الفصل الأول

جمع العينات و حفظها

مبادئ عامة :

لقد أصبح من المعلوم أنه من أجل تأكيد التشخيص السريري للأمراض لا بد من الاستعانة بالتشخيص المخبري إذ يصبح من السهل على الطبيب الفاحص وضع تشخيص متكامل و صحيح عندما يؤكد التشخيص السريري للمرض بالتحاليل المخبرية .و بهذا يمكن التوصل إلى تحديد العلاج اللازم . أو أن يحدد اللقاحات و المصول المناسبة في حالة الأمراض الوبائية. و في المخبر يمكن إجراء الفحوص و التحاليل الآتية :

١- فحوص الدم على اختلاف أنواعها (بيوكيميائية ، مورفولوجية ...)
٢- الفحوص الفيزيائية و الكيميائية للبول .
٣- فحوص الأمراض الجرثومية .
٤- فحوص الأمراض الطفيلية .
٥- الفحوص الفيزيائية و الكيميائية و الجرثومية للحليب.

جمع العينات و حفظها:

لكي تكون الفحوص دقيقة يجب الأخذ بعين الاعتبار النقاط الآتية :

١- طرق جمع العينات و الأدوات اللازمة لذلك
٢- أنواع العينات المجموعة
٣- الاحتياطات اللازمة و كيفية إرسال العينات إلى المختبر

الأدوات اللازمة لجمع العينات :

١- **المسحات** : و هي نوعان :

أ- المسحات العادية :

و هي عبارة عن أنبوب اختبار مسدود بسدادة من القطن غير القابل للامتصاص الملتفة حول الجزء الأعلى لقطعة من الخشب أو السلك أو البلاستيك بينما تلتف قطعة من القطن الطبي أو الشاش حول الجزء السفلي . و يجب أن لا يصل هذا الجزء إلى قاع الانبوب . و من أجل تجنب جفاف العينة (المسحة) يمكن صب القليل من محلول ملحي متعادل أو شوربة الغليكوز بمقدار مناسب بإذ لا يمس سطح المسحة .

تعقم المسحات بوساطة الاوتوكلاف لمدة /٢٠/ دقيقة على الدرجة /١٢٠/ م° ثم تجفف في فرن الهواء الساخن لمدة /٣٠/ دقيقة على الدرجة /١٨٠/م .

ب- المسحات المهبلية :

تتكون من أنبوبة معدنية مفتوحة من الطرفين بداخلها قضيب من الخشب أو الزجاج أو الصلب أطول من الأنبوبة يربط في أحد طرفيه قطعة من الشاش الماص و هو متصل بخيط طويل . هذا و يجب الانتباه إلى عدم تلوث المسحة بالبراز أثناء أخذ العينة و تعقم بالطريقة السابقة نفسها، و تستعمل المسحات من أجل جمع نماذج الدم بغية القيام بفحصه جرثوميا كما تستعمل من أجل جمع الصديد و المفرزات المختلفة للأجواف الأنفية و الأذن و أخذ عينات من المستقيم و المهبل .

٢- أنابيب اختبار ذات غطاء :

يوجد من هذا النوع أنابيب مختلفة منها أنابيب وزرمان لاختبارات التراص و أنابيب الترسيب لجمع السائل المنوي أو الدم و أنابيب اختبار عادية ذات غطاء و ذلك لجمع عينات الحليب ، البصاق ، الصديد ، الافرازات الأنفية .

- يجب عدم استعمال سدادات من القطن حتى لا تمتص العينات المجموعة .

٣- زجاجات ماكارتني :

تكون هذه الزجاجات بيضاء أو بنية لمنع تأثير النور أو أشعة الشمس على العينة و لها غطاء يمكن استعمالها في جميع المجالات التي تستعمل فيها الأنابيب و هي مفضلة في المخابر لأنها تحافظ على العينه من التبخر كما يمكن اجراء التثفيل فيها مباشرة .

٤- المحاقن و الابر :

توجد أنواع مختلفة من المحاقن فمنها مصنوعة من البلاستيك و هي معقمة و تستعمل لمرة واحدة فقط و منها الزجاجية التي تستعمل باستمرار بعد تعقيمها . و يختلف حجم المحاقن و سعتها حسب الغاية المستعملة لأجلها . أما الابر فهي مختلفة الطول و القطر و يوجد منها مقاييس مختلفة حسب الغرض المستعملة من أجله و غالبا ما تعطى أرقاماً حسب ما يأتي :

رقم ٢١-٢٥ للأوعية الدموية الصغيرة .

رقم ١٧-١٩ لعمليات نقل الدم في الانسان .

رقم ١٥-١٨ لأخذ عينات الدم من الحيوانات الكبيرة .

٥- محاقن خاصة :

و هي عبارة عن أنابيب مفرغة من الهواء ملتصق بها ابرة معقمة و مغلفة لمنع تلوثها و تستخدم لسحب الدم و البول أو السائل المفصلي أو الاستسقائي أو البلوري . و أحيانا تحتوي هذه المحاقن على كواشف أو مواد مضادة للتخثر .

٦- جامع البصاق :

و هو فنجان من الصلب يخرج من منتصفه قضيب طويل مقسم إلى أجزاء يستعمل عادة من أجل الحيوانات الكبيرة إذ يفتح الفم بفاتحة الفم و يدخل جامع البصاق إلى البلعوم من أجل أخذ العينة . يعقم جامع البصاق في الأوتوكلاف لمدة ٢٠ دقيقة ثم يجفف في فرن التجفيف بدرجة / ١٨٠/م لمدة / ٣٠-٦٠/ د.

٧- القساطر :

تستخدم لجمع البول في إناث الحيوانات كلها و في ذكور الخيل و الكلاب فعند الإ ناث تستخدم القساطر المعدنية و عند الذكور تكون عادة من المطاط أو البلاستيك و تعقم بالغلي أو بالاوتوكلاف حسب نوعية الجهاز و يمكن تعقيمها بوضعها في محلول برمنغنات البوتاسيوم بنسبة ١% .

٨- المهبل الاصطناعي :

يستعمل من أجل جمع السائل المنوي من ذكور الحيوانات . وهو مؤلف من كيس من المطاط يحيط به أنبوب من البلاستيك يملأ بالماء الدافئ بدرجة ٣٧°م. كما ينتهي هذا المهبل بأنبوبة زجاجية مدرجة لجمع العينة فيها و يعقم بالغلي لمدة /٢٠/ دقيقة .

٩- أكياس بلاستيك :

تستخدم لجمع عينات من الاعضاء الداخلية بعد اجراء الصفة التشريحية مثل القلب و الكبد و الرئتين و الطحال و الكلية أو المخ أو جزء من الأمعاء .

١٠-الشرائح :

تستخدم هذه الشرائح لصنع أفلام فورية من الدم أو القيح أو الحليب أو النتحات . و ذلك من أجل الفحص المجهري (جمرة خبيثة ، طفيليات دموية .....) كما تستخدم للفحص المجهري الفوري لعينات البراز و البول .

١١-أجهزة و أدوات أخرى :

عند الذهاب إلى منطقة نائية يجب أن تؤخذ بعض اللوازم الضرورية مثل :

- مصباح كحولي و بعض أطباق بتري و مصاصات باستور المعقمة
- ثلاجة متنقلة أو ترمس .
- أطباق بتري لجمع أجزاء من (العينات) الأعضاء الداخلية في العضوية
- بعض المواد الحافظة أو المضادة لتخثر الدم .
- محلول ملحي متعادل أو بعض المنابت الجرثومية السائلة النوعية .
- بعض الكواشف السريعة التي يمكن استخدامها في الحقل .
- أدوات تشريح – كفوف .

أنواع العينات

يختلف نوع العينة حسب الحالة المرضية التي جمعت من أجلها و كذلك حسب الفحوص اللازم اجراؤها و فيما يأتي أهم العينات :

١–الدم:

يمكن ارسال عينات الدم على أشكال مختلفة :

أ–دم كامل غير متخثر :

وهو دم مضاف اليه احدى مانعات التخثر و تستخدم لفحوص الدم المختلفة أهمها الهيماتوكريت ، و معظم الفحوص الكيميائية و الجرثومية و الشكليائية .

ب–شرائح الدم :

و تستعمل من أجل الفحوص الجرثومية مثل الكشف عن جرثوم الحمى الفحمية أو الباستوريلاأو لتحديد الصورة الدموية عند الطلب لعمل عد مقارن للخلايا البيضاء أو للكشف عن التغيرات في الكريات الدموية الحمر أو الكشف عن حالات الليكوزس أو السرطانات المختلفة .

ج–مسحات الدم :

تؤخذ المسحات الدموية من أجل استخدامها في الزرع الجرثومي عند الحيوانات المخبرية أو من الأعضاء عند اجراء الصفة التشريحية .

د–دم من دون اضافة مادة مانعة للتخثر :

و يؤخذ هذا الشكل من الدم بغية الحصول على المصل (syrum) و من أجل ذلك يوضع الدم في أنابيب اختبار معقمة و جافة، و يترك لفترة بدرجة حرارة الغرفة حتى يتم التخثر، و تنفصل العلقة . يستخدم المصل من أجل الكشف عن الأجسام المضادة في مرض البروسيلا في الأبقار و الأغنام و كذلك من أجل تحديد العناصر و الشوارد أو لتقدير البولة و الكرياتينين و سائر العناصر الدقيقة ، الشكل رقم –١–

الشكل رقم –١–

- **الخطوات الواجب اتباعها عند أخذ دم من الوريد :**

حلق الشعر فوق المنطقة – غسل المنطقة بالماء و الصابون – غسل المنطقة بالماء النظيف فقط – استخدام مطهر – يجب الانتظار حتى تجف المنطقة – يجب الحيلولة دون تلويث المنطقة بالأصابع أو بالأدوات غير المعقمة و ذلك في حالة الفحص الجرثومي للدم – يؤخذ الدم بكميات تتناسب ووزن الحيوان .

٢–القيح أو النتحات :

يجمع القيح أو الراشح الالتهابي و ذلك حسب الحالة فإذا كان خراجاً مغلقاً يمكن أن يؤخذ منه الصديد بوساطة محقن معقم مع ملاحظة اتباع الطرق اللازمة في النظافة و التعقيم أما في الحالات العادية فيجمع القيح بوساطة المسحة العادية .

٣–اللعاب و البصاق :

يجمع اللعاب عند الاشتباه ببعض الأمراض الفيروسية مثل الكلب أو مرض الحمى القلاعية و انفلونزا الكلاب ، الطاعون البقري ، و كذلك للكشف عن بعض السموم. أما النفث أو القشع فيجمع في حالات الالتهاب الرئوي ، السل ، طفيليات الجهاز التنفسي. و يفضل أن يجمع اللعاب أو البصاق في زجاجات ماكارتني المعقمة هذا عند الحيوانات الكبيرة أما عند الحيوانات الصغيرة فيجب القيام بعمل مسحات .

٤–البول :

يفضل عادة جمع بول يوم كامل بصورة طبيعية أو باستخدام جهاز القسطرة المعقم في حالات احتباس البول . أما عند الحيوانات الصغيرة فيمكن ادخال محقن أمام مفصل الركبة من الجهة اليسرى إلى المثانة و سحب الكمية المطلوبة من البول أو بالضغط على منطقة أسفل البطن فتحدث عملية التبول .

٥–البراز :

يجمع البراز لعدة أغراض و تفحص العينة مباشرة بعد أخذها من المستقيم باليد أو بوساطة المسحات من الحيوانات الصغيرة . وذلك لاجراء الفحوص الطفيلية كما يمكن اجراء الفحوص الجرثومية للكشف عن بعض الأمراض المعدية منها :

السالمونيلا – عصيات الكولي – جراثيم التسمم المعوي – مرض السل الكاذب ...الخ .

وهناك فحوص كيميائية لتقدير كميات السوائل و المواد الصلبة في حالات الاسهال و فحوص سمية للكشف عن نوعية السم و كذلك فحوص كيميائية فيزيائية للتحري عن سير عمل البنكرياس و الكبد و نقص بعض الانزيمات .

- ملاحظة : توضع عينات البراز في زجاجات غامقة اللون .

٦–الحليب :

عند جمع الحليب من الحيوانات مباشرة يجب أن تخصص انبوبة أو زجاجة ماكارتني بيضاء معقمة لكل ربع من الضرع ، سواء أكان الربع سليماً أم مصاباً . و ترقم كل

انبوبة على حدة . و يجمع الحليب للقيام ببعض الاختبارات الفيزيائية و الكيميائية و تدرس هذه الخواص في الحليب و تقارن النتائج مع القيم الطبيعية و ذلك من أجل الاستهلاك البشري . على أن تستكمل هذه الاختبارات بالفحوص الجرثومية و المصلية و بذلك يمكن تشخيص أمراض الضرع المختلفة و أمراض أخرى كالسل و البروسيلا ...

كما يمكن التحري عن وجود الدم أو الأسيتون في الحليب بالطرق المناسبة و كذلك يمكن تحديد مقادير العناصر النادرة مثل ...K,Na,Ca

٧–السائل المنوي :

يعد الفحص المخبري الدوري للسائل المنوي أمراً ضرورياً بغية التعرف على شكل و عدد و حركة و حيوية الحيوانات المنوية. و هل هي طبيعية أم تحمل بعض الشذوذات المرضية في الشكل أو الحجم .

٨–المفرزات المهبلية :

تفحص المفرزات المهبلية بعد جمعها بوساطة المسحات المهبلية من أجل الكشف عن بعض الأمراض التناسلية التي تصيب الأبقار و الأغنام و الخيول و يجب أن توضع المسحة بعد جمعها مباشرة في شوربة الغليكوز حتى يتم زرعها على المنابت النوعية . كما يمكن أن تؤخذ من مخاطية المهبل .

٩–آفات الجلد :

إن الأمراض الجلدية عديدة و متنوعة الأسباب ، وهذا ما يحثنا على الاهتمام بكيفية جمع العينات إذ يجب استعمال مشرط معقم مبلل بالغلسرين لجمع العينات من أطراف الاصابات أو البثرات أو الخراجات و ذلك بكحت أماكن الاصابة حتى الوصول إلى الأنسجة الحية من أجل فحصها جرثومياً و طفيلياً .

١٠–المفاصل – سائل المحفظة الزلالي – النخاع :

- في الحيوانات الحديثة الولادة و النافقة يمكن ارسال مفصلين، و يفضل عدم فتح المفصل إذا ارسل بكامله الى المخبر

- اذا كان المفصل مفتوحا يمكن ارسال الارتشاحات الالتهابية و ذلك بثني المفصل مستخدمين ممص باستور أو محقناً معقماً رفيعاً
- في الحيوانات الحية و في حالات التهابات المفاصل يجمع السائل الزلالي للدراسة الجرثومية و الخلوية بعد التعقيم التام يؤخذ بوساطة محقن معقم
- يؤخذ النخاع من العظام و يرسل للدراسة الخلوية في حالة الاشتباه بمرض السرطان .

١١–الأحشاء الداخلية :

بعد اجراء الصفة التشريحية للحيوان النافق لا بد من أخذ عينات من الأعضاء المصابة لاجراء فحوص باثولوجية أو جرثومية من أجل تأكيد التشخيص المبدئي. فعند الحيوانات الكبيرة و عند حدوث النفوق المفاجئ يجب أن تجمع الأعضاء الداخلية التي تظهر فيها التغيرات المرضية و خاصة القلب ، الكبد ، الطحال ، الكليتان و الرئتان . و في حالات التسمم المعوي تؤخذ الأجزاء الملتهبة من الأمعاء بكل محتوياتها .

أما في الحيوانات الصغيرة فيفضل ارسال الحيوان بكامله و خاصة إذا كان هناك اشتباه بمرض الحمى الفحمية .

١٢– سوائل البريتوان و غشاء الجنب :

تؤخذ بشكل معقم و ترسل للدراسة الجرثومية و الخلوية ، و في حالات الالتهاب توضع هذه العينات في أكياس نايلون كل قطعة على حدة و يجب أن تفحص مباشرة أو بعد ٤٨ ساعة على الأكثر أما في حالة محتويات المعدة و الأمعاء فيجب القيام بالفحص مباشرة بعد وصولها إلى المخبر .

حفظ العينات

لا بد من حفظ العينات و وصولها بحالتها السليمة إلى المخبر و من أجل ذلك يلجأ إلى اضافة بعض المواد الحافظة إليها و أهمها :

١- الثلج:

و هو مادة حافظة غير كيميائية و يوجد له نوعان :

أ- ثلج طبيعي : يستخدم بكثرة في حفظ الأعضاء المراد فحصها جرثوميا و هو يحفظ العينة حتى ٢٤ ساعة شتاء و ١٢ ساعة صيفا .

ب- ثلج جاف : و هو عبارة عن غاز ثاني اكسيد الكربون المجمد . يعطي حرارة قدرها /-٧٠ °م / و يجب استخدامه بحذر .يستخدم من أجل فحوص الأمراض الجرثومية.

٢- حمض البوريك :

يعد من المواد الحافظة ذات القوة المتوسطة و يستعمل عادة لحفظ عينات البول لمدة / ٨ / ساعات .

٣-التولوين:

و يملك قدرة حافظة تماثل قدرة البوريك ، و يستخدم أيضاً في حفظ عينات البول أثناء الانتقال من مكان الى آخر و لا يؤثر في خواص البول و لا على محتوياته.

٤-الكلوروفورم :

يمكن استعماله من أجل حفظ عينات البول ، إلا أن استخدامه الأساس هو من أجل حفظ الامصال و خاصة المستخدمه من أجل الفحوص الجرثومية كما يستخدم الكلوروفورم بنسبة / ٠,٥% / لحفظ محتويات الأمعاء.

٥-الغليسرين :

يعد من المواد الحافظة الشائعة الاستعمال و يستخدم بنسبة / ١٠% / من أجل حفظ العينات البرازية . كما يستعمل في حفظ الامصال المستعملة في الحقن كوسيلة من

وسائل الحفظ و التعقيم . و هناك مركب (O.C.G.) Oxalat-Carbon acid _Glecerin – يستخدم كمادة حافظة مركبة من :

ماء مقطر	٨,٢٤ مل.
غليسرين	٥ مل.
حمض الكربون	٥٠مل.
اوكزالات البوتاسيوم	٥٠مل.

٦- الفورمالين :

يعد الفورمالين من المواد الحافظة القوية التي تملك قوة النفاذ الى داخل الانسجة و لذلك فإنه يستخدم في حفظ الجثث و الاعضاء الداخلية و يستعمل عادة كمثبت للانسجة في تحضير العينات اللازمة للفحوص النسيجية .

٧- يحفظ المصل الذي سيخضع للفحوص السيرولوجية (المصلية) في محلول الفينول بنسبة / ٥% / و ذلك بحجم منه مقابل تسعة أحجام من المصل و كذلك فإن الحليب يحفظ بالتبريد أو باضافة محلول متعادل من الغليسرين مع التبريد .

أسباب فساد العينات

يعود فساد العينات للأسباب الآتية :

١- تحلل كريات الدم :

ينتج تحلل الكريات الدموية لبعض الاخطاء مثل استعمال محقن مبلل و استغراق و قت طويل لأخذ العينة و كذلك السرعة و العنف في مزج الدم مع المادة المانعة للتخثر، أو استعمال ابر غير مناسبة و هذا ما يؤدي الى تغيير صورة الدم الطبيعية مع حدوث تغيير في صفات المصل .

٢- التحلل الذاتي :

يحدث في الأعضاء ا لداخلية مثل الكبد و الطحال و الأمعاء نتيجة وجود الخمائر الذاتية و يرجع هذا التحلل إلى عدم كفاية المواد الحافظة أو طول المسافة بين مكان العينة و المخبر أو زيادة حرارة الجو .

٣- التعفن :

يعود السبب في ذلك لعدم استعمال مواد حافظة . و هناك عوامل مساعدة على تعفن الجثة سبق ذكرها في التحلل الذاتي .

٤- الجفاف :

يحدث الجفاف في العينات السائلة و هذا يعود لجمع كمية قليلة من العينة أو استعمال أنابيب أو زجاجات غير مناسبة من إذ الحجم أو اهمال العينة أثناء ارسالها إذ تتعرض للتبخر و الجفاف .

الفصل الثاني

الكريات الحمر واضطراباتها

Disorders of Erythrocytes

المفاهيم الأساسية لوظيفة الكريات الحمر،استقلابها،تشكلها و تحطمها

الجهاز الحمرائي :The erythron

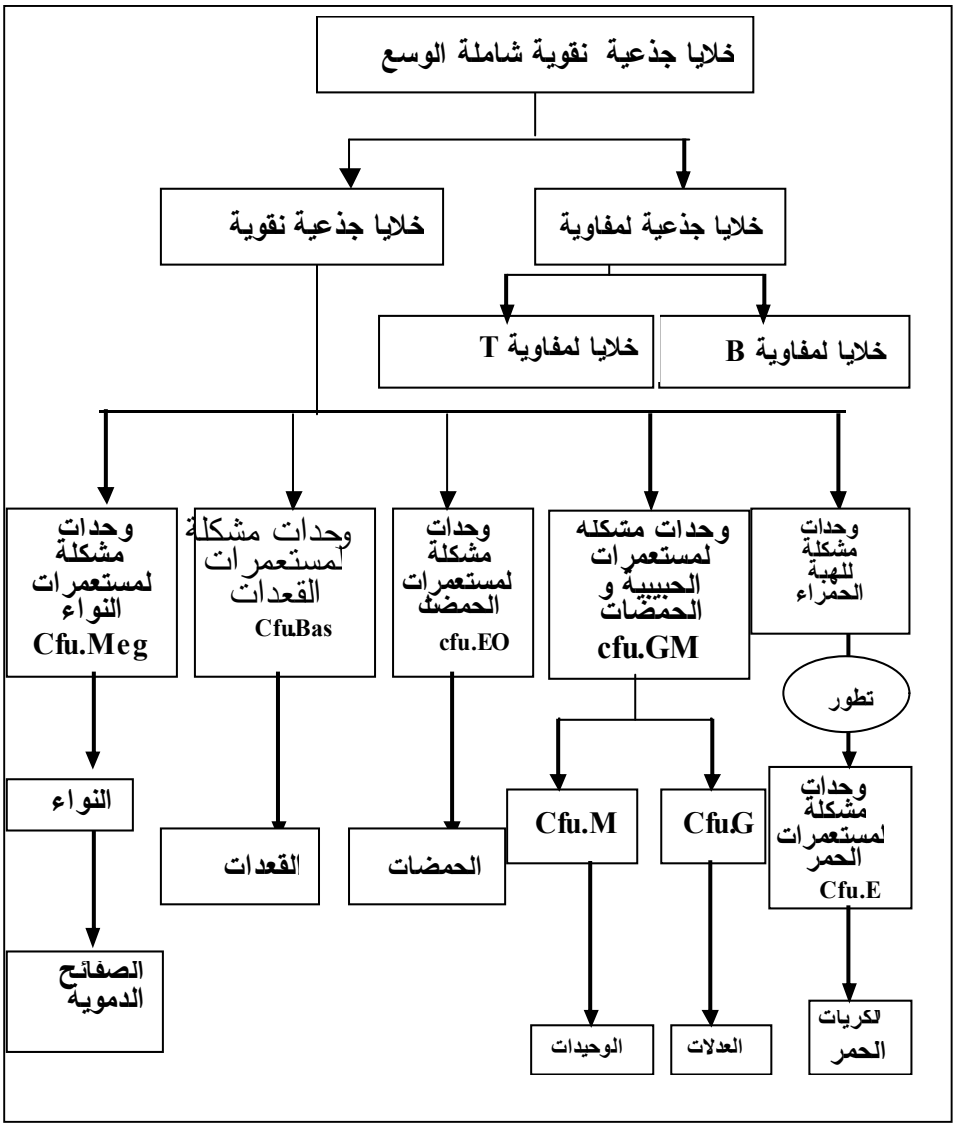
يطلق اسم الجهاز الحمرائي على كتلة الكريات الدموية الحمر الدائرة في تيار الدم إضافة إلى النسج المولدة للكريات الحمر في نقي العظم .

يحتوي نقي العظم على خلايا جذعيه stem cells و أسلاف progenitors . فالخلايا الجذعية هي خلايا قادرة على التوالد وعلى تجديد نفسها باستمرار و تتمايز إلى أنماط مختلفة من الخلايا ، بينما الأسلاف هي خلايا تشكل مستعمرات من مزارع نقي العظام و لكنها لا تملك قدرة تجددية واسعة و طويلة، و كلا النمطين من الخلايا السابقة لا يمكن تمييزها شكلياً عن الخلايا اللمفاوية فهي وحيدة النواة .

تنتج الخلايا الجذعية شاملة الوسع Totipotent المنشئة للدم نوعين من الخلايا :

١- الخلايا الجذعية اللمفاوية متعددة الوسع pluripotent lymphoid stem cells و ينتج عن تطورها الخلايا اللمفاوية التائية و البائية.

٢- خلايا جذعية نقوية متعددة الوسع pluripotent myeloid stem cells و تتطور بدورها لتعطي مجموعة من أسلاف الخلايا الأكثر تقدما و تميزاً مع قدرة محددة على تجديد نفسها و التي تنتج الخلايا الدموية ما عدا اللمفاوية (انظر إلى المخطط رقم ١ والذي يبين مراحل نشوء و تطور المكونات الخلوية للدم) .



المخطط (١) : مراحل نشوء و تطور المكونات الخلوية للدم.

وحتى يتم إنتاج الكريات الحمر لا بد من توافر احتياجات محددة، وهذه الاحتياجات هي وجود كميات كافية من الغلوبين و عناصر معدنية مثل الحديد و النحاس و الكوبالت و كذلك العوامل المشكلة للحمر، وجميع ما ذكر ضروري جداً من أجل النضوج الطبيعي للكريات الحمر إضافة إلى توافر كميات كافية من طلائع البروفرين Protoprophyrin .

إن الوظيفة الأساسية للكريات الحمر هي حمل خضاب الدم الذي بدوره يعمل كناقل للأوكسجين و ثاني أكسيد الكربون و لهذا يعرف الخضاب بأنه صبغة تنفسية، بالإضافة إلى ذلك فإن كتلة الكريات الحمر تشكل جزءاً من حجم الدم و بالتالي لها تأثير مهم على ديناميكية تدفق الدم.

تشكيل الهيم :

يكون تشكيل الهيم باتجاه واحد غير عكوس و يتم التحكم بتشكيله بوساطة الأنزيم المشكل لحمض الأمينوليفولينيك aminolevulinic acid synthetase والذي يتم التحكم بتشكيله بوساطة تلقيم راجع ناتج عن تركيز الهيم في الكريات الحمر.

تعتبر البروفرينات وأسلافها عبارة عن متوسطات للبناء الحيوي للهيم، فبعد تشكيل طليعة البروفرين يضاف إليه الحديد بوساطة أنزيم خلابة الفروس ferrochelatase وبذلك يتشكل الهيم . ويؤثر العديد من العوامل على تشكيل الهيم وأهمها الرصاص الذي يثبط مراحل بناء الهيم كافة، إذ يقوم بتثبيط جلب الحديد إلى مكان عمل أنزيم خلابة الفروس وكذلك يثبط الكلورامفنيكول بناء الهيم. و يمكن أن يؤدي عوز أنزيمات محددة في مسار بناء الهيم إلى تراكم كبير للبروفيرينات وأسلافها التي تفلت من الكريات الحمر وتتوضع في النسج أو تطرح مع البول.

تشكيل الغلوبين:

يتألف الغلوبين من سلاسل أحماض أمينية وله أنواع عدة، ويختلف كل نوع عن الآخر في تسلسل الأحماض الأمينية، ويكون تشكل الغلوبين متوازياً ومتوازنا مع

إنتاج الهيم وإن أي زيادة في بناء أحدهما يؤدي إلى زيادة إنتاج الآخر، و لم يلاحظ أي اضطراب في بناء الغلوبين في الحيوانات المستأنسة .

تشكيل خضاب الدم:

يتم تشكيل جزيء خضاب الدم بإتحاد أربع سلاسل غلوبين وكل سلسلة منها تتصل بوساطة مجموعة هيم.

استقلاب الحديد:

لّما كان بناء خضاب الدم يرتبط أساسا بوجود الحديد، فلذلك لا بد من الإشارة إلى استقلاب الحديد في الجسم. إذ يتم تنظيم محتويات الجسم من الحديد بوساطة معدلات الامتصاص والإطراح ويكون امتصاصه منظما بكمية مخزون الحديد وكذلك بمعدل بناء الكريات الحمر أو تشكيلها. وزيادته يؤدي إلى زيادة امتصاصه. و لكي يتم امتصاصه ونقله من ظهارة الأمعاء لابد من توافر السيروبلازمين وهو عبارة عن بروتين يحتوي على النحاس ويتشكل في الكبد وهو ضروري لنقل الحديد من ظهارة الأمعاء والبلاعم إلى الترانسفرين الذي هو بدوره أحد بروتينات الطور الحاد. و ينقل الحديد في الدم مرتبطا بالبيتاغلوبين والترانسفرين ويقاس الحديد المرتبط بالترانسفرين على أنه حديد المصل (SI).

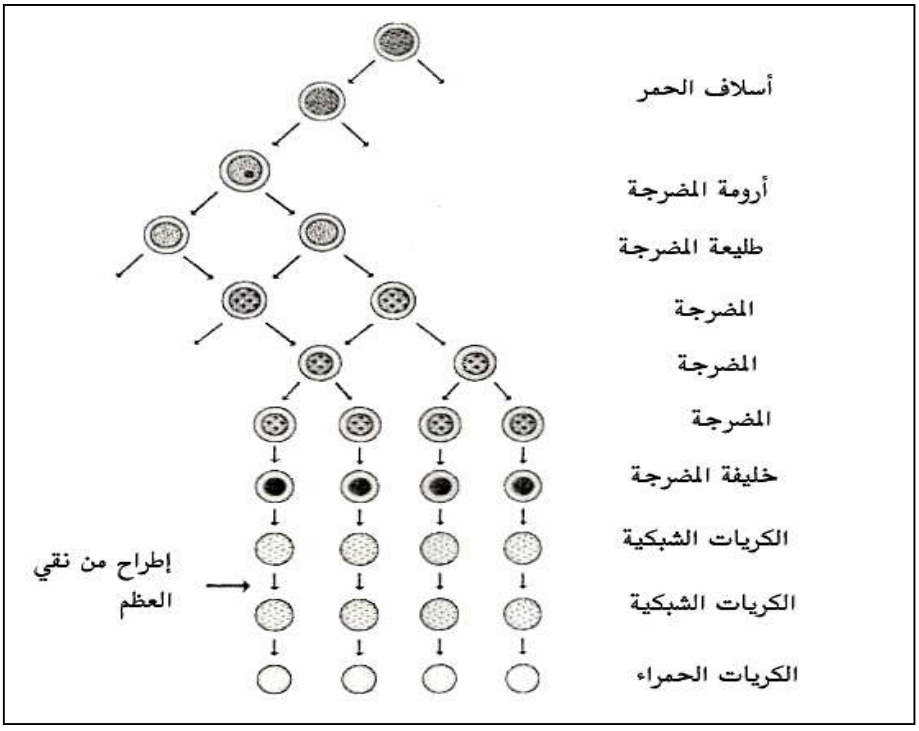
ينقص حديد المصل في حالات عوز الحديد والالتهابات الحادة والمزمنة وتزداد قيمه في حالات فقر الدم الانحلالي وزيادة الكورتيزونات في الكلاب والخيول ، ويتم حفظ الحديد في داخل البلاعم بشكل هيموسيدرين أو فيريتين. الهيموسيدرين أكثر ثباتية وهو أقل وفرة ويتألف من بروتين وفريتين فطري وفريتين متمسخ ، بينما الفريتين هو معقد بروتيني حديدي وهو الشكل الاختزالي الأكثر عطباً للحديد إذ يوجد قسم منه في مصل الدم وينقص مستواه في حالات فقر الدم الانحلالي ، فرط الحديد والالتهابات الحادة والمزمنة.

إن عملية ارتباط الحديد بالخضاب الدموي تتم في المرحلة الأخيرة من تشكيل الهيم وعلى هذا فإن فقد الحديد داخل الخلوي سوف يؤدي إلى ازدياد طلائع البروفرين في الكريات الحمر.

الاستقلاب في الكريات الحمر:

يكون الاستقلاب محدوداً بعد مرحلة تشكل الخلايا الشبكية بسبب أن الكريات الناضجة تكون عديمة المتقدرات اللازمة لعمليات الإستقلاب المؤكسدة.

ويبين المخطط ٢ المراحل المختلفة لتشكل الكريات الحمر .



المخطط (٢): نشوء الكريات الحمر تشكلها

العوامل المنظمة لتكوين الحمر:

١- هرمون مكونة الحمر: Erythropoietin

ينتج هرمون مكونة الحمر من خلايا حول النبيبات للكلية peritubular cells كاستجابة لنقص الأكسجة و تشمل آليات عمله على:

(أ) استثارة تكاثر خلايا السلف المشكلة للحمر cfu-E و كذلك تمايزها إلى خلايا المضرجة rubricytes.

(ب) استثارة بناء الخضاب في الخلايا الحمرائية المنقسمة.

(ج) التحول من بناء الخضاب في الأغنام من نوع إلى آخر (HbA إلى HbC).

٢- الإنترلوكين-٣-(Interlukin-3) والعوامل المنبهة للمستعمرات (cfs) Colony Stimulating Factors

ينتج الإنترلوكين- ٣ - من الخلايا اللمفاوية التائية و تنتج العوامل المنبهة للمستعمرات من اللمفاويات التائية و الخلايا البطانية و الأورمات الليفية و البلاعم. وبمقارنة آلية هذه العوامل مع مكونة الحمر فإنها تنبه تضاعف خلايا طلائع الحمر الابتدائية (BFU-E) (Burst Forming Unit-Erythrocyte) أو خلايا الوحدات المشكلة للهبة الحمرائية وتمايزها إلى خلايا الوحدات المشكلة لمستعمرات الحمر CFU-E (Colony Forming Unit-Erythrocyte) ، إذ أن خلايا الوحدات المشكلة للهبة الحمرائية تكون غير حساسة لمكونة الحمر .

ملاحظة : تقوم الاندروجينات بزيادة إطلاق مكونه الحمر، بينما تقوم الأستروجينات والكورتيزونات بتخفيض إطلاق مكونه الحمر ولكن تأثيرها الإكلينيكي غير جوهري ، وتؤثر هرمونات الغدة الدرقية والنخامية على احتياجات الأنسجة للأوكسجين و من ثم تغير الاحتياجات لتشكل الحمر.

تحطم الحمر Erythrocyte destruction :

يختلف متوسط دورة حياة الكرية الحمراء بين الأنواع الحيوانية المختلفة فهوعند الكلاب ١١٠ أيام وعند القطط ٧٠ يوماً وعند الأبقار ١٦٠ يوماً وعند الخنازير ٨٦ يوماً وعند الأغنام ١٥٠يوماً. ويترافق تعمير الكريات الحمر مع تغيرات في المحتوى الأنظيمي و تركيب الغشاء الخلوي، والتي تجعل الخلية أقل قابلية للعيش وتصبح عرضة للإزالة في الطحال. تزال الكريات المسنة عند الحيوانات السليمة من الدورة الدموية بطريقتين:

(أ) **البلعمة بوساطة البلاعم** : وهي الطريقة الأساسية، فعندما تبتلع الكرية الحمر داخل البلاعم، يتشكل جسيم بلعمي ويطلق ضمنه الخضاب من الكريات الحمر وينشطر إلى هيم و غلوبين، ثم يتحطم الغلوبين إلى أحماض أمينية يعاد أستخدامها، أما الهيم فبعد أن يتحرر الحديد منه يقوم أنظيم hemeoxygenase بتحليله ويتشكل لدينا أول أو كسيد الكربون co والبيليفردين والذي يختزل بوساطة أنزيم مختزلة البيليفردين إلى بيلروبين، الذي يطرح إلى الدم ويرتبط مع الألبومين وينقل إلى الكبد.

(ب) **الانحلال في داخل الأوعية الدموية:** بعد تحرر الخضاب الدموي في مصورة الدم، يرتبط مع ألفا–٢–غلوبين وكذلك مع الهابتوغلوبين، ويقوم الكبد بعد ذلك بتنظيف مصورة الدم منها ومن المعلوم أن كمية الهابتوغلوبين في الجسم قادرة على ربط ١٥٠مغ/دل من الخضاب و من ثم لا يطرح عن طريق البول، وفي حال إشباعه فإن الخضاب الباقي ينشطر إلى جزيء ثنائي يعبر المرشحة الكلوية . ومع الوقت فإن الخضاب المتحرر في الدم يتأكسد إلى ميثموغلوبين ثم يتحلل معطياً معقداً من البتاغلوبين والهيموبيكسين والذي يتم إزالته في الكبد .

طرق تقييم الكريات الدموية الحمر : Evaluation of Erythrocyte

المجموعة الأولى : وتشمل العد الكلي للكريات الحمر، مكداس الدم وقياس كمية خضاب الدم .

المجموعة الثانية : وتشمل تقييماً مناسباً للكريات الدموية الحمر : متوسط الحجم الكريوي MCV ، متوسط تركيز الخضاب الكريوي MCHC، متوسط كمية

الخضاب الكريوي MCH ونطاق توزع الكريات الحمر (Red Distribution Width) RDW

المجموعة الثالثة : شكلياء الكريات الحمر .

المجموعة الرابعة : تقييم الخلايا الشبكية .

المجموعة الخامسة : فحص نقي العظم .

قبل البدء في طرق التقييم والقياس لابد من جمع عينة الدم بشكل صحيح وأهم خطوة هي الحؤول دون تحلل عينة الدم لذلك يجب عدم أخذ عينة الدم بمحقن يحتوي على الماء أو أي أثر لماد كيميائية قد تحطم الكريات الحمر، ويجب أن يجرى التحليل على العينات الطازجة لأن ترك العينة فترة من الزمن يؤدي إلى تحلل الدم. وكذلك يجب استخدام مانع تخثر مناسب للاختبارات الدموية التي ستجرى، وسيمر ذلك مفصلاً في الجزء العملي(يبين الجدول رقم ١ القيم الطبيعية للكريات الدموية الحمر عند الحيوانات المستأنسة) .

المجموعة الأولى :

(١) العد الكلي للكريات الحمر : Total Erythrocyte Count

يتم عد الكريات الحمر بوسيلتين، و هما عدادة الكريات الحمر والعداد الإلكتروني Electronic Counting Method. تعاني الطريقة الأولى من عدم دقتها إذ أن الخطأ المحتمل هو ± ٢٠% وتكون الطريقة الثانية أكثر دقة. إذ تأتي أهمية عد الكريات الحمر بأنها تساعدنا على قياس مناسب الكريات الحمر و تقييم حالة فقر الدم .

(٢) الهيماتوكريت أو مكداس الدم للكريات الحمر : packed cell volume

ويعرف بأنه النسبة المئوية لمحتوى الدم من الكريات الدموية الحمر ويتم قياسه بطرق عدة هي :

أ– طرق التثقيل :

و هذه الطرق تعطينا الكسر الحجمي للكريات الحمر PCV وهي طريقة دقيقة للقياس (± ١%) وتجري طرق التثفيل إما باستخدام أنبوب وينتروب أو طريقة الأنابيب الشعرية وهي الطريقة الأفضل لقياس مكداس الدم وفي هذه الطرق يمكن تقييم بعض مكونات المصورة، إذ يمكن قياس تركيز البروتين (مقياس الانكسار Refractometer)، ويمكن قياس كمية مولد الليفين باستخدام الترسيب – الحرارة ومقياس الانكسار، ويمكن مناقشة لون وشفافية المصورة : فالمصورة الطبيعية للكلاب والقطط صافية لا لون لها، بينما مصورة دم الخيول والأبقار تكون مصفرة قليلا وصافية. تكون المصورة في حالة اليرقان صفراء وصافية، وتكون المصورة ضبابية وعكرة في حالة احتواء الدم على نسبة عالية من الشحوم. أما المصورة الخضابية (انحلال الدم) فتكون حمراء أو وردية صافية وفي هذه الطرق وبالأخص طريقة وينتروب يمكن تقييم الطبقة الرمادية buffy coat وهي نطاق أعلى الكريات الحمر وتحت طبقة المصورة، ومؤلف من كريات بيض وصفائح دموية .

ب– الطريقة الإلكترونية :

وهي طريقة دقيقة جداً إذ يتم عد الكريات الحمر إلكترونياً وكذلك يتم حساب متوسط الحجم الكريوي MCV إلكترونيا و من ثم يمكن حساب قيمة الهيماتوكريت :

$$PCV= MCV \times RBCs(million/mm^3) \times 100$$

(٣) قياس تركيز الخضاب الدموي :

إن قياس تركيز الخضاب الدموي يعكس مباشرة قدرة الجهاز الدموي على نقل الأوكسجين، وقد طورت آليات عدة في الطب البيطري لتزود الطبيب بمعلومات عائدة للصبغة التنفسية (الخضاب) في الدم وأهم هذه الطرق :

أ– طريقة الهيماتين الحمضي (طريقة ساهلي) :

وهي طريقة قياس تعتمد على قدرة البصر على مقارنة اللون المتشكل في العينة عند معاملتها بحمض كلور الماء مع لون عياري . وتعاني هذه الطريقة من عيوب عديدة أهمها: وجود مواد غير خضابية يمكن أن تؤثر على اللون، و قدرة بصر

الشخص على مقارنة اللون مع لون الزجاج البني بشكل دقيق، و العيب الشخصي في الرؤية. وهذه الطريقة لا تقيس إلا الخضاب الفعال المؤكسد .

ب– طريقة الأوكسي هيموغلوبين :

وتتم باستخدام جهاز مقياس سبنسر هيموغلوبين. ويستخدم في هذا الجهاز مرشحة خضراء لقياس الأوكسي هيموغلوبين بامتصاص الضوء، إذ يتم تحليل كريات الدم بإضافة الصابونين قبل مقارنة اللون الناتج مع اللون الأخضر العياري

ج– طريقة السيان ميثموغلوبين :

وهي أكثر الطرق الكيميائية دقة (±٠,٥%) وتقاس بجهاز المطياف الضوئي . وتعود أفضلية هذه الطريقة إلى أن المحاليل المستخدمة في هذه الطريقة ثابتة، و يمكن معايرة هذه المحاليل بدقة وسهولة، و طيف الامتصاص لها عند ٥٤٠ نانومتر، و في هذه الطريقة يتم قياس أنواع الخضاب الدموي في العينة كافة ماعدا السلفوميثموغلوبين.

د. طريقة الخضاب المؤكسج : و تعتمد هذه الطريقة على تحلل الخضاب بوساطة محلول النشادر و قياس اللون بمقياس الطيف الضوئي. و سوف تدرس و تطبق في الجزء العملي.

العوامل المؤثرة في قياس مكداس الدم والخضاب الدموي وعد الحمر :

(أ) إن التغير في كمية الكريات الحمر الجوالة في الدم يؤثر على الأبعاد الثلاثة السابقة ، إذ أن القيم المنخفضة للأبعاد الثلاثة يحصل في حالات فقر الدم، وإن النقص في قيم الأبعاد الثلاثة يمكن أن يكون متناسباً وبالأخص عندما يكون حجم الخلايا و/ أو كمية الخضاب لكل خلية متغايراً .

– إن زيادة كتلة الكريات الحمر (كثرة الحمر المطلقة) تؤدي إلى قيم مرتفعة للأبعاد السابقة، كما تحدث زيادة كاذبة لهذه القيم في حالات التجفاف وحالات الاهتياج التي تؤدي إلى تقلص الطحال.

(ب) إن التغيرات في حجم مصورة الدم يؤثر على الأبعاد الثلاثة، ويجب أن تتم مناقشة هذه القيم على ضوء معرفة حالة الإماهة Hydration status، فالتجفاف والاستسقاء يعطي قيماً عالية، و كذلك فرط الإماهة بإعطاء محاليل وريدية يؤدي إلى الحصول على قيم منخفضة تحاكي حالة فقر الدم.

المجموعة الثانية :

مناسب الكريات الحمر: RBCs indices

تفيد مناسب الكريات الحمر في تصنيف حالات فقر دم معينة (فقر الدم الشكلي) ومن هذه المناسب

(١) متوسط الحجم الكريوي : Mean Corpuscular Volume

ويقاس بقسمة كمية الكسر الحجمي للكريات الحمر في١٠٠٠ مل من الدم على العدد الكلي للكريات الحمر في المليون / الميكرو ليتر و واحدته هي الفيمتوليتر(١ فيمتو ليتر =١X١٠$^{-١٥}$ليتر)

MCV fl= PCV÷ RBCs (million/µl)X10

فعلى سبيل المثال لو كان لدينا مكداس الدم ٤٥% وعدد الكريات الحمر في الميكرو لتر هو خمسة ملايين فإن قيمة متوسط الحجم الخليوي تساوي ٤٥÷ ٥ X ١٠ = ٩٠ فيمتوليتر.

و كذلك يمكن أن يقاس متوسط الحجم الخليوي بالعداد الإلكتروني، الذي يعتمد على قياس المقاومة الكهربائية الحاصلة عند مرور كل كرية حمراء، ثم يقوم الجهاز بتحويل قيمة هذه المقاومة إلى حجم .

العوامل المؤثرة على قيمة متوسط الحجم الكريوي ومناقشة قيمته :

أ – زيادة قيمته :

- كثرة الكريات الشبكية وهي أشكال غير ناضجة للكريات الحمر، وهي خلايا كبيرة الحجم.

- نقص بعض العناصر التي تتداخل أو تعترض بناء الأحماض النووية و تثبط انقسام الخلايا، و من ثم وجود كريات حمر كبيرة كما هو الحال في نقص فيتامينB12 وحمض الفوليك عند الإنسان وهي أهم أسباب فقر الدم كبري الخلايا (هذه الحالة لا تحصل عند الحيوانات).
- أسباب خلقية تؤدي إلى كثرة الكريات الكبرية (كلاب البودل) .
- تراص الكريات الحمر يؤدي إلى قيم عالية كاذبة لمتوسط الحجم الكريوي .
- الخمج بفيروس ابيضاض الدم الهري يؤدي إلى كثرة الكريات الحمر الكبرية .

ب– نقص قيمته

- تمتلك الحيوانات الفتية عند معظم الأنواع الحيوانية كريات حمراء صغيرة وقيم MCV منخفضة، وهذا يمكن أن يعكس أيضاً حالة فقر الدم بعوز الحديد وهو السبب الأكثر احتمالاً لحدوثه في الحيوانات الفتية .
- يؤدي عوز الحديد إلى الحصول على قيم منخفضة لمتوسط الحجم الكريوي، إذ يحصل انقسام مفرط للخلايا قبل الحصول على التركيز الحرج لخضاب الدم الذي يكون ضروري لإيقاف تشكيل الـــ DNA وانقسام الخلايا و من ثم تنتج خلايا صغيرة.
- تحصل كثرة الكريات الصغرية microcytosis عند الكلاب في حالة التحويلة الوريدية البابية الجهازية portosystemic venous shunts .

(٢) متوسط كمية الخضاب الكريوي: Mean corpuscular Hemoglobin

وهو عبارة عن متوسط كمية الخضاب في كل كرية دموية حمراء مقدراً بالبيكوغرام، ويقاس بقسمة كمية الخضاب مقدرة بالغرام /د ل على عدد الكريات الحمر (مليون /ميكروليتر) مضروبا بعشرة

$$MCH\ (pg) = Hb(g/dl) \div RBCs\ (million/\mu l) X10$$

فمثلاً لو كانت كمية خضاب الدم في عينة دم هو ١٥ غ/د ل وعدد الكريات الحمر هو ٥مليون/ ميكروليتر، فتكون قيمة متوسط الخضاب الكريوي مساويةً لـــ

١٥ ÷ ٥ X ١٠ = ٣٠ بيكوغرام. هذه النسبة لا توفر معلومات إضافية و يعد قياس MCHC أفضل منه، وتؤثر فيه نفس العوامل المؤثرة في قيمةMCHC .

(٣) متوسط تركيز الخضاب الكريوي :

Mean corpuscular Hemoglobin Concentration

و يمثل تركيز الخضاب في الكريات الحمر و يقاس بقسمة كمية الخضاب (غ /دل) على قيمة مكداس الدم مضروباً بمائة

MCHC (g/dl) = Hb(g/dl) ÷ PCV X100

فلو كان مكداس الدم ٥٠%وكانت كمية الخضاب ١٥ غ /د ل فإن قيمته تساوي لـــ ١٥÷ ٥٠ X١٠٠ =٣٠ غرام/دل. وهو المنسب الأدق للكريات الدموية الحمر لأنه لا يحتاج إلى عد الكريات الحمر .

المناقشة :

- لا تحصل زيادة حقيقية في كمية MCHC لأنه لا ينتج كمية زائدة من الخضاب في الخلايا. وإن أي زيادة في قيمته هي صنعية وذلك إما نتيجة تحلل الدم أو وجود أجسام هينز، أو حالة فرط شحوم الدم. ففي هذه الطريقة يقاس الخضاب الدموي بكليته في داخل الخلايا وخارجها، والمعادلة تفترض وجود الخضاب في داخل الخلايا فقط مما يؤدي إلى قيم عالية كاذبة .

– النقص في كمية الـــ MCHC ويحصل في حالات :

- كثرة الخلايا الشبكية التي لا تحتوي على مكونات الخضاب كافة، و من ثم نحصل على قيم منخفضة للـــ MCHC
- نقص الحديد يؤدي إلى حالة قلة الصباغ و من ثم قيم منخفضة للـــ MCHC، وهذه العوامل هي نفسها التي تؤثر على قيم MCH .

(٤) نطاق توزع الكريات الحمر: Red cell distribution width

وهو عبارة عن قياس إلكتروني لتفاوت الكريات الحمر Anisocytosis أو التغاير الحجمي للكريات الحمر. ويمكن تعريفه بشكل آخر على أنه معامل تغاير

التوزع الحجمي للكريات الحمر ويحسب من حاصل قسمة الانحراف المعياري لمتوسط الحجم الكريوي للخلايا الحمر على متوسط الحجم الكريوي مضروباً بمائة :

$$RDW = SD_{MCV} \div MCV \ X10$$

وتختلف القيم المرجعية لهذا المنسب باختلاف الجهاز المستخدم واختلاف نوع الحيوان، فالأبقار والخيول تملك قيم RDW عالية مقارنة مع الكلاب والقطط .

تزداد قيمة RDW في حالات فقر الدم التجددي لأن الخلايا الشبكية والخلايا غير الناضجة تملك حجما أكبر من الخلايا الناضجة .

- وتزداد قيمة RDW في حالات فقر الدم الحاد بعوز الحديد إذ تكون الخلايا السائدة صغيرة الحجم .

في حالات فقر الدم بعوز الحديد المزمن فإن قيمة RDW تنخفض إذ تكون معظم الكريات صغيرة الحجم .

في حالات فقر الدم غير التجددي تكون قيمه طبيعية ويستمر ذلك حتى يحصل انخفاض جوهري في توليد الحمر .

النوع الحيواني	العددالكلي للكريات الحمر $\mu l / ^{6}10x$	مكداس الدم %	خضابالدم غرام/ديسيلتر	متوسط الحجم الكريوي فيمتوليتر	متوسط الخضاب الكريوي بيكوغرام	متوسط تركيز الخضاب الكريوي غرام/دل	عمرالكرية الحمراء باليوم
الأبقار	(٧)٨-٥	(٣٤)٤٢-٢٦	(١١) ١٤-٨	(٥٢)٦٠-٤٠	(١٤)١٧-١١	(٣١)٣٤-٢٦	١٦٠
الأغنام	(١٢)١٥-٨	(٣٥)٤٥-٢٤	(١٢) ١٦-٨	(٣٣) ٣٨-٢٣	(١٠)١٢-٨	(٣٢)٣٥-٢٩	(١٥٣-٧٠) بالغة
الماعز	(١٣)١٧-٨	(٢٨)٣٨-٢٠	(١١)١٤-٨	(١٩) ٢٥-١٦	(٦,٥)٨-٥	(٣٢)٣٤-٢٨	١٢٥
الخنازير	(٦,٥)٨-٥	(٤٥)٥٠-٣٢	(١٣)١٦-١٠	(٦٣) ٦٧-٥٠	(١٩)٢١-١٧	(٣٢)٣٤-٣٠	٦٢
الخيول	(٩)١٣-٧	(٤٢)٥٢-٣٢	(١٥)١٨-١١	(٤٦) ٥٨-٣٤	(١٦)١٨-١٤	(٣٥) ٣٧-٣١	١٥٠ -١٤٠
الكلاب	(٦,٨)٩-٦	(٤٥)٥٤-٣٧	(١٥)١٨-١٢	(٧٠) ٧٧-٦٠	(٢٣) ٢٥-٢٠	(٣٣) ٣٤-٣١	١١٥١٠٧-
القطط	(٧,٥)١٠-٥	(٣٧)٤٥-٢٤	(١٢)١٥-٨	(٤٥) ٥٥-٣٩	(١٦)١٧-١٣	(٣٣)٣٤-٣١	٦٨

جدول رقم (١) مجالات القيم الطبيعية للكريات الدموية الحمر للحيوانات المستأنسة
و الأرقام ضمن الأقواس هي متوسطات حسابية لقيم المعايير المعطاة

المجموعة الثالثة :

شكلياء الكريات الحمر و دلالاتها المخبرية :

وتتم دراسة شكلياء الكريات الحمر بعد تحضير لطاخة الدم وصباغتها بالصبغات المناسبة، ويوجد عدد من الصبغات بعضها صبغات متعددة الألوان مثل صبغة جيمزا وصبغة رايت وصبغة ليشمان (صبغات رومانوسكي)، أو صبغات وحيدة مثل الصبغات الحيوية التي تشمل صبغة أزرق الميثيلين الجديد وصبغة أزرق الكريزيل اللامع، إذ تصطبغ المجموعات الحمضية باللون الأزرق (RNA , DNA ، ريباسات وحبيبات أسية) والحبيبات الحامضية لا تصطبغ ، وفي حالة الخلايا الشبكية فإن الشبكة تصطبغ باللون الأزرق.

صبغات رومانوسكي : Romanowsky

وهي صبغات متعددة الألوان تصبغ المجموعات الحامضية باللون الأزرق (RNA) والمجموعات القاعدية باللون البرتقالي (بروتينات ، حبيبات الحمضات) وتنصبغ المواد المتبدلة اللون Metachromatic باللون الأرجواني (الخلايا الدقلية mast cell والحبيبات القاعدية والـ DNA النووي).

الشكلياء الطبيعية للكريات الحمر :

- تكون الكريات الحمر عند الكلاب كبيرة نوعاً ما إذ يبلغ قطرها (٧ ميكرومتر) وهي متماثلة الحجم وذات شحوب مركزي.
- الكريات الحمر عند القطط كبيرة (٥,٨ مكرومتر) والشحوب المركزي ضئيل وهي متباينة في الحجم وتحدث أجسام هول –جولي في ١% من الخلايا الحمر.
- الكريات الحمر للخيول : قطرها (٥,٧ ميكرومتر) ولا تحوي شحوباً مركزياً وتكون ظاهرة تشكيل النضيدة شائعة طبيعيا عند الخيول .
- الكريات الدموية للأبقار: قطرها (٥,٥ ميكرومتر) ، و يكون تفاوت حجم الكريات الحمر شائعاً عند الأبقار ويكون الشحوب المركزي بسيطاً .
- الكريات الدموية الحمر للأغنام تكون شبيهة بكريات الأبقار وقطرها ٤،٥ ميكرومتر .

- الكريات الدموية الحمر للماعز وهي الأصغر قطراً بين حيوانات المزرعة (٤ ميكرومتر)، ويكون تفاوت الكريات الحمر وتبكلها شائعاً عند هذه الحيوانات .

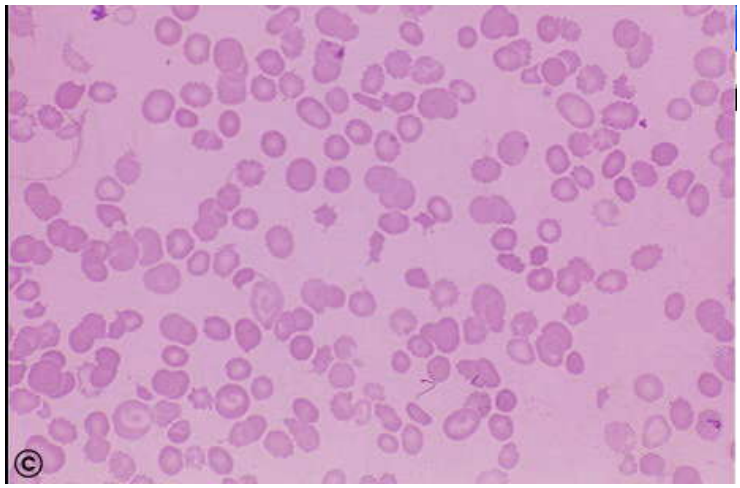
***تشكيل النضيدة : Reulux Formation**

وهو عبارة عن تجمع الكريات الحمر بشكل مشابه لقطع النقود . وتكون درجة تشكل النضيدة موازية لسرعة تثفل الكريات الحمر ESR ، ويكون مرافقاً لزيادة كمية مولد الليفين أو التغير الكمي في غلوبيولينات مصل الدم، وتكون هذه الظاهرة شائعة عند الخيول السليمة ويمكن أن تفقد هذه الظاهرة في حالات فقر الدم الشديدة أو في الخيول المدنفة Cachectic . وتحدث هذه الظاهرة بصورة متوسطة عند الكلاب والقطط السليمة، وتزداد في حالات الالتهابات و الأمراض السرطانية وهي ظاهرة نادرة الحدوث عند المجترات السليمة و المريضة منها .

★تراص الكريات الحمر:تتجمع كريات الدم بشكل عناقيد العنب، ويحدث ذلك في بعض حالات فقر الدم المتوسط بالأجسام المناعية، وتميز عن حالة تشكيل النضيدة بأنها تبقى بعد تمديد عينة الدم بالمحلول الملحي الفيزيولوجي.

*** تفاوت الكريات الحمر الحجمي : Anisocytosis**

وهو عبارة عن تمايز في حجم الكريات الحمر بسبب وجود كريات كبيرة أو كريات صغيرة بين الكريات الطبيعية .انظر الشكل رقم –٢–



الشكل رقم –٢– تفاوت حجم الكريات Anisocytosis

*** الكريات الحمر الكبرية :**

ويمكن أن تكون كريات شبكية متعددة الصباغ أو كريات كبيرة طبيعية الصباغ ، كما في بعض الأمراض مثل عدوى القطط بفيروس ابيضاض الدم الهري و الكريات الكبرية عند كلاب البودل (وراثي) .

*** الكريات الحمر الصغرية:**

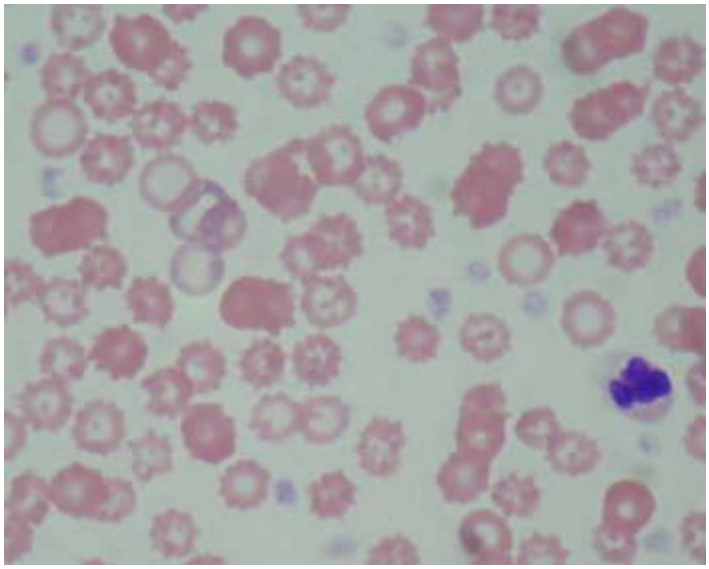
تشاهد في حالات فقر الدم بعوز الحديد وعوز البيرودوكسين، إذ تكون قيمة MCV منخفضة . وكذلك فإن فقر الدم المتوسط بالمناعة يترافق بوجود خلايا مكورة صغيرة Spherocyte .

*** الكرية حمراء متعددة الألوان : polychromatic erythrocyte**

عبارة عن تباين اللون بين الخلايا الحمر، فالخلايا الحمر المزرقة (تحوي بواقي RNA) هي خلايا كبيرة تمثل الخلايا الشبكية وزيادة عدد الخلايا الكبرية متعددة الصباغ يترافق مع زيادة فعالية تشكل الحمر و الاستجابة التجددية لفقر الدم علماً بأن الكلاب و القطط تحوي وبشكل طبيعي عدداً قليلاً من الخلايا متعددة الألوان.

*** نَقْصُ الانْصِباغ: Hypochromia**

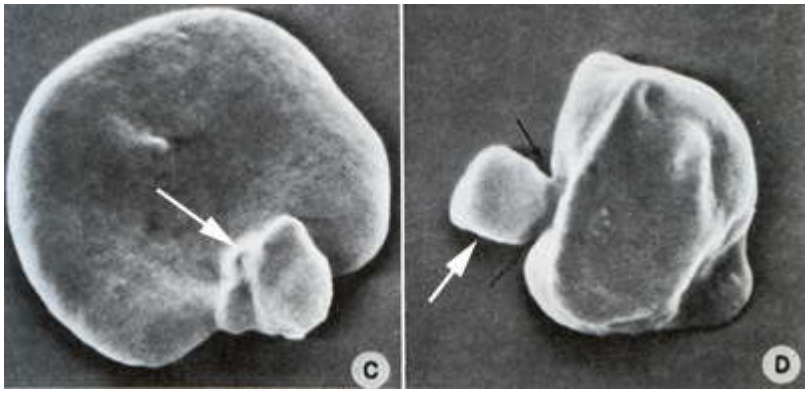
وهو نقص كثافة صبغة الكريات الحمر وزيادة في الشحوب المركزي، و سببه نقص الخضاب في الكرية. ويعد نقص الحديد هو السبب الأكثر شيوعاً لذلك. انظر الشكل رقم –٣–



الشكل رقم –٣– نقص الانصباغ

*** الخلايا البكلية Pokilocyte** :

وهو مصطلح عام يستخدم للتعبير عن الأشكال غير الطبيعية للكريات الحمر وهناك أشكال عدة للخلايا البكلية : الشكل رقم –٤–



الشكل رقم –٤– كريات حمر غير طبيعية

(أ) الخلايا المشوكة (المسننة) : Echinocyte

وهي خلايا حمراء مسننة الحواف مع نتوءات متماثلة، وتشاهد في العينات القديمة أما في الجسم فتشاهد في حالة اليوريمية Uremia وفي حالة عوز أنظيم البيروفات كيناز عند الكلاب . الشكل رقم –٦–

(ب) الخلايا القرنية: Keratocyte

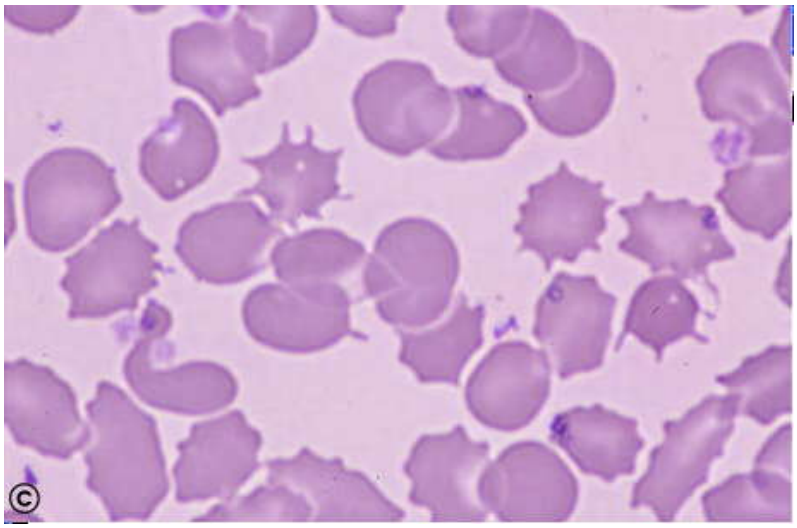
وهي خلايا حمراء تحتوي على حوصلة أو أكثر منغلقة أو مفتوحة، وفي حالة انفجار الحوصلة يبرز على السطح نتوء أو أكثر وهي مناطق لا تأخذ الصبغة و قد لوحظت هذه الخلايا في حالات فقر الدم بعوز الحديد و الأمراض الكبدية و الأمراض التي يتشكل فيها الليفين ضمن الأوعية الدموية وفي حالات الرضوض .

(ج) الفصيمة كروية (خَلِيَّةٌ خُوذِيَّة): Schistocyte

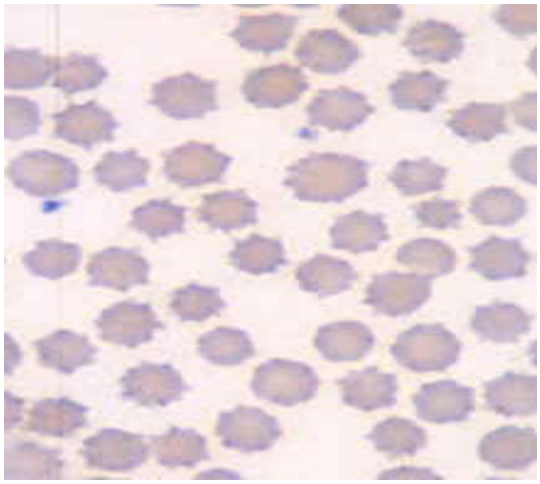
وهي عبارة عن أجزاء كرية حمراء غير منتظمة لها إمتدادين أو ثلاثة إمتدادات حادة (حالات الرضوض).

(د) الكريات الشائكة (خَلِيَّةٌ مِهْمازِيَّة): Acanthocyte

وهي كرية حمراء لها بروزان أو أكثر غير حادين، وتشاهد في أمراض الكبد وفي حالات الساركومةٌ الوِعائِيَّة Hemangiosarcoma. انظر الشكل رقم – ٥–



الشكل رقم –٥– الخلية المهمازية **Acanthocyte**



الشكل رقم –٦– الخلية الحمراء المشوكة (المسننة)

*** الكريات الهديفة (الرخيفة) : Leptocyte**

وهي خلايا رقيقة منبسطة قليلة الصباغ مع زيادة الغشاء الخلوي عن حجم الخلية، لذا تظهر بأشكال غير طبيعية على شكل مطوي أو على شكل الترس، و تظهر في حالة التحويلة الجهازية البابية وفي بعض حالات القصور الكبدي وفقر الدم بعوز الحديد .

*** الكرية الحمراء المكورة: Spherocyte**

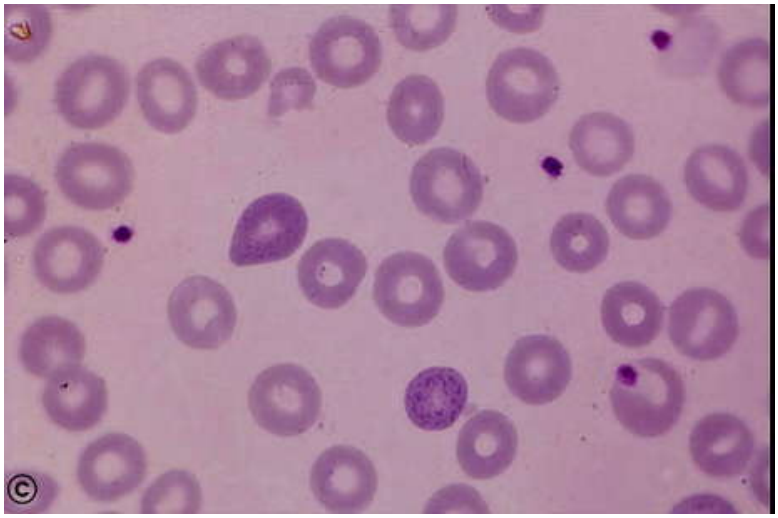
وهي خلايا صغيرة داكنة، فاقدة الشحوب المركزي central pallor، وغشاء الخلية أصغر من حجمها. تشاهد في الكلاب المصابة بفقر الدم الانحلالي المتوسط بالمناعة وبعد حالات نقل الدم، وتنتج من عملية البلعمة الجزئية للكرية الحمراء، وتزال من الدم بوساطة البلاعم الطحالية لأنها لا تتمتع باللدونة للمرور في الأوعية الشعرية للطحال.

*** الكرية الثغرية(كُرَيَّةٌ مُفَوَّهَة) : Stomatocyte**

وتحصل نتيجة سوء تحضير الفيلم الدموي أو عند الكلاب في مرض داء الخلايا المفوهة الوراثي (زيادة كمية المادة داخل الخلية)

*** الترقط القعد : Basophilic stippling**

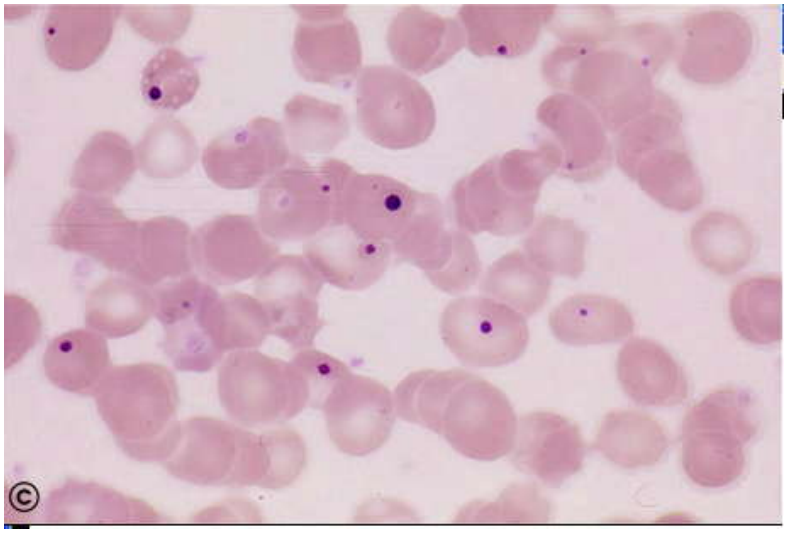
وتمثل تكدسات نقطية من بقايا الـــ RNA في الخلايا المصبوغة بصبغات رومانوسكي وتشاهد في حالات فقر الدم التجددي عند الأغنام و الأبقار وأحياناً عند القطط، ويكون الترقط القعد مميزاً للتسمم بالرصاص عند مختلف الحيوانات . الشكل رقم –٧–



الشكل رقم –٧– **الترقط القعد Basophilic stippling**

*** أجسام هاوِل–جولِي: Howell-Jolly Bodies**

جسيمات كروية صغيرة ومستديرة ، عبارة عن بقايا النواة وتبدو بشكل أجسام كروية مزدوجة أو مفردة داخل الكريات الحمر ويجب تمييزها عند الأبقار من الأنابلازما، وهذه الأجسام متفاوتة في الحجم ويمكن أن توجد في أي مكان من الخلية وتوجد هذه الأجسام في حالات فقر الدم الشديد. وتحتوي الكريات الحمر للقطط على هذه الأجسام طبيعياً بنسبة ١% وتوجد أحياناً عند الخيول بشكل حبيبات سوداء محيطيه. تشاهد اجسام هاوِل–جولِي في حالات فقر الدم التجددي وفي حالات استئصال الطحال إذ تتشكل هذه الجسيمات في نقي العظام وتزال في الطحال بعملية تسمى التوهد Pitting action الشكل رقم –٨–



الشكل –٨– أجسام هولي جولي

*** أَجْسامُ هاينز (هيموغلوبين مترسب في الخلايا الدموية): Heinz bodies**

تراكيب دائرية على السطح الداخلي لغشاء الكريات الحمر وتمثل أشكالاً متمسخة لخضاب الدم، وتحدث بالتأكسد ولا تنصبغ هذه الجسيمات بصبغة رايت بشكل جيد ولكنها تظهر بشكل جيد بصبغة أزرق الميتيلين الجديد. تمزق أجسام هينز عادة غشاء الخلية. وتترافق مع حالات فقر الدم الانحلالي (انحلال الدم داخل الأوعية) وتكون القطط أكثر حساسية لتشكيل أجسام هاينز، لاحتوائها على عدد كبير من مجموعات السلفوهيدريل في خضابها و من ثم تكون أكثر حساسية للأكسدة. و هي تلاحظ عند الخيول المصابة بفقر الدم بعد المعالجة بمركبات الفينوثيازين أو التسمم بالبصل البري والمستأنس. ويكون السبب الأكثر شيوعاً لحدوثها إجمالاً هي المواد السامة للكريات الحمر.

*** كرية حمراء منواة: Nucleated erythrocyte**

لا تحدث هذه الحالة عند أي نوع من الحيوانات السليمة باستثناء الخنانيص الرضيعة. إذ توجد فقط في نقي العظام ولا تظهر إلا في حالات المرض، و يدل وجودها في تيار الدم على استجابة شديدة في نقي العظام لتشكيل الخلايا الحمر، وتكون هذه الخلايا من نوع خليفة المضرجة. وتشاهد في حالات فرط تنسج النسيج

الحمرائي ويترافق بحدوث داء الخلايا الشبكية (كثرة الخلايا الشبكية)، حالات التسمم بالرصاص، حالات الساركومةُ الوِعائِيَّة للكبد والطحال، التهاب نقي العظام، تولد الدم من خارج النقي Extramedullary Hematopoeisis ورضوض نقي العظام. فيما يخص الخيول، فمن النادر مشاهدة الكريات المنواة أو الكريات الشبكية حتى في حالات فقر الدم الشديد.

* **طفيليات الدم :**

وهي إما طفيليات متوضعة داخل الكرية الحمر أو على سطحها مثل البابيزيا، الثايليريا، الانابلاسما والهيموبارتونيلا الكلبية و الهرية . ويجب التفريق بينها وبين الأجسام الاحتوائية، إذا إن الطفيليات الدموية في المحضرات المصبوغة تبدو وكأنها محاطة بهالة غير مصبوغة ولا نلاحظ هذه الهالة في حالة الأجسام الاحتوائية .

* **الكريات اللامتراكزة Eccentrocyte :**

كريات حمراء يتوضع فيها الصباغ في أحد أجزاء الخلية ويبقى الجزء الآخر من الخلية شاحباً. و تشاهد الكريات اللامتراكزة في حالة التعرض للمواد المؤكسدة .

المجموعة الرابعة:

تقييم الخلايا الشبكية : Reticulocyte Evaluation

وهي خلايا حمراء غير منواة وغير ناضجة تحتوي على ثمالات من RNA ومتقدرات وتنتظم بشكل شبكة. يتم الكشف عنها بصبغ أفلام الدم بأحد الصبغات الحيوية مثل أزرق الميثيلين الجديد أو أزرق الكريزيل اللامع، وهي الخلايا متعدد ة الصباغ نفسها التي تظهر في المحضرات المصبوغة بصبغات رومانوسكي. و تطلق هذه الخلايا من نقي العظام كاستجابة لحالات فقر الدم ويدعى هذا بزيحان الخلايا الشبكية، ويستخدم عدد الخلايا الشبكية في الدم المحيطي كمنسب لنشاط نقي العظام واستجابته لفقر الدم .

- **وسائل عد الخلايا الشبكية :**

(أ) النسبة المئوية للخلايا الشبكية: تعد في أفلام الدم المصبوغة بأزرق الميثيلين الجديد من ٥٠٠ – ١٠٠٠ كرية حمراء ويعد أثناء ذلك الخلايا الشبكية، وبعد ذلك تحسب النسبة المئوية للخلايا الشبكية التي عدت خلال عد ١٠٠٠ خلية حمراء .

(ب) النسبة المئوية المصححة للخلايا الشبكية = النسبة المئوية للخلايا الشبكية غير المصححة X مكداس الدم للحيوان المريض ÷ مكداس الدم الطبيعي .

(ج)العدد المطلق للخلايا الشبكية (خلية / ميكروليتر) :

= عدد الخلايا الشبكية غير المصحح (%) X عدد الكريات الحمر (مليون/ميكروليتر).

مناقشة عدد الخلايا الشبكية :

- الزيادة تدل على وجود استجابة نقوية (فقر دم تجددي) وسبب الزيادة هو خارج نقوي (فقر دم انحلالي – فقر دم نزفي)
- تكون الزيادة في عدد الخلايا الشبكية في فقر الدم الانحلالي أكثر منها في فقر الدم النزفي .
- تصبح الزيادة حقيقية في عدد الخلايا الشبكية بعد ٢ – ٣ أيام من حدوث فقر الدم (تبلغ الذروة بعد ٧ أيام من بداية المرض) .
- لا تشاهد الخلايا الشبكية في أي شكل من أشكال فقر الدم غير الخيول .
- تحوي الخنانيص الرضيعة وبشكل طبيعي على عدد كبير من الكريات الشبكية. وتتواجد عند الكلاب طبيعياً بنسبة ١% وعند القطط بنسبة ٠,٥ %.
- إن عدم وجود استجابة خلوية شبكية بعد التعرض لفقر الدم يفترض أن نقي العظم لم يستجب (فقر دم غير تجددي)، وهناك قصور في تشكل الكريات الحمر .

الكريات البيض واضطراباتها
Leukocytes (White Blood Cells) And its disorder

صنفت الكريات البيض عند الثدييات إلى كريات بيض مفصصة النواة polymorphonuclear leukocyte وكريات بيض وحيدة النواة mono nuclear فالكريات البيض مفصصة النوى تحتوي على نواة كثيفة ومفصصة ويطلق عليها عادة اسم الكريات المحببة بسبب احتواء هيولاها على كمية كبيرة من الحبيبات الهيولية. ويفضل استخدام مصطلح الكريات المحببة في الطب البيطري بسبب أن تفصص النواة لا يحصل في الكريات المحببة عند الزواحف وكذلك لا يكون شائعاً أو بارزاً عند الطيور كما هو الحال عند الثدييات .

يلاحظ في معظم أنواع الثدييات إن حبيبات العدلات لا تصطبغ أو تبدو بشكل وردي فاتح في الصبغات العادية، وبالمقابل فإن بعض الطيور والزواحف وبعض أنواع الثدييات مثل الأرانب وخنازير غينيا وخرفان البحر manatees فإن حبيبات تلك الخلايا تصطبغ باللون الأحمر ولذلك تدعى بالخلايا المحببة المتغايرة الحُبَيْبَات heterophils granulocyte والتي يجب أن تميز بدقة وعناية عن الكريات اليوزينية (الحمضات) شكلياً ووظيفياً.

شكلياء ووظائف وإنتاج وحركيات البيض:

تشتمل الكريات البيض على العدلات ، الوحيدات ، الحمضات ، القَعِدات ، واللمفاويات.

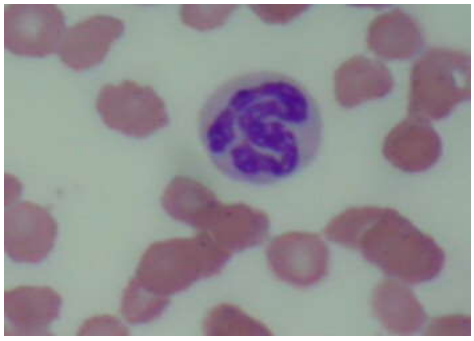
تشارك جميع هذه الخلايا في دفاعات الجسم.

أ- العدلات Neutrophils

-الشكل: Morphology

تملك العدلا ت الناضجة نواة متعددة الفصوص وتملك نوعين من الحبيبات وهي الحبيبات الأولية أو الحبيبات اللازوردية وهي حبيبات ليزوزومية وتحوي البيروكسيداز

والليزوزيم وبروتينات هابطية قاتلة للجراثيم، وتحتوي أيضاً على حبيبات نوعية وتحوي على اللاكتوفرين والليزوزيم والفوسفاتاز القلوية ومنشط مولد البلازمين والكولاجيناز.
يمر نضوج العدلات بعدة مراحل وتبدأ بأرومة النقوية (Myeloblast) وتتميز بأن نواتها تكون بيضوية، يليها مرحلة سليفة النقوية (Promyelocyte) ويلاحظ ظهور الحبيبات اللازوردية وأهم ما يميز هذه المرحلة هو وجود الحبيبات السيتوبلازمية ويمكن ملاحظة وجود النويات، يلي ذلك مرحلة النقوية Myolocyte وتكون النواة بيضوية ولا تلاحظ النوية في هذه المرحلة .
بعد ذلك تأتي مرحلة خليفة النقوية Metamyelocyte، والمرحلة التالية هي الخلايا المأطورة (شريطية) إذ تكون النواة شريطية الشكل رقم –٩ –



الشكل رقم –٩– خلية شريطية من العدلات

تنظيم تكون المحببات Regulation of granulopoiesis

خلال الغزو الميكروبي أو الأذية النسيجية إذ تزداد الحاجة للعدلات فإن اللمفاويات التائية والبالعات تتنشط وتنتج العوامل المنشطة للمستعمرات إذ تقوم السيتوكينات بتنبيه الخلايا البطانية والأورمات الليفية على إنتاج هذه العوامل والتي بدورها تقوم بفعل مباشر على الأنسجة المولدة للدم إذ تزيد التكاثر الخلوي proliferation وتنبه التمايز الخلوي وتعزز الوظائف الخلوية. وتقوم الوسائط الالتهابية الأخرى بتنبيه نقي العظم على إطراح العدلات وتشجع هجرة والتصاق العدلات إلى بطانة الأوعية الدموية للنسيج المتأذي.

وظائف العدلات : Function

إن الوظائف الأساسية للعدلات هي البلعمة وقتل الميكروبات وتكون هذه الفعالية واضحة جداً في النسج ولكن ليس في تيار الدم ويتم ذلك عبر الالتصاق والهجرة عبر جدران الأوعية الدموية وانجذابها الكيميائي إلى النسج التي تطلق منتجات المتممة أو المنتجات الجرثومية أو مستقلبات حمض الأرشيدونيك وتقوم بعملية الهضم وإزالة التحبب وقتل الجراثيم.

إنتاج العدلات:

يتم إنتاج العدلات ونضوجها في نقي العظم ويمر ذلك في حيزين compartments، حيز التكاثر بالانقسام الفتيلي ويشمل هذا الحيز الأرومة النقوية وسليفة النقوية والنقوية إذ يحصل ٤-٥ انقسامات تؤدي إلى تشكيل ١٦-٣٢ خلية من خلية جذعية نقوية واحدة، ومعظم الانقسامات تحصل في مرحلة النقويةmyelocyte. ويستغرق هذا الانقسام حوالي يومين ونصف ويكون حوالي ٢٠% من العدلات في نقي العظام في حيز الانقسام.

أما الحيز الثاني فهو حيز النضوج والتخزين storage – maturation compartment وهذا الحيز يشمل أساساً خليفة النقوية والمأطورة band والعدلات مفصصة النواة وهي خلايا ناضجة وظيفياً .وهذه المرحلة تشكل حوالي ٨٠% من مجموع الخلايا الحبيبية في نقي العظم . ولا تستطيع هذه الخلايا الانقسام و تتم عملية النضج هنا أساساً في النواة.

وتستمر هذه المرحلة حوالي ٥٠-٧٠ ساعة وتختلف أيضاً باختلاف وقت التخزين إجمالاً قد يستغرق وقت التخزين في حالة الصحة حوالي ٥ أيام، ومن الملاحظ أن إطراح العدلات من نقي العظام له علاقة بالعمر فيتم أولاً طرح العدلات الأقدم (الأكثر عمراً).

- **تنظيم إنتاج العدلات** : يتم ذلك بوساطة هرمون مُكَوِّنُ المُحَبَّبات (granulopoietin)، وهو أحد العوامل المنبهة للمستعمرات. يتم إنتاج هذا

الهرمون من الخلايا التائية والأورمات الليفية وخلايا البطانة الوعائية وهذا العامل هو متطلب أساسي (مطلق) من أجل تنشيط الانقسام الفتيلي للخلايا الجذعية ثنائية الكمون. وإن تركيز العامل المنبه للمستعمرات CNF هو الذي سوف يحدد تمايزها إلى خطوط العدلات أو خطوط الوحيدات وهو يؤثر على عدد الانقسامات الخلوية في حيز الانقسام والنضوج.

– إطراح العدلات من نقي العظام :

يشجع إطراح العدلات بوساطة عامل المصورة المعروف باسم العامل المحرض لكثرة البيض أو عامل إطراح العدلات والذي ينتج من مكان غير معروف، ويزداد تركيزه تحت تأثير المنتجات الجرثومية أو اضطراب تشكل العدلات. و تؤدي زيادة إطراح العدلات من حيز التخزين إلى كثرة العدلات (زيادة العدلات في الدم) وهذا يؤدي إلى قلة العدلات في حيز التخزين في نقي العظم وزيادة الخلايا في حيز الانقسام، ومع زيادة الطلب على العدلات وقلة العدلات الناضجة في حيز التخزين فإنه يمكن ملاحظة وجود الخلايا المؤطرة (الشريطية) في تيار الدم (الزيحان لليسار). ويمكن في بعض الأحيان مشاهدة خليفة النقوية في الحالات الخطرة .

– حركيات العدلات في حالة الصحة :

تشكل العدلات الملتصقة على البطانة الوعائية ما يعرف بتجميعة العدلات الهامشية Marginal neutrophil pool وهي غير مشمولة في العد الروتيني للكريات البيض وتشكل العدلات المتحركة في تيار الدم والمصورة وفي الشرايين والأوردة ما يعرف بتجميعة العدلات الجائلة Circulating neutrophil pool وهي التي يحصل عليها من العد التفريقي للبيض وفي العد الروتيني.

تشكل تجميعة العدلا ت الهامشية وتجميعة العدلات الجائلة ما يعرف بتجميعة العدلات الكلية في الدم.

يكون حجم تجميعة العدلات الهامشية مساوياً لتجميعة العدلات الجائلة في الكلاب والخيول والعجول، بينما عند القطط فيكون الهامشي أكثر بثلاث مرات من الجائل.

إن عمر العدلات في الدم في حالة الصحة حوالي عشرة ساعات ويتم استبدال العدلات في تيار الدم بمعدل مرتين ونصف يومياً. ويجب ملاحظة أن العدلات التي تهاجر إلى النسج لا تعود مجدداً إلى تيار الدم.

الوحيدات: Monocytes

تشتق الوحيدات من نقي العظم ثم تجول في تيار الدم وتقيم فيه لفترة قصيرة بعدها تهاجر إلى النسج وتتحول إلى بلاعم Macrophage

تحوي البلاعم على حبيبات وأنزيمات هادمة للبروتينات أكثر من أسلافها الوحيدات، وتعيش البلاعم لفترات طويلة في النسج وهي قادرة على الانقسام وهي خلايا بلعمية وظيفياً.

تشمل البلاعم المشتقة من الوحيدات على :

١- البلاعم أو الخلايا النسيجية (المنسجة)histiocyte في النضحات Exudates

٢- البلاعم الجنبية (Pleural) والبلاعم الصفاقية.

٣- البلاعم السنخية الرئوية.

٤- المنسجة (البلاعم) في النسج الضامة.

٥- بلاعم الطحال، بلاعم العقد اللمفاوية وبلاعم نقي العظم.

٦- خلاَيا كُوبْفَر (في الكبد): Kupffer's cells

يشكل مجموع البلاعم والوحيدات ما يعرف بالجملة الشبكية البطانية Reticuloendothelial system ولذلك فإن أياً منها لا تنتج الألياف الشبكية ولا هي خلايا بطانية .

– إنتاج الوحيدات وحركياتها :

تشتق الوحيدات من خلايا السلف ثنائية الكمون (الوحدات المشكلة لمستعمرات الوحيدات والمحببة) والتي ينتج عنها الوحيدات والعدلات. إذ يحصل ثلاثة انقسامات من أرومة الوحيدات حتى تتشكل سليفة الوحيدة ، ثم يتم نضوجها بسرعة خلال

٢٤-٣٦ ساعة وتطرح في تيار الدم مباشرة في مرحلة سليفة الوحيدة ولا يوجد فترة تخزين في نقي العظم كما هو الحال في العدلات.

– وظائف الوحيدات Function

تقوم الوحيدات ببلعمة جزيئات المواد الغريبة والخلايا الميتة أو المعمرة و هضمها وهي أقل فعالية كخلايا بلعمية مقارنة بالعدلات وذلك في دفاع الجسم ضد الغزو الميكروبي، ومن الملاحظ أن بعض الأحياء المجهرية التي تبلعمها البلاعم يمكن أن تبقى حية داخلها وتتكاثر (المتفطرات – الريكيستيا – المقوسات Toxoplasma....) ومن وظائفها الأخرى أنها تعد المصدر الأساسي للعوامل المنبهة للمستعمرات (CSFs) والسيتوكينات(G-csf و M-csf والانترلوكين-١ -والأنترلوكين -٣- والعامل المنخر للورم ألفا) والتي لها دور هام جداً في عملية تكوين الدم .

وكذلك تقوم البلاعم بإنتاج العديد من المواد التي تنظم الاستجابة الالتهابية (عوامل الجذب الكيميائي ، منشط مولد البلازمين) أنزيم الكولاجين Collagenase والايلاستاز ومكونات المتممة ومثبطات البلازمين .

ومن الوظائف المناعية المهمة التي تقوم بها هي تقديم المستضدات للخلايا اللمفاوية التائية كي تقوم الأخيرة بالاستجابة المناعية النوعية للمستضدات التي تقدمها البلاعم.

الحمضات (اليوزينية) Eosinophils

لا يمكن التعرف على الحمضات قبل مرحلة النقوية myelocyte وأهم ما يميزها هو احتواؤها على حبيبات حامضية كبيرة، ويختلف حجم الحبيبات، وشكلها، باختلاف النوع الحيواني فهي كبيرة ودائرية عند الخيول وهي بشكل القضبان عند القطط .

تحوي هذه الحبيبات على ليزوزومات وبروتينات قاعدية وأنزيمات هيدرولاز حامضية Acid hydrolase والبيروكسيداز النوعي للحمضات والتي تحقق دوراً جوهرياً في وظائف الحمضات.

إنتاج اليوزينية وحركياتها :

يتم إنتاج اليوزينات ونضوجها في نقي العظم، وبشكل موازٍ للعدلات، وتوجد مرحلة تخزين في النقي. إذ يقوم الأنترلوكين-٥- (IL-5-) بالتحكم بإنتاج اليوزينية و يؤدي العامل المنبه لمستعمرات الوحيدات والمحببة والأنترولوكين -٣- دوراً محدوداً في إنتاجها. إذ تكون فترة بقائها في تيار الدم قصيرة (نصف ساعة عند الكلاب) وتوجد تجميعة هامشية لها Marginal pool . تتوضع الحمضات أو اليوزينية في أماكن تحت الظهارة في الجلد والرئة والقناة المعدية المعوية .

أما أهم وظائف الحمضات فهي الالتصاق وقتل الديدان بآليات متوسطة بالأضداد وبالمتممة .

و تسهم الحمضات في تفاعلات التآق (التحسس) من خلال قدرتها على الارتباط على الأضداد من نوع IgE التي تربط بعض المستضدات ولذلك عند تفعيلها بمعقدات الضد والمستضد، فإنها سوف تطلق محتوى حبيباتها وتسهم في الأذية النسيجية. لا تؤدي دوراً في الدفاع ضد العدوى الجرثومية .

و تستخدم كثرة الحمضات كمشعر إنذاري إيجابي في أورام البشر إذ لوحظ ترافق كثرة الحمضات مع الأورام عند البشر .

القعدات (الأسسات) Basophils

يحصل نضوج القعدات بشكل مواز للعدلات والحمضات في نقي العظم ولا يمكن تمييزهم قبل مرحلة النقوية Myelocyte وتتشكل الحبيبات في مرحلة النقوية إذ تكون حبيباتها دائرية وتملأ هيولى الخلية. فتحوي الحبيبات على الهيستامين والهيبارين وعديدات سكريد مخاطية كبريتية ولكنها لا تحوي على أنزيمات الهيدرولاز الحامضية acid hydrolases .

– الإنتاج والحركية :

تكون القعدات قليلة أو ضئيلة عند معظم أنواع الحيوانات، و يتم إنتاجها في نقي العظم وبشكل موازٍ للعدلات لكن التخزين في النقي محدود جداً .

تتشابه وظيفياً مع الخلايا البدينة (mast cells) في النسيج ولا توجد حتى الآن أي دلائل أو مؤشرات تدل على أسلاف مشتركة لهما .

تشارك العديد من السيتوكينات وعوامل النمو في نمو وتمايز القعدات ومن أهمها الأنترلوكين -٣- والأنترلوكين -٥- والعامل المنبه لمستعمرات المحببة والوحيدات وعامل الخلايا الجذعية .

– وظائف القعدات :

في العد التفريقي للكريات البيض فإن عدد القعدات يكون قليلاً أو معدوماً ، وتكون أهمية العد التفريقي فقط في حالات زيادة عدد القعدات. إذ تعد القعدات والخلايا البدينة مصدراً للوسائط الالتهابية وبالأخص الهستامين والهيبارين ومنشط ليباز البروتينات الشحمية. تطلق القعدات والخلايا البدينة هذه الوسائط عندما يتحد IgE على سطحها مع المستضدات. يزداد عدد القعدات في بعض الاضطرابات التكاثرية النقوية myeloproliferative disorders.

اللمفاويات: Lymphocytes

يمكن تمييز الخلايا اللمفاوية عن بعضها البعض بالكشف عن مستضدات سطح الخلية وذلك باستخدام أضداد وحيدة النسيلة. وبالإجمال فإن هناك نوعين أساسيين للخلايا اللمفاوية وهما الخلايا التائية والخلايا البائية إضافة إلى نوع آخر يدعى بالخلايا القاتلة الطبيعية.

تشتق الخلايا التائية جنينياً من نقي العظم ويتم نضوجها في التوتة (الصعترية) وتكون وظيفتها أساساً المناعة المتوسطة بالخلايا Cell mediated immunity.

أما الخلايا البائية فتشتق جنينياً من نقي العظام وتنضج في النسيج اللمفاوي المرافق للأمعاء ونقي العظام أما عند الطيور فيتم نضوجها في جراب فابريشيوس إضافة إلى الأعضاء السابقة. وتكون وظيفتها في المناعة الخلطية (المناعة المتوسطة بالأضداد) .

– اللمفاويات الناضجة :

الخلية اللمفاوية الناضجة هي خلية صغيرة مع كمية قليلة من الهيولى، تكون نواتها دائرية إلى بيضاوية ولا ترى النوية بالصبغات العادية ويكون الكروماتين مكثفاً.
تكون نسبة الخلاياااللمفاوية هي الأعلى بين الكريات البيض في دم الأبقار.
والخلية اللمفاوية الناضجة هي خلية قابلة للتمايز والتحول إلى أرومات لمفاوية وذلك عندما تستثار مناعياً ويتم ذلك في الأنسجة اللمفاوية وليس في تيار الدم .

- إنتاج اللمفاويات :

إن توالد اللمفاويات (الانقسام والتمايز) يحصل في النسج اللمفاوية ويعتمد ذلك على درجة ونمط التنبيه المستضدي. فبعض المستضدات تنبه اللمفاويات البائية لتنقسم وتتمايز إلى خلايا فاعلة تنتج الغلوبيولينات المناعية (الأضداد) أو ما يعرف بالخلايا المصورية. وبعض المستضدات تنبه اللمفاويات التائية وتجعلها تنقسم وتتمايز إلى خلايا فاعلة تنتج السيتوكينات (اللمفوكينات) .

– توزع ودوران اللمفاويات :

تتوزع اللمفاويات في العقد اللمفاوية ، الطحال ، التوتة ، اللوزتين والنسج اللمفاوية المرافقة للجهاز الهضمي ونقي العظام والدم.
جميع أنواع اللمفاويات ذات عمر طويل وقابلة للانقسام والتمايز إلى أشكال فاعلة وظيفياً .
و تتميز اللمفاويات عن بقية الكريات البيض بأنها تعود بعد هجرتها إلى النسيج إلى تيار الدم بينما بقية البيض لا تعود إلى الدوران.

وظائف اللمفاويات :

١- إنتاج الأضداد : تقوم الخلايا البلازمية (المصورية) التي تطورت من الخلايا البائية بإنتاج الأضداد وتقوم الخلايا التائية والبلاعم بدور داعم ومنظم لإنتاج الأضداد .
٢- تقوم اللمفاويات التائية أساساً بإنتاج الليمفوكينات والتي تتواسط المناعة الطبيعية وتنظم إنتاج اللمفاويات وتمايزها وتتواسط في المناعة الخلوية وتفعل الخلايا الالتهابية وتنظم إنتاج الدم .

٣- السمية الخلوية : وتقوم الخلايا التائية السامة للخلايا والخلايا القاتلة الطبيعية بهذا الدور .

التقييم المخبري للكريات البيض : Laboratory Evaluation of Leukocytes

أولاً – عد الكريات البيض :

تعد الكريات البيض بطريقتين :

أ- الطريقة اليدوية باستعمال عداد الكريات الدموية (سوف يتم شرحه في الجزء العملي).

وأهم مساوئ هذه الطريقة أنه يوجد خطأ بحدود ± ٢٠%

ب- الطريقة الالكترونية باستخدام العداد الالكتروني .

– مناقشة اضطراب عدد الكريات البيض :

أهم اضطراب هو زيادة عدد الكريات البيض أو ما يعرف بكثرة البيض Leukocytosis ويحصل بسبب زيادة أي نوع من أنواع الكريات البيض ولكن كثرة العدلات هو السبب الأكثر شيوعاً لكثرة البيض.

أما الاضطراب الثاني الذي يمكن التعرف عليه من عد البيض فهو قلة البيض Leukopenia ويحدث عادة بسبب قلة عدد العدلات .

ثانياً – تقييم اللطاخة الدموية :

أ- العد التفريقي للكريات البيض :

تفحص اللطاخة الدموية المصبوغة بالعدسة الزيتية الغاطسة للمجهر الضوئي ويتم عد ١٠٠- ٢٠٠ كرية بيضاء وتصنف الكريات إلى أنماطها أثناء العد. عند ضرب النسبة المئوية لكل نمط من الكريات البيضاء في عدد البيض الكلي فإننا سوف نحصل على العدد المطلق لكل نمط في كل ميكروليتر، وتتم مناقشة البيض من خلال العدد المطلق وليس من خلال النسبة المئوية.

وأثناء العد التفريقي يجب أن تعد العدلات غير الناضجة إذ إن زيادتها تدل على وجود زَيَحانٌ لليَسار وتكون العدلات الشريطية هو الشكل الذي يدل على هذا الاضطراب.

ب– اضطراب أشكال البيض :

أهم أشكال التغيرات في شكل الكريات البيض هي :

١– التغيرات السمية في العدلات وأهمها : ملاحظة أجسام دوهلي في القطط .

أو المظهر الرغوي لهيولى العدلات في حالات تجرثم الدم.

٢– فرط تفصص العدلات: إذ يمكن ملاحظة خمسة فصوص أو أكثر للنواة وتظهر في حالات المعالجة بالكورتيزون وفي المراحل المتأخرة من الأمراض الالتهابية المزمنة .

٣– قلة تفصص العدلات (العدلات ناقصة التفصص) :

يكون الكروماتين كثيفاً كما في العدلات المفصصة ولا يوجد أية تضييقات في النواة وأهم ما يميزها عن العدلات الشريطية (المأطورة) بأن الكروماتين يكون متكدساً بشدة مقارنة مع العدلات الشريطية في حالات الزَيَحانْ لليَسار وتلاحظ هذه الحالة عند الكلاب والقطط في شذوذ بلجر – هويت (pelger- Huet anomaly)

٤– الأورمات الليمفاوية (لمفاويات غير ناضجة) ويشير وجودها في الدم إلى الورم اللمفاوي الخبيث أو ابيضاض الدم اللمفاوي .

ثالثاً – فحص نقي العظم :ويشمل أخذ خذعة من نقي العظم، وتحضير اللطاخة ومن ثم فحصها وتقييمها مخبرياً للوقوف على سبب الأضطراب لإنه كان من مصدر نقوي.

مناقشة استجابة الكريات البيض :

Imterpretation of Leakocyte responses

إن محتوى الدم على أنماط الخلايا المحببة هو نتيجة التغيرات في إطراح هذه الخلايا من نقي العظم إلى الدم ، هجرتها إلى النسيج وإعادة توزع هذه الخلايا في الجملة الوعائية . الكريات المحببة في الدم هي مرحلة عابرة (Transit) وذلك من أماكن إنتاجها وتخزينها إلى حين وصولها إلى النسيج إذ تؤدي وظيفتها هناك. بالمقابل فإن اللمفاويات في الدم هي انعكاس للتغيرات في حركيات إعادة دوران اللفاويات . وبالإجمال يمكن مناقشة هذه التغيرات لكل نمط من أنماط الخلايا.

١– كثرة العدلات : Neutrophilia

أ- كثرة العدلات الفيزيولوجية : وتكون الصورة الدموية للبيض بشكل زيادة العدلات حتى الضعفين من دون زَيَحانٌ لليَسار ويلاحظ زيادة اللمفاويات ويكون عدد الوحيدات واليوزينات والقعدات طبيعياً. وتلاحظ هذه الحالة في الحيوانات السليمة الخائفة أو التي تم إهاجتها (استفزازها) أثناء جمع العينات وبالأخص الحيوانات الفتية وتترافق بزيادة ضربات القلب وارتفاع ضغط الدم وزيادة الفعالية العضلية .

أما آلية زيادة العدلات الفيزيولوجية فهي إن زيادة ضربات القلب وضغط الدم والجريان الدموي تؤدي إلى تحرك جميعة العدلات الهامشية وتوزعها في جميعة العدلات الجائلة في الدم، وكذلك الى إفراز الأبنفرين في حالة الخوف أو الاهتياج أو التمارين المفاجئة .

ب- كثرة العدلات الالتهابية :

ويشمل تغيرات المصورة الدموية للبيض:

- كثرة العدلات مع زَيَحانٌ لليَسار (كثرة الخلايا المأطورة) وهي تحدث بسبب الاستهلاك الزائد للعدلات من مخازنها و من ثم تطرح العدلات الشريطية إلى تيار الدم، ويجب الانتباه إلى أن الالتهاب المتوسط قد لا يكون خطيراً لإحداث زَيَحانٌ لليَسار وكذلك فإنه ليست جميع الالتهابات تسبب استجابة قيحية و من ثم قد لا تحدث كثرة العدلات.
- قلة اليوزينات واللمفاويات وهي شائعة جداً في حالات الالتهاب.
- كثرة الوحيدات

وتشمل الأعراض السريرية على الحيوان وجود التهابات قيحية ونتح قيحي وبالأخص من الجلد والأغشية المخاطية أو التهابات قيحية موضعية مثل التهاب الرحم القيحي.

الفروق بين الأنواع الحيوانية :

- الكلاب : يكون عدد البيض بين ١٠,٠٠٠ و ٣٠,٠٠٠ كرية /ميكروليتر

ويوجد بعض الحالات التي يزداد العدد فيها إلى ٥٠,٠٠٠ كرية /ميكروليتر

وتتسبب الجراثيم سالبة الغرام التي تصيب الرئة والصدر والبريتوان والرحم بإحداث قلة عدلات بسبب الذيفانات الداخلية.

- القطط : يكون عدد البيض بين ١٠,٠٠٠ – ٣٠,٠٠٠ كرية /ميكروليتر ويوجد بعض الحالات التي يزيد فيها العدد عن ٣٠ ألف كرية /ميكروليتر. وتسبب أخماج الجراثيم سالبة الغرام قلة العدلات

- الأبقار : لا تزداد العدلات في حالة الالتهابات الليفية والالتهابات غير القيحية، ويكون المؤشر الالتهابي الأهم هو زيادة تركيز مولد الليفين في المصورة الدموية .

في حالة الالتهابات القيحية المستمرة فإن عدد العدلات سيصبح من ٤,٠٠٠ إلى ١٥,٠٠٠ / ميكروليتر وتكون العدلات هي السائدة وهذا ما يعرف بانعكاس العدلات – اللمفاويات، إذ يكون عدد اللمفاويات هو السائد في الأبقار السليمة .

في بعض الحالات عند الأبقار يمكن أن يزداد عدد العدلات حتى ٣٠,٠٠٠ كرية / ميكروليتر وفي حالة التجمع القيحي في الأجواف فقد يزداد العدد حتى ٦٠,٠٠٠ كرية /ميكروليتر .

الخيول :

إن زَيَحانٌ العدلات لليَسار مع كثرة العدلات هو حالة نادرة عند الخيول. لكن أمراض القناة المعدية المعوية المترافقة بالتذيفن الداخلي (كما في حالة داء السالمونيلات) فإنها تبدي زَيَحانٌ لليَسار شديد، ويكون عدد الكريات البيضاء طبيعياً أو منخفضاً .

ولما كانت الاستجابة بزيادة العدلات للالتهاب متوسطة فإن قياس كمية مولد الليفين في الدم عند الخيول هي مشعر أهم للالتهاب.

- حالات أخرى تسبب فرط العدلات :

١- التنخر Necrosis

٢- التسممات intoxication

٣- النزف

٤- انحلال الدم

٥- اضطرابات تكاثرية نقوية تشمل العدلات .

ثالثاً- كثرة العدلات المحدثة بالستيروئيدات القشرانية :

وتشمل الصورة الدموية للبيض على :

- كثرة العدلات
- قلة اللمفاويات
- قلة الحمضات
- كثرة الوحيدات وبالأخص عند الكلاب والقطط .

وتحدث هذه الحالة بسبب الستيروئيدات القشرانية الداخلية أو الستيروئيدات المستخدمة في العلاج وفي حالات فرط إفراز قشرة الكظر.

جدول رقم (٢)أسباب كثرة العدلات :

- فيزيولوجية : الاهتياج – التمرين – الولادة والاختلاج
- القشرانيات الستيروئيدية – داخلية وخارجية
- الالتهابات : (الموضعية أو العامة)
الأخماج الأولية أو الثانوية بالجراثيم أو الفيروسات أو الفطور أو الطفيليات والتهابات مسببة بأسباب غير التهابية مثل النخر وفرط الحساسية والأمراض المتوسطة بالمناعة
- نزيف
- انحلال الدم
- تسممات ويوريمية الدم
- الخباثات وابيضاض الدم .

- قِلَّةُ العَدِلاَت Neutropenia

- تحدث قِلَّةُ العَدِلاَت بسبب التحطم الزائد للعدلات أو زيادة الطلب النسيجي. فخلال الالتهاب عندما يكون معدل الهجرة إلى الأنسجة أكثر من معدل إطراحها من نقي العظام ويحدث مرافقاً لذلك زيحان لليسار وتحدث تغيرات سمية في العدلات.

- من الأسباب الأخرى قلة إنتاج العدلات بسبب العقاقير السامة والإشعاع المستخدم في علاج السرطانات وعادة ترافق بقلة الصفائح وفقر الدم .
- تقوم بعض الأمراض الفيروسية والريكيستيا بإحداث قلة العدلات بسبب موت أسلاف العدلات في النقي مثل العدوى بفيروس عوز المناعة الهري وفيروس ابيضاض الدم الهري و التهاب الأمعاء بالبارفوفيروس عند الكلاب والإيرليشيا .

جدول رقم (٣) قِلَّةُ العَدِلاَت:

- قلة العدلات المحدثة بزيادة الطلب : الالتهابات الجرثومية المقيحة الحادة ، التسممات والأمراض المتوسطة بالمناعة.
- قلة العدلات المحدثة بقلة الإنتاج: كما في حالات العلاج الكيماوي للسرطانات، التسمم بالاستروجين، التعرض للإشعاع وبعض الأمراض الفيروسية.

- كثرة الوحيدات Monocytosis

يمكن أن تحدث كثرة الوحيدات في أي وقت يحدث فيه كثرة العدلات، وهي مميزة للتغيرات المحدثة بالستيروئيدات القشرية.

وتلاحظ في الأمراض الحادة والمزمنة وخلال مراحل الشفاء من قلة العدلات وتكون ميزة ثابتة ودائمة مع التهاب شغاف القلب الجرثومي وأمراض تجرثم الدم الأخرى .

وتترافق كثرة الوحيدات مع أمراض التقيح ، التنخر ، الخباثات والانحلال الدموي والنزف والأذيات المناعية وفي بعض الأمراض الحبيبية القيحية .

- قلة الوحيدات :Monocytopenia

وهي ليست بذات أهمية سريرية

- كثرة اليوزينات (الحمضات): Eosinophilia

تترافق كثرة الوحيدات مع الأخماج الطفيلية وحالات فرط التحسس، ومن أهم الأخماج الطفيلية السترونجيلات والملقوات وديدان الرئة عند الأبقار والديروفيلاريا وديدان الرئة عند الخيول والاسكاريس وداء الأكريات.

أما فرط الحساسية فيشمل التحسس الغذائي والتحسس لعضات الذباب وذات الرئة اليوزينية وفرط التحسس الحليبي عند الأبقار وتناذر فرط اليوزينات وأهم الأعضاء المتأثرة هي الجلد والرئة والأجهزة التناسلية والسبيل الهضمي.

ومن المسببات الأخرى : أخماج العنقوديات والعقديات عند القطط، فرط تنسج الخلايا البدينة ، الخباثات اللمفاوية وابيضاض اليوزينات.

– قلة اليوزينات : وتحدث كاستجابة للقشرانيات (الكورتيزون) وكذلك في حالات العدوى الحادة .

– كثرة القعدات Basophilia

زيادة القعدات نادرة الحدوث ولكن وجود بعض القعدات في اللطاخة الدموية تستدعي الانتباه. وفي معظم الحالات المحدثة باضطرابات IgE تترافق كثرة القعدات مع كثرة اليوزينات.

– قد تحدث كثرة القعدات دون أن تترافق بكثرة اليوزينات في أمراض الكبد المزمنة واضطراب استقلاب البروتينات الشحمية وتحدث أيضاً في بعض حالات قصور الدرق.

– كثرة اللمفاويات Lymphocytosis

يميل عدد اللمفاويات الجائلة في الدم لأن يكون ثابتاً في الحيوانات السليمة ويتناقص تدريجياً مع التقدم في العمر ولهذا فإن عدد اللمفاويات في الحيوانات الفتية أكثر منه في الحيوانات البالغة.

تسبب إثارة الحيوانات السليمة كثرة اللمفاويات بسبب إطلاق الأبنفرين.

يؤدي التنبيه المستضدي في بعض الأحيان إلى كثرة اللمفاويات.

– تؤدي الإصابة بفيروس ابيضاض الدم البقري إلى كثرة لمفاويات دائمة وذلك بسبب فرط تنسج اللمفاويات البائية ويصل عدد اللمفاويات من ٧,٠٠٠–١٥,٠٠٠كرية /ميكروليتر .

– يؤدي ابيضاض الدم اللمفاوي إلى كثرة اللمفاويات.

– قلة اللمفاويات Lymphopenia :

وهي حالة شائعة الحدوث عند الحيوانات المريضة. وتشمل آليات قلة اللمفاويات:

١– قلة اللمفاويات المحدثة بالقشرانيات(الكورتيوستيروئيدات) الداخلية أو الخارجية نتيجة فرط نشاط قشرة الكظر أو التعرض للحرارة العالية أو الألم أو المعالجة بها.

٢– الأمراض الجهازية الحادة.

٣– تسبب الأخماج الفيروسية قلة اللمفاويات أكثر من الأمراض الجرثومية.

٤– عوز اللمفاويات التائية المكتسب مثل الأمراض المسببة لتنخر التوتة أو ضمورها عند المواليد الحديثة.

٥– الإشعاع والعقاقير المثبطة للمناعة .

٦– فقدان اللمف الغني باللمفاويات : فقد اللمف من القناة اللمفاوية الصدرية.

٧– عوز الخلايا اللمفاوية التائية الوراثي عند الأمهار العربية.

– إنذار الحالة واستجابة الكريات البيض :

أ– الإنذار المشجع :

١– هبو ط العدد الإجمالي للبيض مع عودة ظهور اللمفاويات واليوزينات .

٢– اختفاء أو عدم وجود العدلات السمية .

٣– نقص العدلات غير الناضجة.

٤– عودة ظهور الحمضات .

٥– زيادة مؤقتة للوحيدات

٦– حدوث زيحان لليسار تجددي مع نقص العدد الإجمالي للبيض .

ب– الإنذار السيئ :

١– عندما يكون عدد العدلات غير الناضجة أكبر أو يساوي عدد المفصصات بغض النظر عن عدد البيض الإجمالي.

٢– قلة العدلات بغض النظر عن نمطها.

٣– فرط العدلات مع زيحان لليسار انتكاسي

٤- انخفاض عدد اللمفاويات المستديم

٥- كثرة العدلات السمية .

الجدول رقم -٤- العدد الإجمالي للكريات البيض عند الحيوانات المستأنسة

نوع الحيوان	العدد مقدراً بالألف/ميكروليتر	المتوسط
الأبقار	١٢-٤	٧,٦
الأغنام	١٢-٤	٧,٦
الماعز	١٣-٤	١٢,٠
الخنازير	٢٢-١٠	١٦,٠
الخيول	١٤-٦	٩,٠
الكلاب	١٥-٦	١١,٠
القطط	١٩-٥,٥	١٢,٥

الجدول رقم -٥- العد التفريقي للكريات البيض عند الحيوانات المستأنسة

نوع الحيوان	النسبة المئوية للخلايا البيضاء					
	مأطورة	مفصصة	لمفاوية	وحيدات	حمضات	قعدات
الكلاب	٤-٠	٧٥-٦٠	٣٠-١٢	٩-٣	١٠-٢	نادرة
القطط	٢-٠	٧٥-٣٥	٥٥-٢٠	٤-١	١٠-٢	نادرة
الماعز	٢-٠	٤٨-٣٠	٧٠-٥٠	٤-١	٨-٣	٢-٠
الخنازير	٥-٠	٤٧-٢٨	٦٠-٣٩	١٠-٢	١١-١	٢-٠
الخيول	٢-٠	٦٥-٣٠	٧٠-٢٥	٨-١	١٠-١	٣-٠
الأبقار	١-٠	٤٥-١٥	٧٥-٤٨	٧-٢	١٥-٢	٢-٠
الأغنام	٢-٠	٥٠-١٠	٧٥-٤٠	٥-١	٨-١	٣-٠

أمراض الدم

فقر الدم : Anemia

فقر الدم هو انخفاض مطلق في قيم مكداس الدم وخضاب الدم وعدد الكريات الدموية الحمر وهو الشكل الأكثر شيوعاً لاضطراب الكريات الحمر . هذا ويجب الأخذ بعين الاعتبار بعض المعطيات التي تسبب فقر دم نسبي كما يحدث عندما نمدد مصورة الدم بإعطاء السوائل الوريدية والحمل وعند المواليد .

تشخيص فقر الدم وتصنيفه :

يشخص فقر الدم عادة بناء على القصة المرضية والفحص الإكلينيكي ونتائج التحليل المخبري. فمن خلال القصة المرضية يمكن معرفة فيما إذا أعطي الحيوان أي علاج أو تعرض لمواد كيماوية أو تناول نباتات سامة أو أجريت له عمليات نقل دم ، وكذلك القصة المرضية لنسل الحيوان و عمره . أما الفحص الإكلينيكي للحيوان فيُمكن من ملاحظة الأعراض التي تشير إلى فقر الدم نتيجة انخفاض سعة نقل الأوكسجين مثل شحوب الأغشية المخاطية ، ضعف عام، عدم تحمل الجهد ، فقدان المقدرة على التحمل. وكذلك يمكن ملاحظة اليرقان ، البيلة الخضابية ، النزيف و الحمى وذلك حسب آلية تأثير العامل المسبب. ويجب الأخذ بعين الاعتبار إن الأعراض الإكلينيكية لفقر الدم قد لا تظهر في حال حدوث فقر الدم بشكل تدريجي، نظراً لأن الحيوان يكيف نفسه على قلة الكريات الحمر بآليات المعاوضة المختلفة.

إما مخبرياً ، فإن أسهل طريقة للكشف عن فقر الدم فهي إجراء قياس لمكداس الدم، ويجب أن نناقش قيمه بناء على معرفة حالة التجفاف أو أي تغير آخر يسبب تقلص الطحال، إذ إن استثارة الحيوان تؤدي إلى تقلص الطحال الذي يطرح في الدورة الدموية دماً ذا مكداس دم عالٍ (الخيول والقطط) . أما اختبارات قياس تركيز الخضاب وعد الكريات الحمر، فهي تساعد في تصنيف فقر الدم ولكنها ليست

ضرورية لتأكيده . ومن المهم إجراء بعض الاختبارات الأخرى من أجل تمييز فقر الدم والوصول إلى التشخيص الدقيق .

ومن الواضح مما سبق إن الأسباب الرئيسة لفقر الدم هي :(١")انخفاض إنتاج الكريات الحمر من نقي العظم، (٢")فقدان الدم (النزف) و (٣")التحطم الزائد للكريات الدموية الحمر أو قصر دورة حياتها في داخل الجسم .

تصنيف فقر الدم :

هناك تصانيف عديدة لفقر الدم، وكل تصنيف يعتمد على محددات معينة فمنها ما يعتمد على استجابة الجسم لفقر الدم، وأخر يعتمد على مناسب الكريات الدموية الحمر وآخر سببي وتصنيف يعتمد على الآلية الفيزيولوجية المرضية لحصول فقر الدم .

أ–فقر الدم الشكليائي Morphologic anemia

وهو تصنيف يعتمد على متوسط الحجم الكريوي MCV ومتوسط تركيز الخضاب الكريوي MCHC ، وعلى هذا يكون فقر الدم طبيعي الخلايا طبيعي الصباغ ، فقر دم كبري الخلايا طبيعي الصباغ ، فقر دم كبري الخلايا ناقص الصباغ .

ب– فقر الدم السببي : ويشمل عدة تصنيفات :

١– قلة تشكل الحمر :

تكون الكريات سوية الشكل والصباغ

- التهابات مزمنة
- التهاب الكلية المزمنة مع اليوريمية .
- التهابات الكلية المزمنة
- نقص نشاط الكظر والدرق
- الأورام
- نقص تنسج النقي
- نزيف شديد قبل حصول الاستجابة التجددية
- العدوى بفيروس ابيضاض الدم الهري .

٢– نقص التغذية :

- نقص فيتامين

- نقص الفولات
- نقص الكوبالت

٣- خلال الشفاء من النزيف وتكون الخلايا كبرية ناقصة الصباغ.

٤- عوز الحديد وفيتامين B6 وتكون الخلايا صغرية ناقصة الصباغ .

ج- تصنيف فقر الدم حسب استجابة الجسم: وتحت هذا النوع من فقر الدم يمكن **ملاحظة نمطين** :

(أ) فقر دم تجددي (فقر دم مستجيب): Regenerative anemia

ويلاحظ في حالات فقدان الدم بالنزف الداخلي والخارجي وعوز الحديد، وفي حالات تحلل الدم (فقر الدم الانحلالي) الذي يكون إما متوسطاً بالمناعة أو نتيجة الإصابة بالطفيليات الدموية وفي حالات التسمم بالتوتياء والنحاس وعوز عنصر الفوسفات في الدم . في هذا النمط من فقر الدم يقوم نقي العظام باستجابة فعالة لفقر الدم وذلك بزيادة إنتاجه من الكريات الحمر. وتكون دلائل التجدد هي : تعدد الاصطباغPolychromasia، كثرة الكريات الشبكية Reticulocytosis، كثرة الكريات الكبرية (زيادة متوسط الحجم الكريوي ونقص الصباغ ونقص MCH وMCHC). وجميع الدلائل السابقة تترافق مع كثرة الكريات الشبكية وفرط خلوي نقوي عظمي، مع نسبة منخفضة للخلايا النقوية إلى الخلايا الحمرائية أو ما يعرف بـــ Ratio M/E. وتكون المقدرة على الاستجابة التجددية متباينة وذلك حسب نوع الحيوان، فالكلاب هي أكثر الحيوانات مقدرة على التجدد ويليها القطط فالأبقار وأخيراً الخيول. إن وجود التجدد يشير إلى أن سبب فقر الدم خارج نقوي (نزيف أو تحلل) وتظهر دلائل التجدد عادة بعد ٢-٣ أيام وليس من الضروري إجراء دراسة لطاخة نقي العظم .

ملاحظة :

إن الكشف عن الاستجابة التجددية لفقر الدم في الخيول يكون صعباً لأن كثرة الشبكيات لا تحصل عند الخيول ويكتفى بقياس متوسط الحجم الكريوي ونطاق توزع الكريات الحمر، التي تعطي مؤشراً ويكون فحص نقي عظم الخيول أكثر دقة .

(ب) فقر دم غير تجددي :

ويشير إلى أن استجابة نقي العظم غير كافية نتيجة اضطرابات نقي العظم ومن المميزات المخبرية لهذه الحالة هي إنعدام الخلايا الشبكية والخلايا متعددة الصباغ ويكون فحص نقي العظم مهماً ومساعداً في معظم حالات فقر الدم غير التجددي، ويمكن أن يظهر الآلية الفيزيولوجية المرضية لفقر الدم .

ملاحظة :

يجب الانتباه إلى أن فقر الدم الانحلالي أو النزفي قد يبدو خلال الأيام الثلاثة الأولى وكأنه غير تجددي، لأن التجدد عادة لا يظهر إلا بعد اليوم الثالث .

(د) تصنيف فقر الدم حسب الآلية الفيزيولوجية المرضية:

- فقر دم نزفي نتيجة فقدان الدم Hemorrhagic anemia.
- فقر دم انحلالي Hemolytic anemia نتيجة تخرب أو قصر عمر الكريات الحمر.
- فقر دم بقلة تشكل الحمر أو التشكل المعيب للكريات الحمر **Anemia from Reduced or defective Erythropoiesis**.

وعلى العموم فإنه يمكن ذكر بعض الاعتبارات: فمثلاً نلاحظ أن معظم حالات فقر الدم كبري الخلايا تكون من النوع المستجيب (تجددي) ، ومعظم حالات فقر الدم سوي الخلايا تكون من النوع غير المتسجيب (غير تجددي)، وفي حالات فقر الدم صغري الخلايا، فيمكن أن يكون تجددياً أو غير تجددي.

فقر الدم النزفي : Hemorrhagic anemia

ويمكن أن يكون النزف حاداً أو تحت حاد أو مزمن.

فقر الدم النزفي الحاد :

و يكون إما داخلياً أو خارجياً ، و يعد النزيف المعوي نزفاً خارجياً. يشخص من ملاحظة النزف أو من نتائج التحليل المخبري التي تشير إلى وجود فقر دم نزفي بدون مشاهدة النزف مما يسترعي الانتباه لوجود نزف في المعدة والأمعاء. ومن أهم أسباب النزف الحاد: الرضوض والعمليات الجراحية وعيوب نظام التخثر الدموي مثل قلة الصفائح الدموية وعوز بعض عوامل تخثر الدم(انظر الجدول رقم ٢-١) التي تشير إلى إمكانية كامنة لحدوث النزف على الرغم من أن قلة الصفائح لوحدها لا تسبب فقد دموي كبير، وتؤدي فقط إلى حدوث نزف نقطي. و يميز مخبرياً بما يلي:

١- يكون مكداس الدم طبيعياً في البداية لأن مكونات الدم تفقد كاملة (كريات و مصورة دموية).

٢- يطرح الطحال نتيجة تقلصه دماً ذا مكداس عالٍ (٨٠%)وهذا قد يزيد مكداس الدم آنياً.

٣- بعد (٣-٢) أيام من حدوث النزف يعود حجم الدم إلى طبيعته بإضافة السوائل الخلالية مما يسبب تمدد الدم و من ثم ينخفض مكداس الدم وعدد الكريات الحمر وخضاب الدم.

٤- انخفاض بروتين مصورة الدم .

٥- زيادة عدد الصفائح الدموية في الساعات الأولى من النزف، وإن استمرار ارتفاعه يشير إلى استمرار عملية النزف.

٦- زيادة عدد العدلات بعد ثلاث ساعات على الأكثر من حدوث النزف.

٧- تحدث دلائل زيادة تشكل الحمر بعد ٢-٣ يوم، ويصل حده الأعظمي بعد ٧ أيام ويكون ذلك بزيادة تشكل الخلايا الشبكية.

٨- تعود الصورة الدموية إلى وضعها الطبيعي خلال (١-٢) أسبوع في الكلاب ، وإذا استمر كثرة الكريات الشبكية لأكثر من (٢-٣) أسبوع فيجب توقع حدوث نزف لاحق للنزف الأولي.

فقر الدم المزمن :

يتقدم ببطء ومن الصعب مشاهدة الأعراض الإكلينيكية ولا يحصل نقص حجم الدم وتنخفض قيم مكداس الدم قبل ملاحظة الأعراض.

مخبرياً :

١- حدوث استجابة تجددية ولكنها ليست بالدرجة التي تحصل في النزف الحاد.

٢- زيادة تركيز بروتين مصورة الدم.

٣- كثرة الصفائح الدموية وبشكل مستمر Thrompocytosis.

٤- انخفاض مخزون الجسم من الحديد مما يؤدي لظهور حالة فقر دم بعوز الحديد.

ملاحظة :

يفرق بين نزف الدم الداخلي والخارجي بأن النزف الخارجي يحرم العضوية من الحديد والبروتينات (الغلوبين) بينما في النزيف الداخلي فإن الجسم يقوم بإعادة امتصاص هذه المكونات ويتم إعادة استخدام الحديد والبروتينات .

جدول رقم (٦):أسباب نزف الدم الحاد والمزمن

النزف الحاد	النزف المزمن
رضوض	إصابات طفيلية داخلية وخارجية(سترونجيلات- خطافية - كوكسيديا-قمل- براغيث)
جراحة	
قرحة معدية أو معوية	قرحة وأورام المعدة والأمعاء
خلل الإرقاء	اليوريمية
تسممات نباتية	قلة الصفائح الدموية
تسمم بالسرخس	نقص فيتامين K
التخثر داخل الوعائي المنتشر	
التسمم بالورفارين	
نقص العامل X (العاشر) عند الجراء	

فَقْرُ الدَّمِ الانْحِلالِيّ Hemolytic anemia :

يمكن ملاحظة اليرقان عندما يكون انحلال الدم حاداً أو خطيراً، وتظهر حالات البيلة الخضابية وتلون مصورة الدم باللون الأحمر في حالات تحلل الدم في داخل الأوعية الدموية، أما الدلائل المخبرية له فهي :

١- كثرة الكريات الشبكية أكثر مما هو في حالة فقر الدم النزفي (بقاء الحديد داخل الجسم).

٢- بروتين المصورة يكون سوياً أو زائداً قليلاً.

٣- يمكن أن تحصل كثرة وحيدات و كثرة عدلات.

٤- ازدياد بيليروبين الدم ووجود بيلة خضابية.

٥- اضطراب شكلياء الكريات الحمر (أجسام هينز، كريات كروية، كريات بكيلة، وجود طفيليات الدم وجميعها دلائل وجود فقر دم انحلالي) .

ويحصل تحلل الكريات الحمر داخل الأوعية الدموية أو خارجها، وقد يحصل الشكلين معاً، ولكن يكون أحدهما مسيطراً.

(أ) انحلال الدم خارج الوعائي (الإنحلال بالبلعمة) :

في هذا الشكل من تحلل الدم، فإن الكريات الحمر تتشظى في الطحال أو الكبد، إذ تتم بلعمتها أو انحلالها ويتم هدم خضاب الدم هناك . وهنالك عدة آليات تسبب انحلال الدم خارج الأوعية :

إنحلال متوسط بمركب المتممة الثالث C3 أو بوساطة الأجسام المضادة للكريات الحمر. إذ تتفاعل الأجسام المناعية مع مستضدات غشاء الكرية الحمر أو المستضدات الملتصقة على سطحها، ويمكن أن تكون جزءاً من معقد مناعي غير حمرائي ملتصق على غشاء الكرية الحمراء، ومجرد هذا الاتحاد بين الأجسام المناعية مع المستضد فإن المركب الثالث للمتممة يتثبت، ولما كانت البلاعم تحتوي على سطحها مستقبلات للجزء المتبلور من الجسم المناعي للمركب C3 فإنها تبلعم الكريات بلعمة

كاملة أو جزئية ، وفي حال البلعمة الجزئية فإن غشاء الكرية يمكن أن يلتصق ويتشكل لدينا كريات حمراء كروية.

انحلال دموي متوسط بالمناعة (فقر دم متوسط بالمناعة) :

أسباب غامضة ، عوامل خمجية (حمات وطفيليات) ، عقاقير مثل البنسلين الذي يلتصق بالكريات الحمر كناشبة مما يؤدي لتشكيل أجسام مضادة للحمر، اضطرابات مناعية كما في حال اضطراب وظائف الخلايا التائية والأورام اللمفاوية وكذلك وجود أجسام مناعية من نوع IgG فعالة بالدفء مع C3 أو وحدها وأحياناً وجود IgM فعال بالبرودة أو IgM فعال بالدفء .

انخفاض مطاوعة الكريات الحمر نتيجة زيادة لزوجة محتوياتها أو انخفاض نسبة الغشاء إلى حجم الكرية، يؤدي لتشجيع بلعمتها في الطحال ومن أمثالها الكريات المتشظية والكريات الكروية، والكريات الحمر المصابة بالطفيليات أو وجود أجسام هينز.

ومن الأسباب الأخرى لانحلال الكريات الحمر بالبلعمة هي انخفاض عمليات تحلل السكر و من ثم قلة تشكل ATP في الكريات الحمر و كذلك زيادة نشاط البلاعم .

التشخيص المخبري لانحلال الدم بالبلعمة (خارج الأوعية) :

١) غياب البيلة الخضابية وخضاب الدم في البول.

٢) استجابة تجددية مع زيادة بروتين المصورة.

٣) لا يحصل فرط بيلروبين الدم إلا في حالة كون عملية التحلل أكبر من قدرة الكبد على تمثل وربط وطرح البيلروبين من الكبد. وفي حال حدوث فرط البيلروبين فإن النمط غير المرتبط يكون هو السائد، أما في المراحل المتأخرة فيكون النمط المرتبط هو السائد .

٤) لا يتأثر مكداس الدم في حالات انحلال الدم متوسط الدرجة، نظراً لوجود معاوضة نقوية عظمية.

٥) فرط العدلات والصفيحات والوحيدات.

٦) إجراء اختبارات لمعرفة السبب الدقيق مثل اختبار كومب وكذلك دراسة شكلياء الحمر وملاحظة وجود خلايا كروية و متشظية .

(ب) انحلال الدم في داخل الأوعية الدموية :

تتحطم الكريات الحمر في الأوعية الدموية ويتحرر الخضاب في تيار الدم الذي يزال في الكبد أو يطرح عن طريق الكبد وتتم هذه العملية نتيجة مؤثرات خارجية وليست لها علاقة بالكريات ذاتها إذ تكون الخلايا الحمر سوية ومن هذه الأسباب :

١) انحلال دم متوسطة بالمتممة (فقر الدم المتوسط بالمناعة) وبوجود IgM ويحدث في معظم حالات نقل الدم غير متوافق الزمرة وحالات انحلال الدم الأسوي عند حديثي الولادة.

٢) الأذيات الفيزيائية لأغشية الحمر في حالة فقر الدم باعتلال العروق الدقاق والتخثر الدموي الوعائي المنتشر والتهاب الأوعية الدموية وداء ديدان القلب، وتكون الكريات الحمر المشاهدة من نوع الخلايا القرنية أو المتشظية.

٣) الأذيات المؤكسدة والتي تؤثر على الكريات الحمر بثلاث آليات وهي:

أ- تمسخ الخضاب مع تشكل أجسام هينز وكريات حمراء لا متراكزة.

ب- أو بأكسدة بروتينات غشاء الكرية الحمراء .

ج- أو بأكسدة حديد خضاب الدم (تحويلة إلى حديد Fe^{++}) ويتشكل الميثموغلوبين .

٤) انحلال الكريات الحمر التناضحي Osmotic lyses .

٥) وهناك بعض العوامل مثل الطفيليات الدموية ، سموم الأفاعي ،بذور الخروع والذيفانات الجرثومية للمطثية نوفياي (فوسفوليباز) وجميعها تسبب تغيرات غشائية تؤدي إلى سهولة تحلل الكريات الحمر.

-الدلائل المخبرية لفقر الدم الانحلالي (داخل الأوعية الدموية):

١) حدوث استجابة تجددية بعد ٢-٣ أيام من حدوث الانحلال .

٢) هيموغلوبينمية (خضاب حر في مصورة الدم) وهي السمة الأساسية لهذه الحالة ويكشف عنه بتلون المصورة باللون الأحمر الوردي وزيادة MCHC وانخفاض الهابتوغلوبين والهيموبكسين .

٣) بيلة خضابية .

٤) بيلة هيموسيدرينية.

٥) فرط بيلروبين الدم: ويكون البيلروبين غير المرتبط هو السائد في المراحل الأولى أما في المراحل النهائية فيكون البيلروبين المرتبط هو السائد.

٦) وجود كريات حمراء متشظية وخلايا قرنية وكريات لا متراكزة وطفيليات دم .

٧) يمكن إجراء اختبار كومب لمعرفة فيما إذا كان السبب مناعي أو إجراء زرع جرثومي .

(ج) فقر الدم بقلة تشكل الحمر أو التشكل المعيب للحمر:

الأسباب :

إن فقر الدم في هذا النمط يكون غير تجدديا ً ويتميز بنقي عظام غير قادر على الحفاظ على تشكل أو تكون فعال للكريات الحمر ويكون فشل نقي العظم إما ابتدائيا ً(أمراض نقوية ينتج عنها قلة الخلايا الجذعية وأسلاف الحمر) أو ثانوياً وذلك لأسباب خارج نقوية مثل عوز المغذيات (حديد، نحاس، بروتين و فيتامينات) وعوز مكونة الحمر. إن الفشل النقوي قد يؤثر على مسار تشكل الحمر فقط أو على جميع مسارات تشكل الخلايا الدموية.

ويبين الجدول رقم –٧– أسباب فقر الدم بقلة تشكل الحمر أو التشكل المعيب للحمر.

الجدول –٧–: أسباب فقر الدم بقلة تشكل الحمر أو التشكل المعيب للحمر.

قلة تشكل الحمر	التشكل المعيب للكريات الحمر
فقد مشكله الحمر وذلك نتيجة أمراض الكلى المزمنة أو قلة نشاط الدرق ونقص هرمونات الكظر ونقص الاندروجينات . فقر الدم نتيجة الإضرابات المزمنة	اضطراب بناء ال DNA نتيجة عوز فيتامين B12 وعوز حمض الفوليك. اضطراب بناء الهيم :عوز الحديد، نقص البيرودوكسين(B6)، عوز النحاس ،

كالالتهابات المزمنة والأورام	التسمم بالموليبيديوم ، التسمم بالرصاص ، التسمم بالكلورامفينيكول.
الأذيات السامة لخلايا نقي العظم: الإشعاع والأستروجين و الفينيل بوتازون وعقاقير قاتلة لخلايا السرطان والفيورازيليدون و السرخس	اضطراب بناء الغلوبين نضوج غير سوي للحمر: ورم نقوي حمراوي أو ورم حمراوي بيضاوي
متوسطة بالمناعة مثل الإصابة بمرض عدم التنسج النقي الخلايا الحمر pure red cell aplacia.	
الاعتلال النقوي: ويشمل اضطرابات تكاثر النقي Proliferative disorders و ابيضاض الدم الليمفاوي والأورام المنتقلة وتليف العظم Myelofibrosis وتصلب العظم Osteoscleriosis و تصخر العظم Ostepetrosis .	
الأنحماج : الإيرليشيا ، ترايخوسترونجيلوس ، حمات بارفو الكلاب ، فيروس ابيضاض الدم عند القطط	

التشخيص التفريقي لفقر الدم المسبب بقلة تشكل الحمر أو التشكل المعيب لها :

ويعتمد أساساً على فحص شكلياء الكريات الحمر والصفيحات الدموية و العدلات والفحص الخلوي لنقي العظام. وعلى هذا فإن هذا النمط من فقر الدم يمكن أن يقسم إلى :

آ– فقر دم سوي الخلايا سوي الصباغ :

و يكون عدد الصفائح و العدلات إما سوياً أو مرتفعاً مع زيادة نسبة الخلايا النقوية إلى الخلايا الحمرائية(M/E) نتيجة قلة النسج المشكلة للحمر في النقي، وأهم أسبابه مدرجة في الجدول (٣– ١) .

ب– فقر دم سوي الخلايا سوي الصباغ :

مع قلة الصفائح وقلة العدلات ونقص تنسج نقي العظام أو وجود نمو تكاثري ورمي لخلايا غير سوية ويشمل هذا النمط التصنيفات التالية :

(١) فقر دم لا تنسجي (مواد سامة ، مواد كيميائية، عقاقير، إشعاع، خلايا لمفاوية تائية سامة وحمات)

(٢) فقر دم سلي نقوي: meylophthisic anemia

وفيه يتبدل نسيج نقي العظام بنسيج تكاثري غير سوي ويقيمٌ بناء على دراسة لطاخة نقي العظم أو خزعته.

(٣) فقر دم محدث بالعوامل الخمجية .

ج– فقر دم صغري الكريات ناقص الصباغ :

ويكون عدد العدلات والصفائح متفاوتاً وكذلك صورة نقي العظم، وأهم أسبابه هي عوز الحديد نتيجة النزف المزمن أو نقصه في العليقة أو النمو السريع للحيوانات الفتية ويتجلى مخبريا بـــ :

- قلة حديد المصل و تكون سعة ربط الحديد الكلية متغايرة .
- قلة إشباع الترانسفيرين نتيجة انعدام الحديد في البلاعم .
- انخفاض فيرتين المصل التي تؤدي إلى زيادة البروثروبروفيرين .
- كثرة الكريات الصغرية.
- وجود خلايا بكيلة

ومن المسببات الأخرى عوز فيتامين B6 اللازم لتشكل الهيم أو نقص النحاس اللازم لنقل الحديد من الأمعاء، و بعض الأمراض الوراثية عند الكلاب، وتحتوي كلاب الأكيتا بشكل طبيعي على كريات صغرية بدون حدوث فقر دم.

(د) فقر دم كبري الكريات سوي الصباغ :

ويكون عدد العدلات والصفائح متغايراً ونسبة (M/E) في خلايا النقي العظمي منخفضة نتيجة فرط خلوي نقوي حمرائي وأهم مسبباته عوز الكوبالت، عوز

فيتامين B12 ، عوز حمض الفوليك، ورم نقوي حمرائي ، وراثي عند العجول من نوع بولد هيرفورد وحمة ابيضاض الدم عند القطط .

الإرقاء واضطراباته

Disorders of Hemostasis

يشتمل الإرقاء على تفاعل عالي التوازن للأوعية الدموية والصفائح والعوامل الذوابة في تشكيل وانحلال الخثرة الدموية، بهدف إيقاف النزوف التلقائية أو المحدثة . إذ تقوم الصفائح الدموية Thrombocytes بسد أو قفل جروح بطانة الأوعية الدموية وتقوم بتوفير العوامل الذوابة التي تحض على الإرقاء .

إن تخثر الدم Coagulation هو عبارة عن مجموعة أحداث تؤدي إلى تحول مولد الليفين Fibrinogen الذواب إلى ليفين Fibrin غير ذواب .

تؤدي اضطرابات الإرقاء والتي تمثل إرقاء غير متوازن إلى حدوث حالات نقص التخثر hypocoagulation (النزيف) أو حالات فرط تخثرhypercoagulation (اضطرابات خثارية صمامية) ويجب العلم بأن حدثيات التخثر وانحلال الليفين متضمنة في عمليات الالتهاب والالتئام والنقائل الورمية و حدثيات التوالد مثل الإباضة والغرس Implantation .

الصفائح الدموية : (platelets) Thrombocytes

تمتلك الصفائح عدد من الأنشطة الفيزيولوجية الهامة جداً في عمليات الإرقاء، فبالإضافة إلى دورها في التكدس لتشكيل السدادة الإرقائية فإنها تؤدي دوراً تحفيزياً Catalyst لابتداء شلال التخثر Cascade، و تؤدي دوراً في انكماش الجلطة Clot retraction. والصفائح عبارة عن شدف هيولية لخلايا النواء، توجد في الدم ويبلغ العدد الإجمالي للصفائح عند مختلف الأنواع الحيوانية من ١٧٥,٠٠٠ – ٥٠٠,٠٠٠ صفيحة / ميكرولتير وعمرها في الدم حوالي ١٠ أيام وينظم إنتاجها في نقي العظم بوساطة هرمون مكونة الصفائح Thromboietin.

أما وظيفة الصفائح ، فتتمثل في التصاقها على الكولاجين تحت البطاني خلال ثوانٍ من الأذية، مكونة سدادة إرقائية، هذا ويتم الالتصاق إلى الكولاجين بتوسط من عامل فون ويلليبراند von willebrand's الذي يوجد في مصورة الدم مترافقاً مع

العامل الثامن VIII . وعند التصاق الصفائح إلى الكولاجين يتغير شكل الصفائح مما يجعل المستقبلات السطحية للصفائح على تماس مع مولد الليفين المنحل ، إذ أن الارتباط معه يزيد من ضخامة السدادة الصفيحية مما يؤدي إلى تكدس الصفائح Aggregation التي تفرز الأدينوزين ثنائي الفوسفات، الذي يحث على تكدس المزيد من الصفائح، كونه ينشط فوسفولیباز الصفائح ويبتدأ تشكيل الثرمبوكسان Thromboxane A2(بروستاغلاندين قصير العمر) والذي يؤدي إلى عدم تراجع تكدس الصفائح مما يعطي الفرصة لها لطرح مكوناتها الغشائية وبالأخص الشحوم الفوسفورية ، والتي تعتبر تميم العامل المعجل للنظام الداخلي والاعتيادي للتخثر Intrinsic & common systems .

التقييم المخبري للصفائح الدموية : ويتم ذلك بطرق عدة:

١- عد الصفائح باستخدام عدادة الكريات الحمر (انظر القسم العملي) ، ويمكن إجراء العد باستخدام العداد الإلكتروني electronic blood counter والذي يعطي بالإضافة إلى العدد، متوسط الحجم الصفيحي ونطاق توزع الصفائح PDW . ويجب العلم بأن النزف الذي يحصل من قلة الصفائح لا يحدث إلا عندما ينخفض عدد الصفائح إلى أقل من ٢٥,٠٠٠ / ميكروليتر وإن كثرة الصفيحات هي العامل الأكثر خطورة في حصول فرط التخثر .

٢- تقييم الصفائح من خلال اللطاخة الدموية وهي طريقة غير دقيقة ولكن يمكن أن تساعدنا في وضع تقييم للصفائح كطبيعي أو منخفض أو مرتفع، فلو كان العدد في الحقل المجهري للعدسة الزيتية الغاطسة ٨ – ١٠ فهو طبيعي ولو كان أقل من ٣ – ٤ صفائح في الحقل فهذا دلالة على قلة الصفائح Thrombocytopenia .

وهناك طريقة أخرى لحساب العدد التقريبي للصفائح من اللطاخة، فلو كان معنا العدد الكلي للكريات البيضاء، نقوم بتسجيل عدد الصفائح أثناء عد مئة كرية بيضاء ونطبق المعادلة التالية :

عدد الصفائح أثناء عد ١٠٠ كرية بيضاء × العدد الكلي للبيض = عدد الصفائح / ١٠٠ ميكروليتر

ونفس التقييم يمكن إجراؤه بالمقارنة مع عدد الكريات الحمر وذلك بعد الصفائح أثناء ملاحظة ١٠٠٠ كرية حمراء وبعدها نطبق المعادلة التالية :

عدد الصفائح أثناء عد ١٠٠٠ كرية حمراء × العدد الكلي للحمـــر = عـــدد الصـــفائح / ١٠٠٠ ميكروليتر

٣- متوسط الحجم الصفيحي MPV :

وهو قياس الكتروني وقيمته تقريباً عند الحيوانات من ١٤ – ١٨ فيمتولتير وأقل من ستة عند الخيول و ٦ – ٩ عند الكلاب . تظهر حالات زيادة متوسط الحجم الصفيحي أثناء الاستجابة لتكون الصفيحات (في حالات نقصها) .

٤- فحص نقي العظام وذلك للكشف عن خلايا النواء :

إذا كان عدد خلايا النواء طبيعياً أو زائد قليلاً عند الحيوانات التي تعاني من قلة الصفائح ، فإن ذلك يعد دلالة على استهلاك زائد للصفائح أو تحطمها كآلية أولية . وإن وجود عدد قليل من خلايا النواء في لطاخة نقي العظم أو غياب النواء فهذا دليل على إعاقة إنتاجها من نقي العظم .

٥- زمن النزف : Bleeding Time

وهو اختبار يقيس القابلية الوظيفية للصفيحات من أجل قفل الجروح الدقيقة ، فهو اختبار يجرى على الجسم من خلال إحداث شق (جرح) عياري في منطقة جلدية خالية من الشعر أو في الغشاء المخاطي ، وحساسية هذا الاختبار ضعيفة ويمكن أن لا يستبعد العيب الوظيفي للصفائح وأفضل استعمال لهذا الاختبار هو مرض فون ويلليبراند إذ تفشل الصفائح بالالتصاق مع الكولاجين ، و من ثم لا تتشكل السدادة في الجرح .

- يطول زمن النزف في حالة قلة الصفائح Thrombocytopenia .

- تحدث إطالة زمن النزف في حالات العيب الوظيفي المكتسب للصفائح وفي التخثر داخل الأوعية المنتشر وفي حالات اليوريمية uremia . ويجب العلم بأن عوز عوامل التخثر لا يؤثر على زمن النزف وكذلك فإن مرض البثع (scurvy) الناجم عن نقص فيتامين C عند البشر لم يوصف عند الحيوانات .

٦- اختبار الكشف عن مستضد عامل فون ويلليبراند :

وهو اختبار يستخدم لتفريق مرض الناعور- آ- الذي يتضمن عوز العامل الثامن VIII مع مستوى طبيعي لعامل ويلليبراند من مرض ويلليبراند (عوز عامل ويلليبراند والعامل الثامن VIII سويةً) .

٧- اختبار انكماش الجلطة : Clot retraction test

وهو عبارة عن قياس لكمية المصل المتشكلة حول الخثرة لعينة الدم بدون مانع تخثر ، إذ أن فشل انفصال المصل عن الخثرة يشير إلى قلة الصفائح أو عيب وظيفي لها .

اضطرابات الصفائح :

إن اضطراب وظيفة الصفائح أو انخفاض عددها أو قلة الصفائح تؤدي على ما يبدو إلى حدوث نزف تلقائي من أسطح الجسم ويأخذ النزف شكل حبري Petechial أو شكل كدمي ecchymotic ، وإن زيادة عدد الصفائح أو كثرة الصفائح يمكن أن تؤهب لحصول أمراض صمامية خثارية Thromboembolic

أ- آليات خلل وظيفة الصفائح :

يعد مرض فون ويلليبراند أهم اضطراب وراثي للنزف عند الحيوانات ويحدث في ٥٠% من عروق الكلاب والقطط والخيول . ومن الأمراض الأخرى، اعتلال الصفائح عند كلاب الباست الوراثي إذ تفشل الصفائح بالالتصاق على مولد الليفين .

وتحدث عيوب مكتسبة في وظيفة الصفائح في حالات اليوريمية والتخثر داخل الوعائي المنتشر وكذلك بعض الأدوية مثل الأسبرين الذي يثبط تشكل الثرمبوكسان .

ب- قلة الصفائح : Thrombocytopenia

وتحصل نتيجة تحطم الصفائح أو استهلاكها بشكل زائد كما في حالات قلة الصفائح المتوسطة بالمناعة وفي حالات الأخماج الحموية والجرثومية، أو نتيجة فشل إنتاج الصفائح من نقي العظام .

ج- كثرة الصفائح : Thrombocytosis

وتحصل في حالات النزف المرافقة للرضوض والطفيليات الماصة للدم و الأوارم وفقر الدم بعوز الحديد والعدوى بحمة ابيضاض الدم الهري وبعض التناذرات النقوية التكاثرية .

د- فرط التخثر والتخثر داخل الوعائي المنتشر:

وتنتج عادة من التنشيط المفرط للصفائح (التجفاف، الصدمة ، بطء القلب ، انخفاض الضغط ، كثرة الحمر وتناذر فرط اللزوجة وبعض الأدوية ، وجميع هذه العوامل تسبب ركود الدم و من ثم تزيد كمونية تنشيط الصفائح .

تخثر الدم : Blood Coagulation

عوامل التخثر :

١- عوامل التخثر الأنظيمية :

تتشكل عوامل التخثر الأنظيمية في الكبد وتتواجد في المصورة بشكل طليعة أنظيم، وتحتاج إلى تنشيط كي تصبح فعالة وظيفياً. وتشتمل هذه العوامل على عوامل التماس (العامل الحادي عشر والعامل الثاني عشر والبريكاليكرين ومولد الكينين) وعلى العوامل المرتبطة بفيتامين ك (العامل الثاني أو ما يعرف بطليعة الخثرين ، والعامل السابع والعامل العاشر). إن تنشيط هذه العوامل وبوجود شوارد الكالسيوم و الشحوم الفوسفورية للصفائح، تؤدي إلى تشكل الثرمبوبلاستين لنظام التخثر داخل الوعائي intrinsic system . وآخر عامل أنظيمي هو العامل الثالث عشر وهو عامل تثبيت الجلطة.

٢- عوامل التخثر غير الأنظيمية :

تتشكل أساساً في الكبد وتوجد في مصورة الدم مترافقة مع غشاء الصفائح ، و تتوضع في الجلطات المتشكلة نتيجة تكدس الصفائح، وتشتمل هذه العوامل على العامل الخامس والعامل الثامن والعامل الأول وهو مولد الليفين .

٣- الشحوم الفوسفورية للصفائح :

وهو عامل مساعد يوجد في غشاء الصفائح مشكلاً تركيبات مزيلة micelle التي يعتمد عليها في التنشيط المسرع لعوامل التجلط .

٤- الثرمبوبلاستين النسيجي :

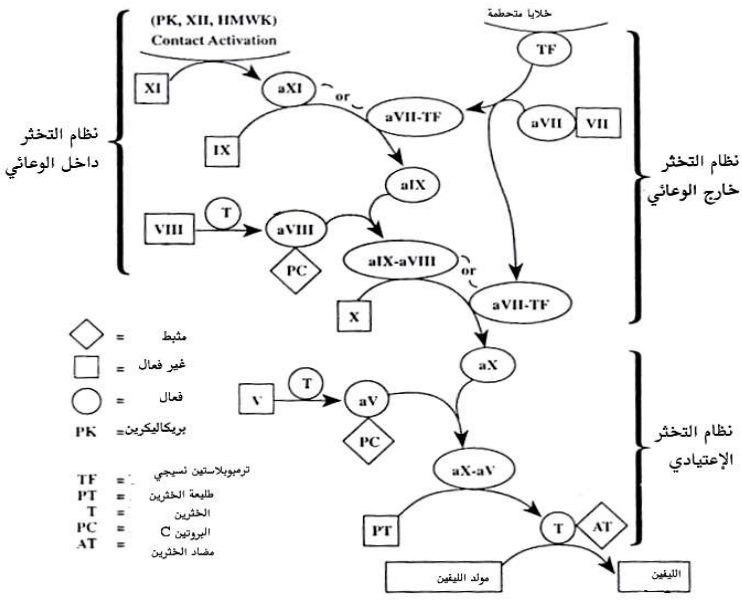
وهو شحم فسفوري متحد مع البروتين مما يعطيها المقدرة النوعية على التفاعل مع العامل السابع لنظام التجلط خارج الوعائي .

٥- الكالسيوم .

آلية التخثر واضطراباتها :

تتألف آلية تخثر الدم من ثلاثة أنظمة وهي النظام الداخل وعائي للتخثر intrinsic system والنظام خارج الوعائي للتخثر extrinsic system والنظام الاعتيادي للتخثر common system. إن التنشيط المتسلسل لعوامل نظام التخثر داخل الوعائي وبوجود الشحوم الفوسفورية للصفائح و شوارد الكالسيوم، سيؤدي إلى تشكل الثرمبوبلاستين الداخلي . وكذلك فإن تنشيط عوامل نظام التخثر خارج الوعائي (العامل السابع و الثرمبوبلاستين النسيجي) وبوجود شوارد الكالسيوم سوف يؤدي إلى تشكل الثرمبوبلاستين الخارجي .

بعد ذلك يتفاعل الثرمبوبلاستين الخارجي أو الداخلي مع عوامل نظام التخثر الاعتيادي (العامل العاشر والعامل الخامس) وبوجود الكالسيوم والصفائح، فينتج عن هذا التفاعل تحول طليعة الخثرين إلى أنظيم فعال يدعى الخثرين المنشط Activated Thrombin والذي يحول مولد الليفين Fibrinogen إلى ليفين موحود، والذي يتحول بوجود عناصر الكالسيوم والعامل الثالث عشر إلى جلطة ليفينية غير ذوابة (انظر المخطط ٣-١).



المخطط (٣): آلية تخثر الدم و أنظمة التخثر.

اضطراب نظام التخثر داخل الوعائي: Disorders of intrinsic system

يشتمل هذا النظام على العوامل (١١ و ١٢ و البريكاليكرين ومولد الكينين والعامل التاسع والعامل الثامن) . إن نقص عوامل هذا النظام، تؤدي إلى نزوف مختلفة الخطورة ويلاحظ أن النزف عادة يكون معدياً معوياً(هضمي) أو بولياً أو ذو توضع نسيجي عميق، ومعظم أسباب نقص هذه العوامل هي أسباب وراثية ما عدا العوز المكتسب للعامل الثامن في تناذر التخثر داخل الأوعية المنتشر والعوز المكتسب للعناصر المرتبطة بفيتامين ك (التسمم بالكومارين ، عوز الصفراء ، أمراض الكبد). ويجب الإشارة إلى أن الإفراط في التنشيط بالتماس يؤدي إلى فرط التخثر والتخثر داخل الأوعية الدموية المنتشر (الحرارة ، السكتة، الحماميه viremia والذيفانات الداخلية .

اضطراب نظام التخثر خارج الوعائي :

يشتمل هذا النظام على العامل السابع و الثرمبوبلاستين النسيجي وإن المعقد النشط لهما، ينشط العامل التاسع في شلال تفاعلات نظام التخثر داخل الوعائي وتنشيط العامل العاشر مباشرة في نظام التخثر الاعتيادي. ويكون الاضطراب في هذا النظام هو عوز العامل السابع وهو عوز وراثي .

-اضطراب النظام الاعتيادي للتخثر : Disorder of Common System of coagulation

في هذا النظام يتم تنشيط العامل العاشر بوساطة النظام داخل أو خارج وعائي للتخثر أو كليهما وبوجود العامل الخامس (العامل المنشط للخثرين)، مما يؤدي إلى تحول طليعة أنزيم الخثرين (العامل الثاني) إلى خثرين Thrombin ويكون التأثير الأساسي للخثرين هو تحويل مولد الليفين المنحل إلى ليفين غير منحل .

إن أهم أسباب عيوب هذا النظام هي العوز الوراثي للعامل العاشر أو العوز الوراثي لطليعة الخثرين أو العوز المكتسب للعامل الخامس والعامل الثالث عشر ومولد الليفين كما في حالة التخثر داخل الوعائي المنتشر .

التقييم المخبري للتخثر: Laboratory evaluation of coagulation

ويتم ذلك من خلال إجراء الإختبارات التالية :

١- زمن التجلط المنشط : Activated Clotting Time

ويعرف بأنَّه الزمن اللازم لتشكل جلطة الليفين في الدم الكامل الطازج باستخدام أنابيب خاصة تحوي على مادة من تربة دياتومية كعامل سطحي منشط، إذ يوضع ٢مل من الدم في كل أنبوب وتحضن عند الدرجة ٣٧م° لمدة دقيقة واحدة وتفحص الأنابيب بفترات مدتها خمس ثواني للكشف عن حدوث تجلط الدم. والزمن الطبيعي عند الكلاب مثلاً هو من ٦٠ – ٩٠ ثانية وهذا الاختبار يقيس شلال التخثر للنظامين الداخل وعائي و الاعتيادي .

يزداد زمن التجلط المنشط في حالات عوز عوامل التخثر للنظامين الداخل وعائي والاعتيادي ويجب العلم بأن هذا الاختبار لا يكشف عن نقص مولد الليفين .

٢- اختبارات تجلط المصورة الستراتية: Citrated plasma clotting Tests

أ- زمن الثرمبوبلاستين الجزئي المنشط :

Activated partial Thromboplastin time

وهو اختبار لتقدير عيوب النظامين الداخل وعائي والاعتيادي للتخثر ويُعرف بأنه الزمن اللازم لتشكل جلطة الليفين في المصورة الستراتية وذلك بعد إضافة منشط تماسي للنظام الداخل وعائي (شحوم فوسفورية) وإضافة الكالسيوم (cacl2) .

إن إطالة زمن الثرمبوبلاستين الجزئي المنشط تشير إلى عوز في عوامل نظامي التخثر داخل الوعائي والاعتيادي كما في حالات مرض الناعور والعوز الوراثي للعامل ١٢ والعوز الوراثي للبريكاليكرين ومرض فون ويلليبراند والتخثر داخل الوعائي المنتشر والعوز المكتسب للعوامل المرتبطة بفيتامين ك . هذا ولا تؤثر قلة الصفائح على قيم هذا الاختبار .

ب- زمن طليعة الخثرين أحادي الطور: One–stage Prothrombin Time

وهو يقيم جهاز التخثر خارج الوعائي، و يعرف بأنه الزمن اللازم لتشكل جلطة الليفين للمصورة الستراتية بعد إضافة الثرمبوبلاستين النسيجي وإعادة التكلس للخليط .

إن إطالة زمن طليعة الخثرين أحادي الطور يشير إلى عوز في النظام خارج الوعائي والاعتيادي للتخثر، إذ تحصل الإطالة لهذا الزمن في حالات العوز الوراثي للعامل السابع وتناذر التخثر داخل الوعائي المنتشر ولا تؤثر قلة الصفيحات على هذا القياس. هذا وإن عوز العامل الخامس والعاشر ومولد الليفين يمكن أن يسبب تأخير حصول التفاعل. ويحصل نقص طليعة الخثرين في حالات العوز الوراثي لفيتامين ك أو عدم كفاية امتصاصه أو إعاقة تشكله في الكبد .

ج- زمن تجلط الخثرين: Thrombin Clotting Time

وهو اختبار يقيس الزمن اللازم لتشكل جلطة الليفين في المصورة الستراتية المعادة التكلس (إضافة كلوريد الكالسيوم) وذلك بعد إضافة الخثرين (من مصدر خارجي) .

يحصل زيادة في زمن تجلط الخثرين في حالة نقص مولد الليفين في الدم إلى أقل من ١٠٠ مغ / دل أو عدم وجوده في الدم ، كثرة نواتج تحطم الليفين – مولد الليفين وقلة بروتينات الدم والعلاج بالهيبارين .

د– اختبار سم أفعى روسيل : Russell Viper Venom

يتم في هذا الاختبار تجاوز نظامي التخثر داخل وخارج الوعائي وتقاس فقط فعالية العامل العاشر والخامس وطليعة الخثرين ومولد الليفين وهي عوامل النظام الاعتيادي للتخثر (اختبار تجاري) .

٣– تركيز مولد الليفين :

وهو موضح في بحث البروتينات . ويجب معرفة أن زمن تجلط الخثرين يتناسب عكساً مع تركيز مولد الليفين .

الفحوص البيوكيميائية للدم

بروتينات المصورة الدموية

Plasma Proteins

وظائف بروتينات المصورة الدموية ومصادرها :

تقوم بروتينات المصورة إجمالاً بوظيفة تغذوية ووظيفة ضبط الضغط الغرواني التناضحي، وتساعد في الحفاظ على التوازن الحمض- أساس. و يؤدي بعض البروتينات دوراً كأنظيمات و أجسام مناعية وعوامل تجلط ومواد نقل . يحتوي المصل الطازج على جميع بروتينات المصورة ما عدا بروتينات تخثر الدم غير الأنظيمية (مولد الليفين والعامل V و V III) التي يتم استهلاكها أثناء تشكل الخثرة الدموية .

و يكون تركيز بروتينات المصورة منخفضا عند الولادة ويزداد بعد امتصاص اللبأ ثم ينخفض بعد ١ – ٥ أسابيع بعد استقلاب اللبأ، ويعود إلى مستواه كما عند البالغين خلال ٦ أشهر إلى سنة .

يشكل الألبومين ٣٥- ٥٠ % من البروتين الكلي ويتم تشكيله في الكبد تحت التأثير المنظم للانترلوكين -١ وبقية السيتوكينات، ونظراً لوفرته وصغر حجمه الجزيئي، فانه يساهم بنسبة ٧٥% من النشاط التناضحي- الغرواني(الفعالية الحلولية) للمصورة .ويساهم الألبومين بنقل العديد من المواد .

فيما يتعلق بالغلوبيولينات ، فتقسم إلى ثلاثة أقسام بوساطة الرحلان الكهربائي وتدعى ألفا ، بيتا وغاما غلوبيولين. يتم تشكيل الألفا و البيتا غلوبيولين في الكبد ، بينما يتشكل الغاما غلوبيولين في الخلايا اللمفاوية البائية و الخلايا المصورية .

- طرق قياس بروتينات الدم:

أ- البروتين الكلي :

- طريقة بيوريت و سيمر شرحها في الجزء العملي .
- مقياس الانكسار Refractometer و يستخدم لقياس البروتين في المصورة والمصل و سوائل إجواف البدن، إذ ان البروتينات في المحاليل تغير معامل انكسارها بشكل طردي مع تركيز البروتين. والجهاز يعطي قيمة البروتين مقدرة بالغرام /دل.

ب- الألبومين :

- طريقة الأرتباط بصبغة أخضر بروم الكريزول: وهي الطريقة الشائعة في المخابر البيطرية. وتعاني هذه الطريقة من عيوب كثيرة.
- الفصل بالرحلان الكهربائي للالبومين و بقية بروتينات المصل، وهي طريقة دقيقة للقياس .

ج- الغلوبيولينات :

١- يحصل عليه من طرح قيمة البروتين الكلي من قيمة الألبومين.

٢- الفصل بالرحلان الكهربائي وهي طريقة دقيقة للقياس.

٣- تمكن الطرق المناعية الكيميائية و والطرق المناعية الإشعاعية من قياس كل غلوبيولين على حدة.

د- مولد الفيبرين :

و يقاس بطريقة غير مباشرة بوساطة مقياس الإنكسار. يتخثر مولد الليفين عند تعرضه لدرجة حرارة ٥٦ مْ ، و لاتتأثر بقية بروتينات الدم بهذه الدرجة. و يقاس البروتين في مصورة الدم بوساطة مقياس الإنكسارقبل تعريض المصورة لدرجة حرارة ٥٦ مْ و بعدها لمدة عشرة دقائق وتثفيلها لإستبعاد مولد الليفين المتخثر. و يفترض أن يكون الفرق بين القيمتين مساوياً كمية مولد الليفين.

هـ- نسبة الألبومين إلى الغلوبيولين : Albumin/globulin ratio

من المعلوم بأن هذه النسبة سوف تتغير في حال تغير كمية اللألبومين أو الغلوبيولينات.

اضطراب بروتينات المصورة :

فرط بروتين الدم :

يحصل فرط بروتين الدم في حالة التجفاف النسبي، إذ يؤدي فقد الماء إلى تركيز جميع بروتينات المصورة وبشكل متساوٍ، وتكون نسبة الألبومين إلى الغلوبيولين طبيعية .

فرط ألبومين الدم :

نادراً ما يحدث زيادة مطلقة في هذا الجزء من البروتين، ويحدث ازدياد زائف وبشكل مترافق مع زيادة الغلوبيولين أثناء التجفاف.

فرط مولد الليفين الدموي :

يحدث عادةً في الأمراض الالتهابية والأورام. ويعد مولد الليفين من بروتينات الطور الحاد. و لا يكشف عن زيادة مولد الليفين بالطرق المخبرية الروتينية، إذ إنه في معظم هذه الاختبارات يستخدم مصل الدم بينما يقاس مولد الليفين في المصورة فقط . وفي حال الكشف عنه يمكن أن يستخدم كمشعر للالتهاب، ويكون أكثر دقة من فرط العدلات في الأبقار وبعض الحالات عند الخيول.

و ربما يؤدي التجفاف إلى زيادة كمية مولد الليفين التي يمكن تمييزها عن حالة زيادته الحقيقية بحساب النسبة بين بروتينات المصورة إلى مولد الليفين :

إذا كانت النسبة > ١٥ فهذا يدل على حالة تجفاف أو مستوى طبيعي من مولد الليفين و إذا كانت النسبة < ١٠ فهذا يدل على زيادة حقيقية .

فرط غلوبيولينات الدم :

أ- بروتينات الطور الحاد: تسبب ارتفاعاً متوسطاً في كمية الغلوبيولين، ومعظم بروتينات الطور الحاد من النوع ألفا و يقع جزء منها في البيتا غلوبيولين. إذ يتم تصنيع بروتينات الطور الحاد في الكبد كاستجابة للطور الحاد ، التي تحدث خلال ٢-٥ أيام بعد أذيات النسج الحادة (جراحة ، أورام ، تنخر والتهاب) وتشمل بروتينات الطور الحاد: البروتين-ث c-reactive protein، الاميلويد A المصلي، الهابتوغلوبين (ينخفض في حال تحلل الدم لارتباطه بالخضاب)، مولد الليفين، السيرو بلازيين، مضاد التربسين α-1 و الماكروغلوبين α-2 و بعض عوامل تخثر الدم.

و يكون لهذه البروتينات أهمية في الكشف المبكر عن الاذيات النسيجية، إذ يمكن استخدامها من أجل مراقبة شفاء النسج بعد الأذية الرضية والالتهاب. وهي تقاس بطرق مناعية باستخدام أجسام مناعية مضادة نوعية لكل منها.

ب- بروتينات الطور المزمن (الغلوبيولينات المناعية): تسبب زيادة ملحوظة في الغلوبيولين وتقع هذه البروتينات كلياً في منطقة الغاما، وجزئياً في منطقة البيتا غلوبيولين، ويلاحظ نوعان من فرط غاما غلوبيولين الدم:

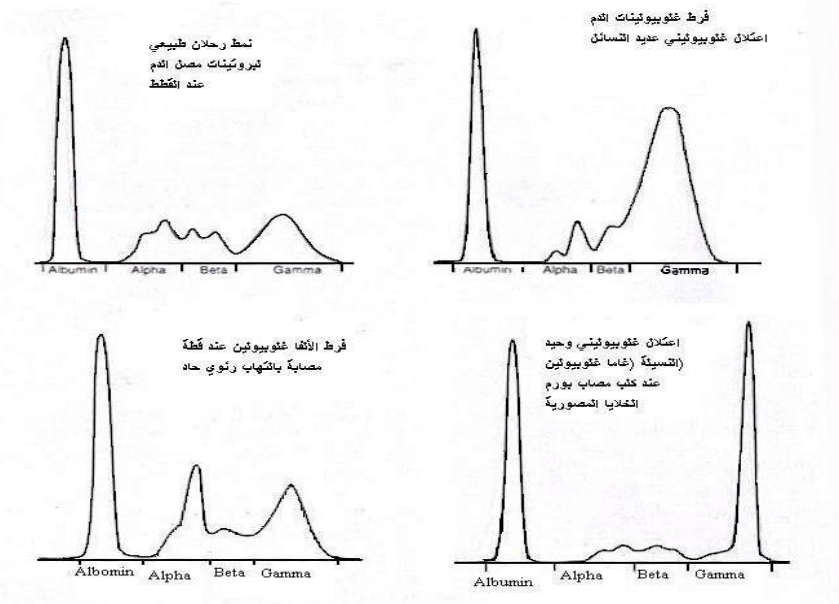
١- الاعتلال الغلوبيوليني متعدد النسائل :

ويتميز بزيادة الشق الغلوبيوليني للبروتين مع ذروة واسعة الانتشار لنمط التحليل الكهربائي للبروتينات، وهو مؤلف من خليط متغاير من الغلوبيولينات المناعية، وتكون الزيادة أساساً في الغاما غلوبيولين ولكنها قد تمتد إلى البيتا غلوبيولين وبالأخص عندما تكون الاستجابة بإنتاج أجسام مناعية من نوع IgM. وتترافق هذه الحالة مع تنبيه مستضدي مزمن خلال الأمراض الالتهابية المزمنة وخلال الأمراض المتوسطة بالمناعة و أثناء أمراض الكبد وبالأخص الحالة التي تتخرب فيها خلايا كوبفر المسؤولة عن بلعمة المستضدات القادمة من الأمعاء، و من ثم تنتقل إلى دورة الدم والجهاز

الليمفاوي لذا تؤدي إلى استجابة مناعية بأجسام مضادة متنوعة تؤدي إلى اعتلال غاما غلوبيوليني .

٢- الاعتلال الغلوبيوليني وحيد النسيلة :

وتتميز بزيادة الغلوبيولين المناعي مع ذروة رحلان كهربائي ضيق القاعدة (بعرض ذروة الألبومين)، وتحدث هذه الحالة نتيجة زيادة صنف واحد من الغلوبيولينات المناعية المنتجة من نسيلة مفردة من الخلايا، ويمكن أن تتوضع هذه الذروة في مكان الغاما أو البيتا أو الألفا غلوبيولين . ويحدث أيضا في حالة الورم النقيومي للخلايا المصورية والماكروغلوبيولين وبعض حالات الورم الليمفاوي الخبيثة وابيضاض الخلايا اللمفاوية المزمن . وعلى العموم ففي كلتا الحالتين فان نسبة الألبومين إلى الغلوبيولين سوف تنخفض لان الألبومين يبقى في مستواه الطبيعي أو ينخفض قليلا في حالات ارتفاع الغلوبيولين (في أمراض الكبد المزمنة فان نسبة مولد الليفين A/G تنخفض). و يوضح المخطط ١-٤ بعض أنماط إضطراب بروتينات مصل الدم من خلال نمط الرحلان الكهربائي لها .



مخطط-٤-: نمط الرحلان الكهربائي لبروتينات مصل الدم. لاحظ أنماط الإعتلال الغلوبيولني.

نقص بروتينات مصورة الدم :

نقص ألبومين الدم :

ينخفض إنتاج الألبومين في حالات انعدام أو قلة الامتصاص المعوي ، قلة التغذية ، عدم كفاية الإفراز المعثكلي الخارجي (الانظيمي) ، أمراض الكبد المزمنة ، الفقدان المستمر للألبومين خلال النزيف ، أمراض الكلية (البيلة البروتينية) ، فقدان الألبومين عن طريق الأمعاء خلال العمليات الرضية المعوية ، أذيات الجلد النضحية الخطيرة و الحروق . و ينخفض الألبومين وبكمية متوسطة في أذيات النسج الحادة أو الا لتهاب وهو بروتين من المتفعلات السلبية للطور الحاد ويحدث في الوقت ذاته زيادة في متفعلات الطور الحاد الإيجابية التي تتوضع في الشق ألفا وبيتا غلوبيولين و من ثم لا تحصل حالة انخفاض بروتينات مصل الدم.

في حالة فقدان الألبومين انتقائيا (أمراض الكبيبات الكلوية ، الفشل الكبدي) فان النسبة A/Gسوف تصبح منخفضة .

نقص غلوبيولينات الدم :

يؤدي فشل المواليد الحديثة في الحصول على السرسوب (اللبأ) إلى الحصول مستويات منخفضة جداً من الغاما غلوبيولين، إذ إن المواليد الحديثة، تحوي على مستويات منخفضة جدا من الغلوبيولين المناعي في دمها .

أمراض العوز المناعي عند الخيول التي تحدث نتيجة فشل إنتاج الغلوبيولين المناعي وعيوب المناعة المتوسطة بالخلايا .

بعض الأمراض تتميز بعوز الغلوبيولينات المناعية مثل عدم وجود الغاما غلوبيولين أو عوز انتقائي فيIgM أو IgA أو IgG وقد يحدث نقص عابر في تركيز الغلوبيولين المناعي .

النسبة بين الألبومين و الغلوبيولين(A/G) سوف ترتفع .

يحدث فقدان للغلوبيولينات مصاحباً مع فقدان الألبومين في الحالات السابقة التي ذكر فيها نقص الألبومين (نزيف ، نضح ، فقدان عن طريق الأمعاء، قلة تغذية ، عسر الهضم وقلة الامتصاص) وتكون نسبة A/G طبيعية .

شحوم المصورة الدموية
Plasma Lipids

أنماطها و مصادرها :

توجد الشحوم في الدم بشكل كوليسترول حر، كوليسترول مؤستر، غليسيريدات ثلاثية و شحوم فوسفورية. و تأتي الشحوم من مصادر داخلية و أخرى خارجية .

أ–المصادر الخارجية :

تهضم الشحوم المأخوذة عن طريق الغذاء بوساطة أنظيم الليباز المعثكلي و بمساعدة أملاح الصفراء إلى غليسيريدات أحادية و أحماض شحمية حرة، التي تمتص سوية مع الكوليسترول بوساطة ظهارة الأمعاء .

تقوم الخلايا الظهارية بإنتاج الغلسيريدات الثلاثية و استرات الكوليسترول من الأحماض الشحمية و الكوليسترول و تقوم بضمها مع كميات قليلة من الشحوم الفوسفورية و صميم البروتين الشحمي Appolipoprotein و ذلك لتشكيل الدقائق الكيلوسية التي تفرز (تطرح) في البلغم المعوي للوابن (مجاري الكيلوس). بعد ذلك تدخل الدقائق الكيلوسية المصورة من القناة الصدرية، ثم تتحلمه بوساطة أنظيم ليباز البروتين الشحمي المصوري. تمتص النواتج من أحماض شحمية و غليسيرول بوساطة الكبد و النسج الشحمية والنسج الأخرى .

المصادر الداخلية :

تتوضع الشحوم في مصورة الدم بشكل يدعى البروتينات الشحمية (شحوم مرتبطة مع سلاسل ببتيدية تؤلف معقدات ببتيدية شحمية مؤلفة من غلسيريدات ثلاثية ، كوليسترول ، كوليسترول مؤستر وشحوم فوسفورية) تتشكل البروتينات الشحمية أساساً في الكبد وتطرح في المصورة ، و تميز الشحوم البروتينية بوساطة التشفيل الفائق وحركياتها الكهربائية (رحلان كهربائي) و أهم أنماطها :

أ–الدقائق الكيلوسية :

(مصدرها غذائي) وهي مؤلفة اساساً من غليسيريدات ثلاثية.

ب-بروتينات شحمية منخفضة الكثافة جداً (وضيعة الكثافة) : VLDL

وهي مؤلفة من غليسيريدات ثلاثية ، كوليسترول و شحوم فوسفورية و بنسب ١:١:٤ و وظيفتها هي نقل الغلسيريدات الثلاثية الكبدية و الكوليسترول و توزيعها إلى النسج الدهنية و العضلات المخططة .

ج-بروتينات شحمية منخفضة الكثافة (خفيضة الكثافة) : LDL

وهي شحوم غنية بالبروتين مع كميات ضئيلة من الكوليسترول و الغلسيريدات الثلاثية . و يقوم الـ LDL بتوزيع الكوليسترول إلى النسج المحيطية .

د- بروتينات شحمية عالية الكثافة: HDL

وهي تحتوي على الكولسترول (ثلاث مرات أكثر من البشر) و البروتين و الشحوم الفوسفورية مع كمية قليلة من الغلسيريدات الثلاثية. و لها نمطيان HDL1 و HDL2 . H DL 1 يحتوي على كوليسترول أكثر وبروتين أقل من HDL 2 . الـ HDL يقوم أساساً بنقل الكوليسترول إلى الكبد .

فرط شحوم الدم : Hyperlipidemia

يعني فرط شحوم الدم زيادة شحوم مصورة الدم (غليسيريدات ثلاثية ، كوليسترول و شحوم فوسفورية) . و عملياً يمكن أن يقال بأنه هناك فرط كوليسترول الدم أو فرط الغلسيريدات الثلاثية في الدم. وتحدث حالة فرط شحوم الدم عندما تؤخذ العينات من الحيوانات الصائمة (ممنوعة من الطعام) لمدة ١٢ ساعة و هي مختلفة تماماً عن حالة فرط شحوم الدم المؤقتLipemia التي تحدث بعد تناول وجبة غذائية غنية بالشحوم .

فرط الشحوم الأولي (البدئي) :

و يحدث لأسباب وراثية أو تبدلات غامضة في استقلاب البروتينات الشحمية .

فرط الشحوم الثانوي :

و يحدث نتيجة أحد الأسباب الآتية :

- تناول وجبات غنية بالشحوم .
- نقص هرمونات الدرق الذي يؤدي إلى قلة استهلاك الكوليسترول، أو قلة نشاط ليباز البروتين الشحمي المصوري. ونتيجة لذلك يحصل فرط شحوم بدرجات مختلفة.
- داء السكري : يؤدي نقص الأنسولين إلى قلة نشاط ليباز البروتين الشحمي المصوري و يزداد تحلل الشحوم. و تكون الزيادة في VLDL الغني بالغليسيريدات الثلاثية بينما تكون زيادة الكوليسترول عادية .
- تناذر تشحم الكبد عند الخيول و أفراس البوني .
- التهاب البنكرياس النخري عند الكلاب و أمراض الكبد و الكلى عند الكلاب.
- الكورتيزونات من مصدر خارجي (علاجي) وفرط الكورتيزونات القشرية.
- الحصيات صفراوية .

سكر الدم

يبدأ هضم السكريات وبشكل آلي في التجويف الفمي وذلك بوساطة الأنزيمات المفرزة من الغدة اللعابية. وفي المعدة يحصل هضم جزئي بفعل حمض كلور الماء. أما الهضم الرئيس والإمتصاص فيكون على أشده في الأمعاء الدقيقة، إذ تعمل الأنزيمات المحللة للسكر على استقلاب وتمثيل السكريات. يتحلل النشاء والغليكوجين إلى غلوكوز بفعل أنظيم الأميليز والمالتيز، ويتحلل اللاكتوز إلى غلوكوز وغلاكتوز بوساطة أنظيم اللاكتيز ويتحلل السكروز إلى غلوكوز وفركتوز بوساطة أنظيم السكريز.

و تعد السكريات الأحادية مثل الغلوكوز والغلاكتوز والفروكتوز السكريات الأساسية التي تمتص من خلال الغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة. والغلوكوز هو السكر الوحيد الموجود في الدم والذي يخزن على هيئة غليكوجين. و يتوضع الغليكوجين طبيعياً داخل الخلايا والسائل خارج النسيج الخلوي . يحافظ الغلوكوز على مستواه الطبيعي وضمن معدل ثابت في الجسم بفعل سيطرة عدة عوامل منها :

١- الكبد والكلية يعملان على امتصاص الغلوكوز وتحريره.

٢- الغلوكوز المستبعد بوساطة الأنسجة الطرفية .

٣- التأثير الهرموني المؤثر على عملية إتزان الغلوكوز .

٤- يتأثر إمتصاص للغلوكوز من الأمعاء الدقيقة بمستوى غلوكوز الدم، وكما يعد الكبد وبشكل أقل الكلية المصدر الداخلي لغلوكوز الدم، لأن كلا العضوين يحويان على أنظيم غلوكوز ٦ فوسفاتيز والذي يعد ضروري لتحويل غلوكوز ٦ فوسفات إلى غلوكوز وكما أن للكبد أهمية خاص في استبعاد وتوزيع الغلوكوز من الدم بالإضافة إلى قدرته على تشكيل الغلوكوز من الحموض الأمينية والحموض الدهنية. وأيضاً أن مستوى الغلوكوز بالدم يمكن أن يعمل كمحرض للكبد في تقرير الحاجة إما إلى تشكيل الجليكوجين أو العكس (تحليل الغليكوجين

). وأن هرمون الأنسولين هو الهرمون الأساسي المؤثر على مستوى الغلوكوز بالدم ومن وظائفه إنه :

١- يسرع من أكسدة الغلوكوز .

٢- يسرع من تحويل الغلوكوز إلى شحوم .

٣- يثبط تخليق الغليكوجين الكبدي .

٤- يمنع التكوين الزائد للأجسام الكيتونية .

كما أن هرمونات القشرة الكظرية والفص الأمامي للغدة النخامية لها تاثير على مستوى الغلوكوز بالدم.

- اختبارات الكشف عن غلوكوز الدم :

أ- دواعي هذه الإختبارات Indication for tests :

تجرى هذه الإختبارات لتقدير مستوى غلوكوز الدم عندما يكون هناك اشتباه بمرض السكري أو حالة أغماء غير معروفة السبب أو عند حدوث اضطرابات عامة بالجسم أو حدوث تشنجات في الحيوانات أو كلاب الصيد التي تتعب بسهولة وبسرعة . أو عند الأشتباه بمرض الكيتوزس عند الأغنام والأبقار أو عند الإشتباه بالتهاب المعثكلة .

ب- حدود حساسية هذه الإختبارات للغلوكوز Limitation of tests :

هناك العديد من الطرق المستخدمة لتقدير الغلوكوز بالدم . منها ما يعتمد على مقدرة الغلوكوز على اختزال محلول النحاس القلوي من Cu++ إلى Cu+ وبما أ ن محتويات الدم تحوي بعض المواد غير السكرية والتي لها المقدرة على اختزال النحاس و من ثم التداخل مع نتيجة قياس السكر، ومن هذه المواد الكرياتينين، الغلوتاثيون، حمض البول، الأرغوتين. ومن الطرق المستخدمة للكشف عن الغلوكوز هي :

١- طريقة فولن وفو Folin TWu method

٢- طريقة نلسون سمجي N. Somgyi method

٣- طريقة الأورثوتوليدين O- Tolodin

٤- الطريقة الأنظيمة المعتمد على أكسدة الغلوكوز بفعل الخميرة المؤكسدة للغلوكوز Glucose oxidase method

ملاحظة: يجب تصويم الحيوان سواء كان للحيوانات المجترة أوغير المجترة مدة ٢٤ ساعة قبل قياس غلوكوز الدم.

القيم الطبيعية لغلوكوز بالدم عند الحيوانات:

- الأبقار من ٣٥ – ٧٠ ملغ / دل
- الأغنام من ٣٥ – ٥٤ ملغ / دل
- الماعز من ٤٥ – ٧٠ ملغ / دل
- الخيول من ٦٠ – ٨٥ ملغ / دل
- الكلاب من ٥٣ – ٩٠ ملغ / دل
- الإنسان من ٧٥ – ١١٥ ملغ / دل

مناقشة النتائج Interpretotion :

أ- زيادة غلوكوز الدم Hyperglycemia :

تحدث بسبب :

١- عدم التوازن بين إنتاج الكبد للغلوكوز مع عدم استبعاده من الدورة الطرفية (أي أن الإنتاج أكثر من الإمتصاص) .

٢- زيادة إنتاج الكبد للغلوكوز وتحريره مع معدل استبعاد طبيعي بوساطة الأنسجة الطرفية .

٣- مرض السكري وخصوصاً عند الكلاب القطط (ارتفاع نسبة الغلوكوز حتى ٢٠٠ ملغ% أو أكثر) .

٤- حدوث تنخر حاد أو التهاب مزمن للمعتكلة .

٥- فرط نشاط الفص الأمامي للغدة النخامية والغدة الكظرية والغدة الدرقية.

٦- نقص الأوكسجين (Anoxia) يترتب عليه زيادة غلوكوز الدم لأن غليكوجين الكبد يصبح غير ثابت بوجود نقص إمداد الأوكسجين .

٧- الإضطرابات أو التشنجات مثل التشنج أثناء الحمل والوضع، أثناء الصرع، الكدمة داخل الجمجمة أو وجود أورام ، مرض الكزاز .

٨- زيادة مؤقتة اللغلوكوز بعد التخدير العام بسبب التهيج، أو الحقن المتكرر لمادة الأبنفرين أو عند التعرض للبرد أو الإثارة أو أثناءالهضم .

٩- أمراض الكبد المزمن بسبب انعدام الحساسية النسبية لخلايا الكبد في تنظيم آليته .

١٠- تخلون الدم.

١١- فرط تشحم الدم .

١٢- فقدان شوارد الدم .

- نقص غلوكوز الدم : Hypoglycomia

يحدث بسبب :

١- إنتاج طبيعي للغلوكوز من الكبد مع زيادة تمثيله أو استبعاده من الدورة الدموية السطحية .

٢- نقص في تكوين الغليكوجين الكبدي مع استخدام طبيعي له في الأنسجة الطرفية .

٣- فرط إفراز هرمون الأنسولين أو نتيجة لحقن الأنسولين بجرعة أكبر من المطلوب أو نتيجة لوجود ورم خبيث في المعثكلة وقد سجل هذا المرض في الكلاب والإنسان.

٤- الجوع .

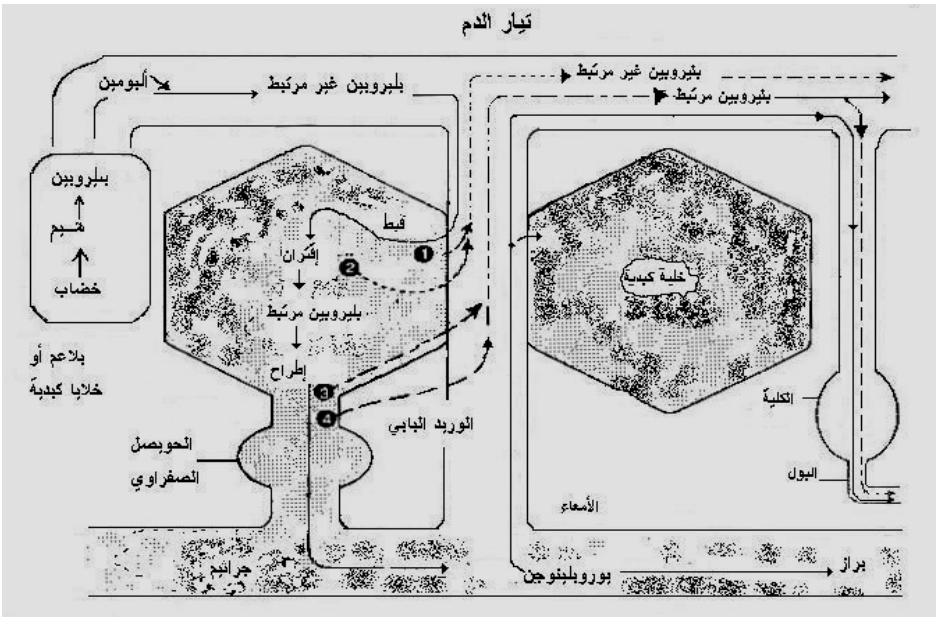
٥- قصور نشاط الغدة الدرقية والغدة النخامية والغدة الكظرية .

٦- مرض الكيتوزيس عند الأغنام والأبقار .

يؤدي إلى زيادة نسبية في مستوى الكلور في مصورة الدم، وإن عوز الكلور يسبب حالات عطاش polydipsia وضعف قابلية التركيز الكلوي.

البليروبين : Bilirubin أو الصبغة الصفراوية Bile pigment

يأتي البيلروبين من عملية تفكك خضاب الدم المتحرر من الكريات الحمراء المعمرة ٨٠(%) ومن البروتينات غير الهيمية (٢٠%). فأثناء تحطم الكريات الحمراء في البلاعم الطحالية أو الكبد فان الهيموغلوبين يتحطم إلى هيم وحديد وغلوبين، بعد ذلك يتحول الهيم إلى بليفيريدين بوساطة أنظيم الهيم اوكسيجيناز، وبعد ذلك يقوم أنظيم مختزلة البليفيردين بتحويل البليفيردين إلى بليروبين غير مرتبط وبعد تحرر البليروبين ووصوله إلى تيار الدم يرتبط مع الألبومين في مصورة الدم وينتقل إلى الكبد إذ يلتصق على سطح الخلايا الكبدية على مستقبلات خاصة، عندها يتحرر الألبومين ويدخل البليروبين فقط إلى داخل الخلية الكبدية. ينجح بعض البليروبين غير المرتبط بالعودة إلى تيار الدم إما الذي يبقى داخل الخلايا الكبدية فيتم اقترانه مع حمض الغلوكورونيك Glucuronic acid بوساطة أنظيم ناقلة الغلوكورونيل Glucuronyl transferase. إن عملية اقتران البليروبين تجعله ذواباً في الماء إذ يفرز إلى القنيات الصفراوية، ويطرح مع الصفراء إلى لمعة الأمعاء إذ تقوم الجراثيم المعوية بتحويله إلى يوروبلينوجين Urobilinogen الذي يطرح مع البراز ويمتص جزءاً قليلاً منه من جدران الأمعاء ويدخل تيار الدم ويطرح ثانيةً عن طريق الخلايا الكبدية أو عن طريق الكلي. ويبين المخطط ١-٢ طريقة اطراح البليروبين .



مخطط –٤– : طرق إطراح البليروبين و آليات حصول فرط بليروبين الدم

– تشير الخطوط المستمرة إلى طريقة الإطراح الطبيعي للبليروبين، وتشير الخطوط المتقطعة ذات النقاط الصغيرة إلى فرط بليروبين الدم غير المرتبط، بينما تشير الخطوط المتقطعة بخطيطات طويلة إلى فرط بليروبين الدم المرتبط. يشير رقم (١) إلى الفشل في قبط البليروبين، و رقم (٢) إلى فشل إقتران البليروبين ، ورقم (٣) إلى فشل إطراح البليروبين ويشير رقم (٤) إلى ركود الصفراء .

دواعي قياس البليروبين وكيفيته:

يقاس بليروبين الدم من اجل أهميته في تصنيف اليرقان عند الحيوانات المريضة وكذلك من اجل تقييم استجابة الكبد للعلاج للوصول إلى إنذار (تكهن) دقيق للحالة .

يقاس البليروبين الكلي و البليروبين المرتبط باختبار فان دين بيرغ Van den Bergh Reaction الذي يعتمد على ارتباط مادة البيلروبين مع مادة ديازو بنزو سلفوكلوريد (كاشف ديازور) Diazo benzo sulfo chloride لتشكيل لون أو صبغة حمراء بنفسجية مميزة. ولما كان البليروبين غير

المرتبط غير ذواب في الماء، فكان لا بد من إضافة الكحول لجعله ذواباً في الماء كي يتفاعل مع كاشف ديازو (كاشف ديازور موجود بشكل محلول مائي) ، وعلى هذا فإن التفاعل المباشر بين عينة المصل وكاشف ديازو بدون إضافة الكحول يعطينا كمية البيلروبين المرتبط كونه ذواباً في الماء (الاختبار المباشر)، وإن إضافة الكحول إلى عينة المصل وكاشف ديازو يمكننا من قياس البليروبين الكلي (الاختبار غير المباشر). ويحصل على كمية البليروبين غير المرتبط بطرح كمية البيلروبين الكلي من كمية البيلروبين المرتبط. (يبين الجدول رقم –٨–كميات بليروبين مصل الدم الطبيعية عند الحيوانات المستأنسة).

جدول –٨– : المقادير الطبيعية للبليروبين في مصل دم الحيوانات المستأنسة.

اسم الحيوان	البليروبين الكلي مغ/دل	البليروبين المباشر مغ/دل
الأبقار	٠ — ٠,٧	٠,٠٤ — ٠,٤٤
العجول	٠,٧	٠,٤
الأغنام	٠,١٠ — ٠،١٩	٠ — ٠,٢
الماعز	٠ — ١	٠ — ٠,٢
الخنازير	٠,٢ — ٠,٣٤	٠,١
الخيول	٠,٩ — ٢,٧	٠ — ٠,٨
الكلاب	٠,١ — ٠,٢٥	٠ — ٠,١٤
القطط	٠,١٥ — ٠,٢٠	٠ — ٠,١

ملاحظة :

– عندما تكون قيمة البيلروبين الكلي ضمن الحدود الطبيعية فلا حاجة لمناقشة قيمة البيلروبين المباشر .

– يوجد نمط من البليروبين يدعى دلتا بليروبين، والذي يرتبط مع الألبومين برابطة تساهمية ، ويظهر في مصل الدم عند عدم قدرة الكبد على طرح البيلروبين المرتبط .

تصنيف أسباب فرط بليروبين الدم (مسببات فرط بليروبين الدم) :

(أ) فرط بليروبين نتيجة التحلل الدموي: Hemolysis

تتعدى كمية البيلروبين مقدرة الكبد على اقتران البيلروبين وأخذه من الدم في هذا النمط من فرط البليروبين، ويبقى قسم كبير بشكل غير مرتبط (غير مباشر) في مصل الدم، ويكون هو النمط السائد في المراحل المبكرة لتحلل الدم. ولكن مع مرور الوقت ومع تطور فقر الدم وقلة الأكسجة في الكبد، تتطور أمراض كبدية ثانوية و من ثم تزداد نسبة كلا النمطين في الدم. ويجب الأخذ بعين الاعتبار أن النزف الداخلي الشديد يؤدي إلى إنتاج زائد للبليروبين وتكون الصورة المخبرية شبيهة لانحلال الدم .

(ب) فرط بيلروبين الدم نتيجة أمراض الخلايا الكبدية :

Heptocellular disease

تعد أمراض الكبد الحادة أو المزمنة المصحوبة بقلة الكتلة الوظيفية للكبد، نتيجة التنخر أو التليف أوالتورم هي المسبب الرئيس لهذه الحالة. إن تورم (انتفاخ) الخلايا الكبدية المرافق لسيرورة المرض، قد يضغط على القنيات الصفراوية ويغلقها مما يسبب ركود صفراوي ذا منشأ داخل كبدي، مما يؤدي إلى ارتداد البيلروبين المرتبط إلى تيار الدم، و من ثم زيادة كمية البيلروبين المرتبط في مصل الدم، ويجب الانتباه إلى أن انخفاض مقدرة الكبد على قبط Uptake وربط البيلروبين مع استمرار الأذية الكبدية يؤدي إلى زيادة البيلروبين غير المرتبط في مصل الدم.

(ج) فرط بيلروبين الدم نتيجة انسداد المجاري الصفراوية خارج الكبدية :

يؤدي انسداد القناة الصفراوية إلى ركود الصفراء و ارتداد البيلروبين المرتبط من الكبد إلى تيار الدم، ويكون هو النمط المسيطر للبليروبين في مصل الدم. إن انسداد القناة الصفراوية ومع مرور الوقت يؤدي إلى أذيات خلوية كبدية كأثرٍ ثانوي ، ونتيجة لذلك تقل مقدرة الخلايا الكبدية على قبط وربط البيلروبين و من ثم زيادة النمط غير المرتبط .

مناقشة نتائج قياس البيلروبين عند الأنواع الحيوانية:

ـــ الكلاب والقطط :

تكون مناقشة قيم البليروبين عند الكلاب والقطط مشابهة تماما للبشر، وتكون مقارنة النسب المئوية للبليروبين المرتبط وغير المرتبط أكثر أهمية من الكمية الكلية لكلٍ منهما. ففي فرط بيلروبين الدم التحللي تكون نسبة البيلروبين المرتبط أقل من ٢٠% و قد تتجاوز ٥٠% مع مرور الوقت. وإذا كانت نسبة البيلروبين المرتبط أكثر من ٤٠% فهذا يمكن أن يكون مؤشراً على أمراض خلوية كبدية (منشأ كبدي). إذا كانت نسبة البليروبين المرتبط بين ٢٥ـــ٣٥% فهذا قد يدل على وجود انحلال دموي إضافة إلى أمراض كبدية (خلوية). أما إذا كانت نسبة البليروبين المرتبط بين ٥٥ـــ٩٠% فهذا يدل على وجود انسداد خارج كبدي للقنوات الصفراوية (ركود الصفراء) .

يكون قياس بيلروبين البول عند الكلاب ذو أهمية، إذ أن العتبة الكلوية للبليروبين منخفضة عند الكلاب، ويجب الأخذ بعين الاعتبار الحالة الوظيفية للكليتين . وعلى العموم ، عندما تكون الكثافة النوعية للبول أكثر من ١,٠٤٠ فهذا يدل على وجود آثار من البليروبين في البول وهي حالة شائعة عند الذكور أكثر من الإناث .

ملاحظة :

عند معظم أنواع الحيوانات يكون فرط بيلروبين الدم الناتج عن انسداد القنوات الصفراوية أو أذيات الخلايا الكبدية مسبوقاً بارتفاع في نشاط أنظيم الفوسفاتاز القلوية و أنظيم ناقلة الغاما غلوتاميل.

– الخيول :

تختلف الصورة تماماً عما هو عليه عند الكلاب، وعلى العموم فإنه في حالات فرط بيلروبين الدم عند الخيول يكون البيلروبين غير المرتبط هو المسيطر بغض النظر عن المسبب. ففي حالة فرط البيلروبين الناتج عن انحلال الدم تكون نسبة البيلروبين المرتبط أقل من ٢٥% وفي حالة فرط البيلروبين الناتج عن ركود الصفراء داخل الكبدي أو الانسدادي تكون نسبة البيلروبين المرتبط من ١٥ـــ٤٠%.

هذا وتحدث زيادة بيلروبين الدم عند الخيول في حالات عديدة ليس لها علاقة بأمراض الكبد مثل قصور القلب ، الإمساك ، أمراض الانحلال الدموي وفقر الدم المعدي وفي حالات الجوع .

– الأبقار وبقية الحيوانات:

وهو مشعر غير حساس لأمراض الكبد ، لأن الزيادة في مستوى البليروبين لا تظهر إلا في المراحل المتأخرة من المرض. ويكون فرط بليروبين الدم غالباً من النمط غير المرتبط، وتزداد نسبة البيلروبين المرتبط في حالة انسداد المجاري الصفراوية، وتكون أمراض انحلال الدم (التحطم الزائد للكريات الحمراء) هي السبب الأكثر شيوعاً لفرط بيلروبين الدم. ونظراً للمفارقات السابقة، والتغاير النسبي في كميات البليروبين المرتبط وغير المرتبط، لذلك يجب القيام باختبارات أخرى لتحديد سبب فرط بيلروبين الدم عند هذه الحيوانات .

أنزيمات بلازما الدم

علم الأنزيمات الإكلينيكي – أنزيمات البلازما و تشخيص الأمراض

أنزيمات المصورة وأهميتها في التشخيص:

على الرغم من أن جميع الخلايا تحتوي نفس المجين، لكن لا يتم التعبير عن جميع الجينات في كل خلية. عوضاً عن ذلك فأن البروتينات اللازمة لوظيفة الخلية يتم إنتاجها، بينما تثبط الجينات الأخرى. وعلى هذا فإن كل نوع خلوي (مثل الخلايا الكبدية أو الألياف العضلية) يحتوي على بصمته الخاصة من الأنزيمات.

تظهر مستويات منخفضة وبشكل طبيعي من جميع هذه الأنزيمات في بلازما الدم عاكسة التوازن بين إطلاق الأنزيمات خلال الإنتاج الطبيعي للخلية ومقدار هدمها وإطراحها.

– واحدة قياس الأنزيمات وطرق قياسها:

تكون الكمية الوزنية الكلية لجميع الأنزيمات في المصورة أقل من ١ غ/ل. لذلك فإن نتائج قياس الأنزيمات في المصورة لا يعبر عنه بتركيزها وإنما بنشاطها.

يعتمد مبدأ قياس نشاط الأنزيمات على سرعة الأنزيم الموجود في البلازما على تحويل ركازة معينة substrate إلى منتجات أخرى في ظروف تحليل قياسية .

على كل حال فإن القليل من منتجات التفاعل يمكن أن تقاس مباشرة، ومعظمها يحتاج إلى سلسلة من عدة تفاعلات مع ناتج نهائي واحد ذو امتصاصية ضوئية قابلة للقياس. مثل التفاعلات التي تؤدي بوجود الأنزيم المراد قياسه لأختزال مركب NADH إلى NAD^+ وهذا يؤدي إلى تغير في الأمتصاصية يمكن أن تقاس بسهولة على جهاز المطياف الضوئي عند طول موجة ٣٤٠ نانومتر .

تعرف الوحدة الدولية IU لنشاط الأنزيم بأنها كمية الأنزيم التي "وبشروط التحليل المعطاة " تحفز تحول ١ ميلليمول من الركازة في دقيقة واحدة. لكن المغزى من عبارة – تحت شروط التحليل المعطاة – يعني أن الشروط تتنوع إلى حد بعيد بين المخابر،

واختيار الركازة والبادئ والعوامل المساعدة co-factors والمواد الدارئة والتفاعلات الثانوية وبشكل خاص درجة الحرارة، جميعها عوامل سوف تؤثر في قيم قياس نشاط الأنزيم. درجة حرارة التفاعل المستخدمة بشكل شائع هي ٣٧°C. لكن النتائج المقاسة بدرجة حرارة ٢٥-٣٠ يمكن أن تشاهد في عدد من المخابر. القيم العددية المقتبسة في هذا الفصل بشكل عام قيست بطرق عند درجة حرارة ٣٧ °C.

– عند تفسير النتائج الحقيقية لنشاط أنزيم محدد فإن القيم المرجعية المزودة من المخبر المصنع لعتيدة القياس يجب دائماً أن يتم ضبطها .

– القيم الطبيعية :

بالإضافة إلى المشاكل المتعلقة بوحدات القياس واختلاف طرق القياس، فإن تباين قيم أنزيمات البلازما في الحيوانات الطبيعية (السليمة) يجعل من الصعوبة بمكان وضع حدود للقيم الطبيعية عند الحيوانات. فعلى سبيل المثال فإن العديد من الأنزيمات عند الخيول الطبيعية تبدي تبايناً واسعاً في قيمها و من ثم لا يمكن الاعتماد تشخيصياً على أساس ارتفاع قيم نشاط أنزيم واحد فقط إلا إذا كانت مرتفعة جداً ويجب الربط بينها وبين الأعراض الإكلينيكية أو نتائج الاختبارات الأخرى والصور الشعاعية .

– الزيادة في نشاط الأنزيمات :

تحدث زيادة مستويات الأنزيم في البلازما أ ساساً نتيجة أذية أو تحطم أو تنخر الخلايا في العضو أو النسج المحتوية على هذا الأنزيم. وبدرجة أقل فإن التكاثر الخلوي النشط قد يؤدي إلى زيادة أنزيمات البلازما. يعتمد مستوى الارتفاع الحقيقي على مدى واستمرار الضرر الخلوي، بالتوازي مع مدى هدم وإنتاج هذا الأنزيم. هذا يعني أن المستويات المرتفعة نسبياً سوف تحصل بشكل عابر عندما يحدث ضرر فعلي ولو كان خفيف الدرجة، ولكن في المرض المزمن فأن الضرر النسيجي الكبير سيؤدي إلى زيادة قليلة أو قد لا يؤدي إلى أي زيادة في مستويات الأنزيم. في الحالة المذكورة ثانياً تكون هذه الأنزيمات ذات عمر نصفي قصير في البلازما و من ثم ستستمر الزيادة لوقت قصير بينما تلك التي عمرها النصفي أطول سوف تزودنا بمعلومات أكثر نفعاً.

– إعاقة إطراح الأنزيمات :

هذا يمكن أن يقود لزيادة مستويات أنزيمات البلازما في غياب التحطم النسيجي وهذا بحد ذاته يملك أهمية تشخيصية، كما في الزيادة الكبيرة في الفوسفاتاز القلوية التي ترافق انسداد القناة الصفراوية. أو يمكن أن يكون حقيقة طارئة كما في الارتفاع البسيط في الأميلاز والليباز في حالات الفشل الكلوي .

– الزيادة غير النوعية في نشاط الأنزيمات :

هذه يجب أن تؤخذ بعين الاعتبار وتشمل الآتي :

١– العمر : يكون حديثي الولادة إلى حد ما لديهم مستويات عالية من عدة أنزيمات، فالحيوانات الفتية قبل انتهاء مرحلة النمو المشاشي يكون لديها مستويات من الفوسفاتاز القلوية أعلى من الحيوانات البالغة .

٢– حث إنتاج الأنزيمات: تؤدي بعض العقاقير إلى تحريض إنتاج بعض الأنزيمات، فمثلاً تقوم الباربيتيورات بزيادة نشاط الفوسفاتاز القلوية، وكذلك فإن ارتفاع مستويات أنزيم أنظيم ناقلة الغاما غلوتاميل المرافقة لإدمان الكحول عند البشر يمكن أن يكون سببها تحريض انتاج الأنزيم وليس بسبب الضرر الكحولي للكبد.

٣– انحلال الدم : عينات الدم المنحلة غير مناسبة لتقدير الأنزيمات، إذ أن الأنزيمات المحررة من الكريات الحمر قد تتداخل في التحليل .

– قلة نشاط الأنزيمات:

قليلاً ما يستخدم انخفاض مستويات أنزيمات البلازما في التفسير الإكلينيكي للأمراض وأقصى ما يمكن أن يقال عن العديد من النتائج المنخفضة للأنزيم ببساطة أن العينة مخزنة بشكل سيئ (معظم الأنزيمات قابلة للعطب خصوصاً عند حفظها بدون تبريد). على كل حال هنالك بعض الحالات الخاصة إذ يشير انخفاض مستويات الأنزيم بأن العضو ذو الصلة هو ضامر ومدمر. المثال الأكثر شيوعاً لهذا الحالة هو التربسين المتفاعل مناعياً(IRT) في حالة عوز أو قصور الأفراز الخارجي للبنكرياس .

– توضع الأذية و علاقته بزيادة مستويات الأنزيمات:

القليل جداً من الأنزيمات خاصة لنوع واحد من الخلايا، فالعديد من الأنزيمات موجودة فعلاً في جميع الخلايا تقريباً وبمستويات مختلفة ومعظم الأنزيمات تكون وافرة في نسيجين او ثلاثة نسج. ويمكن إثبات النوعية للنسيج بطريقتين :

١– تقدير المماكبات :

عندما يوجد الأنزيم في أكثر من نسيج فإن لكل نسج مماكب نوعياً له. فإذا استطعنا فصل هذه المماكبات، فسيكون لذلك دلالة تشخيصية كبرى، ولكنها تقنية تميل لأن تكون خادعة وطريقة قياسها غالباً تكون غير متاحة بسهولة ومصممة على أي حال للاستخدام البشري.

يكون عادة التثبيط الانتقائي لمماكبات خاصة وإعادة فحص ما تبقى الطريقة الأبسط، ولكن الفصل بالرحلان الكهربائي يمكن أن يسفر في كثير من الأحيان عن معلومات أكثر تفصيلاً وخصوصاً عندما يتعلق الأمر بثلاثة أو أكثر من المماكبات(كما في حالة إنزيم نازعة الهيدروجين اللبنية و الكرياتين فوسفوكيناز).

٢– تقدير أكثر من أنزيم واحد : نادراً ما تكون التراكيز النسبية للأنزيمات متطابقة في اثنين من الأنسجة، ويمكن في كثير من الأحيان تقييم وظيفة النسيج المتأذي بقياس عدة أنزيمات. ينبغي أن يترافق قياس الأنزيمات مع نتائج الاختبارات البيوكيميائية والفحوص الشعاعية الأخرى لبناء صورة شاملة للحالة المرضية.

* لاحظ أن هناك بعض الاختلاف بين الأنواع الحيوانية في توزيع أنزيمات الأنسجة التي يجب أن تؤخذ بعين الاعتبار عند اختيار الاختبار المناسب. إن أنزيم ناقلة الأمين الآلانينية(ALT) على سبيل المثال هو أنزيم نوعي للكبد عند الكلاب والقطط بينما عند الخيول هو نوعي للعضلات.

تفسير نتائج قياس أنزيمات بلازما الدم :

١- الكرياتين فوسفوكيناز (CPK-CK) Creatine kinase :

إن آلية عمل هذا الأنزيم هي تحفيز التفاعل العكوس لفوسفات الكرياتين وبوجود الأدينوزين ثنائي الفوسفات ADP وذلك لتشكيل الكرياتين والأدينوزين ثلاثي الفوسفات ATP وذلك في حالة استرخاء العضلات ويقوم هذه الأنزيم بعكس هذا الدور عندما تؤدي العضلات عملا يؤدي إلى استهلاك كميات زائدة من ATP .

يوجد أنزيم الكرياتين فوسفوكيناز أساساً في هيولى الخلايا، وأكبر فعالية له في العضلات الهيكلية و عضلة القلب والدماغ. وهو أنزيم نوعي للأنسجة ومعظم تراكيزه في مصل الدم هي من مصدر عضلي.

يوجد هذا الأنزيم يشكل مثنوي مؤلف من تحت وحدتين هما M وB. ولهذا يوجد له ثلاثة مماكبات (نظائر) وهي :

المماكب:(MM) CpK3 : ويوجد في عضلة القلب والعضلات الهيكلية. ويعزى زيادة النشاط الكلي لهذا المماكب في بلازما الدم إلى آفات العضلات إذ يمكن أن يزداد من حوالي ١٠٠ وحدة دولية /ل (أعلى قليلاً عند الخيول) وهو المستوى الطبيعي له ليصل إلى ٥٠٠٠٠٠ وحدة دولية /ل في الحالات الشديدة. وكذلك فإن بضعة أيام من الاستلقاء على كتلة العضلات الهيكلية بحد ذاته يسبب زيادة CpK حتى ٣٠٠٠ وحدة /ل في الحيوان الكبير الراقد. تؤدي الجراحة والتمارين العضلية والحقن العضلي إلى زيادة معتدلة في نشاط هذا المماكب.

المماكب: (BB)CpK1 : ويوجد في الدماغ والأعصاب المحيطية وسوائل النخاع الشوكي. يكون قياسه مفيداً بشكل خاص في تشخيص حالات تنخر قشرة الدماغ و النخاع الشوكي عند المجترات الفتية المسبب بنقص الثيامين، لكن القليل من المختبرات توفر هذا الاختبار.

المماكب: CpK2(MB) : ويوجد في عضلة القلب وبكميات ضئيلة في العضلات الهيكلية. يستخدم خصوصاً عند البشر في تشخيص احتشاء العضلة القلبية الحاد، ولكن

هذه الحالة نادرة جداً في الحيوانات وحالات اعتلال العضلة القلبية المزمن تميل لأحداث تغيرات طفيفة في نشاط هذا الأنزيم نتيجة لقصر نصف عمر هذا المماكب.

تفصل هذه الأنواع عادة بالرحلان الكهربائي وتقاس نسبة كل منها.

إن أنزيم الكرياتين فوسفوكيناز CpK هو المقياس الأكثر حساسية لأمراض العضلات إذ يرتفع في مصل الدم خلال عدة ساعات بعد الأذية العضلية ويصل إلى أعلى مستوى له بعد ٦–١٢ ساعة، وإذا كانت الأذية غير مستمرة فإن مستواه يعود إلى الوضع الطبيعي خلال ٢٤–٤٨ ساعة. كما أن استمرار ارتفاع هذا الأنزيم في مصل الدم يدل على أن هناك أذية عضلية فعالة ومستمرة.

إن المستوى الطبيعي لنشاط هذا الأنزيم في مصل الدم عند الحيوانات هو ٤٠ –٢٤٥ وحدة/لتر عند الكلاب و١١٣–٣٣٣ وحدة / ليتر عند الخيول و ٤٤–٢٢٨ وحدة/لتر عند الأبقار.

٢–أنزيم نازعة الهيدروجين اللبنية : (LDH)Lactate dehydrogenase

يقوم هذا الأنزيم بتحفيز التفاعل العكوس للاكتات (L-lactate) إلى البيروفات في جميع أنسجة الجسم وهذا الأنزيم رباعي البنية ويوجد له خمسة مماكبات وهي (H4) LDH1، LDH2(H3M1)، LDH3(H2M2)، LDH4(H1M3) و LDH5(M4) . يوجد المماكب LDH1 في القلب والكلية والكريات الحمر (عند الأبقار والأغنام يوجد بشكل أساسي في الكبد) وهو يتميز عن بقية المماكبات بأنه ثابت بالحرارة مقارنة مع بقية الأنماط التي تتخرب بالتسخين عند درجة حرارة ٥٦م° لمدة نصف ساعة ويوجد المماكب LDH5 بشكل أساسي في العضلات الهيكلية وفي الكريات الحمر .

تحتوي جميع الأنسجة كميات متفاوتة من مماكبات هذا الأنزيم وتختلف تراكيزه باختلاف النوع الحيواني علماً بأن المصدر الأساسي لتركيز هذا الأنزيم في مصل الدم هو الكبد والعضلات والكريات الحمر. تفصل المماكبات المختلفة لهذه الأنزيم بوساطة الرحلان الكهربائي وتقاس نسبة كل منها ويكون المماكب

LDH1(H4) أكثرها شحنة إيجابية. و يكون المستوى الطبيعي لهذا الأنزيم في البلازما هو ٢٠٠-٣٠٠ وحدة دولية /ل في أغلب الأنواع الحيوانية ويمكن أن يزداد لعدة آلاف من الوحدات الدولية /لتر في بعض الحالات .

٣-أنزيم ناقلة الأمين الأسبارتاتية: Aspartate aminotransferase (AST)(GOT)

يقوم هذا الأنظيم بتحفيز نقل زمرة الأمين من L-Aspartate و 2-oxalotarate إلى خلات الأوكزالات والغلوتامات. ويوجد لهذا الأنزيم مماكبان إحداهما في المتقدرات و الآخر في العصارة الخلوية. يتواجد هذا الأنزيم في معظم أنواع الخلايا ويكون استخدامه التشخيصي الأساسي في أمراض العضلات و أمراض الكبد نظراً لتراكيزه العالية في هذه النسج. إن العمر المتوسط لهذا الأنزيم في مصل الدم هو ١٢ ساعة عند الكلاب و ١٨ ساعة عند الخنازير وعمره أطول من ذلك عند الخيول والأبقار .

القيم الطبيعية : الكلاب ١٣ – ١٥ وحدة دولية / ليتر

القطط ٧ – ٣٨ وحدة دولية /ليتر

الخيول ٠ – ٩ وحدة دولية /ليتر تصل أحياناً (٢٠٠-٤٠٠)

الأبقار ٦ – ١٤ وحدة دولية /ليتر

– مناقشة قيمه :

* يزداد مستواه في مصل الدم في الأذيات التي تؤثر على نفاذية أغشية الخلايا الكبدية (أذيات تحت مميتة sub lethal أو أذيات نخرية) وتزداد قيمه أيضاً في التبدلات المؤثرة على الخلايا العضلية. ويوجد بعض الاختلافات حسب النوع الحيواني .

* الكلاب و القطط: يستخدم عادةً أنزيم ALT للكشف عن الأذية الكبدية نظراً لنوعيته للكبد أكثر من AST ، ويكون نشاط ALT أكثر من نشاط AST في أمراض الكبد.

* نظراً لصعوبة أجراء قياس بقية الأنزيمات النوعية عند الحيوانات الكبيرة (عدم توفرها) فإنه يتم استخدام AST بالرغم من عدم نوعيته لتقييم وظائف الكبد عندها، ويتم التفريق بين زيادته الناتجة عن الأذيات الكبدية وتلك الناتجة عن إصابة العضلات بأنه في حالة إصابة العضلات، تكون زيادته مترافقة بزيادة أنزيم الكرياتين فوسفوكيناز (CpK).

٤–أنزيم ناقلة الأمين الآلانينية: Alanine aminotransferase (ALT) (GPT)

يقوم هذا الأنزيم بتحفيز التفاعل العكوس لنقل زمرة الأمين من الشكل ل للآلانين و ٢– أوكزالوتارات إلى البيروفات والغلوتامات. وهو أنزيم ذواب في عصارة الخلية ونصف العمر له في بلازما دم الكلاب ٦٠ساعة وأقل من ذلك في دم القطط. وهو أنزيم نوعي لتشخيص أذيات الكبد عند الكلاب و القطط و الإنسان، لكن فعاليته منخفضة جداً عند الأبقار والماعز والأغنام والخيول و من ثم فإن دوره في تشخيص أمراض الكبد عند هذه الحيوانات محدود جداً وقيمه الطبيعية:

الكلاب	١٠ – ١٠٩	وحدة دولية / ليتر
القطط	٢٥– ٩٧	وحدة دولية / ليتر
الخيول والأبقار	٢,٥– ٤	وحدة دولية / ليتر

يزداد تركيز هذا الأنزيم في أذيات الخلايا الكبدية (أذيات تحت سامة أو نخرية) ويمكن مناقشة قيم هذا الأنزيم على ضوء ما يلي :

* قيمة الزيادة تتناسب طرداً مع عدد الخلايا أو الكتلة الكبدية المتأذية .
* لا يمكن التمييز من خلال زيادة نشاطه بين الأذيات العكوسة وغير العكوسة .
* تزداد قيمته بعد ١٢ ساعة من الأذية (أكثر من ١٠٠ مرة) وذلك لمدة ٢–٣ يوم من الأذية السامة ويعود إلى مستواه الطبيعي خلال ٢–٣ أسابيع.
* يشير تدني تركيزه في المصل وبمقدار ٥٠ % خلال ٢٤– ٤٨ ساعة من الأذية الحادة للكبد إلى إنذار جيد (تكهن جيد)، ولكن في أذيات الكبد المزمنة، فقد يكون سبب تناقص كميته في مصل الدم نتيجة انخفاض الكتلة الخلوية للكبد (تلف الكبد) .

* إن عملية الربط بين تركيز هذا الأنزيم في مصل الدم والأعراض السريرية تكون ضعيفة، وذلك بسبب كون عدد الخلايا المتنخرة في أذيات الكبد المزمنة قليلاً جداً، و من ثم فإن قيمه تكون منخفضة بالرغم من وجود الآفة، وكذلك في أذيات الكبد الحادة التي تؤثر على نفاذية الخلايا (تأثيرات تحت سامة) فإن قيمته تكون مرتفعة.

* تزداد فعالية هذا الأنزيم بشكل كبير بعد التعرض للرضوض عند الكلاب بالرغم من عدم وجود أمراض كبدية .

* تؤدي بعض المواد دوراً في زيادة نشاط هذا الأنزيم في مصل الدم مثل المهدئات، الكورتيزونات، ويكون ذلك عن طريق زيادة تخليق هذا الأنزيم.

* الزيادة الخفيفة إلى المتوسطة تشاهد تكراراً في حالات فرط الدرق عند القطط .

٥–نازعة الهيدروجين السوربيتولية : Sorbitol (SDH) dehydrogenase

تحتوي العصارة الخلوية الكبدية على تراكيز عالية من هذا الأنزيم، وتزداد كميته في بلازما الدم عند التغيرات التي تؤثر على نفاذية الخلايا الكبدية وهو نوعي للكبد، و يفضل استخدامه عند الأبقار والخيول كبديل للـ ALT . لذلك فإن العمر النصفي لهذا الأنزيم في مصل الدم قصير نسبيا (٢٤–٤٨ ساعة) و لذلك فهو يعود بسرعة إلى مستواه الطبيعي بعد توقف الأذية الكبدية .

القيم الطبيعية :

كلاب	٣–٨	وحدة دولية/ليتر
قطط	٤–٨	وحدة دولية/ليتر
خيول	٢–٦	وحدة دولية/ليتر
أبقار	٤–١٥	وحدة دولية/ليتر
أغنام	٦–٢٨	وحدة دولية/ليتر

٦ – نازعة الهيدرروجين الغلوتامية (GDH-GLDH-GMD):

يستخدم هذا الأنزيم كبديل لـ ALT في الحيوانات الكبيرة وهو نوعي للأذيات الكبدية خصوصاً التنخر الكبدي إذ إنه أقل قابلية للعطب من نازعة الهيدروجين السوربيتولية SDH ولذلك يفضل استخدامه عند الخيول في حالات إرسال العينات

بريدياً. المستوى الطبيعي لهذا الأنزيم في البلازما أقل من ٢٠-٢٥ وحدة /ل، ويمكن أن تزداد إلى أكثر من ١٠٠ وحدة /ل في الأذيات الكبدية الحادة .

٧-أنزيم ناقلة الغاما غلوتاميل: γ - glutamyl transferase (GGT)

وهو أنظيم ببتيدي كاربوكسيلي يقوم بشطر المجموعة الكاربوكسيلية الطرفية للغلوتاميل ونقلها إلى الغلايسيل غلايسين أو الهضميدات، و هو يتوسط في استقلاب الغلوتاثيون. يكون مرافقاً لأغشية الجسيمات الدقيقة microsomal membrane و يتوضع هذا الأنزيم في معظم أنواع الخلايا و لكن خلايا ظهارة الأنابيب الكلوية الراجعة وأسطح خلايا الكبد من ناحية القنيات الصفراوية و ظهارة القنوات الصفراوية تحتوي على أكبر فعالية له، ويكون معظم مصادره في حالة المرض والصحة من الخلايا الكبدية. تزداد فعالية هذا الأنزيم في حالات ركود الصفراء Cholestasis .

قيمه الطبيعية : عند الكلاب ١-٦ وحدة دولية / ليتر

القطط ١-٣ وحدة دولية / ليتر

الأبقار ٦-١٧ وحدة دولية / ليتر

الخيول ٦-٣٢ وحدة دولية / ليتر

مناقشة القيم :

* يزداد في حالة ركود صفراء .

* يطرح أنزيم GGT الكلوي في البول في حالة التهاب الكلية و يستعمل قياسه في البول من أجل الكشف عن إنسمام الكلية .

* إن حساسية GGT لتشخيص أمراض الكبد ضعيفة و لكنه ذو نوعية عالية مقارنة مع الفوسفاتاز القلوية ALP .

* تكون أهمية هذا الأنزيم لتشخيص ركود الصفراء عند الكلاب و القطط مساوية لقيمة الفوسفاتاز القلوية التشخيصية إلا أنه أكثر نوعية للكبد .

* الخيول والأبقار والأغنام والخنازير : تزداد قيم هذا الأنزيم في حالات ركود الصفراء، وهو أكثر فائدة من الفوسفاتاز القلوية عند هذه الحيوانات كون القيم المرجعية له محددة(نطاقها محدود) .

* بعض المراجع تشير إلى ارتفاع قيم GGT في حالات تنخر الخلايا الكبدية الحاد عند الأبقار والخيول والأغنام .

* تزداد قيمه عند الخيول في حال التسمم بالراغورت Ragwort .

* تؤدي الستيروئيدات القشرية (الكورتيزونات) دوراً في زيادة قيمه .

٨- الفوسفاتاز القلوية : Alkaline phosphatase

وهي مجموعة من الأنزيمات التي تعمل على نوعيات عديدة من الركائز، وتقوم بتحفيز تحلل أسترات الفوسفات الأحادية في الوسط القلوي. وهو أنزيم مرتبط بالأغشية و من ثم فإن خروجه من الخلايا يكون قليلاً في الأذيات التي تؤثر على نفاذية الأغشية. إن مماكبات هذا الأنزيم موجودة في جميع الأنسجة ولكن فعاليتها تكون أعلى في الخلايا الكبدية، العظام، الأمعاء، الكلية والمشيمة، ويتم الكشف عن هذه المماكبات بعملية الرحلان الكهربائي .

المماكبات المعوية والكلوية والمشيمية :

عمرها النصفي صغير جداً (أقل من ٦ دقائق) وليس لها دورٌ في زيادة نسبته في المصل. تزداد المماكبات المشيمية خلال الثلث الأخير من الحمل و تكون الأمعاء هي المصدر الأغنى بهذا المماكب.

المماكبات العظمية :

تلاحظ هذه المماكبات عند الحيوانات النامية (تنتج من قبل الأورمات العظمية) وتكون كميتها أكبر ثلاث مرات من الحيوانات البالغة. كما تزداد بمقدار ٢-٤ مرات في أمراض العظام، وزيادة نشاط الأورمات العظمية (التئام الكسور، أورام العظام، تليف العظام و الكساح)

المماكبات الكبدية :

أغشية القنيات الصفراوية و الخلايا الكبدية غنية بهذا المماكب، و عمرها النصفي ٦ ساعات في القطط و ٣ أيام في الكلاب، و يكون هذا المماكب هو المصدر الأساسي في بلازما دم الحيوانات السليمة. تزداد فعالية هذا المماكب في حالات ركود الصفراء (تحث على زيادة إنتاجه) و يحتاج حوالي عدة أيام كي يتم إنتاجه، وتكون زيادته ملحوظة. هذا و تزيد المسكنات نشاطه بـــ ٢-٦ مرات عن الطبيعي.

المماكبات المحدثة بالستيروئيدات القشرية :

تحدث هذه الحالة فقط في الكلاب بعد إعطاء الكورتيزونات و ذلك من الخلايا الكبدية، وتكون أهم ميزات هذا المماكب، أنه مقاوم للحرارة و مقاوم لليفاميزول- ل.

الأهمية التشخيصية للـــ ALP و بعض الاعتبارات في مناقشة زيادة قيمه :

* ركود الصفراء: يزيد ركود الصفراء ذو المنشأ الكبدي أو خارج الكبدي من إنتاج الفوسفاتاز القلوية وذلك بتأثير الأحماض الصفراوية، و من ثم تزداد فعاليته في بلازما الدم. وتكون زيادة نشاطه من جراء الانسداد داخل الكبدي أكبر مما هي في الانسداد خارج الكبدي، وفي كلا الحالتين يكون الارتفاع ملحوظاً. وهو مؤشر حساس لركود الصفراء وهو يسبق حالة فرط بيلروبين الدم. فالإصابة البؤرية الكبدية المؤدية لركود الصفراء تؤدي إلى ازدياد الـــ ALP دون أن يكون هناك زيادة في البيلروبين في البلازما.

* الزيادة في إنتاجه المحدثة بالكورتيزونات الداخلية والخارجية: وهو يزداد في الداء السكري، أمراض الكبد المزمنة و الأمعاء.

* يزيد إعطاء البيريميدن والفينوباربيتال و الفينيل بوتازون من إنتاجه.

* أمراض العظام (المماكب العظمي للفوسفاتاز القلوية): يزيد الكساح، التهاب سمحاق العظم، فرط نشاط الدرق الأولي والثانوي، أورام العظام والكسور قيم الفوسفاتاز القلوية زيادة عرضية مؤقتة(٢-٤ مرات) .

* الأورام السرطانية: تسبب الأورام السرطانية زيادة عالية في مستوى هذا الأنزيم في المصل.

*الأعمار الصغيرة : تكون الزيادة حتى ١٠٠ ضعف عما هو عليه عند الحيوانات البالغة وتقل بعد عشرة أيام من الولادة.

* فرط نشاط الدرق : وهو سبب رئيس لزيادته في مصل الدم(القطط).

القيم الطبيعية:

الكلاب	١-١١٤ وحدة دولية/ ليتر
القطط	٠-٤٥ وحدة دولية/ليتر
الخيول	١٠٢-٢٥٧ وحدة دولية/ليتر
الأغنام	٦٠-٨٤ وحدة دولية/ليتر
الأبقار	١٧- ٣٧ وحدة دولية/ليتر

٨- أنزيم الألفا أميلاز (AMS)α- Amylase:

يعمل هذا الأنزيم على تحطيم النشاء القوتي والجليكوجين وتحويله إلى مالتوز. وهو موجود بشكل رئيسي في المعثكلة والغدد اللعابية وهو يطرح بشكل غير مألوف من الكلي. الاستخدام الأكلينيكي الأساسي لهذا الأنزيم هو في تشخيص التهاب المعثكلة التنخري. وهذه الحالات توجد عند الكلاب (والبشر) مترافقة مع الوجبات عالية الدسم والسمنة والإدمان على الكحول، إذ يحدث في هذه الحالات تسرب للأنزيمات الحالة للبروتين من الخلايا وتبدأ بالهضم الذاتي للعضو.

الحدود الطبيعية العليا لنشاط هذا الأنزيم حوالي ٣٠٠٠ وحدة دولية / ل، وفي حالات التهاب البنكرياس الحاد يرتفع مستواه إلى (٥٠٠٠-١٥٠٠٠) وحدة دولية/ل. يدل التناقص في قيمه في بلازما الدم على الشفاء.

يجب الـــتأكيد على أن الأميلاز لا يعتمد عليه في تشخيص التهاب البنكرياس عند القطط .

يمكن أن تشاهد زيادة بسيطة غير نوعية إلى متوسطة في حالات الاضطرابات البطنية الحادة والفشل الكلوي .

٩- الليباز Lipase:

إن وظيفة أنزيم الليباز أنزيم هي تحطيم الدهون القوتية وهو يوجد في المعثكلة. يستخدم قياس قيمه مع قيم الأميلاز للتحقق من التهاب المعثكلة التنخري، ويبدو بشكل عام أنه أكثر نوعيةً لهذه الحالة كونه أقل تأثراً بالتغيرات غير النوعية. ونظراً لكونه جزيء كبير فإنه يبقى مرتفعاً لوقت أطول بعد نوبة المرض الأولى لكن في المراحل المبكرة لا يزداد بسرعة مثل الأميلاز، ولذلك يكون قياس كلا الأنزيمين مستحسناً. القيم الطبيعية عند الكلاب تكون أقل من ٣٠٠ وحدة دولية /ل ، وفي المرحلة الحادة لالتهاب البنكرياس يرتفع حتى ٥٠٠ وحدة دولية /ل.

يلاحظ ارتفاعات بسيطة غير نوعية لقيم نشاط هذا الأنزيم في حالات أخرى مثل الفشل الكلوي. وهذا الأنزيم أيضاً غير معتمد عليه في تشخيص التهاب المعثكلة عند القطط .

١٠- التربسين المتفاعل مناعياً (TLT-IRT):

وهو أحد الأنزيمات التي لا تقاس بالفعالية (إنه أنزيم غير فعال). فالتربسين هو أنزيم محلل للبروتين يفرز من البنكرياس، والتربسين الفعال لايتسرب من الخلايا المعثكلية في الظروف الطبيعية، وإذا حدث تسرب للتربسين الفعال فسوف يسبب التهاب معثكلة تنخري حاد. لكن يوجد هنالك شيء ما (مركب) موجود في البلازما الطبيعية لا يملك أي نشاط محلل للبروتين والذي يتفاعل مع أضداد مضاد-التربسين anti-trypsin antibodies في اختبار المقايسة المناعية الإشعاعية، يحتمل أن يكون هذا المركب هو مولد التربسين Trypsinogen . في الطب البشري يستخدم التربسين المتفاعل مناعياً (IRT) كمؤشر إضافي على التهاب المعثكلة الحاد بنفس طريقة الأميلاز والليباز الكلي. في طب الكلاب يمكن أن يستدل بانخفاض مستويات (IRT) في البلازما لتقييم عدم كفاءة الإفراز الخارجي للمعثكلة. من عيوب هذا

الأنزيم أن إمكانية معايرته متوفرة في مراكز قليلة فقط ويمكن أن يستغرق الحصول على نتائج القياس عدة أيام.

١١- مولد الببسين Pepsinogen :

يوجد مولد الببسين في جدار المعدة أو المنفحة ولا يتنشط إلى ببسين إلا بعد إفرازه، وهو أنزيم معدي محلل للبروتين. في حالات الأذية المعممة لمخاطية المعدة، فإن مولد الببسين سوف يتسرب مرتداً إلى تيار الدم و من ثم سوف يرتفع مستواه في بلازما الدم.

الاستخدام الوحيد العملي لمقايسة هذا الأنزيم في الطب البيطري هو تشخيص الخمج بالاوسترتاجية *Ostertagiasis* إذ تسبب يرقاتها أضراراً كبيرة لمخاطية المنفحة. يقاس الأنزيم في المخبر بعد تحويله إلى ببسين فعال، إذ يشتمل الاختبار على مراحل هضم مطولة. القيم الطبيعية لهذا الأنزيم عند الأبقار حوالي ١٠٠٠-١٥٠٠ وحدة دولية /ل. بينما في حالات الخمج بالاوسترتاجية فإنه يلاحظ عادة ارتفاع ملحوظ في قيمه تصل حتى عدة آلاف وحدة دولية /ل. يبدو أنه لا قيمة لمولد الببسين في تقييم قرحات المعدة وإصابات المعدة الأخرى عند الحيوانات الصغيرة .

- الفوسفاتاز الحمضية (ACP) Acid phosphatase:

وهي عبارة عن مجموعة من المماكبات التي تقوم بحلمهة مركبات الفوسفات في الوسط الحمضي. توجد في البروستات (الموثة) الكبد، الكريات الحمر، الصفيحات الدموية والعظام . الاستخدام الإكلينيكي الوحيد لمقايسة أنزيم الفوسفاتاز الحمضية ACP هو في تقييم حالة البروستات (الموثة). ولهذا الهدف يقاس المماكب البروستاتي مستخدمين حقيقة أن هذا المماكب يتثبيط بالطرطرات . الفرق في قيمة الأنزيم قبل وبعد معالجة عينة بلازما الدم بالطرطرات يعبر عن قيمة المماكب البروستاتي للفوسفاتاز الحمضية (المماكب العطوب بالطرطرات).

القيم الطبيعية عند الكلاب هي بحدود ٣٠ وحدة /ل أو أقل من ذلك، ويحدث الارتفاع الحقيقي الكبير في حالات سرطان البروستات (الموثة) وخصوصاً عندما تكون

هذه الأورام من النوع النقائلي (الأورام غير المتمايزة لا تنتج هذه الأنزيمات) . تشاهد زيادة بسيطة عادة في حالة التهاب البروستات (الموثة)، لكن فرط التنسج البسيط للبروستات لا يترافق بشكل عام مع أي تغير في مستوى الفوسفاتاز الحمضية في البلازما . لاحظ أن الجس المستقيمي للبروستات يمكن بحد ذاته أن يؤدي إلى زيادة خفيفة إلى معتدلة في الفوسفاتاز الحمضية والذي يمكن أن يستمر حتى أسبوع .

الفوسفاتاز الحمضية أنزيم شديد العطب ولذلك يجب أن تسلم العينات للمخبر مباشرةً دون أي تأخير.

– الجلوتاثيون بيروكسيداز : (GSH-PX) Glutathione peroxidase:

وهو صنف مختلف تماماً عن الأنزيمات الأخرى. يوجد ضمن غشاء الكريات الحمر وكل جزيء من هذا الأنزيم يحتوي أربع ذرات من السيلينيوم. وهو لايقاس في البلازما لكن يقاس في عينة الدم المحللة بشكل كلي(Whole lysed blood) وفي هذه الحالة يقيم الأنزيم في حالته الطبيعية مثل الخزعة . يحصل على تقدير الفعالية الحقيقية لهذا الأنزيم من خلال قسمة قيمته في عينة الدم المحللة بشكل كلي على قيمة مكداس الدم بنفس الطريقة كما في (MCHC) .

القيم الطبيعية لهذا الأنزيم عند الأبقار حوالي ٣٠–٤٠ وحدة دولية/مل كريات حمر وحوالي ٧٠–٨٠ وحدة دولية/مل كريات حمر عندالأغنام.

إن انخفاض قيم هذا الأنزيم أدنى من الحدود الطبيعية يدل على عوز السيلينيوم ، وليس لهذا الأنزيم أية قيمة في التقصي عن التسمم بالسيلينيوم .

الجزء العملي

الفصل الأول

طرائق فحص الدم

يستخدم فحص الدم لتشخيص الإصابة بالأوالي الطفيلية ، أو بعض الديدات الخيطية ، إضافة إلى دراسة الخواص الشكلية والفيزيائية والكيميائية للدم .

١- الدم المحيطي :

ويتم تحضيره من الوريد الأذني أو نهاية الذيل . ويمتاز الدم المحيطي بمايلي :

- سهولة الحصول عليه
- عدم الحاجة إلى مهارة في أخذ العينة الدموية
- المحافظة على الأشكال الفيزيولوجية لعناصر الدم (الكريات البيضاء و الحمراء و الصفيحات الدموية).

٢-الدم الوريدي :

و يؤخذ عادة (يتعلق هذا بنوع الحيوان) من :

١- الوريد الوداجي : عند الخيول ، الأبقار ، الجمال ، الأغنام ، و المعز .

٢- الوريد اللبني : عند الأبقار الحلوب .

٣- الوريد العرقوبي الراجع : عند الكلاب و القطط .

٤- الوريد الأذني :عند الأرانب و الخنازير .

٥- ويد الجناح : عند الطيور .

ولكن في بعض الأحيان قد يلزم جمع كمية مناسبة من الدم لفحصها بعد فترة ، ولحفظ هذه الكمية من التحليل ، تستخدم المواد المانعة للتخثر .

الشكل رقم –١٠– كريات الدم الحمر

- **المواد المانعة لتخثر الدم :**

إن اختيار مادة جيدة من المواد المانعة للتخثر ، وتحديد مقدارها الأدنى الكافي امنع تخثر الدم هو أمر بالغ الأهمية عند دراسة أمراض الدم وتشخيصها . ومن هذه المواد هي :

١- ملح :(E.D.T.A) :

Dipotassium Ethylene Diamine Tetra Acetate :

مادة جديدة و فعالة جدا في منع تخثر الدم . ويحضر محلول EDTA: بطريقة إذابة (١)غ في (١٠٠)مل ماء مقطر . ويستعمل بمعدل

(٠،١)مل لكل (١)مل دم .

و يوزع عادة ٠،١ مل من المحلول في أنابيب نظيفة ، ثم تترك لتجف في حرارة الغرفة فتبقى صالحة للاستخدام مدة غير محدودة دون أن تفسد .

- توجد ثلاثة من أنموذجات ملح EDTA هي :

١- Dipotassium EDTA : يفضل استعماله وذلك من أجل سهولة انحلاله في الماء .

٢- Disodium EDTA : يأتي بعد الأول من إذ الأفضلية .

٣- Dilithium EDTA : يمكن استخدامه في الفحوص الكيماوية والدموية ، ولكن صعوبة انحلاله في الماء تجعل تركيبه صعبا ، واستخدامه قليلا .

- ميزات محلول EDTA :

– يمتاز بمنعه الصفيحات الدموية من أن يجتمع بعضها الى بعض ، مما يساعد على تحديد عددها ، و هذه الميزة غير متوفرة في المحاليل الأخرى المانعة للتخثر .

– يمتاز المحلول بعدم تغييره لحجم السكريات .

٢– مزيج أوكسالات الأمونيوم والبوتاسيوم :

: Ammonium and Potassium Oxalate Mixture

يحضر محلول (الأوكسالات) من : ١،٢غ (أوكسالات الأمونيوم) + ٠،٨غ (أوكسلات البوتاسيوم) + ١٠٠٠مل ماء مقطر . ويستعمل بمعدل ٠،١ مل لكل ١ مل دم .

يعبأ المحلول في أنابيب جمع الدم النظيفة بمعدل ١ مل لكل ١٠ مل دم ، ثم يترك المحلول ليجف في الأنابيب على درجة حرارة الغرفة ، أو في حجم جاف بدرجة لا تزيد عن (٦٠) م ، ثم تغطى لحين الاستعمال .

و تجمع عينة الدم مباشرة في الأنابيب مع تحريكها قليلا حتى يمزج الدم بمانع التخثر ، و تحفظ في البراد لحين الاستعمال .

يمتاز هذا المحلول بقلة حله للكريات و محافظته على شكلها . لذلك يستعمل عند معايرة (البيليروبين) في المصورة .

٣– سيترات الصوديوم الثلاثية Trisodium Citrata :

يوجد منه ملحان هما :

- $Na_3C_6H_5O_7 . 2H_2O$: ويحضر المحلول المانع للتخثر بإذابة (٣،١٣)غ في (١٠٠)مل ماءاً مقطراً .
- $Na_3C_6H_5O_7 11H_2O$: ويحضر المحلول المانع للتخثر بإذابة (٣،٨١)غ في (١٠٠)مل ماءاً مقطراً .

وعادة يستعمل المحلولات بمعدل (٠،١)مل من أحد المحلولين لكل (١) مل دم .

يفضل استعمال محلول (السيترات) في دراسة عوامل الدم المتخثرة ، كما يمكن استعماله في قياس سرعة الترسيب (التثفّل). وماعدا ذلك فليس له استخدام في مخابر أمراض الدم.

٤- الهيبارين Heparim :

وهي مادة قوية في منع تخثر الدم ، وتستخدم بمعل (٠،٠١ – ٠،١) ملغ لكل (١) مل دماً .

و تمتاز بعدم تغيرها أحجام الكريات الحمراء ، كما أنها لا تسبب انحلالا في الدم لذلك فهي المادة المفضلة في قياس الهشاشة الكروية ، وفي التحري عن خلايا L.E وماعدا ذلك فليس لها استخدام في مخابر أمراض الدم خصوصاً في قراءة الصيغة الدموية .

- تحضير الشرائح الزجاجية لفحوص الدم :

ويجب أن تكون الشرائح المستخدمة لفحوصات الدم خالية من المواد الدهنية و الألياف لذا يجب إتباع مايلي :

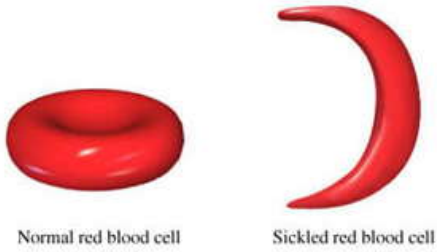
١- في حالة الشرائح الجديدة غير المستعملة :

تغسل الشرائح بالماء والصابون ، وتغسل في الماء جيداً ، ثم تغمس في الكحول ٩٥% ،بعدها تنظف بقماش خال من الألياف ، و تعرض على مصباح غاز ، ثم تحفظ في أطباق (بتري) و تغطى لتلفي تراكم الغبار .

٢- في حالة الشرائح القديمة المستعملة :

يتم غلي الشرائح في محلول (كربونات الصوديوم) ٥% ، ثم تغسل بالماء ، وتوضع في محلول (الكرومات الحامضي) (١٠ غ ثنائي كرومات البوتاسيوم + ٧٥ مل ماءاً مقطراً + ٢٥ مل حمض الكبريت المركز) لمدة ليلة واحدة ، ثم تعامل مثل الشرائح الجديدة بغسلها بالصابون و الماء ثم الكحول .

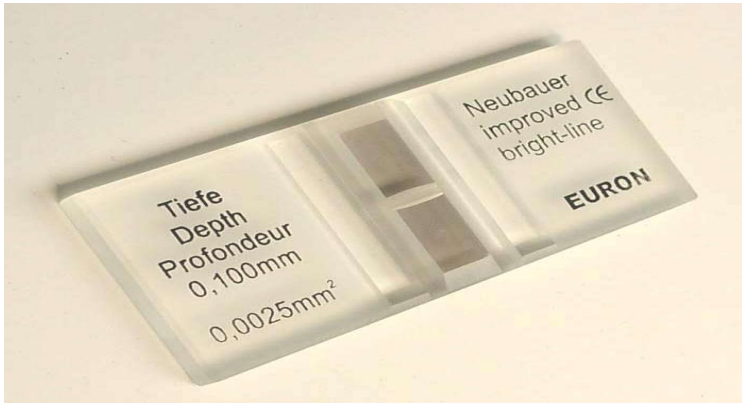
- طرائق فحص الدم :
-



الشكل رقم –١١– الكرية الحمراء

١– طرائق عد الكريات الدموية :

تستخدم لهذه الغاية عدادة نيوبار المعدلة الشكل رقم –١٢–١٤– ، التي تتألف من تسعة حقول صغيرة و متساوية الحجم و المساحة و مفصول بعضها من بعض بخطوط محفورة ، و كل حقل



الشكل رقم –١٢– عداد نيوباور

مربع الشكل طوله (١) مم و ارتفاعه (٠،١) مم ، لذلك تكون مساحته (١) مم٢ ، و حجمه ١/١٠ مم٣ . و يتم إحصاء عدد الكريات البيضاء في الحقول الأربعة الجانبية ، على حين يتم إحصاء عدد الكريات الحمراء و الصفيحات الدموية في الحقل المركزي ، و الذي يتألف من خمسة و عشرين مربعاً ، يفصل بعضها عن بعض بثلاثة خطوط ،

و مساحة كل مربع ١/٢٥ مم٢ و كل مربع من المربعات الخمسة والعشرين مقسم إلى ستة عشر مربعاً ، فتكون مساحة المربع الصغير ١/٤٠٠ مم٢ .

أ- طريقة عد الكريات الحمراء :

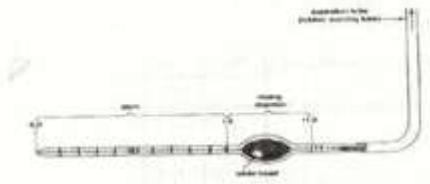
تستخدم لهذه الغاية ماصة خاصة لتحديد الكريات الحمراء ، و عدادة (نيوبار) المعدلة ، و محلول التمديد الذي يتألف من :

- ستيرات الصوديوم الثلاثية ٣١،٣ غ .
- ماء مقطر ١٠٠٠ مل .
- محلول ١% فورمالين ١٠ مل .

كما يمكن استخدام محلول فيزيولوجي ٠،٨٥ % كلور الصوديوم .

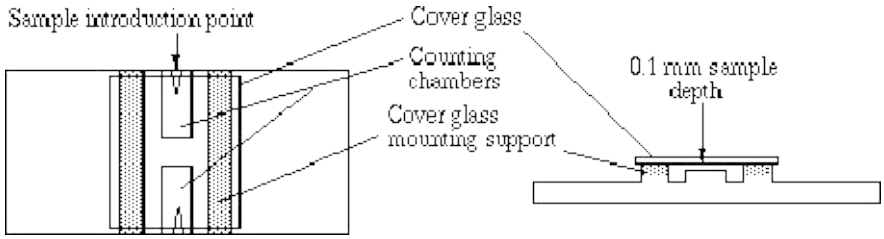
طريقة العمل :

١- يتم ملئ الماصة بالدم حتى الإشارة ٠،٥ . الشكل -١٣-



الشكل -١٣-

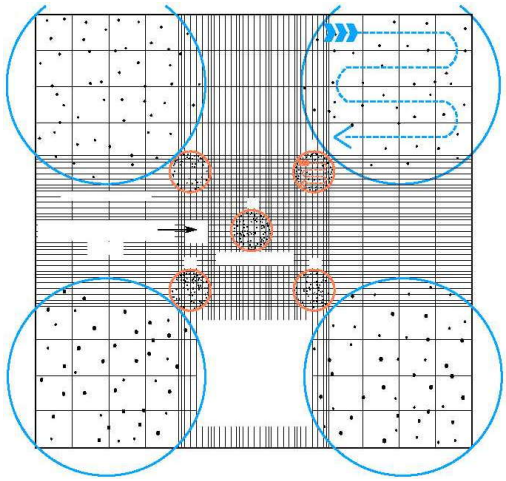
٢- يسحب المحلول المدد حتى الإشارة ١٠١ ، ويمزج الدم مزجاً جيداً بحركات على شكل رقم 8 . وتترك الماصة لمدة ثلاث دقائق .



الشكل رقم -١٤-

٣- يتم التخلص من القطرات الثلاث الأولى ، ثم تملأ حجرة العدادة بالمزيج (تحتوي على حجرتين ضمن الساترة) ، و تترك العدادة بعد ملئ حجرتيها لمدة دقيقة واحدة لتستقر الخلايا الدموية .

٤- يتم إحصاء عدد الكريات الحمراء في خمسة مربعات من الحقل المركزي ، ثم يضرب المجموع بـــ (١٠،٠٠٠) ، و الناتج يكون هو عدد الكريات الحمراء في (١) مل دم .الشكل رقم -١٥- ١٦-



الشكل رقم -١٥-

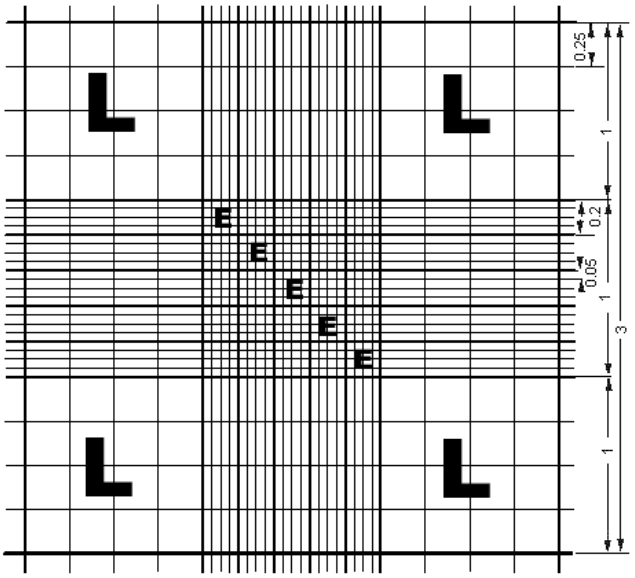
مصادر الخطأ :

يمكن حصرها بما يلي :

أ – أخطاء ترتكب في أثناء أخذ عينة الدم نذكر منها :

١ – فشلاً في الحصول على جريان حر من الوخزة بلا تطبيق الضغط الموضعي .

٢ – تخثر الدم في الأنبوب بسبب عدم مزجه جيداً مع المادة المانعة للتخثر ، أو بسبب تأخير مزجه مدة بسيطة فيتخثر الدم وتتشكل العلقة .



الشكل رقم -١٦-

٣ – انحلال الدم في الأنبوب بسبب عدم نظافته أو رطوبته ، أو بسبب تطبيق الشدة في مزج الدم مما يسبب رض الكريات وانحلالها .

ب – أخطاء فنية نذكر منها :

١ – استخدام ممصات أو عدادات غير نظيفة .

٢ – حصول تراص في الكريات الحمراء المأخوذة من الدم بسبب عدم السرعة في تمديدها بالمحلول الممدد .

٣ – عدم مسح نهاية الممص بعد ملئه بالدم .

٤ – خطأ في ملء الممص كأن يسحب مقدار من الدم أكثر أو أقل من اللازم أو الفشل في تمديده حتى الإشارة العلوية تماماً أو مص فقاعة هوائية مع السائل الممدد .

٥ – عدم مزج محتوى الممص مزجاً فنياً في مدة كافية .

٦ – عدم الاستغناء عن القطرتين أو ثلاث قطرات الأولى من الممص .

٧ – خطأ في ملء حجرة العدادة، أي أن يملأ قسم منها فقط أو غمرها مع مجاوراتها .

٨ – عدم ترشيح السائل الممدد وبعد تحضيره بغية إزالة الجزئيات التي يمكن أن تكون معلقة فيها .

٩ – التأخر في عد الكريات بعد ملئ حجرة العدادة عن بضع دقائق ، إذ يتبخر السائل الممدد . و إن انتظاراً مدة دقيقة واحدة يكفي لاستقرار الكريات وسكونها .

١٠ – عدم عد جميع الكريات التي تلامس أحد الخطوط الثلاثة العلوية أو اليسرى أو عد بعض الكريات التي تلامس أحد الخطوط الثلاثة اليمنى أو السفلى.

ت – عيوب في الممصات أو العدادات ذاتها :

وذلك لأن معظم الممصات والعدادات المستخدمة في المخابر غير معايرة ، وهي التي تنتج من شركات تجارية غير خاضعة للمراقبة .

ث – أخطاء ملازمة :

سببها عدم توزع الكريات الحمراء في حجرة العدادة توزعاً متجانساً حتى ولو تم ملء العدادة بيد خبيرة ، وكانت عينة الدم ممزوجة مزجاً جيداً مع المادة المانعة للتخثر . وبسبب عدم توزع محلول الكريات توزعاً عادلاً في جميع المربعات الصغيرة .

- ملاحظة :

يتضح مما سبق أن الاعتماد على عد الكريات الحمراء و الطريقة السابقة عرضة لأخطاء كثيرة ، وهي التي يمكن إنقاصها إلى حد كبير ، على حين يصعب تلافي الأخرى منها . لذلك تقترح الطريقة التالية :

١- يؤخذ بوساطة ماصة (٤) مل محلولاً ممدداً ، ويوضع في أنبوب زجاجي أو بلاستيكي .

٢- يؤخذ (٠،٠٢) مل دماً بوساطة ماصة دقيقة ، ثم يفرغ هذا المقدار من الدم في المحلول الممدد بالأنبوب مباشرة (يجب مسح المحيط الخارجي للماصة بقطعة من الشاش لإزالة الدم العالق بها) ثم يسد بسدادة بإحكام .

٣- يوضع الأنبوب في آلة المزج الميكانيكية ، و تترك لمدة دقيقتين على الأقل. وإذا لم تتوفر هذه الآلة ، فإن المزج يمكن أن يتم باليد و ذلك بإمالة الأنبوب بـــ (١٢٠) م مع تحريكه في الوقت نفسه حركات دائرية بين السبابة والإبهام لمدة دقيقتين فنحصل

على معلق خلايا نسبته ١/٢٠٠ . و هذه النسبة هي نفسها التي يتم الحصول عليها في حال استخدام الممصات الخاصة لتحديد الكريات لحمراء بالطريقة السابقة .

٤- يفتح الأنبوب بعد ذلك و يؤخذ مقدار بسيط من معلق الخلايا بوساطة ماصة شعرية ، و تملأ حجرة العدادة ، و تترك مدة دقيقة واحدة تقريباً حتى تستقر فيها الكريات .

٥- يتم إحصاء عدد الكريات الحمراء بالطريقة السابقة نفسها .

- ميزات هذه الطريقة :

١- الاستغناء عن الممصات الخاصة بالكريات الحمراء .

٢- عدم حدوث فقاعات هوائية عند أخذ العينة ، و ذلك لأن العينة تؤخذ بوساطة أنبوب شعري من معلق الخلايا الموجود في (٤) مل .

٣- عدم تكرار أخذ عينة الدم من الحيوان و ذلك عند الحاجة لإعادة عد الكريات الحمراء ، لأن (٤) مل من معلق الكريات يكفي لإعادة الفحص (٢٠٠) مرة.

٤- لا تحتاج عملية مزج الدم بالمحلول المدد إلى مهارة كبيرة ، كما أن معلق الخلايا الناتج يكون متجانساً تماماً .

٥- يمكن استخدام ممص واحد لتحديد عدد الكريات الحمراء و البيضاء و الصفيحات الدموية و الخضاب . وفي هذا توحيد للأدوات المخبرية و توفير للمال .

ب – طريقة عد الكريات البيضاء :

تستخدم ماصة خاصة لتحديد الكريات البيضاء ، عدادة نيوبار المعدلة ، و محلول التمديد الذي يتألف من :

٢ مل محلول حمض الخل ٢ % + ١٠٠ مل ماءاً مقطراً ، وتضاف نقاط عدة من أزرق المتلين لتمييز المحلول .

- طريقة العمل :

تماثل الطرقة السابقة ، و لكن يحصى عدد الكريات الموجودة في المربعات الأربعة الجانبية من حجرة العدادة ، و يضرب المجموع بـــ (٥٠) ، و يكون الناتج هو عدد الكريات البيضاء في (١) ما دماً .

إن الأخطاء التي تصادف في عد الكريات البيضاء هي نفسها التي ترتكب في عد الكريات الحمراء ، وقد سبق شرحها .

و يمكن القيام بتعداد الكريات الحمر و البيض و غيرها من خلال جهاز التعداد الآلي

جهاز تعداد خلايا الدم الآلي ثلاثي الصيغة NIHON KOHDEN MEK6410 (Automated Hematology Analyzer)

يقوم الجهاز بتعداد خلايا الدم Cell Blood Count (CBC) الشكل رقم –١٧–

و هو تحليل عام يطلب لكثير من الحالات المرضية يؤدي بالمشاركة مع المعطيات السريرية لتشخيص الحالة المرضية أو التوجه نحو اختبارات أكثر دقة مثل :

- تعداد الخلايا الحمر و قياس مستوى الخضاب و الهيماتوكريت: الذي قد يشير لحالة مرضية شائعة هي فقر الدم الشكل رقم –١٧–
- قياس أشكال وأحجام مناسب الكريات الحمر: التي تشير إلى نوع فقر الدم و بالتالي تحديد العلاج الأنسب
- تعداد الخلايا البيض في الدم: التي يدل ارتفاعها أو انخفاضها على نوع الحالة المرضية والعامل المسبب لها .
- صيغة الخلايا البيض: لتفريق نمط العامل الممرض .

- تعداد الصفيحات في الدم: الذي يستخدم لتقييم الاضطرابات النزفية.
- يعطي الجهاز مؤشرات Flags توجه بدقة أكبر لتشخيص الحالة المرضية مثل:

Leukocytosis, Erythrocytosis, Anisocytosis, Macrocytosis,
Abnormal MCHC, Eosinophilia, Leukopenia, Anemia, Microcytosis, Hypochromia, Thrompenia, Thrompocytosis.

عد الصفيحات الدموية

تتميز الصفيحات الدموية بـــأنها أصغر العناصر الخلوية إذ يبلغ قطر هذه الخلية من ٢-٣ ميكرون و تميل هذه الصفيحات إلى التجمع و الالتصاق لذلك يتم جمع الدم على مانع تخثر هو الـــ E.D.T.A. و تعد الصفيحات الدموية بطريقتين إما طريقة إكر أو طريقة بريشر .

الأدوات المستخدمة:

١- ممص تمديد الكريات و يختلف حسب الطريقة :

أ – طريقة رس إكر :

إذ يستخدم فيها ممص تمديد الكريات الحمراء إذ يتم تعداد الصفيحات الدموية في مربعين من مربعات الكريات البيضاء متقابلتين قطرياً .

ب – طريقة بريشر :

إذ يستخدم فيها ممص تمديد الكريات البيضاء و يتم العد في المربعات الخمسة للمربع المركزي للحمر .

٢- سائل التمديد : و يختلف حسب الطريقة :

أ- بطريقة إكر : و يتألف من ٣,٨ غ سترات الصوديوم ، ٠,٢ سم٣ فورمول، ٠,١ غ زرقة الكريزيل ، ١٠٠ سم٣ ماء مقطر .

ب- بطريقة بريشر و يتألف من ١ غ حماضات (اوكزالات الأمونيوم) تحل في ١٠٠ سم٣ ماء مقطر .

طريقة العمل :

أ- طريقة إكر :

يسحب الدم المجموع على مانع تخثر في ممص تمديد الكريات الحمراء حتى العلامة ٠,٥ ثم يمسح حواف الممص الخارجية بوساطة قطعة من القطن و يؤخذ من سائل التمديد

الخاص حتى العلامة ١٠١ ثم تتم عملية المزج إما يدوياً أو بالرجاجة الآلية لمدة ٥-١٠ دقائق و بعد انتهاء عملية المزج ترمى القطرات الثلاث الأولى من ممص التمديد و تملأ العدادة في الشروط النظامية ثم يوضع العداد في علبة بتري التي تكون مزودة بقطعة من القطن الرطب و تترك العدادة في طبق بتري مدة ١٥-٢٠ دقيقة ، بعدها نقوم بوضع العدادة تحت المجهر و نعد الصفيحات الدموية في مربعين من مربعات الكريات البيضاء متقابلين قطرياً . ثم نضرب الرقم بـــ ١٠٠٠ .

أما كيفية استنتاجه فهي كتالي :

١×١×١/١٠= ١/١٠ ملم٣ حجم مربع من المربعات البيض .

٢× ١/١٠ = ٢/١٠ ملم٣ حجم مربعين من المربعات البيض .

١/٢٠٠ نسبة سائل التمديد للدم .

١/س×٢/١٠×١/٢٠٠=١/س×٢/٢٠٠٠=١/١٠٠٠ ⟸ س

س×١٠٠٠=عدد الصفيحات الدموية /مم٣ دم . إذ س = عدد الصفيحات الدموية في المربعين .

ب – طريقة بريشر :

يؤخذ دم المريض بوساطة ممص تمديد الكريات البيض حتى العلامة ٠,٥ ثم نقوم بمسح حواف الممص الخارجية بوساطة قطعة قطن و يشفط بسائل التمديد الخاص حتى العلامة ١١ ثم تتم عملية المزج من ٥-١٠ دقائق و بعدها نقوم برمي القطرات الثلاث من ممص التمديد و أخذ القطرة الرابعة إذ يملأ حجرة التعداد بها ثم يوضع العداد تحت المجهر بعد ملئه بقطرة الدم الممددة في طبق بتري لمدة ١٥-٢٠ دقيقة و بعد انتهاء الوقت توضع العدادة تحت المجهر و نقوم بعد الصفيحات الدموية في المربعات الخمسة للمربع المركزي ثم نقوم بضرب النتيجة بالرقم ١٠٠٠ فيكون هو عدد الصفيحات الدموية المعدود في المم٣ دم أما العمليات الحسابية لاستنتاج الرقم ١٠٠٠ فهي كتالي :

١/٥×١/٥×١/١٠=١/٢٥٠ مم٣ حجم مربع من المربعات الـــ ٢٥

١×١/٢٥٠=٥/٢٥٠=١/٥٠ مم٣ حجم المربعات الخمسة الحمر

١/س×١/٢٠×١/٥٠=١/س×١/١٠٠٠ ⟸ س×١٠٠٠= عدد الصفيحات الدموية / مم٣

إذ س = عدد الصفيحات الدموية في الخمس مربعات .

القيم الطبيعية :

من ١٥٠ ألف – ٤٠٠ ألف صفيحة دموية في المم٣ دم و وسطياً ٢٥٠ ألف صفيحة / مم٣ دم

التغيرات المرضية :

أ – نقص الصفيحات الدموية :

تنقص عند الإنسان لدى النزوف العامة و خاصة الشديدة منها كما تنقص في بعض الأمراض كمرض قلة الصفيحات المناعية أو تسمى بفرفرية قلة الصفيحات الذاتية المناعية كما يمكن أن تنقص عند تناول بعض الأدوية كما تنقص في بعض الحالات نتيجة لأمراض مستنبطة لفقر الدم الامصنع و في بعض التناذرات و السرطانات الانتقالية و الأخماج و غير ذلك .

ب- زيادتها :

تزداد في بعض الأمراض منها : تخضب الدم .

ملاحظة :

تبدو الصفيحات الدموية في خلية التعداد بشكل كروي إهليلجي أي حوافها غير منتظمة و تبدو بلون رمادي فاتح أما إذا حرك لولب المطابقة فتبدي بريقاً و إذا حرك للطرف المغاير فتظهر نقطة سوداء في خلية التعداد تشبه الحبة السوداء .

٢- طريقة اللطاخة الرطبة :

تستخدم هذه الطريقة للكشف عن خييطيات الديدان الخيطية microfilaria، و المثقبيات ، إذ توضع قطرة من الدم (الوريدي أو المحيطي) و الذي أضيف إليه مانع التخثر على شريحة زجاجية ، ثم تغطى بساترة وتفحص بالتكبير الضعيف و القوي . و

تكشف ا لطفيليات عن وجودها بتحريكها للكريات الحمراء الموجودة بجوارها مباشرة ، وبعد فترة قصيرة تميل حركتها الشديدة إلى إبعاد الكريات الحمراء عن المنطقة . و عندئذ يمكن بسهولة رؤية الخييطيات أو المثقبيات نفسها وهي تتلوى و تتقلب .

٣- طريقة اللطاخة الجافة الرقيقة :

تستخدم هذه الطريقة للكشف عن طفيليات الدم مثل : (البابيسية) ، و(الثايليرية) ، و(المثقبية) .....

١- تؤخذ قطرة دم بوخز رأس الذيل أو طرف الأذن بوساطة إبرة ، وتوضع مباشرة بجانب أحد طرفي الشريحة الزجاجية .

٢- توضع حافة شريحة زجاجية أخرى أمام قطرة الدم بزاوية ٤٥ م ، و تسحب الشريحة قليلاً إلى الخلف حتى تلامس قطرة الدم التي تتوزع بانتظام تقريباً على حافتها الخلفية .

٣- تدفع الشريحة الزجاجية الثانية فوق الأولى إلى الأمام بحركة منتظمة و ثابتة بإذ يتشكل بعدها فيلم رقيق من الدم . شكل (٦٢-٦٣) .

٤- تجفف اللطخة بالهواء ثم تثبت بالكحول المتيلي لمدة خمس دقائق .

٥- تترك العينة بعد ذلك لتجف في الهواء ، ثم تصبغ بصبغة غيمسا الممدد بنسبة ١/١٠ لمدة نصف ساعة .

٦- تغسل العينة بلطف في الماء العادي حتى يختفي اللون من العينة ، ثم تترك لتجف في الهواء .

٧- تفحص العينة مجهرياً بوساطة عدسة زيتية و بتكبير ١٠٠ .

- ملاحظة :

يمكن تلوين اللطاخة الدموية بإحدى الصبغات التالية :

أ- صبغة رايت write stain :

١- تغطى لطاخة الدم المثبتة بالميتانول بقرابة نصف مل صبغة رايت لمدة دقيقة واحدة .

٢- يضاف إلى العينة مقدار مماثل من المحلول الدارئ ويمزج مع الصبغة بإمالة الشريحة من جانب إلى آخر مرات عدة ، أو بطريقة النفخ بالفم . ثم تترك لمدة (٦) دقائق .

٣- تغسل الشريحة بالمحلول الدارئ ثم تفحص مجهرياً .

ب- صبغة ليشمان Leishmans stain :

١- تغطى لطاخة الدم المثبتة بالميتانول بقرابة نصف مل صبغة ليشمان لمدة (١-٢) دقيقة .

٢- يضاف إلى العينة مقدار مماثل من الماء المقطر ، و يمزج معه ويترك لمدة (٥-٨) دقائق .

٣- تغسل اللطاخة بالماء المقطر حتى تصبح بلون الزهر ، و تترك لتجف ، ثم تفحص مجهرياً .

٤- طريقة اللطاخة الجافة السميكة :

تستخدم هذه الطريقة لتركيز طفيليات الدم في بقعة صغيرة بعد تخريب كريات الدم و بقاء الطفيليات حرة :

١- توضع قطرة كبيرة من الدم في وسط الشريحة الزجاجية ، و تحرك بقضيب زجاجي أو عود ثقاب مرات عدة على مساحة صغيرة .

٢- تجفف العينة في الهواء لمدة (١٥) دقيقة ، ثم تصبغ مباشرة بصبغة غيمسا الممددة (بلا تثبيتها في الكحول المتيلي) لمدة نصف ساعة .

٣- تغسل الشريحة بلطف بالماء العادي حتى يختفي اللون من العينة ، ثم تجفف و تفحص مجهرياً . انظر الشكل (٦٤) .

٥- العد التمييزي للكريات البيضاء (الصيغة الدموية) :

تهدف هذه الطريقة لتحديد النسبة المئوية لأنواع الكريات البيضاء . و ذلك بتحضير لطخة دموية جافة رقيقة مصبوغة بصبغة غيمسا ، ثم يتم إحصاء (١٠٠) كرية بيضاء ، و يحدد نوعها مثلاً ٥٥% عدلات ، ٤% حمضات ، ٢% أسسات ، ١% وحيدات ، ٣٨% لمفاويات .

- عد الأوالي الدموية :

يحتاج إليه أحياناً لمعرفة درجة الإصابة بالأوالي الدموية في دم الحيوانات مثل : البابيسية – الثايليرية – والمتصورات – والأنابلازما .

١- بوساطة العدسة الزيتية للمجهر يحصى عدد الأوالي الدموية في اللطخة الرقيقة و المصبوغة بنسبة إلى (٥٠٠) كرية حمراء أو (١٠٠) كرية بيضاء .

٢- يحصى عدد الكريات الحمراء أو البيضاء في (١) مل من الدم باستعمال عدادة نيوبار المعدلة .

٣- وبحساب النسبة يمكن إحصاء عدد الطفيليات في (!) مل من الدم .

٧-الهيماتوكريت (P.C.V) Hematocrit or packed cell volume :

تهدف هذه الطريقة لتحديد النسبة المئوية للكريات الحمراء في المتصورة الدموية .

- **طريقة الأنابيب الشعرية :**

تستخدم أنابيب شعرية مفتوحة من الطرفين ، طولها ٧٥ مم ، و قطرها ١ مم ، وجدرانها مطلية بالهيبارين ، أو تكون خالية من مضادات التخثر .

١- تملأ الأنابيب بالدم ، و يسد أحد طرفيها باللهب أو بالمعجون اللين .

٢- يتم تثفيل الأنابيب في مثفلة خاصة لمدة (٥) دقائق و بسرعة (٧٠٠٠) دورة في الدقيقة.

٣- يقرأ ارتفاع عمود كتلة الكريات الحمراء المتثفلة ، فتكون هي النسبة المئوية المطلوبة للهيماتوكريت . شكل (٦٦) .

٨-معايرة خضاب الدم Hb :

١- طريقة ساهلي Sahli method :

تحتاج هذه الطريقة إلى حمض كلور الماء ١/١٠ نظامي ، و جهاز ساهلي الذي يتألف من :

ماصة تستوعب (٠،٠٢) مل من الدم ، و أنبوب للمعايرة طوله (١٢) سم و قطره (٨) مم و عليه نوعان من التدريجات يبدأ كل منهما من أسفل الأنبوب ، و تبدأ التدريجات الأولى بالرقم (٢) و حتى (٢٢) و تعطي كمية خضاب الدم غ/١٠٠ مل دم ، أما التدريجات الثانية فتبدأ بالرقم (١٠) و تنتهي بـــ (١٤٠) و غايتها إعطاء

مقدار خضاب الدم على أنه نسبة مئوية . و علبة صغيرة تحتوي على ثلاثة فراغات ، يوضع في الفراغين الجانبيين أنبوبان شاهدان للمقارنة ، بالإضافة إلى قضيب زجاجي رفيع و ظيفته مزج المحلول في الأنبوب المعاير . شكل (٦٧) .

١- يوضع محلول حمض كلور الماء ١/١٠ نظامي حتى الرقم (٢) للأنبوب المعاير .

٢- يضاف الدم بمقدار ٠،٠٢ مل إلى محلول حمض كلور الماء ، ثم يمزج جيداً ، ويترك المزيج الناتج في الأنبوب المعاير لمدة (١٠) دقائق في درجة حرارة الغرفة إذ يتم تشكل الهيماتين الحمضي .

٣- يوضع الأنبوب المعاير في مكانه بالفراغ المتوسط ، ثم يضاف الماء المقطر قطرة قطرة ، مع المزج جيداً ، و يقارن مع الأنابيب الشاهدة و هكذا ..... ، حتى يتماثل اللون في الأنابيب الثلاثة . عندها يقرأ الرقم المحازي لتقعر المحلول الناتج في الأنبوب المعاير ، فيكون هو مقدار الخضاب في الدم المفحوص مقدراً بالغرام /١٠٠ مل ، أو يقدر على أنه نسبة مئوية . جدول -٩- .

نوع الحيوان الخضاب	الأبقار	الخيول	الأغنام	الماعز	الجمال	الكلاب	الدجاج
غ/١٠٠ مل دم	١١	١٣،٦	١١،٦	١٠،٧	١٤،٤	١٣،٦	١٢،٧
نسبةمئوية %	٦٥	٨٠	٦٨	٦٣	٩٠	٨٠	٧٥

الجدول (٩) يبين : كمية الخضاب في دم الحيوانات السليمة

٢- طريقة الخضاب المؤكسج :

١- يوضع حوالي (٥) مل ماءً مقطراً في أنبوب الاختبار .

٢- يضاف إلى الأنبوب (٠،٠٢) مل دماً و ريدياً طازجاً مضافاً إليه مانع للتخثر ، و ذلك بوساطة ماصة خاصة حتى العلامة (٢٠) .

٣- يضاف إلى المزيج بضع قطرات من النشادر المركز ، و يترك المزيج لمدة (٥ — ١٠) دقائق .

٤- يضبط جهاز الطيف Spectronic على ١٠٠% من النفاذ باستخدام الماء المقطر ، و ضمن موجة طولها ٥٤٠ مللي مكرون .

٥- تقرأ بعدها نسبة النفاذ باستخدام المحلول المجهول ، ثم تقارن مع الجدول -١٠- :

النفاذ%	٠	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩
٢٠	٢١،١	٢٠،٤	١٩،٩	١٩،٣	١٨،٦	١٨،١	١٧،٦	١٧،١	١٦،٦	١٦،٢
٣٠	١٥،٧	١٥،٣	١٥	١٤،٥	١٤،١	١٣،٧	١٣،٣	١٣	١٢،٧	١٢،٢
٤٠	١٢	١١،٧	١١،٣	١١	١٠،٧	١٠،٤	١٠،١	٩،٨	٩،٦	٩،٣
٥٠	٩	٨،٨	٨،٥	٨،٣	٨	٧،٨	٧،٥	٧،٣	٧،١	٦،٩
٦٠	٦،٧	٦،٤	٦،٢	٦	٥،٨	٥،٦	٥،٤	٥،٢	٥	٤،٨
٧٠	٤،٧	٤،٤	٤،٣	٤،١	٤	٣،٧	٣،٦	٣،٤	٣،٢	٣
٨٠	٢،٩	٢،٧	٢،٥	٢،٤	٢،٣	٢،١	١،٩	١،٨	١،٦	١،٥
٩٠	١،٣	١،٢	١،١	١	٠،٨	٠،٧	٠،٥	—	———	—

الجدول -١٠- : كمية الخضاب بطريقة الخضاب الؤكسج

معايرة خضاب الدم Hb حسب طريقة الكيت : يتم قياس خضاب الدم حسب طريقة الكيت من شركة BioSystems ، و تجرى المعايرة على جهاز مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometer و بموجة طولها ٥٤٠ نانومتر ، و تقدر النتائج بالغرام / ١٠٠ مل دم .

يحوي الكيت على المحاليل التالية :

- A. concentrated Reagent (×50) Potassium ferricyanide 30.3 Mmol/l , potassium cyanide 77 Mmol/l , dihydrogen potassium phosphate 51.4 Mmol/l nonionic detergent 25 g/l.

- لتحضير محلول العمل نكمل محتوى المحلول A إلى ١ ليتر من الماء المقطر
- يتم اجراء الاختبار كما يلي :

	الناصع	العينة
العينة	–	10µl
محلول العمل	2.5 ml	2.5 ml

- نمزج و ننتظر لمدة ٣ دقائق بدرجة حرارة الغرفة
- نقرأ امتصاصية العينة مقابل الناصع على الموجة /٥٤٠/ نانو متر
- يتم الحساب حسب المعادلة التالية :

تركيز الخضاب في العينة = امتصاصية العينة ×٣٧,٥

٩– سرعة تثفل الكريات الحمراء (E.S.R) :

تستخدم أنابيب ونتروب wintrobe، أو أنابيب ويسترغرين westerger :

أ – أنبوب ونتروب :

طوله ١١ سم ، وعرضه ٢,٥ مم ، ونهايته مسدودة ومستوية ، كما أنه مدرج من (٠ – ١٠٠) مم ، ولإجراء الاختبار يملأ أنبوب (ونتروب) بالدم المضاف إليه مانع التخثر حتى (١٠٠) مم يثبت في الجهاز الخاص على نحو عمودي ، ويترك لمدة ساعة ، ثم يقرأ الرقم الموافق للطبقة العلوية للكريات الحمر المتثفلة ، فيكون هو سرعة التثفل بالملم في الساعة .

ب – أنبوب ويسترغرين :

طوله ٣٠ سم ، وقطره ٢,٥ ملم ، مفتوح من الطرفين ، كما أنه مدرج من (٠ – ٢٠٠) مم ، يملأ أنبوب ويسترغرين بالدم المضاف إليه مانع التخثر حتى الإشارة (٢٠٠) مم ، وتقرأ النتيجة كما هو مضاف أعلاه. شكل (٦٨)

وعادة يفضل أنبوب ونتروب لقياس سرعة التثفل ، لأنه يحتاج إلى كمية أقل من الدم ، كما يمكن استخدامه في قياس كمية (الهيماتوكريت) مباشرة عن طريق تثفيله لمدة (١٥) دقيقة بسرعة ٣٠٠٠ د/ د . (انظر الجدول ٢)

١٠ – وقت التخثر :

تملأ أنبوبة شعرية بالدم الطازج ، ثم يسجل الوقت ويضبط ، وتوضع الأنبوبة في قبضة اليد لتبقى دافئة ، ويمكن إغلاق أحد أطراف الأنبوبة الشعرية بوساطة اللهب ومن ثم يتم وضعها في محم مائي (٣٧) م . وبعدها نبدأ بكسر قطع صغيرة من الأنبوبة الشعرية في البداية بعد دقيقتين ، ثم كل (٣٠) ثانية حتى يلاحظ تكون خيط ليفي يصل بين القطعتين المكسورتين نحدد بعدها وقت التخثر .

١١ – زمن النزف :

يدل ازدياد زمن النزف على نقص في عدد الصفيحات الدموية ، واضطراب في جدران الوعية الدموية الشعرية وبعض الأمراض الدموية الأخرى.

ويتم تنظيف شحمة الأذن أو الإصبع بالكحول ، ثم تؤخذ بإبرة خاصة منها بإذ يسيل الدم من تلقاء نفسه بلا ضغط ، ثم يضبط الزمن ، ويمسح الدم النازف كل نصف دقيقة بوساطة ورق الترشيح حتى انقطاع النزف تماماً . ثم يحدد الزمن الذي استلزمه وقوف النزف .

١٢ – معايرة البيليروبين (Bilirubin) في المصل :

تعتمد على التفاعل بين ملح دي آزو لحمض السلفانيليك والبيليروبين في وسط حامضي وتشكل مركب آزوتي ذي لون أحمر – بنفسجي .

- المحاليل :

أ – كاشف الدي آزو ويتألف من محلولين :

١ – يذاب ١ غ حمض السلفانيلي في ٥٠٠ مل ماءاً مقطراً ، ثم يضاف ١٥ مل حمض كلور الماء المركز ويمدد إلى اللتر .

٢ – يذاب ١ غ من نتريت الصوديوم في ١٠٠ مل ماءً مقطراً ويمدد حتى ٢٠٠ مل ماءً مقطراً .

- يمزج عن المعايرة : ٢٠ مل من المحلول الأول ، و ٠,٦ مل من المحلول الثاني ويستخدم مباشرة .

ب – محلول حمض كلور الماء ١,٥ % .

- طريقة المعايرة :

١ – يوضع في أنبوب اختبار (١) مل مصل طازج غير مدمى ، و (٢) مل كاشف الذي آزو (مجهول) يمزج ويترك لمدة دقيقة واحدة .

٢ – يوضع في أنبوب اختبار آخر (١) مل مصل طازج غير مدمى ، و (٢) مل حمض كلور الماء ١,٥ % (شاهد) .

٣ – يضبط جهاز الطيف Spectronicعلى ١٠٠ % من النفاذ على الشاهد باستخدام موجة ٥٤٠مللي ميكرون .

٤ – يقرأ الأنبوب المجهول في نهاة الدقيقة من الجدول الخاص ، ويقسم على (٢) ، ويدل الناتج على مقدار البيليروبين المباشر في ١٠٠ مل مصل مقدراً بالملغ .

٥ – يضاف بعد ذلك إلى الأنبوب المجهول والشاهد (٣) مل من الغول الميتيلي النقي ويمزج ويترك (٣٠) دقيقة ثم يقرأ كما هو سابقاً.

والرقم المأخوذ من الجدول الخاص (بلا تقسيم) ، يدل على قيمة (البيليروبين) الكلي في ١٠٠ مل مصل مقدراً بالملغ .

٦ – يمكن معرفة قيمة (البيليروبين) غير المباشر من طرح البيليروبين المباشر من الكلي . جدول (١١).

النفاذ%	٠	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩
٤٠	٣،١٣	٣،٠٤	٢،٩٧	٢،٨٩	٢،٨٠	٢،٧٣	٢،٦٥	٢،٥٨	٢،٥٠	٢،٤٤
٥٠	٢،٢٣٧	٢،٣٠	٢،٢٣	٢،١٦	٢،١٠	٢،٠٤	١،٩٨	١،٩٢	١،٨٥	١،٨٠
٦٠	١،٧٤	١،٦٨	١،٦٣	١،٥٧	١،٥٢	١،٤٦	١،٤٢	١،٣٦	١،٣١	١،٢٦
٧٠	١،٢١	١،١٦	١،١٢	١،٠٧	١،٠٢	٠،٩٧	٠،٩٣	٠،٨٨	٠،٨٤	٠،٨
٨٠	٠،٧٥	٠،٧١	٠،٦٧	٠،٦٣	٠،٥٩	٠،٥٥	٠،٥	٠،٤٧	٠،٤٣	٠،٣٨
٩٠	٠،٣٥	٠،٣١	٠،٢٧	٠،٢٤	٠،٢٠	٠،١٦	٠،١٥	٠،١٠	٠،٠٥	———

جدول (١١) يبين كمية (عيار) البيليروبين في المصل .

- **معايرة البيليروبين الكلي .Total Bili حسب طريقة الكيت** : يجري الاختبار على مصل الدم بطريقة الكيت من شركة Biorex و على موجة طولها 578 نانومتر على الدرجة 25 درجة مئوية و تقدر النتائج بالميكرومول / ليتر .

يحتوي الكيت على المحاليل التالية :

- AT. Sulfanilic acid 29 Mmol/l
  hydrochloric acid 0.2 mol/l , citrimide 50 Mmol/l.
- Nitrite. sodium nitrite 25 Mmol/l
- Caffeine : 0.26 mol/l
- Tartrate : 0.93 mol/l

- يتم اجراء الاختبارعلى الشكل التالي:

	Sample blank	Sample
S. Acid	200µl	200µl
Nitrate	-	50µl
Caffeine	1.00ml	1.00ml
Sample	200µl	200µl

- نمزج و نترك الأنابيب لمدة ١٠ دقائق بدرجة حرارة الغرفة ثم نضيف 1.00 ml من محلول Tartrate للأنبوبين .

- ننتظر لمدة ٥-٣٠ دقيقة بدرجة حرارة الغرفة و نقرأ امتصاصية العينة مقابل Sample blank على الموجة 578 nm .

يتم حساب تركيز العينة على الشكل التالي :

تركيز البيليروبين الكلي في العينة = ١٨٥×امتصاصية العينة

و يكون التركيز مقدراً بالميكرومول / ليتر

الشكل رقم -١٨-

الشكل رقم –١٨–

١٣– معايرة مجموع بروتينات المصورة أو المصل :

- الطريقة اللونية :

تعطى البروتينات لوناً أزرقاً بنفسجياً بوجود كبريتات النحاس في وسط قلوي ، و ذلك لاحتوائها على الروابط (–CO–NH–) . و دعي هذا التفاعل بتفاعل البولة المضاعفة لوجود هذه الروابط في البولة المضاعفة .

- المحاليل :

١– كاشف البولة المضاعف :

يوضع في وعاء سعة (١) ليتر ، (١،٥) غ كبريتات النحاس ، و (٦) غ طرطرات البوتاسيوم ، ويضاف كمية كافية من الماء للانحلال ، ثم يضاف بالتدريج (٣٠٠) مل ماءات الصوديوم (٢،٥ن) . بعدها يضاف (١) غ يودور البوتاسيوم ، و يحل جيداً ثم يضاف للماء المقطر حتى حجم (١) ليتر إذ يحفظ المحلول في زجاجة ملونة .

٢– محلول فيزيولوجي (٨،٥ غ كلوريد الصوديوم + ليتر ماء مقطر)

- طريقة المعايرة :

١- يتم تمديد المصل المفحوص بنسبة ١/٢٠ (٠،٥ مل مصل + ٩،٥ مل محلول فيزيولوجي) .

٢- يوضع في أنبوب اختبار (٢) مل مصل ممدد مع (٨) مل كاشف البولة المضاعفة (مجهول) .

٣- يوضع في أنبوب اختبار ثان (٢) مل محلول فيزيولوجي مع (٨) مل كاشف البولة المضاعفة (شاهد) .

٤- يضبط جهاز الطيف الضوئي على موجة ٥٤٠ مللي مكرون و يضبط ١٠٠% من النفاذ على الشاهد .

٥- يقرأ الأنبوب المجهول مباشرة و يؤخذ ما يعادله من البروتينات من الجدول التالي :

غ/١٠٠ مل

النفاذ%	٠	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩
٣٠	ـــــ	ـــــ	ـــــ	ـــــ	ـــــ	ـــــ	ـــــ	١٣،٨	١٣،٤	١٣،٠
٤٠	١٢،٧	١٢،٤	١٢	١١،٧	١١،٤	١١،١	١٠،٨	١٠،٥	١٠،٢	٩،٩
٥٠	٩،٦	٩،٣	٩	٨،٨	٨،٦	٨،٣	٨	٧،٨	٧،٦	٧،٣
٦٠	٧،١	٦،٩	٦،٦	٦،٤	٦،٢	٦	٥،٨	٥،٦	٥،٤	٥،٢
٧٠	٥،٠٠	٤،٨	٤،٦	٤،٤	٤،٢	٤	٣،٨	٣،٧	٣،٥	٣،٣
٨٠	٣،١	٢،٩	٢،٨	٢،٦	٢،٤	٢،٣	٢،١	٢	١،٨	١،٦
٩٠	١،٥	١،٤	١،٢	١	ـــــ	ـــــ	ـــــ	ـــــ	ـــــ	ـــــ

جدول (١٢) يبين كمية مجموع البروتينات في المصورة أو المصل .

– معايرة البروتين الكلي بطريقة الكيت .Total Pro :

يتم إجراء هذا الاختبار على مصل الدم بطريقة الكيت من شركة BioSystems و على موجة طولها 545 نانومتر و بدرجة حرارة الغرفة و تقدر النتائج بالغرام / ليتر .
و يجرى الاختبار على الشكل التالي :

- محاليل العمل :
- Reagent . A. Copper (II) acetate 6 Mmol/l , Potassium iodide 12 Mmol/l , Sodium hydroxide 1.15 mol/l
- S : Protein Standerd : Bovin Albomin

	العينة	العياري	الناصع
ماء مقطر	–	–	20 µl
محلول عياري	–	20 µl	–
العينة	20 µl	–	–
محلول العمل A	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml

- نمزج و نترك الأنابيب لمدة /١٠/ دقائق في درجة حرارة الغرفة .
- نقرأ امتصاصية العينة و العياري على الموجة /٥٤٥/ نانومتر مقابل انبوب الناصع
- يتم حساب التركيز في العينة كما يلي :

$$\text{التركيز} = \frac{\text{قراءة العينة}}{\text{قراءة العياري}} \times \text{تركيز العياري (62.9 g/L)}$$

- تركيز العياري (62.9 g/L)

١٤- معايرة ألبومين و غلوبولينات المصل :

ويتم ترسب الغلوبولينات بمحلول كبريتات الصوديوم ٢٣% ، و بعد التثفيل يعاير اللبومين في السائل المنفصل بطريقة البولة المضاعفة . و يتم حساب الغلوبولينات بطرح كمية الألبومين من كمية البروتينات الكلية.

- المحاليل :

١- محلول كبريتات الصوديوم ٢٣% : يحضر بوضع (٥٠) ماءً مقطراً دافئاً (٣٧) م في وعاء سعة (١٠٠) مل ثم يضاف (٢٣) غ كبريتات الصوديوم اللامائية ، ويضاف بعدها الماء المقطر الدافئ حتى (١٠٠) مل بالتدريج ومع التحريك ، ثم يحفظ المحلول في محم (٣٧) م .

٢- كاشف البولة المضاعف .

- طريقة المعايرة :

١- يوضع في أنبوب اختبار (٧،٥) مل كبريتات الصوديوم ٢٣% ويوضع في محم مائي (٣٧) م .

٢- يضاف (٠،٥) مل مصل أو مصورة ، و بعد المزج الجيد يخرج الأنبوب من الحمام المائي .

٣- يضاف (٤) مل من الإيتر ، وبعد المزج الجيد يتم التثفيل لمدة (٥) دقائق.

٤- يوضع في أنبوب اختبار (٢)مل من السائل العائم ، و يضاف إليه (٨) مل كاشف البولة المضاعفة (المجهول) .

يوضع أنبوب اختبار ثان (٢) مل من محلول كبريتات الصوديوم ٢٣% ،و يضاف إليه(٨) مل كاشف البولة المضاعفة (شاهد) .

٥- يضبط جهاز الطيف الضوئي على موجة ٥٤٠ مللي ميكرون ، و ١٠٠% من النفاذ على الشاهد ، ثم يقرأ الأنبوب المجهول مباشرة و يؤخذ ما يعادله من الألبومين من الجدول التالي

النفاذ%	٠	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩
٤٠	٠،٣٥	١٠،٠٥	٩،٧٥	٩،٥	٩،٢	٩	٨،٧	٨،٥٥	٢٥،	٨
٥٠	٧،٨	٦،٧٠	٧،٣٥	٧،١	٦،٩	٦،٧٥	٦،٥	٦،٣	٦،١٥	٥،٩
٦٠	٥،٧	٥،٥٥	٥،٤	٥،٢٥	٤،٩٥	٤،٨	٤،٦٥	٤،٥	٣٥،	٤،٢
٧٠	٤،٠٥	٣،٨	٣،٧٥	٣،٦	٣،٤٥	٣،٣	٣،١٥	٣	٨٥،	٢،٧
٨٠	٢،٥٥	٢،٤	٢،٢٥	٢،١	١،٩٥	١،٨	١،٦٥	١،٥	١،٥	١،٣٥
٩٠	١،٢٠	١،٠٥	٠،٩	٠،٧٥	٠،٧٥	٠،٦	٠،٤٥	٠،٣	—	—

غ/١٠٠ مل

جدول (١٣) كمية الألبومين في ١٠٠ مل مصل

١٥- معايرة البولة في الدم :

- طريقة بولاز :

المبدأ : تفكك البولاز البولة غلى فحمات النشادر إذ يمكن معايرة النشادر في الوسط بأحد الكواشف المعروفة .

الكواشف و المحاليل اللازمة :

حمض الكبريت ٢/٣ ن .

تنغستات الصوديوم ١٠ % .

محلول البولاذ في الغليسيرين (١ غ من البولاذ النقية في ٢٠ مل غليسيرين).

- كاشف (نسلر) ويحضر كمايأتي :

(٣،٥) غ (يودور البوتاسيوم) + (٤،٥٥) غ ثاني يود الزئبق الأحمر و توضع في حوجلة سعة (١٠٠) مل ، وتحل في (٢٠ – ٣٠) مل ماءً مقطراً ، ثم يضاف (٨) غ صودا كاوية ، يبرد المحلول و يكمل الحجم إلى (١٠٠) مل ماءً مقطراً .

طريقة المعايرة :

١- يوضع في أنبوب اختبار (٧) مل ماءً مقطراً ، ثم يضاف إليه (١) مل دماً مضافاً إليه مانع تخثر او مصورة أم مصل .

٢- يضاف إلى المزيج (٥) قطرات من محلول البولاز الغليسيرين ، ثم يوضع المزيج في حمام مائي (٥٠- ٦٠) م لمدة (١٥) دقيقة .

٣- يضاف (١) مل حمض الكبريت ٢/٣ ن ، ثم يخض جيداً ، ويترك المزيج لمدة (١-٢) دقيقة .

٤- يضاف (١) مل تنغستات الصوديوم ١٠% يخض جيداً ، ومن ثم يتم ترشيحه ،

٥- يؤخذ (١) مل من الرشاحة و يضاف إليها (٤) مل ماءً مقطراً أو (٠،٥) مل كاشف نسلر .

٦- يضبط جهاز الطيف Spectronic على موجة ٥٠٥ مللي مكرون و ١٠٠% من النفاذ على الماء المقطر ، ثم يقرأ النفاذ أو الكثافة الضوئية للأنبوب المجهول .

معايرة البولة بطريقة الكيت Urea :

يتم اجراء الاختبار على مصل الدم بطريقة الكيت من شركة BioSystems و على موجة طولها 600 نانومتر على الدرجة 37 درجة مئوية و تقدر النتائج بالمللي مول / ليتر . يحوي الكيت على /٤/ أنواع من المحاليل و هي

- A1 Reagent : Sodum salicylate 62 Mmol/l, sodim nitroprusside 3.4 Mmol/l, phosphate buffer 20 Mmol/l, PH 6.9.

- A2 Reagent : Urease > 500U/mL
- B Reagent : Sodiom hypochlorite 7 Mmol/l Sodiom hydroxide 150 Mmol/l
- S: Urea standard = 8.3 Mmol/l

يجرى الاختبار على الشكل الآتي:

- نضع المحاليل في درجة حرارة الغرفة
- نمزج محتوى A1 مع محتوى A2 و نحصل على محلول العمل A
- يبقى هذا المزيج صالحاً للاستخدام لمدة شهرين من تاريخ المزج على الدرجة ٢-٨ مئوية
- نجري الاختبار كما في الجدول التالي :

	العينة	العياري	الناصع
محلول العياري S	–	10 µl	–
العينة	10 µl	–	–
محلول العمل A	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml

- نمزج و نترك الأنابيب في درجة حرارة الغرفة لمدة /١٠/ دقائق .
- ثم نضيف من محلول العمل B مقدار 1.0 ml لكل الأنابيب
- نمزج و نترك الأنابيب لمدة /10/ دقائق بدرجة حرارة الغرفة
- نقرأ الامتصاص الضوئي لأنبوب العينة و العياري مقابل أنبوب العمل
- نحسب التركيز في العينة على الشكل التالي:

قراءة العينة

التركيز = ---------- X تركيز العياري (8.3Mmol/l)

قراءة العياري

١٦- معايرة حمض البولة في الدم :

طريقة فولين – دينس Folin – Denis :

تعتمد هذه الطريقة على معالجة الدم المجرد من البروتينات بوساطة حمض الخل ثلاثي الكلور ومحلول الفسفوتنغستك وبوجود الصوديوم ، فيبدو لون أزرق تتناسب شدته مع مقدار حمض البولة . ويجب إجراء المعايرة على مصل الدم لأن الكريات الحمراء أغنى بحمض البولة من المصل . كما يجب أن يكون المصل المستخدم حديثاً ، لأن حمض البولة يزول بسرعة، في حين لا يختفي منه شيء في الدم المجرد بحمض الخل ثلاثي الكلور .

الكواشف المستعملة :

محلول حمض البولة العياري (٢٥) ملغ/ل.

محلول حمض الفسفوتنغستك .

محلول كربونات الصوديوم ٤٠%.

حمض الخل ثلاثي الكلور ٢٠%

طريقة المعايرة :

١ – يجرد مصل الدم من بروتيناته بإضافة حجم مماثل من حمض الخل الثلاثي الكلور ثم يمزج ويرشح .

٢ – يوضع في أنبوب اختبار (المجهول) ، (٢) مل من الرشاحة + (٢)مل محلول كربونات الصوديوم + (٥،٧) مل ماءً مقطراً + (٠،٣) مل محلول حمض الفسفوتنغستك .

٣ – يوضع في أنبوب اختبار ثان (العياري) ، (٢) مل حمض البول العياري + (٢) مل محلول كربونات الصوديوم + (٥،٧) مل ماءً مقطراً + (٠،٣) مل محلول حمض الفسفوتنغستك .

٤ – تترك الأنابيب لمدة (٥) دقائق .

٥ – يضبط جهاز الطيف الضوئي على موجة ٥،٥ مللي ميكرون و ١٠٠% من النفاذ على الماء المقطر، ثم نقرأ الكثافة الضوئية لكل من المجهول والمعلوم (ك٢ ، ك ١).

فيكون مقدار حمض البولة ملغ/ليتر مصل = $\frac{\text{ك2}}{\text{ك1}}$ X ٥٠ ملغ .

١٧ – معايرة السكر في الدم :

١ – طريقة فولان – فو :

- الكواشف والمحاليل المستخدمة :

١ – حمض الكبريت $^{2}/_{3}$ ن .

٢ – تنغستات الصوديوم ١٠ % .

٣ – كاشف فولان النحاسي .

٤ – كاشف الفسفو موليبدي .

٥ – محلول الغلوكوز العياري ٠,١ غ/ليتر .

- طريقة المعايرة :

١ – يوضع في أنبوب اختبار (٧) مل ماءً مقطراً + (١) مل دماً أو مصورة + (١) مل حمض الكبريت ٢/٣ ن + (١) من تنغستات الصوديوم ١٠% ، يرج المزيج في كل إضافة ، ومن ثم يرشح .

٢ – تؤخذ ثلاثة أنابيب تدعى أنابيب فولان :

- الأول (المجهول) : يوضع (٢) مل من الرشاحة .

- الثاني (العياري) : يوضع (٢) مل من المحلول العياري .
- الثالث (الشاهد) : يوضع (٢) مل من الماء المقطر .

٣ – يضاف إلى كل من الأنابيب الثلاثة (٢) مل كاشف فولان النحاسي ، ويوضع في محم ماء غالٍ لمدة (٨) دقائق ، ثم تخرج بعدها ليتم تبريدها بوضعها في الماء البارد.

٤ – يضاف إلى كل من الأنابيب الثلاثة (٢) مل كاشف (الفسفومولیبیدي) ، ويوضع من جديد في محم ماءً مغلياً لمدة (٥) دقائق ، تخرج بعدها ليتم تبريدها بوضعها في الماء البارد .

٥ – يضاف الماء المقطر ؟إلى الأنابيب حتى (٢٥) مل ، وتمزج بقلبها مرات عديدة .

٦ – يضبط جهاز الطيف على موجة (٤٣٠) ميللي ميكرون ، و ١٠٠ % من النفاذ على الشاهد . ثم نقرأ الكثافة الضوئية للمجهول (ك٢) والكثافة الضوئية للمعلوم (ك١) .

مقدار السكر في الدم في اللتر = $\frac{\text{ك}2}{\text{ك}1}$ X ٠،٢ X ٥ X ١٠٠٠ ملغ

مقدار السكر في الدم في اللتر = $\frac{\text{ك}2}{\text{ك}1}$ X ١ غ

٢ – جهاز ريفلومات Reflomat:

جهاز reflomat يستخدم لمعايرة السكر بوساطة تيار كهربائي (٢٢٠) واط ويمكن تحويله إلى (١١٠) واط ، ويتركب الجهاز من :

١ – مفتاح التشغيل .

٢ – دسك مرقم على الوجهين (الدم الكامل ، والمصل) .

٣ – مفتاح (Y).

٤ – مفتاح دلتا (Δ) .

٥ – مؤشر ضبط الجهاز .

٦ – حجرة ذات المزلاق بغطاء تحتوي على البقعة المضيئة .

٧ – مفتاح الدسك . شكل (٦٩) .

- طريقة المعايرة :

أ – ضبط الجهاز :

يتم تشغيل الجهاز من مفتاح التشغيل ويترك لمدة خمس دقائق ، يؤخذ بعدها الشريط دلتا ذو الوجه الأسود ويوضع بالحجرة ذات المزلاق (Δ) على الدسك المدرج مقابل السهم الأسود بوساطة مفتاح الدسك ، ثم ينظر إلى المقياس الصفري ، ويجب أن يشير إلى الصفر ، وإن لم يتم ذلك نضبطه بمفتاح الضبط دلتا .

ثم يزال الشريط دلتا بعد فتح الغطاء ويستبدل بشريط غير مستعمل من الأشرطة البيضاء ، ويتم إتباع الطريقة الوصوفة في الشريط الأسود . وبهذه الحالة يكون الجهاز جاهزاً للعمل .

ب – المعايرة :

١ – توضع نقطة كبيرة من الدم أو المصل أو المصورة المراد معايرة السكر فيها على الشريط الأبيض ويترك لمدة (٦٠) ثانية .

٢ – تمسح نقطة الدم بوساطة قطعة قطن جافة ، ثم يترك الشريط لمدة (٦٠) ثانية أخرى .

٣ – يوضع الشريط في الحجرة ذات المزلاق بإذ تكون فيها البقعة نحو الأسفل ويغلق الغطاء .

٤ – يتم تحريك مفتاح الدسك حتى تشير إبرة المقياس الصفري على الصفر ، عندها يتم قراءة الرقم المشار إليه بالسهم والموجود على الجهاز ،ويكون هو كمية السكر في الدم .

معايرة الغليكوز بطريقة الكيت .Glu :

يتم اجراء الاختبار على عينات الدم التي جمعت بعد الحصول على المصل مباشرة و ذلك بطريقة الكيت من شركة BioSystems و تقرأ النتائج بمقياس الطيف الضوئي و على موجة قدرها / 500 / نانو متر و تقدر النتائج بالمللي مول / ليتر.

يحوي الكيت المستخدم على :

- Reagent A : Phosphat 100Mmol/l, phenol 5 Mmol/l , glucose oxidase >10U/ml, Peroxidase>1U/ml, 4-aminoantipyrine 0.4 Mmol/l, PH7.5
- S: Standard : Glucose 100 mg/dl
- يتم اجراء الاختبار بأخذ ثلاث أنابيب و على الشكل التالي :

	أنبوب الناصع	أنبوب العياري	العينة
العياري	–	10 µl	–
العينة	–	–	10 µl
محلول A	1.00 ml	1.00 ml	1.00 ml

- نمزج جيداً و نترك الأنابيب في درجة حرارة الغرفة لمدة ١٠ دقائق
- نقرأ امتصاصية أنبوب العينة و العياري مقابل انبوب الناصع على الموجة ٥٠٠ نانو متر .
- الحساب يتم حسب المعادلة التالية :

$$\text{تركيز العينة} = \frac{\text{امتصاصية العينة}}{\text{امتصاصية العياري}} \times \text{تركيز العياري}$$

تركيز العياري = ٥,٥٥ ميللي مول / ليتر أو ١٠٠ مغ %

طريقة معايرة البيتا هيدروكسي بيوترات βHB :

يتم اجراء الاختبار على مصل الدم بطريقة الكيت من شركة RANDOX و على موجة طولها 340 نانومتر و بدرجة حرارة 37 درجة مئوية . و تقدر النتائج بالمللي مول / ليتر . يحوي الكيت على المحاليل التالية :

- كاشف R1a Buffer و يتألف من :
  - Tris Buffer 100 Mmol/l
  - EDTA 2 Mmol/l
  - Oxalic acid 20 Mmol/l
- انزيم R1b enzyme
- محلول عياري (1Mmol/l) Standard

تحضير محلول العمل (الكاشف)

يتم بمزج محتوى زجاجة واحدة من R1b مع /١٠/ مل من كاشف R1a ، إذ يبقى هذا الكاشف صالحاً للاستخدام لمدة /٧/ أيام على الدرجة /٢-٨/ مئوية

يتم اجراء الاختبار على الشكل التالي :

	أنبوب العياري	أنبوب العينة	الناصع
محلول العياري S	75 µl	–	–
العينة	–	75 µl	
ماء مقطر	–	–	75 µl
محلول العمل R	3.00 ml	3.00 ml	3.00 ml

- نمزج و نحضن على الدرجة ٣٧ درجة مئوية لمدة ٣٠ ثانية
- نأخذ القراءة الأولى على مقياس الطيف الضوئي .
- نقرأ بعد /١/ ، /٢/ ، /٣/ دقيقة ،
- نحدد المتوسط الحسابي للمقاييس المتغيرة لكل دقيقة و نستخدمها في الحساب الذي يتم على الشكل التالي :

$$\text{التركيز} = \frac{\text{المتوسط الحسابي لقراءة العينة}}{\text{المتوسط الحسابي لقراءة العياري}} \times \text{تركيز العياري}$$

تركيز العياري = 1 Mmol/l

معايرة الحموض الدهنية الحرة Non Esterified Fatty Acids (NEFAs) : تم إجراء الاختبار على مصل الدم بطريقة الكيت من شركة RANDOX و على موجة طولها 550 نانو متر و بدرجة حرارة 37 درجة مئوية Matsubara, C., et al 1983 و قدرت النتائج بالمللي مول / ليتر. و تتألف المحاليل من :

- R1a. Buffer : phosphate buffer 0.4 mol/l

  Magnesium Chloride 3 Mmol/l
- R1b. Enzyme
- R2a. Enzyme Diluent Phenoxyethanol
- R2b. Maleimide 10.6 Mmol/l
- R2c. Enzyme reagent
- Cal. Standard

يتم تحضير المحاليل كما يلي :

- نمزج محتوى الزجاجة R1b مع /١٠/ مل من محتوى R1a للحصول على R1 ، يبقى المزيج صالحاً للاستخدام لمدة /٥/ أيام على الدرجة /٢-٨/ مئوية .
- نمزج محتوى R2b مع محتوى R2a و عندما نتأكد من انحلال المزيج نضيف محتوى R2c ، و ذلك للحصول على محلول العمل R2 ، إذ يبقى المزيج صالحاً للاستخدام لمدة /٥/ أيام على الدرجة /٢-٨/ مئوية بعيداً عن الضوء .

و تم اجراء الاختبار على الشكل التالي :

	أنبوب الناصع	أنبوب العياري	العينة
ماء مقطر	50 µl	–	–
العياري	–	50 µl	
العينة	–	–	50 µl
محلول ١	1.00 ml	1.00 ml	1.00 ml

- نمزج و نحضن على الدرجة /٣٧/ درجة مئوية لمدة /١٠/ دقائق

محلول ٢	2.00 ml	2.00 ml	2.00 ml

- نمزج و نحضن على الدرجة /٣٧/ درجة مئوية لمدة /١٠/ دقائق .
- نقرأ امتصاصية العينة و العياري مقابل الأنبوب الناصع على الموجة ٥٥٠ نانو متر
- زمن القراءة بعد /١٠/ دقائق بالضبط
- يتم حساب تركيز العينة كما يلي :

$$\text{التركيز} = \frac{\text{قراءة العينة}}{\text{قراءة العياري}} \times \text{تركيز العياري}$$

- تركيز العياري = (1Mmol/l)
- يجب حساب تركيز العياري حسب المتوسط الحسابي لثلاثة أنابيب عيارية (منخفض – متوسط – مرتفع الكمية)

معايرة بعض الأنزيمات في مصل الدم

١- μ– GT (GGT) μ Glutamyltransferase :

يتم اجراء هذا الاختبار على مصل الدم بطريقة الكيت من شركة RANDOX و على موجة طولها 405 نانومتر و بدرجة حرارة 37 درجة مئوية و تقدر النتائج بالوحدة / ليتر .

ويتم اجراء الاختبار كما يلي :

- محلول R1 Substrate : Tris buffer 71.5 Mmol/l
  Glycylglycine 126Mmol/l
  L- μ - glutamyl-p-nitroanilide 4 Mmol/l
- طريقة العمل :
  - نضيف /٢,٠٠/ مل من محلول R1
  - نمزج ، و نقرأ امتصاصية العينة مباشرة على اعتبار الهواء
  - هو المحلول الصفري ، و نحضن على الدرجة /٣٧/ مئوية
- نعيد القراءة بعد ١،٢،٣ دقائق
- يتم حساب التركيز في العينة كما يلي :

$$\text{GGT U/L} = \frac{\text{A/min} \times \text{total assay vol (ml)} \times 1000}{\text{E} \times \text{light path (cm)} \times \text{sample vol (ml)}}$$

- إذ :
- A/min : متوسط تغير الامتصاص بالدقيقة
- total assay vol (ml) الحجم الكلي و يساوي /٢,٢/ مل
- 1000 عامل تحويل ١ مل إلى ليتر
- E : ٩,٩ سم٢ / ميكرو مول على الموجة ٤٠٥

- light path (cm) : و يساوي ١ سم
- sample vol. (ml) : حجم العينة و يساوي 0.2 ml

٢- (Aspartate aminotransferase) (AST) أو (Glutamate oxaloacetate transminase) (GO T) :

يتم إجراء هذا الاختبار على مصل الدم بطريقة الكيت من شركة RANDOX و على موجة قياس طولها /٣٤٠/ نانو متر، على الدرجة /٣٧/ مئوية و تقدر النتائج بالوحدة / الليتر ، و يتم اجراء الاختبار كما يلي :

- يتألف الكيت من محلول R1a و هو عبارة عن دارئ Buffer و L-aspartate و من محلول R1b و هو عبارة عن أنزيم Enzyme .
- نمزج كمية مناسبة /١٠/ مل من R1a مع محتوى R1b /١٠×١٠/ إذ يبقى المزيج صالحاً للاستخدام لمدة /١٤/ يوم على الدرجة /٢-٨/ مئوية
- نأخذ انبوب كوفيت /١/ سم يسمح بمرور الضوء و نضع فيه /٠,٢/ مل من العينة
- نضيف /٢/ مل من محلول العمل (R1a + R1b)
- نمزج المحلول و نقرأ بعد /١/ دقيقة على الموجة /٣٤٠/ نانو متر مقابل الهواء
- نعيد القراءة بعد /١-٢-٣/ دقيقة
- نحسب تركيز AST في العينة حسب المعادلة التالية :
  - AST = امتصاصية العينة × ١٧٤٦ على الموجة ٣٤٠ شريطة أن لا يزيد الفارق بين كل قياس و آخر /٠,١١/ على موجة /٣٤٠/

٣- alanine aminotransferase (ALT) أو

serumglutamic-pyruvic transaminase (SGPT) :

يتم اجراء هذا الاختبار باستخدام كيت من شركة SYRBIO يتضمن المحاليل التالية:

- R1 : Tris buffer 100 Mmol/l , L- Alanine 500 Mmol/l , 2- Oxoglutarate 15 Mmol/l

- R2 : NADH 0.18 Mmol/l , Lactate deshydrrogenase 2000U/ml

- يتم تحضير محلول العمل كما يأتي :
- يتم حل المركب R2 ب ١٢ مل من محلول R1 عبوة ١٠×١٢ مل ، يبقى محلول العمل ثابتاً لمدة ٣ أسابيع على الدرجة ٢-٨ مئوية
- طول الموجة ٣٤٠ نانو متر و الحرارة ٣٧ درجة مئوية
- صفر الجهاز على الهواء
- يتم اجراء الاختبار بأخذ انبوب كوفيت ١ سم و نضع فيه ٠,١ مل من العينة ثم نضيف ١,٠ مل من محلول العمل .
- نمزج و نحضن على الدرجة ٣٧ مئوية لمدة دقيقة واحدة ثم نقرأ امتصاصية العينة مقابل الهواء في الدقيقة ١،٢،٣
- طريقة الحساب : ALT / U/L = 1746×O.D/min

O.D/min = تبدل الكثافة الضوئية / الدقيقة

معايرة بعض عناصر مصل الدم بطريقة الكيت

١- الكالسيوم في الدم .Ca:

يتم اجراء هذا الاختبار على مصل الدم بطريقة الكيت من شركة ARCOMEX على موجة طولها 578 نانومتر و على الدرجة 37 درجة مئوية و تقدر النتائج بالميللي مول / ليتر .

يجرى الاختبار على الشكل التالي :

- نمزج المحلول R1 مع المحلول R2 بنسبة ١/١
- تستمر فعالية المحلول /٤/ ساعات فيما لو تم حفظه بعيداً عن الضوء
- طريقة العمل :

	العينة	العياري	الناصع
محلول عياري	–	20 µl	–
العينة	20 µl	–	–
محلول العمل A	2.0 ml	2.0 ml	2.0 ml

- نمزج الأنابيب و نتركها لمدة /١٠/ دقائق بدرجة حرارة الغرفة
- يتم القياس على الموجة /٥٧٨/ نانو متر
- يقرأ امتصاصية العينة و العياري مقابل الناصع خلال /٥٠/ دقيقة .
- يتم حساب تركيز الكالسيوم في العينة حسب المعادلة التالية :

$$\text{التركيز} = \frac{\text{قراءة العينة}}{\text{قراءة العياري}} \times \text{تركيز العياري}$$

تركيز المحلول القياسي = ١٠ مغ % – ٢,٥ ملي مول / ليتر

٢– الفوسفور اللاعضوي في الدم .P :

يتم اجراء هذا الاختبار على مصل الدم بطريقة الكيت من شركة ARCOMEX على موجة طولها 340 نانو متر و على الدرجة 25 – 20 درجة مئوية و تقدر النتائج بالمللي مول / ليتر .

يتم اجراء الاختبار كما يلي :

- يتم تحضير محلول العمل بمزج الكاشف الأول مع الثاني بنسبة ١/٥٠
- يترك محلول العمل لمدة خمس دقائق بدرجة حرارة الغرفة قبل الاستعمال .
- تستمر صلاحية محلول العمل لمدة /٤٨/ ساعة على الدرجة /٤–٨/ مئوية
- طريقة العمل

	العينة	العياري	الناصع
ماء مقطر	–	–	10 µl
محلول عياري	–	10 µl	–
العينة	10 µl	–	–
محلول العمل A	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml

- نمزج بشكل جيد و نترك الأنابيب لمدة خمس دقائق بدرجة حرارة الغرفة
- نقرأ امتصاصية العينة و العياري مقابل انبوب الناصع على موجة طولها /٣٤٠/ نانو متر
- طريقة الحساب حسب المعادلة التالية :

$$\text{التركيز} = \frac{\text{قراءة العينة}}{\text{قراءة العياري}} \times \text{تركيز العياري}$$

تركيز المحلول القياسي = ٥ مغ % – ١,٦ ملي مول / ليتر

الفصل الثاني
الصبغات الدموية

تعطي دراسة اللطاخة الدموية معلومات قيمة عن حالة الكريات الدموية الحمراء والبيضاء والصفيحات الدموية . غير أن هذه المعلومات تفقد أهميتها إذا لم تكن اللطاخة الدموية محضرة تحضيراً جيداً ومثبتة بالكحول الميتيلي مدة كافية وملون تلويناً جيداً .

ومن الصبغات المستعملة في تلوين اللطخات الدموية هي :

١ – صبغة غيمسا Giemsa stain:

- طريقة التحضير :

يضاف إلى (٣) غ بودرة غيمسا (٢٥٠) مل غليسيرين و (٢٥٠) مل كحول ميتلي مطلق ، ثم يرشح المحلول عبر ورق الترشيح . كما يوجد محلول صبغة غيمسا جاهزة . وعادة تستعمل الصبغة ممددة بنسبة $^{1}/_{10}$

٢ – صبغة رايت Wrights Stain:

طريقة التحضير :

١ – يوضع (٠،٣) غ بودرة (رايت) في هاون وتسحق جيداً ، ثم يضاف إليها (٣٠) مل غليسيرين نقطة نقطة مع المثابرة على مزجه مع البودرة .

٢ – يوضع الهاون في محم مائي أو جاف بدرجة (٣٧) م لمدة أسبوع ، مع التحريك اليومي .

٣ – ينقل محتوى الهاون إلى حوجلة سعة (١،٥ – ٢) ليتر ، ويضاف إليها ببطء مقدار ليتر واحد من الكحول الميتلي (خالٍ من الأسيتون) ويمزج جيداً ثم تغلق جيداً .

٤ – تترك الحوجلة في حرارة الغرفة لبضع أيام ، ثم ترشح الصبغة في زجاجة ملونة وتغلق جيداً إذ تصبح بذلك جاهزة للاستعمال .

- المحلول الدارئ :

يتألف من المحلولين التاليين :

- محلول (A) : ٩،١ غ KH_2PO_4

١٠٠٠ مل ماءً مقطراً

- محلول (B) : ١١،٩ غ $Na_2HPO_4, 2H_2O$

١٠٠٠ مل ماءً مقطراً

وللحصول على محلول ذي نسبة معينة من الحموضة (يعتر المحلول ذو الحموضة ٦،٤ – ٦،٨من أفضل المحاليل) يمكن إضافة مقدار معين من المحلول (A) ؟إلى مقدار معين من المحلول (B) حسب الجدول (١٤):

نسبة الحموضة PH	المحلول (A)	المحلول (B)	نسبة الحموضة PH	المحلول (A)	المحلول (B)
٥،٤	٩٧	٣	٦،٨	٥٠،٨	٤٩،٢
٥،٦	٩٥	٥	٧	٣٨،٩	٦١،١
٥،٨	٩٢،٢	٧،٨	٧،٢	٢٨	٧٢
٦	٨٨	١٢	٧،٤	١٩،٢	٨٠،٨
٦،٢	٨١	١٩	٧،٦	١٣	٨٧
٦،٤	٧٣	٢٧	٧،٨	٨،٥	٩١،٥
٦،٦	٦٣	٣٧	٨	٥،٥	٩٤،٥

يبين الجدول (١٤) : نسب التمديد في محلول (رايت) الدارئ

يحفظ المحلول الدارئ في درجة + ٤م ، ويمكن استخدامه مرات عدة . كما يمكن تحضير الماء المقطر الدارئ ، وذلك بتمديد (٥٠) مل من الدارئ الأصلي بالماء المقطر حتى الليتر ، إذ يستعمل في غسيل اللطخة الدموية لإزالة الصبغة .

٣-صبغة ليشمان Leishmans stain :

يتم تحضيرها بإذابة (٠،٢٥) غ بودرة ليشمان في (١٠٠) مل كحول ميتلي ، إما بالطريقة المذكورة عند تحضير صبغة (رايت) ، أو تتم بحل البودرة بالكحول الميتلي مستعينين بحرارة المحم المائي (٣٧) م لمدة (١٥) دقيقة ، و في كلا الطريقتين يتم ترشيح الصبغة بعد الانتهاء من عملية الذوبان الكامل للبودرة .

****