

نامه دانشکده پزشکی تهران

آذر ماه ۱۳۴۵

شماره سوم از سال بیست و چهارم

جستجو ما و گردآوری علمی

دکتر حسن میردامادی

پیشنهاد یک روش نوین برای آزمایش آگلوتی ناسیون بر مصل «آزمایش رایت»

از کارهای بخش ایمنوواژی - دانشکده پزشکی

آگلوتی ناسیون یکی از ساده ترین و گاه تنها راه تشخیص برخی از بیماریهای باکتریایی - ویروسی - قارچی و بیماریهای وابسته بانگلههاست زیرا وسایل دیگر تشخیص بسیاری از بیماریهای میکروبی انسانی پیوسته در دسترس همگان قرار ندارد.

البته در همه موارد نمیتوان برای تشخیص از آگلوتی ناسیون استفاده نمود بلکه برای تشخیص از راه آگلوتی ناسیون شرایطی چند لازم است که در زیر بچند فقره آنها اشاره میشود:

- ۱- میکروبی که برای این آزمایش بکار میرود باید آگلوتی ناسیون پذیر باشد و در همانحال براثر گرسی یا خود بخود آگلوتی ناسیون پیدا نکند.
- ۲- آگلوتی نین زود و بمقدار قابل تشخیص در خون بیمار پیدا شود.

۳- میکروب و روش آزمایش استاندارد و قابل اطمینانی برای آگلوتی ناسیون در دسترس باشد. بفرض که عامل اول و دوم یعنی میکروب برای آگلوتی ناسیون شایسته باشد و آگلوتی نین هم زود در سرم بیمار پیدا شود، اما عامل سوم و باروش آگلوتی ناسیون باید درست باشد تا نتایجی که بدست می آید قابل اطمینان گردد.

همه میدانند که واکنشهای آگلوتی ناسیون بچهار روش ممکن است انجام شود:

۱- روش قطره‌ای یا میکروسکوپی.

۲- روش لوله‌ای و غیرسریع.

۳- روش لوله‌ای و سریع.

۴- روش کومبس.

بی آنکه بخواهیم در اینجا وارد تفصیل شویم اجمالاً یادآور میشویم که:

۱- در روش قطره‌ای سریع - مخلوط بسیار غلیظ میکروب و یاسلول‌های دیگر را با سرم مجاور ساخته و چند دقیقه آنرا حرکت میدهند و پس از آن نتیجه را با میکروسکوپ و درشت نمائی کم می بینند.

۲- در روش لوله‌ای غیرسریع مخلوط رقیق آنتی ژن را با مقداریر مختلف سرم درآمیخته چند ساعت آنرا در گرمی 37° نهاده نتیجه را یادداشت می نمایند.

۳- در روش لوله‌ای و سریع مخلوط آنتی ژن و سرم را چند دقیقه در دستگاه سانتریفوژور می چرخانند و بعد رنگ پس از چرخاندن نتیجه را می بینند. هر چند برای بسیاری از واکنشهای آگلوتی ناسیون روشهای مشخص و معین و یکنواختی در دسترس است اما بدبختانه برای واکنشهای آگلوتی ناسیون که برای تشخیص انفکسیونهای بروسلی انجام میشود (آزمایش رایت). هیچ روشی نمیتوان یافت که معایر آن در کتاب دیگر یا مجله دیگر پیدا نشود. - در یک کتاب روش 48 ساعت گرمی 37° توصیه شده است در جای دیگر 24 ساعت گرمی 52° پیشنهاد گردیده است. - برخی روش سانتریفوژرا توصیه نموده اند. - برخی فقط گرمی هوای آزمایشگاه را برای این آزمایش متناسب تشخیص داده اند.

برخی توصیه میکنند که سرم نیمساعت در 4° گرم شود تا عامل تغییر پذیر کمپلمان از میان برود و پیوسته سروکار با سرمی باشد که خصوصیات تقریباً ثابتی داشته باشد.

برخی دیگر برای جلوگیری از پدیده منطقه‌ای اجرای آزمایش را در محلولهای پرتوان (هیپرتونیک) نمک پیشنهاد نموده اند و بالاخره کومبس چنین پنداشته است که وجود پادتنهای بندآور (Blocking antibody) سبب توقف آگلوتی ناسیون در همه لوله‌های محتوی محلول‌های مختلف سرم و گاه در برخی از آنها میگردد.

این اختلاف نظرهای بسیار که درباره روش انجام آزمایش رایت بر حسب نظریه

کارشناسان مختلف وجود داشت ما را در چند سال پیش وادار ساخت که از روش چرخاندن و گرسی ۳۷° با سرسی که پیشاپیش نیمساعت بمیزان ۵۶° گرم شده باشد استفاده کنیم تا بدین ترتیب عوامل مؤثر در پیشرفت آگلوتی ناسیون و جلوگیری از پدیده منطقه ای و تأثیر پادتنهای ناقص را یکجا بکار بسته باشیم. هر چند این روش نتایج نیکوئی از نظر جلوگیری از پدیده پادتنهای ناقص در برداشت اما عیب بزرگی که این روش پیدا کرد افزایش تعداد موارد مثبت ضعیف و ایجاد شکم و تردید برای پزشک در تفسیر جوابهای آزمایش بود.

بهمین جهت از دو سال پیش بفرافتادیم این روش را نیز تغییر دهم و روشی را که حساسیت آن باندازه باشد یعنی جوابهای مثبت ضعیف و یا مثبت های نادرست کمتر بدست دهد در پیش گیریم بهمین جهت روش چرخاندن در سانتریفوژور مخلوط سرم و میکروب را کنار گذاشته و مخلوط را دو ساعت در گرسی ۴۵° و ۲۲ ساعت در گرسی آزمایشگاه قرار داده سپس نتیجه را یادداشت نمودیم.

نتایجی که از این تغییر بدست آمده از این جهت جالب است که از تعداد موارد ضعیف مثبت $\frac{۱}{۳۰}$ - $\frac{۱}{۴۰}$ و حتی $\frac{۱}{۸۰}$ آزمایش که بسیار اسباب زحمت پزشک از نظر تشخیص میشود و گاه ممکن است واقعاً مربوط به هیچ عاملی از جنس آگلوتی نین نباشد از میان رفته و یا بسیار کاهش یافته است.

چند سال پیش مقاله ای منتشر نمودیم و از وجود تب مالت بصورت مخفی در ایران بحث نمودیم و آماری نیز از نتایج مثبت ضعیف و یا مثبتهای متوسط و قوی آزمایش رایت بر سرمهایی که از بیمارستانها برای آزمایشهای سری سیفیلیس (بنابراین بدون کمترین تردید در خصوص وجود بروسلاوز) فرستاده بودند منتشر کردیم.

با در نظر گرفتن نتایج آزمایش رایت که بر سرم اشخاص بی تب و بدون تشخیص تب مالت فرستاده شده بود همچنین آزمایش افراد مشکوک بداشتن تب مالت که بوسیله سریع چرخاندن مخلوط آنتی ژن و سرم بمدت ده دقیقه با سرعت دو هزار دور انجام گردید و نیز مقایسه نتایج آن با روش جدید و کاهش تعداد موارد مثبت ضعیف سزیت روش پیشنهادی بخوبی نشان داده میشود.

تردید نیست که چرخاندن و یا بطور ساده حرکت دادن مخلوط آنتی ژن و سرم دارای آگلوتی نین سبب سرعت یافتن آگلوتی ناسیون میگردد اما باید در نظر داشت که مخلوط میکروبی الزاماً یک تعادل کولوئیدی حقیقی ندارد و از این جهت کم و بیش بر اثر حرکت و مخصوصاً چرخیدن خواه ناخواه میکروبوها یکدیگر چسبیده و منظره ای شبیه آگلوتی ناسیون بخود میگیرند. اکنون باید در نظر بگیریم که در خون افراد مخصوصاً آنهایی که آسیبهایی در کبد

ویا در مغز استخوان و مپرز و جاهای دیگر بدن دارند پادتنهای خودی ممکن است یافت شود و این پادتنهای خودی که خواه ناخواه در آنها آگلوتینی نیز وجود دارد ممکن است سبب این آگلوتینی ناسیون های غیر اختصاصی گردند و بر طبق فرضیه های اسروزی سبب پیدایش مثبتهای غلط در واکنشهای سرمی سیفیلیس مانند واسرمان ویا آزمایش V.D.B.L. نیز گردند. گذشته از این میدانیم که برخی از محلولهای کولوئیدی مانند سرم همینکه بیک مخلوط میکروبی کاملاً پایدار افزوده شود همین خود سبب بهم خوردن تعادل مخلوط کولوئیدی گردیده و در نتیجه فلوکولاسیون میشود بنابراین طبق تجربیاتی که بدست آمده چون چرخاندن مخلوط در سانتریفوژ گاه سبب پیداشدن جوابهای مثبت غلط میگردد و از طرفی گرمی 52° بمدت ۲۴ ساعت که برخی از کارشناسان توصیه نموده اند مقدار زیادی از آگلوتینی نین سرم را خواه ناخواه از میان بر میدارد بنابراین گرمی 50° بمدت دو ساعت برای این واکنش پیشنهاد میشود.

در اینجا باید بناچار اشاره نمود که این دو مقایسه یکی مربوط بسالهای ۴۲ و ۴۳ و دیگری وابسته بسالهای ۴۴ و ۴۵ است و میتوان گفت که در این دو سال مختلف اشاعه بیماری بروسلوز در ایران چندان فرق نداشته است.

با وجود این میدانیم که در آن دو سه سال اخیر هیچ گونه اقدام چه کوچک و چه بزرگ برای کاهش موارد بروسلوز مانند مایه کوبی داسها با واکنش ضد بروسلا ویا نابود کردن حیوانات مبتلا بعمل نیامده و از این جهت دلیلی نداریم که تصور کنیم اشاعه بیماری بروسلوز در این دو سال باهم الزاماً باید تفاوت داشته باشد.

مقایسه آزمایش آگلوتینی ناسیون رایت بروش ده دقیقه چرخش دوهزار دور و دیگری پس از دو ساعت گرمی 50° در ۲ ساعت گرمی آزمایشگاه :

روش چرخش	مثبت از $\frac{1}{40}$ تا $\frac{1}{80}$	مثبت از $\frac{1}{60}$ تا $\frac{1}{100}$	مثبت از $\frac{1}{40}$ تا $\frac{1}{100}$	مثبت از $\frac{1}{40}$ تا $\frac{1}{100}$
روش چرخش	۳۳۹ (۷۶٪)	۳۰ (۱۲/۵٪)	۱۹ (۸٪)	۲۵ (۱۰٪)
روش 50°	۲۶۷ (۸۵٪)	۱۹ (۷۱٪)	۱۰ (۳۰٪)	۱۷ (۶/۳٪)

نتیجه- برای تشخیص بروسلوز از راه آگلوتینی ناسیون بهتر است از سرم تازه و گرم نشده استفاده شود و مخلوطهای آنتی ژن و سرم را ۲ ساعت در گرمی 50° ۲۲ ساعت در حرارت آزمایشگاه گذارند چرخاندن مخلوط سرم و آنتی ژن بید رنگ و یا نیم ساعت پس از در آمیخته شدن آندو سبب بدست آمدن مثبتهای غلط میگردد و مخصوصاً هرگاه در نظر گرفته شود که برای تشخیص بروسلوز انسانی که خود غالباً بصورت مزمن جلوه گر میشود شتاب لزومی ندارد مزیت این روش بخوبی ثابت میگردد.

مآخذ و مدارك:

- 1- Clinical Serology (1966) Clois W, Bennett, Charls C. Thomas, Illinois U. S. A.
- 2- Approved Laboratory Technic (1952) J. Kohmer, H. K. Lewis & Co Ltd. London
- 3- Immunology for medical students (1964) J. H. Humphry and R.G. White; Blackwell Scientific publishers Oxford
- 4- Clinical Laboratory Methods and Diagnosis R. B.H. Gradwohl (1948) Henry Klimpton, London
- ۵- بوارد سخنی بروسلوز در ایران - شماره ۳ سال ۱۷ مجله دانشکده پزشکی ۱۳۳۸.
- 6- Mirdamadi M. Essai sur l'epidemiologie de la Brucellose en Khor - assan (1963) Revue Medicale du Moyen Orient. 20^{ème} Annee - No 4
- 7- Mirdamadi H. La Brucellose latente en Iran (1963) Revue Medical du Moyen Orient - 20^{ème} Annee No 4
- 8- Renoux G. Quelques idees sur la Brucellose, en particuliere la brucellose humaine, Revue Medical du Moyen Orient (1963) Annees 20, No 4
- 9- Coombs, Murant & Race (1945) Brit. Jour. Exp. Patho. 26 - 255.