

University of Mosul
College of Sciences



Immunological and Molecular Study of TORCH Agents among Women with Abortion in Iraq

Anmar Ahmed Dawood Sulaiman Altaie

Ph.D. Dissertation

Biology / Microbiology

Supervised by

Professor

Dr. Basima A. Abdullah

Professor

Dr. Mozahim Y. Al-Attar

2018 A.D.

1440 A.H.

ABSTRACT

The present study is conducted to investigate the TORCH Infections of women with Bad Obstetric History (BOH) like abortion and dead fetuses from Mosul and Baghdad hospitals in Iraq: AL-Salam Teaching Hospital, Al-Khansaa Teaching Hospital for Maternity & Children and Al- Batool Hospital for Gynecology & Obstetrics in Mosul City and Al-Alwaiya Maternity Teaching Hospital, Al-Kademia Hospital for Children , Al-Yarmuk Teaching Hospital in Baghdad City for the period from (15/4/2013) to (1/6/2014) and from (1/5/2017) to (1/11/2017).

The tested women fall within the age category of less than 20 to over 39 years.

One thousand and five hundred blood samples were collected, only 300 (20%) indicate positive for TORCH infections agents by Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). Each sample is placed in three tubes: the 1st one for serum, the 2nd with EDTA and the 3rd with heparin as anticoagulant .Throat and cervical swabs are also collected for molecular and viral isolation. The mean age for BOH women were (26±6.1) years.

ELISA shows high percentage of IgM and IgG, for CMV (48.7%, 63%), HSV (59%, 77.3%) and for *T.gondii* (14.7%, 25%) and for Rubella (12.3%, 20%) respectively.

TORCH Profile EUROLINE (Immunoblot) for IgM & IgG are also carried out and it was showed positive results in only 30 samples with percentage of (6.7%) for IgM CMV, Rubella and HSVI. However, it was showed negative result in *T.gondii* and HSV II. IgG (96.7%) for CMV, (95.7%) HSVI, (93.3%) Rubella, (13.3%) *T.gondii* and (6.7%) HSVII with mean age of (26±5.4).

The results for Indirect Immunofluorescence IgG test (EUROIMMUN BIOCHIP Mosaic Test) were positive with (100%) in CMV, (97.8%) HSVI, (68.9%) Rubella and (46.7%) *T.gondii* with mean age is (23±5.6) year. O Rh⁺ is the dominant type of blood group in BOH women in the age group of (20-29) year. Also, DNA and RNA are extracted and Real-Time PCR indicates negative for *T.gondii*, Rubella and HSV I&II , but CMV positive in only four out of 300 samples (1.3%).

From other infections, (the letter "O") from TORCH Human Rhinovirus (HRV) shows positive results in 30 throat samples (10%) out of 300 samples using Real Time –PCR with mean age of (27±6.8) year. In Hemagglutination Test, HRV showed Cytopathic Effect (CPE) in HeLa Cells. The Transmission Electron Microscopy (TEM) also confirmed the diagnosis of high HRV and the virus was appeared as a small round shape in the size of about 30.5 nm at 200 Kx in the power of microscopic magnification.

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية للبحث والتحري في مسببات اصابات الـ TORCH في العراق للنساء اللواتي لديهن تاريخ ولادات مضطرب كالإجهاض والأجنة الميتة واللاتي تراوحت اعمارهن ما بين سن العشرين فأقل الى سن 39 سنة فأكثر والمراجعات لمستشفيات مدينتي الموصل وبغداد للفترة من (2013/4/15) الى (2014/6/1) و من (2017/5/1) الى (2017/11/1) حيث تضمنت المستشفيات في مدينة الموصل مستشفى السلام التعليمي والخنساء التعليمي للولادة والأطفال والبتول للنسائية والتوليد. اما في مدينة بغداد فقد شملت المستشفيات مستشفى العلوية للولادة والكاظمية للنسائية والتوليد واليرموك التعليمي.

تم جمع ألف وخمسمائة عينة دم وكان منها 300 عينة أعطت فحصا موجبا لمسببات الـ TORCH المختلفة باستخدام تقنية المقايسة الامتصاصية المناعية للأنزيم المرتبط. وضعت كل عينة في ثلاثة انابيب: الأول يحتوي على المصل والثاني يحتوي على مانع التخثر EDTA فيما يحتوي الثالث على مانع التخثر الهيبارين. كذلك تم جمع مسحات الحلق وعنق الرحم للدراسة الجزيئية وعزل الفايروسات. وبلغ معدل عمر النساء ذوات تاريخ الولادة المضطرب BOH (26 ± 6.1) سنة.

ظهر من خلال تقنية المقايسة الامتصاصية المناعية للأنزيم المرتبط وجود اعلى نسبة للكوبوليونات المناعية نوع IgG, IgM والتي بلغت نسبة الفايروس المضخم للخلايا CMV (48.7% ، 63%) و فايروس العقبولة HSV (59% ، 77.3%) و طفيلي المقوسات الغوندية *T.gondii* (14.7% ، 25%) و فايروس الحصبة الألمانية Rubella (12.3% ، 20%) على التوالي.

كما وضحت نتائج فحص اللُّطْحَةُ المَنَاعِيَّةُ (Imminoblot) لعدوى الـ TORCH للكوبوليونات المناعية IgG و IgM لشركة EUROLINE التي أنجزت واعطت 30 عينة فحصا موجبا للكوبوليولين نوع (IgM) لكل من الفايروس المضخم للخلايا (CMV) والحصبة الألمانية Rubella والعقبولة من النوع الأول (HSV I) كانت (6.7%). كما تبين النتائج فحصا سالبا للمقوسات الغوندية *T.gondii* و فايروس العقبولة النوع الثاني (HSV II) وبمعدل عمر يبلغ (26 ± 5.4) سنة.

اما النسبة المئوية لظهور الكوبوليونات المناعية IgG فهي (96.7%) للفايروس المضخم للخلايا CMV و (95.7%) لفايروس العقبولة النوع الأول HSV I و (93.3%) لفايروس الحصبة الألمانية Rubella في حين تبلغ نسبة المقوسات الغوندية *T.gondii* (13.3%) ونسبة فايروس العقبولة النوع الثاني HSV II (6.7%) وبمعدل عمر بلغ (26 ± 5.4) سنة.

تظهر نتائج التآلق المناعي غير المباشر (Indirect Immunofluorescence) للكليوبولين IgG (الرقاقة الحيوية من شركة EUROIMMUN) زيادة بنسبة (100%) للفايروس المضخم للخلايا CMV و (97.8%) لفايروس العقبولة النوع الأول و HSV I و (68.9%) لفايروس الحصبة الألمانية Rubella و (46.7%) للمقوسات الغوندية *T.gondii* وبمتوسط عمر بلغ (23 ± 5.6) سنة. وقد ساد صنف الدم نوع O Rh⁺ في الفئة العمرية (20-29) سنة بالنسبة للنساء اللواتي لديهن تاريخ ولادة مضطرب قيد الدراسة.

تم استخلاص الحامض النووي منقوص الاوكسجين والرايبوزي واستخدمت تقنية فحص البلمرة المتسلسل اللحظي Real Time PCR وكانت النتائج سالبة للمقوسات الغوندية *T.gondii* وفايروس الحصبة الألمانية Rubella وفايروس العقبولة بنوعيه الأول والثاني HSV I&II ، بينما كانت اربع عينات موجبة للفايروس المضخم للخلايا CMV و بنسبة (1.3 %). أخيراً، تظهر الإصابات الأخرى نتائج (O = Others) ضمن إصابات الـ TORCH وجود الفايروس الانفي البشري (HRV) Human Rhinovirus في 30 مسحة حلق وبنسبة (10%) من مجموع 300 مسحة حلق وباستعمال تقنية فحص البلمرة المتسلسل اللحظي Real Time PCR وبمتوسط إصابة (30±1.6) وبمتوسط عمر (27 ± 6.8) سنة. ولكن اعطى اعلى معيارية تواجد في اختبار التراص الدموي Hemagglutination Test هي 256 وأظهر تأثيرات مرضية خلوية في خلايا نوع HeLa. وتم تأكيد تشخيص وجود الفايروس الانفي البشري باستخدام المجهر الالكتروني النافذ اذ يظهر الفايروس صغير ومدور وبحجم حوالي 30.5 نانومتر عند قوة تكبير 200 kx.



جامعة الموصل
كلية العلوم

دراسة مناعية وجزيئية لمسببات TORCH عند النساء المجھضات في العراق

أنمار أحمد داؤد سليمان الطائي

اطروحة دكتوراه
علوم الحياة / الأحياء المجهرية

باشراف

الاستاذ
د. مزاحم ياسين العطار

الاستاذ
د. باسمه احمد عبد الله

2018م

1440هـ