

۱۵۵۹۵۸۹

سرولوژی و ایمنولوژی کاربردی

همراه با اصول و تفسیر روش‌ها

«جلد دوم»

تألیف:

غلامرضا سزیزی

دکتر بهنام قلعه‌نری

یاسر پناهی

سعید طهماسبی

عنوان و نام پدیدآور	: سرولوژی و ایمونولوژی کاربردی: همراه با اصول و تفسیر آزمایش‌ها/ تالیف بهنام قلعه‌نویی... و دیگران]
مشخصات نشر	: تهران: انتشارات حیدری، -۱۳۹۶
مشخصات ظاهری	: ج: مصور، جدول، نمودار
شابک	: ۹۷۸-۶۰۰-۴۸۹-۰۶۰-۱
یادداشت	: تالیف غلامرضا عزیزی، بهنام قلعه‌نویی، یاسر پناهی، سعید طهماسبی
فهرست نویسی	: فیبا
موضوع	: سرم‌شناسی Serology ایمنی‌شناسی
شناسه افزوده	: عزیزی، غلامرضا، ۱۳۵۷
رده بندی کنگره	: ی ۱۳۹۰/س۴ RB۴۶
رده بندی دیویی	: ۶۱۵/۳۷
کتابشناسی ملی	: ۳۹۸۶۱۳۲



سرو رژی و سرولوژی کاربردی همراه با اصول و تفسیر آزمایش‌ها (جلد دوم)

مؤلفین: غلامرضا عزیزی، بهنام قلعه‌نویی، یاسر پناهی، سعید طهماسبی

ناشر: نشر حیدری

چاپ اول - ۱۳۹۶

حاپ، سحاح، طرح و نقش

شماره پنجم، نسخه

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۴۸۹-۰۶۰-۱

بهاء: ۲۵۰۰۰ تومان

این اثر، مشمول قانون حمایت از مؤلفان و مصنفان و هنرمندان مصوب ۱۳۹۴ است. هرکس تمام یا قسمتی از این اثر را بدون اجازه مؤلف (ناشر)، منتشر یا پخش کند مورد پیگرد قانونی قرار خواهد گرفت.

مراکز پخش

- دفتر مرکزی: خیابان انقلاب، خیابان ۱۲ فروردین، خیابان شهدای ژاندارمری غربی، روبروی اداره ست. پلاک ۱۲۴، طبقه اول، واحد ۲ - تلفن: ۶۶۹۷۶۴۹۹-۶۶۹۷۶۶۷۸
- فروشگاه ۱: خیابان انقلاب، روبروی دانشگاه، پاساژ فروزنده، طبقه همکف، پلاک ۳۳۳ - تلفن: ۶۶۴۹۹۲۱۴-۶۶۴۹۲۷۸۶
- فروشگاه ۲: خیابان انقلاب، روبروی دانشگاه، پاساژ فروزنده، طبقه همکف، پلاک ۳۰۸ - تلفن: ۶۶۴۷۸۹۴۷
- فروشگاه ۳: قلهک، خیابان زرگنده، دانشگاه آزاد اسلامی، کتابفروشی دانشگاه - تلفن: ۲۲۶۳۲۶۰۵
- فروشگاه ۴: اراک، میدان سرداران، جنب بیمارستان ولی عصر مجتمع پارس، فروشگاه کتاب ونوس - تلفن: ۲۲۴۶۲۵۷-۰۸۶۳
- فروشگاه ۵: بجنورد، مشهد، خیابان ۱۷ شهرویر جنوبی، نبش کوچه پرتانی، پلاک ۳۱۳، فروشگاه نشر حیدری - تلفن: ۰۵۸-۳۲۲۶۳۵۵۸
- فروشگاه ۶: خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی کمالوند، فروشگاه نشر حیدری - تلفن: ۰۸۶۳-۲۲۳۴۸۸۳
- و کتابفروشی‌های معتبر سراسر کشور

هم‌زمان با پیشرفت علوم مختلف به خصوص در عرصه پزشکی، ایمنولوژی نیز در زمینه‌های گوناگون، دستخوش تحولات و پیشرفت‌های شگرفی شده است.

با توجه به ارتباط علم ایمنولوژی با برخی علوم مرتبط نظیر فیزیولوژی، خون شناسی و بیوشیمی و به خصوص ارتباط مستقیم آن با بیماری‌های انسان و همچنین زمینه‌های متعدد تحقیقی آن، روزبه‌روز بر جذبه‌های این رشته، به خصوص بخش عملی و آزمایشگاهی آن افزوده شده است. با این ترتیب این علم در کشور ما از جایگاه خاصی برخوردار بوده و روز به روز بر شمار رفته‌مندان این رشته و ادامه تحصیل در این گرایش افزوده می‌شود. علی‌رغم وجود منابع مختلف در زمینه ایمنولوژی تئوری، متأسفانه در زمینه مباحث عملی و آزمایشگاهی، ضعف و کمبود وجود دارد. این امر انگیزه‌ای گردید برای تألیف مجموعه‌ای با نام سرولوژی و ایمنولوژی کاربردی در دو جلد که در طی آن، سعی گردیده با بهره‌گیری از کتب و مراجع معتبر و همچنین تجارب مؤلفین، تلاش مناسب و با استفاده از اشکال و جداول، این هدف، تأمین گردد.

در طی سال‌هایی که با سعی و تلاش فراوان و با یاری خداوند، این مجموعه به سرانجام رسید، هدف مؤلفین این بوده که کلیه رخور و شایسته به محضر اساتید و دانشجویان محترم عرضه گردد. امید است که در این زمینه توانسته باشیم قدمی هر چند ناچیز برداریم.

پرواضح است که علی‌رغم سعی و اهتمام مؤلفین، مجموعه‌ای با این حجم و گستردگی، خالی از ایراد و اشکال نبوده و لذا از اساتید و دانشجویان عزیز صمیمانه تقاضا داریم چنان‌چه در حین مطالعه کتاب به ایراد و اشکالی برخورد کنند، حتماً ما را از موارد مزبور مطلع سازند که یقیناً رهگشا و راهنمای ما خواهد بود.

در خاتمه امیدواریم که با تألیف این مجموعه در راستای نیت و هدف اولیه ما که همانا ارتقاء سطحی علمی و ادای دین نسبت به اساتید این رشته است، توانسته باشیم خدمتی هر چند ناچیز ارایه داده و این کتاب برای جامعه علمی کشور مفید و مبرر واقع شود.

آدرس پست الکترونیکی مؤلفین جهت ارایه انتقادات و پیشنهادات:

E-MAIL: ghalehnoii@yahoo.com

E-MAIL: Azizi_g@razi.tums.ac.ir

فهرست مطالب

۴	مقدمه مؤلفین
۱۳	فصل اول - تکنیک‌های ایمنواسی (Immunoassay Techniques)
۱۳	مقدمه
۱۵	انواع نشانگرها
۱۷	ایمنواسی هتروژن و هموزن
۱۸	روشهای سنجش رقابتی و غیررقابتی
۲۰	آنتی‌بادی
۲۱	ماده‌های جداسازی
۲۲	روشهای تشخیص نشانگرها (Methods for Detection of Lable)
۲۳	کنترل کیفی (Quality Control)
۲۵	فصل دوم - رادیوایمنواسی (Radio Immuno Assay)
۲۵	مقدمه
۲۸	RIA فاز جامد رقابتی (Competitive solid phase RIA)
۲۹	RIA فاز جامد غیر رقابتی (Non- Competitive solid phase RIA)
۳۱	Radio Allegro Sorbent Test (RAST)
۳۲	Radio Immuno Sorbent Test (RIST)
۳۳	فصل سوم - آنزیم ایمنواسی (Enzyme Immuno Assay)
۳۳	مقدمه
۳۴	روش آنزیم ایمنواسی هموزن
۳۵	روش آنزیم ایمنواسی هتروژن
۳۵	مروری بر آنزیم ایمنواسی هتروژن یا الیزا
۳۶	الف- انواع روشهای جداسازی و فازهای جامد مورد استفاده در الیزا
۳۸	ب- آنزیم‌ها و سوبستراهای مورد استفاده در الیزا
۴۰	ج- مراحل انجام الیزا و آماده‌سازی اجزای آن
۴۱	۱. Coating
۴۳	۲. Washing
۴۳	۳. Blocking
۴۴	۴. نمونه‌های مورد ارزیابی
۴۴	۵. محلول کنترلوگه

.....	۶. محلول سوپسترا و کروموژن
.....	۷. محلول متوقف کننده (Stop solution)
.....	۸. اندازه گیری شدت رنگ
.....	۹. استانداردها یا کالیبراتورها (Standards or Calibrators)
.....	۱۰. شرایط سنجش
.....	۱۱. نگهداری معرف ها
.....	تقسیم بندی انواع الیزا
.....	۱. الیزای مستقیم (Direct ELISA)
.....	۲. الیزای غیر مستقیم (Indirect ELISA)
.....	۳. الیزای ساندویچ (Sandwich ELISA)
.....	۴. الیزای ثابتی بوماری
.....	روش ایمنواسنس سریع (Rapid immunoassay)
.....	تجهیزات و دستگاه های مورد استفاده در الیزا
.....	انجام عملی الیزا
.....	نکات تکنیکی
.....	محاسبه نتایج

فصل چهارم - ایمنوفلورسانس Immuno Fluorescent Assay

.....	روش های سنجش ایمنوفلورسانس
.....	ایمنوفلورسانس مستقیم (Primary) Direct Immunofluorescent Assay
.....	ایمنوفلورسانس غیر مستقیم (Secondary) Indirect Immunofluorescent Assay
.....	سایر روش های ایمنوفلورسانس
.....	ایمنوفلورسانس در میکروبیولوژی
.....	ایمنوفلورسانس جهت تشخیص اتوآنتی بادی ها
.....	ایمنوفلورسانس جهت تشخیص کمپلکس های ایمنی بافتی
.....	نقاط ضعف و قوت ایمنوفلورسانس

فصل پنجم - کمی لومینسانس (Chemiluminescence)

.....	مقدمه
.....	بیولومینسانس
.....	کمی لومینسانس
.....	الکتروکمی لومینسانس (ECL)

۹۳	 کاربرد کمی لومینسانس در آزمایشات ایمنولوژیک
۹۶	 مزایای CLIA
۹۷	 فصل ششم - قسمت اول: ایمنوهیستوشیمی (Immunohistochemistry)
۱۰۱	 فصل ششم - قسمت دوم: تکنولوژی‌های جدید استفاده از نشانگرها
۱۰۱	 تکنیک LOCI (Luminescent Oxygen - Channeling Immuno assay)
۱۰۱	 تکنیک SQUID (Superconducting Quantum Interference Device)
۱۰۲	 تکنیک Q dots (Quantum Dots)
۱۰۲	 تکنیک تقویت سیگنال (Signal Amplification Technology)
۱۰۳	 تکنولوژی سانگ مغناطیسی (Magnetic Labeling Technology)
۱۰۳	 فلوروایمنواسی زمان معین (Time-Resolved Fluoroimmunoassay)
۱۰۴	 Fluorescence Polarization Immuno assay
۱۰۴	 تکنولوژی DNA Chip (DNA Microarray)
۱۰۵	 هیبریداسیون در جای فلورسانس (Fluorescence In Situ Hybridization) FISH
۱۰۹	 فصل هفتم - فلوسیتومتری (Flow cytometry)
۱۰۹	 مقدمه
۱۱۲	 تجهیزات فلوسیتومتر
۱۱۹	 روش نفوذپذیر کردن سلول‌ها برای سنجش مارکرهای داخل سلولی
۱۲۰	 فواید میکروویو کردن سلول‌ها
۱۲۰	 معایب میکروویو کردن سلول‌ها
۱۲۱	 کاربرد بالینی فلوسیتومتری
۱۲۴	 روش آماده کردن سلول‌ها جهت انجام فلوسیتومتری
۱۲۵	 فصل هشتم - روش‌های جداسازی و تفکیک سلول‌ها
۱۲۵	 مقدمه
۱۲۶	 انواع روش‌های غیر اختصاصی
۱۲۷	 جدا کردن PBMC از خون کامل انسان
۱۲۷	 مواد و تجهیزات لازم
۱۲۷	 روش انجام
۱۲۸	 انواع روش‌های اختصاصی
۱۳۱	 سایر روش‌های جداسازی سلول‌ها
۱۳۳	 (FACS) Fluorescence-Activated Cell Sorting

.....(MACS) Magnetic-Activated Cell Sorting

فصل نهم - روشهای بررسی عملکرد سلولهای ایمنی

.....مقدمه

.....روشهای مطالعه و شناسایی پاسخ لنفوسیت های T

.....فعال سازی پلی کلونال لنفوسیت های T

.....Lymphocyte Proliferation Test

.....MHC/Peptide Tetramer Test

.....Cytokine Secretion Assay

.....Mixed Lymphocyte Reaction Test

.....روشهای مطالعه پاسخهای لنفوسیت های B

.....فعال شد جمعیت های پلی کلونال B

.....روشهای سنجش خیر لنفوسیت B و تولید آنتی بادی

.....سنجش عملکرد نوتروفیل (Neutrophil Function Assay)

.....Nitro Blue Tetrazolium (NBT)

.....سنجش کموتاکسی (Chemotaxis Assay)

.....Rebuck's skin window

.....Bacterial Killing

.....سایر تستهای بررسی سلول

.....MTT Assay

.....روشهای بررسی آپوپتوز

فصل دهم - ایمنولوژی پیوند و آزمایشات سازگاری بافتی

.....مقدمه

.....انواع رد پیوند

.....واکنش پیوند علیه میزبان (Graft-versus-Host Disease)

.....تستهای سازگاری بافتی بالینی (Clinical Histocompatibility Testing)

.....۱- HLA Typing (تعیین تیپ HLA)

.....۱-۱- تعیین فنوتیپ HLA با استفاده از روشهای سرولوژیک (HLA Phenotyping)

.....تست لنفوسیتوتوکسیسیته وابسته به کمپلمان یا CDC

.....روش استاندارد انجام تست CDC

.....ریجننت های تیپینگ سرولوژیک (Serologic Typing Reagents)

۱۷۱	متغیر بودن نتایج Typing سرولوژیک
۱۷۲	۱-۲- تعیین ژنوتیپ HLA با استفاده از روشهای مولکولی (HLA genotyping)
۱۷۳	مراحل Typing مولکولار (Steps for molecular typing)
۱۷۵	۲- غربالگری و شناسایی آنتی‌بادی‌های ضد HLA
۱۷۹	غربالگری آنتی‌بادی‌های HLA به روش الیزا
۱۸۰	جستجوی آنتی‌بادی با فلوسیتومتری
۱۸۱	۳- کراس میچ (Cross matching)
۱۸۳	PBL Lymphocytotoxicity cross matching
۱۸۳	T-cell Lymphocytotoxicity Cross Matching
۱۸۴	B-cell Lymphocytotoxicity Cross Matching
۱۸۴	Flow-Cytometry Cross Matching
۱۸۶	Cross matching for Auto antibodies
۱۸۷	روشهای سلولی تست‌های سازگاری بافتی
۱۸۷	واکنش لنفوسیتی مختلط (Mixed Lymphocyte Reaction - MLR)
۱۸۹	روش انجام MLR یک جهته
۱۸۹	مراحل انجام تست MLR یک جهته
۱۹۱	نقش سازگاری HLA در انواع پیوند از نظر بالینی
۱۹۱	الف - پیوند استم سل هماتوپوئیتیک (HSCT)
۱۹۲	ب - پیوند کلیه
۱۹۳	ج - پیوند قلب
۱۹۴	د - پیوند کبد
۱۹۵	فصل یازدهم - قسمت اول: ازدیاد حساسیت (Hypersensitivity)
۱۹۵	مقدمه
۱۹۶	ازدیاد حساسیت تیپ I
۱۹۶	آلرژن‌ها
۱۹۷	Ig E
۱۹۸	واکنش‌های ازدیاد حساسیت نوع یک
۱۹۸	بیماری‌های آلرژیک در انسان
۱۹۹	تست‌های تشخیص آلرژی
۱۹۹	In vivo Test - I

.....	روش انجام تست Prick
.....	Intradermal Test
.....	نکات مهم در انجام تست‌های پوستی آلرژی
.....	علل منفی کاذب
.....	علل مثبت کاذب
.....	Invitro Test -2
.....	RIST
.....	RAST
.....	Immune CA (ایمونوکپ)
.....	ردیاد حساست تیپ VI
.....	تست‌های تشخیصی
.....	فصل یازدهم - حساسیت دوم: تست‌های پوستی (Skin Tests)
.....	۱- تست‌های پوستی سری
.....	تست پوستی کازونی
.....	۲- تست‌های پوستی تاخیری
.....	تست پوستی توبرکولین
.....	تست پوستی لپرومین
.....	تست پوستی مونته‌نگرو
.....	تست پوستی تولارمی یا فوشای
.....	تست پوستی کویم (Kveim)
.....	تست پوستی هیستوپلاسمین
.....	تست پوستی کوکسیدین
.....	واکنش‌های پوستی تاخیری فراخوان (RDSR)
.....	۳- تست‌های خنثی‌سازی توکسین
.....	تست پوستی دیک
.....	تست پوستی شولتز شارلتون
.....	تست پوستی شیک و مولونی
.....	فصل دوازدهم - کروماتوگرافی (Chromatography)
.....	مقدمه

۲۲۳	 انواع کروماتوگرافی
۲۲۴	 ۱- طبقه بندی بر اساس نوع و شکل جاذب یا فاز ساکن
۲۲۴	 ۲- طبقه بندی بر اساس ویژگی فازهای مورد استفاده
۲۲۵	 ۳- طبقه بندی بر اساس مکانیسم جداسازی اجزا
۲۲۹	 انواع تکنیک‌های کروماتوگرافی
۲۲۹	 ۱- کروماتوگرافی کاغذی (Paper Chromatography)
۲۳۰	 ۲- کروماتوگرافی لایه نازک (Thin Layer Chromatography = TLC)
۲۳۱	 ۳- کروماتوگرافی ستونی (Column Chromatography)
۲۳۲	 ۴- کروماتوگرافی مویین (Capillary Chromatography)
۲۳۲	 ۵- کروماتوگرافی تعویض یونی (Ion Exchange Chromatography = IEC)
۲۳۳	 ۶- کروماتوگرافی HPLC (High Performance Liquid Chromatography)
۲۳۳	 ایمنوکروماتوگرافی (Immunochromatography)
۲۳۵	 ایمنوکروماتوگرافی سریع (Rapid Immunochromatography)
۲۴۱	 فصل سیزدهم - تومور مارکرها (Tumor markers)
۲۴۱	 مقدمه
۲۴۲	 روشهای تشخیصی تومورها
۲۴۳	 ۱- بررسی میکروسکوپی تومور از نظر مورفولوژی
۲۴۳	 ۲- ارزیابی آنتیژن تومور تحت عنوان تومور مارکرها
۲۴۵	 β HCG
۲۴۵	 CAها
۲۴۷	 CEA
۲۴۹	 PSA
۲۴۹	 ۳- استفاده از روشهای ملکولی در تشخیص تومور
۲۵۳	 فصل چهاردهم - مدل‌های حیوانی در ایمنولوژی (Animal Models in Immunology)
۲۵۳	 مقدمه
۲۵۳	 تقسیم‌بندی حیوانات آزمایشگاهی از نظر ژنتیکی
۲۵۴	 ۱- مدل‌های حیوانی لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE)
۲۵۵	 مدل‌های حیوانی دیابت ملیتوس تیپ I (T1D)
۲۵۵	 مدل حیوانی MS (Multiple Sclerosis)
۲۵۷	 مدل حیوانی آرتریت روماتوئید (Rheumatoid Arthritis)

سایر مدل‌های حیوانی

فصل پانزدهم - اصول مقدماتی کشت سلولی

مقدمه

تجهیزات و امکانات آزمایشگاه کشت سلولی

۱-هود لامینار

۲-انکوباتور دی‌اکسید کربن

۳-میکروسکوپ‌ها

۴-سانتریفوژ

۵-سیستم‌های خنک‌کننده

۶-دستگاه‌های استریلیزاسیون

۷-سایر مواد مصرفی از جمله ظروف کشت

دستورالعمل‌های استاندارد اتاق کشت سلول

تکنیک‌های متداول سیتیک کشت سلولی

فیلتر کردن و تهیه محیط کشت

روش کلی کشت و نگهداری سلول‌ها

نحوه پاساژ سلول‌ها

پروتکل شمارش و تعیین درصد سلول‌های زنده (Viability)

نگهداری سلول‌ها به صورت منجمد

دفریز کردن سلول‌های منجمد شده

آنتی‌بادی مونوکلونال (Monoclonal Antibody)

شایع‌ترین کاربردهای آنتی‌بادی‌های مونوکلونال

منابع