

سنجش حضور آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیا کلی، روتاویروس و کوروناویروس در سرم گوساله‌های زیر یک‌ماهه مبتلا به اسهال و گوساله‌های سالم

محمدربانی^{۱*}، محمدرضا مخبردزفولی^۲، تقی زهرایی صالحی^۱، عباس یوسفی‌رامندی^۳، علیرضا باهنر^۴، فریدون رضازاده^۲

^۱ گروه میکروبی‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران

^۲ گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران

^۳ دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

^۴ گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران

(دریافت مقاله: ۲۶ بهمن‌ماه ۱۳۸۴، پذیرش نهایی: ۳ تیرماه ۱۳۸۵)

چکیده

در این تحقیق از ۸۴ گوساله زیر یک‌ماهه شامل ۸۴ گوساله مبتلا به اسهال و ۱۰۰ گوساله سالم نمونه خون اخذ گردید و روی آنها آزمایش‌های سرم‌شناسی شامل الایزای مستقیم برای تشخیص آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن K99 اشریشیا کلی، روتاویروس و کوروناویروس و نیز آزمایش آگلوتیناسیون لوله‌ای برای تشخیص آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن O157 اشریشیا کلی انجام شد. نتایج نشان داد که آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیا کلی K99 در سرم ۵۶ درصد گوساله‌های اسهالی و ۶۶ درصد گوساله‌های سالم و آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیا کلی O157 در سرم ۸۲ درصد گوساله‌های اسهالی و ۶۹ درصد گوساله‌های سالم وجود دارد. آنتی‌بادی‌های ضد روتاویروس در همه نمونه‌های سرمی گوساله‌های اسهالی و ۹۹ درصد نمونه‌های سرمی گوساله‌های سالم تشخیص داده شد. همچنین آنتی‌بادی‌های ضد کوروناویروس در سرم ۸۲ درصد گوساله‌های اسهالی و ۷۲ درصد گوساله‌های سالم شناسایی شد. تشخیص آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیا کلی (K99 و O157) و روتاویروس و کوروناویروس در سرم گوساله، مواجهه جمعیت مورد مطالعه را با این سویه‌ها نشان می‌دهد. حضور قابل توجه این آنتی‌بادی‌ها در هر دو جمعیت گوساله‌های سالم و مبتلا به اسهال عدم ارتباط بین سطح سرمی این آنتی‌بادی‌ها و حفاظت گوساله در برابر اسهال را می‌تواند خاطر نشان نماید.

واژه‌های کلیدی: اسهال، گوساله، اشریشیا کلی، روتاویروس، کوروناویروس، الایزا، آگلوتیناسیون.

نمودند (۲).

مقدمه

با این وجود تاکنون در کشور ما مطالعه‌ای در مورد حضور آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیا کلی در سرم گوساله‌ها صورت نگرفته است تا بتوان به طور دقیق‌تری در معرض بودن آن را در گله‌ها ردیابی نمود. اما Wilson و Jutila در سال ۱۹۷۶ با ایجاد کلی باسیلوز تجربی در گوساله‌های نوزاد، در فراکسیون IgG1 سرم آنها فعالیت اختصاصی ضد آنتی‌ژن‌های O و K را تشخیص دادند (۱۸). Johnson و همکاران در سال ۱۹۹۶ پاسخ آنتی‌بادی سرمی گاو متعاقب عفونت تجربی با اشریشیا کلی O157:H7 را با روش الایزای غیر مستقیم مورد مطالعه قرار دادند (۱۱). Riedel- Caspari در سال ۱۹۹۳ با آزمایش الایزا غلظت آنتی‌بادی IgA و IgM اختصاصی ضد اشریشیا کلی را در سرم گوساله‌هایی که کلسترورم فاقد سلول و کلسترورم دارای سلول را دریافت کرده بودند مقایسه نمود که در گروه دوم به طور معنی‌داری بیشتر بود (۱۶). Pirro و همکاران در سال ۱۹۹۵، آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده زهرا به شبه شیگا (Shiga like toxin=SLT) را در ۹۳ درصد (۳۷/۴۰) سرم‌های تلیسه‌ها تشخیص دادند (۱۵).

با توجه به تنوع سویه‌های اشریشیا کلی، در این مطالعه آنتی‌بادی بر ضد دو سویه مهم یعنی K99 و O157 ردیابی گردیده است. سویه اولی از لحاظ رخداد اسهال گوساله‌ها مهم است چنانچه در برخی کشورهای اشریشیا کلی K99⁺ از ۴۰-۳۰ درصد گوساله‌های اسهالی و در برخی کشورها از حدود ۶-۳ درصد آنها جدا شده است (۱۷، ۵).

اسهال گوساله‌ها به‌ویژه در نخستین روزهای پس از تولد به علت تلفات احتمالی و خسارات اقتصادی حاصله از اهمیت زیادی برخوردار است (۷، ۱۷). اشریشیا کلی، روتاویروس و کوروناویروس از عوامل مهم دخیل در اسهال گوساله‌ها هستند چنانچه این عوامل همراه با کریپتوسپوریویدم، مسئول ۹۵-۷۵ درصد موارد اسهال در گوساله‌ها شناخته شده‌اند (۱۷). با توجه به حضور این عوامل در محیط، این انتظار وجود دارد که در سرم گاوهای بالغ بر علیه آنها آنتی‌بادی حضور داشته باشد. این آنتی‌بادی‌های می‌تواند از راه کلسترورم به گوساله‌ها انتقال یابد (۱۰).

تاکنون مطالعات مختلفی در مورد نقش اشریشیا کلی، روتاویروس و کوروناویروس در اسهال گوساله‌ها انجام شده است. در کشور ما، در مورد جداسازی اشریشیا کلی از اسهال گوساله‌ها مطالعاتی انجام شده است: لطف‌اله زاده و همکاران در سال ۱۹۹۷ اشریشیا کلی را از ۴۰/۸ درصد نمونه‌های مدفوع گوساله‌های اسهالی زیر یک‌ماهه در قائم شهر و بابل جدا کردند اما تنها یک نمونه (۱/۷ درصد موارد) از نوع K99⁺ گزارش شده است (۵). داودی در سال ۱۳۸۲ این باکتری را از نمونه‌های مدفوع ۵۰/۲ درصد گوساله‌های اسهالی جدا کردند اما تنها سه مورد K99⁺ بودند (۱). رضازاده و همکاران در سال ۱۳۸۳ اشریشیا کلی را از ۱۴۰ راس (۳۵ درصد) از نمونه‌های مدفوع گوساله‌های اسهالی در یکی از دامداری‌های اطراف تهران جدا



مثبت قلمداد می‌شد (۶).

نتایج

۱- تشخیص آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیاکلی

۱-۱- فراوانی آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیاکلی K99: با آزمایش الایزا آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیاکلی K99 در سرم ۵۶ درصد گوساله‌های اسهالی و ۶۶ درصد گوساله‌های ظاهرأ سالم تشخیص داده شد هرچند عمده موارد مثبت نیز نتیجه 1^+ داشته‌اند (به ترتیب ۸/۴۸ و ۵۶ درصد در گروه یادشده). تنها در ۷ درصد از گوساله‌های اسهالی و ۱۰ درصد از گوساله‌های ظاهرأ سالم، آنتی‌بادی‌های مذکور با عیار قابل توجه (2^+ و 3^+) تشخیص داده شد. هیچ‌یک از سرم‌ها، نتیجه 4^+ نداشتند.

میزان حضور آنتی‌بادی‌های مذکور در دو گروه گوساله‌های مبتلا به اسهال و ظاهرأ سالم از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد.

۱-۲- فراوانی آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیاکلی O157: در آزمایش آگلوتیناسیون کند، این آنتی‌بادیها به ترتیب در حدود ۸۲ و ۶۹ درصد نمونه‌های سرمی گوساله‌های اسهالی و ظاهرأ سالم (با عیارهای مختلف) تشخیص داده شد. در اکثر این موارد عیار آنتی‌بادی 1^+ بوده است (نمودار ۱).

بر اساس آزمون مربع کای، اختلاف بین دو گروه از نظر حضور یا عدم حضور آنتی‌بادی‌ها مذکور، معنی‌دار است (در گروه ظاهر سالم موارد منفی بیشتر از گروه مبتلا به اسهال است). ($p < 0.05$).

خطر نشان می‌شود در سرم به ترتیب ۱۳ و ۲۱ درصد گوساله‌های مبتلا به اسهال و ظاهرأ سالم هیچ‌یک از آنتی‌بادی‌های مذکور تشخیص داده نشد. اختلاف بین دو گروه از لحاظ آماری معنی‌دار نیست.

۱-۳- ارتباط حضور آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیاکلی با سن گوساله‌ها: در آزمایش الایزا بین حضور آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیاکلی K99 و سن ارتباط معنی‌داری یافت نشد ولی در آزمایش آگلوتیناسیون لوله‌ای بین حضور آنتی‌بادی‌های ضد O157 و سن گوساله‌ها ارتباط معنی‌دار مشاهده شد (آزمون فیشر). به این ترتیب که میانگین سنی گوساله‌های فاقد آنتی‌بادی O157 (معادل $3/5 \pm 16$) به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه‌هایی بود که عیارهای مثبت داشتند. میانگین سنی در مورد حیوانات دارای عیارهای مثبت چنین بوده است: عیار $1/4^+$ (معادل $9/5 \pm 12$)، عیار $1/8^+$ (معادل $5/6 \pm 10$) و عیار $1/16^+$ (معادل $1/16 \pm 9$). ($p < 0.05$).

۱-۴- ارتباط حضور آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیاکلی با جنس گوساله‌ها: هر چند اختلاف جزئی در فراوانی نسبی حضور آنتی‌بادیهای ضد اشریشیاکلی در دو جنس دیده می‌شود ولی این اختلاف‌ها معنی‌دار نیست.

۲- تشخیص آنتی‌بادی‌های ضد روتاویروس

۲-۱- فراوانی آنتی‌بادیهای ضد روتاویروس در سرم گوساله‌های اسهالی و گوساله‌های ظاهرأ سالم: آنتی‌بادیهای ضد روتاویروس در همه نمونه‌های

برخی از آنها به عنوان اشریشیاکلی آنتروهموراژیک (EHEC) حائز اهمیت شمرده شده است (۳، ۱۴). گاو یک مخزن طبیعی EHEC محسوب می‌شود (۱۳).

از طرف دیگر روتاویروس و کوروئاویروس نیز از عوامل مهم اسهال گوساله هستند (۱۷). در مورد نقش روتاویروس در اسهال گوساله‌ها در کشور ما نیز مطالعاتی انجام شده است. در بررسی کیوانفرو همکاران در سال ۱۳۸۰ شیوع روتاویروس در مدفوع گوساله‌های اسهالی گاو‌داری‌های اطراف تهران، با روش الایزا ۸/۲۸ درصد ذکر شده است (۴). کارگر و ون‌دیوسفی در سال ۱۹۸۱ با استفاده از میکروسکپ الکترونی این نسبت را ۴۱/۷۴ درصد ذکر کرده‌اند (۱). داودی در سال ۱۳۸۲، آلودگی ۳۴ درصد نمونه‌های مدفوع گوساله‌های اسهالی آذربایجان شرقی به روتاویروس را گزارش کرده است (۱). با توجه به حضور همه جایی ویروس، در سرم ۱۰۰-۹۰ درصد گوساله آنتی‌بادی ضد روتاویروس وجود دارد (۱۷). در کشور ما تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با حضور آنتی‌بادی ضد روتاویروس در سرم گوساله‌ها انجام نشده است. در مورد نقش کوروئاویروس‌ها در اسهال گوساله‌ها در ایران، مطالعه داودی در سال ۱۳۸۲، با میکروسکپ الکترونی حاکی از آن است که ویروس در مدفوع ۱۵ درصد گوساله‌های اسهالی زیر دو ماه در آذربایجان شرقی وجود دارد (۱). با توجه به فراگیر بودن ویروس، معتقدند اکثر گاوهای بالغ و گوساله‌های جوان نسبت به آن، سرم مثبت (سرپوزتیو) هستند (۱۷). در این خصوص نیز باید اذعان داشت که در کشور ما تاکنون مطالعه‌ای در باره حضور آنتی‌بادی ضد کوروئاویروس در سرم گوساله‌ها انجام نشده است. این مطالعه در پی آن بوده است که به ردیابی حضور آنتی‌بادی ضد اشریشیاکلی K99 و O157 و ضد روتاویروس و کوروئاویروس در سرم گوساله‌ها و ارتباط احتمالی حضور آنها با رخداد اسهال بپردازد.

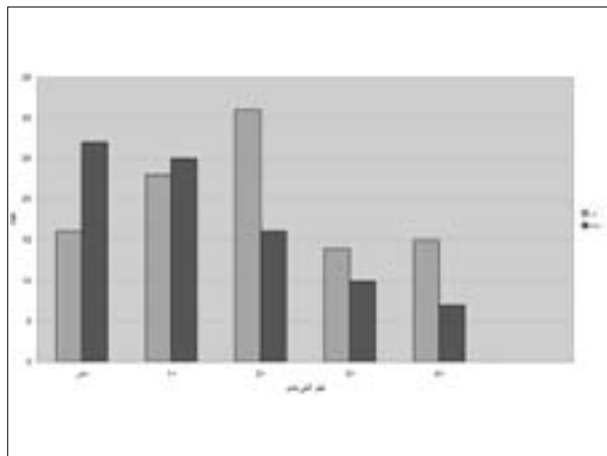
مواد و روش کار

در این مطالعه، از ۱۸۴ گوساله زیر یک‌ماهه در یک دامداری صنعتی واقع در اطراف تهران شامل ۸۴ راس گوساله مبتلا به اسهال و ۱۰۰ راس به عنوان گروه شاهد خونگیری انجام شد. پس از جداسازی سرم، نمونه‌های سرمی در دمای حدود ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

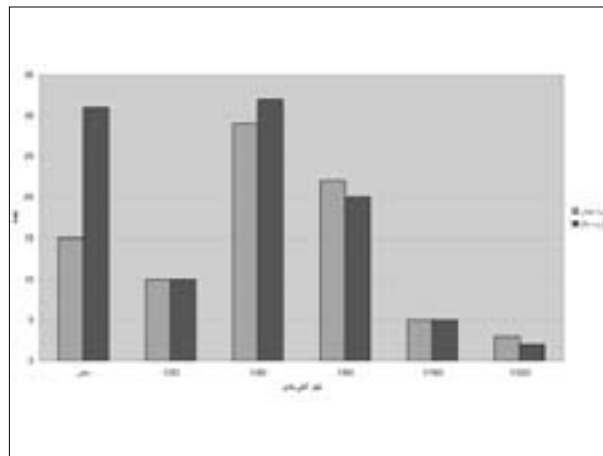
سپس نمونه‌های سرمی جهت تشخیص آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیاکلی K99 و O157 و نیز روتاویروس و کوروئاویروس مورد آزمایش قرار گرفتند. برای تشخیص حضور آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیاکلی K99، روتاویروس و کوروئاویروس از کیت‌های تشخیص الایزا (ELISA) ساخت شرکت بیواپیکس (BioX) استفاده گردید. بر اساس راهنمای کیت، نتایج به صورت منفی، 1^+ ، 2^+ ، 3^+ و 4^+ ارزیابی گردید.

برای تشخیص آنتی‌بادی‌های ضد اشریشیاکلی O157، از روش آگلوتیناسیون لوله‌ای استفاده گردید (۶). بر این اساس پس از تهیه آنتی‌ژن از اشریشیاکلی O157، رقت‌های $1/2$ ، $1/4$ ، $1/8$ ، $1/16$ ، $1/32$ ، $1/64$ از سرم گوساله‌ها با آنتی‌ژن مجاور گردید و در صورت تشکیل آگلوتیناسیون نتایج





تصویر ۲- مقایسه وجود آنتی بادی های ضد کوروئوایروس در سرم گوساله های اسهالی و به ظاهر سالم بر حسب جنس.



تصویر ۱- مقایسه وجود آنتی بادی های ضد اشریشیا کلی O157 در سرم گوساله های اسهالی و به ظاهر سالم.

۳-۲- ارتباط حضور آنتی بادی های ضد کوروئوایروس در سرم گوساله ها با

سن آنها: هر چند میانگین سنی گوساله های دارای آنتی بادی ضد کوروئوایروس و گوساله های فاقد این آنتی بادی اختلاف معنی داری نشان نمی دهد (جدول ۲) اما بیشترین نسبت موارد دارای آنتی بادی قابل توجه (2^+ و بیشتر) در گروه های سنی ۲۱-۲۵ و ۲۰-۱۶ روز مشاهده گردید. بیشترین نمونه های محدوده سنی زیر ۵ روز از نظر حضور این آنتی بادیها منفی است (ده نمونه معادل ۵۸/۸ درصد موارد). این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار است ($p < 0.05$). بدین معنا که کمبود نمونه های واجد آنتی بادی در درصد قابل توجهی از حیوانات گروه سنی ۱۰-۰ معنی دار است. در این محدوده سنی عیار آنتی بادی بالای 2^+ یافت نگردید. بیشترین حضور آنتی بادی با عیار کم (1^+) در محدوده سنی ۱۰-۶ روز است و این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار ($p < 0.05$) است.

۳-۳- ارتباط حضور آنتی بادی های ضد کورنا با جنس: آنتی بادی ها

ضد کوروئوایروس به ترتیب در سرم ۱۶/۲ و ۳۱/۸ درصد گوساله های نروماده تشخیص داده نشد. حضور آنتی بادی های با عیار قابل توجه (2^+ و بالاتر) در جنس نروماده به ترتیب ۶۰/۶ و ۳۸/۸ درصد می باشد. همچنین آنتی بادی با عیار بالا (4^+) در گوساله های نرفراوانی بیشتری دارد (۱۵/۲ در مقابل ۸/۲ درصد). از نظر آزمون مربع کای این اختلاف معنی دار است ($p < 0.05$) (نمودار ۹).

بحث

در این مطالعه، برای اولین بار در کشور سنجش آنتی بادی های ضد اشریشیا کلی، روئوایروس و کوروئوایروس در سرم گوساله ها انجام شد. نتایج حاصله به تفکیک مورد بحث قرار می گیرد:

۱- آنتی بادی های ضد اشریشیا کلی: تشخیص حضور آنتی بادی های ضد اشریشیا کلی در سرم گوساله ها قبلاً توسط برخی محققان انجام شده چنانچه Wilson و Jutila در سال ۱۹۷۶ فعالیت اختصاصی آنتی بادی های

سرمی گوساله های مبتلا به اسهال و ۹۹ درصد نمونه های سرمی گوساله های ظاهر سالم تشخیص داده شد. در ۹۱ درصد نمونه های سرمی گوساله های مبتلا به اسهال این آنتی بادی ها در بالاترین حد (4^+) حضور داشتند ولی این نسبت در گوساله های ظاهر سالم ۵۹ درصد می باشد. این اختلاف از لحاظ آماری با آزمون فیشر معنی دار است (جدول ۱) ($p < 0.05$).

۳-۲- ارتباط حضور آنتی بادی های ضد روئوایروس در سرم گوساله ها با سن

آنها: تنها مورد منفی از نظر حضور آنتی بادیها در محدوده سنی ۳۰-۲۶ روزگی دیده شد اما در مورد سایر گروه های سنی تفاوت معنی داری از لحاظ حضور آنتی بادی های ضد روئوایروس دیده نشد چنانچه بین میانگین سنی موارد 1^+ و موارد 2^+ یا بیشتر تفاوت معنی داری وجود ندارد (جدول ۲). البته بیشترین نسبت حضور آنتی بادی های با عیار بالا (4^+) در محدوده سنی ۱۰-۶ روز و ۱۱-۱۵ روز می باشد که از نظر آزمون فیشر این اختلاف معنی دار است ($p < 0.05$). در گروه سنی ۱۰-۶ روز نسبت موارد 4^+ در جمعیت به ظاهر سالم بیش از جمعیت بیمار بوده است (۵۰/۸ در برابر ۲۲/۱ درصد). این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار است ($p < 0.05$). همچنین در گروه سنی ۱۵-۱۱ روز نسبت موارد 4^+ در جمعیت بیمار بیش از جمعیت به ظاهر سالم بوده است (۵۵/۸ در برابر ۱۱/۹ درصد). این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار است ($p < 0.05$).

۳-۳- ارتباط حضور آنتی بادی های ضد روئوایروس در سرم گوساله ها با

جنس آنها: هر چند تنها نمونه منفی در جنس نریافت شد اما فراوانی نسبی آنتی بادی ها در دو جنس تفاوت قابل توجهی نشان نمی دهد.

۳- تشخیص آنتی بادی های ضد کوروئوایروس

۳-۱- فراوانی آنتی بادی های ضد کوروئوایروس در سرم گوساله های اسهالی و گوساله های ظاهر سالم: در سرم ۸۲ درصد گوساله های اسهالی و ۷۲ درصد گوساله های ظاهر سالم این آنتی بادیها حضور دارد هر چند نسبت حضور آنتی بادیها در گوساله های مبتلا به اسهال بیشتر است اما اختلاف از لحاظ آماری معنی دار نیست.



جدول ۱- فراوانی نسبی و مطلق آنتی بادی های ضد روتاویروس در سرم گوساله های اسهالی و سالم به روش الیزا.

گروه نتایج	بیمار (درصد)	سالم (درصد)	جمع (درصد)
-	-	۱ ٪۱	۱ ٪۰/۵
+	۱ ٪۱/۱	۲ ٪۲	۳ ٪۱/۶
++	۵ ٪۵/۹	۱۰ ٪۱۰	۱۵ ٪۸/۱
+++	۱ ٪۱/۱	۲۸ ٪۲۸	۲۹ ٪۱۵/۷
++++	۷۷ ٪۹۱/۶	۵۹ ٪۵۹	۱۳۶ ٪۷۳/۹
جمع	۸۴ ٪۱۰۰	۱۰۰ ٪۱۰۰	۱۸۴ ٪۱۰۰

IgG1 سرم گوساله ها بر ضد آنتی ژن های O و K اشریشیاکلی را در کلی باسیلوز تجربی گزارش کردند. نامبردگان بین حضور این آنتی بادی هادر سرم گوساله ها و حفاظت در برابر اسهال نتوانستند رابطه ای اثبات کنند (۱۸). در مطالعه حاضر نیز اختلاف معنی داری بین حضور آنتی بادی های ضد اشریشیاکلی K99 در دو گروه گوساله های اسهالی و ظاهرأ سالم یافت نشد اما حضور آنتی بادی های ضد اشریشیاکلی O157 در گوساله های مبتلا به اسهال به طور معنی داری بیشتر از گوساله های ظاهرأ سالم بود.

فراوانی کم حضور آنتی بادی های ضد اشریشیاکلی K99⁺ در سرم گوساله ها به نحوی که در نسبت کمی از آنها نتایج دو مثبت یا بالاتر در آزمایش الیزا مشاهده شد، می تواند نشانگر مواجهه کم جمعیت مورد مطالعه با این سویه ها باشد. این امر با مطالعات قبلی مبنی بر جداسازی کم این سویه از نمونه های مدفوعی گوساله هادر کشور ما (مطالعات لطف اله زاده و همکاران در سال ۱۳۸۳ و داودی و همکاران در سال ۱۳۸۲) همخوانی دارد.

از طرف دیگر فراوانی قابل توجه آنتی بادی علیه اشریشیاکلی O157، می تواند نشانگر حضور قابل توجه این باکتری در جمعیت مورد مطالعه باشد که با توجه به اهمیت زئونوتیک آن، باید مورد توجه جدی قرار گیرد و مطالعات بیشتری در جمعیت های دامی کشور در این رابطه صورت گیرد. همچنین فراوانی بیشتر آنتی بادی های مذکور در سرم گوساله های مبتلا به اسهال با یافته های Johnson و همکاران در سال ۱۹۹۶ می تواند همخوانی داشته باشد. آنان متعاقب ایجاد عفونت تجربی در گاو با اشریشیاکلی O157:H7 یافتند که پاسخهای سرمی با حذف عفونت در گوساله ها و گاوهای پروراری و یا حفاظت گوساله ها در برابر عفونت مجدد با همان سویه همخوانی ندارد. نامبردگان منشأ آنتی بادی های ضد O157 را کلاستروم مادری، مواجهه با سویه مذکور یا ارگانیسمی هایی که دارای قرابت آنتی ژنیک با آن هستند می دانند (۱۱). Chart و همکاران در سال ۱۹۹۸، نیز برخی موارد مثبت کاذب در سرولوژی اشریشیاکلی O157 را گزارش کرده اند (۸).

۲- آنتی بادی های ضد روتاویروس: در مطالعه حاضر، آنتی بادی های ضد روتاویروس در تمام نمونه های سرمی گوساله های ظاهرأ سالم و ۹۹ درصد گوساله های مبتلا به اسهال یافت شد و این یافته با مطالعات قبلی مبنی بر

جدول ۲- مقایسه میانگین سنی گوساله های دارای آنتی بادی های ضد روتاویروس و کورونوویروس.

عبارت آنتی بادی نوع ویروس	منفی		۱+		۲+ و بیشتر	
	تعداد	میانگین (انحراف معیار)	تعداد	میانگین (انحراف معیار)	تعداد	میانگین (انحراف معیار)
روتاویروس	۱	۲۶	۳	۱۳ (±۹/۵)	۱۸۰	۱۲/۷۴ (±۶/۹)
کورونوویروس	۲۳	۱۲/۰۲ (±۸/۵)	۴۸	۱۲/۳۸ (±۳۷)	۱۳	۱۳/۴۲ (±۵/۹)

حضور همه جایی ویروس، وجود عیار بالایی از آنتی بادی ضد روتاویروس در کلاستروم همه گاوها (۱۲، ۱۷) و نیز وجود آنتی بادی های ضد روتاویروس در سرم ۱۰۰-۹۰ درصد گوساله های جوان همخوانی دارد (۱۷).

عیار بالاتر این آنتی بادی ها در گوساله های مبتلا به اسهال در مقایسه با گوساله های سالم هر چند می تواند به عنوان یک ملاک تشخیصی مدنظر قرار گیرد اما حکایت از آن دارد که سطح سرمی آنتی بادی های مذکور همخوانی مثبتی با حفاظت در برابر اسهال ندارد.

همچنین عیار بالای این آنتی بادی ها در هفته های دوم و سوم علاوه بر همخوانی با زمان مواجهه با ویروس (۱۷) می تواند نشانگر فعال شدن دستگاه ایمنی در تولید آنتی بادی بر علیه روتاویروس باشد. به عبارت دیگر در این دو هفته سطح آنتی بادی گوساله می تواند برآیند آنتی بادی مادری و آنتی بادی تولید شده توسط خود گوساله باشد.

۳- آنتی بادی های ضد کورونوویروس: در این مطالعه در سرم اکثر گوساله ها، آنتی بادی های ضد ویروس کورونا یافت شد هر چند نسبت حضور این آنتی بادی ها کمتر از مورد روتاویروس می باشد اما حکایت از شیوع گسترده این ویروس دارد. این یافته، با مطالعات قبلی محققین نیز همخوانی دارد چنانچه Heckert و همکاران در سال ۱۹۹۱ میزان اشاعه کورونوویروس را ۸۱-۱۱ درصد ذکر می کنند (۹).

عدم تشخیص آنتی بادی های ضد کورونوویروس یا عیار کم آنها در گوساله های زیزده روز، با روند ابتلای به بیماری که معمولاً عفونت در سن ۲۰-۵ روزگی اتفاق می افتد همخوانی دارد (۱۷).

تشخیص آنتی بادی های ضد کورونوویروس در هر دو گروه (گوساله های اسهالی و ظاهرأ سالم) می تواند نشان دهنده آن باشد که حضور آنتی بادی های سرمی در مقابله با اسهال نقش قابل تشخیصی نداشته است چنانچه گزارش شده کورونوویروس توسط هفتاد درصد گوساله های جوان علیرغم داشتن آنتی بادی های اختصاصی در سرم و مدفوع دفع می شود (۱۷). در ایمنی بر ضد کورونوویروس نقش ایمنی موضعی روده را بیش از آنتی بادی های گردش خون ارزیابی می کند (۳).

در مجموع این مطالعه اهمیت توجه به عوامل مذکور در اسهال گوساله ها در کشور را مورد تأیید قرار می دهد و انجام توأم مطالعات باکتری شناسی و ویروس شناسی و سرم شناسی جهت تبیین دقیق میزان آلودگی کشور به این عوامل و نحوه پیشگیری و مقابله با آنها به ویژه با استمداد از فعالیت دستگاه ایمنی را ضروری می شمارد.



References

۱. داودی، ی. (۱۳۸۲): مطالعه اتیولوژیک و اپیدمیولوژیک اسهال گوساله های نوزاد در استان آذربایجان شرقی. رساله شماره ۱۶۲ برای دریافت دکترای تخصصی بیماریهای داخلی دامهای بزرگ از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران.
۲. رضازاده، ف. زهرایی صالحی، ت. مخبر دزفولی، م. ر.، ربانی، م. مرشدی، ا.، خاکی، ز.، نبیان، ص.، رهبری، ص. و باهنر، ع. (۱۳۸۳): یافته های بالینی، بیوشیمیایی و میکروب شناسی سندرم اسهال گوساله ها در یک واحد شیری در اطراف تهران. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۵۹)، ۴، صفحه: ۳۰۸-۳۰۱.
۳. فنر، اف- جی.، گیسیس، ای.، پی.، مورفی، اف. ای.، روت، آر.، استادرت، ام. ج. و وایت، دی. ا. (۱۳۷۶): ویروس شناسی دامپزشکی، ترجمه: کیوانفر، م. و کریمی، ن. چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران. شماره ۲۳۵۷، صفحه: ۲۹۳-۳۱۳.
۴. کیوانفر، ه.، قربانپور، م. سیفی آباد نیشابوری، م. ر. (۱۳۸۰): بررسی شیوع اسهال روتاویروس گوساله های شیری در منطقه تهران و نقش سروتیپ های موجود، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران (۵۶)، ۳، صفحه: ۳-۱.
۵. لطف اله زاده، ص.، ضیایی، ن. زهرایی صالحی، ت. پوربخش، س. ع.، مخبر دزفولی، م. ر. و افشاری، غ. (۱۳۸۳): بررسی حضور اشریشیا کلی، کوکسیدیا و کریبتوسپوری دیوم در مدفوع تعدادی از گوساله های زیر یک ماهه مبتلا به اسهال از قائم شهر و بابل و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله ها. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۵۹)، ۲، صفحه: ۱۳۶-۱۳۱.
6. Brayant, N. J. (1979) Laboratory Immunology and Serology, W.B. Saunders Company, pp.168.
7. Cabalar, M., Boynukara, B., Gulhan, T., Ekin, I.H. (2001) Prevalence of rotavirus, *Escherichia coli* K99 and O157:H7 in healthy dairy cattle herds in van, Turk J. Vet. Anim. Sci. 25:191-196.
8. Chart, H., Evans, J., Chalmers, R.M., Salmon, R.L. (1998) *Escherichia coli* O157 serology: false positive ELISA resulted caused by human antibodies binding to bovine serum albumin. Letters in Applied Microbiol. 27: 76.
9. Heckert, R.A., Saif, L.T., Myers, G.W., Agnes, A.G. (1991) Epidemiologic factors and isotype- specific antibody responses in serum and mucosal secretions of dairy calves with bovine coronavirus respiratory tract and enteric tract infections. Am. J. Vet. Res. 52: 845-851.
10. Hirsh, D.C. (2004) Enterobacteriaceae: *Escherichia*. In Veterinary Microbiology. Edited by DC Hirsh, MacLachlan NG and Walker RL. Blackwell publishing, pp. 61-68.
11. Johnson, R.P., Cray, JR. W.C., Johnson, S.T. (1996) Serum antibody responses of cattle following

تشکر و قدر دانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی و قطب پاتوبیولوژی به خاطر تأمین بخشی از هزینه های این تحقیق و از کارکنان آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران آقایان ایرج اشرافی، مهدی غفاری و محمود خرمالی و نیز مدیریت شرکت مزرعه آزاده بخاطر همکاری در انجام این مطالعه صمیمانه تشکر و قدر دانی می شود. هزینه این مطالعه از بودجه طرح تحقیقاتی شماره ۱/۶/۴۰۰۳/۷۵۰۴ فراهم شده است.

experimental infection with *Escherichia coli* O157:H7. Infection and Immunity, 64: 1879-1883.

12. Khattar, S., Pandey, R. (1990) Cell culture propagation of calf rotavirus and detection of rotavirus specific antibody in colostrum and milk of cows and buffaloes. Rev. Sci. Tech. Dec. 4: 1131-1138.
13. Lissner, R., Schmidt, H., Karch, H. (1996) A standard immunoglobulin preparation produced from bovine colostrum shows antibody reactivity and neutralization activity against shiga-like toxins and EHEC-hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7. Infection, 24, 5: 378-383.
14. Minihan, D., O'Mahony, M., Whyte, P., Collins, J.D. (2003) An investigation on the effect of transport and lairage on the faecal shedding prevalence of *Escherichia coli* O157 in cattle. Vet. Med. B, 50: 378-382.
15. Pirro, F., Wieler, L. H., Failing, K., Bauerfeind, R. and Baljar, G. (1995) Neutralizing antibodies against shiga-like toxins from *Escherichia coli* in colostrum and sera of cattle. Vet. Mic. 4,2-3: 131-141.
16. Riedel- Caspari, G. (1993) The influence of colostrum leukocytes on the course of an experimental *Escherichia coli* infection and serum antibodies in neonatal calves. Vet. Immunol. Immunopathol. 35: 275-288.
17. Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D. C. (2000) Veterinary Medicine, 9th Ed. W.B. Saunders, pp. 779-802, 1115-1126.
18. Wilson, R.A., Jutila, J.W. (1976) Experimental neonatal colibacillosis in cows: Immunoglobulin classes involved in protection. Infect. Immun. 13, 1: 100-107.



DETECTION OF ANTI-*E. COLI*, *ROTAVIRUS* AND- *CORONAVIRUS* ANTIBODIES IN SERA SAMPLES OF DIARRHEIC AND NORMAL CALVES UNDER 1 MONTH OF AGE

Rabbani, M.^{1*}, MoKhber-Dezfuli, M.R.², Zahraie-Salehi, T.¹, Yoosefi-Ramandi, A.³, Bahonar, A.R.⁴, Rezazadeh, F.²

¹Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran

²Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran

³Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran

⁴Department of Food Hygiene, the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran

(Received 15 February 2005 , Accepted 24 June 2006)

Abstract:

The aim of the present study was to evaluate the presence anti- *E. coli*, -*rotavirus* and -*coronavirus*, in calves' sera. A total of 184 calves under 1 month of age (84 diarrheic & 100 normal) was studied. Serological tests including: direct ELISA for detection of anti-K99 *E. coli*, -*rotavirus* and -*coronavirus* and tube agglutination test for detection anti-O157 *E. coli*, antibodies were used. Data were analyzed by chi-square, fisher test and t-student tests. Anit-K99 *E. coli* antibodies were detected in 56% and 66% of diarrheic and normal calves, respectively. Tube agglutination test showed the presence of anti-O157-*E. coli* antibodies in 82% and 69% of diarrheic and normal calves respectively. Anti-*rotavirus* antibodies were detected in 100% and 99% of diarrheic and normal calves, respectively. Anti-*coronavirus* antibodies were detected in 82% and 72% of diarrheic and normal calves respectively.

Conclusion: The results of the present study may indicate the high exposure of the examined dairy cattle population to *E. coli*, *rotavirus* and *coronavirus* and also the absence of correlation between such serological responses with the prevention of calves' diarrhea.

Key words: diarrhea, calf, *Escherichia coli*, *rotavirus*, *coronavirus*, ELISA, agglutination.

