دراسة سيرولوجية لتبيان انتشار فايروس B.L وفايروس IBR في بعض مناطق بغداد وضواحيها بأستخدام أختبار ELISA

امجد خاجيك مجيد

فرع الاحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد.

الخلاصة

جمعت ٨٩١ عينة مصل لابقار وعجول مضربة من حقول مختلفة في مدينة بغداد وضواحيها لدراسة مدى انتشار فايروس B.L. كما جمعت ١٦٤ عينة لدراسة انتشار فايروس IBR في نفس المنطقة.

أجري على العينات أختبار الاليزا للكشف عن وجود الضدات المناعية الخاصة بالفايروسين.

وقد دلت النتائج عن انتشار هذه الضدات بنسبة ١ر٧ % بالنسبة للفايروس B.L. أما بالنسبة للفايروس IBR فكانت النتائج ٥ر١١ % واظهرت النتائج تفاوت بنسبة الاصابة بين الحقول المختلفة.

المقدمة

يعتبر فايروس B.L من الفايروسات المهمة والمصنف ضمن عائلة Retroviridae من مجموعة Oncoviruses.

يسبب الفايروس مرض ابيضاض الدم Bovine Leukemia وهو من الأمراض المميتة والذي يصيب الابقار بصورة خاصة وقد يصيب الاغنام أيضاً، ويسبب المرض خسائر اقتصادية كبيرة [1،2،3].

ينتقل المرض عن طريق الاتصال المباشر بين الحيوانات كما ويلعب الدم دوراً مباشراً مهما بذلك، وقد اكتشف المرض لأول مرة عام ١٩٦٩. [3،5،6،7،8]. المرض منتشر في كثير من بلدان العالم كالولايات المتحدة وأوربا وغيرها، وفي العراق لم تجري اي دراسة سابقة تثبت وجود أو انتشار المرض[2،4]. هناك اهمية متزايدة في تأثير الفايروس على الصحة العامة خصوصا بعد التقارير التي تشير الى أمكانية أصابة أنواع مختلفة من اللبائن تجريبيا كذلك أصابة الشمبانزي طبيعيا بعد تناول الحليب من بقرة مصابة [4]، لذلك قد تكون هناك بعض الخطورة خصوصا بالنسبة للعاملين بمجال الحقول والفلاحين الذين قد يتناولون الحليب دون بسترة، خصوصاً اذا ما عرفنا أن

الفايروس يبقى داخل خلايا اللمفوسايت مما يكسبه مقاومة بظروف الخزن وحتى البسترة احيانا، وقد وجد بالولايات المتحدة هناك علاقة وبائية بحدوث حالات Acute Lymphatic Leukemia بالانسان مع كثافة تربية قطعان ابقار الحليب ووجود BLV.[4,2]

التشخيص يعتمد بصورة رئيسية أستخدام مجموعة من الاختبارات السيرولوجية مثلQD, CFT, RIA, FAT ومن الأختبارات التي شاع أستخدامها مؤخرا هو ELISA[9,2,1].

اما الفايروس IBR فهو من نوع Herpes ضمن عائلة Herpetoviridae وقد عزل في العراق عام ١٩٨٤ من حالة اصابة تنفسية [13].

يسبب الفايروس مرض التهاب الانف والرغامي الخمجي في الابقار IBR وهو من الأمراض المعدية والحادة التي تصيب الابقار والعجول والذي ينتقل عن طريق الاحتكاك المباشر والاتصال الجنسي والتلقيح الاصطناعي[4]. المرض منتشر في كثير من بلدان العالم ومن ضمنها العراق[15,11].

وللتشخيص يستخدم مجموعةمن الاختبارات السيرولوجية مثل، GD, FAT, N.T وكذلك اختبار الاليزا الاكثر حساسية [15,13].

المواد وطرائق العمل

استخدام نوعان من طقم خاص لفحص الاليزا(ELISA KIT) تم الحصول عليه من شركة Flow laboratories واحد لـ BLVوالأخر خاص بالفايروس IBR وكانت تحتوي على اطباق خامة مثبت عليها الفايروس الخاص بالطقم كذلك يحتوي الطقم على المقترن Conjugate, anti-immunoglobuline ويحتوي ايضا على مصل خاص للفايروس BL وآخر للفايروس IBR.

وقد تم تحضير مجموعة من المحاليل المستخدمة في هذا الأختبار وهي محلول الغسيل Washing solution (ph 7.2) والمحلول المخفف Dilution Buffer (pH 7.2) والمحلول الموقف Stopping solution ومحلول المادة الحليلة Enzyme substrate (PH5). وقد تم جمع مجموعة من عينات المصل من عدد من الحقول المختلفة وتم ابطال مفعول المتمم بوضعها بدرجة حرارة ٥٦ درجة مئوية لمدة نصف ساعة، بعد ذلك اجريت عليها الدراسة، حيث تم اجراء أختبار الاليزا على ١٩٨ عينة مصل بأستخدام الطقم الخاص بالفايروس BL

للكشف عن الضدات الخاصة بالفايروس وحسب تعليمات الشركة المنتجة والطريقة المعتمدة لاجراء الاختبار وبصورة مضاعفة Duplicate.

كما واجري نفس الاختبار على ١٦٤ عينة مصل بأستخدام الطقم الخاص بالفايروس IBR للكشف عن الضدات الخاصة بالفايروس IBR.

وقد اجري الاختبار في مختبر الصحة العام المركزي التابع لوزارة الصحة.

النتائج

أظهرت نتائج أختبار الاليزا على عينات المصل للكشف عن الضدات الخاصة بالفايروس BL بأن هناك ١٤ عينة موجبة من مجموع ١٩٨ عينة أستخدمت بالاختبار وأظهرت خمسة عينات نتائج مشكوك بها والبقية كانت سالبة. أما العينات الخاصة بالفايروس IBR فظهر هناك ١٩ عينة موجبة مقابل ٤ عينات مشكوك بها والبقية سالبة، وكما موضح بالجدول رقم (١) و (٢).

أما نتائج كل حقل فيما يخص B.L, IBR فموضحة بالجدول رقم (٣) و (٤). والشكل (١) يوضح طبق خاص بفحص الاليزا ويلاحظ فيه العينات الموجبة والسالبة حسب الكثافة اللونية.

جدول ١: يوضح نتائج أختبار الاليزا على عينات المصل للكشف عن الضدات الخاصة بالفايروس BL.

عدد العينات المستخدمة بالاختبار	عدد العينات الموجبة	عدد العينات السالبة	عدد العينات المشكوك بها	السيطرة الموجبة	السيطرة السالبة
BL ١٩٨	(+)١٤ 0.983-2.254 O.D	(-) ١٧٩ 0.101-0.276 O.D	(+) 0 0.455-0.776 O.D	0.853 O.D	0.113 O.D

O.D وحدة قياس الكثافة الضوئية.

جدول ٢: يوضح نتائج أختبار الاليزا على عينات المصل للكشف عن الضدات الخاصة بالفايروس IBR.

عدد العينات المستخدمة بالاختبار	عدد العينات الموجبة	عدد العينات السالبة	عدد العينات المشكوك بها	السيطرة الموجبة	السي السا
IBR ١٦٤	(+) ١٩ 1.102-2.488 O.D	(-) ١٤١ 0.023-0.251 O.D	(+) ٤ 0.563-0.812 O.D		

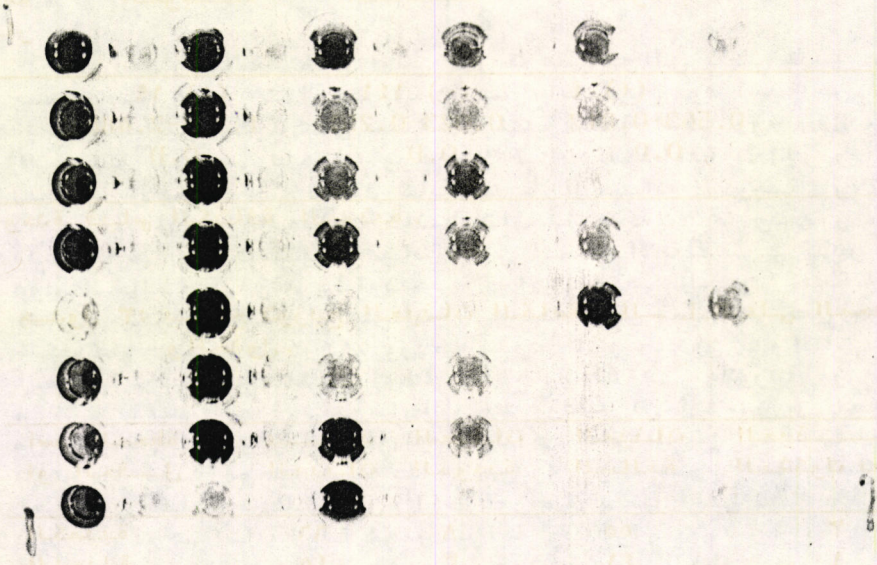
O.D : وحدة قياس الكثافة الضوئية.

جدول ٣: يوضح توزيع العينات الخاصة بالـ B.L على المحطات والحقول.

أسم المحطة أو الحقل	عدد العينات	العينات الموجبة	العينات السالبة	العينات المشكوك بها
الكميبة	٦٦	٨	٥٥	٣
الدجيلة	٤٥	٣	٤١	١
محطات مختلفة	٥٧	٢	٥٤	١
الصويرة	٣٠	_	٣٠	_

جدول ٤: يوضح توزيع نتائج العينات الخاصة بالـ IBR على المحطات والحقول.

أسم المحطة أو الحقل	عدد العينات	العينات الموجبة	العينات السالبة	العينات المشكوك بها
الكميبة	٦٦	٤	٦٠	٢
٧ نيسان	٣٦	٧	٢٧	٢
محطة كلية الطب البيطري	١٢	_	١٢	_
محطات أخرى	٥٠	٨	٤٢	_



شكل ١: طبق خاص لفحص الاليزا ويلاحظ فيه العينات الموجبة والسالبة حسب كثافة اللون المتكون بالحفر.

المناقشة

يعتبر مرض B.L من الامراض الحديثة نسبيا في العالم لذلك اقتصرت الدراسات الوبائية عليه في الولايات المتحدة ودول أوربا وبعض الدول القليلة الاخرى، لذا تعتبر هذه اول دراسة وبائية في القطر على قطعان الابقار في منطقة محدودة من العراق والتي قد تعطي بعض المؤشرات عن مدى انتشار المرض.

أظهرت النتائج التي اجريت على حوالي مئتي عينة مصل جمعت من عدة حقول لتربية أبقار الحليب وجود نسبة من هذه الحيوانات تحتوي على ضدات مناعية خاصة للفايروس B.L وهو المسبب الرئيسي للمرض، ووجود الضدات المناعية تعتبر وسيلة لتحديد الاصابة [2,7]، فقد كانت نسبة العينات الموجبة ١ر٧٪مع نسبة اقل من العينات كانت نتائجها مشكوك بها وتعتبر مثل هذه النسبة ليست قليلة قياسا الى النسب المعلنة في كثير من دول العالم [2]. وقد تفاوتت نسبة الاصابة في الحقول المختلفة التي جمعت منها العينات، فوصلت اعلى نسبة في حقل محطة الكصيبة حيث كانت ٢ر١٢٪ وربما يعود السبب لكون حيوانات هذه المحطة وغيرها التي اعطت نتائج موجبة هي مستوردة من دول منتشر بها المرض، خصوصا اذا ما عرفنا أن الفايروس المسبب من الممكن ان يبقى لفترة طويلة داخل جسم الحيوان، بينما لم تظهر أي عينة موجبة في محطة الصويرة. وقد تكون هناك اصابات أخرى في مناطق مختلفة من القطر وربما بنسب اعلى لذا يستدعي ذلك أجراء دراسات لاحقة لعمل دراسة وبائية اكثر شمولية لهذا المرض ورسم صورة كاملة عن حجم انتشاره في القطر.

أما النتائج الخاصة بالفايروس IBR فكانت نسبة الاصابة ٦ر٩٪ لكل العينات التي جمعت من عدة مصادر، وتراوحت بين ١٩٪ في محطة أبقار ٧ نيسان وصفر ٪ في محطة البحوث الحقلية التابعة لكلية الطب البيطري. (ومن خلال هذه النتائج ومقارنتها مع نتائج (١١) التي كانت نسبتها (٥٢٪) نلاحظ هناك قلة في نسبة العينات الموجبة وقد يعود السبب كون الدراسة التي اجريت عام ١٩٨٥ كانت مباشرة بعد نشوب ثورة مرضية للمرض بالقطر ومع ذلك فالدراسة الجديدة أثبتت وجود نسبة اصابة عالية نسبيا في بعض الحقول مما يتوجب تطبيق نظام الوقاية بأستخدام لقاح ضد المرض لاسيما هناك دراسة سابقة تشير الى أمكانية أنتاج وأستخدام لقاح حي مضعف لوقاية الحيوانات من الاصابة [17].

مما يعزز نتائج هذه الدراسة أستخدام أختبار الاليزا الذي يتميز بحساسية عالية والتي تعتمد نتائجه كثيرا

بالدراسات الوبائية وغيرها [18,19] ويستخدم هذا الاختبار بشكل واسع في كثير من دول العالم كاختبار مصلي لاجراء الدراسات السيرولوجية والوبائية على كثير من الامراض الفايروسية ومن بينها IBR,BL.

وقد قورنت نتائج هذا الاختبار مع كثير من الاختبارات السيرولوجية المعتمدة وأثبت حساسية عالية مما يعول عليه كثيرا في أجراء الدراسات والبحوث [20,19,2].

REFERENCES

1- James. H.G., John. F.T: Infectious Diseases of Domestic Animals. Seventh Edition (1981).

2- Russell, P.H., Edington. N; Lectures in Veternary Virology. Reprinted (1986).

3- Brandon, R.B., Gate, M.H.; (1989). Change in B Cell and T Cell in Bovine Leukemia Virus-Infected Cattle. Vet Immunology and Immunopathology 23.

4- Michael, J. Rubino, Ph.D. and Kelly, J. Donham. M.S.; (1984). In Activation of Bovine Leukemia Virus-Infected Lymphocytes in Milk. Am. J of Vet Res No. 8, 45:1553-1556.

5- Buxton. B.A, PHD., Hinkl. N.C., Ms; (1985) Role of Insects In the Transmission of BLV. AM. J. Vet. Res. No.I, 46:123-126.

6- Lucas, M.H., Dawson., M; (1980). Enzootic Bovine Leucosis Virus in Semen. Vet Record; 106, 128.

7- James. F. Evermann, PHD., Ronald, F. Digiacoma, VMD, MPA; (1986). Transsmission of BLV by Blood Inoculation. Am J of Vet Res, No. 9, 47; 1885-1887.

8- Gatei, M.H., Melennan, M.W, (1989). Experimental Infection of Sheep With BLV Infectivity of Blood, Nasal and saliva secretion. J. Vet. Med, 36: 1-8.

9- Yasuhiro, Y. Kiyoshi, T; (1987). Early Diagnosis of Onzootic Bovine Leukosis. The Japanese. J of Vet Science. No. 6, 49.

10- Blood, D.C., Henderson, J.A; (1979) Vet Medicine, Atext Bookof the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs and Horses, 5th.ed.

11 عباس، أمير خضير (١٩٨٥) وبائية مرض التهاب الانف والرغامي الخمجي في الأبقار حول مدينة بغداد مع التوصيف الجزئي للعامل المسبب. رسالة مقدمة الى كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد.

12- Yates, W.D.G., (1982). Areview of IBR Shipping Fever Pneumonai and Viral- Bacterial Synergism In Respiratory Disease of Cattle. Can. J. Comp Med., 46: 225 - 263.

13- Al-Bana, A.S., shony , M.O; and Mohymen, N.A., (1984) Isolation and Identification of (IBR) Virus from Acow with Arespiratory Tract Infection. The Iraqi Jourranl of Vet. Med., 8: 77 - 86.

14- Elazbary, M.A.S.Y., Lamothe, P; (1980). Bovine Herpes Virus I In The Sperm of Abull from Aherd with fertility Problems, Can. Vet. J. 21: 336 - 339.

15- Espinasse, J.; Lelayec, C.; and Haridon. R. (1979). Detection of Infectious Bovine Rhinotracheitis In Calf Nasal Secretions By AnImmunoenzymetic Test. Bull. Acad. Vet. Fr., 52: 507-512.

16- Durham, P.J.K., Sillars, H.M.:(1986). Evaluation of An Enzyme-Linker Immunosorbent Assay (ELISA) for Serodiagnosis of IBR with Result of Preliminary Survey. Newzeland. Vet. J. 34, 27-30.

17- مجيد، أمجد خاجيك (١٩٩٠) تقويم وتقييس اللقاح الحي المضعف لفايروس التهاب الأنف والرغامي الخمجي في الابقار (IBR). رسالة مقدمة الى كلية الطب البيطري/جامعةبغداد.

18- Herring, A.J. Nettleton, P.F., Burreus, C.;(1980). Amicro-Elsia for The Detection of Antibodies to IBR Virus. Vet. Rec., 107: 155 - 156.

19- Bradely, J.A.,(1985). Eradication of IBR virus from Herd of Beff Cattle. Can. Vet. J 26: 195 - 198.

20- Corkish, J.D.; (1988). An Attempt to Establish Aherd Serologically Negative for IBR. Vet. Rec. 122: 552 - 554.

SEROLOGICAL STUDY FOR BL AND IBR VIRUSES IN AND AROUND BAGHDAD AREA BY ELISA.

A. Kh. Majeed.
Department of Microbiology. College of Vet. Medicine. Univ. of Baghdad, Iraq.

SUMMARY

Two hundred and eight six blood samples were collected from cross - bred cows and calves at several rearing plants in and around Baghdad area. Such samples were screened for the presence and spread of B.L and IBR disease. ELISA we used for all samples check for the Presence of specific anti BL and IBR viral antibodies.

Results indicated the paresence of such antibodies in percentages of 7.1% ((from atotal of 198 samples)) for BL virus and 11.5% ((from atotal of 164 sample)) for IBR virus.

Results also showed variable infection rates among different plants under survey.