تفاعلات الضد والمستضد Antibody-Antigen Reactions

ثانيا : اختبارات الترسيب Precipitation reaction

تستخدم تفاعلات الترسيب للكشف عن الاجسام المضادة antibodiesأو مولدات الضدantigens وليس الكشف عن البكتريا كما هو الحال في بقية الاختبارات , ويجرى هذا الاختبار في محلول يعطي ترسيب واضح مرئي ويكون في تفاعلات الترسيب كلا من الانتيجين والجسم المضاد في حالة ذائبة.

مبدأ اختبارات الترسيب: Principle Precipitation reaction

عند اضافة Ab الى وسط يحتوي على Ag ذائب فإنه سرعان ما يحدث بينهما تفاعل , يؤدي هذا التفاعل في البداية الى ظهور عكارة واضحة سرعان ما تتحول الى راسب يستقر في قاع الانبوبة .
بعد مرور فترة زمنية يتكون معقد Ab -Ag ويبدأ خلال الدقائق الاولى .. مما يعطي راسب مرئي وقد يستغرق عدة ايام " يومين الى سبعة ايام" وتكوين المعقد يعتمد على التكافؤ بين الانتيجن والجسم المضاد .. ولا بد ان يكون Ab ثنائي التكافؤ .. والاّ لن يتكون راسب اذا كان احادي التكافؤ...
ويجب ان يكون Ag اما ثنائي او عديد التكافؤ.

العوامل التي تؤثر على تفاعلات الترسيب:

1- درجة الحموضة pH

يجب ان يكون الاس الهيدروجيني مساويا الـ7.

2- تأثير الاملاح (القوى الايونية)

تتاثر تفاعلات الترسيب بتركيز الاملاح المتحللة كهربائيا "المتأينة "

3- تأثير الحرارة

يكون تأثير الحرارة على تجمع المعقدات الناتجة الصغيرة وهذه التأثيرات تعتمد على:

أ -طبيعة الانتيجين
ب -نوع الحيوان الذي حُضّر منه الجسم المضاد

4- منطقة وكمية الاجسام المضادة :

يوجد ثلاث مناطق لتفاعلات الترسيب وهي:

1- منطقة الزيادة في الاجسام المضادة: zone of antibody excess
2- منطقة الزيادة في الانتيجين zone of antigen excess:
3- منطقة التكافؤ equivalence zone:

طرق اختبار الترسيب:

اولا : اختبار الترسيب باستعمال الانبوب الشعري(الاختبار الحلقي)

ثانيا : طريقة الانتشار في الجلاتين وتشمل

1-الانتشار المناعي الاشعاعي المفرد (اختبار مانسيني)
2-الانتشار المناعي الثنائي او المزدوج (اختبار الاكترلوني)
3- الترحيل الكهربائي المناعي ويشمل
أ- الترحيل الكهربائي المناعي الصاروخي
ب- **الترحيل الكهربائي المناعي المعاكس الاتجاه**

اولا: اختبار الترسيب باستعمال الانبوب الشعري:

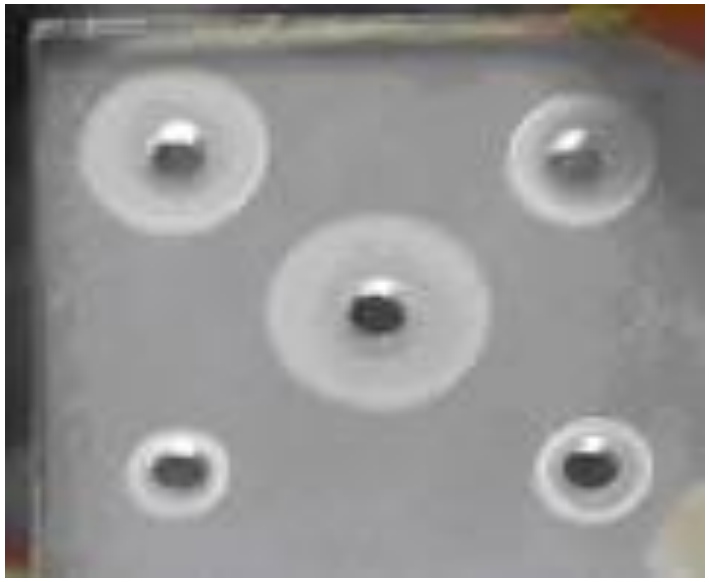
وهي من اقدم الطرق المستخدمة, تستعمل بها الانابيب الشعرية الصغيرة (3- 10 ملم) وفي هذه التفاعلات يمزج الانتجين القابل للذوبان مع مصل المريض داخل هذه الانابيب,حيث يتكون راسب على السطح او في القعر نتيجة الاتصال مابين الانتجين والاجسام المضادة. الشكل (1)

الشكل (1): اختبار الترسيب باستعمال الانبوب الشعري

ثانيا: طريقة الانتشار في الجلاتين وتشمل:

1-الانتشار المناعي الاشعاعي المفرد البسيط (اختبارمانسيني)

يستخدم هذا الاختبار لتحديد نوعية الكلوبيولينات المناعية IgG, IgA, gM وبروتينات المتمم C3,C4 الموجودة في المصل .
يمزج المصل مع الجلاتين (الاكاروز) وهو في الحالة الذائبة ثم يترك ليتصلب في اطباق او في صفيحة زجاجية (سلايد) ثم يعمل حفر في الجلاتين المتصلب ويوضع الانتجين داخل الحفر ثم تحضن الاطباق بالحاضنة او بدرجة حرارة الغرفة, فاذا كان المصل يحتوي اجسام مضادة نوعية للانتجين فستتكون مناطق ترسيب حول الحفرة نتيجة الانتشارالاشعاعي للانتجينات والتقائها بالاجسام المضادة الشكل(أ,ب 2)



الشكل (2) أ: الانتشار المناعي الاشعاعي المفرد البسيط (اختبارمانسيني).

الشكل (2) ب: الانتشار المناعي الاشعاعي المفرد البسيط (اختبارمانسيني).

التقدير الكمي لبعض البروتينات المناعية في مصل الدم

لقــد تم قياس المستوى الكلي للكلوبيولينات (IgAوIgG وIgM) وبروتينـات المتمم (C3 و C4) في مصــل الدم باسـتخدام تقنية الانتشار المناعي الشعاعي المفرد Single Radial Immuno Diffusion او تسمى Mancini Radial Diffusion نسبة إلى مكتشفها , وقد اعتمدت هذه التقنية على قياس قـطـر حـلـقة الترسيب Precipitation Ring النـاتـج من تفاعل البروتينات الموجودة في مصل المريض مع المصل المضاد Antiserum الموجودة في وسط جيلاتيني نصف صلب Semisolid (على وفق الطريقة المجهزة مع العدة).

لقد تم قياس المستوى الكلي لكل عامل من العوامل الآنفة الذكر باستخدام اطباق جاهزة من شركة Biomaghreb وبحسب تعليمات الشركة المجهزة و كما يأتي:-

- تفتح الاطباق قبل البدء بالعمل وتترك في درجة حرارة الغرافة مدة 5 دقائق.
- بوساطة Micropipette اضف 5 µL من المصل المدروس لكل حفرة ثم اعيد الغطاء.
- ضع الاطباق في الحاضنة بدرجة 25 ºم مدة 48 ساعة لقياس C3وC4 وIgA وIgG ومدة 72 ساعة لقياس IgM.
- قم بقياس قطر حلقة الترسيب المناعي Immuno Precipitation Ring المتكون حول كل حفرة بالملم باستخدام عدسة مزودة بمسيطرة (Jeweler's eye piece).
- قم بحساب تركيز كل بروتين من خلال مقارنة قطر حلقة الترسيب مع جدول مرفق مع الاطباق مجهز من قبل الشركة ويعبر عن القيمة بـ (ملغم / د. لتر).

القيم الطبيعية للكلوبيولينات المناعية وبروتينات المتمم:

g/L 7.10-15.2 = IgG

g/L 3.1-0.9 = IgA

g/L 2.5-0.4= gM

g/L 0.4-0.2= C4

g/L 1.93-0.84= C3

مع تحيات

دكتورة رشا ماجد عبد الامير