بررسی مقایسه‌ای تغییرات الکتروفورتیک پروتئین‌های سرم سگ‌های مبتلا به آنتریت پارووویروسی و کروناویروسی

رضا آویزه[۱]، غلامحسین خواجه[۲]، بهمن مصلی‌نژاد[۱]، مهدی پورمهدی‌بروجنی[۳] و نسرین واشقانی‌فراهانی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۱ تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۲۲

خلاصه

پارووویروس و کروناویروس به عنوان معمول‌ترین عامل اسهال عفونی در سگ‌های جوان‌تر از شش ماه شناخته شده‌اند. در این مطالعه الگوی الکتروفورتیک پروتئین‌های سرم ۱۰ قلاده از هر یک از سگ‌های مبتلا به اسهال پارووویروسی و کروناویروسی با ۲۰ قلاده سگ سالم با استفاده از روش الکتروفورز ژل استات سلولز مورد مقایسه قرار گرفت. تشخیص قطعی عفونت‌های پارووویروسی و کروناویروسی به کمک کیت‌های ایمونوکروماتوگرافی سریع صورت گرفت. کاهش معنی‌داری در غلظت سرمی پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین تام، آلفا ۱ گلوبولین، بتا ۱ گلوبولین، بتا ۲ گلوبولین و گاماگلوبولین به علاوه افزایش معنی‌داری در غلظت آلفا ۲ گلوبولین سگ‌های مبتلا به آنتریت پارووویروسی نسبت به سگ‌های سالم مشخص گردید ($P<0/001$). در حالی که در سگ‌های واجد اسهال کروناویروسی غلظت گلوبولین تام، بتا ۲ گلوبولین و گاماگلوبولین به شکل معنی‌داری پایین‌تر و غلظت بتا ۱ گلوبولین به صورت معنی‌داری بالاتر از محدوده طبیعی بود ($P<0/001$). این نتایج ممکن است به بیماری‌زایی متفاوت پارووویروس و کروناویروس سگ‌ها مربوط باشد. بر خلاف عفونت پارووویروسی، نکروز ویلی‌ها و خونریزی در آنتریت کروناویروسی نادر است. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تفکیک و شناسایی اجزاء مختلف پروتئین سرم سگ‌ها می‌تواند درک تغییرات پاتولوژیک در شرایط متفاوت از جمله عفونت‌های پارووویروسی و کروناویروسی را آسان سازد.

کلمات کلیدی: کروناویروس سگ‌ها، پارووویروس سگ‌ها، اسهال، الکتروفورز پروتئین‌های سرم

مقدمه

موارد اسهال در سگ‌های ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز رقم نسبتاً قابل توجهی است که درصد بالایی از این موارد به بیماری‌های ویروسی از جمله عفونت پارووویروس و کروناویروس سگ‌ها اختصاص یافته است. در دهه اخیر استفاده از روش سریع و ارزان ایمونوکروماتوگرافی در تشخیص موارد بی‌شماری از جمله بیماری‌های انسان و حیوانات مختلف معمول گردیده است. به عنوان مثال Kim و همکاران (۲۰۱۰)، Oh و همکاران (۲۰۰۶) و An و همکاران (۲۰۰۸) از این روش به ترتیب جهت تعیین آلودگی سگ‌های کشور کره جنوبی به *بروسلا کنیس*، پارووویروس سگ‌ها و دیستمپر استفاده نموده‌اند (۳، ۱۲ و ۱۷). Otranto و همکاران (۲۰۰۴) و De Lima و همکاران (۲۰۱۰) این روش را به ترتیب با آزمایشات آنتی‌بادی فلورسانت و الیزا در تشخیص لیشمانیوز سگ‌ها مقایسه نموده و حساسیت و ویژگی دو روش را تقریباً برابر دانسته‌اند (۹ و ۱۸). در ایران مصلی‌نژاد و همکاران در دو مطالعه در سال ۲۰۰۸ با استفاده از کیت‌های ایمونوکروماتوگرافی میزان شیوع آلودگی سگ‌های شهر اهواز به عفونت‌های پارووویروسی و کروناویروسی را به

[۱] دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
[۲] استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
[۳] استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
[۴] دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
E-mail: Avizeh@scu.ac.ir (نویسنده مسئول)

Archive of SID
www.SID.ir

ترتیب ۱۶/۷ و ۵/۱۳ درصد گزارش نموده‌اند (۱۴ و ۱۵). همت‌زاده و جمشیدی (۱۳۸۱) نیز پس از تأیید تشخیص آلودگی یک قلاده سگ ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی دانشگاه تهران به پاروویروس به کمک کیت‌های ایمونوکروماتوگرافی و کشت در محیط کشت سلولی کلیه سگ (MDCK) و در نهایت مشاهده اجرام آن با میکروسکوپ الکترونی، جداسازی پاروویروس از یک قلاده سگ را برای اولین بار گزارش نموده‌اند (۲). نظیفی و همکاران (۱۳۸۹) با استفاده از همین کیت‌های تشخیصی ۶۶ درصد از سگ‌های مبتلا به اسهال ارجاعی به کلینیک دامپزشکی دانشگاه شیراز را آلوده به پاروویروس گزارش کرده‌اند (۱). عسکری فیروزجاهی و همکاران (۲۰۱۱) در شیراز نیز برای اولین بار به تشخیص مولکولی ویروس‌های جدا شده از مدفوع سگ‌های با علائم مشکوک به پاروویروس اقدام نموده‌اند (۴). در خصوص کروناویروس سگ‌ها، تنها مصلی‌نژاد و همکاران (۲۰۰۸) گزارشی از آلودگی همزمان یک قلاده سگ به پاروویروس و کروناویروس را ارائه کرده‌اند (۱۳). از نقطه نظر الکتروفورز، تنها Van Den Broek در سال ۱۹۹۰ الکتروفورز پروتئین‌های سرم سگ‌های مبتلا به اسهال پاروویروسی را مطالعه نموده است (۲۲). ولی تا کنون چنین تحقیقی در سگ‌های آلوده به کروناویروس صورت نپذیرفته است. از طرفی به نظر نمی‌رسد در ایران گزارشی از تغییرات الکتروفورز پروتئین سگ در شرایط مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک موجود باشد. هدف از انجام این مطالعه مقایسه تغییرات پروتئین‌های سرم سگ‌های دارای اسهال‌های پاروویروسی و کروناویروسی با سگ‌های سالم با استفاده از روش الکتروفورز استات سلولز می‌باشد.

مواد و روش کار

جمعیت مورد مطالعه

در این مطالعه از تعداد ۴۰ قلاده سگ از بین تعداد زیادی از سگ‌هایی که به دلایل مختلف به بیمارستان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز ارجاع داده شده بودند، خون‌گیری شد. ۱۰ قلاده از این سگ‌ها به آنتریت پاروویروسی و ۱۰ قلاده به آنتریت کروناویروسی مبتلا بودند که تشخیص آنها توسط کیت‌های ایمونوکروماتوگرافی ساخت شرکت آنیژن (Anigen) کشور کره جنوبی مورد تأیید قرار گرفته بود. کیت‌های مربوط به پاروویروس دارای ویژگی ۹۸/۸ درصد و حساسیت ۱۰۰ درصد بوده در صورتی که کیت‌های مربوط به کروناویروس سگ‌ها دارای ویژگی ۹۳/۱ درصد و حساسیت ۱۰۰ درصد هستند و واکسیناسیون روی نتیجه آنها بی‌تأثیر است (۹ و ۱۸). همچنین تعداد ۲۰ قلاده سگ سالم با شرایط سنی، جنسی و نژادی تقریباً مشابه سگ‌های مبتلا به بیماری‌های فوق به عنوان شاهد سگ‌های بیمار در نظر گرفته شدند. لازم به ذکر است که آزمایش ایمونوکروماتوگرافی با استفاده از همان کیت‌های سریع در مورد این گروه از سگ‌ها نیز انجام شد تا منفی بودن آنها از نظر عفونت‌های پاروویروسی و کروناویروسی محرز می‌شد.

اندازه‌گیری پروتئین تام

برای اندازه‌گیری پروتئین تام از کیت پروتئین تام شرکت زیست شیمی ساخت ایران و روش بیوره (Biuret method) استفاده گردید که روش معمول سنجش پروتئین تام سرم خون در اغلب آزمایشگاه‌های تشخیص طبی می‌باشد (۵).

روش الکتروفورز استات سلولز

برای این منظور از کیت الکتروفورز پروتئین سرم سلوژل (Cellogel, Malta Chemetron) ساخت کشور ایتالیا و دستگاه الکتروفورز Sebia مدل K20 ساخت کشور فرانسه استفاده شد. pH بافر باربیتال مصرفی در این آزمایش برابر با ۸/۶ بود. نمونه‌های سرم مورد آزمایش پس از انتقال به تانک الکتروفورز تحت جریان با ولتاژ ۱۲۰ ولت و به مدت ۳۰ دقیقه قرار می‌گرفتند. ژل‌های

Archive of SID

www.SID.ir

استات سلولز مورد استفاده جهت رنگ‌آمیزی به مدت ۷ دقیقه در ظرف حاوی آمیدوبلاک قرار می‌گرفت. ژل خشک شده با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری Photo-ep ساخت شرکت هوشمند فن‌آور کشور ایران مورد دانسیتومتری قرار گرفت. پس از رسم منحنی الکتروفورتوگرام و تعیین درصد هر یک از بخش‌های پروتئین‌های سرم خون، با درج میزان پروتئین تام هر نمونه، غلظت فراکسیون‌های مختلف پروتئین‌های سرم بر حسب گرم در دسی‌لیتر تعیین و ثبت گردید.

بررسی آماری

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS به طور توصیفی و تحلیلی بررسی شدند. تحلیل داده‌ها به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way analysis of variance) و آزمون تکمیلی توکی (Tukey test) انجام گرفت و مقادیر کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

بر طبق روند انجام این تحقیق ابتدا مقدار پروتئین تام سرم سگ‌ها تعیین گردید. سپس با انجام دانسیتومتری تعداد ۶ بخش پروتئینی شامل آلبومین، آلفا ۱، آلفا ۲، بتا ۱، بتا ۲ و گاما گلوبولین تفکیک گردید. با تعیین مقدار آلبومین و کسر کردن آن از پروتئین تام، غلظت گلوبولین تام نیز تعیین گردید. در آخر با تقسیم کردن مقادیر آلبومین بر گلبولین نسبت آلبومین به گلوبولین مشخص شد که نتایج آن در جدول ۱ ارائه گردید.

جدول ۱: مقایسه غلظت بخش‌های مختلف پروتئین سرم سگ‌های مبتلا به اسهال پارووویروسی و کروناویروسی با سگ‌های سالم بر حسب گرم در دسی‌لیتر

گروه	پروتئین تام	آلبومین	گلوبولین	A/G	α_1 گلوبولین	α_2 گلوبولین	β_1 گلوبولین	β_2 گلوبولین	γ گلوبولین
سگ‌های مبتلا به پارووویروس	۴/۲۹±۰/۲۹ a	۱/۷۷±۰/۱۵ a	۲/۴۲±۰/۱۳ a	۰/۷۲±۰/۰۵ a	۰/۲۴±۰/۰۳ a	۱/۰۱±۰/۰۷ a	۰/۵۱±۰/۰۵ a	۰/۴±۰/۰۴ a	۰/۲۵±۰/۰۳ a
سگ‌های مبتلا به کروناویروس	۵/۹۷±۰/۱ b	۲/۶۹±۰/۱ b	۳/۲۸±۰/۰۵ a	۰/۸۲±۰/۰۴ a	۰/۳۶±۰/۰۳ ab	۰/۸۵±۰/۰۳ ab	۰/۸۶±۰/۰۲ b	۰/۶۱±۰/۰۲ b	۰/۵۷±۰/۰۳ b
سگ‌های سالم	۶/۵۷±۰/۱۴ b	۲/۷۵±۰/۰۹ b	۳/۸۲±۰/۱ b	۰/۷۳±۰/۰۳ a	۰/۴۸±۰/۰۳ b	۰/۷۵±۰/۰۴ b	۰/۷۲±۰/۰۳ c	۰/۸۵±۰/۰۴ c	۱/۰۵±۰/۰۴ c

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۰۱).

آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که میزان پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین، α_1 گلوبولین، β_1 گلوبولین، β_2 گلوبولین، گاماگلوبولین سگ‌های مبتلا به اسهال پارووویروسی نسبت به سگ‌های سالم، کاهش معنی‌دار و غلظت α_2 گلوبولین آنها افزایش معنی‌داری پیدا کرده بود (P<۰/۰۰۱). همچنین آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که میزان گلوبولین، β_2 گلوبولین و گاماگلوبولین سرم سگ‌های مبتلا به اسهال کروناویروسی در مقایسه با سگ‌های سالم کاهش معنی‌دار و غلظت β_1 گلوبولین افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۰۱). در حالی که موارد اختلافی که در بین دو گروه سگ بیمار این مطالعه مشاهده شد، پایین‌تر بودن معنی‌دار غلظت پروتئین تام، آلبومین، β_1 گلوبولین و گاماگلوبولین و بالاتر بودن معنی‌دار غلظت β_2 گلوبولین سگ‌های مبتلا به اسهال پارووویروسی نسبت به سگ‌های واجد اسهال کروناویروسی بود (P<۰/۰۰۱).

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

الکتروفورز پروتئین‌های سرم انسان و حیوانات یکی از روش‌های تشخیص بیماری‌ها است که گاهی به تشخیص قطعی آنها منجر شده ولی در بسیاری از مواقع جهت ارزیابی پاسخ بیمار به درمان انجام می‌شود. نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از کاهش معنی‌دار آلبومین و گلوبولین در سگ‌های مبتلا به پارووویروسی بود. به عبارت دیگر این سگ‌ها دستخوش پان‌هیپوپروتئینمی شدید شده‌اند ولی عفونت روده‌ای ناشی از کرونا‌ویروس هیپوپروتئینمی خفیفی را ایجاد نموده است. علت این امر را می‌توان به بیماری‌زایی ویروس‌های مزبور نسبت داد. اصولاً پارووویروس‌ها سلول‌های کریپت‌های روده را آلوده نموده در صورتی که کرونا‌ویروس‌ها سلول‌های رأس ویلی‌های روده را درگیر می‌نمایند. هر دو عامل فوق باعث کوتاه شدن و گاهی چسبیدن ویلی‌های کنار هم می‌شوند به طوری که سطح جاذب روده را کاهش می‌دهند و در نتیجه موجب تجمع مایعات و ایجاد اسهال می‌شوند. در عفونت‌های کرونا‌ویروسی با گسترش عفونت، سلول‌های جاذب به وسیله سلول‌های پوششی مکعبی شکل نابالغ جایگزین شده که نسبت به عفونت ویروسی نسبتاً مقاوم بوده و اغلب باعث خود محدود شدن بیماری خواهد شد. بر عکس در آنتریت پارووویروسی با آسیب رساندن به کریپت‌های روده بهبودی به آهستگی صورت گرفته و همچنین با افزایش نفوذپذیری مخاط و تخریب آن موجب دفع خون و در نتیجه دفع پروتئین از راه روده می‌شود (۶، ۸ و ۱۱).

Nelson و همکاران (۱۹۷۹) و Pollock و Carmichael (۱۹۸۳) تغییر در غلظت پروتئین تام سرم سگ‌های مبتلا به پارووویروس را به دلیل تخریب سلول‌های اپیتلیوم روده، از دست رفتن پروتئین از راه روده و نکروز لنفوسیت‌ها گزارش کردند (۱۶ و ۱۹). از دیگر عواملی که باعث کاهش آلبومین و سایر بخش‌های پروتئینی سرم می‌شوند، کاهش تولید آنها ناشی از نارسایی کبدی، سوء تغذیه، سوء جذب و سوء هضم می‌باشد (۷، ۱۰ و ۲۰). لذا با توجه به آسیب وارده به کبد و بی‌اشتهایی و سوء تغذیه شدید سگ‌های مبتلا به پارووویروس در مقایسه با کاهش اشتهای جزئی در مبتلایان به کروناویروس، تغییرات در اجزای پروتئین‌های سرم این حیوانات قابل پیش‌بینی می‌باشد (۸ و ۲۱). کاهش معنی‌دار آلبومین در سگ‌های مبتلا به پارووویروس این مطالعه در کنار عدم اختلاف معنی‌دار نسبت آلبومین به گلوبولین نشان‌دهنده کاهش همزمان و با نسبت مشابه در غلظت گلوبولین نیز می‌باشد. بر همین اساس در سگ‌های واجد اسهال ناشی از کرونا‌ویروس نیز کاهش کم آلبومین و گلوبولین به همراه طبیعی بودن نسبت آلبومین به گلوبولین می‌تواند به علت عدم دفع خون در اسهال و در نتیجه دفع مقادیر بالنسبه کم پروتئین باشد (۱۶ و ۱۹).

افزایش غلظت آلفا گلوبولین‌ها در حیوانات به صورت ثانویه در اثر آسیب بافتی یا التهاب به عنوان قسمتی از پاسخ فاز حاد رخ می‌دهد. طی یک واکنش التهابی سایتوکاین‌هایی نظیر اینترلوکین ۱، اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروز تومور آزاد شده و باعث آزادسازی طیفی از پروتئین‌ها شده که تحت عنوان پروتئین‌های فاز حاد مثبت نامیده شده و به طور اولیه در کبد ساخته می‌شوند (۱۰ و ۲۰). در سگ‌ها، بالا رفتن آلفا گلوبولین در ارتباط با یک مجموعه بیماری‌های التهابی از جمله درماتیت مزمن، پیودرم، آتوپی یا بیماری‌های با واسطه ایمنی، آنتریت پارووویروسی و برخی نئوپلاسم‌ها مشاهده می‌گردد (۱۰ و ۲۰). لذا شاید علت بالا رفتن مقدار α_2 گلوبولین سگ‌های مبتلا به پارووویروس این مطالعه و تحقیق Van Den Broek (۱۹۹۰) را بتوان به بروز التهاب در روده و واکنش فاز حاد مرتبط دانست (۲۲). بر همین اساس، عفونت کروناویروس سگ‌ها که از حدت و شدت بسیار کمتری نسبت به عفونت پارووویروسی برخوردار است، باعث تغییرات هم سو ولی غیر معنی‌دار شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

افزایش بتا گلوبولین‌ها نیز همراه با افزایش آلفا گلوبولین‌ها به عنوان قسمتی از پاسخ فاز حاد و یا همراه با افزایش گاماگلوبولین‌ها در پاسخ به التهاب یا عفونت مزمن رخ می‌دهد (۷ و ۲۰). به طور کلی چنین به نظر می‌رسد که علت کاهش معنی‌دار بتا گلوبولین‌ها در سگ-های مبتلا به پارووویروس در این مطالعه ماحصل هیپوپروتئینمی و هیپوگلوبولینمی باشد که در اثر دفع خون و پروتئین از روده صورت می‌گیرد. تنها تفاوت موجود در این بررسی بین دو گروه سگ‌های بیمار، افزایش غلظت بتا ۱ گلوبولین در سگ‌های با اسهال کروناویروسی در مقابل کاهش آن در سگ‌های پارووویروسی است که شاید بتوان آن را به عدم دفع خون از روده، دفع مقادیر کم پروتئین، عدم حضور هیپوپروتئینمی و هیپوگلوبولینمی و عدم وجود لکوپنی نسبت داد، اگر چه نقش واکنش‌های التهابی را نیز باید مد نظر قرار داد. کاهش غلظت ایمونوگلوبولین‌ها به همراه کاهش آلبومین در نتیجه از دست دادن خون یا پلاسما در انتروپاتی‌های دفع کننده پروتئین یا در توله سگ‌های با آنتریت پارووویروسی رخ می‌دهد (۷، ۱۰ و ۲۰). Tilley و Smith (۲۰۰۰) کاهش گاماگلوبولین در بیماران مبتلا به عفونت پارووویروسی را به کاهش لنفوسیت‌ها، تخلیه مغز استخوان، تخریب تیموس، آسیب رسیدن به پلاک‌های پایر روده و سیستم لنفاوی روده منسوب نموده‌اند (۲۱). کاهش معنی‌دار غلظت ایمونوگلوبولین‌ها توسط Van Den Broek (۲۲) در سگ‌های مبتلا به اسهال پارووویروسی و در موارد دفع پروتئین از راه روده (۶ و ۱۱) به اثبات رسیده است. بر همین اساس، کاهش گاماگلوبولین‌ها در سگ‌های مبتلا به پارووویروس مطالعه حاضر به شکل شدید و معنی‌دارتری نسبت به سگ‌های مبتلا به کروناویروس رخ داده است.

در کل با توجه به امکان شناسایی قطعی بیماری‌های فوق به کمک تغییرات الکتروفورتیک پروتئین‌های سرم میسر نمی‌باشد، می‌توان در مواقعی که به درمان سگ‌های بیمار اقدام شده باشد، با انجام دوباره آزمایش از موفقیت در درمان آنها اطمینان حاصل نمود و بر آن اساس به پیش اگهی بیماری کمک نمود.

منابع

۱- نظیفی سعید، سرچاهی علی‌اصغر و ملکی‌پور بهارک (۱۳۸۹). بررسی میزان شیوع گاستروانتریت پارووویروسی در سگ‌های مبتلا به اسهال ارجاعی به درمانگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز. مجله دامپزشکی ایران، دوره ششم، شماره ۲، صفحات ۸۱-۷۷.

۲- همت‌زاده فرهید و جمشیدی شهرام (۱۳۸۱). اولین گزارش جداسازی پارووویروس سگ در ایران. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۷، شماره ۲، صفحات ۳۵-۳۳.

3- An D.J., Kim T.Y., Song D.S., Kang B.K. and Park B.K. (2008). An immunochromatography assay for rapid antemortem diagnosis of dogs suspected to have canine distemper. Journal of Virological Methods, 147(2): 244–249.

4- Askari Firoozjahi H., Jafari Shoorijeh S., Mohammadi A. and Tamadon A. (2011). Characterization of Iranian isolates of canine parvovirus infected samples using polymerase chain reaction assay. Iranian Journal of Biotechnology, 9(1): 63-68.

5- Burtis C.A. and Ashwood E.R. (2000). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Second ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, pp: 745-888.

6- Barton C.L., Smith C., Troy G., Hightower D. and Hood D. (1978). The diagnosis and clinicopathological features of canine protein-losing enteropathy. Journal of the American Animal Hospital Association, 14: 85-91.

7- Ceron J.J., Caldin M. and Martinez-Subiela S. (2000). Electrophoresis and Acute Phase Protein Measurement. In: Weiss, D.J. and Wardrop, K.J. (Eds). Schalm's Veterinary Hematology, Sixth Edition, Wiley-Blackwell Publication, pp: 1157-1161.

8- Crawford P.C. and Sellon R.K. (2010). Canine Viral Diseases. In: Ettinger, S.J. and Feldman, E.C. (Eds). Textbook of Veterinary Internal Medicine, Diseases of the Dog and Cat. Vol. 1, 7th ed., Saunders Elsevier. Canada, pp: 958-971.

Archive of SID

www.SID.ir

9- De Lima V.M.F., Fattori K.R., Michelin Ade F., da Silveira Neto L. and Vasconcelos Rde O. (2010). Comparison between ELISA using total antigen and immunochromatography with antigen rK39 in the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. Veterinary Parasitology, 173(3-4): 330-333.

10- Eckersall P.D. (1980). Proteins, Proteomics, and the dysproteinemias. In: Kaneko, J.J.; Harvey, J.W. and Bruss, M.L. (Eds). Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4th ed., San Diego, California, Academic Press Inc., pp: 97-118.

11- Finco D.R., Duncan J.R., Schall W.D., Hooper B.E., Chandler F.W. and Keating K.A. (1973). Chronic enteric disease and hypoproteinemia in 9 dogs. Journal of the American Veterinary Medical Association, 163(3): 262-271.

12- Kim J.W., Lee Y.J., Han M.Y., Bae D.H., Jung S.C., Oh J.S., et al. (2007). Evaluation of immunochromatographic assay for serodiagnosis of *Brucella canis*. Journal of Veterinary Medical Science, 69(11): 1103-07.

13- Mosallanejad B., Ghorbanpoor Najafabadi M. and Avizeh R. (2008). The first report of concurrent detection of canine parvovirus and coronavirus in diarrheic dogs of Iran. Iranian Journal of Veterinary Research, 9(3): 284-286.

14- Mosallanejad B., Ghorbanpoor Najafabadi M., Avizeh R. and Nikoosiar Jahromi M. (2008). Antigenic detection of canine coronavirus in diarrheic dogs in Ahvaz. International Journal of Veterinary Research, 2(1): 81-85.

15- Mosallanejad B., Ghorbanpoor Najafabadi M., Avizeh R. and Ronagh A. (2008). Prevalence of canine parvovirus (CPV) in diarrheic dogs referred to veterinary hospital of Ahvaz. Archives of Razi Institute, 63(2): 41-46.

16- Nelson D.T., Eustis S.L., McAdaragh J.P. and Stotz I. (1979). Lesions of spontaneous canine viral enteritis. Veterinary Pathology, 16(6): 680-686.

17- Oh J.S., Ha G.W., Cho Y.S., Kim M.J., An D.J., Hwang K.K., et al. (2006). One-step immunochromatography assay kit for detecting antibodies to canine parvovirus. Clinical Vaccine and Immunology, 13(4): 520-524.

18- Otranto D., Paradies P., Sasanelli M., Spinelli R. and Brandonisio O. (2004). Rapid immunochromatographic test for serodiagnosis of canine leishmaniasis. Journal of Clinical Microbiology, 42(6): 2769-70.

19- Pollock R.V.H. and Carmichael L.E. (1983). Canine viral enteritis. Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice, 13(3): 551-566.

20- Thomas J.S. (2000). Protein Electrophoresis. In: Feldman, B.F.; Zinkl, J.G. and Jain, N.C. (Eds). Schalm's Veterinary Hematology, Fifth ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, pp: 899-903.

21- Tilley L.P. and Smith F.W.K., Jr. (2007). Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Canine and Feline, 4th ed. London. Blackwell Publishing, pp: 200-201.

22- Van den Broek A.H.M. (1990). Serum protein electrophoresis in canine parvovirus enteritis. The British Veterinary Journal, 146(3): 255-259.

Archive of SID

www.SID.ir