

یکی از زهرابه‌های اصلی این باکتری زهرابه آلفا می‌باشد. اثر این زهرابه تخریب پوشش داخلی عروق (اندوتلیوم) بوده و باعث نفوذ پلاسما از عروق تولید ترشحات وادم در بدن انسان و دام می‌نماید. مرگ ناگهانی در دام نیز باعث عمل زهرابه در تولید ناهنجاریهای عروق موئی مغز می‌باشد. زهرابه آلفا سیتوپاتیک (Cytopathic) بوده و در کشت سلولی جوجه، کلیه میمون و بچه هامستر این خاصیت مثبت رسیده است. تخریب وسیع سلول ماهیچه قلب و کبد با تغییراتی در پلاسماهای خون انسان و دام مشخص می‌گردد. نتیجه آزمایشهای سرم خون در انسان و دام نشان می‌دهد که ترکیبات الدولاز، گلوتامیک، آگسالاستیک، ترانسامیناز، اسیدلاکتیک دی‌هیدروژناز و بعضی از فسفوکینازها بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته است. تزریق زهرابه بموش موجب مرگ حیوان می‌گردد و همچنین تزریق مقدار کمی از آن در بین پوست خوکچه تولید نکروز وسیع می‌نماید که با سرم مربوطه خنثی می‌گردد.

زهرابه بتا

یکی دیگر از زهرابه‌های اصلی باکتری، زهرابه بتا می‌باشد که خاصیت کشندگی و نکروز دهنده دارد. این زهرابه طیف وسیعی در همولیز گویچه‌های بدن دام دارد بطوریکه در بیماری باسیلاری هموگلوبینوریا حدود یک سوم گویچه‌های قرمز خون گاو را همولیز می‌نماید. این زهرابه بوسیله دو تیپ B و D این باکتری تراوش می‌گردد.

بیماریهای ناشی از کلستریدیومها در انسان و دام

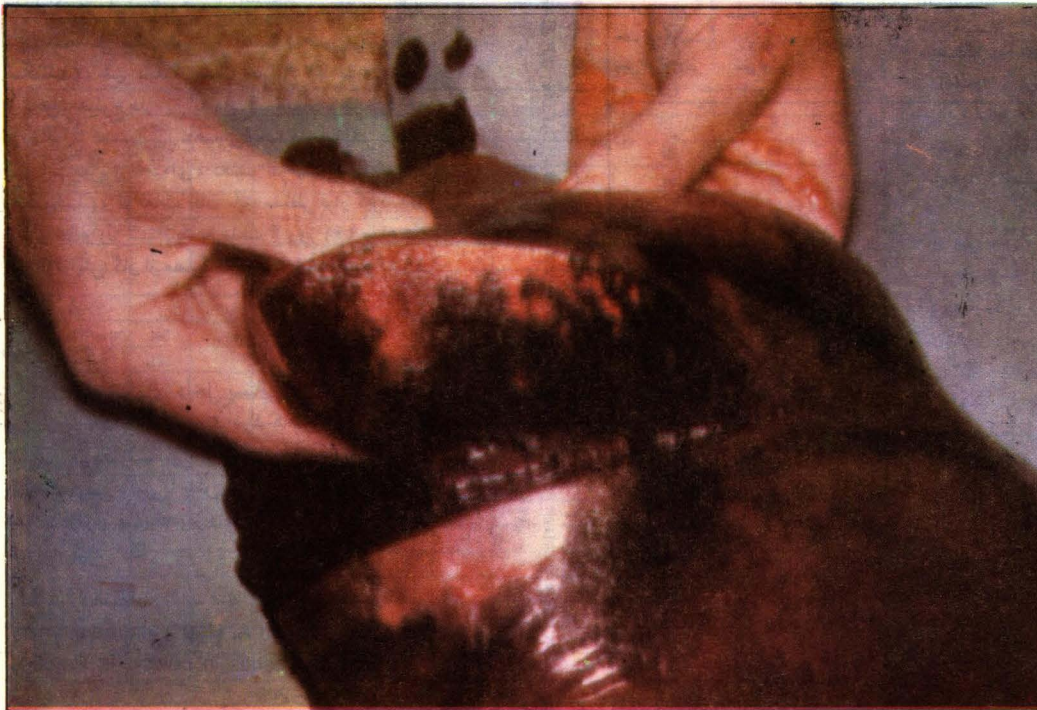
قسمت دوم

کلستریدیوم ادمایسین (Clostridium Oedema-tiens یا کلستریدیوم نووئی (C.novyi) برای اولین بار به سال ۱۸۹۴ توسط نووئی شناخته شد. باسیلی است بیهوازی، هاگدار، گرم مثبت و جایگاه آن خاک، کبد گوسفندهای سالم و دستگاه گوارش نهنگ است. باکتری زهرابه‌زا بوده و هشت نوع زهرابه اصلی و فرعی در هنگام رشد ترشح می‌نماید که هر یک نقشی در تخریب سلولهای بدن دارند. کلستریدیوم ادمایسین براساس زهرابه‌های مترشحه و بیماریهاییکه در انسان و دام تولید می‌نماید به چهار تیپ A-D طبقه‌بندی می‌گردد. زهرابه‌های باکتری به حروف یونانی نامیده شده و بشرح زیر میباشند:

کلستریدیوم ادمایسین و بیماریهای ناشی از آن در انسان و دام

دکتر محمود اردهالی

عضو هیات علمی موسسه تحقیقاتی رازی



نکروز کبد در دام مبتلا به قانقرا یابی عفونی
(تصویر از مؤسسه تحقیقاتی رازی)

زهرابه‌های فرعی باکتری:

زهرابه گاما

این زهرابه فسفولیباز بوده و لسیتین سلولها را هیدرولیز و تبدیل به اسفنگومیلین و فسفات دیل کولین می نماید. همولیتیک بوده و گلبولهای قرمز اسب را بهتر از گوسفند همولیز می نماید.

زهرابه دلتا

زهرابه دلتا به اکسیژن حساس بوده و خاصیت همولیز دارد. زهرابه اپسیلون یک آنزیم لیپولیتیک بوده که بوسیله تیپ A ترشح می گردد. این آنزیم تولید کدورت در اطراف پرگنه می نماید. زهرابه زیتا، همولیتیک بوده و بوسیله گونه B باکتری ترشح می گردد که از نظر سرولوژیکی با زهرابه بتا متفاوتست، زهرابه اتا موجب شکستن ترومبوسیزین و میوزین می شود و بوسیله اکسیژن هوا غیرفعال شده ولی در برابر احیاءکنندگان مجدداً فعال می گردد. این زهرابه در بیماریزائی و عفونت ماهیچه نقش دارد ولی بطور کامل مطالعه نشده است. زهرابه تتا، لیپاز بوده و بوسیله گونه D ترشح می گردد.

بیماریهاییکه بوسیله کلستریدیوم ادمایسین در انسان و دام تولید می گردد بشرح زیر می باشد:

۱- تیپ A عامل قانقرایای نفخی (Gas gangrene) در انسان و کله بزرگ (Big head) در قوچ

۲- تیپ B عامل قانقرایای عفونی کبد یا بیماریهای سیاه (Black disease) در گوسفند و بز و ندرتاً قانقرایای نفخی در انسان

۳- تیپ C عامل استئومیلیت در گاو میش

۴- تیپ D یا کلستریدیوم همولیتیکوم (C. hemolyticum) عامل باسیلاری هموگلوبینوریا در گاو و کلستریدیوم ادمایسین تیپ A عامل قانقرایای نفخی در انسان می باشد. این بیماری مخصوصاً در جنگ های اول و دوم جهانی در مجروحین جنگ شایع بوده و سوشهای متعدد این باکتری از مجروحین جدا و مورد مطالعه قرار گرفته است. دوره کمون بیماری تا چند روز بطول می انجامد در محل عفونت ادم بوجود آمده که هر روز چند لیتر مایع خارج می گردد که خود نشانه عفونت ناشی از این باکتری می باشد. تجمع گاز در عضله و یا زیر پوست در مراحل پیشرفته بیماری محسوس است و عامل بیماری را میتوان از محل عفونت جدا نمود. تیپ A این باکتری عامل تورم در کله قوچ می باشد. علت بیه ازی جنگیدن دامها با یکدیگر بوده سردام متورم و بزرگ گردیده و ادم بوجود می آید که ترشحات از آن خارج می گردد.

کلستریدیوم ادمایسین تیپ B عامل بیماری کشنده در گوسفند می باشد که بنام بیماری سیاه (Black disease) یا قانقرایای عفونی کبد (Infectious Necrotic Hepatitis) نامیده میشود. نام بیماری بزبان فرانسه Hépatite nécrosante می باشد.

قانقرایای عفونی کبد عفونت حاد بعلت مسمومیت

از زهرابه های کلستریدیوم ادمایسین تیپ B می باشد. از مشخصات بیماری ضایعات نکروز در کبد دام مبتلا بوده و با مرگ ناگهانی همراه می باشد. بیماری در گوسفند و بز مشاهده گردیده و در دامداریها موجب ضرر و خسران دامداران میشود. قانقرایای عفونی کبد در گوسفندان چاق و فربه بیشتر مستعد بتلا به بیماری هستند. فصل بیماری اواخر تابستان و پائیز می باشد. این بیماری در اغلب کشورهای گوسفند خیز وجود دارد و در ایران در اغلب گوسفنداریها مشاهده میگردد. بیماری بیشتر در مناطقی که گوسفندان آلوده به کرمهای جگر مانند فاسیولا هپاتیکا و فاسیولاژیگانتیکا وارد دستگاه گوارش گوسفند گردیده و در کبد جایگزین میگردد بدون اینکه هیچگونه بیماری تولید نماید. شایان ذکر است که این باکتری از کبد گوسفندهای سالم مناطق آلوده جدا گردیده است.

لاروهای نابالغ فاسیولا هپاتیکا در کبد گوسفندهای مناطق آلوده برای رسیدن به کیسه صفرا در کبد حرکت نموده موجب تخدیش و نکروز بافت کبد گردیده و هرگاه در مسیر نکروز، هاگ کلستریدیوم ادمایسین قرار گرفته باشد بعلت کمبود و یا قطع اکسیژن در بافت نکروزه کبد، هاگ باکتری موقعیت مناسب برای رشد و تکثیر یافته و در شرایط بیهوازی از حال خفته خارج و شروع به تکثیر و ترشح زهرابه های مهلک می نماید. زهرابه های مترشحه موجب نکروز کبد و جذب آنها در دستگاه گردش خون سبب مرگ سریع دام میگردد. زهرابه آلفا که خاصیت نکروتیک دارد تولید لکه های نکروز بقطر ۳-۴ سانتیمتر در سطح کبد نموده که برنگ سفید پنبری مشاهده میگردد. نکروز تا عمق کبد پیشرفت نموده و در اطراف نکروز تعداد زیادی عامل بیماری تجمع می نماید که با تهیه گسترش از کبد

باسیلها را میتوان مشاهده نمود. در بازرسی کبد تعدادی کرم های نابالغ فاسیولا مشاهده میگردد. کیسه قلب حاوی حدود ۶۰ سانتیمتر مکعب مایع بی رنگ می باشد و در حفره صدری حدود یکصد سانتیمتر مکعب مایع بی رنگ مشاهده میگردد که در مجاورت هوا منعقد میگردد. جذب زهرابه توسط دستگاه گردش خون تولید ضایعاتی در مغز از جمله ناهنجاریهای در مویرگهای مغز دام مبتلا می نماید که سریعاً موجب مرگ میگردد. پرخونی مویرگها در پوست دام مبتلا منظره سیاه رنگی را در هنگام باز نمودن لاشه بوجود می آورد که نام بیماری سیاه یا Black disease بدین مناسبت می باشد.

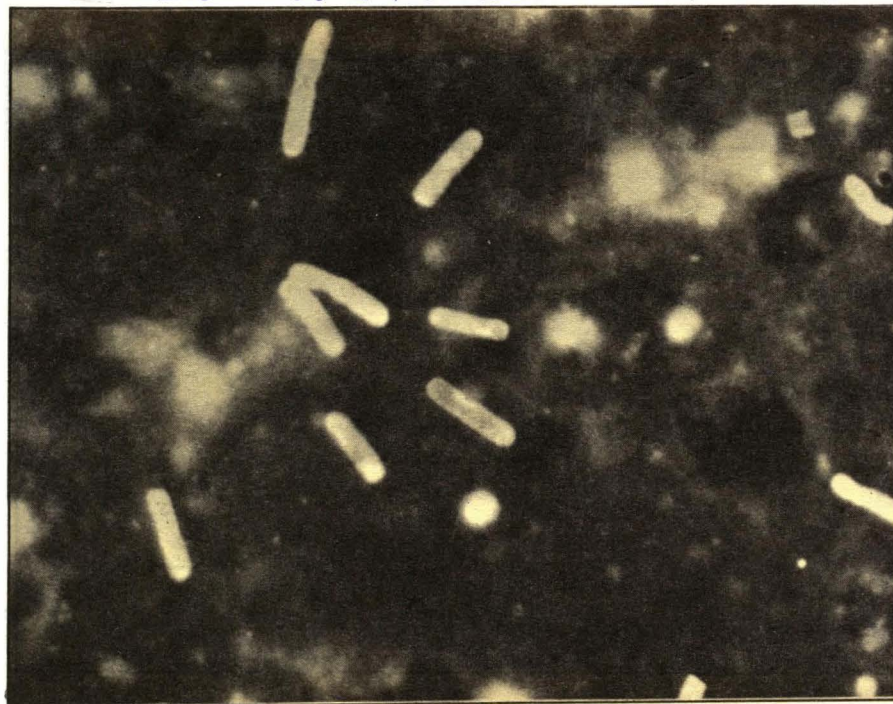
در تشخیص بیماری مرگ سریع دام مبتلا و ضایعات نکروز در کبد و همچنین وجود مایع در پرده قلب و حفره های صدری و بطنی و پرخونی رگهای موئی پوست از علائم تشخیص بیماری می باشد. تهیه گسترش از اطراف نکروز کبد و مشاهده باسیل های گرم مثبت به تشخیص بیماری کمک می نماید. رنگ آمیزی با سرمهای اختصاصی کلستریدیوم ادمایسین با استفاده از میکروسکپ فلورسانس تشخیص قطعی بیماری را تسریع می نماید.

در تشخیص تفریقی با بیماری فاسیولوز حاد، انتروتوکسمی، شارین و مسمومیت های ناشی از اسید هیدروسیانیک و اسید متالیك توجه گردد.

پیشگیری و معالجه

با توجه به اینکه انگل های نابالغ کبد نقش اساسی در قانقرایای عفونی کبد دارند مبارزه با انگلهای کبد

کلستریدیوم ادمایسین در کبد دام مبتلا به قانقرایای عفونی (تصویر از میکروسکپ فلورسانس مؤسسه تحقیقاتی رازی)



فوق العاده موثر می باشد. تزریق واکسن برای پیشگیری چند هفته قبل از شیوع بیماری در مناطق آلوده میبایستی انجام گیرد. دامهای تلف شده بایستی در عمق زمین با آب آهک دفن و یا سوزانده شوند.

قانقرایای عفونی کبد گوسفند و بز در ایران

قانقرایای عفونی کبد گوسفند و بز در دامداریهای ایران وجود دارد. بیماریها از سالهای قبل در گوسفند داریها وجود داشته ولی عامل بیماری در سال ۱۳۴۸ در مؤسسه تحقیقاتی رازی جدا گردید و متعاقباً تاکنون بیش از پنجاه سوش کلاستریدیوم ادماپسین عامل بیماری از کبک دامهای مبتلا جدا و مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است.

برای تشخیص عامل بیماری از روش ایمینوفلورسانت با استفاده از سرمهای اختصاصی استفاده گردیده و تاکنون بیش از پانصد نمونه مرصه عامل بیماری با این روش تشخیص داده شده است. سوشهای جدا شده از کبک دامهای مبتلا که از دامداریهای اطراف کرج، اصفهان، حیدرآباد، سیرجان، طالقان، قزوین، چالوس، بروجرد و زنجان که به مؤسسه رازی ارسال گردیده جدا و مورد مطالعه قرار گرفته اند.

جدا نمودن کلاستریدیوم ادماپسین

برای جدا نمودن این باکتری بیهوازی سخت رشد از ژلوز خوندارمور (Moore) با استفاده از خون اسب استفاده گردیده است.

پس از کشت از اطراف نکرورز کبک، پتریها درجاری بیهوازی گاز پاک (Gas-Pak) بمدت ۴۸ ساعت در

حرارت ۳۷ درجه گرمخانه قرار گرفته اند. پرگنه های باکتری نیمه شفاف، خاکستری با هاله همولیز اطراف پرگنه مشاهده گردیده اند. ابتدا گسترش از پرگنه مورد نظر تهیه و با استفاده از سرمهای اختصاصی کلاستریدیوم ادماپسین و میکروسکوپ فلورسانس، عامل بیماری تأیید گردیده است.

پرگنه ها بلافاصله در لوله آبگوشت جگر تازه تهیه شده کشت و مجدداً درجاری بیهوازی قرار گرفته اند. رشد کامل باکتری حدود ۴۸ ساعت بوده و پس از اطمینان از خالص بودن کشت اقدام به آزمایشهای زیر گردیده است.

۱- تعیین گونه باکتری (Typing)

هر یک از سوشهای جدا شده در محیط غذایی حاوی ۳ درصد پپتون، یک درصد مالتوز، نیم درصد دیسیدیم هیدروژن سلفات و حدود ۵ درصد گوشت قیمة شده بان اضافه گردیده به مدت سه روز در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد کشت و سپس ۰/۳ سانتیمتر مکعب از مایع صاف شده و ۰/۱ سانتیمتر مکعب آنتی سرمهای اختصاصی تیپ های A, B, D اضافه و حجم را با سرم فیزیولوژی به ۰/۵ سانتیمتر مکعب رسانده و مخلوط حاصله مدت یکساعت در حرارت آزمایشگاه قرار گرفت. ۰/۲ سانتیمتر مکعب از مخلوط هرلوله بین جلد شکم خوکچه هندی که قبلاً خوب پشم چینی شده باشد، تزریق و به باقیمانده، ۰/۵ سانتیمتر مکعب زرده تخم مرغ (یک زرده تخم مرغ را در ۲۵۰ سانتیمتر مکعب سرم فیزیولوژی خوب مخلوط و از صافی استریل عبور میدهم) اضافه و بمدت دو ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار میگیرد. نتیجه آزمایشها پس از ۲۴

ساعت مشاهده و نتیجه در جدول شماره یک خلاصه میگردد.

در تفسیر آزمایش جدول شماره یک بطور کلی تیپ A کلاستریدیوم ادماپسین دو نوع زهرابه آلفا و گاما ترشح می نماید که زهرابه آلفا تولید نکرورز زرد رنگ در پوست خوکچه می نماید که بوسیله آنتی سرم کلاستریدیوم ادماپسین تیپ های A, B و B+D خنثی گردیده ولی قادر به خنثی شدن با آنتی سرم کلاستریدیوم ادماپسین تیپ D نمی باشد. زهرابه گاما کلاستریدیوم ادماپسین تیپ A دارای آنزیم لیسیتیناز بوده که موجب هیدرولیز لیسیتین زرده تخم مرغ گردیده و در لوله حاوی زرده تخم مرغ کدورت ایجاد می نماید که تنها بوسیله کلاستریدیوم ادماپسین گونه A خنثی میگردد. تیپ B کلاستریدیوم ادماپسین تولید زهرابه های آلفا و بتا می نماید. زهرابه آلفا تولید نکرورز در پوست خوکچه هندی می نماید که بوسیله آنتی سرمهای A و B و B+D خنثی میگردد ولی قادر به خنثی شدن با آنتی سرم تیپ D نمی باشد. زهرابه بتا کلاستریدیوم ادماپسین گونه B تولید لیسیتیناز می نماید که بوسیله آنتی سرمهای تیپ های B, D و B+D خنثی میگردد.

نتیجه این آزمایش نشان می دهد که سوشهای جدا شده از کبک دامهای مبتلا به قانقرایای عفونی کبد دارای تیپ های کلاستریدیوم ادماپسین بشرح زیر می باشد:

تعداد ۴۴ سوش تیپ B کلاستریدیوم ادماپسین
تعداد ۴ سوش تیپ A کلاستریدیوم ادماپسین
تعداد ۳ سوش تیپ D کلاستریدیوم ادماپسین
تیپ B عامل بیماری قانقرایای عفونی کبد می باشد ولی تیپ D نیز ندرتاً در گوسفند عامل نکرورز کبد شناخته شده است. با توجه باینکه تیپ A این باکتری تولید زهرابه آلفا می نماید می تواند در تولید این بیماری ندرتاً دخالت داشته باشد. ولی بطور کلی عامل اصلی قانقرایای عفونی کبد گوسفند تیپ B می باشد.

جدول شماره ۱- تعیین تیپ سوشهای جدا شده کلاستریدیوم ادماپسین در ایران

شماره لوله	مقدار زهرابه	آنتی سرم تیپ های کلاستریدیوم ادماپسین			آزمایش های لیسیتیناز و واکنش نکرورز در پوست خوکچه هندی		سر فیزیولوژی	تیپ D	تیپ B	تیپ A	سانتیمتر مکعب
		Skin	Lv	Skin	Lv	Skin					
۱	۰/۳	-	-	-	-	-	۰/۲	-	-	-	۰/۳
۲	۰/۳	-	-	-	-	-	۰/۱	-	۰/۱	-	۰/۳
۳	۰/۳	-	-	-	-	-	۰/۱	۰/۱	-	-	۰/۳
۴	۰/۳	-	-	R	-	-	۰/۱	-	-	-	۰/۳
۵	۰/۳	-	-	-	-	-	۰	۰/۱	۰/۱	-	۰/۳

زهرابه های شناخته شده — alpha gamma
تیپ کلاستریدیوم ادماپسین — alpha beta
Lv = آزمایش لیسیتیناز
Skin = آزمایش نکرورز پوست خوکچه هندی
C = کدورت لوله بعثت آنزیم
R = وجود نکرورز در پوست خوکچه هندی

۲- قدرت زهرا به‌زائی سوشهای جدانشده

هریک از سوشهای جدانشده در محیط غذایی فوق‌الذکر بمدت سه روز در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد کشت گردید که حداکثر زهرا به‌ها ترشح گردد. سپس کشت را از صافی سترون عبور داده و مایع برای تعیین قدرت زهرا به‌ها به موش سفید آزمایشگاهی تزریق گردیده‌اند. مقدار تزریق ۰/۳ سانتی‌متر مکعب داخل وریدی دم موش بوده است. موش‌ها مدت سه روز تحت نظر بوده و مرگ و میر آنها یادداشت گردیده‌اند. نتایج آزمایش بشرح زیر می‌باشد.

سوشهای تیپ B زهرا به‌ای بقدرت ۱۳۰۰۰-۵۰۰ حداقل دز کشنده در سانتی‌متر مکعب

سوشهای تیپ A زهرا به‌ای بقدرت ۱۲۰۰۰-۱۰۰ حداقل دز کشنده در سانتی‌متر مکعب

سوشهای تیپ D زهرا به‌ای تولید نموده است.

۳- قدرت همولیزکننده زهرا به‌ها

زهرا به‌های تهیه‌شده از هرسوش جداگانه بروش فوق‌الذکر برای تعیین قدرت همولیزکننده مورد استفاده قرار گرفته است. گلبولهای قرمز اسب، گاو، گوسفند و خرگوش در محیط آسور جمع‌آوری و پس از دو بار سانتریفیوژ و شستشو با سرم فیزیولوژی برای آزمایش آماده گردیده است. نتایج آزمایش قدرت همولیزکننده زهرا به‌ها در جدول شماره ۲ خلاصه گردیده است. تغییر این آزمایش نشان می‌دهد که گلبولهای قرمز خرگوش، اسب، گاو و گوسفند بترتیب به زهرا به‌های کلستریدیوم ادمایسین حساس می‌باشند. شایان ذکر است که قانقرایای عفونی کبد گوسفند یکی از بیماریهای مهلک و کشنده گوسفند در ایران می‌باشد. این بیماری بیشتر در مناطقی که گوسفندا

آلوده به انگلهای کبدی باشند مشاهده می‌گردد. سابقه بیماری از زمانهای قدیم در ایران وجود داشته و معمولاً با مشاهده علائم کلینیکی و کالبدشکافی بیماری تشخیص داده می‌شده است. بعلت عدم وجود واکسن مؤثر ضد بیماری مخصوصاً در گوسفنداریهای پروری اغلب گوسفندا از این بیماری تلف می‌گردیدند که نگارنده شاهد این مطلب بوده است. به سال ۱۳۴۸ عامل بیماری که یکی از سخت‌رشدترین باکتریهای بیهواری می‌باشد در بخش تحقیق و تهیه واکسنهای بیهواری مؤسسه رازی جدا و بتدریج سوشهای متعدد دیگری از نمونه‌های مرضی ارسالی از دامدارهای نقاط مختلف کشور جدا و مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته که شرح آن در این مقاله ذکر گردیده است. همزمان پژوهشهای زیادی برای تهیه واکسن با استانداردهای بین‌المللی انجام و اکنون واکسن مؤثری برای مبارزه با این بیماری در اختیار دامداران قرار گرفته است. متأسفانه طیف وسیع آلودگی گوسفندا در ایران به انگلهای کبد موجب اشاعه بیماریهای فاسیولوز حاد و قانقرایای عفونی کبد گردیده است. با عنایت به اینکه معمولاً گوسفنداها چاق و فربه باین بیماری مبتلا می‌گردند که موجب ضرر و خسران دامدارها می‌شود. نهایتاً برای کنترل این بیماری برنامه مبارزه با بیماری انگلی در درجه اول حائز اهمیت می‌باشد و در مناطق آلوده به انگلهای کبد ضروری است که برنامه‌های مدون برای مبارزه با انگلها تنظیم و اجراء گردد که از لاغری دامها و کاهش بیماریهای فاسیولوز حاد و قانقرایای عفونی کبد جلوگیری گردد.

در ادامه این بحث کلستریدیوم ادمایسین تیپ D یا کلستریدیوم همولیتیکم (C. HEMOLYTICUM) که عامل باسیلاری هموگلوبینوریا در گاو می‌باشد در شماره‌های آینده این مجله مورد بحث قرار خواهد گرفت. □

منابع مورد استفاده:

- 1- Ardehali, M. and Darakhshan, H. (1979). Isolation and typing of Clostridium oedematiens (Cl. novy) from cases of black disease of sheep in Iran. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. vol. 2, 107.
- 2- Ardehali, M. and Darakhshan, H. (1975). The first report of Clostridium oedematiens infection in sheep in Iran by the use of fluorescent labelled antibody. Indian vet. J. 52, 600.
- 3- Ardehali, M., Darakhshan, H. and Moosawi, M. (1984). The existence and present situation of Clostridial diseases of domestic animals in Iran. Off. int. Epiz proceeding of the 4th International symposium on animal diseases caused by anaerobes. p. 65.
- 4- Ardehali, M., Moosawi, M. and Pilehchian, R. (1989). Characterization of Clostridium oedematiens strains isolated from cases of black disease of sheep in Iran. Arch. Inst. Razi, 40, 37-45.
- 5- Smith, L.D. and Holdeman, L.V. (1968). The pathogenic Anaerobic Bacteria, Springfield. Charles Thomas.

جدول شماره ۲- قدرت همولیزکننده زهرا به‌ سوشهای کلستریدیوم ادمایسین در روی گلبولهای قرمز دامهای مختلف

رقت زهرا به‌ها										کلستریدیوم ادمایسین نوع گلبول قرمز		
۱	۱/۵۱۲	۱/۲۵۶	۱/۱۲۸	۱/۶۴	۱/۳۲	۱/۱۶	۱/۸	۱/۴	۱/۲			
-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	خرگوش	سوشهای
-	-	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	اسب	شماره
-	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	گاو	۹۵۰-۱۰۰۰
-	-	-	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	گوسفند	

+++ = همولیز کامل ++ = همولیز متوسط + = همولیز کم - = بدون همولیز