

## سموم جدید ویبریون وبا و اثرات بیماری زائی آنها

دکتر کیهان بانولشکری\*

تربیسین بر روی آنها بی اثر است.

ضمناً دارای خاصیت آنتی ژنیک است و پس از تزریق به حیوانات آزمایشگاه آنتی کورهای خنثی کننده ایجاد مینماید و علاوه بر آن تزریق زیر جلدی آن به حیوانات باعث ازدیاد قابلیت نفوذ مویرگهای پوستی و ازدست دادن مقدار زیادی مایع از بدن میگردد. اگر ویبریونهای جدا شده از بیماران را کشت دهند و بعد صاف نمایند و صاف شده آنها را به بچه خسر گوش تزریق کنند و بائی شبیه به وبای انسانی با اسهالهای شدید تولید مینماید. این آزمایش توسط Sack و Carpenter در سگ هم انجام شده است و باعث ایجاد اسهال شدید و ازدست رفتن مایعات در حیوان مزبور گردیده است [۴].

پس از نتیجه گیری از حیوانات آزمایشگاه، مطالعات در مورد افراد انسانی انجام شده است:

- ویبریوکلرای نوع «Inaba 569 B» را کشت داده آنتروتوکسین آنرا جدا نموده و در افراد داوطلب امتحان نمودند کلیه آنها به اسهالهای وبائی دچار شدند.

- عده ای از کارشناسان از جمله Panse و Dutta

نشان دادند که مایع صاف شده و جدا شده از مدفوع افراد مبتلی به وبا دارای فاکتور نیست که در برابر حرارت مقاوم است و با سرم افرادی که از بیماری وبا بهبودی حاصل نموده اند خنثی میشود و خواص اسهال زائی و سایر فعالیت های بیولوژیکی آنتروتوکسین را دارد و علاوه تزریق این ماده به حیوانات آزمایشگاه از قبیل سگ، حیوان را در برابر بیماری ایمن مینماید و درجه ایمنی با مقدار آنتی توکسین بوجود آمده بستگی دارد.

با وجودیکه اثرات زیان آور سم داخلی ویبریون وبا بر روی جدار روده از زمانهای خیلی قدیم توسط کخ و سایر کارشناسان معلوم گردیده است [۱] ولی مکانیسم عمل این سم و همچنین وجود و خواص سایر سموم این دسته از ویبریونها تا سالهای اخیر ناشناخته بود. مطالعات در این زمینه در چند سال اخیر شروع گردیده است و کارشناسان توانسته اند وبای حیوانی را که شباهت زیادی به وبای انسانی دارد در حیوانات آزمایشگاه ایجاد نمایند و سموم مختلف آنرا بطور خالص تهیه نمایند. و همچنین عامل ایجاد کننده اسهال و آنزیم های آنرا مورد مطالعه قرار دهند.

عامل تولید کننده اسهال که امروزه توانسته اند بطور خالص بدست آورند بنام کلراژن (Choleragen) فاکتور قابل نفوذ دهنده واسکولر (Vascular Permeability Factor) [۲] توکسین نوع ۲ کلرا (Type 2 Cholera Toxin)، آنتروتوکسین یا اگزوتوکسین خوانده میشود. روشهای مختلفی برای تهیه و جدا کردن این مواد از یکدیگر بکار رفته است ولی در هر صورت آنتروتوکسین یا اگزوتوکسین عامل ایجاد کننده علائم بالینی وبا است.

### خواص آنتروتوکسین:

در سالهای اخیر آنتروتوکسین را بطور خالص تهیه نموده و توانسته اند ترکیبات آنرا بطور دقیق از نظر شیمیائی بررسی نمایند [۳]. تمام آنها دارای قدرت ایجاد کننده اسهال میباشند و در حرارت ۵۶ درجه سانتیگراد بعضی از خواص خود را ازدست میدهند، بوسیله Pronase بی اثر میشوند و نیز

\* گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تهران

## روشهای تهیه آنروتوکسین

پس از آنکه وجود آنروتوکسین در مایعات صاف شده برای اولین مرتبه توسط De نشان داده شد کارشناسان برای تهیه آن ملاحظات دامنه داری را شروع نمودند و میکروب را روی محیط پپتون نمک دار (Peptone - Saline) کشت دادند. اغلب انواع ویبریون و با تولید آنروتوکسین مینمایند ولی مقدار آنروتوکسین ایجاد شده خیلی کم میباشد. این مقدار ناچیز در بدن علائم و با توأم با اسهالهای شدید ایجاد مینماید. نوعی که بیش از انواع دیگر در خارج از بدن تولید آنروتوکسین میکند نوع B naba 569 میباشد.

این سوش در خارج از بدن بمقدار خیلی زیاد تولید آنروتوکسین می نماید.

با تغییر دادن ترکیبات محیط کشت مقدار آنروتوکسین تولید شده متفاوت میباشد.

Lo Spalluto و Finkelstein [۵] نشان دادند که سوش Inaba 569 B در محیطی که دارای اسید کازامینو، سوکروز و املاح مختلف باشد مقدار قابل توجهی آنروتوکسین تولید مینماید و در محیطهای دیگر از قبیل محیطهای غذائی که دارای اسید آمینه و عصاره لؤلؤز باشد تا حدی میتواند آنروتوکسین تولید کند. درجه حرارت و PH محیط در ترشح آن اثر زیادی دارد. در حرارتهای پائین از قبیل ۲۰ تا ۳۰ درجه بمقدار بیشتر میتواند آنروتوکسین ایجاد کند و بهترین PH جهت تولید آن ۷ تا ۷/۸ میباشد. [۶]

محل تولید آنروتوکسین در ویبریونها بطور دقیق معلوم نیست ممکن است از سلول یا داخل سلول باشد. همچنین روشن نشده است که چه موادی باعث تحریک سلول میگرددند که ایجاد آنروتوکسین نماید ولی باید دانست که آنروتوکسین جزء مواد اصلی سلول است.

اگر سلولها را قبل از رسیدن به مرحله توقف رشد خود لیز نمایند مقدار آنروتوکسین در آنها کم یا هیچ میشود. اگر درجه حرارت کشت را در مرحله لگاریتمی پائین بیاوریم تا در رشد آن تأخیری حاصل گردد، بهمان نسبت از مقدار آنروتوکسین کاسته میشود. [۷]

چنین بنظر میرسد که آزاد شدن آنروتوکسین از داخل سلول در دو مرحله انجام میشود یکی در شروع مرحله رشد لگاریتمی که بعلت کمی سلولها مقدار آن خیلی کم است و دیگری

در انتهای این مرحله است که مقدار آن فوق العاده زیاد میباشد.

آنروتوکسین را امروزه توانسته اند بطور خالص بدست آورند. جهت خالص کردن آن از روشهای مختلفی استفاده می کنند از قبیل صاف کردن مایع محیط کشت بدون سلول از فیلترهای با منافذ درجه بندی شده متفاوت که بعداً مایع بدست آمده را توسط سفادکس کروماتوگرافی نموده اند و یا بالاخره آنروتوکسین را بوسیله سولفات دکستران و سولفات آلومینیوم رسوب داده و توسط دی اتیل آمینواتیل سفادکس کروماتوگرافی و جدا نموده اند. [۱۶]

با وجودیکه روشهای مختلفی جهت تهیه آنروتوکسین بکار رفته است ولی برای تهیه آنروتوکسین بمقدار زیاد به منظور تهیه واکسن، نمیتوان از این روشها استفاده کرد زیرا تهیه مقدار زیاد توکسوئید از یک طرف احتیاج به مواد شیمیائی زیاد و تکنیسینهای متخصص دارد [۱۵] و از طرف دیگر جلوگیری از آلودگی آن خیلی دشوار است و فقط بمقدار کم میتوان باروش ساده زیر آنرا تهیه نمود.

این روش عبارت است از جذب آنروتوکسین بداخل ژل آلومینیوم که بعداً ژل را سانتریفوژ نموده و آنروتوکسین را جدا مینمایند. [۸]

آنروتوکسینی که با این ترتیب بطور خالص بدست آمده است دارای ۸۵ تا ۹۲ درصد پروتئین و یک درصد مواد لیپیدی بوده و بدون حیدرات دو کرین میباشد. وزن مولکولی آن در حدود ۶۱۰۰۰ پیشنهاد شده بود و اخیراً وزن مولکولی آنرا ۹۰۰۰۰ تخمین زده اند [۹]. دارای خاصیت سمی بسیار شدید بوده، تزریقی داخل جلدی (۹-۱۰ mg) آن باعث تغییر قابلیت نفوذ مویرگهای پوستی شده و تزریقی مقدار ۴/۰ میکروگرم آن در خرگوش باعث جمع شدن مایع بمقدار زیاد در روده می شود [۱۰]. آنروتوکسین خالص دارای خاصیت آنتی ژنیک بوده [۱۱] و آنتی توکسین بدست آمده از فعالیت آن جلوگیری نموده خاصیت اسهال زائی آنرا خنثی مینماید و اگر آنرا با فرمالین مجاور نمایند تبدیل به آناتوکسین میشود که ممکن است در درمان بیماران مبتلی به وبا دارای ارزش زیاد باشد.

آزمایشاتی که در این زمینه در حیوانات آزمایشگاه انجام

شده نتایج بسیار درخشانی داشته است [۱۲]. با این روش شاید درآتیه بتوان انسان را درمقابل بیماری ایمن نمود. واکسن‌هایی که در حال حاضر بکار میبرند مدت ایمنی کوتاهی دارند و فعلا بر طبق پیشنهاد سازمان بهداشت جهانی اگر به واکسن‌ها توکسوئید اضافه نمایند قدرت ایمنیته واکسن زیاد خواهد شد. [۱۳ و ۱۴]

## REFERENCES

- 1- Koch R., *Arbt. Kaiser. Ges.* 3: 155. 1887.
- 2- G.F. Grady and M.C. Chang. *J. Infect. Dis.*, 121: 92, 1970.
- 3- Coleman W.H., J. Kaur, M.E. Iwert, and W. Burrows. *J. Bact.* 96: 1137-1143, 1968.
- 4- Sack, R.B., and C.C.J. Carpenter. *J. Infect. Dis.* 119: 150-157. 1967.
- 5- Finkelstein, R.A. and R.C. Hollingsworth. *J. Immun.*, 1: 468-473, 1970.
- 6- Kusama, H., and J.P., Graig, *J. Immun.*, 1: 80-87, 1970.
- 7- Richardson, S.H. *J. Bact* , 100: 27-34, 1970
- 8- P. Talbot, and G.F. Grady. *J. Infec, Dis.*, 121: 185, 1970.
- 9- Heckly and H. Wolochow , *J. Inlect. Dis.*, 121: 180, 1970.
- 10- Field, M , G. R. Plotkin, and W. Silen. *Nature* , 217: 469-471, 1968.
- 11- Purce and et al. *J. Infect. Dis.*, 121: 231-235, 1970.
- 12- Feeley, J.C., and C.O. Roberts. *Tex, Rep. Biol, Med* , 27: 213\_226, 1969.
- 13- Berky. *Bull. W.H.O.* 4: 512, 1969.
- 14- Field., *Bull. W.H.O.* 14: 414, 1969.
- 15- Andrée O., *Presse. Med.* 11: 151, 1970.
- 16- Purce., *Presse. Med.*, 6: 30, 1969.