مجله دانشکده پزشکی تهران
شماره هشتم ــ اردیبهشت ماه ۲۵۳۷ ــ صفحه ۲۰۵

جستجو وتعیین عیار آنتی‌بادیهای نوع IgM بوسیله جذب و حذف آنتی بادیهای نوع IgG بوسیله استافیلوکک‌های طلائی در عفونت‌های ویروسی

دکتر خسرو فرهی دکتر فخرالسادات کیائی

مقدمه

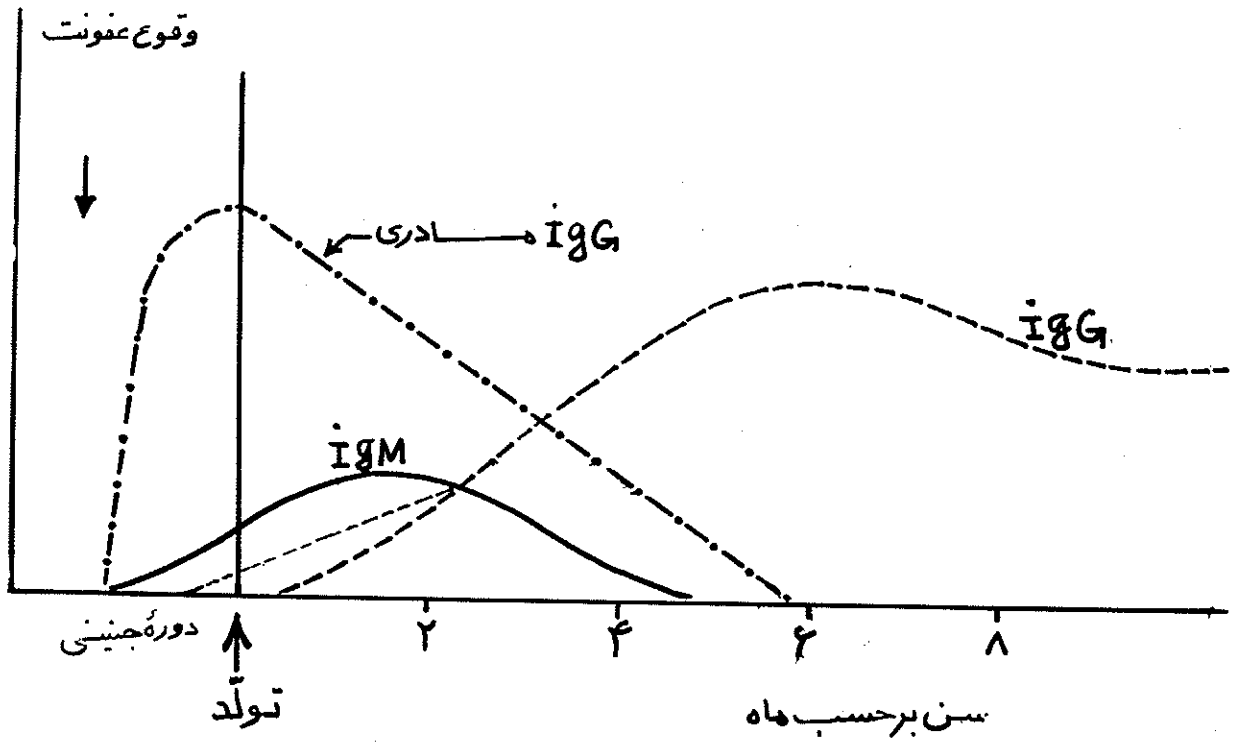
نوزادی که متولد می‌شود ممکن است در داخل رحم مادر، درحین زائیده شدن ویاپس ازتولد بابرخی از ویروسها آلوده شده باشد. (۳ـ۷) چون دراین مرحله از زندگی، ابتلاء به بعضی از عفونت‌های ویروسی نظیر سرخجه، سیتومگالوویروس، تبخال و کوکساکی ممکن است عواقب وخیمی دربرداشته باشد لذا پی بردن بوقوع عفونت وشناخت‌هویت ویروسی که نوزاد را در دوران جنینی و یاپس از تولد آلوده کرده است گاهی برای پزشک حائز اهمیت است (۳ـ۴ـ۶) دراین قبیل موارد، تشخیص با روش‌های سرولوژیکی و بطریق جستجو وتعیین عیارآنتی‌بادی‌نوعIgM (ایمونوگلبولین M) ویروسی که عفونت آن مشکوک است صورت می‌گیرد زیرا آنتی بادیهائی که از نوع IgG (ایمونوگلبولین G) می‌باشند می‌توانندازجفت‌عبورکنند و از مادر به جنین منتقل گردند ولی آنتی‌بادیهائی که از نوع IgM و IgA هستند ازجفت عبور نمی‌کنند (۸) بنابراین اگر درخون نوزاد آنتی‌بادی ویروس از نوع IgM وجود داشته باشد حتما توسط خود او ساخته شده است و دلالت قطعی برعفونت نوزاد در داخل رحم مادر، بهنگام زایمان و یابعداز زایمان دارد زیرادراکثر عفونت‌های ویروسی تولرانس ایمونولوژیک‌وجودندارد بطوریکه جنین در داخل رحم مادر هم می‌تواندبرای ویروسهای آمبریوپاتیک آنتی‌بادی بسازد.

(منحنی شماره ۱). حضور آنتی‌بادی ویروسی از نوع IgG، در خون نوزاد، حتی با عیار بالا هم نمی‌تواند دلیل کافی برعفونت او باشد زیرا ممکن است جنین یا نوزاد همه‌این نوع آنتی‌بادی‌رابطورکونژنیتال ازمادر دریافت‌کرده باشد. بنابراین برای‌حصول اطمینان از وقوع‌عفونت، لازمست درخون نوزاد مشکوک به عفونت بجستجوی آنتی‌بادی نوع IgM اقدام‌شود. دراین مقاله گزارش یک مورد ازاین‌قبیل ذکر می‌گردد. خون نوزاد ۲۵ روزه بیمار که‌آزمایشات باکتریولوژیکی‌اومنفی‌بوده‌است، بدلیل وجودضایعات‌هرپتیک دراطراف دهان مادر برای جستجو و تعیین عیار آنتی بادی ویروس تبخال از بیمارستان شهرآزاد به آزمایشگاه فرستاده

گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی دانشکده علوم پایه پزشکی دانشگاه تهران

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

منحنی پیدایش و تغییرات آنتی بادیهای نوع IgG و IgM در عفونت‌های داخل رحمی با ویروسهای تبخال، سرخجه و سیتومگالوویروس



شد . درخون نوزاد آنتی‌بادی برای هرپس ویروس تیپ یک (هرپس فاسیال) باعیار ۳۲۰ وجود داشت . گرچه عیار آنتی‌بادی بالابودولی امکان داشت که همهٔ آن از نوع IgG و از مادر دریافت شده باشد بنابراین برای حصول اطمینان از عفونت نوزاد باهرپس ویروس و یا عدم آن بجستجوی عیار آنتی‌بادی نوع IgM ویروس تبخال اقدام گردید . دراین مقاله نحوهٔ اجرای آزمایش و نتایج حاصله از نظرمی‌گذرد .

مواد و روشها

۱ــ نمونه‌های سرمی

همراه با سرم خون نوزاد ، دونمونهٔ سرمی کنترل که از افراد بالغ بدست آمده و محتوی آنتی‌بادیهای نوع IgG و IgM برای ویروس تبخال تیپ یک بود موردآزمایش قرار گرفت .

۲ــ تهیهٔ استافیلوکک واجد پروتئین A برای جذب آنتی بادیهای نوع IgG (۱) استافیلوکک طلائی واجد پروتئین A (سویهٔ شماره ۱ Cowan) و استافیلوکک طلائی فاقد پروتئین A (سویهٔ شماره ۴۶ Wood) در روی ژلوز کشت داده‌شد . بعدازشانزده ساعت ، باندازهٔ حلقهٔ انتهای میلهٔ طلای سفید (Loop) از کشت تازهٔ استافیلوکک برداشت شد و از آن شیرابهٔ یکنواختی در ۵ میلی لیتراز آبگوشت تهیه گردید . ازاین شیرابهٔ میکربی نیم میلی‌لیتر به روی ژلوز که دربشقابهای پتری قرارداشت ریخته شد و بطور یکنواخت درتمام سطح ژلوز پخش گردید . بعدازشانزده ساعت اقامت در گرمخانهٔ ۳۷ درجه سانتیگراد و رشد استافیلوکک ، بهرکدام از بشقابهای پتری ۵ تا ۷ میلی‌لیتر تامپون فسفات (PBS) ریخته شد و شیرابهٔ غلیظ

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

استافیلوکک در تامپون فسفات مهیا گردید . از سانتریفوژ کردن شیرابهٔ میکربی هر بشقاب پتری تقریبا یک میلی‌لیتر استافیلوکک متراکم در ته لولهٔ سانتریفوژ بدست آمد . مایع بالای رسوب استافیلوکک دور ریخته شد و به روی رسوب ۹ میلی لیتر تامپون فسفات که محتوی نیم‌درصد فرم آلدئید بوداضافه‌گردید وتعلیق میکرب‌در PBS محتوی فرم‌آلدئید، مدت شانزده ساعت بحال خود گذاشته شد تا فرم آلدئید باکتریها را بکشد . بوسیلهٔ سانتریفوژ نمودن باکتریها از PBS محتوی فرم آلدئید جدا گردید و پس از تعلیق مجدد در ۹ میلی‌لیتر از PBS تازه ، بمدت ۳۰ دقیقه دربن ماری ۶۵ درجه سانتیگراد حرارت داده شد سپس باکتریها باردیگر بوسیلهٔ سانتریفوگاسیون ازمایع جدا و در ۹ میلی‌لیتر ازPBS تازه بحال تعلیق درآورده شد و به‌آن به‌نسبت‌یک درده‌هزار W/V سدیم آزاید اضافه گردید و باین ترتیب برای استفاده آماده گردید .

۳ـ روش حذف آنتی‌بادیهای نوع IgG بوسیلهٔ جذب آن با استافیلوکک‌های واجد پروتئین A (۱)

یک میلی‌لیتر از شیرابهٔ استافیلوکک که روش تهیه آن از نظر گذشت ، بمدت ۳۰ دقیقه باسرعت دو هزار دور در دقیقه سانتریفوژ گردید و مایع بالای رسوب دور ریخته شد . به روی استافیلوکک ته نشسته یک میلی‌لیتر از سرمی که‌جذب فراکسیون IgG آن‌موردنظربوداضافه‌گردید واستافیلوکک‌های ته نشسته بوسیله بهم‌زن Vortex بحال تعلیق‌درآورده‌شد. مخلوط سرم و استافیلوکک که بتناوب تکان داده می‌شدبمدت یکساعت درحرارت آزمایشگاه نگهداری شد تا پروتئین A استافیلوکک IgG سرم را جذب نماید . بوسیلهٔ سانتریفوژ نمودن ، سرم از استافیلوکک جدا گردید . نمونه‌های سرمی ، هم‌بااستافیلوکک واجدپروتئین A (سویهٔ‌شماره ۱ Cowan) وهم‌بااستافیلوکک فاقدپروتئین A (سویهٔ‌شماره ۴۶ Wood) عمل گردید .

۴ـ تعیین عیارآنتی‌بادی‌ویروس‌تبخال‌درنمونه‌های‌سرمی

تعیین عیار آنتی‌بادی ویروس تبخال‌درنمونه‌های‌سرمی باروش سرونوترالیزاسیون و بطریق زیر انجام گرفت :

به نیم‌میلی لیتر از رقت‌های $\frac{1}{10}$ ، $\frac{1}{20}$ ، $\frac{1}{40}$ ، $\frac{1}{80}$ ، $\frac{1}{160}$ ، $\frac{1}{320}$ و $\frac{1}{640}$ از سرم ، درتامپون فسفات ، نیم میلی لیتر از سوسپانسیون ویروس تبخال تیپ یک که هر میلی‌لیتر آن محتوی 100 TCID/50 ویروس بوداضافه‌گردید . پس‌از دوساعت از هرمخلوط سرم ویروس به سه لوله از کشت‌سلول ردهٔ پیوستهٔ کلیهٔ میمون (Vero) (۹) و بهرکدام بمقدار ۰/۲ میلی‌لیترتلقیح گردید . بالاترین رقت از هرنمونهٔ سرمی که براثر خنثی نمودن ویروس مانع بوجود آمدن CPE (Cytopathic Effect) درکشت‌های‌سلولی‌شده‌بود بعنوان عیار آنتی‌بادی ویروس تبخال یادداشت گردید .

بحث و نتیجه

در سرم نوزاد ۲۵ روزه که مشکوک به عفونت با ویروس تبخال بود و همچنین دردو سرم کنترل که متعلق‌بافرادبالغ ومحتوی‌آنتی‌بادیهای نوع IgG و IgM برای‌ویروس‌تبخال تیپ ۱ بود ، باروش سرونوترالیزاسیون به تعیین عیارآنتی بادی مبادرت‌گردید . عیارآنتی‌بادیهای خنثی‌کنندهٔ ویروس تبخال تیپ یک درسرم نوزاد ۳۲۰ و در سرمهای‌کنترل‌شماره ۱ و۲ بترتیب ۶۴۰ و ۱۶۰ بدست آمد . چون امکان‌داشت که همهٔ آنتی‌بادی موجود درخون نوزاد ، از نوع IgG وبطور کونژنیتال از مادر دریافت شده باشد بنابراین برای‌حصول اطمینان از عفونت یا عدم آن درپیش نوزاد ، درخون‌او ودر دوسرم کنترل ، بجستجوی آنتی‌بادیهای نوع IgM اقدام گردید .

برای این منظور سرمها با استافیلوکک Cowan و استافیلوکک Wood عمل گردید زیرا اغلب سویه‌های استافیلوکک طلائی درسل‌وال (Cell Wall) خود دارای پروتئین هستند که آن را پروتئین A می‌نامند (۲ـ۵) این پروتئین می‌تواند فراکسیون IgG سرم را جذب نماید ولی فراکسیون IgM راجذب نمی‌نماید . سویهٔ شماره یک استافیلوککCowan ازاین قبیل است یعنی‌واجدپروتئین A می‌باشد . استافیلوکک شماره ۴۶ Wood در سل وال خود پروتئین A ندارد بنابراین چون از نظر جذب IgG منفی است ، درآزمایشات بعنوان‌کنترل یاشاهد بموازات‌استافیلوکک Cowan مورداستفاده قرار می‌گیرد .

در تجربیات ما ، تقریبا همهٔ آنتی‌بادیهای ویروس تبخال‌که‌درسرم‌نوزاد بیمار وجود داشت بوسیلهٔ استافیلوکک Cowan جذب گردید و باین‌ترتیب نتیجه گرفته شد که‌این

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

آنتی‌بادیها ازنوع IgG بوده ونوزاد آن را بطورکونژنیتال از مادر دریافت کرده است. نتایج کلی آزمایشات در جدول زیر ارائه شده است.

نمونه‌های سرمی	عیار آنتی بادی ویروس هرپس تیپ ۱ قبل ازعمل کردن سرم با استافیلوکک	عیار آنتی‌بادی ویروس هرپس تیپ ۱ بعد ازعمل کردن سرم با استافیلوکک Cowan	عیار آنتی‌بادی ویروس هرپس تیپ ۱ بعد ازعمل کردن سرم با استافیلوکک Wood
سرم نوزاد بیمار	۳۲۰	۲۰	۳۲۰
سرم کنترل ۱	۶۴۰	۱۶۰ – ۳۲۰	۶۴۰
سرم کنترل ۲	۱۶۰	۸۰	< ۱۶۰

Reference

1- *Ankerst, j., Christensen, P. et al., J. Infec. Dis., 130: 268, 1974.*
2- *Forsgren, A. and Sejoquist, J., J. Immunol., 97: 822, 1966.*
3- *Gregg, N.M., Trans. Can. Ophthalmol. Soc., 7: 131, 1956.*
4- *Hanshaw, J.B., Adv. in Teratology, Vol. 4, 1970.*
5- *Kronvall, G. and Williams, R.C., J. Immunol. 103 : 828, 1969.*
6- *McCracken, G.H. and Shinefield, H.R., Am. J. Dis. Child., 117: 522, 1969.*
7- *Schluederberg, A., Nature, 205 : 1232, 1965.*
8- *Vesikari, T. and Vaheri, A., Br. Med. J., 1: 221, 1968.*
9- *Yasamura, Y. and Kawakita, Y., Nippon Rinsho., 21: 1201, 1963.*

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