علم المصول Serology

يشير علم المصول الى استعمال ارتباط بين Antigen (Ag) و Antibody (Ab) في المختبر للأغراض التشخيصية. وقد اشتق اسم ال serology من استخدام الـ serum (وهو الجزء السائل من الدم والذي تتواجد فيه الاجسام المضادة Abs):

Antigen + Antibody ⇄ [Antigen – Antibody] complex

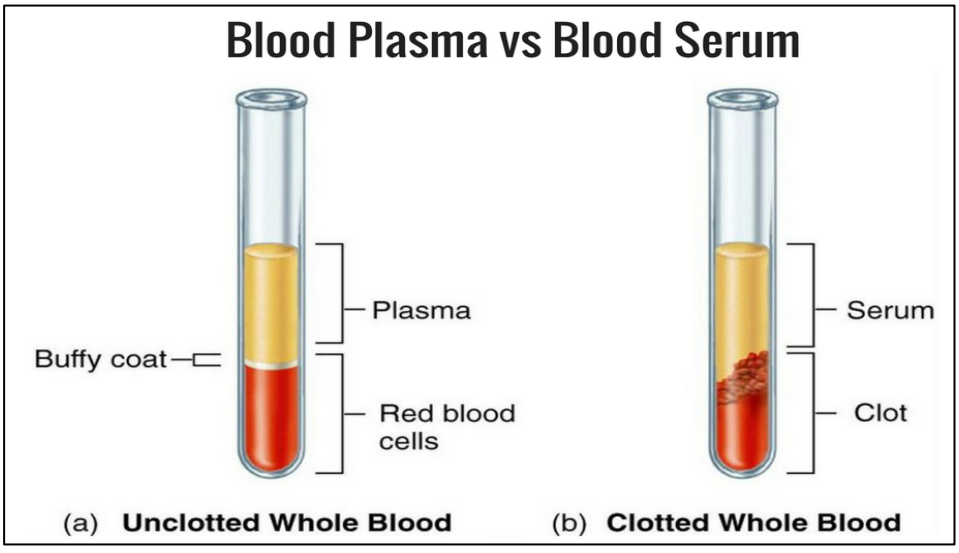
مقدمة تاريخية

ان اول تفاعل مصلي هو bacterial agglutination او تلازن البكتريا بواسطة مصل مضاد متخصص antiserum وقد وصف من قبل Durham and Gruber سنة 1896 حيث لاحظوا بان *Vibrio cholera* تتلازن بالمصل المضاد للكوليرا وكذلك عصيات التيفوئيد تتلازن بالمصل المضاد لها. وبعدها وفي نفس السنة وصف العالم Widal فحص التلازن لتشخيص حمى التيفوئيد بسبب *Salmonella typhi* وقد سمي الفحص باسم Widal test .

إضافة الى فحص التلازن Agglutination هناك فحص مصلي آخر تم اكتشافه و هو اختبار الترسيب Precipitation test والذي اصبح يستخدم في المجالات الطبية لغرض diagnostic microbiology . ثم توالت الفحوصات والاكتشافات السيرولوجية والفحوصات الاخرى الواحدة تلو الاخرى الى ان وصلت ماهي عليه في الوقت الحالي .

Mechanisms of Serological Reactions

للتعرف على الميكانيكية التي تتم بها التفاعلات السيرولوجية لابد اولا ان نتعرف على المصطلحات الأساسية في علم المصول وهي المصل serum والبلازما Plasma. حيث يعرف Serum على أنه الجزء السائل من الدم والذي يتكون بعد التخثر clotting ويمكن الحصول عليه بعد ترك الدم لفترة كي يتخثر (حوالي ساعة) ثم يعامل بجهاز الطرد المركزي وبسرعة 1000-1500 rpm لمدة 10 دقائق فيكون الراشح هو سائل اصفر اللون هو serum في حين أن plasma هو جزء السائل من الدم قبل التخثر ويتم الحصول عليه بحفظ الدم مع مادة مانعة للتخثر مثل EDTA ولهذا الغرض تستخدم انابيب ذات غطاء بلون بنفسجي وهو علامة على وجود مادة مانعة اللتخثر كما موضح **بالشكل رقم 1**.



شكل رقم 1. يوضح الفرق بين Serum وPlasma الدم.

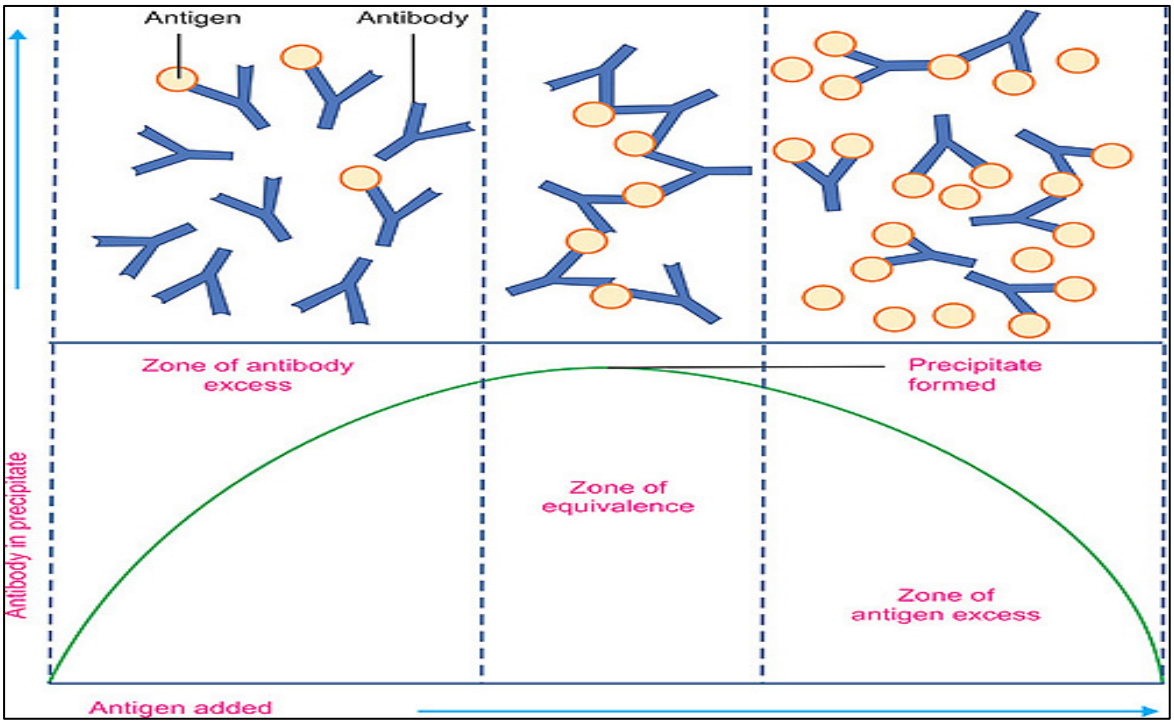
تحدث التفاعلات المصلية عندما يخلط المصل المضاد antisera مع Ag ويكون ذلك في طورين أو مرحلتين فخلال الطور الاول 1st phase يحدث فيه ارتباط المواد المتفاعلة combination of reactants ويتبع ذلك الطور الثاني 2nd phase والذي يحدث فيه التلازن agglutination .

ان الطور الاول يحدث بعد بضع دقائق من مزج Ag مع Ab وخلاله يحدث معظم التغييرات في الطاقة الحرة وذلك من خلال تكوين أواصر بين تلك المركبات ولا يتأثر بدرجة الحرارة كثيرا ولكن يتأثر بمعدل pH حيث يكون معدل pH لذلك النوع من التفاعلات يتراوح بين 8.4 – 6.5، و أن أي زيادة او نقصان عن هذا المعدل يحدث تثبيط للارتباط بين Ag -Ab . أما الطور الثاني من التفاعل فانه يحتاج الى وقت ويتضمن تغييرات قليلة في الطاقة الحرة.

أن التجمع لمكونات التفاعل خلال التفاعلات المصلية وخاصة Precipitation test تكون مرئية وتكون ما يسمى بالشبكة أو فرضية الشبكة للتفاعلات المصلية (Lattice Hypothesis) والتي تعتبر ضرورية لتفسير ظاهرة المنطقة (Zone Phenomenon) والتي تشير الى مدى الاختلاف بين تركيز Ab او antibody titration مقارنة مع تركيز Ag. اذا تكون هناك ثلاثة مناقة وكالتالي:

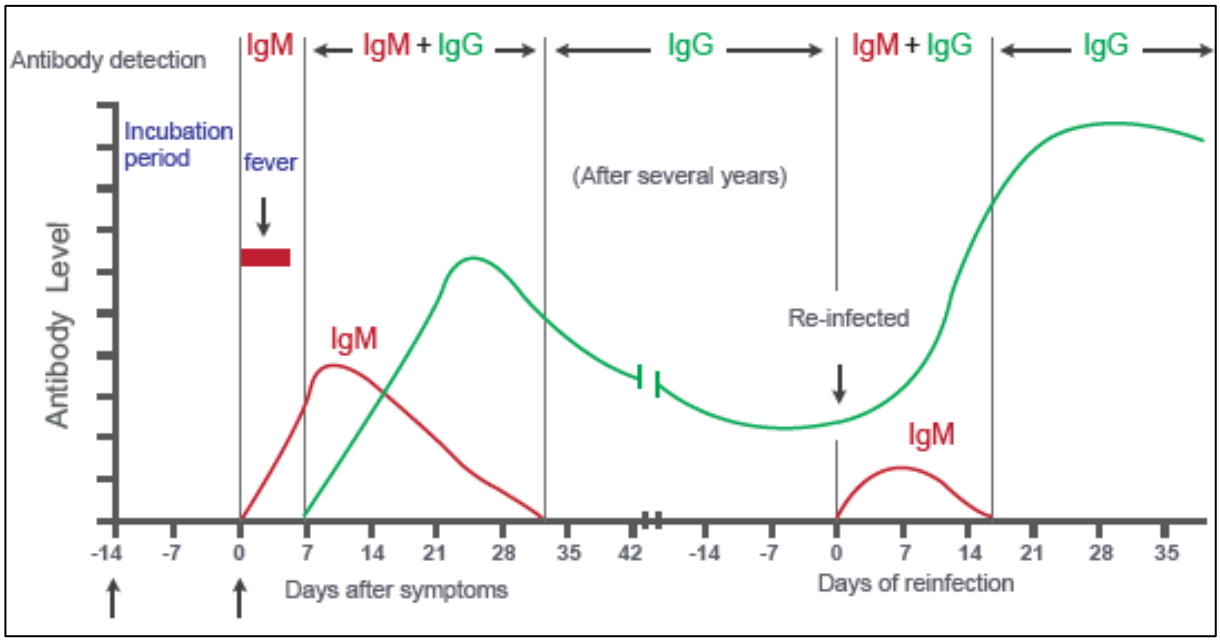
1. المنطقة الأولى وتسمى Prozone: حيث يكون تركيز Ab في تلك المنطقة أكبر من تركيز Ag وعليه سوف لا تتكون الشبكة Lattice.
2. المنطقة الثانية وتسمى Equivalence zone: حيث يكون تركيز Ab مساوي لتركيز Ag وبالتالي يحدث التفاعل المصلي ويتكون complex [Ag-Ab] عندها تتكون الشبكة Lattice ويظهر الترسيب لذلك المقعد بشكل مرئي وواضح.
3. المنطقة الثالثة وتسمى Post zone: حيث يكون تركيز Ag أكبر من تركيز Ab وعندها لا تتكون شبكة المعقد المناعي Lattice.

الشكل رقم 2 يوضح طبيعة المناطق حسب فرضية الشبكة Lattice في اختبار الترسيب.



شكل رقم 2. Precipitation curve وظاهرة المنطقة Zone Phenomenon.

من الجدير بالذكر انه خلال الإصابة المايكروبية يتم تحفيز الجهاز المناعي ومن ثم يتم انتاج Abs وخصوصا نوع IgM اذا يزداد تركيز انتاجه من قبل الخلايا البلازمية Plasma cells ليصل الى اعلى تركيز له بعد حوالي 10 – 7 أيام ثم يبدأ التركيز بالانخفاض ليزداد تركيز Ab المتخصص من نوع Ag ليستمر لفترة أطول وكما موضح **بالشكل رقم 3**. اذ يعتبر هذا النمط من انتاج Abs عاما الا أنه هناك اختلاف في ذلك النمط اعتمادا على نوع المستضد Ag وتركيزه.



شكل رقم 3. يوضح نمط انتاج Abs خصوصا IgM و IgG اثناء الإصابة المايكروبية.

Types of Serological Reactions

هناك نوعين من التفاعلات السيرولوجية وهي:

1. **التفاعلات المباشرة Direct** : يستخدم فيها Ab او مصل مضاد معلوم لغرض الكشف عن مستضد Ag مجهول مثل مستضدات المايكروبات المرضية.

2. **التفاعلات غير المباشرة Indirect** : يستخدم فيها Ag لممرض معلوم لغرض الكشف عن Ab او مصل غير معلوم (لان Ab تنتج كأستجابة مناعية لوجود Ag متخصص) حيث أن وجود Ab ضد ذلك Ag يدل على وجود إصابة بذلك الممرض كما هي في حالة تشخيص *Toxoplasma gondii*.

Production of Antisera Used in Serologic Reactions or Clinical Immunology

يتم تحضير antisera باحدى الطريقتين التاليتين:

1. **حقن الحيوانات المختبرية:**

وتتضمن حقن الحيوان بمستضدات معروفة ومتخصصة مثل سلالة متخصصة من البكتريا او الطفيليات ثم بعد فترة يسحب دم من الحيوان المحقون ويترك الدم لكي يتخثر . ويعتبر الجزء السائل الناتج من التخثر هو serum والذي يفترض أن يكون حاويا على الاضداد Abs والتي تكون عبارة عن خليط من Abs أو Polyclonal Abs الناتجة من B cells مختلفة النسيلة والمتخصصة ضد المستضد المحقون. الا أنه هناك بعض الملاحظات على انتاج Abs بتلك الطريقة ان حوالي اكثر من 90% من Abs في مصل الحيوانات ربما هي Abs متكونه في الحيوان بفعل تعرضه الى مستضدات بيئية أخرى اكثر من تلك المصنوعة ضد المستضد المحقون.

2. **Hybridoma cells**

يتم تحضير antisera باستخدام monoclonal antibody technique

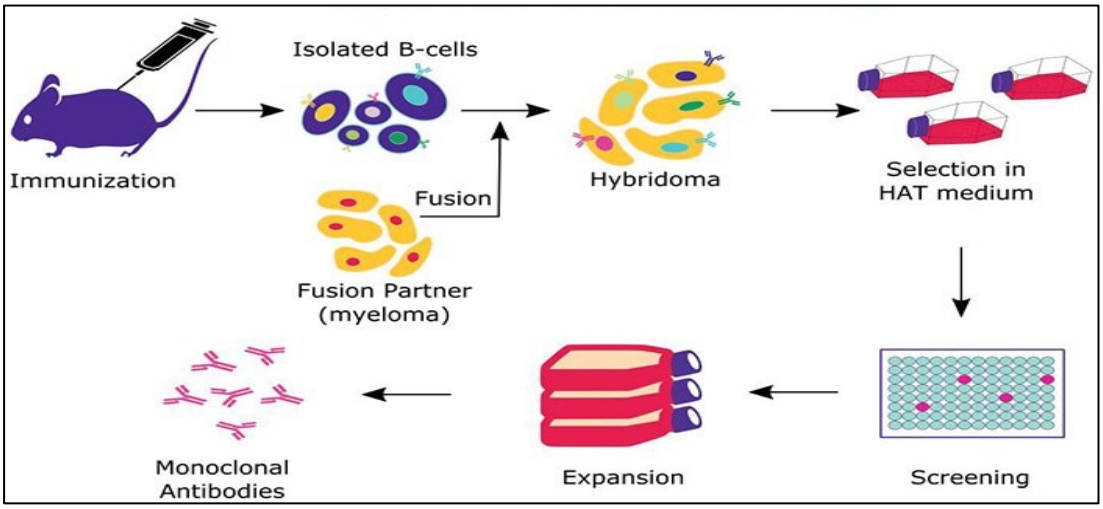
فالأضداد وحيدة النسيلة هي اضداد من نوع واحد مفرد ومتخصص كما في **الشكل رقم 4** وتتم هذا باتباع الخطوات التالية:

A. يحقن الحيوان بمستضد Ag معين لغرض تحضير Ab خاص ضده.

B. يزال الطحال للحيوان المحقون بعد فترة من الزمن حوالي أسبوعين (حيث ان الطحال يكون غني بالـ Plasma cells وكل واحدة منها تنتج نوع متخصص واحد فقط من Ab ضد Ag). تكون تلك الخلايا غير قادره على الانقسام والنمو خارج الجسم.

C. يتم مزج plasma cells مع myeloma cells (وذلك لغرض الاندماج الجيني بين الخليتين اذ ان خلايا myeloma تكون لها القابلية عن النمو والانقسام خارج الجسم الحي) ينتج عن هذا الاندماج الجيني خلايا تسمى hybridoma cells وهذه الخلايا تكون لها مواصفات الخليتين الابويتين حيث انها تنتج نوعا متخصصا من Ab وكذلك تنمو بسهولة في المزارع الخلوية cell lines خارج الجسم الحي.

يستخدم monoclonal antibody (MAb) بشكل كبير الان في مجال البحوث الطبية وفي التشخيص السيرولوجي كما اصبحت تستخدم سريريا في معالجة سرطانات محددة وغيرها من الامراض الاخرى .



شكل رقم 4. يوضح فكرة وطريقة انتاج Monoclonal Antibody (MAb) بطريقة Hybridoma Technology.