نامهٔ دانشکدهٔ پزشکی

«تهران»

تحت نظر هیئت تحریریه

دکتر کمال الدین آیرم　دکتر حسین رضائی　دکتر محمد علی ملکی

دکتر محمد حسین ادیب　دکتر جانشاه صالح　دکتر حسن میرداماد

دکتر صادق پیوند عزیزی　دکتر محسن مظاهر　دکتر محمد علی نشرودی

دکتر یحیی پویا　دکتر شمس الدین مفیدی　دکتر جهانگیر ثوقی

رئیس هیئت تحریریه دکتر جانشاه صالح

مؤسس : دکتر نصرت الله کاسمی　صاحب امتیاز : دکتر محمد بهشتی

مدیر مجله : دکتر محسن مظاهر　امور اداری : نصرت الله تاجیک

سال هفدهم　مهر ماه ۱۳۳۸　شمارهٔ اول

از کارهای بخش سرم‌شناسی
دانشکدهٔ پزشکی☆

دوام و صلاحیت استعمال امولسیون آنتی‌ژن V.D.R.L.

نگارش

دکتر حسن میردامادی
استاد کرسی و رئیس بخش سرم‌شناسی

دکتر حسین سعادت‌زاده
دستیار بخش سرم‌شناسی

هرچند آزمایش واسرمن وسایر واکنش‌های ثبوت مکمل که برای تشخیص سیفیلیس در سرم‌خون مبتلایان بعمل می‌آید روش‌های پسندیده و اطمینان بخشی

☆ ـ تحقیق فوق مشترکاً توسط دکتر حبیب‌الله جریری دستیار افتخاری سابق سرم شناسی و دکتر سعادت‌زاده دستیار بخش سرم‌شناسی انجام شده است .

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-06]

است اما چون تهیه مقدمات آنها ازقبیل سرم خوکچه هندی و سرم همولیتیك و گلبول‌سرخ گوسفندعملاً اشکالاتی دارد که‌درمواقع‌سخت‌ویادر نقاط دورافتاده‌فراهم کردن آنها دشوار است لذا همیشه و همه جا نمیتوان آنها راباآسانی‌انجام داد .

بنابراین از همان اوان که دانشمندان درباره واسرمن‌کاوش میکردندعده‌ای نیز بجستجوی روشهای ساده‌تری که درهمه‌جا وهمه موقع عملی باشد میپرداختند از آنجمله میکائلیس(۱) وسایرین در سال ۱۹۰۷ نکتهٔ‌را که زیگموندی درمتوقف ماندن فلوکولاسیون(۲) مخلوطهای کولوئیدی بوسیله افزایش مواد آلبومینی بآن دریافته بود درباره سرم‌ومایع‌نخاع‌سیفیلیسی نیز تجسس‌نمودند و پی‌بفلوکولاسیون شیره‌الکلی جنین‌سیفیلیسی در مجاورت سرم سیفیلیسی بردند . بعدها در نتیجه پیشرفتهای روز افزونی که‌در این‌راه نصیب‌کارشناسان سرم‌شناسی ازجمله مای‌نیکه وزاکس گئورگی و ورن بوسیله شیره الکلی اندام شد بویژه افزایش صمغ باین آنتی‌ژنها که توسط دلد برای بهتر نمایان ساختن فلوکولاسیون بعمل آمد مقام مهمی درسرم‌شناسی سیفیلیس‌برای این‌آزمایشها باز کردوآنها را در ردیف‌واکنش واسرمن‌قرارداد .

در این چند سال اخیر افزایش کلسترین بشیره الکلی اندام بدن‌وحساسیت بخشیدن بیشتری به‌آنتی‌ژن سبب‌شد که‌کارشناسان مختلف مانند مولروکان وزاکس وایگل ومازینی و وی‌تبسکی براساس فلوکولاسیون آزمایشهائی‌بمیان‌آوردند که حساسیت آنها حتی بالاتر از واکنشهای ثبوت مکمل است .

سرانجام بسال ۱۹۴۱ کاردیولیپین(۳) کشف گردید ودر نتیجه پیدایش این فسفولیپید(٤) که ماده عامله ومؤثر در آنتی‌ژنهای آزمایشهای فلوکولاسیون‌است موجب شد رآکسیونهائی‌مانندآزمایش V.D.R.L. وکلاین که نتایج آنها درعین حساسیت اختصاصی‌تر از آزمایشهای نامبرده پیش است بمیان‌آید .

۱- Michaelis
۲-Flocculation
۳- Cardiolipin
٤- Phospholipid
۵- Veneral Disease Research Laboratory

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-06]

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 ودرستی نتایج آن بویژه در موارد امتحان دسته جمعی از نظر همه گیر شناسی(۱) مزیتی بر سایرین داشت درایران هم رواج یافت بطوریکه تقریباً نمیتوان از آن صرفنظر کرد .

طرز تهیه امولسیون آنتی‌ژن وصلاحیت استعمال آن:

آنتی‌ژن این آزمایش محلول الکلی معینی مرکب از کاردیولیپین و کلسترل و لسیتین است که کاملاً استاندارد(۲) شده از این جهت نتایج آن همیشه ثابت و یکنواخت میماند. درموقع احتیاج بامحلول نمکی تامپوندار(۳) که دارای یك درصد کلرورسدیم است بروش زیر بصورت امولسیون یك در ده در آورده در آزمایش بکار میبرند:

۰٫۴ سانتی‌متر مکعب محلول نمکی تامپوندار را دریك شیشه ۳۰ سانتی‌متر مکعبی پاك وقهوه‌رنگ که دارای درکائوچوکی پیچدار باشد میریزیم سپس نیم سانتی مترمکعب از آنتی‌ژن ودرحالی که پی‌پت را در $\frac{1}{3}$ فوقانی شیشه گرفته و شیشه را در یك سطح صاف حرکت دورانی میدهیم در مدت شش ثانیه قطره قطره میافزائیم بطوریکه مایع درون شیشه نوك پی‌پت راآلوده نکند . پس ازریختن آخرین قطره آنتی‌ژن ده ثانیه دیگر بحرکت شیشه ادامه میدهیم سپس ۱٫۴ سانتی متر مکعب محلول نمکی تامپوندار یکجا ویك مرتبه بشیشه میفزائیم بعد سرشیشه را بسته وبین دو انگشت ده ثانیه حرکت نسبتاً شدید میدهیم . بدین ترتیب امولسیون آنتی‌ژن یکنواخت گردیده برای آزمایش آماده است. این مخلوط طبق دستور واضعین این آزمایش فقط یك روز قابل استفاده است وبرای آزمایش ۲۵۰ نمونه سرم کافی می‌باشد.

نکته جالبی که موجب تحقیقات بخش سرم‌شناسی دانشکده پزشکی درباره امولسیون آنتی‌ژن V.D.R.L شده است همین دو جمله اخیر میباشد . زیرا درعمل اشکال بزرگی برای آزمایشگاهها بویژه آنهائی که بیش از چند رآکسیون در روز

۱- Epidemiology ۲- Standard
۳- Buffered saline solution

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-06]

ندارند پیش میآید وآن بیحاصل ماندن قسمت‌اعظم آنتی‌ژنی است که تهیه کرده‌اند. چون از طرفی نمیتوان آنتی‌ژن را کمتر از مقداری که در بالا یادشد تهیه کردواز طرف دیگر طبق دستور استعمال امولسیون آنتی‌ژن نمیشود آنرا بیش از یکروز بکار برد. بنابراین گذشته از گرانی آنتی‌ژن که ضرر مالی ببار میآورد زحمتی که نیز برای تهیه کاردیولیپین که خود استخراجش گران ومشکل است کشیده شده بهدر میرود. لذا ما برای تحقیق دوام اثرات امولسیون آنتی‌ژن مقایسهٔ از اثرات آنتی‌ژنی که بمدتهای متفاوت مانده بود باآنتی‌ژن تازه‌تهیه شده بعمل‌آوردیم‌ونتایج حاصل شده ازآن را در ذیل مینگاریم.

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

نکات لازم:

محلول الکلی آنتی‌ژن V.D.R.L را در شیشه‌های قهوه‌ای رنگ سربسته در هوای آزمایشگاه نگهداری میکنیم اگر درآن رسوبی پیدا شود نبایستی بکار ببریم. هنگام آزمایش طبق شرح فوق با محلول نمکی تامپوندار که شیشه‌سربسته آن دریخچال نگهداری میشود بصورت امولسیون در میآوریم و برای نگهداری امولسیون شیشه سربسته آنرا درطبقات ٦تا٨درجه یخچال قرار میدهیم ودر موقع رآکسیون بوسیله سرنگ ١ـ٢ سانتی‌متر مکعبی وسوزن کالیبر ٢٢ آمریکائی که هریك‌سانتی متر مکعب را ٦٠قطره میریزد وهرقطره آن برای یك‌رآکسیون کافی است آنتی ژن را تقسیم مینمائیم. ضمناً بایستی برای کنترل آنتی‌ژن یك‌سرم مثبت ومنفی معلوم را درهر سری رآکسیون امتحان نمودتااگرذرات‌آنتی‌ژن‌بنظر درشت‌تر از معمول رسیدند آن آنتی‌ژن را بکار نبریم.

طرزاجرای‌آزمایش V.D.R.L.

این آزمایش‌هم درسرم وهم درمایع نخاع قابل اجرا است و میتوان آنرا هم روی‌لام وهم در لوله انجام داد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-06]

الف ـ آزمایش سرم

اول ـ آزمایش روی لام :

۱ـ آزمایش کالیتاتیف (۱) : ۰٫۵ سانتی‌متر مکعب سرم حرارت دیده (۵۶ درجه نیمساعت) را با یك قطره $\frac{۱}{۶۰}$ سانتی‌متر مکعب امولسیون آنتی‌ژن در لامهای حفره‌دار مخصوص ریخته چهار دقیقه در رتاتور (۲) که ۱۲۰ دور در دقیقه میچرخد یا روی سطح صافی حرکت دورانی میدهیم آنگاه با درشت‌نمائی ۱۰۰ میکروسکوپ نتیجه را بدین ترتیب میبینیم :

بلورهای ریز ویکنواخت کلسترل یا فلوکولاهای مشکوك در حکم منفی ، فلوکولاهای کوچك نشانه مثبت ضعیف ، فلوکولاهای متوسط یا درشت دال بر مثبت قوی بودن سرم است .

برای جلوگیری از فنومن منطقه‌ای (۳) که بصورت فلوکولاسیون نامنظم و دانه‌های پنبه‌ای شکل پدید میآید سرم را بنسبت $\frac{۱}{۵}$ تا $\frac{۱}{۲۵}$ رقیق کرده با هریك آزمایش کالیتاتیف بعمل میآوریم با محلولی که آزمایش از همه واضحتر مثبت شود همان محلول را یادداشت مینمائیم .

۲ـ آزمایش کانتیتاتیف (٤) سرم حرارت دیده را با آب نمك ۹ در هزار بنسبت $\frac{۱}{۲}$ و $\frac{۱}{۴}$ و $\frac{۱}{۸}$ و ..... $\frac{۱}{۱۲۸}$ رقیق کرده با هریك آزمایش کالیتاتیف انجام میدهیم . رقیق‌ترین محلولی که آزمایش مثبت قوی نشان میدهد عکس نسبت رقت آن واحد رآژین (۵) خواهد بود .

دوم ـ آزمایش در لوله :

۱ـ آزمایش کالیتاتیف : امولسیون آنتی‌ژن را به‌نسبت یك حجم با چهار حجم آب نمك یك در صد حداقل پنج دقیقه حداکثر دو ساعت قبل از آزمایش مخلوط میکنیم .

---

۱ — Qualitative
۲ — Rotateur
۳ — Zonal reactions
٤ — Quantitative
۵ — Reagine

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-06]

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 سانتریفوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه نموده مجدداً یك دقیقه در آژیتاتور کان حرکت داده نتیجه را باچشم جلوی روشنائی میبینیم .

فلوکولاهای واضح دلیل برمثبت بودن ؛ مایع تیره باموج ذرات آنتی ژن دال برمنفی بودن سرم است .

۳ـ آزمایش کانتیتاتیف : سرم حرارت دیده را باآب نمك ۹ هزار درحجم نیم سانتی متر مکعب به نسبت $\frac{۱}{۲}$ و $\frac{۱}{۴}$ و $\frac{۱}{۸}$ ... رقیق کرده باهر یك از آزمایش کالیتاتیف بعمل میآوریم . رقیق ترین محلولی که فلوکولاهای واضح داشت معرف واحد آژین آن سرم خواهد بود .

ب ـ آزمایش مایع نخاع

۱ ـ آزمایش کالیتاتیف : امولسیون آنتی ژن را به نسبت مساوی باآب نمك ده درصد حد اقل پنج دقیقه وحد اکثر دوساعت قبل از آزمایش مخلوط میکنیم . مایع نخاع صاف وزلال را نیز قبلاً سانتریفوژ نموده رویه آنرا گرفته یکربع در بن ماری ۵۶ درجه میگذاریم پس ازسرد شدن درلوله های نظیر لوله کان یك سانتیمتر 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 سانتریفوژ ۲۰۰۰ دور در دقیقه نموده مجدداً دو دقیقه در آژیتارتور کان حرکت داده نتیجه را باچشم جلوی روشنائی می بینیم .

وجود فلوکولاهای واضح دلیل مثبت بودن ومایع تیره با موج ریز آنتی ژن دال برمنفی بودن مایع نخاع است .

۲ـ آزمایش کانتیتاتیف: مایع نخاع حرارت دیده را باآب نمك ۹ درهزار در حجم یك سانتی متر مکعب به نسبت $\frac{۱}{۲}$ و $\frac{۱}{۴}$ و $\frac{۱}{۸}$ و.... رقیق کرده با هریك آزمایش

۱–Kahn ۲-Agitateur

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-06]

کالیتاتیف بعمل میآوریم . رقیق ترین محلولی که فلوکولاهای کاملا و اضح داشت معرف واحد رآژین مایع نخاع خواهد بود .

روش مقایسه:

چنانکه قبلا نیز اشارت شد برای بررسی اثر و دوام امولسیون آنتی‌ژن 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 روزهائی که رآکسیون باآنتی‌ژن تازه تهیه شده در سرویس انجام میشد ما نیز یك سری آزمایش پاپیای آن بترتیب زیر ازهرآنتی‌ژنی که یکروز ، سه‌روز؛ پنجروز ؛ هفت روز ؛ده‌روز در یخچال مانده‌بود بعمل‌میآوردیم . ضمناً در هرنوبت برای کنترل آنتی‌ژن تازه ومانده با یك‌سرم مثبت ومنفی 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 باامولسیون‌های متفاوت مانده آنتی‌ژن انجام گردیده که در جدول زیر نمایانده شده‌است .

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

جدول مقایسه نتایج امولسیون تازه آنتی‌ژن V.D.R.L باامولسیونهائی که مدت‌های مختلف در حرارت ۶–۸ درجه مانده است نسبت به ۱۱۰۷ سرم مثبت و منفی

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-06]

خلاصه و نتیجه :

ازمجموع ۱۱۰۷ آزمایشی که برسرمهای مثبت ومنفی باامولسیون آنتی‌ژنهائی که پیوسته در حرارت ۶ تا ۸ درجه بالای صفر بمدتهای متفاوت‌زیر : یك ؛سه؛ پنج ؛ هفت ؛ ده روز نگهداری میشده وبامقایسه باآنتی‌ژن تازه تهیه شده بعمل آمده است باین نتیجه رسیدیم که هیچگونه اختلافی تا آنتی‌ژن هفت روز مانده مشهود نیست بنابراین آزمایشگاههای شخصی میتوانند (بشرط آنکه آنتی‌ژن پایدارو باندازه‌کافی حساس بیابند) امولسیون آنتی‌ژن V.D.R.L را فقط تا هفت روز در شرایط صحیح نگهداری‌نموده‌روزانه‌ازآن‌استفاده‌نمایند. ازهفت‌روزبه‌بعد آنتی‌ژن صلاحیت استعمال خودرابکلی‌ازدست‌میدهد. البته‌بازهم‌بعنوان‌احتیاط‌بایدهمیشه‌همراه‌باهر ردیف آزمایش یك‌سرم مثبت ومنفی معلوم نیزبعنوان بازرسی درستی فعالیت‌آنتی‌ژن آزمایش نمود .

Bibliographie مآخذ و مدارك

1_Manual of serologie tests for syphilis 1949 – Supplement no22
The jonrnal of venreal

۲ـ تاریخچه فلوکولاسیون سرم‌شناسی دکترمیرداماد‌ی

۳ ـ دفاتر بخش سرم‌شناسی دانشکدهٔ پزشکی تهران .

Cnoclusion

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 respectivly .

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 .

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-06]