

علم المناعة

- علم المناعة Immunology :

هو ذلك العلم الذي يهتم بدراسة التفاعلات المناعية (الالية الدفاعية) في جسم الانسان بشقيها السائلي او الخلطي (Humeral) والخلوي (Cellular) والتي تكون رد الفعل المناعي الناتج من التفاعل بين الجزيئات المنتجة من الجهاز المناعي ومستقبلاتها على الخلايا المناعية

- المناعة Immunity:

هي حالة فسيولوجية حيوية تعبر عن قدرة الجسم على التعرف والتميز والقضاء على العناصر الغريبة عن خلايا الجسم سواء كانت من خارجه كالعوامل الممرضة مثل البكتيريا او نواتجها السمية (Toxins) والفايروسات والطفيليات وبعض المواد الكيميائية او من داخله مثل الخلايا التي تشيخ وتلف او الخلايا الشاذة مثل الخلايا السرطانية ومن ثم تكوين ذاكرة (memory) ليسهل محاربتها مرة اخرى.

- علم الامصال Serology :

هو العلم الذي يهتم بدراسة التفاعلات التي تجري بين الاجسام المضادة Antibody والمستضدات Antigens في خارج الجسم (المختبر) وبواسطته يتم تشخيص العديد من الامراض.

- المصل Serum :

هو مادة مستخرجة من الدم تحتوي على الاجسام المضادة (Antibodies) وتستعمل في علاج المرض وتنتج مباشرة المناعة الاصطناعية السلبية Passive acquired immunity.

الجهاز المناعي

الجهاز المناعي هو منظومة من العمليات الحيوية التي تقوم بها أعضاء وخلايا وجسيمات داخل الاجسام بغرض حمايتها من الأمراض والسموم والخلايا السرطانية والجسيمات الغريبة. هذه المنظومة الحيوية تقوم بالتعرف على مسببات للمرض، مثل الميكروبات أو فيروسات وتحييدها أو إبادةها.

الجهاز المناعي للجسم يستطيع التعرف على أعداد لا تحصى من الممرضات (أنتيجينات) والأجسام الغريبة بدءاً من الفيروسات والطفيليات والديدان والميكروبات؛ علماً بأن هذه الممرضات يمكنها التطور بسرعة وتستطيع تجنب جهاز المناعة وتتكيف وتتكاثر في جسم المضيف بشكل ناجح. ولمواجهة هذا التحدي توجد في الجهاز المناعي آليات متطورة تستطيع التعرف على الممرضات وتحييد خطرهما.

الجهاز المناعي غير مقتصر على الإنسان والحيوانات الفقارية فالميكروبات البسيطة مثل البكتيريا تمتلك إنزيما مناعيا يحميها من الإصابات الفيروسية.

- اليات المقاومة في الجسم Defense mechanisms :

١-المقاومة الغير نوعية او الانية Non-specific (innate) defense: وتشمل :

أ - خط المقاومة الاول First line of defense:

وهو المقاومة الخارجية External defense ويتمثل بالجلد وافرازات الدمع والاعشيه المخاطية وافرازاتها والافرازات الدهنية والعرقية وغيرها.

ب -خط المقاومة الثاني Second line defense:

وهو المقاومة الداخلية Internal defense ويتمثل في عملية البلعمة بواسطة الخلايا البيضاء البلعمية والبروتينات الوقائية المقاومة للميكروبات والالتهابات.

٢-المقاومة النوعية المتخصصة Specific immunity

وهي تمثل الجهاز المناعي Immune system الخط الدفاعي الثالث Third line defense وفيه تتم الاستجابة عن طريق أليتين رئيسيتين هما:

أ - المناعة الخلطية Humeral Immunity:

وتتم عن طريق الاجسام المضادة antibodies التي تنتج من الخلايا للمفاوية البائية-B Lymphocytes مثل (IgM,IgG,IgE) والتي تلعب دور مع بروتينات المتمم Complement في السيطرة على الاصابات المرضية.

ب -المناعة الخلوية Celluler immunity: وتتم عن طريق الخلايا للمفاوية التائية -T Lymphocytes .

طبقات أنظمة المناعة

نظام مناعة طبيعي	نظام مناعة مكتسبة
استجابة غير متخصصة	استجابة متخصصة لمستضدات و مسببات مرض
التعرض للإصابة يقابل باستجابة مضادة شديدة فورية	استجابة المقاومة تستغرق وقتا من بعد الإصابة
جزئيا مناعة خلوية و مناعة خلطية	جزئيا مناعة خلوية و مناعة خلطية
لا توجد ذاكرة مناعة	ذاكرة مناعة التعرض لمرض يؤدي إلى مقاومة المرض
توجد في جميع الكائنات الحية	توجد فقط في الحيوانات ذات الفك

أعضاء المناعة في الإنسان

تشارك عدة أعضاء في جسم الإنسان في نظام المناعة له، منها الأعضاء التالية:

١. اللوزتان والزائدة الأنفية
٢. الغشاء المخاطي واللحاج والدموع
٣. الغدة الزعترية
٤. العقد اللمفاوية وهي موزعة في الجسم
٥. الوعاء اللمفي وهو يمتد في الجسم كله
٦. الطحال
٧. المعدة - حمض المعدة
٨. الأمعاء - نبيت جرثومي معوي
٩. جسيمات مضادة
١٠. نخاع العظام ينتج خلايا الدم البيضاء
١١. خلايا محببة وخلايا أكولة كبيرة وغيرها

حواجز وقاية عامة

هناك عدة حواجز تحمي الكائنات الحية عموماً من الاصابات تشمل حواجز ميكانيكية وكيميائية وبيولوجية. فأوراق العديد من النباتات محمية بقشرة شمعية، وهياكل الحشرات، والصدفيات والأغشية الخارجية للبيض، والجلد في الإنسان والحيوان. هذه الحواجز تعتبر خط الدفاع الأول الذي يحمي الكائن الحي من الإصابة بميكروبات. مع ذلك الكائنات الحية لا تستطيع الانغلاق كلياً عن البيئة الخارجية إذ أن هناك آليات وقاية للأعضاء المفتوحة على البيئة الخارجية مثل الرئة والأمعاء والجهاز البولي التناسلي. ففي الرئة يعتبر السعال والعطس أحد آليات الحماية التي تطرد الممرضات من المجاري التنفسية. والدموع وإخراج البول هي أيضاً من آليات الحماية الميكانيكية التي يلجأ لها الجسم لتنظيف مجاريه. والمخاط الذي يفرزه الجهاز التنفسي، والجهاز البولي التناسلي يعمل كمصيدة للجراثيم الدقيقة وإخراجها أولاً بأول.

وثمة حواجز كيميائية تحمي من الإصابة من الميكروبات مثل الجلد والمجاري التنفسية تفرز مضادات جرثومية ببتيدية يفرزها الجلد مثل مضاد العفونة (β -defensins) وإنزيمات مثل الليزوزيم والفوسفوليبيز A2 في اللعاب والدموع؛ وحليب الرضاعة الذي هو أيضاً به مواد مضادة للجراثيم. والإفرازات المهبلية المرافقة لبدء الطمث تعتبر حواجز كيميائية عندما تصبح حمضية قليلاً. في المعدة والقنوات الهضمية تفرز أحماض وأنزيمات بروتينية تعمل كمقاوم كيميائي يقتل البكتيريا وكثير من الكائنات الصغيرة الغريبة عن الجسم.

داخل المجاري البولية والتناسلية والقنوات الهضمية ثمة بكتيريا فلورا الطبيعية تستفيد منها هذه الأعضاء عن طريق التفاعلات فتعمل كحواجز بيولوجية تنافس البكتيريا الممرضة على الطعام والمساحة. وفي بعض الحالات تقوم بتغيير ظروف وسطها مثل مستوى pH الذي يضبط حموضة أو قلوية الوسط، أو الحديد المتوفر وهو ما يؤدي إلى عدم تمكن البكتيريا الممرضة من التزايد والتسبب بالمرض. على أية حال بما أن معظم المضادات الحيوية لا تستهدف البكتيريا بطريقة متخصصة وتؤثر على الفطريات فإن المضادات الحيوية قد تقود إلى تكاثر الفطريات وتهيئة الظروف المناسبة لحدوث فطريات مهبلية. وثمة أدلة قوية على أن إعادة إنتاج فلورا

الطبيعية (بكتيريا مفيدة) مثل بكتيريا lactobacilli التي تتواجد بشكل طبيعي في اللبن الزبادي تؤدي إلى توازن في عدد الجراثيم التي قد تحدث امراضا في أمعاء الأطفال. وهي تشجع على دراسة الأمراض الجرثومية المعوية وأمراض التهابات الأمعاء وعدوى التهاب المسالك البولية.

المناعة الطبيعية :

المناعة الطبيعية أو الفطرية موجودة في الكائن الحي منذ الولادة وحتى قبل الولادة خلال المرحلة الجنينية، فهي مناعة متوارثة، يرثها الأبناء عن الآباء. عموما يتميز نظام المناعة الطبيعية بالعمل بطريقة غير متخصصة، بمعنى أن كل خلية أو جزيء تابع لها يعمل ضد عدد كبير ومتنوع من مسببات المرض ولكن فقط حسب التمييز بين ما هو ذاتي - أي تابع للجسم - أو ما هو جسيم غريب عن الجسم، فيتعامل معه ويعمل على تحييده. فضلا عن ذلك فالمناعة الطبيعية لا يوجد لها ذاكرة مناعية.

يشتمل جهاز المناعة الطبيعية على أربع آليات دفاعية أساسية:

١. حواجز جسدية وكيميائية تمنع أو تؤخر دخول الممرضات للجسم أو تكاثرها داخله. هذه الحواجز تبدأ من الجلد والأغشية المخاطية في الجهاز التنفسي والجهاز الهضمي والأعضاء التناسلية والعيون وحرارة الجسم ومستوى الحموضة في المعدة (ph).
٢. عناصر بيوكيميائية ذائبة مثل الليزوزيوم-أنزيم يخترق طبقة البيبتيدوجليكان في جدار خلية الميكروب. الأنترفيرون وهو بروتين من عائلة سيتوكين التي تنتج وتفرز من الخلايا التي تلتصق في الجرثومة، تعلمها، حيث يتم استيعابها من خلايا سليمة تتواجد بقربها وتجعلها في وضع استعداد لمقاومة العدوى بالميكروب.
٣. المنظومة المتممة: هي مجموعة من بروتينات بلازما الدم تحيد مختلف الممرضات وتساعد على القضاء عليها، كذلك لها نشاط يتعلق باستثارة رد التهاب. خلايا أكولة كبيرة وخلايا تائية قاتلة وغيرها.
٤. الخلايا البالعة، مثل البلعميات والخلايا المتعادلة Neutrophil granulocytes، وهي خلايا متخصصة في بلع وقتل وهضم مختلف الكائنات الدقيقة. والخلايا الفاتكة الطبيعية هي خلايا لمفاوية وخلايا حبيبية التي تؤدي دورا هاما في الوقاية من الخلايا السرطانية وجراثيم معينة.
٥. الإلتهاب - وهو رد مناعي يحدث أعقاب تلوث أو تهتك في الأنسجة وهو يرتبط بتوظيف عدد متنوع من الخلايا والجسيمات المناعية وارسالها إلى مكان الإصابة.

المناعة المكتسبة :

المناعة المكتسبة هي مناعة يتم اكتسابها خلال حياة الكائن الحي بعد تعرضه لميكروبات وبكتيريا مسببة مرضه. وتتميز مركباتها بالعمل بطريقة انتقائية ومتخصصة، إذ أن كل خلية أو جسيم تابع لها يستطيع العمل ضد أنتيجين ممرض واحد ووحيد. وخلافا للمناعة الطبيعية التي هي متشابهة عند

أفراد نوع معين فإن الاستجابة المناعية المكتسبة تختلف من فرد لآخر وفق عامل الحصانة المناعية المكتسبة التي مر بها جسم كل شخص على انفراد، وبحسب الممرضات التي تعرض لها خلال حياته. ميزة أخرى تضاف للحصانة المكتسبة ألا وهي القدرة على إنتاج ذاكرة

مناعية. جهاز المناعة المكتسبة تشمل الخلايا اللمفاوية من نوع الخلايا بي والخلايا تي التي تعمل على مقاومة (الأنتيجينات).

نظام المناعة المكتسبة :

جهاز المناعة التكيفية تطور في الفقاريات المبكرة ويسمح بإستجابة مناعية أقوى وكذلك ينشط الذاكرة المناعية، حيث كل مسبب مرضي يتم "تذكره" بواسطة توقييع الجسم المضاد. الاستجابة المناعية التكيفية تكون مضادة لدخيل معين (أنتيجين) وتتعرف عليه خلال عملية تسمى عرض الأنتيجين. خصوصية مولد الضد (الأنتيجين) تسمح بتوليد الاستجابات التي صممها جهاز المناعة لمقاومته هذا الأنتيجين بعينه أو لمقاومة الخلايا المصابة بالمرض. يتم الحفاظ على قدرة استرجاع الردود في الجسم بواسطة خلايا ذاكرة. فإذا أصاب أنتيجين مرضي الجسم أكثر من مرة واحدة، فتتذكره خلايا الذاكرة المتخصصة له وتعمل على القضاء عليه بسرعة.

اهم الاجهزة والمواد المستخدمة في مختبر المناعة:

قبل التطرق الى اهم التقنيات والاختبارات المستخدمة في علم المناعة لابد من معرفة اهم المواد المختبرية والاجهزة المستخدمة والتي تتمثل بما يلي:

١-عينات الدراسة Samples:

والتي تشمل عينات المرضى المصابين بالامراض الفيروسية او البكتيرية او الطفيلية فضلا عن عينات مجموعة السيطرة control samples والمتمثلة بالاشخاص الاصحاء.

٢-المواد والاجهزة Equipments:

والمتمثلة بجهاز التقطير water distillatory والحاضنة الكهربائية incubator والاسطوانات المدرجة cylinders وانايب بلاستيكية معقمة مثل eppendroff tube وانايب اختبار معقمة حاوية على مانع التخثر EDTA tubes (anti-coagulant tube) وساعة إيقاف stop watch وحامل انايب اختبار micro pipette injector وجهاز الطرد المركزي centerifuge والمجمدة freezer وجهاز الهزاز shaker ومجهر التآلق المناعي immunofluorescent microscope.

٣-جهاز فحص الاليزا Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay

وهو من الاجهزة المستخدمة في مختبر المناعة وذلك لاهميته الكبيرة في تشخيص الامراض فضلا عن اهميته في البحوث العلمية كقياس نسبة السايوتوكينات وعامل تنخر الورم Tumor necrosis factor(TNF).

٤-العدد الشخصية Kits:

التمثلة بالكواشف والمواد الخاصة بالاختبارات المناعية كالعدة الخاصة بفحص اللاتكس Latex agglutination test(LAT) والعدة الخاصة بفحص الاليزا (ELISA Kits).

الدم مكوناته وكيفية جمعه وفصله وحفظ البلازما والمصل والمتمم :

يبدأ تكوين خلايا الدم في المراحل الجنينية في الخلايا المحية حتى الشهر الثالث ومن ثم تنقل عمليات الانتاج الى الكبد والطحال الجنيني حتى الشهر السابع وبعدها يأخذ نخاع العظم على عاتقه هذه الخلايا تنتج جميع انواع خلايا الجهاز المناعي وخلايا الدم البيضاء من خلايا متشعبة

التفرع الساقية Pluripotent stem cell في نخاع العظم كما وتنتج هذه الخلايا الجذعية المنشئة للدم haemopoietic خلايا الدم الحمراء.

***ويكون انتاج خلايا الدم البيضاء من خلال مسارين رئيسيين للتمايز:

١-المسار اللمفاوي Lymphoid Lineage:وينتج الخلايا اللمفاوية التائية T-Lymphocytes والخلايا اللمفاوية البائية B-Lymphocytes والخلايا القاتلة الطبيعية . Natural Killer Cells

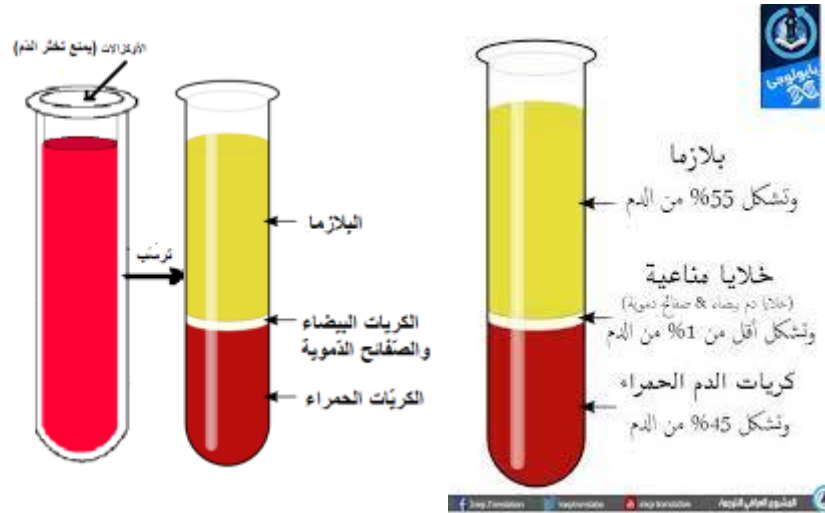
٢-المسار النخاعي Myeloid Lineage:ويعطي الخلايا البيضاء وحيدة النواة Monocytes والخلايا متعددة الشكل النووي Polymorphonuclear والصفائح الدموية Blood Plateletes وكذلك الخلايا البدينة Mast cells.

***جمع عينات الدم:

يتم جمع عينات الدم من الاشخاص المرضى patients او الاصحاء وذلك بسحب ٥ مل من الدم الوريدي بأستعمال محاقن طبية معقمة sterile needles او الانابيب Eppendroff tubes وتركها لفترة ٣٠ دقيقة مع مراعاة جميع بيانات المريض الذي اخذت منه العينة كالاسم والعمر والجنس او الاشارة برقم معين لكي لا تختلط مع العينات الاخرى .

***فصل الدم وحفظ البلازما والمصل والمتمم:

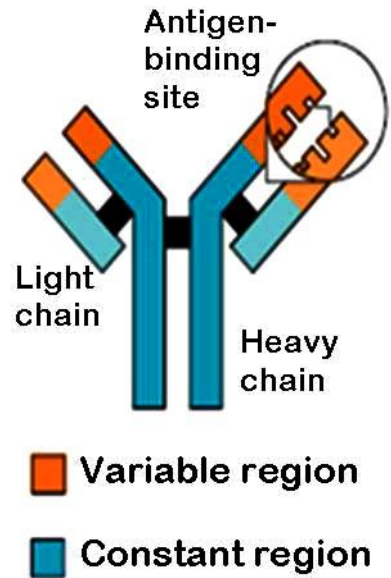
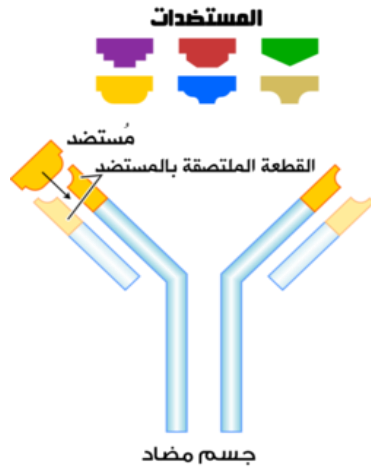
يتم فصل الدم بأستعمال جهاز الطرد المركزي حيث يتم نبذ الدم مركزيا بسرعة ٣٠٠٠ دورة بالدقيقة ولمدة ٥ دقائق بعدها يسحب المصل ويحفظ في انابيب الاختبار المعقمة في المجمدة بدرجة ٢٠ درجة لحين اجراء الفحوصات المناعية عليها.



الاجسام المضادة (التركيب والوظيفة): Antibodies (Structure and Function)

هي عبارة عن بروتينات سكرية Glycoprotein تعود الى بروتينات بلازما الدم وجميعها من نوع الجلوبيولين globulins ولها القدرة على التفاعل بصورة نوعية مع الانتجين الذي استحث تكوينها ويطلق عليها ايضا الجلوبيولينات المناعية immunoglobulins ويرمز لها Ig. وتفرز الاجسام المضادة المتخصصة من الخلايا اللمفاوية البائية B-Lymphocytes .

-التركيب الجزيئي للاجسام المضادة Structure of Antibodies:
ان الشكل التقريبي للاجسام المضادة مشابه لحرف Y والجسم المضاد يتكون من اتحاد تساهمي لنوعين من السلاسل عديدة الببتيد poly peptides والمعروفتان بالسلاسل الثقيلة Heavy chains ويرمز لها بالرمز H والخفيفة Light chain ويرمز لها بالرمز L، في كل جسم مضاد يوجد اربع سلاسل، سلسلتين خفيفتين متماثلتين (الوزن الجزيئي لها ٢٥ كيلو دالتون) وسلسلتين ثقيلتين متماثلتين (الوزن الجزيئي لها ٧٥ كيلو دالتون). كل سلسلة من هذه السلاسل الاربعة تتألف من مجموعتين متميزتين بترتيب الاحماض الامينية يطلق على المجموعة الاولى المنطقة الثابتة Constant region ويرمز لها بالرمز C حيث تحتوي السلاسل الثقيلة على ثلاث مناطق ثابتة التي تنتهي بمجموعة كاربوكسيل COO^- اما المجموعة الثانية فيطلق عليها بالمنطقة المتغيرة Variable region ويرمز لها بالرمز V وتنتهي بمجموعة الامين NH_2 ، ان للمنطقة المتغيرة للسلاسل الثقيلة اهمية في تسمية الجسم المضاد. في حين تتكون السلسلة الخفيفة من منطقتين هما Kappa ويرمز لها K ولambda Lambda ويرمز لها L كما في الشكل التالي:



تتحد السلاسل الثقيلة والخفيفة معا اتحادا تساهميا بواسطة رابطة ثنائية الكبريت S-S وتوجد السلاسل الخفيفة مقابل الطرف المحتوي على مجموعة الامين في السلاسل الثقيلة وتسمى منطقة التشابك هذه بمنطقة Fragment Antigen Binding Site (Fab) والتي يتم من خلالها الاتحاد مع الانتجين لقدرتها على الانطواء وتغير الشكل، وتسمى المنطقة الثابتة بمنطقة Crystalizable fragment (Fc) وهي المسؤولة عن تفاعل الجسم المضاد مع المكونات الاخرى للجهاز المناعي من خلال الاتحاد مع المتمم عند منطقة CH2 والالتصاق بالخلايا البلعمية عند منطقة CH3 والمرور من خلال المشيمة لحد IgG ولا تؤثر هذه المنطقة على الاتحاد مع الانتجين بينما تعرف المنطقة التي ترتبط بواسطتها السلسلتان الثقيلتان بالمنطقة المفصلة Hinge واهم وظائفها هو الارتباط مع العمل المتمم Complement كما ويسمح للجسم المضاد بالانفتاح بدرجات مختلفة ليتمكن من الارتباط بالجزء المحدد من الانتجين.

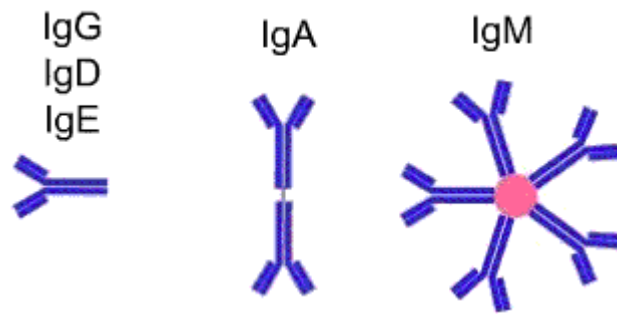
-انواع الاجسام المضادة Classes of antibodies :

في عام ١٩٣٧ اثبت العالمان تسيلوس وكابات Tiselus and Kabat الطبيعة الفيزيائية والكيميائية للاجسام المضادة من خلال تجارب الترحيل الكهربائي حيث بينا ان الكلوبولينات المناعية توجد في المصل وتهاجر نحو منطقة الجاما جلوبيولين في جهاز الترحيل الكهربائي المناعي immunoelctrophoresis عندئذ تسمى الجلوبيولينات المناعية حسب نوع السلاسل الثقيلة الخمسة جاما (γ)، الفا (α)، ميو (μ)، دلتا (δ)، وابسيلون (ε).

نوع الكلوبولين المناعي Ig	السلسلة الثقيلة	الرمز
IgG	جاما	
IgA	الفا	
IgM	ميو	
IgD	دلتا	
IgE	ابسيلون	

*جدول يبين انواع الاجسام المضادة ووجودها ووظائفها:

نوع Ig	وجوده	وظيفته
IgG	الجسم المضاد الرئيس في الدم	يهاجم الميكروبات وسمومها ويعزز عملية الالتصاق
IgM	اكبر الاجسام المضادة في الدم	ينشط المتمم ويعمل على تكتل الخلايا
IgA	الجسم الرئيس في الافرازات مثل اللعاب والحليب	يهاجم الميكروبات وسمومها
IgD	الجسم المضاد الموجود بشكل مستقبل مرتبط بالغشاء	وظيفته غير معروفة
IgE	الجسم المضاد الموجود بشكل مستقبل مرتبط بغشاء الخلايا القاعدية في الدم والخلايا البدينة mast cell	مسؤول عن استجابات الحساسية



وظائف الاجسام المضادة :

- ١- تلعب دور كمضادات التسمم antiyoxins تتفاعل مع السموم وتبطل مفعولها.
- ٢- لها دور المتراسات agglutination تؤدي الى تكتل الخلايا.
- ٣- لها اهمية في المعادلة neutralization حيث تعمل كمترسبات precipitation تتفاعل مع الانتجين لترسيبه.
- ٤- لها اهمية في opsonization حيث تتحد بسطوح انتيجينية معينة مما يسهل التهامه .
- ٥- تعمل كمحلات lysis تقوم بتحليل الخلايا الانتيجينية.

المستضدات Antigens :

هي اي مادة طبيعية كيميائية بسيطة او معقدة (مشتقة من اجسام الكائنات الحية الاخرى او خلايا الميكروبات او جزيئات بروتينية او كربوهيدراتية) غريبة عن الجسم ولها القدرة عند دخولها الجسم على تنبيه الجهاز المناعي لتكوين استجابة مناعية نوعية نحو ذلك الانتجين من خلال تكوين الاجسام المضادة او المناغة الخلوية (الخلايا التائية والبائية) التي تتفاعل معه او سموه لانهاء اثره الضارة على الجسم.

الخواص المحددة للمستضدات Properties of immunogenicity :

- ١- الوزن الجزيئي حيث وجد ان المادة التي وزنها الجزيئي اقل من ٥٠٠٠ دالتون لايتوقع ان تكون لها صفة مستضدية .
- ٢- التعقيد في الجزيئة complexity ان القدرة على احداث المناعة يتناسب مع كثرة التعقيد في الجزيئة فالبروتين الذي يتكون من نوعين من الاحماض الامينية اقل قدرة على التمنيع من البروتين الحاوي على اكثر من اربعة احماض امينية .
- ٣- درجة الغرابة Foreignness ان جميع المركبات الموجودة في الطبيعة تعتبر انتجينات فقط في الحيوانات الغريبة عنها وتعتمد القدرة على التمنيع على درجة الغرابة بين الانتجين والحيوان المحقون به.
- ٤- طريقة دخول الانتجين للجسم Route of immunization لكي تكون المادة قادرة احداث استجابة مناعية يجب ان تدخل الجسم بالحقن افضل من التناول عن طريق الفم.

الفحوصات المصلية Serological Test

تفاعلات الضد والمستضد Antibody-Antigen Reactions:

يشكل تفاعل المستضد بضده النوعي اساس التعرف على الاستجابة المناعية الخلطية حيث يستخدم العديد من التقنيات المناعية للسماح للضد والمستضد بالارتباط مع بعضهم تحت الظروف الملائمة ومشاهدة النتائج اما بالعين المجردة او بواسطة اجهزة ويطلق على تفاعل الضد بالمستضد ب(التفاعلات المصلية) نظرا لاستخدام المصل serum فيها. يختلف تفاعل المستضد بضده النوعي عن التفاعلات الكيميائية المعروفة نتيجة لعدم تكون مركب جديد لهذا التفاعل بل يتكون المعقد المناعي Immune complex وان القوة التي تربط الضد بالمستضد تختلف عن تلك التي تساهم في التفاعلات الكيميائية والمتمثلة بالاصرة الهيدروجينية والايونية واللاقطبية وغيرها حيث ترتبط المستضدات بالاضداد بواسطة قوى تماسك او تلاصق.

استخدامات التفاعلات المصلية Using of Serological Tests

- 1- التحقق من وجود مسببات الاصابه (الخمج)
- 2- يصعب احيانا عزل مسبب الاصابه من المريض ولذلك عند وجود اضرار نوعيه له في مصل المريض يمكن التعرف على مسببات الاصابه.
- 3- التعرف على بعض المستضدات في الانسجه او المواد السريره.
- 4- متابعة تقدم المرض من خلال التعرف على كمية الاضرار في مصل المريض.
- 5- استخدام الاختبارات المصلية للتعرف على وبائية بعض الامراض.
- 6- التعرف على الحاله المناعيه للجسم ضد مرض معين.

تجري هذه الاختبارات في الزجاج (في المختبر In Vitro) وتوجد تصاميم اساسيه تعتمد نتائجها على المشاهده ومن اهم هذه الاختبارات:

- 1- الترسيب Precipitation
- 2- التلازن Agglutination
- 3- التعادل Neutralization
- 4- تثبيت المتمم Complement Fixation
- 5- استخدام المعلمات الكيميائيه Using of Chemicals Props
- 6- الاليزا (ELISA) Enzyme Linked Immunoabsorbant assay

A. الترسيب Precipitation

ويدعى كذلك بالانتشار المناعي Immunodiffusion ويمكن اجراء هذا الاختبار في الجلاتين او الهلام ومشاهدة الراسب بشكل خطوط او دوائر ترسيبيه يطلق على هذا التفاعل ب- تفاعل الانتشار المناعي. تعمل حفر في الاكاروز مخلوطه بالاضداد ثم تضاف المستضدات حيث تقرأ نتيجة الفحص من قطر دائرة الترسيب المتكونه بعد فترة حضانه معينه.

B. التلازن Agglutination

يكون المستضد المستخدم في تفاعل التلازن عادة جسيمي كالجراثيم وكريات الدم الحمراء وتكون تجمعات لهذه الجسيمات عند خلطها مع اضرارها النوعيه ويستخدم تفاعل التلازن بكثره عند تشخيص البكتريا او التعرف على عيارية مصل المريض عندما تكون البكتريا المسببه للخمج او عند التعرف على زمر الدم ويمكن اجراء الاختبار على شريحه زجاجيه ورؤية النتائج بعد ثواني معدوده كذلك يمكن اجرائها في انابيب اختبار زجاجيه ، يستخدم تخافيف مضاعفه للمصل وازافه كميته كافيه من عالق المستضد ثم تقرأ عيارية المصل في

آخر انبوب يعطي نتيجة واضحة وكلما احتوى المصل على كمية اكبر من الاضداد كلما ارتفعت عياريته

-اختبارات التلازن Agglutination tests:

تعد من الاختبارات الروتينية الواسعة الاستخدام في المختبرات التشخيصية المناعية ولاسيما منها الاختبارات المصلية وتعتمد جميعها على تفاعل الضد مع المستضد وغالبا ما يكون الضد المستخدم جسيما عالق من الجراثيم (فيروس، بكتيريا او طفيلي) او خلايا مثل كريات الدم الحمراء حيث تتفاعل مع اضدادها النوعية مما يؤدي الى حدوث التلازن، تستخدم اختبارات التلازن في :

- ١-تشخيص الاصابات البكتيرية والفيروسية والطفيلية وقياس عياريتها في مصل المريض .
- ٢-معرفة مجاميع الدم Blood group وبيان انماط كريات الدم الحمراء والعامل الرئيسي Rh في مصارف الدم وقبل عمليات نقل الدم .
- ٣-تقدير مرض حل الدم الجنيني وتشخيص امراض حل دم الانيميا .
- ٤-معرفة الحمل من خلال فحوصات الحمل .

***انواع اختبارات التلازن Methods Based on Agglutination:

أ-اختبار تلازن اللاتكس (LAT) Latex Agglutination Test:

استخدم لأول مرة عام ١٩٥٦ وهو اهم اختبارات التلازن استخداما وشيوعا في تشخيص الاصابات الفيروسية والبكتيرية والطفيلية من خلال الكشف عن الاجسام المضادة او العوامل المستضدة في سوائل الجسم المختلفة كاللعاب Saliva، البول Urine، السائل النخاعي ومصل الدم Serum، تحتوي شرائح اختبار اللاتكس على مادة عالقة لجزيئات المطاط polystyrene احادية الشكل والقابلة للذوبان والمغطاة بمستضدات المرض المراد الكشف عنه، اذ يعطي شبكة معقدات الضد والمستضد Antibody-Antigen complexes عند وجود اجسام الضد المتخصصة له في المصل والتي تتلازن وتترسب خارج المحلول وان هذا العالق مركز ومنقى بدرجة عالية لانه يستعمل في تحديد وجود اجسام الضد IgG كدليل على الاصابة المزمنة Chronic infection ومن محاسنه سهولة اجرائه وحساسيته وخصوصيته وكلفته المناسبة وقلة الوقت والجهد اللازمين لاجرائه فضلا عن ذلك فهو واسع الاستعمال في التشخيص المصلي للاصابات البكتيرية مثل

(Salmonella, Shigella, Brucella) والاصابات الفيروسية مثل التهاب الكبد الفيروسي نوع أ، ب، ج والفيروس المضخم للخلايا Cytomegalovirus والكشف عن العامل الرثوي وداء المقوسات الكونيدية (داء القطط) في النساء الحوامل وكذلك يستعمل للكشف عن هرمون محرض القند المشيمي HCG في بول المرأة الحامل، لكن يؤخذ على هذا الاختبار انه لا يكشف عن الاصابات الحادة لان الضد المستخدم في اختبار اللاتكس هو غالبا IgG .

-مبدأ الفحص Principle:

يعتمد على التفاعل بين الاجسام المضادة الموجودة في المصل المراد اختباره والمستضدات في عالق Latex وتكون نتيجة هذا التفاعل حدوث تلازن واضح يمكن ملاحظته بصريا، تحتوي عدة اختبار الفحص على مصل السيطرة الموجب Positive control serum والذي يتكون من مصل الانسان المخفف مضافا اليه الاجسام المضادة IgG للارنب ومصل السيطرة

السالب Negative control serum وهو عبارة عن مصل الانسان المخفف بدون الاجسام المضادة ،كما وتحتوي العدة ايضا على شرائح بلاستيكية و اعواد المزج.

طريقة العمل: Procedure

- ١-يتم تحضير عدة الاختبار المبردة والمصل المجمد للوصول الى درجة حرارة الغرفة .
- ٢-يتم وضع ٥٠ مايكروليتر من المصل المراد الكشف عنه على الشريحة البلاستيكية الخاصة بالاختبار وقطرة واحدة من محلول الكاشف بعد رجه جيدا كي تتجانس مكوناته ولتفريق جزيئات Latex وجعلها عالقة في المحلول .
- ٣-يتم مزج القطرتين جيدا بواسطة عود خشبي ومن ثم يتم وضع الشريحة على جهاز الهزاز لتحريك الشريحة ولمدة ٣-٥ دقائق.
- ٤-يتم ملاحظة النتائج فعند ظهور التلازن تكون النتيجة موجبة وسالبة بعدم ظهوره.



C - .التعادل Neutralization

يستخدم للتحري عن وجود فعاله سمي او وجود فيروس في مستحضر ما، ويصعب اجراء اختبار التعادل في الزجاج باستخدام مستخلص السم او الفيروس لذلك تستخدم الحيوانات او الزرع النسيجي، يخلط السم او الفيروس مع المصل اذا احتوى المصل على الاضداد او السم او الفيروس عندئذ لايشاهد اي تاثير لهما على الزرع النسيجي او الحيواني اما اذا لم يحتوي المصل على جزيئات الضد التي تعادل السم فعند اضافة الخليط الى الزرع النسيجي يشاهد علامات تاثير السم او الفيروس مثل موت النسيج او ظهور علامات مرضيه عليه.

D - تثبيت المتمم Complement Fixation

المتهم عبارة عن عدد من البروتينات الموجودة في مصل الدم بصورة طبيعيه وتشكل حوالي ١٥% من نسبة الكلوبولين ولاترداد كميتها بالتمنيع. تساهم بروتينات المتمم في تفاعلات الضد والمستضد واكثر الكلوبولينات المناعية التي تؤدي الى تثبيت المتمم هي (IgM , IgG) فاذا كان المستضد خليه تكون نتيجة تفاعلها مع الضد النوعي بوجود المتمم هو التحلل التام اما اذا كان المستضد ذاتيا وكان الضد بكميات قليلة بحيث لايمكن رؤية المعقد المناعي بالعين المجردة عندئذ يمكن استخدام تثبيت المتمم حيث يستخدم للتحري عن تفاعل الضد

والمستضد ويستخدم في هذا التفاعل نظام كاشف يتكون من عالق كريات دم الخراف واضدادها النوعية حيث يخلط المستضد مع ضده النوعي ثم تضاف كمية المتمم (مصل خنازير غينيا لاحتوائها على نسبة عالية من بروتينات المتمم) ويحضن الخليط بدرجة حراره ملائمة.

E - استخدام المعلومات الكيميائية Using Chemicals Props

ترتبط المعلومات الكيميائية اما مع جزيئة الضد او المستضد قبل بدأ التفاعل ثم يخلط الضد مع المستضد لتكوين المعقد المناعي ويتم الكشف عن التفاعل والتحري عن تلك المعلومات ومن اكثرها استخداما النظائر المشعة والصبغات المتألقة والانزيمات (الخمائر)

F - الاليزا (Enzyme Linked Immunoabsorbant assay (ELISA

ان هذا الفحص بسيط وسريع ويتضمن تحليل ذاتي للنتائج. في هذا الفحص يثبت الضد او المستضد على سطح ما (كجدار الشريحة الدقيقة للعيار (Microtiterplate) وتخصص عينة الاختبار بواسطة انزيم معلم بالضد ويعتبر الكاشف الاكثر دقه هو الضد الوحيد النسيله Monoclonal antibody .
ان الطريقة الاكثر شيوعا لهذا الفحص هي (Sandwich assay) حيث ان الضد الوحيد النسيله يثبت على الـ Microtiterplate والتي فيها تخافيف لعينة مصل المريض وذلك للسماح للمستضد بالارتباط الى السطح المرتبط للضد ثم تغسل ، يكشف عن المستضد المرتبط بواسطة ضد ثانوي والذي يعلم بانزيم ثم يغسل مره اخرى كما يتم حضانة الحفر من الماده الاساس لذلك الانزيم وذلك لاجراء التفاعل الانزيمي.

الروز المناعي (RIA) Radio Immunoassy :

استخدمت هذه ا طريقة لأول مرة في عام ١٩٦٠ من قبل العالمين Berson & Yalow حيث تمكنا من قياس انسولين البلازما باستخدام النشاط الاشعاعي radioactivity ومنذ ذلك الحين اصبحت تستخدم في تقدير كميات صغيرة جدا مثل الهرمونات التي تعتبر مستضدات ناقصة وكذلك بعض العقاقير مثل ديجوكسين (Digoxin) وتعد هذه الطريقة ذات حساسية عالية وخصوصية تعتمد على تفاعل الضد مع كميات محددة من المستضد المعلم labeling antigen وغالبا ما يعلم المستضد بالنضائر المشعة (الكاما) Gamma isotopes حيث يستخدم النظير المشع الايودين Iodine الذي يرتبط مع بروتين Tyrosine ويسمى هذا المستضد المعلم بالمتتبع (hot antigen) حيث يتكون المعقد المناعي (بين الضد والمستضد المعلم) ومما تجدر الاشارة اليه ان كلا من الضد والمستضد المعلم يتم تجهيزه تجاريا مع العدة المستعملة للتشخيص في تقنية RIA، يحوي مصل المرضى على المستضد الغير معلم ويشار اليه بالمستضد البارد (cold antigen) حيث يضاف الى المعقد المناعي والذي بدوره سينافس المستضد المعلم على الارتباط مع جسم الضد المتخصص وذو الحساسية العالية للكشف عن المستضد المطلوب والذي يكشف عنه باستعمال جهاز Gamma counter.

Labeled antigen(Ag) + specific antibody(Ab) + unlabeled antigen(Ag)

Labeled antigen-antibody complex
(Ag-Ab)

unlabeled antigen-
antibody complex
(Ag-Ab)

*****التطبيقات التي يمكن ان تستخدم الروز المناعي المشع:**

- ١ - قياس الهرمونات مثل:
أ - الهرمونات الستيرويدية كالالديسترون وكورتيسول وبروجسترون.
ت - الهرمونات الببتيدية مثل هرمون كلوكوكان وهرمون محرض القند المشيمي والانسولين.
- ٢ - قياس بعض العقاقير مثل المورفين وديجوكسين.
- ٣ - قياس IgE المهم في تفاعلات فرط الحساسية نمط ١ (hyper sensitivity).
- ٤ - قياس المستضد الجنيني الورمي المستخدم في بنوك (مصارف) الدم لمعرفة مستضدات التهاب الكبد (HbsAg) والتي يمكن ان تنتقل اثناء نقل الدم .
- ٥ - قياس الاضداد المتكونة ضد الدنا anti-DNA antibodies (DNA) في مرضى الذؤاب الاحمراري .

- ٦ - قياس حامض الفوليك وفيتامين B₁₂ .
ان هذه الطريقة دقيقة وذات حساسية عالية يمكن قياس كمية صغيرة من المستضد تقدر بالنانو غرام وما يؤخذ على هذه التقنية بأنها خطيرة لاستخدام النظائر المشعة ¹²⁵I or isotopes ¹³¹I كما انها مكلفة نظرا لاستخدام اجهزة متطورة مثل gamma or beta counter
- اختبارات الترسيب Precipitation reaction:**

يدعى ايضا الانتشار المناعي Immunodiffusion يجرى هذا الاختبار في الهلام او الجيلاتين ويكون في تفاعلات الترسيب كل من الجسم المضاد والمستضد في حالة ذائبة. ومشاهدة الراسب بشكل خطوط اودوائر ترسيبية حيث تعمل حفر في الاكاروز مخلوطة بالاضداد ثم تضاف المستضدات حيث تقرأ نتيجة الفحص من قطر دائرة الترسيب المتكونة بعد فترة حضانة معينة .

*****مبدأ اختبارات الترسيب Principle:**

عند اضافة الجسم المضاد الى محلول يحتوي على المستضد الذائب فإنه سرعان ما يحدث تفاعل بينهما يؤدي هذا التفاعل في البداية الى ظهور عكارة واضحة سرعان ما تتحول الى راسب يستقر في قاع الانبوب بعد مرور فترة زمنية يتكون معقد Ab-Ag يبدأ خلال الدقائق الاولى مما يعطي راسب مرئي وقد يستغرق عدة ايام يومين الى سبعة ايام وتكوين المعقد يعتمد على التكافؤ بين الجسم المضاد والانتجين ولا بد ان يكون الجسم المضاد ثنائي التكافؤ والا لن يتكون راسب اذا كان احادي التكافؤ ويجب ان يكون المستضد اما ثنائي او عديد التكافؤ.

***العوامل التي تؤثر على تفاعلات الترسيب:

- ١-درجة الحموضة PH: يجب ان يكون الاس الهيدروجيني مساويا ل٧.
- ٢-تأثير الاملاح (القوى الايونية): تتأثر تفاعلات الترسيب بتركيز الاملاح المتحللة كهربائيا (المتأينة).
- ٣-تأثير الحرارة : يكون تأثير الحرارة على تجمع المعقدات الصغيرة الناتجة وهذا التأثير يعتمد على :
أ-طبيعة الانتجين
ب-نوع الحيوان الذي حضر منه الجسم المضاد

-التعادل Neutralization:

يستخدم للتحري عن وجود فعالية سمية او وجود فايروس في مستحضر ما ويصعب اجراء هذا الاختبار في الزجاج لاستخدام مستخلص السم او الفايروس لذلك تستخدم الحيوانات او الزرع النسيجي حيث يخلط السم او الفايروس مع المصل اذا احتوى المصل على الاضداد او السم او الفيروس عندئذ لايشاهد اي تأثير لهما على الزرع النسيجي او الحيواني اما اذا لم يحتوي المصل على جزيئات الضد التي تعادل السم فعند اضافة الخليط الى الزرع النسيجي يشاهد علامات تأثير السم او الفيروس مثل موت النسيج او ظهور علامات مرضية ومن اشهر اختبارات التعادل تفاعل ناجلر Nagler reaction يستخدم لتشخيص بالتسمم المعوي بالبكتيريا اللاهوائية *Cl.perfringes*

- التآلق المناعي:

كما هو الحال في الاليزا فإنه في اختبار التآلق المناعي يتم استخدام اجسام مضادة مرتبطة ولكن ليس بأنزيم وانما بمادة تسمى fluorochrome والتي هي عبارة عن مواد كيميائية تمتص الاشعة فوق البنفسجية غير المرئية وتعيد نفسها بصورة ضوء مرئي يختلف لونه باختلاف المادة ومن اشهر المواد:

FITC(Fluorescein isothiocyanate)

RITC(Rhodamine isothiocyanate)

حيث تنتج الاولى ضوء اخضر بينما الثانية ضوء احمر عند وضعها في مسار اشعة فوق بنفسجية (المجهر المألوق).

- تثبيت المتمم:

المتمم عبارة عن عدد من البروتينات الموجودة في مصل الدم بصورة طبيعية وتشكل حوالي ١٥% من نسبة الكلوبولين ولا تزداد كميتها بالتمنيع تساهم بروتينات المتمم في تفاعلات الضد والمستضد واكثر الكلوبولينات المناعية التي تؤدي الى تثبيت المتمم هي IgG,IgM فإذا كان المستضد خلية تكون نتيجة تفاعلها مع الضد النوعي بوجود المتمم هي التحلل التام اما اذا كان المستضد ذائبا وكان الضد بكميات قليلة بحيث لايمكن رؤية المعقد المناعي بالعين المجردة عندئذ يمكن استخدام تثبيت المتمم حيث يستخدم للتحري عن تفاعل الضد والمستضد ويستخدم في هذا التفاعل نظام كاشف يتكون من عالق كريات دم الخراف واضدادها النوعية حيث يخلط المستضد مع ضده النوعي ثم تضاف كمية المتمم (مصل خنازير غينيا لاحتوائها على نسبة عالية من بروتينات المتمم) ويحضن الخليط بدرجة حرارة ملائمة.

-الاضداد وحيدة النسيلة:

هي عبارة عن اهم العناصر الموجودة في النظام المناعي للكائن الحي والتي تتكون من بروتينات ذاتية تساعد في الحماية ضد الممرضات والاجسام الغريبة يتم انتاجها من قبل الخلايا اللمفاوية البائية B-lymphocytes وهذه الاجسام المضادة تنتمي لمجموعة من مجموعات بروتينات الدم تسمى immunoglobulins والتي هي عبارة عن مجموعة من المركبات المعقدة التي تتعرف وترتبط وتقضي على الاجسام الغريبة والمواد الممرضة .

***كيف يتم انتاج الاضداد وحيدة النسيلة :

يتم انتاجها بشكل طبيعي وتلقائي عند تعرض الجسم للمرض ويمكن انتاجها ايضا عن طريق تحفيز الجهاز المناعي للكائن بحقنه بمركبات مرتفعة الوزن الجزيئي ومحتوية على epitope (والذي يمثل احد اجزاء العامل الممرض) وعزل الخلايا المسؤولة عن انتاج هذه الاضداد والخلية البائية الواحدة تنتج نوع واحد من الاضداد (وحيدة النسيلة) لكن المشكلة تكمن ان الخلايا المنتجة لهذه الاجسام المضادة لهل عمر محدد اي تنقسم وتموت خلال زمن قصير نسبيا والحل يمكن من خلال القيام بعملية دمج الخلايا المناعية المنتجة للاجسام المضادة مع خلايا سرطانية (ليس لها عمر محدد ولها صفة الخلود) فينتج عن ذلك Hybridoma هجينة اي خلايا لها القدرة على انتاج اجسام مضادة وتتميز بكثرة انقسامها واكتسابها لصفة الخلود (لها عمر غير محدد) ويتم ذلك عن طريق تحفيز الجهاز المناعي للحيوان بحقنه بمادة محفزة للجهاز المناعي

وذات وزن جزيئي مرتفع ويتم خلط هذه المادة مع املاح الالمنيوم التي تدعم قدرة الخلايا المناعية على انتاج الاضداد بعد ذلك يتم ملاحظة كميات من الاجسام المضادة في الدم وعند الوصول للمستوى المطلوب عندها يتم اخذ طحال الكائن المحتوي على اكبر كمية من اللمفاويات البائية المنتجة للاضداد والتي تستقر بالطحال ويتم تفكيك الطحال بطرق انزيمية او ميكانيكية بعد ذلك يتم خلط هذه الخلايا المنتجة للاجسام المضادة مع خلية سرطانية وتعرض الخليط الى كميات مرتفعة من polyethyleneglycol كمادة مساعدة على دمج الخلايا فنحصل على خلايا هجينة تستطيع انتاج الاضداد المرغوبة .

تشخيص مرض التيفوئيد

اختبار السالمونيلا (اختبار فيدال (Salmonella Test (Widal Test

نبذة عن بكتيريا السالمونيلا Summary of Salmonella

عصوية short bacilli ، سالبة لصبغة جرام Gram negative bacilli ، متحرك motile ، لا تكون كبسولة. non-capsulated . لبكتيريا السالمونيلا أكثر من ١٤٠٠ نوع مصلي serotypes بعضها يسبب أمراضاً للإنسان . لبكتيريا السالمونيلا عدة أجناس أهمها طبيياً S. Typhi و S. Paratyphi والتي تسبب الحمى معوية enteric fever .

الخصائص المصلية Serological characters

تحتوي بكتيريا السالمونيلا على ثلاث أنواع من الأنتجين antigens وهما جسم البكتيريا somatic الذي يرمز له بـ (O antigen) وعلى السوط flagellar ويرمز له بـ (H antigen) والcapsulate المحفظة capsulate ويرمز لها بـ (K antigen) تقاوم هذه

البكتيريا الممرضة المناعة الطبيعية لجسم الإنسان وذلك بمنعها للبلعمة والإلتهام وكذلك بإفراز سم داخلي Endotoxin وقد تفرز سم خارجي Exotoxine .

مبدأ الاختبار المصلي

الاختبار يجرى بطريقة اللاتكس Latex Method وهي طريقة حساسة إلى حد كبير إذا تم إجراء الاختبار تحت الظروف المناسبة ويتم التراص بالطريقة المباشرة Direct Agglutination ومبدأ الاختبار هو إضافة الأنتيجينات Reagent بعد معاملتها صناعياً إلى الأجسام المضادة في مصل المريض سيحدث ترص Agglutination واضح بالعين المجردة.

طريقة التراص في الأنابيب أفضل من طريقة التراص على شريحة اللاتكس لكن سهولة وسرعة إجراء اللاتكس (الشريحة) وأيضاً قلة التكلفة جعلته هو السائد عند الكثير من البلدان التي يستوطن فيها هذا المرض.

• ملاحظة : لا بد من ملاحظة البروزون Prozone في النتائج السلبية من الاختبار حيث أنها من الممكن أن تعطي نتائج سلبية كاذبة False Negative وذلك بسبب وجود نسبة عالية من الأجسام المضادة في المصل ما يحدث التنافس على الارتباط مع الأنتيجينات Reagent وبالتالي لا يحدث التراص الواضح ، ولتجنب ذلك عمل الاختبار بتخفيف العينة Dilution of Sample حتى تقل كمية الأجسام المضادة في المصل وبالتالي يعطي نتائج جيدة وواضحة.

اختبار فيدال Widal Test

في هذا الاختبار يتم البحث عن الأجسام المضادة الخاصة بالسالمونيلا من نوع IgM و IgG في مصل Serum المريض، ويتميز هذا الاختبار بسهولة عمله وحساسيته إذا تم عمل الاختبار بطريقة التخفيف Dilution ، واختبار فيدال هو للأنواع S. Typhi و S. Paratyphi فقط أم بقية الأنواع فمن الأفضل الكشف عنها بطريقة الزراعة في معمل المايكروبيولوجي ، وكما ذكرت سابقاً فإن الاختبار يبحث عن الأجسام المضادة المتكونة من دخول الأنتيجينات لجسم المصاب وأهم هذه الأنتيجينات O antigen جسم البكتيريا (somatic) H antigen سوط البكتيريا flagellar لهذه الأنتيجينات عدة أنواع مهماً طبيياً لذلك لا بد من الكشف عنها باختبار فيدال وهي:

لـ O antigen أربعة أنواع هي OA و OB و OC و OD
لـ H antigen أربعة أنواع هي HA و HB و HC و HD

1 - طريقة عمل اختبار Widal Test procedure

اولاً: تحضر جميع المحاليل Reagents وعينات المرضى (مصل Serum) على درجة حرارة الغرفة.

ثانياً: يوضع ٢٠ ميكروليتر من Positive control في الحجرة الأولى Well على شريحة اللاتكس و ٢٠ ميكروليتر من Negative control في الحجرة الثانية وذلك من أجل المقارنة بعد خروج نتائج الاختبار مع الكنترول والتأكد من أن المحاليل Reagents سليمة وصالحة للاستخدام.

ثالثاً : يستخدم ٨ حجرات لكل عينة (يوجد ٨ أنواع من الأنتجين) وذلك بوضع ٢٠ ميكروليتر من المصل Serum في كل حجرة Well

رابعاً : تمزج محاليل اللاتكس المحتوية على الأنتيجينات لكل أنواع السالمونيلا الثمانية بالتقليب ثم تؤخذ ٤٠ ميكروليتر (قطرة واحدة Drop) منه إلى كل حجرة المحتوية على مصل المريض.

خامسا : تمزج Mix بشكل دائري باستخدام الأعواد المناسبة .
سادسا : توضع شريحة اللاتكس على الهزاز Shaker لمدة ١-٣ دقائق يظهر التراص تحت ضوء مناسب ولا تؤخذ نتيجة بعد هذا الوقت لأن بدء جفاف العينة قد يؤدي إلى ظهور ايجابية كاذبة Positive False

النتيجة:

(+) • حدوث تراص*** (Agglutination (Ab-Ag Reaction)
(-) • عدم حدوث تراص (Non Agglutination (Ab-Ag Non Reaction)

***في حالة حدوث تراص Agglutination لابد من عمل التخفيف للعينة Dilution of Sample :

• يفضل عمل التخفيف في أنابيب Tubes ويوضع في كل أنبوب ١٠٠ ميكروليتر من الـ Normal Saline ويوضع في الأنبوب الأول ١٠٠ ميكروليتر من عينة المصل Serum وتمزج وينقل إلى الأنبوب الثاني ١٠٠ ميكروليتر وهكذا إلى آخر أنبوب في أنابيب التخفيف بعد ذلك ينقل من كل أنبوب ١٠٠ ميكروليتر إلى الحجرات في شريحة اللاتكس ويضاف المحلول Reagents على كل الحجرات . Wells
• يتم تسجيل آخر تخفيف ظهر فيه التفاعل إيجابي (+) كنتيجة نهائية للاختبار .

(EIA) (Enzyme linked immunsorbent assay) ELISA انزيم مقايصة المناعية المرتبطة

احدى الطرق التى تستخدم اما لتحديد نسبة انتيجين مجهول فى العينة (الطريقة المباشرة) او تحديد نسبة أجسام مضادة فى العينة (الطريقة غير المباشرة)
تستخدم بصورة كبيرة فى تحاليل المناعة والهرمونات وكذلك الفيروسات
*قبل البدء فى شرح الطريقة يجب تذكر معلومة هامة فى علم المناعة وهى فكرة المناعة المتخصصة والتي تعتمد عليها فكرة هذه الطريقة
وهى أنه عند دخول جسم غريب الى جسم الانسان يقوم جهاز المناعة بتكوين أجسام مضادة ضد انتيجينات هذا الجسم الغريب وتظل موجودة فى الجسم فيما يسمى الذاكرة المناعية ، تكون هذه الاجسام المضادة خاصة بالانتجين الذى تكونت من أجله فقط ومن هنا تأتى الفكرة فعنما نريد أن نبحت عن انتجين معين فى عيني نأتى بالاجسام المضادة المتخصصة لة فترتبط به والعكس صحيح

***طريقة الاليزا المباشرة Direct Elisa**

١- فى الاليزا عادة نستخدم أطباق الاليزا وهو طبق مكون من صفوف وكل صف مكون من ٨ ويلات (نقرات) وعادة يكون الطبق ٩٦ ويل

فى الطريقة المباشرة نبحت عن أنتجين مجهول
2 - تكون جدران الويلات مغطاة بالاجسام المضادة الخاصة بالانتجين المراد الكشف عن وجوده

- 3- عند اضافة العينة الى الويل تقوم الاجسام المضادة الموجودة على جدران الويل بالارتباط بالانتيجن اذا وجد في العينة
- 4- يتم غسيل الويل للتخلص من الاجسام المضادة غير المرتبطة والانتيجينات الاخرى الغريبة و يبقى الانتجين المطلوب مرتبط بالجسم المضاد الموجود على جدار الويل (antibody antigen complex) يسمى الجسم المضاد المرتبط بالانتجين (معقد الانيجين والجسم المضاد). يتم اضافة جسم مضاد آخر يكون مميز او معلم بواسطة انزيم يتفاعل هذا الجسم المضاد الثاني مع معقد الانتجين والجسم المضاد. تكرر عملية الغسيل مرة أخرى للتخلص من الاجسام المضادة غير المرتبطة.
- يتم اضافة الخطوة الاخيرة وهو مركب (substrate or tmb) يقوم الانزيم المرتبط في الجسم المضاد الثاني بتحويله من مادة عديمة اللون الى ملون يتم وضع محلول لوقف التفاعل يسمى Stop solution
- يتم القراءة على جهاز قراءة الاليزا عند الطول الموجي المناسب. تتناسب قوة امتصاص هذا اللون مع تركيز الانيجين المجهول في العينة
- ويأتى مع كل كيت اليزا عدة استاندرات (6 غالباً) بتركيزات متدرجة معلومة يتم عمله مع الاختبار المطلوب ثم يتم رسم منحنى قياسى يمثل العلاقة بين التركيز concentration و بين قوة الامتصاص absorbance ويتم حساب النتائج من هذا المنحنى.

*طريقة الاليزا غير المباشرة In Direct Elisa

نفس خطوات الاليزا المباشرة ولكن في هذه الطريق نبحث عن الاجسام المضادة المجهولة في العينة فتكون جدران الويلت مغطاة بالانتيجينات الخاصة بالاجسام المضادة المراد الكشف عنها وباقي الخطوات هي نفسها ولعل اشهر الامثلة لهذا النوع الاليزا الخاصة بالكشف عن الاجسام المضادة بفيروس سى.

امراض المناعة الذاتية Autoimmune diseases

تحدث أمراض المناعة الذاتية، عندما تُهاجم خلايا المناعة، والأجسام المناعية، خلايا الجسم. ويحدث ذلك عندما يفشل جهاز المناعة في معرفة البصمة الجينية الخاصة بكل خلية، فتختل وظائفه، فيُهاجم خلايا الجسم على أنها غريبة عنه. وقد يؤدي ذلك إلى ضرر شديد، ومضاعفات خطيرة بالجسم، قد تنتهي بالشلل أو الوفاة. وهذا الخلل في جهاز المناعة قد يحدث في مكان واحد، أو عضو من أعضاء الجسد، أو أكثر، وقد يؤدي إلى حدوث مرض، أو مجموعة أمراض، تُسمى أمراض المناعة الذاتية Autoimmune Diseases. فإذا هاجم جهاز المناعة، مثلاً، الجهاز العصبي، فإنه يهاجم جزءاً معيناً من جدار الأعصاب، مسبباً حالة تسمى "التصلب المتعدد" Multiple Sclerosis، وهي تؤدي إلى حدوث شلل بالجسم كله.

أما إذا هاجم جهاز المناعة خلايا البنكرياس، فيؤدي ذلك إلى تدمير هذه الخلايا، ومن ثم يقل إفراز الأنسولين اللازم لحرق الجلوكوز، مما يسبب الإصابة بمرض البول السكري Diabetes Mellites. وفي حالة مهاجمة الجهاز المناعي لمكان اتصال الأعصاب بالعضلات Neuro- Muscular Junctions، يحدث ضعف، وارتخاء شديد بالعضلات، يسمى، "وهن العضلات اللوخم" Myasthenia Gravis. وقد يهاجم الجهاز المناعي، صمامات القلب، كما في حالات الحمى الروماتيزمية Rheumatic fever، أو يهاجم الجلد ويسبب احمراراً بالوجه، في شكل جناحي فراشة على الخدين، كما في حالات الذئبة الحمراء

Lupus Erythematosis. ويهاجم الجهاز المناعي أحياناً المفاصل مسبباً "روماتيزم المفاصل" Rheumatoid arthritis. وقد يهاجم جهاز المناعة أكثر من عضو بالجسم، مثل الجلد، والقلب، والكبد، والكلية، والطحال، كما في مرض الذئبة الحمراء Systemic Lupus Erythematosis.

أسباب حدوث أمراض المناعة الذاتية:

أ. الوراثة:

يعني أن أمراض المناعة الذاتية، تحدث في عائلات أو أفراد، يحملون النوع نفسه، من البصمة الجينية. وقد أظهرت الأبحاث أن مرض "الروماتويد" Rheumatoid، يحدث في أشخاص، لهم بصمة جينية متشابهة، وكذلك مرض السكر.

ب. المشابهة في التركيب الكيميائي:

عند حدوث عدوى بأحد الميكروبات، التي تشبه جزئياً في تركيبها الكيميائي خلايا أخرى بالجسم، يُفرز جهاز المناعة، أجساماً مضادة لهذه الميكروبات لتهاجمها. وقد تخطئ هذه الأجسام، فتهاجم خلايا العضو المشابهة للميكروب، في التركيب الكيميائي. ومثال ذلك ما يحدث في حالة الإصابة بالميكروب السبحي، الذي يحتوي على كبسولة خارجية، بها نوع خاص من البروتينات مشابهة للبروتين الموجود في صمامات القلب، خصوصاً الصمام الميترالي Mitral Valve، وكذلك في خلايا الكلية، مما يُحدث حمى روماتيزمية Rheumatic Fever، أو التهاباً بالكلية Glomerulonephritis. وقد تحدث أمراض المناعة الذاتية، كذلك، بسبب التصاق الجسم الغريب بخلايا الجسم البشري، مما يجعل جهاز المناعة يهاجم ويتفاعل، مع الاثنين معاً.

ج. الغدة الصعترية أو التيموسية:

أثبتت بعض الأبحاث أن الخلايا التائية T-cells، التي تنتجها الغدة التيموسية، يخرج معها كذلك خلايا تثبط عمل هذه الخلايا T-suppressor cells. فإذا قل إنتاج هذه الخلايا المثبطة، تستمر الخلايا التائية في نشاطها المناعي، ومهاجمة خلايا الجسم المختلفة، بعد انتهاء عملها مع مولدات المضادات، مسببة أمراض المناعة الذاتية. وقد لوحظ أن استئصال "الغدة التيموسية"، ينتج عنه أمراض تماثل أمراض المناعة الذاتية.

د. أسباب أخرى:

تناولت الأبحاث الخاصة بأسباب حدوث أمراض المناعة الذاتية، عامل العمر، حيث ثبت أن هذه الأمراض تزيد نسبتها مع تقدم عمر الإنسان. وكما تُصاب أمراض نقص المناعة، أيضاً زيادة في نسبة حدوث أمراض المناعة الذاتية. وكذلك أثبتت الأبحاث، زيادة نسبة أمراض المناعة الذاتية، في الإناث أكثر من الذكور.

-انواع أمراض المناعة الذاتية:

تشمل هذه المجموعة من الأمراض، عدداً غير قليل، يصيب بعضها عضواً واحداً من الجسم، وبعضها عدة أعضاء في أن واحد. ومن أهم هذه الأمراض:

أ. مرض الذئبة الحمراء Systemic lupus Erythematosis:

يعد مرض الذئبة الحمراء، من أشهر أمراض المناعة الذاتية، ويصيب هذا المرض الجلد ويحدث خللاً في معظم أعضاء الجسم. ونسبة الإصابة به في الإناث، أربعة أضعاف نسبتها في الذكور. وهو يتميز بفترات نشاط، تعقبها فترات قد يتحسن فيها المريض، وتقل حدة المرض.

-التفسير المناعي للذئبة الحمراء:

يُعزى حدوث هذا المرض إلى وجود أجسام مضادة للحامض النووي DNA وهو اختصار لمصطلح Desoxy Nucleic Acid. في جسم المريض، وكذلك وجود خلايا ذات شكل خاص تحت المجهر، سميت: خلايا الذئبة الحمراء Lupus Erythematosus cells، وتختصر L.E. cells. وتوجد هذه الأجسام المضادة في الدم، والأنسجة المصابة، مثل الجلد، والكلية. ولم يُعرف، حتى الآن، سبب وجود هذا الجسم المضاد للحامض النووي، الذي يسمى Anti- DNA. كما اكتشفت أجسام مضادة أخرى، ضد كرات الدم الحمراء، والبيضاء والصفائح الدموية. ويؤدي ذلك إلى حدوث نزيف وأنيميا. تعد زيادة الإصابة في بعض الأفراد، والعائلات، دليل على الاستعداد الوراثي للمرض، وذلك في بعض الحالات، التي تحتوي على نوع معين من البصمة، أو الشفرة الجينية HLA. أثبتت الأبحاث أن هرمون الأنوثة Estrogen Hormone، يساعد على تكوين الأجسام المضادة للحامض النووي، كما يساعد، كذلك، على زيادة حدة الأعراض. وعلى العكس من ذلك، فإن هرمونات الذكورة Androgens، تقلل من تكوّن الأجسام المضادة للحامض النووي. وهذا يفسر حدوث المرض في الإناث، بدرجة أكبر من حدوثه في الذكور.

التشخيص المعملّي: (المختبر)

أ-سرعة الترسيب Erythrocyte Sedimentation Rate: ESR:

تكون عالية في معظم الحالات، وتدل على وجود نشاط زائد في الجهاز المناعي.

ب-أنيميا لكل مكونات الدم Pancytopenia:

تتميز بحدوث نقص في عدد كرات الدم الحمراء، ونقص في عدد كرات الدم البيضاء، ونقص في عدد الصفائح الدموية.

ج-إجراء اختبارات خاصة:

يُراد بها الكشف عن الأجسام المضادة للحامض النووي DNA، وكذلك الأجسام المضادة لعوامل التجلط وكرات الدم الحمراء.

د-قياس معامل الروماتويد Rheumatoid factor:

يوجد هذا المعامل، في بعض أنواع الروماتويد، وتسمى "معامل الروماتويد الموجبة"، وفي حالة عدم وجوده، تسمى "معامل الروماتويد السالبة". ويستخدم هذا المعامل لتقسيم أنواع الروماتويد. وقد ثبت أن ٣٠% من حالات الذئبة الحمراء، تكون إيجابية لهذا المعامل.

مرض الروماتويد Rheumatoid Arthritis:

يُعد الروماتويد من الأمراض المزمنة، وهو يصيب مفاصل الجسم المختلفة بصورة أساسية، ولكنه يصيب، كذلك، أجهزة أخرى، مثل: الجهاز العصبي، والجهاز البولي، والجهاز الدوري. ومثل معظم أمراض المناعة الذاتية، فإن نسبة الإصابة به في الإناث تزيد عنها في الذكور، إذ تصل إلى نسبة ١:٣.

وتُعد المفاصل الصغرى بالكفين والقدمين، من أكثر المفاصل تعرضاً للإصابة بهذا المرض، الذي يمتد ليشمل باقي المفاصل. وقد يؤدي أحياناً إلى حدوث التهابات بالأوعية الدموية، أو الأوعية والغدد الليمفاوية. وكذلك يحدث نقصاً في كرات الدم البيضاء، وتضخماً في الطحال. ويُعزى حدوث مرض الروماتويد إلى الاستعداد الوراثي، والبصمة الجينية HLA، أو إلى وجود نوع معين من فصائل الخلايا البيضاء، حيث لوحظ ذلك في كثير من المرضى. كما أثبت بعض العلماء وجود علاقة بين مرض الروماتويد، وبين الإصابة بنوع معين من الفيروسات أو البكتيريا.

***التغيرات المناعية، المؤدية إلى حدوث الأعراض:

تُفرز الخلايا الليمفاوية الموجودة بالمفصل، أجساماً مضادة، تُسمى "عامل الروماتويد" Rheumatoid Factor، يعده الجسم غريباً عنه، فيفرز الجهاز المناعي أجساماً مضادة من النوع IgM, IgG. وتتحد الأجسام المضادة مع عامل الروماتويد، مكونة عقداً مناعية بروتينية، تترسب في خلايا الغشاء الزلالي للمفصل Synovial Membrane. ويعمل هذا الترسيب، على تنشيط المركب البروتيني المكمل The complement، وتفرز مواد ونواتج لهذا التفاعل، تجذب كرات الدم البيضاء، ويزداد الالتهاب، ويزداد إفراز المواد، والأنزيمات والتفاعل، مع عامل الروماتويد، فتتكون عقد مناعية جديدة، تترسب في المفصل، ما

يسبب ألماً شديداً فيه، خصوصاً عند الحركة. ومع استمرار عملية الترسيب هذه، يصبح سطح العظام عارياً من الغضاريف، التي تحمي نهايات العظام من الاحتكاك، بعضها ببعض، ويحدث تضخم في حجم المفصل، وارتخاء في الأربطة المحيطة به، وينتهي المرض بحدوث تشوهات في المفاصل.

الأعراض:

غالبية المصابين بمرض الروماتويد، من متوسطي العمر بين ٢٠-٤٠ عاماً. وتبدأ الشكوى بأعراض عامة، مثل الشعور بالإرهاق، وفقد الشهية، والوزن، مع ارتفاع طفيف في الحرارة. ويبدأ الشعور بتيبس في المفصل، أو حدوث ألم عند الحركة، خصوصاً في الصباح. ثم يبدأ التيبس، والألم في التحسن مع الحركة أثناء النهار. وأهم ما يميز أعراض آلام المفاصل لمرضى الروماتويد، عن غيره من آلام المفاصل وأمراضها، هو حدوث الألم في الصباح، وتحسنه، بعد ذلك. وكذلك حدوث تورم، واحمرار، وسخونة، في المفصل. كما أن الإصابة تبدأ في معظم الحالات بالمفاصل الصغرى، مثل أصابع اليد، والرسغين، وتحدث في الناحية اليمنى، واليسرى معاً وبالدرجة نفسها. وتستمر إصابة المفاصل لمرضى الروماتويد، فتصل إلى مفاصل الفخذ والركبتين والقدمين والكتفين والكوع، بل قد تصل إلى الفقرات العنقية، أما باقي الفقرات فلا تتعرض للإصابة. وقد يمتد تأثير المرض إلى أجهزة أخرى في الجسم، مثل:

- ١- القلب
- ٢- الجهاز التنفسي
- ٣- الاوعية الدموية
- ٤- الجلد
- ٥- العين
- ٦- فقر الدم (الانيميا)