نامهٔ ماهانهٔ
دانشکدهٔ پزشکی
هیئت تحریریه:

دکتر کمال آرمین — دکتر حسین سرآب — دکتر شمس‌الدین مفیدی
دکتر محمد حسین ادیب — دکتر جهانشاه صالح — دکتر محمد علی مگی
دکتر محمد بهشتی — دکتر محمد قریب — دکتر حسن میرادامادی
دکتر صادق پیرداز عزیزی — دکتر نصرت‌الله کاسمی — دکتر ابوالقاسم سحرخیز آبادی

رئیس هیئت تحریریه - دکتر جهانشاه صالح
صاحب امتیاز و مدیر مجله: دکتر محمد بهشتی

سال شانزدهم — دی ماه ۱۳۳۷ — شمارهٔ پنجم

روش سریع آزمایش فیکساسیون کمپلمان برای تشخیص سیفیلیس (آزمایش M. C. F.(۱))

نگارش

دکتر میرادامادی

استاد کرسی سرم شناسی دانشکدهٔ پزشکی

با وجود آزمایشهای خوب و متعدد فلوکولاسیون مانند آزمایش مانیکه - مولر - کان - کلاین ووی‌دی آرال وغیره که درجریان سی‌سال اخیر در زمینهٔ تشخیص سرمی سیفیلیس پیدا شده آزمایش ثبوت کمپلمان هنوز هم موقعیت اصلی خود راحفظ نموده است.

بااینحال در کشورهای متحده آمریکا آزمایشهای فلوکولاسیون بواسطه آنکه وقت کمی برای اجرای آن‌ها صرف میشود عموماً آزمایشهای برگزیده و مورد توجه

۱- Modified complement fixation

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

است اما در جاهای دیگر هنوزهم آزمایش‌های ثبوت کمپلمان فراوان برای تشخیص سیفیلیس بکارمیرود.

مجمع اتفاق ملل دردونوبت توصیه نموده است که‌باهرآزمایش فلوکولاسیون یك آزمایش ثبوت کمپلمان نیزباید برای تشخیص سیفیلیس‌بعمل‌آید. واین‌نظریه‌رادر طی کنفرانسهای۱۹۲۸ کپنهاك و۱۹۳۰مونته‌ویدئو(۱)ابرازنموده‌است . ـ حتی‌دربعضی ازکشورهای اروپامانند آلمان بموجب قانون هر آزمایش فلوکولاسیون که برای تشخیص سیفیلیس بعمل‌میآیدباید همراه‌باآزمایش‌ثبوت کمپلمان‌باشد . ـ ازاین گذشته آزمایشهای ثبوت کمپلمان برای تشخیص بیماریهای وابسته بریکتزیاها ـ ویروسها ـ توکسوپلاسمها وخیلی دیگر از بیماریهای انگلی و میکروبی مـورد استعمـال فراوان دارد .

نخستین آزمایش ثبوت کمپلمان بسال۱۹۰۶ بوسیله واسرمن‌نایسروبروك بعمل آمد واین‌کارشناسان‌آنرا براساس‌پدیده برده‌وژانگو بمیان آوردند . ـ پس ازآن‌تغیرات بیشماری که‌ازطرف کارشناسان‌دیگربدین‌آزمایش‌داده شده‌بحساسیت وصفات اختصاصی آن افزوده گردید .

این تغییرات واصلاحات بیشتر متوجه مجموعه حلاله ـ تهیه‌آنتی‌ژن ـ مدت و حرارتی که‌مخلوط‌آنتی‌ژن وسرم وکمپلمان باید درآن بماند گردیده‌است .

هرچند مجموعهٔ حلاله‌ایکه معمولاً بکار رفته و میرود عبارت است از خون گوسفند ـ اما خون خرگوش ویا انسان همراه باهمولیزین متناسب باآنهانیزاستعمال شده است.

کارشناسان دیگر نیز مـانند هشت ـ لـوادیتی ـ لاتـاپی ـ روبین ـ اشنین ـ گراودول ـ وین‌برگ ـ وموترمیلش نیزازنیروی‌حلاله‌طبیعی سرم‌انسان‌وکمپلمان‌طبیعی آن استفاده کرده‌اند

روش تهیه آنتی‌ژن همچنان مورد اصلاحات وتغییرات بیشمار قرارگرفته وهر کارشناس بسهم خود مواد لیپیدی غیرمحلول دراترواستون ومحلول درالکل‌قلب انسان

۱– Montevideo

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

یاخوکچهٔهندی ـ اسب ـ گاو وغیره و یامخلوطی از لیپیدهای محلول دراستون والکل قاب را بعنوان آنتی‌ژن بکار برده‌است.

ازسال ۱۹۱۱ که اثرات حساس کننده کلسترول در آنتی‌ژن‌های لیپیدی توسط زاکس(۱) آلمانی کشف گردیده این ماده بطور روز افزون بعنوان حساس کننده در آنتی‌ژنهای لیپیدی بکار رفت ..

بسال ۱۹۴۱ اصلاح دیگری توسط خانم ماری پنك‌برن(۲) بعمل آمد ـ وی از لیپیدهای بافت قاب یك‌فسفورلیپیدی‌را بنام کاریدولی‌پین استخراج‌نمود ـ این ماده در صورتیکه بمقدار متناسب بالسیتین وکلسترول مخلوط شود ترکیب مخصوصی بدست میدهد که آنتی‌ژن کاریولی‌پی‌نی‌نام دارد . و بعقیده برخی از کارشناسان نتایج اختصاصی بیشتری نسبت بآنتی ژنهای لیپیدی بدست میدهد.

مخلوطی از نمونهٔ زهراگین ترپونم‌سیفیلیس (نمونه نیکولس(۳))که از بیضهٔ خرگوش آلوده گرفته میشود و یا فرآوردهٔ کشت نمونهٔ اسپروکت رایتر (۴) و یا پروتئین‌های مخصوص وجدا شده ترپونم مخلوط‌بالیپیدهای‌قلبی‌همچنان‌بعنوان‌آنتی‌ژن بکار رفته است.

روش اجرای آزمایش ثبوت کمپلمان برای تشخیص سیفیلیس همچنان مورد تغییرات واصلاحات فراوان قرار گرفته است.

تعداد این تغییرات واصلاحات باندازه‌ایستکه نمیتوان حتی بطورخلاصه آنهارا یادآوری نمود اما میتوان خوشبختانه آنها را بچهار گروه بشرح زیر دسته‌بندی نمود:

۱ـ دسته اول آنهاییکه‌حرارت۳۷درجه را بمدت‌یکساعت یابیشتربرای‌حساسیت آنتی ژن و ثبوت کمپلمان بکار میبرند(آزمایش نلسون‌مایر (۵) نیز جزو همین دسته بشمار رفته‌است).

۱ـ Sachs ۲-Marry Pangborn ۳ - Nichols
۴-Reiter ۵- Nelson-Mayer

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

۲ـ روشهائیکه درآنها حرارت ٦درجه بمدت چهارساعت یا بیشتر برای ثبوت کمپلمان معمول میباشد.

۳ـ روشهائیکه‌حرارت۳۷درجه وهم‌حرارت‌یخچال درآنها برای‌ثبوت کمپلمان متداول میباشد.

۴ـ روشهائیکه در آنها حرکت جانشین گرمخانه ویخچال‌میگردد.

روشهای دسته اخیر که نویسنده آنها را روشهای سریع‌وچرخشی‌ثبوت کمپلمان نام‌گذاری کرده است از چند سال پیش توسط برخی از کار شناسان مانند کادیش(۱)ـ ناوارومارتین(۲) هومبریا(۳) وبتازگی توسط‌پورتلا(۴) بکاربرده شده‌است اماهمه‌این کارشناسان‌حرکت شدیدرا برای اجرای‌روش خود بکار برده‌اند.

اکنون باید در نظر گرفت که حرکت شدید مخلوط آنتی‌ژن،سرم وکمپلمان نه‌تنها سبب جداشدن پادتن از آنتی‌ژن میگردد بلکه کمپلمان را نیز بی‌اثر میکند. درصورتیکه حرکت ملایمی که درآغاز برسرم وآنتی‌ژن به تنهائی و سپس مخلوطی از آندو باکمپلمان بعمل‌آید میتواند حتی‌بامزایائی چند جانشین مدت یکساعت ماندن مخلوط در۳۷درجه ویا مدت دراز (۴تا۱۸ساعت) در گرمی٦درجه گردد.

درحقیقت هیچ دلیل و مدرك درستی در دست نیست تا بتوان گفت که ماندن مخلوط آنتی‌ژن، سرم وکمپلمان در گرمی۳۷ درجه بمدت‌یکساعت یابیشتر ویا گرمی ٦درجه بمدت۴ساعت یابیشتر سبب بهم پیوستن یکنواخت مولکولهای پادتن برذرات آنتی‌ژن‌میگردد .درصورتیکه دلایل‌کافی موجود است تا بر طبق آنها ثابت شود که براثر حرکت ملایم مواد مختلف بهم بستگی سریع و متحدالشکل مولکولهای پادتن وذرات آنتی‌ژن بهترصورت میگیرد بشرط‌آنکه این‌مخلوط بمدت وسرعت‌ودرحرارت متناسبی چرخانده شود .

مسلم است که واکنشهای آگلوتیناسیون وپرسیپیتاسیون براثر حرکت تسریع میگردد بنابراین دلیلی‌نیست که عین‌همین اثرات‌را برای ثبوت کمپلمان که در حقیقت

۱– Kadish ۲-Navaro-Martin

۳-Hombria ٤-Portella

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

مانند دو پدیده یاد شده یك پدیده ادسورسیون (۱) در نظر گرفته نشود . حتی بتازگی ثابت شده است که در آزمایش نلسون حرکت اثرات نکوئی بر بیحرکت ساختن ترپونم دارد واین کیفیت بواسطه آنست که مجاورت یك نواخت و مرتب وسریعتری از مولکولهای ایموبیلیزین باسلولهای آنتی‌ژن یعنی ترپونم بعمل میآید . از این گذشته در تمام اینگونه روشها ، کمپلمان درهمان وحله اول یعنی بلافاصله بمخلوط آنتی‌ژن ، سرم افزوده میشود درصورتیکه مسلم است که هریك ازاین عناصر بردیگری به ترتیبی خاص اثر میکند و برطبق همین اصل مسلم بهم بستگی میان آنتی‌ژن و پادتن باید پیشاپیش یعنی پیش از افزایش کمپلمان انجام گردد.

بموجب نظریه تیل(۲) وامبلدون(۳) مولکولهای پادتن باذرات آنتی‌ژن بدون در نظر گرفتن غلظت پادتن انجام میگیرد .وحال آنکه ثبوت کمپلمان وابسته بوجود حداقل غلظتی از کمپلمان است که در هرسانتیمتر مکعب از مخلوط موجود باشد.

این موضوع توسط هیدلبرگر(۴) و همکارانش باثبات رسیده است . که انحلال گلبولهای سرخ فوق‌العاده نسبت بغلظت نمکی، محلول و حجم مایع همچنین حرارت ومیزان pH اختلاف پیدا میکند بطوریکه درحجمهای کوچك وغلظتهای زیاد نه تنها واکنش اصلی صورت نمیگیرد بلکه همولیز سریعتر وواکنشهای فرعی کمتر است بعلاوه نتایجیکه هیدل برگر وهمکارانش بدست آورده‌اند نشان میدهد که حرارت ۳۵ درجه برای ثبوت کمپلمان ممکن است بهتر از حرارت ۳۷ درجه باشد.

با درنظر گرفتن اصول و نکات یاد شده نویسنده بسال ۱۳۳۲ روش مخصوصی از ثبوت کمپلمان برای سیفیلیس بمیان آورده است که متکی بقواعد سرولوژی و ایمونولوژی چندی میباشد ازاینقرار:

۱ـ حرکت ملایم وچرخش(۱۵۰ـ۱۸۰ دوردر دقیقه) در این روش بکار میرود برای اینکه کمپلمان درنتیجه حرکت شدید از میان نرود.

۲ـ کمپلمان برخلاف معمول درآن واحد بمخلوط آنتی‌ژن وسرم افزوده نمیشود بلکه پس از آنکه این دوماده یعنی سرم وآنتی‌ژن ده دقیقه چرخانده شد ومولکولهای پادتن

۱–Adsorption ۲-Thile
۳–Embledon ٤-Heidelberger

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

بدین وسیله و بطور یکنواخت روی ذرات آنتی‌ژن قرار گرفت کمپلمان بدان مخلوط افزوده میشود.

۳ـ کلیه حجم آزمایش به‌نیم سانتیمتر مکعب تقلیل داده شده‌است بطوریکه بعداً یعنی پس از افزایش کمپلمان بمخلوط آنتی‌ژن وسرم دوباره کمپلمان خیلی رقیقتر نمیگردد.

۴ـ محلول نمك خالص هشت ونیم در هزار باتامپون در آب دوباره تقطیر شده تازه در این آزمایش بکار میرود.

۵ـ حرارت ۳۵ درجه بمدت ده‌دقیقه برای چسبیدن مولکولهای پادتن برذرات آنتی‌ژن بکار میرود ودرظرف این مدت کوتاه تغییرات مهمی بر کمپلمان پیدا نمیشود.

۶ـ آزمایش درظرف ۳۰ دقیقه باتمام میرسد وباین‌ترتیب صرفه‌جوئی زیادی در وقت ولوازم کار وکارگر پیدا میشود.

۷ـ لوله‌های ته‌تخت که هریك دارای یك گلوله بلوری است (شکل ۳) دراین آزمایش بکار میرود و بدین‌ترتیب حساسیت سریع و یکنواختی از ذرات آنتی‌ژن بوسیله مولکولهای پادتن براثر حرکت دورانی ملایم در گرمی ۳۵ درجه بانجام میرسد.

۸ـ برای آنکه نتایج اختصاصی‌تری بدست میآید آنتی‌ژن کاردیولی‌پینی دراین آزمایش بکار میرود.

۹ـ فقط یك‌دهم سانتیمتر مکعب سرم برای آزمایش کالیتاتیف لازمست. بنابراین آزمایش فوق‌العاده برای کارهای روزانه لابراتوارهای وابسته به‌بهداشت عمومی وبرای آزمایش خون کودکان بسیار شایسته است.

۱ـ روش اجرای آزمایش

۱ـ سرم ـ سرم مورد آزمایش باید شفاف وتهی از هموگلوبین باشد وپیش از آزمایش نیمساعت در حرارت ۵۶ درجه گرم شود ـ در صورتیکه سرم قبلاً گرم شده باشد وبیش از چهار ساعت از آن گذشته باشد دوباره هنگام آزمایش آنرا ۵ دقیقه در گرمی ۵۶ درجه بگذارند.

۲ـ کمپلمان ـ خون خوکچه هندی اعم از آنکه تازه و یا لیوفیلیزه باشد ویا آنکه فعالیت آن بوسیله افزایش مواد شیمیائی حفظ شده باشد در این آزمایش بکار میرود.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

۳ـ آنتی‌ژن ـ آنتی‌ژن کاردیو لی‌پی‌نی یعنی مخلوط کاردیولیپین ، کلسترول ولسی‌تین که بتازگی در آب نمك ۰/۰۵۰ر۸ مخلوط شده باشد در این آزمایش بکار میرود .

۴ـ سرم حلاله خون گوسفند که بوسیله تزریق خون این حیوان بخرگوش تهیه شده باشد لازمست این سرم بمقدار برابر باگلیسرین خنثی مخلوط شده و بشرح زیر محلول آن آماده میگردد.

محلول ۰/۰۵۰ر۸ کاردوسدیم خالص = ۹۴ سانتیمتر مکعب.

محلول اسیدفنیك ۵ در هزار در محلول نمك = ۴ سانتیمتر مکعب

همولیزین مخلوط باگلیسرین = ۲ « «

ناگفته نماند که دراین آزمایش کلرور دوسدیم خالص بمیزان ۰/۰۵۰ر۸ وآب مقطر تازه که بهرلیتر آن یکسانتی گرم سولفات منیزی افزوده شده باشد بکار میرود .

۳ـ روش تعیین عیار کمپلمان

باید لوله‌های ته‌تخت بطول ۹ سانتیمتر ودهانه یك سانتیمترونیم و جالوله‌های مخصوص کولمر بکار رود این جالوله‌ایها بهتر است دارای ۷۲ یا ۴۸ سوراخ بوده و در هرردیف ۱۲ سوراخ داشته باشد.

قبلا شش لوله درسوراخهای جلوجالوله‌ای یك درمیان بگذارند سپس درردیف عقب بازهم یك درمیان ۶ لوله دیگر درسوراخهائی که جلوی آنها لوله گذاشته نشده قرار دهند بطوریکه درمقابل هرسوراخی از ردیف جلو که تهی از لوله است در ردیف عقب لوله‌ای جای داشته باشد در گوشه دیگر از همین جالوله‌ای چهار لوله دیگر در یك ردیف بگذارند آنگاه بلوله اول از ردیف دوم دودهم سانتیمترمکعب وبکلیه لوله‌های دیگر بغیر ازچهار لوله ردیف سوم که مخصوص کنترول است یکدهم سانتیمتر مکعب محلول نمك ۰/۰۵۰ر۸ اضافه کنند سپس بوسیله پی‌پت دودهم سانتیمترمکعبی همین مقدار سرم خوکچه‌هندی برگرفته یکدهم سانتیمتر مکعب آن را به‌نخستین لوله ردیف جلو ویکدهم سانتیمتر مکعب مانده را به‌نخستین لوله ردیف عقب میافزایند سپس محتوی نخستین لوله ردیف جلو را چند مرتبه بدرون پی‌پت کشیده دوباره داخل لوله بدمند. آنگاه محتوی را بخوبی بایکدیگر درآمیخته واز آن یکدهم سانتیمتر مکعب برگرفته بلوله دوم بریزند وبهمین ترتیب عمل رقیق نمودن تدریجی کمپلمان را انجام دهند تا بلوله ششم برسد سپس یکدهم سانتیمتر مکعبی که از لوله ششم برگرفته شده بدور بریزند.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

آنگاه بردیف عقب پرداخته وپس از درآمیختن کمپلمان باسرم فیزیولژی موجود دو دهم سانتیمتر مکعب از مخلوط برگرفته قبلا یکدهم سانتیمتر مکعب از آن را بدور ریخته ویکدهم سانتیمتر مکعب بقیه را در لوله دوم ریخته وبهمان ترتیب ردیف جلو تا لوله ششم عمل کنند .سپس لوله‌های ردیف عقب را در سوراخهای خالی ردیف جلو جای دهند باین ترتیب محلول کمپلمان به نسبت‌های $\frac{۱}{۹۶} - \frac{۱}{۶۴} - \frac{۱}{۴۸} - \frac{۱}{۳۲} - \frac{۱}{۲۴} - \frac{۱}{۱۶} - \frac{۱}{۱۲} - \frac{۱}{۸} - \frac{۱}{۶} - \frac{۱}{۴} - \frac{۱}{۳} - \frac{۱}{۲}$ بدست میآید.

آنگاه از محلول یك درصد همولیزین مخلوط یك در سه هزار آماده نموده و یکدهم سانتیمتر مکعب بوسیله پی‌پت تازه بهر لوله میافزایند سپس مخلوط آنتی‌ژن یعنی مخلوطی از ۰٫۰۳ درصد کاردیولی‌پین ۰٫۹ درصد کولسترین و ۰٫۲ درصد لسی‌تین که بتازگی در مخلوط نمك تهیه کرده باشند بمقدار ۰٫۱۵ سانتیمتر مکعب بهمه لوله‌ها افزوده و ۰٫۵ سانتیمتر مکعب آب نمك نیز بهمه لوله‌ها اضافه نموده بهر لوله یك دانه بلوری باندازه متوسط انداخته مخلوط را ده دقیقه روی اسباب روتاتور در گرمخانه ۳۵ درجه قرار گرفته باشد حرکت دهند سپس یکدهم سانتیمتر مکعب ازمخلوط دو درصد خون شسته شده گوسفند که سه بار پی‌درپی آنرا در آب نمك شستشو داده باشند بکلیه لوله‌ها افزوده و دوباره لوله‌ها را بمدت دو دقیقه در گرمخانه ۳۵ درجه حرکت دهند. عیار کمپلمان لوله‌ایستکه در آن گویچه‌های سرخ خون گوسفند انحلال کامل پیدا کرده ومحتوی آن زلال وشفاف شده‌باشد .مثلا اگر در لوله هفتم انحلال خون گوسفند کامل باشد در این صورت عیار کمپلمان یك شانزدهم خواهد بود .

آنتی‌ژن

آنتی‌ژنیکه برای این آزمایش بکار میرود عبارتست از مخلوطی ۰٫۰۳ درصد کاردیولی‌پین ۰٫۹ درصد کولسترین و ۰٫۲ درصد لسی‌تین است که باید قبلا مطابق روش معمولی تعیین عیار آنتی‌ژن ، عیار آن تعیین گردد این ترکیب معمولا عیاری به نسبت $\frac{۱}{۱۵۰}$ بدست میدهد و باید ۰٫۱ سانتیمتر مکعب آن بعنوان یك واحد بکار رود .

آنتی‌ژن آزمایشی V.D.R.L همچنان برای این کار صلاحیت استعمال دارد و باید پس از آنکه آنتی‌ژن بروش معمولی برای آزمایش V.D.R.L حاضر شد امولسیون آنرا

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

به‌نسبت $\frac{۱}{۱۴}$ درسرم فیزیولوژی مخلوط‌نمایند.

ناگفته نماند که درمورد تعیین عیار کمپلمان باید چهار لوله بعنوان کنترول آنتی‌ژن ـ همولیزین ـ کمپلمان و خون گوسفند بشرح زیر بلوله های آزمایش افزوده شود:

۱ـ کنترول خون گوسفند = ۱ر۰ سانتیمتر مکعب مخلوط خون گوسفندباضافه ٤ر۰ سرم فیزیولوژی.

۲ـ کنترول‌آنتی‌ژن = ۱۵ر۰ سانتیمتر مکعب آنتی‌ژن باضافه ۳۵ر۰ سانتیمتر مکعب سرم فیزیولوژی باضافه۱ر۰ سانتیمترمکعب‌خون گوسفند.

۳ـ کنترول همولیزین = ۱ر۰ سانتیمترمکعب همولیزین ۱۰/۰۰ باضافه ۳ر۰ سانتیمترمکعب سرم فیزیولوژی باضافه۱ر۰ سانتیمتر مکعب خون گوسفند ۲درصد.

۴ـ کنترول کمپلمان = با۱ر۰سانتیمترمکعب کمپلمان‌یك‌سوم‌باضافه۲ر۰سانتیمتر مکعب سرم فیزیولوژی باضافه۱ر۰سانتیمترمکعب‌خون گوسفند.

بدیهی است درهیچ یك از چهار لوله کنترول نباید کوچکترین اثری ازانحلال گویچه‌های خون گوسفند وجود داشته باشد.

۳ـ سنجش عیار همولیزین

برای اینکار باید عیناً مانند سنجش عیار کمپلمان ۱۲لوله در دو ردیف‌شش‌تائی پشت‌سرهم ویك در میان بگذارند بطوری که لوله‌های ردیف عقب درست مقابل سوراخهای خالی ردیف جلو قرار گیرد. آنگاه بهمان ترتیبیکه در مورد سنجش‌عیار کمپلمان یادداشت شد. بلوله اول از ردیف دوم ۲ر۰ سانتیمتر مکعب و به‌بقیه لوله‌ها یکدهم‌سانتیمترمکعب سرم‌فیزیولوژی ۵۰/۰۰ ۸ر بریزند.

در اینجا باید یادآوری کرد که چه برای سنجش‌عیار کمپلمان ویا سنجش عیار همولیزین باید پی‌پت‌های نشکسته‌ونوك تیز یکسانتیمتر مکعبی مدرج بکار برده ونوك پی‌پت را مستقیماً بته لوله قرار داده مایع را رها کنند آنگاه از محلول همولیزین یك درصدر۰ سانتیمترمکعب برداشته ۱ر۰سانتیمترمکعب بلوله‌نخست ازردیف جلو

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

۱ر۰سانتیمتر مکعب دیگر بلولهٔ نخست از ردیف عقب افزوده و بوسیلهٔ پی‌پت تازه دیگر از لوله اول پس از در آمیختن ۱ر۰سانتیمتر مکعب برگرفته بلوله دوم ریخته واینکار را تا لولهٔ ششم دنبال کنند. سپس بر ردیف دوم پرداخته ۲ر۰سانتیمتر مکعب از محتوی لولهٔ اول از ردیف عقب برگرفته نیمی از آنرا بدور ریخته بقیه را در لوله دوم همان ردیف ریخته ودر این ردیف نیز کار را تا لولهٔ ششم ادامه دهند و ۱ر۰سانتیمتر مکعبی که از لوله ششم هر ردیف برگرفته میشود بدور ریزند.

بدینترتیب درصورتیکه لوله‌های ردیف عقب بلوله‌های ردیف جلو پیوست شود محلولهائی به‌نسبت :

۱/۹۶۰۰	۱/۶۴۰۰	۱/۴۸۰۰	۱/۳۲۰۰	۱/۲۴۰۰	۱/۱۶۰۰	۱/۱۲۰۰	۱/۸۰۰	۱/۶۰۰	۱/۴۰۰	۱/۳۰۰	۱/۲۰۰

بدست میآید.

آنگاه ۱۵ر۰سانتیمتر مکعب مخلوط آنتی‌ژن بهر لوله افزوده ۵ر۰سرم فیزیولوژی نیز بهر لوله اضافه نموده. با افزایش ۱ر۰سانتیمتر مکعب از مخلوط کمپلمان (طبق عیاریکه بدست آورده‌اند مثلاً یك شانزدهم) کار را تکمیل نموده درون هر لوله یکدانه بلوری بقطر متوسط انداخته ده دقیقه مخلوط را بوسیله اسباب مخصوص چرخش (روتاتور) که در گرمخانه ۳۵ درجه قرار داشته باشد باسرعت ۱۵۰ تا ۱۸۰ دور در دقیقه چرخانده سپس ۱ر۰ سانتیمتر مکعب از مخلوط ۲٪ خون گوسفند بمخلوط افزوده دو باره ده دقیقه باهمان سرعت ودرهمان حرارت چرخانده سپس نتیجه را یادداشت کنند

عیار همولیزین عبارتست از مخلوط لوله‌ایست که خون گوسفند محتوی آن انحلال کامل پیدا کرده باشد مثلا اگر لوله ششم کاملا زلال وشفاف شده باشد عیار همولیزین $\frac{۱}{۱۲۰۰}$ خواهد بود که باید با مخلوط $\frac{۱}{۱۶}$ کمپلمان به‌میزان ۱ر۰سانتیمتر مکعب بکار رود.

بدیهی است همان لوله‌های کنترول که برای خون گوسفند ـ آنتی‌ژن ـ همولیزین و کمپلمان یادآوری کردیم در اینجا نیز بعنوان کنترول بکار میرود.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

۴ـ آزمایش اصلی درسرم «کالیتاتیف»

آزمایش اصلی دردولوله انجام میشود بدین ترتیب که ۰٫۵ سانتیمترمکعب سرم مورد آزمایش را که زلال و شفاف و تهی از هموگلوبین باشد و تازه آنرا نیم ساعت در حرارت ۵۶ درجه گرم نموده باشند دردولوله ته تخت بریزند (نوک پی‌پت به ته لوله باید مماس شود) سپس ۰٫۱۵ سانتیمتر مکعب ازمخلوط آنتی‌ژن بلوله جلو و ۰٫۱۵ سانتیمترمکعب سرم فیزیولوژی بلوله عقب افزوده درهرلوله یکدانه بلوری انداخته‌ده دقیقه مخلوط را در گرمخانه ۳۵ درجه بسرعت ۱۵۰ تا ۱۸۰ دور در دقیقه بوسیله اسباب مخصوص بچرخانند آنگاه مطابق عیاری که هنگام سنجش عیار کمپلمان بدست آورده‌اند وبحجم ۰٫۱ سانتیمترمکعب کمپلمان بهردولوله افزوده‌دومرتبه باهمان‌شرایط ده‌دقیقه مخلوط را بچرخانند سپس ۰٫۲ سانتیمترمکعب از مخلوط همولیزین و خون گوسفند (که‌قبلا چند دقیقه آندو را بمقدار لازم وحجم برابربایکدیگر مخلوط کرده باشند) بهر لوله افزوده ده‌دقیقه برای دفعه‌سوم مخلوط را درهمان شرایط بچرخانند و بلافاصله نتیجه را یادداشت کنند.

هرگاه محتوی هردو لوله‌جلووعقب‌یعنی لولهٔ مخصوص‌آزمایش‌ولوله‌مخصوص کنترول زلال‌وشفاف وهمولیز در هردوکامل باشد نتیجه منفی‌است.

درصورتیکه محتوی لوله‌عقب زلال وشفاف وانحلال خون گوسفند درآن کامل باشد اما در لوله جلوخون گوسفند دست‌نخورده مانده و هیچگونه آثاری از همولیز درآن نباشد نتیجه کاملا مثبت است.

بدیهی است میان این‌دوحالت یعنی‌همولیز کامل‌وعدم همولیزممکن‌است‌درجاتی از همولیز دیده شود که هرگاه عدم همولیز را با علامت اختصاری ++++ و همولیز کامل‌راباعلامت — درنظربگیریم‌درجات‌مختلف‌همولیزبتدریج +++ و ++ و + و ± خواهد بود.

۵ـ آزمایش کانتیتاتیف درسرم

روش این آزمایش عیناً مانندآزمایش کالیتاتیف است بااین‌اختلاف که در اینجا باید محلول‌های مختلفی‌ازسرم‌بکارروده‌ـ برای‌این‌کارباید هفت‌لوله ته‌تخت‌درجالوله‌ای نهاده بلوله اول ۰٫۱۵ سانتیمترمکعب بلوله آخر ۰٫۲۵ سانتیمترمکعب وبه‌بقیه لوله‌ها ۰٫۱ سانتی‌مترمکعب‌سرم‌فیزیولوژی‌بریزندـ سپس‌معادل ۰٫۱ سرم‌مورد‌آزمایش (که‌تازه

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

گرم شده‌باشد) گرفته نیمی از آن یعنی۰/۰۵سانتیمترمکعب بلوله نخست ونیم دیگررا آخر بریزند سپس محتوی لوله‌اول را بوسیله چند بار کشیدن ودوباره ریختن آن‌در لوله بکمك‌پی‌پت بخوبی مخلوط نموده۰ر۱ سانتیمتر مکعب از آنرا برگرفته بلولهٔ دوم افزوده وبهمین ترتیب کاررا تا لوله ششم دنبال کنند و۰ر۱ سانتیمتر مکعب که از لوله ششم گرفته میشود بدور بریزند بدین‌ترتیب‌محلولهای مختلفی ازسرم به‌نسبتهای $\frac{۱}{۱۲۸}$ $\frac{۱}{۶۴}$ $\frac{۱}{۳۲}$ $\frac{۱}{۱۶}$ $\frac{۱}{۸}$ $\frac{۱}{۴}$ بدست‌میآید(لوله‌آخرمخصوصی کنترول است و باید در آن همیشه همولیز کامل باشد.) آنگاه معادل ۰ر۱ سانتیمتر مکعب از مخلوط‌آنتی‌ژن بهرلوله بغیر از لوله‌آخرافزوده ودر هرلوله یکدانه بلوری‌انداخته ده دقیقه لوله را بهمان ترتیب آزمایش کالیتاتیف بچرخانند سپس ۰ر۱ سانتیمتر مکعب کمپلمان (مطابق عیار) و۰ر۱ سانتیمترمکعب سرم فیزیولوژی بکلیه لوله‌ها افزوده‌ده دقیقه دیگرلوله‌ها را درحرارت۳۵درجه‌بچرخانند سپس۰ر۲ سانتیمترمکعب‌ازمخلوط همولیزین وخون گوسفند بکلیه لوله‌ها افزوده ده‌دقیقه لوله‌ها را چرخانده نتیجه را یادداشت کنند.

عیاررآژین عبارتست از محلولی ازسرم که بهیچوجه در آن آثاری‌از انحلال خون گوسفند دیده نشود مثلا هرگاه لوله‌چهارم باشد مقدار رآژین برابر با۳۲واحد خواهد بود .

۶ـ آزمایش کالیتاتیف و کانتیتاتیف مایع نخاعی

آزمایش‌های کالیتاتیف وکانتیتاتیف مایع نخاعی‌عیناً مانند آزمایشهای سرم خون خون انجام میشود فقط بااین اختلاف که درآزمایش مایع‌نخاعی بایدنیم‌سانیمترمکعب مایع خیلی تازه که بخوبی درسانتریفوژورچرخانده باشندبکاررود.

درآزمایش کانتیتاتیف‌نخست۰ر۵ سانتیمتر مکعب سرم فیزیولوژی درشش لوله اول و۰ر۱سانتیمترمکعب درلولهٔ‌آخر بریزند آنگاه‌یکسانتیمتر مکعب ازمایع نخاعی برگرفته نیمی ازآنرا درلولهٔ‌اول ونیم‌دیگر را در لولهٔ آخر بریزند سپس مانند سرم محتوی لوله اول را خوب بهم درآمیخته از لولهٔ‌اول بلوله دوم وازدوم‌بسوم واز سوم بچهارم تالوله ششم رقیق نمودن مایع نخاع را دنبال نموده نیم‌سانتی‌مترمکعبی که از لوله ششم برگرفته میشود بدور بریزند . آنگاه مخلوط آنتی‌ژن بدانها افزوده و بقیه آزمایش‌را مانند سرم‌بپایان رسانند .لولهٔ‌آخرباید بدون آنتی‌ژن باقی‌بماند ومخصوص

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

کنترول است که همیشه باید در آن همولیز کامل باشد و در غیر این صورت سنجش عیار بی‌ارزش است.

تجربیات

۱ـ مقایسه نتایج آزمایش ثبوت مکمل تغییر یافته (MCF) با آزمایش V.D.R.L برسرم ۶۷۶ دانشجو:

آزمایش V.D.R.L	آزمایش MCF
مثبت ضعیف ۳	۳
مثبت ۰	۰
منفی ۶۷۳	۶۷۳

با در نظر گرفتن این موضوع که معمولا این اشخاص غالباً دانشجوی پزشکی بوده و دانشجوی پزشکی شخص سالمی فرض میشود میتوان در نظر گرفت که آزمایش MCF و V.DRL متوازیاً و یکنواخت جواب مثبت غیر اختصاصی فقط نسبت ٪۴ر۰ داده است.

۲ـ مقایسه آزمایش MCF و آزمایش V.D.RL از حیث عیار رآژین بنسبت به ۱۱۹۵ سرم سیفیلیس:

آزمایش MCF برابر با V.D.RL	۳۱۰ (۲۶ درصد)
آزمایش MCF کمتر از V.D.R.L	۱۸۳ (۱۵/۳ درصد)
آزمایش MCF بیشتر از V.D.R.L	۷۰۲ (۵۸/۷ درصد)

۳ ـ مقایسه آزمایش MCF با آزمایش کولمر نسبت ۱۷۱ سرم مربوط بمهاجرین مجارستانی.

	آزمایش کولمر	آزمایش MCF
مثبت	۴۲	۶۵
مثبت ضعیف	۲۳	۲۵
منفی	۱۰۶	۸۱

با در نظر گرفتن این موضوع که مهاجرین غالباً سیفیلیسی تلقی میشدند معلوم میشود که آزمایش MCF نسبت بآزمایش کولمر دارای نتایج مثبت نسبتاً بیشتری بوده‌است.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

۴ـ مقایسه آزمایش MCF و آزمایشهای واسرمن ـ کان ـ مولر ومای نیکه نسبت به آزمایش نلسون ومایر وتشخیصات بالینی.

تعداد آزمایشهای منفی متوافق = ۳۵۱
» » مثبت متوافق = ۴۸۳
» » متضاد = ۶۷
جمع کل ۹۰۱

مقدمتاً باید درنظر داشت که اصولاً مقایسه آزمایشهائی مانند آزمایش MCF کان ـ واسرمن - مولر ومای‌نیکه یعنی آزمایشهای وابسته بسرم شناسی کلاسیك که بوسیله آنها رآژین سیفیلیس موجود در سرم نمودار میگردد با آزمایش TPI یا آزمایش نلسون‌مایر که‌درآن‌نوعی ازآنتی‌کور (ایموبیلیزین)معلوم‌میشود امکان‌پذیر نیست باوجود این‌ممعولاهرآزمایشی که چنددرصدنتایج مثبت آن درسیفیلیسهای‌دوره دوم وسوم و نیز انواع سیفیلیسهای کهنه و منفی با آزمایش TPI بیشتر منطبق باشد نتایج آن بیشتر طرف اطمینان‌قرارمیگیرد. درموارد منفی چون بعد ازآغاز نخستین دوره سیفیلیس یعنی ده‌تا پانزده روزپس‌از پیدایش‌شانکر در برخی ازانواع‌سیفلیسهای مخصوص که ممکن است آزمایش TPI نتیجه منفی بدست دهد در موارد دیگر مخصوصاً هرگاه‌آزمایشهای وابسته بسرولوژی کلاسیك نتایج مثبت غیر اختصاصی و نادرست بدست دادهٔ باشد نتیجه‌آزمایش TPI منفی دارای اهمیت است.

الف ـ بطوری که دربالا اشاره شد میان ۹۰۱ سرم ۶۷ مورد نتایج آزمایش MCF با آزمایشهای سرولوژی کلاسیك معمول در وین دارای نتایج‌متضاد بوده است از این۶۷مورد‌آزمایش‌متضاد ۳۰سرم بوسیله MCF نتیجه مثبت داشته‌است‌درصورتی که همین ۳۰ سرم‌باآزمایش‌های واسرمان ـ کان ـ مولرومای‌نیکه منفی مانده‌است.

از این۳۰ سرمی که دارای نتایج متضاد بوده ۲۳ سرم در آزمایش TPI نیز نتیجه مثبت داشته و ۷ سرم دیگر نیز وابسته به بیماران سیفیلیسی زیربوده‌است.

۱ـ بیماری که از نظر بالینی مشکوك بدارا بودن سابقه سیفیلیس بوده ولی

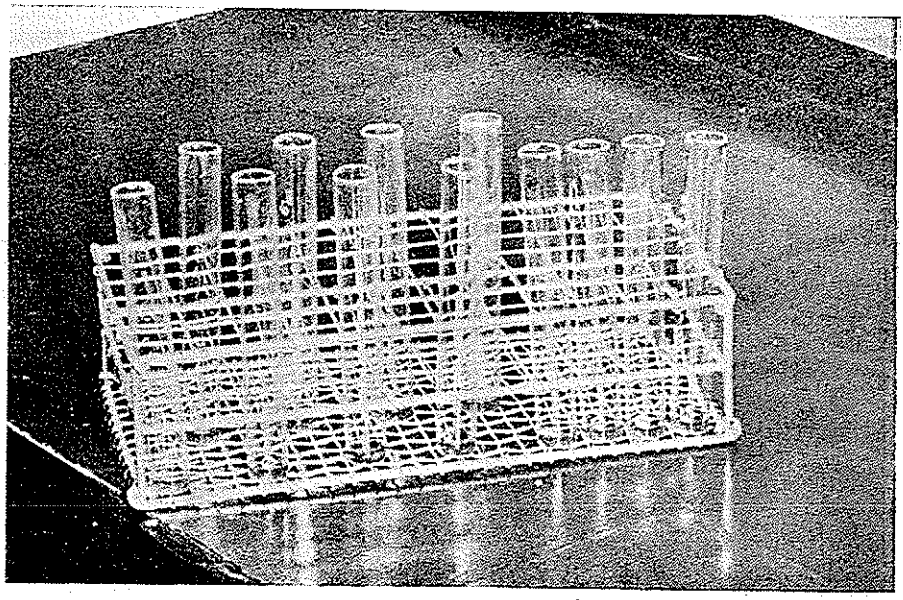
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

آزمایش نلسون درسرم او نتیجه منفی بدست داده‌است.

۲ـ بیمار دارای عوارض دوره دوم سیفیلیس که آزمایش نلسون سرم اومنفی ولی آزمایش VDRL مثبت بوده است

۳ـ بیمار دارای عوارض دوره دوم سیفیلیس که آزمایش نلسون سرم او منفی و آزمایش VDRL مثبت بوده‌است.

۴ـ بیمار دارای عوارض مغزی که آزمایش نلسون درسرم او منفی بوده‌است.



شکل ۱ ـ جا لوله مخصوصی که برای سنجش عیار دو ردیف لوله دارد

۵ـ بیمار دارای دردهای عصبی میان دنده ها (آزمایش نلسون منفی)

۶ـ بیماران دچار به (تابس آزمایش نلسون منفی).

۳۷ سرم در آزمایش MCF نتیجه منفی داشته در صورتیکه آزمایشهای واسرمن ـ کان ـ مولرومای نیکه آنها جواب مثبت داشته‌است.

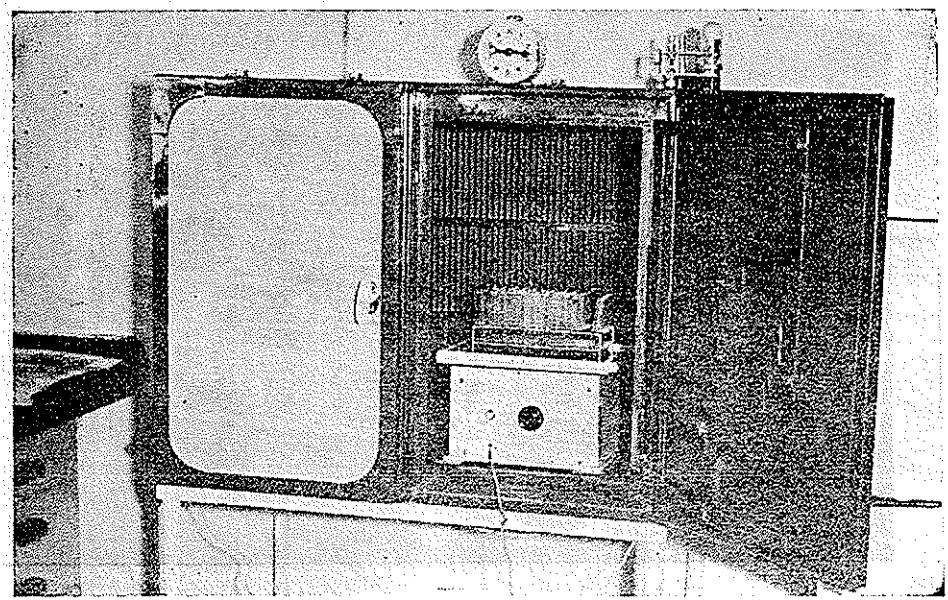
از این ۳۷ سرم در ۳۵ مورد آزمایش نلسون نتیجه منفی داشته است یك سرم مربوط به بیمار مبتلا به سیفیلیس مخفی باآزمایش ضعیف مثبت نلسون بوده‌است ـ سرم

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

دیگر مربوط بمریض‌دچار بسیفیلیس مخفی باآزمایش‌نلسون مثبت بوده‌است .

ب- مقایسه آزمایش MCF باآزمایشهای سرمی‌دیگر مانند آزمایش‌واسرمن- کان-مولر-مای‌نیکه ونلسون.

از ۱۷۱ سرم که دارای نتیجه مثبت آزمایش نلسون‌بوده۱۰۲ موردآزمایشهای کان ـ مولر واسرمن ومای‌نیکه مثبت و۶۹سرم منفی بوده است . درصورتیکه بوسیله آزمایشMCF ۱۱۹ سرم مبثت‌و۵۲سرم‌منفی بوده‌است .



شکل ۲ ـ اسباب چرخش لوله ها که درون گرمخانه جای داده شده است

از ۲۳۹ سرمی‌که در آزمایش نلسون جواب منفی را داشته در ۴۴ مورد آزمایشهای واسرمن ـ کان- مای‌نیکه ومولر نتیجه مثبت ودر۱۹۷ مورد دارای نتیجه منفی بوده است ولی درآزمایش MCF، ۱۷ سرم‌دارای نتیجه مثبت و۲۲۲ سرم دارای نتیجه منفی بوده است.

بطور خلاصه همانطور که در زیر نشان داده شده در این ۳۰ سرم مورد اختلاف، آزمایش MCF صد درصد باآزمایش نلسون منطبق و در ۳۷ مورد

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

منفی MCF به نسبت‌های ۹۲٫۸ در صد باآزمایش نلسون منطبق بوده‌است .

جمع کل آزمایشهای انجام‌شده = ۹۰۱

۱ـ مقایسه آزمایش MCF باآزمایشهای مای‌نیکه ـ کان ـ مولر ـ واسرمن ـ برروبهم باکنترول آزمایش TPI و تشخیص بالینی:

مثبت‌های متوافق = ۴۸۳ منفی‌های متوافق = ۳۵۱ نتایج متضاد = ۶۷

ازاین ۶۷ سرم دارای نتایج متضاد :

MCF مثبت WMkML منفی = ۳۰

مطابقت MCF با TPI وکلینیك باهم دراین ۳۰ مورد مثبت ۱۰۰٪

عدم مطابقت WMkML با TPI وکلینیك دراین ۳۰ مورد ۰٪

WMkML مثبت MCF منفی = ۳۷

مطابقت MCF با TPI دراین ۳۷ مورد ۹۴٫۶۰٪

عدم مطالقت WMkML با TPI دراین ۳۷ مورد ۵٫۴۰٪

شکل ۳

لوله ته تخت که درون آن یك دانه بلوری نمایان است

۲ـ مقایسه آزمایش MCF وآزمایش‌های واسرمن ـ مای‌نیکه ـ مولر وکان با آزمایش TPI :

TPI		TPI	
۱۷۱ مثبت	۱۰۲ مثبت ۶۹ منفی	۲۳۹ منفی	۱۹۵ منفی ۴۴ مثبت
	MCF ۱۱۹ مثبت ۵۲ منفی		MCF ۲۲۲ منفی ۱۷ مثبت

۳ـ مقایسه پورسانتاژ حساسیت آزمایشهای (واسرمن ـ کان ـ مولر ـ مای‌نیکه) با آزمایش MCF نسبت بآزمایش TPI

۱۷۱ TPI مثبت	WMkML = ۲۱۰ مثبت ۶۹ منفی	۲۳۹ TPI منفی	WMkML ۱۹۵ منفی ۴۴ مثبت
	MCF ۱۱۹ مثبت ۵۲ منفی		MCF ۲۲۲ منفی ۱۷ مثبت

توضیح : علامت‌های اختصاری M = مای‌نیکه ML = مولر W = واسرمن MCF = آزمایش مورد مقایسه TPI = آزمایش نلسون .

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

خلاصه و نتیجه: یك‌روش‌سریع ثبوت کمپلمان برای‌تشخیص سیفیلیس که در آن حرکت‌ملایم(چرخش۱۵۰تا۱۸۰ دور دردقیقه) شرح‌داده‌شده‌است. ـ دراین روش لوله‌های ته‌تخت که درهریك یك‌مروارید بلوری برای‌خوب بهم‌درآمیختن آنتی‌ژن و رآژین‌است‌بکارمیرودوکلیه حجم آزمایش‌نیم‌سانتیمتر مکعب‌و کمپلمان دوبارهردفعه ده دقیقه درحرارت۳۵درجه بطورملایم چرخانده‌میشود.بنابراین کمپلمان تغییر محسوس درجریان‌آزمایش‌پیدا نمیکند. ورآژین سریع‌ویکنواخت برآنتی‌ژن می‌چسبد.

REFERENCES

1– Cachtgehs ,W.Z. Imn. forsch. 63:398 1929

2– Ehrmann, G. Archive f.Klin u . exp. Derm. Bd. 202 1956

3–Hans Schmidt , Fortschritte der Serologie, Darmstaat 1955

4– Harry Eagle. The Laboratory Diagnosis of Syphilis The C.V. Mosby Compagny St . Louis 1937

5 – Heidelberger , M . Lectures in Immunochemistry Academic Press . New York U.S.A. 1956

9–Hombria, A. Acta Dermatosyphilogr . 23,680–683 1931

7- Kadish , E. Med. Klin. S. 1620 1926

8- Kail , F. Zeitschr. f.H.u. Geshl ,Bd XI Heft 7 1950

9-Kabat, E. A. and Mayer M.M . Experimental Immuno-chemistry Charles c Thomas Springfield Illinois U.S.A. 1948

10– Manual of Serologic tests for Syphilis, Supplement No 22 The Journal of Veneral Disease information , U.S. Government printing office, Washington 1949

12-Mirdamadi, H.Rev. Fac. Teh .Vol -11. No. 3 1953

13-Mirdamadi' H. Rev . Fac . Med. Teh. Vol . 11 No.9 1954

13- Mirdnmadi, H . and Nazari G. Acta Medica Iranica Vol. 1 No. 1 1957

14–Nelson . A and Mayer M.J.Exp . Med .28;297 1948

15– Pangborn M. Proc .Exp. Biol .Sog . and Med . 48 ,484 ,486 1941

16– Portella, O. Annual Report of the Division of Laboratories and Research, Albany U.S.A. 1950

17– Ruge , H. O otten o. Stschr. Hyg. Rd. 144 1958

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]