



جمهورية العراق  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة  
قسم علوم الحياة

**تقييم مستويات TLR4 و CD19 لدى مرضى التدرن باستخدام تقنية التدفق الخلوي في  
محافظة كربلاء المقدسة**

رسالة مقدّمة  
إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة/جامعة كربلاء  
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير  
في علوم الحياة

من قبل

محمد عباس يونس العباسي  
بكالوريوس علوم الحياة/جامعة كربلاء  
2014

بإشراف  
أ.م.د. هيام عبد الرضا كريم

2021 م

1443 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَيَسْأَلُونَكَ عَنِ الرُّوحِ

قُلِ الرُّوحُ مِنْ أَمْرِ رَبِّي وَمَا أُوتِيتُمْ

مِنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا

مَنْ مَنَّا حَا (الروح) مَنْ مَنَّا حَا (الروح)  
مَنْ مَنَّا حَا (الروح) مَنْ مَنَّا حَا (الروح)



إلى من نحتت في صخر الحياة ليعبد لي درج العلم

والذي رحمه الله

إلى من تترتاح لرؤيتها نفسي وتسهل دعواتها حاجاتي

والذي العزيزة

إلى من هم لي خير سند وعمود

إخوتي الأعمام

إلى رفيقة حياتي ومن هي خير معبنة لي في مشوار الحياة

زوجتي

إلى قرة عيني وكل أهلي

أولادي

أهدي ثمرة جهدي المتواضع هذا

محمد  
أشرف



الحمد لله الواحد الأحد الصمد...الذي لم يلد ولم يولد ... ولم يكن له كفواً أحد ... والصلاة والسلام على  
رسوله المصطفى وعلى أنوار الهدى وبدور الدجى وأعلام الورى أهل بيته الطيبين الطاهرين ... وبعد ...

أتقدم بخالص التقدير والإحترام الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

و أتقدم بجزيل الشكر والتقدير الى قسم علوم الحياة لإتاحة الفرصة لي في إكمال متطلبات الدراسة وأخصّ منهم بالذكر  
أ.م.د.نصير مرزا حمزة.

ويسرني أن أتقدم بفائق الشكر والتقدير الى المشرفه على الرسالة الأستاذ المساعد الدكتور هيام عبد الرضا كريم  
لإقتراحها موضوعها ومتابعتها العلمية المستمرة وتوجيهاتها القيمة ومساعدتها لي طيلة فترة الدراسة متمنياً لها دوام  
التوفيق .

كما أوجه شكري وإعتزالي الى زملائي طلبة الدراسات العليا لدعمهم ومساعدتهم لي طيلة مدّة الدراسة وأوجه  
إمتناني وإعتزالي لكل من ساعدني ممن نسيت ذكرهم.

وأخيراً وليس آخراً فأني أتقدم بوافر حبي وتقديري لمن تعجز كلمات الشكر والعرفان عن رد أفضالهم ... عائلتي..

محمد  
الشيبي

## الخلاصة:

## Abstract

أجريت هذه الدراسة في مركز الامراض الصدرية و مستشفى الحسين التعليمي في محافظة كربلاء المقدسة للمدة من شهر تشرين الاول / 2020 إلى شهر نيسان/ 2021 , شملت الدراسة 51 حالة من كلا الجنسين تراوحت اعمارهم بين (18-60 ) سنة , قسّموا على مجموعتين :المجموعة الأولى تضمنت 36 حالة من مرضى التدرن الرئوي ( 25 حالة تحت المعالجة و 11 حالة تشخيص جديد ) و المجموعة الثانية هي مجموعة الاصحاء وقد تضمنت 15 من الأفراد الأصحاء من كلا الجنسين الذين لا يعانون من اي امراض مزمنة أو أي أمراض التهابية.

هدفت الدراسة الى تقييم تأثير كلا المعيارين المناعيين TLR4 و CD19 في الاستجابة المناعية لدى مرضى التدرن الرئوي , تم إجراء الاختبارات باستخدام تقنية التدفق الخلوي Flow cytometry فضلاً عن إجراء اختبار (IGRA) Interferon-Gamma release assay باستخدام تقنية ELISA لمجموعة التشخيص الجديد ( عدوى جديدة) لتأكيد الإصابة.

أشارت نتائج الدراسة زيادة في عدد حالات الإصابة بمرض التدرن الرئوي بين الفئات العمرية 21-30 سنة و 31-40 سنة و التي تضم 17 مريضاً بنسبة (47.2%) 8 مرضى بنسبة (22.2%) .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية إن نسبة إصابة الذكور بالتدرن الرئوي اعلى من نسبة إصابة الإناث إذ كانت نسبة إصابة الذكور (52.8%) و نسبة إصابة الإناث (47.2%).

اما نتائج التحليلات الاحصائية المتعلقة بقياس مستوى TLR4 فقد اظهرت وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى دلالة  $p \leq 0.001$  بين مجموعة التشخيص الجديد ( عدوى حديثة ) و مجموعة الاصحاء من خلال ملاحظة زيادة في مستوى TLR4 في عينات مرضى التدرن الذين تم تشخيص اصابتهم حديثاً .

فيما أظهر التحليل الاحصائي وجود زيادة في مستوى CD19 في المرضى الذين تم تشخيص اصابتهم حديثاً مقارنة مع مجموعة الاصحاء.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية في مستوى TLR4 و CD19 بين الذكور والاناث.

ولم يلاحظ ايضاً وجود فروق معنوية في مستوى المعايير المناعية المدروسة بين الفئات العمرية المدروسة.

قائمة المحتويات

| الصفحة | العنوان         |
|--------|-----------------|
| أ      | الخلاصة         |
| III-I  | قائمة المحتويات |
| IV-III | قائمة الجداول   |
| IV     | قائمة الاشكال   |

| الصفحة | العنوان           | الفقرة   |
|--------|-------------------|--|
| 1      | Introduction      | المقدمة 1  |
| 3      | Literature Review | الفصل الثاني: استعراض المراجع 2                      |
| 3      |                   | التدرن الرئوي 1.2                                    |
| 4      |                   | تاريخ مرض التدرن 1.1.2                               |
| 5      |                   | بكتريا <i>Mycobacterium tuberculosis</i> 2.2         |
| 6      |                   | التصنيف العلمي لبكتريا <i>M. tuberculosis</i> 1.2.2  |
| 6      |                   | الصفات المظهرية لبكتريا <i>M. tuberculosis</i> 2.2.2 |
| 7      |                   | طرق انتقال المرض: 3.2                                |
| 8      |                   | الوبائية : Epidemiology 4.2                          |
| 10-9   |                   | مراحل الإصابة بمرض التدرن 5.2                        |

|       |  |        |
|-------|--|--------|
| 11    | الإمراضية : Pathogenicity  | 6.2    |
| 12    | البيات دخول <i>M. tuberculosis</i>   | 7.2    |
| 13    | تشخيص بكتريا <i>M. tuberculosis</i> ومرض التدرن                                  | 8.2    |
| 13    | Clinical Examination and الفحص السريري والأشعة السينية على الصدر<br>Chest X-Rays | 1.8.2  |
| 13    | Smear Microscopy of sputum الفحص المجهرى للقشع                                   | 2.8.2  |
| 14    | mycobacterial culture systems أنظمة الزرع البكتيري                               | 3.8.2  |
| 14    | Nucleic Acid Amplification Tests اختبارات تضخيم الحمض النووي<br>(NAATs)          | 4.8.2  |
| 15    | GeneXpert MTB/RIF  | 5.8.2  |
| 15    | Tuberculin Test اختبار التوبركلين  | 6.8.2  |
| 16    | Interferon $\gamma$ release assay(IGRA) اختبار اطلاق السيتوكين IFN- $\gamma$     | 7.8.2  |
| 16    | Immune Response to tuberculosis الاستجابة المناعية ضد مرض التدرن:                | 9.2    |
| 16    | Innate Immunity: المناعة الذاتية   | 1.9.2  |
| 17    | Adaptive immunity المناعة التكيفية   | 2.9.2  |
| 18    | دور الخلايا التائية في الاستجابة المناعية ضد مرض التدرن                          | 3.9.2  |
| 18    | دور (Toll - like receptors) TLRs في الاستجابة المناعية ضد مرض التدرن             | 4.9.2  |
| 19    | دور TLR4 في مرض التدرن   | 5.9.2  |
| 20    | Cluster of differentiation of antigen المستضد CD19                               | 6.9.2  |
| 21    | Flow cytometry تقنية   | 10.2   |
| 22-21 | Flow cytometry استخدامات تقنية   | 1.10.2 |
| 23    | Materials and Methods الفصل الثالث:المواد وطرائق العمل                           | 3      |
| 23    | Materials المواد   | 1.3    |
| 23    | Equipment's and Instruments الاجهزة والمعدات المستخدمة                           | 1.1.3  |
| 24    | Reagent and chemical materials الكواشف والمواد الكيميائية المستخدمة              | 2.1.3  |

|    |  |        |
|----|--|--------|
| 24 | عدة فحص CD19 و TLR4  | 3.1.3  |
| 25 | عدة فحص الإليزا ELISA kit                                  | 4.1.3  |
| 25 | طرائق العمل  | 2.3    |
| 25 | العينات Samples  | 1.2.3  |
| 27 | Blood samples collect جمع عينات الدم                       | 2.2.3  |
| 27 | طريقة قياس مستوى CD19 في الدم باستخدام جهاز Flow cytometry | 3. 2.3 |
| 28 | طريقة قياس مستوى TLR4 في الدم باستخدام جهاز Flow cytometry | 4.2.3  |
| 29 | 5 طريقة اجراء اختبار IGRA test                             | 5.2.3  |
| 30 | التحليل الاحصائي Statistical analysis                      | 3.3    |
| 31 | الفصل الرابع:النتائج و المناقشة Results and Discussion     | 4      |
| 31 | العينات المدروسة لمرضى التدرن الرئوي                       | 1.4    |
| 32 | Toll like receptors 4                                      | 1.1.4  |
| 32 | Cluster of differentiation 19                              | 2.1.4  |
| 33 | التوزيع العمري لمرض التدرن الرئوي                          | 2.4    |
| 36 | توزيع مرض التدرن حسب نوع الجنس                             | 3.4    |
| 37 | تأثير الجنس على مستوى CD19 و TLR4 في الدم                  | 4.4    |
| 39 | تأثير العلاج على المعايير المناعية                         | 5.4    |
| 44 | الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendation       | 5      |
| 44 | الاستنتاجات  | 5      |
| 45 | التوصيات   | 5      |
| 46 | المصادر References   |        |

#### قائمة الجداول

| رقم الجدول | عنوان الجدول | الصفحة |
|------------|--------------|--------|
|------------|--------------|--------|



|    |   |     |
|----|---|-----|
| 23 | الأجهزة والمعدات المستخدمة                          | 1-3 |
| 24 | الكواشف والمحاليل الكيميائية المستخدمة              | 2-3 |
| 24 | عدة فحص CD19 و TLR4                                 | 3-3 |
| 25 | عدة فحص الإليزا ELISA kit                           | 4-3 |
| 32 | متوسطات مستويات TLR4 و CD19 في مرض التدرن           | 1-4 |
| 33 | تأثير العمر على مستوى TLR4 في الدم                  | 2-4 |
|    |   |     |
| 34 | تأثير العمر على مستوى CD19 في الدم                  | 3-4 |
| 38 | تأثير الجنس على مستويات TLR4 و CD19 في الدم         | 4-4 |
| 40 | متوسطات مستويات كل من TLR4 و CD19 في مجاميع الدراسة | 5-4 |

#### قائمة الاشكال

| الصفحة | عنوان الشكل                                | رقم الشكل |
|--------|--|-----------|
| 26     | مجاميع الدراسة والاختبارات                 | 1-3       |
| 35     | توزيع مرض التدرن الرئوي حسب الفئات العمرية | 1-4       |
| 36     | النسبة المئوية للإصابة بين الجنسين         | 2-4       |
| 42     | متوسط تراكيز TLR4 في مجاميع الدراسة        | 3-4       |
| 43     | متوسط تراكيز CD19 لمجاميع الدراسة          | 4-4       |

قائمة المختصرات

| الاختصار      | العبرة الكاملة                         |
|---------------|--|
| AFB           | Acid Fast Bacillus                     |
| AIDS          | Acquired Immuno-Deficiency Syndrome    |
| ANAs          | Anti Nuclear Antibodies                |
| APC           | Antigen Presenting Cell                |
| CD            | Cluster of Differentiation of Antigen  |
| CMI           | Cell mediated immunity                 |
| CVID          | Common Variable Immuno-Deficiency      |
| DOTS          | Directly Observed Therapy Short-Course |
| DST           | Drug Susceptibility Test               |
| DTH           | Delayed Type of Hypersensitivity       |
| EDTA          | Ethylene Di Amine Tetra Acetic Acid    |
| HIV           | Human Immuno- Deficiency Virus.        |
| IGRA          | Interferon-Gamma Release Assay         |
| INF- $\gamma$ | Interferon-Gamma                       |
| MDR           | Multi Drug Resistant                   |
| PAMP          | Pathogen Associated Molecular Patterns |
| PPD           | Purified Protein Derivative            |
| PRRS          | Pathogen Recognition Receptors         |
| TCR           | T – Cells Receptors                    |

|                  |                           |
|------------------|---------------------------|
| Th1              | T Helper 1 Lymphocyte     |
| TiO <sub>2</sub> | Titanium Dioxide          |
| TLR              | Toll-Like Receptor        |
| TST              | Tuberculin Skin Test      |
| WHO              | World Health Organization |

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

يعد التدرن الرئوي أحد أهم الأمراض المعدية و الانتقالية الخطيرة التي تسبب الآف من الوفيات في جميع أنحاء العالم، ينتقل من شخص إلى آخر عن طريق العديد من الطرق مثل العطاس و قطرات الهواء والسعال, يعد التدرن أحد الأمراض السارية و سبب لاعتلال الصحة , كما يصنف كأحد الأسباب العشرة الأولى للوفاة على مستوى العالم , و السبب الرئيس للوفاة ناجم عن عامل مُعدٍ واحد (في مرتبة أعلى من فايروس العوز المناعي البشري / الإيدز ) ,عالمياً أصيب ما يقدر بنحو 10 ملايين شخصاً (يتراوح بين 8.9 و 11 مليون شخصاً بالتدرن في عام 2019 م , وينخفض هذا العدد ببطء في السنوات الأخيرة , حيث في عام 2019 م ، أصيب 1.2 مليون طفل بالسل في العالم. وكثيراً ما يغفل مقدمو الخدمات الصحية عن السل بين الأطفال والمراهقين ويمكن أن يكون تشخيصه وعلاجه صعباً. (WHO, 2020) الأعراض الرئيسية في المرضى الذين يعانون من مرض التدرن هي الصداع والحمى وفقدان الوزن التعرق الليلي الشديد (Divala et al., 2020; Modi et al., 2020). عدم كفاية القدرة على التشخيص السريع والدقيق لمرض التدرن النشط في البلدان النامية لا يزال يشكل عقبة رئيسية في مجال مكافحة العالمية للمرض (Wallis et al., 2010). التدرن هو أولوية الصحة العامة في العراق. والبلد من بين 7 بلدان في المنطقة التي تتحمل عبئاً كبيراً من التدرن الرئوي وتمثل 3 % من العدد الإجمالي للحالات. ويقدر عدد مرضى التدرن في العراق بنحو 20000 مريض. تقدر الوفيات الناجمة عن التدرن بحوالي 200 إلى 4000 سنوياً (Hamzah & ALJanaby, 2020; WHO, 2017) , بكتيريا *Mycobacterium tuberculosis* هي المسبب الرئيس لهذا المرض (Sousa et al., 2020). تتميز بكتيريا *M. tuberculosis* بأنها تكون على شكل عصيات موجبة لصبغة غرام و لا تكون الابواغ , تنتمي جنس *Mycobacterium* الى عائلة *Mycobacteriaceae* (Brighenti & Lerm, 2012). الاختبارات المزرعية للبكتيريا توضح أنها بكتيريا هوائية و تحتاج إلى مستويات عالية من الاوكسجين (Ryan & Ray, 2004a). تلعب كل من المناعة الذاتية والمكتسبة دوراً حاسماً في عدوى التدرن ، حيث تعمل السيتوكينات المضادة للالتهابات على التوسط في الاستجابة المناعية للجسم ، والتي تفرزها الخلايا الشجرية *Dendritic cells* والخلايا البلعمية *Macrophages* (Ferreira et al., 2018) . هذه الاستجابة المناعية السريعة تمنع التكاثر البكتيري وتساعد في قمع العدوى إذ تلعب الخلايا البلعمية دوراً مهماً في تقديم المستضد والمناعة بواسطة الخلايا التائية *T cells* (Hirayama et al., 2018). العدوى التي تسببها مستضدات *M. tuberculosis* تؤدي الى تنشيط الخلايا البائية (*B cells*) وتؤدي إلى تطوير الخلايا البلازمية المنشطة التي لديها لقدرة على إفراز الأجسام المضادة الخاصة بالتدرن وإنتاج السيتوكينات (Rao et al., 2015 ; Mohammed & Aljanaby, 2020). تنظم هذه الأجسام المضادة المحددة وظائف المستجيب مثل الاستساعة للخلايا البكتيرية ، والسمية الخلوية المعتمدة على الأجسام المضادة ومعادلة المستضدات المفرزة ، والخلايا البائية *B cells* هي أيضاً خلايا فعالة لتقديم المستضدات التي تستجيب للمستضدات المفردة أو مسببات الأمراض الكاملة

(Loxton, 2019). تنشأ الخلايا التشنجيرية الناضجة وغير الناضجة من الخلايا التي تعرض TLR2 و TLR4 , Toll- Like Receptors هي فئة من مستقبلات التعرف على الأنماط التي تبدأ الاستجابة المناعية الذاتية عن طريق استشعار الأنماط الجزيئية المحفوظة من أجل التعرف المناعي المبكر على العامل الممرض ( Wallet *et al.*, 2018) تم عرض العديد من وظائف المستقبلات TLRs ، مثل التعرف على المستضدات الذاتية وغير الذاتية ؛ الكشف عن غزو مسببات الأمراض. وتنظيم إنتاج السيتوكينات وانتشارها وبقائها ( Reuven *et al.*, 2014; Vidya *et al.*, 2018) يُعتقد أن المستقبلات الرئيسية التي تتعرف على المستضدات الخاصة بعصيات التدرن وتنشط الخلايا البلعمية والخلايا التشنجيرية هي مستقبلات (TLRs) (Quesniaux *et al.*, 2004). عناقيد التمايز CD19: هو بروتين عبر الغشاء يتم التعبير عنه بشكل خاص في الخلايا البائية الطبيعية والأورام , هو بمثابة هدف جاذب للعلاج المناعي لأسباب عديدة (Chackalamannil *et al.*, 2017). تم التعبير عن CD19 على سطح خلايا سرطان الدم في أكثر من 90% من حالات سرطان الدم الليمفاوي الحاد, وسرطان الدم الليمفاوي المزمن chronic lymphocytic leukemia (CLL) وبالتالي ، يعتبر مستضد CD19 هدفًا مثاليًا للعلاج المناعي لأورام الخلايا البائية الخبيثة (Stanciu-Herrera *et al.*, 2008), قياس التدفق الخلوي Flow cytometry هي تقنية تستخدم لاكتشاف وقياس الخصائص الفيزيائية والكيميائية لمجموعة من الخلايا أو الجسيمات ( Picot *et al.*, 2012). يعد قياس التدفق الخلوي أحد أقوى الأدوات لتحليل الخلية الواحدة لجهاز المناعة على المستوى الخلوي (Maecker *et al.*, 2012; Maecker & McCoy, 2010).

هدفت هذه الدراسة الى تشخيص مرض التدرن الرئوي في بعض المرضى ودراسة بعض المعايير المناعية في المرضى . وقد تضمنت هذه الدراسة الجوانب التالية:

- 1- تشخيص بكتيريا التدرن *M. tuberculosis* لدى المرضى
- 2- دراسة علاقة كلا من المعايير المناعية (TLR4 و CD19 ) لإيجاد علاقتهما بالاستجابة المناعية ضد المرض
- 3- دراسة تأثير تلقي العلاج في مستوى المعايير المناعية.
- 4- دراسة تأثير بعض العوامل في نسب الإصابة بالتدرن مثل العمر والجنس في عينات الدراسة

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literature Review

التدرن (Tuberculosis (TB) هو مرض معدي مهم طبياً تسببه البكتريا العصوية المسماة *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). يمكن أن يؤثر التدرن على العديد من أعضاء الجسم البشري ، والرئتين (التدرن الرئوي) أكثر تواتراً لأن القطيرات المحمولة جواً تنتقل عن طريق السعال وتنتشر من شخص لآخر لتصل إلى حوالي 1.7 مليار شخص بينهم 5-15% من هؤلاء الأفراد سيصابون بمرض التدرن النشط خلال حياتهم (WHO, 2018) , يعد مرض التدرن مشكلة صحية في معظم بلدان العالم إذ يتسبب في إصابة أكثر من ثمانية مليون شخصاً في العالم (Frieden *et al.*, 2003). كما يتسبب في وفاة حوالي مليوني شخصاً في العالم سنوياً (Davis *et al.*, 2007) , العوامل التي تزيد الإصابة بمرض التدرن تتمثل بازدياد المجاميع البشرية في مواقع معزولة مثل السجون ومعسكرات الجيش والهجرة من المناطق الموبوءة إلى المناطق الأقل وبائية . من العوامل المهمة أيضاً الإصابة بفيروس العوز المناعي HIV حيث أن هذه العوامل تزيد من خطر الإصابة و انتشار المرض (WHO, 2006). تعد بكتريا *Mycobacterium tuberculosis* المسبب الرئيس لمرض التدرن الرئوي كما ان هناك أنواع أخرى من البكتريا مثل *M. africanum* و *M. bovis* لها القدرة على إحداث المرض في الإنسان ولكن بنسب أقل (Fitzgerald & Haas, 2005) يعد التدرن Tuberculosis من الأمراض المزمنة , تصيب مختلف أجزاء الجسم وبصورة رئيسة الرئتين , ينتقل المرض بواسطة الرذاذ وقد سجلت إصابات عن طريق الأغذية الملوثة أيضاً (العاني وبدوي, 2000). تختلف حدة الإصابة بهذا المرض باختلاف مناعة جسم المريض فهو إما أن يتطور إلى إصابة فعالة (Active infection) او إصابة كامنة (Latent infection) حيث تتطور الإصابة الكامنة فيما بعد إلى إصابة فعالة (Ryan & Ray, 2004). إن حوالي 75% من حالات الإصابة بهذا المرض تحدث بين الاعمار المنتجة و العاملة أي ما بين 15-45 سنة , و هذا المرض مسؤول عن إصابة ثلث سكان العالم إلا انه حوالي 5 - 10 % فقط من المصابين تتطور الإصابة لديهم إلى تدرن رئوي فعّال (WHO, 2006b) النسبة الأكبر من الإصابات تحدث في أكثر من 22 دولة تمتاز بالكثافة السكانية (Dye, 2006) حيث تشكل دول جنوب غرب اسيا أكبر نسبة بين الإصابات تأتي بعدها دول شرق اسيا بينما تشكل الصين والهند وبنغلادش وباكستان واندونيسيا 4.8 % من المجموع الكلي لحالات الإصابة بينما تشكل دول امريكا و اوروبا النسبة الأقل من حالات الإصابة (Dye *et al.*, 1999) . تختلف هذه النسبة باختلاف مناطق الإصابة حيث تصل إلى 1.8 % الدنمارك و 8.5 % في ايسلندا و 15.7 % في البرتغال (WHO, 2006b) اما في العراق فقد صنفت بحسب منظمة الصحة العالمية بأنه من الاقطار المتوسطة الوبائية عالمياً ويحتل المركز السابع اقليمياً , تشير معظم التقارير و الإحصائيات الرسمية الخاصة بمرض التدرن في العراق بأنه بلغ مرحلة الانحسار النسبي والتي قد تم القبول بها مبدئياً حيث كانت الإصابة متزايدة حتى عام 2000



م إلا أن اعتماد النظام العلاجي (DOTS) Directly Observed Therapy Short-Course بدأت تظهر نتائجه على الواقع الصحي وعلى مرض التدرن , ثم بدأت معدلات الإصابة بالتزايد مرة أخرى بعد عام 2003 (WHO, 2004) .

## 2-1-1 تاريخ مرض التدرن:

يعود تاريخ مرض التدرن إلى العصور القديمة (Daniel, 2009). مرض التدرن (TB) أصاب الإنسان منذ الأزل. إذ تم العثور على أدلة على المرض في العمود الفقري في المومياءات المصرية قبل عدة آلاف من السنين قبل الميلاد ، كما تم العثور على إشارات إلى التدرن في الكتابات البابلية والصينية القديمة (Smith et al., 2006). فقد عثر على بكتريا *M.tuberculosis* في هيكل عظمي يعود تاريخه إلى 700 سنة قبل الميلاد كما عثر أيضاً على البكتريا المسببة للمرض في مومياء يعود تاريخها إلى 2000-3000 سنة قبل الميلاد (Hershkovitz et al., 2008). وفي كتابات الطبيب اليوناني القديم أبقراط (400 قبل الميلاد).

تختلف النظريات القديمة حول أصول مرض التدرن بشكل كبير ولكنها تتضمن إشارات إلى كل من الأصل الوراثي والمعدني (Gallant et al., 2007) , يبدو أن التدرن البشري أقدم بكثير من حوالي 10000 عام وهو مدعوم بعدة أدلة إضافية (Hershberg et al., 2008) , اكتشف العالم Franciscus sylvus, في القرن السابع عشر الدرنات Tubercles وعرفها على أنها نُدب صغيرة تشبه حبات الرمل توجد في رئات المصابين (Campbell, 1953) .

أظهرت دراسات الوراثة الجزيئية أن بكتريا *M.tuberculosis* السبب الأكثر شيوعاً لمرض التدرن لدى البشر في جميع أنحاء العالم ، لها سلف يبلغ عمره حوالي 3 ملايين سنة (Gutierrez et al., 2005), في عام 1880م تم اثبات أن مرض التدرن هو مرض معدٍ , حيث اصبح المرض ذو أهمية فبدأت حملات في المملكة المتحدة لمنع البصق على الأرض وحجر المصابين في المحاجر الصحية (McCarthy, 2001) . أوضح روبرت كوخ (1843-1910) مسببات مرض التدرن (TB) واعتبره أحد أكثر الأمراض المدمرة للبشرية لأول مرة في عام 1882م. (Koch et al., 1932; R. Koch, 1882) . وفي نفس العام استطاع روبرت كوخ اكتشاف ان عصيات السل التي سميت باسمه هي التي تسبب مرض التدرن إلا انه لم يكن يعلم أنها تصيب الإنسان والحيوان وفي عام 1890 تمكن روبرت كوخ من إستخلاص الكلسرين من العصيات التي تسبب التدرن اسماه بـ التيوبركلين حيث استعمله علاجاً لمرض التدرن إلا أن هذا العلاج أثبت عدم فاعليته في التأثير على الإصابة, و استعمله فيما بعد للكشف عن وجود الإصابة (Waddington, 2004). خلال القرن التاسع عشر سبب مرض التدرن الرئوي أكثر من 25 % من الوفيات في أوروبا بسبب عدم توفر علاج فعال للتدرن, حيث كانت معظم حالات الإصابة بالتدرن الرئوي تؤدي إلى الوفاة, وخلال هذه المدة تمكن اطباء الجراحة من تقديم بعض انواع العلاج الجراحي لمرضى التدرن الرئوي مثل استئصال بعض الأجزاء من الرئة او إغلاق فجوة درنية في الرئة مما أدى إلى إنتكاس الجزء المصاب من الرئة (Rieder et al., 2002) . في عام

1906م تمكن العالمين Albert Calmette و Camile Guerin من تطوير لقاح من عصيات السل البقري سمي اللقاح (BCG) Bacillus Calmitte Guerin حيث تم استعمال هذا اللقاح لأول مره للإنسان في فرنسا عام 1921م (Gutierrez et al., 2005). لايزال مرض التدرن مشكلة صحية و اجتماعية خطيرة في العراق تم افتتاح أول مستوصف للأمراض الصدرية في العاصمة بغداد عام 1935 م , وفي عام 1944م أسست جمعية مكافحة التدرن لمكافحة المرض و التوعية الصحية , في عام 1952م اجريت اول عملية تطعيم ضد مرض التدرن باستعمال لقاح BCG وفي عام 1970م أقرّ لقاح BCG على طلبة المدارس حيث عدت هذه الخطوة عملية تحول فعّالة في مكافحة مرض التدرن ولكن بدأ المرض بتزايد كبير في عدد الاصابات في بداية الثمانينات حيث ارتفعت الاصابات من 3862 إصابة عام 1987م إلى 19051 إصابة عام 2000م ( هاشم ومرزوك , 2001).

## 2-2-2 بكتريا *Mycobacterium tuberculosis*

تعد بكتريا *M. tuberculosis* المسؤول عن الإصابة بهذا المرض , إذ تمتاز بكونها معقدة (Wayne & Sohaskey, 2001) تصيب عصيات التدرن الجهاز التنفسي والرئتين بشكل أساسي و تمتلك هذه العصيات القدرة على إصابة أجزاء أخرى من الجسم مثل الجهاز البولي و العظام و الجلد (Gatfield & Pieters, 2000). يصيب مرض التدرن Tuberculosis البالغين والاطفال على حد سواء , طبقاً لمنظمة الصحة العالمية فإن نسبة إصابات الأطفال تشكل 10 – 20 % من مجموع الإصابات بهذا المرض (Chintu et al., 2002; Jeena P et al., 2002).

## 1-2-2 التصنيف العلمي لبكتريا *M. tuberculosis*

تصنيف *M. tuberculosis* على النحو التالي: (Palomino et al., 2007)

**Kingdom :** Bacteria

**Phylum :** Actinobacteria

**Class :** Actinobacteria

**Subclass :** Actinobacteridae

**Order :** Actinomycetales

**Suborder :** Corynebacterineae

**Family :** Mycobacteriaceae

**Genus :** *Mycobacterium* (unique genus)

**Species :** *tuberculosis*

ينتمي جنس بكتريا *Mycobacterium* إلى رتبة Actinomycetes عائلة Mycobactereacea , يضم هذا الجنس أكثر من 80 نوعاً مختلفاً (Havliir & Barnes, 1999). هناك 14 نوعاً تقريباً من هذه البكتريا قادرة على إحداث المرض *M.tuberculosis* و *M.kanasii* و *M.africanum* و *M.xnopi* و *M.scrofulaceum* و *M.asiaticum* و *M.avium* و *M.szulgai* و *M.thermosistible* و *M.malmoense* و *M.chelonae* و *M.intracellulare* و *M.fortuitum* و *M.simiae* (Baron et al., 1994) كما ان هناك نوعاً آخر هو *M.gordonae* لم يتم تصنيفه على أنه ممرض لكن تم عزله من مريض مصاب بالتدرن الرئوي (Hasegawa et al., 1992).

## 2-2-2 الصفات المظهرية لبكتريا *M. tuberculosis*

تعد الصفات المظهرية لمستعمرات بكتريا التدرن مهمة في التشخيص المختبري بسبب اختلاف البكتريا في شكل المستعمرة ودرجة الحرارة المثلى للنمو حيث أن درجة الحرارة المثلى لـ *M.kanasii* و *M.tuberculosis* هي 37 °م أما الأنواع الأخرى تنمو في درجة حرارة بين 30 – 34 °م , إضافة إلى ذلك تحتاج أفراد هذا الجنس خلال نموها على الوسط الزراعي إلى 5-10 % من CO<sub>2</sub> و 0.5 % كليسرول (Kubica & Wayne, 1984). مجهرياً تمتاز بكتريا *M.tuberculosis* بشكها العصوي تبلغ حوالي 0.4 × 3 مايكرومتر, لا تكون الابواغ , بكتريا هوائية مجبرة تتطلب مستويات عالية من الأوكسجين لذلك فإنها تصيب الفص العلوي من الرئتين (Cheng & Yang, 2018).

بينت الدراسات استخدام وسطين لزراعة *M.tuberculosis* هما وسط Middlebrook وهو وسط قائم على أجار ووسط Lowenstein-Jensen يحتوي الوسط على البيض. تستغرق عملية الزرع حتى ظهور مستعمرات مرئية من 4-6 اسابيع على كلا النوعين (Todari, 2011), وذلك لان *M. tuberculosis* بكتريا بطيئة النمو ويبلغ وقت التضاعف من 12-24 ساعة في ظل الظروف المثلى (Delogu et al., 2013). وهي ذات تغذية كيميائية عضوية , تكون مستعمرات خشنة برتقالية اللون على الوسط الزراعي Lowenstein-Jensen agar في ظروف مختبرية مثالية عند درجة حرارة 37 °م (Gordon & Parish, 2018), يمتاز جدار الخلية البكتيرية بأنه غني بالأحماض الدهنية وحامض الميكوليك Mycolic acid المسؤولين عن المقاومة ويعد عامل ضراوة رئيس وله خصائص طبية وفسولوجية مختلفة (Knechel, 2009; Todari, 2011). بالإضافة إلى ذلك , يتفاعل حامض الميكوليك Mycolic acid مع جهاز المناعة , كوسيلة تقوم بها بكتريا التدرن بقمع الاستجابة المناعية للمضيف (Karakousis et al., 2004).

## 2- 3 طرق انتقال المرض :

تنتقل عصيات التدرن من الإنسان المصاب إلى الإنسان السليم فقط (Chan *et al.*, 2000). من خلال السعال و العطاس والتكلم و التماس المباشر مع المريض . إذ تطرح مع السعال قطيرات حاوية على العصيات وتعلق وتنتقل مع التيارات الهوائية التي يمكنها أن تحتفظ بالعصيات لمدة طويلة ونشرها في أماكن مختلفة وعند استنشاقها تبقى في القناة التنفسية العليا , ثم تبتلع هذه العصيات من قبل الخلايا البلعمية الكبيرة وتبقى حية فيها من دون تحطم, وتستمر بالتضاعف داخل هذه الخلايا بعدها تنتقل هذه الخلايا المصابة الى العقد اللمفاوية متسببة بإصابتها واصابة أعضاء أخرى مثل الكلى والعظام و الجزء العلوي من الرئة (Correa, 1997).

يعتمد إنتقال العصيات على عدد الإصابات في المجتمع , بينما تعتمد حساسية الأفراد للإصابة على عدد العصيات المستنشقة ومدة التعرض لمصدر العدوى (Starke, 1996). تعد العادات الإجتماعية و أماكن العيش المزدحم من العوامل المهمة التي تزيد من خطر الإصابة نتيجة التماس المباشر مع المصابين إلا أن هذه العوامل لا تشكل نسبة معتمدة من نسب الإصابة بهذا المرض (Brailey,1996). كما تسهم العوامل البيئية أيضاً في نشر الإصابة ، إذ أن تركيز العصيات في البيئة يعتمد على تهوية المنطقة والتعرض للأشعة فوق البنفسجية, ومن عوامل نشر وتزايد الإصابة الأخرى هي التجمعات في المدارس وحالات الفقر وغيرها من العوامل التي تؤدي الى تطور المرض (American Academy Of Pediatrics, 2003) .

## 2- 4 الوبائية : Epidemiology

المصدر الأكثر شيوعاً للإصابة بمرض التدرن هو الإنسان الذي يفرز بشكل خاص من الجهاز التنفسي أعداد كبيرة من عصيات التدرن إلى المخالطين القريبين (أفراد الأسرة والكادر الطبي). , يعتمد خطر اكتساب عصيات التدرن على التعرض لمصادر العصيات المعدية ( المرضى المصابون) قشع المصابين بشكل اساسي. يتناسب هذا الخطر مع معدل الإصابة النشطة بين السكان ، والازدحام ، والحرمان الاجتماعي والاقتصادي ، وعدم كفاية الرعاية الطبية. قد يكون لتطور المرض السريري بعد الإصابة سبب وراثي ، يتأثر بالعمر (خطر كبير في الأطفال وكبار السن) ، ونقص التغذية والحالة المناعية (فيروس نقص المناعة البشرية ، والأدوية السامة للخلايا ، ونقص المناعة) ، والأمراض المتعايشة مثل ( السكري ) (Jawetz, 2007). بالمقارنة مع الأمراض الأخرى ، ليس من السهل الإصابة بالتدرن فإن متوسط وقت التعرض حتى الإصابة هو شهرين.(Salazar-Schicchi *et al.*, 2004) . ان ظهور سلالات مقاومة للأدوية المتعددة (MDR) Multi drug resistance من بكتريا *M. tuberculosis* في السنوات الأخيرة أدى إلى زيادة انتشار المرض (McCray *et al.*, 1997).

اصيب ما يقدر بنحو 10 ملايين شخص بمرض التدرن في عام 2019 , وكان هناك ما يقدر بنحو 1.2 مليون حالة وفاة (يتراوح عددهم بين 1.1 و 1.3 مليون ) بالتدرن بين الاشخاص غير المصابين بفيروس العوز المناعي البشري في عام 2019 ( بانخفاض من 1.7 مليون في عام 2000) , ونحو 208000 حالة وفاة أخرى (يتراوح عددهم بين 177000 و 242000 ) بين الاشخاص المصابين بفيروس العوز المناعي البشري ( بانخفاض من 678000 في عام 2000) , وكان الذكور (الذين تبلغ اعمارهم 15 عاماً أو أكثر ) يمثلون 56 % من الأشخاص الذين أصيبوا بالتدرن في عام 2019 , بينما تمثل النساء 32 % والأطفال ( دون 15 عاماً ) 12 % و من بين هؤلاء المصابين كان 8.2 % من الأشخاص المتعاشين مع فيروس العوز البشري .

ومن الناحية الجغرافية , تركز معظم الأشخاص الذين أصيبوا بالتدرن في عام 2019 في اقاليم منظمة الصحة العالمية ( WHO ) التالية : جنوب شرق اسيا ( 44 % ) , و افريقيا ( 25 % ) , وغرب المحيط الهادئ ( 18 % ) , مع نسب اقل في الشرق المتوسط ( 8.2 % ) , و الامريكيتين ( 2.9 % ) , و اوروبا ( 2.5 % ) , و استأثرت ثمانية بلدان بثلاثي الإجمالي العالمي : الهند ( 26 % ) , و اندونيسيا ( 8.5 % ) , و الصين ( 8.4 % ) , و الفلبين ( 6 % ) , و باكستان ( 5.7 % ) , و نيجيريا ( 4.4 % ) , و بنغلاديش ( 3.6 % ) , و جنوب افريقيا ( 3.6 % ) . (WHO, 2020).

## 5-2 مراحل الإصابة بمرض التدرن

جدول (1-2) تصنيف مراحل الإصابة بمرض التدرن ( American Thoracic Society, 2000 )

| Class | Type  | Description  |
|-------|---|--|
| 0     | No TB exposure Not infected                 | No history of TB exposure and no evidence of M. tuberculosis infection or disease<br>Negative reaction to TST or IGRA  |
| 1     | TB exposure No evidence of infection        | History of exposure to M. tuberculosis<br>Negative reaction to TST or IGRA (given at least 8 to 10 weeks after exposure)   |
| 2     | TB infection No TB disease                  | Positive reaction to TST or IGRA<br>Negative bacteriological studies (smear and cultures)<br>No bacteriological or radiographic evidence of active TB disease  |
| 3     | TB clinically active                        | Positive culture for M. tuberculosis OR<br>Positive reaction to TST or IGRA, plus clinical, bacteriological, or radiographic evidence of current active TB   |
| 4     | Previous TB disease (not clinically active) | May have past medical history of TB disease<br>Abnormal but stable radiographic findings<br>Positive reaction to the TST or IGRA<br>Negative bacteriologic studies (smear and cultures)<br>No clinical or radiographic evidence of current active TB disease |
| 5     | TB suspected                                | Signs and symptoms of active TB disease, but medical evaluation not complete   |

(Source: Transmission and Pathogenesis of Tuberculosis)

يمر مرض التدرن بثلاث مراحل من الإصابة التي تظهر في الأشخاص المصابين بهذا المرض وهي على النحو الآتي :

### 1 – الإصابة الأولية : Primary infection

في هذه المرحلة تلتصق عصيات التدرن على الطبقة المخاطية للحوصلات الرئوية بعد إستنشاق القطيرات الهوائية التي تحتوي على العصيات , وتتحرك هذه العصيات إلى الأنسج التنفسية أو الحوصلات الرئوية النهائية , بعد ذلك تبدأ هذ العصيات بعملية التضاعف داخل الحوصلات وبالتالي تتطور الإصابة ويحدث ذلك في الفصوص السفلية من الرئة (O'Brien & Spigelman, 2005). يمتاز هذا النوع من الإصابة بغياب العلامات والدلالات المرضية حيث يشكل الاطفال النسبة الاكبر من الإصابة , إذ يشكل الاطفال الذين تنحصر اعمارهم بين 1-6 سنوات نسبة 80-90% من المجموع الكلي للإصابات بينما الاطفال الذين هم بعمر أقل من سنة واحدة فأنهم يشكلون نسبة تصل الى 40-50% من المجموع الكلي للإصابات (Vallejo & Starke, 1996).

### 2 – الإصابة الكامنة : Latent infection

يحدث هذا النوع من الإصابة عندما تكون الإستجابة المناعية قوية وكافية لإيقاف عملية التضاعف للعصيات بعد حدوث الإصابة الأولية , تعتمد مدة هذه الإصابة على عمر المريض وإصابته بالأمراض الأخرى حيث ان 85-90% من المصابين تستمر الإصابة لديهم مدى الحياة (Soini & Musser, 2001). تتميز هذه الإصابة بظهور النُدب في الفصوص العليا للرئة و يدل ذلك على العلاقة بين العصيات و الإستجابة المناعية الخلوية (Drobniewski *et al.*, 2003)

### 3 – الإصابة ما بعد الأولية : Post-primary infection ( Secondary tuberculosis)

يطلق أيضاً على هذا النوع من الإصابة بالتدرن الثانوي Secondary tuberculosis حيث تحدث نتيجة لضعف مناعة المصابين وتطور الإصابة الأولية إلى إصابة ثانوية من خلال حدوث تنشيط للإصابة الجديدة او دخول عصيات جديدة (Verver *et al.*, 2005). تحدث هذه الإصابة في 10-15% من المصابين بالإصابة الأولية , إذ إن نصف هؤلاء يتطور المرض لديهم خلال السنتين الأولى من حدوث الإصابة أما النصف الثاني فتتطور لديهم الإصابة خلال فترات مختلفة أي بعد مرور عدة سنوات من حدوث الإصابة الأولية (Innes & Reid, 2006).

## 6-2 الإمبراضية: Pathogenicity of Mycobacterium

تعد الرئة هي العضو الأول الذي يحدث فيه الإصابة من خلال إستنشاق القطيريات الهوائية الحاوية على عصيات التدرن (Volk, 1996). تلتصق هذه القطيريات بعد إستنشاقها على الغشاء المخاطي للقناة التنفسية العليا , عند إستنشاق أعداد كبيرة من هذه القطيريات الحاوية على العصيات فإنه يتم الإستجابة ضدها من خلال الدفاعات الهدبية المخاطية (Russell, 2007). حيث تقوم خلايا البلعم الكبير الحوصلية Alveolar macrophage بالتهام عصيات التدرن عندها تبدأ عصيات التدرن بالتكاثر في موقع يسمى بؤرة كون Cohen focus , تنمو عصيات التدرن ببطئ داخل الخلايا البلعمية الكبيرة , إنّ عصيات التدرن لا تفرز السموم الداخلية و الخارجية ولهذا السبب لا تحدث إستجابة مناعية مبكرة (Smith & Wiegand, 1989) تقوم الخلايا التشرجية Dendritic cells بمهاجمة عصيات التدرن , تعمل الخلايا التشرجية على نقل العصيات إلى مجرى الدم حيث يتم نقلها الى الأعضاء البعيدة في الجسم التي يمكن أن يتطور فيها المرض مثل العقد للمفاوية المحيطية و الكلى و الدماغ و الأجزاء العليا من الرئة ( Thoen & Steele, 1995). عند دخول عصيات التدرن إلى الجسم يحدث تحفيز لإستجابة مناعية خلطية ضدها لحماية الجسم من المرض (Stead, 1989). إن ما يميز هذه العصيات هي كونها داخل خلوية وهذه الصفة تسهم في صعوبة علاجها (Kusner, 2005). وتمتاز أيضاً هذه العصيات بأنها قادرة على البقاء حية داخل خلايا البلعم الكبير الحوصلية ( Ahmed, 2009). , يتمحور نجاح هذا العامل الممرض الخبيث حول القدرة على تجنب التدمير من خلال الإستجابة المناعية طوال مسار العدوى التي قد تستمر مدى حياة المضيف , وذلك لأن العصيات تكيفت للبقاء على قيد الحياة والتكاثر داخل خلايا المضيف. , بشكل أساسي داخل الخلية المناعية المصممة لتدمير الكائنات الحية الدقيقة المهاجمة (الخلايا البلعمية الكبيرة) (Russell, 2001). , تمتاز عصيات التدرن بامتلاكها عاملاً يكون مسؤولاً عن نهك جسم المريض يسمى عامل التحزم (Cord factor) او **Trehalose dimycolate** وهو الدهون الأولية الموجودة على السطح الخارجي لخلايا عصيات السل (Hunter et al., 2006) , حيث وجد أنه عند تنقية هذا العامل وحقنة في فئران المختبر يتسبب في موتها وكذلك له القدرة على تثبيط هجرة خلايا الدم البيضاء متعددة الانوية من خلال إرتباطه بغشاء المايكوبلازما ويسبب تحطم وظيفي لعملية التنفس وعملية الفسفرة التأكسدية (Volk, 1996) . ويعد عامل التحزم أحد عوامل الضراوة و التي تحتوي على خصائص مستضدية مثل أولاً محفزة للخلايا البائية B-Cells منتجاً ضدّاً متخصصاً بالمرض ثانية محفزة للخلايا التائية اللمفية و ثالثة محفزة لفرط الحساسية , يواكب هذه التفاعلات المناعية تفاعل نسيجي مرضي يتمثل بتكوين خلايا عملاقة (Giant cells) وآفات من ورم حبيبي (infection granuloma) حيث تعرف هذه الآفات بآفات السلية البدائية, و يصاحب هذه الإستجابة المناعية حدوث ضرر نسيجي مناعي يتمثل بفرط حساسية متأخر و مناعة ذاتية و خفض مناعي (Glatman-Freedman & Casadevall, 1998). يسبب هذا المرض ظهور الدرنات وهي ناتجة عن تجمع الخلايا البلعمية الكبيرة الميتة و العصيات , بعد ثمانية أيام من الإصابة تتطور الإصابة الأولية إلى أفة مرضية وبعد مرور اسبوعين يحدث تكلس و تحاط الأفة بخلايا لمفاوية و نسيج

حبيبي و تحتوي الدرنه على مزيج من الخلايا البلعمية الكبيرة الميته و الأنسجة المتخثرة مكونة مواد متكلسة (Ettinger & Feldman, 2000). تتكون هذه الدرنه نتيجة لنشاط المناعة الخلوية (Raja, 2004). ومن الممكن أن تتكون هذه الدرنات في أي مكان في الرئة , إذ أن 90 % من حالات الإصابة الأولية تتكون لديهم الدرنات في الفصوص العليا من الرئة (Balasubramanian *et al.*, 1992). تعمل هذه الدرنات على منع إنتشار الإصابة وتبقيها محصورة في منطقة محددة (Salgame, 2005), يتم استنشاق عصيات التدرن في قطرات الهواء الجوي ، وتدخل إلى الرئتين ، وعندما تفشل الدفاعات المناعية الذاتية للمضيف في إزالة البكتريا تبدأ *M. tuberculosis* في التكاثر داخل الخلايا البلعمية الكبيرة الحوصلية ثم تنتشر عبر مجرى الدم والأوعية اللمفاوية إلى أجزاء أخرى من الجسم. أثناء العدوى الكامنة ، يتم إنشاء توازن ديناميكي بين الاستجابات المناعية للمضيف والعصيات وأي حادث يضعف المناعة الخلوية يمكن أن يؤدي إلى مرض التدرن النشط (Delogu *et al.*, 2013)

## 7-2 اليات دخول *M. tuberculosis*

تبدأ الإصابة بـ *M. tuberculosis* بعملية بلعمة العصيات بواسطة الخلايا المقدمة للمستضد البلعمية في الرئة بما في ذلك الخلايا البلعمية الكبيرة الحوصلية والخلايا الشجرية ؛ يعد التعرف على الأنماط الجزيئية المرتبطة بالعوامل الممرضة (PAMP) pathogen-associated molecular patterns من خلال مستقبلات التعرف على العوامل الممرضة (PRRs) pathogen recognition receptors أمراً أساسياً لبدء وتنسيق الاستجابة المناعية الذاتية للمضيف (Akira *et al.*, 2006). بكتريا *M. tuberculosis* التي يتم استيعابها من خلال مستقبلات مختلفة قد يكون لها أيضاً مصير مختلف. يتم التعرف على بكتريا أو مكوناتها بواسطة مستقبلات المضيف تتضمن Toll – like receptors (TLRs) (Jo, 2008) , يتم التعبير عن بعض هذه المستقبلات مثل (TLRs) على كل من الخلايا المناعية (مثل الخلايا البلعمية الكبيرة ، والخلايا الشجرية، والخلايا البائية ، وأنواع معينة من الخلايا التائية) والخلايا غير المناعية (مثل الخلايا الظهارية) (Akira *et al.*, 2006) تفاعل *M. tuberculosis* مع TLRs يبدأ بسلسلة إشارات داخل الخلايا تتوج باستجابة مؤيدة للالتهابات ( مفيدة للمضيف) ؛ ومع ذلك فقد طورت البكتريا أيضاً استراتيجيات يمكن أن تؤدي إلى إشارات تثبط أو تعدل الاستجابة المناعية الذاتية (مفيدة للمرض) (Jo, 2008) , أسهمت المستقبلات الأخرى (PRRs) المرتبطة بالغشاء (CD207 و DC-SIGN و Dectin-1) في ترحيل الإشارات الالتهابية بينما تقوم PRRs الخلوية (مثل Nod – like receptors) بتعديل التعرف على الممرض من المضيف (Harding & Boom, 2010).

## 8-2 تشخيص بكتريا *M. tuberculosis* ومرض التدرن

لا يزال تشخيص التدرن يمثل تحدياً ، وتعد طرق التشخيص المحسنة جزءاً أساسياً من تحقيق أهداف استراتيجية القضاء على التدرن (Sariko *et al.*, 2019), يمكن أن يؤثر العامل الممرض لمرض التدرن ، MTB ، على العديد



من أعضاء جسم الإنسان ، لذا فإن تشخيص الشخص المصاب يعتمد على الفحص المختبري لتأكيد وجود بكتريا التدرن والأعراض السريرية وعلامات الشخص المصاب (Wilson, 2013).

هناك العديد من التقنيات المختبرية المستخدمة لتشخيص عدوى التدرن تشمل :

### 1-8-2 الفحص السريري والأشعة السينية على الصدر Clinical Examination and Chest X-Rays

على الرغم من أن التصوير الشعاعي للصدر ليس محدداً ولا قاطعاً ، إلا أنه أحد أكثر الأدوات الأساسية في تشخيص أمراض الرئة ويستخدم لتعديل الاشتباه في الإصابة بالتدرن. عادة ما يكون الفحص السريري والتصوير الشعاعي للصدر أول تدابير التشخيص. تشمل قيود الأشعة السينية على الصدر ما يلي: حساسية منخفضة ، ونوعية منخفضة ، ومشاكل في التباين بين القارئ. تتراوح الحساسية من 70-80% ، وتتراوح النوعية من 60-70%. مع تصوير الصدر بالأشعة السينية ، يكون التفسير متغيراً اعتماداً على القارئ الذي يمكن أن يكون مشكلة في تحديد احتمالية الإصابة بمرض نشط. لهذه الأسباب ، لا تعد الأشعة السينية للصدر هي المعيار الذهبي لتشخيص مرض التدرن الرئوي (Raviglione, 2010).

### 2-8-2 الفحص المجهرى للقشع Smear Microscopy of sputum

يمكن تصيبغ بكتريا *M. tuberculosis* لتمييزها بصرياً عن غيرها من البكتريا باستخدام الفحص المجهرى ؛ يعد استخدام الفحص المجهرى المباشر (غير المركز) مسحة البلغم الطريقة الأساسية لتشخيص التدرن في العالم النامي ، وقد تم استخدامه منذ 129 عاماً (WHO, 2009) على الرغم من أن الحالات التي تم تحديدها مرتبطة بالحمل البكتيري العالي تمثل أكبر خطر لانتشار العدوى ، فإن 17% من انتقال العدوى يحدث من مرضى التدرن الرئوي الذين تكون اختبارات المسحة سلبية (مرتبطة بالحمل البكتيري المنخفض) (Minion & Pai, 2010). ومع ذلك ، فإن الفحص المجهرى للمسحة ليس حساساً للغاية في المرضى الذين يعانون من انخفاض الحمل البكتيري أو غير فعال لتشخيص المرض خارج الرئة (Ha et al., 2009).

### 3-8-2 أنظمة الزرع البكتيري mycobacterial culture systems

الطريقة المثلى الأكثر حساسية والحالية للكشف عن مرض التدرن النشط هي عن طريق الزرع البكتيري mycobacterial culture (Stall et al., 2011) ، يظل استخدام الزرع البكتيري ضرورياً للتشخيص النهائي لمرض التدرن الرئوي في المرضى الذين ظهرت نتائج المسحة لديهم سلبية (Shah et al., 2011). تشمل فوائد الزرع : التشخيص ، واختبار الحساسية للأدوية (DST) drug susceptibility testing وكذلك يستخدم في علم الأوبئة الجزيئية باستخدام بصمات الحمض النووي DNA (FIND, 2006). يمكن إجراء الزرع باستخدام وسائط صلبة أو سائلة مع طرق الاستزراع اليدوية أو الآلية ؛ يمكن استخدام جميع أنواع العينات في الزرع ولكن عادةً ما

يستخدم القشع Sputum لتشخيص مرض التدرن الرئوي (Stall *et al.*, 2011) , تتم معالجة القشع كيميائياً لجعل قوامه سائلاً ولقتل انواع البكتريا الأخرى قبل التركيز واستخدام المركز للتلقيح. تستغرق النتائج عادةً من 2 إلى 8 أسابيع (Brent *et al.*, 2011). تستخدم الاوساط الزرعية الصلبة مثل الأوساط Lowenstein – Jensen أو اوساط Middlebrook 7H10 agar أو H117 agar لعزل *M. tuberculosis* واختبار الحساسية للأدوية لبكتريا التدرن. الوسط الزرعي (L-J) غير مكلف ، ويمكن تخزينه لعدة أسابيع بعد التحضير (إذا تم تجميده) ، ويستخدم من قبل معظم المختبرات في البلدان النامية لاستنبات *M. tuberculosis* أو اختبار الحساسية للأدوية. (Marais & Pai, 2007) , عادة ما يكون لبكتريا التدرن معدل نمو أسرع في الاوساط الزرعية السائلة منه في الاوساط الصلبة. تم اعتماد استخدام الأوساط الزرعية السائلة في عام 2007 من قبل منظمة الصحة العالمية ، والتي توصي باستخدام الاوساط الزرعية السائلة حيثما كان ذلك ممكناً ، بما في ذلك البلدان منخفضة الدخل ( WHO, 2009).

## 4-8-2 اختبارات تضخيم الحمض النووي Nucleic Acid Amplification Tests (NAATs)

بدأ اختبار مرض التدرن الجزيئي بشكل جدي في عام 1993 مع إدخال اختبار *M. tuberculosis* المضخم المباشر بواسطة Gen-Probe. طورت المختبرات الفردية اختبارات تضخيم الحمض النووي (NAAT) Nucleic Acid Amplification Tests للكشف عن MTB في وقت مبكر من الثمانينيات ، لكنها طريقة مكلفة وتتطلب تسهيلات لاستخراج الأحماض النووية من العينات السريرية (Baron *et al.*, 2018) , يعد تضخيم الأحماض النووية (DNA أو RNA) لتشخيص مرض التدرن أو للكشف عن مقاومة الأدوية طريقة حساسة يمكن أن تنتج نتيجة أسرع بكثير من طرق الاستزراع التقليدية , تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) هو أكثر طرق التضخيم شيوعاً. تم تطوير الاختبارات والمنصات لمعالجة مجموعة متنوعة من الأدوار في تشخيص مرض التدرن ومكافحته ( Flores *et al.*, 2005). تكون حساسية فحوصات الحمض النووي للكشف عن التدرن عالية (95% >) في العينات الإيجابية لمسحة القشع مع خصوصية 90-100%. يتم تقليل حساسية العديد من NAATs بشكل كبير عند اختبار عينات القشع السلبية , إيجابية المسحة تجعل فيسيولوجيا جدار خلية بكتريا التدرن من الصعب استخراج الحمض النووي من الخلايا ( Van Rie & Scott, 2010) هناك عدد من طرائق NAAT التي تم تطويرها للكشف السريع عن MTB والتعرف عليه في العينات السريرية لحالات التدرن الرئوي وخارج الرئة. لا توفر هذه التقنيات ميزة سرعة التشخيص فحسب ، بل تكتشف أيضاً عن نسخ جينومية منخفضة MTB في العينات المختلفة (Agrawal *et al.*, 2016).

## 5-8-2 اختبار GeneXpert MTB/RIF

عبارة عن اختبار جزيئي سريع يسمح بالتشخيص السريع لمرض التدرن من خلال الكشف عن الحمض النووي DNA لـ MTB وتحديد الطفرات المحددة التي تمنح مقاومة للريفامبيسين التي تعد المضاد المستخدم للتدرن المقاوم للأدوية [MDR-TB] (Maynard-Smith *et al.*, 2014) , GeneXpert هي طريقة منخفضة التكلفة فعالة

يمكن أن تكون طريقة تشخيصية مفيدة في البلدان منخفضة الدخل لاكتشاف مرضى التدرن الرئوي المشتبه بهم سواء كانت مسحة Acid fast bacillus (AFB) سلبية أو إيجابية (Agrawal *et al.*, 2016).

## 6-8-2 اختبار التوبركلين Tuberculin test

يُعد اختبار التوبركولين الجلدي (TST) Tuberculin Test الذي يُطلق عليه أيضًا اختبار مشتق البروتين المنقى Purified protein derivative (PPD) نوعاً من الاختبارات التشخيصية لمرض التدرن حيث يتم حقن التوبركلين (PPD) داخل الجلد ويتم قياس النوع المتأخر من فرط الحساسية (DTH) Delayed type of hypersensitivity بعد عدة ساعات للحصول على النتيجة (Fogel, 2015). PPD هي مادة دهنية موجودة في جدار الخلية البكتيرية تسمى phthiocerol dimycocerosate ويعتبر عامل ضراوة مهم في التسبب في أمراض الرئة (Forrellad *et al.*, 2013). ويعد اختبار TST أقل حساسية ونوعية (70% ) مقارنة بحساسية اختبار Interferon-Gamma Release Assays (IGRA) الذي يبلغ 81- 88% (Fogel, 2015). يتضمن الاختبار حقن داخل الأدمة (0.1 مل) من (PPD) ثم بعد 48 إلى 72 ساعة يتم قياس حجم تفاعل الجلد لتحديد ما إذا كان الشخص مصاباً بالسل. النتيجة الإيجابية هي منطقة تصلب تبلغ 10 ملم أو أكثر مصحوبة باحمرار الجلد ، إذا لم يكن هناك تصلب أو أقل من 5 ملم يشير إلى رد فعل سلبي (Verreck *et al.*, 2017).

## 7-8-2 اختبار اطلاق الساييتوكين IFN- $\gamma$ Interferon $\gamma$ release assay (IGRA)

يتضمن الاختبار التقني والمكلف للكشف عن إطلاق الساييتوكين IFN- $\gamma$  من الخلايا T helper 1 التي تتفاعل مع مستضدات MTB الموجودة في البكتريا الحية وغير الموجودة في لقاح BCG. يتم أخذ عينة دم من الفرد ويتم قياس إطلاق IFN- $\gamma$  إن دور IFN- $\gamma$  هو تنشيط الخلايا البلعمية الكبيرة وتحفيز عملية البلعمة ، ونضج الخلايا البلعمية الكبيرة، وإنتاج النيتروجين الوسيط التفاعلي ، وعرض المستضد (Lyadova & Pantelev, 2015).

## 9-2 الاستجابة المناعية ضد مرض التدرن: Immune Response to tuberculosis

يمكن تحديد المناعة الوقائية والسيطرة على بكتريا التدرن من خلال مجموعة واسعة من آليات المناعة الذاتية والتكيفية (Walzl *et al.*, 2011). المناعة الذاتية هي خط الحماية الأول ضد هذه البكتريا ، وهي استجابة غير محددة لمسببات الأمراض (Shiratori *et al.*, 2012).

## 1-9-2 المناعة الذاتية : Innate Immunity

يعد وجود المناعة الذاتية ضد التدرن أمراً مهماً في 90% من الأفراد الذين يبدو أنهم قادرون على السيطرة على العدوى بـ MTB في حالة الكمون السريري (Barry *et al.*, 2009). إن مساهمة المناعة الخلوية Cell-mediated immunity (CMI) التي تشمل الخلايا البلعمية مثل الخلايا البلعمية

الكبيرة ، والعدلات ، والخلايا التشنجية لها دور مهم في المناعة الذاتية عن طريق ابتلاع وتمييز أي عامل غريب ، الخلايا البلعمية الحوصلية هي الخلايا الأولى في الرئتين التي تصاب بـ MTB (AL-SAADI *et al.*, 2019). يعتمد ابتلاع MTB بواسطة الخلايا البلعمية الكبيرة على تفاعل مستقبلات التعرف على الأنماط السطحية للخلايا البلعمية الكبيرة ، بما في (TLRs) التي تمكن الخلايا البلعمية الكبيرة والخلايا التشنجية من التعرف على MTB ، وبالتالي ضمان استجابة مناعية مناسبة للدفاع ضد مسببات الأمراض التي تسبب العدوى (North & Jung, 2004). تنتج الخلايا البلعمية المصابة بـ MTB العديد من الساييتوكينات التي تبدأ تنشيط بروتينات عامل النسخ التي تسمى العوامل النووية (Amaral & Andrade, 2017). تعمل هذه البروتينات كعوامل نسخ تنظم التعبير عن الجينات التي تؤثر على مجموعة واسعة من العمليات البيولوجية بما في ذلك المناعة الذاتية والتكيفية والالتهاب واستجابات الإجهاد وتطور الخلايا البائية وتكوين الأعضاء للمفاوية (Faustman & Davis, 2013; NF- $\kappa$ B, 2015).

## 2-9-2 المناعة التكيفية Adaptive Immunity

يمكن اكتشاف الاستجابات المناعية التكيفية لـ MTB بعد 3-8 أسابيع من الإصابة وتلعب دوراً مهماً في النتيجة النهائية لعدوى MTB (Jasenosky *et al.*, 2015). تعد الاستجابة المناعية التكيفية التي تتوسطها الخلايا التائية أمراً بالغ الأهمية للسيطرة على عدوى MTB في البشر. يتطلب تنشيط المناعة التكيفية وساطة كل من خلايا CD4 + T و CD8 + T (AL-SAADI *et al.*, 2019). يحدث تنشيط خلية CD4 + T بعد إرفاق Toll-like receptors (TLRs) لخلية CD4 + T إلى معقد التوافق النسيجي من النوع الثاني (MHC class II) من الخلايا البلعمية الكبيرة المصابة بـ MTB بعد عملية تقديم مستضدات MTB (Harding & Boom, 2010). TLRs هي عائلة من المستقبلات المعبر عنها في العديد من الخلايا التي تكتشف مجموعة واسعة من الجزيئات الميكروبية المعروفة باسم الأنماط الجزيئية المرتبطة بمسببات الأمراض (PAMPs) لتنشيط المناعة الذاتية وتعزيز المناعة التكيفية. تلعب TLR4 أدواراً في دفاعات المضيف ضد MTB التي تعطل إشارات TLR لتنشيط عرض مستضد MHCII مما يسمح للخلايا المقدمة للمستضد Antigen presenting cells (APCs) المصابة بأن تصبح منافذ لبقاء MTB وتجنب استجابات الخلايا التائية (Rahman *et al.*, 2014).

الخطوة التالية من تنشيط الخلايا التائية CD4 + T هي تحريض إنتاج الساييتوكين مثل IL-2 لتجنيد CD8 + T cell إلى موقع الإصابة و IL-4 ، الذي يحفز الخلية البائية لتكون خلية بلازما تنتج اجسام مضادة للعدوى (Harding & Boom, 2010). تلعب الأجسام المضادة لمكافحة العدوى دور غير واضح ، ولكن يعتقد أن ذلك أدى إلى التحقيق في أن الأجسام المضادة تستخدم كواسمات تشخيصية بدلاً من كونها علاجاً في مرض العدوى النشط ، لكن الملاحظات السريرية تُظهر أن المرضى المصابين بفيروس العوز المناعي البشري معرضون بشكل أكبر للإصابة بالعدوى وان فقدان الخلايا التائية CD4 - T cells ترتبط بزيادة خطر انتشار المرض (Jacobs *et al.*, 2016). تؤدي التفاعلات بين MTB والخلايا المناعية التكيفية إلى إفراز الساييتوكينات و الكيموكينات ، منها IFN- $\gamma$  وعامل

النخر الورمي (TNF) Tumor necrosis factor مهمين بشكل خاص في مرض التدرن. من بين هذه الخلايا المناعية التكيفية ، تفرز خلايا CD4 + T IFN- $\gamma$  لتنشيط الخلايا البلعمية الكبيرة المصابة وتحفيز وظائف مبيدات الجراثيم وتعزيز تعبيرها عن جزيئات معقد التوافق النسيجي من الفئة الثانية ، مما يؤدي إلى تحسين تقديم المستضد على الخلايا التائية. تنتج الخلايا المناعية الأخرى مثل خلايا CD8 + T والخلايا القاتلة الطبيعية (NKs) natural killer cells أيضاً IFN- $\gamma$  استجابةً لعدوى MTB (Harding & Boom, 2010).

### 2-9-3 دور الخلايا التائية في الاستجابة المناعية ضد مرض التدرن:

تعد الاستجابة المناعية التكيفية التي تتوسطها الخلايا التائية أمراً بالغ الأهمية للسيطرة على عدوى MTB في البشر. الخلايا التائية هي نوع من الخلايا الليمفاوية ، مثل الخلايا البائية والخلايا القاتلة الطبيعية التي تلعب دوراً مهماً في المناعة الخلوية. يمكن تمييز الخلايا التائية عن الخلايا الليمفاوية الأخرى من خلال وجود مستقبلات الخلايا التائية TCRs على سطح الخلية (Jasenosky *et al.*, 2015). تشمل أنواع الخلايا التائية: الخلايا المساعدة والخلايا القاتلة والخلايا التنظيمية وخلايا الذاكرة. تفرز الخلايا التائية المساعدة (Th) T-helper المعروفة أيضاً باسم CD4 + T الساييتوكينات التي تحفز الخلايا البائية في خلايا البلازما وخلايا الذاكرة في الخلية البائية ، وهي مسؤولة عن تنشيط الخلايا التائية السامة cytotoxic T cells والخلايا البلعمية الكبيرة. يمكن أن تتمايز خلية T-helper إلى واحدة من عدة أنواع فرعية ، بما في ذلك Th1 و Th2 و Th3 و Th17 و Th9 (Gorenek *et al.*, 2016).

### 2-9-4 دور Toll - like receptors (TLRs) في الاستجابة المناعية ضد مرض التدرن :

TLRs هي عائلة من PRRs تتكون من 13 عضواً في الثدييات TLRs. توجد على سطح غشاء الخلية أو على غشاء الحويصلات الداخلية للخلايا المناعية بشكل رئيس بما في ذلك الخلايا البلعمية الكبيرة والخلايا الشجرية ، برغم من ان تفاعل MTB مع TLRs يؤدي إلى تنشيط عملية البلعمة ، التفاعل نفسه لا يؤدي إلى ابتلاع فوري لبكتريا التدرن (Underhill *et al.*, 1999). تنقسم TLRs على مجموعتين: المثبتة بغشاء البلازما مثل (TLR1 و 2 و 4 و 5 و 6) ، والتي تتعرف بشكل أساسي على مكونات الغشاء الميكروبي مثل السموم الداخلية الجرثومية السالبة لصبغة جرام والمستقبلات TLRs الداخلية مثل (TLR3 و 7 و 8 و 9) ، والتي تكتشف في الغالب الأحماض النووية الميكروبية (Kawai & Akira, 2010) ، عند الإصابة بالعوامل الممرضة يتم تجنيد TLRs مختلفة لترحيل الإشارات إلى جزيئات المصابة مما يؤدي إلى تنشيط المسارات المتعددة ، يمكن أن تكون حالة تنشيط TLRs بمثابة علامات مفيدة للوضع المناعي في مرضى التدرن (Saraav *et al.*, 2014). أشارت دراسة إلى أن الساييتوكينات أثناء الإصابة بـ MTB يمكن إنشاؤها عبر TLRs (Mayer-Barber *et al.*, 2010). تلعب TLRs دوراً حاسماً في كل من الاستجابات المناعية الذاتية وبدء المناعة التكيفية لمرض التدرن ، ترتبط تعدد أشكال المستقبلات TLRs بقابلية الطفرة للإصابة بالتدرن بين مجموعات سكانية مختلفة (Velez *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2015).

المعروف أن TLRs التي تشارك في التعرف على MTB هي TLR2 و TLR4 و TLR9 وربما TLR8 (Davila *et al.*, 2008; Tapping & Tobias, 2003).

يعتقد الآن أن TLRs تمثل المستقبلات الرئيسية للتعرف على مستضدات بكتريا التدرن وتنشيط الخلايا البلعمية الكبيرة والخلايا التشجرية أيضاً كخلايا أخرى للمناعة الذاتية (Jo, 2008; Stenger & Modlin, 2002).

## 2-9-5 دور TLR4 في مرض التدرن:

قد يكون تأثير التنبيه المناعي للمستقبل TLR4 مثيراً للجدل فيما يتعلق ببعض الدراسات التي تشير إلى أن الفئران التي تعاني من نقص TLR4 لا تظهر قابلية عالية للإصابة بعدوى MTB ؛ وبخلاف ذلك ، تصاب الفئران التي تعاني من نقص TLR4 بعدوى رئوية مزمنة عند تعرضها لرذاذ MTB (Branger *et al.*, 2004; Reiling ) (et al., 2002) كما لوحظ زيادة معدل الوفيات وعدد البكتيريا في الرئتين في الفئران ذات المستقبل TLR4 غير الوظيفي (Branger *et al.*, 2004) . يتم تنشيط TLR4 بواسطة بروتين الصدمة الحرارية في بكتريا التدرن (Bulut *et al.*, 2005) ، الخلايا البلعمية الكبيرة هي أولى خلايا المناعة الذاتية التي تعبر عن TLR4 لذلك يمكن اعتبار TLR4 من أهم مستقبلات المناعة الذاتية (Zare-Bidaki *et al.*, 2014). تم تحديد TLR4 في البداية كوسيط للاستجابات الالتهابية (Politorak *et al.*, 1998) ، يتفاعل مع كل من العامل البكتيري القابل للذوبان في الحرارة و MTB لإثارة الاستجابات الذاتية (Means *et al.*, 1999). ، على غرار TLR2 يلعب TLR4 بعض التأثيرات المزدوجة المفيدة والمرضية على الاستجابات المناعية للمضيف ضد MTB على سبيل المثال ، lipopolysaccharide (LPS) ، وهو وسيط رئيس للاستجابات الالتهابية بواسطة TLR ، قد يتم تنظيمه بشكل سلبي بواسطة Phosphatidylinositol mannosides من MTB بطريقة قد تمنع إنتاج TLR4 (Doz *et al.*, 2009). قد تؤثر الأشكال الجينية المتعددة للمستقبل TLR4 على خطر الإصابة بعدوى MTB (Jafari *et al.*, 2016). إذ ترتبط تعدد الأشكال الجينية لـ TLR4 بزيادة القابلية والحساسية لمرض التدرن الرئوي في سكان اسيا وخاصة الهند (Najmi *et al.*, 2010) ، في TLR4 ، تم الكشف عن طفرتين غير مترادفتين في المجال خارج الخلية (Asp229Gly و Thr399Ile) ووجد أنهما مرتبطان بنقص الاستجابة لـ LPS في الخلايا البلعمية الحوصلية ، والخلايا الظهارية ، وخلايا الدم المحيطية أحادية النواة (Arbour *et al.*, 2000).

## 2-9-6 عنقيد التمايز CD19 Cluster of differentiation of antigen – 19 (CD 19)

مستضد CD19 البشري عبارة عن بروتين سكري ينتمي إلى فصيلة الغلوبولين المناعي (Ig) (Carter & Barrington, 2004; Thierry-Mieg & Thierry-Mieg, 2006) ، يمكن رؤية أهمية CD19 من خلال دراسة حالة الفئران التي تعاني من نقص CD19 يُظهر البشر والفئران الذين يعانون من نقص CD19 ضعف الاستجابة لإشارات الغشاء ، وضعف الاعتماد على خلايا T مما يؤدي إلى ضعف الاستجابات المناعية الخلوية (Poe

CD19 دوراً أساسياً في تنظيم تنشيط الخلايا البائية و بالتالي يؤثر على اختيار الخلايا البائية وتمايزها , إن تغيير التعبير السطحي لـ CD19 في الفئران المعدلة وراثياً يغير بشكل كبير تطور الخلايا البائية ووظيفتها (Engel et al., 1995; Rickert et al., 1995). ينتج عن فرط التعبير عن CD19 خلايا B شديدة الاستجابة لإثارة BCR ، مما يؤدي إلى مرض مناعي ذاتي مع إنتاج أجسام مضادة مضادة للمادة النووية anti-nuclear antibodies (ANAs) في مصل الفئران المعدلة وراثياً (Engel et al., 1995). يتسبب الإلغاء الكامل لتعبير CD19 في حدوث خلل في التمايز المتأخر للخلايا B وانخفاض استجابات الأجسام المضادة في الفئران بالإضافة إلى تطور نقص المناعة المتغير المشترك (CVID) common variable immunodeficiency في البشر (Engel et al., 1995; Van Zelm et al., 2006). الفئران التي تعاني من نقص CD19 لديها انخفاض إجمالي بنسبة 75% في مستويات الغلوبولين المناعي في الدم ، مع انخفاض كبير في IgM و IgG1 و IgG2a (Engel et al., 1995; Rickert et al., 1995). يؤدي الإفراط في التعبير عن CD19 إلى إعاقة إنتاج الخلايا البائية الناضجة في نخاع العظام مما يؤدي إلى انخفاض كبير في أعداد الخلايا البائية التقليدية داخل الدم والأنسجة اللمفاوية المحيطة. على سبيل المثال الفئران التي تعبر عن مستويات أعلى بمقدار 3 أضعاف من CD19 لديها انخفاض بنسبة 80% > في عدد الخلايا البائية التقليدية داخل المحيط (Sato et al., 1997; Zhou et al., 1994). أظهر تحليل رنتي الفئران أثناء الإصابة بـ *M. tuberculosis* زيادة بمقدار 8 أضعاف في عدد الخلايا البائية (CD19) في الرئة ، والتي تمثل 6-8% من CD45 + خلايا الدم البيضاء (عادة 2%) ، مقارنة بالمرحلة المبكرة من العدوى. ظلت هذه المستويات مرتفعة باستمرار أثناء عدوى التدرن المزمنة (Tsai et al., 2006).

## 10-2 تقنية Flow cytometry

Flow cytometry : هي تقنية تستخدم جهاز احتجاز بصري إلكتروني قادر على تحليل الخصائص الفيزيائية والكيميائية للجسيمات المجهرية المعلقة في وسط سائل. مقياس التدفق الخلوي (Waller et al., 2001). وهو يتألف من مضخة تعمل بالهواء المضغوط تدفع الجزيئات والخلايا المعلقة بتدفق مستمر إلى غرفة التركيز الهيدروديناميكي (خلية التدفق) ، والتي بسبب شكلها المخروطي تفرض استيعاب الجسيمات أو الخلايا في أنبوب شعري أو فوهة قطرها 250 ميكرون تنتج نفثة رقيقة من السوائل بمتوسط سرعة 10 م / ث. يؤدي هذا إلى محاذاة الجزيئات أو الخلايا واحدة تلو الأخرى في الفوهة لتحليلها بشكل فردي (Shapiro, 2005). يتم توجيه شعاع من الضوء بطول موجي واحد إلى التدفق المستمر للجسيمات العالقة المميزة ببقع كيميائية فلورية ، يقوم كل جسيم معلق يمر عبر هذه الحزمة الضوئية بتشتيت الضوء بشكل مميز تلتقطه أجهزة استشعار متصلة بشعاع الضوء وعمودي عليها، تترافق هذه الجسيمات المجهرية مع المواد الفلورية التي تبعث ضوءاً بتردد أقل من ذلك من مصدر الضوء ، الضوء المنبعث الذي تم التقاطه بواسطة أجهزة الكشف وتحليله لاحقاً وفقاً لتقلبات السطوع لكل كاشف أو انبعاث المادة الفلورية (Loken et al.,

(1977). والنتيجة هي تشكيل صور لكل خلية فلورية وتشتت ونقل الضوء (Telford, 2015). يتم تضخيم الإشارات الكهربائية وتحويلها رقمياً إلى جهاز كمبيوتر متصل بمقياس التدفق الخلوي الذي يحتوي على برنامج محدد قادر على ترجمة المعلومات في وقت واحد مثل حجم الخلية و تفاصيل الخلية (Green & Wachsmann-Hogiu, 2015; Herzenberg *et al.*, 2006).

المكونات الرئيسية لجهاز قياس التدفق الخلوي هي: غرفة التدفق و مصدر ضوء كاشف ومحول رقمي تناظري يولد معلومات فلورية من الحجم والتعقيد والإشارات و نظام تضخيم الإشارة الخطية أو اللوغاريتمية و جهاز كمبيوتر لتحليل الإشارات (Errante *et al.*, 2015).

## 1-10-2 استخدامات تقنية Flow Cytometry

يستخدم قياس التدفق الخلوي بشكل عام في تشخيص الأمراض المعدية والأورام ، ودراسات الدورة الخلوية والمحتوى الطبيعي أو غير الطبيعي للحمض النووي وتحليل الكروموسوم وزرع الأعضاء ودراسات نقص المناعة ، و علم وظائف الأعضاء الحيوانية والنباتية و علم الأدوية (Curtis *et al.*, 2011). Flow cytometry هي تقنية تقوم في نفس الوقت بتحليل وتمييز وفصل الخلايا ذات الأهمية عن عينات الدم الصغيرة (Wood *et al.*, 2007). والسوائل البيولوجية الأخرى لتأكيد تشخيص الأمراض البشرية (Curtis *et al.*, 2011). من خلال هذا الاختبار يمكن دراسة الخلايا للتعبير عن العديد من الجزيئات السطحية في تحديد الخلايا التائية البشرية من خلال الوظيفة وتنوع مستقبلات الخلايا التائية (De Rosa *et al.*, 2001). و نمط الكريات البيض في نقص المناعة الأولي والثانوي (Oliveira & Fleisher, 2010). تستخدم هذه التقنية أيضاً في تقدير المكونات الخلوية مثل السابتوكينات والهرمونات والجزيئات الأخرى المنتجة بعد تحفيز الخلايا في المختبر ، وهي مهمة في تطوير البحوث الأساسية والتطبيقية (Freer & Rindi, 2013; Pala *et al.*, 2000). تم وصف تطبيقاتها في تحليل محتوى الحمض النووي DNA ، وأبحاث الجينوم في النماذج النباتية لتقدير حجم الجينوم النووي (Doležel & Bartoš, 2005). والدراسة الحيوانية للخلايا متعددة القدرات لتطوير البروتوكولات العلاجية (Nakage & Santana, 2006). تعد تقنية Flow cytometry مهمة في تشخيص الأمراض حديثي الولادة وبعد الولادة ، و تثبيت العلاج المبكر والعلاج المحتمل للأمراض (Curtis *et al.*, 2011). والتطبيقات الخاصة بأمراض الدم التشخيصية ، مثل قلة الكريات الشاملة hematopathology والخلايا اللمفاوية (Dunphy, 2004). القياس الكمي للخلايا الشبكية ، ورصد وتشخيص سرطان الدم / سرطان الغدد الليمفاوية ، والورم النخاعي المتعدد ، وخلل التنسج النخاعي myelodysplasia (Craig & Foon, 2008). بواسطة هذه التقنية يتم التحقق من القياس الكمي للخلايا الجذعية المكونة للدم (CD34+) في نخاع العظم من أجل العلاج الخلوي (Liuba *et al.*, 2009). يمكن أن يمتد الاستخدام ليشمل الكشف عن الأمراض الطفيلية ، مثل الليشمانيا ، والحالة الطبيعية المخصصة للتشخيص المصلي أو التشريح المرضي النسيجي (Kram *et al.*, 2008). كما تستخدم التقنية للتحقق من السمية الناتجة عن المواد النانوية TiO<sub>2</sub> في الخلايا



(Zucker *et al.*, 2010). وتستخدم ايضاً في اختبار الحساسية للمضادات الحيوية للبكتريا المختلفة (Pore, 1994).  
أيضاً يلعب قياس التدفق الخلوي دوراً مهماً في توضيح العمليات المتعلقة بالتمايز والنضج لخط خلوي معين والتعبير  
عن وظائفها في مراحل مختلفة من نضوج الكريات البيض في أمراض العين (Kim *et al.*, 2012).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

*Materials & Methods*

## Materials

## 1-3 المواد

## جدول Equipment's and Instruments

## 1-1-3 الاجهزة والمعدات المستخدمة

(1-3) الاجهزة والمعدات المستخدمة

| المنشأ  | الشركة المصنعة   | الاجهزة والمعدات                           | ت  |
|---------|------------------|--|----|
| China   | Mindray          | Flow cytometry جهاز                        | 1  |
| Germany | -----            | Micro centrifuge جهاز الطرد المركزي الدقيق | 2  |
| Japan   | -----            | Tube vortex جهاز رج الانابيب               | 3  |
| Germany | Heraeus          | Incubator الحاضنة                          | 4  |
| Turkey  | Ercelic          | Refrigerator ثلاجة                         | 5  |
| Korea   | Sony             | Digital camera كاميرا رقمية                | 6  |
| Italy   | -----            | Distiller جهاز تقطير                       | 7  |
| China   | HH-2             | Water bath حمام مائي                       | 8  |
| Germany | Human            | ELISA reader جهاز الاليزا                  | 9  |
| China   | Zahrat alrawan   | EDTA انابيب اختبار                         | 10 |
| China   | Arth AL-Rafidain | Heparin tube انابيب اختبار الهيبارين       | 11 |
| China   | ALLE             | Disposable Syringes محاقن طبية             | 12 |
| Japan   | Human            | Micro pipettes ماصات دقيقة                 | 13 |

|          |                   |  |    |
|----------|-------------------|--|----|
| China    | PFF2              | كمامات KN95  | 14 |
| Malaysia | Apollo            | كفوف طبية  | 15 |
| Germany  | Walter            | Disposable micro pipette<br>نهايات ماصات دقيقة<br>tips | 16 |
| China    | REF               | Eppendorf Tubes  | 17 |
| China    | -----             | انابيب اختبار بلاستيكية ( can tube)                    | 18 |
| China    | Beijing<br>WANTAI | Microtiter plate( UUU plate 96 well                    | 19 |
| China    | Beijing<br>WANTAI | ELISA IGRA Kit tubes (tube P)                          | 20 |
| China    | Beijing<br>WANTAI | ELISA IGRA Kit tubes (tube N)                          | 21 |
| China    | Beijing<br>WANTAI | ELISA IGRA Kit tubes (tube T)                          | 22 |

### 2-1-3 الكواشف والمحاليل الكيميائية المستخدمة Reagent and chemical materials

جدول (2-3) الكواشف والمحاليل الكيميائية المستخدمة

| المنشأ | الشركة المصنعة | اسم المادة                          | ت |
|--------|----------------|-------------------------------------|---|
| Japan  | lyse           | Erythrocyte lysing (Reagent A)50ml  | 1 |
| Japan  | lyse           | Erythrocyte lysing (Reagent B)500ml | 2 |
| العراق | -----          | Buffer solution (PBS)               | 3 |

|        |        |              |   |
|--------|--------|--------------|---|
| العراق | الكفيل | Methanol 70% | 4 |
|--------|--------|--------------|---|

### 3-1-3 عدة فحص CD19 و TLR4

#### جدول (3-3) عدة فحص CD19 و TLR4

| المنشأ | الشركة المصنعة | اسم المادة                    | ت |
|--------|----------------|-------------------------------|---|
| Japan  | Thermo fisher  | Toll-like receptor (TLR4) Kit | 1 |
| Japan  | Thermo fisher  | CD19 Kit                      | 2 |

### 4-1-3 عدة فحص الإليزا ELISA kit

#### جدول (4-3) عدة فحص الإليزا ELISA kit

| المنشأ | الشركة المصنعة | اسم المادة                        | ت |
|--------|----------------|-----------------------------------|---|
| China  | Beijing WANTAI | Dilute solution محلول التخفيف     | 1 |
| China  | Beijing WANTAI | Wash buffer محلول الغسل           | 2 |
| China  | Beijing WANTAI | Conjugate solution محلول الارتباط | 3 |
| China  | Beijing WANTAI | Chromogen (A) A محلول التلوين     | 4 |
| China  | Beijing WANTAI | Chromogen (B) B محلول التلوين     | 5 |
| China  | Beijing WANTAI | Stop solution محلول التوقف        | 6 |
| China  | Beijing WANTAI | standard solution المحلول القياسي | 7 |

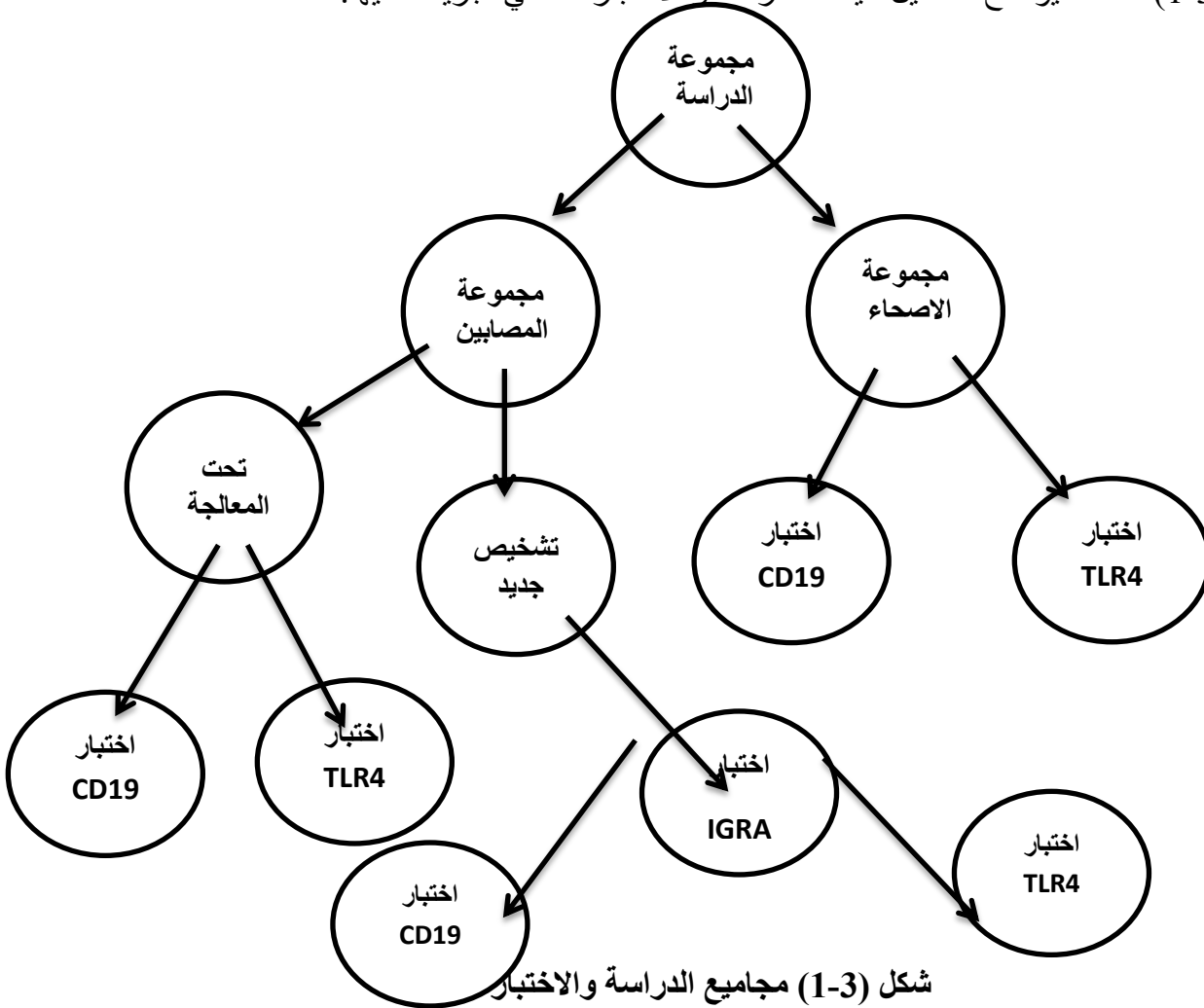
### 1-2-3 العينات Samples

أجريت هذه الدراسة في مركز الأمراض الصدرية و التدرنية و مستشفى الحسين التعليمي و مركز الغدير للرعاية الصحية الاولية في محافظة كربلاء المقدسة للمدة من شهر تشرين الاول / 2020 لغاية شهر نيسان/ 2021 , شملت الدراسة 51 حالة من كلا الجنسين وقسمت على مجموعتين :

**المجموعة الأولى :** شملت 36 حالة من المرضى المصابين بمرض التدرن الرئوي او المشتبه باصابتهم مجموعة قبل تلقي العلاج (تشخيص جديد) 11 حالة ومجموعة مرضى من هم تحت المعالجة 25 حالة وتراوحت اعمارهم بين(18-60) سنة.

**المجموعة الثانية :** هي مجموعة السيطرة وقد شملت 15 حالة من الاشخاص الاصحاء الذين لا يعانون من أي أمراض التهابية أو أي أمراض مزمنة أخرى تراوحت اعمارهم بين (18-60) سنة.

يبين الشكل (1-3) مخطط يوضح تفاصيل عينات الدراسة و الاختبارات التي أجريت عليها.



### 3-2-2 جمع عينات الدم

تم سحب 5 مل من الدم الوريدي لكل من مرضى التدرن الرئوي و مجموعة الاصحاء باستعمال محاقن طبية سعة 5 مل , تم نقل 1 مل من الدم المتبقي الى انابيب اختبار حاوية على مانع تخثر EDTA tubes لغرض اجراء اختبارات TLR4 و CD19 فيما نقل 4 مل من الدم المتبقي الى انابيب اختبار حاوية على الهيبارين Heparin tube لغرض اجراء اختبار ELISA IGRA , تركت العينات في درجة حرارة الغرفة تم إجراء الفحوصات المناعية و تشخيص المرض.

تضمنت عملية الفحص المختبري للمجموعتين محورين:

**المحور الأول:** تضمنت اجراء اختبار ELISA IGRA test لمجموعة التشخيص الجديد للتأكد من الاصابة بعد ان تم تشخيص الاصابة لديهم عن طريق فحص القشع Sputum.

**المحور الثاني :** تضمنت اجراء فحص قياس مستوى بعض المعايير المناعية (CD19 , TLR4) باستخدام تقنية Flow cytometry لكل مجاميع الدراسة.

### 3-2-3 طريقة قياس مستوى CD19 في الدم باستخدام جهاز Flow Cytometry

تم اتباع الطريقة الموضحة من قبل الشركة المصنعة لعدة القياس وذلك بحسب الخطوات التالية

- 1- تم وضع 100 µl من الدم في انبوبة ابندروف Eppendorf Tube .
- 2- تم إضافة 15 µl من CD19 Kit الى الانبوبة الحاوية على الدم.
- 3- تم وضع العينة في جهاز Vortex لمدة 5 ثواني.
- 4- وضعت العينات في الحاضنة بدرجة حرارة الغرفة لمدة 30-45 دقيقة.
- 5- تم إضافة 100 µl من Reagent A (Lysing A) ووضعت العينة في جهاز Vortex لمدة 5 ثواني وتركت العينة مدة 10 دقائق في غرفة مظلمة للتخلص من RBC في العينة.
- 6- تم اضافة 1ml من Reagent B (Lysing B) الى العينة ووضعت العينة في جهاز Vortex لمدة 5 ثواني ثم تركت العينة في غرفة مظلمة بدرجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة.
- 7- وضعت العينة في جهاز Micro centrifuge لمدة 5 دقائق وبسرعة 5000 دورة / دقيقة.
- 8- بعد ذلك حصلنا على راسب و راشح , الراسب هو WBC والراشح هو RBC .
- 9- تم التخلص من الراشح RBC .
- 10- اضيف 1ml من محلول الغسل (محلول بفر) Buffer solution الى العينة .

- 11- وضعت العينة في جهاز Micro centrifuge لمدة 5 دقائق وبسرعة 5000 دورة / دقيقة لغرض التخلص من الشوائب.
- 12- بعد التخلص من الشوائب تم اضافة 600 µl من محلول بفر الى اليراسب .
- 13- تم نقل العينة الى انبوبة اختبار بلاستيكية او ما يسمى بـ كان تيوب Can tube .
- 14- وضعت العينة في جهاز Flow Cytometry .
- 15- تم قراءة النتيجة في اقل من دقيقة واحدة.
- 16- ظهرت النتيجة اقل من القيمة المعيارية

### 3-2-4 طريقة قياس مستوى TLR4 في الدم باستخدام جهاز Flow Cytometry

تم اتباع الطريقة الموضحة من قبل الشركة المصنعة لعدة القياس وذلك بحسب الخطوات التالية:

- 1- تم وضع 100 µl من الدم في انبوبة ابندروف Eppendorf Tube.
- 2- تم إضافة 3 مايكروليتر من TLR4 Kit الى الانبوبة الحاوية على الدم.
- 3- تم وضع العينة في جهاز Vortex لمدة 5 ثواني.
- 4- وضعت العينات في الحاضنة بدرجة حرارة الغرفة لمدة 30-45 دقيقة.
- 5- تم إضافة 100 µl من Reagent A (Lysing A) ووضع العينة في جهاز Vortex لمدة 5 ثواني وترك العينة مدة 10 دقائق في غرفة مظلمة للتخلص من RBC في العينة.
- 6- تم إضافة 1ml من Reagent B (Lysing B) الى العينة ووضع العينة في جهاز Vortex لمدة 5 ثواني ثم تركت العينة في غرفة مظلمة بدرجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة .
- 7- وضعت العينة في جهاز Micro centrifuge لمدة 5 دقائق وبسرعة 5000 دورة / دقيقة.
- 8- بعد ذلك حصلنا على راسب و راشح , اليراسب هو WBC واليراشح هو RBC .
- 9- تم التخلص من اليراشح RBC .
- 10- اضيف 1ml من محلول الغسل (محلول بفر) Buffer solution الى العينة .
- 11- وضعت العينة في جهاز Micro centrifuge لمدة 5 دقائق وبسرعة 5000 دورة / دقيقة لغرض التخلص من الشوائب.
- 12- بعد التخلص من الشوائب تم اضافة 600 µl من محلول بفر إلى اليراسب.
- 13- تم نقل العينة الى انبوبة اختبار بلاستيكية او ما يسمى بـ كان تيوب Can tube .
- 14- وضعت العينة في جهاز Flow cytometry .



15- تم قراءة النتيجة في أقل من دقيقة واحدة.

16- ظهرت النتيجة موجبة في عينات المصابين.

### تشخيص المرض عن طريق اختبار IGRA test باستخدام تقنية ELISA

تم اجراء اختبار IGRA test لعينات مجموعة التشخيص الجديد للتأكد من وجود مرض التدرن الرئوي وتم

اجراء هذا الاختبار باستخدام تقنية ELISA

### 3-2-5 طريقة اجراء اختبار IGRA test

تم اتباع الطريقة الموضحة من قبل الشركة المصنعة لعدة القياس وذلك حسب الخطوات التالية:

1- تم اضافة 1ml من الدم الموجود في انابيب اختبار حاوية على الهيبارين Heparin tube لكل انبوبة من

الانابيب الثلاثة (T,N,P) الملحقة مع عدة ELISA IGRA KITS .

2- حضنت الانابيب الثلاثة في الحاضنة بدرجة حرارة 37 م° لمدة 16 ساعة .

3- وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000-5000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق.

4- تم اضافة 20 µl من محلول التخفيف Dilute solution الملحق مع عدة الفحص في 3 حفر من اللوحة

الخاصة بتحليل IGRA test والتي تحتوي على 96 حفرة .

5- اخذت 50 µl من الدم الموجود في الانابيب الثلاثة (T,N,P) واضيفت الى الحفر الحاوية على محلول

التخفيف.

6- حضنت العينات مدة ساعة واحدة بدرجة 37 م° .

7- تم غسل الحفر الحاوية على العينات خمسة مرات بمحلول الغسل Wash solution دقيقة واحدة.

8- اضيفت 50 µl من محلول الارتباط Conjugate solution الملحق مع عدة الفحص لارتباط الاجسام

المضادة مع المستضدات.

9- حضنت العينات في الحاضنة مدة ساعة واحدة بدرجة 37 م°

10- تم غسل الخلايا الحاوية على العينات خمسة مرات بمحلول الغسل

11- تم اضافة 50µl من محلول التلوين Chromogen (A) solution للعينات

12- تم اضافة 50µl من محلول التلوين Chromogen (B) solution للعينات

13- تركت العينات مدة 15 دقيقة في درجة حرارة المختبر.

14- تم اضافة 100µl من محلول التوقف stop solution للعينات لإيقاف التفاعل

15- تم وضع العينات في جهاز ELISA وقراءة النتيجة.

16- ظهرت النتائج موجبة في عينات الاصابة الحديثة.

### 3-3 التحليل الاحصائي Statistical analysis

استخدمت عدد من الاختبارات المجهزة ضمن البرنامج الاحصائي SPSS V.24 لإيجاد التحاليل الاحصائية الآتية:

- 1- اختبار T test لعينة واحدة.
- 2- اختبار T test لعينتين مستقلتين.
- 3- اختبار ANOVA Table .
- 4- اختبار الفرق المعنوي الاصغر LSD.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results & Discussion

## النتائج و المناقشة:

### 1-4 العينات المدروسة لمرضى التدرن الرئوي

شملت هذه الدراسة 36 مريضاً في محافظة كربلاء قسموا الى مجموعتين , مجموعة تحت المعالجة تضمنت مرضى التدرن الرئوي الذين يتلقون العلاج ويراجعون مركز الامراض الصدرية بشكل دوري, و مجموعة التشخيص الجديد لمرضى التدرن الرئوي الذين تم تشخيص اصابتهم حديثاً ولم يتلقوا العلاج بعد , تم إجراء اختبار IGRA test لهذه المجموعة للتأكد من الإصابة وبعد ذلك تم قياس مستوى المعايير المناعية TLR4 و CD19 باستخدام تقنية التدفق الخلوي Flow cytometry لجميع العينات , تم الحصول على المعلومات الشخصية لكل مريض , والتي تشمل: الاسم والعمر والجنس والإقامة , تاريخ الإصابة.

اظهرت نتائج الجدول (1-4) وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.001$  في مستويات TLR4 بين عينات مرضى التدرن الرئوي ومجموعة الاصحاء وايضاً وجود فروق معنوية في مستويات TLR4 بين عينات مرضى التدرن الرئوي مع القيمة المعيارية لـ TLR4 التي تبلغ (19.9) اي ان ارتفاع مستوى TLR4 في مرضى التدرن الرئوي ارتفاع معنوي.

اظهرت نتائج الجدول (1-4) وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.001$  في مستويات CD19 بين عينات مرضى التدرن الرئوي و القيمة المعيارية لـ CD19 والتي تبلغ (19.9) ولكن الفرق هو انخفاض مستوى CD19 في مرضى التدرن الرئوي عن القيمة المعيارية وهذا الانخفاض هو انخفاض معنوي.

واظهرت النتائج ايضاً وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.001$  في مستويات CD19 بين عينات مرضى التدرن الرئوي ومجموعة الاصحاء.

## جدول (1-4) متوسط مستويات TLR4 و CD19 في مرضى التدرن والاصحاء

| المتغير | المعدل±الانحراف المعياري للمرضى | المعدل±الانحراف المعياري للاصحاء | قيمة t | قيمة الاحتمالية |
|---------|---------------------------------|----------------------------------|--------|-----------------|
| TLR4    | 27.19±3.54                      | 2.17 ± 3.64                      | 22.81  | 0.00            |
| CD19    | 11.28±4.16                      | 8.43 ± 2.65                      | 2.26   | 0.03            |

### 1-1-4 Toll Like Receptors 4

تلعب (TLRs) دوراً رئيسياً في المناعة الفطرية في الاستجابة للعوامل المعدية من خلال قدرتها للتمييز بين التراكيب الميكروبية المحفوظة المعروفة باسم الأنماط الجزيئية المرتبطة بمسببات الأمراض (PAMPs) من الذات (Lerner *et al.*, 2015; Mortaz *et al.*, 2015). من المعروف أن TLRs تشارك في التعرف على بكتريا التدرن الرئوي وتكون بعدة اشكال هي (TLR2 و TLR4 و TLR9) وربما TLR8 (Doyle & O'Neill, 2006; Takeuchi & Akira, 2010). اقترحت بعض الدراسات ان TLR4 أمر بالغ الأهمية للنجاة من عدوى التدرن (Branger, Knapp, *et al.*, 2004; Reiling *et al.*, 2002). ذكرت بعض الدراسات أن الأشكال المتعددة في كل من TLR2 و TLR4 مرتبطة مع زيادة التعرض للعدوى الميكروبية ربما عن طريق تغيير استجابة Th1 / Th2 (Alexopoulou *et al.*, 2002; Lorenz *et al.*, 2000). TLR-4 مستقبلات مشتركة في التعرف على مستضدات بكتريا التدرن وتفعيل الخلايا البلعمية الكبيرة والخلايا التشنجية (Chang *et al.*, 2006).

### 2-1-4 عناقيد التمايز 19 Cluster of differentiation

عندما يتم تنشيط الخلايا البائية B cells بواسطة مستضد المتفطرة السلية *Mycobacterium tuberculosis* ، فإنها تتطور إلى خلايا بلازمية نشطة لها القدرة على إفراز الأجسام المضادة الخاصة بالسل وتنتج السايوتوكينات). (Rao *et al.*, 2015). تنظم هذه الأجسام المضادة وظائف المستجيب مثل إستساغة opsonisation الخلايا البكتيرية والسمية الخلوية المعتمدة على الجسم المضاد (Abbas *et al.*, 2014) , لم يتم التحقيق في دور الخلايا البائية في العدوى البكتيرية داخل الخلايا مثل المتفطرة السلية بتفصيل كبير ويرجع ذلك في الغالب إلى اعتبار الغلوبولين المناعي المشتق من الخلايا البائية لا يلعب دوراً بارزاً في العدوى بمسببات الأمراض داخل الخلايا (Achkar *et al.*, 2015).

## 2-4 التوزيع العمري لمرض التدرن الرئوي

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود زيادة في عدد حالات الإصابة بالتدرن الرئوي في الفئات العمرية 21-30 و 31-40 سنة والتي تضم 17 مريضاً (47.2%) و 8 مرضى (22.2%)

كما اظهرت نتائج التحليل الاحصائي في الجدول (2-4) عدم وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.001$  بين الفئات العمرية في مستوى TLR4 في عينات الدم لمرضى التدرن الرئوي مقارنة مع مجموعة الاصحاء , حيث لم يتأثر مستوى TLR4 بالفئات العمرية المدروسة

جدول (2-4) تأثير العمر على مستوى TLR4 في الدم

| مستوى الاحتمال | الاصحاء                        |       | المرضى                         |       | الفئة العمرية |
|----------------|--------------------------------|-------|--------------------------------|-------|---------------|
|                | المعدل $\pm$ الانحراف المعياري | العدد | المعدل $\pm$ الانحراف المعياري | العدد |               |
| 0.000          | 1.04 $\pm$ 0.50                | 3     | 26.20 $\pm$ 4.82               | 5     | اقل من 21     |
| 0.000          | 1.16 $\pm$ 0.43                | 4     | 26.39 $\pm$ 3.74               | 14    | 21-30         |
| 0.000          | 0.99 $\pm$ 0.08                | 3     | 27.90 $\pm$ 3.17               | 8     | 31-40         |
| 0.000          | 1.80 $\pm$ 0.71                | 2     | 29.90 $\pm$ 2.01               | 3     | 41-50         |
| 0.000          | 5.93 $\pm$ 8.05                | 3     | 27.58 $\pm$ 2.99               | 6     | اكثر من 50    |

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة قام بها Van Duin *et al.*, (2007) حيث اشار في دراسته الى انخفاض انتاج TLR و TNF- $\alpha$  و IL6 في العمر من 65 الى 89 عاماً مقارنة بالأفراد الذين يتراوح اعمارهم بين 22-30 عاماً, وأشارت الدراسة نفسها الى وجود فرق في تعبير TLR4 بين الشباب و كبار السن, لكن حجم هذا الاختلاف بسيط جداً. وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتيجة Renshaw *et al.*, (2002) إذ لاحظ انخفاض تعبير TLR4 ووظيفته على الخلايا البلعمية الكبيرة والخلايا التشرجية مع تقدم العمر . وفي دراسة اخرى قام بها Tasat *et al.*, (2003) للجرذان لاحظ انخفاض في وظيفة TLR4 في الجرذان التي تعاني الشيخوخة . ينخفض تعبير TLR4 في البشر والفئران مع تقدم العمر (Förster-Waldl *et al.*, 2005) , من ناحية أخرى توضح بعض النتائج تعبيراً أعلى لـ TLR4 عند الأطفال حديثي الولادة مقارنة بالبالغين (Levy *et al.*, 2004). وهذه النتيجة تتناقض مع دراسة قام بها Boehmer *et al.*, (2004) للفئران الذي ذكر بأن مستويات TLR4 والتعبير السطحي له لم تختلف مع تقدم السن.

كما اظهرت نتائج الجدول (2-4) عدم وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية بين الفئات العمرية في مستوى CD19 في عينات الدم لمرضى التدرن الرئوي مقارنة مع مجموعة الاصحاء, حيث لم يتأثر مستوى CD19 بالفئات العمرية المدروسة.

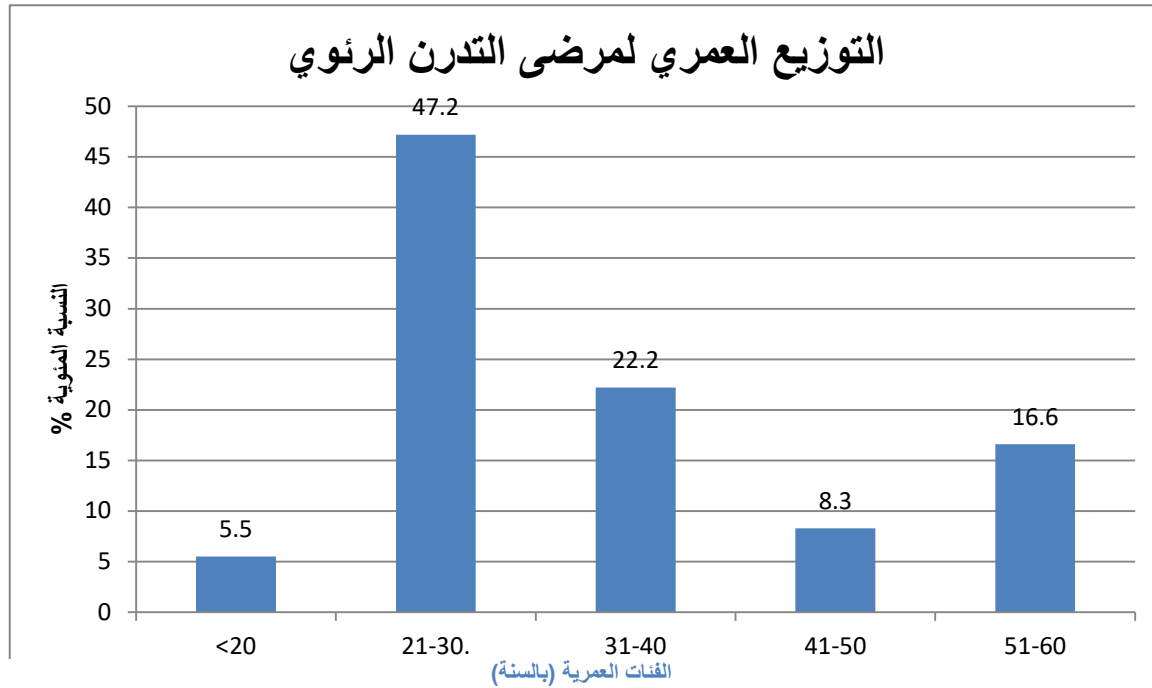
#### جدول (3-4) تأثير العمر على مستوى CD19 في الدم

| مستوى الاحتمال | الاصحاء                        |       | المرضى                         |       | الفئة العمرية |
|----------------|--------------------------------|-------|--------------------------------|-------|---------------|
|                | المعدل $\pm$ الانحراف المعياري | العدد | المعدل $\pm$ الانحراف المعياري | العدد |               |
| 0.187          | 7.60 $\pm$ 3.78                | 3     | 12.60 $\pm$ 5.65               | 5     | اقل من 21     |
| 0.234          | 7.38 $\pm$ 1.57                | 4     | 10.69 $\pm$ 4.42               | 14    | 21-30         |
| 0.807          | 9.53 $\pm$ 2.05                | 3     | 10.06 $\pm$ 3.34               | 8     | 31-40         |
| 0.296          | 8.65 $\pm$ 0.07                | 2     | 11.57 $\pm$ 3.10               | 3     | 41-50         |
| 0.266          | 9.43 $\pm$ 4.50                | 3     | 13.02 $\pm$ 4.06               | 6     | اكثر من 51    |

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتيجة الدراسة التي قام بها (Valdiglesias *et al.*, 2017) الذي ذكر بأن نسبة CD19 تنخفض في عينات دم كبار السن مقارنة بالشباب والفئات العمرية المدروسة . وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع (Qian *et al.*, 2012) إذ ذكر ان مستويات CD19 و TLR4 تنخفض مع تقدم العمر والتي قد تساهم في تقليل الاستجابة المناعية من جانب اخر وجد Eaton *et al.*, (2004) في دراسته على الفئران المختبرية حيث لاحظ ان هناك انخفاض في تعبير CD19 وضعف في وظيفته ونقص المساعدة في الاستجابة المناعية في الفئران التي تعاني الشيخوخة.

أظهرت نتائج الشكل (1-4) مدى عمري واسع لمرضى التدرن الرئوي مما يشير إلى أن جميع الفئات العمرية كانت عرضة للإصابة بمرض التدرن الرئوي.

كما اظهرت النتائج في الشكل (1-4) أن الفئات العمرية السائدة هي (21-30) سنة و (31-40) سنة لمرضى التدرن. في الدراسة الحالية ، لا يعكس المعدل المنخفض لحالات التدرن في الفئات العمرية الأقل من 10 أعوام وأكثر من 60 عاماً أن هذه الفئات العمرية ليست عرضة للإصابة بالتدرن ومن المفارقات أن هذه الفئات العمرية أكثر عرضة للإصابة بمرض التدرن بسبب عدم اكتمال أو ضعف جهاز المناعة والاستجابة المناعية



شكل (1-4) توزيع مرض التدنر الرئوي حسب الفئات العمرية

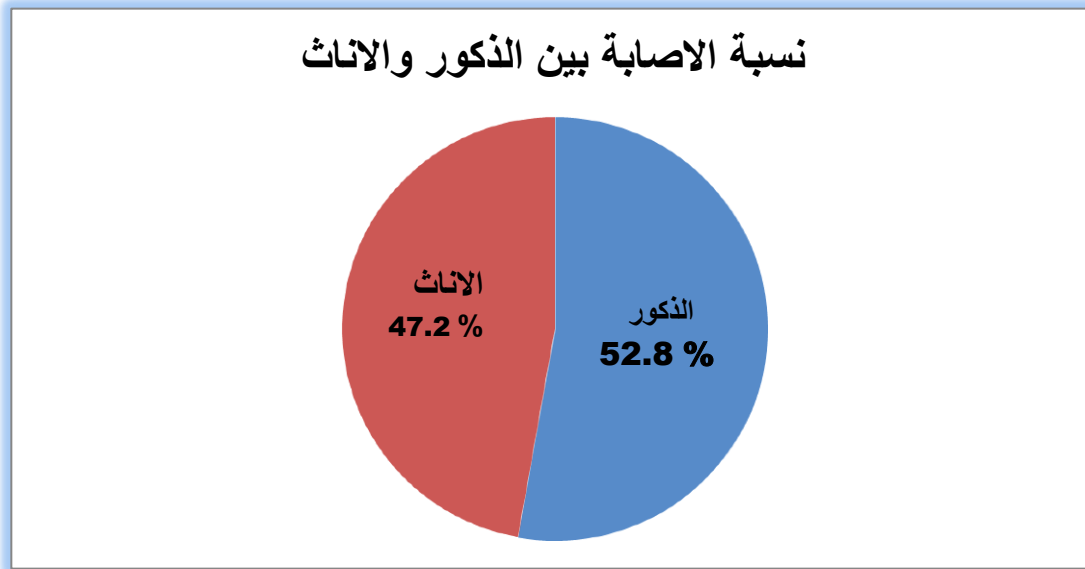
تتفق نتائج الدراسة الحالية مع Al-Saadi,(2004) الذي أوضح أن الناس من جميع الأعمار والجنسيات يمكن أن يصابوا بمرض التدنر., وأظهرت دراسة قام بها Bhatt *et al.*,(2009) أن مرض التدنر موجود بشكل شائع في الفئة العمرية النشطة اقتصادياً (21-50) سنة . تشير هذه النتيجة إلى أن مرض التدنر الرئوي شائع بين المجموعة النشطة اقتصادياً وله تأثير مباشر على الأسرة والاقتصاد الوطني. تدعم هذه النتيجة العبء العالمي لمرض التدنر في البلدان النامية حيث تقع 75% من الحالات ضمن الفئة العمرية الاقتصادية والأكثر إنتاجاً(15-54) عاماً , اظهر تقرير WHO, (2020) أن مرض التدنر غالباً ما يصيب البالغين في سنوات العمر التي تشهد ذروة إنتاجيتهم، غير أن كل الفئات العمرية معرضة لخطره، ناهيك عن أن البلدان النامية تستأثر بما يزيد على 95% من حالاته والوفيات الناجمة عنه. وتزداد احتمالات تعرض مرضى فيروس العوز المناعي البشري للإصابة بالتدنر الفاعل 18 ضعفاً , كما ترتفع احتمالات الإصابة بهذا النوع من التدنر بين المصابين بحالات مرضية أخرى تضعف جهازهم المناعي. وتزداد خطورة الإصابة بالمرض 3 أضعاف بين من يعانون من نقص التغذية، وشهد عام 2019 حالات جديدة للإصابة بالمرض سببها نقص التغذية في العالم والتي بلغ عددها 2,2 مليون حالة مقارنة بعام 2018 , كما اظهرت النتائج في الدراسة الحالية ان الفئة العمرية الاقل من 20 سنة كانت اقل عرضة للإصابة بمرض التدنر الرئوي مقارنة ببقية الفئات العمرية وهذا يتفق مع Manhal, (2009) حيث ذكر ان المرضى الذين تقل اعمارهم عن 20 سنة أظهروا انخفاض في نسبة الإصابة بمرض التدنر الرئوي ويعود سبب انخفاض نسب الإصابة بين هذه الفئة العمرية إلى العديد



من العوامل مثل النظام الإلزامي في استعمال لقاح الـ BCG في العراق و ارتفاع فعالية اللقاح ضمن هذه الفئة العمرية , وكذلك انخفاض نسبة الإصابة بين الأمهات (الإناث) قد يكون مسؤولاً عن انخفاض نسب الإصابة بين الأطفال.

### 3-4 توزيع مرض التدرن حسب نوع الجنس

في الشكل (2-4) ، يشكل مرضى التدرن من 19 (52.8%) ذكور و 17 (47.2%) إناث. كانت نسبة إصابة الذكور اعلى من نسبة إصابة الإناث



شكل (2-4) النسبة المئوية للإصابة بين الجنسين

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة في مدينة بغداد قام بها (Alfaham & Aljanaby, 2020) حيث كانت نتائج دراسته نسبة إصابة الذكور (54.9%) ونسبة إصابة الإناث (45.1%) في مدينة بغداد, وايضاً تطابق هذه النتيجة مع تلك التي سجلها (Al-Jubouri, 2010) الذي ذكر أن معدل الإصابة بالسل في الذكور كان أعلى من الإناث وايضاً تتفق نتيجة هذه الدراسة مع تقرير منظمة الصحة العالمية (WHO, 2020) التي ذكرت بأن الذكور اكثر اصابة من الإناث بمرض التدرن وكانت نتائج الدراسة الحالية مقاربة للنتائج التي ذكرها الرماحي وآخرون, (2010) حيث اوضح إن الذكور أعلى إصابة من الإناث إذ سجلت الذكور نسبة 58.5% من نسب الإصابات أما الإناث فقد سجلت نسبة 41.5% , هذه الحقائق مدعومة أيضاً من خلال المسح الوطني لانتشار السل في فيتنام والذي أظهر أن معدل الانتشار كان أعلى بين الرجال مقارنة بالنساء (Hoa et al., 2010) , ربما يعود سبب اختلاف نسب الإصابات بين الذكور والإناث الى إختلاف الإستجابة المناعية بين الجنسين , إذ أن هناك علاقة بين الاستجابة المناعية و الهرمونات الستيرويدية الجنسية وغير الجنسية وهذا الاختلاف قد يؤثر في اختلاف نسب الإصابات بين الذكور و الإناث (Schäfer et al., 2009) وقد أجريت دراسات على السكان العراقيين إذ كان مرضى التدرن الذكور أعلى من الإناث, من

المعروف عموماً أن الذكور أكثر عرضة للإصابة بالتدرب من الإناث بسبب الروابط الاجتماعية الكثيرة نسبياً و التي تزيد من خطر العدوى (Borgdorff *et al.*, (2000) وفي دراسة اخرى قام بها (Schlesinger *et al.*, (1990) ذكر ان الإصابة بالمرض في الذكور اسرع من الإناث لأسباب عديدة منها ارتباطهم المباشر مع البيئات المختلفة للمجتمع و العمل والاجهاد , والعيش في السكن الطلابي و معسكرات الجيش و السجون و التدخين و العاملين في المجال الصحي حيث يكون احتكاكهم مباشر مع المصابين. اظهرت دراسة ان الفرق بين مرضى التدرب من الذكور والإناث فيما يتعلق بمستويات المخاطر المختلفة بسبب صعوبة التواصل مع مراكز الرعاية الصحية أو التعرض لعوامل الخطر الأخرى (Abate *et al.*, (2012)

#### 4-4 تأثير الجنس على مستوى TLR4 و CD19 في الدم

اظهرت نتائج الجدول (4-4) عدم وجود فروق معنوية ذات دالة احصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.001$  في مستوى TLR4 بين الذكور والاناث مقارنة مع مجموعة الاصحاء , اي ان نوع الجنس لا يؤثر في مستوى TLR4. كما بينت نتائج الجدول (4-4) عدم وجود فروق معنوية ذات دالة احصائية في مستوى CD19 بين الذكور والاناث مقارنة مع مجموعة الاصحاء اي ان نوع الجنس لا يؤثر في مستوى CD19

#### جدول (4-4) تأثير الجنس على مستويات TLR4 و CD19 في الدم

| المتغير | الجنس      | العدد | المعدل $\pm$ الانحراف المعياري | قيمة الاحتمالية |
|---------|------------|-------|--------------------------------|-----------------|
| TLR4    | ذكور مرضى  | 19    | 27.61 $\pm$ 3.25               | 0.00            |
|         | ذكور اصحاء | 9     | 1.16+ 0.73                     |                 |
|         | اناث مرضى  | 17    | 26.73 $\pm$ 3.89               | 0.00            |
|         | اناث اصحاء | 6     | 3.61 + 5.71                    |                 |
| CD19    | ذكور مرضى  | 19    | 12.11 $\pm$ 3.81               | 0.025           |
|         | ذكور اصحاء | 9     | 2.17+9.4                       |                 |
|         | اناث مرضى  | 17    | 10.34 $\pm$ 4.45               | 0.051           |
|         | اناث اصحاء | 6     | 6.98 + 2.81                    |                 |

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة قام بها (Seillet *et al.*, 2012) حيث ذكر بعدم وجود دليل واضح على وجود اختلاف بين الجنسين في تعبير TLR4 على الخلايا الوحيدة Monocytes. حيث لا يتأثر TLR4 بنوع الجنس ويعود السبب إلى أن TLR2 و TLR4 لا يقعان على الكروموسومات الجنسية (Qureshi & Medzhitov, 2003) بينما يقع كل من TLR7 و TLR8 على كروموسوم X , اما انواع TLRs المتبقية فهي موجودة على كروموسومات جسمية (TLR1 و TLR2 و TLR3 و TLR6 و TLR10) على الكروموسوم 4 , فيما يقع TLR4 على الكروموسوم 9 و TLR5 على الكروموسوم 1 (Fenton & Armant, 2002) لا تتفق نتائج الدراسة الحالية مع (Bannister *et al.*, 2013) الذي أجرى دراسة مقارنة نسبة TLR2 و TLR4 في الاطفال من كلا الجنسين إذ اوضح في دراسته أن مستوى TLR4 في الذكور أعلى من الاناث. كما لا تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة مرض التدرن في الفئران قام بها (Scotland *et al.*, 2011) إذ ذكر أن الاختلافات الأساسية بين الجنسين في النمط المظهري للخلايا المناعية الموجودة في التجويف البريتوني للفئران والتي انعكست من خلال زيادة التعبير عن TLR وزيادة البلعمة والقتل البكتيري في الإناث مقارنة بالذكور.

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (Alfaham & Aljanaby, 2020) الذي اوضح في دراسته عدم وجود فروق معنوية في نسبة CD19 بين الذكور و الاناث المصابين بمرض التدرن الرئوي في مدينة بغداد , فضلاً عن انخفاض نسبة CD19 في الذكور مقارنة بالاناث المصابات بمرض التدرن الرئوي المقاوم للأدوية , وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع (Barcelos *et al.*, 2006) الذي اوضح بعدم وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية في مستوى CD19 بين الذكور و الاناث المصابين بمرض التدرن الرئوي.

لا تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة قام بها (Al-Mawali *et al.*, 2013) إذ ذكر وجود فروق ذات دلالة إحصائية لكل من CD19 و CD20 بين الذكور و الإناث .

#### 5-4 تأثير العلاج على المعايير المناعية

يلاحظ من نتائج الجدول (5-4) وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.001$  في مستويات TLR4 بين مجموعة التشخيص الجديد ومجموعة الاصحاء إذ نلاحظ زيادة مستويات TLR4 في مجموعة المرضى الذين تم تشخيص اصابتهم حديثاً.

كما اظهرت نتائج الجدول (5-4) وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.001$  في مستويات TLR4 بين مجموعة تحت المعالجة ومجموعة الاصحاء

اظهرت النتائج ايضاً وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى دلالة  $P \leq 0.001$  في مستويات TLR4 بين مجموعة التشخيص الجديد ومجموعة تحت المعالجة.

وبينت نتائج الجدول (4-5) ان هناك زيادة في مستويات CD19 في المرضى المصابين بعدوى جديدة من مرض التدرن الرئوي مقارنة مع مجموعة الاصحاء.

واظهرت نتائج الجدول ايضاً ان هناك زيادة طفيفة في مستويات CD19 في مجموعة التشخيص الجديد مقارنة مع مجموعة تحت المعالجة.

يلاحظ من نتائج الجدول عدم وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية في مستويات CD19 بين مجموعة تحت المعالجة ومجموعة الاصحاء.

جدول (4-5) متوسطات مستويات كل من TLR4 و CD19 في مجاميع الدراسة

| المتغير | التشخيص      | العدد | المعدل $\pm$ الانحراف المعياري | LSD  |
|---------|--------------|-------|--------------------------------|------|
| TLR4    | تشخيص جديد   | 11    | 30.23 $\pm$ 2.56               | 2.46 |
|         | تحت العلاج   | 25    | 25.86 $\pm$ 3.08               |      |
|         | سيطرة        | 15    | 2.14 $\pm$ 3.64                |      |
|         | <b>Total</b> | 51    | 19.82 $\pm$ 12.06              |      |
| CD19    | تشخيص جديد   | 11    | 13.85 $\pm$ 4.56               | 2.75 |
|         | تحت العلاج   | 25    | 10.14 $\pm$ 3.50               |      |
|         | سيطرة        | 15    | 8.43 $\pm$ 2.65                |      |
|         | <b>Total</b> | 51    | 10.44 $\pm$ 3.97               |      |

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة قام بها (Branger, Leemans, et al., (2004) الذي ذكر ان لكل من TLR2 و TLR4 دور مهم في التعرف الفطري على *M. tuberculosis* الداخلة للجسم و نوضح هنا أن TLR4 يلعب دوراً وقائياً في دفاع المضيف ضد السل الرئوي في الجسم الحي.

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (Drennan et al., (2004) الذي ذكر بأن مستوى TLR4 في مرضى التدرن الرئوي أعلى من تركيز TLR4 في الافراد الاصحاء, وتتفق نتائج الدراسة الحالية ايضاً مع (Kamath et al., (2003) الذي ذكر أن دور TLR4 هو تنشيط الخلايا المناعية ومنها على وجه الخصوص الخلايا البلعمية والخلايا الشجرية ضد عصيات التدرن مما يساعد في القضاء على البكتريا.

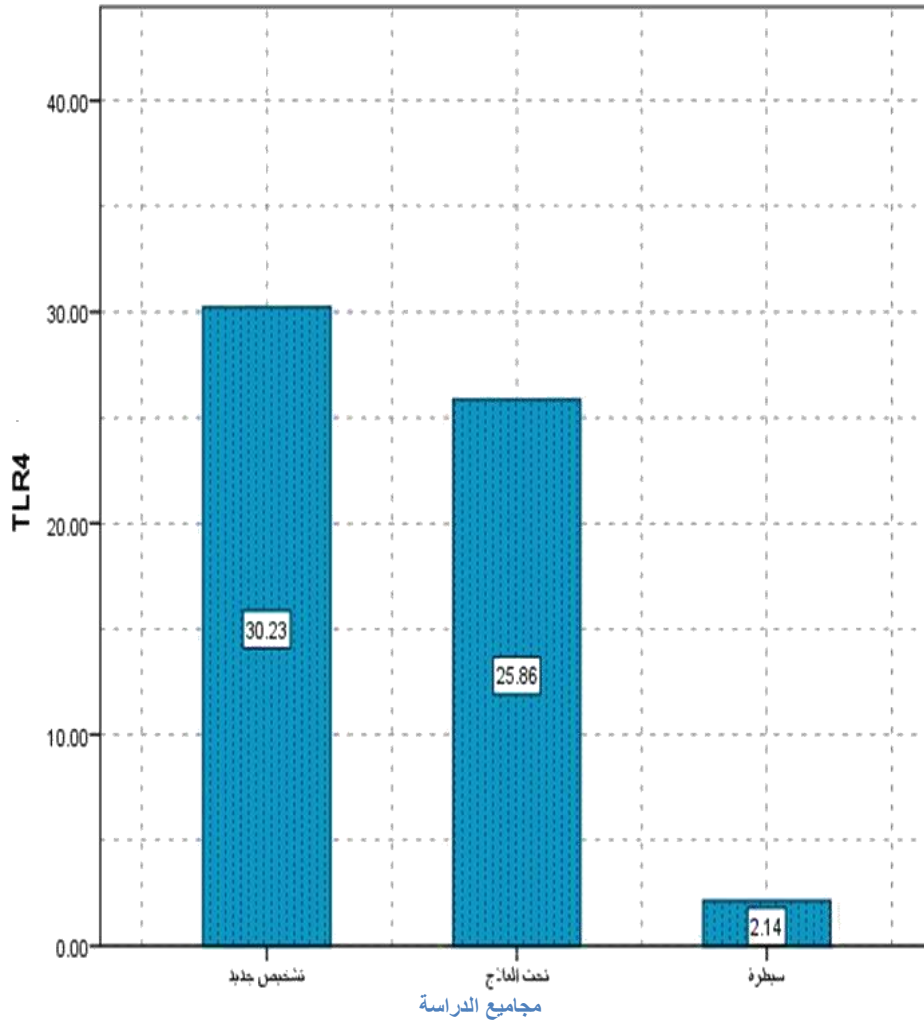
لا تتفق نتائج الدراسة الحالية مع (Su *et al.*, 2005) الذي نفي وجود دور لـ TLR4 ضد مستضدات *M. tuberculosis*

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع (Alfaham & Aljanaby, 2020) الذي ذكر وجود زيادة طفيفة في مستوى CD19 في المرضى المصابين بعدوى جديدة من مرض التدرن الرئوي مقارنة مع مجموعة الاصحاء , قد يكون هذا الارتفاع بسبب وظيفتها كخلية عرض للمستضد أو خلية منظمة للمناعة. أثبت هذا الاقتراح من خلال دراسة سابقة لـ (Zhu *et al.*, 2016)، أن الخلايا البائية لا تتوسط فقط المناعة الخلطية ولكنها أيضاً تلعب دوراً رئيسياً في بدء وتنظيم استجابات الخلايا التائية. يمكن أن تعمل الخلايا البائية كخلايا تقديم مستضد محترفة وتوفر إشارات تحفيزية مشتركة ، وتنتج السايوتوكينات ويمكن أن تمارس خصائص تنظيم المناعة, يحدث امتصاص الخلايا البائية للمستضد عادةً عبر مستقبلات الخلايا البائية ومع ذلك يمكن أن تصيب البكتيريا أيضاً الخلايا البائية مما يؤدي إلى عرض مستضد معقد التوافق النسيجي الكبير من الصنف الثاني MHC class II (Zhu *et al.*, 2016). لا تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة (Choreno Parra *et al.*, 2017) الذي ذكر بعدم وجود اختلاف في مستوى CD19 بين مجاميع الدراسة لمرضى التدرن, وتتفق هذه النتائج مع دراسة قام بها (Wu *et al.*, 2009) الذي وجد زيادة في معدل الخلايا البائية في مرضى التدرن الرئوي الذين تم تشخيص اصابتهم حديثاً لا تتفق نتائج الدراسة الحالية مع (Perlatto, 2004) الذي لاحظ أنه بعد العلاج زاد مستوى CD19 بشكل ملحوظ ربما بسبب المعزز الداخلي الذي تسبب في تفاعل متزايد مع المستضدات المتقطرة الذائبة التي يتم إطلاقها من خلال عمل عوامل العلاج الكيميائي التي تحفز تكاثر هذه الخلايا.

وهذا لا يتفق مع دراسة (Joosten *et al.*, 2016) الذي ذكر أن تواتر خلايا CD19 انخفض بشكل كبير ضمن إجمالي عدد الخلايا للمفاوية في المرضى الذين يعانون من مرض التدرن النشط مقارنةً مع مجموعة الاصحاء.

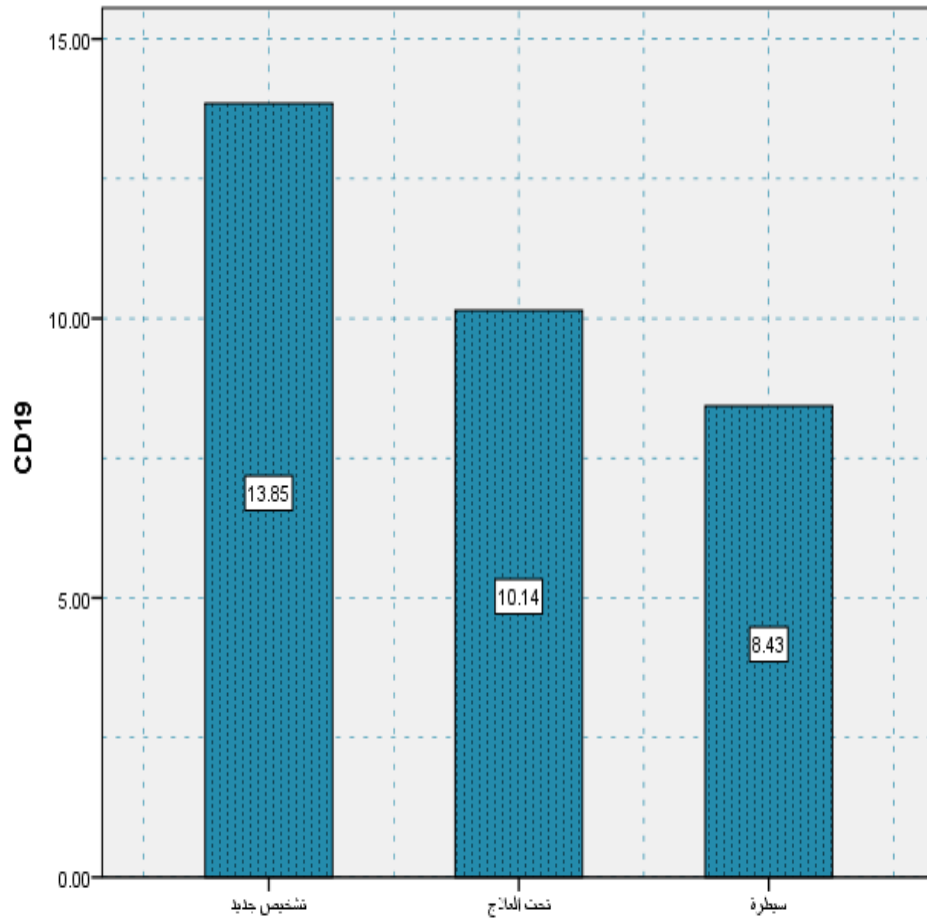
يظهر في الشكل (3-4) متوسط مستويات TLR4 في مجاميع الدراسة إذ نلاحظ ارتفاع مستوى TLR4 في عينات مجموعة الاصابة الجديدة مقارنة مع مجموعة الاصحاء ومجموعة تحت المعالجة ونلاحظ ايضاً ارتفاع في مستوى TLR4 في عينات مجموعة تحت المعالجة مقارنة مع مجموعة الاصحاء.

ربما يعود السبب الى ان TLR4 مسؤول عن التعرف على مستضدات بكتريا التدرن اثناء دخولها للجسم .



شكل (3-4) متوسطات مستويات TLR4 في مجاميع الدراسة

يظهر في الشكل (4-4) متوسط مستويات CD19 في مجاميع الدراسة إذ نلاحظ ارتفاع مستوى CD19 بشكل طفيف في عينات مجموعة الاصابة الجديدة مقارنة مع مجموعة الاصحاء ومجموعة تحت المعالجة , ربما يعود السبب الى ان الخلايا البائية تساهم في تنظيم الاستجابة المناعية ضد مسببات الامراض.



شكل (4-4) متوسط مستويات CD19 لمجموع الدراسة

الاستنتاجات

و التوصيات

Conclusions &  
Recommendations



## الاستنتاجات Conclusions:

- 1- TLR4 له ادوار مهمة في الدفاع عن الجسم ضد بكتريا *M. tuberculosis*
- 2- قياس مستوى TLR4 و CD19 باستخدام تقنية Flow Cytometry اعطت نتائج واضحة بين المرضى والاصحاء.
- 3- اوضحت الدراسة أن مستوى المعايير المناعية المدروسة لم تتأثر بنوع الجنس و ايضاً لم تتأثر بالعمر بين الفئات العمرية المدروسة.
- 4- ارتفاع مستوى TLR4 في لدى مجموعة التشخيص الجديد (اصابة حديثة).

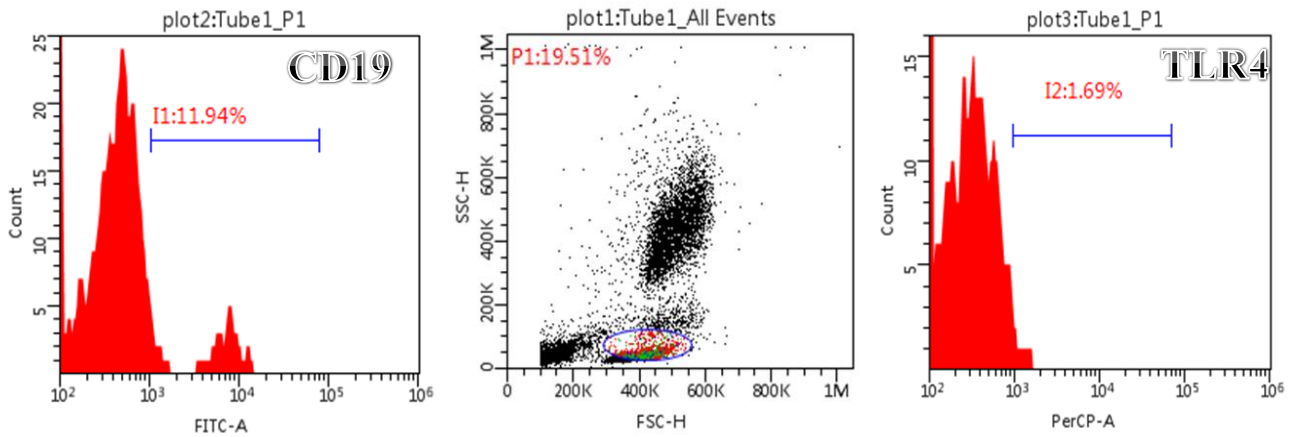
## 2.5:التوصيات Recommendations

- 1- اجراء دراسات عن دور عائلة TLR في الاستجابة المناعية ضد الامراض الفيروسية و البكتيرية المختلفة .
- 2 اجراء دراسات عن دور CD19 في الاستجابة المناعية ضد الاورام الخبيثة وايضاً دوره في الاستجابة المناعية ضد الامراض الفيروسية و البكتيرية المختلفة .
- 3- استخدام تقنية Flow Cytometry في اجراء الاختبارات المناعية و التحاليل المرضية لدقة نتائجها.
- 4- اجراء دراسات على المستوى الجزيئي لمرضى التدرن.

الملاحق

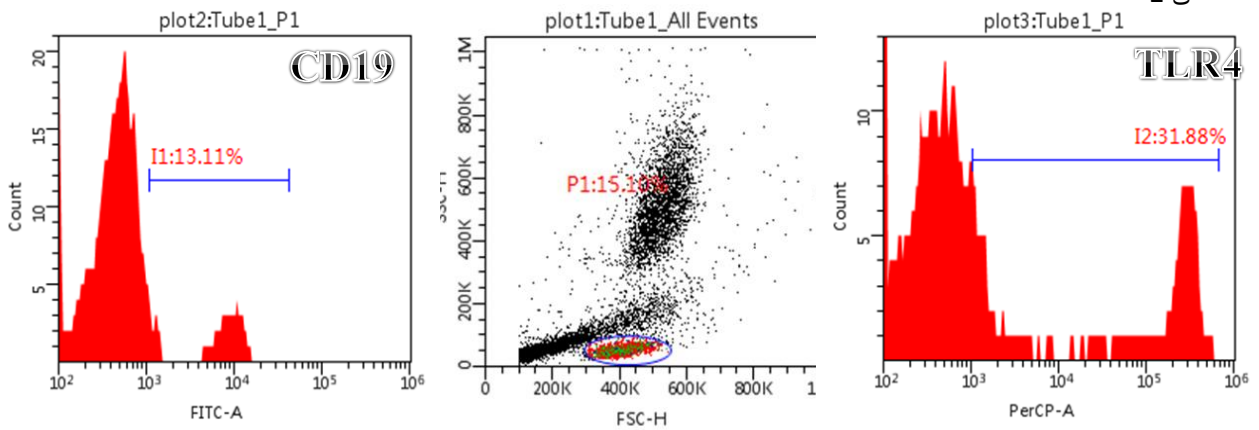
Appendixes

الملحق 1



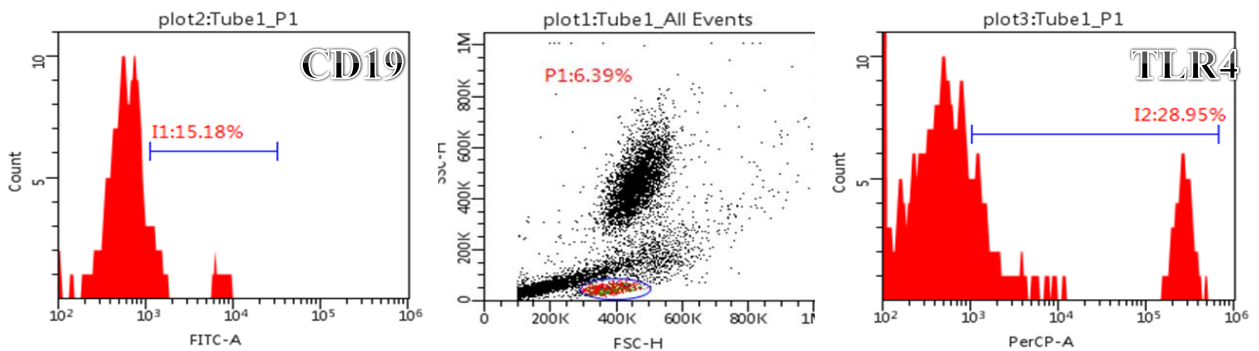
صور من جهاز Flow cytometry توضح تركيز CD19 و TLR4 في دم احد الاصحاء

الملحق 2



صور من جهاز Flow cytometry توضح تركيز CD19 و TLR4 في دم عينة تشخيص جديد (اصابة جديدة)

الملحق 3



صور من جهاز Flow cytometry توضح تركيز CD19 و TLR4 في دم عينة مصاب تحت المعالجة

المصادر

References

## References :

## المصادر:

### المصادر العربية

- العاني, فائز عزيز و بدوي امين سليمان (2000). مبادئ الاحياء المجهرية . الطبعة الثانية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل.
- هاشم, ظافر سلمان ومرزوك , احمد عبد (2001). وبائيات التدرن في العراق لعام 2000. اصدار وزارة الصحة . دائرة الوقاية الصحية.
- الرماحي, سيوف خومان و اخرون (2010). دراسة نشاط عملية البلعمة في مرضى السل. مجلة جامعة كربلاء. العدد(8) . ص (130-144).

- **Abate, D., Taye, B., Abseno, M., & Biadgilign, S. (2012).** Epidemiology of anti-tuberculosis drug resistance patterns and trends in tuberculosis referral hospital in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Research Notes*, 5(1), 1–6.
- **Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2014).** *Cellular and molecular immunology E-book*. Elsevier Health Sciences.
- **Achkar, J. M., Chan, J., & Casadevall, A. (2015).** B cells and antibodies in the defense against *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Immunological Reviews*, 264(1), 167–181.
- **Agrawal, M., Bajaj, A., Bhatia, V., & Dutt, S. (2016).** Comparative study of GeneXpert with ZN stain and culture in samples of suspected pulmonary tuberculosis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 10(5), DC09.
- **Ahmed, S. F. M. (2009).** *Frequency of Multi-Drug Resistant Mycobacterium tuberculosis among Patients with Pulmonary tuberculosis in Khartoum State*. Sudan University of Science and Technology.
- **Akira, S., Uematsu, S., & Takeuchi, O. (2006).** Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 124(4), 783–801.
- **Al-Jubouri, A. M. S. (2010).** Studying the effect of some factors on cellular immunity in Tuberculosis patients. *College of Medicine, University of Babylon Iraq*.
- **AL-SAAD, M. A., Abd Al-Shibly, I. K., & AL-Imari, M. J. (n.d.).** *Evaluation of serum level of interleukin-17 among pulmonary tuberculosis patients in Babylon province*.
- **Al-Saadi, M. A. K. (2004).** *Evaluation of Cellular Immune Parameters in Anergic TB Patients*. Ph. D. Thesis. College of science, University of Babylon, Iraq.
- **Al-Mawali, A., Pinto, A. D., Al Busaidi, R., & Al-Zakwani, I. (2013).** Lymphocyte subsets: reference ranges in an age-and gender-balanced population of Omani healthy adults. *Cytometry Part A*, 83(8), 739–744.
- **Alexopoulou, L., Thomas, V., Schnare, M., Lobet, Y., Anguita, J., Schoen, R. T., Medzhitov, R., Fikrig, E., & Flavell, R. A. (2002).** Hyporesponsiveness to vaccination with *Borrelia burgdorferi* OspA in humans and in TLR1-and TLR2-deficient mice. *Nature Medicine*, 8(8), 878–884.
- **Alfaham, Q., & Aljanaby, A. A. J. (2020).** Immune response in patients infected with *Mycobacterium tuberculosis* in Baghdad city, Iraq. *BioCell*, 44(2).
- **Amaral, E. P., & Andrade, B. de B. (2017).** *Nuclear Factor  $\kappa$ B Activation Pathways During Mycobacterium tuberculosis Infection*.
- **American Academy Of Pediatrics. (2003).** Red Book: 2003 Report of the Committee on Infectious Disease. *Elk Grove Village*.
- **American Thoracic Society. (2000).** Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med*, 161, 1376–1395.
- **Arbour, N. C., Lorenz, E., Schutte, B. C., Zabner, J., Kline, J. N., Jones, M., Frees, K., Watt, J. L., & Schwartz, D. A. (2000).** TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nature Genetics*, 25(2), 187–191.

- **Balasubramanian, V., Wiegand, E. H., & Smith, D. W. (1992).** Growth characteristics of recent sputum isolates of *Mycobacterium tuberculosis* in guinea pigs infected by the respiratory route. *Infection and Immunity*, 60(11), 4762–4767.
- **Bannister, E. G., Smith, C., Visvanathan, K., Thompson, A., & Hardikar, W. (2013).** TLR 2 and TLR 4 in healthy children: Age and gender differences. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 49(12), 1082–1083.
- **Barcelos, W., Martins-Filho, O. A., Guimarães, T. M. P. D., Oliveira, M. H. P., Spíndola-de-Miranda, S., Carvalho, B. N., & de Toledo, V. de P. C. P. (2006).** Peripheral blood mononuclear cells immunophenotyping in pulmonary tuberculosis patients before and after treatment. *Microbiology and Immunology*, 50(8), 597–605.
- **Baron, E. J., Peterson, L. R., & Finegold, S. M. (1994).** *Bailey and Scott's diagnostic microbiology* (Vol. 693). Mosby St. Louis.
- **Baron, E. J., Tenover, F. C., & Gnanashanmugam, D. (2018).** Direct detection of mycobacterium tuberculosis in clinical specimens using nucleic acid amplification tests. *Clinical Microbiology Newsletter*, 40(13), 107–112.
- **Barry, C. E., Boshoff, H. I., Dartois, V., Dick, T., Ehrt, S., Flynn, J., Schnappinger, D., Wilkinson, R. J., & Young, D. (2009).** The spectrum of latent tuberculosis: rethinking the biology and intervention strategies. *Nature Reviews Microbiology*, 7(12), 845–855.
- **Bhatt, C. P., Bhatt, A. B., & Shrestha, B. (2009).** Tuberculosis patients Opinion for directly observed treatment short-course (dots) programme of Nepal. *SAARC Journal of Tuberculosis, Lung Diseases and HIV/AIDS*, 6(1), 39–45.
- **Boehmer, E. D., Goral, J., Faunce, D. E., & Kovacs, E. J. (2004).** Age-dependent decrease in Toll-like receptor 4-mediated proinflammatory cytokine production and mitogen-activated protein kinase expression. *Journal of Leukocyte Biology*, 75(2), 342–349.
- **Borgdorff, M. W., Nagelkerke, N. J. D., Dye, C., & Nunn, P. (2000).** Gender and tuberculosis: a comparison of prevalence surveys with notification data to explore sex differences in case detection. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 4(2), 123–132.
- **Brailey, M. E. (n.d.).** *Tuberculosis in white and negro children. II. The epidemiologic aspects of the Harriet Lane Study.* 1996. Cambridge: Harvard University Press.
- **Branger, J., Knapp, S., Weijer, S., Leemans, J. C., Pater, J. M., Speelman, P., Florquin, S., & van der Poll, T. (2004).** Role of Toll-like receptor 4 in gram-positive and gram-negative pneumonia in mice. *Infection and Immunity*, 72(2), 788–794.
- **Branger, J., Leemans, J. C., Florquin, S., Weijer, S., Speelman, P., & Van Der Poll, T. receptor 4 plays a protective role in pulmonary tuberculosis in mice. (2004).** Toll-like receptor 4 plays a protective role in pulmonary tuberculosis in mice. *International Immunology*, 16(3), 509–516.
- **Brent, A. J., Mugo, D., Musyimi, R., Mutiso, A., Morpeth, S., Levin, M., & Scott, J. A. G. (2011).** Performance of the MGIT TBc identification test and meta-



analysis of MPT64 assays for identification of the *Mycobacterium tuberculosis* complex in liquid culture. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(12), 4343–4346.

- **Brighenti, S., & Lerm, M. (2012).** How *Mycobacterium tuberculosis* manipulates innate and adaptive immunity—new views of an old topic. *Understanding Tuberculosis: Analyzing the Origin of Mycobacterium Tuberculosis Pathogenicity*. InTech, Rijeka, Croatia, 207–234.
- **Bulut, Y., Michelsen, K. S., Hayrapetian, L., Naiki, Y., Spallek, R., Singh, M., & Arditi, M. (2005).** *Mycobacterium tuberculosis* heat shock proteins use diverse Toll-like receptor pathways to activate pro-inflammatory signals. *Journal of Biological Chemistry*, 280(22), 20961–20967.
- **Campbell, M. F. (1953).** *Holbrook of the San*. Ryerson Press.
- **Carter, R. H., & Barrington, R. A. (2004).** Signaling by the CD19/CD21 complex on B cells. *Current Directions in Autoimmunity*, 7, 4–32.
- **Chackalamannil, S., Rotella, D., & Ward, S. (2017).** *Comprehensive medicinal chemistry III*. Elsevier.
- **Chan, E. D., Heifets, L., & Iseman, M. D. (2000).** Immunologic diagnosis of tuberculosis: a review. *Tubercle and Lung Disease*, 80(3), 131–140.
- **Chang, J.-S., Huggett, J. F., Dheda, K., Kim, L. U., Zumla, A., & Rook, G. A. W. (2006).** *Mycobacterium tuberculosis* induces selective up-regulation of TLRs in the mononuclear leukocytes of patients with active pulmonary tuberculosis. *The Journal of Immunology*, 176(5), 3010–3018.
- **Cheng, C.-H., & Yang, C.-J. (2018).** Empiric anti-tuberculosis treatment is not always a right way in patients who had have poorly controlled diabetes mellitus and presented with pulmonary cavities over upper lungs in tuberculosis endemic countries. *Epidemiology & Infection*, 146(9), 1205–1206.
- **Chintu, C., Mudenda, V., Lucas, S., Nunn, A., Lishimpi, K., Maswahu, D., Kasolo, F., Mwaba, P., Bhat, G., & Terunuma, H. (2002).** Lung diseases at necropsy in African children dying from respiratory illnesses: a descriptive necropsy study. *The Lancet*, 360(9338), 985–990.
- **Choreno Parra, J. A., Martinez Zuniga, N., Jimenez Zamudio, L. A., Jimenez Alvarez, L. A., Salinas Lara, C., & Zúñiga, J. (2017).** Memory of natural killer cells: a new chance against *Mycobacterium tuberculosis* *Frontiers in Immunology*, 8, 967.
- **Correa, A. G. (1997).** Unique aspects of tuberculosis in the pediatric population. *Clinics in Chest Medicine*, 18(1), 89–98.
- **Craig, F. E., & Foon, K. A. (2008).** Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood*, 111(8), 3941–3967.
- **Curtis, M. G., Walker, B., & Denny, T. N. (2011).** Flow cytometric methods for prenatal and neonatal diagnosis. *Journal of Immunological Methods*, 363(2), 198–209.
- **Daniel, T. M. (2009).** The history of tuberculosis: past, present and challenges for the future. *Tuberculosis: A Comprehensive Clinical Reference*, 1–8.
- **Davila, S., Hibberd, M. L., Dass, R. H., Wong, H. E. E., Sahiratmadja, E.,**

- Bonnard, C., Alisjahbana, B., Szeszko, J. S., Balabanova, Y., & Drobniewski, F. (2008).** Genetic association and expression studies indicate a role of toll-like receptor 8 in pulmonary tuberculosis. *PLoS Genet*, *4*(10), e1000218.
- **Davis, A. S., Vergne, I., Master, S. S., Kyei, G. B., Chua, J., & Deretic, V. (2007).** Mechanism of Inducible nitric oxide synthase exclusion from mycobacterial phagosomes . PLOS . Pathog ., *3*(12): e 186 .Mechanism of inducible nitric oxide synthase exclusion from mycobacterial phagosomes. *PLoS Pathogens*, *3*(12).
  - **De Rosa, S. C., Herzenberg, L. A., Herzenberg, L. A., & Roederer, M. (2001).** 11-color, 13-parameter flow cytometry: identification of human naive T cells by phenotype, function, and T-cell receptor diversity. *Nature Medicine*, *7*(2), 245–248.
  - **Delogu, G., Sali, M., & Fadda, G. (2013).** The biology of mycobacterium tuberculosis infection. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, *5*(1).
  - **Divala, T. H., Lewis, J., Bulterys, M., Lutje, V., Corbett, E., Schumacher, S., & MacPherson, P. (2020).** *Missed opportunities for diagnosis and treatment in patients with tuberculosis symptoms: a systematic review.*
  - **Doležel, J., & Bartoš, J. A. N. (2005).** Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of Botany*, *95*(1), 99–110.
  - **Doyle, S. L., & O’Neill, L. A. J. (2006).** Toll-like receptors: from the discovery of NFκB to new insights into transcriptional regulations in innate immunity. *Biochemical Pharmacology*, *72*(9), 1102–1113.
  - **Doz, E., Rose, S., Court, N., Front, S., Vasseur, V., Charron, S., Gilleron, M., Puzo, G., Fremaux, I., & Delneste, Y. (2009).** Mycobacterial phosphatidylinositol mannosides negatively regulate host Toll-like receptor 4, MyD88-dependent proinflammatory cytokines, and TRIF-dependent co-stimulatory molecule expression. *Journal of Biological Chemistry*, *284*(35), 23187–23196.
  - **Drennan, M. B., Nicolle, D., Quesniaux, V. J. F., Jacobs, M., Allie, N., Mpagi, J., Frémond, C., Wagner, H., Kirschning, C., & Ryffel, B. (2004).** Toll-like receptor 2-deficient mice succumb to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *The American Journal of Pathology*, *164*(1), 49–57.
  - **Drobniewski, F. A., Gibson, A., Ruddy, M., & Yates, M. D. (2003).** Evaluation and utilization as a public health tool of a national molecular epidemiological tuberculosis outbreak database within the United Kingdom from 1997 to 2001. *Journal of Clinical Microbiology*, *41*(5), 1861–1868.
  - **Dunphy, C. H. (2004).** Applications of flow cytometry and immunohistochemistry to diagnostic hematopathology. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, *128*(9), 1004–1022.
  - **Dye, C. (2006).** Global epidemiology of tuberculosis. *The Lancet*, *367*(9514), 938–940.
  - **Dye, C., Scheele, S., Pathania, V., & Ravigliione, M. C. (1999).** Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. *Jama*, *282*(7), 677–686.
  - **Eaton, S. M., Burns, E. M., Kusser, K., Randall, T. D., & Haynes, L. (2004).**

Age-related defects in CD4 T cell cognate helper function lead to reductions in humoral responses. *The Journal of Experimental Medicine*, 200(12), 1613–1622.

- **Engel, P., Zhou, L.-J., Ord, D. C., Sato, S., Koller, B., & Tedder, T. F. (1995).** Abnormal B lymphocyte development, activation, and differentiation in mice that lack or overexpress the CD19 signal transduction molecule. *Immunity*, 3(1), 39–50.
- **Errante, P. R., Ebbing, P. C. C., Rodrigues, F. S. M., Ferraz, R. R. N., & da Silva, N. P. (2015).** Flow cytometry: a literature review. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, 14(2), 211–224.
- **Ettinger, S. J., & Feldman, E. C. (2000).** *Textbook of Veterinary Medicine*. Vol IWB Saunders Company, Philadelphia.
- **Faustman, D. L., & Davis, M. (2013).** TNF receptor 2 and disease: autoimmunity and regenerative medicine. *Frontiers in Immunology*, 4, 478.
- **Fenton, M. J., & Armant, M. A. (2002).** *Toll-Like Receptors: A Family of Pattern-Recognition Receptors in Mammals*.
- **Ferreira, V. L., Borba, H. H. L., Bonetti, A. de F., Leonart, L. P., & Pontarolo, R. (2018).** Cytokines and interferons: types and functions. In *Autoantibodies and cytokines*. IntechOpen.
- **FIND, F. for I. N. D. (2006).** *Diagnostics for tuberculosis: Global demand and market potential*. WHO on behalf of the Special Programme for Research and Training in Tropical ....
- **Fitzgerald, D., & Haas, D. W. (2005).** Extrapulmonary tuberculosis. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 2852–2886.
- **Flores, L. L., Pai, M., Colford, J. M., & Riley, L. W. (2005).** In-house nucleic acid amplification tests for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum specimens: meta-analysis and meta-regression. *BMC Microbiology*, 5(1), 1–10.
- **Fogel, N. (2015).** Tuberculosis: a disease without boundaries. *Tuberculosis*, 95(5), 527–531.
- **Forrellad, M. A., Klepp, L. I., Gioffré, A., Sabio y García, J., Morbidoni, H. R., de la Paz Santangelo, M., Cataldi, A. A., & Bigi, F. (2013).** *Virulence factors of the Mycobacterium tuberculosis complex*. *Virulence* 4: 3–66.
- **Förster-Waldl, E., Sadeghi, K., Tamandl, D., Gerhold, B., Hallwirth, U., Rohrmeister, K., Hayde, M., Prusa, A. R., Herkner, K., & Boltz-Nitulescu, G. (2005).** Monocyte toll-like receptor 4 expression and LPS-induced cytokine production increase during gestational aging. *Pediatric Research*, 58(1), 121–124.
- **Freer, G., & Rindi, L. (2013).** Intracellular cytokine detection by fluorescence-activated flow cytometry: basic principles and recent advances. *Methods*, 61(1), 30–38.
- **Frieden, T. R., Sterling, T. R., Munsiff, S. S., & Watt, C. J. (2003).** Dye Ch. *Tuberculosis*. *Lancet*, 362, 887–899.
- **Gallant, C. J., Malik, S., Jabado, N., Cellier, M., Simkin, L., Finlay, B. B., Graviss, E. A., Gros, P., Musser, J. M., & Schurr, E. (2007).** Reduced in vitro functional activity of human NRAMP1 (SLC11A1) allele that predisposes to increased risk of pediatric tuberculosis disease. *Genes & Immunity*, 8(8), 691–698.

- **Gatfield, J., & Pieters, J. (2000).** Essential role for cholesterol in entry of mycobacteria into macrophages. *Science*, 288(5471), 1647–1651.
- **Glatman-Freedman, A., & Casadevall, A. (1998).** Serum therapy for tuberculosis revisited: reappraisal of the role of antibody-mediated immunity against *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(3), 514–532.
- **Gordon, S. V., & Parish, T. (2018).** Microbe Profile: *Mycobacterium tuberculosis*: Humanity’s deadly microbial foe. *Microbiology*, 164(4), 437–439.
- **Gorenec, L., Lepej, S. Z., Grgic, I., Planinic, A., Bes, J. I., Vince, A., & Begovac, J. (2016).** The comparison of Th1, Th2, Th9, Th17 and Th22 cytokine profiles in acute and chronic HIV-1 infection. *Microbial Pathogenesis*, 97, 125–130.
- **Green, R., & Wachsmann-Hogiu, S. (2015).** Development, history, and future of automated cell counters. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(1), 1–10.
- **Gutierrez, M. C., Brisse, S., Brosch, R., Fabre, M., Omais, B., Marmiesse, M., Supply, P., & Vincent, V. (2005).** Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog*, 1(1), e5.
- **Ha, D. T. M., Lan, N. T. N., Wolbers, M., Duong, T. N., Quang, N. D., Van Thinh, T. T., Anh, N. T. N., Van Quyet, T., Tuyen, N. T. B., & Ha, V. T. (2009).** Microscopic observation drug susceptibility assay (MODS) for early diagnosis of tuberculosis in children. *PloS One*, 4(12), e8341.
- **Hamzah, D. N., & ALJanaby, A. A. J. (2020).** Immune response in patients infected with *Helicobacter pylori* in Al-Najaf City, Iraq. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 12(3).
- **Harding, C. V., & Boom, W. H. (2010).** Regulation of antigen presentation by *Mycobacterium tuberculosis*: a role for Toll-like receptors. *Nature Reviews Microbiology*, 8(4), 296–307.
- **Hasegawa, T., Tada, K., & Ishii, M. (1992).** Pulmonary infection caused by *Mycobacterium gordonae* (*M. gordonae*) in a healthy middle-aged male. *The Japanese Journal of Thoracic Diseases*, 30(2), 343–346.
- **Havlir, D. V., & Barnes, P. F. (1999).** Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. *New England Journal of Medicine*, 340(5), 367–373.
- **Hershberg, R., Lipatov, M., Small, P. M., Sheffer, H., Niemann, S., Homolka, S., Roach, J. C., Kremer, K., Petrov, D. A., & Feldman, M. W. (2008).** High functional diversity in *Mycobacterium tuberculosis* driven by genetic drift and human demography. *PLoS Biol*, 6(12), e311.
- **HersHKovitz, I., Donoghue, H. D., Minnikin, D. E., Besra, G. S., Lee, O. Y. C., Gernaey, A. M., Galili, E., Eshed, V., Greenblatt, C. L., & Lemma, E. (2008).** Detection and molecular characterization of 9000-year-old *Mycobacterium tuberculosis* from a Neolithic settlement in the Eastern Mediterranean. *PloS One*, 3(10), e3426.
- **Herzenberg, L. A., Tung, J., Moore, W. A., Herzenberg, L. A., & Parks, D. R. (2006).** Interpreting flow cytometry data: a guide for the perplexed. *Nature*

*Immunology*, 7(7), 681–685.

- **Hirayama, D., Iida, T., & Nakase, H. (2018).** The phagocytic function of macrophage-enforcing innate immunity and tissue homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 92.
- **Hoa, N. B., Sy, D. N., Nhung, N. V., Tiemersma, E. W., Borgdorff, M. W., & Cobelens, F. G. J. (2010).** National survey of tuberculosis prevalence in Viet Nam. *Bulletin of the World Health Organization*, 88, 273–280.
- **Hunter, R. L., Olsen, M. R., Jagannath, C., & Actor, J. K. (2006).** Multiple roles of cord factor in the pathogenesis of primary, secondary, and cavitary tuberculosis, including a revised description of the pathology of secondary disease. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 36(4), 371–386.
- **Innes, J. A., & Reid, P. T. (2006).** Respiratory disease: Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). *Davidson's Principles and Practice of Medicine (20th Ed)*. Edinburg: Churchill Livingstone Elsevier, 678–684.
- **Jacobs, A. J., Mongkolsapaya, J., Screaton, G. R., McShane, H., & Wilkinson, R. J. (2016).** Antibodies and tuberculosis. *Tuberculosis*, 101, 102–113.
- **Jafari, M., Nasiri, M. R., Sanaei, R., Anoosheh, S., Farnia, P., Sepanjnia, A., & Tajik, N. (2016).** The NRAMP1, VDR, TNF- $\alpha$ , ICAM1, TLR2 and TLR4 gene polymorphisms in Iranian patients with pulmonary tuberculosis: A case–control study. *Infection, Genetics and Evolution*, 39, 92–98.
- **Jasenosky, L. D., Scriba, T. J., Hanekom, W. A., & Goldfeld, A. E. (2015).** T cells and adaptive immunity to *Mycobacterium tuberculosis* in humans. *Immunological Reviews*, 264(1), 74–87.
- **Jawetz, M. and A. (2007).** (2007). Adelberg's medical microbiology. *Sultan Qaboos Univ. Med. J*, 7, 273.
- **Jeena P, M., Pillay, P., Pillay, T., & Coovadia H, M. (2002).** Impact of HIV-1 co-infection on presentation and hospital-related mortality in children with culture proven pulmonary tuberculosis in Durban, South Africa. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 6(8), 672–678.
- **Jo, E.-K. (2008).** Mycobacterial interaction with innate receptors: TLRs, C-type lectins, and NLRs. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 21(3), 279–286.
- **Joosten, S. A., van Meijgaarden, K. E., Del Nonno, F., Baiocchi, A., Petrone, L., Vanini, V., Smits, H. H., Palmieri, F., Goletti, D., & Ottenhoff, T. H. M. (2016).** Patients with tuberculosis have a dysfunctional circulating B-cell compartment, which normalizes following successful treatment. *PLoS Pathogens*, 12(6), e1005687.
- **Kamath, A. B., Alt, J., Debbabi, H., & Behar, S. M. (2003).** Toll-like receptor 4-defective C3H/HeJ mice are not more susceptible than other C3H substrains to infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infection and Immunity*, 71(7), 4112–4118.
- **Karakousis, P. C., Bishai, W. R., & Dorman, S. E. (2004).** *Mycobacterium tuberculosis* cell envelope lipids and the host immune response. *Cellular Microbiology*, 6(2), 105–116.

- **Kawai, T., & Akira, S. (2010).** The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature Immunology*, *11*(5), 373.
- **Kim, T. W., Kang, J. S., Kong, J. M., Bae, S., Yu, Y., Chung, H., & Yu, H. G. (2012).** Maturation profiles of peripheral blood dendritic cells in patients with endogenous uveitis. *Immunology Letters*, *142*(1–2), 14–19.
- **Knechel, N. A. (2009).** Tuberculosis: pathophysiology, clinical features, and diagnosis. *Critical Care Nurse*, *29*(2), 34–43.
- **Koch, D. R., Pinner, B., Pinner, M., & Krause, A. K. (1932).** The aetiology of tuberculosis. *American Review of Tuberculosis*, *25*(3), 285–323.
- **Koch, R. (1882).** „Die Aetiologie der Tuberculose: Nach einem in der physiologischen Gesellschaft zu Berlin am 24. März Cr. Gehaltenen Vortrage “. *Aus Berliner Klinische Wochenschrift*, *15*.
- **Kram, D., Thäle, C., Kolodziej, H., & Kiderlen, A. F. (2008).** Intracellular parasite kill: flow cytometry and NO detection for rapid discrimination between anti-leishmanial activity and macrophage activation. *Journal of Immunological Methods*, *333*(1–2), 79–88.
- **Kubica, G. P., & Wayne, L. G. (1984).** *The Mycobacteria: a sourcebook* (Vol. 15). Marcel Dekker Inc.
- **Kusner, D. J. (2005).** Mechanisms of mycobacterial persistence in tuberculosis. *Clinical Immunology*, *114*(3), 239–247.
- **Lerner, T. R., Borel, S., & Gutierrez, M. G. (2015).** The innate immune response in human tuberculosis. *Cellular Microbiology*, *17*(9), 1277–1285.
- **Levy, O., Zarembek, K. A., Roy, R. M., Cywes, C., Godowski, P. J., & Wessels, M. R. (2004).** Selective impairment of TLR-mediated innate immunity in human newborns: neonatal blood plasma reduces monocyte TNF- $\alpha$  induction by bacterial lipopeptides, lipopolysaccharide, and imiquimod, but preserves the response to R-848. *The Journal of Immunology*, *173*(7), 4627–4634.
- **Liuba, K., Pronk, C. J. H., Stott, S. R. W., & Jacobsen, S.-E. W. (2009).** Polyclonal T-cell reconstitution of X-SCID recipients after in utero transplantation of lymphoid-primed multipotent progenitors. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *113*(19), 4790–4798.
- **Loken, M. R., Parks, D. R., & Herzenberg, L. A. (1977).** Two-color immunofluorescence using a fluorescence-activated cell sorter. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, *25*(7), 899–907.
- **Lorenz, E., Mira, J. P., Cornish, K. L., Arbour, N. C., & Schwartz, D. A. (2000).** A novel polymorphism in the toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infection and Immunity*, *68*(11), 6398–6401.
- **Loxton, A. G. (2019).** Bcells and their regulatory functions during tuberculosis: latency and active disease. *Molecular Immunology*, *111*, 145–151.
- **Lyadova, I. V, & Panteleev, A. V. (2015).** Th1 and Th17 cells in tuberculosis: protection, pathology, and biomarkers. *Mediators of Inflammation*, *2015*.
- **Maecker, H. T., & McCoy, J. P. (2010).** A model for harmonizing flow cytometry

in clinical trials. *Nature Immunology*, 11(11), 975–978.

- **Maecker, H. T., McCoy, J. P., & Nussenblatt, R. (2012).** Standardizing immunophenotyping for the human immunology project. *Nature Reviews Immunology*, 12(3), 191–200.
- **Manhal, F. (2009).** Allelic distribution of human leukocyte antigen in patients with pulmonary tuberculosis in Baghdad city. *Iraqi Postgraduate Medical Journal*, 8, 253–258.
- **Marais, B. J., & Pai, M. (2007).** New approaches and emerging technologies in the diagnosis of childhood tuberculosis. *Paediatric Respiratory Reviews*, 8(2), 124–133.
- **Mayer-Barber, K. D., Barber, D. L., Shenderov, K., White, S. D., Wilson, M. S., Cheever, A., Kugler, D., Hieny, S., Caspar, P., & Núñez, G. (2010).** Cutting edge: caspase-1 independent IL-1 $\beta$  production is critical for host resistance to *Mycobacterium tuberculosis* and does not require TLR signaling in vivo. *The Journal of Immunology*, 184(7), 3326–3330.
- **Maynard-Smith, L., Larke, N., Peters, J. A., & Lawn, S. D. (2014).** Diagnostic accuracy of the Xpert MTB/RIF assay for extrapulmonary and pulmonary tuberculosis when testing non-respiratory samples: a systematic review. *BMC Infectious Diseases*, 14(1), 1–15.
- **McCarthy, O. R. (2001).** The key to the sanatoria. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 94(8), 413–417.
- **McCray, E., Weinbaum, C. M., Braden, C. R., & Onorato, I. M. (1997).** The epidemiology of tuberculosis in the United States. *Clinics in Chest Medicine*, 18(1), 99–113.
- **Means, T. K., Wang, S., Lien, E., Yoshimura, A., Golenbock, D. T., & Fenton, M. J. (1999).** Human toll-like receptors mediate cellular activation by *Mycobacterium tuberculosis*. *The Journal of Immunology*, 163(7), 3920–3927.
- **Minion, J., & Pai, M. (2010).** Bacteriophage assays for rifampicin resistance detection in *Mycobacterium tuberculosis*: updated meta-analysis. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 14(8), 941–951.
- **Modi, A. R., Miranda, C. C., Procop, G. W., Foster, C. B., Harrington, S., Evans, D., Johnson, L. T., & Gordon, S. M. (2020).** Addressing the threat from within: Investigation of respiratory symptoms in a health care worker with untreated latent tuberculosis infection. *American Journal of Infection Control*, 48(1), 82–85.
- **Mohammed, E. H., & Aljanaby, A. A. J. (2020).** Immunological role of CD4 and CD154 in patients infected with *S. typhi* in Al-Najaf governorate, Iraq. *Int. J. Pharmaceut. Res*, 12(3).
- **Mortaz, E., Adcock, I. M., Tabarsi, P., Masjedi, M. R., Mansouri, D., Velayati, A. A., Casanova, J.-L., & Barnes, P. J. (2015).** Interaction of pattern recognition receptors with *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Clinical Immunology*, 35(1), 1–10.
- **Najmi, N., Kaur, G., Sharma, S. K., & Mehra, N. K. (2010).** Human Toll-like receptor 4 polymorphisms TLR4 Asp299Gly and Thr399Ile influence susceptibility and severity of pulmonary tuberculosis in the Asian Indian population. *Tissue*

*Antigens*, 76(2), 102–109.

- **Nakage, A. P. M., & Santana, A. E. (2006).** Células-tronco hematopoéticas em cães. *Ciência Rural*, 36(1), 325–329.
- **NF- $\kappa$ B, A. (2015).** The Microbiology of NF- $\kappa$ B. *JSM*, 3(1), 1020.
- **North, R. J., & Jung, Y.-J. (2004).** Immunity to tuberculosis. *Annu. Rev. Immunol.*, 22, 599–623.
- **O'Brien, R. J., & Spigelman, M. (2005).** New drugs for tuberculosis: current status and future prospects. *Clinics in Chest Medicine*, 26(2), 327–340.
- **Oliveira, J. B., & Fleisher, T. A. (2010).** Laboratory evaluation of primary immunodeficiencies. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), S297–S305.
- **Pala, P., Hussell, T., & Openshaw, P. J. M. (2000).** Flow cytometric measurement of intracellular cytokines. *Journal of Immunological Methods*, 243(1–2), 107–124.
- **Palomino, J. C., Leão, S. C., & Ritacco, V. (2007).** *Tuberculosis 2007; from basic science to patient care.*
- **Perlatto, E. M. (2004).** Pulmonary tuberculosis: evaluation of interferon- $\gamma$  levels as an immunological healing marker based on the response to the Bacillus Calmette-Guerin. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 99, 1–5.
- **Picot, J., Guerin, C. L., Le Van Kim, C., & Boulanger, C. M. (2012).** Flow cytometry: retrospective, fundamentals and recent instrumentation. *Cytotechnology*, 64(2), 109–130.
- **Poe, J. C., Minard-Colin, V., Kountikov, E. I., Haas, K. M., & Tedder, T. F. (2012).** A c-Myc and surface CD19 signaling amplification loop promotes B cell lymphoma development and progression in mice. *The Journal of Immunology*, 189(5), 2318–2325.
- **Poltorak, A., He, X., Smirnova, I., Liu, M.-Y., Van Huffel, C., Du, X., Birdwell, D., Alejos, E., Silva, M., & Galanos, C. (1998).** Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science*, 282(5396), 2085–2088.
- **Pore, R. S. (1994).** Antibiotic susceptibility testing by flow cytometry. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 34(5), 613–627.
- **Qian, F., Wang, X., Zhang, L., Chen, S., Piecychna, M., Allore, H., Bockenstedt, L., Malawista, S., Bucala, R., & Shaw, A. C. (2012).** Age-associated elevation in TLR5 leads to increased inflammatory responses in the elderly. *Aging Cell*, 11(1), 104–110.
- **Quesniaux, V., Fremont, C., Jacobs, M., Parida, S., Nicolle, D., Yermeev, V., Bihl, F., Erard, F., Botha, T., & Drennan, M. (2004).** Toll-like receptor pathways in the immune responses to mycobacteria. *Microbes and Infection*, 6(10), 946–959.
- **Qureshi, S. T., & Medzhitov, R. (2003).** Toll-like receptors and their role in experimental models of microbial infection. *Genes & Immunity*, 4(2), 87–94.
- **Rahman, M. A., Sobia, P., Gupta, N., Van Kaer, L., & Das, G. (2014).** *Mycobacterium tuberculosis* subverts the TLR-2-MyD88 pathway to facilitate its translocation into the cytosol. *PloS One*, 9(1), e86886.



- **Raja, D. A. (2004).** *Immunology of Tuberculosis Indian J Med Res* 120. October.
- **Rao, M., Valentini, D., Poiret, T., Dodoo, E., Parida, S., Zumla, A., Brighenti, S., & Maeurer, M. (2015).** B in TB: B cells as mediators of clinically relevant immune responses in tuberculosis. *Clinical Infectious Diseases*, 61(suppl\_3), S225–S234.
- **Raviglione, M. (2010).** Tuberculosis the essentials. Informa ealthcare USA. *Inc, New York.*
- 
- **Reiling, N., Hölscher, C., Fehrenbach, A., Kröger, S., Kirschning, C. J., Goyert, S., & Ehlers, S. (2002).** Cutting edge: Toll-like receptor (TLR) 2-and TLR4-mediated pathogen recognition in resistance to airborne infection with Mycobacterium tuberculosis. *The Journal of Immunology*, 169(7), 3480–3484.
- **Renshaw, M., Rockwell, J., Engleman, C., Gewirtz, A., Katz, J., & Sambhara, S. (2002).** Cutting edge: impaired Toll-like receptor expression and function in aging. *The Journal of Immunology*, 169(9), 4697–4701.
- **Reuven, E. M., Fink, A., & Shai, Y. (2014).** Regulation of innate immune responses by transmembrane interactions: lessons from the TLR family. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1838(6), 1586–1593.
- **Rickert, R. C., Rajewsky, K., & Roes, J. (1995).** Impairment of T-cell-dependent B-cell responses and B1 cell development in CD19-deficient mice. *Nature*, 376(6538), 352–355.
- **Rieder, H. L., & IUATLD., I. U. against T. and L. D. (2002).** *Interventions for tuberculosis control and elimination.* International Union Against Tuberculosis and Lung Disease Paris.
- **Russell, D. G. (2001).** *Mycobacterium tuberculosis*: here today, and here tomorrow. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2(8), 569–578.
- **Russell, D. G. (2007).** Who puts the tubercle in tuberculosis? *Nature Reviews Microbiology*, 5(1), 39–47.
- **Ryan, K. J., & Ray, C. G. (2004a).** Medical microbiology. *McGraw Hill*, 4, 370.
- **Ryan, K. J., & Ray, C. G. (2004b).** Mycobacteria. *Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases. 4th Edition, McGraw-Hill, New York*, 439.
- **Salazar-Schicchi, J., Jedlovsky, V., Ajayi, A., Colson, P. W., Hirsch-Moverman, Y., & El-Sadr, W. (2004).** Physician attitudes regarding bacille Calmette-Guerin vaccination and treatment of latent tuberculosis infection. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 8(12), 1443–1447.
- **Salgame, P. (2005).** Host innate and Th1 responses and the bacterial factors that control *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Current Opinion in Immunology*, 17(4), 374–380.
- **Saraav, I., Singh, S., & Sharma, S. (2014).** Outcome of *Mycobacterium tuberculosis* and Toll-like receptor interaction: immune response or immune evasion? *Immunology and Cell Biology*, 92(9), 741–746.
- **Sariko, M., Maro, A., Gratz, J., Houpt, E., Kisonga, R., Mpagama, S., Heysell, S., Mmbaga, B. T., & Thomas, T. A. (2019).** Evaluation of cytokines in peripheral

blood mononuclear cell supernatants for the diagnosis of tuberculosis. *Journal of Inflammation Research*, 12, 15.

- **Sato, S., Steeber, D. A., Jansen, P. J., & Tedder, T. F. (1997).** CD19 expression levels regulate B lymphocyte development: human CD19 restores normal function in mice lacking endogenous CD19. *The Journal of Immunology*, 158(10), 4662–4669.
- **Schäfer, G., Guler, R., Murray, G., Brombacher, F., & Brown, G. D. (2009).** The role of scavenger receptor B1 in infection with *Mycobacterium tuberculosis* in a murine model. *PloS One*, 4(12), e8448.
- **Schlesinger, L. S., Bellinger-Kawahara, C. G., Payne, N. R., & Horwitz, M. A. (1990).** Phagocytosis of *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by human monocyte complement receptors and complement component C3. *The Journal of Immunology*, 144(7), 2771–2780.
- **Scotland, R. S., Stables, M. J., Madalli, S., Watson, P., & Gilroy, D. W. (2011).** Sex differences in resident immune cell phenotype underlie more efficient acute inflammatory responses in female mice. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 118(22), 5918–5927.
- **Seillet, C., Laffont, S., Trémollières, F., Rouquié, N., Ribot, C., Arnal, J.-F., Douin-Echinard, V., Gourdy, P., & Guéry, J.-C. (2012).** The TLR-mediated response of plasmacytoid dendritic cells is positively regulated by estradiol in vivo through cell-intrinsic estrogen receptor  $\alpha$  signaling. *Blood*, 119(2), 454–464.
- **Shah, N. S., Moodley, P., Babaria, P., Moodley, S., Ramtahal, M., Richardson, J., Heysell, S., Li, X., Moll, A., & Friedland, G. (2011).** Rapid diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance by the microscopic-observation drug-susceptibility assay. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 183(10), 1427–1433.
- **Shapiro, H. M. (2005).** *Practical flow cytometry*. John Wiley & Sons.
- **Shiratori, B., Saitoh, H., Siddiqi, U. R., Zhao, J., Chagan-Yasutan, H., Usuzawa, M., Nakajima, C., Suzuki, Y., & Hattori, T. (2012).** Immunological Diagnosis of Active and Latent TB. *Understanding Tuberculosis: Global Experiences and Innovative Approaches to the Diagnosis*, 353.
  
- **Smith, D. W., & Wiegeshaus, E. H. (1989).** What animal models can teach us about the pathogenesis of tuberculosis in humans. *Reviews of Infectious Diseases*, 11(Supplement\_2), S385–S393.
- **Smith, N. H., Gordon, S. V, de la Rua-Domenech, R., Clifton-Hadley, R. S., & Hewinson, R. G. (2006).** Bottlenecks and broomsticks: the molecular evolution of *Mycobacterium bovis*. *Nature Reviews Microbiology*, 4(9), 670–681.
- **Soini, H., & Musser, J. M. (2001).** Molecular diagnosis of mycobacteria. *Clinical Chemistry*, 47(5), 809–814.
- **Sousa, J., Cá, B., Maceiras, A. R., Simões-Costa, L., Fonseca, K. L., Fernandes, A. I., Ramos, A., Carvalho, T., Barros, L., & Magalhães, C. (2020).**

*Mycobacterium tuberculosis* associated with severe tuberculosis evades cytosolic surveillance systems and modulates IL-1 $\beta$  production. *Nature Communications*, 11(1), 1–14.

- **Stall, N., Rubin, T., Michael, J. S., Mathai, D., Abraham, O. C., Mathews, P., Thomas, K., John, M., & Daley, P. (2011).** Does solid culture for tuberculosis influence clinical decision making in India? *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 15(5), 641–646.
- **Stanciu-Herrera, C., Morgan, C., & Herrera, L. (2008).** Anti-CD19 and anti-CD22 monoclonal antibodies increase the effectiveness of chemotherapy in Pre-B acute lymphoblastic leukemia cell lines. *Leukemia Research*, 32(4), 625–632.
- **Starke, J. R. (1996).** *Tuberculosis In: Nelson Textbook of Pediatrics, 15th Edn, Voll.* Eds. Nelson WE, Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM Bangalore. Prism Books Pvt Ltd.
- **Stead, W. W. (1989).** Pathogenesis of tuberculosis: clinical and epidemiologic perspective. *Reviews of Infectious Diseases*, 11(Supplement\_2), S366–S368.
- **Stenger, S., & Modlin, R. L. (2002).** Control of *Mycobacterium tuberculosis* through mammalian Toll-like receptors. *Current Opinion in Immunology*, 14(4), 452–457.
- **Su, S. B., Silver, P. B., Grajewski, R. S., Agarwal, R. K., Tang, J., Chan, C.-C., & Caspi, R. R. (2005).** Essential role of the MyD88 pathway, but nonessential roles of TLRs 2, 4, and 9, in the adjuvant effect promoting Th1-mediated autoimmunity. *The Journal of Immunology*, 175(10), 6303–6310.
- **Takeuchi, O., & Akira, S. (2010).** Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, 140(6), 805–820.
- **Tapping, R. I., & Tobias, P. S. (2003).** Mycobacterial lipoarabinomannan mediates physical interactions between TLR1 and TLR2 to induce signaling. *Journal of Endotoxin Research*, 9(4), 264–268.
- **Tasat, D. R., Mancuso, R., O'Connor, S., & Molinari, B. (2003).** Age-dependent change in reactive oxygen species and nitric oxide generation by rat alveolar macrophages. *Aging Cell*, 2(3), 159–164.
- **Tedder, T. F. (2009).** CD19: a promising B cell target for rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 5(10), 572–577.
- **Telford, W. G. (2015).** Near infrared lasers in flow cytometry. *Methods*, 82, 12–20.
- **Thierry-Mieg, D., & Thierry-Mieg, J. (2006).** AceView: a comprehensive cDNA-supported gene and transcripts annotation. *Genome Biology*, 7(1), 1–14.
- **Thoen, C. O., & Steele, J. H. (1995).** *Mycobacterium bovis* infection in animals and humans.
- **Todar, K. (2011).** *Mycobacterium tuberculosis and Tuberculosis. Todar's online textbook of bacteriology.*
- **Tsai, M. C., Chakravarty, S., Zhu, G., Xu, J., Tanaka, K., Koch, C., Tufariello, J., Flynn, J., & Chan, J. (2006).** Characterization of the tuberculous granuloma in murine and human lungs: cellular composition and relative tissue oxygen tension. *Cellular Microbiology*, 8(2), 218–232.

- **Underhill, D. M., Ozinsky, A., Smith, K. D., & Aderem, A. (1999).** Toll-like receptor-2 mediates mycobacteria-induced proinflammatory signaling in macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(25), 14459–14463.
- **Valdiglesias, V., Sánchez-Flores, M., Maseda, A., Lorenzo-López, L., Marcos-Pérez, D., López-Cortón, A., Strasser, B., Fuchs, D., Laffon, B., & Millán-Calenti, J. C. (2017).** Immune biomarkers in older adults: Role of physical activity. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 80(13–15), 605–620.
- **Vallejo, J. G., & Starke, J. R. (1996).** Intrathoracic tuberculosis in children. *Seminars in Respiratory Infections*, 11(3), 184–195.
- **Van Duin, D., Mohanty, S., Thomas, V., Ginter, S., Montgomery, R. R., Fikrig, E., Allore, H. G., Medzhitov, R., & Shaw, A. C. (2007).** Age-associated defect in human TLR-1/2 function. *The Journal of Immunology*, 178(2), 970–975.
- **Van Rie, A., & Scott, L. (2010).** Xpert® MTB/RIF for point-of-care diagnosis of TB in high-HIV burden, resource-limited countries: hype or hope? *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 10(7), 937.
- **Van Zelm, M. C., Reisli, I., Van Der Burg, M., Castaño, D., Van Noesel, C. J. M., Van Tol, M. J. D., Woellner, C., Grimbacher, B., Patiño, P. J., & Van Dongen, J. J. M. (2006).** An antibody-deficiency syndrome due to mutations in the CD19 gene. *New England Journal of Medicine*, 354(18), 1901–1912.
- **Velez, D. R., Wejse, C., Stryjewski, M. E., Abbate, E., Hulme, W. F., Myers, J. L., Estevan, R., Patillo, S. G., Olesen, R., & Tacconelli, A. (2010).** Variants in toll-like receptors 2 and 9 influence susceptibility to pulmonary tuberculosis in Caucasians, African-Americans, and West Africans. *Human Genetics*, 127(1), 65–73.
- **Verreck, F. A. W., Tchilian, E. Z., Vervenne, R. A. W., Sombroek, C. C., Kondova, I., Eissen, O. A., Sommandas, V., van der Werff, N. M., Verschoor, E., & Braskamp, G. (2017).** Variable BCG efficacy in rhesus populations: pulmonary BCG provides protection where standard intra-dermal vaccination fails. *Tuberculosis*, 104, 46–57.
- **Verver, S., Warren, R. M., Beyers, N., Richardson, M., Van Der Spuy, G. D., Borgdorff, M. W., Enarson, D. A., Behr, M. A., & Van Helden, P. D. (2005).** Rate of reinfection tuberculosis after successful treatment is higher than rate of new tuberculosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 171(12), 1430–1435.
- **Vidya, M. K., Kumar, V. G., Sejian, V., Bagath, M., Krishnan, G., & Bhatta, R. (2018).** Toll-like receptors: significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals. *International Reviews of Immunology*, 37(1), 20–36.
- **Volk, W. A. (1996).** Essential of Medical Microbiology. Edited by Volk WA, Gebhardt BM, Hammarskjold ML, et al. *Lippincott-Raven, Philadelphia*, 216, 217.
- **Waddington, K. (2004).** To stamp out “so terrible a malady”: bovine tuberculosis and tuberculin testing in Britain, 1890–1939. *Medical History*, 48(1), 29–48.
- **Waller, A., Pipkorn, D., Sutton, K. L., Linderman, J. J., & Omann, G. M.**

- (2001). Validation of flow cytometric competitive binding protocols and characterization of fluorescently labeled ligands. *Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 45(2), 102–114.
- **Wallet, S. M., Puri, V., & Gibson, F. C. (2018).** Linkage of infection to adverse systemic complications: periodontal disease, toll-like receptors, and other pattern recognition systems. *Vaccines*, 6(2), 21.
  - **Wallis, R. S., Pai, M., Menzies, D., Doherty, T. M., Walzl, G., Perkins, M. D., & Zumla, A. (2010).** Biomarkers and diagnostics for tuberculosis: progress, needs, and translation into practice. *The Lancet*, 375(9729), 1920–1937.
  - **Walzl, G., Ronacher, K., Hanekom, W., Scriba, T. J., & Zumla, A. (2011).** Immunological biomarkers of tuberculosis. *Nature Reviews Immunology*, 11(5), 343–354.
  - **Wayne, L. G., & Sohaskey, C. D. (2001).** Nonreplicating persistence of *Mycobacterium tuberculosis*. *Annual Reviews in Microbiology*, 55(1), 139–163.
  - **WHO.(2004).** *WHO report 2004: global tuberculosis control: surveillance, planning, financing.*
  - **WHO. (2006).** *WHO REPORT 2006 Global Tuberculosis Control.* World Health Organization.
  - **WHO. (2009).** *Pathways to better diagnostics for tuberculosis: a blueprint for the development of TB diagnostics by the new diagnostics working group of the Stop TB Partnership.*
  - **WHO. (2017).** Global tuberculosis report 2018. *Global Tuberculosis Report 2017.*
  - **WHO. (2018).** BCG vaccines: WHO position paper–February 2018. *WHO Wkly Epidemiol Rec*, 93, 73–96.
  - **WHO. (2020).** *Global tuberculosis report 2020: executive summary.*
  - **Wilson, M. L. (2013).** Rapid diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection and drug susceptibility testing. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 137(6), 812–819.
  - **Wood, B. L., Arroz, M., Barnett, D., DiGiuseppe, J., Greig, B., Kussick, S. J., Oldaker, T., Shenkin, M., Stone, E., & Wallace, P. (2007).** 2006 Bethesda International Consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia by flow cytometry: optimal reagents and reporting for the flow cytometric diagnosis of hematopoietic neoplasia. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 72(S1), S14–S22.
  - **Wu, L., Hu, Y., Li, D., Jiang, W., & Xu, B. (2015).** Screening toll-like receptor markers to predict latent tuberculosis infection and subsequent tuberculosis disease in a Chinese population. *BMC Medical Genetics*, 16(1), 1–11.
  - **Wu, W., Zheng, Q., Guo, X., Sun, J., & Liu, Y. (2009).** A programmed release multi-drug implant fabricated by three-dimensional printing technology for bone tuberculosis therapy. *Biomedical Materials*, 4(6), 65005.
  - **Zare-Bidaki, M., Hakimi, H., Abdollahi, S. H., Zainodini, N., Arababadi, M. K., & Kennedy, D. (2014).** in Toxoplasmosis; friends or foeTLR4? *Microbial*

*Pathogenesis*, 69, 28–32.

- **Zhou, L.-J., Smith, H. M., Waldschmidt, T. J., Swarting, R., Daley, J., & Tedder, T. F. (1994).** Tissue-specific expression of the human CD19 gene in transgenic mice inhibits antigen-independent B-lymphocyte development. *Molecular and Cellular Biology*, 14(6), 3884–3894.
- **Zhu, Q., Zhang, M., Shi, M., Liu, Y., Zhao, Q., Wang, W., Zhang, G., Yang, L., Zhi, J., & Zhang, L. (2016).** Human B cells have an active phagocytic capability and undergo immune activation upon phagocytosis of *Mycobacterium tuberculosis*. *Immunobiology*, 221(4), 558–567.
- **Zucker, R. M., Massaro, E. J., Sanders, K. M., Degn, L. L., & Boyes, W. K. (2010).** Detection of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in cells by flow cytometry. *Cytometry Part A*, 77(7), 677–685.

## **Abstract:**

This study was conducted in the Center for Chest Diseases and Al-Hussein Teaching Hospital in the holy governorate of Kerbala for the period from October / 2020 to April / 2021. The study included 51 cases of both sexes, their ages ranged between (18-60) years, they were divided into two groups: The first group included 36 cases of tuberculosis patients (25 under treatment and 11 new diagnosed cases), and the second group was the healthy group, which included 15 healthy individuals of both sexes who do not suffer from any chronic or inflammatory diseases.

The study aimed to evaluate the effect of both TLR4 and CD19 immune standards on the immune response in Tuberculosis patients. Tests were performed using flow Cytometry technology, as well as an Interferon-Gamma release assay (IGRA) test using ELISA technology for the new diagnosis group (new infection). To confirm infection.

The results of the study indicated an increase in the number of cases of tuberculosis among the age groups 21-30 years and 31-40 years, which included 17 patients (47.2%) and 8 patients (22.2%).

The results of the current study showed that the incidence of male tuberculosis is higher than that of females, as the rate of male infection was (52.8%) and the percentage of female infection was (47.2%).

As for the results of the statistical analyzes related to measuring the level of TLR4, it showed that there were significant statistically significant differences at the significance level of  $p \leq 0.001$  between the new diagnosis group (recent infection) and the healthy group by noting an increase in the level of TLR4 in samples of newly diagnosed tuberculosis patients.

While the statistical analysis showed an increase in the level of CD19 in newly diagnosed patients compared to the healthy group.

The results of the current study showed that there were no significant differences in the level of TLR4 and CD19 between males and females.

Also, there were no significant differences in the level of the studied immunological criteria among the studied age groups.



**Republic of Iraq  
Ministry of Higher Education  
and Scientific Research  
Kerbala University  
College of Education for Pure Science  
Biology Department**



# **Evaluation Levels of TLR4 and CD19 in Tuberculosis Patients using Flow Cytometry at Kerbala Holy Governorate**

**A Thesis**

**Submitted to the Council of the College of Education for Pure Science , University of Kerbala in Partial Fulfillment of Requirements for the Degree of Master of Science in Biology**

**by**

**Muhammad Abbas Younes Al-Abbasy**

**(Bachelor of Science, /2014)**

**Supervised BY**

**Assist .prof. Dr. Hiyam Abdul Ridha Kareem**

**1443 A.H**

**2021 A.D**