

التفاعل بين المستضد والجسم المضاد Antigen-Antibody Interaction (تفاعلات التلازن Agglutination Reactions)

ان ارتباط المستضد Antigen مع الجسم المضاد الخاص به (Specific Antibody) يدعى بالتفاعل بين المستضد والجسم المضاد ويختصر بـ Ag-Ab Interaction وينتج عن هذا الارتباط تكوين المعقد المناعي Immuno-Complex.



ان الاسهم المتعاكسة في المعادلة اعلاه تدل على ان الارتباط بين المستضد والجسم المضاد هو ارتباط ضعيف وتتحكم به قوى ارتباط (Binding Forces) ضعيفة هي:-

1. Van der Waals forces
2. Electrostatic forces
3. Hydrogen bonds
4. Hydrophobic forces

أنواع التفاعلات بين المستضد والجسم المضاد The types of Ag-Ab reactions

- 1- تفاعلات التلازن Agglutination.
- 2- تفاعلات الترسيب Precipitation.
- 3- تثبيت المتمم Complement fixation.
- 4- تفاعل سلسلة البلمرة المرتبط بالإنزيم Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).
- 5- التآلق المناعي (IM) Immunofluorescence.

خصائص المستضدات Characteristics of Antigens

- 1) Polypeptides & Proteins (Hormones, Cell surface structure, enzymes, Exotoxins)
- 2) Lipoproteins (Cell membrane)
- 3) Glycoproteins (Blood cell markers)
- 4) Nucleoproteins (DNA complexed to protein but not pure DNA)
- 5) Polysaccharides (Bacterial capsule)



تفاعل التلازن Agglutination Reaction

التلازن او التراص: هو تكتل الجسيمات Clumping of particles وهذا المصطلح مشتق من الكلمة اللاتينية Agglutinare والتي تعني الغراء، ويشترط بالمستضد ان يكون حبيبي (غير ذائب) (Non soluble) Particulate Ag مثل البكتيريا، المستضدات الموجودة على سطح كريات الدم الحمر وغيرها.

$$\text{Particulate antigen} + \text{Antibody} = \text{Agglutination}$$

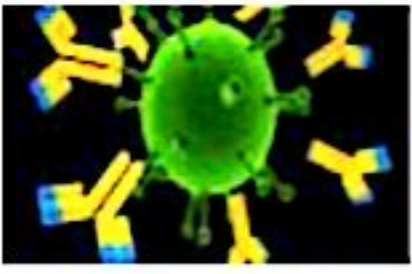
تطبيقات تفاعل التلازن Applications of Agglutination reaction

1- مجاميع الدم ABO & Rh Systems

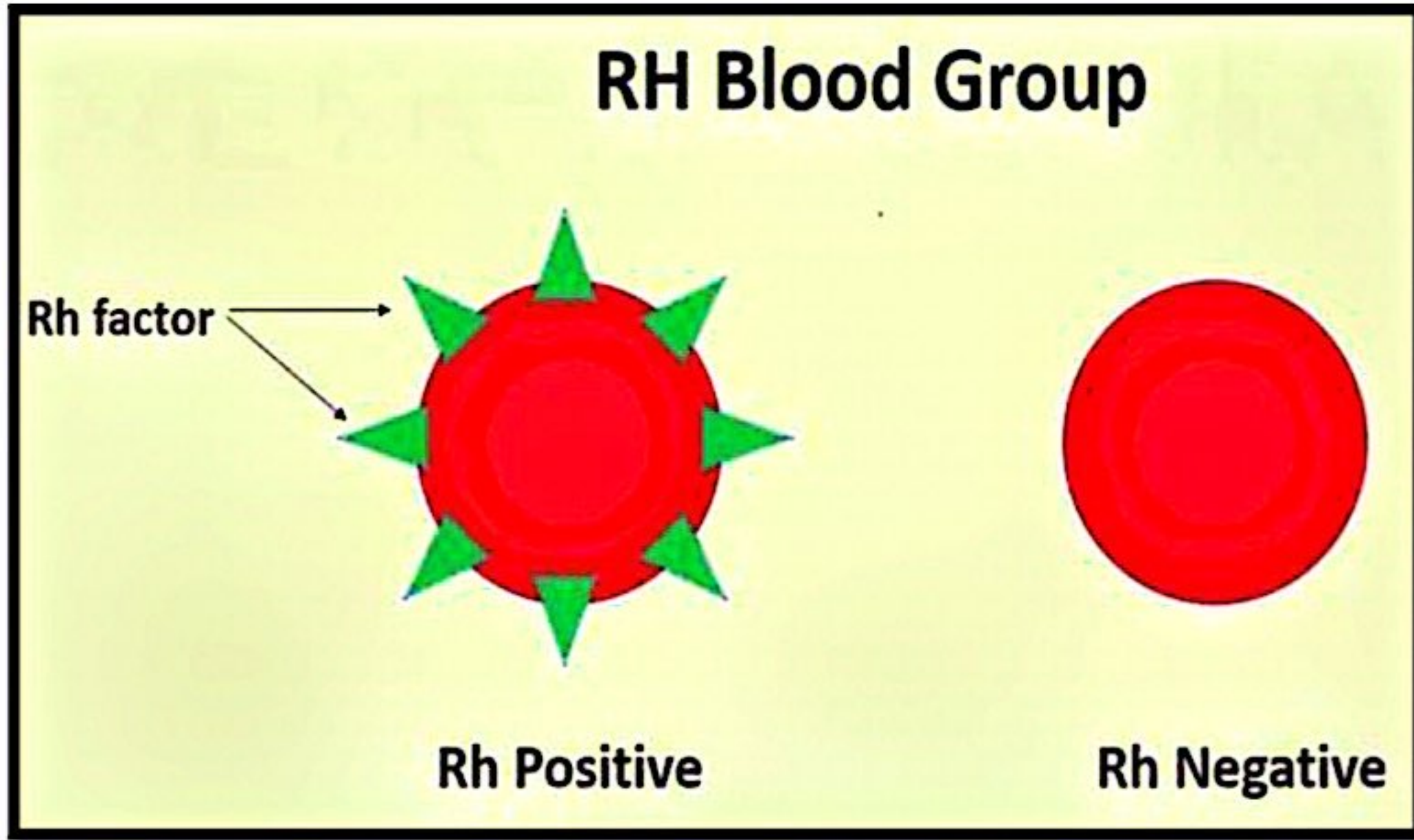
تتميز كريات الدم الحمر للإنسان مثلها مثل اي خلايا بوجود مركبات البروتينات السكرية Glycoproteins والبروتينات الدهنية Glycolipids على سطح الغشاء الخلوي وهذه المكونات لها خاصية مستضدية، ومثل ذلك البروتينات السكرية الموجودة على سطح كريات الدم الحمر للإنسان والتي تنتج نظام الدم او ما تسمى مجموعة الدم ABO. تصنف فصائل الدم بحسب نظام ABO الى الفصائل الموضحة في الشكل التالي:-

	Group A	Group B	Group AB	Group O
Red blood cell type				
Antibodies in plasma			None	
Antigens in red blood cell				None

شكل (1): فصائل الدم حسب نظام ABO



اما نظام Rh فيعتمد على وجود او انعدام بروتين يسمى بالمستضد D فعند وجوده على سطح كريات الدم الحمر تعطى فصيلة الدم اشارة موجبة Rh^{+ve} ، وعند انعدامه تعطى اشارة سالبة Rh^{-ve} كما موضح في الشكل التالي:-

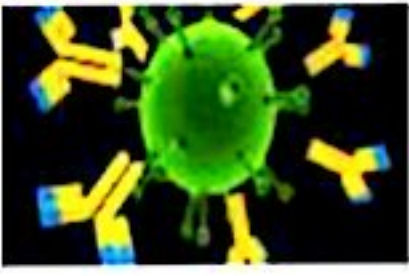


شكل (2): نظام Rh

❖ تقسم فصائل الدم اعتمادا على النظامين اعلاه الى ما يلي:-

BLOOD TYPE	ANTI-A	ANTI-B	ANTI-D	CONTROL
O-POSITIVE	Red circle	Red circle	Agglutinated red circles	Red circle
O-NEGATIVE	Red circle	Red circle	Red circle	Red circle
A-POSITIVE	Agglutinated red circles	Red circle	Agglutinated red circles	Red circle
A-NEGATIVE	Agglutinated red circles	Red circle	Red circle	Red circle
B-POSITIVE	Red circle	Agglutinated red circles	Agglutinated red circles	Red circle
B-NEGATIVE	Red circle	Agglutinated red circles	Red circle	Red circle
AB-POSITIVE	Agglutinated red circles	Agglutinated red circles	Agglutinated red circles	Red circle
AB-NEGATIVE	Agglutinated red circles	Agglutinated red circles	Red circle	Red circle

شكل (3): فصائل الدم اعتمادا على نظامي ABO و Rh حيث تشير المنطقة المحيطة الى حدوث التلازن.

المواد المستعملة

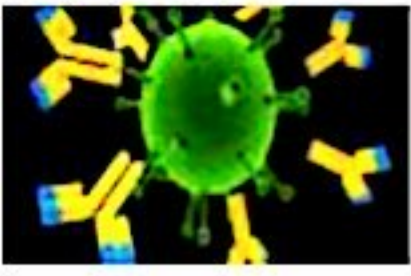
1. طبق خاص بالفحص يحتوي على حفر.
2. امصال مضادة Anti A ، Anti B ، Anti D (ABO kit).
3. عيدان للتحريك.
4. ابر وخز Lancets.
5. كحول وقطن للتعقيم.



شكل (4): ABO kit

طريقة العمل

1. عقم طرف الاصبع بالكحول ثم اعمل وخزا في طرفه للحصول على الدم.
2. ضع قطرة دم في 3 حفر من الطبق (قطرة في كل حفرة).
3. اضف المصل المضاد فوق القطرات (توزع الامصال Anti A ، Anti B ، Anti D على القطرات) مع الحذر من تلوث القطارة بالدم.
4. امزج الدم مع المصل المضاد باستعمال العيدان ثم حرك الطبق.
5. اقرأ النتيجة كما في الشكل (3).



2- اختبار الحمل Pregnancy test

الهورمون الاكثر شيوعا في تشخيص الحمل هو الهورمون البشري المحرض للقتل Human Chorionic Gonadotropin (HCG)، وهو عبارة عن بروتين سكري Glycoprotein يفرز من المشيمة يظهر في دم الحامل بعد 6 ايام من الحمل، اما في البول فيظهر بعد 10-12 يوم. ويعد هذا الهورمون من العلامات الاساسية لتشخيص الحمل في المراحل المبكرة.

1- التشخيص المباشر باختبار التراص على الشريحة Direct Latex Agglutination Slide test

تستعمل في هذا الاختبار كريات اللاتكس Latex beads المغلفة بالمصل المضاد (Anti HCG serum) وتمزج مع مصل او بول المرأة المراد تشخيص الحمل لديها وكما موضح فيما يلي:-

Ab-coated latex + **urine with Ag HCG** → Agglutination (**positive test**)

Ab-coated latex + **urine without Ag HCG** → No agglutination (**negative test**)

2- التشخيص غير المباشر باختبار تثبيط التراص Agglutination inhibition test

في هذه الطريقة يمزج مصل او بول المرأة المراد تشخيص الحمل لديها مع المصل المضاد (Anti HCG serum) ومن ثم يضاف عالق من كريات اللاتكس المغلفة بهورمون HCG وكما موضح فيما يلي:-

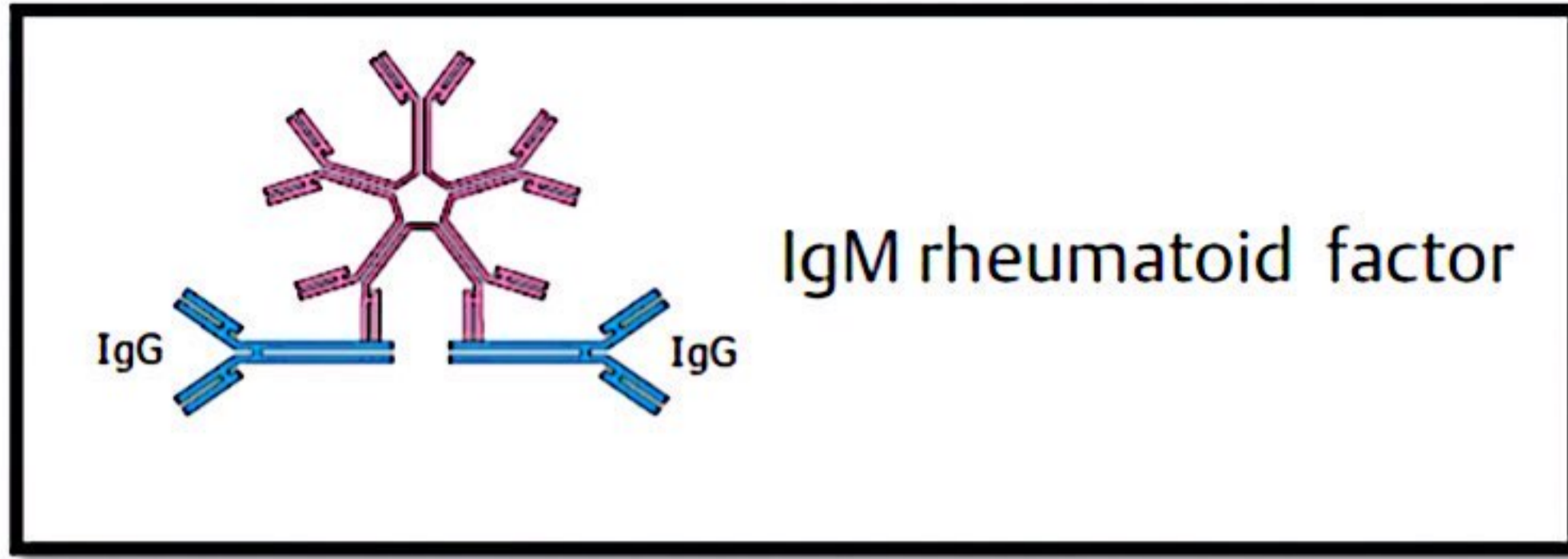
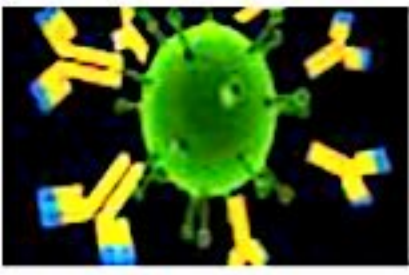
Anti HCG serum + **urine with Ag HCG** + Ag-coated latex → **No agglutination** (**positive test**)

Anti HCG serum + **urine without Ag HCG** + Ag-coated latex → **Agglutination** (**negative test**)

3- العامل الرثواني (RF) Rheumatoid Factor

هو الاضداد الذاتية Autoantibody (IgM غالبا) الموجهة ضد Fc portion للجسم المضاد IgG للإنسان، حيث يرتبط العامل الرثواني RF مع الجسم المضاد IgG فتتكون معقدات مناعية Immune complexes تؤدي الى تطور الاصابة. يستعمل هذا الاختبار لتشخيص مرض التهاب المفاصل الرثواني (Rheumatoid Arthritis) الذي يعد من امراض المناعة الذاتية، وقد يكون RF دليل للإصابة بأمراض اخرى.

النسبة الطبيعية للعامل الرثواني هي اقل من 14 ml/IU.



شكل (5): Rheumatoid factor

عدة الاختبار RF kit



مكونات العدة Contents of RF kit

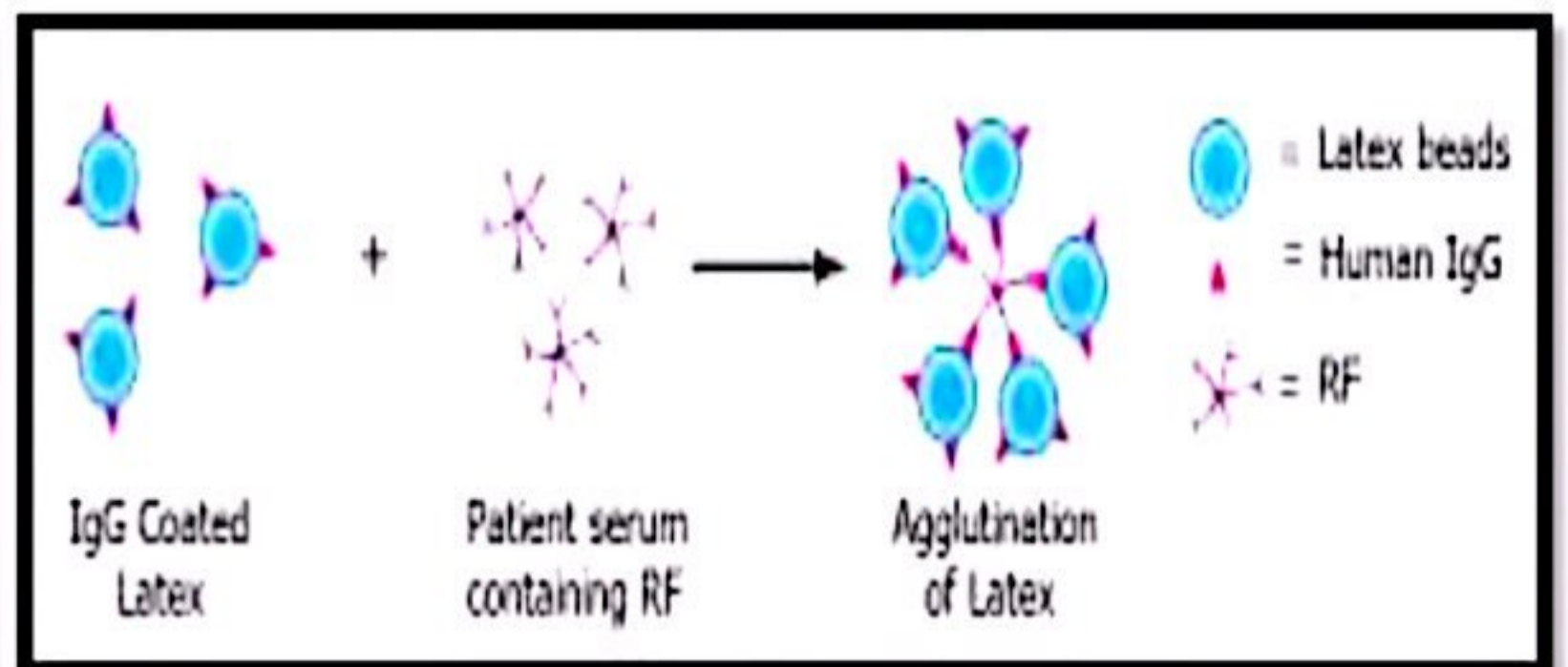
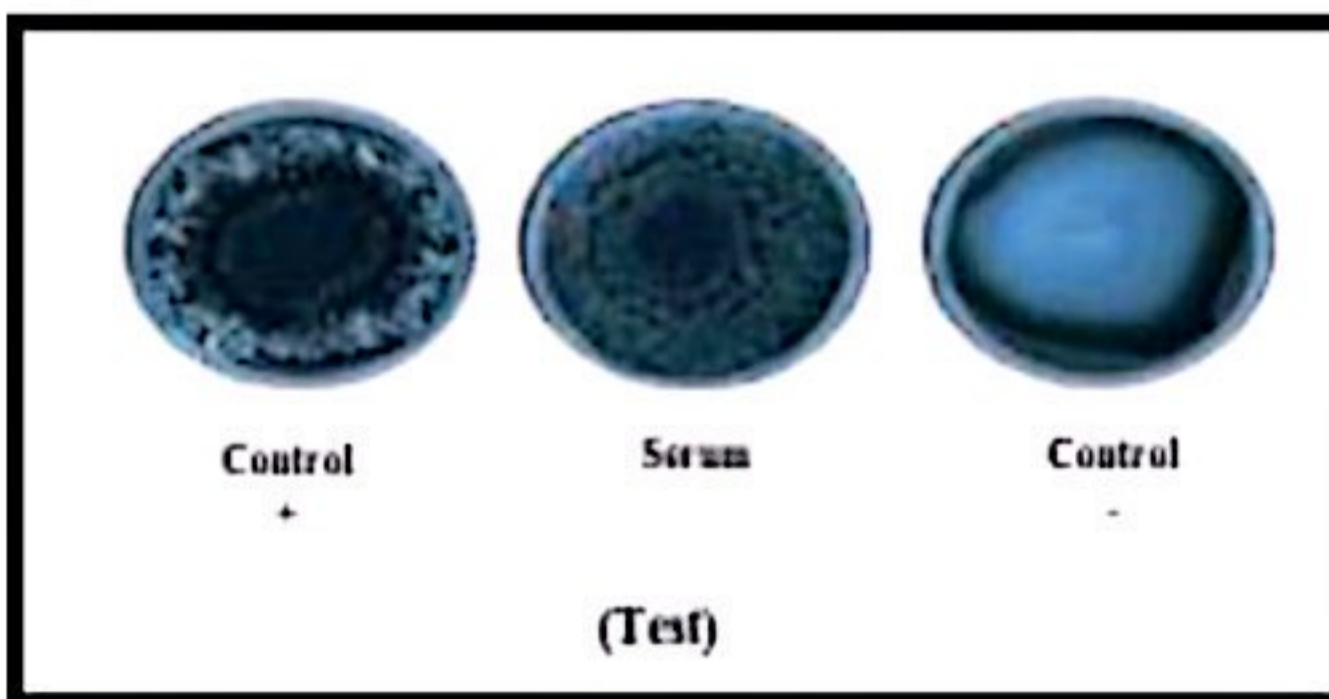
Reagent: كريات اللاتكس مغلفة بالجسم المضاد IgG للإنسان.

Positive control: مصل عياري موجب يحتوي على العامل الرثواني (IgM).

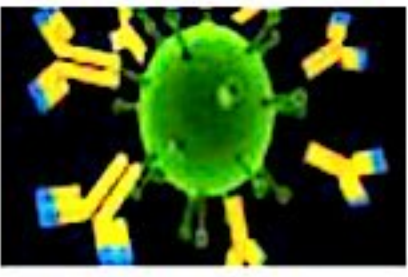
Negative control: مصل عياري سالب

شكل (6): RF kit

يوضح الشكل التالي مبدأ الاختبار



شكل (7): مبدأ عمل اختبار RF

4- اختبار ويدال Widal test

- ❖ يستعمل لتشخيص الإصابة بمرض الحمى التيفوئيدية (Typhoid fever) والحمى الباراتفونيدية (Paratyphoid fever).
- ❖ يكشف عن الاجسام المضادة الخاصة ببكتريا Salmonella في حالة الإصابة بالمرض.
- ❖ سمي الفحص على اسم الطبيب وعالم الجراثيم الفرنسي Georges Fernand Isidore Widal.
- ❖ تستعمل في هذا الاختبار مستضدات مختلفة محضرة من بكتريا السالمونيلا وكما موضح في الجدول التالي:-

البكتريا	المستضد
Salmonella typhi	Salmonella typhi H Salmonella typhi O
Salmonella paratyphi A	Salmonella paratyphi A-H Salmonella paratyphi A-O
Salmonella paratyphi B	Salmonella paratyphi B-H Salmonella paratyphi B-O

حيث H هو المستضد السوطي (Flagellar) للبكتريا، بينما O هو المستضد الجسمي (Somatic).

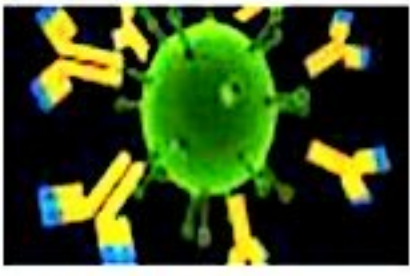
- ❖ هناك طريقتين لإجراء الاختبار وهما:-

1- طريقة الشريحة الزجاجية Slide Agglutination test

طريقة نوعية Qualitative، اي تستعمل لمعرفة نوع الإصابة ولا تحدد شدة الإصابة، ويمكن توضيحها بالشكل التالي:-



شكل (8): Slide Agglutination test

**Widal test kit** مكونات العدة

Reagent: المستضدات O و H لأنواع جنس السالمونيلا كما موضح في الجدول السابق.

Positive control: مصلي عياري موجب.

Negative control: مصلي عياري سالب.

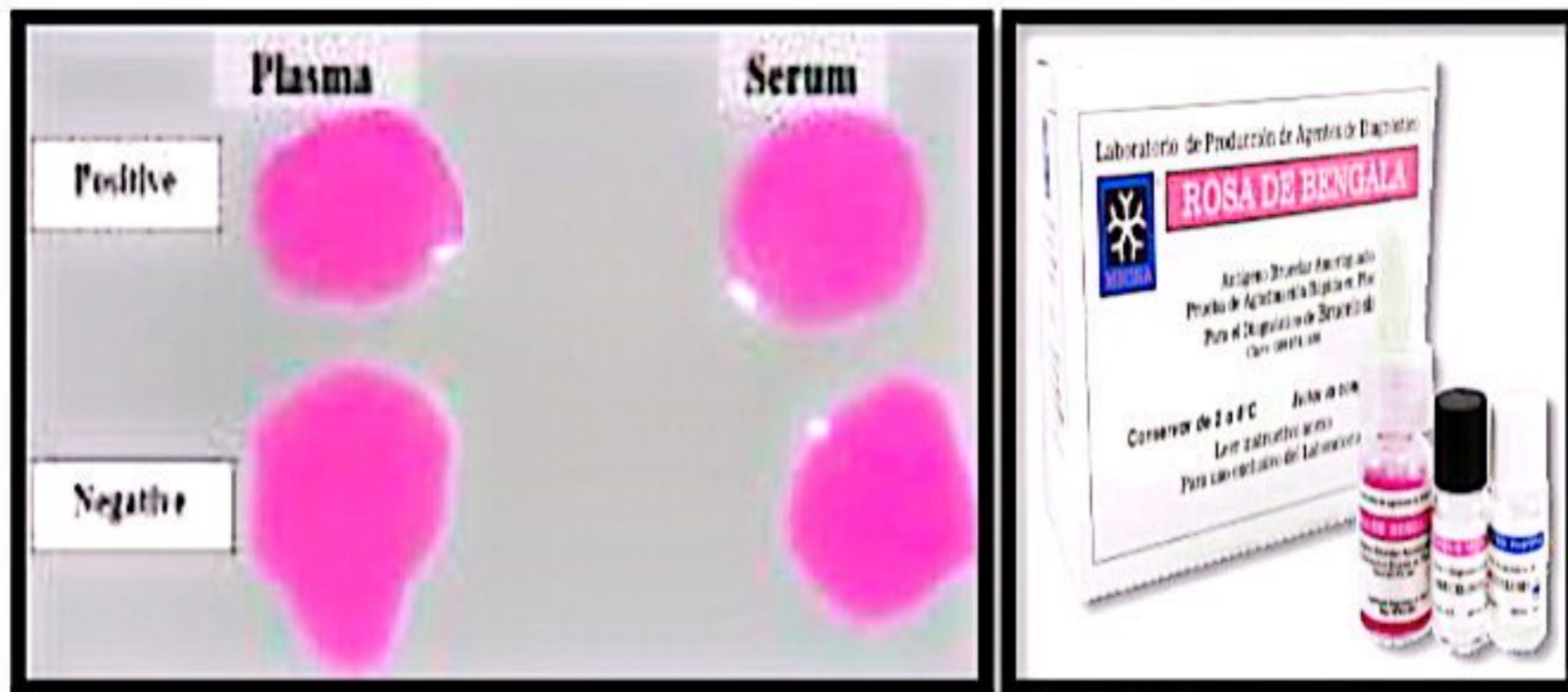
شكل (9): Widal test kit

2- طريقة التراص بالانبوب Tube agglutination test

هي طريقة كمية Quantitative تستعمل لمعرفة تركيز الاجسام المضادة في مصلي المريض حيث يخفف المصل بطريقة التخفيف المتسلسل (Serial dilutions) وتضاف اليه كمية محددة من المستضد وتؤخذ النتيجة كمقلوب أعلى تخفيف يظهر نتيجة ايجابية او ما يسمى بالمعيار Titer.

5- Rose Bengal Test (RBT)

اختبار ترصص يستعمل لتشخيص الحمى المالطية (Brucellosis) في الانسان والحيوان، ويوضح الشكل التالي صورة للاختبار و عدة التشخيص الخاصة به:-

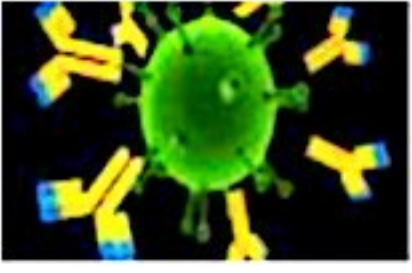
**Contents of RB kit** مكونات العدة

Reagent: مستضدات البكتريا المصبوغة بصبغة Rose Bengal.

Positive control: مصلي عياري موجب.

Negative control: مصلي عياري سالب.

شكل (10): Rose Bengal test



6- اختبارات مضاد الحالة العقديّة (ASOT) Antistreptolysin O Titer

يستعمل هذا الاختبار في تشخيص الاصابة ببكتريا المكورات العنقودية Streptococcal infection وبالأخص Streptococcus pyogenes . يوضح الشكل التالي صورة لعدة التشخيص:-



مكونات العدة Contents of ASO kit

Reagent: كريات لاتكس مغلفة بالمستضد
Antistreptolysin O Ag
Positive control: مصل عياري موجب
يحتوي اجسام مضادة Antistreptolysin O
Ab.
Negative control: مصل عياري سالب.

شكل (11): Antistreptolysin O kit

تعريف مهمة

المعيار Titer: هو مقلوب اعلى تخفيف يعطي نتيجة موجبة.

التخفيف المتسلسل: هو سلسلة من المحاليل المتسلسلة لمادة في محلول.

معامل التخفيف: هو عدد مرات تخفيف محلول قياسا الى المحلول الاصلي.