وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية
كلية العلوم

# عزل وتشخيص عصيات التدرن الرئوي مع بعض الجوانب المناعية للمصابين في محافظة القادسية

رسالة قدّمها

أكرم هادي حمزة البديري

الى

مجلس كلية العلوم / جامعة القادسية

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير علوم في علوم الحياة / الأحياء المجهرية

إشراف

د. سيوف خومان علوان الرماحي

محرم/١٤٣١ هـ كانون الثاني/٢٠١٠م

# قائمة المحتويات


| الموضوع | الصفحة |
|---|---|
| قائمة المحتويات | أ |
| قائمة الجداول | و |
| قائمة الاشكال | ز |
| قائمة المختصرات | I |
| **الفصل الأول : المقدمة** | ١-٢ |
| **الفصل الثاني : استعراض المراجع** | ٣-١٩ |
| 2-1: المقدمة التاريخية للمرض | ٣ |
| 2-2: مرض التدرن الرئو ي | ٤ |
| 2-3: التصنيف | ٥ |
| 2-4: الوبائية | ٨ |
| 2-4-1: المنطقة الشمالية | ٩ |
| 2-4-2: المنطقة الوسطى | ١٠ |
| 2-4-3: المنطقة الجنوبية | ١٠ |
| 2-5: طرق انتقال المرض | ١٠ |
| 2-6: الامراضية | ١١ |
| 2-7: مراحل التدرن | ١٤ |
| 2-7-1: الاصابة الاولية | ١٤ |
| 2-7-2: الاصابة الرئوية الكامنة | ١٤ |
| 2-7-3: الاصابة ما بعد الاولية | ١٥ |
| 3-8: الاستجابة المناعية عند الاصابة بالتدرن الرئوي | ١٦ |
| 2-8-1: الاستجابة المناعية المكتسبة | ١٦ |
| 2-1-8-1: الاستجابة المناعية الخلوية | ١٦ |

| | |
|---|---|
| 2-1-8-2:الاستجابة المناعية الخلطية | ١٧ |
| 2-8-2:الاستجابة المناعية الطبيعية | ١٧ |
| 1-2-8-2:خلايا الدم البيض العدلة | ١٧ |
| 2-2-12-2:خلايا البلعم الكبير الحوصلية | ١٨ |
| 3-2-12-2:الخلايا التشجيرية | ١٩ |
| 4-2-12-2:الخلايا القاتلة الطبيعية | ١٩ |
| 5-2-12-2:الخلايا الطلائية | ١٩ |
| **3:المواد وطرائق العمل** | **٢٠-٣٤** |
| 1-3:الاجهزة والمواد | ٢٠ |
| 1-3-3:الاجهزة المستخدمة | ٢٠ |
| 2-1-3:المواد الكيميائية والحيوية المستخدمة | ٢١ |
| 3-1-3:المحليل المستخدمة | ٢٣ |
| 4-1-3: العدة التشخيصية | ٢٣ |
| 1-4-1-3: عدة فحص الاليزا | ٢٣ |
| 2-4-1-3: عدة فحص ال IgG;IgM;IgA,C3;C4 | ٢٤ |
| 2-3 :طرائق العمل | ٢٤ |
| 1-2-3 :الصبغة الصامدة للحامض | ٢٤ |
| 2-2-3 :وسط اللوينستين جينسين كليسرول | ٢٥ |
| 3-2-3: محلول الفوسفات المنظم | ٢٧ |
| 4-3 :عينة الدراسة | ٢٧ |
| 1-4-3 :عينات القشع | ٢٧ |
| 2-4-3 :عينات الدم | ٢٨ |
| 5-3 :معاملة العينات | ٢٨ |
| 6-3 :طرائق التشخيص | ٢٨ |

| | |
|---|---|
| 3-6-1 :الفحص المباشر للقشع | ٢٨ |
| 3-6-2 :الاستنبات على الوسط الزرعي | ٢٩ |
| 3-7 :الأختبارات التشخيصية | ٢٩ |
| 3-7-1:الصمود تجاه الحامض | ٢٩ |
| 3-7-2:اختبار انتاج النياسين | ٢٩ |
| 3-7-3:اختبار انتاج الكاتاليز | ٣٠ |
| 3-7-4: اختبار تأثير الحرارة على انتاج الكاتاليز | ٣٠ |
| 3-7-5:اختزال النتريت | ٣٠ |
| 3-7-6:التحلل المائي للـTween 80 | ٣٠ |
| 3-8 :الفحوصات المناعية | ٣١ |
| 3-8-1 :البلعمة | ٣١ |
| 3-8-2 :تقدير تركيز الكلوبيولينات المناعية وبروتينات المتمم في المصل | ٣٢ |
| 3-8-3 :تقدير مستوى الانترليوكين- 12 في المصل | ٣٢ |
| **الفصل الرابع : النتائج** | **٣٥-٥١** |
| 4-1 : الفحص المجهري المباشر للقشع | ٣٥ |
| 4-2 : النمو على وسط اللوينستين جينسين | ٣٦ |
| 4-3 : الأختبارات التشخيصية | ٣٧ |
| العوامل المؤثرة على نسبة الاصابة4-4: | ٣٨ |
| العمر4-4-1: | ٣٨ |
| 4-4-2 :منطقة السكن | ٣٩ |
| 4-4-3 :ظاهرة التدخين | ٤٠ |
| 4-4-4 :أستخدام اللقاح BCG | ٤١ |
| ٤-٤-٥:الاصابة بمرض السكر | ٤٢ |
| 4-5:الدراسة المناعية | ٤٣ |
| 4-5-1 : الفعالية البلعمية | ٤٣ |
| 4-5-2 : قياس مستوى الكلوبيولينات المناعية IgG , IgA, IgM | ٤٦ |

| | |
|---|---|
| 3-5-4:مستوى مكوني المتمم C3, C4 | ٤٩ |
| 4-5-4 : تركيز الانترليوكين- 12 | ٥١ |
| **الفصل الخامس : المناقشة** | **٥٢-٦٠** |
| 1-5 :الفحص المباشر للقشع | ٥٢ |
| 2-5 :الاستنبات على وسط اللوينستين جينسين | ٥٢ |
| 3-5 :الأختبارات التشخيصية | ٥٣ |
| 4-5 :العوامل المؤثرة على نسبة الاصابة | ٥٥ |
| 1-4-5 :الجنس | ٥٤ |
| 2-4-5 :العمر | ٥٤ |
| 3-4-5 :منطقة السكن | ٥٥ |
| 4-4-5 :ظاهرة التدخين | ٥٦ |
| 5-4-5 :الأصابة بمرض السكري | ٥٦ |
| 5-5 :الاختبارات المناعية | ٥٧ |
| 1-5-5 :اختبار البلعمة | ٥٧ |
| 2-5-5 :مستوى الكلوبيولينات المناعيةIgM, IgG, IgA | ٥٨ |
| 3-5-5:مستوى برتين المتمم C3,C4 | ٥٩ |
| 4-5-5 :انترولوكين-12 | ٥٩ |
| **الاستنتاجات والتوصيات** | **٦١-٦٢** |
| المصادر العربية | ٦٣ |
| المصادر الأجنبية | ٦٤ |
| الخلاصة باللغة الانكليزية | A |


# قائمة الجداول


| الرقم | العنوان | الصفحة |
|---|---|---|
| ١-٢ | تصنيف جنس Mycobacterium | ٦ |
| ٢-٣ | الاجهزة المستخدمة في طريقة العمل و الشركة المصنعة | ٢٠ |

| | | |
|---|---|---|
| ٣-٣ | المواد الكيميائية والحيوة المستخدمة في طريقة العمل والشركة المصنعة | ٢١ |
| ٣-٤ | المحاليل المستخدمة في طريقة العمل واستخدامها | ٢٣ |
| ٣-٥ | عدة فحص الاليزا | ٢٣ |
| ٣-٦ | عدة قياس الاجسام المضادةIgM, IgA, IgG وبروتينات المتمم C4, C3 | ٢٤ |
| ٣-٧ | المواد المستخدمة في تحضير المحلول الملحي المنظم وكميتها | ٢٦ |
| ٤-٨ | الأختبارات التشخيصية للعزلات النامية | ٣٨ |
| ٤-٩ | النسب المئوية لمعامل البلعمة الخلوية بعد مرور 15 دقيقة في عينة السيطرة والمصابين بمـرض التـدرن الرئوي | ٤٤ |
| ٤-١٠ | النسب المئوية لمعامل البلعمة الخلوية بعد مرور 30 دقيقة في عينة السيطرة والمصابين بمـرض التـدرن الرئوي | ٤٥ |
| ٤-١١ | النسب المئوية لمعامل البلعمة الخلوية بعد مرور 45 دقيقة في عينة السيطرة والمصابين بمـرض التـدرن الرئوي | ٤٥ |
| ٤-١٢ | النسب المئوية لمعامل البلعمة الخلوية بعد مرور 60 دقيقة في عينة السيطرة والمصابين بمرض التـدرن الرئوي | ٤٦ |
| ٤-١٣ | تركيز الكلوبيولين المناعي IgG في مجموعة السيطرة و المصابين بمرض التدرن الرئوي | ٤٦ |
| ٤-١٤ | تركيز الكلوبيولين المناعي IgA في مجموعة السيطرة و المصابين بمرض التدرن الرئوي | ٤٧ |
| ٤-١٥ | تركيز الكلوبيولين المناعي IgM في مجموعة السيطرة و المصابين بمرض التدرن الرئوي | ٤٨ |
| ٤-١٦ | تركيز بروتين المتمم C3 في مجموعة السيطرة والمصابين بمرض التدرن الرئوي | ٤٩ |
| ٤-١٧ | تركيز بروتين المتممC4 في مجموعة السيطرة والمصابين بمرض التدرن الرئوي | ٥٠ |
| ٤-١٨ | تركيز الانترليوكين-12 في مجموعة المرضى ومجموعة السيطرة | ٥١ |


# قائمة الأشكال


| الرقم | العنوان | الصفحة |
|---|---|---|
| ٣-١ | المنحني القياسي لـ IL-12 | ٣٤ |
| ٤-٢ | النسبة المئوية للفحص المباشر للقشع | ٣٥ |
| ٤-٣ | النسبة المئوية للأستنبات على وسط L.J | ٣٦ |
| ٤-٤ | بكتريا*M.tuberculosis* مستنبتة على وسط اللوينستين جينسين | ٣٧ |

| | | |
|---|---|---|
| ٤-٥ | النسبة المئوية للأصابة بحسب العمر | ٣٩ |
| ٤-٦ | النسبة المئوية للأصابة بحسب منطقة السكن | ٤٠ |
| ٤-٧ | النسب المئوية للأصابة بحسب ظاهرة التدخين | ٤١ |
| ٤-٨ | النسب المئوية للأصابة بحسب وجود ندبة لقاح BCG | ٤٢ |
| ٤-٩ | النسبة المئوية للاصابة بحسب الاصابة بمرض السكر | ٤٣ |
| ٤-١٠ | الأنتشار المناعي لمصل المرضى في حفر طبق IgG | ٤٧ |
| ٤-١١ | الأنتشار المناعي لمصل المرضى في حفر طبق IgA | ٤٨ |
| ٤-١٢ | الأنتشار المناعي لمصل المرضى في حفر طبق IgM | ٤٩ |
| ٤-١٣ | الأنتشار المناعي لمصل المرضى في حفر طبق C3 | ٥٠ |
| ٤-١٤ | الأنتشار المناعي لمصل المرضى في حفر طبق C4 | ٥١ |


AIDS: Aquired Immunodeficiency Syndrome
C3:Complement 3
C4:Complement 4
CD4 : Cluster of Differentiation 4 Glycoprotein
CD8 : Cluster of Differentiation 8 Glycoprotein
DOTS : Directly Observed Therapy Short-Course
EDTA : Ethylene Diaminetetraacetic Acid
ELISA : Enzyme Linked Lmmunosorbent Assay
FC :Fragment Crstallizable
HIV: Human Immunodeficiency Virus.
Ig :Immunoglobulin.
IL: Interleukin
INF-γ : Interferon-gamma
kDa : KiloDalton
RIA : Radial Immuno Assay
SRID Single Radial Immuno Difusion
Th1 :T helper 1 lymphocyte
TLR : Toll-Like Receptor
TNF-α : Tumer Necrosis Facter Alpha
WHO : World Health Organization

## إقرار لجنة المناقشة

نشـهد نحـن أعضـاء لجنـة التقـويم والمناقشـة قـد اطلعنـا علـى الرسـالة الموسـومة بـ **(عزل وتشخيص عصيات التدرن الرئوي مع بعض الجوانب المناعية للمصابين في محافظة القادسية)** وناقشنا الطالب أكرم هادي حمزة البديري في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ ٣٠/ ١٢/ ٢٠١٠ وإنها جديرة بالقبول لنيل درجة ماجستير علوم / أحياء مجهرية. .

**رئيس اللجنة**
**التوقيع:**
**الأسم :أ.د. عبد المجيد عبد الله جبر السعدي**
**كلية العلوم / جامعة الكوفة**
**التاريخ : / / ٢٠١٠**

**عضو اللجنة**
**التوقيع**
**الأسم:أ.د.قاسم نجم ثويني**
**كلية العلوم/ جامعة بابل**
**التاريخ: / / ٢٠١٠**

**عضو اللجنة**
**التوقيع :**
**الاسم: أ.م.د.حمادي عبطان هادي الهلالي**
**كلية الطب / جامعة القادسية**
**التاريخ: / / ٢٠١٠**

**عضوا ً ومشرفا**
**التوقيع:**
**الاسم: د.سيوف خومان علوان البودخن**
**كلية علوم الحاسبات والرياضيات / جامعة القادسية التاريخ:**
**/ / ٢٠١٠**

## إقرار مجلس الكلية

---

اجتمع مجلس كلية العلوم بجلسته .....المنعقدة في / / ٢٠١١ وقرر منحه شهادة ماجستير علوم في علوم الحياة / أحياء مجهرية.

التوقيع:
العميد: د. نجم عبد الواحد عبد الخضر الحساني
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
التاريخ : / / ٢٠١١

## إقرار المشرف

أشـهد إن رسـالة الماجسـتير الموسـومة بـ ( دراسـة بكتيريـة ومناعيـة علـى المرضـى المصابين بمرض التدرن الرئوي في مدينـة الديوانيـة ) قد أعدها الطالب أكرم هادي حمزة

البديري بإشرافي، وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير علوم في علوم الحياة / احاء مجهرية.

التوقيع:
الأسم : د. سيوف خومان علوان
اللقب العلمي : مدرس
العنوان : كلية العلوم – جامعة القادسيه
التاريخ : / / ٢٠١٠

## توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشاره إلى التوصيه المقدمه من قبل الأستاذ المشرف أحيل هذه الدراسة إلى المقومين اللغوي والعلمي لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:
الأسم : د. عبد الأمير سمير سعدون
اللقب العلمي : أستاذ مساعد
العنوان : كلية العلوم – جامعة القادسيه
التاريخ : / /٢٠١٠

## الخلاصة:

يعتبر مرض التدرن الرئوي من الامراض الخطيرة والمسؤولة عن اصابة ووفاة اعداد كبيرة من البشر مقارنة بالامراض الاخرى.

هدفت الدراسة الحالية الى الوقوف على اعداد المصابين بجرثومة *Mycobacterium tuberculosis* ودراسة بعض الجوانب المناعية في هؤلاء المرضى إذ جرى في هذه الدراسة جمع (200) عينة قشع من المرضى المصابين بمرض التدرن الرئوي المراجعين الى

العيادة الاستشارية للامراض الصدرية والتنفسية و١٥ عينة سيطرة في محافظة القادسية ما بين الاول من شهر تشرين الثاني (2009) لغاية الاول من شهر ايلول (2010).

صنف المرضى اعتمادا ً على نتائج الفحص المجهري المباشر للقشع الى مرضى ايجابي اللطخة وعددهم 91 (45.5%) ومرضى سلبي اللطخة وعددهم 109 (54.5%).

استخدم في الدراسة وسط LowenStein Jersen (L.J) وقد حقق هذا الوسط نسبة عزل (72%) . اذ شخصت العزلات النامية على انها عصيات صامدة للحامض ومنتجة للنياسين وغير منتجة لانزيم الكتاليز بدرجة حرارة 68 م ، بينما اظهرت بعض العزلات تغايرا في بعض الاختبارات الكيموحيوية .

اظهرت نتائج التحليل الإحصائي اختلافات معنوية في نسب انتشار المرض بين الجنس والفئات العمرية ومنطقة السكن والتدخين واستخدام لقاح BCG في حين لم تظهر الدراسات الاحصائية اختلافات معنوية بين الاصابة بمرض السكر للمصابين بمرض التدرن الرئوي .

كما تضمن البحث دراسة بعض جوانب الاستجابة المناعية تجاه الاصابة بمرض التدرن الرئوي اذ تبين الاتي في هذا المجال :

بلغ معدل الخلايا الفعالة في بلعمة الخميرة المقتولة بعد مرور 15 دقيقة لمجموعة السيطرة (37.933±2.833) في حين ارتفع هذا المعدل لدى المصابين بمرض التدرن الرئوي ليصل الى (50.471 ±1.768) وكان هذا الارتفاع معنوياً وبعد مرور 30 دقيقة بلغ معدل الخلايا الفعالة في بلعمة الخميرة المقتولة لمجموعة السيطرة (42.333±3.236) ازداد هذا المعدل ليصل الى (61.882 ± 1.613) في مجموعة المرضى وكانت هذه الزيادة معنوية اما بعد مرور 45 دقيقة فقد بلغ معدل الخلايا الفعالة في بلعمة الخميرة المقتولة لمجموعة السيطرة (46.333 ±2.582) ارتفع هذا المعدل ليصل الى ( 64.118 ±1.676) في مجموعة المرضى وكان هذا الارتفاع معنوياً وبعد مرور 60 دقيقة بلغ معدل الخلايا الفعالة في بلعمة الخميرة المقتولة لمجموعة السيطرة (41.733 ±3.509) ارتفع هذا المعدل ليصل الى ( 71.529 ±2.848) في مجموعة المرضى وكان هذا الارتفاع معنوي عند المقارنة بمجموعة السيطرة.

بلغ مستوى الكلوبيولين المناعي IgG لدى المصابين بمرض التدرن الرئوي (1184.053 ±76.684) ملغم \100 مل وكانت هذه الزيادة معنوية عند مقارنتها بمجموعة السيطرة البالغة 1016.533 ملغم \100 مل، في حين بلغ تركيز الكلوبينات المناعية IgA وIgM في مصول دم مجموعة السيطرة معدلا قيمتة, (315.880 ±38.552) و (119.527 ± 8.464) ملغم \100 مل على التوالي ازداد هذا المعدل لدى المصابين بمرض التدرن الرئوي ليصل الى, (396.358 ± 38.776)و(134.207 ± 11.696) ملغم \100 مل على التوالي وكانت الزيادة حسابية غير معنوية.

تقاربت قيمة معدل تركيز بروتين المتم C3 في مصول دم مجموعة السيطرة البالغة (102.578 ± 5.620)ملغم \100 مل مع قيمتها لدى المصابين بمرض التدرن البالغة( 105.280 ± 2.464)ملغم \100 مل اما تركيز بروتين المتمم C4 فقد اظهر معدلا ً قيمتة 23.567 ± 1.689ملغم \100 مل في مصول دم مجموعة السيطرة ازداد هذا المعدل ليصل الى 34.013 ملغم \100مل وكانت هذة الزيادة معنوية .

بلغ معدل تركيز IL-12 في مصول دم مجموعة السيطرة 16.000± 1.466 Pg\ml ازداد هذا المعدل ليصل الى 23.328± 1.763 Pg\ml في مصل دم مجموعة المرضى وكانت هذه الزيادة معنوية.

أظهرت الدراسة ان طريقة التصبيغ الصامد للحامض لايمكن الاعتماد عليها في تشخيص النوع البكتيري المسبب لمرض التدرن الرئوي مقارنة بطريقة الزرع الجرثومي التي تمتاز بقدرتها على تشخيص النوع البكتيري المسبب لهذا المرضز كما أظهرت الدراسة ارتفاع معامل البلعمة الخلوية وتركيز الجسم المضاد IgG والانترليوكين –١٢ وكانت هذه الارتفاعات معنوية في مجموعة المرضى.

## ١ـ المقدمة :

يعد مرض التدرن الرئوي مشكلة صحية تعاني منها مناطق كثيرة من العالم , إذ انه يتسبب بإصابة أكثر من ثمانية ملايين شخص ( Friend *et al.*,2003).ووفاة حوالي مليوني شخص سنويا في العالم (Davis *et al.*,2007). إذ تسبب هذا المرض بوفاة أكثر من ثلاثين مليون شخص خلال القرن العشرين.ومن العوامل التي تزيد الإصابة بهذا المرض هي ازدياد حالة الفقر وازدحام المجاميع البشرية في مواقع معزولة ومحددة مثل المعسكرات والمعتقلات والهجرة من المناطق الموبؤة إلى المناطق الأقل وبائية وكذلك الإصابة بفايروس العوز المناعي (HIV) حيث أن ازدياد هذه العوامل يزيد من خطر انتشار المرض (WHO,2006b).

تعد جرثومة *Mycobacterium tuberculosis* هي المسبب الرئيسي لمرض التدرن الرئوي اما الأنواع الأخرى مثل *M.bovis* و *M.africanum* فهي قادرةعلى إحداث المرض في الإنسان لكن بنسب اقل (Fitzgerald & Haas,2005).

تمتاز بكتريا التدرن الرئوي بقدرتها على أصابة الرئة وكذلك أجهزة الجسم الأخرى مثل الجهاز العصبي المركزي والجهاز اللمفاوي وجهاز الدوران والجهاز التناسلي البولي والجهاز الهضمي والعظام والفاصل وكذلك الجلد (WHO,2006a).

أن تشخيص مرض التدرن الرئوي يواجه العديد من المشاكل التي تؤثر على طريق تشخيص المرض منها التثبيط المناعي للمريض والناتج من إلاصابة بالـ HIV أذ يؤثر هذا الفايروس على تشخيص المرض با ستخدام طريقة الاليزا المعتمدة على تقدير مستوى الكاما انترفيرون ( INF-γ) وحالة الإصابة المتأخرة و الإصابة بالتدرن خارج الرئة التي لا يمكن الكشف عنها باستخدام الفلم الشعاعي(X-ray) اوباستحدام الصبغة الصامدة للحامض (CDC. 2006).كما إن صعوبة التفريق ألسريري بين الإصابة بالتدرن الرئوي البشري و التدرن الرئوي البقري يمثل مشكلة لعدم أمكانية تحديد مصدر المرض وبالتالي عدم القدرة على حصر بؤرة الإصابة ومكافحتها (Grange *et al.*,1994).لذا فان التشخيص السريع ومعرفة النوع البكتيري المسبب لهذا المرض له أهمية في معالجة المريض والسيطرة على الإصابة (Angerby *et al.*,2004).

تمتاز عصيات التدرن الرئوي بقدرتها على مقاومة الدفاعات الخلوية ،من خلال نموها داخل خلايا البلعم الكبير الحوصلية (Alveolar macrophage) ،و يكون نمو هذه العصيات بطيء جدا ً فهي تحتاج مدة طويلة جداً للنمو تمتد من 2-12 اسبوع، اما خلاياها فتتضاعف كل 25-32 ساعة و غير قادرة على إفراز السموم الداخلية والخارجية كل هذا يساعد في تأخير حث الأستجابة المناعية الا أن وصول عدد العصيات إلى 104 او 103 عصية فانه سوف يحفز أستجابة مناعية خلوية (Dannenberg;1993; Smith & Wiengeshaus,1998).

تنظم الاستجابة المناعية لعوامل الإصابة بوساطة مؤثرات مناعية وخلايا منتجة للحركيات الخلوية مثل الخلايا التشجيرية Dendritic Cells التي تحفز نضج الخلايا التائية (T cells) إلى الخلايا التائية المساعدة (Th1 cells) من خلال انتاج بعض الحركيات الخلوية مثل Interleukin-12(IL-12) وInterleukin-18(IL-18) وinterleukin-23(IL-23) ،وعامل تنخر المرض آلفا (Tumer necrosis-α ) (Kadowooki, 2001; Wozniak,2006). هدفت الدراسة الحالية الى الوقوف على اعداد المصابين بجرثومة *M.tubeculosis* ودراسة بعض الجوانب المناعية في هؤلاء المرضى ولغرض تحقيق ذلك تضمنت الدراسة الجوانب التالية :

١. عزل جرثومة *M.tuberculosis* المسببة لمرض التدرن الرئوي في الإنسان وتشخيصها في محافظة القادسية.
٢. دراسة بعض العوامل المؤثرة على نسبة الإصابة مثل الجنس و العمر ومنطقة السكن وظاهرة التدخين و استخدام لقاح BCG.
٣. قياس الفعالية البلعمية لخلايا الدم البيضاء عند المصابين بهذا المرض.

٤. قياس مستوى الكلوبيولينات المناعية (IgG ,IgM ,IgA) وبروتينات المتمم (C3,C4) في مصل المصابين ومقارنتها بمجموعة السيطرة.

٥. دراسة استجابة الجهاز المناعي عند المصابين بهذا المرض من خلال قياس (IL-12) في مصل المصابين ومقارنته بمجموعة السيطرة.

## 1-2 مقدمة تأريخية للمرض

ان لمرض التدرن الرئوي تاريخ طويل ،فهو مرض موجود منذ العصور القديمة (Daniel,2006). فقد عثر على البكتريا المسببة لهذا المرض (*M.tuberculosis*) في هياكل عظمية بشرية يعود تاريخها الى 700 سنة قبل الميلاد،كما عثر عليها في عمود فقري لمومياء يعود تاريخها الى 2400 - 3000سنة قبل الميلاد(Hershkovitz *et al.*,2008) . وتعد الماشية هي اصل وجود ونشأة هذا المرض الذي انتقل فيما بعد للأنسان اوقدنشأ من مضائف اخرى مصابة غير معروفة (Pearse-Duvet,2006).

ذكر(2001) MacCarthy انه في عام 1880 تم اثبات ان مرض التدرن الرئوي هو مرض معدٍ لذا اصبح هذا المرض ذو اهمية إذ بدأت في المملكة المتحدة حملات لمنع البصق في الاماكن العامة وأجبار المصابين على الدخول في المحاجر الصحية التي تتميز بوجود اشراف طبي وتقديم رعاية مميزة لهم .وفي24 اذار عام 1882 استطاع روبرت كوخ التوصل الى اكتشاف العصيات المسببة لهذا المرض وهي عصيات السل التي سميت باسمه الا انه لم يكن يعرف ان هذه العصيات تصيب الانسان والحيوان الامر الذي اخر اكتشاف الحليب مصدر للاصابة (Waddingsten *et al.*,2004) .وفي العام نفسه ميز العالم ايرلخ امتلاك هذه العصيات صفة الصمود تجاه الحامض حيث تمكن من تصنيفها باستعمال الفوكسين والحامض المعدني المخفف لقصر الصبغة. اما العالم زيل فقد استخدم الكاربوليك للكشف عن العصيات بينما دمج العالم نيلسون حامض الكاربوليك مع الفوكسين ليكوّن الصبغة المستعملة حاليا ًًًًًً في الفحص المباشر للتحري عنها والمسماة صبغة زيل-نيلسون (Satya,1995) .

في عام 1890 تمكن العالم كوخ من التوصل الى استخلاص الكلسرين من العصيات والذي اسماه بالتيوبركلين إذ استعمله بوصفه علاجاً لمرض التدرن الأ ان هذا المستخلص اثبت عدم فاعليته في التأثيرعلى الاصابة واستعمل فيما بعد في الكشف عن وجود الأصابة (Waddingsten *et al.*,2004) .

ذكر ( 2002 ) Gutierrez *et al* أن اول نجاح لعملية التطعيم ضد هذا المرض كانت عام 1906 من قبل العالمين Albert Calmette وCamile Guerin من خلال تطوير لقاح من عصيات السل البقري سمي لقاح الـ BCG)Bacillus Calmitte-Guerin) اذ استعمل هذا اللقاح ولأول مرة للانسان عام 1921 في فرنسا .

وفـي عـام 1940 اكتشـف الستربتومايسـين Streptomycin وعُـدّ هـذا الاكتشـاف بدايـة العـلاج الكيميائي لهذا المرض ، فقد اسهم هذ العلاج بخفض نسب الاصـابة (Crofton,1998) .اما في العراق فلا يزال هذا المرض يعدّ مشكلة صحية واجتماعية خطيرة، ففي عام 1935 تم أفتتاح اول مستوصف للامراض الصدرية في بغداد الذي يعدّ الخطوة الاولى في مكافحة المرض والسيطرة عليه، وبعدها اسست جمعية مكافحة التدرن عام 1944 التي أدّت دوراً مهماً في الدعم والتوعية الصحية وفي عام 1951 انشئ ثاني مستوصف للامراض الصدرية في بغداد وبعد عام واحد اجريت اول عملية تطعيم ضد هذا المرض باستعمال لقاح BCG ، وشهد عام 1961 مسوحات عامة على افراد المجتمع كافة بوساطة اختبار السلين وقد اقر لقاح BCG على طلبة المدارس اعتبارا من عام 1970 اذ عدّت هذه الخطوة هي النقطة الاولى في اضخم عملية تحول فعالة في مجال مكافحة التدرن ولكن منذ الثمانينات بدأ هذا المرض بتزايد واضح في عدد الاصابات اذ ارتفعت اعدادها من 3862 اصابة عام1987 الى 19051 اصابة عام 2000 (هاشم ومرزوك، 2001).

## 2-2 مرض التدرن الرئوي

يعد مرض التدرن الرئوي من الامراض المشتركة بين الانسان والحيوان (WHO,2000) .فهو من المشاكل الصحية في العالم والمسوؤل عن اصابة اعداد كبيرة من البشرووفاتهم مقارنة بالامراض الاخرى (Alamelubaja *et al.*,2004) .تحدث الاصابة بهذا المرض نتيجة لتنفس القطيرات الهوائية الحاوية على العامل المسبب والتي تصل فيما بعد الى الشعب الهوائية (Frieden *et al.*,2003). وتختلف حدة الاصابة بهذا المرض باختلاف مناعة المريض فهو اما ان يتطور الى اصابة حادة (Active infection) او يتحول الى اصابة كامنة( Latent infection) التي تتطور فيما بعد الى اصابة فعالة (Plorde,2004).تعدّ عصيات *M. tuberculosis* هي العامل الرئيس والمسوؤل عن احداث هذا المرض ،إذ تمتازً بانها معقدة وتتداخل مع مضيف الانسان بشكل رئيسي (Wayne & Sohaskey.,2001). وتمتازايضاً بقدرتها على البقاء لمدة طويلة في خلايا البلعم الكبيرالحوصلية (Chintu *et al.*,2002 ; Jeena *et al.*,2002). تصيب هذه العصيات الرئة بشكل اساسي الا انها لها القدرة على مهاجمة اجزاء اخرى من الجسم مثل الجهاز العصبي المركزي والجهاز اللمفاوي وجهاز الدوران والجهاز التناسلي البولي والجهازالهضمي والعظام وكذلك الجلد (Gatifield & Piters,2000). و يوجد عامل أخرمسوؤل عن احداث هذا المرض في الابقار واللبائن الاخرى هوعصيات *M.bovis* التي تنتقل للأنسان وخاصة للاطفال عن طريق الحليب ومشتقاته الملوثة بهذه العصيات مسببة لهم التدرن المعوي (Anon *et al.*,2003) .

يصب هذا المرض الاطفال والبالغين على حد سواء وطبقا لمنظمة الصحة العلمي فان نسبة اصابة الاطفال تشكل 10-20%من المجموع الكلي لنسب الاصابات بهذا المرض (Chintu *et al*.,2002;Jeena *et al*.,2002). ويزداد خطر تطور الاصابة عند الاطفال المصابين بامراض اخرى مثل الحصبة والجدري والسعال الديكي (ATS ,2000; Canninero,2003) .

## 3-2 التصنيف Classification

تنتمي الـMycobacterium الى رتبة الـ Actinomycetales عائلة الـ Mycobactereacea إذ يضم هذا الجنس اكثر من 80 نوعاً مختلفاً جميعها صامدة تجاه الحامض ويمكن عزل اكثر من نصفها سواء كانت رمية ام ممرضة للانسان (Havlir& Barnes, 1999) .وقد اطلق اسم Mycobacterium بسبب شكل نموها على الاوساط الزرعية السائلة الذي يكون بشكل خيوط فطرية متشابكة (Hausler&Sussman,1998). وبعد أكتشاف Runyon في الخمسينات العصيات غير النمطية Atypicl قسم هذه الجراثيم الى اربعة مجاميع اعتماداً على الصفات الزرعية ومدة نموها تحت ظروف حضن مختلفة (Ruyon,1965 ) وهذا التقسيم هو المعتمد لحد الان وقد صنفت الـ Mycobacteria بحسب تقسيم Runyon وكما ذكر في Brook *et al*(1998) جدول(1-2) .

اشار Baron *et al* (1995) وجود ما يقارب 14نوعا قادر على احداث المرض *M.africanum* ، *M.tuberculosis*، *M.kansasii*، *M.simiae*، *M.asiaticum* ، *M.scrofulaceum* *M.xnopi*، *M.szulgai* *M.avium*، *M.intracellulare*، *M.malmoense* *M.fortuitum* *M.chelonae*، *M.thermosistible* اما *M.gordonae* لم توضع مع المجموعة اعلاه كممرض الا ان Hassegawa *et al* (1992) تمكنوا من عزل هذه البكتريا من مريض مصاب بمرض التدرن الرئوي .

من الصفات المميزة لأفراد هذا الجنس هي كونها ممرضات هوائية اجبارية تنمو في درجة حرارة 37 مْ.و تمتاز بقدرتها على النمو في الانسجة ذات الضغط الاوكسجيني العالي مثل انسجة الرئة (Clark,2005).إذ يمتاز نمو هذه العصيات ببطئه ويسهم هذا البطء في الطبيعة المزمنة للمرض والتي تفرض نظاماً علاجياً طويل الامد (Cole,1998).

تعدّ الصفات المظهرية لبكتريا *M.tuberculosis* صفة مهمة في التشخيص المختبري لأختلاف هذه البكتريا في شكل المستعمرة ودرجة الحراة المثلى .إذ ان درجة الحرارة المثلى للـ *M.tuberculosis* و *M.kanasii*هي 37 مْ اما الانواع الاخرى فلها القدرة على العيش في درجة

حرارة تنحصر بين 30-34 مْ ،كما تحتاج هذه البكتريا خلال نموها على الوسط الزرعي الى 5-10% من CO2 و0.5% من الكليسرول (Wayne & Kubica,1986).

**جدول(1-2) تصنيف الجنسMycobacteria حسب تقسيم Runyon (Brooks *et al.*,1998).**

| **Classification** | **Organism** |
|---|---|
| TB complex | *M. tuberculosis* |
| | *M. africanum* |
| | *M. bovis* |
| Photochromogens | *M. asiaticum* |
| | *M. kansasii* |
| | *M. marinum* |
| | *M. simiae* |
| Scotochromogens | *M. flavescens* |
| | *M. gordonae* |
| | *M. scrofulaceum* |
| | *M. szulgai* |
| Nonchromogens | *M. avium* complex |
| | *M. celatum* |
| | *M. haemophilum* |
| | *M. gastri* |
| | *M. genavense* |
| | *M. malmoense* |
| | *M. nonchromogenicum* |

| Classification | Organism |
|---|---|
| | *M. shimoidei* |
| | *M. terrae* |
| | *M. trivale* |
| | *M. ulcerans* |
| | *M. xenopi* |
| Rapid growers | *M. abscessus* |
| | *M. fortuitum* group |
| | *M. chelonae* group |
| Rapid growers | *M. phlei* |
| | *M. smegmatis* |
| | *M. vaccae* |

## 4-2 الوبائية

يعدّ مرض التدرن الرئوي ثاني اخطر مرض في العالم بعد الملاريا على الانسان ،إذ أنه يتسبب في موت الانسان من خلال عامل مرضي واحد (Crofton *et al.*,1998) .فهو مسؤول عن اصابة ثلث سكان الكرة الارضية الا انه فقط 5-10% من المصابين تتطور اصابتهم الى تدرن فعال (WHO,2006b). ويتسبب مرض التدرن الرئوي باصابة شخص كل دقيقة ووفاة اخر كل 15 دقيقة في العالم ،وان اهمال الشخص المصاب وعدم معالجته يكون مسؤول عن اصابة 10-15 شخص اخر كل سنة (Dye *et al.*,2005) .

ان حوالي 75% من حالات الاصابة تحدث في الاعمار المنتجة أي مابين 15-45 سنة (WHO,2006b) .تحدث النسبة الاكبر من الاصابات في اكثرمن 22 دولة تمتاز بكثافتها السكانية (Dye,2006) . إذتشكل دول جنوب غرب اسيا النسبة الاكبر بين هذه الاصابات تليها دول شرق اسيا بينما تشكل بنغلادش والصين والهند واندونسيا وباكستان 48% من المجموع الكلي لحالات الاصابة ،اما دول امريكا واوربا فانها تشكل النسبة الاقل من المجموع الكلي لنسب الاصابات (Dye,1999) .

يعـدّ فـايروس العـوز المنـاعي(HIV) مـن اخطـر العوامـل المسـاعدةعلى انتشـار المـرض (عبد الجبار وهاشم،2002).فقد شكل العامل الاخير نسبة 31% من حالات الاصابة الجديدة في العالم (Corbett *et al.*,2003) .وهذه النسبة تختلف باختلاف مناطق الاصابة اذ تصل الى 1.8 % في الدنمارك و8.5% في ايسلندا و15.7 % في البرتغال بينما هناك انتشار واسع لهذا الفايروس في غرب اسيا واوربا منذ عام 1990 اذ تنحصر نسبة الاصابة بهذا الفيروس عند المصابين بالمرض من 50-90% (WHO,2006b) .

على الرغم من ان معدل الاصابة بهذا المرض قد انخفض في خمسة مناطق من المناطق الستة لمنظمة الصحة العالمية فانه لاتزال نسب الاصابات تصل الى 27 اصابة لكل 100000 شخص في امريكا و40 اصابة لكل 100.000 شخص في اوربا و46 اصابة لكل 100.0000 شخص في بلدان غرب البحر الابيض المتوسط و67 اصابة لكل 100.000 في دول شرق اسيا و103 اصابة لكل 100.000 شخص في بلدان جنوب غرب اسيا بينما منظمة الصحة العالمية لمنطقة افريقيا وجدت ان هناك زيادة كبيرة في نسب الاصابات تصل الى 356 اصابة لكل 100.000 شخص في البلدان التي تعاني من ارتفاع نسب الاصابات بفيروس نقص المناعة المكتسب AIDS (WHO,2006c) .اما بالنسبة لمعدل الوفيات فقد وجد حوالي1.7 مليون شخص توفوا نتيجة الاصابة بمرض التدرن في عام 2004،إذ تتضمن هذه النسبة 264.000 مريض مصاب بالـ HIV (Dye ,2006) .

اما العراق فقد صنف بحسب منظمة الصحة العالمية من حيث انتشار المرض بانه من الاقطار المتوسطة الوبائية عالمياً ويحتل المركز السابع اقليمياً إذ تشير معظم التقارير الرسمية والاحصائيات الخاصة بالمرض بانواعه كافة في العراق بانه قد بلغ مرحلة الانحسار النسبي والتي قد تم القبول بها مبدئياً. إذ نجد ان نسب الاصابة كانت متزايدة حتى عام ،2000 الا ان اعتماد الية النظام العلاجي DOTS بدأت تلقي بظلالها على الواقع الصحي بصورةعامة وعلى مرض التدرن بصورة خاصة حتى عام 2003، الا ان معدلات الاصابة بدات بالتزايد مرة اخرى بعد عام 2003 (WHO,2004) .

ان معظم الدراسات المحلية والخبراء العراقيين يضعون المرض في ثلاث مواقع جغرافية رئيسة يمكن من خلالها دراسة المرض بشكل افضل واعطاء صورة واضحة عن الوضع الوبائي للمرض وانتشاره وتاثيره (الدليمي وجماعته 2002). وهذه المناطق هي :

### 2-4-1المنطقة الشمالية

وتشمل محافظتي نينوى وكركوك وتتركز الاصابة في هذه المنطقة على اطراف الموصل وكركوك وتعدّ هذه المنطقة واطئة الوبائية وقد يعود السبب في ذلك الى اعتدال مناخها وقلة الرطوبة فيها ونمط المعيشة والسكن الذي يكون من النوع الانتشاري فلا نجد فيها تكتلات كتلك الموجودة في العاصمة ونتيجة

لهذه الاسباب فان هذه المنطقة لا تشغل اكثر من7% من المجموع الكلي لنسب الاصابات في العراق (هاشم،2006).

### 2-4-2 المنطقة الوسطى

وتشمل محافظات صلاح الدين وديالى وبابل وواسط والانبار والعاصمة بغداد وتعدّ هذه المنطقة من المناطق المتوسطة الوبائية في العراق ولها ظروف بيئية ومعاشية تؤثر تاثيرا ً ايجابياً على معدلات الوبائية فيها . إذ يكثر في هذه المناطق تربية الحيوانات التي تكون مصدر الاصابة الرئيس وخاصة في محافظات الانبار وديالى وواسط وكذلك نمط السكن في هذه المنطقة له اثره المهم في انتشار المرض بين الانسان وخاصة مراكز المدن .

تشكل هذه المنطقة 35% من المجموع الكلي لنسب الاصابات في عموم العراق إذ شهدت هذه المنطقة زيادة كبيرة في معدلات الاصابة وخاصة في السنوات الاخيرة التي سبقت تطبيق ستراتيجية DOTS في هذه المنطقة (الدليمي وجماعته 2002).

### 3-4-2 المنطقة الجنوبية

وتشمل هذه المنطقة محافظات النجف وكربلاء وميسان وذي قار والقادسية والبصرة والمثنى وتشغل هذه المنطقة اعلى نسبة للوبائية في العراق فهي تشكل 58% من نسب الاصابات في العراق ، ويعود هذا الارتفاع الى المناخ الحار والرطوبة المرتفعة في الاجزاء القريبة من سطح البحر وقد يكون هذا العامل هو السبب الرئيسي في جعل هذه المنطقة من اكثر المناطق وبائية للامراض بصورة عامة ومرض التدرن بصورة خاصة ،ومن العوامل الاخرى التي تزيد من انتشار المرض هي التجمعات الحيوانية خارج المدن والتي قد تكون بؤرة ثابتة للمرض مثل حيوانات التربية في المناطق الريفية داخل الحضائر او قد تكون بؤرة متنقلة كالقطعان التي نجدها في الصحراء مثل الجمال والاغنام وغيرها ، كما وتسهم قلة الغطاء النباتي في جعل الجو متربا ً في اغلب ايام السنة وهو ما يمثل عامل مهيء لمرض التدرن وباقي الامراض التنفسية بصورة عامة،اما نمط السكن الكثيف داخل المدن الكبرى يمكن ان يعد من العوامل التي تساعد على الاصابة بالمرض (الدليمي وجماعته 2003).

## 2-5 طرق انتقال المرض

تنتقل العصيات المسببة لهذا المرض حصرا ً من الانسان المصاب الى الانسان السليم فقط (Chan *et al.*,2000). اذ يعتمد انتقال العصيات على عدد الاصابات في المجتمع كما ان حساسية الافراد للأصابة يعتمد على عدد العصيات المستنشقة ومدة التعرض لمصدر العدوى (Starke,1996) .تنقل العصيات من خلال العطاس والسعال والتكلم والتماس المباشر مع

المرضى ، و يبقى الشخص المصاب وغير المعالج بؤرة للعدوى لعدة سنوات واحياناً مدى الحياة (WHO,1999). إذ تحتوي كل عملية عطاس اوسعال مفردة على 40 الف قطيرة (Cole & Cook,1998). و تحتوي كل قطيرة قطرها 10 مايكرومتر على حوالي 1 - 10 عصية تطرح مع السعال وتعلق وتنتقل مع التيارات الهوائية ، وهذه التيارات يمكنها ان تحتفظ بالعصيات لمدة طويلة ونشرها في اماكن مختلفة ،وعند استنشاقها تبقى في القناة التنفسية العليا (Well *et al.*,1995) . اما القطيرات التي قطرها 5 او أقل من 5 مايكرومتر فهي القطيرات الفعالة والمعدية والقادرة على الاختباء من الطبقة المخاطية للنظام الهدبي والارساء في الشعب الهوائية والاسناخ التنفسية . تبتلع هذه العصيات من قبل الخلايا البلعمية وتبقى حية فيها من دون تحطم وتستمر بالتضاعف داخل هذه الخلايا بعدها تنتقل هذه الخلايا المصابة الى العقد اللمفاوية متسببة بأصابتها واصابة أعضاء أخرى مثل الكلى والعظام الطويلة والاجسام الفقرية والمنطقة القمية من الرئة (Correa,1997) .

تعدّ العادات الاجتماعية بالاضافة الى اماكن العيش المزدحم في المدن من العوامل التي تزيد خطر الاصابة نتيجة للتماس المباشر مع المصابين الا أن هذه العوامل لا تشكل نسبة كبيرة اونسبة معتمدة من نسب الاصابة (Brailey *et al.*,1996).كما تسهم العوامل البيئية في نشر الاصابة ، إذ ان تركيز العصيات في البيئة يعتمد على تهوية المنطقة والتعرض للاشعة فوق البنفسجية ومن عوامل نشر الأصابة الاخرى هي التجمعات في المدارس وحالات الفقر وغيرها من العوامل البيئية التي تزيد من نسب الاصابة وتطور المرض (American Academy of Pediatrics,2003) .

وتتميز عصيات السل البقري بقدرتها على الانتقال للانسان عن طريق تناول الحليب ومشتقاته والاغذية الملوثة بهذه العصيات مسببة له الأصابة (Atlas *et al.*,1995). كما يتعرض الاشخاص الذي يتعاملون بصورة مباشرة ومستمرة مع الحيوانات ومنتجاتها مثل الاطباء البيطرين والفلاحين والعاملين في مجال تصنيع منتجات الحيوانات وفرزها للأصابة بالسل الرئوي الناتج من الاصابة بعصيات السل البقري (Moda *et al.*,1996).

## 6-2 الامراضية

تعدّ القناة التنفسية هي الطريق الرئيس لدخول العصيات (Stead,1989) .وتعدّ الرئة هي العضو الاول الذي يحدث فيه الاصابة من خلال استنشاق القطيرات الهوائية الحاوية على العصيات (Volk *et al.*,1996) .فبعد استنشاق هذه القطيرات التي لها قطر اكبر من 5 مايكرومتر فانها سوف تلتصق على الغشاء المخاطي للقناة التنفسية العليا (الرغامي والحويصلات الرئوية ) وخاصة عند استنشاق اعداد كبيرة فانه يتم الاستجابة ضدها من خلال الدفاعات الهدبية المخاطية ،اما القطيرات التي قطرها اقل من 5 مايكرومتر فهي قادرة على الوصول الى الاسناخ الرئوية (Russell,2007). تلتهم عصيات التدرن من قبل خلايا البلعم الكبير الحوصلية (Alveolar Macrophage) وعندها تبدأ

بالتكاثر في موقع يسمى الموقع الاولي لتكاثر الجراثيم او بؤرة كون ( Cohen focus) إذ تنموهذه العصيات ببطىء داخل الخلايا البلعمية ونظرا ً لعدم افرازها للسموم الداخلية والخارجية فانها لاتحث استجابة مناعية مبكرة (Smith& Wingoshous ,1998) . تهاجم هذه العصيات من قبل الخلايا التشجيرية dendritic cells والتي بامكانها نقل العصيات الى العقد المنصفية ومنها الى المجرى الدموي الذي ينقلها الى الاعضاء البعيدة في الجسم التي يمكن ان يتطورالمرض فيها مثل الاجزاءالعليا من الرئة والعقد اللمفاوية المحيطية والكلى والدماغ والعظام واللسان والجلد (Haagsma & Agnul ,1994 ) .وقد تصيب هذه العصيات مواقع أخرى من الجسم مثل المفاصل واغشية السحايا والغدة الدرقية وغدة الثدي في الذكور والاناث (Walter & Talbet,1996).

عند دخول هذه العصيات الى الجسم فانه سوف يحدث تحفيز استجابة مناعية خلطية ضدها لحماية الجسم من المرض (Stead,1989). لذا فان الاصابة اما تبقى كامنة لمدة طويلة وهي الاصابة الكامنة (Latent Infection) او قد يتطور المرض مباشرة الى تدرن الحادة (Active Tuberculosis) (Vancreval *et al*.,2002). تسلك عصيات التدرن الرئوي طريقة غير واضحة في احداث المرض الا ان هناك دراسات تشير الى ان امراضية هذه العصيات تكمن في محتوى الجدار العالي من الدهون (Cox *et al*.,1999; Manco *et al*.,2004). و تمتاز هذه العصيات بانها داخل خلوية وهذه الصفة تسهم في صعوبة علاجها (Kusner,2005) .كما تمتاز أيضاً بانها تمتلك الية تمكنها من البقاء حية داخل خلايا البلعم الكبير الحوصلية (Metchock *et al*.,1999)

تمتلك عصيات ***M.tuberculosis*** عامل مهم هو(Cord Factor).المسؤول عن نهك المصابين ، إذ وجد ان تنقية هذا العامل وحقنه في الفئران فأنه يتسبب في موتها وكذلك له القدرة على تثبيط هجرة خلايا الدم البيضاء متعددة الانوية من خلال الارتباط بغشاء المايتوكوندريا مسببا ً تحطم وظيفي لعملية التنفس وعمليات الفسفرة التاكسدية (Volk *et al*.,1996).

يتميز هذا المرض بظهور الدرنات وهي نواتج تجمع الخلايا البلعمية الميتة والعصيات ،إذ تتطور الاصابة الاولية الى آفة مرضية بعد مرور ثمانية ايام من الأصابة ،ويحدث تكلس بعد مرور اسبوعين وتحاط الآفة بنسيج حبيبي وخلايا لمفاوية ويحتوي مركز الدرنة على مزيج من الانسجة المتنخرة والخلايا البلعمية الميتة والعصيات مكونة مواد تجبنية متكلسة.(Ettinger & Feldman ,2000). وتحتوي هذه الدرن على الخلايا التائية ($T(CD4^+)$ و$T(CD8^+)$ والخلايا البائية Bcells والصفائح الدموية (Salgame.2005) . إذ تعمل T lymphocyte ($CD4^+$) على افراز الحركيات الخلوية مثل الكاما انتيرفيرون(INF-γ) الذي ينشط الخلايا البلعمية لتحطيم العصيات داخل الدرن (Kaufman ,2002) بينما تعمل خلايا ( T lymphocyte ($CD8^+$) على قتل الخلايا المصابة (Houben *et al* ., 2006).

تتكون هذه الدرن نتيجة لنشاط المناعة الخلوية (Raja,2004). إذ تتكون في أي مكان من الرئة ،حيث ان 90% من حالات الاصابة الاولية تتكون لها درن في الفصوص العليا من الرئة (Balasubramanian *et al*.,1992).تعمل هذه الدرن على حصر الاصابة في منطقة محددة ومنع انتشارها (Salgame *et al*., 2005) .وهناك ثلاثة انواع من الدرن التي تتكون استجابة للأصابة بعصيات التدرن هي:

**1. الدرن غير التجبنية**

يحتوي هذا النوع من الدرن على الخلايا التائية (T-lymphocyte CD4,CD8) والخلايا البائية B-cell والخلايا البلعمية التي ابتلعت عدد قليل من العصيات . وتحاط هذه الدرن بطبقة من الصفائح الليفية .

**2.الدرن التجبنية**

يحتوي هذا النوع من الدرن على منطقة تنخر مركزية والتي تحتوي على البكتيريا بين الخلوية(عصيات التدرن) محاطة بالخلايا البلعمية والخلايا الالتهامية , كما وتحتوي ايضا ًً على تراكيب شبيهة بالعقيدات اللمفاوية الغنية بالخلايا التائية T cell والخلايا البائية B cell والخلايا البلعمية الحاوية على عصيات التدرن .

**3.الدرن الفعالة**

يمتاز هذا النوع من الدرن بانها درن غير منتظمة وتعمل على تثبيط تضاعف العصيات الا ان هذا النوع اقل فعالية في التاثير على الاصابة (Salgame *et al*.;2005) .

## 7-2 مراحل التدرن

هناك ثلاث مراحل من الاصابة التي تظهر في الاشخاص المصابين بالتدرن الرئوي هي :

### 1-7-2 الاصابة الاولية

يحدث خلال هذه المرحلة التصاق العصيات على الطبقة المخاطية للحويصلات الرئوية بعد استنشاق القطيرات الهوائية الحاوية عليها .تطرد هذه العصيات خارج القناة التنفسية من خلال الفعاليات الهدبية للطبقة المخاطية اوتتحرك الى الاسناخ التنفسية او الحويصلات الرئوية النهائية ، بعدها تبدأ العصيات بالتضاعف و بالتالي يتطورالمرض في موقع الاصابة إذ ان هذه الاحداث تحدث جميعها في الفصوص السفلية من الرئة (O'Brien & Spigelmun ,2005). يتميزهذا النوع من الأصابة بظهور الدرن التي

يحدث بداخلها اندماج وتميز الخلايا البلعمية لكي تتساعد فيما بينها، بينما تقوم الخلايا الاخرى بازالة بقايا التحطم (Drobinewski *et al*.; 2003). تمتاز هذه الاصابة بغياب العلامات المرضية ويشكل الاطفال النسبة الاكبر بين نسب هذه الاصابة ,إذ يشكل الاطفال الذين تنحصر اعمارهم بين 1-6 سنوات نسبة 80-90% من المجموع الكلي لنسب الاصابات بينما الاطفال الذين اعمارهم أقل من سنة واحدة فأنهم يشكلون نسبة تصل الى 40-50% من المجموع الكلي لنسب الاصابات تنحصر حدتها عند الاطفال ما بين اصابة بدون علامات مرضية الى اصابة متقدمة (Vallejo &Starke,1996). تكون الاصابة الاولية المتقدمة بشكل ارتشاح في الفص السفلي والاوسط من الرئة وقد يصاحب هذا الارتشاح تضخم في الغدد اللمفاوية لجذر الرئة المصابة مصحوب باعراض سريرية خفيفة كما انه لا يمكن تميز الشذوذات باستعمال الفلم الشعاعي او قد تظهر احيانا ً بشكل قرص متكلس صغير مع او من دون تضخم الغدة اللمفاوية (Braunwald *et al*.,1987) .

### 2-7- 2 الاصابة الرئوية الكامنة

يحدث هذا النوع من الأصابة عندما تكون الاستجابة المناعية قوية وتستطيع ايقاف تضاعف العصيات بعد حدوث الاصابة الاولية , وتعتمد مدة هذه الاصابة على عمر المريض والأصابة بالامراض الأخرى ،إذ ان 85-90% من المصابين تستمر الاصابة عندهم مدى الحياة وهذه الاصابة لايستدل عليها الامن خلال اختبار النيوبركلين (Soini & james ,2001).أن ما يقارب الثلث من سكان الكرة الارضية هم حاملون لهذا النوع من الاصابة إذ ان اغلب حالات التدرن الفعال ناتجة من تطور الاصابة المتأخرة(Fine & Small,1999). وتتميز هذه الاصابة بظهور الندب في الفصوص العليا من الرئة التي تشير الى العلاقة بين العصيات والاستجابة المناعية الخلوية (Dronbniewski *et al*.,2003).

ان 15% من حالات الاصابة المتأخرة تتحول الى تدرن فعال خارج الرئة مع عدم حدوث اصابة في الرئة (Farel *et al*.,1979).

### 3-7-2 الأصابة ما بعد الاولية

يسمى هذا النوع من الأصابة بالتدرن الثانوي Secondary tuberculosis ايضاً إذ تحدث نتيجة لضعف مناعة المصابين وتطور الأصابة الاولية الى أصابة ثانوية من خلال استنشاق اعداد اضافية من العصيات او حدوث تنشيط للاصابة الجديدة(Verrver *et al*.,2005). أن اغلب الاشخاص المصابين بعصيات التدرن ولا يعانون من اصابة بفايروس نقص المناعة المكتسب (ADIS) تتطور عندهم الاصابة بعد مرور 3-5 سنوات من التعرض لمصدر العدوى ، اما الاشخاص المصابون بفيروس نقص المناعة المكتسب فان 7-10% منهم تتطور عندهم الاصابة الى تدرن فعال سنويا بينما الحالات الاخرى فانها تتطور خلال أي مدة من مُدد الحياة (ATS,2000). تحدث هذه

الاصابة في 10-15% من المصابين بالاصابة الاولية ,اذ ان نصف هؤلاء يتطور المرض عندهم خلال السنتين الاولى من الاصابة اما النصف الاخر فتتطور عندهم الاصابة خلال مُدد الحياة المختلفة أي بعد مرور عدة سنوات او عقود من الاصابة الاولية (Innes & Red,2006).

تعدّ الفصوص العليا والاجزاء القمية من الفصوص السفلى من اكثر المناطق تضررا ً من هذا النوع من الاصابة إذ يصيب هذا النوع ايضا ً الاعضاء المختلفة من الجسم (Hopewell *et al*., 2006). وعند تطور الاصابة في الاشخاص االذين يعانون من الاصابة بفايروس نقص المناعة المكتسب(AIDS) فانة يؤدي الى انتشار العصيات ووفاة حوالي 50% منهم، وتحول 25-30% الى اصابة مزمنة ،بينما يتحول 20-25 %من حالات الاصابة الى حالة الشفاء (Melo & Afiune,1993).

## 2-8 الاستجابة المناعية عند الاصابة بعصيات التدرن

تتضمن الاستجابة المناعية ضد عصيات التدرن نوعين ن الاستجابة هي:

### 2-8-1 الاستجابة المناعية المكتسبة

تقسم الاستجابة المناعية المكتسبة الى استجابة مناعية خلوية واستجابة مناعية خلطية.

### 2-8-1-1 الاستجابة المناعية الخلوية

تعرض مستضدات عصيات التدرن عندما تستقر في الخلايا البلعمية الى الخلايا التائية المساعدة(Th1 Cells) من نوع ( $T(CD4^+)$ التي تؤدي دورا ً مهما ً في الاستجابة المناعية ضد هذه العصيات إذ يحدث نمو سريع وغير مسيطر عليه بغياب هذه الخلايا (Carsuo *et al* .,1999). وان الوظيفة الاساسية لهذه الخلايا هي افراز IFN-γ, المسؤول عن تنشيط الخلايا البلعمية كما تسهم هذه الخلايا في تحفيز تحطم العصيات و المساعدة في تطوير استجابة الخلايا التائية ( $T(CD8^+)$ Serbina *et al*., 2001 ). وطهاية الخلايا المصابة (Oddo *et al*.,1998).

ذكر Serbina & Flynn (1999) أن خلايا ( $T(CD8^+)$ تعمل على حث الخلايا التائية المساعدة(Th1) لافرازIFN-γ من خلال تنشيط مستقبلات الخلايا التائية المساعدة او التداخل مع الخلايا الشجيرية Dendritic cell المصابة. كما تمتاز ($T(CD8^+)$ بقدرتها على حل الخلايا المصابة والتقليل من اعداد العصيات بين الخلوية (Stenger *et al* ., 1997). توجد هذه الخلايا بتراكيز عالية في دم المرضى المصابين بمرض التدرن (Ito *et al*.,1992). كما توجد هذه الخلايا في البقع الاولية للاصابة

ويعتقد انها تتحفز مناعياً فقط خلال افراز INF-γ استجابة للخلايا البلعمية المصابة (Ferrick *et al.*,1995). كما تسهم هذه الخلايا في الحد من الاصابة بعصيات التدرن ولها تاثير مضاد للالتهابات (Ladel *et al* .,1995). ولها القدرة على افراز IL-17 خلال مرحلة مبكرة من الاصابة اذ يعمل هذا الانترليوكين على حث تدفق الخلايا المناعية الى موقع الاصابة كما ان افراز هذا الانترلوكين هو استجابة لافراز الانترلوكين IL-23 الذي تفرزة الخلايا التشجيرية (Lockahart *et al*., 2006) .

## 2-1-8-2 الاستجابة المناعية الخلطية

لايؤدي هذا النوع من الاستجابة المناعية دوراً رئيسياً في حماية الجسم نتيجة لوجود عصيات التدرن بين الخلايا لذا فهي لاتتعرض لفعل الاجسام المضادة ، الا أن الأجسام المضادة تعمل بمفردها او مع الحركيات الخلوية لمنع دخول عصيات التدرن الرئوي الى السطوح المخاطية (Skelding *et al*., 2001). تعمل الاجسام المضادة من خلال حث العديد من الميكانيكيات الدفاعية ومنها معادلة السموم (Neutralization) وطهاية المستضدات Opsonization وتنشيط المتمم Complement actiation وحث عرض المستضدات , فقد اشارت النتائج المختبرية ان الاجسام المضادة تؤدي دوراً مهماً في الاستجابة المناعية لمراحل الاصابة المختلفة (Hoft *et al*., 2002).

## ٢-٨-٢ الاستجابة المناعية الطبيعية

وجد Garcia-Romo *et al* (2004) و Fulton *et al* (2002) أن هناك ست خلايا تشترك في هذا النوع من الاستجابة المناعية هي

## 1-2-8-2 خلايا الدم البيض العدلة

يعد هذا النوع من الخلايا المبكرة الوصول الى مواقع وجود المسبب المرضي كما انها تمتلك ميكانيكيات قتل مهمة للأحياء المجهرية الداخلة الى الجسم مثل الاعتماد على الاوكسجين او من خلال تكوين مشابك داخل خلوية (Urban *et al*., 2006). إذ تمتاز هذه الخلايا بقدرتها على كشف المسبب المرضي في بداية الاصابة وبعد عدة ايام منها ( Pedrosa *et al*.,2000 ; Fulton *et al*.,2002) . بالاضافة الى دورها في السيطرة على نمو عصيات التدرن من خلال انتاج الحركيات الكيميائية (Riedil & Kaufmann,1999). وحث تكوين الدرن (Ehler,2003). لذلك نجد ان الحيوانات الحساسة لمرض التدرن تمتلك تجمعات كبيرة من هذه الخلايا مقارنة مع الحيوانات المقاومة للمرض;(Eruslanov *et al*., 2005).

### 2-2-8-2 خلايا البلعم الكبير الحوصلية

تؤدي الخلايا البلعمية وخاصة خلايا البلعم الكبير الحوصلية دورا ً مهماً في الاستجابة المناعية للاجسام الغريبة الداخلة الى المجرى التنفسي , وهي اول خلايا الجهاز المناعي التي تتداخل مع العصيات (Dannenberg,1991 ) . اذ تؤدي المستقبلات الخلوية مثل Fc والمتمم (Schlsinger *et al.*,1990). والبروتينات السطحية (Zimmerli *et al.*,1996). و(CD14) (Peterson *et al.*,1995). دورا ً مهما ً في تداخل الخلايا البلعمية مع العصيات الا ان تداخل هذه الخلايا غير معروف بانه يكون مع مستقبل واحد او مع المستقبلات جميعها . الا ان الدراسات اثبتت ان الخلايا البلعمية تستجيب مناعيا ً بالاعتماد على نوع المستقبل (Armstrong & Hart,1975). كما يحتوي غشاء هذه الخلايا على الكولسترول الذي يلعب دورا في تغليف العصيات (Gatifeld & Pieter,2000).

تمتاز الخلايا البلعمية النشطة بقدرتها على افراز IL-12 بعد ابتلاعها لعصيات التدرن الرئوي الذي يؤدي دورا ً مميزاً في حماية الجسم من الاصابة بمرض التدرن الرئوي cooper *et al.*,1997). ويعدّ احد الحركيات الخلوية المبكرة الافراز للجهاز المناعي الآني (Trinchieri ,1995) .فهو يعمل على حث استجابة خلايا Th1 وانتاج IFN-γ كما وجد ان النقص في مستوى IL-12 في الفئران المختبرية يجعلها اكثر حساسية للاصابة بعصيات التدرن وغير مسيطرة على النمو البكتيري في الرئة وكذلك يؤدي نقصه الى نقص في انتاج INF-γ (Cooper *et al.*,1997). اطلقت العديد من التسميات على هذا الانترلوكين منها العامل المحفز للخلايا القاتلة الطبيعية والعامل المنضج للخلايا اللمفاوية القاتلة (Trinchieri,1995).

تستقر العصيات داخل تركيب يشتق من الغشاء البلازمي وبعض المستقبلات السطحية للخلية وهو الفجوى الهاضمة Phagosome (Hasan *et al.*,1997). الا ان عصيات التدرن الرئوي تمتلك القدرة على تثبيط اندماج الفجوى الهاضمة مع الجسيم الحالة Lysosome (Armstrony & Hart,1975) . لكن يمكن لهذا الاندماج ان يحدث من خلال بعض الحركيات الخلوية مثل INF-γ و TNF-α والتي لها دور ايضاً في تحفيز ميكانيكيات مضادة للاحياء المجهرية الداخلة الى الجسم مثل اليات القتل المعتمدة على الاوكسجين ووسائط النتروجين (Chan *et al.*, 1992).

### 3-2-8-2 الخلايا التشجيرية

بعد دخول العصيات الى الرئة وابتلاعها من قبل خلايا البلعم الكبير الحوصلية تجهز هذه الخلايا وباعداد كبيرة من الدم ومن الانسجة الرئوية متجمعة في البقع التدرنية (Garci- Romo *et al*.,2004). تنشأ الخلايا التشجيرية الناضجة والخلايا التشجيرية غير الناضجة من الخلايا الوحيدة التي تعرض TLR-2و TLR-4 (Kadowalki & Antonenko,2001). وبعد ان تنشأ هذه الخلايا من الخلايا الوحيدة فانها تصاب بعصيات التدرن وتثبط قدرتها على تميز المستضدات الدهنية للعصيات وبالتالي تقل قدرتها على عرض CD1 على سطحها (Stenger *et al*.,1998). ان الوظيفة الرئيسة لهذه الخلايا هي حث نضج الخلايا التائية الى Th1 من خلال انتاج الحركيات الخلوية IL-12 وIL-18 وIL23 INF-β و INF-α (Wozniak *et al*., 2006). وتنتشر خلايا Th1 استجابة لمستضدات العصيات المعروضة على الخلايا المتفرعة الموجودة في العقيدات اللمفاوية وتتحرك باتجاه موقع الاصابة حيث تقوم هذة الخلايا بافراز INF-γ الذي يعمل على تنشيط الخلايا اللمفاوية للسيطرة على تضاعف الخلايا (Humpheys *et al*.,2006).

### 4-2-8-2 الخلايا القاتلة الطبيعية

يؤدي هذا النوع من الخلايا دورا ً مهما ً في تطور الاستجابة المناعية الطبيعية إذ تقوم بوظيفة قتل الخلايا المصابة و لها دور ايضا ً في افراز.INF-γ. وجد في العديد من الدراسات التي اجريت على الفئران ان اعداد هذه الخلايا يزداد بعد مرور 21 يوم من الاصابة بعصيات التدرن الرئوي (Jungueira-Kipnis *et al*.,2003). كما تشترك في عملية حث قتل الخلايا البلعمية المصابة بالعصيات ورفع قدرة الخلايا التائية (CD8) T Lymphocyte على افرازINF-γ وحل الخلايا المصابة وربط المناعة الطبيعية بالمناعة المكتسبة (Vankayalapti *et al*., 2004).

### 5-2-8-2 الخلايا الطلائية Epithelial cells

كان الاعتقاد السائد بان خلايا البلعم الكبير الحوصلية هي الخلايا الاولى التي تتداخل مع عصيات التدرن ، الا ان احتمالية تداخل الخلايا الطلائية مع العصيات هي الاكبر (Hernandez-Pando *et al*.,2000).

تستطيع عصيات التدرن ان تتخذمن هذه الخلايا مضيفا ً لها وكذلك تستطيع التضاعف فيها (Bermudez & Goodman ,1996). ولهذه الخلايا القدرة على احداث استجابة اولية من خلال انتاج IL-8 (Wickremashinghe *et al*.,1999) وحث انتاج اوكسيد النتريك(Roy *et al* .,2004).

# 3 المواد وطرائق العمل

## 3-1 الاجهزة والمواد

## 1-1-3 الاجهزة المستعملة

**جدول (3-2) الاجهزة المستعملة في طريقة العمل اوالشركة المصنعة**

| الجهاز | الشركة المصنعة والمنشأ |
|---|---|
| الحاضنة Incubator | Heraeus(Germany) |
| الموصدة Autoclave | Stermite (Germany) |
| فرن كهربائي Electeric oven | Sakura(Japan ) |
| حمام مائي Water bath | Gallen kamp |
| مقياس الاس الهيدروجيني pH-meter | LKB (Sewden) |
| المجهر الضوئي Light microscope | Olympus (Japan) |
| المنبذة Centrifuge | Hettich EBA20 (Germany) |
| ميزان حساس Sensetive balance | Mettler(Switzerland) |
| مصدر للأشعة فوق البنفسجية UV-Transilluminator | U.V.P (USA) |
| جهاز تقطير Water distiller | Gallen kamp |
| Micropipettes5-50µl ,100-1000µl ,0.5-10µl | Eppendroff (Oxford) |
| Automatic wash E1X50/autostrip | Biotech(USA) |
| Microtiter plate reader | Biotech(USA) |
| **الجهاز** | **الشركة المصنعة والمنشأ** |
| Microplate shaker | HeidolpH(Germany) |
| انابيب جمع الدم Blood collection tubes | AFMA(England) |
| انابيب اختبار الهيبارين EDTA tubes | Grenier(Germany) |
| نهايات ماصة دقيقة Disposable micropepitte tips | Walter(Germany) |
| ثلاجة Refrigerator | Concord(Lebanan |
| انابيب ابندروف Eppendrof Tubes | Grenier(Germany) |
| Screw Capped Tubes | Universal Tubes(Denmark) |
| Disposable Syringes | GMP(Turkey) |

## 2-1-3 المواد الكيميائية والحيوية المستعملة

**جدول( 3-3 ) الموادالكيمياوية والحيوية المستعملة في طريقة العمل والشركة المصنعة**

| المادة الكيميائية | الشركة المصنعة |
|---|---|
| الفوكسين القاعدي Basic fuchsine | BDH(U.K) |
| حامض الستريك Citric acid | Sigma U.K |
| حامض الهيدروكلوريك المركز Cocentrated HCL | BDH |
| Disodiumhydrogen orthopHospHate (Na2 HPO4,HO2) | BDH |
| الكحول المثيلي Methanol | BDH |
| **المادة الكيميائية** | **الشركة المصنعة** |
| الكحول الاثيلي Ethanol | BDH |
| بلورات الفينول PHenol crystal | BDH |
| كليسرول Glyserol | Sigma |
| اسبراجينن L-asparagine | BDH |
| كبريتات المغنسيوم المائية Magnesium sulpHate (MgSO4.7H2O) | Analar |
| اخضرالميليكا Melechiate green | BDH |
| ازرق المثلين95% Methelen blue(95%) | BDH |
| محلول الفوسفات منظم PHosphate buffer saline | Flow Lab.UK |
| Potassium dihydrogen-orthopHospHate (KH2PO4) | BDH |
| هيدروكسيد الصوديوم Sodium Hydroxide | Merk(Germany) |

## 3-1-3 المحاليل المستعملة

**جدول(4-3) المحليل المستخدمة في طريقة العمل واستعمالها**

| المحلول | الأستعمال |
|---|---|
| المحلول الملحي الفسلجيPhysiological Normal Saline | اجراء التخافيف وفحص العينات |
| محلول منظم الفوسفات PHospHate buffer saline | لأجراء تراكيز القشع |
| صبغة لشمان Leishman stain | لأجراء اختبار البلعمة PHagocytosis |
| محلول هانك Hank´s solution | لأجراء اختبار البلعمة Phagocytosis |

## 3-1-4 عدد الفحص

### 3-1-4-1 عدة فحص الاليزا

**جدول(5-3) عدة فحص الانترليوكين-12**

| | | |
|---|---|---|
| الانزيم الرابط الاول | Biotin | 7ml |
| الأنزيم الرابط الثاني | Avidin | 10ml |
| محلول التخفيف | Cabilator dilluent | 22ml |
| محلول الغسل | Wash buffer | 20ml |
| المادة الأساس أ،ب | Substrate A,B | 14ml |
| محلول التوقف | Stop solution | 10ml |
| المحلول القياسي | Standerd solution | 2ml |

### 2-4-1-3 : عدة قياس مستوى

## IgG;IgM;IgA;C3;C4

**جدول(3-6)عدةفحص تركيز الاجسام المضادة IgG,IgA,IgM وبروتينات المتممC3,C4 والشركة المصنعة**

| المادة | الشركة المصنعة |
|---|---|
| ImmunogloulinA(IgA) | LTA(Italy) |
| ImmunoglobulinD(IgD) | LTA(Italy) |
| ImmunoglubulinM(IgM) | LTA(Italy) |
| Complement C3 | LTA(Italy) |
| Cmplement C4 | LTA(Italy) |

# 2-3 طرائق العمل

### 3-2-1: تحضيرالصبغة الصامدة للحمض Acid Fast Stain

استعمل هذا النوع من الصبغة للكشف عن العصيات الصامدة للحامض باستعمال الفحص المجهري وحضّرت مكونات هذه الصبغة طبقا لطريقة.(Salfinger and Pfyffer,1994). وكالأتي:

**١. محلول الفوكسين الكحولي المركز**

حضر هذا المحلول باذابة 10غم من الفوكسين القاعدي في 100مل من الايثانول 95%، ومزج المحلول جيدا ً وحفظ بدرجة حرارة الغرفة لحين الاستعمال.

**٢. فينول (5%)**

حضر باذابة 2.5 غم/ لتر من بلورات الفينول في حمام مائي ،ثم اخذ 50مل منه وكمل الحجم الى لتر ما ء مقطر وحفظ بدرجة حرارة الغرفة لحين الاستعمال.

**٣. صبغة زيل نيلسون**

مزج 100مل من محلول الفوكسين الكحولي مع 900مل من الفينول 5%وحفظ في عبوات معتمة لحين الاستعمال.

**٤. محلول الصامد للحامض**

اضيف 30مل من حامض الهايدروليك المركز الى 970مل من الميثانول وحفظ بدرجة حرارة الغرفة لحين الاستعمال.

**٥. صبغة المضادة Counter Stain**

مزج 1.□0غم من كلوريد المثلين الازرق مع 100مل ماء مقطر ثم اذيب جيدا وحفظ لحين الاستعمال.

## 2-2-3: وسط اللوينستين جينسين كليسيرول

## Lowenstein–Jensen glycerol Media

استعمل هذا الوسط الزرعي لانبات العصيات الصامدة للحامض من العينات وحضر طبقا ً لطريقة (Robert *et al.*,1992) وتتضمن خطوتين هما:

**A- المحلول الملحي المنظم**

**جدول (3-7) المواد المستعملة في تحضير المحلول الملحي المنظم وكميتها**

| المادة | الكمية |
|---|---|
| $KH_2PO_4$ | 28 غم |
| $Na_2Hpo4,2H_2O$ | 16غم |
| $MgS_4.7H2O$ | 1.6غم |
| Citric acid | 12غم |
| L-asparagine | 40غم |
| Glycerol | 80غم |
| Distilled water | 4 لتر |

اضيفت هذه المواد بصورة متتابعة ووزعت بعدها في دوارق يحتوي كل منها على 400 مل وعقمت جيدا ً باستعمال الموصدة بدرجة حرارة 121م لمدة 15دقيقة.

B- **الوسط الكامل**

| | | |
|---|---|---|
| 1- المحلول الملحي النظم | Buffer Salt Solutio | 1200 ml |
| 2- بيض طازج | Whole Egg | 2000 mL |
| 3- اخضر الميليكات(1%) | Melechate Green (%1) | 80 ml |

PH=6.95

وضعت انابيب الزرع في الفرن بصورة مائلة لمدة ساعة بدرجة حرارة 85م لعمل اوساط صلبة مائلة.

## 3-2-3 تحضير محلول الفوسفات المنظم (pH=7.4)

حضر هذا المحلول باذابة 0.8 غم من كلوريد الصوديوم و 0.14غم من فوسفات الصوديوم المائية Disodium hydrogen orthopHospHate و 0.01 غم من الميرثوليت Mertholate في 80 مل من الماء المقطر ثم ضبط الـــPH عند 7.4 بعدها كمل الحجم الى 100 مل بأستعمال الماء المقطر.عقم المحلول بأستعمال الموصدة عند درجة حرارة 121 م˚ لمدة 15 دقيقة ثم حفظ بدرجة حرارة 4 م˚ لحين الأستخدام (Sambrook *et al*.,1989). أستخدم هذا المحلول لغرض تركيز القشع.

## 3-3 جمع العينات

### 3-3-1 :عينات القشع

شملت الدراسة جمع 200 عينة قشع من المرضى المصابين بمرض التدرن الرئوي المراجعين للعيادة الاستشارية للامراض الصدرية والتنفسية في مدينة الديوانية خلال المدة من الاول من شهر تشرين الثاني 2009 الى الاول من شهر ايلول 2010،وقد اتصفت اغلب حالات الاصابة بعلامات مرضية شملت ،السعال لمدد طويلة وفقدان الوزن وارتفاع الحرارة والتعرق الليلي والغثيان والنفث الدموي عند بعض الحالات ، كما تضمنت الدراسة جمع عينات دم من المصابين بالمرض لغرض اجراء بعض الفحوصات المناعية واخذت بعض البيانات من المرضى اذ شملت الجنس والعمز ومنطقة السكن بالأضافة الى معلومات اخرى شملت التدخين ووجود ندبة التلقيح والاصابة بالسكر

تم فحص نماذج قشع متتالية لكل مريض وبحسب السياق الاتي:

**النموذج الاول :** قشع من المريض حال وصوله الى مركز التدرن(العيادة الاستشارية للامراض الصدرية والتنفسية)

**النموذج الثاني :** قشع صباحي قبل تناول المريض لوجبة الافطار وضع في علبة فارغة زود بها المريض

**النموذج الثالث :** قشع اخذ من المريض حال وصولة الى مركز التدرن في اليوم الثاني من مراجعتة عند جلب النموذج الثاني (الدليمي،1998).

### 2-3-3 عينات الدم

سحبت خمسة مللترات من دم المريض وقسم الدم على النحو الاتي :

١. وضع مللتران من الدم في انابيب معقمة حاوية على الهيبارن واستخدم هذا الدم لفحص البلعمة PHagocytosis.

٢. وضع القسم المتبقي من الدم (3مللتر ) في انبوب معقم وترك لمدة 15دقيقة في درجة حرارة الغرفة للحصول على المصل اذ نبذ الدم بعد تجلطه وبسرعة 2000 دورة /دقيقة لمدة خمسة دقائق ثم وزع المصل في ثلاث انابيب ابندروف ووضع في المجمدة بدرجة حرارة −20مْ والذي استعمل لاحقا ً في الفجوصات المناعية.

## 4-3 معاملة العينات

هضم القشع وعومل لأزالة التلوث باستعمال حجم مساو ٍ له من هيدروكسيد الصوديوم (4%) لمدة 30دقيقة بدرجة حرارة الغرفة مع الرج الشديد ،بعدها تمت معادلته مع 10مل من المحلول الملحي المنظم (PH=7.4) و نبذ بسرعة 3000دورة/دقيقة لمدة 30دقيقة ثم ازيل العالق وجمع الراسب (Kubica *et al.*, 1993). ثم حقن الراسب في قناني الزرع الحاوية على الوسط الزرعي وحضنت بدرجة 37 م ْ لمدة ثمانية اسابيع .

## 5-3 طرائق التشخيص

### 1-5-3 الفحص المباشر للقشع Direct Samer (Baron *et al.*,1995)

اخذ جزء من القشع بواسطة عود خشبي (اختيرت الاماكن المتقيحة ) نقل بعدها الى الشريحة الزجاجية ثم نشر بواسطة عود خشبي على مساحة معينة من الشريحة الزجاجية ثم ترك ليجف وثبت بعد ذلك بامرار اللهب (3-4) مرات وصبغت الشريحة بطريقة زيل نيلسون وكلاتي :

١. صبت صبغة الكاربول فوكسين فوق مساحة القشع المنشور على الشريحة الزجاجية وسخنت الصبغة بامرار اللهب بواسطة مصباح بنزن حتى تصاعدت ابخرة بيضاء خفيفة مع تجنب غليان الصبغة ثم تركت الصبغة لمدة خمسة دقائق .

٢. غسلت الصبغة بالماء .

٣. قصرت الصبغة بواسطة الحامض الكحولي (95% ايثانول HCL 3%) لمدة ثلاث دقائق

٤. غسل الحامض الكحولي بالماء.

٥. غمرت الشريحة بصبغة المثلين الازرق لمدة دقيقتين .

٦. غسلت صبغة المثلين الازرق بالماء .

٧. جففت الشريحة وفحصت مجهريا بالعدسة الزيتية لملاحظة العصيات الصامدة تجاه الحامض.

### 2-5-3 الأستنبات على الوسط الزرعي Cultivation in Calture Medium

حقن الوسط الزرعي اللوينستين جينسين (L.J) بمائة وخمسين مايكروليتر من العالق المحضر في الفقرة (3-4) أذ عملت خمسة مكررات لكل عينة حضنت ثلاث منها في الحاضنة بدرجة حرارة 37 مْ وواحدة في درجة حرارة الغرفة والاحيرة في درجة حرارة ٤٥ مْ .حيث حضنت جميعها بصورة مائلة لمدة يومين بعدها وضعت بشكل قائم ثم توبع النمو اسبوعياً ولم يعتر النمو سالب حتى نهاية الاسبوع الثامن (Rbert's *et al*.,1992).

## 6-3 الاختبارات التشخيصية

اجريت الاختبارات التالية على المستعمرات النامية على وسط الاستنبات :

### 1-6-3 الصمود تجاه الحامض

أخذت مستعمرة بواسطة العروة الناقلة ونشرت على شريحة زجاجية وصبغة بصبغة زيل-نيلسون.

### 2-6-3 أختبار النياسين

اتبعت طريقة Runyon (1970) إذ أضيف 1مل من الماء المقطر المعقم الى وسط الاستنبات الحاوية على المستعمرات بعمر 3 أسابيع وتركت القنينة بوضع مائل في الحاضنة لمدة 20 دقيقة وثقب الوسط الزرعي بواسطة نهاية الماصة كي يساعد على أفراز النياسين وبعد ذلك نقل 0.5مل من المستحلب الى قنينة شفافة معقمة أضيف إليها 0.5 مل من 4% الانين في 95 % ايثانول و10% من بروميد السيانيد، مزج الخليط ولوحظ تكون اللون الاصفر الدال على انتاج النياسين.

### 3-7-3 اختبار انتاج الكاتاليز

أضيفت قطرة من المحلول الحاوي على حجم متساوي من 10% 80 Tween و30% H2O2الى وسط الاستنبات الحاوي على المستعمرات ، سجلت النتيجة موجبة عند ظهور الفقاعات (Victor *et al* .,1997).

### 4-6-3 اختبار تاثير الحرارة على انتاج الكاتاليز

قشطت مستعمرات من وسط الاستنبات وعلقت بـ0.5 مل من pHospHate buffer (7 = pH)ووضع في حمام مائي بدرج 68مْ لمدة 20دقيقة ثم بردت بدرجة حرارة الغرفة واضيف 0.5 مل من المزيج المذكور في الفقرة (3) وسجلت النتيجة موجبة بظهور الفقاعات مهما كانت قليلة.

### 5-6-3.اختزال النتريت

اجري هذا الاختبار بحسب طريقة (Tsukamura,1967).والمكون من:

| | |
|---|---|
| PHospHate Buffer PH=7 | 1000مل |
| Tween 80 | 0.5مل |
| نترات الصوديوم NaNO3 | 0.2 غم |

مزجت الكميات اعلاه جيداً ووزعت بمقدار 1مل في قناني محكمة السد ثم عقمت بجهاز الموصدة لمدة 20 دقيقة وتركت لتبرد بدرجة حرارة الغرفة ،نقلت مستعمرتين بوساطة الشراج المعقم لتلقيح الوسط المحظر وحضنت بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة .بعد نهاية فترة التحضين أضيفت قطرتين من كاشف Ehrlich' aldehyde المحضر من إذابة 2غم من P. dimethyl-aminobenzaldehyd في 100مل من 10% HCL، إن ظهور اللون الاصفر يدل على اختزال النترات.

### 6-6-3 التحلل المائي لـ Tween 80

اتبعت طريقة Wayan وجماعته (1964) وحضر الوسط مختبرياً كا لاتي :

| | |
|---|---|
| PHospHate Buffer PH7 | 100 مل |
| محلول الاحمر المتعادل 1% | 2 مل |
| Tween 80 | 0.5 مل |

مزجت المواد اعلاه وصبت بمقدار 4 مل في قناني محكمة السد وعقمت بالموصدة لمدة20 دقيقة بردت وحفظت في الثلاجة في حال عدم استعمالها.عند اجراء الاختبار تنقل المستعمرة بوساطة العروة الناقلة الى الوسط وتحضن بدرجة حرارة 37 مْ ثم يراقب التغير اللوني خلال مدة 20 يوم .

* أن تغير لون الوسط الى اللون الوردي يدل على ايجابية الفحص .

## 7-3 الفحوصات المناعية

### 1-7-3 البلعمة PHagocytosis

درست البعلمة لخلايا الدم المحيطي بطريقة بلعمة خلايا الخميرة المقتولة وبحسب الطريقة الموضحة من قبل (Metcalf *et al.*,1986).وكما ياتي:

- **الخميرة المقتولة**

حضر معلق الخميرة المقتولة لغرض دراسة عملية البلعمة اذ استعملت خميرة الخبز الجافة (saccharomyces cerevisiah) المصنعة من قبل الشركة المصنعة لهذا الغرض وكما ياتي:

اذيب 10غم من الخميرة في 150مل من المحلول الملحي الفسلجي المعقم ووضع العالق في حمام مائي مغلي بدرجة 95 م ْ لمدة ستين دقيقة ثم رشح العالق بعد تبريده و قسم في انابيب حفظت بدرجة حرارة -20م ْ لحين الاستخدام.

- **طريقة العمل**

وضع 0.5 مللتر من الدم المحيطي في انبوبة اختبار معقمة ثم اضيف لة 0.05 مللتر من الخميرة المقتولة و 0.2 مللتر من محلول هانك الملحي المتوازن وبعدها مزجت المكونات جيدا ً وحضنت بدرجة حرارة 37 م ْ ودرست البلعمة بعد مرور(15 ,30 ,45 , 60) دقيقة حيث عملت مسحة دم على شريحة زجاجية وتركت لتجف بدرجة حرارة الغرفة ولونت الشرائح بملون لشمان وحسبت معامل البلعمة على وفق المعادلة الاتية.

معامل البلعمة =عدد الخلايا الملتهمة للخميرة \ العدد الكلي للخلايا ( ملتهمة وغير ملتهمة ) x 100.

## 3-8-2. تقدير تركيز الكلوبينات المناعية ومكوني المتممC3وC4 في المصل

## estimation of immunoglobulin and complement in the serum

تم تقدير تركيز االكلوبيولينات المناعية (IgA.IgG.IgM ) ومكوني المتمم C4,C3 في مصل العينات باستعمال الاطباق الجاهزة من شركة LTA الايطالية ويحسب طريقة الانتشار المناعي المفرد Singl radial immunodiffusion وكما ياتي :

اخرجت الاطباق من الثلاجة وتركت في درجة حرارة الغرفة لمدة خمسة دقائق ثم اضيف بعد ذلك خمسة مايكروليتر من المصل في كل حفرة وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 25 م ْ لمدة 72 ساعة و بعد انتهاء مدة الحضانة قيس قطر حلقةُ الترسيب المناعي Immunoprecipitinring المتكونة حول الحفرة وقد تم التعبير عن القيمة بملغم /100 مل.

## 3-8-3 تقدير مستوى IL-12 في المصل

ان عدة فحص الانتيرليوكين البشري تشبه شطيرة صلب الوجه Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay(ELISA) يغلف الجسم المضاد الخاص بالـ IL-12 جدران الصفيحة البلاستيكية .توضع المحاليل القياسية و العينات في الحفر مع الجسم المضاد متعدد الوجوه ( Biotin).خلال التحضين الاول ترتبط مستضدات IL-12 بلجسم المضاد الأسير من جانب واحد وبالوجه السائل للجسم المضاد (Biotin) من الجنب الأخر وبعد عملية الغسل لإزالة IL-12غير المرتبط والمكونات الأخرى .ولمعرفة كمية IL-12 الموجود في العينات يضاف Avidin الى الحفر وهو عبارة عن اربعة وحدات متشابهة رباعية الوجوه تمتاز بألفتها للـ Biotin بعد مدة التحضين تغسل الحفر مرة آخرة لأزلة Avidin conjugate الغير مرتبط ثم يضاف المحلول القياسي Substrate Solution الذي يتفاعل مع الأنزيم المرتبط لينتج تغير لوني بعد فترة قصيرة من الحضن اذ يحدث التغير اللوني في الحفر الحاوية على IL-12 والجسم المضاد Biotin والأنزيم المرتبط Avidin Cojugate وينتهي تفاعل المادة الأساس والأنزيم المرتبط بأضافة محلول التوقف Stop Solution .تتناسب كثافة اللون مع تركيز IL-12 الموجود في النموذج العام وفيما ياتي طريقة العمل طبقا للمعلومات المقدمة من قبل شركة USBiological

١. حضر محلول الغسل بتخفيف 50مل من محلول الغسل وكمل الحجم الى 1000مل ماء مقطروحفظ بدرجة حرارة 4 مْ لحين الاستخدام.

٢. حضرت سلسلة من التخافيف من الحلول القياسي باستعمال محلول التخفيف المزود من قبل الشركة اذ تراوحت هذه التخافيف بين (5-1000 pg/ml)

٣. وأضيف 100مل من العينات(المصابين ومجموعة السيطرة) إلى الحفر وغطي الطبق ثم رج جيدا وحضن بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين.

٤. أضيف 50 مل من البايوتين(Biotin) لكل حفرة .

٥. غسلت الحفر لإزالة الجسم المضاد غير المرتبط والمواد الاخرى باستخدام محلول الغسل المحضر في الفقرة (1) بمعدل خمس مرات في كل غسله تم سحب وإضافة 350µl.

٦. اضيف 100 µl من الانزيم المرتبط Avidin Conjugate وغطي الطبق ثم رج جيدا ً وحضن لمدة ساعتين بدرجة حرارة الفرفة.

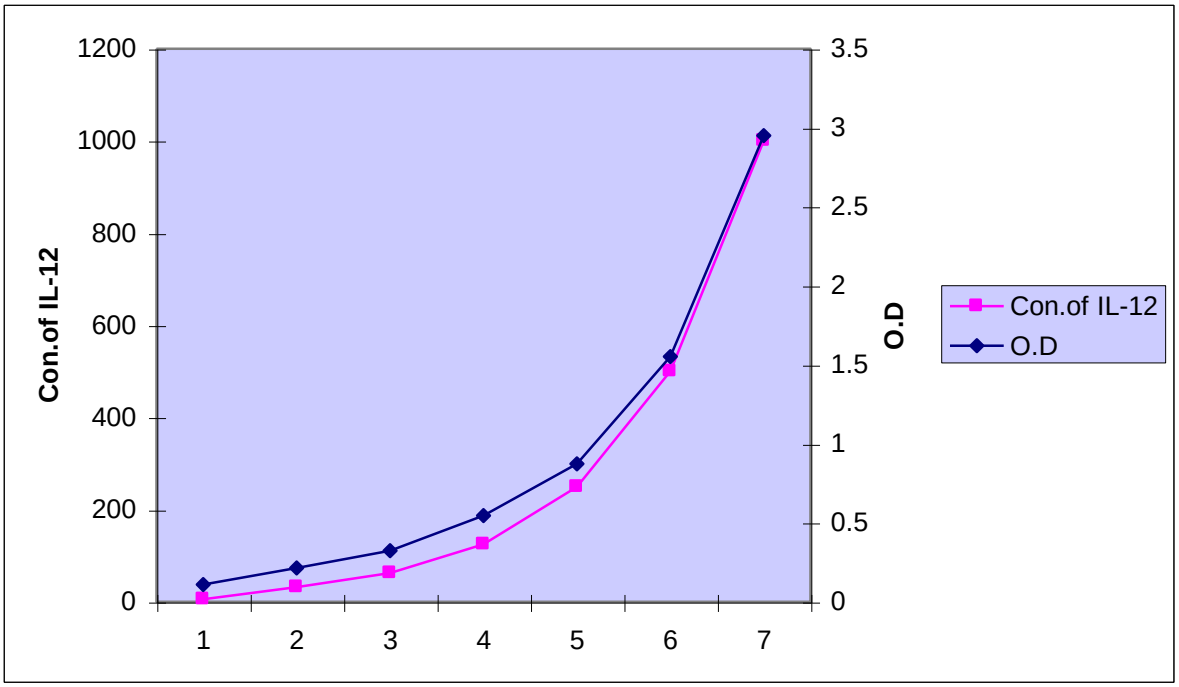
٧. اعيدت فقرة الغسل (الفقرة 5) مرة أخرى لأزالة الانزيم غير المرتبط Avidin Conjugate.

٨. اضيف 100 مل من المحلول الأساس لكل حفرة ثم غطي الطبق وحضن بدرجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة.

٩. اضيف 100 مل من محلول التوقف لكل حفرة وغطي الطبق وحضن بدرجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة.

١٠. تمت قراة امتصاص كل الجدران عند 450nm.

١١. وضحت ورقة الكراف امتصاص القياسات وقد رسم منحني القياس من هذه النقاط وكماموضح في الشكل(1-3).



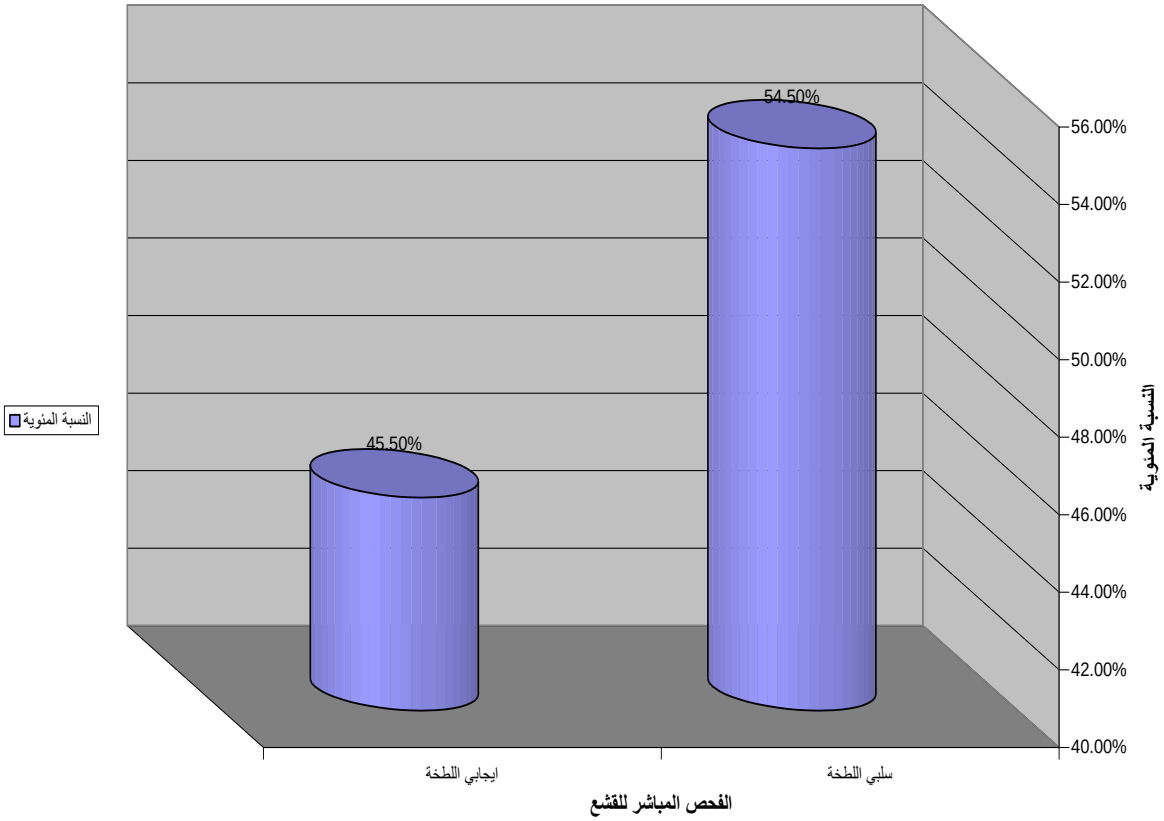

الشكل (١-٣) المنحني القياسي للـ IL-12

# 4- النتائج

## 4-1.الفحص المجهري المباشر للقشع

شملت الدراسة جمع 200 عينة قشع من المرضى المصابين إصابة جديدة بمرض التدرن الرئوي المراجعين للعيادة الاستشارية للأمراض الصدرية والتنفسية في مدينة الديوانية.وقد تم تصنيفها اعتماداً على نتائج الفحص المباشر للقشع إلى مرضى ايجابي اللطخة وعددهم 91(45.5%) إذ شكلت

الذكور 56 إصابة (47.9%) والإناث 35 (42.2%) .ومرضى سلبي اللطخة وعددهم 109 (54.5%) وبواقع 61 إصابة (52.1%) في الذكور و48 إصابة (57.8%) في الإناث .وأظهرت الذكور ايجابية أعلى من الإناث إلا أن هذه الفروق هي فروق حسابية لكن غير معنوية تحت مستوى احتمالية 0.05 وكما موضح في الشكل(4-2).



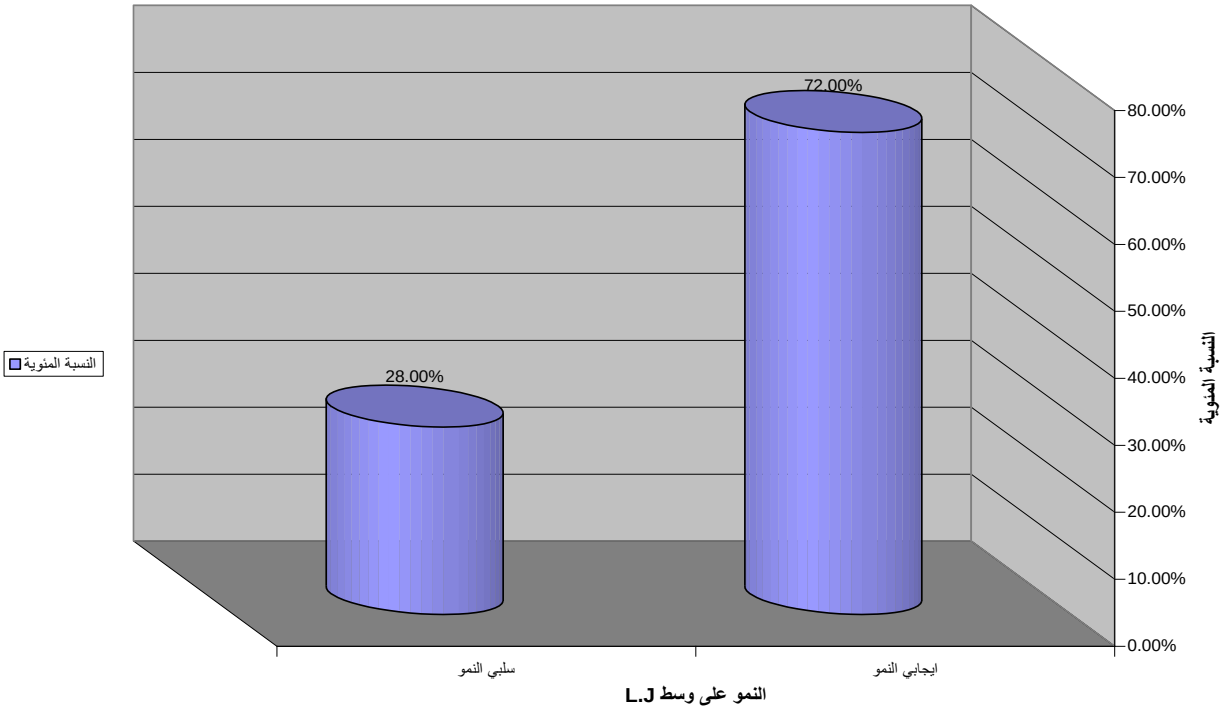

$\chi 2=NS$

**شكل (4-2 ) النسبة المئوية للفحص المباشر للقشع**

## 4-2. النمو على وسط L.J

استنبت 91 نموذج قشع موجب اللطخة و٩ نماذج قشع سالب اللطخة يعتقد باحتوائها على عصيات *M.tuberculosis* لاحتوائها على نفث دموي وظهور علامات حادة على المريض بالاضافة الى تشخيصهم بالفلم الشعاعي وTST بانهم مصابين حيث استنبتت النماذج على وسط اللوينستين جينسين (L.J) Lowen stein Jensen وقدتم تصنيفها اعتماداً على نتائج النمو على وسط(L.J) إلى مرضى ايجابي النمو وعددهم 72 (72%) شكلت الذكور منها 46 (73%) والإناث 26 (70.3%) ومرضى سلبي النمو على وسط (L.J) وعددهم 28 (28%) وبواقع 17 عينة (60.7%) من المرضى الذكور و11(39.3%) عينة من المرضى الإناث.وقد أظهرت الذكور ايجابية نمو اعلى من الإناث في

النمو هذا الوسط إلا أن هذه الفروق كانت غير معنوية عند مستوى احتمالية 0.05 وكما موضح في الشكل (3-4).




$\chi 2$=NS

**الشكل( 4-3)النسبة المئوية للاستنبات الجرثومي على وسط L.J**

شكل( 4-4) **بكتريا *M.tuberculosis* مستنبتة على وسط Lowenstein Jensen**

## 4-3.الاختبارات التشخيصية

جرى تشخيص العزول البكتيرية النامية على وسط L.J بتصبيغها بصالصبغة الصامدة للحمض الفحص وقد أظهرت العزلات جميعها صفة الصمود تجاه الحمض وايجابيتها لأختبارانتاج النياسين Niacin test ومن ناحية اخرى أظهرت العزلات جميعها سلبيتها لأختبار الكاتاليزCatalase test بدرجة حرارة 68 مْ كما كان معدل النمو للعزلات جميعها 22 يوم ولم يظهر نمو في درجة حرارة الغرفة أو في درجة حرارة 45 مْ مما يشير إلى أن جميع العزلات جميعها هي *M.tuberculosis* ومع ذلك أظهرت بعض العزلات تغاير في اختبار اختزال النتريت Nitrate test واختبار الكاتاليز بدرجة حرارة الغرفة وكما موضح في الجدول (4-8).

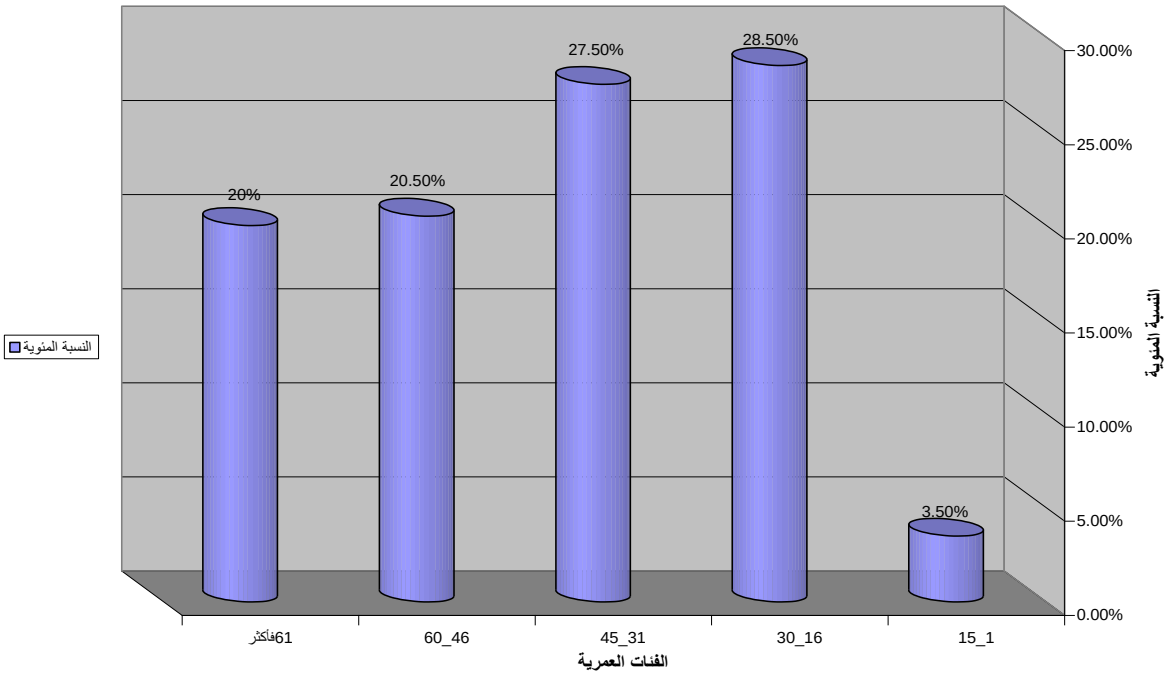
**جدول(8-4) الاختبارات التشخيصية للعزلات النامية**

| عدد العزلات | ZN | Niacin | Nitrate | Catalase | Catalase (68 cْ ) | Tween80 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 59 | + | + | + | + | – | – |
| 10 | + | + | + | – | – | + |
| 3 | + | + | – | + | – | – |

## 4-4.العوامل المؤثرة على نسبة الاصابة

### 4-4-1.العمر

يبين الشكل (8-4) و (9-4) الإصابات التي سجلت بحسب الجنس والفئة العمرية إذ ظهر في الفئة العمرية 1-15 سنة اقل عدد من الإصابات حيث بلغت 7 إصابات (3.5%) شملت إصابة واحدة (14.3%) في الذكور و6 إصابات (85.7%) في الإناث ، بينما شكلت الفئة العمرية 16-30 سنة أعلى عدد من الإصابات بلغ 57 إصابة (28.5%) وبواقع 33 إصابة (57.9%) في الذكور و24 إصابة (42.1%) في الإناث ،اما الفئة العمرية 31-45 سنة فقد سجل منها 55 إصابة (27.5%) شكلت الذكور منها 37 إصابة (67.3%) والإناث 18 إصابة (32.7%) ،أما الفئة العمرية 46-60 سنة فقد سجل منها 41إصابة (20.5%) وبواقع 24 إصابة (58.5%) في الذكور و17 إصابة (41.5%) في الإناث ، وانخفض عدد الإصابات إلى 40 إصابة لمن أعمارهم 61 سنة فأكثر إذ شملت 22 إصابة (55%) في الذكور و18 إصابة (45%) في الإناث . وكانت هناك فروق معنوية عالية بين الفئات العمرية تحت مستوى احتمالية0.01.

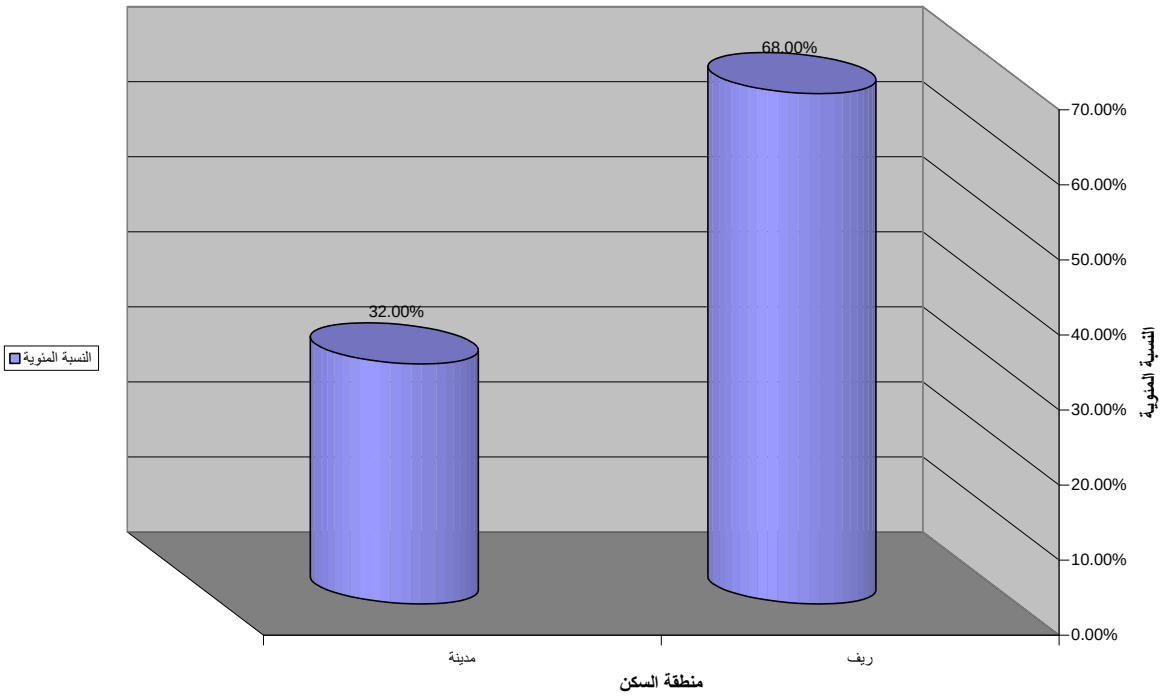



**N=S**

**الشكل(4-5) النسبة المئوية للاصابة بحسب العمر**

### 4-4-2.منطقة السكن

يظهر الشكل (4-10) و (4-11) 76 إصابة (38%) جمعت من المناطق الحضرية شملت 49 إصابة (41.9%) في الذكور و27 إصابة (32.5%) في الإناث و124 إصابة (62%) جمعت من المناطق الريفية شملت 68 إصابة (58.1%) في الذكور و56 إصابة (67.5%) في الإناث .وكانت هناك فروق معنوية بين منطقة السكن تحت مستوى احتمالية0.01.

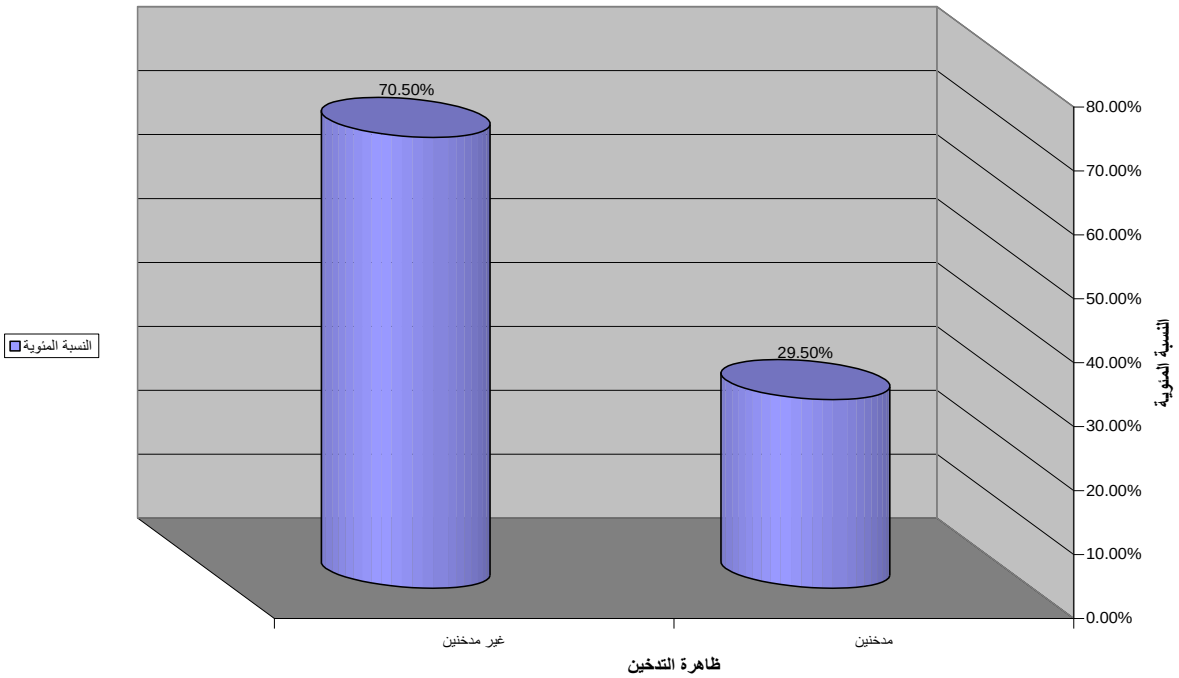



**N=S**

**شكل (4-6) النسبة المئوية للاصابة بحسب منطقة السكن**

### 4-4-3. ظاهرة التدخين

يظهر الشكل (4-12) و(4-13) 59 إصابة (29.5%) هم من المرضى المدخنين وبواقع 53 إصابة (45.3%) في الذكور و ٦ إصابات (7.2%) في الإناث و 141 إصابة (70.5%) هم من المرضى غير المدخنين شملت 64 إصابة (54.7%) في الذكور و77 إصابة (92.8%) . وقد اظهر الاختبار الاحصائي لمربع كاي $\chi 2$ أن هناك فروق معنوية بين الذكور والإناث وظاهرة التدخين عند مستوى احتمالية (0.01).

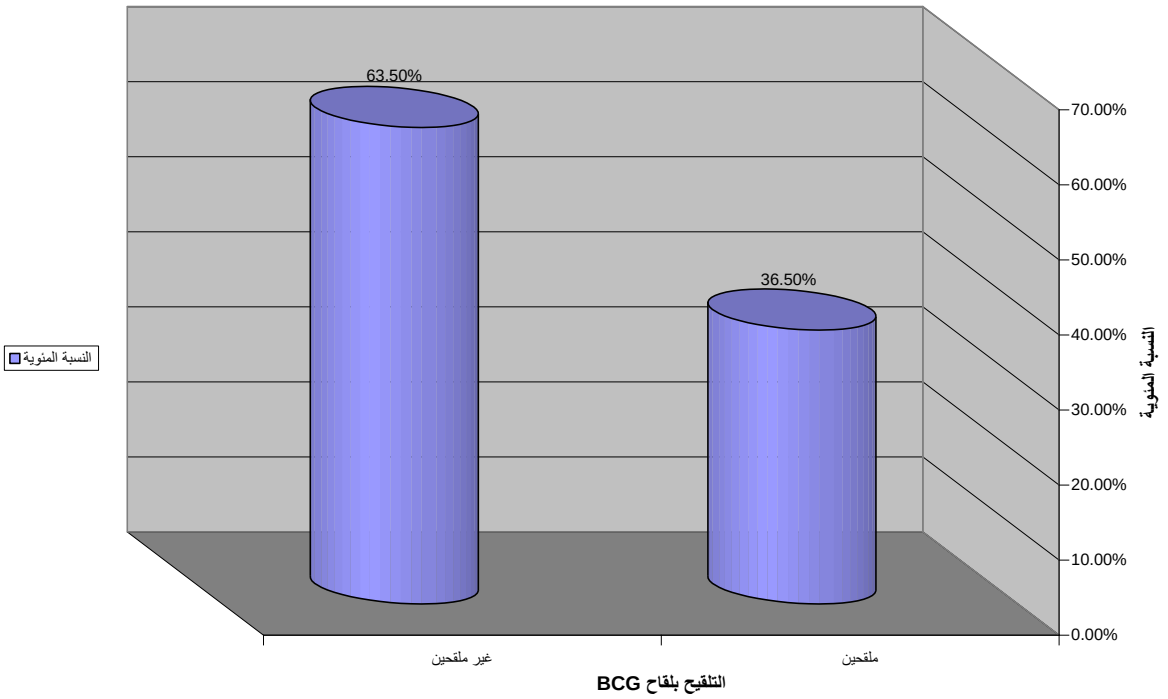



**N=S**

**شكل(4-7) النسبة المئوية للأصابة بحسب ظاهرة التدخين**

### 4-4-4 . وجود ندبة التلقيح

يبين الشكل (4-14) و(4-15) الإصابة التي سجلت بحسب الجنس ووجود ندبة التلقيح إذ ظهر أن هناك 73 (36.5%) هم من المرضى الملقحين وبواقع 46 إصابة (39.3%) في الذكور و27 إصابة (32.5%) في الإناث .أما المرضى المصابين وغير الملقحين فقد شكلوا عدد من الإصابات بلغ 127 إصابة (63.5%) شكلت الذكور منها 71 إصابة (63.5%) والإناث 56 إصابة(67.5%) . واثبت الاختبار الاحصائي لمربع الكاي $\chi 2$ أن هناك فروق معنوية بين الذكور والإناث و استعمال لقاح BCG .0.01

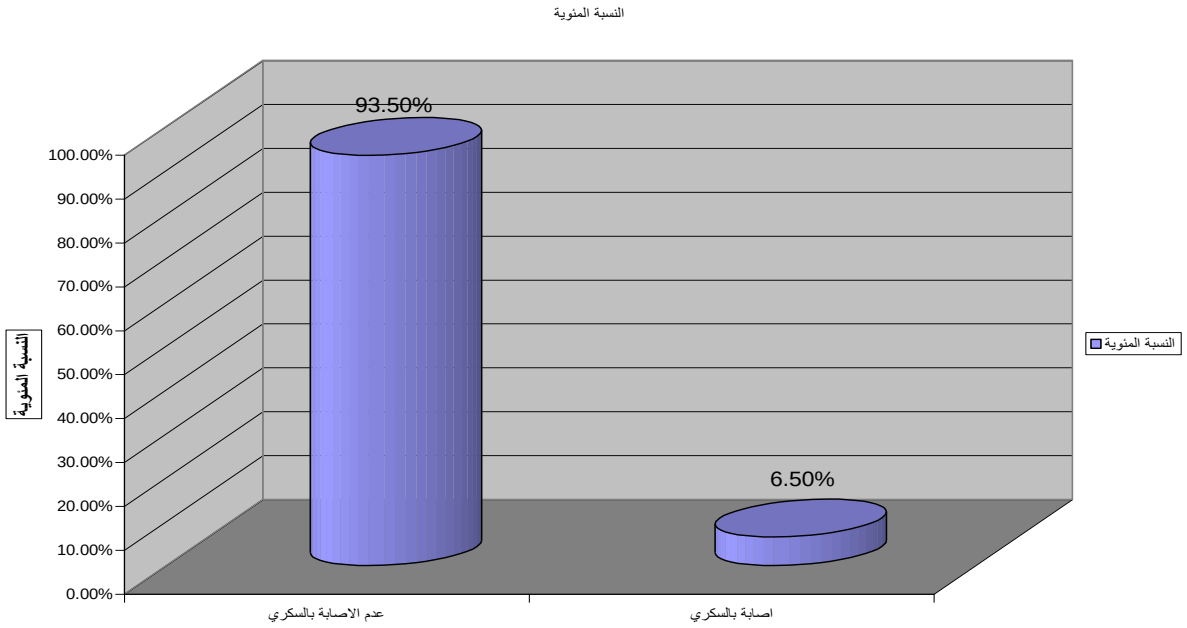



**N=S**

**شكل(4-8) النسبة المئوية للاصابة بحسب وجودندبة لقاحBCG**

### 4-4-5 .الاصابة بمرض السكري

يبين الشكل (١٦-٤) و(4-17) الإصابة التي سجلت بحسب الجنس والاصابة بمرض السكري إذ ظهرأن هناك 13أصابة (6.5%) هم من المرضى المصابين التدرن الرئوي ومرض السكري وبواقع 5 إصابة (4.5%) في الذكور 8 إصابة (9.6%) في الإناث .أما المرضى المصابين بمرض التدرن الرئوي وغير المصابين بمرض السكري فقد شكلوا عدد من الإصابات بلغ 187 إصابة (93.5%) شكلت الذكور منها 112 إصابة (95.7%) والإناث 75 إصابة(90.4%) . واثبت الاختبار الاحصائي لمربع الكاي $\chi 2$ ان لمرض السكري تاثير غير معنوي على الاصابة بين الذكور والإناث عند مستوى 0.05.




**N=NS**

**شكل (٤-٩)النسبة المئوية للاصابة بحسب الاصابة بمرض السكري**

## 4-5.الدراسة المناعية

### 4-5-1.الفعالية البلعمية

بلغ معدل الخلايا الفعالة في بلعمة الخميرة المقتولة بعد مرور 15 دقيقة لمجموعة السيطرة 37.933 جدول(4-9) .ارتفع هذا المعدل لدى المصابين بمرض التدرن الرئوي ليصل إلى 50.471 واظهر التحليل الإحصائي وجود فروق عالية المعنوية بين المصابين بمرض التدرن الرئوي ومجموعة السيطرة تحت مستوى احتمالية 0.01.

**جدول(4-9):النسب المئوية لمعامل البلعمة الخلوية بعد مرور 15 دقيقة في عينة السيطرة والمصابين بمرض التدرن الرئوي**

| المجاميع | العدد | النسب المئوية للبلعمة | | |
|---|---|---|---|---|
| | | اقل قيمة | أعلى قيمة | المعدل |
| مجموعة المصابين | 17 | 40 | 61 | 1.768±50.471 |
| مجموعة السيطرة | 15 | 20 | 60 | 2.883±37.933 |

**N=S**

بلغ معدل الخميرة المقتولة بعد مرور 30 دقيقة لمجموعة السيطرة 42.333 إذ ارتفع هذا المعدل في المرضى المصابين بالتدرن الرئوي ليصل إلى 61.882 جدول (10-4) وقد اظهر التحليل الإحصائي وجود فروق عالية المعنوية بين المصابين بمرض التدرن الرئوي ومجموعة السيطرة تحت مستوى احتمالية 0.01

أما بعد مرور 45 دقيقة فقد بلغ معدل الخلايا البلعمية الفعالة في بلعمة الخميرة المقتولة لمجموعة السيطرة 46.467 وارتفع هذا المعدل لدى المصابين بمرض التدرن الرئوي ليصل إلى 64.118 وكما موضح في الجدول (11-4)واظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية بين المصابين بالمرض ومجموعة السيطرة تحت مستوى احتمالية 0.01 .

ويبين الجدول (12-4) معدل الخلايا الفعالة في بلعمة الخميرة المقتولة بعد مرور 60 دقيقة لمجموعة السيطرة 41.733 وارتفع هذا المعدل لدى المصابين بمرض التدرن الرئوي ليصل إلى 71.529 واظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية بين المصابين بمرض التدرن الرئوي ومجموعة السيطرة تحت مستوى احتمالية 0.01.

**جدول(10-4):النسب المئوية لمعامل البلعمة الخلوية بعد مرور 30 دقيقة في عينة السيطرة والمصابين بمرض التدرن الرئوي.**

| المجاميع | العدد | النسب المئوية للبلعمة | | |
|---|---|---|---|---|
| | | اقل قيمة | أعلى قيمة | المعدل |
| مجموعة المرضى | 17 | 53 | 72 | 1.613±61.882 |
| مجموعة السيطرة | 15 | 24 | 62 | 3.236±42.333 |

**N=S**

**جدول(11-4):النسب المئوية لمعامل البلعمة الخلوية بعد مرور 45 دقيقة في عينة السيطرة والمصابين بمرض التدرن الرئوي.**

| المجاميع | العدد | النسب المئوية للبلعمة | | |
|---|---|---|---|---|
| | | اقل قيمة | أعلى قيمة | المعدل |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| مجموعة المرضى | 17 | 53 | 74 | 1.676±64.118 |
| مجموعة السيطرة | 15 | 30 | 60 | 2.582±46.467 |

**N=S**

**جدول(4-12):النسب المئوية لمعامل البلعمة الخلوية بعد مرور 60 دقيقة في عينة السيطرة والمصابين بمرض التدرن الرئوي.**

| المجاميع | العدد | النسب المئوية للبلعمة | | |
|---|---|---|---|---|
| | | اقل قيمة | أعلى قيمة | المعدل |
| مجموعة المرضى | 17 | 54 | 86 | 2.484±71.529 |
| مجموعة السيطرة | 15 | 22 | 62 | 3.509±41.733 |

**N=S**

## 4-5-2. تقدير تركيزالكلوبيولينات المناعية IgM،IgA،IgG

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول (4-13) أن مستوى الكلوبيلين المناعي IgG في مصل دم مجموعة السيطرة 1016.553 ملغم / 100مل وارتفع هذا المعدل ليصل إلى 1184.053 ملغم/100 مل وكان هذا الارتفاع معنوي عند مقارنته مع مجموعة السيطرة تحت مستوى احتمالية 0.05

**جدول(4-13):تركيز الكلوبيولين المناعي IgG في عينة السيطرة والمصابين بمرض التدرن الرئوي**

| المجاميع | العدد | تركيز الكلوبيولين المناعيIgG(ملغم/100مل) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | اقل قيمة | أعلى قيمة | المعدل |
| مجموعة المصابين | 45 | 846.4 | 1706.9 | 76.684±1184.053 |
| مجموعة السيطرة | 15 | 473.6 | 1562.8 | 44.882±1016.553 |

**N=S**

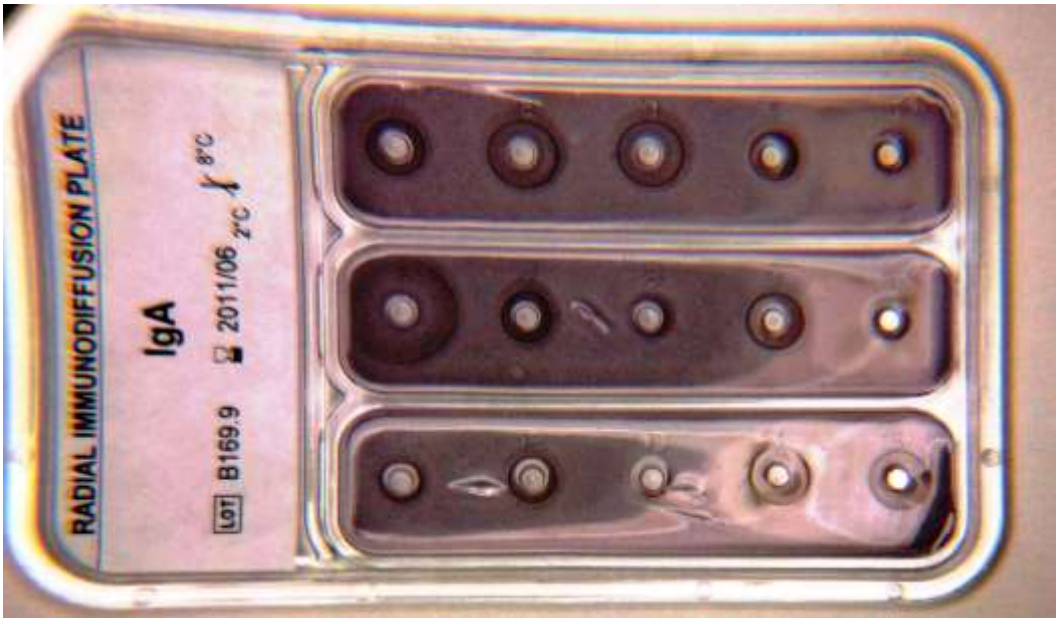
شكل (4-10) الانتشار المناعي لمصل المرضى في حفر طبق الـ IgG

بلغ مستوى الكلوبيولين المناعي IgA في مصل دم مجموعة السيطرة معدلاً قيمته 315.880 ملغم/100 مل ولم يختلف هذا المعدل كثيراً لدى المصابين بمرض التدرن الرئوي إذ بلغ 396.358 ملغم/100 مل في مجموعة المرضى إذ لم تظهر فروق معنوية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة تحت مستوى احتمالية 0.05.وكما موضح في الجدول(4-14)

**جدول(4-14):تركيز الكلوبيولين المناعي IgA في عينة السيطرة والمصابين بمرض التدرن الرئوي**

| المجاميع | العدد | تركيز الكلوبيولين المناعي IgA(ملغم/100مل) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | اقل قيمة | أعلى قيمة | المعدل |
| مجموعة المصابين | 45 | 587.3 | 1025.8 | 38.776±396.358 |
| مجموعة السيطرة | 15 | 169.7 | 1706.9 | 38.552±315.880 |

$\chi 2$=NS



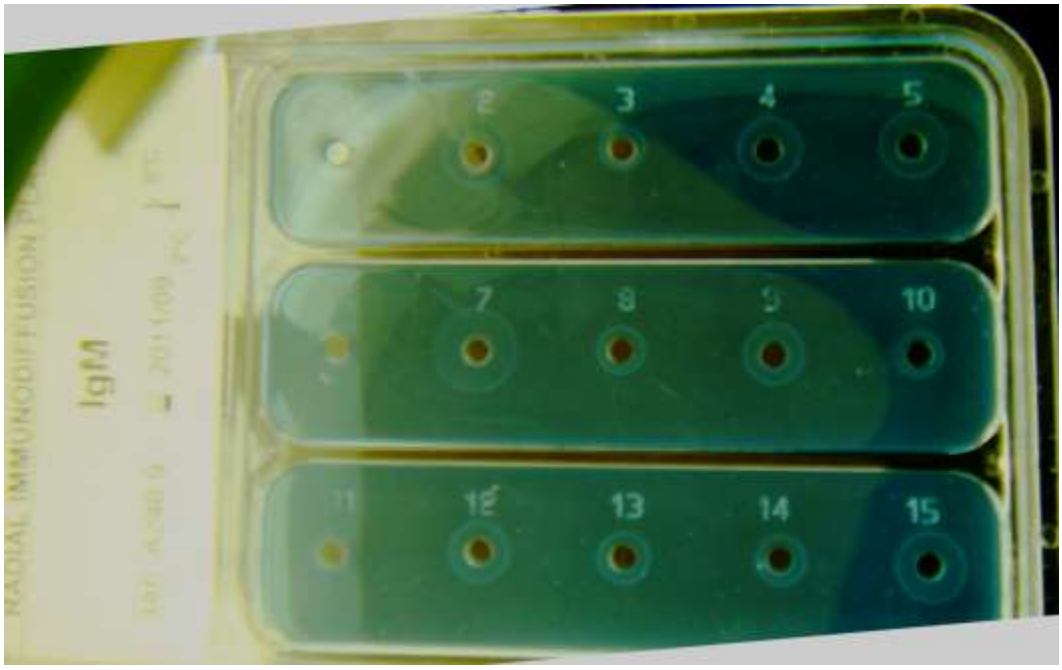

شكل (4-11) الانتشار المناعي لمصل المرضى في حفر طبق الـIgA

اما عند دراسة تركيز الكلوبيولين المناعي IgM فقد لوحظ أن معدل تركيزه في مجموعة السيطرة (119.527) ملغم/100 مل وارتفع هذا المعدل ليصل إلى (134.207) ملغم/100 مل إذ لم يظهر التحليل الإحصائي أي فروق معنوية عند مقارنته مع مجموعة السيطرة تحت مستوى احتمالية 0.05.وكما موضح في الجدول (4-15).

**جدول(4-15):تركيز الكلوبيولين المناعي IgM في عينة السيطرة والمصابين بمرض التدرن الرئوي**

| المجاميع | العدد | تركيز الكلوبيولين المناعيIgM(ملغم/100مل) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | اقل قيمة | أعلى قيمة | المعدل |
| مجموعة المصابين | 45 | 71.8 | 195.3 | 11.696±134.207 |
| مجموعة السيطرة | 15 | 53.9 | 236.5 | 8.464±119.527 |

$\chi 2$=NS




**شكل(4-12)** الانتشار المناعي لمصل المرضى في حفر طبق الـIgA

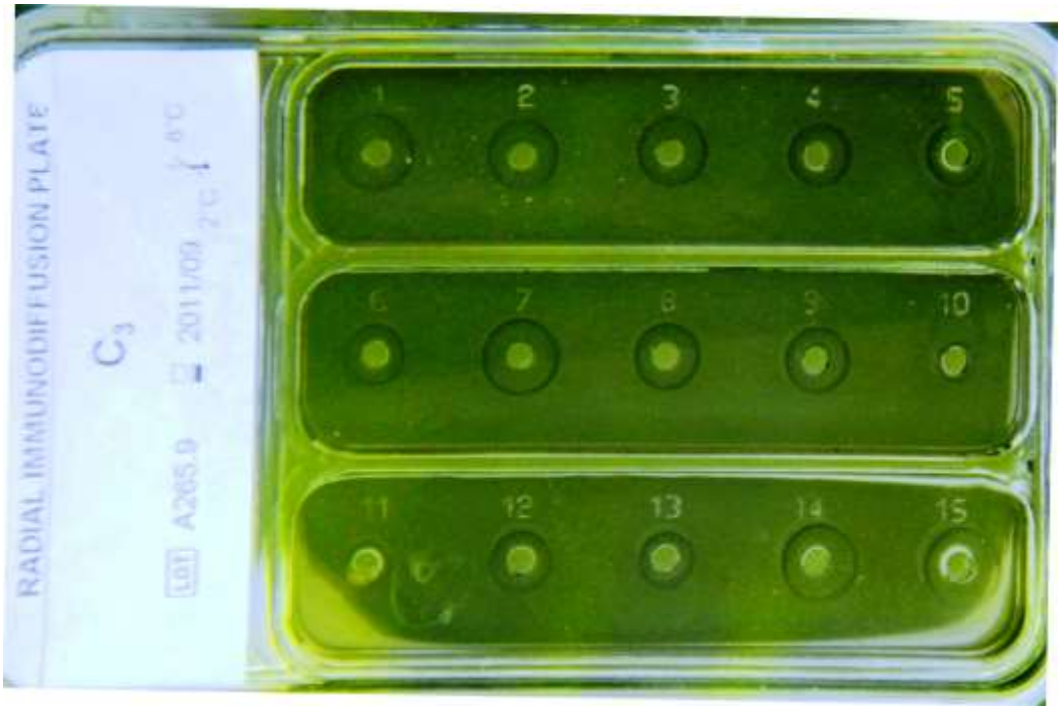
### 3-5-4 تقدير تركيز مكوني المتمم C4،C3

بينت النتائج الموضحة في جدول (4-16) بأن معدل تركيز البروتين المتمم C3 في مصل دم مجموعة السيطرة بلغ قيمة قدرها (102.578) ملغم /100 مل وقد تقاربت هذه القيمة لدى المصابين بمرض التدرن الرئوي إذ بلغ معدل تركيزه (105.280) ملغم/100 مل بحيث لم تظهر فروق معنوية تحت مستوى احتمالية 0.05 .

**جدول(4-16):تركيز مكون المتممC3 في عينة السيطرة والمصابين بمرض التدرن الرئوي**

| المجاميع | العدد | تركيز بروتين المتمم C3 (ملغم/100مل) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | اقل قيمة | أعلى قيمة | المعدل |
| مجموعة المصابين | 45 | 93.3 | 121.7 | 2.464±105.280 |
| مجموعة السيطرة | 15 | 42.3 | 157.7 | 5.620±102.578 |

$\chi 2$=NS



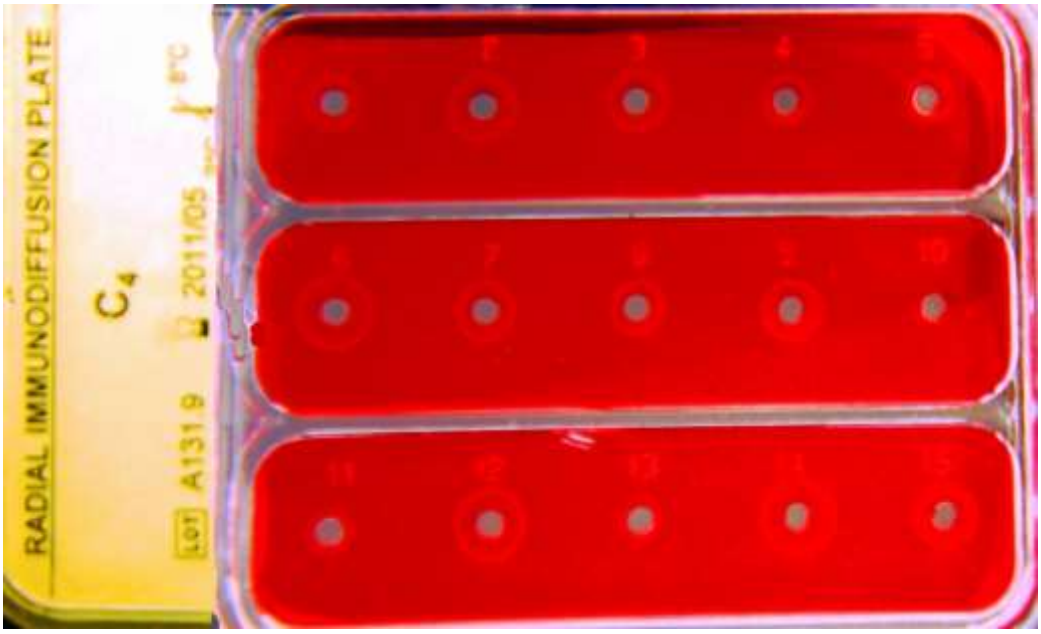

**شكل(4-13)** الانتشار المناعي لمصل المرضى في حفر طبق الـ C3

اما تركيز بروتين المتمم C4 في مصل دم مجموعة السيطرة اظهر معدلاً قيمته (23.567) ملغم/100 مل وقد ارتفع هذا المعدل لدى المرضى المصابين بمرض التدرن الرئوي ليصل الى (34.013) ملغم100مل إذ اظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية تحت مستوى احتمالية 0.01 وكما موضح في جدول(17-4).

**جدول(17-4):تركيز بروتين المتمم C4 في عينة السيطرة والمصابين بمرض التدرن الرئوي**

| المجاميع | العدد | تركيز بروتين المتمم C4 (ملغم/100مل) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | اقل قيمة | أعلى قيمة | المعدل |
| مجوعة المصابين | 45 | 16.9 | 60.9 | 3.278±34.013 |
| مجموعة السيطرة | 15 | 4.9 | 47.8 | 1.689±23.567 |

**N=S**




**شكل(4-14)** الانتشار المناعي لمصل المرضى في حفر طبق الـ C4

## 4-5-4:تركيز انترولوكين -12 (P70)

بلغ تركيز انترلوكين -12 (IL-12 P70) في مصول دم مجموعة السيطرة معدلاً قيمته 16.000 (pg/ml) وارتفع هذا المعدل في مصل دم المصابين بمرض التدرن الرئوي ليصل إلى 23.328 (pg/ml) وقد اظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عند مقارنتها بمجموعة السيطرة تحت مستوى احتمالية 0.05 وكما موضح في الجدول(4-18).

جدول (4-18) تركيز الانترلوكين -12 في مجموعة المرضى ومجموعة السيطرة (pg/ml)

| المجاميع | العدد | تركيز (pg/ml)IL-12(P70) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | اقل قيمة | أعلى قيمة | المعدل |
| مجموعة المصابين | 72 | 9 | 65 | 1.763±23.328 |
| مجموعة السيطرة | 15 | 7 | 22 | 1.466±16.000 |

**N=S**

# 5 المناقشة

## 1-5 فحص القشع

أن استعمال تقنية الفحص المباشر للقشع مازال معتمداً في التحري عن العصيات المسببة لمرض التدرن الرئوي بالرغم من تطور التقنيات المستعملة في التشخيص ويعود السبب في ذلك إلى سرعتها وسهولة استخدامها ورخص ثمنها لذا نجد أن هذه الطريقة شائعة الاستخدام في الدول

الفقيرة (Mast *et al.*,1992) . يعطي هذا الفحص نتيجة ايجابية عند احتواء القشع على أكثر من 100000عصية/مل (Heift,2000).

يتضح من الشكل (2-4) أن 45.5 % من قشع المرضى أعطى نتيجة موجبة و54.5 % أعطى نتيجة سالبة وجاءت نتائجنا هذه متفقة مع ما أشارت أليه بعض الدراسات إذ وجد رودين (2001) أن 36.7% من قشع المرضى أعطى نتيجة موجبة و 63.3 % أعطى نتيجة سالبة.

أن حساسية هذه الطريقة ودقتها تعتمد على محتوى القشع من العصيات وأداء الباحث المختبري إذ تزداد مع زيادة الجهد المبذول ( Steingart *et al.*,2006). كما تعتمد أيضاً على انتشار الصبغة خلال الطبقة الشمعية للجدار الخلوي ومقاومتها للقصر بالحامض (Peterson *et al.*,1999).

ومن الجدير بالذكر انه خلال هذه الدراسة لم يعمل الفحص المباشر لقشع الأطفال الذين هم دون سن العاشرة وذلك لصعوبة الحصول على القشع وهذه النتيجة متفقة مع ما ذكره Kabra *et al* (2004) بان مرض التدرن الرئوي في الأطفال لا يمكن تشخيصه بطريقة الفحص المباشر لصعوبة الحصول على القشع.

## 2-5الاستنبات الجرثومي

على الرغم من سهولة طريقة الفحص المباشر للقشع وسرعتها إلا أنها غير قادرة على التميز بين الأنواع البكتيرية المسببة لمرض التدرن الرئوي كما تحتاج إلى عينات قشع تتميز بمحتواها العالي من العصيات بينما تمتاز تقنية الزرع على وسط L.J بقدرتها على تميز النوع البكتيري المسبب للمرض إذ تحتاج 10-1000 عصية/ مل لإعطاء نتيجة موجبة ، إلا أن تعقيد هذه الطريقة وخطورتها وتكلفتها العالية واستغرقها لوقت طويل لإعطاء النتيجة هو السبب في عدم دعم برامج السيطرة على مرض التدرن لها (Kudoh,1994).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن 72% من عينات القشع المستنبتة على وسط L.J أعطت نتيجة موجبة بينما أعطت 28% من العينات المستعملة نتيجة سالبة وكما موضح في الشكل (3-4) وجاءت هذه النتيجة متفقة مع ما أشارت إليه بعض الدراسات التي أجريت من قبل Tain *et al* (2002) & Uiukanlingil *et al*(2000) إذ وجدا أن نسبة المئوية للعزلات النامية كانت 70%.

كما جاءت نتائج الدراسة الحالية متفقة مع دراسة أظهرت أن 76% من قشع المرضى أعطى نتيجة موجبة للزرع على وسط L.J ( Aktoğ *et al.*,1996).

قد تعود النتائج السلبية إلى العديد من الأسباب منها معاملة القشع قبل الزرع التي تؤدي إلى قتل 10-20% من العصيات ، وأطالة مدة تعرض النموذج لعمليات إزالة التلوث (Marray *et al.*,1992). وإعطاء المصاب علاجاً من قبل المراكز الصحية قبل الوصول إلى المركز الرئيسي لتشخيص التدرن (Kim *et al.*,1984).

## ٥-٣ الاختبارات التشخيصية

أشار Barmes & Havliro (1999) إلى وجود أكثر من 80 نوعاً مختلفاً يعود لجنس Mycobacteria التي تتميز جميعها بأنها متشابهة في المسحة المصبغة. ولكن تتميز مستعمرات *M.tuberculosis* عن بقية الأنواع بان مستعمراتها جافة ولها القدرة على تكوين cord على وسط oleic acid albumin وهذه الصفات يمكن أن يعتمد عليها في الاختبارات التشخيصية (Nester *et al.*,1998).

أما الاختبارات الكيموحيوية التي يمكن الاعتماد عليها في تشخيص عزلات *M.tuberculosis* هي قدرتها على أنتاح النياسين واختزال النترات وإنتاج الكاتاليز في درجة الحرارة 68 مْ (Builor & Kibum,1988).

اعتمدت الدراسة الحالية في تشخيص العزلات على الخصائص الكيموحيوية التي تضمنت اختبار أنتاج النياسين واختزال النترات وانتاج الكتاليز في درجة حرارة 68 مْ فضلاً عن التحلل المائي للTween80 وانتاج الكاتاليز في درجة حرارة الغرفة(Van Duin *et al.*,1998).إذ أظهرت نتائج

هذه الاختبارات المستعملة في الدراسة الحالية إن الـ 72 عزلة التي نمت على وسط L.J هي *M.tuberculosis* وما يثير الاهتمام في هذه الدراسة هي ظهور بعض العزلات التي أظهرت تغايراً في أنتاج الكاتاليز بدرجة حرارة الغرفة واختزال النترات والتحلل المائي للـ 80 Tween ، ولهذا التغاير أهمية قصوى في تتبع الحالات الوبائية جدول(8-4) .

شدد Banales *et al* (1991) على مراعاة الدقة في أجراء الاختبارات التشخيصية بصورة عامة واختبارانتاج النياسين بصورة خاصة لان بعكسها قد تنتقل العصيات التدرن الرئوي إلى الماء وبالتالي إلى أنابيب الزرع وحصول نتائج موجبة كاذبة.

## ٥-٤ العوامل المؤثرة على نسبة الاصابة

### ٥-٤-١ الجنس

أظهرت نتائج الدراسة الحالية إن الذكور أعلى إصابة من الإناث إذ سجلت الذكور نسبة 58.5% من نسب الإصابات أما الاناث فقد سجلت نسبة 41.5% ، وجاءت نتائجنا هذه متفقة مع نتائج دراسات أخرى إذ وجد هاشم ومرزوك (2001) حول وبائية التدرن في العراق أن الذكور تشكل نسبة 66.3 % أما الإناث فإنها 33.7% من نسب الإصابات .كما تقترب نتائج الدراسة الحالية مع ما وجده Kurasawa (1990) في دراسة اجريت في اليابان ان الذكور تشكل 70 % من نسب الإصابات.

قد يعود السبب في اختلاف نسب الإصابات بين الجنسين إلى اختلاف الاستجابة المناعية بين الجنسين ، إذ أن هناك علاقة بين الاستجابة المناعية والهرمونات الستيرويدية الجنسية وغير الجنسية وهذا الاختلاف قد يسهم في اختلاف نسب الإصابات بين الجنسين (Kurasawa,1990). أما العوامل التي أسهمت في زيادة نسبة الإصابات بين نساء في العالم هو الإصابة بفايروس العوز المناعي (HIV) مما أدى إلى زيادة نسب الوفيات الناجمة عنه (Finch & Beaty,1997). ألا أن خلو مجتمعنا من هذا الفايروس والتمسك بالتقاليد الاجتماعية التي تحد من اختلاط المرأة بالمجتمع مقارنة بنساء العالم له الدور الكبير في خفض نسب الإصابة بين النساء في العراق كما قد يسهم التدخين في رفع نسب الإصابة بين الذكور (WHO,1997).

### ٥-٤-٢ العمر

أظهرت نتائجنا أن الفئة العمرية 16-60 سنة أعلى نسب من الإصابات إذ بلغت 75.5 % شكل ( 7-4 ) ، وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما ذكرته منظمة الصحة العالمية (2006) أن 75% من نسب الإصابات تحدث ضمن الفئة العمرية (15-54) سنة وأقتربت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة أظهرت أن 86% من الإصابة في العراق تحدث ضمن الفئة العمرية 15-54% سنة (هاشم ومرزوك ،2001).واختلفت نتائجنا هذه مع نتائج دراسة سابقة وجدت إن النسبة الأكبر من الإصابات تحدث ضمن الفئة العمرية 40-60 سنة (Kabra *et al.*,2004) .بينما وجد Bhat & Bhat (2002) أن 50 % من نسب الإصابات تحدث ضمن الفئة العمرية الأكثر من 60 سنة.

كما أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن نسب الإصابة في الفئة العمرية الأكثر من 60 سنة قريبة من نسب الإصابة في الفئات العمرية الشابة وهذه النتيجة متفقة مع مذكره Rieder (1995) أن خطر الإصابة يزداد مع تقدم العمر.

وقد يعود ارتفاع نسب الإصابة في الفئة العمرية 16-60 سنة إلى عوامل عديدة منها انخفاض فعالية لقاح BCG (Miret *et al.*,1996).وهذا ما أكدته دراسة أجريت على طلبة المدارس المتوسطة في ديالى إذ أظهرت أن 81% من الطلبة أعطوا نتيجة سالبة لفحص السلين مما يدل على تناقص المناعة اعتباراً من هذا العمر كما أن اختلاط هذه الفئة العمرية بكثرة في المجتمع قد يسهم في رفع نسب الاصابات (Habib & Mohammed ,2001).وقد يسهم عامل التدخين في رفع نسب

الإصابة ضمن هذه الفئة العمرية إذ يعد من العوامل الخطرة ومسوؤلة عن أحداث الأصابة بهذا المرض (Yach,2000) .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية انخفاض نسب الإصابات ضمن الفئة العمرية 1-15 سنة إذ سجلت هذه الفئة 3.5% من المجموع الكلي لنسب الإصابات شكل( 8-4 ) وجاءت هذه النتائج متقاربة مع ما وجده Aktoğo *et al* (1996) بأن هذه الفئة العمرية تشكل 9% من نسب الإصابات ومتفقة مع ما وجده Kohhar *et al* (2002) بأن الفئة العمرية الأقل من عشرة سنوات تشكل اقل نسبة من الإصابات .وقد يعود سبب انخفاض نسبة الإصابات ضمن هذه الفئة العمرية إلى العديد من العوامل ومنها الأسلوب الإلزامي في استعمال لقاح BCG في العراق وارتفاع فعالية اللقاح ضمن هذه الفئة العمرية، وكذلك انخفاض نسب الإصابات في الأمهات (الإناث ) الذي يكون مسؤولاً عن انخفاض نسب الإصابة بين أطفال العراق لان الأم تشكل خطراً حقيقياً على ابنها (WHO ,1994). كما أن انعدام التدخين ضمن هذه الفئة العمرية قد يكون سبباً من اسباب انخفاض الإصابة لأنه وكما ذكر سابقاً هو من العوامل المساعدة على رفع نسب الإصابة (Yach,2000).

كما أن صعوبة الحصول على قشع نموذجي للتحري عن العصيات يمثل عامل من عوامل خفض نسب الإصابة (Gessener ,1998).

### ٥-٤-٣ منطقة السكن

عند دراسة وبائية المرض في المناطق الحضرية والمناطق الريفية أظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاع نسب الإصابات في المناطق الريفية إذ سجلت نسبة 62% من نسب الإصابات، أما المناطق الحضرية فقد سجلت نسبة 38% من نسب الإصابات شكل(9-4) وجاءت نتائجنا هذه متفقة مع وجده Gopi *et al* (2005) بأن نسب الإصابات في الريف أعلى من المدينة ومع دراسة أخرى في البيرو وجدت أن انتشار المرض في المناطق الريفية الواقعة تحت مستوى سطح البحر أعلى من المدن الواقعة تحت مستوى سطح البحر أيضاً( Olender *et al* .,2003) .وقد يعود انتشار الإصابة في المناطق الريفية إلى العديد من الأسباب منها الوعي الصحي المنخفض وكثرة التماس مع المصابين (American society of topical medicine and Hyglene ,2006).كما أن اعتماد هذه المناطق في غذائها على الحليب ومشتقاته (Atlas *et al*.,1995). وكثرة التعرض والتعامل مع الحيوانات ومنتجاتها (Moda ,1996) سبب مهم من أسباب رفع الإصابة في هذه المناطق .

تتميز مدينة الديوانية بمناخها الحار والرطوبة المرتفعة ووجود التجمعات الحيوانية التي تكون بؤرة ثابتة للمرض مثل حيوانات الحظائر وبؤرة متنقلة مثل قطعان الجمال والأغنام في المناطق الصحراوية كما يسهم قلة الغطاء النباتي في جعل الجو متربا ًفي اغلب أيام السنة والذي يمثل عاملاً مهيأ لمرض التدرن الرئوي والإمراض الأخرى إذ تسهم هذه العوامل جميعها في رفع نسبة الإصابة في المناطق الريفية.

### ٥-٤-٤ ظاهرة التدخين

أن تطور الإصابة بهذا المرض قد يحدث بعد دخول العصيات مباشرة أو قد تتأخر لحين وهن الجهاز المناعي الناتج من عوامل عديدة ومنها التدخين الذي يعد من العوامل الخطرة والمسؤولة عن إحداث هذا المرض(Yach ,2000) .إذ أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن للتدخين تأثير عالي المعنوية على نسب الاصابات بهذا المرض ، إذ كانت نسب المرضى المدخنين هي 29.5% اما المرضى غير المدخنين فقد شكلوا نسبة 70.5% شكل(11-4) وجاءت هذه النتائج مطابقة لنتائج دراسات اخرى ، إذ وجد Lienhardt (2005) في دراسة في إفريقيا أن المرضى المدخنين شكلوا نسبة 35% من المجموع الكلي لنسب الاصابات واظهرت دراسة اخرى ان 32.8% من مرضى التدرن هم من المدخنين (ATS,2004) .واختلفت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة اظهرت ان 55% من المرضى هم من المدخنين و 45% منهم غير مدخنين (Niron ,2004).كذلك

أختلفت مع ما وجده Tansuphasiri & Kladphung (2002 ) بعدم وجود فروق معنوية بين المصابين المدخنين وغير المدخنين .

قد يعود دور التدخين في رفع نسب الإصابة إلى تاثيراته الضارة على المناعة الفطرية والمناعة الخلطية إذ يعمل التدخين على إحداث تغيرات في الخلايا البلعمية ( Hocking &Gollde,1979). والخلايا اللمفاوية (Daniele ,1977). التي تؤدي دوراً مهماً في في الاستجابة المناعية الخلوية كما يتسبب التدخين في خفض مستوى الحركيات الخلوية ( Lavigne *et al* .,2006) وكذلك الأجسام المضادة ، إذ وجد في دراسة ان مستوى IgG وIgM ينخفض في مصل الاشخاص المدخنين (World Corference on Lung Health,1990).وذكر Chitanonth (1991) و( Burns 1991) أن التدخين يتسبب في أحداث خلل في وظيفة الطبقة الطلائية المهدبة وتحويلها الى طبقة طلائية غير مهدبة من خلال تغير كمية الافرازات المخاطية وخصائصها.

### ٥-٤-٥ الإصابة بمرض السكر

من العوامل التي تزيد من خطر الإصابة بمرض التدرن الرئوي هي الإصابة بأمراض أخرى مثل مرض السكر الذي يعدّ من الأمراض المزمنة التي تسهم في رفع نسبة الإصابة بمرض التدرن الرئوي (Broxmeyer ,2005).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن هناك تأثير غير معنوي لمرض السكر على نسب الاصابة بمرض التدرن فقد وجد أن مرضى التدرن المصابين بمرض السكر هي 6.5% اما المرضى غير المصابين بمرض السكر فقد شكلوا نسبة 93.5% وجاءت نتائجنا هذه متفقة مع نتائج دراسات أخرى أشارت إلى عدم وجود تأثير معنوي لمرض السكر على نسب الإصابة بمرض التدرن Pervaneh *et al* ., 2010).

(ومع ما وجده Qing *et al* (2009) في دراسة أجريت في الصين أن نسبة مرضى التدرن المصابين بمرض السكر بلغت 9.5% ، كما جاءت نتائجنا هذه متقاربة مع ما وجده Banyei (1931) في دراسة بان مرضى التدرن الرئوي المصابين بمرض السكر شكلوا نسبة 18% من الاصابات بمرض التدرن الرئوي.

اختلفت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج الدراسة التي اظهرت ان 50% من المرضى المصابين بمرض التدرن هم مصابين بمرض السكر ( Koziel & Koziel, 1995 ). وكذلك مع ما اشار اليه ( Bashar *et al* (1995 ان خطر الاصابة بمرض التدرن يزداد بمعدل خمس مرات عند الاشخاص المصابين بمرض السكر .

أظهرت دراسة ان ضعف المناعة في الاشخاص المصابين بمرض السكر (ضعف البلعمة والاستجابة الخلوية ) تسهم في نشر الاصابة بمرض التدرن في الجسم (Spmenka ,2005) . لذا يعدّ مرض السكر عامل من عوامل الاصابة بمرض التدرن الرئوي ( Dixon ,2007).

## 5-5 الفحوصات المناعية

### 5-5-1 :البلعمة

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاع في مستوى البلعمة بعد مرور 60,45,30,15 دقيقة في مجموعة المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة وكانت هذة الزيادة معنوية تحت مستوى احتمالية 0.01وجاءت نتائجنا مطابقة لما ذكره( 1976) Metcalf بان نشاط الفعالية البلعمية يزداد خلال (60,45,30,15) دقيقة وهذا يعود لتأثير عامل الوقت على الفعالية البلعمية.

ان الخلايا متعددة الانوية وخاصة الخلايا العدلة Neutrophil cell تلعب دور مهم في المناعة غير المتخصصة وهذا يعود لدورها في البلعمة وان ارتفاع نشاطها خلال (60,45,30,15) دقيقة قد يعود إلى تأثير عامل الوقت على الفعالية البلعمية.. ووجد(2006) kawamure أن ارتفاع مستوى البلعمة يعود الى تاثير الحركيات الخلوية المفرزة من الخلايا القاتلة الطبعية (Natural killer cells) والخلايا التشجيرية (Dendritic cells) خلال المرحلة المبكرة من الاصابة التي تحث تنشيط الخلايا البلعمية

(Brook *et al.*;2004).وهذا يتفق مع نتيجة الدراسة الحالية التي وجدت ارتفاع في نسبة الانترليوكين - ١٢

تؤدي الاضداد الموضعية نوع A الافرازية (S-IgA) دوراً في منع حدوث اصابات الجهاز التنفسي العلوي اما الأضداد الجهازية (Systemic) تعمل على منع حدوث إصابات الجهاز التنفسي السفلي ,بينما يظهر تأثير المناعة الخلوية في الدفاع عن كليهما والوصول الى حالة الشفاء السريع إذ تعد عملية البلعمة الخط الدفاعي الخلوي الأول ضد الجراثيم وتتضمن هذه العملية مجموعتين أساسيتين من الخلايا هما:

الخلايا البلعمية مشكلة النواة (Polymorphnuclear cells) والخلايا البلعمية وحيدة النواة (Monocytes) (Macrophage) (Beard *et al*., 1981) .

تعدّ خلايا البلعم الكبير الحوصلية Aveolar macrophage الخط الدفاعي الاول ضد العصيات (Hendersan *et al*.;1997). آذ تعمل على هضم المواد الغريبة الداخلة إلى الرئة وتحطيمها ونقلها عن طريق الفعل ألهدبي المخاطي ,كما تمتاز بعملها المنظم في تقديم هذه الجزيئات عن طريق الخلايا التشجيرية الموجودة في انسجة الرئة (Thepen *et al*.;1989). بينما تسهم العديد من مستقبلات عصيات التدرن الرئوي مثل متعدد الببتيد (Polypeptide) في تاخير الاستجابة المناعية وتثبيط عمل الخلايا أما(Polysacchride-11arabinomannan) فأنه يتسبب في تثبيط تكوين الفجوة البلعمية الحالة (Phagolysosome) (Tomoka *et al*.,1990). أن دخول العصيات الى الخلايا البلعمية يحدث من التداخل مع المستقبلات الموجودة على الخلايا (Philip *et al*.,2005) اذ اظهرت العديد من الدراسات أن مستوى البلعمة يتوقف على وجود مستقبلات المتمم على سطح الخلايا البلعمية والمتمثلة بـ(R4,CR2,CR) ومستقبل المانوز (Schlesinger,1993) .

## 2-5-5 :مستوى الكلوبيولينات المناعية IgM , IgA , IgG

يؤدي هذا النوع من الدفاعات دوراً ثانوياً في حماية الجسم نتيجة لوجود العصيات داخل الخلايا intracellular ، إذ تعمل بمفردها او مع الحركيات الخلوية لمنع دخول العصيات الى السطوح المخاطية (Skelding *et al*.,2001). تعمل الأجسام المضادة على حث العديد من الميكانيكيات مثل الطهاية Opsonization وتنشيط المتمم وحث عرض المستضدات (Hyde,2000).

استعمل في الدراسة الحالية طريقة الانتشار المناعي المنفرد(SRID) لقياس مستوى الأجسام المضادة (IgM , IgA , IgG) ومستوى بروتينات المتمم (C4,C3) .إذ وجد ان معدل مستوى الكلوبيولين IgG كان مرتفعاً في مجموعة المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة وكان هذا الارتفاع معنوي تحت مستوى احتمالية ($P<0.05$) جدول(13-4) . وجاءت نتائجنا هذه مطابقة لما وجده Fahey & Mckelvey (1965) في دراسة أن هناك ارتفاع معنوي في مستوى IgG وهذا ما يؤكد نتائج الدراسة الحالية لتراكيز الاجسام المضادة التي ربما تدل على حداثة تطور الاصابة الثانوية .و مع ما وجده Fada *et al* (1991) في دراسة ان هناك ارتفاع معنوي في مستوى IgG في مصل المرضى الذين يعانون من المرض , وهذا الارتفاع قد يعود الى ازدياد أفراز هذا الجسم المضاد لعلاقته بحث آليات القتل الخلوي (Jain *et al*.;1984). أما معدل مستوى IgMوIgA ازداد في مجموعة المرضى وكانت هذه الزيادة حسابية فقط غير معنوية عند مقارنتها بمجموعة السيطرة تحت مستوى 0.01 جدول(14-4) (15-4) وجاءت هذه النتائج مطابقة لما وجده Fahey & Mckelvey (1965) في دراسة أن هناك ارتفاع غير معنوي في مستوى IgA و IgM في مجموعة المرضى , فقد يعود ارتفاع مستوى IgA غير المعنوي إلى وظيفته في كونه مراقب مناعي للسطوح الافرازية (Bhave *et al*;1989) . .او الى احتواء الرئة على كميات كبيرة من الخلايا الفارزة له (Sawth *et al*.,1967) كما قد يدل الارتفاع غير المعنوي في مستوى IgA و IgM الى أن هذه الأجسام المضادة قد تكون محصورة ضمن المعقد المناعي وعدم تشخيصها (Bhattacharya *et al*.;1986). أو إلى عدم وجود كمية كافية من العصيات تحث مستويات عليا من الاجسام المضادة (Van Eden 1984); .كما وجد ان التاريخ الطويل للاصابة بهذا المرض يتسبب في خفض مستوى IgM ,IgA (Azar *et al*.;2005) .

بينما قد يعود ارتفاع مستوى IgM غير المعنوي إلى اصابات بكتيرية وفطرية ثانوية تزيد من خطر الاصابة (Behave *et al*;1989) . أو الى المستوى العالي من IgG الذي يحفز المسار التقليدي وبتالي تقل حاجة هذا المسار الى IgM (Jha *et al*;1974) .

### 3-5-5:مستوى بروتينات المتمم C3,C4

يعد النظام المتمم من الانظمة الدفاعية المهمة والمتميزة في تكملة فعاليات الجهاز المناعي وظائفه (Beeson *et al.*,1998) .إذ تعد مكونات هذا النظم وخاصة(C4,C3) من المكونات المهمة ولا سيما C3 إذ انه يتوسط جميع المسالك النظام فهو يؤدي دوراً مهماً في طهاية الأحياء المجهرية مما يسهل بلعمتها إذ تحمل العديد من الخلايا مستقبلات للC3b مثل الخلايا البائية والعدلات وخلايا البلعم الكبير (Abbas *et al.*,1995). أما C4 فوجدت العديد من الدراسات ان المصل المفتقر له لا يمكنه اتمام سلسلة عمل المتمم عن طريق تنشيط المسلك التقليدي وهذا يقلل فعالية النظام في القضاء على الاحياء المجهرية (Playfair & Ad´hiah ,1990) .

اما نظام المتمم فيؤدي دوراً مهماً في الاستجابات المناعية جميعها وخاصة المناعة الخلطية اذتعمل المستويات العليا من المتمم على حث الفعاليات الالتهابية وتكوين المعقدات المناعية (Townes,1967) . كما يسهم في الاستجابة المناعية ضد الممرضات داخل الخلايا مثل عصيات التدرن (Lehrer *et al* ;1993) .إذ تعمل مكونات هذا النظام مع المستقبلات الموجودة على الخلايا البلعمية على تسهيل عملية البلعمة (Michel,2000) اظهرت النتائج الموضوعة في الجدول ( 17-4 ) وجود زيادة معنوية في معدل مستوى C4 في مجموعة المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة تحت مستوى احتمالية 0.01 واتفقت نتائجنا مع ما توصل الية (Ferdous *et al*;2008) اذ وجد في دراسة ارتفاع معنوي في تركيز C4 في مصل الدم مقارنة بمجموعة السيطرة بينما لا توجد فروق معنوية في تركيز C3 بين مجموعة المرضى والاصحاء , وهذا ما يؤكد ان النتيجة التي اظهرتها الدراسة الحالية قد يعود الى ازدياد نشاط المسار التقليدي الذي يسهم في رفع معدل تركيز C4 وانخفاض نشاط المسار البديل الذي يؤدي الى خفض تركيز C3 (Eja *et al*.;1998). اوقد يعود ارتفاع C4 الى المستوى العالي من الكالسيوم في دم المرضى وهذا لا يؤثر على تركيز C3 (Scott Ferguson *et al*.;2004) .كما يسهم المستوى العالي من IgG (Roitt,1997) , وIgM (Chapel &Haeney,1993) في تنشيط المسار التقليدي الذي يساهم في رفع مستوى C4.

### 4-5-5:انترلوكين -12 Interleukin-12(IL-12)

تعتمد ألاستجابة المناعية ضد العصيات على خلايا البلعمية والخلايا البائية و IL-12 الذي يدعم ربط عمل هاتين المجموعتين من الخلايا من خلال حث انتاج INF-γ والقتل الخلوي للخلايا التائية (Zhang *et al.*,1994). إذ تؤدي الحركيات الخلوية دور مهم في الاستجابة المناعية الفطرية ضد الاصابات، فهي تعمل على تعبئة الجهاز المناعي الفطري للسيطرة على الاصابة كما تلعب دوراً مهماً في الاستجابة المناعية المكتسبة من خلال حث وظائف الخلايا التائية (Dye *et al.*,1999).

استعمل في الدراسة الحالية طريقة الاليزا(ELISA) لقياس مستوى IL-12(P70) إذ وجد ان معدل مستوى IL-12 كان مرتفعاً في مجموعة المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة وكانت هذه الزيادة معنوية تجت مستوى احتمالية ($P<0.05$) كما موضح في الجدول( ١٨-٤ ) وجاءت نتائجنا هذه مطابقة لما توصل اليه Zhang *et al* (1994) بأن هناك ارتفاع في مستوى IL-12 لدى المصابين بمرض التدرن الرئوي الذي قد يعود الى وجود أصابات اخرى بالاضافة الى الزيادة او نقصان في الحركيات الأخرى (Verban *et al.*,1999).كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية وجده Cang *et al* (1994) بان مستوى IL-12 يرتفع في مجموعة المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة.وقد يعود السبب في هذا الارتفاع الى دور IL-12 المهم في الحماية ضد الاصابات داخل الخلايا(Anuradha *et al.*,2002).إذ يعمل هذا الانترلوكين بالاضافة الحركيات الخلوية الأخرى مثل IL-4 و INF-γ على حث الخلايا المساعدة (Zhang *et al*.,1994).

ذكر Chang-Haw *et al* (2000) ان ارتفاع IL-12 قد يعود الى ارتفاع مستقبلاته على سطح الخلايا التائية وهي(β1,β2 receptor) ووجد Akghoshi *et al* (2003) في دراسة ان النقص في IL-12 يزيد حساسية الاصابة بمرض التدرن الرئوي وهذا ما اكده Okamura *et al* (1995) في دراسة اجريت على الفئران وجد خلالها ان النقص في IL-12 يجعلها اكثر عرضة للاصابة بعصيات التدرن .

اشار Kubin *et al* (1995) ان IL-12 يؤدي دوراً مهماً في حث انتاج INF-γ الذي يؤدي دوراً مهماً في تحفيز استجابة الخلايا التائية المساعدة (Th1 cells) التي تقل فعاليتها باستعمال العلاج وهذا ما يفسر دور العلاج في خفض مستوى IL-12 في مصل الدم (Zang *et al* .,1995) .


الدليمي, عايد موحان. (1998). دليل العمل في البرنامج الوطني لمكافحة التدرن, اصدار وزارة الصحة دائرة الوقاية الصحية.

الدليمي, موسان منعم؛ هاشم, ظافر سلمان وعبد مرزوق, احمد. (2002). وبائيات التدرن في العراق لعام (2001), النشرة الاعلامية لوبائيات التدرن في العراق الصادرة من دائرة الرقابة الصحية/ معهد التدرن والامراض الصدرية/ بغداد.

رودين ،أمجد مية (2001).عزل *Mycobacterium tuberculosis* من مرضى التدرن الرئوي والكشف عن المقاومة الأولية والمكتسبة تجاه مضادات التدرن .رسالة ماجستير.رسالة مقدمة الى كلية العلوم في جامعة البصرة

عبد الجبار, قاسم وهاشم, ظافر سلمان. (2002). تاثير الحصار على مرض التدرن في العراق. دراسة مقدمة الى المكتب المهني المركزي العراقي. جمعية مكافحة التدرن والامراض الصدرية العراقية. اللجنة العلمية/بغداد.

هاشم, ظافر سلمان ومرزوك, احمد عبد. (2001). وبائيات التدرن في العراق لعام 2000. اصدار وزارة الصحة. دائرة الوقاية الصحية.

هاشم, ظافر سلمان. (2006). وبائية مرض التدرن للاعوام (1996-2006). التقرير الاعلامي الخاص بوبائية مرض التدرن في العراق الصادر عن دائرة الرقابة الصحية/ معهد التدرن والامراض الصدرية/ بغداد.

**Adelstein, A.m & Rimington, J**.(1967). Smoking and pulmonary tuberculosis:an analysis based on astudy of volunteers for mass miniacture radio raphy.Tubercle.;**48**:26-219.

**Akahoshi, M.; Nakashima, H.; Miyake, K.; Inoue, Y.; Shimizu, S.; Okada, K. and Harada, M**. (2003). Influence of interleukin. 12 receptor, B polymorphisms on tuberculosis.Hum. Genet; **112**:237-243.

**Aktoğu,S.; Yorgan C.A.; Cirak ,K.;Köse,T.; and Dereli, S.M**. (1996).Clinical.spectrum of pulmonary and pleural tuberculosis :areport of 5,480 cases, Eur, Respir, J .,**9**:2031-2035.

**Alarcon–Segovia,D & Fishbein ,E**.(1970). Demography of serum immunoglobulin:Differences in IgG and Igm levels in tow normal Mexican adult Population –clin .Sci.,**39**:467.

**Alcaide, J.;Altet, M. N; and Plans, P**.(1996).Cigarette smoking as arisk factor fortuberculosis in Yang adults: Acase control study.Tubere.lung .Dis;**77**: 6-112.

**Alcais, A.;Fiesch, C.;Abel, L. and Casanova , J.L**.(2005).Tuberculosis in children and adults: two distinct genetic disease.J.Exp. Med., **202**:21-1617.

**American Academy of pediatrics**.(2003).Committee on infections disease . Tuberculosis . In: Red Book .Report of the committee on infections disease pp: 60- 642.

**American Thoracic Society.** (2000). Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. Am.J. Respir. Dis. Crit . Care. Med., **161**:1371-1395.

**Angeby, K.A; Hoffner, S.E and Diwan, V.K**.(2004).Should the ‘bleach microscopey method be recommended for improved case detectionof tuberculosis . Literature review and key person analysis . J.Tuberc. Lung . Dis., 806-815.

**Anon.(2003).** Zoontic tuberculosis and food safety . Repot of the food safety Authorityof Ireland Scientific committee . Dublin :Food safety Authority of Ireland.

**Anuradha,B.; Rakh, S.S.; Ishag, M.; Murthy K.J. and Valluri, VL**.(2008). Interferon,γ low .producer genotype+874 overre presented in bacillus calmette Guerin nonre sponding children., pediatr. Infect.Dis. J.325-329.

**Araujo, Z.; Fernande Zed Larrea ,C.; Lopez ,D.; Fandino ,C.; chirinos, M. convit, J**.(2003). Hematologic values among Indians with tuberculosis from the Orinoco delta of Venezuela. Acta. Cient vene Z.**54**:247-253.

**Armstrong ,J.A. & Hart , P.D.** (1975). Phagosome – lysosome interactions in cultured macrophages infected with tubercle bacilli . Reversal of usual nonfusion pattern and observation on bacterial survival . J.Exp. Med., **142**:1– 16 .

Laboratore manual . (1995). **and Brwon , A E.Atlas, R.A . ; Parks, L.C** P:312. Mosby – Year book.,. 1st edition . experimental Microbiology

**Atlas, K.M.;Brown, A.E. and parts, L.C.**(1995).Laboratory manual of experimental microbiology Mosby–year book., P: 71.

**Bacakoğlu,F.;Basoğlu, O.k;Gok,G.;Sayiner, A.; Ates, M**.(2001).Pulmonary tuberculosis in Patiehtbwith diabetes mellitus.Respiration .,**68**(6): 595-600.

**Balasubramanian , V.; Wiegeshaus, E.H. and smith, D.W.** (1992).Growth characteristics of recent sputum isolate of *M*. tuberculosis in guinea pigs infected by the respiratory rout.Infection and immunity. American society for microbiology., **60**(11):PP: 4762 – 4767.

**Barnett,E.V.; Khutson ,D.W. and Abrass, C.K**.(1979). Circulating immune complexes , heir immunochemistry, detection and importance, Ann. Int. Med., **91**:430.

**Baron, E.J.; Peterson, L.R. and Fingold, S.M.** (1995). Bailey and Scott's

diagnosis microbiology 8th ed . C. V. Mosby Co . Toronto.London.,540 – 632

**Barret,JT.**(1988).Textbook of immunology: Anintroduction immunochemistryandimmunology,5thedn;C.V.MosbyCo;St.louis:455p.

**Bashar, M.;Alcabes,P.;Rom,WN.and condos,R**.(2001).Increased incidence of multidrug .resistunt tubercalosis in diabetic patients on the Bellevue chest Service;1987 to 1997. chest.**120**(5):9-1514.

**Bermudez,L.E. & Goodman,J**.(1996).*Mycobacterium tuberculosis* invades and replicates with in type II alveolar cells .Infect.Immun.,**54**:1400-5.

**Bhat, KG.& Bhat,G**.(2000).Methods and Devvices:Simple cold staining method for acid-fast bacilli.*Tropical Docter*.,**30**:224.

**Bhattachary a,A.; Ranadive, SN.;Kale, M.and Bhattacharya, S**. (1986). Antibody based enzyme linked immunosorbent assay for determination of immune complexes in clinical tuberculosis.AM.Rev. Respir. Dis .,**134**: 205-209.

**Bhave, G.G.; Pathare, A.V.; Dagha, C.C.; Ghabria, L.L.and Dalvi, S.G**.(1989).Immunoprofile of pulmonary tuberculosis comparison with normal healthy contro.l; **1**:9-24

**Bothamley,G.H**. (1995).Seaelogical diagnosis of tuberculosis. Eur .Respir.J. suppl., 20:676-688.

**Boyton , R.J. & Openshaw , P.J**. (2002). Pulmonary defense to acute respiratory infection . Br. Med . Bull., **16**: 1– 12 .

**Braily, M.E** .(1996).Tuberculosis in White and negro children .The epidemiologic aspects of the Harriet lane study . Cambridge: Harvard university press.

**Braun wald ,E.; Isselbacher , K. J.; Petersoderf , R. G.; Martin , J. B. and**

**Fauci, A.S**.(1987).Harrison's principle of internal medicine. 11thed. McGraw.Hill Book company , Newyork .

.P.In: stites , D. Inflammatory cell : Structure& function . (1991)**. H.Broide,D** Bssic and clinical immunology, 7th edn; prentice – . ) . (Eds. I. .&Terr ,A .Hall Int; London., 141-153

**Brook, G.F.;Butel , J.S.;More, S.A.(**1998).Jawets ,Melnick,Adelberg Medical Microbiology.21th ed .Appelton and Lange California,PP279-288.

**Broxmeyer,L**.(2005).Diabetes mellitus, tuberculosis and the mycobacteria :Two millennia of enigma –Med. Hypotheses.,**65**(3):9-433.

**Burms, D.M**.(1991).Cigarettes and cigarette smoking .clin .chest .Med.;**12**:41-631.

**Caminreo, J.A**. (2003). In:Guide La tuberculosis paramedicos espcialistas. Chapter 8: methods no convencionales ynuevas technicas en el diagnostico de la tuberculosis Ed. Union international control a tuberculosis Y Enfermededes Repiratoria (UICTER). Paris., pp:127–53.

**Caruso , A.M.; Serbina , N.; Klein ,E.; Triebold , K.; Bloom , B.R. and Flynn, J.L.** (1999). Mice deficient in CD 4 T cells have only transiently diminished levels of IFN – gamma yet succumb to tuberculosis . J. Immunol .**162**: 16–5407.

**Catanzaro, A.;Perry , S.; Clarridge , J. E.; Dunbar , S.; Goodninght - White , S.;Lo Bue, PA.; Peter, C. and Pfyffer , GE.** (2002).The role of clinical suspicion in evaluating anew diagnostic test for active tuberculosis : results of multi center prospective trail .J. A. M. A., **283**: 639 – 645 .

**Center for disease control and Preventation.(1999).**Tuberculosis elimination revivisted:obstacles,opportunities,and arenewed commitment .Advisory council for the elimmintation of tuberculosis(ACET).MMWR morb mortal Wkly. Rep.,**48**:1-13

**Center for disease control and Preventation** .(2000).Target tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection .Wkly .Rep., **9**(49): 1 -51.

**Census and statistics Department of Hong kong**. (2001). Pattern of cigarecte smoking.Thematic Household Report number, 5P3-28, census and statistics depaetment of Hong kong.

**Center for Disease Control and Preventation** . (2006). Trends in tuberculosis : U State . MMWR . Morb . Mortal . Wakly .Rep., **55**: 305 – 308 .

**Chapel,A.M.**(1996).Complementdisease.In:Weatherall,D.J.;Leding,J.G.G.Warr ellD.A.(Eds).Oxford textbook of medicine ,Vol.1,3rd edn.,Oxford Univ.press,New York .,175-182.

**Chan , X.; xing , Y.; Magliozzo , R.S . and Bloom , B.R.** (1992). Killing of virulent *M. tuberculosis* by reactive nitrogen intermediates produced by activated macrophage . J. EXP . Med., **175**: 22–1111.

**Chan, H.S.; Woo, J.; chan R.C and Cheung ,W**.(1995).The effect of age on the Presentation of Patients with tuberculosis-tubere.lung-Dis.,**7**:4-290.

**Chan, E.D.; Heifeit, L. and Iseman, M.D**. (2000). Immunological diagnosis of tuberculosis: Ara view. J. Tubercle and lung Disease., **80**(**3**):Pp:131-140.

**Chang, H.S.; Kim, H.J.; Jeong, KP. And Eun ,KJ**. (2000). Depress in terleukin 12 but not IL-18 prodmction in Response to 930-or32 Kilodutton Mycobacterial antigen in patient with active pulmonary tuberculosis.Infect. Immuno.l; Pp:4477-4484.

**Charpin, Q.; Herbault, H. and Gevaduan, J**.(1990). Value of ELISA using A60 antigen in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis .AM. Rev. Respir. Dis., 12:4-380.

**Chitanondh,H**.(1991). Tabaccouse and 4pdate-April .WHO THAODTR\HPP 001.Bankok : office for Tabacco consumption control ,Ministry of Public Heath Thailand .,91-181

**Chintu, C.; Lucas, S. and Mudenda, V**.(2002). Diseases at necropsy in African childering dying from respiratory. Illness: adescriptive necropsy., study.Lancet., **360**:985-90.

**Chopra, I. & Brennan ,P**. (1998). Molecular action of anti-mycobacterial agent. Tuber-lung-Dis., 78:89-98.

**Cole, E. & Cook, C.** (1998). Characterization of infections aerosols in health care facilities: an aid to effective engineering control and preventive strategies. AM.J. Infect. Control **26**(**4**):453 – 46.

**Collins,H.L. & Kaufmann,S.H**.(2002)Chapter 15:Acquired immunity against bacteria . In: Immunology of infection disease .Eds. SHE. Kaufmann, Asher and Ahmed . ASM. Press , washing ton DC. Pp: 207 – 21.

**Cooper, A,m.;Morgan, J.; Ferrnate, J. and Orme, I,M**.(1997).Interleukin 12 (IL 12) is crucial to the development of protective immunity in mice intra venously infected with *M* . *Tuberculosis* . J. EXP. Med.,**186**(1): 39 – 45

**Cooper, A.M.; Segal, BH.; Frank, A.A.; Holland, S.M.and orme , I.M. (2000).**transient loss of resistance topulmonary tuberculosis in P47 phoxl- mice-Infect. Immun., **68**:1231-1234.

**Corbett, E.L., Watt, C.; Walker, N.; Maher, D.; Williams, B.G.; Ravilione, M.C. and Dye, C.** (2003). The growing burden of tuberculosis: global trends and interaction with HIV epidemic. Arch. Intern. Med., **163**: 1009– 1021.

**Correa, A.G.** (1997).Unique aspects of tuberculosis in the pediatric population. Clin. chest. Med., 18:89–98.

**Cox,J. S.;Chen , B.;McNeil , M. and Jacobs , J.R. WR** .(1999).Complex lipid determine tissue specific replication of *Mycobacterium tuberculosis* in mice . Nature ., **402**:79 – 83

**Curleg , C**.(2003). New guidelines:What to do about an unexpected positive tuberculin skin test . Cleve clin . J. Med., **70**: 49 – 55 .

**Cousin , D.V. ; Wilton , S.D. and Fransis , B.R**. (1992). Use of PCR for a rapid diagnosis for tuberculosis .J. Clin . Microbial ., **30**: 89 – 93 .

**Crofton,J.** (1998). Tuberculosis control and medical school.

**Daniel, T.M & Baum ,G.L**.-(1968).The immunoglobulin response to tuberculosis; I.Molecular characterization of hemaggluting antibody to tuberculo polysaccharide in sera from patients with tuberculosis .Amer .Rev. Resp.Dis., **98**:677-780.

**Daniele ,P.P.; Dauber ,J.H. Altose, M.D ,Rowland D.T. GorenbergD.J**. (1977). lymphocyte Studies inasympotonatic cigarette smokers . Acomparison between and peripheral blood Am .Rer Respir,Dis **116**:997-1005.

**Daniel, TM.** (2006). The history of tuberculosis. Respir. Med., 100: 70-1862.

**Dannenberg , AM.** (1991). Delayed type hyper sensitivity and cell mediated immunity in the pathogenesis of tuberculosis . Immunol. Today., **12**: 33-228.

**Dannenbrg ,A.M**.(1992).Pathogenesis of pulmonary tuberculosis: host parasite interaction , cell mediate immunity , and delayed type hypersensitivity in: Basic principle in tuberculosis:Schlossberg ,D. ed, 3rded. Springer verlay, Newyork , USA .

**Davidow, A.; Kanaujia, Gv. And Shi, L**.(2005).Antibody profiles characteristic of mycobacterium tuberculosis infection state . Infect . Immun., 73:6846_51.

**Davis , A.S.; Vergne , I.; Master , S.S.; Kyei , G.B.; Chua , J. and Deretic, V.** (2007). Mechanism of Inducible nitric oxide synthase exclusion from mycobacterial phagosomes . PLOS . Pathog ., **3**(12): e 186 .

**Della Latta , P**.(2004). Mycobacteriology and micobacterial susceptibility tests. In :Clinical . Microbiology procedure Handbook . Second edition . Henry. D. Isenberg editor in chief , ASM press

**Dixon,B**.(2007).Diabetes and tuberculosis:an unhealthy partnership . Iancet. Infect. Dis., **7**(7): 444.

**Drobeniewski ,F.A , .; Caws , M.;Gibson , A. and young ,D**.(2003). Modern

diagnosis of tuberculosis . Lancet . Infect. Dis., 3: 141 – 7.

**Drobniewski, F.A.;Gibson, A.; Ruddy, M. and Yates, M.D**. (2003). Evaluation and utilization as a public health tool of a national molecular epidemiological tuberculosis outbreak database with in united kingdom from 1997 to 2001. J. Clin. Microbial., **41**: 1861-8.

**Durr , P.A.; Hewinson , R.G .and Chifrom – Hadly , R.S.** (2000). Molecular epidemiology of bovin tuberculosis . Chapter 2 . Rev . Sci. Tech. Off . Int. Epiz. , **19**(3):PP: 675 – 688 .

**Dye ,C .;scheels ,S .; Dolin ,P.;Pathania V.; and Ravglione ,MC**.(1999).Global burden of tuberculosis :estimated incidence . Prevalence and mortality by country . JAMA ., **282**: 677 – 86 .

**Dye, C.; Watt, CJ.; Bleed, D.M.; Behran Hosseini, S. and Raviglione, MC.** (2005).Evaluation of tuberculosis control and prospects for reducing tuberculosis incidence, Prevalence and death globally JAMA., **293**: 75-2767.

**Dye ,C .** (2006).Global epidemiology of tuberculosis .Lancet .,938 – 40 .

**Ehler, S**.(2003). Role of tumour necrosis factor in host defense against tuberculosis: implication for immuno therapies targeting TNF . Ann . Rheum. Dis ., **2**: ii 37 – ii 42 .

**Eisenstin, B.I**. (1990). The polymerase chain reaction. Anew diagnostic method of using molecular genetics for medical diagnosis N. Engl .J. Med., **322**:178-183.

**Eruslanov , E.B .; Lyadova , T.V. and Kondratieva.T.K**.(2005). Neutrophile response to *M . Tuberculosis* infection in genetically susceptible and resistance mice . Infect . Immun ., **73**: 1744 – 53.

**Ettinger , S.J .& Feldman , F.C**.(2000).Text book of vertenary international medicine vol . 1,Tuberculosis 5$^{th}$ed . W. B. Sander company, philadephila., P: 393 - 394 .

**Fahey,J.L.& Mckelvey , E.M.** (1965). Qauntitative determination of serum immunoglobulins in antibody agar plates .J. Immunol., **94**:84-90.

**Farel , L.S.; Lowell , A.M. and Meador M.P**. (1979). Extra pulmonary tuberculosis in the United States .AM. J. Epidemiol.,**109**: 17-205.

**Ferdous, K.J.; sultana, R.; Hossain M.; Zahid,MS .and Islam, L.N.** (2008). Evaluation of the humoral immune response in pulmonary tuberculosis patients Res.J.Immunol., **1**:36-44.

**Ferrich , D.A.; Schrenzel , M.D.; Mulvania ,T.; Hsieh , B.; Ferlin , W.G. and Lepper, H**.(1995). Defferntial production of interferon-γ and interleukin-4 inresponse to Th1 and Th2 stimulating pathogens by gamma delta T cells in vivo . Nature ., **373**: 255 – 257.

**Figureoa,J.E & Densen ,P**.(1991). Infection disease associated with complement deficiencies .clin . microbial.Rev; 4:359-395.

**Finch ,& Beaty, CD.(**1997).The utility of asingle sputum specimens in the diagnosis of tuberculosis compration between HIV.infected and non –HIV infected patient.Chest .111:1174-1179.

**Fine , PE. &,Small,PM**.(1999).Exogenous reinfection in tuberculosis .N. Eng. J. Med ., 341:1226 – 7.

**Fitzgerald , D. & Haas , D.W**.(2005). *Mycobacterium . Tuberculosis*. In : Principles and Practice of Infections Diseases . 2 . 6th ed . Churchill Livingstone . 2853 – 884 .

; . F. Austent , K. M. In :Frank ,M. Complement system. (1995) .**Frank ,M.M** Samteŕs immunologic diseases, . ). (Eds . R. &Unanue , E. N.Claman , H . I, 5th edn; Little , Brown & Co;Boston :331-352. Vol

**Friend , T.R.; Sterling , T.R.; Munsiff , S.S.; watt , C.J . and Dye , C**.(2003). Tuberculosis lancet ., **362**: 887 – 99 .

**Frieden, T.R.; Munsiff, S.S.; Watt, C.J. and Dye, C**. (2003). Tuberculosis. Lancet., **362**: 99-887.

**Fujiwara, N., OKa, S.; Ide, M.; Kashima, K.; Honda, T. and Yano,I.** (1999).production and partial characterization of antibody to cord factor (terhalose 6-6- dimycolate). in mice. Microbial. Immuno; **43**:785-793.

**Fulton, S.A.; Reba, S.M.; Martin ,T.D. and Boom , W.H**. (2002). Neutrophile mediated microbacteriocidal immunity in the lung during *M. bovis* infection in C5 BL / 6 mice . Infect . Immun .; **70**: 5322 – 7 .

**Galli, S.J. ; Mauer , M. and Lantz, CS**. (1999). Mast cells as sentinels of innate immunity . Curr . Opin . Immunl ., 11: 53 -9 .

**Garcia – Roma , G. S. ; Pedroza - Gonzalez , A. and Aguilar – Leon , D**.(2004). Airways infection with virulent *M. tuberculosis* delay the influx of dendritic cells and expiration of costimulatory molecules in mediastinal lymphnodes . Immunology ., **112**: 8-224 .

**Gatifield ,J. & pieters , J**. (2000). Essential role for cholesterol in entry of microbacteria into macrophage . Science ., **288**: 1647 – 50 .

**Gearing , DP. & Cosman , D**. (1991).cell., 86:9 - 7 .

**GiL_ Setas, A.; Torriba, L.; Fernandez, TL.; Martinez_Artola, V. and Olite, J**. (2004). Evaluation of the MB/Bact system compared with Middle brook 7Hii and Lowenstein . Jensen media for detection and recovery of mycobacteria from clinical specimens. Microbial. Infect., **10**:224-183.

**Gopi, P.G.; subramani, R.; Santha ,T.; chandrasekaran,V.; kolappan, C.; Selvakumar ,N. and Maray Anan ,PR** (2005).Estimation of burden of tuberculosis in India for theyear 2000.Indian.J.Med.Res.PP:243-248.

**Gradmann , C.(2006).** Report Koch and the white death : from tuberculosis to tuberculin . Microbes . Infect ., 8: 294 – 301 .

**Grange , J. M.; Daborn , c. and Cosivio , O. (1994)**. HIV related tuberculosis due to *M. bovis* Eur . Resp .J. 7: 1564 – 1566.

**Gutierrez, M.C.; Brisse, S. and Brosch, R. (2005).** Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *M* tuberculosis. Plos. pathing. 1:e 5.

**Haagsma ,J. & Angus ,RD.(1994).**tuberculin production in *mycobacteria bovis* infection in human and animal .Steele ,J. H.; Thoen , C. O. eds. Lowa state university press . Ames , Lowa USA., 71,Pp: 559 – 570

Butterworths , . Introduction to clinical immunology **. (1985).Haeney,M** .London : 132Pp

**Hale ,. Ym.; Desmond , EP.; Jost , KC. and Hicks , JR .(2000).** Access to newer laboratory procedure: a call for action . Int . J. Tuberc . Lung Dis., **4**: 171– 5 .

**Hasan , Z.; Schlax , C. and kuhn , L.(1997).** Isolation and characterization of the mycobacterial phagosome : Segregation from the endosomal / lysosome pathway . Mol . Microbial ., **24**: 545 – 53 .

**Hassegawa,T.; Tadalk.;Shili,M**.(1992).Pulmonary infection causing by *M.gordonae* in healthy middle age male .J.Clin.Microbial..,30:786-791.

**Havilar,D.V .&Barnes,PF.(1999).**Tuberculosis in patient with human immuno-deficiency virus infection .J.Chest.**112:**373-387.

**Heifeit, L. (2000).** Dilemmas and realities of rapid diagnosis test for tuberculosis. J. chest., **118**:4-5.

**Hemila, H.; Kaprio, J.; Pietinen , P.; Albanes, D. and Helnones , OP. (1999).** Vitamin C and other compounds in Vitamin C rich food in relation torisk of tuberculosis in male smokers. AM .J. Epidemiol 150:632-641.

**Henderson , R.A.; Watkins,S.C. and Flynn, J.L.(1997).** Activation of human dendritic cell following in fection with my cobacterium tuberculosis.J.Immunol., **159**:635-643.

**Hernadez – Pando , R.; Jeyanathan ,M. and Mengistu , G. (2000).** Persistence DNA from *M* tuberculosis in superficially normal lung tissue during latent infection . Lancet ., **356**: 2133 – 8 .

**Hernadez – pando , R.; Pavon, L.; Orozco , EH .; Rangel , J. and Rook , GAW. (2000).** Interactions between hormone mediated and vaccine – mediated immuno therapy for pulmonary tuberculosis in Balblc mice .Immunology ., **100**: 391 -8 .

**Hershkovitz, I.; Donoghue, H.D.; Minnikin, D.E.; Besra, G.S and Lee, O.Y. (2008).** Detection and molecular characterization of 9000-year old *M.*

*Tuberculosis* from a Neolithic settlement in the Eastern Mediterranean " PLOS One **3**(**10**): e 3426.

**Hirsch,C.S.; Ellner, JJ.; Russel, D.G. and Rich, E.A**. (1994). Complement receptor- mediated uptake and tumor necrosis factor –alpha-mediated growth inhibition of M.tuberculosis by human alveolar macrophages.J. Immunol., **152**:743-753.

**Hocking ,W.G. & Goide , D.W**.(1979).The Pulmonary alveolar maerophage(first of tow parts). N.Engl.J.med . 301:580-7

**Hoft , D.F.; Worku , S. and kampmann , B**.(2002). Investigation of the relation ships between immune – mediated inhibition of mycobacterial growth and other potential surrogate markers of protective *M. tuberculosis* immunity . J. Infect .Dis ., **186**: 1448 – 57 .

**Holbrook, J.H**.(1982) .Tobacco smoking .Harrisons principles of internal edicine .10th ed .NY: Mcgraw-Hill Book.;1302.

**Hopewell,P.C.;Migliori ,G.B. Raviglione ,M.C**.(2006).tuberculosis care and control. Bull world health organ ., 84:428.

**Hopewell , P.C.; Pia, M.; Maher, D.; Uplecar , M. and Ravig lione , MC** . (2006). International standard for tuberculosis care .The lancet ., 6: 710 – 725 .

interaction of pathogenic "**Houben , E.; Nguyen , L. and pieters , J**. (2006). mycobacterium with the host immune system.Curr.Dpin. Microbial., **9**(**1**):76 – 85

**Humphreys , IR.; Stewart , GR. and turner , DJ**. (2006). A role for dendritic cells in the dissemination of mycobacterial infection . Microbes . Infect ., **8**: 1339 – 46 .

**Idiogoras , P., Beristain ,X., Iturzaeta , A.; Vicente , D. and Perez Trallero,E.**(2000). Comparison of the automated non radiometric Bactec MGIT 960 system and Lowenstein-jensen ,coletsos , and middlebrook

7H11 solid media for recovery of my cobacteria . Eur .j.clim. Microb. Infect.dis . ,**19** :390-354.

**Innes, J. A. and Red,P. T**.(2006).Respiratory disease .In :Davidson's practice of medicine (Boon,N. A.; Colledge ,N. R. Walker , &principles B. R) eds.20th edition. London .Pp:647 – 737.

**Ito, M.; Kojiro, N,; Ikeda , T.; Ito, T.; Funada ,J. and kokubu ,T**.(1992).Increase proportions of peripheral blood gamma delta T cells in patients with pulmonary tuberculosis . Chest., **102**: 195 – 7 .

**Jeen, P. M.; Coovadin, HM.; Pillay, P. and pillay, T.** (2002). Impact of HIV-1 confection on presentation and hospital related mortality in children with pulmonary tuberculosis in Durban., South Africa. Int. J. Tuberc. Lung. Dis., **6**:672-8.

**Johnson, N.; Mc Micol, MW.; Burton,Ku and Mowbray ,T.**(1981). Circulaiting immune-complexes in tuberculosis-thorax., **36**:610.

**Junqueira – Kinpnis , AP.; Kinpnis , A. and Jamieson , A**.(2003). Nk cells respond to pulmonary infection with *M . Tuberculosis* , but play a minimal role in protection . J. Immunol ., **171**: 6039 – 45.

**Kabra,SK.;Lodha,R.and Seth,V**.(2004).Some current concept on childhood TB.Ind J.Med.Res.,120:97-381.

**Kadowki , N.; Ho , S. and Antonenko , S.** (2001). Subsets of human dendritic cells precursors express different toll – like receptors and respond to deferent microbial antigen .J. EXP . Med ., **194**: 9-863 .

**Kaplan, MH. & chase**.(1980). Antibodies to mycobacteria .in human tuberculosis, 1.Development of antibodies before and after antimicrobial therapy. J.Infect.Dis., 142:825-834.

Protection against tuberculosis :cytokines , T cells, and ″**Kaufman ,S**. (2002). . Ann. Rheun .Dis .**61**(2): 8 -1154 .″macrophage

**Khader, S.; Pearl,J.; Sakamoto, K.; Gilmartin ,L.;Bell,G.; Jelley- Gibbs, D.; de Sauvage, F. and cooper, A**.(2005).IL-23 compensates for absence of IL-12P70 and is essential for the IL-17 response during tuberculosis

but is dispensable for protection and antigen –specific INF-γ response if IL-12P70 is available-J. Immunol; **175**:788-795.

**Khormenko , AG.; Bay ensky , AV.; cherononsova , LN.; Kulikovskya , NV.; Demianenko , NV. and Litvinov , VL.** (1996). Serodiagnosis of tuberculosis : Detection of mycobacterial antibodies and antigens .J. Tubercule and lung disease ., 77: PP: 510 – 515 .

**Kim,Tc.,Blackman,RS.; Heatwole ,Km.; Kim, T.; Rochester, Df** .(1984).Acid fastbacilli in sputum smears of patients with pulmonary tuberclosis Prevalence and significance of regative smears Pretreatment and positive smear Rost treatment. Am. Rev. Respiro Dis., **129**:264-268.

**Kozied ,H & Kozied ,M.J**. (1995).Pulmonary. complications of diabetes mellitus. Dis.Chin.North.AM.,9:65-90.

**Kubica, G.P**.(1977).Susceptibility testing of tubercula bacilli in :The clinical laboratory as an aid in chemo therapy of infection disease. Baltimore,USA: u niversity park press.,Pp:104-107.

**Kubin, M.; chow , J.M. and Trinchieri, G**. (1993). Differential regulation of IL-12 ,TNF- α and IL-1γ production in human myeloid leukemia cell lines and peripheral blood mononuclear cells, Blood., **83**:1847-1855.

**Kusner, D.J**.(2005).Mechanism of bacterial persistence in tuberculosis clin. Immunol ., **114**: 239 – 47.

**Ladel , C.H.; Blum, C . and Dreher , A.; Reifenber , K and Kaufman , SH.** (1995).Protective role of gamma / delta T cells and alpha / beta T cells in tuberculosis .Eur .J. Immunol ., **25**: 2877 – 81.

**Lavigne,M.;Roch,I.;Steensma,and Brassard, P**.(2004).The Impact of smoking on adherence to treatment for catent tuberculosis in fection BMC.Public. Haelth.;**6**:66-87.

**Lehrer, R.I.; Lichtenstein, A.K. and Ganz,T**. (1993). Defensins :antimicrobial and cytotoxic peptides of mammalian cell. Ann.Rev. *Immunol*. **11**:105-128.

**Lenka; M.; Pereira, AB.Sjouke,K.; Anouk Van ,Dw.; Lan ,N**.(2003) changees in avidity and level of immunoglobulin G antibodies to M.tuberculosis in sera of patients undergoing treatment for pulmonary tuberculosis.clin.Diag. lab.,P702-704-

**Leung ,G.C., Yew,W.W .; Chan , C.K.; Tam, C.M Lam, C.W.; Chang,K.C; Chan,CH;Law,KS and Law,WS** .(2003) Smoking and tuberculosis in Honkong .Int .J.Tuberc-luny.Dis.7:6-980.

**Lienhardt,C.; Fielding ,K.; Sillah,JS .; Bah.; Gustafson ,P.;and warndorfp** (2005). Invistigation of the risk factors for tuberculosis:acase –control study in three countries in west Africa .Int J. Epidemiol.,34:32-914.

**Liubič,S.;Balachandran, A.;PavliČ-Ranar I.Barada, Aand Metelko,Ž** (2004).Pulmonary infection in diabetes mellitus. Diabeto logia Crotica.; 4-33.

**Lockhart , E.;Green , Am. And Flynn ,JL.** (2006). IL – 17 production is dominated by gamma delta T cells rather than CD4 T cells during *M. tuberculosis* infection s. J. Immunol ., **177**: 4662 – 9 .

**Lombard , E. H.; Victor , T. C.; Jordana , A. and van Helden , P. D.** (1994). The detection of *M* . Tuberculosis in bone marrow aspirate using the PCR . Int . Tuberculosis .J. lung . Dis ., 2: 36 – 42 .

**Manco ,C.,Reed ,M.B .;Freeman ,S.; Mathema ,B.;Krieswirth , B. and Barryill,CE.** (2004) .Differential monocyte activation underlies strain specific *M tuberculosis* pathogenesis infect . Immun .,**72**: 5511 – 4.

Microbiology clinical microbiology ″**Master , R. N.** (1992). Section Editor procedure handbook . Vol,1. ASM. Washington , D. C.

. J.R.Soc. Med., 94(8): 413-″The key to the Sanotoria″**McCarthy, OR**. (2001). 7**.**

**Melo, F.A . & Afiune ,J.B**. (1993).Transmissao eimune patogenia äo tuberculosis

Pneumol .,**19**:19 – 24 .

**Metchok , B.G.; Nolte , F.S. and Wallance , RJ**. (1999). Bulletin ., **87**(1): 24 – 40.

**Miret, P.; Pina-Gutierrez, M .and Juncosa, S**.(1996).Tuberculin reactivity in BCG vaccinated subjects. Int .Tubercul. J. Lung.Dis.**77**:52-58.

**Moda, G.; Dohorn, C.; Grange, Jm. and Cosivi, O**. (1996). Zoonotic importance of *M. bovis*. J. Tubercule and lung disease., **77**:PP:103–108.

**Myones ,BL.; Dalzell,J.; Hogg, N. and Ross, GD**.(1988). Neutrophil and monocytecell surface P 150,95 has 1C3b-receptor(CR4). Activaty resembling CR3.J.clin. Investig.82:640-651

**Negi, S.S.; Khan, S.F.; Gupta, S.;Pasha, S.T.; Khare, S. and LaI, S**. (2005). compration of the conventional diagnostic modalities, BACTEC culture and polymerase chain reaction test diagnosis of tuberculosis.Indian. J. Med. Microbial., **23**:29-33.

**Nisar, M.;William, CS.; Ashby D. and Dlhd Davies, DD**.(1993). Tuberculin testing in residential homes for elderly –Thorax.,48:60-1527

Toward understanding the ″**Nicas , M.; Nazaro, ww. and Hubbard, A**. (2005). risk of secondary air bone infection : emission of respirable pathogens " .J. Occup . Environ . Hyg., 2(3): 54 -143 .

**Nicholson, S.Bonecini-Almeida, MD.; Lapae Silva, JR.; Natan, C and Xie ,QW.** (1996). Inducible nitric oxide synthase in pulmonary alveolar macrphages from patients with tuberculosis .J. Exp.Med., **183**:2293-2302.

**O᾽Brien ,RJ.& Spigelman , M**.(2005).New drugs for tuberculosis : current status and future prospects . Clin. Chest .Med. **26**:327 – 340

**Oddo . M.;Renno , T.; Attinger , A.; Bakker , T.; Mac Donald , HR. and ,RR**. (1998). Fas ligand induced apoptosis of infected human macrophage reduces the viability of intracellular *M. tuberculosis* .J. Immunol., **160**: 54-5448 .

**Olender,S.; Saito,M.;Apgar, J.;Gillenwater, K.; Lescano, AG.;More,P.; caviedes, L.; Hsieh ,EJ. and Gilman,RH**.(2003).Low prevalence and

increased housesh old clustering of my cobacterium tuberculosis infection inhigh altitude villages in peru, AM.J. Trop, med Hyg.; **68**:721-727.

**Pao, C.P.; Yen T.S.B.; Yau, J. and MaeJ, S**. (1990). Detection and identification of *M. tuberculosis* by DNA implication. J. clin. Microbial.,**28**:1822-1882.

**Pearee–Duvet, J**. (2006). The origin of human pathogens: evaluating the role of agriculture and domestic animal in the evolution of human disease Biol_Rev. Camb. Philos. Soc., **18**(**3**): 369-82.

**Pedrosa , J.; Saunders , BM.; Appelberg , R.; Orme , IM.; Silva , MT. and cooper, AM**. (2006). Neutrophile play a protective non phagocytic role in systemic *M. tuberculosis* infection of mice . Infect . Immun .,**68**: 83-577.

**Pervaneh , B.; Payam, T.; Zoha,A.; Mehdi, M.; Yazdan ,AF.; Seyed DM .; and Mohammad, RM**. (2010). Comparison of pulmonaof ry TB Ratient with and without Diabetes mellitus typell.;Tanaffos.;**9**(2):13-20.

**Peterson , P.K.; Gekker , G. and Hu, S** . (1995). CD14 receptor mediated up take of non opsonized *M* . *Tuberculosis* by human microglia . Infect . Immun ., **63**:1598 – 602 .

**Plorde, J.J**. (2004). Mycobacteria, in:sherries medical microbiology. 4th ed. (Ryan, KJ.; Ray, CG. and McGraw). Hill medical publishing division. Newyork, USA Pp: 439-454.

**Raja ,A.** (2004). Immunology of tuberculosis . Indian.J. Med .Res .**120**(4): 213-232.

**Randhawa , AK.; Ziltener , HJ. Merzaban, JS. and stokes ,RW**. (2005).CD 43 is required for optimal growth inhibition of *M tuberculosis*In macrophage and in mice .J. Immunol ., **175**: 1805 – 12.

**Riedel , DO. & Kaufmann, SH**.(1999).Chemokines secretion by human polymorph nuclear granulocytes after stimulation with *M. tuberculosis* and lipo arabinomannan. Infect . Immun., **65**: 34-620.

**Rieder,HL.; Kelly, GD.; Bloch, AB.; Gauthen, G.; Snider, DE.** (1991).Tubercul0sis diagnosied at death in the in united state. ,100:678-811.

**Reiderg HL**.(1995).Epidemiology of tuberculosis in Europe –Eur. Respir-J.**8**:620- 632.

**Roberts , GD.; Koneman , EW. and Kim, YK**. (1992). Mycobacterium . In: Manual of clinical microbiology (5thed). Balows , A.(ed),Washington, D. C, USA. American society for microbiology. Pp. 304 – 309.

**Roitt,IM**.(1997). Roittś essential immunology .9th edn ; Black well Sci; Oxford., Pp:476.

5th edn; lippincott- . principle of cancer management . (1997) .**Rosenberg , SA** . ,Pp:349-373.Raven publisher, philadelphia, NewYork

**Rouchot, J.; Grasland, A. and Celle, J**. (1997). Reliability of tuberculosis of skin test measurement. Am. Inter. Med., **126**:180-185.

**Roy , S.; Sharma , S.; Sharma , M.; Aggarwal , R. and Bose , M**. (2004). Induction of nitric oxide release from the human alveolar epithelial cell line A5 49: an in vitro correlate of innate immune response to *M. tuberculosis* . Immunology . **112**: 471 – 80 .

**Rowe,D.S.; Boyle,J.A .; Buchanan, W.W**.(1968).Plasma immunoglobulin concentration in twins .Clin Exp.Immun., **3**:233.

**Runyon,E.H**.(1970).Identification of mycobacterial pathogens utilizing colony characteristics.AM.J.Clin.Path.**54:**578-588.

Nat. Rev. ?**Russell , D.G**.(2007).WHO puts the tubercle in tuberculosis microbial., **5**:39–47.

**Salgame , P**.(2005).Host innate and Th1 response and bacterial factors that control *M. tuberculosis* infection . Curr . Opin . Immunol ., **17**(**4**) 80-

**Satya, S.** (1995). Text book of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis: 2nd ed. Inter_print CO., PP: 20-33.

**Sauth, M.A.; Warwic, W.J.; Wollheim ,F.A. and Good, R.A**.(1967). The IgA system III. IgA level in the serum and saliva of paediatric patients. Evidence for alocal immunological system .J. paediatr :645-653.

**Sayama , K.; Diehn , M. and Matsuda , K**. (2002). Transcriptional response of human mast cells stimulated Via the Fc (epsilon) RI and identification of mast cells as asource of IL – 11. BMC , Immunol ., **3**:5.

**Schlesinger,LS.; Bellinger – Kawahara , CG.; Payne , NR.and Horwitz. MA**.(1990). Phagocytosis of *M. tuberculosis* is mediated by human monocyte complement receptors and complement c3. J. Immunol ., **144**:2771 – 2780 .

**Schoel , B.; Sprenger,S. and Kaufmann , S.H**. (1994).Phosphate is essential for stimulation of V gamma gv delta 2 T lymphocyte by mycobacterial low molecular weight ligand .Eur . J. Immunol ., **24**: 1886 – 1992.

**Scott Ferguson ,J.; Weis, JJ.; Martin, JL. and Schlesinger, LS**. (2004). Complement Protein C3 binding to M.tuberculosis is initiated by the classical pathway in human bronchoalveolar lavage fluid .Infect. Immun.**5**:2564-2573.

**Serbina , N.V.& Flynn ,J.L**. (1999). Early emergence of CD8(+) T cells primed for production of type 1 cytokines in the lung of *M. tuberculosis* – infected mice . Infect . Immune.; **67**: 8 -3980 .

**Serbina ,N.V.,Lazarevic , V and Flynn,J.L**. (2001).CD4(+)T cells are required for the development of cytotoxic CD8(+) T cells during *M. tuberculosis* infection . J. Immuol ., **167**: 6991 – 7000 .

**Shinnic, T.M**.(1987). The 65 kilodalfon antigen of *M . Tuberculosis*. J. Bacteriol., **2**:196-201.

**Sibille,Y. & Reynolds, H.Y**.(1990).Macrophage and polymorphnuclear neutrophils in lung defenae and injury. AM.Rev.Resp.Dis.141:471-501.

**Skelding , K.A.; Hickey , D.K. and Horvat , J.C**. (2006).Comparison of intranasal and transcutaneous immunity against *Chlamydia muridarum* respiratory tract infection – Vaccine ., **24**: 66–355.

**Skvor, J; Trnka,L. and Kugukovova, Z**. (1979). Immunoprofile studies in patient with pulmonary tuberculosis .II.correlation of levels of different classes of immunoglobulins and specific antibodies with the extent of tuberculosis. Scand .J. Resp. Dis, 60:168-171.

**Smith , D.and Wiengeshaus ,E**.(1998).What animal models can teach us about the pathogenesis of tuberculosis in human . Re . Infect . Dis ., **11**: S 385-S393.

**Soini ,H. & James ,MM**.(2001).Molecular diagnosis of mycobacteria . Clinical. Chemistry., **47**: 809 – 814 .

**Sousa,AO.;Wargnler.A.;Poisignon,Y.and Simonney,N.**(2000).Kinects of ciculating antibodies , immune complex and specific antibody-secreting cells in tuberculosis patients during 60 month antimicrobial therapy. Tuber. Lung.Dis., **8:**27-33.

**Stead ,W.W**.(1989).Pathogenesis of tuberculosis: clinical and epidemiologic perspective . Rev .Infect .Dis ., **2**:3668.

**Steingart, K.R.; Vivienne, N.G. V. and Henry, M**.(2006). Sputum processing methods to improve the sensitivity to smear microscopy for tuberculosis: a systematic review – lancet . Infect . Dis., **6**: 74-664 .

**Stenger, S.; Mazzaccaro,RJ. and Uyemura, K** .(1997). Defferntial effects of cytolytic T cells subsets on intracellular infection . Science , **276**: 7-1684 .

**Stenger, S.; Niazi , KP. and modlin , RL** .(1998). Down regulation of CD1 on

antigen – presenting cells by infection with *M . Tuberculosis.* J. Immunol , **161**: 8 -3582 .

**Stern , A.S**. (1990).Proc .Natl . Acad. Sci USA ., **87**: 3–5808

**Starke, J.R.** (1996). Tuberculosis. In:Nelson text book of pediatrics, 15th. edn. Eds. Philadelphia, WB. Saunders., Pp: 46-834.

**Takahashi,Y.; Mahizuki, K.and Nagayana,Y**.(1961). The behavious of three different kinds of antibodies in tuberculosis.J.Exp .Med .**114**:569-579.

. Foundations in microbiology , 2nd edn ; Wm. (1996) **. & Talaro,A. K.Talaro** . Brown publ ; Dubuque: 542Pp.C

**Tan , BH .; Meinken , C. and Bastian , M** . (2006). Macrophage acquire neutrophile granules for antimicrobial activity against intracellular pathogens. J. Immunol ., **177**: 71 -1864.

**Thierry, D.; Gava, MD. and Eisenach, KD**. (1990).156110, anlike element of ***M . Tuberculosis*** complex. J . Bacteriol., **2**:311-314.

**Tiruviluamala, P. & Reichman, LB**. (2002).Tuberculosis. Annu. Rev. Public. Health., **23**:403-426.

**Tomoka, H.; Saito, H and Sato ,H**.(1990). Characteri stics of immunosuppressive macrophage induced in host spleen cell by my cobacterium avium complex and M .tuberculosis in fection in mice .microbiol Immunol., **34**:283-297.

**Trinchieri,G**.(1995).Interleukin 12:a proinflammatory cytokine immuno - regulatory infection that bridge innate resistance and antigen – specific adoptive immunity . Annu. Rev. Immunol .**13**:251 – 276.

**Tsukamura,S**.(1967).Apartical system for identification of **&Tsukamura,M.** *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. kansassi* and *M. fortuitum.* Scandinicia. j. Respir. Dis. **48:**58-70.

**Turneer, M.; Van Vooren , JP.; De- Bruyn, J.; Serruys, E and Yernault,JC**.(1988). Humoral immunoglobulins G,A and M directed

against the purified P32 protein antigen of *M.* bovis bacillus calmette Guerin .J.clin. J-Microbiol.,P1714-1719.

**Urban , C.F.; Lourido , S. and Zychlinsky, A.** (2006). How do microbes Cell. Microbial ., **8**: 96–1687. ?evade neutrophile killing

**Vallejo ,J.G. & starke ,J.R**.(1996). Intra thoracic tuberculosis in children .Semin. Respir . Infect .,**11**: 92-184 .

**Valway, S.E.; Rechard, S.B. and Kovacvich, J**. (1994). Out break of MDR in Newyork state prison, 1991. J. Epidemiol., **140**:113-127.

**Vancrevel , R.; Ottenhoff , TH. and Vander Meer,JW**.(2002).Innate immunity to *Mycobacterium* tuberculosis .clin .Microbial .Rev., **15**(2):294 -309 .

**Van Eden ,W.; Elferink, BG.; Hermans, J.; De vries,PR .and van Rood ,J**.(1984).Role of HLA-class ii products in proliferative T.lymphocyte response to PPD.Evidence of aregnlatory in associated with MBi.Scand.J.immunol,**20**:503-510.

**Vankayalapati , R.; Wizel , B. and Weis , SE**. (2002). The nature killer cells P46 receptors contributes to natural killer lysis mononuclear phagocytes infected with an intracellular bacterium .J. Immunol., 168: 3451 -7.

**Vankayalapti , R.; Klucar ,P. and Wizel , B**. (2004). NK cells regulate CD8+ T cells effector function in response to an intracellular pathogen . J. Immunol., **172**: 7-130 .

**Verbon, A.; Weverling , G.J.; Kuijper ,S.; Speelman, P.; Jansen, HM.and kolk AH**.(1993).Evalaution of different test for the serodiagnosis of tuberculosis and the use of likel ihood ratios in serology .AM. Rev.Respir. Dis .,**148**: 378-384.

**Verbon, A.; Juffermans ,N.; Van Deventer, SJ.; Speelman,P.; Van Deutekom, H. and Van Der Poll, T**. (1999).Concentration of cytokine in patient with active tuberculosis and of ter tereatment. Clin . Exp. Immunol. **115**(1):110-113

**Vergne,I.; chua,J. singh ,SB, and Deretic , V.** (2004). Cell biology of M . tuberculosis phagosome. Ann. Rev. cell .Dev .Biol., **20**:367-394.

**Verver ,S.;Warren ,RM. and Beyers, N**. (2005).Rate of infection tuberculosis after successful treatment is higher than rates of tuberculosis .AM. J. Respir. Crit. Care. Med.,**171**: 51-430.

**Victor,T,C.;Warren,R.;Butt,J.L.and Jordan,AM**.(1997).Genome and MIC stability in *M.tuberculosis* and identification for continuation of use of isoniazid in multidrug resistant tuberculosis .J.Med.Microbial.**46:**847-857.

**Vincent, V.; Elliott, BA.; Jost, k.C. and Wallace, RJ**. (2003). Mycobacterium: phenotypic and genotypic identification. In: mannual of clinical microbiology. 8th ed. Murray, P.R.; Baron, E.J.; Jorgensen, J.H.; PFaller, M.A., and Yolken, R.H.A S M press,Washington., Pp:560-584.

**Volk , WA.; David CB.; Kandner , RJ. and parsons , JT**.(1996). Essential of medical microbiology . (14th) Oed ., Mosby .

**Wada ,M.;Yoshiyama,T.; Ogata, H**.(1999). Six months chemotherapy (2HRZSor E/4#RE)of new case of pulmonary tuberculosis-six Years experiences on its effectiveness, toxicity. and ace ptubility. Kekkaku.,74:353-360.

. bvine tuberculosis″ So terrible a malady″″ To stamp out″ **Waddington, K**.(2004). Med. Hist., **48**(**1**)29-48.″ and tuberculin testing in Britain, 1890_1939

**Walter ,JB. & Talbet ,IC**. (1996).General pathology 7thed . Churchill Livingstone . British . Library . London .P: 115.

**Ward ,KN.; Turner ,DJ.; couto parade, X. and Thiruchelvam , AD**.(2001). Use of immunoglobulin G antibody avidity for differentiation of primary human herpersvirus 6and 7 infections, j.clin .Microbial; **39**:959-963.

**Wayne , LG. & sohaskey , CD**.(2001). Non replicating persistence of *M. tuberculosis* Annu .Rev s. microbial. 55: 139 – 163 .

**Weir,N.& Golding-Wood,D.J.(**1997).Infective Eear and immunology in- scott-Brown's otolaryngology .6th (ed).Ed Mackay,I.S.and Bull,T.R.Butterworth-Heinemann Vol.4.P.:1-24.

**Wichermasinghe , MI.; Thmas , LH and Fried Land , JS** .(1999). Pulmonary epithelial cells are source of IL – 8 in the response to *M. tuberculosis*: essential role of IL – 1 from infected monocyte in a NF – Kappa B – dependent network .J. Immunol . , **163**: 47-3936 .

**William , C.M .& Galli , S.J** .(2000). The diverse potential effector and immuno regulatory roles of mast cells in allergic disease . J. Allergy. clin.lmmunol ., 105: 847 – 59 .

**Wolinsky , E**.(1999). Microbacteria ; In: Manual of clinical microbiology. (eds. Murray , P. R.; Baron , E. J.; Pfaller , M. A.; Tenover , F. C. and Yolken , R. H. ). ASM press , Washington , USA., Pp : 647– 659.

**World conference on lung health**.(1990) .The effect of smoking on human health. AM .Rev.Resp.Dis., **141**:A784.

**WHO** (1997).Treatment of tuberculosis.guideeline for national programs .2nd ed WHO/TB/98-237.Geneva.

**WHO**.(1998).TB advocacy: apractical guide 1999.Geneva: WHO.WHO\TP 98: 23 -239

**WHO**. (1999). World health Report: making adifference., P–110.

**WHO**. (2000). requiments for biological substance. No. 16. Annex: requiments for tuberculosis. Technical reports series. No. 745. Who. Geneva, Switzerland. PP :31-59.

**WHO**. (2004). Global tuberculosis control: surveillance, planning finance Wlto report. Who HTM/TB/2004. Geneva, Switzerland., 331.

**WHO** .(2005). Global tuberculosis control Who report. (Geneva ). Pp: 16 – 29 .

**WHO**.(2006a). Antituberculosis drug resistance and trend . Who / HTM / TB /

2004. 343 , Geneva , Switzerland .

**WHO** . (2006b). Global tuberculosis control: survellance, planing, financing (WWW.Who , int / tb / publication / global- report/ 2007 / pdf / full . Pdf ).

**WHO**.(2006c). Epidemiological fact . Sheets an HIV / ADS and sexually transmitted infection , 2006 .update .

**Wozniak , T.M .; Ryan , A.A.; Triccas , J.A. And Britton ,W.J**.(2006). Plasmid IL-23, but not plasmid IL – 27 , enhances the protective efficacy of a DNA vaccine against *M. tuberculosis* infection. Infected .Immun .,**74**: 65- 557.

**Wurzd, H.; Yeh,CC.;Gairola,C.Adchow ,CK**.(1995). Oxidative damage and antioxidant Status in the lung and broncho alveolar lavage fluid of rats exposed chronically to cigarate smoke. J. Biochem. Toxicol., **10**:11-17.

**Yach,D**. (2000). Partneringbfor better lung health ;Improving tobacco and tuberculosis control.Int.J.Tubere. lung .Dis., **4**:7-693.

**Zhang, M.; Gately, MK.; Wang E.; Gong,J .Wolf ,SF; LU, S.; Modlin, RL. and Barnes, PF**. (1994). Interleukin-12 at the site of disease in tuberculosis. J.clin Invest., **39**:1733-1739.

**Zhang,M.; cong ,J.; lyer, DV.; Jones BE.; modlin ,RL.and Barnes , PF**.(1994).T cells cytokine response in persons with tuberculosis and human immuno defiviency virus infection.J. clin. Invest; **94**:2435-2442.

**Zhang, M.; Lin, Y.; lyer, D.V.; Gong, J.;Abrams, J.S. and Barnes; P.F**.(1995). Tcells cytokinc responses in human infection with M. tuberculosis infect. Immun. **63**:3231-3234.

**Zimmerli,S.;Edwards,S. and Ernst, J.D.(1996).**Selective receptor blockade during phagocytosis dosent alter the survival and growth of mycobacterium tuberculosis

in human macrophage .Am.J.Respir.Cell.Mol.Biol.,15:70-760.


## summary

Tuberculosis considered as danger disease which responsible for infected and death of large number of people in compared with other diseases.

This study aim for get idea about number of patients infected with *Mycobacterium tuberculosis* and study some immunological aspects in this patients . The study is concerned with verifying 200 Sputum samples from infected patients (anew infection )with tuberculosis who came to the consultant clinic for chest and respiratory diseases in Al-Diwaniya Province from November (2009) to Septamber (2010).

The patients are classified accoding to results of the direct microscopic tests for patient's positive smear whose number is 91(45.5%). and patient's negative smear sputum whose number 109(54.5 %)

The study uses lowen stein Jensen media (L.J)which achieves the isolating ratio of (72%).these growing isolators were identified as fast acid bacilli and preduced for niacin and non produced for catalase in 68c .The isolators showed variations in some of biochemical tests.

The Statical results Showed significant differences in the proportion of disease aut break between sex , age periods,location, smoking and used BCG vaccine , while there are no significances differences between diabetes millets infection for persons who infected with TB.

The study also show some immunological results to the following aspects : The rate of active cell in phagocytosis killied yeasts was 37.933 aftter 15 mints for the control group . This rate is increased for the person infected with TB to 50.471. This increasing is significant.

The rate of active cell in phagocytosis killed yeast was 420.333 after 30 mints for the control group , this rate increased to 61.882. This increasing is significant. While the rate of active cell in phagocytosis killed yeast for the control groups was 64.033 after 45 mints and this rate increase to 64.118 in patiernts group .this increasing is signifieant.The rate of active cell in phagocytosis killed yeast was 41.733 after 60 mints .this rate is increased to 71.529 in patient . This increasing is significant compared with control groups .

The concentration of IgG of the TB patients was 1184.053 Mg\100ml . and this increasing is Significant compared with control groups (1016.5333Mg\100ml ).

The concentration of IgA,IgM of control group amounted (315.880 and 119.527) Mg\100ml respectively and this rates for the TB patients were increased to (396.358 and 134.207) mg\100ml respectively .This increasing is significant.

The concentration of complement C3 were closed in the serum of control grouped amounting 102. 578 mg\100ml with TB patients amount 105.280 mg\100ml .This increasing is non significant.while the concentration of C4 was showed a rate 23. 567mg\100ml in serum of control group .This rate increased to 34.013 and this increasing is significant.

The concentration of IL-12 in serum of control group was16.000 pg\ml . This rate increased to 23.328 pg\ml in serum of TB patients . This increasing is significant.

# Isolation and identification of Tubercule bacilli and some Immunological aspects in pulmonary tuberculosis patients in Al-Qadisiya province

**A thesis**
**Submitted to the College of Science**
**Al- Qadisiya University**
**In partial fulfillment of the Requirement for the**
**Degree Master of Science in Biology**
**(Microbiology)**


## By
## Akram Hadi Hamza

## Supervised by
## Dr.Syoof Khowman Alowan

# 2010