وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

الكشف المناعي الجزيئي لفيروس الحصبة الألمانية في النساء الحوامل في محافظة ديالى

أطروحة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة

من قبل

محمد حسين علوان

بكالوريوس كلية العلوم / قسم علوم الحياة / جامعة بغداد2002 م

ماجستير علوم حياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى 2015 م

بأشراف

أ. د. محمد عبد الدايم صالح أ. م. د. نادرة سلمان محمد

1442 هـ 2020 م

1.1 Introduction

Rubella is caused by an RNA virus in the Rubivirus genus and the *Matonaviridae* family (belonged formerly to *Togaviridae*) (Walker *et al*., 2019).

The actual host receptor is inaccessible to humans as the only normal host (Nguyen *et al.*, 2015). The rubella virus is spread from human to human by sick people coughing or sneezing (Lambert *et al.*, 2015), or transmitted by direct contact, as with air droplets, breastfeeding, and respiratory or pharyngeal secretions (Kumakura *et al*., 2013). Popular clinical symptoms involve fever, rash, cough, lymphadenopathy, and often arthritis (CDC, 2015), while in up to 50 percent of cases remain asymptomatic or subclinical, clinical diagnosis of rubella during pregnancy is therefore difficult to obtain (Cozza *et al*., 2015).

Though most infections with rubella cause mild, self-limiting measles-like disease, the real danger occurs when the fetus is infected with the rubella virus (Lambert *et al.*, 2015). After reach to 20 weeks of pregnancy, problems such as miscarriage or birth defects can occur if childbearing women were infected by virus (Lulandala *et al.*, 2017). As the virus may attack any portion of the growing fetus, any organ may be damaged (Dobson, 2014), this number of congenital malformations known as congenital rubella syndrome (CRS) may involve the brain, heart, hearing, and vision. (Murhekar *et al*., 2018). While there are some indicators of CRS during the neonatal phase, the emergence of certain disorders has been appeared after the age of 2 years (De Jong *et al.*, 2013). The most prominent abnormalities related to rubella are hearing impairment, cardiac disorders, cataracts, and retinopathy with pigmentation. Microcephaly, developmental regression, hepatosplenomegaly, purpura, jaundice,

meningoencephalitis, and radiolucent bone disorder are the lesser-known symptoms (Dobson, 2014).

Congenital rubella syndrome diagnosis is restricted to healing because the antiviral medication is not accessible (Motaze *et al*., 2019). Although no particular treatment is available for rubella or CRS, extremely safe live-attenuated rubella vaccinations are required to avoid rubella and CRS. The vaccine against rubella is safe and efficacious (Reef and Plotkin, 2013), both natural infection and vaccine administration thus have lifetime security (Caroca *et al*., 2017). Laboratory diagnosis of CRS includes anti rubella immunoglobulin rubella M (IgM) in cord blood or baby serum, immunoglobulin G (IgG), in addition polymerase chain reaction (PCR). The maternal rubella infection sometimes goes unnoticed, as there is always no rash (Boshoff and Tooke, 2012). Reliable laboratory confirmation of confirmed cases of rubella is a prerequisite to successful control of this disease's removal process (Mulders *et al*., 2016).

Rubella is planned for removal in five World Health Organization (WHO) regions by 2020 under the Global Vaccine Action Plan (WHO, 2019). The usage of rubella vaccinations in regular childhood immunization increase from 99 (51%) countries in 2000 to 168 (87%) countries in July 2019, and widespread rubella transmission has been disrupted in the Americas since 2009 (WHO, 2020). For many developed countries, though, rubella virus transmission is deemed a significant public health concern (Lulandala *et al.*, 2017) because vaccination was does not take place in many developing countries (Brooks *et al.*, 2013). The vaccination was used in other countries ' national immunization systems, (Macartney *et al*., 2017), including Iraq.

Mumps ,Measles ,rubella vaccines (MMR) was incorporated into the 1988 Iraq National Immunization Plan, and the vaccine is regularly given in two doses: twelve to fifteenth months of age and a second dose about four and six years of age for females. (WHO-MOH Iraq, 2009).

1.2 Aims of the study

This study was planned to inspect a sample infection of the awareness of Iraqi pregnant women about the risk of rubella infection during pregnancy; assessing their attention to pre-conception prevention and knowledge of their serological status, correlated with their socio-demographic characteristics, to verify the likelihood of achieving the elimination of congenital rubella syndrome. Therefore, the aim of this study was to:

1- Determine seroprevalence of the rubella virus; precisely the seropositivity rate of rubella immunoglobulin G (IgG) and immunoglobulin M (IgM).
2- Compared by three laboratory techniques for rubella IgG and IgM detection. Additionally, molecular detection of viral RNA through revers transcription real-time polymerase chain reaction (RT-rPCR).
3- Rubella positive RT-rPCR samples are selected for genotyping depending on the E1 gene amplified by RT-nPCR.
4- Studies the relationship between some of these parameters in a sample of Iraqi pregnant women with and without prior history of abortion with different socio-demographic and reproductive factors.

الخلاصة

الحصبة الالمانية هي مرض فيروسي يسببه فايروس الروبلا. الاعراض السريرية الشائعة هي الحمى والطفح الجلدي والسعال وتضخم العقد اللمفاوية وغالبا ما يسبب التهاب المفاصل.

عادة ما تكون إمراضيته خفيفة الى متوسطة مشابهة لمرض الحصبة ، خطورة المرض الحقيقية تحدث عندما يصاب الجنين بفايروس الروبلا اثناء الحمل ، لأن الفايروس قد يهاجم أي جزء وأي عضو من الجنين كالدماغ والقلب والسمع والبصر ويسبب له الأذى والتشوه و مجموع هذه التشوهات تدعى متلازمة الحصبة الالمانية الشائعة.

صممت الدراسة الحالية لمعرفة انتشار فايروس الحصبة الالمانية في النساء الحوامل. شملت العينات مائتي وأربعون(240) امرأة ممن راجعن مستشفى البتول التعليمي للنسائية والأطفال في مدينة بعقوبة للفترة من شهر تشرين الاول سنة 2018 الى شهر مايس 2020 .تتراوح اعمارهن بين 16-45 سنة وبمتوسط عمري 5.11±26.38 سنة. تتضمن البيانات التي جمعت العمر والتعليم وعدد حالات الاسقاط السابقة وفصل الحمل والسكن.

جُمع المصل من كل عينة وتم قياس الضدات النوعية لفايروس الحصبة الالمانية (IgG, IgM) باستخدام ثلاثة طرق هي الطريقة الكهربائية الكيميائية الومضية الذاتية (Electrochemiluminescence) وطرية الأليزا والطريقة السريعة (OnSite Rubella IgG/IgM Rapid tests) . كذلك تم استخدام طريقة الزمن الحقيقي لتفاعل البلمرة التسلسلي (RT-rPCR) لاكتشاف وجود الحامض النووي الرايبي للفايروس (RNA).

أظهرت الدراسة أن النسبة المئوية لوجود الضدات النوعية IgG تتراوح بين 84.58 % إلى 89.58 % بالاعتماد على الطريقة المستخدمة، بينما كانت النسبة المئوية لوجود الضدات النوعية IgM تتراوح بين 5% الى 5.41 % اعتمادا على الطرية المستخدمة. من مجموع 240 عينة فقط ثمانية 8عينات كانت موجبة باستخدام طريقة الزمن الحقيقي لتفاعل البلمرة التسلسلي.RT-rPCR . كانت أقل نسبة لوجود الضدات النوعية IgG في الفئة العمرية 15-20 وأعلى نسبة لها في الفئة العمرية الاكبر من 32 سنة. بينت الدراسة ان النسبة المئوية لوجود الضدات النوعية IgG في النساء التي تسكن المدن تشكل 92.13 % وهي اعلى من النسبة التي ظهرت في النساء التي تسكن في الريف 82.30 % وبفارق ذو دلالة معنوية < 0.05 . اظهرت الدراسة ان 61.42 % من الحوامل الموجبة للضدات النوعية IgG قد عانت من حالات اسقاط سابقة وبفرق ذو دلالة احصائية < 0.05 ولا يوجد فرق ذو دلالة معنوية بين عدد حالات الاسقاط المتكرر.