

جدا کردن آنتی ژنهای استافیلوکوک

باروش کراماتوگرافی**

جهت طبقه بندی استافیلوکوکها روش های مختلفی بکار میرود. استفاده از خواص آنتی ژنی آنها یکی از این روشهاست. اما پیچیدگی ترکیبات آنتی ژنی مسئله را اندکی دشوار ساخته است تا بحال فعالیت های دامنه داری در بررسی این ترکیبات انجام و نشریه های متعددی در باره خواص پلی ساکاریدهای جدا شده از جداسازی این دسته از میکروبها انتشار یافته ولی متأسفانه نتایج رضایتبخشی بدست نیامده است. پلی ساکاریدها و پلی فسفاتها نخستین بار در آزمایشهای شیمیائی استافیلوکوکها بدست آمده است.

باقیوجه باینکه ترکیبات موادفوق منجر به پیدایش اسیدتیکوئیک می گردد بدیهی است که مطالعه اسیدتیکوئیکها برای دست یافتن بخواص آنتی ژنی این دسته از میکروبها باید در مرحله اول قرار گیرد. ولی در تمام آزمایشهایی که روی این اسیدها صورت گرفته معلوم شده است که خواص آنتی ژنی مربوط به پلی فسفات آنها نبوده بلکه مربوط به ترکیبات پلی- ساکارید آنهاست بدین معنی که گلوکوزامین در اسیدتیکوئیک استافیلوکوک طلائی و گالاکتوزامین در اسیدتیکوئیک استافیلوکوک وجود دارد.

طبقه بندی استافیلوکوکها گاهی بر اساس وجود پلی ساکاریدهای فسفردار در اسیدتیکوئیک و زمانی بر مبنای پلی ساکاریدهای بدون فسفر که از نمونه های اسموت استوفیلوکوکهای طلائی بدست آمده مبتنی است.

در صورتیکه پروتئین ها و نوکلئوپروتئین های موجود در استافیلوکوک در این طبقه بندی نقشی نداشته کمتر مورد مطالعه قرار گرفته اند.

طرز استخراج :

استافیلوکوکهای که در جدول ۱ نام برده ایم از ده نمونه درست شده اند که هشت نمونه آنها بیماری زا و دو نمونه دیگر سفید غیر بیماری زا هستند . هشت نمونه اول دارای خواص زیرند:

استافیلوکوک گواز + تخمیر مانتول + الفاهمولیزین + باکتری فاژ تیپ ۸۰، ۸۱ - ابتدا استافیلوکوکها را با آب فیزیولوژیک میشویند با استن خشک می کنند مدت ۲ ساعت در محلول تامپن وروئال در P.H ۸/۴ در حرارت ۳۷ درجه نگهداری میکنند . پس از سانتریفوژ کردن آنها را از محلول جدا نموده بمدت ۲ ساعت با محلول مانتول ۲ درصد و در حرارت ۳۷ درجه قرار میدهند . این عمل را چندین بار تکرار مینمایند تا عصاره حاصله با سرم مخصوص خود رسوبی ایجاد نکند . این عصاره را در اسید کلرئیدریک رقیق در P.H ۳/۵ حل و رسوب را جدا مینمایند . به محلولی که در رو قرار گرفته اسیدتری کلراستیک اضافه میکنند رسوب بدست آمده را سانتریفوژ نموده جدا مینمایند . سپس رسوب حاصله را در PH خنثی حل و دیالیز مینمایند بعد بقیه رسوب اولیه را که PH ۳/۵ بدست آمده است پس از حل در PH خنثی دوباره به کمک اسیدتری کلراستیک رسوب داده و دیالیز میکنند . بدینوسیله نوکلئوپروتئین ها و پروتئین های بدون فسفر را بدست می آورند پس از آنکه ارزش سرولوژیک کلیه مواد دیالیزه شده معلوم گردیده مقدار ازت فسفر مواد احیاء کننده اسیدتری کلراستیک آنها را تعیین میکنند جهت شناسائی ترکیبات بدست آمده روش های شیمیائی مختلفی بکار میبرند مثلاً جهت اندازه گیری ازت از روش میکروکجدال برای اندازه گیری گلوئیدها از روش هاژنه درم برای تعیین فسفر از روش جالان بالاخره جهت تعیین A.D.N از روش دیشه استفاده می کنند . در تعیین پلی فسفاتهای موجود در پلی ساکاریدها روش کروتوماگرافی با دیلی مورد استفاده واقع می شود .

جدول شماره ۱ نتیجه استخراج آنتی ژن را بما میدهد که بکمک تامپون وروئال از هشت استافیلوکوک پاتوژن دو نمونه استافیلوکوک سفید بدست آمده است . مقدار آنتی ژنی که در استخراج اول از هریک از ۸ نمونه استافیلوکوک طلائی بدست آمده متفاوت است از ۱ تا ۱۹٪ - مقدار آنتی ژنی که از هریک از آنها در استخراج دوم بدست میاید بمراتب بیش از استخراج مرتبه اول است . از استخراج مرتبه سوم ببعدهمانگونه که در جدول پیدا است مقدار این آنتی ژن مرتباً کم میشود تا در استخراج پنجم بحد اقل میرسد . باید در نظر داشت که مقدار آنتی ژنی که از دو نمونه استافیلوکوک سفید بدست می آید بسیار کم است (۴/۴ تا ۵/۷٪) وقتی که عصاره تام را در اسید کلرئیدریک رقیق حل میکنیم و بکمک اسید -

کلرستیک رسوب میدهم مقدار پلی ساکاریدی که برای استافیلوکوکهای مختلف بدست می آوریم متفاوت است مثلاً در استافیلوکوکهای طلائی ۸/۶٪ در سایر استافیلوکوکها ۴/۶٪ ضمناً گفته نمائید که رسوبی که در PH ۵/۳ بدست آمده از پروتئین ها و نوکلئوپروتئین ها تشکیل شده شامل اندکی پلی ساکارید می باشد که جسم اخیر را نمیتوان با روش های معمولی از آن جدا نمود.

جدول شماره ۱

پلی ساکارید های آزاد	استخراج پنجم	استخراج چهارم	استخراج سوم	استخراج دوم	استخراج اول	سوش های استافیلوکوک
۸/۶	۰/۶۰	۱/۸۲	۲/۸۸	۷/۲	۴/۵	۸۰
۴/۶	۰/۴۸	۲/۲۸	۳/۴	۷/۳۸	۵/۲	۸۱
۴/۶	۰/۳۵	۱/۹۸	۲/۶۴	۶/۵	۴	A _۱
۴/۵	۰/۴۲	۱/۷۰	۱/۵	۴/۶۸	۴	A _۲
۵/۳	۰/۲۵	۱/۱۲	۲/۲۸	۶/۶	۴/۸	A _۳
۴/۳۰	۰/۲۰	۱/۸۲	۱/۹۵	۴/۸	۴/۹	A _۴
۴/۸	۰/۲۰	۲	۲/۸۰	۴/۲۲	۳/۴۴	B _۱
۵/۲	۰/۳۵	۱	۲/۶۷	۳/۲۰	۳/۵۷	B _۲
۲	—	۱/۳۰	۱/۴۵	۱/۵۵	۱/۸۸	سفید شماره ۱۵
۱/۹	—	۰/۲۶	۱/۸۵	۱/۳۳	۳	سفید شماره ۳۵

آزمایشهای شیمیائی و کروماتوگرافی که بر روی پلی ساکاریدهای جدا شده از عصاره بکمک تامپون و روناال صورت گرفته است وجود مقدار معتنابهی فسفر نشان میدهد و خود این فسفر متصل به پلی ساکاریدها میباشد که معمولاً در میکروبیهای گرم منفی هم دیده شده بدست میآید ولی در مقاله ای که فیشر و همکارانش اخیراً چاپ کرده اند نشان داده اند که پلی ساکارید بدون فسفری که از نمونه های صاف استافیلوکوک طلائی تهیه نموده اند همان آنتی ژن - استافیلوکوک می باشد.

چنانکه از جدول شماره ۲ که نتیجه کروماتوگرافی پلی ساکاریدهای موجوده در هشت استافیلوکوک مورد آزمایش است پیداست بامشتتای نمونه های ۸ و ۳ که فقط دارای گلوکوزامین

میباشد بقیه دارای گالاکتوزامین و گاهی گلوکز و لاکتوز و گزیلوز هم میباشند .
اگر پلی ساکاریدها را با اسید کلرئیدریک هیدرولیز کنیم گلوکوزامین بدست میآید
درحالیکه اگر عمل هیدرولیز بکمک اسید سولفوریک صورت گیردندهای دیگر و گاهی گلوکوزانین
دیده میشود .

جدول شماوه ۲

ترکیبات کروماتوگرافی

گزیلوز	گالاکتوز	گلوکز	گالاکتوز امین	گلوکز امین	فسفر	مواد احیاء کننده درصد	پلی ساکارید های آزاد	سوش های استافیلو- کوک
—	—	—	—	++++	۵/۸	۳۸/۵	۸/۶	۸۰
—	++	—	++	++	۴	۴۰/۰۵	۴/۶	۸۱
+	—	—	++	+++	۴/۶	۳۶	۴/۶	A _۱
++	+	—	++	++	۳/۳	۳۶/۵	۴/۵	A _۲
+	++	—	++++	++	۵	۴۸	۵/۳	A _۳
—	—	—	++	+++	۵	۴۲/۵۲	۴/۳	A _۴
—	—	—	++++	+++	۴	۴۵	۵/۲	B _۱
—	—	—	—	++++	۵/۰۱۸	۳۸/۰۵	۴/۸	B _۲
—	—	+	++	++	۳/۳۰	۴۸	۲	سفید شماره ۱
—	—	+	++	++	۴	۳۷/۵	۱/۹۲	سفید شماره ۲

اختلافات موجود در پلی ساکاریدهای استخراج شده از هشت استافیلوکوک ارتباطی
با اختلافات سرولوژیکی آنها ندارد. مقدار پلی ساکاریدیکه در دو نوع استافیلوکوک سفید
بدست میاید کم و در حدود ۲ درصد است. آزمایش های کروماتوگرافی نشان میدهد که پلی-
ساکاریدها با پلی ساکاریدهای استافیلوکوک طلائی اختلافی ندارد تفاوت در خواص سرو-
لوژیکی آنها است .

در بعضی رسوبهای آزمایش های شیمیائی همیشه مقداری پروتئین نوکلئوپروتئین که
مقداری پلی ساکارید نیز بآن متصل است دیده میشود در عصاره تام استافیلوکوک شماره ۸۰
و ۸۱ مقداری پروتئین بدون فسفر زیاد است. فسفر نوکلئوپروتئین ها و پروتئین ها ۲ درصد است

که با سیدنوکلئیک آنها مربوط است. مجموع اسید نوکلئیک آنها ۲ درصد است. اسید دزاکسی ریبونوکلئیک ۱۳٪ و بالاخره اسید ریبونوکلئیک آنها ۱۱ درصد است.

استافیلوکوکهای غیر بیماری زا فقط دارای نوکلئوپروتئین هستند و بنظر نمی آید که پروتئین بدون فسفر داشته باشند. نوکلئوپروتئین ها آنتی ژنهای مشترک تمام استافیلوکوک بیماری زا و غیر بیماری زا هستند نسبت به سرم های مخصوص خود عکس العمل نشان میدهند در صورتی که پروتئین های بدون فسفر فقط در استافیلوکوکهای بیماری زا در نمونه های مختلف به نسبت های مختلف دیده شده است.

نتیجه - مقدار آنتی ژنی که در هشت نمونه استافیلوکوک بیماری زا بدست آمده برابر ۱۱ تا ۱۹ درصد و مقدار آنتی ژنی که از دو نمونه استافیلوکوک غیر بیماری زا نتیجه شده ۶ تا ۸ درصد است.

از تجزیه جزء بجزء رسوب عصاره تام آنتی ژنهای زیر بدست آمده است.

۱- در هر یک از این هشت نوع استافیلوکوک بیماری زا پلی ساکاریدهای اختصاصی دیده شده است که از لحاظ ترکیبات شیمیائی مخداف ولی از لحاظ سرم شناسی خواص مشترکی دارند. با تمام سرم های آنتی استافیلوککسی واکنش های متقاطع نشان میدهند در حالی که با آنتی سرم های دو نمونه استافیلوکوک غیر بیماری زا اصلا واکنش نشان نمیدهند.

۲- واکنش پروتئین های بدون فسفر که بطور خالص بدست آمده در مقابل تمام سرم های آنتی استافیلوککسی های طلائی بسیار زیاد ولی در مقابل سرم اشخاص سالم کم است دو نمونه استافیلوکوک غیر بیماری زا فاقد این پروتئین بوده دارای نوکلئوپروتئین میباشند که در تمام استافیلوکوکها نیز یافت میشوند.

۳- یکی از اختلافاتی که بین ۸ نمونه استافیلوکوک طلائی و دو نمونه استافیلوکوک سفید وجود دارد مقدار آنتی ژنی است که آنها توسط استخراج متوالی آزاد میشوند. یکی از مشخصات استافیلوکوکهای غیر بیماری زا عدم وجود پروتئین های بدون فسفر است ولی در عوض این دسته از میکروبها دارای نوکلئوپروتئین هستند همان طور که قبلا یاد آور شدیم در تمام استافیلوکوکها یافت میشود.

محل این آنتی ژنهای پروتئینی و پلی ساکاریدی در پوسته سطحی میکروبهاست.

۱۹ مورد سل در شیرخواران کمتر از ششماه**

سل در شیرخواران کمتر از ششماه نسبتاً نادر است بهمین مناسبت نویسندگان این مقاله بموقع ومناسب دانسته اند که ۱۹ مورد سل شیرخواران را که در خلال سالهای ۱۳۵۷ تا ۱۳۶۲ در بخش شیرخواران مسلول بنام «تالار ریبادو دوما» (Ribadeau Dumas) در بیمارستان کودکان Beni-Messous الجزیره تحت مطالعه قرار داده اند بصورت مقالهای منتشر سازند .

اتیولوژی

سن شیرخواران هنگام ورود به بیمارستان باین قرار بوده است :

یک ماهه	یک مورد	سه ماهه ونیم	یک مورد
دوماهه	یک مورد	چهارماه	سه مورد
دوماه ونیم	یک مورد	چهارماه ونیم	یک مورد
سه ماهه	پنج مورد	پنج ماه	شش مورد

از این ۱۹ شیرخوار ۱۲ پسر و ۷ دختر، یک نفر اروپائی و ۱۸ نفر مسلمان بوده اند .
عامل سرایت بیماری در ۱۳ شیرخوار از ناحیه پدر یا مادر یا اطرافیان بوده است باین

ترتیب :

در ۸ شیرخوار از ناحیه مادر

در ۲ شیرخوار از ناحیه پدر

در ۲ نفر از جانب اطرافیان

یک مورد هم سل مادرزادی بوده است .

دو عامل مستعد کننده در ۱۸ نفر از این شیرخواران جلب توجه میکرد یکی کمی تغذیه

و دیگری فقدان بهداشت

*استاد دانشکده پزشکی

هیچیک از بیماران بوسیله B. G. G. مایه کوبی نشده بودند

از لحاظ بالینی

۱- نشانه‌هایی که باعث مراجعه بیماران شده است: سل شیرخواران غالباً از لحاظ بالینی بوده و علائم آشکاری از خود نشان نمیدهد. از بیماران ماهفت نفرشان بعلت اختلالات هاضمه همراه با هیپوتروفی (Hypotrophie) بدرمانگاه آورده شده‌اند. چهار نفر بعلت ازدیاد درجه حرارت (Hyperthermie) و چهار نفر بعلت سرفه، این ۸ نفر نیز دچار هیپوتروفی بودند. سه نفر دیگر بعلت علائم عصبی (نورولژیک) تشنج و کدورت چشم یا حول (لوچی) مراجعه کردند که همه اینها نشانه آلودگی پرده مغز بود.

فقط در یک مورد رادیوگرافی ریه‌ها در کودکی که ظاهراً سالم ولی از مادری مسلول متولد شده بود ضایعات باسیلی نشان داد.

۲- نشانه‌های عمومی - دوشانه یاسمیتوم ملاحظه شد یکی هیپوتروفی و دیگری راشی تیسیم. هیپوتروفی در ۱ شیرخوار آشکار و روشن بود. این شیرخواران منظره خاصی داشتند. رنگ پریده و حلقه آبی رنگی که چشمها را محاصره کرده و مژه‌های بلند زیبایی مخصوصی به نگاه آنان می‌بخشید. افزایش مو بخصوص در پیشانی و ناحیه لب فوقانی و پشت وریشه دست و پا دیده میشد سینه باریک و بعکس شکم حجیم و طبل مانند (Tympanique) بود. از لحاظ روانی خستگی و Apathic و یک حال بی تفاوتی مشهود بود.

این کودکان در معرض فقر مواد مختلف غذایی بوده و احتمالاً بیماری سل باعث تشدید آن شده بوده است بعلاوه نه نفر از این ۹ نفر گرفتار راشی تیسیم سختی بودند.

۳- نشانه‌های ریوی - نشانه‌های عملی یا Fonctionnels بطور کلی اهمیت چندانی ندارند سرفه در پنج بیمار دیده شد در یک نفر از اینان که دچار آدنوپاتی‌های مهم مدیاستینال بوده سرفه مانند سیاه سرفه خودنمایی کرد. در یک نفر دیگر که علاوه بر سرفه اختلالات گوارشی هم ضمیمه بود حال تهوع وجود داشت. در دو مورد سل Miliare در یکی نفس تنگی و در دیگری سیانوز دیده شد.

بدیهی است معاینه رادیولژیک ریه مرحله اساسی تشخیص را تشکیل میدهد.

نتایج معاینه رادیولژیک بیماران ما از این قرار است:

شکل گانگلیونی خالص یک مورد

آدنوپاتی تراکتو پرونشیک با اختلالات تهویه ۱۲

آدنوپاتی با سل Miliare ۲

آدنوپاتی با تصویر برنکو پنومونی ۱

۵- آزمایش های مختلف پاراکلینیک

بدیهی است در میان آزمایش های مختلف پاراکلینیک جستجوی آلرژیک توپر کولینی مقام اول را حائز است کوتی را کسیون وپچ تست هردو ارزش واحد داشتند و در ۱۶ مورد هردو نوع آزمایش مثبت بودند .

در دو بیمار انترادرسوراکسیون با ۱ و ۲ یا ۵ واحد مثبت و در یک بیمار تمام آزمایشها در مدت چهارماه منفی بود آزمایش باکتربولژی - در چهار بیمار در سحتوی معده که بوسیله توباز مورد امتحان قرار گرفت وجود باسیل کخ مسلم گشت در یک مورد در مدفوع باسیل کخ یافت شد ولی در ظرف ۱۵ تا ۲۰ روز آزمایش باکتربولژی منفی گردید و اشکال مقاوم نداشتیم .

نتیجه آزمایش سرعت سدیمان تاسیون بسیار متغیر و غالباً عادی بود بنظر میرسد که در سل شیرخواران روی این آزمایش نمیتوان چندان تکیه نمود .

شمارش گلبولها و فرمول لکوسیت - این آزمایش تنها از این نظر مفید است که آنمی شیرخواران و یا افزایش عفونت های اضافی را روشن میسازد چه این گونه شیرخواران در مقابل عفونت ها مقاومتشان کم است .

۶- اشکال بالینی - بر حسب درجه شدت بیماری ما این اشکال را داشتیم :

شکل بی سروصدا	یک مورد
شکل متوسط	۱۱
وخیم	۷

هفت مورد وخیم عبارت بود از دو مورد مننژیت سه مورد Miliare سه مورد برنکوپنومونی و یک مورد مننژیت با Miliare .

درمان - ما استرپتومایسین و IHN را توأم بکار بردیم . PAS فقط در دو مورد بکار رفت . در مننژیت ها از تزریق داخل پرده مغز فقط در دو مورد استفاده شد طول مدت درمان عموماً طولانی و بطور متوسط یکسال بوده و حادثه ای بیمار نیاروده است . در تمام بیماران کورتیکوئیدها را با احتیاط های جاری و عادی به مدت یک تا سه ماه بکار بردیم .

بر اثر این درمان حال عمومی بیماران در ظرف ۱۵ تا ۲۰ روز سریعاً بهبود یافت ولی برای آنکه شیرخواران بوزن عادی من خود برسند ۴ تا ۶ ماه وقت لازم بود . اختلالات تهویه در ظرف یک تا چهارماه از میان رفت .

آدنوپاتی های سرئی بوسیله رادیولژی در ظرف ۲ تا ۷ ماه و تصاویر Miliaries در ظرف

سه هفته تادوماه پاك شدند. تغییرات کوشینگ شکل مشاهده نگردید.

چند نفر از کودکان ضمن بیماری سل به بیماریهای دیگر هم دچار شدند باین قرار:

۹ مورد آبله مرغان

۵ مورد سرخک

۸ مورد استافیلو کوکسی روده ای

۱ مورد توکسیکوز

این عفونت های اضافی بطور کلی بخوبی تحمل شدند.

نتیجه - مرگ و میر شیرخواران سه مورد بود. یک مورد شیرخواری بود مبتلا به Miliaries

با آدنوپاتی تراکئوبرونشیک که در عین حال دچار سوء تغذیه و در حال توکسیکوز بود. یک مورد برنکوپنومونی سلی که ضایعات مربوط پس از یک آبله مرغان سخت تشدید پیدا کرد و بوخامت گرائید.

یک مورد مننژیت سلی با التهاب لوب فوقانی راست. این شیرخوار را بحال اغماء آوردند و پس از ۴ روز فوت کرد.

دو کودک را قبل از خاتمه درمان از بیمارستان بردند یکی از آنان دچار آدنوپاتی ریوی دوطرفی با اختلالات تهویه بود دوماه تحت درمان بود و حال عمویشان بسیار اصلاح شد اولیای طفل او را از بیمارستان خارج کردند.

دیگری دچار یک Complexe ganglio - pulmonaire سمک بود اولیای شیرخواران پس از یکماه او را بردند ولی مرتباً با ما در تماس بودند این کودک بهبود یافت.

بطور خلاصه از شیرخواران مسلول ما سه نفر از Miliare و برنکوپنومونی یا مننژیت سلی مردند.

۵ کودک شفا یافتند و داغ ها و یادگارهای ریوی خیلی جزئی بود و این نتیجه رسیدیم که امکان ترمیم پارانشیم ریوی که بظاهر خیلی دچار آسیب بوده وجود دارد.

دو کودک از سه کودک مبتلا به مننژیت سلی و سه کودک از چهار کودک مبتلا به Miliare بکلی شفا یافته اند.

معذکک پیش بینی وخیم است زیرا مرگ و میر در حدود ۱۶/۵ است.