ب - تفاعلات الترسيب

تعتبر هذه الطرائق من أوائل الطرائق المكتشفة للدلالة على حدوث الارتباط بين الضد والمستضد، يكون المستضد في هذه التفاعلات ذائبا في وسط التفاعل وذلك خلافاً لتفاعلات التراص.

يعتمد هذا الاختبار على الترسيب إما في الأوساط غير الهلامية مثل أسيتات السيللوز أو في الأوساط الهلامية نصف الصلبة كالأكار.

ويتم التفاعل الترسيبي على مرحلتين هما:

- **المرحلة الأولى وهي سريعة** ويتم فيها ارتباط الأضداد بالمستضدات.
- **المرحلة الثانية وهي مرحلة تشكل الشبكة** حيث يرتبط الضد بشكل متصالب مع جزيئات المستضد بنسب مختلفة ويجمعها أي يرسبها.

عادة ما تظهر منطقة الترسيب في مكان التناسب الكمي بين المستضد والضد أي في منطقة التكافؤ Zone of equivalence أي منطقة النسب المثلى من المستضد والضد وتتشكل كمية عظمى من الرسابة ولا تحوي المادة الطافية أي زيادة من الضد أو من المستضد.

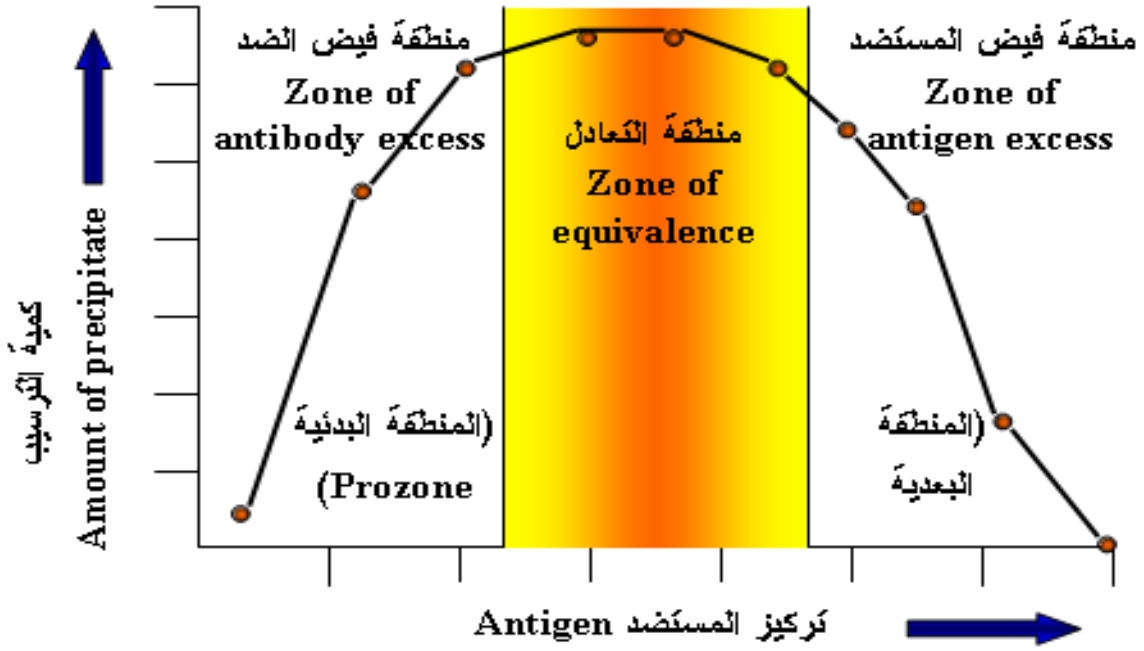
أما في منطقة زيادة الضد (منطقة فيض الضد) Zone of antibody excess فتتواجد زيادة من الضد مما يساعد على تشكيل شبكة بشكل فعال ويكون الترسيب أقل من الحد الأعظمي وتسمى بالمنطقة البدئية (البروزون) Prozone أي المنطقة ما قبل منطقة التكافؤ، ويعزى فشل تشكل الرسابة بسبب وجود كمية كبيرة من الأضداد ويشاهد اختبار سلبي كاذب، وتظهر الإيجابية بتمديد المصل.

أما في منطقة فيض المستضد Zone of antigen excess يشترك كل الضد الموجود إلا أن الترسيب ناقص لأن العديد من معقدات الضد-المستضد صغيرة جداً على الترسب أي تكون منحلة وتسمى المنطقة بالمنطقة البعدية أي بعد منطقة التكافؤ أو (بوست زون) Postzone.

بالإضافة إلى نسبة الضد – المستضد، هناك عوامل أخرى تؤثر في مقدار

الترسيب، مثل درجة حموضة وسط التفاعل ودرجة الحرارة ونوع الأضداد (IgG, IgM,. . .)

كما في الشكل (٢) مخطط تفاعل الترسيب المناعي.



الشكل (٢) مخطط تفاعل الترسيب المناعي.

١- الترسيب في المحلول أو في الأوساط السائلة

يمكن إجراء هذا التفاعلات كمياً أي يمكن قياس تركيز المستضد أو الضد، وهي تستخدم بشكل رئيس في البحث.

ويمكن تقسيم هذه الاختبارات إلى؛-

- **المقايسة المناعية بمقياس الكدر** Nephelometric immunoassay

يعتمد على مبدأ انكسار الشعاع الضوئي أو الليزري عند اصطدامه بسطح المعقدات المناعية الموجودة في المحلول. فإذا وضعت خلية ضوئية في زاوية ٩٠° (تسعون درجة) على مسار الضوء الساقط استطاعت أن تلتقط الضوء المنعكس، وإن مقدار انكسار الضوء يعتمد بشكل أساسي على تركيز هذا المعقد إضافة لعوامل كثيرة منها طول مسار الضوء الجزيئات والوسط الموجودة به الجزيئات وتركيز هذه الجزيئات فإذا ثبتت جميع العوامل ماعدا التركيز، أصبحت شدة الضوء المنكسر متناسبة طرداً مع التركيز .يتعلق تركيز المعقد

المناعي بتركيز كل من الضد والمستضد المتكون أصلاً منهما، فباستخدام أحد عنصري التفاعل المناعي بتركيز معلوم يمكننا قياس تركيز العنصر الآخر. وقد طورت عدة شركات تجارية أجهزة تستخدم هذا المبدأ وأنتجت مجموعات مخبرية تجارية لتطبيقه.

- **المقايسة المناعية بمقياس العكارة**

تعتمد نفس مبدأ المقايسة المناعية بمقياس الكدر ولكن بدلاً من قياس انكسار الضوء يتم قياس كمية الضوء القادر على المرور من خلال الوسط المحتوي على المعقد المناعي الذي له علاقة مباشرة بتركيز هذا المعقد.

٢- الترسيب في الآكار أو اختبار الانتشار المناعي Immunodiffusion test (IDT)

وهو إحدى الطرائق المصلية المستخدمة في علم الأمصال والمناعة من الناحية التشخيصية. ويعتمد على تكوين راسب في وسط شبه صلب أي هلامي حيث ينتشر الضد والمستضد باتجاه بعضهما من خلال هذا الوسط، ويتم التقاؤهما ويشكلان راسباً.

يتم هذا الاختبار بطريقتين : انتشار مفرد أو مضاعف.

- **الانتشار المناعي المفرد Single immundiffusion**

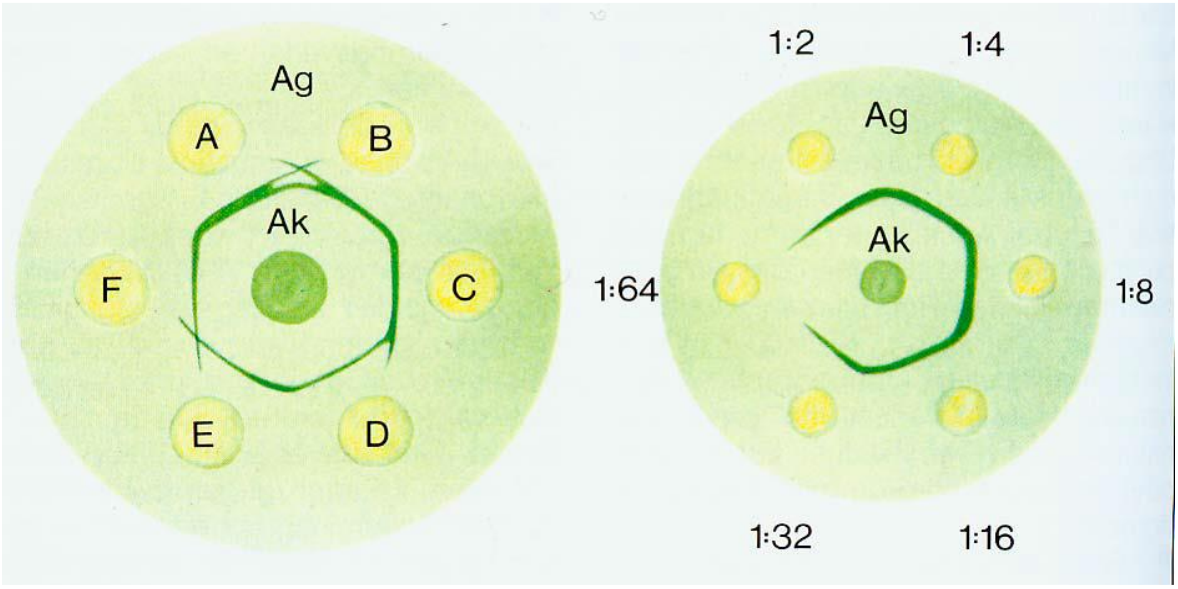
وهو من أبسط الاختبارات المناعية، ولا يحتاج إلى أجهزة أو خبرة للشخص الذي يقوم به ولكن حساسيته قليلة فلا يستطيع أن يكشف إلا عن المواد التي توجد بتراكيز عالية نسبيا (بالمليغرامات) وكذلك دقته متدنية. والانتشار المناعي المفرد طريقة شبه كمية.

ومبدأ هذه الطريقة التي تكشف عن الأضداد أو المستضدات في المصل هي وضع هلامة (اكار) على شريحة أو طبق زجاجي أو بلاستيكي، وفي حال الكشف عن المستضد في المصل مثل ألفا (فيتوبروتين)، في هذه الحالة يخلط الضد Antibody مع الآكار أي تكون الهلامة مشربة بأضداد هذا البروتين.

يصنع في هذه الهلامة حفر دائرية منتظمة تتسع لحوالي ٥- ١٠ ميكروليتر مصل ويوضع في الحفر العلوية ٥ ميكروليتر من مصول عيارية تحتوي على كميات متدرجة من الألفا فيتوبروتين، وفي الحفر الباقية يوضع ٥ ميكروليتر من مصول المرضى .ويترك هذا الطبق أو الشريحة لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة. وبعد فترة الحضن نجد على القرص عدة دوائر من الترسيب

بسبب تكون المعقد المناعي بين الألفا فيتوبروتين الموجود في المصل وبين أضداده المشربة أصلاً في الهلامة. يتدرج قطر هذه الدوائر حسب تركيز الألفا فيتوبروتين في المصول.

وبمساعدة المصول العيارية المستعملة يرسم خط بياني بين قطر دائرة الترسيب وبين تركيز المستضد، ومن هذا الخط يمكن تقدير كمية الألفا فيتوبروتين في مصول المرضى الشكل (٣)



شكل (٣) الانتشار المناعي المفرد AK الضد و Ag المستضد

بعض الملاحظات لاختبار الانتشار المناعي المفرد

١- في المثال السابق كان الكشف عن المستضد، فشربت الهلامة بالضد النوعي له، أما في حال الكشف عن الأضداد، فتشرب الهلامة بالمستضد.
٢- كلما كانت الأضداد المستعملة في هلامة (الآكار) نوعية (وحيدة النسيلة) كان الاختبار جيد اً، وحلقة الترسيب تكون متجانسة وواضحة. في حين إذا كانت نوعية الأضداد غير جيدة فقد نجد حلقتين حول حفرة المستضد.
٣- قد يؤدي ترك مصل المريض لفترة طويلة إلى تخرب البروتين المراد قياسه والكشف عنه، وبالتالي قد تظهر أيضاً عدة حلقات حول حفرة العينة.