

تیره سالمونلا *Tribe Salmonellae*

مقدمه :

سالمونلاها گروه بزرگی از باسیل های گرم منفی دارای ویژگیهای عمومی خانواده انتروباکتریاسه می باشند که بطور گسترده ای در محیط انتشار داشته و به عنوان پاتوژنهای روده ای عامل طیف وسیعی از بیماریهای در انسان و حیوانات می باشند. چون اولین بار سالمون (Salmon) میکروب شناس آمریکایی در سال ۱۸۸۵ باکتری سالمونلا کلراسوئیس (*S. Cholerae suis*) را از مدفوع خوک جدا نمود ، لذا کلمه سالمونلا جهت نامگذاری این جنس برگزیده شد.

سالمونلاها عامل تب روده ای ، گاستروانتریت ، باکتری می و سیتی سمی و... در انسان می باشند که اغلب از طریق تماس مستقیم و یا مصرف غذا و آب آلوده به مدفوع انسان یا حیوان و همچنین توسط ناقلین بدون علامت (کریرها) منتقل می شوند. گاستروانتریت معمولاً در اثر گونه های سالمونلای غیر تیفی ایجاد می شود. علائم بیماری معمولاً ۳۶-۸ ساعت پس از مصرف غذای آلوده شروع و در اغلب موارد با تب خفیف ، تهوع و استفراغ ، اسهال و کرامپ های شکمی همراه است.

در ۱۵-۳٪ موارد سالمونلوز ، سالمونلاهای غیر تیفی از مواضع غیر روده ای مانند ادرار ، زخم ، خلط ، CSF و مغز استخوان و جدا شده اند که بویژه در بیماران دچار نقص سیستم ایمنی مانند نوزادان نارس ، افراد مبتلا به لوسمی ، سرطان ، ایدز و آنمی داسی شکل دارای اهمیت می باشد.

اپیدمیولوژی :

هر چند شیوع روده ای در کشورهای پیشرفته کاهش یافته است ، اما موارد تک گیر آن همچنان مشاهده می شود. سالیانه حدود ۴۰۰ مورد تب تیفوئید و ۵۰۰۰۰ مورد سالمونلوزیس غیر تیفی در کشور امریکا گزارش می شود که حدود نیمی از موارد اپیدمی سالمونلا ، ناشی از مصرف گوشت مرغ و تخم مرغ آلوده و یا فراورده های حاوی تخم مرغ خام و نیم پز می باشد. سالمونلا تیفی موریوم (سرو گروپ B) شایعترین سرو تایپ گزارش شده از CDC (Center of Disease Control) می باشد (۲۰٪ موارد). هر چند در سالهای اخیر موارد گزارش شده از سالمونلا انتریتیدیس در آمریکا از ۵٪ به ۲۰٪ افزایش یافته است.

خصوصیات مرفولوژیک و بیوشیمیایی جنس سالمونلا :

سالمونلاها باسیل های گرم منفی بی هوازی اختیاری غیر اسیدفست و بدون اسپور می باشند. این باکتریها مانند سایر اعضای انتروباکتریاسه ، اکسیداز منفی و نیترات مثبت هستند. همچنین گلوکز را تخمیر کرده و گاز تولید می نمایند. معمولاً در محیط TSI تولید سولفید هیدروژن (SH_2) می نمایند و لاکتوز ، سوکروز و ONPG منفی هستند. سالمونلاها دارای واکنش اندول منفی ، اوره منفی ، VP منفی و متیل رد (MR) مثبت می باشند. جنس سالمونلا بوسیله تست های بیوشیمیایی مختلف از سایر اعضای خانواده انتروباکتریاسه تشخیص داده می شود (جدول ۱).

موارد استثناء

۱ - اغلب سالمونلاها متحرک می باشند به جز سالمونلا گالیناروم (*Salmonella Gallinarum*) و سالمونلا پلوروم (*Salmonella Pullorum*) که غیر متحرک هستند.

۲ - اکثر سالمونلاها در محیط TSI و یا KIA تولید SH_2 می کنند ، اما برخی از سروتایپ ها از جمله سالمونلا پاراتیفی A و برخی از سویه های سالمونلا کلراسوئیس تولید SH_2 نمی نمایند.

۳ - اغلب سالمونلاها آتروژنیک هستند اما سالمونلاتیفی یک استثنا مهم است و هرگز گاز تولید نمی کند.

۴ - واکنش لیزین دکربوکسیلاز (LDC) جهت اغلب سالمونلاها مثبت است به جز سالمونلا پاراتیفی A که لیزین منفی است.

۵ - اکثر سالمونلاها اورنیتین دکربوکسیلاز (ODC) مثبت هستند اما سالمونلاتیفی اورنیتین منفی است.

۶ - معمولاً سالمونلاها از سیترات به عنوان منبع کربن استفاده می نمایند ، اما برخی از گونه ها مانند سالمونلاتیفی و سالمونلا پاراتیفی A سیترات منفی هستند.

از آنجائیکه تولید SH_2 یکی از واکنش های کلیدی در تشخیص سالمونلاها می باشد ، تشخیص افتراقی آن از سایر انتروباکتریاسیه های SH_2 مثبت ، در جدول ۲ نشان داده شده است.

تستهای کلیدی تشخیصی جهت شناسایی انتروباکتریاسه های H_2S مثبت

	Edwardsiella tarda	Citrobacter freundii	Salmonella subspecies I	Proteus vulgaris	Proteus mirabilis
Voges-Proskauer	0	0	0	0	V
Indole	+	0	0	+	0
Citrate	0	+	+	V	V
Phenylalanine deaminase	0	0	0	+	+
Urease	0	0	0	+	+
Lysine	+	0	+	0	0
Ornithine	+	0	+	0	+
ONPG	0	+	0	0	0

V = متغیر

ساختمان آنتی ژنیک :

سالمونلا دارای آنتی ژنهای مشابه سایر انتروباکتریاسیه ها می باشند. نامگذاری ساختمان آنتی ژنیک و تعیین گروه سرولوژیکی (سروتایپینگ) بر اساس طبقه بندی کافمن وایت (Kaffmann-White Classification) صورت می گیرد. (جدول شماره ۳). بر این اساس سالمونلاها دارای دو نوع آنتی ژن اصلی می باشند.

آنتی ژن سوماتیک O که در غشاء خارجی دیواره سلولی قرار دارد و لیپوپلی ساکاریدی (LPS) مقاوم به حرارت است. آنتی ژن O اساس گروه بندی این ارگانیسم ها (A-Z) در طبقه بندی کافمن وایت می باشد. این آنتی ژنها بوسیله اعدادی مشخص می شوند که ممکن است در سروگروپهای مختلف به صورت مشترک وجود داشته باشند و در نتیجه می توانند ایجاد واکنش های آگلوتیناسیون متقاطع بین سروگروپ های متفاوت نمایند.

آنتی ژن فلاژلر (تاژه ای) H بر خلاف آنتی ژن O از جنس پروتئین و حساس به حرارت است و در دو فاز قرار می گیرد. فاز ۱ (اختصاصی) و فاز ۲ (غیر اختصاصی) می باشد.

*** جهت تشخیص کامل سروگروپ ، نیاز به تعیین آنتی ژنهای گروه O و H به طور توأم می باشد.**

آنتی ژن Vi (برگرفته از کلمه Virulence) آنتی ژن کپسولی پلی ساکاریدی سطحی در سالمونلاتیفی و برخی سویه های سالمونلا پاراتیفی C و سالمونلا سروتیپ دوبلین (Dublin) می باشد.

این آنتی ژن موجب پوشاندن آنتی ژنهای سوماتیک و سطحی می گردد. برای شناسایی این سویه ها بایستی سوسپانسیون غلیظی از باکتری مورد نظر در سرم فیزیولوژی تهیه کرد و به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری C ۱۰۰° قرار داد تا (کپسول آنتی ژن Vi) از بین برود. سپس محلول رویی را دور ریخته و از رسوب باقیمانده در ته لوله (حاوی آنتی ژنهای O و H آشکار شده) جهت تکرار تستهای سرولوژیکی و تعیین سروتایپ استفاده نمود.

طبقه بندی :

طبقه بندی سالمونلاها در مقایسه با سایر اعضای انتروباکتریاسیه پیچیده تر می باشد و از موضوعات مورد بحث است. در حال حاضر در طبقه بندی کافمن وایت بیش از ۲۴۰۰ سروتایپ شرح داده شده است که بر اساس ساختمان آنتی ژنیکی دیواره سلولی (آنتی ژن O) و آنتی ژن فلاژلر (H) میباشد.

در این طبقه بندی هر سروتایپ به عنوان یک گونه در نظر گرفته می شود که به طور اختصاصی نامگذاری می شود مانند سالمونلا پاراتیفی B و... اکثر این سروتایپ ها بندرت برای انسان بیمارزا می باشند و گونه های بیمارزای انسانی اغلب در سروگروپ های A,B,C1,C2,D,E1-E4 قرار دارند. در طبقه بندی جدید که بر اساس مطالعات ژنتیکی و هیبریدیزاسیون DNA-DNA صورت گرفته و مورد تایید CDC و کمیته بین المللی باکتریولوژی سیستمیک می باشد ، تمامی سویه های سالمونلا و همچنین جنس آریزونا متعلق به گروه منفردی به نام «سالمونلا انتریکا» می باشند ، به جز سالمونلا بونگوری (S.bongori) که سابقاً تحت عنوان زیر گروه V نامیده میشد و در یک گونه مجزا قرار می گیرد. گونه سالمونلا انتریکا خود از شش زیر گونه مجزا تشکیل شده است. هر زیر گروه از تعداد زیادی سروتایپ تشکیل شده است که بر اساس ساختمان آنتی ژنیک تعریف می شوند و دارای خصوصیات بیوشیمیایی مختلف می باشند (جدول ۴).

تست	زیر گونه های سالمونلا						
	I enterica	II salamae	IIIa arizonae	IIIb diarizonae	IV houtenae	V bongori	VI indica
ONPG	0	0(+)	+	+	0	+	+ / 0
Gelatinase	0	+	+	+	+	0	+
Malonate	0	+	+	+	0	0	0
Dulcitol	+	+	0	0	0	+	+ / 0
Salicin	0	0	0	0	+	0	0
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	0

زیر گروه I شامل گروه عمده ای از سالمونلاهای جدا شده از انسان می باشد (۹۹٪) که با نام سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا مشخص می شوند. سالمونلا پاراتیفی C, B, C و سالمونلا تیفی و.... متعلق به این زیر گونه می باشند.

اعضای زیر گونه های IV و III و II معمولاً در جانداران خونسرد مثل جوندگان و برخی خزندگان یافت می شود و به عنوان میزان طبیعی این جانداران می باشند.

آریزونا که قبلاً یک جنس جداگانه محسوب می شد، امروزه در جنس سالمونلا IIIa قرار می گیرد و بهتر است آنرا سالمونلا آریزونه بنامیم. عفونت های ناشی از سالمونلا آریزونه علائمی شبیه عفونت های سالمونلایی ایجاد می کند و از طریق خزندگان و برخی پرندگان به انسان منتقل می شوند. سالمونلا آریزونه از نظر واکنش های بیوشیمیایی تفاوت های متعددی با سالمونلاها دارد.

سالمونلا آریزونه بر خلاف سایر سالمونلاها لاکتوز را تخمیر می نماید و ONPG، ژلاتین و مالونات مثبت است و همچنین قادر به تخمیر قند دولسیتول می باشد.

نامگذاری:

نامگذاری رسمی سویه های سالمونلا که در حال حاضر توسط CDC مورد استفاده قرار می گیرد بصورت زیر می باشد:

- ۱ - ابتدا نام جنس بایستی به صورت ایتالیک نوشته شود. *Salmonella*
- ۲ - نام گونه به صورت ایتالیک نوشته شود. مثلاً *enterica*
- ۳ - نام سروتایپ بصورت غیر ایتالیک و حرف اول آن با حرف بزرگ نوشته شود. مثلاً Typhi

بنابراین با توجه به آنچه گفته شده معرفی سویه های زیر گونه I این چنین می باشد:

Salmonella enterica serotype Paratyphi B or Salmonella enterica ser Paratphi B

و در مورد زیر گونه II و.... به طور مثال چنین می باشد:

Salmonella enterica II 50:b:z6

هرچند در این روش اصول و ضوابط کلی در نامگذاری رعایت شده است اما پزشکان و میکروبیولوژیست های بالینی ، نامگذاری ساده ای را برای گزارش روزمره ترجیح می دهند که در آن ، نام اختصاصی سروتایپ مقدم باشد به این صورت : **Salmonella Paratyphi B or S.**

Paratphi B

آزمایش تعیین حساسیت میکروبی (AST) :

۱- در گونه های سالمونلا (و شیگلا) جدا شده از مدفوع :

بطور معمولی آمپی سیلین ، یک کینولون مانند سیپروفلوکساسین و تری متوپریم سولفامتوکسازول (SXT) ، داروهای انتخابی جهت آزمایش تعیین حساسیت و گزارش به پزشک می باشند.

۲- در گونه های سالمونلای خارج روده ای (جدا شده از خون ، ادرار ، آبسه ، CSF و....) :

کلرامفنیکل و نسل سوم سفالوسپورین ها (مانند سفوتاکسیم یا سفتی زوکسیم) داروهای انتخابی جهت آزمایش تعیین حساسیت و گزارش دهی می باشند.

"Warning" هشدار

هرچند نسل اول و دوم سفالوسپورین ها و همچنین آمینوگلیکوزیدها (مانند جنتامایسین و آمیکاسین) ممکن است در محیط آزمایشگاه (in vitro) برای گونه های مختلف سالمونلا و شیگلا حساس گزارش شوند. اما از نظر بالینی موثر نبوده و نبایست مورد استفاده قرار گیرند.

سالمونلاهای مقاوم به چند دارو Multi drug-Resistant Salmonellae :

در سال ۱۹۹۰ یک سویه سالمونلا تیفی موریوم مقاوم به چند دارو از کشور آمریکا گزارش شد که به پنج آنتی بیوتیک (آمپی سیلین ، کلرامفنیکل ، استرپتومایسین ، تتراسیکلین و سولفامتوکسازول) مقاوم بود. بررسی بعمل آمده توسط CDC در سال ۲۰۰۰ میلادی نشانگر آن است که ۵۰٪ از گونه های سالمونلا تیفی موریوم جدا شده از نمونه های بالینی به یک یا بیش از یک آنتی بیوتیک مقاوم بوده اند و ۲۸٪ آنها به پنج دارو مقاومت نشان می دادند.

سالمونلا تیوپورت (S.Newport) از سال ۱۹۹۸ به عنوان پاتوژن مهم مقاوم به چند دارو شناسایی شد و در سال ۲۰۰۱ ؛ ۲۶٪ از سالمونلاهای نیوپورت ارسالی به مرکز ملی پایش مقاومت های میکروبی در CDC امریکا حداقل نسبت به ۹ آنتی بیوتیک ، مقاوم بوده اند. در ایران متأسفانه اطلاعات کافی در مورد مقاومت های چند گانه در سالمونلاها وجود ندارد. بهمین دلیل لازم است همکاران محترم آزمایشگاهی در صورت مواجهه با چنین مواردی ضمن تماس با آزمایشگاه رفرانس ایران و کسب اطلاع از نحوه صحیح ارسال نمونه های میکروبی ، در اسرع وقت موارد مشکوک را برای بررسی کامل تر و انجام آزمایش های تعیین حساسیت میکروبی تکمیلی به بخش میکروب شناسی آزمایشگاه رفرانس ارسال نمایند.

References:

- 1- Koneman's Color Atlas Textbook of Diagnostic Microbiology. Winn, Allen, Janda, Koneman, Procop, Schreckenberger, Woods, 6th Edition. 2006.
- 2- Textbook of Diagnostic Microbiology. Connie R. mahon. 3rd Edition, 2007.
- 3- Murray, P.R. et al, de. Manual of Clinical Microbiology, ASM, 8th Edition, 2003.

تهیه کننده :

دکتر سهیلا حکمت یزدی