مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۷، شماره ۳، ۱۴۰۱، ۲۰۲-۱۹۷
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: 2251-6190
انتشارات دانشگاه تهران
گزارش موردی

گزارش موردی سل منتشره گوسفندی ناشی از *مایکوباکتریوم بویس* در کشتارگاه صنعتی دام سنندج

محمدسینا عباس‌زاده[۱]، کیوان سبحانی[۲]، آرام شریفی[۲]

[۱] *دانش آموخته دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران*
[۲] *گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران*

تاریخ دریافت: ۱ مرداد ماه ۱۴۰۱، **تاریخ پذیرش:** ۱ آبان ماه ۱۴۰۱
10.22059/jvr.2022.345652.3282 20.1001.1.20082525.1401.77.3.7.6

چکیده

در بیماری سل گاوی ناشی از *مایکوباکتریوم بویس*، گاو به‌عنوان میزبان اصلی شناخته می‌شود و گوسفند به این بیماری نسبتاً مقاوم است. در واقع، گوسفندان تنها در مواقع تماس بسیار نزدیک گاو و گوسفند و همچنین فراوانی بسیار زیاد مایکوباکتریوم در محیط به این بیماری مبتلا می‌شود. در مطالعه حاضر به گزارش یک مورد سل منتشره گوسفندی در کشتارگاه دام سنندج پرداخته شد.

لاشه دام مورد بررسی از کشتارگاه به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه کردستان منتقل و در شرایط امنیت کامل بهداشتی کالبدگشایی گردید. در بررسی لاشه، ضایعات کالبدگشایی (گرانولوم‌های سلی منتشره) در اندام‌های مختلف و عقده‌های لنفاوی مدیاستینال، برونشیول، مزانتر و پورتال کبد قابل مشاهده بود. این ضایعات در عقده‌های لنفاوی قسمت‌های مختلف بدن، ریه، کبد، قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش، دستگاه تولیدمثلی، مثانه و عضلات مختلف از جمله عضله صفاق و عضله دیافراگم و عضلات شکم دیده شد.

آزمایشات تشخیصی شامل مشاهدات بالینی، رنگ‌آمیزی اختصاصی زیل نلسون برای باسیل مایکوباکتریوم و تکنیک مولکولی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) صورت گرفت. در رنگ‌آمیزی زیل نلسون، باسیل اسید فاست مایکوباکتریوم به رنگ قرمز در زمینه آبی کم‌رنگ لام دیده شد. همچنین در واکنش اختصاصی PCR محصول ۴۹۹ جفت بازی تکثیر شد که تأییدکننده *مایکوباکتریوم بویس* بود.

گزارش حاضر نشان داد که سویه‌های *مایکوباکتریوم بویس* موجود در منطقه قابلیت انتقال به گوسفند و ایجاد بیماری با علایم بالینی شدید را دارند. این موضوع در مورد مزارعی که پرورش گاو و گوسفند در آن‌ها به صورت نزدیک به هم است، بسیار حائز اهمیت می‌باشد. از آنجایی که در استان کردستان در بسیاری از مزارع پرورشی گاو و گوسفند در کنار هم نگه‌داری می‌شوند بنابراین، به امکان انتقال بیماری سل گاوی به گوسفند و انسان باید توجه ویژه داشت.

کلمات کلیدی: سل گاوی، سل منتشره، رنگ‌آمیزی زیل نلسون، گوسفند، *مایکوباکتریوم بویس*

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.
ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

نویسنده مسئول: *آرام شریفی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان، سنندج، ایران*

سابقه

سل یک بیماری مسری و مزمن است که باعث ایجاد ضایعات التهابی گرانولوماتوز در ریه‌ها و عقده‌های لنفاوی می‌شود. ضایعات سل در عقده‌های لنفاوی بخش فوقانی دستگاه تنفسی و اندام‌هایی مانند طحال، کبد و عقده‌های لنفاوی مزانتریک می‌تواند تشخیص داده شود. رایج‌ترین مسیر ورود عفونت به بدن، مسیر تنفسی است اما عفونت می‌تواند از طریق شیر، انتقال عمودی و جنسی نیز رخ دهد (۱،۲). بیماری سل توسط گونه‌های مختلف جنس مایکوباکتریوم از جمله *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*، *مایکوباکتریوم بویس*، *مایکوباکتریوم کاپری*، *مایکوباکتریوم آفریکانوم*، *مایکوباکتریوم میکروتینوم* و غیره ایجاد می‌شود. مایکوباکتریوم‌ها، باکتری‌های هوازی، اسید فاست، میله‌ای شکل و غیرمتحرک هستند که به دلیل دیواره غنی از چربی آن‌ها، با روش معمولی رنگ‌آمیزی گرم، رنگ

نمی‌گیرند و لذا از روش رنگ‌آمیزی زیل نلسون برای تشخیص آن‌ها استفاده می‌شود (۲).

سل گاوی ناشی از *مایکوباکتریوم بویس* به‌عنوان یک بیماری مشترک بین انسان و دام در کشورهای مختلف جهان وجود دارد اما در کشورهایی که برنامه ریشه‌کنی سل پیگیری شده است، بروز آن بسیار کمتر است. این بیماری در گاو بسیار شایع است و سالانه باعث خسارات اقتصادی و بهداشتی بسیار زیادی به صنعت دامپروری می‌شود. بر این اساس، بیماری سل در گاو به چهار فرم بالینی شامل سل ریوی، سل دستگاه گوارش، سل رحمی و تورم پستان سلی دیده می‌شود (۳،۴).

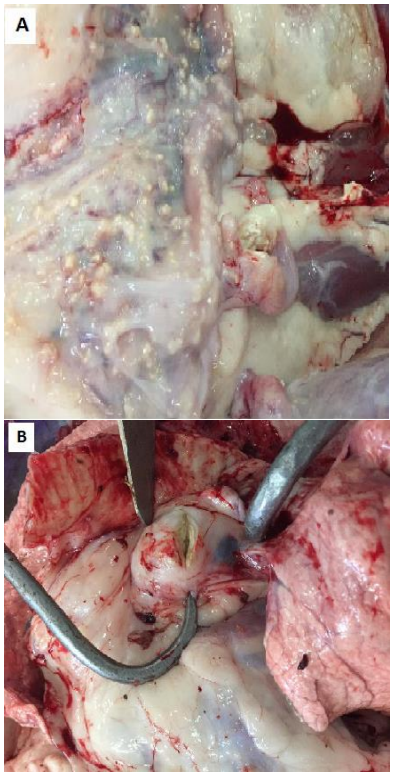
عامل سل گاوی در انسان به‌ویژه در کودکان باعث ایجاد سل پیشرونده می‌شود و عقده‌های لنفاوی و دستگاه گوارش را بیشتر و ریه را کمتر آلوده می‌کند (۵). حیواناتی نظیر گاو، بز و خوک نسبت به *مایکوباکتریوم بویس* بسیار حساس هستند در حالی که گوسفند و اسب حساسیت کمتری نسبت به این بیماری دارند. در این رابطه، فقط گزارشات موردی از ابتلای گوسفند به سل گاوی وجود دارد. در حقیقت، گوسفند، میزبان اشاعه‌دهنده (Spillover host) بیماری از مخزن است (۶).

بررسی منابع نشان می‌دهد که نظرات متفاوتی در مورد حساسیت، میزان بروز و دوز عفونی گوسفندان به عفونت با *مایکوباکتریوم بویس* وجود دارد؛ اما بیشتر منابع بر این موضوع توافق نظر دارند که بیماری سل ناشی از *مایکوباکتریوم بویس* در گوسفند با ایجاد گرانولوم‌های موضعی و مشخص در ریه‌ها و عقده‌های لنفاوی برونش مشخص می‌شود. از لحاظ بالینی، رایج‌ترین شکل بیماری سل در گوسفند، برونکوپنومونی است که با علایم سرفه و دشواری تنفس در اواخر دوره بیماری مشخص می‌شود (۶).

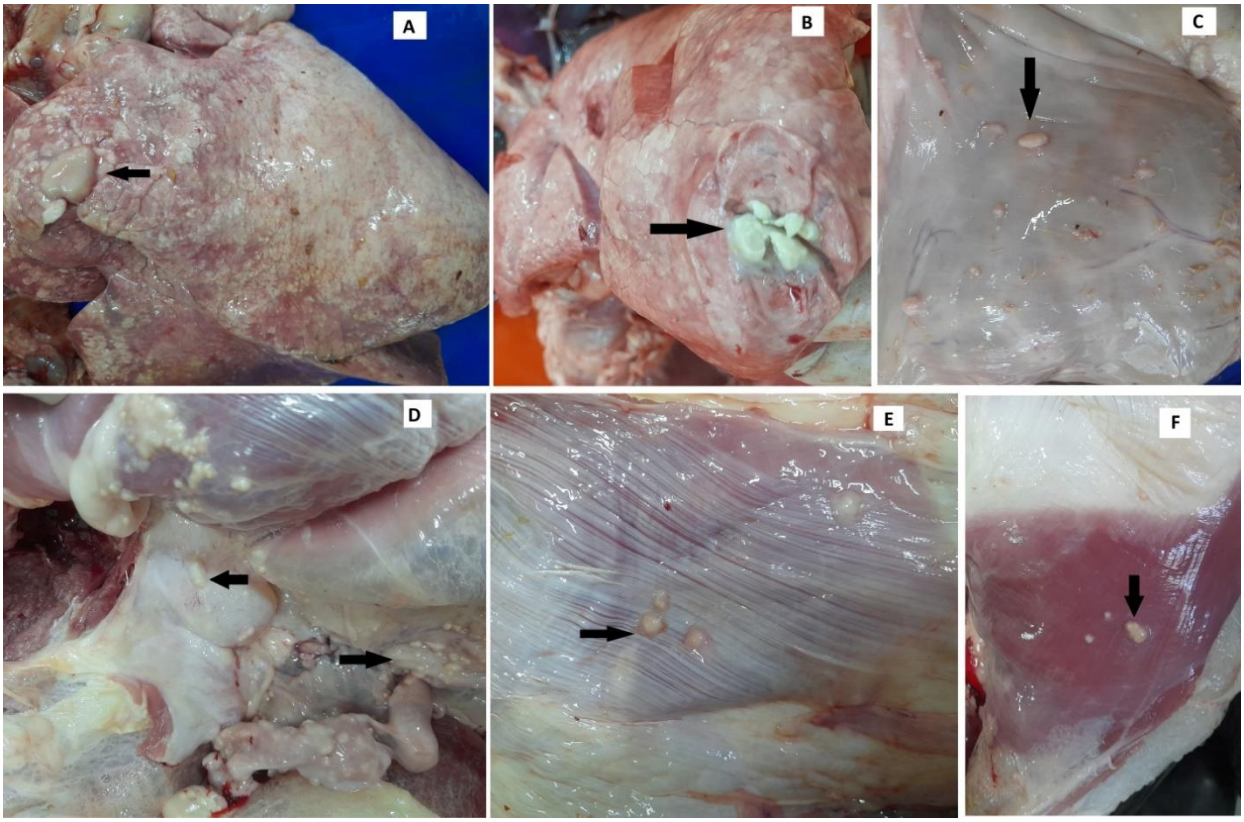
یافته‌های بالینی

مطالعه حاضر به گزارش یک نمونه سل گاوی در گوسفند ذبح‌شده در کشتارگاه دام سنندج می‌پردازد. سن میش آلوده به سل حدوداً سه تا سه و نیم سال بود. در معاینات قبل از کشتار نشانه‌ای از بیماری خاصی در دام مشاهده نشد و با توجه به استعلام و اخذ تاریخچه از صاحب دام، در برخی مواقع سرفه‌های تکی در دام مشاهده شده است. در ادامه، لاشه دام بعد از ذبح و پوست کنی معاینه شد. در معاینات اولیه، تورم عقده‌های لنفاوی پیش کتفی و عقب حلقی مشهود بود. بعد از تخلیه امعا و احشا، ضایعات گرانولومای سلی در اندام‌های مختلف و عقده‌های لنفاوی مدیاستینال، برونشیول، مزانتر و پورتال کبد نمایان بود (تصویر ۱). این ضایعات در عقده‌های لنفاوی قسمت‌های مختلف بدن، ریه، کبد، قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش، دستگاه تولیدمثلی، مثانه و عضلات مختلف از جمله عضله صفاق، عضله دیافراگم، عضله مایل درونی شکم (Internal abdominal oblique muscle) و عضله عرضی شکم (Transverse abdominal muscle) مشاهده شد (تصویر ۲).

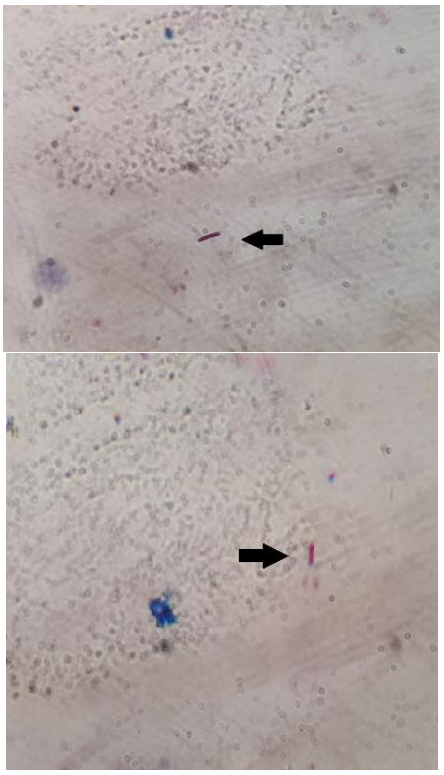
بیماری‌هایی که می‌بایست در این مرحله با بیماری سل منتشره تشخیص تفریقی داده شوند شامل موارد ذیل بودند: اکتینوباسیلوز، پریتونیت، متاستاز سرطان دنده‌ها، چسبندگی چرکی محوطه شکمی و سینه‌ای، تومورهای روده‌ای، نکروباسیلوز، دانه‌های غیراختصاصی کبد و صفاق ناشی از رسوب کلسیم و آهک، التهاب مزمن صفاق و دیافراگم، مزوتلیومای صفاق، نکروز چربی شکمبه و چادرینه، التهاب چرکی غدد لنفاوی پشت حلق، لنفادنیت کازئوز، سارکومای تمایز نیافته غدد لنفاوی روده‌بند، التهاب چرکی نایژه و ریه، آبسه‌های چرکی ریه، آبسه‌های چرکی مثانه و رحم و سیستی‌سرکوزیس در عضلات شکمی و دیافراگم. پس از انجام مراحل اولیه تشخیص تفریقی در کشتارگاه، لاشه با حفظ شرایط امنیت بهداشتی کامل به آزمایشگاه میکروبیولوژی دامپزشکی دانشگاه کردستان منتقل شد.



تصویر ۱. ضایعات سلی منتشره: لاشه (A). عقده‌های لنفاوی برونشیول (B).



تصویر ۲. ضایعات گرانولومای سلی در اندام‌های مختلف که با پیکان مشخص شده است. (A,B): ریه؛ (C): دستگاه گوارش؛ (D): مثانه و دستگاه تناسلی؛ (E,F): عضلات.

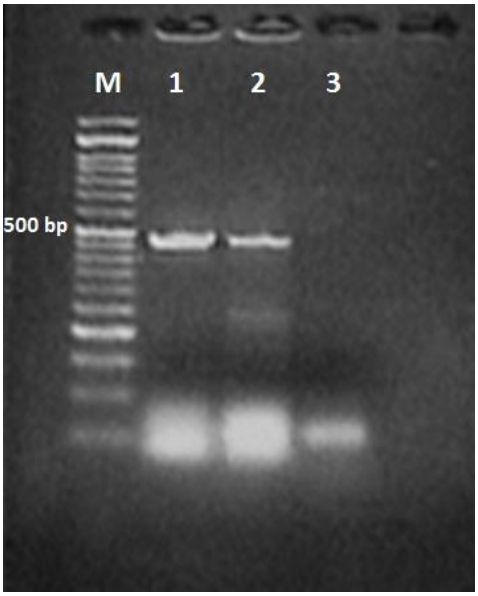


تصویر ۳. رنگ‌آمیزی زیل نلسون (باسیل اسید فاست با پیکان مشخص شده است).

آزمایشات تشخیصی

برای تشخیص صحیح بیماری و عامل آن، از مشاهدات بالینی، رنگ‌آمیزی زیل‌نلسون و تکنیک PCR استفاده شد. در ابتدا، جهت رنگ‌آمیزی زیل‌نلسون از عقده‌های لنفاوی مزانتریک و ضایعات گرانولوماتوزی نمونه‌گیری انجام شد. سپس، از نمونه‌های اخذ شده روی لام گسترش تهیه گردید و پس از تثبیت، رنگ‌آمیزی زیل‌نلسون طبق دستورالعمل انجام شد. تأیید حضور باکتری مایکوباکتریوم با مشاهده باسیل‌های قرمز رنگ در زمینه سبز-آبی صورت گرفت (تصویر ۳).

برای بررسی مولکولی گونه مایکوباکتریوم ابتدا DNA ژنومی از بافت عقده‌های لنفاوی درگیر با روش Chakravorty و همکاران در سال ۲۰۰۱، استخراج شد (۷). برای استخراج DNA از بافت از کیت استخراج شرکت سیناکلون استفاده شد. جهت تشخیص جنس و گونه عامل بیماری از جفت پرایمر اختصاصی 5-TCGTCCGCTGATGCAAGTGC-3 و 5-CGTCCGCTGACCTCAAGAGAC-3 که محصول ۴۹۹ جفت بازی را تولید می‌کنند، استفاده شد (۸). تکثیر ناشی از این



تصویر ۴. الکتروفورز باند ۴۹۹ جفت بازی مربوط به *مایکوباکتریوم بویس*. M: نردبان ژنی ۵۰ جفت بازی. لاین ۱: کنترل مثبت. لاین ۲: نمونه مثبت از *مایکوباکتریوم بویس*. لاین ۳: کنترل منفی.

پرایمر اختصاصی تأییدکننده *مایکوباکتریوم بویس* می‌باشد. آزمون PCR نشان داد که باکتری عامل ایجاد سل منتشره در گوسفند مورد بررسی *مایکوباکتریوم بویس* است. تصویر الکتروفورز محصول PCR در تصویر ۴ نشان داده شده است.

ارزیابی نهایی

به لحاظ اپیدمیولوژیک، بیماری سل در گوسفندان نادر است و گزارش‌های منتشره بیشتر به ذکر و توصیف موارد تکی می‌پردازد؛ اما گزارش این بیماری در گوسفند اهمیت ویژه‌ای دارد، زیرا بیانگر حضور بالای *مایکوباکتریوم بویس* در محیط اطراف گوسفندان است. همچنین این موضوع می‌تواند برای کنترل و ریشه‌کنی بیماری در میزبان اصلی -گاو- کمک‌کننده باشد (۶).

در مطالعه حاضر یک مورد سل منتشره گوسفندی گزارش شد. تشخیص قطعی بیماری با مشاهدات مستقیم، رنگ‌آمیزی زیل نلسون و آزمایش PCR انجام گردید. در مناطق مختلف جهان، مطالعاتی در رابطه با بروز بیماری سل در گوسفندان و تشخیص آن با استفاده از تکنیک‌های مختلف انجام شده است. در مطالعه‌ای که در کشور اتیوپی با استفاده از تست پوستی توبرکولین انجام شد، ۱۵ درصد گوسفندان مورد بررسی مثبت شدند (۹)، اما در مطالعاتی که از روش کالبدگشایی پس از مرگ و مشاهدات ضایعات سلی و جداسازی عامل بیماری استفاده شده است، فراوانی این بیماری در گوسفندان را بسیار پایین گزارش کرده‌اند. لازم به ذکر است سل منتشره با درگیری همه اندام‌های بدن در گوسفند نادر است و گزارش مشاهده این بیماری از لحاظ اپیدمیولوژیکی اهمیت بالایی دارد (۶،۱۰).

در ایران، مطالعه منسجمی راجع به گزارش بیماری سل بالینی در گوسفند وجود ندارد. در این رابطه، Fakour و همکاران در سال ۲۰۰۲ با استفاده از تست پوستی توبرکولین و نیز آزمایش PCR نشان دادند که هر چند فراوانی این بیماری در بز بسیار پایین است اما بیماری سل ناشی از *مایکوباکتریوم بویس* در بز در کشور ایران وجود دارد (۱۱). در ایران، گزارشات زیادی از ابتلا به سل گاوی در گاوداری‌ها وجود دارد (۱۲)؛ از سوی دیگر پرورش مختلط گاو و گوسفند در کشور ایران رایج است و این امر می‌تواند باعث انتقال بین گونه‌ای *مایکوباکتریوم بویس* شود. لذا مطالعه حاضر نشان داد که احتمال انتقال بیماری از گاو به گوسفند در کشور وجود دارد و این امر باید مورد توجه محققین، دامپروران و مراکز بهداشتی باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از حمایت مالی دانشگاه کردستان تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Bernitz N, Kerr TJ, Goosen WJ, Chileshe J, Higgitt RL, Roos EO, Meiring C, Gumbo R, de Waal C, Clarke C, Smith K. Review of diagnostic tests for detection of *Mycobacterium bovis* infection in South African wildlife. Front Vet Sci. 2021; 28(8): 588697. doi: 10.3389/fvets.2021.588697
2. Brites D, Loiseau C, Menardo F, Borrell S, Boniotti MB, Warren R, Dippenaar A, Parsons SD, Beisel C, Behr MA, Fyfe JA. A new phylogenetic framework for the animal-adapted *Mycobacterium tuberculosis* complex. Fronti Microbiol. 2018; 27(9): 2820. doi: 10.3389/fmicb.2018.02820
3. Srinivasan S, Easterling L, Rimal B, Niu XM, Conlan AJ, Dudas P, Kapur V. Prevalence of bovine tuberculosis in India: A systematic review and meta- analysis. Transbound Emerg Dis. 2018; 65(6): 1627-1640. doi: 10.1111/tbed.12915
4. Allen AR, Skuce RA, Byrne AW. Bovine tuberculosis in Britain and Ireland–A perfect storm? the confluence of potential ecological and epidemiological impediments to

controlling a chronic infectious disease. Front Vet Sci. 2018; 5(5): 109. doi: 10.3389/fvets.2018.00109
5. Vayr F, Martin-Blondel G, Savall F, Soulat JM, Deffontaines G, Herin F. Occupational exposure to human Mycobacterium bovis infection: A systematic review. PLOS Negl Trop Dis. 2018; 12(1):e0006208. doi: 10.1371/journal.pntd.0006208 PMID: 29337996
6. Marianelli C, Cifani N, Capucchio MT, Fiasconaro M, Russo M, La Mancusa F, et al. A case of generalized bovine tuberculosis in a sheep. J Vet Diagn. 2010; 22: 445-448. doi: 10.1177/104063871002200319 PMID: 20453224
7. Chakravorty S, Tyagi JS. Novel use of guanidinium isothiocyanate in the isolation of *Mycobacterium tuberculosis* DNA from clinical material. FEMS Microbiol Lett. 2001; 205: 113-117. doi: 10.1111/j.1574-6968.2001.tb10933.x PMID: 11728724
8. Cardoso MA, Cardoso RF, Hirata RDC, Hirata MH, Leite CQF, Santos ACB, et al. Direct detection of *Mycobacterium bovis* in bovine lymph nodes by PCR. Zoonoses and Public Health. 2009; 56: 465-470. doi: 10.1111/j.1863-2378.2008.01199.x PMID: 19175568
9. Gelalcha BD, Zewude A, Ameni G. Tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in a sheep flock colocated with a tuberculous dairy cattle herd in Central Ethiopia. J Vet Med. 2019. 2019; 8315137 doi: 10.1155/2019/8315137
10. Vallejo R, García Marín JF, Juste RA, Muñoz-Mendoza M, Salguero FJ, Balseiro A. Immunohistochemical characterization of tuberculous lesions in sheep naturally infected with *Mycobacterium bovis*. BMC Vet Res. 2018; 14: 1-7. doi: 10.1186/s12917-018-1476-2
11. Fakour S, Nadalian MG, Tabatabayi AH, Ghara Ghozlou MJ, Karimi A. A study on mycobacterium infection in goat. J Vet Res. 2002; 57(3): 21-26.
12. Tadayon K, Forbes K, Soleimani D, Pajoohi RA, Marhmati B, Javidi J, et al. A review of the contemporary knowledge of bovine tuberculosis and government policy in Iran. Vet Microbiol. 2011; 151: 192-199. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.02.044 PMID: 21450418

Journal of Veterinary Research
J Vet Res, Volume 77, Number 3, 2022
Homepage: jvr.ut.ac.ir
University of Tehran Press
Online ISSN: 2251-6190
Original Article

A Case Report of Generalized Tuberculosis in Sheep Caused by *Mycobacterium bovis* in Sanandaj Industrial Slaughterhouse

Mohammad Sina Abbaszadeh[1]✉, Keyvan Sobhani[2]✉, Aram Sharifi[2]✉

[1] *Graduated from the Sanandaj Branch Islamic Azad University, Sanandaj, Iran*
[2] *Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran*

10.22059/jvr.2022.345652.3282
Received: *23 July 2022****, Accepted:*** *23 October 2022*

Abstract

In bovine tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*, cattle are known as the main host, and sheep are relatively resistant. Sheep become infected only when there is very close contact between cattle and sheep or when the mycobacterium is abundant in the environment. In the present study, a case of generalized tuberculosis was reported in the sheep of the Sanandaj slaughterhouse.

The examined animal carcass was transferred from the slaughterhouse to the University of Kurdistan microbiology laboratory and was dissected under complete health safety conditions. In the carcass examination, necropsy lesions (generalized tubercular granulomas) were visible in different organs and mediastinal lymph nodes, bronchioles, mesentery, and liver portal system. These lesions were seen in the lymph nodes of different body parts, including the lung, liver, digestive system, reproductive system, bladder, and different muscles, including the peritoneal muscle, diaphragm muscle, and abdominal muscles.

Diagnostic tests included clinical observations, Ziehl-Neelsen staining for *Mycobacterium* bacteria, and polymerase chain reaction (PCR) molecular technique. In Ziehl-Neelsen staining, *Mycobacterium* acid-fast bacilli were seen in red color on the pale blue background of the slide. Also, the product of 499 base pairs was amplified in the specific PCR reaction, which confirmed *Mycobacterium bovis*.

The present report shows that *Mycobacterium bovis* strains present in the region can be transmitted to sheep and cause disease with severe clinical symptoms. This report is critical, particularly for mixed cattle and sheep farming. Since cattle and sheep are kept together in many breeding farms in Kurdistan province, special attention was paid to the possibility of transmission of bovine tuberculosis to sheep and humans.

Keywords: Bovine tuberculosis, Generalized tuberculous, *Mycobacterium bovis*, Sheep, Ziehl-Neelsen staining

Copyright © 2022. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author: Aram Sharifi, Tel/Fax: 087-33620552

How to cite this article:

Abbaszadeh M S, Sobhani K, Sharifi A. A Case Report of Generalized Tuberculosis in Sheep Caused by *Mycobacterium bovis* in Sanandaj Industrial Slaughterhouse. J Vet Res, 2022; 77(3): 197-202. doi: 10.22059/jvr.2022.345652.3282

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. Disseminated tuberculosis lesions: Carcass (A). Bronchiole lymph nodes (B).

Figure 2. Tuberculous granuloma lesions in different organs (indicated by arrows). (A & B): lung; (C): Digestive system; (D): Bladder and genital tract; (E & F): Muscles.

Figure 3. Ziehl-Neelsen staining (acid-fast bacillus indicated by arrow).

Figure 4. Gel electrophoresis (499-bp band) of *Mycobacterium bovis*. M: DNA Ladder (50 bp); Lane 1: Positive control; Lane 2: Positive sample of *Mycobacterium bovis*; Lane 3: Negative control.