



# شناسایی عوامل روتاویروس، کورناویروس، اشریشیا کلی (k99)، کریپتوسپوریدیوم و سالمونلا در سندرم اسهال گوساله‌های زیر ۱ ماه در گاوداری‌های استان تهران

فرهاد موسی خانی<sup>۱</sup>، آریا بدیعی<sup>۲</sup>، امیرهومان اسدی<sup>۳\*</sup>، حامد اسدی<sup>۴</sup>، علیرضا

شقایق<sup>۲</sup>، محسن ظفری<sup>۳</sup>

دوره سوم، شماره اول، بهار ۱۳۹۱  
صفحات ۱-۱۰

- ۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، کرج، ایران
  - ۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، کرج، ایران
  - ۳- دانش آموزانه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده دامپزشکی، کرج، ایران
  - ۴- دانشجوی دکتری تخصصی تغذیه دام، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
- \* نویسنده مسئول: amirhoomanasadi@yahoo.com

## چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی شیوع ۵ انتروپاتوژن مهم در گوساله‌های زیر ۱ ماه، در گاوداری‌های استان تهران می‌باشد. در این تحقیق، رابطه بین فصل با شیوع این عوامل و مقایسه نتایج با دیگر مناطق جغرافیایی مورد بررسی قرار گرفت. ۱۳۵ نمونه مدفوع از گوساله‌های زیر یک ماه مبتلا به اسهال از ۲۵ گاوداری در استان تهران، از فروردین ۱۳۸۹ تا تیر ۱۳۹۰ جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها از نظر آلودگی به ۵ انتروپاتوژن روتاویروس، کرناویروس، ای کلای (K99) و کریپتوسپوریدیوم با روش (Capture Elisa) و سالمونلا باروش کشت، مورد آزمایش قرار گرفتند. در مورد نمونه‌های آلوده به سالمونلا، سروتایپینگ با آنتی‌سرم‌های استاندارد انجام شد. از آزمون مربع کای برای تعیین رابطه بین فصل و شیوع هر یک از انتروپاتوژن‌ها استفاده گردید. در مجموع از ۱۳۵ نمونه مدفوع، کریپتوسپوریدیوم در ۵۳ نمونه (۳۹/۲٪)، روتاویروس در ۴۳ نمونه (۳۱/۸٪)، سالمونلا در ۱۳ نمونه (۹/۶٪)، کرناویروس در ۱۲ نمونه (۸/۸٪) و ای کلای (k99) در ۸ نمونه (۵/۹٪) تشخیص داده شد. از ۱۳ نمونه آلوده به سالمونلا، ۷ نمونه مربوط به سالمونلا گروه سرمی D (۵/۱۸٪) و ۶ نمونه، آلوده به سالمونلا گروه سرمی B (۴/۴٪) بودند. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که بیشترین شیوع مربوط به عوامل کریپتوسپوریدیوم و روتا ویروس می‌باشد. همچنین، رابطه معنی داری بین شیوع سالمونلا، روتاویروس و اشریشیا کلی (K99) با فصل، مشاهده گردید. ( $P \leq 0/05$ )

واژه‌های کلیدی: روتاویروس، کرناویروس، ای کلای (k99)، کریپتوسپوریدیوم، سالمونلا



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 3(1)1-10, 2012

## Detection of Rota virus, corona virus, E.coli (k99), cryptosporidium and salmonella in diarrheic calves (up to one month old) in Tehran province farms

Moosakhani, F. <sup>1</sup>, Badiçi, A. <sup>2</sup>, Asadi, A.H. <sup>\*3</sup>, Asadi, H. <sup>4</sup>, Shaghayegh, A. <sup>2</sup>, Mozaffari, M. <sup>3</sup>

*1. Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.*

*2- Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.*

*3- Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.*

*4- Animal nutrition Phd Student, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.*

*\* Corresponding author: amirhoomanasadi@yahoo.com*

### Abstract

The aim of the current study was to estimate the prevalence of five major enteropathogens in under 1 month old diarrheic calves in Tehran province. Also, the relationships between season with occurrence these Enteropathogens and comparison the results with other geographical regions were evaluated. 135 fecal samples from diarrheic calves (under 1 month old) collected from 25 farms in Tehran province between April 2010 to June 2011. Samples were examined for rotavirus, corona virus, E.coli (k99) and cryptosporidium by using Capture Elisa and culturing for salmonella spp. Salmonella infected samples were serotyped by standard antiserum. Chi-Square test was used to determine season association with five enteric pathogens prevalence. Totally infection rate from 135 fecal samples, Cryptosporidium in 53 samples (39/2%) ,Rota virus in 43 samples (31/8%), Salmonella spp in 13 samples (9/6%) ,Corona virus in 12 samples (8/8%) and E.coli (k99) in 8 samples (5/9%) were detected. From 13 salmonella isolated samples, seven of them (5/18%) were typed as Salmonella serogroup D and six of them (4/4%) were typed as Salmonella serogroup B.

The result of this study indicated that Cryptosporidium and Rotavirus were the most frequently identified pathogens in this study. Also season had significant association with salmonella, rota virus and E.coli (K99) prevalence. (P-value<0/05-confident interval (C.I)=95%).

**Key words:** Rota virus, Corona virus, E.coli (k99), Cryptosporidium, Salmonella spp.

مقدمه

اسهال در گوساله‌های زیر ۳۰ روز یکی از پیچیده‌ترین مشکلات بالینی همراه با ضرر اقتصادی فراوان در دام‌های بزرگ محسوب می‌شود. علت اسهال در گوساله‌ها، شامل مجموعه‌ای از عوامل باکتریایی، ویروسی، تک‌یاخته‌ای، نقص در ایمنی انتقال یافته از طریق آغوز و شرایط محیطی و تغذیه‌ای می‌باشد، به همین علت از این عارضه به عنوان یک سندرم پیچیده نام برده می‌شود (۲۶).

بیشترین درصد شیوع اسهال و مرگ و میر ناشی از آن، در گوساله‌های زیر یک ماه می‌باشد (۱۱ و ۱). مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای اسهال گوساله در بیشتر مطالعات، مربوط به ۵ عامل روتاویروس، کورناویروس، انترتوکسیژنیک‌ای کلای (ای کلای K99)، کریپتوسپوریدیوم و سالمونلا می‌باشد (۲۶). انترتوکسیژنیک‌ای کلای یکی از مهم‌ترین عوامل باکتریال اسهال گوساله‌می‌باشد. در برخی از کشورها سویه K99 انترتوکسیژنیک Ecoli ممکن است در ۳۰-۴۰ درصد از گوساله‌های اسهالی جدا شود در حالی که این رقم در برخی از کشورها به کمتر از ۳-۶ درصد می‌رسد (۲۶).

در بسیاری از تحقیقات، روتاویروس و کریپتوسپوریدیوم بیشترین عوامل شناخته شده در اسهال گوساله می‌باشند (۱۳ و ۲۸ و ۳۱ و ۳۳).

روتاویروس برای اولین بار در سال ۱۹۶۹ توسط Mebus و همکاران (۲۲) از مدفوع گوساله جدا و شناسایی شد. درصد روتاویروس در بسیاری از کشورها بالا گزارش شده است که علت آن را به طور کلی انتشار جهانی روتاویروس، وجود میزبان‌های متعدد برای ویروس و وجود چندین سروتایپ مختلف روتاویروس می‌دانند (۳).

کورناویروس برای اولین بار در ۱۹۷۲ توسط Stair و همکاران (۳۴) از اسهال گوساله جدا گردید. بعدها به وسیله سایر محققین، به عنوان دومین عامل رایج اسهال ویروسی گوساله بعد از روتاویروس شناخته شد (۲۶).

کریپتوسپوریدیوم در بسیاری از تحقیقات، پرشیوع‌ترین

عامل اسهال در گوساله‌ها شناخته شده است (۵ و ۲۴). در تحقیقاتی در ایالت پنجاب هند، که بر روی گوساله‌های زیر ۱ ماه مبتلا به اسهال انجام گرفت، ۸۶/۲٪ از نمونه‌ها (۱۹) نمونه مثبت از ۲۲ نمونه) آلوده به کریپتوسپوریدیوم بودند (۳۲).

سالمونلا دابلین و تیفی موریوم، متداول‌ترین سرو تایپ‌های سالمونلا در گاو می‌باشند. در انگلستان ۹۰٪ موارد آلودگی گاو به سالمونلا مربوط به سروتایپ‌های دابلین و تیفی موریوم گزارش شده است (۲۶).

در این پژوهش به بررسی فراوانی ۵ عامل روتاویروس، کرنا ویروس، ای کلای (K99)، کریپتوسپوریدیوم و سالمونلا در گوساله‌های زیر ۱ ماه در گاو داری‌های استان تهران پرداخته شد و با توجه به منطقه جغرافیایی و فصل، مقایسه فراوانی این عوامل در گاوداری‌های استان تهران با دیگر مناطق جغرافیایی صورت گرفت.

مواد و روش کار

در این تحقیق، تعداد ۱۳۵ نمونه مدفوع از ۲۵ گاوداری مختلف استان تهران از فروردین ۱۳۸۹ تا تیر ۱۳۹۰ جمع‌آوری گردید. تمامی این نمونه‌ها از گوساله‌های سن زیر ۳۰ روز با علائم بالینی اسهال و از ناحیه رکتوم گوساله گرفته شد و طبق شرایط استاندارد و در کنار یخ به آزمایشگاه ارسال گردید، سپس در حداقل زمان ممکن (۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از دریافت نمونه)، مراحل آزمایش روی نمونه‌ها صورت گرفت.

در این مطالعه برای شناسایی عوامل روتاویروس، کورناویروس، ای کلای (K99) و کریپتوسپوریدیوم پاروم در مدفوع، روش الیزای تسخیری (Capture Elisa) به کار برده شد که برای شناسایی روتاویروس، کورناویروس و ای کلای K99 از کیت الیزای (pourquier) فرانسه و برای شناسایی کریپتوسپوریدیوم از کیت الیزای (Bio-X) بلژیک استفاده گردید. تمام مراحل آزمایش طبق دستورالعمل موجود در کیت انجام شد و نتایج

آزمایش در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید.

برای بررسی سالمونلا در نمونه های مدفوع، از روش کشت استفاده شد. برای کشت، ابتدا از محیط سلنیت F به عنوان محیط غنی کننده استفاده گردید، سپس کشت در محیط انتخابی سالمونلا-شیگلا آگار انجام گرفت و از کلنی های مشکوک برای کشت در محیط های تفریقی سالمونلا استفاده گردید. در انتها در موارد مثبت بودن نمونه ها به سالمونلا، با آنتی سرم های استاندارد، سروتایپینگ صورت گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده ها: در این تحقیق فراوانی هر یک از عوامل روتا، کرنا، ای کلای (K99)، کریپتوسپوریدیوم و سالمونلا در نمونه های مورد مطالعه از گاوداری ها بررسی شدند، سپس نمونه های مورد بررسی با توجه به تاریخ نمونه برداری در ۴ فصل مختلف سال دسته بندی شده و فراوانی هر یک از عوامل در هر فصل محاسبه گردید. برای بررسی معنی دار بودن یا نبودن رابطه فصل با فراوانی هر یک از ۵ عامل

مورد مطالعه، از نرم افزار) SPSS (و آزمون مربع کای استفاده شد و سطح معنی داری بر اساس  $P \leq 0.05$  محاسبه شد.

#### نتایج

درصد شیوع هر یک از عوامل روتا ویروس، کرناویروس، ای کلای (K.99) سالمونلا و کریپتوسپوریدیوم در ۱۳۵ نمونه مدفوع گوساله های مبتلا به اسهال با سن زیر ۳۰ روز از ۲۵ گاوداری در استان تهران بررسی گردید (جدول ۱). بیشترین درصد شیوع مربوط به کریپتوسپوریدیوم پاروم (۳۹/۲۵٪) و کمترین درصد شیوع مربوط به ای کلای (k.99) (۵/۹۲٪) میباشد.

از مجموع ۱۳۵ نمونه، ۱۲۹ نمونه (۹۵/۵۲٪) آلوده به عوامل مورد بررسی روتاویروس، کرناویروس، ای کلای (k99) کریپتوسپوریدیوم و سالمونلا بودند و در ۶ نمونه دیگر (۴/۴۸٪)، این عوامل یافت نشدند.

جدول ۱- درصد شیوع و فراوانی هر یک از عوامل در مجموع ۱۳۵ نمونه مدفوع از ۲۵ گاوداری مورد مطالعه در استان تهران

عوامل بیماری زا	فراوانی	شیوع (%)
روتا ویروس	۴۳	۳۱.۸۵
کرنا ویروس	۱۲	۸.۸۸
ای کلای (K.99)	۸	۵.۹۲
کریپتوسپوریدیوم	۵۳	۳۹.۲۵
سالمونلا	۱۳	۹.۶۲
مجموع نمونه های آلوده	۱۲۹	۹۵.۵۲
مجموع کل نمونه ها	۱۳۵	۱۰۰

از مجموع ۱۳ نمونه آلوده به سالمونلا، ۶ نمونه (۴/۴٪) مربوط به سرو گروه B و ۷ نمونه (۵/۱۸٪) مربوط به سرو گروه D می باشد.

درصد شیوع هر یک از عوامل روتا، کرنا، ای کلای (K99)، کریپتوسپوریدیوم و سالمونلا در فصول مختلف سال و همچنین رابطه بین شیوع هر یک از این عوامل با فصول مختلف سال بررسی گردید (جدول ۲) بر این اساس:

بیشترین درصد شیوع ای کلای (K99) مربوط به فصل پاییز (۲۵٪) و کمترین شیوع مربوط به فصل تابستان (۱/۵٪) می باشد.

بیشترین درصد شیوع روتا ویروس مربوط به فصل تابستان (۳۸/۴٪) و کمترین شیوع مربوط به فصل بهار (۰٪) میباشد. بیشترین درصد شیوع کرنا ویروس مربوط به فصل تابستان (۱۲/۳٪) و کمترین شیوع مربوط به فصل بهار (۰٪) میباشد.

## شناسایی عوامل روتاویروس، کورناویروس، اشریشیا کلی (k99)، کریپتوسپوریدیوم و سالمونلا در سندرم ...

بیشترین درصد شیوع کریپتوسپوریدیوم مربوط به فصل بهار (۲۵٪) و کمترین شیوع مربوط به فصل زمستان (۲۸/۳٪) می باشد.  
بیشترین درصد شیوع سالمونلا مربوط به فصل پاییز (۲۵٪) و کمترین شیوع مربوط به فصل بهار (۰٪) میباشد (جدول ۲).

جدول ۲- درصد شیوع آلودگی نمونه ها به هر یک از عوامل در فصول مختلف سال

عوامل بیماری زا	بهار (%)	تابستان (%)	پاییز (%)	زمستان (%)
ای کلای (K99)	۹/۱	۱/۵	۲۵	۳/۸
روتا ویروس	۰	۳۸/۴۶	۱۲/۵	۳۰/۱
کرنا ویروس	۰	۱۲/۳	۶/۲۵	۵/۶
کریپتوسپوریدیوم	۵۴/۵	۴۹/۱	۳۱/۲۵	۲۸/۳
سالمونلا	۰	۱۲/۷۲	۲۵	۳/۷

بر اساس نتایج بدست آمده از آزمون مربع کای، اختلاف معنی داری بین شیوع روتاویروس، سالمونلا و ای کلای (K99) با فصل، مشاهده گردید ( $P \leq 0/05$ )، اما در مورد عوامل کرنا ویروس و کریپتوسپوریدیوم اختلاف معنی دار بین شیوع و فصل بدست نیامد (جدول ۳).

جدول ۳- نتایج حاصل از آزمون مربع کای با ضریب اطمینان ۹۵٪ در مورد رابطه شیوع هر یک از عوامل با فصول مختلف سال

عوامل بیماری زا	Chi-square	P_Value
ای کلای (K99)	۱۲/۷۴۵	۰/۰۰۵۲
روتا ویروس	۱۲/۶۵۸	۰/۰۰۵۴
کرنا ویروس	۴/۰۶۶	۰/۲۵۴۴
کریپتوسپوریدیوم	۶/۴۰۶	۰/۰۹۳۴
سالمونلا	۸/۲۱۱۱	۰/۰۴۱۹

کشور دانسته‌اند که با نتایج ما همخوانی دارد. Dela fuente و همکاران در طی ۲ تحقیق متوالی در قسمت مرکزی اسپانیا (سال ۱۹۹۸ و ۱۹۹۹) میزان شیوع پادگن (F5 یا K.99) را به ترتیب ۱۱/۹٪ و ۲۷/۸٪ گزارش نمود (۱۰ و ۹). با توجه به یکسان بودن منطقه جغرافیایی مورد مطالعه در ۲ سال متوالی، تفاوت در نتیجه این ۲ مطالعه، بیانگر این است که امکان تغییر در میزان شیوع عامل در مقاطع زمانی مختلف وجود دارد. در ۲ مطالعه مختلف در اتریش (۲۰۰۶ و ۲۰۰۹) در هیچ یک از نمونه های گوساله های اسهالی، ای کلای (F5) یافت نشد (۱۵ و ۱۴)، که نشان می دهد به طور کلی در آن منطقه، شیوع این عامل در گاوداری ها پایین می باشد. در بررسی که در ایران - استان اراک (۱۳۸۴) صورت گرفت،

بحث و نتیجه گیری  
بین ۷۵ تا ۹۰ درصد موارد اسهال گوساله، مربوط به عوامل روتاویروس، کورناویروس، انترتوکسیژنیک ای کلای (ای کلای k.99) و کریپتوسپوریدیوم می باشد. در بسیاری از مطالعات، سالمونلا نیز نقش بسیار مهمی در اسهال گوساله ها ایفا می کند (۹ و ۲۶).  
انترتوکسیژنیک ای کلای یا (K99): انترتوکسیژنیک ای کلای یکی از مهمترین اسهال های رایج هفته اول زندگی گوساله می باشد (۲۶). شیوع ای کلای (K99) در انگلستان بین ۳-۶ درصد گزارش گردید. sherwood و همکاران (۱۹۸۳) (۳۱)، علت پایین بودن شیوع k99 (را وضعیت جغرافیایی این کشور و گسترش کمتر این عامل از سایر نقاط به این

در فصل زمستان (۳۰/۱٪) بود که شیوع روتا ویروس و فصل در این مطالعه، معنی‌دار می‌باشد و علت آن را می‌توان دوره زایمان گاوان در فصل تابستان و استرس گرمایی در فصل تابستان دانست.

کرنوایروس: در مطالعه حاضر شیوع این پاتوژن ۸/۸ درصد برآورد گردید. فراوانی این عامل در مطالعاتی در کاستاریکا (۲۵)، اسپانیا (۹) و غرب سوئد (۳۶) به ترتیب ۷/۳٪، ۷/۸٪ و ۷/۸٪ گزارش گردید که با نتایج این پژوهش هم خوانی دارد. در تحقیق دیگر در استرالیا (۲۰۱۱) از ۵۹۷ نمونه مدفوع از ۸۴ گاوداری که با روش RT-PCR صورت گرفت، شیوع کرنوایروس ۲۱/۶٪ (۱۱۹ نمونه از ۵۹۷ نمونه) گزارش گردید (۱۷) که بیشتر از شیوع کرنا در این تحقیق می‌باشد که بخشی از این اختلاف شاید به خاطر تفاوت در تعداد نمونه و روش کار باشد.

در مطالعه‌ای در ایران-مشهد که با روش capture Elissa صورت گرفت، شیوع کرنا ویروس در گوساله‌های مبتلا به اسهال، ۳/۱۷٪ اعلام گردید (۲۱). با توجه به یکسان بودن روش آزمایش و نزدیک بودن تعداد نمونه‌های بررسی شده، شیوع کرنوایروس در گاوداری‌های استان تهران بالاتر می‌باشد.

کرنا ویروس بیشتر در فصل زمستان ایجاد بیماری می‌کند، چون بقای ویروس در آب و هوای سرد بیشتر است (۲۶). طبق نتایج بدست آمده در مطالع حاضر رابطه معنی‌داری بین شیوع کرنوایروس و فصل دیده نشد. کرنیتوسپوریدیوم: بیشترین درصد شیوع در بین عوامل مورد مطالعه در این پژوهش، مربوط به کرنیتوسپوریدیوم پاروم (۳۹/۲۵٪) می‌باشد.

در مطالعاتی در آمریکا (۲۰۰۴) (۲۹)، غرب سوئد (۲۰۰۸) (۳۶) و استرالیا (۲۰۱۱) (۱۷)، شیوع این تک‌یاخته به ترتیب ۵۰/۳٪ و ۵۵٪ و ۵۸/۵٪ گزارش شد. طبق نتایج چند مطالعه، دفع کرنیتوسپوریدیوم در گله‌های بزرگ و با تراکم بالا، به علت تماس زیاد گوساله‌ها با هم، بیشتر می‌باشد

شیوع (F5) ای‌کلای در گوساله‌های زیر ۱ ماه، با روش کشت، ۹٪ اعلام گردید (۱۲) که با نتایج این تحقیق (۵/۹٪) تفاوت اندکی دارد.

در تحقیق Younis و همکاران (۲۰۰۹) فصل آب و هوا تأثیر معنی‌داری در فراوانی ای‌کلای (k99) نداشتند (۳۷)، اما از طرف دیگر تحقیقات Bendali و همکاران (۱۹۹۹) نشان داد که شیوع ای‌کلای (k99) در پاییز بیشتر است و فصل و شیوع این پاتوژن، رابطه معنی‌داری دارند (۱) که با نتایج ما همخوانی دارد.

روتا ویروس: در مطالعه حاضر، شیوع روتا ۳۱/۸٪ برآورد گردید که بعد از کرنیتوسپوریدیوم دومین عامل از لحاظ فراوانی شناخته شد. در بسیاری از تحقیقات، روتاویروس بیشترین عامل شناخته شده در اسهال گوساله می‌باشد (۲) و ۲۸ و ۳۱ و ۳۳). در تحقیقاتی در هند (۳۰)، آمریکا (۱۶) و شیلی (۲۷)، شیوع روتاویروس به ترتیب ۲۸/۱۲٪، ۲۰٪ و ۲۲٪ گزارش گردید. در مطالعه Gulliksen و همکاران (۲۰۰۹) بر روی ۱۹۱ نمونه اسهال از ۱۳۵ گاوداری در نروژ، میزان شیوع روتاویروس با روش capture Elisa ۹/۹٪ برآورد گردید (۱۳)، که بسیار کمتر از مطالعه حاضر می‌باشد که علت آن را میتوان به خاطر منطقه جغرافیایی آن ناحیه دانست.

در مطالعات کارگر مؤخر و همکاران در سال ۱۹۸۱ (۱۸) و کیوانفر و همکاران در سال ۱۳۸۰ (۱۹) در استان تهران، شیوع روتاویروس به ترتیب ۳۱/۷۴ و ۲۸/۸ درصد گزارش گردید که با نتیجه بدست آمده در این مطالعه (۳۱/۸۵ درصد) که در منطقه جغرافیایی یکسان (استان تهران) صورت گرفته است، کاملاً همخوانی دارد. در اکثر کشورها، عفونت‌های روتاویروسی الگوی فصلی دارند و اوج عفونت در فصل سرد سال است. زیرا ثابت شده است پایین بودن دما و رطوبت نسبی، بقای روتاویروس‌ها را افزایش می‌دهد (۲۶و۶). طبق نتایج به دست آمده در این پژوهش، بیشترین شیوع روتاویروس ابتدا در فصل تابستان (۳۸،۴٪) و سپس

(۸ و ۳۵).

شیوع سالمونلا در فصل پاییز بیشتر گزارش گردید که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. در تحقیق حاضر، موارد مثبت نمونه به سرگروه B، نشان می‌دهد که در آن گاوداری‌ها عفونت‌هایی با منبع انسانی (نظیر آلودگی آب و غذا، بستر و به طور کلی محیط موجود در گاوداری به فاضلاب و کود انسانی) می‌تواند باعث آلودگی گوساله‌ها شده باشند. همچنین به نتایج سروتاپینگ در مورد نمونه های آلوده به سالمونلا و نیز نقش ناقلین (پرندگان، جوندگان وحشی...) در این موارد، باید دقت شود.

در مجموع با توجه به نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر به این نتیجه می‌رسیم که همانند بیشتر کشورهای دنیا ۵ عامل روتا، کرنا، ای کلای (k99)، کریپتوسپوریدیوم و سالمونلا، مهم‌ترین عوامل مسبب اسهال گوساله در گاوداری‌های استان تهران می‌باشند که با توجه به میزان فاکتورهای موثر در شیوع اسهال در هر منطقه جغرافیایی، فراوانی این عوامل می‌تواند متفاوت باشد. فصل، یکی از فاکتورهای مهم در شیوع اسهال گوساله می‌باشد که با توجه به تفاوت آب و هوایی در مناطق مختلف جغرافیایی، می‌تواند باعث تاثیر گذاری بر عوامل ایجاد کننده اسهال شود. در این تحقیق، رابطه معنی داری بین شیوع سالمونلا، روتاویروس و ای کلای (K99) در فصول مختلف سال، مشاهده گردید.

در مطالعه‌ای در گاوداری‌های اطراف تهران، شیوع این تک‌یاخته ۴۸/۷۸ درصد گزارش گردید (۲۳) که با نتیجه بدست آمده در این مطالعه (۳۹/۲۵%) که در منطقه جغرافیایی یکسان (استان تهران) صورت گرفت، کاملاً همخوانی دارد. در تحقیقات Trotz-Williams و همکاران (۲۰۰۷) در آمریکا شیوع تک‌یاخته در تابستان بیشتر گزارش شد که علت آن را فراهم شدن شرایط مساعدتر برای زنده ماندن اووسیت می‌دانند (۳۵)، اما در تحقیقات متعدد دیگر، شیوع در زمستان بیشتر گزارش شده است (۸). به نظر می‌رسد که شیوع کریپتوسپوریدیوم در مناطق مختلف می‌تواند در فصول مختلف متغیر باشد و در نتیجه طبق نتایج بدست آمده در این مطالعه، رابطه معنی داری بین شیوع کریپتوسپوریدیوم و فصول مختلف سال وجود ندارد.

سالمونلا: در تحقیق انجام گرفته با روش کشت شیوع سالمونلا ۹/۶۲ درصد می‌باشد که از ۱۳ نمونه آلوده به سالمونلا ۴/۴ درصد مربوط به گروه سرمی B و ۵/۱۸ درصد مربوط به گروه سرمی D بوده است.

در تحقیقاتی در برزیل (۲۰۰۴)، میزان سروار سالمونلا تیفی موریوم و دابلین به ترتیب ۶/۱% و ۵/۴% اعلام گردید (۲۰) که با نتایج مطالعه حاضر هم خوانی دارد. در تحقیقات Younis و همکاران (۲۰۰۹) که با روش کشت صورت گرفت، شیوع سالمونلا ۴/۹% (۶ نمونه مربوط به تیفی موریوم، ۲ نمونه مربوط به سروار انترتیدیس و ۱ نمونه ناشناخته) گزارش گردید (۳۷). در تحقیقاتی در نروژ و اتریش در هیچ یک از نمونه‌ها سالمونلا یافت نشد (۱۵ و ۱۴ و ۱۳) که بسیار پایین تر از نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. این اختلاف احتمالاً به علت منطقه خاص جغرافیایی و شاخص‌های بهداشتی بسیار خوب در آن کشورها می‌باشد. طبق تحقیقات Fossler (۲۰۰۵) (۷) شیوع سالمونلا در تابستان و آب و هوای گرم بیشتر است که با نتایج ما هم‌خوانی ندارد. اما در تحقیقات Davison (۲۰۰۶) (۴)

## References

- 1- Bendali, F., H. Bichet, F. Schelcher, and M. Sanaa. (1999) Pattern of diarrhoea in newborn beef calves in south-west France. *Vet. Res.*30:61–74.
- 2- Brenner, J., Elad, D., Markoics, A., Grinberg, A., Tranin, Z. (1993) Epidemiological study of neonatal calf diarrhoea in Israel, A. One year survey of faecal samples, Israel Journal of Veterinary Medicine, 48:113-116.
- 3- Castrucci, G., Frigeri, F.M., Ferrari, M., Cilli, V., Gualandi, G.L., Aldrovandi, V. (1988) Neonatal calf diarrhea induced by rotavirus, *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, 11:71-84.
- 4- Davison, H.C., Sayers, A.R., Smith, R.P., Pascoe, S.J., Davies, R.H., Weaver, J.P., Evans, S.J. (2006) Risk factors associated with the Salmonella status of dairy farms in England and Wales. *Veterinary Record* 159: 871–880.
- 5- Fagan, J.G., Dwyer, P.J., Quinlan, J.G. (1995) Factors that may affect the occurrence of enteropathogens in the faeces of diarrhoeic calves in Ireland. *Irish Vet. J.* 48: 17-21.
- 6- Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M., Chanock, R.M., Melnick, J.L., Monath, T.P., Roizman, B., Straus, S.E. (1995) *Fields Virology*, 3<sup>rd</sup> Edition, Lippincott, Raven, Philadelphia, pp:1625-1708.
- 7- Fossler, C.P., Wells, S.J., Kaneene, J.B., Ruegg, P.L., Warnick, L.D., Bender, J.B., Eberly, L.E., Godden, S.M., Halbert, L.W. (2005) Herd-level factors associated with isolation of Salmonella in a multi-state study of conventional and organic dairy farms II. Salmonella shedding in calves. *Preventive Veterinary Medicine* 70: 279-291.
- 8- Frank, N. A., Kaneene, J. B. (1993) Management risk factors associated with calf diarrhea in Michigan dairy herds, *J. Dairy Sci.* 76:1313–1323.
- 9- Fuente R, Garcia A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Luzon M, Cid D, Garcia S, Orden J, Gomez-Bautista M (1998) Proportional morbidity rates of enteropathogens among diarrheic dairy calves in Central Spain. *Prev Vet Med* 36:145–152
- 10- Fuente, R., Luzon, M., Ruiz Santa Quiteria, J.A., Garcia, A., Cid, D., Orden, J.A., Garcia, S., Sanz, R., Gomez Bautista, M. (1999) Cryptosporidium and concurrent infection with other major enteropathogens in 1 to 30 day old diarrheic dairy calves in Central Spain, *Vet. para.* 80:179-185.
- 11- García, A., Ruiz-Santa-Quiteria, J. A., Orden, J. A., Cid, D., Sanz, R., Gomez-Bautista, M., De la Fuente R. (2000). Rotavirus and concurrent infections with other enteropathogens in neonatal diarrheic dairy calves in Spain. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 23:175–183.
- 12- Ghaemmaghami, S.H., Pourbakhsh, S.A., Goodarzi, H., Ebrahimi, K. (2005) Survey of F5 fimbriae in Escherichia coli isolated from diarrheal calves in Arak city (Iran). *Pajouhesh and Sazandegi* 67:87-91 (text in persian).
- 13- Gulliksen, S. M., Jor, E., Lie, K. I., Hammes, I. S., Loken, T., Åkerstedt, J., Osteras, O. (2009): Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves, *J. Dairy Sci.* 92: 5057–5066.
- 14- Haschek, B., Klein, D., Benetka, V., Herrera, C., Sommerfeld-Stur, I., Vilcek, S., Moestl, K., Baumgartner, W. (2006) Detection of bovine Torovirus in neonatal calf diarrhoea in Lower Austria and Styria (Austria). *Journal of Veterinary Medicine Series B.*, 53: 160–165.
- 15- Herrera-Luna, C., Klein, D., Lapan, G., Revilla-Fernandez, S., Haschek, B., Sommerfeld-Stur, I., Moestl, K., Baumgartner, W. (2009) Characterization of virulence factors in Escherichia coli isolated from diarrheic and healthy calves in Austria shedding various enteropathogenic agents. *Veterinari*



- Medicina, 54 (1) 1-11.
- 16- ISHIZAKI, H. (1995) Persistence of a single electropherotype and serotype (G6P5) of bovine Rotavirus in calves on a closed dairy farm from 1990 to 1993. American Journal of Veterinary Research, 56: 1019-1024.
- 17- Izzo, M.M., Kirkland, P.D., Mohler, V.I., Perkins, N.R., Gunn, A.A., House, J.K. (2011) Prevalence of major enteric pathogens in Australia dairy calves with diarrhea, Aust. Vet. J., 89(5)167-173.
- 18- Kargar, R., vand Yoosefi, J., Shahrabadi, M.S., Khodashenas, M., Heidarzadeh, B. (1981) Diarrhea in calves: diagnosis and incidence around Tehran. Archives de L' Institute Razi, 32:91-99.
- 19- Keyvanfar, H., Ghorbanpour, M., Seifi Abad Shapouri, M. R. (2002) A survey on prevalence of rotaviral diarrhea in dairy calves in Tehran region and detection of serotypes, Faculty of Tehran Veterinary Medicine Journal, 56(3) 1-3(text in persian).
- 20- Langoni, H., Linhares, A.C., Avila, F.A., Da Silva, A.V., Elias, A.O. (2004) Contribution to the study of diarrhea etiology in neonate dairy calves in São Paulo state, Brazil, Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science (2004) 41:313-319.
- 21- Mayameei, A., Mohammadi, G.H., Yavari, S., Afshari, E., Omid, A. (2010) Evaluation of relationship between Rotavirus and Coronavirus infections with calf diarrhea by capture ELISA, Comp. Clin. Pathol. 19:553-557.
- 22- Mebus, C.A., Stair, E.L., Underdahl, N.R., Twiehaus, M.J. (1971) Pathology of neonatal calf diarrhea induced by Reo-like virus, Vet. Pathol., 8:490-505.
- 23- Mokhber dezfouli, M., Sadeghinasab, H., Akbarian, H., Tajik, P., Nadalian, M., Khajenasiri, Sh (2005) Cryptosporidia infection and associated bacterial enteropathogens in diarrheic calves and cows in dairy farms around Tehran, J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran, 60:131-135. (Text in persian).
- 24- Otto, V.P., Elschner, M., Gunther, H., Schulze, F. (1995) Vergleichende Untersuchungen zum nachweis von Rotaviren, Coronaviren, Kryptosporidien und enterotoxigenen E. coli im Kot durchfallkranker Kalber. Tierarztl Umschau 50: 80-86.
- 25- Perez, E., Kummeling, A., Janssen, M., Jimenez, C., Alvarado, R., Caballero, M., Donato, P., Dwiner, R. (1998) Infectious agents associated with diarrhea of calves in the canton of Tilaran, Costa Rica. Prev. Vet. Med. 33:195-205.
- 26- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., Constable, P.D. (2007) Veterinary Medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats, 10<sup>th</sup> ed., Saunders-Elsevier, USA, Vol. 1 & 2.
- 27- Reinhardt (1991) Aetiological diagnosis of neonatal diarrhoea in calves by means of ELISA. Archivos de Medicina Veterinaria, 23: 189-192.
- 28- Reynolds, D. J., Morgan, J. H., Chanter, N., Jones, P. W., Bridger, J. C., Debney, T. G., Bunch, K. J. (1986) Microbiology of calf diarrhoea in southern Britain, Vet. Rec. 119:34-39.
- 29- Santin, M., Trout, J.M., Xiao, L., Ling Zhou, L., Ellis Greiner, E., Fayer, R. (2004) Prevalence and age related variation of cryptosporidium species and genotypes in dairy calves, Vet. Para. 122(2)103-117.
- 30- Shahn, N. M., Jhala, V. M. (1992) Epizootiological investigations on Rotavirus infection in cases of neonatal calf diarrhoea. Indian Veterinary Journal, 69: 5-7.
- 31- Sherwood, D., Snodgrass, D.R., Lawson, G.H.K. (1983) Prevalence of enterotoxigenic Escherichia coli in calves in Scotland and northern England, Vet. Rec. 113: 208-212.

- 32- Singh B.B, Sharma, R., Kumar, H., Banga, H.S., Aulakh, R.S., Pal Singh Gill, J., Kamal Sharma, J. (2006) Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in Punjab (India) and its association with diarrhea in neonatal dairy calves, *Veterinary Parasitology* 140:162–165.
- 33- Snodgrass, D.R., Terzolo, H.R., Sherwood, D., Campbell, I., Menzies, J.D., Synge, B.A. (1986) Aetiology of diarrhoea in young calves, *Vet. Rec.* 119: 31-34.
- 34- Stair, S.L., Rhodes, M.B., White, R.G., Mebus, C.A. (1972) Neonatal calf diarrhea: purification and electron microscopy of coronavirus-like agent. *Am. J. Vet. Res.*, 33:1147-1156.
- 35- Trotz-Williams, L. A., Martin, K. E., Leslie, T., Duffield-Nydam, D.V., Peregrine, A. S. (2008b). Association between management practices and within-herd prevalence of *Cryptosporidium parvum* shedding on dairy farms in southern Ontario. *Prev. Vet. Med.* 83:11–23.
- 36- Uhde, F. L., Kaufmann, T., Sager, H., Albini, S., Zaroni, R., Schelling, E., Meylan, M. (2008). Prevalence of four enteropathogens in the faeces of young diarrhoeic dairy calves in Switzerland, *Vet. Rec.* 163:362–366.
- 37- Younis, E.E, Ahmed, A.M, El-Khodery, S.A, Osman, S.A., El-Naker, Y.F.I. (2009) Molecular screening and risk factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in diarrheic neonatal calves in Egypt, *Veterinary Science* 87: 373–379.