

نامه دانشکده پزشکی

«تهران»
تحت نظر هیئت تحریریه

دکتر کمال نوری آیین ، دکتر حسین رضای ، دکتر محمد علی گل
دکتر محمد حسین دبیب ، دکتر جانشاه صالح ، دکتر حسن برزندی
دکتر صادق پوزدغزلی ، دکتر حسن منطابری ، دکتر محمد علی ششروی
دکتر سید پروا ، دکتر شمس الدین میندی ، دکتر جاکویر شوقی

رئیس هیئت تحریریه : دکتر جانشاه صالح

مونس : دکتر نصره الله کاسمی ، صاحب امتیاز : دکتر محمد شعیب
مدیر مجله : دکتر حسن منطابری ، امور اداری : نصرت الله تاجیک

سال هفدهم

تیر ماه ۱۳۳۹

شماره دهم

از کارهای بخش میکروب شناسی
دانشکده پزشکی تهران

تعیین عیار آنتی استرپتولیزین O و مقدار طبیعی آن

دراهای تهران

نگارش

دکتر فرج الله شفا

مقتصدی کرسی میکروب شناسی

محقق ویژه

استرپتوکوکهای که برای انسان بیماریزا هستند دارای چهار آنتی ژن داخلی

بنام C، M، T، R و چندین ماده مترشحه خار جی بنام اسید هیالورونیک، سماریتروژن، استرپتولیزین O، استرپتولیزین S، استرپتوکیناز، استرپتودورناز، هیالورونیداز، دی فسفوپیریدین نوکلئوتیداز، پروتئیناز و آمیلاز میباشند که همه آنها باستانی استرپتولیزین S، پروتئیناز و آمیلاز آنتی ژنیک هستند.

در بیمار بهای استرپتوککی آنتی کورهای مربوط بمواد نامبرده در خون ظاهر شده عیار آنها با پیشرفت بیماری زیاد و با بهبودی آن کاسته میشود. اندازه گیری عیار این آنتی کورها اغلب مشکل و دقیق است و احتیاج به وسایل مخصوص و شخص کار کرده دارد با وجود این در عمل از تعیین عیار آنتی استرپتولیزین O، آنتی استرپتوکیناز، آنتی استرپتودورناز و آنتی هیالورونیداز برای تشخیص استفاده میکنند. بین این آزمایشها تعیین عیار آنتی استرپتولیزین O چون ارزش تشخیصی بیشتری دارد معمولتر میباشد.

با وجود اینکه از سال ۱۹۳۲ تا کنون در تمام ممالک دنیا از این آزمایش برای تشخیص بعضی از بیمار بهای استرپتوککی مخصوصاً رماتیسم استفاده میکنند در ایران کمتر بدان توجه شده است بهمین جهت بخش میکرب شناسی دانشکده پزشکی تهران وسایل آنرا فراهم نمود و در پیرو آگهی مورخه ۲۵ آذرماه ۱۳۳۷ در شماره ۲۱ نشریه رسمی دانشکده برای اولین بار در ایران انجام آنرا شروع کرد. خوشبختانه این آزمایش مورد استقبال قرار گرفت بطوریکه روز بروز بر تعداد مراجعین افزوده میشود.

در این مقاله روش کار و ارزش تشخیصی این آزمایش برای اطلاع همکارانی که از این جانب خواسته اند تشریح میگردد این روش مخصوص بخش میکرب شناسی دانشکده پزشکی تهران است و اینجانب شخصاً آنرا تنظیم کرده ام.

وسایل و مواد

برای انجام این آزمایش وسایل و مواد زیر ضروری است:

استرپتولیزین O (۱) ، سرم اتالن (۲) کلرئیدرات دوسیستین (۳) ، فسفات دیسدیک (۴) ، فسفات مونوسدیک (۵) ، نمک طعام ، گلبول قرمز خرگوش ، لوله های همولیز ، پیپت های مدرج ۱-۲-۵-۱۰ سانتی متر مکعبی ، یخچال ، بن ماری .

روش کار

برای اندازه گیری عیار آنتی استرپتولیزین O روشهای مختلفی وجود دارد که هر کدام محاسن و معایبی دارد . روش کار ما از روش بنگاه پاستورپاریس و طریقه رانتز و باندال (۱) اقتباس شده است ولی با هر دو آنها تفاوت دارد . این روش دو مرحله دارد: اول مرحله تعیین عیار آنتی استرپتولیزین O بوسیله سرم اتالن دوم تعیین عیار آنتی استرپتولیزین O سرم بیمار یا آزمایش اصلی .

مرحله اول:- تعیین عیار استرپتولیزین O
در این مرحله عیار استرپتولیزین O را از روی سرم اتالن بطریق زیر تعیین میکنیم:

۱ - قبلا يك محلول تامپون با فرمول زیر تهیه میکنیم :

فسفات دی سدیک ۱۹٫۲۵ گرم

فسفات مونوسدیک ۳٫۵ گرم

نمک طعام ۴٫۵ گرم

آب مقطر مقدار کافی برای يك لیتر

۲ - سرم اتالن را طوری با محلول تامپون رقیق میکنیم که در هر سانتی متر مکعب آن یکواحد موجود باشد .

۳- بپردو سانتی متر مکعب استرپتولیزین O یکدهم سانتی متر مکعب محلول ۰/۳ کلرئیدرات دوسیستین میافزائیم و ربع ساعت تأمل میکنم تا رآکتیوه شود .

۴- پنج لوله همولیز انتخاب کرده در آنها سرم اتالن ، تامپون و استرپتولیزین رآکتیوه را به نسبت های زیر میریزیم و ربع ساعت در بن ماری ۳۷° حرارت نگاه میدارم .

۱- Streptolysine O

۲- Sérum etalon

۳- Chlorhydrate de cystéine

۴- PO₄Na₂H₂O, 12 H₂O

۵- PO₄NaH₂.H₂O

۶- Rantz and Bandall

سرم اتالن که یکواحد در هر ۵۵ داشته باشد.	۰.۲۵	۰.۲۵	۰.۲۵	۰.۲۵	۰.۲۵	۰.۲۵	سانتیمتر مکعب
محلول تامپون	۱۳۰	۱۳۵	۱۴۰	۱۴۳	۱۴۵	۱۴۵	»
استرپتولیزین احیاء شده	۲۰	۱۵	۱۰	۷	۵	۵	»

۵ - بهر لوله ۲۵ سانتی متر مکعب محلول ۰.۵٪ گلبول قرمز خرگوش در تامپون که قبلا سه مرتبه با سرم فیزیولوژیک شسته باشیم میافزائیم و ۴۵ دقیقه دیگر در بن ماری نگاه میداریم.

۶ - آخرین لوله ای را که بعد از آن همولیز شروع شده است تعیین میکنیم. مقدار استرپتولیزین O در این لوله معادل نیم واحد میباشد.

مرحله دوم: - آزمایش اصلی

اعمال زیر را به ترتیب انجام میدهیم:

۱ - سرم بیمار را نیم ساعت 56° حرارت میدهیم تا مکمل طبیعی آن از بین برود.

۲ - در یک لوله ۲۵ سانتی متر مکعب سرم حرارت دیده بیمار را با ۱۸۸ سانتی متر مکعب محلول تامپون مخلوط میکنیم و یک محلول $\frac{1}{11}$ تهیه میکنیم. در یک لوله دیگر نیز ۲۵ سانتی متر مکعب از این محلول $\frac{1}{11}$ را با ۲۵ سانتی متر مکعب محلول تامپون مخلوط میکنیم و یک محلول $\frac{1}{11}$ تهیه میکنیم. بالاخره در یک لوله سوم هم یک سانتی متر مکعب از محلول $\frac{1}{11}$ را با ۲۵ سانتی متر مکعب محلول تامپون مخلوط میکنیم و یک محلول $\frac{1}{11}$ بدست میآوریم.

۳ - برای هر آزمایش شش واحد استرپتولیزین O در یک لوله ریخته ۳۰ سانتیمتر مکعب از محلول سپس تثین ۰.۳٪. بآن میافزائیم و ربع ساعت تامل میکنیم تا راکتیو شود سپس حجم آنرا با محلول تامپون به ۶ سانتی متر مکعب میرسانیم تا یکواحد در هر سانتی متر مکعب داشته باشد.

۴ - برای هر آزمایش ۱۲ لوله همولیز انتخاب کرده محلولهای سرم، محلول

تامپون و استرپتولیزین ر آکتوه را مطابق جدول زیر در آنها میریزیم و پس از مخلوط کردن ربع ساعت درین ماری 37° حرارت نگاه میداریم :

بشکل زیر سانتیمتر معکب	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{500}$		
»	۰۲ ۰۱	۰۵ ۰۴ ۰۳ ۰۲ ۰۱	۰۵ ۰۴ ۰۳ ۰۲	۰۱	دیلوسیون سرم بیمار
»	۰۳ ۰۴ ۰	۰۱ ۰۲ ۰۳ ۰۴ ۰۵	۰ ۰۱ ۰۲ ۰۳	۰۴	مخلول تامپون
»	۰۵ ۰۵ ۰۵	۰۵ ۰۵ ۰۵ ۰۵ ۰۵	۰۵ ۰۵ ۰۵ ۰۵	۰۵	استرپتولیزین ر آکتیوه که یکواحد در هر CC داشته باشد
»	۲۵ ۵۰	۱۰۰ ۱۴۵ ۱۶۶ ۲۵۰ ۴۴۴	۵۰۰ ۶۲۵ ۸۳۳ ۱۲۵۰	۲۵۰۰	دیلوسیون سرم با عیار آنتی استرپتولیزین O

۵ - ۲۵ سانتیمتر معکب از سوسپانسیون ۰/۵ گلبول قرمز خرگوش در تامپون که قبلا سه مرتبه با سرم فیزیولوژیک شسته ایم میافزائیم و ۴۵ دقیقه دیگر درین ماری نگاه میداریم .

۶ - آخرین لوله ای را که بعد از آن همولیز شروع شده است تعیین میکنم و عیار آنرا از روی جدول بدست میآوریم .

بحث

اول مسائل تکنیکی

۱ - روش فوق الذکر که مخصوص بخش میکرب شناسی دانشکده پزشکی تهرانست هم بر روش «بنگاه پاستورپاریس» و هم بر روش «رانتزو باندا» مزیت دارد زیرا در روش بنگاه پاستورپاریس چون سرم بیمار بنسبت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ رقیق میشود عیارها خیلی زیاد است و جوابها تقریب زیاد دارد در صورتیکه در این طریقه سرم به نسبت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۶۶، ۲۵۰، ۳۳۳، ۵۰۰، ۶۲۵، ۸۳۳، ۱۲۵۰ و ۲۵۰۰ رقیق میشود در نتیجه فاصله عیارها کمتر و جوابها دقیق تر میباشد.

در طریقه «رانتزو باندا» هم اولاً تعیین عیار استرپتولیزین O مشکلاست و احتیاج بمقدار بیشتری استرپتولیزین O دارد ثانیاً فاصله عیار اول که ۱۲ میباشد با

عیاردوم که ۰.۵ میباشد نسبتاً زیاد است ثالثاً چون در هر لوله يك واحد استرپتولیزین ریخته میشود مصرف این ماده زیاد میباشد در صورتیکه در این طریقه اولاً تعیین عیار استرپتولیزین O آسانتر است و با کمتر از يك سانتی متر مکعب انجام میگردد ثانیاً عیار اول بجای ۱۲ از ۲۵ شروع میشود که به ۰.۵ نزدیکتر است.

ثالثاً مقدار مصرف استرپتولیزین نصف طریقه «رانترو باندال» میباشد زیرا در هر لوله نیم واحد از آن ریخته میشود.

روی هم رفته میتوان گفت که این طریقه ساده، دقیق، با صرفه و قابل اعتماد است.

۲- اگر سرم بیمار تازه و غیر آلوده باشد کلمسترل موجود در آن روی استرپتو-لیزین O که در آزمایش بکار میرود اثری ندارد ولی اگر سرم کهنه یا آلوده باشد کلمسترل بصورتی در میآید که تمام یا قسمتی از استرپتولیزین O را بی اثر میکند و جواب غلط بدست میدهد. بنابراین باید حتماً سرم تازه و غیر آلوده بکار برد و اگر آزمایش فوراً میسر نباشد باید سرم را در یخچال نگاهداشت تا وسائل فراهم گردد.

۳- اگر سرم در یخچال ۳ نگاهداری شود نه فقط از آلوده شدن آن جلوگیری خواهد شد بلکه عیار آنتی استرپتولیزین O هم تا چندین سال محفوظ و ثابت خواهد ماند.

۴- برای کنترل آزمایش همیشه باید يك سرم طبیعی و يك سرم اتالن معلوم العیار هم بعنوان شاهد در هر سری آزمایش گنجانید.

۵- محلول سیس تئینی را باید هر دفعه تازه تهیه و مصرف کرد.

۶- بجای محلول سیس تئین میتوان از هیپوسولفیت دوسود به نسبت يك در هزار برای احیاء کردن استرپتولیزین O استفاده کرد.

دوم عیار طبیعی

چون استرپتو كك در همه جای دنیا فراوانست و بیشتر مردم کم و بیش با آن آلوده هستند در سرم اشخاص سالم هم آنتی استرپتولیزین O وجود دارد بنابراین باید

در هر محل عیار طبیعی آن را در سنین مختلف تعیین کرد تا بتوان به تغییرات مرضی آن پی برد. طبق تحقیقاتی که در ایالات شمالی ممالک متحده امریکا بعمل آمده است عیار این آنتی کور در بزرگسالان جوان در حدود ۱۰۰ واحد در هر سانتی متر مکعب سرم میباشد. در نوزادان عیار آنتی کور ابتدا مساوی مادران شان میباشد ولی تا سن دوسالگی بتدریج کم میشود و ممکن است بصفر هم برسد. از دوسالگی بعد شروع بزباد شدن کرده در ۱۰-۱۵ سالگی به ۲۰۰ واحد میرسد. سپس باز کاهش یافته در جوانان و بزرگسالان به ۱۰۰ واحد میرسد و در همین حدود ثابت میماند در انگلستان طبق تحقیقات گرین عیار طبیعی سرم در بزرگسالان سالم بطور متوسط ۸۰ واحد میباشد. در تهران طبق بررسیهایی که در بخش میکروب شناسی دانشکده پزشکی توسط آقای دکتر دار تکس نهایتیان با روش «بنگاه پاستور پاریس» روی سرم ۵۰۰ نفر شخص ظاهرأ سالم بعمل آمده نتیجه باین قرار بوده است.

عیار در هر سانتی متر مکعب	تعداد	پورسانتاژ
کمتر از ۵۰ واحد	۱۸۵	۰/۳۷
۵۰ واحد	۲۱۰	۰/۴۲
۱۰۰ واحد	۱۰۵	۰/۲۱

بنابراین بطور تقریب میتوان گفت که در ۰/۸۰ اشخاص سالم عیار این آنتی کور مساوی ۵۰ واحد یا کمتر از آن و در ۰/۲۰ آنها ۱۰۰ واحد میباشد. متأسفانه در این بررسی تعیین سن و محل اقامت صاحبان سرم مقدور نبوده است.

سوم عیارهای غیر طبیعی

اولین بار، تاد (۶) در ۱۹۳۱ متوجه شد که عیار آنتی استرپتولیزین ۰ در دوره شدت و عود رماتیسم زیاد شده و در مواقع خاموشی بیماری پائین میآید. نظریه او را دیگران (۱ و ۳) نیز تأیید کردند. بررسیهای بعدی نشان داد که عیار این آنتی کور در مغممک و آتوزین استرپتو ککلی هم بالا میرود با این تفاوت که در این دو بیماری دوسه هفته بعد از شروع عیار جدا کتر خود میرسد در صورتیکه در رماتیسم

چهار هفته یا بیشتر طول میکشد تا عیار جدا کتر برسد (۱، ۴، ۷).

طبق بررسیهای گرین (۵) در انگلستان عیار این آنتی کور در اشخاص سالم و مبتلایان به رماتیسم، مخمک و آنژین استرپتو ککی بطور متوسط باین قرار بوده است:

اشخاص سالم ۷۹ واحد در هر سانتی متر مکعب

»	»	۲۶۳	مبتلایان به فر نژیت
»	»	۳۰۰	» به مخمک
»	»	۳۰۰	» به رماتیسم خاموش
»	»	۴۴۴	» بر رماتیسم حاد

در کودکان مبتلا به رماتیسم حاد گاهی عیار این آنتی کور به ۲۵۰۰ واحد

هم میرسد.

چهارم تفسیر جوابها

در تفسیر جواب این آزمایش نکات زیر را باید در نظر گرفت.

۱ - گاهی در رماتیسم عیار این آنتی کور بالا نمیرود و در حدود طبیعی باقی

میماند بنا بر این طبیعی بودن عیار تشخیص رماتیسم را رد نمیکند.

۲ - چون ممکن است عیار این آنتی کور در اشخاص سالم زیاد و در مبتلایان

بر رماتیسم یا سایر بیماریهای استرپتو ککی کم باشد یکمرتبه آزمایش کافی نیست و همیشه باید دوسه مرتبه آنرا انجام داد و تغییرات عیار آنرا در نظر گرفت.

۳ - چون تا شش ماه بعد از بهبودی هر عارضه استرپتو ککی عیار استرپتو-

لیزین O بالا خواهد ماند نباید فقط بدلیل بالا بودن عیار این آنتی کور هر دردی را بر رماتیسم نسبت داد.

۴ - عیارهای خیلی کم یا خیلی زیاد بیشتر از عیارهای متوسط به تشخیص

کمک میکند زیرا عیار کم تشخیص رادر و عیار زیاد آنرا تأیید مینماید در صورتیکه عیار متوسط ممکن است طبیعی باشد.

۵ - گاهی در گلو مرولو نفریت و آرتریت روماتوئید هم عیار این آنتی کور بالا می‌رود ولی هیچگاه باندازه رماتیسزم زیاد نمی‌شود.

شماره

۱ - روش جدیدی برای تعیین عیار استرپتولیزین O سرم تنظیم و تشریح شده است .

این روش ساده ، دقیق ، با صرفه و قابل اعتماد است .

مرحله اول این روش از طریقه «بنگاه پاستور پاریس» و مرحله دوم آن از طریقه «رانتزو باندال» اقتباس شده و بر هر دو طریقه مزیت دارد .

۲ - عیار طبیعی آنتی استرپتولیزین O در سرم بانصد نفر شخص سالم تعیین شده و ارقام زیر بدست آمده اند :

کمتر از ۵۰ ، واحد ۰/۳۷ ، ۵۰ ، واحد ۰/۴۲ ، ۱۰۰ ، واحد ۰/۲۱ .

۳ - مسائل تکنیکی ، عیارهای مرضی و تفسیر جوابها مورد بحث قرار گرفته اند .

درخاتمه از آقای دکتر وار تکس نهایپتیان که زحمت انجام بانصد آزمایش را در سرم اشخاص سالم تحمل نموده و باز کر نتیجه آن در این مقاله موافقت فرموده اند تشکر مینمایم .

Summary

Antistreptolysine O titration and its normal value in Tehran population
by

F. Shafa , M.D. , Ph.D.

Department of Bacteriology Faculty of Medicine, Tehran University

1) A new technique has been devised for antistreptolysine O titration.

The first stage of this technique has been borrowed from that of Pasteur Institute of Paris , and the second stage is a modification of Rantz and Bandler method. It is simple , precise , economical and reliable .

2) Antistreptolysine O titre of 500 normal serum have been determined

and the following figures have been found as the average titre in healthy subjects in Tehran population :

Less than 50 units/ml.	37.7
50 units/ml.	42.7
100 units/ml	21.7

3) Technical problems , pathological titres and the interpretation of results have been discussed .

References

- 1) Coburn, A.F. (1936), *Lancet* ii, 1025
- 2) Coburn, A.F. , and Pauli , R.H. , (1932) , *J. Exp. Med.* , 56,651.
- 3) Coburn , A.F. anc Pauli , R.H. (1935) , *J. , Exp Med* , 62 ,129
- 4) Coburn , A.F. , and Pauli, R.H , (1939) *J. clin. invest.* ,18, 141.
- 5) Green , C.A. ,(1941)*J. Path. Bact.* , 53 , 223 .
- 6) Todd , E.W , (1932) , *Brit. J. Exp. Path.* 13 , 248 .
- 7) Todd , E.W. , Coburn , A.F. , and Hill , A.B. , (1939) , *Lancet* ii , 1213.
- 8) Rantz , L.A. , and Bandall , (1945) , *Proc. soc. Exper. Biol. and Med.* , 59 , 22 .