

هموفیلوس، بوردتلا و بروسلا

دکتر امیر پیمانی

- خانواده پاستور لاسه

- 4 جنس: هموفیلوس، اکتینوباسیلوس، اگریگاتی باکتر، پاستور لاسه

- باسیل گرم منفی، فاقد اسپور، هوازی و بی هوازی اختیاری و بدون تحرک، دارای کیپسول و پیلی و کاتالاز و اکسیداز مثبت، و سخت رشد

هموفیلوس

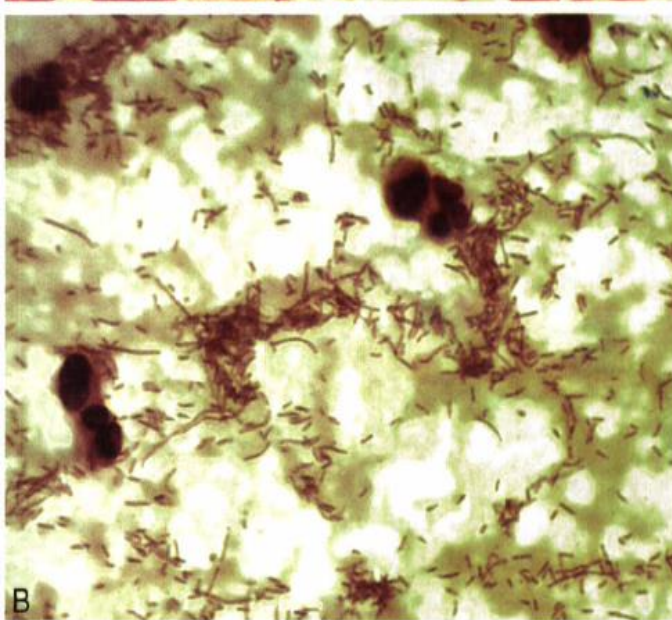
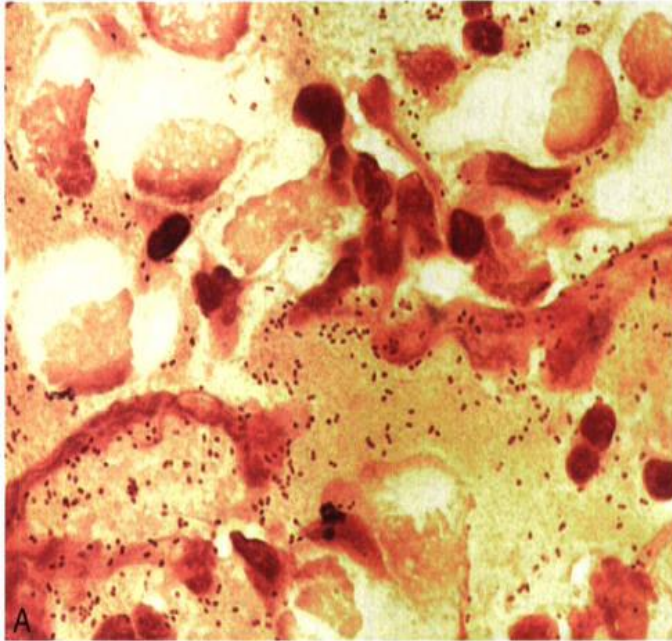


Figure 34-1. Gram stains of *Haemophilus influenzae*. **A**, Small coccobacilli forms seen in sputum from patient with pneumonia. **B**, Thin, pleomorphic forms seen in 1-year-old, unvaccinated child in Africa with overwhelming meningitis.

- ۱۵ گونه (۱۰ گونه علل بیماری انسانی)

- پلی مورف

- نیازمند فاکتورهای محرک رشد:

- فاکتور X (همین)

- فاکتور V (NAD یا NADP)

- عدم رشد در بلاد آگار حاوی خون گوسفند

- هر دو فاکتور

- شکلات آگار: کلنی قهوه‌ای مایل به خاکستری و صاف

- ۲ روش‌های تعیین نیاز به فاکتورهای X و V

- ✓ Filter paper strip test (رشد در محل تلاقی دو نوار)

- ✓ Satellite test

Box 34—1. Important Pasteurellaceae

Organism	Historical Derivation
<i>Haemophilus</i>	<i>haemo</i> , "blood"; <i>hilos</i> , "lover" ("blood lover"; requires blood for growth on agar media)
<i>H. influenzae</i>	Originally thought to be the cause of <i>influenza</i>
<i>H. aegyptius</i>	<i>aegyptius</i> , "Egyptian" (observed by R. Koch in 1883 in exudates from Egyptians with conjunctivitis)
<i>H. ducreyi</i>	Named after the bacteriologist <i>Ducrey</i> , who first isolated this organism)

هموفیلوس انفلوانزا

- ۶ **سروتیپ** آنتی ژنی (a تا f) بر اساس کپسول پلی ساکارید (Quellung test)
- کپسول های تیپ a ، b ، c و f مربوط به تیپ تیکوئیک اسید و دارای اتصال PDE
- تیپ e و d پلی ساکارید واقعی و b: تنها تنها کپسول دارای قند پنتوز (PRP)
- اکثر عفونت های هموفیلوس: سروتیپ های c و f
- ۸ **بیوتیپ** بر اساس : تولید اندول، فعالیت اوره آزی و فعالیت اورنیتین دکربوکسیلازی
- بیشترین موارد مننژیت ناشی از انفلوانزا: بیوتیپ ۱ و
- بیوتیپ های II ، III و IV فلور نازوفارنگس هستند و فاقد کپسول: عامل بیماری های کنژنکتیویت، اوتیت میانی، سینوزیت، و برونشیت مزمن هستند.
- ۲ **بیوگروه** در هموفیلوس انفلوانزا: بیوگروه اجیپتیکوس و بیوتیپ III (تفاوت بالینی)

- ساختار آنتی ژنی:
- آنتی ژن های کپسولی، سوماتیک (LOS و OMP)
- فکتورهای ویروالانس:
- کپسول، آنتی ژن های سوماتیک، لنفوبلاستوزنیک فاکتور، ایجاد هیستامین، IgA پروتئاز، پپلی و ادھیزین ها

بیماری

- هموفیلوس پارانفلوانزا و انفلوانزای بدون کپسول (۵۰ تا ۸۰٪) کلونیزدر مجاری تنفسی فوقانی (ماههای ابتدایی زندگی)
- ایجاد اووتیت مدیا (بعدپنوموکوک شایع ترین عامل سببی)، سینوزیت و مجاری تنفسی تحتانی
- هموفیلوس انفلوانزای تیپ b کپسولدار: مننژیت، اپی گلویت و سلولیت
- ۲-۴٪ افراد به شکل فلور
- راه انتقال: ترشحات تنفسی
- شایعترین عامل مننژیت در کودکان ۵ ماهه تا ۵ ساله
- اپی گلویت: سلولیت، تورم و التهاب بافت های اپی گلوت
- غالبا در کودکان ۲-۴ ساله
- فارنژیت، تب و اختلال تنفسی
- سلولیت
- غالبا به شکل گسترش پلاگ های آبی متمایل به قرمز بر روی گونه ها و اطراف دهان

Haemophilus influenzae

types of disease

Type b

Meningitis

CSF 50%-95% culture positive
Blood 50%-95% culture positive

Conjunctivitis

Eye 50%-75% culture positive
Blood < 10% culture positive

Cellulitis

Skin 75% - 90% culture positive
Blood 50% - 75% culture positive

Epiglottitis

Blood 90% - 95% culture positive
Epiglottitis culture
contraindicated

Arthritis

Synovial fluid
70% - 90% culture positive
Blood
50% - 80% culture positive

Unencapsulated

Otitis Media

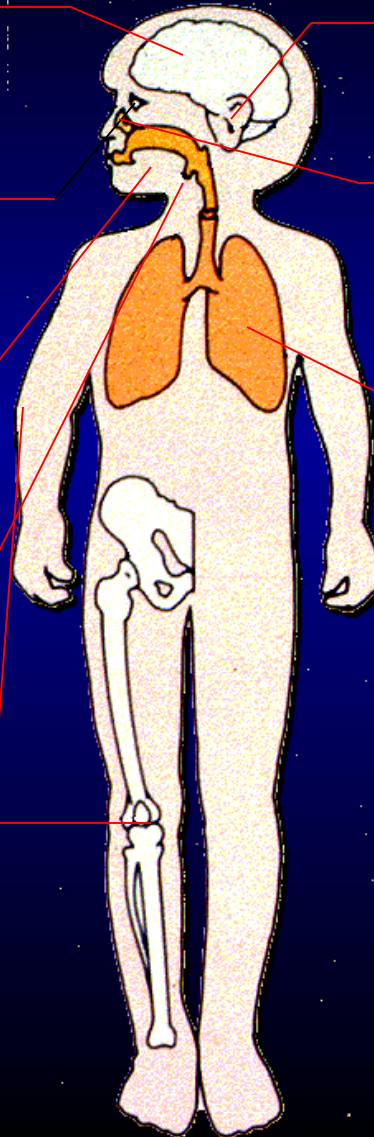
Tympanocentesis
50% - 70% culture positive

Sinusitis

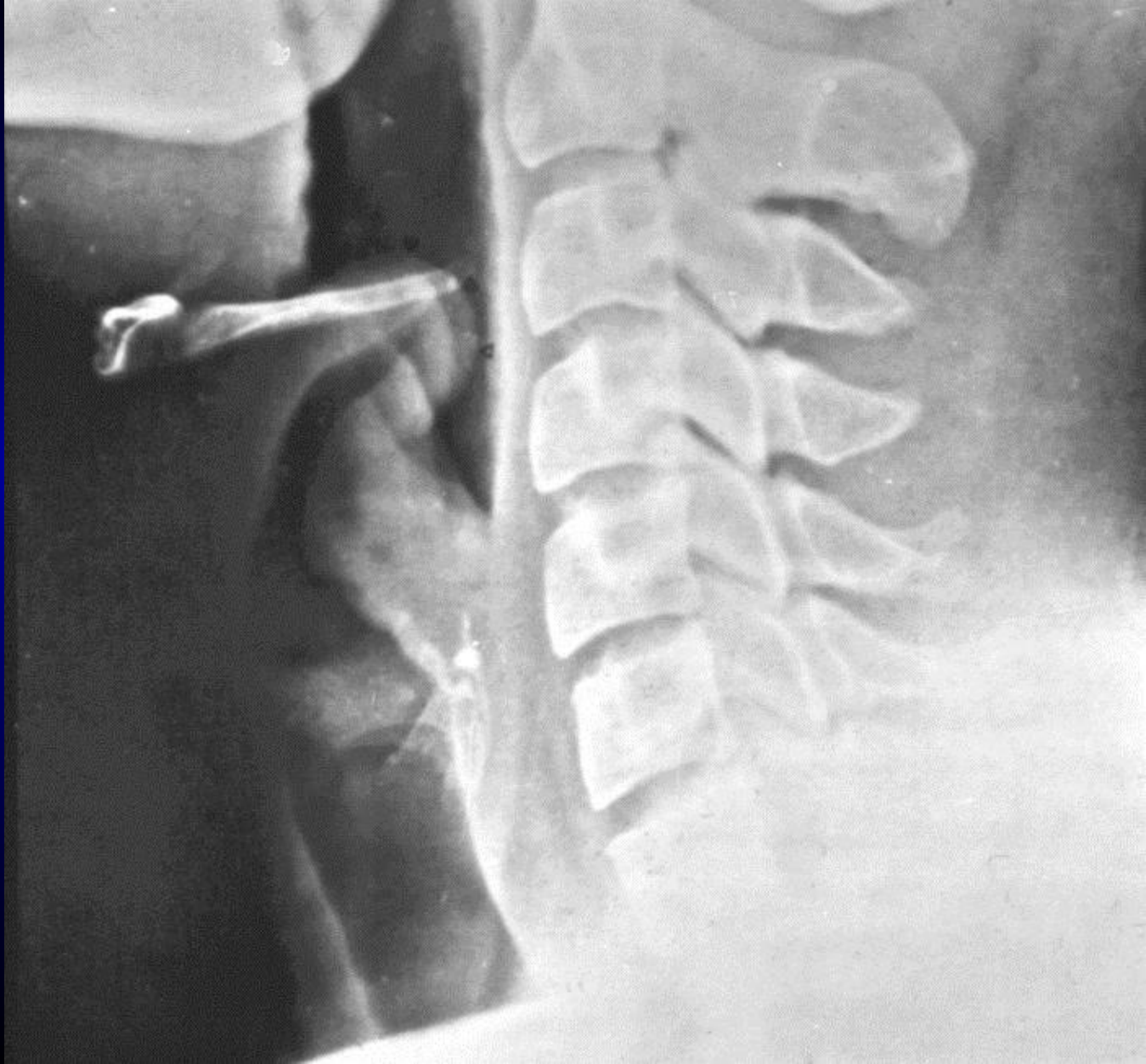
Sinus aspirate
50% - 75% culture positive

Pneumonia, bronchitis

Sputum
20% - 75% culture positive
Blood
10% - 30% culture positive



Acute Epiglottitis



- هموفیلوس انفلوانزا بیوگروه اجیپتیکوس (باسیل کخ-ویکس) کنژنکتیویت و تب پورپوریک برزیلی

- هموفیلوس دوکره ئی: شانکروئید (شانکر نرم)

- کمون ۷-۵ روز، پاپول های با مرکز اریتماتوز در ناحیه ژنیتال و تورم غدد لنفاوی ناحیه

- انتقال جنسی

- هموفیلوس آفروفیلوس: دهان و انتشار به خون و دخیل در بروز اندکاردیت تحت حاد

Haemophilus influenzae

Meningitis: primarily a disease of unimmunized children; characterized by fever, severe headache, and systemic signs

Epiglottitis: primarily a disease of unimmunized children; characterized by initial pharyngitis, fever, and difficulty breathing, and progressing to cellulitis and swelling of the supraglottic tissues, with obstruction of the airways possible

Pneumonia: inflammation and consolidation of the lungs observed primarily in the elderly with underlying chronic pulmonary disease; typically caused by nontypeable strains

Haemophilus aegyptius

Conjunctivitis: an acute, purulent conjunctivitis ("pink eye")

Haemophilus ducreyi

Chancroid: sexually transmitted disease characterized by a tender papule with an erythematous base, progressing to painful ulceration with associated lymphadenopathy

Species	Primary Diseases	Frequency
<i>H. influenzae</i>	Pneumonia, sinusitis, otitis, meningitis, epiglottitis, cellulitis, bacteremia	Common
<i>H. aegyptius</i>	Conjunctivitis	Uncommon
<i>H. ducreyi</i>	Chancroid	Uncommon (in United States)
<i>H. parainfluenzae</i>	Bacteremia, endocarditis, opportunistic infections	Rare
<i>H. haemolyticus</i>	Opportunistic infections	Rare
<i>H. parahaemolyticus</i>	Opportunistic infections	Rare

فاکتور های بیماریزایی

- پبلی و سایر ادهیزین ها
- LOS و یک گلیکولیپید باوزن ملکولی کم (اختلال در زنش مژک ها)
- IgA پروتئاز: تسهیل اتصال و کلونیزاسیون
- (Lymphocyte mitogen) Blastogenic factor
- آسیب به سلولهای EP و EN وارد جریان خون و در غیاب آنتی بادیهای علیه کپسول --- بیماری
- کپسول پلی ساکاریدی پلی ربیتول فسفات (PRP)

تشخیص آزمایشگاهی

- نمونه
 - ✓ سواب نازوفارنگس
 - ✓ خون و CSF : مننژیت
 - ✓ خون: اپیگلوتیت، سلولیت و آرتریت یا پنومونی
 - ✓ سواب مرطوب از پایه و حاشیه زخم
- تشخیص میکروسکوپی (کو کوباسیل های گرم منفی)
- کشت
 - ۲ فاکتور مهم (نیاز به فاکتور X و V و عدم همولیز در محیط بلاد آگار محیط شکلات آگار و لوین تال محیط غنی شده فیلدز
 - پدیده Satellitism: رشد در اطراف استاف اورئوس در محیط بلاد آگار
 - بیوگروه اجیپتیکوس : شکلات آگار حاوی ۱٪ ایزوویتال X و ۱۰٪ Co2
- تشخیص آنتی ژنی: لاتکس اگلوتیناسیون نمونه های CSF و ادرار

پیشگیری و درمان

- سفالوسپورین های وسیع الطیف (مننژیت و اپی گلویتیت)
- پیشگیری: واکسیناسیون (کودکان زیر ۶ ماه ۳ دوز (۲، ۴ و ۶ ماهگی با HbOC و PRP-OMP و سپس یادآور)
- **۳ نوع واکسن HIB:**
- PRP-D: کنژوکه مواد کپسولی با توکسوئید دیفتری
- واکسن HbOC مواد کپسولی کنژوکه با (قطعه غیر توکسیک توکسین دیفتری- CRM197)
- PRP-OMP کنژوکه مواد کپسولی با غشای خارجی نیسریا مننژیتیدیس
- افراد دارای نقص در C3 به بیماری منتشر HIB حساسند

Haemophilus influenzae Type b Conjugate Vaccines

Abbreviation	Trade Name	Manufacturer	Protein Carrier
HbOC	HibTITER	Wyeth	CRM ₁₉₇ (a nontoxic mutant of diphtheria toxin)
PRP - OMP *	PedvaxHIB	Merck	OMP (an outer membrane protein complex of <i>Neisseria meningitidis</i>)
PRP - T †	ActHIB	Aventis Pasteur	Tetanus toxoid
	OmniHIB	Aventis Pasteur ‡	Tetanus toxoid

* PRP-OMP is also available as a combination vaccine with hepatitis B vaccine (Comvax). This should not be used for hepatitis B immunization at birth.

† PRP-T can be reconstituted with Connaught DTaP vaccine (Tripedia), to produce a combination marketed as TriHIBit, which is acceptable only for the booster (4th) dose in infants ≥ 15 mo of age.

‡ Marketed by GlaxoSmithKline in the United States

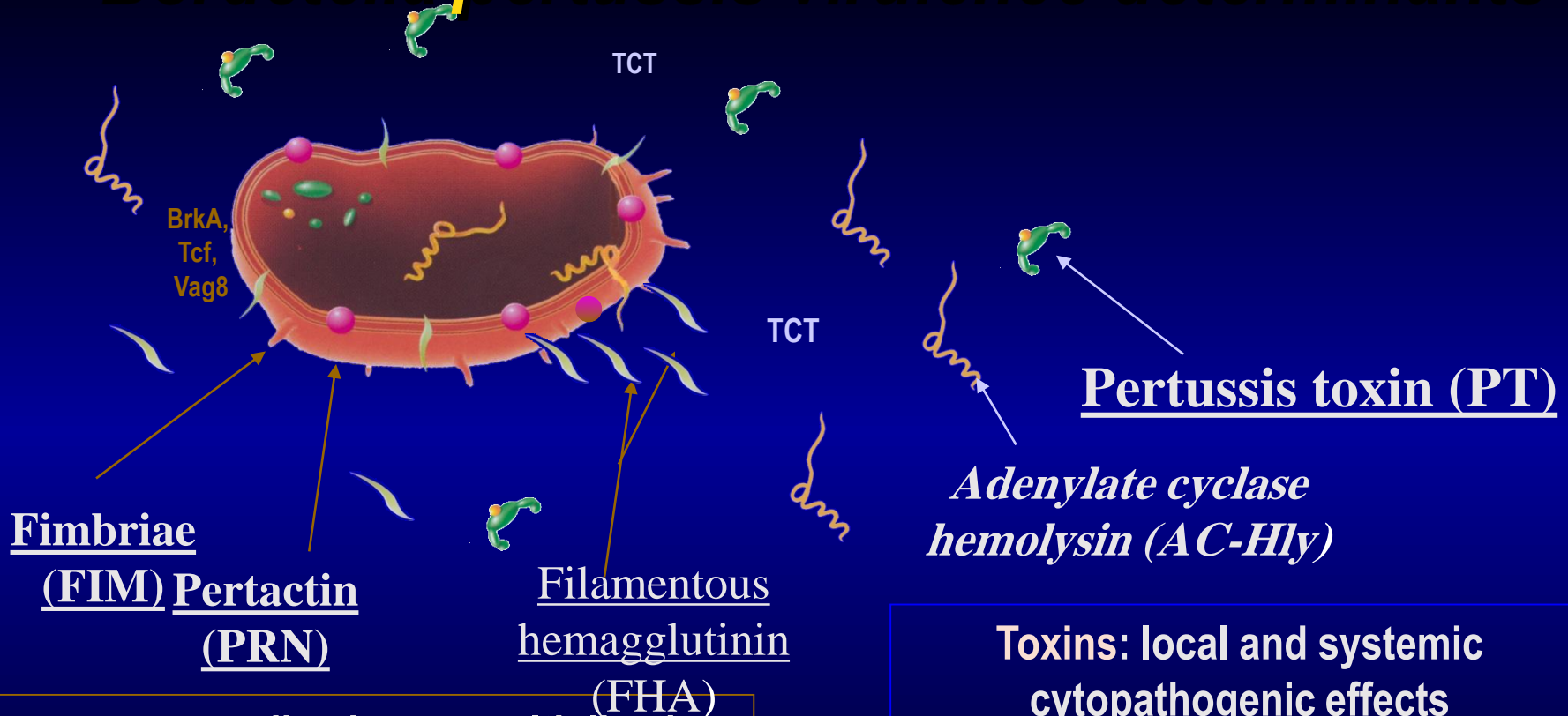


بوردتلا

- کوکوباسیل های گرم منفی کوچک، هوازی و غیر تخمیری
- رنگ آمیزی آبی تولوئیدن: دو قطبی
- هوازی اجباری و اکسیداسیون گلوکز و لاکتوز و ایجاد همولیز در محیط بلاد آگار
- تنوع بیماریزا و غیر بیماریزا (عدم ایجاد همولیز و تولید توکسین)
- تغییرات دمایی ۲۸ درجه به جای ۳۷ درجه
- وجود $Mgso_4$
- جهش در ژنهای کد کننده ویرو لانس فاکتورها

- ۷ گونه شناسایی ولی ۳ گونه عامل سببی بیماری انسانی
- بوردتلا پرتوزیس، پاراپرتوزیس و برونشی سپتیکا
- تفاوت گونه ها: خواص رشد، واکنش های بیوشیمیایی و خواص آنتی ژنی
- پاراپرتوزیس: بیماری مشابه سیاه سرفه
- برونشی سپتیکا: عامل لارنگوتراکئیت و پنومونی در سگ، رینیت آتروفیک در خوک
---بندرت عفونت مزمن دستگاه تنفسی انسان
- عدم رشد در محیط های معمول (نیاز به اضافه کردن شارگول، نشاسته و خون)

***Bordetella pertussis* virulence determinants**



Adhesins: adhesion => multiplication and colonisation of respiratory tract

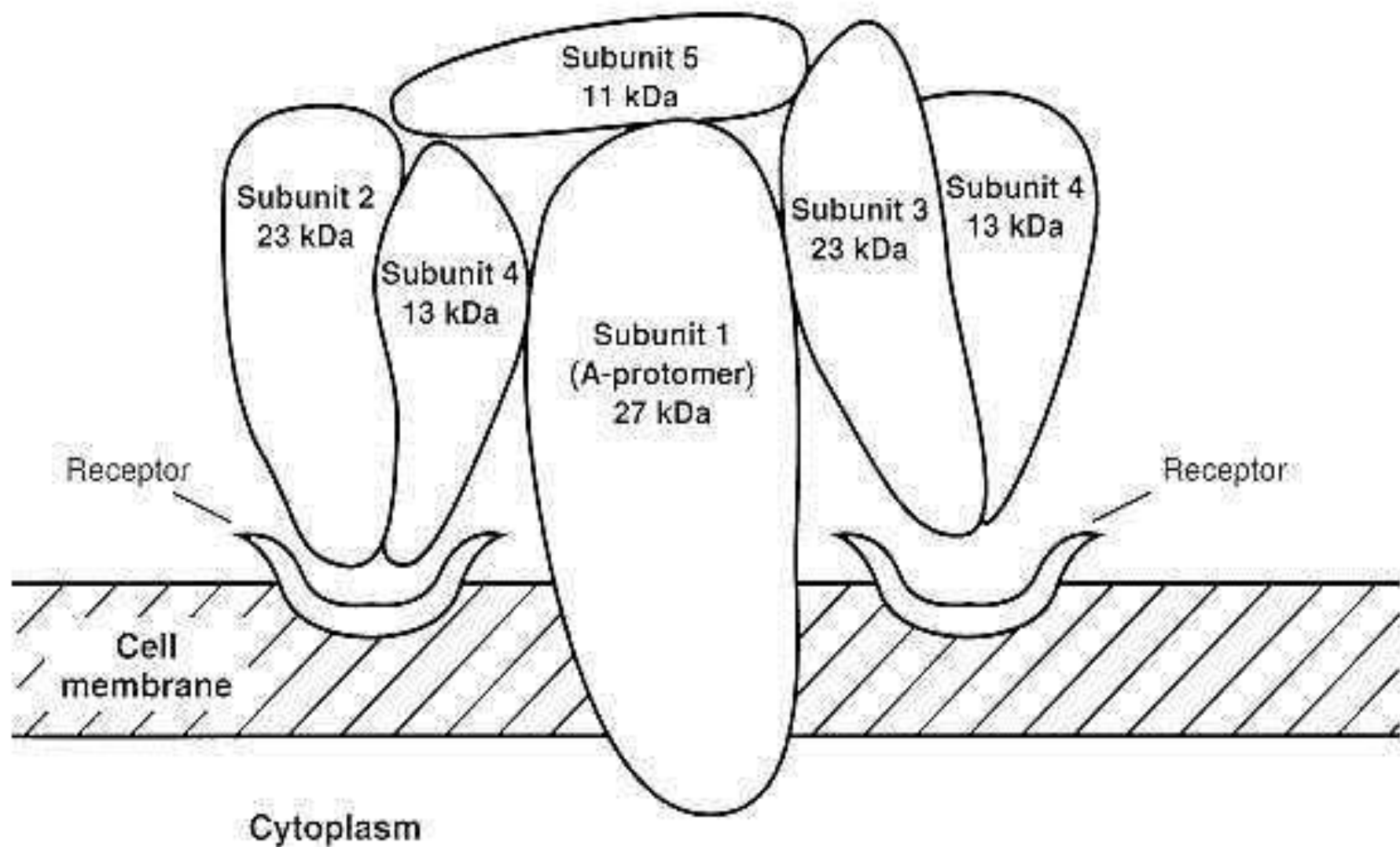
- ✓ **FHA**
- ✓ **Pertussis toxin**
- ✓ **Pertactin**
- ✓ **Fimbriae**

Toxins: local and systemic cytopathogenic effects

- ✓ **Pertussis Toxin**
- ✓ **Adenylate Cyclase Toxin**
- ✓ **Tracheal cytotoxin**
- ✓ **Dermonecrotic toxin**
- ✓ **Heat-labile toxin**

بیماریزایی

- ژنهای ویرو لانس توسط یک جایگاه ژنی کروموزومال (bvgA و bvgS) اتصال:
- ۱. هماگلو تین رشته ای [گلیکولپید های سولفات ه (سلولهای مژکدار تنفسی) - CR3 در سطح PMN]
- ۲. توکسین پرتوزیس (سم تیپ A-B) زیر واحد سمی S1 و ۵ زیر واحد اتصالی S2-S5
- اتصال S2 به لاکتوزیل سرامید سلولهای مژکدار تنفسی و زیر واحد S3 به CR3 در سطح PMN
- ۳. پیلی و پرتاکین (پروتئین سطحی - ترشحاتی دارای ترادف (Arg-Gly-Asp) ترادف (RGD) و تسهیل ورود ارگانیسم به سیتوپلاسم)
- توکسین: زیر واحد S1 با اثر بر Protein G اختلال در تنظیم ادنیلات سیکلاز و افزایش آن --- افزایش تولید ترشحات تنفسی و مخاطی
- لنفوسیتوز، حساسیت به هیستامین



- تولید آنزیم دوکاره آدنیلات سیکلاز/همولیزین (سیکلولیزین)
- افزایش سطح **cAMP** داخل سلولی
- مهار فاگوسیتوز و کموتاکسی
- توکسین درمونکروتیک: توکسین حساس به حرارت و عامل تنگی عروق محیطی موش

- سیتوتوکسین تراکئال: اتصال به سلولهای **EP** مژکدار
- ✓ در غلظت کم: اثر سیلیواستاتیک (مهار کننده حرکت مژک ها)
- ✓ در غلظت بالا: جدا شدن سلولهای مژکدار
- ✓ اختلال در ترمیم سلولهای آسیب دیده (مهار سنتز **DNA**) و بروز سرفه شاخص در فاز پروکسیمال
- ✓ بروز تب
- ✓ توسط **bvg** کد نمی شوند

- ۲ نوع **LPS**: یکی همراه با لیپید **A** و یکی همراه با لیپید **X** (فعالسازی مسیر آلترناتیو کمپلمان)

بیماری

- تنها انسان
- اطفال
- انتقال : شخص به شخص از طریق آئروسول عفونی
- کمون ۷-۱۰ روز
- ۳ مرحله:
- فاز کاتارال: سرماخوردگی معمولی (آبریزش بینی، عطسه، بی حالی، بی اشتهاپی و تب خفیف)---Infective
- فاز پاروکسیمال: ۱-۲ هفته بعد سرفه های قطاری (Whooping cough) با ضعف و استفراغ—لنفوسیتوز
- ۲-۴ هفته بعد فاز نقاهت

Pertussis - clinical presentation

	Incubation	Catarrhal	Paroxysmal	Convalescent
Duration	7-10 days	1-2 weeks	2-4 weeks	3-4 weeks (or longer)
Symptoms	None	Rhinorrhea, malaise, fever, sneezing, anorexia	Repetitive cough with whoops, vomiting, leukocytosis	Diminished paroxysmal cough, development of secondary complications (pneumonia, seizures, encephalopathy)
Bacterial culture				

Clinical symptoms in infants

Asymptomatic incubation
1-2 weeks

Catharral Phase
1-2 weeks

Paroxystic phase
3-5 weeks

Convalescence phase
8-12 weeks

Bacteria
←→

DNA
←→

Antibodies
←→



تشخیص آزمایشگاهی

- آسپیره نازوفارنگس (نمونه ترجیحی)

- سواب آلزینات و یا داکرون

- Cough plate

- محیط انتقالی

- میکروسکوپی

- آزمون آنتی بادی فلورسنت مستقیم

- محیط کشت (بورده ژانگو-آگار سیب زمینی، خون و گلیسرول و پنی سیلین G) (انکوباسیون ۷ روزه) +
محیط رگان لوه + محیط Stanier schdte Agar

- ملکولار (PCR)

Continue...

<i>Test</i>	<i>Sensitivity (%)</i>	<i>Specificity (%)</i>	<i>Comments</i>
<i>Bordetella pertussis</i> culture	15	100	Requires special culture media; takes seven to 12 days to receive results; up to 80 percent sensitive only in early disease; sensitivity is affected by antibiotics; CDC recommends using with polymerase chain reaction assay to confirm a pertussis diagnosis
Polymerase chain reaction assay	94	97	Can confirm diagnosis quickly (one to two days); expensive; not affected by antibiotics; no single test is universally accepted; not widely available; CDC recommends using with culture to confirm the diagnosis
Direct fluorescent antibody test	52	98	Requires specially trained personnel; can confirm diagnosis quickly; high false-positive rates; can be used when cultures are negative; not recommended by the CDC
Serology	Variable	Variable	No single test is universally accepted; not standardized nationally; not recommended by the CDC

درمان

- اقدامات نگهدارنده
- اریترومايسين
- واکسن DPT

Available Vaccines



- In the mid-1940s, DTP was routinely used but is no longer recommended
- No pertussis-only vaccine is available.

The pertussis vaccine is available as:

- ✓ **DTaP** (Diphtheria-Tetanus-acellular Pertussis vaccine) **Tripedia-2001**
- ✓ **DTaP** in combination with Haemophilus influenzae type b (Hib) vaccine (**TriHIBit-2001**)
- ✓ **DTaP** in combination with hepatitis B and inactivated polio vaccines (**Pediarix-2002**)
- ✓ **Tdap** (Tetanus Toxoid, Reduced Diphtheria Toxoid and Acellular Pertussis); **Boostrix-2005**

Recommended Childhood & Adolescent Immunization Schedule in the U.S.

Vaccine ▼	Age ▶	Range of recommended ages				Catch-up vaccination				Preadolescent assessment			
		Birth	1 mo	2 mo	4 mo	6 mo	12 mo	15 mo	18 mo	24 mo	4–6 yr	11–12 yr	13–18 yr
Hepatitis B ¹		HepB #1	only if mother HBsAg (-)							HepB series			
Diphtheria, Tetanus, Pertussis ²				DTaP	DTaP	DTaP		DTaP		DTaP		Td	
<i>Haemophilus influenzae</i> Type b ³				Hib	Hib	Hib		Hib					
Inactivated Polio				IPV	IPV	IPV				IPV			
Measles, Mumps, Rubella ⁴						MMR #1				MMR #2	MMR #2		
Varicella ⁵						Varicella			Varicella				
Pneumococcal ⁶				PCV	PCV	PCV	PCV		PCV	PPV			
----- Vaccines below this line are for selected populations -----													
Hepatitis A ⁷										Hepatitis A series			
Influenza ⁸					Influenza (yearly)								

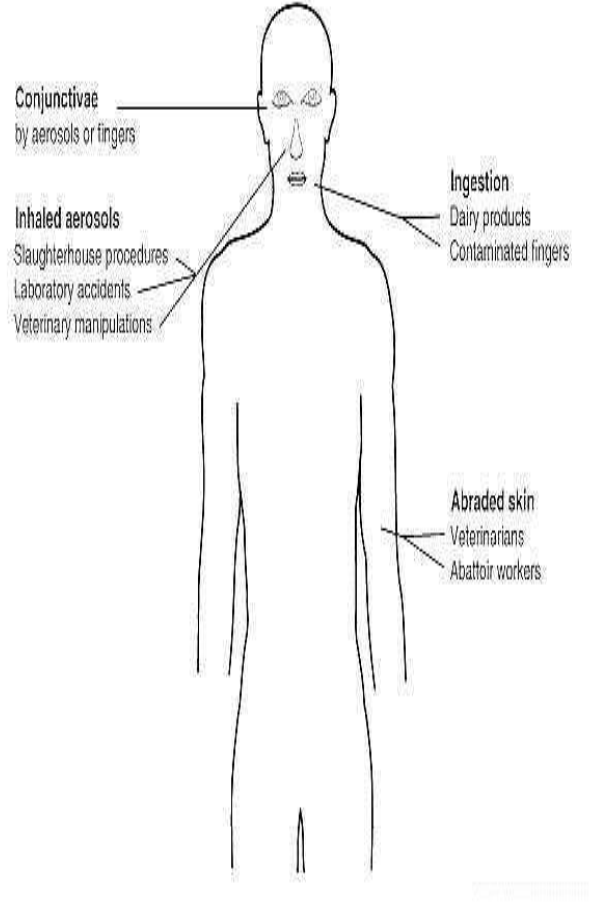
بروسلا

- ۷ گونه (۴ گونه بیماریزای انسانی)
- کوکوباسیل های گرم منفی، غیر متحرک و بدون کپسول
- کند رشد، هوازی مطلق، برخی سویه ها نیازمند CO_2 و عدم تخمیر کربوهیدرات
- گونه ها: واکنش های تخمیری، تولید اوره آز و H_2S ، نیازمندی به CO_2 ، توانایی رشد بر روی محیط های حاوی تیونین و فوشین و واکنش با آنتی سرم اختصاصی
- انگل اجباری حیوانات و انسان
- آنتی ژنهای سطحی مشترک A (ب. ابورتوس و سوئیس) و M (ملی تنسیس)
- تفاوت آنتی ژنی کنیس و عدم تشخیص سرولوژیک

بیماریزایی

- انگل داخل سلولی سیستم رتیکولواندوتلیال و انتشار به خون
- انتشار توسط ماکروفاژ و مونوسیت و ایجاد ندول های گرانولوماتوز در کبد و طحال (شاخص بروسلوزیس حاد)
- ایجاد بیماری خفیف یا بدون علائم در میزبان طبیعی: ملی تنسیس (بز و گوسفند)، سوئیس (خوک ها)، کنیس (سگ و روباه) و ابورتوس (گاو)
- ب. نئوتومه (رت های جنگلی) و بروسلا اوویس (گوسفند) وب. ماریس (پستانداران دریایی)
- تمایل به اندام های غنی از اریترول (مجاری ادراری، جفت و اپیدیدیم حیوانی) --- از نازایی و سقط تا ناقلین بدون علامت
- تنوع آنتی ژنی - تبدیل فرم صاف (S) و شفاف بیماریزا به فرم خشن (R) غیر بیماریزا در گونه های مقاوم حیوانات -- تغییرات در غشاء خارجی
- D-آلانین در Invitro

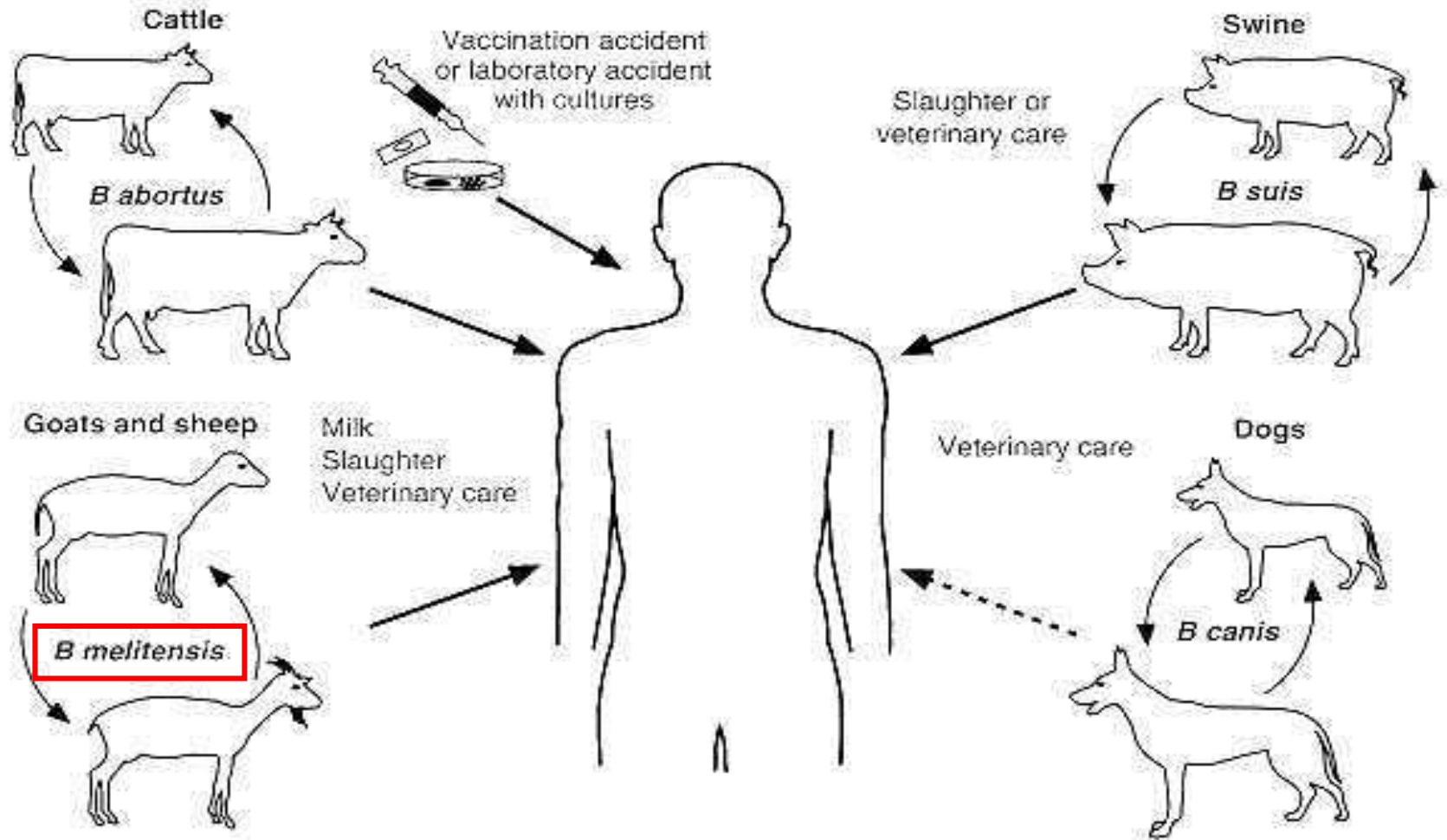
بیماری



- بیماری بسته به گونه
- بروسلا آبورتوس و کنیس: بیماری ملایم و عوارض چرکی نادر
- بروسلا سوئیس: بیماری طولانی مدت (مزمن) با ایجاد ضایعات مخرب
- شدیدترین گونه بیماریزا: ملی تنسیس
- نیمی از بیماران: بیماری حاد
- راه انتقال: گوارشی، غشاء مخاطی و پوست و استنشاق هنگام کار در آزمایشگاه

- کمون ۱ تا ۶ هفته و سپس علائم غیر اختصاصی شامل بیحالی و لرز، کاهش وزن، تعریق، میالژی و آرترالژی، ضعف و سرفه های غیر پروداکتیو
- پیشرفت بیماری: علائم گوارشی، بزرگی غدد لنفاوی (طحال قابل لمس) ضایعات استئولیتیک و علائم مجاری تنفسی
- مرحله مزمن: ضعف، درد و ناراحتی، تب مختصر و تظاهرات عصبی

Sources of infection



تشخیص

- نمونه: خون و بیوپسی غدد لنفاوی و مغز استخوان (کشت و آزمون های سرولوژیک)
- کشت : محیط غنی با انکوباسیون، ۳ هفته تحت نظر قبل گزارش منفی
- بروسلا ابورتوس: نیاز به ۵ تا ۱۰٪ CO₂
- مشاهده میکروسکوپی و مرفولوژی کلنی (غیرهمولیتیک >mm۱)، اکسیداز مثبت و واکنش با آنتی بادی های علیه بروسلا
- تست اوره در محیط اوره کریستینسن: بروسلا سوئیس و برخی سویه های ملی تنسیس (کمتر از ۵ دقیقه) و مابقی تا ۲۴ ساعت مثبت
- تیتراژ آنتی بادی ها تایید کننده تشخیص بالینی
- افزایش IgM از هفته اول، ماکزیمم طی ۳ ماه و پایدار(مزمن)
- IgG و IgA از هفته سوم، ماکزیمم طی مدت ۶ تا ۸ هفته و پایدار(مزمن)
- تیتراژ بیش از ۱/۸۰
- حضور علائم بالینی ولی تست سرولوژی منفی: حضور آنتی بادی بلوکان(کومبس)

درمان

- تتراسایکلین و ترجیحا "داکسی سیکلین
- کاهش عود: ترکیب داکسی سیکلین با ریفامپین و جنتامایسین
- پیشگیری:
- اجتناب از مصرف مواد لبنی غیر پاستوریزه
- پاستوریزاسیون شیر
- رعایت ایمنی در آزمایشگاه میکروب شناسی و کشتارگاهها
- واکسن



Thank you

&

Be succeed