



الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق - كلية الصيدلة
قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة

انتشار الفيروس الصغير B19 لدى مجموعة من
مرضى التلاسيميا بيتا في مدينة دمشق.

**Prevalence of Parvovirus B19 in a
group of thalassemia beta patients
in Damascus city.**

أطروحة قدمت الى جامعة دمشق لنيل درجة الماجستير في التشخيص المخبري

إعداد الطالبة: رشا العمارين

الأستاذ المشرف: د. مروان البحري

العام الدراسي

1437هـ/2016م

المدة التي استغرقها هذا البحث: من (1 / 1 / 2015) وحتى (26 / 4 / 2016)

تم الاعتيان من:

❖ مركز التلاسيمية التابع للعيادات الشاملة في مدينة دمشق

تم إنجاز المقايسات في:

❖ مركز جامعة دمشق لنقل الدم – دمشق.

تاريخ مناقشة الرسالة: 26 / 4 / 2016

أسماء أعضاء لجنة الحكم:

برئاسة: أ. د. مروان البحري

الفاحص الأول: أ. د. عماد الدين أبو خميس

الفاحص الثاني: أ. د. جمانة الصالح

الإهداء

بسم الله الرحمن الرحيم

(قل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله والمؤمنون)

صدق الله العظيم

إلهي لا يطيب الليل إلا بشكرك وليطيب النهار إلى بطاعتك... ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك...
ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك... ولا تطيب الجنة إلا برؤيتك

الله جل جلاله

إلى من بلغ الرسالة وأدى الأمانة... ونصح الأمة... إلى نبي الرحمة ونور العالمين...

سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم

إلى رمز الشموخ والإباء... ونبع الجود والعطاء.

إلى بلد الياسمين.

سوريتي الحبيبة

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار. إلى من علمني العطاء بدون انتظار... إلى من أحمل أسمه بكل
افتخار. أرجو من الله أن يمد في عمرك لترى ثماراً قد حان قطافها بعد طول انتظار وستبقى
كلماتك نجوم أهتدي بها اليوم وفي الغد وإلى الأبد.

والدي العزيز

إلى ملاكي في الحياة.. إلى معنى الحب وإلى معنى الحنان والتفاني.. إلى بسمه الحياة وسر

الوجود

إلى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي إلى أغلى الحبايب

أمي الحبيبة

إلى من بها أكبر وعليها أعتمد.. إلى شمعة متقدة تنير ظلمة حياتي..

إلى من بوجودها أكتسب قوة ومحبة لا حدود لها..

إلى من عرفت معها معنى الحياة

أختي رانيا

كل معاني الحزن تجلت في غيابك.. وتدفقت سيلا لتغرقني.. وبحر معانيها تلهبني. وتلهمني
صعب الكلمات على أعتاب الغياب...

أخي أيهم

إلى توأم روحي ورفيقة دربي .. إلى صاحبة القلب الطيب والنوايا الصادقة
إلى من رافقتني منذ أن حملنا حقائق صغيرة...ومعك سرت الدرب خطوة بخطوة وما تزال
ترافقني حتى الآن

أختي لميس

إلى أطيّب قلب سرقته الغربية مني وفرقت بيننا المسافات، إلى البعيد القريب

أخي مروهف

إلى من أرى التفاؤل بعينهم .. والسعادة في ضحكهم
إلى شعلة الذكاء والنور
إلى الوجه المفعم بالبراءة ..بمحببتكم أزهرت أيامي وتفتحت براعم للغد

أختي روف ... أخي سامح

إلى رفيق دربي هذه الحياة بدونك لاشيء.. معك أكون أنا.. وبدونك أكون مثل أي شيء ..
في نهاية مشواري أشكرك على مواقفك النبيلة.... إلى من تطلعت لنجاحي بنظرات الأمل

زوجي محمود

أرى النور عندما تنظر في عيوني ... أستجمع طاقتي من خلال وجودك حولي.. أستمد قوتي
من خلال ضمك لصدري
فأنت نبضات قلبي ... ودمي الذي يسيل بعروقي..
وروحي التي أحيأ لأجلها

أمجد

إلى أميرتي المنتظرة قريبا بإذن الله

لبلاس

كلمة شكر

- ❖ الشكر في الأولى لله عز وجل، خالقي وموقفي حتى بلغت هذه اللحظات
- ❖ الشكر الجزيل لكلية الصيدلة متمثلة بعميدها الدكتور عبد الحكيم نتوف ونائب العميد للشؤون العلمية الأستاذ الدكتور مصطفى عموري ونائب العميد للشؤون الإدارية الأستاذة الدكتورة جمانة الصالح.
- ❖ كل الشكر والامتنان لأساتذتي في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة لما قدموه لي من دعم ورعاية أثناء الدراسات العليا متمثلة برئيس القسم الدكتور مروان البحتري.
- ❖ كل الشكر والتقدير والاحترام للدكتور مروان البحتري الذي تفضل بالإشراف على هذا البحث، ومنحني الكثير من وقته وجهده. منه تعلمت أن النجاح يسبقه الاجتهاد، كان مثال الكرم والعطاء بتوجيهاته من أجل إنجاز هذا العمل، جزاك الله عني كل خير.
- ❖ الشكر الجزيل للأستاذ الدكتور عماد أبو خميس لتفضله بالمشاركة في لجنة الحكم وإغناء هذا العمل بملاحظاته القيمة. لك مني خالص المودة والاحترام.
- ❖ الشكر الجزيل للأستاذة الدكتورة جمانة الصالح لتفضلها بالمشاركة في لجنة الحكم وإغناء هذا العمل بملاحظاتها القيمة. لك مني عميق الشكر وفائق الاحترام.
- ❖ الشكر الجزيل لمركز نقل الدم في جامعة دمشق ممثلاً بالدكتورة علياء الأسد، لمساهمتها في إتمام القسم العملي من هذا البحث. والشكر لجميع العاملين في هذا المركز.
- ❖ كل الشكر لمركز الثلاثيمية في العيادات الشاملة ممثلاً بالدكتور ياسر مخللاتي للسماح لي بجمع العينات والإفادة بخبرته، والشكر لجميع الأطباء والمشرفين والمخبريين العاملين في هذا المركز.

لمحة موجزة عن حياة الباحث

الإسم: رشا يحيى العمارين

تاريخ الميلاد: 1986/8/6

العنوان: دمشق – سورية

الجنسية: عربية سورية

البريد الإلكتروني: rashammarine@hotmail.com

Rashaamm9@gmail.com

التحصيل العلمي:

الشهادة الإعدادية في مدرسة بنات نوى الأولى عام 2001

الشهادة الثانوية في مدرسة الإمام النووي عام 2005

الإجازة في الصيدلة من جامعة دمشق عام 2010

أدرس لنيل درجة الماجستير في التشخيص المخبري من كلية الصيدلة في جامعة دمشق.

تصريح

الإسم الثلاثي: رشا يحيى العمارين

مكان وتاريخ الولادة: درعا 1986م

عنوان البحث باللغة العربية

انتشار الفيروس الصغير B19 لدى مجموعة من مرضى التلاسيميا بيتا في مدينة دمشق.

لايوجد أي جزء من هذه الأطروحة تم اقتباسه بالكامل من عمل علمي آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في جامعة دمشق أو أي جامعة أخرى أو أي معهد تعليمي داخل أو خارج القطر.

لم يتم قبض أي مبلغ مادي أو مكافأة عينية سواء بشكل مباشر أو غير مباشر مقابل القيام بعمل يمس جوهر هذه الأطروحة أو نتائجها.

أتعهد بأنني لم أقل إلا الحقيقة ولم أخف شيئاً تحت طائلة المعاقبة والمحاسبة القانونية وعليه أوقع.

التاريخ: 2016/4/26م

توقيع الباحث

اسم الباحث الثلاثي

رشا يحيى العمارين

قائمة المحتويات Content List

6	قائمة الأشكال
7	قائمة الجداول
9	قائمة الاختصارات
12	تمهيد
15	المراجعة النظرية
16	1- المتلازمات الثلاسيمية Thalassemia Syndromes
16	1-1- مقدمة
18	2-1- الثلاسيميا ألفا
18	1-2-1- موه الجنين
18	2-2-1- الهيموغلوبين H
18	3-2-1- خلة الثلاسيميا ألفا
18	4-2-1- الحاملين الصامتين
19	3-1- الثلاسيميا بيتا
19	1-3-1- β^+ - Thalassemias
20	2-3-1- β^0 -thalassemias
20	3-3-1- الثلاسيميا الكبرى
21	4-3-1- الثلاسيميا الصغرى

22.....	5-3-1- الفيزيولوجيا المرضية
23.....	6-3-1- مضاعفات التلاسيميا بيتا الكبرى
23.....	4-1- الانتشار والتوزيع الجغرافي للتلاسيميا
24.....	5-1- طرق تشخيص التلاسيميا
25.....	2- الفيروس الصغير Parvovirus B19
25.....	1-2- لمحة تاريخية
26.....	2-2- تصنيف الفيروس B19
27.....	3-2- الوبائية
33.....	4-2- البنية
33.....	1-4-2- فيروس B19
33.....	1-1-4-2- المجين
35.....	2-1-4-2- القفصية
36.....	5-2- البروتينات
36.....	1-5-2- البروتينات البنيوية
37.....	2-5-2- البروتين غير البنيوي NS1
37.....	3-5-2- البروتينات الصغيرة
38.....	6-2- الجسيمات العدوائية
38.....	7-2- أنماط B19V الجينية
40.....	3- إمرضية الفيروس الصغير B19
40.....	1-3- طرق الانتقال
40.....	2-3- التوجه

- 42.....3-3- تنسخ الفيروس.....
- 44.....4-3- الباثولوجيا الخلوية.....
- 45.....5-3- الأمراض والاستجابة المناعية.....
- 49.....4- التظاهرات السريرية **Clinical Manifestations**.....
- 50.....1-4- العدوى لدى المضيفين الأصحاء.....
- 50.....1-1-4- العدوى اللاعرضية.....
- 51.....2-1-4- الحمى العدوائية.....
- 53.....3-1-4- الاعتلال المفصلي.....
- 54.....4-1-4- متلازمة القفازات والجوارب الفرورية الحطاطية.....
- 55.....5-1-4- قلة الصفائح.....
- 55.....6-1-4- قلة العدلات وقلة عابرة في الأرومات الحمر.....
- 56.....7-1-4- أمراض عصبية.....
- 57.....8-1-4- التهاب العضلة القلبية.....
- 57.....9-1-4- التهاب الكبد.....
- 57.....10-1-4- تظاهرات أخرى مترافقة.....
- 59.....2-4- العدوى أثناء الحمل.....
- 59.....1-2-4- فقدان الجنين.....
- 60.....2-2-4- فقر الدم الجنيني.....
- 61.....3-2-4- المَوَه (الاستسقاء) الجنيني.....
- 62.....4-2-4- فقر الدم الخلقي.....
- 63.....3-4- العدوى لدى المضيفين ذوي الاعتلالات الدموية والمضيفين معوزي المناعة.....

64.....	1-3-4- نوبات انعدام التنسج العابرة.....
65.....	3-3-4- عدم تنسج مزمن في طلائع الكريات الحمر وفقر الدم المزمن.....
69.....	4-4- عدوى B19 المستديمة.....
71.....	5- تشخيص العدوى بالفيروس الصغير B19
71.....	1-5- كشف الأضداد.....
73.....	2-5- كشف DNA الفيروس.....
74.....	3-5- الفحوص النسيجية.....
74.....	4-5- كشف الفيروس.....
76.....	6- المعالجة والوقاية
76.....	1-6- المعالجة.....
76.....	2-6- الوقاية.....
79.....	7- مسوغات البحث
81.....	8- هدف البحث
82.....	الدراسة العملية.....
83.....	1- تصميم الدراسة.....
83.....	2- مجموعة الدراسة.....
87.....	3- الموافقة المستنيرة.....
87.....	4- بطاقة الاستبيان.....
91.....	5- المواد والطرق.....
97.....	6- النتائج.....

109.....	7- المناقشة
109.....	7-1- انتشار عدوى الفيروس الصغير B19
111.....	7-2- العلاقة بين العدوى والعمر
111.....	7-3- العلاقة بين العدوى والجنس
112.....	8- الاستنتاجات
113.....	9- المقترحات والتوصيات
114.....	الملخص
115.....	Abstract
116.....	المراجع
133.....	ملحق (1) قبول النشر في مجلة جامعة البعث

قائمة الأشكال Figure List

- الشكل 1. شكل ترسمي يوضح التتاليات النهائية المقلوبة في مجين B19V 34
- الشكل 2. التناظر عشرييني الوجوه لقفيسة B19V 35
- الشكل 3. بنية مجين الفيروس B19 يظهر الأطر القابلة للقراءة 36
- الشكل 4. يوضح توجه الـ B19V نحو سليفة الكريات 41
- الشكل 5. دورة تنسخ الفيروس B19 44
- الشكل 6. التأثير الممرض الخلوي لـ B19 45
- الشكل 7. التسلسل الزمني لظهور الأضداد بعد الإصابة بعدوى B19 47
- الشكل 8. التظاهرات السريرية والاستجابة المناعية والدموية حسب حالة المضيف 50
- الشكل 9. مظهر الطفح على الخدين والأطراف في متلازمة الحمى العدوائية 52
- الشكل 10. حالة الموه الجنيني التي تظهر عند الأجنة المصابين بالـ B19 62
- الشكل 11. التظاهرات السريرية والاستجابة المناعية والدموية حسب حالة المضيف 86
- الشكل 12. آلية إنتاج الجسيمات الشبيهة بالفيروس الفارغة VLP 78
- الشكل 13. النسبة المئوية لتوزع مرضى عينة البحث وفقاً لجنس المريض 83
- الشكل 14. المتوسط الحسابي لأعمار المرضى في عينة البحث وفقاً لجنس المريض 84
- الشكل 15. النسبة المئوية لتوزع المرضى وفقاً للفئة العمرية لجنس المريض 86
- الشكل 16. استمارة الموافقة المستنيرة 88
- الشكل 17. استمارة البحث المتعلقة بالمشاركين بالبحث 90
- الشكل 18. عتيدة parvovirus B19 IgM-ELISA 92
- الشكل 19. المتوسط الحسابي لتركيز الخضاب في الدم وفقاً لجنس المريض 97
- الشكل 20. النسبة المئوية لنتائج أضداد IgMB19 لدى المرضى وفقاً لجنس المريض 99
- الشكل 21. المتوسط الحسابي لعمر المريض وفقاً لوجود B19V 102
- الشكل 22. يمثل نسبة مئوية لنتائج أضداد IgMB19 وفقاً للفئة العمرية 104
- الشكل 23. يمثل المتوسط الحسابي لتركيز الخضاب في الدم وفقاً لوجود B19V 106

قائمة الجداول Tablet List

- الجدول 1. تصنيف عائلة parvoviridae 30
- الجدول 2. انتشار DNA ال B19 عند المتبرعين بالدم في بعض الدراسات 32
- الجدول 3. يبين توزع مرضى عينة البحث وفقاً لجنس المريض..... 83
- الجدول 4. يبين الحد الأدنى والحد الأعلى والمتوسط الحسابي والانحراف المعياري لأعمار المرضى في عينة البحث وفقاً لجنس المريض..... 84
- الجدول 5. يبين توزع مرضى عينة البحث وفقاً للفئة العمرية للمريض وجنس المريض. 85
- الجدول 6. يبين الحد الأدنى والحد الأعلى والمتوسط الحسابي والانحراف المعياري لتركيز الخضاب في الدم في عينة البحث وفقاً لجنس المريض..... 97
- جدول 7. يبين نتائج الاستقصاء عن أضداد IgM للفيروس الصغير B19 لدى مرضى عينة البحث وفقاً لجنس المريض..... 98
- الجدول 8 . نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات وجود أضداد IgM الفيروس الصغير B19 بين مجموعة الذكور ومجموعة الإناث في عينة البحث..... 100
- الجدول 9. يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري والحد الأدنى والحد الأعلى لعمر المريض في عينة البحث وفقاً لوجود الفيروس الصغير B19.... 101
- الجدول 10 . يبين نتائج اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA لدراسة دلالة الفروق في متوسط عمر المريض بين مجموعات وجود الفيروس الصغير B19 (سلبى، رمادي، إيجابي) في عينة البحث..... 102
- الجدول 11. يبين نتائج الاستقصاء عن وجود أضداد IgM الفيروس الصغير B19 لدى مرضى عينة البحث وفقاً للفئة العمرية للمريض..... 104

- الجدول 12. يبين نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات وجود الفيروس الصغير B19 بين مجموعات الفئة العمرية للمريض في عينة البحث.....105
- الجدول 13. يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري والحد الأدنى والحد الأعلى لتركيز الخضاب في الدم في عينة البحث وفقاً لوجود B19V.....106
- الجدول 14. يبين نتائج اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA لدراسة دلالة الفروق في متوسط تركيز الخضاب في الدم بين مجموعات وجود الفيروس الصغير B19 (سلبى، رمادى، إيجابى) في عينة البحث.....107
- جدول 15. يبين نتائج المقارنة الثنائية بطريقة Bonferroni لدراسة دلالة الفروق الثنائية في متوسط تركيز الخضاب في الدم بين مجموعات وجود الفيروس الصغير B19 (سلبى، رمادى، إيجابى) في عينة البحث.....107
- الجدول 16. نسب انتشار الفيروس الصغير B19 لدى مرضى الاعتلالات الدموية في عدد من الدول.....109

Abbreviations List قائمة الاختصارات

TRCA	Transient Red Cell Aplasia
TAC	Transient Aplasia Crisis
PRCA	Pure Red Cell Aplasia
PCR	Polymerase Chain Reaction
B19V	Human ParvoVirus
DNA	Deoxyribonucleic acid
NTP	Nucleotide Triphosphate
Gb4	Glycosphingolipid Globoside
MCV	Mean Cell Volume
CBC	Complete Blood Count
HPLC	high performance liquid chromatography
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses.
CPV	Canine Parvovirus
MVM	Minute Virus of Mice
FPV	Feline Parvovirus
PPV	Porcine Parvovirus

P6	B19 promoter
ORF	Open Reading Frame
AAV	Adeno Associated Virus
SPV	Simian Parvovirus
BM	Bone Marrow
Wi	B19 type 1 isolate
Au	B19 type 1 isolate
ITR	Inverted Terminal Repeat
VP	Viral Protein
VP1/VP2	Structural Protein of B19
VP1u	Unique region of VP1 protein
PLA2	Phospholipase A2 Enzyme
VLPs	Virus- Like Particles
INF- δ	Interferon gamma
IL 10	Interleukin 10
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
PPGSS	Popular Purpuric Gloves and Socks Syndrome
ITP	Idiopathic Thrombocytopenia Purpura

LaLi	B19 genotype 2 strain
A6	B19V genotype 2 strain
V9	B19V genotype 2 strain
TEC	Transient Erythroblastopenia of Childhood
IUFD	IntraUterine Fetal Death
CMV	CytoMegaloVirus
SCID	Severe Combined ImmunoDeficiency
HIV	Human Immunodeficiency Virus
VAHS	Virus-Associated Hemophagocytic Syndrome
IgG	Immunoglobulin G
IgM	Immunoglobulin M
EIA	immunoenzymatic assays
RIA	RadiolImmunoAssay
IFA	ImmunoFluorescence Assays
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EM	Electron Microscope
NS	Non Structural protein

تمهيد Preface

يعتبر الفيروس الصغير B19 (B19V) من أصغر الفيروسات (22-24 نانومتر) غير مغلف يتكون المجين الخاص به من DNA خطي أحادي الطاق. ينتمي إلى جنس *Erythrovirus* و عائلة *Parvoviridae*. (1)

على الرغم من أن العدوى بالفيروس B19 محدودة ذاتيا عند الأشخاص الأصحاء، إلا أنه يسبب العديد من المضاعفات عند المرضى ذوي الانحلالات الدموية الموروثة كمرضى الثلاسيميا. يمكن أن يسبب تكاثر الفيروس عند هؤلاء المرضى، عالي الخطار، تثبيط نقي العظم وبالتالي نقص حاد في خضاب الدم مهدد للحياة (فقر دم شديد، نوبة انعدام تنسج).

حتى الآن لا يوجد ما يلزم تحري الفيروس الصغير B19 سواء عند المتبرعين بالدم أو عند المرضى ذوي الخطار العالي. (2)

يعد الفيروس الصغير B19 واسع الانتشار عالميا، حيث أشارت الدراسات المصلية أن أكثر من 50% من البشر يصابون به خلال فترة الطفولة لكن أظهرت دراسات أخرى معدلات انتشار أعلى عند المصابين بمرضى فقر الدم المنجلي في بعض المناطق: في البرازيل (80% ضمن الأطفال أعمارهم ما بين 5-15 سنة). (3) وفي استراليا (55% ضمن نفس العمر). (4)

تتكرر جوائح الفيروس الصغير كل حوالي 3-4 سنوات. (5) تسبب هذه الجوائح حالات من العدوى لها تأثير رئيسي عند العديد من مرضى الاعتلالات الدموية الموروثة كإصابتهم بنوبة انعدام تنسج عابرة في النقي TAC والتي تعرف بأنها نوبة من عدم تنسج مزمن في طلائع الكريات الحمر PRCA مترافقة مع غياب طلائع الكريات الحمراء في نقي العظم والشبكيات في الدوران. وبسبب قصر عمر الكريات الحمراء عند هؤلاء المرضى يؤدي التوقف المؤقت في تكوين الكريات الحمراء إلى هبوط حاد في مستويات خضاب الدم، وبالتالي تعرضهم لفقر دم حاد مهدد للحياة. (6)

يسبب ال B19V توقف تام في إنتاج الكريات الحمراء، مؤدي إلى الإصابة ب TAC لدى مرضى فقر الدم الموروث مثل (فقر الدم بعوز الحديد، فقر الدم المنجلي، الثلاسيميا،

تكون الكريات الحمراء لديهم ذات عمر قصير. تتراوح أعراض العدوى بالفيروس الصغير B19 عند مرضى التلاسيميا ما بين فقر دم عابر متوسط الشدة إلى هبوط حاد في مستويات خضاب الدم مهدد للحياة. (7) يتميز فقر الدم لدى أطفال التلاسيميا بنقص حاد في الشبكيات واحتجاز طحالي (استخلاص لمكونات الدم) splenic sequestration (8)

تعتبر نوبة انعدام التنسج العابر TAC عند الأطفال والبالغين المصابين بالتلاسيميا غير ضارة عموماً لكن يجب أن يخضع المرضى إلى نقل دم متكرر للتقليل من مخاطر الوهن الدوراني circulatory collapse.

كما يحرض عدوى الفيروس الصغير B19 العديد من المضاعفات عند مرضى التلاسيميا (احتجاز طحالي حاد، احتجاز كبدي، متلازمة صدرية حادة، متلازمة كلوية، التهاب سحايا، سكتة) لذا كان من المهم تطوير لقاح وإستراتيجيات وقائية أخرى تقلل من معدلات الأمراض ومعدلات الوفيات لدى مرضى الاعتلالات الدموية وبالأخص التلاسيميا. (9)

من السهل انتقال الفيروس الصغير عن طريق نقل الدم والمشتقات البلازمية، وبما أنه من الفيروسات غير المغلفة فإنه مقاوم للمعالجة بالمحلات العضوية والمنظفات. كما أن صغر حجمه يجعل من الصعب إزالته بواسطة الترشيح. سجلت أول حالة لعدوى الفيروس الصغير B19 عن طريق نقل الدم عام 1995 عند مريضة عمرها 22 عاماً تعاني من التلاسيميا الكبرى، أدى إلى إصابتها بعدم تنسج عابر وفشل قلبي عابر. (10)

كما لوحظ فقر دم متوسط الشدة وعدم تنسج مزمن في طلائع الكريات الحمراء PRCA، وقلة كريات شاملة في الدم عند مرضى الاعتلالات الدموية بعد نقل الدم الملوث بالفيروس الصغير B19 في اليابان. (11)

تم تقسيم العوامل المعدية تبعاً لأهميتها في طب نقل الدم إلى العديد من المجموعات:

1. "المجموعة الحمراء": احتمالية الإصابة بمضاعفات سريرية خطيرة potential clinical outcome for severe.
2. "المجموعة البرتقالية": أفضلية أكبر للمستقبل higher priority for the future.

3. "المجموعة الصفراء" : عوامل معدية ذات اهتمام عام agents of public
.and regulatory concern

4. " المجموعة البيضاء" : عوامل لا تحتاج إلى اهتمام أكبر حاليا agents which
. do not appear to need higher prioritization at present

يصنف الفيروس الصغير ضمن المجموعة الصفراء كما يعتبر من العوامل المعدية "الجديدة"
الظهور للعيان " emerging infectious agent في نقل الدم. (2,12)

المراجعة النظرية

1- المتلازمات الثلاسيمية Thalassaemia Syndromes:

1-1- مقدمة

الثلاسيمية مجموعة من الأمراض الناتجة عن نقص اصطناع واحد أو أكثر من سلاسل الهيموغلوبين لكن هذه السلاسل طبيعية بنيويا، التفاعلات بين عدد كبير من العيوب المختلفة جزيئيا هي السبب في نقص أو غياب اصطناع سلاسل الغلوبين. (13)

الأنماط الأكثر شيوعا هي ألفا ثلاسيمية الناتجة عن عيوب في إنتاج السلسلة ألفا، والبيتا ثلاسيمية ناتجة عن عيوب في إنتاج السلسلة بيتا، توجد العيوب في اصطناع السلاسل دلتا وغاما ولكنها لا تشارك في إنتاج الهيموغلوبين A لذلك ليس لها أهمية سريرية. (13, 14)

بشكل نادر يؤدي حذف الجينة دلتا مع غاما إلى أمراض سريرية. أي شكل من الإنتاج غير المتوازن لسلاسل الغلوبين يؤدي أن تكون الكريات الحمراء ناقصة الصباغ وأحيانا تكون عديمة الشكل. (15)

الهيموغلوبين: جزيء بروتيني معقد وكبير وزنه الجزيئي تقريبا 64000 له شكل كروي يتألف من قسمين رئيسيين: الهيم الذي يشكل 3% من الجزيء وبروتين الغلوبين الذي يشكل الـ 97% المتبقية.

يتألف بروتين الهيم من حلقة بورفيرين مع ذرة حديد متمخلبة في المركز حيث ذرة الحديد هي موقع الارتباط العكوس للأوكسجين، يتألف القسم البروتيني من زوجين من سلاسل الغلوبين ملتفة معاً بحيث تظهر مجموعات الهيم إلى خارج الجزيء. يحوي جزيء الهيموغلوبين الكامل على أربع مجموعات هيم ترتبط إلى سلاسل الغلوبين الأربعة وبالتالي فهو يحمل أربع جزيئات من الأوكسجين، وكل سلسلة غلوبين تحتوي 141 حمض أميني أو أكثر. (16)

البنية الأولية تتمثل بتتالي الحموض الأمينية حيث تختلف هذه التتاليات وتشكل الأساس المعتمد في تسمية السلاسل $\gamma\delta\alpha\beta$. يسمى القسم الأكبر 97-98% من الهيموغلوبين لدى البالغين الأصحاء A, A_1 الذي يحتوي سلسلتين ألفا α وسلسلتين بيتا β .

الهيموغلوبين A2 الذي يتألف من سلسلتين ألفا α وسلسلتين دلتا δ يشكل أقل من 3% من مجموع الهيموغلوبين لدى البالغين الأصحاء.

القسم المتبقي هو الهيموغلوبين F الذي يتألف من سلسلتين ألفا α وسلسلتين غاما γ .

يكون الهيموغلوبين F هو الهيموغلوبين الرئيسي أثناء الحياة الجنينية ويشكل حوالي 60% من الهيموغلوبين الطبيعي عند الولادة. ويحدث تبديل تدريجي من إنتاج السلاسل γ إلى إنتاج السلاسل β وبعمر 9 أشهر يشكل الهيموغلوبين F أقل من 1% من مجموع الهيموغلوبين. (14, 16)

التحكم الجيني في اصطناع الهيموغلوبين يحدث بشكلين: تحكم في البنية وتحكم في معدل وكمية الإنتاج. تنتج العيوب في بنية الهيموغلوبين مجموعة من الأمراض تسمى اعتلالات الهيموغلوبين. بينما العيوب في معدل وكمية الإنتاج يقود إلى اضطرابات تسمى الثلاسيميا. (13, 16)

بنويًا: لكل سلسلة غلوبين موقعها الجيني الخاص بها لذلك فإن التحكم الجيني يختص بكل سلسلة مفردة وليس بكامل جزيء الهيموغلوبين. يمكن تقسيم جينات سلاسل الغلوبين إلى مجموعتين رئيسيتين: الجينات α المتوزعة على الكروموزوم 16 والجينات الأخرى غير α على الكروموزوم 11. لدى معظم الأشخاص يكون توضع الجينات α على نسختين أي يوجد جينيتين α على المجموعة أحادية الصيغة الصبغية للكروموزوم تسمى $\alpha_1\alpha_2$ لذلك فإن الجينات α وكذلك سلاسل عديد الببتيد تكون متطابقة في الهيموغلوبين A, A₂, F. الجينات غير α للسلاسل $\beta\gamma\delta$ تكون قريبة كفاية في التعبير الجيني لتخضع للتصالب غير المتماثل ما يؤدي إلى إنتاج سلاسل غلوبين هجينة، الأمثلة على ذلك $\delta\beta$ (Leopre globine chain globine chain ($\gamma\beta$ Kenya). (16)

يسمى غياب أو نقصان إنتاج واحدة من السلاسل عديدة الببتيد للهيموغلوبين بالثلاسيميا: مجموعة متباينة من الاضطرابات الموروثة. في الثلاسيميا α يكون إنتاج السلاسل α غائبًا أو ناقصًا بينما في الثلاسيميا β يكون اصطناع السلاسل β غائبًا (β^0 -thal) أو ناقصًا جزئيًا (β^+ -thal). (13, 15, 16)

2-1- التلاسيمية ألفا Alpha Thalassemia:

الأنواع الأربعة من التلاسيمية ألفا بدءا من حذف أربع جينات إلى حذف جينة واحدة هي:

1-2-1 Hydrops fetalis موه الجنين:

هو أكثر شكل سريري شائع من التلاسيمية ألفا لأنها غياب كامل لاصطناع سلاسل ألفا. هيموغلوبين بارت الذي يتكون من أربع سلاسل غاما، ويكون الهيموغلوبين الأساسي في الكريات الحمر في الرضع المتأثرين.

الهيموغلوبين بارت يملك ألفة كبيرة جدا للاكسجين ولا يسمح بنقل الأكسجين إلى الأنسجة، هؤلاء الأطفال إما يولدون موتى أو ان يموتون بعد فترة قصيرة بسبب نقص الأكسجين من الولادة. (13, 15)

2-2-1 Hemoglobin H الهيموغلوبين H:

أمراض الهيموغلوبين H تكون كمية السلاسل ألفا المصنعة ثلث السلاسل بيتا. نتيجة ذلك السلاسل بيتا تتراكم وتسمى الهيموغلوبين H الذي يتكون من أربعة سلاسل بيتا. السلاسل بيتا الناتجة (المتضمنة الهيموغلوبين H) تغير شكل وقدرة الخلية لتشويه وتقتصر فترة حياة الخلية بشكل ملحوظ.

هؤلاء الأفراد لديهم فقر دم انحلاي معتدل ولديهم هيموغلوبين H بنسبة 5% إلى 30% وهيموغلوبين A₂ 1% والهيموغلوبين الباقي A. (15, 16)

3-2-1 خلة التلاسيمية ألفا:

تنتج من حذف جينتان موجودتان أما على نفس الصبغي أو على صبغيين مختلفين. حذف جينتان عن صبغيين منفصلين يكون شائع عند الأفارقة السود والأمريكان. هؤلاء الأفراد يملكون فقر دم متوسط صغير الخلايا ناقص الصباغ. أحيانا زيادة السلاسل بيتا ربما تشكل الهيموغلوبين H. ودم الحبل السري يحوي 2-10% هيموغلوبين بارت. على كل حال بعد 3 أشهر الرحلان الكهربائي يكون طبيعي. (15, 16, 17)

4-2-1 الحاملين الصامتين:

تكون فقدان جينة واحدة فقط والجينات الباقية توجه لإنتاج كاف لسلاسل ألفا لإنتاج هيموغلوبين طبيعي تحدد هذه الحالة بوجود 1-2% من الهيموغلوبين بارت لديهم عند الولادة. إذا لم يتم تعيين الهيموغلوبين بارت بعد 3 أشهر يحدد بفحوص خاصة مثل ال PCR. (15, 16, 18)

3-1- الثلاسيميا بيتا β -Thalassemia :

هو مرض وراثي سببه وجود طفرات مختلفة تؤدي إلى عدم إنتاج كميات طبيعية من سلاسل β غلوبولين.

تقسم ثلاسيميا β إلى نوعين:

- 1- مرض متماثل الزيغوت homozygous يدعى الثلاسيميا الكبرى thalassemia major أو فقر دم كولي، Cooley's anemia .
- 2- مرض متخالف الزيغوت heterozygous يدعى الثلاسيميا الصغرى thalassemia minor. (17)

يعد التعبير السريري عن هذا المرض مختلف جينيا حيث يعتمد ذلك على نوع العيب الجيني وعلاقته بالبور الجينية الأخرى.

يقسم هذا المرض أيضا إلى تحت نوعين subtypes اعتمادا على التعبير الجيني هما:

- β^+ -thal حيث تنتج السلاسل ل β بكميات قليلة.
- β^0 -thal حيث يلاحظ غياب كامل للسلاسل β . (17, 18)

3-1-1 β^+ -Thalassemias :

تعد النوع الأكثر شيوعا يوجد نقص بتصنيع سلاسل β غلوبولين يتراوح (30-50%) عن نسبة التصنيع الطبيعي. إن سبب هذا العيب الكيميائي الحيوي هو عوز كمي بال mRNA الذي يشفر β غلوبولين.

يبين الرحلان الكهربائي للهيموغلوبين وجود (2-8%) هيموغلوبين A_2 وكميات عالية ومتنوعة من الهيموغلوبين F، أما البقية فهي هيموغلوبين A. يلاحظ انخفاض في حجم الخلية الأساسي (MCV) mean cell volume مع فقر دم حاد. (16, 17)

β⁰-thalassemias -2-3-1

تشكل نسبة 10% من β ثلاسيميا متماثلة الزيغوت (الثلاسيميا الكبرى)، يلاحظ غياب كامل لتصنيع السلسلة β دون أن يؤثر ذلك على تصنيع السلسلة γ.

- الشكل متماثل الزيغوت homozygous form:

○ تتوزع نسبة الهيموغلوبين بحيث يشكل الهيموغلوبين A₂ (1-6%) بينما يشكل الهيموغلوبين F نسبة 95%.

○ ينخفض تركيز الهيموغلوبين ويترافق ذلك مع فقر دم حاد.

- الشكل متخالف الزيغوت heterozygous form: يتظاهر سريريا بشكل مماثل للثلاسيميا β⁺ (17, 18)

β-3-3-1 ثلاسيميا متماثلة الزيغوت (الثلاسيميا الكبرى Thalassaemia major)

- سواء كانت β⁰ أو β⁺ فهي مرض يسبب العجز منذ الطفولة وذلك غير مشابه للثلاسيميا α التي إما أن يموت الطفل المصاب بها أو يكمل حياته بشكل طبيعي. تعرف باسم فقر دم كولي. وترتفع فيها نسبة الهيموغلوبين الجنيني F فتصل إلى 70-90% دون أن ترتفع معها نسبة الهيموغلوبين A₂ وتكون نسبة الهيموغلوبين الكهلي منخفضة وتتراوح بين 10-30%. (17)

- يتطور لدى مرضى الثلاسيميا الكبرى فقر دم وخيم وتظهر اللطاخة الدموية لديهم اضطرابات شكلية شديدة في الكريات الحمراء كنفص الصباغ وصغر الكريات. كما تشاهد كريات هدفية مشوهة ومجزأة مع اختلاف في لشكل وأعداد كبيرة من الكريات الحمراء المنواة التي تتضح بشكل خاص بعد استئصال الطحال.

- إن حدوث فقر دم ناقص الصباغ صغير الكريات ناتج عن سببين:

1- وجود عيب بتصنيع الهيموغلوبين الوظيفي.

2- التقويض المبكر لكريات الدم الحمراء RBC (17, 19)

ويحاول العظم النخاعي التعويض بإحداث زيادة هائلة بالحجم مما يسبب شذوذات عظمية بنيوية.

تبدأ الأعراض بالظهور خلال الأشهر القليلة من الولادة وقد تتأخر من ستة أشهر حتى السنة. وتتضمن الأعراض الأولية التي يلاحظها أهل المصاب: شحوب، مشاكل في الإطعام

Feeding Problems، الإسهال، هيجوية irritability، حمى، تضخم مترقي في البطن.

في حال عدم التشخيص السليم أو عدم المعالجة واستمرار فقر الدم تظهر أعراض أخرى تتضمن: تأخر نمو فيبدو الطفل صغير الحجم وأقل سنا من أقرانه الأصحاء، الشحوب، اليرقان، تقرح الساق، ضعف الكتلة العضلية، تضخم الكبد والطحال، تكون الدم خارج النقي وتبدلات هيكلية ناتجة عن توسع نقي العظم وخصوصا عظم الوجه والوجنتين والعظام الطويلة للساق. (13, 18, 19)

• معالجة الشكل الحاد من هذا المرض تتمثل بما يلي:

- 1- المعالجة بنقل الدم.
- 2- الأدوية الممخلة للحديد والتي تسبب إزالة الزائد من الحديد.
- 3- التزود بحمض الفوليك.
- 4- زرع نقي عظم والذي ينجح إذا توفر معطي مماثل HLA .
- 5- المعالجة الجينية تدرس الآن لتكون المعالجة البديلة بالمستقبل. (19)

4-3-1- β ثلاثيمية متخالفة الزيغوت (الثلاسيمية الصغرى Thalassemia minor)

سواء كانت β^0 أو β^+ فإن سببها هو وراثه جين واحد للثلاسيمية. بينما يكون الجين الآخر الذي يقود إلى إنتاج السلسلة β طبيعيا ولا يحدث أي نقص بعمر الكريات الحمر. (18, 19)

يتأثر بالمرض حوالي 1% من الإفريقيين والأمريكيين بينما ينتشر بشكل شائع بين سكان البحر الأبيض المتوسط والمناطق العربية. (13)

سريريا: لا تظهر أعراض المرض لكن يحدث أحيانا فقر دم معتدل صغير الكريات. قد لا تشخص الثلاسيمية الصغرى إلا في مرحلة البلوغ أو أثناء إجراء الفحوص الدموية الروتينية وغالبا ما يكون أول تشخيص لها أثناء الحمل. لذلك يعيش المصاب بالثلاسيمية الصغرى حياة طبيعية لا تبدو عليه أعراض سريرية، يعاني فقط من فقر دم خفيف وقد يكون الطحال مجسوسا.

تبين القيم المخبرية حدوث فقر دم بعوز الحديد وهو هام للتمييز بين النوعين لأن المعالجة مختلفة تماما، وتبين فحص لطاخة الدم تفاوتاً في حجم الكريات الحمراء، وكثرة في الكريات صغيرة الحجم microcytosis، وتظهر كذلك كريات حمراء ناقصة الصباغ Hypochromia وكريات هدفية target cells. وقد نجد أحيانا كريات حمراء سوية في شكلها ومناسبتها لدى بعض مرضى الثلاسيميا الصغرى. (19, 20)

عادة يكون عدد الكريات الحمر أعلى من المتوقع ويترافق ذلك مع زيادة مرافقة بتركيز الهيموغلوبين. يبين الرحلان الكهربائي للهيموغلوبين عند مرضى الثلاسيميا الصغرى زيادة الهيموغلوبين A₂ ونادراً ما تتجاوز 10%. (19)

5-3-1- الفيزيولوجيا المرضية Pathophysiology:

يستمر في الثلاسيميا بيتا إنتاج كميات سوية من سلسلة الغلوبين ألفا، بينما ينقص أو يغيب اصطناع سلسلة الغلوبين بيتا المتأثرة. وينجم عن عدم التوازن هذا تراكم سلاسل ألفا الحرة غير القابلة للذوبان ضمن الكريات الحمراء الثلاسيمياية. (13) وبما أن هذه السلاسل لن تجد سلاسل الغلوبين المتممة لها لترتبط معها فإنها تشكل كُداسات aggregates غير ثابتة والتي تصبح متأكسدة وتترسب precipitate ضمن الكريات الحمراء. وتؤدي هذه الترسبات إلى ضرر تأكسدي oxidative damage لغشاء الكرية، الأمر الذي يقود إلى تخرب هذه الخلايا ضمن النقي وبالتالي تنقلص فترة حياة نسلها progeny في الدم المحيطي. (13, 18)

تدعى كداسات السلسلة ألفا بالأجسام الاشمالية inclusion bodies، تحدث عملية تشكل الأجسام الاشمالية بكثرة في سلائف الكريات الحمراء erythroid precursors المنواة والموجودة في نقي العظم، وهي المسؤولة عن تكون الكريات الحمراء اللافعال ineffective erythropoiesis التي تختص به الثلاسيميا بيتا. وتسبب هذه الأجسام الاشمالية انحلالاً داخل النقي intramedullary. (13, 23)

تبدى الكريات الحمراء الثلاسيمياية شذوذات خلوية واضحة، حيث يحتوي غشائها على كميات كبيرة من سلاسل ألفا، التي تسبب عدم استقرار في الغشاء. كذلك يزداد إنتاج أنواع الأكسجين الفعالة بسبب ترسب deposition الكميات الزائدة من سلاسل الغلوبين ألفا التي تحتوي على الحديد الحر، الحديد اللاهيمي nonheme iron والملونات النصفية

hemichromes. تسبب أنواع الاكسجين الفعالة أذية تأكسدية، وبالتالي تبدلات نوعية في الشحوم الغشائية membrane lipids والبروتينات الغشائية membrane proteins مثل البروتين band 3، حيث تؤدي إلى تعقد clustering هذا البروتين، مما يشكل مستضدا جديدا neoantigen يرتبط بال-IgG وبالمتمة complement، (21, 22) تقوم البلاعم macrophages بمهاجمة الخلايا المصابة، نتيجة تواجد المستضد الجديد على غشاء الكريات الحمراء وغياب جزيئات (SH) thiol عن سلاسل ألفا الزائدة المرتبطة بالغشاء. (23)

تبين أن كميات الحديد الحر تتزايد بشكل كبير خاصة في كريات الدم الحمراء لدى الأشخاص الذين خضعوا لاستئصال الطحال. مما يعني أن الطحال يقوم بتخليص الجسم من الكريات الحمراء ذات الحمولة الحديدية الكبيرة وبالتالي من الكريات الأكثر تخربا. (22)

6-3-1- مضاعفات الثلاسيميا بيتا الكبرى Complication of β -thalassemia

:major

ينجم عن الإصابة بالثلاسيميا بيتا الكبرى المضاعفات التالية:

1. التحميل المفرط بالحديد
2. التبدلات الشعاعية للعظام
3. فرط نشاط الطحال
4. المضاعفات القلبية وبشكل خاص قصور القلب الأيمن
5. المضاعفات الغذائية والكبدية والكلى (24)

4-1- الانتشار والتوزيع الجغرافي للثلاسيميا geographical

:distribution

تظهر الثلاسيميا خاصة وبمعدلات مرتفعة في شريط ضيق يمتد من منطقة البحر الأبيض المتوسط عبر الشرق الأوسط وشبه القارة الهندية باتجاه جنوب شرق آسيا، حيث تتوزع بشكل خط عمودي يمتد من الصين عبر شبه الجزيرة الماليزية ليصل إلى أندونيسيا.

لكل مجموعة سكانية أنواعها المميزة من الثلاسيميا بيتا، مما يشير إلى أن الثلاسيميا تحدث بسبب طفرة وأن تكرر هذا الجين يزداد بسبب آليات انتقائية محلية. (18)

5-1- طرق التشخيص الثلاثيمية Diagnosis:

- يمكن أن تشخص الأمراض الدموية والثلاثيمية باستخدام:
 - ✓ العدد الكلي لخلايا الدم (CBC)
 - ✓ تقييم الفيلم الدموي
 - ✓ اختبار الانحلالية
 - ✓ الرحلان الكهربائي على أسيتات السيللوز
 - ✓ الرحلان الكهربائي على آغار سيترات وهو ضروري لبعض أنواع الهيموغلوبين الشاذ
- يتطلب تشخيص الثلاثيمية قياسا كميا للهيميوغلوبين F و A₂ بعدة طرق محددة
- يمكن أن يتم التشخيص بسرعة بطرق آلية مثل HPLC
- تتطلب الحالات الأكثر تعقيدا طرقا خاصة مثل:
 - ✓ تحليل سلاسل الغلوبين α/β
 - ✓ HPLC مبادل الشوارد
 - ✓ تقنيات ال DNA (13, 18)

2- الفيروس الصغير Parvoviruse B19 B19

1-2- لمحة تاريخية Historical background

ينتمي الى عائلة Parvoviridae، بسبب توجهه الى سلائف الكريات الحمر تم تصنيفه ضمن جنس Erythrovirus (1).

Family: Parvoviridae

Subfamily: Parvovirinae

Genus: Erythrovirus

Species: human parvovirus B19 (B19V)

معظم الـ Parvoviruses هي عوامل ممرضة للحيوانات الـ feline parvoviruse الـ parvoviruse الذي يصيب السنور، و الـ canine parvovirus الـ parvoviruse الذي يصيب الخنزير، ومع ذلك لا تنتقل الفيروسات الحيوانية للإنسان. الـ parvoviruse B19 هو الفيروس الوحيد ممن الـ parvoviruses المعروف انه ممرض للإنسان

تم اكتشاف الفيروس مصادفة عام 1975 من قبل Y.E. Cossart وزملائها، (25) أثناء التحري عن مستضدات فيروس التهاب الكبد البائي في بلازما بعض متبرعي الدم.

تم تسميته مبدئياً "serum parvovirus-like virus"، وفيما بعد تم تسميته "human parvovirus B19"، أخذ الرقم من رقم عينة البلازما حيث وجد الفيروس أول مرة.

كما تم وصف الفيروس أيضا في فرنسا واليابان (عام 1979) وبشكل مستقل، حيث تم تسميته مستضد Aurillac أو Nakatani؛ على التوالي. (26)

في عام 1985م تم تحديد هذا الفيروس أحد أفراد عائلة Parvoviridae وأعطيت اسم B19 من قبل الجمعية العالمية لتصنيف الفيروسات ICTV. (1)

في عام 1980م أصيب جنديان بعمر 19 سنة بحرارة وضعف عام، وذلك بعد عودتهما من غامبيا وإجرائهما لعملية وشم، تبين بعد فحص مصليهما بواسطة المجهر الإلكتروني وجود الفيروس B19.(26)

في عام 1981م ، تم جمع مصول من فقر دم منجلي وأظهر الفحص وجود مستضدات B19 في نفس الوقت الذي ظهرت لديهم نوبات فقر دم لاتنسجي عابرة، وبعد عامين ترافق ظهور الحمى العذوائية مع حدوث جائحة لعدوى أطفال أصحاء ب B19.

إذا، تم اكتشاف الفيروس مبدئياً عند أشخاص غير عرضيين، حيث تكون عداوى الفيروس B19 غير عرضية عند 20%-30% من الأشخاص.

استغرق عدة سنين للتأكد من الدور المسبب للـ B19 في الأمراض البشرية، حيث أنه من المعروف الآن أن الـ B19 مسؤول عن العديد من التظاهرات السريرية، والتي تعتمد جزئياً على الحالة المناعية والدموية للمضيف.(26)

2-2- تصنيف الفيروس Parvovirus : Classification of Parvovirus

Parvoviridae 1-2-2

هي من أصغر الفيروسات التي تحوي على DNA ولها القدرة على عدوى خلايا الثدييات. أصل اسم العائلة من الكلمة اللاتينية parvum بمعنى صغير. الفيروسات الصغيرة Parvoviruses واسعة الانتشار ضمن المملكة الحيوانية، كما تصيب الفقاريات والحشرات. الصفة الأساسية التي تتميز بها الفيروسات التي تنتمي إلى عائلة parvoviridae ، المَجِين لديها DNA خطي وأحادي الطاق (27)

حجم جزيئات الـ DNA حوالي 4-6 kb ويحوي في نهايته على تتاليات راجعة palindromic sequences والذي يمكن أن ينطوي ليشكل بنية دبوس الشعر الضرورية لانتساخ الدنا الفيروسي. يمكن أن تكون هذه التتاليات الطرفية terminal sequences متماثلة أو مختلفة عن بعضها البعض(28)

بشكل عام الفيروسات الصغيرة ذات بنية بسيطة تتكون من مجين DNA والذي يتم تجميعه ضمن هيكل بروتيني. فيروسات الفيروسات الصغيرة تفتقر لليبيدات، وبالتالي فهي مقاومة للتعطيل بلمحلات العضوية. بروتينات الفيروس غير مرتبطة بلغليكوزيل (27, 28)

تم دراسة البنية ثلاثية الأبعاد للفيروسات للعديد من الفيروسات الصغيرة، مثل فيروسات الصغيرة الكلبية (CPV) (29)، الفيروس المجهرى الفئري (MVM) (30)، الفيروس السنوري (FPV) (31)، الفيروس الصغير الخنزيري (PPV) (32). الفيروس الصغير B19 (33).

Parvovirinae -2-2-2

عائلة الـ parvoviridae تقسم إلى مجموعتين تحت عائلة subfamily اعتماداً على المضيف. الفيروسات التي تعدي الفقاريات يصنف تحت عائلة parvovirinae والفيروسات التي تعدي الحشرات و مفصليات الأرجل يصنف تحت عائلة Densovirinae (27). الفيروسات التي تنتمي إلى العائلة الأولى كل منها يعدي مضيف فقاري معين.

المجين متشابه عند كل الفيروسات الصغيرة ولكل أعضاء الـ parvovirinae، المنطقة ما بين التتاليات الراجعة الطرفية terminal palindromes تحتوي على اطاري قراءة مفتوحين open reading frames. النصف منه يحتوي على ORF يشفر للبروتينات غير البنوية الضرورية لتضاعف الـ DNA، والنصف الآخر يحتوي على ORF يشفر للبروتينات البنوية المكونة للقفصة (27)

تم إيجاد ORFs ثانوية في فيروسات صغيرة أخرى، بعضها الآخر يحوي ssDNA ذو قطبية سلبية negative polarity (الطاق الممكّل للـ mRNA) محاطاً بقفصة، مثل MVM (30). وفيروسات أخرى تحتوي على جزيئات ssDNA من إحدى الشحنتين either polarities، مثل AAV.

اعتماداً على الفيروس، يمكن أن يتواجد معزاز واحد أو اثنين أو ثلاثة لانتساخ mRNA. بعض الفيروسات الصغيرة قادرة على التضاعف المستقل، وبعضها الآخر يعتمد على عداوى مساعدة co infection للفيروس آخر helper virus.

وقفا لهذه الصفات البنيوية والبيولوجية، وفيما بعد من التحليل بناء على تطور السلالات
المأخوذ من الكمبيوتر supplemented by computer-based phylogenetic analysis، تم تقسيم تحت عائلة *parvovirinae* إلى خمس أجناس: *Parvovirus*،
Erythrovirus، *Dependovirus*، *Amdovirus* and *Bocavirus* (27, 34).

Erythrovirus -3-2-2

الفيروس الصغير B19 الذي يصيب الإنسان وأحد أنواع جنس *Erythrovirus*. تم
إيجاده عام 1975 في سيروم بعض المتبرعين بدم غير عرضيين أثناء التحري عن
المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد البائي. تبين بلمجهر الالكتروني وجود جزيئات
بأبعاد 23 نانومتر تشبه الفيروسات الصغيرة. تم إعطاء رقم 19 للعيننة الرَعِيل panel
B، لهذا السبب تم تسميته B19. (25)

المجين الفيروسي عبارة عن DNA وحيد الطاق طوله 5.6 kb ، والطاق المتم له يوجد
ضمن فيروس منفصل.

بعد أن تم إكمال تسلسل المجين، تبين أنه عبارة عن الفيروس الصغير، وتم قبول B19
رسمياً كأحد أعضاء *parvoviridae* من قبل اللجنة الدولية لتصنيف الفيروسات
(ITCV) في 1985. (35)

يملك المجين الفيروسي لل B19 بنية فريدة: التتاليات الطرفية متماثلة وأطول من
الفيروسات الصغيرة الأخرى بشكل ملحوظ، ويحتوي على معزاز وحيد، ولكن هناك
موقعين (polyadenylation) للنسخة النهائية.

مؤخراً، أظهر التحليل بناء على تطور السلالات أن B19 لا يتشابه مع الأنواع ضمن
الجنسين *Parvovirus* و *Dependovirus*، لذلك تم إنشاء جنس جديد شديد التوجه للـ
B19 لسلالة الكريات الحمر، تم تسميتها *Erythrovirus*. (27)

بداية كان الـ B19 العضو الوحيد من الجنس الجديد، لكن لاحقاً تم عزل فيروسات ذات
صلة من القروود الرُّبَاحية (simian parvovirus, SPV) السنجاب الصيدناني في

منشوريا Manchurian chipmunks (chipmunks parvovirus) ، (pig
(tailed and macacue parvovirus) ، كلها تم تصنيفها ضمن *Erythrovirus*.⁽¹⁾)

جدول 1: تصنيف عائلة *parvoviridae* (ICTV) (1)

Subfamily	Genus	Type species
<i>Densovirinae</i>	<i>Brevidensovirus</i>	<i>Aedes aegypti densovirus</i>
	<i>Densovirus</i>	<i>Junonia coenia densovirus</i>
	<i>Iteravirus</i>	<i>Bombyx mori densovirus</i>
	<i>Pefidensovirus</i>	<i>Periplaneta fuliginosa densovirus</i>
<i>Parvovirinae</i>	<i>Dependovirus</i>	<i>Adeno-associated virus 1</i>
		<i>Adeno-associated virus 2</i>
		<i>Adeno-associated virus 3</i>
		<i>Adeno-associated virus 4</i>
		<i>Adeno-associated virus 5</i>
		<i>Avian adeno-associated virus</i>
		<i>Bovine adeno-associated virus</i>
		<i>Goose parvovirus</i>
		<i>Duck parvovirus</i>
		<i>Erythrovirus</i>
	<i>Fig-tailed macaque parvovirus</i>	
	<i>Rhesus macaque parvovirus</i>	
	<i>Simian parvovirus</i>	
	<i>Feline panleukopenia virus/</i>	
	<i>Canine parvovirus</i>	
	<i>H-1 virus</i>	
	<i>Kilham rat virus</i>	
	<i>Minute virus of mice</i>	
	<i>Porcine parvovirus</i>	
	<i>Amdovirus</i>	<i>Aleutian mink disease virus</i>
	<i>Bocavirus</i>	<i>Bovine parvovirus</i>
		<i>Canine minute virus</i>

3-2- الوبائية

يعتبر فيروس B19 عامل ممرض شائع عالميا ضمن البشر. يظهر عدوى B19 على مدار السنة لكنه أكثر ظهورا في الشتاء والربيع، مع ظهور كوباء كل بضع سنين. (35)

في فنلندا، وُثق وباء بالـ B19 عام 1993، وفي عام 2010، تم تقرير وجود وبائية بالـ B19 في انكلتر عام 1993 و 1994. (36) في السويد وفي الدانمارك، حدث وباء خلال 1997 و/أو في المانيا؛ هولندا، والسويد. (37)

ينتقل فيروس B19 بشكل رئيسي عن الطريق التنفسي، كما ينتقل عن طريق المنتجات الدموية، كما ينتقل عن طريق المشيمة خلال الحمل. (38) كما ثبت انتقاله عن طريق السطوح الملوثة كطريق محتمل لانتقال الفيروس B19، كما ثبت انتقال الفيروس ضمن فريق العمل في المخابر الذي يكون على تماس مع الفيروس B19. لم يوثق الطريق الهضمي (الفموي والشرجي) كطريق لانتقال الفيروس. (39, 40)

عداوى الفيروس B19 أكثر انتشارا عند الأطفال بعمر من 3-10 سنوات. في أول فترة مابعد الولادة (0-3 أشهر) أقل من 1% من الرضع يملكون أضداد IgM، لكن أقل من 60% وجد لديهم أضداد الفيروس من نوع IgG الآتية من الأم، والذي يهبط إلى 20% ≤ حوالي عمر السنة.

تزداد إيجابية المصول تدريجيا لتصل ما بين 2-35% بين الأطفال بعمر 1-5 سنوات، 15-60% بين الأطفال بعمر 6-19 سنة، 30-80% ضمن البالغين، وأكثر من 80% عند المسنين (<70 سنة) (39)

في أوروبا، نسبة انتشار الـ B19 حوالي 35-81%، أقلها في إسبانيا وأغلاها في السويد. نسبة الانتشار في آسيا 38-46%، في آسيا، 52-58% في أفريقيا، 60% في أمريكا الشمالية، 43% في أمريكا الجنوبية. في بعض السكان المعزولين، بعض القبائل البرازيلية، يكون انتشار الفيروس منخفضا. (39)

الاختلاف في هذه الدراسات يعتمد على الموقع الجغرافي، كما يعتمد على الطرق المخبرية.

ضمن المتبرعين بالدم تتراوح نسبة حدوث تفيرس الدم من 0.01 - 0.6%. عامل الخطورة الرئيسي للتعرض لفيروس B19، هو التماس المباشر مع الأطفال الصغار، ووجود عدد من الأطفال في البيت.

من المفترض أن يصاب الذكور والإناث بأعداد متساوية، لكن بينت بعض الدراسات أن إيجابية المصل بالنسبة ل B19 عند الإناث أكثر منها عند الذكور.

انتشار الفيروس ضمن المناطق الحضرية أكثر منه في المناطق الريفية. (40)

على الرغم من انتشار الأضداد ضمن السكان، إلا أن تفيرس الدم أو وجود ال DNA الفيروسي نادر. تم تقدير تواتر تفيرس الدم ضمن المتبرعين بالدم بمعدل 1:167 إلى 1:35000

جدول (2) انتشار DNA ال B19 عند المتبرعين بالدم في بعض الدراسات مقتبس من (Heegaard, ED. & Brown, KE. 2002). (39)

Reference	No. of samples	No. of B19-positive samples	Frequency	% Prevalence
Tsujimura et al. (339)	560,000	16	1:35,000	0.003
Wakamatsu et al. (351)	257,710	31	1:8,313	0.012
Heegaard et al. (131)	100,000	17	1:5,882	0.017
McOmish et al. (193)	20,000	6	1:3,333	0.03
Jordan et al. (153)	9,568	11	1:870	0.11
Yoto et al. (375)	1,000	6	1:167	0.6

بشكل معارض للعديد من الدراسات التي تناولت مصلية وتفيرس الدم بال B19 BM الأشخاص الأصحاء يعتبر محدوداً. B19 serology and viremia، أكدت المعلومات أن وجود DNA ال B19 ضمن

على الرغم من عدم توافر مصل للمقارنة، اكتشفت أحد الدراسات B19 DNA في BM حوالي 4 من أصل 45 (9%) لمتبرعين BM أصحاء، وأخرى أثبتت عدم وجود دليل ل B19 DNA في BM لمتبرعين بالعظم bone donors. (39)

4-2- بنية الفيروس viral structure

1-4-2 فيروس B19 الفيروس B19 Virion

الـ parvovirus فيروس صغير عاري غير مغلف عشريني الوجوه يحوي على DNA حَمْضُ رِّيْبِيُّ تَوَوِي الْمَنْزُوع الأوكسجين وحيد الطاق وذو حجم محدود، يتألف مجين الفيروس B19 من 5596 نيكليوتيد، ويشفر لثلاثة بروتينات رئيسية، ومع ذلك تم تحديد تسع نسخ ضمن الخلية المصابة.

يتم تجميع مجينات سلبية أوإيجابية negative or positive sense في الفيرون بكميات متساوية. قطر الفيرون غير المغلفة 22-25 نانومتر فقط ويملك وزن جزيئي 5.6×10^6 دالتون، يتكون من 80% بروتينات و20% DNA .

تم قياس مدروج الكثافة buoyant density في كلور السيزيوم حيث وجدت 1.43 غرام /مل. (41)

عدم وجود الغلاف، وصغر الفيرونات، ومحتوى DNA محدود، كلها مسؤولة عن مقاومة الفيروس B19 للمعالجات والعوامل التي تعطل العديد من الفيروسات.

يقاوم الفيروس الصغير B19 الحرارة حتى الدرجة 60 لمدة تصل إلى 60 دقيقة، كما يقاوم التعرض لـ PH من 3 حتى 9، والمواد الكيميائية كالمحلات الشحمية والمنظفات.

يمكن للفورمالين، والبروبيولاكتون، هيدروكسيلامين، العوامل المؤكسدة، يمكن أن تعطل الفيروسات الصغيرة. (26)

2-4-2- المجين الفيروسي B19 genom

تم عزل المجين الفيروسي (Wi) ووصفه عام 1984 من قبل Cotmore and shade *et al.* , 1984، وبعد سنتين تم عزله (Au) ووصفه من قبل shade *et al.* , 1986. (42)

الجينوم عبارة عن طاق مفرد خطي مكون من 5596 نكليوتيد. بعد الاستنساخ الناجح لنهايات المجين، تبين أنها تحتوي على تكرارات نهائية متعكسة ومتماثلة identical inverted terminal repeats (ITR) لـ 380 نكليوتيد مكملة لبعضها البعض وقادرة على تشكيل عروة دبوس الشعر مضاعفة الطاق double stranded hairpin loops، وتتكون بشكل رئيسي من ثنائيات GC. 365 نكليوتيد البعيدة عن ITRs تتواجد بسياق متناظر ناقص imperfect palindromes مع وجود بعض الأسس غير المتناظرة، وبالتالي يتشكل بنيتين مميزتين أحدهما معاكس ومتمم reverse-complement للأخرى يشار إليها بمصطلح flip and flop. تشكل النكليوتيدات القليلة المفردة unpaired "فقاعات" "bubbles" ضمن بنية دبوس الشعر مضاعفة الطاق. تم ملاحظة حجم وموقع هذه الفقاعات ضمن العديد من فيروسات B19 المعزولة. شكل (1)

تستخدم ITRs كمشرعات لصناعة الطاق المتمم أثناء التضاعف، وبالتالي بنية دبوس الشعر ضرورية من أجل تضاعف الـ B19 (43)

(a) 'Inverted repeats' at the termini



(الشكل 1) شكل ترسمي يوضح التنايات النهائية المقلوبة (ITR) في مجين الفيروس B19

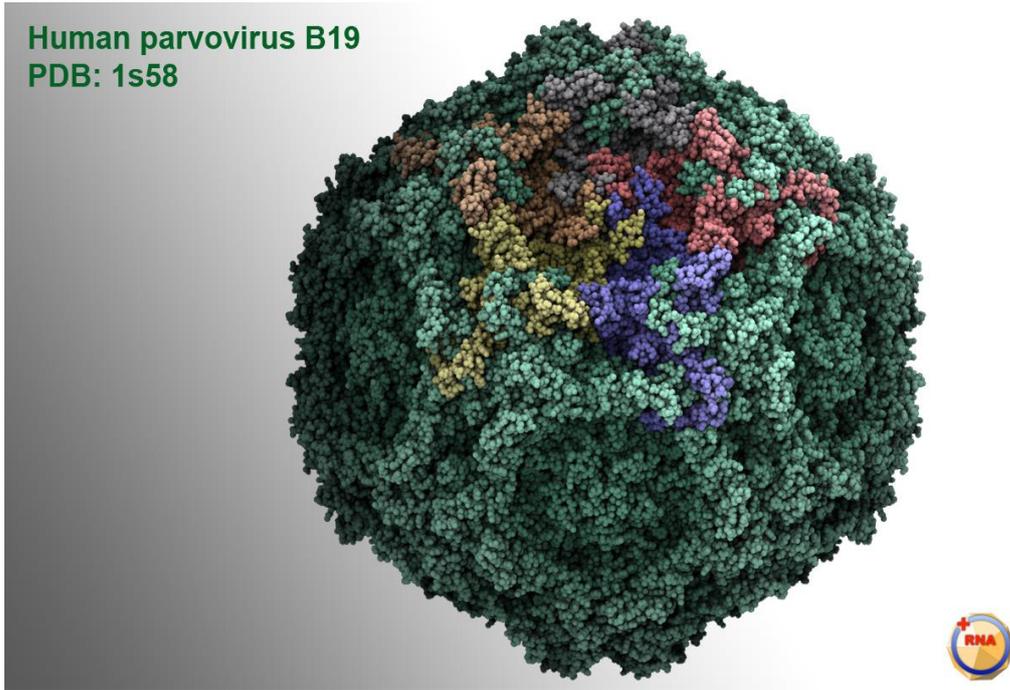
مقتبس من (Brown & Zhi, 2004) (43)

3-4-2 القفيصة Capsid:

قفيصة Capsid الفيروس عشريينية الوجوه، تضم ثقبيا وبروزات ووهادات، نص قطره 26-18 نانومتر. يتألف من 60 قسيم قفيصي capsomer مكون للقفيصة تتجمع بشكل متناظر. يشكل البروتين VP2 حوالي 95% من القفيصة بينما البروتين الأكبر VP1 يشكل فقط 5%. (شكل 2)

تنتج البروتينات البنيوية من نفس الجينة بالتضفير splicing، تختلف فقط بالنهاية الأمينية N-terminus، ويتم ترجمتها من نفس نسخة الرنا المرسال mRNA بالتضفير البديل alternative splicing أو من الإنشطار التالي الترجمة. (27, 28)

يشفر الجينوم الفيروسي لثلاثة بروتينات رئيسية، ومع ذلك تم تحديد تسع نسخ ضمن الخلية المصابة. (26)



(الشكل 2) التناظر عشرييني الوجوه لقفيصة B19V توضح البروزات والوهادات فيها مقتبس من (Compans & Rossmann, 1991) (29)

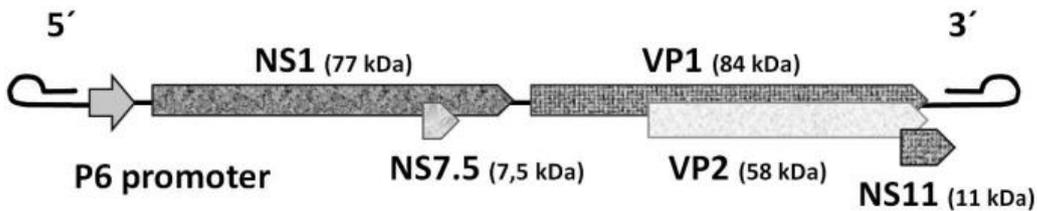
5-2- البروتينات

1-5-2 البروتينات البنيوية:

تتكون قفيصة الفيروس من بروتينين قفيصين VP1 و VP2 يتم تشفيرهما من تداخل إطارات القراءة.⁽⁴⁴⁾ البروتينين البنيويين للـ B19 هي VP1 (84 كيلودالتون) و VP2 (58 كيلودالتون). VP2⁽⁴¹⁾ هو البروتين البنيوي الرئيسي يشكل حوالي 95% من بروتينات القفيصة⁽⁴⁵⁾. كما يتواسط الارتباط لمستقبل.⁽⁴¹⁾ يتم تشفير البروتين VP2 من النكليوتيدات 3125-4786 ويملك كتلة جزيئية 58 كيلودالتون⁽⁴⁴⁾ (شكل 3)

البروتين الثانوي للقفيصة VP1 يشفر من تسلسل النكليوتيدات 2444-4786 وهو مشابه للبروتين VP2 مع 227 حمض أميني إضافي (تم اصطلاحها المنطقة الفريدة للـ VP1) عند النهاية الأمينية. يملك الـ VP1 كتلة جزيئية 84 كيلودالتون ويشكل حوالي 5% من بروتينات القفيصة الاجمالية.⁽⁴⁵⁾

جزيئات الـ VP1 ضرورية للشكل الناضج للفيروس وقدرته على تحريض الأضداد المعدلة للبروتينات الكابسيد. وليبيدات، كاربوهيدرات أو أنزيمات غير موجودة في جزيئات الفيروس الصغير. المنطقة الفريدة للـ VP1 تحتوي على الفوسفوليبياز A2، بشكل مماثل للعديد من أعضاء *parvoviridae*. تعتبر PLA2 motifs وظيفية في B19 وفي الفيروسات الأخرى، ومن المحتمل أنها ضرورية للهروب من الجسيم الداخلي المتأخر late endosome خلال انتقال الفيروس إلى النواة بعد الارتباط لمستقبل والدخول إلى داخل الخلية.⁽⁴⁶⁾



(الشكل 3) بنية مجين الفيروس B19 يظهر الأطر القابلة للقراءة

مقتبس من (Riippinen, 2011) ⁽⁴⁰⁾

2-5-2- البروتين غير البنيوي NS1

البروتين غير البنيوي الرئيسي للفيروس B19 ، NS1 (2448-435 نكليوتيد) ، يتكون من 671 حمض أميني ووزن جزيئي 77 كيلودالتون.(44)

لم يتم تحديد وظيفة البروتين NS1 بشكل كامل، لكن اعتماداً على المعلومات من فيروسات صغيرة أخرى، تبين أنه يمتلك مواقع مميزة لارتباط ب DNA ، نشاطات مثل: تثليم ال DNA ، ATPase ، هيليكاز، انتساخ مما يفسر سميته الملحوظة .(39) وبالتالي هذا البروتين NS1 ضروري لانتساخ الجينوم الفيروسي حيث يعمل كمفعل للانتساخ transcription transactivator عن طريق الارتباط بلمعزاز p6 مباشرة والارتباط مع عوامل الانتساخ الخلوية cellular transcription factors.(41)

وله تأثير سام على خلايا HeLa المصابة بجينوم الفيروس. هناك أدلة كثيرة لدور NS1 في الآلية المرضية في الأمراض المسببة من قبل الفيروس B19.(26)

يتواجد NS1 في نواة الخلية المصابة ، وله تأثير سمي ويوقف التكاثر الخلوي.(44) تبين أن NTP-binding domain لل NS1 ذو دور هام في السمية، حيث يتم تحريض الاستموات في خلايا سلالة الكريات الحمر والخلايا الكبدية.(47)

2-5-3- البروتينات الصغيرة

بالإضافة إلى إطاري القراءة الرئيسيين open reading frame (ORF) الذين يشفران بروتينات القفيصة غير البنيوية، يحتوي جينوم ال B19 على ORFs صغيرة إضافية. تتواجد في الجانب اليميني البعيد وفي منتصف المجين.(4)

يتم ترجمة ال RNAs الأكثر صغراً والمكونة من 500-600 نكليوتيد إلى بروتينين 11 كيلودالتون عند إنسان مصاب ب B19 ضمن خلايا نقي العظم اللوكيمية leukemic bone marrow وإطار قراءة آخر ORF يصنع بروتين 7.5 كيلو دالتون، وظيفة هذه البروتينات غير معروفة حتى الآن.(39)

على الرغم من أنه ليس معروف حتى الآن دور هذه البروتينات، بينت الدراسات أن البروتين 11 كيلودالتون له دور في تنظيم معدل إنتاج بروتينات القفيصة.(48)

البروتين الناتج من ORF الثالث المتواجد في منتصف المجين، لم يتبين حتى الآن أنه ينتج بروتين. (34)

6-2 - الجسيمات غير العدوائية Non-infection particles

لا يمكن إنتاج B19 ضمن الخطوط الخلوية بكميات كبيرة، ولهذا السبب كان من الصعب دراسة بنية قفيصة الـ B19. ومع ذلك تم الحصول على كميات قليلة من قفيصة الفيروس من التجمع الذاتي من البروتينات الفيروسيّة (VP2 لوحده أو VP2 و VP1 سوياً) بغياب المجين الفيروسي (في خلايا المبيض للقداد "حيوان قارض" الصيني Chinese hamster). تم إنتاج قفيصة B19 فارغة بكميات كبيرة ضمن نظام التعبير عند الفيروسية العسوية baculovirus expression system. (49)

كما تم تحديد بنية قفيصة VP2 المؤشب بواسطة الأشعة السينية X-ray crystallography. (50) تبين أن قفيصة الـ VP2 تحتوي على eight-stranded antiparallel β -barrel motif ليتميز عن الفيروسات الصغيرة المستقلة بتوضع السطح surface topology. (41)

إذا التعبير عن VP1 و VP2 في الخلايا البكتيرية والثديية و خلايا الحشرات. وتجميعها بغياب الـ DNA الفيروسي وبالتالي تنتج جسيمات شبيهة بلفيروس viruse-like particles (VLP) وتكون مشابهة فيزيائياً ومستضدياً ومناعياً للفيروسات الطبيعية. (49)

7-2 - الأنماط الجينية Genotype:

تم استنساخ مجين الفيروس B19 عام 1984. (52) حالياً تم تقسيم الفيروس الصغير B19 إلى ثلاث أنماط جينية:

النمط الأول: prototype النمط البدئي

النمط الثاني: A6- and LaLi-like

النمط الثالث: V9-like (51, 52)

تختلف هذه الأنماط الثلاثة تقريبا 10% بمستوى تسلسلاتها النكليوتيدية Nucleoside level. الاختلاف البارز ضمن منطقة المعزاز promoter area، حيث تختلف ضمنها الأنماط الثلاثة بمعدل <20% (51)

بينت دراسة تحليلية للأنماط الجينية وجود اثنتين من تحت المجموعات ضمن النمط الجيني الأول والثالث. لم يلاحظ وجود مرض خاص بل نمط الجيني. (53)

النمط الجيني الأول هو النمط السائد يتضمن حوالي 90% من الدراسات، (51, 53) بينما النمط الثاني والثالث نادرين ضمن المرضى العرضيين في أوروبا. على الرغم من ذلك وجد أن النمط الثاني بتواتر أكبر في أنسجة الأشخاص المولودين قبل 1973 مما يؤدي إلى فرضية اختفاء انتشار النمط الجيني الثاني غالبا (40, 55). تم تحري النمط الجيني الثالث بشكل وباء ضمن غانا والبرازيل، وبشكل متقطع في فرنسا والمملكة المتحدة والولايات المتحدة الأمريكية (10, 58)

يختلف مرتسم RNA (RNA Profil) للنمط الثاني A2 عن النمط الأول البدئي (prototype) في نوعي الخلايا Permissive و non – permissive لـ B19، فيما يكون مرتسم النمط الثالث (V9) مماثلا له، وتعد الصفة المميزة للنمط الجيني (A6) كونه يستخدم متقبّل تضيف splice acceptor واحد فقط لإزالة الانترون الأول.

يكون تسلسل المنطقة VP1u في النمط (V9) متميزا بشكل واضح عن B19 Prototype، حيث تصل نسبة التباعد النكليوتيدي إلى 12%. (56)

3- إِمراضية الفيروس الصغير B19

1-3 طرق الانتقال Transmission

لوحظ وجود فيروس B19 في المفرزات التنفسية عند المرضى المصابين بتفريس الدم، حيث أن الطريق الرئيسي لانتقال فيروس B19 هو عبر الجهاز التنفسي بواسطة القطرات الضبابية والسطوح الملوثة. إذ تبلغ نسبة الاستعداد للعدوى بالتماس ضمن الأسرة الواحدة حوالي 50%، في أحد الدراسات تم ادخال الفيروس عن طريق الأنف لمتبرعين بالغين أصحاء، الذين أصيبوا بعدها بتفريس دم وانقلاب تفاعلية المصل. (39)

خلال الحمل ينتقل الفيروس من الأم المصابة إلى الجنين، حيث تتوافر مستقبلات ال B19 بشكل وافر في المشيمة خلال أول الحمل مما يؤمن الطريق لانتقال الفيروس للجنين. (57)

كما يمكن أن يحدث انتقال الفيروس عن طريق الدم أو المنتجات البلاسمية من جميع الأنواع. هناك معدلات عالية وبعض الحالات العرضية حدثت بسبب المنتجات الدموية المحضرة من البلاسما المجمعة plasma pools تحتوي على B19. (40)

في الدراسات القائمة على مأمونية البلاسما بواسطة المحلات والمنظفات S/D plasma safety studies، تبين وجود انقلاب التفاعل المصلي عند المستقبلين بسبب البلاسما المجمعة Pools تحتوي على B19 بتراكيز عالية (10⁷ نسخة مجين / مول). كما أصبحوا إيجابيين B19-DNA، مما يؤكد صحة انتقال الفيروس عن طريق المشتقات الدموية. (42) على العكس، نقل الفيروس عن طريق الدم بتراكيز أقل من 10⁴ نسخة مجين/مول لا يؤدي إلى انقلاب تفاعل مصلي ملحوظ، مع بعض الاستثناءات (57).

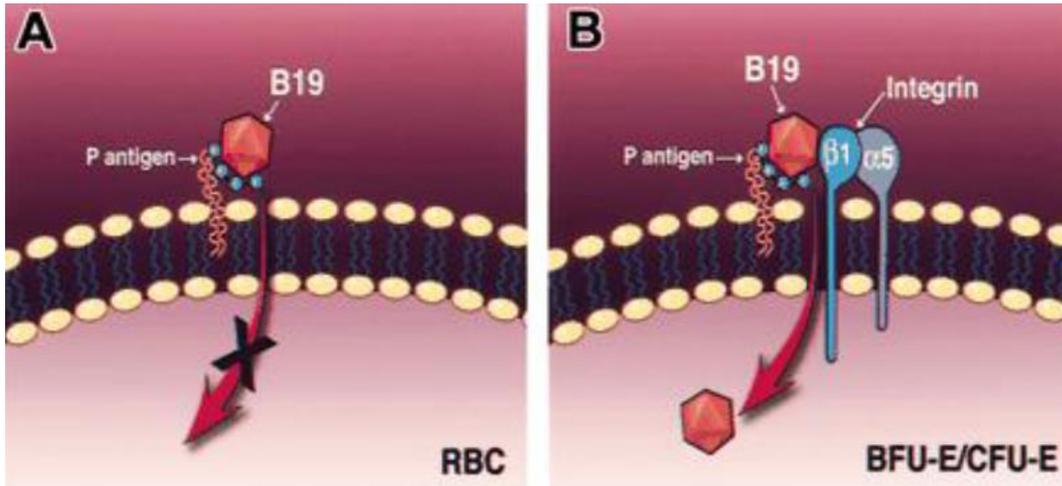
3-2- التوجه Tropism

يملك الفيروس B19 توجه للخلايا السلف للكريات الحمر erythroid progenitors. هذا التوجه يفسر بعض الآليات الإِراضية للفيروس. كما يفسر جزئياً صعوبة نمو هذا الفيروس في المختبر. (23)

يصيب الفيروس الخلايا التي تحمل على سطحها غلوبوزيد يعرف بمستضد الزمرة الدموية P. وهو غلوبوزيد متعادل من الشحيمات السِّنُّغُولِيَّةُ السُّكَّرِيَّةُ glycosphingolipids (Gb4). يعرف حاليا بمستقبل الخلوي للفيروس الصغير. (58) ارتباط الفيروس بهذا المستقبل بواسطة البروتين VP2، البروتين الأساسي في القفيصة، هو الخطوة الأولى في إعداء الخلية من قبل الفيروس. هذا الارتباط مسؤول عن فعالية التراص. (39, 40)

يتواجد المستضد P بشكل رئيسي في أرومات الحمر وأرومات النواء، كما يتواجد في خلايا أخرى للإنسان، كخلايا البطانية، الخلايا الزليلية، الخلايا المشيمية، الخلايا القلبية، الأرومة الغذائية المشيمية؛ الخلايا الكبدية والقلبية للجنين. الأشخاص المعوزين لهذا المستضد وراثيا (1 من 200000 شخص) لديهم مقاومة طبيعية لعدوى B19، حيث لم يظهر مصل أي من هؤلاء دليلا على وجود إصابة سابقة به. (39, 58)

اقترحت الدراسات وجود مستقبل مساعد للمستضد P coreceptor يؤمن دخول B19 إلى الخلايا البشرية، حيث أشارت إحدى الدراسات إلى كون الانتغرين $\alpha5\beta1$ هو هذا المستقبل المساعد نظرا لأن دخول B19 يتم فقط لدى سليفة الحمر دون الكريات الناضجة، حيث تعبر الأولى عن مستويات عالية من المستضد P ومن الانتغرين $\alpha5\beta1$ على سطحها، بخلاف الكريات الناضجة التي تعبر عن مستويات عالية من المستضد P فقط، ويغيب فيها الانتغرين $\alpha5\beta1$. (64) (الشكل 4)



الشكل 4 . يوضح توجه الـ B19 نحو سليفة الكريات الحمر (B4) دون الكريات الحمراء الناضجة (A4) مقتبس من (Young & Bloom, 2001) (64)

لكي يحصل عدوى B19 فعالة productive infection يجب أن تتكاثر الخلايا التي تحمل هذا المستقبل. كنتيجة لعدوى فعالة للفيروس تتحلل وتموت خلايا نقي العظم الشبيهة بالكريات الحمر. (39)

يمكن أن يعدي الفيروس خلايا غير مؤهلة nonpermissive cells والتي تحمل المستضد P لكن لا يتم التعبير عن العوامل الخلوية الضرورية لانتساخ الفيروس. يؤدي عدوى الفيروس غير الفعالة nonproductive infection إلى الموت الخلوي، بسبب التأثيرات السمية للبروتين الفيروسي غير البنيوي NS1.

تسيطر في الخلايا غير المؤهلة nonpermissive cells الجينة غير البنيوية على عكس الخلايا المؤهلة permissive cells. (58)

3-3- تنسخ الفيروس Virus replication

إن صغر حجم مجين الفيروس B19 يسمح له بنشفير عدد قليل من البروتينات، لذلك فإن B19V يعتمد على الخلية المضيفة له ليتم تزويده بالبروتينات اللازمة لتنسخه، مثل دنا بوليميراز DNA polymerase، وغيرها التي تدخل ضمن عملية تنسخ الدنا، والتي تكون متوفرة فقط في الطور S من دورة الخلية، (59) وبالتالي فإن B19V يحفز إيقاف دورة الخلية في نهاية الطور late S phase S لدى تعدائه الخلية، الأمر الذي يؤمن له عوامل هذا الطور والضرورية من أجل تنسخ دنا الفيروس. (60)

إن ضرر DNA الذي تحدثه عدوى B19 لدى الخلايا سليمة الحمر يحفز سبل إصلاح الدنا، ومن بينها إشارة ATM/ChK1 والتي بدورها تعزز تنسخ B19V. (61)

يرتبط الفيرون في البداية بمستقبله على سطح سليمة الحمر (P antigen بشكل رئيسي، و Ku80 كمساعد في الارتباط على السطح، $\alpha 5\beta 1$ كمستقبل مساعد لأجل عملية الدخول)، يدخل بعدها إلى الخلية بألية التقام Endocytosis متواسطة بالكلاثرين Clathrin، ليتحرر فوراً من الجسيم الداخلي Endosome إلى الهيولى بألية الإفلات من الجسيم الداخلي المعتمدة على درجة باهاء منخفضة دون حدوث أذية للغشاء، وقد يتوجه قسم من الفيروسات إلى الليطول Lysosome حيث يتم تدريكها خلال دقائق. (62)

تتحد بعد ذلك الفيروونات المتحررة من الجسم الداخلي مع الأنابيبات Microtubles، ليتم نقلها إلى مسم نووي Nuclear Pore يمر من خلاله إلى داخل النواة عبر معقد المسم النووي (NPC) Nuclear Pore Complex، دون الخضوع للتفكك أو التغيرات البنيوية نظرا لصغر حجمه. (59, 62)

يمكن أن تحدث آلية أخرى للدخول إلى النواة تتضمن انفتاح الغلاف الخارجي للنواة، وتداخل الفيروس وتوزعه مع الشحميات السفنغولية Sphingolipids، وهذا ما يحدث بوجود المنظفات Detergents. (62)

يتحول بعد ذلك الدنا الفيروسي أحادي الطاق إلى دنا مضاعف الطاق ضمن النواة، وذلك بواسطة دنا بوليميراز الخلية المضيفة الذي يرتبط مع الزمرة الهيدروكسيلية في النهاية 3'، والتي تعمل كمشرع primer يرتبط به الأنزيم لبدء عملية اصطناع الدنا DNA synthesis. (59)

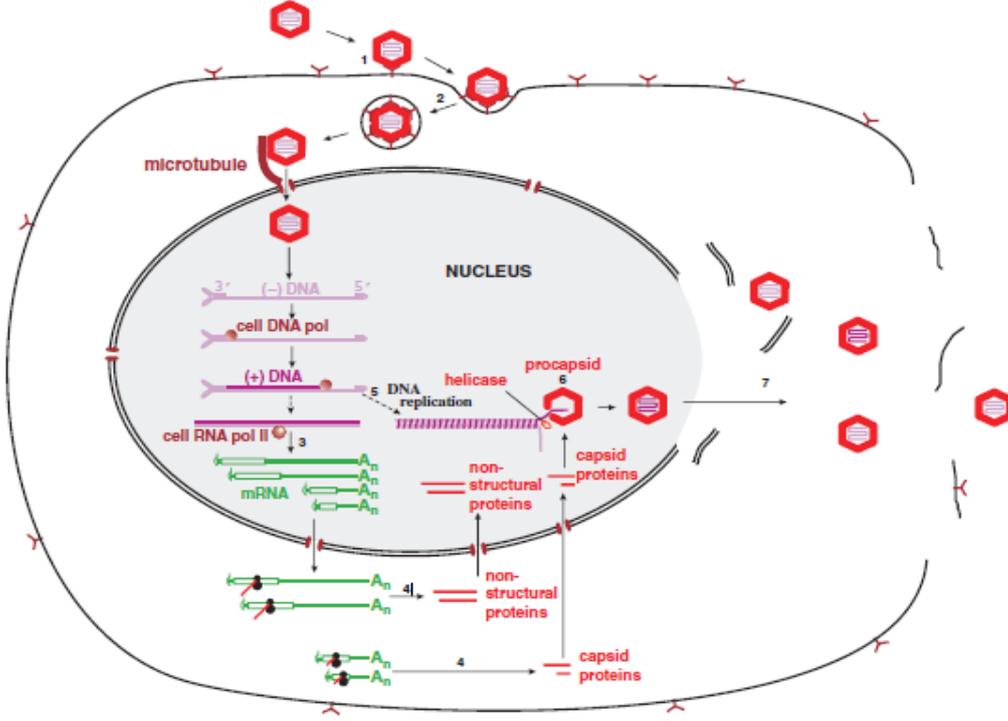
يقوم RNA بوليميراز II الخاص بالخلية المضيفة بنسخ جينات الفيروس، وتلعب عوامل انتساخ الخلية دورا هاما في ذلك.

تخضع النسخ الأولية لعمليات تضفير مختلفة لتعطي صنفى رنا مرسال mRNA بحجمين مختلفين، يشفر الأكبر منهما للبروتينات غير البنيوية، بينما يشفر الأصغر للبروتينات البنيوية.

يتم اصطناع البروتينات غير البنيوية أولا، حيث تظهر نسخ هذه البروتينات البنيوية في مساق course العدوى، وذلك لكونها تلعب دورا هاما في تنظيم التعبير الجيني وتنسخ الدنا الفيروسي بعد أن تتم فسفرتها. (63)

يحدث تنسخ دنا الفيروس بعد تحوله إلى دنا ثنائي الطاق، ويكون هذا التنسخ عبر آلية تدعى " رأس الدبوس المتدحرج" (Rolling hairpin) التي تتم بآلية الطاق القائد (leading strand) والطاق المتلكئ (lagging strand)، ثم يحصل فصل طاقى الدنا عن بعضهما بواسطة أحد البروتينات غير البنيوية (NS1) الذي يلعب دور أنزيم الهليكاز بوجود الطاقة، وذلك من أجل الحصول على DNA فيروسي أحادي الطاق، أما البروتينات البنيوية فهي تشكل طليعة القفيصة procapsid، حيث تدخل إليها نسخة من مجين

الفيروس، ثم يتم تجميع الفيرون بشكل كامل، ويكون البروتين غير البنيوي NS2 مكتنفا في هذه العملية، لتخرج بعدها الفيرونات من الخلية المضيفة بعد انحلالها. (الشكل 59, 63) (5)



(الشكل 5) دورة تنسخ الفيروس B19 منذ ارتباطه بمستقبله على سطح الخلية المضيفة وحتى خروج الفيرونات بعد انحلال هذه الخلية مقتبس من (carter & Saunders, 2007) (59)

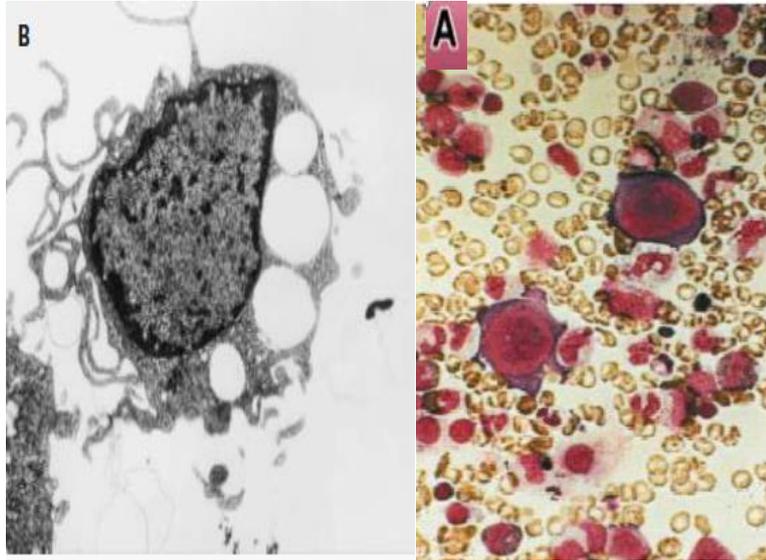
4-3- الباثولوجيا الخلوية Cytopathology:

تقتصر التغيرات الخلوية التي تحدث إثر العدوى بـ B19V على النسيج المكونة للدم، وتشمل سليفة الأرومة السوية العملاقة (Giant pronormoblast) في رشافة نقي العظم، ومقاطع نسيجية في كبد الجنين، مترافقة مع نفاذ لاحق لطلائع الكريات الحمر، ويمكن تعرف الخلايا المصابة بـ B19 مباشرة من خلال التغيرات الشكلية، سواء تحت المجهر الضوئي او الالكتروني (الشكل 6) (64)، وقد تم تمييز هذه الخلايا الشاذة لأول مرة عام 1948 في نقي العظم لدى المرضى المصابين بنوبات عدم التنسج العابرة (Transient aplastic crisis). (39, 64)

تكون سليفة الأرومة السوية العملاقة عبارة عن خلايا حمراء مبكرة بقطر 25-32 ميكرومتر، تحتوي مشتتات يوزينية (محببة للحمض eosinophilic) نوية كبيرة، ويحدث ضمنها تشكل فجوات هيولية، وأحيانا تلاحظ بروزات "أذن الكلب" (Dog-ear projections). (39)

يوضح المجهر الإلكتروني البنية المستدقة للخلايا المصابة والاعتلالات الحاصلة فيها، والتي تتضمن تشكل القدم الكاذبة (pseudopod) (الشكل 6)

وتهامش (margination) الكروماتين، ووجود جزيئات الفيروس ضمن النواة. (55, 39) نادرا ما يلاحظ خلل التنسج في الخلايا النقية والنواءات. (55)



شكل 6. التأثير الممرض الخلوي لـ B19 يتضح فيه سلفية الأرومات العملاقة (6A)

وتشكل الفجوات الهيولية والقدم الكاذبة (6B)

مقتبس من (Young & Bloom, 2001) (55)

5-3- الأمراض والاستجابة المناعية Pathogenesis and immune respons

تؤدي العدوى بالفيروس إلى طورين سريرين، بعد أسبوع من التلقيح الأنفي إلى متطوعين بالغين أصحاء تم تحري تفيرس الدم مترافق بأعراض شبيهة بأعراض الانفلونزا الوافدة

Influenza، تتضمن مرض متوسط مع حمى، وهن، حكة، وهن عضلي وإفراز الفيروس عبر الطريق التنفسي. (39, 65)

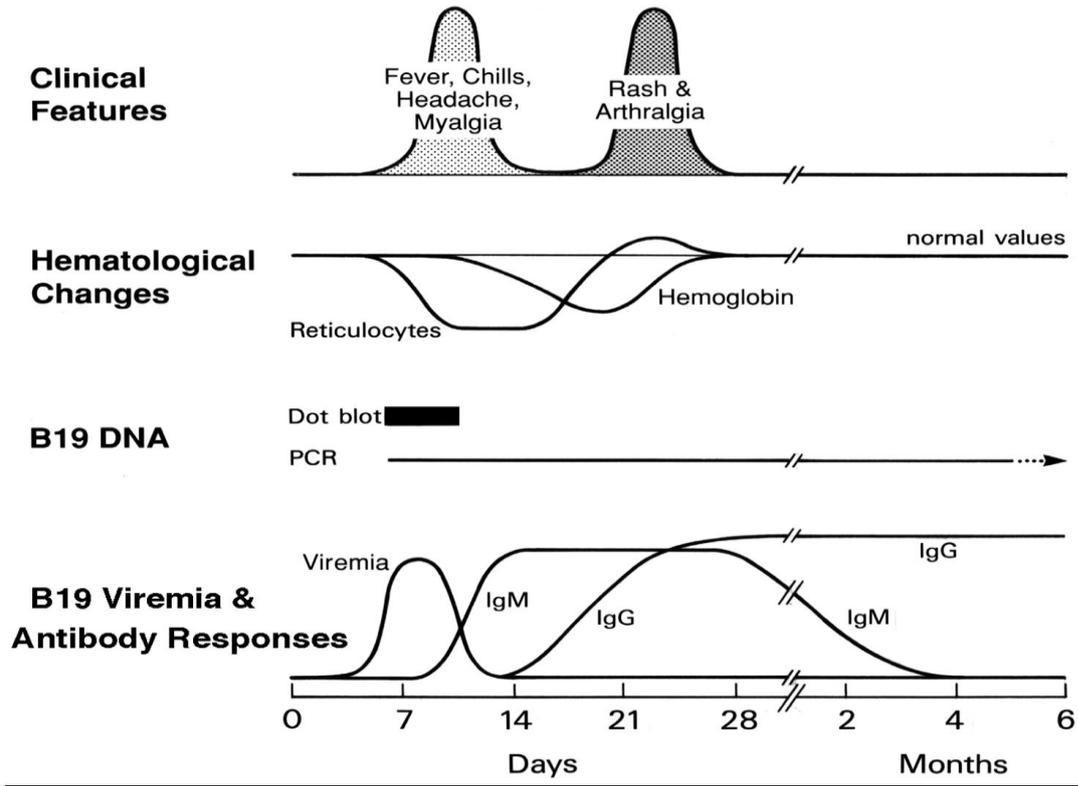
أثناء تقيس الدم تهبط مستوى الشبكيات إلى مستويات غير ملاحظة undetectable. (59) بعد 7-10 أيام، نلاحظ هبوط مفاجئ للهيموغلوبين بنسبة 1 غ/دل عند الأشخاص الأصحاء. يحدث بعد 6-10 أيام من دخول الفيروس قلة لمفاويات lymphopenia، قلة عدلات neutropenia، قلة صفيحات thrombocytopenia. (39, 65)

تبدأ أعراض الطور الثاني بالظهور بعد حوالي 17-18 يوم بعد العدوى، يبدأ طور آخر حيث يلاحظ أعراض تبدأ بطفح، حكة، ألم مفصلي. يتضمن الشفاء إنتاج أضداد IgM بعد 10-12 يوم بعد الإصابة، مترافق بقمة بمستويات الفيروس. (39)

عند الأشخاص الأصحاء تكون الاستجابة المناعية السائدة هي المناعة الخلطية. حيث يستمر وجود IgM في المصل حوالي 3 شهور ويمكن أن يستمر حتى حوالي 6 شهور.

تم تحري وجود IgG عند المتطوعين بعد حوالي أسبوعين من دخول الفيروس حيث تقي من عداوى أخرى للفيروس.

يمكن أن يلاحظ أيضا وجود IgA والتي تلعب دورا أساسياً في الحماية من الإصابة بالفيروس عبر الطريق البلعومي الأنفي. (65) (الشكل 7)



(الشكل 7) التسلسل الزمني لظهور الأضداد بعد الإصابة بعدوى B19 إضافة إلى المظاهر السريرية والتغيرات الدموية المرافقة وتواجد دنا الفيروس في الدم. مقتبس من (Brown & Heegaard, 2002) (39)

تتألف استجابة الأضداد المبكرة من IgM وتكون موجهة ضد VP2، بينما الاستجابة الناضجة تتصف بازدياد الألفة والتي تكتنف أضداد IgG وتصبح الأضداد الرئيسية في الدم والموجهة ضد VP1 على الرغم من أنه أقل توافراً كنسبة مئوية ضمن الفيرون. (40)

تحتل المنطقة الفريدة لـ VP1 توضعاً خارجياً في قفيصة B19V، مما يسهل عملية ارتباط الأضداد بها، (66) وتكون الاستجابة المناعية السائدة ضد B19V متعلقة بهذه المنطقة، حيث توفر VP1u حواتم epitopes ذات قدرة تعديل قوية، فيما ترتبط الاستجابات الضعيفة تجاه VP1u بالعدوى المستديمة. (67)

تؤمن VP1u أيضاً المنطقة التي تحفز فعالية أنزيم الفوسفوليبياز A2 (PLA2 motif) الذي يكون متطلباً من أجل عملية العدوى، (66, 67) إضافة لكونها تلعب دوراً في تحريض تفاعلات المناعة الذاتية والعمليات الالتهابية. (67)

تحتوي العديد من المناطق في VP2 التي على حواتم معدلة تتوضع على VP2، لكن الاستجابة المناعية الأكثر فعالية تنتج عن الحواتم الخطية المعدلة تتجمع في منطقتين، أحدهما المنطقة الفريدة لل VP1u والأخرى تشكل المنطقة المشتركة بين VP1 و VP2. (39, 66)

تأتي الاستجابة المناعية المتوسطة بالخلايا ضد B19V في الدرجة الثانية بعد الاستجابة المناعية الخلوية، حيث تؤدي تقديم بروتينات القفيصة VP1 و VP2 على سطح الخلايا بواسطة جزيئات HLA II إلى تكاثر اللمفاويات التائية المساعدة T helper، وحثها على إفراز الانترفيرون غاما (IFN- δ)، والانترلوكين 10 (IL-10) لدى المصابين بعدوى B19 سواء كانت إصابتهم حديثة أو قديمة، (39, 68) وتكون استجابات (IFN- δ) أقوى من استجابات (IL-10) بشكل عام، لكن استجابات (IFN- δ) النوعية لـ VP1u تكون قوية جدا لدى الأشخاص المصابين إصابة حديثة، في حين تختفي استجابات (IFN- δ) و (IL-10) النوعية لـ VP1u لدى المرضى ذوي الإصابة القديمة، الأمر الذي يجعل VP2 الهدف الرئيسي للمفاويات التائية المساعدة النوعية لـ B19 في حالات الإصابة القديمة. (68)

4 - التظاهرات السريرية (Clinical Aspects):

تتأثر الأعراض السريرية بشكل كبير بالحالة الدموية والمناعية للمضيف.

- ✓ في المضيف السليم: تسبب عداوى ال B19 يظهر عدم تنسج كريات حمر محدود ذاتياً، متبوع بطفح أو ألم مفصلي متواسط بالاستجابة المناعية.
- ✓ في الأشخاص الذين يعانون من إنتاج ضعيف أو تحطيم زائد للخلايا الحمر، كمرضى الثلاسيميا: تؤدي العدوى بالفيروس إلى نقص مفاجئ بالهيموغلوبين، وبالتالي يحصل نوبة انعدام تنسج في النقي.
- ✓ في الأشخاص المثبطين مناعياً: يفشلون في القضاء على الفيروس، وبالتالي تحصل حالة من فقر الدم المزمن⁽³⁹⁾ (الشكل 8)

بالإضافة إلى ذلك تم الإشارة تحري DNA الفيروس B19 عند مجموعات متنوعة من المرضى عندما يكون السبب غير معروف.^(39,59)

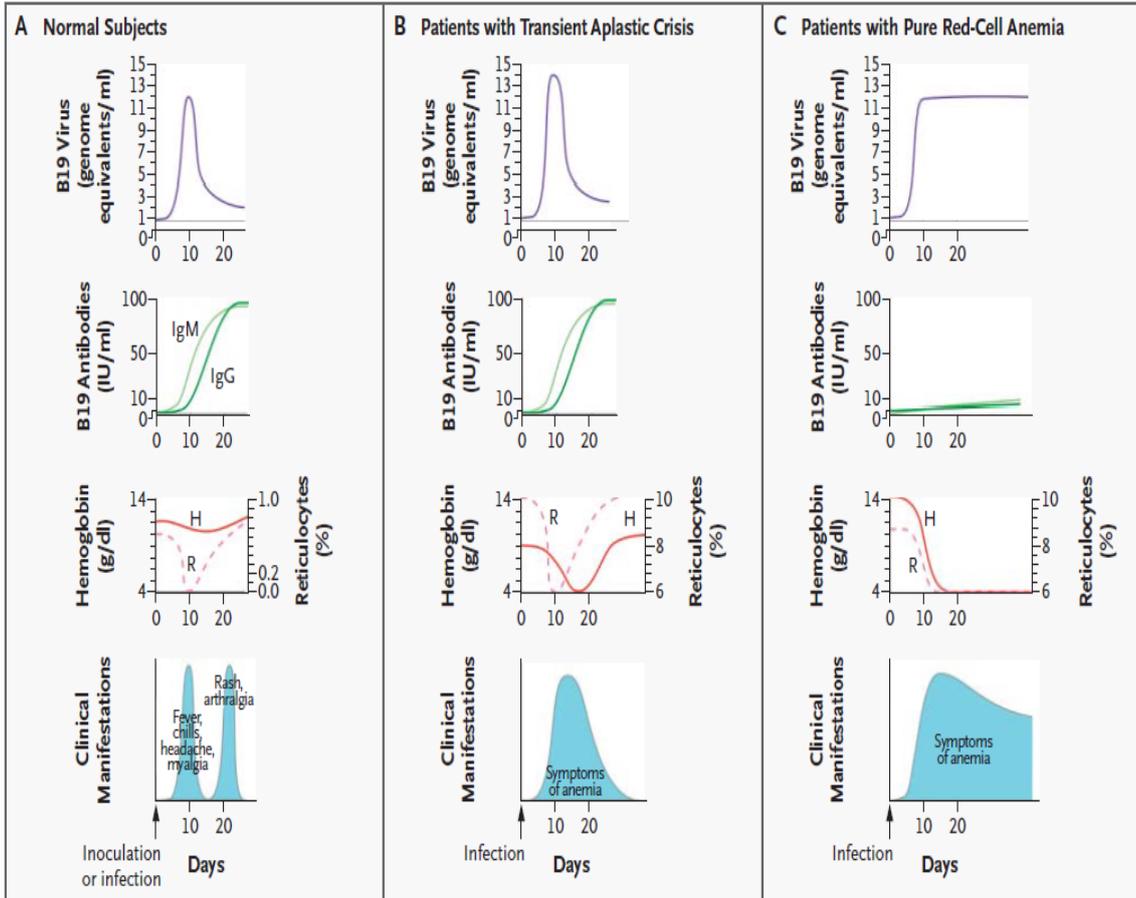


Figure 4. Pathophysiology of Parvovirus B19 Infection.

Inoculation of normal subjects and natural infection resulted in fifth disease (Panel A; study reported by Anderson et al.³³). A two-phase illness was produced under control conditions; most subjects noted only the typical rash, joint symptoms, or both, corresponding to the appearance of specific antiviral antibodies. Reticulocytopenia occurs during viremia, but hemoglobin levels do not decline below normal values. H denotes hemoglobin, and R reticulocytes. Transient aplastic crisis occurs in patients with underlying hemolysis or erythroid stress who are infected with parvovirus B19 (Panel B; study reported by Saarinen et al.³⁴). Cessation of erythropoiesis causes severe anemia, because of the higher demand for red cells. Chronic pure red-cell aplasia is due to persistent infection (Panel C; study reported by Kurtzman et al.⁵). Anemia persists because of the failure of the humoral immune response to clear parvovirus B19.

الشكل 8. التظاهرات السريرية والاستجابة المناعية والدموية حسب حالة المضيف

مقتبس من (young & Brown, 2004) (87)

1-4 العدوى عند المضيفين الأصحاء :

1-1-4- العدوى اللاعرضية Asymptomatic infection

تكون عدوى B19 لا عرضية شائعة عند الأطفال والبالغين، ويمكن ان تلاحظ في بعض الحالات أعراض غير نوعية مشابهة لأعراض الانفلونزا الشائعة. (40)

أظهرت أحد الدراسات أن 25% من الأشخاص المصابين ليس لديهم أعراض واضحة، وأكثر من النصف بقليل من النساء إيجابيات IgM تظهر علامات طفح وآلم مفصلي.

حوالي 3/1 البالغين و 5/1 الأطفال تكون العدوى لديهم لاعرضية. (62)

في دراسة إعداد متطوعين، يحدث قمة لتفيس الدم ما بين 8-9 أيام بعد التلقيح inoculation، وتدوم لمدة 3-7 أيام. الملامح البادرية المشابهة للانفلونزا: توعك، صداع، احتقان في الحلق، زكام، حمى منخفضة الدرجة مترافقة مع فترة حدوث تفيس الدم. (27, 39)

4-1-2- الحمى العدوائية:

تسمى أيضا الحمى العدوائية متلازمة الخد المصفوع "slapped cheek" أو المرض الخامس "fifth disease"، وهي التظاهر الأكثر شيوعا عند الأطفال المصابين B19.

والذي يعتبر مرض طفحي محدود ذاتيا يصيب الأطفال. والذي تم تصنيفه في المرتبة الخامسة في المخطط التصنيفي لأمراض الأطفال الطفحية. الأمراض الطفحية الأربعة الأخرى هي: الحصبة measles، الحمى القرمزية scarlet fever، الحصبة الألمانية rubella، داء فيلاتوف ديوكس Filatov- Dukes disease، الوردية الطفلية roseola infantum والتي تعتبر المرض السادس (sixth disease) (69)

بمتابعة جوائح الحمى العدوائية تم ربطه بالB19 عن طريق اكتشاف أضداد IgM نوعية في عينات المرضى المصابين. حيث يعتبر الـ B19 العامل الممرض الوحيد للحمى العدوائية، تصيب الحمى العدوائية الأطفال بعمر 4-7 سنوات و حتى 10 سنوات ولكنها تظهر أحيانا بعمر 1-17 سنة. (39, 70)

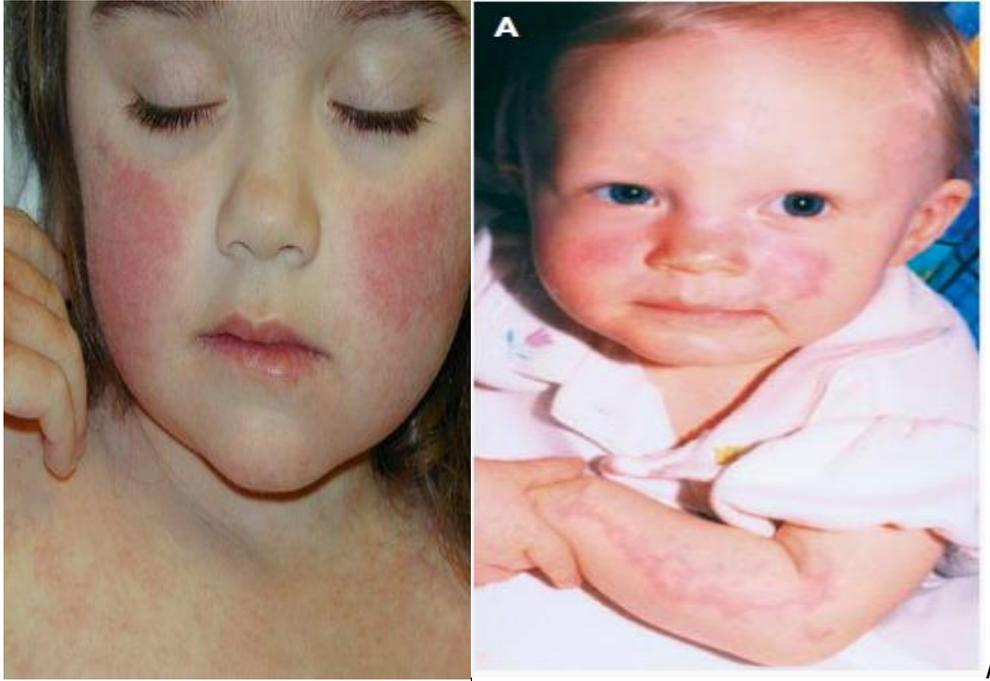
تكون أعراض الحمى العدوائية ثنائية الطور، حيث تكون أعراض الطور البدئي (7-8 أيام بعد حدوث العدوى) غالبا غير ملاحظة تتضمن: حمى، زكام، صداع، غثيان. وأعراض في الجهاز التنفسي العلوي تستمر لعدة أيام. يكون هذا الطور مصاحبا لمرحلة تفيس الدم viremia. (39)

يبدأ الطور الثاني بعد 17-18 يوما من العدوى أي بعد انتهاء مرحلة تفيس الدم، ويتمثل بظهور طفح بقعي حطاطي (Maculopapular) كنتيجة لاستجابة المضيف المناعية تجاه العدوى، حيث يكون هذا الطفح متواسطا بألية مناعية. (64, 69)

يقسم هذا الطور إلى ثلاث مراحل، تتميز المرحلة الأولى باحمرار الوجه facial erythema متوسط الشدة يتضمن الخدود مع شحوب نسبي محيط بالفم (مظهر الخد المصفوع slapped cheek) يستمر 18 يوماً بعد العدوى. (الشكل 9A) (39, 70)

تتضمن المرحلة الثانية طفح على الجذع والأطراف تحدث بعد 1-4 أيام من المرحلة الأولى. يكون الطفح مشبكي أو شريطي ويتكون من بقع زهرية ذات مراكز باهتة. يميل الطفح أن ينتشر على السطوح الباسطة كراحة اليد وأخمص القدم. (الشكل 9B) (39, 70)

تستمر هذه المرحلة 1-6 أسابيع حيث تبدأ بعدها المرحلة الثالثة التي يستمر الطفح فيها مدة 1-3 أسابيع أخرى، تتأرجح شدة الطفح حسب العوامل البيئية كالتعرض لأشعة الشمس والحرارة والتمارين والضغط. (71) تنتهي هذه المرحلة بحصول شفاء تلقائي لهذا الطفح دون وجود عقابيل. (39, 64) هناك أعراض أخرى تتضمن: حكة، حويصلات، التهاب جلد حرشفي. (39, 40)



الشكل 9. مظهر الطفح على الخدين في المرحلة الأولى متلازمة الحمى العدوانية يظهر فيه مظهر الخد المصفوع (9B)

مظهر الطفح البقي الحطاطي على الأطراف في المرحلة الثانية من الحمى العدوانية (9A)

مقتبس من (Young & Brown, 2004) (64)

3-1-4 الاعتلال المفصلي Arthropathy:

تم إيجاد علاقة ارتباط ما بين الاعتلال المفصلي و عدوى الفيروس B19 عام 1985م. (39)

عند الأطفال الذين يعانون من الحمى العدوائية، يكون حدوث الاعتلال المفصلي غير شائع تقريبا 10% أو أقل، بينما يظهر 19% من الأطفال الذين يعانون من التهاب مفاصل حديثة علامة حدوث عدوى حديثة بال B19. (39, 72, 74)

على العكس يعتبر التهاب المفاصل والاعتلال المفصلي التظاهر الأكثر شيوعا للإصابة الأولية بعدوى الB19 عند البالغين، يصيب 60% من النساء و 30% من الرجال، بينما التظاهرات الجلدية أقل توترا وغير مميزة عند البالغين. (39)

تتراوح الأعراض المفصلية ما بين آلام مفصلية متعددة مع تيبس صباحي، التهاب مفصلي صريح. (39, 75)

يختلف نمط الإصابة بالاعتلال المفصلي بين الأطفال والبالغين، فعند الأطفال تستهدف الآلام المفصلية الركبتين في 82% من الحالات، كما تصيب الكاحلين، أما عند البالغين تظهر أعراض مفصلية كالتهاب مفاصل محيطية حاد متوسط الشدة تكون بشكل متناظر يتضمن: المفاصل السنغية السلامية (75%) metacarpophalangeal joints، الركب (65%) knees، الرسغ (55%)، الكاحل (40%) بدون ظهور تآكل مفصلي. (39, 75)

ربما يكون الاعتلال المفصلي متواسط بالمناعة وذلك لتراشق حدوث الاعتلال المفصلي بظهور الأضداد النوعية للـ B19 من نمط IgM في الدم. (39, 74)

الأعراض المفصلية محدودة ذاتيا، وفي المرضى الرئيسيين، خلال 2-4 أسابيع. بعض المرضى ربما يملكون طور مديد من المرض للعديد من الأشهر وحتى سنوات. (75)

4-1-4- متلازمة القفازات والجوارب الفرغرية الحطاطية popular purpuric **:gloves and socks syndrome (PPGSS)**

تمثل هذه المتلازمة تظاهرا غير شائع لعدوى B19، تصيب البالغين اليافعين بعمر 20-40 سنة أكثر من الأطفال، رغم أنه قد سجلت بعض الحالات لدى الأطفال، (76) ولا توجد علاقة للجنس بتواتر الإصابة بهذه المتلازمة إذ تصيب الذكور والإناث على حد سواء، (77) بينما يكون حدوثها مرتبطا بفصول السنة، حيث تحدث أغلب الحالات في فصلي الربيع والصيف. (76, 77)

تم توصيف هذه المتلازمة لأول مرة من قبل Harms وزملائه عام 1990 لدى خمسة شباب بالغين، ظهر لديهم الطفح محدد لذاته على اليدين والقدمين، مع وجود حمى وآفات على الغشاء المخاطي الفموي. (39)

أبدت الدراسات وجود انتشار كبير لأضداد B19 IgM عند مرضى هذه المتلازمة، كما تم كشف الـ DNA الخاص بـ B19 في الخزعات المأخوذة من جلد المرضى بواسطة تقنية PCR، وقد وثقت إحدى الدراسات التي أجريت على 70 حالة PPGSS كون B19 المسبب لـ 66% من هذه الحالات. (78)

يكون الطفح في PPGSS، أحادي الشكل متناظرا ويتميز بكونه مؤلما وحاكا ويقتصر على اليدين والقدمين وتكزن العلامة المميزة له وجود حد فاصل يظهر بشكل حاد عند الرسغين والكاحلين، مما يجعل توزيعه محصورا في منطقة القفازات والجوارب، ومن هنا جاءت تسمية المتلازمة. (39, 79)

تتسم متلازمة PPGSS بإندار ممتاز، (76) ويتم الشفاء عادة خلال 1-3 أسابيع مع احتمالية حدوث توسف للمناطق المصابة، دون حدوث تندبات أو عقابيل طويلة الأمد أو حالات نكس، (39, 76, 77) أما عند المثبتين مناعيا فقد تسبب PPGSS مضاعفات أكثر خطورة، إذ يمكن أن يسبب الطفح آفات جلدية حاكة ومطولة، بالإضافة إلى فقر دم مستديم. (76)

4-1-5- قلة الصفيحات Thrombocytopenia :

عند الأطفال على عكس البالغين تكون معظم حالات الفرورية الصفيحات المجهولة السبب idiopathic thrombocytopenia purpura (ITP) حادة البدء وعادة ماتكون مسبوقه بعدوى فيروسية نوعية. وفقا لذلك ربما يؤدي عدوى فيروس الB19 قلة صفيحات واضحه(79, 39).

أشارت إحدى الدراسات أن عدوى الB19 الحديثة عند 6 أطفال من أصل 47 (13%) مصابين بفرورية قليلة الصفيحات مجهولة السبب (Pediatric ITP)، حيث تم اقتراح أن الأطفال المصابين ب (ITP) ومرتبطة بعدوى ال B19 يحدث لديهم قلة صفيحات شديدة حادة البدء(79, 80).

تصنف قلة الصفيحات المحرصة بالـ B19 إلى نمطين مركزية ومحيطية.

قلة الصفيحات مركزية المنشأ بسبب تثبيط نقي العظم، والاعتلال الخلوي المحتمل ناتج بواسطة البروتين NS1 والمنتج من قبل فيروس ال B19 والذي يقوم بتثبط تشكيل النواء megakaryocytic colony formation. هذا يشير إلى أن التوجه النسيجي للـ B19 لسلانف الكريات الحمر كما يظهر أن البروتينات الفيروسية تكون سامة للخلايا غير المؤهلة (غير السموحة) nonpermissive cell لتضاعف ال DNA الفيروسي.

أما قلة الصفيحات محيطية الأصل تترافق بانتاج أضداد مضادة للصفيحات متواسطة مناعيا تؤدي إلى تصفية شديدة لاحقة للصفيحات في الجملة الشبكية البطانية.(81)

4-1-6- قلة العدلات وقلة الأرومات العابرة TEC and neutropenia

قلة أرومات الحمر العابر الطفولي (TEC) transient erythroblastopenia of childhood، وهو اضطراب يصيب الأطفال بعمر 3-4 سنوات، يتميز بفقر دم، قلة شبكيات، ونقصان طلائع الكريات الحمر في رشافة نقي العظم. حيث أن TEC هو السبب الوحيد الأكثر شيوعا لعدم تنسج كريات حمر عند الأطفال المؤهلين مناعيا.(79)

يعتبر ال B19 المشتبه الفيروسي الرئيسي عند مرضى TEC بسبب تأثيراته المتعلقة بتكوين الدم hematopoietic effects حيث أنه متورط في العديد من الحالات. يسبب

عدوى ال B19 أحيانا فقر دم مديد، مترافق غالبا مع قلة صفيحات، والذي ربما يشخص بلخطأ كما في حال TEC. (80, 39)

ينتج قلة العدلات المناعي الذاتي الأولي عن أزداد ذاتية نوعية للمحبيبات، ويحدث بشكل كبير خلال مرحلة الإرضاع. (80)

بمساعدة تقارير الحالات الأولية initial case reports والدراسات التطوعية، تم فحص نقي العظم عند الأطفال المصابين بقلة عدلات للبحث عن DNA فيروس ال B19 (15 من أصل 19). تقترح النتائج أن عدوى ال B19 هو السبب الشائع لقلة العدلات المتوسطة مناعيا في مرحلة الطفولة ولكن دراسات أكبر وأكثر حداثة لم تؤكد هذه النتائج. (81)

7-1-4- أمراض عصبية Neurologic disease

قبل اكتشاف التقنيات الفيروسية النوعية، تم ملاحظة الأعراض العصبية المرتبطة بلحمamy العدوائية عند بعض الحالات. (39)

تم كشف الأزداد النوعية لل B19 و/أو DNA الفيروس في الدم وفي السائل الدماغي الشوكي وفي حالات: الاعتلال الدماغي والتهاب السحايا العقيم كما تم ملاحظة الاعتلال العصبي وضمور عصبي عضلي بعد العدوى بال B19. (82)

يتم تحري أزداد IgM و ال DNA ضمن السائل الدماغي الشوكي في حالات نادرة جدا. تم دراستها في خمس مرضى فقط تلقى أحد هؤلاء المرضى يعاني من نوبة مرضية معالجة ناجحة بلغلوبولينات المناعية. (39)

الآلية المرضية للأعراض العصبية غير معروفة، لكن تواجد الطفح والاعتلال المفصلي يقترح أن الاعتلال العصبي متواسط مناعيا. (70, 39)

هناك عدة آليات مقترحة حول تظاهرات الجملة العصبية المركزية المرافقة لعدوى B19، تتضمن حدوث سمية خلوية مباشرة وتراكم البروتين السام للخلايا NS1، أو خلل تنظيم الاستجابة المناعية مع تحرير السيتوكينات في السائل الدماغي الشوكي وترسب المعقدات المناعية على الخلايا البطانية، كما يمكن أن يلعب الاختلاف في الحمل الفيروسي دورا في

شدة الداء العصبي، بالإضافة إلى كون الحالة المناعية للمضيف تساهم في الصورة السريرية الناجمة عن عدوى B19 وتأثيرها على الجهاز العصبي. (82)

8-1-4- التهاب العضلة القلبية myocarditis:

يبين الفحص النسيجي ووجود ال DNA النوعي ضمن نواة الخلية العضلية التوجه القلبي لل B19 حيث تم تشخيص التظاهرات السريرية لالتهاب التأمور وعضلة القلب عند بعض الأطفال والبالغين المصابين بالفيروس B19. (39, 40)

هناك غموض بالاصابة بالتهاب عضلة القلب ، لأنه من المعروف أن ال B19 يتضاعف فقط في الخلايا المكونة للدم سريعة الانقسام، لكن تم تفسير ذلك بالتوزع النسيجي للمستقبل الفيروسي (P antigen) بما فيها الخلايا القلبية، أو بسبب تفاعلات مناعية متصالبة للحوام المستضدية المشتركة ما بين الفيروس وخلايا العضلة القلبية. (83)

تبقى الآلية الإمراضية معقدة، وتتضمن أذية فيروسية مباشرة للخلايا البطانية الرئيسية للأوعية الدموية القلبية، كما يمكن أن يكون للمناعة الذاتية دور في ذلك . (84)

9-1-4- التهاب الكبد Hepatitis:

يمكن أن تسبب عداوى B19 طيفاً من الأدواء الكبدية، بدءاً من ارتفاع ناقلات الأمين إلى التهاب الكبد الحاد، إلى فشل الكبد الخاطف Fulminant liver failure وحتى التهاب الكبد المزمن. (85)

تمتلك خلايا الكبد مستقبلات الفيروس B19 على غشائها الخلوي، مما يعطي B19 القدرة على إعداء هذه الخلايا وإحداث أذية مباشرة فيها عبر التعبير عن البروتين NS1 الذي يحرض بدوره الاستماتة عن طريق تحفيز السبيل المعتمد على Caspase 3، كما يمكن أن تتأثر هذه الخلايا عبر آلية متواسطة مناعياً. (85, 86)

يمكن أن تسبب عدوى B19 التهاب الكبد بشكل مباشر عبر الأذية الخلوية أو بشكل غير مباشر عبر أذية مناعية بواسطة الخلايا التائية السامة للخلايا CD8+. (86)

10-1-4- تظاهرات أخرى مترافقة putative associations

تم اقتراح أن ال B19 هو عامل مسبب للعديد من المتلازمات السريرية، يعتمد الكثير من هذه الدراسات على دراسة حالات case reports أو على تحري DNA ال B19 في النسيج بواسطة ال PCR بدون وجود مجموعة شاهدة. (39)

- وجدت أحد الدراسات على الأطفال مصابون بمرض كاواساكي Kawasaki disease تفيرس بالدم بال B19 في (67%) بينما لم تجد دراسات أخرى أي دليل على ذلك.

- المتلازمات الجلدية ومتلازمات الالتهاب الوعائي vasculitic and dermatologic syndromes من المفترض أنها مسببة بالفيروس B19 تتضمن:

- فرقية purpura
- اعتلال الأوعية الدموية الدقيقة في الطعوم الكلوية الخثرية thrombotic .renal graft microangiopathy
- ظاهرة رينو (نوبات إقفار متقطع في النهايات عند التعرض للبرد) Raynaud phenomenon. فرقية
- فرقية هينوخ شونلاين Henoch-schonlein purpura.
- التهاب الشرايين العقدي polyarteritis nodosa.
- متلازمة الفرعية الحطاطية (الجوارب والقفازات) popular purpuric syndrome "gloves and socks"
- التهاب الجلد والعضل dermatomyositis.
- ذئبة حمامية جهازية systemic lupus erythematosus.

كما تم اقتراح تظاهرات أخرى للعدوى بال B19

- التهاب رئو شديد severe pneumonia.
- التهاب ملتحمة conjunctivitis.
- داء بهجت Behcet disease.
- اعتلال كبيبات الكلى مجهول السبب idiopathic glomerulopathy.

- قلة الصفائح المناعي الذاتي المزمن chronic autoimmune thrombocytopenia.
- قلة عدلات neutropenia
- التهاب كبيبات الكلى glomerulonephritis. (62, 64, 70)

2-4- عدوى الفيروس الصغير خلال الحمل parvovirus B19 infection during pregnancy

تم إثبات أن عدوى الجنين بال B19 يسبب فقر دم خلقي أو جنيني، إجهاض، أو ولادة وليد ميت أو يمكن أن تؤدي إلى حالة غير عرضية محدودة ذاتيا. خمنت لبعض حالات الدراسة أن ال B19 يمكن أن يسبب تشوه خلقي بينما فشلت الدراسات المنهجية أن تثبت هذه الفرضية. (40)

1-2-4 - الانتقال العمودي vertical transmission

يمكن أن يعبر فيروس ال B19 عبر المشيمة خلال العدوى الأمومية، تم نشر تقارير بمعدل الانتقال العمودي 25-50%، ربما هذه النسبة أقل من المتوقع لأن معظم الأجنة في بداية الحمل يفشلون في إحداث استجابة مناعية قابلة للقياس. (40)

لاحقا خلال الحمل يزداد معدل الانتقال المشيمي، في دراسة ميلر ورفاقه (1998) 11-30% وحتى أكثر من 60% من الأطفال، الذين أمهاتهم تعرضن لعدوى الفيروس B19 خلال الثلث الأول أو الثاني أو الثالث على التوالي، كانوا إيجابيين B19-IgG في وقت حدوث العدوى الجنينية داخل الرحم. (89)

2-2-4 - فقدان الجنين Fetal loss:

يحصل موت الجنين داخل الرحم (IUFD) intrauterine fetal death بعد اكتمال الأسبوع 22 من الحمل، وهو يتميز بذلك عن حالة الإجهاض التي تحدث في وقت أبكر. (39)

تؤدي العدوى ب B19 إلى كلتا الحالتين، وتقدر نسبة فقدان الجنين التي تنجم عن العدوى ب 1.6-9%، والتي يمكن أن ترتفع خلال فترة الجوائح، كما تختلف هذه النسبة باختلاف عمر الحمل حيث تحدث معظم الحالات قبل الأسبوع الـ 20، فيما تنخفض بعد ذلك وخاصة في الثلث الثالث، ويعزى هذا الأمر لكون المخزون الدموي للجنين أكبر في هذه المرحلة (90)

يحدث فقدان الجنين كنتيجة لموه الجنين غير المناعي، ولكن هناك عدد من الحالات التي تحدث بدون وجود حالة الموه تلك (39)

3-2-4- فقر دم جنيني Fetal anemia

مناعة ال Rh هي المسبب الرئيسي لحدوث فقر الدم الجنيني، بينما هناك آليات أخرى تتضمن ثلاثيمية ألفا، انتقال الدم من توأم لآخر، انتقال من الأم للجنين، أسباب عدوائية.

يعتبر الفيروس B19 العامل العدواني الرئيسي لحدوث فقر دم جنيني، كما أن هناك عوامل أخرى مثل CMV، التوكسوبلازما الغوندية يمكن أن تسبب فقر دم جنيني *Toxoplasma gondii* (40)

يكون الجنين أكثر حساسية لتطویر فقر دم خلال الثلث الأول والثاني من الحمل، يبدأ تكون الكريات الحمر في الكيس المحي خلال ثالث أسبوع من الحمل، تنتقل إلى الكبد خلال الأسبوع السادس، وأخيرا إلى نقي العظم في الأسبوع 30 من الحمل (90)

خلال الطور الكبدي في الاصطناع الكبدي ربما يكون الجنين أكثر تأثرا بعدوى ال B19 بسبب العمر القصير لكريات الدم الحمر لديهم والتمدد السريع لحجم الكريات الحمر لديهم. من العوامل المساهمة في حدوث فقر الدم الجنيني عدم النضوج النسبي في نظام اصطناع الكريات الحمر والاستجابة المناعية الجنينية (91)

ابتداء من الثلث الثالث من الحمل، ومع تطور النظام المناعي، يكون الجنين محمي بشكل فعال ضد الفيروس B19. حيث تم ملاحظة نقصان محتوى الغلوبوزيد على خلايا الطبقة المغذية الزغابية للمشيمة آخر فترة الحمل، حيث تم افتراض ذلك سببا في اختلاف الإصابة الجنينية بالفيروس خلال الحمل (90, 91)

4-2-4- الموه الجنيني hydrops fetalis

الموه الجنيني هو حالة سريرية يحدث فيها تراكم مفرط للسوائل في الحيز الخارج وعائي الجنين، مؤدية إلى وذمة منتشرة في الأنسجة الرخوة و/أو تجمع السوائل في أجواف جسم الجنين. (92)

يعرف موه الجنين الناجم عن عدوى B19 باسم موه الجنين غير المناعي، وذلك لتمييزه عن الموه المناعي المترافق مع انحلال الكريات الحمراء المتواسط بالمعقد ضد - مستضد في حالة تمنيع Rh المتماثل لدى الأمهات.

تتضمن أسباب الموه الجنيني غير المناعي العيوب الصبغية، الأسباب القلبية الوعائية والدموية، والعدوائية متضمنة B19 الذي يكون مسؤولاً عن 8-20% من هذه الحالات، وقد وثقت الدراسات تطور حالة الموه الجنيني غير المناعي بنسبة 4-24% بعد إصابة الأم الحامل بعدوى B19، فهو يعد المضاعفة الأكثر شيوعاً لهذه العدوى، (94, 40) وسجلت أول حالة موه جنيني غير مناعي مترافق مع عدوى B19 عام 1984. (90, 64)

يحدث موه الجنين بشكل نمطي خلال الثلث الثاني من الحمل، ولكنه قد يحدث في الثلث الأول، تظهر العلامات الأولى لموه الجنين في الأسبوع 11-15 من الحمل، والتي غالباً ما تكون ظهور وذمة جلدية معممة في منطقة رأس الجنين ورقبته عند الفحص بالأموح فوق الصوتية، ونادراً ما يشخص انصباب الجنب قبل الأسبوع 15، إضافة إلى وجود الحبن وانصباب التامور، وذمة المشيمة. (92,94) (الشكل 10)

يمكن أن تشفى حالة الموه الجنيني تلقائياً دون وجود عقابيل، ولكنها تؤدي في معظم الأحيان إلى موت الجنين، حيث تكون نسبة الوفاة عالية (30-50% تقريباً)، وتعتمد على العامل المسبب لحدوث الموه وعمر الحمل الذي ظهرت فيه هذه الحالة، ويكون الجنين المصاب بعدوى B19 في أغلب الحالات ميتاً عندما يتم تشخيص حالة الموه. (94, 90, 40, 39)

يجب التأكد من وجود عدوى B19 حادة لدى المرأة الحامل إذا تعرضت للفيروس، وذلك بإجراء اختبار وجود أضداد IgM أو حدوث الانقلاب المصلي في أضداد IgG النوعية للفيروس، ويتوجب إجراء تخطيط بالأموح فوق الصوتية إذا ثبت حصول العدوى الحادة،

ويتم ذلك بشكل متتابع أسبوعياً أو كل أسبوعين ولمدة 10-12 أسبوع من العدوى الأولية بغية منع حدوث الموه، حيث تختفي الخطورة عملياً بعد الأسبوع الثاني عشر. (76, 39)



الشكل 10. حالة الموه الجنيني التي تظهر عند الأجنة المصابين بالـ B19 في الثلث الثاني من الحمل مقتبس من (Heegaard & Brown, 2002) (39)

4-2-5- فقر الدم الخلقي Congenital anemia:

يمكن ان تكون عدوى B19 داخل الرحم لاعرضية بعد الولادة، لكنها قد تستديم إلى ما بعد الولادة وتسبب خلل تنسج في طلائع الكريات الحمراء (PRCA) Pure Red Cell Aplasia، وتظهر الدراسات وجود حالة فقر دم خلقس شديدة مع استدامة وجود دنا الفيروس في نقي العظم، وليس في مصول هؤلاء الأطفال. (70, 84, 39)

تم وصف ثلاثة رضع مصابين بالموه وفقر الدم الخلقي بسبب عدوى الـ B19 عن طريق المشيمة، في هذه الحالات الثلاثة تفتقر المصول الى B19 DNA، لكن تم كشف الـ DNA الفيروسي في نقي العظم.

مات أحد الرضع، واستمر فقر الدم عند الاثنتين الآخرين على الرغم من استمرار المعالجة بالغلوبولينات المناعية.

الأطفال الذين تم تشخيص متلازمة دياموند بلاكفان Diamond Black Fan (نقص موروث في تكون الكريات الحمراء نتيجة خلل تنسج خلقي لدى الرضع، تبقى فيه نسب الكريات البيضاء والصفائح الطبيعية) تم كشف DNA ال B19 في 3 لطاخات نقي عظم من أصل 11 لطاخة. الأطفال ايجابيين ال B19 كانوا الأطفال الوحيدين الذين تعرضوا إلى هذأة بينما الأطفال السبعة الباقين سلبيين ال B19 تابعوا العلاج الستيروئيدي. (39)

حديثاً، تسبب عدوى ال B19 موه نيني حاد وفقر دم خلقي لاحق، والذي تم تصحيحه عن طريق نقل دم متعدد داخل الرحم.

على الرغم من أن هناك تقارير متعددة لعدوى ال B19 داخل الرحم والموه الجنيني إلا أن مخاطر فقر الدم الخلقي تبدو منخفضة ، ربما يفسر ذلك أن ال B19 يسبب عدوى شديدة فقط خلال الثلثين الأوليين من الحمل. (39, 40)

عادة: يسبب عدوى الفيروس B19 أحد نتيجتين : موه مميت أو طور متوسط من المرض حيث يُزال الفيروس وتتحسن أعراض المرض قبل الولادة.

لم تؤكد الدراسات ارتباط عدوى B19 خلال الحمل مع وجود تأثيرات ماسخة للأجنة، كما أن الشذوذات التكوينية المتعلقة بالعدوى هي عبارة عن حالات فردية، وتكون نسبة هذه الشذوذات أقل من 1% بين جميع النساء الحوامل المصابات بعدوى هذا الفيروس. (40,93)

3-4- العدوى لدى المضيفين ذوي الاعتلالات الدموية والمضيفين المضعفين

Infection in the immunodeficient and hematologic disorder hosts

تسبب عدوى B19 لدى مرضى الاعتلالات الدموية ومضعفي المناعة تظاهرات سريرية تختلف عن تلك المشاهدة عند الأشخاص السليمين مناعياً ودموياً، فقد ينتج عنها نوبات عدم تنسج عابرة (Transient Aplasia Crisis (TAC)، أو عدم تنسج مزمن في طلائع

الكريات الحمراء Chronic Pure red cell aplasia، كما يمكن أن تؤدي إلى حدوث ما يعرف بمتلازمة بلعمة الكريات hemophagocytic Syndrome (39).

4-3-1- نوبات انعدام التنسج العابرة Transient Aplastic Crisis

تعد نوبات عدم التنسج العابرة العلة الأولى المترافقة مع عدوى B19، حيث يكون التوقف المؤقت في تكون الدم لمدة 10-12 يوم خاصة ثابتة للعدوى الحادة بالـ B19 لدى جميع المرضى، وعلى الرغم من كونها غير ملحوظة لدى الأشخاص الطبيعيين فإنها تأتي بنواتج خطيرة على المرضى الذين يعانون من قصر عمر الكريات الحمراء أو زيادة تخريبها (64، 70)، حيث يحدث انخفاض شديد في مستويات الهيموغلوبين وقيم الهيماتوكريت والذي يؤدي بالنتيجة إلى فقر دم حاد مهدد للحياة (2).

تم تضمين الفيروس B19 كعامل مسبب لنوبات عدم تنسج شديدة عند الأطفال المصابين بالثلاسيميا في عام 1981م. حيث يعد B19 العامل العدواني الوحيد المسبب لـ TAC، ويظهر كونه المسبب لهذه النوبات لدى أكثر من 80% من المرضى المصابين بالثلاسيميا، وتبلغ نسبة حدوثها السنوي حوالي 1-5%، وتؤثر بشكل غالب على الأطفال، ونادرا ما تحصل أكثر من مرة واحدة خلال حياة المريض، ويشكل الأطفال المصابون بأدواء دموية موروثية وسليبو الموصول بالنسبة للـ B19، الفئة الأكثر عرضة لعدوى B19، والذي يمكن أن يؤدي وصول الفيروس إليهم عن طريق نقل الدم إلى توقف تكون الدم بشكل خطير، كما يمكن أن تتطور العدوى إلى حالات مهددة للحياة متضمنة اعتلال الدماغ الحاد، تضخم الطحال، وانصمام نقي العظم المميت (2, 39, 70, 95).

يسود نوبات عدم التنسج انخفاض كبير في قيم الهيموغلوبين، وتصاحبه أعراض فقر الدم (شحوب، ضعف عام، نوما) بينما تكون قلة الصفيحات، والعدلات والكريات الشاملة موجودة في عدد قليل فقط من الحالات (70).

يحدث خلال مساق النوبة ضياع شبه كامل لطلائع الكريات الحمر في نقي العظم، وتشاهد سليفة الأرومة الحمراء العملاقة ضمن العدد القليل المتبقي من هذه الطلائع، كما تتميز النوبة بقلة الشبكيات، وحدث تفرس دم شديد مما يجعل المرضى المصابين عامل عدوى كبير لمن حولهم خلال النوبة، بالإضافة إلى تدهور حالة فقر الدم الموجودة لديهم (64, 70).

يمكن أن تؤدي الحالات الشديدة إلى حدوث تنخر نقي العظم، والذي يعد مضاعفة شائعة لدى مرضى الانسداد الوعائي في الثلاثية، حيث يحرض B19 حدوث التنخر في النقي ويحفز حدوث المتلازمة الصموية.

على الرغم من كون شدة فقر الدم في هذه النوبات مميتة في بعض الأحيان، إلا أن النوبة بعد ذاتها تنتهي عادة بعد 7-10 أيام من بدء الهجمة، مصحوبة بظهور الأضداد النوعية للفيروس وتصفيته، ويتظاهر الشفاء بتكون الشبكيات في البدء ويعود إنتاج الكريات الحمراء والصفائح والعدلات في حال تأثرها-إلى طبيعته بعد 14 يوما من الدخول الأولي للفيروس، وتصل إلى قيمتها الطبيعية بعد أسبوع إلى أسبوعين.

تحدث هذه النوبات أيضا عند مرضى الاعتلالات الدموية لدى الإصابة بالفيروس، إذ يمكن لداء كثرة الكريات المكورة الموروثة hereditary spherocytosis أن يتظاهر لأول مرة كنوبة عدم تنسج محرضة بعدوى ال-B19، حيث تشير أي حالة غير مفسرة من فقر الدم اللاتنسجي مترافقة مع عدوى B19 حديثة إلى وجود حالة التكور، أو أي من حالات فقر الدم الانحلالي الموروثة hereditary hemolytic anemias، والتي قد يتم اكتشافها لأول مرة خلال العدوى بال-B19، بخلاف الداء المنجلي والثلاسيميا التي تكون مشخصة قبل الإصابة بالفيروس.⁽⁹⁶⁾

أوضحت بعض التقارير أيضا أن B19 يمكن أن يحرض اعتلال الدماغ لدى مرضى ثلاثية بيتا نتيجة التفاعلات المناعية الشاذة الموجهة ضد B19 مع المستضدات الذاتية للجذلة العصبية المركزية، كما ترتفع نسبة حدوث المضاعفات الدماغية الوعائية لدى مرضى الداء المنجلي بمعدل 58 مرة أكثر عما هو متوقع بعد مرور خمسة أسابيع على حدوث العدوى ب B19 لدى هؤلاء المرضى.⁽²⁾

2-3-4- عدم تنسج مزمن في طلائع الكريات الحمر وفقر الدم المزمن chronic pure red cell aplasia and chronic anemia

تتظاهر عدوى ال-B19 بعدم تنسج مزمن في طلائع الكريات الحمر PRCA، وحالة فقر دم مزمن لدى المرضى المثبطين مناعيا، نتيجة عدم قدرة هؤلاء المرضى على إزالة الفيروس والقضاء عليه بشكل فعال، الأمر الذي يؤدي إلى تنسج مستمر وغير مراقب لـ

B19 مفضيا إلى حالة مستديمة من تفيرس الدم بعيار منخفض، وتواجد الفيروس في طلائع الكريات الحمر بشكل دائم. (2)

تتميز PRCA بفقر دم شديد مصحوب بتناقص الشبكيات وغياب طلائع الكريات الحمر في النقي، ويمكن أن يظهر هذا الاضطراب كمتلازمة مكتسبة حادة أو مزمنة، وتظاهر كاضطراب دموي بدئي أو تحدث بشكل ثانوي لطيف واسع من الحالات مثل العدوى الفيروسية، وورم التوتة، والاضطرابات الدموية، وأدواء المناعة الذاتية، وقد أوضحت الدراسات أن أغلب حالات PRCA هي تلك المترافقة مع عدوى B19. (97)

تتضمن الحالات المؤهبة لحدوث فقر الدم المزمن المحرض بعدوى الـ B19:

- متلازمة نيزيلوف Nezelof's syndrome (عدم تنسج التوتة وفقد الخلايا التائية)
- ابيضاض الدم اللمفاوي الحاد acute lymphatic leukemia.
- الابيضاض النقوي المزمن cheonic myeloid leukemia.
- متلازمة خلل تنسج النقي myelodys plastic syndrome.
- لمفوما بيركيت Burkitt's lymphoma.(سرطان في الجهاز اللمفاوي وتحديدًا في اللمفاويات البائية)
- لمفوما أرومية lymphoblastic lymphoma.
- ورم نجمي astrocytoma.
- ورم وليم Wilm's tumor.
- عدوى الـ HIV infection HIV .
- SCID العوز المناعي المشترك الشديد.
- زرع نقي العظم BM transplantation.
- العلاج الكيماوي والستيروئيدي. (98)

تؤدي العيوب المناعية السابقة إلى استدامة العدوى وتفيرس الدم وحالة فقر الدم المزمن، والتي يمكن أن تستمر لمدة تصل إلى 10 سنوات ولكن بعيار فيروسي منخفض، على عكس حالة TAC التي يكون فيها تركيز B19 في المصل أعلى، ومرحلة التفيرس ممتدة على طول نوبة عدم التنسج التي لا تتجاوز الأسبوعين. (70)

يمكن أن تتحسن حالة فقر الدم بسرعة بعد إعطاء الغلوبولينات المناعية، أو المضادات الفيروسية في حالة مرض الايدز. (39)

3-2-4- متلازمة بلعمة الكريات المترافقة مع الفيروس virus-associated hemophagocytic syndrome

تتميز متلازمة بلعمة الكريات المترافقة مع الفيروس (VAHS) بفرط تنسج البلغميات histiocytic hyperplasia، بلعمة كريات (الحمراء والبيضاء والصفائح وطلائعها) واضحة hemophagocytic من قبل الوحيدات والبلاعم في نقي العظم، والنسج الأخرى كالكبد والعقد اللمفية، كما نلاحظ قلة كريات cytopenia المترافقة بالاعتلال الفيروسي الجهازى.

على العكس من كثرة المنسجات الخبيثة malignant histiocytosis، VAHS هو مرض محدود ذاتياً عادة، حيث يكون تكاثر المنسجات قابل للعكس. (39, 99)

بلعمة الكريات شائعة تحدث في مجال واسع من العداوات، ليس فقط الفيروسية، لكن أيضاً البكتيرية والفطرية والطفيلية. (39)

يعاني معظم المرضى المصابين بـ VAHS من وجود حالة من كبت المناعة لديهم، والتي غالباً ما تكون محرضة دوائياً، حيث يكون دور العامل الممرض المتورط كعامل مسبب أو كعدوى انتهائية متوافقة غير واضح تماماً. (39, 40)

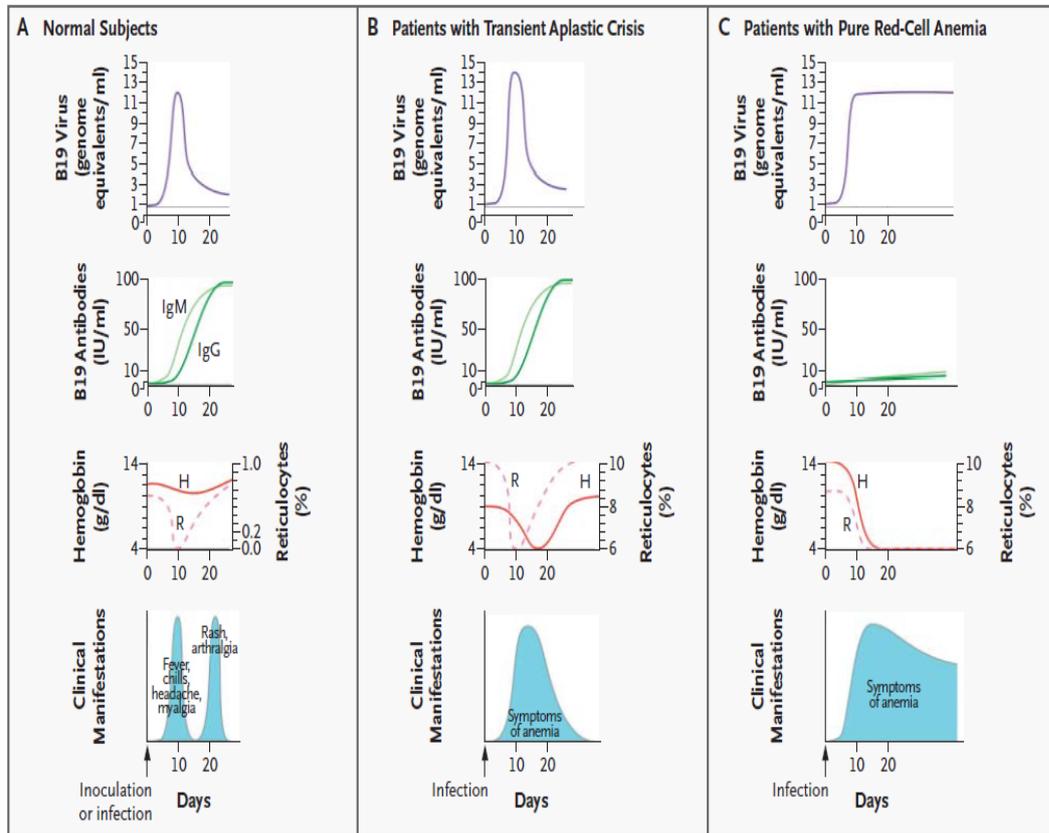
تتميز الأعراض المميزة للمتلازمة وجود حمى وتضخم في الطحال بشكل رئيسي، كما يمكن لأن يشاهد تضخم في العقد اللمفية وتضخم في الكبد، ويرقان، وطفح بقعي حطاطي. (99)

تم ملاحظة عدوى الـ B19 في حالات من متلازمة بلعمة الكريات ضمن الأطفال وبالغين. على الرغم من ذلك أكثر المرضى الذين لديهم VAHS كانوا أصحاء سابقاً والعديد من المرضى كانوا مثبطين مناعياً بواسطة العلاج بالأدوية. (39, 99)

يمكن أن تتعزز بلعمة الصفائح لدى مرضى هذه المتلازمة بزيادة الأضداد المضادة للصفائح من نمط IgG، والتي تم توثيق وجودها في VAHS المرافقة لعدوى B19. (99)

دراسات أخرى مطلوبة لتحديد فيما إذا كان ال B19 المسبب الرئيسي لل VAHS بالإضافة إلى معدل ال VAHS غير المصحوبة بعدوى ال B19. (39)

وفيما يلي شكل يلخص اختلاف التظاهرات السريرية، والاستجابة المناعية، والمعالم الدموية، واستدامة الفيروس، بين المرضى الأصحاء وذوي الاعتلالات الدموية والمثبتين مناعيا لدى إصابتهم بعدوى B19 (الشكل 11)



الشكل (11) التظاهرات السريرية والاستجابة المناعية والدموية حسب حالة المضيف

مقتبس من (Young & Brown 2004) (87)

4-4- عدوى B19 المستديمة Persistent B19 infection

تحدث عدوى B19 المستديمة عادة لدى المرضى الذين يعانون من أدواء دموية تتمثل بخلل تنسج طلائع الكريات الحمراء PRCA، كما ترافق عددا واسعا من الاضطرابات التكوينية والمناعية متضمنة عوز المناعة الخلقي والمكتسب، وحالات نقص المناعة ذات السبب العلاجي أو العدوائي، وحالات زرع الأعضاء، ويعاني هؤلاء المرضى حينئذ من فقر دم شديد ويعتمدون بالتالي على نقل الدم بشكل دائم، ويظهر فحص نقي العظم لديهم احتواءه على سليفة الأرومات السوية الضخمة، وقد ترافق مع نقص عدلات. (64, 87)

تم توثيق أو لحالة لعدوى B19 المستديمة لدى شخص مصاب بمتلازمة نيزيلوف (87). Nezelof Syndrome

بيدي الأشخاص المصابون بعدوى الـ B19 المستديمة فشلا في إظهار الاستجابة المناعية المتمثلة بالأضداد المعدلة للفيروس، ولا تظهر لديهم أعراض الداء الخامس والحمى والطفح واعتلال المفاصل المتعدد والتهاب المفاصل المتعدد، والتي يكون جميعها متواسطة بالمعدقات المناعية. (64, 87)

يتم تشخيص العدوى المستديمة عبر كشف مَجين B19 باستخدام تقنية الـ PCR أو التهجين بالتلطخ Dot Blot hybridization في المصل والدم، والذي يكون غالبا بمستويات عالية جدا (أكبر من 1210 نسخة من مَجين/مل)، أو في خلايا نقي العظم حيث أظهرت نتائج بعض الدراسات التي استخدمت تقنية الـ PCR وجود DNA الفيروس B19 في نقي العظم بنسبة 4% لدى البالغين الذين يراجعون عيادات الدم، و 10% لدى الأطفال الذين يعانون من قلة الكريات أو يتلقون معالجات كيميائية من خباثات مختلفة. (39, 64, 87)

ماتزال آلية عدوى B19 المستديمة غير واضحة، ويمكن أن يكون إعطاء الغلوبولين المناعي مفيدا، وإن لم يكن شافيا بشكل صريح لهذه العدوى، في حالات خلل تنسج طلائع الكريات الحمراء PRCA، ولكن لم تتضح حتى الآن فائدته في إزالة العدوى المستديمة المرافقة للحالات الأخرى. (64)

يمكن أن تتواجد عدوى B19 المستديمة أيضا لدى أفراد السليمين بشكل ظاهري حتى تم كشف مستويات منخفضة من DNA الفيروس في نقي العظم أو الدم أو السائل الزليلي بعد ستة أشهر أو حتى عدة سنوات من الإصابة الأولية، وتظهر لدى هذه المجموعة من الأفراد أعراض غير نوعية مثل حمى منخفضة الحرارة، أو اعتلال مفاصل، أو اعتلال عصبي، أو تعب، أو آلام عضلية، أو قلة الكريات البيضاء، كما يمكن أن يمتلك هؤلاء أضعادا معدلة موجهة ضد الفيروس، وقد تحدث العدوى المستديمة بدون أعراض أو علامات تفيرس محيطي أو فقر دم، وقدرت نسبة الأفراد الأصحاء الذين يعانون من أعراض غير نوعية متعلقة بعدوى B19 المستديمة بحوالي 9%، وذلك باستخدام تقنية PCR لكشف DNA الـ B19 في نقي العظم لديهم، حيث تبقى نسبة الأصحاء اللاعرضيين غير معروفة (88)

5- التشخيص

تفيد المقاييس المخبرية التشخيصية في تمييز الطفح المرافق للحمامى العدوائية عن غيره من حالات الطفح الناجمة عن عداوى الفيروسات الأخرى، وفي تحديد وجود أضداد ممنعة أو تعرض حديث للفيروس خلال فترة الحمل، وفي تمييز عدوى B19 ن غيرها من الأسباب الأخرى المؤدية لكبت تكون الكريات الحمر، كما تفيد في تشخيص العدوى المزمنة لدى الأشخاص الذين يعانون من فقر الدم. (64)

يعتمد تشخيص العدوى بفيروس B19 بشكل أساسي على الطرق المصلية لكشف أضداد الفيروس، والمقاييس الجزيئية لكشف الـ DNA الخاص به، فيما تكون الطرق الأخرى داعمة للتشخيص وليست كافية وحدها لإثبات وجود العدوى. (39)

5-1- كشف الأضداد: Detection of antibodies

تم إعاقة التشخيص المصلي للعدوى الـ B19 بسبب صعوبة الحصول على المستضد للمقاييس المناعية. (40)

حتى الآن لم يتم الحصول على أنظمة لمزارع خلوية مناسبة لإنتاج ضخم لأضداد الـ B19 بسبب زهد الإنتاج الفيروسي والتكلفة العالية وفي بعض الحالات بسبب اعتبارات أخلاقية وقانونية، وبالتالي المصدر الوحيد للأضداد خلال العديد من السنين عبارة عن مصول المرضى المصابين بتفيرس الدم أو من المتبرعين وبالتالي لم يكن متوافرا إلا في بعض المخابر.

في السنوات الأخيرة أدى إنتاج الأضداد الاصطناعية والمأشوبة إلى انتشار التشخيص المصلي بواسطة الاختبارات التجارية المتوافرة لقياس دقيق للأضداد B19 في جميع المخابر (100, 40)

مقاييس التقاط الـ IgM الأنزيمية المناعية Immunoenzymatic capture متوافر الآن لتحري أضداد IgM الخاصة بالـ B19 (anti-B19-IgM) لتشخيص الإصابة

الحديثة حيث تظهر بعد 7-10 أيام من حدوث تقيس الدم (أي بعد 10-12 يوم من حدوث العدوى)، كما تم أيضا تطوير المقاييس المناعية الأنزيمية لتحري (anti-B19 IgG) هذه الأضداد تظهر بعد عدة أيام من ظهور أضداد IgM (بعد حوالي ثلاثة أسابيع من العدوى) وتستمر مدى الحياة. (41) يعتبر تحري أضداد IgA (anti-B 19 IgA) مشيرا إلى إصابة حديثة لكنه أقل حساسية ونوعية من تحري أضداد IgM (anti-B19 IgM)

تم ملاحظة اختلاف الاستجابة المناعية ضد المحددات المستضدية الخطية أو الفراغية linear or conformational epitopes. حيث تظهر استجابة IgM تجاه المحددات المستضدية الفراغية لـ VP1 و VP2 والخطية لـ VP1 في نفس الوقت، في حين تختفي الاستجابة تجاه المحددات المستضدية الخطية لـ VP2 مباشرة، لذلك فإن استخدام المستضدات الخطية لـ VP1 و VP2 لوحدها في التشخيص قد تطي نتائج سلبية كاذبة. (2)

تظهر أضداد IgM الموجهة ضد بروتين NS1 بعد ستة أسابيع أو أكثر من بدء المرض المرتبط بعدوى B19، الأمر الذي يفسر قلة انتشار هذه الأضداد عند الأشخاص الذين يعانون من دوى حادة، ويمكن أن يقتصر استخدام هذه الأضداد على استبعاد وجود العدوى الحديثة جدا لدى الأشخاص ي تكون نتائج فحوصهم المصلية الأخرى غير واضحة. (39, 40)

تظهر أضداد IgG الموجهة ضد VP2 و VP1 بعد 2-3 أسابيع من حدوث العدوى، وتبقى مدى الحياة ويكون لها وظيفة ممنعة، ولا تفيد في تشخيص العدوى الحادة وإنما تستخدم في دراسات الانتشار لأنها تشير فقط إلى وجود تعرض سابق للفيروس. (2, 64)

تكون أضداد IgG الموجهة ضد NS1 مترافقة مع وجود العدوى المزمنة، لذا تفيد في تشخيص عدوى ال B19 المستديمة. حيث أن استمرار مرحلة تقيس الدم يمكن أن تؤدي إلى إعداء الخلايا غير السموحة والتي لاتسمح للفيروس للتكاثر ضمنها (non permissive)، ويتم التعبير عن NS1 أكثر من VP2 و VP1، والذي تؤدي تأثيراته السامة للخلايا والمعرضة لاستماتتها إلى حل هذه الخلايا وتحرر هذا البروتين، مما يحرض تشكل الأضداد النوعية الموجهة ضده. (39)

يمكن أن يكون تحديد الألفة للأضداد من نمط IgG وقياس تحت أنواع IgG subclass بالإضافة إلى تحري ال IgM مفيدا للتحقق من وقت العدوى (تقدير زمن العدوى الأولي). (2)

تستخدم المقاييس المصلية مستضدات فيروسية مختلفة، تم استخدام ببتيد اصطناعي دائري للنهاية الأمينية للبروتين VP2 كأول مستضد في المقاييس التجارية.

حاليا يتم إنتاج بروتينات القفيصة (VP1 و VP2) لاستخدامها في المقاييس المناعية في خطوط خلوية مأخوذة من الحشرات تحتوي على الفيروسات العسوية baculovirus المؤشبة، وذلك لقدرة هذه الفيروسات على تحفيز إحداث انطواء البروتينات بعد الترجمة مباشرة، والتي تكون ضرورية لإنتاج الشكل الفراغي والمنحل من بروتينات القفيصة، وذلك لتلافي النتائج السلبية الكاذبة لأن البروتينات الناتجة تحفظ بمحدداتها المستضدية الفراغية الأمر الذي يؤدي إلى زيادة حساسية المقاييس المناعية. (101, 2)

يتم كشف الأضداد باستخدام المقاييس المناعية الأنزيمية (EIA) immunoenzymatic assays والتي تستخدم بروتين القفيصة VP2 المؤشبة، تملك حساسية 89.1% ونوعية 99.4%. (102) كما يمكن كشفها بمقاييس المناعية الإشعاعية Radioimmunoassay (RIA) واختبار التآلق المناعي immunofluorescence assays (IFA). ومقاييس الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA) والتي تملك حساسية 97-100% ونوعية 79-99% (40)

تعتبر لطاخة ويسترن Western blot assays مؤكدة في حال الشك بالمقاييس المناعية الأنزيمية immunoenzymatic assays. (39)

2-5- كشف DNA الفيروس DNA Detection of B19 virus

من الواضح عدم وثوقية الفحوص المصلية عند الأشخاص المثبتين مناعيا، لذا لا يستخدم تحري أضداد B19 كمعلم تشخيصي، في هذه الحالة الكشف عن الفيروس أو المنتجات الفيروسية (DNA- البروتينات- المستضدات) هي الهدف التشخيصي الرئيسي.

يكون كشف DNA الفيروس هاما وحاسما في تشخيص عدوى B19 التي يتواجد في فقر الدم اللاتنسجي العابر TAC (قبل ظهور الاستجابة الضدية)، وفي تشخيص العدوى المزمنة لدى المثبتين مناعيا. (39) يتم الكشف عن DNA الفيروس بالتهجين المباشر او بتقنية الـ PCR. (40) تم استخدام طرق اللطاخات والتهجين Dot-blot hybridization assays مع مسابير DNA و RNA

تم استبدال مسابير مشعة (مثل الفوسفور P^{32}) محل المسابير الموسومة بالبيوتين أو الديجوكسينين biotinylated or digoxigenin labeled probes بدون أن يؤثر ذلك على الحساسية حيث يتحرى ما بين 0.1-1 بيكوغرام من DNA الفيروس أي ما يقارب 10^4 - 10^5 جزيئة فيروسية. (39, 40, 64)

استخدمت تقنية In situ hybridization وما زالت في تحري DNA الفيروس الـ B19 في عينات نقي العظم والنسج الجنينية. (102)

حاليا أثبت تفاعل البوليميراز التسلسلي PCR بمختلف أنواعه وبتسلسلات الهدف المختلفة للتضخيم نفسه في مجال أبحاث الفيروس الصغير B19، الوبائيات والتشخيص.

بسبب حساسيته العالية (1-100 نسخة مجين) يقترح استخدام الـ PCR في تشخيص العدوى المستديمة حيث تكون حمولة الفيروس virus load قليلة. كما يستخدم الـ PCR في التطبيقات الكمية والنصف كمية لمراقبة المعالجة الوريدية بالغلوبولينات المناعية intravenous immunoglobulin therapy (الطريقة العلاجية الوحيدة المستخدمة لمعالجة عدوى الـ B19). كما يمكن أن يكون الـ PCR مفيدا جدا في مسح دم المتبرعين في plasma pools والمشتقات الدموية لمنع انتقال الفيروس عن طريق الدم. (103)

3-5- الفحوص النسيجية Histology Test:

تكون التأثيرات الخلوية لـ B19، مثل وجود أرومات الكريات الحمراء العملاقة وغيرها من تأثيرات وصفية لعدوى هذا الفيروس، ولكنها لا تكفي وحدها للأغراض التشخيصية بل تقترح وجود العدوى، ويمكن استخدامها في دراسة التطورات المرضية الخلوية. (39, 72)

4-5- كشف الفيروس Detection of B19 virus:

تم استخدام العديد من الطرق في التشخيص المباشر للفيروس في المصل، العينة المختارة للكشف عن فيروس ال B19، لكن يمكن أن تؤخذ عينة من نقي العظم والنسج الجنينية، أو عينات أخرى اعتماداً على الأعراض السريرية.

تم استخدام المجهر الإلكتروني المناعي EM بشكل واسع لتحري مستضدات الفيروس إلى أن تم ظهور طرق مقايسة لتحري DNA الفيروس ذات نوعية وحساسية عالية أكثر من الطرق المعروفة سابقاً. (2)

لا يتم زرع B19 على المستنبتات الخلوية لكونه يتطلب شروطاً خاصة وغير اعتيادية، حيث يتطلب وجود طلائع الكريات الحمراء الموجودة في نقي العظم أو كبد الجنين. (103)

6- المعالجة والوقاية

1-6- المعالجة TREATMENT:

في معظم حالات الحمى العنقودية لا نحتاج إلى معالجة ، بينما يحتاج بعض المرضى الذين يعانون من ألم مفصلي محرض بالB19 إلى معالجة عرضية (أدوية مضادة للالتهاب) (39, 40)

في حالات نوبة انعدام التنسج العابر TAC المسبب بال B19 يتم الوصول إلى تراكيز مقبولة للخضاب عن طريق نقل كريات حمراء. (39, 87)

يجب المراقبة الأسبوعية بالفحص بواسطة الأمواج فوق الصوتية عند حدوث عدوى B19 عند نساء الحوامل سلبية المصل. يكون البزل الحبلي ونقل الدم داخل الرحم فعالاً، حيث أن تسريب الكريات الحمراء المكثفة ضمن وريد الحبل السري له دور في خفض معدل الوفيات في حال الموه الجنيني. (40)

تتضمن المعالجة الفعالة في حال عدوى B19 المستديمة (PRCA) تسريب الغلوبولينات المناعية (0,4 غ كغ من وزن الجسم يومياً لمدة 5 أيام) أو (1 غ كغ يومياً لمدة 2-3 أيام) والتي تعتبر كمصدر جيد للأضداد المعدلة مأخوذة من أشخاص بالغين تعرضوا للفيروس. هذه المعالجة في الغالب تحسينية وشفافية وتؤدي لزيادة ملحوظة بتعداد الشبكيات وزيادة متناسبة في الخضاب. (87)

تم اقتراح توليد الأضداد وحيدة النسيلة البشرية المعدلة والموجهة ضد بروتينات ال B19 كمعالجة مناعية للأشخاص الذين لديهم عدوى بشكل مزمن والنساء الحوامل اللواتي لديهن عدوى حادة. (39)

2-6- الوقاية من عدوى ال B19 prevention of B19 infection

على الرغم من عدم وجود دليل كاف على فحوص شاملة منصوح بها، ينصح بالفحوص شاملة خاصة بالوحدات المفردة. حيث تم اقتراح تطبيق فحص لمكونات الدم للكشف عن

وجود B19 المعطاة للأطفال المصابين بخبثات، كما يقترح فحص نقي العظم عند المتبرعين قبل الزرع. كما أنه ضروري لمعالجة الأشخاص المثبتين مناعيا سلبيا الموصول بالنسبة لـ B19 الذين لديهم قلة كريات غير متوقعة. (39)

يجب عزل واستبعاد الطفل المصاب بالحماى العدوائية من المدرسة او مراكز العناية بالأطفال. (39, 87)

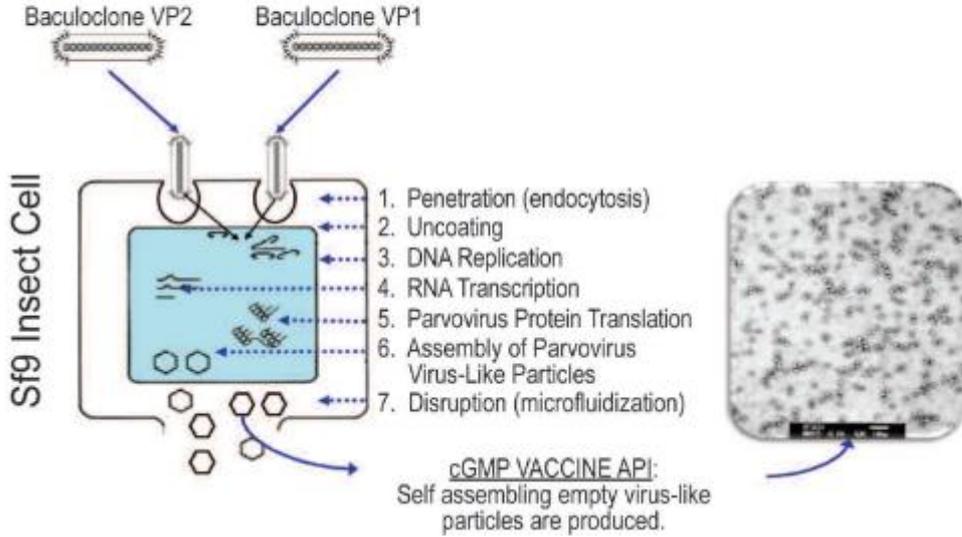
ماتزال الدراسات قائمة لتطوير اللقاح، مكون من بروتينات القفيصة (VP1 و VP2) بغياب الـ DNA الفيروسي وبالتالي تنتج جسيمات شبيهة بلفيروس *viruse-like particlers* وتكون مشابهة فيزيائيا ومستضديا ومناعيا للفيروسات الطبيعية. (49)

أوضح الباحثون أن المحددات المستضدية الخطية التي تملك القدرة المعدلة تتجمع في المنطقة الفريدة لبروتين القفيصة VP1، ومناطق الوصل بين البروتينين VP1 و VP2، لهذا فإن اللقاح المؤشب والذي يمثل قفيصات الفيروس الفارغة يتألف من كلا البروتينين VP1 و VP2 بنسبة 25% (قد تصل إلى 40%) و 75% على الترتيب. (103, 104)

يتم التعبير عن كل بروتين بشكل مستقل في الفيروسية العسوية baculovirus، ثم تنقل إلى خلايا الحشرات بواسطة النواقل المؤشبة، حيث تتجمع VP1 و VP2 ضمن هذه الخلايا بشكل تلقائي لتشكل في النهاية الجسيمات VLPs الفارغة. (104) (الشكل 11)

cGMP VACCINE MANUFACTURE:

Insect cell is infected by both baculoclones simultaneously.



الشكل 12. آلية إنتاج الجسيمات الشبيهة بالفيروس الفارغة VLP.

مقتبس من (Shelly & Van Cleave, 2009) (105)

تم اختبار هذه القفيصات لدى أشخاص متطوعين بالغين أصحاء سلبية المصول بالنسبة للفيروس B19 من أجل إظهار استجابة الأضداد المعدلة، وذلك عن طريق حقنهم عضليا بجرعة اللقاح في الأشهر (6،1،0)، فأظهرت النتائج قدرة اللقاح العالية على توليد المناعة حيث أن جميع الأشخاص الخاضعين للدراسة طوروا الأضداد المعدلة للفيروس والتي دامت لمدة 6 أشهر على الأقل وذلك بعد أخذ الجرعة الثالثة من اللقاح، إضافة لكونه آمنا وجيد التحمل من قبل هؤلاء المتطوعين. (103, 104)

7- مسوغات البحث

تعتبر التلاسيمية من الأمراض الوراثية الأكثر انتشارا في سوريا، بالإضافة إلى أن هناك خطورة عالية لتعرض هؤلاء المرضى للفيروس الصغير B19، حيث يسبب B19 عند هؤلاء المرضى فقر دم لاتنسجي وتأثيرات دموية شديدة أخرى، حيث قد تكون مثل هذه التظاهرات عند مرضى التلاسيمية بيتا خطيرة لدرجة قد تسبب الموت في حال عدم المعالجة. (2)

يعتبر عداوى الفيروس الصغير B19 شائعة حيث يسبب عدم تنسج كريات حمر عابر TRCA خاصة لدى مرضى الاعتلالات الدموية كمرضى بيتا تلاسيمية، الذين يعالجون بنقل كريات حمر للتقليل من مخاطر فقر دم شديد. الذي قد يؤدي في حال عدم المعالجة إلى حالة مرضية مزمنة أو الموت. (2, 64)

تم اكتشاف الفيروس الصغير كمسبب للـ TRCA في عام 1981، وما تزال هناك دراسات لتطوير لقاح و استراتيجيات وقاية من الفيروس B19 للحد من نسبة انتشار ومعدل الوفيات بهذا الفيروس. لا يوجد معلومات دقيقة عن نسبة انتشار الفيروس الصغير ومضاعفاته لدى مرضى التلاسيمية بيتا إذ تعتبر مهمة للوقاية من تأثيرات الفيروس ضمن هؤلاء المرضى. (64, 70)

على الرغم من دراسة إمرضية بعض التظاهرات السريرية لعداوى الـ B19 مثل نوبة عدم التنسج العابر TAC، إلا أنه لا يوجد معلومات واضحة عن تأثيرات الـ B19 عند ذوي الاعتلالات الدموية كالعداوى المسندمية وتقلبات الهيموغلوبين والانتشار المتزايد للفيروس الصغير B19 في مراكز المعالجة الدموية. (2, 96)

تم إجراء العديد من الدراسات حول انتشار و عداوى الفيروس B19 في الدول الغربية، و عدة دراسات في بعض الدول العربية، أما في سورية فلا توجد حتى الآن أي دراسة حول انتشار هذا الفيروس عند مرضى التلاسيمية، لذلك فقد توجهنا لهذه الدراسة من أجل تحديد نسبة انتشار الإصابة به لدى مجموعة من مرضى التلاسيمية، ولتحديد العلاقة بين الإصابة

بالفيروس والفئة العمرية، والجنس، والحالة السريرية، مستخدمين طريقة ELISA لتحري الأضداد النوعية للفيروس.

يصبح هؤلاء المرضى عادة معرضين للإصابة الفيروسية بشكل كبير و زيادة مخاطر انتقال العدوى الفيروسية. المراقبة المكثفة لمثل هذه الفئات المعرضة لمخاطر عالية لهذا المرض الفيروسي له أهمية كبيرة للمراقبة الوبائية والوقاية من المرض. (96, 97) لهذا، الكشف المبكر عن عداوى الفيروس الصغير B19 والفهم الجيد لدوره الإمبراضي مهم جدا للإقلال من خطورة مرض التلاسيميا في سوريا.

8- أهداف البحث

هدفت دراستنا إلى كل مما يلي:

☒ تحديد نسبة انتشار العدوى بالفيروس الصغير B19 لدى مجموعة من مرضى
الثلاسيمية في مدينة دمشق.

☒ تحديد علاقة الارتباط بين العدوى بالفيروس الصغير B19 والعمر عند مرضى
الثلاسيمية بيتا.

☒ تحديد علاقة الارتباط بين العدوى بالفيروس الصغير B19 والجنس عند مرضى
الثلاسيمية بيتا.

الدراسة العملية

1- تصميم الدراسة study design:

دراسة استباقية مقطعية Prospective Sectional Study.

2- مجموعة الدراسة Study population:

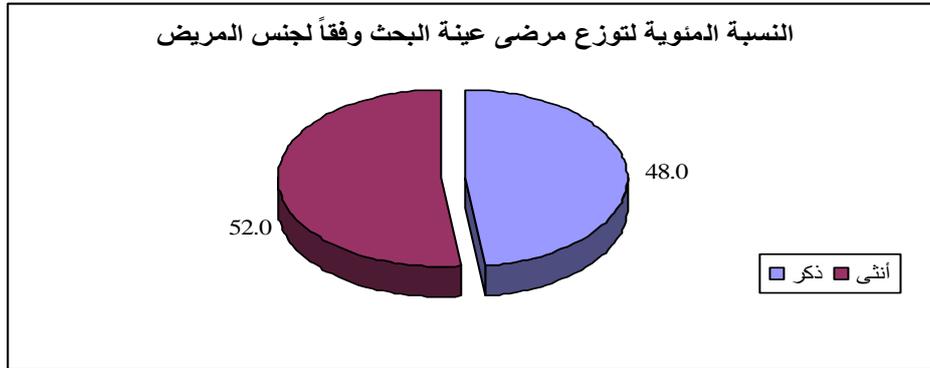
تألفت عينة البحث من 275 مريضاً ومريضةً تم اختيارهم عشوائياً من مراجعي مركز العيادات الشاملة التخصصية، قسم التلاسيمية ، في مدينة دمشق وكانوا جميعاً مصابين بالتلاسيمية الكبرى وتراوحت أعمارهم بين 2 و 51 عاماً، وكان توزع المرضى في عينة البحث وفقاً للجنس والعمر كما يلي:

1-2 - توزع مرضى عينة البحث وفقاً لجنس المريض:

شملت دراستنا 275 مريضاً منهم 132 ذكراً (48%) و 143 أنثى (52%)

جدول (3) يبين توزع مرضى عينة البحث وفقاً لجنس المريض.

النسبة المئوية	عدد المرضى	جنس المريض
48.0	132	ذكر
52.0	143	أنثى
100	275	المجموع



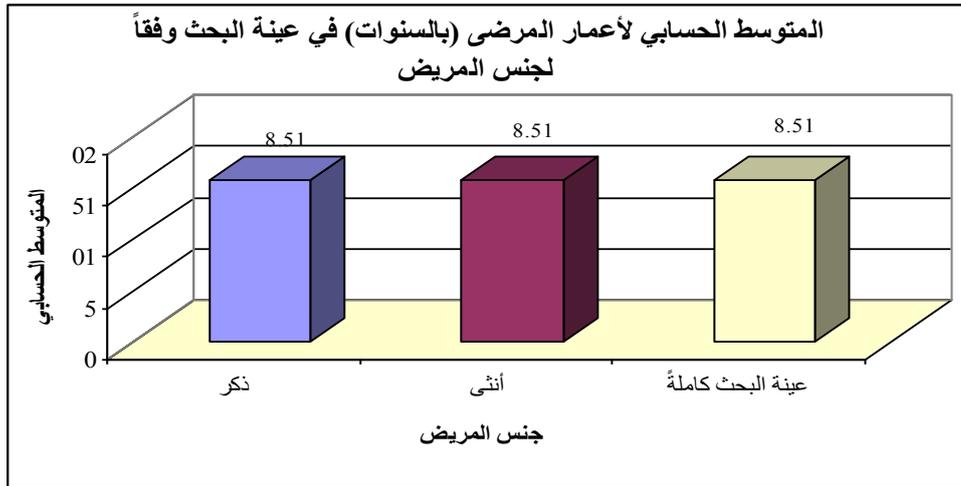
الشكل (13) يمثل النسبة المئوية لتوزع مرضى عينة البحث وفقاً لجنس المريض.

2-2- المتوسط الحسابي لأعمار المرضى في عينة البحث وفقاً لجنس المريض:

تراوحت أعمار المرضى ما بين 2 – 51 سنة وكان المتوسط الحسابي للأعمار 15 سنة. (132 ذكر) أصغرهم 2 سنة وأكبرهم 42 سنة، (143 أنثى) أصغرهن 4 سنوات وأكبرهن 51 سنة.

جدول (4) يبين الحد الأدنى والحد الأعلى والمتوسط الحسابي والانحراف المعياري لأعمار المرضى (بالسنوات) في عينة البحث وفقاً لجنس المريض.

المتغير المدروس	جنس المريض	عدد المرضى	الحد الأدنى	الحد الأعلى	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري
عمر المريض (بالسنوات)	ذكر	132	2	42	15.8	7.9
	أنثى	143	4	51	15.8	8.4
	مرضى عينة البحث كاملة	275	2	51	15.8	8.2



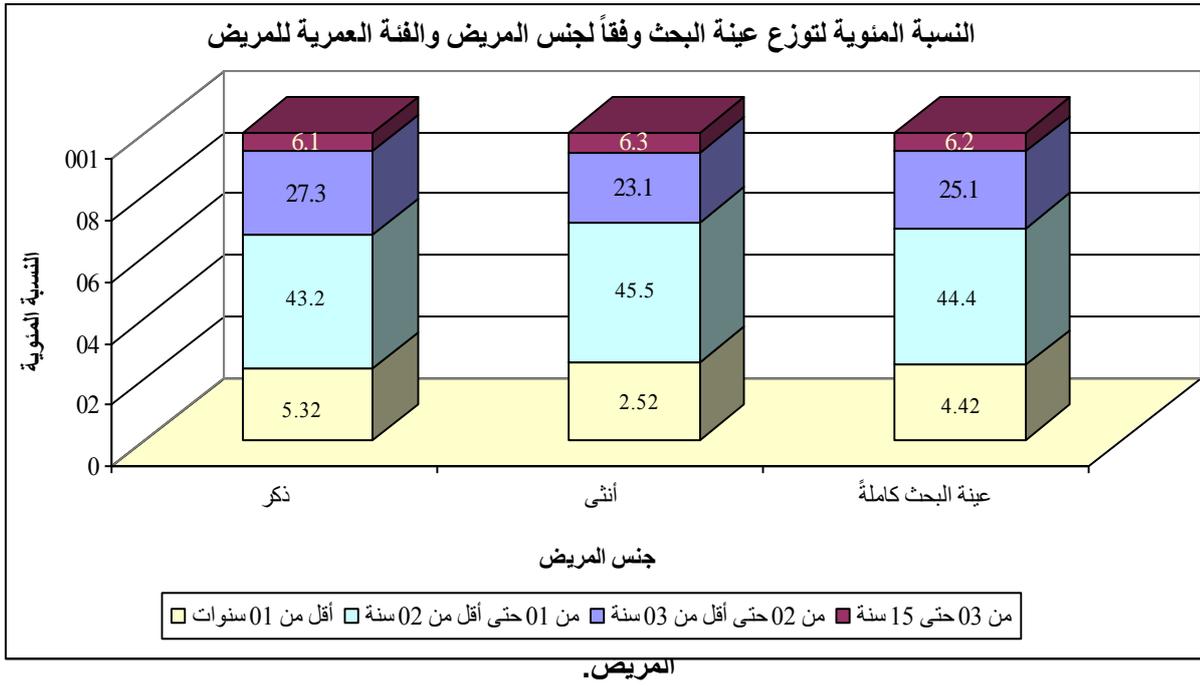
الشكل (14) يمثل المتوسط الحسابي لأعمار المرضى (بالسنوات) في عينة البحث وفقاً لجنس المريض

2-3- توزيع مرضى عينة البحث وفقاً للفئة العمرية للمريض و جنس المريض:

قسمت مجموعة الدراسة إلى أربع فئات عمرية: أقل من 10 سنوات وشملت 67 مريضا (24.4%)، من 10 حتى أقل من 20 سنة شملت 122 مريضا (44.4%) ، من 20 حتى أقل من 30 سنة شملت 69 مريضا (25.1%)، من 30 وحتى 51 سنة شملت 17 مريضا (6.2%)

جدول (5) يبين توزع مرضى عينة البحث وفقاً للفئة العمرية للمريض وجنس المريض.

النسبة المئوية			عدد المرضى			الفئة العمرية للمريض
عينة البحث كاملة	أنثى	ذكر	عينة البحث كاملة	أنثى	ذكر	
24.4	25.2	23.5	67	36	31	أقل من 10 سنة
44.4	45.5	43.2	122	65	57	من 10 حتى أقل من 20 سنة
25.1	23.1	27.3	69	33	36	من 20 حتى أقل من 30 سنة
6.2	6.3	6.1	17	9	8	من 30 حتى 51 سنة
100	100	100	275	143	132	المجموع



جرت عملية الاعتيان في الفترة الواقعة ما بين كانون الثاني ونيسان لعام 2015 من مركز
الثلاسيمية التابع لمركز العيادات التخصصية الشاملة في مدينة دمشق.

سُحبت عينة دم (3 مل في أنبوب جاف لا يحتوي أي مضاد تخثر) من كل مريض، ثم جرى
تنبيذ الأنابيب بسرعة 3000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق، وُزِع المصل الناتج على
ثلاثة أنابيب إيبندروف Eppendorf وتم حفظها بدرجة حرارة (-80 C).

3- الموافقة المستنيرة Informed consent:

جمعت العينات من المرضى بعد الحصول على موافقتهم أو موافقة ذويهم بالنسبة للأطفال، وذلك بتوقيعهم على استمارة الموافقة المستنيرة التي تم إطلاعهم على محتواها (الشكل 16)

4- بطاقة الاستبيان:

جمعت معلومات من كل مريض في استمارة خاصة (الشكل 17)

الموافقة المستنيرة (Informed Consent)

A. اسم الباحث: الصيدلانية رشا العمّارين

B. عنوان البحث: انتشار الفيروس الصغير B19 لدى مجموعة من مرضى التلاسيميا الكبرى في مدينة دمشق.

C. الهدف من البحث: معرفة نسبة انتشار الفيروس B19 وأصداده لدى مرضى التلاسيميا الكبرى.

D. المطلوب منك في هذا البحث: سيتم سحب عينة دم من المريض ثم معايرة المعالم التي يتضمنها البحث

E. المخاطر المحتمل حدوثها: لا يترافق هذا البحث مع أي مخاطر أو إزعاجات للمتطوع ولكن يمكن حدوث ازرقاق بسيط في اليد بعد السحب الوريدي يزول في مدة أقصاها يومان.

F. الفوائد المتوقعة من البحث: التوجه إلى إجراءات تشخيصية ووقائية.

G. شروط المشاركة في البحث:

- ❖ لك كامل الحرية في الموافقة أو عدم الموافقة على المشاركة في البحث .
- ❖ في حالة الموافقة فإنه سيتم إجراء ما يلي لك:
 - استخلاص بعض البيانات من ملفك الطبي عن طريق الطبيب المعالج، و ملئ الاستمارات بالمعلومات المتعلقة بالبحث
 - في حال حدوث أي طارئ أو لمعرفة أية معلومات جديدة متعلقة بالبحث يمكن التواصل مع الباحثة 0991852568
- ❖ في حالة عدم الموافقة أو الانسحاب أثناء إجراء البحث لن يترتب على ذلك أية أضرار ولن يؤثر ذلك على حقك في تلقي الرعاية الصحية المقررة لك.
- ❖ يرجى وضع علامة بالمكان المناسب وكتابة الاسم و التوقيع

أوافق على المشاركة بالبحث

■ اسم المريض (أو المسؤول عنه قانونياً):

■ العمر :

أقر بأنني قرأت / قرئت علي هذه المعلومات الواردة أعلاه، وشرحت بلغة مفهومة وفهمتها، وقد أتيت لي أن أسأل جميع الأسئلة المتعلقة بموضوع الدراسة، وتلقيت إجابات شافية، وعليه اتطوع بكامل إرادتي للمشاركة في هذا البحث الذي تجريه الصيدلانية رشا العمارين في مخابر جامعة دمشق وأوافق على أخذ عينة دم وريدي مني لأغراض البحث.

دمشق في .../.../..... توقيع المشارك :

يملأ من قبل الباحث:

أقر بأنني شرحت للمشارك /الأهله هذه المعلومات الواردة أعلاه بلغة مفهومة، وقد رحبت بتلقي أي أسئلة تتعلق بموضوع الدراسة، وقدمت إجابات شافية عن جميع الأسئلة المطروحة بهذا الخصوص.

دمشق في .../.../..... توقيع الباحث :

(الشكل 16) استمارة الموافقة المستنيرة التي تم توقيعها من قبل المشاركين في البحث

استمارة البحث

الرقم () تاريخ أخذ العينة: / /

الاسم الثلاثي: العمر: الجنس:

العنوان:

رقم الهاتف:

عدد الأخوة:

هل لوحظ على لمريض وجود أحد الأعراض التالية وقت أخذ العينة:

حرارة طفح حكة آلام مفصليّة اضطرابات دموية

هل تعرض لأحد تلك الأعراض سابقا متى كان ذلك

هل يتناول أدوية تسبب في ظهور مثل هذه الأعراض

هل أفاد الطبيب بوجود حالة مرضية وقت أخذ العينة أو في وقت سابق

نتائج التحاليل إن وجدت

هل عانى أحد الأخوة من أحد الأعراض السابقة منذ فترة قريبة

ملاحظات الطبيب

ملاحظات أخرى

(الشكل 17) استمارة البحث المتعلقة بالمشاركين بالبحث

5- المواد والطرق:

Materials and methods

جرى تحري أؤداد الفروس الصغفر B19 من نمط IgM ضمن المصل بواسطفة المقافسة المناعفة المرتبطة بالأنزفم (ELISA) فف مآبفر جامعة دمشق لنقل الدم.

1-5- المواد Materials

الأدوات المستخدمة:

- ❖ أنابفب جافة عقفمة مآلاة لجمع الدم سعة 5 مل.
- ❖ أنابفب فببندروف عقفمة سعة 200، 500 مكل.
- ❖ ممصات مفكروففة Micropipettes بقفاسات مآلفة من 10 – 1000 مكل.
- ❖ ممص مآعدد الأفنففة Multichannel pipette بقفاس 100 مكل.
- ❖ رؤوس ممصات Tips قفاس 10، 100، 1000 مكل.
- ❖ ببشر، مفجرة، ورق مآروطف بأآام مآعدة وعقفمة، لأآضفر مآالفب الغسل فف الـ ELISA.
- ❖ ماء مقطر من أآل آفاعل الـ ELISA.

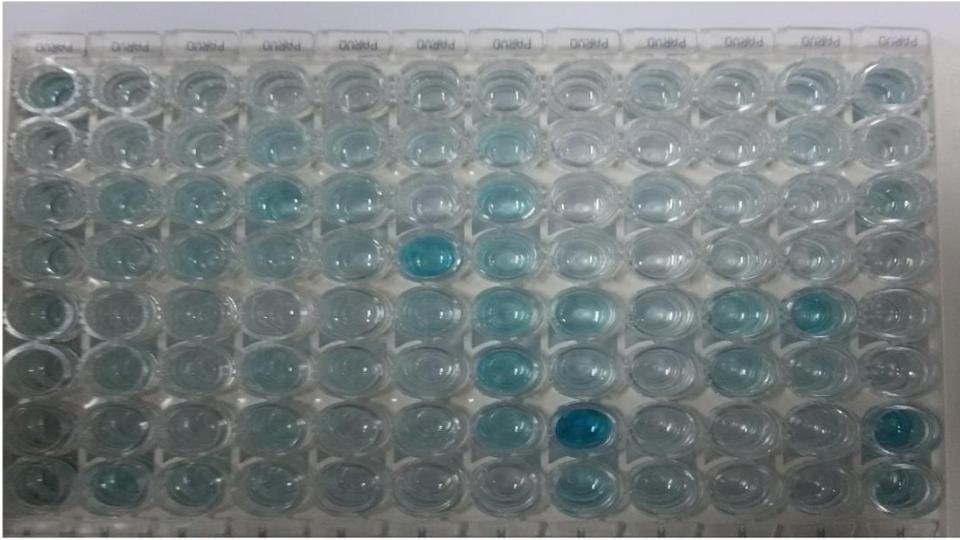
الأآهزة المستخدمة:

- ❖ مآفلة (MSE SANYO HARRIER 15/8, UK) Centrifuge
- ❖ مآمدة (-08) (Angelantiontoni, Italy)
- ❖ آاضنة Incubator بدرجة آرارة (37°C) (Abbott, USA)
- ❖ آهاز غسل آلف لآطف الآبار Automatic equipment for rinsing wells فف آفاعل الـ ELISA (TECAN, Austria)

- ❖ قارئ ELISA مزود بمرشحة تنتقي الموجة 450nm (TECAN, Austria)
- ❖ رجاجة أنابيب من أجل المزج Vortex (JULABO GMBH, Germany)
- ❖ مثقلة أنابيب إيبيندروف Microcentrifuge (Eppendorf, Germany)

الكواشف المستخدمة:

- ❖ عتيدة Parvovirus B19 IgM-ELISA Kit للتحري عن B19V IgM من شركة EUROIMMUN الألمانية.



الشكل (18) عتيدة parvovirus B19 IgM-ELISA Kit يظهر فيها اللون الدال على إيجابية التفاعل

2-5- الطرق Methods:

2-5-1- تحري أضداد الفيروس الصغير B19:

جرت المقايسة باستخدام عتيدة Parvovirus B19 IgM-ELISA حسب تعليمات الشركة الصانعة.

1- تحضير العينة:

تمدد بنسبة (1: 101) بواسطة الوقاء sample buffer، حيث نضيف 10 ميكروليتر من المصل إلى 1 مل من الوقاء، وتُرج جيداً، ثم نحضها لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة. هذه الخطوة لإزالة أضداد IgG بواسطة الامتزاز المناعي

immunoabsorption لتجنب الإيجابية أو السلبية الكاذبة، حيث يحوي الوقاء على أضداد الضد البشري لإزالة RF-IgG

2- حضن العينة sample incubation:

نضيف 100 ميكروليتر من العياري calibrator، الشاهد الإيجابي positive control، الشاهد السلبي negative control، العينات الممددة diluted samples إلى آبار الـ microplate، بعدها نقوم بتغطية الـ microplate بواسطة الغطاء الحامي protective foil، ونقوم بالحضن بالدرجة (37°C) لمدة 60 دقيقة.

3- الغسل washing:

نقوم بنزع الـ protective foil، ونفرغ الحجرات ونقوم بالغسل لثلاث مرات متتالية، كل مرة بواسطة 300 ميكروليتر من محلول الغسل ونترك محلول الغسل في الحجرات لمدة 30-60 ثانية في كل دورة غسل، ثم نفرغ الحجرات ونربت على الـ microplate وهو مقلوب على ورق نشاف لإزالة المتبقي من محلول الغسل حتى لانحصل على تركيز منخفض كاذب.

4- حضن بمحلول الـ conjugate conjugate incubation:

نضيف 100 ميكروليتر من محلول enzyme conjugate (أضداد IgM بشرية موسومة بالبيريوكسيداز) إلى كل حجيرة من حجيرات الـ microplate. ونحضن لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة (18°C وحتى +25°C)

5- الغسل Washing:

نقوم بإفراغ الحجيرات ومن ثم نقوم بالغسل كما في المرة السابقة.

6- الحضن مع الركازة substrate incubation:

نقوم بإضافة 100 ميكروليتر من محلول chromogen/substrate إلى كل الحجيرات ثم نحضن لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة الغرفة (18°C وحتى +25°C) بعيدا عن ضوء الشمس.

7- إيقاف التفاعل stopping the reaction:

نقوم بإضافة 100 ميكروليتر من محلول التوقف إلى كل الحجيرات بنفس ترتيب وبنفس سرعة إضافة محلول الركازة.

8- المقايسة measurement:

مقايسة ضوئية لشدة اللون بطول موجة 450 نانومتر وطول موجة مرجعي reference wavelength ما بين 620-650 نانومتر . يجب أن يتم القياس خلال نصف ساعة من إضافة محلول التوقف. تقوم برج ال microplate قبل القياس بلطف لضمان تجانس المحلول.

9- حساب النتائج calculation of result:

تحدد قيمة امتصاص العياري القيمة الحدية الأعلى للمجال المرجعي reference range للأشخاص غير المصابين (cut-off) حسب EUROIMMUN. تعتبر القيم أعلى من ال cut-off إيجابية، وتعتبر القيم الأدنى من ال cut-off سلبية.

النتائج الكمية: تُحسب النتائج الكمية بتقسيم قيمة امتصاص العياري أو عينات المرضى على قيمة امتصاص العياري. نستخدم الصيغة التالية لحساب القيم:

Ratio = قيمة امتصاص العياري أو امتصاص العينة / قيمة امتصاص العياري

حيث

النتيجة السلبية Ratio < 0.8

المنطقة الرمادية Ratio ≥ 0.8 to < 1.1

النتيجة الإيجابية Ratio ≥ 1.1

بالنسبة لنتائج المنطقة الرمادية نقوم بإعادتها بعد أسبوع من أخذ العينة الأولى ونراقب ارتفاع تركيز الأضداد في العينة الجديدة المأخوذة بفاصل أسبوع من أخذ العينة الأولى.

3-5- التحاليل الإحصائية Statistical analysis:

☒ استخدم برنامجا Excel 2010 و SPSS 13 من أجل الدراسة الإحصائية.

أولاً - اختبار كاي مربع Chi Square Test:

هو عبارة عن اختبار من الاختبارات المسماة الاختبارات اللابارامترية -Non parametric Tests (أي الاختبارات التي لا نستطيع حساب بارامتر أو معلم لها مثل المتوسط الحسابي والانحراف المعياري – فمثلاً لا نستطيع حساب متوسط حسابي لوجود الفيروس الصغير B19 لأنه في هذه الحالة ليس له معنى) واختبار كاي مربع أنواع عديدة، منها اختبار يستخدم لمعرفة إذا كان هناك استقلالية ما بين متغيرين مدروسين، وهو يعتمد على حساب نسبة تكرار حدوث ظاهرة ما في مجموعة أولى مقارنة بتكرارات حدوث الظاهرة نفسها في مجموعة أو مجموعات أخرى (مثل دراسة تكرار وجود الفيروس الصغير بين مجموعتي الذكور والإناث)، ويظهر في الجدول الخاص بهذا الاختبار قيمة كاي مربع وقيمة مقدره لمستوى الدلالة (وقيمة مستوى الدلالة تسمى في برنامج Excel وفي بعض المراجع الإحصائية بـ P-Value وقد تسمى في كتب ومراجع أخرى بـ Significance أو قد يُشار إليها اختصاراً بـ Sig. أو P.)، وقيمة مستوى الدلالة تُستخدم للإقرار فيما إذا كان المتغيران مستقلان أو مرتبطين، فعند مستوى الثقة 95% نقارن قيمة مستوى الدلالة مع القيمة 0.05، فإذا كانت أصغر منها أو تساويها فإننا نقرر أن المتغيرين مرتبطين ببعضهما ونقرر وجود الفروق الدالة بين المجموعات المدروسة في التكرارات. إن اختبار كاي مربع يسمح لنا بمعرفة استقلال أو ارتباط متغيرين ببعضهما ولكنه لا يعطينا أية معلومات عن اتجاه وشدة هذه العلاقة لذلك نلجأ لجداول التكرارات والنسب المئوية لتقرير طبيعة الفروقات الحاصلة إن وجدت.

ثانياً – بالنسبة لاختبار تحليل التباين أحادي الجانب **One-Way ANOVA**:

يستخدم اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA للمقارنة في التباين بين أكثر من مجموعتين من القيم (البارامترية – أي تلك القيم التي نستطيع حساب متوسط حسابي له معنى لها مثل تركيز الخضاب في البحث الحالي) عادةً، ونلاحظ في الجدول المرافقة وجود قسمين من الجدول لهذا النوع من الاختبار :

1- **الإحصاءات الوصفية** : وتتضمن وصفاً للمتغيرات الإحصائية المحسوبة والمستخدمه في الجدول التالي كالمتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري والحد الأدنى والحد الأعلى.

2- **نتائج اختبار تحليل التباين** : ونجد في هذا النوع من الجدول (قيمة F المحسوبة) وهي القيمة التي من المفترض مقارنتها مع قيمة نظرية توجد في الجدول الإحصائية

ووفق درجات الحرية المذكورة في الجدول نفسه (إذا أردنا استخدام الطريقة اليدوية في اتخاذ القرار الإحصائي)، ونجد أيضاً عموداً يحتوي على مجموع المربعات بين المجموعات وداخل المجموعات وفي المجموع، وكل الأعمدة السابقة بالإضافة إلى قيمة F المحسوبة تستخدم لحساب قيمة مستوى الدلالة (التي عادة ما تسمى في الكتب الإحصائية أو في برنامج Excel بـ P-value، وقد تسمى في الكتب والبرامج الأخرى بالدلالة أو Significance، وهي عبارة عن احتمال تساوي المتوسطات). والحقل الذي يحتوي على قيمة مستوى الدلالة هو الحقل الأساس في إقرار وجود فروق دالة إحصائية أم لا، فعندما نعلم مستوى الثقة 95% (وهذا هو المستوى الذي عادة ما يأخذ به الإحصائيون والباحثون وهو المعتمد في البحث الحالي)، فإننا ننظر في قيمة مستوى الدلالة هذا، فإذا كان يساوي أو أقل من 0.05 فإننا نقرر عدم تحقق الفرضية (فرضية العدم، أي عدم وجود فروق دالة بين المتوسطات)، ونقرر وجود الفروق الإحصائية بين اثنتين على الأقل من المجموعات المدروسة على الأقل، والعكس بالعكس.

☒ بالنسبة لطريقة Bonferroni لإجراء المقارنات الثنائية بين المتوسطات:

وهي عبارة عن طريقة للمقارنة الثنائية بين المجموعات المدروسة (أي للمقارنة بين كل زوج من متوسطات المتغير المدروس على حدة)، وتعتبر اختباراً بعدياً Post-Hoc Test يلي اختبار تحليل التباين ANOVA في حال تم رفض فرضية العدم المختبرة فيه لاكتشاف أي من المتوسطات يختلف اختلافاً جوهرياً عن المتوسطات الأخرى. وهو يعتمد من حيث المبدأ على اختبار T ستيودنت المعروف ولكن مع إدخال عامل تصحيح (وعامل التصحيح يساوي عدد المقارنات الثنائية المُجرأة) نظراً لأن المقارنة تتم بين أكثر من مجموعتين اثنتين في الاختبار الذي يسبقه (أي اختبار تحليل التباين ANOVA).

6- النتائج Results

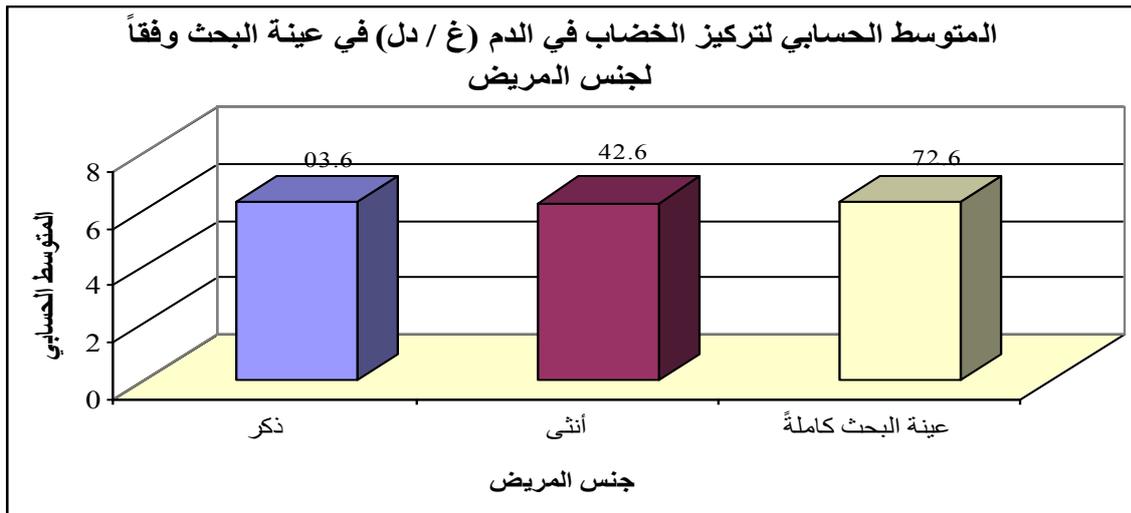
6-1- المتوسط الحسابي لتركيز الخضاب في الدم في عينة البحث وفقاً لجنس

المريض:

بلغ المتوسط الحسابي لخضاب المرضى 6.27 غ/دل، أدناه 4.5 غ/دل، وأعلاه 8.9 غ/دل

جدول (6) يبين الحد الأدنى والحد الأعلى والمتوسط الحسابي والانحراف المعياري لتركيز الخضاب في الدم (غ / دل) في عينة البحث وفقاً لجنس المريض.

المتغير المدروس	جنس المريض	عدد المرضى	الحد الأدنى	الحد الأعلى	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري
تركيز الخضاب في الدم (غ / دل)	ذكر	132	5	8	6.30	0.79
	أنثى	143	4.5	8.9	6.24	0.78
	مرضى عينة البحث كاملة	275	4.5	8.9	6.27	0.78



الشكل (19) يمثل المتوسط الحسابي لتركيز الخضاب في الدم (غ / دل) في عينة البحث وفقاً لجنس المريض.

2-6- دراسة انتشار الفيروس الصغير B19 والجنس:

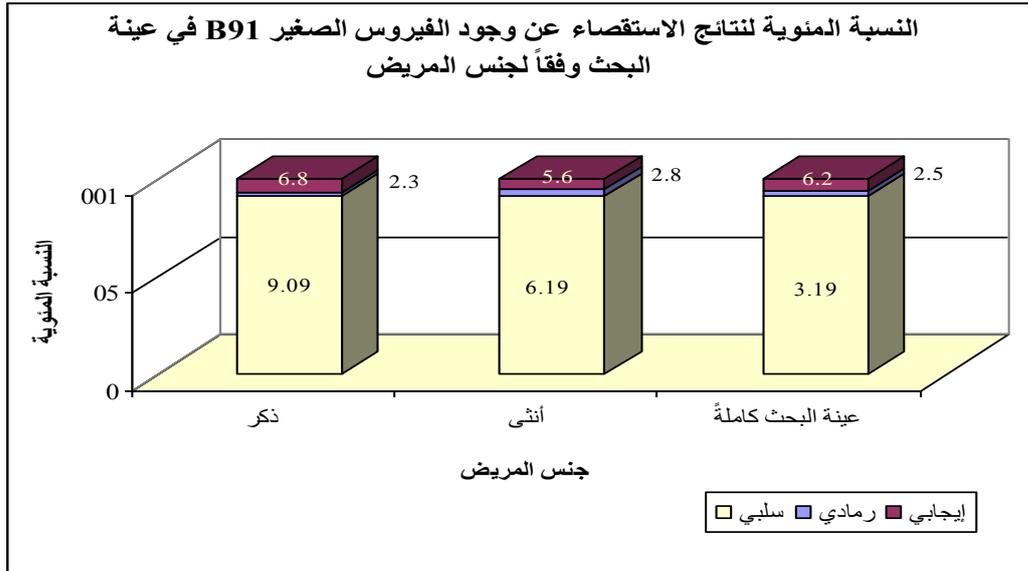
1-2-6- نتائج الاستقصاء عن الفيروس الصغير B19 لدى مرضى عينة

البحث وفقاً لجنس المريض:

- ❖ أظهرت مقايضة B19V IgM وجود أضعاد الفيروس B19 من نمط IgM في مصول 17 مريض من أصل 275 (6.2%)، مما يشير إلى تعرض حديث للفيروس لدى هؤلاء المرضى.
- ❖ أظهرت المقايضة وقوع 7 نتائج ضمن المنطقة الرمادية، الأمر الذي يستلزم إعادة المقايضة بعد أسبوعين على عينة جديدة من هؤلاء المرضى لتأكيد وجود الأضعاد ولكن تعذر الحصول على عينات.
- ❖ بلغت نسبة إيجابية وجود الأضعاد IgM في مصول المرضى الإناث 5.6% (143/8). وعند المرضى الذكور 6.8% (132/9).

جدول (1) يبين نتائج الاستقصاء عن أضعاد IgM للفيروس الصغير B19 لدى مرضى عينة البحث وفقاً لجنس المريض.

النسبة المئوية				عدد المرضى				جنس المريض
المجموع	إيجابي	رمادي	سلبي	المجموع	إيجابي	رمادي	سلبي	
100	6.8	2.3	90.9	132	9	3	120	ذكر
100	5.6	2.8	91.6	143	8	4	131	أنثى
100	6.2	2.5	91.3	275	17	7	251	مرضى عينة البحث كاملة



الشكل (20) يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن أعداد IgM للفيروس الصغير B19 لدى مرضى عينة البحث وفقاً لجنس المريض.

6-2-2- دراسة تأثير جنس المريض في وجود الفيروس الصغير B19 في

عينة البحث:

- تم إجراء اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات وجود أضداد IgM الفيروس الصغير B19 بين مجموعة الذكور ومجموعة الإناث في عينة البحث كما يلي:

- نتائج اختبار كاي مربع:

جدول (2) يبين نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات وجود أضداد IgM الفيروس الصغير B19 بين مجموعة الذكور ومجموعة الإناث في عينة البحث.

المتغيران المدروسان = وجود الفيروس الصغير B19 × جنس المريض				
عدد المرضى	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة المقدر	دلالة الفروق
275	0.244	2	0.885	لا توجد فروق دالة

يُلاحظ في الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أكبر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات وجود أضداد IgM للفيروس الصغير B19 بين مجموعة الذكور ومجموعة الإناث، ولا تأثير لجنس المريض في وجود الفيروس الصغير B19 في عينة البحث.

3-6- دراسة العلاقة بين عمر المريض ووجود الفيروس الصغير B19 في

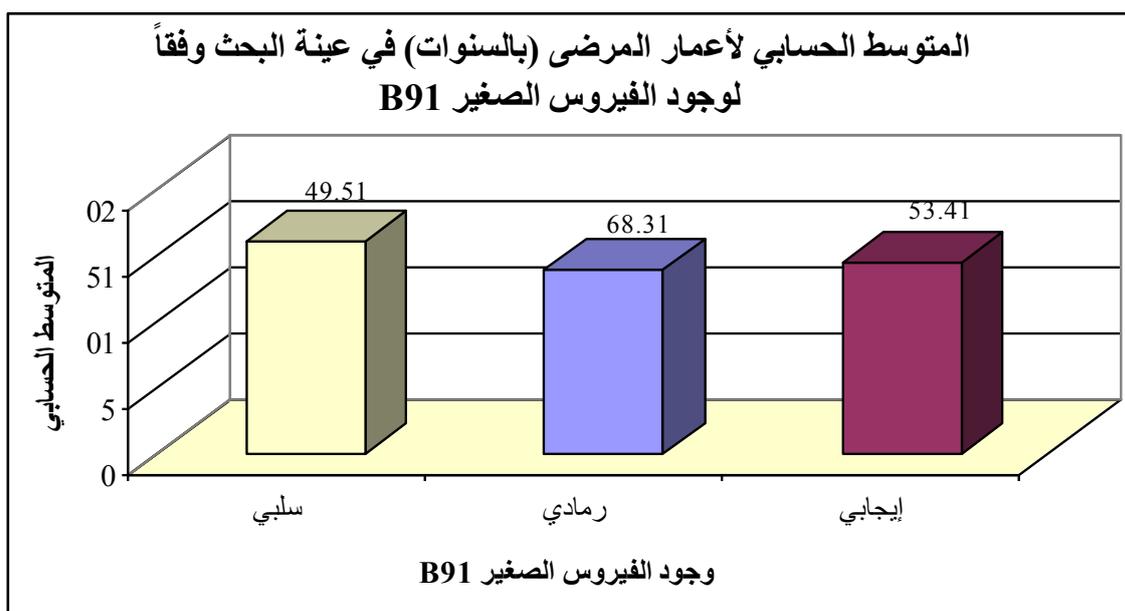
عينة البحث:

- تم إجراء اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA لدراسة دلالة الفروق في متوسط عمر المريض (بالسنوات) بين مجموعات وجود أضداد IgM الفيروس الصغير B19 (سلبية، رمادي، إيجابي) في عينة البحث كما يلي:

1-3-6- إحصاءات وصفية:

جدول (3) يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري والحد الأدنى والحد الأعلى لعمر المريض (بالسنوات) في عينة البحث وفقاً لوجود الفيروس الصغير B19.

الحد الأعلى	الحد الأدنى	الخطأ المعياري	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	عدد المرضى	وجود الفيروس الصغير B19	المتغير المدروس
51	4	0.52	8.23	15.94	251	سلبية	عمر المريض (بالسنوات)
20	7	2.08	5.49	13.86	7	رمادي	
29	2	2.01	8.28	14.35	17	إيجابي	



الشكل (21) يمثل المتوسط الحسابي لعمر المريض (بالسنوات) في عينة البحث وفقاً لوجود الفيروس الصغير B19.

2-3-6- نتائج اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA:

جدول (4) يبين نتائج اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA لدراسة دلالة الفروق في متوسط عمر المريض (بالسنوات) بين مجموعات وجود الفيروس الصغير B19 (سلبى، رمادى، إيجابى) في عينة البحث.

المتغير المدروس	قيمة f المحسوبة +	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
عمر المريض (بالسنوات)	0.502	0.606	لا توجد فروق دالة

يُلاحظ في الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أكبر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط عمر المريض

(بالسنوات) بين مجموعات ووجود أضداد IgM الفيروس الصغير B19 (سلبى، رمادى،
إيجابى) فى عينة البحث.

4-6- دراسة انتشار الفيروس الصغير B19 والفئات العمرية

4-6-1 نتائج الاستقصاء عن وجود الفيروس الصغير B19 لدى مرضى

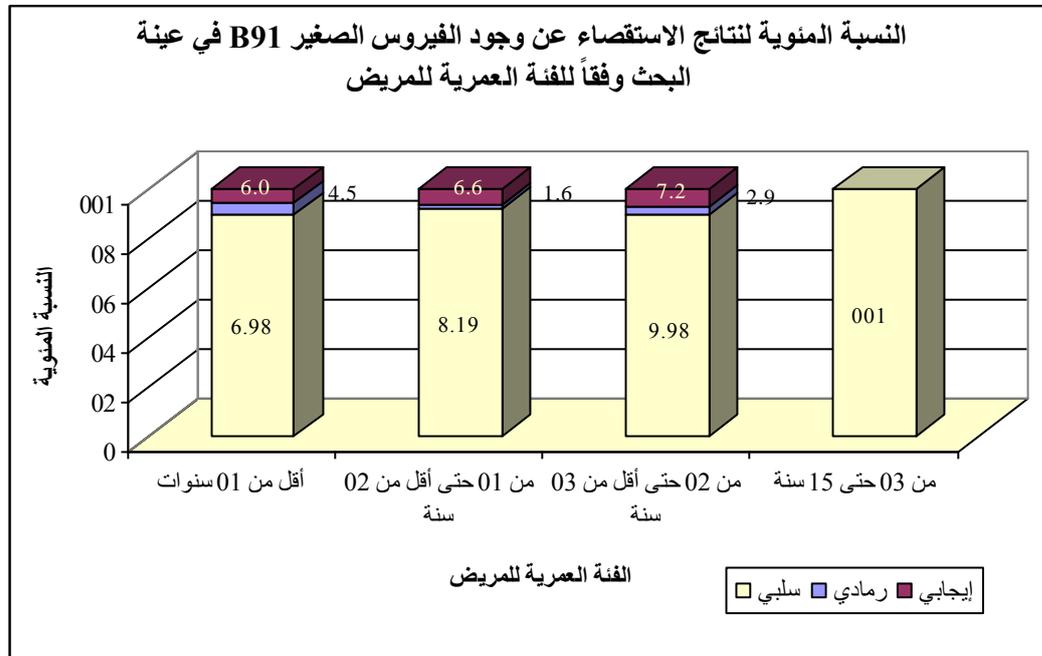
عينة البحث وفقاً للفئة العمرية للمريض:

بلغت نسبة العينات الإيجابية الأضداد IgM لكل فئة عمرية 6%، 6.6%، 7.2%، 0%.

للفئات العمرية الأربعة (> 10، > 20، > 30، 30-51) على التوالي.

جدول (5) يبين نتائج الاستقصاء عن وجود أضداد IgM الفيروس الصغير B19 لدى مرضى عينة البحث وفقاً للفئة العمرية للمريض.

النسبة المئوية				عدد المرضى				الفئة العمرية للمريض
المجموع	إيجابي	رمادي	سلبي	المجموع	إيجابي	رمادي	سلبي	
100	6.0	4.5	89.6	67	4	3	60	أقل من 10 سنة
100	6.6	1.6	91.8	122	8	2	112	من 10 حتى أقل من 20 سنة
100	7.2	2.9	89.9	69	5	2	62	من 20 حتى أقل من 30 سنة
100	0	0	100	17	0	0	17	من 30 حتى 51 سنة



الشكل (22) يمثل النسبة المئوية لنتائج الاستقصاء عن وجود أضداد IgM الفيروس الصغير B19 لدى مرضى عينة البحث وفقاً للفئة العمرية للمريض.

6-4-2-دراسة تأثير الفئة العمرية للمريض في تكرارات وجود الفيروس

الصغير B19 في عينة البحث:

❖ تم إجراء اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات وجود الفيروس

الصغير B19 بين مجموعات الفئة العمرية للمريض (أقل من 10 سنة، من 10

حتى أقل من 20 سنة، من 20 حتى أقل من 30 سنة، من 30 حتى 51 سنة) في

عينة البحث كما يلي:

❖ نتائج اختبار كاي مربع:

جدول (6) يبين نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات وجود الفيروس الصغير

B19 بين مجموعات الفئة العمرية للمريض في عينة البحث.

المتغيران المدروسان = وجود الفيروس الصغير B19 × الفئة العمرية للمريض				
عدد المرضى	قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة المقدر	دلالة الفروق
275	3.235	6	0.779	لا توجد فروق دالة

يُلاحظ في الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أكبر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند

مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات وجود الفيروس

الصغير B19 بين مجموعات الفئة العمرية للمريض ولا تأثير للفئة العمرية للمريض في

وجود الفيروس الصغير B19 في عينة البحث.

5-6-دراسة العلاقة بين قيم تركيز الخضاب في الدم ووجود الفيروس الصغير B19 في عينة البحث:

❖ تم إجراء اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA لدراسة دلالة الفروق في

متوسط تركيز الخضاب في الدم (غ / دل) بين مجموعات وجود الفيروس الصغير

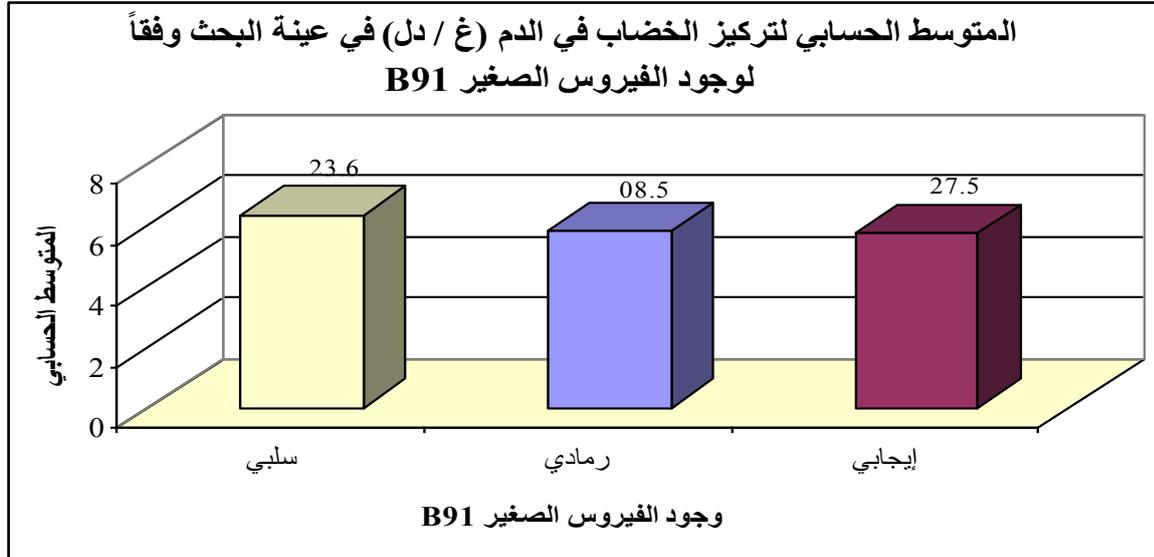
B19 (سلبى، رمادى، إيجابى) في عينة البحث كما يلي:

❖ إحصاءات وصفية:

جدول (7) يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري والحد الأدنى والحد الأعلى

لتركيز الخضاب في الدم (غ / دل) في عينة البحث وفقاً لوجود الفيروس الصغير B19.

الحد الأعلى	الحد الأدنى	الخطأ المعياري	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	عدد المرضى	وجود الفيروس الصغير B19	المتغير المدروس
8.9	4.5	0.05	0.78	6.32	251	سلبى	تركيز الخضاب في الدم (غ / دل)
6.3	5	0.16	0.44	5.80	7	رمادى	
7.9	5	0.18	0.73	5.72	17	إيجابى	



الشكل (23) يمثل المتوسط الحسابي لتركيز الخضاب في الدم (غ / دل) في عينة البحث وفقاً لوجود الفيروس الصغير B19.

❖ نتائج اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA:

جدول (8) يبين نتائج اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA لدراسة دلالة الفروق في متوسط تركيز الخضاب في الدم (غ / دل) بين مجموعات وجود الفيروس الصغير B19 (سلبى، رمادى، إيجابى) في عينة البحث.

المتغير المدروس	قيمة f المحسوبة	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
تركيز الخضاب في الدم (غ / دل)	6.139	0.002	<u>توجد فروق دالة</u>

يُلاحظ في الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط تركيز الخضاب في الدم (غ / دل) بين اثنتين على الأقل من مجموعات وجود الفيروس الصغير B19 (سلبى، رمادى، إيجابى) في عينة البحث، ولمعرفة أي المجموعات تختلف جوهرياً عن الأخرى في متوسط تركيز الخضاب في الدم (غ / دل) تم إجراء المقارنة الثنائية بطريقة Bonferroni بين مجموعات وجود الفيروس الصغير B19 (سلبى، رمادى، إيجابى) في عينة البحث كما يلي:

❖ نتائج المقارنة الثنائية بطريقة Bonferroni:

جدول (9) يبين نتائج المقارنة الثنائية بطريقة Bonferroni لدراسة دلالة الفروق الثنائية في متوسط تركيز الخضاب في الدم (غ / دل) بين مجموعات وجود الفيروس الصغير B19 (سلبى، رمادى، إيجابى) في عينة البحث.

المتغير المدروس	المجموعة (I)	المجموعة (J)	الفرق بين المتوسطين	الخطأ المعياري للفرق	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
تركيز الخضاب في الدم (غ / دل)	سلبى	رمادى	0.52	0.29	0.243	لا توجد فروق دالة
		إيجابى	0.60	0.19	0.006	<u>توجد فروق دالة</u>
	رمادى	إيجابى	0.08	0.35	1.000	لا توجد فروق دالة

يُلاحظ في الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05 عند المقارنة في متوسط تركيز الخضاب في الدم (غ / دل) بين مجموعة المرضى الذين كان تقييم وجود

الفيروس الصغير B19 لديهم سلبياً ومجموعة المرضى الذين كان تقييم وجود الفيروس الصغير B19 إيجابياً، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط تركيز الخضاب في الدم (غ / دل) بين مجموعة المرضى الذين كان تقييم وجود الفيروس الصغير B19 لديهم سلبياً ومجموعة المرضى الذين كان تقييم وجود الفيروس الصغير B19 إيجابياً في عينة البحث، وبما أن الإشارة الجبرية للفرق بين المتوسطين موجبة نستنتج أن قيم تركيز الخضاب في الدم (غ / دل) في مجموعة المرضى الذين كان تقييم وجود الفيروس الصغير B19 لديهم سلبياً كانت أكبر منها في مجموعة المرضى الذين كان تقييم وجود الفيروس الصغير B19 إيجابياً في عينة البحث.

أما بالنسبة لباقي المقارنات الثنائية المدروسة فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أكبر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط تركيز الخضاب في الدم (غ / دل) بين مجموعة المرضى الذين كان تقييم وجود الفيروس الصغير B19 لديهم رمادياً وكل من مجموعة المرضى الذين كان تقييم وجود الفيروس الصغير B19 لديهم سلبياً ومجموعة المرضى الذين كان تقييم وجود الفيروس الصغير B19 إيجابياً على حدة في عينة البحث.

7- المناقشة: Discussion

1-7- انتشار عدوى الفيروس الصغير B19 عند مرضى التلاسيميا:

بلغت نسبة إيجابية وجود أضداد IgM في مصول مرضى التلاسيميا من خلال هذه الدراسة 6.2%، وهي قريبة من دراسة (Siritantikorn S et al, 2007) (106) التي أجريت في تايلاند والتي قدرت ب 4%، وقريبة من دراسة (Zaki et al, 2006) (107) والتي بلغت 5% و أقل بقليل من دراسة (Tercan US et al, 2007) (108) التي أجريت في البرازيل والتي بلغت 12.6% ودراسة (Traish et al, 2013) (109) في العراق حيث بلغت 13%، ودراسة (Nikoozad R et al, 2015) (110) في إيران وبلغت 20% في حين أنها أخفض بكثير من دراسة (Kishore J et al, 2011) (111) التي أجريت في الهند والتي بلغت 41.1% ودراسة (Azzazy E et al, 2013) (112) التي أجريت في مصر والتي بلغت 24%. وربما يعود ذلك إلى اختلاف المنطقة الجغرافية.

جدول (16) نسب انتشار الفيروس الصغير B19 لدى مرضى الاعتلالات الدموية في عدد من الدول

الدراسة	مكان إجراء الدراسة	مجموعة الدراسة	عدد العينات	نسبة انتشار IgM	نسبة انتشار IgG	انتشار ال DNA
Nikoozad R et al, 2015 ⁽¹¹⁰⁾	إيران	مرضى تلاسيميا	30			20%
Siritantikorn S et al, 2007 ⁽¹⁰⁶⁾	تايلاند	تلاسيميا	60	4%	38%	13%
Kishore J et al, 2011 ⁽¹¹¹⁾	الهند	تلاسيميا	90	41.1%	81%	0%

	%45	%5	48	اعتلالات دموية	مصر	Zaki M <i>et al</i> ,2006 (108)
	%35.9		144	SCA	البرازيل	Slavov SN <i>et al</i> , 2012 ⁽¹¹⁴⁾
	%65.9		39	ثلاسيمية		
%14	%52	%24	25	اعتلالات دموية	مصر	Azzazy E <i>et al</i> , 2013 ⁽¹¹²⁾
%2.9	%39.6	%2.9	138	SCD	السعودية	Obeid E. <i>et al</i> , 2011 (113)
	%30	%11.1	633	SCD	USA	Kim Smith W <i>et al</i> , (115) 2012
	%61.3	%5.3	150	SCD	نيجيريا	Iheanacho MC <i>et al</i> ,2014 (116)
	%61.6				نيجيريا	Bukar AA <i>et al</i> , (117) 2013
	%56.1	%0	46	SCD	تونس	Regaya F <i>et al</i> ,2007 (118)
	%39.1	%8.7	46	ثلاسيمية		
	%61.6	%17.8	154	SCD	نيجيريا	Iwalokun BA <i>et al</i> , (119) 2013
	30%	%13	46	ثلاسيمية	العراق	Traish AH <i>et al</i> , (109) 2013

2-7- العلاقة بين العدوى بالفيروس الصغير B19 والعمر:

لم تظهر الدراسة وجود فارق يعتد به إحصائياً في توزع الفيروس الصغير B19 بين الفئات العمرية، مما يوضح عدم وجود علاقة تربط ما بين العدوى الحديثة والعمر، وتتفق هذه النتيجة مع دراسة (Obeid E. et al, 2011)⁽¹¹³⁾ التي أجريت في السعودية، و دراسة (Traish A et al, 2013)⁽¹⁰⁹⁾ التي أجريت في العراق ومع دراسة (Kishore J et al, 2011)⁽¹¹¹⁾ في الهند. واختلفت مع دراسة (Slavov SN et al, 2012)⁽¹¹⁴⁾ في البرازيل التي بينت ازدياد معدل IgG مع العمر.

3-7- العلاقة بين العدوى بالفيروس الصغير B19 والجنس:

أظهرت الدراسة أن الفارق في توزع انتشار الفيروس B19 بين الذكور والإناث غير معتد به إحصائياً، وبالتالي لا توجد علاقة تربط ما بين العدوى والجنس، وقد توافقت هذه النتيجة مع دراسة (Traish A et al, 2013)⁽¹⁰⁹⁾ التي أجريت في العراق ومع دراسة (Kishore J et al, 2011)⁽¹¹¹⁾ في الهند ودراسة (Siritantikorn S et al, 2007)⁽¹⁰⁶⁾ في تايلاند .

8- الاستنتاجات Conclusions

- ☒ مرضى التلاسيميا الكبرى من أكثر الفئات احتياجا لنقل الدم وبالتالي هم الأكثر عرضة للعداوات المنقولة عن طريق نقل الدم، بما فيها الفيروس الصغير B19، حيث يحتاج مرضى التلاسيميا من 1 – 3 وحدات دم كل 3 – 4 أسابيع، بما يعادل 12-51 وحدة سنويا، فإذا كان عمر المريض حوالي 8 سنوات مثلا يكون وسطي وحدات الدم التي تلقاها (96 – 408) وحدة، وبالتالي احتمالية الإصابة بالأمراض المنقولة عن طريق الدم تتعلق باحتمالية التعرض للوحدات المحتوية على الفيروس وبالتالي بالمتبرعين بالدم والذين لديهم تفيرس بالدم عند التبرع.
- ☒ بلغت نسبة انتشار أضداد IgM للفيروس الصغير بين مرضى التلاسيميا في دمشق 6.2%.
- ☒ عدم وجود علاقة ارتباط بين العدوى بالفيروس الصغير B19 والعمر لدى مجموعة الدراسة.
- ☒ عدم وجود علاقة تربط ما بين العدوى بالفيروس الصغير B19 والجنس لدى مجموعة الدراسة.

9- التوصيات والمقترحات

Recommendation and Suggestions

تقترح دراستنا مايلي:

- ☒ فحص وحدات الدم المخصصة لمرضى التلاسيميا بشكل روتيني لتحري وجود الفيروس الصغير B19 للتقليل من خطورة انتقاله للمتلقين للدم بما فيهم مرضى التلاسيميا الكبرى.
- ☒ تطوير طرق علاجية ووقائية تهدف للسيطرة على عداوى الفيروس الصغير عند مرضى التلاسيميا الكبرى.
- ☒ البحث عن إيجابية وجود الفيروس الصغير B19 عند مرضى التلاسيميا وتقديم المعالجة المثالية
- ☒ إجراء دراسات إحصائية أكبر لانتشار الفيروس الصغير B19 عند مرضى الاعتلالات الدموية سواء باستخدام الطرق المصلية أو الجزيئية مثل تقنية ال PCR للتركيز على الأهمية المرضية والوبائية لعدوى الفيروس الصغير B19 لديهم.
- ☒ إجراء دراسات إحصائية لانتشار الفيروس الصغير B19 عند مرضى الاعتلالات الدموية وربطها بمعالم دموية أخرى كالشبكيات لعدم القدرة في الحصول عليها في هذا البحث

الملخص

الخلفية: يعدي الفيروس الصغير B19 الأطفال والبالغين، مسببا الحمى العدوائية عند الأطفال، والتهاب المفاصل عند البالغين، ونوبات انعدام التنسج في النقي أو فقر الدم المزمن لدى المرضى الذين يعانون من الاضطرابات الدموية أو المناعية، بالإضافة إلى موه الجنين أو وفاته عند إصابة المرأة الحامل بهذا الفيروس

هدف الدراسة: تهدف الدراسة إلى تقدير معدل انتشار الفيروس الصغير B 19 لدى مرضى الالتهاسيميا الكبرى في مدينة دمشق في سورية، وتحديد علاقة الارتباط بين العدوى والعمر والجنس.

المواد والطرق: جمعت العينات بشكل عشوائي من 275 مريضا (132 ذكور ، 143 إناث)، تتراوح أعمارهم بين 2- 51 عاما، وقد تم الحصول عليها من مركز العيادات الشاملة التخصصي في مدينة دمشق، قسم الالتهاسيميا في الفترة الواقعة ما بين في الفترة الواقعة ما بين كانون الثاني ونيسان لعام 2015.

تم الكشف عن الأضداد النوعية للفيروس الصغير B19 من نمط IgM في مصول المرضى بواسطة عتيدة تجارية للمقايسة المناعية غير المباشرة للأنزيم المرتبط.

النتائج: بلغت نسبة انتشار أضداد IgM بين مرضى الالتهاسيميا في دمشق 6.2% (17 من أصل 275). لم يكن الفارق في انتشار عدوى الفيروس B19 بين الجنسين ذا دلالة إحصائية حيث كانت (P-value = 0.885). ولم يكن هناك فارق ذو دلالة إحصائية بين عدوى الفيروس B19 والعمر حيث كانت (P-value = 0.606).

الاستنتاجات: أظهرت هذه الدراسة تأثير الاختلافات الجغرافية على انتقال الفيروس الصغير B19. كما أثبتت عدم وجود علاقة تربط ما بين العدوى والجنس والعمر.

العنوان المختصر: انتشار الفيروس الصغير B19 لدى مجموعة من مرضى الالتهاسيميا الكبرى في مدينة دمشق.

الكلمات المفتاحية: الفيروس الصغير B19، انتشار، الالتهاسيميا الكبرى، دمشق، أضداد IgM

Abstract

Background: Parvovirus B19 infects children and adults, causing erythema infectiosum in children, polyarthritits in adults, aplastic crisis and chronic anemia in patients with hematological or immunological disorders, and fetal hydrops or fetal death.

Objective: To estimate the prevalence of B19 in Damascus patients with thalassemia major, and to detect the relationship between IgM seropositivity and age, sex.

Material and methods: Specimens were obtained randomly from 275 (132 males and 143 females) aged from 2 to 51 years. Specimens were collected from Damascus Center of Thalassemia between January 2015 and April 2015. B19V specific IgM antibodies were detected by commercial indirect enzyme-linked immunosorbent assay in sera.

Results: Of the 275 patients 17 (6.2%) had B19V specific IgM antibodies in their serum. The difference in the prevalence of IgM of B19 between genders was not statistically significant (P-value = 0.885). The difference in the prevalence of IgM of B19 between age was not statistically significant (P-value = 0.606).

Conclusion: This study revealed an influence of geographic differences on transmission of parvovirus B19, and showed that there was no relationship between IgM seropositivity and sex, age.

Running Title: Prevalence of Parvovirus B19 in a group of thalassemia major patients in Damascus city.

Key word: parvovirus B19 virus, prevalence, thalassemia major, Damascus, IgM antibodies.

References المراجع

1. International Committee on Taxonomy of Viruses. Virus Taxonomy, classification and nomenclature of viruses. Seventh report. Vienna, Austria 2000; 1217-1225.
2. Slavov S, Kashima S, Pinto A, Covas DT. Human parvovirus B19: general considerations and impact on patients with sickle-cell disease and thalassemia and on blood transfusions. *FEMS Immunol Med Microbiol.*2011;62:247–262.
3. Amaku M, Azevedo R, Morgado de Castro R, Massad E & Coutinho F. Relationship among epidemiological parameters of six childhood infections in a non-immunized Brazilian community. *Mem I Oswaldo Cruz.*2009; 104: 897–900.
4. Kelly H, Siebert D, Hammond R, Leydon J, Kiley P & Maskill W. The age-specific prevalence of human parvovirus immunity in Victoria, Australia compared to other parts of the world. *Epidemiol Infect.*2000; 124: 449–457.
5. Serjeant GR, Topley JM, Mason K, Serjeant BE, Pattison JR, Jones SE & Mohamed R. Outbreak of aplastic crises in sickle cell anemia associated with parvovirus-like agent. *Lancet.* 1981 2:595–597.
6. Saarinen UM, Chorba TL, Tattersall P, Young NS, Anderson LJ, Palmer E & Coccia PF (1986) Human parvovirus B19-induced epidemic red cell aplasia in

- patients with hereditary hemolytic anemia. *Blood*.1986; 67: 1411–1417.
7. Fartoukh M, Prigent H, Thioliere B, Enache-Angoulvant A, Garbarg-Chenon A & Girot R. Fatal fungal superinfection complicating B19-virus induced massive bonemarrow necrosis in sickle-cell disease. *Haematologica*. 2006; 91:ECR18.
 8. Yates A, Hankins J, Mortier N, Aygun B &Ware R (2009) Simultaneous acute splenic sequestration and transient aplastic crisis in children with sickle cell disease. *Pediatr Blood Cancer* 2009;53: 479–481.
 9. Smith-Whitley K, Zhao H, Hodinka R, Kwiatkowski J, Cecil R, Cecil T, Cnaan A & Ohene-Frempong K. Epidemiology of human parvovirus B19 in children with sickle-cell disease.*Blood*. 2003;103: 422–427.
 10. Zanella A, Rossi F, Cesana C, Foresti A, Nador F, Binda A, Lunghi G, Cappellini M, Furione M & Sirchia G (1995) Transfusiontransmitted human parvovirus B19 infection in a thalassemic patient. *Transfusion* 1995;35:769–772.
 11. Satake M, Hoshi Y, Taira R, Momose S, Hino S & Tadokoro K (2011) Symptomatic parvovirus B19 infection caused by blood component transfusion. *Transfusion DOI: 10.1111/j. 2010;1537- 2995*.
 12. Stramer SL, Hollinger FB, Katz LM, Kleinman S, Metzger PS, Gregory KR & Dodd RY. Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. *Transfusion*. 2009;49: 1S–29S.

13. weatherall DJ, Clegg JB. The Thalassemia Syndromes: 4th Ed, *Oxford Blackwell Science*, 2011.
14. Weatherall DJ. The thalassemias. In: Stamatoyannopoulos G, Perlmutter RM, Marjerus PW and Varmus H (eds) *Molecular Basis of Blood Diseases*, 3rd Ed. *Philadelphia: WB Saunders*, 2000.
15. Leung WC, Leung KY, Lau ET, Tang MH, Chan V: Alpha thalassaemia. *Semin Fetal Neonatal Med* 2008;13(4): 215-222.
16. Giardine B, van Baal S, Kaimakis P, Riemer C, Miller W, Samara M, Kollia P, Anagnou NP, Chui DH, Wajcman H, Hardison RC, Patrinos GP: HbVar Database of human hemoglobin variants and thalassemia mutation. *Hum Mutat* 2007;28:206.
17. Forget BG: Molecular mechanisms of beta thalassemia. In Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR. et al. Eds. *Disorder of hemoglobin*. New York: *Cambridge University press*,2001; 252.
18. Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR and Wood WG. The hemoglobinopathies. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B and Vogelstein B eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. New York: *McGraw-Hill*, 2000.
19. Hillman RS, Ault KA. Thalassemia: In *Hematology in clinical Practice, a Guide to Diagnosis and Management* . 3rd Ed, *Mc Graw-Hill* 2002;62-76.

20. Handin RI, Lux IV SE, Stossel TP. Blood principle and Practice of hematology, 2nd Ed, *Lippincott Williams & Wilkins Co.* 2003;1513.
21. Kattamis C, Kattamis AC: Oxidative stress disturbances in erythrocytes of beta-thalassemia. *Pediatr Hematol Oncol* 2001;18:85-88.25 .
22. Celedon G, Rodriguez I, Espana J, et al.: Contribution of hemoglobin and membrane constituents modification to human erythrocyte damage promoted by peroxy radicals of different charge and hydrophobicity. *Free Radic Res* 2001; 34:17-31.
23. Stanley L, Schrier MD: Pathophysiology of thalassemia. *Curent Opinion in Hematology* 2002;9:123-126.
24. Borgna-Pignatti C, Cappellini MD, De Stefano P, et al: Survival and complications in thalassemia. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1054:40-47.
25. Cossart YE, Field AM, Cant B, et al. Parvovirus-like particles in human sera. *Lancet* 1975; 72-3.
26. Aziz A, Morfini M, Mannucci PM. The transfusion-Associated Transmission of Parvovirus B19. *Transfusion Medicine Reviews* 1999 July; 113 (3):194-204
27. Tattersall P. Kerr JR, Cotmore SF, Bloom ME, Linden RM. Parrish CR. The evolution of parvovirus taxonomy. In *Parvoviruses. Great Britain: Hodder Arnold* 2006;5-14.
28. Muzyczka N, and Berns KI. Parvoviridae: The viruses and their replication. In *Fundamental Virology*, Knipe DM, Howley PM, editors. *Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins* 2001;1089-1121.

29. Tsao J, Chapman MS, Agbandje M, Keller W, Smith K, Wu H, Luo M, Smith TJ, Rossmann MG, Compans RW. The three-dimensional structure of canine parvovirus and its functional implications. *Science*; 1991;251:1456-1464.
30. Kontou M, Govindasamy L, Nam HJ, Bryant N, Llamas-Saiz AL, Foces-Foces C, Hernando E, Rubio MP, McKenna R, Almendral JM, Agbandje-McKenna M. Structural determinants of tissue tropism and in vivo pathogenicity for the parvovirus minute virus of mice. *J. Virol.* 2005;79:10931-10943.
31. Agbandje M, McKenna R, Rossmann MG, Strassheim ML, and Parrish CR. Structure determination of feline panleukopenia virus empty particles. *Proteins* 1993;16:155-171.
32. Simpson AA, Hebert B, Sullivan GM, Parrish CR, Zadori Z, Tijssen P, and Rossmann MG. The structure of porcine parvovirus: comparison with related viruses. *J. Mol. Biol.* 2002: 315, 1189-1198.
33. Kaufmann B, Baxa U, Chipman PR, Rossmann MG, Modrow S, Seckler R. Parvovirus B19 does not bind to membrane-associated globoside in vitro. *Virology* 2005; 332:189-198.
34. Brown KE. The genus erythrovirus. In Parvoviruses, Kerr J. R, Cotmore SF, Bloom ME, Linden RM. Parrish CR edetors. London, Great Britain: *Edward Arnold Publishers Ltd* 2006; 25-45.

35. Crowcroft NS, Roth CE, Cohen BJ, Miller E. Guidance for control of parvovirus B19 infection in healthcare settings and the community. *J Public Health Med* 1999;21:439–46.
36. Miller E, Fairley CK, Cohen BJ, Seng C. Immediate and long term outcome of human parvovirus B19 infection in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:174–8.
37. Enders M, Weidner A, Enders G. Current epidemiological aspects of human parvovirus B19 infection during pregnancy and childhood in the western part of Germany. *Epidemiol Infect* 2007;135:563–9.
38. Skjöldebrand-Sparre L, Tolfvenstam T, Papadogiannakis N, Wahren B, Broliden K, Nyman M. Parvovirus B19 infection: association with third-trimester intrauterine fetal death. *Br J Obstet Gynaecol* 2000; 107:476–80.
39. Heegaard ED, Brown KE. Human Parvovirus B19. *Clin Microbiol. Rev* 2002;15: 485-505.
40. Riipinen A, Gissler M , Alanen A ,Vuorinen T, Human parvovirus infections during pregnancy: Special reference to child-care employees 2011 May;19-20.
41. Hokynar K, Human parvovirus B19: Tissue persistence and prevalence of prototypic and new variants, *University of Helsinki* 2007.
42. Berns KI, and Hauswirth WW. Adeno-associated virus DNA structure and replication. In *The Parvoviruses*, Berns KI editor. New York, USA: *Plenum Press* 1984.
43. Zhi N, Zadori Z, Brown KE, and Tijssen P. (2004). Construction and sequencing of an infectious clone of the human parvovirus B19. *Virology* 318; 142-152.

44. Cotmore SF, McKie LJ, Anderson CR. Identification of the major structural and nonstructural proteins encoded by human parvovirus B19 and mapping of their genes by prokaryotic expression of isolated genomic fragments. *J. Virol* 1986;60:548–557.
45. Ozawa K, Young N. Characterization of capsid and noncapsid proteins of B19 parvovirus propagated in human erythroid bone marrow cell cultures. *J. Virol.* 1987; 61:2627–2630.
46. Suikkanen S, Antila M, Jaatinen A, Vihinen-Ranta M, Vuento M. Release of canine parvovirus from endocytic vesicles. *Virology* 2003; 316: 267-280.
47. Poole BD, Zhou J, Grote A, Schiffenbauer A, Naides SJ. Apoptosis of liver-derived cells induced by parvovirus B19 nonstructural protein. *J. Virol.* 2006; 80: 4114-4121.
48. Zhi N, Mills IP, Lu J, Wong S, Filippone C, Brown KE. Molecular and functional analyses of a human parvovirus B19 infectious clone demonstrates essential roles for NS1, VP1, and the 11-kilodalton protein in virus replication and infectivity. *J. Virol.* 2006; 80: 5941-5950.
49. Kajigaya S, Shimada T, Fujita S, Young NS. A genetically engineered cell line that produces empty capsids of B19 (human) parvovirus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1989;86:7601-7605.
50. Kaufmann B, Simpson AA, Rossmann MG. The structure of human parvovirus B19. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101:11628-11633.

51. Servant A, Laperche S, Lallemand F, Marinho VR, Maur GDS, Meritet JF, et al. Genetic Diversity within human Erythroviruses: Identification of three genotypes. *J Virol.* 2002 sep;76(18):9124-34.
52. Hokynar K, Söderlund-Venermo M, Pesonen M, Ranki A, Kiviluoto O, Partio EK, Hedman K. A new parvovirus B19 genotype persistent in skin. *Virology* 2002;302:224–8.
53. Parsyan A, Szmaragd C, Allain J-P, Candotti D. Identification and genetic diversity of two human parvovirus B19 genotype 3 subtypes. *J Gen. Virol.* 2007;88:428–31.
54. Hübschen JM, Mihneva Z, Mentis AF, Schneider F, Aboudy Y, Grossman Z, Rudich H, Kasymbekova K, Sarv I, Nedeljkovic J, Tahita MC, Tarnagda Z, Ouedraogo JB, Gerasimova AG, Moskaleva TN, Tikhonova NT, Chitadze N, Forbi JC, Faneye AO, Otegbayo JA, Charpentier E, Muller CP. Phylogenetic analysis of human parvovirus B19 sequences from eleven different countries confirms the predominance of genotype 1 and suggests the spread of genotype 3b. *J Clin Microbiol* 2009;47:3735–8.
55. Norja P, Hokynar K, Aaltonen LM, Chen R, Ranki A, Partio EK, Kiviluoto O, Davitkin I, Leivo T, Eis-Hübinger AM, Schneider B, Fischer HP, Tolba R, Vapalahti O, Vaheri A, Söderlund-Venermo M, Hedman K. Bioportfolio: Lifelong persistence of variant and prototypic erythrovirus DNA genomes in human tissue. *Prot Natl Acad Sci USA* 2006;103:7450–3.

56. Keller LW, Barbosa ML, Melo FL, Pereira LM, Neto ED, Lanhez LE, Durigon EL. Phylogenetic analysis of a near-full-length sequence of an erythrovirus genot.
57. Blumel J, Schmidt I, Effenberger W, Seitz H, Willkommen H, Brackmann HH, Lower J, Eis-Hubinger AM. Parvovirus B19 transmission by heattreated clotting factor concentrates. *Transfusion* 2002; 42:1473-1481.
58. Berillo O, Khailenko V, Ivashenko A, Perlmutter- Shoshany L, Bolshoy A. miRNA and tropism of human parvovirus B19. *J compbiolchem. Research Article* 2012 jun;40:1-6.
59. Carter JB, Saunders AV. Parvoviruses (and other ssDNA viruses) In: carter J, Saunders V, editors. *Virology Principles and Applications: JohnWiley & Sons, Ltd;* 2007:137-46.
60. Luo Y, Kleiboeker S, Deng Xm Qiu J. Human parvovirus B19 infection causes cell cycle arrest of human erythroid progenitors at late S phase that favors viral DNA replication. *J Virol.*2013 Sep 18.
61. Luo Y, Lou S, Deng X, Liu Z, Li Y, Kleiboeker S, et al. Parvovirus B19 infection of human primary erythroid progenitor cells triggers ATR-Chk1 signaling, which promotes B19 virus replication. *J Virol.* 2011 Aug; 85(16):8046-55.
62. Quattrocchi S, Ruprecht N, Bonsch C, Bieli S, Zurcher C, Boller K, et al. Characterization of the early steps of human parvovirus B19 infection. *J Virol.* 2012 Jun 20;86(17):9274-84.

63. Muzyczka N, Berns KI. Parvoviridae: The viruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields-Virology*. 4th ed: Lippincott Williams & Wilkins; 2001 Aug: 1866-91.
64. Bloom M.E., Young N.S., Parvoviruse. In: Knipe D, Howley P, editors. *Fields-Virology: Lippincott Williams & Wilkins*; 2001 Aug: 1892-908.
65. Erdman DD, Usher C, Tsou EO, Caul GW, Gary S, Kajigaya N, Young N, Anderson LJ. Human parvovirus B19 specific IgG, IgA, and IgM antibodies and DNA in serum specimens from persons with erythema infectiosum. *J. Med. Virol.* 1991;35:110–115.
66. Ros C, Gerber M, Kempf C. Conformational changes in the VP1- unique region of native human parvovirus B19 lead to exposure of internal sequences that play a role in virus neutralization and infectivity. *J Virol.* 2006 Dec; 80(24):12017-24.
67. Bonsch C, Kempf C, Ros C. Interaction of parvovirus B19 with human erythrocytes alters virus structure and cell membrane integrity. *J Virol.* 2008 Dec; 82(23):11784-91.
68. Franssila R, Auramo J, Modrow S, Mobs M, Oker-Blom C, Kapyla P, et al. T helper cell-mediated interferon-gamma expression after human parvovirus B19 infection: persisting VP2-specific and transient VP1u-specific activity. *Clinical and Experimental Immunology.* 2005;142:53-61.
69. Anderson MJ, Higgins PG, Davis LR, Willman JS, Jones SE, Kidd IM, Pattison JR, Tyrrell DA. Experimental

- parvoviral infection in humans. *J. Infect. Dis.* 1995; 152: 257-265.
70. Heegaard ED, Hornsleth A, Parvovirus: the expanding spectrum of disease. *Acta paediatr.* 1995 Feb; 84(2): 109-17.
 71. Pattison JR. Parvovirus B19. In: Haaheim LR, Pattison JR, Whitley RJ, editors. *A practical Guide to clinical Virology. 2nd ed: John Wiley & Sons, Ltd.; 2002. P.203-8.*
 72. Nocton JJ, Miller LC, Tucker LB, Schaller JG. Human parvovirus B19-associated arthritis in children. *J. Pediatr.* 1993;122:186–190.
 73. Ray NB, Nieva DR, Seftor EA, Khalkhali-Ellis Z, Naides SJ. Induction of an invasive phenotype by human parvovirus B19 in normal human synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 2001; 44:1582–1586.
 74. Vassilopoulos D, alabrese LH. Virally associated arthritis clinical, epidemiologic, and pathophysiologic considerations. *Arthritis Res Ther.* 2008 Sep 18; 10(5): 215:1-8.
 75. Tello-Winniczuk N, Diaz-Jouanen En, Diaz-Borjon A. Parvovirus B19Y associated Arthritis: Report on a Community Outbreak. *JCR: Journal of Clinical Rheumatology.* 2011 Dec; 17(8):449-50.
 76. Katta R. Parvovirus B19: areview. *Dermatol clin.* 2002;20:333-42.
 77. Sklavoun-Andrikopoulou A, Iakovou M, Paikos S, papanikolaou V, Loukeris D, Voulgarelis M. oral manifestations of popular-purpuric 'gloves and socks'

- syndrome due to parvovirus B19 infection: the first case presented in Greece and review of literature. *Oral Diseases*. 2004; 10: 118-22.
78. Gutermuth J, Nadas K, Zirbs M, Seifert F, Hein R, Ring J, et al. popular-purpuric 'gloves and socks' syndrome. *The Lancet*. 2011 Jul 9;378(9786):198.
 79. Aktepe OC, Yetgin S, Olcay L, Ozbek N. Human Parvovirus B19 Associated with idiopathic Thrombocytopenic purpura. *Pediatr Hematol and Oncol*. 2004,21:421-6.
 80. Scheurlen W, Ramasubbu K, Wachowski O, Hemauer A, Modrow S. Chronic autoimmune Thrombopenia: neutropenia in a boy with persistent parvovirus B19 infection. *Journal of Clinical Virology*. 2001;20: 173-8.
 81. Ozbek OY, Onay OS, Kinik ST, Ozbek N. Laryngitis and Neutropenia from Parvovirus B19. *Inddian Journal of Pediatrics*. 2007 Oct;74:64-6.
 82. Douvoyiannis M, Litman N, Goldman DL, Neurologic Manifestations associated with parvovirus B19 infection. *Clinical Infectios Dis*. 2009 May 14;48 (15) : 1713-23.
 83. Shauer AM, Gotsman I, Keren AM, Zwas DR, Hellman Y, Durst R, et al. Acute viral myocarditis: Current concepts in diagnosis and treatmeant. *IMAJ*. 2013 Mar;15:180-5.
 84. Bock CT, Klingel K, Kandolf R. Human parvovirus B19-associated myocarditis. *N Engl J Med*. 2010 Apr 1;362 (13):1248-9.

85. Bihari C, Rastogi A, Saxena P, Rangegowda D, Chowdhury A, Gupta N, et al. Parvovirus B19 associated hepatitis. *Hepatitis Research and treatment*. 2013;1-9.
86. Lian JQ, Zhang Y, Liu L, Bai XG, liang ZJ, Zhao YY, et al. Acute liver failure and myelosuppression due to parvovirus B19 infection: A case report. *Gastroenterology research*.2009;2:115-7.
87. Young NS, Brown KE, Mechanisms of disease Parvovirus B19. *N Engl J Med* 2004; 350:586-97.
88. Thomas T. Human parvovirus B19: studies on the pathogenesis of infection. *Stockholm*.2001:1-62.
89. Miller E, Fairley CK, Cohen BJ, Seng C. Immediate and long term outcome of human parvovirus B19 infection in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:174–8.
90. Lamont RF, Sobel J, Vaisbuch E, Kusanovic JP, MazakiTovi S, Kim SK, et al. parvovirus B19 infection in human pregnancy. *BJOG*. 2011 Jan; 118(2):175-86.
91. Jordan JA, DeLoia JA. Globoside expression within the human placenta. *Placenta* 1999;20:103–8.
92. Manchanda A, Datta Vm Jhunhunwala K, Sali A, Kumar A, Agarwal N. Parvovirus B19 nonimmune hydrops in neonate. *indian J pediatr*. 2007; 74(6):585-6.
93. Giorgio E, Antonietta M, Iozza I, Natale AD, Cianci S, Garofalo G, et al. Parvovirus B19 during pregnancy. *Journal of Prenatal Medicine*. 2010;4(4): 63-6.
94. Haan TR, Oepkes D, Beersma MC, Walther FJ. Aetiology, Diagnosis and treatment of hydrops fetalis. *Current Pediatric Reviews*. 2005;1;63-72.

95. Cennimo DJ, Dieudonne A. Parvovirus B19 infection. *emedicine. medscape. WebMD LLC.*; 2009 Aug 4.
96. Tavil B, Ozdel S, Ozkasap S, Yarali N, Tunc B. Aplastic Crisis induced by human parvovirus B19 infection as an initial presentation of hereditary spherocytosis. *Indian J Pediatr.* 2010 Sep 25;77:1191-2.
97. Kondo H, Mori A, Watanabe J, Takahashi Y, Iwasaki H. Pure Red cell Aplasia Associated with Parvovirus B19 infection in T-large granular lymphocyte leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2001 Nov-Dec; 42(6): 1439-43.
98. Florea AV, Ionescu DN, Melhem MF, Parvovirus B19 infection in immunocompromised host. *Arch Pathol Lab Med.* 2007 May;131(5):799-804.
99. Fisman DN, Hemophagocytic syndromes and infection. *Emerging Infectious Disease.* 2000 Nov-Dec;6(6):601-8.
100. Ferguson M, Walker D, Cohen B: Report of a collaborative study to establish the international standard for parvovirus B 19 serum IgG. *Biologicals* 1997; 25:283-288.
101. Corcoran A, Doyle. Advances in the biology, diagnosis and host-pathogen interactions of parvovirus B19. *J Med Microbiol.* 2004 Jun;53(6):459-75.
102. Musiani M, Roda A, Zerbini M, et al: Detection of parvovirus B 19 DNA in bone marrow cells by chemiluminescence in situ hybridization. *J Clin Microbiol* 1996;34:1313-1316.

103. Wong S, Brown KE. Development of an improved method of detection of infectious parvovirus B19. *JCV*. 2006;35:407-13.
104. Ripley Ballo W, Reed JL, Noble W, Young NS, Koenig S. Safety and immunogenicity of recombinant parvovirus B19 vaccine formulated with MF59C1. *JID*. 2003 Feb 15;187:675-8.
105. Shelly DA, Van cleave V. Parvovirus B19 VLP vaccine manufacturing. *GEN*. 2009 Sep 15;29 (16).
106. Siritantikorn S, Kaewrawang S, Siritanaratkul N, Theamboonlers A, Poovorawan Y, Kantakamalakul W, et al. The prevalence and persistence of human parvovirus B19 infection in thalassemic patients. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2007;25(2-3):169–74.
107. Zaki ME, Hassan SA, Seleim T, Lateef RA. Parvovirus B19 infection in children with a variety of hematological disorders. *Hematology* 2006;11:261–266.
108. Us T, Ozune L, Kasifoglu N, Akgun Y. The investigation of parvovirus B19 infection in patients with haematological disorders by using PCR and ELISA techniques. *Braz J Infect Dis*. 2007;11(3):327–30.
109. Traish A, Seroprevalence of Human Parvovirus B19 Infection among Thalassemic Children in Babylon Center of Hereditary Blood Disorders. *Med J of Babylon*. 2013 Jan; 10(2);491 -496.
110. Nikoozad R, Mahzounieh MR, Ghorani MR. Detection of Parvovirus B19 Infection in Thalasemic Patients in Isfahan

- Province, Iran. *Jundishapur J Microbiol.* 2015 Nov; 8(11): e26590.
111. Kishore J, Srivastava M, Choudhury N. Serological study on parvovirus B19 infection in multitransfused thalassemia major patients and its transmission through donor units. *Asian J Transfus Sci.*2011;5(2):140–3.
 112. Azzazy E, Shaheen A, Mousaad A, Abdel Salam M, Ibrahim R. The prevalence of human parvovirus B19 infection in children with a variety of hematological disorders. *Egyptian J of Hematol.* 2013;38(3): 115-121.
 113. Obeid O. Molecular and serological assessment of parvovirus B19 infections among sickle cell anemia patients. *J Infect Dev Ctries* 2011;5:535–539.
 114. Slavov S, Kashima S, Pinto A, Covas DT, Amarilla A, Alfonso H, Aquino V. Molecular and Phylogenetic Analyses of Human Parvovirus B19 Isolated From Brazilian Patients With Sickle Cell Disease and b-Thalassemia Major and Healthy Blood. *J. Med. Virol. DOI* 2012; 84:1652–1665.
 115. Smith-Whitley K, Zhao H, Hodinka RL, Kwiatkowski J, Cecil R, Cecil T, et al..Epidemiology of human parvovirus B19 in children with sickle cell disease. *Blood* 2004;103:422–427.
 116. Iheanacho MC , Akanmu SA. Nwogoh B. Seroprevalence of parvovirus B19 antibody in blood donors and sickle cell disease patients at Lagos University Teaching Hospital (LUTH): A comparative study.2014 Jan; *Microbiol.* 15(1): 14-20.

117. Bukar AA, Abjah UAM, Kagu MB, Ladu AI, Zailani SB, Abba AM, Malah MB, Ambe JP, Denué BA. Seroprevalence of parvovirus B19 and its clinical effect among anaemic SCA patients in Northeastern Nigeria. *Am. J. Sci. Ind. Res.*, 2013; 4(2): 195-200.
118. Regaya F, Oussaief L, Bejaoui M, Karoni M, Zili M, Khelifa R. Parvovirus B19 infection in Tunisian patients with sickle-cell anemia and acute erythroblastopenia. *BMC Infect Dis* 2007;7:123–129.
119. Iwalokuna BA, Iwalokunb, Hodonuc SO. Seroprevalence of parvovirus B19 antibodies and evidence of viremia among Nigerian patients with sickle cell anemia. *The Journal of Biomed. Res.* 2013;27(4):272-282.