NBT Test

آزمایش NBT

۱- نام تست:

آزمایش احیای رنگ نیتروبلو تترا زولیوم(NBT-Reduction Test) به روش تحریکی (موسوم به آزمایش NBT)

۲- کاربرد: بررسی عملکرد فاگوسیت ها از نظر انفجار تنفسی (Resp. Burst)

کاربرد این تست در بررسی توانایی یا کفایت مرحله نهایی عمل فاگوسیتوز است.

مقدمه: گلبولهای سفید خون تشکیل شده از نوتروفیلها (حدوداً ۶۰درصد) لنفوسیتها (حدوداً ۳۵درصد) و مونوسیتها(تقریباً ۴درصد) و بازوفیلها ائوزینوفیل‌هاحدود ۱٪ (قریب یک درصد؛ که بازوفیلها را با رنگ آمیزی های هماتولوژی معمولی مثل گیمسا نمی‌بینیم مگر اینکه با رایت رنگ آمیز ی کنند.) از بین این سلولها، نوتروفیلها در برخورد با پاتوژن های معمولی مهم‌تر می‌باشند زیرا که اولاً آنها در واکنشهای فاز حاد التهابی زودتر از بقیه سلولها وارد عمل می‌شوند وثانیاً تعدادشان در نمونه خون بیشتر از سایر لکوسیت ها است و ثالثاً در هنگام نیاز، سریعتر از بقیه در مغز استخوان تولید می شوند وتعدادشان به فوریت بالا می‌رود.

مراحل اصلی فاگوسیتوز از این قرار است:

۱- **شیمیو تاکسی یا motion** – بو کشیدن و حرکت به سمت پاتوژن و حتی عبور از دیواره رگ که به دیاپدز (diapedesis) معروف است.ماکروفاژها پس ازتماس با میکروب فعال شده و TNFترشح میکنند که برروی سلول های اراف از جمله دیواره رگ اثر میگذاردوباعث بیان آنتی ژن های روی سطح سلول های دیواره رگ میشود که به آن هاملکول های چسبان می گویند.سلول ها(مثل نوتروفیل ومونوسیت) برای این آنتی ژن های بیان شده گیرنده دارند درنتیجه به این گیرنده ها متصل شده و طی دیاپدز وارد بافت میشوند.

۲- **اتصال یا adhesion** – از طریق واکنش بین رسپتور های سطح سلول با لیگاندها (مثلاً TLR با مولکولهای سطح باکتری)

۳- **بلعیدن(engulfment یا Ingestion)** – فروبردن ذرات میکروبی به درون سلول و ایجاد واکوئل‌هایی به نام فاگوزوم که با اندامک‌های لیزوزومی ترکیب شده و فاگولیزوزوم را می‌سازند.

۴- **هضم کردن (killing یا Digestion)** – اصلی ترین مرحله فاکوسیتوز محسوب می شود به نحوی که گاهی کتاب های ایمونولوژی کلمه " فاگوسیتوز" را استفاده می‌کنند و منظورشان همین مرحله‌ای باشد. مرحله هضم با تاثیر کردن دو سیستم آنزیمی در درون فاگولیزوزوم شکل می‌گیرد. یکی از این دو سیستم متشکل از آنزیم های هیدرولیتک - پروتئولیتیک (مثل لیزوزیم) می‌باشد و دیگری سیستم آنزیمی رادیکال ساز است (شامل:NADPH اکسیدار، میلوپراکسیداز دیسموتاز، سوپراکسیداز) که مورد بحث امروز ماست.

تذکر: در بسیاری کتاب‌ها این دو سیستم را به این صورت معرفی می‌کنند: ۱- سیستم هضم آنزیمی؛ ۲- سیستم واسطه‌های اکسیژن و نیتروژن و یا تقسیم بندی بصورت:۱- مکانیسم های کشتار وابسته به اکسیژن؛ ۲- مکانیسم‌های کشتار مستقل از اکسیژن.

بطور خلاصه این تست NBT برای تشخیص بیماری CGD (Chronic Granulomatous Disease) که یک نقص ارثی ایمنی ذاتی است کاربرد دارد که در ادامه توضیحات بیشتری درباره این بیماری داده خواهد شد.

۳- اساس تست:

تبدیل NBT (محلول و زرد) به فورمازان (نامحلول و آبی) در جریان انفجارتنفسی فاگوسیت های سالم

اساس تست هنوزبخوبی مشخص نیست ولی از آنجائیکه یکسری واکنشهای قوی اکسیداسیون و احیا در داخل نوتروفیلها به دنبال بلع مواد بیگانه رخ می‌دهد، بنظرمی‌رسد درجریان انفجار تنفسی و اکسیداسیون برخی مواد، NBT نیز که به رنگ زرد کمرنگ است در درون فاگولیزوزوم احیا شده و به ماده آبی پررنگ و نامحلول فورمازان مبدل می‌شود که درداخل فاگوسیتها (عمدتا نوتروفیلها) به صورت لکه های رنگی(رسوب سرمه‌ای) نمایان می شود. فاگوسیت های معیوب قادر به ایجاد رسوب رنگی نیستند.

NBT Test

۴- ملزومات و روش کار:

لوله آزمایش یا میکروتیوب پلاستیکی، سمپلر، متانل مطلق، لام، وسایل رنگ‌آمیزی خون، سایر موارد نام برده شده در ذیل:

الف- تهیه روش ساخت معرف‌های لازم: (PMA, NBT)

تقسیم بصورت حجم‌های مقسوم یک سی‌سی در منهای ۲۰ درجه سانتیگراد	**0.3% NBT in 0.34% (محلول مائی سوکروز)**	**Stock:**	**NBT=**
قبل از مصرف آماده شود.	**1:2 in PBS**	**Working :**	**NBT=**

تقسیم بصورت حجم‌های مقسوم ۵۰ لاندایی در منهای ۲۰ درجه سانتیگراد	**1mg/ml DMSO**	**Stock:**	**PMA=** (خطر سرطانزائی)
قبل از مصرف آماده شود.	**1:100 in PBS (phosphate Buffered Solution)**	**Working :**	**PMA=** (خطر سرطانزائی)

ب- طریقه انجام:

۱. برداشت ۱۰۰میکرو لیتر نمونه خون بیمار(همراه با ضد انعقاد EDTA شبیه خونگیری معمولی برای CBC) درون لوله می‌ریزیم.
۲. افزودن ۱۰۰میکرولیتر محلول N.B.T
۳. افزودن ۱۰۰میکرو لیتر محلول P.M.A (Phorbol Myristate Acetate) بعنوان محرک که نوتروفیل ها را وادار به فعالیت بیشتر می کند و البته به سرعت انجام آزمایش نیز کمک می‌کند و جواب های دقیق تری به دست می دهد. در برخی روش‌ها مقدار معینی لاتکس یا LPS بعنوان محرک به محلول رنگی NBT می افزایند.
۴. انکوباسیون لوله در ۳۷ درجه سانتیگراد (ترجیحاً) یا دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه.
۵. تهیه اسمیر از نمونه، فیکساسیون و رنگ آمیزی با رنگ گیمسا یا رایت (یا هریک از رنگ‌های رومانوفسکی)
۶. بررسی لام زیر میکروسکوپ (یالام نئوبار)

(نکته: می توان در روش کار مواد مصرفی را نصف کرد. و زمان از ۲۰ دقیقه به ۳۰ دقیقه تغییر داد.)

نکته۱) برای افزایش لکوسیت های نمونه،سانتریفیوژ ملایم با دور کم انجام میدهیم.در سرعت کم بافی کوت تشکیل نمیشود و باید از قسمت فوقانی هماتوکریت لام تهیه می‌کنیم.

نکته۲) رنگ گیمسا با آب همراه است در نتیجه RBC و WBC را دژنره می‌کند پس به فیکس نیاز دارد. فیکس کردن به دو روش انجام میشود:۱)اتانول،۲)حرارت. در این تست ما به سلول زنده نیاز داریم و به دلیل اینکه حرارت سلول را می‌کشد در نتیجه از اتانول برای فیکس استفاده می‌کنیم.

نکته۳) برای اینکه رسوب رنگ در لام تشکیل نشود باید از رنگ تازه استفاده شود و یا رنگ رسوب دار را از کاغذ صافی بگذرانیم.

NBT Test

۵- نحوه گزارش نتایج:

در این مرحله سلول‌های ماکروفاژ و نوتروفیل (فاگوسیت‌ها) را می‌شماریم و درصد می‌گیریم .در بخش عملی فعالیت امروزتان حداقل تعداد ۲۰۰ عدد نوتروفیل را در زیر میکروسکوپ از نظر رسوبات آبی تیره فورمازان بررسی نموده و نتیجه را به درصد درگزارش کار امروز خود (همراه با شماره لام مجهول) اعلام نمایید.

$$\text{شاخص فعالیت انفجاری}\ (\boldsymbol{Activity\ Index}) = \frac{\text{تعداد فاگوسیت های حاوی رسوب رنگی}}{\text{کل نوتروفیل ها و مونوسیت های شمارش شده}} \times \mathbf{100}$$

۶- تفسیر نتایج:

باید توجه داشت که شدت بیماری بستگی به نوع موتاسیون و شدت نقص ژنتیکی دارد.

اگر اندیس محاسبه بیش از ۹۵ ٪ شمارش داشتیم این فرد سالم است.

اگر اندیس محاسبه از ۸۵٪ تا ۹۵٪باشد، فرد مشکوک است. بهتر است تکرار شود یا آزمایش روی نمونه مادر هم (بعنوان کریر احتمالی) انجام گیرد.

اگر اندیس محاسبه بین ۱۰٪ تا ۸۵٪ باشد معمولاً فرد ناقل است. مادران کودکان مبتلا نیز چنین وضعی دارند مشروط به آنکه بیماری از نوع ژنتیکی و آن هم وابسته به X باشد.

اگر اندیس محاسبه کمتر از ۱۰٪ باشد فرد بیمار است.

۷- اهمیت بالینی:

اهمیت تولید واسطه های فعال اکسیژن در نوتروفیل‌ها، در بیماری گرانولوماتوز مزمن (Chronic Granulomatous Disease) مشخص می‌شود. در این بیماری که اولین بار در سال ۱۹۷۵ معرفی شد در هنگام ایجاد عفونت، نوتروفیل ها از رگ خارج می‌شوند و میکروب‌ها را می‌بلعند اما نمی‌توانند بطور کامل آنها را از بین ببرند. لذا بعد از مدتی سلول می‌میرد اما میکروب درون آن زنده است و همین موجب شیمیوتاکسی بیشتر و بیشتر لکوسیت‌ها به منطقه است به طوریکه با گذشت زمان، حضور منوسیت‌ها و لنفوسیت‌های B وT هم به منطقه پدیدار می‌شود و آبسه‌های چرکی و کانون‌های عفونی به سختی بهبود می‌یابند و چنانچه محل ضایعه را (اعم از بیوپسی پوست یا طحال یا بیوپسی عقده‌های لنفاوی متورم موسوم به لنفادنوپاتی را) زیر میکروسکوپ ببینیم مثل مناطق دایره آبی پررنگ (رنگ هماتوکسیلین به شدت توسط هسته لکوسیتها جذب می‌شود) مشاهده می‌شود که همان کانون‌های متعددگرانولومی هستند. شخص بیمار تنها متکی به دفنسین‌ها و آنزیم‌های پروتئولیتیک درون لیزوزم‌هاست و به علت عدم توانایی نوتروفیل‌ها در تولید واسطه‌های فعال اکسیژن، مبتلا به انواع عفونت‌های باکتریایی و قارچی راجعه می‌شود. بیماری CGD در حدود دو سوم موارد (۷۰درصد) الگوی توارثی وابسته به X مغلوب و در یک سوم باقیمانده (حدود ۳۰٪) الگوی اتوزومال مغلوب دارد. بیماری معمولاً در اوایل کودکی و به دلیل وجود عفونت‌های باکتریایی درون سلولی و قارچی راجعه تشخیص داده می‌شود. از آنجا که در این بیماری فاگوسیت‌ها قادر به کنترل عفونت نمی‌باشند، لذا تحریک مزمن پاسخ‌های ایمنی سلولی و در نتیجه، فعال شدن مداوم ماکروفاژها، منجر به ایجاد گرانولوما می‌شود. ژن معیوب را می‌توان با روش‌های مولکولی (PCR) تشخیص داد که عمدتاً مربوط به ژن‌های PHOX می‌باشد. در ۵۰٪ موارد، ژن این آنزیم بر روی کروموزوم ۱۶ و۷ و ۱ یافت می‌شوند.

PHOX نام مخفف آنزیم فاگوسیت اکسیداز یا NADPH اکسیداز است که به صورت کمپلکس آنزیمی است و مهمترین عملکرد آن احیای اکسیژن مولکولی و تبدیل آن به واسطه فعال اکسیژن نظیر رادیکال‌های سوپراکسید است. این مجموعه آنزیم در غشای اندامک‌های فاگولیزوزومی واقع است.

بیماری CGD به علت جهش در یکی از چهار جزء سیستم NADPH اکسیداز ($gp91^{phox}$، $p67^{phox}$، $p47^{phox}$، $p22^{phox}$) ایجاد می‌شود.

کروموزوم	۱۶	۷	۱(یک)	X
نام پروتئین معیوب	P22	P47	P67	P91
درصد(٪)	۵٪	۳۰٪	۵٪	۶۰٪

NBT Test

البته اکثر بیماران مبتلا به CGD به علت وجود این نقص در فاگوسیت‌ها با آنتی بیوتیک زنده می‌مانند؛ ولی نه دائماً زیرا مصرف مداوم آنتی‌بیوتیک باعث ایجاد مقاومت می‌شود در نتیجه یک تا دو هفته مصرف را قطع می‌کنند و سپس دوباره شروع می‌کنند. اگر در حین قطع دارو عفونتی پیدا شد یا تست ESR انجام دادند و التهاب وجود داشت و یا علائمی داشتند دارو را زودتر شروع می‌کنند که ممکن است کوتریموکسازول یا داروی آنتی‌بیوتیک قوی‌تری باشد (کوتریموکسازول آنتی بیوتیک زمینه است یعنی برای پروفیلاکسی استفاده می‌شود.)

اما این بیماران مبتلا به CGD صورت‌های پر جوش و پوست دارای جوشگاه‌های متعدد دارند. این بیماران به ویژه در مقابل باکتری‌های کاتالاز مثبت ناتوانند زیرا:

۱. این نوع باکتری‌ها توسط آنزیم کاتالاز خود، مقادیر اندک آب اکسیژنه موجود را هم تجزیه می‌کنند و در برابر سلول‌های فاگوسیت مقاومت می‌کنند. در حالیکه عفونت با میکروب‌های کاتالاز منفی در بیماران CGD بهتر کنترل می‌شود.
۲. باکتری‌ها در شرایط in vivo در جریان متابولیسم خودشان در هنگام تکثیر در بافت و محیط بسته H2O2 تولید کرده و می‌میرند ولی کاتالاز مثبت‌ها به دلیل داشتن این آنزیم متابولیت‌های سمی خود را از بین می‌برند و در نتیجه پایداری بیشتری دارند.

$$H_2O_2 \xrightleftharpoons{\text{کاتالاز}} H_2O + \tfrac{1}{2} O_2$$

سوپراکسید دیسموتاز

میکروب‌هایی که عموماً از نمونه افراد CGDجدا می‌شود عبارتنداز:

الف)باکتری های گرم مثبت (استافیلوکوک ها: S.aureus, S.epidermidis)

ب)باکتری های گرم منفی (مثل Burkholderia Sepatia, seratia marscesence)

ج)قارچ {آسپرژیلوس فومیکاتوس و کاندیدا (توانایی تجزیه H2O2 را دارد.)}.

علاوه بر پوست و طحال و کبد، ریه این بیماران نیز به سرعت عفونی می‌شود. معمولاً در ریه این بیماران یک توپ قارچی درست می‌شود و با سی‌تی‌اسکن قابل تشخیص است(فونگوس بال). ریه بیماران CGD پر از کانون‌های عفونی خصوصاً بعضی قارچ‌هاست.

نکته۱) در بیماران CGD آبسه در وهله اول در ریه و سپس در دستگاه گوارش و پوست به وجود می‌آید. حتی ممکن است گرانولوما سبب انسداد روده شود؛ اما ضایعات پوستی زودتر در معرض چشم والدین و پزشک قرار می‌گیرد و جلب توجه می‌کند.

نکته۲) بیماران CGD معمولاً G6PDشان هم مختل است.

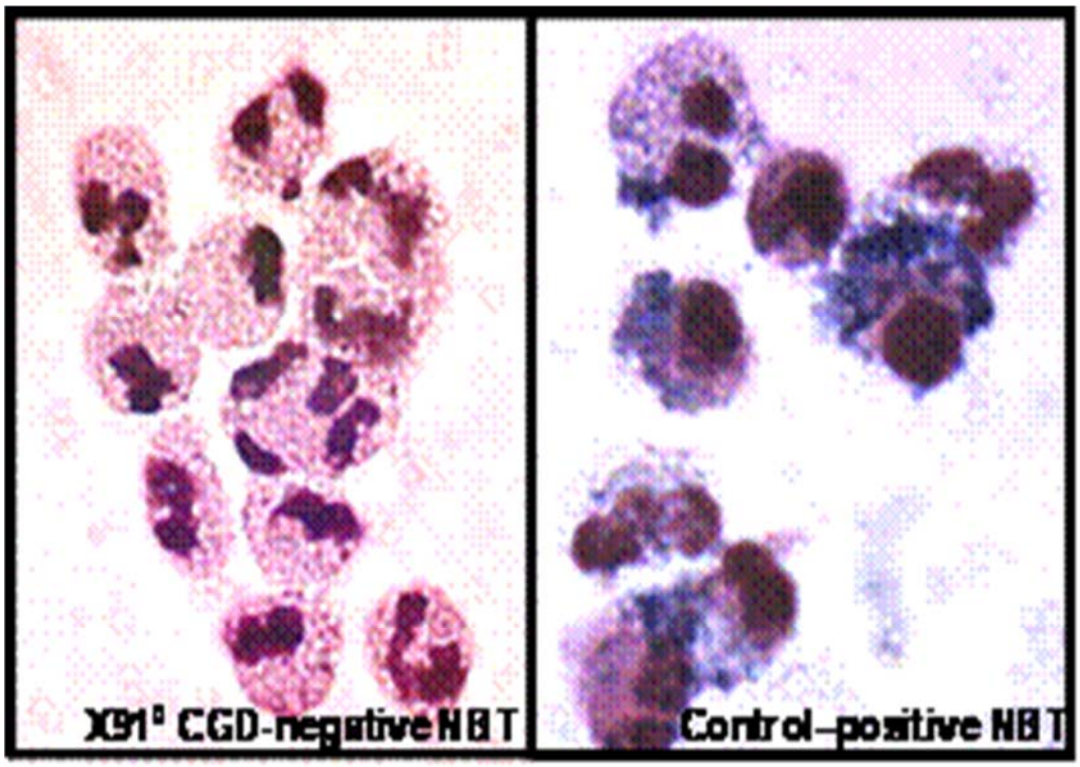
در تولید مواد ضد میکروبی مسیر وابسته به اکسیژن معمولاً یون‌های هالیدی که در راس آن‌ها کلر است مورد استفاده قرار می‌گیرد و محصولی مثلHCLO که حکم وایتکس را دارد تولید می‌شود.

رادیکال های آزاد می‌توانند پروتئین را دناتوره کرده و آنزیم‌های باکتری را مختل کنند.

$$O_2 \xrightarrow{\text{Phox (NADPH Oxidase)}} O^- \xrightarrow{\text{SOD}} H_2O_2 \xrightarrow{\text{Myeloperoxidase}} HCLO\ (CLO^-)$$

Reactive Oxygen Substance (Intermediate) [ROS or ROI]

NBT Test



NBT reduction test

موقعیت تست در بین سایر تست‌های مشابه و مرتبط (جایگاه بین اقران):

در سیستم ایمنی تطبیقی نقص‌های ایمنی عمدتاً شامل:

۱- نقص سلولهای B: کاهش ایمنوگلوبولین IgM-IgA-IgG

۲- نقص سلولهای T: مثلاً در ایدز یا در نشانگان دی-جرج

در سیستم ایمنی ذاتی نقص‌های ایمنی عمدتاً شامل:

۳- اختلال در پلی‌مرفونوکلئرها و ماکروفاژها: نقص کمی (کاهش تعداد یا حتی افزایش) و نقص کیفی (عملکرد و مرفولوژی)

۴- نقص کمپلمان

این آزمایش امروز ما در مورد نقص عملکردفاگوسیت‌ها (نوتروفیل‌ها) بحث می‌کند.

احتمال دارد سلول‌های فاگوسیت کننده بدن در هر یک از مراحل چهار گانه فاگوسیتوز دچار نقص شوند و قادر نباشند در مواجهه با پاتوژنها بخوبی ادای وظیفه کنند. برای کشف این حالت‌ها، تست های مختلفی در آزمایشگاه قابل انجام است که بطور خلاصه آنها را مرور می‌کنیم.

۱- تست برای ارزیابی مرحله حرکت هدفمند:

به بیان خیلی ساده یک کاغذ صافی قطور را انتخاب و به یک طرف آن کمی لیپوپلی‌ساکارید(LPS) مالیده و در سمت دیگر آن نوتروفیلهای بیمار را قرار داده اگر این لوکوسیتها قدرت حرکت داشته باشند در داخل کاغذ نفوذ کرده و بعد از گذشت حدود دو ساعت آنهارا در زیر میکروسکوپ نگاه می‌کنیم و میزان پیشرفت (بر حسب میکرومتر به کمک پیچهای فوکوس میکروسکوپ) گزارش می‌شود.

وضعیت نامطلوب در حالتی به نام Lazy Leukocyte Syndrome دیده می‌شود. میزان Migration و مهاجرت سلولی را می‌توان در لوله‌های موئینه نیز اندازه گیری کرد.

Rebucks skin window: نوعی تست کموتاکسی In vivo است. جهت ارزیابی فراخوانی گلبول‌های سفید بخصوص لکوسیت‌های چندهسته‌ایی (PMN) به محل التهاب در بدن استفاده می‌شود. جهت انجام این تست یک خراش سطحی روی پوست ایجادکرده و لاملی را رویش قرار می‌دهیم. سلول‌های التهابی پس از رسیدن به محل به این لامل می‌چسبند که می‌توان آنها را رنگ‌آمیزی و شمارش کرد.

۲- تست برای ارزیابی مرحله اتصال: (دراینجا فقط بررسی توانائی اتصال به دیواره رگ‌ها وآمادگی برای مهاجرت)

ارتباط هر گلبول سفید با محیط خارج خود صرفاً از طریق رسپتورها صورت می‌گیرد. لکوسیتها به وسیله پذیرنده‌ها و مولکولهای چسبان که بر سطح خود دارند حضور کموکاین‌ها را احساس می‌کنند با همین ابزار گیرنده یا لیگاند خود که بر روی سلول‌های رگی و برخی سلول‌های دیگر وجود دارد می‌چسبند و حتی به کمک همین نوع رسپتورهاست (مثل TLR یا گیرنده‌های اوپسونینی FCR و CR) که به باکتری‌ها متصل می شوند. به کمک فلوسیتومتری می‌توان مارکرهای چسبان سطح لوکوسیتها را ارزیابی کرد. در یک بیماری بنام LAD یا نقص مولکولهای چسبان لکوسیتی(Leukocyte Adhesion Deficiency)، به دنبال عفونت تعداد نوتروفیل‌های خون محیطی بیمار خیلی افزایش می یابد (که در آزمایش CBC مشخص می‌شود مثلاً WBC=۲۰۰۰۰ و PMN=٪۹۰) ولی این لکوسیت‌ها به دلیل نقص در اتصال نمی‌توانند به دیواره رگ‌ها بچسبند یا از عروق خارج شده و به موضع عفونت برسند (لذا این بیماران جوش‌های بدنشان فاقد چرک است و هیچوقت آبسه تشکیل نمی‌دهند و حتی در دوران نوزادی، بند نافشان دیر می‌افتد و...).

برای تشخیص قطعی LAD بررسی‌های ژنی لازم است که با تست‌هایی مثل PCR در آزمایشگاه‌های ایمونولوژی قابل انجام است.

۳- تست برای ارزیابی مرحله بلع (engulfment) :

بطور مختصر، در این آزمایش، قدرت بلع مخمرها (مثل کاندیدا) یا باکتریهای درشت و قابل مشاهده زیر میکروسکوپ (مثل استاف) توسط لوکوسیتهای بیمار بررسی می‌شود که طی آن اندکی شیرابه میکربی را با خون تازه بیمار مخلوط کرده و به مدت دو ساعت در ۳۷درجه سانتی گراد قرار می‌دهیم و سپس اسمیر تهیه کرده و زیر میکروسکوپ، اندیس فاگوسیتوز (مقدار P.I.) را می‌سنجیم یعنی معلوم می‌کنیم که چند درصد از میکروارگانیسم ها آزادند و چند درصد از آنها داخل سلول هستند یا دست کم به غشاء فاگوسیت چسبیده اند.

۴- تست برای مرحله کشتن میکروبها(Digestion):

باید دانست که عملیات کشتن ارگانیسم‌ها و سلول‌های غریبه به دو صورت است:

۱- کشتن خارج سلولی (مثل نحوه رفتار CTL و NK) که طی آن فقط تماس سلولی صورت می‌گیرد.

۲- کشتن داخل سلولی که مستلزم فروبردن و خوردن سلول یا عامل مهاجم است و فاگوسیتوز نام دارد. در این مورد ارزیابی قدرت کشتار مرحله چهارم فاگوسیتوز را به دوصورت می سنجیم:

الف) تست کمی (Quantitative)

ب) تست نیمه کمی، کیفی (Qualitative)

۴- الف) تست‌های کمی:

۱- با فلوسیتومتری و با استفاده از رنگ DHR (Di Hydro Rhodamine) انجام می‌شود که یک رنگ فلوئورسنت و قابل برداشت توسط سلولها ست که اگر سلول های خون بیمار را به دستگاه بدهیم شدت رنگ را با گروه کنترل مقایسه می‌کند.

۲- تست رنگ نیترو بلوتترازولیوم به روش اسپکتروفوتومتری که طی آن بعد از انکوباسیون سلولهای بیمار با رنگ NBT، نمونه خون را شستشو داده و گلبول‌های سفید را ته نشین می‌کنیم و سپس رنگ آبی جامد فورمازان که در داخل نوتروفیلها رسوب کرده است را در محلولی حل می‌کنیم. بعد داخل دستگاه اسپکتروفوتومتر قرار می‌دهیم و با کنترل نرمال مقایسه می‌کنیم.

۴- ب) تست‌های کیفی:

مقدار مشخصی از باکتری را روی خون بیمار می‌ریزیم و به مدت ۴ تا ۶ ساعت انکوبه می‌کنیم و بعد از آن به مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت در محیط آگار مناسب کشت داده و سپس شمارش تعداد کلنی را انجام می‌دهیم و نتیجه را با کنترل نرمال قیاس می‌کنیم؛ که اگر تعداد کلنی کم باشد خوبست یعنی نوتروفیلها باکتری‌ها را از بین برده‌اند. و همان بحث امروز و آزمایش مورد نظر ما یعنی NBT اسلایدی است.

تذکر: این تست‌ها بیشتر روی اطفال انجام می‌شود زیرا آنها زودتر بیماری‌های ژنتیکی نقص ایمنی را از خود نشان می‌دهند.

۵- برای بررسی بیماری‌هایی مثل LAD و CGD می توان از تکنیک‌های PCR برای تشخیص ژن‌های بیماری بهره برد.