



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

الكشف عن إصابات التهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) الخفي بواسطة تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل في محافظة ديالى

رسالة مقدمة
إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم
الحياة - الأحياء المجهرية

من قبل الطالبة
ابتهال حميد محسن العزّي
بإشراف

أ.م.د. عبد الرزاق شفيق حسن
كلية الطب البيطري / جامعة ديالى

أ.د. عدنان نعمة عبد الرضا
كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قَالَ وَاسْجُدْ لِرَبِّكَ لَعَلَّكَ تَمُوتُ
لَنْ أَسْجُدَ لِلْإِلَهِ الَّذِي أَنْشَأَنِي مِنْ نَارٍ
أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

صدق الله العظيم

الآية (٣٢) من سورة البقرة

الإهداء

إلى اللذين زرعاً في الحياة بذرة... وأسقياني من دمهما قطرة بعد قطرة

إلى الشمعتين اللتين احترقتا لتنيرا الدرب لي ... إلى اعز الناس

أمي وأبي

إلى مَنْ إيمانه منبتاً، وَمَنْ عزه وصبره وعونه ذخراً

زوجي

والى نور عيني وأمل حياتي ابنائ (يوسف وإبراهيم)

إلى كل من ساعدني واخذ بيدي في هذا المجال وجعلوا من العلم أحلى آيات المنال

.

إبتهاال

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار المشرفين وترشيح لجنة الدراسات العليا

نشهد بان إعداد هذه الرسالة الموسومة بـ(الكشف عن إصابات التهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) الخفي
بوساطة تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل في محافظة ديالى) التي قدمتها طالبة الماجستير (ابتهاال حميد
محسن العزي) كانت بإشرافنا في كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل
درجة الماجستير في علوم الحياة / الأحياء المجهرية .

التوقيع

التوقيع

المشرف : د. عبد الرزاق شفيق حسن

المشرف : د. عدنان نعمة عبد الرضا

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

المرتبة العلمية : أستاذ

كلية الطب البيطري/ جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

2012/ /

2012/ /

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوجيهات المتوفرة نرشح هذه الرسالة للمناقشة :

التوقيع

ا. م. د. نجم عبد الله جمعة

رئيس لجنة الدراسات العليا/ رئيس قسم علوم الحياة

2012/ /

إقرار الخبير اللغوي

اشهد إن هذه الرسالة الموسومة بـ (الكشف عن إصابات التهاب الكبد الفيروسي نمط

(ب) الخفي بوساطة تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل في محافظة ديالى). المقدمة من قبل

طالبة الماجستير (ابتهاال حميد محسن العزي) قسم علوم الحياة / الأحياء المجهرية قد تم

مراجعتها من الناحية اللغوية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة .

التوقيع :

الاسم :

المرتبة العلمية :

التاريخ : / / 2012

إقرار الخبير العلمي

أشهد إن هذه الرسالة الموسومة ب (الكشف عن إصابات التهاب الكبد الفيروسي
نمط (ب) الخفي بوساطة تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل في محافظة ديالى). المقدمة من
قبل طالبة الماجستير (ابتهاال حميد محسن العزي) قسم علوم الحياة / الأحياء المجهرية قد
تم مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة .

التوقيع :

الاسم :

المرتبة العلمية :

التاريخ : / / 2012

اقرار لجنة المناقشة

نشهد أننا أعضاء لجنة المناقشة أطلعنا على الرسالة الموسومة بـ { **الكشف عن إصابات التهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) الخفي بواسطة تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل في محافظة ديالى** } ، وقد ناقشنا الطالبة (**ابتهال حميد محسن العززي**) في محتوياتها ، وفي ما له علاقة بها ، ونعتقد أنها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة - احياء مجهرية بتقدير (امتياز) .

التوقيع :	التوقيع :	التوقيع :
الاسم: أ.د. ماجد محمد محمود	الاسم: م.د. محمد عبد الدايم صالح	الاسم: أ.د. عباس عبود فرحان
عضواً	عضواً	رئيساً
م ٢٠١٢ / /	م ٢٠١٢ / /	م ٢٠١٢ / /

التوقيع :	التوقيع :
الاسم: أ.د. عدنان نعمة عبدالرضا	الاسم: أ.م.د. عبد الرزاق شفيق حسن
عضواً ومشرفاً	عضواً ومشرفاً
التاريخ: م ٢٠١٢ / /	التاريخ: م ٢٠١٢ / /

صدقت من قبل مجلس كلية التربية- للعلوم الصرفة - جامعة ديالى

التوقيع :
عميد كلية التربية للعلوم الصرفة
التاريخ : م ٢٠١٢ / /

الشكر والتقدير

الحمد لله رب العالمين الذي يسر لي أمري والذي أنار لي عقلي ودربي احمده حمداً كثيراً سعةً عرشه وعدد خلقه، والصلاة والسلام على سيد الخلق أجمعين محمد الهادي الأمين وعلى آله وصحبه ومن تبعهم بإحسان إلى يوم الدين .

أتقدم بالشكر والتقدير إلى عمادة الكلية وقسم علوم الحياة والأساتذة ومنتسبي قسم الدراسات العليا في كلية التربية للعلوم الصرفة .

أتقدم بالشكر الجزيل إلى مشرفي الدكتور عبد الرزاق شفيق حسن عميد كلية الطب البيطري / جامعة ديالى على متابعته المستمرة وملاحظته القيمة وتشجيعه المستمر كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى الدكتور عدنان نعمة عبد الرضا المشرف الثاني .

ويشرفني أن أتقدم بالشكر الجزيل المقرون بالدعاء إلى الدكتور كريم سعدون على سعة صدره وعلى الملاحظات القيمة التي أثناني بها .

يسعدني هنا أن أتقدم بالشكر الجزيل إلى كل من السيد نزار عبد اللطيف والسيدة وضاح نوري اللذين أحاطني بالاهتمام والمساعدة في جمع النماذج من مصرف الدم الرئيس في مختبر الصحة العام . وكما يسعدني أن أقدم خالص شكري إلى جميع منتسبي شعبة الفيروسات في مختبر الصحة العام وخص بالذكر (السيد فراس عطا والست منال عبداللطيف) اللذين قدما يد العون والمساعدة لي .

ويدعوني الامتتان والاعتراف بالجميل أن أقدم خالص شكري إلى عائلتي الكريمة.

وفق الله الجميع

الباحثة

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية في مدينة بعقوبة للفترة من الأول من حزيران 2011 إلى الأول من نيسان 2012 في مصرف الدم الرئيس في بعقوبة. وكان الهدف من الدراسة الكشف عن التهاب الكبد نمط (ب) الخفي لدى متبرعين الدم الأصحاء ظاهريا في محافظة ديالى.

شملت الدراسة 186 متبرعا أصحاء ظاهريا وتالفت عينة الدراسة من 171 ذكر و 15 إناث، تم اختيارهم بطريقة الاختيار العشوائي البسيط (مدى الأعمار 60-19). تم جمع عينات الدم لمشتري الدراسة من مصرف الدم الرئيس في بعقوبة، واعدت استمارة خاصة لجمع المعلومات المطلوبة في الدراسة، وأجريت الاختبارات المصلية للكشف عن الضدات اللبية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) (Anti-HBc IgM)، الضدات السطحية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) (Anti-HBs)، والمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) (HBsAg) في مختبر الصحة العام في بعقوبة باستخدام تقنية الاليزا، بينما أجري اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل في مختبر الفيروسات اكلية الطب البيطري في جامعة ديالى

أظهرت النتائج إن معدل الكشف عن دنا الفيروس لدى الإناث أعلى مما هو لدى الذكور، وبالرغم من ذلك لم يكن الفارق الإحصائي بين الإناث والذكور معنويا ($P=0.1$). أظهرت النتائج أيضا أن معدل الكشف عن دنا الفيروس للأشخاص الذين يقطنون المناطق الحضرية أعلى مما هو عليه لدى ساكني المناطق الريفية، وعلى إي حال فإن الفارق الإحصائي بين المجموعتين لم يكن معنويا ($P=0.37$). إما فيما يخص الأعمار، فقد أظهرت النتائج أن أعلى معدل للكشف عن دنا الفيروس كان 8.8 % في الفئة العمرية 30-39 سنة مقارنة بالفئة العمرية اقل من 30 سنة و الفئة العمرية أكثر من 40 سنة إذ كانت 7.4% و 7.9 % على التوالي، ولم يكن الفارق الإحصائي بين الفئات العمرية معنويا ($P=0.95$).

كما أظهرت النتائج أن (3.9%) من المتبرعين الذين أعطوا نتائج سلبية للمستضد السطحي للفيروس كانوا ايجابيين لوجود دنا الفيروس بحسب تفاعل البلمرة المتسلسل. بالمقابل فإن جميع (100%)

المتبرعين الذين أعطوا نتائج ايجابية للمستضد السطحي كانوا أيضا ايجابيين لوجود دنا الفيروس بحسب
تفاعل البلمرة المتسلسل، مما يدل على وجود ترافق معنوي إحصائيا بين وجود المستضد السطحي و دنا
الفيروس ($P < 0.001$) .

أظهرت النتائج بان(0.6%) أعطوا نتيجة سلبية لكل من المستضد السطحي والضدات النوعية
IgM للـب الفيروس كان ايجابيا لوجود دنا الفيروس ، وبالمقابل فان (100%) من المتبرعين الذين أعطوا
نتائج ايجابية لكل من المستضد السطحي والضدات النوعية IgM للـب الفيروس كانوا أيضا ايجابيين
لوجود دنا الفيروس بحسب تفاعل البلمرة المتسلسل ، مما يدل على وجود ترافق معنوي إحصائيا ($P < 0.001$)
بين وجود المستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للـب فيروس التهاب الكبد نمط (ب)
معا المكشوف عنهما بتقنية الاليزا ووجود دنا الفيروس المكشوف عنه بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل.

قائمة المختصرات

HAV	Hepatitis A Virus
HBV	Hepatitis B Virus
HCV	Hepatitis C Virus
HEV	Hepatitis E Virus
HDV	Hepatitis D Virus
HGV	Hepatitis G Virus
HFV	Hepatitis F Virus
Lss RNA	Liner single strand Ribose Nucleic Acid
dntps	deoxynucleoside triphosphate
CLD	Chronic Liver Disease
G	Guanine
C	Cytosine
SSRNA	Single strand Ribose Nucleic Acid
PCR	Polymerase Chain Reaction
RNA	Ribose Nucleic Acid
Kb	Kilo base pair
nm	nano meter
HBsAg	Hepatitis B surface Antigen
HBcAg	Hepatitis B core Antigen
HBeAg	Hepatitis e Antigen
IgM	Immuno glublin M
IgG	Immuno glublin G
WHO	World Healthy Organization
OBI	Occult Hepatitis B Infection
HCC	Hepatocellular Carcinoma
ER Alfa	Estrogen Alfa
ER beta	Estrogen beta
SHBs	Small Hepatitis B surface
MHBs	Middle Hepatitis B surface
LHBs	Larag Hepatitis B surface
KDa	Kilo Dalton
mRNA	messenger Ribose Nucleic Acid
DNA	Deoxy Ribose Nucleic Acid
R	Arginine
ALT	ALanine aminoTransferase فحص
AST	ASpartateaminoTransferase
k	Lysine
Anti-HBe	Anti Hepatitis B e

HBX	Hepatitis B X
Ab	Antibody
Ag	Antigen
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
RIA	Radio Immuno Assays
MGN	Membranous Glomerulo Nephritis
MPGN	Membrano proliferative Glomerulo Nephritis
BCNHL	B-cell non- Hodgkin's lymphoma
IC	Immune complex
Anti-HBs	Anti Hepatitis B surface
IDU	Injection Drug Users
HIV	Human Immunodeficiency Virus
ALP	Alkaline phosphatase
HRP	Horse Radish Peroxidase
OD	Optical Density
ESR	Erythrocyte sedimentation Rate
UV	Ultra violet
HBV-cccDNA	HBV-Covalently Closed Circular DNA
TMB	Tetra Methyl Benzinide

قائمة المصطلحات

Hepatitis	التهاب الكبد
Jaundice	اليرقان
Acute hepatitis	التهاب الكبد الحاد
Hepatovirus	الفيروسات الكبدية
Dependant RNA virus	فيروسات المعتمدة الرنوية
HBsAg coat	غطاء مستضد السطحي
Infectious Hepatitis	الإصابة بالتهاب الكبد
Serum Hepatitis	التهاب الكبد المصلي
Defective Virus	فيروسات ناقصة
liver cirrhosis	تليف الكبد
liver cancer	سرطان الكبد
Genotypes	الأنواع الجينية
Glycoprotein	البروتينات السكرية
Acute HCV infection	الإصابة الحادة بفيروس التهاب الكبد نمط C
Chronic Liver Disease	أمراض الكبد المزمنة
Sexual	جنسيا
Chronic infection	الإصابة المزمنة
nucleocapsid	محفظة نووية
compact genome	مورثات مضغوطة
Reverse transcription	الاستنساخ العكسي
Over Reading gene	جين مفتوح القراءة
parental	الحقن
Atherosclerosis	تصلب الشرايين
Tattooing	الوشم
Accidental	عرضيا
Active liver disease	أمراض الكبد الفعال
Household members	الملامسين بالبيت

passive diffusion	الانتشار الفعال
Micro tubular dependent transport	الانتقال المعتمد على الأنابيب الدقيقة
sub determine	تحت المحدد
Precore	قبل اللب
Non-replicative phase	طور عدم التكاثر
Radio Immuno Assays	الفحوصات المناعية المشعة
Convalescence	النقاهة
vitro	خارج الخلايا
dental works	العمل بالأسنان
Deoxy ribo nucleic Acid	حامض نووي منقوص الأوكسجين
primer	البادئ
Persistent infection	الإصابة الدائمة
temple	القلب
Haemodialysis	الغسيل الدموي
viremia	الطور الفيروسي بمجرى الدم
liver transplantation	نقل الكبد
Window period	فترة النافذة
Recovery period	فترة التحسن
subtypes	الأنماط الثانوية
chronic hepatitis	التهاب الكبد المزمن
Hepatocytes	الخلايا الكبدية
Post transfusion	الإصابة الماضية
Co infection	الإصابة المتزامنة
Super Infection	الإصابة الفائقة
Genus	الجنس
Envelope	الغلاف
Genome	المورثات
Incubation	الحضانة
Fulminant disease	الأمراض المميتة

Escape mutants	الطفرات الهاربة
Cryptogenic liver disease	الأمراض الكبدية الوراثية الغامضة
Oligonucleotide	نيكلوتيدات قليلة
Transforming proteins'	بروتينات متحولة

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	التسلسل
ii	الآية القرآنية	
iii	الإهداء	
iv	إقرار المشرفين وترشيح لجنة الدراسات العليا	
v	إقرار الخبير اللغوي	
vii	إقرار الخبير العلمي	
viii	إقرار لجنة المناقشة	
ix	الشكر والتقدير	
x	الخلاصة	
xv	قائمة المختصرات	
xvii	قائمة المصطلحات	
الفصل الاول :المقدمة والهدف من الدراسة		
١	المقدمة	1.1
٢	الهدف من الدراسة	2.1
الفصل الثاني :استعراض المراجع		
٣	تعريف المرض	1.2
٣	فيروس التهاب الكبد نمط A	2.2
٤	فيروس التهاب الكبد نمط E	3.2

٤	فيروس التهاب الكبد نمط D	1.3.2
٤	فيروس التهاب الكبد نمط G	2.3.2
٤	فيروس التهاب الكبد نمط C	3.3.2
٥	فيروس التهاب الكبد نمط B	4.3.2
٥	تركيب الفيروس	1.4.3.2
٦	المورثات	2.4.3.2
٧	البروتينات الفيروسية	5.3.2
٧	بروتين السطح	1.5.3.2
٨	بروتين اللب	2.5.3.2
٨	بروتين الغلافي	3.5.3.2
٨	بروتين X	4.5.3.2
٩	أنزيم البلمرة Polymerase	5.5.3.2
٩	الخواص الكيميائية والفيزيائية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب)	6.3.2
١٠	تكاثر الفيروس	1.6.3.2
١١	طرق انتقال الفيروس	4.2
١١	عن طريق الأم المصابة إلى الجنين أو حديثي الولادة	1.4.2
١١	عن طريق الدم أو احد مشتقاته الملوثة	2.4.2
١٢	عن طريق الممارسة الجنسية بكافة أنواعها	3.4.2

١٢	الوبائية	4.4.2
١٤	تحت الأنواع فيروس التهاب الكبد نمط (ب)	1.4.4.2
١٤	الأنواع الجينية	1.1.4.4.2
١٥	حضانة الفيروس	2.4.4.2
١٦	الأعراض السريرية	1.2.4.4.2
١٦	إمراضية الفيروس	3.4.4.2
١٧	التشخيص المصلي للإصابة بالتهاب الكبد نمط (ب)	4.4.4.2
١٧	تقنية الاليزا أو مقياسه الممتز المناعي المرتبط بالأنزيم	1.4.4.4.2
١٨	الكشف عن المستضد السطحي	2.4.4.4.2
١٨	الكشف عن المستضد الغلافي	3.4.4.4.2
١٩	الكشف عن المستضد اللي	4.4.4.4.2
١٩	الضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب)	5.4.2
١٩	الضدات النوعية IgG للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب)	1.5.4.2
٢٠	ضدات المستضد السطحي	2.5.4.2
٢٠	فحص تفاعل البلمرة المتسلسل	.5.2
٢١	التهاب الكبد الفيروسي الخفي نمط (ب)	1.5.2
٢٣	الآليات التي تؤدي إلى الإصابة بالتهاب الكبد الخفي نمط (ب)	2.5.2
٢٣	الطفرات	.1.2.5.2

٢٤	الآليات التي تؤدي إلى إنعاش التهاب الكبد الفيروسي الخفي	2.2.5.2
٢٥	وبائية فيروس التهاب الكبد الخفي نمط (ب)	3.5.2
٢٧	تشخيص التهاب الكبد الفيروسي الخفي نمط (ب)	4.5.2.
٢٧	التأثير السريري	5.5.2
٢٨	الاستجابة المناعية الذاتية والمكتسبة لمرضى التهاب الكبد الفيروسي نمط (ب)	1.5.5.2.
٢٨	تفاعل فيروسين HBV ,HCV داخل المضيف	2.5.5.2.
٢٩	الإصابة المتزامنة بين الإصابة المزمنة بفيروس التهاب الكبد نمط (ج) والإصابة الخفية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب)	3.5.5.2
٢٩	تأثير الإصابة الخفية لالتهاب الكبد نمط (ب) على خطر تطور سرطان الكبد في المرضى الحاملين HCV المزمن	4.5.5.2.
٣٠	وبائية الإصابة المتزامنة	5.5.5.2
الفصل الثالث: مواد وطرائق العمل		
٣١	المواد	1.3.
٣١	الأجهزة والمستلزمات المختبرية	1.1.3
٣٢	المواد الكيميائية	2.1.3
٣٢	العدد التشخيصية المختبرية	3.1.3.
٣٣	مجاميع الدراسة	2.3
٣٣	أماكن جمع النماذج	1.2.3

٣٣	طرائق العمل	.3.3
٣٣	تحضير المحاليل	.1.3.3
٣٣	محلول هيدروكسيد الصوديوم (1%)	.1.1.3.3
٣٣	محلول حامض الهيدروكلوريك (1%)	.2.1.3.3
٣٤	Running buffer (TAE-buffer)	.3.1.3.3
٣٤	محلول صبغة الاثيديوم بروما يد	.4.1.3.3
٣٤	هلام الاكاروز	.5.1.3.3
٣٤	تحديد معلمات فيروس التهاب الكبد نمط (ب)	.2.3.3
٣٤	اختبار التحري عن الضدات النوعية IgM لللب فيروس التهاب الكبد نمط (ب)	.1.2.3.3
٣٤	مبدأ الاختبار	.2. 2.3.3
٣٥	طريقة العمل	.3.2.3.3
٣٦	استخلاص النتائج	.4.2.3.3
٣٦	اختبار التحري عن الضدات السطحية	.4.3
٣٦	مبدأ الاختبار	.1.4.3
٣٦	طريقة العمل	.2.4.3
٣٧	استخلاص النتائج :	.3.4.3
٣٧	اختبار التحري عن المستضدات السطحية	.5.3
٣٧	مبدأ الاختبار	.1.5.3

٣٧	طريقة العمل	2.5.3.
٣٨	التشخيص الجزيئي	6.3
٣٨	استخلاص الدنا	1.6.3
٣٨	طريقة العمل	1.1.6.3
٣٩	اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل	2.6.3.
٣٩	مبدأ الاختبار	1.2.6.3.
٣٩	طريقة العمل	2.2.6.3.
٣٩	التضخيم	3.2.6.3.
٤٠	طريقة عمل الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز	4.2.6.3.
٤٠	تفسير النتائج	3.6.3.
٤١	التحليل الإحصائي	4.6.3.
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة		
٤٢	مجموعة الدراسة	1.4
٤٤	معدل الايجابية للمعلومات الفيروسية في مجموعة الدراسة.	2.4.
٤٦	معدل الايجابية للمعلومات الفيروسية لدى المتبرعين السلبيين للمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب)	3.4.
٤٧	معدل ايجابية المستضد السطحي والضدات النوعية له لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) مقابل الضدات النوعية IgM للب الفيروس.	4.4.
٤٨	معدل ايجابية المستضد السطحي والضدات النوعية IgM للب فيروس التهاب الكبد نمط (ب) مقابل الضدات النوعية للمستضد السطحي .	5.4.

٤٨	معدل الكشف عن دنا فيروس التهاب الكبد نمط (ب) بحسب الجنس والسكن والعمر.	6.4.
٥٠	صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.	7.4.
٥٠	صلاحية فحص الكشف عن الضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب) كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.	8.4.
٥٢	صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب) معاً كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.	9.4.
٥٣	صلاحية اختبار الكشف عن الضدات النوعية للمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.	10.4.
٥٣	صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي والضدات النوعية للمستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب) معاً بوصفه دليلاً تنبؤياً على وجود دنا الفيروس.	11.4.
٥٤	المناقشة	12.4.
الاستنتاجات والتوصيات		
٦١	الاستنتاجات	
٦٢	التوصيات	
٦٣	المصادر	

قائمة الجداول

الصفحة	الموضوع	التسلسل
١٥	العلاقة بين الأنواع الجينية genotypes والأنواع المصلية subtypes	(1-2)
٤٢	التوزيع التكراري لمجموعة الدراسة بحسب المتغيرات الاجتماعية والديموغرافية	(1-4)
٤٥	معدل الايجابية للمعلومات الفيروسية في مجموعة الدراسة.	(2-4)
٤٦	معدل الايجابية للمعلومات الفيروسية لدى المتبرعين السلبيين للمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب)	(3-4)
٤٧	معدل ايجابية المستضد السطحي والضدات النوعية له لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) مقابل الضدات النوعية IgM للـ الفيروس.	(4-4)
٤٨	معدل ايجابية المستضد السطحي والضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب) مقابل الضدات النوعية للمستضد السطحي.	(5-4)
٤٩	معدل الكشف عن دنا فيروس التهاب الكبد نمط (ب) بحسب الجنس والسكن والعمر.	(6-4)
٥٠	صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.	(7-4)
٥١	صلاحية فحص الكشف عن الضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب) كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.	(8-4)
٥٢	صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب) معا كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.	(9-4)
٥٣	صلاحية اختبار الكشف عن الضدات النوعية للمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.	(10-4)

٥٤	(11-4) صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي والضدات النوعية للمستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للـب فيروس التهاب الكبد نمط (ب) معا كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.	
----	--	--

قائمة الاشكال

الصفحة	الموضوع	التسلسل
٦	الأشكال الثلاثة لفيروس التهاب الكبد نمط (ب)	(1-2)
٧	مخطط يمثل مورثات فيروس التهاب الكبد نمط (ب)	(2-2)
٨	مخطط يبين جين S ومواقع preS1 و preS2	(3-2)
٩	بروتينات HBV	(4- 2)
١١	مخطط يبين دورة تكاثر فيروس التهاب الكبد نمط (ب)	(5-2)
١٨	يبين أضداد ومستضدات HBV في الدم	(6-2)
٢٢	مخطط يمثل OBI-HBV والخاطئ False OBI	(7-2)
٥٢	يمثل حزم الدنا على هلام الاكاروز	(7-4)

١. المقدمة Introduction

1.1. المقدمة :

يعرف التهاب الكبد الخفي (OBI) بأنه: وجود دنا الفيروسي لالتهاب الكبد نمط (ب) في مصل المريض دون وجود المستضد السطحي HBsAg ومع أو بدون وجود الضدات اللبية AntiHBc أو الضدات السطحية للمستضد السطحي AntiHBs خارج التحولات المصلية في فترة النافذة (Window period). يعتمد تردد تواجد الإصابة الخفية على الحساسية النسبية للفحوصات المصلية للتحري عن المستضد السطحي HBsAg والفحوصات الجزيئية للكشف عن دنا الفيروس، وعلى مدى انتشار الإصابة بالتهاب الكبد نمط (ب) بين السكان (Raimondo et al.,2008).

يتميز التهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) بقابليته الوبائية على إصابة العديد من أفراد المجتمع وهو احد المشاكل الصحية في جميع أنحاء العالم ولاسيما الدول النامية، حوالي بليونين شخص مصابين

بالتهاب الكبد الفيروسي نمط (ب)، و 350 مليون إصابة مزمنة و 600,000 يموت كل سنة بسبب أمراض التهاب الكبد أو سرطان الكبد (Colin et al.,2006). ينتقل الفيروس بوساطة الدم الملوث ومنتجات الدم الملوثة وينتقل الفيروس عن طريق الجنس sexual أو في أثناء تعاطي المخدرات وريديا، وكذلك ممكن انتقاله عن طريق فرشاة الأسنان لتوافره في اللعاب كما ويتوافر في العرق، في الدموع فضلاً عن توافره بإدراج الشخص المصاب، شفرات الحلاقة، الأمشاط، أو انتقاله نتيجة الوشم Tattooing، أو نتيجة العمل بالأسنان Dental works كما وينتقل للوليد الجديد Child birth عن طريق الأم prenatal (قبل، في أثناء أو بعد الولادة) أو نتيجة الإرضاع، تقريباً 6% من مستلمي الدم اكتسبوا الإصابة من خلال عمليات نقل الدم (Niederhanser et al., 2011).

انخفض خطر التهاب الكبد نمط(ب) المنقول من خلال عمليات نقل الدم بثبات خلال العقود الأربعة الماضية، رغم ذلك يبقى خطر انتقال الإصابة بالتهاب الكبد نمط(ب) المنقول من خلال عمليات نقل الدم بشكل رئيس متعلق بمتبرعي الدم الذين يعطون نتيجة سلبية لفحص التحري عن المستضد السطحي HBsAg، جمع الدم أما في أثناء فترة التحول المصلي قبل فترة النافذة Window Period التي تعرف بأنها الفترة بين الإصابة والكشف عن المستضد السطحي HBsAg، أو أثناء المراحل المتأخرة للإصابة بالتهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) أو خلال فترة الإصابة الخفية Occult HBV Infection (OBI) (Candotti et al.,2009).

ينتقل التهاب الكبد الفيروسي الخفي نمط (ب) بالاعتماد على نفس طرق الانتقال بالإصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب)، عن طريق الدم أو أحد مشتقاته الملوثة؛ عن طريق الممارسة الجنسية بكافة أنواعها؛ من الأم المصابة إلى الجنين أو حديثي الولادة وفي حالات الشفاء من مرض نجد في بعض الحالات التي شفيت وجود للإصابة الخفية (Allian,2009)، وفي المرضى المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي (HCV) نلاحظ عند صنف معين منهم انتشار عالي للإصابة بالتهاب الكبد الخفي نمط (ب) (Brechot et al.,2010). وبشكل خاص يمكن أن نجد دنا الفيروس في ثلث الأشخاص الذين يكونون سالبين لفحص التحري عن المستضد السطحي HBsAg وفي الوقت نفسه حاملين لفيروس التهاب الكبد نمط (ج) في منطقة حوض البحر المتوسط، وهذا الانتشار أعلى حتى في البلدان الشرق الأقصى الآسيوية. يبدو انتشار الإصابة الخفية بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) مرتفعة جداً في مرضى أمراض الكبد الوراثية الغامضة Cryptogenic liver disease، خصوصاً في الذين لديهم تليف كبدي ويمكن أن نلاحظ الإصابة الخفية بين متبرعي الدم بشكل كبير في الدول النامية بينما تكون نادرة الحدوث في الدول الغربية. العديد من الدراسات في مختلف المناطق الجغرافية بينت وجود ارتباط بين الإصابة الخفية بالتهاب الكبد نمط (ب) وأمراض الكبد الحادة وخاصة المرضى المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي نمط (ج)، ويقترح أن الإصابة الخفية بالتهاب الكبد نمط (ب) ربما يعجل التعاقب باتجاه تليف الكبد في مرضى أمراض الكبد الوراثية المخفية، أخيراً تعد الإصابة بالتهاب الكبد الخفي نمط (ب) عامل

(Ramezan *et al.*,2011)**Aim of Study****2.1. الهدف من الدراسة :**

نظرا لعدم توافر الدراسات والبحوث والإحصائيات حول التهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) الخفي في العراق وتحديدا في محافظة ديالى لذلك هدفت الدراسة للكشف عن التهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) الخفي بين متبرعي الدم الأصحاء في محافظة ديالى باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) .

2. استعراض المراجع**Literature review****1.2. تعريف المرض**

يعد التهاب الكبد hepatitis من أقدم الأمراض التي تم التعرف عليها، فالتهاب الكبد ليس مرضاً واحداً وإنما هو مصطلح يعني التهاب خلايا الكبد Inflammation of hepatocytes، ولكون الكبد يلعب دوراً أساسياً في الأيض الخلوي فمن الممكن أن يؤثر فيه أي فيروس. تقسم الفيروسات التي تسبب التهاب الكبد إلى قسمين ؛ Primary Lepatotropic viruses والتي تتناسخ في خلايا الكبد وتسبب التهاب الكبد بشكل مباشر، Secondary Lepatotropic viruses فهي تتناسخ في خلايا الجسم دون خلايا الكبد وتسبب التهاب الكبد بصورة غير مباشرة مثل فيروس مضخم الخلايا البشري Human Cytomegalovirus (Schiff and Eugene, 2004)، وتشمل فيروسات Primary Leptotropic Viruses على فيروس التهاب الكبد نمط (A), (B), (C), (D), (E), (G) و Transfusion transmitted virus (TTV) (Chu *et al.*,2004). تنتمي هذه الفيروسات إلى عوائل فيروسية مختلفة، كما وتختلف بطرق انتقالها ووبائيتها وامراضيتها، لكنها تشترك بصفة إحداثها لالتهاب الكبد إذ لا يمكن تمييزه سريريا بين نمط وآخر.

هناك عوامل مختلفة بالإضافة إلى الفيروسات تسبب التهاب الكبد مثل البكتيريا، والفطريات، والطفيليات، وعوامل كيميائية تتضمن الأدوية، السموم والكحول (Jawetz *et al.*, 2004).

2.2. فيروس التهاب الكبد نمط A (HAV) Hepatitis A virus

يعود الفيروس إلى عائلة *Picornaviridae* جنس *Hepatovirus*، وله تركيب بسيط بقطر 27nm وبتناظر مكعبي Icosahedra، لا يحوي على غلاف، أحادي الحامض النووي ss RNA خطي مفرد الشريط، حجم مورثاته حوالي 7.5Kb تتميز هذه الفيروسات بثباتها بالحرارة والحموضة. ينتقل الفيروس عن طريق التلوث بالبراز feco oral ونسبة انتشاره عالية في دول العالم النامية، هو غير مميت، ولا يسبب إصابة مزمنة. يعرف HAV بالتهاب الكبد المعدي Infectious hepatitis، وهو مسؤول عن 73.2% من حالات التهاب الكبد الفيروسي الحاد بين الأشخاص الأصحاء في مدينة بعقوبة (Hasan *et al.*, 2008)، بينما كانت نسبة بين مرضى التهاب الكبد الفيروسي الحاد في مدينة بعقوبة (21.5%) (Hasan *et al.*, 2007).

3.2. فيروس التهاب الكبد نمط E : Hepatitis E virus (HEV)

ينتمي الفيروس إلى عائلة *Caliciviridae*. ينتقل الفيروس بسبب الطعام الملوث والماء الملوث بالبراز ويحدث بشكل وبائي في الدول النامية ويزداد انتشاره في فصل الأمطار، لحدوث الإصابة يحتاج إلى جرعة عالية من الفيروس على عكس فيروس التهاب الكبد نمط (أ) والتي تكفي جرعة قليلة منه لإحداث المرض و احتمالية انتشاره عن طريق الحيوانات لأنه من الممكن أن تصاب به بعض الحيوانات كالخنازير والماشية ويصيب اليافعين بشكل رئيس ويسبب نسبة وفيات عالية بين النساء الحوامل (Hasan *et al.*, 2003). وفي دراسة أجريت بمحافظة ديالى على 163 مريض مصابون بالتهاب الكبد الحاد سريريا فوجد نسبة الضدات النوعية IgM لفيروس التهاب الكبد نمط E (30.1%) (Hasan *et al.*, 2007)، بينما كان معدل الانتشار المصلي للضدات النوعية IgG لفيروس التهاب الكبد نمط E بين الأشخاص الأصحاء كان 18% (Hasan *et al.*, 2007).

1.3.2. فيروس التهاب الكبد نمط D : Hepatitis D virus (HDV)

الفيروس محاط بغلاف من المستضد السطحي HBsAg لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) والذي يحيط بغطاء الفيروس HDV ويعد من الفيروسات الناقصة لاحتياجه إلى غطاء HBsAg coat. حجم جزيئه الفيروس 35-37nm المادة الوراثية تضم شريط مفرد SSRNA بحجم 1.7Kb غلافه غلاف HBsAg نفسه وهو حساس للحوامض، وعادة ما تكون فترة حضانة الفيروس (21-90 يوم) (Zacharakis *et al.*, 2007).

2.3.2. فيروس التهاب الكبد نمط G : Hepatitis G virus (HGV)

شكل جسيمة الفيروس كروي Spherical بقطر 60 نانومتر حاوي على غلاف Envelope يحوي على حامض نووي أحادي الخيط من نوع الرايبوزي SSRNA بحجم 9.4Kb ، ينتقل عن طريق الدم ومنتجاته، ويمكن أن ينتقل جنسياً فضلاً عن انتقاله من الأم للطفل. أما بالنسبة إلى انتشاره فيعد متوسط الانتشار مقارنة ببقية الفيروسات (Schgal&Sharma, 2002) .

3.3.2. فيروس التهاب الكبد نمط C : Hepatitis C Virus(HCV)

فيروس HCV كروي ومحاط بغلاف قطره 60 نانومتر يشق الغلاف من أغشية المضيف Host membrane والتي من ضمنها غرز بروتينات غلاف الفيروس السكرية (E1- Glycoprotein E2) والتي تحيط بالنيوكليوكابسيد Nucleocapsid ،و المادة الوراثية للفيروس من نوع RNA موجب أحادي الخيط بطول 10Kb تقريباً، ويعود إلى عائلة Flaviviridae جنس Hepaci virus . فترة حضانة HCV سبعة أسابيع بمعدل (2-26) أسبوع (Kew et al., 2004) .

4.3.2. فيروس التهاب الكبد نمط B : Hepatitis B virus (HBV)

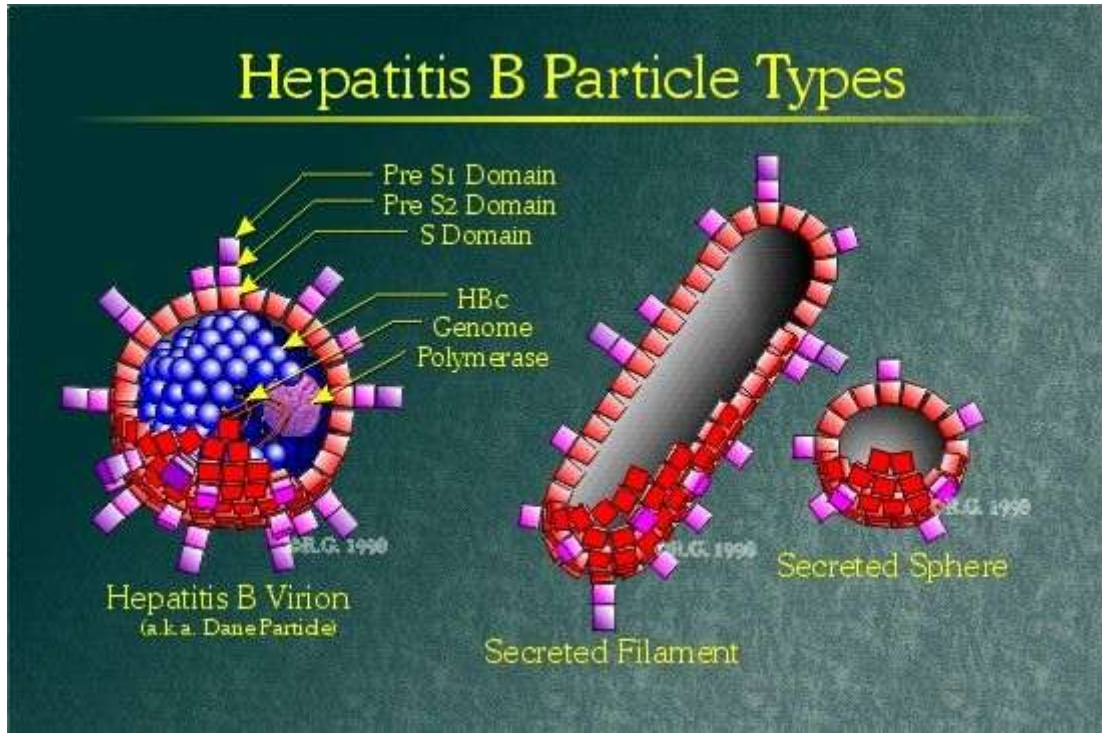
ينتمي فيروس التهاب الكبد نمط (ب) إلى عائلة الفيروسات الكبدية *Hepadnavirida* التي تنقسم إلى مجموعتين : Orthohepadnavirues والتي يقع تحتها فيروس التهاب الكبد نمط (ب)، والمجموعة الثانية Avianhepadnavirues . جزيئة DNA صغيرة جداً والمورثات مضغوطة compact genome عبارة عن جزيئه DNA مزدوجة الشريط (dsDNA) double– stranded . الفيروس مغلف بمستضد سطحي يدعى HBsAg يحيط بالمحفظة النووية nucleocapsid التي تضم مستضد اللب HBcAg . يتضاعف الفيروس بالاستنساخ العكسي ،بعد استنساخ DNA الفيروس بواسطة RNA polymerase II للمضيف تنقل جزيئه RNA الأولية إلى السايكوبلازم وتغلف سويًا مع أنزيم الاستنساخ العكسي إلى جزيئة لب غير ناضجة.

تم تمييز انتقال الفيروس لأول مرة عن طريق الدم ومنتجاته في ألمانيا عام 1883 نتيجة اخذ لقاح الجدري إذ تطور اليرقان لدى (15%) من مستلمي اللقاح (Berenguer and Wright,2002) هذا فضلاً عن إصابة العديد من الجنود في الحرب العالمية الثانية نتيجة أخذهم لقاح الحمى الصفراء وتم تمييز الفيروس المنتقل عن طريق الدم والمسبب لليرقان بعد ذلك وسمي serum hepatitis والذي أطلق عليه فيما بعد التهاب الكبد نمط (ب) ،وفي العام 1970 اكتشف العالم Dane وجماعته جزيئة الفيروس في نماذج الدم المفحوصة في المجهر الإلكتروني وذكر أنها عبارة عن جزيئات ذات قطر 42nm,22nm,200nm (Wang et al.,2004) .

Structure of Viruses

1.4.3.2. تركيب الفيروس :

يمتلك الفيروس تركيباً معقداً ويتضمن الغلاف والمحفظة النووية، جزيئة الفيروس محاطة بمحددات حساسة مكونة من بروتينات دهنية Lipoprotein . للفيروس ثلاثة أشكال: كروية spherical بقطر 22nm، خيطية الشكل filamentous بطول 200nm وجزيئة دان فإنها تحتوي على غلاف حلزوني التناظر بقطر 42nm كما موضح بشكل (1-2) (Lavanchy,2004).

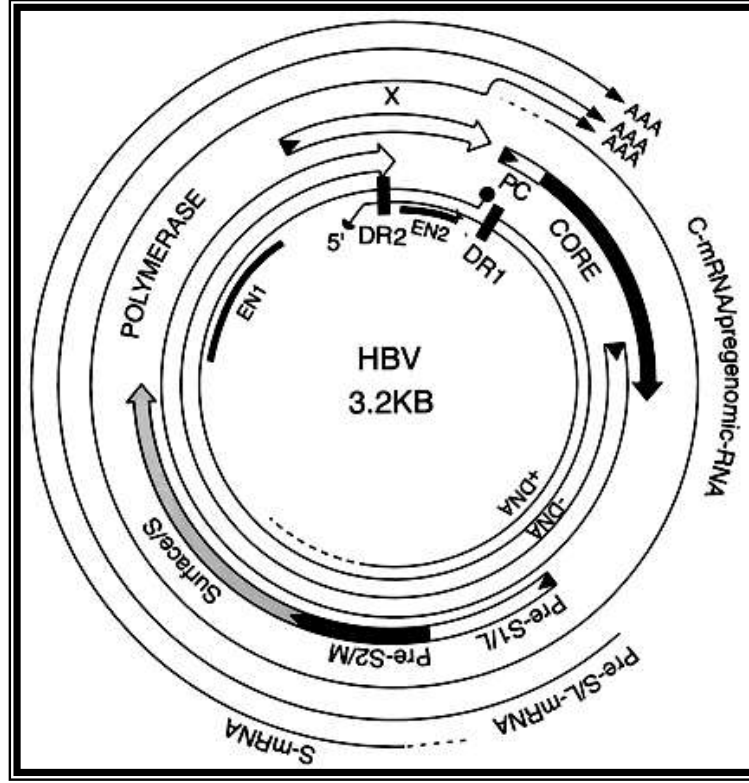


شكل (1-2) يبين الأشكال الثلاثة لفيروس التهاب الكبد نمط (ب)
(Schiff and Eugene , 2004)

Genomes

2.4.3.2. المورثات :

المادة الوراثية للفيروس غير مقسمة ، وتتألف من جزيئة DNA مزدوجة الشريط وبشكل دائري مغلق وتحتوي المادة الوراثية للفيروس على أربع قطع وراثية مفتوحة القراءة Over Reading gene تحوي على معلومات وراثية لسبعة بروتينات فيروسية . طول المادة الوراثية الكامل (3020-3320) نيكلوتيدة وكمية الكوانين G + الساييتوسين C 48% ، وحجم المورثات 3.2Kbp . يعد جين اللب وجين polymerase أهم الجينات في تضاعف الفيروس، أما جين الغلاف فهو جين رئيس في تطور المحفظة النووية (نيكلوكابسد) كما موضح بالشكل (2-2) (Ganem and Prince, 2004) .



شكل (2-2) مخطط يمثل مورثات فيروس التهاب الكبد نمط (ب)
(Ganem and Prince, 2004).

Viral proteins

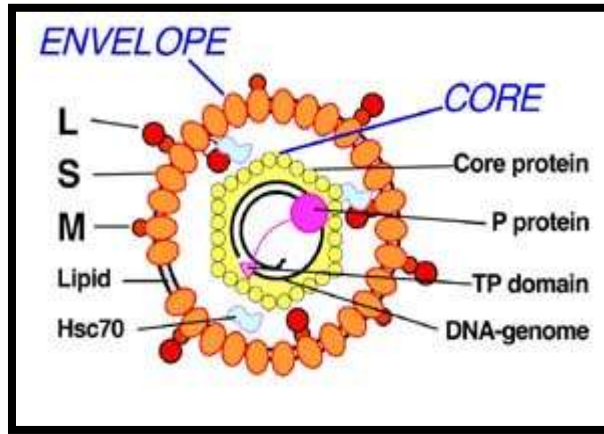
5.3.2 البروتينات الفيروسية:

Surface protein

1.5.3.2 بروتين السطح :

تقسم بروتينات السطح إلى ثلاثة بروتينات: بروتينات صغيرة (SHBs) proteins small، بروتينات متوسطة (MHBs) middle و بروتينات الكبيرة (LHBs) large . جميعها تنشأ من نفس الجين ولكنها بدرجات مختلفة من الاستجابة المناعية وتستخدم بدائل لثلاث شفرات بدء لتصنيع البروتين، تسلسل النكلوتيدات ما بين شفرة البدء الأولى والثانية لجين S تدعى (PreS1)، وتسلسل النكلوتيدات ما بين شفرة البدء الثانية والثالثة تدعى (Pre S2) وتسلسل النكلوتيدات ما بين شفرة البدء الثالثة وشفرة التوقف تدعى (S) كما موضح بشكل (3-2) (Mast et al.,2004) .

عبارة عن بروتين قاعدي غني بالهستدين وذو وزن جزيئي حوالي (93KDa)، له دور فعال في تضاعف مورثات عائلة الفيروسات الكبدية. (Seeger and Mason,2000).



شكل (2- 4) يبين بروتينات HBV
(Scuderi, 2003).

6.3.2. الخواص الكيميائية والفيزيائية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب)

فيروس التهاب الكبد نمط (ب) مستقر فعند تعرضه للأيثر، والحامض (pH 2.4) لأقل من 6 ساعات، وكذلك عند تعرضه للحرارة 98°م لمدة دقيقة واحدة، وعند 60°م لمدة 10 ساعات فلا تتحطم قدرته المناعية والمستضدية. يفقد الفيروس قدرته المستضدية وقابليته على الإصابة ويتحطم بعد تعرضه إلى 0.25% من كلوريد الصوديوم لمدة 3 دقائق، ويفقد قدرته على الإصابة تحت ظروف المؤصدة (121°م لمدة 20 دقيقة) وكذلك عند معاملة بالحرارة الجافة (160°م لمدة ساعة) ويفقد قدرته على الإصابة أيضا عند تعرضه إلى 80% من كحول الايثيلي عند درجة حرارة 11°م لمدة دقيقتين (Hollinger and Liang, 2001).

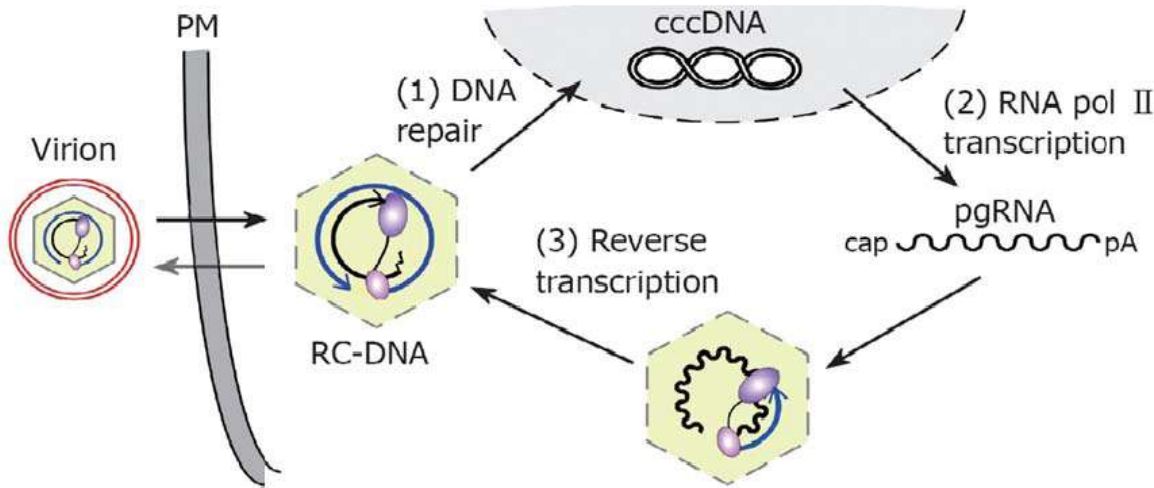
يستطيع الفيروس أن يستعيد فعاليته بعد إن كان مجمداً تحت (-15°م) لمدة 15 سنة، ولكون الفيروس يتحمل الظروف الخارجية (مقاومة الحرارة، الجفاف، الكحول و المطهرات، الغليان لمدة ٥ دقائق) لذا فمن الممكن بقاءه بالإبر الملوثة والمواد الجراحية؛ أي ينتقل عن طريق الحقن parental ويمكن بقاء الفيروس في الدم والسوائل الأخرى لفترة طويلة في درجة حرارة الغرفة و لمدة تتجاوز ٦ أشهر و تزداد فترة البقاء بانخفاض درجة الحرارة (Wright,2002).

Virus Replication

1.6.3.2. تكاثر الفيروس:

يتم دخول الفيروس بواسطة الالتحام بالمستقبلات المتوافرة بغلاف الخلية، ويدخل الفيروس غير المغلف لداخل الخلية وينتقل لب الفيروس إلى النواة عن طريق الانتشار السلبي passive diffusion أو عن طريق الأنابيب الدقيقة Micro tubular dependent transport وفي النواة يتم تصنيع المادة الوراثية للفيروس بعد أن يتم تضاعفه بواسطة الأنزيم الناسخ العاكس (Berenquer and Wright,2002).

بعض قطع دنا الفيروس تتصل ضمن دنا خلايا الكبد وتخدم بعضها بوصفها قالباً إلى صناعة mRNA والذي يحفز بواسطة أنزيم المضيف RNA polymerase II ويعمل mRNA في صناعة البروتين بوصفه قالباً للشريط السالب DNA الفيروس ويحفز بواسطة الأنزيم الناسخ العاكس، يخدم الشريط السالب بوصفه كقالباً للشريط الموجب DNA الفيروس وبحدود 20 قاعدة مزدوجة مشتقة من النهاية الخامسة (5') DNA. تخدم كبادئ لصناعة الشريط الموجب وهذا ما يوضح كون جزئية دنا ثنائية الشريط. يتم استنساخ دنا الفيروس وانتقاله إلى الساييتوبلازم الذي يترجم فيما بعد إلى الغلاف واللب وما يحيطه وبروتين X وأنزيم الفيروس DNA polymerase ويتم تعبئة الفيروس في الساييتوبلازم إذ يتم ارتباط أنزيم بلمرة الفيروس إلى تركيب العروة من النهاية الخامسة (5') DNA وبعد انتهاء التضاعف يتم انتقال لب الفيروس إلى النواة وعبره إلى الشبكة الاندوبلازمية الداخلية أو جهاز كولجي ويكتسب الغلاف البروتيني هناك (Surface, L, and M) وقبل أن يتحرر من الخلايا كما موضح بشكل (5-2) (Juergen et al.,2007).



شكل (5-2): مخطط يبين دورة تكاثر فيروس التهاب الكبد نمط (ب)
(De Feo et al.,2005)

4.2. طرق انتقال الفيروس

ينتقل الفيروس بثلاثة طرق أساسية هي: عن طريق الدم أو احد مشتقاته الملوثة ؛عن طريق الممارسة الجنسية بكافة أنواعها؛من الأم المصابة إلى الجنين أو حديثي الولادة .

1.4.2. عن طريق الأم المصابة إلى الجنين أو حديثي الولادة:

تعد الإصابة بالفيروس خلال الحمل مؤثرة على الطفل عندما تكون الأم حاملة للإصابة المزمنة والخطورة تكمن في إصابة الجنين بحدود 80-90% من الحالات عندما تكون الأم موجبة لتواجد دنا الفيروس في المصل وبغايه 10-20% ولهذا فان الكشف عن HBsAg تكون إجبارية عند الأمهات الحوامل وخلال الستة أشهر الأولى من الحمل فإذا كانت موجبة يلحق الطفل حديث الولادة ونسبة الوقاية 100% إذا كانت الجرعة قليلة و 70% إذا كانت الجرعة عالية من الفيروس ،أخذ اللقاح ضد الفايروس plasma- derived or recombinant vaccines والذي يعد مناعة فعالة active immunization للأفراد الأكثر عرضة أو الأطفال حديثي الولادة. فالأطفال الرضع يؤخذ من الشهر الأول والثاني والشهر السادس أي بثلاث جرعات.

إعطاء الكلوبولونات المناعية HBI-Hepatitis B immunoglobulins للأفراد المعرضين للإصابة أو المشكوك في إصابتهم .(CDC,2005)

2.4.2. عن طريق الدم أو احد مشتقاته الملوثة :

يتم انتقال الفيروس عن طريق عملية نقل الدم أو باستخدام منتجات الدم او نتيجة لاستعمال الإبر الملوثة بدم الفرد المصاب فحوالي 10% من التهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) ينتقل عن طريق نقل الدم، التهاب الكبد ينتقل بطريقة عرضية Accidental من كميات قليلة للدم أثناء العمليات الجراحية وفي عيادات الأسنان (Ranger et al.,2002) .

3.4.2. عن طريق الممارسة الجنسية بكافة أنواعها :

تعد طريقة الانتقال هذه السبب الرئيس لانتقال الفيروس في دول أمريكا وأوروبا وتعد الأعمار بين (15-24) سنة أكثر خطورة للإصابة بهذا الفيروس نتيجة النشاط الجنسي (WHO,CSR,2005).

4.4.2. الوبائية: Epidemiology

الملايين حول العالم حاملين للمرض وبشكل مزمن ولهم القابلية على إصابة أفراد آخرين وقسم كبير منهم يتحول الفيروس عندهم إلى فيروس متسرطن مما يؤدي إلى تليف الكبد أو سرطان الكبد،وفي أوروبا لوحدها يقدر بان مليون فرد يصاب سنوياً وحوالي 90000 منهم يتحولون إلى حاملين للمرض 22000 منهم يتقدم المرض ويصابون بتليف الكبد أو سرطان الكبد (Raimondo et al.,2010) . هذا وقد بينت الدراسات التي أجريت في مختلف دول العالم أن التهاب الكبد نمط (ب) يشكل 20-25% من

حالات التهاب الكبد الفيروسي الحادة التي يصاحبها اليرقان وإن معظم الإصابات تحدث لدى اليافعين والبالغين بعمر (15-54) ويسبب فيروس التهاب الكبد نمط (ب) إصابة مزمنة أقل من 5% للبالغين . (Guha *et al.*,2004)

يوجد الفيروس في الدم وفي السوائل الجسم الأخرى مثل (السائل المنوي، إفرازات المهبلية، اللعاب)، على الرغم من توافر الفيروس في سوائل الجسم الأخرى إلا أن تركيزه 1 من 1000 تركيزه في الدم. (Simmonds and Peuthere, 2002) . تحدث الإصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) في جميع أنحاء العالم، إذ يعيش 45% من سكان العالم في مناطق انتشار عالي للإصابة المزمنة و 8% من سكان العالم يكونون إيجابيين لفحص المستضد السطحي، و 43% من سكان العالم يعيشون في مناطق انتشار متوسط للإصابة وحوالي (2-7)% من السكان موجبين لفحص المستضد السطحي، و 12% من سكان العالم يعيشون في مناطق انتشار منخفضة بالإصابة وحوالي 2% من السكان موجبين لفحص HBsAg (Wang *et al.*, 2004) .

تستوطن الإصابة بالتهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) في إفريقيا، وشرق أوروبا، وآسيا الوسطى، والصين، وجنوب شرق آسيا، وجزيرة المحيط الهادي، وحوض الامزون في جنوب أمريكا (في هذه المنطقة الأشخاص الأكثر تعرض للإصابة هم الأطفال أو الأطفال اليافعين، وبحدود 70% من السكان البالغين يظهرون نتيجة موجبة بالإصابة بالتهاب الكبد نمط (ب) (CDC, 2000; WHO, CSR, 2005) .

وفي العراق أجريت العديد من الدراسات لتحديد الحالة الوبائية للمرض وظهر أن نسبة حاملي الفيروس بين الأشخاص الأصحاء هي 2-4% وهذه الإصابة تضع العراق في مجموعة الدول ذات التوطن المتوسط ونتيجة لتطبيق برنامج السيطرة على المرض انخفضت النسبة إلى أقل من 2% (Omer & Al-Salmani, 2005) .

معظم دول الشرق الأوسط التي تضم الدول العربية يلاحظ أن نسبة HBsAg بين 1.5-9.9% فيما عدا السودان والصومال تصل النسبة فيهم من 17-27% أما في العراق فالدراسات المتوافرة ذكرت أن نسبة حاملي الإصابة بين 3-4%، فضلاً عن أن نسبة HBsAg بين 3.4-4.3% من نسبة السكان الاعتياديين، أما بالنسبة لمتبرعي الدم فنسبة 2-3.9% (Omer & Al-Salmani, 2005) ، وفي دراسة أجريت في محافظة القادسية على متبرعي الدم الأصحاء حيث لاحظ السعدي (2001) بأن الانتشار المصلي HBsAg بين المتبرعين الأصحاء كان 1% وتزداد الإصابة بزيادة العمر، وفي الذكور أكثر من الإناث ولا توجد اختلافات بالنسبة لأشهر السنة. أما مرضى الايدز حيث كانت نسبة HBsAg 27.5%، وفي الدراسات التي أجريت في وسط العراق على مرضى الغسيل الدموي Haemodialysis أن نسبة الانتشار المصلي HBsAg بين 2.2-3.4% (Mahmood *et al.*, 2001; Abbas, 2002; Majeed, 2002) .

ظاهرة الانتشار العالي بالإصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) وبمعدل 8.75% في الموظفين الذين يعملون في وحدات الغسيل الكلوي Haemodialysis في ثلاث وحدات غسيل في بغداد ووجد الذكور أعلى تأثير من الإناث بالإصابة (Mahmood, 2005)، وفي دراسة أجريت بصورة عامة على المتبرعين بالدم لاحظ معدل انتشار HBsAg 1.59% وفي الذكور أعلى من الإناث وبنسبة 20% في مرضى الغسيل الدموي Haemodialysis (AL-Hilli, 2001)، وعلاوة على ذلك فقد سجلت منظمة الصحة العالمية WHO سنة 2000 معدل الحاملين للمرض بين السكان العراقيين الطبيعيين إذ كانت (4.3%) وبنسبة (2-9.3%) لمتبرعي الدم الأصحاء. انتشار HBsAg في السكان الطبيعيين للبلدان المجاورة للعراق مثل الكويت كانت نسبة HBsAg 1.5% (CDC, 2005)، وفي الأردن إذ كانت النسبة 10.4% و9.1% بين الذكور والإناث على التوالي (Al- Maini, 2000)، وفي إيران 1.7% (Poland, 2004)، بينما في السعودية إذ وصلت النسبة إلى 26% و15% بين الذكور والإناث على التوالي (Kang, 2001). سجلت منظمة الصحة العالمية نسبة HBsAg في سوريا 4% وفي تركيا 5% (WHO, 2000).

1.4.4.2. الانماط الثانوية فيروس التهاب الكبد نمط (ب):

Subtypes of HBV

يوجد أربعة أنواع مصلية للفيروس (adw, ayw, adr and ayr) والتي تضم التوزيع ضمن مناطق جغرافية مختلفة. تصنيف الفيروس إلى أنواع عدة تعتمد على الاستجابة المناعية للتغيرات القليلة في ترتيب النيوكليوتيدات إلى البروتينات المشفرة من قبل جين المستضد السطحي، المحددة المستضدية، determinant "a" والتي تعد هدفاً لتعادل الأضداد عند الإصابة HBV وتعد هذه شائعة في كل الأنواع ولهذا الإصابة بأحد الأنواع يعطي مناعة ضد النوع الآخر (Nakano et al., 2001).

بروتين S هو المكون الأساسي لغلاف الخارجي للفيروس المكون من ثلاث طبقات، وجود الحامض الأميني Lysine (k) أو Arginine (R) في الموقع 122 الموجود بجين S يشير إلى (d) أو (y) أما عند وجود الحامض الأميني (K) أو (R) في موقع 160 يشير إلى (w) أو (r) بالإضافة إلى أن (w) يمكن أن ينقسم إلى تحت المحدد sub determine (w1-w4) ولهذا فهناك أنواع مصلية ثمانية للفيروس بالاعتماد على وجود المستضدات في منطقة (a) (Chen et al., 2010).

Genotypes

1.1.4.4.2. الأنواع الجينية:

يوجد سبعة أنواع جينية للفيروس (A, B, C, D, E, F, G) محددة ومختلفة في التوزيع الجغرافي ويرجع هذا الاختلاف إلى ثبوتية تركيب العروة لجينوم الفيروس ولاقتزان باختلاف Precore (Berenquer and Wright, 2005)، بالإضافة إلى النوع الجيني (H) الذي تم اكتشافه من قبل العالم Arauz-Ruiz (2002). الأنواع الجينية عامل موثر في حدوث التهاب الكبد الخفي نمط (ب)

مع اختلافات جوهريّة لها علاقة بتحوّلات المصلية Anti-HBe التي لها ارتباط بنقصان تركيز الفيروس وتضاعفه، حيث أن 50% من التحوّلات المصلية تحدث في مرحلة الطفولة المبكرة (قبل عمر 10 سنوات) وتكون الإصابة بالنوع الجيني E، والإصابة بنوع A,D تصيب الأعمار قبل 20، وعند السن 30 يصابون بالنوع الجيني B، والأعمار الأكبر من 40 يصابون بالنوع الجيني C. (Lindh et al.,2000;Chu et al.,2004;Duong et al.,2004).

يحدث التهاب الكبد الخفي نمط (ب) خلال طور عدم التكاثر Non-replicative phase الذي يأتي بعد تحول المصلي HBeAg الى AntiHBe ويحصل خلاله نقصان بمستوى التضاعف تدريجياً وبالنتيجة يصبح مستوى كل من HBsAg و DNA واطىء (Hwang et al.,2002;Allain et al.,2005). يكون التهاب الكبد نمط (ب) الخفي أكثر توافراً في المناطق المصابة بالأنواع الجينية A,D و E وقل انتشاراً في مناطق الشرق الأقصى المصابة بالأنواع الجينية B,C (Chu and Lee, 2010). للأنواع الجينية توزيع جغرافي إذ تتوافر A,D في أفريقيا، أوربا والهند، أما C,B تنتشر في آسيا، و E يستقر في غرب أفريقيا، و F يتواجد في وسط وجنوب أمريكا. الأنواع الجينية G,H توزيعهم غير واضح ولكن تم عزلهم في وسط أمريكا وجنوب أوربا (Allain et al.,2003).

يمكن أن تنقسم الأنواع الجينية إلى تحت الأنواع الجينية Sub genotypes (A1- A3): (B1-B5)، (C1-C5)، (D1-D4)، (F1-F4) و تحت الأنواع الجينية B,C تختلف في توزيعها الجغرافي، B1 يستوطن اليابان و B2 في الصين والفيتنام، بينما B3,B4 تتواجد في اندونيسيا والفيتنام، أما تحت النوع الجيني C1 يكون شائع في اليابان، كوريا والصين، C2 في الصين، جنوب شرق آسيا وبنغلادش C3 في المنطقة الاقياوسية، C4 في السكان الأصليين لآستراليا هناك ارتباط ما بين A,D وكذلك ما بين C,B في التوزيع الجغرافي كما موضح بجدول (1-2) (Zahn et al.,2008).

Genotype	A	B	C	D	E	F	G
Associated subtypes	adw2 (ayw1)	adw2 ayw1	adr adr-q- ayr adw	ayw2 ayw3 ayw4	ayw4 (adw2)	adw4q-	adw2

جدول (1-2): العلاقة بين الأنواع الجينية genotypes والأنواع المصلية subtypes
(Arauz-Ruiz et al.,2002).

Virus Incubation

2.4.4.2. حضانة الفيروس:

تتراوح فترة حضانة الفيروس بين (30-180)يوم. ويكون الدم معدي قبل ظهور الأعراض المرضية بعدة أسابيع ويعتمد تقدم المرض على العمر worse with age ونسبة تحوله إلى الإصابة المزمنة Chronic hepatitis (5-10) % ونسبة الوفيات اكبر من 1.2%. ظهور الأعراض يكون مفاجئاً و Insidious often و يبقى المريض معديا طيلة فترات المرض الحادة والمزمنة فضلا عن كونه حاملاً مزمناً للفيروس و يكون بدون أعراض حادة (Duong et al.,2004).

Clinical manifestation

1.2.4.4.2. الأعراض السريرية:

الإصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب)تؤدي إلى الحالات الآتية:الإصابة الحادة (Acute infection) إصابة حادة بدون أعراض مرضية وخاصة عند الأطفال،و إصابة حادة تصاحبها أعراض مرضية مختلفة مثل فقدان الشهية، وارتفاع درجة الحرارة، والنحول، والتعب، واليرقان وبدرجات متفاوتة من الشدة (Alao et al.,2009).الإصابة المزمنة (Chronic infection) وتضم: التهاب الكبد المزمن بنوعية البسيط والفعال والذي غالبا ما يتطور إلى تشمع وسرطان الكبد (Sawke et al.,2010). تعد الإصابة مزمنة بوجود المستضد السطحي HBsAg في المصل لفترة أكثر من ستة أشهر أو وجود المستضد السطحي بغياب anit-HBc (IgM)، وتطور الإصابة المزمنة يختلف باختلاف العمر، فحوالي (25-50)% من الأطفال المصابين بين الأعمار من (5-1)سنة تتطور الإصابة المزمنة لديهم مقارنة (6-10)% في الشباب، ويعد الأفراد المصابين إصابة مزمنة بالفيروس تحت خطر التطور لأمراض الكبد المزمنة والتي تضم تليف الكبد وسرطان خلايا الكبد فقد أشارت الدراسات إلى أن 25% من الرضع والأطفال المصابين بالفيروس يتم تطور سرطان خلايا الكبد أو التشمع لديهم وبنسبة 15% لدى المراهقين. توجد عوامل أخرى متعلقة بالمضيف ربما تزيد من شدة الإصابة المزمنة والتي تضم الأمراض المزمنة مثل الفشل الكلوي ونقص المناعة الذاتي فضلا عن داء السكري (Parslow et al.,2001).

المرضى المزمنين والحاملين للإصابة قد يكونون بدون أعراض مع نسبة طبيعية لإنزيم ALT فضلا عن بعض التغيرات الطفيفة لخزعة الكبد أو قد يكونون مزمنين الإصابة مع تقدم تليف الكبد وسرطان خلايا الكبد. وقد تتطور الحالة إلى تليف الكبد في الحاملين للفيروس ويتم معرفة نشاط الكبد بواسطة التحري عن معدل ALT وتعد خزعة الكبد مهمة لتحديد شدة الحالة المرضية للكبد وتشخيص تليف الكبد. (Raimondo et al.,2010) .

Pathogenicity of virus

3.4.4.2. أمراضية الفيروس:

يعد فيروس التهاب الكبد نمط (ب) هو السبب الرئيس لأمراض الكبد المزمنة وكذلك لسرطان خلايا الكبد (Hepatocellular Carcinoma (HCC)، ووجد بدراسة علم الأحياء الجزيئي السبب للإصابة HCC يرجع لتوافر جين الفيروس HBX (Gervain *et al.*, 2001)، وعادة ما تكون نسبة سرطان الكبد في الذكور أعلى مما في الإناث والسبب يعود إلى أنه الاستروجين Estrogen يلعب دوراً أساسياً في تقدم المرض لكون مستقبل الاستروجين إلفا (ER Alfa) يعبر عنه في سرطان خلايا الكبد وهو مرتبط بتقدم وإدامة المرض، هذا بالإضافة لمستقبل آخر للاستروجين يسمى بيتا (ER beta) ولوحظ أن المستقبلين يعبر عنهما بإصابة الكبد المزمنة وفي حالة Neoplastic liver مما يؤدي إلى طرائق مختلفة العلاقة لتقدم المرض ووجود الورم مؤدياً إلى آليات مرضية مختلفة عند الإصابة بفيروس HBV & HCV وإعطاء كورس مختلف للورم (Yu *et al.*, 2003).

ويعد فيروس التهاب الكبد نمط (ب) هو المسبب المعروف للإصابة Membranous (MGN) Glomerulo Nephritis أو للإصابة بتكاثر غشاء الكبيبة Membrano proliferative Glomerulo Nephritis (MPGN) أو IgA Nephropathy (IgAN) وهذه الأمراض تكون مقترنة مع الإصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) وتؤدي إلى إصابة الكلى والتأثير فيها وهي أكثر انتشاراً في الآسيويين. كذلك لوحظ أن التهاب الكبد نمط (ب) يلعب دوراً مهماً في تطور تصلب الشرايين Atherosclerosis، ولاحظ العالم Ishizaka وجماعته توجد علاقة بين الأفراد المصابين بتصلب الشرايين carotoid arterio sclerosis والمصابين بالتهاب الكبد الفيروسي المزمن، فضلاً عن نسبة B-cell non- Hodgkin's lymphoma (BCNHL) تزداد في الأفراد الحاملين للفيروس وتعد نسبة BCNHL عالية في الأفراد الحاملين للفيروس ونسبة 12.6% (Kim *et al.*, 2002). هذا وتؤدي الإصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) إلى تكوين معقدات مناعية Immune complex (IC) في الجسم مما يؤدي إلى تفاعلات مناعية مختلفة منها ما يكون في الكلى مما يؤدي إلى أمراض مختلفة ومنها ما يكون أجسام مناعة ذاتية ولهذا فمن المهم التوقي من التهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) (De Mitri *et al.*, 2010).

4.4.4.2. التشخيص المصلي للإصابة بالتهاب الكبد نمط (ب) :

Serological profile of HBV infection.

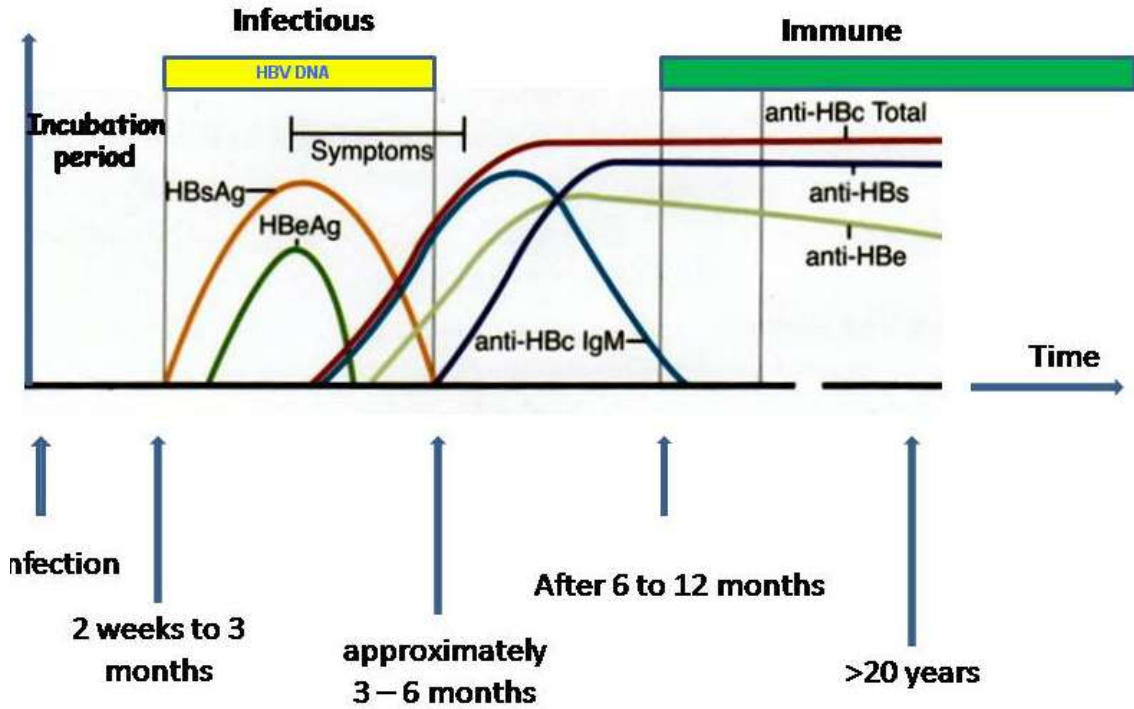
يشخص فيروس التهاب الكبد نمط (ب) بالكشف عن المعلمات الخاصة specific markers [المستضادات (Ag) أو/و الأضداد (Ab) Antibodies] في مصل المريض (Hollinger and Lind, 2001) ويتم التشخيص باستعمال الطرائق الآتية :

1.4.4.4.2. تقنية الاليزا اومقياسه الممتر المناعي المرتبط بالأنزيم :

Enzyme-liked Immunosorbent Assay (ELISA)

تستعمل هذه التقنية للكشف عن الضدات والمستضدات النوعية ،إذ تعد تقنية الاليزا تقنية غير مكلفة وملائمة للتشخيص الروتيني والكشف عن الإصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) كذلك فإنها ملائمة لدراسات المسح الجغرافي لتحديد الانتشار المصلي أو الوبائي للفيروس .

HBV antigens and antibodies in the blood



شكل (6-2) يبين أضداد ومستضدات HBV في الدم . (Ganem & Prince, 2004)

2.4.4.4.2. الكشف عن مستضد السطحي HBs Ag

وهي دلالة على الإصابة الحادة Acute أو المزمنة Chronic بالفيروس. يظهر المستضد HBsAg في المصل خلال (1-10) أسابيع بعد التعرض للإصابة الحادة بفيروس HBV كما مبين بالشكل (6-2) (Siki et al., 2005)

يصبح HBsAg غير قابل للكشف بعد (4-6) أشهر في المرضى الذين يتعافون من الإصابة بالتهاب الكبد نمط (ب)، في حالة بقاء HBsAg في المصل لأكثر من (6) أشهر فهذا يشير إلى تحول الإصابة إلى مزمنة Chronic infection وفي الإصابة الخفية يكون غير موجود على الرغم من وجود DNA الفيروس، ويمكن الكشف عن HBsAg بالعديد من التقنيات المستعملة مثل الفحوصات المناعية المشعة (Radio Immuno Assays (RIA) والاليزا (ELISA) (Lok, 2001)

3.4.4.4.2. الكشف عن المستضد الغلافي : HBe Ag

بظهر المستضد بعد مستضد HBsAg بقليل خلال (2-3) أشهر ويتضمن التحري عن المستضد e للفيروس HBV ويعرف هذا المستضد بقابلية الفيروس العالية للإصابة والانتقال بشكل عمودي من الأم إلى الطفل vertical transmission ، ومن المرضى إلى العاملين في المراكز الصحية وعلامة على تضاعف الفيروس (Lok,2001) . يرتبط وجود HBeAg مع تحديد HBV-DNA في المصل . يجري فحص HBeAg بتقنية الاليزا، التحول المصلي لمستضد HBeAg إلى أضداده AntiHBe بصورة مبكرة في المرضى المصابين إصابة حادة قبل إن تتكون أضداد المستضد السطحي anti-HBsAb خلال (4-6) أشهر بينما يصبح التحول المصلي HBeAg متأخرا في المرضى المزمنين، وجود HBeAg يكون مرتبطا مع تحديد HBV-DNA في المصل وإمراض الكبد الفعالة Active liver disease (Fang et al.,2009) . المرضى الذين يحصل لديهم تحول مصلي HBeAg ورغم هذا نجد لديهم أمراض حادة ونستطيع تحديد HBV-DNA ، يعود السبب في ذلك إلى حدوث طفرة في شفرة التوقف في المنطقة المسؤولة على منع إنتاج HBeAg أو وجود مستويات واطئة من الطراز البري للفيروس، وفي الإصابة الخفية قد يكون موجود أو لا ، أضداد المستضد e متواجد في اللب وتواجده يدل على نقاهة Convalescence والتقدم الجيد للمرض Favorable prognosis بعد (6-8) أسابيع من الإصابة (Manesis and Hadjiyannis,2001).

4.4.4.4.2. الكشف عن المستضد اللبي : HBcAg

وهذا المستضد لا يظهر بالمصل وإنما موجود فقط في خلايا الكبد المصابة Hepatocytes ويمكن التحري عنه بالخزعة الكبدية ولا يعد كعلامة مصلية. (Lok,2001) أما الفحوصات المختبرية المستخدمة للكشف عن أضداد الفيروس في مصل الدم فهي:-

5.4.2. الضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب) :

وهو دلالة على الإصابة الحادة بالفيروس، كونه أول الضدات التي تظهر بعد الإصابة ويظهر خلال (2-5) شهر ويختفي بعد (٦) أشهر. فحص التحري عن الضدات النوعية IgM للـ فيروس يشخص الإصابة الحادة بشكل موثوق به وخاصة خلال فترة ما بين اختفاء المستضد السطحي HBsAg و ظهور الضدات السطحية للمستضد السطحي antiHBs ، وتتوافر الضدات خلال الإصابة الخفية نتيجة انتعاش الفيروس. (Hollinger and Liang,2001) .

1.5.4.2. الضدات النوعية IgG للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب):

ويعد علامة مصلية طول فترة الإصابة بالفيروس ممكن توافرها وهو دلالة على الإصابة الحادة أو المزمنة ويظهر خلال الشهر الرابع من الإصابة ويستمر لمدى الحياة (Havey et al.,2007).

2.5.4.2. ضادات المستضد السطحي AntiHBs

تواجهه دلالة على الاستجابة المناعية للفيروس Immunity to HBV أو دلالة على الإصابة القديمة أو التلقيح، ويظهر خلال (3-6) شهر من الإصابة ويبقى على مدى الحياة (Heo et al.,2003).

هناك فحوصات إضافية للتأكد من الإصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) تضم ما يأتي:

5.2. فحص تفاعل البلمرة المتسلسل

Polymerase Chain Reaction(PCR)

هو تقنية خارج الخلايا التي تسمح بإكثار منطقة معينة للحامض الريبوزي منقوص الأوكسجين DeoxyriboNucleic Acid (DNA) (Kaneko et al.,2000). يضخم PCR جزيئه الدنا بمساعدة قطعة صغيرة من النيكلوتيدات تدعى بادئ القراءة (primer) وهو جزيئه قصيرة من شريط مفرد معروفة التسلسل بوجود القالب (temple) تقنية PCR يمكن أن تحدد DNA الفيروسي حتى خلال الأيام الأولى من المعالجة الخاصة بالعلاج المضاد للفيروس. (Gerlich et al.,2010; Rodrigues et al.,2001).

ويمكن إن يكشف عن وجود مستوي واطئ من الطور الفيروسي virema في مجرى الدم في مرضى التهاب الكبد الفعال Active liver disease بينما عند استخدام تقنية Hybridization تكون النتيجة غير موجبة. PCR مفيد في تقييم الإصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) عند عمليات نقل الكبد (liver transplantation)، وفي تقييم العلاجات ضد الفيروس وفي تحديد التهاب الكبد الحاد والمزمن (Rodrigues et al.,2001;Siki et al.,2005). معظم الفحوصات الحساسة والمباشرة لتضاعف HBV-DNA طورت على أساس تقنية liquid hybridization (Siki et al.,2005). يستطيع PCR أن يحدد دنا الفيروس لمتبرعي الدم الذين لا يظهرون علامات مصلية موجبة (El Chaar et al.,2010;Lok,2002).

يتحرى عن دنا الفيروس بطرق أخرى منها؛ Dot blot, Liquid Hybridization Southern blot Northern blot, Signal Amplification Branched DNA. هذا فضلا عن التحري بإجراء الخزعة النسيجية للكبد لمعرفة مرحلة ودرجة التلف في خلايا الكبد. يشخص فيروس التهاب الكبد نمط (ب) بواسطة التقييم الكيمائيوي Biochemical لوظائف الكبد، التقييم المختبري الأولي يجب أن يتضمن فحص البيليروبين المباشر Direct bilirubin ،فحص Alanine aminotransferase(ALT) ،فحص Alkaline phosphatase(ALP) ، فحص Aspartate amino transferase(AST) ،

فحص البروتين الكلي، فحص البومين Albumin ، وفحص الكلومبين Globulin، والعد الكامل للدم، وفحص Erythrocyte sedimentation Rate(ESR) (Hollinger and liang,2002) .

1.5.2. التهاب الكبد الفيروسي الخفي نمط (ب) : Occult

HBV Infection (OBI)

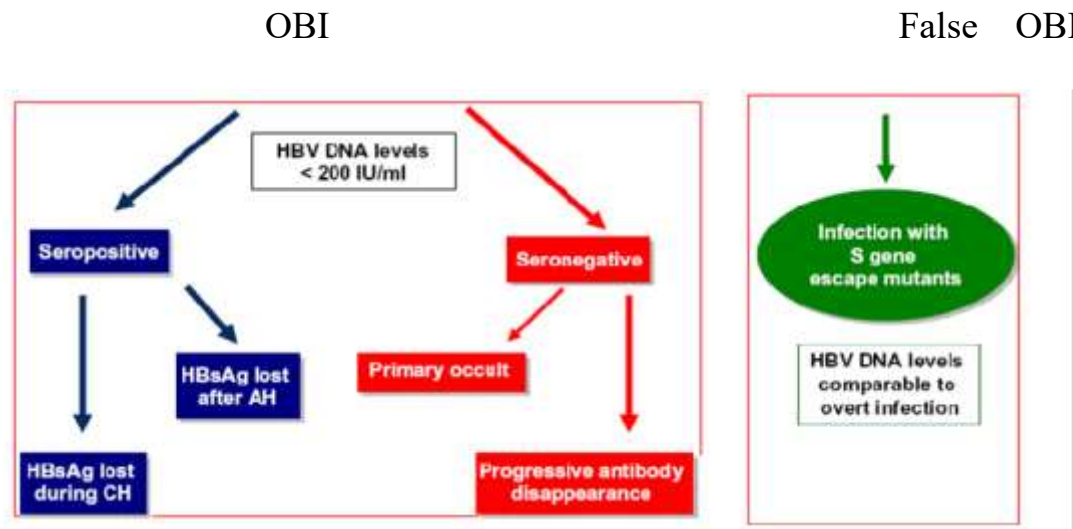
يعرف التهاب الكبد الخفي بأنه: وجود دنا فيروس التهاب الكبد نمط (ب) في مصل المريض دون وجود المستضد السطحي HBsAg ومع أو بدون وجود الضدات النوعية IgM لللب الفيروس أو الضدات السطحية AntiHBs خارج التحولات المصلية في فترة النافذة (Window period) بالفترة التي تلي فترة التحسن Recovery period ، ويعرف OBI أيضا: هو وجود دنا الفيروس في الكبد (وجوده أو عدم وجوده في المصل) للأشخاص الذين يعطون نتيجة سالبة في فحص التحري عن المستضد السطحي HBsAg بالفحوصات المتوافرة حاليا (الاليزا) بحيث تكون كمية دنا الفيروس في المصل قليلة جدا (أقل من 200 IU/ml) (Raimondo et al.,2008) .

ميزت الإصابة بالتهاب الكبد الخفي نمط (ب) قبل 20 سنة تقريبا تزامنا مع التطور الذي حصل في الفحوصات تضخيم المورثات وفحوصات المصلية والجزيئية الحساسة، يعتمد تردد حدوث التهاب الكبد الخفي نمط (ب) على الحساسية النسبية للفحوصات (PCR,ELISA) بين كل من HBsAg و DNA ، وعلى مدى انتشار التهاب الكبد نمط (ب) الحاد والمزمن بين السكان (Anbazhagan et al.,2010) .

خطر الإصابة بالتهاب الكبد نمط (ب) المنقول من خلال عمليات نقل الدم -Transfusion-transmitted HBV infection منذ عام 1970 بدء يقل بسبب الفحوصات المتبعة لمتبرعين الدم الذين يجرى لهم فحص HBsAg (Hennig et al.,2002) ، لذلك الطرق المصلية قللت الإصابة بالتهاب الكبد نمط (ب) المنقول من خلال عمليات نقل الدم ، ولكن بعض عينات الدم التي تعطي نتيجة سالبة لفحص HBsAg مازالت تحت على انتشار الإصابة الماضية Post transfusion HBV لمستلمين الدم (Allain,2004) هذه العينات السالبة لفحص HBsAg تكون مصدر لنقل الإصابة الخفية، وخصوصا في المرضى الذين لديهم نقص مناعي . يستخدم فحص التحري عن الضدات اللبية Anti-HBcIgM للكشف وتحديد المرضى في بعض وحدات التبرع (Brecht et al.,2001) . تعتبر الضدات اللبية Anti-HBc (IgM,IgG) علامة مهمة للكشف في حالة الإصابة الحادة والمزمنة بالتهاب الكبد نمط (ب) وبينما الضدات اللبية AntiHBcIgG تبقى قادرة على الكشف والتحديد لمدى الحياة ، ويمكن للضدات اللبية Anti-HBc أن تبقى في حالة غياب HBsAg , Anti-HBsAb ، خلال

فترة النقاهة التي تلي الإصابة الحادة، وفي المرضى الإصابة المزمنة الذين لا يمكن تحديد Anti-HBsAb، ولهذا فإن Anti-HBc تحدد الإصابة في أي شخص قد أصيب بالتهاب الكبد نمط (ب) (Levicnik *et al.*,2008).

على المدى البعيد للإصابة OBI فإن الفيروس يبقى موجوداً داخل الكبد، وعلى الأساس الجزيئي يبقى الفيروس موجوداً داخل نوى الخلايا الكبدية حيث يرتبط الفيروس مع الخلايا الكبدية -HBV [HBV-cccDNA] (HBV-cccDNA) DNA Circular Closed Covalently . (Chen *et al.*,2010).



شكل (7-2) مخطط يمثل OBI-HBV والخاطئ False OBI (Raimondo *et al.*,2008)

أما على أساس الضدات فقد ميزت الإصابة الخفية إلى Seropositive-OBI (وجود AntiHBs و AntiHBc) و Seronegative-OBI (عدم وجود AntiHBs و AntiHBc). في حالة Seropositive يصبح HBsAg سالب في المصل بعد أشهر قليلة من الإصابة الحادة أو بعد سنوات عدة من الإصابة المزمنة كما مبين بشكل (7-2) (Shire *et al.*,2007). أما في حالة Seronegative فإن الأضداد تفقد تدريجياً بتقدم المرض أو أن الضدات (AntiHBc, AntiHBs)

لشخص المصاب سلبية منذ بداية المرض. في حالات معينة نجد HBV-DNA في مصل المريض بمستويات مقاربة إلى التي تحدد في أطوار مختلفة وواضحة مصليا وفحص HBsAg سالب، بالرغم من هذا يعدّ خاطئاً (False OBI) بسبب إصابة HBV بطفرات هاربة (Escape mutants) في جين S يؤدي إلى إنتاج HBsAg متحول لا يمكن الكشف عنه بواسطة بعض الفحوصات مثل الاليزا كما موضح بشكل (7-2). (Gupta and Singh, 2006)

2.5.2. الآليات التي تؤدي إلى الإصابة بالتهاب الكبد الخفي نمط (ب)

هناك أربع آليات رئيسة تؤدي إلى OBI، ثلاث منها مرتبطة بالأفراد المصابين بشكل مزمن (Allain, 2004) :-

1. عدم القدرة على كشف HBsAg في نهاية المرحلة المزمنة على المدى البعيد لطور عدم التكاثر Non-replicative phase ويتلوه تحول AntiHBe .
2. حدوث طفرات هاربة (Escape mutants) تتداخل أو تؤثر في تصنيع HBsAg ولا يمكن تحديده باستعمال فحوصات المصلية المختلفة، أشكال الطفرات التي تصيب الغلاف الفيروسي التي تؤثر على تمييز الأجسام المضادة، ولقد سجلت توافر طفرات مفردة أو مزدوجة الموقع في المستضد السطحي HBsAg وفي مجاميع الخاصة "a". أذما أصيب متبرعو الدم بمثل هذه الطفرات بمستضداتهم السطحية فإن الفحوصات المصلية HBsAg تكون سلبية، وبذلك تؤثر على أمان تجهيز الدم (Kirk et al., 2004) .
3. تداخل فيروسات أخرى في تضاعف HBV، مبدئيا تداخل فيروس HDV المعيب (الناقص)، ومن المحتمل فيروسات أخرى .
4. الآلية الأخيرة تحدث في الأشخاص الذين تعافوا من الإصابة الحادة بينما يبقى الفيروس مختبئاً في أنسجة الكبد ولكن من حين لآخر يظهر في الدم.

1.2.5.2. الطفرات : Mutations

حدوث الطفرات لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) يتداخل مع التضاعف الفيروسي وتميز مستضد السطحي HBsAg في التحليلات المصلية، على أي حال عندما نحدد DNA الفيروسي بدون وجود HBsAg يدل ذلك على وجود عدة طفرات تبين هذا التناقض :

أولاً: طفرات متداخلة مع تضاعف الفيروس في منطقة قبل اللب (pre core (pc حيث تحصل هذه الطفرات في شفرة التوقف الكلاسيكية (Classical 1896 stop code) أو ربما تحصل الطفرات في منطقة الصندوق الكاذب لمشغل اللب الأساسي [Basic core promoter (BCP) pseudo TATA box region] التي يبدأ عندها تصنيع جزيئة RNA الأولية (Chemin and Trepo, 2005). تتعارض كلا الطفرتين مع الأدلة بخصوص تأثيرها على تضاعف الفيروس لان طفرة pc1896 ترتبط

مع حدوث Anti-HBe وتناقص السريع لكمية HBV-DNA وكذلك الحال مع شفرة (BCP) فهي مرتبطة مع انخفاض كمية HBV-DNA (Pang et al.,2004) .

ثانياً: طفرات تحصل في منطقة pre-s region، شفرات pre-S1 تشفر لبروتينات الطويلة، وفي حالة غياب استنساخ pre-S1 بسبب شفرة التوقف أو بسبب حذف منطقة كبيرة من الجين فإن ذلك يؤثر على تضاعف الفيروس ويقلل من إنتاج HBsAg (Morsica, 2009) . لقد لوحظ بأن وجود طفرة بنكلوتيدة واحدة في pre-S1 أو حذف (9-15) نكلوتيدة عند موقع (58-95) أو حذف في pre-S1\pre-S2 كالذي يحدث في حالات الإصابة بالتهاب الكبد الخفي نمط (ب) فإن ذلك يؤثر على تضاعف الفيروس ويقلل من أنتاج المستضد السطحي (Chaudhuri et al.,2004) .

ثالثاً: تأثير تتابع الأحماض الأمينية في منطقة مستضد (a) الموجود على جين (S) (Weinberger et al.,2000) ، عند حصول تطفير في الساق الثالثة أو الرابعة لمستضد (a) عند aa 124-147) سوف يؤثر على تحويل المحددات المستضدية (epitop) وعدم تميزها بواسطة الضدات الخاصة بها كالتطفير الذي يحصل تحت الموقع للسيستين (Cysteines) عند موقع 145 ومن ثم يؤثر على عدم القدرة على تميز المستضدات (Said et al.,2009) .

2.2.5.2. الآليات التي تؤدي إلى أظهار التهاب الكبد الفيروسي الخفي:

خطر إنعاش فيروس التهاب الكبد نمط (ب) في المرضى المصابين OBI مهم فالإخماد القوي لتضاعف الفيروس وتوقف التعبير الجيني بواسطة الجهاز المناعي للمضيف ربما لا يستمر ويؤدي إلى تطور المرض من جديد، وتلاحظ هذه الحالة عند المرضى المصابين بفيروس نقص المناعة المكتسبة البشري (HIV) ومرضى السرطان وكذلك الأشخاص الذين خضعوا لعمليات نقل الأعضاء مثل (الكبد، والكلى، ونخاع العظم) ويأخذون علاجات تثبيط مناعي لتمكينهم من عدم رفض الجسم للأعضاء المنقولة وفي الوقت نفسه تعمل على إضعاف الجهاز المناعي ومن ثم أظهار التهاب الكبد الخفي نمط (ب) ومن أهم الآليات التي تؤدي إلى الإظهار هي :

١. تثبيط مناعي لجهاز مناعة المضيف بعوامل السايوتوتوكسيك (Cytotoxic) التي تعزز تضاعف

الفيروس وتؤدي إلى أضرار بالكبد (Allain et al.,2005)

٢. تعمل عوامل الإخماد المناعي (Cytotoxic) على إخماد وظائف الخلايا التائية المناعية-T

ويقلل من الخلايا البائية المناعية B-cell

(Kleinman et al.,2003).

3.5.2. وبائية فيروس التهاب الكبد الخفي نمط (ب) :

Epidemiology Occult HBV

الإصابة الخفية بالتهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) تنتشر حول العالم بالرغم أن توزيعه يعكس الانتشار العام للإصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) في المناطق الجغرافية (Raimondo et al.,2007). وبائية الإصابة الخفية تعتمد على طرق انتقال الإصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب)، فالانتقال العمودي والانتقال الأفقي قبل عمر 5 سنوات يتردد في الإصابات المزمنة بالاعتماد على الأنواع الجينية، ويكون الانتقال بواسطة الجنس أو الحقن الوريدي بالمخدرات في البالغين وهو المسيطر في المناطق عالية الانتشار، وفي حالات الشفاء غير التام من مرض نجد في البعض منها وجود للإصابة الكامنة (Allian,2004)، وفي المرضى المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي نمط (ج) لوحظ عند صنف معين منهم انتشار عالي للإصابة الخفية بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) (Raimondo et al.,2007)، وبشكل خاص وجد دنا فيروس التهاب الكبد نمط (ب) في ثلث الأشخاص الذين يكونون سالبين لفحص المستضد السطحي HBsAg وبنفس الوقت حاملين لفيروس التهاب الكبد نمط (ج) في منطقة حوض البحر المتوسط، وهذا الانتشار أعلى حتى في البلدان الشرق الأقصى الآسيوية (Torbenenson et al.,2002). يبدو انتشار الإصابة الخفية بالتهاب الكبد نمط (ب) مرتفعة جداً في المرضى بأمراض الكبد الوراثية الغامضة Cryptogenic liver disease، خصوصاً في الذين لديهم تليف كبدي وقد لوحظت الإصابة الخفية بين متبرعي الدم بشكل كبير في الدول النامية بينما تكون نادرة الحدوث في الدول الغربية (Raimondo et al.,2007). يتفاوت انتشار OBI بشكل ملحوظ في المناطق الجغرافية وأيضاً بين سكان المرضى المفحوصين، ويوعز هذا الاختلاف إلى نوع الفحص المستخدم روتينياً أو فحص الحامض النووي (NAT) Nuclic acid test ، وعموماً بلغت نسبة الإصابة OBI (0.1-2.4) في الأشخاص السالبين لفحص المستضد السطحي HBsAg (Hollinger et al.,2010).

إن معدل انتشار الضدات اللبية الكلي Anti-HBc قليل في أوروبا وأمريكا الشمالية و معدل انتشار الموجب لفحص Anti-HBc بين متبرعي الدم الذين يظهرون نتيجة سالبة لفحص HBsAg بلغ 0.56% في المملكة المتحدة، و 8.4% في الولايات المتحدة (Kleinmans,2000)، وفي ألمانيا 1.4% (Henning et al.,2002)، 15.03% في اليونان (Zervou et al 2001)، و 1.13% في كندا (O'Brien et al.,2007)، وأقل من 2% في سويسرا (Henning et al.,2002)، وفي متبرعي الدم الإيطاليين 4.85% (Paola et al.,2007). معدل الموجب لفحص Anti-HBc في مناطق الانتشار العالي بالإصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) فان يتراوح من 20% إلى 70%. العديد من الدراسات التي أجريت في إيران وجدت انتشار مختلف في معدل Anti-HBc حيث يتراوح من 5.18% إلى 8% (Jafarzadeh et al.,2008) بينما في الهند 18.9% وفي باكستان 17.28%

(Mohammad *et al.*,2010) ، و 20% في تركيا (Duygu *et al.*,2007) ، و 7.6% في غانا (Allain *et al.*,2003) .

معدل الانتشار الموجب لفحص AntiHBc (IgM) في بعض الدول العربية كان 17.4% في المملكة العربية السعودية (Ankra-Badu *et al.*,2001) ، 20.5% في عمان (Geraldine *et al.*,2006) ، وفي مصر 11.54% (El-Zayadi *et al.*,2008) ، وفي لبنان 3.7% (Ramia *et al.*,2005) . علاوة على ذلك فإن النسبة المئوية للعينات التي تحتوي على دنا فيروس التهاب الكبد نمط (ب) في كل من المتبرعين بالدم وعامة السكان تتراوح بين (0 إلى 7.7) % في المناطق ذات الانتشار المنخفض بالإصابة بالتهاب الكبد نمط (ب)، بينما في مناطق الانتشار العالي بالإصابة HBV مثل غانا، فإن تواجد دنا فيروس التهاب الكبد نمط (ب) و AntiHBc (IgM) تزداد إلى 12.7% ، هذه التناقضات في نسبة OBI يعود سببها إلى التنوع الانتشار بالإصابة بالتهاب الكبد نمط (ب) في البلدان المختلفة وكذلك إلى حساسية التقنيات الجزيئية المستعملة لكشف الإصابة ، وحجم ومميزات الفيروسية لمجاميع المرضى (Amitis *et al.*,2010) .

نسبة انتشار الإصابة الخفية بالتهاب الكبد نمط (ب) لمتبرعي الدم كانت في البرازيل 0.1% (Almeida-Netoc *et al.*,2001) ، وفي الصين 0.3% (WHO,2004) ، وفي اليابان 1.1% (Sato *et al.*,2001) ، وفي غانا 12.7% (Allain *et al.*,2003) ، وفي تايوان 0.11% (LiL *et al.*,2008) ، وفي السعودية 1.25% (Abdel-Rahman *et al.*,2002) ، وفي مصر 1.26% (El-Zayadi *et al.*,2008) ، وفي لبنان 5.4% (Ramia *et al.*,2005) وفي فلسطين التي تعد من البلدان المتوسطة الوبائية حسب تصنيف منظمة الصحة العالمية كانت 3.4% (WHO ,2011) ، وفي المناطق عالية الانتشار ومن خلال الكشف عن دنا الفيروس باستخدام تقنية PCR كانت النسبة تتراوح ما بين (4-24) % في كل من الهند (Mohammad *et al.* ,2010) ، و تايوان (LiL *et al.*,2008) ، واليابان (Sato *et al.*,2001) ، وساردينا (Allain *et al.*,2004) وفي غرب أفريقيا 5% (Zahn *et al.*,2008) .

4.5.2. تشخيص التهاب الكبد الفيروسي الخفي نمط (ب) Diagnosis of occult HBV infection

يعتمد تشخيص الإصابة الخفية بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) على الحساسية التفاضلية بين فحص HBsAg وفحص HBV-DNA ، معظم الدراسات في هذا الحقل وثقت على اعتبار فحص HBV-DNA تشخيص موثوق به وعلامة دالة على الإصابة الخفية بالتهاب الكبد نمط (ب) ، أما فحص AntiHBc(IgM) يستخدم كعلامة مثالية بديلة لتمييز Seropositive OBI في حالات الدم ، والنسيج،

والتبرع بالأعضاء وفي الأشخاص الذين يأخذون علاجات تثبيط مناعي (Raimondo *et al.*,2008).

يتميز OBI بان حمولته الفيروسية في الدم قليلة، لذلك يوصى وبشدة على استخدام فحوصات ذات حساسية عالية وخاصة المستندة على أساس (Nested) أو (Real time) لتقنية PCR ويستخدم قواعد نروجينية قليلة (Oligonucleotide) كبادئ خاص لمختلف المناطق الجينية للفيروس ومتكاملة ومحفوظة بشـ كل كيبـر (shared) (Genotype) (Raimondo *et al.*,2008).

5.5.2. التأثير السريري: Clinical impact

علاقته الرئيسية بقوة الإخماد لنشاط الفيروسية بواسطة المراقبة المناعية للمضيف التي من المحتمل أن تلعب دوراً مهماً. على أي حال، هذه الحالة من الإخماد لتضاعف الفيروس والتعبير الجيني ربما لا تستمر، ويؤدي ذلك إلى تطور التهاب الكبد الفيروسي المثالي الذي في أغلب الأحيان يكون حاداً وفي بعض الأحيان يكون مميتاً (Fulminant) (Paola *et al.*,2007; Chemin and Trepo,2005). تلاحظ هذه الأحداث في المرضى تحت تأثير إخماد مناعي بسبب تناول المريض العلاج أو بسبب أمراض معينة تصيب الجهاز المناعي وفي حقيقة الأمر يصبح الأشخاص الحاملين للإصابة OBI ضعفاء مناعياً وربما يلاحظ إظهار لتضاعف الفيروس بسبب عيب بالجهاز المناعي (Lalazar *et al.*,2007). إن العديد من الدراسات في مختلف المناطق الجغرافية بينت وجود ارتباط بين OBI وأمراض الكبد الحادة وخاصة المرضى المصابين بالالتهاب الكبد نمط (ج)، ويقترح أن OBI ربما يعجل تليف الكبد، فضلاً على ذلك، فإن ارتباط OBI مع أمراض الكبد الوراثية المخفية يعجل أيضاً تليف الكبد وعامل خطورة لتطور سرطان الكبد (Schiittler *et al.*,2002).

1.5.5.2. الاستجابة المناعية الذاتية والمكتسبة لمرضى التهاب الكبد الفيروسي نمط (ب)

الكبد عضو حيوي وغني بخلايا مناعية مثل الخلايا القاتلة الطبيعية (NK) Natural Killer ومجاميع خاصة لخلايا بلعمية تدعى خلايا كوبفر (Kupffer) (Rehermann,2003). عند الإصابة الفيروسية للكبد فإن خط الدفاع الأول تقوم به الخلايا المصابة نفسها حيث تعمل على إنتاج الانترفيرون (IFN) بيتا وألفا، بالإضافة إلى مضادات فيروسية مباشرة التي تعمل على تنشيط الخلايا البلعمية التي بدورها تنشط السايكوكينات (Cytokines) والكيموكينات Chemokines.

تلعب الاستجابة المناعية الخلوية المكتسبة دوراً مهماً في دفاعات المضيف ضد الإصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) حيث تعمل الخلايا التائية ومعلماتها مثل CD4T و CD8T على إنتاج الانترفيرون

و(TNF) Tumer Necrosis Factor التي تثبيط تضاعف الفيروس والتعبير الجيني (Maini et al.,2000).

2.5.5.2. تفاعل فيروسين HBV ,HCV داخل المضيف :

وثقت بعض الدراسات خارج الجسم بان بروتين اللب لفيروس التهاب الكبد نمط (ج) يوقف تضاعف فيروس التهاب الكبد نمط (ب) (Chen et al.,2003) ، ولكن هذه النتائج لم تؤكد في أكثر الدراسات الحديثة ولم توضح التفاعل الصغير أو الملغي بين HBV,HCV في مزارع الخلايا Huh7 cells culture (Mina, 2010).

وجد العالم (Jardi et al.,2001) بان فيروس التهاب الكبد نمط (ج) له تأثير مثبط قوي على تضاعف فيروس التهاب الكبد نمط (ب) للأشخاص المصابين بالإصابة المتزامنة، وأجرى العالم Alberti وجماعته دراسة 35 مريضاً لديهم أعراض التهاب كبد حاد وعلامات على وجود إصابة نشطة متزامنة، وبالمتابعة طويلة المدى على هؤلاء المرضى وجد أن معدل الإصابة المزمنة تشابه تلك التي في المرضى المصابين بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) لوحده وبفيروس التهاب الكبد نمط (ج) لوحده. على الرغم من هذا فان خطر التهاب الكبد المميت Fulminant أشبه المميت Subfulminant يزداد في حالات الإصابة الحادة بفيروس HCV والإصابة المزمنة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) الإصابة المتزامنة تزيد من خطر التراكمي العالي لتليف الكبد وسرطان الكبد وبمعدل اكبر مما تسببه الإصابة المتزامنة بفيروس HDV (Liaw et al.,2004).

3.5.5.2. الإصابة المتزامنة بين الإصابة المزمنة بفيروس التهاب الكبد نمط (ج)

وإصابة الخفية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب)

تفسر الإصابة المتزامنة بفيروس التهاب الكبد نمط (ب)(ج) سويما النسبة الكبيرة لانتشار أمراض الكبد حول العالم، وتحدث الإصابة بسبب وجود طرق مشتركة ومتشابهة لانتقال الفيروسين . الإصابة المشتركة لفيروسين HBV,HCV ليست واسعة (Yuen et al.,2010).

نسبة المرضى بالإصابة المتزامنة غير معروفة ، ففي مرضى التهاب الكبد HBV المزمن وجد أن نسبة المرضى بالتهاب الكبد نمط (ب) المزمن وجد أن نسبة المرضى بالتهاب الكبد نمط (ج) المرافق لفيروس نمط (ب) تتراوح ما بين 9% إلى 30% (Sagnelli et al.,2002). إنَّ القلق الأساسي من الإصابة المشتركة يعود إلى أن هذه الإصابة تؤدي إلى

أمراض كبد حادة ومن ثم تزيد خطر تعاقب سرطان الكبد وكذلك تزيد من معدل الفشل العلاجي (Gutierrez et al.,2011)

وجد العالم Cacciola وجماعته (2000) من خلال دراسته على مرضى مصابين بفيروس التهاب الكبد نمط (ج) المزمن والإصابة الخفية بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) بان معدل التليف الكبدي لهم أعلى من المرضى المصابين بفيروس التهاب الكبد نمط (ج) المزمن فقط ، وعلى النمط نفسه أجرى العالم Mrani وجماعته (2007) دراسته على 203 من المرضى الفرنسيين المصابين بالتهاب الكبد نمط (ج) فوجد 23% موجبين للإصابة الخفية بفيروس التهاب الكبد نمط (ب).

4.5.5.2. تأثير الإصابة الخفية لالتهاب الكبد نمط (ب) على خطر تطور سرطان الكبد في المرضى الحاملين HCV المزمن :

هناك علامات تدل على وجود ارتباط بين سرطان الكبد والإصابة الخفية لالتهاب الكبد نمط (ب)، ومن الشواهد المقنعة التي تثبت وجوده عن طريق وجود آليات متسرطنة منها قدرة فيروس التهاب الكبد نمط (ب) الخفي على الارتباط مع DNA لخلايا كبد المضيف وإنتاج بروتينات متحولة Transforming proteins لذلك تعد الإصابة الخفية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) عامل خطورة لزيادة سرطان الكبد في مرضى التهاب الكبد نمط (ج) (Pollicino et al.,2004) .

أجريت دراسات في مراكز عدة لمجموعة من المرضى بالتهاب الكبد نمط (ج) المزمن والتهاب الكبد الخفي نمط (ب) (الذين يكون فحص HBsAg ,HBV-DNA سالب بينما فحص Anti- IgM HBc موجب) وجدوا أن المرضى HCV المزمن لديهم علاقة بتليف الكبد والصدات اللبية Anti- HBc تكون عامل خطر لتطور HCC (Sav, 2010) .

المرضى الذين لديهم فحص Anti-HBc موجب وكانت لديهم استجابة سابقة للعلاج بالانترفيرون Interferon(IFN) يكون لديهم ارتباط بتطور HCC . تم إجراء فحوصات للكشف عن سرطان الكبد على (40) شخص لديهم تليف كبدي مرتبط بوجود التهاب الكبد نمط (ج) والإصابة الخفية بفيروس التهاب الكبد نمط (ب) فوجدوا أن معدل الإصابة بسرطان الكبد عالي جدا حيث بلغت نسبته 59% بينما (40) مريض بالتهاب الكبد نمط (ج) بدون الإصابة بالتهاب الكبد نمط (ب) إذ كانت 36% (Matsuoka et al.,2008; Tamori et al.,2009).

هناك عوامل مستقلة ومهمة تؤثر في ظهور وتطور سرطان الكبد منها؛ وجود التهاب الكبد الخفي نمط (ب) ، وارتباط نسبة ALT (أكثر من ٨٠ IU/L) في مرحلة تليف الكبد وبعد اخذ العلاج (IFN) (Gupta and Singh, 2010) . بالإضافة إلى ذلك فان تركيز فيروس التهاب الكبد نمط (ب) القليلة

5.5.5.2. وبائية الإصابة المتزامنة

٣. المواد وطرائق العمل

1.3. المواد

1.1.3. الأجهزة والمستلزمات المختبرية:

الأجهزة والمستلزمات المختبرية التي استعملت في أثناء الدراسة كما مبين في الجدول (1:3)

جدول (1:3) الأجهزة والمستلزمات المختبرية المستعملة في الدراسة.

الشركة المصنعة ومنشأها	الأجهزة والمستلزمات المختبرية
ابندروف Eppendorf (ألمانيا)	جهاز طرد مركزي صغير Microfuge
Hittich (ألمانيا)	جهاز الطرد المركزي centrifuge
Thermaks (ألمانيا)	حاضنة Incubator
Helmar (فرنسا)	Deepfreeze (-٢٠ م°)
عشتار (العراق)	Freezer (-٥ م°)
Hitachi (يابان)	ثلاجة
(USA) Biotek	منظومة الاليزا ELISA
Eppendrof (ألمانيا)	جهاز PCR (Thermocycler)
Optima (اليابان)	جهاز الترحيل الكهربائي الهلامي
	Gel electrophoresis apparatus
Optima (اليابان)	UV Transilluminator
Labinco (ألمانيا)	الصفحة الحارة Hot plate stirrer
Stuart scientific (UK)	جهازا الرجاج Vortex
Sartorius (ألمانيا)	ميزان حساس
Biosan (USA)	حمام مائي
Satorius (ألمانيا)	مقياس الدالة الحامضية pH meter
Biosan (USA)	جهاز التعقيم (المؤصدة)
Barnstead international (USA)	فرن كهربائي (Oven)
Mmk (الصين)	ماصات أوتوماتيكية
Eppendorf (ألمانيا)	أنابيب ابندورف Eppendorf Tubes
Sony (اليابان)	كاميرا
Termaks (ألمانيا)	ساعة توقيت

Chemicals

2.1.3. المواد الكيميائية :

المواد الكيميائية التي استخدمت خلال الدراسة كما مبين في جدول (2:3) .

جدول (2:3) المواد الكيميائية المستخدمة خلال الدراسة

المواد الكيميائية	الشركة المصنعة ومنشأها
مسحوق (هايبوكلورات) Tris	Himedia Laboratories (الهند)
مسحوق اسيتات الصوديوم	Riedel-De Haen (ألمانيا)
مسحوق EDTA	Thomas baker (الهند)
مسحوق هيدروكسيد الصوديوم NaOH	Scharlau (اسبانيا)
مسحوق الاكاروز Agaros	Scharlau (اسبانيا)
مسحوق صبغة انثيديوم بروما يد	Himedia Laboratories (الهند)
محلول حامض الهيدروكلوريك HCL	Himedia Laboratories (الهند)

3.1.3. العدد التشخيصية المختبرية:-

العدد المختبرية التي استخدمت في الدراسة كما مبين في جدول (3.3)

جدول(3:3) العدد المختبرية التي استخدمت في الدراسة

العدد التشخيصية المختبرية	الشركة المصنعة ومنشأها
عدة الاليزا ELISA لتحري عن ضادات النوعية للـب الفيروس Anti-HBc IgM (ELISA)	DRG (ألمانيا)
عدة الاليزا ELISA لتحري عن المستضدات السطحية HBsAg (ELISA)	DRG (ألمانيا)
عدة الاليزا ELISA لتحري عن الضادات السطحية Anti-HBsAb (ELISA)	DRG (ألمانيا)
عدة PCR HBV 470\770 IC	Sacace (ايطاليا)
عدة استخلاص DNA-Sorb-B	Sacace (ايطاليا)

2.3. مجاميع الدراسة : Study groups

أجريت الدراسة الحالية في مدينة بعقوبة للفترة الأول من حزيران 2011 إلى الأول من نيسان 2012. تضمنت الدراسة مسح للأشخاص الأصحاء ظاهرياً من متبرعي الدم في مصرف الدم الرئيس في بعقوبة، حيث تم سحب عينة من الدم الوريدي باستخدام محاقن بلاستيكية بحجم (5cc) بعد تعقيم منطقة السحب بكحول الايثانول 70% ووضع الدم بأنابيب اختبار بلاستيكية نبيذه وذات غطاء محكم ومن ثم تركت الأنابيب بدرجة حرارة الغرفة (20-25) م لمدة 30 دقيقة ليتجلط الدم، وثم فصل المصل بجهاز الطرد المركزي 3000 rpm لمدة 5 دقائق، بعدها اخذ المصل ونقل إلى أنابيب اختبار جديدة

باستخدام ماصة أوتوماتيكية ، وحفظت بالمجمدة (-5)م لحين إجراء الاختبارات عليـة . 171من المتبرعين ذكور و15إناث. كان مدى العمر بين (19-60) سنة.أعدت استمارة خاصة لهذه الدراسة تضمنت جمع معلومات بشكل مباشر من المشمولين بالدراسة ، هذه المعلومات تضمنت العمر، والجنس والسكن.

1.2.3. أماكن جمع النماذج:

جمع 186 نموذج دم لأشخاص أصحاء ظاهرياً الذين تبرعوا بالدم . جمعت النماذج من المتبرعين بالدم في مصرف الدم الرئيسي في بعقوبة و ثم نقلت النماذج إلى وحدة الفيروسات / مختبر الصحة العامة في مستشفى بعقوبة التعليمي وأجري عليها اختبار الـإليزا للكشف عن Anti-HBsAg، HBcIgM و Anti-HBsAb . استمر تجميد النماذج حتى استعملت في تقنية PCR والتي أجريت في مختبر الفيروسات/ كلية الطب البيطري في جامعة ديالى .

3.3. طرائق العمل : Methods

1.3.3. تحضير المحاليل :

1.1.3.3. محلول هيدروكسيد الصوديوم (1%)

حضر المحلول طبقاً للطريقة التي وصفت من قبل (Cetinkurt and Jurgen, 2005). نوب واحد غرام من مسحوق هيدروكسيد الصوديوم في 100مليلتر من الماء المقطر، خلط جيداً، وعدل pH إلى 14 ومن ثم حفظ بدرجة حرارة 4 م° لحين الاستعمال .

2.1.3.3. محلول حامض الهيدروكلوريك (1%)

حضر المحلول طبقاً للطريقة التي وصفت من قبل (Karpenko and orris, 2001) . أضيف 1مليلتر من حامض الهيدروكلوريك المركز إلى 99مليلتر من الماء المقطر، خلط جيداً، وعدل pH إلى 1 وحفظ بدرجة حرارة 4 م° لحين الاستعمال .

3.1.3.3. Running buffer (TAE-buffer)

حضر المحلول طبقاً لطريقة التي وصفت من قبل (Maniatis et al., 1982) . نوب 6.3 غرام من مسحوق (Tris-hydrochloride) ، 0.41 غراماً من استات الصوديوم و 0.29 غرام من EDTA في 1000مليلتر من الماء المقطر، خلطت جيداً ، وعدل pH إلى 7.8 بإضافة القليل من القاعدة (هيدروكسيد الصوديوم) ومن ثم حفظ عند درجة حرارة 4 م° لحين الاستعمال .

4.1.3.3. محلول صبغة الاثيديوم برومايد Ethidium bromide stain

حضر المحلول طبقاً لطريقة التي وصفت من قبل (Maniatis et al., 1982) . نوب 1.5 ملغم من مسحوق الصبغة في 7.5 مليلتر من TAE-buffer ، و خلط جيداً، ومن ثم حفظ عند 4 م° .

Agarose Gel

5.1.3.3. هلام الاكاروز :

حضر هلام الاكاروز طبقاً لطريقة التي وصفت من قبل (Brody and Kern,2004). ذوب 3 غرامات من مسحوق الاكاروز في 150 مليلتر من TAE buffer وذوب باستخدام الصفيحة الساخنة Hot Plate starrier عند درجة 100 م° ، وأضيف 750 مايكروليتر من محلول صبغة الاثيديوم بروما يد إلى الاكاروز ويكمل الحجم إلى (1.5 ملغرام \ مليلتر) ، خلط جيداً، ومن ثم برد هلام الاكاروز عند درجة (45-50) م° قبل الاستخدام وصب الهلام أنياً في صفيحة جهاز الترحيل الكهربائي .

2.3.3. تحديد معلمات فيروس التهاب الكبد نمط (ب)

1.2.3.3. اختبار التحري عن الضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب)

استخدمت العدة التشخيصية (DRG,ELISA) لتحري عن Anti-HBcIgM حسب تعليمات الشركة المنتجة .

Test principle

2.3.3.2. مبدأ الاختبار:

اعتمد مبدأ الاختبار على ارتباط الضدات Anti-HBc للمستضد اللبي أن وجدت في المصل المراد فحصه مع ضدات السطح الداخلي الصلب لحفر طبق الاليزا، والتي ترتبط من جهة أخرى مع المستضدات Antigen المقترنة بـ _____ أنزيم Horse Radish Peroxidase (HRP-conjugate) بعد إضافتها لتكوين معقد مناعي يمكن الكشف عنه بإضافة محلول الكشف (الركيزة) المتكون من المادة الأساس substrate (Tetra Methyl Benzinide TMB) إلى الحفر إذ يظهر لون أزرق ،وبعدها يتغير إلى اللون الأصفر بإضافة محلول التوقف (حامض الكبريتيك 1N Sulfuric acid). قرأت الكثافة اللونية Optical Density (OD) للحفر بواسطة قارئ الاليزا ELISA Reader على طول موجي 450nm . أن شدة الكثافة اللونية تتناسب طردياً مع تركيز الضدات (Anti-HBcIgM) الموجودة في المصل .

Test Procedure

3.2.3.3. طريقة العمل:

1. خففت العينات 1:1000 بواسطة Normal salin الذي تم تحضيره مختبرياً (دون تخفيف عينة السيطرة control).
2. أضيف 100 مايكروليتر من السيطرة السالبة إلى الحفرتين المخصصتين له و 100 مايكروليتر من محلول السيطرة الموجب إلى الحفرتين المخصصتين له .
3. أضيف 100 مايكروليتر من عينة المصل المخففة Diluted serum إلى الحفر المتبقية .
4. غطي الطبق بواسطة غطاء لاصق وحضن الطبق بدرجة حرارة 37 م° لمدة 30 دقيقة .

5. بعد انتهاء فترة الحضانة الأولى ، غسل الطبق 5 مرات باستعمال محلول الغسل Washing solution المجهز مع العدة .

6. أضيف 100 مايكروليتر من محلول المقترن (HRP-conjugate) إلى كل الحفر في الطبق.

7. غطي الطبق جيدا بوساطة غطاء لاصق و حضن الطبق بدرجة حرارة 37°م لمدة 30 دقيقة

8. أزيل الغطاء اللاصق و غسل الطبق 5 مرات باستعمال محلول الغسل Washing solution كما في الفقرة خامسا .

9. أضيف 50 مايكروليتر من محلول Chromogen A و 50 مايكروليتر من محلول Chromogen B المجهزة مع العدة إلى كل حفرة .

10. حضن الطبق لمدة 15 دقيقة وبدرجة حرارة الغرفة (20-25°م) وفي مكان مظلم

11. أوقف التفاعل بإضافة 50 مايكروليتر من محلول الإيقاف (1N H₂SO₄) إلى كل الحفر.

12. قرأت الامتصاصية بوساطة جهاز القراءة الدقيق للاليزا على طول موجي 450 نانوميتر.

13. تم حساب قيمة الحد الفاصل حسب المعادلة المنصوصة في طريقة العمل وكما يلي:

$$\text{Cut Off} = \text{NC} \cdot 4$$

NC = معدل قيمة الامتصاصية لمحلول السيطرة السالب

• قيمة NC يجب أن تكون اقل أو تساوي 0.05

4.2.3.3. استخلاص النتائج : Interpretation of results

عدت نتيجة الأمصال موجبة إذا كانت قيمة OD مساوية أو اكبر من (0.24) ، إما إذا كانت القيمة اقل من (0.24) فنتيجة الأمصال سالبة.

4.3. اختبار التحري عن ضادات المستضد السطحية Anti-HBsAb

استخدمت العدة التشخيصية الاليزا (DRG,ELISA) لتحري عن الأجسام المضادة Anti-HBsAb حسب تعليمات الشركة المنتجة .

1.4.3. مبدأ الاختبار: Test Principle

ترتبط الأجسام المضادة Anti-HBs إن وجدت في المصل المراد فحصه مع المستضدات المثبتة على السطح الداخلي الصلب لحفر الطبق ، و ترتبط من جهة أخرى مع الأجسام المضادة Antihuman Horseradish Peroxidase (HRP) لتكوين معقد مناعي يتم الكشف عنه بإضافة محلول الركيزة المتكون من TetraMethylBenzidine (TMB) وبيروكسيد اليوريا

UreaPeroxide والذي يتفاعل مع المقترن حيث تظهر نتيجة التفاعل بلون أزرق ، يتوقف التفاعل بإضافة محلول الإيقاف (حامض الكبريتيك 1Mol\1L) ويتحول اللون الأزرق إلى اللون الأصفر .
تقرا الكثافة اللونية (Optical Density (OD لجميع الحفر بواسطة جهاز قارئ الاليزا. إن شدة الكثافة اللونية تتناسب طرديا مع Anti-HBs Ab الموجودة في المصل .

2.4.3. طريقة العمل: Test Procedure

1. أضيف 50 مايكروليتر من محلول السيطرة السالب إلى الحفرتين المخصصتين له وأضيف 50 مايكروليتر من محلول السيطرة الموجب إلى الحفرتين المخصصتين له .
2. أضيف 50 مايكروليتر من عينة المصل إلى الحفر المتبقية .
3. أضيف 50 مايكروليتر من محلول HRP-Conjugate إلى كل الحفر.
4. غطي الطبق بغطاء لاصق ، وحضن الطبق عند درجة حرارة 37°م لمدة ساعة واحدة .
5. بعد انتهاء فترة الحضن ، أزيل الغطاء اللاصق وغسل الطبق 5مرات باستعمال محلول الغسل Washing Solution المجهز مع العدة .
6. أضيف 50 مايكروليتر من محلول المادة المولدة للون A و 50 مايكروليتر من B إلى كل حفر الطبق .
7. حضن الطبق عند درجة حرارة 37°م لمدة 15 دقيقة مكان مظلم بالغرفة .
8. أوقف التفاعل بإضافة 50 مايكروليتر من محلول الإيقاف (حامض الكبريتيك 1N) إلى كل الحفر .
9. قرأت الامتصاصية Absorbance على طول موجي 450 نانوميتر.
- 10 . تم حساب قيمة الحد الفاصل حسب المعادلة المنصوصة في طريقة العمل وكما يلي :

$$\text{Cutoff} = N.c . 2.1$$

3.4.3. استخلاص النتائج : Interpretation of results

عدت الأمصال موجبة إذا كانت OD مساوية أو أكبر من 0.102 ، أما إذا كانت أقل من 0.102 فالنتيجة عدت سالبة .

5.3. اختبار التحري عن المستضدات السطحية HBsAg

استخدمت العدة التشخيصية الاليزا (DRG.ELISA) لتحري عن المستضدات السطحية HBsAg حسب تعليمات الشركة المنتجة.

1.5.3. مبدأ الاختبار: Test Principle

يعتمد الاختبار على خطوة واحدة هي ارتباط المستضدات إن وجدت في المصل المراد فحصه مع الأضداد المقترنة بأنزيم Horseradish peroxidase (HRP) لتكوين معقد مناعي يتم الكشف عنه بإضافة محلول الركيزة المتكون من Tetra Methyl Benzinide (TMB) وبيروكسيد اليوريا

Urea Peroxide إلى الحفر إذ يظهر لون أزرق ،وبعدها يتغير إلى اللون الأصفر بإضافة محلول التوقف (حامض الكبريتيك 1N). إن شدة الكثافة اللونية تتناسب طردياً مع تركيز المستضد السطحي الموجودة في المصل .

2.5.3. طريقة العمل : Test Procedure

1. أضيف 100 مايكروليتر من النماذج (المصل) إلى كل الحفر الموجودة بالطبق وغطي بغطاء لاصق .
2. حضن الطبق عند درجة حرارة 37°م لمدة 60 دقيقة ثم بعد ذلك غسل الطبق 4 مرات بمحلول الغسل المجهز مع العدة .
3. أضيف 100 مايكروليتر من محلول (Diluted conjugate) المجهز مع العدة إلى الحفر ثم غطي الطبق وحضن عند درجة حرارة 37°م لمدة 30 دقيقة ومن ثم غسل 4 مرات كما في الفقرة ثانياً.
4. أضيف 100 مايكروليتر من محلول الركيزة لجميع الحفر وبعدها حضن الطبق عند درجة حرارة الغرفة (20-25)°م لمدة 30 دقيقة .
5. أضيف 100 مايكروليتر من محلول الإيقاف (1N H₂SO₄) لإيقاف التفاعل .
6. قرأت النتائج عند الطول الموجي 450nm وتم حساب قيمة الحد الفاصل حسب المعادلة:

$$\text{cut off} = \text{NCX}0.030$$

6.3 التشخيص الجزيئي : Molecular Detection of HBV

1.6.3 استخلاص الدنا DNA : DNA Extraction

1.1.6.3 طريقة العمل : Test Procedure

1. أضيف 10 مايكروليتر من محلول Internal control إلى كل أنابيب الEppendorf tubes الفارغة والنظيفة المجهزة لاستخلاص DNA .
2. أضيف 300 مايكروليتر من محلول Lysis solution للأنابيب .
3. أضيف 100 مايكروليتر من النماذج (المصل) للأنابيب .
4. وضعت الأنابيب الحاوية على (النماذج ، Internal control ، Lysis solution) في جهاز الرجاج لمدة 5 دقائق ومزجت جيداً .
5. حضنت الأنابيب في الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 65°م لمدة 5 دقائق .
6. وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي Eppendorf centrifuge لمدة 5 دقائق وبسرعة (12000 rpm - 16000 rpm) .
7. فصل الراشح عن الراشب ونقل الراشب إلى أنابيب جديدة .
8. مزجت مادة (Sorbent) الموجودة بالعدة المختبرية جيداً في جهاز الرجاج قبل استخدامها .

9. أضيف 20 مايكروليتر من Sorbent إلى كل الأنابيب الحاوية على الراسب .
10. وضعت الأنابيب في جهاز الرجاج لمدة (10) ثوانٍ ثم تركت لمدة 3 دقائق بدرجة حرارة الغرفة وكررت هذه الخطوة ثلاث مرات .
11. وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي لمدة 30 ثانية وبسرعة 5000 rpm .
12. فصل الراشح عن الراسب واخذ الراسب .
13. أضيف 300 مايكروليتر من محلول الغسل Washing solution-1 إلى كل الأنابيب وثم وضعت في جهاز (Vortex) لمدة 3 دقائق وبعدها في جهاز الطرد المركزي لمدة 30 ثانية وبسرعة 8000 rpm وأزيل الراشح واخذ الراسب .
14. أضيف 500 مايكروليتر من محلول الغسل Washing solution-2 إلى كل الأنابيب ونقلتها إلى جهاز الرجاج لمدة 3 دقائق وبعدها إلى جهاز الطرد المركزي لمدة 30 ثانية وبسرعة 8000 rpm وأزيل الراشح واخذ الراسب، وكررت هذه الخطوة مرة أخرى .
15. حضنت الأنابيب مفتوحة الغطاء في الفرن لمدة 5 دقائق وبدرجة حرارة 65°م .
16. أضيف 50 مايكروليتر من DNA-eluent إلى كل الأنابيب وثم حضنت بدرجة حرارة 65°م ولمدة 5 دقائق وخلال فترة الحضانة أخرجت الأنابيب من الفرن ووضعت في جهاز الرجاج لمدة 20 ثانية ثم أعيدت إلى الفرن .
17. نقلت الأنابيب إلى جهاز الطرد المركزي ولمدة 1 دقيقة وبسرعة 12000 rpm .
18. فصل الراشح عن الراسب ونقل الراشح إلى أنابيب جديدة.
19. خزن الراشح الحاوي على DNA بدرجة (-20°م) لحين استخدامه في عملية التضخيم . Amplification

2.6.3. اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل

اسم العملية: العدة المتوافرة في هـ هذا الاختبار
(HBV 470\770 IC \ Sac ace Biotechnologies) .

1.2.6.3. مبدأ الاختبار : Test Principle

مبدأ اختبار العدة HBV470\770IC يعتمد على ثلاث عمليات رئيسية: تحضير النماذج الحاوية HBV\DNA، تضخيم الحامض النووي و DNA الخاص HBV له بادئ (Primer) متخصص، تحديد النواتج المتضخمة على هلام الاكاروز.

2.2.6.3. طريقة العمل : Test Procedure

3.2.6.3. التضخيم: Amplification

1. حضرت الأنابيب 1-Mix-PCR المجهزة مع العدة .

2. أضيف 10 مايكروليتر من مادة PCR-Mix-2 إلى كل أنبوبة من أنابيب PCR-Mix-1 .
3. أضيف 10 مايكروليتر من النماذج المراد فحصها (الراشح الحاوي على DNA)
4. أضيف 10 مايكروليتر من DNA-buffer إلى أنبوبة السيطرة السالبة Negative control .
5. أضيف 10 مايكروليتر من HBV Rec C+ المجهزة مع العدة إلى أنبوبة السيطرة الموجبة
6. غلقت الأنابيب ثم نقلت إلى جهاز Thermoacycler وعندها بدا البرنامج بالعمل حسب جدول (4:3) .

جدول (4:3) PCR temperature cycling profile

Cycle	temperature	Time
1 cycle	95°C	2 min
42 cycle	95°C	1min
	65°C	1min
	72°C	1min
1 cycle	72°C	1 min
storage	10°C	∞

4.2.6.3 . طريقة عمل الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز:

فصلت قطع DNA المتضخمة والناجمة من PCR بواسطة جهاز الترحيل الكهربائي في هلام الاكاروز 2%، وضع الجهاز بشكل أفقي واستخدم شريط لاصق على جانبيين الصحن (Tray) وثبت المشط (comb) في الوسط، اخذ 3 غم من الاكاروز وذوبت في 150 ملليتر من دارئ TAE على جهاز الصفيحة الحارة Hot Plat Starrier لدرجة حرارة 100م°، ومن ثم برد إلى درجة 45-50م° ومن ثم أضيف 750 مايكروليتر من صبغة الاثيديوم برومايد إلى الاكاروز، وخلط جيدا ثم صب على الصحن (Tray) . أزيل الشريط اللاصق والمشط بعدما تصلب الاكاروز ونقل الصحن (Tray) إلى حوض جهاز الترحيل الكهربائي الحاوي على دارئ بحيث كان مستوى ارتفاع المحلول بضع مليمترات فوق هلام الاكاروز، أضيفت النماذج في حفر المخصصة لها في الاكاروز ووصل الجهاز بالمصدر الكهربائي عند

80 فولت لمدة 45 دقيقة . نقلت صفيحة الاكاروز إلى جهاز الأشعة فوق البنفسجية (UV) لمشاهدة حزم DNA وتصويرها بالكاميرا .

3.6.3. تفسير النتائج: Results Interpretation

عدت النماذج موجبة عند ظهور حزم DNA على هلام الاكاروز بعد نقل صحن الاكاروز إلى جهاز الأشعة فوق البنفسجية لمشاهدة الحزم ،إما إذا كانت الحزم غير موجودة فالنماذج سالبة.

4.6.3. التحليل الإحصائي: Statistical Analysis

حولت نتائج هذه الدراسة إلى قاعدة بيانات على الحاسبة باستخدام وسيلة إحصائية مجربة لذلك ، التحليلات الإحصائية تم باستخدام برنامج SPSS (Statistical Package for Social Science) الجيل 10، الفوارق في التوزيع التكراري لبعض المتغيرات أجريت أولا . استخدم اختبار مربع كاي Ch-Square test لمعرفة الفروق الإحصائية للترابط بين كل متغيرين واستخدمت 95% حدود الثقة لنسب النماذج لإيجاد المدى المتوقع للتكرار النسبي للمقارنة مع مراجع المجتمع . قيم (P value) الأقل من 0.05% عدت ذات فارق إحصائي لكل الاختبارات الإحصائية المستخدمة في الدراسة (Sorlie, 1995).

4. النتائج والمناقشة

Results and Discussion

يستعرض هذا الفصل النتائج التي أفرزتها هذه الدراسة بعد تحويلها إلى قاعدة بيانات حاسوبية وتحليلها إحصائياً

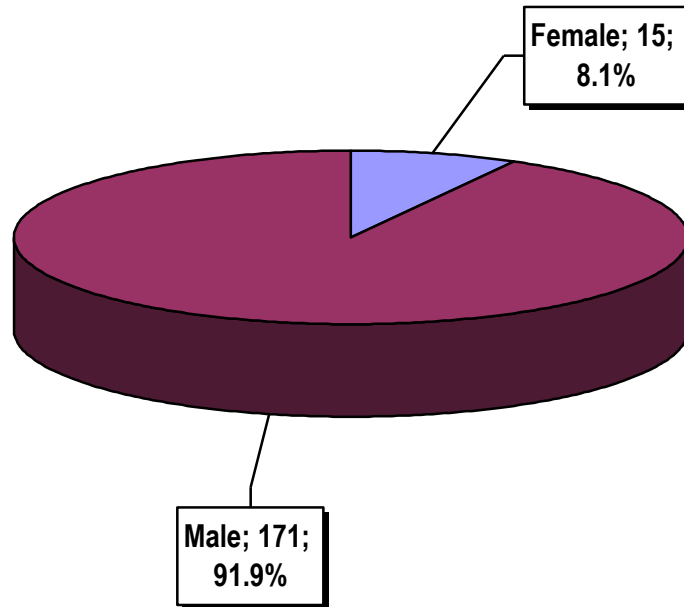
1.4. مجموعة الدراسة:

شملت الدراسة 186 شخصا من الأصحاء ظاهريا من متبرعي الدم في مصرف الدم الرئيس في بعقوبة. تكونت مجموعة الدراسة من 171 (91.1%) من الذكور و 15 (8.1%) من الاناث. تراوح مدى العمر من 19 إلى 60 سنة. كان المتوسط الحسابي لأعمار الذكور

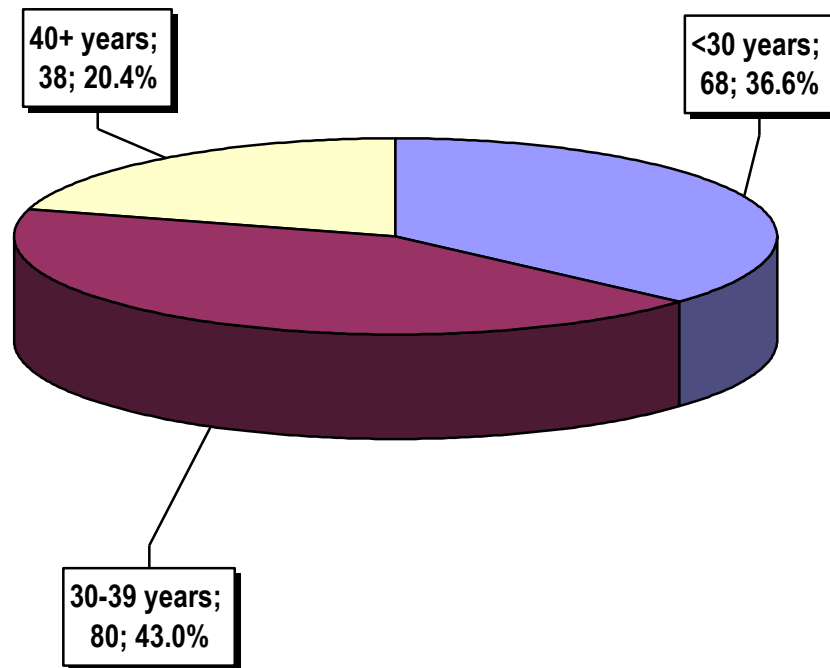
(32.49) سنة , والمتوسط الحسابي لأعمار الإناث (32.2) سنة. 91 (48.9%) كانوا من المناطق الحضرية و 95 (51.1%) من المناطق الريفية في محافظة ديالى. يمثل الجدول (1-4) والإشكال (1-4) و (2-4) و (3-4) التوزيع التكراري لمجموعة الدراسة بحسب المتغيرات الاجتماعية والديموغرافية.

جدول (1-4): التوزيع التكراري لمجموعة الدراسة بحسب المتغيرات الاجتماعية والديموغرافية.

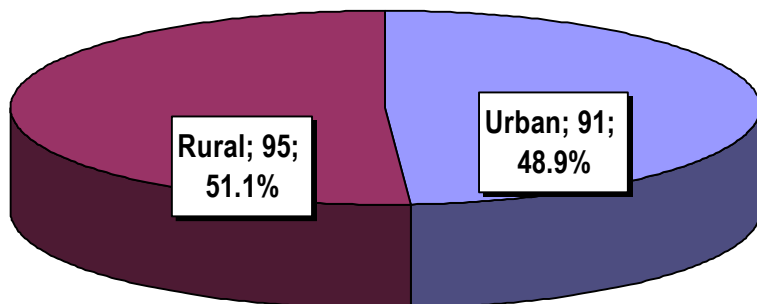
Variables	No. included	%
Gender		
Female	15	8.1
Male	171	91.9
Total	186	100.0
Age groups (years)		
< 30	68	36.6
30-39	80	43.0
40 +	38	20.4
Total	186	100.0
Residence		
Urban	91	48.9
Rural	95	51.1
Total	186	100.0



الشكل (1-4) التوزيع التكراري لمجاميع الدراسة حسب الجنس



الشكل (2-4) التوزيع التكراري لمجاميع الدراسة حسب العمر



الشكل (3-4) التوزيع التكراري لمجاميع الدراسة حسب السكن

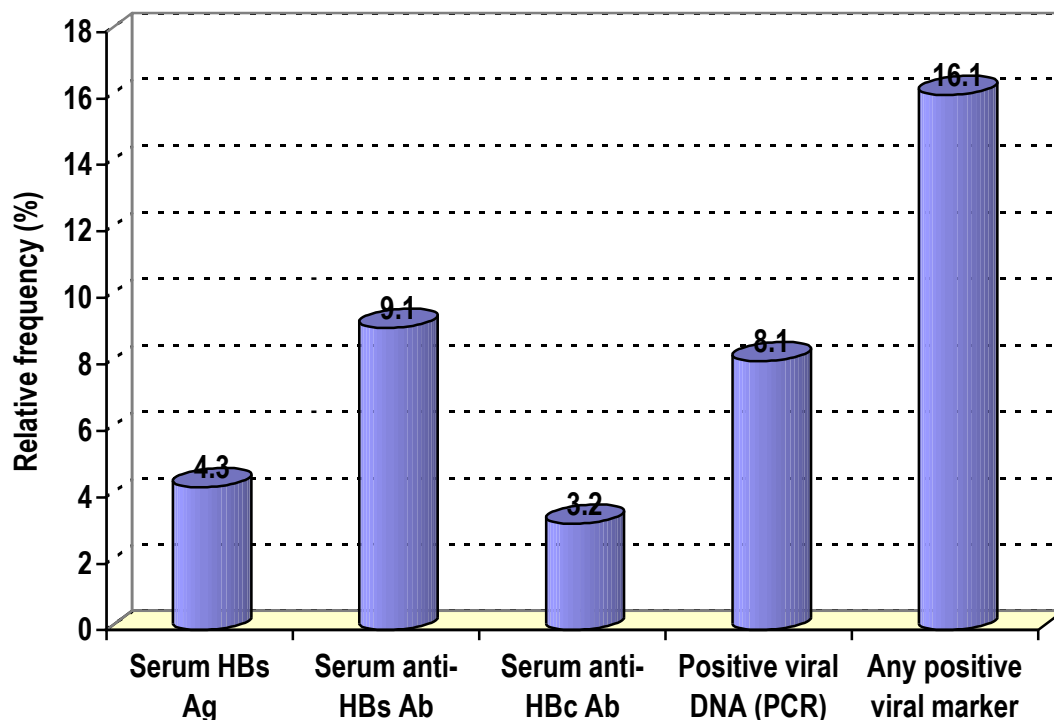
2.4. نسبة الايجابية للمعلومات الفيروسية في مجموعة الدراسة.

يبين الجدول (2-4) والشكل (4-4) أعداد الايجابية ونسبتها و 95% من حدود الثقة للاختبارات التي أجريت على المشمولين بهذه الدراسة , إذ تبين أن 8(4.3%) من متبرعي الدم هم ايجابيين للمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) و بحدود ثقة تراوحت بين (7.2-1.4) • بينما كان 17(9.1%) من متبرعي الدم ايجابيين للضدات النوعية للمستضد السطحي للفيروس و بحدود ثقة تراوحت بين (5-13.2). فضلا عن ذلك ، 6(3.2%) من المتبرعين أعطوا نتائج ايجابية للضدات النوعية IgM لمستضد لب الفيروس و بحدود ثقة تراوحت بين (0.7 - 5.7%) • إما تقنية تفاعل البلمرة التسلسل فقد كشفت عن وجود دنا الفيروس لدى 15(8.1%) من المتبرعين و بحدود ثقة تراوحت بين (4.2 - 12%). وكمجموع فان 30(16.1%) من متبرعي الدم كانوا ايجابيين لمختلف المعلومات المصلية والجزيئية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) و بحدود ثقة تراوحت بين (10.8% - 21.4%).

جدول (2-4): نسبة الايجابية للمعلومات الفيروسية باستخدام تقنية (ELISA) وتقنية (PCR) في مجموعة الدراسة.

Viral marker	No. positive	%	95% Confidence interval (%)
Serum HBsAg	8	4.3	(1.4-7.2)
Serum anti-HBs antibody	17	9.1	(5-13.2)
Serum antiHBc IgM	6	3.2	(0.7-5.7)
Viral DNA (PCR)	15	8.1	(4.2-12)
Any positive marker	30	16.1	(10.8-21.4)

n = 186



الـ

شكل (4-4) نسبة الايجابية للمعطات الفيروسية في مجموعة الدراسة.

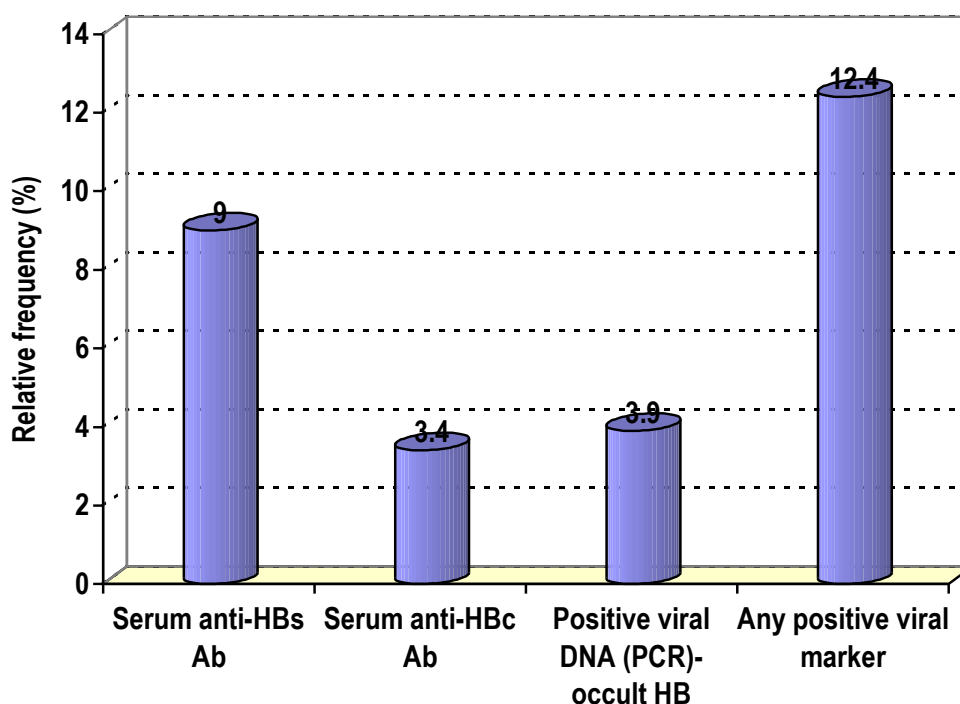
3.4. نسبة الايجابية للمعطات الفيروسية لدى المتبرعين السلبيين للمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب)

يمثل الجدول (3-4) والشكل (4-5) نسبة ايجابية المعطات الفيروسية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) بين متبرعي الدم ممن هم سلبيين لفحص التحري عن المستضد السطحي , إذ تبين النتائج بان 16 (9%) من المتبرعين كانوا ايجابيين للضدات النوعية للمستضد السطحي للفيروس وبحدود ثقة تراوحت بين (4.8-13.2%) • في حين أعطى 6 (3.4%) من المتبرعين نتائج ايجابية للضدات النوعية IgM للـ الفيروس وبحدود ثقة تراوحت بين (0.7% - 6.1%) • إما دنا الفيروس فقد وجد لدى 7 (3.9%) من المتبرعين وبحدود ثقة تراوحت بين (1.1% - 6.7%) • وكان مجموع المتبرعين الذين أعطوا نتائج ايجابية لمختلف المعطات الفيروسية 22 (12.4%) وبحدود ثقة تراوحت بين (7.6% - 17.2%).

جدول (3-4): نسبة الايجابية للمعطات الفيروسية لدى المتبرعين السلبيين للمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) باستخدام تقنية (ELISA) وتقنية (PCR)

Viral marker	No. positive	%	95% confidence interval (%)
Serum anti-HBs antibody	16	9.0	(4.8-13.2)
Serum anti-HBc IgM	6	3.4	(0.7-6.1)
Viral DNA (PCR)	7	3.9	(1.1-6.7)
Any positive marker	22	12.4	(7.6- 17.2)

n = 178



الشكل (4-5) نسبة الايجابية للمعطات الفيروسية لدى المتبرعين السلبيين للمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب)

4.4. نسبة ايجابية المستضد السطحي والضدات النوعية له لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) مقابل الضدات النوعية IgM للـب الفيروس.

يظهر الجدول (4-4) العلاقة بين نسبة ايجابية المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) والضدات النوعية له مقابل الضدات النوعية IgM للـب الفيروس، إذ تبين النتائج إن إي من متبرعي الدم الايجابيين للمستضد السطحي وكذلك الايجابيين للضدات النوعية للمستضد السطحي كان ايجابيا للضدات النوعية IgM للـب الفيروس، مما يدل على عدم وجود ترافق معنوي إحصائيا في كلتا الحالتين.

جدول (4-4): نسبة ايجابية المستضد السطحي والضدات النوعية له لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) مقابل الضدات النوعية IgM للـب الفيروس.

Positive	viral	Serum anti-HBc IgM	P value
----------	-------	--------------------	---------

marker	Negative (n=180)		Positive (n=6)		
	No.	%	No.	%	
Serum HBsAg	8	4.4	0	0.0	1 [NS]
Serum anti-HBs Ab	17	9.4	0	0.0	1 [NS]

5.4. نسبة ايجابية المستضد السطحي والضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب) مقابل الضدات النوعية للمستضد السطحي .

يبين الجدول (4-5) العلاقة بين نسبة ايجابية المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) والضدات النوعية IgM للـ فيروس مقابل الضدات النوعية للمستضد السطحي للفيروس، إذ وجد بان 1(5.9%) من المتبرعين كان ايجابيا للمستضد السطحي وكذلك للضدات النوعية للمستضد السطحي مما يدل على عدم وجود ترافق معنوي إحصائيا بدلالة قيمة P . ومن جانب آخر فان إياً من المتبرعين ممن هم ايجابيين للضدات النوعية IgM للـ فيروس لم يكن ايجابيا للضدات النوعية للمستضد السطحي للفيروس، وعليه لم يكن هنالك ترافق معنوي إحصائيا بدلالة قيمة P .

جدول (4-5): نسبة ايجابية المستضد السطحي والضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب) مقابل الضدات النوعية للمستضد السطحي.

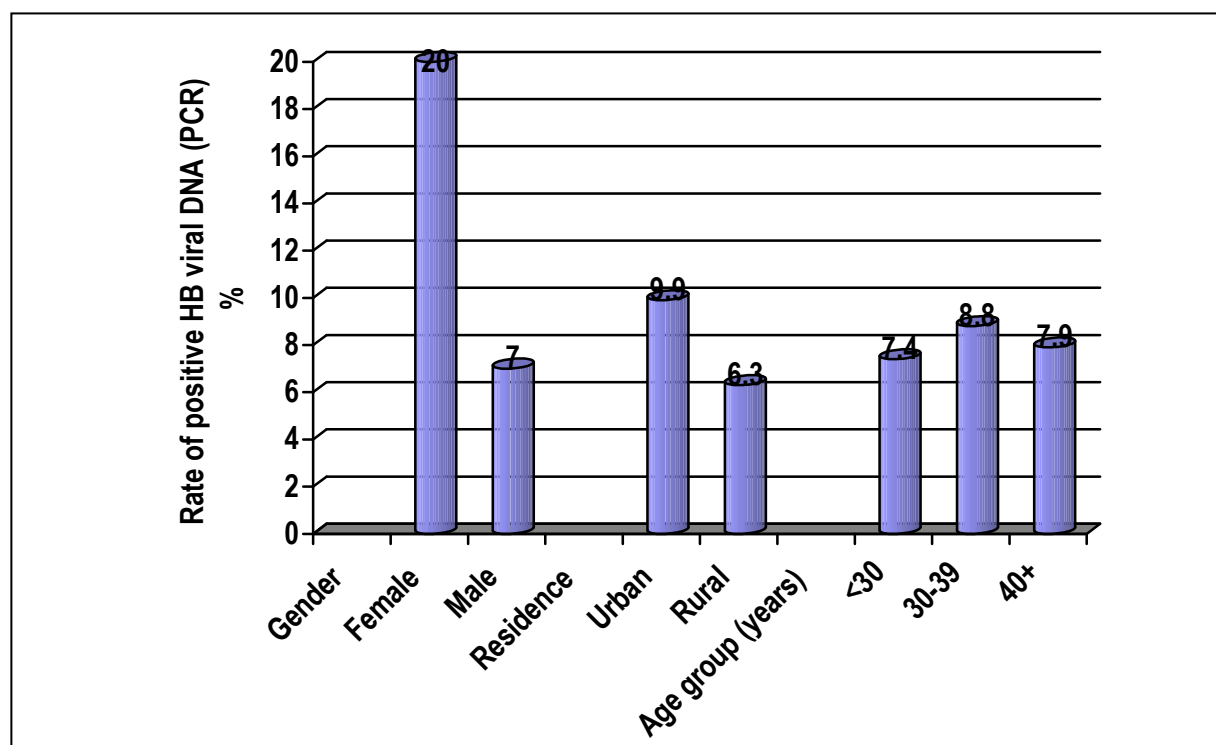
Positive marker	viral	Serum anti-HBs Ab				P value
		Negative (n=169)		Positive (n=17)		
		No.	%	No.	%	
Serum HBsAg		7	4.1	1	5.9	0.54[NS]
Serum anti-HBc IgM		6	3.6	0	0	1 [NS]

6.4. نسبة الكشف عن دنا فيروس التهاب الكبد نمط (ب) بحسب الجنس والسكن والعمر.

تظهر النتائج في الجدول (4-6) والشكل (4-6) نسبة الايجابية لدنا فيروس التهاب الكبد نمط (ب) لدى متبرعي الدم بحسب الجنس والسكن والعمر. فيما يخص الجنس، أظهرت النتائج إن نسبة الكشف عن دنا الفيروس لدى الإناث هو 20% مقابل 7% لدى الذكور، إي أن عامل الخطورة Odd ratio لدى الإناث هو 3.3 مرة أعلى مما هو لدى الذكور، وبالرغم من ذلك لم يكن الفارق الإحصائي بين الإناث والذكور معنوياً (P= 0.1) . أظهرت النتائج أيضاً أن نسبة الكشف عن دنا الفيروس للأشخاص الذين يقطنون المناطق الحضرية هو 9.9% مقابل 6.3% لدى الأشخاص الذين يقطنون المناطق الريفية، إي أن عامل الخطورة لدى ساكني المناطق الحضرية هو 1.6 مرة أعلى مما هو عليه لدى ساكني المناطق الريفية، وعلى إي حال فان الفارق الإحصائي بين المجموعتين لم يكن معنوياً (P=0.37). إما فيما يخص الأعمار، فقد أظهرت النتائج أن أعلى نسبة للكشف عن دنا الفيروس كان 8.8% في الفئة العمرية 30-39 سنة مقارنة بالفئة العمرية اقل من 30 سنة و الفئة العمرية أكثر من 40 سنة إذ كانت 7.4% و 7.9% على التوالي، ولم يكن الفارق الإحصائي بين الفئات العمرية معنوياً (P=0.95) .

جدول (6-4): نسبة الكشف عن دنا فيروس التهاب الكبد نمط (ب) بحسب الجنس والسكن والعمر.

Variables	Total No.	viral DNA	P value	Odd ratio	95% CI for OR
		Positive No. (%)			
Gender					
Female	15	3 (20.0)	0.1 [NS]	3.31	(0.82- 13.36)
Male	171	12 (7.0)		Reference	
Residence					
Urban	91	9 (9.9)	0.37 [NS]	1.63	(0.56- 4.77)
Rural	95	6 (6.3)		Reference	
Age group (ys)					
< 30	68	5 (7.4)	0.95 [NS]	**	**
30-39	80	7 (8.8)			
40 +	38	3 (7.9)			



الشكل (6-4): نسبة الكشف عن دنا فيروس التهاب الكبد نمط (ب) بحسب الجنس والسكن والعمر.

7.4. صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) بوصفه دليلاً تنبؤياً على وجود دنا الفيروس.

يبين الجدول (4-7) صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) المكشوف عنها بتقنية الاليزا كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس المكشوف عنه بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل. إذ أظهرت النتائج أن 7 (3.9%) من المتبرعين الذين أعطوا نتائج سلبية للمستضد السطحي للفيروس كانوا ايجابيين لوجود دنا الفيروس بحسب تفاعل البلمرة المتسلسل. بالمقابل فإن جميع 8 (100%) المتبرعين الذين أعطوا نتائج ايجابية للمستضد السطحي كانوا أيضا ايجابيين لوجود دنا الفيروس بحسب تفاعل البلمرة المتسلسل، مما يدل على وجود ترافق معنوي إحصائيا بين وجود المستضد السطحي و دنا الفيروس ($P < 0.001$).

بلغت حساسية الفحص 53.3% ، إي أن معدل النتائج السالبة الكاذبة 46.7% ، في حين كانت خصوصية الفحص 100% ، أي أن معدل النتائج الموجبة الكاذبة 0% وكانت مصداقية الفحص 96.2% والقيمة التنبؤية الايجابية 100% والقيمة التنبؤية السالبة 96.1%.

جدول (4-7): صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.

Serum HBs Ag	Positive viral DNA (PCR)						P value
	Negative		Positive		Total		
	No.	%	No.	%	No.	%	
Negative	171	96.1	7	3.9	178	100.0	< 0.001
Positive	0	0.0	8	100.0	8	100.0	

حساسية الفحص = 53.3%

معدل النتائج السلبية الكاذبة = 46.7%

خصوصية الفحص = 100%

معدل النتائج الايجابية الكاذبة = 0%

دقة الفحص = 96.2%

القيمة التنبؤية الموجبة = 100%

القيمة التنبؤية السالبة = 96.1%

8.4. صلاحية فحص الكشف عن الضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب) كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.

يظهر الجدول (4-8) صلاحية اختبار الكشف عن الضدات النوعية IgM للـ فيروس المكشوف عنها بتقنية الاليزا بوصفه دليلاً تنبؤياً عن وجود دنا الفيروس المكشوف عنه بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل. إذ بينت النتائج بان 9 (50%) من المتبرعين الذين أعطوا نتائج سلبية للضدات النوعية IgM للـ فيروس أعطوا نتائج ايجابية لوجود دنا الفيروس بحسب تفاعل البلمرة المتسلسل، في حين كان جميع 6 (100%) المتبرعين الذين أعطوا نتائج ايجابية للضدات النوعية IgM للـ فيروس ايجابيين أيضا لوجود دنا الفيروس ، مما يدل على وجود ترافق معنوي إحصائيا بين ايجابية الضدات النوعية IgM للـ فيروس ووجود دنا الفيروس ($P < 0.001$).

بلغت حساسية الفحص 40% ، إي إن معدل النتائج السلبية الكاذبة 60% . في حين كانت خصوصية الفحص 100% ، إي إن معدل النتائج الايجابية الكاذبة 0% . وكانت دقة الفحص 95.2 % و القيمة التنبؤية الموجبة 100% و القيمة التنبؤية السالبة 95%.

جدول (4-8):صلاحية فحص الكشف عن الضدات النوعية IgM للـب فيروس التهاب الكبد نمط (ب) بوصفه دليلاً تنبؤياً على وجود دنا الفيروس.

Serum Anti- HBc IgM	Positive viral DNA (PCR)						P value
	Negative		Positive		Total		
	No.	%	No.	%	No.	%	
Negative	171	95.0	9	5.0	180	100.0	< 0.001
Positive	0	0.0	6	100.0	6	100.0	

حساسية الفحص = 40%

معدل النتائج السلبية الكاذبة = 60%

خصوصية الفحص = 100%

معدل النتائج الايجابية الكاذبة = 0%

دقة الفحص = 95.2 %

القيمة التنبؤية السالبة = 95 %

9.4. صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للـب فيروس التهاب الكبد نمط (ب) معاً كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.

يبين الجدول (4-9) صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للـب فيروس التهاب الكبد نمط (ب) معاً المكشوف عنهما بتقنية الاليزا كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس المكشوف عنه بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل. إذ أظهرت النتائج بان متبرعاً واحداً فقط (0.6%) والذي أعطى نتيجة سلبية لكل من المستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للـب فيروس كان ايجابيا لوجود دنا الفيروس ، وبالمقابل فان 14 (100%) من المتبرعين الذين أعطوا نتائج ايجابية لكل من المستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للـب فيروس كانوا أيضاً ايجابيين لوجود دنا الفيروس بحسب تفاعل البلمرة المتسلسل ، مما يدل على وجود ترافق معنوي إحصائي ($P < 0.001$) بين وجود المستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للـب فيروس التهاب الكبد نمط (ب) معاً المكشوف عنهما بتقنية الاليزا ووجود دنا الفيروس المكشوف عنه بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل.

بلغت حساسية الفحص 93.3 % ، إي أن معدل النتائج السلبية الكاذبة 6.7 % . في حين كانت خصوصية الفحص 100% ، إي أن معدل النتائج الايجابية الكاذبة 0 % . وبلغت دقة الفحص 99.5 % و القيمة التنبؤية الموجبة 100% و القيمة التنبؤية السالبة 99.4 %

جدول (4-9):صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للـب فيروس التهاب الكبد نمط (ب) معاً كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.

Serum HBsAg	Positive viral DNA (PCR)			P value
	Negative	Positive	Total	

+ Anti- HBc IgM	No.	%	No.	%	No.	%	
Negative	171	99.4	1	0.6	172	100.0	< 0.001
Positive	0	0.0	14	100.0	14	100.0	

حساسية الفحص = 93.3 %

معدل النتائج السلبية الكاذبة = 6.7 %

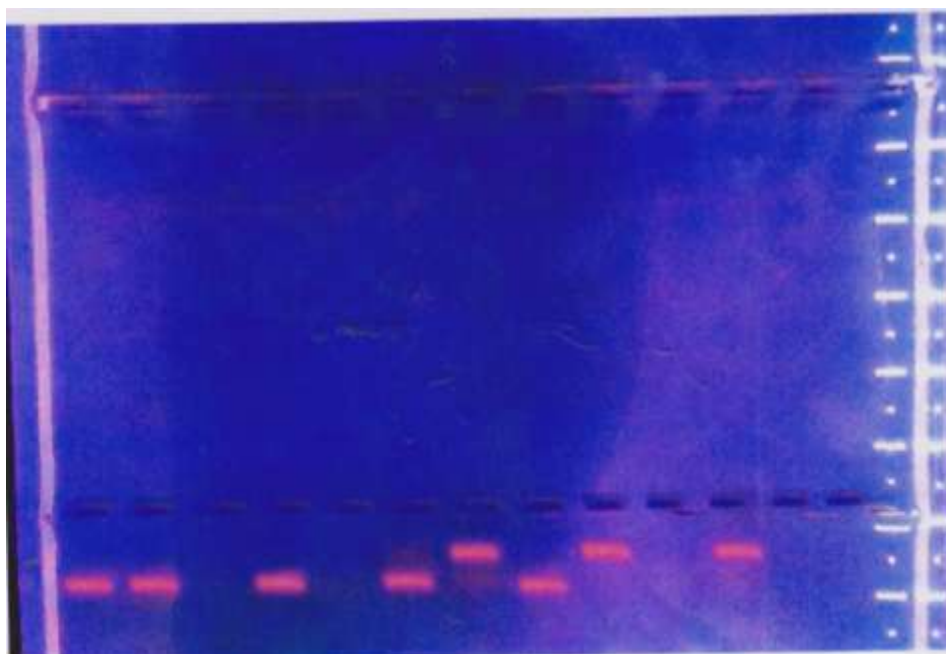
خصوصية الفحص = 100 %

معدل النتائج الايجابية الكاذبة = 0 %

دقة الفحص = 99.5 %

القيمة التنبؤية الموجبة = 100 %

القيمة التنبؤية السالبة = 99.4 %



(7-4) يمثل حزم الدنا على هلام الاكاروز 2%، 80 فولت، 45 دقيقة

1.DNA marker ,2.Positive control,3.Negative control

10.4. صلاحية اختبار الكشف عن الضدات النوعية للمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) بوصفه دليلاً تنبؤياً على وجود دنا الفيروس.

تبين النتائج في الجدول (4-10) صلاحية اختبار الكشف عن الضدات النوعية للمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) المكشوف عنه بتقنية الاليزا بوصفه دليلاً تنبؤياً على وجود دنا الفيروس المكشوف عنه بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل. اذ تظهر النتائج 13 (7.7%) من متبرعي الدم الذين أعطوا نتائج سلبية للضدات النوعية للمستضد السطحي كانوا ايجابيين لوجود دنا الفيروس بحسب تفاعل البلمرة المتسلسل. وبالمقابل فان 2 (11.8%) فقط من المتبرعين ممن كانوا ايجابيين للضدات النوعية للمستضد السطحي للفيروس أعطوا نتائج ايجابية لوجود دنا الفيروس بحسب تفاعل البلمرة المتسلسل ، مما يدل على عدم وجود ترافق معنوي إحصائياً ($P = 0.63$) بين ايجابية الضدات النوعية للمستضد السطحي للفيروس ووجود دنا الفيروس.

بلغت حساسية الفحص 13.3% ، أي أن معدل النتائج السلبية الكاذبة 86.7% . وكانت خصوصية الفحص 91.2% ، أي أن معدل النتائج الايجابية الكاذبة 8.8% . وكانت دقة الفحص 84.9% و القيمة التنبؤية الموجبة 11.8% و القيمة التنبؤية السالبة 92.3%.

جدول (4-10): صلاحية اختبار الكشف عن الضدات النوعية للمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) بوصفه دليلاً تنبؤياً على وجود دنا الفيروس.

P value	Positive viral DNA (PCR)						Serum anti-HBsAb
	Total		Positive		Negative		
	%	No.	%	No.	%	No.	
0.63[NS]	100.0	169	7.7	13	92.3	156	Negative
	100.0	17	11.8	2	88.2	15	Positive

حساسية الفحص = 13.3%

معدل النتائج السلبية الكاذبة = 86.7%

خصوصية الفحص = 91.2%

معدل النتائج الايجابية الكاذبة = 8.8%

دقة الفحص = 84.9%

القيمة التنبؤية الموجبة = 11.8%

القيمة التنبؤية السالبة = 92.3%

11.4. صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي والضدات النوعية للمستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للفيروس التهاب الكبد نمط (ب) معاً كدليل تنبؤي عن وجود دنا الفيروس.

تظهر النتائج في الجدول (4-11) صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي والضدات النوعية للمستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للفيروس التهاب الكبد نمط (ب) معاً بوصفه دليلاً تنبؤياً على وجود دنا الفيروس. إذ أظهرت النتائج بان أياً من المتبرعين الذين أعطوا نتائج سالبة لأي من الاختبارات أعلاه لم يعطوا نتائج ايجابية لوجود دنا الفيروس، وبالمقابل فان 15 (50%) من المتبرعين

الذين أعطوا نتائج ايجابية لكل من الاختبارات أعلاه كانوا ايجابيين لوجود دنا الفيروس، مما يدل على وجود ترفاق معنوي إحصائي ($P < 0.001$). بين ايجابية الاختبارات مجتمعة ووجود دنا الفيروس.

بلغت حساسية الفحص 100% ، أي أن معدل النتائج السلبية الكاذبة 0% وكانت خصوصية الفحص 91.2% ، أي أن معدل النتائج الايجابية الكاذبة 8.8% وكانت دقة الفحص 91.9% و القيمة التنبؤية الموجبة 50% و القيمة التنبؤية السالبة = 100%.

جدول (4-11): صلاحية اختبار الكشف عن المستضد السطحي والضدات النوعية للمستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب) معا بوصفه دليلاً تنبؤياً على وجود دنا الفيروس.

P value	Positive viral DNA (PCR)						Serum HBsAg + anti-HBs Ab + anti-HBc IgM
	Total		Positive		Negative		
	%	No.	%	No.	%	No.	
< 0.001	100.0	156	0.0	0	100.0	156	Negative
	100.0	30	50.0	15	50.0	15	Positive

حساسية الفحص = 100%

معدل النتائج السلبية الكاذبة = 0%

خصوصية الفحص = 91.2%

معدل النتائج الايجابية الكاذبة = 8.8%

دقة الفحص = 91.9%

القيمة التنبؤية الموجبة = 50%

القيمة التنبؤية السالبة = 100%

Discussion

12.4. المناقشة :

تتفق الدراسة الحالية مع نتائج الدراسات السابقة التي أشارت إلى أن معدل المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) بين متبرعين بالدم كانت مماثلة لتلك التي سجلت في محافظة ديالى بين متبرعي الدم (5.1%) (Hasan and Omer, 2006) ، إما معدل المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) بين متبرعين بالدم قبل عام 2003 في ديالى (0.55%-1.6%) (Hasan et al., 2006)، بينما كان معدل المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) بين متبرعين بالدم للأعوام من 2003 إلى 2008

(2.7%, 2.6%, 3.8%, 2.1%, 5.5%, 4.3%) السبب في اختلاف النسب يعود إلى تطبيق برنامج التلقيح منذ عام 1989 و إدخال نظام فحص التحري عن المستضد السطحي لمتبرعي الدم في عام 1995 وارتفاع مستوى الوعي الصحي والثقافي قبل أحداث 2003 عمل هذا على انخفاض نسبة الإصابة (AI- *Jebori et al., 2010*)، وفي فلسطين (3.4%-4.3%) لان فلسطين تقع ضمن مناطق متوسطة الوبائية وادخل نظام فحص التحري عن المستضد السطحي بين متبرعي الدم في عام 1988 (EL-Zayadi *et al., 2008*)

لاتتفق الدراسة الحالية مع نتائج الدراسات السابقة التي أشارت إلى إن معدل المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) بين المتبرعين بالدم كانت أعلى من تلك التي سجلت في لبنان (0.3%)، مصر (1.18%)، عمان (2.8%)، السعودية (3.6%)، وألمانيا (0.6%) (Ankra-Badu *et al., 2001*; Geraldine *et al. 2006*; EL-Zayadi *et al., 2008*)

وتتفق الدراسة الحالية مع نتائج الدراسات السابقة التي أشارت إلى أن معدل الضدات اللبية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) كانت مماثلة لتلك التي سجلت في لبنان (3.7%) (Ramia, 2005)، بينما كانت اقل من تلك الدراسات التي سجلت في عمان (20.5%)، السعودية (17.4%)، مصر (10.9%)، تركيا (15.8%)، وفلسطين (10%) . واكثر من تلك الدراسات التي سجلت في ألمانيا (1.4%) (Gutierrez-Garcia *et al., 2011*) .

وتتفق الدراسة الحالية مع نتائج الدراسات السابقة التي أشارت إلى أن معدل ايجابية دنا فيروس التهاب الكبد نمط (ب) كانت مماثلة لتلك التي سجلت في ألمانيا (8.7%)، بينما كانت اقل من تلك الدراسات التي سجلت في غانا (12.7%)، الهند (21.0%)، وإيران (11.26%) (Hennig *et al., 2002*; Bhattacharga *et al., 2007*; Zahn *et al., 2008*) وتعود أسباب ارتفاع معدل المستضد السطحي، الضدات النوعية اللبية IgM ومعدل ايجابية دنا فيروس التهاب الكبد نمط (ب) إلى وقوع العراق ضمن منطقة متوسطة الوبائية والى الظروف التي أصابت العراق منذ أحداث 2003 ودخول الأمريكان وما جرى من ممارسات جنسية شاذة بالسجون والمعتقلات وما استخدموه من أسلحة بيولوجية، وكذلك إهمال جانب التوعية الصحية وبرامج التلقيح، وعلى وجه الخصوص في محافظة ديالى التي مرت بظروف فوضى وإهمال صحي نتيجة العمليات الإرهابية والتفجيرات التي أدت إلى نقص حاد بالعدد المختبرية والمستلزمات الطبية الأخرى وبالكادر المختبري المختص لفحص الدم

نتيجة عمليات التهجير ، والحاجة إلى نقل الدم للجرحى نتيجة التفجيرات وبأعداد هائلة يوميا ، وكذلك من الأسباب الأخرى التي ساعدت على انتشار التهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) حملات التهجير الطائفي التي ربما عملت على إدخال أشخاص مصابين بالمرض إلى المحافظة.

تتقارب الدراسة الحالية بنتائجها مع الدراسات السابقة التي أشارت إلى أن معدل الضدات السطحية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) حيث سجلت في غانا (10.5%) (Afsar,2010) ، واكبر من تلك التي سجلت في اليابان (16.2%) (Moore et al.,2001) . تتفق الدراسة الحالية مع نتائج الدراسات السابقة التي أشارت إلى أن معدل الضدات السطحية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) مماثلة لتلك التي سجلت في الولايات المتحدة (5%) (O'Brien et al.,2007) . والسبب يعود إلى تطبيق برامج التلقيح في العراق في عام 1989 أدى إلى ارتفاع معدل الضدات السطحية بين الأشخاص الممنعين أو ربما نتيجة الشفاء من إصابة سابقة .

تتفق الدراسة الحالية مع نتائج الدراسات السابقة التي أشارت إلى أن معدل الضدات اللبية لدى المتبرعين السلبيين للمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) التي سجلت في إيران (5.18%) (Zahn et al.,2008) ، وألمانيا (1.5%) (Hennig et al.,2002) ، وتركيا (15.8%) ، واليونان (15.03%) ، وغانا (76%) (Sofian et al.,2010 ; Afsar,2010 ; Mustapha et al.,2007) .

وتتفق الدراسة الحالية مع الدراسات السابقة التي أشارت إلى أن معدل دنا لدى المتبرعين السلبيين للمستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) التي سجلت في السعودية (3.2%) ، واقل من تلك التي سجلت في غانا (12%) (Pourazar et al.,2005) ، وفي المكسيك كانت (6.4%) (Almeida and Cardoso ,2006) .

إنّ الكشف عن المستضد السطحي باستخدام الاليزا قديكون غير دقيق والدليل على ذلك وجد في دراستنا الحالية 3.9% موجبين لدنا الفيروس و3.4% موجبين للضدات اللبية IgM على الرغم من كونهم سالبين لفحص التحري عن المستضد السطحي والسبب قد يعود إلى تركيز الفيروس بالدم (viremia) لأنه واطئ جدا لايمكن الكشف عنه بالا ليزا أو ان التحري عن المستضد السطحي قد اجري خلال فترة النافذة Windows period التي لايمكن تحديد المستضد السطحي للفيروس خلالها والتي تستمر (10-6 أسابيع) ، أو استخدام عدد مختبرية مختلفة المنشأ والتي تعطي درجات حساسية مختلفة مما يؤثر على نتائج الدراسة ، أو حدوث طفرات في جين (S) أو pre-s لبعض سلالات فيروس التهاب الكبد نمط(ب) تؤدي إعطاء نتيجة سالبة لفحص التحري عن المستضد السطحي، وكذلك ميول الفيروس إلى التخفي والكمون

مما يسبب في التقدم البطيء للفيروس ويصبح الكشف عنه صعبا ،حيث يمكن لجينوم الفيروس الارتباط بدنا الخلايا الكبدية لمتبرعي الدم الذين يكون نتيجة فحصهم لمستضد السطحي سالبا .

ولهذا فان فحص التحري عن الضدات اللبية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) IgM باستخدام تقنية الاليزا ضمن الفحوصات التو كيدية لمتبرعي الدم وكذلك فحص تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) لتحري عن دنا الفيروس للحالات السالبة لفحص التحري عن المستضد السطحي ولكن يفضل إدخال فحص التحري عن الضدات اللبية لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) IgM إلى جانب فحص التحري عن المستضد السطحي ،إذ تعدّ معلمات Anti-HBcIgm أول الضدات النوعية التي تظهر بعد تعرض للإصابة الحادة وحتى خلال فترة النافذة وينخفض تركيزها بعد 6 أشهر ولكن ربما يمكن تحديدها مرة ثانية خلال انتعاش الإصابة (Berengew and Wright, 2002) . أما فحص PCR فانه يستطيع أن يحدد دنا الفيروس في الكبد والمصل ،ويمكن أن يحدد كميات قليلة جدا من دنا الفيروس بالدم وكذلك فهو مهم في مرضى نقل الكبد المرتبطين بعلاجات مضادة لفيروس (Niederhauser et al., 2008) . على الرغم من فوائد PCR إلى انه يحتاج إلى وقت أطول وكلفة أكثر ومختبرات خاصة للعمل لمنع التلوث وكذلك العدد المختبرية الخاصة بفحص PCR باهظة الثمن وكذلك يجب توفير متدربين أكفاء للعمل .

تتوافق الدراسة الحالية مع الدراسات السابقة التي أشارت عن معدل ايجابية دنا لدى متبرعي الدم بحسب الجنس عدم وجود أي فرق إحصائي معنوي مماثل لما سجل في نيويورك حيث بلغت أعلى نسبة لمعدل دنا الفيروس بين الإناث و في تركيا حيث وجد أن معدل الدنا بالذكور أعلى بقليل من الإناث (Kacar et al., 2003) . وكذلك أيضا بالنسبة للعمر والسكن لا توجد فروق معنوية تذكر ، وتختلف مع الدراسات التي سجلت في نيجيريا والهند التي تعتبر العمر والسكن عاملان مهمان لانتشار الإصابة بالتهاب الكبد نمط (ب) إذ سجلت أعلى نسبة لدنا الفيروس ضمن الفئة العمرية (15-29) سنة ويعود السبب إلى زيادة النشاط الجنسي للفئة العمرية (15- 29) سنة (Gerlich et al., 2007; Satake et al., 2007) ، بينما أظهرت دراستنا الحالية أعلى نسبة لدنا الفيروس ضمن الفئة العمرية (30-39) والسبب يعود إلى عدم أخذهم اللقاح لان برنامج اللقاح لم يطبق إلا في عام 1989 بينما مواليد هذه الفئة العمرية قبل عام 1982 وكذلك هذه الفئة اكبر مجموعة ضمن الدراسة وكذلك اختلاف حساسية الفحوصات المستخدمة، أما بالنسبة للسكن فتتفق الدراسة الحالية مع تلك الدراسات التي سجلت بالهند نيجيريا التي سجلت أعلى معدل لدنا الفيروس بالمناطق الحضرية نتيجة لازدحام المناطق الحضرية بالكثافة السكانية العالية وقلتها بالمناطق الريفية (Mabayoje et al., 2010; Chandra et al., 2009) .

أظهرت الدراسة الحالية وجود ترافق معنوي إحصائياً بين المستضد السطحي ودنا الفيروس للمتبرعين الذين أعطوا نتائج سلبية للمستضد السطحي للفيروس المكشوف عنها بتقنية الاليزا كانوا ايجابيين لوجود دنا الفيروس بحسب تفاعل البلمرة المتسلسل . وتتفق الدراسة الحالية مع نتائج الدراسات التي سجلت في غرب أفريقيا (4.4%) (Kumar et al.,2006) . وسبب ربما يعود إلى حدوث طفرة في جين (S) أدى إلى عدم إنتاج المستضد السطحي HBsAg أو أن الفحص اجري خلال فترة النافذة حيث لا يمكن تحديد المستضد السطحي خلالها أو أن كمية الفيروس بالدم قليلة جداً لا يمكن قياسها بتقنية الاليزا ولكن يمكن تحديدها جزيئياً بتقنية PCR التي تستطيع إن تشخص الإصابة حتى وإن كانت كمية الفيروس قليلة جداً .

أظهرت الدراسة الحالية وجود ترافق معنوي إحصائياً بين ايجابية الضدات النوعية IgM للـ الفيروس ووجود دنا الفيروس للمتبرعين الذين أعطوا نتائج سلبية للضدات النوعية IgM للـ الفيروس المكشوف عنها بتقنية الاليزا أعطوا نتائج ايجابية لوجود دنا الفيروس بحسب تفاعل البلمرة المتسلسل، تتفق الدراسة الحالية مع تلك الدراسات التي سجلت في إيطاليا (5.9%) (Evangelista et al.,2008) والسبب ربما يعود إلى ميل الفيروس إلى التخفي والكمون مما يسبب في التقدم البطيء للفيروس ويصبح الكشف عنه صعباً بالفحوصات المصلية .

أظهرت الدراسات الحالية وجود ترافق معنوي إحصائياً بين وجود المستضد السطحي والضدات النوعية IgM للـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب) معاً المكشوف عنهما بتقنية الاليزا ووجود دنا الفيروس المكشوف عنه بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل . المتبرعين الذين أعطوا نتيجة سلبية لكل من المستضد السطحي والضدات النوعية IgM للـ فيروس كان ايجابياً لوجود دنا الفيروس، وتتفق الدراسة الحالية مع تلك الدراسات التي أجريت في تركيا (3.8%) (Bal et al.,2009) .

والسبب يعود إلى الحساسية العالية لفحص PCR التي تستطيع إن تحدد دنا الفيروس وبكميات قليلة جداً بينما لا تستطيع تقنية الاليزا أن تحدد الإصابة عندما تكون الحمولة الفيروسية بالدم قليلة جداً، بالنسبة لفحص الضدات النوعية IgM للـ فيروس فيعود ربما السبب إلى إن الأشخاص يأخذون علاجات تثبيط مناعي كما هو الحال مع مرضى نقل الأعضاء الذين يكونون غير قادرين على إنتاج الضدات النوعية عند التعرض للإصابة .

وقد أظهرت الدراسة الحالية عدم وجود ترافق معنوي إحصائياً للضدات النوعية للمستضد السطحي لـ فيروس التهاب الكبد نمط (ب) المكشوف عنه بتقنية الاليزا بوصفه دليلاً تنبؤياً على وجود دنا الفيروس المكشوف عنه بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل، وتتفق الدراسة الحالية مع تلك الدراسات التي أجريت في بنغلادش (9.5%) (Afroz et al.,2007) . والسبب يعود إلى أن وجود الضدات السطحية

لوحدها دون الضدات النوعية IgM للـب الفيروس يعني أن الأشخاص ممنوعين أو قد تعافوا تماماً من الإصابة في حالة وجود الضدات النوعية IgM للـب الفيروس وليس دليلاً على وجود الإصابة لذلك لا يمكن اعتبار AntiHBsAb بمفرده كدليل تنبؤي لوجود الإصابة بالتهاب الكبد نمط (ب) الخفي مقارنة بالـضدات اللبية للفيروس .

أظهرت النتائج الحالية وجود ترافق معنوي إحصائياً للمستضد السطحي والـضدات النوعية للمستضد السطحي و الضدات النوعية IgM للـب فيروس التهاب الكبد نمط (ب) معا بوصفه دليلاً تنبؤياً على وجود دنا الفيروس (Romero *et al.*,2011) .

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

1.5. الاستنتاجات conclusions

من خلال الدراسة الحالية يمكن وضع الاستنتاجات الآتية :

1. تبين من خلال نتائج الدراسة وجود ارتفاع نسبي في إصابات التهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) الخفي بين متبرعي الدم الأصحاء في محافظة ديالى باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل .

2. وجود علاقة معنوية إحصائية بين الضدات النوعية IgM للـب الفيروس والتهاب الكبد الفيروسي نمط (ب) الخفي .

3. نسبة المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد نمط (ب) بين متبرعي الدم كان 4.3% باستخدام تقنية الـإيزا .

4. وجود ترافق معنوي إحصائي بين ايجابية المستضد السطحي والـضدات النوعية IgM للـب فيروس التهاب الكبد نمط (ب) المكشوف عنهما بتقنية الـإيزا بوصفه دليلاً تنبؤياً على وجود دنا الفيروس المكشوف عنه بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل .

5. وجود ترافق معنوي إحصائي بين ايجابية اختبار الكشف عن المستضد السطحي والـضدات النوعية للمستضد السطحي والـضدات النوعية IgM للـب فيروس التهاب الكبد نمط (ب) معا بوصفه دليلاً تنبؤياً على وجود دنا الفيروس المكشوف عنه بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل .

6. أظهرت الفئة العمرية من (30-39) أعلى نسبة ايجابية لدنا الفيروس المكشوف عنه بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل .

7. أظهرت الدراسة الحالية بان نسبة الايجابية لدنا الفيروس في الإناث أعلى من الذكور

8. أظهرت المناطق الحضرية أعلى نسبة ايجابية لدنا الفيروس المكشوف عنه بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل مقارنة بالمناطق الريفية .

2.5. التوصيات : Recommendations

1. إدخال فحص تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) لتحري عن دنا الفيروس في الحالات التي يكون فيها فحص التحري عن المستضد السطحي سلبى .

2. إدخال فحص التحري عن الضدات الـلبيه IgM لـفيروس التهاب الكبد نمط (ب) باستخدام تقنية الـإيزا ضمن الفحوصات الروتينية لمصرف الدم لتقليل خطر الإصابة التي تحدث عن طريق نقل الدم .

3. تحديد الأنواع الجينية genotypes لـفيروس التهاب الكبد نمط (ب) المسببة للإصابة الخفية .

4. دراسة العلاقة بين الإصابة بالتهاب الكبد نمط (ج) والإصابة بالتهاب الكبد نمط (ب) الخفي .

References:

المصادر :

- Abbas, A. A. (2002). A sero epidemiological survey on HBs Ag and Anti – HCV in Al-Qadisiya governorate. M.Sc. Thesis College of Medicine. University of Kufa.
- Afroz ,S.;Mahtab, M.A.;Rahman, S. and Khan ,M.(2007).Hepatitis B virus is the leading cause of cirrhosis of liver in Bangladesh .*Hepatology* ;1:120 .
- Afsar ,I.;Gungor, S.;Sener, A.G. and Yurtsever, S.G.(2010) .The prevalence of HBV,HCV,HIV infections among blood donors in Izmir ,Turkey.Indian Journal of Medical Microbiology 26(3):288-289 .
- Alao, O.O.; Okwori, O.O.; Egwu, C.and Audu, F.(2009). Seroprevalence of Hepatitis B surface antigen among prospective Blood donor in an Urban Area of Benue state. *J. of Hematology*;5(2).
- Al-Hilli , J. M. (2000) .Prevalence of serological markers of HBV and HCV among blood donors and certain risk groups in Baghdad .*J. Fac . Med .*, Baghdad , 40 (1).
- Allain ,J.P.; Sarkodie, F.; Candotti, D.; Opare-Sem, O. (2005). Lack of correlation between HBsAg and HBV DNA. Transfusion;in press
- Allain JP. (2004). Occult hepatitis B virus infection. *Transfus Clin. Biol.*; 11(1):18-25.
- Allain JP. (2009). Occult hepatitis B virus infection Hepatitis B Annual; 14-30. Available from: URL:

- Allain, J.P.; Candotti, D.; Soldan, K.; Sarkodie, F.; Phelps, B.; Giachetti, C et al. (2003). The risk of hepatitis B virus infection by transfusion in Kumasi, Ghana. *Blood* ; 101:2419-25.
- Almeida, R.P. and Cardoso, D.D.(2006).Detection of HBV DNA by nested-PCR in an HBsAg and anti-HBc negative blood bank donor.*J Clin Virol* ;36:231'-4 .
- Almeida-Neto, C.; Strauss ,E.; Sabino, E.C.; Sucupira, M.C. and Chamone, D.A. (2001). Significance of isolated hepatitis B core antibody in blood donors from Sao Paulo. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.*; 43(4):203-208.
- AL-Saaedi, A.A.(2001). A seroepidemiological survey on hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibodies to hepatitis C virus (anti- HCV) in AL-Qadisiya governrate . M.Sc.Thesis College of Medicine .University of Kufa.
- Al-Samaraie, W.; Al-Duliami ,A. and Hasan, A. (2007). The Role of Hepatitis E Virus Infection among Patients with Sporadic Acute Viral Hepatitis in Diyala **Province Iraqi J. Commun.Med.vol:** 2o(4) .
- Alter, M. (2003). Epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. *J Hepatol.*;39:S64-S69.
- Amitis, R.;Mohammad, B.; Ali, E. and Arezoo, A. (2010).Serological pattern of anti- HBc alone infers occult hepatitis B virus infection in highrisk individuals in Iran . *J Infect Dev Ctries.*; 4(10):658-661.
- Anbazhagan, G.K.; Krishnamoorthy ,S.and Thiyagarajan, T. (2010). Seroprevalence of HCV and its co-infection with HBV and HIV

among liver disease patients of South Tamil Nadu. *World J Hepatol*; 2: 42-48.

Ankra-Badu, G.A .; Malik, A.; Saleh ,S. and Layala ,B.(2001). Demographic characteristics of seropositive donors in Al-khobar. *Annals of Saudi Medicine*.; 21, 1-2.

Arauz-Ruiz, P.; Norder, H.;Robertson ,B. H. and Magnius, L. O. (2002). Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *Journal of General Virol*.;83:2059-73.

Aroldi, A. Lampertico ,P.; Montagnino, G.; Passerini, P.; Villa, M.; Campise, M.R.and Lunghi, G.(2005). Natural history of hepatitis B and C in renal allograft recipients. *Transplantation*. ; 79:1132-1136.

Azher ,S.; Al-Jebori; Hasan, A. and Al-Duliami, A. (2010) .Seroprevalence of Hepatitis B and Hepatitis C in Diyala province during 2003-2008.*Diyala J*. vol:6 (1) .

Bereewer ,M .and Wright , T. J. (2005) . Viral hepatitis .In FriedmanL., and Sleisenger, MIJ.;Sleiseng and Fordtrans. *Gastrointestinal and Liver Disease pathophysiology*, Diagnosis and Management 7th ed. Philadelphia, Saunders/An imprint of Elsevier Science .1285-1303.

Berenguer, M. and Wright, T.L. (2002). Viral hepatitis. In : Sleisenger and Fordtrans Gastro intestinal and liver disease, Pathophysiology, diagnosis, management. Edited by Feldman, M. , Friedman, L.S. , and Sleisenger, *M.H. vol 3*. pp : 1278-1290.

Bhattacharya ,P.;Chandrap, K.;Datta, S.;Banerjee, A.;Chakrabort ,y. et al.(2007) . significant increase in HBV ,HCV,HIV and Syphilis infection among blood donors in west Bengal,East in India 2004-2005:exploratory Screening reveals high frequency of occult HBV infection.*world Gastroenterol* 13:3730-3733.

Brechot, C.; Kremsdorf ,D.; Soussan, P.; Pineau ,P.;Dejean, A.; Paterlini-Brechot ,P. et al. (2010). Hepatitis B virus (HBV)-related

hepatocellular carcinoma (HCC): molecular mechanisms and novel paradigms. *Pathol Biol* (Paris);58:278-287.

Brechot, C.; Thiers, V.; Kremsdorf, D.; Nalpas, B.; Pol, S. and Paterlini-Brechot, P. (2001). Persistent hepatitis B virus infection in subjects without hepatitis B surface antigen: clinically significant or purely occult? *Hepatology* ; 34:194–203.

Brody, J. R. and Kern, A. P. (2004). History and Principles of conductive media for standard DNA electrophoresis. *Anal. Biochem.* 333 (1) :1-13.

Cacciola, I.; Pollicino, T.; Squadrito, G.; Cerenzia, G.; Villari, D. and de Franchis, R. (2000). Quantification of intrahepatic hepatitis B virus (HBV) DNA in patients with chronic HBV infection. *Hepatology* ; 31:507-12.

Candotti, D. and Allain, J. P. (2009). Transfusion-transmitted hepatitis B virus infection. *J Hepatol*; **51**: 798-809.

CDC, (2000). Hepatitis B vaccination coverage among Asia and Pacific Islander Children United – *States. MMWR*; 49: 616 – 619.

CDC, (2005). Hepatitis B. *MMWR*; 40: 624 – 639.

Cetinkurt, A. and Jurgen, B. (2005). Sodium hydroxide. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Weinheim : Wiley. 4-345.

Chandra, T.; Kumar, A. and Gupta, A. (2009). Prevalence of transfusion transmitted infection in blood donors : an Indian experience. *Trop Doct* ; 39:152-154.

Chaudhuri, V.; Tayal, R.; Nayak, B.; Acharya, S. K. and Panda, S. K. (2004). Occult hepatitis B virus infection in chronic liver disease: Full-length genome analysis of mutant surface promote. *Gastroenterol*; 127:1356-71.

Chemin, I. and Trepo, C. (2005). Clinical impact of occult HBV infections. *J Clin Virol*; 34:S15–21.

- Chen , S.Y.; Kao, C.F.; Chen, C.M.; Shih, C.M.; Hsu, M.J.; Chao, C.H.; Wang, S.H.; You, L.R. and Lee, Y.H. (2003). Mechanisms for inhibition of hepatitis B virus gene expression and replication by hepatitis C virus core protein. *J Biol Chem*; 278: 591-607.
- Chen ,L.W.; Chien, R.N.; Yen, C.L.; Chang, J.J.; Liu, C.J. and Lin ,C.L. (2010). Therapeutic effects of pegylated interferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients with occult hepatitis B virus dual infection. *J Gastroenterol Hepatol*; 25: 259-263.
- Chu, C.J. and Lee, S.D. (2010). Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C: An actor behind the scene or just a bystander? *J Gastroenterol Hepatol*; 25: 221-223.
- Chu, C.M.; Hung, S.J.; Lin, J.; Tai, D.I. and Liaw, Y.F. (2004). Natural history of hepatitis B e antigen to antibody seroconversion in patients with normal serum aminotransferase levels. *Am J Med*;116:829-34.
- Colin ,W. S.; Edgar, P. S.; Lyn, F.; Anthony, E. F. and Beth ,P. B. (2006). Hepatitis B Virus Infection: Epidemiology and Vaccination. *Epidemiologic Reviews* .; 28(1): 112-125.
- De Feo ,T.M.; Poli, F.; Mozzi, F.; Moretti, M.P. and Scalamogna, M.; Di Marco, V.; Lo Iacono, O.; Camma, C.; Vaccaro, A.; Giunta, M.; Martorana, G. and Fuschi, P. (2005). The long-term course of chronic hepatitis B. *Hepatology*.;30:257-264.
- De Mitri, M.S.; Cassini, R. and Bernardi, M. (2010). Hepatitis B virusrelated hepatocarcinogenesis: molecular oncogenic potential of clear or occult infections. *Eur J Cancer*; 46: 2178-2186.
- Duong, T.N.; Horiike, N.; Michitaka, K.; Yan, C.; Mizokami, M. and Tanaka, Y .(2004). Comparison of genotypes C and D of hepatitis B virus in Japan: A clinical and molecular biological study. *J Med Virol*;72:551-7.

- Duygu, F. ; Ugur, A. and Mahmut, B. (2007). Determination of hepatitis B virus DNA incidence, viral load, and mutations in blood donors with HBsAg and anti-HBs-negative serology and antibodies to hepatitis B core antigen *.European Journal of Internal Medicine.*; 18:571–575.
- El Chaar, M.; Candotti, D.; Crowther, R.A. and Allain, J.P. (2010). Impact of hepatitis B virus surface protein mutations on the diagnosis of occult hepatitis B virus infection. *Hepatology.*;52:1600–1610.
- El-Zayadi ,R.; Ibrahim, I.H.; Badran, H.M.; Saeid ,A.; Moneib, N.A.; Shemis, M.A. R. M. ;Abdel-Sattar, R.M.; Ahmady, A.M. & El-Nakeeb, A. (2008). Anti-HBc screening in Egyptian blood donors reduces the risk of hepatitis B virus transmission. *Transfusion Medicine.*; 18(1):55-61.
- Emad, F. and Gamal M . (2002) . Evaluation of blood units with isolated anti HBC for the presence of HBV DNA. *Disease Markers*;18 :107–110.
- Evangelista, S.;Michele, I.;Nicola, C.; Raffaella, P.; Caterina, S.;Vincenzo, M.; Guido, P.; Maria ,S.; Marika, B.;Giovanni ,M.;Nunzio, C.;Giuseppe, P. and Camillo, D.V.B. (2008). Diagnosis and clinical impact of occult hepatitis B infection in Paens with biopsy proven chronic hepatitis C:A multicenter study. *Journal of Medical virology* ,80:1547-1553.
- Fang, Y.; Teng, X.; Xu, WZ.; Li ,D.; Zhao, H.W.; Fu, L.J.; Zhang ,F.M. and Gu ,H.X. (2009). Molecular characterization and functional analysis of occult hepatitis B virus infection in Chinese patients infected with genotype C. *J Med Virol.*;81:826–835.

- Ganem, D. and Prince, A. M. (2004). Hepatitis B virus infection- natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* ; 350: 1118-1129.
- Geraldine, K.; Adel, A.; Intesar, A.; Jameel ,N. and Said, H. (2006). Evidence of Occult Hepatitis B Virus Infection among Omani Blood Donors: A Preliminary Study. *Med Princ Pract.*; 15:368 372.
- Geraldine, K.; Adel, A.; Intesar, A.; Jameel, N. and Said, H.(2006). Evidence of Occult Hepatitis B Virus Infection among Omani Blood Donors: A Preliminary Study. *Med Princ Pract*; 15:368–372.
- Gerlich ,W.H.; Bremer ,C.; Saniewski, M.; Schüttler; C.G.; Wend, U.C.; Willems, W.R. and Glebe D.(2010). Occult hepatitis B virus infection: detection and significance. *Dig Dis.*;28:116–125.
- Gerlich, W.H.;Wagner, F.F.;Chudy, M.;Harrisjoh, L.H.;Lattermaenn, A. and Sandra, W.(2007).HBsAg non-reactive HBV infection in blood donors: Transmission and Pathogenicity. *J.Med. Virol.*, 79:32-36 .
- Gervain, J.; Simon, G. J.; Papp, I. and Szabone, B.K.(2001). A magyarorszagi kronikus C virus hepatitises betegek virustipus -es szubtipus-meghatározása [Determination of the type and subtype of the hepatitis C virus in chronic viral hepatitis patients in Hungary]. *Orv. Hetil.* Jun 24; Vol.142(25) .pp. 1315-1319.
- Grop, P.; Hallauer, J.; Shouvaal, D.; Leroux-roels, G. and Meheus, A. (2004). Presentation of Hepatitis C Virus Infection. *Journal of Viral Hepatitis.Vol.* 11pp.198-205.
- Guha, C.; Mohan, S.; Chowdhury, N.R. and Chuwdhury, J.R. (2004). Cell culture and animal models of viral hepatitis. Part I: Hepatitis B. *J. Lab. Animal Rev.* ; 33 (7).
- Gupta, S and Singh ,S.(2010). Occult hepatitis B virus infection in ARTnaive HIV-infected patients seen at a tertiary care centre in north India. *BMC Infect Dis*; 10: 53.

- Gupta, S. and Singh, S. (2006). Hepatitis B and C virus co-infections in human immunodeficiency virus positive North Indian patients. *World J Gastroenterol*, 12(42):6879-6883.
- Gutierrez-Garcia, M.L.; Ferna'ndez-Rodriguez, C.M.; Lledonnavarro, J.L. and Buhigas-Garcia, I.(2011).Prevalence of occult hepatitis B virus infection . *World J.Gasteoenterol* ;17: 1538-1542 .
- Harvey, A.;Richard,A.; Champe, C. and Pamela,B. (2007). Hepatitis B and Hepatitis D (Delta) *Viruses.Microbiology* 2nd edition .P: 273-282.
- Hasan ,A.; Al-Duliami, A. and Al-Samaraie, W.(2007). Seroprevalence and risk factors of anti- hepatitis E virus antibody among healthy population in Baquba, Diyala province. *Iraqi J. Commun.Med.* vol: 20 (4) .
- Hasan, A. SH. (2003). Prevalence of hepatitis B and hepatitis C virus infections among health care workers. *J. Diayla* ; 15: 154-160.
- Hasan,A.SH.(2008) .prevalence of anti-hepatitis C virus antibodies among blood donors and risky groups in *Diyala. J.Fac. Med* .(Baghdad);50(4):467-70.
- Hennig, H.; Puchta, I.; Luhm, J.; Schlenke, P.; Goerg, S. and Kirchner H.(2002). Frequency and load of hepatitis B virus DNA in first - time blood donors with antibodies to hepatitis B core anti. *Blood*;100:2637-41.
- Heo, J.; Baik, T.H.; Kim, H.H.; et al. (2003). Serum hepatitis B virus (HBV) DNA levels at different stages of clinical course in patients with chronic HBV infection in an endemic area. *Korean Med Sci*;18(5):686-90.
- Hollinger, F. B. and Liang, T. J. (2001). Hepatitis B virus. In: *Fields Virology*. Knipe DM et al (eds).4th ed. pp 2971-3036.

- Hollinger, F.B. and Sood, G.(2010). Occult Hepatitis B Virus Infection: A Covert Operation: Prevalence of Occult Hepatitis B. *J Viral Hepat.*;17(1):1-15.
- Hollinger, F.B. and Liang ,T.J. (2002). Hepatitis Be Antigen- The Dangerous Endgame of Hepatitis B. Fields virology, 4th. Ed. Philadelphia Lippincott Williams & Wilkins. Hoofnagle, J.H. and Lindsay ,K.L.(2001). Acute viral hepatitis In: Cecil text book of medicine, Bennett and Plum (eds.), 21st ed. vol. 1. P :783-796. W.B. Saunders Company.
- Husan, A.SH. and Omer, A.(2006) Prevalence and risk factors associate with blood transmitted viruses among cancer patients.*Iraqi J.of community medicine* Vol.18 (1) .
- Hwang, S.J.; Chu,C.W.; Huang,D.F.; Lan,K.H.; Chang,F.Y. and Lee,S. D. (2002).Genetic predispositions for the presence of cryoglobulinemia and serum autoantibodies in Chinese patients with chronic hepatitis C.Tissue-Antigens. *Jan*; Vol.59(1) .pp. 31-37.
- Irshad, M. and Peter, S. (2002). Spectrum of viral hepatitis in thalassemic children receiving multiple blood transfusions. *Indian J Gastroenterol*.
- Jafarzadeh, A.; Arababadi. M. K.; Mirzaee, M. and Pourazar, A. (2008). Occult hepatitis B virus infection among blood donors with antibodies to hepatitis B core antigen, *Acta Medica Iranica* ;46(1): 27-32.
- Jardi, R.; Rodriguez, F.; Buti, M.; Costa ,X.; Cotrina, M.; Galimany, R. and Esteban, R. (2001). Role of hepatitis B, C, and D viruses in dual and triple infection: influence of viral genotypes and hepatitis B precore and basal core promoter mutations on viral replicative interference. *Hepatology*.;34:404-410.

- Jawetz,A. ;Melnick,S. and Adelberg's,D. (2004). 'Hepatitis viruses' In: Medical Microbiology. Brooks, G.F., Butel ,J.S .and Morse ,S.A. (eds.). 32 Edition p 535-563, Appleton and Lange. USA.
- Juergen, B. and Michael, N. (2007). Hepatitis B virus replication. *World J Gastroenter.*
- Kacar, F .;Erol ,S.;Parlak, M. and Kadanali,I. (2003).The seroprevalance of hepatitis B virus in Erzurum and its vicinity. *T.J.Infec.*, 17:389-393 .
- Kaneko, S.; Miller, R.H. and Bisceglie, A. M. (2000). Detection of hepatitis B virus DNA in serum by polymerase chain reaction. *Gastroenter.* ; 99:799-804.
- Kang, Y.; Matsuura, E.; Sakamoto, T.;Sakai, M. and Nishi, S. (2001). Monitoring of patients suffering from hepatocellular carcinoma. *Tumor Biol.*; 22: 254-261.
- Karpenko,V. and Norris,J.A.(2001).Vitrol in the history of chemistry. Chem. Listy.96:997.
- Kim, J.H.; Bang, Y.J.; Park, B.J.; Yoo, T.; Kim, C.W.; Kim, T.Y.; Heo, D.S.; Lee, H.S. and Kim, N.K.(2002). Hepatitis B virus infection and B-cell non-Hodgkin's lymphoma in a hepatitis B endemic area: a case-control study. *Jpn. J. Cancer Res.* May; Vol.93(5) .pp. 471-477.
- Kirk, G.D.; Lesi, O.A.; Mendy, M.; Akano, A.O.; Sam, O.; Goedert, J.J. and Hainaut, P. (2004). The Gambia Liver Cancer Study: Infection with hepatitis B and C and the risk of hepatocellular carcinoma in West Africa. *Hepatology*.;39:211- 219.
- Kleinman ,S.H.; Kuhns, M.C.; Todd, D.S.; Glynn ,S.A.; McNamara, A. and DiMarco ,A. (2003) .Frequency of HBV DNA detection in US blood donors testing positive for anti-HBc: Implications for transfusion transmission and donor screening. *Transfusion*; 43:696-704.

- Kleinman, S.H and Busch, M.P. (2000). The risks of transfusion- transmitted infection direct estimation and mathematical modelling. *Baillieres Clin Haematol.*; 13(4):631-49.
- Kumar SI,Rahman S,Kamal M,Khan M,Aggarwal R. (2006).Hepatitis B genotypes virus among chronically infected patients in atertiary-care hospital in Bangladesh.*Indian J Gastroenterol* ;25:219-21 .
- Lalazar, G.; Rund, D. and Shouval, D.(2007). Screening, prevention and treatment of viral hepatitis B reactivation in patients with haematological malignancies. *Br J Haematol.*136:699–712.
- Lavanchy, D. (2004). Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat.* ;11:97-107.
- Levicnik-Stezinar, S.; Rahne-Potokar, U.; Candotti, D.; Lelie, N. and Allain, J .P. (2008). Anti-HBs positive occult hepatitis B virus carrier blood infectious in two transfusion recipients *J Hepatol* , 48(6):1022- 5.
- Li, L.; Chen ,P.J.; Chen, M.H.; Chak, K.F.; Lin, K.S and Tsai, S.J. (2008). A pilot study for screening blood donors in Taiwan by nucleic acid amplification technology: detecting occult hepatitis B virus infections and closing the serologic window period for hepatitis C virus. *Transfusion.*; 48:1198-1206.
- Liaw, Y.F.; Chen ,Y.C.; Sheen, I.S.; Chien, R.N.; Yeh, C.T. and Chu, C.M. (2004). Impact of acute hepatitis C virus superinfection in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology*; 126: 1024-1029.
- Lin, K.; and Kirchner, J.T. (2004). Hepatitis B virus. J.Amer. FAm. Phus.; 69(1): 1.

- Lindh, M.; Horal, P.; Dhillon, A.P. and Norkrans, G. (2000). Hepatitis B virus DNA levels, precore mutations, genotypes and histological activity in chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* ;7:258-67.
- Lok , A.S.F. (2002) . Chronic hepatitis B. *N Engl J Med* .346: 1682-1683.
- Robinson WS (1995) . Hepatitis B virus and hepatitis D virus .in : Mendel GL, **Bennett JE,Dolin R**,eds, Principles and practice of infection diseases ,4th ed : p 1406-new York, Churchill Livingstone.
- Lok, A.S.F. (2001). Serologic diagnosis of hepatitis B virus infection, *N Engl J Med.*; 48: 83-89.
- Mabayoje, V.O.; Akinwusi, P.O.; Opaleye, O.O.;Aboderin, O.A.; Egbewale, B.E. and Fagbami, A.H.(2010).prevalence of Hepatitis B surface Antigen,Hepatitis C and HIV Antibodies in population of Students of Tertiary Institution in Nigeria. *Afr.J.Cln. Exper.Microbiol* 11(2):68-74 .
- Mahmood, A. K. ; Addose, S. A. ; Salih, H. A. and Al-Khadi, A. (2001). Sero-epidemiological survey of HBs Ag and anti – HCV positive blood donors in Al -Najaf governorate. *Iraqi J. Comm. Med.*; 14: 29 – 33.
- Maini , M.K. ; Boni , C .; Ogg , G.S., etal. (2000) . Direct ex vivo analysis of HBVspecific CD₈⁺ T-cell associated with the control of infection *Gastroenterology* . 117 : 1386 – 96.
- Majeed, M. N. (2002). Prevalence of Hepatitis B and Hepatitis C Infections among Thalassaemia Children in Najaf City. *Kufa. Med. J.* Vol. 5. (1) .pp. 192.
- Manesis, E.K. and Hadjiyannis, S.J. (2001). Interferon alfa treatment and retreatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Gastroenterology*;121: 101-9.
- Maniatis,T.;Fritsch,E.F. and Sambrook,J.(1982).Molecular cloning Fourth ed.Cold Spring Harbor Laboratory.New york.

- Mast , E. ; Mahoney , F. ; Kane , M. et al . (2004) . Hepatitis B vaccine . In : Plotkin, S.A. , Orestein, W.A. , eds. *Vaccines* . Philadephia : Saunder , 299 – 337.
- Matsuoka ,S.; Nirei ,K.;Tamura, A. et al.(2008). Influence of occult hepatitis B virus co infection on the incidence of fibrosis and hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. *Intervirolgy*.; 51(5):352-61.
- Mina, P.; Georgiadou ,S.P.; Rizos, C.; Dalekos, G.N. and Rigopoulou, E.I. (2010). Prevalence of occult hepatitis B virus infection in haemodialysis patients from central Greece. *World J Gastroenterol*. ;16:225–231.
- Mohammad, A.; Riyasat, A.; Luqman ,A. K.;Husain, S.A. Rajiv, S .and Kar, P.(2010).Significance of anti-HBc screening of blood donors. *Indian J Med Res*.;132: 312-317.
- Moore, A.;Herrera, G.;Nyamongo ,J.et al.(2001).Estimated risk of HIV transmission by blood transfusion in Kenya.Lancet;358:657-660 .
- Morsica ,G.; Ancarani, F.; Bagaglio, S.; Maracci, M.; Cicconi, P.; Cozzi Lepri, A.; Antonucci, G.; Bruno, R.; Santantonio ,T.; Tacconi, L.; Baldelli, F.; Piscopo, R.; Santoro, D.; Lazzarin, A.& D'Arminio, Monforte, A.(2009). Occult hepatitis B virus infection in a cohort of HIV-positive patients: correlation with hepatitis C virus coinfection, virological and immunological features. *Infection* ; 37: 445-449.
- Mrani, S.; Chemin, I.; Menouar, K.; Guillaud, O.; Pradat, P.; Borghi, G.; Trabaud, M.A.; Chevallier, P.; Chevallier ,M.; Zoulim, F. and Trépo C. (2007). Occult HBV infection may represent a major risk factor of non-response to antiviral therapy of chronic hepatitis C. *J Med Virol*; 79: 1075-1081.
- Mustapha, S.K.S.K.; Bolori, M.T.; Ajayi, N.A.; Aggada, H.A.; Pindiga, U.H.; Gashau, W.and Khalil , M.I.A.(2007).Hepatocellular carcinoma

in north –Eastern Nigeria: Aprospective Clinical Study of 100 cases.
J.Gastroenterology; 6(1).

Nakano, T.; Lu, L.; Hu, X.; Mizokami, M.; Orito, E.; Shapiro ,C. Hadler, S.
& Robertson, B. (2001). Characterization of hepatitis B virus
genotypes among Yucpa Indians in Venezuela. ***Journal of
GeneralVirology*** 82, 359-365.

Niederhauser, c.(2011). Reducing the risk of hepatitis B virus
transfusiontransmitted infection. ***Journal of Blood Medicine***.; 2: 91-
102.

O'Brien, S.F; Fearon, M.A; Yi, Q.L; Fan, W.; Scalia, V.; Muntz, I.R. *et al.*
(2007). Hepatitis B virus DNA-positive, hepatitis B sur antigen
negative blood donations intercepted by anti- hepatitis B coreantigen
testing: the Canadian Blood Services experience. ***Transfusion***.; 47:
1809-15.

Omer, A.R. and AL-Salmani,A. (2005). Hepatitis B virus. ***Health Ministry
and WHO J***.; 5:27.

Pang, A.; Yuen, M.F.; Yuan, H.J.; Lai, C.L. and Kwong, Y.L. (2004) . Real-
time quantification of hepatitis B virus core-promoter and pre- core
mutants during hepatitis e antigen seroconversion. ***J
Hepatol***;40:1008-17.

Paola, M.; Mauro, G.; Raffaele, B.; Osvaldo, G.; Roberto, G. and Maurizio,
L.(2007).Italian blood donors with anti-HBc and occult hepatitis B
virus infection. ***Haematologica***.; 92(12): 1664-1670.

Parslow, T.G.; Stite, D.P.; Tevr, A.I and Imboden, J.B. (2001). Medical
Immunology, 10th ed. Lange Medical books, ***McGrew- Hill Medical
Publishing division***: p 148-174.

Poland, G.A. ;Jacobson , R.M. and Tevr, A.I. (2004).Prevention of hepatitis
B with the hepatitis B vaccine . New Eng. ***J. Med.***; 351 : 2832-8 .

- Pollicino, T.; Squadrito, G.; Cerenzia, G.; Cacciola, I.; Raffa, G.; Craxi, A.; Farinati, F.; Missale, G.; Smedile, A.; Tiribelli, C.; Villa, E. and Ponde, R.A.A.; Cardoso, D.D.P. and Ferro, M.O. (2010). The underlying mechanisms for the 'anti-HBc alone' serological profile. *Arch. Virol.*, 155:149-158.
- Pourazar, A.; Salehi, M.; Jafarzadeh, A.; Kazemi-Arababadi, M.; Oreizi F. and Shariatinsaz, K. (2005). Detection of HBV DNA in HBsAg negative normal blood donors. *Iran J. of Immunol* ;2:172-176.
- Raimondo, G. (2004). Hepatitis B virus maintains its pro-oncogenic properties in the case of occult HBV infection. *Gastroenterology* ; 126: 102-110.
- Raimondo, G.; Allain, J.P.; Brunetto, M.R.; Buendia, M.A.; Chen, D.S.; Colombo, M. et al. (2008). Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol.*; 49:652-7.
- Raimondo, G.; Pollicino, T.; Romanò, L. and Zanetti, A.R. A. (2010). Update on occult hepatitis B infection. *Pathol Biol* (Paris) ; 58: 254-257.
- Raimondo, G.; Pollicino, T.; Cacciola, I. and Squadrito G. (2007). Occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol.*; 46:160-70.
- Ramezani, A.; Banifazl, M.; Mohraz, M.; Rasoolinejad, M. and Aghakhani, A. (2011). Occult hepatitis B virus infection: A major concern in HIV- infected patients. *Hepat Mon.*; 11(1):7-10.
- Ramiah, S.; Ramlawi, F.; Kanaan, M.; Klayme, S. and Naman, R. (2005). Frequency and significance of antibodies against hepatitis B core (anti- HBc) antigen as the only serological marker for hepatitis B infection in Lebanese blood donors. *Epidemiol. Infect.*; 133: 695-699.

- Ranges, S.; Alain, S. and Denis, F. (2002). Virus des hepatites: transmission mere-enfant [Hepatitis viruses: mother to child transmission]. *Pathol. Biol.* (Paris); Vol.50(9) .pp. 568- 75.
- Reddy, G.A.; Dakshinamurthy, K.V.; Neelaprasad ,P.; Gangadhar, T. and Lakshmi ,V. (2005). Prevalence of HBV and HCV dual infection in patients on haemodialysis. *Indian J Med Microbiol* ;23:41-43 .
- Rehermann ,B.(2003). Immune response in HBV infection. *Seminars in Liver Dis.*; 23 (1): 21 - 37.
- Rodrigues, C.; Deshmukh, M.; Jacob, T.; Nukala ,R. and Menon ,S. (2001). Significance of HBV DNA by PCR over serological markers of HBV in acute and chronic patients. *Indian J Med Microbiol.* Jul-Sep.; 19(3):141-4.
- Romero, M.;Madejo'n, A.;Ferna'ndez-Rodriguez, C. and GarciaSamaniego, J.(2011).Clinical significance of occult hepatitis B virus in fection. *World J.Gasteoenterol* ;17:1549-1552.
- Sagnelli, E.; Coppola ,N.; Messina, V.; Di Caprio ,D.; Marrocco ,C.;Marotta, A. and Onofrio ,M.(2002). HBV superinfection in hepatitis C virus chronic carriers, viral interaction, and clinical course. *Hepatology.*;36:1285-1291.
- Said, Z.N.; El-Sayed, M.H.; El-Bishbishi ,I.A.; El-Fouhil, D.F.; Abdel-Rheem, S.E.; El- Abedin ,M.Z. and Salama, I.I. (2009). High prevalence of occult hepatitis B in hepatitis C-infected Egyptian children with haematological disorders and malignancies. *Liver Int.*;29:518–524.
- Satake ,M.;Taira ,R.;Yugi ,H.;Hino, S.;Kanemitsu, K.;Ikeda, H. and Tadokoro, K.(2007).infectivity of blood components with low hepatitis B virus DNA levels identified in alookback program. *Transfusion*,47:1197-1205 .

- Sato, S.; Ohashi, W.; Ihara, H.; Sakaya, S.; Kato, T. and Ikeda, H. (2001). Comparison of the sensitivity of NAT using pooled donor samples for HBV and that of a serologic HBsAg assay. *Transfusion.* ; 41(9): 1107-1113.
- Sav, T.; Gursoy, S.; Torun, E.; Sav, N.M.; Unal, A.; Oymak, O. and Utas, C. (2010). Occult HBV infection in continuous ambulatory peritoneal dialysis and hemodialysis patients. *Ren Fail*; 32: 74-77.
- Sawke Nilima, G. and Sawke, G.K. (2010). Preventing Post-Transfusion Hepatitis by screening blood donors for IgM Antibody to Hepatitis B core antigen. *J Glob Infect Dis*; 2(3):246–247.
- Schiff and Eugene, R. (2004). Sec. 3, Hepatitis B. In: *Hepatitis learning guide*. Published by, Abbott diagnostics, a division of Abbott Laboratory Inc., USA; p 22.
- Schuttler, C.G.; Fiedler, N.; Schmidt, K.; Repp, R.; Gerlich, W.H. and Schaefer, S. (2002). Suppression of hepatitis B virus enhancer 1 and 2 by hepatitis C virus core protein. *J Hepatol*; 37:855-862.
- Scuderi, M.A. (2003). DNA vaccines for the prevention and treatment of hepatitis B virus. *Biology*; 238.
- Seeger, C. & Mason W. S. (2000). Hepatitis B virus biology.
- Sehgal, R. and Sharma, A. (2002). Hepatitis G virus (HGV): current perspectives. *Indian J. Pathol. Microbiol.* Jan; Vol.45(1) .pp.123-128.
- Shire, N.J.; Rouster, S.D.; Stanford, S.D.; Blackard J.T.; Martin, C.M.; Fichtenbaum, C.J. and Sherman, K.E. (2007). The prevalence and significance of occult hepatitis B virus in a prospective cohort of HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 44(3):309-14.
- Siki, R.; Gelfanf, D.; Stoffel, S.; Scharf S. and Higu Chi, R. (2005). Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*; 239 :487-941.

- Simmonds, P. and Peutherer , J. F. (2002) .Hepadnaviruses in Medical Microbiology edited by Greenwood , D. ; Slack , R.C. and Peatherer , J.F. , 9th edition , printed in china by **RDC Group limited** , Chap 46 : 438-46.
- Sofian ,M.;Aghakhani, A.;Izadi, N.; Banifazl, M.;Kalantar, E.;Eslamifar, A. and Ramezani , A. (2010).Lack of occult hepatitis B virus infection among blood donors with isolated hepatitis B core antibody living in an HBV low prevalence region of Iran.Int.**J.Infect.Dis.**,14:308-310 .
- Sorlie, D.E. (ed). (1995). Medical biostatistics and epidemiology: Examination and Board review. First ed, Norwalk, Connecticut, **Appleton and Lange**: 47-88.
- Stroffolini ,T. and Colucci ,G. (2003). Epidemiological and clinical burden of chronic hepatitis B virus/hepatitis C virus infection. A multicenter Italian study. **J Hepatol.** ;39:1036-1041.
- Tamori, A.; Hayashi, T.; Shinzaki ,M.; Kobayashi, S.; Iwai, S.; Enomoto, M.; Morikawa, H.; Sakaguchi ,H.; Shiomi ,S.; Takemura ,S.; Kubo, S. and Kawada ,N.(2009). Frequent detection of hepatitis B virus DNA in hepatocellular carcinoma of patients with sustained virologic response for hepatitis C virus. **J Med Virol**; 81:1009-1014.
- Torbenson, M. and Thomas ,D.L. (2002). Occult hepatitis B. **Lancet InfectiousDisease.**;2:479–86.
- Urbani ,S.; Fagnoni, F.; Missale, G. and Franchini, M. (2010). The role of anti core antibody response in the detection of occult hepatitis B virusinfection. Clin Chem Lab Med.; 48(1):23-9.
- Utsumi1,T.; Yano, Y.; Truong ,B.; Kawabata ,M.;and Hayashi, Y.(2011). Characteristics of occult hepatitis B virus infection in the Solomon Islands. **International Journal of Molecular Medicine.** 27(16):829-834.

- Wang, Y.; Cui, F.; Lv, Y.; Li, C.; Xu, X.; Deng, C.; Wang, D.; Sun, Y.; LLu, J.; Lang, Z.; Huang, C. and Yang, X. (2004). HBsAg and HBx Knocked into the P21 Locus Causes Hepatocellular Carcinoma in Mice. *Hepatology*. Vol. 39(2).
- Weinberger, K.M.; Bauer ,T.; Bohm, S. and Jilg, W. (2000). High genetic variability of the group-specific a-determinant of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) and the corresponding fragment of the viral polymerase in chronic virus carriers lacking detectable HBsAg in serum. *J Gen Virol*;81:1165-74.
- WHO, CSR. Department of communicable Disease Surveillance and Response, (2005). Hepatitis B-an introduction. *MMWR*.; 20: 104 – 121.
- WHO. (2000). National centers for disease control and prevention. Gary Schat. C. from web site www.pkids.org02-09globalhbv.pdf.
- WHO.(2004). Hepatitis B. Dublin: *World Health Organization*; [updated 2004; cited].
- WHO.(2011). Hepatitis B. Dublin: *World Health Organization*; [updated 2004; cited].
- Wright , T.L. (2002) . Clinical aspects of HBV infection . *Lancet* ; 342 : 1340 – 4 .
- Yu, M.W.; Chang, H.C.; Chang, S.C.; Liaw, Y.F.; Lin, S.M.; Liu, C.J.; Lee, S.D.; Lin, C.L.; Chen, P.J.; Lin, S.C. and Chen, C.J.(2003). Role of reproductive factors in hepatocellular carcinoma: Impact on hepatitis B and C related risk. *Hepatology*. Dec; Vol. 38(6) .pp. 1393- 1400.
- Yuen, M.F.; Lee, C.K.; Wong, D.K.; Fung ,G. and Hung, I. (2010). Prevalence of occult hepatitis B infection in a highly endemic area for chronic hepatitis B: a study of a large blood donor population. *Gut*. ;59:1389-1393.

- Zacharakis, G.; Koskinas, J.; Kotsiou, S.; Pouliou, E.; Papoutselis, M.; Tzara, F.; Vafeiadis, N.; Maltezos, E.; Archimandritis, A. and Papoutselis, K. (2007). Natural history of chronic hepatitis B virus infection in children of different ethnic origins: a cohort study with up to 12 years' follow-up in northern Greece. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*;44:84–91.
- Zahn, A.; Li, C.; Danso, K.; Candotti, D.; Owusu-Ofori, S.; Temple, J. and Allain, J.P. (2008). Molecular characterization of occult hepatitis B virus in genotype E-infected subjects. *J Gen Virol*; 89(2):409-418.
- Zervou, E.K.; Dalekos, G.N.; Boumba, D.S. and Tsianos E.V. (2001). Value of anti-HBc screening of blood donors for prevention of infection: results of a 3-year prospective study in Northwestern Greece. *Transfusion*;41:652-8.