

The Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and
Scientific Research
University of Mosul / College of Sciences
Department of Biology



Immunological and Molecular Investigation of Epstein-Barr virus in Thyroid Disorders patients

Hadeel Sohaib Abdulkareem Salih Al-kattan

M.Sc. / Thesis
Biology / Microbiology

Supervised by

Assistant Professor

Dr. Anmar Ahmed Dawood Sulaiman Altaie

2023 A.D.

1444 A.H.

Summary

Epstein–Barr virus (EBV) is one of the most prevalent viruses in the world. Also, this virus has been linked directly or indirectly with many diseases like cancers and autoimmune diseases, mainly rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, and systemic scleroderma.

On the other hands, thyroid gland is one of the most important glands in the body and its diseases widely spread among the world's population. Several factors (genetic and environmental) are related to the development of thyroid diseases. Among these factors, the viral infections are considered the main environmental factors that could be associated with thyroid disorders.

In this study, therefore, we aim to detect the prevalence of EBV among thyroid patients in Mosul city as a preliminary study to check if there is a link between EBV infection and thyroid disorders. Also, we aim to detect the EBV-DNA from infected cases of thyroid diseases and study the genotype of EBV strains by detection of nucleotides sequence. Accordingly, the study was designed to detect EBV among (178) thyroid disorder patients collected from private laboratories in Mosul city/Iraq. They involved 42 cases of thyroid nodule, 50 cases of hyperthyroidism, and 86 cases of hypothyroidism of age ranging from (20-60) years.

The samples were examined for EBV infection using ELISA antigens and the results revealed that (60.7%) of cases were positive for EBV and the highest percent of EBV infection was in patients of hyperthyroidism 68% (34 cases out of 50) followed by Nodule patients 61.9% (26 cases out of 42) while the lowest percent of infection was in patient of hypothyroidism 55.8% (48 cases out of 86).

However, the results did not show a significant association between the distribution of EBV among thyroid patients and their gender, age, and blood groups.

Then, and in order to confirm the obtained results, 20 samples of EBV positive cases were tested by Indirect immunofluorescence Assay using Euroimmun BIOCHIPS. The Indirect immunofluorescence Assay (IFA) showed that all the samples were positive and have antibodies against EBV, which confirm the results obtained by ELISA antigen test. Also, IFA suggested that the majority of samples were past infection, as they were positive for IgM CAV, IgG CAV with moderate to high avidity and also positive for anti- EBNA.

Furthermore, the EBV positive cases were investigated for DNA detection using PCR technique and the results showed that EBV DNA was successfully detected from 10 out of 20 sample with detection rate 50 %. Also, the obtained band in agarose gel at 168bp suggests that the detection DNA belong to type1 EBV.

Finally, the sequencing alignment results confirmed that the detection DNA was for EBV and revealed that all the detect of DNA were highly similar to the reference DNA represent EBV with similarity percent of about 98-100%.

الخلاصة

يعد فيروس إبشتاين بار (EBV) أحد أكثر الفيروسات انتشارًا في العالم. أيضًا، تم ربط هذا الفيروس بشكل مباشر أو غير مباشر بالعديد من الأمراض مثل السرطانات وأمراض المناعة الذاتية ، وخاصة التهاب المفاصل الرثوي وداء الذئب الاحمري وتصلب الجلد الجهازى. من ناحية أخرى ، تعتبر الغدة الدرقية من أهم الغدد في الجسم وتنتشر أمراضها على نطاق واسع بين سكان العالم. ترتبط عدة عوامل (وراثية وبيئية) بتطور أمراض الغدة الدرقية. من بين هذه العوامل ، تعتبر الالتهابات الفيروسية من العوامل البيئية الرئيسية التي يمكن أن ترتبط باضطرابات الغدة الدرقية.

لذلك ، نهدف في هذه الدراسة إلى الكشف عن انتشار فيروس إبشتاين بار بين مرضى الغدة الدرقية في مدينة الموصل كدراسة أولية للتحقق مما إذا كان هناك ارتباط بين الإصابة بفيروس إبشتاين بار واضطرابات الغدة الدرقية. نهدف أيضًا إلى عزل الحمض النووي EBV من الحالات المصابة بأمراض الغدة الدرقية ودراسة النمط الجيني لسلالات EBV بتقنية التسلسل. وعليه صممت الدراسة للكشف عن EBV بين (178) مريضاً باضطراب الغدة الدرقية تم جمعها من المختبرات الخاصة في مدينة الموصل / العراق. وشملت 42 حالة من عقيدة الغدة الدرقية ، و 50 حالة من فرط نشاط الغدة الدرقية ، و 86 حالة من حالات قصور الغدة الدرقية تتراوح أعمارهم بين (20-60) سنة.

تم فحص العينات بحثًا عن عدوى EBV باستخدام ELISA و IFA وأظهرت النتائج أن (60.7%) من الحالات كانت إيجابية لـ EBV وأن أعلى نسبة من الإصابة بفيروس EBV كانت في مرضى فرط نشاط الغدة الدرقية بنسبة 68% (34 حالة من أصل 50) تليها العقيدات كانت حوالي 61.9% (26 حالة من 42) بينما أقل نسبة إصابة كانت عند مرضى قصور الغدة الدرقية كانت 55.8% (48 حالة من أصل 86). ومع ذلك ، لم تظهر النتائج ارتباطًا معنويًا بين توزيع EBV بين مرضى الغدة الدرقية والجنس

والعمر وفئات الدم. ومن المثير للاهتمام أن IFA أظهر أن جميع العينات كانت إيجابية وتحتوي على أجسام مضادة ضد EBV ، مما يؤكد النتائج التي تم الحصول عليها عن طريق اختبار مستضد ELISA أيضًا ، اقترح IFA أن غالبية العينات كانت عدوى سابقة ، حيث كانت إيجابية لـ IgG CAV مع شدة معتدلة إلى عالية وأيضًا إيجابية لمضاد EBNA .

علاوة على ذلك ، تم فحص الحالات الإيجابية لـ EBV لعزل الحمض النووي باستخدام PCR وأظهرت النتائج أن EBV DNA تم عزله بنجاح من 10 من 20 عينة بمعدل عزل 50% أيضًا ، يشير النطاق الذي تم الحصول عليه في هلام الاغاروز عند 168 زوج قاعدي إلى أن الحمض النووي المعزول كان من النوع EBV1 .

أخيرًا ، أكدت نتائج التسلسل أن الحمض النووي المعزول كان لـ EBV وأظهرت أن جميع عزلات الحمض النووي كانت شديدة التشابه مع الحمض النووي المرجعي لـ EBV مع نسبة تشابه حوالي 98-100%.



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

التحري المناعي والجزئي لاصابات فايروس إبشتاين - بار لدى المصابين باضطرابات الغده الدرقية

هديل صهيب عبدالكريم صالح القطان

رسالة ماجستير

علوم حياة / احياء مجهرية

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتور انمار احمد داؤد الطائي

2023م

1444هـ