بررسی شیوع سرمی فرم تحت بالینی بیماری یون در گاوداری‌های شیری استان تهران با استفاده از آزمون الایزای جذبی

ارکیده حیدرنژاد[۱]، شهاب‌الدین صافی[۲*]، نادر مصوری[۳]، روح‌اله کشاورز[۳]

چکیده

مایکوباکتریوم آویوم تحت گونه پاراتوبرکلوزیس عامل بیماری یون در نشخوار کنندگان بوده و از انسان نیز جداشده است. در مورد شیوع بیماری در مناطق مختلف کشور، اطلاعات آماری دقیقی در دسترس نیست. هدف از این مطالعه بررسی میزان شیوع بیماری یون تحت بالینی در گله‌های گاو شیری در استان تهران می‌باشد. آگاهی از شیوع بیماری و خسارات ناشی از آن، می‌تواند نقش مهمی درمدیریت مزارع درگیر داشته باشد. در این مطالعه که در سال‌های ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۳ انجام گردید، به ۱٤ گاوداری شیری در استان تهران مراجعه و ۳۳۸ نمونه سرمی و مدفوع اخذ گردید. بررسی سرمی بیماری با کیت الایزای جذبی (PARACHEK2) در بخش توبرکولین موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی انجام شد. جهت تایید تشخیص، کشت مدفوع و Nested-PCR انجام گرفت. میزان شیوع بیماری بر اساس الایزا ۹/۵٪ (۱۳/۲۳-۶/۶۶: CI ۹۵٪) و بر اساس کشت، ۳/۶٪ محاسبه گردید (۷/۲۷-۱/۶۹ CI: ۹۵٪). همچنین میزان شیوع گله‌ای بیماری بر اساس کشت، ۲۸/۶٪ (۵۷/۹۹-۹/۸۵: CI ۹۵٪) و الایزا ٥۷/۱٤٪ محاسبه شد (۸۱/۱۹-۲۹/٦٥: CI۹۵٪). به منظور ارزیابی ارزش تشخیصی آزمون الایزا، نتایج الایزا با کشت باکتریایی مدفوع به عنوان آزمون استاندارد طلایی مقایسه گردید. با توجه به نتایج بدست آمده، الایزا به دلیل سهولت نمونه‌گیری، سرعت و قیمت مناسب، آزمون غربالگری مطلوبی برای تشخیص پاراتوبرکلوزیس می‌باشد. همچنین پیشنهاد می‌گردد برنامه‌های دقیق کنترلی بر اساس میزان شیوع بیماری در استان تهران انجام گردد.

واژگان کلیدی: *شیوع، بیماری یون، الایزا، مایکوباکتریوم آویوم تحت گونه پاراتوبرکلوزیس، گاو*

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۲٦ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۱۰

مقدمه

بیماری یون (پاراتوبرکلوزیس) آنتریت مزمن، کشنده و پیشرونده‌ای است که در نشخوار کنندگان اهلی و وحشی مثل گاو، گوسفند، بز، آهو و... دیده شده و بوسیله مایکوباکتریوم آویوم تحت گونه پاراتوبرکلوزیس (Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis) ایجاد می‌شود. این باکتری به کندی و سختی رشد نموده و اسید فست می‌باشد (۱۳ و ۱،۱۱). مرحله پیش بالینی آن طولانی بوده و دارو درمانی برای آن غیرموثر و غیراقتصادی می‌باشد. پاراتوبرکلوزیس در لیست بیماری‌های The World Organization for Animal Health (*OIE*) در گروه B قرار گرفته و محدودیت‌های تجاری ایجاد می‌نماید(۱٤). عامل بیماری از پریمات‌ها از جمله انسان نیز جدا شده و ممکن است عامل بیماری کرون در انسان، از طریق مصرف شیر یا فرآورده های آلوده شیر، منتقل شود. در رابطه با مشترک بودن بیماری، مطالعات متعددی صورت گرفته، هر چند اتفاق نظر در این مورد وجود ندارد (۱۷و۸،۳،۱۵). شایعترین راه ابتلا به بیماری یون، آلودگی مدفوعی- دهانی گوساله ها با عامل بیماری بوده، هر چند انتقال داخل رحمی نیز گزارش شده است (۵). در این بیماری سوء جذب مواد مغذی، منجر به تعادل منفی انرژی شده و انتروپاتی با از دست دادن پروتئین، سبب اسهال متناوب یا مداوم می‌گردد که به آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای ضدانگلی پاسخ نداده و منجر به کاهش وزن پیش رونده، ضعف و در نهایت مرگ می‌شود (۲۱و۱۵،۱۰). پاراتوبرکلوزیس به علت کشتار قبل از موعد، کاهش ارزش لاشه، کاهش وزن گیری، افزایش استعداد ابتلا به عفونت‌های دیگر، کاهش باروری (به علت کاهش شکل‌گیری جسم زرد و پروژسترون سرم)، کاهش بهره‌وری، کاهش کیفیت و کمیت شیر و به علاوه هزینه‌های دامپزشکی، تاثیر اقتصادی زیادی بر صنعـت دامپـروری داشته و در مطالعه‌ای در آمریکا خسارت

۱- موسسه آموزش عالی علمی کاربردی و مهارتی جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
*۲- گروه پاتولوژی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
safishahab@yahoo.com
۳- عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، بخش توبرکولین، کرج، ایران

ناشی از آن، ۲۵۰ دلار به ازای هر گاو در سال تخمین زده شده است (۲۰و۱٦، ٤). این بیماری انتشار جهانی داشته و در ایران نیز سالیان متمادی است که حضور این بیماری به تائید رسیده است و به تبع این حضور خسارات جبران ناپذیری به صنعت دامپروری و تولیدات دامی ما وارد شده و می‌شود. بیماری بسته به شدت علائم بالینی، پتانسیل دفع ارگانیسم به محیط و سهولت جستجو و تشخیص بیماری با استفاده از روش‌های رایج، می‌تواند در ٤ مرحله، مرحله خاموش، عفونت تحت بالینی، عفونت بالینی و عفونت بالینی پیشرفته طبقه بندی شود(۲۰). بیماری یون از بیماری‌هایی محسوب می‌شود که مدیریت مزارع درگیر می‌تواند نقش مهمی را در آینده گله بر عهده داشته باشد. عدم توجه به گسترش بیماری می‌تواند به آلوده شدن کل گله و در نتیجه از بین رفتن دام‌ها بیانجامد (۷). به علت خصوصیات ویژه این بیماری به لحاظ دوره کمون طولانی و اشکال خاموش و تحت بالینی دامداران توجه کمتری به اهمیت بیماری داشته، لذا آگاهی از میزان شیوع بیماری، خطرات و خسارات ناشی از اشکال تحت بالینی، می‌تواند به کنترل بیماری کمک شایان توجهی کند. هدف از این مطالعه بررسی میزان آلودگی بیماری یون در فاز تحت بالینی در تعدادی از گله‌های گاو شیری در استان تهران می‌باشد.

مواد و روش کار

در این مطالعه که در سال‌های ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۳ انجام گردید، به ۱٤ گاوداری صنعتی شیری در اطراف تهران (پاکدشت، ورامین، اسلامشهر، شهریار و احمدآباد مستوفی) مراجعه شده و از گله‌ای با اندازه کوچک، متوسط و بزرگ ۳۳۸ نمونه سرمی و مدفوعی اخذ گردید. نمونه‌گیری از گاوهای ماده بالای ۱۸ ماه با اخذ تاریخچه (شامل سن و تعداد زایش) بدون حضور علائم بالینی مشخص و به ظاهر سالم، به طور تصادفی و با توجه به حجم گله اخذ گردید. حجم نمونه به نحوی انتخاب شد تا آزمون‌های آماری مورد استفاده و همچنین روش‌های برآورد شیوع در سطح خطای نوع اول پنج درصد (۰/۰۵) حداقل دارای توان ۸۰ درصد باشند. به منظور اخذ نمونه‌های سرمی، از ورید دمی دام‌های تحت مطالعه خونگیری انجام شده و پس از نمونه گیری و ذکر اطلاعات لازم روی لوله‌های نمونه‌گیری به آزمایشگاه بخش توبرکولین موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی انتقال داده شد و پس از جداسازی سرم از خون، نمونه‌ها، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز شده تا با روش Absorbed ELISA آزمایش شوند. نمونه‌های مدفوع همزمان از همان گاوها با تخریش مخاط رکتوم اخذ شده و در ظروف در بسته استریل شماره گذاری شده، کنار یخ، به آزمایشگاه بخش توبرکولین موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی ارسال گردید و تا زمان آزمایش در فریزر ۷۰- درجه نگهداری شد.

الایزای نمونه‌های سرمی

کیت الایزای به کار گرفته شده (PARACHEK2) در این تحقیق با روش الایزای غیرمستقیم (جستجوی آنتی بادی) و جذبی، MAP را در سرم گاو جستجو می‌کند. در مرحله اول نمونه در سرم رقیق شده و در بافر حاوی آنتی بادی مایکوباکتریوم فلئی انکوبه گردید. سایر مراحل مطابق دستورالعمل کیت انجام شده و در نهایت جذب نوری هر گوده با استفاده از دستگاه الایزا ریدر قرائت گردید. سپس طبق فرمول مندرج در کیت موارد مثبت، مشکوک و منفی مشخص گردید.

کشت نمونه‌های مدفوع

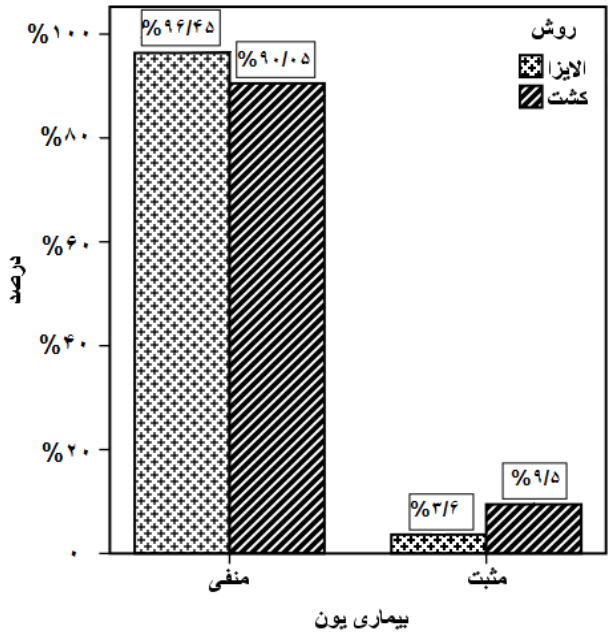
به منظور تایید نتایج الایزا، کشت مدفوع جهت شناسایی MAP در محیط کشت اختصاصی Herrold's Egg Yolk Medium با و بدون مایکوباکتین (به ترتیب ۳ و ۱ لوله) طبق روش OIE انجام گردید (۱٤). برای تایید مولکولی باکتری های رشد کرده، پس از استخراج DNA از پرگنه‌ای موجود، آزمایش Nested-PCR با پرایمرهای مربوط به IS900 شامل P91 و P90 در دور اول و Av1, Av2 در دور دوم قرار گرفت (۱۲). همچنین از پرگنه‌های رشد کرده در محیط کشت، گسترش تهیه و با رنگ آمیزی زیل ـ نلسون مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش آماری

در این مطالعه برای برآورد نقطه‌ای شیوع بیماری یون در گاوداری های شیری از روش برآورد نسبت و جهت برآورد فاصله ای از روش برآورد فاصله اطمینان Wald استفاده گردید. آزمون مقایسه دو نسبت جهت مقایسه نسبت شیوع با دو روش الایزا و کشت استفاده گردید. خطای نوع اول در این مطالعه پنج درصد (سطح معناداری) و ضریب اطمینان ۹۵ درصد در نظر گرفته شد. نرم افزار استفاده شده R version 3.2 می‌باشد.

نتایج

از مجموع ۳۳۸ نمونه سرمی آزمایش شده با الایزا، ۳۲ مورد مثبت (۹/۵ درصد) و ۳۰۶ مورد (۹۰/۵ درصد) منفی به دست آمد. همچنین از ۲۲۱ نمونه کشت داده شده ۸ مورد مثبت (۳/۶ درصد) و ۲۱۳ مورد منفی (۹۶/٤ درصد) منفی بود. تمام نمونه‌هایی که روی محیط هرولد با مایکوباکتین جی رشد کرده بودند، آزمون مولکولی و گسترش با رنگ آمیزی ذیل- نیلسون مثبت گردید (نگاره های۱، ۲ و ۳). میزان شیوع بیماری بر اساس الایزا ۹/۵٪ (۱۳/۲۳-٦/٦٦ :CI ۹۵٪) و بر اساس کشت، ۳/٦٪ محاسبه گردید (۷/۲۷-۱/٦۹ CI:۹۵٪). نمودار ۱، درصد تعداد موارد مثبت و منفی بیماری یون را به تفکیک دو روش الایزا و کشت نشان می‌دهد (نمودار و جدول ۱). مقایسه میزان شیوع دو روش نشان می‌دهد که روش الایزا به طور معناداری شیوع بالاتری نسبت به روش کشت دارد (P value =۰/۰۱٤۱). میزان شیوع گله ای بیماری بر پایه روش کشت ۲۸/٦٪ (۵۷/۹۹-۹/۸۵ :CI ۹۵٪) و بر اساس الایزا ۵۷/۱٤٪ محاسبه شد (۸۱/۱۹-۲۹/٦۵ :CI۹۵٪) (نمودار ۱). به منظور ارزیابی ارزش تشخیصی آزمون الایزا، نتایج الایزا با نتایج کشت باکتریایی مدفوع به عنوان آزمون استاندارد طلایی مقایسه گردید و حساسیت (Sensitivity) و ویژگی (Specificity) بالینی، ارزش اخباری مثبت (Positive predictive value) و منفی predictive (Negative value) آن محاسبه گردید. با توجه به محاسبات صورت گرفته حساسیت و ویژگی به ترتیب ۸۳/۳۳ و ۹۳/٦۱ درصد اعلام گردید. ارقام مربوط به سایر موارد در جدول۲ آورده شده است (جدول ۲).



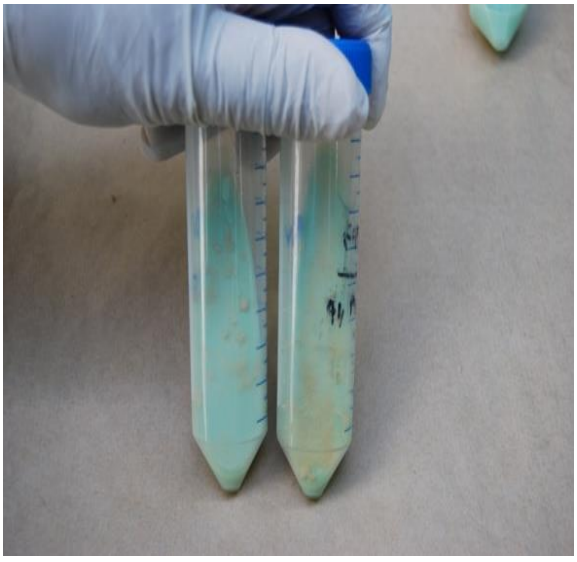
نمودار ۱: مقایسه درصد موارد مثبت و منفی بر اساس دو روش الایزا و کشت

جدول ۱: مقایسه نتایج الایزای سرم و کشت مدفوع و میزان شیوع با دو آزمون

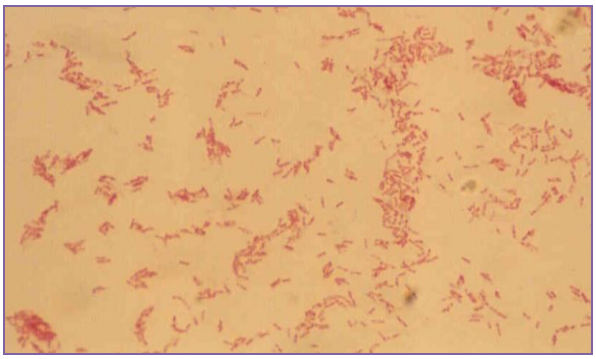
	نتایج الایزای سرم	نتایج کشت مدفوع
تعداد نمونه‌های مثبت	۳۲	۸
درصد نمونه‌های مثبت	٪۹/۵	٪۳/٦
تعداد نمونه‌های منفی	۳۰٦	۲۱۳
درصد نمونه‌های منفی	٪۹۰/۵	٪۹٤/٦
میزان شیوع	٪۹/۵	٪۳/٦
تعداد کل نمونه‌ها	۳۳۸	۲۲۱

جدول ۲ـ ارزیابی ارزش تشخیصی آزمون الایزا در مقایسه با کشت به عنوان آزمون استاندارد طلایی

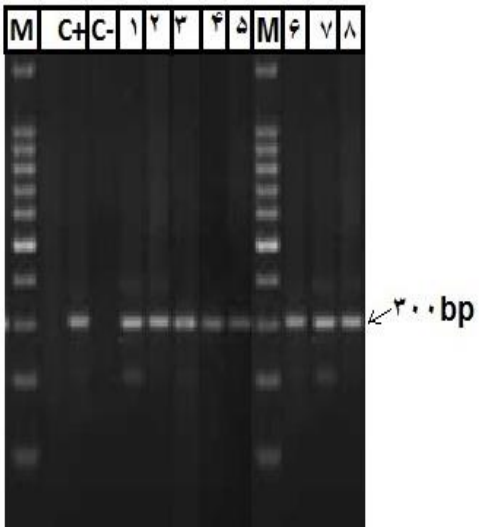
مقایسه آزمون الایزا با کشت		
Diagnostic test	Value	CI ٪۹۵
Sensitivity	٪۸۳/۳۳	٪۳۶/۱۰ – ٪۹۷/۲٤
Specificity	٪۹۳/٦۱	٪۸۹/۵۱ – ٪۹٦/٤٦
Positive Likelihood Ratio	٪۱۳/۰٤	۷/۰۱ –۲٤/۲٤
Negative Likelihood Ratio	٪۰/۱۸	۰/۰۳ – ۰/۷۱
Positive Predictive Value	٪۲٦/۳۲	٪۹/۲۵ – ٪۵۱/۲۰
Negative Predictive Value	٪۹۹/۵۱	٪۹۷/۳۱ – ٪۹۹/۹۲



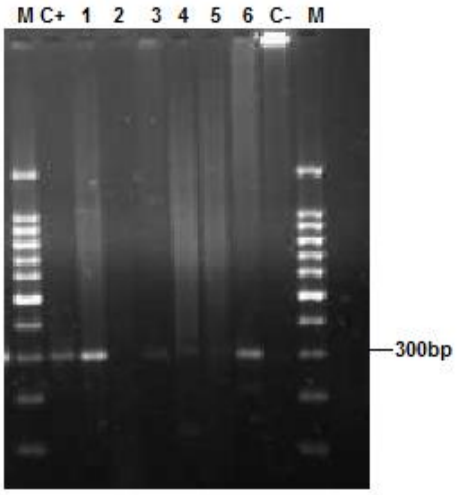
نگاره ۱: پرگنه‌های مایکوباکتریوم آویوم تحت گونه پاراتوبرکلوزیس روی محیط کشت هارولد با مایکوباکتین جی



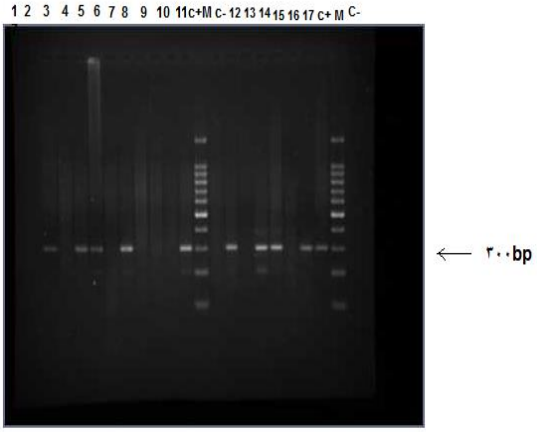
نگاره ۲: گسترش تهیه شده از پرگنه‌های رشد کرده در محیط کشت هارولد اگ با مایکوباکتین جی با رنگ‌آمیزی ذیل نلسون



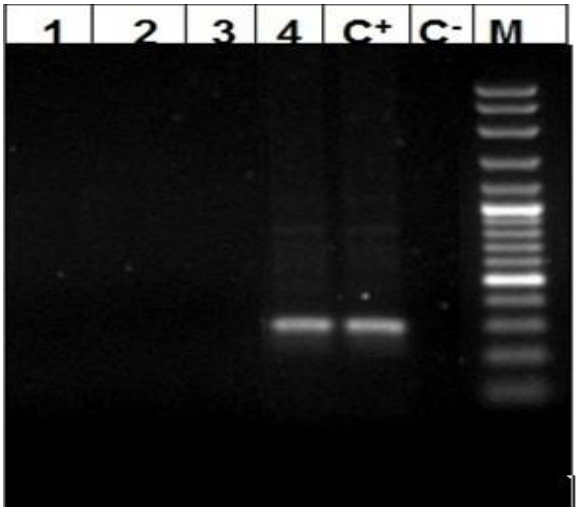
الف



ب



ج



د

نگاره۳ (الف تا د): نتایج آزمایش Nested-PCR نمونه‌های مثبت مدفوع (Mمارکر، C- , C+ کنترل مثبت و منفی، ۱ تا ۸ نمونه‌های مثبت که باند bp ۳۰۰ ، مشخص کننده MAP، در آنها مشاهده می‌شود)

بحث

کنترل موثر پاراتوبرکلوزیس به دلیل عدم وجود آزمایش‌های تشخیصی سریع و صحیح، دوره کمون طولانی، حضور موارد تحت بالینی تشخیص داده نشده و عدم وجود دانش کافی در مورد تنوع سویه ای MAP مشکل بوده و تفسیر نتایج آزمایشگاهی، چالش برانگیز می‌باشد (۲۰).

علی رغم اینکه در ایران سالیان متمادی از حضور بیماری یون می گذرد، اما مطالعات محدودی روی این بیماری صورت گرفته است (۱۹). بیماری یون انتشار جهانی داشته و در برخی کشورها میزان شیوع در حال گسترش است. بیماری در گاو در گله‌های شیری و گوشتی تقریباً در سراسر جهان گزارش شده است و خسارات اقتصادی معناداری در کشورهای تحت تاثیر ایجاد می‌نماید. در مطالعه‌ای شیوع گله‌ای در اروپا در محدوده‌ای بین ۷٪ در اتریش، تا ۵۵٪ در دانمارک گزارش شده است .در آمریکا شیوع متوسط گله‌ای در گله‌های شیری در سال ۱۹۹۶، ۲۲٪، در حالی که در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۰ بین ۲۰٪ تا ٤۰٪ بسته به سایز و اندازه گله متفاوت اعلام شده است (۸). هر چند که بررسی شیوع واقعی بیماری به دلیل اینکه روش‌های تشخیص بیماری از حساسیت بالایی برخوردار نبوده و روش‌های نمونه‌گیری و آزمایش در کشورهای مختلف متفاوت است، بسیار مشکل می‌باشد. در ایران بیماری یون برای اولین بار توسط خلیلی و طلاچیان در سال ٤۰-۱۳۳۹ شناخته شد و عامل بیماری از مدفوع ماده گاوهای نژاد جرسی وارداتی شرکت نفت آبادان جدا و منشاء عفونت، دام وارداتی عنوان گردید. متعاقباً مقامی و هدایتی در سال ۱۳٤۰ بیماری را در یک راس گاو هلشتاین گزارش کردند(۲). در سال‌های اخیر مطالعاتی چند در رابطه با شیوع و وضعیت بیماری یون در ایران صورت گرفته است. بررسی شیوع گله‌ای بیماری یون در استان فارس با Nested-PCR در نمونه تانک شیر در مطالعه ای انجام و از میان ۱۱۰ نمونه تانک شیر ۱۲ نمونه مثبت بوده و شیوع گله‌ای به ترتیب در شیراز ۸/٦ ٪، مرودشت ۸/۵ ٪ و سپیدان ۲۳/۵ ٪ گزارش شد (۹). همچنین مطالعه‌ای به منظور بررسی اثر حفاظتی واکسن تخفیف حدت یافته یون، در گله گاو شیری با سابقه بیماری پاراتوبرکلوزیس انجام شده که علاوه بر تایید اثر محافظتی این واکسن، میزان خسارات ناشی از کاهش سالانه تولید شیر، میزان آبستنی و وزن لاشه حذفی حدوداً ۳۲۰۰۰ دلار تخمین زده شده است (۱۸). در سال ۱۳۹۰ در منطقه

ارومیه بر روی نمونه‌های مدفوع ۴۰۰ گاو بین ۵ تا ٦ سال مطالعه ای صورت گرفت که میزان آلودگی نمونه‌های کشت داده شده ۱۲٪ عنوان گردید (٦). در مطالعه ای قائم مقامی و همکاران میزان آلودگی در گله‌های با سیستم باز پرورشی را دو برابر میزان آلودگی در گله‌های با سیستم های بسته پرورشی اعلام کرده و در ٦۰ درصد گله‌های مورد مطالعه در استان مرکزی بیماری یون تایید شد (۸). در پژوهش حاضر به ۱٤ گاوداری شیری صنعتی استان تهران (پاکدشت، ورامین، اسلامشهر، شهریار و احمدآباد مستوفی) مراجعه شد و آلودگی سرمی بیماری یون در مرحله تحت بالینی در ماده گاوهای شیری بالای ۱۸ ماه سن با کیت الایزای جذبی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش میزان آلودگی قابل تاملی را در استان تهران نشان می‌دهد (الایزا ۹/۵ درصد و کشت ۳/٦درصد). با توجه به اینکه این بررسی در فاز تحت بالینی بیماری انجام شده است و احتمالاً تعدادی از حیوانات عفونی را به دلیل عدم تکوین پاسخ ایمنی هومورال و تولید آنتی بادی قابل جستجو، در بر نمی گیرد، لذا میزان واقعی بیماری بیش از این تخمین زده می‌شود. با در نظر گرفتن این حقیقت که پاسخ ایمنی به عفونت MAP به وسیله ایمنی با واسطه سلولی آغاز شده و متعاقباً با ایمنی هومورال ادامه پیدا می کند، عدم تشخیص مراحل اولیه بیماری توسط آزمایشات سرمی قابل توجیه است. پس از شروع عفونت با MAP برخی حیوانات پاسخ تیپ Th1 را نشان می‌دهند که بوسیله آزاد سازی سایتوکاین‌های پیش التهابی مثل گاما اینترفرون به عنوان فاکتوری کلیدی در کنترل عفونت مایکوباکتریایی نشان داده می‌شود. متعاقباً بسته به شرایط، سیستم به سمت پاسخ تیپ Th2 سوئیچ کرده و آنتی‌بادی IgG غیر محافظتی از سلولهای B رهاسازی می‌گردد. در نتیجه مراحل انتهایی بیماری پاراتوبرکلوزیس در گاو با فعالیت غالب Th2 و سطح آنتی بادی بالا، تعداد زیاد باسیل و کاهش پاسخ سلولی به آنتی ژن‌های اختصاصی و درنتیجه افزایش استعداد ابتلا به سایر بیماری‌ها همراه است. بر طبق این دینامیک ایمنی شناختی، حساسیت آزمون هایی که آنتی بادی های اختصاصی MAP را در مراحل اولیه و تحت بالینی بیماری جستجو می کنند پایین است. در مطالعه ای حساسیت تخمین زده شده برای الایزا در حیوانات مبتلا به عفونت تحت بالینی که دفع کننده تعداد پایین MAP هستند ۹ تا ۱۷ درصد عنوان شده است (۲۱). اما این میزان در مطالعه ای دیگر، بسته به پیشرفت بیماری به سمت مراحل بالینی، بین ۱۵ تا ۸۸٪ درصد گزارش شده است (۱۵). در مراحل انتهایی بیماری به واسطه آنرژی ایمنی، حساسیت تست‌های سرولوژی ممکن است بسیار پایین (حدود ۱۰٪ تا ۲۵٪) باشد (۱۵). در مطالعه حاضر میزان حساسیت و ویژگی الایزا نسبت به کشت مدفوع به ترتیب ۸۳/۳۳ و ۹۳/٦۱ محاسبه شده است که با کدام مطالعه بالا همخوانی دارد.

با توجه به این نتایج، الایزا به دلیل سهولت نمونه‌گیری، سرعت و قیمت مناسب، آزمون غربالگری مطلوبی برای تشخیص پاراتوبرکلوزیس می‌باشد. در پژوهش حاضر میزان شیوع با آزمون الایزا بیشتر از کشت مدفوع ارزیابی گردید. علت احتمالی پایین بودن نتایج مثبت در کشت باکتریال مدفوع ، می تواند تناوب در دفع مدفوعی باکتری، حساسیت تشخیصی پایین روش کشت معمول و به کار گرفته شده و تعداد پایین باکتری دفع شده باشد. یکی از محدودیت های اصلی کشت باکتریال مدفوع که در مطالعات متعددی به آن اشاره شده است، حساسیت بالینی پایین آن می‌باشد که محدوده متفاوتی را در این مطالعات در بر می گیرد. در مطالعه‌ای گذشته نگر که روی ۹۰ گله در طی مدت زمان ۵ سال انجام شده است هیچ مورد بالینی‌ای از بیماری یون دیده نشده و ۳۵ گله کاملا منفی در طی ۹ بار ارزیابی کشت مدفوعی جمعی (هر ٦ ماه یکبار) گزارش شد (۱۵). در مطالعه ای تاثیر تکرار تست مدفوع در فواصل ٦ ماهه در دوره زمانی ٤ ساله بر روی ۹٥٤ راس گاو در افزایش حساسیت این روش مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بررسی حساسیت کلی تست مدفوع ۳۸٪ گزارش شده است (۲۱). در

مطالعـه‌ای دیگـر ارزش تشخیصـی آزمـایش کشـت نمونـه‌های جمعی مدفوعی و کشت انفرادی مدفوع با الایزا مقایسه گردیـد. در این مطالعه حساسیت کشـت جمعـی ۵ تـایی ٤٦٪ و کشـت انفرادی ٤٨٪ عنوان شده است. حساسیت کشت جمعی در دفـع کننـده هـای پـایین ٢٦٪ و ٢٤ ٪ بـه ترتیـب در ۵ و ۱۰ نمونـه عنوان شده است. در حالیکه در دفع کننده های متوسط و بـالای بـاکتری MAP ایـن میـزان حـدود ۷۵٪ عنـوان شـده اسـت. در مطالعه یاد شده حساسیت و ویژگی الایزا پایین تر از حساسـیت و ویزگی کشت انفرادی عنوان شده است (۱۸).

در کل محدودیت و مشکل اصلی برای ارزیابی آزمون های تشخیصی یون، فقدان یک استاندارد طلایی کامل (perfect) بوده که مبین وضعیت واقعی و مرحله صحیح عفونت در حیوانات مورد مطالعه باشد(۲۲). در نتیجه، تفسیر نتایج در این رابطه با چالش مواجه است. مهمترین نتیجه بدست آمده از این تحقیق این است که در استان تهران آلودگی گله ای و انفرادی در گله‌های گاو شیری نسبتا بالا بوده و عدم رعایت نکات کنترلی و پیشگیری از این بیماری می تواند منجر به افزایش و گسترش بیش از پیش آن گردد. لذا توصیه می‌شود با توجه به اینکه عدم موفقیت کامل برنامه های کنترلی یون در کشورهای پیشرو در این زمینه، به معنای شکست اقدامات کنترلی نیست، آموزش مستمر روش های کنترلی موثر و براساس مدیریت بهداشتی، شناسایی دام‌های آلوده و حذف و اعزام آنها به کشتار گاه، در دستور کار سازمان های اجرایی قرار داده شود. در کل پیشنهاد می‌شود برنامه های کنترلی در جهت کاهش تعداد عفونت جدید (جلوگیری از ابتلای حیوانات تازه متولد شده و گوساله ها)، کاهش تعداد حیوانات مبتلا به فرم بالینی یا حیوانات دفع کننده MAP سرلوحه اقدامات اجرایی قرار گیرد.

تشکر و سپاسگزاری

از مدیریت و کارکنان بخش توبرکولین موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی کرج و سازمان دامپزشکی کشور بالاخص همکاران مرکز تشخیص کنترل دارو و مواد بیولوژیک و اداره کل دامپزشکی استان تهران که نقش به سزایی در انجام این تحقیق ایفا نمودند، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌گردد.

فهرست منابع

۱ـ صالحی‌زهرایی، ت.، شایق، ج. (۱۳۸۸): میکروب شناسی دامپزشکی و بیماری های میکروبی (بیماری های باکتریایی)، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران،:۱۵۲–۱٤۸

۲ـ طباطبایی، ع.، فیروزی، ر. (۱۳۹۰): بیماریهای باکتریایی دام، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران،: ٤۲۳–٤۱٤

3- Cheng, J., Bull, T.J., Dalton P., Cen, S., Finlayson, C., Herman- Taylor, J. (2005): Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in the inflamed gut tissues of patients with Crohn's disease in China and its potential relationship to the consumption of cow's milk: a preliminary study. J. Med. Microbiol. 21: 1175–1179

4- Clark, D.L., Koziczkowski, J.J., Radcliff, R.P., Carlson, R.A., Ellingson, J.L. (2008): Detection of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis: comparing fecal culture versus serum enzyme-linked immunosorbent assay and direct fecal polymerase chain reaction. J. Dairy Sci. 91(7):2620-7.

5- Collins, M.T., Gardner, I.A., Garry, F.B., Roussel A.J., Wells, S.J. (2006): Consensus recommendations on diagnostic testing for the detection of paratuberculosis in cattle in the United States. J. Am. Vet. Med. Assoc. 229: 1212-1219.

6- Dilmaghani, M., Yousefbeygi, G.H., Kazemnia, A., Esmaeilnejad, B. (1390): Detection of Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis in cows from Urmia region. Vet. J. (Pajouhesh & Sazandegi). 93: 13-17.

7- Doré, E., Paré J., Côté, G., Buczinski, S., Labrecque, O., Roy, J.P, Fecteau, G. (2012): Risk Factors Associated with Transmission of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis to Calves within Dairy Herd: A Systematic Review. J. Vet. Intern. Med. 26: 32–45.

8- Gaemmagami, S., Khosravi, M., Ahmadi, M., Deniko, A,. Hagdin, M, M., Koochakzadeh, A. (2012): Prevalence of Johne's disease in Tehran and evaluation absorbed ELISA test as a diagnostic method. Iran Vet. J. 8(3): 54-59.
9- Haghkhah, M., Ansari-Lari, M., Novin Baheran, A.M., Bahrami, A. (2008): Herd-level prevalence of Mycobacterium aviumsubspecies paratuberculosis by bulk-tank milk PCR in Fars province (southern Iran) dairy herds. Prev. Vet. Med. 86 (2008) 8–13
10- Imirzalioglu, C., Dahmen, H.M., Hain, T., Billion, A., Kuenne, A., Chakraborty, T., Domann, E.M. (2011): Highly specific and quick detection of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in feces and gut tissue of cattle and humans by multiple real-time PCR assays. J. Clin. Mic. 49(5): 1843–1852.
11- Larsen, W., Ware, J.M, Kluver, P., (2012): Epidemiology of bovine Johne's disease (BJD) in beef cattle herds in Australia. Aust. Vet. J. 90: 1–2.
12- Naser, A.S., Ghobrial, G., Romero, C., Valentine, G.F. (2004): Culture of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosisfrom the blood of patients with Crohn's disease. Lancet.364: 1039–44
13- O'Shea, B.J., (2011). Johne's paradigm from detection to management to treatment. Department of Environmental Health and Safety the Virulence. 2(4): 264-266.
14- OIE Terrestrial Manual (2014): Chapter 2.1.11. Paratuberculosis (Johne'sdisease).
15- Pinedo, P. J., Rae, D.O., Williams, J.E., Donovan, G.A., Melendez P, Buergelt, C. D. (2008): Association among Results of Serum ELISA, Faecal culture and nested PCR on milk, blood and faeces for the detection of paratuberculosis in dairy Cows. Transbound. Emerg. Dis. 55(2): 125–133.
16- Sadati, R., Jafarpour, M, Mirinargesi, M., Nazemi, A., Barghi, A., (2012): Prevalence of Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis in dairy cattle bred in northern Iran by Nested-PCR. Glob.Vet. 8 (3): 259-263.
17- Scanu, A.M., Bull, T., Cannas S., Sanderson J.D., Sechi L.A., Dettori G., Zanetti, S., Taylor J.H. (2007): Mycobacterium avium Subspecies paratuberculosis infection in cases of irritable bowel syndrome and comparison with Crohn's disease and Johne's disease: Common Neural and Immune Pathogenicities. J of Clin Mic. 45: 3883–3890.
18- Schaik, G., Schukken Y.H., Crainiceanu, C., Muskens, J., VanLeeuwen, J.A. (2003): Prevalence estimates for paratuberculosis adjusted. Prev. Vet. Med. 60:281–295.
19- Seyyedin, M., Zahraei, T., Najafi, M.F. (2010): Comparison of isolation frequency of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis from different types of samples. J Pak Vet. 30(3): 143-149.
20- Sohal, J.S., Singh S.V., Subhodh, S., Singh A.V., Singh, P.K., Sheoran, N. (2007): Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis diagnosis and strain typing present status and future developments. Indian J Exp Biol. 45(10):843-52.
21- Tiwari, A., VanLeeuwen, J.A., McKenna, S., Keefe, G.P., Barkema, H.W. (2006): Johne's disease in Canada Part I: Clinical symptoms, pathophysiology, diagnosis, and prevalence in dairy herds. Can. Vet. J. 47:874–882.
22- Whitlock, R.H., Wells, S.J., Sweeney, R.W., Tiem T.J. (2000): ELISA and fecal culture for paratuberculosis (Johne's disease): sensitivity and specificity of each method. Vet Microbiol. 77(34):387-98.