جامعة الفيوم
Fayoum University
قسم الألبان
كلية الزراعة

إستخدام الطرق المناعية للكشف عن المبيدات في اللبن

رسالة الدكتوراه (جامعة سالفورد بإنجلترا –المملكة المتحدة)
عزة محمود أحمد إبراهيم
تحت إشراف: Dr. C. J. Smith and Dr. R. Bisby

الملخص العربي

إن المفهوم الأساسي لتقنية ELISA enzyme-linked immunosorbent assays، هو إستخدام مزيج من الطور الصلب solid phase والكواشف المناعية المرتبطة بالإنزيم لمراقبة التفاعلات المناعية دون تدخل من الجزيئات الأخرى. في هذه الرسالة تم إجراء محاولة لتقييم فائدة تقنية ELISA في الكشف عن المبيدات.

كان الهدف من هذه الرسالة هو:

تطوير ELISA للكشف عن مبيدات الآفات الألدرين/الديلدرين المبنية على أساس الأجسام المضادة (polyclonal antibody) و ELISA للكشف عن إيثيل باراثيون على أساس الأجسام المضادة (monoclonal antibody) .

أوضحت الرسالة المفاهيم النظرية والمتطلبات العملية التي تمكن من تطوير أي من الاختبارات لكل نوع antigen. يتضمن هذا التطوير ليس فقط فحص طرق ELISA المختلفة ولكن أيضًا إنتاج وتوصيف وعزل الأجسام المضادةpolyclonal monoclonal antibodies، والتقييم للطرق المستخدمة وتقييم النتائج للطرق التي تم تطويرها.

١ ـ تطوير ELISA للكتشف الألدرين الدايلدرين على أساس الأجسم المضادة polyclonal antibody:

تم إنتاج الأجسام المضادة polyclonal antibody ضد الألدرين/الديلدرين بإستخدام hapten-protein conjugate والذي تم استخدامه كـ immunogen بحيث يكون محبذ للمناعة. لم تكن الأجسام المضادة حساسة بدرجة كافية ليتم إستخدامها كأساس لـ ELISA. تم تحسين الحساسية عن طريق إزالة الأجسام المضادة لل bovine serum albumin عن طريق affinity chromatography. تم إستخدام المصل المنقى كأساس لأنظمة ELISA لتحقيق أقصى قدر من الكفاءة.

دراسة إمكانية استخدام ELISA للكشف عن الألدرين/الديلدرين في اللبن بإستخدام الطريقة الغير تنافسية non-competitive assay.

لقد ثبت أن محتوى اللبن من الدهون يؤثر بشكل كبير على حدوث التفاعل بين antigen و الantibody

التجارب أشارت أن التفاعل مع المركبات القريبة في تركيبها لألدرين/الديلدرين إلى أن الجسم المضاد antibody يتعرف على شكل الجزيء (للتفاعل) بدلاً من أي قوى جذب أخرى.

تضمن جزء آخر من الدراسة تطبيق ELISA لتحديد ما إذا كان قادرًا على اكتشاف المبيد في اللبن من أنواع مختلفة ، تم جمع حليب الجاموس والأبقار والأغنام والماعز والحمير من مدن مختلفة في مصر. تم تحضير المنحنيات القياسية لكل نوع من أنواع اللبن بإستخدام competitive ELISA وأختبرت العينات للألدرين/الديلدرين. تم الحصول على مستوى المبيدات من المنحنى القياسي الذي تم عمله لكل نوع من أنواع اللبن. تم تطبيق الإختبار أيضًا في نظام عالي البروتين ، أي البيض ، وأثبت أنه قادر على إكتشاف المبيد عند مستويات منخفضة جدًا.

٢ - تطوير ELISA للكشف عن إيثيل باراثيون على أساس الأجسام المضادة monoclonal antibody

تم إنتاج الأجسام المضادة ضد إيثيل باراثيون. لم تكن الاجسام المضادة التي تم الحصول عليها حساسة بدرجة كافية لإستخدامها كأساس أجسام مضادة لإيثيل الباراثيون

تم إستخدام تقنية لعزل خلايا معينة منتجة للأجسام المضادة في المختبرSpecific fusion technique ، تم النجاح في عزل إستنساخ هجين واحد أنتج أجسام مضادة أحادية monoclonal antibody حساسة ومحددة. تم إستخدام الأجسام المضادة لتطوير ELISA التي تم تحسينها لتحقيق أقصى قدر من الكفاءة. كانت طريقة ال ELISA قادرًة على إكتشاف إيثيل الباراثيون بتركيزات بيكومول.

تم إجراء مجموعة من التجارب للتعرف على طريقة التفاعل المتبادل بإستخدام مركبات لها بنية كيميائية مماثلة لإيثيل باراثيون. ويبدو أن هذا الجسم المضاد يتفاعل مع الجانب الفوسفور العطري من الجزيء بدلاً من جزء أوكسي ألكيل الشائع في جميع مبيدات الآفات ذات الصلة.

تم فحص إمكانية إستخدام هذا الإختبار للكشف عن مستويات الباراثيون في اللبن بإستخدام طرق تنافسية غير مباشرة. تشير النتائج إلى أنه يمكن إستخدامها بشكل جيد في اللبن كما هو الحال في الماء.

ومن المأمول أن تكون الطرق التي تم تطويرها ناجحة بما يكفي للسماح بإنتاجها على نطاق تجاري. وبالتالي يمكن إستخدامها كطرق سريعة وبسيطة للكشف عن هذين المبيدين.

رئيس مجلس قسم الألبان

أ.م .د. خالد عبد الحكم

عميد الكلية

أ.د. محمود علي عبد الفتاح