التحري عن فايروس الروتا في الكلاب*

فراس نوري حمدان , أبتسام قاسم حسن , سليم أمين حسو
فرع الطب الباطني والوقائي البيطري/ كلية الطب البيطري
جامعة بغداد

الخلاصة

جمعت 397 عينة براز من كلاب مختلفة الأعمار والأجناس والسلالات للكشف عن فايروس الروتا باستخدام طريقتي التلازن الحبيبي لاتكس والانتشار المناعي في هلام الاكار, وجمعت أيضاً عينات دم من الكلاب لدراسة التغيرات الحاصلة في الصورة الدمية.

أظهرت النتائج وجود 95 عينة موجبه لفايروس الروتا منها 23 (24.2%) مرافقه للإسهال و72 (75.8%) لم يرافقها الإسهال.

من مجموع 23 حالة إسهال بسبب فايروس الروتا، وجد أن الأعمار الصغيرة (أقل من سنه) كانت أكثر عرضه للإسهال 17 حالة مقارنةً بالأعمار الكبيرة (أكثر من سنه) 6 حالات. وتبين بأن هناك 23 حالة إسهال (25.3%) من المجموع الكلي للعينات كانت بسبب فايروس الروتا في حين وجدت 68 حالة إسهال (74.7%) كانت نتيجة أسباب جرثوميه أخرى.

لوحظ أن الأعمار الأقل من سنه كانت أكثر عرضه للجفاف منها في الأكبر عمراً. ومن النسبة الكلية للإصابة بفايروس الروتا شكلت الذكور أعلى نسبه للإصابة (53%) بالمقارنة مع الإناث (47%) وبفارق معنوي.

أظهرت سلالة Terrier نسبة أصابه عاليه بالمقارنة مع السلالات الأخرى. أثبتت الدراسة بأن اختبار التلازن الحبيبي لاتكس أكثر كفاءة من اختبار الانتشار المناعي في هلام الأكار، فقد كان عدد العينات الموجبة لفايروس الروتا باستخدام التلازن الحبيبي لاتكس 39 عينه مقارنةً بـ 18 عينه موجبه كشف عنها باختبار الانتشار المناعي في هلام الأكار. لم نجد اختلافات في الصورة الدمية التي أجريت في الكلاب الموجبة لفايروس الروتا عند مقارنتها بالعينات السالبة.

* بحث مستلا من رسالة ماجستير للباحث الأول

Investigation Of Rota Virus In Dogs

Feras N.Hamdaan,Ibtesam K. Hassan ans Saleem A.Hasso
Dept. of Vet. internal &profelactic medcinie-college of VET.MED.
Baghdad University

SUMMARY

397 fecal samples were collected from dogs of different breeds, ages and sex. Detection of rotavirus was achieved by two techniques latex agglutination test and agar gel diffusion test. Blood samples were collected to study various hematological parameters.

The results showed that 95 samples were positive to rotavirus 23 samples (24.2%) were from diarrheic cases and 72 samples (75.8%) were from non diarrheic cases.

Younger dogs were more affected with rotavirus infection 17 positive cases than older ages 6 positive cases. The results showed that diarrheic cases caused by rotavirus were 23 cases (25.3%) that were less than the diarrheic cases caused by other agents 68 cases (74.7%).

It had been shown that the ages less than one year (11 cases) were more affected with rotavirus and complication with dehydration than ages older than one year (2 cases).

It was found that the morbidity rate in males (53%) was significantly higher than females (47%).

The Terrier breed showed a high morbidity rate 42% than others Mixed, Greatdane, Goledretriver and Doberman.

Our study showed that latex agglutination test was more sensitive than agar gel diffusion test and the positive samples out of 200 samples were detected by using latex agglutination test were 39 samples while 18 positive samples by agar gel diffusion test.

There were no differences in blood parameters of the dogs that showed positive results of rotavirus in comparing them with the negative results.

The study showed that rotavirus is widely spreaded among doges with gastrointestinal diseases, it showed that latex agglutination test is more reliable for quick clinical diagnosis.

المقدمة

تعتبر الإصابة بفايروسات الروتا من المسببات المهمة التي تسبب الإسهال الحاد في الإنسان ومختلف الحيوانات في شتى أنحاء العالم (1) . عزل فايروس الروتا في الكلاب من قبل (2) حيث كانت الإصابة مرتبطة بإسهال مميت لجراء حديثة الولادة، في حين عزل (3) فايروس الروتا من براز كلاب طبيعيه لم تظهر عليها أي علامات سريريه.

بينت الدراسات إن فايروس الروتا في الكلاب واسع الانتشار (Ubiquitous nature) فقد أثبت (4) أن نسبة الكلاب التي أظهرت أجسام مضادة في مصولها بلغت (91%).

أثبت Mochizuki et al (5) أن هناك انتقال لفايروس الروتا بين الإنسان والحيوان بسبب وجود المستضد الخاص بالمجموعة فقد أثبت أنه من الأمراض المشتركة ويمكن انتقاله أيضاً من حيوان إلى آخر. وقد أكدت هذه الحقيقة عند دراسة نسبة الإصابة بفايروس الروتا في مصول الكلاب المستأنسة والسائبة 37.8% , 14.6% على التوالي (6). ونظراً لوجود تطابق مستضدي بين العتر التي تصيب الكلاب وبعض العتر التي تصيب البشر(7)، ولحصول تماس مباشر بين الكلب والإنسان فضلاً عن عدم وجود دراسات حول هذا الفايروس في الكلاب سوى دراسة واحده (8) وعلى أعداد محدودة من الكلاب, لذلك أجرينا هذا البحث لتثبيت نسب الإصابة لفايروس الروتا في براز الكلاب الظاهرة عليها علامات الإسهال وأخرى بدون علامات الإسهال مع دراسة بعض الجوانب الوبائية لفايروس الروتا من ناحية الفئة العمرية شدة الإصابة و الأجناس والسلالة وكذلك استخدام اختباري التلازن الحبيبي لاتكس والانتشار المناعي في هلام الاكار والمقارنة بينهما.

المواد وطرائق العمل

أولاً: حيوانات التجربة:

أ. – الكلاب– شملت الدراسة 397 كلباً (168 ذكراً و229 أنثى) تراوحت أعمارها ما بين شهر إلى 8 سنوات.

ب. – الحيوانات المختبرة– تضمنت حيوانات التجربة 8 أرانب نيوزلنديه بيضاء بأعمار تراوحت ما بين 9 أشهر إلى سنه وذات أوزان تراوحت ما بين 2.0-2.5 كغم.

ثانياً: جمع العينات:

أ. عينات البراز: بعد إجراء الفحص السريري الدقيق على الحيوانات جمعت 397 عينة براز من المستقيم مباشرة من الحيوانات التي كانت تعاني من الإسهال والأخرى بدون إسهال. وضعت العينات في علب بلاستيكيه نظيفة ومعقمه سعة 35 مل وأدخلت في أكياس

بلاستيكيه وحفظت في صندوق حاوي على الثلج لحين خزنها بدرجة −20ْ م خلال 1-1.5 ساعة من بدء جمع العينات.

ب. عينات الدم: جمعت 200 عينة دم من الوريد الساعدي (Radial vein) باستخدام محقنه معقمه ووضعت في أنابيب حاويه على مانع التخثر(EDTA) ونقلت مباشرة بواسطة صندوق مبرد الى المختبر لأجراء فحوصات الصورة الدمية.

ثالثاً: الاختبارات المستخدمة:

أ. اختبار التلازن الحبيبي الاتكس (Robagen)

Biokit, S.A 08186, Lissa’d’ Amunt, Barcelona Spain.

ب. اختبار الانتشار المناعي في هلام الاكار حسب تقنية Kwapiniski (9). وحضر مستضد الفايروس الخاص بالاختبار وفق تقنية Rhodes (10).

رابعاً: المصل المرجعي فائق المناعة (Reference Hyper immune Serum):

تم الحصول عليه من د.سليم أمين حسو في فرع الطب الباطني والوقائي− كلية الطب البيطري− جامعة بغداد.

خامساً: فصل الفايروس من النماذج المرضية:

بعد التأكد من وجود الفايروس في عينات البراز باستخدام اختباري التلازن الحبيبي اللاتكس والانتشار في هلام الاكار جمعت العينات الموجبة وكانت من نماذج إسهال وغير إسهال. حيث أضيف للعينات بدون الإسهال محلول الملحي الدارئ الفوسفاتي وذلك لاستخلاص الفايروس منه، رشح السائل عبر4 طبقات من الشاش الطبي والمعقم. بعدما تم نبذ الراشح بأستخدام جهاز الطرد المركزي (3000 دورة/دقيقة لمدة 30 دقيقة) أعقب ذلك فصل الراسب عن الرائق بدقه وكررت عملية فصل الرائق عن الراسب مره أخرى بجهاز الطرد المركزي وبنفس السرعة المذكورة, بعدها جمع الرائق الناتج في قناني زجاجيه معقمه سعة 250 مل وأضيف له المضادات الحياتية بمقدار

300 وحدة دوليه من البنسلين البلوري و300مايكرو غرام من الستربتومايسين والنستاتين بمقدار300 وحدة دوليه/ مل، وقد ترك بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعة ثم نبذ بجهاز الطرد المركزي وبسرعة (300 دورة/ دقيقة), بعد ذلك جمع الرائق في قناني زجاجية معقمة سعة 250 مل وحفظت بدرجة −20ْم.

سادساً: تركيز وتنقية الفايروس جزئياً:

تم تركيز وتنقية الفايروس من الرائق المحضر من النماذج المرضيه حسب طريقة النصراوي(11) باستخدام أنبوب الدليزه (Dialysis tube).

سابعاً: تحضير المصل فائق المناعة:

تم تحضير المصل فائق المناعة حسب طريقة .,Warthal et al (12) والنصراوي (11) ثم حقنت الأرانب بالمستضد الفايروسي المحضر مختبرياً 2 مل لكل حيوان اسبوعياً بالعضلة حسب طريقة (3) المحورة. جمع الدم من القلب مباشرة بكميه تتراوح بين (25-30) مل لكل حيوان. ووضع الدم في أنابيب اختبار نظيفة ومعقمه تركت لمدة 20 دقيقه بدرجة حرارة الغرفة ثم تم فصل المصل بجهاز الطرد المركزي بسرعة (2000 دورة/ دقيقه لمدة 5 دقائق)، وباستعمال ماصة باستور تم الفصل النهائي للمصل وحفظه بدرجة −20° م .

فحوصات الصورة الدمية

تم حساب عدد الخلايا الحمر والبيض يدوياً باستعمال طريقة عداد خلايا الدم (Haemocytometer) (13) والعد التفريقي من خلال صبغ الشرائح الدمية بصبغة ليشمان (Leishman stain). كذلك تم حساب حجم الخلايا المرصوص (Packed cell volume) باستعمال أنابيب شعرية (Microhemato crit capillary tubes) وجهاز الطرد المركزي (2500 دورة/ دقيقه لمدة5 دقائق). وأما حساب تركيز الهيموغلوبين أستخدمت طريقة (Cyanmethemoglobin method) .

التحليل الأحصائي

أجري اختبار التباين واختبار مربع كاي الإحصائي (X^2) لغرض تقييم نتائج اختباري اللاتكس والانتشار المناعي في هلام الاكار وأستخدم اختبار (t-test) في تقييم نتائج الدم (14).

النتائج

فحصت 397 عينة براز مأخوذة من كلاب كانت تعاني الإسهال وأخرى دون علامات إسهال باستخدام طريقة التلازن الحبيبي لاتكس وجد أن عدد العينات الموجبة بهذه الطريقة 95 عينه (23.9%)، وقد تبين أن الفئة العمرية (6 أشهر− سنه) هي الأعلى في نسبة الإصابة التي صاحبها الإسهال ثم تلتها فئة (1 يوم− 6 أشهر) ويبين التحليل الإحصائي وجود فرق معنوي لهاتين الفئتين جدول (1).

جدول (1): أعداد عينات البراز الموجبة لفايروس الروتا المصحوبة وغير المصحوبة

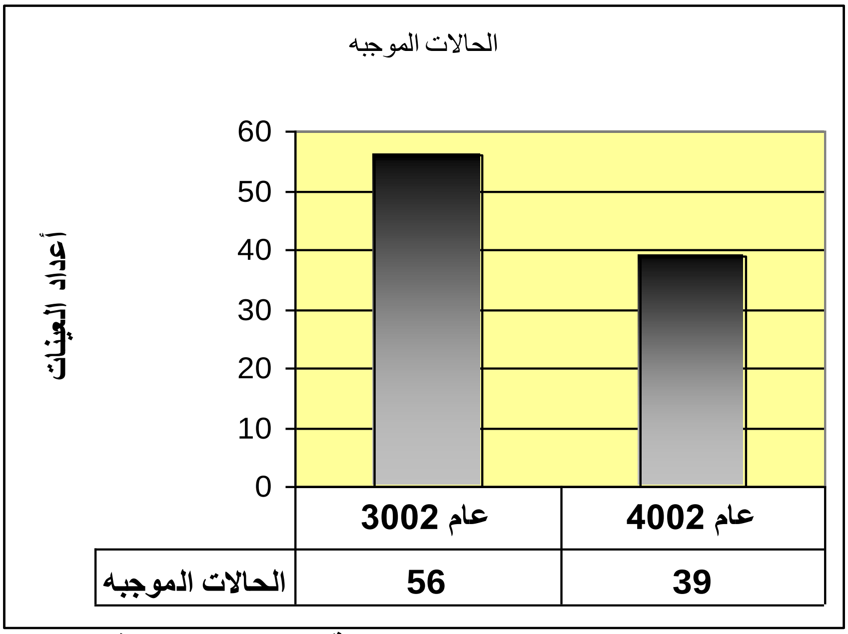
العمر	العدد(n=95)	بدون أسهال(%)	أسهال(%)
1يوم- 6 أشهر	10 (9.5%)	06 (60)	04 ** (40)
7 أشهر- 1سنه	29 ** (30.5%)	16 (55.2)	13 ** (44.8)
أكثر من 1سنه- 2 سنه	18 (18.9%)	15 (83.3)	03 (16.7)
أكثر من 2 سنه – 3 سنه	17 (17.8%)	16 (44.1)	01 (5.9)
أكثر من 3 سنه – 4 سنه	07 (14.7%)	06 (85.7)	01 (14.3)
أكثر من أربع سنوات فما فوق	14 (7.1%)	13 (92.9)	01 (7.1)
المجموع	95	72	23

بالإسهال في الكلاب موزعه حسب الفئات العمرية.

** وجود فرق معنوي كبير عند مستوى ($P<0.01$).

توضح النتائج الموضحة في الشكل (1) نسبة الإصابة بفايروس الروتا في الكلاب للسنتين (2003-2004) باستعمال اختبار التلازن لاتكس إذ تبين أن النسبة كانت أعلى في سنة 2003 بامقارنة مع سنة 2004.

وأوضحت بيانات الجدول (2) إن من مجموع95 عينة موجبة لفايروس الروتا ظهرت 72 عينة (75.8%) لم يصاحبها اسهال (قوام طبيعي). أما العينات الموجبة الباقية والبالغة 23 فمنها 9 عينات (9.5%) كانت ذات قوام لين, فيما ظهرت 14 عينة (14.7%) ذات قوام ما



شكل (1) : مخطط يوضح عدد عينات البراز الموجبة لفايروس الروتا في الكلاب للسنتين (2003-2004) باختبار التلازن الحبيبي لاتكس.

جدول(2) : قوام براز العينات الموجبه لفايروس الروتا في الكلاب.

القوام	العدد	النسبه (%)
طبيعي	72	75.8
لين	9	9.5
سائل	14	14.7

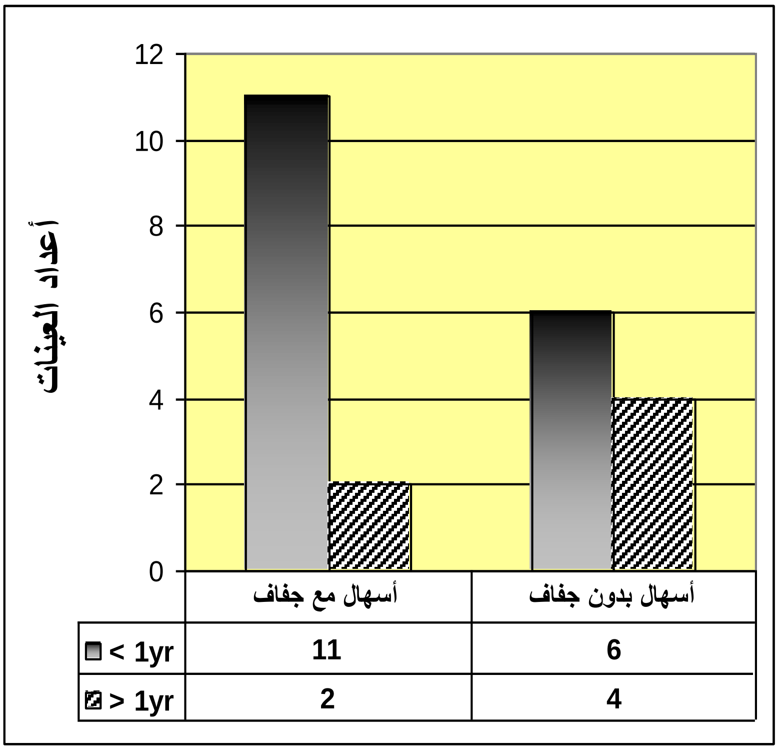
تبين البيانات في الشكل (2) إن الكلاب ذات الأعمار الصغيرة كانت أكثر عرضة للإسهال والجفاف قياساً إلى تلك الأكبر عمراً, فنسبة الإسهال ظهرت عالية في الكلاب (أقل من سنة) مقارنة بالكلاب الكبيرة (أكثر من سنة).

أظهرت النتائج ان نسبة الإصابة الكلية بفايروس الروتا باستخدام اختبار التلازن لاتكس لـ 397 عينة براز هي 23.9% وكانت نسبة الإصابة بالذكور أعلى 51 (53%) مما هو عليه في الإناث 44 (47%).

جدول(3): العلاقة بين نسبة الإصابة بفايروس الروتا مع سلالات الكلاب المدروسة.

السلالة	Terrier	Mixed	Great Dane	Germen Shepherd	Golden Retriever	Doberman
العدد	50	17	48	237	18	9
عدد العينات الموجبه	21*	05	11	54	02	01
نسبة الأصابة (%)	42.00	29.40	23.00	22.80	11.11	11.11

*وجود فرق معنوي بمستوى (P<0.05) .



شكل (2) : العلاقة بين حالات الإسهال والجفاف مع العمر.

أوضحت الدراسة (الجدول 3) بأن هناك تفاوتاً في الإصابة بفايروس الروتا بين سلالات الكلاب إذشكلت سلالة التيرير (Terrier) أعلى نسبة للإصابة بفايروس الروتا 50 (42%) .

جدول (4) : مقاييس الدم للكلاب الموجبة (إسهال) والسالبة (بدون إسهال) لفايروس الروتا.

مقاييس الدم	الوحدة	عينات موجبه (أسهال)	عينات سالبه (بدون أسهال)
العدد(N)		8	37
تركيز الهيموغلوبين (Hb)	g/dl	11.3	12.0
حجم الخلايا المرصوص (PCV)	%	47.0	39.9
متوسط تركيز الهيموغلوبين في الخلايا (MCHC)	g/dl	29	30
عدد خلايا الدم البيض	103/ml	4.0	5.70
الخلايا اللمفيه	%	24.2	26.3
الخلايا المتعادلة	%	73.0	71.0
الخلايا الحمضه	%	0.90	1.00

بينت نتائج مقاييس الدم (عد كريات الدم البيض والعد التفريقي وحجم الخلايا المرصوص وتركيز الهيموكلوبين) للكلاب ألموجبه لفايروس الروتا اختلافات ملحوظة عند مقارمتها بالسالبة منها جدول (4).

المناقشة

لا توجد دراسات حول نسبة الإصابة بفايروس الروتا في الكلاب حسب الفئة العمرية، ولهذا قارنا النتائج بالدراسات التي تخص الفئة العمرية للإنسان إذ كان هناك توافق بين نتائجنا ونتائج (15,16) أو يعزى السبب إلى الانخفاض التدريجي لمستوى الأضداد المكتسبة من الأم عن طريق اللبأ كلما تقدمت الجراء بالعمر، أضافه الى ذلك فأن جزءاً من الأمينوكلوبيولين نوع G (lgG) ينتقل من الأم إلى الجنين عبر المشيمة(17).

عند مقارنة نتائج الدراسة حول نسبة الإصابة بفايروس الروتا (23.9%) عند استخدام طريقة التلازن الحبيبي لاتكس مع دراسة الباحث (18) وجد أن نسبة الأصابه بفايروس الروتا في الكلاب وباستخدام الطريقة ذاتها كانت (1.3%)، في حين بيّن (19) أن نسبة الإصابة في براز الكلاب عند استخدامهم المجهر الألكتروني هي3%.

تلاحظ وجود تفاوت كبير في نسب الإصابة بين نتائجنا ونتائج الدراسات المذكورة أعلاه ويعود السبب ربما إلى نوع نظام التربية، إذ إن أغلب الحالات المفحوصة أخذت من أماكن يتبع فيها نظام تربيه شبه مغلق، إضافة إلى سوء الإدارة الصحية وطريقة التغذية، وكذلك ربما يعزى السبب إلى نوع التقنية المستخدمة في التشخيص إذ ان المجهر اللألكتروني يشخص ما موجود من فايروس الروتا أما التلازن الحبيبي لاتكس فيتم فيه التشخيص بالاعتماد على وجود الفايروس ومستضداته في البراز وهذا ما أيده (20) والنتائج الموضحة في شكل (1) تؤكد ما سبق ذكره إذ قورنت نسب الأصابه لعينات البراز لسنتين متتاليتين ففي سنة 2003 كانت النسبه أعلى من سنة 2004 لكون العينات في السنه الأولى أخذت من مجتمع يتبع نظام التربية شبه المغلق في مدرسة الكلاب البوليسية في حين أخذت العينات في السنه الثانيه من مشاتل مختلفه وهذا يوضح أيضاً ان الازدحام في التربية له تأثير بزيادة نسبة الأصابه بالروتا.

تبين أن عدد عينات البراز المصحوبة بالإسهال 91 عينه من المجموع الكلي وبعد فحصها باختبار التلازن الحبيبي لاتكس وجد أن 23 عينه (25.3%) موجبه للروتا و (68) عينه (74.7%) سالبه للروتا مما يدل على أن سبب الإسهال لربما تكون فايروسات أخرى أو جراثيم، فطريات أو طفيليات (4).

من 95 عينه موجبه لفايروس الروتا كانت 72 عينه (75.8%) لم يصاحبها الإسهال (قوام طبيعي) كما موضح في الجدول (2) ونرى إن هذه النسبة العالية لوجود الفايروس حسب تفسيرنا إلى احتمالية وجود إصابات غير ظاهره في الكلاب (Inapparent infection) وهذا ما أيده Oldenburg et al., (21) أو ربما يكون مصدر الفايروس الإنسان وعند انتقاله إلى الكلاب تكون الإصابة دون علامات إسهال وهذا توافق مع (22 و 6).

إن شدة الأصابه وظهور العلامات السريريه أقل حده في الكلاب عند الأصابه بفايروس الروتا وقد أيد ذلك (22) و (1) ولم تتوافق نتائجنا مع (23) إذ أثبتوا إن الإصابة بفايروس الروتا في الكلاب تكون شديدة ومميتة.

يفسر وجود البراز المائي عند الإصابة بفايروس الروتا على إن الإسهال ربما يكون من النوع الأوزموزي (Osmotic diarrhea) وهذا ما أكده (24) و (25) إذ بينوا إن السبب الرئيسي للإسهال الأوزموزي يعود إلى فقدان أنزيمات ثنائي السكرايديز (Disaccharides) والأنزيمات المعوية الأخرى.

لوحظ أن صغار الكلاب كانت أكثر عرضه للإسهال والجفاف منها في الكلاب الكبيرة (شكل 2) وهذا ربما يُفسر سبب ضعف الجهاز المناعي أو أن الكلاب لم تحصل على اللبأ اللازم أو حرمت منه, أما الكبار فتكون أكثر مقاومه ولربما تعرضت للإصابة بجرعٍ صغيره من الفايروس مما أكسبتها مناعة ضد المرض (24) .

لا توجد دراسات حول نسبة الإصابة بفايروس الروتا في الكلاب وفق الأجناس لهذا قارنا النتائج بالدراسات الأخرى التي تخص الإنسان والعجول, إذ توافقت نتائجنا مع (27) التي تبين فيها نسبة الإصابة في الذكور إلى الإناث (41 : 31) لعينات براز الأطفال الموجبة لفايروس الروتا وتطابقت نتائجنا مع نتائج الفلاحي (15) إذ كان عدد الذكور المصابين بفايروس الروتا 12 والإناث 8 عند استخدامها اختبار التلازن الحبيبي لاتكس، كذلك وجد (28) إن نسبة الإصابة بالذكور أعلى من الإناث في حين بيّن (29) والفلاحي (15) إن نسبة الإصابة في ذكور العجول هي أقل من الإناث، ان سبب الاختلاف في هذه النسب بين الأجناس في الإنسان والحيوان ما زال مبهماً، ولكن بصوره عامه يكون أنزيم اللاكتيز في المراحل المبكرة من العمر عالياً ويقل هذا المستوى مع تقدم العمر (21) ولقد فسر (29) بأن هناك اختلاف بمستوى تركيز الأنزيم بين الأجناس الذي يمكن أن يكون مرتبطاً بقابلية الإصابة (Susceptibility) ولا سيما أن أنزيم اللاكتيز يعمل على إزالة الغلاف الخارجي لفايروس الروتا مختبرياً in vitro (30).

إن سبب الاختلاف في نسب الإصابة بفايروس الروتا بين السلالات ربما يعود الى نوع التربية المتبع إذ إن سلالة التيرير عاده تربى داخل المنازل وبذلك تكون بتماس مباشر مع الإنسان الذي يؤدي دوراً في انتقال الفايروس إلى الكلاب (31 ; 29) ، ولقد أجريت في الآونة الأخير بحوث برهنت فيها انتقال عترة فايروس الروتا بين الكلاب والإنسان (Interspecies transmission) . أو ربما تكون هذه السلالة حساسة للإصابة أكثر من بقية السلالات، ولهذا يجب انتخاب السلالات الأكثر مقاومه للإصابة بفايروس الروتا لتقليل الحالات بهذا المرض.

أظهرت نتائج ألمقارنه بين اختباري التلازن الحبيبي والانتشار المناعي في هلام الأكار ان من مجموع 200 عينة براز كان عدد العينات الموجبة باستخدام اختبار التلازن الحبيبي لاتكس

39 عينه (19.5%) وعدد العينات الموجبة باستخدام اختبار الانتشار المناعي في هلام الأكار 18 عينه (9%) ومن التحليل الإحصائي تبين أن فحص التلازن لاتكس أكثر كفاءة في التشخيص من الانتشار المناعي في هلام الأكار, وقد يعود السبب إلى أن اختبار الانتشار المناعي في هلام الأكار هو أقل دقة من اختبار التلازن الحبيبي لاتكس لكونه يحتاج إلى تركيز عالٍ لكل من المستضد والأضداد للترسيب ويكشف اختبار التلازن الحبيبي لاتكس عن التراكيز الواطئة للفايروس. أو ربما يعود السبب إلى وجود تطابق جيني بين عترة القردة SA-11 وعترة الكلاب إذ إن الأمينوكلوبيولين المستخدم للتشخيص في اختبار التلازن الحبيبي لاتكس هو الأمينوكلوبيولين الخاص بعترة القردة SA-11 (31) .

إن سبب حصول تغير في حجم الخلايا المرصوص يعود إلى حصول الجفاف الناتج من الإسهال، حيث يرتفع تركيز الدم (Haemoconcentration) مع حالات الإسهال والجفاف، ونظراً لعدم وجود دراسات أشارت إلى هذا الجانب في الكلاب قورنت النتائج مع نتائج العجول وجاءت متوافقة لما وجده (32) .

المصادر

1. Kapikian, A.Z. and Chanock, R.M. (1996). Rotaviruses in: Fields Virology 3[ed] ed. Edited by Fields, B.N.; Kniope, D.M.; Howley, P.M.; Melnick, J.L.; Monath, T.P.; Chanock, R.M.; Melnick, T.P.; Roizman, B. and Straus, E., Lippinicott-Raven press, Philadelphia, Pa.1657-1708.
2. England, J.J.and Posten, R.P. (1980). Electron Microscopic identification and subsequent isolation of rotavirus from a dog with fatal neonatal diarrhea. Am.J.Vet. Res., vol.41:782-783.
3. Hoshino, Y.; Wyatt, R.G.; Scott, F.W. and Appel, M.J. (1982). Isolation and characterization of a canine rotavirus. Arch. Virol., vol.113:72:125.
4. Rimmelzwaan, G.F.; Groen, G.; Egberink, H.; Brost, G.H.A.; Utdehaag, F.G.C.M. and Osterhaus, A.D.M.E. (1991). The use of enzyme-linked immunosorbent assay system for serology and antigen detection in parvovirus, Coronavirus and rotavirus infections in dogs in the Netherlands. Vet. Micro. Vol.26:25-40.
5. Mochizuki, M. and Nakagomi, T. and Nakagomi, O. ;(1997). Isolation from diarrheal and Asymptomatic Kittens of three rotaviruses strains that belong to the AU-1/Genogroup of Human rotavirus. Clin. Microbiol. vol.35 (5):1272-1275.

6. Sugiyama, M.; Minamoto, N.; Kinjo, T. and Hoshimoto, A. (1984). A serological survey on rotavirus infection in dogs by immune adherence hemagglutination test-Nippon juigaku Zasshi. Vol.45 (5):797-799.
7. Mochizuki, M. and Mizuyo, A. (1986). Characterization of A Canine Rotavirus hemagglutination. Jpn. J. Vet. Sci. 48(5):1011-1014.
8. Hasso, S.A. (1997). Rotavirus in animals of Baghdad zoo. Iraqi J. Vet. Sci., vol. 10(2):121-124.
9. Kwapiniski, J.B.G. (1972). Methodology of Immunochemical and Immunological research. Wiley-Interscience, 341.
10. Rhodes, M.B.; Stair, E.L.; McCullough, R.A.; McGill, L.D. and Mebus, C.A. (1979). Comparison of results using electron microscope, Immunodiffusion and fluorescent antibody analysis to detect rotavirus in diarrheic fecal samples of calves. Can. J. Comp. Med., vol.43:84-89.
11. النصراوي ، عادل عطية عبد علي (1999) . تمنيع العجول حديثة الولادة ضد الأصابة بفايروس الروتا . رسالة ماجستير مقدمة الى مجلسي كلية الطب البيطري – جامعة بغداد.
12.. Warthall, A.; Wells, D.E.; Cartwright, S.F. and Frerichs, G.N. (1984). An
13.inactivated oil-Agent. Journal of Virol. Vol.52:94-98.
14. Schalm, O.W.; Jain, N.C. and Carroll, E.J. (1979). Veterinary Haematology. 3rd. edition, Lea and Febiger.
15. Snedecor,G.W. and W.G. Cochran (1969). Statiscal methods. Iowa State Uni. Press.
15.الفلاحي ، رجاء هندي صالح (1997) . دراسة مقارنة بين فايروسات الروتا المسببة للأسهال والمعزولة من الأطفال الرضع والعجول حديثة الولادة. رسالة ماجستير مقدمة الى كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .
16.. Naficy, A.B.; Abu-Elyazeed, R.; Holmes, J.L.; Rao, M.R.; Savarino, S.J.; Kim, Y.; Wierzba, T.F.; Peruski, L.;Lee, Y.J.; Gentsch, J.R.;
17. Glass, R.I. and Clemens, J.D. (1999). Epidemiology of rotavirus diarrhea in Egyptian children and implications for disease control
18. Am. J. Epid. Vol.150:770-777.
19. Tizard, I. (1982). An Introduction to Veterinary Immunology. 2nd edition Saunders. W.B. Company Philadelphia.169-170.
20. Kolbl, S.; Vogel, I.; Modli, M. and Gerstl, F. (1990). Comparison of diagnostic methods for investigation in infections of Canine Parvovirus and Rotavirus of dogs. Berl. Munch. Tierarztl. Wschr.103:232-236.
21. Gabbay, Y.B.; Homen, V.S.F.; Munford, V.; Alves, A.S.; Mascarenhas, J.D.P.; Linhaves, A.C. and Rasz, M.L.(2003). Detection of rotavirus in dogs with diarrhea in Brazil. Brazilian J. Microbiol.,vol.34:77-80.
22. Brandt,C.D,;Arndt,C.W.;Evans,G.L.;Kim,H.W.;Stallings,E.P.;Rodrigues,W. J.and Parrott,R.H.(1987).Evaluation of Latex test for

23. Rotavirus Detection.J.Clin.Micro.vol.:25 No.9 : 1800-1802.

24. Oldenburg, V.U.; Danner, K. and Krauss, H. (1984). Significance of rotavirus infection in dogs. Zbl. Vet. Med., vol.31:397-402.

25. Tzipori, S. and Makin, T. (1978). Propagation of human rotavirus in young dogs. Vet. Microbiol, vol.3:55-63.

26. Fulton, R.W.; Johnson, C.A.; Pearson, N.G. and Woode, G.N. (1981). Isolation of a rotavirus from newborn dog with diarrhea. Am.J. Vet.Res., vol.42: 841-843.

27. Johnes, B.D. (1986). Canine and feline Gastroenterology. American Animal Hospital Company. USA: 168pp.

28.25. Green, C.E.; (1990). Infections Disease of the dog and cat. Library of Congrees Cataloging-in-Publication data. Saunders Company. USA: 283-287.

29. Nakagomi, T. and Nakagomi, O. (2000). Human rotavirus HCR3 possesses a genomic RNA constellation indistinguishable from that feline and canine rotaviruses. Arch. Virol., vol.145 (11):2403-2409.

30. Gurwith, M.; Wenman, W.; Hind, D.; Feltham, S. and Greenberg, H. (1981). A prospective study of rotavirus infection in infants and young children. J. Infect. Dis., vol.144:18-224.

31. Rytlewska, M.; Baco, W.; Marek, A. and Gwizdek, A. (2000). Epidemiologi-cal and clinical characteristics of rotavirus diarrhea in children from Gdansk, Gdynia and Sopot. Med. Sci. Monit.6 (1):117-122..

32. Hasso, S.A. and Pandy, R. (1986). Possible sex Difference in the susceptibility of calves to rotavirus Infection. Can. J. Vet. Res. Vol.50:287-288