

# علم المناعة العملي Practical Immunology

## اسماء تدريسي علم المناعة العملي

م. انعام عبد القادر حسن

م.م. امه عبد الجبار ابراهيم

## اسماء المشرفين

أ.د. انوار ادريس سليمان

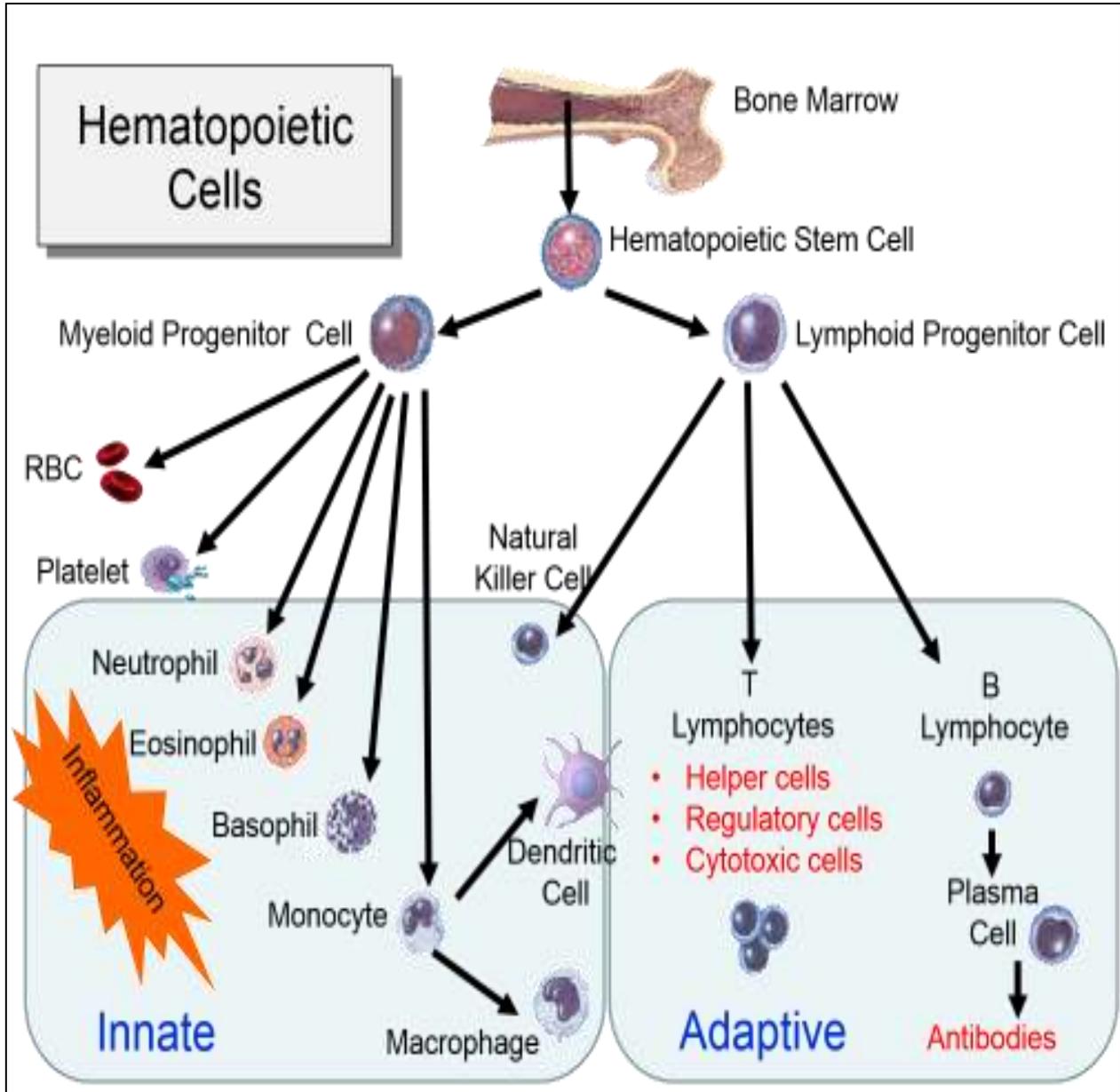
أ.م.د. حازمة موسى خليل

أ.م.د. سحر سعدي غريب

م.د. حنان ياسين محسن



خلايا الجهاز المناعي (Cells of the immune system)



(مخطط يوضح خلايا الجهاز المناعي)

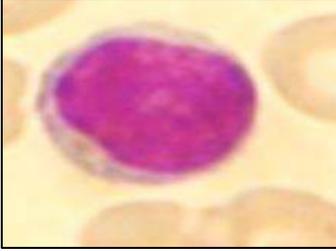
**ملاحظة:** جميع خلايا الجهاز المناعي تنشأ من خلية واحدة في نخاع العظم تسمى الخلية الجذعية المكونة للدم (Hematopoietic stem cell).



## خلايا الجهاز المناعي

1- الخلايا البيضاء غير المحببة [A granulocytes (mononuclear leukocytes)] وتشمل:

أ- الخلايا اللمفية Lymphocytes



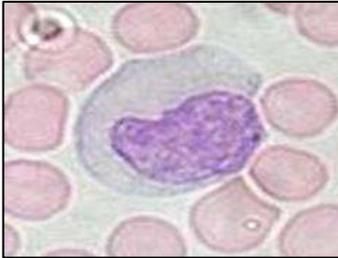
- 1) نواتها دائرية ومفردة وغامقة الصبغة وتحتل معظم حجم الخلية.
- 2) شائعة الوجود في الجهاز اللمفي.
- 3) نسبتها بالإنسان الطبيعي 20-30%.
- 4) توجد ثلاثة أنواع من الخلايا اللمفية هي:

1- الخلايا اللمفية التائية (T-lymphocytes) وتقسم الى:-

- الخلية التائية المساعدة (T- helper CD4).
- الخلية التائية السمية (T-cytotoxic CD8).
- الخلية التائية المنظمة (T- regulatory).
- الخلية التائية التي تشترك في تفاعلات فرط الحساسية المتأخرة (DTH)

2- الخلايا اللمفية البائية (B- lymphocytes).

3- الخلايا القاتلة الطبيعية (Natural killer cells NK).



ب- الخلايا الوحيدة النواة Monocytes.

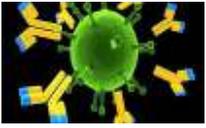
- 1) كبيرة الحجم، نواتها كلوية الشكل وتحتوي على كمية كبيرة من السيتوبلازم.
- 2) نسبتها 1-6%.
- 3) تمر بعمليات تمايز عند خروجها من مجرى الدم الى الانسجة، وتكسبها هذه العمليات القدرة على الالتهام فتدعى حينها بالخلايا البلعمية Macrophages.

2- الخلايا البيضاء المحببة [granulocytes (polymorphonuclear leukocytes)] وتشمل:



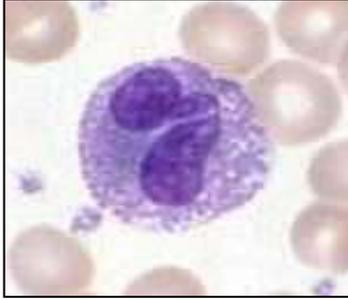
أ- العدلات Neutrophils

- 1) تعتبر الخط الدفاعي الاول للجهاز المناعي.
- 2) سريعة الاستجابة تصل الى موقع الالتهاب خلال ساعة.



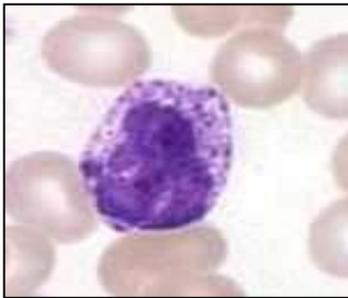
- (3) لها القدرة على الالتهام.
- (4) لها سيتوبلازم محبب، توجد بمركزه نواة مفصصة multi-lobed nucleus.
- (5) اكثر خلايا الدم البيض شيوعا وتصل نسبتها الى 50-70 %.

### ب- الحمضات Eosinophils



- (1) اكتسبت اسمها بسبب شدة تلون حبيبات السيتوبلازم بالصبغة الحامضية.
- (2) نواتها ذات فصين bi-lobed nuleus متصلة بخيط نحيف.
- (3) يحتوي السيتوبلازم على حبيبات مدورة خشنة وذات حجم واحد.
- (4) نسبتها 2-3%.
- (5) وظيفتها هي القضاء على الطفيليات، حيث تهاجم يرقات الديدان التي تغزو الجسم.
- (6) تزداد نسبتها في حالة تفاعلات الحساسية allergic reactions.

### ج- القعدات Basophils



- (1) تتميز حبيبات سيتوبلازمها بتلونها الغامق بالصبغة القاعدية.
- (2) وظيفتها المساهمة في احداث العملية الالتهابية بالانسجة، حيث انها تلعب دور رئيسي في تفاعلات الحساسية، خاصة من النوع الاول من فرط الحساسية Type I hypersensitivity reactions.
- (3) نواتها ثنائية او ثلاثية الفصوص ولا ترى بسهولة.
- (4) حبيبات السيتوبلازم خشنة وكبيرة.
- (5) نسبتها 0.5-1%.

**ملاحظة:** هناك خلايا اخرى في الجهاز المناعي لها اهمية كبيرة في عملية تنظيم الاستجابة المناعية وتقديم المستضد Antigen presentation وهي البلاعم Macrophages والخلايا الشجرية Dendritic cells.

**تحضير المسحة الدموية (Preparation of the blood smear)****1- أهمية المسحة الدموية**

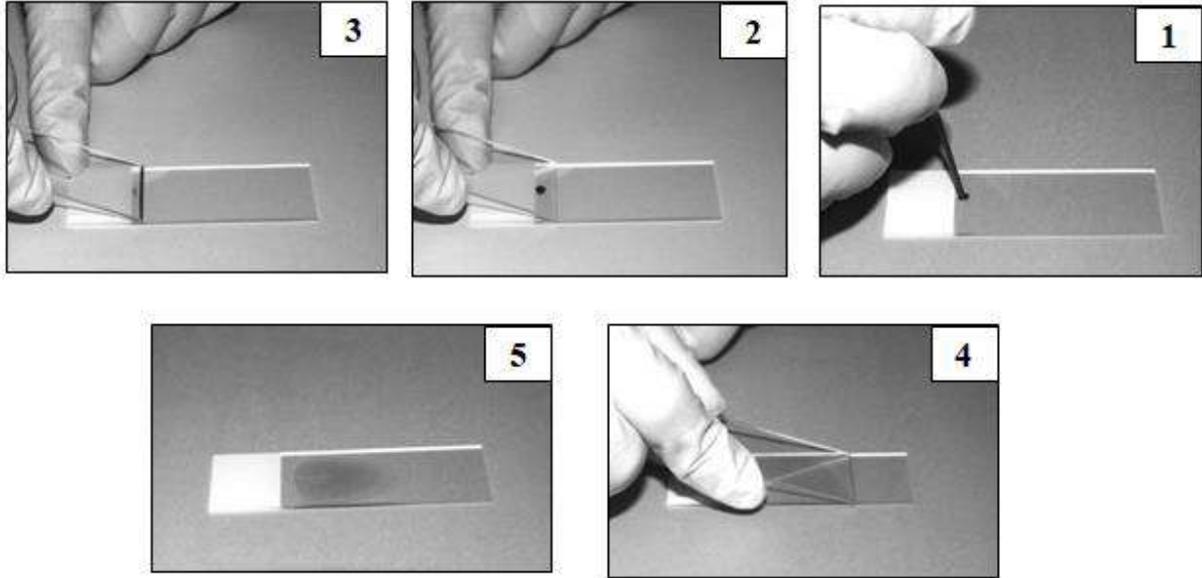
1. حساب العدد التفريقي (differential count) لخلايا الدم البيض WBC.
2. دراسة المكونات الخلوية للدم من حيث الشكل morphology و التركيب structure.
3. تشخيص الاصابة ببعض الامراض مثل anemia، leukemia، وغيرها من الامراض.

**2- المواد اللازمة لتحضير المسحة الدموية**

1. المشارط المعقمة sterilized lancets.
2. عدد من الشرائح الزجاجية المجهرية النظيفة clean glass microscopic slides.
3. الكحول الايثيلي 75% للتعقيم ethyl alcohol.
4. قطن طبي.
5. ماء مقطر dislled water يستخدم كمحلول منظم buffer (يستخدم لتخفيف الصبغة ويمنع التغير في الاس الهيدروجيني pH).
6. صبغة لشمان leishman's stain (قد تستخدم صبغات اخرى مثل giemsa stain او wright's stain وغيرها).
7. مجهر ضوئي light microscope.
8. زيت السيدار cedar oil.

**3- تحضير مسحة الدم**

1. توضع قطرة صغيرة من الدم على الشريحة الزجاجية المجهرية (توضع القطرة على بعد مناسب عن حافة الشريحة).
2. تنتشر قطرة الدم على الشريحة الزجاجية بواسطة الشريحة الناشرة spreader slide (توضع الشريحة الناشرة بزاوية 30-35° امام قطرة الدم).
3. يجب ان تتلامس حافة الشريحة الناشرة مع قطرة الدم.
4. تسحب الشريحة الناشرة للخارج بحيث تترك مكانها مسحة رقيقة من الدم.
5. تترك المسحة لتجف ثم تصبغ بصبغة لشمان.



(صور توضح خطوات تحضير مسحة الدم)

#### 4- تصبغ مسحة الدم

1. تغطي المسحة بصبغة لثمان (مع حساب عدد قطرات الصبغة المضافة).
2. بعد 2 دقيقة يضاف الماء المقطر (عدد القطرات مساوي لعدد قطرات الصبغة المضافة) ويترك لمدة 5-7 دقيقة مع التحريك لمزج الماء المقطر مع الصبغة.
3. تغسل المسحة بماء الحنفية tap water.
4. تترك الشريحة لتجف ثم تفحص تحت المجهر.

#### حالات الزيادة والنقصان في العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض

- يبلغ العدد الكلي total count لخلايا الدم البيض 4000-11000 خلية في المايكروليتر الواحد من الدم، في حالة نقصان العدد عن الحد الطبيعي تسمى الحالة leukopenia، اما في حالة زيادة العدد فتسمى الحالة leukocytosis.
- اما عند تأثر العدد التفريقي لخلايا الدم البيضاء (النسبة المئوية لكل نوع من انواع الخلايا) فتسمى الحالات كما يلي:-
  - أ- انخفاض عدد اللمفيات (lymphopenia).
  - ب- انخفاض عدد العدلات (neutropenia).



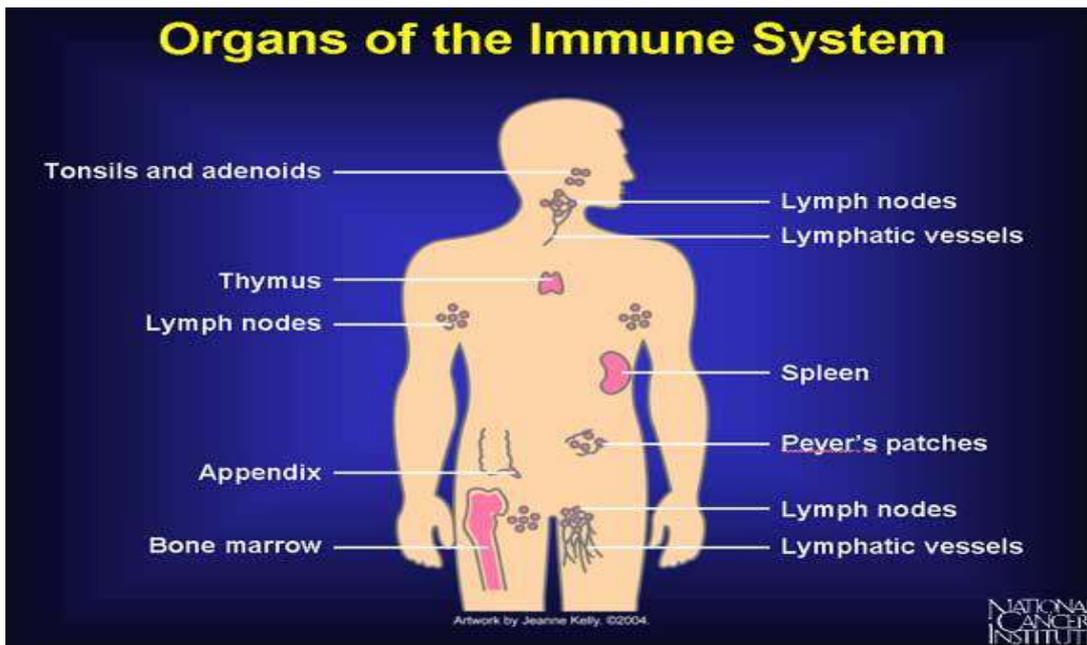
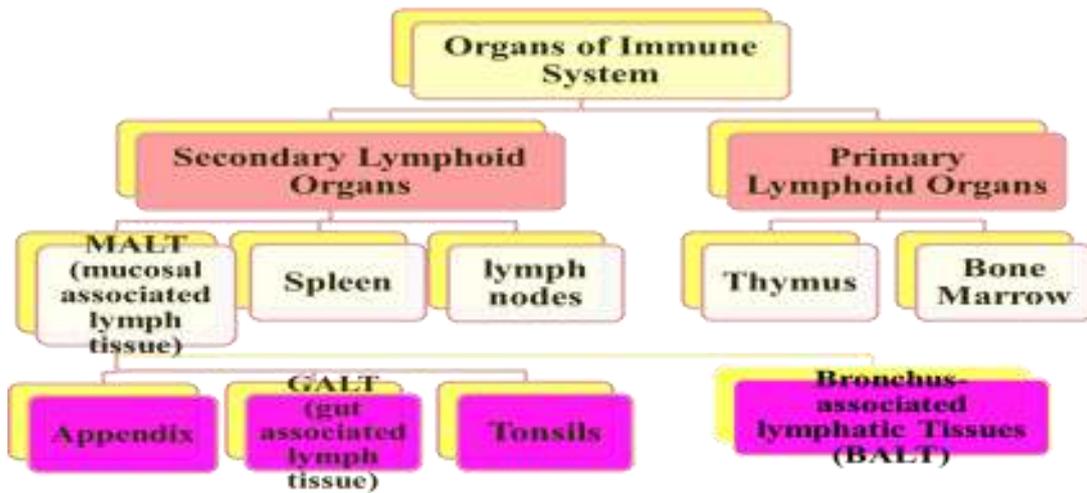
- ت- زيادة عدد اللمفيات (lymphocytosis او lymphocytic leukocytosis).
- ث- زيادة عدد العدلات (neutrophilia او neutrophilic leukocytosis).
- ج- زيادة عدد الخلايا الوحيدة (monocytosis او monocytic leukocytosis).
- ح- زيادة عدد الحمضات (eosinophilia او eosinophilic leukocytosis).
- خ- زيادة عدد القعدات (basophilia او basophilic leukocytosis).



اعضاء وانسجة الجهاز المناعي (Organs and Tissues of the Immune System)

يعمل الجهاز المناعي في جميع انحاء الجسم، وعلى الرغم من ذلك هناك تراكيب خاصة في مواقع معينة من الجسم يتم فيها تنظيم خلايا الجهاز المناعي. وتصنف هذه الاعضاء والانسجة الى الاعضاء والانسجة اللمفاوية المركزية **Central or Primary Lymphoid Organs and Tissues** التي تشمل نخاع العظم **Bone Marrow** وغدة التوتة **Thymus** والاعضاء والانسجة اللمفاوية الطرفية **Peripheral or Secondary Lymphoid Organs and Tissues** التي تشمل العقد اللمفاوية **Lymph Nodes** والطحال **Spleen** والانسجة اللمفاوية المرتبطة بالغشاء المخاطي **Mucosa Associated Lymphatic Tissues**.

Organs Of Immune System



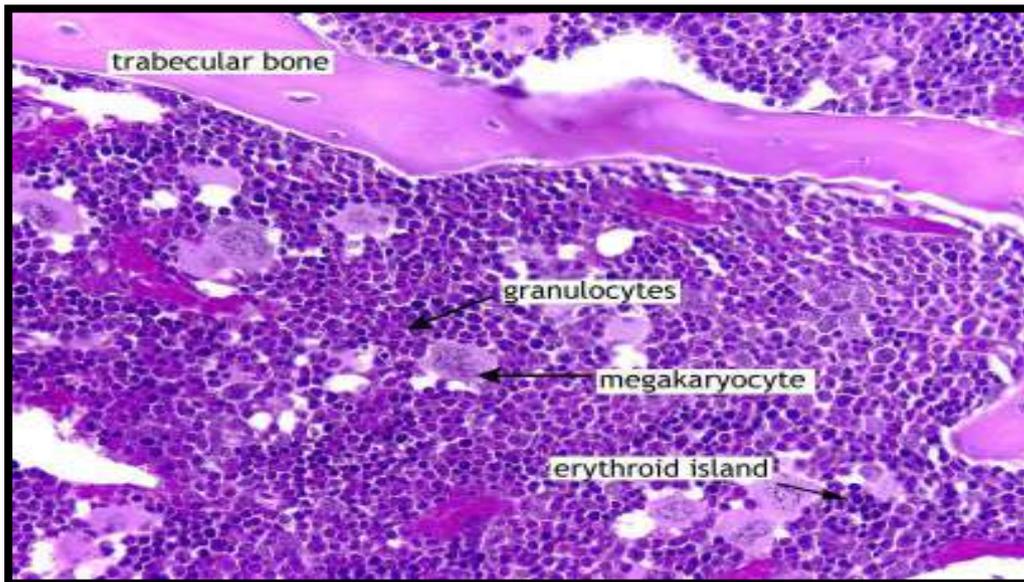
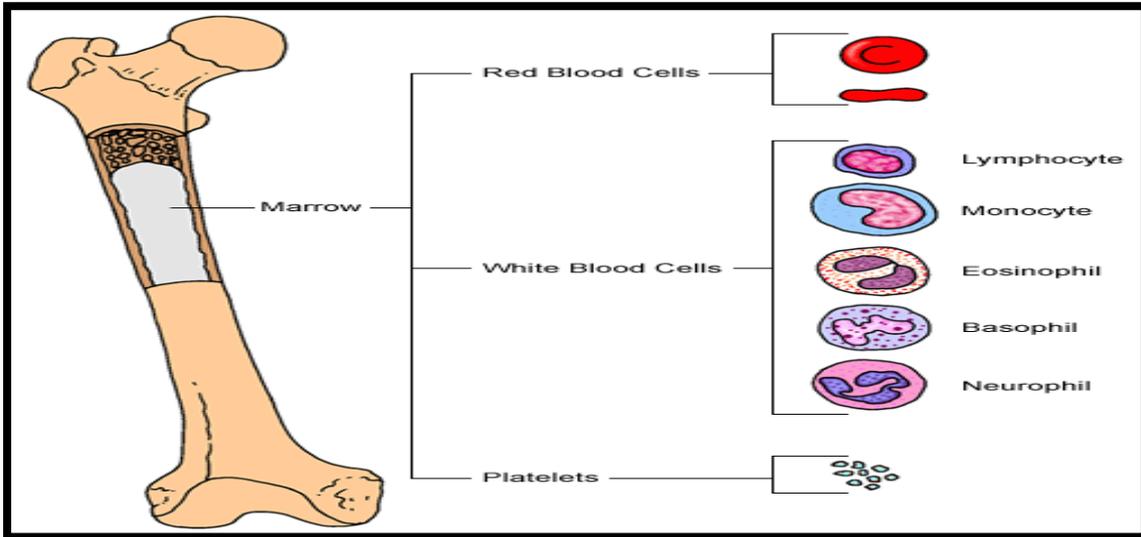


اعضاء الجهاز المناعي

أ- الاعضاء والانسجة اللمفاوية المركزية Central or primary lymphoid organs and tissues

1- نخاع العظم Bone Marrow

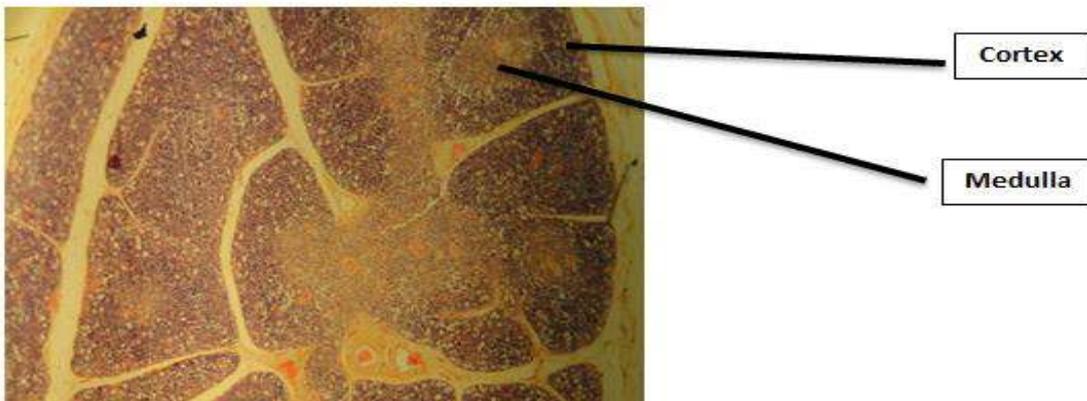
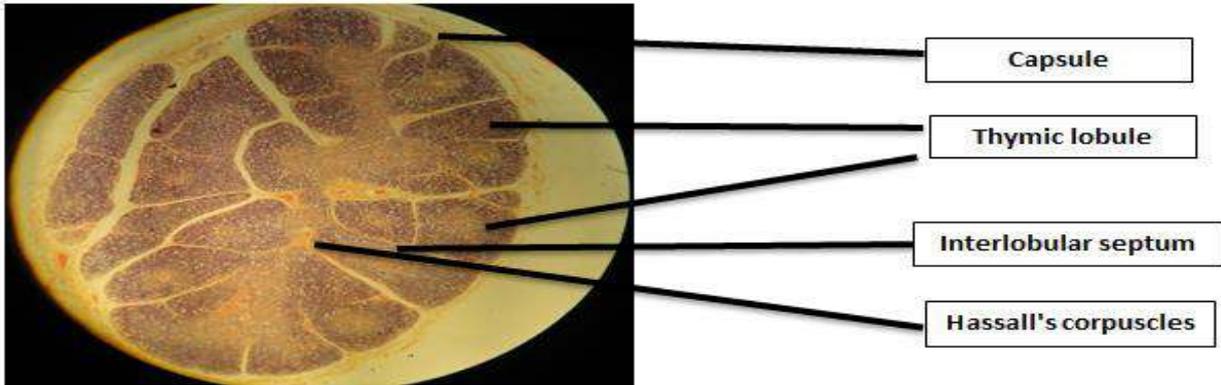
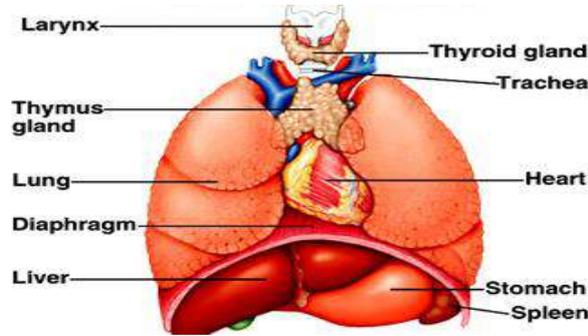
- تُشتق جميع خلايا الجهاز المناعي من نخاع العظم من خلية تسمى Hematopoietic stem cell بعملية توليد الدم Hematopoiesis.
- يُنتج نخاع العظم الخلايا اللمفاوية البائية الناضجة Mature B-Cells والخلايا التائية غير الناضجة Prothymocytes التي تنضج فيما بعد في غدة التوتة Thymus.





## 2- غدة التوتة Thymus

- تقع في التجويف الصدري في المنصف الامامي، امام القلب، Superior mediastinum, .anterior to heart
- وظيفية غدة التوتة هي انضاج الخلايا التائية غير الناضجة Prothymocytes والتي تهاجر من نخاع العظم الى غدة التوتة حيث تنضج وتتعلم هذه الخلايا قبل انطلاقها في الدورة الدموية وتسمى Mature T-Cells.
- تتركب التوتة نسيجيا من طبقتين:-
  - (1) القشرة Cortex وتظهر تحت المجهر غامقة اللون (لكثرة عدد الخلايا اللمفاوية).
  - (2) اللب Medulla وتظهر تحت المجهر فاتحة اللون (لقلة عدد الخلايا اللمفاوية).
  - (3) يتخلل نسيج التوتة مناطق يطلق عليها جسيمات هاسل Hassall's corpuscles.





## ب- الاعضاء والانسجة اللمفاوية المحيطة Peripheral or Secondary Lymphoid Organs and Tissues

### 1- العقد اللمفاوية Lymph nodes

- تراكيب تشبه حبة الفاصوليا.
- تتواجد على طول مجرى الاوعية اللمفاوية وتتجمع في مواقع خاصة مثل الرقبة، الابطين، الخاصرتين وغيرها.
- تعمل بمثابة مرشحات للجسيمات الغريبة.
- تمثل مواقع مهمة للخلايا التائية والبائية وغيرها من الخلايا المناعية المهمة في عملية البلعمة وتقديم المستضد.
- تتركب العقد اللمفاوية نسيجيا من:-

1. محفظة ليفية تمتد منها الحويجزات Trabeculae باتجاه المركز مكونة شبكة.
2. الحشوة Parenchyma وتشمل القشرة Cortex، جار القشرة Paracortex، اللب Medulla.

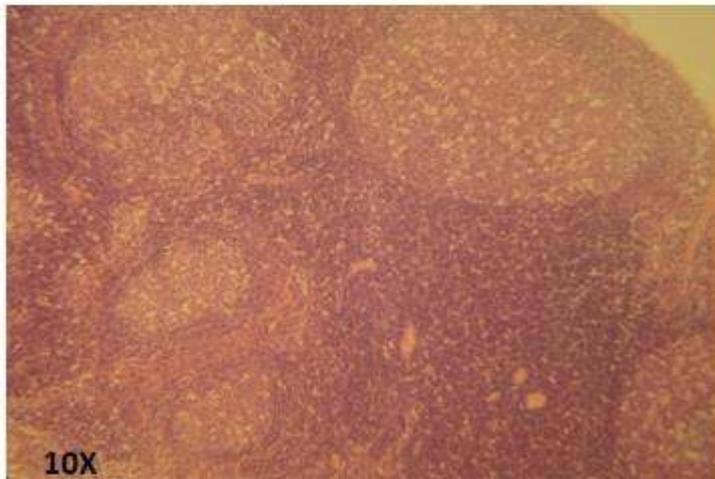
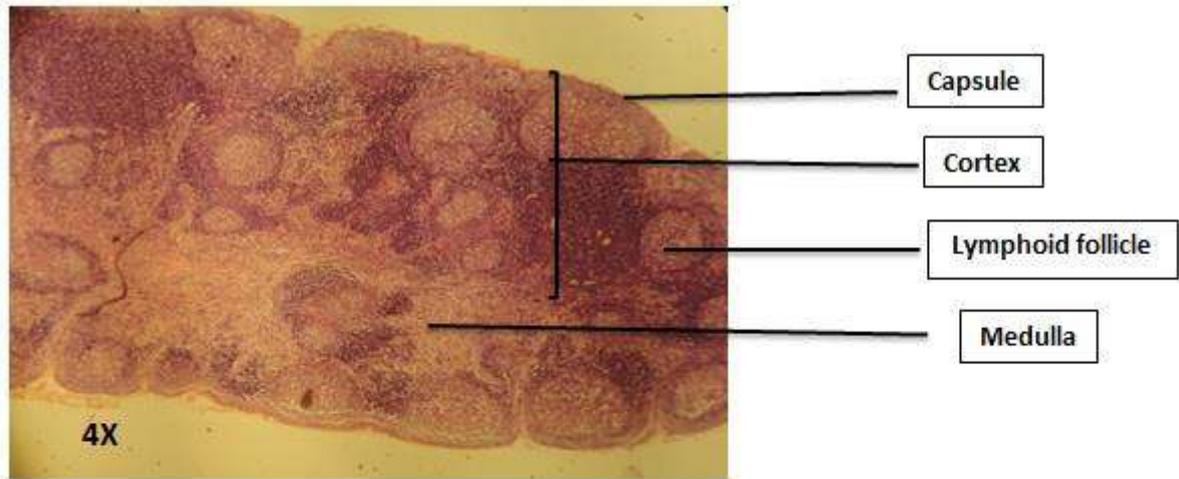
#### أ- القشرة Cortex : وتقسم الى

- قشرة خارجية Outer cortex : تضم الخلايا اللمفاوية البائية B-lymphocytes داخل الجريبات اللمفاوية lymphoid follicles، تكون الجريبات اللمفاوية اما اولية primary او ثانوية Secondary تحتوي على مراكز انتاشيه Germinal center والتي هي مناطق تتمايز فيها الخلايا اللمفاوية البائية الى خلايا بلازمية مكونة الاضداد.
- القشرة العميقة Deep cortex: تضم الخلايا التائية.

#### ب- منطقة جار القشرة Paracortex: تضم الخلايا التائية وغيرها من الخلايا المساعدة Accessory cells.

#### ت- منطقة اللب Medulla: تضم حبال لبية Medullary cord، جيوب دموية Sinuses، اوعيه دموية كبيرة Large blood vessels، يعتبر اللب منطقة مشتركة اذ يحتوي على لمفاويات بائية وتائية وبلاعم كبيرة.

ملاحظة: يدخل اللمف الى العقدة اللمفاوية عن طريق الاوعية اللمفاوية الواردة Afferent vessels يترشح عن طريق الجيوب الدموية Sinuses ويغادر العقدة اللمفية عن طريق الاوعية اللمفاوية الصادرة Efferent vessels.

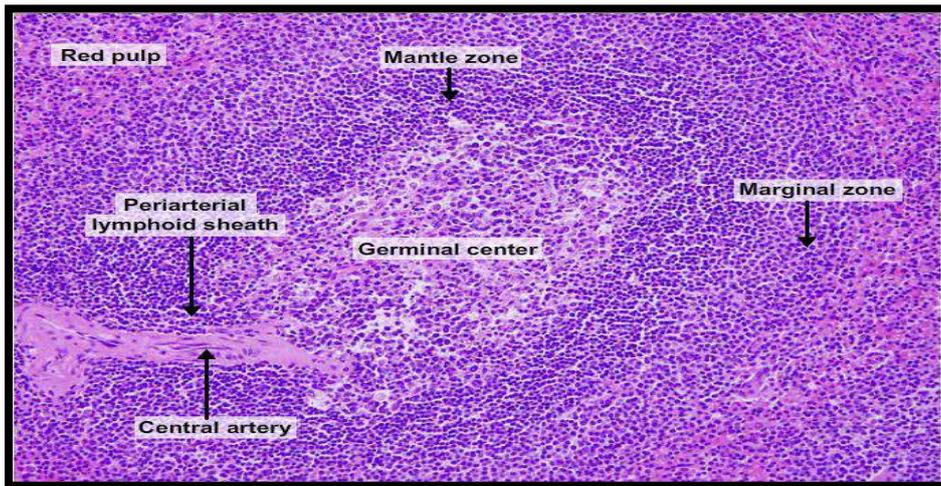


(شكل يوضح التركيب النسيجي للعقدة اللمفاوية)

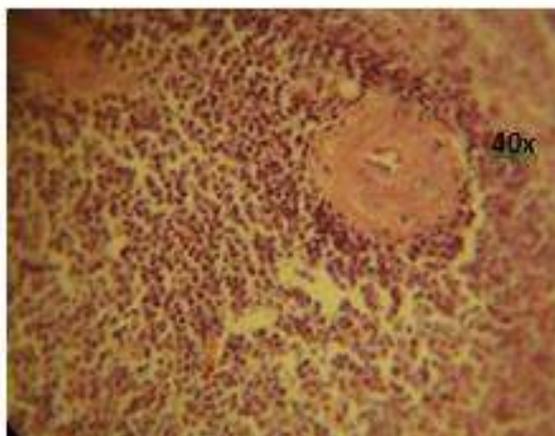
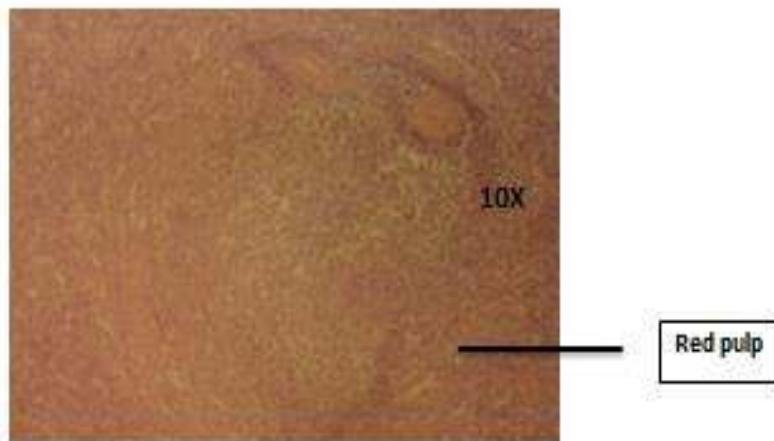
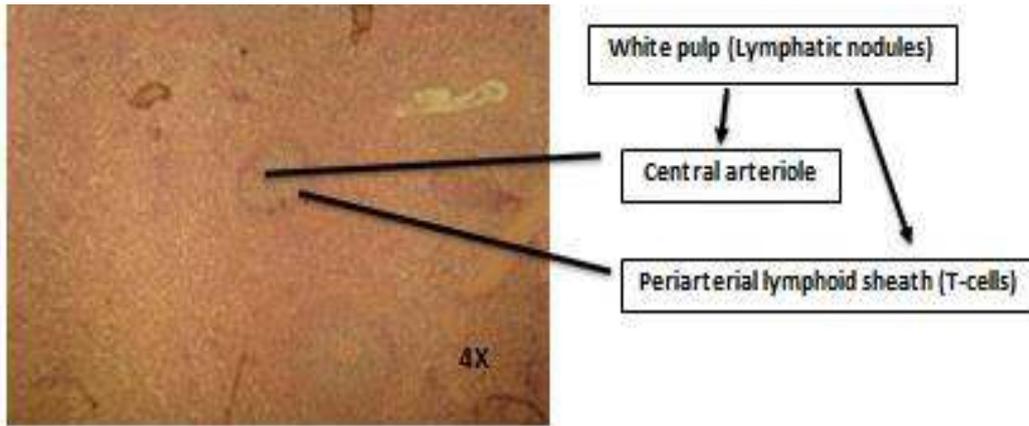


## 2- الطحال Spleen

- وظيفته هي ازالة كريات الدم التالفة من الدورة الدموية اضافة الى تصنيع الكريات الدموية وتخزينها، وكما يقوم بتكوين الكريات الحمراء في الجنين.
- يتركب الطحال نسيجياً من:
  1. اللب الابيض White pulp  
❖ تحدث فيه الاستجابة المناعية.  
❖ يمكن تمييزه من موقع الشريان المركزي Central arteriol.
  - ❖ يحوي كلا النوعين من الخلايا اللمفاوية التائية والبائية، حيث تقع الخلايا اللمفاوية التائية T- Lymphocytes في المنطقة المحيطة بالشريان المركزي والمسماة Periarterial lymphoid sheath، اما الخلايا اللمفاوية البائية فتقع داخل الحويصلات اللمفاوية Lymphoid follicles .
- 2. اللب الاحمر Red pulp : يحوي على الدم و الجيوب الدموية والحبال الطحالية Splenic cords وكريات الدم الحمراء بعد التحطم وخلايا دم بيضاء ونسيج ضام.
- 3. المنطقة الحدودية (الحامية) Marginal zone  
❖ منطقة تفصل ما بين اللب الابيض واللب الاحمر، البعض يعتبرها جزءاً من اللب الاحمر وتقع حافاتها في اللب الابيض، والبعض الاخر يعتبرها منطقة مستقلة ليس لها علاقة بالمناطق السابقة.  
❖ الوظيفة الاساسية لهذه المنطقة هي احتجاز المستضدات الحبيبية Particulate antigens الموجودة في الدم وتقديمها للخلايا اللمفاوية في الطحال.



صورة توضح المناطق الرئيسية في الطحال



صور توضح مقطع في الطحال تحت المجهر

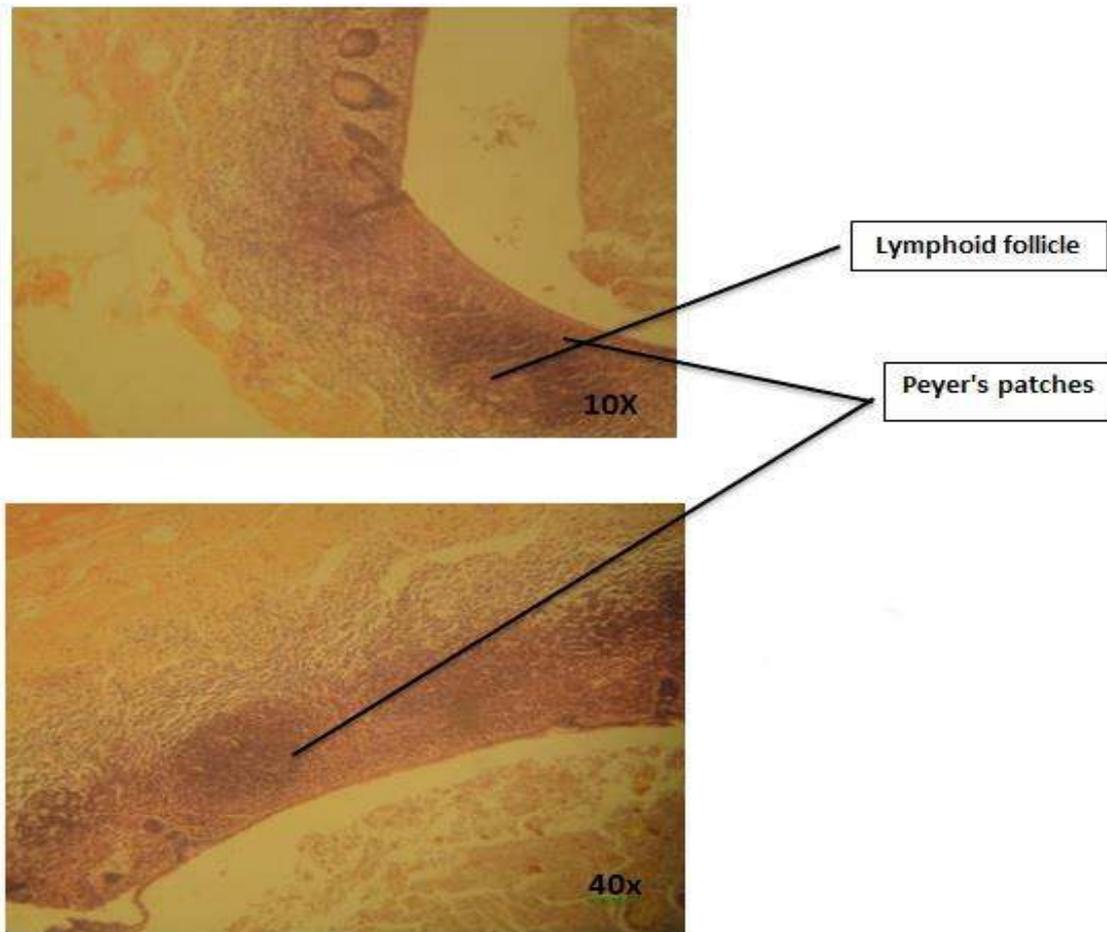


### 3- النسيج اللمفي المرتبط بالمخاطية (MALTs) Mucosa-associated lymphatic tissues

- يوجد هذا النسيج في كل من الامعاء Gut، البلعوم Pharynx، القصبات Bronchi، الزائدة الدودية Appendix، اللوزات Tonsils.
- تمثل لطخ باير Peyer's patches مثال على النسيج اللمفي المرتبط بالطبقة المخاطية.

#### لطخ باير Peyer's patches.

- تقع الخلايا اللمفاوية البائية B-lymphocytes داخل الحويصلات اللمفاوية Lymphoid follicles، اما الخلايا اللمفاوية التائية T-lymphocytes فتقع بين الحويصلات اللمفاوية.
- يوجد في هذا النسيج خلايا مهمة تدعى M-cells او Microfold cells لها اهمية في التقاط المستضد وتقديمه للخلايا التائية والبائية.



لطخات باير Peyer's patches



طرائق اعطاء المستضدات وسحب الدم في الحيوانات المختبرية

## Routs of antigen administration and bleeding of laboratory animals

تعتمد الاستجابة المناعية في الحيوانات الممنعة على:-

1. جرعة المستضد Dosage
2. طريقة اعطاء المستضد Rout of administration
3. نوع الحيوان Type of animal
4. القابلية الجينية Genetic ability

## انواع الحيوانات المختبرية Types of laboratory animals

الجرذان Rats، الفئران Mice، الارانب Rabbits، خنازير غينيا Guinea pigs، الدجاج Chickens، القروذ Monkeys.....الخ.

## انواع الفئران Types of mice

1. الفئران المعطلة جينيا **Knockout mice**: هي الفئران التي تمتلك جين معطل او مزال (يستبدل بقطعة من DNA).
2. الفئران العارية **Nude mice**: تعاني من طفرة جينية تؤدي الى فقدان التوتة Thymus، يتميز طرازها المظهري بانعدام الشعر.
3. الفئران المعدلة وراثيا **Transgenic mice**: هي الفئران التي تحور او تعدل جيناتها بواسطة الهندسة الوراثية.
4. **Inbred mice**: هي الفئران التي تكون متطابقة جينيا نتيجة لتزاوجها مع بعضها لفترات طويلة.

## خصائص الحيوانات المختبرية Properties of laboratory animals

1. الوزن Weight
2. العمر Age
3. الجنس Sex
4. النقاء الجيني Genetic purity
5. حيوان صحي Healthy (غير مصاب بأمراض)

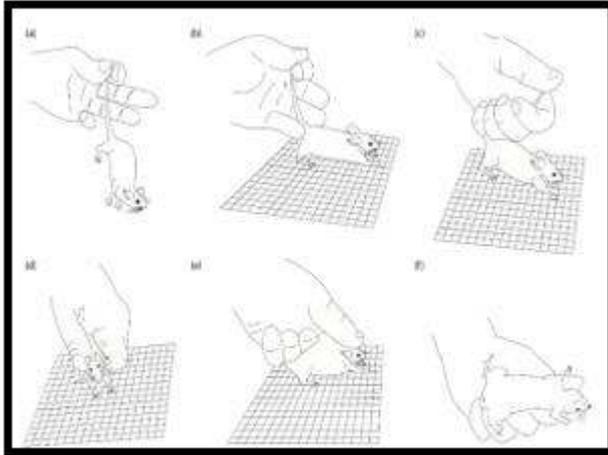


طرائق التعامل مع الحيوان المختبري (الحمل والتثبيت)

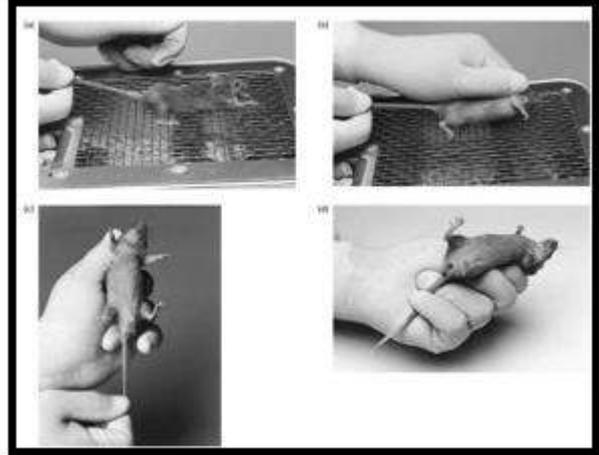
Handling and Restraint

1- حمل وتثبيت الحيوان يدويا Manual

❖ يحمل الحيوان اما بيد واحدة Single-handed او باليدين Double handed.



Single-handed



Double-handed

2- يحمل ويثبت الحيوان باستعمال اداة خاصة Restrainer device





### Routes of antigen administration

#### Enteral administration

- ❖ Oral (Per os, P.O.)
- ❖ Intra-gastric

#### Parenteral administration

- ❖ Injection
- ❖ Inhalation
- ❖ Other routes

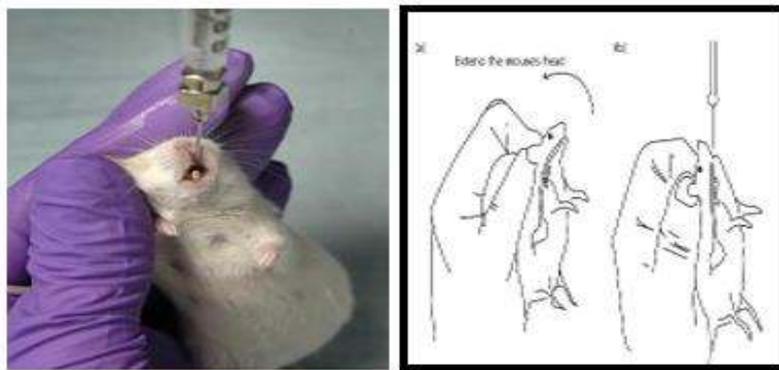
#### 1- اعطاء المستضد عن طريق الامعاء

#### أ- Oral administration اعطاء المستضد عن طريق الفم

- ابسط طريقة.
- يعطى المستضد عن طريق ماء و غذاء الحيوان.
- يجب معرفة كمية الماء والغذاء المستهلكة من قبل الحيوان قبل اعطاء المستضد.

#### ب- Intra-gastric administration (Oral gavage) ادخال المستضد بداخل القناة الهضمية

- تستعمل محقنة خاصة لتجريب الحيوان غالبا ما تكون ذات رأس كروي.
- يتم ادخال المستضد مباشرة الى القناة الهضمية.
- تحدد جرعة المستضد المعطاة.



#### Oral gavage

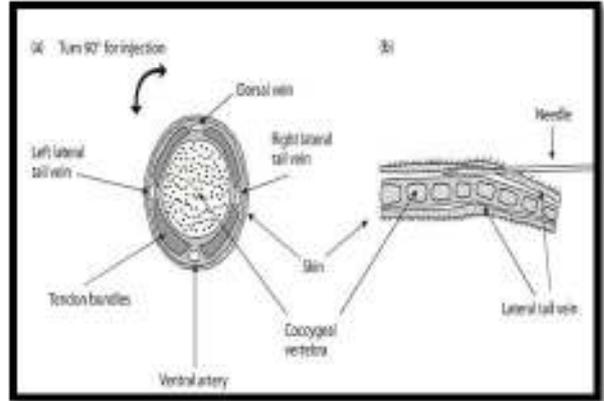
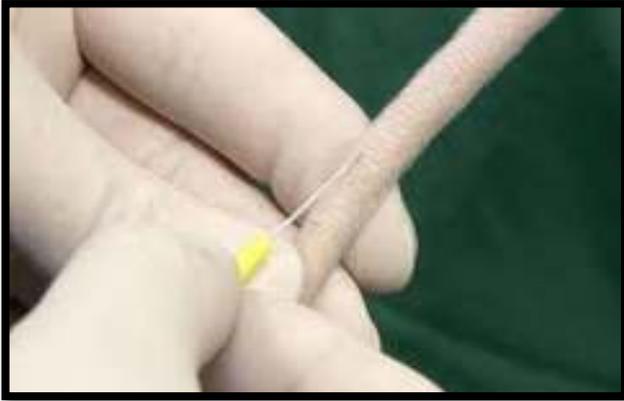


2- اعطاء المستضد بطرائق اخرى غير الامعاء Parenteral administration

أ- طرائق الحقن Injection ومنها:-

1. الحقن داخل الوعاء الدموي Intravenous injection

- يحقن المستضد السائل داخل الوعاء الدموي مباشرة.
- اسرع طريقة للحقن.
- يحقن المستضد داخل الوعاء الدموي الذنبى الجانبي Lateral tail vein.



(الحقن داخل الوعاء الدموي الجانبي للفأر)

2. الحقن تحت الجلد Subcutaneous injection

- حقن المستضد تحت الجلد Sub cutis (بين الجلد Skin والعضلات Muscles).
- طريقة سهلة وغير مؤلمة.



(الحقن تحت الجلد في الفئران)



3. الحقن داخل التجويف البريتوني Intraperitoneal injection

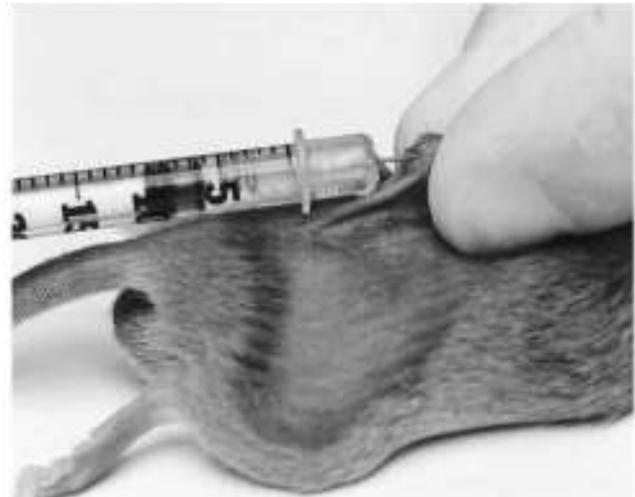
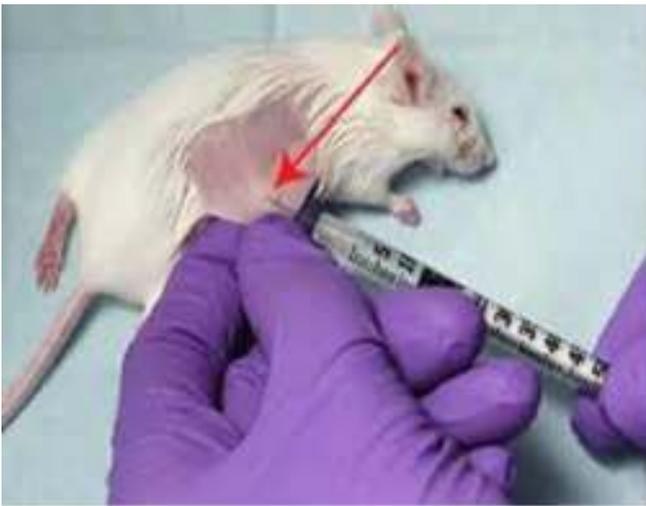
- حقن المستضد داخل تجويف الجسم Body cavity.
- طريقة بسيطة وتمتاز بالسهولة.



(الحقن داخل التجويف البريتوني في الفئران)

4. الحقن داخل الادمة Intradermal injection

- حقن المستضد خلال الجلد (Dermis)

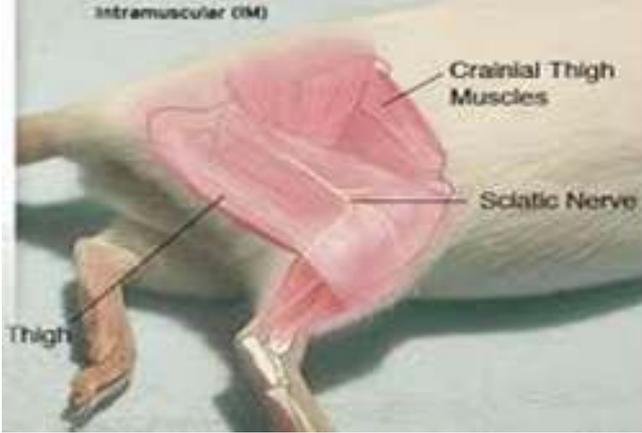


(الحقن داخل الادمة في الفئران)



5. الحقن داخل العضلة Intramuscular injection

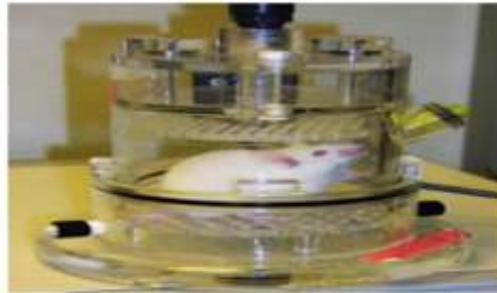
- يحقن المستضد في العضلة مباشرة
- يتم الحقن في عضلة الفخذ Thigh muscle



(الحقن في عضلة الفخذ في الجرذان)

ب- الاستنشاق Inhalation

- تستعمل هذه الطريقة في التجارب المتعلقة بالربو Asthma وتلوث الهواء وغيرها.



(طريقة الاستنشاق في الفئران)

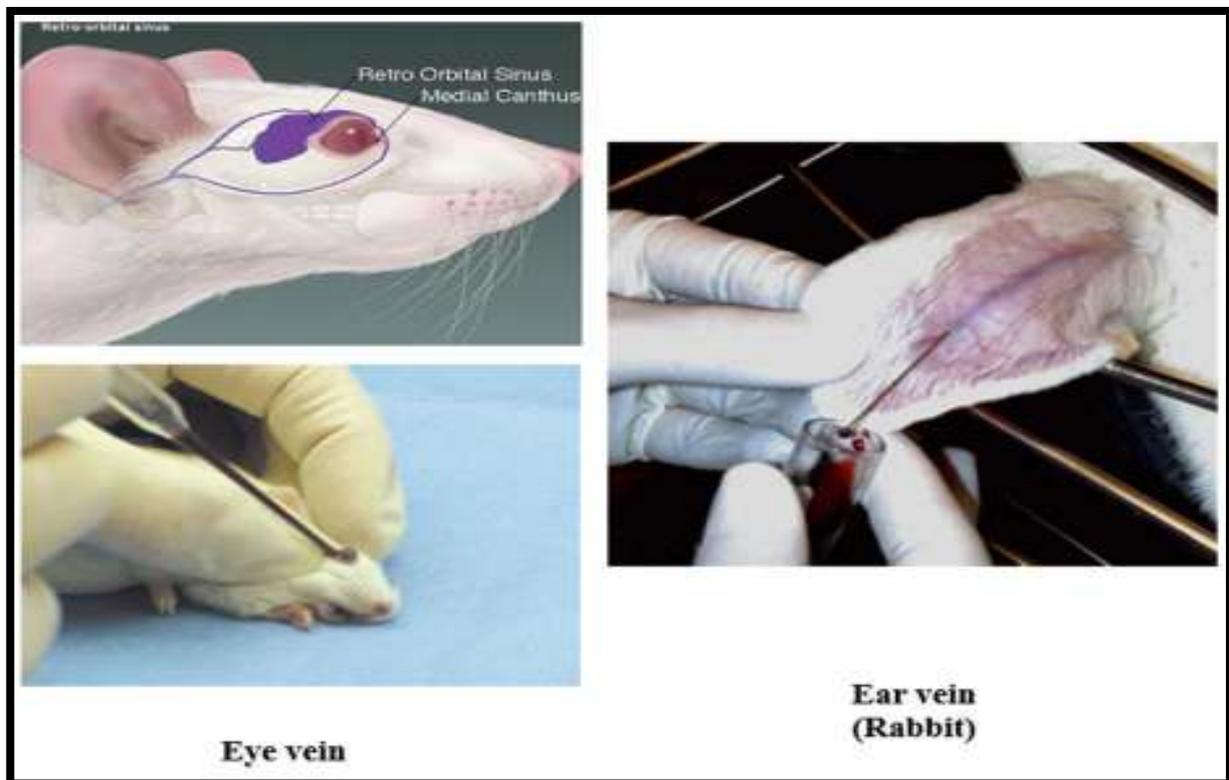


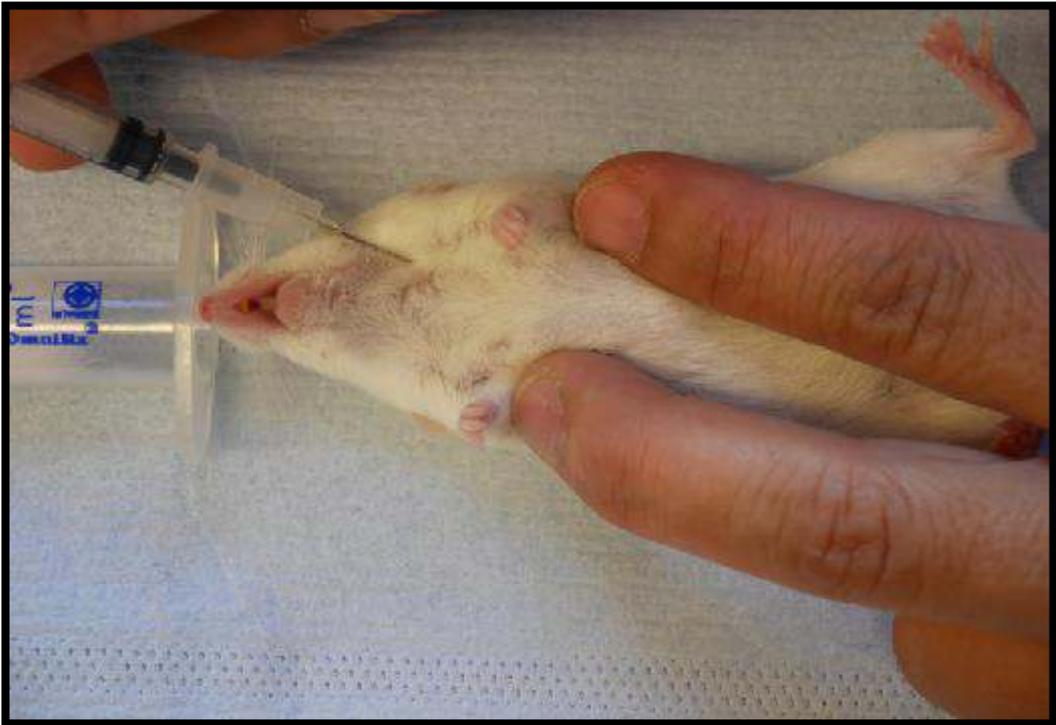
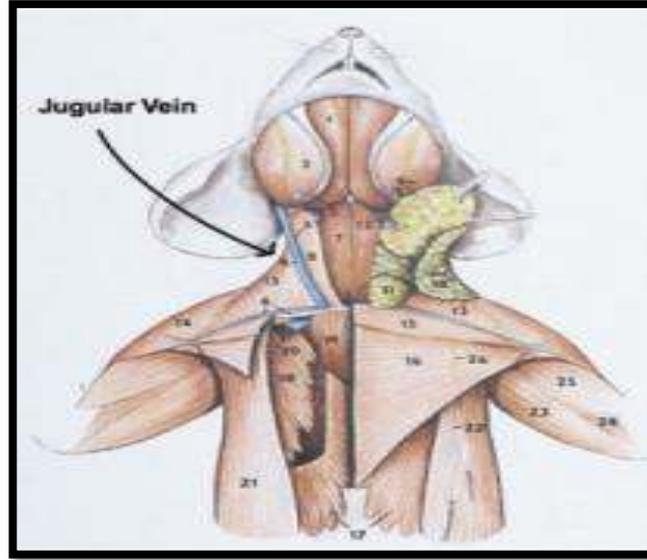
طرائق سحب الدم في الحيوانات Bleeding in animals

1- طعنة القلب Heart puncture



2- طعنة الوريد Vein puncture





(سحب الدم من الوريد الوداجي Jugular vein)



## التفاعل بين المستضد والجسم المضاد Antigen-Antibody Interaction (تفاعلات التلازن Agglutination Reactions)

ان ارتباط المستضد Antigen مع الجسم المضاد الخاص به (Specific Antibody) يدعى بالتفاعل بين المستضد والجسم المضاد ويختصر بـ Ag-Ab Interaction وينتج عن هذا الارتباط تكوين المعقد المناعي Immuno-Complex.



ان الاسهم المتعاكسة في المعادلة اعلاه تدل على ان الارتباط بين المستضد والجسم المضاد هو ارتباط ضعيف وتتحكم به قوى ارتباط (Binding Forces) ضعيفة هي:-

1. Van der Waals forces
2. Electrostatic forces
3. Hydrogen bonds
4. Hydrophobic forces

### أنواع التفاعلات بين المستضد والجسم المضاد The types of Ag-Ab reactions

- 1- تفاعلات التلازن Agglutination.
- 2- تفاعلات الترسيب Precipitation.
- 3- تثبيت المتمم Complement fixation.
- 4- تفاعل سلسلة البلمرة المرتبط بالإنزيم Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).
- 5- التآلق المناعي Immunofluorescence (IM).

### خصائص المستضدات Characteristics of Antigens

- 1) Polypeptides & Proteins (Hormones, Cell surface structure, enzymes, Exotoxins)
- 2) Lipoproteins (Cell membrane)
- 3) Glycoproteins (Blood cell markers)
- 4) Nucleoproteins (DNA complexed to protein but not pure DNA)
- 5) Polysaccharides (Bacterial capsule)



### تفاعل التلازن Agglutination Reaction

التلازن او التراص: هو تكتل الجسيمات Clumping of particles وهذا المصطلح مشتق من الكلمة اللاتينية Agglutinare والتي تعني الغراء، ويشترط بالمستضد ان يكون حبيبي (غير ذائب) Particulate Ag (Non soluble) مثل البكتيريا، المستضدات الموجودة على سطح كريات الدم الحمر وغيرها.

### **Particulate antigen + Antibody = Agglutination**

### تطبيقات تفاعل التلازن Applications of Agglutination reaction

#### 1- مجاميع الدم ABO & Rh Systems

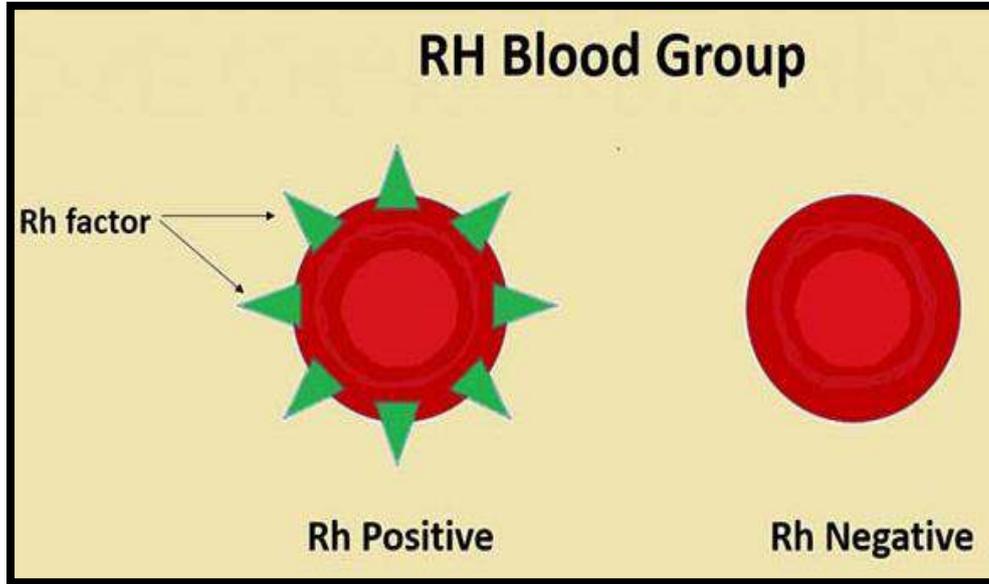
تتميز كريات الدم الحمر للإنسان مثلها مثل اي خلايا بوجود مركبات البروتينات السكرية Glycoproteins والبروتينات الدهنية Glycolipids على سطح الغشاء الخلوي وهذه المكونات لها خاصية مستضدية، ومثال ذلك البروتينات السكرية الموجودة على سطح كريات الدم الحمر للإنسان والتي تنتج نظام الدم او ما تسمى مجموعة الدم ABO. تصنف فصائل الدم بحسب نظام ABO الى الفصائل الموضحة في الشكل التالي:-

	Group A	Group B	Group AB	Group O
Red blood cell type				
Antibodies in plasma	 Anti-B	 Anti-A	None	 Anti-A and Anti-B
Antigens in red blood cell	 A antigen	 B antigen	 A and B antigens	None

شكل (1): فصائل الدم حسب نظام ABO



اما نظام Rh فيعتمد على وجود او انعدام بروتين يسمى بالمستضد D فعند وجوده على سطح كريات الدم الحمر تعطى فصيلة الدم اشارة موجبة  $Rh^{+ve}$  ، وعند انعدامه تعطى اشارة سالبة  $Rh^{-ve}$  كما موضح في الشكل التالي:-



شكل (2): نظام Rh

❖ تقسم فصائل الدم اعتمادا على النظامين اعلاه الى ما يلي:-

BLOOD TYPE	ANTI-A	ANTI-B	ANTI-D	CONTROL
O-POSITIVE	Red	Red	Agglutinated	Red
O-NEGATIVE	Red	Red	Red	Red
A-POSITIVE	Agglutinated	Red	Agglutinated	Red
A-NEGATIVE	Agglutinated	Red	Red	Red
B-POSITIVE	Red	Agglutinated	Agglutinated	Red
B-NEGATIVE	Red	Agglutinated	Red	Red
AB-POSITIVE	Agglutinated	Agglutinated	Agglutinated	Red
AB-NEGATIVE	Agglutinated	Agglutinated	Red	Red

شكل (3): فصائل الدم اعتمادا على نظامي ABO و Rh حيث تشير المنطقة المحببة الى حدوث التلازن.

المواد المستعملة

1. طبق خاص بالفحص يحتوي على حفر.
2. امصال مضادة Anti D ، Anti B ، Anti A (ABO kit).
3. عيدان للتحريك.
4. ابر وخز Lancets.
5. كحول وقطن للتعقيم.



شكل (4): ABO kit

طريقة العمل

1. عقم طرف الاصبع بالكحول ثم اعمل وخزا في طرفه للحصول على الدم.
2. ضع قطرة دم في 3 حفر من الطبق (قطرة في كل حفرة).
3. اضع المصل المضاد فوق القطرات (توزع الامصال Anti A ، Anti B ، Anti D على القطرات) مع الحذر من تلوث القطارة بالدم.
4. امزج الدم مع المصل المضاد باستعمال العيدان ثم حرك الطبق.
5. اقرأ النتيجة كما في الشكل (3).



## 2- اختبار الحمل Pregnancy test

الهورمون الاكثر شيوعا في تشخيص الحمل هو الهورمون البشري المحرض للقند Human Chorionic Gonadotropin (HCG)، وهو عبارة عن بروتين سكري Glycoprotein يفرز من المشيمة يظهر في دم الحامل بعد 6 ايام من الحمل، اما في البول فيظهر بعد 10-12 يوم. ويعد هذا الهورمون من العلامات الاساسية لتشخيص الحمل في المراحل المبكرة.

### 1- التشخيص المباشر باختبار التراص على الشريحة Direct Latex Agglutination Slide test

تستعمل في هذا الاختبار كريات اللاتكس Latex beads المغلفة بالمصل المضاد ( Anti HCG serum) وتمزج مع مصل او بول المرأة المراد تشخيص الحمل لديها وكما موضح فيما يلي:-

Ab-coated latex + **urine with Ag HCG** → Agglutination (**positive test**)

Ab-coated latex + **urine without Ag HCG** → No agglutination (**negative test**)

### 2- التشخيص غير المباشر باختبار تثبيط التراص Agglutination inhibition test

في هذه الطريقة يمزج مصل او بول المرأة المراد تشخيص الحمل لديها مع المصل المضاد ( Anti HCG serum) ومن ثم يضاف عالق من كريات اللاتكس المغلفة بهورمون HCG وكما موضح فيما يلي:-

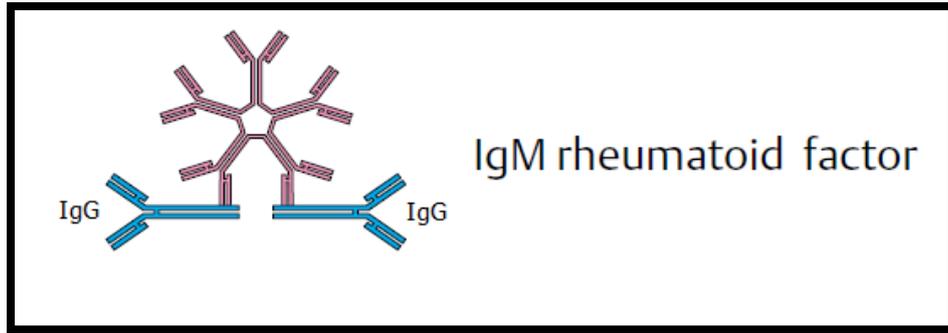
Anti HCG serum + **urine with Ag HCG** + Ag-coated latex → **No agglutination** (**positive test**)

Anti HCG serum + **urine without Ag HCG** + Ag-coated latex → **Agglutination** (**negative test**)

## 3- العامل الرثواني (RF) Rheumatoid Factor

هو الاضداد الذاتية Autoantibody (IgM غالبا) الموجهة ضد Fc portion للجسم المضاد IgG للانسان، حيث يرتبط العامل الرثواني RF مع الجسم المضاد IgG فتتكون معقدات مناعية Immune complexes تؤدي الى تطور الاصابة. يستعمل هذا الاختبار لتشخيص مرض التهاب المفاصل الرثواني (Rheumatoid Arthritis) الذي يعد من امراض المناعة الذاتية، وقد يكون RF دليل للإصابة بأمراض اخرى.

النسبة الطبيعية للعامل الرثواني هي اقل من 14 ml/IU.



شكل (5): Rheumatoid factor

عدة الاختبار RF kit

## مكونات العدة Contents of RF kit

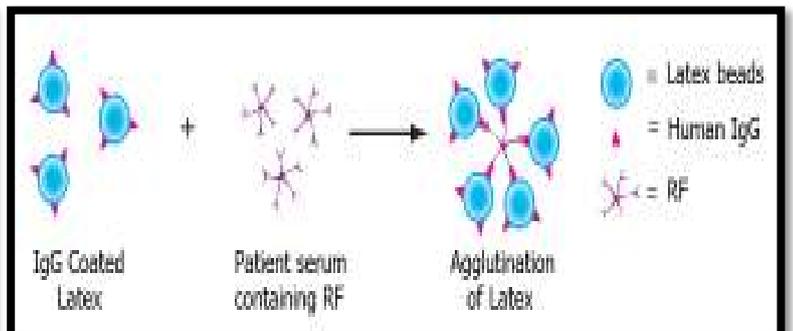
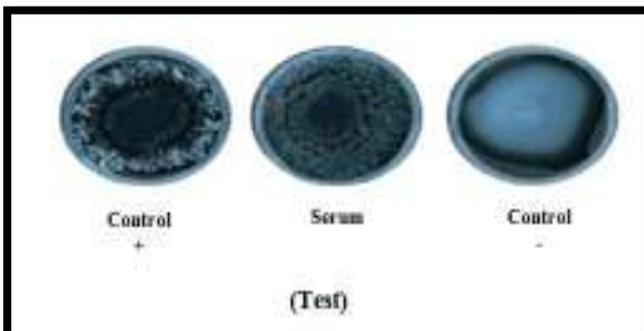
**Reagent:** كريات اللاتكس مغلفة بالجسم المضاد IgG للإنسان.

**Positive control:** مصل عياري موجب يحتوي على العامل الرثواني (IgM).

**Negative control:** مصل عياري سالب

شكل (6): RF kit

يوضح الشكل التالي مبدأ الاختبار



شكل (7): مبدأ عمل اختبار RF

4- اختبار ويدال Widal test

- ❖ يستعمل لتشخيص الإصابة بمرض الحمى التيفوئيدية (Typhoid fever) والحمى الباراتيفوئيدية (Paratyphoid fever).
- ❖ يكشف عن الاجسام المضادة الخاصة ببكتريا Salmonella في حالة الإصابة بالمرض.
- ❖ سمي الفحص على اسم الطبيب وعالم الجراثيم الفرنسي Georges Fernand Isidore .Widal
- ❖ تستعمل في هذا الاختبار مستضدات مختلفة محضرة من بكتريا السالمونيلا وكما موضح في الجدول التالي:-

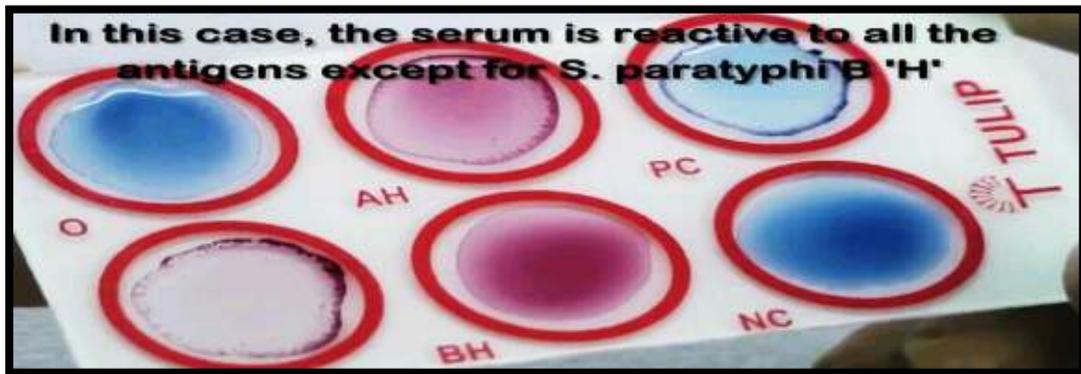
المستضد	البكتريا
Salmonella typhi H Salmonella typhi O	Salmonella typhi
Salmonella paratyphi A-H Salmonella paratyphi A-O	Salmonella paratyphi A
Salmonella paratyphi B-H Salmonella paratyphi B-O	Salmonella paratyphi B

حيث H هو المستضد السوطي (Flagellar) للبكتريا، بينما O هو المستضد الجسمي (Somatic).

- ❖ هناك طريقتين لإجراء الاختبار وهما:-

1- طريقة الشريحة الزجاجية Slide Agglutination test

طريقة نوعية Qualitative، اي تستعمل لمعرفة نوع الإصابة ولا تحدد شدة الإصابة، ويمكن توضيحها بالشكل التالي:-



شكل (8): Slide Agglutination test

**مكونات العدة Widal test kit**

**Reagent:** المستضدات O و H لأنواع جنس السالمونيلا كما موضح في الجدول السابق.

**Positive control:** مصلي عياري موجب.

**Negative control:** مصلي عياري سالب.

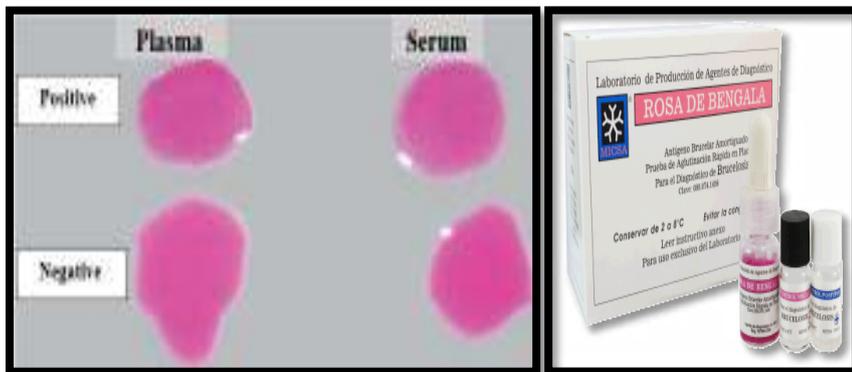
شكل (9): Widal test kit

**2- طريقة التراص بالانبوب Tube agglutination test**

هي طريقة كمية Quantitative تستعمل لمعرفة تركيز الاجسام المضادة في مصلي المريض حيث يخفف المصلي بطريقة التخفيف المتسلسل (Serial dilutions) وتضاف اليه كمية محددة من المستضد وتؤخذ النتيجة كمقلوب أعلى تخفيف يظهر نتيجة ايجابية او ما يسمى بالمعيار Titer.

**5- (RBT) Rose Bengal Test**

اختبار ترص يستعمل لتشخيص الحمى المالطية (Brucellosis) في الانسان والحيوان، ويوضح الشكل التالي صورة للاختبار وعدة التشخيص الخاصة به:-

**مكونات العدة Contents of RB kit**

**Reagent:** مستضدات البكتريا

المصبوغة بصيغة Rose Bengal.

**Positive control:** مصلي عياري

موجب.

**Negative control:** مصلي عياري

سالب.

شكل (10): Rose Bengal test



## 6- اختبارات مضاد الحالة العقديّة (ASOT) Antistreptolysin O Titer

يستعمل هذا الاختبار في تشخيص الاصابة ببكتريا المكورات العنقودية Streptococcal infection وبالأخص Streptococcus pyogenes . يوضح الشكل التالي صورة لعدة التشخيص:-



## مكونات العدة Contents of ASO kit

**Reagent:** كريات لاتكس مغلفة بالمستضد  
.Antistreptolysin O Ag  
**Positive control:** مصّل عياري موجب  
يحوي اجسام مضادة Antistreptolysin O  
.Ab  
**Negative control:** مصّل عياري سالب.

شكل (11): Antistreptolysin O kit

تعريف مهمة

**المعيار Titer:** هو مقلوب اعلى تخفيف يعطي نتيجة موجبة.  
**التخفيف المتسلسل:** هو سلسلة من المحاليل المتسلسلة لمادة في محلول.  
**معامل التخفيف:** هو عدد مرات تخفيف محلول قياسا الى المحلول الاصلي.



## التفاعل بين المستضد والجسم المضاد Antigen-Antibody Interaction (تفاعلات الترسيب Precipitation Reactions)

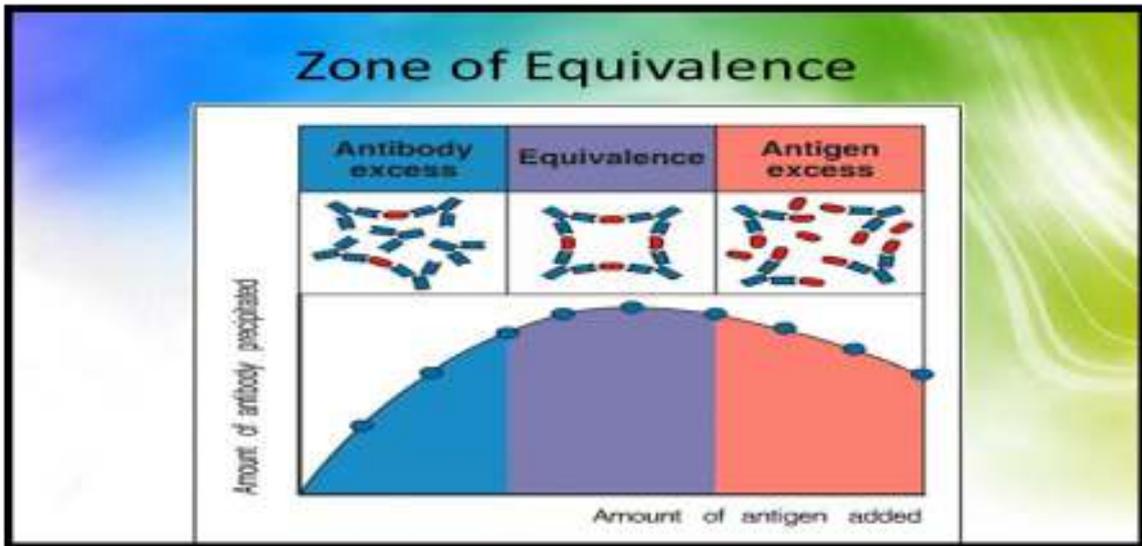
الترسيب: هو التفاعل بين المستضد السائل Soluble Ag والجسم المضاد، فيتكون معقد مناعي على شكل راسب Precipitant.

**Soluble antigen + Antibody = Precipitation (Lattice)**

### مراحل الترسيب Stages of precipitation

1. يرتبط المستضدات Ags مع الاجسام المضادة Abs وتتكون شبكة صغيرة من المعقدات المناعية Small lattice خلال ثواني.
2. تفاعل بطيء يؤدي الى ارتباط المعقدات المناعية وتكوين شبكات كبيرة Large lattice تترسب خارج المحلول.

❖ يحدث الترسيب في المنطقة التي تتكافأ فيها كمية المستضدات Ags والاجسام المضادة Abs وتدعى هذه المنطقة **بمنطقة التكافؤ Equivalent Zone**. ويوضح الشكل التالي هذه المنطقة:-.



شكل (1): Equivalent zone

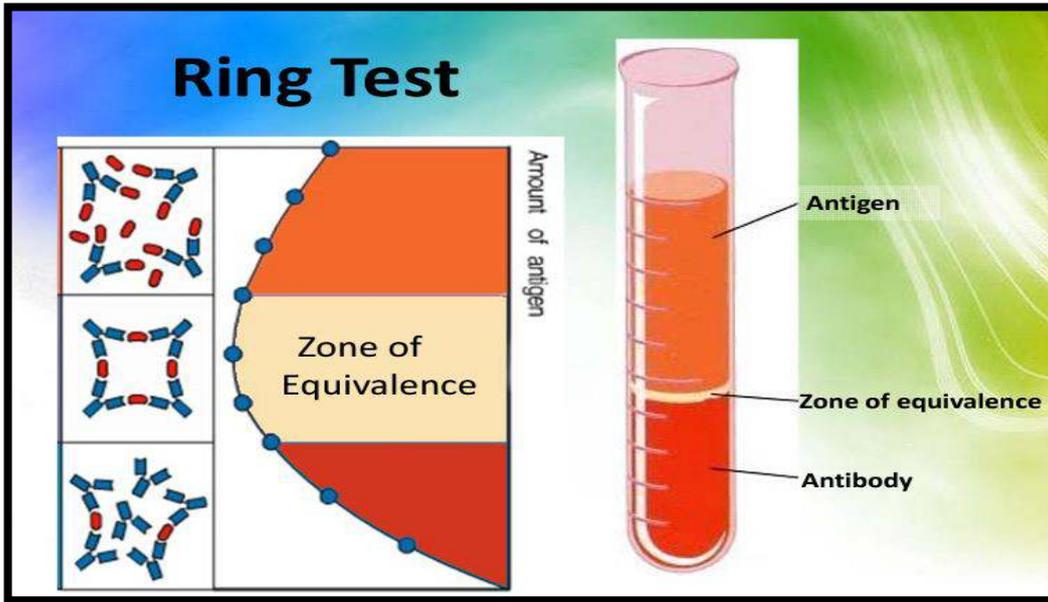


## انماط تفاعل الترسيب

### 1- الترسيب في المحاليل

#### الاختبار الحلقي Ring Test or Interfacial Test

- اختبار مصلي بسيط يوضح عملية الترسيب في المحاليل.
- يضاف المستضد فوق الجسم المضاد ببطء او بالعكس.
- عدم مزج المستضد مع الجسم المضاد.
- خلال فترة الحضانة تتكون حلقة من الراسب في المنطقة التي تتكافا فيها كمية المستضدات مع الاجسام المضادة Equivalent zone.
- الاختبار مهم في تشخيص المستضدات والاجسام المضادة المجهولة.



شكل (2): Ring test

### 2- الترسيب في جل الاكار Precipitation in Agar Gel وتظهر اهمية الاكار مما يلي:-

- يوفر الاكار رؤية جيدة للراسب.
- يمكن حفظ الراسب لمدة طويلة.
- يمكن صبغ الراسب او ازالته واجراء دراسات اخرى عليه.

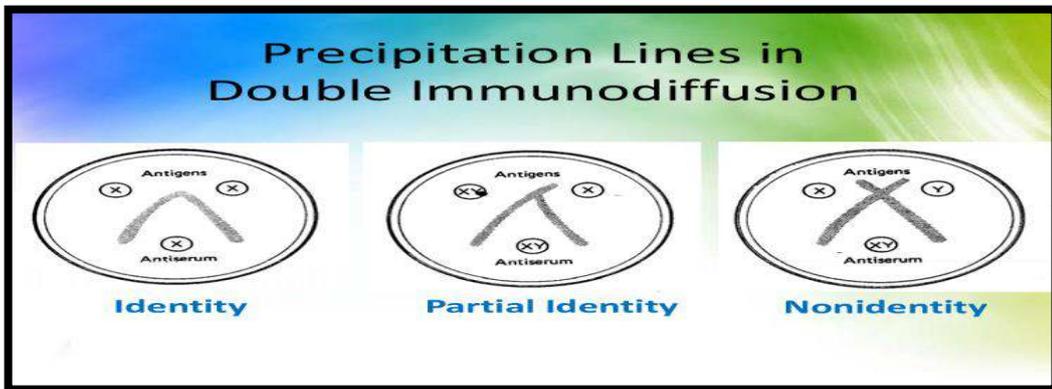
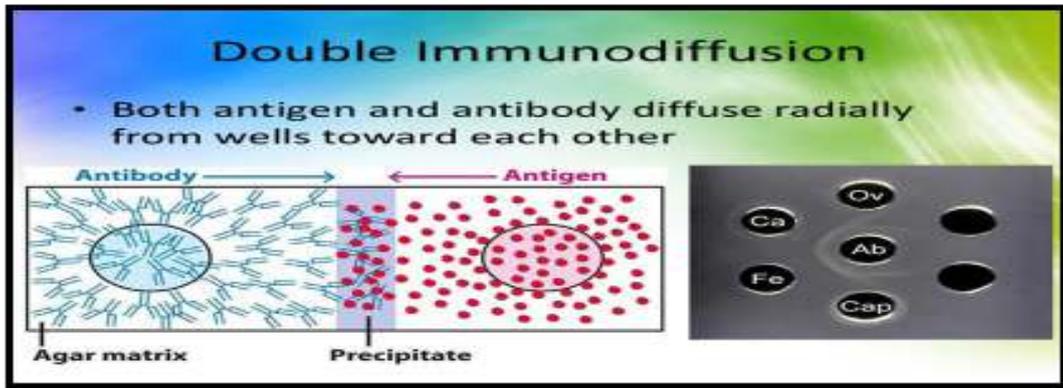
أ- الانتشار الثنائي- اختزلوني Double Diffusion Method (Ouchterlony) 1953

- يصب الاكار في طبق بتري ويترك ليتصلب.
- يقطع الاكار المتصلب بشكل حفر.
- توضع المستضدات والاجسام المضادة في الحفر.
- يلاحظ ان المستضدات والاجسام المضادة تنتشر باتجاه بعضها.
- له اهمية كبير في معرفة العلاقة المستضدية بين المواد المختلفة.
- تظهر خطوط الترسيب على ثلاث انماط هي:-

1- نمط التطابق Pattern of identity: يتكون عندما تتطابق المستضدات (تتشابه بالمحددات المستضدية Share identical epitopes).

2- نمط عدم التطابق Pattern of non-identity: يتكون عندما لا تتطابق المستضدات (لا تتشابه بالمحددات المستضدية Share no common epitopes).

3- نمط التطابق الجزئي Pattern of partial identity: يتكون عندما تتشابه المستضدات في المحددات المستضدية ولكن يمتلك احدهما محددة مستضدية واحدة على الاقل خاصة به مما يؤدي الى ظهور خط ترسيب يسمى بالمهماز Spur.

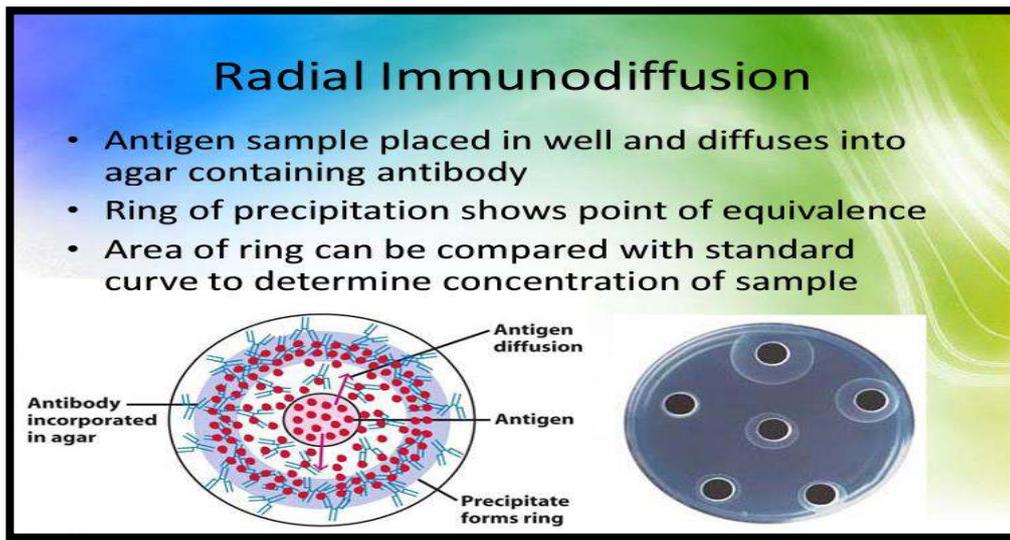


شكل (3): Ouchterlony

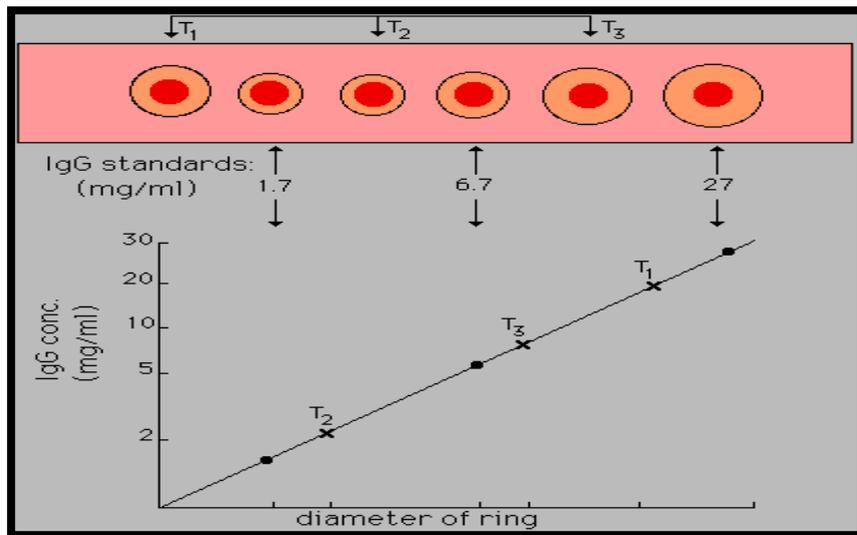


ب- الانتشار الاحادي الشعاعي 1965 (Mancini) Single Radial Diffusion Method

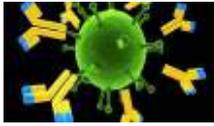
- طريقة كمية Quantitative اي يمكن تقدير كمية المستضد او الجسم المضاد.
- يوزع الجسم المضاد في الاكار بشكل متساوي بينما يوضع المستضد داخل الحفر وبتراكيز مختلفة (والعكس صحيح).
- تتكون دائرة من الراسب عند منطقة التكافؤ.
- يمكن استخراج التركيز المجهول من رسم العلاقة بين التركيز المعلوم وقطر دائرة الراسب المتكونة وكما في الشكل (5).



شكل (4) Mancini



شكل (5) العلاقة بين التركيز وقطر دائرة الترسيب في اختبار Mancini



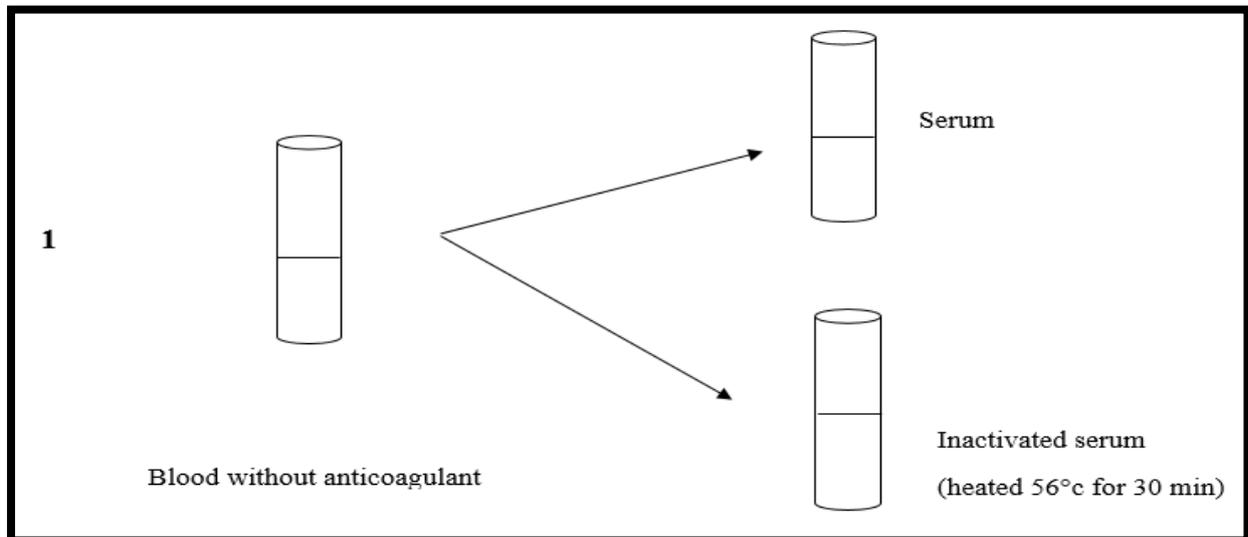
## التفاعل بين المستضد والجسم المضاد Antigen-Antibody Interaction (نظام المتمم Complement System)

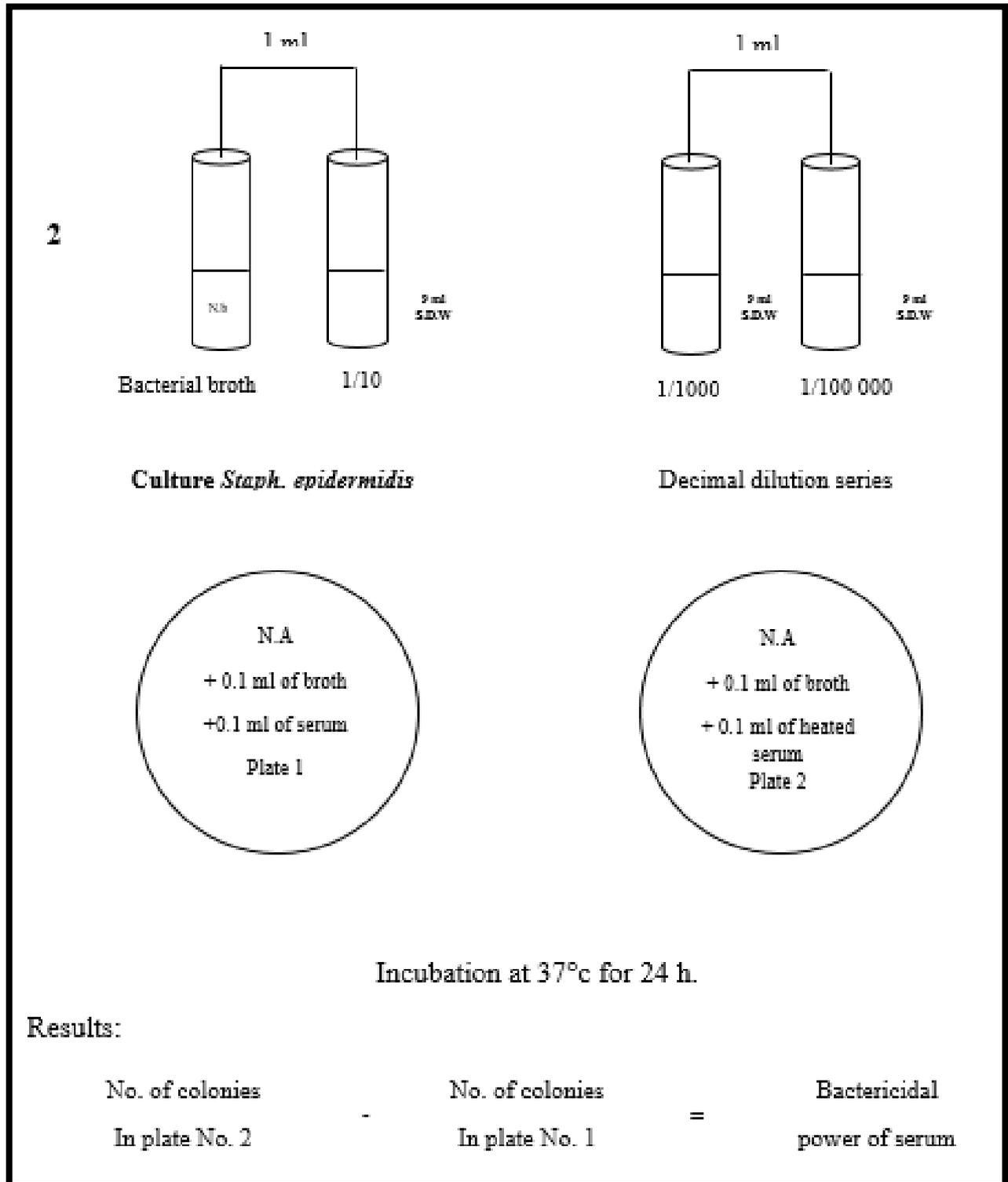
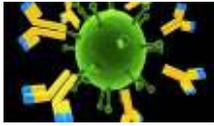
نظام المتمم Complement System او Complement Cascade: هو جزء من الجهاز المناعي الفطري (Innate Immune System) الذي يعزز او يتم عمل الاجسام المضادة والخلايا البلعمية Phagocytic cells في القضاء على الكائنات الممرضة وتحطيمها. يتكون المتمم من عدد من البروتينات الصغيرة يخلق معظمها في الكبد ويصل عددها الى اكثر من 30 بروتين توجد في السوائل الجسمية مثل المصل وغيره من السوائل كما توجد على اغشية الخلايا.

### قوة المصل القاتلة للجراثيم The Bactericidal power of Serum

- يجمع الدم في انابيب لا تحوي مادة مانعة للتخثر ويترك الدم ليتخثر ويجمع المصل.
- تسخن كمية محددة من المصل بدرجة 56° ولمدة 30 دقيقة لتثبيط المتمم.
- تحضر على الاقل خمسة تخفيفات عشرية لبكتريا Staphylococcus epidermidis.
- يضاف 0.1 مل من البكتريا المخففة الى طبقين بتري يحويان على الاكار المغذي Nutrient Agar.
- يضاف 0.1 مل من المصل الطازج Fresh Serum الى الطبق رقم 1، و 0.1 مل من المصل المسخن الى الطبق رقم 2 وتحضن الطبايق بدرجة 37° لمدة 24 ساعة.
- يشير الفرق في اعداد المستعمرات البكتيرية بين الطبقين الى قوة المصل القاتلة للبكتريا The Bactericidal power of Serum.

**No. of colonies in plate 2 – No. of colonies in plate 1 = The bactericidal power of the serum.**





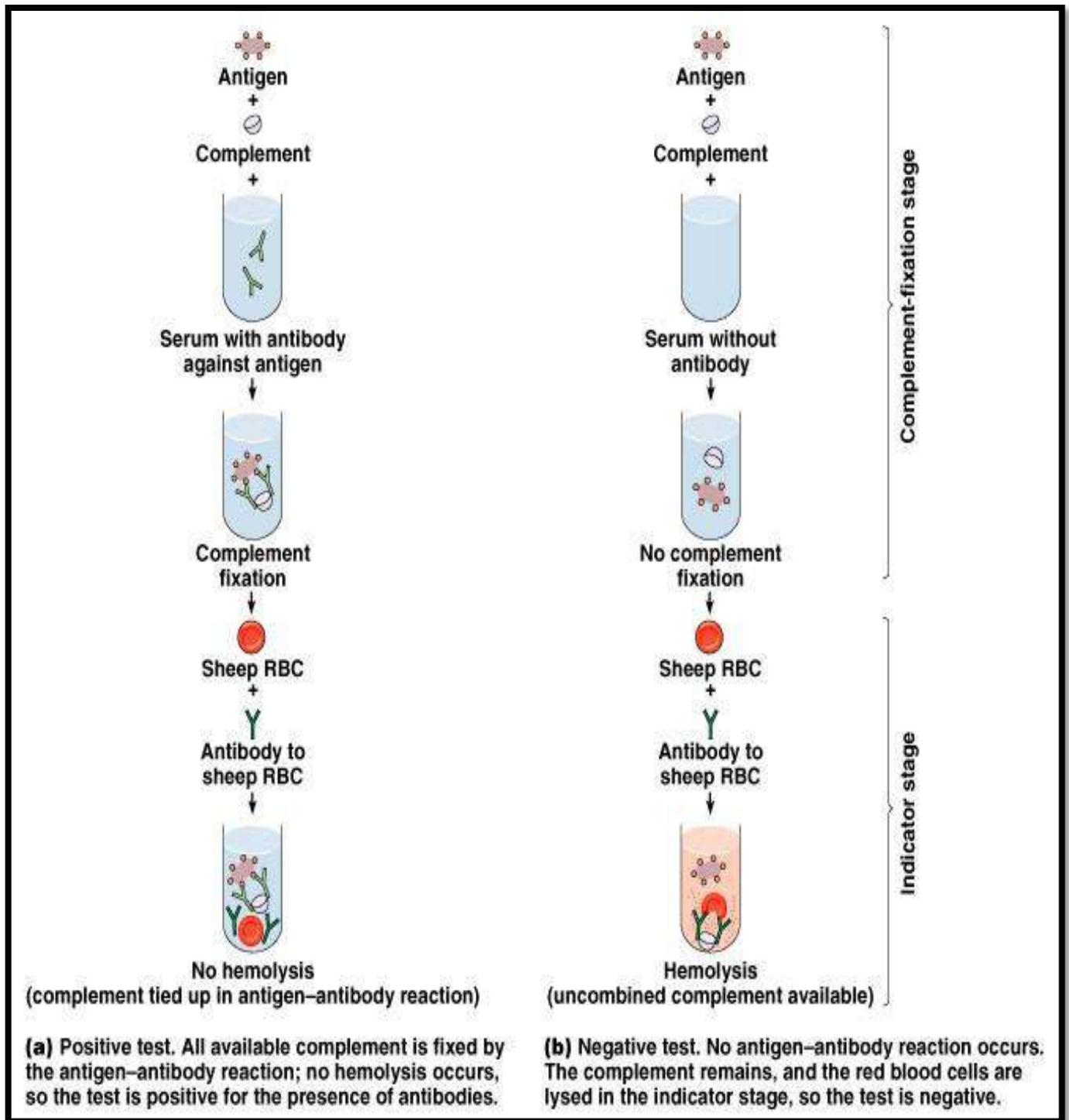
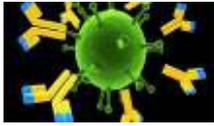
شكل (1) The Bactericidal power of Serum

اختبار تثبيت المتمم Complement Fixation Test

- طريقة مصلية لتشخيص العوامل المسببة للعديد من الامراض.
- يسحب المصل من المريض.
- يسخن مصل المريض في حمام مائي بدرجة 56° لمدة 30 دقيقة لتثبيط المتمم.
- تضاف كمية محددة من المتمم (تؤخذ من خنزير غينيا) الى مصل المريض.
- يضاف المستضد المتخصص Specific Antigen.
- اضافة معقد مناعي مكون من كريات الدم الحمر للخروف مرتبطة مع اجسام مضادة نوعية SRBCs+Anti SRBCs Antibodies.
- قراءة النتائج:-

❖ اذا كان الشخص مصاب (يحتوي المصل Serum على اجسام مضادة) سوف تتفاعل الاجسام المضادة مع المستضدات النوعية المضافة وتتكون معقدات مناعية Immune Complexes تؤدي الى تنشيط نظام المتمم وارتباطه مع هذه المعقدات المناعية (تثبيت المتمم)، فيستنفذ المتمم المضاف (كمية محددة معلومة من خنزير غينيا) ويبقى المعقد المناعي الثاني (الكاشف) المضاف (SRBCs+Anti SRBCs Antibodies) حر ولا يحدث تحلل لكريات الدم الحمر للخروف فبذلك تكون النتيجة موجبة (No Hemolysis-Positive). شكل (2)

❖ اذا كان الشخص غير مصاب (لا يحتوي المصل على اجسام مضادة) لا تتكون معقدات مناعية ويبقى المتمم المضاف حر فيرتبط مع المعقد المناعي الثاني (الكاشف) SRBCs+Anti SRBCs Antibodies ويؤدي الى تحطيم كريات الدم الحمر للخروف وتحللها فبذلك تكون النتيجة سالبة (Hemolysis-Negative). شكل (2)



شكل (2): Complement Fixation Test



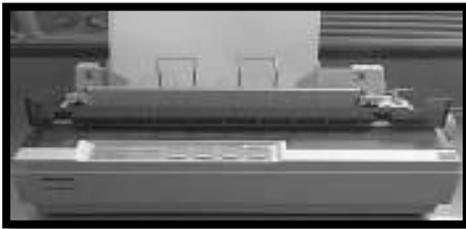
## الفحوصات المناعية (Immuno-Assays)

### 1- فحص اليزا او فحص الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).

- يعتبر فحص اليزا من الفحوصات المناعية الشائعة والأكثر حساسية، ويمكنه الكشف عن تراكيز واطئة من المواد المفحوصة.
- له اهمية في ايجاد نوع وتركيز المادة المراد تحليلها (Ab او Ag غالبا) الموجودة في محلول.
- يستعمل في تشخيص الكثير من الامراض مثل الايدز وداء المقوسات وغيرها.
- له اهمية في الصناعات الغذائية وخصوصا تشخيص المواد المسببة للحساسية في الاغذية مثل الحليب والجوز والبيض وغيرها.
- يستعمل في علم السموم كفحص سريع لأصناف معينة من العقاقير.

### المواد الاساسية المستعملة في فحص ELISA

تستعمل في فحص ELISA مواد مختلفة اهمها جهاز اليزا القارئ (ELISA Reader) والطابعة (Printer) والعدة الخاصة بالفحص (ELISA kit) ولكن تختلف مكونات العدة حسب الشركة المصنعة واهم مكوناتها هي الاجسام المضادة او المستضدات النوعية (Specific Abs or Ags) ومحاليل الغسل والغلق والكشف وغيرها من المحاليل كما قد تحتوي على طبق المعايرة الدقيق (Microtiter plate) وغيرها من المكونات. ومن المواد الاخرى المستعملة هي الماصة الدقيقة (Micropipette). وفيما يلي صور لاهم المواد المستعملة في تحليل ELISA:-



Printer



ELISA Reader



Micropipette



Microtiter plate

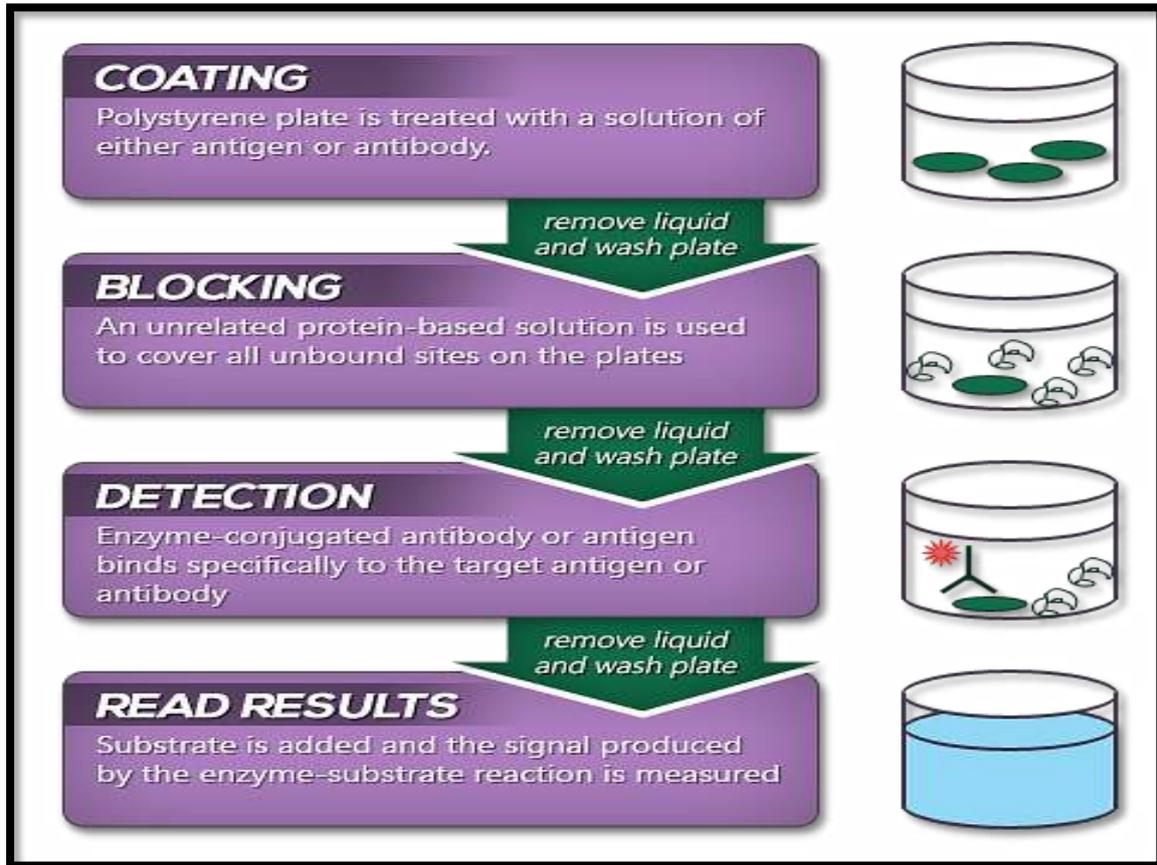


ELISA Kit



### خطوات فحص اليزا ELISA

- 1- التغليف او الطلاء Coating: تغلف الحفر في طبق المعايرة الدقيق Microtiter plate بمحلول الجسم المضاد أو المستضد.
  - 2- الاغلاق Blocking : تغطى جميع الاماكن غير المغلفة في الخطوة الاولى بمحلول بروتيني يختلف تماما عن البروتين في خطوة التغليف (الجسم المضاد او المستضد) غالبا ما يستعمل محلول دارئ الفوسفات المتعادل PBS.
  - 3- الكشف Detection: اضافة المستضد او الجسم المضاد النوعي المرتبط بالإنزيم، حيث يرتبط مع الجسم المضاد او المستضد المستهدف.
  - 4- قراءة النتائج Read results: تضاف المادة الاساس Substrate التي يعمل عليها الانزيم، وتقاس الاشارة (تغير اللون) الناتجة من تفاعل الانزيم مع المادة الاساس اذا كانت النتيجة موجبة (تقاس امتصاصية الضوء النافذ من خلال المحلول بجهاز ELISA Reader).
- ملاحظة: تجرى عملية التخلص من المحلول الزائد والغسل بعد كل خطوة من خطوات الفحص.



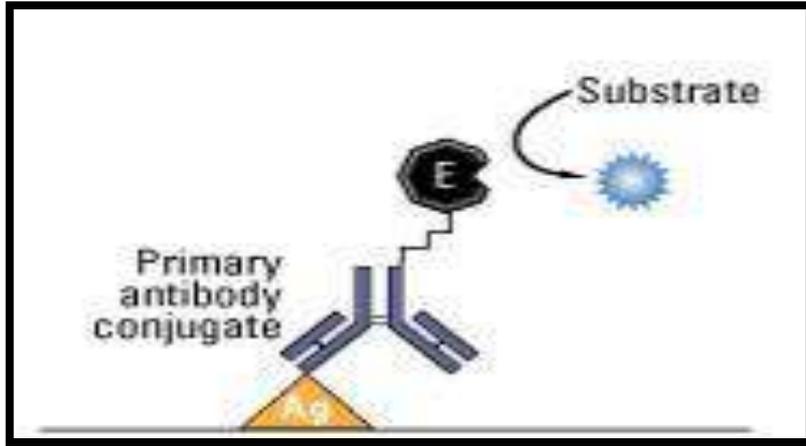
Steps of ELISA



### انواع فحص اليزا Types of ELISA

#### 1- فحص اليزا المباشر Direct ELISA

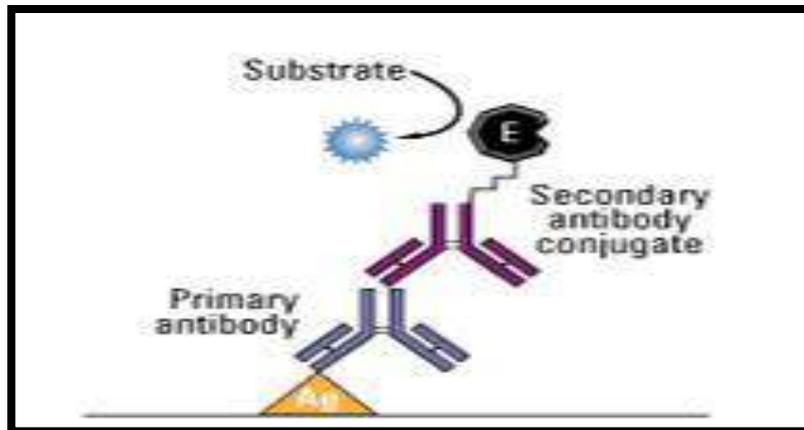
- يغلف الطبق بالمستضد المراد تشخيصه Antigen of interest.
- يضاف الجسم المضاد المرتبط بالإنزيم (Primary Conjugated Ab) مباشرة.



Direct ELISA

#### 2- فحص اليزا غير المباشر Indirect ELISA

- يغلف الطبق بالمستضد المراد تشخيصه Antigen of interest.
- يضاف الجسم المضاد الاول غير المرتبط بالإنزيم Primary Unconjugated Ab.
- يضاف الجسم المضاد الثاني المرتبط بالإنزيم Secondary Conjugated Ab.

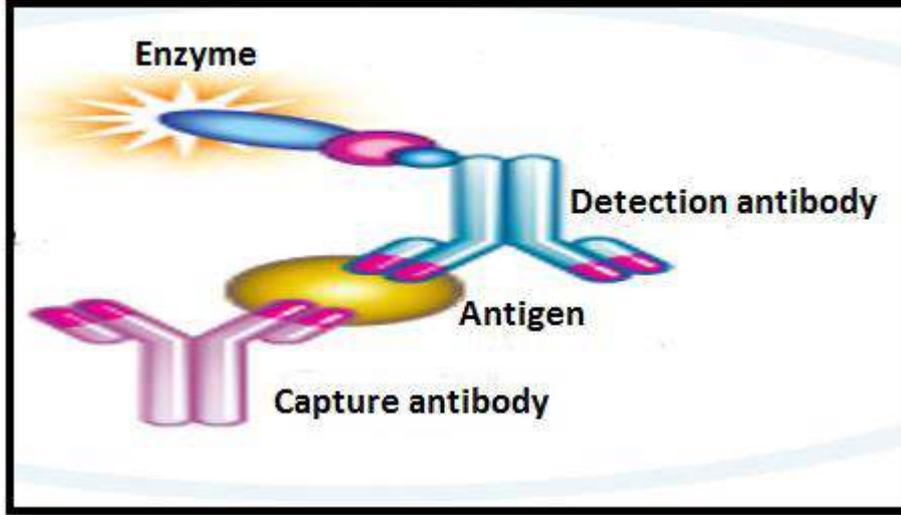


Indirect ELISA



## 3- فحص اليزا الشطيرة Sandwich ELISA

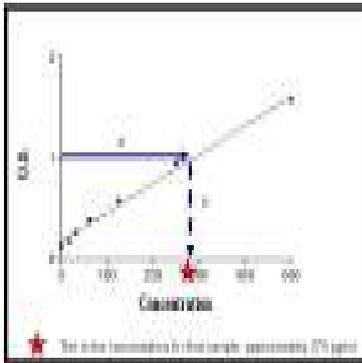
- يغلف الطبق بجسم مضاد غير مرتبط بالإنزيم يسمى Capture Ab.
- يضاف المستضد المراد تشخيصه Antigen of interest.
- يضاف الجسم المضاد المرتبط بالإنزيم ويسمى Detection Ab.



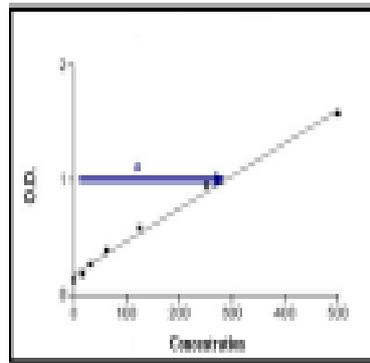
Sandwich ELISA

حساب النتائج

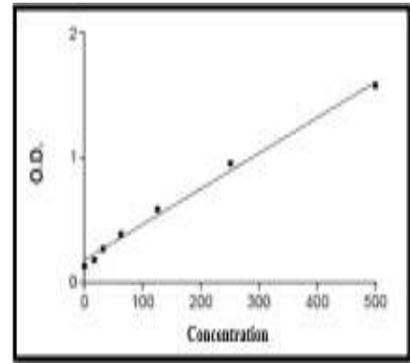
يجب ان يحضر محلول قياسي بتركيز مختلفة معلومة وتقاس الامتصاصية لكل تركيز من التراكيز وتستعمل هذه المعلومات في رسم المنحنى القياسي Standard Curve، وبعد ذلك تقاس الامتصاصية للمادة المراد الكشف عنها وتثبت قيم الامتصاصية على المحور الصادي ومن ثم يرسم خط يمتد الى المنحنى القياسي ومن ثم خط آخر من المنحنى القياسي الى المحور السيني ويستخرج التركيز المجهول كما موضح في الصور التالية.



3



2



1



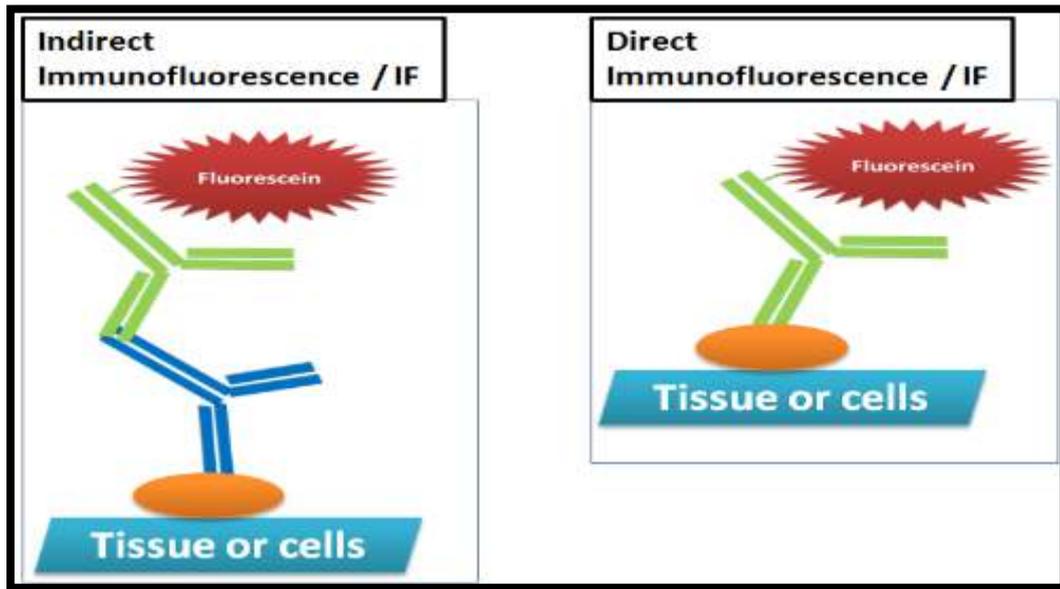
## 2- التآلق المناعي Immunofluorescent (IF)

- اساس الفحص هو التفاعل بين المستضد الموجود في النسيج او الخلايا المفردة مع الجسم المضاد.
- يربط الجسم المضاد مع الصبغة المتألقة Fluorochrome ،Fluorescent dye اوFluorophore مثال عليها صبغة **(FITC) fluorescein isothiocyanate**.
- تشاهد المعقدات المناعية عن طريق انواع مختلفة من المجاهر منها Ultraviolet Microscope و Fluorescent Microscope وغيرها من المجاهر.

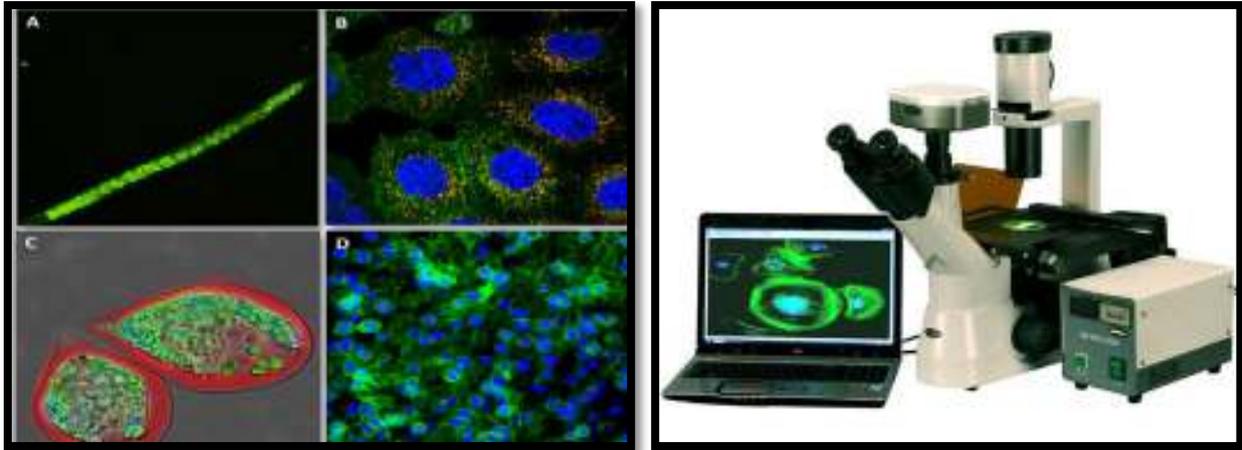
### أنواع فحص التآلق المناعي

1- التآلق المناعي المباشر Direct IF: يستعمل فيه جسم مضاد واحد Primary Ab معلم بالصبغة المتألقة، لذا فهو يحتاج الى وقت قليل لإنجازه بسبب قلة عدد خطواته ودقته اقل لكن تكلفته منخفضة قياسا بالنوع الاخر.

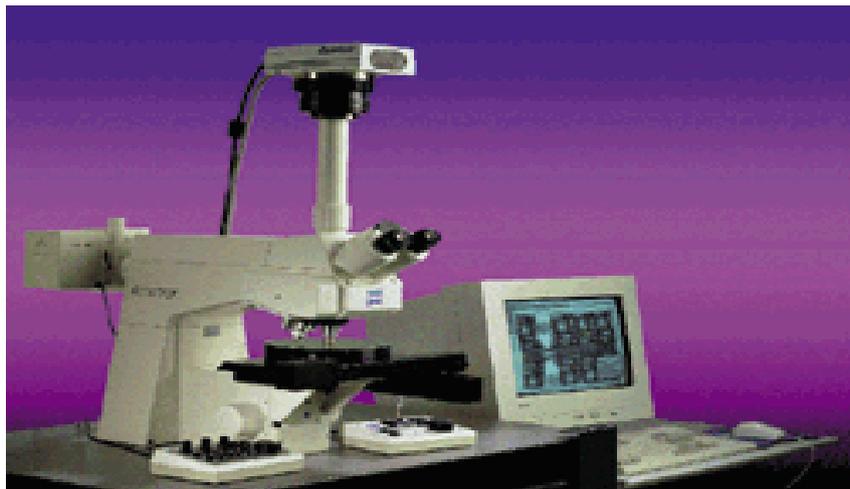
2- التآلق المناعي غير المباشر Indirect IF: يستعمل فيه نوعين من الاجسام المضادة الاول غير معلم بالصبغة المتألقة ويسمى Primary Ab بينما يكون الجسم المضاد الثاني معلم بالصبغة المتألقة ويسمى Secondary Ab وبما ان خطواته اكثر بسبب وجود نوعين من الاجسام المضادة لذا فان تكلفته اعلى ويستغرق وقت اكثر لكن دقته اعلى من النوع الاول.



Types of IF



**Fluorescent Microscope**



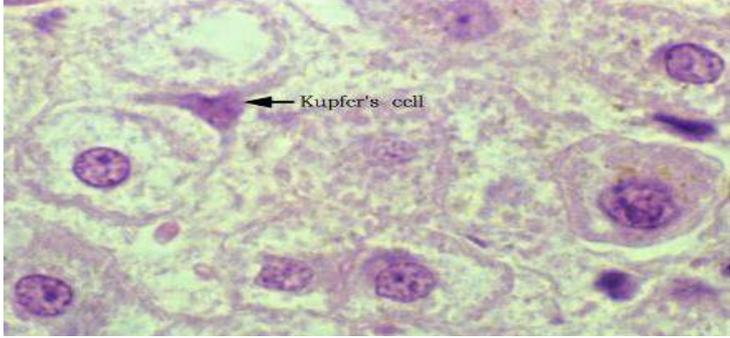
**Ultraviolet Microscope**

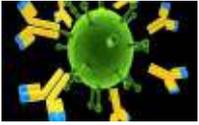


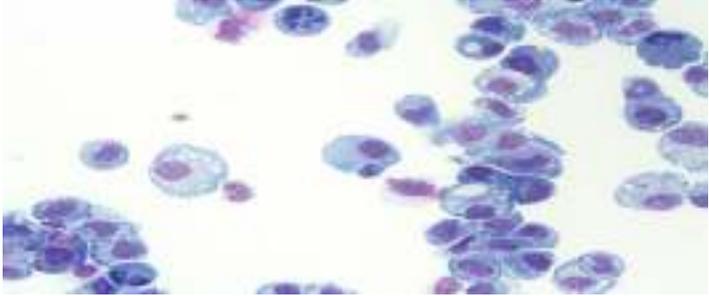
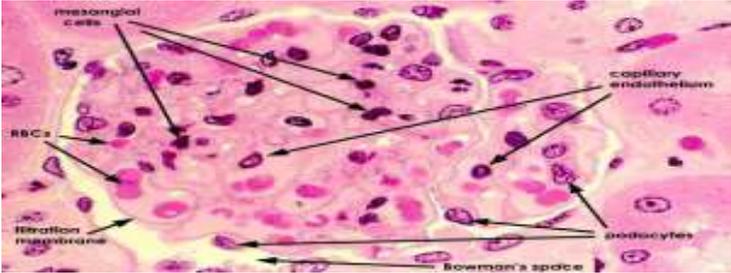
## عملية البلعمة Phagocytosis

**Phagocytosis:** هي عملية ابتلاع الاجسام الغريبة مثل البكتريا، الطفيليات والخلايا الميتة، وبالنسبة للجهاز المناعي هي واحدة من آليات الدفاع الرئيسية للمناعة الفطرية تقوم بها خلايا متخصصة هي البلعم الكبير Macrophage، الخلية العدلة Neutrophil، الخلية عديدة التغصنات Dendritic cell والخلية البائية B cell ايضا. عملية البلعمة ليست فقط ابتلاع الجسم الغريب وهضمه والتخلص من بقاياه ولكن هي عملية معالجة المستضد (Ag processing) وتقديمه الى خلايا اخرى في الجهاز المناعي هي الخلايا التائية، لذا فهي تلعب دورا حيويا في المناعة الفطرية (Innate immunity) كما وتقوم بدور اساسي في نشوء المناعة التكيفية (Adaptive immunity).

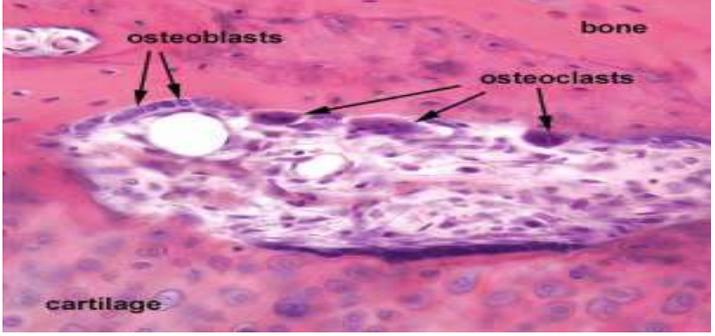
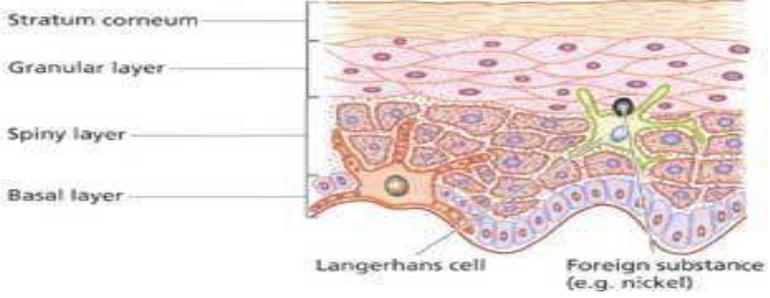
**الخلايا البلعمية الثابتة في النسيج Fixed Macrophages:** تسمى هذه الخلايا نسبة الى موقعها في النسيج وكما يلي:-

Location	Cell name	Fixed macrophages in the tissues
Liver	Kupffer's cell	
Connective tissue	Histiocyte	



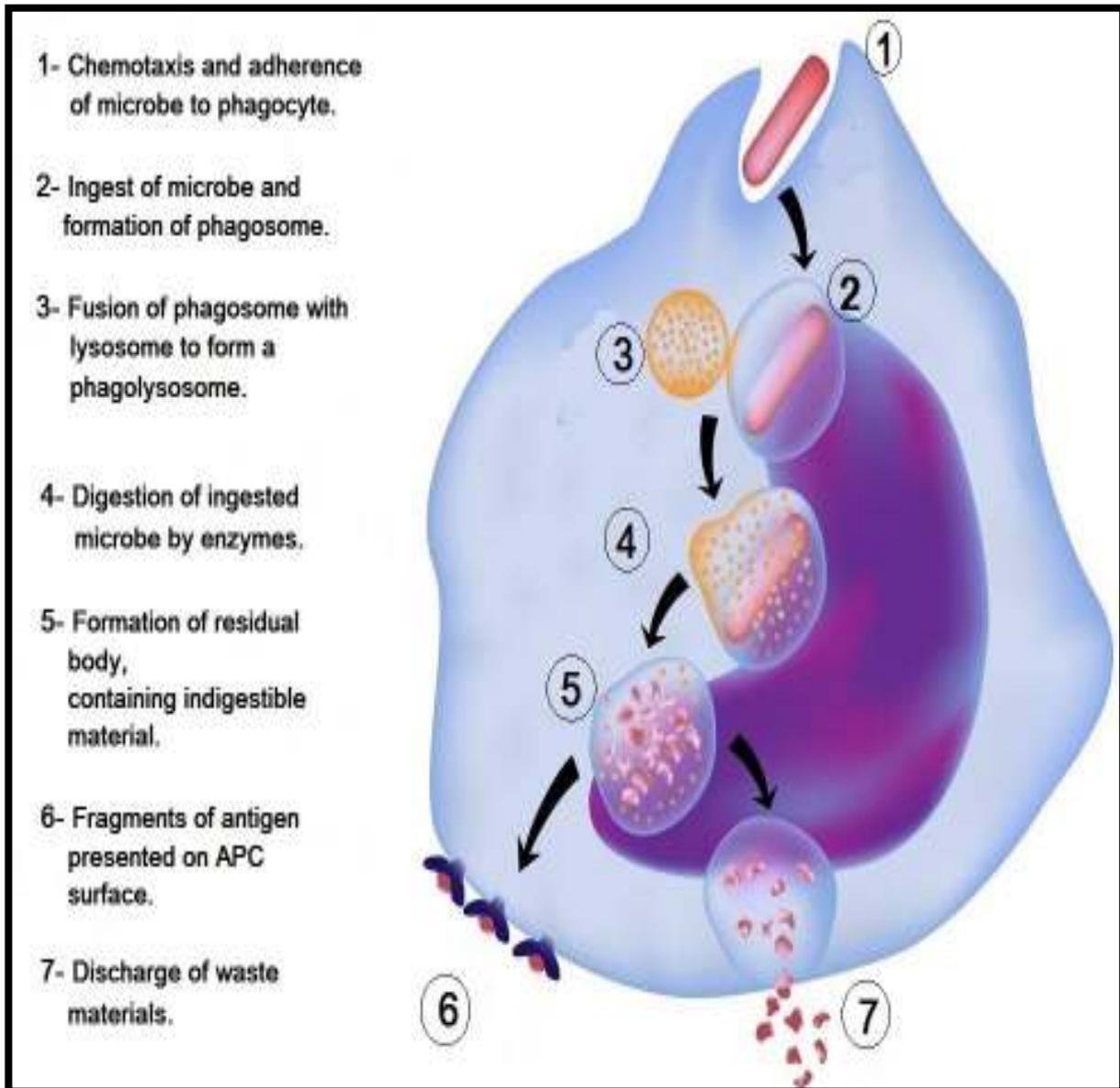
Lung	Alveolar macrophage (dust cell)	
Peritoneum	Peritoneal macrophage	
Brain	Microglial cell	
Kidney	Mesangial cell	



Bone	Osteoclast	
Skin and Mucosa	Langerhans cell	
Spleen (red pulp)	Sinusoidal cell	

### مراحل عملية البلعمة Stages of phagocytosis

- 1) الانجذاب الكيميائي والتصاق المايكروب بالخلية البلعية.
- 2) ابتلاع المايكروب وتكوين الجسيم البلعي.
- 3) اندماج الجسيم الحال مع الجسيم البلعي وتكوين الجسيم البلعي الحال.
- 4) هضم المايكروب بواسطة الانزيمات.
- 5) تكوين ما يسمى Residual body الذي يحتوي على البقايا غير المهضومة للمايكروب.
- 6) تقديم اجزاء من المايكروب عن طريق الخلايا المقدمة للمستضد Antigen Presenting Cells.
- 7) طرح المخلفات الباقية للمايكروب.



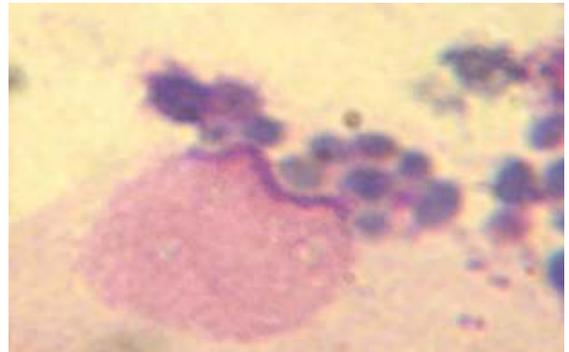
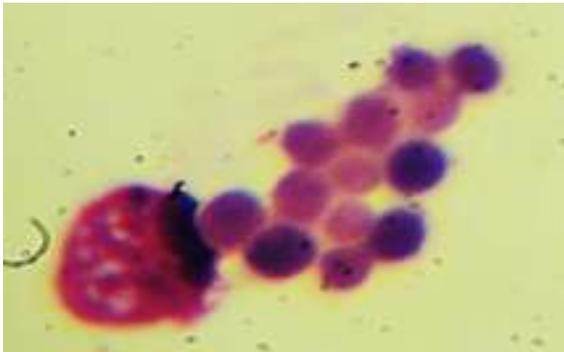
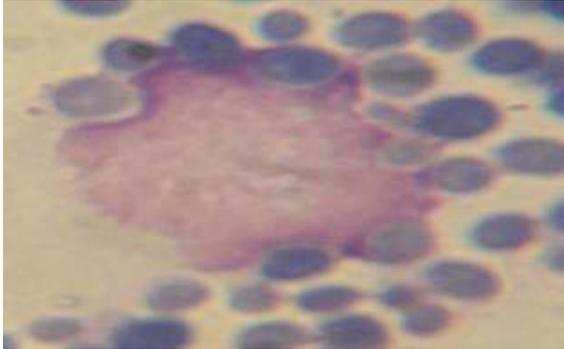
Steps of phagocytosis

**تجربة 1: عملية البلعمة داخل التجويف البريتوني Intraperitoneally phagocytosis**المواد المستعملة

1. فئران مختبرية بيضاء.
2. عالق خميرة الخبز.
3. حقن طبية 1 مل.
4. محلول ملحي طبيعي Normal Saline.

طريقة العمل

1. يحقن 0.5 مل من عالق الخميرة داخل التجويف البريتوني للفأرة مع عمل مساج.
2. تترك الفأرة 10 دقائق في حرارة الغرفة.
3. يحقن 0.5 مل من المحلول الملحي الطبيعي داخل التجويف البريتوني للفأرة مع عمل مساج.
4. تقتل الفأرة ويشق الجلد ثم يسحب السائل البريتوني الحاوي على الخلايا البلعمية والخميرة.
5. تؤخذ قطرة من السائل البريتوني وتفرش على شريحة زجاجية وتترك لتجف.
6. تصبغ المسحة بصبغة لشممان Leishman's stain لمدة 3 دقائق.
7. يضاف الماء المقطر فوق الصبغة ويمزجان معا لمدة 10 دقائق.
8. تغسل المسحة بماء الحنفية لمدة 2 دقيقة.
9. تترك المسحة لتجف ثم تفحص تحت المجهر.



Intraperitoneally Phagocytosis

**تجربة 2 NBT test**المواد المستعملة

(1) صبغة Nitro Blue Tetrazolium.

(2) دم طازج Fresh Blood مجموع في انابيب حاوية على مانع تخثر.

ملاحظة: صبغة NBT صفراء اللون في حالة التأكسد ولكن عند مزجها مع الدم وبعد فترة الحضانة فان الخلايا البلعمية في الدم تبتلع الصبغة وتختزلها وتحولها الى مادة سوداء اللون تدعى فورمازان Formazan.

طريقة العمل

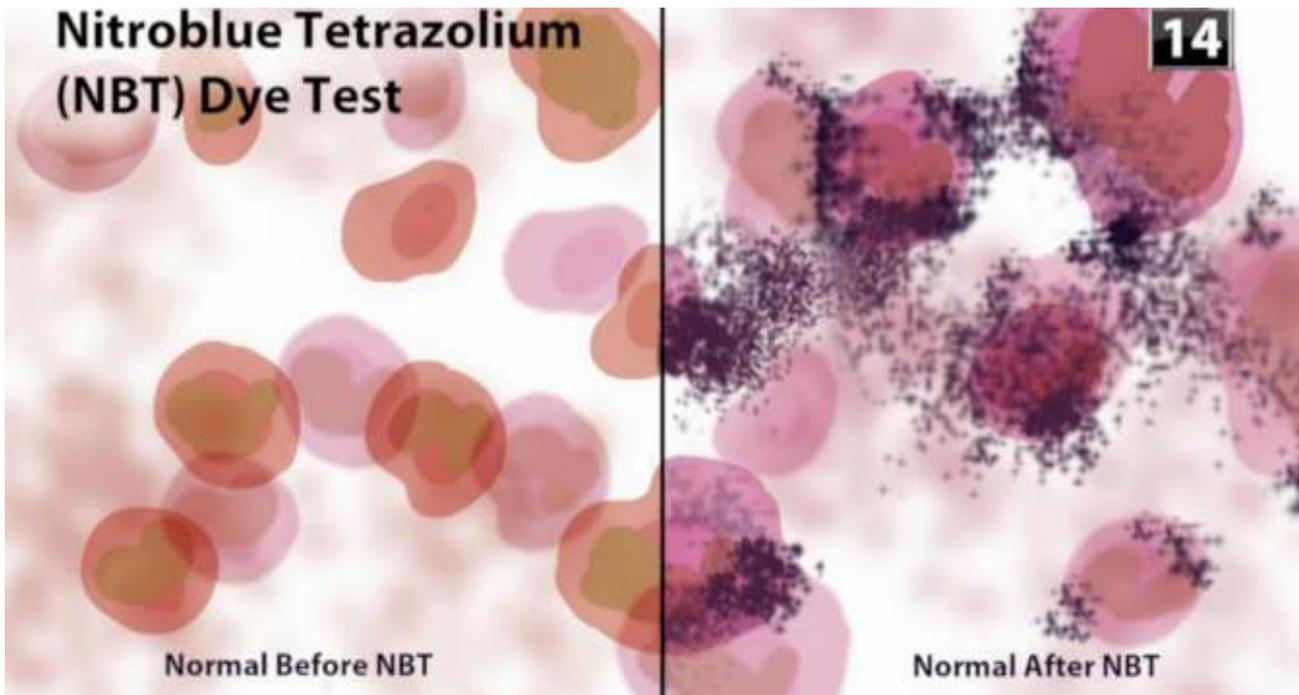
(1) يحضر 0.1% من الصبغة بإذابة 0.1 غم من الصبغة في 100 مل من المحلول الملحي الطبيعي.

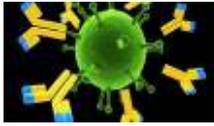
(2) يمزج 0.1 مل من الصبغة مع 0.1 مل من الدم.

(3) يحضن مزيج الدم والصبغة بحرارة 37° لمدة 10 دقائق.

(4) يتم عمل مسحات من المزيج (اتباع طريقة مسحة الدم) ثم تصبغ المسحة بصبغة لثمان او كيمزا.

(5) تفحص الشرائح تحت المجهر ويلاحظ تكون مادة الفورمازان داخل الخلايا العدلة Neutrophils.





## الالتهاب Inflammation

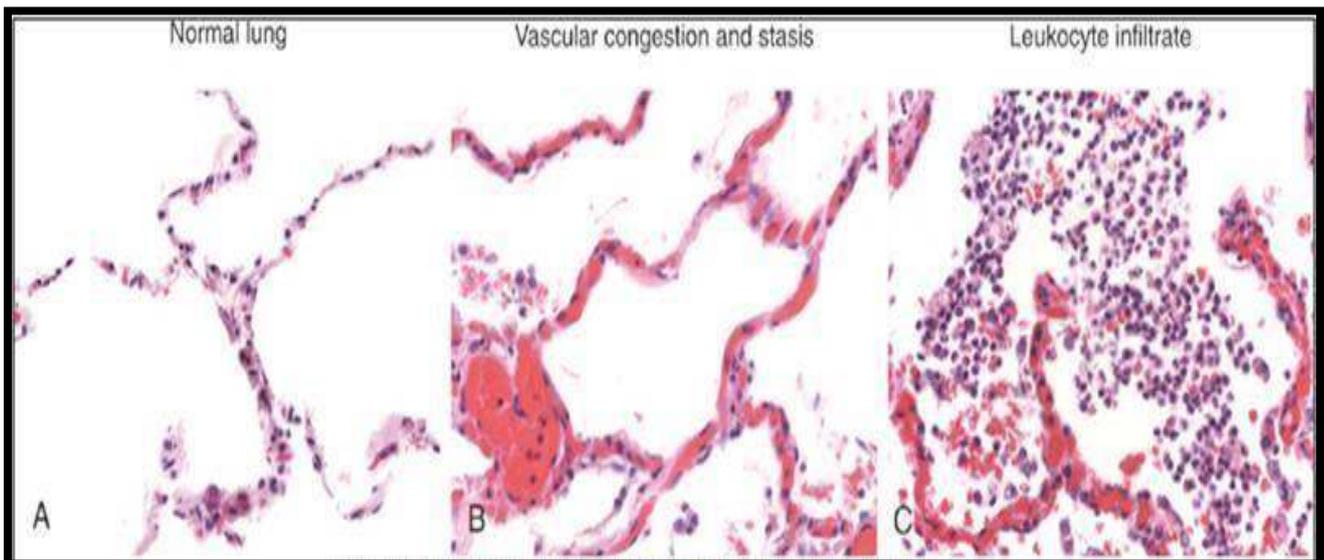
الالتهاب: هو الاستجابة الطبيعية للأنسجة الحية ضد الإصابة، ويعمل على تهيئة النسيج للشفاء والإصلاح.

### أنواع الالتهاب Types of inflammation

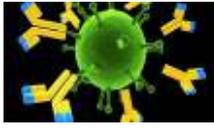
1. الالتهاب الحاد Acute Inflammation.
2. الالتهاب المزمن Chronic Inflammation.

### الالتهاب الحاد Acute Inflammation

- استجابة سريعة تحدث خلال دقائق او ساعات.
- يحفز هذا النوع من الالتهاب عن طريق ما يلي:-
  - (1) الاصابات او العدوى Infections (بكتريا، فايروسات، طفيليات، سموم الاحياء المجهرية).
  - (2) ضرر او جرح النسيج Tissue Injury (الرضوض، الجروح الكيميائية او الفيزيائية او الحرارية والاشعاعية، اضافة الى بعض المواد الكيميائية في البيئة).
  - (3) الاجسام الغريبة Foreign Bodies (الشظايا، الاوساخ، الادوات الحادة).
  - (4) التفاعلات المناعية Immune Reactions مثل تفاعلات فرط الحساسية.



(Acute inflammation)

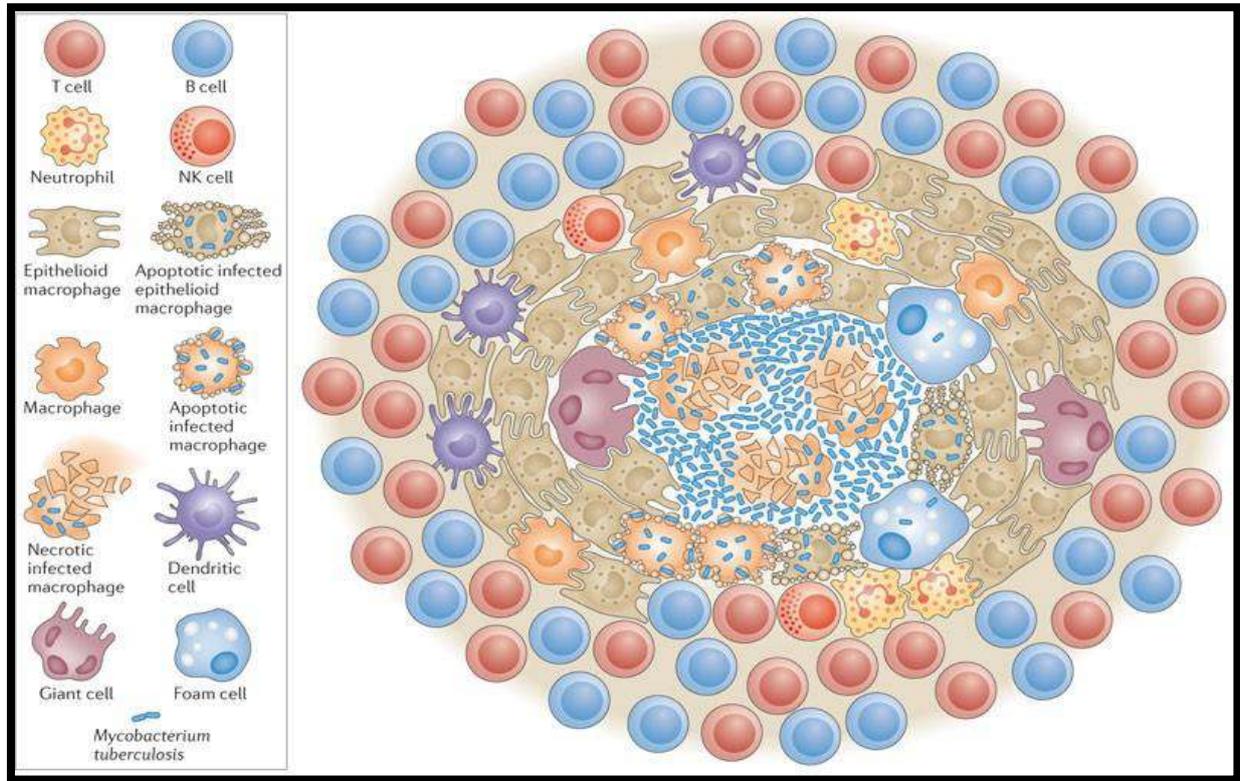


### الالتهاب المزمن Chronic Inflammation

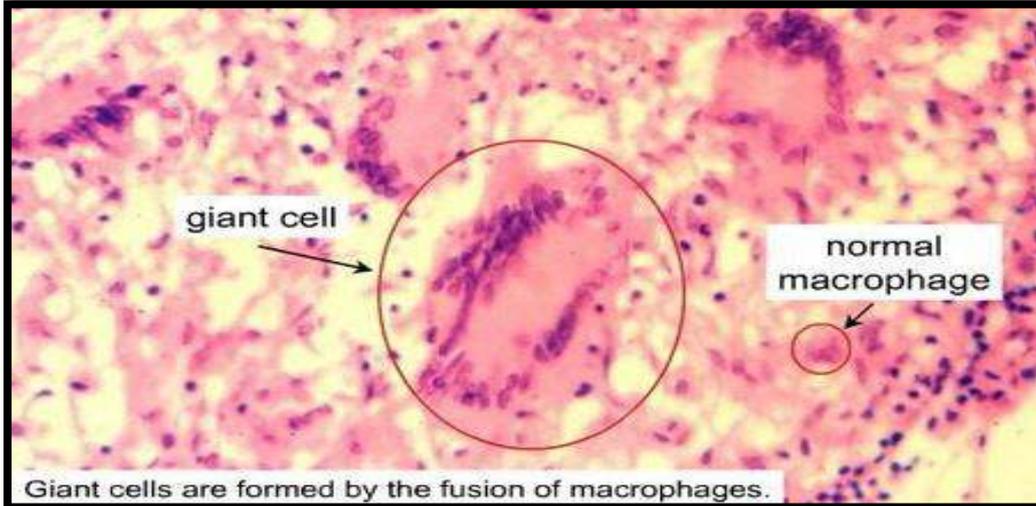
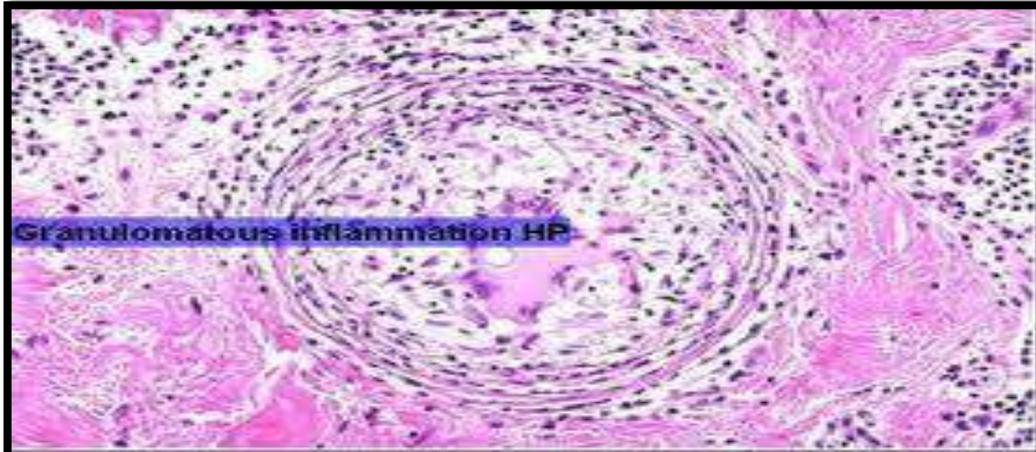
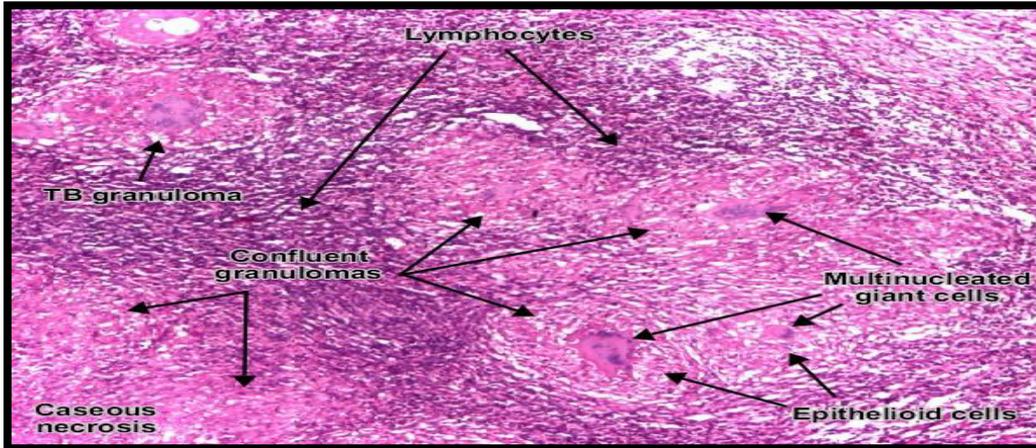
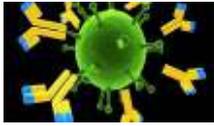
- استجابة بطيئة تحدث خلال اسابيع الى اشهر.
- يحفز بواسطة ما يلي:-

- (1) العدوى او الاصابة المستمرة Persistent Infection.
- (2) التعرض للعوامل السمية لفترات طويلة.
- (3) امراض المناعة الذاتية Autoimmunity.

ملاحظة: ان الصفة المميزة للالتهاب المزمن هي الالتهاب الحبيبي Granulomatous Inflammation او ما يدعى ايضا بالتحبيب Granuloma وهو احاطة المايكروب بتجمع مركزي من الخلايا البلعمية المنشطة Activated Macrophages والتي تتحول الى ما يسمى بالخلايا شبه الظهارية Epithelioid Cells ويضم ايضا مادة بينية Matrix وخلايا اخرى مثل Lymphocytes، Neutrophils، Eosinophils، والخلايا العملاقة متعددة الأنوية Multinucleated Giant Cells (هي عبارة عن بلاعم كبيرة Macrophages تندمج مع بعضها لتكون خلية واحدة عملاقة متعددة الأنوية)، كما توجد ارومات ليفية Fibroblasts وكولاجين Fibers. مثال على ذلك مرض السل Tuberculosis والجذام Leprosy وغيرها.



Granulomatous Inflammation (Granuloma)

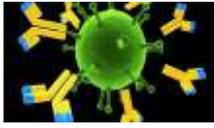


### Chronic Inflammation

#### تعريف مهمة

Apoptosis: هو الموت المبرمج للخلايا (عملية طبيعية).

Necrosis: معناه النخر ويقصد به الموت المبكر للخلايا والنسيج الحي بسبب عوامل خارجية مثل العدوى او الاصابات والسموم والرضوض.

**تشخيص الالتهاب Diagnosis of Inflammation**

1- معدل ترسيب كريات الدم الحمر (ESR) Erythrocyte Sedimentation Rate.

- اختبار دم بسيط.
- ليس خاصا بمرض معين.
- يعد دليلا عاما على وجود الالتهاب وله اهمية في تتبع علاج الامراض الالتهابية.

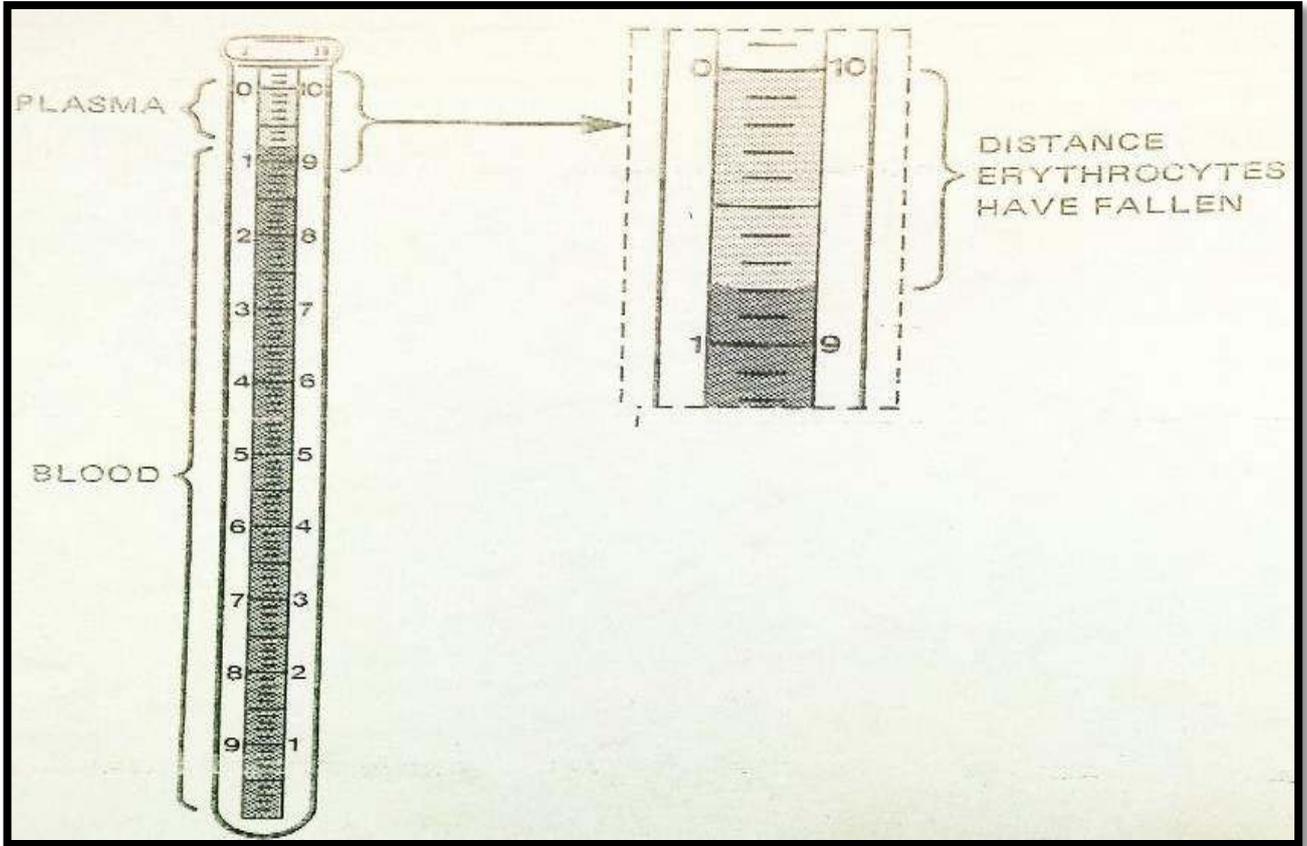
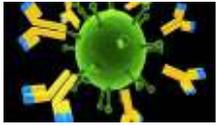
ملاحظة: توجد عدة طرائق لقياس معدل ترسيب كريات الدم الحمر مثل Wintrobe Method، Westergren Method، Landau-Adams Method وجميع هذه الطرائق تتشابه في اساس العمل لكنها تختلف في كمية الدم المستعملة والنسب الطبيعية لها نظرا لاختلافها في اطوال واحجام الانابيب المستعملة فيها.

**Wintrobe Method -1**

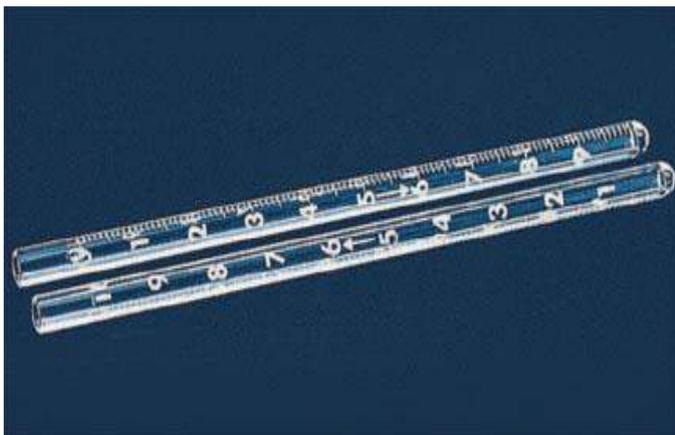
- انبوب Wintrobe مدرج من الصفر في الاعلى الى 100 عند القاعدة.
- يحمل الانبوب عاموديا في حامل خاص به.
- يستعمل الدم المجموع في انابيب حاوية على مانع تخثر EDTA.
- تستعمل ماصة باستور طويلة لملا الانبوب بالدم الى الصفر.
- يترك الانبوب في الحامل الخاص به لمدة ساعة.
- تحسب المسافة الكلية (مسافة هبوط كريات الدم الحمر من الصفر الى الرقم الذي وصلت له بعد ساعة) وهي تمثل معدل ترسيب كريات الدم الحمر وتقدر بوحدة مليميتر/ساعة.

**النسب الطبيعية Normal Value لطريقة Wintrobe.**

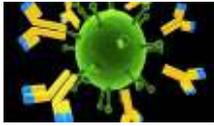
Age/Sex	Normal rate mm/hour
Males	0-9
Females	0-20
Children	0-13



(Wintrobe method)



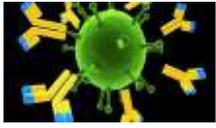
(Wintrobe tubes and rack)

Westergren Method -2

- انبوب Westergren مدرج من الصفر في الاعلى الى 200 عند القاعدة.
- يحمل الانبوب عاموديا في حامل خاص به.
- يستعمل الدم المجموع في انابيب حاوية على مانع تخثر EDTA.
- يخفف الدم المجموع (الدم+EDTA) بإضافة 2 مل من الدم في انبوب يحوي 0.5 مل من سترات الصوديوم Sodium Citrate، يجب ان لا يخزن اكثر من 2 ساعة في جو الغرفة او 6 ساعات في 4°.
- يملأ الانبوب بالدم الى الصفر ويثبت الانبوب في المشبك من الاعلى والجزء المطاطي من الاسفل الموجودة في الحامل الخاص به.
- يترك الانبوب في الحامل الخاص به لمدة ساعة.
- تحسب المسافة الكلية (مسافة هبوط كريات الدم الحمر من الصفر الى الرقم الذي وصلت له بعد ساعة) وهي تمثل معدل ترسيب كريات الدم الحمر وتقدر بوحدة مليميتر/ساعة.

## النسب الطبيعية Normal Value لطريقة Westergren.

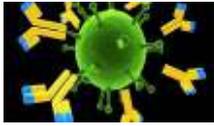
Age/Sex	Normal rate mm/hour
Males	0-15
Females	0-20
Children	0-10



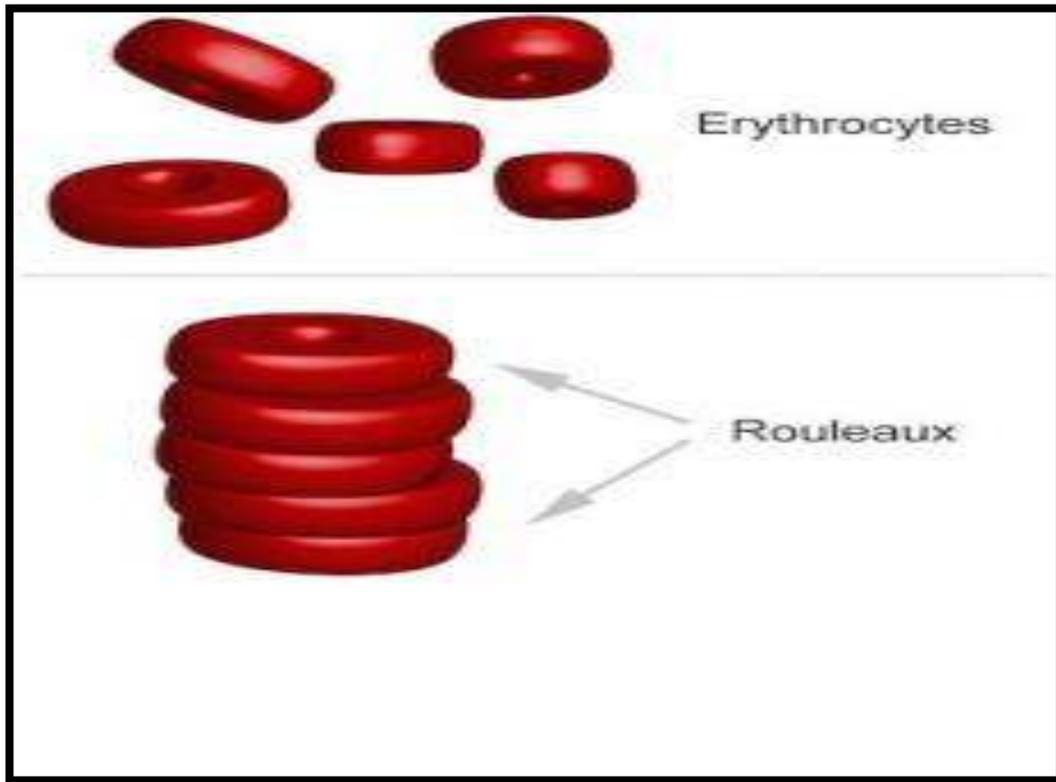
(Westergren method)

من الطرائق الاحدث لقياس ESR هي استعمال جهاز ESR Analyzer الموضح في الصورة التالية:-





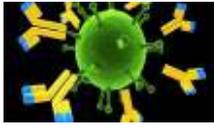
ملاحظة: يعكس ESR التغير في بروتينات البلازما (Globulins و Fibrinogen) الذي يرافق الالتهاب، وان الزيادة في نسب هذه البروتينات يؤدي الى تكون ما يسمى بالنضائد Rouleaux (تتجمع كريات الدم الحمر مع بعضها وتكون تجمعات كبيرة) مما يؤدي الى ترسبها.



تكوين النضائد

#### 1- بروتين الطور الحاد C-Reactive Protein

- بروتين موجود في مصل الدم.
- يخلق عن طريق الكبد.
- يرتفع مستواه عند حصول الالتهاب.
- يعتبر دليلا عاما على وجود الالتهاب وليس خاصا بمرض معين.

**Normal value**

النسبة الطبيعية

0.8-3 mg/L

**Contents of RB kit** مكونات العدة**Reagent**: حبيبات لاتكس مغلفة بأجسام مضادة لبروتين CRP.**Positive control**: مصل عياري موجب.**Negative control**: مصل عياري سالب.

CRP kit



## تفاعلات فرط الحساسية Hypersensitivity Reactions

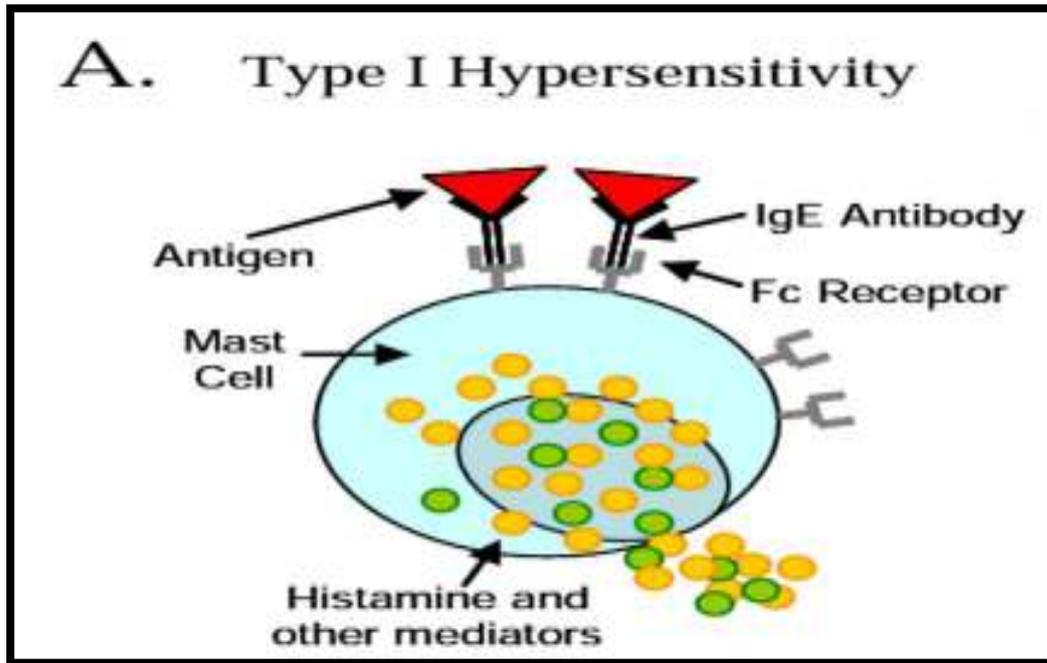
- ❖ استجابة غير طبيعية ينتجها الجهاز المناعي.
- ❖ ربما تكون مُخَطَّمة أو غير مريحة أو حتى قاتلة.
- ❖ تحتاج الى شخص معرض للمستضد مسبقا .Pre-sensitized or Immune person
- ❖ تحدث عند اي شخص لديه استعداد جيني للتحسس.

### أنواع تفاعلات فرط الحساسية

1- النمط الاول من تفاعلات فرط الحساسية (فرط الحساسية العاجلة)

[Type I-Immediate Type of Hypersensitivity (Anaphylaxis)]

- استجابة سريعة تتوسطها الخلية البدينة Mast Cell والجسم المضاد IgE.
- تحدث خلال دقائق من التعرض للمستضد.
- بعد التعرض للمستضد تطلق الخلية البدينة Mast Cell مواد تحث على الالتهاب مثل الهستامين Histamine ووسائط اخرى خلال عملية تدعى Degranulation.

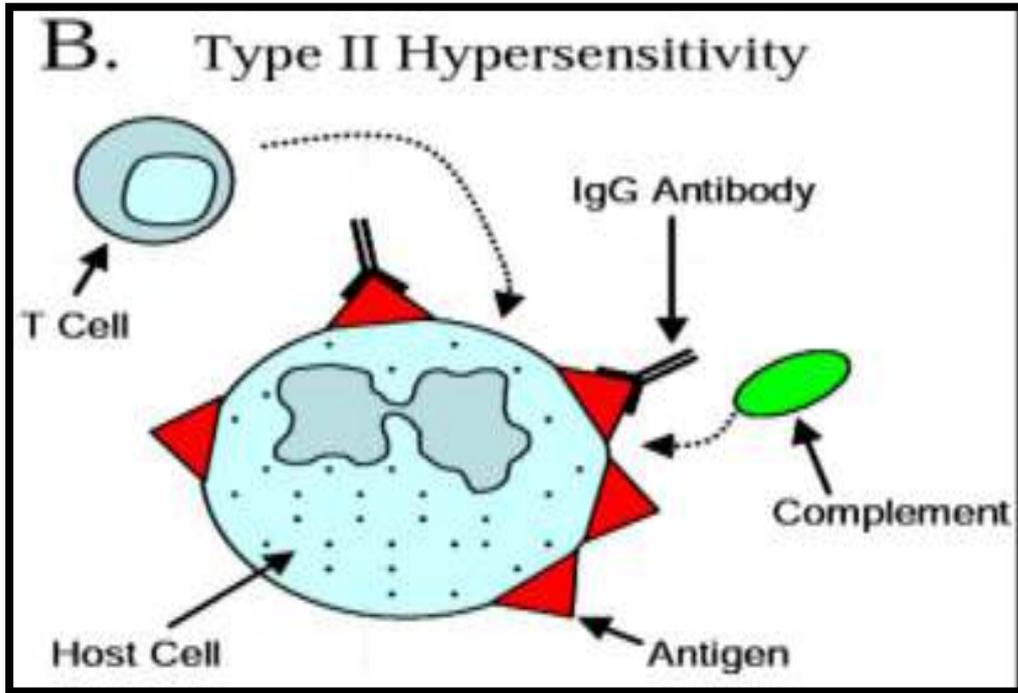


Type I-Immediate Type of Hypersensitivity (Anaphylaxis)



## 2- النمط الثاني من تفاعلا فرط الحساسية Type II (Cytotoxic hypersensitivity)

- تتواسطه الاجسام المضادة IgG و IgM.
- تحدث عندما يكون المستضد المستهدف جزء من سطح الخلية او النسيج .
- تحدث بعد عدة ساعات الى ايام.
- ترتبط الاجسام المضادة IgG و IgM بالمستضدات الموجودة على سطح الخلية او النسيج مكونة معقدات مناعية تؤدي الى تحفيز المتمم وبالتالي تحطم الخلية او النسيج وتحفيز التفاعلات السمية المتواسطة بالخلايا والمعتمدة على الجسم المضاد (Antibody Dependent Cell- ADCC) (Mediated Cytotoxicity).

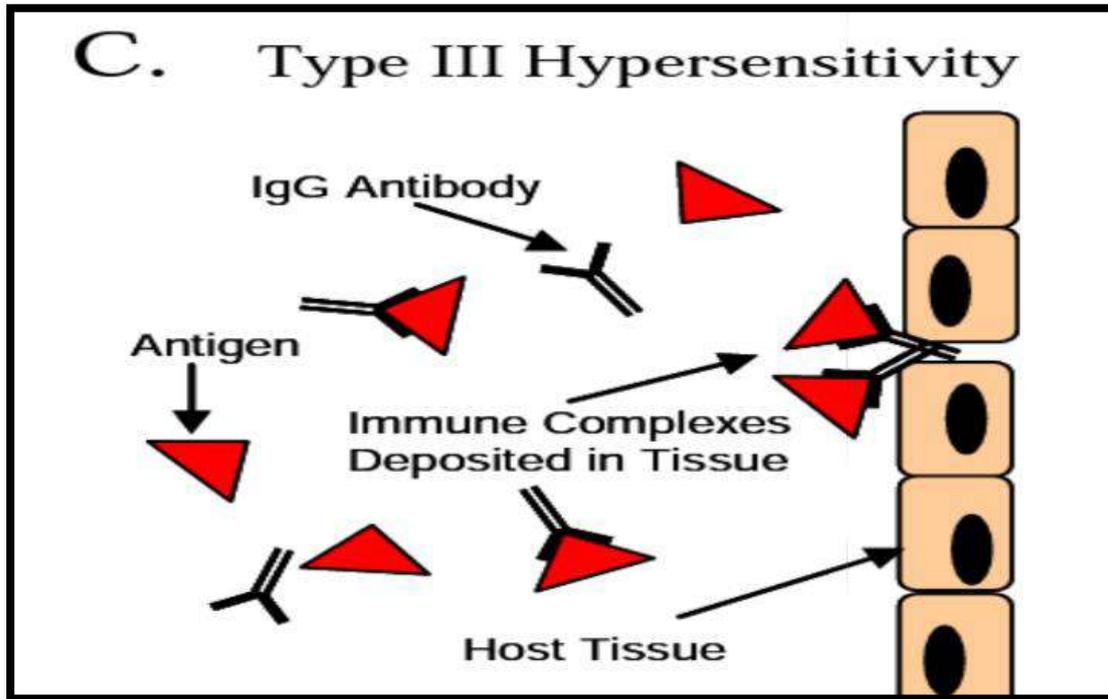


Type II (Cytotoxic hypersensitivity)



## 3- النمط الثالث من تفاعلات فرط الحساسية Type III

- تتواسطه الاجسام المضادة IgG و IgM.
- يحدث عندما يكون المستضد المستهدف ذائب.
- يحدث بعد ساعات او ايام او حتى اسابيع.
- تترسب المعقدات المناعية في مختلف انسجة الجسم وتؤدي الى تحفيز المتمم وحدوث استجابة التهابية وارتشاح الخلايا العدلة وبالتالي تحطيم النسيج.

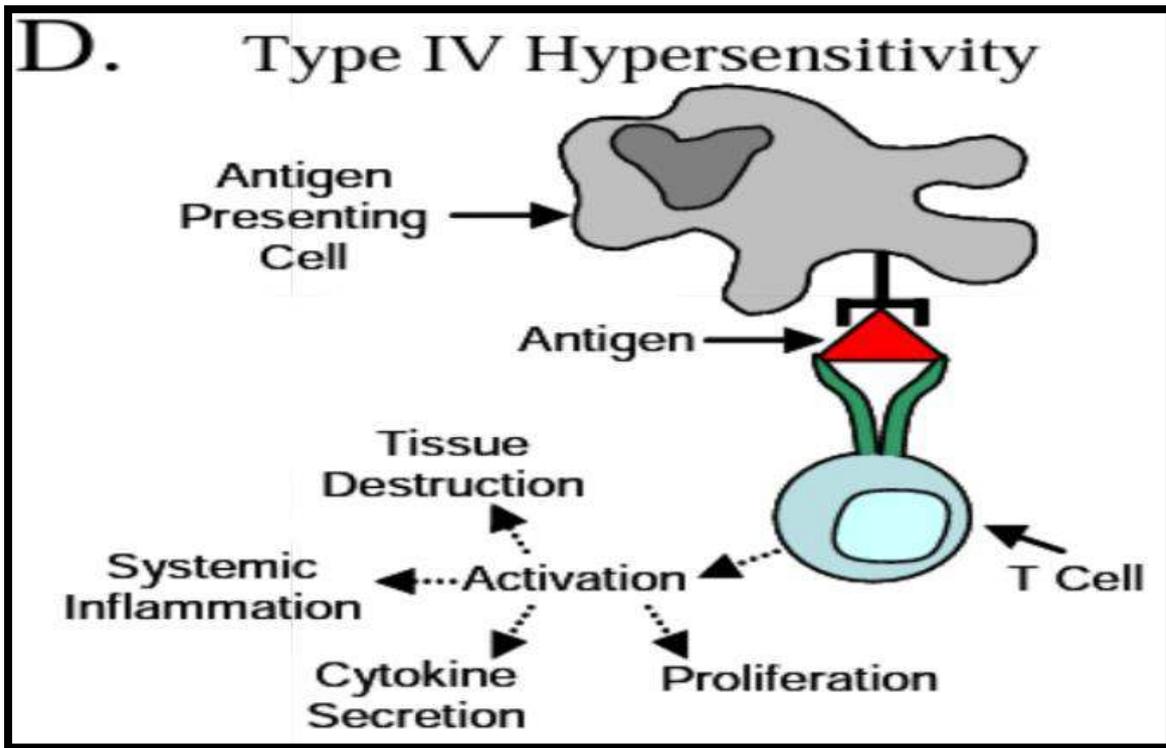


Type III



4- النمط الرابع من تفاعلات فرط الحساسية (تفاعلات فرط الحساسية الأجلة)  
(Delayed type of hypersensitivity) Type IV

- يعتمد حدوثها على الخلية التائية T-cell التي تقوم بدورها بجذب خلايا الجهاز المناعي الأخرى إلى منطقة التحفيز.
- تحدث بعد 12 ساعة أو أكثر.



(Delayed type hypersensitivity) Type IV

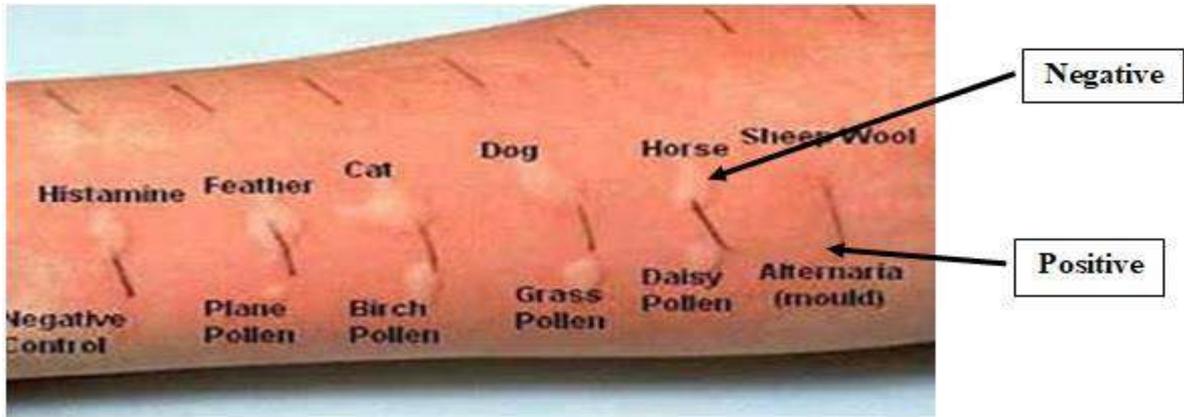


## الاختبار الجلدي Skin Test

- تحقن كميات صغيرة من المستضد المخفف داخل الادمة . Intradermal Injection .
- يجرى الاختبار على الجزء البطني (الداخلي) من الذراع.
- تخطط الذراع حسب عدد المستضدات المراد فحص التحسس ضدها وتكتب الاحرف الاولى من هذه المستضدات، وتحقن كميات صغيرة منها داخل الادمة.
- اذا كانت النتيجة موجبة يحدث احمرار وانتفاخ في منطقة الحقن.
- يقاس قطر الانتفاخ المتكون بعد 15 دقيقة من التعرض للمستضد لتشخيص نمط الحساسية الاول (Anaphylaxis) وبعد 24-48 ساعة لتشخيص نمط الحساسية الرابع (Delayed Type).



الشكل \* (صور من مركز الحساسية توضح طريقة عمل اختبار الحساسية والمواد المستخدمة فيه)

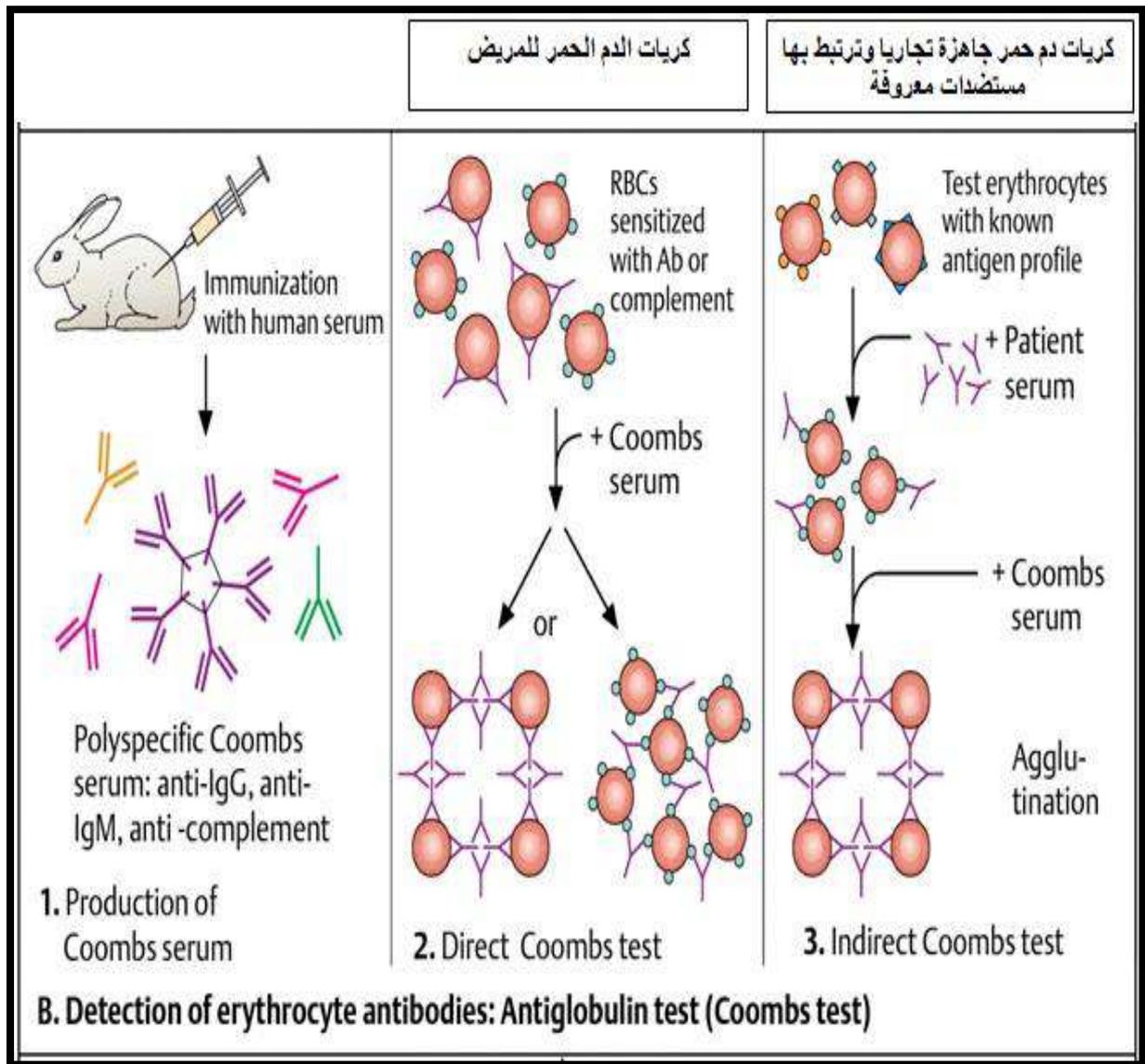


## Skin Test



اختبار كومبس Coombs Test او (AGT) Antiglobulins Test

- اختبار دم.
- يوجد نوعين من الاختبار مباشر Direct وغير المباشر Indirect.
- يستعمل لتشخيص تفاعلات الحساسية من النمط الثاني (Cytotoxic) Type II مثل فقر الدم التحللي Hemolytic Anemia، تحلل دم الوليد Hemolytic Disease of Newborn وغيرها.



Coombs Test