العلاقة بين فحصي الأدمصاص المناعي المرتبط بالأنزيم و تثبيط ألتلازن الدموي في قياس الاضداد النوعية للحصبة الالمانية

ليلى فؤاد علي وغنيمة صادق محمد
قسم علوم الحياة- كلية العلوم- جامعة بغداد - العراق

الخلاصة

تضمنت الدراسة 44 عينة دم لأشخاص ملقحين بلقاح MMR(حصبة ونكاف وحصبة المانية) منها 22 عينة كانت نتائج فحص تثبيط التلازن الدموي لها موجبة و 22 عينة كانت نتائج فحص تثبيط التلازن الدموي لها سالبة ، تم اختبار هاتين المجموعتين باختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالأنظيم (ELISA)، لمعرفة العلاقة بين الفحصين والحساسية والنوعية لفحص (ELISA) نسبة إلى فحص تثبيط التلازنالدموي بعد عملية التلقيح . وكان فحص الادمصاص المناعي المرتبط بالأنظيم test(ELISA) هو أكثر حساسية من فحص تثبيط التلازن الدموي test (HI) في قياس تركيز الأجسام المضادة النوعية للحصبة الألمانية ،وعليه فهو الأفضل في تقييم الاستجابة المناعية للقاح الحصبة الألمانية ،وهناك علاقة ايجابية بين فحصي الادمصاص المناعي المرتبط بالأنظيم وتثبيط التلازن الدموي حيث كانت قيمة(r = 0.585).

الكلمات المفتاحية:فحص الإدمصاص المناعي، تثبيط التلازن الدموي ، ألأضداد النوعية ،الحصبة اللمانية

The Relationship between ELISA and HI Tests for Determination the Antibodies of Rubbela

Layla Fouad Ali and Ghanima Sadik M.
Department of Biology, College of Science, University of Baghdad, Iraq

Accepted: 20 /9 /2011

Summary

The study includes (44) blood samples were vaccinated with MMR vaccine. The IgM antibodies of Rubbela Virus were measured by HI test, 22 samples were positive and 22 were negative. These samples were tested by Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay ELISA test to determine the relationship between them. The results showed that ELISA test was more sensitivities than Haemagglutination inhibition HI test in determination of rubella specific antibodies, so it is better than HI test in measuring the immune-status of individuals vaccinated with rubella vaccine and there was a positive relationship between ELISA test and HI test and was detected (r= 0.585).

Keywords: ELISA, HI, Rubbela virus, MMR vaccine.

المقدمـة

يصيب فيروس الحصبة الألمانية Rubella virus الأشخاص من كل الفئات العمرية ، ولكن تكمن خطورتـه عندمـا يصيب المرأة الحامل ، وبصورة خاصة في الأشهر الأولى من الحمل ، حيث تؤدي الإصابة بالفيروس خلال هذه الفترة إلى حـالات إجهـاض أو ولادة أطفـال مشـوهين . وعليـه يجـب اعطـاء اللقـاح الخـاص بهذا المرض ، واجراء اختبارات مصلية للفتيات في سن الزواج وقبل الحمل للتأكد من فعالية اللقاح وإذا كانت نتائج الفحوصات سلبية ، يجب في هذه الحالة أعطاء اللقاح لهن لتجنب خطر الإصابة بمرض الحصبة الألمانية أثناء الحمل كما أشارت الى ذلك منظمة الصحة العالمية (1).

حدث وبـاء بالحصبة الألمانية في الولايات المتحدة الأمريكية بين الأعوام 1962-1965 , نـتج عنـه 12,500,000 حالة من الإصابات بمرض الحصبـة الألمانيـة ، وقد أدت إلـى إصـابة 30,000 طفل ممن يعانـون من أعراض متلازمة الحصبة الألمانية الولادية، و 20,000 حالة وفاة في الأطفال حديثي الولادة (2).

في عام 1965م بدأت جهود العلماء تتجه نحو توفير لقاح فعال ضد فيروس الحصبة الألمانية، وعندما بدأ تقديم اللقاح اختفت الأوبئة في أكثر بلدان العالم ،مثلا في الولايات المتحدة الأمريكية منذ ذلك الحـين كانت هنـاك 120 حالة إصـابة بمتلازمة الحصبة الألمانية الولادية ، وكان هنـاك انخفاض بأكثر من 99%من الحالات في كل سنة عن التي تسبقها (3).

الهدف من هذا البحث هو تعيين تركيز الأضداد النوعية للحصبة الألمانية باستخدام كل من تقنية تثبيط التلازن وتقنية الادمصاص المناعي المرتبط بالأنظيم وأيجاد العلاقة بين الفحصين ومعرفة أيهما أكثر حساسية .

المواد وطرق العمل

تضمنت الدراسة 44 عينة دم لأطفال بعمر (12-15) شهر ملقحين بعد أسبوعين من تلقيحهم بلقاح الحصبة الألمانية . أما مجموعة السيطرة فتضمنت 12 عينات دم لأطفال و10 عينات لإناث بعمر (12-15) سنة لم يلقحوا بلقاح الحصبة الألمانية . سحبت عينات الدم عن طريق الوريد بأستخدام محقنة طبية سعة 5 مليلتر. ثم وضع الدم في أنبوبة خالية

من أي مادة حافظة وحضنت في 37 درجة مئوية لمدة ربع ساعة لإكمال عملية التجلط ثم وضعت في الثلاجة لمدة ساعتين للحصول على المصل ونبذت بجهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة / دقيقة لمدة عشر دقائق ،ثم جمع المصل ووضع في أنبوبة أخرى معقمة ، وكتب عليها أسم الشخص و رقمه التسلسلي وحفظ بدرجة (20-) درجة مئوية إلى حين أجراء الاختبارات (4)

اختبار تثبيط التلازن الدموي : Haemagglutination Inhibition Test (HI)

استخدمت هذه الطريقة لقياس تركيز الأجسام المضادة والمثبطة للتلازن الدموي الخاصة بالحصبة الألمانية ، واتبعت الطريقة التي وردت في Manual of laboratory methods (WHO,1997) واستخدمت عدة الفحص المنتجة من قبل مختبرات (Bio-Merieux) (5).

فحص الادصاص المناعي المرتبط بالانظيم ELISA :

أستعمل فحص الادصاص المناعي المرتبط بالانظيم للتحري عن الاجسام المضادة النوعية من الصنف IgM المتكونة ضد فيروس الحصبة الألمانية في عينات المصل ، واتبعت طريقة العمل على وفق تعليمات الشركة المنتجة لعدة الفحص (BioKit)(2) .

النتائج و المناقشة

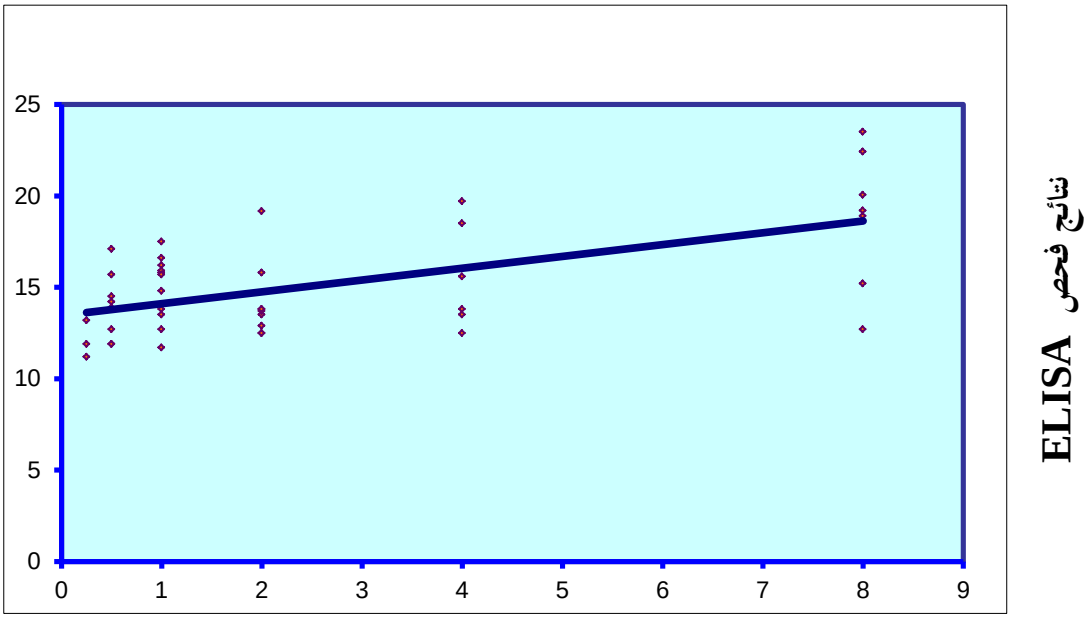
العلاقة بين اختبار ELIZA واختبار HI :

بعد اختبار 22عينة مصل كانت نتائج اختبار تثبيط التلازن الدموي لها سالبة، و22 عينة مصل أخرى كانت نتائج اختبار تثبيط التلازن الدموي لها موجبة ،هذه العينات اختبرت مرة أخرى بفحص ELISA ،فكانت نتائج فحص ELISA للمجموعة الأولى هي 21 عينة كانت نتائجها موجبة، وعينة واحدة نتيجة الفحص لها سالبة .أما المجموعة الثانية والتي كانت نتائج فحص تثبيط التلازن الدموي لها سالبة فكانت 19 عينة نتيجة فحص ELISA لها سالبة ،و3عينات نتيجة فحص ELISA لها موجبة وكما هو موضح في الجدول التالي :

جدول 1يبين نتائج فحص ELISA و فحص HI :

		فحص HI		
فحص ELISA	النتائج	موجبة	سالبة	المجموع
	موجبة	21	3	24
	سالبة	1	19	20
	المجموع	22	22	44

أظهرت النتائج إن حساسية فحص ELISA 95.4% والخصوصية 86.3% بالنسبة لفحص تثبيط التلازن الدموي، أي أن فحص ELISA هو الأكثر حساسية و الأكثر خصوصية.



شكل3: العلاقة بين فحصي تثبيط التلازن الدموي و ELISA

يرجع ارتفاع تركيز الأجسام المضادة المثبطة للتلازن الدموي بعد إعطاء لقاح الحصبة الألمانية إلى إن لقاح الحصبة الألمانية من الممنعات القوية المعتمدة في استجابتها على الخلايا اللمفاوية التائية (T- dependent antigen) ،ومحفزة لمناعة طويلة الأمد حيث يتم أخذه من قبل الخلايا المقدمة للمستضد (APC) وهضمه ثم ربطه مع الصنف الثاني لمعقد التوافق النسجي الكبير (MHCII) لتقديمه إلى الخلايا اللمفاوية (6) . ان إعطاء اللقاح يؤدي إلى تحفيز كل من نوعي الخلايا اللمفاوية التائية المساعدة (Th1) و(Th2) وإفراز العديد من الحركيات الخلوية (cytokines) من أهمها -(INF γ) وانترلوكين 4و5 (IL-4)(IL-5) (7). تعمل منتجات الخلايا اللمفاوية التائية على تحفيز الخلايا البائية للتمايز إلى خلايا بلازما فارزة للأضداد النوعية للحصبة الألمانية فيزداد تركيز الأجسام المضادة المثبطة للتلازن الدموي (8). وهذا يتوافق مع نتائج هذه الدراسة .

كذلك تتفق مع ما جاء في دراسة تشير إلى إن تركيز الأجسام المضادة المثبطة للتلازن الدموي يزداد بعد تلقيح الأشخاص الأصحاء بلقاح الحصبة الألمانية وبفروق معنوية عالية (P<0.001.) (9). هناك دراسة أخرى أظهرت إن تركيز الأجسام المضادة المثبطة للتلازن الدموي يزداد بعد إعطاء اللقاح إلى الأشخاص غير الملقحين وغير المصابين بالحصبة الألمانية في عمر 12 سنة (10). تشير دراسات أخرى الى إن الأضداد النوعية للحصبة الألمانية المثبطة للتلازن الدموي تزداد بعد إعطاء اللقاح وتبقى لفترة طويلة في مصل الأشخاص الملقحين (11). كذلك أشارت إلى ازدياد تركيز الأجسام المضادة المثبطة للتلازن الدموي بعد إعطاء لقاح الحصبة الألمانية و إن بقاء الأضداد في مصول 79 % من الأشخاص الملقحين تبقى لأكثر من 10 سنوات بعد عملية التلقيح (12)

يعد الكلوبيولين المناعي صنف M (IgM) الصنف السائد في الاستجابة المناعية الأولية (Primary immune response) ويظهر بكميات كبيرة بعد التلقيح بلقاح الحصبة الألمانية، وهو أول الأصناف التي تظهر بعد عملية التلقيح وارتفاعه يدل على التعرض الحديث للمستضد . إن إعطاء لقاح الحصبة الألمانية يؤدي إلى إثارة استجابة الخلايا اللمفاوية التائية وإنتاجها للحركيات الخلوية التي تعمل على تحفيز الخلايا البائية للتمايز إلى خلايا بلازما فارزة الكلوبولينات الممنعة . وهذا ما يفسر زيادة تركيز الضد النوعي للحصبة الألمانية IgM بعد عملية التلقيح(13) .

إن قيم تراكيز الأجسام المضادة المستحصل عليها من فحص ELISA وفحص تثبيط التلازن الدموي توضح أن هناك علاقة ايجابية بينهما إذ كانت قيمة(r =0.585) وقيمة (t = 4.674) .

ولكن هذه النتائج لا تتفق مع دراسة أجريت من قبل(14) ، إذ أظهرت نتائج تلك الدراسة أن فحص التثبيط الدموي هو أكثر حساسية من فحص ELISA في تقييم الاستجابة المناعية للقاح الحصبة الألمانية ،إن السبب في ذلك يعود إلى استخدامهم لكريات الدم الحمر لخنزير غينيا وهي الأكثر حساسية من غيرها للتلازن مع مستضدات فيروس الحصبة الألمانية إذ إن استخدامها في فحص تثبيط التلازن الدموي يعطي نتائج موجبة بوجود تراكيز قليلة من الأجسام المضادة النوعية للحصبة الألمانية لا تعطيها هذه التراكيز باستخدام أنواع أخرى من كريات الدم الحمر (15) .

هذه النتائج تتفق مع دراسة أجريت لقياس الأجسام المضادة للحصبة الألمانية أشارت إلى علاقة موجبة قوية بين فحصي ELISA وتثبيط التلازن الدموي حيث أظهرت نتائج تلك الدراسة والتي شملت 825 عينة مصل إن قيمة (r=0.94) (16) . وكذلك توافق بين الفحصين بنسبة 98.6% (17) .

المصـــــادر

1. WHO. (2005) .Measles mumps & rubella vaccine .WHO/EPI .Rev. 1.
2. Heath, K.; Leon, W.; Theo, K. and Michaela, R. (2004). Victorian infectious disease reference laboratory. Interruption rubella virus transmission in Australia may require vaccination of adult males: evidence from Victorian sero survey .CDI., 28; 1:69-73.
3. Kaplan, KM.; Cochi, SL.; Edmond, J. and Preblud, SR. (1990). A profile of mothers giving birth to infants with congenital rubella syndrome. Am. J. Dis. Child., 144:118-123.
4. Reichler, M.; Adnan, A.; Soad, K.; Azmi, M.;James, P.;Samir, F. ; Haidar, O.; Rafi, A. and Harry, F. (1997). Outbreak of paralytic Poliomyelitis in a highly immunized population in Jordon. J. Inf. Dis., 175 (l): 62-70 .
5. Green, KY. and Dorssett, PH.(1986). Rubella virus antigens localization of epitomes involved in haemagglutination and neutralization by using monoclonal antibodies. J. Virology, 57(3):893-898.
6. .Cooper, P.; Espinel, I.; Paredes, W.; Guderion, R. and Nutman, T. (1998). Imparied tetanus spesific cellular and humeral responses following tetanus vaccination in human onchocerciasis. . J. Inf. Dis., 178:1133-1138.
7. Barrios, C.; Brawand, P.; Brand, C.; Lambert, P. and Siegirt, C.(1996). Neonatal and early life immune response to various forms of vaccine antigens qualitively differ from adult response. Eur. I. Immunology, 26:1489-1496.

8. Wibel, R. (1980). Clinical and laboratory studies of live attenuated RA 27/3 and HPV 77-DE rubella virus vaccine (40931). Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine, 165:44-49.
9. Elena, B.; Paul, B.; Philip, R. and Cooper, LZ. (1979). Impaired cell-mediated immune response in patients with congenital rubella: Correlation with gestat- ional age at time of infection. Pediatrics, l64 (5):620-626.
10. Leif, GE. and Margareta BB. (2001). Immunogenicity and reactogenicity of a new measles, mumps and rubella vaccine when admistrated as a second dose at 12Yof age. Scandinavian J. Infect. Dis., 7 (1):545-549.
11. Stecee, RS.; Talley, MS.; Skeels, MR. and Lanier. GA. (1985). Compression of enzyme-linked immune sorbent assay, haemagglutination inhibition and passive latex agglutination for determination of rubella immune status. J. Clin. Microbiol., 21:140-142
12. Patricia, C.; Alejandra, L. and Sergio, M. (2000). Evaluation of antibodies against rubella virus. Clin. Did. Immunol., 4: 493-495.
13. Alan, H. (2002). Report of a meeting on preventing congenital rubella syndrome: immunization strategies, surveillance needs, Geneva, 12-14 January .this document is available on the internet.
14. Ghalib, R. (1992). Diagnosis of congenital rubella infection. M.Sc. Thesis. Al-Mustansirya University College of Medicine.
15. Jawetz, E. Melinck, JK. and Adelberg, EA. (1998). Rubella. In review of Medical Microbiology. 21st Ed . Lang. Med. Publication, PP: 523-526.
16. Vejtorp, M. (1978). Enzyme linked immunosorbent assay for determination of rubella IgG antibodies .Acta Pathol. Microbial. Scand, 86:387-392.
17. Zartarianet, MV.; Fridley, G.; Peterson, EM. and DeLa, LM. (1981). Detection of rubella antibodies by haemagglutination inhibition, indirect fluorescent antibody test and enzyme – linked immunosorbant assay. J. Clin. Microbial., 14:640-645.
18. Laura, Z. and Susan, R. (2002). Rubella .VPD Surveillance Manual , 3rd Ed. Chapter 11, Rubella, Pp:1-11.
19. Forrest, JM.; Burgess, MA. and Donovan, TA. (2003) congenital rubella in Australia. Common Disease, 27:533-536.