شماره پایان‌نامه ۲۵۳۵

دانشگاه تهـــــران

دانشکده داروســـازی

علامت دانشکـده

برای دریافت درجه دکتری از دانشگاه تهـــران

موضوع

مقایسه روش‌های سرونوترالیزسیون وتـــوقف هماگلوتیناسیون در عیارسنجی سرم ضد سرخـــک

نگارش

مریم میرشمســـــی

سال تحصیلی ۲۵۳۵ـ۲۵۳۶

۱۰۴۶۵

شماره پایان‌نامه ۲۵۳۵

دانشگاه تهـــران

دانشکده داروســازی

پایان‌نامـــه

برای دریافت درجه دکتری از دانشگاه تهـــران

موضوع:

مقایسه روش‌های سرونوترالیزسیون وتـــــوقف هماگلوتیناسیون در عیارسنجی سرم ضـــــد سرخک

استاد راهنما: جناب آقای دکتر غلامرضا نظری

استاد و رئیس گروه میکروبشناسی و ایمنی شناسی

دانشکده پزشکی ــ دانشگاه تهران

نگارش: مریم میرشمســـــــی

سال تحصیلی ۲۵۳۵ــ۲۵۳۶

۱۰۴۶۰

تقدیم به :

ـ جناب آقای دکتر شمس الدین مفیدی قائم مقام رئیس دانشگاه و معاون امور پزشکی دانشگاه تهران که از الطاف و عنایات ایشان در امور تحصیلی همواره برخوردار بوده ام .

ـ جناب آقای دکتر لاله زاری ریاست محترم دانشکده داروسازی دانشگاه تهران .

ـ استادان عالیقدر دانشکده داروسازی دانشگاه تهران

ـ جناب آقای دکتر غلامرضا نظری رئیس گروه و استاد میکروبشناسی و ایمنی شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه تهران که با راهنمائیها و ارشادات ایشان موضوع این پایان نامه انتخاب و با سرپرستی معظم له به پایان رسید .

ـ اعضاء محترم ژوری این رساله جناب آقای دکتر حسن میرد امادی و جناب آقای دکتر سیروس یزدانی استادان ممتاز و عالیقدر دانشکده پزشکی و داروسازی دانشگاه تهران .

تقدیم به :

ـ پدر و مادر عزیزم

که با همه وجود مدیون آنها هستم

ـ به خواهران مهربانم

بخاطر محبت ها و عواطف بی پایان آنها

ـ به همسر مهربان و دختران دلبندم سپیده و یاسمن

که با بردباری مرا در اتمام تحصیلات دانشگاهی یاری نمودند

((فهرست مطالـــب))

-(۱)-

عنـــوان	شماره صفحه
روش ساده تهیه سرم بدون خونگیری از سیاهرگ	۱
روش تهیه سرم از نوک انگشت	۱
حذف مواد غیر اختصاصی از سرم	۲
خنثی نمودن ویروسها با پادتن	۲
اثر متقابل ویروس خنثی شده و یاخته	۳
توجیه عینی خنثی شدن ویروس بوسیله پادتن مربوطه	٤
پاره‌ای از خصوصیات واکنش پادگن ـ پادتن	۷
طبیعت پادتن‌های خنثی کننده	۸
پادگن‌های ویروسی	۹
پادتن‌های خنثی کننده در عفونت‌های ویروسی	۱۰
جمع شدن گویچه‌های قرمز بوسیله ویروس سرخک	۱۳
روش هماگلوتیناسیون	۱٤
تولید هماگلوتینین در کشت یاخته	۱۵
رابطه بین هماگلوتینین و گویچه‌های قرمز	۱٦
اثر عوامل مختلف در هماگلوتینین	۱۷
روش تهیه هماگلوتینین در انستیتو رازی	۲۱
روش انجام واکنش خنثی سازی ویروس با سرم در لوله	۲۳
روش انجام آزمایشی توقف هماگلوتیناسیون ویروس سرخک در حضور سرم	۲٤
روش میکروتکنیک در سرم شناسی	۲٤

عنوان	شماره صفحه
روش انجام میکرونوترالیزسیون	۲۵
روش انجام توقف هماگلوتیناسیون با میکرومتد	۲۷
بخش مطالعاتی : مایه کوبی کودکان	۲۸
تهیه سرم برای عیارسنجی	۲۸
روش خنثی نمودن سرم با ویروس	۲۹
روش هماگلوتیناسیون	۳۰
نتیجه	۳۱
خلاصه فارسی	۳۲
خلاصه انگلیسی	۳۳
منابع ومأخذ	۳۴

روش ساده تهیه سرم بدون خونگیری از سیاه رگ

یکی از مشکلات عمده بررسی سطح ومیزان ایمنی بدنبال مایه‌کوبی های فردی یا دسته جمعی تهیه مقداری از سرم با گرفتن چند سانتیمترمکعب خون است بویژه در کودکان کمتر از دو سال خون گرفتن از سیاهرگ غالبا" غیرعملی و با مخالفت خانواده آنها مواجه میشود • برای مقابله با این مشکل سالها است روشی ساده وعملی ابتکار شده است یعنی با گرفتن چند قطره خون از نوک انگشت ونگهداری این خون روی کاغذ آب خشک کن میتوان مقدار کافی سرم برای انجام یک آزمایش سرمی بدست آورد ــ برودی وهمکاران (۲۱ و ۲۲) از این سرم برای توقف هماگلوتیناسیون ارپوویروسها ، ادنوویروسها وویروس سرخک استفاده نموده اند • آدامس وهمکاران (۲۳) ، کارستاد وهمکاران (۲٤) ، گرین وهمکاران (۲۵) وگالتر (۲٦) در موارد مختلف برای خنثی نمودن ویروسها از این سرم بهره گرفته اند وبالاخره نظری وهمکاران (۲۷) در بررسی عمومی ایمنی ضد دیفتری کمتر از بیش از شصت هزار کودک در ایران با استفاده از خون نوک انگشت مطالعات خود را انجام داده اند •

روش تهیه سرم از نوک انگشت

قطعاتی از کاغذ فیلتر را با بعاد مختلف میتوان تهیه نمود ، بعضی از دانشمندان از دیسک هائی که برای آزمایش آنتی بیوتیکها استعمال میشود استفاده نموده اند ــ در انستیتو ما از کاغذ فیلتر شماره ۱ واتمن بصورت مربع هائی بطول سه سانتیمتر استفاده میکنند ــ این کاغذ ها را قبلا" در درون کاغذ یا پاکتی بطور انفرادی و یا دسته جمعی گذاشته ومدت سه ساعت در گرمای خشک یکصد درجه استریل میکنند ، موقع گرفتن خون نوک انگشت را با الکل کاملا" تمیز نموده وپس از اینکه موضع کاملا" خشک شد بکمک وسیله مخصوص خون گیر نوک انگشت را سوراخ نموده وفشار میدهند تا خون خارج گردد آنگاه با نوک یک پنس تمیز یک برگه کاغذ صافی بریده را روی انگشت خونین حرکت میدهند تا سطح آن کاملا" آغشته به خون

شود ونقطه سفیدی باقی نماند ــ معمولا" باآزمایش قبلی مقدار تیق خونی که لازم است تا تمام سطح قطعه کاغذ فیلتر پوشیده شود حساب شده است ونصف آن مقدار هم بعنوان سرم موجود در این چند قطره خون محاسبه میشود • درمواردی مانند بررسی سرولوژی فالج کودکان که ایمنی ضد سه‌گونه ویروس مورد نظر است ممکن است مقدار بیشتری خون لازم باشد در اینصورت بعوض یک تکه کاغذ فیلتر ممکن است ۳ تکه کاغذ فیلتر را با خون انگشت یک کودک آلوده ساخت ــ خونیکه گرفته میشود پس از خشک شدن کامل در حرارت منهای بیست درجه ماهها ممکن است نگهداری نمود •

حذف مواد غیر اختصاصی از سرم :

برای آزمایش توقف هماگلوبیناسیون هر تکه کاغذ فیلتر آغشته به خون را که مشخصات صاحب آن با یک نمره ضبط شده است به قطعات کوچک تقسیم ودر داخل لوله هموليزی نهاد و ۰/۸ سانتیمتر مکعب آب مقطر روی آن ریخته ویکشب در سرد خانه نگهمیدارند روز بعد کاغذ ها را با پی پت فشار داده وخونابه راجدا نموده وپس از سانتریفوژ نمودن وگرم کردن آن به مدت نیم ساعت در حرارت ۵۶ درجه برای آزمایشهای خنثی کردن سرم (SN) ویا توقف گویچه های قرمز میمون (HI) بکار می برند •

خنثی نمودن ویروسها با پادتن Sero Neutralization test(SN)

در رسالهای اخیر مطالعات همه جانبه ومفصلی درباره نقش ایمنی زائی اجزاء پیکرویروس، ومجتمع ویروس وسرم ضد ویروس وخنثی شدن پاره‌ای از فعالیت های ویروسی بوسیله سرم ضد آن بعمل آمده است که اگر بخواهیم همه مأخذ ومنابع موجود را مورد بررسی قرار دهیم این رساله از حد عادی خود خارج خواهد شد وفقط اشاره میکنیم که این مطالعات را در سه مقاله که توسط فازکاس (۱۳) ، سوهاگ (۱۴) و اوستریت (۱۵) که به تفصیل نگاشته‌اند میتوان یافت در اینجا ماخنثی شدن خاصیت عفونی ویروس را بوسیله پادتن ضد ویروس با توجه به مأخذ علمی تازه‌تری به اجمال شرح خواهیم داد •

اثرمتقابل ویروس خنثی شده ویاخته

همانطورکه میدانیم عفونت ویروسی موجب ترشح ایمونوگلوبولین های مختلف که هرکدام خصوصیات ویژه ای دارند میشود - این ایمونوگلوبولین ها به ویروس چسبیده ومجموعه ای میسازند که در آن ویروس معمولا" خاصیت عفونت زائی خود را از دست داده است - فقدان عفونت زائی ویروس در این مجموعه باین شکل است که دیگر ویروس قادر به جذب یا نفوذ در یاخته نیست ویا اگر داخل یاخته شد تکثیر آن غیرمقدور خواهد بود .

تأخیر در جذب ویروس خنثی شده بوسیله پادتن بگفته دکتر ماندل (۱۶) محتملا" بعلت ایجاد بار منفی در مجموعه ویروس وپادتن است بخصوص اگر ایمونوگلوبولین از نوع S ۱۹ باشد . همچنین اگر پادتن از نوع S ۷ غلظت کافی داشته باشد مانع جذب ویروس فالج کودکان روی یاخته های حساس میشود - اعم از اینکه مجموعه مستقیما" در حرارت ۳۷ درجه روی یاخته حساس برده شود یا مجموعه را مدتی در یخچال ٤ درجه نگهدارند وبعد روی یاخته حساس ببرند ولی اگر پادتن از نوع YS بطور رقیق مصرف شود ترکیب ویروس وپادتن ناپایدار بوده بطوریکه جذب ویروس در یاخته حساس متقدم ورمیباشد بخصوص اگر مجموعه ویروس وپادتن مدتی در یخچال ٤ درجه نگهداری شود جذب ویروس در یاخته حساس سریعتر انجام میگیرد .

نکته دیگر اینکه معمولا" ویروسهای مختلف پس از خنثی شدن بوسیله پادتن مربوطه بفرض هم که در یاخته حساس داخل شوند در داخل این یاخته تحت تأثیر انزیمهای آن نابود میشوند بنظر میرسد که سطح خارجی ویروس بعلت حضور پادتن تغییر شکل داده وآماده برای هضم بوسیله انزیمهای داخل یاخته ای میباشد از آنچه باشاره بیان داشتیم معلوم شد که تحت تأثیر پادتن مربوط ویروسها قدرت جذب در سطح یاخته ویا نفوذ در یاخته را از دست میدهند ویا پس از نفوذ در یاخته حساس در وجاریلع یاخته ای (فاگوسیتوز) میشوند .

توجیه عینی خنثی شدن ویروس بوسیله پادتن مربوطه

معمولا" در آزمایشگاه ویروس شناسی برای انجام عمل خنثی کردن ویروس بوسیله سرم ضد آن ویروس ابتدا ویروس مورد نظر را با غلظت های مختلف سرم مخلوط نموده و مخلوط را مدتی در حرارت معینی نگهداری نموده و سپس این مجموع را به میزبان حساسی اعم از حیوانات کوچک آزمایشگاهی یا در کشت یاخته تزریق مینمایند تا باین ترتیب عفونت زائی آن مقدار از ویروس که با رقتی از سرم ضد خود خنثی نشده است بدست آید و باین ترتیب قدرت خنثی سازی سرم مشخص گردد . برای توجیه عمل خنثی شدن ویروس بوسیله سرم ضد خود نظرات مختلفی ابراز شده است که ما در اینجا نظرات دکترد ولپکو و همکاران (۱۷) و همچنین دکتر تازکاس (۱۲) را که حاوی مطالب بسیار مهمی است شرح میدهیم .

دکترد ولپکو با استفاده از روش پلاک کردن ویروسها و منع تشکیل پلاک ویروسی بعلت تأثیر پادتن مربوطه کار خنثی شدن ویروسها را مطالعه نموده و نکات اصلی زیر را شرح داده است .

الف ـ خنثی شدن ویروس نتیجه مستقیم ترکیب ویروس و پادتن ضد آن میباشد .

ب ـ اگر مقدار پادتن بیش از اندازه کفایت باشد قدرت واکنش یعنی حد اکثر میزان خنثی شدن ضریب یک خواهد داشت بعبارت دیگر هر ذره ویروس با یک ملکول پادتن ترکیب میشود .

ج ـ سرعت خنثی شدن ویروس با غلظت پادتن ارتباط مستقیم دارد .

د ـ ترکیب ویروس ـ پادتن یک ترکیب ثابت و پایداری است .

هـ ـ گرچه یک عدد ویروس میتواند اگرچند ملکول پادتن را بخود جذب کند برای خنثی شدن عفونت زائی یک عدد ویروس یک ملکول پادتن کافی خواهد بود .

و ـ بفرض مقدار پادتن خیلی بیش از تعداد ذرات ویروسی باشد همیشه تعدادی از ویروسها پادتن مربوطه را بخود جذب نکرده آزاد می مانند ـ این گروه مقاوم را با افزودن پادتن اضافی هم نمیتوان خنثی نمود .

ز ـ پیدایش گروه ویروس مقاوم ممکن است مربوط به جورنبودن پادگن ویروس ها و یا ملکولهای پادتن باشد. بدین ترتیب در این فرضیه در درجه اول ویروسها در سطح خود ظرفیت های متعددی برای چسبیدن به پادتن مربوطه ودر نتیجه خنثی شدن دارند برعکس تعداد معدودی از پادتن ها فاقد ظرفیت کافی برای جذب ویروس بوده و بالمآل خنثی نمیشوند در این فرضیه مسئله ناپایداری ترکیب ویروس و سرم و یا ناجوری پادگنی ویروس در قبال پادتن در نظر گرفته نشده است .

نکات اساسی فرضیه قازکاس که مطالعات عمیق و فراوانی درباره مکانیسم خنثی شدن ویروسها بوسیله پادتن دارد بشرح زیر میباشد :

الف ـ اتحاد و اتصال پادتن ها با ظرفیت پادگنی ویروسها اتحاد ناثابتی است ولی رهائی ویروس و سرم از یکدیگر به کندی انجام میگیرد و بین ۳۰ دقیقه تا ۳۴ روز ممکن است بطول انجامد ـ تعادل ترکیب ویروس ـ سرم تابع عواملی است که شناسائی اکثر آنها مقدور است .

ب ـ شرایط عملی ترکیب ویروس و سرم و تزریق بعدی این ترکیب به میزبان حساس خود از عواملی هستند که تا اندازه ای در میزان ترکیب و خنثی شدن ویروس بوسیله پادتن موثرمیباشند ـ اگر در این ترکیب مقدار پادتن کم باشد کیفیت پادتن و تمایل آن (avidity) برای جذب پادگن ویروسی در میزان خنثی شدن ویروس مطرح خواهد بود . برعکس اگر مقدار پادتن فزون از ذرات ویروسی باشد غلظت پادتن عامل خنثی شدن ویروسها میشود و کیفیت علاقه پادتن به جذب روی پادگن مطرح نخواهد بود .

ج ـ معمولا " تعادلی بین ویروس و پادتن برقرار میشود که موجب تثبیت و دوام عمل خنثی شدن است معهذا واکنشهای ثانوی همیشه موجب میشوند که بین ویروس و پادتن خنثی شده جدائی و رهائی پیدا شود ، این عمل ثانوی معلول این امراست که گاهی هرد و ظرفیت یك پادتن به یك ذره ویروس چسبیده ماند و یا قطعات Fc در ملکول پادتن که روی یك ویروس چسبیده ماند موجب این رهائی میشوند .

د ـ ایجاد گروه مقاوم ویروسی به خنثی شدن نتیجه این امراست که آن دسته از ملکولهای پادتن که

نیروی گرایش کمتری برای پادگن دارند نخست به ویروسها چسبیده و سپس بآسانی مجزی میشوند بدون اینکه به ملکولهای دیگر پادتن که گرایش بیشتری برای جذب در سطح ویروس دارند امکان واجازه عمل بدهند .

ه ـ واکنش خنثی شدن ویروس بوسیله پادتن مربوطه عبارت ازجمع عمل جذب پادتن روی پادگن و فاگوسیتوز ویروس جذب شده بوسیله پادتن درمیزبان حساس میباشد ازآنچه گفته شد اختلاف سلیقه وعقیده دکترد ولپکوود کترفازکاس در رتعبیروتعلیل واکنش خنثی شدن ویروس ها بوسیله پادتن ها و بخصوص ایجاد ویروس مقاوم به خنثی شدن آشکاراست .

بعقیده دکترد ولپکوو همکاران پیدایش ویروس مقاوم مربوط به عدم تجانس ویکپارچگی ذرات ویروسی است که دربعضی ازآنها ظرفیت جذب پادگن مربوطه وجود ندارد درصورتیکه بنظرد کترفازکاس وهمکاران گروه ویروسهای مقاوم دراثرهائی ترکیب ویروس وپادتن وعدم تجانس ملکولهای پادتن است یابعبارت دیگر دکترد ولپکوو همکاران وجود گروه غیرعادی ویروس و دکترفازکاس وهمکاران وجود گروهغیرعادی پادتن ها رامسئول آزادی غیرعادی ویروسها دربدیده نوترلیزسیون میشناسند .

دانشمندان دیگری نیز دراین زمینه اظهارنظرکرده اند وآگاهی به بعضی ازاین نظرات برای فهم مطالب مفید میباشد ـ مثلا" بعقیده والیس وملنیك (١٨) اگرویروسهای مقاوم به خنثی شدن بهم نچسبیده ومجموعه ای تشکیل نداده باشند ازبین بردن آنها بوسیله خنثی نمودن باپادتن مقدوراست بهرحال بعقیده این دو دانشمند ملکولهای پادتن خود موجب ایجاد مجموعه مقاوم ویروسی به خنثی شدن میشوند .

بنظرآش ونوتکینس (١٩) اگرپادتن ویژه ازنوع IgG به ویروسهای مقاوم به خنثی شدن اضافه شود این ویروسها هم خنثی خواهند شد ـ دانشمندان دیگرمعتقدند که افزودن عناصرمکمل ممکن است موجب ازبین رفتن ویروسهای مقاوم شوند ولی این نظرمقبولیت عمومی نیافته است همچنین گفته شده

است که وجود پاد تن های" شرطی "ممکن است موجب پید ایش ویروسهای مقاوم به خنثی شد ن باشد ، این پاد تن ها تنها د ریك میزبا ن ویروس مربوطه را خنثی کرد ه ود رمیزبا ن د یگرویروس را رها ساخته و خنثی نمی نمایند بعبارت د یگرد رجه خنثی شد ن به یا خته میزبا ن بستگی خواهد د اشت — همچنین گفته شد ه است که شد ت خنثی شد ن ویروسها به وجود ملکولهای پاد تن تشنه به جذ ب ویروسها د ر سرم ارتباط د ارد اگر پاد تن های کم علاقه به خنثی نمود ن ویروس د رسرم وجود د اشته با شند گروهی از ویروسها خنثی نشد ه آزاد می مانند وبالاخره موجود غشاء د راطراف ویروس بنظر بعضی ممکن است عامل پید ایش ویروسهائی مقاوم به خنثی شد ن یا پاد تن مربوطه با شد ۰

پاره ای از خصوصیات واکنش پاد گن — پاد تن

محققا ن متعد د ی مقد ار نیروی لا زم جهت ترکیب ملکول پاد گن و پاد تن را تعیین نمود ه اند — مقد ار این نیرو بین ۵۰۰ تا ۲۰۰۰ اکالری متغیر است ۰ واکنش ترکیب ابتد ا نا پاید ار و قابل برگشت میبا شد ولی بعلت واکنش ثانوی ترکیب پاید ار و غیر قابل برگشت میشود ۰ هرچه غلظت پاد تن د رسرم کمتر با شد زمان لا زم برای واکنش ثانوی طولانی تر میشود بعبارت د یگر باید چند ملکول پاد تن به پاد گن به چسبند تا ترکیب ثابت و محکم بماند — سرعت واکنش ثانوی ابتد ا زیاد و بتد ریج کم میشود و تابع کیفیت پاد تن است و ربطی به ویروس ند ارد — عوامل د یگری هم د را ستحکام ترکیب پاد تن و ویروس موثر هستند چنانچه گلوبولین های نوع IgM زود تر از ویروس جد ا میشوند تا گلوبولین های IgG ۰ همچنین اگر ترکیب ویروس — پاد تن را به حد ود ۲ برسانیم ترکیب از هم گسیخته و ویروس عفونی آزاد میشود ، همچنین فلوئوروکاربن که جهت تصفیه ویروسها به کار میرود ویا اولتراسون ترکیب ویروس — پاد تن را بهم میزنند پاپائین و پپسین نیز از این خاصیت برخورد ار هستند ۰

ترکیب بعضی از پاد تن ها با ویروس مربوطه د رصورتی منتهی به خنثی شد ن ویروس میشود که مواد د یگری هم حضور د اشته با شند — غالبا" وجود پاد تن ضد IgG لا زم است د راین صورت پاد تن اولی

بعنوان خنثی کردن ویروس آن را برای خنثی شدن "حساس" نموده است و در این میان تنها تکه Fab در ایمونوگلوبولین IgG ترکیب مذکور را خنثی میکند و تکه FC فاقد اثر است .

وقتی ویروس با پادتن ویژه ترکیب میشود ابتدا ویروسهای حساس تولید میشوند و سپس ویروسهای خنثی شده ظاهر میگردند یعنی حساس شدن ویروسها در حضور پادتن بسیار سریع انجام میگیرد و بتدریج از میزان تولید ویروسهای حساس شده کم شده و برعکس ویروسهای خنثی شده زیاد میشوند و لازم به یادآوری است که تکه Fab پادتن خنثی کننده خیلی سریعتر از تمام پادتن خنثی کننده ویروس را خنثی مینماید .

موضوع دیگری که باید در اینجا بآن اشاره کنیم نقش مهم مکمل (کمپلمان) در خنثی شدن ترکیب ویروس و سرم میباشد — آنچه مسلم است عوامل موجود در سرم تازه بخصوص مکمل موجب تسریع ترکیب ویروس و پادتن میشوند و مقدار ویروس آزاد خنثی نشده را نیز بطور قاطع کم میکنند — البته همه پادتنها محتاج به مکمل برای انجام عمل خنثی کردن ویروس مربوطه نیستند بلکه تنها پادتنهای زود رس و بویژه ایمونوگلوبولینهای ازجنس ۱۹S اعم از زود رس یا دیررس و ایمونوگلوبولینهای ۷S زود رس در خنثی سازی ویروس نیاز به مکمل دارند .

طبیعت پادتنهای خنثی کننده

پادتنهای خنثی کننده را در دو گروه پادتنهای زود رس و پادتنهای معوق میتوان یافت . در پادتنهای معوق مقدار پادتن تابع مکمل معمولا" بسیار کم است و واکنش خنثی نمودن را با پادگن بر مبنای ۱ انجام میدهند . پادتنهای زود رس برعکس محتوی مقدار خیلی زیاد پادتن تابع مکمل بوده و بسته به غلظت پادگن ملکولهای این پادتن وارد عمل میشوند .

همچنین باید در نظر داشت سرعت عمل پادتنهای ملکول کوچک ۷S روی ویروس خیلی بیشتر از سرعت عمل پادتنهای بزرگتر ۱۹S میباشد البته نباید فراموش کنیم که پادتنهای ۱۹S اختصاصی‌تر از پادتنهای ۷S میباشند . چنانچه ترکیب پادتنهای ۷S با ویروس غیرهم جنس بمراتب کندتر

ازترکیب پادتن‌های ۱۹S با ویروس غیرهم جنس انجام میگیرد .

خاصیت خنثی کننده پادتن‌های زود رس ۷S باعوامل مختلف ازقبیل مکمل ویا با پادتن ضد IgG افزایش می یابد ، این پادتن‌ها را پادتن اختصاصی نمیباشند .

پادتن‌های زود رس ۱۹S با سرعت کمتری پادگن مربوطه را خنثی میکنند ولی عوامل مکمل سرعت عمل آنها را بیشتر میکند وازنظر اختصاصی بودن این پادتن‌ها در مرحله دوم قرار دارند پادتن‌های معوق یا دیررس ۷S بیشتر پادتن‌های حساس کننده هستند ومکمل عمل این پادتن‌ها را تسریع میکند — این پادتن‌ها ازنظر اختصاصی بودن در ردیف سوم قرار دارند بالاخره پادتن‌های معوق ۱۹S محتوی پادتن‌های حساس کننده وپادتن‌های DCN میباشند وازسایر پادتن‌ها اختصاصی ترمیباشند .

ایمونوگلوبولین‌های IgA محتوی پادتن تابع مکمل نبوده ولی در آنها پادتن‌های حساس کننده به ایمونوگلوبولین IgG وجود دارد — برعکس ایمونوگلوبولین‌های IgM محتوی پادتن‌های حساس کننده نبوده وبرمبنای یک ویروس مربوطه راخنثی نمی نمایند وهمچنین ترکیب آنها با ویروس براحتی وبا رقیق کردن ترکیب بهم میخورد وهمواره مقداری ازویروسها را در واکنش خنثی سازی آزاد میگذارند .

ایمونوگلوبولین‌های IgG درعین حال محتوی پادتن‌های حساس کننده وتابع مکمل بوده وعمل خنثی سازی ویروس را برمبنای ۱ انجام میدهند وتعداد بسیار کمی ویروس آزاد باقی میگذارند ، تمایل آنها برای خنثی سازی ویروس خیلی بیش از ایمونوگلوبولین‌های IgM میباشد وترکیب آنها با ویروس مربوطه پایدار میباشد — همچنین باید در نظر داشت که IgG های سریع کمتر از IgG های کند اختصاصی هستند .

پادگن‌های ویروسی

این نکته روشن است که پادتن‌های خنثی کننده همه بسطح خارجی ویروس می چسبند بعضی از پادتن‌ها در آن قسمت هائی از سطح ویروس که به یاخته ها می چسبند خود را متصل میسازند وبرخی دیگر