

# التحاليل المخبرية

## Laboratory Tests



تعتبر الفحوص والاختبارات المخبرية ضرورية لتحديد وجود نقص المناعة الأولي، وغالبًا ما تطلب هذه الفحوص المخبرية للأشخاص الذين يعانون من مشاكل سريرية طبية وخاصة الأزمات المتكررة أو المزمنة، والمعلومات المتوفرة عن نوع الكائنات الحية الدقيقة المسببة وموقع ومكان الإصابة والمعالجة اللازمة كلها عادة تساعد في تحديد نوع الاختبار المطلوب إجراؤه، ومن المفيد كذلك القصة المرضية وسوابق المريض الطبية والتي بدورها توجه الاختبار المناسب للحالة.

## مقارنة القيم المخبرية الطبيعية مع القيم غير الطبيعية

أحد الجوانب الهامة في التفسير السليم لأي نتائج مخبرية هو متى تعتبر النتائج غير طبيعية أو مرضية ومتى تعتبر طبيعية؟ ولتحديد القيم الطبيعية والسليمة، تؤخذ عينات دم من مجموعة من الأشخاص الأصحاء، وغالباً ما يكونون بالغين وتقسّم بالتساوي بين الذكور والإناث ثم تستخدم هذه النتائج لتحديد مجال القيم الطبيعية، وذلك باستخدام مجموعة متنوعة من المقاربات والأساليب الإحصائية، والقياس الإحصائي الأكثر استعمالاً يسمى مجال وحدود الثقة أو مدى الثقة أو نطاق الثقة بنسبة 95% وهي بالإنجليزية (Confidence interval) وسنستعمل في كتابنا عبارة مجال الثقة 95% وهي تعني المجال والنطاق الذي يتضمن 95% من النتائج المخبرية الطبيعية.

الاختبار الإحصائي الآخر المستعمل كذلك هو الحساب الوسطي (mean) والانحراف المعياري عن هذا الحساب الوسطي، وانحراف معياري واحد فوق أو تحت المتوسط يتضمن 65% من النتائج المخبرية أما انحرافان معياريان اثنان عن الوسط فيتضمن 95% من النتائج المخبرية، (ويرمز للانحراف المعياري SD) ولذلك فالقيم المخبرية المنحرفة والخارجة عن انحرافين معياريين (2SD) تمثل 2.5% من النتائج التي هي عادة أعلى من الطبيعي و2.5% التي هي عادة أقل من الطبيعي.

من المهم الملاحظة أن تعريف المجال الطبيعي يوضع على أنه 95% من مجال الثقة، فإنه يؤدي إلى أن يكون لدينا 5% من المجموعة المختارة أنها طبيعية ستكون خارج الـ 95% وستكون خارج المجال الطبيعي رغم أنها أساس طبيعي! وهذه واحدة من التحديات التي تواجهنا عند استخدام الأساليب الإحصائية في تحديد المجال الطبيعي ويجب أن نتذكرها عند تقييمنا لنتيجة مخبرية تقع قريباً من إحدى نهايات المجال الطبيعي (إما قريبة من الحدود العليا للطبيعي أو قريبة من الحدود الدنيا للطبيعي)، وسنستخدم قياس الطول كمثال، فالأشخاص الطبيعيين قد يكون أعلى قليلاً أو أقل قليلاً من المجال الطبيعي للطول (وهو 95% مجال ثقة) ومع ذلك فهو طبيعي، فالشخص الأطول بإنش واحد من مجال الثقة الـ 95% ليس

بالضروري أن يكون عملاقاً والشخص الأقصر بإنش واحد من الـ 95% مجال وثوقية ليس بالضرورة شخص قصير. حقيقة و في الواقع بالتعريف 2.5% من الأشخاص الطبيعيين سيكونون دون الـ 95% و 2.5% سيكونون أعلى من الـ 95%.

وبالتالي فإن وجود نتيجة مخبرية خارج مجال المرجعية للأرقام الطبيعية للمخبر لا تعني تلقائياً رقم غير طبيعي، فمن السابق عرفنا أن 5% من الأشخاص الأصحاء الطبيعيين ستقع أرقام نتائجهم المخبرية خارج المجال الطبيعي، ومن هنا نصل إلى أن الأهمية السريرية للنتائج المخبرية يجب أن تستند على القصة المرضية للمريض إضافة إلى حجم الفارق بين النتيجة المخبرية والمجال الطبيعي للنتائج المخبرية.

مسألة هامة أخرى هي المجموعة المستخدمة لتحديد المجال الطبيعي، فهذا أمر بالغ الأهمية لأن الجهاز المناعي يخضع لتطور ملموس خلال مرحلة الرضاعة والطفولة، فمجال قيم ونتائج الاختبار والتي تكون طبيعية في مرحلة الطفولة قد تختلف كثيراً أو قليلاً عندما يكون الطفل بعمر سنتين أو 20 عاماً.

وكل النتائج عند الأطفال يجب أن تقارن بالأرقام الطبيعية المناسبة والموافقة للعمر، وإذا كان التقرير المخبري لا يعطي معلومات نوعية للعمر فمن المهم والواجب عندها التشاور مع أخصائي يعرف المجال الطبيعي لأرقام النتائج المخبرية النوعية لعمر الطفل، والطريقة المثالية هي أن يوفر المختبر المعلومات الخاصة بالمجال الطبيعي حسب العمر للنتائج المخبرية، ولكن إذا لم يكن ذلك متوفراً، فهناك الكثير من المنشورات في الإنترنت تعطي المجال الطبيعي للنتائج المخبرية حسب العمر.

الفحوص المخبرية المستخدمة في تقييم الأمراض المناعية تستخدم لتحديد: عوز الأضداد، الاضطرابات المناعية الخلوية (الخلايا التائية)، اضطراب و أمراض المعتدلات (Neutrophils) وأعواز المتمة. وسنشرح الفئات الأربع السابقة في الصفحات التالية.

## التقييم المخبري لعوز الأضداد أو المناعة الخلطية

الاختبارات القياسية الماسحة screening لعوز الأضداد تبدأ مع قياس مستويات الغلوبولينات المناعية في مصل الدم، وهذه تشمل الغلوبولينات المناعية من نوع (ج و م و آ) وكما ذكرنا فالنتائج يجب أن تقارن بالأرقام الطبيعية المناسبة لنفس العمر.

هناك أيضاً اختبار تحديد مستوى الأضداد النوعية وإنتاجها، وهي تقيس كيف يستجيب الجهاز المناعي للقاحات والتطعيم، في هذه الحالة يطعم المريض ويعطى لقاح مناعي باللقاحات المناعية الشائعة والتي تشمل اللقاحات الحاوية على البروتين كمستضد (مثل ذيفان التيتانوس وذيفان الدفتيريا)، واللقاحات الحاوية على عديد السكريد كمستضد (مثل لقاح المكورات الرئوية Pneumovax ولقاح المستدمية النزلية HiB). نأخذ عينه من الدم مباشرة قبل التطعيم ثم مرة أخرى بعد حوالي أربع أسابيع بعد التطعيم، وذلك لتقييم مدى نجاح المريض في تشكيل الأجسام المضادة النوعية لكل تطعيم على حده.

في بعض الحالات قد يكون المريض ملقحاً محصناً بهذه اللقاحات كجزء من جدول التطعيم والتلقيح الطبيعي وسيكون لديه أجسام ضدية نوعية في الدوران (إذا كان قادراً على تشكيلها)، بينما في حالات أخرى قد يكون لدى المريض كميات قليلة أو معدومة من الأضداد النوعية قبل التلقيح، من الضروري استخدام أنواع مختلفة من اللقاحات لأن بعض المرضى الذين يعانون من العدوى المتكررة (مع مستوى غلوبولينات مناعية طبيعية أو قريبة من الطبيعي) كشف أن لديهم عوز استجابة للمستضدات عديد السكريد (السكرية) ولكن لديهم استجابة طبيعية للمستضدات البروتينية.

من الجدير بالذكر أنه أثناء نضج الجهاز المناعي تضعف الاستجابة للقاحات ذات المستضدات عديد السكريد (السكرية) مقارنة باللقاحات ذات المستضدات البروتينية، ولذلك فأت تفسير الاستجابات للقاح يجب أن يترك لطبيب المناعة الذي يتعامل مع مرضى نقص المناعة الأولي بشكل منتظم، وتكون القدرة على تقييم الاستجابة المناعية بالأضداد في المريض المعالج بالغلوبولينات المناعية أكثر صعوبة، وهذا بسبب غنى الغلوبولينات المناعية المعطاة للمريض

بالأضداد النوعية والتي تشكلت بعد تطعيم وتلقيح المتبرع بهذه الغلوبولينات المناعية العلاجية.

ولذلك عند التطعيم باللقاحات الشائعة (دفتيريا و تيتانوس... الخ) فمن الصعب عندها التفريق بين الأضداد التي شكلها المريض نفسه أو الأضداد التي قدمها العلاج بالغلوبولين المناعي، الحل يكون بالتطعيم بلقاح ليس شائع الإعطاء للناس العاديين أو بسجل التطعيم وبالتالي غير محتمل وجودها في الغلوبولين المناعي العلاجي المحضر للمرضى، التطعيمات غير الشائعة هذه تشمل لقاح الحمى التيفية (التيفوئيد) ولقاح داء الكلب أو السعار (Rabies) والتي يمكن استخدامها لهذا الغرض.

من المهم أن ننتبه إلى أنه في المريض المؤكد عنده سابقاً وجود عوز وخلل في إنتاج الأجسام المضادة فإن إيقاف الغلوبولين المناعي العلاجي عنه من أجل إعادة فحص مستويات الأجسام المضادة عنده ثم التطعيم باللقاح وقياس الاستجابة عنده غير ضروري وربما يضع المريض في خطر اكتساب عدوى خلال فترة إيقاف العلاج، ولكن في حال المريض الذي يكون تشخيص خلل الأجسام المضادة عنده غير مؤكد وغير واضح، عندها قد يكون من الضروري إيقاف العلاج بالغلوبولينات المناعية لمدة أربع إلى ستة أشهر حتى يمكن تقييم المناعة الخلطية بشكل جيد وكاف.

استخدمت دراسات إضافية لتقييم المرضى بعوز الأجسام المضادة ومنها قياس عدد أنواع الخلايا للمفاوية في الدم، وذلك عن طريق وضع علامات وإشارات على هذه الخلايا، وهذه العلامات يمكنها تحديد الأنواع المختلفة من الخلايا للمفاوية، والفحص الشائع استخدامه يسمى قياس التدفق الخلوي Flow cytometry والذي يمكنه أن يحدد عدد الخلايا البائية (وأنواع أخرى من الخلايا للمفاوية) الموجودة حالياً في الدوران الدموي، والخلايا البائية للمفاوية لديها القدرة على إنتاج الأضداد، وقد تغيب الخلايا البائية في بعض الاضطرابات المناعية المترافقة مع اضطراب الأضداد الجسمية مثل مرض غياب الغلوبولين المناعي غاما المرتبط بالصبغي الجنسي (X) ويسمى اختصاراً (XLA).

هناك مجموعة متنوعة ومتزايدة من الاختبارات الوظيفية المتوفرة لتقييم وظيفة الخلايا التائية، وطبيب المناعة هو أفضل شخص يستطيع تفسير نتائج هذه الاختبارات.

يتوافق العديد من أمراض نقص المناعة مع خلل جيني نوعي. وهذا صحيح بشكل خاص في نقص المناعة الخلقي المشترك الشديد (SCID) حيث كشف حتى الآن أكثر من 12 خللاً جينياً، وهذه كلها يمكن تقييمها باستخدام التقنيات المتوفرة حالياً لتحليل الطفرات في الجينات Mutation Analysis وهذه هي الوسيلة الأدق لتحديد التشخيص النهائي.

### تقييم عمل الخلايا المعتدلة

#### Evaluation of Neutrophil Function

يبدأ التقييم المخبري للمعتدلات (الكريات البيض المحببة المعتدلة) بإجراء اختبار تعداد الكريات البيض مع تحديد عدد كل صنف من الكريات البيض بشكل متسلسل، وعدد الكريات البيضاء مع تحديد الأعداد الفرعية سيحدد إذا كان هناك انخفاض في العدد المطلق للعقدلات (نقص المعتدلات Neutropenia) وهذا هو الخلل المخبري الأكثر شيوعاً عندما يراجع المريض طبيبه بقصة مرضية وعلامات سريرية تقترح خلل في مناعة الكريات البيض المعتدلة.

عادة ما نحتاج تعداد الكريات البيض وتحديد الأعداد الفرعية أكثر من مرة لتشخيص مشكلة ما في الكريات البيض، والمراجعة الدقيقة للطلاخة الدم مهم لنفي الأمراض المترافقة مع خلل في بنية وتركيب الكريات البيض المعتدلة أو الشكل الذي تظهر فيه تحت المجهر (الميكروسكوب)، وارتفاع الغلوبولين المناعي (ي) قد يقترح متلازمة جوب (فرط الغلوبولين المناعي ي) وذلك جنباً إلى جنب مع مظاهر سريرية أخرى ترافق المرض.

إذا كان المسح البدئي لعدد الكريات البيضاء طبيعياً، وسيركز الاختبار على احتمالين آخرين هما المرض الحبيبي المزمن وخلل التصاق وهجرة الكريات البيض، وكلا المرضين يكون

إضافة إلى ذلك، يمكن استخدام تحليل الحمض النووي لإثبات تشخيص معين مثل الجين المرمز للتيروزين كيناز العائد لبروتون ويسمى (BTK) والمترافق مع مرض غياب الغلوبولين المناعي غاما المرتبط بالصبغي الجنسي (XLA)، وأخيراً هناك دراسات تجرى في مختبرات متخصصة لتقييم إنتاج الغلوبولين المناعي وذلك بزرع الخلايا للمفاوية وفحص استجابتها لمجموعة متنوعة من المنبهات.

### تقييم المناعة الخلوية (الخلايا التائية)

التقييم المخبري للمناعة الخلوية القائمة على الخلايا التائية تركز على التحديد الكمي وعدد الأنواع المختلفة من الخلايا التائية وكذلك وظيفة الخلايا التائية، وأبسط اختبار لتقييم احتمال انخفاض أو غياب الخلايا التائية هو إجراء تعداد الدم الكامل (CBC) مع التعداد التفريقي حيث يتم تحديد عدد الكريات البيض فيها حسب كل صنف ومنها عدد الخلايا للمفاوية، فهذه طريقة معقولة لتحديد نقص الخلايا التائية حيث إن حوالي 75٪ من الكريات البيضاء للمفاوية هي من الخلايا التائية وانخفاض الخلايا التائية سيسبب عادة انخفاض العدد الكلي للخلايا للمفاوية، وهذا النقص في الخلايا التائية يمكن تأكيده باستخدام اختبار التدفق الخلوي Flow cytometry وذلك بتقييم علامات نوعية لكل صنف من الخلايا التائية.

قياس عدد الخلايا التائية يرافقه في كثير من الأحيان اختبار قياس عمل الخلايا التائية وذلك بزرع الخلايا التائية، وهذا يتم بقياس قدرة الخلايا على الاستجابة لمنبهات مختلفة ومنها ١. العناصر المحفزة للنمو وتسمى Mitogen (مثل الرافضة الدموية نباتية المنشأ PHA – phetohemagglutinin) ٢. المستضدات (مثل ذيفان التيتانوس Tetanus toxoid ومستضدات المبيضات البيض candida antigen).

الاستجابة الخلوية لهذه المنبهات المتنوعة تتم بمراقبة فيما إذا كانت الخلايا التائية تنقسم وتنمو (وتسمى عندها تكاثر) أو تنتج مركبات كيميائية مختلفة تسمى سيتوكينات cytokines (مثل الأنترفيرون).



### التقييم المخبري للمتممة

الاختبار المسح الأكثر استعمالاً لكشف خلل جهاز المتممة هو اختبار قياس انحلال متممة الدم الكلي (Total Hemolytic Complement CH50) في حال وجود خلل أو نقص في عنصر متممة واحد فإن (CH50) يكون غالباً سلبي تماماً (قد يصل الرقم إلى الصفر) المختبرات المختصة بالمتممة يمكنها أن توفر اختبارات إضافية ذات قدرة على كشف وتحديد عنصر المتممة الناقص والمصاب بالخلل.

هناك حالات نادرة يكون الخلل فيها في المسرب البديل وهذه يمكن إجراء المسح لها عبر اختبار وظيفي موجه بشكل خاص إلى هذا المسرب ويسمى اختبار (AH50)، وجهاز المتممة قد يتفعل كذلك بالسبيل المسمى مسرب ارتباط المانوز مع الليستين، وهناك بعض المرضى الذين يعانون من نقص في هذا المسرب ونقص في المانوز المرتبط بالليستين. للمزيد من المعلومات عن أمراض المتممة يرجى مراجعة فصل عوز المتممة في هذا الكتاب.

### الفحوص المخبرية للجهاز المناعي غير النوعي Laboratory Tests of Innate Immunity

الفحوص المخبرية متوفرة لقياس وظيفة عناصر متعددة في الجهاز المناعي غير النوعي وهذه تشمل تحديد عدد وفعالية الخلايا للمفاوية مثل الخلايا القاتلة بطبيعتها وكذلك وظيفة العديد من المستقبلات على سطح الخلية مثل المستقبلات الشبيهة بسيقان القطن "Toll-like receptors".

### التطلع إلى المستقبل

فحص الكشف المبكر لنقص مناعة الخلايا التائية الشديد يوصى به الآن من قبل وزارة الصحة والخدمات الإنسانية في الولايات المتحدة الأمريكية وأصبح الاختبار واقعاً في أكثر من 15 ولاية أمريكية (وقت صدور النسخة الإنجليزية من هذا الكتاب في 2013) وهناك الكثير من الولايات الأخرى التي بدأت بإجراء الفحص بعد صدور هذا الكتاب.

فيهما عدد الكريات البيض المعتدلة طبيعياً أو مرتفعاً وكلا الاضطرابين لديه صفات مميزة له بمفرده يمكن أن تساعد على التوجه إلى الاختبار الأنسب للمرض.

الفحوصات المخبرية لتشخيص المرض الحبيبي المزمن (CGD) يعتمد على تقييم الوظيفة الهامة للمعدلات في قتلها بعض الجراثيم والفطريات (قدرة المعدلات على إنتاج الاكسجين التفاعلي Reactive Oxygen) هذا الاختبار يسمى اختبار الهبة التأكسدية Oxydative Burst والذي يمكن قياسه باستخدام عدد من الطرق منها اختبار بسيط بقياس الصباغ الارتجاعي (تغير اللون اثناء الاختبار) يسمى اختبار زرقة النتروترزوليوم (لكشف قدرة الكريات البيض المعتدلة على قتل الجراثيم) NBT. وهناك اختبار حديث يستخدم التدفق الخلوي في قياس الهبة التأكسدية للمعدلات المفعلة وذلك باستخدام صبغة معينة تسمى الرودامين ثنائي الماء 123 (DHR) أو 123 Dihydrorhodamine) ويسمى اختبار (DHR)، وقد استخدم لمدة تزيد على 15 سنة، وهو اختبار حساس جداً في التشخيص (قادر على كشف الحالات بدقة عالية) وكنتيجه لأدائه الممتاز فقد أصبح هذا الاختبار هو المستخدم والمفضل في معظم المختبرات، والتأكيد الأفضل لنوع المرض الحبيبي المزمن يُقترح عبر نتائج اختبار الهبة التأكسدية، ولكنه يتطلب التأكيد عبر التقييم النوعي للخلل البروتيني المعني بالمرض (كشف البروتين صاحب الخلل في المرض) أو تحديد الطفرة الجينية الكامنة خلف المرض.

الفحوصات المخبرية للشكل الشائع من خلل هجرة الكريات البيض LAD وهو ما يسمى النوع الأول، يتضمن اختبار التدفق الخلوي لتحديد وجود بروتين معين على سطح المعدلات (وغيرها من الكريات البيض)، غياب هذا البروتين أو انخفاضه الشديد يؤدي إلى إعاقة هجرة المعدلات إلى موقع العدوى والجمع وينتج عنه زيادة عدد هذه الكريات في الدوران الدموي ومعها زيادة التأهب لحدوث خمج جرثومي في الجلد والفم وأخماج أخرى.

### ملخص الفحوص المخبرية

الفحوصات المخبرية تؤدي دوراً مركزياً في تقييم الجهاز المناعي، ويجب مقارنة كل النتائج بالأرقام الطبيعية المناسبة لكل فئة عمرية.

القصة المرضية الدقيقة والقصة المرضية العائلية والفحص السريري كلها بالغة الأهمية في تطوير الاستراتيجية الأفضل للتقييم المخبري، وهذا يبدأ عادة باختبار ماسح كاشف ثم يليها اختبارات أكثر تطوراً (مرتفعة التكاليف) يتم اختيارها حسب نتائج الاختبارات الأولية.

الفحوص المخبرية المفيدة في تقييم الجهاز المناعي مستمرة في الزيادة، وقد كان الدافع لذلك ولو جزئياً، الكشف لمتلازمات مرضية جديدة مترافقة مع عدوى متكررة أو عدوى مزمنة.

الصلة المباشرة بين الموجودات السريرية المرضية والفحوص المخبرية هي التي وسعت إدراكنا لأمراض نقص المناعة الأولية، والاستمرار في هذا المسار في المستقبل يجعل الفحوص المخبرية أكثر تطوراً وستساعد في توفير إجابات أخرى للأسباب الكامنة وراء أمراض نقص المناعة الأولية.

الكشف المبكر للولدان حديثي الولادة سيجعل العلاج الشافي لنقص المناعة الخلقي المشترك (SCID) واعتلالات الخلايا التائية الأخرى أسهل حيث إن الأطفال المصابين سيكتشفون عند الولادة والعلاج المناسب بزراعة نخاع العظمي أو العلاجات الأخرى يمكن القيام بها بأقرب فرصة وبسهولة. يرجى مراجعة فصل الكشف المبكر "Newborn Screening".

الاختبار الجيني (تحليل الطفرة): مع توفر التقنيات الحديثة سيخضع الاختبار الجيني إلى تغيرات مهمة في المستقبل القريب. فالتقنيات الحديثة تتيح التقييم الوراثي للشفرة الوراثية كاملة أو لأجزاء كبيرة منها وبتكلفة منخفضة نسبياً هذا النوع من المقاربات تناقش في مجال الطب الشخصي (لكل شخص على حده) وذلك اعتماداً على أن الشفرة الوراثية فريده لكل إنسان، وهذه تحتاج إلى تحديد توقيت وجودها كواقع في الطب السريري.

