التحري عن الإصابة بفيروس جدري الإبل في بعض محافظات العراق بأستخدام تقنية تفاعل سلسلة أنزيم البلمرةPCR

أ. م . هدى عبد الهادي علي النصراوي **محمود شاكر عبد الأمير عيدان**

وحدة بحوث الامراض المشتركة/ كلية الطب البيطري /جامعة القادسية

الخلاصة

صممت هذه الدراسة لغرض تشخيص الإصابة بفيروس جدري الابل وذلك لاول مرة في العراق باستخدام تقنية تفاعل سلسة البلمرة (PCR) في مناطق مختلفة من محافظات العراق .

تم جمع 100 عينة من البثور (papules) للحيوان المصاب باعراض مشابهة لمرض جدري الابل بعد ان تم تشخيصها سريريا من خلال العلامات السريرية و تاريخ الحالة المرضية التي تمثلت بارتفاع في درجات الحرارة و زيادة الإفرازات الدمعية و نزول اللعاب من الفم وإفرازات مخاطية كما يلاحظ ظهور الآفات الجلدية على الرأس و الجفون و صيوان الأذن وحدوث تورم الرأس إلى مرحلة الانتفاخ و تمتد الآفة على الرقبة و الأطراف و الأعضاء التناسلية و الغدد الثديية و فتحة المخرج .

استخدامت تقنية تفاعل سلسلة البلمرة PCR لتشخيص فيروس جدري الابل في العينات التي شخصت سريرياً من خلال الكشف عن الجين (C18L) الذي يشفر بروتين انكرين المتخصص في جينوم DNA ثنائي الخيط المزدوج ، بعد أستخلاص DNA و تضخيمه (Amplification) في جهاز PCR بستخدام البادئات(Primers) الخاصة بهذا الجين ، وكان حجم DNA المضخم 234 زوج قاعدي ، آذ بينت النتائج ان 70 % من العينات موجبة لفحص PCR في حين 30 % كانت سالبة من مجموع العينات المفحوصة.

المقـــــــــــدمـــــــــــــة :

يعد مرض جدري الإبل من الأمراض المهمة التي تصيب الإبل في العراق ،وغالبا ما يظهر المرض في الإبل الصغيرة العمر بصورة فردية، وقد يظهر بصورة وبائية وحادة في القطعان التي تتعرض لعوامل أجهاد قاسية مثل الفطام في ظروف غذائية سيئة ،أو الظروف البيئية القاسية التي تحدث من وقت الى أخر في محافظات العراق و قد ينتهي بعضها بالنفوق، أما في معظم الحالات والتي تكون فيها شدة الاصابة ضعيفة تشفى منها الحيوانات تلقائيا أو بعلاجات بسيطة ، ما لم تحدث مضاعفات، وتكتسب الحيوانات التي تشفى من تلك الإصابات مناعة تستمر مدى الحياة(13)

مرض الجدري هو مرض فيروسي شديد العدوى يصيب الابل الصغيره التي تتراوح اعمارها ما بين (6 اشهر الى 3 سنوات) ، وأكثر مناطق الجسم أصابة هو الرأس والرقبة ثم تنتشر الاصابة الى باقي اجزاء الجسم الخالية من الشعر، ويتميز بظهور بثور جلديه بنيه اللون مغطاة بقشور، ويظهر الطفح على شكل حبيبات على الجلد والأغشية المخاطية في السطح الداخلي للشفة وحول العينين مما قد يمنعها من النظر(12).

كما تظهر الآفات في الأفخاذ مع تورم الشفتين والعقد اللمفاوية تحت الفك، وتصاب الابل بالهزال و تكون معرضه للنفوق في حاله الاصابه الشديدة أو الإصابات الثانوية أو التأخر في علاجها، وقد ينتقل المرض إلى ألإنسان في ظروف معينة ويأخذ المرض صورة حميدة في معظم الحالات وتكون الاصابة مركزة في الذراعين ، كما أن هنالك حالات نادرة لإصابات بقرح في الشفتين والفم بعد تناول حليب الحيوانات المصابة (6) ويعتبر العمر وحالة التغذية والمناعة والإجهاد من أهم العوامل المساعدة على الاصابه (16).لاحظ(7) أن نسبة الإصابة (Morbidity rate) بجدري الابل (Camel pox) تكون مرتفعة و متباينة ومتغيرة بالاعتمادُ على شدة الاصابة في القطيعِ، وان نسبة الإصابة في الذكورِ أعلى مِنْ الإناث، و نسبة الهلاكات في الحيواناتِ الصغيرةِ أعلى مِنْ الحيوانات البالغة. حيث تصل نسبة الهلاكات في الحيواناتِ البالغةِ 5- 28% في حين تصل في الحيواناتِ الصغيرةِ 25 - 100 % . يحدث انتقال للإصابة أمّا عن طريق الاحتكاك المباشر بين الحيواناتِ المُصَابةِ والحيوانات السليمة، أَو الانتقال الغير مباشر عن طريق البيئة الملوثة، او بالاستنشاق أَو عن طريق الجروح في جلد الحيوا ن السليم (14). أشار (16)إلى وجود الفيروس في الحليبِ، و اللعاب، والإفرازات الدمعية والأنفية، كما أن القشور الجافة المتساقطة من الحيوانات المصابة (Dried scabs) تكون حاوية على الفيروس و لمدة أربعة أشهر على الأقل وتكون مصدرا للتلوث. و قد تلعب المفصليات(Arthropod) دورا مهما في انتقال الإصابة، حيث تم تشخيص الفيروسِ في قراد الإبل (*Hyalomma dromedarii*) باستعمال المجهر ألالكتروني الحديث.

إنّ تقنية سلسلة تفاعل إنزيم البلمرة (PCR) التي تستخدم بشكل واسع في العالم هي من التقنيات المتقدمة في التشخيص الجيني للمسببات المرضية ، والتي تمتاز بدقتها الشديدة وحساسيتها العالية في الكشف عن مورثات الإنزيمات المختلفة.ومن خلال إستعمال قطع من DNA ذات عدد محدود من النيوكليوتايد (Oligonucleotid) تعمل كبادئات متخصصة لمورثات معينة ، الذي يشفر بروتينات متخصصة يدخل في تركيب غلاف فيروس جدري الأبل. حيث تم تشخيص الاصابة بفيروس جدري الابل في الحيوان و الانسان باستخدام هذه التقنية الحديثة(4) .

المواد وطرائق العمل Materials and Methods :-

١. المواد Materials :-

*الأجهزة والأدوات Equipments and instruments :-

الجدول (1): يوضح الأجهزة والمعدات المختبرية التي استخدمت في هذه الدراسة مع اسم الشركة المصنعة وبلد المنشأ.

ت	اسم الجهاز	الشركة	بلد المنشأ
1	PCR thermocycler	Bibby Scintific	البلجيكية
2	مازج Vortex	Cyan	المانيا BELGIUM
3	جهاز الترحيل الكهربائي electrophoresis	Max fill	UK المملكة المتحدة البريطانية
4	مصدر الاشعة فوق البنفسجية U.V light source	Caution	EUالاتحاد الأوربي
	صفيحة حرارية هزازة ممغنطة Magnetic hot plate stirrer	Heidolph	المانيا
	هاون خزفي Mortar	Heittch	المانيا
	مقياس الاس الهيدروجيني pH	Heittch	المانيا
	جهاز الموصده Autoclave	Sturdy	تايوان
	جهاز الطرد المركزي High speed cold centrifuge	Hemle-GmbH	المانيا

*العُدد Kits : -

المواد المستخدمة في العدد التشخيصية وكما يلي:

1- عدة استخلاص الحمض النووي من النسيج Genomic DNA extraction kit (Tissue) الشركة المصنعة هيGeneaid وبلد المنشأهو(USA)

2- عدة مزيج تفاعل AccuPower® PCR PreMix PCR : الشركة المصنعة هيBioneer وبلد المنشأهو(Korea)

* المواد الكيمياوية :-

الجدول (2): يوضح جميع المواد الكيمياوية التي استخدمت في هذه الدراسة مع اسم الشركة المصنعه وبلد المنشأ.

ت	اسم المادة	الشركة وبلد المنشأ
A.	هلام الاكروز Agarose gel	BIO BASIC INC/ USA
B.	الكحول الاثيلي المطلق Absolute ethanol	Merck /Germany
C.	الماء الخالي من إنزيمات تحليل الاحماض النووي PCR water (Free nucleases water)	Bioneer/ Korea
D.	محلول الدارئ TBE buffer	BIO BASIC INC/ USA
E.	صبغة بروماید الاثيديوم المشعة Ethidium bromide	Invitrogen / USA
F.	صبغة التحميل Loading dye	
G.	سلم الحمض النووي القياسي 1000bp DNA ladder	Bioneer/ Korea
H.	كلوريد الصوديوم NaCl	Merck /Germany
I.	فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين KH_2PO_4	Merck /Germany
J.	فوسفات أحادي الصوديوم أحادي الهيدروجين Na_2HPO_4	Merck /Germany

* البادئات Primers :-

استخدمت البادئات حسب طريقة (3)للتحري عن فيروس جدري الإبل على أساس ألجين (C18L) الذي يشفر بروتين الانكرين المتكرر (Ankyrin repeat protein) الذي يدخل في تركيب غلاف فيروس جدري الأبل .

الجدول رقم(3): يوضح البادئات التي استخدمت في هذا الدراسة مع تسلسلها النيوكليوتيدي وناتج فحصPCR:

Primer	Sequence		PCR product
C18L	F	3 –GCGTTAACGCGACGTCGTG–5	243bp
	R	3–GATCGGAGATATCATACTTTACTTTAG– 5	

F: Forward primer البادئ الأمامي R: Reverse primer البادئ العكسي

2–طرائق العمل: -

*تحضير المحاليل و الدوارئ : Solutions and Buffers

1– محلول كلوريد الصوديوم (5 مولاري)

حُضّر المحلول بإذابة 29.21 غرام من NaClفي 50 ملي لتر من الماء المقطر، وأُكمل الحجم إلى 100 مل، وعقم بالموصدة حسب طريقة (10).

2- محلول الفينول Phenol Solution

أذيبت بلورات الفينول من خلال وضعها في حمام مائي بدرجة حرارة 68 مْ، وتم نقل 100 مل من الفينول الذائب إلى قنينة معقمة، وأضيف إليه (0.1%) من المادة المضادة للأكسدة (8–hydroxiquinilone)، وأضيف إليه حجم مساوآ من 0.5 مولاري Tris–HCl (pH 8)في درجة حرارة الغرفة، ومُزج جيداً بجهاز المازج، ثم ترك من دون تحريك ليستقر وينفصل إلى طبقتين. رُفعت الطبقة المائية بواسطة ماصة باستور، وتم إهمالها وأضيف إليه حجم مساو من 0.1 مولاري Tris–HCl (pH8) وكررت العملية لحين وصول الأس الهيدروجيني إلى 8، وحفظ في قنينة معتمة في درجة حرارة ٤ مْ حسب طريقة (11).

3- محلول داريء الفوسفات الملحي Phosphate Buffer Saline (PBS) :-

حضر المحلول حسب طريقة(11)من المواد التالية التي ذوبت في لتر من الماء المقطر

وتم قياس الاس الهيدروجيني(pH) بواساطة جهاز(pH meter) ، وعدل الاس الهيدروجيني ليصبح (6.4) باضافة قطرات من حامض الهيدروكلوريك (HCL) بتركيز 1% ، ثم وزع المحلول في قناني زجاجية محكمة الغطاء سعة (500) مل وعقم بالموصدة.

4- مزيج الفينول: كلوروفورم: آيزوأميل الكحول:

تم تحضيره بمزج 250 مل من محلول الفينول مع250 مل من محلول مزيج الكلوروفورم آيزوأميل الكحول وبنسبة (1:24:25)، وحفظ تحت طبقة من Tris–HCl بتركيز 0.1 مولاري في عبوة زجاجية معتمة بدرجة حرارة 4مْ (11).

5- محلول صبغة بروميد الاثيديوم Ethidium Bromide Solution:

حُضّر بإذابة 0.05 غرام من صبغة بروميد الاثيديوم في 10 مل من الماء المقطر المعقم للحصول على تركيز نهائي 5 ملغم/مل، وحُفظ في قنينة معتمة (10).

6- محلول Tris-Borate EDTA (TBE):

يتكون المحلول من 0.089 مولاري من Tris-OH، و0.089مولاري من حامض البوريك و0.002مولار من Na2-EDTA في 800 مل من الماء المقطر، وعدل الأس الهيدروجيني إلى 8، وأكمل الحجم إلى 1000 مل، وعقم بالموصدة، وحفظ بدرجة 4 مْ لحين الاستعمال(11).

7- محلول التحميل Loading Buffer:

حُضّر المحلول بإذابة 0.25 غرام من صبغة البروموفينول الأزرق و4 غرام من السكروز في 10مل من الماء المقطر المعقم، وأكمل الحجم إلى 100 مل، وحفظ بدرجة 4ْم(11).

*جمع العيناتSamples collection : -

تم جمع 100عينة مرضية بأخذ البثور من الحيوانات المشكوك بأصابتها بفيروس جدري الابل بعد تشخيصها سريريآ في مناطق مختلفة من أربع محافظات العراق للفترة من شهر أيلول2010 الى شهر كانون الثاني 2011 (جدول4) حيث أخذت عينات مرضية من محافظة الديوانية و محافظة المثنى و محافظة النجف الأشراف ومحافظة واسط، وتم جمع 100 عينة من حالات مصابة بأعراض مشابه لمرض جدري الإبل وذلك من خلال ملاحظة العلامات ألسريريه الواضحة على الحيوانات المصابة ، مثل وجود الآفات والبثور على جلد الإبل المصاب في مناطق مختلفة من جسم الحيوان المصاب ، وتم اخذ قطع من نسيج بثور الجلد للابل المصابة ووضعت في أنابيب اختبار معقمة وبعدها حفظت بالتبريد لحين وصولها الى المختبر وحفظت بدرجة حرارة -20م لحين أجراء الفحص.

الجدول(4)يوضح عددالعينات التي جمعت من مناطق مختلفة في بعض محافظات العراق.

المحافظة	عدد العينات
واسط	28
النجف الاشرف	30
الديوانية	36
المثنى	6
المجموع	100

*فحص تفاعل سلسلة انزيم البلمرة Polymerase chain reaction (PCR)

تم أجراء فحص تفاعل سلسلة البلمره للتحري عن فيروس جدري الأبل وذلك حسب طريقة(3) الذي استخدم فحص تفاعل سلسلة البلمره على أساس جين ال (C18L) كفحص سريع ودقيق لتشخيص فيروس جدري الأيل من بثور الجلد الأبل المصابة، وتتضمن الخطوات مايأتي:

1-استخلاص الحمض النووي الفيروسي Viral DNA extraction : -

يتم أجراء استخلاص الحمض النووي لفيروس جدري الأبل Camel pox من بثور الجلد المحفوظة وذلك باستخدام عدة ال (Genomic DNA extraction kit, tissue)

2-الترحيل الكهربائي بالهلام Agarose Gel Electrophoresis

أُجريت عملية الترحيل الكهربائي للعينات قيد الدراسة، لفصل مستخلص DNA الكلي وفحصه على سطح هلام الأكاروز بنسبة 1 % . و يتم أجراء الترحيل الكهربائي باستخدام هلام الاكروز بنسبة 1.5% وذلك قراءة نتيجة تفاعل سلسلة البلمره PCR product analysis بالاعتماد على الطريقة التي ذكرت من قبل (3)

3-تحضير مزيج تفاعل سلسلة البلمرة PCR master mix:-

تم تحضير مزيج تفاعل سلسلة البلمره باستخدام عدة ال AccuPower® PCR PreMix وحسب تعليمات الشركة كألاتي :

١- يتم تحضير مزيج تفاعل سلسلة البلمره في أنابيب البي سي ار المجهزة مع العدة والحاوية على مكونات تفاعل سلسلة البلمره وأضيفت المكونات الأخرى لمزيج التفاعل وحسب تعليمات الشركة (الجدول5)

الجدول (5) الذي يوضح مزيج سلسلة تفاعل انزيم البلمرة حجم 20 مايكرولتر:

PCR master mix		Volume
DNA template		5µL
Primers	F. primer	1.5µL
	R. primer	1.5µL
PCR water		12µL
Total		**20µL**

2- بعد اكمال تحضير مزيج تفاعل سلسلة البلمره و مزجت بعناية بجهاز المازج vortex لمدة 5 ثواني.

3- وضعت الانابيب في جهاز PCR Thermocycler

4 - ظروف تفاعلات سلسلة إنزيم البلمرة PCR thermocyler condition

تم اجراء فحص تفاعل سلسلة البلمره باستخدام جهاز(PCR) ويتم ضبط الجهاز الدورات حسب طريقة Balamurugan واخرون (2009) للجين (C18L) المشفر لبروتين الانكرين وكما في (الجدول6)

الجدول (6) يوضح ظروف التفاعلات المستخدمة في جهاز الدورات الحرارية

PCR thermocyler condition	عدد الدورات No, of cycle	درجة الحرارة Temperature	الوقت Time
Initial Denaturation	1	95 °C	3 min
Denaturation	34	94 °C	30 sec
Annealing		60 °C	30 sec
Extension		72 °C	30 sec
Final Extension	1	95 °C	10 min
Hold	-	4 °C	End

النتائج والمناقشة

يعد مرض جدري الابل من الامراض الانتقالية و المهمة في العالم بشكل عام وفي العراق بشكل خاص ، ونظراً لعدم وجود دراسة شاملة وخاصة بهذا المرض وعدم توفر معلومات عن أماكن أنتشار الاصابة في العراق وكذلك عدم وجود دراسة حول تشخيص المرض بأستخدام التقنية الحديثة مثل تفاعل سلسلة البلمرة Polymerase chain reaction في العراق ، لذلك اجري البحث و لأول مرة في العراق وتضمن تشخيص الإصابة سريرياً عن طريق العلامات السريرية للمرض من ملاحظة البثور المنتشرة على الجسم ، وبعدها تم جمع العينات المرضية من الحالات المشكوك اصابتها وتم تشخيص الفيروس باستخدام التقنية الحديثة (PCR) وقد صمم الجين (C18L) الذي يشفر بروتين الانكرين المتكرر (Ankyrin repeat protein) الذي يدخل في تركيب الغلاف الفيروس لجدري الأبل (3) علماً أن هذا الجين مشابة الى نفس الجينات الموجودة في الانسان عند تعرض البشر الى مرض جدري الابل (4) وهذا يدل على ان هذا المرض من الامراض المشتركة التي تنتقل من الحيوان الى الانسان ، و هناك احتمال في تحويلِ فيروس جدري الابل إلى فيروس يشبه جدري الانسان نتيجة الى تطورات و التغيرات الجينية التي تحصل على الفيروس مما يؤدي الى تطور الاصابة في الانسان (8,18).

وان انتقال فيروس جدري الابل (*camelpox*) الى البشر يكون في الغالب عند الاشخاص الذين هم في اتصال مباشر مع الابل المصابة و تنحصر الافات في الاكثر بالأيدي و الاصابع (4) . وممكن أن تصاب الاغشية المخاطية للفم عن طريق تناول الحليب الحامل للفيروس في الحيوانات المصابة (5).

1-نتائج التشخيص السريري للمرض: - clinical diagnosis

لوحظ على الحيوانات المصابة أرتفاع في درجة الحرارة التي تصل الى (40-41) درجة مئوية وتضخم في العُقَد اللمفاوية الفكية وهذا ينطبق مع ما أشار أليه (9) .

تَظْهرُ الآفات على الجلدِ بعد (1-3) يوم من بدايةِ الحُمَّى،كما لوحظ على الحيوان إفرازات دمعية ونزول اللعاب من الفم وإفرازات مخاطية تقيحية أنفية و أسهال و لوحظ ظهور الافات المرضية أولاً على الرأس ، و الجفون، و الخياشيم و صيوان الآذنِ صورة (1) ، و في الحالات الحادّة يتورم كل الرأس ، وبالتالي فأن الافة الجلدية قَدْ تُمتدُ إلى الرقبةِ، و الأطراف ، و ألاعضاء التناسلية صورة(2) ، والغدّد الثديية المنطقة العجانية (perineum) وهذا ما يتوافق مع ما أشار أليه (14) . ، و ضيق في التنفس خاصة في الشكل ألجهازي

للمرض ،كما يحدث للاناث الحوامل أجهاض للجنين نتيجة الالتهابات البكتيرية الثانوية و التسمم الدموي (septicemia).

كما تنتشر الافة الى منطقة الصدر و الى تحت الأبط و بالتالي كل المناطق الخالية من الشعر صورة(3) وهذا اما أشار أليه (12)

وقد لوحظ في بعض الحالات المصابة حدوث ضعف في البصر الاحيان تؤدي الى العمى المؤقت الذي يستمر بين (3–8) يوم مما يؤدي الى عدم قدرة الابل المصابة على تناول الاكل و الشرب وبتالي تفقد هذه الحيوانات المصابة الكثير من وزنها و يلاحظ على الحيوان الهزال و الضعف الشديد و قلة في الوزن و قلة في انتاج الحليب مما يؤدي الى ضعف مقاومة الحيوان المصاب الى الأمراض الأخرى وهذا مايتطابق مع ما ذكره (2)و يختلف عن (15) في أن العمى يستمر مدة أطول من ذلك .

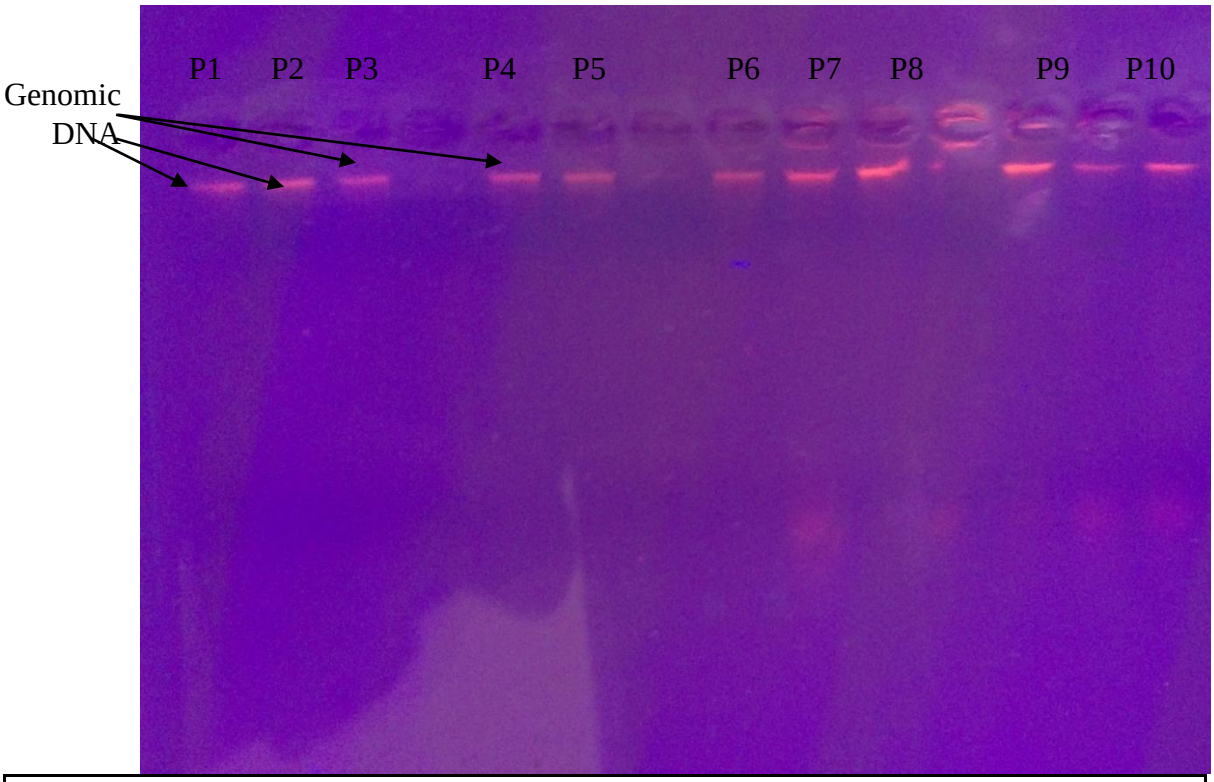
صورة(1) الافة المنتشرة في الوجه و الرقبة

صورة(2) وجود الافة في الاعضاء الاتناسلية

صورة (3): الاصابة في منطقة الصدر وبداية السا قتن

2-نتائج استخلاص الحامض النووي DNA للفايروس

وتم فحص مواقع حزم DNA المستخلص عند طول موجي 256 نانوميتر باستعمال جهاز الأشعة فوق البنفسجية، وقد صُوّر الهلام لغرض توثيق النتائج صورة(4).

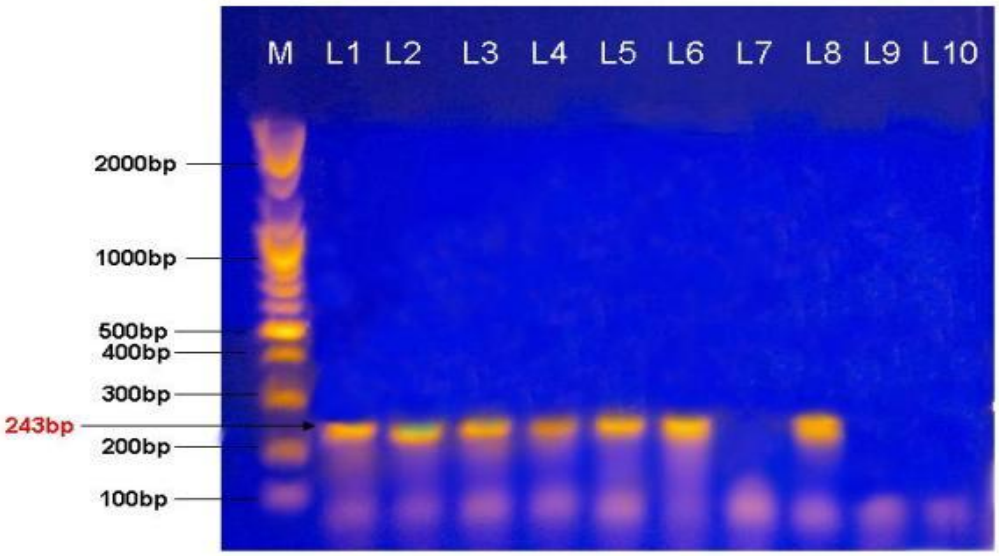


صورة (4) الترحيل الكهربائي للحمض النووي (DNA) في العينات قيد الدراسة . (١% من هلام الاكاروز) P1 – P10 عينات حاوية على DNA)

3– نتائج تشخيص الفيروس بأستخدام تقنية سلسلة تفاعل البلمرة Polymerase Chain Reaction (PCR)

تم فحص (100) عينة جمعت من الحيوانات المشكوك أصابتها بفيروس جدري االابل التي شخصت سريريآ بالاعتماد على العلامات و الاعراض السريرية للمرض و التي جمعت من الحيوانات في مناطق مختلفة من اربعة محافظات العراق ، للفترة من أيلول 2010 إلى كانون الثاني 2011،باستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمره PCR وبعد اجراء الترحيل الكهربائي

للعينات قيد الدراسة كانت نسبة العينات الموجبة المستخدمة في الفحص 70%حث يوجد تباين في نسبة الاصابة في المحافظات التي جمعت منها العينات صورة (5)(جدول7) .



Camel pox	Positive	المسار رقم 6	Camel pox	Positive	المسار رقم 1
NO	Negative	المسار رقم 7	Camel pox	Positive	المسار رقم 2
Camel pox	Positive	المسار رقم 8	Camel pox	Positive	المسار رقم 3
NO	Negative	المسار رقم 9	Camel pox	Positive	المسار رقم 4
NO	Negative	المسار رقم 10	Camel pox	Positive	المسار رقم 5

صورة(5) توضح الترحيل الكهربائي لموروث C18Lالمتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعينات الجدري

(جدول 7) : يوضح نتائج نسب الاصابة بمرض جدري الابل في محافظات العراق

المحافظة	عدد العينات المفحوصة	عددالعينات الموجبة في فحصPCR	عددالعينات السالبة في فحصPCR	النسبة المئوية لعدد العينات الموجبة في فحصPCR في المناطق قيد الدراسة
واسط	28	28	-	%100
النجف الاشرف	30	20	10	%66.6
الديوانية	36	16	20	%44.4
المثنى	6	6	-	%100
المجموع	100	70	30	%70

ويتبين من نسب الاصابة التي أظهرتها الدراسة ان الاصابة منتشرة في أغلب المناطق التي يكثر فيها تربية الابل في العراق بشكل واسع ، ومن خلال جمع المعلومات حول تاريخ الحالة المرضية لجميع الحالات المصابة التي حصلت عليها الدراسة و التي تؤكد ان الاصابة تظهر كل سنة في نفس الفصل خلال شهر أيلول و تشرين الاول و تشرين الثاني وتصيب الإبل الغير متعرضة للإصابة سابقا و هذا يتطابق مع ماذكره (17) ويختلف عن ما ذكره (1) الذي يؤكد ان الاصابة تظهر كل (2–3) سنة في نفس المنطقة .

References

1- **Al-Falluji. M.M.. Tantawi. H.H., and Shony, M.O. (1979).** Isolation, identificationand characterization of camel pox virus in Iraq. J. Hyg. Camb., 83: 267-272.

2- **Al-Ziabi O, Nishikawa H, Meyer H. (2007).** The first outbreak of camelpox in Syria. J Vet Med Sci 69:541-543.

3- **Balamurugan, V., Bhanuprakash, V., Hosamani, M., Jayappa, K.D., Venkatesan,G., Chauhan, B., Singh, R.K.,(2009).** A polymerase chain reaction strategy for the diagnosis of camelpox. J. Vet. Diagn. Invest. 21, 231-237.

4- **Bera,B.,C., Shanmugasundaram K.,Venkatesan G., Virmani N., Riyesh T.et.al., (2011)** zoonotic cases of camel pox infection in India vet. Microbiol.152(1-2):29-38

5- **Coetzer, J.A.W.,(2004)** Poxviridae. In: Coetzer, J.A.W., Tustin, R.C. (Eds.), Infectious Diseases of Livestock. 2nd ed. Oxford University Press, Southern Africa, pp.:1265-1267.

6- **Czerny CP, Meyer H, Mahnel H.,(1989)** Establishment of an ELISA for the detection of orthopoxviruses based on neutralizing monoclonal and polyclonal antibodies. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 36:537-546.

7- **Kriz B.,(1982).**A study of camelpox in Somalia. J Comp Pathol 92:1-8.

8- **Leite, J.A., Drumond, B.P., Trindade, G.S., Lobato, Z.I.P., da Fonseca, F.G., Sandos, J.R., Madureira, M.C., Guedes, M.I., Ferreira, J.M., Bonjardim, C.A., Ferreira, P.C., Kroon, E.G., (2005).** Passatempo virus, a vaccinia virus strain, Brazil. Emerg. Infect. Dis. 11, 1935-1938.inary Medicine University of California, Davis

9- **OIE, 2008.** Terrestrial Manual. Chapter 2.9.2. Camelpox.

10- **Pospiech, T.; and Neumann, J. (1995).** In genomic DNA isolation T. Kieser eds. John Innes center. Norwich. NR4 7UH. U.K

11- **Sambrook, J.; Fritsch, E. F.; and Maniatis. T. (1989).** Molecular Cloning: A laboratory Manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.

12- Tantawi H.H.,(1974). Comparative studies on camelpox. sheeppox and vaccinia viruses. Acta Virol.. IS: 347- 351.

13- Tantawi. H H.,El-Dahaby H. and Fahmy L.X.,(1978). Comparative studies on poxvirus strains isolated from camels. Acta. Viral.. 32: 45 1457.

14- Wernery U. & Kaaden O.R.,(2002). Camel pox. In: Infectious Diseases in Camelids, Second Edition, Wernery U. & Kaaden O.-R., eds. Blackwell Science Berlin, Vienna, 176–185.

15- Wernery U., Kaaden O. R,& Alim.,(1997). Orthopox virus infections in dromedary camels in United Arab Emirates (U.A.E.) during winter season. J. Camel Pract. Res., **4** (1), 51–55.

16- Wernery U., Meyer H. & Pfeffer M.,(1997). Camel pox in the United Arab Emirates and its prevention. J. Camel Pract. Res., 4 (2),:135–139.

17- Wilson, R.T., Araya. A. and Melaku, A.,(1990). The one-humped camel. An analytical and annotated Bibliography 1980-1989. Animal Production and Health Section, Joint FAO/IAEA, Division for Nuclear Techniques **in** Food and Agriculture. Wien. Austria.

18- Yadav, S., Hosamani, M., Balamurugan, V., Bhanuprakash, V., Singh, R.K.,(2010). Partial genetic characterization of viruses isolated from poxlike infection in cattle and buffaloes: evidence of buffalo pox virus circulation in Indian cows. Arch. Virol. 155, 255–261.

Detection of camel pox virus infected in some Iraqi province by using PCR technique

Huda Abd al hadei Al nassrawei **Mahmoud shaker Abd almir**

Coll. Of vet. Med. ,Univ. of Al- Qadissiya

Summary

This study was designed to diagnose the Camel pox virus as first time by using polymerase chain reaction (PCR) in different areas of Iraqi province .A total of 100 specimens of papules were collected from clinically infected camel with pox virus.

These signs were included the increase of temperature and lacrimal secretion with pus. Also, the skin lesion descripted in head, eyelids, ears, mammary glands and anus.

The polymerase chain reaction (PCR) was used to diagnose the camel pox virus for the specimens who clinically diagnosed via the detection the gene (C18l) which encode to ankeran protein of DNA genome after extraction duplex DNA and amplification of this gene, and the size of amplified (DNA) was 234bp.

The results showed that 70% of specimens were positive and 30% were negative for (PCR) assay.