

جستجو و تعیین عیار آنتی‌بادیهای نوع IgM
بوسیله جذب و حذف آنتی‌بادیهای نوع IgG بوسیله
استافیلوکوک‌های طلائی در عفونت‌های ویروسی

دکتر فخرالسادات کیائی

دکتر خسرو فرهی

مقدمه

ساخته شده است و دلالت قطعی بر عفونت نوزاد در داخل رحم مادر، بهنگام زایمان و یا بعد از زایمان دارد زیرا در اکثر عفونت‌های ویروسی تولرانس ایمنولوژیک وجود ندارد بطوریکه جنین در داخل رحم مادر هم می‌تواند برای ویروس‌های آمبریوپاتیک آنتی‌بادی بسازد.

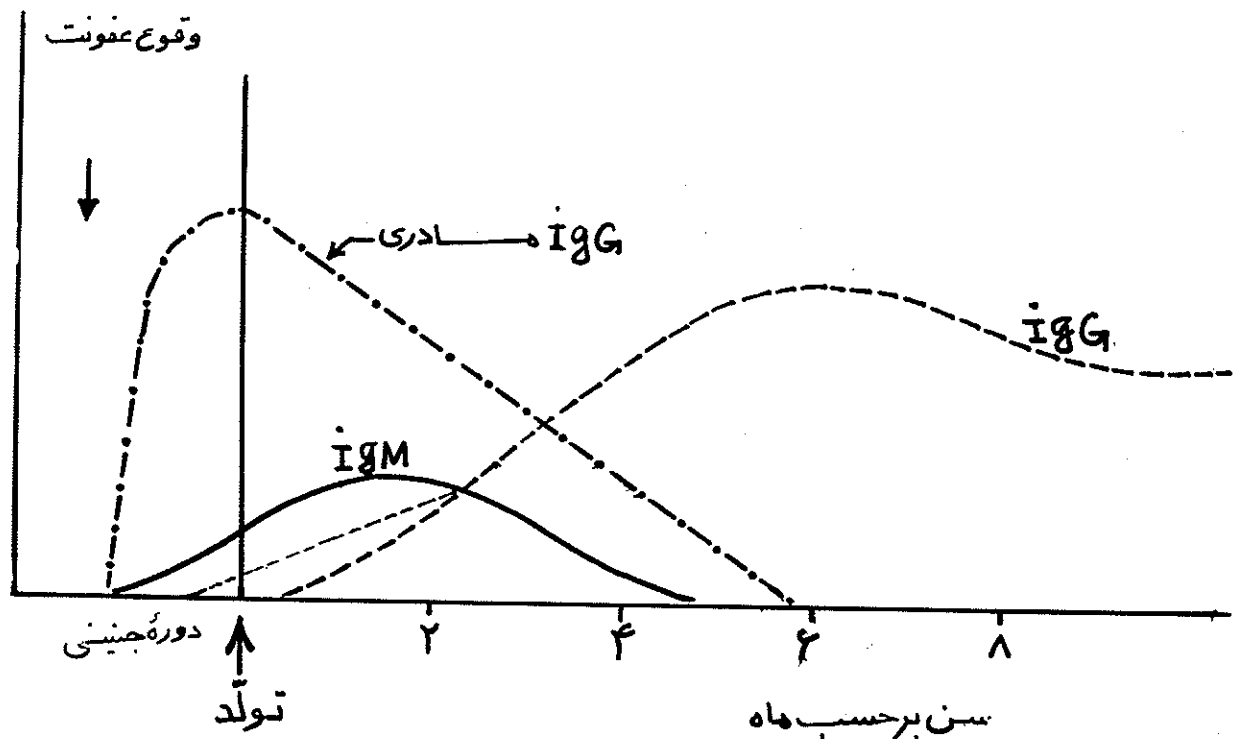
(منحنی شماره ۱) . حضور آنتی‌بادی ویروسی از نوع IgG ، در خون نوزاد ، حتی با عیار بالا هم نمی‌تواند دلیل کافی بر عفونت او باشد زیرا ممکن است جنین یا نوزاد همه این نوع آنتی‌بادی را بطور کونژنیتال از مادر دریافت کرده باشد . بنابراین برای حصول اطمینان از وقوع عفونت ، لازمست در خون نوزاد مشکوک به عفونت بجستجوی آنتی‌بادی نوع IgM اقدام شود . در این مقاله گزارش یک مورد از این قبیل نکر می‌گردد . خون نوزاد ۲۵ روزه بیمار که آزمایشات باکتریولوژیکی او منفی بوده است ، بدلیل وجود ضایعات هرپتیک در اطراف دهان مادر برای جستجو و تعیین عیار آنتی‌بادی ویروس تبخال از بیمارستان شهرآزاد به آزمایشگاه فرستاده

نوزادی که متولد می‌شود ممکن است در داخل رحم مادر ، در حین زائیده شدن و یا پس از تولد با برخی از ویروسها آلوده شده باشد . (۳-۷) چون در این مرحله از زندگی ، ابتلاء به بعضی از عفونت‌های ویروسی نظیر سرخچه ، سیتو-مگالوویروس ، تبخال و کوکساکمی ممکن است عواقب وخیمی در برداشته باشد لذا بی‌بردن بوقوع عفونت و شناخت هویت ویروسی که نوزاد را در دوران جنینی و یا پس از تولد آلوده کرده است گاهی برای پزشک حائز اهمیت است (۳-۴-۶) در این قبیل موارد ، تشخیص با روش‌های سرولوژیکی و بطریق جستجو و تعیین عیار آنتی‌بادی نوع IgM (ایمنوگلوبولین M) ویروسی که عفونت آن مشکوک است صورت می‌گیرد زیرا آنتی‌بادیهای که از نوع IgG (ایمنوگلوبولین G) می‌باشند می‌توانند از جفت عبور کنند و از مادر به جنین منتقل گردند ولی آنتی‌بادیهای که از نوع IgA و IgM هستند از جفت عبور نمی‌کنند (۸) بنابراین اگر در خون نوزاد آنتی‌بادی ویروس از نوع IgM وجود داشته باشد حتماً توسط خود او

منحنی پیدایش و تغییرات آنتی‌بادی‌های نوع IgG و

IgM در عفونت‌های داخل رحمی با ویروس‌های تبخال، سرخچه

و سیئوگالوویروس



۲- تهیه استافیلوکوک واجد پروتئین A برای جذب آنتی‌بادی‌های نوع IgG (۱) استافیلوکوک طلائی واجد پروتئین A (سویه شماره ۱ Cowan) و استافیلوکوک طلائی فاقد پروتئین A (سویه شماره ۴۶ Wood) در روی ژلوز کشت داده شد. بعد از شانزده ساعت، با اندازه حلقه انتهایی میله طلای سفید (Loop) از کشت تازه استافیلوکوک برداشت شد و از آن شیرابه یکنواختی در ۵ میلی لیتر آبگوشت تهیه گردید. از این شیرابه میکربی نیم میلی لیتر به روی ژلوز که در بشقابهای پتری قرار داشت ریخته شد و بطور یکنواخت در تمام سطح ژلوز پخش گردید. بعد از شانزده ساعت اقامت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد و رشد استافیلوکوک، بهرکدام از بشقابهای پتری ۵ تا ۷ میلی لیتر تامیون فسفات (PBS) ریخته شد و شیرابه غلیظ

شد. در خون نوزاد آنتی‌بادی برای هرپس ویروس تیپ یک (هرپس فاسیال) با عیار ۳۲۰ وجود داشت. گرچه عیار آنتی‌بادی بالابودولی امکان داشت که همه آن از نوع IgG و از مادر دریافت شده باشد بنابراین برای حصول اطمینان از عفونت نوزاد با هرپس ویروس و یا عدم آن بجهتجوی عیار آنتی‌بادی نوع IgM ویروس تبخال اقدام گردید. در این مقاله نحوه اجرای آزمایش و نتایج حاصله از نظرمی‌گذرد.

مواد و روشها

۱- نمونه‌های سرمی

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

لیتر از سوسپانسیون ویروس تبخال تیپ یک که هر میلی لیتر آن محتوی 100 TCID₅₀ ویروس بود اضافه گردید. پس از دو ساعت از هر مخلوط سرم ویروس به سه لوله از کشت سلول رده، پیوسته کلیه، میمون (Vero) (۹) و بهرکدام بمقدار ۰/۲ میلی لیتر تلقیح گردید. بالاترین رقت از هر نمونه سرمی که بر اثر خنثی نمودن ویروس مانع بوجود آمدن CPE (Cytopathic Effect) در کشت‌های سلولی شده بود 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 در دو سرم کنترل که متعلق با افراد بالغ و محتوی آنتی‌بادیهای نوع IgG و IgM برای ویروس تبخال تیپ ۱ بود، باروش سرونوترالیزاسیون به تعیین عیار آنتی‌بادی مبادرت گردید. عیار آنتی‌بادیهای خنثی‌کننده ویروس تبخال تیپ یک در سرم نوزاد ۳۲۰ و در سرمهای کنترل شماره ۱ و ۲ بترتیب ۶۴۰ و ۱۶۰ بدست آمد. چون امکان داشت که همه آنتی‌بادی موجود در خون نوزاد، از نوع IgG و بطور کونژنییتال از مادر دریافت شده باشد بنابراین برای حصول اطمینان از عفونت یا عدم آن در پیش نوزاد، در خون او و در دو سرم کنترل، بجستجوی آنتی‌بادیهای نوع IgM اقدام گردید.

برای این منظور سرمها با استافیلوکوک Cowan و استافیلوکوک Wood عمل گردید زیرا اغلب سویه‌های استافیلوکوک طلائی در سل وال (Cell Wall) خود دارای پروتئین هستند که آن را پروتئین A می‌نامند (۲-۵) این پروتئین می‌تواند فراکسیون IgG سرم را جذب نماید ولی فراکسیون IgM را جذب نمی‌نماید. سویه شماره یک استافیلوکوک Cowan از این قبیل است یعنی واجد پروتئین A می‌باشد. استافیلوکوک شماره ۴۶ Wood در سل وال خود پروتئین A ندارد بنابراین چون از نظر جذب IgG منفی است، در آزمایشات بعنوان کنترل یا شاهد بموازات استافیلوکوک Cowan مورد استفاده قرار می‌گیرد.

در تجربیات ما، تقریباً همه آنتی‌بادیهای ویروس تبخال که در سرم نوزاد بیمار وجود داشت بوسیله استافیلوکوک Cowan جذب گردید و باین ترتیب نتیجه گرفته شد که این

استافیلوکوک در تامپون فسفات مهیا گردید. از سانتریفوژ کردن شیرابه میکربی هر بشقاب پتری تقریباً یک میلی لیتر استافیلوکوک متراکم در ته لوله سانتریفوژ بدست آمد. مایع بالای رسوب استافیلوکوک دور ریخته شد و به روی رسوب ۹ میلی لیتر تامپون فسفات که محتوی نیم درصد فرم آلدهید بود اضافه گردید و تعلیق میکرب در PBS محتوی فرم آلدهید، مدت شانزده ساعت بحال خود گذاشته شد تا فرم آلدهید باکتریها را بکشد. بوسیله سانتریفوژ نمودن باکتریها از PBS محتوی فرم آلدهید جدا گردید و پس از تعلیق مجدد در ۹ میلی لیتر از PBS تازه، بمدت ۳۰ دقیقه درین ماری ۶۵ درجه سانتیگراد حرارت داده شد سپس باکتریها باردیگر بوسیله سانتریفوگاسیون از مایع جدا و در ۹ میلی لیتر از PBS تازه بحال تعلیق در آورده شد و به آن بمنسبت یک درده هزار W/V سدیم آزاید اضافه گردید و باین ترتیب برای استفاده آماده گردید.

۳- روش حذف آنتی‌بادیهای نوع IgG بوسیله جذب آن با استافیلوکوکهای واجد پروتئین A (۱) یک میلی لیتر از شیرابه استافیلوکوک که روش تهیه آن از نظر گذشت، بمدت ۳۰ دقیقه با سرعت دو هزار دور در دقیقه سانتریفوژ گردید و مایع بالای رسوب دور ریخته شد. به روی استافیلوکوک ته نشسته یک میلی لیتر از سرمی که جذب فراکسیون IgG آن مورد نظر بود اضافه گردید و استافیلوکوکهای ته نشسته بوسیله بهم‌زن Vortex بحال تعلیق در آورده شد. مخلوط سرم و استافیلوکوک که بتناوب تکان داده می‌شد بمدت یکساعت در حرارت آزمایشگاه نگهداری شد تا پروتئین A استافیلوکوک IgG سرم را جذب نماید. بوسیله سانتریفوژ نمودن، سرم از استافیلوکوک جدا گردید. نمونه‌های سرمی، هم با استافیلوکوک واجد پروتئین A (سویه شماره ۱ Cowan) و هم با استافیلوکوک فاقد پروتئین A (سویه شماره ۴۶ Wood) عمل گردید.

۴- تعیین عیار آنتی‌بادی ویروس تبخال در نمونه‌های سرمی تعیین عیار آنتی‌بادی ویروس تبخال در نمونه‌های سرمی باروش سرونوترالیزاسیون و بطریق زیر انجام گرفت:

به نیم میلی لیتر از رفت‌های $\frac{1}{10}$ ، $\frac{1}{20}$ ، $\frac{1}{40}$ ، $\frac{1}{80}$ ، $\frac{1}{160}$ و $\frac{1}{320}$ از سرم، در تامپون فسفات، نیم میلی

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

عبار آنتی‌بادی ویروس هرپس تیپ ۱ بعد از عمل کردن سرم با استافیلوکوک Wood	عبار آنتی‌بادی ویروس هرپس تیپ ۱ بعد از عمل کردن سرم با استافیلوکوک Cowan	عبار آنتی‌بادی ویروس هرپس تیپ ۱ قبل از عمل کردن سرم با استافیلوکوک	نمونه‌های سرمی
۲۲۰	۲۰	۳۲۰	سرم نوزاد بیمار
۶۴۰	۱۶۰ - ۳۲۰	۶۴۰	سرم کنترل ۱
< ۱۶۰	۸۰	۱۶۰	سرم کنترل ۲

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 Vaheeri, A., *Br. Med. J.*, 1: 221, 1968.
- 9- Yasamura, Y. and Kawakita, Y., *Nippon Rinsho.*, 21: 1201, 1963.