تشخیص سریع ویبریوکلره O_1 به روش کوآگلوتیناسیون با استفاده از آنتی بادی منواسپسیفیک

دکتر سید عباس بازرگان، دکترای میکروبیولوژی دانشگاه تربیت مدرس

دکتر بهرام فتح‌اله زاده ، دانشیار گروه پاتولوژی بالینی ، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تهران

دکتر بهمن تبرائی ، استادیار بخش واکسن سازی انستیتو پاستور ایران

دکتر نسرین معظمی ، استاد بخش میکروبیولوژی سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران

RAPID IDENTIFICATION OF VIBRIO-CHOLERAE O1 BY COAGLUTINATION TEST USING MONO-SPECIFIC ANTIBODY

ABSTRACT

In our investigation, rabbit hyper-immune serum to V. cholerae ogawa was absorbed with V. cholerae inaba whole - cells and vice versa. Applying ammonium sulphate precipitation method, mono - specific γ globulins were purified and concentrated from the absorbed whole serum. These antibodies were fixed on staphylococcus cowan 1 NCTC-8325 whole - cells, using different chemical fixatives. It was observed that maximum fixation of γ globulin to protein - A was achieved by 1 - propanol 50% at 3 hours, which revealed through single radial immuno-diffusion technique.

The rectal swab samples were cultured in an enrichment bile-peptone broth. After 5 hours at 37^0C while agitations, one drop of each sample was mixed with one drop of vibrio-cholerae bivalent mono - specific coagglutination reagent (VBCR). The results were read after 2 to 3 minutes.

Finally through statistical analysis sensitivity and specificity of coagglutination test were calculated to be 95.1% and 99.2% respectively, when compared to positive & negative controls and conventional culture methods. Using VBCR, coagglutination test can be therefore considered as a simple, reliable and rapid method to detect V. cholerae O_1 in the stool of patients in endemic area and less equipped laboratories.

چکیده

دراین مطالعه سرم هیپرایمیون خرگوش علیه ویبره‌کلرا اوگاوا توسط ویبریوکلرا اینابا و برعکس جذب گردید. با استفاده از روش رسوب با سولفات آمونیوم، گاماگلوبولینهای منواسپسیفیک

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-04]

(mono-specific) جذب ، تخلیص و تغلیظ شدند. این آنتی بادیها به استافیلوکوک "cowan 1 NCTC-8325" متصل گردیدند .

با استفاده از فیکساتیوهای مختلف شیمیایی ، بیشترین چسبندگی گاماگلوبولین به پروتئین A توسط پروپانل ۱(۵۰٪) به مدت ۳ ساعت انجام گرفت. این عمل به وسیله تکنیک ایموتودیفوزیون شعاعی منفردبه اثبات رسید. نمونه‌های سوآب رکتال به محیط بایل پپتون براث تلقیح شدند و ۵ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند، سپس یک قطره از هر نمونه با یک قطره از معرف ویبریوکلراکوآگلوتیناسیون (VBCR) مخلوط گردید و نتایج آن بعد از ۲ الی ۳ دقیقه خوانده شد و تجزیه آماری، حساسیت و ویژگی آزمایش کوآگلوتیناسیون را به ترتیب ۹۵/۱ و ۹۹/۲درصد همراه با کنترل مثبت و منفی در مقایسه با روش کشت کلاسیک نشان داد. بنابراین از تست کوآگلوتیناسیون می‌توان به عنوان آزمایشی ساده، قابل دسترس و روشی سریع جهت تشخیص ویبریوکلرا O_1 در مدفوع بیماران در نواحی اندمیک و آزمایشگاهی با امکانات کم استفاده نمود.

مقدمه

ویبریوکلره هنوز از زمره معضلات بهداشتی در کشورهای در حال توسعه میباشد بطوری که اکثر قربانیان آن راکودکان زیر ۶ سال تشکیل می‌دهند. تشخیص سریع عامل اتیولوژیک این بیماری به لحاظ جلوگیری از مرگ و میر چند ساعته مبتلایان و انتشار سریع درمناطق آلوده، از ارزش والایی برخوردار است (۱،۲،۳،۴).

با توجه به اپیدمیهای ایجاد شده از سال ۱۸۱۷ تاکنون و عدم رعایت اصول بهداشتی دراین مناطق به ویژه در ایران، معمول کلاسیک صرف نظر از اینکه نیازمند به مواد و لوازم مصرفی در دراز مدت می‌باشند، پاسخ مناسبی را هم ایجادنمی‌کنند ، بنابراین آزمایشی سریع و ساده که بتواند حداقل در مدت ۶ ـ ۴ ساعت عامل بیماری را مشخص نماید، نقش مهمی در جهت پیشگیری و درمان (به ویژه در دورافتاده‌ترین نقاط با امکانات کم) خواهد داشت (۵).

در سال ۱۹۷۳، Kronvall و همکارانش نشان دادند که روش کوآگلوتیناسیون در تشخیص سریع پنوموکوک مفید میباشد (۶) سپس در سال ۱۹۸۷ Rahman و همکارانش این روش را در شناسایی ویبریوکلره O_1 با استفاده از آنتی بادیهای پلی‌والان مؤثر دانستند (۳).

در ادامه این بررسیها معین گردید که تست کوآگلوتیناسیون به راحتی می‌تواند در تشخیص سریع آنتی‌ژنهای ویبریوکلره در نمونه‌های کلینیکی ، به ویژه در مناطق آلوده مؤثر واقع گردد (۱ ، ۲ ، ۳ ، ۴ ، ۵ ، ۷ ، ۸ ، ۹ ، ۱۰ ، ۱۱). اگر چه روشهای متداول سرولوژیکی در شناخت نوع بیماری و تعیین شدت عفونت کمک فراوانی به پزشک معالج می‌نماید، با این وجود دخالت یک سری واکنشهای سرولوژیکی متقاطع بین باکتریهای گرم منفی خصوصاً ویبریوکلره با آنتروباکتریاسه ، ارزیابی نتایج حاصل از این روش را با اشکالاتی مواجه می‌سازد (۱۳). بنابراین دراین تحقیق، برای این واکنشها از آنتی‌سرم منواسپسیفیک تخلیص شده ویبریوکلره (VBCR) O_1 استفاده گردیده است.

مواد و روشها

الف ـ سوشهای استاندارد : دو سویه اوگاوا (Ogawa-NIH41) و اینابا (Inaba-35A3) و استافیلوکوک ارئوس NCTC 8325 جهت تهیه آنتی سرمهای منواسپسیفیک و آنتی‌ژن کوآگلوتیناسیون مورد استفاده قرار گرفتند.

ب ـ نگهداری سوشها کلیه سوشهای مورد استفاده در این تحقیق پس از تکثیر در محیطهای BHIA[1]، CYEA[2] جمع‌آوری و در لوله ومواد محافظ مخصوص به طریقه لئوفیلیزاسیون سریع به صورت استوک دائم نگهداری گردیدند. به علاوه استوک کاری نیز با کشت میکروارگانیسم‌های مربوطه به شکل مورب در لوله‌های محتوی "CYEA" و"BHIA" تهیه گردیدند و در ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفتند.

ج ـ حیوانات مورد استفاده : جهت بررسی آگلوتینهای طبیعی و تهیه آنتی سرمهای از منواسپسیفیک خرگوشهای نیوزلندی سفید به وزنی حدود ۱/۸ تا ۲ کیلوگرم، جنسیت ماده و سن حدود ۴ ماه استفاده گردید.

د ـ روشهای سرولوژیکی

I ـ تهیه آنتی ژنها

۱ ـ *آنتی ژن تزریقی :* آنتی ژن ویبریوکلرهٔ اوگاوا و اینابا بعد از کشت در محیط BHIA به کمک سرم فیزیولوژیک فنیکه (۰/۵٪) جمع‌آوری شد و پس از یک ساعت نگهداری در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد و شستشو با استفاده از سرم فیزیولوژیک، با غلظت ۹×۱۰^{۸} سلول در میلی‌لیتر (اسپکتروفتومتری با طول موج ۵۴۰ نانومتر) تهیه شد.

۲ ـ *آنتی ژن تیتراسیون :* روشی که برای تهیه آنتی‌ژن تزریقی به کار گرفته شد، در تهیه آنتی‌ژن تیتراسیون نیز مورد استفاده قرار گرفت، با این اختلاف که جهت غیرفعال نمودن باکتریها از فرمآلدئید (۰/۵٪) استفاده گردید.

۳ ـ *آنتی‌ژن جذب :* تعلیق غلیظی از ویبریوکلرهٔ اوگاوا ـ اینابا در محلول الکل ۲۰ درجه و فرمالدئید ۰/۵ درصد تهیه شد و پس از یک ساعت نگهداری در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد، شستشو گردید و جهت جذب ایمونوگلوبولین‌های ناخواسته مورد استفاده قرار گرفت.

۴ ـ *آنتی ژن کوآگلوتیناسیون :* استافیلوکوک cowan 1 NCTC-8325 به محیط CYE آگار تلقیح گردید و پس از ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، در حداقل PBS ۰/۱۵ مولار (۷/۲ = pH) جمع‌آوری شد. سپس جهت افزایش فرکانس تثبیت،

۱- (Brain Heart Infusion Agar)

۲- (Casein Yeast Eaxtract Agar)

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-04]

فیکساتیوهای مختلفی نظیر فرمالدئید ۰/۵ درصد، گلوتارآلدئید ۰/۵ درصد و پروپانل ۱ (۵۰ درصد) در زمانهای ۳۰ و ۱۸۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه به تعلیق فوق اضافه نمودیم و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد برروی روتاری شیکر قرار دادیم. پس از سه بار شستشو به کمک لوله‌های کینز، تعلیقی برابر ۱۰ درصد حجم سلولی در PBS (pH = ۷/۲) از سوش فوق‌الذکر تهیه و برای رویت واضحتر آگلوتیناسیون از متیلن بلو ۱ درصد و لوگل، جهت رنگ آمیزی استفاده گردیدند.

۵ ـ کنترل منفی : تعلیق ۲ درصد استافیلوکوک cowan 1 NCTC-8325 ثبیت شده با پروپانل ۱ درصد و حرارت که گاما گلوبولین نرمال خرگوش به آن متصل گردیده بود، به عنوان اولین کنترل منفی و تعلیق ۲ درصد استافیلوکوک ارئوس NCTC-8325 تثبیت شده با پروپانل (۵۰درصد) و حرارت به عنوان دومین کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت.

۶ ـ کنترل مثبت : تعلیقی از 5×5^{10} ویبریوکلرا اینابا و اوگاوای کلاسیک، به صورت بی‌والانت به عنوان کنترل مثبت تهیه شد.

II ـ تهیه آنتی سرمها

قبل از ایمونیزاسیون ، سرم خرگوشها برای احتمال وجود آنتی‌بادی علیه ویبریوها و استافیلوکوک ارئوس به وسیله آگلوتیناسیون لوله، غربالگری گردیدند و صرفاً خرگوشهایی که تیتری کمتر از ۱/۴۰ از خود نشان دادند، جهت تهیه آنتی سرم مورد استفاده قرار گرفتند.

۱ ـ برنامه تزریق : در روزهای اول، سوم، پنجم و هفتم به ترتیب ۰/۵ ، ۱ ، ۱/۵، و ۲ میلی لیتر و به غلظت 9×10^{8} سلول در میلی لیتر از آنتی‌ژنهای مربوط از طریق رگ مارژینال گوش، به خرگوشهای انتخابی تزریق شد و سپس در روزهای چهاردهم و شانزدهم، ۲/۵ و ۳ میلی لیتر از آنتی‌ژنهای فوق به عنوان دوز یادآور مورد استفاده قرار گرفت. پس از ده روز استراحت از کلیه خرگوش‌ها خونگیری شد و سپس سرم آنها نیزتهیه گردید. سرمهایی که تیتر بالای ۶۴۰ از خود نشان دادند، به صورت سرم ذخیره (Pool)در ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

۲ ـ جذب آنتی‌بادیهای ناخواسته : ابتدا توده‌ای از جسم سلولی و ویبریوکلرا اوگاوا و ایناوا را به صورت جداگانه با سرمهای ذخیره هترولوگ مخلوط نموده، به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد (بر روی شیکر ۱۴۰rpm) و ۱۶ ساعت در ۴ درجه سانتیگراد قرار دادیم و پس از سانتریفوژ، سرم منواسپسیفیک تهیه شده مورد استفاده واقع گردید.

۳ ـ تخلیص گاماگلوبولینهای منواسپسیفیک: ابتدا به کمک سولفات آمونیوم ۴۵ درصد ، گاماگلوبولینهای از منواسپسیفیک سرمهای فوق تخلیص و پس از سانتریفوژ، رسوب مربوط را در حداقل حجم (pH = ۷/۲PBS) حل و بونهای موجود توسط کیسه دیالیز خارج گردید.

۴ ـ اندازه‌گیری میزان پروتئینها : با استفاده از روش بیوره و الکتروفورز استات سلولز (Helena france 95320) میزان کمی و کیفیت پروتئینها اندازه‌گیری شد.

۵ ـ *اتصال آنتی‌سرم به استافیلوکوک* : به ازای یک میلی لیتر از غلظت ۱۰درصد (V/V)، استافیلوکوک ارئوس تثبیت شده، ۲/منواسپسیفیک ۰ میلی لیتر آنتی سرم اوگاوا یا ایناوا با تیتر ۱۶۰ اضافه گردید. بعد از ۳ ساعت در حرارت اطاق بر روی شیکر (۱۲۰ rpm) ، شستشو داده شد سپس و با استفاده از PBS ۰/۱۵ مولار حاوی ۰/۱ درصد سدیم آزاید، تعلیق ۲ درصد (V/V) از سلول مربوطه تهیه گردید. سپس تعلیق فوق به عنوان محلول ویبریوکلراکوآگلوتیناسیون معین و با حجم مساوی از آنتی سرمهای اوگاوا و منواسپسیفیک ایناوا، مخلوط شد و در آزمایشات به صورت بی‌والانت مورد استفاده قرارگرفت و به منظور افزایش ویژگی تست و اشغال محلهای احتمالی خالی در سطح خارجی استافیلوکوک، محلول فوق باگاماگلوبولین خرگوش نرمال به مدت نیم ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید.

روش آزمایش کوآگلوتیناسیون

جهت رشد سریع ویبریوکلره در نمونه‌ها، سواب رکتال را در آب پپتونه محتوی ۰/۵درصد توروکولات سدیم قرار داده شد و به مدت ۵ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری گردید و به دو روش کشت کلاسیک (۱۲) و کوآگلوتیناسیون، مورد آزمایش قرار گرفت. همراه باکنترلهای منفی و مثبت، بر روی اسلاید پاک و تمیز یک قطره از کشت فوق را با یک قطره محلول VBCR مخلوط کردیم و پس از ۲ تا۳ دقیقه کوآگلوتیناسیون توسط چشم غیرمسلح و میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. این تست در صورتی مثبت تلقی می‌شود که کوآگلوتیناسیون در VBCR و کنترل مثبت، مشخص شود و درکنترلهای منفی هیچگونه واکنشی مشاهده نگردد.

بحث

تست کوآگلوتیناسیون در تشخیص ویبریوکلره O_1 از ارزش بالایی برخوردار است، زیرا صرفاً در عرض ۵ ساعت نتایج آن قابل حصول خواهد بود. همچنین می‌توان حساسیت و ویژگی تست را بمنواسپسیفیک استفاده از آنتی سرمهای تخلیص شده افزایش داد. بدین منظور، در تحقیقات حاضر جهت حذف آنتی‌بادیهای ناخواسته علیه شاخصهای آنتی‌ژنیک موجود (در فلاژلا، پوررینها، پیلی و غیره) از آنتی‌بادیهای پلی والان و سوش هترولوگ استفاده شده است. به علاوه جهت افزایش حساسیت و ویژگی، IgG مربوط به روش پرسیپیتاسیون سولفات آمونیوم تخلیص گردید بطوریکه منحنیهای ۱ ، ۲ ، ۳ و ۴ الکتروفورز موید این مطلب می‌باشند. بنابراین تیتر قابل ملاحظه‌ای از آنتی‌بادی به منواسپسیفیک‌دست آمد که در بررسی فوق جهت اتصال آن به استافیلوکوک NCTC - 8325 از تیتری معادل 2^{16} استفاده شده است. دربررسی بیشتر به منظور افزایش راندمان اتصال IgG به استافیلوکوک NCTC - 8325 عوامل شیمیائی متعددی نظیر فرمالدئید، گلوتارآلدئید وپروپانل ۱ در غلظت و زمانهای مختلف به کار گرفته شد بطوریکه پروپانل ۱ در غلظت ۵۰ درصد و زمان ۳

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-04]

ساعت به عنوان مناسبترین فیکساتیو، انتخاب شد و توسط تفکیک ایمنودیفوزیون منفرد شعاعی (SRID) مورد ارزیابی قرار گرفت.

از عواملی که ممکن است در ارزیابی نتایج حاصل شده اختلال ایجاد نماید، احتمال وجود نواحی خالی باقی مانده در پروتئین A می‌باشد که توسط IgG منواسپسیفیک اشغال نگردیده باشد. که در این صورت واکنش مثبت کاذب توسط کوپر و آنتی‌بادیهای طبیعی ایجاد خواهد شد. بنابراین مجدداً VBCR در معرض سرم نرمال خرگوش قرار گرفته ، سپس عدم آگلوتیناسیون تعلیق فوق به کمک گلبول قرمز گوسفند حساس شده با IgG تائید گردید.

با توجه به اینکه زمان انجام آزمایش کوآگلوتیناسیون کوتاه است و حساسیت (۹۵/۱٪) و ویژگی (۹۹/۲٪) تست به روش کلاسیک کشت نزدیک می‌باشد، بنابراین تست مذکور به روش کلاسیک کشت برتری خواهد داشت زیرا از تعداد ۱۲۵ مورد منفی در کشت کلاسیک که ۲۳ نمونه آن ویبریکلره O_1 - non شناسائی شدند، با تست کوآگلوتیناسیون نیز نتیجه منفی تشخیص داده شد و تنها در یک مورد (آئروس ئیدروفیلا) نتیجه تست فوق مثبت بود. بطوریکه پس از حرارت دادن تعلیق میکروبی (۷۵ درجه سانتیگراد، ۵ دقیقه) واکنش متقاطع برطرف گردید. همچنین از ۱۰۴ مورد مثبت در کشت کلاسیک به روش آگلوتیناسیون صرفاً ۵ مورد منفی کاذب مشاهده شد. بررسیهای فوق نشان می‌دهد که با استفاده منواسپسیفیک از آنتی‌بادیهای ویبریوکلره O_1 ، فیکساتیو مناسب (پروپانل ۱ و ۵۰٪)، اشغال نواحی خالی پروتئین A با سرم نرمال خرگوش ونهایتاً با حرارت دادن تعلیق میکروبی کشت ۵ ساعته در موارد مثبت کاذب، می توان حساسیت و ویژگی تست را به ترتیب تا ۹۵/۱٪ و ۹۹/۲٪ افزایش داد.

نتایج

در تحقیقات حاضر، ابتدا آنتی‌ژنهای تزریقی، پس از جذب و سنجش عیار از سوشهای اوگاوا(41 - NIH - Ogawa) و اینابا(A3 - 35 - Inaba) و آنتی‌ژن کوآگلوتیناسیون از سویه استافیلوکوک NCTC - 8325 آماده شد و براساس برنامه تزریقی استاندارد، آنتی‌بادی پلی‌والان ویبریوکلره تهیه گردید. آنتی بادی پلی‌والان قبل از جذب علیه آنتی‌ژنهای اوگاوا و اینابا به ترتیب تیتری معادل ۱/۲۵۶۰ و ۱/۶۴۰ از خود نشان دادند که پس از جذب با آنتی‌ژن اینابا تیتر مذکور علیه سوش هومولوگ وهترولوگ به ترتیب معادل ۱/۱۲۸۰ و صفر به دست آمد و بطور متشابهی نیز روش فوق منواسپسیفیک جهت تهیه آنتی سرم اینابا انجام گرفت و پس از جذب با آنتی‌ژن اوگاوا سنجش عیار علیه سوشهای هومولوگ و هترولوگ به ترتیب معادل $\frac{1}{160}$ و صفر ارزیابی گردید که نشان دهنده جذب کامل آنتی‌بادیهای ناخواسته می‌باشد. سپس به روش رسوب با سولفات آمونیوم (۴۵ درصد)، دو آنتی‌سرم منواسپسیفیک فوق تخلیص و تغلیظ شد. همانطوریکه در منحنیهای ۱ و ۳ مشاهده می‌شود، سرم منواسپسیفیک قبل از تخلیص ۵ پیک از خود نشان می‌دهد که به ترتیب شامل : آلبومین ، آلفا ۱ ، آلفا ۲، بتا و گاما گلوبولین می باشند، حال آنکه در منحنیهای ۲ و ۴ پس از تخلیص، پیکهای آلبومین، آلفا ۱ و آلفا ۲ از بین رفته‌اند. همچنین میزان گاما گلوبولین درمنحنیهای مذکور به ترتیب معادل ۶۷/۶٪ و ۷۱/۳٪ می‌باشد.

جهت تهیه VBCR و بالا بردن راندمان اتصال استافیلوکوک C - 8325منواسپسیفیک NCT با آنتی‌سرمهای از فیکساتیوهای مختلف نظیر : فرمالدئید ۰/۵ درصد، گلوتارآلدئید ۰/۵ درصد و پروپانل ۱ ، (۰/۵۰) استفاده گردید.

چنانچه در جدول ۱ مشاهده می‌گردد، بیشترین اتصال توسط پروپانل ۱ (۵۰٪)، دردمای آزمایشگاه به مدت ۳ ساعت بر روی شیکر (۱۲۰rpm) ، مشخص شد و درصد چسبندگی IgG در سرم منواسپسیفیک محتوی آنتی بادیهای اوگاوا و اینابا با استفاده از تکنیک SRID به روش مانسینی به ترتیب بیش از ۸۳ و ۸۲/۸ درصد گزارش گردید.

همچنین غلظتهای مختلف ۱ ، ۲ ، ۳، ۴ و ۵ درصد از تعلیق (VBCR) تهیه و آزمایش کوآگلوتیناسیون با ویبریوکلره استاندارد انجام شد که درنهایت غلظت ۲درصداز تعلیق فوق به عنوان بهترین معرف (reagent) مورد استفاده قرار گرفت.

تعداد ۲۱۹ نمونه سوآب رکتال جمع‌آوری شده از ۴ مرکز معتبر بهداشتی ـ درمانی با بایل پیتون براث تلقیح شد و پس از ۵ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد به دو روش کشت کلاسیک و کوآگلوتیناسیون مورد آزمایش قرار گرفتند.

چنانچه در جداول ۲ و ۳ ملاحظه می‌گردد، از ۱۰۴ مورد مثبت (۴۷٪) و ۱۲۵ مورد منفی درروش کشت کلاسیک، فقط یک مورد مثبت کاذب (ویژگی)[۱] و ۵ مورد منفی کاذب (حساسیت)[۲] به روش کوآگلوتیناسیون مشاهده گردید، بنابراین ضریب اطمینان این آزمایش معادل ۹۹/۲ درصد ویژگی و ۹۵/۱ درصد حساسیت رانشان میدهد، و نتایج این تست نه تنها در مدت زمان کوتاهی قابل دسترسی است، بلکه روشی قابل اطمینان و تقریباً معادل روش کشت کلاسیک ویبریوکلره می‌باشد.

ضمناً جهت سنجش پایداری VBCR ، تعلیق فوق درزمانهای ۱ و ۲و ۳و ۴و ۵ ماهه در دمای ۴ درجه سانتیگراد مورد آزمایش قرار گرفت و در شرایط مذکور اتوآگلوتیناسیون و کاهش تیتر ملاحظه نگردید.

تشکر و قدردانی

از کلکسیون باکتریهای استاندارد بخش واکسنهای باکتریایی و تهیه آنتی‌ژن انستیتوپاستور ایران (CSBPI) به جهت اهداء دو سویه ویبریوکلره (اوگاوا و اینابا) و آقای تهرانی عضو هیئت علمی گروه بیوشیمی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس که سوش استافیلوکوک ارئوس کان ۱ را در اختیار قرار دادند و همچنین اساتید راهنما و مشاور قدردانی می‌گردد.

---

۱ - درصد منفی های واقعی تست کوآگلوتیناسیون که پرورش کشت کلاسیک، منفی گزارش شد.

۲ - درصد مثبت‌های واقعی تست کوآگلوتیناسیون که پرورش کشت کلاسیک مثبت گزارش شد

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-04]

جدول (۱) : درصد چسبندگی IgG به استافیلوکوک NCTC - 8325 با استفاده از فیکساتیو در زمانهای مختلف

درصد چسبندگی آنتی سرم منواسپسیفیک اینابا	درصد چسبندگی آنتی سرم منواسپسیفیک اوگاوا	زمان برحسب ساعت	فیکساتیو
۷۸/۵	ND (۱)	۰/۵	پروپانل ۱(۰/۵۰٪)
۸۲/۸	ND	۳	
۷۳/۰۷	۵۷	۰/۵	گلوتارآلدئید ۰/۵٪
۷۳/۷	۵۹/۲۵	۳	
۷۸/۳	ND	۰/۵	فرمالدئید ۰/۵٪
۷۵/۵	ND	۳	

(1) Non Detectable

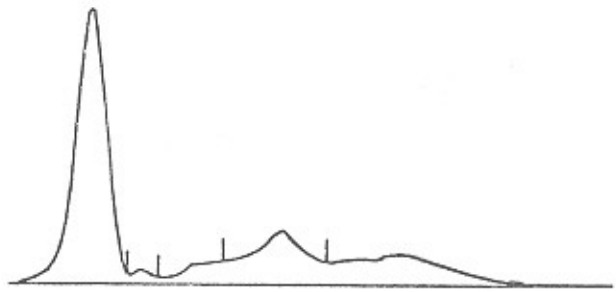
جدول (۲) : نتایج کشت کلاسیک و کواگلوتیناسیون

تعداد نمونه‌ها منفی	تعداد نمونه‌ها مثبت	روش
۱۲۵	۱۰۴	کشت کلاسیک
۱۳۰	۹۹	کواگلوتیناسیون

جدول (۳) : مقایسه نتایج کواگلوتیناسیون با کشت کلاسیک در تشخیص ویبریوکلره O_1

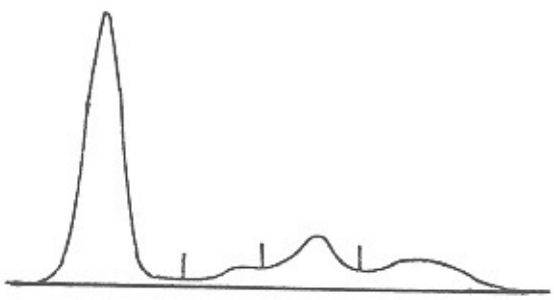
تعداد کشت‌ها منفی	تعداد کشت‌ها مثبت	نتیجه کواگلیتاسیون
۱	۹۹	مثبت
۱۲۴	۵	منفی

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-04]



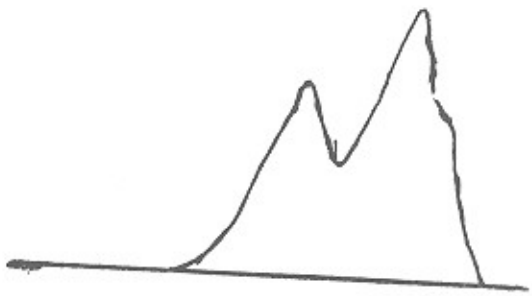
	درصد	G/DL
آلبومین	۵۵/۷	۳
آلفا ۱	۱/۵	۰/۱
آلفا ۲	۵/۳	۰/۳
بتا	۱۹/۱	۱
گاما	۱۸/۴	۱
مجموع		۵/۴

شکل (۲) منحنی پروتئین‌های عمده سرم خرگوش تزریق شده با
آنتی ژن اوگاوا پس از جذب با آنتی ژن ایتایا



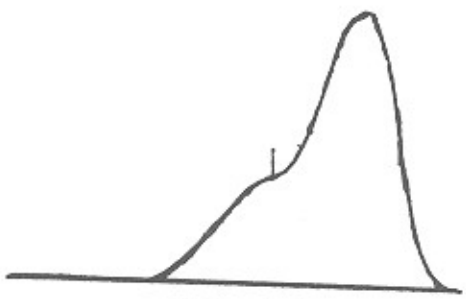
	درصد	G/DL
۱	۶۲/۸	۳/۸
۲	۴/۹	۰/۳
۳	۱۷/۲	۱
۴	۱۵/۱	۰/۹
مجموع		۶

شکل (۳) منحنی پروتئین‌های عمده سرم خرگوش تزریق شده با
آنتی ژن ایتایا پس از جذب با آنتی ژن اوگاوا



	درصد	G/DL
۱	۳۲/۴	۱
۲	۶۷/۶	۲/۲
مجموع		۳/۲

شکل (۴) منحنی گلوبولین‌های متواسپسیفیک اوگاوا پس از تخلیص



	درصد	G/DL
۱	۲۸/۷	۱/۳
۲	۷۱/۳	۳/۱
مجموع		۴/۴

شکل (۴) منحنی گلوبولین‌های متواسپسیفیک ایتایا پس از تخلیص

مراجع

1 - Laliha M K, Sridharan G , Mercy. Indian J Pediatr. 1989; 56 327.

2 - Jesudason, MV, Thangavelu CP, Lalitha M. J. Clin Microbiol.1984; 712.

3 - Rahman, Sack DA, Saleh Mahmood, adn Anowat Hossein. J Clin Microbiol 1987; 11 : 2204.

4 - Rahman M, Sack D A Wadood. A, Yasmin. M and A. J Med Microbiol 1989;28 : 39.

5 - Lesmana M, Rockhill D. Sutanti, Asutomo. J Trop Med 1982. 13 : 377.

6 - Kronvall G.J Med Microbilo. 1973; 6 : 187.

7 - Edwards E A, Hildebrand RL. J. Clin Microbiol. 1976; 3 : 339.

8 - Hay FC. Practical Immunology 2, Third Ed.tion , 1989.

9 - Gray LD, Fedorko DP. J clin Microbiol Rev. 1992; S(2): 130.

10 - Aboott SL, Yand JM. J Infact Dis. 1993; 188 : 707 .

11 - Dhanlakshmi D, Mallika, Kumaravle MBhabani, Lakshminarayanacs. Idian J Pathol Microbiol 1984 ; 27 : 33.

12 - Koneman et al. Diagnostic Microbiol third ed. 1988 : 211.

13 - Winkle S, Refai M Rohde R. Ann Inst pasteur. 1972:123 : 775

14 - Hassan JA, Hal A, Tamplin ML, Siebeling RG, Collwell RR. J clin Microgbiol. 1994; 32 : 24.

15 - Jagannath, Sehgl S.J of Immunological Methods. 1989 ; 124 : 251.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-04]