نامهٔ دانشکدهٔ پزشکی
«تهران»

شمارهٔ سوم ازسال بیست و چهارم — آذر ماه ۱۳۴۵

جستجوها و گردآوریهای علمی

دکتر حسن میردامادی *

پیشنهاد یك روش نوین برای آزمایش آگلوتی ناسیون بروسلا «آزمایش رایت»

از کارهای بخش ایمونولوژی - دانشکده پزشکی

آگلوتی‌ناسیون یکی ازساده‌ترین وگاه تنهاراه تشخیص برخی ازبیماریهای باکتریایی - ویروسی- قارچی ویابیماریهای وابسته بانگلهااست زیرا وسایل دیگرتشخیص بسیاری ازبیماریهای میکروبی انسانی پیوسته در دسترس همگان قرارندارد.

البته درهمه موارد نمیتوان برای تشخیص ازآگلوتی ناسیون استناده نمود بلکه برای تشخیص ازراه آگلوتی‌ناسیون شرایطی چند لازم است که در زیربچند فقره آنها اشاره میشود:

۱- میکروبی که برای این آزمایش بکارمیرود باید آگلوتی ناسیون پذیر باشد و در همانحال براثر گرمی یاخودبخود آگلوتی‌ناسیون پیدا نکند.

۲- آگلوتی‌نین زود وبمقدار قابل تشخیص درخون بیمار پیدا شود.

* - استاد دانشکده پزشکی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-11]

۳- میکروب وروش آزمایش استاندارد وقابل اطمینانی برای آگلوتی ناسیون در دسترس باشد.

بفرض که عامل اول ودوم یعنی میکروب برای آگلوتی ناسیون شایسته باشد وآگلوتی نین هم زود درسرم بیمار پیدا شود، اما عامل سوم ویاروش آگلوتی ناسیون باید درست باشد تا نتایجی که بدست می‌آید قابل اطمینان گردد.

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

۱- روش قطره‌ای یامیکروسکوپی.

۲- روش لوله‌ای وغیرسریع.

۳- روش لوله‌ای وسریع .

٤-روش کومبس.

بی‌آنکه بخواهیم دراینجا وارد تفصیل شویم اجمالاً یادآور میشویم که:

۱- در روش قطره‌ای سریع - مخلوط بسیارغلیظ میکروب ویاسلول های دیگررا باسرم مجاور ساخته وچنددقیقه آنرا حرکت میدهندوپس ازآن نتیجه رابامیکروسکوپ ودرشت نمائی کم می‌بینند.

۲- در روش لوله‌ای غیرسریع مخلوط رقیق آنتی‌ژن را باسقادیر مختلف سرم درآمیخته چند ساعت آنرا درگرمی ۳۷° نهاده نتیجه‌را یادداشت می‌نمایند.

۳- در روش لوله‌ای وسریع مخلوط آنتی‌ژن وسرم‌را چند دقیقه در دستگاه سانتریفوژور می‌چرخانند وبیدرنگ پس ازچرخاندن نتیجه را می‌بینند. هرچندبرای بسیاری ازواکنشهای 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 مغایرآن درکتاب دیگر یامجله دیگر پیدا نشود. - در یک کتاب روش ٤۸ ساعت گرمی ۳۷° توصیه شده است درجای دیگر ۲٤ ساعت گرمی ۵۲° پیشنهاد گردیده است. - برخی روش سانتریفوژرا توصیه نموده‌اند. - برخی فقط گرمی هوای آزمایشگاه را برای این آزمایش متناسب تشخیص داده‌اند.

برخی توصیه میکنند که سرم نیمساعت در ۵۶° گرم شود تا عامل تغییر پذیر کمپلمان ازمیان برود وپیوسته سروکار باسرمی باشد که خصوصیات تقریباً ثابتی داشته باشد.

برخی دیگر برای جلوگیری ازپدیده منطقه‌ای اجرای آزمایش را درمحلولهای پرتوان (هیپرتونیک) نمک پیشنهاد نموده‌اند وبالاخره کومبس چنین پنداشته‌است که وجودپادتنهای بندآور (Blocking antibody) سبب توقف آگلوتی ناسیون در همه لوله‌های محتوی محلول‌های مختلف سرم وگاه دربرخی ازآنها میگردد.

این اختلاف نظرهای بسیارکه درباره روش انجام آزمایش رایت برحسب نظریه

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-11]

کارشناسان مختلف وجود داشت مارا درچند سال پیش وادار ساخت که از روش چرخاندن وگرمی ۳۷° باسرمی که پیشاپیش نیمساعت بمیزان ۰٫۶ گرم شده باشد استفاده کنیم تا بدین ترتیب عوامل مؤثر درپیشرفت آگلوتی‌ناسیون و جلوگیری از پدیده سنطقه‌ای و تأثیر پادتنهای ناقص‌را یکجا بکار بسته باشیم. هرچند این روش نتایج نیکوئی ازنظرجلوگیری از پدیده پادتنهای ناقص در برداشت اما عیب بزرگی که این روش پیداکرد افزایش تعداد موارد مثبت ضعیف وایجاد شک وتردید برای پزشک درتفسیر جوابهای آزمایش بود.

بهمین‌جهت ازدوسال‌پیش بفکرافتادیم‌این‌روش‌را نیزتغییردهیم‌وروشی راکه حساسیت آن باندازه باشد یعنی جوابهای مثبت ضعیف ویامثبت‌های نادرست کمتر بدست دهد درپیش گیریم بهمین‌جهت روش چرخاندن درسانتریفوژور مخلوط سرم ومیکروب را کنارگذاشته و مخلوط را دوساعت درگرمی ۴۵° و ۲۲ ساعت درگرمی آزمایشگاه قرار داده سپس‌نتیجه را یادداشت نمودیم.

نتایجی که ازاین تغییربدست آمده ازاینجهت جالب است که از تعداد موارد ضعیف مثبت $\frac{۱}{۲۰}$ - $\frac{۱}{۴۰}$ و حتی $\frac{۱}{۸۰}$ آزمایش که بسیار اسباب زحمت پزشک ازنظر تشخیص میشود وگاه ممکن است واقعاً مربوط بهیچ عاملی از جنس آگلوتی‌نین نباشد ازمیان رفته ویابسیار کاهش یافته است.

چندسال پیش مقاله‌ای منتشرنمودیم واز وجود تب‌مالت بصورت مخفی درایران‌بحث نمودیم وآماری نیز ازنتایج مثبت ضعیف ویا مثبتهای متوسط وقوی آزمایش‌رایت برسرمهایی که ازبیمارستانها برای آزمایشهای سرمی سیفیلیس (بنابراین بدون کمترین‌تردید درخصوص وجود بروسلوز) فرستاده بودند منتشر کردیم.

بادرنظرگرفتن نتایج آزمایش رایت که برسرم اشخاص بی‌تب و بدون تشخیص تب مالت فرستاده شده‌بود همچنین آزمایش افراد مشکوک بداشتن تب مالت که بوسیله سریع چرخاندن مخلوط آنتی‌ژن وسرم بمدت‌ده دقیقه باسرعت‌دوهزار دور انجام گردید ونیزمقایسه نتایج‌آن باروش جدید وکاهش تعداد موارد مثبت ضعیف سزیت روش پیشنهادی بخوبی نشان داده میشود.

تردید نیست که چرخاندن ویابطور ساده حرکت دادن مخلوط آنتی‌ژن و سرم دارای آگلوتی‌نین سبب سرعت یافتن آگلوتی‌ناسیون میگردد اما باید در نظر داشت که مخلوط میکروبی‌الزاماًیک‌تعادل کولوئیدی‌حقیقی‌ندارد وازاینجهت کم‌وبیش براثرحرکت وبخصوصاً چرخیدن خواه‌ناخواه‌میکروبها بیکدیگرچسبیده ومنظره‌ای شبیه آگلوتی‌ناسیون بخود میگیرند.

اکنون باید درنظر بگیریم که درخون افراد مخصوصاً آنهایی که آسیبهایی در کبد

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-11]

ویا درمغز استخوان وسپرز وجاهای دیگربدن دارند پادتنهای خودی ممکن است یافت نشود واین پادتنهای خودی که خواه ناخواه در آنها آگلوتی نین نیز وجود دارد ممکن است سبب این آگلوتی ناسیون های غیراختصاصی گردند وبرطبق فرضیه های امروزی سبب پیدایش مثبتهای غلط در واکنشهای سرمی سیفیلیس مانند واسرمان ویاآزمایش V.D.B.L. نیز گردند. گذشته ازاین میدانیم که برخی از محلولهای کولوئیدی مانند سرم همینکه بیک مخلوط میکروبی کاملاً پایدارافزوده شود همین خودسبب بهم خوردن تعادل مخلوط کولوئیدی گردیده ودرنتیجه فلوکولاسیون میشود بنابراین طبق تجربیاتی که بدست آمده چون چرخاندن مخلوط درسانتریفوژ گاه سبب پیدا شدن جوابهای مثبت غلط میگردد و از طرفی گرمی ۵۲° بمدت ۲۴ ساعت که برخی ازکارشناسان توصیه نموده اند مقدار زیادی از آگلوتی نین سرم را خواه ناخواه از میان برمیدارد بنابراین گرمی ۴۵° بمدت دوساعت برای این واکنش پیشنهاد میشود.

دراینجا باید بناچار اشاره نمود که این دومقایسه یکی مربوط بسالهای ۴۲ و ۴۳ و دیگری وابسته بسالهای ۴۴ و ۴۵ است ومیتوان گفت که دراین دوسال مختلف اشاعه بیماری بروسلوز درایران چندان فرق نداشته است.

باوجود این میدانیم که درا ن دوسه سال اخیرهیچ گونه اقدام چه کوچک وچه بزرگ برای کاهش موارد بروسلوز مانند مایه کوبی دامها با واکسن ضد بروسلا ویا نابود کردن حیوانات مبتلا بعمل نیامده وازاینجهت دلیلی نداریم که تصور کنیم اشاعه بیماری بروسلوز دراین دوسال باهم الزاماً باید تفاوت داشته باشد.

مقایسه آزمایش آگلوتی ناسیون رایت بروش ده دقیقه چرخش دوهزار دور و دیگری پس از دوساعت گرمی ۴۵° در ۲۴ ساعت گرمی آزمایشگاه:

	منفی	مثبت از $\frac{1}{30}$ تا $\frac{1}{40}$	مثبت از $\frac{1}{80}$ تا $\frac{1}{60}$	مثبت از $\frac{1}{320}$ وبالاتر
روش چرخش	۲۳۹ (۷۶٪)	۳۰ (۱۲/۵٪)	۱۹ (۸٪)	۲۵ (۱۰٪)
روش ۴۵°	۲۶۷ (۸۵٪)	۱۹ (۷۱٪)	۱۰ (۳۰٪)	۱۷ (۶/۳٪)

نتیجه- برای تشخیص بروسلوز ازراه آگلوتی ناسیون بهتراست ازسرم تازه وگرم نشده استفاده شود ومخلوطهای آنتی ژن وسرم را ۲ ساعت در گرمی ۴۵° و ۲۴ ساعت درحرارت آزمایشگاه گذارند چرخاندن مخلوط سرم وآنتی ژن بیدرنگ و یا نیمساعت پس از درآمیخته شدن آندو سبب بدست آمدن مثبتهای غلط میگردد ومخصوصاً هرگاه درنظر گرفته شود که برای تشخیص بروسلوز انسانی که خود غالباً بصورت مزمن جلوه گر میشود شتاب لزومی ندارد مزیت این روش بخوبی ثابت میگردد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-11]

مآخذ ومدارك:

1- Clinical Serology (1966) Clois W, Bennett, Charls C. Thomas, Illinois U. S. A.

2- Approved Laboratory Technic (1952) J. Kolmer, 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- موارد مخفی بروسلوز درایران - شماره۳ سال ۱۷ مجله دانشکده پزشکی۱۳۳۸.

6- Mirdamadi M. Essai sur l'epidemiologie de la Brucellose en Khor - assan (1963) Revue Medicale du Moyen Orient. 20ème Annee - No 4

7- Mirdamadi H. La Brucellose latente en Iran (1963) Revue Medical du Moyen Orient - 20ème 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.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-02-11]