وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة – قسم علوم الحياة

# مقارنة بين فحص الودال وتقنية الاليزا مع تقييم بعض الجوانب المناعية الخلطية لمرضى التيفؤيد في محافظة ديالى

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة –جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في

علوم الحياة –تخصص الاحياء المجهرية

من قبل

**فاطمة عامر عبد الجبار الجوهر**

**بكالوريوس علوم حياة/الجامعة المستنصرية**

باشراف

| الاستاذ | الاستاذ المساعد |
| --- | --- |
| د.عباس عبود فرحان | د. محمد عبد الدايم صالح |

1434 هـ

2013 م

## 1 المقدمة : Introduction

تعد حمى التيفؤيد من الإمراض المعدية الشائعة التي تصيب الإنسان ، تسببها بكتريا السالمونيلا المعوية *Salmonella enterica* من النوع *typhi* (Yoon , *et al.*, 2009) . ومن الممكن أن تكون الإصابة ناجمة أيضا عن بكتريا *Salmonella para typhi* التي عادة ما تؤدي إلى مرض اقل حدة . يصاب الفرد ببكتريا التيفؤيد ويتطور فيما بعد إلى حمى التيفؤيد عن طريق ابتلاع البكتريا (American Academy of Pediatrics, 2006) ، وتنتشر هذه العصيات عن طريق ابتلاع الطعام والشراب الملوث بالبكتريا (Pegues , *et al.*,2005) .

إن حمى التيفؤيد لا تزال تسبب مشكلة صحية في البلدان النامية ، لذلك يكون مرض التيفؤيد شائعا" في الأماكن أو المناطق الفقيرة وخاصة عندما يكون الماء ملوثا" بفضلات الإنسان . تكون مدة الحضانة من (4-10 ) ايام بعد ابتلاع الجرثومة ( Bhutta, 2006). وفي اثناء هذه المدة تتحرك البكتريا وتنتقل من الأمعاء إلى الدم اذ يكون تكاثرها في الدم وتنتشر في العقد اللمفاوية ، والكبد والطحال وقناة الصفراء (Heymann , 2004 ).

ان المكان الرئيسي لاستيطان البكتريا هو الأمعاء اذ تسبب التهابات وتقرحات وغالبا ما يكون هناك ضررا في الأمعاء ويترتب على ذلك خطر النزف وانثقاب الأمعاء وتسرب المحتويات من الأمعاء الى تجويف البطن ويسبب التهاب الغشاء البريتوني (peritonitis) ومن ثم الوفاة (Rene and Pines , 2002) .

سجلت منظمات ومؤسسات ومراكز بحوث الصحة في مختلف أنحاء العالم الكثير من التقارير والإحصائيات التي بينت عدد الأشخاص المصابين بهذا المرض ، اذ تشغل قارة أسيا المرتبة الأولى في معدل الإصابات ويقع القطر العراقي ضمن هذا المعدل (WHO, 2007) . نظرا لخطورة هذا المرض وضرورة السرعة والدقة في تشخيصه لأخذ العلاج اللازم فقد قام الباحثون بإتباع عدة طرق للتشخيص ومن هذه الطرق طريقة زرع الدم والتي تجري في الأسبوع الأول من الإصابة ، اي عند حصول تجرثم الدم (Bacateremia ) . الا ان زرع الدم قليل ما يجري في التشخيص ألمختبري الروتيني بسب تكاليفه وطول مدة الزرع وغالبا ما يعطي نتيجة سالبة بعد اخذ المضادات الحيوية (Zulfiqar, *et al.*,2006). لذلك تلجا معظم المختبرات إلى الطرق المصلية للتحري عن الأضداد النوعية لجرثومة السالمونيلا ، وأهمها وأكثرها تداولا طريقة (Widal test ) المصلية المعتمدة على مبدأ التلازن الذي يحصل بين الأجسام المضادة

وكل من المستضد الجسمي (O ) والمستضد السوطي (H) الخاصة ببكتريا *S. typhi* (Willke , *et al*., 2001) . لا يزال يستخدم اختبار الودال بدلا من الزرع لأنه أسرع واسهل واقل كلفة على الرغم من وجود عدة ملاحظات على نتائج هذا الاختبار من حيث وجود تداخلات في هذا التفاعل تؤدي الى حصول نتائج خاطئة مما يسبب إرباكا" في الوصول إلى الدقة في تشخيص هذا المرض (Omuse, *et al*., 2010) . ومن التقنيات الحديثة المستخدمة هي اختبار الاليزا (ELISA ) وتعد أكثر تخصصا وحساسية من اختبار الودال في تشخيص المرض اذ سجل فحص الاليزا ارتفاعا" في نسب الكلوبيولينات المناعية الثلاثة (IgG,IgM,IgA) ضد متعدد السكريات ألشحمي والسوطي في الاشخاص المصابين بحمى التيفؤيد مقارنة بالأشخاص الأصحاء (Mustafa, *et al*.,2011).

أما فيما يخص العراق فلا توجد اية دراسة سابقة بحسب علمنا حول استخدام تقنية الاليزا ELISA في تشخيص المرض . على الرغم من إن الكائن الممرض يسبب إضرارا" كبيرة للعقد اللمفاوية للنسيج ألطلائي في المراحل المبكرة من الإصابة وقد أثبتت الدراسات ان الخلايا المبطنة والتي تضررت أو تحطمت يمكن تجديدها بسرعة ويكون ذلك واضحا" من خلال تنشيط الجهاز المناعي بوساطة الاستجابة المناعية لوجود السالمونيلا وتنشيط المناعة الخلوية Cell-Immunity والمناعة الخلطية Humoral Immunity ( Anoop , *et al*. , 2009 ). وان الخط الدفاعي الأول ضد الإصابة بالسالمونيلا يمكن تحديده من خلال تنشيط الخلايا البلعمية Macrophage (Chantal, *et al*., 2010). وان أهمية الخلايا البلعمية والعدلة المتعددة اشكال النوى Polymorphnuclear Neutrophil واضحة في الاستجابة الأولية للإصابة بالسالمونيلا ( Manuela ,*et al*.,2008 ).

ان الاستجابة المناعية المتأصلة مهمة جدا (Innate immune respons) في مقاومة الإمراض المعوية وتحفيز المناعة الخلطية . وان دور المناعة الخلطية مهم وواضح من حيث استجابتها لمستضدات السالمونيلا (O , H) اثناء وبعد الإصابة بمرض التيفؤيد وبعدها عند اخذ اللقحات الخاصة بالتيفؤيد (Zambrano-Zaragoza , *et al*., 2009) . ونظرا لندرة الدراسات حول هذا المرض وبالأخص في محافظة ديالى من الناحية المناعية وبالتحديد حالة المناعة الخلطية ودور عوامل المتمم ، ولأهمية تشخيص هذا المرض من حيث استخدام أحدث وأدق الطرق في التشخيص هدفت الدراسة الى :-

1 - التحري عن حمى اتيفؤيد باستخدام اختبارالودال وتقنية الاليزا

2 - تقييم المناعة الخلطية لدى المصابين بحمى التيفؤيد عن طريق قياس مستوى الكلوبيولينات المناعية الثلاثة (IgG ,IgM, IgA) في دم الاشخاص المصابين يحمى التيفؤيد ومجموعة الاصحاء فضلا عن قياس مستوى المتمم الثالث والرابع(C3,C4 ).

3 - التحري عن العامل الرثواني (RF) وبروتين الطور الحاد (C-Reactive protein لدى المرضى المصابين بحمى التيفؤيد مع اجراء العد الكلي والتفريقي لكريات الدم البيض للمرضى المصابين بحمى التيفؤيد .

# الخلاصة

# Abstract

أجريت هذه الدراسة لإجراء بعض المؤشرات المناعية للمرضى المصابين بحمى التيفؤيد في محافظة ديالى من خلال تقييم بعض المؤشرات المناعية التي شملت ( المناعة الخلطية للمرضى المصابين بحمى التيفؤيد ، منظومة المتمم ، اجراء العد الكلي والتفريقي لكريات الدم البيض ، قياس نسبة بروتين الطور الحاد والعامل الرثواني في المرضى المصابين )، واستخدام أحدث الطرق وادقها في التشخيص من خلال استخدام تقنية الاليزا المرضى المصابين وإجراء المفاضلة بين اختبار الاليزا واختبار الودال في المرضى المصابين بحمى التيفؤيد

تم جمع ( 160) عينة دم ، توزعت بين مجموعتين (120) عينة لأشخاص يعانون أعراض حمى التايفوئيد استنادا إلى التشخيص ألسريري من الكادر الطبي الاستشاري في كل من مستشفى الخالص العام والعيادات الخارجية في محافظة ديالى و (40) عينة منها لأشخاص أصحاء ظاهرياً تم اعتمادهم كسيطرة وقد اعتمد تحديد الإصابة مبدئيا على التشـــخيـص ألسريري (Clinical Examination) واختبار الودال .

شملت الدراسة جميع الفئات العمرية مابين (20> - 60 >) سنة ولكلا الجنسين اذ كن عدد الذكور 47 وعدد الاناث 73 وقد استمرت الدراسة من المدة المحصورة مابين شهر أيلول عام 2012 ولغاية شهر ايار من عام 2013.

من خلال اجراء الاختبار المصلي (Widal Test) على مجموعة المرضى (120)عينة تبين ان عيارية الاضداد للمستضد السوطي (H) كانت (1/160،1/320 ،1/640) والمستضد الجسمي (O) لبكتريا *S,typhi* كانت (1/160،1/320 ،1/640) ، كما كانت نسبة الإصابة بحمى التيفؤيد حسب هذا الاختبار أعلى لدى الإناث (60.8% ) مقارنة بالذكور (39%) وان الفئة العمرية للإناث مابين (20-29) سنة سجلت أعلى إصابة وبالنسبة للذكور فان الفئة العمرية (30-39) سنة سجلت أعلى إصابة ، وتم اجراء المقارنة بين اختبار الودال واختبار الاليزا ، حيث تم اخذ 94 عينة دم من مجموع 120 عينة ، وتمت مقارنة هذه النتائج مع اختبار الاليزا اذ بينت نتائج الدراسة حسب اختبار الاليزا ان (53.2%) قد أعطت نتيجة موجبة وان (46.8%) أعطت نتيجة سالبة اي اذ هناك فروقا" معنوية عالية بين اختبار الودال والاليزا .

تم قياس مستوى الكلوبيولينات المناعية الثلاثة (IgA،IgM ،IgG) في مصل الاشخاص المصابين بحمى التيفؤيد باستخدام طريقة الانتشار المناعي single radial immunoassay diffusion اذ بينت نتائج الدراسة ان من مجموع ( 74 )عينة استخدمت كمجموعة مرضى ان هناك ارتفاعا" في نسب الكلوبيولينات المناعية الثلاثة بالنسبة للمرضى مقارنة بالأصحاء وكانت نسبة ال (IgG)( 1743 .228 mg/dl ) في مجموعة المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة (1093.120 mg/dl) وكانت نسبة IgM (212.605mg/dl) بالنسبة لمجموعة المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة (147.640 mg/dl) ونسبة IgA (276.259 mg/dl) في مجموعة المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة ( 142.118mg/dl) آي هناك علاقة معنوية عالية بين مجموعة المرضى ومجموعة السيطرة عند مستوى p>0.001 .

تم قياس عوامل المتمم الثالث والرابع باستخدام طريقة الانتشار المناعي في المرضى المصابين بحمى التيفؤيد حيث بينت نتائج الدراسة بعد اخذ (74)عينة كمجموعة مرضى و (40) كمجموعة سيطرة ارتفاع مستوى المتمم الثالث (C3) في مجموعة المرضى وبمعدل (109.019 mg/dl) مقارنة بمجموعة السيطرة (108.475mg/dl ) ، كما بينت نتائج الدراسة انخفاض مستوى المتمم الرابع (C4) في مجموعة المرضى وبمعدل (31.627mg/dl) مقارنة بمجموعة السيطرة (34.715mg/dl) عند مستوى p> 0.001 .

كما اوضحت الدراسة ان نسبة بروتين الطور الحاد في مجموعة المرضى المصابين بحمى التيفؤيد (32.5%) مقارنة بالسيطرة (0.0%) ، بينما نسبة العامل الرثواني كانت (30%) في مجموعة المرضى المصابين بحمى التيفؤيد مقارنة بمجموعة السيطرة (0.00%).