

### بررسی آنتی کروبیریوسیدال در ۵۰ بیمار مبتلا به وبا

دکتر کیهان بانو لشکری آموزگار - دکتر شهناز رفیعی تهرانی

دانشکده پزشکی دانشگاه تهران بعمل آمده است ، تیتراژ آنتی کروبیریوسیدال در ۵۰ بیمار مبتلا به وبا در دوران حاد بیماری مطالعه شده است .

#### موارد روش

از ۵۰ بیماری که در بیمارستان پهلوی بخش عفونی بستری بودند ، خون گیری شد و سرمهای آنها جدا گردید ، ابتلای آنها به وبا بوسیله کشت مدفوع تأیید شده بود . مدفوع بیماران فوق در آب نه قلیائی با PH ۸/۵ کشت داده شد و در حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد بمدت ۶ ساعت قرار گرفت سپس از پرده روی سطح این محیط برداشته و روی محیط TCBS و منصور کشت داده شد . برگنه های S روی محیط منصور خاکستری مایل بسپاه روی محیط TCBS برگنه هایی که سوکروز را تخمیر کرده و برنگ زرد بودند برای آزمایشات بعدی برداشته شدند . از برگنه های مشکوک روی محیط زلز ساده و کلیگر کشت داده شد و سپس با آنتی سرم پلی والان و آنتی سرمهای اختصاصی اینابا و اگاوا آزمایش آگلوتینا سیون بعمل آمد .

جهت تأیید تشخیص آزمایش اکسیداز VP (روش Barnitt ۱۹۳۶) ، ایجاد اندول ، ایجاد اسید از مانوز ، سوکروز ، - آرابینوز ، مانیتول ، لاکتوز و آزمایش همولیز ( Feeley و PITTMEN ۱۹۶۳) انجام شد . آزمایش آگلوتیناسیون گلبول قرمز مرغ ، حساسیت به پلی میکسین B و فاز ۴ موکرجی (موکرجی ۱۹۶۳-۱۹۶۵) ، انجام گردید ، کلیه سوشهای جدا

پیدایش آنتی کروهو مورال در روده کوچک بیماران مبتلا به وبا از ۷۰ سال پیش شناخته شده است . (۱)

GRIEG در سال ۱۹۱۵ در مورد آنتی کرهای آگلو تینان در بیماران کلرابی مطالعه و تحقیق نمود ، ولی بخاطر اشکالاتی که در تهیه آنتی ژن و استاندارد کردن روش وجود داشت تحقیقات بعدی را متوقف نمود . در سال ۱۹۶۰ Goodner اهمیت استفاده از سوسپانسیون و بیرون و بای زنده را در تهیه آنتی ژن برای واکنش آگلوتینا سیون بیان داشت . (۳)

امروزه کاملاً مسلم گردیده است که بیماری که در دوره نقاهت کلرامیباشند و افرادی که بر علیه وبا واکنش می شوند ، تیتراژ آنتی کرلابی نشان می دهند . علاوه بر این ثابت شده است که تزریق واکسن کلرا در نواحی آندمیک از پیدایش بیماری تا حدی جلوگیری میکند و این مقاومت مربوط به پیدایش آنتی کروهو مورال می باشد . تحقیقات بعدی Finkelstien در سال ۱۹۶۲ ، Barua و Sack در سال ۱۹۶۴ و Feeley در سال ۱۹۶۵ و Sack در سال ۱۹۶۶ ارزش و اهمیت آنتی کروبیریوسیدال را در بیماران مبتلا به وبا و در افراد واکنش و بیماری که دوره نقاهت بیماری را میگذرانند ، روشن ساخت .

بررسی آنتی کروبیریوسیدال همراه با آزمایشات سرولوژیکی دیگر اهمیت زیادی در مطالعه وضعیت ناقلین دارد . در سال ۱۹۶۹ Beran اهمیت آزمایش و بیروسیدال را در دوران حاد بیماری و ۶ ماه بعد از آن با اثبات رسانید . در تحقیق و بررسی که در گروه میکروشناسی و ایمنولوژی

تعداد بیماران	تیتراژ آزمایش
۱۰	۱/۱۰
۲	۱/۴۰
۱۰	۱/۸۰
۶	۱/۶۰
۱۰	۱/۳۲۰
۱۰	۱/۶۴۰
۲	۱/۳۵۶۰

الکامی سی‌زن فکالینسن، اشریشیاکلی E.Coli سالمونلا موریوم، کلبسیلا آئروباکتر، پاراکولون، وویبریون نان آگلوتینان، در اندازه‌گیری تیتراژ آنتی کروبیروسیدال استفاده گردید و هیچگونه فعالیت باکتریوسیدال بر علیه این ارگانیزم‌ها مشاهده نگردید. این مطالعه بسیاری از جنبه‌های آزمایشگاهی و بیروسیدال را که Finkelstien در سال ۱۹۶۲ بیان کرد تأکید میکند و ثابت مینماید که آنتی کروبیروسیدال مشابه آنتی کرهای باکتریوسیدال که مستقیماً بر روی سایر باکتریهای گرم منفی تأثیر منفی میکنند، میباشد.

این آنتی کورشدید اختصاصی و حتی بمقدار جزئی قابل بررسی است. مکانیسم عمل آنتی کروبیروسیدال بطوریکه در سال ۱۹۶۰ و FREEMAN و همکارانش در سال ۱۹۶۳ بیان میکنند، مانند آنتی کرهای باکتریوسیدال بوده و مستقیماً روی سل وال Cell Wall باکتری اثر نموده و باکتری را تبدیل بیک پروتوپلاست سست و شکننده مینماید.

Muschel در تحقیقات خود باین نتیجه رسیده‌اند که مقدار جزئی آنتی کروبیروسیدال در سرم بعضی بیماران وجود دارد که تا آنجایی که شناخته شده یا تصور میشود هیچگونه تماسی با آنتی ژنهای ویبریون و بانداشته‌اند و در بعضی موارد وجود این آنتی کرها تفسیر آزمایشی را مشکل میسازد. در تحقیقات بعدی بعضی احتمالات که دلیل وجود این آنتی کر در افرادی که مبتلا به وباناستند میباشد ذکر گردیده است.

شده از ۵۰ بیمار فوق التور، اینابا بودند. (۹) جهت آزمایش ویبریوسیدال سرم بیماران فوق در حرارت ۵۶ درجه سانتیگراد بمدت ۳۰ دقیقه غیرفعال شد. کمپلمان خوکچه‌هندی از بخش ایمنونولوژی دانشکده تهیه گردید و در ۱٪ درصد پیتون قرار داده شد و سپس به نسبت  $\frac{1}{30}$  بلافاصله قبل از شروع کار در همین محیط رقیق گردید. سوش باکتری مصرف شده ویبریون و بایوتیپ التور نوع اینابا بوده. ابتدا یک کشت در محیط ژلز ساده داده شد و این کشت مرتباً هر ۱۵ روز یکبار ریبی‌کاز میگردید. در موقع آزمایش باکتری فوق در محلول ۱٪ درصد پیتون رقیق میگردید تا جائیکه غلظت نهائی در حدود  $2 \times 10^8$  میکروب زنده برای هر سانتیمتر مکعب محیط بوده. اندازه گیری تعداد باکتری بروش قطره‌ای Miles

و Misra (۱۹۳۷) انجام گرفت. (۱۱) آزمایش ویروسیدال بر طبق روش Finkelstien انجام گرفت که سرم بیماران بصورت TWO FOLD DILUTION از رقت  $\frac{1}{10}$ ، رقیق گردید و ۱/۵ سانتیمتر مکعب از هر رقت در یک لوله ریخته شد سپس مقدار ۱/۵ سانتیمتر مکعب از سوسپانسیون باکتری که بطریق ذکر شده تهیه گردیده بود به سرمهای رقیق شده و به کنترل‌ها که سرم اشخاص سالم بود اضافه گردید به طوریکه رقت نهایی سرم در اولین لوله  $\frac{1}{30}$  بوده سپس در تمام لوله‌ها غیر از لوله کنترل ۱/۵ سانتی متر مکعب کمپلمان  $\frac{1}{10}$  اضافه شد.

۲/۵ از لوله‌های کنترل و لوله‌های آزمایش در بوات دویتری محتوی ژلز ساده که به پنج قسمت تقسیم شده بود، کشت داده شد تمام لوله‌ها در حرارت ۳۷ درجه بمدت یک ساعت قرار گرفت بالاترین رقت سرم که از رشد ۵۰٪ باکتریها در مقایسه با کنترل جلوگیری کرده بود، تیتراژ آزمایش ذکر گردید.

### بحث و نتیجه

سرم ۵۰ بیمار مبتلا به وبا در دوران حاد بیماری از نظر تیتراژ آنتی کروبیروسیدال مورد مطالعه قرار گرفت و جهت انجام آزمایش فقط از سوسپهای S باکتری استفاده شد، زیرا فرم R بوسیله کمپلمان به تنهایی کشته میشود. تیتراژهای بدست آمده در جدول زیر مشخص گردیده است. جهت مطالعه واکنش‌های متقاطع از سوسپانسیون باکتریهای

و Barva در سال ۱۹۶۵ نموده اند، هیچگونه ویبریونی را در بیماران درمان شده با نترا سیکلین با روش فلورسانس نشان نداده اند نکته جالب توجه در بررسی اخیر این است که سرم بیماران بمدت ۲ سال در قسمت یخ بندان یخچال معمولی نگهداری شده بود و در مقایسه با تیترا اولیه سرماها که بلافاصله بعد از خون گیری آزمایش شده بودند تغییری مشاهده نگردید. از مجموع گفته های بالا میتوان نتیجه گیری کرد که میتوان از آزمایش ویبریوسیدال برای تشخیص و تأیید بیماری وبا استفاده کرد و علاوه میتوان ناقلین بیماری و بهبود یافتگان را جستجو کرد و مشخص نمود.

الف - ممکن است فرد مبتلا به بیماری بصورت مخفی شده باشد و یا ناقل باشد.  
ب - بعلت واکنش های متقاطع بین ویبریون وباوسا بر باکتریها.  
ج - وجود ویبریون غیر زنده در محیط اطراف.  
در بررسی و تحقیق گروه ما، مشاهده گردید که ۱۰ نفر از بیماران که آنتی بیوتیک برای آنها تجویز شده بود بالای آنتی کراز ۱/۱۶۰ بالای نشان دادند میتوان چنین حدس زد که ویبریون هائیکه در اثر آنتی بیوتیک کشته شده اند در دستگاه گوارشی باقی مانده و بعنوان یک محرک آنتی ژنیک بعمل خود ادامه میدهند گرچه بررسی و مطالعاتی که Sack

## References:

- 1- Pollitzer, R. Cholera (WHO Monograph Series No. 43), Geneva, World Health Organization, 1959.
- 2- Grieg, E., W., Indian J. Med Res. 2 : 733, 1915.
- 3- Goodner, K. Conference Cholera, Dacca, East Pakistan, PP. 104-110, 1960.
- 4- Finkelstein, R.A. J. Immun 89: 264-271, 1962.
- 5- Sack and Barua, Bull Calcutta Sch. Trop. Med. 12: 56-58, 1964.
- 6- Feeley Proc cholera research symposium, PP. 322-326, 1965.
- 7- Barrit, M.M., J. Path- Bact., 42, 441, 1936.
- 8- Feeley, J.C. and Rittman, M. Bull. Wild Health Org., 28; 347, 1963.
- 9- Mukerjee, Bull. Wild. Health. org. V. 28, 337, 1963.
- 10- Muschel, Am. NY Acad Sci. 88: 1265, 1960.