



جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

دراسة تشخيصية و جزيئية للفايروس الكأسي السنوري في القطط في مدينة الموصل

الاء كاظم حمدان

رسالة ماجستير
الطب البيطري / الأحياء المجهرية البيطرية

إشراف
الاستاذ الدكتور
صفوان يوسف البارودي

الخلاصة

شملت الدراسة فحص 200 قط بمختلف الأعمار ومن كلا الجنسين (ذكور، أناث) وطبيعة التربية (داخل المنازل، خارج المنازل) والمصدر (مستورد، محلي) ، وبرامجها التحصينية (ملقحة، غير ملقحة) ، وتم فحصها سريرياً وسجلت العلامات السريرية الظاهرة عليها، وهدفت الدراسة الى التقصي عن الفايروس في القطط بأستعمال تفاعل البلمرة المتسلسل واختبار التألق المناعي غير المباشر ومقارنة عن مدى وجود فوارق في تواجد الفايروس في مسحات العين ومسحات البلعوم وتحديد دور بعض العوامل الوبائية مثل العمر و المصدر والحالة الصحية ونظم التربية وتاريخ الحالة سواء كانت الحيوانات محصنة ام لا على نسبة الإصابة وأنشاء شجرة النشوء الجيني للفايروس الكأسي السنوري، تم جمع عينات دم من الوريد الرأسي فضلاً عن مسحات من ملتحمة العين ومنطقة البلعوم ومن ثم نقلت بطريقة محكمة ومبردة و بالسرعة الممكنة الى مختبر الأحياء المجهرية -كلية الطب البيطري-جامعة الموصل، بينت نتائج الفحص السريري في الحيوانات المفحوصة خلال دراسة وجود علامات سريرية متباينة الشدة والنوع، اذ تمثلت بـ وجود افرازاتٍ من العين مع احتقان ملتحمة العين، إفرازات أنفية، إجهاض في الاناث الحوامل، يرقان، وذمة في المفاصل مع العرج، وجود قرح مختلفة الأحجام في اللسان واللثة فضلاً عن أن بعض الحيوانات كانت سليمة ظاهرياً، بينت نتائج الدراسة المصلية أن نسبة الإصابة بالفايروس الكأسي السنوري بلغت (59%) وبلغت أعلى نسبة للإصابة في الأعمار الأقل من ستة أشهر وبنسبة (60.9%) وفي القطط التي تعاني من تقرحات في الفم (64.4%) وفي القطط التي تربي داخل المنازل (60.1%) فضلاً عن وجود نسبة مرتفعة في القطط المستوردة (65.6%) مقارنة بالمحلية منها (52.8%) ، كما تبين وجود أعلى نسبة إصابة في القطط المحصنة (68.05%)، بينت نتائج الدراسة الجزيئية وجود أعلى نسبة إصابة من المسحات التي جُمعت من منطقة البلعوم (44.5%) مقارنة بالمسحات التي جُمعت من ملتحمة العين، كما اظهرت نتائج الدراسة أن أعلى نسبة إصابة كانت في الفئة العمرية الأقل من 6 أشهر (47.1%) وأنخفضت نسبة الإصابة بتقدم

ب

العمر كذلك سجلت أعلى نسبة إصابة كانت في القطط التي تعاني من تقرحات في الفم (51.1%) وفي القطط التي تُربى داخل المنازل (42.6%) فضلاً عن المستوردة منها (48.9%) , في حين سجلت القطط المحصنة أعلى نسبة إصابة بالفايروس الكأسي السنوري (33.3%) .

ولغرض التقصي عن الأضداد المتخصصة للفايروس الكأسي السنوري في الدم الذي تم جمعه من القطط تم استخدام اختبار التألق المناعي غيرالمباشر كذلك تم التقصي عن جزيئة الحامض النووي الرايبوزي للفايروس الكأسي السنوري من خلال استخلاص الحامض النووي الرايبوزي من المسحات ومن ثم الكشف عن جين قالب القراءة المفتوحة Open Reading Frame (ORF) من خلال استخدام الباديء الخاص بذلك ضمن تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل, ومن العينات الايجابية تم انتقاء 10 عينات وتم تنقية الحامض النووي لها ومن ثم تم اجراء التسلسل الجيني لكل عينة في مختبر Marcrogen ,Korea ومن ثم تحديد التشابه للتسلسل الجيني في قاعدة البيانات بأستعمال برنامج Basic Local Alignment Search والموجود في الصفحة الالكترونية للمركز الوطني للتقانات الحياتية (www.ncbi.nlm.nih.gov) (NCBI) , ومن ثمّ تم إنشاء محاذاة السلاسل المتعدد باستعمال برنامج Cluster omega ثم انشئت شجرة النشوء باستعمال برنامج MEGA 7.

أظهرت نتائج التسلسل الجيني للجين ORF3 للفايروس الكأسي السنوري وجود تسلسل جيني للعينات المرسله في القطط في مدينة الموصل اذ تبين وجود عزلتين فقط من مجموع العينات المرسله للتسلسل الجيني, وتم تسجيلها في بنك الجينات برقم تسلسلي (OK317705) مع وجود نسبة تشابه بينهما بلغت 78.9%, بينت نتائج محاذاة التسلسل المتعدد للجين ORF3 (Open Reading Frame) وجود مناطق ثابتة من تسلسل القواعد النيوكليوتيدية للجين ORF3 فضلاً عن وجود مناطق مشتركة ومتغيرة ومفقودة من ضمن التسلسلات, بينما بينت النتائج وجود نسبة تشابه ما بين العزلات المحلية التي تحمل الرقم التسجيلي بينك الجينات (OK317704) مع العديد من العزلات العالمية والمسجلة بالبنك الجيني حيث بلغت أعلى نسبة

ج

تشابه 100% واقل نسبة تشابه 9.1%, فيما بلغت نسبة تشابه ما بين العزلات المحلية التي تحمل الرقم التسجيلي بينك الجينات (OK317705) مع العزلات العالمية للفايروس حيث بلغت أعلى نسبة تشابه 98.8% واقل نسبة تشابه 9.1%, بينت نتائج الدراسة أن شجرة النشوء الجيني التي تم انشاؤها, أن الجين ORF3 للنوعين الوراثنين الذين تم عزلهما خلال الدراسة يملكان صفات نشوءية وتطورية مع الأنواع الوراثة المسجلة إذ تراوحت نسبة العلاقة التطورية 99.3-100%.

Diagnostic and molecular study of feline Calicivirus in cats in Mosul city

**A Thesis Submitted
By**

Alaa Kadem Hamdan

**To
The Council of College of Veterinary Medicine
University of Mosul
In Partial Fulfillment of the Requirement for
the Degree of Master of Science
In
Veterinary Medicine / Veterinary Microbiology**

**Supervised By
Prof.
Dr. Safwan Yousif Albaroodi**

2021 A.D

1443 A.H

Abstract

The study included the examination of 200 cats of different ages and of both sexes (males, females). The nature of their management system is (inside homes, outside homes). The origin is both (imported, local), and their vaccination programs (vaccinated, not vaccinated). They were clinically examined and clinical signs were recorded. The study aimed to investigate the virus in cats using the polymerase chain reaction and the indirect immunofluorescence test to compare the extent of differences in the presence of the virus in eye swabs and pharyngeal swabs in order to determine the role of some epidemiological factors such as age, source, health status, breeding systems, and case history, and whether the animals were vaccinated or not. On the percentage of infection and the establishment of the genetic phylogeny of feline calicivirus, blood samples were collected from the cephalic vein, as well as swabs from the conjunctiva of the eye and the pharynx area. Then, the samples were transferred in a tight and refrigerated manner and as quickly as possible to the Microbiology Laboratory - College of Veterinary Medicine - University of Mosul. The results of the examination showed Clinical signs in the examined animals during the study of the presence of clinical signs of varying intensity and type, as represented by the presence of secretions from the eyes with conjunctival congestion, nasal secretions, abortion in females. Melting, jaundice, edema in the joints with lameness, ulcers of different sizes in the tongue and gums, in addition to that some animals were apparently healthy. The results of the serological study showed that the rate of infection with feline calf virus reached is (59%), and the highest percentage of infection was in the ages less than six months at a rate of (60.9%), and in cats that suffer from ulcers in the mouth is (64.4%) while in cats raised indoors (60.1%), in addition to a high percentage in imported cats (65.6%) compared to local ones (52.8%). The highest infection rate is found in vaccinated cats (68.05%). the results of the molecular study showed a higher infection rate from swabs collected from the pharyngeal area (44.5%) compared to swabs collected from

the conjunctiva. The study results also showed that the highest infection rate was in The age group less than 6 months (47.1%) and the incidence of infection decreased with age. The highest infection rate was recorded in cats suffering from mouth ulcers (51.1%) and in cats raised indoors (42.6%) as well as imported ones (48.9%).), while vaccinated cats recorded the highest .(rate of infection with feline calicivirus (33.3%).

For the purpose of detecting the specific antibodies to the feline calicivirus in the blood that was Collected from cats, indirect immunofluorescence assay was used .The RNA molecule of the feline goblet virus was also investigated by extracting RNA from the smears, and then detecting the Open Reading Frame (ORF) gene through the use of the special primer within the technology. Polymerase chain reaction, and from the positive samples, 10 samples were selected and their DNA was purified. Then the genetic sequence for each sample was conducted in the Marcrogen Laboratory, Korea, and then the similarity of the genetic sequence was determined in the database using the Basic Local Alignment Search program available on the center's web page The National Biotechnology Institute (NCBI) www.ncbi.nlm.nih.gov). Then, a multi-string alignment was generated using Cluster omega program, and then a phylogenetic tree was constructed .using MEGA 7.

The results of the genetic sequence of the ORF3 gene of the feline calf virus showed the presence of a genetic sequence of the samples sent in cats in the city of Mosul, as it was found that there were only two isolates out of the total samples sent for the genetic sequence. 78.9% of the results of the multiple sequence alignment of the ORF3 gene (Open Reading Frame) showed the presence of fixed regions of the sequence of the nucleotide bases of the ORF3 gene, as well as the presence of common, variable and missing regions among the sequences; while the results showed a similarity ratio between the local isolates bearing the registry number in a bank Genes (OK317704) with many global isolates registered in the gene bank, where the highest similarity rate

was 100% and the lowest was 9.1% similarity, while the similarity rate between local isolates bearing the registry number in the gene bank (OK317705) with global isolates of the virus, which reached the highest percentage 98.8% similarity, and the lowest similarity rate is 9.1%. The results of the study showed that the phylogenetic tree that was created, that the ORF3 gene of the two genotypes isolated during the study has phylogenetic characteristics. and evolutionary with the recorded genetic species, as the .evolutionary relationship ratio ranged from 99.3-100%.