نامهٔ دانشکدهٔ پزشکی
تهران

شماره دهم از سال بیست و یکم تیر ماه ۱۳۴۳

از کارهای بخش گوش و گلو وبینی بیمارستان امیراعلم

یک مورد امپرفوراسیون کوآنال در ایران

پرفسور جمشید اعلم (*) دکتر مقصودی (**)

امپرفوراسیون کوآنال یا بسته بودن سوراخ خلفی بینی بیماری فوق‌العاده نادری است که درکشور ما شاید این اولین‌باری است‌که مشاهده شده است .

طبق‌آماری که دربیمارستان تروسو(۱) منتشر شده است درآن بیمارستان تاکنون جمعا ۲۷ مورد ازاین بیماری مشاهده شده است که ۱۸ مورد آن یك‌طرفی (۱٤ مورد طرف راست و ٤ مورد طرف چپ) و ۹ مورد دوطرفی بوده است و در جنس مؤنث دوبار بیش از جنس مذکر دیده شده است.

امپرفوراسیونهای یك‌طرفی دوبار بیش از امپرفوراسیونهای دوطرفی است وهمچنین امپرفوراسیونهای یك طرفی اغلب درطرف راست مشاهده میشوند تاطرف‌چپ.

علل امپرفوراسیون‌کوآنال نامعلوم‌اند و اغلب همراه با ناهنجاریهای دیگر دیده میشوند .

درکلینیك این بیماری به‌کیفیات مختلفی مشاهده میشود که بطور شماتیك دوحالت زیر درآن شرح داده میشود .

۱ــ بسته‌بودن دوطرفی سوراخهای بینی درنزد نوزادان

در روزهای اول زندگی تنفس نوزادان ازراه دهان فوق‌العاده مشکل بوده بنابراین بسته‌بودن سوراخ خلفی بینی آنهم درهردوطرف با یك زحمت فوق‌العاده‌زیادی همراه خواهد بود .

ــ تنگی نفس همراه با تیراژ عضلات‌گردنی که کاملا اختصاصی است .

ــبازدم نوزاد مشکل میگردد که دراینحال نوزاد گونه‌هایش را بادمیکند .

---

* استاد و رئیس بخش ** رئیس درمانگاه

1 - Trouseau

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

ــ ریتم تنفسی نامرتب همراه با مکث و تند غیرمؤثر که بچه سیانوزه و مضطرب میشود و مرتب گریه میکند این وضع تا عادت بچه به تنفس از راه دهانی ادامه پیدا میکند .

ــ دیسفاژی‌که بزودی بچه را لاغر میکند .

ــ درمعاینه بینی ــ پره‌های بینی بیحرکت‌اند ودرسوراخهای بینی مخصوصا درمجاور دهلیز ترشح مخاطی چسبنده‌مشاهده میشود .

ــ درآزمایش باآئینه گلاتزل لکه‌های بخاری دیده نمیشود که دلیل بربسته‌بودن سوراخ خلفی بینی است وهوای بازدمی بهیچوجه داخل سوراخهای بینی نمیشود .

چون زندگی بچه دائما درخطر است پس‌از تشخیص قطعی فوری باید اقدام بعمل‌کرد زیرا برونکوپنومونی وسیانوز وحوادث سنکوپی پدیده‌هائی هستند که سبب مرگ بچه خواهند شد باوجود این مقاومت و عادت در نزد شیرخوران بینهایت زیاد است .

۲ ــ بسته بودن یك طرفی سوراخهای خلفی بینی در نزد کودکان وبزرگسالان

علائم آن عبارتند از :

ــ انسداد بینی

ــ ترشح چرکی یك طرفه بینی

ــ نارسائی تنفسی و برونشیت های مکرر و فراوان

ــ در امتحان سوراخ بینی (اغلب طرف راست) مملو از ترشحات مخاطی چسبنده است که بزحمت جدا میشود .

ــ اغلب بعد از تقطیر آدرنالین دیدن امپر فوراسیون مقدور میگردد . مخصوصا در نزد بزرگسالان دررینوسکپی خلفی دیدن امپرفوراسیون خیلی آسانتر است . البته با آئینه گلاتزل و امتحان با استیله بسته بودن سوراخ خلفی بینی را نشان خواهد داد . همچنین لوله کائوچوکی و مواد رنگی و چکاندن دارو در بینی وارد حلق نمیشود و دررینوسکپی خلفی پرده دقیقا درسوراخ کوآنال قرار نگرفته است . بلکه کمی بطرف قوس نازال متمایل گشته است . این پرده اغلب بیضی شکل بوده و گودی داشته و از مخاطی نزدیك برنگ زرد پوشیده شده است و مخاط مجاور بصورت طبیعی است . و باوژتا سیونهای هیپرتروفیك همراه است .

ــ اغلب پرده صماخی بیمار رتراکته است

معرفی بیمار ؟

آقای ن ــ س ۲۶ ساله اهل همدان دانشجو بعلل زیر مراجعه کرده است :

ــ انسداد بینی درطرف راست نارسائی تنفسی و تنگی نفس بخصوص هنگام خواب .

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

واگر چنانچه از نوع هموزیگوت باشد ایجاد تالاسمی خطرناك را مینماید در حالی که نوع هتروزیگوت باعث تالاسمی خفیف‌تر وکم‌خطرتر میگردد .

نوع دیگر هموگلوبینوپاتیها عبارت از آنمی‌فالسی‌فورم (داسی شکل) است که اشکال در تشکیل هموگلوبین A نیست بلکه بجای آن‌هموگلوبین دیگری که‌هموگلوبین S میباشد تولید شده است . عیب این هموگلوبین اینستکه موقعیکه اکسیژن کم‌باشدقابلیت انحلال آن کم میگردد و بشکل کریستالهائی در میآید که شکل گلبول‌راتغییر داده و بشکل داس در میآورد البته این پیش آمد فقط درنوع هموزیگوت دیده میشود و همراه بااین پیش‌آمد طول عمر گلبولهای قرمز نیز کم میشود نوع دیگر هموگلوبین غیرعادی عبارت ازهموگلوبین C است‌که‌جانشین هموگلوبین A میشود ودر اشخاص هتروزیگوت که علاوه بر هموگلوبین S یا هموگلوبین C دارای مقدار زیادی هموگلوبین A باشند هیچ نوع کم خونی دیده نمیشود .

در آنمی‌های هیپوکرم محتوی گلبولهای قرمز گاهی بیش‌از گنجایش حجم گلبول میباشد ، بنابراین مانند پاکتی است‌که بیش‌ازگنجایشش درآن‌میوه‌جادادەشده‌باشند. واشکال مختلف بادکرده با سطح ناهموار در گلبولها دیده میشود که‌باکم‌خونی داسی‌شکل متفاوت است واین تغییرات نیز درنوع هموزیگوت دیده میشود .

اما راجع به الکتروفورزهموگلوبین‌دو نوع هموگلوبین D,S دارای نوارمشابهی در الکتروفورزمیباشندکه جداکردن آنهامشکل‌است وبطوری‌که میدانیم هموگلوبین سبب کم خونی فالسی فورم میشود در صورتیکه هموگلوبین D سبب کم‌خونی نمیشود. هموگلوبین N و P را فقطدرسطح کروماتوگرافی‌میشودازهم‌جداکردونیزهموگلوبین O و N که N عبارت از یکنوع متهموگلوبین است زیرا محل پیدایش آن در قسمت هم میباشد نه در قسمت گلوبین توزیع هموگلوبین‌ها بدین طریق است‌که هموگلوبین S بیشتر در آفریقا و جنوب هندوستان دیده میشود و هموگلوبین D بیشتر در پنجاب دیده میشود . هموگلوبین E دربرمه وتایلند یعنی جنوب شرقی آسیا دیده میشود واز نظر ناحیه دارای هموگلوبین E میباشند بایستی‌از یك نژاد باشند در جزیره سیلان اغلب‌مردم مردم شناسی دارای اهمیت بسیار است. در جنوب هندوستان وسیلان چون مردم هردو دارای هموگلوبین میباشند که مربوط به نژاد مغول است در صورتیکه بالاتراز جزیره سیلان یعنی جنوب هندوستان ژن هموگلوبین S دیده میشود که مربوط به آنمی‌فالسیفورم میباشد و تصور میرود که هموگلوبین S ازهمین ناحیه به آفریقا رفته‌باشد هموگلوبین G آلفا فقط در جنوب چین دیده میشود و هموگلوبین B فقط درکنگو دیده میشود و تنها هموگلوبین غیر طبیعی که در انگلستان دیده میشود هموگلوبین‌نورفولك Norfolk میباشد تاریخچه پیدایش این هموگلوبین باین ترتیب بود که یکی از پزشکان سنگاپور که در بارهٔ هموگلوبین های سربازهای انگلیسی مطالعه میکرد بمن اطلاع داد که‌یکنوع هموگلوبین G نزد یکی‌ازسربازان‌انگلیسی‌دیده‌است وچون‌این‌هموگلوبین‌مخصوص‌جنوب

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

چین میباشد بتصور اینکه اشتباه کرده‌است مجددا خون را آزمایش نموده و معلوم شد که این هموگلوبین شبیه به هموگلوبین F_0 است وچون آن سرباز از ناحیه نورفلك انگلستان بود این هموگلوبین باین نام خوانده شده ودرانگلستان در حدود یك‌درصدمردم دارای هموگلوبین غیر طبیعی هستند .

بوسیله الکتروفورزوکروماتوگرافی هموگلوبین مشاهده شده‌است که ٤ رشته پلی‌پپتید در هر هموگلوبین موجود میباشد که دو بدو شبیه یکدیگر هستند و نیز هموگلوبین سایر پستانداران را مطالعه کرده و دیده‌اند که هموگلوبین آنها شبیه به هموگلوبین A درانسان میباشد واز نقطه نظر این پلی‌پپتید ها که از اسیدهای آمینه مختلف تشکیل شده‌اند اختلاف بین هموگلوبین F و A فقط درساختمان یك‌نوع‌اسید آمینه آنها است میوگلوبولین فقط دارای یك رشته پلی‌پپتید و یك ملکول هم میباشد در هموگلوبین انسان چهار رشته پلی‌پپتید مجزا شده است که باسامی آلفا و بتا وگاما و دلتا مشخص شده‌اند بدین ترتیب که در هموگلوبین A دو رشته آلفا ودو رشته بتا ودر هموگلوبین F دو آلفا ودوگاما در هموگلوبین A_2 دو رشته آلفا و دو رشته دلتاموجود میباشد بطوریکه ملاحظه میشود هر ۳ نوع هموگلوبین دارای دو رشته آلفامشترك‌میباشند واختلاف آنها بنابراین در دورشته دیگر میباشد در هموگلوبین A_2بین‌دو هیستیدین دو رشته آلفا ملکول هم قرار گرفته‌است که در عملی اکسیداسیون هموگلوبین موثرمیباشند و اختلاف هموگلوبین‌های مختلف از همین جا ناشی میگردد .

گاهی بجای ٤ نوع پلی‌پپتید مختلف یك رشته پلی‌پپتید وجود دارد که چهار مرتبه تکرار میشود مانند هموگلوبین Bort که از چهار رشته گاما تشکیل شده است . بین رشته پلی‌پپتید آلفا و گاما ۳۹ درصد اسید امینه‌ها شبیه یکدیگرند درصورتیکه آلفا وبتا ٤۲ درصد وبتا وگاما ۷۱ درصد، بتا ودلتا۹۰درصد اسید امینه‌ها شبیه‌یکدیگرند واز این تشابه چنین نتیجه گرفته میشود که اولین ژن قدیمی عبارت از ژن آلفا بوده و سایر ژنها از آن جدا شده‌اند یکی از اشکال غیر طبیعی هموگلوبین اینستکه یکی از اسیدهای امینه در رشته آلفایا بتاباشد فعلا در هموگلوبین Hبجای دو عدد آلفا دوعدد بتا قرار گرفته یعنی در حقیقت چهار عدد بتادارد مانند هموگلوبین Bort که بجای دو آلفا دو عدد گاما موجود میباشد واین نوع هموگلوبین راتترامرنامند و علت تسمیه این هموگلوبین به Bort آنستکه اینجانب آنرا در بیمارستان سن‌بارت لندن کشف کرده‌ام .مهمترین انواع مختلف هموگلوبین های غیر عادی که شناخته شده عبارتنداز هموگلوبین S وC و D و G (چین) و G (درفیلادلفیا) و I و Nortfolk (انگلستان) و N (بوستون) و M (ساسکاتون) مطالعا تدر باره انواع مختلف هموگلوبین های غیرعادی هنوز هم ادامه دارد و هرروز یـــك نوع هموگلوبین کشف ویك بیماری برانواع هموگلوبینوپاتیها اضافه میشود .

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

نمونه های فلورسنت آنتی بادی

1200 × Salmonella atlanta

Treponema Pallidum

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

بنفش‌که طول موج‌کم وفرکانس زیادداردد) بوسیله تحریك یا فعال شدن جذب نموده وبصورت یك روشنائی (درزمان‌کمتر 10^{-4} ثانیه) بانور مرئی منتشر سازد.

مفهوم‌کلمه فلورسانت را میتوان بصورت زیرتشریح نمود.

موقعی‌که یك مولکول انرژی روشنائی را جذب‌میکند پس‌ازجذب ممکن است بصورتهای مختلفه‌آنرامنتشرنموده ویا پس دهد ــ گاهی بصورت‌حرارت ــ زمانی بصورت انرژی‌های‌عکس‌العمل‌های شیمیائی ویا آنکه بصورت نور وروشنائی آنرا برمیگرداند ــ واین شکل آخری است‌که مورد نظر ما می‌باشد .

موقعی ما میگوئیم‌که یك جسم روشن Luminescence است که‌آن‌جسم‌نورروشنائی‌رامنتشرنمایدونسبت به‌نوع منبع نورانی باسامی Electero-luminescence (منبع‌الکتریکی) و Chemo-luminescence (منبع شیمیائی) مینامند و چنانچه این روشنائی حالت انعکاس پس از جذب یك انرژی نوری داشته باشد Photo-Luminescence نامیده خواهدشد ودرحالت اخیراست‌که زمان نورجذب شده با زمان نورمنعکس ومنتشر شده اختلاف وتفاوت دارد واین‌اختلاف وتفاوت زمان اگربیش از 10^{-4} ثانیه باشد آن جسم فسفرسانس خواهدبود وچنانچه‌این اختلاف وتفاوت کوتاه‌تر اززمان 10^{-4} ثانیه باشد آن جسم Fluorescence خواهد بود.

میکروسکپ فلورسانت

میکروسکپ فلورسانت ازقسمت‌های زیرتشکیل شده است :

۱ــ منبع نور ــ که ازیك لامپ جیوه‌ای Mercury که حداکثر دارای فشار جیوه ۲۰۰ میلیمتر میباشد استفاده مینماید .

۲ــ فیلترها ــ که عامل اصلی جذب‌کننده طول موجهای حرارتی heat creeting waves وقسمتی ازطول موجهای تحریکی Wave length exciting میباشد وبطور معمول‌دارای سه سری فیلتر میباشد .

درفیلترهای سری اول طول موجهای بالاکه حرارتی است heat creating waves جذب میگردد .

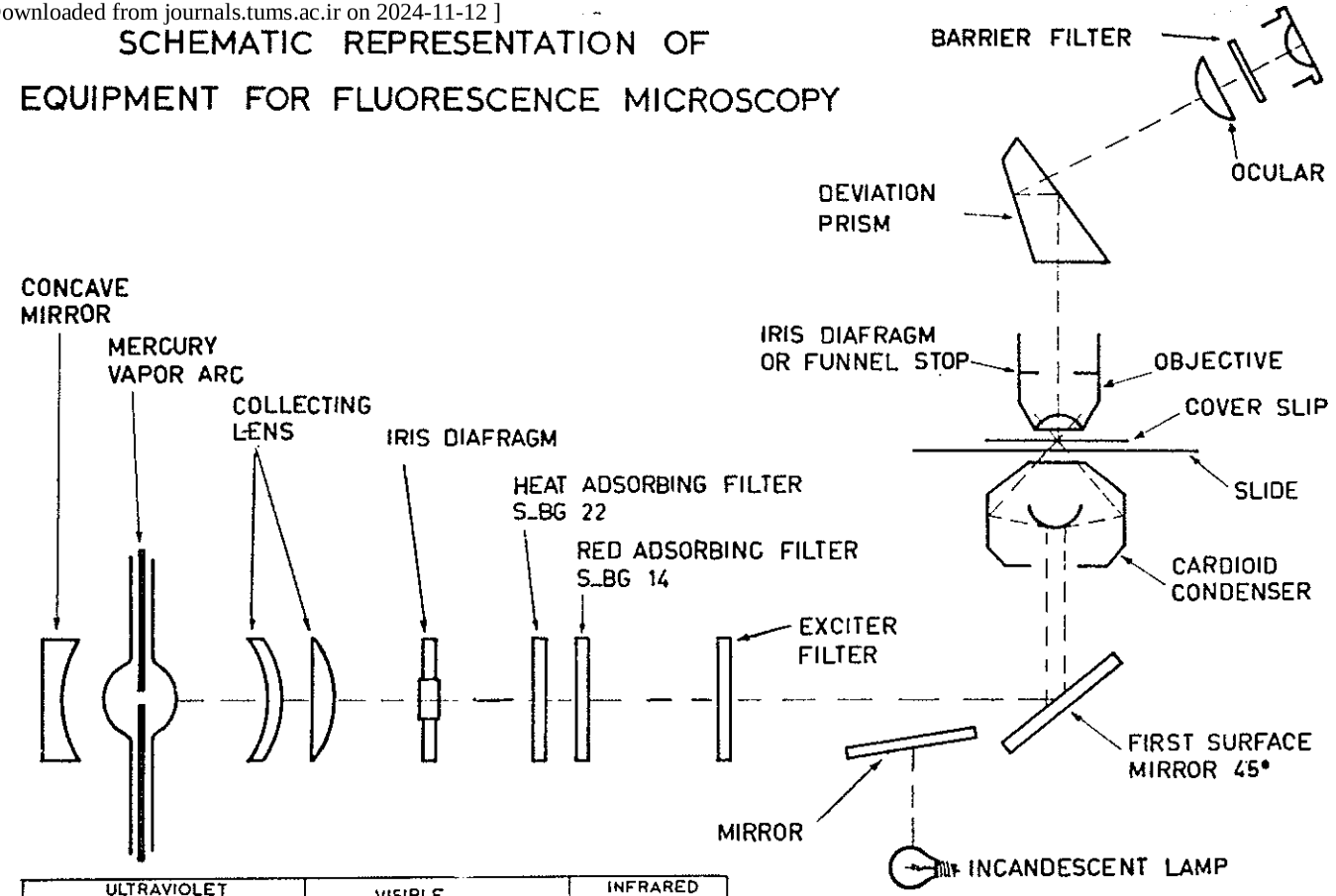
درفیلترهای سری دوم طول موجهای بیشتر ازطول موجهای exciting جذب میشود وپس ازاین فیلترها فقط طول موجهای تحریك‌کننده باقی میماند وبوسیله این طول موجها است‌که جسم فلورسانت رنگ شده تحریك میگردد .

درفیلترهای سری سوم پس ازآنکه موجهای تحریك‌کننده سبب تحریك ماده فلورسانت شد وارد لوله objectif میکروسکپ میشود ودراین جا یك فیلتر وجوددارد‌که تمام طول موجهای تحریك‌کننده را جذب میکند وفقط نورفلورسانس حاصل را به‌چشم میرساند.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

SCHEMATIC REPRESENTATION OF EQUIPMENT FOR FLUORESCENCE MICROSCOPY



که در pollen ها یافت میشوند .

میتوان آنتی‌ژن را ازنسج (مانند نسج حاوی لیشمانیا ـ نسج حاوی‌ترپونم) یا ازکشت (مانندکشت میکروبهاکشت لیشمانیا ـ کشت قارچ ـ کشت ویروسها ـ کشت پروتوزوئرها) بدست آورد .

گاهی محلول آنتی‌ژن را مصرف میکنند وبرخی ازکارشناسان معتقدند که مقطع نسجی حاوی آنتی‌ژن یا فروتی های تهیه شده ازآنتی‌ژن برمحلولهای آنتی ژنی ترجیح دارد .

همیشه باید آنتی‌ژن تهیه شده ازمواد فوق‌را پس از Fixation استفاده نمود (fixation ها نسبت به‌انواع آنتی‌ژن‌ها متفاوت است) .

ورود آنتی‌ژن دربدن سبب‌راکسیونهائی میشودکه میتوان بنام‌راکسیونهای immunisation نامید واین آنتی‌ژن‌ها قدرت آنرا دارندکه سبب ایجاد آنتی بادی‌هاگردند .

باید توجه داشت‌که چون آنتی‌ژنها ازمواد وفاکتورهائی تشکیل‌شده‌اند بنابراین میتوانند سبب ایجاد آنتی بادی‌هائی‌گردندکه دربین آنها یك یا چند ماده یا فاکتورآنتی بادی اختصاصی مربوط به‌آنتی ژن میباشد درصورتیکه بقیه‌مواد متشکله آنتی‌ژن سبب ایجادآنتی‌بادی‌های عمومی مربوط به‌آنتی‌ژن میگردند.

آنتی بادی ـ بطوریکه قبلاگفتیم ورودآنتی ژن دربدن سبب ایجادآنتی بادی‌هائی میشود و چون این فاکتورهای آنتی‌بادی درپروتئین گلوبولین سروم خون وجود دارد بدینجهت ازگلوبولین سروم خون بیشتر استفاده میشود از اینروباید آنرا بوسائلی ازسروم جدا نمود وبعدا بوسیله مواد فلورسانت آنرا رنگ نمود ومورد استفاده قرارداد .

باید دانست چون درآزمایش همیشه مقدارکمی سروم مشکوك‌به‌بیماری دردسترس است ـ معمولا برای‌تشخیص‌بیماری ازروش indirect استفاده میکنندکه درآن احتیاجی به‌رنگ‌آمیزی سروم بیمار با ماده فلورسانت نباشد بلکه ازسروم anti-human globuline رنگ شده با ماده فلورسانت استفاده مینمایند وفقط درصورتی ازسروم رنگ شده با ماده فلورسانت استفاده می‌نمایند که منظور تشخیص نوع آنتی‌ژن باشد (روش direct).

Preparation of labeled globuline

اگرچه میتوان ازتمام سروم برای رنگ‌آمیزی فلورسانت استفاده‌نمود ولی بدو دلیل‌کمتر قابل استفاده میباشد یکی آنکه ماده رنگی فلورسانت به‌مقدار زیادی به‌مواد پروتئین غیر فاکتور اصلی آنتی بادی میچسبد (بطوریکه میدانیم antibody ساخته شده است ازتعداد زیادی پروتئین‌هاکه بین آنها globuline حامل عامل اصلی antibody است) . دوم آنکه این

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

مواد پروتئین غیراصلی‌که درسروم وجوددارد دراثررنگ‌آمیزی بامواد‌فلورسانت سبب ایجاد مواد رنگ شده non-specific میگردد .

دربعضی آزمایش‌ها باید توجه داشت‌که تهیه‌گلوبولین باید با خیلی دقت وخلوص بیشتری انجام‌گردد بدینجهت هراندازه‌گلوبولین خالص‌تر تهیه شود نتیجه آزمایش صحیح‌تر وراحت‌تر خواهد بود (بعلت عدم‌ایجاد مواد non-specific

روش تهیه :

بطورخلاصه درزیر شرح داده میشود .

۱ــ رسوب دادن γglobuline سروم (که حامل عامل اصلی antibody است) بوسیله محلول اشباع شده سولفات دامونیوم (saturated Amonium sulfate) (برخی ازکارشناسان بوسیله half saturated - Amonium sulfate یعنی $\frac{1}{2}$ مقدار سولفات دامونیوم برای یك محلول اشباع شده آن مصرف‌میکنند) باید دانست‌که دراین عمل γglobuline سروم خون بدست میآید.

۲ــ رسوب رادرکمی‌آب مقطر حل نموده ودرکیسه‌ای سلولزی‌که برای دیالیز بکار میرود ریخته وآنرا درمحلول سروم فیزیولوژی برای دیالیز غوطه‌ور میسازند. (دستگاهی‌که برای اینکار بکار میرود یك دستگاه متحرك است وتقریبا درمدت ۲٤ ساعت عمل دیالیز انجام میشود) .

۳ــ پس ازآن مقدار پروتئین مواد γglobuline را بوسیله دستگاه اسپکتوفوتومتریك و Biuret Reagent اندازه‌گیری میکنند.

٤ــ پس ازاندازه‌گیری مقدار پروتئین از γglobuline به‌نسبت‌های مختلفه ازماده فلورسانت اضافه مینمایند (برای isothiocyanate فلورسئین‌ــ به نسبت هریك میلی‌گرم پروتئین ۰/۰۵ میلیگرم اضافه میکنند).

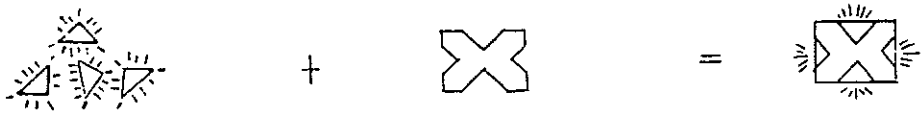
باید توجه داشت‌که ماده رنگی فلورسانت را میبایستی‌کاملا درجای خشك نگهداری نمود).

۵ــ پس ازآنکه γglobuline را با ماده فلورسانت مخلوط نمودیم آن را دریك ظرف ریخته ودریك دستگاه الکتریکی‌که مرتب حرکت میکند در $+4^{C}$ حرارت بمدت یك شب میگذارند تاکاملا ماده رنگی به‌گلوبولین بچسبد.

(باید دانست‌که رنگهای فلورسانت میبایستی ثابت stable وهمچنین قابلیت چسبندگی به‌پروتئین را داشته وتغییری درساختمان شیمیائی‌پروتئین ندهد) .

تعداد زیادی ازرنگهای فلورسانت وجوددارد‌که دراغلب روش‌هاگاهی

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]



Labeled antibody unlabeled antigen labeled product

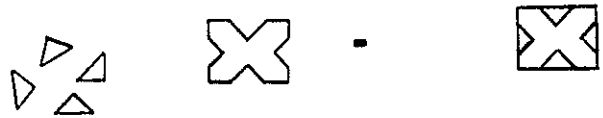
Inhibition test —B

ازاین روش بیشتر در تشخیص بیماریهای میکروبی وهمچنین پروتوـ زئولژی استفاده میشود .

این روش روی زمینه اثرآنتی‌بادی وآنتی‌ژن بنا نهاده شده استـ بدین معنی‌که آنتی‌بادی مخصوص به‌یك آنتی‌ژن‌سبب میشودکه آنرا پرنماید و جائی برای تاثیرآنتی‌بادی اختصاصی دیگری باقی نگذارد . برای واضح شدن مثال زیررا ذکرمیکنیم .

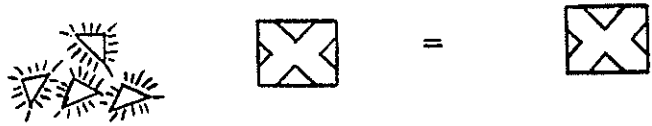
اگر یك فروتی ازاستریتوکوك (آنتی‌ژن)راتحت‌تاثیرآنتی‌بادی‌مخصوص خودش‌که فلورسانت نشده است unlabeled antibody قراردهیم معلوم است‌که باکتریهای روی فروتی بوسیله آنتی‌بادی پرشده واشباع میشوند حال اگرهمین فروتی اشباع شده را تحت تاثیرآنتی‌بادی مخصوص خودش‌کـه فلورسانت شده است labeled antibody قراردهیم چون تمام باکتریها (آنتی‌ژن) بوسیله آنتی‌بادی اولیه پرشده‌اند دیگرجائی برای تاثیرآنتی بادی دومی باقی نمیماند بدینجهت فروتی non-fluorescent دیده میشود.

Step I



Unlabled antibody Antigen Unlabeled product

Step II



Labeled antibody unlabled product unlabeled product

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

آزمایش Inhibition ازنقطه نظرتشخیص یك آنتی بادی اختصاصی مربوط بیك آنتی ژن بسیار با ارزش است چونکه نشان میدهد آیا دریك سروم غیر معلوم unknown آنتی بادی اختصاصی مربوط بیك آنتی ژن وجـود دارد یا نه ؟

میتوان این آزمایش را دردومرحله انجام دادـ بدین معنی‌که آنتی‌ژن (فروتی تهیه شده ازآنتی ژن) را دفعه اول تحت تاثیریك آنتی بادی مربوط ومشخص به‌آنتی ژن‌که غیرفلورسانت است قرارداد وبعد تحت تاثیرآنتی بادی فلورسانت‌گذاشت ویا آنکه هردو مرحله را دریك مرحله آزمایش مخلوط نمود وانجام دادـ بدین معنی‌که فروتی تهیه شده ازآنتی ژن را درتحت تاثیرمخلوطی از دوسروم (یکی آنتی سروم غیرفلورسانت شده ودیگری آنتی سروم فلورسانت شده) گذاشت .

درآزمایش Inhibition باید عیار آنتی سروم های اختصاصی مربوط به آنتی ژن unlabeled antibody,labeled antibody با مقدار آنتی‌ژن‌که راکسیون میدهد قبلا تعیین شده باشد وبه‌نسبت متعادل با هم مخلوط شوند که بتوان دانست چه مقدار ازهریك باید مخلوط شود ـ چون اگر مثلاآنتی‌سروم فلورسانت شده دارای مقدار بیشتری فاکتورآنتی بادی ازدیگری باشد سبب میشود که آنتی‌ژن را فلورسانت نماید وبالنتیجه جواب صحیح نخواهد داد ـ ضمنا باید درجه inhibition هم قبلا اندازه‌گیری شده باشدـبدین‌صورت که بامقایسه اثرآنتی سروم فلورسانت شده وغیرفلورسانت شده روی آنتی‌ژن درجه inhibition روی مقدار فلورسانس‌که درمیکروسکپ می‌بینیم اندازه‌گیری شده باشد .

در جدول یك میتوان خلاصه مطالب بالا را دید .

Control	Test
Antigen X	Antigen X
+	+
Unlabeled N.S.	Unlabeled antiserum X
+	+
Labeled antiserum X	**Labeled antiserum X**
Fluorescent	Non fluorescent

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

اگر درجدول بالاکه یکی برای‌کنترول ودیگری برای آزمایش است‌دقت شود ــ دیده خواهد شدکه اگربخواهیم یك آزمایش تشخیص برای یك بیماری ازروش inhibition استفاده‌کنیم‌کافی است‌که درستون Test بجای unlabeled antiserum X سروم بیمار مشکوك مورد آزمایش را بگذاریم. اگرنتیجه Non fluorescent بود معلوم است‌که جواب مثبت است‌اگر نتیجه فلورسانت بود معلوم است‌که جواب منفی است .

C - **Indirect test** درتشخیص بیماریها بکارمیرود.

این روش یك طریقه تغییر پیداکرده روش Coombs میباشد.

دراین روش میتوان یك‌آنتی‌بادی unknown را بوسیله آنتی‌ژن known یا برعکس تشخیص داد واین روش بدین‌صورت است‌که :

۱ــ یك فروتی ازآنتی‌ژن تهیه میکنند .

۲ــ سروم خرگوش ضدگلوبولین انسان را با روش Prooms تهیه مینمایند .

۳ــ سروم خرگوش ضد انسان را با ماده فلورسئین ایزوسیانات فلورسانت مینمایند .

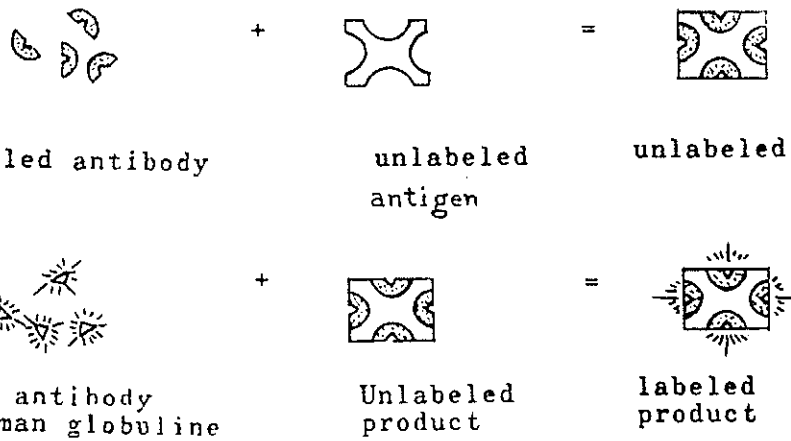
حال اگریك سروم unknown از بیمارداشته باشیم وبخواهیم با آنتی‌ژن known آزمایش‌کنیم بدینصورت عمل میکنیم .

به فروتی آنتی‌ژن unlabeled antigen ازسروم unknown اضافه میکنیم (درصورتیکه سروم حاوی آنتی بادی مربوطه باشد به‌آنتی ژن‌میچسبد) (unlabeled antibody) پس ازآن زیادی سروم را با عمل شستن ازبین میبریم وبعد به این لام (مجموعه آنتی‌ژن وآنتی بادی چسبیده فوق) ازسروم خرگوش ضد انسان فلورسانت شده اضافه مینمائیم بالنتیجه سروم خرگوش ضدانسان به‌سروم چسبیده به‌آنتی‌ژن میچسبد وپرپاراسیون فلورسانت نشان میدهد وجواب مثبت است .

درصورت عکس‌اگردرسروم خون‌بیمارآنتی‌بادی مربوط‌به‌آنتی‌ژن‌وجود نداشته باشد بالنتیجه به‌آنتی‌ژن نمیچسبد وبا عمل شستن سروم ازبین میرود ووقتی‌که سروم خرگوش ضد انسان فلورسانت شده اضافه شود چون سروم انسانی وجود ندارد بآن نمیچسبد وپرپاراسیون فلورسانت دیده نمیشود یعنی جواب منفی است .

درعمل سروم مورد آزمایش unknown وهمچنین سروم خرگوش ضدانسانی را قبلا با غلظت‌های از $\frac{۱}{۲}$ تا $\frac{۱}{۵۱۲}$ یا رقیق‌تر تهیه واستفاده می‌کنند .

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]



طرزعمل که برای تشخیص بیماریها بکار میرود :

۱ــ سروم خون بیمار را تهیه میکنند .

۲ــ ازسروم خون بیمار بغلظت‌های مختلفه از $\frac{۱}{۲}$ تا $\frac{۱}{۵۱۲}$ یا رقیق‌تر در buffer saline تهیه مینمایند .

۳ــ سروم طبیعی خون انسان سالم را با روش prooms بخرگوش تزریق مینمایند وسروم خون خرگوش را میگیرند (این سروم دارای آنتی بادی ضد انسانی است) .

٤ــگلوبولین سروم خرگوش ضد سروم انسان را با فلورسئین isocyanate رنگ میکنند .

٥ــدوفرتی ازآنتی‌ژن مربوط به‌بیماری مورد آزمایش را تهیه مینمایند. (دراین روش همیشه دوفروتی یکی برای آزمایش دیگری برای control بکار میرود).

۱ــ به‌فروتی اول آنتی‌ژن‌که fixe است یك قطره ازسروم خون بیمار مورد آزمایش[یامحلولهای $\frac{۱}{۲}$ تا $\frac{۱}{۵۱۲}$ یا رقیق‌تر (به‌تعداد محلولهافروتی آنتی‌ژن فیکسه شده استفاده مینمایند)اضافه میکنند(طبق‌روش‌تهیه smear برای آزمایش)].

۲ــ پس ازآن لام را بوسیله buffer saline PH: 7.1 میشویند تازیادی سروم خون بیمارکه درعمل وارد نشده است ازبین برود.

(باید دانست‌که عمل شستن فوق سبب میشودکه اگر درسروم بیمار آنتی‌بادی مربوط به‌آنتی‌ژن وجودداشته باشد بدان میچسبد وزیادی آن با شستن ازبین میرود وچنانچه آنتی‌بادی مربوط بآنتی‌ژن وجود نداشته باشد بالنتیجه تمام سروم چون آزاد است با شستن ازبین میرود.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

۳ــ به‌لام شسته شده فوق یك قطره ازسروم خرگوش ضد انسان فلورسانت شده (با محلولهای تهیه شده از $\frac{۱}{۲}$ تا $\frac{۱}{۵۱۲}$ یا رقیق‌تر) اضافه میکنند ومدتی برای عمل این سروم ضد انسانی یا سروم انسانی فیکسه شده روی آنتی‌ژن صبر مینمایند .

پس ازآن لام را طبق روش ذکرشده آماده نموده وبوسیله میکروسکپ فلورسانت آزمایش مینمایند .

اگر فلورسانت بود جواب مثبت ودرصورت عکس جواب منفی است.

فروتی دوم راکه همیشه برای control است مانند فروتی اول با سروم خون انسان سالم تهیه مینمایند (چون درخون انسان سالم آنتی‌کور مربوطه نیست مسلماً پرپاراسیون تهیه شده non-fluorescent خواهدبود.

همانطورکه قبلاگفته شد میتوان ازروش indirect test برای تشخیص unknown آنتی بادی(درصورتیکه known آنتی ژن‌بکاررود) وهمچنین unknown آنتی ژن (درصورتی‌که known آنتی بادی بکار رود) استفاده نمود.

ما طرز اجرای آن را برای هر مورد روی یك تابلونشان میدهیم:

(تابلو ۲ و ۳)

Complement staining - D

این روش شبیه طریقه Indirect میباشد ــ فقط اختلاف آن دراین است که بعوض آنتی سروم ضدانسان فلورسانت شده که در indirect test بکارمیبردیم ــ دراین جا آنتی سروم فلورسانت شده یك حیوان دیگری راکه برضد یك حیوان دیگرتهیه شده است بکار میبریم .

این طریقه را میتوان هم برروی unknown سروم (جهت تشخیص بیماریها) وهم برای unknown آنتی‌ژن بکار برد ومزیت آن بر indirect test آنست‌که با یك conjugate که ازیك‌حیوان درست شده است میتوان برای هرنوع آنتی سرومی‌که ازهرنوع حیوان (یا انسان) باشد استفاده برد.

دراین طریقه سروم مورد آزمایش را بوسیله حرارت ٥٦ درجه inactivé مینمایند (درنتیجه complement آن ازبین میرود) وبعداین سروم inactivé با complement که ازسروم حیوان دیگر (Guinea-pig) میگیرند میتواند روی‌آنتی‌ژن فیکسه شود (درصورتیکه سروم مورد آزمایش دارای ــ آنتی‌بادی باشد) ــ درعمل دوم conjugate فلورسانت شده‌برضد کمپلمان (Guinea-pig) را اثرمیدهند بدینجهت میتواند روی مجموعه‌آنتی‌ژن وآنتی بادی وکمپلمان‌که درعمل اول بهم چسبیده‌اند بچسبدوبالنتیجه‌فلورسانت دیده شود .

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

تابلو ۲

برای سروم مُعلوم وآنتی ژن غیرمعلـوم

آزمایش	Control	
آنتی سروم انسانی	آنتی سروم انسانی	سروم معمولی انسـان
(یعنی سرومیکه دارای آنتی بادی معلوم مربوط به آنتی ژن میباشـد	(یعنی سرومی که دارای آنتی بادی معلوم مربوط به آنتی ژن میباشد)	
فروتی فیکسه شده از آنتی ژن غیرمعلوم	فروتی فیکسه شده از آنتی ژن غیرمعلوم	فروتی فیکسه شده از آنتی ژن غیرمعلوم
پس ازمدتی که عکس العمل انجام شد آنرا میشویند	پس ازمدتی که عکس العمـل انجام شد آنرا میشویند	پس ازمدتی که عکس العمل انجام شد آنرا میشویند
به این سه فروتی ازسروم حیوان ضد انسان فلورسانت شده (اگراین حیوان خرگوش باشد بالنتیجه ازسروم خرگوش ضد انسان فلورسانت شده) اضافه مینمایند .		
پس ازمدتی که عکس العمل انجام شد	پس ازمدتی که عکس العمـل انجام شد	پس ازمدتی که عکس العمل انجام شد
Fluorescent	Fluorescent	Non-fluorescent
اگرآنتی ژن غیرمعلوم فوق مربوط به آنتی سروم باشد	اگرآنتی ژن غیرمعلوم فوق مربوط انتی سروم باشد	

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

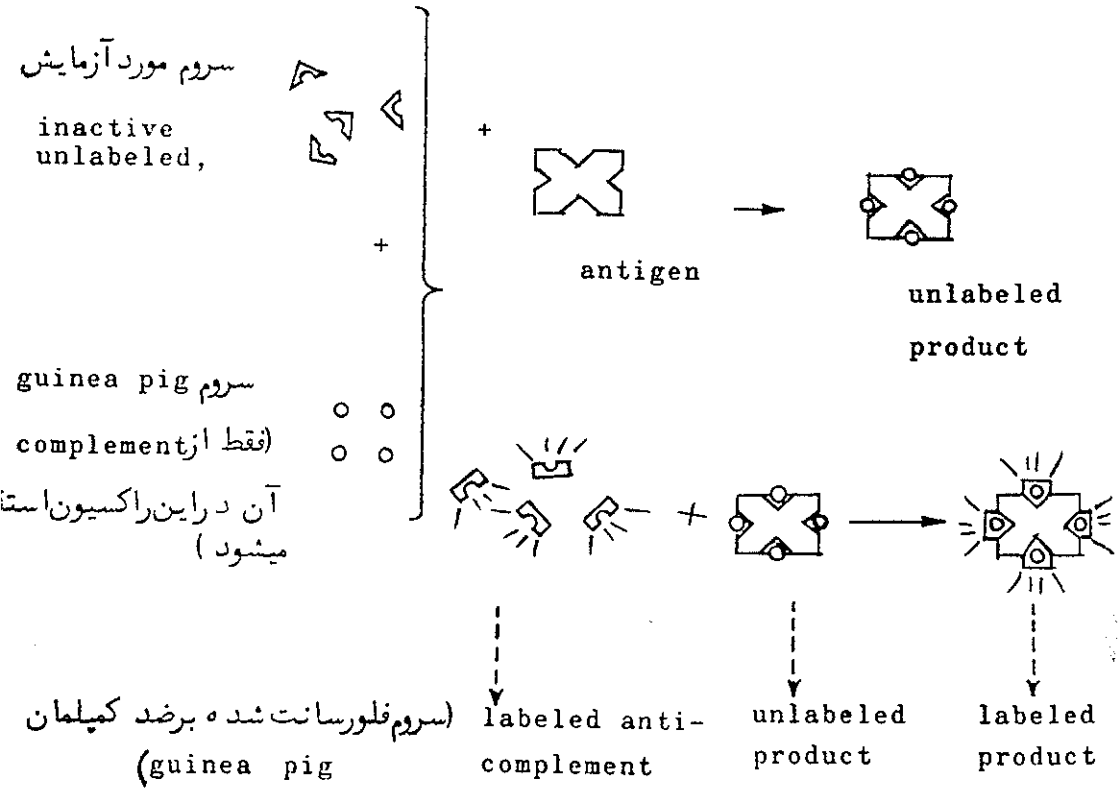
تابلو ۳

برای سروم غیرمعلوم وآنتی‌ژن معلوم

آزمایشر	Control	
	A	B
سروم مورد آزمایشر با غلظت های مختلفه	سروم معمولی انسان با غلظت های مختلفه	آنتی سروم انسانی با غلظت های مختلف (یعنی سروم مثبت که دارای آنتی بادی مربوط بهآنتی‌ژن است)
فروتی ازآنتی‌ژن فیکسه شد ه	فروتی ازآنتی‌ژن فیکسه شد ه	فروتی ازآنتی‌ژن فیکسه شد ه
پس ازمدتی که عکس‌العمل انجام شد	پس ازمدتی که عکس‌العمل انجام شد	پس ازمدتی که عکس‌العمل انجام شد
سروم خرگوش ضد انسان فلورسانت شد ه اضافه میکنند	سروم خرگوش ضد انسان فلورسانت شد ه اضافه میکنند	سروم خرگوش ضد انسان فلورسانت شد ه اضافه میکنند
پس ازمدتی که عکس‌العمل انجام شد آزمایشر مینمایند	پس ازمدتی که عکس‌العمل انجام شد آزمایش مینمایند	پس ازمدتی که عکس‌العمل انجام شد آزمایشر مینمایند
Fluorescent اگر سروم مورد آزمایش آنتی بادی مربوط موجود داشته باشد	Non-fluorescent	fluorescent

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

حال در زیر بطور شماتیك این دومرحله رانشان میدهیم



بطوریکه در شمای فوق دیده میشود :

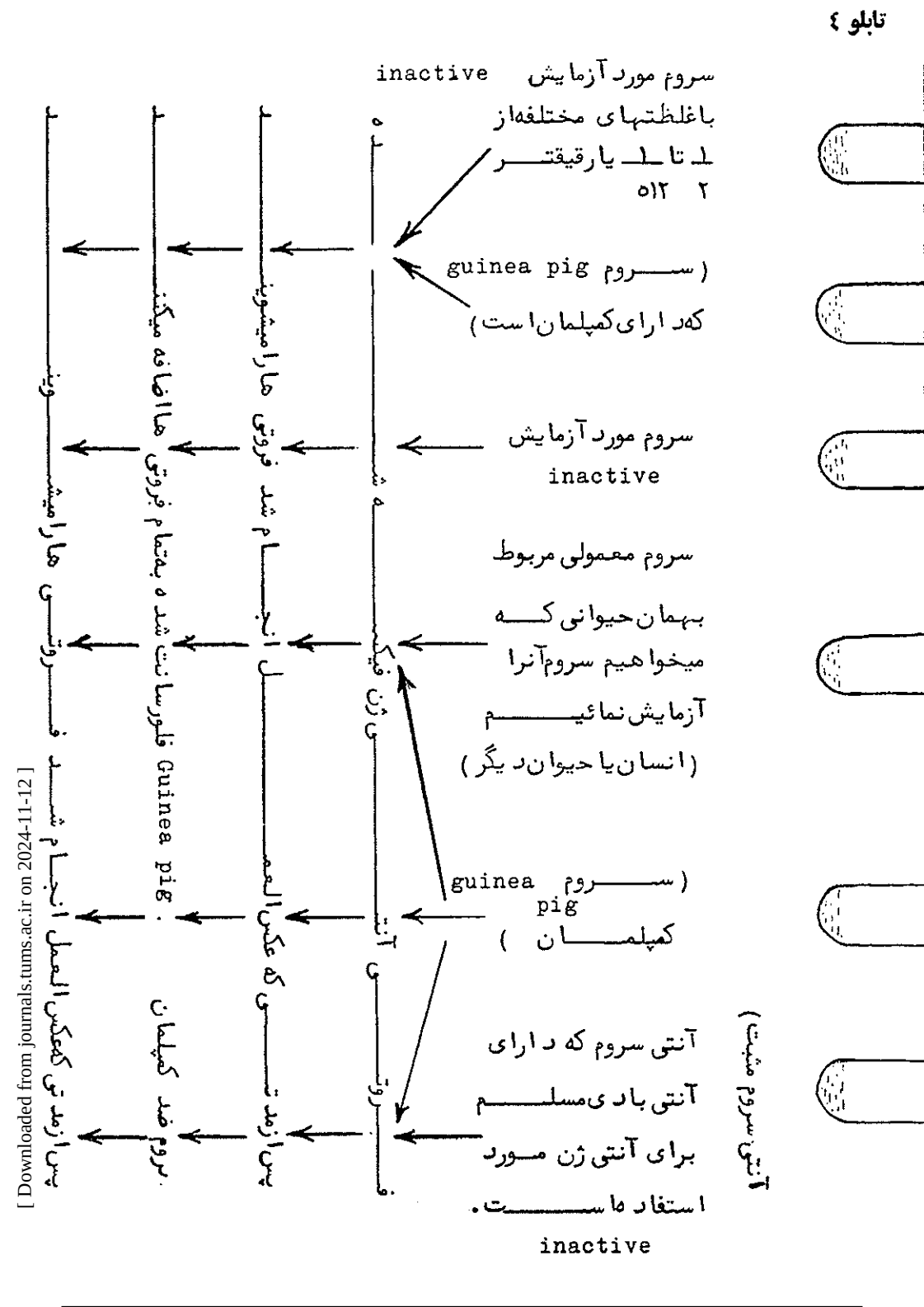
a- در عمل اول سروم مورد آزمایش را که دارای آنتی‌بادی مربوط به آنتی‌ژن است inactive مینمایند (بدون‌کمپلمان) وباکمپلمانی‌که ازسروم Guinea pig وارد عمل میکنند میتوانند سبب چسبیدن‌آنتی بادی‌به‌آنتی‌ژن گردند ولی چون هردو فلورسانت نیستند نتیجه این‌عکس‌العمل non-fluorescent خواهد بود .

-درعمل دوم روی این مجموعه non-fluorescent ازسروم فلورسانت شده ضدکمپلمان Guinea pig (که بوسیله تزریق سروم- بحیوان دیگرتهیه نموده‌وآنرا فلورسانت‌کرده‌اند) Guinea pig (complement) میریزند بالنتیجه این سروم فلورسانت شده روی مجموعه non-fluorescent میچسبد وحاصل عکس‌العمل فلورسانت خواهد بود.

حال طرزاجرای complement staining رادرتابلوچهاربرای یك unknown سروم (جهت تشخیص بیماری) نشان میدهیم .

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

تابلو ٤



[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

Fluorescent — اگر درسروم مورد آزمایش آنتی بادی مربوط به‌آنتی‌ژن وجود داشته باشد.

non fluores. — چون دراینجا کمپلمان دراثر inactivation از بین رفته است وبالنتیجه سروم‌موردآزمایش inactiveنمیتواند بآنتی‌ژن بچسبد دراثر شستن ازبین رفته است .

non fluores. — چون دارای آنتی بادی مربوط بآنتی‌ژن نیست .

non fluores — چون دارای آنتی بادی مربوط به‌آنتی‌ژن نیست با شستن اول (سروم guinea pig کمپلمان) ازبین میرود .

fluorescent. — دراینجا سروم دارای آنتی بادی مسلم مربوط بآنتی‌ژن بوده وبا کمپلمانی که ازسروم guinea pig می‌گیرد . روی آنتی‌ژن میچسبدوبعد باسروم ضدکمپلمان guinea pig فلورسانت شده‌فلورسانت‌میگردد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

دراین روش مزایا ونقصان‌هائی وجوددارد‌که باید آنهارا درنظرداشت.ـ یکی ازمزایای این روش آنست‌که میتوان ازغلظت‌های مختلفه سروم مـورد آزمایش (بخصوص‌در آزمایش ریکتزیا) استفاده نمود ـ واز نقصهائی‌که این روش دارد وجودعوامل non - specific است‌که برای ازبین بردن آن اشکالات فراوانی وجوددارد وبدینجهت برای این نقیصه ازروش‌هاindirect, direct دربعضی مواردکمتر قابل ارزش است ـ گواینکه میتوان بوسیله آزمایش‌های قبلی‌که از سروم Guinea pig اختصاصا انجام میشود تا حدی این نقیصه را جبران نمود وبهتراست‌که قبلا سروم Guinea pig وهمچنین سروم معمولی را بوسیله آزمایش‌کنترول نواقص non - specific آنرا دانست.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

REFERENCES

1. BLOBEL, H., & BECKER, D.F (1960). Serologic studies of purified staphylococcal coagulase with special reference to fluorescence microscopy. J. Immunol., 85,244-249.

2. BOREK, F. (1961). The fluorescent antibody method in medical and biological research. Bull. Wld. Hlth.Org.,24, 249-256.

3. BOREK,F., & SILVERSTEIN, A.M.(1960). A new fluorescent label for antibody proteins. Arch. Biochem.,87,295-297.

4. BOUIL,L.J.,& DUREL., P.(1959). L'immuno-fluorescence appliquée au diagnostic de la syphilis. Path. Biol., 7, 2317-2324.

5. BUCKLEY, S.M.,WHITNEY, E., & RAPP, F.(1955). Identification by fluorescent antibody of developmental forms of poliomyelitis virus in tissue culture. Proc. Soc. Exp. Biol., 90, 226-230.

6. BURGDORFER, W., & LACKMAN, D.(1960). Identification of Rickettsia rickettsii in the wood tick, Dermacentor andersoni, by means of fluorescent antibody. J. Infect. Dis., 107, 241-244.

7. BURKHOLDER, P.R.,LITTELL, A.M.,& EKLIN, P.G.(1961). Sectioning at room temperature of unfixed tissues, frozen to a gelatin matrix. For immunohistologic procedures. Stain Technol.,36,89-91.

8. BULL, M.D.J.(1959). Auto-immunity as a cause of disease(leading Article)., 2, 747-748.

9. BURROWS, W.D. (1957). Endamoeba hartmanni . Amer. J. Hyg.,65, 172-188.

10. CARVER, R.K.,& GOLDMAN, M.(1959). Staining Toxoplasma gondii with fluorescein labelled antibody.III. The reaction in frozen and paraffin sections. Am. J. Clin. Path.,32,159-164.

11 CARVER, R.K.& GOLDMAN, M.(1959). Results of fluorescence inhibition and dye tests for toxoplasmosis in human and animal sera.presented at Am. Soc. Trop. Med.& Hyg., Indianapolis, Ind.

12. CHADWICK, C.S.,MCINTEGART, M.G.& NAIRN, R.C.(1958). Fluorescent protein tracers: A trial of new fluorochromes and the development of an alternative to fluorescein. Immunology 1, 315-327.

13. CHERRY, W.B., & FRIEDMAN, ELIZABETH M.(1959). Staining bacterial smears with fluorescent antibody. V. The rapid identification of Bacillus anthracis in culture and in human and murine tissues. Zentralbl. Bakt. 1 Abt. Orig.,175, 582-604.

14. COONS, A.H. (1956). Histochemistry with labelled antibody. International Review of Cytology, V. 5, edited by G.H. Bourne & J.F. Danielli, Academic press. Inc.,New-York.

15. COONS, A.H.(1958). Fluorescent antibody methods. In General Cytochemical Methods, V.1. edited by J.F. Danielli. Academic Press Inc. New-York.

16. COONS, A.H., CREECH, H.J., & JONES, R.N.(1941). Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 47, 200-202.

17. COONS, A.H. CREECH, H.J. JONES, R.N.,& BERLINER, E. (1942). The demonstration of pneumococcal antigen in tissues by the use of fluorescent antibody. J. Immunol.,45,159-170.

18. COONS, A.H.,& KAPLAN M.H.(1950). Localization of antigen in tissue cells. II. Improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody.J. Exp. Med.,91,1-13.

19. CREECH, H.J.& JONES, R.N.(1941). The conjugation of bovine serum albumin with isocyanates of certain polynuclear aromatic hydrocarbons.J.Am. Chem. Soc.,63,1661-1669.

20. CREECH, H.J.,& JONES, R.N.(1941). Conjugates synthesized from various proteins and the isocyanates of certain aromatic hydrocarbons.J.Am. Chem.Soc., 63,1670-1673.

21. CARTER, C.H.(1959). Staining of coagulase-positive staphylococci with fluorescent antiserum,J.Bact.,77,670-671.

22. CARVER, R.K.,& GOLDMAN,M.(1957). Staining of Toxoplasma gondii in frozen sections, using fluorescein-labelled antibody.J. Paras.,43(Suppl), 38.

23. CHADWICK, P.A.& SLADE,J.H.R.(1960). Identification of bacteria by specific antibody conjugated with fluorescein isothiocyanate.J.Hyg.,58,147-156.

24. COCHRANE, C.G.,& WEIGLE,W.O.(1958). The cutaneous reaction to soluble antigen-antibody complexes. A comparison with the Arthus phenomenon. J. Exp. Med.,108,591-604.

25. COHEN,F.,PAGE,H.H.,& STULBERG, C.S.(1961). Immunofluorescence in diagnostic bacteriology.III. The identification of enteropathogenic E.coli serotypes in fecal smears. A.M.A.J. Dis. Child.,102,82-90.

26. COHEN,P.,ZUBRZYCKA,W.W.,& EVANS,M.M.(1960). Identification of blood group antigens and mixed cell populations by the fluorescent antibody method. Blood.,15,884-900.

27. COHEN,S.,GITIS,G.,SINGHI,L.J.,& POPPER,H.(1960). Immunocytochemical study of gamma globulin in liver in hepatitis and postnecrotic cirrhosis. J.Exp. Med.,111,285-294.

28. COLEMAN, M.M.(1961). In vivo antibody binding sites in hymenolepis nana as demonstrated by direct and indirect immunofluorescent staining.J. Parasit., 47,5A.

29. COONS,A.H.(1951). Fluorescent antibodies as histochemical tools. Fed. Proc.,10,558-559.

30. COONS,A.H. (1958). Fluorescent antibody methods. .General cytochemical methods. Ed. Danielli, J.F. Academic press. New-York.,399-422.

31. COONS, A.H.,SNYDER, J.C.,CHEEVER, F.S.,& MURRAY, E.S. (1950). Localization of antigen in tissue cells. IV. Antigens of rickettsiae and mumps virus. J. Exp. Med.,91,31-38.

32. DEACON, W.E.,PEACOCK, V.E.,& HARRIS,A. (1951). A fluorescent test for treponemal antibodies. Proc. Soc. Exp.Biol. & Med.,96,477-480.

33. DEACON, W.E.,PEACOCK, W.E.,FREEMAN, ELIZABETH M.& HARRIS, Ad.(1959). Identification of Neisseria gonorrhoeae by means of fluorescent antibodies. Proc. Soc. Exp. Biol.& Med.,101, 322-325.

34. DEACON,W.E.,& FREEMAN,E.M. (1960). Fluorescent treponemal antibody studies. J. Invest. Derm., 34, 249-253.

35. DEACON, W.E., FREEMAN, E.M.,& HARRIS, A.(1960). Fluorescent treponemal antibody test. Modification based on quantitation(FTA-200). Proc.Soc.Exp. Biol.& Med.,103,827-829.

36. DEACON,W.E.,PEACOCK,W.E.,FREEMAN,E.M.,HARRIS, A.,& BUNCH,W.L.(1960). Fluorescent antibody tests for detection of the gonococcus in women.Publ. Hlth.Rep.,75, 125-129.

37. DE GROOT, C.J.,METTGER, J.F.,SMITH,C.W.& ROGGAN, M.D.(1960). Demonstration of yellow fever virus in human cell culture by immunofluorescence. Virology.,12,317-320.

38. DOUBLE, W.R.,& HANSEN, P.A.(1959). Labeling of antibodies with fluorescent azo dyes. J. Bact.,77,669-670.

39. ENGLART,K.W.(1958).Observations on the absorption spectra of fluorescein, derivatives and conjugates. Arch. Biochem.,75,1-8.

40. FIEZ, E.H.,BRAYAN, M.M., & W.,& MUSCHEL, L.H. (1961). Evaluation of the fluorescent treponemal antibody(FTA)test for syphilis. Amer.J. Clin.Path., 36, 105-115.

41. FINKELSTEIN, H.A.,& LA BUFF, E. A.(1959). Rapid identification of cholera vibrios with fluorescent antibody. J. Bact.,78,886-891.

42. FOTHERGILL, J.E.,& MAYNE, R.C.(1961). Purification fluorescent conjugates. comparison of chromosil and Sephadex. Nature. 192,1073-1074.

43 FISSET, L.F.,& CREECH, H.J.(1939). The conjugation of aminoacid with isocyanates of the anthracene and 1,2-Benzanthracene series.J.Am. Chem.Soc., 61, 3502-3506.

44. FIPE, E.H. JR.,& MUSCHEL, L.H.(1959). Fluorescent antibody technic for serodiagnosis of Trypanosoma cruzi infection. Proc.Soc.Exp. Biol.& Med., 101, 540-543.

45. GOLDMAN, M. (1955). Cytochemical differentiation of Cytophaga histolytica and Endamoeba coli by means of fluorescent antibody. Am. J. Hyg.,58, 319-324.

46. GOLDMAN,M. (1956). Use of fluorescent-tagged antibody to identify cultures of Entamoeba histolytica and differentiate cells. Am. J.Hyg.,59,318-325.

47. GOLDMAN, M.(1957). Staining Toxoplasma gondii with fluorescein-labelled antibody. I. The reaction in smears of peritoneal exudate. J. Exp. Med.,105, 549-556.

48. GOLDMAN, M.(1957). Staining Toxoplasma gondii with fluorescein labeled antibody II. A new serological test for antibodies to Toxoplasma based upon inhibition of specific staining. J. Exp. Med .,105,557-575.

49. GOLDMAN, M.(1959). Microfluorimetric analysis of an antigenic difference between Entamoeba histolytica and Entamoeba hartmanni. J. Exp. Med. 110, 109-119.

50. GOLDMAN, M. & LEONARD, C.C.(1958). Staining of complement and modification of fluorescent antibody procedures. J. Immunol.,80,122-131.

51. GOLDWASSER, E.A., & SHEPARD, C.C.(1959). Fluorescent antibody methods in the differentiation of murine and epidemic typhus sera, specificity changes resulting from successive immunizations. J. Immunol., 82,329-330.

52. GONNALE,A.G.,BARBAVILLE, B.J.,& DAVID, N.M.(1949). Determination of serum protein by means of the biuret reaction. J. Biol. Chem.,177,751-766

53. GOLDMAN,M.(1960). Antigenic analysis of Entamoeba histolytica by means of fluorescent antibody. I. Instrumentation for microfluorimetry of stained smears. Exp. Parasit.., 9, 1-17.

54. GOLDMAN, M., & CARVER, R.K.(1957). Preserving Fluorescein isocyanate for simplified preparation of fluorescent antibody. Science, 126,839-840.

55. GOLDMAN,M.,& CARVER, R.K.(1961). Microfluorimetry of cells stained with fluorescent antibody. Exp. Cell Res.,23,265-28

56. GOLDMAN,M.,CARVER, R.K.& GLICKSON,V.V. (1960). Antigenic analysis of Cytamoeba histolytica by means of fluorescent antibody. II.E.histolytica and E. hartmanni. Exp.Parasit.,10, 366-388.

57. HEIDELBERGER, M., KENDALL, F.E.,& BOO HOO, C.H.(1933). Quantitative studies on the precipitin reaction. Antibody production in rabbits injected with an azo protein. J. Exp. Med.,58,137-152.

58. HILL,A.C.S. BEANE,HELEN W .& COONS,A.H.(1950). Localization of antigen in tissue cells. V. Capsular polysaccharide of Friedlaender bacillus, type B, in the mouse.J. Exp. Med.,92, 35-44.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]

59. NISHIMOTO, E., ENGEL, E., & FREEDMAN, D. (1958). Tetramethyl rhodamine as immunohistochemical fluorescent label in the study of chronic thyroiditis. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 97, 611-614.

60. HOPKINS, B.J., & WORMALL, A. (1933). Phenyl isocyanate protein compounds and their immunological reaction. J. Biochem., 27, 740-753.

61. HARRIS, A., BOSSAK, H.M., DEACON, W.E., & BUNCH, W.L. (1960). Comparison of the fluorescent antibody test with other tests for syphilis on cerebrospinal fluid. Brit. J. Vener. Dis., 36 178-180.

62. HOPKINS, B.J., & WORMALL, A (1933.). Phenyl isocyanate protein derivatives and their immunological properties. III. The amino-acid derivatives and serological inhibition tests. Biochem. J., 28, 228-236.

63. IKGRAM, R.L., OTKEN, L.B., & SNOWDEN, J.R. (1961). Staining of malarial parasites by the fluorescent antibody technic. Proc. Soc. Exp. Biol., 106, 52-54.

64. JACKSON, G.J. (1959). Fluorescent antibody studies of Trichinella spiralis infections. J. Infect. Dis., 105, 97-117.

65. JACKSON, G.J., & LEWART, B.M. (1957). Immune precipitates on nematode parasites Studies in vitro with fluorescent and unlabeled serums. J. Parasit., (5, Sect.2) 43.

66. KAPLAN, M.H. (1958). Localization of streptococcal antigens in tissues. I. Histologic distribution and persistence of M protein types 1, 5, 18, and 19, in the tissues of the mouse. J. Exp. Med., 107, 341-352.

67. KAPLAN, M.H., COOKS, A.H., & DEAVOR, HELEN W. (1958). Localization of antigen in tissue cells. III. Cellular distribution of pneumococcal polysaccharides types II and III in the mouse. J. Exp. Med., 91, 15-30.

68. KAGAN, I.G. (1958). Contributions to the immunology and serology of schistosomiasis. Rice Institute pamphlet., 45, 151-185.

69. KAUFFMANN, L., & KAPLAN, M. (1961).Fluorescein-labelled specific Histoplasma capsulatum antiglobulin for fluorescent antibody procedures. Bact. Proc., 123.

70. LIU, CH'IEN 1957 . Studies on primary atypical pneumonia. I. Localization, isolation, and cultivation of a virus in chick embryos. J. Exp. Med., 106, 455-466.

71. LA BREC, E.H., FOMAL, S.B., & SCHNEIDER, H. (1959). Serological identification of Shigella flexneri by means of fluorescent antibody. J. Bact., 78, 384-391.

72. McENTEGART, M.G., CHADWICK, C.E., & MAIRN, R.C. (1958). Fluorescent antiserum in the detection of serological variation of Trichomonas vaginalis. Brit. J. Ven. Dis., 34, 1-5.

73. MARRACK,J.(1934). Nature of antibodies. Nature,133,292-293.

74. MARSHALL, J.D. JR EVELAND, W.C., and SMITH, C.W.(1958). Superiority of fluorescein isothiocyanate (Riggs) for fluorescent antibody technique with a modification of its application. Proc. Soc. Exp. Biol.& Med.,98,898-900

75. MOODY,M.D.,WILLIS,F. C.,& UPDYKE, E.L.(1958). Staining bacterial smears with fluorescent antibody. IV. Grouping streptococci with fluorescent antibody,J. Bact., 75,553-560.

76. MOODY, M.D.,& VINTER,C.C.(1956). Rapid identification of pasteurella pestis with fluorescent antibody,III. Staining PasPasteurella pestis in tissue impression smears. J. Infect. Dis.,104, 288-294.

77. MOODY, M.D. GOLDMAN,M.,& THOMASON,B.M.(1956). Staining bacterial smears with fluorescent antibody.I. General methods for Malleomyces pseudomallei. J.Bact., 72, 357-361.

78. MONTGOMERY, CH., SUHALAND,S.,& ENOX, J.N. (1960). Observations concerning fluorescent treponemal antibody test for syphilis. J. Invest. Derm., 35,95-101.

79. NELSON, J.D.,& WHITAKER, J.A. (1960). Diagnosis of enteropathogenic E. coli infections by fluorescein-labelled antibodies. J. Pediat.,57, 684-688.

80. NEIMAN, G.H.(1958). The practical Use of the Microscope. C.C. THOMAS, Springfield, Illinois.

81. OLANSKY, S.,& McCORMICK, G.E.(1960). Experiences with the fluorescent treponemal antibody test for syphilis (FTA test). A.M.A. Arch. Derm., 81,59-65.

82. ORTEGA, L.G.,MELLORS, R.C.(1957). Cellular sites of formation of gammaglobulin, J. Exp. Med.,106, 627-639.

83. PRICE , G.R.,& SCHWARTZ, S.(1956). Fluorescence microscopy, physical Techniques in Biological Research, V. 3. edited by G. Oster and A.W. Pollister, Academic Press, Inc, New-York.

84. PRINGSHEIM,P.(1949). Fluorescence and phosphorescence. Inter science, New-York.

85. PRINGSHEIM, P.,& VOGEL,M.(1943). Luminescence of liquid and Solids and its Practical Application. Interscience, New-York.

86. PROOM,H.(1951). The prepa ration of p-recipitating sera for the identification of animal species. J. Path. Bact.,55, 419-426.

87. RIGGS, J.L .LON, R.C.,& EVELAND, W.C.(1960). A simple fractionation method for prepa ation of fluorescein-labelled gamma-globulin. Proc. Soc.Exp. Biol. & Med., 105,653 6.

88. RIGGS, J.L., SEIWALD, R.J., BUCAHALTER, J., DONN,C.N.,& METCALF, T.G.(1959). Isothiocyanate compounds as fluorescent labeling agents for immune serum. Am. J. Path.,34, 1081-1097.

89. SADUN, E.H.,WILLIAMS, J.... & ANDERSON, C.L. (1960). Fluorescent antibody technic for sero-diagnosis of schistosomiasis in humans. Proc. Soc.Exp. Biol.& Med., 105,289 291.

90. SCHELLER, A.A. SCHAUB, R.V.,& BESS,C.L.(1953). Fluorescein-conjugated bovine albumin. Physical and biological properties. J. Gen. Physiol.,36, 489-506.

91. SCHMIDT, W.J.(1952). Group a streptococcus polysaccharide,studies on its preparation, chemical composition, and cellular localization after intravenous injection into mice. J. Exp. Med ,95, 105-119.

92. SHELDON , J.H.(1953). Leptospiral antigen demonstrated by the fluorescent antibody technic in human muscle lesions of leptospira icterohaemorrhagiae. Proc. Soc Exp. Biol.& Med., 84, 169-167.

93. THOMASON,B.M., CHERRY, W.B.,& EDWARDS, P.A.(1958). Staining bacterial smears with fluorescent antibody.,VI. Identification of Salmonellae in fecal specimens, J. Bact.,77, 478-486.

94. THOMASON, B. M., CHERRY, W.B.,& CHING, W.H.(1959). Rapid identification of a serotype of Escherichia coli with polyvalent antibody globulins labeled with fluorescein, In Bact. Proc. Baltimore, Md. Society of American Bacteriologists., P.90.

95. THOMASON,B.M.,CHERRY, W.B.,& MOODY, M.D.(1957). Staining bacterial smears with fluorescent antibody,III. Antigenic analysis of Salmonella typhosa by means of fluorescent antibody and agglutination reactions.J.Bact.,74,525-532.

96. THOMASON,B.M.,MOODY,M.D.,& GOLDMAN,M.(1956). Staining bacterial smears with fluorescent antibodies. II. Rapid detection of varying numbers of Malleomyces pseudomallei in contaminated materials and infected animals. J. Bact., 72, 362-367.

97. VOGEL, R.A.,& PARKER, J.F.(1958). Indirect staining reaction with fluorescent antibody for detection of antibodies to pathogenic fungi. Proc.Soc. Exp. Biol.& Med.,98, 134-139.

98. WHITAKER,J. PAGE, R.H.,STULBERG, C.S.,& ZUELZER, W.W.(1958). Rapid identification of enteropathogenic Escherichia coli [027: B8 by the fluorescent antibody technique. Am.J.Dis. Child.,95, 1-8.

99. WINTER,C.C. & MOODY,M.D.(1959). Rapid identification of pasteurella pestis with fluorescent antibody.I. Production of specific antiserum with whole cell pasteurella pestis antigen,J.Infect. Dis.,104,274-280.

100. WINTER,C.C.,& MOODY,M.D.(1959). Rapid identification of Pasteurella pestis with fluorescent antibody,II. Specific identification of Pasteurella pestis in dried smears. J. Infect. Dis.,104, 281-287.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-11-12]