



آنتی ژنهای فبرایل و سرمهای کنترل

آنتی ژنهای فبرایل استیتوپاستورایران سوسپانسیون میکروبی کشته شده‌ای است. دارای مواد رنگی و نگهدارنده مناسب که بمنظور تشخیص سرمی بعضی از بیماریهای تبزا (Febrile disease) مانند تیفوئید، پاراتیفوئید (A, B, C) تیفوس و تب مالت طبق روشهای متداول بین المللی تهیه و استاندارد گردیده اند.

تفوی:

عفونت ناشی از سالمونلاها، بروسلاها، پاستورلاها و ریکتزیاها در انسان و حیوان سبب می گردد تا در سیستم گردش خون آنتی کرهاى اختصاصی معینی بر علیه آنها موجود آید که این آنتی کرها را میتوان بوسیله سوسپانسیون کشته شده میکروارگانیزمی که سبب ایجاد آن بیماری گردیده (آزمایش ویدال) و یا دارای عامل آنتی ژنتیکی متشابهند (آزمایش وایل فلیکس) مشخص نمود لکن تشخیص قطعی نوع بیماری علاوه برانجام آزمایشات سرولوژیکی و در نظر گرفتن علائم بالینی، مستلزم بررسی اطلاعات دیگری چون کشت خون، کشت مدفوع، شمارش گلبولهای سفید و غیره است که از بیمار گزارش گردد. بنابراین گرچه روشهای متداول سرولوژیکی در شناخت نوع بیماری و تعیین شدت عفونت کمک فراوانی به پزشک، معالج مینمایند معهذا دخالت یک سری عوامل شناخته و یا ناشناخته متعدد ارزیابی نتایج حاصل از این روش که اصطلاحاً با «آزمایش رایب و ویدال» معروف است را با اشکالاتی که ذیلاً درج گردیده مواجه ساخته است.

الف - مثبت کاذب:

یکی از مهمترین مسائلی که در آزمایشات سرولوژیکی وجود دارد قرابت آنتی ژنیکی بعضی از میکروارگانیزمها با یکدیگر است. بعنوان مثال اغلب در سرم خون مبتلایان به بروسلوز تیترا قابل توجهی از آگلوتینین فرانسویلا (پاستورلا) تولارنس و بعضی از سالمونلاها ایجاد میگردد. علاوه واکنش های جانبی دیگری نیز بین بروسلاها با پروتئوس و لگاریس "OX19" و بیروکلراویرسینیا آنتر و کلی تیکا گزارش گردیده جالب اینکه در بعضی موارد تیترا آگلوتینین موجود بر علیه گونه های هترولوگ لپتوسپیراها به سراتب از تیترا آگلوتینین عامل سببی خود بیماری بالاتر است. قرابت آنتی ژنیکی سالمونلاتیفی با سالمونلا آنتری تیدیس و بعضی از سالمونلاهای گروه "B" اشکالاتی در بررسی نتایج آزمایشات رایب و ویدال ایجاد مینماید که استفاده از هردو آنتی ژن فلاژلا و سماتیک از یک گروه را الزامی مینماید. همچنین در سرم خون اشخاصی که به عفونت ناشی از پروتئوس مبتلا هستند تیترا قابل توجهی از آنتی کرهاى عامل سببی بیماری تیفوس را میتوان اندازه گرفت.

غالباً دیده شده که در سرم خون بیماران مبتلا به آنفلو آنزا با آنتی ژن سماتیک گروه "D" سالمونلاها (DO) آگلوتینه میگردد. ضمناً سرم خون معتادین به قرص خواب آور و اشخاصیکه به بیماریهای مزمن کبدی دچار هستند نیز حساسیت غیر اختصاصی گسترده ای با آنتی ژنهای فبرایل خصوصاً سالمونلاها از خود نشان میدهند. در سرم خون بیماران شغایافته، کسانیکه در مناطق آلوده زندگی میکنند، ناقلین عامل سببی بیماری و افرادی که با واکسن "T.A.B" و یا منووالنت ضد حصبه واکسینه شده اند تیترا قابل توجهی از آگلوتینین سالمونلاها مشاهده میگردد. لازم به یادآوری است که بمنظور رفع اکثر اشکالات فوق برای اشخاص مشکوک به بیماریهای مربوطه آزمایشات رایب و ویدال را باید حداقل سه بار و در فاصله چندروز متوالی در شرایط کاملاً یکسان آزمایشگاهی تکرار نمود تا تغییرات نسبی تیترا آگلوتینین موجود در سرم خون بیمار عفونت را تایید نماید. بنابراین جواب یک آزمایش مثبت سرولوژیکی مرکز عفونت را بطور یقین ثابت نمی نماید.

ب - منفی کاذب:

علاوه بر کلیه موارد فوق باید توجه نمود که یک واکنش منفی در آزمایشات رایب و ویدال را نیز نمیتوان دال بر رد عفونت بیمار دانست. بعنوان مثال در شرایطی که تیترا آگلوتینین موجود در سرم خون بیمار بیش از حد تعادل غلظتی باشد که برای ایجاد واکنش آنتی کر-آنتی ژن مورد نیاز است، استفاده از آنتی ژنهای مربوطه هیچ گونه واکنشی را نشان نداده و نتیجه گزارش منفی خواهد بود. البته اشکال این واکنش که به «پدیده پروزون» مشهور است را میتوان با رقیق کردن سرم قبل از آزمایش برطرف نمود. بنابراین در روش آگلوتیناسیون سریع مصرف یک قطره آنتی ژن و یک قطره سرم برای تشخیص بیماری هرگز علمی نبوده و در عفونتهای حاد جواب صحیحی بدست نمی آید. همچنین در مواردیکه نقص سیستم دفاعی بدن سبب تولید آنتی کرهاى ناقص بر علیه عامل سببی بیماری مربوطه میشود.

هنگام آزمایش، آگلوتیناسیون قابل رویت ایجاد نگردیده که این امر نیز منجر به ارائه گزارش منفی کاذب میگردد. این واکنش را که بیشتر در عفونت بروسلاها مشاهده میشود میتوان با انجام آزمایش «کومس» بر طرف نمود. در عفونتهای حاد حصبه اغلب دیده میشود که معلت پوشیده شدن جسم سلولی سالمونلاتیفی توسط آنتی ژن VI (ویروالنت) سرم خون بیمار با آنتی ژن سماتیک گروه "D" سالمونلاها منفی و با آنتی ژن فلاژلا گروه "D" مثبت میباشد. بنابراین صرفاً در مواردیکه سرم خون با آنتی ژن "VI" نیز منفی باشد گزارش آزمایش منفی تلقی میگردد. بالاخره اگر نمونه سرم خون قبل از تولید آنتی کر قابل اندازه گیری از بیمار گرفته شده باشد نیز جواب آزمایش منفی کاذب خواهد بود.

(تابلو شماره ۱)

آنتی ژن	نوع عفونت	زمان لازم برای تولید تیترا با ارزش حداکثر آگلوتینین
۱- بروسلا آبروتوس بروسلوز	تیفوئید	۲-۵ هفته
۲- پروتئوس	تیفوئید	۲-۳ هفته
۳- پروتئوس	تیفوئید	۲-۳ هفته
۴- DH سالمونلا	تیفوئید	۳-۵ هفته
۵- DO سالمونلا	تیفوئید	۳-۵ هفته
۶- AH سالمونلا	پاراتیفوئید	۳-۵ هفته
۷- BH سالمونلا	پاراتیفوئید	۳-۵ هفته
۸- لپتوسپیرو	لپتوسپیروز	۱-۲ هفته
۹- فرانسویلاتولارنس	تولارمی	۳-۸ هفته

* تیترا با ارزش در اشخاصی که واکسینه نشده اند.

کرچه در بعضی موارد در ارقام مندرج در تابلو ممکن است اختلافاتی دیده شود، لکن این تابلو در تفسیر آزمایش کمک قابل توجهی به پزشک معالج می نماید.

تکنیک و روش کار:

الف - غلظت آنتی ژنها:

آنتی ژنهای سماتیک و فلاژلا و "VI" سالمونلاها تقریباً بیست برابر غلظت لوله شماره ۲ مک فارلند $1/8 \times 10^{-1}$ ژرم در میلی لیتر) طوری استاندارد گردیده اند تا آماده برای مصرف به روش آگلوتیناسیون سریع باشند و در صورت استفاده به روش لوله آنها را باید توسط سرم فبریلوژی فرمله (۳ تا ۵) - درصد امیست برابر رقیق نمود. آنتی ژنهای مورد استفاده به روش آگلوتیناسیون لوله و سریع بروسلا آبروتوس و پروتئوس و لگاریس هرکدام جداگانه تهیه و استاندارد گردیده و در دو شیشه مختلف عرضه میشوند.

ب- روش آگلوتیناسیون سریع:

Rapid Plate Agglutination Test

روی شیشه پاک و تمیزی بکمک خط کش و مداد شمعی حدود ۶۴ مربع به ابعاد ۱/۵×۱/۵ سانتی متر می کشیم. سپس با استفاده از پی پت ۰/۱ میلی لیتر و یا سمپلر (Sampler) مقادیر ۰/۰۸، ۰/۰۴، ۰/۰۲، ۰/۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۲ و ۰/۰۰۱ میلی لیتر از سرم خون بیمار را در شش خانه افقی ریخته و یک قطره از آنتی ژن موردنظر را به آن اضافه می نماییم.

مخلوط آنتی ژن و سرم را توسط اپلیکاتور چوبی بخوبی بهم میزنیم. شامه نیز یک قطره آنتی ژن در خانه هفتم است. شیشه را چندین بار تکان داده و نتیجه آزمایش را بعد از یک دقیقه به شرح ذیل ثبت می نماییم.

۱۰۰٪ آگلوتیناسیون با علامت (++++)، ۷۵٪ آگلوتیناسیون با (+++)، ۵۰٪ آگلوتیناسیون با (++)، ۲۵٪ آگلوتیناسیون با (+) و بالاخره آگلوتیناسیون منفی با علامت (-) مشخص میشود (تابلوی شماره ۲). لازم به یادآوری است که در روش آگلوتیناسیون سریع چند نکته زیر را باید مد نظر داشت.

۱- تیتراژ برابر است با عکس بالاترین وقتی که با مقایسه شاهد حداقل ۵۰٪ (++) آگلوتیناسیون از خود نشان دهد.

۲- بعد از اضافه نمودن آنتی ژنها مقادیر ۰/۰۸ تا ۰/۰۰۲ میلی لیتر از سرم خون به ترتیب معادل $\frac{1}{3}$ ، $\frac{1}{4}$ ، $\frac{1}{8}$ ، $\frac{1}{16}$ ، $\frac{1}{32}$ ، $\frac{1}{64}$ وقت خواهد شد.

۳- در این روش باید به محدودیت زمانی توجه خاصی نمود و ضمن آزمایش نباید شیشه آگلوتیناسیون را نزدیک حرارت قرار داد که در هر دو صورت مقداری آب تبخیر گشته و نتیجه ای صحیح حاصل نمی گردد.

تابلو (۲) نمونه ثبت نتیجه در روش آگلوتیناسیون سریع

مقدار سرم (ml)	وقت مشابه	نمونه اول	نمونه دوم	نمونه سوم
۰/۰۸	۱:۲۰	+++	++++	++++
۰/۰۴	۱:۴۰	++	++++	++++
۰/۰۲	۱:۸۰	+	+++	++
۰/۰۱	۱:۱۶۰	-	++	+
۰/۰۰۵	۱:۳۲۰	-	+	-
۰/۰۰۲	۱:۶۴۰	-	-	-
تیتراژ سرم				
		۲۰	۱۶۰	۸۰

ج- روش آگلوتیناسیون لوله (کند)

این روش که برای کلیه نمونه سرمهای مشکوک مورد استفاده قرار می گیرد به مراتب حساستر از روش آگلوتیناسیون سریع بوده و صرفا به وقت و لوازم آزمایشگاهی بیشتر نیاز دارد.

روش آزمایش:

۱- تهیه رقت آنتی ژن: در آزمایش ویدال ابتدا آنتی ژن سالمونلای مورد نظری که برای آزمایش به روش آگلوتیناسیون سریع استاندارد گردیده را با محلول سرم فیزیولوژی فرمله (۱/۵ درصد) به نسبت ۱/۱ دقیق می نماییم. در مورد آزمایش رایت و وایل فلیکس باید آنتی ژنی (بروسلا آبوریتوس و پروتئوس ولکاریس) که برای آزمایش به روش لوله استاندارد گردیده استفاده نمود.

۲- روش کار: تعداد ده لوله کوهن را در جالوله ای قرار داده و در لوله اول ۰/۹ و در کلیه لوله های بعدی ۰/۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی (۰/۹ درصد) می ریزم. به لوله اول ۰/۱ میلی لیتر سرم مورد آزمایش را اضافه نموده و بعد از مخلوط نمودن آنها بوسیله پی پت، ۰/۵ میلی لیتر از آنرا به لوله دوم و ۰/۵ میلی لیتر از لوله دوم را به سوم و به ترتیب تا لوله نهم انتقال می دهیم ضمنا ۰/۵ میلی لیتر مایع اضافی لوله نهم را دور میریزیم. به هریک از لوله ها ۰/۵ میلی لیتر از آنتی ژن رقیق شده و یا استاندارد شده برای روش لوله را اضافه نموده و بعد از بهم زدن به شرح زیر در گرمخانه قرار می دهیم.

آنتی ژنهای فلاژلا سالمونلاها بمدت یک ساعت در ۵۰°C و یا سه ساعت در ۳۷°C آنتی ژنهای سماتیک سالمونلاها بمدت ۱۶ ساعت در ۵۰°C و یا ۲۴ ساعت در ۳۷°C آنتی ژن پروتئوس ابتدا بمدت ۲ تا ۴۸ ساعت در ۳۷°C.

آنتی ژن پروتئوس ابتدا بمدت ۲ ساعت در ۳۷°C سپس ۱۶-۱۸ ساعت در ۴°C. بعد از زمان اینکوباسیون، بوسیله تور فلورستنتی که در زمینه سیاهی بتابد درجه آگلوتیناسیون را با مقایسه شاهد (لوله دهم که دارای ۰/۵ میلی لیتر آنتی ژن است) طوری ثبت می نماییم که علامت (++++) مشخص کننده صددرصد آگلوتیناسیون آنتی ژن با آنتی کر باشد. یا بعبارت دیگر هنگامیکه در ته لوله آگلوتیناسیون بخوبی مشاهده گردیده و مایع لوله مانند سرم فیزیولوژی کاملا شفاف باشد. علامت (++) مشخص کننده ۷۵ درصد آگلوتیناسیون است که در اینصورت مایع داخل لوله از شاهد شفافتر و از لوله قبلی کدرتر بنظر می رسد. علامت (+) برای ۵۰ درصد آگلوتیناسیون و علامت (-) را برای ۲۵ درصد آگلوتیناسیون و بالاخره علامت (-) را برای آگلوتیناسیون منفی انتخاب میکنیم که در این صورت مایع داخل لوله کاملا کدر بوده و در ته لوله هیچگونه آگلوتیناسیونی مشاهده نمیگردد.

تابلو (۳): نمونه ثبت نتیجه در روش آگلوتیناسیون لوله

وقت سرم	نمونه اول	نمونه دوم	نمونه سوم
۱:۲۰	++++	++++	++++
۱:۴۰	+++	+++	+++
۱:۸۰	++	++	++
۱:۱۶۰	+	+	+
۱:۳۲۰	-	-	-
۱:۶۴۰	-	-	-
۱:۱۲۸۰	-	-	-
۱:۲۵۶۰	-	-	-
۱:۵۱۲۰	-	-	-
تیتراژ سرم	۱۶۰	۸۰	۴۰

در روش آگلوتیناسیون لوله نیز باید به نکاتی چند توجه نمود:

- ۱- با اضافه نمودن ۰/۵ میلی لیتر آنتی ژن، رقت سرم مورد آزمایش در لوله ها به ترتیب برابر $\frac{1}{3}$ ، $\frac{1}{4}$ ، $\frac{1}{8}$ ، $\frac{1}{16}$ ، $\frac{1}{32}$ ، $\frac{1}{64}$ ، $\frac{1}{128}$ و $\frac{1}{256}$ خواهد شد.
- ۲- در زمان اینکوباسیون بهتر است دهانه لوله ها را با نوار پارافین و یا نوار چسب مسدود نمود تا از تبخیر مایع درون لوله ها جلوگیری بعمل آید.
- ۳- در ثبت نتیجه آزمایش باید دقت نمود تا که نشین باکتریها در رقت های منفی که بصورت تکه در ته لوله مشاهده می شوند را با آگلوتیناسیون اشتباه ننمود.
- ۴- در این روش نیز تیتراژ سرم مورد آزمایش برابر است با عکس بالاترین وقتی که با مقایسه شاهد ۵۰ درصد (++) آگلوتیناسیون از خود نشان دهد.

د- تکنیک میکروتیتراژ: Microtiter Technique

کلیه مراحل این تکنیک کاملا شبیه مراحل مختلف آزمایش به روش آگلوتیناسیون لوله ای بوده با این تفاوت که رقتها از میلی لیتر به میکرولیتر تغییر می نمایند. در این صورت بجای لوله های کوهن از میکروپلیت استفاده می گردد. بنابراین مزیت این تکنیک در مصرف بسیار کم آنتی سرم و آنتی ژن است.

روش کار:

در خانه اول یکی از ردیفهای افقی میکروپلیت ۹۰ میکرولیتر (۰/۰۹ میلی لیتر) و در خانه بعدی ۵۰ میکرولیتر (۰/۰۵ میلی لیتر) سرم فیزیولوژی می ریزم. به خانه اول ۱۰ میکرولیتر (۰/۰۱ میلی لیتر) از سرم مورد آزمایش را اضافه نموده و بعد از مخلوط کردن ۵۰ میکرولیتر از آنرا به خانه دوم و به ترتیب ۵۰ میکرولیتر از خانه دوم به سوم و بالاخره به خانه نهم منتقل کرده و ۵۰ میکرولیتر اضافی خانه نهم را دور میریزیم به کلیه خانه ها ۵۰ میکرولیتر از آنتی ژن مورد نظری را که برای آزمایش به روش لوله تهیه گردیده می افزاییم و سپس بعد از تکان دادن طبق دستور در روش آگلوتیناسیون لوله به مدت معین در گرمخانه نگهداری می نماییم. در این تکنیک نیز به منظور جلوگیری از تبخیر باید با نوار چسب دهانه کلیه خانه ها را مسدود نمود. ثبت نتیجه آزمایش این تکنیک مانند ثبت در روش آگلوتیناسیون لوله ای بوده که در رقت منفی آنتی ژنها بصورت تکه و در رقت مثبت آگلوتیناسیون بصورت شبکه در ته خانه ها مشاهده میگردد.

ارزیابی نتایج آزمایش:

چون تشخیص قطعی نوع بیماری با انجام یک آزمایش امکان پذیر نمی باشد. بنابراین به منظور حصول نتیجه ای دقیق باید آزمایش را در فواصل معین زمانی و شرایط کاملا یکسان با نمونه سرمهای جدید از همان بیمار مجددا تکرار نمود که با بررسی افزایش و کاهش مقدار آگلوتینین موجود در سرم خون اتابلوی شماره ۲ و ۳ شدت و نوع عفونت مشخص گردیده که این امر سبب میشود تا تشخیص بیمار از اشخاصیکه قبلا واکسینه شده و یا سابقه ابتلای آن بیماری را داشته و یا کسانیکه در محیط آندمیک زندگی می کنند و بالاخره تاقلین عامل سببی آن بیماری ساده گردد. لازم به یادآوری است که بطورکلی در روشهای مختلف آگلوتیناسیون اختلاف تیتراژ مثبت بین جواب دو آزمایش از یک نمونه و یا بین چند نمونه سرم که در فواصل یک تا دو هفته همزمان و در یک شرایط مورد آزمایش قرار گرفته اند را میتوان جزء محدودیتها و اشتباهات آزمایشگاهی به حساب آورد.

(مشخصات آنتی ژنها و سرمهای کنترل)

ردیف	نوع فرآورده	علامت اختصاری	موارد استفاده
۱	آنتی ژن فلاژلا گروه A سالمونلا	AH	در تشخیص سرمی بیماری پاراتیفویید ۸ به روش آگلوتیناسیون سریع و لوله
۲	آنتی ژن سماتیک گروه A سالمونلا	AO	در تشخیص سرمی بیماری پاراتیفویید ۸ به روش آگلوتیناسیون سریع و لوله
۳	آنتی ژن فلاژلا گروه B سالمونلا	BH	در تشخیص سرمی بیماری پاراتیفویید B به روش آگلوتیناسیون سریع و لوله
۴	آنتی ژن سماتیک گروه B سالمونلا	BO	در تشخیص سرمی بیماری پاراتیفویید B به روش آگلوتیناسیون سریع و لوله
۵	* آنتی ژن فلاژلا گروه C سالمونلا	CH	در تشخیص سرمی بیماری پاراتیفویید C به روش آگلوتیناسیون سریع و لوله
۶	* آنتی ژن سماتیک گروه C سالمونلا	CO	در تشخیص سرمی بیماری پاراتیفویید C به روش آگلوتیناسیون سریع و لوله
۷	آنتی ژن فلاژلا گروه D سالمونلا	DH	در تشخیص سرمی بیماری نیوفویید به روش آگلوتیناسیون سریع و لوله
۸	آنتی ژن سماتیک گروه D سالمونلا	DO	در تشخیص سرمی بیماری نیوفویید به روش آگلوتیناسیون سریع و لوله
۹	* آنتی ژن ویروولنت سالمونلا	VI	در تشخیص سرمی بیماری تب مالت به روش آگلوتیناسیون سریع
۱۰	آنتی ژن بروسلا ابورتوس	Ab	در تشخیص سرمی بیماری تب مالت به روش آگلوتیناسیون سریع
۱۱	آنتی ژن بروسلا ابورتوس	Ab	در تشخیص سرمی بیماری تب مالت به روش آگلوتیناسیون لوله
۱۲	سرم کنترل مثبت	+ve. Cont.	در تعیین مرغوبیت آنتی ژنها
۱۳	سرم کنترل منفی	-ve. Cont.	در تعیین مرغوبیت آنتی ژنها

* این فرآورده ها در صورت تقاضا تهیه و عرضه خواهد شد.



بخش واکنشهای باکتریایی و تهیه آنتی ژن
انستیتو پاستور ایران
مجتمع تولیدی - تحقیقاتی

کیلومتر ۲۵ بزرگراه تهران-کرج کدپستی ۳۱۵۹۹
تلفن: ۰۲۶۱-۶۱۰۲۹۲۸ فکس: ۰۲۶۱-۶۱۰۲۹۰۰

بعلاوه نظر به اینکه در روش آگلوتیناسیون سریع اختلاف یک تیترا بالا و پایین قابل پیش بینی میباشد. بنابراین باید کلیه آزمایشات مشکوک و یا با تیتری کمتر از ۱۶۰ را با آزمایش به روش آگلوتیناسیون لوله مورد تأیید قرار داد. بطور خلاصه باید متذکر شد گرچه روش های مختلف آگلوتیناسیون را برای تشخیص و تعیین نوع و مقدار آگلوتینین موجود در سرم خون بیماران مورد استفاده قرار می دهند لکن دخالت عواملی چند در حصول نتیجه ای صحیح پزشک معالج را موظف میسازد تا نظر قطعی خود در مورد بیماری را با بررسی کامل علائم بالینی و سوابق بیماری شخص و اطلاعات دیگری که از بیمار گزارش میگردد اعلام نماید. شرایط نگهداری آنتی ژنها:

آنتی ژنها را نباید در معرض نور شدید، حرارت زیاد و یا سرمائی که باعث یخ بستن آنها گردد قرار داد. در ضمن باید توجه داشت که هنگام استفاده، این فرآورده ها به مواد شیمیائی و یا میکروب آلوده نگردند. زیرا چنانچه در شرایط مناسب و حرارت ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد نگهداری شوند ۱/۵ تا ۲ سال بعد از تاریخ ساخت قابل مصرف خواهند بود.

کنترل کیفی آنتی ژنها:

بمنظور کنترل حساسیت و مرغوبیت آنتی ژنها و رفع هرگونه شک و ابهام در ثبت نتیجه آزمایشات آنتی ژن موردنظر را با سرمهای کنترل و سرم بیمار به هر دو روش آگلوتیناسیون همزمان و در شرایط کاملاً یکسان مورد آزمایش قرار میدهم. در این صورت آنتی ژنی از کیفیت خوب برخوردار است که با سرم کنترل منفی هیچ گونه واکنشی از خود نشان نداده و در کلیه رقت ها بصورت سوسپانسیون میکروبی یکنواختی باقی مانده و با سرم کنترل مثبت واکنشی با تیترا بالاتر از ۱۶۰ و با سرم بیمار تیترا معینی را از خود نشان دهد.

ملاحظات:

الف - نمونه سرم

۱- نمونه سرم خون بیمار باید شفاف و عاری از ذرات چربی قابل رویت و آلودگی میکروبی باشد.

۲- نمونه سرم خون بیمار را نباید در معرض حرارت قرار داد.

۳- در روش آگلوتیناسیون لوله، آنتی ژن را نباید با سرم بشدت مخلوط نمود زیرا کف ایجادشده سبب دنا توره شدن آگلوتینین موجود میگردد.

ب - آنتی ژنها و سرمهای کنترل:

۱- قبل از آزمایشات حرارت سرم خون بیمار و آنتی ژن و وسائل مورد استفاده باید معادل حرارت آزمایشگاه باشد.

۲- قبل از آزمایش آنتی ژن مربوطه را طوری تکان دهید تا سوسپانسیون میکروبی یکنواختی بوجود آید (آنتی ژنهای فلاژلا را نباید بشدت تکان داد)

۳- کلیه آنتی ژنهایی که با سرم کنترل منفی واکنش مثبت نشان داده و با سرم کنترل مثبت بخوبی آگلوتینه نشوند یا خوب بخود آگلوتینه شوند فاقد ارزش مصرفی میباشد. البته باید توجه داشت که بعلت وجود آگلوتینین طبیعی گاهی اتفاق می افتد که آنتی ژنی با سرم منفی واکنش مثبت نشان دهد لکن هرگز تیترا آن بیش از ۸۰ نخواهد بود.

۴- سرمهای کنترلی که قبل از آزمایش دارای پرسپیتاسیون بوده و یا به مواد شیمیائی و میکروبی آلوده باشند را نباید مورد استفاده قرار داد.