التَّحَرّي عن الإشريكية القولونية K99 والفيروسات العَجَلِيَّة المُسبِّبَة للإسْهَال عند العجول الرضيعة في منطقة شمال غرب سوريا

ط ب .حازم الطويل، د .فؤاد الداود

كلية الطب البيطري، جامعة إدلب

الملخص

يُعَدّ الإسهال من الأعراض الشائعة واسعة الانتشار متعددة الأسباب لدى العجول خصوصاً في الأعمار المبكرة مما يؤثر على الإنتاجية الاقتصادية، إضافةً إلى التكاليف الباهظة للعلاج نتيجة تعدد المسببات واختلاطها على الطبيب المعالج، ونظراً لعدم وجود دراسة سابقة في المنطقة لتحديد مسببات الإسهال عند العجول فقد أجري هذا البحث بهدف تحديد نسبة انتشار أكثر مسببات الإسهال شيوعًا وهي الإشريكية القولونية K99 والفيروسات العجلية، وذلك باستعمال اختبار الإليزا متعدد الفحوصات (Multiscreen ELISA)، ودراسة عوامل الخطورة التي قد تؤثر على نسبة الإصابة كالبيئة الصحية للمزرعة وعمر العجول وجنسها المصابة والولادة العسرة للعجل وتناوله للبأ. حيثُ جُمعَت 96 عينة براز من عجول مصابة بالإسهال في مناطق الدراسة. أظهرت النتائج أنَّ نسبة الإصابة بالإشريكية القولونية k99 والفيروسات العجلية كانت 1.04% (1/96) لكل مُسبِّب. إحصائيًّا لم يكن هناك ارتباط معنوي (P>0.05) بين الإصابة والعوامل المفترضة الممهدة للإصابة باستثناء علاقة نظام التربية المكثف بارتباط ضعيف(P=0.05) مع الإصابة بالإشريكية إضافة إلى عدم تناول اللبأ كعامل خطورة بارتباطه مع الإصابة بالفيروسات العجلية(P<0.05).

الكلمات المفتاحية: عجول رضيعة– إسهال – إليزا متعددة – إشريكية قولونية– فيروسات عجلية.

Investigation of *E. Coli* K99 and Rotaviruses Causing Diarrhea in Newborn Calves in The Northwest of Syria

Vet. Hazem Altaweel, Ass. Prof. Dr. Fouad Aldaoud

Abstract

Diarrhea is a common and widespread symptom with multiple causes in calves, especially early ages, which results in affects economic loss and reduced productivity, In addition to the high costs of treatment as a result of the multiplicity and mixing of causes to the veterinarian, and since there was no previous study in the region to identify causes of diarrhea in calves, the Main objective of research is study the prevalence of the most common causes of diarrhea, Escherichia coli K99 and rotaviruses, by using a multiscreen ELISA test, and studying the supposed risk factors that could be related or affect the rate of infection, such as the hygiene of the farm, age category, gender, dystocia and intake of colostrum. Ninety-six fecal samples were collected from calves suffering of diarrhea in study areas. The results showed that the infection rate with E. coli k99 and rotavirus were 1.04% (96/1) for both. Statistically, there was no significant correlation ($P>0.05$) between infection and risk factors, except the intensive breeding system which has a weak correlation ($P = 0.05$) with *E.coli k99* infection and inadequate colostrum intake as a risk factor for Rotavirus infection ($P < 0.05$).

Key Words: Newborn calves, Diarrhea, Multiscreen ELISA, *E.coli* K99, BRoV

المقدمة Introduction:

يُعَدّ الشهر الأول من عمر العجل الفترة الأكثر أهمية عند تربية العجول، بسبب ارتفاع مخاطر الإصابة بالأمراض والنفوق (Svensson, *et al.*, 2006a, p.162, 2006b, p.4769). إذْ إنَّ الاضطرابات الهضمية وأمراض الجهاز التنفسي هي أكثر ما تم الإبلاغ عنه من إصابات مرضية أو مسببٍ للنفوق (Mõtus, *et al.*, 2018, p.1958) وفي هذا العمر تعاني العجول بشكلٍ رئيس من الأمراض المَعِدية المعوية كالإشريكية القولونية *Escherichia Coli* والفيروسات العَجَلِيَّة Rotavirus والفيروسات التَّاجيَّة Coronavirus وخَفِيَّة الأَبْواغ الصغيرة Cryptosporidium parvum(Maunsell & Donovan, 2008, p.155; McGuirk, 2008, p.139). تبقى الإصابة بالإسهال من أكبر التحديات الصحية التي تواجه صناعة الغذاء سواء في عجول الحليب أم عجول التسمين، تعد الإصابة بالفيروسات العَجَلِيَّة المجموعة (أ) (الروتا فيرس rotavirus) والفيروسات التاجية(الكورونا فيرس coronavirus) والإشريكية القولونية المنتجة للذيفان المعوي(*E.Coli Enterotoxgenic (ETEC)*) النمط (K99) والبوغيات الخفية (الأبواغ الخبيئة)(*Cryptosporidium parvum*) والسالمونيلا(*Salmonella spp*) وسموم المطثية الحاطمة(*toxigenic Clostridium perfringens*) من أكثر مسببات الإسهال شيوعاً(Bartels, *et al*., 2010; Izzo, *et al*., 2012 Khaja, *et al*., 2020). كما تشير الأبحاث إلى أن مسببات الإسهال المثبتة خلال اليوم الأول حتى نهاية الأسبوع الثاني كانت الأنواع المختلفة للإشريشية القولونية(*E.Coli*) (Foster & Smith 2009). هناك العديد من الأسباب التي تؤدي لحدوث الإسهال أو تمهد له والتي تعتمد على عوامل خطورة كالبيئة (المنطقة) والشروط الصحية ضمن الحظائر ومن أهم هذه الأسباب الفيروسات العَجَلِيَّة Rotavirus والتي يمكن أن تتسبب بحدوث الإسهالات بنسب قد تصل إلى 50% و 80% على الترتيب في عجول مزارع الألبان (Al Mawly, *et al.*, 2015, p.147) وعجول التسمين (Cho, *et al.*, 2001, p.2401). من اليوم

التاسع إلى اليوم الحادي والعشرين من عمر العجل تُعَدّ الإصابة بالفيروسات العَجَلِيَّة المجموعة (A) والإشريكية القولونية المنتجة للذيفان المعوي ETEC Enterotoxgenic *E.Coli* النمط K99 من أكثر مسببات الإسهال شيوعاً (Bartels, *et al*, 2010, p.162; Izzo, *et al*., 2012, p.122). من 75%– 90% من إسهالات العجول تكون لها علاقة بالفيروسات التَّاجيَّة أو العَجَلِيَّة أو الإشريكية القولونية أو خَفِيَّة الأَبْواغ (Radostits, *et al*., 2007, p.260). أشارت دراسة سنة 2020 في الإمارات إلى أن مسببات الإسهال عند العجول حديثة الولادة تراوحت بين الإصابة بخَفِيَّة الأَبْواغ والإشريكية القولونية والسلمونيلة والفيروسات العَجَلِيَّة والفيروسات التَّاجيَّة (Khaja, *et al*., 2020, R.21-100435). نتيجة لانتشار الإشريكية القولونية الواسع والتي تكون في معظمها غير ممرضة فإن الزرع الجرثومي للبراز كطريقة لتشخيص الإصابة بالإشريكية القولونية تكون ضعيفة القيمة ما لم يتم إثبات وجود عوامل الفوعة مثل الذيفان الثابت بالحرارة والمستضد الخملي K99 (Foster & Smith, 2009, P.13). خلال دراسات جديدة عُزلت الإشريكية القولونية من كل العينات التي جمعت من 36 عجلاً رضيعاً ولكن حُدِّد المستضد النوعي للإشريكية القولونية K99 في 13 عينة (Ngeleka, *et al*., 2019, P.611). كما بينت دراسة لعزل مسببات الإسهال عند العجول في الإمارات أن معظم عزلات الإشريكية القولونية كمسبب محتمل بطريقة الاستنبات على المنابت الصلبة للجراثيم وذلك لعينات من أمعاء العجول حديثة الولادة المصابة كانت عبارة عن نبيت طبيعي أو عزلات إيجابية لعامل الفوعة K99، كما رُصدت بعض العزلات التي كانت سلبية للمستضد K99 والتي ربما كانت تحمل عوامل فوعة أخرى (Khaja, *et al*., 2020, R.21-100435). تكون العجول الصغيرة حساسة للإصابة بالإشريكية F5 والمنتجة للذيفانات خاصة عند العجول التي لم تحصل على اللبأ أو اللبأ الخالي من الأضداد النوعية للنمط المصلي *E. coli* F5 (Gulliksen, *et al*., 2009, p.5057).

تعد الفيروسات العَجَلِيَّة Rotaviruses من عائلة الفيروسات الرِّيَوِيَّة reoviridae أكثر مسببات الإسهال في حيوانات المزرعة، وهناك سبع مجموعات مصلية للفيروسات العَجَلِيَّة

(A إلى G) غالباً ما تصيب المجموعة المصلية A حيوانات المزرعة بالإسهال وخاصة الحيوانات حديثة الولادة، بينما تُعزل المجموعة B عادةً من العجول البالغة المصابة بالإسهال (Fenner, *et al*., 2011, p.288; Radostits, *et al*., 2007, p.260). تم إثبات الفيروسات العَجَلِيَّة أول مرة مسبباً للإسهال عند العجول حديثة الولادة سنة 1969 (Mebus, *et al*., 1971, p.490). وبينت عدة دراسات أن حدوث الإسهال الحاد عند العجول حديثة الولادة مرتبط بصورة قوية مع العدوى بالفيروسات العَجَلِيَّة كأول مسبب مرضي (Garcia, *et al*., 2000, p.175; Mayameei, *et al*., 2010, p.553). كما أن هنالك العديد من الدراسات في مناطق جغرافية مختلفة تشير إلى الفيروسات العَجَلِيَّة على أنها أكثر مسببات الإسهال عند العجول الرضيعة شيوعاً (Moosakhani, *et al*., 2012, p.1). إنَّ الفيروسات العَجَلِيَّة مُعْدِيَّة بشدة وموجودة في كل البيئات ومقاومة للمطهرات، وتعد الحيوانات البالغة المصدر الرئيس للعدوى عند الحيوانات المولودة حديثًا، فقد أظهرت نتيجة التقصي المصلي زيادة نسبة الإصابة بـ 50– 100% في الحيوانات حديثة الولادة عنها في الحيوانات البالغة، مما دعا إلى أن نؤكد وجود استجابة مناعية ضد الفيروسات العَجَلِيَّة المجموعة A في العجول الفتية خصوصاً، وكانت الفئة العمرية 1–3 أسابيع أكثر عرضة للإصابة ونسبة الإصابة تنخفض مع تقدم العجل بالعمر (Soltan, *et al*., 2016, p.99). اعتمد كثير من الباحثين في الكشف عن مسببات الإسهال في العجول كالإشريكية القولونية على اختبار الإليزا المباشرة طريقةً سريعة للكشف عن المستضدات في مخلفات الحيوان البرازية (Al-Robaiee & Al Farwachi, 2013, p.538). كما أن الصعوبات في تشخيص مسببات الإسهال (التهاب الأمعاء) ينشأ غالبًا نتيجة عدم تكرار الأعراض النوعية للمسبب الواحد أو ظهور آفات سريرية غير محددة أو وجود عدوى، ولكن الأعراض تكون غائبة أو قد تختلط الإصابة بعدة عوامل مسببة مع تفاعلات داخلية وخارجية تؤثر على الثوي عموماً وكذلك على الأعراض (Athanassious, *et al*., 1994, p.163). من الصعب جدًا تشخيص العوامل المسببة بالتحديد عن طريق الفحص السريري، لذا فإن التشخيص المخبري أمر حيوي وضروري لتأكيد التشخيص (Barua,

2019). هناك العديد من الاختبارات التشخيصية للكشف عن مسببات الإسهال كالفحص المباشر بالمجهر الإلكتروني واختبار المقايسة المناعية المرتبطة بالإنزيم (ELISA) واختبارات التراص المناعي السريع، والرحلان الكهربائي بالهلام الأكريلاميدي، واختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR)، واختبار التألق المناعي والعديد من الاختبارات. إن استعمال اختبار المقايسة المناعية المرتبطة بالإنزيم (ELISA) التي تعتمد على الأضداد وحيدة النسيلة طريقةً تشخيص مفضلة وذات حساسية عالية وسريعة وغير مرتفعة الثمن بالمقارنة مع بقية الاختبارات فهي طريقة فعالة للكشف عن مسببات الإسهال الفيروسية كالفيروسات التَّاجيَّة والعَجَلِيَّة من عينات براز العجول المصابة بالإسهال (Mayameei, *et al.*, 2010. P.553). يُعَدّ اختبار المقايسة المناعية المرتبطة بالإنزيم (ELISA) طريقة مفضلة على بقية الطرق المخبرية لتشخيص الإصابة بالإسهالات عند العجول نتيجة انخفاض تكلفة الاختبار وحساسيته العالية وعدد العينات الكبير التي يمكن اختبارها (Mayameei *et al.*, 2010, p.553). تعد الإليزا ELISA اختباراً عالي الحساسية والنوعية جرى تطويره من قبل كثير من المختبرات لتحديد الإصابات الفيروسية العَجَلِيَّة (Murphy, *et al.*, 1999, p.402). لجأ الكثير من الباحثين إلى تحديد عوامل الخطورة والتوصية بتنفيذ الإجراءات الوقائية كإعطاء السرسوب بوقت مبكر للعجول حديثة الولادة وتلقيح الأمهات ضد مسببات الإسهال والاهتمام بالإجراءات الإدارية الصحية التي تتطلبها تربية عجول الألبان الصحية حتى وقت الفطام وزيادة مستوى مناعة العجل ضد الأمراض مع تقليل تعرضها للعوامل المعدية(Umer, 2021) لما تسببه إسهالات العجول الرضيعة من مشاكل صحية خطيرة تؤدي إلى نسبة إصابات قد تصل إلى 20% مع نسبة نفوق تتراوح بين 1.5–8% عدا عن الخسائر المالية الناتجة عن نقص النمو وكلفة العلاج، كما تعد من المشكلات المعقدة التي يساهم في حدوثها أكثر من مسبب مرضي، وتتباين فيها الأعراض الحقلية وشكل الإسهال ولونه، كما تتأثر نسبة انتشار المرض تبعاً لعوامل خطورة كالتغذية والحالة المناعية في العجول والإدارة الصحية والبيئية للحظائر ونوع العامل المسبب، ويُعَدّ هذا البحث أول بحث في المنطقة يعنى بالتحري عن مسببات

الإسهال المدروسة وارتباطها بعوامل الخطورة في منطقة شمال غرب سوريا وتوزعها على مناطق الدراسة باستعمال طرق تشخيصية عالية الدقة.

أهداف البحث Objectives:

- ✓ التقصي عن الإشريكية القولونية K99 والفيروسات العَجَلِيَّة المُسبِّبَة للإِسْهَال عند العجول الرضيعة في منطقة شمال غرب سوريا باستعمال اختبار الإليزا المتعدد، وتحديد نسبة الإصابة بهما.
- ✓ دراسة عوامل الخطورة وارتباطها بنسب الإصابة في مناطق الدراسة المختلفة.

مواد وطرائق العمل Material and Methods:

جُمعت 96 عينة براز من عجول مصابة بالإسهال، وُصفت العينات المطلوبة بـ: أن أي عجل يعاني من تغير في قوام البراز أو اللون يعد إسهالاً بغض النظر عن الحالة الصحية والأعراض المرافقة الأخرى عنده، ضمن الاستبيان بما يتوافق مع تعريف Svensson (Svensson, *et al*., 2003, p.179), شملت العينات أي تغير لوني للبراز (الأخضر إلى الأصفر) أو القوام (شبه طبيعي –قوام كريمي– حتى المائي). جرى الجمع بين أيلول 2021 وحزيران 2022، قسِّمت مناطق الدراسة إلى خمس مناطق (منطقة ريف إدلب الشرقي– منطقة ريف إدلب الغربي– منطقة ريف إدلب الشمالي – منطقة جسر الشغور– منطقة ريف حلب الغربي)، وذلك من 17 قرية (كفر كرمين–كفر ناصح– دارة عزة–سرمدا–بنش–فوعة–كفريا–زردنا–كلّي–حربنوش–معرتمصرين– مشمشان–بلميس–عين السودا–كنيسة بني عز–سلقين–ملس) مثَّلت ست مناطق رئيسية مختلفة بيئياً ومختلفة في الارتفاع عن سطح البحر، وطبيعة المنطقة سهلية أو جبلية. جُمْعِت العينات بطريقة العينات العنقودية متعددة المراحل على أساس تنوع المناطق الجغرافية، كما أثّر في اختيار هذه المناطق ورُجِّحت لاحتمالية استقرار مربي الأبقار في هذه المناطق بعد حملات الحرب على منطقة شمال غرب سوريا, وقد تراوح عمر العجول بين يوم واحد وشهرين، قسمت إلى ست فئات عمرية(1–9) أيام و(10–19) يوماً

و(20–29) يوماً و(30–39) يوماً و(40–49) يوماً و(50–59) يوماً ، جُمعت العينات بشكل مباشر من المستقيم باستعمال قفازات طبية –تستعمل لعينة واحدة– إلى عبوات بلاستيكية معقمة ذات أغطية محكمة الإغلاق مرقمة من الرقم 1 إلى الرقم 96 ، رُبط كل رقم للعبوة مع رقم الصفيحة الوبائية (الاستبيان) التي جرى مِلؤها بطريقة المقابلة المباشرة مع المربي بشكل متزامن أثناء جمع العينة، الذي تم فيه –أي الاستبيان– جمع المعلومات عن العينة، وتاريخها، وموقع المزرعة، والرقم المرجعي للمزارع، وعدد العجول الكلي وعدد العجول المصابة بالإسهال في المزرعة، والحالة الإدارية الصحية للمزرعة ونوع الأرضية، ونوعية السقف، وعمر العجل وجنسه، ومعلومات عن الولادة إذا كانت عسرة أم لا، توقيت اللبأ المقدم وكميته، وقوام الإسهال ولونه والعلاج الذي أُستعمل للإسهال. تم نُقلت العينات خلال مدة أقصاها ثماني ساعات من مناطق العمل إلى مخبر الترصد الوبائي في كلية الطب البيطري لتحفظ في التجميد (–20°) لمرة واحدة فقط حتى إجراء الاختبار. استعمل في هذا البحث اختبار الإليزا متعددة الارتباط للكشف عن العوامل المسببة للإسهال (Rotavirus - Coronavirus - E. coli F5 - EASY-DIGEST Cryptosporidium Diagnosis test for bovines BIO K 151/2 -Bio-X Diagnostics –Belgique®). تقنية المقايسة المناعية للامتزاز المستضدي المرتبط بالإنزيم (*Antigen Capturing Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Ag-ELISA)*) اختبار مقايسة سريعة لتحديد العامل المسبب في العينات معتمدة بذلك على الضد (e.g., monoclonal antibody) بناءً على المستضد المستهدف (Lequin, 2005, p.2415). تم تأكيد موثوقية مجموعة Easy Digest من خلال مقارنة نتائجها مع تلك التي تنتجها مجموعة Digestive BIO K 348 للشركة نفسها (Bio-X Diagnostics –Belgique 2021), الفيروسات العَجَلِيَّة: الحساسية 97% والنوعية 100% ، والإشريكية القولونية (*E. coli* F5): الحساسية: 100%، والنوعية 100%.

نُقلت نتائج الاستبيان الورقي ونتائج اختبار الإليزا لكل عينة إلى برنامج SPSS V23 حيث جرى وصف البيانات بشكل كامل وتحديد نسبة الإصابة في كل منطقة لكل

مسبب وعلاقة المسببات مع كل الأسئلة التي وردت ضمن الاستبيان باستعمال طريقة الجداول المتقاطعة (Crosstabs) كما أُجري التحليل الإحصائي بناءً على طبيعة البيانات اللامعلمية (الاسمية) باستعمال اختبار (Krukska-wallis test) لقياس العلاقة بين المتغيرات الاسمية المستقلة والتابعة والحصول على نتيجة اختبار الاستقلالية (Chi Squire). حيث يبين الجدول رقم/1/ مناطق جمع العينات وعددها وعدد العينات في كل منطقة ونسبتها المئوية.

الجدول (1): يبين توزع العينات على مناطق الدراسة مع النسبة المئوية والمئوية التجميعية

المنطقة الجغرافية	التكرارات	النسبة المئوية	النسبة المئوية التجميعية
ريف حلب الغربي	11	11.5	11.5
ريف إدلب الشرقي	19	19.8	31.3
ريف إدلب الشمالي	22	22.9	54.2
ريف جسر الشغور	35	36.5	90.6
ريف إدلب الغربي	9	9.4	100.0
Total	96	100.0	

النتائج Results:

بينت النتائج أنَّ نسبة الإصابة بالإشريكية القولونية والفيروسات العجلية كانت 1.04% (1/96) لكل مُسبِّب، وذلك من العينات التي جمعت من ريف إدلب الشمالي كما يبين الجدول رقم /2/.

الجدول (2): نسبة الإصابات بالإشريكية القولونية والفيروسات العجلية عند العجول حديثة الولادة في منطقة شمال غرب سوريا.

المنطقة الجغرافية	المسبب	العينات الإيجابية		العينات السلبية	
		العدد	النسبة	العدد	النسبة%
ريف حلب الغربي	الإشريكية القولونية k99	0	0	11	11.45
	الفيروسات العجلية	0	0	11	11.45
ريف إدلب الشرقي	الإشريكية القولونية k99	0	0	19	19.79
	الفيروسات العجلية	0	0	19	19.79
ريف إدلب الشمالي	الإشريكية القولونية k99	1	1.04	21	21.87
	الفيروسات العجلية	1	1.04	21	21.87
ريف جسر الشغور	الإشريكية القولونية k99	0	0	35	36.45
	الفيروسات العجلية	0	0	35	36.45
ريف إدلب الغربي	الإشريكية القولونية k99	0	0	9	9.37
	الفيروسات العجلية	0	0	9	9.37
مجموع العينات	الإشريكية القولونية k99	1	1.04	95	98.95
	الفيروسات العجلية	1	1.04	95	98.95

كما لم تُسجل أية ارتباطات إحصائية ذات دلالة معنوية بين الإصابة بالإشريكية القولونية والفيروسات العجلية (المتغير التابع)، وأي من المتغيرات المستقلة عوامل الخطورة (P>0.05)، باستثناء وجود ارتباط إحصائي ذي دلالة معنوية عند p=0.05 بين الإصابة

بالإشريكية القولونية K99 ونظام التربية المكثفة بنسبة خطورة ضعيفة إحصائياً (odds ratio=1.053)، كما وجد ارتباط بين الإصابة بالفيروسات العجلية وعدم تناول العجول اللبأ (P=0.03) مع نسبة خطورة (odds ratio=1.5) عن العجول التي تناولت اللبأ عند الولادة، ويبين الجدول رقم/3/توزع العجول المصابة والسليمة باختبار الإليزا على عوامل الخطورة وكذلك قيمة P الموافقة لقيمة اختبار مربع كاي وقيمة نسبة الخطورة التي يؤثر فيها كل عامل خطورة في التمهيد للإصابة عند كلا المسببين.

الجدول (3): توزع عوامل الخطورة مع قيمة P الموافقة لقيمة مربع كاي(chi sig) وكذلك قيمة نسبة الخطورة

عامل الخطورة		الإشريكية القولونية k99				الفيروسات العجلية			
		مصاب	سليم	Chi sig	odds ratio	مصاب	سليم	Chi sig	odds ratio
نوع التربية	منزلي	0	76	0.05[a]	1.053	1	75	0.606	0.987
	مكثف	1	19			0	20		
الوضع الصحي	جيد	1	73	0.584	1.014	0	22	0.584	1.014
	سيِّىء	0	22			1	73		
نوع الأرضية	ترابية	0	31	0.488	1.016	0	31	0.488	1.016
	خرسانية	1	64			1	64		
الفصل	بارد	1	41	0.254	0.976	1	41	0.254	0.976
	دافئ	0	54			0	54		
عمر العجل	9–1	1	18	0.656	–	1	18	0.656	–
	18–10	0	13			0	13		
	28–19	0	17			0	17		
	29-40	0	23			0	23		
	41-50	0	16			0	16		
	60–51	0	8			0	8		
جنس العجل	ذكر	1	52	0.365	0.981	0	53	0.264	1.024
	أنثى	0	43			1	42		
لون	أخضر بني	1	48	0.325	0.980	0	49	0.305	1.022

العينة	**أصفر**	0	47			1	46		
قوام العينة	**شبه طبيعي**	0	43	0.365	1.019	0	43	0.365	1.019
	مائي	1	52			1	45		
وجود أعراض	**نعم**	0	11	0.718	1.012	0	11	0.718	1.012
	لا	1	84			1	84		
أم مصابة	**نعم**	0	6	0.795	1.011	0	6	0.795	1.011
	لا	1	89			1	89		
تناول اللبأ	**نعم**	1	92	0.857	0.989	0	93	0.03[a]	1.5[b]
	لا	0	3			1	2		
الأدوية	**دون علاج**	0	31	0.488	1.016	0	31	0.488	1.016
	علاج	1	64			1	64		
ولادة عسرة	**نعم**	0	11	0.718	1.012	0	11	0.718	1.012
	لا	1	84			1	84		

a: P value<=0.05 تدل القيمة p<=0.05 على وجود علاقة تربط الإصابة بعامل الخطورة

b: Odds ratio كلما زادت القيمة عن القيمة 1 زادت خطورة العامل بالنسبة نفسها

يبين الجدول رقم(3) وجود حالة إصابة وحيدة بالإشريكية القولونية 1.04%(1\96) وذلك من العينات التي جمعت من ريف إدلب الشمالي قرية معرتمصرين، سُجلت الإصابة بالإشريكية القولونية K99 بين العينات التي جمعت من حظائر التربية المكثفة كان الوضع الصحي فيها جيداً وأرضية الحظيرة كانت خرسانية معالجة ضد الانزلاق كانت العينة ذات لون أخضر بني مخاطية القوام جمعت خلال الفصول الباردة, كان العجل ذكراً لا يظهر عليه أعراض مرافقة للإسهال ضمن الفئة العمرية الأولى(1–9) يوم، ولم تكن أم العجل مصابة بالإسهال وكانت ولادته طبيعية وقد تناول اللبأ. كما بين الجدول (3) وجود إصابة واحدة فقط بالفيروسات العَجَلِيَّة وذلك في منطقة ريف إدلب الشمالي (سرمدا) 1.04%(1\98), سُجلت الإصابة بالفيروسات العجلية بين العينات التي جمعت من حظائر تربية فردية منزلية كان الوضع الصحي فيها سيئاً وأرضية الحظيرة كانت خرسانية

معالجة ضد الانزلاق وكانت العينة ذات لون أصفر مخاطية القوام جمعت خلال الفصول الباردة, كانت العينة لأنثى لا يظهر عليها أعراض مرافقة للإسهال ضمن الفئة العمرية الأولى(1–9) يوم, ولم تكن أم العجل مصابة بالإسهال وكانت ولادته طبيعية وقد تناول اللبأ.

المناقشة Discussion:

الإسهال هو تغير طبيعة البراز إلى طبيعة طرية أو مائية، ويستمر يومين أو أكثر، وقد يترافق مع أعراض أخرى كفقدان الوزن وضعف الحالة العامة للحيوان (Svensson, *et al.*, 2003, p.179). في دراستنا لم يظهر على العجول المصابة بالإسهال ضعف عام أو تجفاف وقت أخذ العينة. كما أن معظم حالات الإسهال تمر خلال فترة قصيرة ومن الممكن أن تتطور الأعراض نتيجة سوء التغذية أو التغيير المفاجئ للعلف.

في دراسة أجريت في تركيا كانت نسبة الإصابة بالإشريكية القولونية K99 27.45% و 27.45% بالفيروسات العَجَلِيَّة من مجموع 51 عجلاً مصاباً بالإسهال (Altug *et al* 2013) قد لا تتوافق نتائج هذه الدراسة مع دراسة الباحث التركي Altug يتضح أن تأثير البيئة قد ظهر جلياً فقد جرى البحث في الشرق التركي كما أن طريقة الكشف عن المسببات تختلف فقد استعمل الباحث Altug الطريقة المناعية السريعة (الكروماتوغرافيا) بالنسبة للإصابة بالإشريكية القولونية K99 والفيروسات العَجَلِيَّة. وقد سجلت دراستنا إصابة واحدة بالإشريكية 1.04% ومثلها بالفيروسات العَجَلِيَّة بنسبة 1.04% وذلك فارق كبير بين نتائج الدراستين, توافقت نتائج الدراسة مع ما ذكره الباحث Alam عن نسبة انتشار الإصابة بالفيروسات العَجَلِيَّة في قارة آسيا أن نسبة الإصابة في بنغلادش بين 0–7% (Alam *et al* 1994) حيث كان انتشار الإصابة في منطقة

دراستنا 1.04% (1/96)، كما كانت نتائج البحث متوافقة إلى حد ما مع تقرير الباحث Lorenzetti حيث جُمعت عينات البراز خلال الفترة 2009–2012 وتم تحليلها لوجود الفيروسات العَجَلِيَّة (مجموعة فيروس الروتا البقري A) (BoRVA)) وكانت النتائج سلبية (Lorenzetti *et al* 2013). بالمقابل فقد تفاوتت نتيجة انتشار الإصابات في مناطق أخرى فقد كانت نسبة الإصابة بالفيروسات العَجَلِيَّة البقرية المجموعة أ تتراوح من 11 حتى 19,4 % عند العجول الرضيعة ضمن قطعان الأبقار في البرازيل(Stipp *et al* 2009, p.1563; Brandão, *et al*., 2007, p.33) وهي نسبة كبيرة قاربت 20 ضعفاً بالنسبة لنتائج دراستنا قد يرجع ذلك إلى نوع التربية في البرازيل الذي يعتمد على التربية المكثفة للعجول مما يزيد خطر الفيروسات العَجَلِيَّة وسهولة انتشارها إضافة إلى البيئة المختلفة كلياً عن بيئة دراستنا من حيث المناخ، وكذلك اختلاف عوامل الإدارة في المزرعة بين المناطق المختلفة، والحالة العامة الصحية والأمن الحيوي في المزرعة بالإضافة إلى الشروط البيئية والموقع الجغرافي(العوامل المناخية) (Ok, *et al*., 2009, p.94), أو من الممكن أن تكون بعض العينات سلبية كاذبة(حساسية الاختبار) وخاصة في المسببات التي يكون طرح المسبب فيها ضعيفاً أو متقطعاً وخصوصاً إذا تزامنت مع فترة جمع العينات، كما أن برامج الاستئصال في بعض الدول تساهم في اختلاف النتائج حيث جرى إعلان النرويج خالية من المسببات الفيروسية للإسهال(Kampen, *et al*., 2007, p.65). إنَّ الإسهال معروف بتعدد المسببات وتداخلها والتي تتدفق وتتفعل نتيجة طرق العدوى المتعددة ونتيجة التغذية وعوامل البيئة المحيطة، وتأثير عوامل الإدارة ضمن المزرعة وتشمل المسببات ذيفانات الجراثيم والأوالي والفيروسات والبيئة مثل زيادة كمية الحليب المقدمة للعجول، وانخفاض درجة الحرارة، وضعف إجراءات الصحة العامة (الأمن الحيوي)، وعدم تقديم اللبأ والقابلية الفردية للعجل تجاه الإصابة وعوامل أخرى من المسببات المرضية. إن عاملاً واحداً أو عدة عوامل من هذه العوامل قد تؤدي إلى إحداث الحالة المرضية وزيادة العبء الاقتصادي على المنشآت(Alfieri, *et al*., 2006,

p.521). ضم الاستبيان عوامل خطورة مفترضة شملت نوع التربية والعوامل المناخية من خلال الفصل الذي جمعت فيه العينة والعمر والجنس وتناول اللبأ والولادة العسرة للعجل وإصابة الأم بالإسهال وكذلك الأدوية التي كانت تستعمل عند أخذ العينة، وقد كان من الضروري تحديد عوامل الخطورة المسؤولة عن إحداث الإصابة والنفوق الناتجة عن الإسهال لذلك صممت لها دراسات وبرامج وقاية موسعة (Umer, 2021). في دراسة هولندية كانت نسبة الحدوث التجميعي للإسهالات عند عمر 1 حتى 21 يوماً 24% (Perez *et al* 1990) و19% في البرازيل(Stipp *et al* 2009, p.1563) ، 18.48% في الجزائر(Akam, *et al*., 2011, p.16) 21.6% في أستراليا(Izzo, *et al*., 2012, p.122), تتوافق النتائج مع نتائج دراستنا من خلال الفئة العمرية الأكثر عرضة للإصابة فالإصابة المسجلة بالإشريكية القولونية والفيروسات العجلية كانت في الفئة العمرية الأولى (1–9) يوم, إن خطورة الإسهال تكمن غالباً في العمر الحرج بين اليوم الأول وتمام الشهرين نتيجة التحولات الوظيفية (الفيزيولوجية) البنائية والاستقلابية والحاجة الكبيرة لكميات الغذاء الفوري بعد الولادة مباشرة والتي ينتج عنها الاحتكاك مع عوامل خطورة حيوية (بيولوجية) وعوامل بيئية وغذائية قد تحمل المسببات أو قد تساعد في إحداث الأمراض وفي مقدمتها الإسهال. اعتمد كثير من الباحثين في الكشف عن مسببات الإسهال في العجول كالإشريكية القولونية على اختبار الإليزا المباشرة طريقةً سريعةً للكشف عن المستضدات في مخلفات الحيوان البرازية (Al-Robaiee & Al Farwachi, 2013, p.538) كما يعد اختبار المقايسة المناعية المرتبطة بالإنزيم (ELISA) طريقة مفضلة على بقية الطرق المخبرية لتشخيص الإصابة بالإسهالات عند العجول نتيجة قلة تكلفة الاختبار وعدد العينات الكبير وحساسيته العالية (Mayameei *et al.*, 2010). كانت إحدى العينات إيجابية باستعمال تقنية التراص والعزل الفيروسي ولكنها سلبية بواسطة الإليزا هذا يشير إلى وجود عوامل تؤثر على نتيجة الإليزا, قد تكون الحساسية العالية لاختبار التراص إحدى العوامل, كانت أربع عينات سلبية بواسطة كل من الإليزا

والتراص ولكنها كانت إيجابية بواسطة اختبار العزل الفيروسي، قد يكون هذا بسبب قلة عدد جزيئات الفيروس، والتي ليس من السهل اكتشافها بواسطة اختبار التراص أو الإليزا، وكانت ثمانُ عينات إيجابية بواسطة كل من اختبار التراص والإليزا ولكنها سلبية بواسطة اختبار العزل الفيروسي، وقد يكون فشل العزل الفيروسي بسبب تعطيل الفيروس الناجم عن التلوث بالجراثيم والفطريات والتعرض للبيئة الفيزيائية والكيميائية بعد جمع العينات وأثناء نقلها إلى المختبر (Al-Yousif *et al* 20014), إن الاختلاف في نتائج حدوث الإسهال بالمسببات المدروسة من الممكن أن يكون نتيجة اختلاف طريقة التشخيص المستعملة (Ok, *et al*., 2009, p.94; Mayameei, *et al*., 2010, p.553) فقد جرى في هذا البحث استعمال طريقة الإليزا المتعددة المباشرة. كما أن عدد العينات وانتشارها على مساحة دراستنا يمكن أن يكون قد لعب دوراً كبيراً في تفاوت النتائج، إذ إن اعتماد نتائج مزرعة واحدة عند الباحث التركي (Altug) والتي تعد (عينة عنقودية) ممثلة لكل المجتمع الإحصائي وهذا أدى إلى زيادة ظاهرية في نسب الإصابة عند تعميم النتائج وغالباً ما تكون نسب الإصابة الحقيقة أقل من ذلك عند إجراء مسح كامل للمجتمع الإحصائي وهي من عيوب طريقة العينات العنقودية وحيدة الطبقة. سجلت نسبة انتشار للإشريكية القولونية في بعض البلدان الأوروبية ففي هولندا كانت نسبة انتشار الإشريكية القولونية بين حظائر الدراسة و((95% CI: 1.3-4.6%)9%) كما سجلت نسبة انتشار عامة((95% CI: 5-16%)2.6%) (Bartels *et al*. 2010) وهي نسبة عالية مقارنة مع نتائج دراستنا قد يكون ذلك ناتجاً عن استعمال المضادات الحيوية والمسكنات بشكل عشوائي في مناطق دراستنا التي حدت غالباً وبشكل كبير من ظهور الإشريكية القولونية كمسبب رغم وجود عوامل مساعدة كثيرة قد تساهم في انتشارها وثباتها في البيئة نتيجة الاطلاع على واقع الحظائر وأن هذه العوامل نوقشت لدى الباحِثَين على أنها عوامل مرتبطة ممهدة لإحداث الإسهال المتسبب بالإشريكية ومع ذلك تعد نتيجة تلك الأبحاث (في أوروبا) معتدلة نسبياً بالمقارنة مع نتائج الأبحاث التي تفوقها بالضعف أحياناً. فقد

بينت دراسات جديدة جرى فيها عزل الإشريكية القولونية من كل العينات التي جمعت من 36 عجلاً رضيعاً ولكن حُدد المستضد النوعي للإشريكية القولونية (K99) في 13 عينة (Ngeleka *et al* 2019). كانت الإشريكية القولونية مسبباً للإسهال الأقل نسبة بين المسببات التي أدت إلى الإسهال 2.6% من العجول المصابة بالإسهال (CI) 2.6% (95%: 1.3–4.6%) ضمن 9% من القطعان المدروسة والمطثية الحاطمة كانت الأعلى ووصلت إلى 54% (95% CI: 49.1–58.8%) 54.0%) ضمن 85% من القطعان المدروسة وسجلت كل من الفيروسات التَّاجيَّة البقرية والإشريكية القولونية إصابة أو إصابتين ضمن كل قطيع (Bartels *et al* 2010). من الممكن أن تكون إصابة عجول الدراسة بالمطثيات إحدى الأسباب التي حالت دون انتشار عدد حالات الإصابة بالإشريكية القولونية أو ببقية المسببات الأخرى وزيادتها لذلك كان لابد من وضع توصيات لاستكمال الدراسة ووضع خطة للكشف عن المطثيات وخاصة الحاطمة في عجول المنطقة. كان انتشار الإشريكية القولونية K99 على مستوى المزرعة 41 % في كندا (Waltner-Toews *et al*, 1986) وهي نسبة عالية بالنسبة لبلد متقدم ولكن قد يكون هذا البحث قديما نوعًا ما. على الرغم من أن معظم عزلات الإشريكية القولونية من أمعاء العجول حديثة الولادة هي بالتأكيد نبيت طبيعي فإن بعض العزلات كانت سلبية للمستضد (K99) خلال دراسة لعزل المسببات المرضية المؤدية إلى الإسهال عند العجول في الإمارات (Khaja et al 2020) إذ أكدت الدراسة على وجود عوامل فوعة أخرى غير المستضد (K99) لذلك كان من مخرجات الدراسة هي التوصية بضرورة التركيز على نطاق أوسع من عوامل الفوعة الأخرى لدى العصيات القولونية كما اكتشفت عوامل أخرى مرضية كالسلمونيلة والفيروسات العَجَلِيَّة والفيروسات التَّاجيَّة (Barigye *et al*., 2012, p.1944; Cho & Yoon, 2014, p.1). الإصابة بالفيروسات العَجَلِيَّة المجموعة (أ) (GARV) أثبتت في عينات البراز عند العجول حديثة الولادة بنسبة (14.63%) في مناطق غرب الجزائر حسب (Selles, *et al*., 2014, p.318) وكانت متقاربة مع نتائج

أبراهام في إثيوبيا (16,7%) (Abraham, *et al*., 1992, p.74) و مع راي ورفاقه (15,68%) (Rai *et al* 2011) ومع الربيعي والفرواشي (15,5%) (Al-Robaiee & Al Farwachi, 2013, p.538) و بين (11,8–26,8%) عند العجول المصابة بالإسهال في الهند (Malik, *et al*., 2013, p.111), كما تبين أن نسبة الإصابة بالفيروسات العَجَلِيَّة في العجول المصابة بالإسهال تتراوح بين 20– 60% حيث بلغت في الهند بين 11.8– 26.8% بينما بينت نسب الإصابة في أوروبا نسبة انتشار عالية تراوحت في السويد بين 24– 47% في الفترة الواقعة بين عامي 1993 و 2006 و 42% في المملكة المتحدة أما في قارة آسيا فقد كانت نسبة الإصابة في بنغلادش بين 0 –7% بينما في أثيوبيا فقد وصلت إلى 16.7% (Umer, 2021) نلاحظ الاختلاف الكبير في نتائج المسوح باختلاف البلد وقِدَم الدراسة حتى ضمن البلد الواحد قد يعزى ذلك إلى تطوير منهجية وبائية للحد من تطور المرض ووسائل الأمن الحيوي وتطوير سبل التربية والإدارة وتحديد النقاط الحرجة, كما أن تقييم المزرعة (الحظيرة) كان أمراً نسبيًّا عند مقارنة أساليب التربية بين بلد وآخر ويتبع لطريقة التربية الشائعة في كل منطقة بما يتناسب مع دخل المربي باعتبار أن معظم العينات في دراستنا كانت من حظائر ذات تربية فردية منزلية فإن تقييم الحظيرة صحياً في مناطقنا يختلف عن التقييم الصحي لمناطق دراسة ذات دخل عالٍ للمربي، وقد لاحظنا هذا الاختلاف ضمن مناطق الدراسة نفسها (تقييم بشري نسبي)، ويرجع ذلك غالباً إلى استقرار منطقة دون أخرى وغياب الدعم عن مناطق دون أخرى، كما أن اختلاف البيئة الجغرافية لمناطق الدراسة قد يساهم في تفاوت نسب الإصابة في تلك المناطق واختلافها عن النسب المشار إليها عالميًّا, يُعَدّ تأثير الفيروسات العَجَلِيَّة عادة منخفضاً في نيوزيلندا (Durham *et al*. 1979, p.30; Vermunt, 2000, p.3). في عينات الشاهد (براز طبيعي) وهي عجول بدون أعراض، حيثُ تم تحديد حالات إيجابية للفيروسات العَجَلِيَّة البقرية في البرازيل المجموعة الأولى ضمن فئة العجول حتى 30 يوماً في قطعان الحليب فقط 3.4% (4/116) من عينات مصابة

بالإسهال أظهرت نسباً إيجابية مختلفة في الدم لوجود الفيروسات العَجَلِيَّة البقرية المجموعة أ (Alfieri, *et al.*, 2006, p.521), كانت نسبة انتشار الفيروسات العَجَلِيَّة البقرية 42% في عينات الإسهال في المملكة المتحدة (Reynolds, *et al.*, 1986, p.34)، وفي دراسة إسبانية كانت نسبة الإصابة بالإسهال في العجول حديثة الولادة نتيجة الإصابة بالفيروسات العَجَلِيَّة 42% (De la Fuente, *et al.*, 1998, p.145) كما كانت نسبة الإصابة بالفيروسات العَجَلِيَّة البقرية في السويد بين عامي 1993–2006 تتراوح بين 24–47% (De Verd Er, 2006, p.29) كما سجلت نسبة إصابة (20–60%) في عينات الإسهال بالفيروسات العَجَلِيَّة في السويد (Bj¨orkman, *et al.*, 2003, p.145) قد يكون هناك تفاوت بين نتائج الدراسات والتقارير التي تخص نتائج التقصي عن الفيروسات العَجَلِيَّة في العجول حديثة الولادة المصابة بالإسهال وقد تكون النتائج متقاربة مثل نتائج غيليكسون 2009 (Gulliksen, *et al*, 2009, p.5057) في النرويج وهاشيك في النمسا 2006 (Haschek, *et al.*, 2006, p.160) التي أعطت 9.9% و 9.1% على التوالي ويرجح ذلك والنتائج التي تعد قليلة نتيجة تربية سلالات جيدة ومحصنة، والأمن الحيوي العالي في هذه المزارع (Amir, *et al.*, 2015, p.230). كما أن نسبة انتشار الفيروسات العَجَلِيَّة في فرنسا تراوحت بين 37–47,4% (Bendali, *et al.*, 1999, p.61). كانت نسبة الإصابة بالفيروسات العَجَلِيَّة البقرية المجموعة أ 22% (899/205) عينة إيجابية من مجموع عينات الإسهال لدى عجول اللحم بقيمة إحصائية معنوية ($p = 0.0005$) مع نسبة الإصابة في عجول الألبان 16% (999/164) عند قطعان الماشية في البرازيل بينما أعلى نسبة للإصابة بالإسهال الناتج عن الفيروسات العَجَلِيَّة المجموعة (أ) كانت 36% (1256/327) ظهرت عند العجول حتى عمر 30 يوماً ($p = 0.0001$) وفي العينات التي جمعت من عجول اللحم 33%(573/198) ($p = 0.0001$) (Alfieri, *et al.*, 2006, p.521). لم نتطرق في هذا البحث لموضوع اتجاه التربية وعلاقتها بمسببات الإسهال إذ إن معظم التربية كانت تربية منزلية فردية ثنائية

الغرض ولم تتجه باتجاه محدد خلال الاستبيان الذي أجري خلال الدراسة. أظهرت نتائج دراسة ألفييري ورفاقه (Alfieri, *et al.*, 2006, p.521) نتائج مختلفة بين العجول المعدة للتسمين وعجول الحليب المصابة بالإسهال نتيجة الإصابة بالفيروسات العَجَلِيَّة حيث سجلت (33%) و (20.2%)على التوالي كما سجلت نتائج زريلي ورفاقه متوسط إصابات بالفيروسات العَجَلِيَّة (22.8%) (Zrelli, *et al.*, 1990, p.861) و (25,1%) حسب لانغوني ورفاقه (Langoni, *et al.*, 2004, p.313) و(21,84%) حسب آكام ورفاقه (Akam, *et al.*, 2011, p.16) وكلها نتائج متقاربة وفي تقارير أخرى مهمة عن الإصابة بالفيروسات العَجَلِيَّة المجموعة (أ) أشار رينولد ورفاقه (Reynolds, *et al.*, 1986, p.34) إلى نسبة إصابة (42%) و (50%) حسب سنودغراس ورفاقه (Snodgrass, *et al.*, 1986, p.31) و (42%) حسب فونتي (De la Fuente, *et al.*, 1998, p.145) و (79,9%) حسب إيزو ورفاقه (Izzo, *et al.*, 2012, p.122) و (34%) حسب نور محمد زاده (Nourmohammadzadeh, *et al.*, 2012, p.1231) و (7%) حسب بيريز ورفاقه وهي أقل نسبة حدوث. كانت نسبة الإصابة بالفيروسات العَجَلِيَّة في العراق عند العجول المصابة بالإسهال 15,5% و 4,5% في العجول غير المصابة بالإسهال (Al-Robaiee & Al Farwachi, 2013, p.538). مجمل النتائج التي وردت في البحث بما فيها نتائج دراستنا تعطي دليلاً أن هناك عوامل ممهدة عديدة أو وجود مسببات أخرى أثرت على زيادة انتشار المسببات المدروسة أو قد تكون حدت من انتشارها أو طرحها على أقل تقدير خلال فترة أخذ العينة والتي كان المعيار فيها هو وجود الإسهال.

الخلاصة Conclusion :

تعد الإليزا المتعددة طريقة تشخيصية معتبرة لتشخيص عدة مسببات مرضية في الوقت نفسه، ولكنها مكلفة مادياً مقارنة مع الاختبارات السريعة التي قد تعطي نتائج

مقاربة لنتائج الإليزا وأرخص منها كما أن نسبة انتشار الإشريكية القولونية والفيروسات العَجَلِيَّة قليلة مقارنة بالدراسات السابقة لاعتبارات بيئية بالإضافة إلى العشوائية في استعمال المضادات الحيوية والمسكنات أو وجود مسببات إسهال أخرى حدت من انتشار مُسبِبَي الدراسة كما لم تسجل أي حالة لإصابة بالمسببين معا تحتاج الدراسة إلى استكمال الكشف عن بقية المسببات المرضية كالمطثية الحاطمة والسلمونيلة.

References:

1. Abraham, G., Roeder, PL., Zewdu, R. (1992). "Agents associated with neonatal diarrhoea in Ethiopian dairy calves". Trop Anim Health Prod, 24, 74- 80.
2. Akam, A., Khelef, D., Kaidi, R., Rahal, KH., Tali-Maamar, H., Yabrir, B. (2011). "The frequency of the shedding of Cryptosporidium parvum, F5 Escherichia coli, rotavirus, coronavirus and Salmonella spp. in young dairy calves in Mitidja area (Algeria) ". Bull Univ Agric Sci Vet Med Cluj Napoca, 68, 16-25.
3. Al Mawly, J., Grinberg, A., Prattley, D., Moffat, J., & French, N. (2015). "Prevalence of endemic enteropathogens of calves in New Zealand dairy farms". New Zealand Veterinary Journal, 63(3), 147- 152.
4. Alam, M. M., Huque, A., Nigar, S., Haque, M., Choudhury, S. N., and Ahmed, U. M. (1994). "Rotavirus infection in children and calves in association with acute gastroenteritis". Bangladesh Veterinary Journal, vol. 28, pp. 35–40.
5. Alfieri, A.A., Parazzi, M.E., Takiuchi, E., Medici, K.C., Alfieri AF. (2006). "Frequency of group A rotavirus in diarrhoeic calves in Brazilian cattle herds 1998-2002". Trop Anim Health Prod, 38, 521- 526.
6. Al-Robaiee, I.A., Al- Farwachi, M.I. (2013). "Prevalence of rotaviral infection in diarrheic neonatal calves in Mosul city, Iraq". Veterinary world 6(8), 538-540.
7. Altug, N., Yuksek, N., Ozkan, C., Keles, I., Basbugan, Y., Agaoglu, Z.T., Kaya, A., & Akgul, Y. (2013). "Neonatal Buzağı

İshallerinin İmmunokromotografik Test Kitleri İle Hızlı Etiyolojik Teşhisi". Van Veterinary Journal, 24 (3), 123-128.

8. Al-Yousif, Y., Anderson, J., Chard-Bergstrom, C., Bustamante, A., Muenzenberger, M., Austin, K., & Kapil, S. (2001). "Evaluation of a latex agglutination kit (Virogen Rotatest) for detection of bovine rotavirus in fecal samples". Clinical and Vaccine Immunology, 8 (3), 496-498.
9. Amir, H, A .,Mostafa, B., Hamed, A. (2015). "Neonatal calf diarrhea induced by rotavirus and coronavirus". a review. International Journal of Biosciences Vol. 6, No. 2, p. 230-236.
10. Athanassious, R., Marsolais, G., Assaf, R., Dea, S., Descoteaux, J.P., Dulude, S., et al. (1994). "Detection of bovine coronavirus and type A rotavirus in neonatal calf diarrhea and winter dysentery of cattle in Quebec: evaluation of three diagnostic methods". Can Vet J, 35, 163-169.
11. Barigye, R., Gautam, A., Piche, L.M., Schaan, L.P., Krogh, D.F., Olet, S. (2012). "Prevalence and antimicrobial susceptibility of virulent and avirulent multidrug-resistant Escherichia coli isolated from diarrheic neonatal calves". Am. J. Vet. Res, 73, 1944–1950.
12. Bartels, C.J., Holzhauer, M., Jorritsma, R., Swart, W.A., & Lam, T.J. (2010). "Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and nonnormal faeces of young Dutch dairy calves". Preventive Veterinary Medicine, 93(2), 162-169.
13. Barua, R.S. (2019). "Clinico-pathology and Molecular characterization of bovine Rotavirus infection in calves in south-eastern part of Bangladesh, PhD". Thesis, Faculty of Veterinary Medicine". Chittagong Veterinary and Animal Sciences University, Bangladesh.
14. Bendali, F., Bichet, H., Schelcher, F., Sanaa, M. (1999). "Pattern of diarrhoea in newborn beef calves in south-west France". Veterinary Research 30, 61-74.
15. Bj¨orkman, C., Svensson, C., Christensson, B., and De Verdier, K.(2003). "Cryptosporidium parvum and Giardia intestinalis in calf diarrhoea in Sweden". Acta Veterinaria Scandinavica, vol. 44, no. 3, p. 145.
16. Brandão, P.E., Villareal, L.Y., De Souza, S.L., Richtzenhain, L.J., Jerez, J.A. (2007). "Mixed infections by bovine coronavirus,

rotavirus and Cryptosporidium parvum in an outbreak of neonatal diarrhea in beef cattle". Arq Inst Biol (Sao Paulo), 74, 33-34.

17. Cho, K., Hasoksuz, M., Nielsen, P., Chang, K., Lathrop, S., & Saif, L. (2001). "Cross-Protection Studies Between Respiratory And Calf Diarrhea And Winter Dysentery Coronavirus Strains In Calves An RT-PCR And Nested PCR For Their Detection". Archives of Virology, 146, 2401-2419.
18. Cho, Y.I., Yoon, K.J. (2014). "An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention". J. Vet. Sci, 15, 1–17.
19. De La Fuente, R., Garcia, A., Ruiz-Santa-Quiteria, J.A., Luzon, M., Cid, D., Garcia, S., et al. (1998). "Proportionnal morbidity rates of enteropathogens among diarrheic dairy calves in central Spain". Prev Vet Med, 36, 145-152.
20. De Verd Er, K. (2006). "Infektionspanoramat vid diarr´eer hos svenska kalvar, Sven". Vet, vol. 58, p, 29.
21. Durham, P.J., Stevenson, B.J., Farquharson, B.C. (1979). "Rotavirus and coronavirus associated diarrhoea in domestic animals". New Zealand Veterinary Journal, 27, 30–2.
22. Fenner, F., MacLachlan, N.J., Dubovi, E.J., editors. (2011). "Fenner's Veterinary Virology" 4th ed, Burlington: Academic Press, p. 288–290 and 394-398.
23. Foster, D.M., Smith, G.W. (2009). "Pathophysiology of diarrhea in calves". Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract. 25, 13–36.
24. Garcia, 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 calves in Spain. Comparative Immunology". Microbiology and Infectious Diseases 23, 175-183.
25. Gulliksen, S.M., Jor, E., Lie, K.I., Hamnes, I.S., Loken, T., Akerstedt, J., Osteras, O. (2009). "Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves". J. Dairy Sci, 92(10), 5057-5066.
26. Haschek, B., Klein, D., Benetka, V., Herrera, C., Sommerfeldstur, 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 B 53, 160-165.

27. Izzo, M. M., Kirkland, P. D., Gu, X., Lele, Y., & Gunn, A. A., House, J. K. (2012). "Comparison of three diagnostic techniques for detection of rotavirus and coronavirus in calf faeces in Australia". Australian Veterinary Journal, 90, 122-129.
28. Kampen, A. H., J. Akerstedt, S. Gudmundsson, P. Hopp, G. Groneng, and O. Nyberg. (2007). "The surveillance and control programme for bovine virus diarrhoea (BVD) in Norway. Pages 65–71 in Surveillance and Control Programmes for Terrestrial and Aquatic Animals in Norway Annual report 2006. E. Brun, ed". The National Veterinary Institute, Oslo, Norway.
29. Khaja, M., Layaly, H., Abdulla, B, A., Robert, B. (2020). *"Cryptosporidium parvum* and other enteric pathogens in scouring neonatal dairy calves from the Al Ain region, United Arab Emirates". Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports 21 (2020) 100435. doi: 10.1016/j.vprsr.2020.100435
30. 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 Sao Paulo state, Brazil". Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 41(5), 313-319.
31. Lequin, M.R. (2005). "Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)". Clinical Chemistry, vol. 51, no. 12, pp, 2415–2418.
32. Lorenzetti, E., Ribeiro, J, Arruda, L. R., Alfieri, A. A. (2013). "Neonatal diarrhea by bovine coronavirus (BCoV) in beef cattle herds". Ciências Agrárias, Londrina, v. 34, n. 6, suplemento 2, p. 3795-3800.
33. Malik, S.Y., Kumar, N., Sharma, K. (2013). "Epidemiology and genetic diversity of rotavirus strains associated with acute gastroenteritis in bovine, porcine, poultry and human population of Madhya Pradesh, Central India, 2004–2008. Advances in Animal and Veterinary Sciences 1(4):111 – 115
34. Maunsell, F., Donovan, G.A., (2008). "Biosecurity and risk management for dairy replacements. Vet. Clin. North". Am. Food Anim. Pract. 24, 155–190.
35. Mayameei, A., Mohammadi, G., Yavari, S., Afshari, E., Omidi, A. (2010). "Evaluation of relationship between Rotavirus and Coronavirus infections with calf diarrhea by capture ELISA". Comp Clin Pathol, 19, 553 557.

36. McGuirk, S.M. (2008). "Disease management of dairy calves and heifers. Vet. Clin. North". Am. Food Anim. Pract. 24, 139–153. http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.003
37. Mebus, C.A., Stair, E.L., Underdahl, N.R., Twiehaus, M.J. (1971). "Pathology of neonatal calf diarrhea induced by reo-like 236. Virus". Veterinary Pathology, 8, 490-505.
38. Moosakhani, F., Badiei, A., Asadi, A.H., et al. (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". Journal of veterinary Clinical Research, 3, 1-10.
39. Mõtus, K., Viltrop, A., Emanuelson, U. (2018). "Reasons and risk factors for beef calf and young stock on-farm mortality in extensive cow-calf herds". Animal, vol. 12, pp. 1958-66
40. Murphy, F. A., Gibbs, E. P. J., & Horzinek, M. C. (1999). Veterinary Virology. 3th ed. USA: A Division of Harcourt Brace Company, pp. 402-404.
41. Ngeleka, M., Godson, D., Vanier, G., et al, (2019). "Frequency of Escherichia coli virotypes in calf diarrhea and intestinal morphologic changes associated with these virotypes or other diarrheagenic pathogens". J. Vet. Diagn. Investig, 31, 611–615.
42. Nourmohammadzadeh, F., Davoudi, Y., Abdollahpour, G., Nouri, A. (2012). "The prevalence of rotavirus in neonatal calf diarrhoea, usingelectron microscopic examination". Comp Clin Pathol, 21, 1231-1234.
43. Ok, M., Gu. L., Turgut, K., Ok, U., Sen, I., Gündüz, I.K., et al. (2009). "The studies on the aetiology of diarrhoea in neonatal calves and determination of virulence gene markers of Escherichia coli strains by multiplex PCR". Zoonoses Public Health, 56, 94-101.
44. Perez, E., Noordhuizen, J.P.T.M., van Wuijckhuise, L.A., Stassen, E.N. (1990). "Management factors related to calf morbidity and mortality rates.Livest". Prod. Sci. 25, 79–93.
45. 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", 10th ed, USA: Saunders Elsevier, Vol 1and 2, p, 260-268.

46. Rai, R.B., Hansha, A., Rai, S., Singh, B., Kumar, H., Singh, A.K., et al. (2011). "Prevalence of rota and coronavirus infections in calves of Barabanki and Raebareli districts of Uttar Pradesh". Indian J Vet Pathol. 35, 73-74.
47. 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". Veterinary Record 119, 34-39.
48. Selles, S, M, A., Kouidri M., Belhamiti, B, T., et al. (2014). "Prevalence of rotavirus (GARV) and coronavirus (BCoV) associated with neonatal diarrhea in calves in western Algeria". Asian Pac J Trop Biomed, 4(Suppl 1), S318-S322.
49. Smith, B.P. (2009). "Large Animal Internal Medicine", 4th ed, St Louis: Mosby Elsevier, p,353-361.
50. Snodgrass, DR, Terzolo HR, Sherwood D, Campbell I, Menzies JD, Synge BA. (1986). "Aetiology of diarrhoea in young calves". Veterinary Record, 119(2), 31-34.
51. Soltan, A.M., Tsai, Y.L., Lee, P.Y. A. (2016). "Comparison of electron microscopy, ELISA, real time RT-PCR and insulated isothermal RT-PCR for the detection of rotavirus group a (RVA) in feces of different animal species". Journal of Virological Methods, vol. 235, pp. 99–104.
52. Stipp, D.T., Barry, A.F., Alfieri, A.F., Takiuchi, E., Amude, A.M., Alfieri, A.A. (2009). "Frequency of BCoV detection by a semi-nested PCR assays in faeces of calves from Brazilian cattle herds". Trop Anim Health Prod, 41, 1563-67
53. Svensson, C., J. Hultgren, and P. A. Oltenacu. (2006a). "Morbidity in 3-7-month-old dairy calves in south-western Sweden, and risk factors for diarrhoea and respiratory disease". Prev. Vet. Med. 74:162–179.
54. Svensson, C., Linder, A., Olsson, S.O. (2006b). "Mortality in Swedish dairy calves and replacement heifers". J. Dairy Sci. 89, 4769–4777. http://dx.doi.org/10.3168/jds.
55. Svensson, C., Lundborg, K., Emanuelson, U., Olsson S.O. (2003). "Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases". Prev. Vet. Med, 58:179–197.

56. Umer, S.G, Munera, A.U., Fufa, D.B. (2021). "Rotavirus in Calves and Its Zoonotic Importance, Review Article Veterinary Medicine International". Article ID, 6639701, 18. https://doi.org/10.1155/2021/6639701
57. Vermunt, J. (2000). "Infectious diseases of cattle in New Zealand - Part 1. Calves and growing stock". Surveillance, 27 (2), 3–8.
58. Waltner-Toews, D., Martin, S.W., Meek, A.H. (1986). "Dairy calf management, morbidity and mortality in Ontario Holstein herds. III. Association of management with morbidity". Preventive Veterinary Medicine, 4, 137–58.
59. Zrelli, M., Messadi, L., Ben-Miled, L., Jemli ,M.H., Haddad, N. (1990). "Infectious agents associated with neonatal calf diarrhea in Tunisia". Rev Med Vet, 141, 861-872. French.