وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرّفة

انتشار إصابات الفيروس العجلي والمسببات الجرثومية والطفيلية الأخرى للإسهال في مدينة بعقوبة

رسالة مقدمة إلى كلية التربية للعلوم الصرّفة جامعة ديالى كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة - الأحياء المجهرية

من قبل الطالب
عبدالقادر يحيى حمد العزاوي
إشراف
أ.د. عباس عبود الدليمي
أ. م.د. عبد الرزاق شفيق الجميلي

1433هـ
2012م

الإهـداء

إلـى
ينـابيع فجـري وشـمس عمـري وبسـمة وجـودي ومـن أوصـى بهم ربي... أمي وأبي

إلـى
الذين كانوا سنداً وظلاً خيم علي بالدفء...إخوتي

إلـى
التي أشعرتني بالسعادة والأمان والمودة والحب فهونت علي مصاعبي...زوجتي

إلـى
شمعتا عمري أبنائي...مصطفى و زهراء

أُهدي بحثي

المحتويات

ت	العنوان	رقم الصفحة
	الفصل الأول	
.1	1. المقدمة وأهداف الدراسة	1
.2	1.1 المقدمة Introduction	1
.3	2.1 اهداف الدراسة Aims of the study	3
	الفصل الثاني	
.4	2. استعراض المراجع	4
.5	1.2. النزلات المعوية الفيروسية Viral gastroenteritis	
.6	2.2. تركيب الفيروس العجلي Structure of Rotavirus	5
.7	3.2. الخصائص الكيموحيوية للفيروس العجلي Biochemical characteristics of rotavirus	7
.8	4.2. المجاميع والأنماط المصلية للفيروس العجلي	8
.9	5.2. إصابة الخلية وتأثير الفيروس عليها Cell infection and injury	8
.10	6.2.الوبائية Epidemiology	10
.11	7.2. الامراضية Pathogenesis	13
.12	8.2.الأعراض السريرية Clinical Signs	15
.13	9.2.المناعة Immunity	15
.14	10.2. التشخيص Diagnosis	18
.15	11.2. التلقيح Vaccination	20
.16	12.2. العلاج Treatment	22
.17	13.2 نوع الرضاعة وعلاقته بالإسهال Types of feeding and their relation to diarrh	22
.18	14.2.المسببات الطفيلية للإسهال Parasitic agents	23
.19	1.14.2. الاميبا الحالة للنسيج *Entamoeba histolytica*	23
.20	2.14.2.الجيارديا اللّمبيلّية *Giardia lamblia*	24

ت	العنوان	رقم الصفحة
.21	15.2.المسببات الجرثومية Bacterial Agents	25
.22	1.15.2 الاشريكية القولونية *Escherichia coli*	25
.23	.1.1.15.2 Enterpathogenic *E .coli* (EPEC)	25
.24	.2.1.15.2 Enterotoxogenic *E.coli* (ETEC)	25
.25	.3.1.15.2 Enteronvasive *E.coli*	25
.26	.4.1.15.2 Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)	26
.27	.5.1.15.2 Enteroaggregative *E.coli* (EAggEC)	26
.28	2.15.2.جرثومة السالمونلا *Salmonella Spp*	26
.29	3.15.2. بكتريا الشيكلا *Shigella Spp*	27
.30	16.2. الإصابات المتزامنة Co-infection	28
	الفصل الثالث	
.31	3.المواد وطرائق العمل Materials and Methods	30
.32	1.3.المواد Materials	30
.33	1.1.3. الأجهزة والمستلزمات المختبرية Instrument	30
.34	2.1.3. الأوساط الزرعية الجرثومية Culture media	31
.35	3.1.3. المواد الكيماوية والبايلوجية Chemical & Bilogical Materials	31
.36	4.1.3. العُدد التشخيصية و الأمصال Diagnostic Kits&Serums	32
.37	2.3. طرائق العمل Methods	32
.38	1.2.3.تحضير المحاليل Preparation of solutions	32
.39	1.1.2.3. المحلول الملحي الفسيولوجي Normal saline solution	32
.40	2.3. 2.1. محلول اليود المائي	33
.41	3.1.2.3. محلول دارىء خلات الصوديوم Sodium acetate buffer	33
.42	2.2.3. الكواشف Reagents	33
.43	3.2.3. الأوساط الزرعية الخاصة بتشخيص الجراثيم	34
.44	4.2.3.تحضير الاوساط الزرعية السائلة	34

ت	العنوان	رقم الصفحة
.45	5.2.3.حفظ العزلات الجرثومية	35
.46	3.3.مجاميع الدراسة Study groups	35
.47	4.3. جمع العينات Collection of specimens	35
.48	1.4.3. عينات البراز Stool specimens	35
.49	2.4.3. جمع عينات الدم Blood sample collection	36
.50	5.3. الفحوصات المختبرية والتشخيصية لعينات البراز	36
.51	1.5.3. زرع البراز Stool culturing	36
.52	2.5.3.تشخيص العزلات الجرثومية Identification of bacterial isolates	36
.53	1.2.5.3.الفحوصات الشكلية Colonial morphology	36
.54	2.2.5.3.الفحوصات الكيموحيوية	37
.55	3.2.5.3.التشخيص المصلي للعزلات الجرثومية Serological identification of bacteria	37
.56	3.5.3.الفحص العام للبراز General stool Examination	38
.57	4.5.3.اختبار التلازن للتحري عن الفيروس العجلي Latex agglutination test	39
.58	6.3.اختبار التحري عن الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي	40
.59	7.3.التحليل الإحصائي Statistical analysis	42
	الفصل الرابع	
.60	4.النتائج والمناقشة Results and Discussion	43
.61	1.4.مجاميع الدراسة Study groups	43
.62	2.4. الكشف عن الفيروس العجلي في نماذج البراز	46
.63	3.4.العوامل المؤثرة على الإصابة فحص التلازن	50
.64	1.3.4. مصدر مياه الشرب Water Supply	50
.65	2.3.4. نوع الرضاعة Type of feeding	52
.66	3.3.4. السكن Residence	54
.67	4.3.4. الجنس Gender	55
.68	5.3.4. فصول السنة Seasonal variation	57
.69	6.3.4. أشهر السنة Monthly variation	58
.70	4.4. الإصابات المتزامنة Co-infection	61

ت	العنوان	رقم الصفحة
.71	1.4.4. الاخماج الجرثومية المتزامنة Bacterial coinfection	61
.72	1.1.4.4. الإصابة بالزحار العصوي(الشكيلا) Bacillary dysentery (Shigellosis)	61
.73	2.1.4.4. الاصابة بالسالمونيلا المعوية: Salmonella enterocolitis	62
.74	3.1.4.4. الاصابة بالاشريشيا القولونية *E.coli* enterocolitis	62
.75	2.4.4. الاخماج الطفيلية المتزامنة Parasitic coinfection	63
.76	1.2.4.4. الاصابة بطفيلي الجيارديا *Giardia lambelia* coinfection	63
.77	2.2.4.4. الاصابة بالاميبا الحالة للنسيج (الزحار الاميبي) *Entameoba histolytica coinfection*	63
.78	3.4.4. الاصابات الجرثومية والطفيلية المسببة للاسهال Bacterial and parasitic coinfection	64
.79	5.4. انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي	66
.80	1.5.4.انتشار الضدات النوعية IgG بحسب ايجابية فحص التلازن المباشر	66
.81	6.5 تأثير بعض العوامل على انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي لدى المرضى	68
.82	1.6.4. العمر Age	68
.83	2.6.4. الجنس Gender	70
.84	3.6.4. السكن Residence	70
.85	4.6.4. مصدر مياه الشرب Water Supply	71
.86	5.6.4. نوعية الرضاعة Type of feeding	72
	الفصل الخامس	
.87	5. الاستنتاجات والتوصيات	73
.88	1.5 الاستنتاجات Conclusions	73
.89	2.5 التوصيات Recommendations	74
.90	المصادر References	75

قائمة الجداول

ت	العنوان	رقم الصفحة
1	الجدول (1.3) الأجهزة والمستلزمات المختبرية المستخدمة في الدراسة	30
2	الجدول (2.3): الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة	31
3	الجدول (3.3): المواد الكيماوية المستخدمة في الدراسة	31
4	الجدول (4.3): العدد التشخيصية والأمصال المستخدمة في الدراسة	32
5	الجدول (1.4): جدول وصفي لمتغيرات مجاميع السيطرة	45
6	الجدول (2.4): توزيع ايجابية فحص التلازن المباشر بين الفئات العمرية لمجموعة المرضى	47
7	الجدول (3.4): ايجابية فحص التلازن المباشر بحسب مصدر مياه الشرب في مجموعة المرضى	50
8	الجدول (4.4): ايجابية فحص التلازن المباشر بحسب نوع التغذية في مجموعة المرضى	52
9	الجدول (5.4): ايجابية فحص التلازن المباشر بحسب السكن في مجموعة المرضى.	54
10	الجدول (6.4): ايجابية فحص التلازن المباشر بحسب الجنس في مجموعة المرضى	56
11	الجدول (7.4): ايجابية فحص التلازن المباشر بحسب فصول السنة في مجموعة المرضى	57
12	الجدول (8.4): ايجابية فحص التلازن المباشر بحسب أشهر السنة في مجموعة المرضى	59
13	الجدول (9.4): الإصابات المتزامنة بالفيروس العجلي والزحار العصوي بين المرضى	61
14	الجدول (10.4): الاصابات التزامنة بالفيروس العجلي والسالمونيلا المعوية بين المرضى	62
15	الجدول (11.4): الاصابات التزامنة بالفيروس العجلي والاشريشيا القولونية بين المرضى	62
16	الجدول (12.4): الاصابات التزامنة بالفيروس العجلي والجيارديا بين المرضى	63

ت	العنوان	رقم الصفحة
17	الجدول (13.4): الاصابات التزامنة بالفيروس العجلي والاميبا الحالة للنسيج بين المرضى	64
18	الجدول (14.4): يبين الاصابات التزامنة بالفيروس العجلي والاخماج الجرثومية والطفيلية بين المرضى	64
19	الجدول (15.4): ايجابية الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي في مجاميع الدراسة	66
20	جدول (16.4) يبين انتشار الضدات النوعية IgG بحسب ايجابية فحص التلازن المباشر	67
21	جدول (17.4) معدل انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي بحسب الفئات العمرية	69
22	جدول (18.4) معدل انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي بحسب الجنس	70
23	جدول (19.4) معدل انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي بحسب السكن	71
24	جدول (20.4) معدل انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي بحسب مصدر مياه الشرب	71
25	جدول (21.4) معدل انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي بحسب نوع التغذية	72

قائمة الأشكال

ت	العنوان	رقم الصفحة
1	شكل (1.4): توزيع حالات الإسهال الموجبة للفيروس العجلي بحسب العمر	47
2	شكل (2.4): توزيع حالات الإسهال الموجبة للفيروس العجلي بحسب مصدر مياه الشرب	51
3	شكل (3.4): توزيع حالات الإسهال الموجبة للفيروس العجلي بحسب نوع التغذية	53
4	شكل (4.4): توزيع حالات الإسهال الموجبة للفيروس العجلي بحسب السكن	54
5	شكل (5.4): توزيع حالات الإسهال الموجبة للفيروس العجلي بحسب الجنس	56
6	شكل (6.4): الاختلاف في توزيع حالات الإسهال الموجبة لفيروس العجلي بحسب فصول السنة	58
7	شكل (7.4): خط بياني يوضح عدد حالات الإسهال الموجبة للفيروس العجلي موزعة بحسب أشهر السنة	60
8	شكل (8.4): توزيع التكرار النسبي للإصابات الجرثومية والطفيلية المتزامنة	65

الشكر والامتنان

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيد الأنام المصطفى وعلى آله وأصحابه الطيبين الطاهرين ومن تبعهم بإحسان الى يوم الدين .

تعثرت كلمات شكري في لساني فتحير القلم ماذا يكتب فوقف منتظراً ما ينتجه الفكر من عبارات شكر وامتنان للذين أسهموا في إنجاز هذا العمل بمساعداتهم حتى خرجت هذه الكلمات التي تعجز عن التعبير عما في ضميري من الشكر والامتنان لكل من مد يد العون والمساعدة لي في عملي وما ذكرهم وشكرهم هنا وأَجد من الواجب عليَّ تقديم جزيل شكري وعظيم امتناني إلى أساتذتي الأفاضل جميعاً الذين بذلوا الجهود المخلصة من اجل أن نخطو بثقة في وقت عزت فيه الخطى وكنا أحوج ما يكون لمن يرشدنا ويقدم لنا المعلومة الصادقة، واخص منهم الأستاذين المشرفين على الرسالة الأستاذ الدكتور عباس عبود الدليمي والأستاذ المساعد الدكتور عبد الرزاق شفيق حسن الجميلي وجزآهم الله عني خير الجزاء لما بذلوه من جهد معي في المتابعة والتوجيه ولما أبدوه من ملاحظات قيمة هذبت البحث وقومته .

والى عمادة كلية التربية، ورئاسة قسم علوم الحياة والسيد رئيس القسم الأستاذ المساعد الدكتور نجم عبد الله و التدريسيين كافة على ما أفادوني به من علم جزيل ورعاية كريمة .و أشكر جميع الأساتذة في مختبر مستشفى البتول على ما قدموه من دعم وتوجيه وتسهيل مهمة أنجاز هذا البحث وأخص بالذكر منهم الدكتور أمين حسن مدير المختبر ، وشكري واعتزازي الى الدكتور محمد فرج لما ساهم بخدمات طيبة وتزويد هذه الدراسة ببعض المصادر .

ولا يفوتني أن أشكر زملائي جميعاً الذين كان لهم أثر فعال في تقديم العون والتشجيع طيلة مدة إعداد الرسالة واخص بالذكر منهم عمر محجوب وعبد السلام حسن عباس، وعبد الله حسن .وأستميح عذراً لكل من كان له يد العون أو له أسهام مباشر أو غير مباشر في أنجاز هذه الرسالة ولم يرد أسمه هنا فله من الشكر مرتان .

والله من وراء القصد

الباحث

إقرار المشرفين

نشهد ان إعداد هذه الرسالة الموسومة (**انتشار إصابات الفيروس العجلي والمسببات الجرثومية والطفيلية الأخرى للإسهال في مدينة بعقوبة**) جرى بإشرافنا في كلية التربية للعلوم الصرّفة جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علم الأحياء المجهرية.

التوقيع :
اسم المشرف : أ.د.عباس عبود الدليمي
التاريخ : / /2012

التوقيع :
اسم المشرف :أ.م.د. عبد الرزاق شفيق حسن
التاريخ : / /2012

توصية رئيس لجنة الدراسات العليا
بناءً على التوصية المتوفرة أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع :
الاسم :
رئيس لجنة الدراسات العليا في قسم علوم الحياة
كلية التربية للعلوم الصرفة–جامعة ديالى
التاريخ : / /2012

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة بأننا اطلعنا على رسالة الطالب **(عبد القادر يحيى حمد)** الموسومة **(انتشار إصابات الفيروس العجلي والمسببات الجرثومية والطفيلية الأخرى للإسهال في مدينة بعقوبة)** وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها وقررنا أنها جديرة بالقبول بتقدير **(امتياز)** لنيل درجة ماجستير في علم الأحياء المجهرية.

التوقيع :
الاسم : أ.م.د. ناظم غزال نعمان
التاريخ : / /2012
عضواً

التوقيع :
الاسم : أ.م.د. نغم ياسين كاظم
التاريخ : / / 2012
عضواً

التوقيع :
الاسم : أ.د. ماجد محمّد محمود
التاريخ : / /2012
رئيس اللجنة

بناءً على التوصيات أعلاه صادق مجلس كلية التربية للعلوم الصرّفة قسم علوم الحياة على قرار اللجنة.

التوقيع :
الاسم : أ.د. عباس عبود الدليمي
عميد كلية التربية للعلوم الصرّفة –جامعة ديالى
التاريخ : / /2012

الفصل الأول

المقدمة وأهداف الدراسة

الفصل الثاني

استعراض المراجع

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

الملاحق

المصادر

خلاصة البحث *Abstract*

اجريت هذه الدراسة في مدينة بعقوبة للمدة من 2007/11/1 ولغاية 2008/11/1 ؛ وذلك لتحديد نسب الإصابة بالفيروس العجلي والتحري عن مدى انتشار الضدات النوعية IgG في أمصال المرضى ومجموعة السيطرة . وكذلك الكشف عن نسب الإصابات الجرثومية والطفيلية المتزامنة.

شملت هذه الدراسة 300 مريضاً ممن يعانون من الإسهال الحاد (135 من الإناث و165 من الذكور وبمختلف الأعمار)، فضلاً عن 35 من غير المصابين كمجموعة ضابطة. اجري اختبار التحري عن مستضد الفيروس العجلي في البراز بطريقة التلازن المباشر بينما اجري اختبار التحري عن الضدات النوعية بتقنية الاليزا. كانت نسب الإصابة الكلية بالفيروس العجلي بين المرضى 20.3%. اظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاع نسب الإصابة بالفيروس العجلي لدى المرضى ممن هم دون الخمس سنوات وكذلك اليافعين والبالغين ممن هم اكبر من 18 سنة من العمر. لم تسجل الدراسة الحالية اختلافاً معنوياً في نسب إصابة الذكور والإناث 22.1% و 18.9%، على التوالي.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاعاً معنوياً في نسب الإصابة بين المرضى الذين يقطنون المناطق الريفية 26.1% مقارنة بأولئك الذين يقطنون المناطق الحضرية 13.7%. فيما يتعلق بنوعية التغذية وعلاقتها بنسب الإصابة بالفيروس العجلي لم تسجل نتائج الدراسة اختلافاً معنوياً بين الأطفال الذين يعتمدون على الرضاعة الطبيعية او الرضاعة الصناعية او الرضاعة المختلطة 19.1% ، 28.8% ، 18.8%، على التوالي ومع ذلك فأن نسب الإصابة بالفيروس العجلي كانت الأعلى لدى الأطفال الذين يعتمدون على الرضاعة الصناعية.

أظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً في نسب الإصابة بالفيروس العجلي بين المرضى الذين يستخدمون مياه الأنهر للشرب 34.5% مقارنة بالذين يستخدمون مياه الإسالة 14.1% والذين يستخدمون مياه السيارات الحوضية 18.5%. كانت نسب الإصابة بالفيروس العجلي مرتفعة بشكل غير معنوي خلال فصل الشتاء والربيع 40% و26.3 %، على التوالي. فيما يخص وجود الاخماج الجرثومية *(Escherichia. coli ,Salmonella and Shigella)* والطفيلية*(Entameoba. histolytica* and *Giardia lamblia)* المتزامنة مع الإصابة بالفيروس

العجلي لم تظهر نتائج الدراسة الحالية وجود ترابط معنوي بينهما . أظهرت نتائج تقنية الاليزا للتحري عن الضدات النوعية IgG أن 49.3% من المرضى الذين سجلوا نتائج إيجابية للضدات النوعية IgG للفيروس العجلي مقارنة بـ37.1% للمجموعة الضابطة. دلت النتائج ان 25.7% من المرضى الذين سجلوا نتائج ايجابية لفحص التلازن المباشر كانت نتائج الفحص لديهم إيجابية للضدات النوعية IgG.

تستنتج الدراسة الحالية ان نسب الإصابة الكلية للفيروس العجلي كأحد مسببات الإسهال الحاد هي مرتفعة نسبياً . فضلاً عن إمكانية إصابة البالغين بالمرض وإنَّ مصدر مياه الشرب هو العامل الأساسي لانتشار العدوى في المجتمع.

الفصل الأول

1. المقدمة

1.1. المقدمة Introduction

تعد النزلة المعوية أو ما يعرف بالتهاب الأمعاء Gastroenteritis من الأمراض الخطيرة والواسعة الانتشار في مختلف أنحاء العالم وخاصة بين الأطفال ولاسيما في الدول النامية، ويعد احد المشاكل الرئيسة للصحة العامة ، إذ تعد الإصابة بالإسهال من الحالات المهمة(Jansen *et al*., 2008). ويتعرض ملايين الأطفال الذين تقل أعمارهم عن الخمس سنوات للإصابة بهذا المرض وتتركز الإصابة لدى الأطفال الرضع الذين تتراوح أعمارهم من ستة أشهر إلى سنتين وتؤدي الحالات الشديدة إلى موت ملايين الأطفال سنوياً (Gonzalez *et al*.,2008) . وقد أثبتت البحوث والدراسات السابقة أن طفلاً واحداً من مجموع 12 طفلاً يموت قبل سن الخامسة وذلك ضمن إحصائية سنوية 10.8 مليون حالة وفاة بسن الطفولة ، 70% منها بين الأطفال الرضع (Murray *et al* .,2001 ; Parashar *et al*.,2003). وأثبتت دراسات أخرى بأن 13% من حالات الوفاة للأطفال سببها الإسهال، إذ يقدر بأن الإسهال يقضي سنوياً على خمسة ملايين طفل في الدول النامية وعليه يعد السبب الثاني الأكثر شيوعاً للوباء في العالم بعد أمراض الجهاز التنفسي الحاد(Kosek *et al* .,2003; Phan *et al* .,2005).

تتعدد مسببات الإسهال لدى الأطفال فمنها الجرثومي (Bacterial diarrhea) كالذي تسببه الجراثيم المعوية مثل: *Campylobacter spp ,Shigella spp,Salmonella spp* , *Escherichia coli* ومنها الفيروسي Viral diarrhea مثل الفيروس العجلي Rotavirus والفيروسات النجمية Astravirus ، والفيروسات الغدية Adenovirus فضلاً عن المسببات الطفيلية وأبرزها *Entamoeba histolytica* و *Giardia lamblia* والخمائر مثل *Candida albicans* (Andreasi *et al* ., 2008 ; Harada *et al* .,2009) .تختلف هذه المسببات في طريقة إحداثها للمرض وشدة أمراضيتها لاختلاف عوامل الضراوة التي تمتلكها وأشارت البحوث إلى حدوث تفاوت كبير في شدة الإعراض المرضية المرافقة للإسهال عند الإصابة بمسبب مرضي معين ، كذلك عند اشتراك أكثر من مسبب مرضي واحد في إحداث الإصابة (Lan, 2009) .

يصاب الأطفال بمرض الإسهال إما نتيجة لتعرضهم للمسببات المرضية الداخلة الى الجوف المعوي عن طريق الأغذية أو المشروبات أو الأيدي الملوثة بتلك المسببات المرضية وفي حالات أخرى قد تتحول بعض الإحياء المجهرية التي تشكل النبيت الطبيعي للأمعاء Intestinal normal Flora إلى مسببات مرضية عند زيادة نسبتها عن الحد الطبيعي لأسباب مختلفة منها تغير بيئة الأمعاء الناتج عن تعاطي عقار معين أو وجود احدى العوامل المثبطة للمناعة مما يسهل على هذه الإحياء المجهرية إحداث الإصابة (Leclerc *et al* ., 2002) .

يعد الفيروس العجلي واحد من أهم مسببات النزلة المعوية في بلدان العالم كافة ، اذ يعد واحداً من أكثر الفيروسات المسببة للنزلات المعوية لدى الأطفال حيث يسبب 8% من مجمل إمراض الإسهال و20–50% من حالات الإسهال الشديدة التي تحتاج للترقيد في المستشفى (Leung *et al* .,2005). ويسبب الفيروس العجلي سنوياً حوالي 150 مليون نزلة معوية للأطفال تحت خمس سنوات منها مليونا حالة يتم دخولها للمستشفى وحوالي نصف مليون حالة وفاة سنوياً ، 40% ممن هم دون سن الخامسة و80% من هؤلاء الأطفال من الأقطار النامية (Intusoma *et al* .,2008 ; Verheyen *et al* .,2009).

تحدث العدوى بالفيروس ألعجلي عن طريق العدوى الفموية من خلال تناول الأغذية والمياه الملوثة اذ تكمن خطورة الفيروس في قدرته على التعايش في المحيط الخارجي والأجسام الصلبة لمدة تزيد عن عشرة أيام أو أكثر (Hamza *et al* .,2009). وهو مرض يتفاوت في خطورته بين الاعتدال إلى الشدة ويتميز بتقيؤ وإسهال مائي وحمى (Hempel,2001). الاطفال في مختلف الأعمار معرضون للإصابة بالفيروس العجلي وخاصة الفئة العمرية بين 6 أشهر إلى سنتين معرضون بنسبة أكبر للاصابة بالفيروس العجلي مجموعة(A) و هذه المجموعة مستوطنة في العالم وهي السبب المؤدي للإسهال الشديد عند المواليد والأطفال اذ إنها مسؤولة عن 20% من الحالات وعن نصف الحالات التي تتطلب الرقود في المستشفى (Koopmans & Brown, 1999) .

أمّا الفيروس العجلي مجموعة (B) والتي تعرف بالفيروسات العجلية المسببة لإسهال الكبار Adult diarrhea Rotavirus فقد سببت أوبئة رئيسة من الإسهال الشديد أثرت على ألاف من الناس من مختلف الأعمار (CDC , 2008).

وهناك الفيروس العجلي مجموعة (C) التي ارتبطت بحالات نادرة ومتقطعة من الإسهال عند الأطفال في عدة دول ، اذ سجل أول تفشي لها في اليابان وانكلترا ; Rayan *et al* .,1996). Phan *et al* .,2005) في دراسة أجريت في ألمانيا لمعرفة درجة التشابه والتسلسل في التركيب بين الفيروسات العجلية التي تصيب اللبائن Mammalian ، والفيروسات التي تصيب الطيور Avian Rotaviruses ، أشارت نتائج تلك الدراسة الى امكانية الانتقال Transmission وأعادت التجانس Reassoretmemt بين الفيروس العجلي المجموعة (A) والفيروسات العجلية الخاصة بالطيور، إذ تشير الدراسة إلى احتمال أن يكون هذا المرض من الأمراض المشتركة Zoonoses ما بين الإنسان والحيوان تحت ظروف محددة (Schumann *et al* .,2009)

2.1. **أهداف الدراسة** :

أجريت الدراسة لتحقيق الأهداف الآتية:

1. معرفة نسب الإصابة بالفيروس العجلي بين المرضى المصابين بالإسهال بمختلف الأعمار في مدينة بعقوبة وضواحيها من خلال الكشف عن الفيروس في نماذج البراز بطريقة التلازن المباشر.
2. استبانة مدى انتشار الضدات النوعية (IgG) للفيروس ألعجلي لدى الأشخاص الأصحاء والمرضى في المجتمع بمختلف الأعمار من خلال الكشف عن تلك الضدات في نماذج المصل باستخدام تقنية الاليزا.
3. معرفة مسببات الإسهال الأخرى غير الفيروسية (الجرثومية والطفيلية) بين المصابين.

الفصل الثاني

2.استعراض المراجع

1.2. النزلات المعوية الفيروسية Viral gastroenteritis

مئات الملايين من مختلف دول العالم المتقدم والنامي يصابون سنوياً بالنزلات المعوية والمعدية الفيروسية ، فهي واحدة من أكثر الأمراض المعوية انتشاراً وخاصة بين الأطفال وعلى الرغم من أن معظم الحالات تشفى تلقائياً إلا إنها مسؤولة عن وفيات عدة ملايين من الأطفال سنوياً وخاصة في الدول النامية (Narayan, 2001 ;Tanaka *et al* ., 2007). تشكل الفيروسات المعوية 90% من حالات النزلات المعوية الحادة غير الجرثومية لدى الاطفال والبالغين (Becker *et al*., 2000).

هناك أربعة أنواع من الفيروسات أكتشفت أنها عامل مسبب للالتهاب المعوية في كل أنحاء العالم هي الفيروس العجلي Rotavirus والفيروسات الغدية Adenovirus والفيروسات النجمية Astroviruses والفيروسات الكأسية التي تصيب الأنسان Human calicivirus (Chikhi *et al* ., 2002 ; Gleizes, 2006). تعد هذه الفيروسات السبب الرئيس للالتهابات المعوية والإسهال، إن الإسهال يسبب 21% من كل الوفيات تحت سن الخامسة ويسبب 2,5 مليون حالة وفاة كل سنة(Atmar & Estes , 2001). يعد الفيروس العجلي واحداً من اكثر فيروسات النزلة المعوية انتشاراً واكثرها خطورة، اذ ان اغلب الاطفال المصابين بالتهاب الأمعاء الفيروسي هو ناتج عن الاصابة بالفيروس العجلي، اذ اثبت التحليل الفيروسي ان الفيروس العجلي مجموعة (A) كانت الاكثر انتشاراً من بين مجموع الاصابات بفيروسات الالتهاب المعوي بنسبة 19% – 28% (Leung *et al* .,2005). ان الفيروسات الغدية هي أحدى مسببات الأمراض المعوية والمسؤولة عن نسبة كبيرة من الأصابات المعوية لدى الأطفال اذ تعد المسبب الثاني للالتهابات المعوية بعد الفيروس العجلي(Verheyen *et al* ., 2009).

تشكل الاصابة بالفيروسات النجمية جزءاً مهماً من حالات الاسهال لدى الاطفال، اذ وجد بأنها مسؤولة عن 16.5% من حالات الاسهال لدى الاطفال السالبة للفيروس العجلي و7% من حالات الاسهال الموجبة للفيروس العجلي (Gaggero *et al* .,1998). ويصيب هذا الفيروس الاطفال ممن هم دون سن الخامسة من العمر ، اذ وثقت احدى الدراسات في استراليا

بأن نسبة الاصابة بهذه الفيروسات كانت 8.9 % ، أمّا في فرنسا فقد كانت نسبة الاصابة %6.2 (Fascia *et al* .,1999 ;Mustafa *et al* ., 2000).

2.2. تركيب الفيروس العجلي Structure of Rotavirus

ينتمي الفيروس العجلي الى عائلة Reoviridae والمقطع (ريو) مشتق من الأحرف الأولى لـ Respiratory enteric orphan (White & Fenner , 1986). في عام 1973 أكتشفت الباحثة بيشوب فيروساً شبيهاً بفيروس الريو Reovirus في الخلايا الظهارية للأثنا عشري لطفل مصاب بالإسهال، وفي عام 1974 أطلق أسم العجلة (Rota) على هذا الفيروس نظراً لتشابه شكل الفيروس الخارجي مع شكل العجلة Wheel (Flewett *et al* ., 1974).

يأخذ جسيم الفيروس العجلي Virion هيكلاً كروياً وتظهر صورته في المجهر الالكتروني على شكل عجلة دائرية ولذلك أطلق عليه أسم العجلة، وتتركب الجسيمة الواحدة من الفيروس من طبقتين من الغطاء البروتيني . الكابسد Caspsid وقد يصل قطر الجسيمة الى 100 نانوميتر وتبدو ملساء بقطر60–80 نانوميتر لذا تدعى بالجسيمات الملساء Smooth particles (Ludert *et al* .,2002). وعند أزالة الطبقة الخارجية يصبح قطر الكرة بين60.50 نانوميتر وتكون ذات سطح خشن لذلك تسمى بالجسميات الخشنة Rough particle ، وبعد أزالة هذه الطبقة الداخلية من الغطاء يبقى اللب Core ويقدر قطره بـ 37 نانوميتر تقريباً (Brooks *et al* ., 1995). يحتوي اللب على المادة الوراثية المؤلفة من أحد عشر قطعة من الحامض النووي الرابيوزي Ribonucleic acid (RNA) مزدوج الخيط Double stranded وهي ذات أوزان جزيئية مختلفة ويمكن فصل هذه القطع بعضها عن بعض بطريقة الترحيل الكهربائي (Aoki *et al* .,2009). أذ تتوزع القطع الجينية على مسافات مختلفة من بدء الترحيل وعلى مخطط معين تبعاً لنوع السلالة ويطلق على نمط توزيع هذه القطع RNA electropherotype (Unicomb and Bishop , 1989). ترقم هذه القطع من1 .11 تبعاً لوزنه الجزيئي الذي ينعكس على المسافة النسبية التي تقطعها القطعة من نقطة البدء في أثناء ترحيلها في مجال كهربائي في الهلام Gel electrophoresis، اذ تأخذ القطعة الأكبر القريبة من نقطة البدء رقم (1) وتأخذ القطعة الصغيرة وهي الأبعد عن نقطة البدء رقم 11 ، وتحمل كل قطعة المعلومات الوراثية الخاصة ببروتين معين (Smith & Holmes, .1984).

أما البروتينات الموجودة في اللب فهي بروتينات بنائية وغير بنائية ، اذ يتركب جسيم الفيروس العجلي من ستة بروتينات بنائية تدعى VP1 , VP2 , VP3 , VP4 , VP6 and VP7 ، فضلاً عن البروتينات البنائية هناك بروتينات غير بنائية التي تتكون فقط في الخلايا المصابة بالفيروس العجلي وتدعى NSP1, NSP2, NSP3, NSP4 , NSP5 and NSP6 ، ويعد الأنزيم الذي يعمل على تصنيع الرنا معتمداً على قالب الرنا RNA polymerase – RNA- dependent واحداً من البروتينات غير البنائية ., Pennap *et al*., 1996; Ishida) (2000. أما البروتينات البنائية أو الهيكلية فهي بروتينات الفيروس VP1 , VP2 , VP3 ، تدخل هذه البروتينات في بناء اللب Core وتتفاعل مع الحامض الرايبوزي وتساعد في تعبئته داخل اللب(Estes & Cohen ,1989). أما الغطاء الداخلي الذي يحيط باللب فهو عبارة عن البروتين الفيروسي السادسVP6 ويسمى أحياناً ببروتين الكابسد الداخليInner capsid protein ويعد جزءاً أساسياً في عملية الاستنساخ التي يقوم بها الفيروس (Patton (Gallegos, 1990 &. أذ وجد أن الجسيمات الحاوية على الغطاء الداخلي فقط والمعزولة من الخلايا المصابة هي التي تكون قادرة على تصنيع رنا الفيروس المرسل Viral messenger RNA خارج الخلية وأن اللب الداخلي غير قادر على الاستنساخ Transcriptionally inactive ولكن مزج اللب مع الغطاء الداخلي VP6 يعيد له القدرة على الاستنساخ مما يدل على أن VP6 هو جزء أساسي في هذه العملية (Khamrin *et al* .,2009).

وقد أكدت إحدى الدراسات وجود (132) كابسومير في جسيم الفيروس أحادي الطبقة (الحاوي على الطبقة الداخلية في الغطاء) (Franco *et al* .,1996) . ولوحظ وجود (132) قناة توصيل لب الجسيمة بالسطح الخارجي , يعتقد الباحثون أن هذه القنوات ربما تعمل على إيصال المواد الأولية الى داخل اللب ومنها تخرج خيوط الرنا (RNA) المصنعة، مما يفسر النتائج التي تؤكد على أن اللب يصنع ويصدر الرنا المصنع ويتغير حجمه في أثناء التصنيع بسبب دخول الرنا القالب Template RNA الى داخل اللب (Zarate *et al* .,2000) . ولوحظ وجود زوائد بروتينية بارزة من سطح جسيمة الفيروس يتراوح طولها بين 6 – 4.5 نانوميتر ذات نهاية كروية الشكل يعتقد أن هذه الأشواك هي وحدات مزدوجة من البروتين Vp4 وهو الأنزيم الذي يلزن كريات الدم الحمر Hemagglutinin المعروف بوجوده

على سطح الجسيمة (Flores *et al* ., 1982) . أوضحت تحاليل البروتينات أن الغطاء الخارجي للجسيمة القادر على أحداث الأصابة Infectious virion يحتوي على نوعين من البروتينات أحداهما هو Vp4 والثاني هو بروتين سكري Glycoprotein ويسمى VP7 ويعين كلاهما موقع ارتباط الاضداد المثبطة للحيوية(Aoki *et al* .,2009).

3.2. الخصائص الكيموحيوية للفيروس العجلي Biochemical characteristics

تمتلك الفيروسات العجلية القدرة على مقاومة أغلب مواد المنظفات Detergents والمذيبات solvents , فضلاً عن ذلك فإن الفيروسات العجلية لها القدرة على مقاومة درجة الحرارة التي قد تصل لـ 56م وكذلك pH_3 (Sattar *et al* .,1984).

الفيروسات العجلية التي تصيب الإنسان Human rotavirus قادرة على البقاء حية لأيام وأسابيع في الغائط الذي يحتوي على رطوبة مناسبة ، كذلك تستطيع الفيروسات العجلية التعايش على الأجسام الصلبة لمدة تزيد عن 10 أيام (Hart & Ibrahim, 1989) . وتستطيع الفيروسات العجلية ان تبقى لمدة طويلة عندما تحفظ تحت درجة حرارة −76م فضلاً عن ذلك تقاوم الفيروسات العجلية الكلورين المضاف إلى الماء لأغراض التعقيم (Jiang *et al*., 2001 .)

تفقد الفيروسات العجلية قدرتها على الإصابة عند معاملتها مع 95% أيثانول Ethanol أو عند وجودها بمحيط حامضي أقل من pH_2 ، كذلك تعرض الفيروسات العجلية لمدة طويلة الى الفينول phenol يؤثر بشكل كبير على تركيب الفيروس ، كل من هايبوكلوريد الصوديوم sodium hypochloride بتركيز 1% على السطوح الملوثة والسترامايد cetrimide والاسيتون Acetone والتسخين فوق درجة حرارة 56م يساعد على تلف سريع للطبقة الخارجية الكابسد Capsid (Rodgers *et al* ., 1985) .

4.2. المجاميع والأنماط المصلية للفيروس العجلي

بسبب العدد الكبير لعزلات الفيروس وإصابة الإنسان والحيوان بسلالة أو أكثر من هذا الفيروس مع وجود اختلافات مصلية بسبب تنوع هذه السلالات حاول

الباحثون تقسيمها على وحدات تصنيفية بسيطة لتسهيل دراستها وتمييزها الى مجاميع groups ومجموعة ثانوية subgroup فضلاً عن الأنماط المصلية serotypes (Santos *et al.* , 1998). تشخص الأنماط المصلية للفيروس العجلي بالاعتماد على الخصائص المستضدية لأثنين من بروتيات الكاسبد الخارجي وهي Vp_4 , Vp_7 وبما أن الجينات المسؤولة عن هذه البروتينات قد ينعزل بعضها عن بعض في أثناء تضاعف الفيروس لذا اعتمدت طريقة مصلية مبنية على خصائص كل من هذين البروتينين Vp_4 , Vp_7 (Khamrin *et al* .,2009). وعليه فقد تم تشخيصها الى أنماط مصلية حساسة للأنزيم الحال للبروتينات Protease sensitive وهي أنماط مصلية نوع P serotypes P تعتمد خصائص البروتين الرابع Vp_4 إذ ينشط هذا الأنزيم فعالية الفيروس لإصابة الخلية، وهناك 20 نمطاً مصلياً نوع P ثمانية منها تصيب الإنسان ، وأنماط مصلية معتمدة على الخصائص المستضدية للبروتين السكري رقم 7 Vp_7 Glycoprotein تشكل الغطاء الخارجي للفيروس وتدعى G serotypes هناك (14) نوع من النمط المصليG تسعة تصيب الأنسان (Linhares *et al* ., 1988) وتعد الأنماط المصلية G1, G2 , G3 , G4 الأكثر أهمية في أصابة الأطفال في العالم واعتمادا على ذلك فأن عزلة معينة من الفيروس لا تسمى بنمط Gأو P فقط بل بكلا النمطين معاً (Radwan *et al.* , 1997 ; Zarate *et al* .,2000) .

5.2. إصابة الخلية وتأثير الفيروس عليها Cell infection and injury

الفيروس العجلي يصيب الخلايا الظهارية المعوية الموجودة على قمة الزغابات. إنَّ الغطاء البروتيني وامتلاك الفيروس القدرة على مقاومة الاس الهيدروجيني pH_3 يجعله شديد المقاومة لحموضة المعدة الطبيعية وانزيمات الهضم المعوية (Sattar Lipases and Proteases *et al* .,1984). بعد وصول الفيروس الى الامعاء يقوم بالارتباط على سطوح خلايا المضيف ، اذ ترتبط الفيرونات بخلايا المضيف بمناطق ارتباط خاصة تكون على اسطح الخلايا تدعى مستقبلات الفيروسات Viral Receptors (Lopez and Arias, 2006).

يعمل حامض السياليك الموجود على أسطح الخلايا كمستقبل Receptor يزيد من قابلية الفيروس على احداث الاصابة من خلال التفاعل بين بروتينات الفيروس وحامض السياليك ، الدراسات الحديثة تؤكد ان عملية الحضن المسبقة للفيروسات العجلية بحامض السياليك يقلل

من قابلية الفيروسات على احداث الاصابة بسبب تشبع الفيروس بالحامض وفقدان الفيروس القدرة على التفاعل مع حامض السياليك الموجود على سطوح خلايا المضيف (Isa *et al.*, 2006 ; Haselhorst *et al* ., 2009) . بعد عملية الارتباط تحدث عملية الاختراق المباشرة وقد تحصل نتيجة لتثبت الفيروس Viropexis وهو نوع من الابتلاع المشابه للاحتساء Pinocytosos يعرف بعملية الابتلاع الخلوي Endocytosis وعندما تصيب الخلية تعرف عندها باسم الاندوسوم Endosome وفيه ينفتح الغطاء البروتيني ويحقن الحامض النووي الى خلية المضيف (Radwan *et al* ., 1997). البروتينات في الطبقة الثالثة VP7 , VP4 تخترق غشاء الأندوسوم مما يؤدي الى أختلاف في تركيز الكالسيوم وهذا يسهل تكسير VP7 الثلاثي الى وحدات بروتين مفردة وترك أغطية VP2 and VP6 حول الفيروس dsRNA ويشكل جزيء ثنائي الطبقات (Nelson *et al* .,1996) بينما الـ dsRNA المكون من 11 خيطاً يظل محمياً تحت صدفتين من البروتين يقوم أنزيم الحمض النووي الرايبي بولميراز RNA - polymerase بصناعة نسخة من الرنا المرسل الفيروسيmRNA من المادة الوراثية المزدوجة الخيط (Pandey *et al.*, 1999).خلال العدوى يقوم الفيروس العجلي بتصنيع الرنا الساعي ليقوم بمساعدة عمليتي ترجمة البروتين ومضاعفة الجينات ، معظم بروتين الفيروس العجلي تتراكم في جسيم يدعى الفيروبلازم Viroplasm وهو المكان الذي تحدث فيه مضاعفة الحامض النووي الرايبي وتجمع الجزيئات ثنائية الطبقات (Parashar *et al* ., 1998). إذ عند اختراق الحامض النووي الفيروسي خلية المضيف يتم السيطرة على الجهاز الوراثي ومضاعفة الفيروس اعتماداً على المكونات الخلوية لخلية المضيف، اذ تتجمع بروتينات فيروسية والحامض النووي على مقربة من الغشاء السايتوبلازمي ثم تحاط ببروتين الكابسد لتكوين ذرية من الفيرونات الناضجة (Jourdan *et al* ., 1998).

تتحرر الفيروسات المتكونة حديثاً بطريقة التبرعم Budding اذ يحدث التبرعم في اغلب الفيروسات المغلفة ، ويكون مصدر الغلاف غشاء الخلية (Ludert *et al* ., 2002). الفيروسات العجلية تصيب الخلايا الظهارية الموجودة على قمة الزغب ومن ثم التضاعف بعملية الاستنساخ داخل خلايا المضيف ، مما يؤدي الى حدوث تغيرات في التركيب النسيجي للخلايا وزيادة نفاذية الغشاء البلازمي فضلاً عن ذلك ضمور الزغابات (Smith *et al* .,1993).

6.2.الوبائية Epidemiology

هناك 500 مليون حالة من الالتهاب المعوي في انحاء العالم كافة ، منها 5–10 مليون حالة تؤدي الى الموت والاسباب مختلفة ، وتعد الفيروسات المعوية من اهم هذه المسببات ولاسيما الفيروس العجلي الذي يعد من أوسع مسببات الإسهال على صعيد العالم (Carraturo *et al* ., 2008). ينتقل الفيروس العجلي عن طريق الفم من خلال تناول المياه والاغذية الملوثة بالفيروس العجلي ، وتساهم الكثير من العوامل في انتقال الفيروس وخاصة في الدول النامية ، اذ إنَّ تدني الوعي الصحي وعدم الاهتمام بالنظافة الشخصية والعامة وتلوث الاطعمة والمياه المعدة للاستهلاك البشري (Ahmed *et al* .,2004). وقد ينتقل عن طريق لعب الاطفال بعد تلوثها بالفيروسات، اذ ان أهم وسيلة للانتقال الفيروس من شخص الى اخر هو عن طريق الايادي والملابس الملوثة (Kheyami, 2006).

النزلة المعوية الناتجة عن الفيروس العجلي واسعة الانتشار وتصيب نسبة كبيرة من الاطفال ، اذ ان طفل واحد من بين 200 طفل يموت بسبب الاصابة بالنزلة المعوية الناتجة عن الفيروس العجلي ، وفي الاقطار النامية يعد الفيروس العجلي مسؤول عن اكثر من 870 ألف حالة وفاة بين الاطفال الرضع والأطفال الذين هم من دون سن الخامسة من العمر (Fischer *et al* .,2004). في الهند يموت حوالي 100–150 الف طفل سنوياً بسبب الاسهال الناتج عن الاصابة بالفيروس العجلي(Broor *et al* .,2003) . في دراسة اجريت بالولايات المتحدة بين عامي 1993–1995 ، كانت نسبة الاصابة بالفيروس العجلي 13.5 % من مجموع الأطفال الذين أدخلوا المستشفى بسبب الاسهال وبعمر شهر الى اربع سنوات (Parashar *et al* .,1998). وفي دراسة ثانية اجريت في انكلترا بين عامي 1990 و 1994 كانت نسبة الاصابة بالفيروس العجلي 75.59% من مجموع الاطفال الذين كانوا يعانون من التهابات المعوية ، 94% من هذه الحالات كانت عند الاطفال الذين هم دون سن الخامسة (Rayan *et al* .,1996). في السعودية نسبة الإصابة بالفيروس العجلي كانت 30% من مجموع الاطفال الذين ادخلوا المستشفى بسبب الاسهال(Kheyami *et al* ., 2008) .

وفي العراق أجريت دراسات عديدة للتحري عن الفيروس العجلي، اذ وجد ان نسبة الاصابة بهذا الفيروس في مدينة بغداد 40.2% بين الاطفال ممن هم دون سن الثالثة والذين

كانوا يعانون من التهاب معوي حاد(Abbas *et al*.,1988) . وفي دراسة اخرى في مدينة البصرة كانت نسبة الاصابة بالفيروس العجلي هي 11.48% لدى الاطفال دون سن الخامسة (Al-Kerwi *et al*.,1993). أما في مدينة الرمادي فكانت نسبة الاصابة بالفيروس العجلي 24.4% للاطفال الذين كانوا يعانون من التهابات معوية (Al-Falahi, 2002) .

توجد سبعة انواع من الفيروس العجلي هي A,B,C,D,E,F and G ثلاثة منها تصيب الانسان A,B,C مجموعة A هي من أكثر المجاميع خطورة واكثرها انتشاراً وهذه المجموعة مستوطنة في العالم وهي السبب المؤدي الى الاسهال عند الاطفال والاطفال الرضع (Colomba *et al* .,2006).

في دراسة اجريت في اليابان للتحري عن التردد النسبي للأنماط المصلية للفيروس العجلي الذي يصيب الانسان، تم دراسة 106 عينة موجبة للفيروس العجلي مجموعةA ، اذ وجد ان التردد النسبي للمجموعة الثانوية Subgroup II للانماط المصلية Serotypes 1,3,4 هو 59% بينما 40% للمجموعة الاولى (groub I) للنمط المصلي الثاني Serotyp 2 ، في حين اظهرت سبع عينات تشابه لكلتا المجموعتين (Subgroups I+II) (Urasawa *et al* .,1989). وفي دراسة اخرى أجريت في القاهرة للتحري عن التردد النسبي للانماط المصلية وجد بأن كل من النمط المصلي G_1 , G_4 كانا سائدين على الانماط المصلية الاخرى (Radwan *et al* .,1997). بينما الأنماط G_1 , G_3 كانا سائدين على مستوى متماثل في نيجيريا (Pennap *et al* .,2000). في تايلند تم تسجيل 239 حالة من الالتهاب المعوي الحاد لدى الاطفال الذين هم دون سن الخامسة من العمر بين عامي 2000–2002، كانت نسبة الإصابة بالفيروس العجلي 48.2% من مجموع العينات وللانماط المصلية G_9 ، G_4 وG_1 بنسبة 67%– 23% –2%، على التوالي (Intusoma *et al* ., 2008).

أظهرت إحدى الدراسات في البرازيل والتي اجريت على49 عينة خروج موجبة للفيروس العجلي للاطفال المصابين بالاسهال لعامي 1996–1997 تنوع واختلاف واسع للنمط المصلي G إذ إن الأنماط التقليدية G_3 وG_1 شكلتا نسبة 27% و19% من الإصابات، على التوالي ، بينما كانت 60% من الاصابات كانت بسبب انماط غير تقليدية اذ شكل النمط

G_5نسبة 25% وشكل النمط المصلي G_8 نسبة 4% بينما شكل النمط G_{10} نسبة 6% (Santos *et al*.,1999) .

فاشيات الإسهال نتيجة الإصابة بالفيروس العجلي شائعة بين الاطفال الرضع الراقدين في المستشفيات والاطفال في دور الرعاية ، ففي الصين عام 1982 تم تسجيل أكبر فاشية ، إذ إن أكثر من مليون شخص قد أصيبوا بالفيروس العجلي (Hung *et al* .,1984). في فرنسا بين عامي 2006–2007 تم تسجيل فاشية للفيروس العجلي ، اذ كانت نسبة الاصابة بالفيروس العجلي 41.7% من مجموع الاطفال الراقدين في المستشفى (Carraturo *et al* ,2008). في نيكاراغوا خلال عام 2005 تم تسجيل فاشية اخرى للفيروس العجلي كانت سبباً في إصابة عدد كبير من الاطفال بالتهابات معوية حادة ، ويعتقد بأن هذه الفاشية كانت على الأغلب نتيجة تغير وراثي في الفيروس العجلي مما ساعد في حدوث الاصابة عند الاطفال الذين لا توجد لديهم حصانة ضد هذا النمط من الفيروس (Gleizes *et al* .,2006).

الأطفال في مختلف الأعمار معرضون للإصابة بالفيروس العجلي ، ولكن نسبة الاصابة تزداد بين الاطفال الذين هم دون سن الخامسة لتصل الى 95% (CDC , 2008) . اذ وجد ان نسبة 25% من الإصابات بالفيروس العجلي تنتشر بين الاطفال الذين هم دون6 أشهر وبنسبة 35% من عمر شهرين الى 12 شهر وبنسبة 25% بين الاطفال دون الـ 24 شهر (Gonzalez *et al* .,2008).

ان الإصابة بالفيروس العجلي تزداد بين المجتمعات السكانية ذات المستوى المعيشي المتدني والتي تفتقر الى الوعي الصحي والخدمات الصحية، اذ تصل نسبة الوفيات بين الأطفال في الدول الفقيرة بسبب الفيروس العجلي الى 82% من إجمالي حالات الوفاة على مستوى العالم ، ولاسباب كثيرة تشمل حالات سوء التغذية والامكانات المحدودة للحصول على اللقاح (Bartlett, 1996). وتزداد نسبة الإصابة بالفيروس العجلي بين اطفال القرى الذين يعيشون بمستوى معيشي متدنٍ ويستخدمون مياه الانهار للشرب والاستحمام ، اذ تعد المياه والاغذية الملوثة من اهم الاسباب المؤدية الى ارتفاع نسب الاصابة بالفيروس العجلي (Al-Nakashabandy ,1993 ; Schael *et al* .,2009) .

تزداد نسبة الإصابة بالفيروس العجلي بالفصول الباردة الجافة من السنة ، الا ان ذلك لا يمنع الإصابة في أي فصل من فصول السنة ، وعادة ما يصاب الطفل من 3–5 مرات ، لكن دائماً تبقى الاصابة الاولى هي الاخطر على صحته وتتدنى خطورة الفيروس مع تكرار الاصابة(Metti, 1986). أشارت إحدى الدراسات الأمريكية الى ان الاصابة بالفيروس العجلي تزداد في المناطق الباردة الجافة لتصل الى 54% ، في حين تصل نسبة الإصابة في المناطق الاخرى الى 40% (Brandet *et al* .,1982).

الإصابات المتكررة للفيروس العجلي قد يزيد خطر اصابة الأطفال الذين لديهم قابلية جينية للاصابة بالامراض الباطنية Celiac diseases (Forster *et al* .,2009).

7.2. الامراضية Pathogenesis

الفيروس العجلي واحد من أهم الاسباب المهمة والمؤدية الى النزلة المعوية الفيروسية للانسان وخاصة الفيروس العجلي مجموعة A الواسع الانتشار بنسبة 12–71% بين الأطفال المصابين بأمراض الإسهال الحاد الذين هم دون سن الخامسة من العمر، ويطلق على هذا المرض عدة أسماء منها الإسهال الطفولي، إسهال الشتاء، أنفلونزا المعدة والإسهال المعدي المعوي الفيروسي الحاد (Fischer *et al* .,2004). يدخل الفيروس الى الجسم عن طريق الفم عند تناول الاغذية والمياه الملوثة بشكل مباشر او غير مباشر بغائط المرضى المصابين بهذا الفيروس، وخاصة في المجتمعات المغلقة ، مثل اجنحة الاطفال في المستشفيات وكذلك دور الرعاية للاطفال وكبار السن ، وإن الأشخاص المصابين بهذا الفيروس ممن يقومون بحمل الطعام يلوثون الطعام الذي يلمسونه خصوصاً اذا كان الطعام لا يحتاج الى طبخ (Harada *et al* .,2009).

تتراوح الجرعة التي يمكن ان تسبب الاصابة بالمرض بين10–100 جسيم فيروسي لكل سنتمتر^3 ، وبما ان الشخص المصاب بالاسهال الفيروسي العجلي يطرح كمية كبيرة من الفيروسات بين108–1010 جسيم لكل سنتمتر^3 من الغائط فأن هذه الجرعة يمكن ان تكتسب بسهولة عن طريق الايادي او الادوات الملوثة (Glass *et al*.,1996). الغطاء الثلاثي البروتيني للفيروس فضلاً عن قدرته على تحمل pH_3 يعجله شديد المقاومة لحموضة المعدة الطبيعية وكذلك مقاومة انزيمات الهضم المعدية، ومن ثم وصول الفيروس الى الامعاء بعدها يقوم

الفيروس بعملية النضج Maturation داخل خلايا المضيف بطريقة الاستنساخ (Leung *et al* ..,2005)

يصيب الفيروس العجلي الخلايا الظهارية الموجودة في قمة الزغابات مما يؤدي الى حدوث تغييرات في التركيب النسيجي للخلايا فضلاً عن ضمور الزغابات ، والسيطرة التامة على الإنزيمات في خلية المضيف ، وزيادة في نفاذية الغشاء البلازمي للخلايا المصابة مما يؤدي الى زيادة افراز السوائل والالكتروليتيات Electrolytes من الخلايا المصابة الى جوف الأمعاء(Ball *et al*.,2005). السوائل الناتجة من الخلايا المصابة بسبب زيادة نفاذية الغشاء البلازمي فضلاً عن الالكتروليتيات تتجمع في جوف الأمعاء ثم تندفع مرة واحدة الى الخارج مؤدية الى حدوث الإسهال(Bucardo *et al* ., 2007). ويؤدي استمرار وجود جزيئات السكر في جوف الامعاء بسبب ضمور الزغابات وتلف الخلايا الظهارية ونقص في الإنزيم الهاضم للسكريات Dissacharidase إلى تكرار الإسهال وإحداث الوفاة بسبب فقدان كميات كبيرة من السوائل والالكتروليتيات (Harada *et al* .,2009).

الفيروس العجلي واحد من اهم مسببات التهاب المعوي الحاد ، ولكن الدراسات الحديثة تؤكد بأن الاصابة بالفيروس العجلي لا تقتصر على اصابة القناة الهضمية فقط ولكن قد يصل الفيروس الى المجرى الدموي Viremia، وقد شُخص الفيروس العجلي من سائل الجهاز العصبي المركزي Centeral nervous system في حالات التهاب الدماغ والسحايا (Goto *et al* ..,2007 ; Chitambar *et al*.,2008)

8.2.الأعراض السريرية Clinical Signs

الفيروس العجلي واحد من اهم مسببات النزلة المعوية التي هي عبارة عن التهابات فيروسية تصيب المعدة والامعاء ، وهي تتفاوت في حالاتها السريرية من أعراض بسيطة الى اعراض حادة واحياناً مميتة (Farrar *et al* ., 1995) .تتراوح فترة الحضانة للفيروس العجلي من (1-4) يوم ثم تبدأ الأعراض بإسهال وتقيؤ للمدة 4–8 يوم مع ألم بسيط في البطن وصداع ارتفاع في درجة الحرارة ، وقد تظهر الحساسية المفرطة تجاه اللاكتوز مؤقتاً. إنَّ الاسهال

الشديد بدون تعويض السوائل والالكتروليتيات المفقودة قد يسبب الوفاة (Liddle *et al* ., 1997).

تكون اعراض النزلة المعوية شديدة لدى الأطفال الذين تتراوح أعمارهم من 6 أشهر الى سنتين اذ تستمر لمدة اطول مقارنة مع الأشخاص البالغين ، ويعود السبب في ذلك الى عدم تطور الجهاز المناعي لدى الاطفال الذين تقل اعمارهم عن سنتين ، (Bishop *et al* ..,1996)

9.2.المناعة Immunity

للجهاز المناعي اثراً رئيسي في حماية الجسم من الفيروسات والجراثيم، اذ تؤكد الدراسات دور كل من علم المناعة وعلم التلقيح في مقاومة وحماية الجسم من المسببات المرضية من خلال قابلية الجهاز المناعي على تمييز كل ما هو ذاتي ، فالفرد لا يخلق اضداد او يولد خلايا لمفاوية تتحسس المستضدات الموجودة في الجسم ، وفي الوقت نفسه له القدرة على تمييز المستضدات الغريبة والتخلص منها(Golding *et al* .,1997). الآليات المستخدمة في الشفاء والوقاية تتضمن الدور الداخلي لاستجابات تتوسطها الخلايا والجهاز الخلطي فضلاً عن العوامل اللانوعية المتمثلة بعملية البلعمة وهي عملية بلعمة الجراثيم من قبل كريات الدم البيض وهي واحدة من اهم الآليات الدفاعية في الجسم ضد الجسيمات الغريبة (Ludert *et al* ..,2002). فضلاً عن ذلك وجود الحواجز البايوكيميائية ، اذ تفرز الاغشية المبطنة للمعدة حامض الهيدروكلوريك الذي له اثر كبير في قتل الجراثيم ، ويحتوي اللعاب والمخاط والاغشية المبطنة للجهاز التنفسي انزيمات خاصة لايزوزومات Lysozymes تعمل على تلف اغشية الجراثيم والقضاء عليها (Hempel,2001;Ward, 1996).

الخلايا اللمفاوية التائية T.lymphocytes مسؤولة عن الاستجابة المناعية الخلوية فضلاً عن التنظيم النوعي للاستجابات المناعية كافة وهي اما ان تكون منظمة Regulation T-Cell اذ تنظم فعاليات الخلايا اللمفاوية فهي اما ان تضخم الاستجابة المناعية وتسمى بالخلايا التائية المساعدة T-helper ، او تعيق الاستجابة المناعية ويطلق عليها بالخلايا التائية المثبطة T-supperssor ، او تكون مؤثرة Effector T-cell هذا الخلايا تكون مسؤولة عن تفاعلات الاستجابة المناعية مثل حساسية الجلد المتأخرة ورفض الانسجة الغريبة وإزالة الاورام والخلايا

المصابة بالفيروسات (Weinberg *et al*.,1984). إذ تفرز العديد من الإفرازات يطلق عليها مركبات اللمف Lymphokines تعمل على خلايا أخرى مثل خلايا وحيدة النواة البلعمية ، والتي لها القدرة على مغادرة الدورة الدموية إلى الانسجة ، اذ تصبح خلايا بلعمية كبيرة تقوم ببلعمة الجراثيم وإزالة الخلايا المصابة بالفيروسات والتخلص من الجسيمات الميتة (Bishop *et al* .,1996). وتقوم بإفراز مواد يطلق عليها Monkines تساهم في العمليات المناعية، من هذه المواد الانترليوكين Interleukines تعمل على تنشيط الخلايا اللمفاوية، تفرز الخلايا المصابة بالفيروسات مواد كيمياوية يطلق عليها الانترفيرون Interferon وهي مادة بروتينية تنتجها الخلايا المصابة بالفيروسات ولها القدرة على حماية الخلايا المجاورة من الفيروس نفسه او الفيروسات الاخرى، لهذه المواد اثر فعال ضد الأمراض الفيروسية (Ludert *et al* .,2002).

الخلايا اللمفاوية البائية B.lymphocytes مسؤولة عن المناعة الخلطية وعند تعرضها للمستضدات الغريبة تبدأ بأفراز الأضداد وعندئذ يطلق عليها خلايا البلازماPlasma cell (Golding *et al*.,1997). عندما يصاب الإنسان بأمراض معينة مثل النزلة المعوية بسبب الإصابة بالفيروسات او الجراثيم فأن وقاية الجسم تتم بتكوين الأضداد المتخصصة، إن طريقة دخول الفيروسات والجراثيم له اثر كبير في نوع الأضداد ، اذ عندما يكون موقع الإصابة الأمعاء فأن الضد IgA له اثر مهم في عملية الحماية لكن عند وصول الجراثيم والفيروسات الى المجرى الدموي فأن الذي يقوم بالوقاية هو الضد IgG (Offit,1996).

تكون الأضداد فعالة ضد الفيروسات في حالة وجودها خارج الخلايا وان الأضداد لا تؤثر عليها او تعيق انتشارها عندما تكون الفيروسات داخل خلايا المضيف او في أثناء انتقالها من خلية الى اخرى (Rennels,1996).

عند حدوث الإصابة بالفيروس العجلي يتحفز الجهاز المناعي لتكوين الأضداد اذ تمتاز الاستجابة المناعية الأولية لأغلب المستضدات بإنتاج الضد المناعي IgM التي تمتاز من بقية أصناف الأضداد بألفتها العالية للمستضدات عديدة التكافؤ ولهذا السبب تكون الجزيئة عالية الكفاءة في تفاعل التلازن (Chiba *et al* .,1986) . تتكون هذه الأضداد بعد مدة أربعة أسابيع

من الإصابة بالفيروس العجلي وتستمر لمدة ستة أسابيع بعدها تظهر الأضداد النوعية IgG اذ يتكون هذا الضد بعد مدة ستة أسابيع ولغاية سنة من الاصابة ويستمر وجود هذه الأضداد لمدة طويلة وقد تدوم مدى الحياة (Franco *et al* .,1996).

وعلى الرغم من قدرة الخلايا اللمفاوية على تكوين الأضداد الخاصة بالفيروس العجلي، فالانسان والحيوان يمكن ان يصابوا حتى عند وجود الاجسام المضادة بسبب تنوع السلالات الفيروسية ، إذ أن الإصابة الطبيعية للفيروس العجلي لا تعطي حماية تامة إذ يمكن ان يصاب الإنسان بأنماط مصلية أخرى من الفيروس Serotypes (Weinberg *et al* .,1984). ان الأضداد النوعية للفيروس العجلي IgM , IgG , يمكن الكشف عنها في المصل اذ ان حليب الام وخاصة اللبأ Colostrum يحتوي على الضدات المناعية IgG ,IgA (Ward,1996). انتقال هذه الاضداد له اثر مهم في حماية الطفل بعد الولادة من الامراض المعدية ، وذلك لان آلية الجهاز المناعي لا تزال غير مكتملة التطور . ان وجود الضد IgM في دم الجنين علماً ان هذا الضد لا يعبر الى الجنين عن طريق المشيمة هذا يعني ان الطفل قد قام بتخليقه داخل الرحم بسبب تعرضه لخمج معين(Kapikian , 1996).

10.2. التشخيص Diagnosis

الظواهر السريرية لحالات الإسهال الفيروسي غامضة من حيث تمييز الأسباب فضلاً عن ذلك العديد من فيروسات الالتهاب المعروفة لا تنمو بشكل جيد في وسط النسيج لذلك التشخيص المختبري لعامل التهاب الأمعاء الفيروسي يبقى أداة البحث الضرورية (Kidd *et al*., 1985). تشخص الفيروسات بعدة طرق مختبرية منها:

1. اختبارات التلازن Agglutination :

هي إحدى الطرق المستخدمة في التحري والكشف عن الفيروس العجلي في عينات الخروج ، اذ يعتمد الفحص على تكوين معقد مناعي بين مستضد الفيروس العجلي الموجود في نماذج البراز مع الضدات النوعية للفيروس المرتبطة بجسيمات اللاتكس مكوناً تلازناً يمكن مشاهدته بالعين المجردة او باستخدام القوة التكبيرية للمجهر ويجري التفاعل عادة على شريحة زجاجية (Taylor *et al* ., 1988).

2. تقنية الاليزا ELISA :

تعد تقنية الاليزا Enzyme linked Immuno Sorbert Assay من التقنيات الدقيقة التي تستخدم في التحري عن الضدات النوعية Antibody الخاصة بالفيروس العجلي في المصل Serum ، إذ تعتمد هذه التقنية على قاعدة القياس المناعي للإنزيم ، من خلال تفاعل بيني بين الضدات Antibody الضدات IgG الموجودة في المصل Serum والمستضد Antigen (Kotloff *et al.*,1999).

3. تقنية المجهر الالكتروني Electron Microscope Technique :

تقنية المجهر الالكتروني هي التقنية الوحيدة المتوافرة لرؤية الفيروسات وتستخدم هذه التقنية في الحصول على تشخيص دقيق للمرض ، من خلال الشكل المميز لبعض الفيروسات ومنها الفيروس العجلي في براز المريض ، اذ ان الاثر الرئيس للمجهر الالكتروني في الحالة السريرية هو تشخيص النزلة المعوية الفيروسية باستخدام الصبغة السالبة Negative staing مع Phosphotungustic Acid (Hsiung,1982) .

4. الهجرة الكهربائية للدقائق المعلقة Polyacrylamide gel electrophorsis (PAGE)

من التقنيات التي تستخدم في معرفة الأنماط المصلية للفيروسات العجلية معتمدة على كشف قطع الحامض النووي مزدوجة الخيط Doubl Genome Segment (ds-RNA) ، ذات الاوزان الجزيئية المختلفة ، اذ يمكن فصل هذه القطع بعضها عن بعض بطريقة الترحيل الكهربائي ، اذ تتوزع القطع الجينية على مسافات مختلفة من بدء الترحيل وعلى

مخطط معين تبعاً لنوع السلالة ويطلق على نمط توزيع هذه القطع Electropherotype (Flores *et al* .,1982).

5. اختبارات التلازن الدموي Haemaglutination

من التقنيات التي تستخدم في الكشف عن الفيروس العجلي من خلال قابلية هذه الفيروسات على تلازن كريات الدم الحمراء RBC_S ، من خلال الزوائد البروتينية البارزة من سطح الفيروس والحاوية على الانزيم الذي يلزن كريات الدم الحمراء والمعروف بـ Hemaglutinin (Kidd *et al* .,1985).

6. الكشف عن الفيروس بواسطة الطرق البيولوجية الجزيئية Molecular biology :

تعتمد معظم هذه الوسائل التشخصية على التقنية المهجنة hybridization technology القائمة على تقنية الاحماض النووية المعادة تركيبها recombinant DNA ومن هذه الوسائل التهجين المرشح Filter hybridization تعتمد هذه الوسيلة استخراج extraction الحامض النووي المطلوب وتحريره بمرشحات سليلوزية خاصة ويعاد تركيبه بعد ذلك ومن ثم التعرف عليه ، فضلاً عن التهجين الموضعي في هذه الطريقة يتم التعرف على تسلسل الاحماض النووية DNA or RNA sequences باستخدام نسخة معلمة من الترتيب المكمل للحامض الاميني المطلوب التعرف عليه ويكون التعليم بالنظائر ذات النشاط الاشعاعي مثل اليود والكبريت. تستعمل هذه الطريقة بشكل خاص للكشف المباشر عن الفيروسات الموجودة في الخلايا المصابة اذ تمتاز هذه الطريقة بإمكانية الكشف عن الفيروس ليس في الطور المنتج فقط وانما في الدور الخامل Latent phase (Rosail and Ackerma,2004).

7. تقنية Immune electron microscope (IEM):

من التقنيات التي تستخدم في التشخيص السريع والتعرف على الانماط المصلية للفيروس العجلي في العينات السريرية من خلال استخدام مضدات المصل النوعي ، اذ يتم تحضير مزيج معلق من البراز في محلول دارئ الفوسفات المحلي Phophoate buffer saline ومن ثم يعرض المزيج المعلق الى الطرد المركزي 2000دورة/دقيقة ولمدة 20 دقيقة بعدها يتم

ترسيب الراشح في 0.22 µm (millex-Gv) يمزج الراسب مع المصل المضاد للفيروس العجلي Antiserum Rotavirus ويحضن لمدة 30 دقيقة وفي درجة حرارة الغرفة وتعامل العينات بالصبغة السالبة و Phosphotungustic Acid لمدة دقيقتين ومن ثم يتم الفحص بالمجهر والتعرف على الفيروس من خلال الشكل المميز للفيروس العجلي (Gowins ,1996).

8. التفاعل التسلسلي التضاعفي Polymerase chain reaction (PCR) .

تستخدم هذه التقنية في تشخيص الفيروسات من خلال الكشف النوعي للمادة الوراثية للفيروس ، تسمح هذه الطريقة بإنتاج ملايين النسخ من أي حامض نووي معين خلال بضع ساعات وتبنى على قابلية الانزيمات Polymerases على استنساخ قطعة من الحامض النووي باستعمال قطعة مكملة منه(بادىء) Complementary fragmenعند وجود هذه الانزيمات في خليط من Deoxynucleotide triphosphate تستعمل هذه الطريقة في مجالات عديدة منها التحري عن الفيروس العجلي وفيروس HPV في سرطان الخلايا الظهارية وفيروس EBV في الاورام الخبيثة وفيروس HHV-8 في سرطان كابوسي Kaposi' sarcoma (Taylor *et al* .,1997).

11.2. التلقيح Vaccination

ان الهدف الرئيس من اعطاء اللقاح ضد الفيروس العجلي هو لمنع حدوث النزلة المعوية الحادة خلال السنتين الأولى والثانية من العمر ، اذ غالباً ما تكون الاصابة شديدة وقد تكون مميتة (Vesikari, 2008) . النمط المصلي الخاص serotype specificity يحدد بالاعتماد على الخصائص المستضدية لاثنين من بروتينات الكابسد الخارجي وهي: VP7 (G) and VP4 (P) (Moreira *et al* ., 2009). إذ انه منذ اكتشاف الفيروس عام 1973 و معرفة أثره الرئيس في النزلات المعوية لدى الأطفال جرت محاولات عدة لتحضير لقاح فعال ضد الفيروس وأول لقاح فعال ضد الفيروس العجلي هو روتاشيلد Rota shield والذي طرح في الولايات المتحدة الأمريكية في عام 1998 كان مرخص باستعماله للأطفال الرضع (Wood and Lebaron, 2002) وكان محتوياً على human G types 1,2,4 and simian G types إلا أنه تم إيقاف استخدامه بعد سنة من استخدامه نظراً لتسجيل حالات من الانغلاف المعوي

Intestinal بعد استخدام اللقاح(Hempel,2001). ونجاح هذه المحاولات وضعت الأسس الأولى لتطوير اللقاحات ضد الفيروس العجلي .

وفي الوقت الحاضر يوجد لقاحان ضد الفيروس العجلي :

1. روتاتيك (Rota Teq) : طرح هذا اللقاح في الولايات المتحدة الأمريكية وبعض الدول الأخرى بعد ترخيص استعماله من قبل هيئة الغذاء والدواء الأمريكية في عام 2006 ، اذ اجري الاختبار على اكثر من 70 ألف طفل ولم يتم تسجيل أي آثار خطيرة خلال التجارب التي سبقت إطلاق اللقاح ، يتكون اللقاح من الفيروس العجلي البشري المضعف وهو يعطي مناعة في جسم الطفل بعد اخذه بحيث يقي من حالات الاسهال ،إذ يقوم جسم الطفل بعد التلقيح بتكوين أضداد نوعية ضد الأنواع الأكثر انتشاراً (Matson ,2006).ويعطى هذا اللقاح بواسطة الفم ثلاث جرعات في الشهر الثاني والرابع والسادس من العمر وهو يؤمن حصانة ضد المرض بصورة عامة بنسبة 74% وضد الحالات الشديدة للإسهال نسبة 98% (Moreira *et al* ., 2009).

2. روتا ريكس (Rots rix) : طرح هذا اللقاح في عام 2006 في أكثر من ثلاثين دولة أوربية وآسيوية وأمريكا الجنوبية ، اذ اجري اللقاح على اكثر من 63 الف طفل ولم يتم تسجيل أي آثار خطيرة (O'Rryan,2007) . يتكون اللقاح من الفيروس العجلي البشري الحي المضعف ، ويعطى اللقاح بواسطة الفم بواقع جرعتين في الشهر الثاني والرابع من العمر وهو يؤمن حصانة ضد المرض بصورة عامة بنسبة 72 . 87 % وضد الحالات الشديدة للإسهال نسبة 85 . 96 % (Gurgel *et al* .,2008).

لا يعطى لقاح الفيروس العجلي للطفل في حالة تحسس الطفل من جرعة سابقة ، أعراض التحسس قد تكون طفح جلدي مع حكة , صعوبة في التنفس , تورم في الوجه أو اللسان كذلك لا يعطى اللقاح أذا أصيب الطفل بالإسهال والقيء وهنا يمكن تأجيل اللقاح وليس إلغاءه (Bines,2006).

12.2. العلاج Treatment

ان السبب الرئيس للوفيات بين المرضى المصابين بالفيروس العجلي والفيروسات المعوية الأخرى كانت تعزى الى نقص السوائل وحدوث خلل في التوازن

الألكتروليتي، إذ أكدت أغلب الدراسات أن عملية السيطرة على المرضى ممكنة بواسطة اعطاء المحاليل الطبية لتعويض السوائل والأملاح التي يفقدها الجسم خلال مدة المرض (Kaila *et al* ., 1997) .. المحاليل الطبية هي مزيج متوازن من املاح وكلوكوز والالكتروليتات تعطى عن طريق الفم ، لإعادة السوائل ونقص البوتاسيوم ، إذ التغذية السريعة وإعادة السوائل هو الإجراء الأكثر أهمية لعلاج إصابات النزلة المعوية (Madkour *et al.*,1995). قد تصل بعض الحالات الى فقدان كميات كبيرة من السوائل وينتج عن ذلك اصابة المريض بحالة من الإعياء وغياب الوعي ، هذه الحالات تتطلب الدخول الى المستشفى من اجل تعويض السوائل عن طريق الوريد ، اذ يعد العلاج الوريدي ضرورياً للأطفال الذين يعانون من إصابة شديدة و غير القادرين على تناول السوائل عن طريق الفم (Eliason & Lewan,1998).

13.2.نوع الرضاعة وعلاقته بالإسهال

Types of feeding and their relation to diarrhea

تشير كثير من الدراسات والإحصائيات الى أن حليب الأم يقلل من احتمالية الأصابة بالإسهال وكذلك شدة الإصابة سواء كانت الإصابة ناتجة عن مسببات جرثومية أو فيروسية (Golding *et al* ., 1997).ويعود ذلك للأسباب الآتية:

- يحتوي حليب الأم ولاسيما اللبأ Colostrums على الضدات المناعية (Immunoglobulines) ولاسيما secretory Immunoglobulin A -IgA- فضلاً عن الكلوبيولين – Immunoglobulin G - IgG إذ وجد أن مستوى عيارية الأضداد النوعية ضد الفيروس العجلي الموجودة ضمن حليب الأم هو 35% IgA و55% IgG (Bell *et al* .,1988) .
- يحتوي حليب الأم على (Lactoferrin) الذي يعد كمثبط لنمو الجراثيم (bacteriostatic agent) ويحتوي حليب الأم على تركيز عالي من سكر اللاكتوز (Lactose) الذي يتخمر في الأمعاء بفعل الجراثيم المعروفة بعصيات حامض اللاكتيك Lactobacilli وينتج عن هذه العملية حامض اللاكتيك مما يقلل أو يمنع نمو المسببات المرضية (Feng *et al* .,1997).

تناولت الكثير من الدراسات العلاقة بين نوع الرضاعة ومرض الأسهال إذ أشارت إحدى الدراسات الى أن الرضاعة الطبيعية لا تمنع الأصابة بالأسهال وخاصة بفيروس العجلي لكنها تقلل الى حد ما كمية الفيروس المطروح في البراز (Metti , 1986) بينما أشارت دراسة اخرى الى أن نسبة الأصابة بالفيروس تقل عند الأطفال الذين يتناولون حليب الأم (AL- Nakashabandy , 1993). إن تناول الحليب الصناعي أثناء الإصابة بالإسهال يزيد من شدة الأصابة المرضية ويظهر ذلك جلياً في زيادة كمية الغائط المطروحة (Bhatnagar *et al* , 1996).

14.2.المسببات الطفيلية للإسهال Parasitic agents

يصاب الكثير من الأطفال الرضع بالأسهال الناتج عن الأبتدائيات المعوية Intestinal protozoa وذلك عن طريق تناول الأغذية والمشروبات الملوثة بالأطوار المعدية Infective stages لهذه الطفيليات(Baruch *et al* .,1996) .

1.14.2. الاميبا الحالة للنسيج *Entamoeba histolytica*

تعد الاميبا الحالة النسيج النوع الممرض الوحيد الذي ينتمي الى جنس *Entamoeba* والتي لها القدرة على الحركة بواسطة الأقدام الكاذبة ، اذ تكون حركتها موجهة خلافاً لبقية انواع الاميبا (Volk *et al* ., 1986). تنتشر الاميبا الحالة للنسيج في جميع أنحاء العالم وخاصة في المناطق الاستوائية ، وتؤكد العديد من الدراسات ان نسبة الإصابة قد تصل الى 50% في بعض المناطق، اذ يعتقد ان 500 مليون شخص مصاب بهذا الطفيلي، وما بين 90–100 ألف طفل يموت سنوياً (Kosek .,*et al* 2000; Murray,2001). يصيب هذا الطفيلي الأمعاء الغليظة في الأنسان ويمر بطورين في أثناء دورة حياته يعرف الأول بالطور الخضري trophozoite ويمتاز بعدم انتظام شكله, يتميز السايتوبلازم على طبقتين داخلية وخارجية Endo and ectoplasm النواة غير مركزية الموقع والجسم النووي Karyosome صغير ومركزي الموقع يتحرك هذا الطور بواسطة الأقدام الكاذبة pseudopodia ، والطور الثاني هو الطور المتكيس المعدي infective Cyst الذي يتميز بشكله الدائري وأحتوائه على أربع انوية صغيرة يغزو هذا الطفيلي الطبقة المخاطية وتحت المخاطية mucosa and submucosa المبطنة للأمعاء الغليظة مسببة ما يعرف بالزحار الأميبيAmoebic dysentery ، فضلاً عن ذلك

الاصابات الشديدة قد تؤدي الى وصول الطفيلي عن طريق مجرى الدم الى الكبد مسببة التهاب الكبد الاميبي Amoebic heptitis أو خراج الكبد (Jawetz *et al* .,1998).

2.14.2.الجيارديا اللّمبيليّة *Giardia lamblia*

يعد هذا الطفيلي من الأبتدائيات السوطية Flagellated protozoan التي تصيب الأمعاء وله طوران، الأول هو الطور المتغذي وهو طفيلي سوطي كمثري الشكل متناظر جانبياً وله نهاية أمامية عريضة ونهاية خلفية مستدقة يحتوي هذا الطور على نواتين لكل منها جسم نووي مركزي كبير ، وأربعة أزواج من الأسواط، أما الطور المتكيس فأنه يحتوي (2-4) أنوية وعلى معظم تراكيب الطور النشط (Kosek *et al* .,2000). تحدث الأصابة بعد تناول الأغذية والمشروبات الملوثة بالطور المتكيس ونتيجة لتأثير العصارات المعدية يتحول الطور المتكيس الى الطور النشط داخل الأمعاء الدقيقة ، الإصابة بطفلي الجيارديا واسعة الانتشار وخاصة بين الاطفال الذين تتروح أعمارهم بين 5–10 سنة، يصيب الطفيلي الأمعاء الدقيقة للانسان مما يؤدي الى تكوين جدار على السطح الداخلي للأمعاء وبالتالي عرقلة امتصاص الدهون وحدوث الإسهال الدهني ، وفقدان الجسم لبعض الفيتامينات وخاصة فيتامينA مسبباً بذلك سوء التغذية (Volk *et al* .,1986). يسبب الطفيلي داء الجيارديا Giardiasis أو داء اللامبليا Lambliasis ، وتؤدي الإصابة المزمنة بهذا الطفيلي الى أمراض سوء الغذائيmalnutrition diseases (Baruch *et al*., 1996).

15.2.المسببات الجرثومية Bacterial Agents

يصاب الكثير من الأطفال الرضع بالإسهال الناتج عن بعض أنواع الجراثيم عن طريق تناول الأغذية والمشروبات الملوثة.

1.15.2 الاشريكية القولونية *Escherichia coli*

تعد من أهم مسببات الأسهال الجرثومي عند الأطفال الرضع بعمر أقل من سنتين كما تسبب اخماجاً مختلفة في الجسم واهمها خمج المجاري البولية (Tarlow,1984). على الرغم من أن بعض سلالاتها تمثل جزءاً من النبيت الطبيعي لأمعاء الإنسان والحيوان.وتعد السلالات الأخرى

ذات أمراضية شديدة وتختلف هذه السلالات في درجة أمراضيتها ووبائيتها وهناك خمس سلالات مرضية تعود الى هذا النوع(Chan *et al* .,2003) . وهي :

.1.1.15.2 Enterpathogenic *Escherichia. coli* (EPEC)

تعد هذه السلسلة واحدة من السلالات الأكثر شيوعاً في إصابة الأطفال بالإسهال الحاد وتتصف هذه السلالة بامتلاكها الكثير من عوامل الضراوة كقدرتها على إنتاج ما يعرف *E.coli* Attachment and effacing factor (EAE) وإنتاج Fimbiral adherence Factor (EAF) (Tamura *et al* .,1996) . بواسطة هذين العاملين تتمكن الخلايا الجرثومية من الالتصاق بالخلايا الطلائية المبطنة للأمعاء وتحطيمها وتقرح منطقة الإصابة وذلك بعد افراز الذيفان المعوي Enterotoxin (Baron, 1994) . ومن الجدير بالذكر ان قدرة افراد هذه السلالة على انتاج عاملي (EAE) و (EAF) و Enterotoxin تعزى الى امتلاكها بلازيمدات ذاتية الانتقال Transmissible Plasmods (Obrien & Holmes,1987).

.2.1.15.2 Enterotoxogenic *E .coli* (ETEC)

تسبب الاسهال الحاد المؤدي الى الجفاف Dehydration للاطفال الرضع ولا سيما في البلدان النامية (Black, *et al* ., 1980). لافراد هذه السلالة القدرة على افراز الذيفان المعويEntertoxin شديد الفعالية الذي يكون على نوعين ، ثابت بالحرارة (ST) Heat Stable enterotoxin وغير ثابت بالحرارة (LT) Heat labile enterotoxin وتشابه فعالية كل من LT و ST فعالية الذيفان المعوي المنتج من جرثومة *Vibrio cholerae* اذ يعملان على احداث خلل في التوازن الايوني داخل الامعاء (Mims and White, 1984) .

.3.1.15.2 Enteronvasive *E.coli*

لأفراد هذه السلالة القدرة على غزو الخلايا الطلائية المبطنة للامعاء الغليظة اذ تدخل الخلايا بعملية Endocytosis ، ان ميكانيكية هذه السلالة في احداث المرض تشبه ما يحدث عند الاصابة بالزحار العصوي (Bacillary dysentery) الناتج عن الاصابة بجنس *Shigella* Spp ويعود السبب في ذلك الى ان كلاً منهما(*Shigella* , ETEC) يمتلك بلازميداً عملاقاً (Kbp120.000-140.000) دالتن لذا تتشابه المعلومات الوراثية المشفرة عن هذا البلازيمد في كل منهما (Taylor *et al* .,1988).

.4.1.15.2 Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)

لهذه السلالة القدرة على احداث ظاهرتين مرضيتين هما : التهاب القولون النزفي (Hemorrhagic colitis) والتبول الدموي (Hemolytic Uermic Syndrom) (Cimolai *et al* .,1990). تمتلك الانماط المصلية التابعة لهذه السلالة عوامل الضراوة كثيرة اهمها القدرة على الالتصاق على سطوح الخلايا الطلائية للامعاء ، وانتاج الذيفانات الحالة للدم (Hemolusids) التي تعرف باسم (Shiga-Like toxins) (Tamura *et al*.,1996).

Enteroaggregative *E.coli* (EAggEC) .5.1.15.2

يمكن ان يطلق على هذه السلالة تسمية اخرى هي(Enteroadherant *E.coli* (EAEC وذلك لقدرتها على الالتصاق على سطوح الخلايا الطلائية لبطانة الامعاء (Obrien & Holmes .,1987). و أن لافراد هذه السلالة القدرة على الالتصاق على خلايا المزارع النسيجية HEP-2 cells وانتاج الذيفانات المعوية Enterotoxins بنوعيها (LT) و (ST) (Germani *et al* .,1996).

2.15.2. جرثومة السالمونلا *Salmonella Spp*

يسبب أفراد هذا الجنس ثلاثة أنواع رئيسة من الأمراض هي حمى التيفوئيد والباراتيفوئيد Typhoid & paratyphoid fever والتهاب الأمعاء أو التسمم الغذائي Gastroenteritis or food poisoning. يضم هذا الجنس أكثر من 2000 نمط مصلي (Mims and White,1984) . جميعها قادرة على النمو في أمعاء الإنسان والحيوان عدا النوعين*S.typhi* و *S.paratyphi* فهما يصيبان الإنسان فقط وهو المضيف الخازن الوحيد في حين تعد الحيوانات كالدجاج والخنازير وغيرها مضائف خازنة للأنواع الأخرى ولذا فأن فضلات هذه الحيوانات هي المصدر الأساس لهذه الجراثيم التي تنتقل الى الإنسان عن طريق تناوله الأغذية والمشروبات الملوثة بهذه الفضلات(Brooks *et al* ., 1995).

أن أكثر الأنواع التي تسبب التهاب الأمعاء هما *S.enteritidis* , *S. cholerae suis*، تعد هذه الانواع من السالمونيلا الأكثر انتشاراً وتصيب عدداً كبيراً من الاطفال (Cook *et al* .,1998).وتمتلك هذه الجرثومة الكثير من عوامل الضراوة التي تمكنها من غزو أنسجة المضيف وأحداث مرض شديد أهم هذه العوامل هو مستضد الضراوة virulence antigen (viAg)،الذي يزودها بقدرة عالية على غزو الأنسجة كذلك الذيفان

الداخلي Endotoxin الذي يتحرر عند تحلل الجرثومة مما يؤدي الى ظهور أعراض مرضية كالحمى والقشعريرة وألم في البطن مع غثيان يعقبه تقيؤ وصداع فضلاً عن الذيفانات المعوية Entrotoxins التي تسمى أحياناً بـ cholera like Entrotoxins (Ibrahim *et al* ., 1985) .

3.15.2. بكتريا الشيكلا *Shigella Spp*

يطلق مصطلح shigellosis على الأصابة بهذه الجرثومة كذلك بالزحار العصوي Bacillary dysentery تميزاً له من الزحار الأميبي Amoebic dysentery (Crichton ,1996). تحدث الاصابة بعصيات الزحار عن طريق الجهاز الهضمي و في الغشاء المخاطي للامعاء الغليظة، تتكاثر العصيات في الخلايا السطحية للغشاء المخاطي Epithelial Cells وينتشر الالتهاب الى الطبقة التحت المخاطية Submucousa مع تخثر في الاوعية الشعرية الدموية الدقيقة وتآكل وتقرح في الغشاء المذكور والأنسجة المجاورة، ومن النادر ان تغزو العصيات انسجة اخرى او تغزو الدورة الدموية (Chan *et al* .,2003). يشمل هذا الجنس أربعة مجاميع مصلية (serogroups) مسؤولة عن أحداث الأمراضية وهي :

- المجموعة المصلية الأولى (serogroup A) تتألف من 12 نمطاً مصلياً تابعاً لنوع S.dysenteriea .
- المجموعة المصلية الثانية(serogroup B) تتألف من 14 مصلياً تابعاً لنوع S. flexneri .
- المجموعة المصلية الثالثة (serogroup C) تتألف من 18 نمطاً مصلياً تابعاً لنوع S.boydii .
- المجموعة المصلية الرابعة (serogroup D) تتألف من نمط مصلي واحد تابع لنوع S.sonnei (Kotloff *et al* .,1999) .

تعتمد شدة الإصابة على نوعية العصيات فالإصابة بمجموعة A تسبب زحاراً متميزاً بالآلام شديدة في البطن مع حمى وتكرار في التغوط ، ويكون الغائط خفيف القوام ثم يفقد طبيعته ويصبح دماًً ومخاطاً وقيحاً ، أما الإصابة بمجموعة B فتتمثل بزحار خفيف يتميز بخفة قوام الغائط واحتوائه على القليل من الدم والمخاط، اما الاصابة بمجموعة C وD فقد يتسبب عنها اصابة شديدة تشبه مجموعة A (Huq and Colwell ,1996).

يعد النمط المصلي S.dysentriae type1 الذي ينتمي الى المجموعة A الأكثر أنتشاراً في أنحاء العالم في حين المجاميع المصلية الثلاثة الأولى C,B,A الأكثر شيوعاً في البلدان النامية أما المجموعة D فهي الأكثر أنتشاراً في البلدان المتطورة ,Sansonetti) (2001. تنتقل الأصابة بالزحار العصوي من شخص الى آخر مباشرةً عن طريق – Faecal oral route و لا يوجد مضائف خازنة لهذا الجنس , يشترك أفراد هذا الجنس بعامل ضراوة أساسي هو شدة غزو الخلايا الطلائية المبطنة المخاطية للأمعاء وهذا العامل محمول على بلازميد كبير،وهناك عوامل ضراوة أخرى كإنتاج الذيفان المعوي من نوع S.Flexneri وقدرة S.dysenteriae type 1 على إنتاج shigatoxin (Brooks *et al* ., 1995).

16.2. الإصابات المتزامنة Co-infection

تتعد مسببات الإسهال لدى الأطفال، فمنها الجرثومي ومنها الفيروسي والطفيلي والخمائر. وتختلف هذه المسببات في طريقة احداثها للمرض وشدة أمراضيتها لاختلاف عوامل الضراوة التي تمتلكها (Phan *et al* .,2005). وفي بعض الأحيان قد يشترك أكثر من مسبب مرضي في احداث المرض ، قد تكون هذه المسببات المتزامنة فيروسية أو قد تكون جرثومية كما في السالمونيلا *Salmonella* و *E.coli* (Koh *et al*.,2008).

قد تشترك مسببات فيروسية مع المسببات الجرثومية في احداث المرض كما في اشتراك فيروس العجلي مع *E. coli* اذ تعد من الاحياء المجهرية الانتهازية اذ تشكل النبيت الطبيعي داخل الامعاء ، ولكن قد تستغل الظروف الملائمة في احداث المرض نتيجة تغير بيئة الامعاء في أثناء تناول عقار معين أو حدوث تلف في الغشاء المخاطي للامعاء ، ومن ثم إحداث الإصابة (Hung *et al* .,2009). وفي إصابات أخرى اشتراك الفيروسات المعوية مع المسببات الطفيلية في احداث الاصابة . كما في اشتراك الفيروس العجلي مع الاميبا الحالة للنسيج *Entamoeba histoLytica* (Brooks *et al* ., 1995).

في دراسة أجريت في تايوان تم تسجيل 895 حالة من الالتهاب المعوي الحاد الناتج عن السالمونيلا Salmonella والفيروس العجلي، اذ كانت نسبة الاصابة المشتركة هي 33 حالة أكدت هذه الدراسة ان شدة اعراض المرض ومدة بقاء الاعراض (ارتفاع في درجة الحرارة اسهال وتقيؤ) تزداد عند الإصابة بأكثر من مسبب مرضي واحد إذ لوحظ ارتفاع درجة الحرارة

في الإصابات المتزامنة اكثر من 39 م° فضلاً عن التقيؤ الشديد وزيادة مدة الاسهال وتحول الاسهال الى اسهال مخاطي دموي (Lan *et al* .,2009) . وفي دراسة اخرى اجريت في كوريا بين عامي 2005–2006 للإصابات المتزامنة الفيروسية اذ تم تسجيل 155 حالة من الالتهاب المعوي الحاد للأطفال الذين تتراوح اعمارهم 1–3 سنوات ، فيما يتعلق بالفيروس العجلي تم تسجيل 25 حالة متزامنة ، اشترك الفيروس العجلي مع الفيروسات الغدية في 20 حالة بينما اشترك في 5 حالات مع الفيروسات النجمية (Koh *et al* .,2008) . إذ لوحظ زيادة شديدة في أعراض المرض بسبب اشتراك أكثر من مسبب مرضي واحد كما أشار لذلك (John,1996) ومن الطبيعي قد تختلف أعراض المرض في مستوى ظهورها وشدتها وفترة بقائها وذلك باختلاف عوامل الضراوة بين مسبب وأخر أو اشتراك أكثر من مسبب مرضي واحد في إحداث الإصابة.

الفصل الثالث

3.المواد وطرائق العمل

1.3.المواد

1.1.3. الأجهزة والمستلزمات المختبرية

استخدمت الأجهزة والمستلزمات المختبرية المدرجة في الجدول (1.3)

الجدول (1.3) الأجهزة والمستلزمات المختبرية المستخدمة في الدراسة.

الجهاز	الشركة المجهزة ومنشؤها
ماصات دقيقة Micro titer pipettes	Brand (W. Germany)
الموصدة (قدرالبخار) Autoclave	Gallenghamp (England)
المنبذة Centrifuge	Gallenghamp
جهاز تسخين مع محرك مغناطيسي Hot plate with magnetic stirrer	Gallenghamp
حاضنة Incubator	Gallenghamp
ساعة توقيت Stopping watch	(Germany)
المازج الدوار Vortex	Labao (Germany)
مقياس الأس الهيدروجيني PH meter	Orient research (U S A)
مجهر ضوئي Light microscope	Olympus (Japan)
ميزان حساس Sensitive balance	Mettler H 30(Switzerland)
جهاز ترشيح دقيق Millipore filter unit	Whatmann (England)
أطباق بتري Petri dish	Jordan
أنابيب اختبار Test tubes	Jordan

2.1.3. الأوساط الزرعية الجرثومية

استخدمت الأوساط الزرعية المدرجة في الجدول أدناه خلال مدة الدراسة

الجدول (2.3): الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة

الوسط ألزرعي	الشركة المجهزة ومنشؤها
وسط أكار الماكونكي MacConkey agar	Oxoid (England)
وسط الأكار المغذي Nutrient agar	Oxoid
وسط المرق المغذي Nutrient broth	Oxoid
وسط أكار سالمونيلا . شيكلا Salmonella – Shigella agar	Difco (U SA)

3.1.3. المواد الكيماوية والبايلوجية

استخدمت المواد الكيماوية المدرجة في الجدول (3.3) خلال مدة الدراسة.

الجدول (3.3): المواد الكيماوية المستخدمة في الدراسة.

المادة	الشركة المجهزة ومنشؤها
أحمر المثيل Methyl red	Fluka
كلوريد الصوديوم Sodium chloride	BDH (England)
كلوكوز Glucose	BDH
خلات الصوديوم Sodium acetate	BDH
حامض الستريك Citric acid	BDH
ببتون Peptone	Oxiod (England)
كليسرول Glycerol	BDH
Tetra methyl –p- phenylene diamine dihydo chloride	Fluka
اليود Iodine	BDH
أيوديد البوتاسيوم Potassium iodide	BDH
كحول أثيلي Ethyl alcohol	BDH
هيدروكسيد البوتاسيوم Potassium Hydroxide	BDH

4.1.3. العدد التشخيصية و الامصال

استخدمت العدد التشخيصية والامصال المدرجة في الجدول (4.3) في الدراسة.

الجدول (4.3): العدد التشخيصية والأمصال المستخدمة في الدراسة.

العدة التشخيصية	الشركة المنتجة والمنشا
عدة اختبار التلازن Latex agglutination kit	BioRad-Rota kit (Spain)
عدة اختبار الاليزا Anti-Rota IgG	Rotavirus IgG (Ani Biotech Oy-Finland)
أمصال تشخيص جرثومة *E.coli* Anti coli I (Enteropathgenic *E coli* : (026,044,0114,0125,0142,0158) Anti coli II (Enteropthgenic *E.coli* (055,086,0111,0119,0126,0127,0128)	Paul-Ehrlich Institute (Germany)
أمصال تشخيص جرثومة السالمونيلا Anti-salmonellaII(A-E4)	Paul-Ehrlich Institute (Germany)
أمصال تشخيص جرثومة الشكيلا Anti-shigella (*shigella dysentery*) Anti –shigella (*shigella flexneri*)	Paul-Ehrlich Institute (Germany)

2.3. طرائق العمل

1.2.3. تحضير المحاليل Preparation of solutions

تم تحضير المحاليل والكواشف وبحسب ماتطلبته أغراض الدراسة وعقم ما يحتاج منها إلى تعقيم باستخدام الموصدة Autoclave .

1.1.2.3. المحلول الملحي الفسيولوجي Normal saline solution

حضر بإذابة 8.5 غرام من كلوريد الصوديوم في لتر واحد من الماء المقطر وضبطت دالة الأس الهيدروجين pH إلى 7 ، وعقم في الموصد بدرجة حرارة 121 م ولمدة 15 دقيقة وبضغط 15 باوند / الانج المربع .وحفظ بدرجة حرارة 4م.

2.3. 2.1. محلول اليود المائي

حضر بإذابة 1 غرام من مسحوق اليود في 50 مللتر من الماء المقطر وأذيب 2غرام من يوديد البوتاسيوم في 50 مللتر من الماء المقطر مزج المحلولان جيداً وحفظ المحلول الناتج في قنينة داكنة محكمة الغطاء بعيداً عن الضوء (Maniatis *et al* .,1989).

3.1.2.3. محلول دارئ خلات الصوديوم Sodium acetate buffer

أذيب 5.820 غرام من خلات الصوديوم في 100 مللتر من الماء المقطر لتكون عياريه المحلول 0.1 N وضبطت دالة الأس الهيدروجيني pH إلى 7. عقم في الموصدة بدرجة حرارة 121م لمدة 15 دقيقة وبضغط 15 باوند / الانج المربع وحفظ في درجة حرارة 4°م (Matsuno and Inouye, 1988) .

2.2.3. الكواشف Reagents

حضرت الكواشف حسب ما ورد في (Koneman *et al*.,1992). واستخدمت لغرض تشخيص الجراثيم المعزولة من عينات المرضى وكالآتي :

1. **كاشف الأوكسيديز Oxidase reagent**

حضر بإذابة 1غرام من Tetramethyl-p-phenylene-diamine dihydro chloride في 100 مللتر من الماء المقطر .

2. **كاشف أحمر المثيل Methyl red reagent**

حضر بإذابة 0.1 غم من المثيل الأحمر في 300 مللتر من الكحول الاثيلي بتركيز 95% ثم أضيف 200 مللتر من الماء المقطر إلى المحلول.

3. **كاشف فوكس بروسكاور Voges-proskaur reagent**

حضر الكاشف من المواد الآتية :

X-naphthol	5غرام
Absolute ethyle alcohol	100 مللتر
Potassium hydroxide	40 غرام

3.2.3. الأوساط الزرعية الخاصة بتشخيص الجراثيم

حضرت الأوساط الزرعية في أدناه بحسب تعليمات الشركة المصنعة وضبطت دالة الأس الهيدروجيني pH إلى 7 وعقمت بالموصدة وحضنت بدرجة حرارة 37م ولمدة 24 ساعة للتأكد من عدم تلوثها، بعدها حفظت في الثلاجة بدرجة 4 م لحين الاستعمال.

وسط أكار الماكونكي MaC conkey agar

وسط أكار السالمونيلا . شكيلا Salmonella – Shigella agar

وسط أكار الأيوسين المثيل الأزرق Eosine-methylene Blue agar

4.2.3. تحضير الأوساط الزرعية السائلة

حضرت الأوساط الزرعية في أدناه بحسب تعليمات الشركة المصنعة وعقمت بالموصدة وحضنت في درجة حرارة 37 م ولمدة 24 ساعة للتأكد من عدم تلوثها، ثم حفظت في الثلاجة بدرجة 4 م لحين الاستعمال.

- **وسط ماء الببتون peptone water**

حضر هذا الوسط بأذابة المواد المدرجة في ادناه في 100 مللتر من الماء المقطر وعقم في الموصدة بعد أن ضبطت دالة الأس الهيدروجيني pH الى 7 .

Peptone 2 غم

Sodium chloride 0.5 غم

- **وسط المرق المغذي Nutrient broth**

حضر بإذابة 8 غرام من Nutrient broth powder في لتر من الماء المقطر وضبطت دالة الأس الهيدروجيني pH الى 7.2 ووزع في أنابيب اختبار بمعدل 5 مللتر في كل أنبوبة .

- **وسط الأكار المغذي Nutrient agar**

حضر بإذابة 14غرام من الاكار المغذي Nutrient Agar في نصف لتر ماء مقطر وضبطت دالة الأس الهيدروجيني pH الى 7.2.

5.2.3. حفظ العزلات الجرثومية

حفظت العزلات الجرثومية على أوساط زرعية مائلة slant من الأكار المغذي بدرجة حرارة 4م بعد أن نميت لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37م وتم تجديد زراعة العزلات شهرياً وأستعمل وسط المرق المغذي المضاف اليه كليسرول بنسبة 15% لحفظ العزلات لمدة طويلة، إذ يلقح الوسط بالعزلات المراد حفظها ويحضن في درجة حرارة 34م ولمدة 24 ساعة بعد ظهور النمو تحفظ العزلات بدرجة حرارة –20 م لحين الحاجة اليها (Cowan and steel , 1974).

3.3. مجاميع الدراسة

أجريت هذه الدراسة للمدة من 1/11/2007 إلى 1/11/2009 في مدينة بعقوبة مركز محافظة ديالى. شملت الدراسة مجموعتين، تألفت الأولى من 300 مريضا يعانون من الإسهال الحاد، كان عدد الإناث 135 ، تراوحت أعمارهن بين شهر واحد إلى 28 سنة. وكان عدد الذكور 165 ، تراوحت أعمارهم بين شهر واحد و 40 سنة. المجموعة الثانية تألفت من 35 شخصاً من غير المرضى، وبلغ عدد الإناث 18 ، تراوحت أعمارهن بين ستة أشهر إلى 34 سنة. وبلغ عدد الذكور 17 ، تراوحت أعمارهم بين ثلاثة أشهر إلى 38 سنة. أعدت استمارة استبيانيه خاصة لجمع بعض المعلومات التي تخص مجاميع الدراسة، كالعمر والجنس ومصدر مياه الشرب والسكن ونوعية التغذية، وتم ملء معلومات الاستمارة بمقابلة المرضى شخصيا أو ذويهم، وكما مبين في الملحق(1) .

4.3. جمع العينات Collection of specimens

1.4.3. عينات البراز Stool specimens

جمعت (300) عينة من براز الأطفال المصابين بالإسهال وبصورة عشوائية، وبمختلف الأعمار. جمعت العينات من مستشفى البتول التعليمي في مدينة بعقوبة ومن عدة مراكز في مدينة بعقوبة وضواحيها، ومنها: المركز الصحي في السراي ، المركز الصحي في التكية والمركز الصحي في التحرير، والمركز الصحي في ناحية العبارة، والمركز الصحي في ناحية بهرز، والمركز الصحي في ناحية كنعان، والمركز الصحي ناحية أبي صيدا للمدة من 7/11/2007 ولغاية 1/11/2008 وضعت جميع العينات في أثناء العمل في حاويات

بلاستيكية نبيذة محكمة الغطاء ونقلت إلى المختبر تحت ظروف مبردة. أجريت الفحوصات المختبرية اللازمة على النماذج خلال ساعة واحدة من جمعها .

2.4.3. جمع عينات الدم Blood sample collection

جمعت (200) عينة من الدم من الأطفال المصابين بالإسهال أنفسهم. سحب 3-5 مللتر من الدم الوريدي بعد تعقيم منطقة السحب بالايثانول تركيز 70 %. وضعت عينات الدم في أنابيب مختبريه نبيذة خالية من مانع التخثر بعد ترقيمها plane tubes وترك لمدة (15) دقيقة في درجة حرارة الغرفة لكي يتخثر. نبذت نماذج الدم بجهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة لمدة 5 دقيقة، ثم نقل المصل الى أنابيب مختبريه نبيذة بعد ترقيمها وحفظ في درجة حرارة -20 م إلى حين الاستعمال.

5.3. الفحوصات المختبرية والتشخيصية لعينات البراز

1.5.3. زرع البراز Stool culturing

وضع 1 غرام من كل نموذج من البراز في أنبوبة معقمة تحتوي على 1 مللتر من المحلول الملحي الفسيولوجي ومزجت جيداً بجهاز المزج vortex وتركت بشكل عمودي للسماح للجزيئات الكبيرة بالركود في قعر الأنبوبة لمدة دقيقتين وبدرجة حرارة الغرفة , زرعت نماذج البراز بنشر spreading 0.1 مللتر من مزيج النموذج على أوساط أكار الماكونكي و أكار السالمونيلا . شكيلا , حضنت الأطباق لمدة 24-48 ساعة بدرجة حرارة 37 م.

2.5.3. تشخيص العزلات الجرثومية Identification of bacterial isolates

1.2.5.3. الفحوصات الشكلية Colonial morphology

شخصت العزلات مبدئياً اعتماداً على الصفات المظهرية للمستعمرات المتضمنة حجم المستعمرات ولونها وقوامها وحافاتها وارتفاعها على الأوساط الانتقائية والتفريقية التي تم زرع العزلات الجرثومية عليها، تم التشخيص من قبل الباحث، وبمساعدة شخص متخصص مختبريًا.

2.2.5.3. الفحوصات الكيموحيوية

أجريت مجموعة من الفحوصات الكيموحيوية للعزلات الجرثومية المشمولة بهذه الدراسة من قبل الباحث وبمساعدة شخص متخصص مختبريًا، كما ورد في(Koneman *et al*., 1992). وتضمنت هذه الفحوصات، فحص الأوكسيديز oxidase test، تخمر الاكتوز، فحص أنتاج الأندول Indol production test ، فحص أحمر المثيل Methyl red test، فحص الفوكس بروسكار Voges – production test، فحص أنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين . H_2S production tset

3.2.5.3. التشخيص المصلي للعزلات الجرثومية

Serological identification of bacteria

شخصت العزلات الجرثومية المشمولة بهذه الدراسة سيرولوجياً باستخدام طريقة التلازن المباشر على الشريحة على وفق تعليمات الشركة المصنعة للأمصال Antisera وكما يأتي :

1.التشخيص المصلي لجرثومة القولون : Serological identification of *E.coli*

- وضعت قطرتان منفصلتان من المحلول الملحي الفسيولوجي على شريحة زجاجية نظيفة .
- مزج مع كل قطرة بجزء من المستعمرة الجرثومية المراد تشخيصها وذلك لعمل مستحلب .
- مزجت مع القطرة الأولى قطرة من المصل المضاد للجرثومة المراد تشخيصها ومزجت قطرة من المحلول الملحي الفسيولوجي مع القطرة الثانية وعدت كسيطرة وحركت الشريحة حركة دائرية لمدة دقيقة واحدة .
- لوحظ التلازن عن طريق انعكاس صورة ذات خلفية داكنة، إذ ظهر التلازن بشكل واضح في دقيقة واحدة في حالة الفحص الموجب وعدت النتيجة سالبة في حالة عدم ظهور التلازن.

2. التشخيص المصلي لجرثومة الشكيلا و السالمونيلا:

- وضعت قطرتان منفصلان من المحلول الملحي الفسيولوجي على شريحة زجاجية نظيفة .
- مزج مع كل قطرة بجزء من المستعمرة الجرثومية المراد تشخيصها وذلك لعمل مستحلب .
- مزجت مع القطرة الأولى قطرة من المصل المضاد للبكتريا المراد تشخيصها ومزجت قطرة من المحلول الملحي الوظيفي مع القطرة الثانية وعدت كسيطرة وحركت الشريحة حركة دائرية لمدة دقيقة واحدة.
- لوحظ التلازن عن طريق انعكاس صورة ذات خلفية داكنة، إذ ظهر التلازن بشكل واضح في دقيقة واحدة في حالة الفحص الموجب وعدت النتيجة سالبة في حالة عدم ظهور التلازن .

3.5.3. الفحص العام للبراز General stool Examination

أجري هذا الفحص لكل عينة من عينات البراز بشكل مباشر إذ تم تحضير نموذجين على شريحة زجاجية نظيفة، يمثل النموذج الأول عينة قليلة من البراز أخذت من أماكن متعددة من عينة البراز بواسطة عود خشبي و مزجت مع قطرة (0.03) مللتر من المحلول الملحي الفسيولوجي ، ويمثل النموذج الآخر عينة قليلة من البراز أخذت بالطريقة السابقة نفسها ومزجت مع قطرة (0.03) مللتر من محلول اليود المائي وضع غطاء الشريحة cover slip على كلا النموذجين وفحص بالمجهر الضوئي بالقوة التكبيرية الصغرى ثم القوة التكبيرية الكبرى. كرر الفحص مرتين للنموذج الواحد من قبل الباحث، وبمساعدة شخص متخصص مختبريًا، وتم التحري عن: الطور المتكيس والخضري لطفيلي الاميبا الحالة للنسيج، الطور المتكيس والخضري لطفيلي الجيارديا لامبليا، الطفيليات الأخرى، خلايا الخراج pus cells، كريات الدم الحمر.

4.5.3. اختبار التلازن للتحري عن الفيروس العجلي Latex agglutination test

1.مبدأ الاختبار Test principal

يعتمد الفحص على تكوين معقد مناعي بين مستضد الفيروس العجلي الموجود في نماذج البراز مع الضدات النوعية للفيروس المرتبطة بجسيمات اللاتكس مكونا تلازنا يمكن مشاهدته بالعين المجردة او باستخدام القوة التكبيرية الصغرى للمجهر.

2.طريقة الاختبار Test procedure

أجري الاختبار بطريقة التلازن المباشر على الشريحة وعلى وفق تعليمات الشركة المصنعة (Rota kit, Bio kit- Spain).

- وضع 2 غرام من نموذج البراز داخل أنبوبة معقمة محكمة الغطاء وأضيف إليها 2 مللتر من محلول الدارىء المجهز ضمن عدة الفحص.
- مزج بواسطة جهاز المزج لمدة دقيقتين لكي يتجانس المحلول ويثبت بشكل عمودي لمدة دقيقتين بدرجة حرارة الغرفة .
- نبذ النموذج على 1000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق يمكن أن تعاد العملية أكثر من مرة إلى أن يتم الحصول على راشح رائق.
- اخذت قطرة من الطافي (supernatant) ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة وأضيف إليها قطرة من محلول الفحص (latex reagent) الحاوية على جسيمات اللاتكس المرتبطة بالضدات النوعية للفيروس وقورنت مع السيطرة قطرة من الطافي على شريحة زجاجية نظيفة أضيف اليها قطرة من محلول السيطرة control latex reagent الحاوي على جسيمات اللاتكس الخالية من الضدات النوعية, حركت الشريحتان حركة دائرية لمدة ربع دقيقة ثم تركت على المنضدة وقرأت النتيجة خلال دقيقتين.

3.استخلاص النتائج

ظهر تلازن بشكل تكتل في القطرة تعد النتيجة موجبة مما يدل على وجود الفيروس في النموذج وعدم ظهور تلازن تعد سالبة وتدل على عدم وجود الفيروس في النموذج .

6.3. اختبار التحري عن الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي

1.مبدأ الاختبار Test principle

يعتمد هذا الاختبار مبدأ القياس المناعي للإنزيم إذ تطلى السطوح الداخلية للحفر في طبق الاختبار بالمستضدات الفيروسية. فعند إضافة نماذج المصل المراد فحصها، فإذا كانت حاوية على الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي، تتحد المستضدات الموجودة في الحفر والضدات الموجودة في نماذج المصل مكونة معقد مناعي يبقى مرتبطا بالسطح الصلب للحفر. يضاف الضد النوعي IgG المرتبط مع انزيم Peroxidase، وبعد الحضن لمدة 30 دقيقة وبدرجة حرارة 37م° يتحد الانزيم مع المعقد المناعي المرتبط بالسطح الصلب، وبعد إضافة محلول الركيزة(TMB) Substrate solution يتحد مع المعقد المناعي المكون من المستضد . الضدات النوعية . ضد الضدات المرتبطة مع الانزيم ويتكون اثر ذلك لون أزرق في حفر الطبق، عندها يوقف التفاعل وتقاس شدة الكثافة اللونية بواسطة قارئ الاليزا على الطول الموجي 450 نانوميتر .

2.طريقة الاختبار Test procedure

اجري الاختبار على وفق تعليمات الشركة المصنة Ani Biotech وكما يأتي :

حضرت النماذج والمحلول المنظم المخفف buffer بصور صحيحة .

1. حدد عدد الحفر المحتاج إليها إذ تم التحضير وكما يأتي :

- حفرتان A_1-B_1 كركيزة كفيء Substrate blank، اذ اضيف 100 مايكروليتر من محلول التخفيف في كل حفرة.
- حفرتان A_1-B_2 للسيطرة السالبة Negative control ، اذ اضيف 100 مايكروليتر في كل حفرة .
- حفرتان A_3-B_3 للسيطرة الموجبة Positive control ، اذ اضيف 100 مايكروليتر في كل حفرة . استعملت الحفر المتبقية لنماذج المرضى المراد فحصها .

2. أضيف 100 مايكروليتر من المصل المخفف وبواسطة الماصة الدقيقة pipette داخل الحفر في الطبق.
3. تم تغطية الحفر في الطبق بغطاء شفاف لاصق ووضعت في الحاضنة لمدة 30 دقيقة وبدرجة حرارة 37م°.

4. غسلت حفر الطبق اوتوماتيكياً اربع مرات باستخدام محلول الغسيل المخفف diluted wash buffer بواقع 300 مايكروليتر لكل حفرة ، قلب الطبق على ورقة ترشيح من اجل ازالة كافة الرواسب.
5. أضيف 100 مايكروليتر من الانزيم المقترن Enzyme conjugate لكل الحفر وحسب نفس التسلسل الذي أضيفت به الأمصال.
6. وضع الطبق بعد تغطيته في الحاضنة لمدة 30 دقيقة وبدرجة حرارة 37 م°.
7. بعد اكتمال الحضن، غسل الطبق اربع مرات باستخدام محلول الغسيل المخفف وبواقع 300 مايكروليتر لكل حفرة. قلب الطبق على ورقة امتصاص من اجل إزالة كافة الرواسب.
8. أضيف 50 مايكروليتر من محلول الركيزة TMB الى حفر الطبق، وغطي الطبق وحضن لمدة 15 دقيقة بدرجة حرارة 37 م°. يظهر اللون الأزرق في الحفر في هذه المرحلة.
9. بعد ذلك أوقف التفاعل بإضافة 25 مايكروليتر من حامض الكبريتيك لحفر الطبق، ثم رج الطبق بهدوء. يتحول اللون الأزرق إلى اللون الأصفر في هذه المرحلة
10. قرأت الكثافة اللونية للحفر بواسطة قارئ الاليزا عند الطول الموجي 450 نانوميتر. إن تركيز الضدات النوعية IgG في الحفر تتناسب طرديا مع شدة الكثافة اللونية.

3. الحسابات واستخلاص النتائج:

1. استخرجت قيمة الكثافة اللونية للحد الفاصل OD Cut-off value على وفق المعادلة الآتية:

قيمة الكثافة اللونية للحد الفاصل= ثابت الحد الفاصل X (الكثافة اللونية للسيطرة الموجبة – الكثافة اللونية للسيطرة السالبة)

علما ان قيمة ثابت الحد الفاصل = 0.260 (حسب تعليمات الشركة المصنعة)

2. حساب الكثافة اللونية للأمصال:

استخرجت الكثافة اللونية للأمصال اعتمادا على المعادلة الآتية:

قيمة الكثافة اللونية للمصل – قيمة الكثافة اللونية للسيطرة السالبة

الكثافة اللونية للمصل =

الكثافة اللونية للحد الفاصل

3. اعتبر المصل موجبا اذا كانت الكثافة اللونية للمصل (1-3) ، وسالبا اذا كانت الكثافة اللونية للمصل اقل من 0.80.

7.3. التحليل الإحصائي Statistical analysis

حولت البيانات المتجمعة خلال الدراسة إلى قاعدة معلومات حاسوبية، واجري التحليل الإحصائي باستخدام الجيل13 من برنامج SPSS (Statistical package for Social Science) التوزيع التكراري لبعض المتغيرات اجري أولاً.

الاختبار الإحصائي لإيجاد الترابط المعنوي بين كل متغيرين استخدم Chi-Square اعتبرت قيمة P ما دون 0.05 معنوية. 95% حدود الثقة احتسبت لتوضيح المدى المتوقع لحسابات مدى الانتشار مقارنة بالمجاميع الضابطة.

الفصل الرابع

4.النتائج والمناقشة

النتائج الواردة في هذا الفصل معتمدة على التحليل الإحصائي للبيانات المتجمعة خلال الدراسة.

1.4. مجاميع الدراسة:

شملت الدراسة 300 مريضا ممن يعانون من الإسهال و 35 شخصا من الأصحاء ظاهريا كمجموعة ضابطة. الوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لأعمار المرضى كان (6.5 4.1 ±)، في حين كان الوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لأعمار مجموعة السيطرة (±11.9 10.5). تكونت مجموعة المرضى من 135 (45.3%) اناثاً و 165 (54.7%) ذكوراً، وكان الوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لأعمار الإناث (4.7 ± 7.8)، والوسط الحسابي ± الانحراف المعياري لأعمار الذكور (3.4 ± 5.3).اما مجموعة السيطرة فتكونت من 18(51.4%) اناثا، وان الوسيط الحسابي ± الانحراف المعياري لأعمارهن (10.1± 11.9) و 17(48.6%) ذكورا وكان الوسيط الحسابي ± لأعماهم (10.7± 11.8). فيما يتعلق بالسكن، 139(46.3%) من المرضى كانوا ممن يقطنون المناطق الحضرية و 161 (53.7%) ممن يقطنون المناطق الريفية. أما مجموعة السيطرة فتكونت من 20 (57.1%) يقطنون المناطق الحضرية و 15 (42.9%) يقطنون المناطق الريفية. توزيع مجموعة المرضى بحسب مصادر مياه الشرب فقد كان 185 (61.9%) ، 87 (29.1%)، 27 (9%) يستخدمون مياه الإسالة، مياه الأنهار ومياه السيارات الحوضية على التوالي. اما مجموعة السيطرة فقد كان 29 (82.9%)،3 (8.6%)، 3 (8.6%) يستخدمون مياه الإسالة، مياه الأنهار و مياه السيارات الحوضية على التوالي. توزيع نوع التغذية لمن هم دون السنتين من العمر في مجموعة المرضى كان 89 (45.9%)، 73 (37.6%)، 32 (16.5%) يتغذون عن طريق الرضاعة الطبيعية، الرضاعة الصناعية و التغذية المختلطة على التوالي. أما من هم دون سن الثانية من العمر في مجموعة السيطرة فكان 3

(50%)، 2 (33.3%) و 1 (16.7%) يعتمدون عن طريق الرضاعة الطبيعية، الرضاعة الصناعية و التغذية المختلطة على التوالي.

تراوحت اعمار المشاركين في الدراسة بين اقل من سنة الى (46) سنة. ضمن مجموعة المرضى كانت اعلى نسبة للمشاركين في الدراسة هم دون السنة الواحدة من العمر 86 (28.7%) و ادنى نسبة هم بعمر 18 سنة واكثر 21 (7%). اما مجموعة السيطرة فان أعلى نسبة للمشاركين كانت ضمن فئة اقل من سنتين و اقل من عشرة سنوات وبنسبة (22.9%) لكل منهما، وأدنى نسبة هم بعمر اقل من سنتين 2 (5.7%).الجدول (1.4) يوضح تفاصيل المتغيرات في مجاميع الدراسة.

الجدول (1.4): جدول وصفي لمتغيرات مجاميع المرضى والمجموعة الضابطة

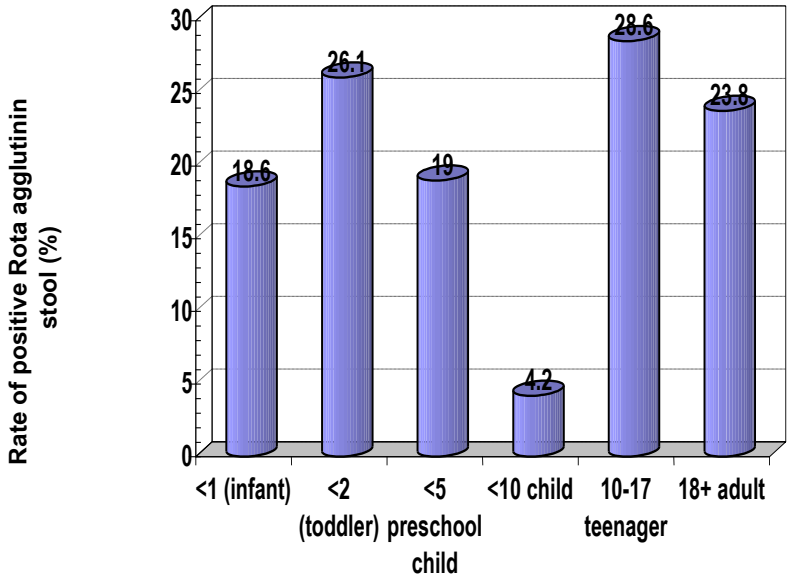
المتغيرات	مجموعة السيطرة		مجموعة المرضى	
	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
الفئات العمرية (سنة)				
اقل من سنة واحدة	5	14.3	86	28.7
اقل من سنتين	2	5.7	69	23
اقل من خمس سنوات	8	22.9	79	26.3
اقل من عشرة سنوات	8	22.9	24	8
10-17 سنة	7	20	21	7
18 فما فوق	5	14.3	21	7
المجموع	35	100	300	100
الجنس				
إناث	18	51.4	135	45.3
ذكور	17	48.6	165	54.7
المجموع	35	100	300	100
السكن				
الحضر	20	57.1	139	46.3
الريف	15	42.9	161	53.7
المجموع	35	100	300	100
مصدر مياه الشرب				
ماء الإسالة	29	82.9	185	61.9
مياه الأنهر	3	8.6	87	29.1
مياه السيارات الحوضية	3	8.6	27	9
المجموع	35	100	300	100
نوع التغذية (دون السنتين)				
رضاعة طبيعية	3	50.0	89	45.9
رضاعة صناعية	2	33.3	73	29.1
تغذية مختلطة	1	16.7	32	16.5
المجموع	6	100	300	100

2.4. الكشف عن الفيروس العجلي في نماذج البراز

أظهرت نتائج التحري عن الإصابة بالفيروس ألعجلي في نماذج البراز بواسطة فحص التلازن المباشر في مجموعة المرضى ان 61 (20.3%) مريضا كانوا مصابين بالفيروس، وتراوحت حدود الثقة بين 15.8 –24.8 . تركزت الاصابة بالفيروس العجلي بشكل عام بين الاطفال ممن هم دون الخمس سنوات من العمر 49 (20.9%)، وكذلك بين اليافعين والكبار 12 (26.2%). ففي مجموعة الاطفال دون سن الخامسة من العمر كانت اعلى نسبة للإصابة بالفيروس العجلي بين الاطفال ممن هم دون السنتين من العمر 18 (26.1%) وبحدود ثقة تراوحت بين 15.7 –36.5 اما نسبة الاصابة بين الرضع ممن هم دون السنة الواحدة من العمر فكانت بالمرتبة الثانية 16 (18.6%) وبحدود ثقة تراوحت بين 10.4 –26.8 أما نسبة الاصابة بين الاطفال ممن هم دون الخمس سنوات فكانت 15 (19%) وبحدود ثقة تراوحت بين 10.4– 27.6، إن نسبة الاصابة بين الاطفال من (5-10 سنة) هي الاقل بين الفئات العمرية، اذ بلغت 1 (4.2) وبحدود ثقة تراوحت بين 3.8–12.2 ، أما نسبة الإصابة بين اليافعين بلغت 6 (28.6%) وبحدود ثقة تراوحت بين 9.2 –48، ثم تلتها نسبة الإصابة بين الكبار (18 سنة فما فوق) إذ بلغت 5 (23.8%) وبحدود ثقة تراوحت بين 5.6 –42 . وعلى أي حال فان الفوارق الإحصائية في نسب الإصابة بين الفئات العمرية المختلفة لم تكن معنوية (P= 0.26)، الجدول(2.4).

الجدول (2.4): توزيع ايجابية فحص التلازن المباشر بين الفئات العمرية لمجموعة المرضى.

الفئات العمرية	العدد الكلي المفحوص	موجب لفحص التلازن		95% حدود الثقة
		العدد	النسبة المئوية	
اقل من سنة	86	16	18.6	26.8-10.4
اقل من سنتين	69	18	26.1	36.5-15.7
اقل من خمس سنوات	79	15	19	27.6-10.4
اقل من عشرة سنوات	24	1	4.2	12.2-3.8
17-10 سنة	21	6	28.6	48-9.2
18 سنة فما فوق	21	5	23.8	42-5.6
المجموع	300	61	20.3	24.8-15.8



شكل (1.4):توزيع حالات الإسهال الموجبة للفيروس العجلي بحسب العمر.

إن نتائج فحص التحري عن الفيروس العجلي في الدراسة الحالية هي مقاربة لنتائج بعض الدراسات المحلية التي اعتمدت على فحص التلازن المباشر، إذ وجد (Al-Falahi,2002). أن نسبة الإصابة بالفيروس العجلي بين الأطفال ممن هم دون سن الخامسة كانت 24.4 % ، وكذلك الدراسة التي قام بها (Younis, 1989) التي وثقت الإصابة بالفيروس العجلي في الفئة العمرية نفسها بنسبة 26.3 %. فضلاً عن ذلك فان هنالك دراسات محلية وثقت نسب إصابة أعلى من نسب الإصابة في الدراسة الحالية ومنها الدراسة التي قام بها (Al-Wardi,1990)، وكذلك الدراسة التي قام بها(Abbas *et al.*, 1988) إذ وثقت الدراستين نسب إصابة 32.1% و 40 % على التوالي.اما الدراسات في دول العالم فقد أظهرت تفاوتا في نسب الإصابة بالفيروس العجلي، ففي دراسة أجريت في كوريا على الأطفال بعمر 2.7 ± 2.3 سنة كانت نسبة الإصابة 41.3 % (Koh *et al*., 2008). وفي تايلند وجد أن نسبة الإصابة بين الأطفال ممن هم دون سن الخامسة من العمر كانت 48.2% (Intusoma *et al*., 2008). في السعودية وجد أن نسبة الإصابة بالفيروس ألعجلي تراوحت بين 10-40% وبوسيط حسابي مقداره 30 %، وتركزت الإصابات بين الأطفال ممن هم دون السنتين من العمر (Kheyami, 2006). في دراسة مقارنة بين فحص الاليزا للتحري عن مستضد الفيروس في نماذج البراز و التحري عن الضدات النوعية IgM للفيروس في الأمصال لواحد وثلاثون طفلا ادخلوا المستشفى بسبب إصابتهم بالالتهاب المعدي – المعوي الحاد مقارنة بفحص التفاعل التسلسلي التضاعفي (PCR)، تم الكشف عن مستضد الفيروس في البراز بين 38.7 % من الأطفال، وكانت نسبة الايجابية للضدات النوعية 25.8 % في الامصال ، أما نسبة الكشف عن الحامض الرايبوزي للفيروس في البراز و الامصال بواسطة فحص التفاعل التسلسلي التضاعفي كانت 80.6% و58.1%، على التوالي (Chitambar *et al*., 2008). في دراسة أجريت على 194 طفلا ممن دون الخامسة من العمر مصابون بالإسهال الحاد في فنزويلا، كانت نسبة الإصابة بالفيروس العجلي 19 % باستخدام تقنية الاليزا (Gonzalez *et al*., 2008). إن التفاوت في نتائج الدراسات المختلفة ربما يكون ناشئاً عن عدة عوامل أهما اختلاف الموقع الجغرافي، حجم العينة المشمولة بالدراسة والتقنية المختبرية المستخدمة لتشخيص الفيروس، فضلاً عن ذلك نوع مياه الشرب، ونوع التغذية.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن نسب الإصابة بالفيروس العجلي كانت عالية في الفئة العمرية دون الخمس سنوات من العمر، إن هذه النتيجة تتماشى مع معظم الدراسات المحلية السابقة (Abbas *et al.*, 1988; Younis, 1989;Al-Wardi *et al.*, 1990;Al-Baiati, 1998;Al-Falahi, 2002;Al-Kuheli, 2004) . والتي سجلت نسب إصابة عالية بالفيروس العجلي في الفئة العمرية 1-5 سنة. فضلا عن ذلك فان الدراسات في دول العالم الأخرى قد سجلت نسب عالية للإصابة بالفيروس ألعجلي في الفئة العمرية دون الخمس سنوات (Phan *et al*., 2005; Kheyami *et a*l., 2008; Gonzalez *et al*., 2008; Schael *et al*., 2009;Atchison *et al*., 2009). وفي دراسة حديثة وجد أن تفشي أوبئة التهاب المعدي . المعوي الحاد (Nosocomial rotavirus acute gastroenteritis) الناتج عن الإصابة بالفيروس العجلي تعتمد بشكل معنوي على العمر، إذ تزداد في الأعمار دون السنة (Waisbourd- Zinman *et al*., 2009).

من النتائج التي أظهرتها هذه الدراسة هي تسجيل إصابات بالفيروس العجلي بين اليافعين، إذ بلغت نسبة الإصابة بين المرضى ممن هم بعمر 10-17 سنة 28.6% وبين البالغين (اكبر من 18) سنة 23.8 %. إن هذه النتائج هي أعلى مما سجلته الدراسات في ألمانيا و تونس للإصابة بالفيروس العجلي بين كبار السن (Al-Gallas *et al*., 2007;Jansen *et al*., 2008; Kheyami *et al*., 2008; Carraro *et al*., 2008). من الحقائق العلمية الموثقة أن الإصابة الطبيعية الأولية بالفيروس العجلي والتي غالبا ما تحدث في سن الطفولة وكذلك التمنيع vaccination بلقاح ضد الفيروس تعطي مناعة كافية ضد الإصابات اللاحقة آو تقلل من شدتها المرضية (Severity of the disease) والتي تتمثل بإنتاج مستويات عالية من الضدات النوعية IgG التي غالبا ما تكون محددة بنمط مصلي serotype-specific وتتناسب مستوياتها طرديا مع درجة الحماية التي توفرها (Feng *et al*., 1997;Desselberger & Gray, 2004). إن تفسير تسجيل حالات سريريه للإصابة بالفيروس العجلي بين اليافعين والبالغين في الدراسة الحالية ربما يعود إلى انخفاض مستويات تلك الضدات النوعية بعد سن العاشرة من العمر مما يجعل هؤلاء الأشخاص معرضون للإصابة مرة ثانية. إن انخفاض مستويات الضدات النوعية IgG ربما يكون بسبب

عدم توافر الفيروس ألعجلي في مصادر العدوى المهمة (الماء والغذاء) بنفس التركيز على مدار السنة، إذ أن تركيز الفيروس العجلي في مياه الشرب مثلا يكون أعلى خلال فترة هطول الإمطار مقارنة بفصول السنة الأخرى (Brooks *et al*., 2007;Scarcella *et al*., 2009). وهذه الحقيقة العلمية تفسر ارتفاع نسب انتشار المرض في فصل الشتاء في الدراسة الحالية والدراسات الأخرى (Kheyami *et al*., 2008;Carraro *et al*., 2008). ودعما لهذا الاعتقاد العلمي هو ما يحدث في إصابات فيروسية أخرى كالتهاب الكبد الفيروسي نمط (B) والذي يتماثل مع الفيروس العجلي بشكل تام في هذه الناحية (Aggarwal & Naik, 2009).

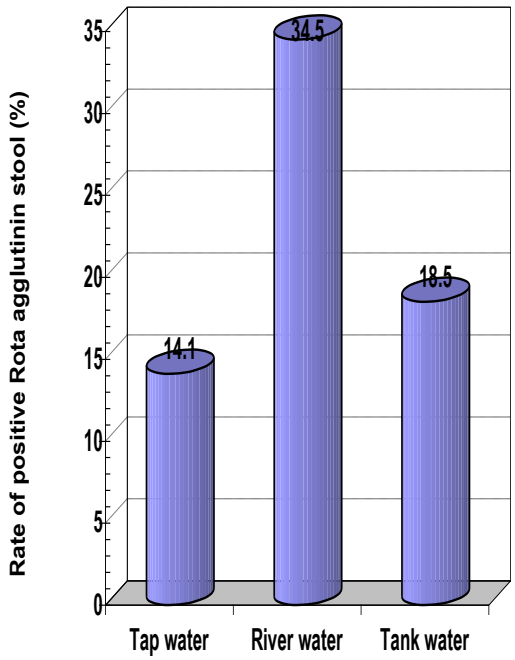
3.4.العوامل المؤثرة على ايجابية فحص التلازن

1.3.4. مصدر مياه الشرب

أظهرت النتائج ان ايجابية فحص التلازن المباشر للكشف عن الفيروس العجلي في البراز ضمن مجموعة المرضى بأنها أعلى بشكل معنوي (p=0.001) بين المرضى الذين يستخدمون مياه الأنهر للشرب مقارنة بأولئك الذين يستخدمون مياه السيارات الحوضية ومياه الإسالة (14.1%, 18.5%, 34.5%) على التوالي، الجدول (3.4).

الجدول (3.4): ايجابية فحص التلازن المباشر بحسب مصدر مياه الشرب في مجموعة المرضى.

مصدر مياه الشرب	العدد المفحوص	موجب لفحص التلازن المباشر		قيمة P
		العدد	النسبة المئوية	
مياه الإسالة	185	26	14.1	0.001
مياه الانهر	87	30	34.5	
مياه السيارات الحوضية	27	5	18.5	



شكل (2.4):

توزيع حالات الإسهال الموجبة للفيروس العجلي بحسب مصدر مياه الشرب.

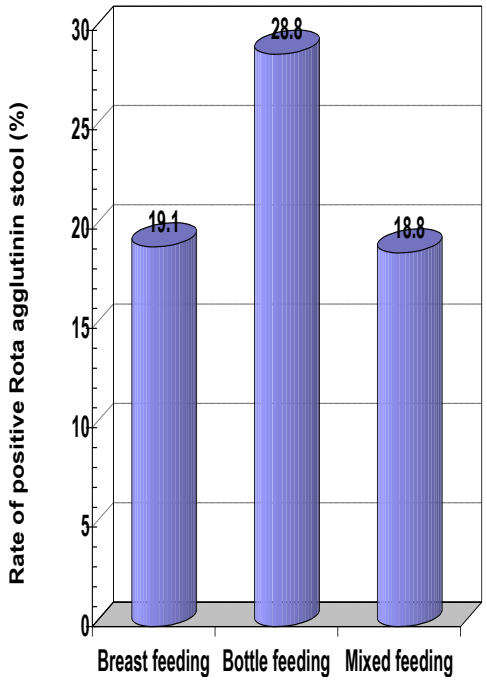
إن هذه النتيجة تتفق مع نتائج الدراسات الأخرى، مؤكدة على الدور الرئيس للمياه الملوثة بالفيروس في انتشار المرض (Leclerc *et al*., 2002;Verheyen *et al*., 2009). وقد يكون السبب وراء ذلك هو استخدام مياه الأنهر لرمي الأوساخ والمياه الثقيلة وخاصة في المناطق الريفية، وهذا ما ينتج عنه ارتفاع تراكيز الفيروس في تلك المياه وبالتالي ارتفاع نسب الإصابة وخاصة بين المجتمعات التي تعتمد مياه الأنهر للشرب وللأمور الحياتية الاخرى. ولقد وثقت العديد من الدراسات في بلدان متفرقة من العالم كألمانيا وجنوب أفريقيا وهولندا الكشف عن الفيروس العجلي باستخدام التقنيات الجزيئية في مياه الأنهر والسقي والمياه الآسنة والمياه المعالجة وغير المعالجة وكذلك الخضراوات الطازجة، مؤكدة على اثرها المهم في انتشار الفيروس في المجتمعات (Lodder *et al*., 2005 ; van Zyl *et al*., 2006;Hamza *et al*., 2009).

2.3.4. نوع الرضاعة:

بالرغم من ان ايجابية فحص التلازن المباشر للكشف عن الفيروس العجلي في مجموعة المرضى (ممن هم دون السنتين من العمر) كانت اعلى لدى المرضى الذين يعتمدون على الرضاعة الصناعية (28.8%) مقارنة مع أولئك الذين يعتمدون على الرضاعة الطبيعية (19.1%) و الذين يقتاتون على التغذية المختلطة (18.8%)، ومع ذلك فان الفارق الإحصائي لم يكن معنويا (0.29) الجدول (4.4).

الجدول (4.4): ايجابية فحص التلازن المباشر بحسب نوع التغذية في مجموعة المرضى.

نوع الرضاعة	العدد المفحوص	موجب لفحص التلازن المباشر		قيمة P
		العدد	النسبة المئوية	
الرضاعة الطبيعية	89	17	19.1	0.29
الرضاعة الصناعية	73	21	28.8	
الرضاعة المختلطة	32	6	18.8	



شكل (3.4): توزيع حالات الإسهال الموجبة للفيروس العجلي بحسب نوع التغذية.

إن النتائج الحالية فيما يتعلق بنسب الإصابة بالفيروس العجلي ونوع التغذية وان كانت غير معنوية إحصائيا فهي تبين ارتفاع نسب الإصابة بين الأطفال الذين يتغذون على الرضاعة الصناعية مقارنة مع الرضاعة الطبيعية أو التغذية المختلطة. إن هذه النتائج مماثلة لنتائج الدراسات الأخرى (Gupte,1996;Al-Falahi,2002).

لقد وثقت الدراسات العلمية احتواء حليب الأم على مادة اللاكتاهرين (وهي بروتين سكري Glycoprotein مرتبط بالميوسين Mucin-associated ووزنها الجزيئي 46 كيلو دالتون) ، هذا البروتين السكري له القابلية على الاتحاد مع الفيروس العجلي ومنعه من التناسخ وبالتالي يمنع حدوث الحالة السريرية، وان إنتاج هذه المادة غير مرتبط بعوامل المناعة الإفرازية في الحليب(Newburg *et al.*, 1998). وفي دراسة أخرى وجد بان هذا البروتين السكري فضلاً عن مادة الميوسين تبقى بكميات عالية داخل إفرازات معدة الأطفال الرضع حتى بعد أربع ساعات من الرضاعة، في حين خلت إفرازات معدة الأطفال الرضع الذين يتغذون على الرضاعة الصناعية من تلك المادتين (Peterson *et al.*, 1998). هذا فضلاً عما يحويه حليب الأم من عوامل المناعة الطبيعية المتمثلة بالضدات النوعية الإفرازية IgA والضدات

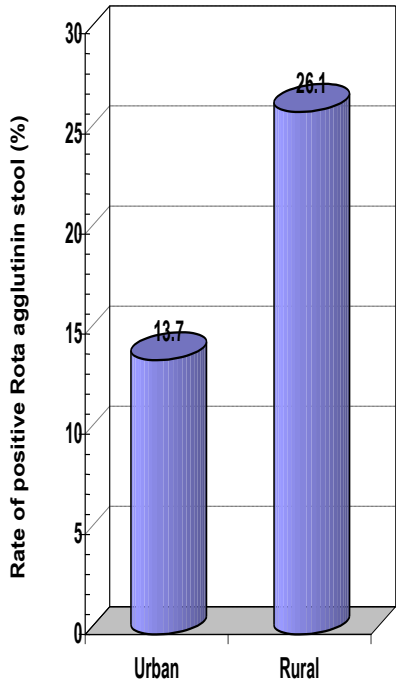
النوعية IgG وبعض عوامل المناعة الخلوية ودورها التثبيطي على الفيروس (Asensi *et al.*, 2006) .

3.3.4. السكن:

ان ايجابية فحص التلازن المباشر للكشف عن الفيروس العجلي في مجموعة المرضى الذين يقطنون المناطق الريفية هي اعلى بشكل معنوي (0.008) عن اولئك الذين يقطنون المناطق الحضرية (26.1%, 13.7%) على التوالي، الجدول (5.4).

الجدول (5.4): ايجابية فحص التلازن المباشر بحسب السكن في مجموعة المرضى.

السكن	العدد المفحوص	موجب لفحص التلازن المباشر		قيمة P
		العدد	النسبة المئوية	
المناطق الحضرية	139	19	13.7	0.008
المناطق الريفية	161	42	26.1	



شكل (4.4): توزيع حالات الإسهال الموجبة للفيروس العجلي بحسب السكن

إن نتائج الدراسة الحالية المتمثلة بارتفاع معنوي في نسب الإصابة بالفيروس العجلي بين الأشخاص الذين يقطنون المناطق الريفية مقارنة مع أولئك الذين يقطنون المناطق الحضرية تتفق مع الدراسات المحلية والإقليمية الأخرى(Al-Kuheli, 2004;Kheyami *et al*., 2008). إن تدني الوعي الصحي لدى أفراد المجتمعات الريفية بشكل عام و استخدام مياه الأنهر الملوثة بالفيروس للشرب والإغراض اليومية الأخرى في البعض منها ربما تكون من أهم أسباب ارتفاع نسب الإصابة في تلك المجتمعات.

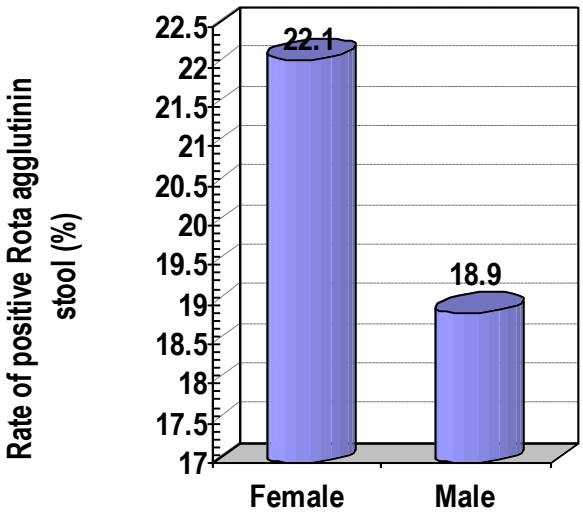
لقد وثقت الدراسات الحديثة إصابة الحيوانات الداجنة بالفيروس العجلي وذلك من خلال الكشف عن الحامض النووي للفيروس في براز الحيوانات المصابة بالإسهال الحاد باستخدام تقنية التفاعل التسلسلي التضاعفي ، الأمر الذي دعا الباحثين للاعتقاد بإمكانية أن يكون الفيروس العجلي ضمن الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان (Dhama *et al*., 2009; Halaihel *et al*., 2009). وبما أن تربية الحيوانات الداجنة شائعة في المجتمعات الريفية ، فربما يكون ذلك عاملا آخر يسهم في ارتفاع نسب الإصابة في تلك المجتمعات.

4.3.4. **الجنس**:

أظهرت النتائج عدم وجود فارق معنوي إحصائي (P Chi-square =0.5) في ايجابية فحص التلازن المباشر بين الذكور والإناث (18.9% ,22.1%) على التوالي، وان كانت كما تشير النتائج ارتفاع نسبة الايجابية بين النساء عنها في الذكور، الجدول (6.4).

الجدول (6.4): ايجابية فحص التلازن المباشر بحسب الجنس في مجموعة المرضى.

الجنس	العدد المفحوص	موجب لفحص التلازن المباشر		قيمة P
		العدد	النسبة المئوية	
الاناث	135	30	22.1	0.5
الذكور	165	31	18.9	



شكل (5.4): توزيع حالات الإسهال الموجبة للفيروس العجلي بحسب الجنس.

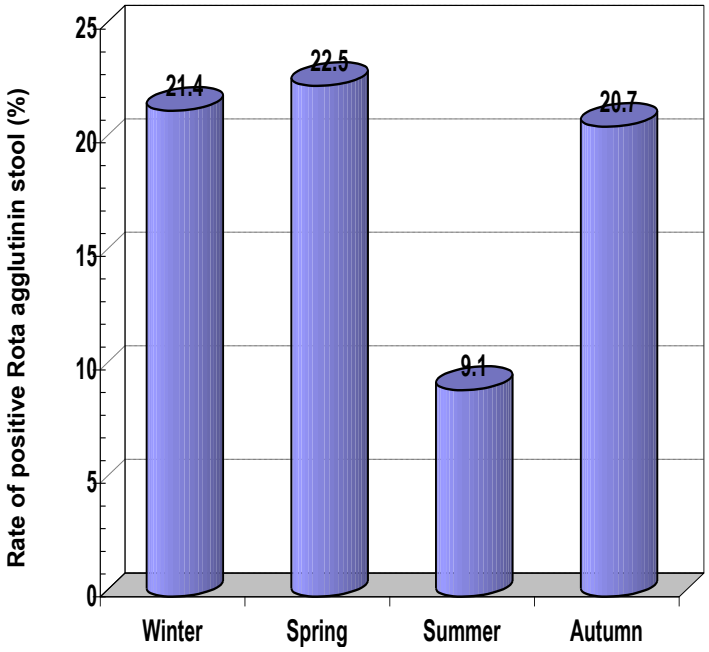
تتفق الدراسة الحالية بخصوص عدم وجود فارق معنوي في نسب الإصابة بين الذكور والإناث مع العديد من الدراسات الأخرى (Al-Falahi, 2002;Al-Kuheli, 2004; Kheyami *et al*., 2008;Carraro *et al*., 2008). وقد يكون السبب وراء ذلك هو تعرض كلا الجنسين إلى نسب خطورة متماثلة للإصابة بالفيروس العجلي (Desselberger & Gray, 2004;Brooks *et al*., 2007).

5.3.4. فصول السنة Seasonal variation

بالرغم من عدم وجود فارق معنوي (P= 0.59) في نسب الإصابة بالفيروس العجلي بين فصول السنة الأربعة، إلا أن النتائج أظهرت ارتفاعاً في نسب الإصابة في الربيع 9 (22.5)% ثم الشتاء 22 (21.4%)، الجدول (7.4).

الجدول (7.4): ايجابية فحص التلازن المباشر بحسب فصول السنة في مجموعة المرضى.

الفصل	العدد المفحوص	موجب لفحص التلازن المباشر		قيمة P
		العدد	النسبة المئوية	
الشتاء	103	22	21.4	P Chi-square = 0.59 [NS]
الربيع	40	9	22.5	
الصيف	22	2	9.1	
الخريف	135	28	20.7	



شكل (6.4): الاختلاف في توزيع حالات

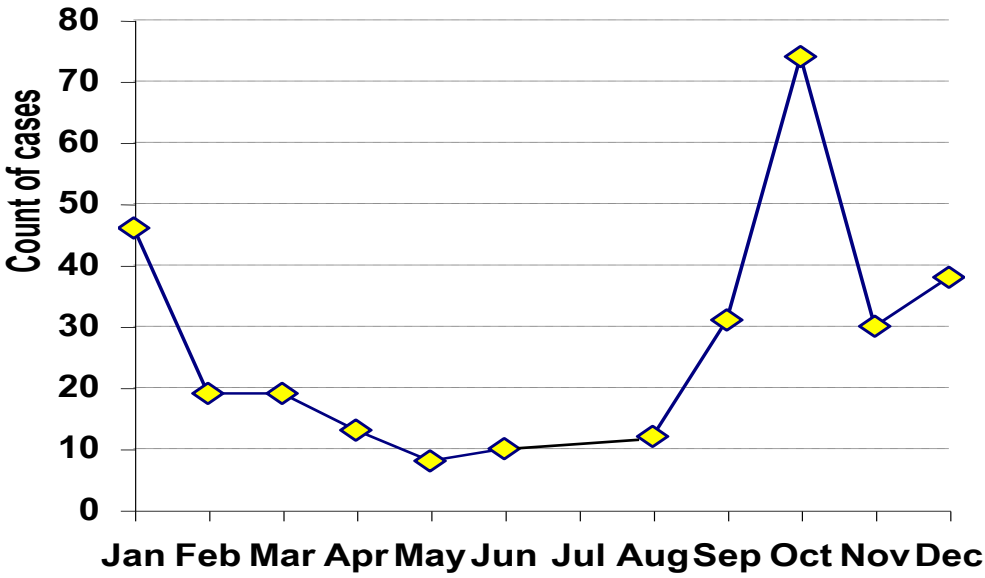
الإسهال الموجبة لفيروس العجلي بحسب فصول السنة.

6.3.4. أشهر السنة Monthly variation

تبين النتائج في الجدول (8.4) عدم وجود فوارق معنوية (P=0.25) بين نسب الإصابة بالفيروس العجلي بحسب أشهر السنة، وعلى أي حال فان نسب الإصابة كانت مرتفعة في أشهر الشتاء وتحديداً شهر تشرين الثاني (40 %) وكذلك أشهر الربيع مقارنة بباقي أشهر السنة كما موضح في الجدول (4.4)

الجدول (8.4): ايجابية فحص التلازن المباشر بحسب أشهر السنة في مجموعة المرضى.

الشهر	العدد المفحوص	موجب لفحص التلازن المباشر		قيمة P
		العدد	النسبة المئوية	
كانون الثاني	46	8	17.4	0.59
شباط	19	5	26.3	
اذار	19	4	21.1	
نيسان	13	3	23.1	
مايس	8	2	25	
حزيران	10	1	10	
تموز				
اب	12	1	8.3	
ايلول	31	3	9.7	
تشرين الاول	74	13	17.6	
تشرين الثاني	30	12	40	
كانون الاول	38	9	23.7	



شكل (7.4): خط بياني يوضح عدد حالات الإسهال الموجبة للفيروس العجلي موزعة بحسب أشهر السنة.

بالرغم من أن نتائج الدراسة الحالية لم تكن معنوية إحصائيا، فإنها تشير بشكل واضح إلى ارتفاع نسب الإصابة بالفيروس العجلي في فصلي الشتاء والربيع، وهذا ما يتفق مع معظم الدراسات السابقة التي تؤكد ارتفاع نسب الإصابة في فصل الشتاء (Brandet *et al*., 1982 ; Al-Kuheli, 2004;Kheyami *et al*., 2008). غير أن نتائج الدراسات السابقة متباينة في هذا الخصوص، فمثلا تشير إحدى الدراسات التي أجريت في الإمارات المتحدة إلى ارتفاع نسب الإصابة في الأشهر التي تمتاز برطوبة نسبية واطئة وتخلو من الإمطار (Ijaz *et al*., 1994). في حين أشار (Atchison *et al*., 2009) إلى ارتفاع نسب الإصابة بين الأطفال الذين يولدون في فصل الصيف مقارنة بأولئك الذين يولدون في فصل الشتاء. واشارت دراسة أخرى إلى ارتفاع نسب الإصابة في الجو البارد والجاف (Levy *et al*., 2008). في البرازيل، وجد أن نسب الإصابة بالفيروس العجلي تزداد في الأشهر بين حزيران و آب من السنة (Carraro *et al*., 2008). إن تعليل ارتفاع نسب الإصابة في فصلي الشتاء والربيع ربما يعود إلى هطول الإمطار وما ينتج عنها من سيول تجرف معها الأوساخ

والقاذورات الملوثة ببراز الإنسان وربما الحيوانات إلى الأنهر وبالتالي تلوث مياه الأنهر التي قد تستعمل للاستخدام البشري بشكل مباشر وخاصة في المجتمعات الريفية أو بشكل غير مباشر من خلال محطات مياه الاسالة. ولقد وثقت الدراسات العلمية حدوث موجات وبائية Outbreaks بالإسهال المعدي . المعوي الحاد بسبب استخدام مياه الإسالة الملوثة بالفيروس (Kuusi *et al*., 2004 ;Scarcellea *et al*., 2009).

4.4. الإصابات المتزامنة

1.4.4. الاخماج الجرثومية المتزامنة Bacterial coinfection

1.1.4.4. الإصابة بالزحار العصوي (الشكيلا) Bacillary dysentry (Shigellosis)

أظهرت النتائج عدم وجود علاقة معنوية بين الإصابة بالفيروس العجلي والإصابة بالزحار العصوي بين المرضى، إذ تبين أن 2 (11.1%) فقط من المرضى كانت لديهم اصابات متزامنة، في حين كان 29(78.4%) من المرضى ليس لديهم إصابات متزامنة بكل من الفيروس العجلي و عصيات الشكيلا. اظهر حساب معامل الانتشار المعكوس (Invers prevalence ratio) ان المرضى غير المصابين بالزحار العصوي معرضون للاصابة بالفيروس العجلي 7.1 مرة اكثر من المصابين بالزحار العصوي،الجدول (9.4).

الجدول (9.4): الإصابات المتزامنة بالفيروس العجلي والزحار العصوي بين المرضى.

الاصابة بالزحار العصوي	العدد المفحوص	الاصابة بالفيروس العجلي		قيمة P	معامل الانتشار	95%حدود الثقة	معامل الانتشار المعكوس
		العدد	%				
نعم	18	2	11.1	<0.001	0.15	0.53-0.04	7.1
كلا	37	29	78.4				

2.1.4.4. الاصابة بالسالمونيلا المعوية: Salmonella enterocolitis

تبين النتائج في الجدول (10.4) عدم وجود علاقة معنوية بين الإصابة بالفيروس العجلي والإصابة بالسالمونيلا المعوية، اذ إن المرضى غير المصابين بالسالمونيلا المعوية اكثر 5 مرات تعرضا للإصابة بالفيروس العجلي من المصابين بالسالمونيلا المعوية.

الجدول (10.4): الإصابات المتزامنة بالفيروس العجلي والسالمونيلا المعوية بين المرضى.

الاصابة بالسالمونيلا المعوية	العدد المفحوص	الاصابة بالفيروس العجلي		قيمة P	معامل الانتشار	95%حدود الثقة	معامل الانتشار المعكوس
		العدد	%				
نعم	19	3	15.8	<0.001	0.2	0.58-0.07	5
كلا	37	29	78.4				

3.1.4.4. الاصابة بالاشريشيا القولونية *E.coli* enterocolitis

يبين الجدول (11.4) عدم وجود علاقة معنوية بين الاصابة بالاشيريشيا القولونية والاصابة بالفيروس العجلي، اذ اظهر معامل الانتشار المعكوس ان المرضى من غير المصابين بالاشريشيا القولونية اكثر بثلاث مرات تعرضا للاصابة بالفيروس العجلي من المرضى المصابين بالاشريشيا القولونية.

الجدول (11.4): الاصابات التزامنة بالفيروس العجلي والاشريشيا القولونية بين المرضى.

الاصابة بالاشريشيا القولونية	العدد المفحوص	الاصابة بالفيروس العجلي		قيمة P	معامل الانتشار	95%حدود الثقة	معامل الانتشار المعكوس
		العدد	%				
نعم	58	15	25.9	<0.001	0.33	0.53-0.21	3
كلا	37	29	78.4				

2.4.4. الاخماج الطفيلية المتزامنة Parasitic coinfection

1.2.4.4. الاصابة بطفيلي الجيارديا *Giardia lambelia* coinfection

أظهرت النتائج عدم وجود علاقة معنوية بين الإصابة بالجيارديا والإصابة بالفيروس العجلي بين المرضى، اذ تبين من خلال حساب معامل الانتشار المعكوس أن المرضى غير المصابين بالجيارديا اكثر 4.8 مرة للإصابة بالفيروس العجلي من المرضى المصابين بالجيارديا، الجدول (12.4).

الجدول (12.4): الإصابات المتزامنة بالفيروس العجلي والجيارديا بين المرضى.

الاصابة بالجيارديا	العدد المفحوص	الاصابة بالفيروس العجلي		قيمة P	معامل الانتشار	95%حدود الثقة	معامل الانتشار المعكوس
		العدد	%				
نعم	34	6	16.7	<0.001	0.21	0.45-0.1	4.8
كلا	37	29	78.4				

2.2.4.4. الإصابة بالاميبا الحالة للنسيج (الزحار الاميبي) Amoebic dysentry

يبين الجدول (13.4) عدم وجود علاقة معنوية للاصابة المتزامنة بين الاميبا الحالة للنسيج المسببة للزحار الاميبي وبين الاصابة بالفيروس العجلي، اذ اظهر معامل النتشار المعكوس ان المرضى من غير المصابين بالزحار الاميبي اكثر 16.7 مرة للإصابة بالفيروس العجلي مقارنة بالمرضى بالمصابين بالزحار الاميبي.

الجدول (13.4): الإصابات المتزامنة بالفيروس العجلي والاميبا الحالة للنسيج بين المرضى.

الاصابة بالزحار الاميبي	العدد المفحوص	الاصابة بالفيروس العجلي		قيمة P	معامل الانتشار	95%حدود الثقة	معامل الانتشار المعكوس
		العدد	%				
نعم	134	6	4.5	<0.001	0.06	0.13-0.03	16.7
كلا	37	29	78.4				

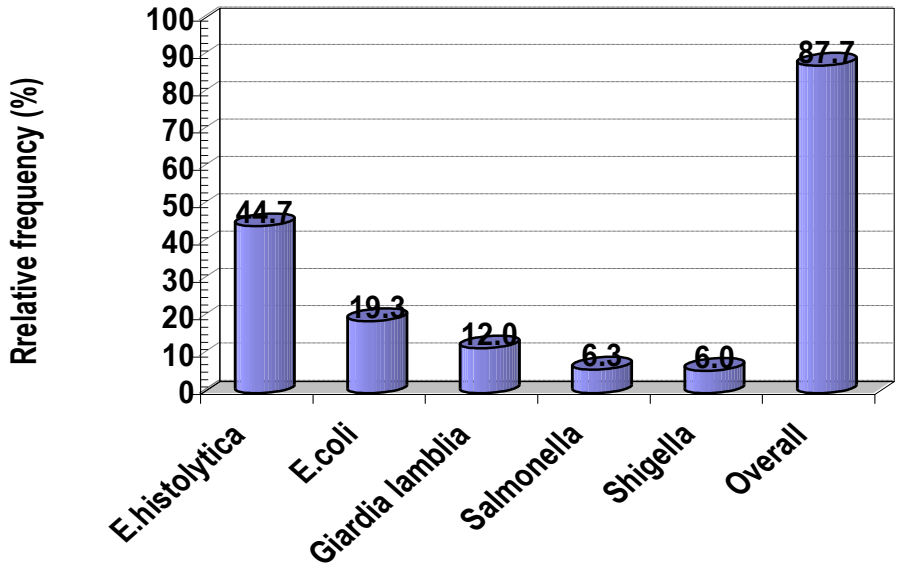
3.4.4. الاصابات الجرثومية والطفيلية المسببة للاسهال

Bacterial and parasitic coinfection

يبين الجدول (14.4) نتائج الإصابات المتزامنة بين الفيروس العجلي الاخماج الجرثومية والطفيلية مجتمعة في المرضى،اذ ليس هناك علاقة معنوية بينهما. ويبين معامل الانتشار المعكوس ان المرضى غير المصابين باي من الاخماج الجرثومية والطفيلية هم اكثر 6.3 مرة للإصابة بالفيروس العجلي من المرضى المصابين بتلك الاخماج.

الجدول (14.4): يبين الاصابات التزامنة بالفيروس العجلي والاخماج الجرثومية والطفيلية بين المرضى.

الاصابة بالاخماج الجرثومية والطفيلية	العدد المفحوص	الاصابة بالفيروس العجلي		قيمة P	معامل الانتشار	95%حدود الثقة	معامل الانتشار المعكوس
		العدد	%				
نعم	263	32	12.2	<0.001	0.16	0.22-0.11	6.3
كلا	37	29	78.4				



شكل (8.4): توزيع التكرار النسبي للإصابات الجرثومية والطفيلية المتزامنة.

تتنوع العوامل المرضية المسببة لالتهاب المعدي . المعوي الحاد، فمنها ماهو فيروسي او جرثومي أو طفيليات ابتدائية. إن معظم الدراسات العلمية التي تناولت هذا الجانب تؤكد على إمكانية حدوث إصابات متزامنة بهذه العوامل المرضية، إذ تراوحت نسب الإصابة المشتركة بين %3-%22 (Al-Gallas *et al*., 2007; Jansen *et al*., 2008). قد تكون تلك الإصابات المتزامنة فيروسية و جرثومية (Lan *et al*., 2009; Hung *et al*., 2009). أو فيروسية وطفيلية أو بالعوامل الثلاثة مجتمعة (Al-Baiti, 1998 ;Sinclair *et al*., 2005). غير أن هذه الدراسات لم تجد ترابطا معنويا بين الإصابة بتلك العوامل وهذا ما يتفق مع نتائج الدراسة الحالية. إن الدراسات العلمية التي تناولت الأعراض المرضية في الإصابات المتزامنة أكدت على زيادة شدة الأعراض المرضية في الإصابات المتزامنة وكذلك إطالة مدة الرقود في المستشفى مقارنة بالإصابات المنفردة (Al-Baiti, 1998 ; Sinclair *et al*., 2005;Hung *et al*., 2009).

ومن الجدير بالإشارة هنا إلى الدراسات التي تؤكد ارتفاع نسب الإصابة بالفيروس العجلي بين المرضى المصابين بفيروس العوز المناعي البشري، وذلك يعود إلى قابلية فيروس العوز المناعي البشرى في تثبيط الاستجابة المناعية في جسم المضيف مما يسهل الإصابة بالفيروس العجلي(Grohmann *et al*., 1993 ;Kiulia *et al*., 2009).

5.4. انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي

يبين الجدول (15.4) مدى انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي بين مجاميع الدراسة. إذ تبين النتائج أن 74 (49.3%) من المرضى الذين يعانون من الإسهال هم ايجابيون للضدات النوعية IgG للفيروس العجلي وبحدود ثقة تراوحت بين 41.3-57.3 مقارنة بالأشخاص الأصحاء ظاهريا، اذ كان 13 (37.1%) منهم ايجابيين للضدات النوعية IgG للفيروس العجلي وبحدود ثقة تراوحت بين 21-53.2، ولم يكن هنالك فارق معنوي في معدل انتشار الضدات النوعية IgG بين المجموعتين (P=0.91).

الجدول (15.4): ايجابية الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي في مجاميع الدراسة.

الضدات النوعية IgG	الأشخاص الأصحاء ظاهرياً		المرضى	
	العدد	%	العدد	%
سالبة	22	62.9	76	50.7
موجبة	13	37.1	74	49.3
المجموع	35	100	150	100
95%حدود الثقة	53.2-21		57.3-41.3	

1.5.4. انتشار الضدات النوعية IgG بحسب ايجابية فحص التلازن المباشر

تبين النتائج في الجدول (16.4) ان 19(25.7%) من المرضى ممن هم ايجابيون لفحص التلازن المباشر هم أيضا ايجابيون للضدات النوعية IgG للفيروس العجلي، في حين كان 55 (74.3%) من المرضى الذين أعطوا نتائج سالبة لفحص التلازن المباشر كانوا ايجابيين للضدات النوعية للفيروس العجلي، وعلى اي حال فان الفارق الإحصائي لنسب انتشار الضدات النوعية في مجموعة المرضى الايجابيين والسلبيين لفحص التلازن المباشر لم تكن ذا مغزى إحصائي (P=0.64).

جدول (16.4) يبين انتشار الضدات النوعية IgG بحسب ايجابية فحص التلازن المباشر

وجود الضدات النوعية	فحص التلازن المباشر				المجموع	
	سالب		موجب			
	العدد	%	العدد	%	العدد	%
سالب	59	77.6	17	22.4	76	100
موجب	55	74.3	19	25.7	74	100

P 0.64

تبين النتائج الحالية ان 49.3 % من المرضى هم ايجابيون للضدات النوعية للفيروس، و 25.7 % من المرضى الايجابيون بفحص التلازن هم ايجابيون للضدات النوعية للفيروس. ان هذه النتائج تدل على إمكانية حدوث الإصابة بالفيروس العجلي بالرغم من وجود الضدات النوعية، وهذا ما يتفق مع نتائج (Kallewaard *et al*., 2008) التي تؤكد بان الضدات النوعية المتكونة بعد الإصابة الطبيعية بالفيروس العجلي في الأطفال أو بعد التمنيع بلقاح ضد الفيروس تكون ذات نوعية واطئة poor quality ، وهذا ما يفسر حدوث الإصابات المتكررة اللاحقة والتي تكون معظمها إصابات تحت السريرية (Brooks *et al*., 2007).

من الحقائق العلمية المثبتة أن الفيروس العجلي واسع الانتشار في الطبيعة، وعليه فان 90 % من الأطفال بعمر ثلاث سنوات يمتلكون الضدات النوعية لواحد أو أكثر من المستضدات الفيروسية (Malik *et al*., 2008). وان الإصابة التحت السريرية بالفيروس العجلي في الأطفال الرضع دون الستة أشهر من العمر هو شائع مما يدل على أن الضدات النوعية الاميةmaternal antibodies لا تكفي لمنع الإصابة بالفيروس، بل قد تحد من شدة الإصابة المرضية (Jiang *et al*., 2001).

إن معظم المستضدات للفيروس العجلي تحفز الجهاز المناعي على إنتاج ضدات نوعية محددة بنمط مصلي واحد، ولهذا السبب فأنها قد لا تحمي من الإصابات اللاحقة إذا ما حدثت

بنمط مصلي مغاير (Azim *et al*., 2003). وعلى هذا الأساس فان تحضير اللقاحات ضد الفيروس العجلي يعتمد على النمط المصلي أو الأنماط المصلية المتواجدة في المجتمع لكي يحقق أعلى كفاءة في الحد من انتشار المرض (Moreira *et al*., 2009; Vesikari, 2008). الجانب الثاني المهم في الموضوع هو قابلية الفيروس العجلي على التغاير الجيني Genetic variability يساعده في ذلك طبيعة الحامض النووي الفيروسيViral RNA المجزأ الى 10-12 جزء ، إذ تتيح هذه الخاصية سهولة انتقال الأجزاء بين الأنماط المصلية المختلفة، إذ تودي إلى إعادة التجانس reassortment (Kheyami *et al*., 2006 ; Kheyami *et al*., 2008; Schumann *et al*., 2009). وقد وثقت إحدى الدراسات العلمية التي أجريت في البرازيل إمكانية الفيروس على التغير الجيني في وبائين حدثت خلال عامي 2003 و2004 (Martini *et al*., 2008). وبما ان بعض الأنماط المصلية للفيروس العجلي منتشرة بين الحيوانات الداجنة كالأبقار والخنازير والدواجن (Halaihel *et al*., 2009; Dhama *et al*., 2009). فإذا ما حدث التغاير الجيني بين سلالتين أحداهما من الحيوان وأخرى من الإنسان فقد يؤدي إلى ظهور سلالة جديدة من الفيروس ربما تكون أكثر ضراوة من كلا السلالتين بالنسبة للإنسان والحيوان على غرار ما يحدث حاليا في فيروس أنفلونزا الطيور والخنازير (Kalthoff *et al*., 2009; Neumann *et al*., 2009).

6.5.تأثير بعض العوامل على انتشار الضدات النوعيةIgG للفيروس العجلي لدى المرضى:

1.6.4.العمر:

يبين الجدول (17.4) عدم وجود فوارق معنوية إحصائياً لمعدل انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي بين الفئات العمرية (p=0.98).وعلى أي حال فان أوطئ معدل انتشار كان (41.7 %) بين الفئة العمرية (10-17) سنة، وأعلى معدل انتشار كان (54.5 %) بين الفئة العمرية اقل من 10 سنوات.

الجدول (17.4): معدل انتشار الضدات النوعيةIgG للفيروس العجلي بحسب الفئات العمرية.

الفئة العمرية	العدد المفحوص	ايجابية الضدات النوعية IgG		قيمة P
		العدد	%	
اقل من سنة	36	19	52.8	0.98 [NS]
اقل من سنتين	37	18	48.6	
اقل من 5 سنوات	40	20	50	
اقل من 10 سنوات	11	6	54.5	
17-10 سنة	12	5	41.7	
18 سنة فما فوق	14	6	42.9	

بالرغم من عدم وجود فارق معنوي في معدل انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي بين الفئات العمرية للمرضى، إلا ان النتائج تظهر بان ما يقارب من نصف المصابين بالمرض هم يمتلكون تلك الضدات، وهذا ما يدعم نتائج الدراسات السابقة التي أشارت الى إمكانية حدوث الإصابة بالفيروس العجلي حتى في وجود الضدات النوعية للفيروس (Brooks *et al*., 2007; Kallewaard *et al*., 2008) ان كفاءة الضدات النوعية الدورانية Circulatory IgG في منع حدوث الاصابة بالفيروس العجلي تتضائل نظراً لانحصار التاثيرات المرضية للفيروس بالخلايا الظهارية المبطنة للأمعاء الدقيقة (Bucardo *et al* ., 2007;Harada *et al* .,2009). وفي مثل هذه الاصابات، تلعب الضدات النوعية الافرازية Secretory IgA دور اكبر في منع الاصابة(Bell *et al* .,1988) .

ان امتلاك 52.8% من الاطفال الرضع دون السنة من العمر للضدات النوعية IgG ربما يكون الجنين قد اكتسبها من الام عبر المشيمة وغالباً ما يستمر وجود هذه الضدات النوعية IgG الى الستة اشهر الاولى من عمر الطفل، او ربما يكون مصدرها من الاصابة الطبيعية بالفيروس، اذ ان نسب الاصابة بالفيروس العجلي تكون عالية في هذا العمر(Abbas,1988 ; Al-Kuheli,2004; Schael *et al* .,2009).

2.6.4.الجنس:

تشير النتائج في الجدول (18.4) الى عدم وجود فارق معنوي إحصائياً (P=0.31) في معدل انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي بين الذكور والإناث (52.9 % مقابل 44.4%).

الجدول (18.4): معدل انتشار الضدات النوعيةIgG للفيروس العجلي بحسب الجنس.

الجنس	العدد المفحوص	ايجابية الضدات النوعية IgG		قيمة P
		العدد	%	
الاناث	63	28	44.4	0.31 [NS]
الذكور	87	46	52.9	

ان عدم وجود فارق معنوي في معدل انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي بين الاناث والذكور ربما يعود الى تقارب نسب الاصابة بالفيروس بين الجنسين وهذا ما اشارت اليه معظم الدراسات السابقة (Al-Falahi, 2002;Al-Kuheli, 2004; Kheyami *et al*., 2006;Carraro *et al*., 2008).

3.6.4.السكن:

أظهرت النتائج عدم وجود فارق معنوي إحصائياً (P=0.63) في معدل انتشار الضدات النوعية للفيروس العجلي بين المرضى الذين يقطنون المناطق الريفية أو الذين يقطنون المناطق الحضرية (47.5% مقابل 51.4%)، الجدول (19.4).

الجدول (19.4): معدل انتشار الضدات النوعيةIgG للفيروس العجلي بحسب السكن.

السكن	العدد	ايجابية الضدات النوعية IgG	قيمة P

	المفحوص	العدد	%	
المناطق الحضرية	70	36	51.4	0.63 [NS]
المناطق الريفية	80	38	47.6	

4.6.4.مصدر مياه الشرب:

يظهر الجدول (20.4) عدم وجود تأثير معنوي إحصائيا (P=0.72) لمصدر مياه الشرب على معدل انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي بين المرضى.

الجدول (20.4): معدل انتشار الضدات النوعيةIgG للفيروس العجلي بحسب مصدر مياه الشرب.

مصدر مياه الشرب	العدد المفحوص	ايجابية الضدات النوعية IgG		قيمة P
		العدد	%	
مياه الاسالة	92	47	51.1	0.72 [NS]
مياه الانهر	45	20	44.4	
مياه السيارات الحوضية	13	7	53.8	

ان عدم وجود فارق معنوي في معدل انتشار الضدات النوعية لفيروس العجلي بين المرضى الذين يستعملون مصادر المياه الثلاثة للشرب ربما يعود الى ان مصادر مياه الشرب في المحافظة ملوثة بالفيروس بما في ذلك مياه الإسالة، ولقد أشارت العديد من الدراسات الى امكانية الكشف عن الفيروس العجلي بالتقنيات الجزيئية في مياه الإسالة وكذلك مصادر المياه الاخرى (Leclerc *et al*., 2002;Verheyen *et al*., 2009).

5.6.4.نوعية الرضاعة (للمرضى دون السنتين من العمر):

على الرغم من ان معدل انتشار الضدات النوعية IgG للفيروس العجلي كانت الأعلى بين اطفال الرضاعة الصناعية مقارنة باطفال الرضاعة الطبيعية والتغذية المختلطة، إلا ان الفارق الإحصائي لم يكن معنويا (P= 0.71)، الجدول (21.4).

الجدول (21.4): معدل انتشار الضدات النوعيةIgG للفيروس العجلي بحسب نوع التغذية.

نوع التغذية	العدد المفحوص	ايجابية الضدات النوعية IgG		قيمة P
		العدد	%	
الرضاعة الطبيعية	45	21	46.7	0.71 [NS]
الرضاعة الصناعية	38	21	55.3	
التغذية المختلطة	15	7	46.7	

ان الزيادة غير المعنوية في معدل انتشار الضدات النوعية للفيروسIgG العجلي بين اطفال الرضاعة الصناعية هي ناتجة عن ارتفاع نسب الاصابة بالفيروس بين هؤلاء الفئة من الاطفال بخلاف الاطفال الذين يتغذون على الرضاعة الطبيعية، اذ يحوي حليب الام على بروتينات تعطي حماية من الاصابة بالفيروس العجلي (Newburg *et al*., 1998; Asensi *et al*., 2006).

الفصل الخامس

5.الاستنتاجات والتوصيات

1.5 الاستنتاجات Conclusions

1. تشكل الإصابة بالفيروس العجلي نسبة كبيرة ضمن مسببات الإسهال الحاد في المجتمع، وان هذه النسبة ترتفع بين الأطفال ممن هم دون الخامسة من العمر.
2. إن اليافعين والبالغين معرضون أيضا للإصابة بالفيروس العجلي بالرغم من امتلاك نصف المجتمع تقريبا للضدات النوعية IgG للفيروس.
3. لا يوجد فارق معنوي بين نسب الإصابة بالفيروس العجلي بين الإناث والذكور إذ أن نسب الإصابة في الجنسين متقاربة.
4. نسب الإصابة بالفيروس العجلي بين الأشخاص الذين يقطنون المناطق الريفية أعلى معنويا مقارنة بنسب الإصابة بين الأشخاص الذين يقطنون المناطق الحضرية .
5. تشكل مياه الأنهر مصدرا مهما في انتقال العدوى بالفيروس العجلي مقارنة بمياه الإسالة ومياه السيارات الحوضية.
6. ترتفع نسب الإصابة بالفيروس العجلي بين الأطفال ممن هم دون السنتين من العمر الذين يعتمدون على الرضاعة الصناعية مقارنة بأولئك الذين يتغذون على الرضاعة الطبيعية أو التغذية المختلطة.
7. بالرغم من تسجيل حالات الإصابة بالفيروس العجلي على مدار السنة، إلا أن نسب الإصابة ترتفع خلال فصلي الربيع والشتاء مقارنة بفصلي الصيف والخريف.
8. بالرغم من تسجيل إصابات متزامنة الاخماج الجرثومية والطفيلية، ومع ذلك لم يكن للإصابات الجرثومية أو الطفيلية تأثيرا معنويا على ارتفاع الإصابة بالفيروس العجلي بين المرضى.
9. عدم امتلاك نصف المجتمع للضدات النوعية IgG لفيروس العجلي مما يجعلهم مهيئين للاصابة.

2.5 التوصيات Recommendations

1. اجراء دراسة سريرية عن الإصابة بالفيروس العجلي والإصابة بالاخماج الجرثومية والطفيلية المتزامنة لاستبيان تأثير الإصابة بالفيروس العجلي على شدة الإصابة بالاخماج المتزامنة.
2. العمل على زيادة الوعي الصحي لدى عموم المجتمع حول طرق انتقال الفيروس وكيفية الوقاية من الاصابة بالفيروس العجلي وخاصة المناطق الريفية.
3. إجراء دراسة جزيئية لمعرفة النمط المصلي للفيروس العجلي السائد في المجتمع ومعرفة فيما لو كانت هنالك تغيير في التركيبة الجينية بين فترة واخرى.
4. اجراء دراسات جزيئية او فيروسية باستخدام تقنية التفاعل التسلسلي التضاعفي لعزل الفيروس او الكشف عنه في مياه الاسالة ومياه الأنهر وكذلك في براز الحيوانات الحقلية الداجنة، إذ من المحتمل أن يكون المرض من الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان.
5. تشجيع الرضاعة الطبيعية لما لها من دور مهم في تقليل نسب الاصابة بالفيروس العجلي بين الأطفال دون السنتين من العمر.
6. تجنب استخدام مياه الأنهر للشرب والاستحمام كونها تشكل مصدراً مهماً في انتقال العدوى للفيروس العجلي مقارنة بمياه الإسالة ومياه السيارات الحوضية.

ملحق رقم (1) نموذج استمارة استبيانية

تاريخ ملئ الاستمارة

1. الاسم : 3. الجنس

2. العمر 4. منطقة السكن (مدينة, قرية)

5.الأعراض المرضية

- إسهال كلا نعم عدد المرات لكل 24 ساعة .
- تقيؤ كلا نعم عدد المرات لكل 24 ساعة.
- حمى شديدة متوسطة لا يوجد
- جفاف شديد متوسط لا يوجد
- عدد أيام الإصابة

6. مصدر الماء إسالة نهر دنكر

7. نوع الرضاعة طبيعية صناعية خليط

8. نموذج البراز

* مائي * مخاطي * دموي مخاطي

9. نتائج الفحوصات المختبرية.

References المصادر

- Abbas, N.R.; Al-Hadithi, T.S.; Al-Attar, A.; Omer A.R.and Al-Obadi, S. (1988). Incidence of rotavirus gastroenteritis among infants and young children in Baghdad. J. Comm. Med. 1: 39-42.
- Aggarwal, R . and Naik, S. (2009). Efpidemiology of hepatitis E : current status.J. Gastroenterol Hepatol. 24(9):1484-93.
- Ahmed, M.U., Kobayashi, N.; Wakuda, M.; Sanekata, T.; Taniguchi, K.; Kader A, Naik TN; Ishino M, Alam MM; Kojima K, Mise K; Sumi A (2004). Genetic analysis of group B human rotaviruses detected in Bangladesh in 2000 and 2001. J. Med. Virol. 72 (1): 149–55.
- Al- Falahi, R. (2002). Role of rotavirus gastroenteritis in children under three years of age hospitalized in Al- Ramadi maternity and children , hospital. Diploma thesis. College of Medicine, University of Al-Anbar.
- AL-Biati, E.N.(1998).Isolation and Identification of entropa-thogenic bacteria and rotavirus from children with diarrhea. M.Sc. thesis .college of Science ,AL-Mustansiyria University .
- Al-Gallas, N.; Bahri , O.; Bouratbeen , A .; Ben Haasen, A .; and Ben Aissa, R.(2007).Etioloy of acute diarrhea in children and adults in Tunis Tunisia , with emphasis on diarrheagenic Escherichia coli: Prevalence phenotyping , and molecular epidemiology. Am J. Trop Med. Hyg .77(3):571-82.
- Al-kerwi, A.A. ; Al-Samarai, A. and Yacoub, A.H. (1993). Prevalence of rotavirus infection in Basrah: A community - based study. J. East. Medit Health. 7:41-48.
- AL-Kuheli , N.R.(2004). Gastroenteritis viruses among children under five years of age in AL-Ramadi City.M.Sc. thesis .College of Medicine AL-Anbar University.

- Al-Nakshabendy, T. Y. (1993). Rotavirus gastroenteritis among infants and young children in Mosul. College of Science. AL-Musal University.
- Al-Wardi, H.A.; Al-Obaidi, A.M.; Al-Hadithi T.S. and Omer A.R. (1990). Rotavirus gastroenteritis in infants and young children in sadam city Baghdad. Saudi. Med. J. 11: 457-459.
- Andreasi, M.S; Caedoso, D.D. ; Fernandes, S.M. ; Tozetti, I.A. ; Borges. ; *et al* . (2008). Adenovirus , calicivirus and astrovirus detection in fecal samples of hospitalized children with acute gastroenteritis from campo Grande,Ms , Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 103(7):741-4.
- Aoki, S.t.; Settember, E.C.; Trask, S.D.; Greenberg, H.B.; Harrison, S.C.and Dormitzer, P.R. (2009). Structure of rotavirus outr-layer protein VP7 bound with aneutralizing Science, 324(5933): 1444-7.
- Asensi , M.T .; Martinez – Costa ,C.; Buesa , J . (2006). Anti – rotavirus antibodies in human milk : quantification and neutralizing activity . J Pediatr Gastroenterol Nutr . 42(5):560-7.
- Atchison , C.J.;Tam.C.C. and Lopman . B.A.(2009).Seaon of birth and risk of rotavirus diarrhoea in chigdren in children aged < 5 years .Epidenilol Infect .137(7):957-60.
- Atmar, R.L. and Estes, M.K. (2001). Diagnosis of noncultivable gastroenteritis viruses, the human Caliciviruses . Clin. Microbiol .Rev.14(1):15-37.
- Azim,T.;Zaki , M.H.; podder ,G.; Sultana, N.; Salam,M.N.; Rahman SM.; Sefat-e-Khuda.; Sack DA. (2003). Rotavirus-specific subclass antibody and cytokine responded in Bangladeshi children with rotavirus diarrhea. J. Med.Virol .69(2):286-95.
- Ball,J.M.; Mitchell,D.M.; Gibbons ,T.F. and Parr , R . D . (2005). Rotavirus NSP4 :A multifunctional viral enterotoxin . viral Immunol.18(1)27-40.

- Baron, S. (1994). Medical Microbiology. 3rd Ed. Churchill livingstone, New York, London, Edinburg, Melbourne, Tokyo.
- Bartlett,C.L. (1996). An overview of emerging foodborne and waterborne diseases. East. Medit. Health. J. 2(1): 51-60.
- Baruch, A. C. ; Isaac-Renton, J. and Adam, R. D. (1996). The molecular epidemiology of *Giardia lambelia:* sequence based approach. J. Infect. Dis. 174:233-36.
- Becker,K.M.; Moe,C.L., Southwick,K.L. and Maccor-mack, J.N.(2000).Transmission of Norwalk virus during a football game .N.Engl.J. Med. 343: 1223-27.
- Bell, L. M.; Clark, F.; Arbeter, A. M and plotkin, S. A. (1988). Rotavirus serotype specific neutralizing activity in human milk . Res.Virol.142:275-8.
- Bhatnagar, S.; Bhan, M. K.; Singh, K. D.; Saxena, S. K. and Shariff, M.(1996). Efficacy of milk based diets in persistant diarrhea: A randomized controlled trial. Pediatrics,98 (6):1122- 24.
- Bines,J.E.(2006). Intussusception and rotavirus vaccines. Vaccine. 24 (18): 3772-6 .
- Bishop, R.F.; Bugg, H.C.; Masendyez, P.J.; Lund, J.S.; Gorrell, R.J. and Barnes G.L. (1996) .Serum, Fecal and Breast milk rotavius antibodies as indicator of in mother – infant pairs .J .Infect .Dis. 174: 22-29.
- Black, R. E.; Merson, M. H.; Rahman, A. S.; Yunus, M.; Alim, A. R.: Yolken, R. H and Curclin, G. T. (1980). A two year study of bacterial , Viral and parastic agents associated with diarrhea in rural Bangladesh. J. Infec. Dis. 142(5): 660-64.
- Brandet, C. D.; Whakin, H.; Rodriguez, W. J.; Arrobio ,J. O. ; Jeffries , B. and parrott , R . H . (1982) . Rotavirus gastroentertitis and weather. J. Clin. Microbiol . 16(3): 478-82.
- Brooks, G.; Butel ,J. and Ornston, L. (1995). Medical microbiology. 20th ed. Appleton and Lange. USA.

- Brooks, G.F.; Carroll, K.C.; Butel, J.S. and Morse, S.A.(2007). Reoviruses, Rotaviruses, and Calciviruses. In: Medical Microbiology. 24th. Ed. McGraw-Hill. 501-32.
- Broor , S.; Ghosh , D. and Mathur P. (2003). Molecular epidemiology of rotaviruses in India , Indian .J.Med Res.118: 59-67.
- Bucardo, F. ; Karlsson, B.; Nordgren, J.; *et al* . (2007). Mutated G4P[8] rotavirus associated with a nationwide outbreak of gastroenteritis in Nicaragua in 2005 . *J.* Clin. Microbiol. 45 (3): 990–7
- Carraro, E .; Perosa, A.H .; Siqueira , I .; Pasternak , J . and Martino , M.D . (2008) , Rotavirus infection in children a tertiary Hospital of Sao Paulo . Brazil .Braz J . Infect .12(1):44-6.
- Carraturo, A.; Catalani,V. and Tega,L .(2008). Microbiological and epidemiological aspects of rotavirus and enteric adenovirus infections in hospitalized children in Italy. New microbiol. 31(3): 329-36.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2008). Rotavirus Surveillance – worldwide , 2001-2008 Morb Mortal. Wkly. Rep . 2157(46):1255-7.
- Chan, S.S.;Ng,K.C.; Lyon,D.J.; Cheung;W.L.;Cheune .; Rainer TH. (2003). acute bacterial gastroenteritis :A study of adult with positive stool cultures theated in the emergency department . Emerg. Med .J. 20(4)335-8.
- Chiba, S.; Nakata, S.; Uraswa, T.; Yokoyama, T., Morita Y.;et al . (1986). Protective effect of naturally acquired homotypic and heterotypic and rotavirus antibodies. Lancet. 2: 417-421.
- Chikhi-Brachet, R.; Bon, F.; Toubiana, L.; Pothier, P.; Nicolas, J.; Flahault, A. and Kohli, E. (2002). Virus diversity in a winter epidemic of acute diarrhea in France. J. Clin. Microbiol. 40: 4266-72.
- Chitambar, S.D; Tatte, V.S.; Dhogde, R. and Kalrao, V.(2008).High frequency of rotavirus viremia in children

with acute gastro enteritis: discordance of strins detected in stool and sera. J .med Virol . 80(12) :2169-76. 5.

- Cimolai, N.; Carter, J. E.; Morrison, B. J and Anderson, J. D. (1990). Risk factors for the progression of *Escherichia coli* 0157: H7 enteritis to Hemolytic Syndrome. J. pediatr . 116(4): 589-2.
- Colomba, C.; Degrazi ,S.; Giammanco, G,M.; Saporito, L.; scarlata F. ; Titone L.; Arista S. (2006). Viral Gastroenteritis in Children hospitalized in sicily, Italy. Eur. J. Clin. Microbiol Infect Dis. 25 (9) :570-5.4.
- Cook, K.A.; Dobbs, T.E.; Hlady, W.G.; Wells, J.G.and Barrett, T.J .; *et al* . (1998).Outbreak of *salmonella* serotype Hartford infections associated with unpasteurized orange Juice.J.clin microbial infect.Dis. 17: 1504-10.
- Cowan, S. T. and Steel, A.(1974). Manual for the identification of medical bacteria. 2nd Ed.combridge press.
- Crichton,P.B.(1996). Enterobacteriaceae: *Escherichia, Klebsiella, Proteus,* and other genera. practical medical microbiology. 14th Ed. Churchill livingstone.
- Desselberger, U. and Gray, J.(2005).Viruses associated with acute diarrhoeal diseas. In: Zukerman, A.H.; Banatvala, J.E.; Pattison, J.R.; Griffiths, P.D. and Schoub, B.D. Principales and Practice of Clinical Virology. 5th. Ed.. Gohn Wiley & Sons, Ltd. 249-70.
- Dhama , K .; Chauhan , R.S . ; Mahensran , M. and Malik, S.V.(2009). Rotavirus diarrhea in bovines and other domestic animals .Vet. Res. Commun. 33(1):1-23.
- Eliason, B.C. and Lewan, R. (1998). Gastroenteritis in children: principles of diagnosis and treatment. Am. Family physeician. 1-6.
- Estes, M. K and Cohen, J. (1989). Rotavirus gene structure and function.Microbiol. Rev. 53(4): 410-419.
- Farrar, W.E.; Wood, J.M.; Innes, A.J. and Tubb, H. (1995). Infectious disease. 3rd Ed. Mosby international publication LTD. USA.

- Fascia, F.P.; Dauvergne, M.; Tenenbaum, D.; Planson, P.L.; Petion, A.M.; Pothier P.; Kohli E. (1999). Prevalence of group A rotavirus, human caliciviruses, astroviruses, and adenoviruses type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France. J.Clin.Microbiol. 37: 3055-58.
- Feng, N.; Hashino,Y.and Greenberg,H. B. (1997).Heterotypic protection following oralimmunization with live heterologous rotaviruses in mouse model, J. Infec. Dis, 175:330-341.
- Fischer, T.K.and Gentsch, J.R. (2004). Rotavirus typing methods and algorithms. Rev. Med. Virol. 14 (2):71-82.
- Flewett, T. H.; Daries, H.; Bryden, A. S and Robertson, M. J. (1974). Acute gastroenteritis associated with reovirus like particales , J.Clin. Pathol. 27(8): 608-10.
- Flores, J.; Perez, I.; White, L.; Perez, M.; Kalica, A.R.; Marquina R.; Wyatt R.G.; Kapikian A.Z.; Chanock R.M. (1982). Genetic relatedness among Human rotaviruses as determined by RNA hybrization. Infec.Immun. 37(2): 648-55.
- Forster, J .;Guarino, A.; Pares, N .; Moraga, F.; Roman, E.; Mory.; Tozzi AE.; de Aguileta AL.; Wahu U.; Graham C.; Berner R.; Ninan T.; Barberousse C.; Meyer N.; Soriano-Gabarro M. (2009). Hospital-based surveillance to estimante the burden of rotavirus gastroenteritis among Europen children younger than 5 years of age .Pediatr .123(3):393-400.
- Franco, M.A.; Fong, N. and Greenberg, H.B. (1996). Molecular determinants of immunity and pathogenicity of rotavirus infection in mouse model. J.infect. Dis. 174(1): 47-50.
- Gaggero, A.; Ryan, M.; Noel, J.S.; Glass, R.I.; Monroe S.S.; *et al* . (1998). Prevalence of astrovirus infection among Chilean children with acute gastroenteritis. J. Clin. Microbiol. 36(12): 3691-39.
- Germani, Y.; Begaud, E.; Dural, P . and Bouguenec, C. L. (1996). Prevalence of enteropathogenic, entero aggregative and

diffusely adherent *E. coli* among isolation from children with diarrhea in New Caledonia. J. Infec. Dis. 174:1124-26.

- Glass, R.I.; Kilgore, P.E.; Holman, R.C.; Jin, S. and Smith, J.R. (1996). The epidemiology of rotavirus diarrhea in the United States: surveillance and estimates of disease burden. J. Infect. Dis. 174(1): 5-11.
- Gleizes, O .(2006). Nosocomial rotavirus infection in European countries : a review of the epidemiology , severity and economic burden of hospital- acquired rotavirus disease. Pediatr Infect Dis .J .25(Suppl.1): 12-21.
- Gleizes, O.;Desselberger, U.; Tatochenco, V.; Rodrigo, C.; Salman.; Mezner Z.; Giaquinto C.; Grimprel E. (2006). Nosocomiol rotavirus infection European countries :A review of the epidemiology , severity and economic burden of hospital- acquired rotavirus disease.Pediatr. Infect. Dis .J.25(suppl.1):S12-21.
- Golding, J.; Emmett, P.M. and Rogers I.S. (1997). Gastroenteritis diarrhea and breast-feeding. Early Hum.2: 83-103.
- Gonzalez, R.; Salas-Maronsky ,H.; Balebona, E .; Martinez, J.R .; Serrano , N. and Perez-Schael. I . (2008). Epidemiological and clinical stydy of diarrhea by rotavirus in children < 5 years of age attended in medical of the Miranda Stats , Venezueli .Invest Clin .49(4):449-510.
- Goto, T.; Kimura, H.; Numazaki, K.; *et al.* (2007). A case of meningoencephalitis associated with G1P[8] rotavirus infection in a Japanese child. Scand. J. Infect. *Dis.* 39 (11): 1067–70.
- Gowans, E.J. (1996). Immunofluorescences and immunoelectron microscopy: some selected aspect of light and electron microscopy In: Mackie and mecartney, By Collee J.G., Fraser A.G., Marmion B.P., and Simmons A. 14th ed. churchill livingstone.
- Grohmann, G.S .; Glass, R.I .; Pereira, H.G .; Monroe , S.S .; Hightower , A.W .; Weber R.; Bryan RT. (1993). Enteric

viruses and diarrhea in HIV – infected patients. Enteric Opportunistic Infections Working Group. N. Engl .J. Med 329(1):14-20.

- Gupte, S.(1996). The short text book of pediatrics 7th Ed. Jaypee brothers medical publishers(p) Ltd.
- Gurgel , R.Q.; Cuunliffe , N.A.; Nakagomi, O. and Cuevas ,L.E.(2008). Rotavirus genotypes circulating in Brazil before national rotavirus vaccination : A review .J. Clin .Virol .43(1):1-8.
- Halaihel,N.; Masia, R.M.; Fernandez, M. ; Ribes, J.M. ; Montavs , R .; De Bla's I.; Giron'es O.; Alonso JL.; Buesa J. (2009). Enteric calicivirus and rotavirus infections in domestic pigs.Epidemiol Infect.28: 1-7.
- Hamza, I.A.; Jurzik, L.; Stang, A.; Sure, K.; Uberla, k. and Wilhelm M. (2009).Detection of human viruses in rivers of a densly- populated area in Germany using a virus adsorption elution method optimized for PCR analyses. Water Res.43(10):2657-68.
- Harada, S.O.; kada, M.; Yahiro, S.; Nishimura, K.; Matsuo, S. Miyassaka J.; Nakashima R.; Shimada Y.; Ueno T.; Ikezawa S.; Shinozaki K.; Katayama K.; Wakita T.; Takeda N.; Oka T. (2009).Surveillance of pathogens in outpatients with gastroenteritis and characterization of sapovirus between 2002 and 2007 in kumamoto prefecture , Jpn .J. Med Vriol . 1881(6): 1117-27.
- Hart, C.A. and Ibrahim, O.S. (1989). Rotavirus and gastroenteritis. Postgraduate doctor Middle East. U: 252-260.
- Haselhorst, T.; Fleming, F.E. ;Dyason, J.C. ; Haetell, R.D.; Yu X.; Hollowa G.; Santegoets K.; Kiefel MJ.; Blanchard H.; Coulson Bs.; von Itzstein M. (2009). Sialic acid dependence in rotavirus host cell invasion. Nat. Chem Biol.5(2):91-3.
- Hempel, K. (2001). Rotavirus gastroenteritis and vaccine. Am. Acad, pediatr. 1-4.
- Hsiung , G.D .(1982) .Electron microscopy .Diagnostic virology .3rd Ed .Yale University presses U.S.A .

- Hung, T.; Chen, G.M.; Wang, C.G.; *et al*.,(1984). Waterborne out break of rotavirus diarrhea in adults in China caused by a novel rotavirus. Lancet.1 (8387): 1139-42.
- Hung, T.Y .; Liu, M.C.; Hsu, C.F. and Lin Y.C.(2009) . rotavirus infection increases the risk of bactremia in children with nontyphoid salmonella gastroenteritis, Eur.J. Clin. Microbiol. Infect. Dis .28(4)425-8.
- Huq, A. and Colwell R.R. (1996). Environmental factors associated with emergence of disease with special reference to cholera. Eastern Medit Health. J. 2(1): 37-45.
- Ibrahim, G.F.;Fleet, G.H.; Lyons, M.J. and Walker R.W. (1985). Production of potent salmonella H antisera by immunization with polymeric falgellins. J. Clin. Microbiol. 22: 347-51.
- Ijaz,M.K. ;Allarbi , S.;Uduman ,S.A.;Cheema,Y.;Sheek-Hussen .M.M.; et al .(1994). Seasonality and prevalene of Rotavirus in Al-Ain , United Arab Emirates .Clin Diagn Virol .2(6):323-9.
- Intusoma, U.; sornsrivichai, V.; Jiraphongsa, C. and Varavithaya, W.(2008). epidemiology, clinical presenttations and burden of rotavirus Diarrhea in children under five seen at Ramathibodi hospital, Thiland.J. Med ASS. Thai. 91 (9):1350-5 3.
- Isa, P.; Arias, C.f. and Lopez, S. (2006). Role sialic acids in Rotavirus Infection .Glycoconj. J. 23(1-2):27-37.
- Ishida, S.; Feng, N.; Tang, B.; Gilbert, J. M. and Greenberg, H. B. (1996).Quantification of systemic and local immune responses to individual rotavirus proteins during rotavirus infection in mice. J. Clin. Microbiol. 34(7): 1694-700.
- Jansen , A. ; Stark , K. ;Schreier , E . ; Ignatius , R . ; Liesenfeld , O.; Werber D.; Göbel UB.; Zeitz M.; Schneider. (2008). Aetiolig of community-acute gastroenteritis in hospitalized adults:a prospective cohort study . Infect Dis. 22 (8):143.
- Jawetz E., Melnick J.L., and Adelberg E.A. (1998). Review of medical microbiology. 21st ed. Appleton & Lange.

- Jiang, S.; Rachel, N. and Chu, W. (2001). Human Adenovirus and coliphages in urban runoff-impacted coastal waters of Southern California. Appl.Environ. Microbiol. 67: 1 79-84.
- John, B. H.(1996). Clinical Dignosis and Mangment by Laboratory Methods. 9th Ed. John Bernard Henry.
- Jourdan, N.; Brunet, J.P.; Sapin, C.; *et al.* (1998). Rotavirus infection reduces sucrase-isomaltase expression in human intestinal epithelial cells by perturbing protein targeting and organization of microvillar cytoskeleton. J. Virol. 72 (9): 7228–36.
- Kaila M., Onnela T., and isolauri E. (1997). Treatment of acute diarrhea in practice. Acta-Paediatr. 86(12): 1340-1344.
- Kallewaard , N.L .; Mckinney, B.A. ; GU, Y.; Chen , A.; Prasad, B.V .; Crowe JE Jr. (2008). Functional maturation of the human antibody response to rotavirus . J Immunol .180(6) : 3980-9.
- Kalthoff, D.; Globig, A. and Beer, M.(2009). Highly pathogenic avian influenza as zoonotic agent. Vet. Microbiol.; 26(8): 235-40.
- Kapikian, A.Z. (1996). Efficacy of a quadrivalent Rhuses rotavirus-based human rotavirus vaccine aimed at preventing severs rotavirus diarrhea in infant and young children. J. Infect. Dis. 174(1): 65-72.
- Khamrin, P.; Maneekarn, N.; Peerakome, S .; Malasao, R.; Thongprachum A.; Chanit, W.; Mizuguchi M.; Okitsu S.; Ushijima H. (2009) Molecular characterization of VP4 , VP6, Vp7 ,NSP4 , and NSP5/6 genes identifies an unusual G3[10] human rotavirus strain . J Med. Virol .81(1):176-82.
- Kheyami, A.M. (2006).Rotavirus infection in Sudi Arabia . Ann Saudi Med. 26(3):184-91.
- Kheyami, A.M. ; Areeshi, M.Y.; Dove, W.; Nakagaomi, O.; Cunliffe , N.A .; Anthony Hart C. (2008).Characterization of rotavirus strains detected among children and adults with acults with acute gastroenteritis in Gizan , Saudi Arabia . Saudi Med.J.29(1):90-3.

- Kidd, A.H.; Harley, E.H. and Erasmus M.J. (1985). Specific detection and typing of adenovirus types 40 and 41 in stool specimens by Dot- Blot hybridization. J. Infect. Dis. 22: 934-39.
- Kiulia , N.M .; Nyaundi , J.K .; Peenze , I .; Nyachieo , A .; Musoke, R.N.; Steele AK.; Mwenda JM. (2009).Rotavirus Infections among HIV – Infected Children in Nairobi , Kenya. J . Trop Pediatr .55(5): 318-23.
- Koh, H.; Baek, S.Y.; Shin, J.I.; Chung, K.S.and Jee, Y.M.(2008).Coinfectoin of virl agents in Korean children with acute watery diarrhea .J. Korea Med. Sci. 23(6):937-40.
- Koneman, E. W.; Allen, S. D. and Jaunda, W. M. C. (1992). Colorplates and text book of Diagnostic Microbiology. 4th ed. J. B. Lippin cott Company.
- Koopmans, M. and Brown, D.(1999). Seasonality and diversity of Group A rotaviruses in Europe. Acta paediatrica. Supplement. 88(426): 14–9.
- Kosek, M. and Guerrant R.L. (2003). The magnitude of the global burden of diarroeal disease from studies published 1992-2000. Bull. W.H.O. 81:197-204.
- Kotloff K.L., Winickoff J.P, Ivanoff B., Clemens J.D., Swerdlow D.L .; et al. (1999). Global burden of shigella infections: Implication for vaccine development and implementation of control strategies. Bull. W.H.O. 77: 651-66.
- Kuusi , M. ; Klemets ,P.; Miettinen , I .; Laaksonen , I; Sarkkinen H; Hanninen ML; Rautelin Hl Kela E; Nuorti JP. (2004). An outbreak of gastroenteritis from a non – chlorinated community water supply . J Epidemiol Community Health . 58(4):273-7.
- Lan, W.T. (2009). Concomitant rotavirus and salmonella infection in children with acute diarrhea . pediatr .Neonatal 50(1): 8-12.

- Leclerc, H.; Schwartzbrod, L.; Dei-cas, E. (2002). microbial agents associated with water borne diseases. Crit. Rev. Microbiol . 28 (4) :371-409.
- Leung, A.K. ; Kellner, J.d. and Divies, H.D.(2005) .rotavirus Gastroenteritis.virolog.22 (5):476-87.
- Levy ,K.; Hubbard ,A.E. and Eisenberg, J.N . (2008) . Seasonality of rotavirus disease in the tropics : a systematic review and meta-nalysis. Int.J. Epidemiol . [in publish ahead of print].
- Liddle, J.L.; Burgess, M.A.; Gilbert, G.L.; Ralph, H.M.; Mclntyre, P.B.; Bishop R.F.; Ferson M.(1997). Rotavirus gastroenteritis: impact on young children, their families and the health care system. Med J. virol. 6: 304-7.
- Linhares, A.C.; Gabbay, Y.B.; Mascarenhas,J.D. ; Freitas ,R.B. ; Flewett , T.H. and Beards, G . M . (1988) . Epidemiology of rotavirus subgroups and serotypes in Belem , Brazil :A three-year study Ann.Inst .Pasteur Virol.139(1):89-99.
- Lodder, W.J. and De Roda Husman ,A.M.(2005). Presence of noroviruses and other enteric viruses in sewage and surface waters in the Netherlands . Appl Environ Microbiol. 71(3):1453-61.
- Lopez, S. and Arias, C.F. (2006). Early steps in rotavirus cell entry. Currt Top Microbial Immanuel. 309: 39 -66.
- Ludert, J.E.; Ruiz, M.C. ; Hidalgo, C. and Liprandi,F. (2002).Antibodies to rotavirus outer capsid glycoprotein VP7neutralize infectivity by inhibiting virion decapsidation. J. Virol .76(13):6643-51.
- Madkour, A.A.; Massoud, M.N.; El-azzouni, O.E.; Amer, M.; Ragab, M.A. and El-sawy, E. (1995). Nutritional outcome of appropriates feeding during and after acute diarrhea in children. East. Mediter. Health. J. 1:162-76.
- Malik , J. ; Bhan , M.K. and Ray, P.(2008). Natural immunity to rotavirus infection in children . Indian .J.Biochem Biophys .45(4):219-28.

- Maniatis, J.; Fritsch, E. and Sambrook, J. (1989). Molecular cloning-Laboratory Manual. 2nd ed. Cold spring harbor, New York.
- Martini, I.J.; Gennari, G.M.; Martins,S.S.; Gouvea,V.S. and Gatti, M.S.(2008).Changing distribution ot human rotavirus serotypes during two epidemic outbreaks of gastroenteritis in Campinas ,Sao Paulo,Brazil,2003-2004:detwction ot G 6 strains.J.Clin Virol . 43 (2) :244-6.
- Matson ,D.O. (2006). The pentavalent rotavirus vaccine, Rotateq Semin .pediatr. Infect. Dis. 17 (4):195-9.
- Matsuno, S. and Inouye, S.(1988). Purification of an outer capsid glycoprotein of neonatal calf diarrhea virus and preparation of its antisera. Infec. Immun, 39(1): 155-8.
- Metti, F. F.(1986). Rotavirus infection in Iraq partial characterization of the virus and epidemiology.Collage of science Al-Mustansiriye University.
- Mims, C.A. and White, D.O.(1984).Diarrhea viruses. Viral pathogenesis and immunology. 3rd Ed. Blackwell scientific publications.
- Moreira, L.L. ; Netto, E.M. and Nascimento-Carvalho, C.M. (2009). Risk factors for nosocomial rotavirus infection in a paediatric the hospital role for rotavirus vaccine use .Vaccine. 27(3):416-20.
- Murray, C.L. ; Lopez, A.D. ; Mathers,C.D. and Stein, C . .(2001). The global burden of disease . project : Aims , methods and data sources ,Geneva:Word Heath Organization ; 2000.
- Mustafa, H.; Palombo, E.A. and Bishop R.F. (2000). Epidemiology of astroviruses infection in young children hospitalized with acute gastroenteritis in Melbourne, Australia, over a period of four consecutive years, 1995 to 1998. J. Clin. Microbiol. 58(3): 1058-62.
- Narayan, N. (2001). Rotaviruses and other viral agents of gastroenteritis. J. Clin. Pathol. 49: 874-80.

- Nelson, W.E.; Behrman, R.E.; Kliegman, R.M. and Arvin A.M. (1996). Rotavirus and other agents of viral Gastroenteritis. Textbook of pediatrics. 5th Ed. Saunders company.
- Neumann, G.; Noda, T. and Kawaoka, Y.(2009). Emergence and pandemic potential of swine H1N1 influenza virus. Nature, 2009; 459 (7249): 931-9.
- Newburg , D.S .; Peterson , J.A .; Ruiz – Palacios , G.M.; Matson . D.O.; Morrow . A.L; Shults J; Guerrero ML; Chaturvedi P; Newburg SO; Scallan CD; Taylor MR; Ceriani RL; Pickering LK. (1998). Role of human – milk lactadherin in protection against symptomatic rotavirus infection. Lancet . 351(9110): 1160-4.
- Obrien, A. D. and Holmes, R. K.(1987). Shiga and Shiga-Like toxins .Microbiol.Rev. 51(2): 206-20.
- Offit ,P.A. (1996). Host factors associated with protection against rotavirus disease: the skies are clearing. J.Infect. Dis. 174(1): 59-63.
- O'Ryan, M. (2007). Rotarix (RIX4414):anoral human rotavirus vaccine Expert review of vaccines 6(1):11-9.
- Pandey, R.; Gulati, B.R.; Maherchandani, S. and Pantnayak D.P. (1999). RNA profile and structural protein analysis of rotaviruses isolated from diarrhea calves in India. 1:7-12.
- Parashar V.D., Bresee J.S, and Glass R.I. (2003). The global burden of diarrhoeal disease in children. Bull. W.H.O. 81(4): 236.
- Parashar, V.D.; Holmes, R.C.; Clarke, M.J.; Bresee, J.S. and Glass R.I. (1998). Hospitalizations associated with rotavirus diarrhoea in the United State, 1993-1995: Surveillance based on the new ICD-9-CM rotavirus-specific diagnostic code. J. Infect. Dis. 177 (1): 13-17.
- Patton, J. T. and Gallegos, C. O. (1990). Rotavirus RNA replication: Single stranded RNA extends from the replicase particle J. Gen. Virol. 71:1087-94.
- Pennap, G.; Pager,C.T.; Kwaga J.K., Ogalla W.N., Umoh J.U.; Steele.(2000). VP6 subgroup and VP7 serotype of human

rotavirus in Zaire, Northern Nigeria. J. Trop. Pediatric. 46:344-7.

- Peterson , J.A . ; Hamosh , M. ; Scallan , C.D .; Ceriani, R.L .; Henderson, T.R.; Mehta Nr; Armand M; Hamosh P. (1998). Milk fat globule glycoproteins in human milk and in gastric aspirates of mother's milk-fed preterm infants . Pediatr Res .44(4):499-506.
- Phan, T.G; Nguyen, T.A.; Nishimure, S.; Nishimura, T.; Yamamoto, A. ; Okitsu S; Ushijima H. (2005) Etiologic agents of acute gastroenteritis among Japanese infants and children : virus diversity and genetic analysis of sapovarus.Arch. Virol .150(7):1415-24.
- Radwan, S.F.;Gabr, M.K.; EL-Maraghi, S.and Saifi, A.F.(1997). Serotyping of group A Rotaviruses in Egyptian neonates and infant less that 1 year old with acute diarrhea J. Clin Microiol .35 (11) : 2996-98.
- Rayan, M. J.; Ramsay, M.; Brown, D.; Gay, N. J.; Farrington,C. P. and Wall , P. G.(1996). Hospital admissions attributable to rotavirus infection in England and Wales, J. Infec. Dis. 174:12-19.
- Rennels, M.B. (1996). Influence of breast-feeding and oral poliovirus vaccine on the immunogenicity and efficacy of rotavirus vaccine. J. Infect. Dis. 174(1): 107-11.
- Rodgers, F.G.; Huflon, P.;Kurzawska, E.;Molloy C. and Morgan, S.(1985).Morphological response of human rotavirus to ultraviolet radiation, heat and disinfectants. J. Med. Microbiol. 20: 123-130.
- Rosai , J. and Ackerma , L.V(2004). Special techniques in surgical .in : patholol gy 9th Ed Edinburg , London , New York.
- Sansonetti, P.J. (2001). Microbes and Microbial toxins: paradigms for Microbial -mucosal interactions. III Shigelosis : from symptoms to molecular pathogensis .Am. J. Physiol. Gastrointes .Liver. physiol. 280 (3) : 319-23.

- Santos, N.; Lima, R.C.; Pereira, F.A. and Gouvea. (1998). Detection of rotavirus types G8 and G10 among Brazilian children with diarrhea. J. Clin. Microbiol. 36 :2727- 29.
- Sattar, A.S.; Ijaz, M.K.and Johnson, C.M.(1984). Effect of relative humidity on the air borne survival of rotavirus. Appl. Environ. Microbiol. 47: 879-81.
- Scarcellea , C .; Carasi, S. ; Cadoria , F.; Macchi , L.; Pavan , A .; Salamana M.; Alborali GL.; Losio MM.; Boni P.; Lavazza A.; Seyler T. (2009). An outbreak of viral gastroenteritis linked to municipal water supply , Lombardy , Italy , June ,2009. Euro Surveill.14(29). Pii:19274.
- Schael, I.p; Gonzales, R. and Salinas, B.(2009). Severity and age of rotavirus diarrhea, but not socioeconomic conditions, are associated with rotavirus seasonality in Venezuela.J.med. Virol .81(3):562-7.
- Schumann, T.; Hotzel, H.; Otzel, H.; Otto, P.and Johne, R. (2009). Evidence of interspecies transmission nad reassortment among avian group A rotavirus. Virology. 386(2) ;334-43 .
- Sinclair, M.I .; Hellard , M.E. ; Wolfe , R.; Miakais , T.Z .; Leder, K.; Fairley CK. (2005). Pathogens causing community gastro-enteritis in Australia .J. Gastroenterol Hepatol .20(11):1685-90.
- Smith , M.L. and Holmes , I. H.(1984). Sequence homology between human and animal rotavirus serotyps specific glycoproteins. Nucleic Acid Res. 12(9): 3973-82.
- Smith,T.F.; Wold,A.D.;Espy , M.J . and Marshall, W.F.(1993) . New developments in the diagnosis of viral diseadses .Infect.Dis. .Clin.7(2):183-201.
- Tamura, K.; Sakazali, R.; Murase, M. and Kosako, Y. (1996). Serotyping and categorisation of *E. coli* strains isolated between 1958 and 1992 from diarrheal disease in Asia. J. Med. Microbiol. 45: 353-8.
- Tanaka, G.; Faruque, A.S.; Luby, S.P.; Malek, M.A.; Glass, R.I. and Parashar, U.D.(2007). Deaths from rotavirus disease in

Bangladeshi children: estimates from hospital-based surveillance. Pediatr. Infect. Dis. J. 26 (11): 1014–8.

- Tarlow, M. J.(1984). Acute infqntile Gastroenteritis Medicine International, 2: 57-66.
- Taylor, D. N.; Echeverria, P.; Rowe, B.; Gross, R. and Cross, J.(1988).Clinical and Microbiologic Features of *Shigella* and enteroinvasive *E. coli* infection detected by DNA hypridization. J. Clin. Microbiol. 26(7): 13-62.
- Taylor, M.B.; Marx F.E. and Grabow, W.O. (1997). Rotavirus, Astrovirus, and Adenovirus associated with an outbreak of gastroenteritis in a South African childcare center. Epidemiol. Infect. l 19: 227-30.
- Unicomb, L.E. and Bishop, R.F.(1989). Epidemiology of rotavirus strain infecting children throughout Australia during 1986-1987. Arch. Virol. 106:23-34.
- Urasawa, S.; Taniguchi, K.; Wakasugi, F.; Kobayashi, N.; Chiba, S.; Sakurada N.; Morita M.; Morita .; O.; Tokieda M.; Kawamoto H.; Minekawa Y.; Ohseto M. (1989).Survey of human rotavirus serotypes in different locales in Japan by enzyme-linked immunosorbent assay with monoclonal antibodies.J. Infect. Dis. 160: 44-52.
- Van Zyl , W.B.; Page,N.A. ; Grabow,W.O.; Steele,A.D. and Taylor,M.B. (2006). Molecular epidemiology of group A Rotaviruses in water sources and selected raw vegetables in southern Africa . Appl Environ Microbiol . 72(7):4554-60.
- Verheyen, j.; Timmen-Wego, M.; laudien, R.;Boussaad, I.; Sen S.; Koc A.; Uesbeck A.; Mazou F.; Pfister H.(2009).Appl Environ microbiol.75(9):9798-801.
- Vesikari, T. (2008). Rotavirus vaccines .Scand J .Infect.Dis. 40(9): 5.
- Volk,W.A.; Benjomin, D.C ; Kadner, R. J and Thomus, J . (1986) . Essentials of Medical Microbiology 3rd Ed. J. B. Lippincott Company.
- Waisbourd – Zinman ,O.; Ben-Ziony, S .; Solter,E. ; Scherf, E.; Samra ,Z.; Ashkenazi S. (2009).Hospitalizations for

nosocomial rotvirus gastroenteritis in a tertiary pediatric center : A4-year prospective study. Am. J. Infect Control. [Epub ahead of print].

- Ward, R. L. (1996). Mechanisms of protection against rotavirus in humans and mice. J. Infec. Dis. 174:51-59.
- Weinberg, R.J.; Tipon, G.; Klish, W.J.and Brown, M.R. (1984). Effect of breast- feeding on morbidity in rotavirus gastroenteritis. Paediatric. 74:250-53.
- White, D. O. and Fener, F. (1986). Medical virology 3rd Ed. Academic press.
- Wood A.L. and Lebaron C.W. (2002). Rotavirus vaccine and the news media. 72:1455-1462.
- Younis, D.A.(1989). Study on enteropathogenic and enterotox-igenic E.coli and Rotavirus Isolated from children with diarrhea in AL-Musal City ,M.Sc. Thesis .College of science .AL-Musel University .
- Zarate, S.; Espinosa, R.; Romero, P.; Mendez, E.; Arias, C.F. and Lopez, S. (2000). the vp5 domian of vp4 can mediate of Rotaviruses to cells. J. Virol. 74(2):593-9.

Abstract

The present study was conducted in Baquba city for the period from 1/11/2007 to 1/11/2008. for the detection of rotavirus infection rate and the Seroprevalence of anti-rotavirus IgG in sera of diarrhea patients and healthy individuals, and for the detection of bacterial and parasitic co-infections.

A total of 300 patients who or complain acute diarrhea, were include (135 were females and 165 were males of different ages). In addition, 35 apparently healthy individuals were included as control group.

Detection of rotavirus antigen in the stool specimens was done using by agglutinayion test, while detection of anti-rotavirus IgG in the sera was carried out by Enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA).

The results revealed that the overall infection rate was 20.3% and the highest infection rate was among those below 5 years of old. beside the young adults and adults with than 18 years old. There was insignificant difference in the infection rate between male and female (22.1% and 18.9%) respectively.

The results of the present study also revealed that there was significant increase in the infection rate among patients reside in rural areas (26.1%) compared to those reside in urban areas (13.7%). Regarding the type of feeding for those patients who were less than 2 years, the results found that there was no significant difference among those on breast feeding, bottled feeding and mixed feeding (19.11%, 28.8% and 18.8%) respectively; However, the highest infection rate was among those with bottled feeding.

The results fond a significant increase in the infection rate among those patients who use river water for drinking (34.5%) compared to those use municipal water (14.1%) and those use tank water (18.5%) . furthermane, the infection rate

was insignificantly higher in winter and spring seasons (40% and 26.3%) respectively.

Regarding bacterial co-infection (E.coli, salmonella and shigella) and parasitic co-infection (E.histolytica and Giardia Lamblia), the results showed that there was no significant association.

The results of anti-rotavirus IgG that 49.3% of patients was positive compared to 37.1% of control group. Additionally, 25.7 of patients who were positive for rotavirus for in the stool was also positive for anti-rotavirus IgG.

The study concluded that infection in rate by rotavirus cause of acute diarrhea was relatively high, beside the possibility of the adult infection and the river source infection in the community was the drinking water.

Seroprevalence of rotavirus and other bacterial and parasitic causes of diarrhea in Baquba city

A thesis

Submitted to the Council of the College of Education Pure Science/ Diyala University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Biology/Microbiology

By

Abdul-Kadir Yahya Hamed Al-Azawi

B.Sc. Biology

Supervised by

Prof.Dr.
Abbas Abood Al-Duliami
College of Education
Diyala University

Assist. Pro. Dr.
Abdul-Razak Shafiq Hasan
College of Medicine
Diyala University

2012