

نامه ماژانه دانشکده پزشکی بهیت تحریریه:

دکتر محمد حسن مانی
دکتر محمد علی ملکی
دکتر حسن میردامادی
دکتر ابوالقاسم نجم آبادی

دکتر محمود سیاسی
دکتر جهان شاه صاحب
دکتر صادق عزیزی
دکتر محمد قریب
رئیس بهیت تحریریه - دکتر جهان شاه صاحب
مدیر داخلی - دکتر محمد بهشتی

دکتر محمد حسین ادیب
دکتر ناصر انصاری
دکتر محمد بهشتی
دکتر حسین سهراب

شماره ششم

اسفند ماه ۱۳۳۲

سال یازدهم

روش اجرای آزمایش نوین واسرمان

نقارش

دکتر حسن میردامادی

استاد کرسی و رئیس بخش سرم شناسی دانشکده پزشکی

۱- آنتی ژن

آنتی ژن این آزمایش عبارت از محلول آلکلی کلسترین - لسی تین و کاردیولی پین

است که به نسبت های زیر :

۰/۰۳ گرم

کاردیولی پین

« ۰/۹

کلسترین

« ۰/۲

لسی تین

۱۰۰ سانتیمتر مکعب

آلکل اتی لیک

با هم مخلوط گردیده و بر طبق روش معمولی سنجش عیار آنتی ژن تعیین

گردیده است - هر گاه این ترکیب در دسترس نباشد بجای آن میتوان از آنتی ژن کان

استفاده نمود بدین ترتیب که قبلا بدستور کان آنتی ژن را با آب نمک ۰/۹/۰ آماده ساخته

و از آن مخلوط های مختلفی از $\frac{1}{5}$ تا $\frac{1}{100}$ و بالاتر تهیه نموده و در برابر مقادیر مختلفی از سرم سیفیلیس عیار حقیقی آنرا تعیین کنند.

بر طبق تجربیات نگارنده که بر دو نمونه آنتی ژن کان، یکی ساخت بخش سرم شناسی دانشکده و دیگری ساخت آزمایشگاه کان در دانشگاه میشیگان، بعمل آمده است عیاری بمیزان $\frac{1}{4}$ و $\frac{1}{16}$ از مخلوط حاضر شده آنتی ژن کان برای این آزمایش شایسته است.

۴- سرم همولیز دهنده

این سرم بر طبق روش معمول بوسیله تزریق درون سیاهرگی مقادیر مختلفی از خون شسته شده گوسفند بخرگوش تهیه میشود - ده روز پس از آخرین تزریق خون خرگوش را گرفته و پس از جدا کردن سرم آنرا در گرمی ۵۶ بمدت نیم ساعت میگزازند سپس آنرا بمیزان برابر با گلیسرین خالص و خنثی مخلوط کرده پیوسته در جای سرد و تاریک نگاهداری نمایند.

۴- مکمل - سرم تازه سه خو کچه هندی را بمیزان برابر با محلول زیر:

آسید بوریک	۵ گرام
استات دوسدیم	۱۲ «
آب مقطر	۱۰۰ سانتیمتر مکعب

در آمیخته پیوسته آنرا در جای سرد و تاریک نگاهداری نمایند.

این روش نگاهداری مکمل که شایستگی آن بسال ۱۳۱۲ در بنگاه روبرت کخ بر این بوسیله نگارنده با اثبات رسیده است از ده سال باینطرف در بخش سرم شناسی دانشکده پزشکی معمول میباشد.

۴- سرم بیمار - سرم تازه و بدون هموگلبین که نیم ساعت به ۵۶ آنرا گرم نموده باشند.

۵- آب نمک - در این آزمایش آب نمک ۰/۸۵ که بهر لیتر آن معادل ۰/۲۰ گرام سولفات منیزیم افزوده شده باشد بکار میرود.

۶- خون گوسفند - خون گوسفند را گرفته و بمقدار برابر با محلول ۳/۸۰/۰ سیترات سدیم در آمیخته با آب نمک ۰/۹۰ شستشوداده و از ته نشین دفعه سوم مخلوطی بمیزان ۲۰/۰ تدارک کنند.

۷- لوله ها و لوازم دیگر .

در این آزمایش برخلاف کلیه آزمایشهای دیگر لوله های مخصوصی بکار میرود که ۲ سانتیمتر دهانه و ۱ سانتیمتر طول داشته و ته آنها پهن باشد و (۱) پیپت هایی که برای این آزمایش بکار میرود باید نوک باریک باشد که بتوان با آسانی مقادیر کم مایع را نقل و انتقال داد .

از این گذشته در این آزمایش اسباب چرخنده که در هر دقیقه صد تا دویست دور بزنند لازم است علاوه مقداری دانه های بلوری با اندازه متوسط باید در دسترس باشد .

۸- سنجش عیار سرم همولیتیک .

قبلا در یکجای لوله ای دو ردیف ۵ تایی و یک ردیف چهار تایی لوله در سه ردیف یک در میان جای بدهند بطوری که لوله های ردیف میان درست مقابل سوراخهای خالی و بی لوله ردیف جلو جای گرفته باشد . پس در حالی که نوک پیپت را بته لوله رسانیده اند در لوله اول ردیف جلو ۱/۰ س م^۳ و در نخستین لوله ردیف میان نیز ۱/۰ س م^۳ محلول ۱۰/۰ سرم همولیتیک بریزند پس پیپت را عوض کرده و بوسیله پیپت دیگری که نوک باریک داشته باشد در تمام لوله ها ۱/۰ س م^۳ آب نمک ۰/۸۵/۰ و در نخستین لوله ردیف دوم ۰/۲ س م^۳ آب نمک بریزند .

پس محتوی نخستین لوله ردیف جلو را خوب بهم آمیخته ۱/۰ س م^۳ از آنرا بلوله دوم افزوده و بدینسان تا آخرین لوله همین ردیف پیش رفته ۱/۰ س م^۳ را که از آخرین لوله گرفته شده است دور بریزند .

آنگاه بر ردیف دوم پرداخته و پس از مخلوط نمودن محتوی ۰/۲ س م^۳ از نخستین لوله آن ردیف را برداشته نیمی از آنرا باولین لوله ردیف عقب (بازرسی سرم حلاله) و نیم دیگر را به دومین لوله همان ردیف ریخته و مانند ردیف پیش عمل نموده ۱/۰ س م^۳ که از آخرین لوله گرفته میشود دور بریزند .

پس بهمه لوله های ردیف جلو و میان و اوله دوم ردیف عقب (بازرسی مکمل)

۱- استفاده از اینگونه لوله های ته تخت برای آسان کردن حرکت دانه بلوری

در مایع است تا بدین ترتیب حساسیت آنتی ژن و ثبوت مکمل بهتر انجام شود بوسیله آقای دکتر ارسطو دستیار بخش سرم شناسی به نگارنده تلقین گردیده است .

۰/۱ س م^۴ مکمل $\frac{1}{15}$ و بهمه لوله‌های ردیف جلو و میان و لوله سوم ردیف عقب (بازرس آنتی ژن) ۰/۱ س م^۴ از مخلوط آنتی ژن و بهمه لوله‌های هرسه ردیف ۰/۱ س م^۴ از مخلوط ۲۰٪ خون گوسفند بریزند. آنگاه لوله‌های ردیف دوم را بترتیب در سوراخهای خالی ردیف جلو جای دهند - بدین ترتیب سرم همولیز دهنده به نسبت‌های زیر:

$$\frac{1}{4800} - \frac{1}{4200} - \frac{1}{3600} - \frac{1}{3000} - \frac{1}{2400} - \frac{1}{1800} - \frac{1}{1200} - \frac{1}{800} - \frac{1}{600} - \frac{1}{400} - \frac{1}{200}$$

مخلوط گردیده است.

برای اینکه حجم محتویات لوله‌های ردیف عقب با لوله‌های دیگر یکسان باشد باید بترتیب از چپ بر است در سه لوله اول ۰/۳ و در لوله چهارم ۰/۴ آب نمک بریزند - آنگاه یک دانه بلوری متوسط بهر یک از لوله‌ها افزوده لوله‌ها را ده دقیقه در گرمی ۳۰ و بوسیله دستگاه مخصوص که در هر دقیقه ۱۷۵ تا ۲۰۰ حرکت دور میزند بچرخانند و پس از ده دقیقه لوله‌ها را معاینه کرده آخرین لوله‌ای را که در آن گویچه‌های خون گوسفند کاملاً حل شده و محتوی آن زلال و شفاف شده است در نظر گرفته همان را عیار و واحد سرم همولیز دهنده قرار دهند که در آزمایش بایستی بکار رود.

سنجش عیار مکمل.

سنجش عیار مکمل نیز عیناً مانند عیار سرم همولیز دهنده است با این اختلاف که در این مورد بجای سرم همولیز دهنده محلول‌های مختلفی از مکمل بکار می‌برند برای اینکه باید بترتیب پیش سه ردیف لوله در جا لوله‌ای گذاشته و بهمان طریقی که پیش یادداشت گردید بهر یک از لوله‌ها ۰/۱ س م^۴ آب نمک ۰/۸۵۰ بریزند پس ۰/۲ س م^۴ سرم خو کچه هندی برداشته ۰/۱ س م^۴ از آنرا بلوله اول ردیف جلو و ۰/۱ س م^۴ دیگر را با اولین لوله ردیف دوم ریخته و بترتیبی که درباره سرم همولیز دهنده گذشت مخلوط‌های مختلفی از مکمل یعنی از مخلوط $\frac{1}{4}$ تا $\frac{1}{14}$ آماده نمایند.

پس بهمه لوله‌ها بغیر از چهار لوله ردیف عقب ۰/۱ س م^۴ سرم همولیز دهنده (بر طبق عیاری که قبلاً بدست آورده‌اند) و ۰/۱ س م^۴ از مخلوط آنتی ژن (بر طبق

عیار) افزوده و با افزایش ۳/۰ س م^۳ آب نمک در سه لوله اول ردیف عقب و ۴/۰ س م^۳ بچهارمین لوله همان ردیف دستگاه را تکمیل نمایند.

آنگاه بهمه لوله هایك دانه بلوری افزوده و ده دقیقه بهمان ترتیب پیش لوله ها را حرکت داده سپس نخستین لوله ای که در آن همولیز کامل گردیده و محتوی لوله زلال و شفاف شده باشد در نظر گرفته همان را واحد مکمل قرار دهند.

آزمایش - سرم مورد آزمایش را نیم ساعت در گرمی ۵۶ گذاشته سپس کمی از آنرا بمقدار برابر با آب نمک ۰/۸۵ در آمیخته ۰/۱ س م^۳ از آنرا در يك لوله و همین مقدار را در لوله دیگر بریزند - آنگاه ۰/۱ س م^۳ از مخلوط آنتی ژن (بر طبق عیار) بلوله اول و همین مقدار آب نمک بلوله دوم (شاهد) افزوده و بهر لوله يك دانه بلوری انداخته ده دقیقه لوله ها را بر اسباب چرخنده و در گرمی ۳۰ بچرخانند.

پس بهر دو لوله ۰/۱ س م^۳ محلول مکمل (بر طبق عیار) افزوده ده دقیقه دیگر لوله ها را در همان شرایط حرکت دهند - آنگاه مخلوط خون گوسفند و سرم همولیز دهنده را که پیشاپیش تهیه دیده و آنهارا بهم در آمیخته اند بهر لوله ۰/۲ س م^۳ افزوده ده دقیقه دیگر لوله ها را حرکت داده سپس نتیجه را در نظر بگیرند.

برای اینکه یادداشت نتیجه آزمایش آسان تر باشد و نظر باینکه آزمایش با حجم بسیار کمی انجام میگردد بهتر است پیش از یادداشت نتیجه بهر لوله ۰/۵ س م^۳ آب نمک ۱۵ درصد بیفزایند.

حاجت به یادداشت نیست که روش یادداشت نتایج بر طبق معمول با در نظر گرفتن همولیز کامل در لوله شاهد و اختلاف شدت همولیز و یا عدم همولیز در لوله واکنش بعمل می آید.

آزمایش آبگونه مغز تیره.

روش آزمایش آبگونه مغز تیره عیناً مانند سرم است با این اختلاف که در این مورد بجای ۰/۵ س م^۳ بهر لوله باید ۰/۵ س م^۳ آبگونه بکار میرود.

تعیین میزان راژین.

برای آزمایش کمی و یا تعیین مقدار راژین نیز روش کار مانند آزمایش کیفیتی

(چونی) است فقط در این مورد محلولهای مختلف سرم از $\frac{1}{4}$ تا $\frac{1}{128}$ و در صورت لزوم بالاتر بکار میرود.

آزمایش ثبوت مکمل در بیماریهای دیگر .
برای استفاده از این آزمایش در بیماریهای میکروبی ویروسی یا انگلی دیگر نیز روش کار عیناً همان است که یادداشت گردید منتها در هر مورد باید آنتی ژن مخصوص را قبلاً سنجش عیار نموده مقدار مناسبی از آنرا (۱/۰ س م ۳) بکار برند.

ماخذ و مدارك

- 1— Kadisch , E , Ztschr . f . d . ges , Neurol . u . Psychiat .
56 : 260 . 920 .
- 2 — Navaro - Martin , and Hoobria Dermat . Ztschr .
54 : 245 , 1928 .
- 3 — The Laboratory Diagnosis of Syphilis . Harry Eagle 1937
- 4 — Kabat and Mayer . Experimental Immuno . chemistry 1948
- 5 — Serology With lipide antigen . Rueben I . Kahu . 1950
- 9 — Annual Report of the Division of Laboratories and Research.
- 7 — Immunology . Sherwood , 1950 .
- 8 — Fundamentals of Immunclogy , william C . Boyd 1947
- 9 - The Specifity of Serological Reactions , Kal Landsteiner , 1947
- 10 - Zeitschrift für Immunitäts forschung . Bd . 83 . 1944 Hefr 3/4