جامعة الموصل

كلية الطب البيطري

التشخيص والتنوع الجيني لفيروس الروتا في العجول حديثة الولادة المصابة بالإسهال في محافظة نينوى، العراق

حسام سعود معيوف برغش البرغش

رسالة ماجستير

الطب البيطري/ التشخيصات المرضية البيطرية

بإشراف

الأستاذ الدكتور

عمر خزعل سلو الحنكاوي

١٤٤٧هـ

٢٠٢٥م

الخلاصة

يُعد فيروس الروتا من أخطر الفيروسات التي تصيب الجهاز الهضمي في عجول الأبقار والجاموس، اذ يشكل أحد الأسباب الرئيسية للإسهال الحاد في العجول الرضيعة التي تتراوح أعمارها بين يوم وعدة أسابيع، مما يؤدي إلى معدلات مرتفعة من النفوق وضعف النمو، وبالتالي خسائر اقتصادية كبيرة في قطاع الإنتاج الحيواني. ونظراً لعدم وجود دراسات سابقة حول التشخيص الجزيئي والتنميط الجيني لفيروس الروتا في عجول الأبقار والجاموس في محافظة نينوى، عُدّت هذه الدراسة لتشخيص الفيروس من براز العجول المصابة بالإسهال، والتحري عن التنوع الجيني للفيروس، فضلاً عن تحديد العلاقة بين السلالات المحلية للفيروس وغيرها في البلدان المختلفة.

أُستخدمت إستمارة خاصة لجمع المعلومات عن العجول المحلية التي شملتها الدراسة خلال المدة الممتدة من بداية أيلول ٢٠٢٤م ولنهاية شباط ٢٠٢٥م. جُمعت ٥٠ عينة براز من المستقيم مباشرة من عجول الأبقار (٣٥عينة) والجاموس (عينة ١٥) التي تعاني من الإسهال وبأعمار تراوحت بين ٧-٤٥ يوماً. أجري الفحص السريري للعجول المصابة بالإسهال والذي شَمل قياس درجة الحرارة وفحص حالة الأغشية المخاطية مع ملاحظة وجود جفاف من عدمهِ. أُستخدم اختبار الاستشراب المناعي لغرض التشخيص السريع للفيروس، كما أُستعملت العدّة الجاهزة لإستخلاص الحمض النووي الريبوزي من عينات البراز، كما أجري النسخ العكسي للحمض النووي الريبوزي المستخلص الى الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين المتمم، بعد ذلك أستخدم زوجان من البادئات لتضخيم الجينين VP4 و VP7 خلال تفاعل البلمرة المتسلسل-النسخ العكسي. تم حساب حساسية ونوعية اختبار الإستشراب المناعي بإعتماد تفاعل البلمرة المتسلسل - النسخ العكسي كمعيار ذهبي. كما تم تحليل تسلسل الجينين VP4 و VP7 ومقارنتهما مع التسلسلات العالمية، فضلاً عن إنشاء شجرة النشوء والتطور.

أظهرت العجول التي خُضعِت للفحص السريري علامات التهاب معوي، إذ شملت ارتفاعاً في درجة حرارة الجسم والإسهال والجفاف وفقدان الشهية والخمول وإفرازات أنفية وعينية. بينت نتائج إختبار الإستشراب المناعي بأن ٣ عينات كانت موجبة من مجموع ٥٠ عينة وبنسبة كلية بلغت ٦%، إذ إختلفت هذه النسبة بإختلاف نوع الحيوان، حيث بلغت في عجول الأبقار٥,٧١% في حين كانت ٦,٦٦% في عجول الجاموس. كما أظهرت نتائج التشخيص الجزيئي للكشف عن جين VP4 الخاص بفيروس الروتا بأن عينة واحدة كانت موجبة من أصل ٣٥عينة في عجول الأبقار وبنسبة ٢,٨٥% وكذلك عينة واحدة كانت موجبة من اصل ١٥ عينة في عجول الجاموس وبنسبة ٦,٦٦%. بينت النتائج أيضاً بأن ٤ عينات (١١,٤٢%) و٣ عينات (٢٠%) من أصل ٣٥عينة و١٥ عينة إيجابية

للجين VP7 في الأبقار والجاموس على التوالي. عند مقارنة النتائج الإيجابية والسلبية النهائية لإختبار الإستشراب المناعي مع نتائج إختبار تفاعل البلمرة المتسلسل-النسخ العكسي، بينت النتائج بأن إختبار الإستشراب المناعي يمتلك حساسية منخفضة (٣٣,٣٣%) ونوعية عالية (٨٧,٢%).

أنّ النوع الجيني G سلالة A لفيروس الروتا هو السائد في عجول الأبقار في مدينة الموصل وناحية وانة وناحية بعشيقة بنسب إصابة بلغت ١١,١١% و ٢٥% و ٣٣,٣٣% على التوالي، فضلاً عن إن النوع الجيني P سلالة A سُجل أيضاً في مدينة الموصل وبنسبة بلغت ٥,٥٥%. أما في عجول الجاموس، فأن النوع الجيني G سلالة A لفيروس الروتا هو السائد في مدينة الموصل وناحية بادوش بنسبتي إصابة بلغت ٢٠% و ٢٨,٥٧% على التوالي، فضلاً عن إن النوع الجيني P سلالة A سُجل أيضاً في ناحية بادوش وبنسبة بلغت ١٤,٢٨%.

سُجلت سلالتين لفيروس الروتا النوع الجيني P في المركز الوطني للمعلومات التقنية الحيوية، إحداهما خاصة لعجول الأبقار بالرقم التسلسلي PV541261 والأخرى خاصة لعجول الجاموس بالرقم التسلسلي PV541262. بينت نتائج التسلسل الجيني بعد مطابقتها مع السلالات المسجلة في بنك الجينات العالمي بأن أعلى نسبة تطابق كانت ١٠٠% مع العزلة الكندية ذات الرقم التسلسلي JX470487.1. كما سُجلت أربع سلالات لفيروس الروتا النوع الجيني G، إثنين منهما خاصة لعجول الأبقار بالرقمبن التسلسلين PV541257 وPV541258 والإثنين الأخريين خاصة لعجول الجاموس بالرقمين التسلسلين PV541259 و PV541260. كما أظهرت النتائج بأن أعلى نسبة تشابه لسلالات فيروس الروتا المحلية كانت أيضاً مع السلالة الكندية (JX470523.1) بنسبة ٩٤,٥٨%. بناءً على نتائج هذه الدراسة، يمكن استنتاج أن فيروس الروتا يمثل سبباً مهماً للإسهال في عجول الأبقار والجاموس في محافظة نينوى، حيث تم التأكد من وجوده وتنوعه الجيني. أظهر التشخيص الجزيئي تفوقاً واضحاً في الحساسية مقارنة باختبار الاستشراب المناعي، الذي اتسم بحساسية منخفضة على الرغم من نوعيته العالية. كما كشفت الدراسة عن هيمنة النمط الجيني G سلالة A في المناطق الجغرافية المختلفة، مع تسجيل النمط الجيني P سلالة A أيضاً. وأبرز تحليل التسلسل الجيني وشجرة النشوء وجود تطابق عالٍ مع سلالات عالمية مسجلة في كندا، مما يشير إلى علاقة تطورية ويؤكد على الطابع العالمي لهذا الفيروس.

التشخيص والتنوع الجيني لفيروس الروتا في العجول حديثة الولادة المصابة بالإسهال في محافظة نينوى, العراق

الباحث : حسام سعود معيوف برغش البرغش اشراف : أ.د. عمر خزعل سلو الحنكاوي الناشر : جامعة الموصل

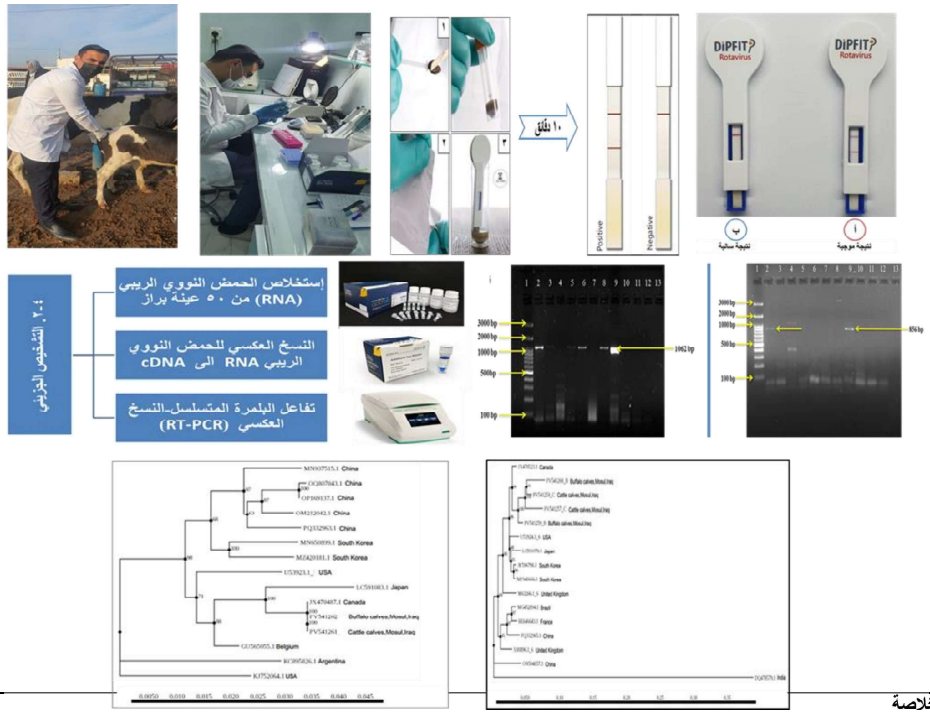
HIGHLITS

غُدّت هذه الدراسة لتشخيص الفيروس من براز العجول المصابة بالإسهال, والتحري عن التنوع الجيني للفيروس، فضلاً عن تحديد العلاقة بين السلالات المحلية للفيروس وغيرها في البلدان المختلفة.

تم تشخيص فيروس الروتا في 50 عجلاً باستخدام اختبارالإستشراب المناعي تم تقييمه إعتماداً على تفاعل البلمرة المتسلسل-النسخ العكسي، مع تحليل التسلسل الجيني وبناء الشجرة التطورية للمقارنة العالمية..

أظهرت النتائج تفوق التشخيص الجزيئي للكشف عن فيروس الروتا، حيث سجلت نسب الإصابة للجين VP7 أعلى (11.42% في الأبقار و20% في الجاموس) مقارنة باختبار الاستشراب المناعي ذي الحساسية المنخفضة (33.33%) رغم نوعيته العالية (87.2%). وساد النمط الجيني G في المناطق المختلفة بنسب تراوحت بين 11.11% و33.33% للأبقار وبين 20% و28.57% للجاموس، بينما سُجل النمط الجيني P بنسب أقل (5.55% - 14.28%). كما تم تسجيل ست سلالات محلية جديدة في قواعد البيانات العالمية، أظهرت تطابقاً جينياً ملحوظاً مع السلالات الكندية بلغ 100% للنمط P و94.58% للنمط G، مما يؤكد الانتشار العالمي للسلالات.

GRAPHICAL ABSTRACT



Keywords:

روتا فيروس

العجول

اختبار الاستشراب المناعي

تفاعل البلمرة المتسلسل- النسخ العكسي

نينوى

الخلاصة

يُعد فيروس الروتا من أخطر الفيروسات التي تصيب الجهاز الهضمي في عجول الأبقار والجاموس، اذ يشكل أحد الأسباب الرئيسية للإسهال الحاد في العجول الرضيعة التي تتراوح أعمارها بين يوم وعدة أسابيع، مما يؤدي إلى معدلات مرتفعة من النفوق وضعف النمو، وبالتالي خسائر اقتصادية كبيرة في قطاع الإنتاج الحيواني. ونظراً لعدم وجود دراسات سابقة حول التشخيص الجزيئي والتنميط الجيني لفيروس الروتا في عجول الأبقار والجاموس في محافظة نينوى, عُدّت هذه الدراسة لتشخيص الفيروس من براز العجول المصابة بالإسهال, والتحري عن التنوع الجيني للفيروس، فضلاً عن تحديد العلاقة بين السلالات المحلية للفيروس وغيرها في البلدان المختلفة.

أُستخدمت إستمارة خاصة لجمع المعلومات عن العجول المحلية التي شملتها الدراسة خلال المدة الممتدة من بداية أيلول 2024م ولنهاية شباط 2025م. جُمعت 50 عينة براز من المستقيم مباشرة من عجول الأبقار (35عينة) والجاموس (عينة 15) التي تعاني من الإسهال وبأعمار تراوحت بين 7-45 يوماً. أجري الفحص السريري للعجول المصابة بالإسهال والذي شمل قياس درجة الحرارة وفحص حالة الأغشية المخاطية مع ملاحظة وجود جفاف من عدمه. أُستخدم اختبار الاستشراب المناعي لغرض التشخيص السريع للفيروس، كما أُستعملت العدّة الجاهزة لإستخلاص الحمض النووي الريبوزي من عينات البراز، كما أجري النسخ العكسي للحمض النووي الريبوزي المستخلص الى الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين المتمم، بعد ذلك أُستخدم زوجان من البادئات لتضخيم الجينين VP4 و VP7 خلال تفاعل البلمرة المتسلسل-النسخ العكسي. تم حساب حساسية ونوعية اختبار الإستشراب المناعي بإعتماد تفاعل البلمرة المتسلسل - النسخ العكسي كمعيار ذهبي. كما تم تحليل تسلسل الجينين VP4 و VP7 ومقارنتهما مع التسلسلات العالمية, فضلاً عن إنشاء شجرة النشوء والتطور.

أظهرت العجول التي خُضعت للفحص السريري علامات التهاب معوي، إذ شملت ارتفاعاً في درجة حرارة الجسم والإسهال والجفاف وفقدان الشهية والخمول وإفرازات أنفية وعينية. بينت نتائج إختبار الإستشراب المناعي بأن 3 عينات كانت موجبة من مجموع 50 عينة وبنسبة كلية بلغت 6%، إذ إختلفت هذه النسبة بإختلاف نوع الحيوان، حيث بلغت في عجول الأبقار5,71% في حين كانت 6,66% في عجول الجاموس. كما أظهرت نتائج التشخيص الجزيئي للكشف عن جين VP4 الخاص بفيروس الروتا بأن عينة واحدة كانت موجبة من أصل 35عينة في عجول الأبقار وبنسبة 2,85% وكذلك عينة واحدة كانت موجبة من اصل 15 عينة في عجول الجاموس وبنسبة 6,66%. بينت النتائج أيضاً بأن 4 عينات (11,42%) و3 عينات (20%) من أصل 35عينة و15 عينة إيجابية للجين VP7 في الأبقار والجاموس على التوالي. عند مقارنة النتائج الإيجابية والسلبية النهائية لإختبار الإستشراب المناعي مع نتائج إختبار تفاعل البلمرة المتسلسل-النسخ العكسي، بينت النتائج بأن إختبار الإستشراب المناعي يمتلك حساسية منخفضة (33,33%) ونوعية عالية (87,2%).

أنّ النوع الجيني G سلالة A لفيروس الروتا هو السائد في عجول الأبقار في مدينة الموصل وناحية وانة وناحية بعشيقة بنسب إصابة بلغت 11,11% و 25% و 33,33% على التوالي, فضلاً عن إن النوع الجيني P سلالة A سُجل أيضاً في مدينة الموصل وبنسبة بلغت 5,55%. أما في عجول الجاموس, فأن النوع الجيني G سلالة A لفيروس الروتا هو السائد في مدينة الموصل وناحية بادوش بنسبتي إصابة بلغت 20% و 28,57% على التوالي, فضلاً عن إن النوع الجيني P سلالة A سُجل أيضاً في ناحية بادوش وبنسبة بلغت 14,28%.

سُجلت سلالتين لفيروس الروتا النوع الجيني P في المركز الوطني للمعلومات التقنية الحيوية, إحداهما خاصة لعجول الأبقار بالرقم التسلسلي PV541261 والأخرى خاصة لعجول الجاموس بالرقم التسلسلي PV541262. بينت نتائج التسلسل الجيني بعد مطابقتها مع السلالات المسجلة في بنك الجينات العالمي بأن أعلى نسبة تطابق كانت 100% مع العزلة الكندية ذات الرقم التسلسلي JX470487.1. كما سُجلت أربع سلالات لفيروس الروتا النوع الجيني G, إثنين منهما خاصة لعجول الأبقار بالرقمين التسلسلين PV541257 وPV541258 والإثنين الأخريين خاصة لعجول الجاموس بالرقمين التسلسلين PV541259 و PV541260. كما أظهرت النتائج بأن أعلى نسبة تشابه لسلالات فيروس الروتا المحلية كانت أيضاً مع السلالة الكندية (JX470523.1) بنسبة 94,58%. بناءً على نتائج هذه الدراسة، يمكن استنتاج أن فيروس الروتا يمثل سبباً مهماً للإسهال في عجول الأبقار والجاموس في محافظة نينوى، حيث تم التأكد من وجوده وتنوعه الجيني. أظهر التشخيص الجزيئي تفوقاً واضحاً في الحساسية مقارنة باختبار الاستشراب المناعي، الذي اتسم بحساسية منخفضة على الرغم من نوعيته العالية. كما كشفت الدراسة عن هيمنة النمط الجيني G سلالة A في المناطق الجغرافية المختلفة، مع تسجيل النمط الجيني P سلالة A أيضاً. وأبرز تحليل التسلسل الجيني وشجرة النشوء وجود تطابق عالٍ مع سلالات عالمية مسجلة في كندا، مما يشير إلى علاقة تطورية ويؤكد على الطابع العالمي لهذا الفيروس.

.2025 M.Sc. Thesis @Univ. of Mosul, College of Vet. Med., Int. Med. Dept. (https://www.uomosul.edu.iq/).

University of Mosul

College of Veterinary Medicine

DIAGNOSIS AND GENETIC DIVERSITY OF ROTAVIRUS IN DIARRHEIC NEONATAL CALVES IN NINEVEH GOVERNORATE, IRAQ

Hussam Saud Mayoof Barghash Albarghash

MS.C. / Thesis
Veterinary Medicine / Veterinary Clinical Pathology

Supervised by
Prof
Dr. Omer Khazaal Sallou Alhankawe

2025 A.C. **1447 A.H.**

Abstract

Rotavirus is one of the most dangerous viruses that infect the gastrointestinal tract of cattle and buffalo calves. It is a major cause of acute diarrhea in infant calves between one day and several weeks old, leading to high rates of mortality and poor growth, and consequently significant economic losses in the animal production sector. The lack of previous studies on the molecular diagnosis and genotyping of rotavirus in cattle and buffalo calves in Nineveh Governorate, this study aimed to diagnose the virus from feces of calves suffering from diarrhea, investigate the virus's genetic diversity, and determine the relationship between local strains and those found in other countries.

A specific form was used to collect data on the local calves included in the study between the beginning of September 2024 and the end of February 2025. Fifty stool samples were collected directly from the rectums of cattle calves (35 samples) and buffalo calves (15 samples) suffering from diarrhea, aged between 7 and 45 days. The calves suffering from diarrhea underwent a clinical examination, including temperature measurement and assessment of mucous membrane condition, noting the presence or absence of dehydration. Immunochromatography was used for rapid viral diagnosis. A ready kit was used to extract RNA from fecal samples, and the extracted RNA was reverse-transcribed into complementary deoxyribonucleic acid (cDNA). Two primer pairs were then used to amplify the VP4 and VP7 genes via reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). The sensitivity and specificity of the immunochromatography test were calculated using RT-PCR as the gold standard. The VP4 and VP7 gene sequences were analyzed and compared with global sequences, and a phylogenetic tree was constructed.