

آزمایش V.D.R.L.

نگارش

دکتر احمد ربانی

رئیس درمانگاه دانشکده پزشکی

آزمایش V.D.R.L. یکی از جدیدترین آزمایش های فلو کولاسیون برای تشخیص کوفت است که بیش از چند سال از پیدایش آن نمی گذرد. این آزمایش توسط کارشناسان اداره بهداشت آمریکای شمالی برای مبارزه برضد امراض تناسلی به میان آمده است و از دیگر آزمایشهای فلو کولاسیون ساده تر و جوابهای غیراختصاصی آن به مراتب کمتر است. یکی از خصوصیات آزمایش V. D. R. L. ثبات و یکنواخت بودن نیروی انتی ژنی آنست که برخلاف سایر آنتی ژنها چون از ترکیبات شیمیائی معینی مرکب از کاردیولی پین (۱) و کلسترول و لسیتین ساخته شده است لذا نتایج آن پیوسته یکنواخت و ثابت میباشد.

آزمایش V.D.R.L. در سرم پیمار

لوازم آزمایش عبارتند از :

- ۱ - يك شیشه سرسهمباده به قطر ۳ سانتیمتر و گنج ۳۰ سانتیمتر مکعب برای تهیه مخلوط انتی ژن.
- ۲ - سرنگ ۲^{cc} با سوزن نمره ۲۳.
- ۳ - لام شیشه باندازه ۹×۶ که بر روی آن ۶-۸ حلقه پارافین جامد به قطر ۱۵ میلیمتر جای داده شده است.
- ۴ - اسباب فلزی کوچکی شبیه به قالب شربنی سازی که بوسیله آن میتوان حلقه پارافین در روی لام ایجاد کرد. در صورت موجود نبودن این اسباب میتوان يك حلقه ساده فلزی استفاده کرد.
- ۵ - پارافین جامد که نقطه ذوب آن ۵۰-۵۲ درجه باشد.
- ۶ - دستگاہ تکان دهنده مخصوصی که دارای يك حرکت دورانی مورب بوده

و در هر دقیقه ۱۲۰-۱۸۰ مرتبه لام شیشه را تکان دهد.

۷- میکروسکوپ که دارای ابژکتیف ۱۶ و الوار $\times 10$ باشد.

۸- بن ماری ۵۶ درجه.

موارد آزمایش عبارتند از:

۱- آنتی ژن مخصوص این آزمایش که از محلول الکلی کاردیولی پین ۰/۲ گرم - کلسترل ۰/۹۰ گرم و لسیتین بمقدار کافی در ۱۰۰ سانتیمتر مکعب الکل ساخته شده است. پادگن را بایستی در شیشه سربسته و حرارت معمولی آزمایشگاه نگاهداری کرد.

۲- محلول نمک تامپون دار (۱) - محلول نمکی که برای رقیق نمودن آنتی ژن بکار میرود ترکیب مخصوصی از کلرور دو سدیم بفرمول زیر ساخته شده است.

فرمالدئید ۰/۵ سانتیمتر مکعب.

بی فسفات دوسود ۰/۹۳ گرم.

فسفات دو پتاس ۰/۱۷۰ گرم.

کلرور دو سدیم ۱۰ گرم.

آب مقطر ۱۰۰۰ سانتیمتر مکعب.

۳- سرم گرم شده بیمار. سرم بیمار باید قبل از شروع آزمایش مدت نیم ساعت در ۵۶ درجه گرم شود هر گاه روز قبل آنرا گرم نموده باشند بهتر است بوقت آزمایش دوباره آنرا مدت ۱ دقیقه گرم کنند.

روش آزمایش

۱- تهیه مخلوط آنتی ژن - نخست ۰/۴ سانتیمتر مکعب از محلول نمکی تامپون دار را در شیشه سرسباده مخصوص می ریزند سپس ۰/۵ سانتیمتر مکعب از آنتی ژن V.D.R.L. قطره قطره در ظرف ۵ ثانیه بدان افزوده در حالیکه مرتباً شیشه را در روی سطح مسطح حرکت دورانی میدهند. پس از آنکه آخرین قطره پادگن بدون شیشه ریخته شد برای مدت ۱۰ ثانیه دیگر شیشه را تکان می دهند بایستی دقت کرد که پی پت محتوی آنتی ژن به محلول درون شیشه تماس پیدا نکند.

آنگاه بدین مخلوط ۱/۴ سانتیمتر مکعب از محلول نمکی افزوده سرشیشه را بسته و چند نوبت سرعت آنرا واژگون نموده برمی گردانند بدین ترتیب مخلوط انتی ژن یکنواخت گردیده برای انجام آزمایش آماده است. این مخلوط تا مدت یکروز قابل استفاده بوده و برای آزمایش ۲۵۰ نمونه سرم کافی است.

۲- آزمایش سوزن سرنگ - سوزن سرنگ را بایستی طوری میزان کرد که هر ۶ قطره از مخلوط انتی ژن که از نوک سوزن می چکد برابر یکسانتیمتر مکعب باشد و این عمل بوسیله میزان کردن زاویه که سرنگ یا سطح افقی تشکیل میدهد انجام میشود.

۳- آزمایش کیفی V. D. R. I. - نخست ۰.۵ سانتیمتر مکعب از سرم حرارت دیده بیمار را بر روی یک حلقه پارافین جای داده سپس بوسیله سرنگ یک قطره یا ۱/۶ سانتیمتر مکعب از مخلوط انتی ژن بدان می افزایند و بعد مدت ۴ دقیقه بوسیله دستگاه مخصوص آنرا تکان میدهند. در صورت موجود نبودن دستگاه تکان دهنده مخصوص این عمل را میتوان یا دست انجام داد بدین ترتیب لام مورد آزمایش را در روی سطح میز گذارده با آرامی آنرا در حول محور مرکزی بشعاع ۲ سانتیمتر بچرخانند.

آنگاه نتیجه آزمایش را بوسیله میکروسکوپ می بینند.

۴- آزمایش کمی V.D.R.I. - سرم بیمار را به نسبت های مختلفه ۱/۴ - ۱/۸ ... ۱/۱۶ در آب نمک ۸/۵ گرم در هزار رقیق نموده سپس نسبت بهر نمونه آن آزمایش کیفی انجام میشود بدین ترتیب سرمی ممکن است نسبت به محلولهای ۱/۴ - ۱/۸ و یا بالاتر مثبت نشان دهد.

نتیجه آزمایش

هر گاه دانه های آنتی ژن کاملاً یکنواخت بوده و در تمام سطح حلقه بیک میزان منتشر شده باشد نتیجه آزمایش منفی است و برعکس هر گاه دانه های آنتی ژن کم و بیش بیکدیگر چسبیده و توده های نامنظمی تشکیل دهند نتیجه آزمایش مثبت است.

آزمایش V.D.R.L. در آبگونه مغز تیره - این آزمایش از دیگر آزمایشهای فلو کولاسیون در آبگونه مغز تیره ساده تر و نتیجه آن دقیقتر است . مواد و لوازم آزمایش مانند سرم خون است تنها در اینجا محلول ۱۰ درصد کلرور دوسدیم برای تهیه انتی ژن لازم است .

روش آزمایش

۱ - نخست مخلوط انتی ژن را بروشی که قبلاً یاد آور شدیم تهیه نموده سپس بمقدار برابر با آب نمک ۱۰ درصد رقیق نموده و پس از ۵ دقیقه و منتهی تا دو ساعت، آنرا بکار می برند .

۲ - اینگونه مغز تیره را بدقت سانتریفوژ نموده رویه آنرا می گیرند . هر گاه آبگونه مغز تیره بطور محسوس آلودگی میکربی داشته و یا خون زیاد داشته باشد برای این آزمایش بی ارزش است . بعد مدت ۱۵ دقیقه در گرمی ۳۶ درجه قرار داده بلافاصله آنرا سرد می کنند .

۳ - يك سانتیمتر مکعب از آبگونه مغز تیره حرارت دیده را در لوله آزمایش ریخته سپس ۲/۰ سانتیمتر از مخلوط انتی ژن بدان افزوده مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه تکان دهنده (آریتاتور کان) آنرا تکان میدهند بعد مدت ۵ دقیقه آنرا سانتریفوژ می کنند (تقریباً ۱۸۰۰ دور در دقیقه) مجدداً آنرا در دستگاه آریتاتور نهاده مدت دو دقیقه تکان میدهند آنگاه نتیجه آزمایش را به کمک چراغ و آئینه مقعر می بینند .

نتیجه آزمایش

در آزمایش منفی مخلوط آبگونه مغز تیره و انتی ژن کاملاً یکنواخت بوده و دانه های فلو کولاسیون در آن مشاهده نمی گردد . در آزمایش مثبت دانه های فلو کولاسیون مانند آزمایش کان در مخلوط پدیدار گشته و بخوبی در آئینه مقعر نمایان است .

باید در نظر داشت که در آزمایش منفی مخلوط آبگونه مغز تیره و انتی ژن دارای املاح مخصوصی است که برای مبتدیان ممکن است سبب اشتباهاتی شود و آنرا يك حالت مثبت ضعیف بدانند در صورتیکه این املاح وابسته به کیفیت مخصوص انتی ژن است .