جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

دراسة مقارنة بين بعض التقنيات المناعية والجزيئية للتحري عن فايروس المضخم للخلايا في المرضى المصابين بالفشل الكلوي في محافظة ديالى

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

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

من قبل الطالبة

شهد شاكر محمود الشيخلي

بكالوريوس علوم حياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى 2014

بأشراف

أ.د عباس عبود فرحان الدليمي

أ.د محمد عبد الدايم صالح

1438 هـ

2017م

1-1 المقدمة Introduction

يعدُ فايروس المضخم للخلايا cytomegalovirus (CMV) هو أحد الفايروسات الذي يعود الى عائلة الهربس.يحتوي هذا الفايروس على شبكة من حامض نووي منقوص الأوكسجين (DNA) ومحاط بكابسد capsid وغلاف غني بالدهون الفوسفاتية phospholipid، وبالرغم من أكثر الأصابات بهذا الفايروس تكون بدون أعراض لكن هنالك بعض المرضى تكون حياتهم في خطر نتيجة العدوى بهذا الفايروس على مدى بعيد إذ يصيب هذا الفايروس أي خلية حية في الجسم (william وأخرون ، 2008).

هذا الفيروس ممكن أن ينتقل من شخص إلى آخر بطرائق عديدة ومختلفة وكُلّها تتطلب ألتماس مباشر وقريب مع المواد التي تحمل الفايروس ،هنالك فترة حضانة للفايروس تتراوح من 4–8 أسابيع في الأطفال والبالغين بعد التعرض للفايروس ،يسبب هذا الفايروس عدوى جهازية شاملة systemic infection إذ تم عزل هذا النوع من الفايروسات من الرئة lung ،الكبد liver، المرئ esophagus ،القولون colon ، الكلى kidneys ،خلايا التائية والبائية T and B lymphocytes ،مثل كل فايروسات الهربس فأنه يسبب التهابات كامنة Inpparent Infection (Brooks وآخرون ، 2010) .تحدث الأصابة بفيروس CMV في الأشخاص المنقوصي المناعة Immunocompromised ومتلقي الزرع transpland recipients والمرضى الذين هم في حاجة إلى نقل دم بشكل متكرر ،وتشمل عوامل العدوى الأولية لهذا الفايروس هي نقل الدم (كعلاج عوامل التخثر...الخ) ،وحالات غسيل الكلى المتكرر(Trkulic وآخرون ،2000) وقد تبين أن الأنتشار المصلي للعدوى بهذا الفايروس هو الأعلى في أمريكا الجنوبية وأفريقيا واسيا، في حين أنه ادنى مستوى في بلدان أوربا الغربية والولايات المتحدة

(Cannon وآخرون ، 2010) في البلدان المتقدمة حوالي 70%من البالغين لديهم عدوى CMV كامنه عديمة الأعراض ويمكن اعادة تنشيطه إذا أصبح الفرد مثبط المناعة (Immunosuppressed) ،فايروس المضخم للخلايا هو الأكثر شيوعا بعد عمليات زرع الكلى (Wong ، 2006) .

يُعدً الفشل الكلوي RF (Renal Failure) حالة تكون فيها الكلى غير قادرة على أزالة النواتج النهائية للأيض من الدم وتنظيم السوائل والألكتروليات وتوازن درجة الحموضة PH في السوائل الخارج خلوية extracellure fluids (Ricci واخرون ، 2012) .ممكن إن يحدث هذا الفشل نتيجة ألتهاب الكلى Kidney Inflammation ، أمراض جهازية Systemic Disease أو ضرر في المسالك البولية Urologic Defects ،يكون الفشل الكلوي كأضطراب حاد Acaute أو مزمن Chronic ، ويُعدً تراكم الفضلات النتروجينية Nitrogenous Wastes هو العلامة أو المؤشر المبكر للفشل الكلوي وهذه غالبا ماتحدث قبل اي اعراض آخرى ، وتُعدً اليوريا Urea هي واحدة من الفضلات النتروجينية الأولى التي تتراكم في الدم . إذ يصبح مستوى اليوريا مرتفع على نحو متزايد بتقدم مرحلة الفشل الكلوي ويكون التركيز الطبيعي لليوريا في البلازما هو عادة مايكون اقل من 20 mg/dl وفي حالات الفشل الكلوي يرتفع هذا المستوى إلى أعلى ممكن ان يصل إلى 800 mg/dl (Katzung وBertram ، 2007).

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مركز ابن سينا لغسيل الكلى في مستشفى بعقوبة التعليمي ومختبر الصحة العامة في محافظة ديالى خلال المدة 2016/9/1 الى 2017/3/1 . هدفت الدراسة إلى تحديد العلاقة بين مرض الفشل الكلوي وفيروس المضخم للخلايا البشري وأجراء مقارنه بين التقنيات المناعية والجزيئية في تشخيص هذا الفيروس وتقييم بعض المؤشرات الكيموحيوية لمصول عينات الدراسة ومقارنتها مع عينات الأصحاء .تضمنت الدراسة تحديد موجبية الأضداد النوعية IgG و IgM بإستخدام تقنية الأليزا ELISA ،بالأضافة إلى تشخيص الفيروس بإستخدام تقنية الكاسيت cassette ومقارنة نتائج التشخيص المناعي للفيروس مع التقنية الجزيئية (PCR) .

تم جمع70 عينة دم من مرضى الفشل الكلوي بعد التشخيص من قبل الطبيب الأخصائي في مركز ابن سينا لغسيل الكلى بحسب المعايير المعتمدة من قبل منظمة الصحة العالمية لتشخيص العجز الكلوي ،إذ بلغ عدد الذكور (45) وبنسبة (64.3%) ،وعدد الأناث (25) وبنسبة (35.7%) ضمن مدى عمري يتراوح (6–86)سنة ،وتم أخذ (20)عينة دم من اشخاص اصحاء ظاهريا من العيادة الأستشارية التابعة لمستشفى بعقوبة التعليمي تم اعتمادها كمجموعة سيطرة .إذ بلغ عدد الذكور (2) وعدد الأناث (18) ضمن مدى عمري يتراوح (15–63) سنة وتم ملئ استمارة الأستبيان وارفقت في الملاحق .

أظهرت نتائج أختبار الأليزا ELISA إن نسبة الأصابة بفيروس CMV للجسم المضاد صنف IgG هي (35.7%) وبعدد (25) أما الجسم المضاد صنف IgM هي (7.1%) وبعدد (5). وإن نسبة الأصابة في الذكور للجسم المضاد IgG (56%) وفي الأناث (44%) مع عدم وجود

2-1 أهداف الدراسة Aims of study:

تهدف الدراسة الحالية للوصول إلى أفضل التقنيات المختبرية التشخيصية والتي يمكن إستخدامها والأعتماد عليها في الحصول على التشخيص الدقيق للفيروس المضخم للخلايا لدى المرضى المصابين بالعجز الكلوي وعليه فأن محاور الدراسة تتضمن الآتي:-

1-تقنية الأشرطة (الكاسيت) cassette cytomegalovirus.

2- تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR (Polemerase Chain Reaction).

3- تقنية الأليزا ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

4- تحديد الأنتشار المصلي للضد المناعي IgG و IgM .

5- تحديد بعض المؤشرات الكيميائية وعلاقتها بأمراض الكلى