquid medium.
- nucleic acid amplification methods may prove useful for detection of mycobacteria directly in clinical material within 24 hours or less of specimen receipt.
- Currently, standardized guidelines for susceptibility testing of mycobacteria have been developed only for isolates of *M tuberculosis* a positive BACTEC TB vial (indirect test), or on sputum specimens that are smear-positive (direct test).
- Using a broth system, results are available 5-7 days after bottles are inoculated.

اسید نوکلئیک پروب: پروب هایی که از تک زنجیر DNA یا RNA تشکیل شده یعنی یک ترادف اختصاصی روی ژنوم TB پیدا می کنند که خاص TB است و آن ترادف را مشخص می کند و مکمل آن را می سازند که به آن پروب می گویند و رشته ای را که در آزمایشگاه ساختیم (رشته ی مکمل) را نشاندار نمی کنیم مثلا با مواد شیمیایی یا رادیوایزوتوپ ها (مثل فسفر 300) از نمونه ی بیمار یا لوله ی کشت، نوکلئک اسید جدا می کنیم و اسید نوکلئیک را به ؟ جامد می چسبانند و ترادق را تعیین می کنند و رشته ی مکمل را رویش می گذارند و رشته ی مکمل که نشاندار شده، از خودش سیگنال ساطع می کند که می تواند مثلا یک فعالیت آنزیمی را ردیابی کند. اگر باسیل سل باشد این آزمایش + می شود و اگر نباشد - .

بنابراین تکنیک هایی وجود دارد که بر آمیختگی DNA مبتنی است.

در یک روش دیگر (real time PCR) نمونه ی بیمار در داخل ظرف مخصوصی قرار می گیرد و علائم تکثیر و ازدیاد ژن را می بیند. دستگاه به طور اتوماتیک خلط را حذف می کند، بافر را اضافه می کند و DNA استخراج می کند و خود دستگاه پلی مراز مخصوص اضافه می کند و دما را بالا پایین می برد تا Amplification ایجاد شود. تکثیر و ازدیاد DNA صورت می گیرد.

درمان: دو داروی اصلی که در درمان سل مورد استفاده قرار می گیرند ایزونیازید ریفامپین. سایر دارو های خط مقدم درمان عبارتند از: پیدازین آمید، اتامبوتول و استرپتومايسين(6-9 ماه) دارو های خط دوم سمی تر بوده، کمتر موثر هستند(یا هر دو) و فقط باید تحت شرایط کتھش تاثیر درمان مورد استفاده قرار گیرند (مانند شکست درمان، ایجاد مقاومت نسبت به چند دارو) دارو های خط دوم عبارتند از: کاتامایسین، کاپرئومايسين، اتیونامید، سیکلو سرین، آفلوکسازین و سپروفلوکسازین.

جزوه 88: نباید بی دلیل برای کسی که سل ندارد درمان سل را شروع کرد به دلیل عوارض شدید دارو ها، WHO جدیدا در کشور های درحال توسعه طرح DOT (direct observe therapy) را پیش گرفته است که در کشوری مثل ویتنام با موفقیت انجام شده است.

شکست در درمان ممکن است به دلیل درمان ناکافی، عدم تمکین بیمار یا خراب بودن دارو باشد اما اگر بیمار مقاوم شود یا سل مقاوم داشته باشد ممکن است مقاومت به یک دارو باشد، یا به بیش از یک دارو. اگر باسیل سل به دو داروی ایزونیازید و ریفامپین مقاوم باشد MDR(multi drug resistance) زیاد نیست ولی مقاوم به تک دارو خیلی زیاد است. بیشترین مقاومت به تک دارو را نسبت به استرپتومايسين دارد. اول مقاومت به استرپتومايسين ایجاد می شود و بعد ممکن است مقاومت به اتامبوتول هم ایجاد شود و کلا درمان تک دارویی باعث می شود که موتانت مقاوم که بطور عادی وجود دارند انتخاب شوند. میزان مزگ و میر با MDR خیلی بالا است .



## Multiple-drug resistance (MDR)

- mutations in the *catG* and *inhA* genes are associated with isoniazid
- the *rpoB* gene responsible for RNA polymerase is altered in many clinical isolates resistant to rifampin.
- One of the most exciting involves the use of a luciferase reporter gene which is introduced into the clinical isolate on a mycobacteriophage.
- Light production in the presence of the drug reveals resistance, and can be detected very quickly.
- When resistance to two or more of the first line drugs is detected, additional drugs (ethionamide, streptomycin, ciprofloxacin) may be added to the regimen.

EDR (extensive drug resistance): که علاوه بر قبلی ها به آمینوگلیکوزید ها و فلوئوروکسینولون ها هم مقاوم است.

TDR (total drug resistance): که دیگر به هیچ دارویی پاسخ نمی دهد.

واکسن ب.ت.ژ تجویز می شود که مانع از تشکیل منژیت سلی و سل miliar می شود ولی مانع پیشرفت سل ریوی نخواهد شد و ایمنی سلول را تحریک می کند و به عنوان ترکیبی که بر ضد سرطان ها می تواند عمل کند مورد استفاده قرار گیرد مثلا سرطان مثانه. در واقع BCG، باسیل سل است که در اثر تجدید کشت زیاد، ویرلانس خود را از دست می دهد و به عنوان واکسن استفاده می شود که از واکسن BCG تیپ های مختلفی بوجود آمده که بر اساس منطقه ی جغرافیایی نام گذاری شده است. بعضی از کشور ها واکسن BCG را متوقف کرده اند که آنها معتقدند واکسن BCG و cervical lymphadenitis (عفونت غدد لنفاوی ناحیه ی گردنی) در ارتباط اند. در بین بعضی کشور ها فعالیت BCG خوب نبوده و بعد از بررسی مشخص شد که عوامل محیطی موثر بوده (مایکوباکتریوم های محیطی و آلودگی های محیطی) البته مایکوباکتریوم هایی وجود دارند که می توانند اثر BCG را تقویت کنند پس بعضی از مایکوباکتریوم ها مثل BCG ایمنی را تثبیت می کنند و برخی ایمنی را تضعیف.

:NTM

- ✓ این گروه از مایکوباکتریوم ها قبلا به عنوان Atypical mycobacteria بودند.
- ✓ این باکتری ها گستره ی وسیعی از علائم بالینی را که اندام های بسیاری را درگیر می کند دارند.
- ✓ باکتری های ریوی که به علت NTM هستند در واقع قابل تشخیص و افتراق با TB نیستند.
- ✓ عفونت های منتشره ناشی از NTM معمولا به افرادی که سیستم ایمنی شان سرکوب شده محدود می شود مخصوصا اشخاص آلوده به HIV که Mavium intracellular complex مسئول 90٪ از این موارد است.

عفونت های منتشره از NTM معمولا به افرادی که سیستم ایمنی شان سرکوب شده ، محدود می شود مخصوصا اشخاص الوده به HIV که mavium intracellular complex مسئول 90٪ از این موارد است

عفونت های غدد لنفاوی گردن بر اثر عفونت با باکتری M scroflulaceum ایجاد می شود که مخصوصا در کودکان زیر 5 سال دیده می

شود

Granulomatous skin lesion and soft tissue

infections are usually associated with *M. marinum* (swimming pool granuloma or *M. ulcerans*).

کانامایسین و ریفابوتین ، ریفامایسین ، اریترومایسین NTM داروهای برای درمان

گروه بندی NTM:

1. تند رشد (*M. fortuitum*، *M. chelonae*)



این باکتری ها بسیار سریع رشد می کنند و زمان لازم برای ظهور کلونی آنها فقط یک هفته است. این دو باکتری ها ساپروفیت هستند. در آب و خاک زندگی می کنند. در موارد نادر بیماری های سطحی سیستمیک ایجاد می کنند و بیشتر داروهای ضد سل مقاوم هستند. در مورد *M chelonae* دمای رشد آن زیر 37 درجه و در primary culture می باشد.

همچنین تند رشدها acid fast اندولی نه خیلی قوی و ممکن است به صورت کوکوباسیل دیده شوند.

2. کند رشد: از لحاظ رنگدانه به 3 گروه تقسیم می شوند:

فتوکروموژن (photo chromogen): این گروه در روشنایی ایجاد رنگدانه می کنند ولی در تاریکی رنگدانه تولید نمی کنند.

شامل: *M simiae* , *M marinum* , *M kansasii*

← که *M marinum* در اکواریوم و همچنین استخر زیاد است و موجب سل پوستی می شود

Scotochromogens: در هنگام رشد در تاریکی رنگدانه تولید می کنند

شامل: *M gordonae* , *M zugai* , *M scrofulaceum*

Non chromogen : که اصلا رنگدانه تولید نمی کنند،

شامل: *M intra cellullarae* ,

*M ulcerans* (عفونت تنفسی و جلدی خیلی بد)

*M arium* (عامل سل پرندگان)

درمان اینها با سل فرق می کند ولی نشانه هایی از بیماری سل را دارند مثل عرق شبانه ، کاهش وزن ، سرفه ی خلط دار و . . . که برای در ز اریترومایسین ، امیکاسین و ریفامپاسین استفاده می شود.

## Epidemiology

- A crucial difference between *M tuberculosis* and nontuberculous mycobacteria is the lack of transmission of the latter from patient to patient
- There is no evidence that infections caused by nontuberculous mycobacteria are contagious.
- Rather, the organisms exist saprophytically in the soil or water, occasionally in association with some infected-animal reservoir (e.g., poultry infected with *M avium*).
- Inhalation or ingestion of viable mycobacteria or introduction of bacilli through skin abrasions initiates the infection.

## Epidemiology

- The ubiquity of nontuberculous mycobacteria makes them ideal opportunists for immunocompromised hosts.
- Up to 30 percent of patients with acquired immune deficiency syndrome (AIDS) may suffer disseminated mycobacterial infections, most of which are caused by members of the *M avium-intracellulare* complex.
- Such infections, which are associated with shortened survival, result from environmental exposure.
- In fact, nontuberculous mycobacteria have been cultured directly from tap water in several hospitals

## Treatment and Control

- Surgical resection is occasionally recommended with or without chemotherapy
- In treating disseminated infections in AIDS patients, a regimen of five or six drugs, including clarithromycin, ethambutol and perhaps rifabutin, should be considered.

## Treatment and Control

- Many nontuberculous mycobacteria are resistant to the drugs commonly used successfully in the treatment of tuberculosis (e.g., isoniazid, pyrazinamide, and streptomycin).
- Antibiotic regimens may require several (five or six) drugs including rifampin, which is quite effective against *M kansasii*, or clarithromycin, which has marked activity against the *M avium-intracellulare* complex.



چند نکته:

اگر کسی واکسن BCG بزند , تست ppd اش مثبت می شود.  
اگر کسی مبتلا به miliary باشد , ppd اش منفی است.  
BCG مانع از ابتلا به سل ریوی نمی شود. ✓  
خاصیت acid fast بودن TB به علت مایکولیت اسید آن است.