Lab -11

التفاعلات المناعية

ويقصد بها تفاعل الأجسام المضادة مع المستضدات الخاصة بها لتكوين المعقدات المناعية (complex Ag-Ab) ويسمى التفاعل حسب طبيعة المستضد.

المستضدات + الأجسام المضادة = معقد مناعي

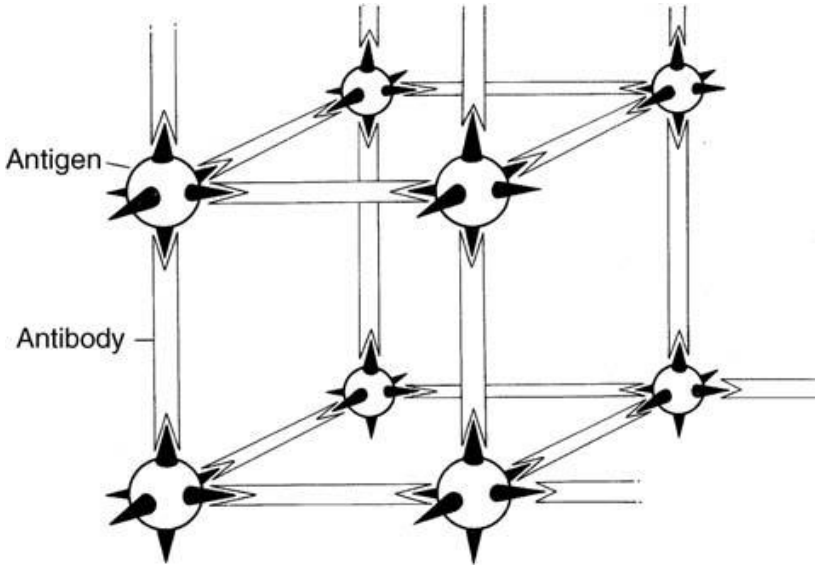
أنواع التفاعلات المناعية

المستضد الذائب (Soluble antigen) + الأجسام المضادة = راسب (Precipitate)

المستضد الحبيبي (Granulate antigen) + الأجسام المضادة =تلازن (Agglutination)

تفاعلات الترسيب Precipitation Reaction

هي التفاعلات التي يتفاعل فيها الجسم المضاد antibody مع المستضد الذائب soluble antigen في وجود التحلل الكهربائي electrolyte لإنتاج الراسب precipitate ، تعتمد تفاعلات الترسيب على تكوين المشابك lattices والتي تحدث بصورة أفضل عندما يكون الجسم المضاد والمستضد موجود في نسب مثالية.



تفاعلات المستضدات الذائبة مع الأجسام المضادة في الحالة السائلة

تعتمد تفاعلات الترسيب على اتحاد المستضدات الذائبة مع الأجسام المضادة لتكوين معقدات مناعية في الحالة السائلة وتفاعل الترسيب يتم على مرحلتين :

المرحلة الأولى : يتم التفاعل بصورة سريعة تستغرق ثواني أو دقائق لتكوين المعقدات غير المرئية (الذائبة).

المرحلة الثانية : يتم فيه حدوث تجمعات بحجوم مرئية وهذه المرحلة بطيئة تحتاج فترة ساعات إلى أيام ، تؤثر عدة عوامل في هذه المرحلة منها التركيز الكهربائي و الأس الهيدروجيني والحرارة وغيرها.

2- تفاعلات الترسيب الكمي :

الانتشار المناعي Immunodiffusion : هي احد التفاعلات المناعية والتي تشمل انتشار المستضدات و الأجسام المضادة باتجاه بعضها في وسط إل (agarose gel) وبعد حدوث الارتباط ما بين الجسم المضاد والمستضد الخاص به يحدث الترسيب .

تستخدم هذه الطريقة

1- لمعرفة كمية المواد المتفاعلة

2- تشخيص المستضدات الموجودة في المصل

3- إيجاد العلاقة بين المستضدات المختلفة

4- إيجاد علاقة بين نظام الجسم المضاد-المستضد

أهم العوامل المؤثرة على تفاعلات الانتشار المناعي Immunodiffusion

1- التركيب الكيميائي للمستضد chemical structure of antigen

2- معامل الانتشار Diffusion coefficient

3- تركيز الأجسام المضادة والمستضدات : عندما تكون تراكيز الأجسام المضادة والمستضدات مثالية ومتطابقة فان خطوط الترسيب سوف تكون أكثر وضوحا .

4- التركيز ألايوني أو PH (PH : 8.5 – 8.7)

5- درجة الحرارة Temperature : 37C°

6- لزوجة الوسط Gel viscosity

7- التداخل بين المادة (الوسط) والمتفاعلات (المستضدات والأجسام المضادة)

تقسم تفاعلات الانتشار المناعي اعتمادا على ما يأتي:-

1. عدد المتفاعلات المنتشرة
2. اتجاه الانتشار

واهم هذه الطرق هي :-

1- الانتشار المناعي ألشعاعي المنفرد Single Radial Immunodiffusion

مبدأ الاختبار :

يستخدم في هذا الاختبار وسط الانتشار المناعي المشع المنفرد Single Radial Immunodiffusion (SRID) ***للتقدير الكمي للكلوبيولينات المناعية IgG, IgM, IgA وبروتينات المتمم (C3, C4) والأجسام المضادة لفيروس الانفلونزا influenza virus و المستضدات في المصل.*** في هذا الاختبار يتم خلط الأجسام المضادة Monospesific antiserum مع وسط agarose gel (تخلط الاجسام المضادة مع الاكاروز) ويصب الوسط إلى أطباق بتري ، بعدها يتم عمل حفر wells داخل وسط agarose gel ليتم بعدها إضافة مصل الشخص المريض patients serum داخل تلك الحفر ، إذا كان المستضد موجود في المصل سوف يحدث انتشار شعاعي للمستضد من الحفرة ليكون حلقة ترسيب مناعي immunopreciptin ring على شكل هالات تتركز حول الحفرة والتي تظهر نتيجة التفاعل الحاصل بين الجسم المضاد والمستضد

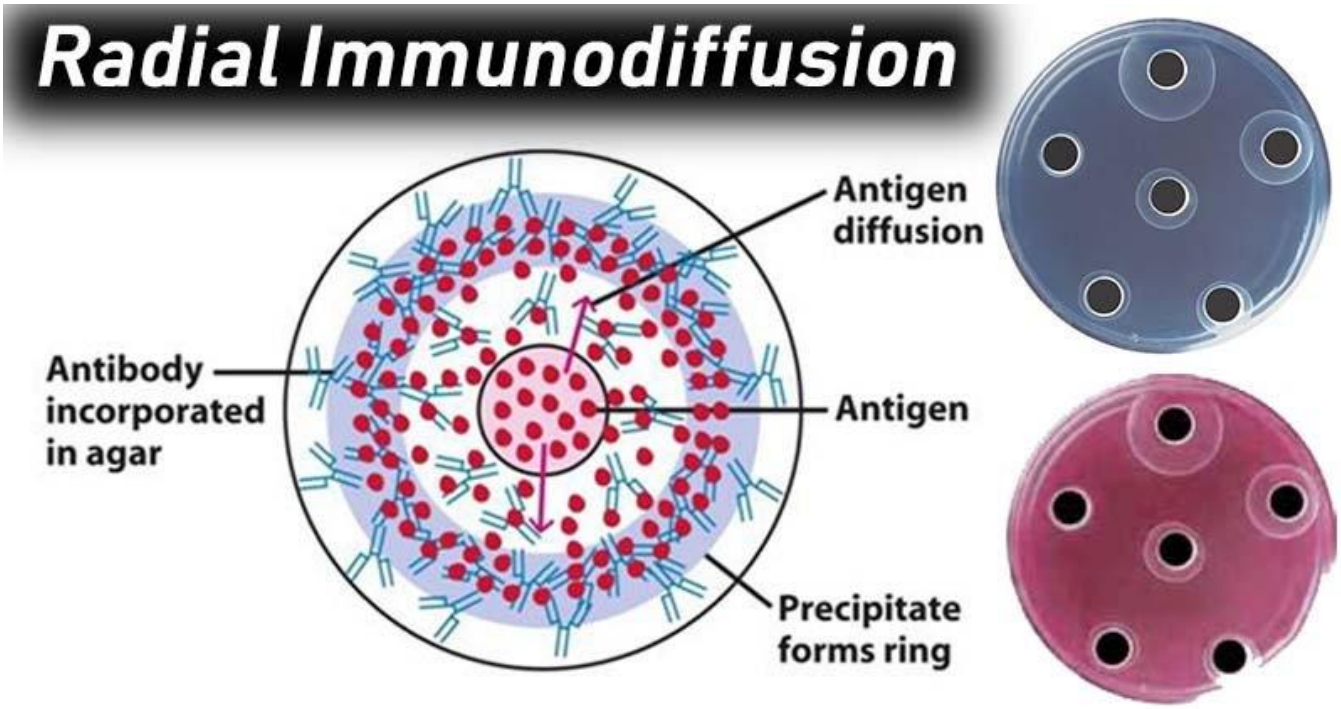
طريقة العمل : يترك الطبق plate في درجة حرارة الغرفة (23°C) لمدة (5) دقائق ثم يوضع (5ml) من مصل الشخص المريض إلى داخل الحفر

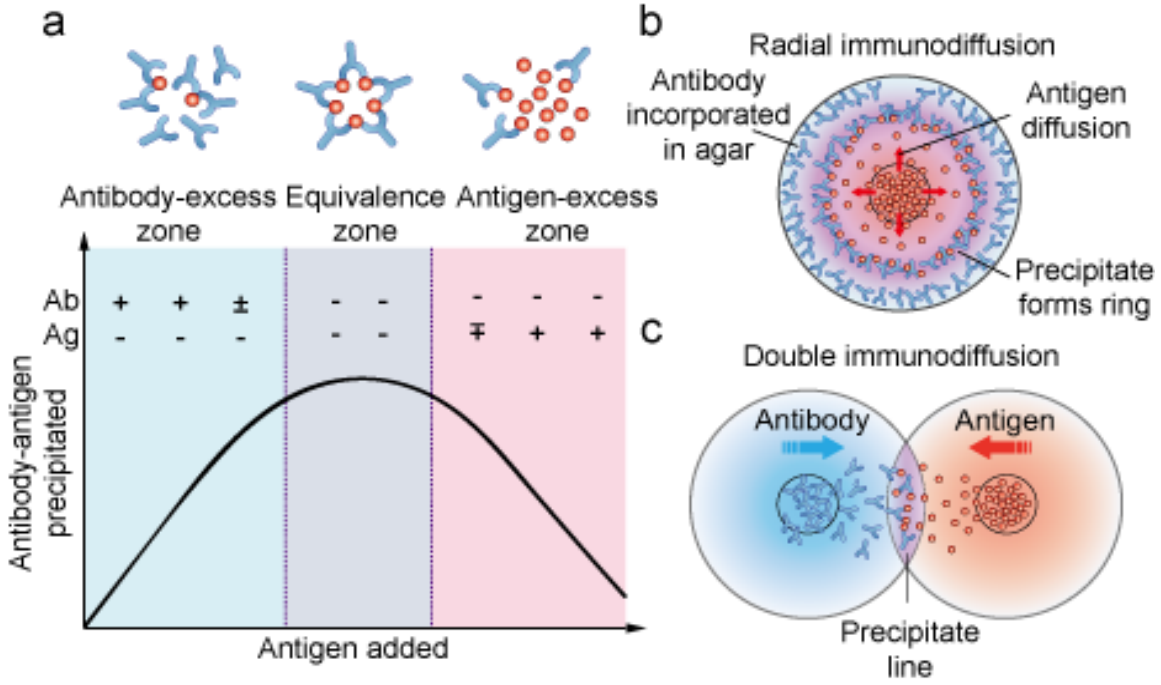
1- يحضن الطبق في درجة حرارة الغرفة لمدة (48) ساعة لأطباق plates (C3, C4, IgA, IgG) ولمدة (72) ساعة لأطباق plates (IgM)

2- يقاس قطر حلقة الترسيب المناعي immunopreciptin ring المتكون حول الحفر بواسطة مقياس بصري خاص

3- يتم حساب كمية الكلوبيولينات المناعية بواسطة جدول مجهز مع العدة التشخيصية .

ملاحظة : يفضل استخدام الاكاروز agarose gel على الاكار agar وذلك لان الاكار يمتلك شحنات سلبية قوية في حين الاكاروز agarose لا يمتلك على الأغلب أي شحنات ، لذلك التفاعل بين وسط والمتفاعلات (المستضدات والأجسام المضادة) يكون في حدة الأدنى.





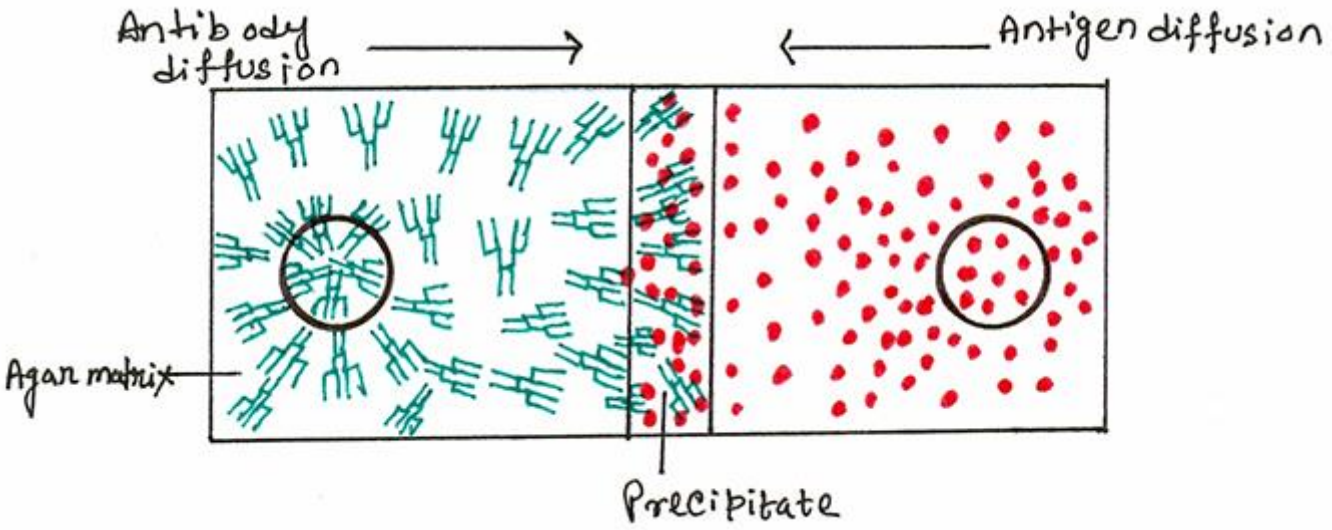
2- الانتشار المناعي ألشعاعي المزدوج Double Radial Immunodiffusion (Double diffusion)

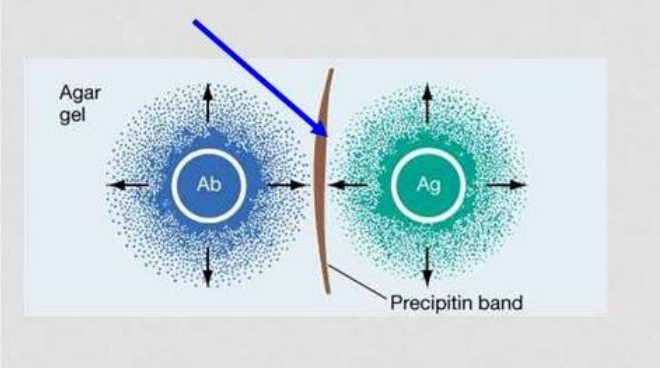
في هذا الاختبار يحدث انتشار لكلا المستضدات والأجسام المضادة وتعرف هذه الطريقة ب اختبار اخترلوني (Ouchterlony method) ، تستخدم هذه الطريقة ***لمعرفة النوع وتحديد درجة نقاوة المستضد (تحديد العلاقة بين المستضدات المتفاعلة مع الاجسام المضادة) من حيث كونها علاقة متشابهة أو غير متشابهة أو تشابه جزئي .***

في هذا الاختبار يصب الاكاروز Agar gel على شريحة أو في طبق بتري معقم ويتم عمل حفر متجاورة من بعضها البعض في الاكاروز ثم يتم وضع الاجسام المضادة في احد الحفر بينما تضاف المستضدات في الحفر الأخرى ، تنتشر لكل من الاجسام المضادة والمستضدات باتجاه بعضها البعض في الاكاروز شعاعيا لتكون معقد مناعي وحين الوصول إلى تراكيز مثالية ومتساوية لكل من الاجسام المضادة والمستضدات سوف يلاحظ خط ترسيب في الاكاروز Agar gel

التفاعلات المناعية في هذا الاختبار سوف تكون على ثلاث أنواع ، بمعنى أخر يظهر اختبار اخترلوني فيما إذا كانت المستضدات متطابقة identical أو متطابقة جزئيا partial identical أو غير متطابقة non identical

يستخدم هذا الاختبار لتشخيص فيروس الجدري smallpox

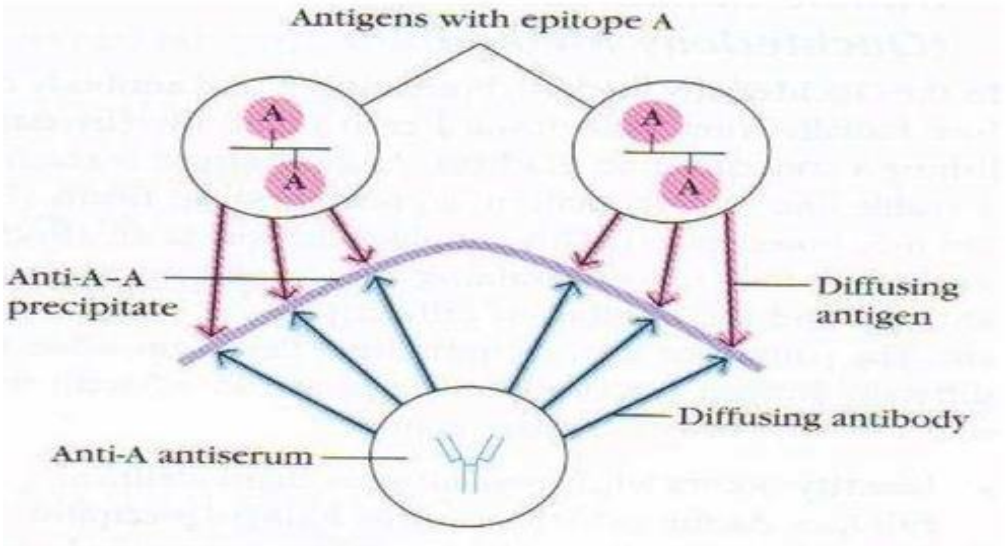




و هذه التفاعلات المناعية هي :

A. تفاعل متطابق Reaction Identify:

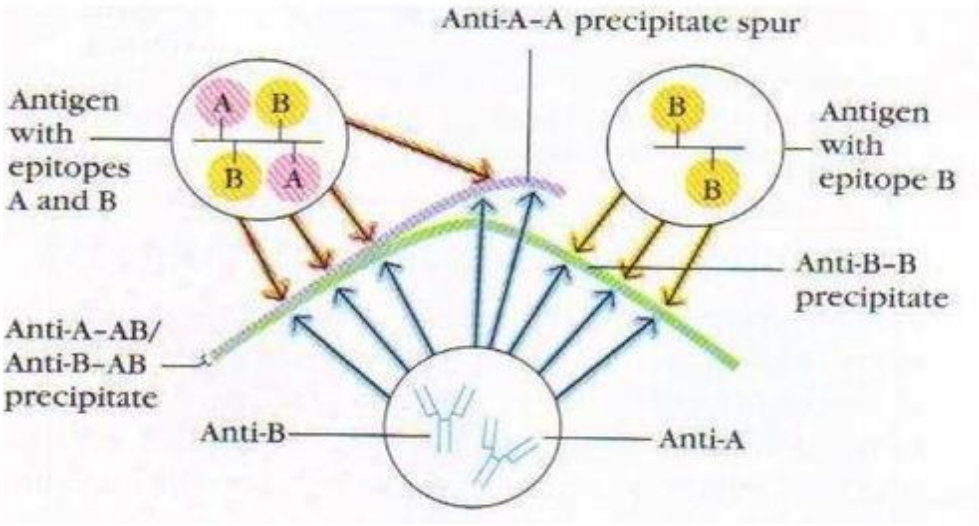
في حالة كون المستضدات متطابقة فان الاجسام المضادة تتفاعل مع كلا المستضدين لينتج عن هذا التفاعل خط ترسيبي ناعم ، بمعنى أخر (يحدث هذا التفاعل عندما يكون كل من المستضدين المتجاورين لهما محددات مستضدية متشابهة أو متطابقة identical epitopes لذلك تكون خطوط الترسيب ملتحمة لتكون بشكل "٨" أو "٧" على شكل منحني) **Pattern of identity - occurs when two antigens have identical epitopes**.



B. تفاعل متطابق جزئيا Reaction of Partial Identify:

في حالة كون المستضدات متطابقة جزئيا فان الأجسام المضادة تتفاعل مع احد المستضدين أكثر من الأخر ، بمعنى أخر (يحدث هذا التفاعل عندما يشترك كلا المستضدين بمحددات مستضدية epitopes متشابهة و احد هذين المستضدين يمتلك محددة مستضدية فريدة من نوعها او مختلفة unique epitope ولا توجد في المستضد الأخر لذلك تكون خطوط الترسيب بشكل "Y" على شكل منحني)

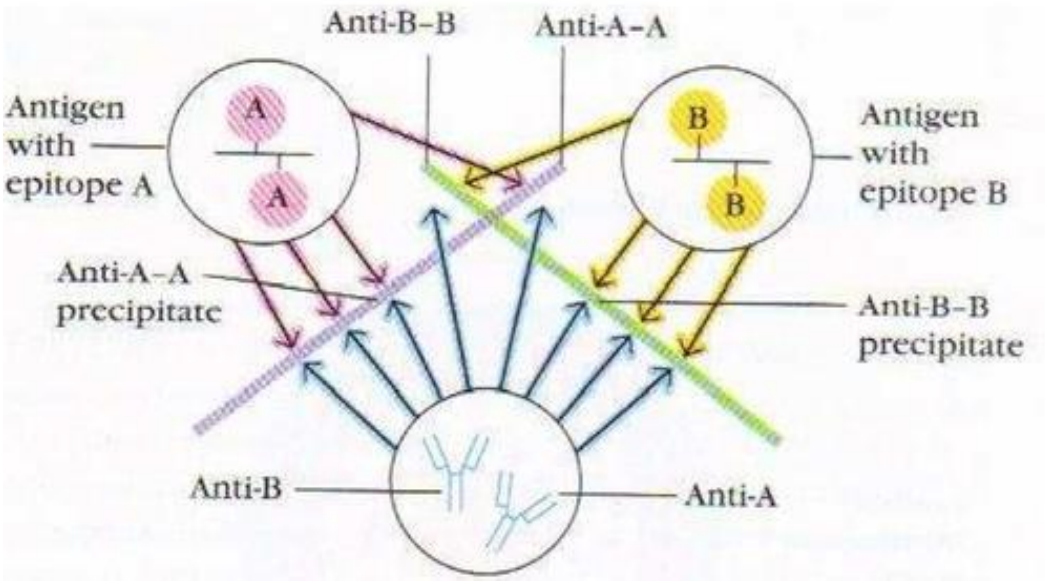
Pattern of partial identity - occurs when two antigens share the same epitopes and one has a unique epitope not shared by the other.

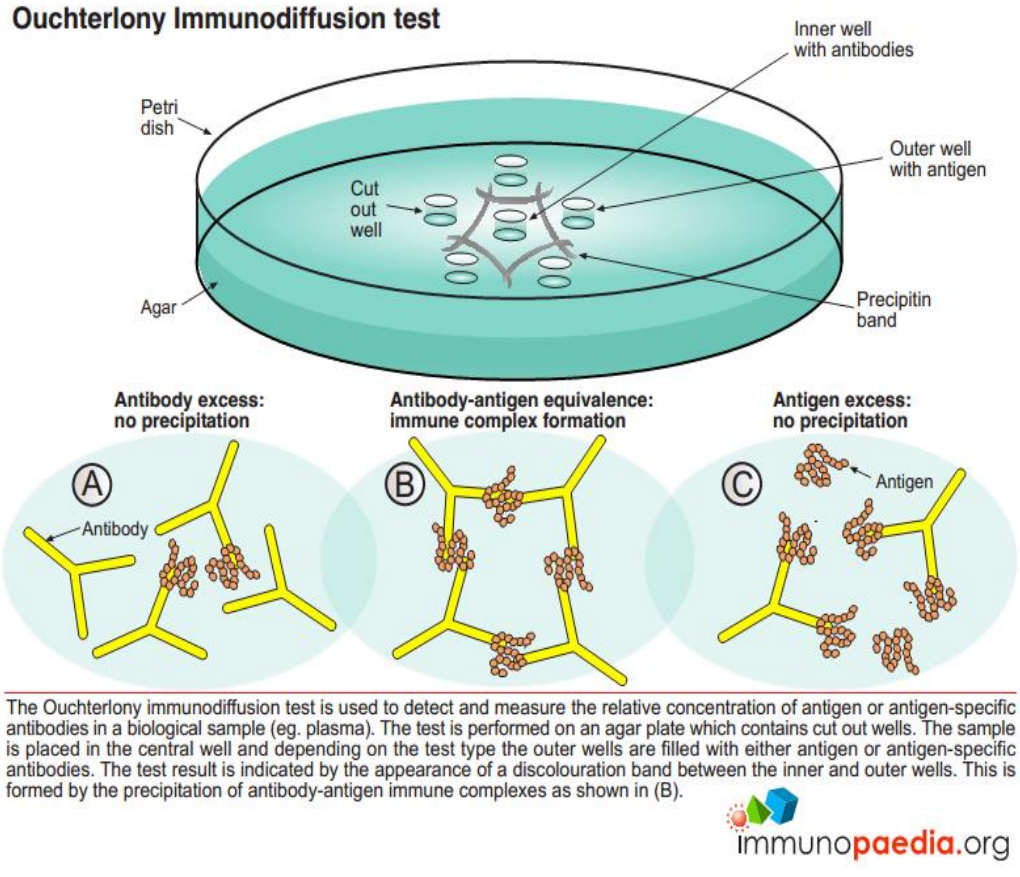


C. تفاعل غير متطابق Reaction of Non Identify

في حالة كون المستضدات غير متطابقة فان الأجسام المضادة لا تتفاعل مع المحددات المستضدية الموجودة في كلا المستضدين ، بمعنى أخر (يحدث هذا التفاعل عندما لا توجد علاقة تطابق أو تشابه كاملة بين المستضدين لذلك تكون خطوط الترسيب متقاطعة مع بعضها البعض بصورة كاملة وتكون بشكل بشكل "X" على شكل منحني)

Pattern of non-identity-occurs when the antigens are complete unrelated to one another.


Anti-B–B
Anti-A–A
Antigen with epitope A
A
A
B
B
Antigen with epitope B
Anti-A–A precipitate
Anti-B–B precipitate
Anti-B
Anti-A


Ouchterlony Immunodiffusion test
Inner well with antibodies
Petri dish
Outer well with antigen
Cut out well
Agar
Precipitin band
Antibody excess: no precipitation
Antibody-antigen equivalence: immune complex formation
Antigen excess: no precipitation
A
B
C
Antibody
Antigen
The Ouchterlony immunodiffusion test is used to detect and measure the relative concentration of antigen or antigen-specific antibodies in a biological sample (eg. plasma). The test is performed on an agar plate which contains cut out wells. The sample is placed in the central well and depending on the test type the outer wells are filled with either antigen or antigen-specific antibodies. The test result is indicated by the appearance of a discolouration band between the inner and outer wells. This is formed by the precipitation of antibody-antigen immune complexes as shown in (B).
immunopaedia.org