العلاقة بين المدة من الولادة الى التلقيح المثمر ومدة الحياة والحياة الانتاجية لدى أبقار الهولشتاين

فراس رشاد السامرائي زياد طارق الدوري سعدي شعلان خلف زهير فخري الجليلي

المستخلص

تم تحليل 12139 سجل لأبقار الهولشتاين ، تعود الى محطة النصر التابعة للشركة المتحدة للثروة الحيوانية الواقعة في الصويرة ، المولودة خلال المدة من عام 1987 ولغاية 1999 ، بهدف دراسة تأثير الكفاءة التناسلية والمعبر عنها بالمدة من الولادة الى التلقيح المثمر كعامل مستقل (Independent) في طول مدة الحياة والحياة الانتاجية ، وكعامل تابع (Dependent) مع الصفتين آنفتي الذكر لغرض تقديرالارتباطات الوراثية والمظهرية بينها .

استعملت طريقة الانموذج الخطي العام (General Linear Model) ضمن البرنامج الجاهز SAS 2001 لدراسة تأثيرالمدة من الولادة الى التلقيح المثمر ، فضلا عن فصل وسنة الميلاد والعمرعند الولادة الاولى في طول مدة الحياة والحياة الانتاجية ، فيما استعملت طريقة MIVQUE لتقدير مكونات التباين للتأثيرات العشوائية .

كان تأثيرالعمرعند الولادة الاولى وفصل وسنة الميلاد معنويا (أ < 0.01) في الصفتين المدروستين فيما كان تأثير المدة من الولادة الى التلقيح المثمر غير معنويا .

بلغ المكافىء الوراثي 0.07 و 0.08 و 0.03 لكل من مدة الحياة والحياة الانتاجية والمدة من الولادة الى التلقيح المثمر بالتعاقب ، وكانت الارتباطات الوراثية موجبة ومعنوية (أ < 0.01) بين الصفات المدروسة ، اذ بلغت بين المدة من الولادة الى التلقيح المثمر وكل من مدة الحياة والحياة الانتاجية 0.30 و0.29 بالتعاقب ، فيما كانت الارتباطات المظهرية المناظرة لها غير معنوية وبلغت 0.01 و 0.009.

تاريخ استلام البحث : 2006/9/30

المقدمة

يمثل العائد الاقتصادي للبقرة محصلة لمجموعة من الصفات ذات العلاقة بالاداء فضلا عن انتاج الحليب ، وبعض هذه الصفات ذات اهمية كبيرة مثل المدة من الولادة الى التلقيح المثمر التي تعد مقياسا هاما للكفاءة التناسلية وكذلك مدة الحياة والحياة الانتاجية (7) . وبهذا الصدد اشار Dematawewa وزملاؤه (4) بأن المعلومات المتوفرة قليلة نسبيا عن العلاقة الحقيقية تلك الصفات في الأدلة الانتخابية .

بين الخصوبة والقدرة على العيش والانتاج خلال المواسم المختلفة كسبب (cause) او كنتيجة (effect) (الارتباطات الوراثية والمظهرية) ، واضاف بأن معرفة طبيعة هذه العلاقات تساهم بلاشك في مساعدة العاملين في مجال تربية وتحسين الحيوان لتحقيق تحسين وراثي لجميع تلك الصفات دون حصول تدهور لدى البعض منها وذلك بتضمين يهدف البحث الحالي الى التعرف على العلاقة بين

ان التدهور في الخصوبة قد يؤثر في معدلات النبذ ومن ثم في طول مدة الحياة (9) ، وبهذا الصدد اشار Freeman (5) في دراسة عن الهولشتاين في الولايات المتحدة الأمريكية بأن انخفاض الخصوبة شكل نسبة قدرها 16 % ، فيما بلغت هذه النسبة في دراسة اخرى عن الهولشتاين في كندا 25 % (17) .

المواد وطرائق العمل

تم تحليل 12139 سجل يعود الى 3692 بقرة هولشتاين مولودة للمدة من عام 1987 الى 1999 في محطة النصر الواقعة في قضاء الصويرة بنات لـ 58 أب .

تتم عملية مراقبة الشياع في المحطة بوساطة مراقبين ليلا ونهارا ويستعمل التلقيح الاصطناعي في تسفيد الابقار والتلقيح الطبيعي في تسفيد العجلات والابقار التي يتعذر حملها . ويتم اعتماد برنامج صحي ووقائي في المحطة يتمثل في اتباع نظام الرش بالمبيدات وبصورة دورية ابتداءا من شهر آيار وتكرر العملية كل 15 يوما ولغاية نهاية موسم الصيف لغرض القضاء على الطفيليات الخارجية كما يجري تطعيم الابقار سنويا ضد مرض الجمرة العرضية والخبيثة والطاعون البقري . وتمثل مدة الحياة المدة من ميلاد البقرة لغاية نبذها او هلاكها فيما تمثل الحياة الانتاجية المدة من اول ولادة ولغاية نبذ او هلاك البقرة (8) .

اجري التحليل الاحصائي بأستعمال طريقة GLM ضمن البرنامج الجاهز SAS 2001 (12) لدراسة تأثير العوامل الثابتة (Fixed effects) في مدة الحياة والحياة الانتاجية والتي شملت فصل وسنة الميلاد والعمر عند الولادة الاولى والمدة من الولادة الى التلقيح المثمر خلال اول ستة مواسم ، وفق الانموذج الرياضي الآتي :

$$Yijkl = \mu + Ai + Ej + Rk + b\,(Xijk - \bar{X}) + eijkl$$

اذ ان :

Yijkl= قيمة المشاهدة l وتمثل مدة الحياة او الحياة الانتاجية التي تعود الى العمر عند الولادة الاولى i وفصل الميلاد j وسنة الميلاد k . μ = المتوسط العام.

Ai = تأثير مجموعة العمر عند الولادة الاولى i (i= 1 – 7) ، اذ ان 1= 26 شهرا فما دون ، 2 = 27 – 28 ، 3 = 29 – 30 ، 4 = 31 – 32 ، 5 = 33 – 34 ، 6 = 35 – 36 ، 7 = 37 شهرا فما فوق Ej = تأثير فصل الميلاد j (j = 1 – 4) اذ ان 1 = الشتاء (كانون الاول - شباط) ، 2 = الربيع (آذار – آيار) ، 3 = الصيف (حزيران – آب) ، 4 = الخريف (أيلول – تشرين الثاني) ، Rk = تأثير سنة الميلاد k (k = 1987 - 1999) ، b = انحدار الصفة المدروسة على المدة من الولادة الى التلقيح المثمر (xijkl) ، $\bar{x}$ = متوسط المدة من الولادة الى التلقيح المثمر ، eijklm = الخطأ العشوائي ويفترض ان يكون موزعا توزيعا طبيعيا ومستقلا بمتوسط يساوي صفرا وتباين قدره $\delta^2 e$.

استعملت طريقة MIVQUE (Minimum Variance Quadratic Unbiased Estimation) الخصوبة و مدة الحياة والحياة الانتاجية ، اذ تم اعتبار المدة من الولادة الى التلقيح المثمر كعامل مستقل لدراسة تأثيره في مدة الحياة والحياة الانتاجية وكعامل تابع لغرض تقدير المكافئات الوراثية والارتباطات الوراثية والمظهرية بينهم.

(11) لتقدير مكونات التباين للتأثيرات العشوائية (Random effects) بعد ازالة تأثير العوامل الثابتة (Fixed effects) وبافتراض الانموذج المختلط (Mixed model) ادناه لتقدير المكافىء الوراثي للصفات المدروسة فضلا عن الارتباطات الوراثية والمظهرية .

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + E_j + R_k + S_l + e_{ijklm}$$

اذ ان الرموز نفسها في الانموذج الاول باستثناء S_l والذي يمثل تأثير الاب (عدد الآباء 58 أب) ،

النتائج والمناقشة

يتضح من جدول 1 ان المتوسط العام لمدة الحياة بلغ 98.09 شهرا فيما بلغ 65.44 شهرا للحياة الانتاجية وجاء كلا التقديرين مرتفعا عند مقارنته بالتقديرات التي اشارت اليها العديد من الدراسات والتي تراوحت بالنسبة لمدة الحياة بين 61.6 و 75.6 شهرا (6 , 8 , 10) ، وللحياة الانتاجية بين 28 و 45 شهرا (3 , 8 , 10 ، 14) ، ويمكن ان يعزى سبب ارتفاع التقديرات الى زيادة معدل المدة بين الولادتين والعمر عند الولادة الاولى .

تبين من جدول 2 ان معامل انحدار كل من مدة الحياة والحياة الانتاجية على المدة من الولادة الى التلقيح المثمر كان موجبا وغير معنويا اذ بلغ 0.025 شهرا/ يوم لمدة الحياة و 0.029 شهرا / يوم للحياة الانتاجية .

اتضح بأن الاختلافات في مدة الحياة والحياة الانتاجية التي يعود اثرها الى العمر عند الولادة الاولى كانت معنوية (أ < 0.01) اذ بلغت اعلى التقديرات لمجموعة الابقار التي يقل عمرها عن 26 شهرا فأقل لكلا الصفتين ، وحصل انخفاض في مدة الحياة لغاية المجموعة الرابعة (31 – 32 شهرا) لتعود فترتفع من جديد ، فيما استمر الانخفاض في تقديرات الحياة الانتاجية بزيادة العمر عند الولادة الاولى ، وكان عدد من الباحثين قد اكد وجود التأثير المعنوي للعمر عند الولادة الاولى في الصفتين المذكورتين (3 ، 10، 13 ، 16) .

وجد ان تأثير فصل الميلاد كان عالي المعنوية اذ تفوقت الابقار المولودة شتاءا في مدة الحياة (102.04 شهرا) والحياة الانتاجية (69.73 شهرا) عن بقية الفصول ويمكن ان يعزى ذلك الى تفوق اوزان المواليد شتاءا مقارنة باوزان مثيلاتها في الفصول الاخرى (1) وذلك يمكن ان يؤثرفي اوزانها عند اول ولادة لوجود ارتباط عالي بين الوزن عند الميلاد والاوزان اللاحقة (9) .

كان تأثير سنة الميلاد عالي المعنوية في الصفتين المدروستين وبلغت اعلى التقديرات لكليهما عام 1991 ، ويلاحظ ان التقديرات ازدادت منذ عام 1987 و لغاية عام 1991 تم بدأت بالانخفاض سنويا لغاية عام 1999 . وتعكس هذه الاختلافات التباين في مستوى الرعاية التناسلية والصحية بأختلاف سنوات الدراسة .

ويتضح من جدول (3) ان المكافئات الوراثية كانت منخفضة اذ بلغت 0.07 و 0.08 و 0.03 لكل من مدة الحياة والحياة الانتاجية والمدة من الولادة الى التلقيح المثمر بالتعاقب ، وبهذا الصدد اكد Bourdon (2) بأن الصفات المدروسة تعد من صفات الموائمة (Fitness traits) (القدرة على العيش والخصوبة) وان التباين في مظهرها يعود الى التأثيرالسيادي والتفوقي للجينات وهي عادة ذات تقديرات منخفضة للمكافىء الوراثي ، وكانت الارتباطات الوراثية موجبة ومعنوية (أ < 0.01) بين المدة من الولادة

الى التلقيح المثمر وكل من مدة الحياة والحياة الانتاجية ، اذ بلغت 0.30 و 0.29 على التوالي ، فيما كانت الارتباطات المظهرية موجبة وغير معنوية وبلغت 0.01 و 0.009 بالتعاقب . وفي هذا السياق اشار Dematawewa (4) الى ان تقديرات المكافىء الوراثي للمدة من الولادة الى التلقيح المثمر بلغ 0.03 لدى ابقار الهولشتاين في الولايات المتحدة الامريكية فيما بلغ الارتباط الوراثي بين المدة من الولادة الى التلقيح المثمر الاولى والثانية والثالثة وقدرة الابقار على العيش خلال اول ثلاثة مواسم 0.08 و 0.52 و – 0.12 بالتعاقب وتساوت تقديرات الارتباط المظهري المناظرة للمواسم الثلاث اذ بلغت 0.03 .

الاستنتاجات والتوصيات

1- تبين من نتائج الدراسة الحالية بأن الخصوبة معبر عنها بالمدة من الولادة الى التلقيح المثمر لم تكن عاملا مؤثرا في مدة الحياة والحياة الانتاجية ، بمعنى ان الابقار لايتم نبذها وفقا لخصوبتها . فيما نجد ان العديد من دول العالم تجري اليوم تقييما وراثيا وطنيا وعالميا للخصوبة ، مما يؤكد الاهمية الكبيرة التي تحتلها الخصوبة كأحد الاسباب المهمة لنبذ الابقار (15) .

2- تعد المدة من الولادة الى التلقيح المثمر مقياسا هاما للخصوبة وزيادتها ستؤدي الى زيادة المدة بين الولادتين وهذا يعني انخفاض عدد المواليد خلال مدة حياة البقرة و انخفاض حياتها الانتاجية . لذا فأن دراسة المدة من الولادة الى التلقيح المثمر تستدعي ضرورة دراسة الجزئين المكونين لها وهما المدة من الولادة الى اول تلقيح والمدة من اول تلقيح الى التلقيح المثمر .

3- ضرورة اجراء تقييم وراثي بأعتماد انموذج الحيوان (Animal model) وفقا للمدة من الولادة الى التلقيح المثمر كمقياس للخصوبة لرفع مستوى الاداء التناسلي للقطيع .

جدول1 متوسط المربعات الصغرى ± الخطأ القياسي لمدة الحياة والحياة الانتاجية (شهر)

العوامل المؤثرة	عدد المشاهدات	متوسط المربعات الصغرى ± الخطأ القياسي (مدة الحياة)	متوسط المربعات الصغرى ± الخطأ القياسي (الحياة الانتاجية)
المتوسط العام	12139	0.14 ± 98.09	0.12 ± 65.44
المدة من الولادة الى التلقيح المثمر	12139	0.003 ± 0.010	0.002 ± 0.011
العمر عند الولادةالاولى			
26 شهرا فأقل	1222	a 0.86 ± 118.57	a 0.86 ± 93.38
28 – 27	1316	bc 0.73 ± 94.87	b 0.73 ± 66.68
30 – 29	2516	c 0.53 ± 93.67	c 0.54 ± 63.71
32 – 31	2156	c 0.56 ± 93.09	d 0.56 ± 61.13
34 – 33	1554	b 0.66 ± 96.35	cd 0.66 ± 62.45
36 – 35	1144	b 0.80 ± 95.80	d 0.80 ± 59.86
37 فأكثر	2231	b 0.67 ± 96.78	e 0.67 ± 56.26
فصل الميلاد			
الشتاء	4069	a 0.40 ±102.04	a 0.40 ± 69.73
الربيع	2754	b 0.49 ± 98.88	b0.49 ± 66.60
الصيف	1760	c 0.62 ± 96.77	c 0.63 ± 64.52
الخريف	3556	c 0.44 ± 96.10	c 0.44 ± 63.98
سنة الميلاد			
1987 فأقل	711	cb 1.00 ± 106.24	cd 1.00 ± 74.09
1988	670	cb 1.10 ± 108.14	cd 1.10 ± 76.03
1989	711	b 0.97 ± 110.78	b 0.97 ± 78.66
1990	875	a 0.88 ± 115.31	a 0.88 ± 82.94
1991	1179	a 0.74 ± 116.14	a 0.75 ± 84.09
1992	931	b 0.86 ± 112.39	b 0.86 ± 79.67
1993	1149	c 0.85 ± 107.35	d 0.85 ± 75.14
1994	1137	c 0.83 ± 104.70	e 0.83 ± 72.64
1995	1056	c 0.80 ± 96.06	f 0.80 ± 63.84
1996	1001	e 0.82 ± 87.55	g 0.82 ± 55.27
1997	973	f 0.84 ± 79.55	h 0.84 ± 47.32
1998	1017	g 0.82 ± 70.89	i 0.82 ± 38.64
1999	669	h1.01 ± 64.72	j 1.01 ± 32.39

المتوسطات التي تحمل حروف متماثلة عموديا ضمن مستويات كل عامل لاتختلف فيما بينها معنويا عند مستوى 1 % .

جدول 2 تحليل التباين للعوامل المؤثرة في مدة الحياة والحياة الانتاجية

مصادر التباين	درجات الحرية	متوسط المربعات لمدة الحياة	متوسط المربعات للحياة الانتاجية
المدة من الولادة الى التلقيح المثمر	1	456.70	468.99
العمر عند الولادة الاولى	6	** 73852.44	** 126467.56
فصل الميلاد	3	** 23940.84	** 22694.03
سنة الميلاد	12	** 223688.04	** 224111.61
الخطأ التجريبي	12116	639.70	640.50

** (أ < 0.0)

جدول 3 المعالم الوراثية لمدة الحياة والحياة الانتاجية والمدة من الولادة الى التلقيح المثمر

الصفة / الصفة	المدة من الولادة الى التلقيح المثمر	مدة الحياة	الحياة الانتاجية
المدة من الولادة الى التلقيح المثمر	0.03	** 0.30	** 0.29
مدة الحياة	0.01	0.07	** 0.91 *
الحياة الانتاجية	0.009	** 0.88	0.08

** (أ < 0.01)

التقديرات القطرية تمثل المكافىء الوراثي (h^2)
التقديرات اعلى القطر تمثل الارتباطات الوراثية (rG)
التقديرات اسفل القطر تمثل الارتباطات المظهرية (rP)

References

- السامرائي ، فراس رشاد والانباري ، نصر نوري والدوري ، زياد طارق . 2006 . تقدير قيم الجدارة الوراثية للآباء في قطيع من الهولشتاين ولعدة اجيال اعتمادا على وزن ابنائها عند الميلاد . *مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية مجلد 6 العدد 3.*

- **Bourdon , R.M.** 1997. *Understanding Animal Breeding* . Prentice Hall , Upper Saddle River , NJ. 07458.

-**Chirinos, Z., M.J.Caratano and D. Hernandez** .2002.Longevity analysis in Spanish Holstein – Friesian cattle . *7th World Congress on Genetic Applied to Livestock Production . August . 19 – 23 . Montpellier .France .*

-**Dematawewa , C.M.B.and P.J.Berger** .1998. Genetic and phenotypic parameters for 305 – day yield , fertility , and survival and in Holsteins. *J.Dairy Sci.*, 81:2700 – 2709.

-**Freeman , A. E.** 1984. Sire selection , secondary traits : sire evaluationand the productive complex . *J .Dairy Sci*., 6 :449 - 458.

-**Gaalaas , R.F.and R.D.Plowman** .1963. Relationship between longevity and production in Holstein – Friesian cattle . *J .Dairy Sci*.,46 : 27- 33.

- **Gill ,G.S. and F.R.Allaire**.1976.Relationship of age at first calving,days open, days dry ,and herdlife to a profit function for dairy cattle. *J.Dairy Sci.*,59:1131- 1139.

-**Hoque ,M. and J.Hodges** .1980 .Genetic and phenotypic parameters of lifetime production traits in Holstein cows. *J.Dairy Sci*.,63 :1900 – 1910 .

-**Pelisser , C.L.** 1982. Herd breeding problems and their consequences . *J. Dairy Sci*. , 55 : 385 – 391.

-**Ponce de Leon ,R.and M.Gomez** . 1988. Genetic and environmental factors affecting long–term reproduction and longevity in the Holstein–breed. *Cuban J. Agric. Sci*.,22:9 – 15 .(*Anim Breed.Abstr.*,56:4911).

-**Rao , C.R.**1971.Minimum variance quadratic unbiased estimation of variance component. *J. Multivariate Analysis*.,1:445-456.

-SAS. 2001 . SAS / STAT Users Guide for Personal Computer . Release 6.18.SAS Institute , Inc., Cary , N.C. USA.

-**Sewalem ,A.,G.j.Kistemaker,V.Ducrocq and B.J.Van Doormaal**.2005. Genetic analysis of herd life in Canadian dairy cattle on a lactation basisusing weibull propotional hazards model. *J.Dairy Sci.*,88 : 804 – 811.

- **Tigges , R.J., R.E. Pearson and W.E. Vinson**. 1986. Prediction of lifetime relative net income from first lactation production and individual type traits in Holstein cows. *J.Dairy Sci*.,69:204 – 210.

- **Van Raden , P.M. ,A.H. Sanders , M.E. Tooker ,R.H. Miller , H. D.Norman ,M.T. Kuhn and G.R. Wiggans.** 2004. Development of a national genetic evaluation for cow fertility.*J.Dairy Sci*., 87: 2285 – 2292.

-**Vukasinovic ,N.,J.Moll ,N.Kunzi**.1997. Analysis of productive in Swiss Brown cattle . *J.Dairy Sci.*,80 : 2572 – 2579 .

-**Westell , R.A.,E.B.Burnside and L.R. Schaeffer** . 1982 . Evaluation of Canadian Holstein -Friesian sires on disposal reasons of their daughters. *J.Dairy Sci.*. 65:2336 – 2372.

Relationship between days open , longevity and productive life in Holstein cows

Al-Samarai F.R.* Aldoori Z.T.** Kalaf S.S. *** Al-Jalili Z.F.****

* Veterinary Medicine College – University of Baghdad
** Veterinary Medicine College – University of Tikrit
*** Agriculture College - University of Anbar
*** Agriculture College – University of Baghdad

Abstract

A total of 12139 records belonged to Holstein cows maintained at Nasr Dairy Cattle Station over period from 1987 to 1999 were analysed .

The aim of this research is to study the effect of days open as independent and dependent factor on longevity in order to estimate genetic and phenotypic correlation.

The General Linear Model within SAS program was used to study the effects of days open ,season and year of birth and age at first calving on longevity and productive life.

The effects of season of birth , year of birth and age at first calving are significant ($p < 0.01$) on longevity and productive life but the effect of days open was not significant .

Component of variance for the random effects was estimated by MIVQUE method.

The heritability of days open , longevity and productive life were 0.03, 0.07 and 0.08 respectively.

The genetic correlation was posative and significant ($p < 0.01$) between days open and each of longevity and productive life , the coefficient being 0.30 , 0.29 .The corresponding estimates for phenotypic correlations were not significant and being 0.01 and 0.009 respectively .

استخدام بروتينات المناعة المفصولة من لبأ الأبقار في معالجة إسهال فايروس روتا العجول

* رغد اكرم عزيز
قسم العلوم
كلية التربية الأساسية – الجامعة المستنصرية

عبد المجيد حماد السامرائي
قسم علوم الاغذية والتقانة الاحيائية
كلية الزراعة – جامعة بغداد

يونس عبد الرضا الخفاجي
معهد المصول واللقاحات

الخلاصة

أستخدمت بروتينات اللبأ المناعية المفصولة من شرش لبأ الابقار الملقحة بلقاح فايروس روتا العجول بوساطة كروماتوكرافي الترشيح الهلامي على عمود Sephadex G - 200 المتخصصة ضد فايروس روتا العجول بحالة مجففة كإضافات غذائية مع حليب الابقار، لغرض معالجة الاسهال لعشرين عجلاً تناول نصفهم يومياً لترين حليب مدعم بـ 1 غم بروتينات مناعة / لتر، وتناول نصفهم الاخر نفس الكمية من الحليب تحتوي على 1.250 غم بروتينات مناعة / لتر، فأنخفضت عدد نوبات الاسهال عندها وللتركيزين خلال 48 ساعة من المعالجة المستمرة، وباستخدام التركيز الاعلى حصل شفاء بنسبة 70 % من الحالات عند نهاية هذه المدة، في حين استمر الاسهال للمدة ذاتها في مجموعة السيطرة التي لم تتناول بروتينات المناعة.

- بحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول.
- تاريخ استلام البحث : 2006/9/4

المقدمة

تسبب فايروسات الروتا التهاب الأمعاء في صغار الحيوانات (Espejo وجماعته، 20 ؛ Enouf وجماعته، 19 ؛ Caballero وجماعته، 13)، بكافة الاعمار والأجناس الا ان الإصابة تكثر في العجول لاسيما في الأسابيع 3 - 4 الأولى من عمر العجل (Woode و Bridger، 53 ؛ Unicomb وجماعته، 48)، وتكثر الإصابة بفايروس الروتا في الأشهر الباردة الجافة من السنة، ويطلق عليه بالإسهال الشتوي، الا انه يمكن ان تظهر حالات من الإصابة على مدار السنة لاسيما في المناطق الموبوءة (Brandt وجماعته، 11 ؛ Konno وجماعته، 28 ؛ Hilpert وجماعته، 25)، وقد جرت أولى الدراسات على فايروسات الروتا المسببة للإسهال في العجول حديثة الولادة من قبل الباحث (Mebus وجماعته، 36) في نبراسكا / الولايات المتحدة الأمريكية، اذ شخص فايروس الروتا البقري في العجول حديثة الولادة والمصابة بالإسهال واطلق عليه في حينها فايروس اسهال العجول حديثة الولادة وعرف بعزلة نبراسكا، اما في الانسان فقد اكتشف فايروس الروتا في استراليا من قبل الباحثة (Bishop وجماعتها، 9)، وشخص بالمجهر الإلكتروني في نسيج مستأصل من الاثنى عشري مأخوذ من أطفال مصابين بالإسهال (Hilpert وجماعته، 25 ؛ Malik وجماعته، 33)، ثم توالت الدراسات على الفايروس في الأطفال وفي أنواع مختلفة من الحيوانات في مناطق مختلفة من العالم، وقد تبين ان كل الحيوانات

تصاب بسلالة او بأخرى من سلالات فايروس الروتا (Steinhoff و Rochester، 44)، ويدخل هذا الفايروس الى الجسم عن طريق التلوث البرازي الفموي (Fecal - Oral - Route) من خلال تناول الأغذية والمياه الملوثة بهذا الفايروس (Mossel و Ramig، 37)، وان طريقة التربية المفتوحة للعجول تعد عاملاً مهماً في نشر الفايروس وقد يكون التلوث الحاصل مصدره بعض الحيوانات الاخرى (Konno وجماعته، 28)، ويصيب فايروس الروتا الخلايا الطلائية للامعاء الدقيقة ويتضاعف داخلها فتضعف قدرة هذه الخلايا على الامتصاص والنقل (Rose وجماعته، 41 ؛ Yuan وجماعته، 54)، وتتميز فايروسات الروتا بمقاومتها للمحيط الحامضي الموجود في المعدة ويقاوم الفايروس الكلورين المضاف الى الماء لأغراض التعقيم، بل يقاوم اكثر المطهرات المستعملة في التعقيم مثل الفينولات واليود والسافلون، ولوحظ عدم تأثر فعالية الفايروس عند تعريضه لدرجة حرارة 60 م لمدة 30 دقيقة (Matsuura وجماعته، 34)، ويمكن ان تحدث الاصابة في الأيام الأول من عمر العجل، وتتمثل بحدوث اسهال خفيف يستمر لفترة قصيرة ويدعى بالإسهال المبكر، اما الإسهال المتأخر فيحدث للعجل بعمر 4 - 14 يوم ويكون شديداً مع ظهور أعراض أخرى مثل انعدام الشهية والخمول (Bishop وجماعته، 10)، ولوحظ ان فايروسات الروتا تصل الى أعلى تركيز لها في البراز بعد مرور مدة زمنية قصيرة من بدء الإصابة، بعدها يبدأ العدد بالتناقص تدريجيا (Cukor وجماعته، 17 ؛ Vesikari وجماعته، 50)، وان اصابة العجول بفايروس الروتا في الأعمار بين أسبوع الى أسبوعين أعلى من الإصابة في الأعمار الكبيرة، ويمكن ان تحصل الإصابة في الأبقار البالغة الا أنها تكون بنسبة قليلة جدا (Woode، 52)،وقد أوضحت العديد من الدراسات ان تحصين الام بلقاح فايروس الروتا المضعف قبل الولادة سوف يمنح المولود وقاية من الاصابة بالاسهال، لاسيما بعد تغذيته على اللبأ الحاوي على الأجسام المضادة المتخصصة لفايروس الروتا (Vancott وجماعته، 49)، وعليه فأن هذا البحث يهدف الى استخدام بروتينات اللبأ المناعية المتخصصة في معالجة العجول المصابة بفايروس الروتا.

المواد وطرائق البحث

تلقيح الابقار

استخدمت عدة اختبار تلازن اللاتكس المجهزة من شركة Biokit الأسبانية في الكشف عن فايروس الروتا واتبعت الطريقة التي أوصت بها الشركة في اجراء الاختبار، كما استخلص الفايروس من براز العجول حسب الطريقة التي أوردها الباحث (Jorgensen وجماعته، 27) ، كما اجريت عملية تركيز الفايروس في العالق الفايروسي المحضر حسب ما اشار اليه الباحث (Al-Yousif وجماعته، 6)، وقد قدر تركيز البروتين اعتمادا على الطريقة التي وصفها الباحث (Lowry وجماعته، 32)، وتم اخماد الفايروس وفق ما ذكره الباحث (Castrucci وجماعته، 14)، وحضر بعدها اللقاح الفايروسي حسب ماجاء به الباحث (Warthall وجماعته، 51)، واتبعت الطريقة التي ذكرها الباحث (Ebina وجماعته، 18) في تلقيح الابقار وقبل شهرين من موعد الولادة بجرعة مقدارها 5 مللتر من اللقاح الفايروسي تحت جلد الرقبة وبأكثر من منطقة، وقد اعطيت الابقار ثلاث جرع من اللقاح تفصل بين جرعة واخرى مدة اسبوعين.

فصل بروتينات المناعة Immunoglobulins من شرش اللبأ بطريقة الترسيب بكبريتات الامونيوم

تم فصل بروتينات المناعة من شرش اللبأ باضافة قطرات من محلول مشبع لكبريتات الامونيوم $(NH_4)_2SO_4$ لحين الوصول الى تشبع 40 % مع الاستمرار بالتحريك مدة 2 ساعة وعلى درجة حرارة 4 م، وبعد فصل الراسب بالطرد المركزي على سرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 30 دقيقة وعلى درجة حرارة 4 م ، اذيب الراسب بالماء المقطر، واعيد ترسيبه بكبريتات الامونيوم مرة اخرى وبنسبة تشبع 30 %، بعدها اذيب الراسب بالماء المقطر، وجرت له عملية التنافذ الغشائي باستخدام انابيب الفصل الغشائي ضد الماء المقطر خلال 18 ساعة وبدرجة حرارة 4 م ومع تبديل الماء المقطر مرات عدة، بعدها حفظت النماذج في درجة حرارة التجميد - 20 لحين الاستعمال (Goding، 23).

فصل بروتينات المناعة Immunoglobulins من المصول المضادة بطريقة الترسيب بكبريتات الامونيوم

استخدمت الطريقة التي ذكرها الباحث (Garvey وجماعته، 22) لفصل بروتينات المناعة من مصل دم الأبقار اذ عدل الرقم الهيدروجيني لمحلول كبريتات الامونيوم المشبع الى 7.8 باستخدام محلول هيدروكسيد الصوديوم 2 عياري انياً، واضيفت قطرات من محلول كبريتات الامونيوم المشبع والمعدل بالتدريج الى مصل الدم مع التحريك المستمر لحين الوصول الى نسبة تشبع 33 % واستمر التحريك من 2 – 3 ساعة بدرجة حرارة 4 م، و فصل الراسب بالطرد المركزي المبرد بسرعة 3000 دورة / دقيقة، مدة 30 دقيقة، و اذيب الراسب في محلول دارئ الفوسفات الملحي Phosphate Saline (PBS) Buffer بحيث يكون الحجم بقدر حجم المحلول الاصلي، و اعيد الترسيب بمحلول كبريتات الامونيوم المشبع مرتين،وعلق الراسب بكمية من محلول دارئ الفوسفات الملحي PBS، واجريت للنموذج عملية التنافذ الغشائي ضد محلول دارئ الفوسفات الملحيPBS، مدة 18 ساعة.

تنقية البروتين المناعي IgG من مصل دم الأبقار بأستخدام كروماتوكرافي التبادل الايوني

اتبعت الطريقة المذكورة من قبل الباحث (Garvey وجماعته، 22)، اذ امرر 5 مللتر من بروتينات المناعة المنقاة جزئياً من المصل البقري على عمود المبادل الأيوني السالب (DEAE-Cellulose) Diethyle aminoethyle cellulose واسترد البروتين بمحلول الموازنة دارئ فوسفات الصوديوم بتركيز 0.0175 مولار وبرقم هيدروجيني مقداره 6.3، بسرعة جريان 42 مللتر / ساعة وجمعت الاجزاء بواقع 3.5 مللتر / جزء وقيست الامتصاصية للاجزاء المفصولة على موجة طولها 280 نانومتر، ثم جمعت الاجزاء الممثلة للقمة (Peak) واجريت لها عملية التنافذ الغشائي ضد الماء المقطر خلال 18 ساعة، ثم ركز النموذج باستخدام Polyethyleneglycol (PEG) (وزنه الجزيئي 20000 دالتون) لاستخدامه في الفصل على عمود الترشيح الهلامي.

تنقية البروتينات المناعية باستخدام كروماتوكرافي الترشيح الهلامي

استخدمت الطريقة التي جاء بها الباحثان (Al-Mashikhi و Nakai، 5)، حيث امرر 2 مللتر من بروتينات المناعة المحضرة مسبقاً على عمود الـ Sephadex G -200, ثم جرى غسل العمود بمحلول

الموازنة دارئ الـ Tris بتركيز 0.1 مولار وكلوريد الصوديوم بتركيز 0.5 مولار، وبرقم هيدروجيني مقداره 8، وبسرعة جريان 18 ملتر / ساعة وجمعت الأجزاء المنفصلة في أنابيب إختبار وبواقع 3 ملتر / جزء، وقيست الامتصاصية للأجزاء المفصولة على موجة طولها 280 نانومتر، وحفظت النماذج في درجة حرارة التجميد - 20 م لحين الاستعمال.

تنقية البروتين المناعي IgM من شرش اللبأ باستخدام كروماتوكرافي الترشيح الهلامي

تم تنقية البروتين المناعي IgM من شرش اللبأ كما في الطريقة التي اوردها الباحثان (Johnstone و Thorpe، 26)، واجريت عملية التفاذ الغشائي لـ 100 ملتر من شرش اللبأ ضد المحلول الدارئ فوسفات الصوديوم بتركيز 0.002 مولار وبرقم هيدروجيني مقداره 6 باستخدام انابيب الفصل الغشائي لمدة 18 ساعة وبدرجة حرارة 4 م، وتم طرد المحلول مركزياً بأستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق واهمل الرائق اما الراسب فعلق بكمية قليلة من المحلول الدارئ فوسفات الصوديوم البارد بتركيز 0.002 مولار وبرقم هيدروجيني مقداره 6، وكررت عملية الطرد المركزي وغسل الراسب مرة واحدة بوساطة المحلول الدارئ البارد من فوسفات الصوديوم بتركيز 0.002 مولار وبرقم هيدروجيني مقداره 6 واعيد الطرد المركزي وذوب الراسب في 5 ملتر من المحلول الدارئ الـ Tris بتركيز 0.01 مولار وكلوريد الصوديوم بتركيز 0.01 مولار وبرقم هيدروجيني مقداره 7.3 في درجة حرارة الغرفة،وطرد المحلول مركزياً بأستخدام جهاز الطرد المركزي على سرعة 2000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق واهمل الراسب واخذ المحلول الرائق لفصله على العمود وجمعت الاجزاء المنفصلة في انابيب اختبار وبواقع 3 ملتر / جزء وقيست الامتصاصية للأجزاء المفصولة على موجة طولها 280 نانومتر، كما امرر البروتين المناعي IgM القياسي والمجهز من شركة (Sigma) على عمود الترشيح الهلامي - Sephadex G 200 ، وجمعت الأجزاء المفصولة تحت نفس الظروف المشار أليها سابقاً.

اختبار الانتشار المناعي المزدوج

استخدم هذا الاختبار لقياس فعالية الامصال المحضرة وفي الكشف النوعي عن فايروس الروتا كما ذكرها الباحثان (Johnstone و Thorpe، 26).

الترحيل الكهربائي بهلام متعدد الاكريلامايد

اجري الترحيل الكيربائي باستخدام الطريقة التي جاء بها الباحث (Laemmli، 29).

اختبار تعادل المصل

اخذت عينات البراز ذات التفاعل الموجب لاختبار تلازن اللاتكس من العجول وخلال الطور الحاد من المرض، وتم قياس معيار الفايروس في كل عينة، اذ اجريت تخافيف مضاعفة للعينات من 2:1 إلى 256:1 باستخدام الماء المقطر ومزج 100 مايكرولتر من كل تخفيف مع 100 مايكرولتر من البروتينات المناعية المتخصصة ضد فايروس روتا العجول الخام والمنقاة وبتركيز 1 ملغم / ملتر، واستخدم اختبار تلازن اللاتكس للكشف عن تفاعل الفايروس مع حبيبات اللاتكس بعد عملية التعادل (العكيدي ونقاش، 2).

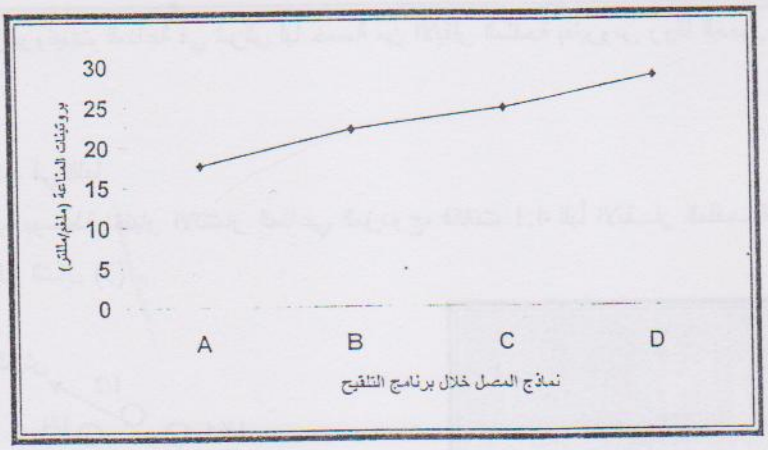
استخدام بروتينات اللبأ المناعية المتخصصة ضد فايروس الروتا في معالجة حالات الاسهال في العجول حديثة الولادة

اتبعت الطريقة التي اشار لها الباحث (Ebina وجماعته، 18) ، حيث امرر محلول بروتينات المناعة المحضرة مسبقاً خلال مرشح غشائي دقيق Millipore 0.22 مايكرون معقم إلى قنينة معقمة وجففت النماذج بالتجفيد (Freez drying) وحفظت بالتجميد لحين الاستعمال،و استخدم مستويان من بروتينات المناعة المجفدة التي مصدرها شرش لبأ الأبقار الملقحة بفايروس روتا العجول، واعطيت للعجول بعد مزج بروتينات المناعة مع الحليب البقري السائل بنسبة 1 غم / لتر و 1.25 غم / لتر بمعدل رضعتان يومياً بحجم لتر للرضعة الواحدة ولمدة 48 ساعة، وقدر معيار الفايروس فيه باستخدام اختبار تلازن اللاتكس.

النتائج و المناقشة

محتوى مصل دم الابقار الملقحة بفايروس الروتا من بروتينات المناعة

عادة ما يؤدي تلقيح الحيوانات بالمستضدات ومنها الفايروسات الى ارتفاع معدلات البروتينات المناعية في مصل الدم (Abomoelak وجماعته، 3)، اذ تبين النتائج في الشكل (1) وجود زيادة تدريجية في تركيز بروتينات المناعة في مصل دم الابقار الملقحة بفايروس روتا العجول المخمد، اذ كان معدل تركيزها في ثلاث ابقار اخذت كعينة ممثلة قبل تلقيحها بفايروس روتا العجول 17.6 ملغم / مللتر، وقد وصل معدل اعلى تركيز لهذه البروتينات بعد اسبوعين من الجرعة الثالثة والاخيرة من التلقيح الى 28.5 ملغم / مللتر في مصل دم الابقار الملقحة بفايروس روتا العجول.

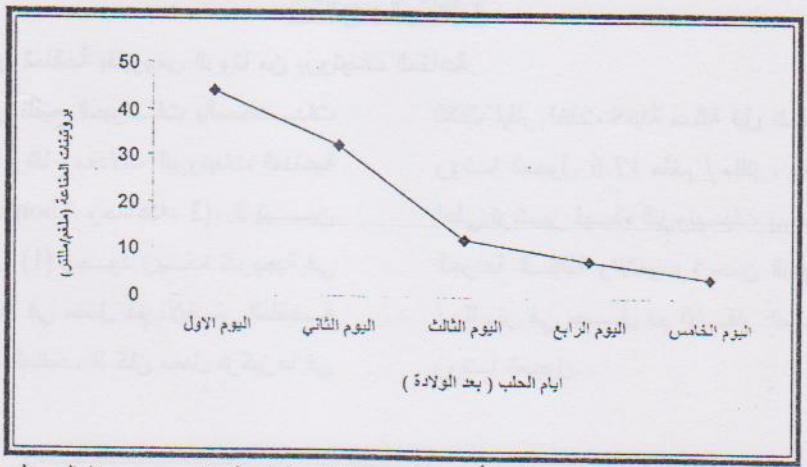


شكل (1): معدل تركيز بروتينات المناعة الخام في مصل دم ثلاث من الابقار الملقحة بفايروس روتا العجول.

A مصل الدم قبل التلقيح
B مصل الدم بعد اسبوعين من الحقنة الاولى
C مصل الدم بعد اسبوعين من الحقنة الثانية
D مصل الدم بعد اسبوعين من الحقنة الثالثة والاخيرة

محتوى لبأ الابقار الملقحة بفايروس الروتا من بروتينات المناعة

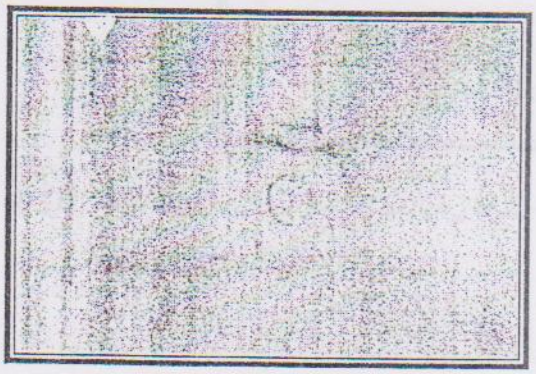
يحتوي الحليب البقري حوالي 1 ملغم / مللتر من بروتينات المناعة (Larson، 30)، ولكن هذا المعدل يرتفع في اللبأ اضعافاً كثيرة، اذ يلاحظ من الشكل (2) الارتفاع الواضح في تركيز بروتينات المناعة الخام في شرش اللبأ خلال الايام الخمسة الاول من الافراز مع وجود انخفاض تدريجي في كل يوم عن اليوم الذي قبله، فقد انخفض معدل تركيز بروتينات المناعة في شرش لبأ الابقار الملقحة بفايروس روتا العجول من 44.1 ملغم / مللتر في اليوم الاول من الافراز الى 4.2 ملغم / مللتر في اليوم الخامس، وهذا يتفق مع ما جاء به كل من (Logan وجماعته، 31 ؛ Butler، 12 ؛ Ontsouka وجماعته، 39).

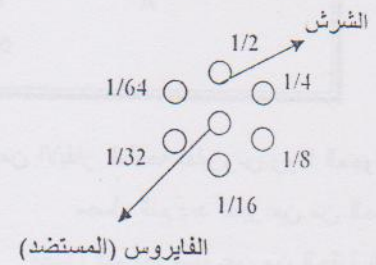


شكل (2): معدل تركيز بروتينات المناعة في شرش لبأ خمسة من الابقار الملقحة بفايروس روتا العجول خلال خمسة ايام بعد الولادة.

تقدير عيارية الاضداد في اللبأ

قدرت العيارية بوساطة اختبار الانتشار المناعي المزدوج، فكانت 4:1 للبأ الابقار الملقحة بفايروس روتا العجول ، وكما موضح في الشكل (3) .

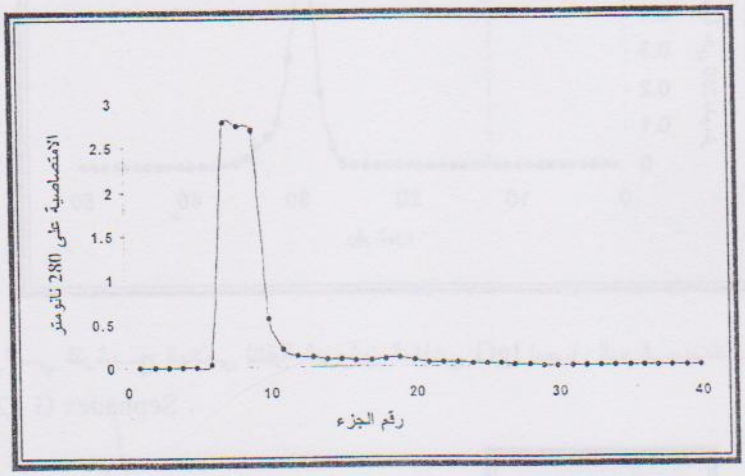




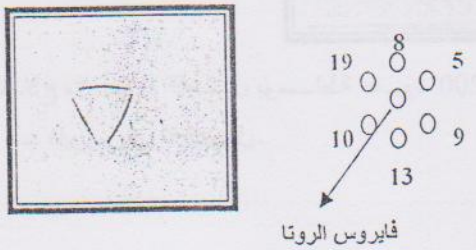
شكل (3): اختبار الانتشار المناعي المزدوج بين فايروس روتا العجول (المستضد) والشرش.

تنقية البروتين المناعي IgG من مصل دم الابقار باستخدام كروماتوكرافي التبادل الايوني

بعد تركيز بروتينات المناعة الخام في مصل دم الابقار بوساطة ملح كبريتات الامونيوم، اجريت خطوة تنقية اخرى تضمنت استخدام مادة DEAE - Cellulose وهي من مواد التبادل الايوني من نوع Anionic exchanger لاجراء عملية الفصل للبروتين المناعي IgG (Johnstone و Thorpe، 26)، و يلاحظ من الشكل (4) ظهور قمة واحدة للبروتين في مرحلة الغسل، ولم يلاحظ ظهور قمم اخرى في الفصل اذ لم تنزل البروتينات المناعية IgM و IgA لانها ربما تحتاج الى قوة ايونية اعلى لنزولها فبقيت مرتبطة بالعمود، وعند اجراء اختبار الانتشار المناعي المزدوج لاجزاء مختلفة من هذه القمة لوحظ ظهور الخط الترسيبي ضد فايروس روتا العجول، الشكل (5)، وهذا يتفق مع ما اشار اليه كل من (Clark و Adams، 16) عندما استخدما المبادل نفسه في فصل البروتين المناعي IgG من مصل دم الارانب، وقد اوردت العديد من المراجع العلمية نتائج مقاربة لما توصلت اليه هذه الدراسة فقد استخدم كل من (Hatta وجماعته، 24) وكذلك (Akita و Na! .i، 4) كروماتوكرافي التبادل الايوني في فصل البروتين المناعي IgG من مصادر مختلفة.



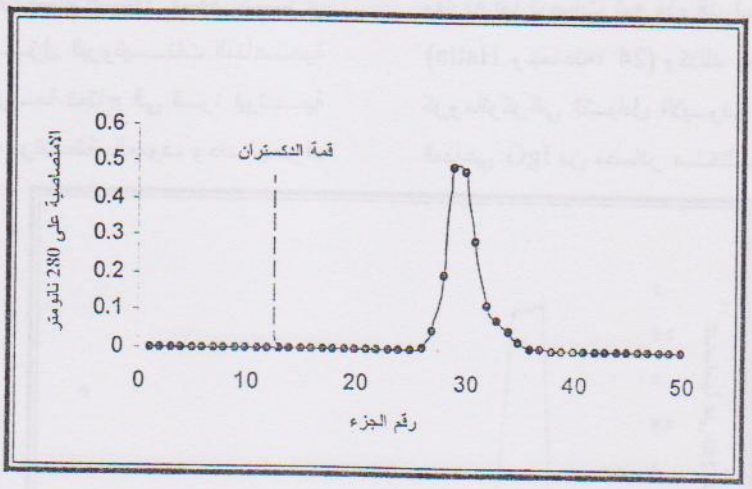
شكل (4): فصل البروتين المناعي IgG من مصل دم الابقار المضاد لفايروس روتا العجول باستخدام عمود التبادل الايوني DEAE - Cellulose .



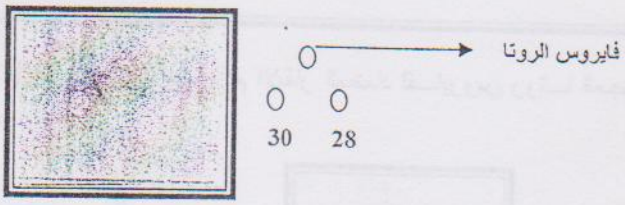
شكل (5): اختبار الانتشار المناعي المزدوج لنماذج من اجزاء الفصل بوساطة عمود DEAE - Cellulose للبروتين المناعي IgG في مصل دم الابقار المضاد لفايروس روتا العجول ضد فايروس روتا العجول.

تنقية البروتين المناعي IgG من مصل دم الابقار باستخدام كروماتوكرافي الترشيح الهلامي

استكملت تنقية البروتين المناعي IgG من مصل دم الابقار بخطوة تنقية اخرى وهي الترشيح الهلامي على عمود Sephadex G - 200، حيث جمعت الاجزاء المتمثلة بالقمة التي حصل عليها من الخطوة السابقة وركزت بوساطة PEG قبل امرارها على عمود الترشيح الهلامي، ويلاحظ من الشكل (6) ان الاجزاء المستردة من الهلام مثلت قمة واحدة للبروتين، وكان الحجم اللازم لانزال هذه القمة يعادل 2.4 مرة بقدر حجم الفراغ (Void volume) الذي قيس بوساطة الدكستران الازرق 2000، وجرى التحقق من ان هذه القمة لها فعالية مناعية من خلال اجراء اختبار الانتشار المناعي المزدوج للأجزاء المستردة من الهلام ضد فايروس روتا العجول (الشكل 7)، ويذكر ان (Bigland وجماعته، 8) استخدموا عمود Sephadex G - 200 في فصل البروتين المناعي IgY من صفار البيض المماثل للبروتين المناعي IgG الموجود في مصل دم الدجاج، كما ان (Hatta وجماعته، 24) استخدموا كروماتوكرافي الترشيح الهلامي لفصل هذا البروتين.



شكل (6): كروماتوكرافي الترشيح الهلامي لتنقية البروتين المناعي IgG لمصل الدم المضاد لفايروس روتا العجول باستخدام عمود Sephadex G - 200 .

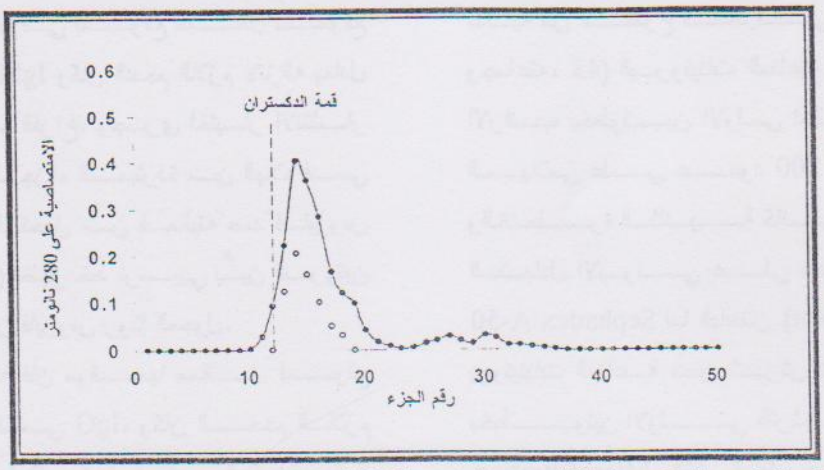


شكل (7): اختبار الانتشار المناعي المزدوج لنماذج من أجزاء الفصل بوساطة عمود Sephadex G - 200 للبروتين المناعي IgG المضاد لفايروس روتا العجول ضد فايروس روتا العجول.

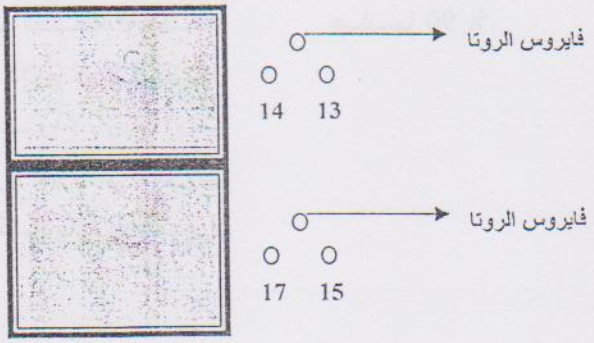
تنقية البروتين المناعي IgM من شرش لبأ الابقار باستخدام كروماتوكرافي الترشيح الهلامي

تم تنقية البروتين المناعي IgM المستحصل عليه من شرش لبأ الابقار الملقحة بفايروس روتا العجول لاستخدامه فيما بعد كبروتين قياسي، فبعد اجراء عملية التنافذ الغشائي للشرش ضد محلول دارئ من فوسفات الصوديوم بتركيز 0.002 مولار وبرقم هيدروجيني مقداره 6.0، ظهرت رواسب بروتينية في انبوب التنافذ الغشائي، وقد اشار (الطريحي، 1) الى انها تمثل البروتين المناعي IgM، وللتأكد من ذلك فصل هذا البروتين بالطرد المركزي ثم أذيب في المحلول الدارئ ومرر على عمود Sephadex G - 200، ولوحظ ظهور قمة واحدة للبروتين احتاج لانزالها من العمود حجماً من الدارئ يعادل 1.2 مرة بقدر حجم الفراغ (Void volume) (الشكل 8) وهو نفس الحجم الذي فصل به IgM القياسي الذي يظهر في الشكل ذاته.

ولغرض التحقق من ان هذه القمة لها فعالية مناعية اجري اختبار الانتشار المناعي المزدوج للاجزاء المستردة من الهلام ضد فايروس روتا العجول ولوحظ الخط الترسيبي بين بعض اجزاء القمة المفصولة وبين الفايروس (الشكل 9)، وجاءت النتائج منسجمة مع ما ذكره (Johnstone و Thorpe، 26)، ويذكر ان (الطريحي، 1) قام بتنقية البروتين المناعي IgM من شرش لبأ الابقار بوساطة كروماتوكرافي الترشيح الهلامي وعلى عمود Sepharose - 6B.



شكل (8): كروماتوكرافي الترشيح الهلامي لتنقية البروتين المناعي IgM المضاد لفايروس روتا العجول باستخدام عمود Sephadex G - 200.



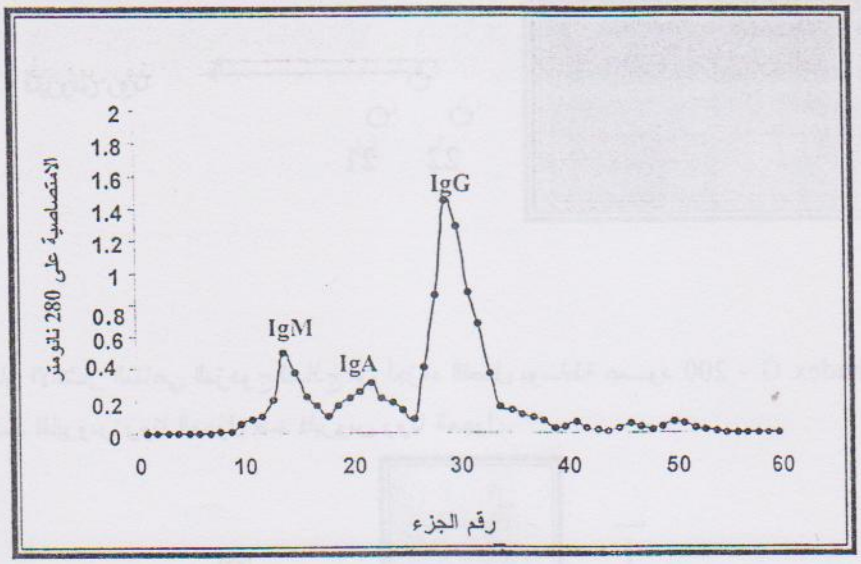
شكل (9): اختبار الانتشار المناعي المزدوج لنماذج من أجزاء الفصل بوساطة عمود Sephadex G - 200 للبروتين المناعي IgM المضاد لفايروس روتا العجول ضد فايروس روتا العجول.

تنقية البروتينات المناعية IgG, IgA, IgM من شرش لبأ الابقار باستخدام كروماتوكرافي الترشيح الهلامي

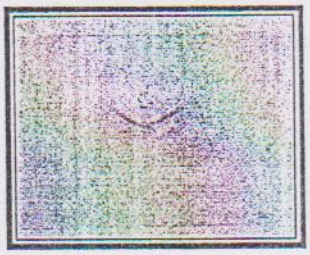
تمتاز بروتينات المناعة الخام باحتوائها على بروتينات ذات اوزان جزيئية متباينة تكون ما بين 150 كيلو دالتون للبروتين المناعي IgG و 950 كيلو دالتون للبروتين المناعي IgM اذ يكون الـ IgM ناتج من ارتباط خمسة وحدات مشابهة في شكلها للبروتين المناعي IgG (Johnstone و Thorpe، 26 ؛ Barrett، 7)، لذا تم تنقية البروتينات المذكورة من شرش لبأ الابقار الملقحة بفايروس روتا العجول بعد ترسيبها بوساطة كبريتات الامونيوم بطريقة كروماتوكرافي الترشيح الهلامي وعلى عمود Sephadex G - 200، فلوحظ ظهور ثلاث قمم للبروتين في الاجزاء المستردة من الهلام (الشكل 10)، تميزت القمة الاولى بموقع مماثل لموقع البروتين المناعي IgM وكان الحجم اللازم لانزاله يعادل 1.2 مرة بقدر حجم الفراغ، وجرى اختبار الانتشار المناعي المزدوج للاجزاء المستردة من الهلام في القمة الاولى للتحقق من فعاليته ضد فايروس الروتا (الشكل 11) فظهر خط ترسيبي بين البروتين المناعي IgM وبين فايروس روتا العجول.

اما القمة الثالثة فأن موقعها مماثل لموقع البروتين المناعي IgG، وكان الحجم اللازم لانزاله يعادل 2.4 مرة بقدر حجم الفراغ، وقد ثبتت فعاليته ضد فايروس روتا العجول على التوالي (الشكل 12)، اما القمة الوسطية فتمثل بروتين كان الحجم اللازم لانزاله يعادل 1.8 مرة بقدر حجم الفراغ، أي ان وزنه الجزيئي يقع بين الوزن الجزيئي للبروتين المناعي IgM والوزن الجزيئي للـ IgG ووجد ان له فعالية مناعية عند اختباره بوساطة اختبار الانتشار المناعي المزدوج (الشكل 13) وهي صفات قد تدل على انه البروتين المناعي IgA.

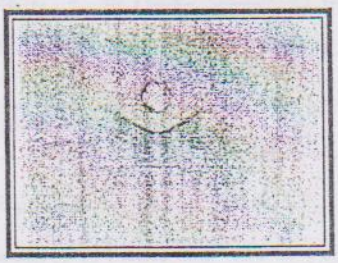
وعند اجراء اختبار الترحيل الكهربائي للقمم الرئيسة التي تم الحصول عليها في عملية الترشيح الهلامي ظهرت البروتينات IgG , IgA , IgM بشكل حزمة واحدة لكل منها مما يدل على نقاوتها كما موضح في الشكل (14)، ويذكر ان الباحثان (Al-Mashikhi و Nakai، 5) استخدما عمود Sephacryl S - 300 لغرض فصل البروتينات المناعية من شرش حليب الابقار، وان الخطوات المستخدمة لتنقية البروتينات المناعية في المراجع العلمية على درجة عالية من التنوع فقد نقى الباحث (Smith وجماعته، 43) البروتينات المناعية من مصل دم الارانب بخطوتين الاولى تمثلت بالترشيح الهلامي على عمود Sephadex G - 200 والخطوة الثانية كانت بوساطة التبادل الايوني على عمود DEAE - Sephadex A-50 اما الباحثان (Chen و Wang، 15) بروتينيات المناعة من شرش حليب الابقار بخطوتين الاولى الترشيح الدقيق Microfiltration والثانية على عمود الالفة Heparin Sepharose اذ كانت نسبة النقاوة المستحصل عليها 90 %.



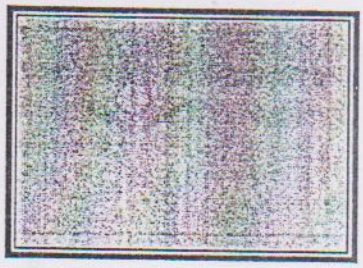
شكل (10): كروماتوكرافي الترشيح الهلامي لتنقية بروتينات المناعة Igs المضادة لفايروس روتا العجول باستخدام عمود Sephadex G - 200.



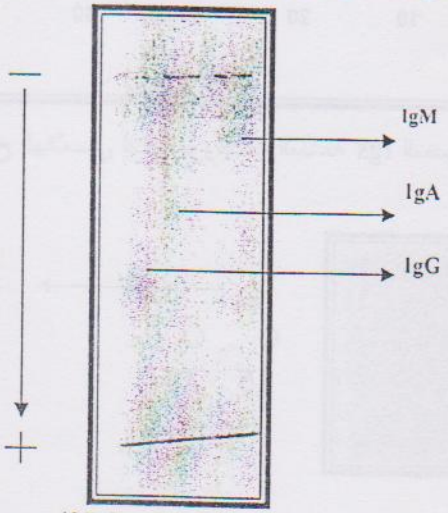
شكل (11): اختبار الانتشار المناعي المزدوج لنماذج من أجزاء الفصل بوساطة عمود Sephadex G - 200 للبروتين المناعي IgM المضاد لفايروس روتا العجول ضد فايروس روتا العجول.



شكل (12): اختبار الانتشار المناعي المزدوج لنماذج من أجزاء الفصل بوساطة عمود Sephadex G - 200 للبروتين المناعي IgG المضاد لفايروس روتا العجول ضد فايروس روتا العجول.



شكل (13): اختبار الانتشار المناعي المزدوج لنماذج من أجزاء الفصل بوساطة عمود Sephadex G - 200 للبروتين المناعي IgA المضاد لفايروس روتا العجول ضد فايروس روتا العجول.



شكل (14): الترحيل الكهربائي بهلام الاكريل امايد (SDS - PAGE) وبنسبة 5 % و 7.5 % لبروتينات المناعة المنقاة بعمود الترشيح الهلامي Sephadex G - 200 والمضادة لفايروس روتا العجول.

اختبار فعالية بروتينات اللبأ المناعية مختبرياً في خفض معيار فايروس الروتا في براز العجول

لزيادة التأكد من أن البروتينات المستحصل عليها والمنقاة من لبأ الابقار بالترشيح الهلامي هي بروتينات مناعية متخصصة تجاه فايروس روتا العجول فقد تم اعتماد اختبار تعادل المصل للفايروس مختبرياً، اذ اظهرت النتائج الموضحة في الجدول (1) خصوصية هذه البروتينات المناعية اتجاه الفايروس في عينات البراز الموجبة لاختبار تلازن اللاتكس والتي كان لها معيار فايروسي يتراوح بين 32:1 الى 256:1 بين عينة واخرى، فادى اضافة 100 مايكرولتر من البروتينات المناعية المتخصصة ضد فايروس روتا العجول الخام والمنقاة وبتركيز 1 ملغم / مللتر الى 100 مايكرولتر من تخافيف البراز المحضرة الى انخفاض معيار الفايروس الى الصفر رتثبط تلازن اللاتكس في عينات البراز ذات المعيار 1 : 16 الى 1 : 64، في حين اظهرت عينات البراز ذات المعيار 1 : 128 الى 1 : 256 تلازناً طفيفاً مع كل من البروتين المناعي IgG والبروتين المناعي IgA وانعدام التلازن مع البروتين المناعي IgM . ويفسر ذلك استناداً الى الطبيعة التركيبية للـ IgM والمتكون من خمس وحدات شبيهة بشكل

البروتين المناعي IgG مما يمكنه من معادلة عدد اكبر من الفايروس بالمقارنة مع البروتين المناعي IgG ، ويلي البروتين المناعي IgM بهذه الخصوصية البروتين المناعي IgA والذي يتألف من وحدتين الى ثلاث وحدات مشابهة لشكل البروتين المناعي IgG (Barrett، 7).

جدول (1): اختبار تعادل المصل لفايروس روتا العجول في عينات براز المصابين مع بروتينات المناعة المتخصصة (الخام والنقية).

رقم العينة	معيار الفايروس في عينات البراز قبل المعادلة	معيار الفايروس في عينات البراز بعد المعادلة مع البروتينات المناعية الخام *	معيار الفايروس في عينات البراز بعد المعادلة مع البروتينات المناعية المنقاة **		
			IgG	IgA	IgM
1	64 : 1	-	-	-	-
2	128 : 1	2 : 1	2: 1	-	-
3	64 : 1	-	-	-	-
4	32 : 1	-	-	-	-
5	64 : 1	-	-	-	-
6	32 : 1	-	-	-	-
7	128 : 1	2 : 1	2: 1	-	-
8	32 : 1	-	-	-	-
9	128 : 1	2 : 1	2: 1	-	-
10	128 : 1	2 : 1	2: 1	-	-

* البروتينات المناعية المرسبة بكبريتات الامونيوم.

** البروتينات المناعية المنقاة بعمود الترشيح الهلامي Sephadex G - 200.

استخدام بروتينات اللبأ المناعية المتخصصة ضد فايروس الروتا في معالجة حالات الاسهال في العجول حديثة الولادة

يوضح الشكل (15) تاثير استخدام لترين من الرضاعة يومياً بحليب يحتوي على 1 غم بروتينات مناعة / لتر، وحليب يحتوي على 1.25 غم / لتر، فيلاحظ انه بعد 24 ساعة من المعالجة بالحليب ذو التركيز الاول انخفضت نسبة نوبات الاسهال الى 60.2% مما كانت عليه قبل العلاج، ثم انخفضت الى 26.2% بعد 48 ساعة من بدء العلاج.

وعند مقارنة هذه النتائج مع مجموعة سيطرة تناولت حليب بالكمية اليومية نفسها ولكنها خالية من أي اضافة ببروتينات المناعة لوحظ ان نسبة النوبات كانت 97.8% بعد 24 ساعة، و 87.5% بعد 48 ساعة من بدء العلاج.

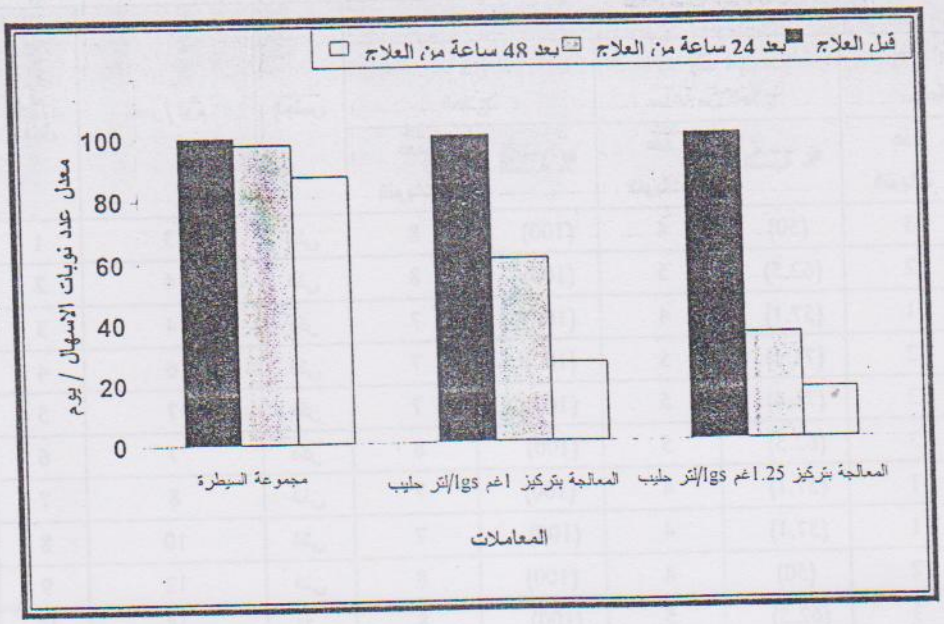
ويبين الجدول (2) ما لخصه الشكل (15) السابق من حيث عدد نوبات الاسهال لكل عجل من مجموعتي العجول التي عولجت ببروتينات المناعة بالمقارنة مع عجول مجموعة السيطرة، فيلاحظ ان المجموعة الاولى المكونة من 10 عجول كان عدد نوبات الاسهال فيها يتراوح بين 7 - 8 نوبات قبل البدء بالعلاج، وانخفضت الى 4 - 5 نوبات بعد 24 ساعة من اعطاء لترين من حليب يحتوي على 1 غم بروتينات مناعة / لتر، ثم انخفضت الى 1 - 3 نوبات بعد 24 ساعة من تناول كمية مماثلة من الحليب نفسها، قد توبعت عيارية الفايروس في براز هذه المجموعة من العجول بوساطة اختبار تلازن اللاتكس ووجد انه كان يتراوح 1 : 32 الى 1 : 256 قبل

المعالجة فانخفضت العيارية الى 1 : 8 الى 1 : 32 بعد 24 ساعة، وقد تم متابعة الانخفاض في العيارية بعد 24 ساعة اخرى بحيث حققت ثلاث حالات شفاء تام، وهما الحالتان التي انخفض فيها عدد نوبات الاسهال الى 1 و2 على التوالي، كما انخفض اعلى معيار لحالتين من : 256 1 قبل العلاج الى 1 : 16 بعد 48 ساعة من بدء العلاج، كما موضح في الجدول (3).

اما تأثير استخدام حليب مدعم ببروتينات المناعة بنسبة 1.25 غم / لتر حليب فقد كان ذو تأثير اعلى من الحليب السابق بشكل ملحوظ، فقد ادى تناول لترين منه الى انخفاض عدد نوبات الاسهال من 8 - 9 نوبات الى 4 2 - نوبات بعد 24 ساعة، ثم اصبحت 1 - 2 نوبات بعد 48 ساعة، وقد عززت نتائج اختبار تلازن اللاتكس هذه النتائج، اذ تم اثبات حالة شفاء في 70% من الحالات اذ انخفضت عيارية الفايروس الى الصفر عند 7 عجول من 10 وانخفض الثلاثة الباقية الى 1 : 2 لاسيما في حالة العجول الذين كان معيار الفايروس لديهم 1 : 256، كما هو موضح في الجدول (4).

ويتضح دور بروتينات المناعة في علاج حالات الاسهال اكثر عند المقارنة مع مجموعة السيطرة سواء التي استخدمت مع المجموعة الاولى او المجموعة الثانية اذ استمرت نوبات الاسهال، واحياناً ارتفعت عند بعض العجول بعد 24 ساعة من تناولهم الحليب غير المدعم ببروتينات المناعة ولم يحدث الانخفاض بعد 48 ساعة من بداية التجربة، وعند متابعة الحالات لايام لاحقة كانت اعراض الاسهال قد استمرت 5 - 7 ايام، وقد تم متابعة الحالات خلال الساعات الثمان واربعين الاولى من تجربة تقدير عيارية الفايروس في البراز، اذ وجد انها كانت بين 1 : 32 الى 1 : 256 في مجموعة العجول التي اعطيت حليب مدعم ببروتينات المناعة وبتركيز 1.25 غم / لتر حليب عند ابتداء التجربة فأصبح بين 1 : 2 الى 16 1 : بعد 24 ساعة و 1 : 2 بعد 48 ساعة.

ومن الجدير بالذكر ان المعالجة ببروتينات المناعة قد استخدمت من قبل باحثين عديدين، فقد بين الباحثان (Svendsen و Wilson، 47) ان اعطاء لباً من خنازير ملقحة ضد بكتريا *E. coli* عن طريق الفم الى صغار الخنازير اعطت حماية ضد هذه البكتريا مقارنة مع الخنازير التي اعطيت لباً طبيعياً، فلم تحم الصغار ضد تلك البكتريا، ولاحظ الباحثون (38) ان الخنازير الرضيعة لم تمت في المجموعة التي كانت امهاتها ملقحة ببكتريا E. coli ، بينما كانت نسبة الوفيات 30 % في مجموعة السيطرة وخلال ستة ايام، كما اثبت الباحث (Suchaux، 46) ان تلقيح امهات الفئران ببكتريا *E. coli* تعطي حماية للفئران الصغيرة ضد المرض، وقد اوضح الباحثان (Porter و Hill، 40) ان بروتينات المناعة تمتص بشكل سليم خلال الطبقة الطلائية للامعاء خلال 24 - 48 ساعة في الخنازير الرضيعة، وذكر الباحثان (Stone و Kemeny، 45) بان للعصارات الهاضمة تأثيراً جزئياً على فعالية بروتينات المناعة، وقد قام عدد من الباحثين بدراسات مشابهة لهذه الدراسة حيث ذكر مجموعة من الباحثين بان تلقيح الابقار بمستضد معين يحفز في انتاج العوامل الدفاعية التي تنتقل الى الولادات عن طريق اللبأ، ويوفر اعطاء بروتينات المناعة عن طريق الفم حماية اكثر لاسيما من خلال الحليب للدفاع ضد امراض الجهاز الهضمي (McNeal وجماعته، 35).



شكل (15): فعالية بروتينات المناعة المتخصصة ضد فايروس روتا العجول في معالجة اسهال العجول حديثة الولادة خلال 24 ساعة، و48 ساعة.

جدول (2): فعالية بروتينات المناعة المتخصصة ضد فايروس روتا العجول في معالجة اسهال العجول حديثي الولادة خـلال 24 ساعة، و48 ساعة.

تركيز بروتينات المناعة لتر / غم	رقم العجل	العمر/ يوم	الجنس	عدد ونسب (%) نوبات الاسهال					
				قبل العلاج		بعد 24 ساعة من العلاج		بعد 48 ساعة من العلاج	
				عدد النوبات	النسبة %	عدد النوبات	النسبة %	عدد النوبات	النسبة %
1	1	3	انثى	8	(100)	4	(50)	3	(37.5)
	2	4	انثى	8	(100)	5	(62.5)	2	(25)
	3	4	ذكر	7	(100)	4	(57.1)	1	(14.2)
	4	6	انثى	7	(100)	5	(71.4)	2	(28.5)
	5	7	ذكر	7	(100)	5	(71.4)	2	(28.5)
	6	7	ذكر	8	(100)	5	(62.5)	3	(37.5)
	7	8	انثى	7	(100)	4	(57.1)	1	(14.2)
	8	10	انثى	7	(100)	4	(57.1)	1	(14.2)
	9	12	انثى	8	(100)	4	(50)	2	(25)
	10	18	انثى	8	(100)	5	(62.5)	3	(37.5)
	المعدل			7.5	(100)	4.5	(60.16)	2	(26.2)
1.25	1	2	انثى	9	(100)	4	(44.4) 4	2	(22.2)
	2	3	انثى	8	(100)	3	(37.5) 3	1	(12.5)
	3	5	ذكر	8	(100)	2	(25) 2	1	(12.5)
	4	6	انثى	8	(100)	3	(37.5)	1	(12.5)
	5	6	ذكر	8	(100)	2	(25)	1	(12.5)
	6	7	انثى	8	(100)	2	(25)	1	(12.5)
	7	8	انثى	9	(100)	4	(44.4)	2	(22.2)
	8	8	انثى	8	(100)	3	(37.5)	1	(12.5)
	9	9	ذكر	8	(100)	2	(25)	2	(25)
	10	16	ذكر	9	(100)	4	(44.4)	2	(22.2)
	المعدل			8.3	(100)	2.9	(34.6)	1.4	(16.7)
مجموعة السيطرة	1	4	ذكر	8	(100)	8	(100)	7	(87.5)
	2	5	ذكر	7	(100)	8	(114.2)	6	(85.7)
	3	5	انثى	8	(100)	7	(87.5)	6	(75)
	4	7	انثى	8	(100)	7	(87.5)	7	(87.5)
	5	7	انثى	8	(100)	8	(100)	7	(87.5)
	6	8	انثى	7	(100)	8	(114.2)	6	(85.7)
	7	10	انثى	7	(100)	7	(100)	7	(100)
	8	11	ذكر	8	(100)	7	(87.5)	7	(87.5)
	9	11	ذكر	8	(100)	8	(100)	7	(87.5)
	10	13	انثى	8	(100)	7	(87.5)	7	(87.5)
	المعدل			7.7	(100)	7.5	(97.8)	6.7	(87.5)

جدول (3): معيار الفايروس (Titer) في براز العجول المصابة بفايروس الروتا قبل المعالجة بحليب ابقار مدعم ببروتينات المناعة المتخصصة ضد فايروس الروتا (1 غم / لتر)، وبعد 24 و 48 ساعة من بدء العلاج.

رقم العجل	العمر/ يوم	الجنس	معيار الفايروس		
			قبل العلاج	بعد 24 ساعة من العلاج	بعد 48 ساعة من العلاج
1	3	انثى	256:1	32:1	16:1
2	4	انثى	128:1	32:1	8:1
3	4	ذكر	32:1	16:1	–
4	6	انثى	128:1	32:1	4:1
5	7	ذكر	64:1	32:1	–
6	7	ذكر	128:1	32:1	4:1
7	8	انثى	64:1	16:1	2:1
8	10	انثى	32:1	8:1	–
9	12	انثى	128:1	16:1	4:1
10	18	انثى	256:1	32:1	16:1

جدول (4): معيار الفايروس (Titer) في براز العجول المصابة بفايروس الروتا قبل المعالجة بحليب ابقار مدعم ببروتينات المناعة المتخصصة ضد فايروس الروتا (1.25 غم / لتر)، وبعد 24 و 48 ساعة من بدء العلاج.

رقم العجل	العمر/ يوم	الجنس	معيار الفايروس		
			قبل العلاج	بعد 24 ساعة من العلاج	بعد 48 ساعة من العلاج
1	2	انثى	256:1	16:1	2:1
2	3	انثى	256:1	8:1	–
3	5	ذكر	128:1	2:1	–
4	6	انثى	64:1	4:1	–
5	6	ذكر	32:1	4:1	–
6	7	انثى	32:1	2:1	–
7	8	انثى	256:1	16:1	2:1
8	8	انثى	64:1	8:1	–
9	9	ذكر	64:1	4:1	–
10	16	ذكر	256:1	16:1	2:1

المصادر

- الطريحي، فارس عبد الكريم. (1993). فصل بعض بروتينات المناعة المتخصصة من لبأ الابقار ودراسة تأثيرها ضد بكتريا الاشيريكيا القولونية. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق.
- العكيدي، سعد خالد ونقاش، اياد فضيل. (1986). علم المناعة والمصول. الطبعة الاولى. مطبعة التضامن. وزارة الصحة. بغداد. العراق.
- **Abomoelak , B. ; Huygen , K. ; Kremer , L. ; Turneer , M. and Locht , C.** (1999). Humoral and cellular immune responses in mice immunized with recombinant mycobacterium bovis bacillus calmette guerin producing a pertussis toxin – tetanus toxin hybrid protein.Infection and Immunity.67 (10):5100 – 5105.
- **Akita, E. M. and Nakai,** S. (1992). Isolation and purification of immunoglobulins from egg yolk. J. Food Sci. 57 : 629.
- **Al-Mashikhi, S.A. and Nakai, S.** (1987). Isolation of bovine immunoglobulins and lactoferrin from whey proteins by gel filtration techniques. J. Dairy Sci. 70 (12): 2486 - 2492.
- **Al-Yousif, Y.; Al-Majhdi, F.; Bergstrom, C.; Anderson, J. and Kapil, S.** (2000). Development, characterization, and diagnostic applications of monoclonal antibodies against bovine rotavirus. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 7 (2): 288 - 292.
- Barrett, J. T. (1988). Textbook of Immunology. 5rd. (Ed.). C. V. Mosby Company. USA.
- **Bigland, C. H.; Warenycia, M. W. and Denson, M.** (1979). Specific immune gammaglobulin in the control of Mycoplasma meleagridis. Poultry Sci. 58: 319.
- **Bishop , R. ; Davidson , G. ; Holmes , I. and Ruck , B.** (1973).Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis. .The Lancet. 2:128.
- **Bishop , R. ; Davidson , G. ; Holmes , I. and Ruck , B.** (1974).Detection of a new virus by electron microscopy of fecal extracts from children with acute gastroenteritis.The Lancet. 2:149 – 151.
- **Brandt, C.; Kim, H. W.; Rodriguez, W.; Arrobio, J.; Jeffries, B. and Parrott, R. T.** (1982). Rotavirus gastroenteritis and weather. Journal of Clinical Microbiology. 16 (3): 478 - 482.
- **Butler, J. E.** (1983). Bovine immunoglobulins: an augmented review. Vet. Immunol. And Immunopath. 4: 43.
- **Caballero, S.; Xavier, F.; Loisy, F.; Guyader, F.; Cohen, J. and Pint, R.** (2004). Rotavirus virus - like particles surrogates in environmental as surrogates in environmental persistence and inactivation studies.Applied and Environmental Microbiology. 70 (7): 3904 - 3909.
- **Castrucci, G.; Ferrari, M.; Angelillo, V.; Rigonat, F. and Capodicasa, L.** (1993). Field evaluation of the efficacy of romovac - 50, a new inactivated adjuvated bovine rotavirus vaccine. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 16 (3): 235 - 239.
- **Chen, J. and Wang, C.** (1991). Microfiltration affinity purification of lactoferrin and immunoglobulin G from cheese whey. Journal of Food Science. 56(3):701 – 706.
- Clark, M. F. and Adams, A. N. (1977). Characteristic of the microplate methods of enzme -linked immuno sorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34: 475 - 483.
- **Cukor, G. ; Blacklow ,N. ; Capozza , F. ; Panjvani , Z. and Bednarek , F.** (1979). Persistence of antibodies to rotavirus in human milk. Journal of Clinical Microbiology. 9(1): .96–93
- **Ebina,T.; Sato, A.; Umezu, K.; Ishida, N.; Ohyama, S.; Oizumi, A.; Aikawa, K.; Katagiri, S.; Katsushima, N.; Imai, A.; Kitaoka, S.; Suzuki, H. and Konno, T.** (1985). Prevention of rotavirus infection by oral administration of cow colostrum containing antihumanrotavirus antibody. Med. Microbiol. Immunol. 174: 177 - 185.

- Enouf, V.; Chwetzoff, S.; Trugnan, G. and Cohen, J. (2003). Interactions of rotavirus VP4 spike protein with the endosomal protein rab5 and the prenylated rab acceptor PRA1. Journal of Virology. 77(12): 7041 - 7047.
- Espejo, R.; Munoz, O.; Serafin, F. and Romero, P. (1980). Shift in the prevalent human rotavirus detected by ribonucleic acid segment differences. Infection and Immunity. 27(2): 351 - 354.
- Flewett , T. ; Bryden , A. and Davies , H.(1973). Virus particles gastroenteritis. The Lancet. 2: 1497.
- Garvey, J. S.; Cremer, N. E. and Sussdorf, D. H. (1977). Methods in Immunology. 3rd. (Ed.).W.A., Banjamin, Inc., London.
- Goding, J. E. (1986). Monoclonal Antibodies: Principle and Practice.. 2nd. (Ed.).Academic press Harcourt Brace Jovanovich, Publishers. P 108.
- Hatta, H.; Kim, M. and Yamamoto, T. (1990). A novel isolation method for hen egg yolk antibody, (IgY). Agric. Biol. Chem. 54 : 2531.
- Hilpe ., H.; Brussow, H.; Mietens, C.; Sidoti, J.; Lerner, L. and Werchau, H. (1987). Use of bovine milk concentrate containing antibody to rotavirus to treat rotavirus gastroenteritis in infants. The Journal of Infectious Diseases. 156 (1): 158 - 166.
- Johnstone, A. P. and Thorpe, R. (1982). Immunochemistry in Practice. Blackwell Scientific Publications. USA.
- Jorgensen, M.; Scheutz, F. and Strandbygaard, B. (1996). Escherichia coli and virus isolated from " Sticky Kits ". Acta Vet. Scand. 37(2): 163 - 169.
- Konno, T.; Suzuki, H.; Imai, A.; Kutsuzawa, T.; Ishida, N.; Katsushima, N.; Sakamoto, M.; Kitaoka, S.; Tsuboi, R. and Adachi, M. (1978). A long-term survey of rotavirus infection in Japanese children with acute gastroenteritis. The Journal of Infectious Diseases. 138 (5): 569 - 576.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227: 680 - 285.
- Larson , B. L. (1995). Lactation. Iowa State University Press. (Second printing).
- Logan, E. F.; Meneely, D. J. and Lindsay, A. (1981). Colostrum and serum immunoglobulin levels in jersy cattle. Br. Vet. J. 137: 279.
- Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L. and Randall, R.J.(1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265 - 275.
- Malik, R.; Bukhari, S.; Arshad, M. and Sajid, M. (1996). Prevalence of rota virus infection. Mother and Child. 34 (1): 19 - 21.
- Matsuura, K.; Ishikura, M.; Nakayama, T.; Hasegawa, S.; Morita, O. and Uetake, H. (1988). Ecological studies on reovirus pollution of viruses in Toyama prefecture. Microbio. Immunol. 32 (2) : 1221 – 1234.
- McNeal, M. M.; Rae, M. N. and Ward, R. L. (1999). Antibody responses and protection stimulated by sequential oral parenteral immunization of mice with rotavirus. Vaccine. 17 : 639 – 645.
- Mebus, C. A.; Underdahi, N. R.; Rhodes, M. B. and Twichaus, M. J. (1969). Calf diarrhoea (Scours): Reproduced with a virus from a field outbreak. Univ. Nebr. Res. Bull. 233 :1.
- Mossel , E. and Ramig , R. (2002). Rotavirus genome segment 7 (NSP3) is a determinant of extraintestinal spread in the neonatal mouse. Journal of Virology. 76(13): 6502–6509.
- Nagy, B.; Moon, H. W.; Isaacson, R. E.; To, C. C. and Brinton, C. C. (1978). Immunization of suckling pigs against enteric toxigenic Escherichia coli infection by vaccinating dams with purified pili. Infect. And Immun. 21 : 269.

- **Ontsouka, C.; Bruckmaier, R. and Blum, J.** (2003). Fractionized milk composition during removal of colostrum and mature milk. Journal of Dairy Science. 86: 2005 - 2011.
- **Porter, P. and Hill. I. R.** (1970). Serological changes in immunoglobulins IgG , IgA and IgM and Escherichia coli antibodies in the yong pig. Immunology. 18 : 565.
- **Rose , J. ; Franco , M. and Greenberg , H.** (1999). The immunology of rotavirus infection in the mouse. Advances in Virus Research. 51: 203 – 235.
- **Shimazaki, K.I. and Kuroda, K.** (1989). Fractionation of whey proteins in cheese whey by ultrafilteration. Japanes. J. of Dairy and Food Seince. 38 (3): 95 - 102.
- **Smith, K. L.; Conrad, H.R. and Porter, R.M.** (1971). Lactoferrin and IgG immunoglobulins from involuted bovine mammary glands. J. Dairy Sci. 54 (10): 1427 - 1435.
- **Steinhoff , M. and Rochester , M.**(1980). Rotavirus : the first five years. The Journal of Pediatrics. 96(4):611-622.
- **Stone, S. S. and Kemeny, L. J.** (1979). Stability of porcin colostral immunoglobulins IgA, IgG2, and IgM. Am. J. Vet. Res. 40 : 607.
- **Suchaux, M. D.** (1988). Protective antigens against enterotoxigenic Escherichia coli 0101:k99, f41 in the infant mouse diarrhea model. Infect. And Immun. 56 : 1364.
- **Svendsen, J. and Wilson, M. R.** (1971). Immunity to Escherichia coli in pigs: effect of feeding colostrum or serum from vaccinated sows to Escherichia coli infected gnotobiotic pigs. Am. J. Vet. Res. 32 : 899.
- **Unicomb, L.; Podder, G.; Gentsch, J.; Woods, P.; Hasan, K.; Faruque, A.; Albert, M. and Glass , R.** (1999). Evidence of high - frequency genomic reassortment of group A rotavirus strains in bangladesh: emergence of type G9 in 1995. Journal of Clinical Microbiology. 37 (6): 1885 - 1891.
- **Vancott , J. ; Franco , M. ; Greenberg , H. ; Sabbaj , S. ; Tang , B. ; Murray , R. and Mc Ghee J.**(2000). Protective immunity to rotavirus shedding in the absence of interleukin – 6 : Th1 cells and immunoglobulin A develop normally. Journal of Virology. 74 (11):5250 – 5256.
- **Vesikari , T. ; Sarkkinen , H. K. ; Arstil , P. P. and Malonen , P. S.** (1981). Rotavirus, adenovirus and non-viral enteropathogens in diarrhoea. Arch. Dis. Child. 56 : .264
- **Warthall, A.; Wells, D. E.; Cartwright, S. F. and Frerichs, G. N.** (1984). An inactivated oil-emulsion vaccine for the prevention of porcine Parvovirus Induce reproductive failure. Research in Vet. Science. 36: 136 - 143.
- **Woode, G. N.** (1978). Epizootiology of bovine rotavirus infection. Vet. Rec. 103 : 44.
- **Woode, G. N. and Bridger, J. C.** (1978). Isolation of small viruses resembling astroviruses and caliciviruses from acute enteritis of calves. J. Med. Microbiol. 11: 441 - 452.
- **Yuan, L.; Iosef, C.; Azevedo, M. P.; Kim, Y.; Qian, Y.; Geyer, A.; Nguyen, T. V.; Chang, K. and Saif, L. J.** (2001). Protective immunity and antibody secreting cell responses elicited by combined oral attenuated wa human rotavirus and intranasal wa 2/6- VLPs with mutant Escerichia coli heat labile toxin in gnotobiotic pigs. J. of Virol. 75 (19) : 9229 – 9239.

Theraputic Application of Extracted Immunoglobulins Proteins from Bovine Colostrum for treatment of Calf rotavirus diarrhoea

*R. A. Aziz
Dept. of Science
College of Basic Education, University of Al-Mustansirya

A. H. Al - Samarraie
Dept. of Food Science & Biotechnology
College of Agriculture, University of Baghdad

Y. A. Khafaji
Veterinary Laboratory & Research Institute

Abstract

Immunoglobulins from whey colostrum bovine that vacsination of calf rota virus were isolated by gel filtration. The lyophilized anti - calf rota virus colustral immunoglobulins were used for a fortification of infant milk formula for treatment of 20 calf suffering from diarrhea were divided into two equal groups, one group taken 1 gm / L milk daily whereas remaning group taken 1.250 gm / L daily dose. The diarrhoeic symptom were reduced to 70 % from infection at highy concentration, for each concentration respectivly after 48 hours, wherease diarrhoea symptoms were continue in control group.