

مایکوباکتریوم‌ها

(بیماری‌زایی، مقاومت دارویی و تشخیص آزمایشگاهی)

مؤلفین:

دکتر جلال مردانه

گروه میکروبیولوژی
دانشگاه علوم پزشکی گناباد

دکتر بهاء‌الدین فلاح

بخش سل و تحقیقات ریوی، مرکز تحقیقات
میکروبیولوژی انستیتو پاستور ایران

دکتر آوا بهروزی

بخش سل و تحقیقات ریوی، مرکز تحقیقات
میکروبیولوژی انستیتو پاستور ایران

دکتر فرزام وزیری

بخش سل و تحقیقات ریوی، مرکز تحقیقات
میکروبیولوژی انستیتو پاستور ایران

دکتر پرویز افروغ

بخش سل و تحقیقات ریوی، مرکز تحقیقات
میکروبیولوژی انستیتو پاستور ایران

مرتضی غضنفری

بخش سل و تحقیقات ریوی، مرکز تحقیقات
میکروبیولوژی انستیتو پاستور ایران

تحت نظارت:

دکتر سید داور سیادت

رئیس بخش سل و تحقیقات ریوی انستیتو پاستور ایران
رئیس مرکز تحقیقات میکروبیولوژی انستیتو پاستور ایران

عنوان و نام پدیدآور	مایکوباکتریومها: بیماریزایی، مقاومت دارویی و تشخیص آزمایشگاهی/ مولفین ابوالفضل فاتح ... [و دیگران]: تحت نظارت سیدداور سیادت.
مشخصات نشر	تهران: اندیشه رفیع، ۱۳۹۶.
مشخصات ظاهری	۲۱۶ص: مصور، جدول.
شابک	978-964-987-747-1
وضعیت فهرست نویسی	فیا
یادداشت	مولفین ابوالفضل فاتح، جلال مردانه، فرزاد وزیری، آوا بهروزی، مرتضی غضنفری، پرویز افروز.
یادداشت	کتابنامه: ص، ۲۰۷ - ۲۰۹.
یادداشت	نمایه.
موضوع	مایکوباکتریوم
موضوع	Mycobacterium
موضوع	مایکوباکتریوم--دستنامه های آزمایشگاهی
موضوع	Mycobacterium-- Laboratory manuals
شناسه افروده	فاتح، ابوالفضل، ۱۳۵۶ -
شناسه افروده	سیادت، سید داور، ۱۳۳۹ -
رده بندی کنگره	۱۳۹۶ م/۲ QRAT
رده بندی دیویی	۵۷۹/۳۷۲
شماره کتابشناختی ملی	۲۸۳۷۸۶



اندیشه رفیع
ناشر کتب عمومی پزشکی
www.andishehrafii.com

نام کتاب:	مایکوباکتریومها (بیماریزایی، مقام مسدوداری و تشخیص آزمایشگاهی)
تألیف:	دکتر ابوالفضل فاتح، دکتر جلال مردانه، دکتر فرزاد وزیری، دکتر آوا بهروزی، دکتر پرویز افروز، مرتضی غضنفری
تحت نظارت:	دکتر سید داور سیادت
ناشر:	انتشار اندیشه رفیع
تایپ و صفحه آرایی:	محمّد مهدی
نوبت چاپ:	اول ۱۳۹۶
تیراژ:	۱۰۰۰
لیتوگرافی:	بهنودپرداز
چاپ:	منصور
صحافی:	چاوش
شابک:	۹۷۸-۹۶۴-۹۸۷-۷۴۷-۱
بها:	۲۰۰۰۰ تومان

دفتر مرکزی: اندیشه رفیع
خیابان انقلاب - خیابان ۱۲ فروردین - خیابان شهدای ژاندارمری - مقابل
اداره پست - ساختمان ۱۲۶ - طبقه دوم
تلفکس: ۶۶۹۵۰۳۹۳
تلفن: ۶۶۹۷۰۵۱۸ - ۶۶۹۷۰۵۱۷ - ۶۶۹۷۱۴۱۴

پیشگفتار

با کشف عامل بیماری سل، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در ۲۴ مارس سال ۱۸۸۲ توسط روبرت کخ امید و انگیزش عمیق در جهان پزشکی برای پیشگیری، تشخیص و درمان یکی از مهلک‌ترین بیماری‌های عفونی شکل گرفت سل در قرون ۱۸ و ۱۹ میلادی ۲۰٪ از موارد مرگ و میر در جهان را به خود اختصاص داده بود. با شروع درمان آنتی‌بیوتیکی در دهه ۱۹۵۰ میلادی موارد ابتلا کاهش داد و این شیب کاهشی تا اواخر دهه ۱۹۷۰ امیدوارکننده بود. با شروع اپیدمی ایدز در دهه ۱۹۸۰ شیوع بیماری سل نه تنها افزایش چشمگیری پیدا نمود بلکه سویه‌های مقاومت چندگانه به دارو پدیدار گردید و این ماجرا تاکنون ادامه دارد. طولی که در سال ۲۰۱۶ جهان شاهد ۱۰/۴ میلیون موارد ابتلا جدید و ۱/۸ میلیون مرگ بود. سازمان بهداشت جهانی سالانه نظاره‌گر ۴۸۰/۰۰۰ مورد سل مقاوم به چند دارو و ۵۰/۰۰۰ مورد سل مقاوم به تمام داروهای آنتی‌بیوتیکی موجود در جهان می‌باشیم. همچنین امروزه افزایش چشمگیری در شیوع مایکوباکتریوم‌های آتیپیک در سال‌های مختلف مشاهده شده است که اهمیت این باکتری‌ها را افزایش داده است و نیاز به توجه جدی در تشخیص، پیشگیری و درمان این باکتری‌ها را می‌طلبد.

پس چه باید کرد؟

سل بیماری فقرا، محرومان، مهاجران، بی‌خانمانان و مسکینان دنیای جدید و بیماری دنیای قدیم هنرمندان، شعرا، رجال سیاسی و طبقات برتر است. بنابراین یکی از وظایف حاکمیت دولت‌ها و مراکز بهداشتی درمانی، پژوهشی دانشگاهی و خرید می‌بایست در جهت کنترل پیشگیری تشخیص و درمان این بیماری باشد. جای امیدواری است که این مهم تا حدودی مد نظر قرار گرفته و در حال اجراست. ارائه نتایج پژوهش‌های متعدد و دستاوردهای مطالعات پژوهشگران، اطباء و دست‌اندرکاران مراکز بهداشتی درمانی دنیا بیانگر نگرش انسان‌دوستانه، و رای مسائل مادی به این بیماری بوده و بارقه‌ای از امید را نمایان می‌سازد به طوری که طبق گزارشات سازمان بهداشت جهانی

و در صورت محقق شدن دستورالعمل‌ها و دستاوردها امید آن می‌رود که تا سال ۲۰۳۵ میلادی این بیماری مهلک ریشه کن شود.

کتاب فوق دستورالعمل تشخیصی هر چند به زبان ساده اما در برگیرنده نکات مهم جهت تشخیص، که مقدم بر درمان است، را شامل می‌شود. بی‌شک روش‌های مولکولی از ساده‌ترین آنان که 3&5 می‌باشد تا تعیین توالی نسل جدید ژنوم کامل باسیل سل بر تکمیل دقت و سرعت تشخیص و پیگیری درمان و پیشگویی بیماری خواهد افزود و باید جایگزین روش‌های سنتی بخصوص در مراکز رفرانس تشخیص این بیماری گردد. امید آن داریم که با همت همکاران جوان و محققین برجسته این انستیتو شاهد انتشار روش‌های جدید کاربردی در آینده نزدیک باشیم که این آغاز راه است.

و م الله التوفیق و علیه التکلان

دکتر سید داور سیادت

رئیس بخش سل و تحقیقات ویروس‌های تنفسی، انستیتو پاستور ایران

رئیس مرکز تحقیقات میکروبیولوژی، انستیتو پاستور ایران

فهرست مطالب

۱۵	فصل ۱: مقدمه
۱۶	مقدمه
۱۷	باکتریولوژی
۱۸	فیزیولوژی و ساختار مایکوباکتریوم
۲۴	فصل ۲: مایکوباکتریوم توبرکلوزیس
۲۵	مورفولوژی و فیزیولوژی
۲۶	کشت
۲۸	خصوصیات رشد
۳۰	تعیین تیپ باکتریوفاز
۳۱	واکنش در برابر عوامل فیزیکی و شیمیایی
۳۱	بیماری‌زایی مایکوباکتریوم‌ها
۳۳	دیواره سلولی مایکوباکتریوم
۳۵	لیپیدها
۳۵	توبرکلروتین‌ها
۳۶	پلی‌ساکاریدها
۳۶	سایر ساختارهای سطحی سلول
۳۸	سولفاتیدها
۳۸	عوامل مؤثر در بیماری‌زایی مایکوباکتریوم
۳۸	فاکتور طنابی (Cord Factor)
۳۹	سولفاتیدها
۳۹	مهار ادغام فاگوزوم و لیزوزوم
۴۱	پروتئین α -ETP
۴۲	بیماری بالینی
۴۷	یافته‌های بالینی
۴۸	آزمون‌های تشخیص آزمایشگاهی

۵۷	نیازهای رشد
۵۷	محیط‌های کشت غیرانتخابی مایکوباکتریوم
۵۹	محیط‌های کشت انتخابی مایکوباکتریوم
۵۹	محیط‌های مایع
۶۰	نیازهای محیطی
۶۲	تست‌های بیوشیمیایی مورد استفاده در تشخیص مایکوباکتریوم توپرکلوزیس
۶۳	تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی
۶۴	روش تعیین حساسیت آروبی
۶۵	روش مستقیم
۶۷	تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیک به روش غیرمستقیم
۷۶	تست ایگرا (GRA Test)
۷۷	تست وون - پریکت
۷۷	(Von-priquets Test)
۷۷	درمان (Treatment)
۷۸	پروژه DOTS و DOTS-plus جهت متوقف کردن بیماری سل
۷۸	پروژه DOTS-plus
۸۳	اپیدمیولوژی
۸۴	پیشگیری و کنترل
۸۶	فصل ۳: مایکوباکتریوم‌های غیرسلی
۸۷	دیگر گونه‌های مایکوباکتریوم
۸۷	مایکوباکتریوم بوویس
۸۸	مورفولوژی و صفات کشت
۸۸	بیماری‌زایی
۸۹	کمپلکس مایکوباکتریوم آویوم
۹۳	مایکوباکتریوم کانزاسی
۹۴	مایکوباکتریوم اسکروفولاسنوم
۹۵	مایکوباکتریوم مارینوم
۹۶	مایکوباکتریوم اولسراس

۹۷	کمپلکس مایکوباکتریوم فور چثیتوم - چلونئی
۹۷	بقیه گونه‌های مایکوباکتریوم
۹۸	مایکوباکتریوم‌های حیوانی
۹۸	مایکوباکتریوم لپراموریوم
۹۹	مایکوباکتریوم یاراتوبرکلوزیس
۹۹	مایکوباکتریوم میکروئی

۱۰۱	فصل ۴: خلاصه روش‌های آزمایشگاهی مورد استفاده جهت شناسایی مایکوباکتریوم‌ها
۱۰۲	اصول اساسی حفاظت و ایمنی در مراکز مایکوباکتریولوژی
۱۰۲	۱. کارخانه آزمایشگاه مایکوباکتریولوژی
۱۰۳	۲. عکس‌العمل کارکنان، نگاه در صورت بروز اتفاقات
۱۰۴	۳. کابینت‌های حفاظتی بیولوژیکی (هودها) Biological Safety Cabinets (BSC)
۱۰۵	محل نصب هود
۱۰۶	۴. لباس‌های حفاظتی
۱۰۷	۵. سانتریفیوژ
۱۰۸	۶. استفاده از بی‌پیت
۱۰۸	۷. اتوکلاو
۱۰۸	۸. مواد ضد عفونی کننده
۱۰۹	نکاتی در مورد مواد آلوده ریخته شده در سطح کابینت‌ها
۱۱۰	دستوالعمل‌های کلی جهت حفاظت و ایمنی در آزمایشگاه مایکوباکتریولوژی
۱۱۱	درخواست آزمایش
۱۱۲	اصول نمونه‌گیری در آزمایشگاه سل
۱۱۳	ارزایی نمونه‌های غیر قابل قبول
۱۱۳	دریافت نمونه‌های رسیده
۱۱۴	ظروف نمونه‌گیری
۱۱۴	خلط (Sputum)
۱۱۵	شیره معده (Gastric Lavage)
۱۱۶	ادرار (Urine)
۱۱۶	تهیه نمونه از مایعات استریل بدن

۱۱۶	پلور، پریکارد و پریتون
۱۱۷	مایع مغزی - نخاعی (CSF)
۱۱۷	ضایعات پوستی
۱۱۷	نمونه بافت
۱۱۸	غدد لنفاوی
۱۱۸	مغز استخوان
۱۱۸	نمونه‌های حاصل از برونکوسکوپی
	تهیه گزارش از نمونه‌ها، ارسالی به آزمایشگاه به‌عنوان بخشی از برنامه تضمین کیفیت (Quality Assurance)
۱۱۸	
۱۱۹	تشخیص میکروسکوپی مایکوباکتریوم‌ها
۱۲۰	طریقه لام گرفتن
۱۲۰	روش فیکس کردن لام
۱۲۱	روش‌های رنگ‌آمیزی مایکوباکتریوم‌ها
۱۲۱	۱. روش زیل - نلسون Ziehl-Neelson
۱۲۱	آماده‌سازی مواد
۱۲۲	مراحل رنگ‌آمیزی
۱۲۲	۲. روش رنگ‌آمیزی کینیون سرد
۱۲۲	آماده‌سازی مواد
۱۲۳	مراحل رنگ‌آمیزی
۱۲۳	۳. رنگ‌آمیزی اسید - فسف فلورسنتس اورامین O
۱۲۴	مراحل رنگ‌آمیزی
۱۲۴	تهیه لام شاهد
۱۲۵	بررسی و آزمایش گسترش
۱۲۵	ارزیابی
۱۲۸	در رنگ‌آمیزی کربول فوشین
۱۲۸	در رنگ‌آمیزی فلوروکروم
۱۲۸	گزارش نتایج گسترش (اسمیر)
۱۳۰	به منظور انجام کنترل کیفی کلیه آزمایشگاه‌ها موظفند که به نکات زیر توجه کنند:
۱۳۲	نحوه نگهداری لام‌ها
۱۳۳	کشت مایکوباکتریوم‌ها

۱۳۳	 محیط‌های کشت (Culture Media)
۱۳۳	 طرز تهیه محیط
۱۳۴	 مزایای محیط پایه تخم‌مرغ LI
۱۳۵	 معایب محیط پایه تخم‌مرغ LI
۱۳۵	 احتیاطات لازم جهت آماده‌سازی محیط‌ها
۱۳۵	 نگهداری محیط‌ها
۱۳۶	 اصول کشت و جداسازی مایکوباکتریوم‌ها از نمونه بالینی و روش‌های هضم و آلوده‌زدایی
۱۳۶	 ۱. روش N - استیل L - سیستین هیدروکسید سدیم (N-Acetyl-L-Cystein)
۱۳۶	 مواد مورد نیاز
۱۳۶	 آماده‌سازی محلول‌ها
۱۳۷	 تهیه سدیم هیدروکسید ۱٪ (نکته: مال)
۱۳۷	 بافر فسفات ۰/۰۶۷، pH= ۷/۸
۱۳۷	 تهیه محلول سالین فیزیولوژیک ۰/۹٪
۱۳۸	 طرز تهیه محلول NaOH-NALC
۱۳۸	 کنترل کیفی
۱۳۸	 روش کار
۱۳۹	 نکات مهم
۱۳۹	 مراحل کار و پردازش نمونه‌های دیگر در روش NaOH-NALC
۱۳۹	 نمونه لاواژ معده
۱۴۰	 نمونه بافت
۱۴۰	 نمونه سایر مایعات بدن (برای مواد موکوتیدی)
۱۴۰	 ۲. روش سدیم هیدروکساید (Petroff)
۱۴۲	 راه‌های جلوگیری از آلودگی وسیع
۱۴۴	 زدودن آلودگی محیط‌های کشت آلوده
۱۴۴	 کنترل کشت
۱۴۵	 بررسی رشد مایکوباکتریوم
۱۴۵	 بررسی از نظر آلودگی محیط کشت
۱۴۶	 بستن و سفت کردن درب لوله‌ها
۱۴۶	 شناسایی و تعیین هویت مایکوباکتریوم‌ها
۱۴۶	 تست کاتالاز

۱۴۷	آماده‌سازی محلول‌ها
۱۴۷	محلول‌های استوک
۱۴۸	مراحل انجام آزمایش
۱۴۸	نتایج و تفسیر آزمایش
۱۴۹	کاتالاز نیمه کمی
۱۴۹	مراحل انجام آزمایش
۱۵۰	تولید نیاسین
۱۵۰	روش‌ها
۱۵۰	۱. تست نیاسین با شناساگرهای شیمیایی
۱۵۱	آماده‌سازی محلول‌ها
۱۵۲	۲. آزمایش نیاسین با نوار کمدی
۱۵۳	آزمایش نیترات
۱۵۴	روش‌ها
۱۵۴	آماده‌سازی محلول‌ها
۱۵۴	آماده‌سازی معرف‌ها
۱۵۶	استانداردهای احیاء نیترات
۱۵۶	محلول‌های استوک
۱۵۷	محلول Working Buffer
۱۵۹	تهیه رنگ‌های استاندارد تست آریل سولفاتاز
۱۶۰	منابع کربن
۱۶۰	تهیه محیط برای آزمایش سیترات
۱۶۰	تهیه محیط برای آزمایش مانیتول
۱۶۰	کنترل محیط
۱۶۱	جذب آهن
۱۶۱	روش اصلاح شده Tison و همکاران
۱۶۲	روش اصلاح شده Szabo و Vandra (Wayne)
۱۶۲	رشد بر روی محیط مک کانگی آگار بدون کریستال ویوله
۱۶۳	پیرازین آمیداز
۱۶۳	آماده‌سازی محیط
۱۶۴	آزمایش تحمل سدیم کلراید

۱۶۴	 مراحل انجام آزمایش
۱۶۵	 تلقیح به خرگوش
۱۶۵	 مراحل انجام آزمایش
۱۶۵	 احیا تلوریت
۱۶۶	 آزمایش هیدرولیز توئین
۱۶۷	 تست کدورت توئین
۱۶۷	 β گلوکوزیداز
۱۶۸	 تولید رنگدانه
۱۷۰	 آزمایشات حساسیت دارویی در مایکوباکتریوم‌ها (آنتی‌بیوگرام)
۱۷۱	 غلظت داروهای ضد مل در محیط کشت LJ
۱۷۳	 آماده‌سازی محلول مک‌فارلین استاندارد
۱۷۴	 آماده‌سازی داروها و محلولهای کشت حاوی دارو
۱۸۰	 فصل ۵: ژنوتایپینگ مایکوباکتریوم توبرکلوزیس
۱۸۱	 ژنوتایپینگ سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس
۱۸۱	 ۱. REA
۱۸۱	 ۲. PFGE
۱۸۲	 ۳. IS6110-RFLP Analysis
۱۸۴	 ۴. IS6110-Based PCR Finger printing
۱۸۴	 ۵. اسپولیگوتایپینگ
۱۸۵	 ۶. MLVA
۱۸۷	 ۷. روش‌های بر مبنای توالی غنی از GC
۱۸۸	 ۸. MLST
۱۸۸	 ۹. پلی‌مرفیسم‌های نوکلئوتید منفرد
۱۸۹	 ۱۰. کاربرد ژنوتایپینگ
۱۸۹	 ۱۱. رویکرد به آینده
۱۹۰	 مراحل انجام IS6110-RFLP
۱۹۰	 ۱. هضم DNA کروموزومی به‌وسیله آنزیم Pvu II (RFLP)
۱۹۱	 ۲. روش کار هضم DNA کروموزومی با آنزیم محدودکننده Pvu II

۱۹۲	۳. الکتروفورز محصول RFLP
۱۹۲	مواد مورد نیاز:
۱۹۲	۴. تهیه ژل آگارز
۱۹۳	۵. بارگذاری محصولات واکنش PCR
۱۹۳	۶. ساترن بلاتینگ
۱۹۵	۷. تثبیت DNA بر روی غشاء
۱۹۵	۸. تهیه پروب‌های هیبریداسیون
۱۹۸	۹. پری هیبریداسیون و هیبریداسیون با پروب نشاندار شده با دیگوکسی ژنین
۲۰۰	مراحل انجام کار ۱. پولیگوتایپینگ
۲۰۰	۱. روش کار
۲۰۲	مراحل انجام کار ۲. IRU-VTR
۲۰۲	۱. مواد، وسایل و تجهیزات مورد استفاده
۲۰۴	۳. روش کار تکثیر نمونه‌ها با PCR
۲۰۵	۳. تعیین تعداد آلل‌ها
۲۰۶	فصل ۶: منابع
۲۱۰	واژه‌یاب