

در باره سیاه زخم بیشتر بدانیم

رضانعلی عطایی Ph.D.

آدرس گردآورنده: دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) - دانشکده پزشکی - گروه میکروبیولوژی - تهران - ایران

مقدمه

کشورها سالانه ۱۰۰ مورد سیاه زخم انسانی گزارش شده است. عقیده بر این است که کاهش سطح بهداشت عمومی با شیوع اپیدمی های سیاه زخم همراه است. مثلاً در فاصله سال های ۱۹۷۹ الی ۱۹۸۰ در خلال جنگ داخلی زیمبابوه بیش از ۶۰۰۰ مورد بیماری سیاه زخم گزارش شده است [۱].

انواع سیاه زخم

سیاه زخم بیماری علف خواران است و انسان در اثر تماس با حیوان و یا محصولات آلوده آنها به این بیماری مبتلا می شود. سه فرم بیماری در انسان شرح داده شده است که عبارتند از:

- ۱ - سیاه زخم جلدی
- ۲ - سیاه زخم گوارشی
- ۳ - سیاه زخم ریوی

سیاه زخم جلدی . بیش از ۹۵ درصد موارد بیماری سیاه زخم از نوع جلدی است که متعاقب ضایعات سطحی رخ می دهد. با ورود اسپور باکتری به زخم ها یا خراش های پوستی بیماری ایجاد می شود. در برخی از کشورها نیز انتقال از طریق نیش حشرات گزارش شده است. پس از ورود اسپور باکتری به زخم، دوره کمون ۲ تا ۳ روز طول می کشد و پس از آن کورک یا پاپول در محل ورود باکتری ایجاد می شود، سپس اطراف آن را وزیکول هایی فرا می گیرد. پس از چند روز، پاپول به زخمی با ظاهر خشک و مرکز سیاه رنگ تبدیل می شود که از ویژگی های سیاه زخم است. ضایعه بدون درد و اطراف آن با تورم پیش رونده همراه است. در بیشتر موارد بیماری محدود و خودبخود بهبود می یابد. هنگامی که ضایعه در صورت یا نواحی گردن باشد خطر انسداد راه هوایی و مننژیت بسیار زیاد است. در این حالت اگر دفاع طبیعی بدن ناقص باشد، بیمار به سستی سمی

عامل اتیولوژی سیاه زخم، شاربن یا آنتراکس باکتری هوازی، میله ای شکل، اسپور زا و گرم مثبت می باشد که در طبیعت پراکنده است و باسیلوس آنتراسیس (*Bacillus anthracis*) نام دارد. این باسیل از اولین باکتری هایی است که در نیمه دوم قرن ۱۹ کشف گردید و در توسعه علم میکروبی شناسی نقش بسزایی داشته است. در آن زمان، سیاه زخم بیماری بومی حیوانات اهلی در اروپای شرقی بود و سالانه میلیون ها دلار خسارت به دامداران وارد می کرد. همچنین، تعداد زیادی از کارکنان کارخانه های ریسندگی بافندگی در اثر ابتلا به نوعی ذات الریه جان می دادند که امروزه به آن بیماری سیاه زخم ریوی می گویند. در سال ۱۸۷۷ رابرت کخ این باکتری را از حیوانات بیمار جدا کرد و با بررسی خصوصیات بیماری زایی آن توانست اصول کخ را در باره علت بیماری زایی باکتری ها تدوین نماید. در سال ۱۸۸۱ لوئی پاستور از باسیلوس آنتراسیس اولین واکسن باکتریایی را ساخت. وی توانست با کشت پی در پی این باکتری در حرارت ۴۲ درجه سانتیگراد قدرت بیماری زایی آن را از بین ببرد و واکسن زنده ضعیف شده باسیلوس آنتراسیس را تولید نماید. او با تزریق این واکسن به ۲۴ گوسفند، ۱ بز و ۶ گاو توانست، آنها را از ابتلا به سیاه زخم حفاظت نماید و دریچه جدیدی از مصون سازی را بگشاید.

امروزه با کاربرد واکسن، بیماری سیاه زخم در حیوانات اهلی تحت کنترل در آمده است. با این حال، سیاه زخم در آسیا، آفریقا و خاورمیانه زیانهای اقتصادی فراوانی بار آورده است. در آمریکا نیز سیاه زخم حیوانات اهلی وجود دارد بویژه در ایالت های کالیفرنیا، لوئیزیانا، تگزاس، تاکوتای جنوبی و نبروسکا. افزون بر اینها، سیاه زخم انسانی مرتباً گزارش می شود. چنانکه در آمریکا سالانه ۵ مورد سیاه زخم انسانی گزارش می گردد. در برخی از

۳ - فاکتور تورم زا (Edema factor) با وزن مولکولی ۸۸/۹ کیلودالتون

عقیده براین است که پروتئازهای میزبانی باعث فعال شدن توکسین سیاه زخم هستند. این عمل با جدا کردن قطعه ۲۰ کیلو دالتونی از آنتی ژن محافظت کننده است که باعث می شود جایگاه‌های اتصالی فاکتور کشنده و فاکتور تورم زا ظاهر گردند. بدین ترتیب، باقی مانده آنتی ژن محافظت کننده (با وزن مولکولی ۶۳ کیلودالتون) به گیرنده‌های اختصاصی در سطح سلول متصل شده، در نتیجه گیرنده‌های فاکتورهای کشنده و تورم زا در سطح سلول ظاهر گردیده و سپس با ورود این فاکتورها به سیتوپلاسم اثرات سمی خود را بر جای می گذارند.

ژن‌های رمز کننده عوامل ویروالانس باکتری سیاه زخم (توکسین و کپسول) روی پلاسمید قرار دارند. حذف پلاسمید باعث حذف قدرت بیماری‌زایی باکتری می‌گردد. به عبارت دیگر واکسن که باکتری زنده ضعیف شده است، فاقد پلاسمیدهای حمل کننده ژن‌های کپسول و توکسین است.

دفاعهای میزبانی و بیماری‌زایی باسیل سیاه‌زخم

بیماری سیاه زخم در بسیاری از حیوانات خون گرم گزارش شده است. با این حال، برخی از گونه‌های حیوانی از جمله: رات‌ها، خوک، طیور و سگ‌ها نسبت به بیماری سیاه زخم نسبتاً مقاوم هستند. چنانکه با تزریق زیر جلدی ۱۰^۶ اسپور باسیل سیاه زخم حیوان زنده می‌ماند. برخی حیوانات دیگر از جمله: گوساله‌ها، موش سوری، خوکچه هندی، خرگوش، گوسفند و اسب بسیار حساس هستند. مثلاً LD₅₀ باسیل سیاه زخم برای موش سوری ۵ عدد اسپور است و برای ابتلاء خوکچه هندی به سیاه زخم ریوی باید ۲۰۰۰۰ اسپور وارد ریه حیوان گردد. با وجود این، از آنجا که پارتیکل‌های بزرگتر از ۵ میکرومتر قادر به عبور از مکانیسم‌های دفاعی راه تنفسی نیستند، ممکن است تعداد اسپور لازم برای ایجاد بیماری متفاوت باشد. ولی انسان نسبت به بیماری سیاه زخم نیمه حساس است. ایمنی حفاظت بخش با تولید پادتن علیه اجزای مختلف توکسین بویژه علیه آنتی ژن محافظت کننده ایجاد می‌گردد. مصنوعیت بخشی واکسن‌های انسانی و حیوانی ناشی از تحریک تولید پادتن اختصاصی است [۲،۳].

و گاهی مننژیت مبتلا می‌گردد. تقریباً ۲۰ درصد سیاه زخم جلدی درمان نشده به سپتی سمی ختم می‌شود.

سیاه زخم گوارشی . این بیماری در اثر ورود اسپور باکتری به دستگاه گوارش و هجوم باکتری به مخاط‌های گوارشی رخ می‌دهد. ضایعات ایجاد شده در مخاط‌های گوارشی مانند ضایعات پوستی هستند. ورود باکتری به جریان لنف، باعث سیاه زخم سیستمیک می‌گردد.

سیاه زخم ریوی . در این فرم از بیماری، اسپور باکتری از طریق تنفس وارد ریه می‌گردد. سپس وارد ماکروفاژهای ریوی شده و خود را به گره‌های لنفی مدیاستین می‌رساند. در آنجا اسپورها تندش (Germination) نموده و به حالت رویشی در آمده و به سرعت تکثیر می‌یابند. در این حالت بیماری سیستمیک ایجاد می‌گردد. فرم گوارشی و ریوی سیاه زخم بسیار خطرناک هستند و تشخیص بعد از پیشرفت بیماری است؛ لذا در این حالت درمان موثر واقع نمی‌شود. شروع سیاه زخم سیستمیک فاقد علائم بالینی و یا علائم بالینی خفیف از جمله، بیقراری و تب است. در این حالت باکتری در گره‌های لنفاوی و طحال تکثیر نموده و توکسین تولید می‌کند و باعث انهدام این اندام‌ها می‌گردد. با رها شدن توکسین در خون و لنف، شکل حاد بیماری رخ می‌دهد که با علائمی از قبیل: تنگی نفس، سیانوز، تب بالا، عدم هوشیاری که در عرض چند ساعت به شوک، کوما و مرگ ختم می‌شود. با آنکه علائم در افراد مختلف متفاوت است ولی از علائم مشخص اشکال حاد بیماری وجود تعداد زیادی باکتری در خون است. با وجود این، نتیجه کشت خون منفی است.

مکانیسم‌های بیماری‌زایی

باکتری عامل سیاه زخم دارای دو فاکتور ویروالانس مهم است. یکی کپسول پلی پپتیدی (Poly-γ-D-glutamic acid) که مانع فاگوسیتوز باکتری است. فاکتور ویروالانس مهم دیگر توکسین باکتری است که از ۳ جزء پروتئینی تشکیل شده است، به قرار زیر:

۱ - آنتی ژن محافظت کننده (Protective antigen) با وزن مولکولی ۸۲/۷ کیلودالتون

۲ - فاکتور کشنده (Lethal factor) با وزن مولکولی ۹۰/۲ کیلودالتون

تشخیص اولیه سیاه زخم تأیید می‌گردد. تشخیص قطعی در آزمایشگاه رفرانس و یا با روش‌های پیشرفته مولکولی از جمله PCR امکان پذیر است.

اپیدمیولوژی سیاه زخم در ایران

در گذشته سیاه زخم حیوانی در ایران بجزء در مناطق گرمسیری شایع بوده است؛ گزارش‌هایی از اپیدمی سیاه زخم حیوانی وجود دارد [۵] اما بعد از گسترش واکسیناسیون بیماری تحت کنترل درآمد. در مناطقی از آذربایجان، کردستان که واکسیناسیون ناقص انجام شده بود، گزارش موارد اپیدمی یا تک گیر (Sporadic) وجود دارد. شیوع سیاه زخم انسانی در ایران براساس آمار موجود در اداره کل مبارزه با بیماری‌ها، تنها شامل موارد ثبت شده از سیاه زخم جلدی می‌باشد (به جدول ۱ نگاه کنید) و هیچ موردی از سیاه زخم گوارشی یا ریوی ثبت نشده است.



شکل ۱: رنگ آمیزی گرم از خون بیماری که در اثر ابتلا به سیاه زخم ریوی جان داده و نیز نحوه جمع آوری مرسولات پستی در بشکه‌های بزرگ و استریل کردن آنها با اشعه گاما نشان داده شده است.

کنترل سیاه زخم

برای کنترل بیماری سیاه زخم درک صحیح روند عفونت در حیوانات حساس حائز اهمیت است. حیوان حساسی که در اثر سیاه زخم مرده باشد در هر میلی لیتر خون 10^9 باسیل وجود دارد. همچنین نکروز دیواره عروق خونی، خون ریزی و وجود ترشحاتی از دهان، بینی و مقعد از دیگر اثرات مرگ ناشی از سیاه زخم است.

اپیدمیولوژی باکتری سیاه زخم . مخزن اصلی باسیل سیاه زخم خاک است که محیط مناسبی برای حفظ حیات اسپور می‌باشد. گیاهان روییده در این مناطق به باکتری و نیز اسپور سیاه زخم آلوده می‌شوند. چراندن علف خواران در این مناطق باعث آلودگی و ابتلای آنها به سیاه زخم می‌گردد. از آنجا که گونه‌های مختلف حیوانی میزبان این باکتری هستند. ریشه‌کنی باکتری سیاه زخم غیر ممکن است. بنابراین سیاه زخم بیماری بومی بسیاری از کشورهای جهان می‌باشد. در گذشته سیاه زخم انسانی را به دو گروه به شرح زیر تقسیم کرده اند.

۱. سیاه زخم مناطق صنعتی . این نوع بیماری در افرادی که با محصولات دامی آلوده به اسپور سیاه زخم سر و کار دارند ایجاد می‌شود. مثلاً "آلودگی مو، پشم، پوست و فراورده‌های استخوان به اسپور سیاه زخم باعث پراکنده شدن اسپورها در هوا شده و در نتیجه تنفس آنها باعث ایجاد سیاه زخم ریوی می‌گردد.

۲. سیاه زخم مناطق غیر صنعتی . معمولاً این نوع سیاه زخم در افرادی که با حیوانات یا لاشه آنها سرور کار دارند ایجاد می‌شود. مثلاً "کشاورزان، دامپزشکان، شکسته‌بندان و قصابان در اثر تماس با حیوانات آلوده به فرم سیاه زخم جلدی مبتلا می‌گردند.

ساخت واکسن حیوانی سیاه زخم، تأسیس کارخانه‌های تولیدکننده محصولات بهداشتی، معرفی روش‌های استریلیزاسیون محصولات حیوانی صادر شده و جایگزینی ساخته‌های دست بشر باعث کاهش شیوع سیاه زخم در امریکای شمالی شده است. از این رو، بیماری سیاه زخم در امریکا نادر است. با این حال، متعاقب اپیدمی حیوانی اپیدمی‌های انسانی نیز شیوع می‌یابد [۴].

تشخیص آزمایشگاهی سیاه زخم

تشخیص اولیه سیاه زخم با مشاهده مستقیم و نیز کشت باکتری تأیید می‌گردد. رنگ آمیزی گرم از نمونه پاتولوژی و مشاهده باسیل گرم مثبت چهار گوش که گاهی بصورت زنجیره بلند در می‌آیند، کلید تشخیصی مهمی است. همچنین کشت در محیط ژلوز خوندار، جداسازی باکتری و بررسی خصوصاتی از قبیل عدم همولیز، عدم حرکت، تولید اسپور، تولید لیستیناز و همچنین آزمون تشکیل رشته دانه‌های تسبیح (String pearls) است. در این آزمون نشو نمای باسیل سیاه زخم در محیط حاوی $0/05$ تا $0/5$ واحد پنی سیلین باعث ایجاد رشته‌های شبیه دانه‌های تسبیح می‌گردد. بدین ترتیب

جدول ۲. کشورهایی که مورد تهاجم سلاح بیولوژی ساخته شده از باکتری سیاه‌زخم قرار گرفته‌اند

نام کشور	دفعات تهاجم	نام کشور	دفعات تهاجم	نام کشور	دفعات تهاجم
کانادا	۱	هند	۲	سوئیس	۱
مکزیکو	۳	چین	۲	ایتالیا	۱
کوبا	۱	تایلند	۳	ترکیه	۱
ونزوئلا	۱	سنگاپور	۱	جمهوری چک	۲
برزیل	۶	ژاپن	۳	هلند	۱
آرژانتین	۳	نیوزیلند	۱	بلغارستان	۲
استرالیا	۵	انگلستان	۲	آلمان	۱
ایران	۱	فرانسه	۱	امریکا	۲

پس از جنگ جهانی دوم ارتش انگلستان تحقیق در باره سلاح‌های بیولوژیک را ادامه داد و رها سازی اسپور سیاه زخم را به روش‌های مدرن در جزایر گرینارد آزمایش کرد. اسپورهای رها شده تا چند دهه قدرت عفونت‌زایی را حفظ کردند. تلاش برای رفع آلودگی جزایر از ۱۹۷۹ شروع و تا ۱۹۸۷ ادامه یافت. طی این عملیات ۲۸۰ تن فرم آلدئید و ۲۰۰۰ تن آب دریا استفاده گردید [۸].

امریکایی‌ها نیز بعد از جنگ جهانی دوم به تحقیق در زمینه سلاح‌های بیولوژی ادامه دادند و موفق شدند در سال ۱۹۵۰ به سویه ویروالانس باکتری سیاه زخم، سویه ایمیس (Ames strain) دست یابند. با وجود معاهده منع تولید و ذخیره سلاح‌های بیولوژی، آمریکا و شوروی به تحقیق، تولید و ذخیره سازی سلاح‌های بیولوژیک از جمله سیاه زخم مبادرت کردند. چنانچه امریکایی‌ها سلاح ساخته شده از اسپور سیاه زخم را به چند کشور فروختند. همچنین در ۱۹۷۹ حادثه ای منجر به رها شدن اسپور سیاه زخم از یکی از مراکز نظامی روسیه در نزدیکی سوردلوفسکی (Sverdlovsk) گردید. در این حادثه ۶۸ نفر جان دادند. در جنگ خلیج فارس امریکایی‌ها نگران آن بودند که مبادا عراق علیه آنها سلاح‌های ساخته شده از اسپور سیاه زخم را به کار ببرد. زیرا در سال ۱۹۸۰ آنها مقادیر زیادی اسپور سیاه زخم به عراق فروخته بودند [۹].

آخرین کاربرد غیر انسانی باکتری سیاه زخم، بعد از واقعه ۱۱ سپتامبر در آمریکا و چند کشور دیگر بوده است. خبرها حکایت از آن دارد که در چند ماه اخیر اسپور باکتری سیاه زخم به عنوان سلاح

از طریق این ترشحات تعداد زیادی باکتری به خارج دفع می‌شود که در حضور اکسیژن به اسپور تبدیل می‌گردند. بنابراین دست کاری و معاینه مکرر حیوان مرده قدقن شده است. افزون بر این، واکسیناسیون دام‌ها در مناطق آندمیک ضروری است. در امریکا واکسن انسانی از عصاره صاف شده کشت، تیمار شده با هیدروکسید آلومینیوم تهیه شده است. در حقیقت این واکسن محتوی مقدار زیادی آنتی ژن محافظت کننده و نیز مقادیر کمتری فاکتورهای کشنده و تورم زا می‌باشد.

درمان سیاه زخم

باسیل سیاه زخم به پنی سیلین و بسیاری از آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف حساس است. سیاه زخم جلدی با ۵۰۰ میلی گرم پنی سیلین ۷ هر ۶ ساعت و یا تزریق عضلانی ۶۰۰ میلی گرم (۱ میلیون واحد) پنی سیلین پروکائین ۱۲ تا ۲۴ ساعت یک بار به مدت ۵ روز درمان می‌شود. اما سیاه زخم گوارشی و ریوی که معمولاً "پس از مرحله حاد بیماری تشخیص داده می‌شوند. به سختی درمان پذیرند. درمان در این موارد با تزریق داخل وریدی ۲ میلیون واحد پنی سیلین G و در ادامه آن تزریق داخل عضلانی ۱ میلیون واحد هر ۱۲ تا ۲۴ ساعت تا بهبودی ادامه می‌یابد. افزون بر اینها، سیپروفلوکسازین، تتراسیکلین، کلرامفنیکل، اریتروماکسین و جنتا میسین در مواردی که نسبت به پنی سیلین حساسیت وجود دارد، از داروهای مؤثر بشمار می‌روند [۶،۷].

کاربردهای غیر انسانی باکتری سیاه زخم

استفاده از باکتری سیاه زخم به عنوان سلاح جنگی به جنگ جهانی اول بر می‌گردد. در آن زمان آلمانی‌ها با آلوده کردن غذای حیوانات و نیز حیوانات اهلی و رها کردن آنها در مناطق تحت نفوذ دشمن باعث ایجاد اپیدمی‌های سیاه زخم شدند. ژاپنی‌ها در زمان اشغال موفق شدند، اسپور باکتری سیاه زخم را به صورت انبوه تولید نمایند و آن را به صورت پودر یا مایع روی نیروهای دشمن پخش نمایند. در اثر حمله بیولوژیک ژاپنی‌ها به چین، تنها در زندان منچوری ۱۰۰۰۰ نفر جان باختند. از آن زمان تا کنون، کشورهای متعددی مورد تهاجم سلاح بیولوژیک ساخته شده از باکتری یا اسپور سیاه زخم قرار گرفته اند، به جدول ۲ نگاه کنید.

References

1. Stuart T Walker (1998). Microbiology . Philadelphia. W. B. Aaunders Company., PP: 272-274.
2. Samuel Barron (1991). Medical microbiology. Third edition Churchill Livngston. New York., PP: 249-262.
3. Leslie Collier, Albert Balows, and Max Sussman (1998). Toply and Wilsos Microbiology and Microbial Infections. Ninth edition. Oxford University Press. Inc. New York., PP: 720 - 723.
4. Bernard D Davis, Renato Dulbecco. Herman N Eisen, and Harold S Ginsberg (1990). Microbiology. Fourth edition . J. P. Lippincott Company. Phyladelphia., PP: 625-631.
5. <http://www.issue.magazine-file/anthrax-file/msv.htm>.
6. Gabriel Virella (1997). Microbiology and Infection diseasea. 3rd ed, William and Wilkins. Mass Publishing co, Egypt., PP:123-124.
7. Connie R Mahon, and George Manuselis (1995). Text book of Diagnostic Microbiology. W. B. Saunders Company. Philadelphia., PP: 383-385.
8. http://www.bbc.co.uk/hi/english/word/americas/newsid_16040000/160462.stm.
9. <http://www.bbc.americas.using.antherax.as.a.weapon.Htm>.
10. http://www.bbc.co.uk/hi/english/word/americas/newsid_16040000/1617049.stm.
11. <http://www.Bbc.News.Americans.Anthrax-the.silent.killer.htm>.
12. http://www.bbc.co.uk/hi/english/word/americas/newsid_16060000/1606630.stm.
13. http://www.bbc.co.uk/hi/english/word/americas/newsid_16260000/1626044.stm.

بیوتروریستی به طور گسترده ای بکار رفته است. این حملات بیوتروریستی با ارسال نامه‌های آلوده به اسپور سیاه زخم شروع شد. تعداد زیادی نامه به مراکز حساس دولتی و غیر دولتی ارسال گردید. گزارشات متعددی از وجود نامه‌های آلوده در ادارات پست، دفاتر روزنامه‌های معروف، مجلس سنا، ساختمان کنگره، کاخ سفید، وزارت جنگ و ساختمان سازمان سیا ارسال شده است. همچنین در نامه‌ای که از اروپا به شیلی ارسال شده است وجود اسپور سیاه زخم در آن تأیید گردیده است. باز کردن نامه‌ها باعث پراکنده شدن اسپور باکتری در فضا گردید و از طریق تنفس تعدادی آلوده شدند. همچنین تعدادی نیز به سیاه زخم جلدی مبتلا شدند. گزارشات مؤید آن است که آلودگی ۳۰ نفر تأیید شده است و از ۵ اکتبر تا ۲۱ نوامبر ۲۰۰۱ پنج نفر از آنها در اثر سیاه زخم ریوی فوت کرده اند. دو نفر از آنها نامه دریافت نکرده و از مراکز آلوده نیز دور بودند. از این رو، متخصصین در تلاش هستند، تعداد واقعی افراد آلوده شده را مشخص کنند. و ارتباط حملات بیوتروریستی سیاه زخم را با واقعه ۱۱ سپتامبر تعیین نمایند [۱۰،۱۱].

محققین ارتش امریکا در حال بررسی نامه‌های آلوده به اسپور سیاه زخم هستند. بررسی نامه‌های ارسالی به مجلس سنا و اداره پست نیویورک عدم وجود بنتونیت را نشان داد. بنتونیت ترکیب معدنی است که برای جلوگیری از تجمع اسپورها بکار می رود. چسبیدن اسپورها به هم باعث ایجاد ذرات بزرگتر از ۵ میکرومتر می گردد که ورود آنها به ریه کاهش می یابد. تکنولوژی پوشاندن اسپورها با بنتونیت در اختیار عراق است. در هر حال، تحقیقات نشان داد که اسپورهای بکار رفته در حملات اخیر دارای پوشش سیلیکاتی هستند که تکنولوژی آن از سال ۱۹۶۰ در اختیار امریکا است. این امر مؤید آن است که مشاء حملات بیوتروریستی اخیر در امریکا بوده است. با وجود آن که رابطه ای بین واقعه ۱۱ سپتامبر و حملات اخیر وجود ندارد، ولی بن لادن و عراق مضمون اصلی هستند [۱۲]. افزون براین، محققین در تلاشند، روش‌هایی برای استریلیزاسیون نامه‌ها با استفاده از اشعه گاما، اکسید اتیلن و نیز حرارت طراحی و اجرا نمایند [۱۳].