د. اياد – م.م. صفا

دراسة بعض الطرائق المناعية المختبرية:-

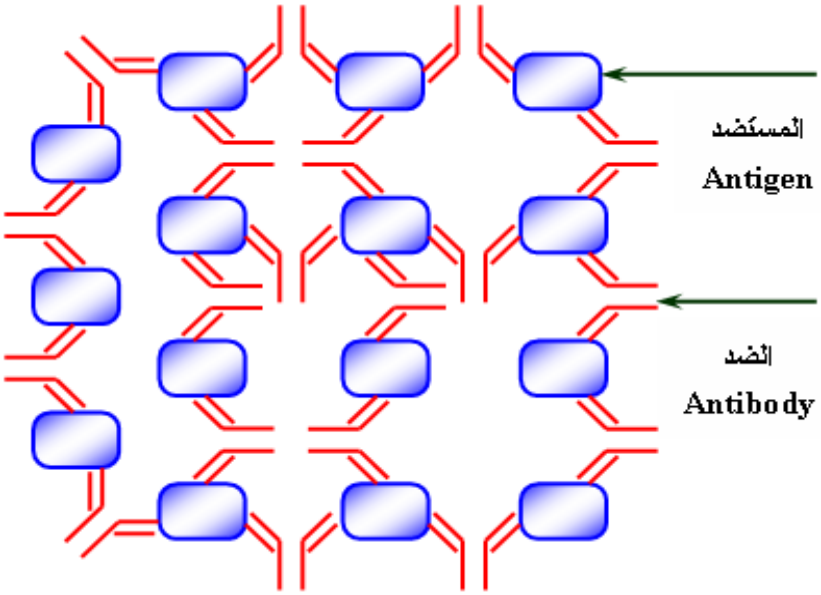
الاختبارات التي تستعمل في الممارسة للكشف عن تفاعلات الضد-المستضد.

آ - تفاعلات التراص Agglutination test

تعتبر اختبارات التراص من أهم الاختبارات المصلية، وأكثرها انتشاراً وأسهلها إجراءً ومبدأ هذه الاختبارات كلها هو إمكانية تكدس أو تجمع أو تراص جزيئات كبيرة في سياق تفاعل الأضداد مع المستضدات.

فالتراص هو عملية ارتباط يتم بين الضد والمستضد مما يؤدي لتشكل معقد مناعي يمكن رؤيته مباشرة. وتحدث هذه العملية لكون أي ضد له قدرة ربط ثنائية على الأقل وأيضاً لكون المستضدات تملك عدة محددات مستضدية على سطحها. وبما أن الضد ثنائي أو متعدد القيمة (مكان ارتباط الضد بالمستضد) فأنها تربط بشكل متصالب الحبيبات ذات الاستضدادية المتعددة مشكلة شبكة يمكن أن يشاهد تكتلها أو تراصها.

يمكن أن يجرى هذا التفاعل في انبوب الاختبار أو ضمن صفيحة ذات ثقوب صغيرة Microtiterplate أو على شكل قطرة على صفيحة زجاجية عادية أو سوداء شكل رقم (1).



شكل رقم (1) تشكل الشبكة في تفاعلات التراص

المستضد في تفاعلات التراص حبيبياً Particulate غير ذائباً كالجراثيم والكريات الحمراء، على عكس المستضد في عمليات الترسيب حيث يكون ذائباً ويدعى الاختبار في هذه الحالة **بالتراص المباشرDirect Agglutination** .

ولكن عندما يكون المستضد ذائباً يمكننا ربطه بحبيبات خاملة كجزيئات اللاتكس أو بالكريات الحمراء ومن ثم يصبح بالإمكان ملاحظة حدوث التراص ويدعى عندئذٍ **بالتراص غير المباشر Indirect Agglutination** .

يوجد ثلاثة أنواع من اختبارات التراص وهي :-

1- التراص المباشر Direct Agglutination test

2- التراص غير المباشر Indirect Agglutination test

3- اختبارات أضداد الغلوبيولين Antiglobulin test (AGT)

1- التراص المباشر Direct Agglutination test

وفيه يكون المستضد غير ذائب وله نوعان:-

التراص الدموي Hemagglutination tests :-

وهي الطريقة المعتمدة لتحديد الزمر الدموية وذلك بإضافة أضداد نوعية مما يؤدي لحدوث التراص في حال إيجابية وجود المستضدات .وحتى يحدث التراص لابد لجزيئات الأضداد أن تحتوي على مستقبلين أو أكثر للاتحاد بالمستضد، ولذلك فقدرة IgM على إحداث التراص أكبر بكثير من مقدرة IgA أوIgG .

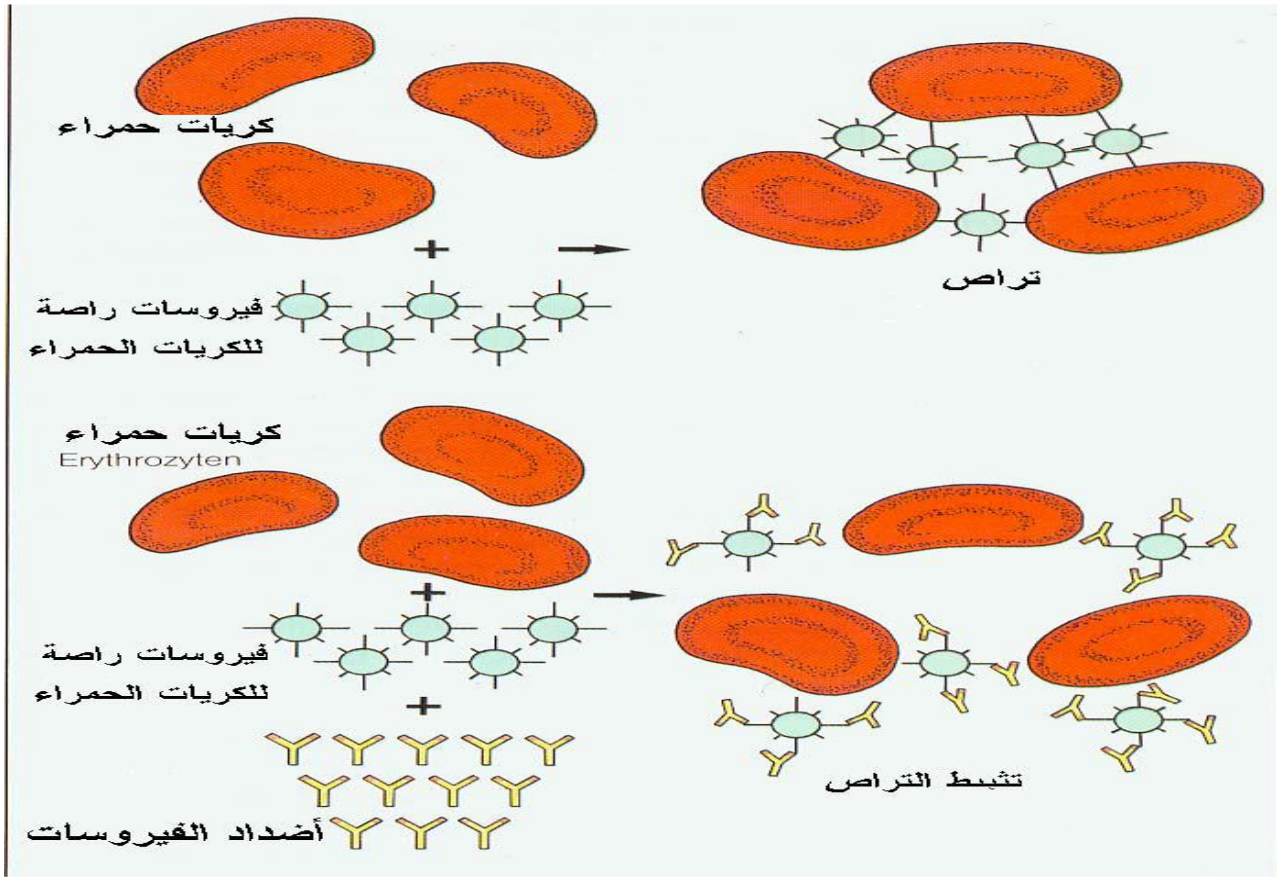
كما ذكرنا قبل قليل كي يحدث التراص لا بد أن تكون الأضداد مناسبة ولكن ليس هذا هو الحال دائماً، وخاصة عند تعيين بعض الأضداد غير الكاملة الموجودة في مصل المريض والتي لا تحدث تراصاً للكريات الحمراء بهذه الطريقة المباشرة.

ولقد وجدت وسيلتان للكشف عن هذه الأضداد غير الكاملة: -

1- **استعمال وسط أكثر لزوجة من استعمال محلول ملحي** :ويتم ذلك باستعمال مصل الألبومين البقري(5-30 %) أو الدكستران هذا الوسط اللزج يُسهل حدوث التراص ومشاهدته.

2- **معالجة الكريات الحمراء ببعض الإنزيمات** قبل وضع المصل عليها يجعلها أكثر قابلية للتراص بوجود الأضداد غير الكاملة، ومن هذه الإنزيمات البابين Papin والتربسين Trypsin والبروميلين Bromelin. وقد أصبحت هذه الطرائق تستخدم للكشف عن الأضداد غير الكاملة في بنوك الدم بشكل روتيني.

يستعمل هذا الاختبار أيضاً للكشف عن العديد من الفيروسات، التي تُكتل الكريات الحمراء من نوع حيواني فيتكون تراص دموي فاعل. ويمكن تثبيط ذلك التراص بوساطة أضداد نوعية موجهة ضد الفيروس. يسمى هذا الاختبار باختبار تثبيط التراص الدموي ويمكن استخدامه لقياس وجود وتركيز الأضداد، ففي تثبيط التراص الدموي يتم وضع مصل المريض مع معلق من الفيروسات ثم تضاف إليه الكريات الحمراء فإذا حدث التراص دل ذلك على عدم وجود أضداد للفيروس في المصل .أما إذا لم يحدث تراص فيعني ذلك وجود الأضداد التي عادلت مفعول الفيروسات ومنعت الفيروسات من تراص الكريات الحمراء الشكل رقم (2).



شكل رقم (2) تثبيط التراص الدموي

2- التراص غير المباشر Indirect Agglutination test

تختلف هذه الطريقة عن سابقتها باستعمال حامل أو وسيط يحمل عليه الأضداد أو المستضدات:

- كالكريات الحمراء مثل اختبار التراص الدموي غير المباشر hematological indirect agglutination (HIA) للكشف عن التوكسوبلازما Toxoplasmosis.
- **جزيئات اللاتكس** الخاملة مثل اختبار الكشف عن بروتين C-Reactive (CRP) Protein في المصل وذلك بربط أضداد ال (CRP) بحبيبات اللاتكس كخطوة أولى، **ثم** مزج هذه الحبيبات مع مصل المريض، وفي حال وجود البروتين في المصل يحدث التراص.

3- اختبارات أضداد الغلوبيولين Antiglobulin test (AGT)

يدعى اختبار كومبس Coombs الذي وصفها أول مرة، ومبدأ هذه الاختبارات أن المصل المضاد لتلوبيولينات الإنسان إذا أضيف إلى معلق من الكريات الحمراء الإنسانية مغلفة بطبقة من الأضداد يؤدي إلى تراصها. حيث ترتبط الأضداد بسطوح الكريات الحمراء في العديد من فقر الدم الانحلالية مثل الداء الانحلالي الوليدي (عدم توافق Rh) وفقر الدم الانحلالي المسَبَبَة بالأدوية.