

نامه دانشکده پزشکی

«تهران»

تحت نظر مدیریت تحریریه

دکتر کمال‌الدین آیین ، دکتر حسین رضای ، دکتر محمد علی گل
دکتر فرید حسن بیب ، دکتر جانشاه صالح ، دکتر حسن برادر ،
دکتر مصدق پور ذریغی ، دکتر حسن مشایر ، دکتر محمد علی شردوی
دکتر عیسی پویا ، دکتر حسن آیین یمنی ، دکتر جابگیر ذوقی

رئیس هیئت تحریریه : دکتر جانشاه صالح

مؤسس : دکتر نصره الله کاسمی ، صاحب امتیاز : دکتر محمد شتی
میرجلد : دکتر حسن مشایر ، سردار اداری : نصرت الله تاجیک

شماره اول

مهر ماه ۱۳۳۸

سال هفدهم

از کارهای بخش سرم‌شناسی
دانشکده پزشکی

دوام و صلاحیت استعمال امولسیون آنتی ژن V.D.R.L.

نگارش

دکتر حسن میر دامادی

دکتر حسین سعادت زاده

استاد کرسی و رئیس بخش
سرم‌شناسی

دستیار بخش سرم‌شناسی

هر چند آزمایش واسرمن و سایر واکنش‌های ثبوت منکمل که برای تشخیص سیفیلیس در سرم خون مبتلایان بعمل می‌آید روش‌های پسندیده و اطمینان بخشی

✽ - تحقیق فوق مشترکاً توسط دکتر حبیب‌الله جریری دستیار افتخاری سابق سرم‌شناسی و دکتر سعادت زاده دستیار بخش سرم‌شناسی انجام شده است .

است اما چون تهیه مقدمات آنها از قبیل سرم خو کچه هندی و سرم همولیتیک و گلبول سرخ گوسفند عملاً اشکالاتی دارد که در مواقع سخت و یادر نقاط دور افتاده فراهم کردن آنها دشوار است لذا همیشه و همه جا نمیتوان آنها را باسانی انجام داد. بنابراین از همان اوان که دانشمندان درباره واسرمن کاوش میکردند عده‌ای نیز بجهتجوی روشهای ساده‌تری که در همه جا و همه موقع عملی باشد میپرداختند از آنجمله میکائلیس (۱) و سایرین در سال ۱۹۰۷ نکته‌را که زیگموندی در متوقف ماندن فلو کولاسیون (۲) مخلوطهای کولوئیدی بوسیله افزایش مواد آلبومینی بآن دریافتی بود درباره سرم و مایع نخاع سیفیلیسی نیز تجسس نمودند و پی بفلو کولاسیون شیره الکلکی جنین سیفیلیسی در مجاورت سرم سیفیلیسی بردند. بعدها در نتیجه پیشرفتهای روز افزونی که در این راه نصیب کارشناسان سرم‌شناسی از جمله مای نیکه و زا کس گورگی و ورن بوسیله شیره الکلکی اندام شد بویژه افزایش صمغ باین آنتی‌ژنها که توسط دلد برای بهتر نمایان ساختن فلو کولاسیون بعمل آمد مقام مهمی در سرم‌شناسی سیفیلیس برای این آزمایشها باز کرد و آنها را در ردیف واکنش واسرمن قرار داد.

در این چند سال اخیر افزایش کاسترین بشیره الکلکی اندام بدن و حساسیت بخشیدن بیشتری به آنتی‌ژن سبب شد که کارشناسان مختلف مانند مولر و کان و زا کس و اینگل و مازینی و وی تبسکی بر اساس فلو کولاسیون آزمایشهایی بمیان آوردند که حساسیت آنها حتی بالاتر از واکنشهای ثبوت مکمل است.

سرانجام بسال ۱۹۴۱ کار دیولیبین (۳) کشف گردید و در نتیجه پیدایش این فسفولیپید (۴) که ماده عامله و مؤثر در آنتی‌ژنهای آزمایشهای فلو کولاسیون است موجب شد رآکسیونهایی مانند آزمایش V.D.R.L. و کلابین که نتایج آنها در عین حساسیت اختصاصی‌تر از آزمایشهای نامبرده پیش است بمیان آید.

۱- Michaelis

۲-Flocculation

۳- Cardioliipin

۴- Phospholipid

۵- Venereal Disease Research Laboratory

تاریخچه آزمایش V.D.R.L.

این آزمایش بسال ۱۹۴۸ توسط آزمایشگاه بهداشت بیماریهای مقاربتی آمریکای شمالی جزء آزمایشهای رسمی کشور قرار گرفت که چون آسانی انجام آزمایش و درستی نتایج آن بویژه در موارد امتحان دسته جمعی از نظر همه گیر شناسی (۱) مزیتی بر سایرین داشت در ایران هم رواج یافت بطوریکه تقریباً نمیتوان از آن صرف نظر کرد.

طرز تهیه امولسیون آنتی ژن و صلاحیت استعمال آن:

آنتی ژن این آزمایش محلول الکلی معینی مرکب از کاردیولیمین و کلسترل و لسیتین است که کاملاً استاندارد (۲) شده از این جهت نتایج آن همیشه ثابت و یکنواخت میماند. در موقع احتیاج با محلول نمکی تامپوندار (۳) که دارای یک درصد کلرورسدیم است بروش زیر بصورت امولسیون یک درده در آورده در آزمایش یکار میبرند: ۴. سانتی متر مکعب محلول نمکی تامپوندار را در یک شیشه ۳۰ سانتی متر مکعبی پاک و قهوه رنگ که دارای درکائوچو کی پیچ دار باشد میریزیم سپس نیم سانتی متر مکعب از آنتی ژن و در حالی که پیپت را در $\frac{1}{4}$ فوقانی شیشه گرفته و شیشه را در یک سطح صاف حرکت دورانی میدهم در مدت شش ثانیه قطره قطره میافزائیم بطوریکه مایع درون شیشه نوک پیپت را آلوده نکند. پس از ریختن آخرین قطره آنتی ژن ده ثانیه دیگر بحرکت شیشه ادامه میدهم سپس ۴ سانتی متر مکعب محلول نمکی تامپوندار یکجا و یک مرتبه بشیشه میافزائیم بعد سر شیشه را بسته و بین دو انگشت ده ثانیه حرکت نسبتاً شدید میدهم. بدین ترتیب امولسیون آنتی ژن یکنواخت گردیده برای آزمایش آماده است. این مخلوط طبق دستور واضعین این آزمایش فقط یک روز قابل استفاده است و برای آزمایش ۲۵۰ نمونه سرم کافی می باشد. نکته جالبی که موجب تحقیقات بخش سرم شناسی دانشکده پزشکی درباره امولسیون آنتی ژن V.D.R.L شده است همین دو جمله اخیر میباشد. زیرا در عمل اشکال بزرگی برای آزمایشگاهها بویژه آنهایی که بیش از چند راکسیون در روز

ندارند پیش می‌آید و آن بی‌حاصل ماندن قسمت اعظم آنتی‌ژنی است که تهیه کرده‌اند. چون از طرفی نمیتوان آنتی‌ژن را کمتر از مقداری که در بالا یاد شد تهیه کرد و از طرف دیگر طبق دستور استعمال امولسیون آنتی‌ژن نمیشود آنرا بیش از یکروز بکار برد. بنابراین گذشته از گرانی آنتی‌ژن که ضرر مالی بهار می‌آورد زحمتی که نیز برای تهیه کاردیولپین که خود استخراجش گران و مشکل است کشیده شده بهدر میرود. لذا ما برای تحقیق دوام اثرات امولسیون آنتی‌ژن مقایسه‌ای از اثرات آنتی‌ژنی که بمدتهای متفاوت مانده بود با آنتی‌ژن تازه تهیه شده بعمل آوردیم و نتایج حاصل شده از آن را در ذیل مینگاریم.

ضمناً لازم است برای بیان مطلب ابتدا بشرح مختصری از روش آزمایش و نکات قابل توجه آن و سپس بذکر نتایج مقایسه بپردازیم:

نکات لازم:

محلول الکلی آنتی‌ژن V.D.R.L را در شیشه‌های قهوه‌ای رنگ سر بسته در هوای آزمایشگاه نگهداری میکنیم اگر در آن رسوبی پیدا شود نبایستی بکار ببریم. هنگام آزمایش طبق شرح فوق با محلول نمکی تامپوندار که شیشه سر بسته آن در یخچال نگهداری میشود بصورت امولسیون در می‌آوریم و برای نگهداری امولسیون شیشه سر بسته آنرا در طبقات ۶ تا ۸ درجه یخچال قرار میدهیم و در موقع رآکسیون بوسیله سرنگ ۱-۲ سانتی‌متر مکعبی و سوزن کالیبر ۲۲ آمریکائی که هر یک سانتی متر مکعب را ۶۰ قطره میریزد و هر قطره آن برای یک رآکسیون کافی است آنتی‌ژن را تقسیم مینمائیم. ضمناً بایستی برای کنترل آنتی‌ژن یک سرم مثبت و منفی معلوم را در هر سری رآکسیون امتحان نمود تا اگر ذرات آنتی‌ژن بنظر درشت‌تر از معمول رسیدند آن آنتی‌ژن را بکار نبریم.

طرز اجرای آزمایش V.D.R.L.

این آزمایش هم در سرم و هم در مایع نخاع قابل اجرا است و میتوان آنرا هم روی لام و هم در لوله انجام داد.

الف - آزمایش سرم

اول - آزمایش روی لام :

۱- آزمایش کالیتایف (۱) : ۰.۵ ر. سانتی متر مکعب سرم حرارت دیده (۶۵ درجه نیمساعت) را با یک قطره $\frac{1}{40}$ سانتی متر مکعب امولسیون آنتی ژن در لامهای حفره دار مخصوص ریخته چهار دقیقه در رتاتور (۲) که ۱۲۰ دور در دقیقه میچرخد یا روی سطح صافی حرکت دورانی میدهم آنگاه با درشت نمائی ۱۰۰ میکروسکوپ نتیجه را بدین ترتیب میبینیم :

بلورهای ریز و یکدخت کلسترل یا فلو کولاهای مشکوک در حکم منفی ، فلو کولاهای کوچک نشانه مثبت ضعیف ، فلو کولاهای متوسط یا درشت دال بر مثبت قوی بودن سرم است .

برای جلوگیری از فنومن منطقه‌ای (۳) که بصورت فلو کولاسیون نامنظم و دانه‌های پنبه‌ای شکل پدید میآید سرم را بنسبت $\frac{1}{5}$ تا $\frac{1}{45}$ رقیق کرده با هر یک آزمایش کالیتایف بعمل میآوریم با محلولی که آزمایش از همه واضحتر مثبت شود همان محلول را یادداشت مینمائیم .

۴- آزمایش کانتیتایف (۴) سرم حرارت دیده را با آب نمک ۹ در هزار بنسبت

$\frac{1}{4}$ و $\frac{1}{8}$ و $\frac{1}{12}$ و رقیق کرده با هر یک آزمایش کالیتایف انجام میدهم . رقیق ترین محلولی که آزمایش مثبت قوی نشان میدهد عکس نسبت رقت آن واحد را آژین (۵) خواهد بود .

دو - آزمایش در لوله :

۱- آزمایش کالیتایف : امولسیون آنتی ژن را به نسبت یک حجم با چهار حجم

آب نمک یک درصد حداقل پنج دقیقه حداکثر دو ساعت قبل از آزمایش مخلوط میکنیم .

۱ - Qualitative

۲ - Rotateur

۳ - Zonal reactions

۴ - Quantitative

۵ - Reagine

در لوله نظیر لوله کان (۱) نیم سانتی متر مکعب سرم حرارت دیده را با نیم سانتی متر مکعب مخلوط آنتی ژنی فوق میریزیم پس از پنج دقیقه حرکت در آژیتاتور (۲) کان ده دقیقه سانتی فوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه نموده مجدداً یک دقیقه در آژیتاتور کان حرکت داده نتیجه را با چشم جلوی روشنائی میبینیم.

فلو کولاهای واضح دلیل بر مثبت بودن مایع تیره با موج ذرات آنتی ژن دال بر منفی بودن سرم است.

۴. آزمایش کانتیتایف : سرم حرارت دیده را با آب نمک ۹ هزار در حجم نیم سانتی متر مکعب به نسبت $\frac{1}{4}$ و $\frac{1}{4}$ و $\frac{1}{8}$... رقیق کرده با هر یک از آزمایش کالیتایف بعمل میآوریم. رقیق ترین محلولی که فلو کولاهای واضح داشت معرف واحد آژین آن سرم خواهد بود.

ب- آزمایش مایع نخاع

۱- آزمایش کالیتایف : امولسیون آنتی ژن را به نسبت مساوی با آب نمک ده درصد حد اقل پنج دقیقه وحد اکثر دو ساعت قبل از آزمایش مخلوط میکنیم. مایع نخاع صاف وزلال را نیز قبلاً سانتی فوژ نموده رویه آنرا گرفته یک ربع در بن ماری ۵۶ درجه میگذاریم پس از سرد شدن در لوله های نظیر لوله کان یک سانتی متر مکعب از این مایع نخاع حرارت دیده را با ۲ر. سانتی متر مکعب مخلوط آنتی ژنی فوق میریزیم پس از پانزده دقیقه حرکت در آژیتاتور کان پنج دقیقه سانتی فوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه نموده مجدداً دو دقیقه در آژیتاتور کان حرکت داده نتیجه را با چشم جلوی روشنائی می بینیم.

وجود فلو کولاهای واضح دلیل مثبت بودن مایع تیره با موج ریز آنتی ژن دال بر منفی بودن مایع نخاع است.

۴. آزمایش کانتیتایف: مایع نخاع حرارت دیده را با آب نمک ۹ در هزار در حجم یک سانتی متر مکعب به نسبت $\frac{1}{4}$ و $\frac{1}{4}$ و $\frac{1}{8}$... رقیق کرده با هر یک آزمایش

کالیتایف بعمل می‌آوریم. رقیق ترین محلولی که فلو کولاهای کاملاً واضح داشت معرف واحد راژین مایع نخاع خواهد بود.

روش مقایسه:

چنانکه قبلاً نیز اشارت شد برای بررسی اثر دوام امولسیون آنتی ژن V.D.R.L یکسری امولسیونهای آنتی ژنی با تاریخ تهیه کرده در طبقات ۶ تا ۷ درجه یخچال نگهداری مینمودیم و از انواع مختلف این امولسیونها مرتباً در روزهایی که رآکسیون با آنتی ژن تازه تهیه شده در سرویس انجام میشد ما نیز یک سری آزمایش پایهای آن بترتیب زیر ازهر آنتی ژنی که یکروز، سهروز، پنجروز، هفت روز، دهروز در یخچال مانده بود بعمل می‌آوردیم. ضمناً در هر نوبت برای کنترل آنتی ژن تازه و مانده با یک سرم مثبت و منفی معلوم نیز آزمایش انجام میشد.

بطور کلی در مدت چهار ماه از تاریخ ۳۷٫۹٫۳۰ تا ۳۸٫۱٫۲۵ جمعاً تعداد ۱۱۰۷ نمونه آزمایش با امولسیونهای متفاوت مانده آنتی ژن انجام گردیده که در جدول زیر نمایانده شده است.

ملاحظات	نتیجه مقایسه با جواب آنتی ژن تازه	جمع کل	تعداد سرم آزمایش شده			امولسیون آنتی ژن مانده بر حسب ۲۴ ساعت
			مثبت قوی	مثبت ضعیف	منفی	
ذرات آنتی ژن یک نواخت است	موافق	۱۶۰	۱۱	۱۰	۱۳۹	یکروزه
«	«	۲۹۶	۱۶	۳	۲۷۷	سهروزه
«	«	۱۴۶	۱۳	۶	۱۲۷	پنجروزه
«	«	۲۶۵	۱۵	۱۸	۲۳۲	هفتروزه
ذرات آنتی ژن درشت است	ناموافق	۲۴۰	۱۸	۱۵	۲۰۷	دهروزه
-	-	۱۱۰۷	۷۳	۵۲	۹۸۲	جمع کل

جدول مقایسه نتایج امولسیون تازه آنتی ژن V.D.R.L با امولسیونهایی که مدت‌های مختلف در حرارت ۶-۸ درجه مانده است نسبت به ۱۱۰۷ سرم مثبت و منفی

خلاصه و نتیجه :

از مجموع ۱۱۰۷ آزمایشی که بر سرمهای مثبت و منفی با امولسیون آنتی ژنهای که پیوسته در حرارت ۳۶ تا ۳۸ درجه بالای صفر بمدتهای متفاوت زیر : يك؛ سه؛ پنج؛ هفت؛ ده روز نگهداری میشده و با مقایسه با آنتی ژن تازه تهیه شده بعمل آمده است باین نتیجه رسیدیم که هیچگونه اختلافی تا آنتی ژن هفت روز مانده مشهود نیست بنابراین آزمایشگاههای شخصی میتوانند (بشرط آنکه آنتی ژن پایدار و باندازه کافی حساس بیابند) امولسیون آنتی ژن V.D.R.L را فقط تا هفت روز در شرایط صحیح نگهداری نموده روزانه از آن استفاده نمایند. از هفت روز به بعد آنتی ژن صلاحیت استعمال خود را بکلی از دست میدهد. البته باز هم بعنوان احتیاط باید همیشه همراه با هر ردیف آزمایش يك سرم مثبت و منفی معلوم نیز بعنوان بازرسی درستی فعالیت آنتی ژن آزمایش نمود.

Bibliographie

مآخذ و مدارك

1- Manual of serologie tests for syphilis 1949 - Supplement no22
The journal of venreal

۲- تاریخچه فلو کولاسیون سرم شناسی د کتر میردامادی

۳- دفاتر بخش سرم شناسی دانشکده پزشکی تهران .

Cnclusion

The V.D.R.L. test antigen emulsion doses not held its original capacities of reacting with positive sera after a day of the preparation according to the technic .

In order to Prove if the antigen emulsions aging more than a day may be used safly in the V.D.R.L. test, this experiment was carried out .

1107 negative and positive sera were submitted to the V.D.R.L. slid test in duplicate with with fresh antigen emulsion and emulsions aging 1-3-5-7 and 10 days respectively .

It was found that up to seven days the antigen emulsion keep allways in 6° - 8° - c. held its original qualities of reacting with positive sera, on 10th . day the antigen emulsion is no more homogenous and contain small particles which give unspecific positive results as compared with fresh prepared antigen emulsion .