نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران؛ ۱۴۰۳؛ ۱۸(۱): ۵۵-۶۱.
http://doi.org/ 10.22034/ijvcs.2024.14739.1083

ارزیابی حضور *مایکوباکتریوم ایویوم* تحت گونه پاراتوبرکولوزیس در بزاق گاوهای مبتلا به فرم تحت درمانگاهی بیماری یون

کیوان غنی‌زاده[۱]، افشین جعفری دهکردی[۲*]، مسعود قربان‌پور[۳]

۱. دانشجوی دکترای تخصصی بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۲. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۳. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.

دریافت: ۱۹ فروردین‌ماه ۱۴۰۳ **پذیرش:** ۲۶ اردیبهشت‌ماه ۱۴۰۳

چکیده

بیماری یون که توسط *مایکوباکتریوم ایویوم* تحت گونه پاراتوبرکولوزیس (MAP) ایجاد می‌شود، یک بیماری مزمن التهابی روده است که نشخوارکنندگان در سراسر جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تشخیص زودهنگام دام‌های آلوده به MAP برای کنترل بیماری بسیار مهم است. هدف از این مطالعه بررسی حضور MAP در نمونه بزاق گاوهای مبتلا به فرم تحت درمانگاهی بیماری یون است. نمونه بزاق از ۴۰ رأس گاو سرم مثبت مبتلا به شکل تحت درمانگاهی بیماری یون که از طریق PCR مدفوع تأیید شده بودند، جمع‌آوری شد. همچنین از ۴۰ رأس گاو سرم منفی نیز به‌عنوان شاهد نمونه بزاق اخذ گردید. سپس آزمایش PCR بر روی نمونه‌های جمع‌آوری شده برای بررسی آلودگی به MAP صورت گرفت. بر اساس نتایج به‌دست آمده، بزاق ۳۰ رأس از ۴۰ رأس گاو سرم مثبت مبتلا به شکل تحت درمانگاهی بیماری یون (۷۵ درصد) و در گروه شاهد، تنها بزاق ۴ رأس گاو از ۴۰ رأس گاو سرم منفی (۱۰ درصد) از نظر MAP مثبت بودند. این تفاوت بین دو گروه از نظر آماری معنی‌دار بود ($P\leq ۰/۰۵$). تاکنون در بین محققان این باور وجود داشته است که MAP عمدتاً از طریق مدفوع- دهانی منتقل می‌شود. بااین‌حال، یافته‌های مطالعه حاضر نشان‌دهنده این است که پتانسیل آلودگی از طریق بزاق وجود دارد و باید به‌عنوان یک عامل مهم در نظر گرفته شود. گزارش تعداد بالای موارد مثبت MAP در نمونه‌های بزاق نشان می‌دهد که روش آزمایش PCR می‌تواند جایگزین ارزشمندی برای نمونه‌های مدفوع برای تشخیص زودهنگام بیماری باشد.

واژه‌های کلیدی: پاراتوبرکولوز، تحت درمانگاهی، بزاق، گاو

مقدمه

بیماری یون یا پاراتوبرکولوزیس، ناشی از *مایکوباکتریوم آویوم تحت گونه* پاراتوبرکولوزیس (MAP) است که به شکل بیماری مزمن بسیاری از نشخوارکنندگان بخصوص گاو را مبتلا کرده و باعث آماس گرانولوماتوز روده و اسهال غیر قابل درمان می‌شود (۱۵). این بیماری منجر به کاهش وزن شدید و در نهایت حذف دام مبتلا خواهد شد (۱۴). پاراتوبرکولوز در سراسر جهان در بین جمعیت گاوها گزارش شده است بطوریکه در اروپا آندمیک در نظر گرفته می‌شود. در آمریکای شمالی، شیوع آن در گله‌های گاوهای شیری بیش از ۵۰ درصد در نظر گرفته می‌شود (۱۹). همچنین در بریتانیا بیماری یون آندمیک و بسیار شایع است به شکلی که حدود سه چهارم از گله های گاو شیری را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۴)، که منجر به زیان های قابل توجهی در صنعت دامپروری می‌شود. گاوهای مبتلا به یون که دارای نشانه‌های درمانگاهی و یا فاقد آن هستند می‌توانند از طریق مدفوع سایر دامها به ویژه گوساله‌های زیر ۶ ماه را آلوده کنند (۲۳).

در برخی موارد، ممکن است تحت شرایط خاص، مانند استرس، در گاوهای مبتلا به فرم تحت درمانگاهی بیماری یون شکل درمانگاهی بیماری ایجاد گردد که علی‌رغم اشتها و دمای بدن طبیعی علائمی از اسهال، رشد ضعیف و کاهش وزن پیش‌رونده مشخصهٔ آنهاست (۱۰).

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: jafari-a@sku.ac.ir

تماس بین گاوهای سالم وآلوده عامل خطر اولیه برای بیماری یون است بطوریکه مسیر انتقال مدفوعی-دهانی مهم ترین راه سرایت است. در نتیجه به این شیوه انتقال بیماری در برنامه های کنترل آن توجه زیادی شده است (۱۷). در مطالعه‌ای که توسط سورژ و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام شد مشخص گردید که این بیماری می تواند از طریق راه‌های دیگری غیر از انتقال مدفوعی- دهانی، از جمله انتقال بزاق منتقل شود (۲۱). این موضوع سبب شده است که هنگام پرداختن به پیشگیری و مدیریت بیماری در سطح گله چندین روش انتقال را در نظر گرفت. *مایکوباکتریوم ایویوم* تحت گونه. پاراتوبرکولوزیس (MAP) عمدتاً در روده قرار دارد و باعث آنتریت مزمن می‌شود. بااین‌حال، مشابه باسیلوس کلی، که در درجه اول یک باکتری روده ای است اما می‌تواند در بزاق نیز یافت شود، MAP نیز ممکن است در بزاق شناسایی گردد (۱۲). تحقیقات نشان داده است که به غیر از حضور باکتری در دستگاه گوارش، می‌توان در بافت‌های مختلف دیگر از جمله پستان، جنین، کلیه، کبد و دستگاه تناسلی گاوهای نر نیز آن را شناسایی کرد. این نشان می‌دهد که MAP به طور فعال در شیر، مایع منی پخش می‌شود و می‌تواند جنین ها را از طریق جفت آلوده کند، که نشان‌دهنده حرکت مداوم باکتری‌ها در سراسر بدن است. جداسازی MAP از مکان‌های خارج روده‌ای نشان‌دهنده باکتریمی پراکنده است که ممکن است از طریق تهاجم مستقیم باسیل‌ها به رگ‌های خونی یا دسترسی به گردش خون از طریق تخلیه گره‌های لنفاوی و مجاری سینه‌ای رخ دهد (۱). توزیع MAP در اندام های مختلف نشان می‌دهد که انتقال خونی می‌تواند نقشی مهم در انتقال آن ایفا کند. در انسان مبتلا به بیماری کرون و کولیت اولسراتیو، وجود MAP در خون محیطی تشخیص داده شده است (۱۸). پاتوژنز MAP شامل ایجاد یک ضایعه در روده است که ممکن است منجر به ورود باکتری به جریان خون شود (۱۳). شناسایی DNA اختصاصی MAP در خون گوسفندان و گاوهای مبتلا به شکل درمانگاهی و تحت درمانگاهی همراه با وقوع عفونت منتشر گویای وجود بالقوه MAP زنده در خون برخی از حیوانات مبتلا است (۲, ۴, ۶, ۱۱). مطالعه‌ای که بوور و همکارانش در سال ۲۰۱۰ انجام دادند، وجود MAP را در کشت‌های خونی به‌دست‌آمده از گوسفندان آلوده تجربی نشان داد (۵). از آنجایی که بیماری یون با دوره کمون طولانی، تا بروز علائم درمانگاهی قابل تشخیص موجب خسارات اقتصادی فراوانی در صنعت دامپروری می‌گردد، لذا توجه به این بیماری و راه های تشخیص آن ها در مراحل تحت درمانگاهی و درمانگاهی یکی از ارکان مهم در کنترل و پیشگیری از آن محسوب می‌شود. بنابراین در تحقیق حاضر مایکوباکتریوم پاراتوبرکولوزیس در بزاق گاوهای مبتلا به فرم تحت درمانگاهی بیماری یون ارزیابی می‌شود تا بر این اساس شناخت بیشتری از سرایت بیماری داشت و نیز روش‌های کنترلی بهتری را اعمال نمود.

مواد و روش کار

در بازه زمانی اردیبهشت تا آذرماه ۱۴۰۰، با مراجعه به یکی از گاوداری‌های صنعتی شهرکرد، نمونه خون از ۴۰ رأس گاو هلشتاین الایزا مثبت به‌عنوان موارد تحت درمانگاهی بیماری یون که همه آنها دارای سابقه کاهش وزن کاهش تولید شیر و بدون اسهال مزمن بودند، جمع‌آوری شد. همچنین از ۴۰ رأس گاو هلشتاین الایزا منفی نیز به‌عنوان گاوهای سالم نمونه خون اخذ گردید. نمونه‌های خون در شرایط آسپتیک از ورید وداج گرفته شد و سرم‌ها با سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه پس از لخته شدن خون، جدا شدند. سرم‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و طبق دستورالعمل سازنده با استفاده از کیت تجاری (ELISA ID-Vet، فرانسه) از نظر پاراتوبرکلوز ارزیابی شدند. تمام گاوهای الایزا مثبت و منفی نیز از طریق آزمایش PCR بر روی نمونه‌های مدفوعی که مدفوع از طریق معاینه مقعدی با دستکش رکتال یکبار مصرف تهیه می‌شد مورد تأیید قرار گرفتند. در مرحله بعدی، نمونه بزاق از تمامی گاوهای الایزا مثبت و منفی جمع‌آوری شد. نمونه بزاق با قرار دادن یک گاز استریل در قسمت خلفی زبان در هر حیوان به مدت یک دقیقه و سپس گاز استریل آغشته به بزاق از دهان خارج می‌گردید و با فشردن آن به صورت دستی، بزاق داخل لوله‌های استریل ریخته می‌شد.

DNA نمونه‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از کیت تجاری (رهازیست پادتن، ایران) مطابق دستور کیت

استخراج شد. DNA استخراج شده با پرایمرهای اختصاصی ژن IS900باکتری MAP با استفاده از یک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای (Nested-PCR)، بر اساس روش کورتی و استفان (۲۰۰۲) با برخی تغییرات ارزیابی شد (۸). تکثیر با پرایمرهای مرحله‌ی اول و دوم پرایمرهای سنتز شده توسط شرکت بایونیر کره جنوبی، با شرایط حرارتی ذکر شده در جدول ۱و ۲ انجام شد. در دور اول، ژن هدف در حجم واکنش ۲۰ میکرولیتر شامل ۳ میکرولیتر DNA استخراج شده، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (در غلظت pM/µl ۱۰)، ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس ۲X (Ampliqon، دانمارک) و ۵ میکرولیتر آب مقطر تکثیر شد. میزان ۱ میکرو لیتر از محصول به دست آمده از دور اول به‌عنوان الگو به‌همراه ۱ میکرولیتر از مجموعه دوم پرایمرها، ۱۰ میکرولیتر از مسترمیکس ۲X و ۷ میکرولیتر آب مقطر در PCR مرحله‌دوم استفاده شد. محصول به‌دست‌آمده از دور دوم تکثیر، در کنار نردبان ژنی ۵۰ جفت‌بازی (سیناژن، ایران) بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد به مدت ۴۰ دقیقه الکتروفورز شد و با استفاده از ژل داک (پایاپژوهش، ایران) مشاهده گردید. در صورت تولید محصولی با طول ۲۹۸ جفت‌باز، نمونه مثبت در نظر گرفته شد. در هر مرحله از آزمایش از اب مقطر به‌عنوان کنترل منفی و از DNA استخراج شده از کشت MAP به‌عنوان کنترل مثبت استفاده می‌شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده ها از نرم افزار SPSS استفاده شد. از آزمون کاپا و مک نمار برای تعیین توافق بین نمونه‌های مدفوع و بزاق گاوهای مبتلا به فرم تحت درمانگاهی بیماری یون و گاوهای سالم استفاده شد. سطح معنی داری P<۰/۰۵ به‌عنوان معیار معنی‌دار بودن از لحاظ آماری در نظر گرفته شد.

جدول ۱- توالی پرایمر و شرایط حرارتی مورد استفاده برای تکثیر ژن هدف MAP در نمونه‌های مدفوع و بزاق به‌دست‌آمده از گاوهای الایزا مثبت و منفی

ژن هدف	پرایمر		طول محصول
IS900	پیشین	5'-GAAGGGTGTTCGGGGCCGTCGCTTAGG-3'	۴۱۵
	معکوس	5'-GGCGTTGAGGTCGATCGCCCACGTGAC-3'	
	پیشین	5'-ATGTGGTTGCTGTGTTGGATGG -3'	۲۹۸
	معکوس	5'-CCGCCGCAATCAACTCCAG-3'	

جدول ۲- شرایط حرارتی مورد استفاده برای تکثیر ژن IS900 باکتری MAP در نمونه‌های مدفوع و بزاق گاوهای یون مثبت و منفی در آزمایش الایزا، با روش PCR آشیانه‌ایی

سیکل‌ها	دما (°C)	زمان	تعداد سیکل‌ها
واسرشت‌سازی اولیه	۹۵	۳ دقیقه	۱
واسرشت‌سازی	۹۵	۳۰ ثانیه	۳۵
اتصال پرایمرها	مرحله اول (۶۶) و مرحله دوم (۶۲)	۳۰ ثانیه	
تکثیر	۷۲	۳۰ ثانیه	
تکثیر نهایی	۷۲	۳ دقیقه	۱

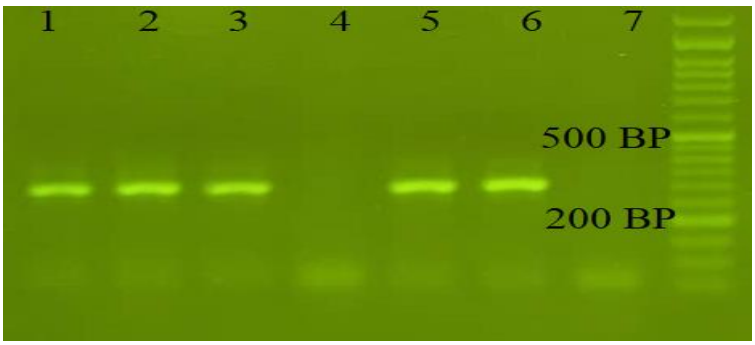
نتایج

از ۴۰ رأس گاو مبتلا به شکل تحت درمانگاهی بیماری، در بزاق ۳۰ رأس گاو (۷۵ درصد) نتیجه PCR برای MAP مثبت بود، در حالی که در گروه کنترل، تنها در بزاق چهار رأس گاو (۱۰درصد) از نظر MAP نتیجه PCR مثبت بود (شکل ۱ و جدول ۳). همچنین تفاوت در شناسایی MAP بین گروه بیمار و کنترل از نظر آماری (P<۰/۰۵) معنی‌دار بود.

آنالیز آماری PCR مدفوع و بزاق گویای توافق قابل‌توجهی بین نتایج PCR مدفوع و بزاق بود (کاپا = ۰/۶۵؛ آزمون مک‌نمار P= ۰/۰۰؛ Tb=۵/۸۸).

جدول ۳- الایزا (آنتی بادی سرم) و IS900 Nested PCR نمونه‌های مدفوع و بزاق در گاوهای الایزا مثبت و منفی

الایزا	PCR			
	بزاق		مدفوع	
	+	-	+	-
+	۳۰	۱۰	۴۰	۰
-	۴	۳۶	۰	۴۰
مجموع	۳۴	۴۶	۴۰	۴۰



شکل ۱- الکتروفورز در ژل آگارز محصولات PCR آشیانه‌ای، جهت جستجوی ژن IS900 باکتری MAP در تعدادی از نمونه‌های مورد بررسی. ستون‌های ۱-۳ و ۵ چهار مورد مثبت و ستون ۴ یک مورد منفی را نشان می‌دهد. ستون‌های ۶ و ۷ مربوط به کنترل‌های مثبت و منفی و ستون ۸ نردبان ژنی ۵۰ جفت‌بازی هستند.

بحث

بزاق ممکن است حاوی انواع باکتری‌ها و ویروس‌ها باشد که می‌توانند از دستگاه گوارش منشأ گرفته و به‌عنوان منبع انتقال از یک حیوان به حیوان دیگر عمل کنند (۹, ۱۶). کنترل برخی گونه های باکتریایی مانند MAP برای گاوداری های صنعتی از اهمیت بالایی برخوردار است. آلودگی به MAP به ویژه در دوران آبستنی در گوساله نیز ممکن است رخ دهد؛ پس در نتیجه گوساله‌ها یا در رحم (درصد کمی) یا بعد از تولد آلوده می‌گردند، به‌خصوص هنگامی که در مرتع با مادرشان تماس داشته باشند. تحقیقات نشان داده است که ۹ درصد گاوهای دارای اشکال تحت درمانگاهی و ۳۹ درصد از گاوهایی که شکل‌های درمانگاهی دارند، می توانند MAP را به جنین خود منتقل کنند (۱۶). در نتیجه، بین محققان یک بحث همیشگی در مورد مدیریت گوساله‌های متولد شده از گاوهای آلوده وجود دارد. یک دیدگاه پیشنهادی در این خصوص حذف این گوساله‌ها به منظور جلوگیری از گسترش بیماری در گله است (۷). با توجه به اینکه MAP می‌تواند از گاوهای آلوده به گوساله‌های نوزاد آنها منتقل شود پس با جدا نمودن گوساله‌ها از مادران در مراحل اولیه تولد، می‌توان شیوع کلی بیماری در گله را کاهش داد (۲۰). از سوی دیگر، برخی از محققان استدلال می‌کنند که نگهداری و قرنطینه گوساله‌های متولد شده از گاوهای آلوده به‌طور جداگانه می‌تواند یک گزینه مناسب در صورت اجرای استراتژی‌های مدیریتی مناسب باشد (۷). این راهبردها شامل جدا کردن گاوهای آلوده از گوساله‌هایشان بلافاصله پس از تولد، اجرای اقدامات ایمنی زیستی مناسب و انجام آزمایش‌های منظم برای شناسایی و حذف حیوانات آلوده است. تحقیقات قبلی توسط برخی محققان وجود MAP را در بزاق و مدفوع گاوهایی با فرم تحت بالینی نشان داده است (۲۱). گاوها بلافاصله پس از زایمان درگیر لیسیدن شدید گوساله‌های خود می‌شوند که به حذف مایع آمنیوتیک، ایجاد ارتباط گاو و گوساله و

تحریک ادرار و مدفوع کمک می‌کند. این رفتار برای بقای گوساله مفید است، زیرا گاو مسئولیت مراقبت و تغذیه آن را بر عهده می‌گیرد (۲۲). در مطالعه حاضر مشخص شد که ۷۵ درصد گاوهای آلوده به MAP این باکتری را در بزاق خود دارند. منشا این آلودگی به خوبی مشخص نیست که یا می‌تواند منشأ محیطی داشته باشد یا به دلیل اینکه محل MAP دستگاه گوارش است، ممکن است در هنگام نشخوار از درون شکمبه به دهان راه یافته باشد و باعث آلوده شدن بزاق شود. اگرچه MAP اساساً با دستگاه گوارش مرتبط است، اما توجه به این نکته مهم است که این باکتری همچنین می‌تواند وارد جریان خون شود (۶) و اندام های مختلف مانند غدد بزاقی (۲۱)، جنین، مایع منی و ریه‌های حیوانات آلوده را آلوده کند (۲, ۶).

در گاوداری‌های صنعتی که تمرکز بر حذف MAP از گله است، آلودگی بزاق یکی از نکات مهم در گسترش MAP در گله است و از این طریق منجر به آلوده شدن گوساله‌ها از بدو تولد می‌شود. برای جلوگیری از این امر توصیه می‌شود بلافاصله پس از تولد گوساله را از مادر جدا نمود. در حالی که این اقدامات به طور قابل توجهی وقوع بیماری را در گله کاهش می‌دهد، مهم است که اذعان شود که درصدی از گوساله‌های متولد شده از مادران آلوده ممکن است هنوز به طور مادرزادی آلوده باشند (۱۰). به منظور ریشه کن کردن مؤثر بیماری، توصیه می‌شود تمام گوساله‌های تازه متولد شده از مادران آلوده، از گله حذف شوند (۳).

یافته‌های مطالعه حاضر گویای این است که MAP می‌تواند از طریق بزاق گاوهای مبتلا به شکل تحت درمانگاهی بیماری یون دفع گردد. این مطالعه پتانسیل آلودگی محیط زیست دام و مراتع را برجسته می‌کند و بر تلاش برای کنترل بیماری از این طریق تأکید دارد.

قدردانی و تشکر

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهرکرد به‌خاطر تأمین هزینه‌های مطالعه و نیز همکاری مدیریت و کارکنان شرکت شیر و گوشت زاگرس شهرکرد قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

1. Antognoli MaC, Garry FB, Hirst HL, Lombard JE, Dennis MM, Gould DH, et al. Characterization of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis disseminated infection in dairy cattle and its association with antemortem test results. Veterinary microbiology. 2008;127(3-4):300-8.
2. Barrington GM, Gay JM, Eriks IS, Davis WC, Evermann JF, Emerson C, et al. Temporal patterns of diagnostic results in serial samples from cattle with advanced paratuberculosis infections. Journal of veterinary diagnostic investigation. 2003;15(2):195-200.
3. Bates A, Oac Brien R, Liggett S, Griffin F. Control of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection on a New Zealand pastoral dairy farm. BMC veterinary research. 2019;15(1):1-13.
4. Bhide M, Chakurkar E, Tkacikova L, Barbuddhe S, Novak M, Mikula I. IS900-PCR-based detection and characterization of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis from buffy coat of cattle and sheep. Veterinary microbiology. 2006;112(1):33-41.
5. Bower K, Begg DJ, Whittington RJ. Optimisation of culture of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis from blood samples. Journal of microbiological methods. 2010;80(1):93-9.
6. Buergelt CD, Donovan GA, Williams JE. Identification of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis by polymerase chain reaction in blood and semen of a bull with clinical paratuberculosis. Intern J Appl Res Vet Med. 2004;2(2):130-4.
7. Camanes G, Joly A, Fourichon C, Ben Romdhane R, Ezanno P. Control measures to prevent the increase of paratuberculosis prevalence in dairy cattle herds: an individual-based

modelling approach. Veterinary research. 2018;49(1):60.

8. Corti S, Stephan R. Detection of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis specific IS900 insertion sequences in bulk-tank milk samples obtained from different regions throughout Switzerland. BMC Microbiology. 2002;2(15):15-21
9. Edwards JE, Kim EJ, Davies DR, Hanafy R, Kingston-Smith AH. Ruminant Salivary Microbes: Passenger or Player in the Rumen? Microorganisms. 2023;11(10):2390.
10. Garcia AB, Shalloo L. Invited review: The economic impact and control of paratuberculosis in cattle. Journal of dairy science. 2015;98(8):5019-39.
11. Juste RA, Garrido JM, Geijo M, Elguezabal N, Aduriz G, Atxaerandio R, et al. Comparison of blood polymerase chain reaction and enzyme-linked immunosorbent assay for detection of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection in cattle and sheep. Journal of veterinary diagnostic investigation. 2005;17(4):354-9.
12. Keen JE, Elder RO. Isolation of shiga-toxigenic Escherichia coli O157 from hide surfaces and the oral cavity of finished beef feedlot cattle. Journal of the American Veterinary Medical Association. 2002;220(6):756-63.
13. Koets AP, Eda S, Sreevatsan S. The within host dynamics of Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis infection in cattle: where time and place matter. Veterinary research. 2015;46(1):1-17.
14. Lombard JE. Epidemiology and economics of paratuberculosis. Veterinary Clinics: Food Animal Practice. 2011;27(3):525-35.
15. Mallikarjunappa S, Adnane M, Cormican P, Karrow NA, Meade KG. Characterization of the bovine salivary gland transcriptome associated with Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis experimental challenge. BMC genomics. 2019;20(1):1-13.
16. Marcé C, Ezanno P, Weber MF, Seegers H, Pfeiffer DU, Fourichon C. Invited review: modeling within-herd transmission of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in dairy cattle: a review. Journal of dairy science. 2010;93(10):4455-70.
17. McKenna SLB, Keefe GP, Tiwari A, VanLeeuwen J, Barkema HW. Johne's disease in Canada part II: disease impacts, risk factors, and control programs for dairy producers. The Canadian veterinary journal. 2006;47(11):1089.
18. Naser SA, Ghobrial G, Romero C, Valentine JF. Culture of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis from the blood of patients with Crohn's disease. The Lancet. 2004;364(9439):1039-44.
19. Nielsen SS, Toft N. Age-specific characteristics of ELISA and fecal culture for purpose-specific testing for paratuberculosis. Journal of dairy science. 2006;89(2):569-79.
20. Patterson S, Bond K, Green M, Van Winden S, Guitian J. Mycobacterium avium paratuberculosis infection of calves, the impact of dam infection status Preventive veterinary medicine. 2020; 181: 104634-50.
21. Sorge US, Kurnick S, Sreevatsan S. Detection of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in the saliva of dairy cows: a pilot study. Veterinary microbiology. 2013;164(3-4):383-6.
22. Whalin L, Weary DM, von Keyserlingk MAG. Understanding behavioural development of calves in natural settings to inform calf management. Animals. 2021;11(8):2446.

23. Windsor PA, Whittington RJ. Evidence for age susceptibility of cattle to Johne's disease. The Veterinary Journal. 2010;184(1):37-44.
24. Woodbine KA, Schukken YH, Green LE, Ramirez-Villaescusa A, Mason S, Moore SJ, et al. Seroprevalence and epidemiological characteristics of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis on 114 cattle farms in south west England. Preventive veterinary medicine. 2009;89(1-2):102-9.

Vol. 18 - No. 1
Spring & Summer 2024

Iran. J. Vet. Clin. Sci.; 2024; 18(1):55-61.
http://doi.org/ 10.22034/ijvcs.2024.14739.1083

Evaluation of the presence of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in the saliva of cows with subclinical form of john's disease

Keyvan Ghanizadeh[1]; Afshin Jafari-Dehkordi[2*]; Masoud Ghorbanpour[3]

1. DVSc Student of Large Animal Internal Medicine, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.
2. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.
3. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.

Received: 7 April 2024 ***Accepted:*** 15 May 2024.

Summary

Johne's disease, caused by *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis (MAP), is a chronic inflammatory bowel disease affecting ruminants worldwide. Early detection of MAP-infected animals is crucial for disease control. This study aimed to investigate the presence of MAP in saliva and urine samples of cows with subclinical Johne's disease, as a non-invasive and easily accessible diagnostic approach. Saliva samples were collected from 40 seropositive cows with subclinical Johne's disease, confirmed through fecal PCR. An additional 40 seronegative cows were included as controls. PCR testing was conducted on the selected samples to check for MAP contamination. Out of the 40 seropositive cows with subclinical Johne's disease, 30 (75%) tested positive for MAP in saliva samples. In the control group, only four cows (10%) tested positive for MAP in saliva. The difference in MAP detection between the diseased and control groups was statistically significant ($p \leq 0.05$). Until now, it has been widely believed among researchers that MAP, primarily transmits through the fecal-oral route. However, the findings of the current study indicate the potential for contamination through saliva, which is an important factor to consider. The high prevalence of MAP in these samples suggests that they may also serve as valuable alternatives to fecal samples for early disease detection.

***Keywords*:** Cow, Paratuberculosis, Saliva, Subclinical

***Corresponding author:** jafari-a@sku.ac.ir