وزارة التعليم العالي والبحث العلميّ
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

الكشف المستضدي والجزيئي عن بعض الفيروسات المعوية المنقولة عن طريق مياه الصرف الصحي

أطروحة مقدمة

إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة

من قبل الطالب

عبدالقادر يحيى حمد العزاوي

بكالوريوس علوم حياة، كليّة التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى/ 2005

ماجستير علوم حياة/ كليّة التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى/ 2012

بإشراف

أ.د. عبدالرزاق شفيق حسن

أ.م.د. نادرة سلمان محمد

1444هـ

2022 م

1- المقدمة Introduction

تُعدُّ النزلة المعوية أو ما يعرف بالتهاب المعدة والأمعاء Gastroenteritis من الأمراض الخطيرة والواسعة الانتشار في مختلف بلدان العالم، ولاسِيَّمَا بين الأطفال في الدول النامية (Arowolo وآخرون، 2019)، ويُعَدُّ الإسهال الفيروسي Viral Diarrhea شديد العدوى ويمكن أَنْ يحتوي براز الشخص المصاب على أكثر من 10 تريليونات من الجسيمات المعدية Infection particles لكل 100غرام، تتراوح الجرعة التي يمكن أَنْ تسبب الإصابة بالمرض بين 10–100 جسيم فيروسي لكُلّ سنتمتر مكعب، ولما كان الشخص المصاب بالإسهال يطرح كمية كبيرة من الفيروسات 10–100 جسيم لكُلّ سنتمتر مكعب، فإنَّ هذه الجرعة يمكن أَنْ تكتسب بسهولة عن طريق الأيادي أو الأدوات الملوثة (Hall وآخرون، 2013).

يمثل الأطفال دون سن الخامسة من العمر نحو الثلث (33.3%) من الوفيات الناجمة عن التهاب المعدة والأمعاء المنقولة عن طريق الأغذية والمياه والأيادي الملوثة بالمسببات المرضية، ولاسِيَّمَا الجرثومية والفيروسية منها (Al-Ameedi وAl-Amar، 2015). سجل في عام 2011 (1.7) مليار إصابة بالتهاب المعدة والأمعاء، ووفاة (700) ألف طفل أعمارهم دون سن الخامسة (Prado وآخرون، 2014). في عام 2015 كان هناك (2) مليار إصابة بالتهاب المعدة والأمعاء أدت إلى (1.3) مليون حالة وفاة كان الأطفال دون سن الخامسة من العمر وسكان الدول النامية الأكثر تضررًا من المرض (Sattar وآخرون، 2018؛ Gonzalez وآخرون، 2008).

أثبتت البحوث والدراسات السابقة أَنَّ طفلًا واحدًا من مجموع 12 طفلًا يموت قبل سن الخامسة وذلك ضمن إحصائية سنوية 10.8 مليون حالة وفاة بسن الطفولة 70% منها بين الأطفال الرضع (Benmessaoud وآخرون، 2015).

تتعدد مسببات التهاب المعدة والأمعاء فمنها الجرثومي Microbial كالذي تسببه الجراثيم المعوية مثل: جرثومة *Campylobacter* spp و*Shigella* spp التي تسبب مرض الزحار العصوي Bacillary Dysentery، وجرثومة *Vibrio cholera*، وجرثومة السالمونيلا *Salmonella* spp، ومنها الفيروسي viral مثل الفيروسات العجلية Rotavirus والفيروسات النَّجمية Astroviruses والفيروسات الغدية Adenovirus وفيروسات النورو Noroviruses، فضلًا عن المسببات الطفيلية وأبرزها الأميبا الحالة للنسيج *Entamoeba histolytica* والجيارديا *Giardia lamblia* والخمائر مثل *Candida albicans* (Harada وآخرون، 2009). تختلف هذه المسببات في طريقة أحداثها للمرض وشدّة الأعراض المرضية المصاحبة لالتهاب المعدة والأمعاء عند الإصابة بمسبب مرضي معين كذلك عند اشتراك أكثر من مسبب مرضي واحد في إحداث الإصابة (Lan، 2009؛ Freedman وآخرون، 2015)، إنَّ التهاب المعدة والأمعاء يتفاوت في خطورته بين الاعتدال إلى الشدّة ويتميز بإسهال مائي وتقيؤ وحمى وغالبا ما يؤدي إلى الجفاف (Banyai وآخرون، 2018). في حالات أخرى قد تتحول بعض الأحياء المجهرية التي تشكل النبيت الطبيعي للأمعاء Intestinal normal flora إلى مسببات مرضية انتهازية عند وجودها في مواقع مختلفة عن أماكن وجودها الطبيعي في الجسم، أو زيادة نسبتها عن الحدّ الطبيعي نتيجة تناول عقار معين أو وجود إحدى العوامل المثبطة للمناعة مِمَّا يجعل هذه الأحياء المجهرية مسببات مرضية انتهازية Opportunistic (Verheyen وآخرون، 2009).

تُعدُّ الفيروسات السبب الأكثر شيوعًا لالتهاب المعدة والأمعاء Gastroenteritis، وتحدث العدوى بالفيروسات التي تسبب التهاب المعدة والأمعاء بوساطة العدوى الفموية عن طريق تناول الأغذية والمياه الملوثة (Hamza وآخرون، 2009، Lopez وArias، 2006).

تُعدُّ الفيروسات العجلية Rotaviruses واحدًا من أَبرز مسببات التهاب المعدة والأمعاء في بلدان العالم كافة، إذ تتسبب الفيروسات العجلية وحدها في حدوث نحو 139 مليون إصابة تقريبًا 40% من مرض التهاب المعدة والأمعاء بين الأطفال الراقدين في المستشفى سنويًا (Sattar وآخرون، 2018). وفي محافظة ديالى وجد أَنَّ معدل الإصابة بالفيروسات العجلية Rotaviruses لدى الأطفال المصابين بالإسهال الحاد كان 20.3% وكان أعلى معدل بين الأطفال دون سن الخامسة (Hasan وآخرون، 2011). وتُعَدُّ فيروسات النورو واحدًا من أبرز مسببات التهاب المعدة والأمعاء، ويصاب الشخص بها نحو خمس مرات طوال حياته، وذلك بسبب قدرة فيروسات Noroviruses على إحداث طفرات جينية بصورة مستمرة (Vinje وآخرون، 2015).

تصيب الفيروسات النَّجمية Astroviruses الأشخاص بكافة الأعمار، ولكنها تصيب الأطفال الرضع والأطفال الصغار بصورة خاصة، وتشكل العدوى الأكثر شيوعًا في فصل الشتاء، وواحدًا من أبرز الفيروسات المسببة للنزلة المعوية، وتصيب الفيروسات النَّجمية المعدة والأمعاء عن طريق تلف الظهارة المعوية، مِمَّا يؤدي إِلى آلية تثبيط الامتصاص وفقدان الوظائف الإفرازية (Mendez وآخرون، 2007).

يُعَدُّ التهاب الكبد الفيروسي نمط Hepatitis A من الأمراض المعدية والخطيرة التي تنتقل عن طريق تلوث الأغذية والمياه بالفيروسات على الصعيد العالمي نحو 104 مليون حالة من التهاب الكبد نمط A تصل نسبة الوفيات أَنَّ 100 حالة وفاة سنويًا في الولايات المتحدة (Rezaeinjad وآخرون، 2014)، ويمتاز التهاب الكبد الفيروسي نمط A بوجود خلايا التهاب داخل أنسجة الكبد، ويصاب الجسم باليرقان Jaundic، ولاسِيَّمَا لدى الأطفال، وقد يؤدي إِلى مضاعفات مختلفة، وقد يصاب المريض بالنزيف المتكرر بسبب قلة إفراز الكبد لعوامل التجلط (Levitt وآخرون، 2014).

لا تقتصر المسببات التهاب المعوي الحاد الفيروسية على إصابة القناة الهضمية فقط، ولكن قد يصل الفيروس إلى المجرى الدموي Viremia وقد شُخِصَت الفيروسات العجلية Rotaviruses من سائل النخاع الشوكي Cord spinal fluid في حالات التهاب الدماغ والسحايا (Goto وآخرون، 2007؛ Chitamber وآخرون، 2008).

أهداف الدّراسة Aims of Study

هدفت الدّراسة إلى التحري عن بعض الفيروسات المعوية في مياه الصرف الصحي والمبازل بوساطة الخطوات الآتية:

1. الكشف المناعي عن فيروس Rotaviruses وAstrovirus، و Noroviruses Hepatitis type A في مياه الصرف الصحي والمبازل.
2. الكشف الجزيئي عن فيروس Rotaviruses وAstrovirus، و Noroviruses Hepatitis type A في مياه الصرف الصحي والمبازل.
3. تحديد الأنماط الجينية لفيروس Astrovirus وNoroviruses بوساطة رسم الشجرة الوراثية لهما.

الخلاصة Summary

تنتمي الفيروسات المعوية Enteroviruses إلى عائلة *Picornaviridae*، وهي أصغر الفيروسات غير المغلّفة Non-envelope التي تحتوي على الحمض النووي الرايبي Ribonucleic acid ذات القطبية الموجبة كفيروس Polioviruses وCoxsackieviruses وEchoviruses، وهي تصيب كُلّ من البشر والحيوانات. وتنتشر الفيروسات المعوية بصورة رئيسة عن طريق التلوث البرازي – الفموي Faecal – Oral من الاتصال المباشر، وتعدّ المياه والغذاء والتربة الملوثة مصدرًا خارجيًا للعدوى، مِمَّا يخلق عددًا من الفرص لنقل الفيروسات المعوية، ويسبب تفشي الوباء.

هدفت الدّراسة إلى التحري عن بعض الفيروسات المعوية Rotavirus وAstrovirus وNorovirus وHepatitis type A في مياه الصرف الصحي والمبازل، ومياه المبازل في محافظة ديالى، مرحلة أولى، ثمَّ توصيف الجزيئي مرحلة ثانية.

أجريت هذه الدّراسة في محافظة ديالى للمُدّة من كانون الثاني 2021 إلى تموز 2021، جُمعت (100) عينة من (11) محطة لمياه الصرف الصحي والمبازل، و(5) مبازل وأنهار تلقى في مياه الصرف الصحي ((Draining Canals نقلت عينات المياه المجموعة إلى المختبر بوساطة صندوق مبرّد Cool Box، وركزت العينات بطريقة النبذ الفائق Ultracentrifugation، وأجري الاختبار المناعي المباشر على النماذج بتقنية المقايسة الكروماتوغرافيا المناعية Immunochromatographic Assay، للكشف عن فيروس Rotavirus وAstrovirus وNorovirus باستعمال العدة Biozek، في حين كُشف عن فيروس Hepatitis type A باستعمال العدّة (BioTEC CerTest)، حُفظِت عينات المياه عند درجة (4°م)، واستخلص الحمض النووي الرايبي وشُخصت الفيروسات بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل اللحظي، وقُدِّمت