

از کارهای بخش تجسی دانشکده پزشکی

مطالعه درباره تعیین نوع انسانی یا گاوی باسیل سل در ایران

نقارش :

دکتر حسین - بیژن (۱)

رئیس آزمایشگاه، دانشکده پزشکی

باسیل سل از لحاظ خصائص کشت و نیروی بیماریزائی به پنج نوع : انسانی ، گاوی ، موشی ، پرندگان (۲) و حیوانات خونسرد تقسیم میشود که دو نوع اول بخصوص در انسان ایجاد ضایعات مینماید . تقریباً ۳۰ درصد ضایعات سلولی غیرریوی به باسیل نوع گاوی مربوط است و عوارض حاصله از این نوع باسیل در پنج سال اول زندگی فراوان تردیده میشود . اعضای که بیشتر از همه گرفتار سل نوع گاوی می گردند دستگاه گوارش غدد لنفاوی مربوط بخصوص غدد مزانتریک و گردنی می باشند .

طبق مطالعات بلک لوك (۳) در ۱۹۳۲ و گریفیث (۴) در ۱۹۳۸ تقریباً ۸۰ درصد موارد سل اولیه دستگاه هاضمه ۵۰ درصد ضایعات جلدی (لوپوس) و همچنین تقریباً يك چهارم تمام موارد مننژیت های سلولی و سل مغز بعلت باسیل نوع گاوی است .

بعلاوه مطالعات آزمایشگاهی نشان داده اند که باسیل نوع گاوی نه تنها در ایجاد عوارض غیرریوی نقش مهمی بعهده دارد بلکه در ایجاد سل های ریوی نیز شرکت می نماید .

۱- نویسنده از کمکهای ذقیمت آقای دکتر انصاری استاد کرسی انگل شناسی و رئیس بخش تجسی برای انجام مطالعات، بالا و اجازه و نشر آن تشکر مینماید و همچنین از راهنمایی های آقای دکتر نشروودی استاد کرسی سل دانشکده پزشکی استفاده فراوان نموده نهایت امتنان را دارد . ضمناً تمام آزمایش های آسیب شناسی مربوط باین نوشته بکمک آقای دکتر آرمین استاد آسیب شناسی دانشکده پزشکی انجام گرفته است که بدین وسیله از زحمات ایشان سپاس گذاری مینماید .

۲- 'Type humain, bovie, murin, aviaire.

۳- Blacklock

۴- Griffith

آماري که گريفيث در ۱۹۳۸ انتشار داده است نشان ميدهد که در بين ۳۱۰۳ بيمار مبتلا به سل ريوي ۱۴ درصد موارد بعلت باسيل نوع گاوي بوده است و همچنين بر طبق آماري که از ۱۹۳۵ تا ۱۹۴۴ از بيماران مبتلا به سل ريوي در نقاط مختلفه انگلستان جمع آوري شده ملاحظه ميشود که در شهر هاي شمالي انگلستان که آغل هاي آلوده بيشتري وجود دارد بهمان نسبت نوع سل گاوي نيز زيادتر مشاهده ميشود.

با در نظر گرفتن شرايط نامبرده واضح ميگردد که مطالعه نوع باسيل عامل بيماري براي روشن نمودن اپيدميولوژي سل ضروري است. در ايران که بيماري سل بطور وحشتناکي منتشر است هنوز مطالعه اي از اين نوع به عمل نيامده و نويسنده در جريان تجسسات خود در باره کشت باسيل روي محيط هاي مختلف تصميم گرفت در بيماران مبتلا به سل ريوي راجع به نوع باسيل آن نيز مطالعه نمايد و اينک نتيجه نخستين قسمت اين آزمايش ها گذارش ميشود.

مبنای تشخیص باسيل سل انسانی از نوع گاوي از لحاظ آزمايشگاهی بصور
زیر است :

- ۱- مرفولوژي باسيل ها
- ۲- کشت در محيط هاي مختلفه و مقايسه سرعت کشت و شکل کلني ها
- ۳- اثر بيماريزائي در حيوانات آزمايشگاه (بخصوص خرگوش و کوبي)
مقايسه اثر بيماريزائي در حيوانات هميشه قاطع ترين جواب را بدست ميدهد
مانيز اين روش را براي تعيين نوع باسيل انتخاب نموديم.
- روش کار - پس از تغليظ خلط - باسيل ها در روي محيط مخصوص کشت
داده شد و محصول کشت بحیوانات آزمايشگاه تزريق شده است تا کنون تعداد ۱۹
خلط مثبت از بيماران ريوي که داراي مشاغل متفاوت و از شهرستان هاي مختلفه ايران
آمده بودند طبق روش زیر مورد مطالعه قرار گرفته اند.

۱- همگيني نمودن^(۱) و از بين بردن ميگرهاي اضافي
خلط بيماران نامبرده را که در مراحل مختلف بيماري بودند صبح ناشتا در
ظرفهاي تميز جمع آوري کرده ويک قسمت خلط را با ۸-۹ برابر محلول ۴ درصد

۱ - homogenisation

لسیودوسود (۱) در ظرف استریلی مخلوط نموده مدت ۲۴ ساعت در اتو ۳۷ درجه قرار میدهند. سپس آنرا سانتریفوژ کرده و ته نشین آنرا بوسیله اسید کلریک ۴ درصد استریل خنثی و حداقل درشش لوله محیط کشت داده شده است .
لوله های کشتها را کاپوشونه (۲) نموده و در اتو ۳۷ درجه میگذاریم .

۲ - کشت (۳)

برای کشت محیط لونشتاین (۳) را انتخاب نمودیم و در ضمن چون همیشه ممکن است اسپاراژین در دسترس نباشد سعی شده محیط دیگری که بجای اسپاراژین حاوی اوره (۴) است نیز بموازات اولی مورد آزمایش و کشت قرار گیرد .
کلنی های باسیل در فاصله ۲۰ - ۵۰ روز در لوله های مزبور رشد کرده و خصیصه کلنی های نامبرده بدین قرار بوده است . کلنی های کوچک باندازه دانه ارزن یا سرسنجاق مجزا یا بهم چسبیده (۵) برآمده، مدور و خشن (۶) برنگ کرم زرد رنگ و به تعداد زیاد در سطح کشت دیده میشود . زمان رشد بسته باینکه محیط حاوی اوره یا اسپاراژین باشد کمی فرق مینماید و رویهمرفته رشد روی محیط اوره دار دیرتر از محیط اسپاراژین دار است .

۱ - Lessive de Soude ۲ - Capouchonnées ۳ - Culture

۴ - فرمول محیط : Loewenstein

Phosphate mono - potassique	1 gr.
Asparagine	3 gr.
Sulfate de Magnesie	1 gr.
Citrate de Soude	1 gr.
Glycérine à. 300 neutre	60 cc.
Eau distillée	Q. S. P. 1 Lt.

به ۱۵۰ سانتی متر مکعب از محلول بالا میبایستی محلول زیر را اضافه نمود :

Glycérine	20 cc.
Fecule de Pomme de terre	6 gr.

بعد به مجموع دو محلول فوق ۵ تخم مرغ کامل به اضافه ۶ سانتی متر مکعب از محلول ۲ درصد Vert malachite اضافه مینمایند .

۴ - در این محیط جای Asparagine بمقدار معادل آن Urée بکار میرود .

۵ - Confluente ۶ - rugueuse

در جدول زیر مقایسه زمان مثبت شدن کشت ۱۹ سوش نامبرده در روی دو محیط لون شتین با اسپاراژین و با اوره دیده میشود :

جدول ۱- زمان کشت مثبت در محیط اصلی و اوره دار

شماره کشت	زمان رشد کشت در محیط اصلی بر حسب روز	زمان رشد کشت در محیط اوره دار بر حسب روز
۱	۲۲	۲۵
۲	۳۸	—
۳	۲۰	۲۵
۴	۳۳	۳۶
۵	۴۲	۴۵
۶	۲۶	۲۹
۷	—	۲۴
۸	۳۴	۳۴
۹	۳۴	۳۹
۱۰	۲۵	۲۷
۱۱	۲۵	۳۰
۱۲	۳۴	۳۵
۱۳	۳۴	۳۴
۱۴	۳۹	۳۹
۱۵	۳۰	۳۰
۱۶	۴۲	۴۴
۱۷	۳۲	۳۲
۱۸	۲۶	۲۶
۱۹	—	۲۸

چنانکه دیده میشود کشت در محیط اوره دار تقریباً ۲ - ۵ روز دیرتر از کشت در محیط اسپارازین دار مثبت شده است .

۲- تلقیح به حیوانات

از کشت های مثبت بطریق زیر برای تعیین نوع آن عمل شده است .
مقدار ۱۰ میلی گرم کلنی های خالص کشت را وزن نموده در ۱۰۰ سانتی متر مکعب آب مقطر استریل حل کرده و یک مخلوط یک نواخت بدست می آوریم . بعد یک سانتی متر مکعب از این مخلوط را در ده سانتی متر مکعب آب مقطر استریل دیگر حل کرده بدین ترتیب یک سانتی متر مکعب از محلول آخر دارای یک میلیگرم درصد بو زن B. K. خواهد بود و با وجود اشکال فراوان در تهیه سعی کافی بعمل آمد که امولسیون کاملاً هموزن بدست آید .

از این محلول یک سانتی متر مکعب یعنی ۰.۱۰ میلی گرم B. K. از طریق ورید گوش (۱) به دو خرگوش و از راه زیر پوست به یک کوبی (۲) تزریق نمودیم پس از یک ماه یک خرگوش و پس از ۱ - ۲ ماه کوبی و پس از ۱ - ۲ تا سه ماه خرگوش دوم را کشته ضایعات حاصله را مطالعه نموده ایم که نتایج آن در جدول صفحه بعد می آید .

جدول ۴- ضایعات در خرگوش‌ها که پس از یکماه کشته شده‌اند

شماره کشت	طحال	کبد	ریه
۱	—	—	+
۲	—	—	—
۳	—	—	+
۴	—	—	—
۵	—	—	—
۶	—	—	—
۷	—	—	—
۸	—	—	—
۹	—	—	+
۱۰	—	—	—
۱۱	—	—	—
۱۲	—	—	—
۱۳	—	—	—
۱۴	—	—	+
۱۵	—	—	—
۱۶	—	—	—
۱۷	—	—	—
۱۸	—	—	—
۱۹	—	—	+
نسبت به درصد ضایعات	۰/۰	۰/۰	۲۶/۰

توضیح آنکه وزن خرگوشها تغییر زیادی نکرده بود و در فروتنی ریه نتوانستیم

B. K. پیدا نمائیم.

جدول ۳ - نهایش ضایعات نزد اعضای مختلفه کوبی

طول مدت ابرواسیون کوبی بر حسب روز	کوبی مستقیم	کوبی مردم	وجود ضایعات		طحال	وزن کوبی در موقع کشتن بگرم	وزن کوبی در موقع تزریق بگرم	شماره تجربه
			کانکلیون	ریه				
۳۴	+	-	+	±	±	۵۸۰	۶۱۰	۱
۵۱	+	-	+	-	-	۳۵۰	۳۷۰	۲
۳۴	+	-	+	-	+	۵۴۰	۵۷۰	۳
۳۸	+	-	+	-	-	۳۲۰	۳۵۰	۴
۳۶	+	-	+	-	+	۳۰۰	۳۲۰	۵
۶۵	+	-	+	-	+	۴۰۰	۴۳۵	۶
۳۵	+	-	+	-	+	۳۸۰	۳۲۰	۷
۳۶	+	-	+	-	-	۳۰۰	۳۵۰	۸
۵۱	+	-	+	-	+	۳۰۰	۴۰۰	۹
۵۳	+	-	+	+	+	۲۷۰	۳۰۰	۱۰
۵۵	+	-	+	+	-	۳۲۰	۳۵۰	۱۱
۵۴	+	-	+	+	+	۳۴۰	۳۹۰	۱۲
۵۱	+	-	+	-	+	۳۵۰	۳۸۰	۱۳
۵۲	+	-	+	+	+	۲۸۰	۳۰۰	۱۴
۵۱	+	-	+	-	+	۲۹۰	۳۰۰	۱۵
۵۳	+	-	±	+	+	۳۰۰	۳۵۰	۱۶
۳۱	-	-	+	+	+	۱۸۰	۲۵۰	۱۷
۴۸	+	-	+	-	+	۲۵۰	۳۳۰	۱۸
۴۶	+	-	+	-	+	۳۵۰	۴۲۰	۱۹

نسبت درصد ضایعات ۱۰۰٪ / ۷۳۷۵٪ / ۳۱۷۶٪ / ۱۰۰٪

در فرقی ضایعات طحال و کانکلیون همگی B.K دیده شده است
از لحاظ آسیب شناسی ضایعات فوق در خرگوش و خوکچه هندی تأیید شده است.

پس از ۴ روز ۲-۳ خرگوش دومی تزریق شده را کشته و باز نمودیم.
جدول ۴- نمایش ضایعات نزد خرگوش پس از ۲-۳ ماه

شماره کشت	طحال	کبد	ریه
۱	—	—	—
۲	—	—	—
۳	—	—	—
۴	—	—	—
۵	—	—	—
۶	—	—	—
۷	—	—	—
۸	—	—	—
۹	—	—	—
۱۰	—	—	—
۱۱	—	—	—
۱۲	—	—	—
۱۳	—	—	—
۱۴	—	—	—
۱۵	—	—	—
۱۶	—	—	—
۱۷	—	—	—
۱۸	—	—	—
۱۹	—	—	—
نسبت به درصد ضایعات	۰/۰	۰/۰	۰/۰

توضیح آنکه وزن خرگوش تغییرزادی نکرده بود

در جریان این مطالعات برای اینکه بتوانیم وجود ضایعات ماکروسکپیک و میکروسکپیک در اثر سوش گاوی را از دهه‌مین حیوانات نشان دهیم یک سوش گاوی از ریه گاو آلوده تهیه کرده و بعنوان شاهد بطریقی که در بالا ذکر شد بخرگوش و کوبی تزریق گردید که نتایج آن در زیر می‌آید:

جدول ۵ - ضایعات حاصله از سوش گاوی در خرگوش و کوبی

حیوان	اعضاء	ضایعات
خرگوش	طحال	۳ - ۵ برابر طبیعی پر از نقاط Caseifié در آن B. K. دیده شد.
	کبد	تقریباً دو برابر طبیعی و مقدار زیادی نقاط Caseifié مشاهده شد.
	ریه	پر از نقاط Caseifié در آن B. K. دیده شد.
کوبی	طحال	۲ - ۳ برابر طبیعی پر از نقاط Caseifté در آن B. K. دیده شد.
	کبد	بدون ضایعه
	ریه	بدون ضایعه
	گانگلیون	۳-۵ برابر طبیعی و در آن B. K. دیده شد.

با توجه بمشاهدات فوق باید دانست که شدت ایجاد ضایعات در کوبی در هر دو سوش گاوی و انسانی یکسان است در مقابل تفاوت این دو سوش در خرگوش واضح می‌گردد.

سوش گاوی ضایعه شدیدی در خرگوش ایجاد نموده و تمام احشاء را گرفته و بمرگ حیوان منتهی میشود سوش انسانی برعکس در موارد کمی در آغاز (طبق مشاهدات ما ۲۶ درصد) ضایعات ریوی تولید مینماید که این ضایعات پس از ۵ روز ۲-۳ ماه خود بخود بهبود مییابد (جدول ۴) و بمرگ حیوان منتهی نمی‌گردد و از این رومیتوان نوع انسانی سوشهایی که مورد آزمایش مقرر گرفته‌اند تأیید نمود.

تذیقه

تعداد ۱۹ سوش جدا شده از اخلاط بیماران مبتلا به ضایعات سلی ریوی از لحاظ تعیین نوع گاوی یا انسانی مورد آزمایش قرار گرفته بطور کلی خصائص زیر را نشان داده اند.

- ۱- تمام ۱۹ سوش مورد آزمایش هیچکدام زودتر از ۲۰ روز کشتشان میسر نشد
- ۲- شکل کلنی ها و همچنین داشتن خاصیت روگوز (۱) به علاوه خوب هوموژن نشدن آن در آب مقطر مشخص نوع انسانی باسیل بوده اند.
- ۳- تمام ۱۹ سوش آزمایش شده در کوبی تولید ضایعات عمومی منتشر داده است.

۴- ۱۹ سوش آزمایش شده در خرگوش تولید ضایعات خیلی کم و گاهی هیچ نموده است و با مقایسه با ضایعات حاصله از سوش باسیل گاوی (۲) میتوان گفت که کاملاً دو سوش مجزا هستند.

۵- ضایعات موجوده نزد خرگوش ها پس از ۲-۳ ماه هیچ بوده است. پس میتوان گفت ۱۹ سوش آزمایش شده همه از نوع انسانی (۳) بوده است و با آنکه در تجسسات خود تا کنون نوع گاوی بدست نیاورده ایم مطالعات آتیه بر روی تعداد بیشتری از سوش های باسیل نشان خواهند داد که ضایعات سل ریوی در ایران بچه نسبت ممکن است توسط باسیل نوع گاوی ایجاد گردد.