



الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
كلية الطب البشري
قسم الطب المخبري

تحري المستضد السطحي لالتهاب الكبد البائي لدى الممرضات
في مدرسة التمريض جامعة دمشق وطلاب كلية الطب السنة
الخامسة بجامعة دمشق

***Investigate the surface antigen of hepatitis B for the
nurses in the nursing school and Medicine Student of
the fifth year at the University of Damascus.***

بحث علمي أعد لنيل شهادة الماجستير في الطب المخبري

بإشراف
المدرسة الدكتورة
عواطف عرفات

برئاسة
الأستاذ المساعد الدكتورة
تهاني العلي

إعداد الطالبة
نور الهدى السابق

1434 هـ - 2013 م

الفهرس

القسم الأول : القسم النظري

5	1- مقدمة عامة حول التهاب الكبد الفيروسي
5	2- التهاب الكبد بالفيروس البائي
6	3- بنية الفيروس
10	4- الخارطة الجينية لـ HBV
12	5- الأنماط الجينية
12	6- نماذج التهاب الكبد البائي
14	7- التفاعل مع العوامل الفيزيائية والكيميائية
14	8- الوبائيات:
16	9- طرق انتقال الفيروس
17	10- المجموعات الخطرة
18	11- الأمراض
	12- الاعراض السريرية
18	1 - الشكل الحاد للإصابة بالتهاب الكبد B
19	2 - الشكل المزمن للإصابة بالتهاب الكبد B
24	13- تشخيص الإصابة بالتهاب الكبد B
29	14- التقييم قبل المعالجة
30	15- المعالجة -----
32	16- الوقاية -----

34	1- مكونات اللقاح -----
34	2- طريقة اعطاء اللقاح -----
35	3- لمن يعطى اللقاح - - - - -
36	4- تحري الاستجابة للقاح-----
37	5- الآثار الجانبية للقاح -----

القسم الثاني : الدراسة العملية

40	أهداف البحث -----	-6
40	المشكلة العلمية في مشروع البحث -----	-7
	المواد و الطرائق	-8
40	عينه الدراسة -----	1
40	جمع المعلومات -----	2
41	طرق الدراسة -----	3
44	3 - 1 مبدأ الاليزا -----	
49	3 - 2 جمع العينات وحفظها -----	
49	3 - 3 الكواشف والمواد المستعملة -----	
51	3 - 4 طريقة العمل -----	
53	النتائج -----	-9
57	دراسات مقارنة -----	-10
63	المناقشة -----	-11
63	التوصيات -----	-12
64	المراجع -----	-13

القسم النظري

1- مقدمة عامة حول التهاب الكبد الفيروسي:

إن العديد من الفيروسات الممرضة يمكن أن تصيب الكبد في سياق إمرضيتها للإنسان، وهي فيروسات منتمة إلى عائلات وأجناس فيروسية مختلفة، يختلف بعضها عن البعض الآخر من ناحية الإنذار والوبائيات وكيفية السيطرة عليها، تقسم العوامل الفيروسية المسببة لالتهاب الكبد إلى مجموعتين:

• فيروسات التهاب الكبد الأولية:

مكان إصابتها الأساسي هو الكبد، وتشكل 95 % من حالات الالتهاب، وأشهرها حتى الآن: A-B-C-D-E-F-G .

• فيروسات التهاب الكبد الثانوية:

وهي فيروسات تصيب الكبد، ولكنها تصيب أماكن أخرى في الجسم ومنها: الفيروس المضخم للخلايا CMV – فيروس ابشتاين بار EBV – فيروس الحلا البسيط HSV .

2- التهاب الكبد بالفيروس (HBV) Hepatitis B Virus:

يوجد التهاب الكبد البائي في مختلف أنحاء العالم، ولكنه يشيع خصوصاً في آسيا عالمياً أكثر من 350 مليون شخص مصابين بشكل مزمن ب HBV ، وحوالي 75% منهم أسويون، كما أن حوالي المليون شخص يموتون سنوياً بسبب اختلاطاته.

أما في الولايات المتحدة فيعد المرض الرئيسي للشباب بين سن 20-50 سنة وحوالي مليون شخص هم حاملين مزمنين للمرض، ويسبب حوالي 3000 حالة وفاة كل سنة(22).

إن هذا العدد الكبير لحملة المرض يقضي بضرورة العمل على توحيد الجهود لمواجهة هذا المرض وتشخيصه وتديره والوقاية من انتشاره والوصول إلى توجّه مشترك حول أفضل الطرائق في التعامل معه.

بنية الفيروس:

وهو عضو في عائلة الفيروسات الدنا الكبدية "Hepadnaviridae" المضيف الوحيد له هو الإنسان، وهو عبارة عن فيروس مغلف مع قفصة .capside

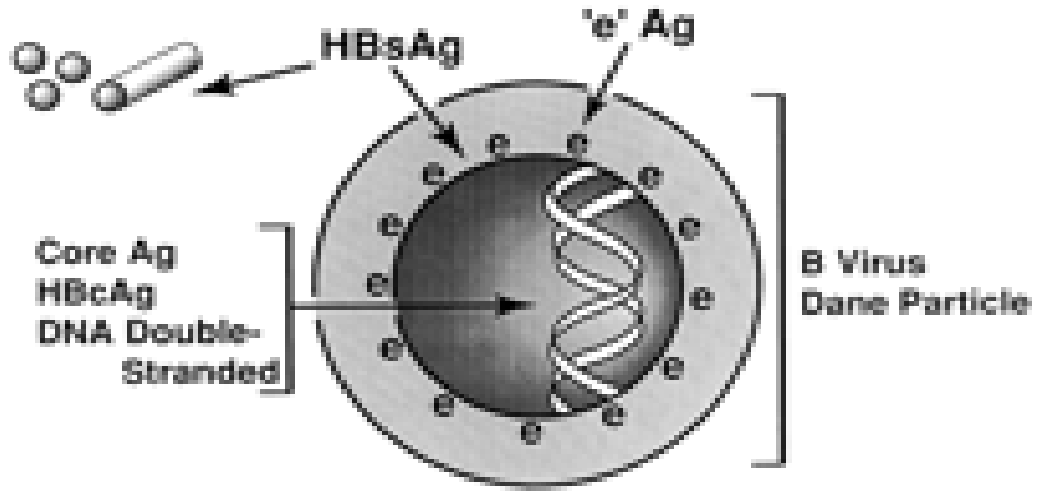
قطره 42 نانومتر، ويحوي حمض نووي DNA حلقي مضاعف الخيط بشكل جزئي.

إن الأهمية الحيوية لهذه البنية الفريدة غير معروفة، وتقول بعض النظريات إن الشكل الحلقي والمنطقة أحادية الشريط ضرورية لاندماج الـ DNA الفيروسي ضمن DNA الخلية المضيفة.

يبدو تحت المجهر الإلكتروني مؤلف من غلاف قطره حوالي 15 نانومتر، ذو طبيعة شحمية بروتينية غنية بالتروبوتوفان و اللوسين، يحوي المستضد السطحي (HBsAg)، ويحيط بالقفصة النووية عشيرينية الوجوه الحاملة للمستضد اللبي (HbcAg)، و لمستضد الغلاف (HbeAg)، والمادة الوراثية DNA.

الـ DNA حلقي مضاعف الشريط، لكن أحد هذه الأشرطة غير كامل تاركاً حوله 10 - 50% من الطول الكلي للجزء مفتوحاً، كما تحوي القفصة أنظيمات DNA بوليميراز وبروتين كيناز، وهذا الشكل يدعى جزيئه دان وهو الشكل المعدي.

Hepatitis B Virus (HBV)



الشكل -1- بنية فيروس التهاب الكبد B

- أما بالنسبة للمستضد السطحي HBsAg فيكشف ضمن هيولى الخلايا المخموجة في النسيج الكبدي، كما يكشف في المصل بتراكيز عالية في أغلب مراحل الإصابة، يظهر الفيروس بالمجهر الالكتروني في مصل المريض بثلاثة أنماط مختلفة من الجسيمات:

1. فيروسات قليلة بقطر 42 نانومتر.
 2. كرات عديدة بقطر 22 نانومتر.
 3. خيوط طويلة بعرض 22 نانومتر مكونة من المستضد السطحي HBsAg.
- إن المستضد السطحي في الشكلين الأخيرين يكون بدون مادة وراثية ، وبالتالي هذه الأشكال غير قادرة على إحداث الخمج.

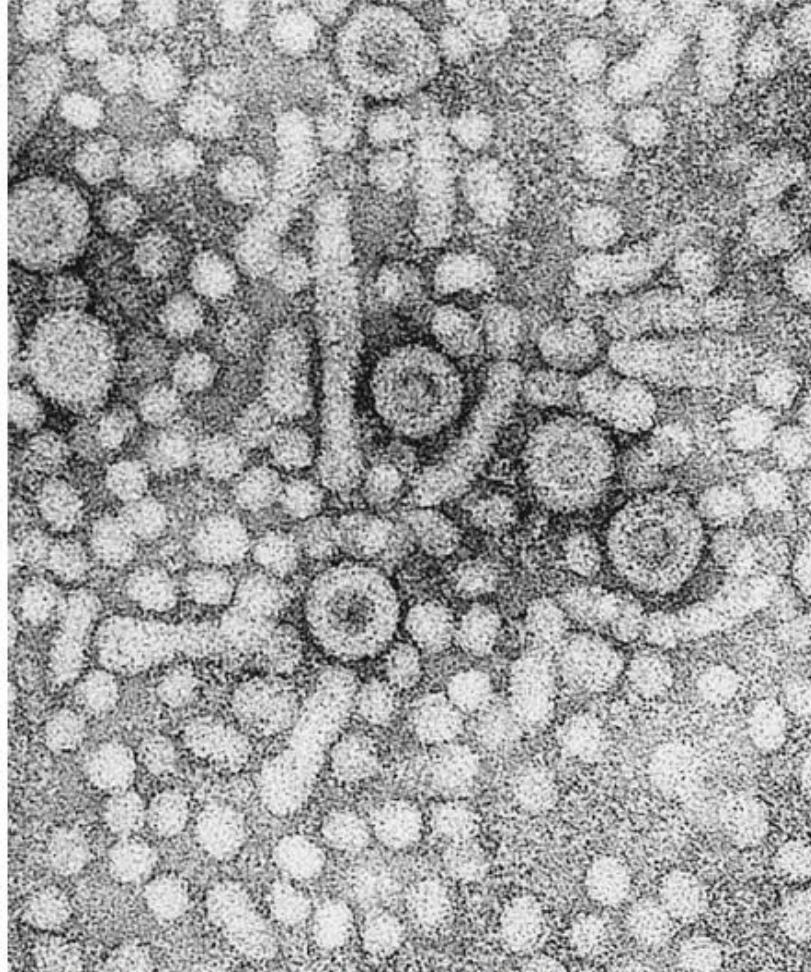
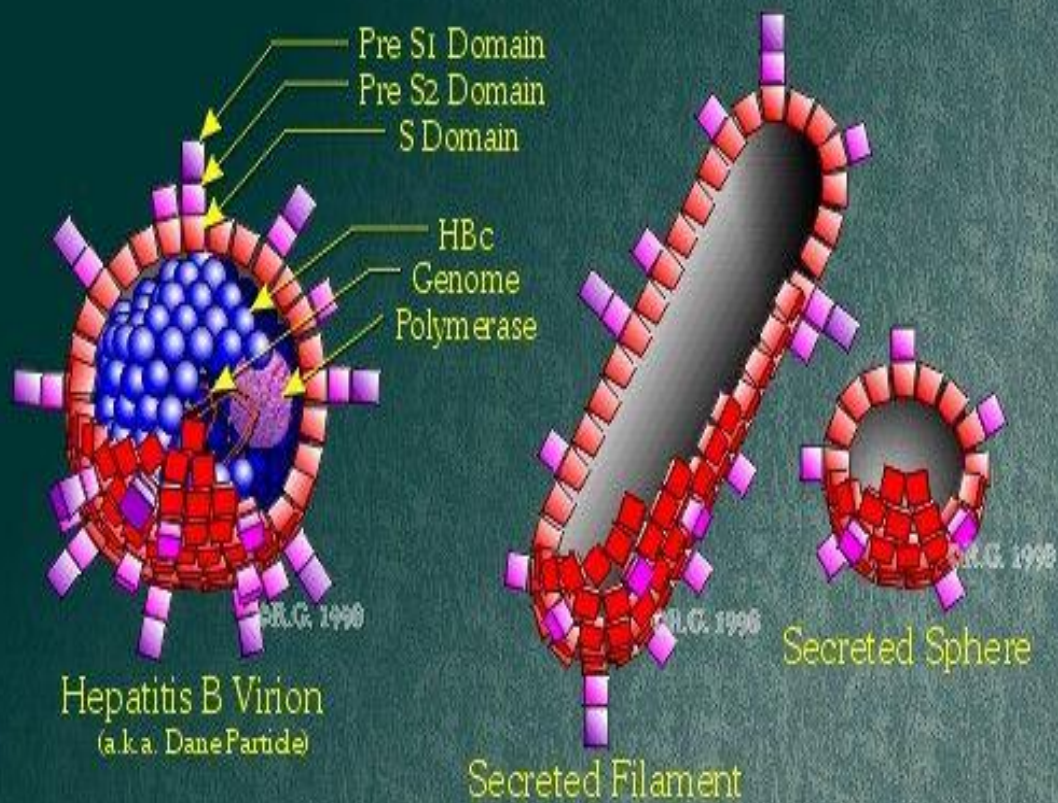


Figure 3.8 Electron micrograph of serum containing hepatitis B virus after negative staining. The three morphological forms of the antigen are shown: (1) small pleomorphic spherical particles 20–22 nm in diameter (hepatitis B surface antigen); (2) tubular structures (a form of the surface antigen); (3) the 42 nm double-shelled virions, with a core surrounded by the surface antigen. ($\times 300\,000$) (From Zuckerman, A.J. (1975) *Human Viral Hepatitis*. North Holland/American Elsevier, Amsterdam)

الشكل -2- أنماط فيروس التهاب الكبد B في المجهر الالكتروني

Hepatitis B Particle Types



الشكل -3- أنماط فيروس التهاب الكبد B

Structure		Diameter (nm)	Typical concentration ($\mu\text{g/ml}$)
Virion		42	0.1
Non-infectious particles			
Sphere		22	100
Filament		22	1

الشكل-4- شكل ترسمي لأنمط فيروس التهاب الكبد B

في الدراسات الوبائية يفيد وجود عدة أنمط مصلية فرعية ل HBsAg مبنية على أساس المستضد النوعي للمجموعة a، ومجموعتين من المحددات المستضدية المتبادلة فيما بينها حصراً، وهي y/d، r/w، وذلك يؤدي لأربعة أنمط مصلية وهي: adr – adw – ayr – ayw .

الخارطة الجينية لـ HBV:

المادة الوراثية هي الـ DNA، لها شكل حلقي صغير جداً بطول حوالي 3,2 kb.

موقع النهاية 5 من كل شريط يكون مرتبطاً بـ :

* capped RNA في الشريط القصير.

* PROTEIN POLYMERASE في الشريط الطويل.

وحده الشريط الطويل يسمح بقراءة المقاطع النكليوتيدية المرمزة التي تجعل من الممكن تصنيع البروتين الفيروسي بعد النسخ والترجمة.

تطابق جمل قراءة الجينوم مع المقاطع النكليوتيدية هذه يزيد القدرة على الترميز

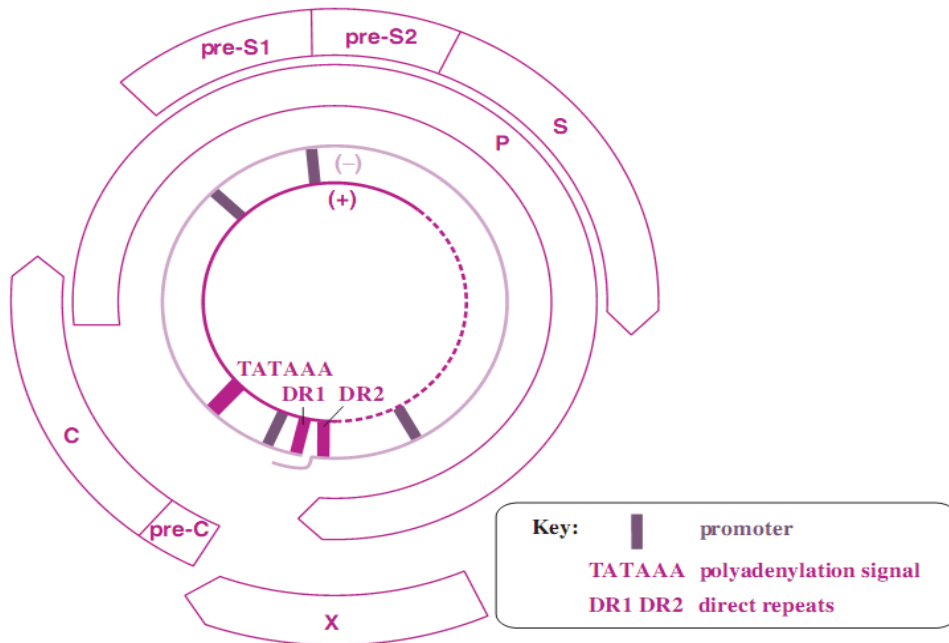
يوجد أربع جمل قراءة تسمى X.P.C.S region.

S region: وهي S.PreS1.PreS2 وهي ترمز للبروتين السطحي

C region: وهي C . Pre C ترمز لبروتين اللب

P region: ترمز لخميرة DNA Polymerase

X region: ما تزال قيد الدراسة



الشكل -5- المادة الوراثية DNA لفيروس التهاب الكبد البائي

الأنماط الجينية :

لفيروس التهاب الكبد البائي ثمان أنماط جينية (A-H) (4)

النمط A الأكثر شيوعاً في أمريكا وأوروبا الغربية ، بينما النمطان B ، C ينتشران في آسيا ، أما في بلدان حوض البحر المتوسط وربما في الشرق الأوسط فالنمط الجيني الأكثر شيوعاً هو D.(3)

إن هذه الأنماط الوراثية لفيروس التهاب الكبد البائي قد تؤثر حسب بعض الدراسات في(4):

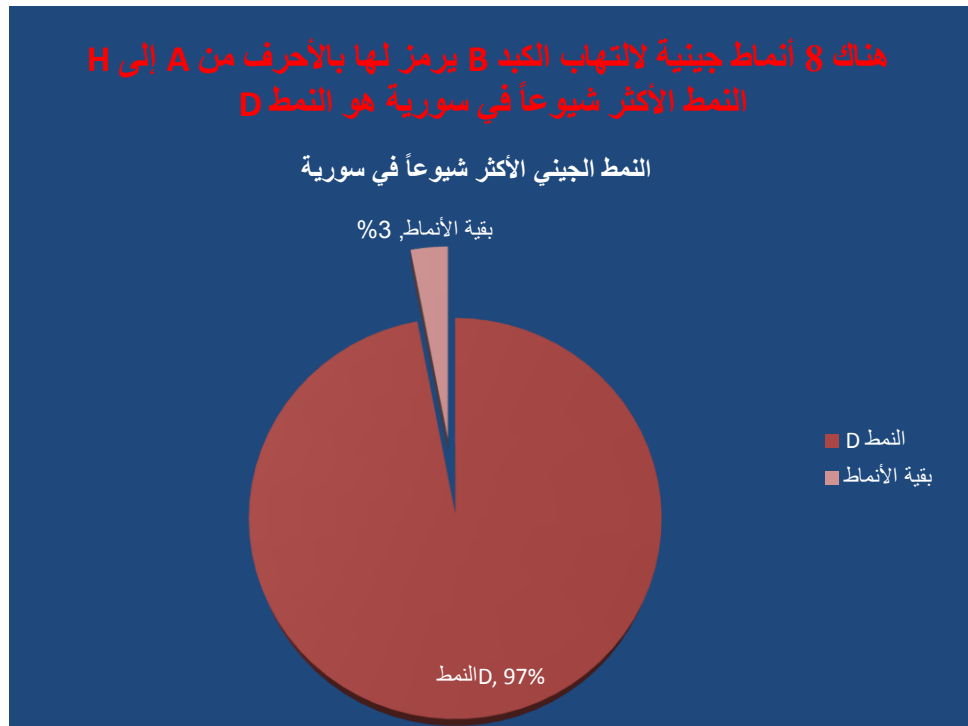
- الانقلاب المصلي: فالمرضى ذوي النمط الوراثي C لديهم معدل أقل من الانقلاب المصلي العفوي مقارنة مع ذوي النمط الوراثي B.
- تطور المرض.
- الاستجابة على المعالجة المضادة للفيروسات: إن العلاقة بين النمط الوراثي والاستجابة على المعالجات الدوائية غير واضحة ماعدا بعض الدراسات التي تقول إن الاستجابة على المعالجة بالانترفيرون تكون أقوى عند ذوي الأنماط A و B ، لذا يجب أن تبني المحاولات السريرية المستقبلية للمعالجة بمضادات الفيروسات على أساس النمط الوراثي.

نماذج التهاب الكبد :

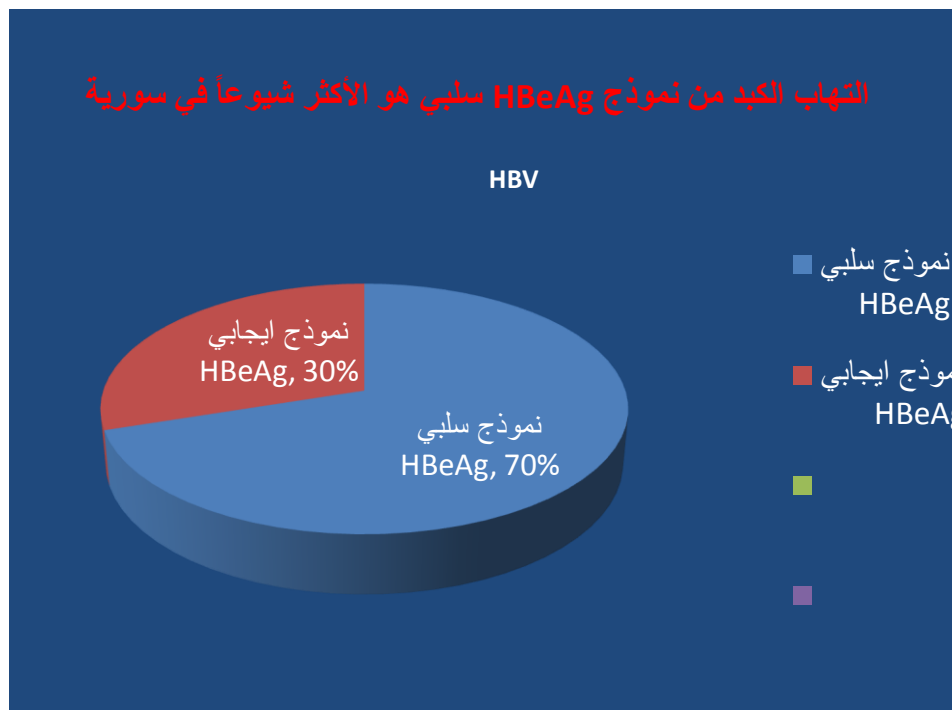
صنفت التهابات الكبد الفيروسية إلى نوعين:

1. نمط طافر mutant : يكون التهاب الكبد ال HBV من نموذج HBeAg سلبي، و anti HBe ايجابي، وهو النمط الأكثر شيوعاً في سورية بنسبة تصل في بعض الدراسات السورية إلى 70%. (3)

- 2- نمط بري wild : يكون التهاب الكبد من نموذج HBeAg ايجابي.



الشكل -6- التمثيل البياني للنمط الجيني الأكثر شيوعاً في سوريا



الشكل -7- التمثيل البياني للنموذج الأكثر شيوعاً في سوريا

التفاعل مع العوامل الفيزيائية والكيميائية:

- الحرارة والبرودة: فيروس HBV مقاوم للتسخين لـ 60 درجة مئوية لمدة أكثر من 4 ساعات، وللتجميد 20 درجة مئوية لعدة سنوات، لكن يمكن تعطيل القدرة الاخماجية للفيروس عن طريق:

1- تسخين لـ 100 درجة مئوية لمدة 5 دقائق

2- تسخين بحرارة جافة لـ 170 درجة مئوية لمدة ساعة

3- تسخين بحرارة رطبة لـ 170 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة

- الباهاء pH : يكون HBV ثابت في PH تتراوح بين 5-6، وتتعمل القدرة الاخماجية في:

1- الأوساط القلوية

2- PH أقل من 2,4 لمدة 6 ساعات

- المواد الكيميائية: يكون الفيروس مقاوم للعديد من المطهرات والمعقمات، لكنه يكون حساس لماء جافيل و الغلوتار الدهيد.

الوبائيات:

تقدر إحصائيات منظمة الصحة العالمية 5 % من سكان العالم لديهم المستضد السطحي HBs ايجابي موزعون حسب المناطق:

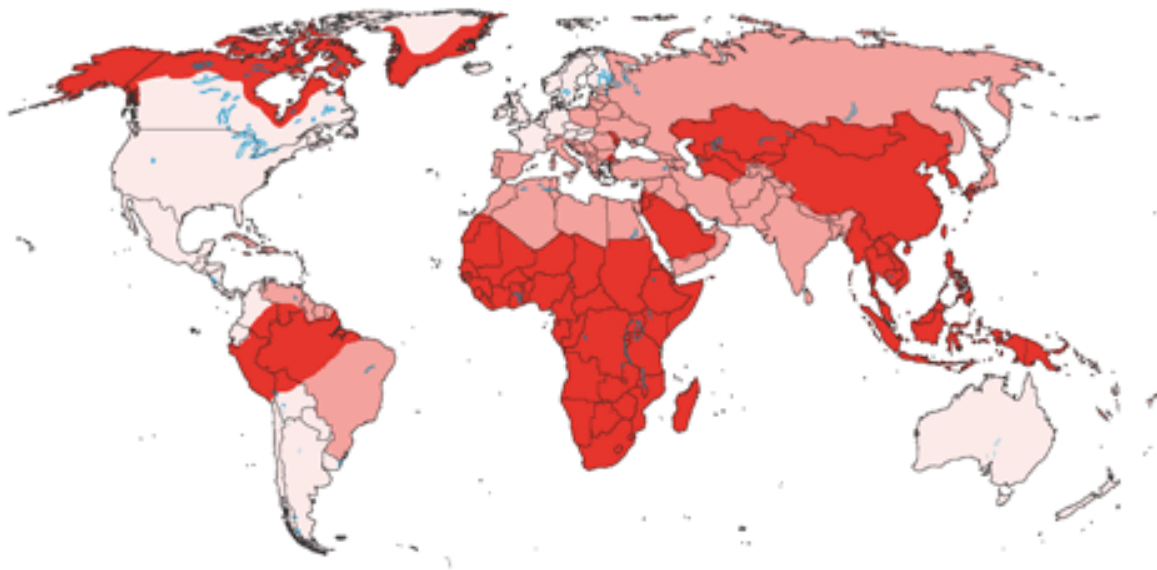
1- مناطق عالية الانتشار: تشمل جنوب شرق آسيا وشمال إفريقيا، نسبة الإصابة أكثر من 7%

2- مناطق متوسطة الانتشار: تشمل اليابان وأوروبا الشرقية، نسبة الإصابة

2-7%

3- مناطق قليلة الانتشار: تشمل أوروبا الغربية وأمريكا، نسبة الإصابة أقل من 2%.

وفي سوريا فان معدل انتشار المرض حوالي 10% من مجمل السكان⁽²⁾.



Level of endemicity	% of general population with chronic HBV infection	% of world population
■ high endemicity	greater than 7%	about 45%
■ intermediate endemicity	2% to 7%	about 43%
■ low endemicity	less than 2%	about 12%

الشكل -8- نسبة انتشار التهاب الكبد B في دول العالم

طرق انتقال الفيروس:

طرق انتقال رئيسية :

1. الانتقال الدموي: ويشكل 50-60 % من الحالات ويشمل:
 - نقل الدم أو مشتقاته: لقد أدى النخل الروتيني للدم عند المتبرعين في معظم مناطق العالم واستبعاد الوحدات إيجابية HBsAg إلى الحد كثيراً من حدوث العدوى عن طريق نقل الدم أو مشتقاته.
 - الإدمان على المخدرات الوريدية.
2. الانتقال الجنسي: وقد لوحظ انخفاض نسبة هذا الانتقال بسبب الاستخدام الواسع للواقي الذكري .
3. الانتقال من الأم إلى الوليد سواء كان أثناء الولادة أو خلال الحياة الجنينية.
4. الانتقال داخل العائلة: شائعة جداً في البلدان النامية .

طرق انتقال ثانوية:

الوشم – الحجامه – ثقب الأذن – وسائل التنظير – أدوات الحلاقة – فرشاة الأسنان – المعالجة السنية – مرضى التحال الكلوي – وخز الإبر وهذا مايشاهد لدى العاملين في المجال الطبي .



Body Piercing



Tattooing

Causes of Hepatitis B



Vertical Transmission



Blood Transfusion

الشكل -9- طرق انتقال الفيروس

المجموعات الخطرة:

- المرضى المتعرضين لنقل دم ومشتقاته بشكل متكرر مرضى (التلاسيما- الناعور).
- مرضى غسيل الكلية.
- متعددو الشركاء الجنسيين.
- أفراد العائلة لحامل مزمن.
- مولود من أم حامل لفيروس HBV: حيث أن نسبة انتقال المرض من أم إيجابية الـ HBsAg إلى أولادها في المناطق واسعة الانتشار يصل إلى 85%،⁽¹⁶⁾.
- العاملون في المجال الصحي: خاصة أطباء المخابر- الجراحة - الأسنان.
- مدمنو المخدرات الوريدية.

الإمراضية:

بسبب المستقبلات النوعية للفيروس المتوضعة على غشاء الخلية الكبدية بالإضافة إلى عوامل الانتساخ الموجودة حصراً فيها ، ينحاز الفيروس HBV إلى الخلية الكبدية بعد دخوله الدم ، و ينتسخ داخلها مؤدياً إلى حدوث التأثيرات الممرضة في الخلايا المخموجة (CPE) ولكن بالحدود الدنيا ، مما يفسر عدم حدوث تخرب كبدي واسع إلا بعد فترة طويلة من حدوث المرض ، وهذا يفسر فترة الحضانة الطويلة للمرض.

تلعب المناعة المتواسطة بالخلايا دوراً مهماً في ظهور الأعراض الناجمة عن الإصابة ، وإن أي خلل فيها أو في الانترفيرون الذي يحد إفرازه من تضاعف الفيروس يؤدي إلى حدوث المرض بأعراض خفيفة أو متوسطة الشدة، وهذا يؤدي إلى عدم قدرة الجسم على التخلص من الفيروس ، وبالتالي حدوث خمج مزمن.

الأعراض السريرية:

التهاب الكبد B الحاد:

تمتد فترة الحضانة بعد الإصابة من 6 أسابيع إلى 6 أشهر، ويمكن للخمج الحاد أن يأخذ أحد الأشكال السريرية التالية تبعاً للحالة المناعية للمريض ولعدد الفيروسات الخامجة :

- الشكل اللايرقاني: وهو الشكل الأكثر شيوعاً حيث تبلغ نسبة حدوثه حوالي 90%، وهنا قد لا تظهر الأعراض أبداً أو تظهر بشكل خفيف مقتصرة على حدوث بعض الأعراض العامة: كالحرارة المتوسطة وهن، خمول ، آلام بطنية..
- الشكل اليرقاني: وهنا نلاحظ بعد فترة الحضانة مرحلة قبل يرقانية تستمر من 3-7 أيام تحمل معها أعراض غير نوعية كالتعب – الإقياء - أعراض مشابهة للكريب.

ثم تأتي مرحلة اليرقان الناجم عن حدوث خلل في وظيفة الخلية الكبدية فيما يتعلق بالتقاط واقتران أو إفراغ البيلروبين، وتكون شدة اليرقان مختلفة بين مريض وآخر، ويستمر حوالي 2-3 أسابيع ثم تأتي مرحلة الشفاء.

- الشكل الصاعق: شكل نادر من الإصابة، نسبة حدوثه 1%، يعرف بحدوثه عند تدهور حالة المريض، وظهور عوارض مثل اضطرابات الوعي مترافقة مع تناقص زمن البروترومبين ، وهنا المريض بحاجة للاستشفاء.

التهاب الكبد المزمن :

وهو استمرار وجود المستضد السطحي HBsAg أكثر من ستة أشهر، مع ارتفاع الخمائر الكبدية من 1-5 أضعاف ولفترة مديدة دون وجود سبب واضح ونميز هنا ثلاثة مراحل (5)

- مرحلة immune tolerance phase : الفيروس موجود في الكبد، لكن لا يوجد التهاب أو أذية كبدية وهنا نجد:

- المستضد السطحي (HBsAg) إيجابي.

- المستضد الغلافي (HBeAg) إيجابي .

- ALT طبيعية بعد إجرائها عدة مرات .

- DNA الفيروس عالية جداً.

تكون إمكانية العدوى في هذه المرحلة مرتفعة .

وغالبا ما تحدث الإصابة بهذا الطور عن طريق Vertical transmatation أي من الأم إلى الوليد أو غالباً خلال السنة الأولى من الحياة، كما أن المرضى في هذه المرحلة إما يشفون بعد فترة بنسبة قد تصل إلى (10 – 70 %) (3) أو ينتقلون إلى مرحلة immune Active Chronic HBV infection بنسبة

Inactive Chronic Carrier (30 – 90 %) ⁽³⁾، ومن ثم إلى مرحلة

.Chronic HBV infection

● مرحلة immune Active Chronic HBV infection: وهنا تحدث الأذية الكبدية، يمكن أن تكون هذه المرحلة قصيرة أو قد تصل إلى عدة أشهر أو سنوات، وهنا نجد مصليا :

HBsAg ايجابي .

Anti HBc igG ايجابي .

Anti HBc IgM سلبي .

HBeAg ايجابي .

Anti HBe ايجابي .

في أثناء هذه المرحلة قد يحدث انقلاب مصلي من HBeAg (+) إلى HBeAg (-) بنسبة 25% ، وتنخفض أو تنعدم DNA الفيروس .

وغالباً ما تحدث الإصابة به في مرحلة childhood or adolescenc .

كما أن الإصابة إما أن تنتهي بشفاء تام وتشكل مناعة بنسبة (90%) ⁽³⁾، أو أن نسبة قليلة من المرضى يمكن أن يطوروا التهاب كبد مزمن فعال بنسبة (5%) ⁽³⁾ ومن ثم يتحول إلى التهاب كبد مزمن غير فعال.

● مرحلة Inactive Chronic Carrier Chronic HBV infection: أو تسمى

NO replicative phase فيها يحدث اندماج ال DNA الفيروسي في DNA الخلية، مصلياً نجد :

المستضد السطحي (HBsAg) إيجابي .

المستضد الغلافي (HBeAg) إيجابي

Anti HBe قد يكون ايجابي أو سلبي .

يمكن أن ينتقل المصاب من التهاب كبد مزمن غير فعال إلى التهاب مزمن فعال وهذا يحدث :

1- تلقائياً .

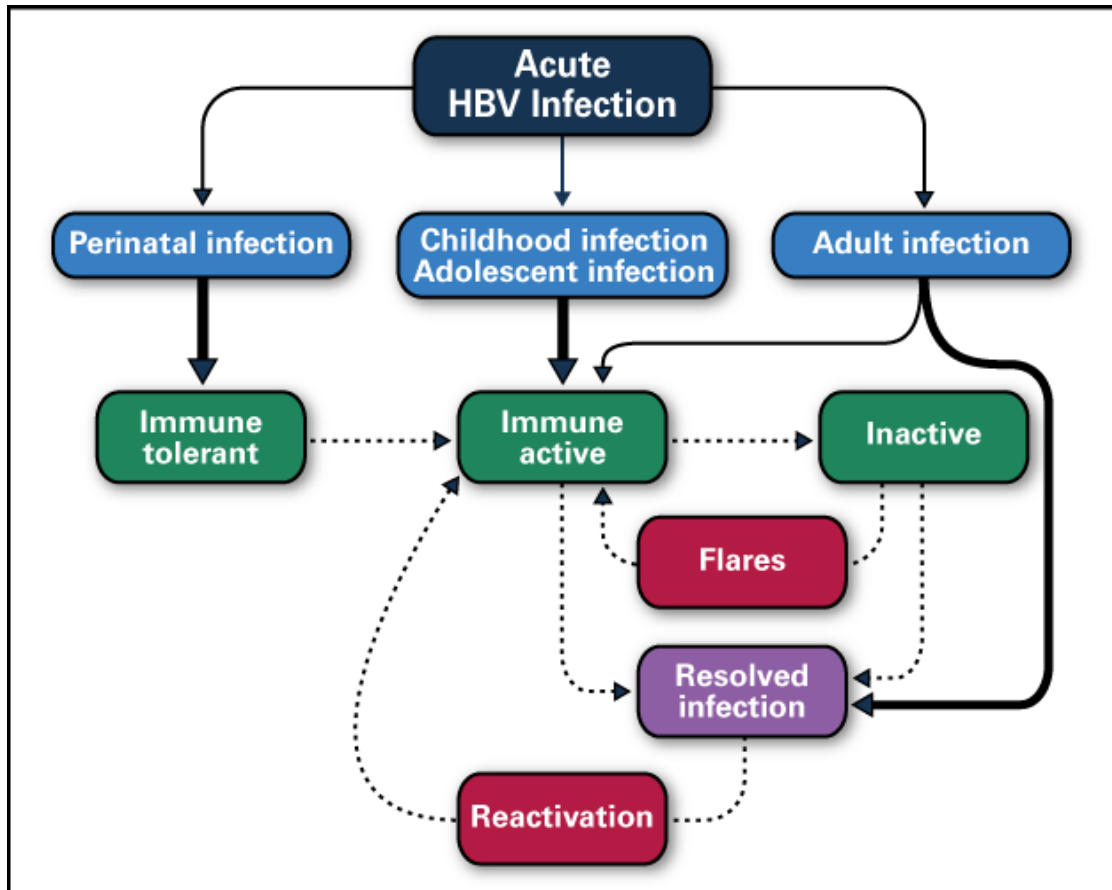
2- مباشرة بعد بدء العلاج بالانترفيرون .

3- Withdrawal (توقف علاج الالتهاب) .

Stages of Chronic HBV	HBeAg & Anti-HBe Status	ALT	HBV DNA	Liver Histology
Immune tolerant	HBeAg positive & Anti-HBe negative	Normal	$> 10^5$ copies/ml	Normal or minimal inflammation
Immune active	HBeAg positive & Anti-HBe negative or HBeAg negative & Anti-HBe positive	Elevated	$> 10^5$ copies/ml	Chronic inflammation
Inactive chronic carrier	HBeAg negative & Anti-HBe positive	Normal	$< 10^5$ copies/ml	Inflammation; no or minimal fibrosis

الجدول -1- مراحل التهاب الكبد البائي المزمن

- كما تشير الدراسات إلى وجود علاقة بين سن الإصابة بالتهاب الكبد الحاد وتطور المرض⁽⁵⁾، حيث أنه عند انتقال الإصابة من أم إلى الوليد فغالباً ما ينتقل الوليد إلى مرحلة Immune tolerance.
- أما عند حدوث الإصابة في مرحلة الطفولة المبكرة أو في سن المراهقة فغالباً ما يصنف المريض في مرحلة Immune Active Chronic Hepatitis B.
- وعند إصابة البالغين بالتهاب الكبد البائي فيكون تطور المرض إما نحو الشفاء أو التهاب كبد مزمن فعال .



الشكل - 10- يبين العلاقة بين التهاب الكبد الحاد والعمر

عوامل تساعد على الأزمات :

- 1- الإصابة المبكرة .
- 2- نقص المناعة (وراثي أو خلقي)
- 3- الذكور أكثر من الإناث .

التشخيص:

يتم تشخيص التهاب الكبد البائي⁽²¹⁾ :

- فحوص كيميائية لتحري وظائف الكبد وهي:

1- خمائر الكبد AST (Aspartate transferase) – ALT (Alanin transferase) : ترتفع الخمائر 100-10 ضعف في الالتهاب الحاد ويكون ارتفاع ALT أكثر من ارتفاع AST .

2-Sereom globlin : إذ ترتفع قيمته في حال وجود التهاب في الكبد.

3- Serum albomen : وهنا تنخفض قيمته.

4- تعداد الدم الكامل (CBC) ومنه WBC - تعداد الصفيحات إذ يلاحظ انخفاض تعداد الصفيحات وخاصة حدوث مرحلة التشمع .

5- عوامل التخثر تتأثر لأنها تعكس القدرة التصنيعية للكبد، فزمن ال pt يتطاول.

6- ارتفاع البيلروبين في الأشكال اليرقانية.

- التحري عن الأمراض الفيروسية المرافقة : Anti HCV - Serology HIV :
(16) .

- الفحوص المصلية : وهي تجرى في المصل لكشف الضد و المستضد الفيروسي:

1- HBsAg (Hepatitis B surface Antigen): وهو المستضد السطحي لالتهاب الكبد B، يتواجد في المصل، اللعاب، السائل المنوي، المفرزات المهبلية، الصفراء، في سيتوبلازما الخلية الكبدية.

وهو أول مستضد يظهر في مصل المريض قبل ظهور الأعراض، ثم يتناقص تدريجياً خلال مرحلة الشفاء، و يترافق ذلك مع ظهور أضداده .

من الطرق المتبعة للكشف عنه هي ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)، وهو اختبار يتمتع بحساسية عالية لكنه قد يحدث ايجابيات كاذبة وسببها غالباً:

1- تلوث العينة .

2- حفظ العينة بشكل غير صحيح.

3- التهابات فيروسية أخرى.

2- HBcAg : وهذا المستضد لا يتواجد أبداً في المصل ، وإنما في نواة وعلى أغشية الخلية الكبدية ، ويؤدي إلى تصنيع مهم ومبكر للأضداد .

3- أضداد المستضد اللبي Anti HBc : وهو إما IgM أو IgG ، ولهذه الأضداد أهمية في تشخيص التهاب الكبد B ، إذ أنها تشكل الدليل المصلي الأفضل للإصابة بالتهاب الكبد البائي ، هذه الأضداد تظهر دائماً عند الإصابة بالتهاب الكبد B سواء كانت الإصابة ظاهرة أو غير ظاهرة ، وهي نوعان:

- Anti HBc IgM : تظهر في المصل منذ بداية الأعراض ، بعد ظهور HBsAg ، وجودها يدل على وجود إنتان حديث ، وهي المعيار التشخيصي الأكيد لالتهاب الكبد B.

- Anti HBc IgG : يترافق ظهوره مع اختفاء Anti HBc IgM ويستمر هذا الضد مدى الحياة عند الحمل المزمين ، ولعدة سنوات

بعد الشفاء وهو الدليل المصلي الذي يمكن أن نجده بعد اختفاء
HBsAg وقبل ظهور أضداده Anti H Bs Ab .

4- المستضد الغلافي HBeAg : وهو مستضد موجود في الجزيئات الفيروسيّة الكاملة ، يعتبر دليل ممتاز للتنسخ الفيروسي ، وجوده في المصل يدل على شدة العدوى عند المريض ، واستمرار وجوده لفترة تزيد عن الشهرين يعتبر علامة نحو التطور نحو الإزمان .

عند وجود طفرة تمنع تصنيع هذا المستضد يجب كشف DNA الفيروس بطريقة الـ PCR لكشف التضاعف الفيروسي.

5- أضداد المستضد الغلافي Anti HBe Ab : يظهر بعد اختفاء المستضد HBeAg ، وهو يلي ظهور anti HBcAb وقبل ظهور anti HBsAb ، وهو يعبر عن توقف التنسخ الفيروسي ، وظهوره في الطور الحاد للمرض دليل تطور المرض نحو الشفاء.

6- أضداد المستضد السطحي Anti HBsAb : تظهر بعد اختفاء المستضد السطحي بعدة أسابيع، في مرحلة الشفاء أو بعد اللقاح .

إذاً يكشف في المصل المستضدات (HBsAg - HBeAg) والأضداد (Anti HBe - Anti HBs IgM - Anti HBcTotal)، لكن يبقى المستضد الأساسي لتشخيص التهاب الكبد هو HBsAg.

هناك عدة طرق للكشف عن هذا المستضد نذكر منه:

1- طريقة التسريب: a- التسريب في وسط سائل.

b- التسريب في وسط هلامي.

2- طريقة التراص الدموي المنفعل المعكوس Hem agglutination passive . invert

3- طريقة التراص الدموي المباشر Hem agglutination direct

4- طريقة تثبيت المتممة Fixation du complement.

5- طريقة التآلق المناعي Immunofluorescence.

6- طريقة المقايسة المناعية الشعاعية RIA.

7- طريقة المقايسة المناعية الأنظيمية (ELISA) .

أما الطرق المستخدمة حالياً فهي 7.

- الفحوص المخبرية الجزيئية : وتتضمن كشف الـ DNA عن طريق التفاعل التسلسلي للبولىميراز الـ PCR (Polymerase Chain Reaction) وهي :

1- الـ PCR الكيفي : وهو لتحديد وجود الـ DNA الفيروسي في المصل أو عدم وجوده .

2- الـ PCR الكمي : وهو لتحديد عدد النسخ من الـ DNA الفيروسي الموجودة بالمصل.

- المجهر الالكتروني: لتحديد شكل الفيروس.

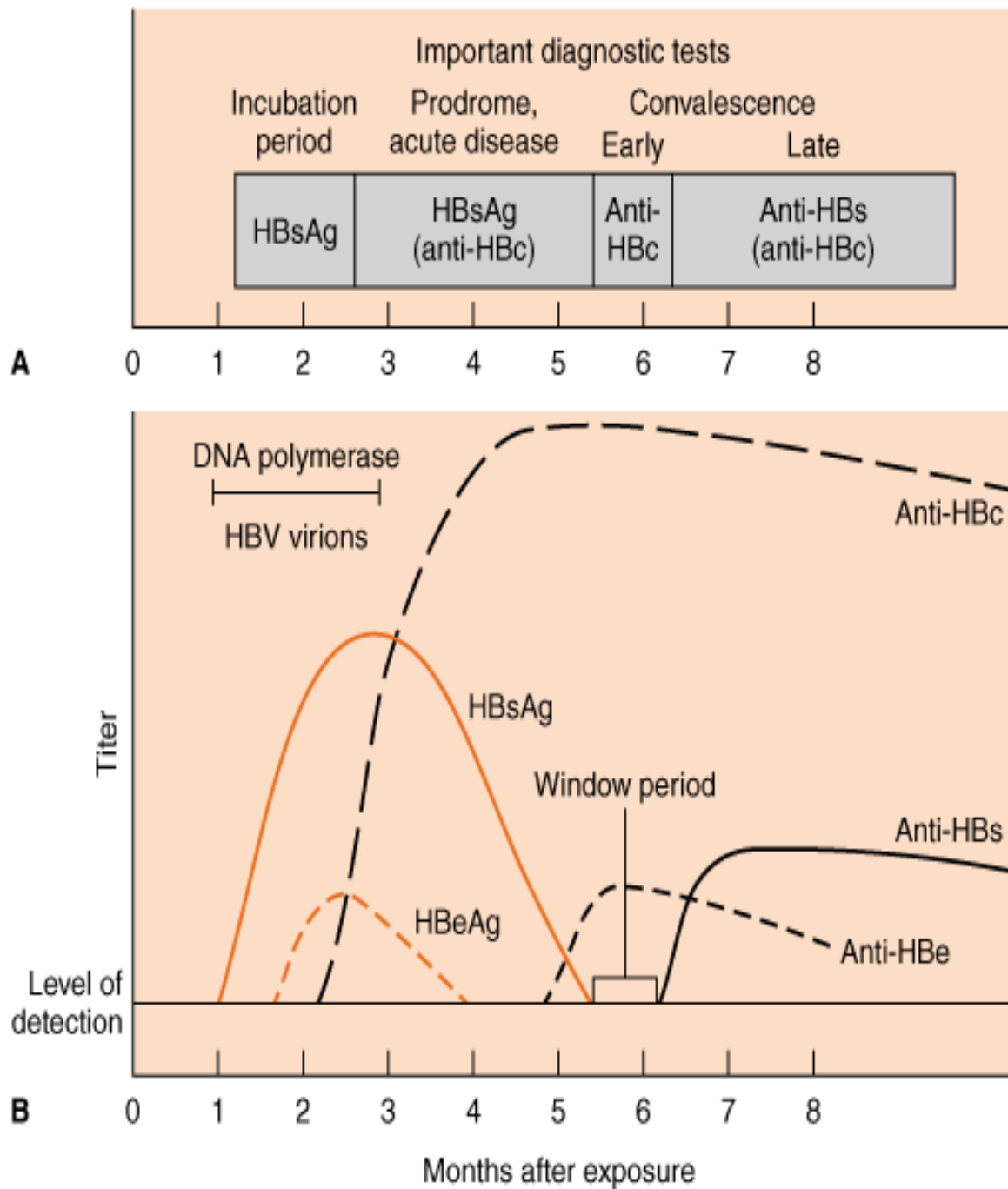
- التشريح المرضي للكبد والمعايرة المناعية بالفلوروسين أو البيروكسيداز لـ HBcAg , HBsAg

- خزعة الكبد لتحديد وجود أو غياب التشمع

Serologic Test Results in Four Stages of HBV Infection

Test	Acute Disease	Window Phase	Complete Recovery	Chronic Carrier State
HBsAg	Positive	Negative	Negative	Positive
HBsAb	Negative	Negative	Positive	Negative ¹
HBcAb	Positive ²	Positive	Positive	Positive

جدول - 2- الفحوص المصلية في الأطوار الأربعة لالتهاب الكبد



الشكل 11 - التهاب الكبد B الحاد

إذاً لتشخيص التهاب الكبد البائي (8):

نتحرى خمائر الكبد ALT فإذا كانت أقل من 1,5 أضعاف القيمة الطبيعية أو تساويه هنا لا يوجد داعي للمراقبة .

أما إذا كانت أكثر من 1,5 أضعاف القيمة الطبيعية فهنا نجري الفحوص التالية
HBsAg- لتشخيص التهاب الكبد الحاد

Anti HAV-

Anti HCV-

وفي حال السلبية نتحرى Anti HBcIgM لأننا قد نكون في مرحلة CORE Phase (هنا نجد HBsAg سلبى، وAnti HBs سلبى) .

في حال شخص التهاب الكبد البائي الحاد يجب متابعة كافة المرضى بمراقبة HBsAg لمدة ستة أشهر وفي حال ارتفاع قيمته مرتين على الأقل فنحن أمام التهاب كبد مزمن ولتأكيد التشخيص :

1- HBV DNA.

2- HBeAg.

3- Anti HBe .

4- ايكو للبطن.

التقييم قبل المعالجة:

يتم تقييم المريض المصاب ب hbv كالتالي : (22)

- 1- قصة سريرية (عمر المريض – تناول الكحول – قصة عائلية للإصابة بالتهاب الكبد المزمن وسرطانة الخلية الكبدية - اعراض تشمع غير معاوض)
- 2- قحص فزيائي : (يرقان – حبن – وذمة محيطية ---)
- 3- تحاليل لدراسة حالة الكبد : خمائر – زمن البروترومبين – تعداد دم كامل مع صفيحات)
- 4- وظائف كلية
- 5- تحاليل لدراسة التنسخ الفيروسي : Anti HBeAg – HBVDNA - HBVDNA-
- 6- التحري عن أمراض فيروسية مرافقة : HIV – HDV – HCV
- 7- خزعة كبدية .

علاج التهاب الكبد البائي:

ويهدف إلى الوصول إلى انعدام كامل لتناسخ الفيروس أو على الأقل إلى تثبيط مستمر ، بالإضافة إلى تأمين هجوع للإصابة الكبدية ومنعها من التطور إلى التشمع و/ أو السرطان .

بالنسبة لالتهاب الكبد الحاد فقد تبين أنه لا يحتاج لعلاج دوائي وإنما فقط علاج داعم حيث ننصح المريض بالراحة التامة دون أن تكون مديدة أو مطلقة ،حمية طبيعية خالية من الشحوم غنية بالبروتين ، وعدم شرب الكحول ، وإنقاص أو إيقاف الأدوية المستقبلية كبدياً كالمهدئات ومانعات الحمل . (2)

التهاب الكبد الصاعق قد يحتاج إلى علاج جراحي (زرع كبد).

أما التهاب الكبد المزمن فالعلاج دوائي في الحالات التالية:

- 1- المستضد السطحي HBsAg إيجابي أكثر من ستة أشهر.
- 2- ارتفاع ALT أكثر من ستة أشهر سواء كان الارتفاع متبدلاً أم ثابت.
- 4- وجود إصابة فعالة في خزعة الكبد.
- 3- وجود دلائل على فعالية فيروسية:

- ايجابية HBsAg

- ايجابية الـ DNA

- ALT مرتفعة

وقد يكون جراحياً في بعض الحالات مثل تشمع كبد غير معاوض .

ومن الأدوية المعتمدة في العلاج: (7)

الانترفيرون: وهو دواء يعمل كمثبط للتناسخ الفيروسي وكمعدل للمناعة
Immunomodulator .

يتم إعطاؤه 6 مليون وحدة تحت الجلد /3مرات في الأسبوع لمدة 6 أسابيع.
مدة المعالجة 6 أشهر – سنة ونصف.

50% من المرضى يستجيبوا للمعالجة ، بينما 50% من المرضى ينكسوا بعد
وقف العلاج .

يعتبر الانترفيرون الأكثر فعالية لكنه يمتلك تأثيرات جانبية منها (نقص ا لبيض و
الصفائح – اختلالات قلبية –أمراض جلدية – اكتئاب -----).

وكان يعتبر الخط العلاجي الأول قبل اكتشاف الأدوية المضادة للفيروس (7)

ومن ثم تم استخدام خمسة أدوية فموية من مضاهئات النكليوزيد لمعالجة التهاب
الكبد البائي وهي : اللاميفودين – الاديوفير – تينوفير – تيليفودين – انتيكافير.

اللاميفودين Lamivudine : يستعمل هذا الدواء لوحده لمدة عام.

يعطى عن الطريق الفموي بجرعة 100mg مرة واحدة / يوم.

يعتبر الدواء الأكثر أماناً حيث تبين أن ليس له تأثيرات جانبية.

مشكلته أنه مع الاستخدام الطويل تزداد حالات المقاومة للدواء بسبب ظهور الطفرات.

يشتهر بحدوث الطفرة عند عودة ارتفاع ALT بعد عودتها لقيم طبيعية لفترة طويلة.

الـTenofovir : ويعتبر الخط العلاجي الأول لمرضى التهاب الكبد البائي "7".
ويعطى بجرعة 300 التهاب الكبد البائي ،ويعطى بجرعة 300 mg / يوم.

الاديفوفير Adefovir : ويعطى بجرعة 100mg /يوم عن طريق الفم لمدة سنة،
ويستخدم بدل Lamivudine عند حدوث مقاومة أو في حال وجود مضاد
استطباب لـ Interferon أو فشل في الاستجابة للعلاج، ويعتبر الخط العلاجي
الثاني.

عند استخدام الـ Adefovir - Lamivudine يجب أن يستمر العلاج لمدة أربعة
أشهر بعد الاستجابة الفيروسية.

لكن خلال المعالجة يجب تحري استجابة الفيروس على العلاج من خلال (11):

بالنسبة لـ Telbivudine – Lamivudine التحري عن HBVDNA لمدة 24
أسبوع .

أما Adefovir فيتم التحري عن HBVDNA لمدة 48 أسبوع خلال المعالجة.

الوقاية:

وتتضمن ثلاثة أنواع:

- 1- وقاية فاعلة : تعتمد على تحريض تشكيل الأضداد.
 - 2- وقاية منفعة : تعتمد على إعطاء غلوبولين مناعي مضاد للمستضد السطحي.
 - 3- وقاية مشتركة : تعتمد على حقن الغلوبولين المناعي و اللقاح .
- والوقاية من التهاب الكبد تعد ضرورية بسبب خطورة الإصابة به ، بالإضافة إلى أن نسبة تحوله للإلزام عالية وخاصة عند الصغار (1 - 5 سنوات) والرضع (حوالي 80 – 90 %).⁽¹⁴⁾

الوقاية المنفعة:

وتتضمن إعطاء الغلوبولين المناعي النوعي للمستضد السطحي المستخلص من الأشخاص الذين لديهم عيار عال من الأضداد التي تشكلت نتيجة التمنيع ضد الHBV بعد تعرضهم للفيروس.

يعطى هذا الغلوبولين للإنسان غير الملقح أو الذي لديه عيار الأضداد أقل من 10 U|M وتعرض لمصدر ايجابي للمستضد السطحي ويكثر مشاهدة ذلك عند:

- 1- الوخز بإبرة ملوثة.
 - 2- جرح بأداة حادة ملوثة ندم ايجابي HBsAg.
 - 3- مولود من أم حاملة للمستضد السطحي.
 - 4- أفراد العائلة الواحدة لشخص مصاب HBV.
- ويجب أن يعطى اللقاح بعد الغلوبولين خلال 24 ساعة لكن يمكن يختلف عن مكان حقن الغلوبولين.

وهناك عدة إجراءات نقوم بها عند المتعرض للوخز بإبرة ملوثة وهي: (16)

- التحري عنده عن HBsAg ، Anti HBs ، Anti HBc .
- الحقن الفوري أو خلال مدة لا تتجاوز الأربعة وعشرون ساعة ل 5 ml من gammaglobuline anti HBs.
- إعطاء جرعة داعمة من اللقاح أو اللقاح نفسه في اليوم التالي للحقن .

الوقاية الفاعلة (اللقاح):

وهو نوعان:

- 1- لقاح Plasma derived: لم يعد يستعمل حالياً.
وهو من مصدر بشري مستخلص من بلازما شخص ايجابي ال HBsAg لكنها معطلة بالحرارة أو كيميائياً.
- 2- لقاح مصنع بتقنية Recombinant التآشير الجيني: وهو لقاح منتج بوساطة الخمائر الفطرية ، حيث يدخل الجين المرمز للمستضد السطحي ضمن الخميرة فيتشكل بروتين المستضد ، ثم نفجر الخمائر لتحرير المستضد منها .
يوجد حالياً لقاح يحتوي على بروتينات S ، PreS2 بالإضافة إلى PreS1 ، الذي يعتبر ضروري للاندخال الفيروسي ضمن الخلية الكبدية.
كما تتم الآن دراسة إمكانية حقن مركب بلاسميد ضمن العضلات أو تحت الجلد، هذا المركب هو عبارة عن DNA الفيروس.
إن لقاح التهاب الكبد هو معلق عقيم جاهز للحقن مباشرة ، ثابت بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 7 أيام ، لا يجمد بل يخزن بدرجة 4-8 درجة مئوية ، كما يجب أن يبرج قليلاً قبل الحقن.

طريقة إعطاء اللقاح:

هناك شكلان لإعطاء اللقاح

الأولى: ثلاث جرعات بعد الولادة يفصل بين الأولى والثانية شهر ويفصل بين الثانية والثالثة خمس أشهر (0-1-6) أشهر وهي المفضلة⁽¹⁶⁾.

الثانية: أربع جرعات ، جرعة بعد الولادة - بعد شهر - بعد شهرين - بعمر 12 شهر (0 - 1 - 2 - 12) .

في حال عدم إعطاء الجرعات النظامية :أي إذا أخذ الجرعة الأولى فقط نعطي الجرعة الثانية متى كان ممكن ، ثم نعطي الجرعة الثالثة بفاصل 8 أسابيع على الأقل، أما إذا أخذ الجرعة الأولى والثانية فقط ،نعطي الجرعة الثالثة عند الإمكان، أي لا داعي لإعادة سلسلة التلقيح.

يعطى اللقاح للولدان في عضلة الفخذ والأطفال الأكبر سناً يمكن استخدام عضلات الذراع العلوي وعادة يفضل استخدام العضلة الدالية عند البالغين والمراهقين وبغض النظر عن العمر يعطى اللقاح في العضلات دائماً والحقن داخل الآليتين يمكن أن يؤدي إلى نقص في التمنيع لكن عند الأشخاص الذين يعانون من نزف بعد الحقن العضلي كمرضى الناعور يمكن إعطاؤه تحت الجلد على الرغم من أنه قد يؤدي إلى نقص في التمنيع لكن لا يعطى وريدياً .

لمن يعطى اللقاح:

1- كل الأطفال حديثي الولادة وفق برنامج التلقيح الوطني، ويوصى بإعطائه لهذه الفئة من العمر لعدة أسباب:

- الولدان والأطفال الصغار معرضين لخطر حدوث التهاب كبد مزمن في حال حدوث الخمج أكثر من حدوثه عند البالغين.

- حماية طويلة الأمد يؤمنها اللقاح للولدان لعدة عقود مقارنة بالحماية التي يؤمنها للأكبر سناً .⁽¹⁶⁾

2- الولدان من أم حاملة للمستضد السطحي حيث يعطى خمس جرعات الأولى خلال 12-24 ساعة من الولادة ،ثم في الشهر الأولى ثم الشهر الثاني ثم الثالث ثم الشهر الثاني عشر مع إعطاء غاما غلوبين نوعي.

3- العاملين في القطاع الطبي.

4-مرضى قصور الكلية المزمن ونعطي هنا أربع جرعات (0-1-2-12) ثم جرعة داعمة بعد خمس سنوات.

5-عائلة الشخص المصاب بHBV.

6- المعرضين لنقل دم متكرر.

7- بالنسبة للفحوص المصلية يعطى وفق الجدول -4-

تحري الاستجابة للقاح:

للتأكد من فعالية اللقاح نعاير Anti HBs فإذا كانت أكثر من 10 مل/وحدة فهذا دلالة على فعالية اللقاح.

يتم التحري عن الأضداد بعد مرور 6 أسابيع من تاريخ الجرعة الأخيرة ، أما عند حديثي الولادة نتحرى عن الأضداد عندهم في الشهر التاسع وحتى الشهر الخامس عشر من العمر.

وفي حال كان عيار anti HBs أقل من 10 ميلي وحدة دولية/ مل يوصى بالحصول على جرعة داعمة ثم يتم عيار anti HBs بعد شهر أو شهرين من إعطاء الجرعة مع الانتباه إلى وجود عوامل تعيق تشكل الأضداد :

1. البدانة الشديدة

2. التدخين

3. الذكور أقل من الإناث

4. مرضى التحال الكلوي

5. الكحولية

لكن توصي بعض الدراسات العالمية بإعادة التلقيح بثلاث جرعات نظامية في حال كان عيار anti HBs أقل من 10 ميلي وحدة/ مل ثم يتم عيار الأضداد من جديد بعد شهرين من آخر جرعة ، وفي حال عدم الاستجابة للقاح يجب التحري عن HBsAg فإذا كان HBsAg ايجابي يتم اتخاذ التدابير اللازمة وإذا كان HBsAg سلبى فيجب تنبيه الشخص أنه لا يملك حماية من التهاب الكبد B لعدم قدرته على تشكيل anti HBs وعليه أخذ جرعتين من الغلوبولين المناعي يفصل بين الجرعة الأولى والثانية مدة شهر.

الآثار الجانبية للقاح:

إن لقاح ال HBV آمن ، والآثار الجانبية التي سجلت كانت معظمها تورم مكان الحقن أو ألم - حمى خفيفة - حكة مكان الحقن .

وهناك أشخاص يجب عدم تلقيحهم بلقاح التهاب الكبد B :

- 1- أشخاص ظهرت عليهم أعراض حساسية شديدة بعد أخذ أول جرعة .
- 2- أشخاص لديهم تاريخ من فرط الحساسية للخمائر الفطرية كونها تدخل في تركيبه.
- 3- أشخاص لديهم مرض حاد متوسط إلى شديد فيؤجل أخذ اللقاح حتى يتم الشفاء.

الوقاية المشتركة :

وتطبق بشكل خاص عند ولادة طفل من أم حاملة للمستضد السطحي ، وهي حقن الغلوبين المناعي واللقاح معاً ، لكن يجب أن لا يتم بنفس الإبرة أو المحقنة ولا بنفس المكان.

Tests	Results	Interpretation	Vaccinate?
HBsAg anti-HBc anti-HBs	negative negative negative	susceptible	vaccinate if indicated
HBsAg anti-HBc anti-HBs	negative negative positive with ≥10mIU/mL	immune due to vaccination	no vaccination necessary
HBsAg anti-HBc anti-HBs	negative positive positive	immune due to natural infection	no vaccination necessary
HBsAg anti-HBc IgM anti-HBc anti-HBs	positive positive positive negative	acutely infected	no vaccination necessary
HBsAg anti-HBc IgM anti-HBc anti-HBs	positive positive negative negative	chronically infected	no vaccination necessary (may need treatment)
HBsAg anti-HBc anti-HBs	negative positive negative	four interpretations possible*	use clinical judgment

جدول-4- إعطاء اللقاح تبعاً للفحوص المصلية

الدراسة العملية

أهداف البحث:

- كشف المستضد السطحي لالتهاب الكبد البائي (HBsAg) لدى الممرضات في مدرسة التمريض سنة أولى و ثانية و ثالثة.
- كشف المستضد السطحي لالتهاب الكبد البائي (HBsAg) لدى طلاب كلية الطب البشري سنة خامسة وذلك قبل دخولهم الممارسة العملية .

المشكلة العلمية في مشروع البحث:

ارتفاع نسبة انتشار فيروس التهاب الكبد المسبب لالتهاب الكبد بشكله الحاد والمزمن في سورية ، والذي قد يؤدي إلى تشمع الكبد و سرطانة الخلية الكبدية

المواد و الطرائق:

- عينة الدراسة :

يبلغ حجم العينة 500 عينة تم جمعها من الممرضات في مدرسة التمريض وطلاب كلية الطب البشري سنة خامسة خلال 4 أشهر من تاريخ 2011/5/1 حتى تاريخ 2011/9/15 .

- جمع المعلومات :

- تم أخذ المعلومات مباشرة من كل طالب وملء استمارة خاصة به، تتضمن معلومات هامة للقيام بالدراسة الإحصائية ، شملت الاستمارة المعلومات التالية: الاسم ، العمر ، المهنة ، الجنس ،.....

سجلت المعلومات اللازمة في استمارة خاصة لكل عينة
مصل تضمنت :

العمر :

الجنس :

ذكر ☐ أنثى ☐

المهنة:

طالب طب ☐ ممرضة ☐

مكان الإقامة :

جرعات اللقاح :

جرعات داعمة:

وقد تم الكشف عن المستضد السطحي HBsAg لالتهاب
الكبد البائي عندهم وذلك بعد أخذ الموافقة من الطلاب
لإجراء البحث عندهم.

الاعتبارات الأخلاقية :

نضمن في هذا البحث احترام خصوصيات الطلاب
والسرية ولما كان هذا البحث يندرج ضمن الدراسات
الوصفية فهو لا يحمل أية خطورة على المشاركين فيه
فهو ليس دراسة تجريبية .

استمارة موافقة على المشاركة في الدراسة :

• اسم المريض:

• رقم المريض :

• التاريخ:

• عنوان الدراسة : تحري المستضد السطحي HBsAg لدى طالبات التمريض في مدرسة التمريض بجامعة

دمشق وطلاب كلية الطب سنة خامسة في جامعة دمشق

• أؤكد أنني قرأت (أو قرئ علي) وفهمت المعلومات الخاصة بالدراسة، وأُتيحت لي الفرصة لطرح أي أسئلة

خاصة بالدراسة واشترائي فيها.

• أفهم أن لي مطلق الحرية في الإشتراك أو عدم الإشتراك في الدراسة، وأن من حقي الانسحاب من الدراسة

في أي وقت أريده دون إبداء أية أسباب، ودون أي مؤاخذه قانونية لانسحابي من الدراسة.

• أعطي موافقتي على أن تتاح نسخة من مستندات موافقتي على الاشتراك في الدراسة والتي تحتوي معلومات

خاصة بي إلى أي فريق طبي أو بحثي قد يساهم بالدراسة أو بنشرها وذلك لأجل متابعة الدراسة فقط.

• أوافق على اطلاع طبيبي الخاص عن اشتراكي في هذه الدراسة.

• أوافق على الاشتراك في هذه الدراسة.

• توفير تفاصيل سير الدراسة لي بعد تماثلي للشفاء.

• اسم المريض:

توقيع المريض :

توقيعه:

• اسم الطبيب الطالب للموافقة:

- طرق الدراسة

أما الطريقة التي اتبعت في هذه الدراسة هي المقايسة المناعية بالربط الانظيمي Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA). وهي طريقة ذات حساسية عالية تصل إلى 99,8%.

3-1 مبدأ الـELISA:

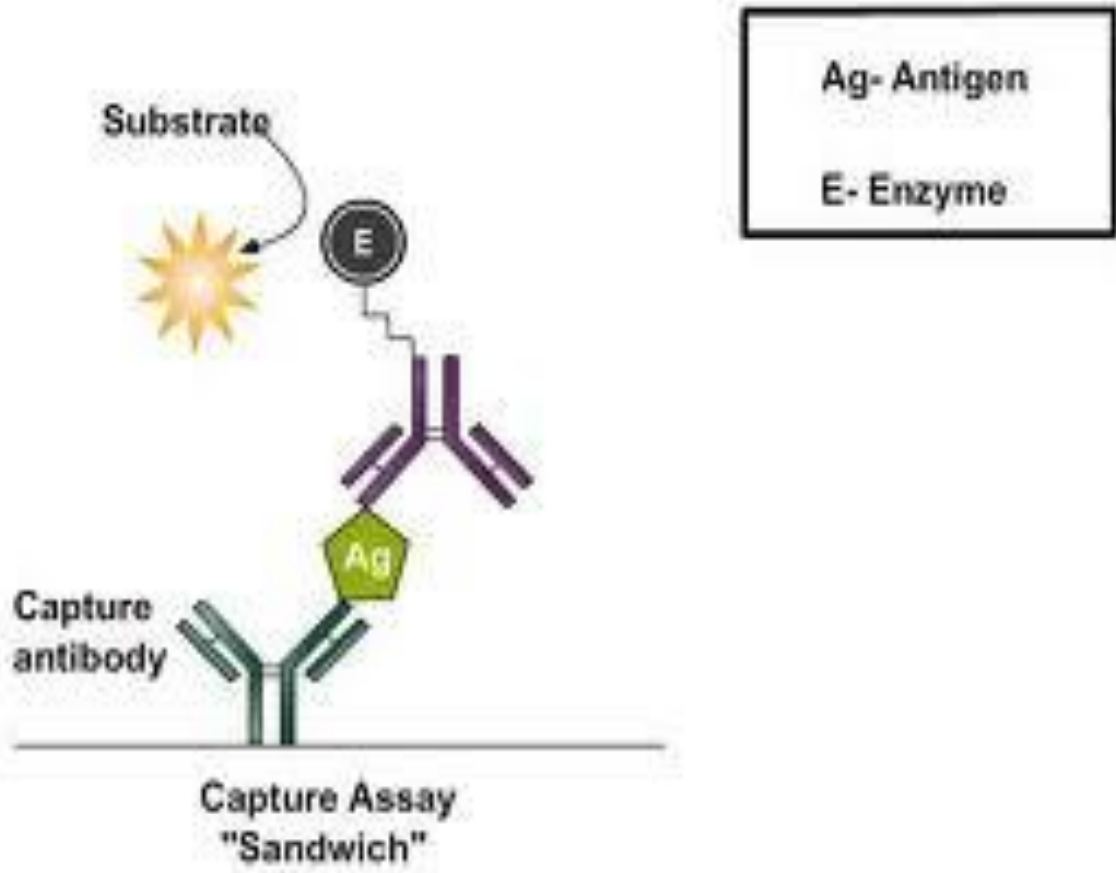
- وقد استعملنا جهاز ELISA (BEST 2000) الموجود في مشفى المواساة لقياس الـHBsAg.

- وتعتمد على الارتباط التشاركي للأنظييم مع مستضد أو ضد معلوم ، ثم تفاعل الأنظييم ومادته الرابطة مع عينة المريض ، ثم مقايسة الفعالية الأنظييمية بإضافة ركيزة الأنظييم ، وحساسية هذه الطريقة عالية مع أنها لاتحتاج لتجهيزات خاصة أو واسمات شعاعية .

- تجرى الاليزا بعدة طرق أهمها الطريقة التنافسية وطريقة السندويش.

- وقد اعتمدنا على طريقة ELISA Sandwich

لدينا بئر يضم مستضد معلوم نوعي للأضداد ثم يتم اضافة مصل المريض الحاوي على الأضداد فيحصل التفاعل ، وهنا يوجد توازن بين كمية المستضدات والأضداد ، ثم نغسل 3 مرات ، ثم يتم بعدها اعادة حضنها مع ضد موجه لـ IgG الانساني الموسوم بأنزيم ما كأنزيم البيروكسيداز ، ثم نضيف الركيزة مما يؤدي لتغير لونها بوجود الأنزيم ، ثم نضيف STOP لاييقاف التفاعل ونقيس شدة اللون بمقياس الطيف الضوئي وهنا شدة اللون تعبر مباشرة عن شدة التفاعل وقياس الأضداد في المصل .



الشكل - 13 - شكل توضيحي لطريقة ELISA السندويش

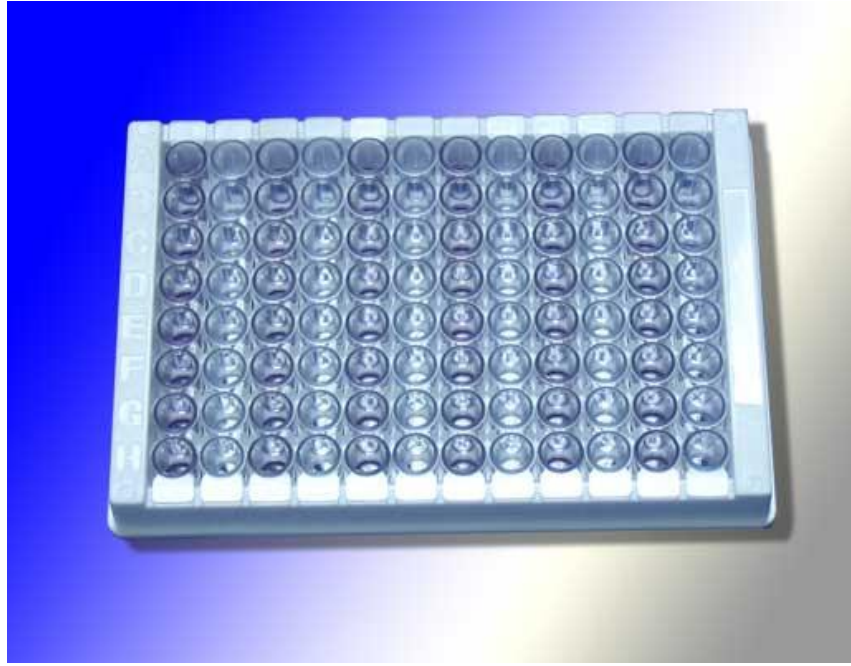


الشكل - 14 - جهاز الـ BEST 2000

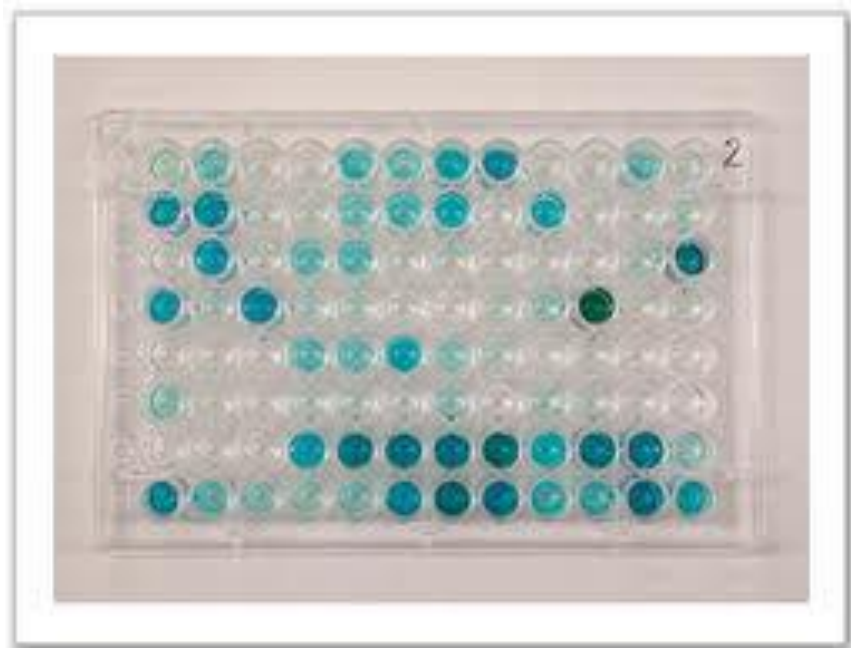
- إن طريقة الـ ELISA هي تفاعل مناعي أنظيمي ، يجرى على صفيحة بلاستيكية مؤلفة من عدة صفوف من الآبار مطلية بالأضداد النوعية وحيدة النسيلة (نوعية لكل واسم نريد كشفه بالاختبار) ، نضيف مصل المريض إلى هذه الآبار، فإذا كان المصل حاوياً على المستضد فإنه سوف يرتبط بالضد الموافق له، مشكلين بذلك معقداً مناعياً والذي سيرتبط لاحقاً بالأضداد وحيدة النسيلة المعلمة بأنظيم البيروكسيداز Peroxidease ، وعند إضافة محلول الركيزة الملون نجد :

1- إذا كانت العينة المفحوصة حاوية على المستضد فإن تغيراً لونياً سيحدث.

2- إذا كانت العينة المفحوصة خالية من المستضد لن يحدث أي تغير لوني لأن الأضداد المعلمة بالانظيم لن تستطيع الارتباط .



الشكل - 15- آبار ال ELISA قبل الاختبار



الشكل - 16- آبار ال ELISA في حال إيجابية العينات

3- 2 جمع العينات وحفظها:

- تم سحب عينات الدم باستخدام أنابيب جافة ثم تم تثقيفها للحصول على المصل وتم حفظ المصل بدرجة (20°-) ريثما يتم جمع كامل العينات على اعتبار أننا نحتاج لـ 88 عينة لنستطيع استخدام كيت العمل.
- يجب أن نبتعد عن تجميد وفك تجميد العينات المتكرر.
- يجب أن نستبعد في عملنا العينات التي تبدي عكراً أو انحلالاً شديداً لأنها تعطي نتائج خاطئة.
- وقبل البدء بالعمل يتم التحقق من رقم العينة والمعلومات الموجودة على الاستمارة .

3 - 3 الكواشف والمواد المستعملة:

- استعملنا في الدراسة كيت HbsAg لشركة Human وهو يعتمد مبدأ ELISA (طريقة السندويش)، ويحوي الكواشف التالية:
- Microtiter strips صفيحة بلاستيكية تضم 96 بئر تحوي بقعها antiHBsAb تستعمل لمرة واحدة .
- Enzyme conjugate هو أنظيم البيروكسيداز الذي يعمل على الركيزة المضافة.
- Substrate reagent A هي بيروكسيد الهيدروجين .
- Substrate reagent B تترامتيل البنزidine .
- شاهد سلبي NC .
- شاهد ايجابي PC .
- وقاء الغسيل washing solution .

- Stop solution هو sulphuric acid لإيقاف عمل الأنزيم .

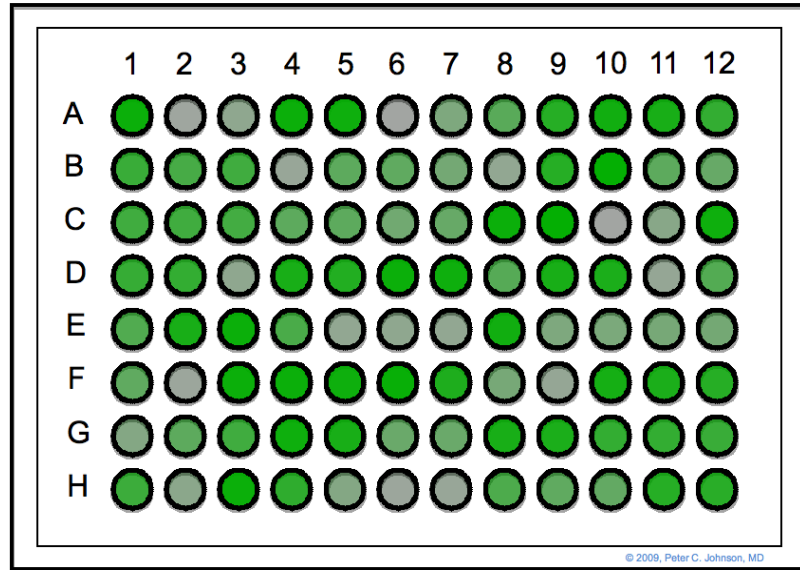
تحفظ الكواشف بدرجة حرارة (2 - 8 م°)، وتترك بدرجة حرارة المخبر (15-25 م°) قبل استعمالها .

عندما نريد البدء بالعمل يجب احضار العينات والكواشف وتركها بدرجة حرارة المخبر قبل الاستعمال .



الشكل - 17 - كيت ال HBsAg

3-4 طريقة العمل:



الشكل - 18- آبار الـ ELISA

- 1- نترك بئر A1 للـ Blank (الركيزة فقط).
- 2- نضع 50 ميكرون شاهد سلبي NC في بئر B1، C1، D1 و 50 ميكرون شاهد ايجابي PC في بئر E1, F1
- 3- نضع 50 ميكرون مصل المريض في بقية الآبار بدءاً من G1....
- 4- يتم إضافة 50 ميكرون Conj في كل الآبار عدا A1 وترج بشكل جيد ولطيف لمدة 20 ثانية .
- 5- يتم حضن الآبار لمدة 80 دقيقة بدرجة 37 مئوية .
- 6- نغسل بمحلول الغسيل 8 مرات 350 ميكرون في كل بئر (في كل مرة) وننتظر نصف دقيقة .
- 7- نضع 100 ميكرون من SUB في كل الآبار و نرج بشكل جيد ولطيف .

- 8- نحضن 30 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة .
- 9- نوزع 100 ميكرون STOP في كل الآبار .
- 10- يتم قياس الامتصاص خلال 1/2 دقيقة باستخدام جهاز اليزا (BEST 2000) عند طول موجة 450 - 650 نانومتر .

الشكل - 19 - العينات في جهاز الـ ELISA



قراءة النتائج :

تفسر النتائج حسب القيمة الحدية cut off.

القيمة الحدية للHBsAg: وهي متوسط قراءة الشواهد السلبية ونضيف لها 0,025.

فإذا كان امتصاص العينة أقل من القيمة الحدية تعتبر العينة سلبية، أما إذا كانت قيمة الامتصاص (D.O) للعينة معادلة أو أكبر من القيمة الحدية cut off عندها تعتبر العينة ايجابية.

$$\text{CUT OFF(AgHBs)} = \text{MNC} + 0,025$$

$$\text{MNC} < 0,100$$

$$\text{MPC} > 0,600$$

$$\text{MPC} - \text{MNC} > 0,50$$

النتائج :

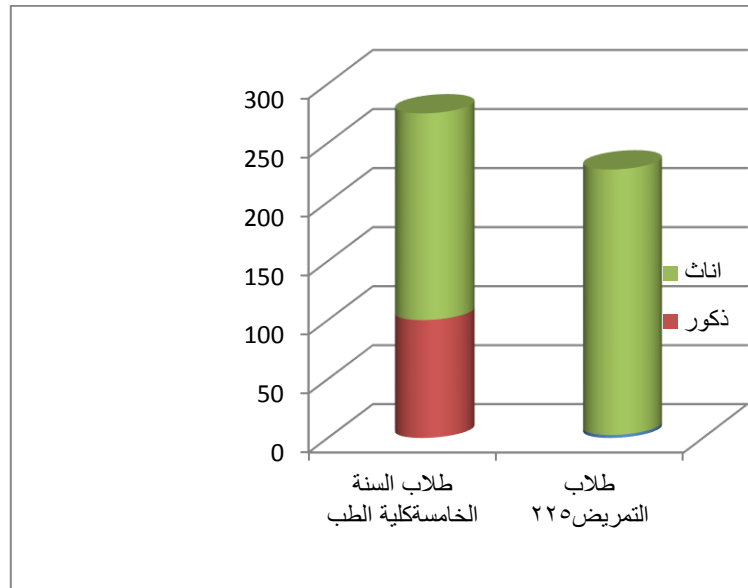
بلغت عينة الدراسة 500 عينة قسمت بين 225 عينة تم جمعها من الممرضات في مدرسة التمريض، و 275 من طلاب كلية الطب سنة خامسة .

225 عينة للممرضات.

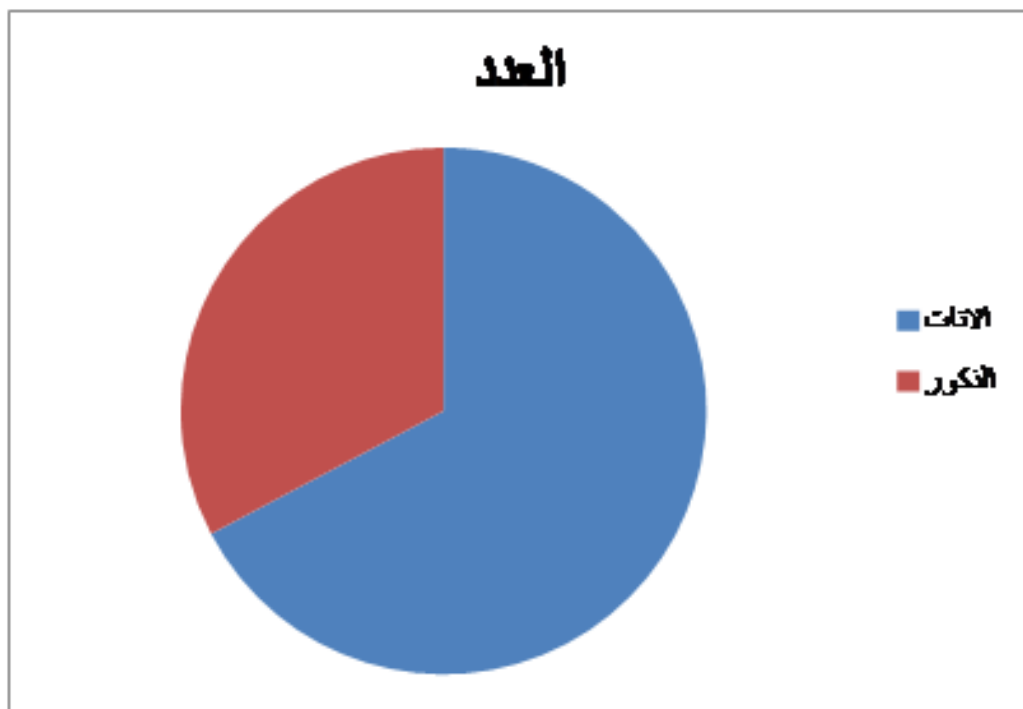
275 عينة لطلاب الطب موزعة (ذكور 100 وإناث 175).

عينة الطلاب الطب	عينة الممرضات	العينة الإجمالية
275	225	500

جدول - 5 - عينة الدراسة

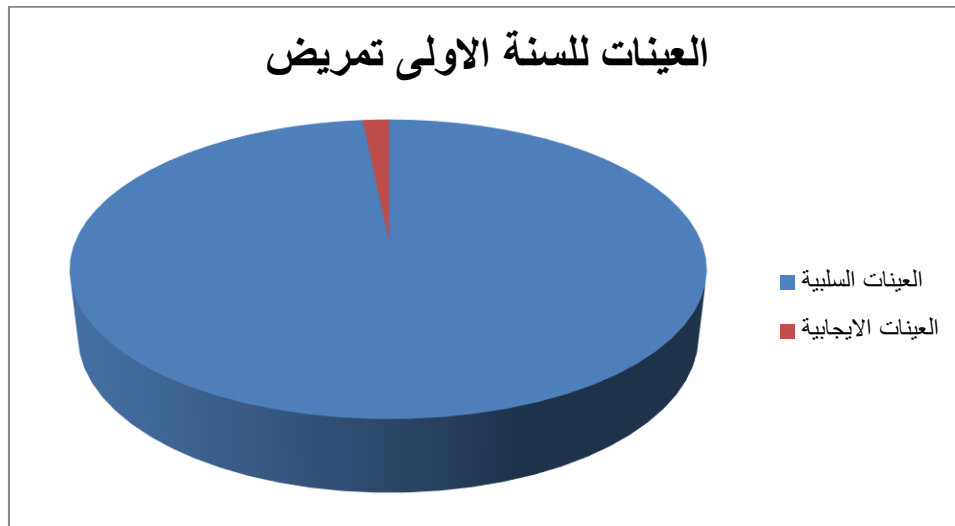


الشكل - 19- مخطط يوضح عينات الدراسة



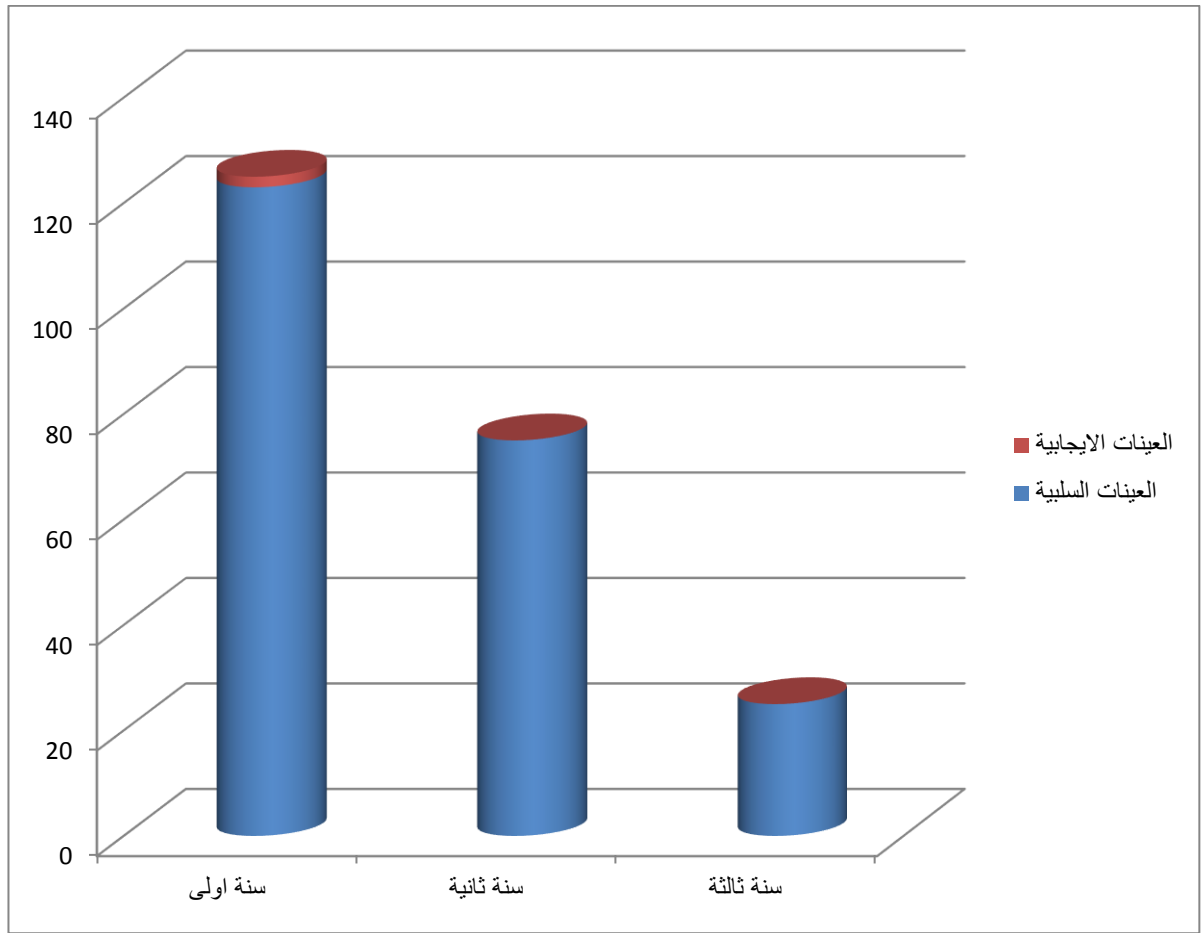
الشكل - 20- مخطط يوضح توزيع طلاب كلية الطب حسب الجنس

لدى عيار HBsAg لـ 125 طالبة في مدرسة التمريض سنة أولى (لم يتلقوا أي جرعة للقاح بعد)، تبين أنه ايجابي عند طالباتان فقط

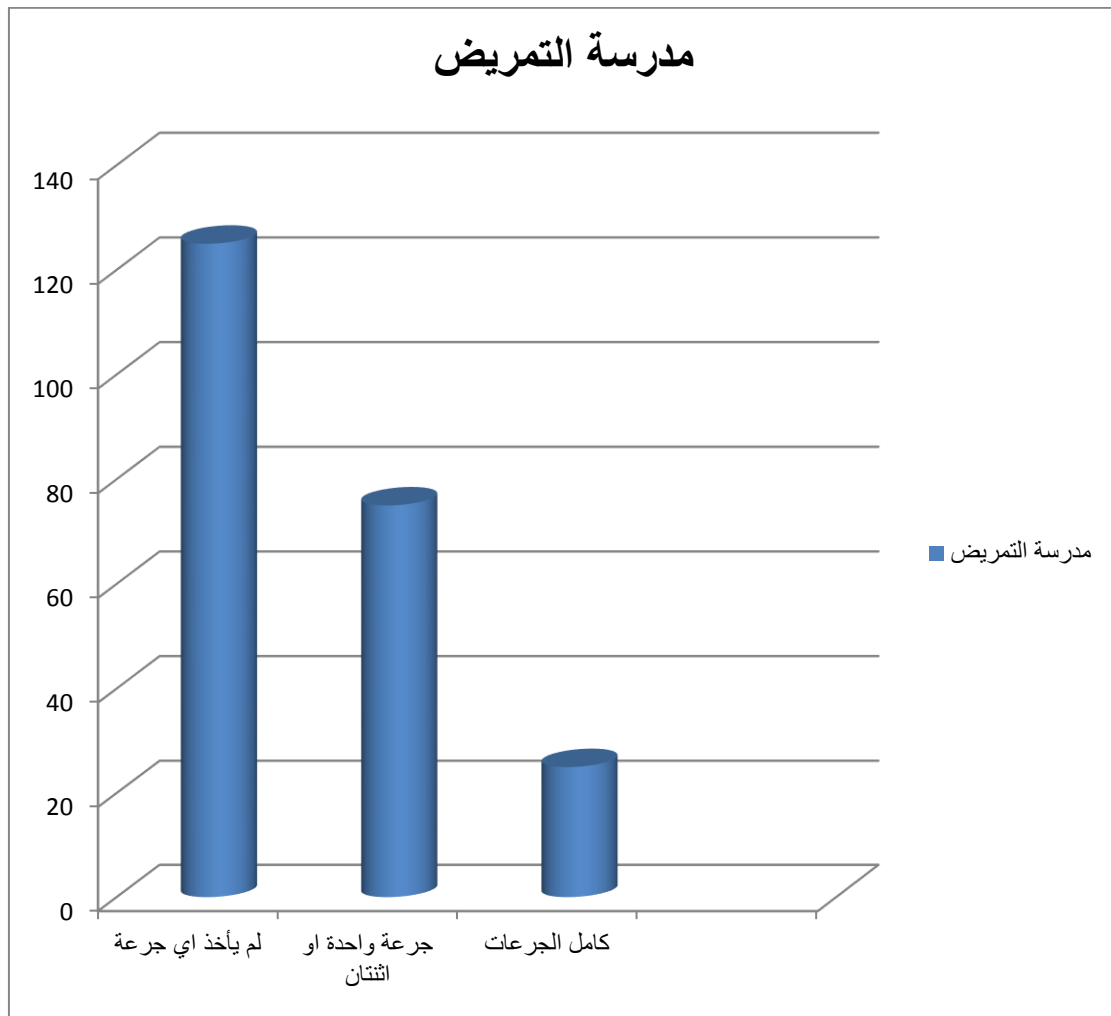


الشكل- 21- شكل ترسمي يوضح ايجابية المستضد السطحي لطالبات تمريض سنة أولى

- لدى عيار HBsAg لـ 70 طالبة في مدرسة التمريض سنة ثانية (تم أخذ جرعة واحدة أو اثنتان من اللقاح)، تبين أنه سلبى عندهم.
- لدى عيار HBsAg لـ 25 طالبة في مدرسة التمريض سنة ثالثة (تم أخذ كامل جرعات اللقاح)، تبين أنه سلبى.
- لدى عيار HBsAg لـ 275 طالب وطالبة من كلية الطب (تم أخذ كامل جرعات اللقاح)، تبين أنه سلبى



الشكل - 22- مخطط بياني لاجابية المستضد السطحي لطالبات التمريض في السنوات الثلاث



الشكل -23- مخطط يوضح نوعية اللقاح المعطى لطلاب عينة الدراسة

دراسات المقارنة:

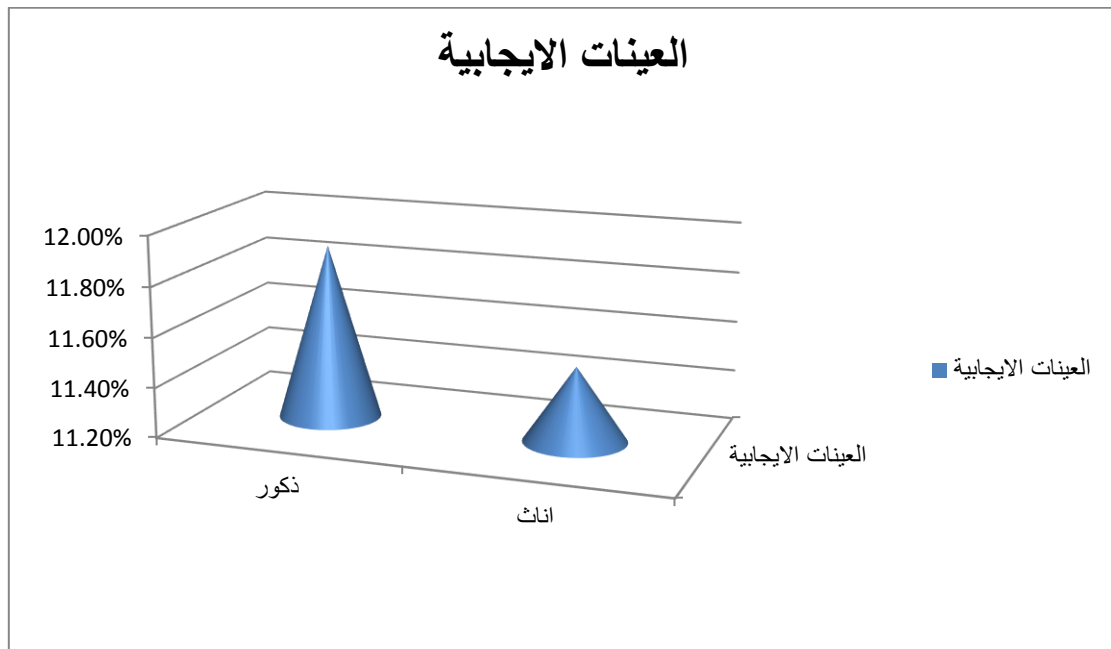
- بالنسبة لطلاب التمريض أجريت مقارنة بين نتائج بحثنا الذي تم فيه الكشف عن المستضد السطحي لالتهاب الكبد البائي بواسطة الـ ELISA مع دراستين متشابهتين الأولى تركية (17) والثانية هندية (18).

الدراسة الأولى :

Hepatitis B Virus and Hepatitis C Virus seroprevalance in the Eldery living in Nursing Home.

أجريت الدراسة على 227 شخص حيث أجري لهم الكشف عن HBsAg بطريقة الـ ELISA.

وكانت النتيجة أن 11,9% إيجابيي المستضد السطحي لالتهاب الكبد البائي (12,4% ذكور، 11,5% إناث).



الشكل -24- مخطط لاجابية العامل الاسترالي للممرضات

الدراسة الثانية:

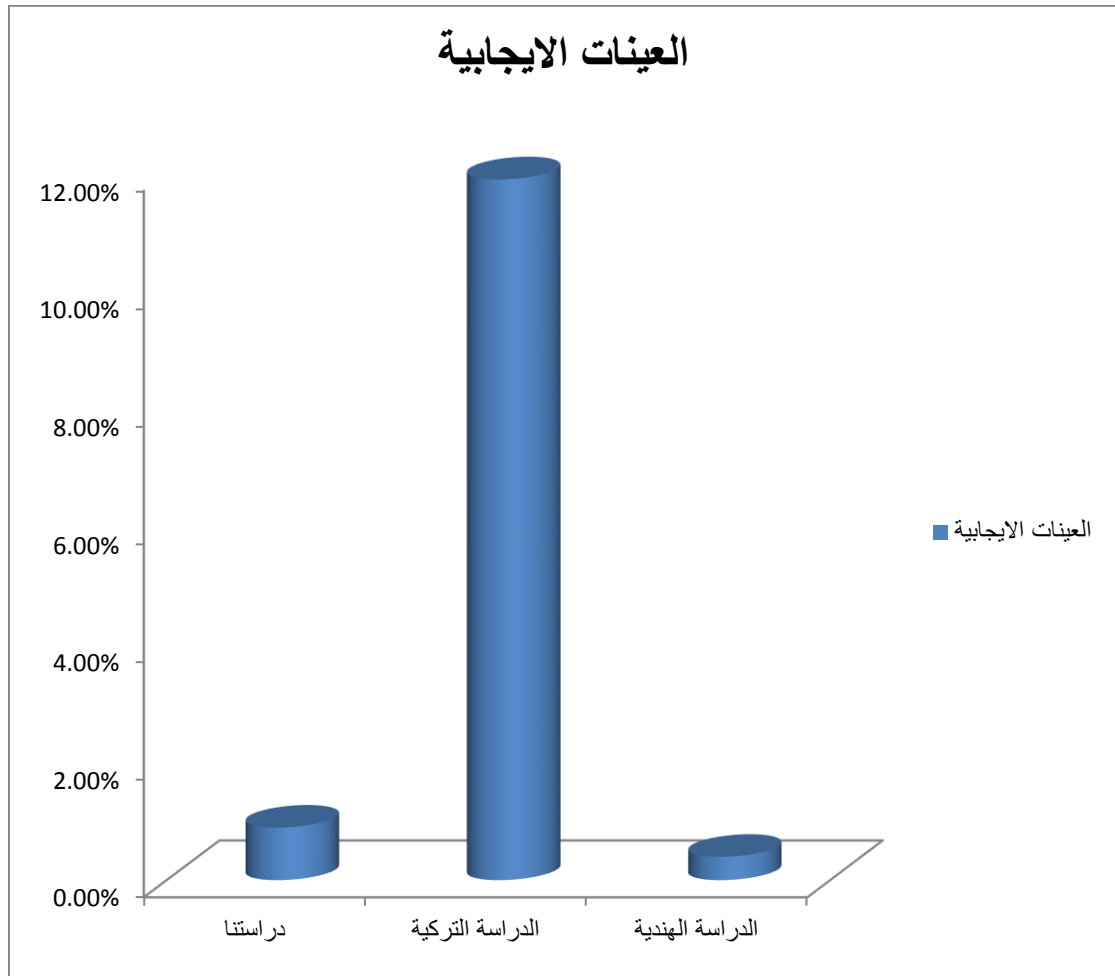
Screening for hepatitis B and C viral markers among nursing students in a tertiary care hospital

أجريت الدراسة على 250 طالب وطالبة حيث تم الكشف عن الHBsAg بواسطة الELISA.

كانت النتيجة أن طالباً واحداً من أصل 250 إيجابي للمستضد السطحي (0,4%) وهو في السنة الأولى ولم يأخذ اللقاح بعد.

الدراسة	نسبة ايجابية نسبة الHBsAg
دراستنا	0,9%
الدراسة التركية	11,9%
الدراسة الهندية	0,4%

جدول-6- مخطط يبين نسب ايجابية ال HBsAg لدى طالبات التمريض في الدراسات الثلاث



الشكل-25- شكل ترسمي يبين نسب ايجابية ال HBsAg لدى طالبات التمريض في الدراسات الثلاث

أما بالنسبة لطلاب الطب فقد تم مقارنة نتائج البحث مع دراستين :

الدراسة الأولى : (19)

Hepatitis A and B seropositivity among medical students.

وقد تمت الدراسة على 247 طالب في كلية الطب منهم 146 (59,1%) ذكور ،
و101 (40,9%) إناث.

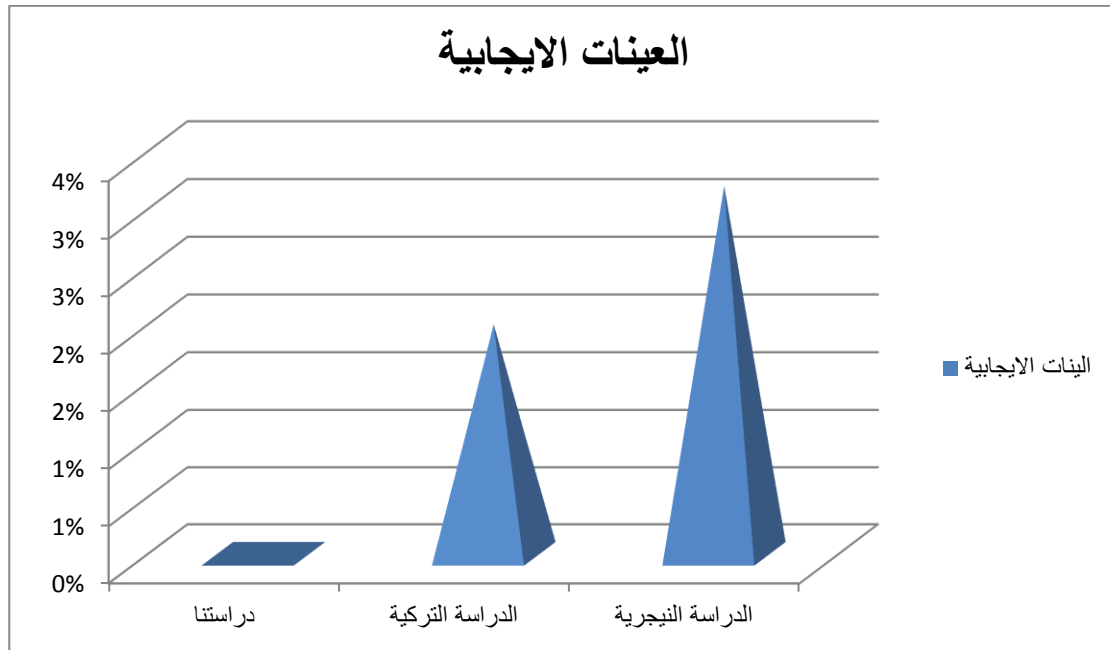
وكانت النتيجة 5 طلاب ايجابيي الHBsAg أي حوالي (2%)

الدراسة الثانية : (20)

Nigerian medical students are at risk for hepatitis B infection:

- وقد أجريت في عام 2006 على 325 طالب منهم 213 في مرحلة ما قبل
الممارسة السريرية و 82 في مرحلة الممارسة السريرية.
وكان منهم 10 طلاب ايجابيي الHBsAg أي بنسبة 3,2%.

الدراسة	نسبة ايجابية الHBsAg
دراستنا	0
الدراسة التركية	2%
الدراسة النيجرية	3,2%



جدول- 6 - يبين نسب ايجابية الHBsAg لدى طلاب الطب في الدراسات الثلاث

الدراسة:

تم في هذه الدراسة كشف المستضد السطحي HBsAg لعينة جمعت من الممرضات وطلاب الطب قبل دخولهم في الممارسة العملية وذلك للحد من انتشار التهاب الكبد البائي .

أخذت 225 عينة من طالبات التمريض في مدرسة التمريض جامعة دمشق، و 275 عينة من طلاب الطب سنة خامسة جامعة دمشق بعد سؤالهم عن أخذ اللقاح أم لا ، وعن عدد جرعات اللقاح إن أخذ.

كانت نسبة ايجابية المستضد السطحي حوالي 1% لدى طالبات التمريض بالسنوات الثلاث ، ولكن ذلك ترافق مع عدم أخذ اللقاح ، بينما طلاب الطب والذين أخذوا كامل جرعات اللقاح لم يتم الكشف عن الHBsAg ، وهذا دليل على الحماية التي يؤمنها اللقاح .

النتائج:

تبين وجود طالبتان من طالبات مدرسة التمريض ايجابيتان المستضد السطحي ،

بينما كان سلبيا عند طلاب كلية الطب .

المناقشة :

عند دراسة 225 طالبة من مدرسة التمريض منهم :

125 طالبة سنة أولى لم تأخذ أي جرعة للقاح داخل المدرسة تبين وجود طالبتان منهم ايجابيتان المستضد السطحي مع الانتباه إلى أخذهما لقاح التهاب الكبد البائي وفق البرنامج الوطني للتلقيح (0 - 1 - 6) أشهر.

100 طالبة منهم 75 تم اعطاؤهم جرعة أو اثنتان من اللقاح و25 تم اعطاؤهم كامل جرعات اللقاح ، وكان المستضد السطحي لديهم سلبياً .

وكذلك بالنسبة لطلاب الطب الذين اخذوا كامل جرعات اللقاح كان المستضد السطحي لديهم سلبياً .

مما يشير إلى عدم فعالية اللقاح في منع حصول التهاب الكبد البائي المزمن.

التوصيات:

- ▶ ضرورة تنبيه الكادر الطبي (ومنهم طالبات التمريض وطلاب الطب) على أخذ الاحتياطات اللازمة عند التعامل مع الدم وسوائل الجسم المختلفة التي تحمل خطورة الإصابة بالتهاب الكبد B كونها قد تحمل المستضد السطحي .
- ▶ إعطاء اللقاح لطالبات التمريض منذ السنة الأولى.
- ▶ ضرورة إجراء اختبار كشف المستضد السطحي لطلبة التمريض قبل إعطائهم اللقاح .
- ▶ يجب الكشف عن المستضد السطحي HBsAg لجميع أفراد عائلة الشخص الحامل للمستضد السطحي .

المراجع

المراجع العربية:

- 1- د. تيسير البني د. أحمد السحر د. عواطف عرفات الجراثيم والفيروسات الطبية – جامعة دمشق 2008 - 2009.
- 2- د. نظام الدين الحاج د. أحمد وسوف ندوة التهاب الكبد الوبائي – الوقاية خير من العلاج ، ، الثلاثاء 22 / 11 / 2011
- 3- د. خالد شيخة التعليمات الناظمة لتدبير التهاب الكبد B , C على المستوى الوطني
Hepatitis B ,C guidelines
(-Hospital.org)www.Damascuse
- 4 - مجلة منظمة الصحة العالمية – مكافحة العالمية لفيروس التهاب الكبد البائي هل تؤدي المعالجة إلى تغير مستضدي يؤثر على التمتع
(نشرة منظمة الصحة العالمية . 2010 . 88 . 66-73)

المراجع الأجنبية:

5 -. Brian J. McMahon, M.D.1The Natural History of Chronic Hepatitis B Virus Infection *nature.bjmu.edu.cn/pbl/document/6.pdf*

6 - Mary D. Nettleman, MD, MS, MA Mohamad El Mortada

, Hepatitis B (HBV, Hep B)SYMPTOS VACCATION

www.medicinenet.com/hepatitis_b/article.htm

7 -. Lok, A. S. F. and McMahon, B. J. (2009), Chronic hepatitis B: Update 2009. *Hepatology*, 50: 661–662. doi: 10.1002/hep.23190

8- Ontario Association of Medical Laboratories , Guidelines for ordering Testing for viral Hepatitis. Septambar – 2010.

9– *St Vincent's Clinical School, The University of New South Wales, Darlinghurst, NSW. HEPATITIS B VIRUS TESTING AND INTERPRETING TEST RESULTS 3. www.ashm.org.au/images/publications/.../b_positive-chapter_3.pdf*

10 –. [Arie J. Zuckerman](#) (Author), [Jangu E. Banatvala](#) (Editor), [Paul Griffiths](#) (Editor), [Barry Schoub](#) (Editor), [Philip Mortimer](#) (Editor) **Principles and Practice of clinical Virology** , Forth edition www.amazon.com

11 – European Association for the Study of the Liver,EASL Clinical Practice Guidelines :Mangment of chronic hepatitis B infaction j *Hepatology* 2012 .

12 –Lavanchy D. Hepatitis B Virus epidemiology , disease burden , treatment , and current and emerging Preventaion and control measurs , Viral Hepatol 2004.

**World Health Organization, Communicable Disease Surveillance and Response, Geneva, Switzerland.
lavanchyd@who.in**

13 – Hepatitis B Fondation . Your Blood test , www . hep . org / pation / your blood test htm catch similar.

14 – Diane E wallis ,Elizabeth H Boxal , Preventaion of Hepatits B in the new born children , London Royal Collag of physicion 2006. *British Medical Jernal*

15 - American Academy of Pediatrics. In: Pickering LK, Baker CJ, Kimberlin DW, et al. (editors). Red Book: 2009 Report of the Committee on Infectious Diseases. 28th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2009.

**16- Canadian Immunization Guide - Public Health Agency of Canada Part 4 Active Vaccines ,
www.publichealth.gc.ca**

17 -Maral I, Dogruman-Al F, Bakar C, Ilhan MN, Yalinay-Cirak M, Bumin MA Hepatitis B Virus and Hepatitis C Virus seroprevalance in the Eldery living in Nursing Home. ANKARA 2009.-18-

18 - Screening for hepatitis B and C viral markers among nursing students in a tertiary care hospital.INDIA 2010. G Singh, MP Singh, I Walia , C Sarin, RK Ratho

19 - Hepatitis A and B seropositivity among medical students. TURKY 2004. Serkan Oncu^{a,*}, Selcen Oncu^b, Serhan Sakarya^a

20 - Nigerian medical students are at risk for hepatitis B infection

21 – Dr.Jordan Feld , Dr.Meb Rashid , Hepatitis B Management Quick Reference Guide ,Toronto Public Health. Toronto . ca / health . 416 . 338 . 7600.

22 – Federal Bureau of Prisons , Stepwise Approach for Detecting , Evaluating, and Treating chronic Hepatitis B Virus Infection , Clinical Practice Guidelines ,January 20 ,2011