استمارة مستخلصات رسائل واطاريح الماجستير والدكتوراه في جامعة البصرة

الكلية: الطب البيطري | **اسم الطالب: ايناس رياض محسن**

القسم: الاحياء المجهرية والطفيليات | **اسم المشرف: د.خالد حسن محمود الجاف و د.رشا منذر عثمان**

التخصص: احياء مجهرية | **الشهادة: الماجستير**

عنوان الرسالة أو الأطروحة

الكشف المصلي والجزيئي لاصابات الروتافيروس في الابقار والانسان

ملخص الرسالة او الاطروحة

الخلاصـــة

فيروسات الروتا، تسبب التهاب المعدة والأمعاء الحاد،التي تصيب الإنسان والحيوان في جميع أنحاء العالم. هناك العديد من الاختبارات التي وضعت للكشف عن فيروس الروتا أوالمستضدات الفيروسية و / أو الأجسام المضادة في امصال الإنسان والحيوان. أجريت هذه الدراسة على ٧٩ عينة من البراز و الدم، والتي تم جمعها من الأطفال المصابين بالإسهال المائي الحاد الذين تتراوح أعمارهم بين بضعة أيام إلى ٥ سنوات من مستشفى أمراض النساء وطب الأطفال في مدينة البصرة. خلال الفترة من أكتوبر ٢٠١٤ إلى فبراير ٢٠١٥. تضمنت الدراسة تسعون عينة براز إسهالي، و ٧٩ عينة دم من الأبقار. جميع العينات استخدمت للتحقق والكشف عن فيروس الروتاعن طريق استخدام اختبار(ELISA). واستخدمت عينات مصل الدم للأطفال والعجول (٧٩ عينةمن كل منهما) في الكشف عن الأجسام المضادة الناجمة عن فيروس الروتا باستخدام اختبار ELISA.

وفقا لنتائج اختبار ELISA فقد تم الكشف عن مستضدات فيروس الروتا في ١٠ عينات (١٢.٧٪) من اصل٧٩ عينة من براز الأطفال المصابين بالإسهال. وكانت النسب العالية (٢٠.٧٪) والموجبة لمستضد فيروس الروتا قد سجلت في مرضى الفئة العمرية الثانية (< ٦ أشهر) والتي لم تظهر اختلافات معنوية (P> 0.05). تليها نسبة ٨٪ من المرضى في الفئة العمرية الاولى (<٦ أشهر) . بينما كانت نسبة مستضد فيروس الروتا اعتمادا على اختبار ELISA أعلى في المرضى الذكور (١٦.٧٪) مقارنة بنسبة (٩.٣٪) في الإناث ولم تظهر أيضا أي فروق معنوية (P> 0.05). أظهرت نتائج فحص ELISA لمستضدات فيروس الروتا في ٩٠ عينة من براز الابقار المصابة بالإسهال أن هذا المستضد تم افرازه بنسبة ٥٦.٧٪ من قبل العجول المصابة . بينما لم تلاحظ اي فروق معنوية (P> 0.05) في النسب العالية لإفراز مستضد فيروس الروتا وفقاً للسن في ٦٣.٤٪ من العجول > ١ سنة من العمر والنسبة الاقل (٥١.١٪) لوحظت في الفئة العمرية الأولى (<١سنة) للعجول. بالإضافة الى ذلك لم تلاحظ ايضا اي فروق معنوية (P> 0.05)على اساس الجنس حيث اظهرت ٦٣.٥% من عينات البراز للذكور نتيجة موجبة لمستضد فيروس الروتا بينما اظهرت ٤٧.٤% فقط من عينات البراز للاناث نتيجة موجبة لمستضد فيروس الروتا. ومن ناحية اخرى تم اختبار استجابة الأجسام المضادة في مصل الدم لمستضدات فيروس الروتا باستخدام اختبار ELISA في ٧٩ عينة من مصل الأطفال والعجول .وكانت النسبة الكلية للامصال الموجبة ضد مستضدات فيروس الروتا في الاطفال ٤٦.٨% وفي الابقار١٣.٩%. ولم تظهر النسب العالية اي فروق معنوية (P <0.05) بالنسبة للاستجابة المصلية الموجبة (٥٥.٢٪) لمستضد فيروس الروتا والتي لوحظت في مرضى المجموعة العمرية الثانية(<٦ اشهر) و (٤٧.٢%) في الاطفال الذكور المصابين بالاسهال. وبالاعتمادعلى اختبار ELISA اظهرت الاجسام المضادة لمصول العجول المصابة ان ٧٩ عينة من المصول والتي جمعت من العجول المصابة بالاسهال كانت ١١ عينة منها (١٣.٩%) فقط موجبة مصلياً . ومن جهة اخرى كان تأثيرالعمر على نتائج الاستجابة المصلية الموجبة قد اظهر فروق معنوية إحصائياً (P <0.05). حيث اظهرت العجول في المجموعة العمرية الاولى (<١ سنة) نسبة عالية من الاستجابة المصلية (٢٠.٩٪). بينما اظهر تأثيرالجنس على نتائج الاستجابة المصلية الموجبة لاختبار ELISA اختلافات معنوية واضحة (P <0.05).حيث لوحظت النسبة العالية للاستجابة المصلية الموجبة لاختبار ELISA في الإناث (٢٤.٣٪).

بالإضافة الى ذلك فان قيمة الكثافة البصرية لمستضدات فيروس الروتا والأجسام المضادة في الاطفال الرضع (OD mean ± SD) لم تظهر اي فروق معنوية (P> 0.05) في عينات البراز للمجموعتين العمريتين وكذلك الجنسين .ومن ناحية أخرى ، فان قيمة الكثافة البصرية لمستضدات فيروس الروتا (OD mean ± SD) كانت مختلفة بشكل ملحوظ (P <0.05) في عينات البراز للعجول من المجموعتين العمريتين وكلا الجنسين، ولكن تأثيرالعمروالجنس على الأجسام المضادة لفيروس الروتا (OD mean ± SD) لم تظهر هي الاخرى اي فروق معنوية (P> 0.05). اعتمادا على نتائج اختبار PCR التي أجريت على ١٠٠ عينة من براز الاطفال والعجول (٥٠ عينة لكل منهما) كانت ١٢(٢٤٪) من براز الاطفال ، و١٠(٢٠%) من براز العجول قد اظهرت نتيجة موجبة لجين فيروس الروتا VP6 ، ولم يظهر اي فرق معنوي بين براز الرضع والعجول (P> 0.05). التباين في تراكيز المتباينة مستضدات فيروس الروتا والمعتمدة على النتائج الموجبة لاختبار PCR والتي لوحظت في عينات البراز (للأطفال والعجول) ويعتبرهذا التباين مهم جداً احصائياً (p<00001). فيما يتعلق بتقييم الاختبارين RT-PCR وELISA في الكشف عن فيروس الروتا في عينات البراز لكل من الاطفال والعجول .اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بان استخدام اختبارRT-PCR في تشخيص جين فيروس الروتا VP6 كان اكثر حساسية للكشف عن فيروس الروتا في ٢٤٪ من عينات براز الاطفال مقارنة باختبار ELISA (١٢.٧٪) ، وفي المقابل كان ELISA أكثر فعالية في الكشف عن فيروس الروتا في (٥٦.٧٪) من عينات البراز للعجول مقارنة باختبار RT-PCR (٢٠٪) ،وهذا الاختلاف الاخير بين الاختبارين المطبقين على براز العجول اعتبر مهم جداً واظهر فروق معنوية (P <0001)، في حين لم تظهر فروق معنوية بين هذين الاختبارين فيما يخص عينات براز الرضع (P> 0.05).

College: College of Veterinary | **Name of Student: Enas Ryadh Mohsen**

Dep.: Microbiology and Parasitology | **Name of Supervisor: Dr. Khalid Hassan Mahmood Al-Jaff and Dr. Rasha Munthor Othman**

Certificatte: master | **Specialization: Microbiology**

Tital of Thesis

Serological and molecular detection of rota virus infection in bovine and human

Abstract of Thesis

Summary

Rota viruses, causing acute gastroenteritis, that infect humans and animals around the world. There are many assays had been developed for the detection of rotavirus or the viral antigens and / or demonstration of antibodies in humans and animals sera. This study was done on 79 samples of each stool and blood collected samples from pediatric patients with acute watery diarrhea aged from few days to 5 years admitted to Hospital of Gynaecology and paediatric in Basrah province.during the period from October 2014 to February 2015. Ninety diarrheic fecal and 79 blood bovine samples were included in this study. All samples were used for the investigation and detection of rotavirus antigen by Enzyme-Linked Immunoassays (ELISA) test. Pediatric and bovine serum samples(79 samples of each) were used in the detection of rotavirus antibody by using ELISA test. According to ELISA test results, out of 79 pediatric stool samples rotavirus antigens were detected in 10(12.7%) pediatric diarrheic patients. High non significant (P>0.05) percentage (20.7%) of positive rotavirus antigen were detected in the patients at second age group (>6 months). Followed by 8% of patients at first age group (<6 months). The percentage of rotavirus antigen ELISA was higher in males patients (16.7%) compared to percentage of (9.3%) in females and also shown non-significant differences (P>0.05).

The results of rotavirus antigen ELISA detection in90 diarrheic bovine fecal samples showed that this antigen was excreted by 56.7% % of diarrheic calves. Additionally the higher non-significant (P>0.05) excretion percentage according to age was observed in 63.4 % of calves > 1 year old and the lower percentage(51.1%) was observed in the first age group(<1year) calves old. Non significant (P>0.05) Sex differences in the percentage of rotavirus antigen detection were also detected as 63.5% of male fecal samples show positive rotavirus antigen excretion whereas only 47.4% of female fecal samples were positive.

On the other hand the serum antibody responses to rotaviral antigens were investigated by ELISA in 79 pediatric or bovine serum samples. A total seropositivity against rotaviral antigens was 46.8 % in pediatric sera and 13.9% in bovine serum. Also higher non significant (P>0.05) seropositivity (55.2 %) to rotaviral antigens was observed in the patients at second age group (>6 months)and in 47.2% males paediatric diarrheic patients. Bovine serum antibody was revealed response based on ELISA that out of 79 tested serum samples collected from diarrheic calves only11 samples(13.9%) were seropositive . On the other said the effect of age on the seropositivity results was considered to be statistically significant(P<0.05). Calves at first age group (<1 year) showed higher seropositivity percentage(20.9%.).Also The effect of sex on ELISA seropositivity results was statistically significant (P<0.05). The high ELISA seropositivity percentage (24.3%) against rotavirus was observed in females. Similarly, the value of infant Rotavirus antigens and antibody (OD mean ± SD) were non significantly differ (P>0.05) in stool samples of the two age groups and both sexes.On the other hand, Rotavirus antigens optical density value(OD mean ± SD) were significantly differ(P<0.05) in calves fecal samples of the two age groups and both sexes ,but the effect of age and sex on the rotavirus antibodies OD mean ± SD value was considered to be not statistically significant(P>0.05).

Depending on the result of PCR amplification which was performed on 100 infants stool and calves feces (50 sample for each),12(24%) infants stool and 10 (20) calve fecal samples showed Rotavirus VP6 gene positive PCR results , the difference between infants stool and calves feces was considered to be not statistically significant (P > 0.05). Variable Rotavirus antigens concentration in relation to PCR positivity was observed in faecal samples (infants and calves) and this variability was considered to be extremely statistically significant (p <00001) . Concerning the evaluation of RT-PCR and ELISA methods in the detection of rotavirus in faecal samples of infants and calves. The results obtained showed that the RT-PCR based Rotavirus VP6 gene was more productive for detection of rotavirus in 24% of infants fecal samples compared to ELISA test (12.7%).In contrast ELISA was more productive for detection of rotavirus in (56.7)% of calves fecal samples compared to RT-PCR test (20%).The difference between the two applied tests in case of calves fecal samples was considered to be extremely statistically significant(p <0001) .But the difference between the two applied tests in infants stool samples was considered to be not statistically significant(P>0.05).