

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

٥٣٢١١



دانشکده دامپزشکی

شماره پایان نامه: ۱۷۷

مقایسه روش سرولوژی و هیستوپاتولوژی جهت تعیین عفونت مایکوباکتریوم
پاراتوبرکلوزیس گاوی

پایان نامه دکترای حرفه ای دامپزشکی

محمد خسروی

استاد راهنما

دکتر افشین جعفری

۱۳۸۷

۱۱۱۶۴۵

کتابخانه دانشگاه گیلان
فصلنامه دامپزشکی

۱۳۸۸ / ۲ / ۱۲



دانشگاه شاهرود

پایان نامه دکترای حرفه ای محمد خسروی

تحت عنوان

مقایسه روش سرولوژی و هیستوپاتولوژی جهت تعیین عفونت مایکوباکتریوم
پاراتوبرکلوزیس گاوی

در تاریخ ۸/۲۸/۸۷... توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و با رتبه ~~بسیار خوب~~ ^{۸۷}... مورد تصویب نهایی قرار گرفت.

۱. استاد راهنمای پایان نامه

۲. استاد مشاور پایان نامه

۳. استاد داور

۴. استاد داور

معاون پژوهشی دانشکده

دکتر افشین جعفری

دکتر ایرج کریمی

دکتر حمد الله مشتاقی -

دکتر غلامعلی کجوری

دکتر پژمان میرشکرایی

مسئولیت کلیه عقاید و نظراتی که در این پایان نامه آمده است بر عهده نگارنده بوده و دانشکده دامپزشکی هیچ گونه مسئولیتی در این زمینه تقبل نمی نماید.

دکتر عبد الکریم زمانی مقدم

رییس دانشکده دامپزشکی

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوری های ناشی
از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه شهرکرد است.

تقدیر و تشکر

با تقدیر و تشکر فراوان از زحمات بی دریغ استاد راهنمای ارجمند جناب آقای دکتر جعفری، استادی فرزانه و بزرگوار که در تمامی مراحل انجام پایان نامه خالصانه و با صبر و حوصله قابل تقدیرشان مرا راهنمایی و یاری و در طول تحصیل اینجانب مرا مرهون محبت های بیکران خود نمودند.

سپاس فراوان از جناب آقای دکتر کریمی مشاور محترم که از محضر علمی و تجربیات گرانبهای ایشان بهره فراوان بردم و در راه تکمیل این پایان نامه از هیچ کوششی فرو گذار ننمودند.

با قدردانی فراوان از استادان ارجمند جناب آقای دکتر کجوری و دکتر مشتاقی که با قبول داوری این پایان نامه مرا مرهون الطاف خود نمودند.

تقدیم به :

پدر و مادر مهربانم: پدرم که تمام سختی ها را هموار کرد و قلبم از وصف حسنش عاجز است. مادرم عبادتگاه جانم، فرشته ای بی مانند که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر.

یاران همیشگی زندگی ام: برادران و خواهرانم

تقدیم به روح پاک همکلاسیان، مرحوم دکتر محمد تقدیری. محبت هایشان تا ابد گرمی بخش خاطرم خواهد بود. با تشکر از دوستان عزیزم آقایان ضیایی، رحیمی، خالقی، لکزیان.

و تقدیم به همه کسانی که لبخندشان معنابخش زندگی ام بوده است.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	چکیده
	فصل اول: مقدمه
۲	(۱-۱) اهمیت بیماری یون
۳	(۲-۱) تاریخچه بیماری
	فصل دوم: کلیات
۵	(۱-۲) جنس مایکوباکتریوم
۶	(۲-۲) مشخصات عامل بیماری
۶	(۳-۲) زیان های اقتصادی بیماری یون
۷	(۴-۲) وضعیت گسترش بیماری
۹	(۵-۲) اثر عوامل مختلف بر روی بیماری
۹	(۱-۵-۲) عوامل محیطی
۹	(۲-۵-۲) سن
۱۰	(۳-۵-۲) نژاد
۱۰	(۴-۵-۲) عوامل استرس زا
۱۰	(۵-۵-۲) جنس
۱۱	(۶-۲) انتقال
۱۲	(۷-۲) بیماری زایی
۱۵	(۸-۲) علائم درمانگاهی
۱۸	(۹-۲) تشخیص تفریقی بیماری
۱۸	(۱۰-۲) یافته های کالبد گشایی
۱۹	(۱۱-۲) یافته های هیستوپاتولوژی
۲۱	(۱۲-۲) آزمایش های تشخیصی و کلینیکال پاتولوژی
۲۴	(۱۳-۲) روش کار آزمون الیزا
۲۷	(۱۴-۲) درمان
۲۸	(۱۵-۲) کنترل و پیشگیری
۳۱	(۱۶-۲) ارتباط میان بیماری یون و کرون

فصل سوم: مواد و روش کار

۳۳	۱-۳) نمونه برداری
۳۴	۲-۳) روش کار هیستوپاتولوژی
۳۴	۱-۲-۳) وسایل و مواد مورد نیاز
۳۴	۲-۲-۳) مرحله عمل آوری بافت
۳۴	۳-۲-۳) مرحله شفاف سازی
۳۴	۴-۲-۳) پارافینه کردن
۳۵	۵-۲-۳) قالب گیری
۳۵	۶-۲-۳) برش
۳۵	۷-۲-۳) رنگ آمیزی
۳۷	۱-۳-۳) نحوه استفاده از کیت الیزا
۳۷	۲-۳-۳) رقیق نمودن سرم
۳۷	۳-۳-۳) آماده سازی مواد و محلول ها
۳۸	۴-۳-۳) مراحل آزمون الیزا
۳۹	۵-۳-۳) مشخصات کیت آزمون

فصل چهارم: نتایج

۴۳	۱-۴) هیستوپاتولوژی
۴۷	۲-۴) نتایج الیزا

فصل پنجم

۴۸	بحث
۵۶	منابع
۶۱	چکیده انگلیسی

چکیده

بیماری یون یا پارا توبرکولوزیس بیماری عفونی است که توسط مایکوباکتریوم پاراتوبرکولوزیس ایجاد شده و در گونه های متعدد نشخوار کنندگان توصیف شده است.

اسهال مزمن، لاغری مفرط و هیپوپروتئینمی در حیوانات بالاتر از ۱۹ ماه از علائم اختصاصی بیماری است. هدف این مطالعه ارزیابی وجود ضایعات هیستوپاتولوژیک و بررسی پاسخ ایمنی همورال توسط الیزا می باشد. این بررسی در گاوهایی که به صورت طبیعی با عفونت درگیر شده بودند از مهرماه ۱۳۸۶ لغایت دی ماه ۱۳۸۶ انجام شد. نمونه ها از ۵۰ رأس گاو بالغ حذف شده از ۴ گله گاو شیری بدست آمد. که انتخاب دام ها بر اساس نتیجه تست هایی بوده که قبلاً بر روی دام ها صورت گرفته بود و نیز وضعیت بدنی دام ها در زمان انجام آزمون بود. نمونه های خون دام ها جهت بدست آوردن سرم قبل از کشتار دام توسط سرنگ استریل از سیاهرگ و داج تهیه گردید. لاشه دام هاپس از کشتار بررسی شد و نمونه بافتی از لاشه دام هایی که علائمی از ضخیم شدگی روده و بزرگ شدگی غده لنفاوی مزاتریک داشتند، تهیه شد و به همراه نمونه خون مربوطه به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمون هیستوپاتولوژی در ۱۹ مورد علائم هیستوپاتولوژی بیماری یون مشاهده گردید که ۵ مورد واکنش توبرکلوئید و ۱۴ مورد واکنش لپروماتوز داشتند. و در آزمون الیزا ۸ مورد از ۱۹ مورد مثبت گردید. نتایج این مطالعه نشان داد حساسیت آزمون الیزا برپایه آزمون هیستوپاتولوژی، در تشخیص بیماری یون، ۴۲/۱ درصد می باشد.

فصل اول

مقدمه

۱-۱) اهمیت بیماری یون

بیماری های با دوره کمون طولانی، تا بروز علائم درمانگاهی قابل تشخیص موجب خسارات اقتصادی فراوانی در صنعت دامپروری می گردند که توجه به این بیماری ها و راه های تشخیص آن ها در مراحل تحت بالینی و بالینی یکی از ارکان مهم علم دامپزشکی می باشد. یکی از این موارد، بیماری یون می باشد که التهاب روده گرانولوماتوزی مزمن^۱ ایجاد می کند تمامی نشخوارکنندگان به این بیماری حساس اند. بیماری یون توسط باکتری اسید فست^۲ *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* ایجاد می گردد (۷). بیماری در گاو با اسهال مزمن و متناوب و کاهش وزن مشخص می شود و در نشخوارکنندگان کوچک، کاهش وزن اولین نشانه درمانگاهی است. انواع گونه های وحشی و اهلی نشخوارکنندگان نسبت به بیماری حساس اند. جداشدن عامل بیماری از برخی از بیماران انسانی مبتلا به بیماری کرون^۳ که نوعی انتروپاتی مزمن^۴ تلقی می گردد، بیماری را از دیدگاه بهداشت عمومی نیز در کانون توجه قرار داده است (۱).

¹ Chronic granulomatous

² Acid-Fast

³ Crohns disease

⁴ Chronic enteropathy

باکتری مایکوباکتریوم پاراتوبرکلوزیس از بافت های حیوانات عفونی جدا می گردد، بافت روده و عقده های لنفاوی و گاهی اوقات از بسیاری از دیگر بافت ها و مایعات شامل کبد، رحم، جنین، شیر، ادرار و منی جدا می گردد. انتقال از راه دهانی - مدفوعی می باشد. بسیاری از حیوانات قبل از شش ماهگی به باکتری آلوده می گردند و بیشترین استعداد ابتلا در سنین زیر ۳۰ روزگی است (۶). راه ورود از طریق لوزه ها و پلاک های پیر^۱ می باشد. بیماری می تواند به مدت ۶ ماه الی ۳ سال به حالت مخفی درآید. در این مدت باکتری در ماکروفاژهای دستگاه گوارش و عقده های لنفاوی مربوطه می ماند. به صورت کلینیکی بعضی از گاوهای عفونی بیماری را بروز می دهند و یکسری دیگر بیمار نمی شوند (۵۸).

در بررسی اپیدمیولوژی گاوها در گله های آلوده در چهار دسته تقسیم می شوند:

۱- آلوده می شوند و علائم کلینیکی را بروز می دهند.

۲- پخش کننده های بدون علامت

۳- حاملین بدون بیماری کلینیکی

۴- گاوهای بدون عفونت

از لحاظ ایمنولوژی هر کدام از چهار دسته ممکن است پاسخی نداشته باشند. در یکسری از حیوانات آلوده ایمنی همورال و در سایرین ایمنی سلولی ممکن است قابل توجه باشد. به ازای ۱ تا ۲ درصد حیوانات بیمار گله ممکن است چهار الی ۱۰۰ درصد حیوانات عفونی باشند (۵۸).

۱-۲) تاریخچه بیماری

اولین گزارش در مورد بیماری در سال ۱۸۲۶ میلادی انجام شد. سال ها بعد در سال ۱۸۹۵ یون و فورتینگهام^۲ بیماری را در گاو مبتلا به تورم روده مزمن با ضایعات ضخیم شدن و چین خوردگی مخاط روده ای همراه با حضور باسیل اسید-فست، توصیف و گزارش کردند (۱). در سال ۱۹۰۶ بانگ^۳ متوجه شد این بیماری سل نمی باشد و آن را یون نامید. عامل بیماری را ابتدا مایکوباکتریوم یونی و مایکوباکتریوم پاراتوبرکلوزیس نامیده اند ولی در حال حاضر، مایکوباکتریوم اوپوم تحت گونه پاراتوبرکلوزیس نامیده می شود (۶). در ایران نیز در سال ۱۳۳۶ هجری شمسی سیادت واکنش غیراختصاصی در مقابل توبرکلیناسیون را در بین گاوهای دامپروری شرکت نفت آبادان در خوزستان که گاوهای آن دامپروری از انگلستان آورده شده بودند، را گزارش کرد، و در سالهای ۱۳۳۹ و ۱۳۴۰ هجری شمسی خلیلی و طلاچیان بیماری را در آبادان و در بین گاوهای جرسی وارد شده از انگلستان گزارش نمودند (۱). متعاقباً مقامی و هدایتی در سال ۱۳۴۰ وجود بیماری یون را در یک رأس گاو هلشتاین گزارش نمودند (۶). بیماری در سالهای بعد در گاو و در نقاط دیگر ایران گزارش گردید (۱). در سال ۱۳۴۹ هجری شمسی، وجود بیماری در بز و گوسفند توسط

¹ Peyers patches

² Johne and Frothing ham

³ Bang

بهار صفت و همکاران نیز مورد تأیید قرار گرفت. در حال حاضر بیماری در اکثر مناطق ایران اثبات شده است (۱).

فصل دوم

کلیات

۱-۲ جنس مایکوباکتریوم

جنس مایکوباکتریوم تنها جنس خانواده مایکوباکتریاسه می باشد (۴۳). در گروه بندی راینون^۱ مایکوباکتریوم های غیرشاخص بر اساس تولید رنگدانه، خصوصیت پرگنه ها و میزان رشد دسته بندی شده اند. از نظر عملی گونه هایی که دوره رشد آن ها بیش از ۷ روز است تحت عنوان کند رشد و گونه هایی که دوره رشد آن ها کمتر از ۷ روز است تند رشد نامیده می شوند (۴۳ و ۴۴). از میان گونه های متعددی که شناخته شده اند مایکوباکتریوم لپره^۲، لپره موریوم^۳، انگل های داخل سلولی اجباری هستند، در حالی که گونه اوپوم^۴، بویس، فورتوتیوم^۵، کانزاسی^۶ و توبرکلوزیس انگل های داخل سلولی اختیاری می باشند. اغلب گونه های مایکوباکتریوم از جمله فلئی^۷ ساپروفیت^۸ هستند (۴۵). عامل بیماری سل در گاو مایکوباکتریوم بوویس است. این گونه در خوک، گربه، اسب، سگ و گوسفند و بز نیز ایجاد بیماری می کند ولی پرندگان در برابر این جرم مقاوم هستند (۴۵). همچنین مایکوباکتریوم بویس عامل مهم بیماری سل در پارک های حیات وحش می باشد (۴۶). عامل بیماری لنفانژیت^۹ یا سل پوستی در گاو نیز بیماری جذام در گربه نیز جزء این جنس می باشند (۶).

^۱ Runyons groups

^۲ *M. leprae*

^۳ *M. lepraemurium*

^۴ *M. avium*

^۵ *M. fortuitum*

^۶ *M. kansasii*

^۷ *M. phlei*

^۸ *Saprophyte*

^۹ *Lymphangitis*

۲-۲) مشخصات عامل بیماری :

عامل بیماری میکوباکتریوم اوپوم پاراتوبرکلوزیس^۱، باکتری هوازی اجباری، غیر هاگدار، باسیل خمیده یا مستقیم، گرم مثبت ضعیف، اسید-فست، نسبت به اسیدها، ضد عفونی کننده ها و خشکی مقاوم می باشد. باکتری ۱/۵-۰/۵ میکرون درازا و ۰/۵ میکرون عرض دارد. کند رشد و مشکل پسند است و برای رشد به منبع آهن نیاز دارد. دیواره سلولی باکتری غنی از لیپید می باشد. می تواند در آب، خاک و مدفوع ماهها زنده بماند. همچنین در ۷۰- درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ هفته در مدفوع زنده می ماند ولی در یک درجه حرارت متوسط به آسانی از بین می رود (۶). فنل با نسبت ۱ به ۴۰، کرزول با نسبت ۱ به ۳۲ و فرمالین ۵ درصد قادرند باکتری را از بین ببرند. جرم در آغوز و در دمای پاستوریزاسیون ۶۳° درجه سانتی گراد برای ۳۰ دقیقه ۹۰ درصد از بین می رود. پاستوریزاسیون جرم را کم کرده ولی جهت از بین بردن کامل جرم در آغوز مناسب نمی باشد. بقای باکتری در طبیعت عمدتاً از سه راه تأمین می گردد :

- مقاومت محیطی بالای جرم
- مزمن بودن ماهیت عفونت حاصل از آن
- دوره کمون نسبتاً طولانی

۳-۲) زیان های اقتصادی ناشی از پاراتوبرکلوزیس :

خسارات این بیماری در کل عبارتند از :

- ۱- کاهش تولید شیر
- ۲- افزایش حساسیت به سایر بیماری ها
- ۳- از دست رفتن ارزش ژنتیکی
- ۴- از دست دادن بازار صادرات
- ۵- افزایش هزینه درمانی
- ۶- کاهش وزن کشتار
- ۷- حذف پیش از موعد
- ۸- ضریب تبدیل غذایی ضعیف
- ۹- افزایش فاصله گوساله زایی
- ۱۰- خسارات اقتصادی در فروش دام های مبتلا به بیماری یون (۲).

^۱ *Mycobacterium avium sub.sp para tuberculosis*

در سال ۱۹۸۸ خسارات اقتصادی یون در استرالیا سالیانه ۳/۸۲۰/۰۰۰ دلار برآورد گردیده است (۳). در گاوهای آلوده کاهش شیر به میزان ۱۸۳۸ پوند در یک دوره شیردهی و افزایش فاصله بین دو زایش به میزان ۱/۷ ماه، نسبت به گاوهای سالم مشاهده شد. یکی از دلایل حذف زودتر از موعد دام ورم پستان است. حذف دام های ورم پستانی در گاوهای غیر آلوده ۳/۶ درصد، و در دام های آلوده به مایکوپلازما پاراتوبرکلوزیس ۲۲/۶ درصد بوده است. در همین بررسی ناباروری مشکل عمده دام های آلوده به پاراتوبرکلوزیس بوده است (۸). کاهش تولید شیر در حیوانات با نشانه درمانگاهی در مقایسه با دو شیرواری قبل ۱۹/۵ درصد و در مقایسه با شیرواری قبل ۵ درصد کاهش داشت و در حیوانات مبتلا به شکل تحت درمانگاهی کاهش تولید ۱۶/۵ درصد در مقایسه با دو شیرواری قبل و ۶ درصد در مقایسه با شیرواری قبل بوده است (۹). زیان های ناشی از پاراتوبرکلوزیس در ایالات متحده در سال ۱۹۸۳، ۱/۵ بلیون دلار در صنعت گاو شیری تخمین زده شد. بیورگلت نشان داد که گاوان مبتلا به شکل درمانگاهی، ۲۷۳۶ پوند شیر کمتری در یک دوره نسبت به گاوهای غیر آلوده داشته اند و در بررسی دیگری این کاهش به ۳۴۰۰ پوند رسیده است (۸ و ۹). در بررسی های انجام شده در انگلستان در طی سالهای ۵۹-۱۹۵۸ پاراتوبرکلوزیس زیان بارترین بیماری عفونی در انگلستان شناخته شده که بیشتر زیان ها مربوط به افزایش ورم پستان و مشکلات تولید مثل در گاوهای آلوده تحت درمانگاهی بود. بطوری که حیوانات آلوده به شکل تحت درمانگاهی ۴-۵ بار شیوع بیشتری در ورم پستان داشته اند و بطور معنی داری مشکلات تولید مثل بیشتری نسبت به حیوانات غیر آلوده داشته اند. به طور متوسط ۹-۸ درصد کاهش تولید شیر، کاهش وزن در حیوانات در حال رشد و زیانهای ناشی از موارد کلینیکی، از زیان های اختصاصی بیماری به حساب می آیند (۹).

۲-۴) وضعیت گسترش بیماری :

بیماری یون در گاوها با نشانه های درمانگاهی در همه جای دنیا گزارش شده است و به نظر می رسد شیوع آن در حال افزایش است (۸ و ۹ و ۱۰).

بیماری در گاو بیشتر از گوسفند و بز رخ می دهد. در گاوهای اروپایی انتشار وسیع دارد. در خیلی کشورها با انتقال حیوانات خالص آلوده به ظاهر سالم، منتشر شده است. بیماری در گاو از اهمیت بیشتری برخوردار است و گوسفندان مناطق گرم و مرطوب بیشتر مبتلا می شوند. بیماری در حیواناتی که به شکل متراکم نگهداری می شوند، به دلیل فراهم شدن زمینه مساعد برای انتشار، بیشترین وقوع را دارد (۱۰).

در برخی موارد بیماری در گله های گوسفند باعث خسارات مالی قابل توجه می شود. گوسفند در شرایط تجربی به سهولت آلوده می شود و مقدار زیادی جرم دفع می کنند اما در اغلب موارد بهبودی خودبخودی حاصل می شود. در بز بیماری با افزایش مبتلایان مشخص می شود که در نتیجه آن زیان های زیادی وارد می شود و ممکن است ایمنی قابل قبولی نیز ایجاد کند (۱۱). تشخیص بیماری در گوسفند و بز نسبت به گاو سخت تر می باشد. بارزترین علامت کاهش وزن مزمن می باشد. در گوسفند یافته های هیستوپاتولوژیک دو فرم بیماری را توضیح داده است. فرم توبرکلوئید^۱ ناشی از ایمنی سلولی و نیز شکل لپروماتوز^۲ که با پاسخ قوی ایمنی همورال همراه می باشد (۱۰). شیوع آلودگی در جمعیت نشخوارکنندگان کوچک به خوبی روشن نیست و معتقدند که بیماری در گله های خاصی مسئله ساز می باشد.

با ارزیابی که در کالیفرنیا انجام شد، میزان شیوع عفونت از ۳ تا ۱۰ درصد گزارش شد که با شیوع بیماری در گاو شیری برابری می کند (۱۲). حساسیت آزمون الیزا در تشخیص بیماری در گوسفندان مولتی باسیلاری^۳، ۸۶ درصد می باشد در حالی که در گوسفندان پاسی باسیلاری^۴، ۱۰ تا ۵۰ درصد است (۱۳). پاراتوبرکلوزیس از حیوانات وحشی بطور گسترده جدا شده است (۱۰). در یک بررسی ۳۸ درصد از ۱۶۸ گوزن به ظاهر سالم ضایعات هیستوپاتولوژیک را در گروه های لنفاوی مزانتریک و ایلئوسکال نشان دادند. در همین مزرعه ۵ درصد از گوزن های آلوده به شکل درمانگاهی یا دفع کننده جرم در کالبد گشائی مورد تأیید قرار گرفتند (۴). نورمحمدزاده برای اولین بار در ایران در سال ۱۳۶۶ بیماری را در حیوانات باغ وحش گزارش کرد (۵). چگونگی انتقال بیماری بین جانوران وحشی و اهلی مشخص نشده است اما هنگامی که جانوران وحشی و نشخوارکنندگان اهلی در یک ناحیه چرا می کردند میزان آلودگی مشابه نشان دادند. با توجه به نوع سویه ها، گوزن های آلوده ممکن است به عنوان یک منبع آلودگی برای دامپروری باشند و متقابلاً گاوهای آلوده نیز ممکن است منبع آلودگی برای گوزن ها باشند (۱۰ و ۸). تاکنون دو مورد عفونت طبیعی یون در اسب گزارش شده است. یک گزارش از عفونت تجربی موفقیت آمیز در اسب وجود دارد (۲). عفونت طبیعی یون در الاغهای کوتوله گزارش شده است. خوگ می تواند به عنوان میزبان حد واسط در نظر گرفته شود (۲). در آهو ضایعات ماکروسکوپیک و هیستوپاتولوژیک مشابه با گوسفند و بز است. حتی در موارد پیشرفته، روده طبیعی به نظر می رسد و ضخیم شدن و چروکیدگی یک یافته همیشگی نیست. در دام های با تغییرات شدید، عقده های لنفاوی مزانتریک و ایلئوسکال بسیار بزرگ شده و گاهی نکروز و معدنی شدن در آنها مشاهده می شود. در موارد شدید انتشار عفونت همراه با ایجاد ضایعات در ریه و کبد گزارش شده است. ضایعات گرانولوماتوزی در عقده های لنفاوی سینه ها و در ریه های آهوی شدیداً آلوده

^۱ *Tuber colloid*

^۲ *Lepromator*

^۳ *Multibacillary*

^۴ *Paucibacillary*

به بیماری یون که از ضایعات ایجاد شده توسط مایکوباکتریوم بویس قابل تفریق نیستند، مشاهده شده است. برای تفریق آلودگی ایجاد شده توسط مایکوباکتریوم پاراتوبرکلوزیس از مایکوباکتریوم بویس یا اویوم، استفاده از کشت و یا تجزیه ژن ضروری است (۳).

۲-۵) اثر عوامل مختلف بر روی بیماری

۲-۵-۱) عوامل محیطی:

ارگانسیم عامل بیماری در مدت طولانی در مراتع باقی می ماند و این مراتع برای مدت بیش از یکسال آلوده هستند. جرم نسبت به خشکی و نور خورشید حساس است. جرم در خاک به مدت ۱۱ ماه، در مدفوع به مدت ۲۴۶ روز، و در آب به مدت ۹۸ تا ۲۸۷ روز بسته به ترکیب و قلیائی بودن آب باقی می ماند (۸ و ۱۰). ایجاد جرم در مدفوع تا ۷۰- درجه سانتی گراد، به طور چشمگیری مدت بقای ارگانسیم را کاهش می دهد. افزایش کلسیم، افزایش pH خاک و تماس مداوم با ادرار و مدفوع عمر باکتری را کاهش می دهند. قلیائی بودن خاک احتمالاً موجب کاهش شدت نشانه های درمانگاهی خواهد شد. اگرچه نگهداری گله در خاک های قلیائی، مخصوصاً در نواحی آهکی ممکن است میزان وقوع بیماری را افزایش دهد. اما موجب کاهش موارد درمانگاهی می شود. کارهای آزمایشگاهی در بز هیچ اختلاف معنی داری را در حساسیت بین بزهای در شرایط نرمال و جیره حاوی کلسیم پایین نشان نداد (۱۰). شواهدی نیز وجود دارد که گاوهای در مناطق مرطوب چرا می کنند حساسیت کمتری دارند (۲).

۲-۵-۲) سن

گوساله های تازه متولد شده بیشترین حساسیت را نسبت به بیماری دارند (۸ و ۱۴ و ۱۵). در اغلب گله های آلوده تصور بر این است که در بیشتر موارد زمان آلودگی گاوان احتمالاً بزودی بعد از تولد بوده است، این مسأله توجه کننده موفق نبودن برنامه های کنترلی در سطح گله است. انتقال بعد از تولد آلودگی در گوساله در نتیجه بلعیدن ارگانسیم صورت می گیرد. به هر حال گوساله های جوان نسبت به این باکتری حساسترند. بدون شک احتمال آلودگی به سن و تعداد ارگانسیم بلعیده شده بستگی دارد. پیشنهاد اینکه مقاومت با سن بالا می رود مبتنی بر آن است که تثبیت عفونت از طریق تلقیح جرم به گاوان بالغ مشکل تر بوده و نیز گوساله های نگهداری شده در محیط های عفونی با احتمال بیشتر در مقایسه با گاو بالغ، آلودگی را کسب می نمایند. استعداد پذیرش بیماری تابع قانون همه یا هیچ نبوده و احتمالاً حتی در سنین بلوغ هم به طور کامل از بین نمی رود. سؤالی که اغلب با آن روبرو می شویم این است که در چه سنی در گله مقاومت کافی ایجاد می شود که بتوان آن ها را در مجاورت با گاوان بالغ نگهداری کرد. از مطالعات گزارش شده چنین به نظر می رسد که در سن یک سالگی میزان مقاومت گوساله ها در حد گاوان بالغ است. آلودگی در گاوان بالغ به دلیل طولانی بودن دوره کمون این باکتری معمولاً از اهمیت کمتری برخوردار است. ولی در صورت وجود باکتری در حد بالای کفایت، گاوان مسن هم حساس هستند. دلیل حساسیت بیشتر گوساله های نوزاد، ممکن است مربوط به نفوذپذیری مخاط روده آنها در طی ۲۴ ساعت اول نسبت به ماکرو مولکولها همچون

ایمونوگلوبولین های آغوز باشد. شاید در این زمان مقاومت سد مخاطی روده نسبت به مایکوباکتریوم پاراتوبرکولوزیس نیز پایین باشد (۳). گاوهای بیش از ۲ سال حتی وقتی در برابر آلودگی های محیطی قرار گیرند به ندرت آلوده می شوند. بنابراین با افزایش هر یک ماه سن، حیوانات مقاومت بیشتری را بدست می آورند (۸).

۲-۵-۳) نژاد:

مشاهدات عملی نشان داده است که میزان وقوع در نژادهای چائل ایلند و شورت هورن بیشتر است. اما این ممکن است مربوط به افزایش تماس بیشتر در این نژادها باشد تا افزایش حساسیت. وقوع بیماری در نژادهای با فراوانی بالا بیشتر است بطوری که در گاوهای هلشتاین که نژاد عمده گاو در ایالات متحده است بیشتر از سایر نژادها رخ می دهد (۱۰). نژادهای جرسی و شورت هورن حساسیت بیشتری نسبت به سایر نژادها داشته اند. در بررسی که در هند انجام شد بزهای نژاد جاموناپاری حساسیت کمتری نسبت به نژاد بارباری داشته اند که محققین بررسی فوق معتقدند انتخاب پدرانی که فرزندان آن ها مقاومت بیشتری نسبت به بیماری دارند می تواند نسبت به حساسیت به بیماری را به طور معنی داری کاهش دهد (۱۶).

۲-۵-۴) عوامل استرس زا

استرس هایی مانند زایمان، نقل و انتقال، کمبودهای تغذیه ای، تراکم و شیرواری در ظهور بیماری در مانگامی مؤثر هستند (۸ و ۱۰). فعالیت سرکوب گری ایمنی در بیشتر عفونت های مایکوباکتریایی از جمله سل و جذام و یون نشان داده شده است (۳). در بز جیره های فاقد مواد معدنی نظیر الیگوالمان ها، خاکهای اسیدی، بهداشت دامپروری، انگلهای دستگاه گوارش و کبد به عنوان مستعد کننده تأیید شده اند (۱۷). برای آلوده شدن میزبان، ابتدا لازم است تا مایکوباکتریوم پاراتوبرکولوزیس برسد مخاطی فائق آمده و از آن عبور کند. لوله گوارشی حاوی طیف گسترده ای از مواد غذایی و آنتی ژن های میکروبی و محیطی بوده و محلی برای بروز تداخلات مستقیم بین میزبان و محیط خارج است. سد مخاطی شامل اجزای ایمونولوژیک و غیر ایمونولوژیک می باشد که عامل مهمی در مقاومت دام می باشد و اجزای تأثیرگذار بر آن در درگیری با عفونت مؤثرند (۳).

۲-۵-۵) جنس

از نظر جنس عده ای معتقدند حیوانات نر حساسیت بیشتری به بیماری دارند. بنابراین میزان بروز بیماری در گاوهای نر بیشتر است (۹). گروهی نیز معتقدند که حیوانات ماده فاکتورهای مستعد بیشتری دارند و بیشتر مبتلا می شوند (۱۸). گزارش شده ۲۲ درصد گاوهای شیری و ۸ درصد گاوهای پرواری امریکا مبتلا به یون می باشند (۱۹). در بررسی که در سالهای ۸۴-۱۹۸۳ در امریکا انجام گرفت میزان شیوع بیماری در جنس نر و ماده اختلاف معنی داری نداشت.

۲-۶) انتقال

به طور کلی این بیماری قبلاً به عنوان یک عفونت روده ای در نظر گرفته می شد. اما امروزه مدارک نشان می دهد که ارگانیسم می تواند به بافت ها و اعضای خارج روده ای چون رحم، عقده های لنفاوی فوق پستانی، پستان و اندام های تناسلی گاو نیز گسترش یافته و ممکن است به طور مستقیم از طریق شیر و مایع منی هم دفع شود (۲۰ و ۸ و ۱۰). مطالعات اخیر نشان می دهد که با افزایش وسعت عفونت، احتمال انتشار آن به سایر بافت ها افزایش می یابد و بیشتر موارد بالینی احتمالاً از نوع گسترده هستند. مطالعات نشان می دهد ۲۰ تا ۴۰ درصد جنین های گاوهای آبستن یا علائم بالینی عفونی می شوند ولی احتمال آلودگی جنین در گاوهایی که دفع کننده خفیف جرم هستند وجود ندارد. ولی یکسری گزارشات مقدار آن را ۸/۶ درصد گزارش کرده اند (۲۲ و ۲۳). بعد از دوره کمون طولانی گاوهای آلوده شروع به دفع مقدار قابل تشخیص باکتری از راه مدفوع می نمایند که در ابتدا این مقدار به سختی قابل تشخیص است و با تثبیت عفونت، به تدریج بر مقدار باکتری های دفع شده افزوده می شود (۳). محتمل ترین منبع عفونی شدن گوساله دانی با مدفوع آلوده در گوساله و یا گاو قبلی است که ارگانیسم را دفع کرده و دامدار اطلاعی از آن نداشته است. دیگر منبع احتمالی انتقال پستان آلوده به مدفوع عفونی گاو مادر است؛ اگر گوساله از این پستان شیر بخورد احتمال بلع باکتری توسط گوساله زیاد است (۱۱ و ۲۱). آلودگی آخور یا ظروف تغذیه با مدفوع عفونی گاو و یا آلوده شدن کفش و لباس کارگران گوساله دانی بوسیله مدفوع آلوده نیز احتمالاً می تواند به عنوان یک راه انتقال محسوب شود. آلودگی مستقیم مواد غذایی با مدفوع، نفوذ مدفوع به سیلو و آلوده کردن آن و استفاده از وسایل مشترک برای تراشیدن مدفوع و جابجا کردن مواد غذایی از دیگر راههای انتقال می باشد. آغوز گاوهای آلوده چنانچه به مصرف گوساله برسد به عنوان یک منبع بالقوه عفونت عمل می کند که مقدار آن در آغوز ۳ برابر شیر می باشد. سایر راه های پیشنهادی در انتقال آلودگی شامل مایع منی گاو نر آلوده، انتقال رویان، نشخوارکنندگان وحشی که مخزن می باشند و نیز مداخلات دامپزشکی همچون توشه رکتال می باشد (۳). به طور کلی مهم ترین راه ورود باکتری از طریق دهان است که با بلع هر چیز آلوده به مدفوع انجام می گیرد. آلودگی از طریق دستگاه تنفس هم گزارش شده است (۲۰). باکتری اغلب از کلیه جنین و به تعداد کمتر از کبد، طحال و ایلئوم جدا می شود. به نظر می رسد انتقال به اشکال زیر انجام می گیرد:

- از طریق جفت با گسترش هماتوزنری یا لنفی از محل روده

- آلوده شدن تخمک یا رویان قبل از جایگزینی

تخمک هایی که در شرایط آزمایشگاه آلوده به مایکروباکتریوم پاراتوبرکولوزیس شده بودن، پس از ۱۰ بار شست و شو هنوز جرم به آن ها چسبیده بود که علت آنرا چسبیدن گلیکولیپیدهای^۱ سطحی جرم به گلیکوپروتئین^۲ شفاف می دانند که مانع جدا شدن جرم در مراحل شست و شو شده است. بنابراین انتقال جرم از راه انتقال رویان هم می تواند انجام پذیرد (۲۴). شواهدی مبنی بر انتقال رحمی در گوسفند نیز وجود دارد (۱۱). شیر و آغوز آلوده ممکن است منبع آلودگی برای نوزادان باشند. احتمال دفع جرم از شیر گاوهای تحت درمانگاهی نیز وجود دارد (۲۰).

با آزمایشی که بر روی حیوانات آلوده به ظاهر سالم انجام گرفت، ۲۷ درصد گره های لنفاوی فوق پستانی و ۱۱/۶ درصد نمونه های شیر از نظر مایکوباکتریوم پاراتوبرکولوزیس کشت مثبت داشتند. دفع باکتری از شیر گاوهای آلوده به شکل درمانگاهی خیلی بیشتر از گاوهای تحت درمانگاهی بوده است (۲۵). حیواناتی که به طور مزمن آلوده هستند منبع اصلی آلودگی برای گله به حساب می آیند بطوری که حیوانات با آلودگی شدید روزانه بیش از $10^{12} * 5$ باکتری دفع می کنند (۱۰ و ۲۶). معتقدند تعداد جرم دفع شده با شدت آلودگی رابطه مستقیم دارد (۲۰).

همانگونه که ذکر شد در اکثر موارد گوساله ها در سن شیرخوارگی آلوده می شوند اما بیماری درمانگاهی در سن ۱۲ تا ۱۸ ماهگی به بعد ظهور می کند. بنابراین به علت دوره کمون طولانی حیوانات آلوده ممکن است جرم را به مدت ۱۵ تا ۱۸ ماه قبل از ظهور نشانه های درمانگاهی دفع کنند (۱۰).

ایجاد برخی واکنش های متقاطع بین سل و پاراتوبرکولوزیس، این تصور را بوجود می آورد که احتمالاً ریشه کتی سل ممکن است جمعیت گاوی را نسبت به یون حساستر کند اما این مسئله با تجربیات عملی در شمال امریکا تأیید نشده است (۸). این امکان وجود دارد که وقوع بالای گزارشات توبرکولوزیس وضعیت واقعی پاراتوبرکولوزیس را مخفی نگه داشته باشد. به هر حال وقوع توأم این دو بیماری به ندرت اتفاق می افتد. به طور مثال، یک مورد گاو مبتلا به سل و یون پیشرفته که مورد تأیید کالبدگشایی و هیستوپاتولوژی نیز قرار گرفت از هند گزارش شده است (۲۶).

۲-۷) بیماری زایی

هر دام مبتلا به بیماری یون در یکی از تقسیم بندی ها یا مراحل چهارگانه بیماری قرار می گیرد. این مراحل بسته به شدت علائم بالینی وضعیت دفع عامل یون به محیط و راحتی در پی بردن به وجود بیماری با استفاده از روش های متداول آزمایشگاهی با یکدیگر فرق دارند. در هر گله به ازای هر دام مبتلا به شکل بالینی پیشرفته یون، احتمالاً تا ۳۵ رأس دام دیگر نیز آلوده هستند که حتی در صورت استفاده از حساسترین روش های آزمایشگاهی در یک تست در گله فقط به آلودگی ۱۵ تا ۲۵ درصد این تعداد پی برده خواهد شد.

¹ Glicolipid

² Glycoprotein