JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره یازدهم، شماره دوم، ۱۳۹۴، پیاپی ۳۱: ۱۲۸-۱۱۹

بررسی شیوع سرمی آلودگی به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* در گوسفندان استان خوزستان

ساناز رویشدزاده[۱]، محمدرحیم حاجی حاجیکلایی[۲*]، مهدی پورمهدی بروجنی[۳]، مسعود قربانپور[۴]

۱- دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۴- استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۴ خرداد ۱۳۹۳ *تاریخ پذیرش: ۳۰ مهر ۱۳۹۳*

چکیده

بیماری یون یا پاراتوبرکلوزیس که در اثر مایکوباکتریوم آویوم زیرگونه پاراتوبرکلوزیس ایجاد می‌شود، یک آنتریت گرانولوماتوزی در نشخوارکنندگان اهلی و وحشی است و معمول ترین نشانه بالینی آن در گوسفند لاغری و ریزش پشم می‌باشد. هدف از این مطالعه تعیین شیوع سرمی مایکوباکتریوم آویوم زیر گونه پاراتوبرکلوزیس در گوسفندان استان خوزستان و همچنین ارتباط آن با فاکتورهای محیطی و میزبانی بود. در این تحقیق از ۵۶۸ رأس گوسفند به طور تصادفی از شهرهای اهواز، هندیجان، باغملک، سوسنگرد، گتوند، مسجدسلیمان و دزفول نمونه گیری انجام گردید. از آزمایش الیزا جهت جستجوی پادتن ضدمایکوباکتریوم آویوم زیرگونه پاراتوبرکلوزیس استفاده شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد فراوانی آلودگی ظاهری و واقعی سرمی مایکوباکتریوم آویوم زیرگونه پاراتوبرکلوزیس در گوسفندان تحت مطالعه در استان خوزستان به ترتیب ۶/۹ و ۱۴/۴ درصد بود. بررسی‌های آماری نشان داد که ارتباط معنی داری بین سن، جنس، سابقه سقط و مناطق مختلف جغرافیایی با آلودگی سرمی وجود ندارد. با توجه به اینکه فاکتورهای فوق تنها ۴/۳ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌نمایند، بنابراین شیوع سرمی مایکوباکتریوم آویوم زیرگونه پاراتوبرکلوزیس در استان خوزستان فارغ از فاکتورهای میزبانی و محیطی می‌باشد.

کلمات کلیدی: *مایکوباکتریوم آویوم زیرگونه پاراتوبرکلوزیس، الیزا، گوسفند، خوزستان*

**نویسنده مسئول: محمدرحیم حاجی حاجیکلایی*

آدرس: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. تلفن: ۰۹۱۶۳۰۴۷۳۸۸

پست الکترونیک: mhjih@scu.ac.ir

مقدمه

پاراتوبرکلوزیس یا بیماری یون یک بیماری باکتریایی با عامل *مایکوباکتریوم آویوم زیرگونه پاراتوبرکلوزیس* می‌باشد که طیف وسیعی از زوج سمان اعم از اهلی و وحشی را آلوده می‌سازد. یون از بیماری‌های زئونوز می‌باشد که منجر به بیماری کرون در انسان می گردد (۱۸و۷،۱۷). *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* یک باکتری اسیدفست، گرم مثبت ضعیف، با اندازه ۱/۵-۰/۵ میکرون طول و ۰/۵ میکرون عرض، کند رشد، فاقد کپسول و ناتوان در تشکیل هاگ می‌باشد که برای رشد به منبع آهن نیازمند است. این باکتری یک پاتوژن داخل سلولی اختیاری است که در بافت، ماکروفاژ و سلول‌های غول پیکر لانه گزینی کرده و فرم خارج سلولی نیز می‌تواند داشته باشد. دیواره باکتری غنی از لیپید است (۲۰و۴). به روشنی ثابت شده است که *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* از طریق مدفوع دام‌های مبتلا به شکل بالینی و تحت بالینی بیماری دفع شده، و بدین ترتیب ممکن است در تماس با آب ، غذا و سرپستانک‌ها قرار بگیرد. لذا دام‌های سالم را مورد تهدید قرار داده و در نتیجه فرصتی برای ایجاد آلودگی در آنها توسط پاتوژن ایجاد می‌شود (۸و۷).

بیشترین زمان آلودگی در سنین کمتر از ۳۰ روز است ولی بیماری با علائم درمانگاهی معمولا بعد از سنین ۵-۲ سالگی اتفاق می‌افتد. به هر حال در عفونت‌های شدید گوساله‌های یک ساله هم ممکن است علائم بیماری را نشان دهند (۱۸و۴). منبع اصلی عفونت، مدفوع دام آلوده است. تجمع کود و مدفوع آلوده به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* در مزارع، مراتع و محل نگهداری دام، به جهت آلوده کردن منابع آب و غذا، مهمترین نقش را در انتقال این باکتری در میان گاوهای شیری، گوسفند، گوزن و خرگوش دارد (۱۸و۴،۸).

باکتری از راه دهان وارد دستگاه گوارش می‌شود و معمولا در مخاط روده کوچک وعقده‌های لنفاوی مزانتریک و به میزان کمتری در لوزه‌ها و عقده‌های لنفاوی حلق موضع می گیرد و توسط سلول‌های M به زیرمخاط روده انتقال می‌یابد. حضور باکتری در بافت‌های مزانشیمی مثل پارین و زیرمخاط روده کوچک باعث یکسری تغییرات آماسی می‌شود. بدین ترتیب که ابتدا نوتروفیل‌ها به ناحیه زیرمخاط نفوذ کرده و در محل حضور باکتری‌ها تجمع پیدا می کنند، به دنبال آن لنفوسیت‌ها در محل تجمع می‌یابند و سرانجام ماکروفاژها از راه می‌رسند و شروع به فاگوسیتوز باکتری می کنند. با این حال *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* نسبت به تخریب داخل سلولی مقاوم بوده لذا بیماری مزمن و طولانی مدت ایجاد می کند (۱۸و۱۰). در گوسفند و بز بیماری با لاغری مفرط همراه است. ریختن پشم، مدفوع نرم وخمیری ، بی‌اشتهایی، ناتوانی، از دیگر علایم یون می-باشد (۱۸و۴،۷).

ضخیم شدن دیواره‌ی روده به میزان ۳ تا ۴ برابر ضخامت طبیعی، همراه با چین‌خوردگی مخاط از مهم-ترین نشانه‌های کالبدگشایی بیماری یون می‌باشد، که ناشی از افزایش سلول‌های اپیتلیوئیدی در لایه‌های مخاط و زیرمخاط است. از دیگر علائم، خیزدار و بزرگ شدن عقده‌های لنفاوی مزانتریک و ایلئوسکال می‌باشد. عروق لنفاوی ممکن است حاوی شمار زیادی ندول‌های سفید رنگ کوچک ۱ تا ۴ میلی‌متری باشد که گاهی پنیری و آهکی هستند. ندول‌های مشابه یا قطعات سفید رنگی ممکن است در سطح صفاقی ایلئوم

یا محل اتصال روده‌بند به روده یا عقده‌های لنفاوی دیده شود (۱۸و۷،۸).

تشخیص عفونت تحت بالینی پاراتوبرکلوزیس در نشخوارکنندگان، بزرگترین چالش برای کنترل این بیماری می‌باشد. هرچند جداسازی *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* از مدفوع مناسب‌ترین و دقیق‌ترین روش کلینیکی برای تشخیص می‌باشد، اما رشد آرام و طولانی مدت باکتری و احتمال آلودگی محیط کشت به سایر باکتری‌ها در طی این مدت، باعث می‌شود که این روش، راه آسانی برای تشخیص نباشد. به منظور تحت نظر داشتن پیشرفت برنامه‌های کنترلی در گله‌ها، تست‌های سرولوژی عملی‌ترین روش می‌باشد. الایزا یک ابزار مناسب جهت تشخیص آنتی‌بادی علیه این باکتری در مقیاس بزرگ می‌باشد (۲۲و۷).

هدف از این مطالعه بررسی فراوانی آلودگی به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* در گوسفندان استان خوزستان با استفاده از روش الیزا و تأثیر فاکتورهای میزبانی و محیطی بر روی آن بوده است.

مواد و روش کار

۱- نمونه‌برداری

جهت بررسی حضور آنتی بادی ضد*مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* در سرم خون گوسفندان استان خوزستان، نمونه خون به طور تصادفی از ۵۶۸ رأس گوسفند طی سال ۱۳۹۱ از شهرستان‌های اهواز، هندیجان، دزفول، باغملک، گتوند، مسجدسلیمان و سوسنگرد جمع آوری گردید. نمونه خون از طریق ورید وداج، پس از ضدعفونی محل، با استفاده از لوله‌های ونوجکت اخذ گردید و با استفاده از یک پرسشنامه مشخصات گوسفندان شامل سن، جنس، سابقه سقط و منطقه جغرافیایی جمع آوری گردید. دامنه سنی گوسفندان تحت مطالعه ۱ تا ۱۰ سال (۱/۵۹±۳/۹۸) بود. فراوانی نسبی گوسفندان ماده و نر به ترتیب ۹۲/۱ و ۷/۹ درصد (به ترتیب ۵۲۳ و ۴۵ رأس) بود. فراوانی نسبی گوسفندان ماده با و بدون سابقه سقط به ترتیب ۱۱/۹ و ۸۸/۱ درصد (به ترتیب ۶۲ و ۴۶۱ رأس) بود. توزیع فراوانی گوسفندان نمونه‌گیری شده در شهرهای اهواز، هندیجان، دزفول، باغملک، گتوند، مسجدسلیمان و سوسنگرد به ترتیب ۱۹/۹، ۱۶/۲، ۱۱/۴، ۱۴/۳، ۱۲/۹، ۱۴/۸ و ۱۰/۶ درصد (به ترتیب ۱۱۳، ۹۲، ۶۵، ۸۱، ۷۳، ۸۴ و ۶۰ رأس) بود. نمونه‌های خون اخذ شده در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. بعد از گذشت ۱ تا ۲ ساعت اتصالات لخته تشکیل شده از جدار لوله آزاد گردید و لوله‌ها با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم نمونه‌های خون توسط سمپلر به آرامی از قسمت رویی لوله، برداشته شد و به میکروتیوبی که قبلاً شماره گذاری شده بود منتقل گردید. میکروتیوب‌ها در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش الیزا نگهداری شدند.

۲-آزمایش الیزا

کیت الیزای استفاده شده در این مطالعه ساخت شرکت ID.vet (Innovative Diagnostics) کشور فرانسه بود. این کیت بر اساس الیزای غیرمستقیم طراحی شده است که با این کیت آنتی بادی ضد*مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* را می‌توان در سرم و پلاسما گاو، گوسفند، بز و شیر گاو جستجو نمود. اساس این کیت اتصال آنتی بادی ضد*مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* موجود در نمونه به عصاره استخراج شده از *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* موجود در کف پلیت و تشخیص

کمپلکس‌های آنتی ژن- آنتی بادی، با کونژوگه پراکسیداز ضدپادتن گاو، گوسفند و بز است. بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت، برای جلوگیری از واکنش متقاطع، نمونه‌ها پیش از انتقال به پلیت کوت شده، با بافر خنثی کننده که حاوی *مایکوباکتریوم فلئی* می‌باشند، به مدت ۴۵-۵ دقیقه در دمای ۲۱ درجه سانتی گراد انکوبه گردیدند.

آزمایش الیزا بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام گرفت و بعد از اضافه نمودن محلول متوقف کننده به تمام گودهها میزان جذب نوری حفره‌های پلیت در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه قرائت کننده الیزا قرائت و ثبت گردید.

۳-تفسیر نتایج

طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت، اگر مقدار متوسط جذب نوری کنترل مثبت بیشتر از ۰/۳۵ و نسبت جذب نوری کنترل مثبت به کنترل منفی بیشتر از ۳ باشد دلالت بر صحت انجام آزمایش دارد. برای هر نمونه درصدS/P مطابق فرمول زیر محاسبه و بر اساس درصدS/P تفسیر نتایج صورت گرفت.

$$S/P = \frac{OD_{Sample} - OD_{NC}}{OD_{PC} - OD_{NC}} \times 100$$

طبق دستورالعمل سازنده کیت:

الف- نمونه‌هایی که درصد S/P آنها بزرگتر یا مساوی ۷۰ بودند، از نظر آلودگی مثبت تلقی شدند.

ب- نمونه‌هایی که درصد S/P آنها بزرگتر از ۶۰ و کوچکتر از ۷۰ بود، مشکوک در نظر گرفته شدند.

ج- نمونه‌هایی که درصد S/P آنها کوچکتر یا مساوی ۶۰ بود، منفی تلقی گردیدند.

۴- محاسبه شیوع واقعی

با توجه به حساسیت و ویژگی الیزا که به ترتیب ۴۵ و ۹۹ درصد می‌باشد آنچه که به عنوان نتیجه نهایی مشخص می‌گردد شیوع ظاهری می‌باشد و شیوع واقعی بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (۱۶):

$$TP = (AP+Sp-1)/(Sp+Se-1)$$

TP= شیوع واقعی

AP= شیوع ظاهری

Se= حساسیت کیت

Sp= ویژگی کیت

۵-تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ به طور توصیفی و تحلیلی بررسی شدند. به منظور تحلیل داده‌ها از آزمون دقیق فیشر و رگرسیون لاجستیک استفاده گردید. مقدار α=۰/۰۵ به عنوان سطح معنی دار آماری مد نظر قرار گرفت.

نتایج

فراوانی آلودگی سرمی به *مایکوباکتریوم آوویوم پاراتوبرکلوزیس* در گوسفندان تحت بررسی به طور کلی ۶/۹ درصد (فاصله اطمینان ۹۵٪، ۸/۸۷-۴/۸۷ درصد) بود. در جدول شماره ۲ توزیع فراوانی موارد منفی، مثبت و مشکوک به تفکیک سن ارائه گردیده است. این جدول نشان می‌دهد که به ترتیب کمترین و بیشترین موارد مثبت مربوط به دامنه سنی زیر یک سال و ۲-۱ سال است. آزمون دقیق فیشر نشان می‌دهد ارتباط بین سن و آلودگی معنی‌دار نمی‌باشد (P>۰/۰۵). رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که رابطه بین شانس آلودگی و سن (بر حسب سال) ۰/۹۶ (فاصله اطمینان ۹۵٪، ۱/۱۸- ۰/۷۸) است و در سنین بالای ۲ سال با افزایش ۱ سال سن شانس آلودگی ۴٪ کاهش می‌یابد و در نتیجه سن ۰/۱ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

جدول ۱- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد آلودگی سرمی مثبت، منفی و مشکوک به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* در گوسفندان استان خوزستان به تفکیک سن (سال)

فراوانی / دامنه سنی	منفی		مثبت		مشکوک		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
<۱	۳۴	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	۳۴	۶
۱-۲	۵۷	۸۷/۸	۶	۹/۲	۲	۳/۱	۶۵	۱۱/۵
۲-۳	۱۱۱	۸۹/۵	۱۱	۸/۹	۲	۱/۶	۱۲۴	۲۱/۸
۳-۴	۱۲۳	۹۱/۸	۱۱	۸/۲	۰	۰	۱۳۴	۲۳/۶
۴-۵	۱۱۳	۹۳/۴	۷	۵/۸	۱	۰/۸	۱۲۱	۲۱/۳
>۵	۸۵	۹۴/۴	۴	۴/۴	۱	۱/۱	۹۰	۱۵/۸
جمع کل	۵۲۳	۹۲/۱	۳۹	۶/۹	۶	۱/۱	۵۶۸	۱۰۰

در جدول شماره ۳ توزیع فراوانی موارد سرمی منفی، مثبت و مشکوک به تفکیک جنس ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد که فراونی نسبی آلودگی در جنس نر و ماده به ترتیب ۲/۲ و ۷/۳ است که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد(P>۰/۰۵). رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که شانس ابتلاء جنس ماده، ۳/۴۹ برابر جنس نر (فاصله اطمینان ۹۵٪، ۲۶/۰۴- ۰/۴۷) است و جنس ۱ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

جدول ۲- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد آلودگی سرمی منفی، مثبت و مشکوک به *مایکوباکتریوم آویوم* زیر گونه *پاراتوبرکلوزیس* در گوسفندان استان خوزستان به تفکیک جنس

فراوانی / جنس	منفی		مثبت		مشکوک		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
نر	۴۴	۹۷/۸	۱	۲/۲	۰	۰	۴۵	۷/۹
ماده	۴۷۹	۹۱/۶	۳۸	۷/۳	۶	۱/۱	۵۲۳	۹۲/۱
جمع کل	۵۲۳	۹۲/۱	۳۹	۶/۹	۶	۱/۱	۵۶۸	۱۰۰

در جدول شماره ۴ توزیع فراوانی موارد سرمی منفی، مثبت و مشکوک به تفکیک سابقه سقط ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد که فراونی نسبی آلودگی در گوسفندان با و بدون سابقه سقط به ترتیب ۹/۷ و ۶/۹ درصد است که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد (P>۰/۰۵). رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که شانس ابتلاء گوسفندان دارای سابقه سقط، ۱/۵۲ برابر (فاصله اطمینان ۹۵٪، ۳/۷۸- ۰/۶۱) گوسفندان بدون سابقه سقط است و سابقه سقط ۰/۳ درصد از تغییرات بیماری را توجیه می‌کند.

جدول ۳- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد آلودگی سرمی منفی، مثبت و مشکوک به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس*در گوسفندان استان خوزستان به تفکیک سابقه سقط

فراوانی / سابقه سقط	منفی		مثبت		مشکوک		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
دارد	۵۶	۹۰/۳	۶	۹/۷	۰	۰	۶۲	۱۱/۹
ندارد	۴۲۳	۹۱/۸	۳۲	۶/۹	۶	۱/۳	۴۶۱	۸۸/۱
جمع کل	۴۷۹	۹۲/۱	۳۸	۶/۹	۶	۱/۱	۵۲۳	۱۰۰

در جدول شماره ۵ توزیع فراوانی موارد منفی، مثبت و مشکوک به تفکیک موقعیت جغرافیایی ارائه گردیده است. این جدول نشان می‌دهد کمترین و بیشترین آلودگی به ترتیب مربوط به باغملک و گتوند است. ارتباط بین موقعیت جغرافیایی و بیماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

جدول ۴- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد آلودگی سرمی مثبت، منفی و مشکوک به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس*در گوسفندان استان خوزستان به تفکیک موقعیت جغرافیایی

فراوانی	منفی		مثبت		مشکوک		جمع کل	
موقعیت جغرافیایی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
مسجد سلیمان	۷۵	۸۹/۳	۹	۱۰/۷	۰	۰	۸۴	۱۴/۸
هندیجان	۸۶	۹۳/۵	۶	۶/۵	۰	۰	۹۲	۱۶/۲
دزفول	۶۰	۹۲/۳	۵	۷/۷	۰	۰	۶۵	۱۱/۴
اهواز	۱۰۶	۹۳/۸	۵	۴/۴	۲	۱/۸	۱۱۳	۱۹/۹
باغملک	۷۷	۹۵/۱	۳	۳/۷	۱	۱/۲	۸۱	۱۴/۳
گتوند	۶۲	۸۴/۹	۸	۱۱	۳	۴/۱	۷۳	۱۲/۹
سوسنگرد	۵۷	۹۵	۳	۵	۰	۰	۶۰	۱۰/۶
جمع کل	۵۲۳	۹۲/۱	۳۹	۶/۹	۶	۱/۱	۵۶۸	۱۰۰

رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که موقعیت جغرافیایی ۲/۹ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند. هچنین در مجموع بررسی آماری انجام شده نشان داد سن، جنس، سابقه سقط و موقعیت جغرافیایی، تنها ۴/۳ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کنند. البته هیچ کدام از متغیرهای تحت بررسی بر روی آلودگی تأثیر معنی‌داری نداشته‌اند (جدول۶).

جدول۵- مقادیر نسبت شانس فاکتورهای میزبانی و محیط

فاکتور		نسبت شانس	فاصله اطمینان ۹۵ درصد
سن		۰/۹۵	۱/۲۴- ۰/۸
جنس	نر	-	-
	ماده	۳/۲۲	۲۴/۵۶- ۰/۴۲
سابقه سقط	ندارد	-	-
	دارد	۱/۶۷	۴۳/۷۸- ۰/۵۸
موقعیت جغرافیایی	باغملک	-	-
	هندیجان	-	-
	دزفول	۱/۷۸	۷/۳۷-۰/۴۳
	اهواز	۲/۰۱	۸/۷۶-۰/۴۶
	مسجدسلیمان	۱/۰۴	۴/۹۴-۰/۲۲
	گتوند	۲/۸۴	۱۱/۳۲-۰/۷۱
	سوسنگرد	۳/۳۶	۱۳/۳۱-۰/۸۵
		۱/۳۹	۷/۱۸-۰/۲۷

بنابراین با توجه به اینکه فراوانی آلودگی به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* ۶/۹ درصد تعیین شده است و با توجه به اینکه حساسیت و ویژگی کیت به ترتیب ۴۵ و ۹۹ درصد اعلام گردیده، لذا فراوانی واقعی در این مطالعه ۱۴/۴ درصد می‌باشد.

بحث

در مطالعات قبلی که بر روی دام‌های ارجاعی به کشتارگاه اهواز جهت تعیین فراوانی آلودگی به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* با استفاده از روش رنگ آمیزی زیل نیلسن صورت گرفته، فراوانی آلودگی در گوسفند، بز، گاو و گاومیش ۰/۹۶، ۱/۴، ۲ و ۳ درصد گزارش شده است (۱۱و۲،۳). تحقیق حاضر یک بررسی سرولوژیک بوده که شیوع آلودگی سرمی به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* را در گوسفندان استان

خوزستان برای اولین بار ارزیابی نموده و ارتباط آن را با فاکتورهای میزبانی و محیطی نشان داده است. نتایج این بررسی نمایان می‌سازد که آنتی بادی ضد*مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* در گوسفندان استان خوزستان وجود دارد و فراوانی ظاهری آن ۶/۹ درصد و فراوانی واقعی آن ۱۴/۴ درصد است.

مطالعاتی در خصوص فراوانی آلودگی به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* در ایران صورت گرفته است که عمدتاً با استفاده از گسترش تهیه شده از قسمت‌های مختلف روده و مدفوع و رنگ‌آمیزی زیل نیلسن انجام گرفته است. بطوری که حاجیکلایی و همکاران (۱۳۸۰) در یک بررسی روی ۲۰۸ رأس گوسفند و ۲۰۸ رأس بز در کشتارگاه اهواز، به روش تهیه گسترش از مخاط ایلئوم انتهایی، دریچه ایلئوسکال، رکتوم، عقده لنفاوی ایلئوسکال و مدفوع و سپس با استفاده از رنگ آمیزی زیل نیلسن، ۰/۹۶ درصد از گوسفندان و ۱/۴ درصد بزها را آلوده به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* گزارش کردند (۳). ایرائی (۱۳۷۸) به روش تهیه گسترش از عقده‌های لنفاوی، درصد آلودگی گوسفندان و بزها در استان ایلام را به ترتیب ۱/۵ و ۲/۵ درصد گزارش کرد (۱). خانقاهی ابیانه (۱۳۷۳) نیز در یک بررسی به شیوه تهیه گسترش از عقده‌های لنفاوی، درصد آلودگی در گوسفندان و بزهای ارجاعی به کشتارگاه‌های اطراف تهران را به ترتیب ۱/۹ و ۶ درصد گزارش کرد (۵). با مشاهده نتایج این مطالعات بخصوص مطالعه حاجیکلایی و همکاران (۱۳۸۰) و مقایسه آنها با مطالعه حاضر مشخص می‌گردد که اختلاف معنی داری از نظر میزان فراوانی آلودگی به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* وجود دارد. گرچه تفاوت مشاهده شده را می‌توان به اختلاف در وضعیت آب و هوایی، نوع مدیریت، اندازه گله، روش نمونه‌گیری، حجم نمونه و روش آزمایش نسبت داد، ولی به نظر می‌رسد از بین دلایل فوق نوع روش آزمایش، بخصوص مقایسه این مطالعه با مطالعات قبلی که در اهواز انجام گرفت از اهمیت بیشتری برخوردار است. گرچه در تمام مطالعات فوق از روش رنگ آمیزی زیل نیلسن در قسمتهای مختلف روده و عقده لنفاوی دریچه ایلئوسکال استفاده شده در حالی که مطالعه حاضر با روش الیزا انجام شده است. از روش‌های مختلف برای تشخیص آلودگی به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* استفاده می‌شود که شامل کشت مدفوع، تهیه گسترش از مدفوع و مخاط رکتوم و رنگ‌آمیزی زیل نیلسن، PCR و آزمایش سرولوژی مانند CFT، AGID و الیزا می‌باشد. بطور قطع با توجه به تفاوت در حساسیت و ویژگی این تست‌ها بر حسب اینکه از کدام روش استفاده شده باشد نتایج با همدیگر می‌توانند اختلاف داشته باشند.در حالی که حساسیت و ویژگی بررسی میکروسکوپی (رنگ-آمیزی زیل نیلسن) با شک و تردید همراه بوده و آن را به یک آزمایش غیر قابل اعتماد حتی در موارد مشکوک به اشکال بالینی بیماری تبدیل کرده است ولی حساسیت و ویژگی الیزا در تشخیص آلودگی به *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* در گوسفند و بز شبیه گاو و به ترتیب ۴۵ درصد و ۹۹ درصد می‌باشد (۱۸).

آلودگی به *مایکوباکتریوم آویوم زیرگونه پاراتوبرکلوزیس* در جمعیت گوسفندان در منطقه Umbria در ایتالیا ۴/۸ درصد (۱۵)، در منطقه Trapani در ایتالیا ۳/۴ درصد (۲۱)، در استرالیا ۴/۴-۲/۴ درصد (۱۹)، در شمال یونان ۲۱/۱ درصد (۹) گزارش گردید،

شیوع ظاهری و شیوع واقعی در گله‌های بزهای شیری در فرانسه به ترتیب ۵۵/۲ درصد و ۶۲/۹ درصد (۱۶)، و در منطقه مادرید در اسپانیا شیوع ظاهری و شیوع واقعی در گله‌های گوسفند و بز به ترتیب ۱۱/۷ درصد و ۴۴ درصد گزارش شده است (۱۴). تفاوت مشاهده شده را می‌توان به اختلاف در وضعیت آب و هوایی، نوع مدیریت، اندازه گله، روش نمونه‌گیری، حجم نمونه و روش آزمایش نسبت داد. گرچه در این مطالعه ارتباط بین موقعیت جغرافیایی و آلودگی معنی دار نبود و موقعیت جغرافیایی ۲/۹ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه کرد. از جمله عوامل تاثیر گذار بر میزان آلودگی تعداد دام‌های موجود در یک گله، نحوه نگهداری آنها (در اصطبل یا در محیط باز) و نژاد می‌باشد (۸،۱۲،۱۴،۱۸).

بررسی حاضر نشان داده است که جنس به عنوان فاکتور خطری برای ابتلا به عفونت محسوب نمی‌شود. هر چند در مطالعات انجام شده توسط حاجیکلایی و همکاران (۱۳۸۰) بیان شد تمام گوسفندان آلوده، ماده و تمام بزهای آلوده، نر بودند، و اختلاف معنی داری بین دو جنس نر و ماده مشاهده گردید، ولی برخی منابع نیز نشان می‌دهند که حساسیت جنسی نسبت به بیماری یون در گوسفند و بز وجود ندارد (۱۳و۶،۵،۲،۱).

بررسی توزیع سنی آلودگی نشان داد که ارتباط بین سن و آلودگی معنی دار نمی‌باشد و سن ۰/۱ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند. بررسی مطالعات نشان می_دهد که تاثیر سن بر روی آلودگی متغیر است(۲،۷). آلودگی معمولا در سنین پایین بخصوص از بدو تولد و در سن زیر یک ماهگی اتفاق می‌افتد و علائم بالینی معمولا بعد از ۲ سالگی بروز می‌نماید.

سابقه سقط تنها ۰/۳ درصد از تغییرات میزان آلودگی را توجیه می‌کند. از این نتیجه چنین بر می‌آید که *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* به عنوان یک عامل سقط در گوسفندان استان مطرح نمی‌باشد. هرچند بدیهی است به دنبال تحلیل عضلانی، لاغری و ضعف احتمال سقط در دام‌های تحت بالینی امکان پذیر باشد (۱۸).

گرچه این مطالعه در دام‌های به ظاهر سالم انجام گرفته است و بنظر می‌رسد دام‌های سرم مثبت از آلودگی تحت بالینی رنج می‌برند ولی با توجه به بالا بودن آلودگی سرمی واقعی، *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* در گوسفندان ارجاعی به کلینک‌های دامپزشکی باید به عنوان یکی از عوامل اختلات بخصوص لاغری مد نظر قرار گیرد. از طرف دیگر به دلیل اینکه فاکتورهایی مانند سن، جنس، سابقه سقط و منطقه جغرافیایی تنها ۴/۳ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کنند، می‌توان بیان داشت که شیوع سرمی *مایکوباکتریوم آویوم* زیرگونه *پاراتوبرکلوزیس* در استان خوزستان فارغ از فاکتورهای میزبانی و محیطی می‌باشد.

منابع

۱. ایرائی، م. (۱۳۷۸). بررسی کشتارگاهی شیوع آلودگی به یون در جمعیت گوسفند و بز در استان ایلام. *مجموعه مقالات یازدهمین کنگره دامپزشکی ایران*، صفحات: ۱۸۳- ۱۸۰

۲. حاجیکلایی، م.ر.، قربانپور نجف آبادی، م.، امیرسلیمانی، م. (۱۳۸۷). مطالعه فراوانی آلودگی به *مایکوباکتریوم آویوم پاراتوبرکلوزیس* در گاومیش‌های کشتارگاه اهواز. *مجله علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد*، جلد ۲، شماره ۱، صفحات: ۵۸-۵۵.

۳. حاجیکلایی، م.ر.، قربانپور نجف آبادی، م.، فردبیجارکناری، ا. (۱۳۸۰). بررسی فراوانی آلودگی به *مایکوباکتریوم آویوم پاراتوبرکلوزیس* در گوسفند و بز ارجاعی به کشتارگاه اهواز. *مجله علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز*، جلد ۴، شماره ۲، صفحات: ۵-۱.

۴. حسنی طباطبایی، ع.، فیروزی، ر. (۱۳۸۴). *بیماری‌های باکتریایی دام*. چاپ دوم. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، صفحات: ۴۲۵-۴۱۴.

۵. خانقاهی‌ابیانه، ح. (۱۳۷۳). بررسی کشتارگاهی میزان آلودگی به *مایکوباکتریوم پاراتوبرکلوزیس* در گوسفند و بز بومی. پایان نامه دکتری عمومی دامپزشکی از دانشگاه تهران، شماره ۲۲۶۲.

6. Anderson, N.V., Robert, G.H., Alfred, M.M., Robert, H.W.H. (1992). *Veterinary Gastroenterology*, 2nd ed., Lea and Febiger, London, PP: 783-9, 790-1.
7. Attili, A.R., Ngu, N.V., Preziuso, S., Pacifici, L., Domesi, A., Cuteri, V. (2011).Ovine paratuberculosis: a seroprevalence study in dairy flocks reared in the Marche region, Italy. *Veterinary Medicine International Journal* **54**: 1-10.
8. Coelho, A.C., Pinto, M.L., Coelho, A.M., Aires, A., Rogrigues, J. (2010). A seroepidemiological survey of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in sheep from the North of Portugal. *Pesquisa Veterinária Brasileira Journa* **30**: 903-8.
9. Dimareli-Malli, Z., Stevenson, K., Sarris, K., Sossidou, K. (2009). Study of microbiological and molecular typing aspects of paratuberculosis in sheep and goats in Northern Greece. *Transboundary and Emerging Diseases* **56**: 285-90.
10. Hailat, N.Q., Hananeh, W., Metekia, A.S., Stabel, J.R., Al-Majali, A., Lafi, S. (2010). Pathology of subclinical paratuberculosis (Johne's disease) in Awassi sheep with reference to its occurrence in Jordan. *Veterinary Medicine* **55**: 590-602.
11. Haji Hajikolaei, M.R., Ghorbanpoor, M., Amirsolaimani, M. (2006). The prevalence of *Mycobacterium paratuberculosis* infection in ileocecal valve of cattle slaughtered in Ahvaz abattoir, southern Iran. *Iranian journal of veterinary research* 7: 77-80.
12. Jakobsen, M.B., Alban, L., Nielsen, S.S. (2000). A cross-sectional study of paratuberculosis in 1155 Danish dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine* **46**: 15-27.
13. Kimberling, C.B. (1988). *Sheep Diseases*, 3th ed., Febiger, London, pp: 233-8.
14. Mainar-Jaime, R.C., Vázquez-Boland, J.A. (1998). Factors associated with seroprevalence to *Mycobacterium paratuberculosis* in small-ruminants farms in the Madrid regions (Spain). *Preventive Veterinary Medicine* **34**: 317-27.
15. Maresca, C., Giorgi, G., Feliziani, F., Colini, E., Battistacci, L., Moscati, L. (1999). Indagine epidemiologica sulla paratubercolosio vinanel territorio di una A.S.L. dellaregione Umbria (with English abstract). *Large Animals Review* **5**: 71-4.
16. Mercier, P., Baudry, C., Beaudeau, F., Seegers, H., Malher, X. (2010). Estimated prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in herds of dairy goats in France. *Veterinary Record* **167**: 412-5.
17. Pruvot, M., Forde, T.L., Steele, J., Kutz, S.J., Buck, J.D., Meer, F.V.D., Orsel, K. (2013). The modification and evaluation of an ELISA for the surveillance of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in wild ruminants. *BMC Veterinary Research* **9**: 1-8.
18. Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D. (2007). *Veterinary Medicine, A Textbook of Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*, Vol. 2, 10th ed., Saunders, pp: 1017-43.
19. Sergeant, E.S.G., Baldock, F.C. (2002). The estimated prevalence of Johne's disease infected sheep flocks in Australia. *Australian Veterinary Journal* **80**: 762-8.
20. Smith, B.P. (2002). *Large Animal Internal Medicine*. 3rd ed., Mosby Elsevier, London, pp: 779-83.
21. Villari, S., Castiglione, F., Monteverde, V. (2009). Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) in ovine and caprine farms in Trapani, Sicily. *Proceedings of the 17th International Congress of Mediterranean Federation of Health and Production of Ruminants*, Perugia, Italy, pp: 117-8.
22. Whittington, R.J., Marsh, I.B., Saunders, V., Grant, I.R., Juste, R., Sevilla, I.A., Manning, E.J.B., Whitlock, R.H. (2011). Culture phenotypes of genomically and geographically diverse *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolates from different hosts. *Journal of Clinical Microbiology* **49**: 1822-30.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 11, Issue 2, 2015

Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in sheep in Khuzestan province

Roveyshedzadeh, S.[1], Haji Hajikolaei, M.R.[2*], Pourmehdi Boroujeni, M.[3], Ghorbanpoor, M.[4]

1. Graduated of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3. Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
4. Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received Date: 25 May 2014 *Accepted Date: 22 October 2014*

Abstract: *John's disease (Paratuberculosis) caused by Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis is a granulomatous enteritis in domestic and wild ruminants. In sheep the most common of clinical sings are emaciation and shedding of wool. The aim of this study was to evaluate the seroprevalence of Mycobacterium avium paratuberculosis infection and association of this organism with host and environmental determinants in sheep in Khuzestan province. Serum samples from 568 sheep were randomly collected in Ahvaz, Hendijan, Baghmalek, Susangerd, Gotvand, Masjedsoleyman and Dezfool cities and were examined by ELISA assay, according to the manufacturer instruction. Apparent and true seroprevalence rate of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis was 6.9% and 14.4%, respectively. Statistical analysis showed there was not significant correlation between age, sex, history of abortion and geographical location with serological infection. Logistic regression showed that only 4.3% of fluctuation of infection was justified by these factors. It is concluded that seroprevalence of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis not dependent to host and environmental factors.*

Keywords: *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, ELISA, Sheep, Khuzestan*

**Corresponding author: Haji Hajikolaei, M.R.*
Address: Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. Tel: +989163047833
Email: mhajih@scu.ac.ir