

University of Mosul
College of Veterinary Medicine



Isolation and diagnosis of Peste des Petits Ruminants (PPR) Virus in Sheep and goat in Mosul Iraq

AbdulHakeem Amer Sheet Sultan

Ph.D. / Dissertation
Veterinary Medicine / Veterinary Microbiology

Supervised by

Professor

Dr. Safwan Y. AL-Baroudi

Assist. Prof.

Dr. Mohammad O. Dahl

Abstract

Peste des Petits Ruminants (PPR) is a contagious disease affecting small ruminants caused by the PPR virus; The disease primarily affects sheep and goats, but goats are more frequently and severely affected than sheep the disease affected susceptible groups with varied degrees of morbidity and mortality. A total of 400 animals, including 335 sheep and 65 goats diseased animals from different regions in Mosul city/ Iraq were used in this Study. the animals included different ages groups, sexes, and breeds. Some flocks consisted of a mix of both sheep and goats. The collected samples included blood and nasal swabs. Sandwich ELISA was used to detect the viral antigen from serum, and the nucleic acid was extracted from nasal swab and then detected by using RT-PCR to investigate F and N genes by using specific primers, The PCR product of positive samples was sent to Macrogen, Korea for sequencing using Sanger sequencing method, The results of sequencing were obtained as FASTA format Text files. Selected Isolate were sent to GenBank, NCBI for registration and obtaining specific accession numbers. Lamb Kidney cell culture was prepared to cultivate the Isolate virus after molecular diagnosis, electron microscope used to confirm the virus Isolation. Then statistical and epidemiological analysis was conducted.

The results showed that PPR positivity was identified in a total of 171 animals (42.75%), where 95% of them were sheep and 5% were goats, in addition, 49% of sheep were positive, whereas only 12% of goats were positive in the univariable analysis, The difference between age, sex, geographical location, season, flock size, and mixed animals were statistically significant ($P \leq 0.05$), whereas variable for source (local, imported) was not significant.

Selected Isolate were sent to GenBank, NCBI for registration and obtaining specific accession numbers OQ448864, OQ448865, OQ448866 and OQ448867.

The CPE varied in their appearance in the passages depending on the Isolate, as they were most severe in the OQ448866 with the highest virus titer ($2 \times 10^{6.5}$ TCID₅₀/0.1ml) compared to the other Isolate in which the virus titer increased as the passages progressed.

The results of the electron microscope showed the appearance of the PPR virus in its typical form.



جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

عزل وتشخيص فيروس طاعون المجترات الصغيرة في الأغنام والماعز في الموصل / العراق

عبد الحكيم عامر شيت سلطان

أطروحة دكتوراه

الطب البيطري / الاحياء المجهرية البيطرية

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتور

محمد اسامه عبد المجيد

الأستاذ الدكتور

صفوان يوسف البارودي

الخلاصة

يعتبر طاعون المجترات الصغيرة مرض معدي يصيب الأغنام والماعز ويسببه فيروس طاعون المجترات الصغيرة، ولكن الماعز يتأثر بشكل أكبر وشدة أكثر من الأغنام، ويؤثر المرض على المجترات الصغيره بدرجات متفاوتة من حيث معدلات الاصابة و الهلاكات. تم استخدام ما مجموعه 400 حيوان، بما في ذلك 335 عدد الاغنام و65 ماعز من مناطق مختلفة في مدينة الموصل\العراق شملت الدراسة فئات عمرية وأجناس وسلالات مختلفة. تتكون بعض القطعان من مزيج من الأغنام والماعز. تم جمع العينات التي تشمل مسحات من الدم والأنف، واستخدام Sandwich ELISA للكشف عن المستضد الفيروسي من المصل، وتم استخلاص الحمض النووي من مسحة الأنف ثم الكشف عنه باستخدام RT-PCR لفحص جين N و F باستخدام بادئات محددة. تم إرسال العينات الإيجابية PCR إلى شركة ماكروجين بكوريا لإجراء التسلسل باستخدام طريقة التسلسل Sanger، وتم الحصول على نتائج التسلسل كملفات نصية بتنسيق FASTA. تم إرسال سلالات مختارة إلى GenBank NCBI للتسجيل والحصول على أرقام عتر جديد. تم تحضير خلايا كلى الحمل لزراعة عزلات الفيروس بعد التشخيص الجزيئي، وتم تأكيد تشخيص العزلات الفيروسية باستخدام المجهر الإلكتروني. ثم تم إجراء التحليل الإحصائي والوبائي وأظهرت النتائج أنه تم الحصول على نتائج إيجابية لفيروس طاعون المجترات الصغيرة في إجمالي 171 حيواناً (42.75 %)، حيث كانت 95% منها أغنام و5% ماعز، بالإضافة إلى أن 49% من الأغنام كانت إيجابية، في حين كانت 12% فقط من الماعز إيجابية. في التحليل أحادي المتغير، كانت متغيرات العمر والجنس والموقع الجغرافي والموسم وحجم القطيع والحيوانات المختلطة ذات دلالة إحصائية ($P \geq 0.05$)، في حين لم يكن متغير المصدر (محلي، مستورد) ذات دلالة إحصائية. تم إرسال سلالات مختارة إلى GenBank NCBI للتسجيل والحصول على أرقام العتر المحدد OQ448864 و OQ448865 و OQ448866 و OQ448867 وأظهرت نتائج المجهر الإلكتروني ظهور فيروس طاعون المجترات الصغيرة، مما يؤكد أن العزلات تعود لفيروس طاعون المجترات الصغيرة. تباينت التأثيرات المعلة للخلايا CPE في ظهورها في التمريرات اعتماداً على سلالة الفيروس، حيث كانت أكثر شدة في OQ448866 مع أعلى عيار للفيروس ($10^{6.5} \times 2$ TCID₅₀/0.1) مقارنة بالسلالة الأخرى التي زاد فيها معيار الفيروس مع زيادة عدد التمريرات.