

بررسی مقدماتی جهت ارزیابی میزان حساسیت و ویژگی توپرکولین گاوی (PPD)

در تست سل گاو

● محمّد حسن حسینی الوردی* ● پرویز اهورایی* ● نادر مصوری* ● کیوان تدین* ● محمدرضا غلامی* ● عزت‌اله شهرپور** ● ابوالفضل نیکبین*

* عضو هیات علمی مؤسسه تحقیقات باطنی و سینه‌پارزی رازی، ۵۵ سازمان دامپزشکی کشور

تاریخ دریافت: فروردین ۷۷

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 39, PP: 84-86

An introductory survey for assessment of sensitivity and specificity of bovine tuberculin in bovine tuberculosis test.

By: Hablobvarid M.H., Razi Vaccine and Serum Research Institute, P.O. Box: 11365-1558, Tehran, I.R. Iran.

A tuberculin testing trial in cattle was carried out to find out the sensitivity and specificity of bovine purified protein derivate (PPD) tuberculin and human PPD (both produced in Razi Institute).

The tests were done on 1826 cattle in four regions of Tehran province (Karaj, Shahriar, Islam-Shahr, Shahr-Ray). The standard intradermal comparative tuberculin test using avian and human tuberculines (PPDs) were carried out on one side of the neck and bovine tuberculin was injected on the opposite side in the usual mammalian site: The rules of interpretation developed by Lesslie and Hebert (1975) for a comparative tuberculin test using avian and bovine PPDs, and standard interpretation for a comparative tuberculin test using avian and human PPDs were applied. The results of this trial showed that the sensitivity and specificity of human and bovine tuberculines were 87.5, 62.5 and 75, 75 percent respectively the matching of these two tuberculines for potency showed that the bovine PPD tuberculin (1.0 mg per ml) was 87 percent of that of human PPD (2 mg per ml) in tuberculous cattle while in non-tuberculous animals it was only 35 percent. Non-specific reaction were less to bovine PPD than to the human PPD, showing that in the environment of this trial the bovine PPD was more specific than human PPD and had advantages of reducing the problem of false positive reactions. Concentration of 1.0 mg per ml of bovine PPD and 0.5 mg per ml of avian PPD are recommended for using comparative tuberculin test.

چکیده

در طی این طرح تعداد ۱۸۲۶ رأس گاو در ۱۴ دامداری با سابقه وجود بیماری سل واقع در استان تهران (محدوده کرج، شهریار، شهرری و اسلامشهر) تست توپرکولین^۱ گردیدند. در یک طرف گردن این گاوها تست مقایسه‌ای استاندارد با استفاده از توپرکولین‌های (PPD) مرغی^۲ و انسانی^۳ (پستانداران)^۴ با غلظت ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و در طرف دیگر گردن توپرکولین گاوی^۵ با غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تزریق گردید. پس از ۷۲ ساعت نتایج هر سه تزریق بوسیله اندازه‌گیری ضخامت پوست قرائت می‌گردید و گاوها بر اساس تفسیر نتایج تست استاندارد (مرغی و انسانی) و تست توپرکولین گاوی به سه گروه مثبت، منفی و مشکوک تقسیم می‌شدند. گاوهای توپرکولین مثبت به همراه تعدادی گاو شاهد به کشتارگاه اعزام و پس از ذبح و بازرسی کامل کلیه قسمتها اقدام به نمونه‌برداری از عقده‌های لنفاوی مختلف می‌گردید پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه در ابتدا از آنها کشت‌رشد مستقیم تهیه می‌شد سپس اقدام به کشت میکروبی و تهیه مقاطع بافتی از آنها می‌گردید در مرحله بعد نتایج تستهای مقایسه‌ای توپرکولین گاوی و انسانی با معیار نتایج کشت و آسیب‌شناسی ارزیابی شد که در نتیجه میزان حساسیت^۶ و ویژگی^۷ توپرکولین انسانی به ترتیب ۸۷/۵٪ و ۶۲/۵٪ و میزان حساسیت و ویژگی توپرکولین گاوی ۷۵٪ و ۷۵٪ اندازه‌گیری شد. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان واکنشهای غیر اختصاصی توپرکولین گاوی به مراتب کمتر از توپرکولین انسانی می‌باشد و از نظر قدرت اثر (Potency) غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر توپرکولین گاوی فعالیتتی برابر ۸۷٪ توپرکولین انسانی با غلظت ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در گاوهای مسلول و ۳۵٪ آن در گاوهای غیر مسلول را نازا می‌باشد. نتایج این مطالعه مورد بحث قرار گرفت پیشنهاد گردید که به منظور کاهش تعداد موارد مثبت کاذب و جلوگیری از کشتار بی‌مورد گاوهای غیر بیمار از توپرکولین گاوی بجای توپرکولین انسانی استفاده شود.

مقدمه

بیماری سل یکی از علل عمده مرگ و میر در گاوهاست و در سال ۱۹۹۷ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۱). این بیماری در گاوها به صورت مزمن و با دوره طولانی پنهانی و با علائم غیر مشخصی بروز می‌کند و تشخیص آن در مراحل اولیه بسیار دشوار است. در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۲). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۳). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۴). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۵). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۶). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۷). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۸). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۹). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۱۰).

در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۱۱). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۱۲). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۱۳). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۱۴). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۱۵). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۱۶). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۱۷). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۱۸). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۱۹). در سال ۱۹۷۵ میلادی در ایران ۱۰۰۰۰ گاو در اثر این بیماری کشته شدند (۲۰).

M. bovis از بدو برنامه ریشه‌کشی در ایران و بسیاری از نقاط جهان توپرکولین انسانی تولید و استفاده شده است. از طرف دیگر به علت کاهش شیوع بیماری (در کشور ما به‌دلیل موفقیت سازمان دامپزشکی کشور در اجرای برنامه تست و کشتار گاوهای راکتورسلی) بر تعداد موارد مثبت کاذب^۱ افزوده می‌شود (۸، ۷ و ۱) در حین شرایطی استفاده از توپرکولین گاوی که براساس آزمایشهای متعددی که در خارج از کشور انجام گردیده ویژگی بیشتری نسبت به توپرکولین انسانی دارد و به میزان کمتری در مقابل مایکوباکتریومهای غیر مشابه

(هستریلوگ)^{۱۱} مانند *Mycobacterium avium* و *M. paratuberculosis* مایکوباکتریومهای آنتی بیوتیک^{۱۲} واکنش نشان می‌دهد، می‌توان تا حد زیادی در حل این مشکل جلوگیری از ضررهای اقتصادی ناشی از آن مقید واقع شود. در این طرح میزان حساسیت و ویژگی هر دو نوع توپرکولین در چند دامداری با سابقه وجود بیماری سل مورد آزمایش قرار گرفت که شرح آن در ادامه می‌آید.

مواد و روش کار

تعداد ۱۸۲۶ رأس گاو واقع در ۱۴ گاوداری با سابقه الودگی به سل در محدوده استان تهران (کرج، شهریار، شهرری و اسلامشهر) بوسیله توپرکولین‌های زیر تهیه شده در مؤسسه رازی تست توپرکولین گردیدند:

- ۱- توپرکولین مرغی ۵/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر
- ۲- توپرکولین انسانی ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر
- ۳- توپرکولین گاوی ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر

یک تزریق به میزان ۱/۱ میلی‌لیتر از هر کدام از این نوع توپرکولین به تمام گاوهای تحت آزمایش توسط سرنگ اتوماتیک مخصوص به شکل داخل جلدی تزریق می‌گردد. به این طریق که: توپرکولین‌های مرغی و انسانی در یک سمت گردن (سمت استاندارد) و توپرکولین گاوی در سمت دیگر گردن در جایگاه تزریق توپرکولین انسانی تزریق می‌گردیدند و بعد از ۷۲ ساعت نتایج تست بوسیله اندازه‌گیری ضخامت پوست در محل هر سه تزریق مشخص می‌شد و گاوها براساس قوانین جاری در تفسیر نتایج تست استاندارد برنامه‌ریزی شده‌کنی سل گاوی و تست توپرکولین گاوی به سه گروه منفی، مثبت و مشکوک تقسیم می‌گردیدند. گاوهای مشکوک بعد از ۲ ماه مجدداً تست می‌شدند. و گاوهای مثبت به همراه ۶ رأس گاو شاهد به کشتارگاه اعزام و پس از دبح و بازرسی دقیق ماکروسکوپیک لاشه، سر و احشاء اقدام به نمونه‌برداری از عقده‌های لنفاوی مختلف می‌گردید. نیمی از نمونه عقده‌های لنفاوی سریعاً جهت کشت به بخش میکروبی‌شناسی و تهیه توپرکولین و مالتین مؤسسه رازی ارسال و پس از تهیه کشت‌ش مستقیم به طریقه رنگ‌آمیزی ذیل نیلسون و فلورسنت رنگ‌آمیزی می‌شود و از نظر وجود یا کثیربهای اسید فست و یا فلورسنت بوسیله میکروسکوپ نوری و فلورسنت مورد بررسی قرار می‌گرفت.

محیط‌های کشت بعد از دو ماه از نظر رشد باکتری مورد آزمایش قرار می‌گرفت و نتایج آن یادداشت می‌شد. نیمی دیگر از عقده‌های لنفاوی در فرمالین ۱۰٪ نگهداری می‌شد و پس از تثبیت شدن نمونه‌ها در بخش آسیب‌شناسی مؤسسه رازی اقدام به تهیه مقاطع بافت‌شناسی می‌گردید. لام‌های تهیه شده بوسیله رنگ‌آمیزی همانوکسلین و انوزین رنگ می‌شد و از نظر وجود ضایعات سلنی مورد مطالعه قرار می‌گرفت.

قوانین تفسیر نتایج تست توپرکولین گاوی (Leslie and Herbert 1975)

۱- تفسیر استاندارد^{۱۳}

دام مثبت تلقی می‌شود اگر: الف) واکنش گاوی مثبت و واکنش مرغی منفی باشد. ب) واکنش گاوی مثبت و بیش از ۴ میلی‌متر بزرگتر از واکنش مرغی باشد. دام مشکوک تلقی می‌شود اگر: واکنش گاوی مثبت و

حدود ۴-۱ میلی‌متر بزرگتر از واکنش مثبت مرغی باشد. دام منفی تلقی می‌شود اگر: الف) واکنش گاوی منفی باشد.

ب) واکنش گاوی مثبت ولی برابر یا کمتر از واکنش مثبت مرغی باشد. در صورتی که الودگی کله در بازرسی گاوی پس از کشتار و یا در مورد گاوهای راکتور سلنی به اثبات رسیده باشد باید از روش تفسیر شدید^{۱۴} استفاده کرد.

۲- تفسیر شدید

دام مثبت تلقی می‌شود اگر: الف) واکنش گاوی مثبت و واکنش مرغی منفی باشد.

ب) واکنش گاوی مثبت، و بیش از ۲ میلی‌متر بزرگتر از واکنش مثبت مرغی باشد. دام مشکوک تلقی می‌شود اگر: واکنش گاوی مثبت و برابر یا ۲-۱ میلی‌متر بزرگتر یا کمتر از واکنش مثبت مرغی باشد.

دام منفی تلقی می‌شود اگر: الف) واکنش گاوی منفی باشد.

ب) واکنش گاوی مثبت اما بیش از ۲ میلی‌متر کمتر از واکنش مثبت مرغی باشد.

نتایج

جدول ۱ و ۲ نتایج این تحقیق را نشان می‌دهد پس از تجزیه و تحلیل آماری و با معیار قرار دادن نتایج کشت و آسیب‌شناسی میزان حساسیت و ویژگی تست توپرکولین انسانی ۸۷/۵٪ و ۶۲/۵٪ و میزان حساسیت و ویژگی تست توپرکولین گاوی به ترتیب ۷۵٪ و ۷۵٪ تعیین گردید.

میانگین افزایش ضخامت پوست ناشی از تزریق توپرکولین‌های مرغی، انسانی و گاوی در گاوهای مسلول و توپرکولین مثبت به ترتیب ۴۳، ۴۷/۱، ۴۱/۴ میلی‌متر و در گاوهای غیر مسلول و توپرکولین مثبت ۳، ۴/۶۶ و ۱/۶۶ میلی‌متر اندازه‌گیری شد در حالیکه در گاوهای توپرکولین منفی این مقادیر ۲/۶۸، ۳/۱۶ و ۱/۰۹ میلی‌متر تعیین گردید (جدول شماره ۳).

بحث

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان‌دهنده ویژگی نسبتاً بالای توپرکولین گاوی و برتری آن بر توپرکولین انسانی از این نظر می‌باشد. (۷۵٪ در مقابل ۶۲/۵٪) ولی از نظر میزان حساسیت ضعیف‌تر از آن می‌باشد (۷۵٪ در مقابل ۸۷/۵٪). این نتیجه با نتایج گزارش شده توسط محققین دیگر مطابقت دارد (۳، ۱، ۴، ۵ و ۷) از آنجا که میزان موارد مثبت کاذب همزمان با کاهش میزان شیوع بیماری سل در گله‌های آلوده افزایش می‌یابد (۱، ۷ و ۸) در کشورهایی که برآورد ریشه‌کنی سل گاوی موفقیت‌آمیز بوده است معمولاً بیشترین تأکید در به دست آوردن ویژگی بیشتر در تست توپرکولین می‌باشد (۳) (به علت وجود حساسیت‌های غیراختصاصی در گله‌ها). در شرایط فعلی ایران هم که برنامه ریشه‌کنی سل گاوی پیشرفت چشمگیری داشته است و به میزان قابل توجهی از میزان شیوع بیماری کاسته شده، جایگزین کردن توپرکولین گاوی به جای توپرکولین انسانی نسی ارزنده‌ای در کاهش موارد مثبت کاذب خواهد داشت. شایان ذکر است که میانگین افزایش ضخامت پوست ۰/۵ جی تزریق توپرکولین گاوی در این

تحقیق در گاوهای مسلول کمی کمتر از توپرکولین انسانی می‌باشد. (۴/۷۱ در مقابل ۴/۱۴ میلی‌متر) در حالی که در گاوهای غیر مسلول (توپرکولین مثبت) و توپرکولین منفی بسیار کمتر می‌باشد (۴/۶۶ در مقابل ۱/۶۶ و ۳/۱۶ در مقابل ۱/۰۹ میلی‌متر) که نشان‌دهنده آن است که واکنشهای غیراختصاصی توپرکولین گاوی بسیار کمتر از توپرکولین انسانی می‌باشد.

از نظر قدرت اثر توپرکولین گاوی با غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر فعالیت در حدود ۸۷٪ توپرکولین انسانی با غلظت ۲ میلی‌گرم در گاوهای مسلول و در حدود ۳۵٪ آن در گاوهای غیر مسلول دارا می‌باشد. بنابراین دوز مناسبی جهت تشخیص سل گاوی می‌باشد اما در صورت نیاز با افزایش غلظت آن به ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌توان میزان واکنش پوستی را افزایش داد. این نتایج با گزارشات انجام یافته توسط Lesslie و همکاران (۱۹۷۶) و Paterson (۱۹۷۲) مطابقت دارد (۱ و ۴).

به دلیل آنکه دو نوع توپرکولین استاندارد در یک زمان تزریق می‌گردیدند احتمال دارد شدت واکنش نسبت به زمانی که توپرکولین گاوی به تنهایی تزریق شود کاهش یافته باشد (۶).

در این تحقیق یک رأس از گاوهای تحت آزمایش که هیچگونه واکنشی در محل تزریق سه نوع توپرکولین نشان نداده بود ولی به علت عفونت شدید در ناحیه پا واکنش به کشتارگاه اعزام شده بود میلان به سل عمومی تشخیص داده شد که ثانیدی بر نظر کلیبرگ (۱۹۶۰) و سایرین می‌باشد که عدم پاسخ حیوانات نسبت به تست توپرکولین را در ارتباط با سل عمومی می‌دانند (۳ و ۸) اگر چه نقش عوامل دیگری مانند مراحل اولیه الودگی (۷ هفته اول)، ۶ هفته اول بعد از زایمان، پیری، سوء تغذیه و عفونت‌های همزمان راه‌همی توان نادیده گرفت (۳ و ۸)

پیشنهادات

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق پیشنهاد می‌شود به منظور کاهش موارد مثبت کاذب و جلوگیری از خسارات اقتصادی بسیار زیاد آن از توپرکولین گاوی بجای توپرکولین انسانی در تست سل گاو استفاده شود. در زمینه تعیین دقیق بر میزان حساسیت و ویژگی توپرکولین گاوی (از نظر آماری) پیشنهاد می‌شود مطالعه حساسیت بر روی جدیدیت بزرگ‌ترین گاوهای موجود در دامداری‌ها و بدون توجه به وجود یا عدم وجود سابقه‌ای از بیماری سل ادامه یابد.

شکر و قدردانی

از همکارانهای صمیمانه روسا، کارشناسان و کارکنان اکیپ‌های ریشه‌کنی سل گاوی ادارات دامپزشکی کرج، شهریار، شهرری و اسلامشهر که در اجرای عملیات تست مراباری نمودند کمال تشکر را دارم. از کارشناسان بازرسی گوشت کشتارگاه فنام شهریار آقاسیان دمیرچی و نیاتی به‌خاطر همکاری‌های صمیمانه‌شان در زمینه بازرسی لاشه‌ها و جمع‌آوری نمونه از گاوهای تحت آزمایش قدردانی می‌نمایم. از کارکنان بخش‌های میکروبی‌شناسی و تهیه توپرکولین و مالتین و آسیب‌شناسی مؤسسه رازی به‌خاطر تهیه توپرکولین مورد نیاز، انجام کشت، تهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی‌های به‌یاری بسیار تشکر می‌نمایم.

پاورقی‌ها

- 1- Tuberculin - test
- 2- Purified protein derivate
- 3- Avian tuberculin (PPD)
- 4- Human tuberculin (PPD)
- 5- Mamalian tuberculin (PPD)
- 6- Bovine tuberculin (PPD)
- 7- Sensitivity
- 8- Specificity
- 9- Homolougous
- 10- False posetive
- 11- Heterologous
- 12- Atypical mycobacterium
- 13- Standard interpretation
- 14- Sever interpretation

فهرست منابع مورد استفاده

۱- جودیت. س. مازنر، آیناک‌بان، ۱۳۶۵، ترجمه دکتر حسین ملک افشلی و دکتر کیومرث ناصری اصول ایبدمیولوژی چاب دوم، مرکز نشر دانشگاهی، ص ۲۲۵-۲۹۳.

2- Francis J. et al, 1973. The diagnosis of tuberculosis in cattle with special refernce to bovine tuberculin. Aust. Vet. J. Vol 49 P. 246-251.

3- Francis J. et al, 1978. The sensitivity and specificity of various tuberculin tests using bovine PPD and other tuberculins. Vet. Rec. Vol. 103 P. 420-425.

4- Lesslie J.W. et al, 1975. Comparision of specificity of human and bovine tuberculin PPD for testing cttle. vet. Rec. Vol 96. P. 332-341.

5- Lesslie J.W. et al, 1976. Practical application of bovine tuberculin PPD in testing cattle in great Britain. Vet. Rec. Vol. 98 P. 170-172.

6- Paterson A.B, 1948. The production of bovine tuberculoprotein J. Comp. Path. Ther. Vol. 58 P. 302-313.

7- Paterson T.G., 1963. Diagnosis of bovine tuberculosis. I: The evalution of tuberculin tests. Newzealand. Vet. J. Vol. 11 6-10.

8- Radostits O.M., Blood D.C. and Gay D.C., 1994. Veterinary medicine. Eighth ed. Bailliere tindal P. 830-849.



محل تزریق توپرکولین‌های گاوی و مرغی

جدول شماره ۱- نتایج ارزیابی تست توپرکولین انسانی با معیار نتایج کشت و آسیب شناسی

نتیجه تست توپرکولین انسانی	مسلول		غیر مسلول		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
مثبت	۷	۴۳/۷۵	۳	۱۸/۷۵	۱۰	۶۲/۵
منفی	۱	۶/۲۵	۵	۳۱/۲۵	۶	۳۷/۵
جمع	۸	۵۰	۸	۵۰	۱۶	۱۰۰

جدول شماره ۲- نتایج ارزیابی تست توپرکولین انسانی با معیار نتایج کشت و آسیب شناسی

نتیجه تست توپرکولین گاوی	مسلول		غیر مسلول		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
مثبت	۶	۳۷/۵	۲	۱۲/۵	۸	۵۰
منفی	۲	۱۲/۵	۶	۳۷/۵	۸	۵۰
جمع	۸	۵۰	۸	۵۰	۱۶	۱۰۰

جدول شماره ۳- میانگین افزایش ضخامت پوست (میلی‌متر) در گاوهای توپرکولین مثبت و منفی

نتیجه تست توپرکولین	میزان واکنش	میانگین افزایش ضخامت پوست (میلی‌متر)		
		مرغی	انسانی	گاوی
مثبت	مسلول	۰/۴۳	۴/۷۱	۴/۱۴
	غیر مسلول	۰	۴/۶۶	۱/۶۶
منفی		۳/۶۸	۳/۱۶	۱/۰۹
				۱۱۲