

**PARATUBERKULOZA (JOHNOVA BOLEST) – OSNOVNE
KARAKTERISTIKE I STANJE U NAŠOJ ZEMLJI******PARATUBERCULOSIS (JOHNE'S DISEASE) – BASIC
CHARACTERISTICS AND CURRENT SITUATION LOCALLY*****M. Jovanović, Milijana Knežević****

Paratuberkuloza ili Johnsova bolest je oboljenje digestivnog trakta životinja, prouzrokovano Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis (M.a. paratuberculosis). Paratuberkuloza je ustanovljena u mnogim zemljama i ona danas predstavlja jednu od najrasprostranjenijih bolesti bakterijske etiologije preživara koja uzrokuje velike ekonomske štete. U našoj zemlji paratuberkuloza nije opsežnije izučavana. U Srbiji je prvi put bolest otkrivena 1995. godine u jednom izolovanom stadu ovaca rase Il de France, a serološki pozitivna goveda 2001. godine.

Infekcija izazvana bakterijom M.a. paratuberculosis nastaje, uglavnom, kod mladih životinja koje su na infekciju i najosetljivije. Osnovni izvor infekcije je feces bolesnih životinja. Takođe, kolostrum i mleko obolelih životinja mogu da sadrže mikobakterije, a postoji mogućnost i intrauterine infekcije.

Duga inkubacija, hronični tok i ne baš uvek jasno ispoljena klinička slika, čine dijagnostiku paratuberkuloze veoma kompleksnom i pored postojanja velikog broja dijagnostičkih metoda. Postoji nekoliko seroloških testova pomoću kojih je moguće da se otkriju antitela protiv M. a. paratuberculosis kod inficiranih životinja. Najčešće se koriste reakcija vezivanja komplementa (RVK), agar-gel imunodifuzioni test (AGID) i imunoenzimski test (ELISA). Izolacija uzročnika ili delova njegovog genoma, predstavljaju važne metode u dijagnostikovanju paratuberkuloze. Materijal za izolaciju mogu da budu delovi tkiva dobijeni obdukcijom ili biopsijom, feces i uzorci mleka. Dijagnoza paratuberkuloze na uginulim ili žrtvovanim životinjama postavlja se na osnovu patoanatomskog i patohistološkog nalaza.

* Rad primljen za štampu 2. 9. 2005. godine

** Dr Milijan Jovanović, profesor, dr Milijana Knežević, profesor, Katedra za patološku morfologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Paratuberkuloza preživara u kliničkom, morfološkom i etiološkom aspektu ima izvesne sličnosti sa Crohnovom bolesti ljudi.

Ključne reči: paratuberkuloza, Johnneova bolest, goveda, ovce, promene, dijagnostika

Uvod / Introduction

Paratuberkuloza ili Johnneova bolest je oboljenje digestivnog trakta životinja, prouzrokovano bakterijom *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (*M. a. paratuberculosis*). Pored preživara, koji najčešće obolevaju, paratuberkuloza se eksperimentalno može da izazove kod svinja, konja i magaraca, a od laboratorijskih životinja moguće je da se inficira kunić, hrčak, zamorac, miš i neke vrste majmuna [1, 43, 32]. Takođe, prouzrokovalac paratuberkuloze pominje se kod nekih slučajeva Crohnove bolesti kod ljudi [3, 12]. Klinička i patoanatomska slika ove bolesti opisane su još tokom 19. veka. Engleski istraživači H. A. Johne i L. Forthingham su 1895. godine dokazali vezu između enteritisa goveda i prisustva acido-rezistentnih (acid fast) bakterija u isečcima crevne sluznice, zbog čega je ovo oboljenje dobilo naziv *Johnes disease* [10].

Paratuberkuloza je ustanovljena u mnogim zemljama i ona danas predstavlja jednu od najrasprostranjenijih bakterijskih bolesti preživara koja izaziva velike ekonomske štete. Primera radi, procenjuje se da godišnji gubitak zbog ove bolesti u SAD prevazilazi 1,5 milijardi dolara [15].

Na području koje je „pokrivala” bivša Jugoslavija ima veoma malo podataka o pojavi paratuberkuloze. Prvi podatak čini izveštaj Vukovića [45] da je bolest opisana u Bosni, ali se ne navodi ni mesto ni vreme kada je bolest utvrđena. Takođe, u novijoj literaturi mogu da se nađu podaci o pojavljivanju ove bolesti kod ovaca u Sloveniji [30]. U Srbiji prvi put je dijagnostikovana paratuberkuloza 1995. godine u jednom izolovanom stadu ovaca rase *Il de France* [16, 17, 18, 19, 20]. Serološkim ispitivanjem goveda u južno-bačkom epizootičkom području ustanovljena je u 5,5 posto ispitivanih goveda [44].

Etiologija i epizootologija / Etiology and epizootiology

Etiološki agens paratuberkuloze, od svog otkrića pa do danas, pretrpeo je nekoliko promena u nazivu. Prvobitno, naziv mu je bilo *Mycobacterium enteritidis chronicae pseudotuberculosis bovis johne*, zatim, *Mycobacterium johnei*, pa *Mycobacterium paratuberculosis* i najzad, *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (*M.a. paratuberculosis*) [8]. To je acido-rezistentan, slabo gram-pozitivan bacil, veličine od 1,5 do 0,5 µm. Sporo raste na podlogama i za svoj rast zahteva organski izvor gvožđa, što se obezbeđuje dodavanjem faktora rasta poznatog kao mikobaktin. Po svojim kulturelnim osobinama *M.a. paratuberculosis* sličan je *Mycobacterium avium silvaticum* koji je izolovan iz divljih go-

lubova, ali se ova dva prouzrokovala genetski razlikuju. Analizom genoma *M. a. paratuberculosis* otkrivena je karakteristična sekvenca DNA označena kao IS 900 koja se ponavlja u 15 do 20 kopija po jednoj bakteriji. Izolovanjem fragmenta DNK omogućava egzaktno dijagnostikovanje ovog prouzrokovala molekularnim metodama kao što je PCR metoda. Bakterije iz iste grupe (*M.a. avium* i *M.a. silvaticum*) sadrže sekvencu DNA označenu kao IS 901 [24]. *M. a. paratuberculosis* pokazuje i određene varijacije u sojevima. Najočiglednija razlika je u sojevima koji stvaraju i sojevima koji ne stvaraju pigment žutonarandžasti u promjenjenom tkivu i hranljivim medijumima. Takođe, postoje podaci o različitoj prijemčivosti pojedinih životinjskih vrsta za sojeve izolovane u različitim geografskim područjima [34]. Međutim, ove razlike u sojevima nisu još uvek dovoljno proučene, razvoj molekularne tehnike i metoda kao što su PCR, RFLP i druge sigurno će uneti više jasnoće u ovo područje. *M. a. paratuberculosis* je vrlo otporan mikroorganizam na dejstvo spoljašnjih činilaca tako da u zemljištu, vodi i fecesu može da izdrži mesecima [7].

Infekcija prouzrokovana *M. a. paratuberculosis* nastaje, uglavnom, kod mladih životinja koje su najosetljivije na infekciju. Najprijemčivije su životinje u uzrastu od prvih trideset dana, u kom periodu u najvećem broju slučajeva infekcija i nastaje, ali se bolest ispoljava, uglavnom, kod odraslih jedinki u uzrastu od dve do pet godina. Međutim, iako ređe, bolest može da se pojavi ako infekcija nastane i kod odraslih jedinki. Predisponirajući činioci kao što je slaba ishrana, intenzivna laktacija, porođaj, stres zbog transportovanja, zatim, imunosupresivni agensi kao što je virus bovine dijareje mogu da izazovu pojavljivanje bolesti.

Osnovni izvor infekcije je feces bolesnih životinja. Dug period inkubacije omogućuje izlučivanje mikobakterija u fecesu i 18 meseci pre nego što se pojave klinički simptomi. Količina bakterija koju izlučuju klinički obolele životinje može da bude i do $5 \cdot 10^{12}$ bakterija na dan [7]. Fekalna kontaminacija sisa, zagađena hrana i voda su najčešći putevi infekcije. Takođe, kolostrum i mleko obolelih životinja mogu da sadrže mikobakterije, a postoji mogućnost intrauterine infekcije [8]. Muški reproduktivni organi i seme mogu da sadrže *M. a. paratuberculosis*, ali prenošenje bolesti polnim putem nije dokazano [4, 21].

Klinička slika / Clinical picture

Kliničku sliku paratuberkuloze goveda i ovaca karakteriše hronično progresivno gubljenje telesne mase, što prati stalan ili povremeni proliv. Kod ovaca proliv je manje konstantan i manje upečatljiv simptom. Životinje su afebrilne, a proizvodnja mleka se smanjuje. Dlaka je nakostrešena, nastaje alopecija a ponekad depigmentacija dlake. Kod ovaca se zapaža ispadanje pramenova vune. U odmaklim slučajevima može da se uoči edem u submandibularnom području i drugim delovima tela. Pregledom krvi često se zapažaju anemija, smanjenje albumina i ukupnih proteina, dok je količina globulina nepromenjena.

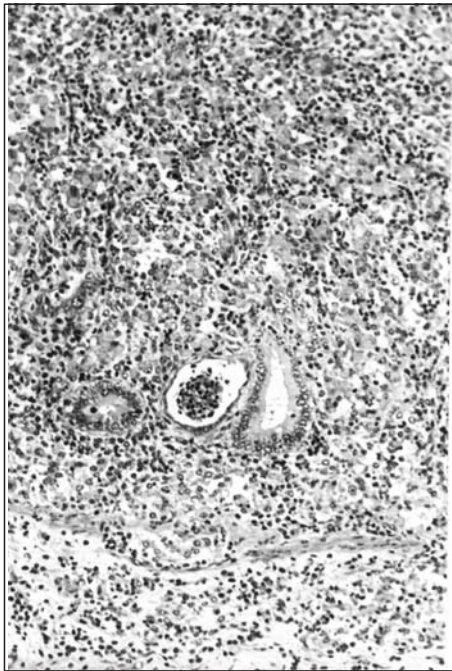
Patoanatomske promene / *Pathoanatomical changes*

Osnov makroskopskih promena kod paratuberkuloze preživara čine hronični granulomatozni enteritis, limfangitis i limfadenitis mezenterijalnih limfnih sudova i limfnih čvorova. Promene na crevima najuočljivije su na ileumu, naročito na njegovom završnom delu i ileocekalnoj valvuli. Ponekada promene mogu da zahvate debela creva i jejunum, retko duodenum. Ileum je zadebljao, cevastog izgleda koji ponekada podseća na jednjak. Sluznica creva je zadebljala, poprečno naborana ili granulisanog izgleda. U slučajevima infekcije izazvane sojevima koji stvaraju pigment sluznica creva je žutonarandžaste boje [9]. Na seroznoj površini promjenjenih creva zapaža se proširenje i zadebljanje limfnih sudova koji postaju uočljivi i imaju izgled pruga mlečno bele boje. Mezenterijalni i ileocekalni limfni čvorovi su najčešće povećani, sivobeličaste boje i preseka vlažne površine. Pored ovih promena kod uginulih životinja uočava se atrofija skeletne muskulature i masnog tkiva, što prati nakupljanje povećane količine tečnosti u telesnim šupljinama. Makroskopske promene na crevima kod izvesnog broja životinja, naročito ovaca mogu da nedostaju [6]. Naši nalazi takođe ukazuju da kod jedne trećine ovaca koje su imale kliničke simptome, makroskopske promene na crevima nisu bile uočljive.

Patohistološke promene / *Pathohistological changes*

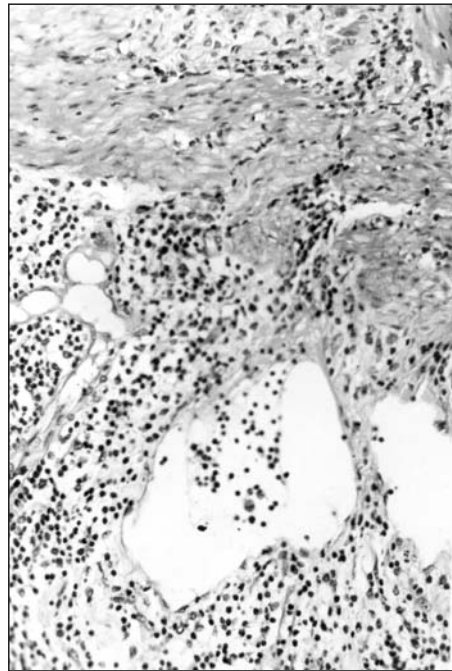
Najkonstantnije i najintenzivnije mikroskopske promene kod preživara takođe se uočavaju u crevima, naročito u ileumu. Ovakav nalaz je i razumljiv, jer se ileum, odnosno limfatično tkivo ovog dela creva smatra veoma važnim u patogenezi paratuberkuloze, zato što predstavlja ulazna vrata za prouzrokovala [10, 26]. Promene karakteriše infiltracija zida creva ćelijama koje čine takozvano specifično granulaciono tkivo (slika 1). U zavisnosti od količine ćelija i njihove rasprostranjenosti (fokalno ili difuzno) promene su razvrstane u blage, srednje i intenzivne [8, 42]. U slučajevima dobro ispoljenih promena uočava se da je lamina proprija mukoze zadebljala usled difuznog ćelijskog infiltrata koji u najvećem broju čine makrofage-epiteloidne ćelije karakteristične obilne slabo eozinofilne citoplazme i velikih vezikularnih jedara. Manji broj ćelija otpada na limfocite, eozinofile i neutrofilne granulocite. Multinuklearne Langerhansove ćelije mogu da budu prisutne u različitom broju, a mogu i potpuno da nedostaju. U slučaju veoma izraženih promena, crevni epitel pokazuje izraženu atrofiju i fuziju crevnih resica, što omogućava izravnavanje površine mukoze. Broj kripti je smanjen, a neke od njih su često proširene i ispunjene ćelijskim detritusom. Ćelijski infiltrat istog sastava, ali najčešće fokalne rasprostranjenosti, može da se uoči u lamini muskularis i u submukози. U submukози i serози obično se zapaža dilatacija limfnih sudova praćena zadebljanjem njihovog zida, perilimfatičnim i perivaskularnim nakupljanjem limfocita (slika 2). Ostali delovi creva (jejunum, cekum i kolon) zavisno od rasprostranjenosti procesa pokazuju patohistološke promene slične onima u ileumu, ali slabijeg intenziteta.

Ileocekalni i mezenterijalni limfni čvorovi su hiperplastični sa uočljivom limfoidnom proliferacijom. Makrofage su prisutne u kortikalnom delu u vidu difuznog ili fokalnog infiltrata.



Slika 1. Markantna infiltracija lamine proprije ileuma ovce makrofagama i limfocitima (HE, x 200) /

Figure 1. Marked infiltration of ileum lamina propria in sheep with macrophages and lymphocytes (HE, x200)



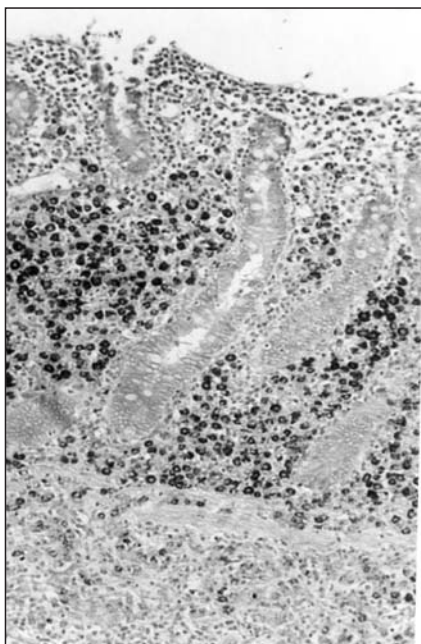
Slika 2. Proširenje limfnih sudova i infiltracija limfocitima u serozi creva ovce (HE, x 200)

Figure 2. Expanded lymph vessels and lymphocyte infiltration in serosis of sheep intestines (HE, x200)

Bojenjem histoloških preparata metodom po Ziehl Neelsenu (ZN) u promjenjenim delovima creva uočava se da makrofage koje infiltruju laminu propriju mukoze sadrže acidorezistentne štapiće (slika 3). Bakterije u svakoj pojedinačnoj ćeliji mogu da budu mnogobrojne, naročito u ćelijama koje infiltruju crevne resice. Acidorezistentni štapići uočavaju se i u makrofagama koje infiltruju submukozu i limfne čvorove, ali je njihov broj u odnosu na propriju mukoze daleko manji.

U jetri i pripadajućim limfnim čvorovima, ređe slezini, bubrezima i plućima u pojedinim slučajevima mogu da se uoče granulomatozne promene istih mikroskopskih karakteristika kao i u crevima [8].

Kada je u pitanju paratuberkuloza ovaca Clarke [8] navodi da se mikroskopske promene mogu da svrstaju u dve kategorije: lepromatozni tip i tuberkuloidni tip promena. Osnovnu histološku karakteristiku lepromatoznog tipa promena čini intenzivna infiltracija proprije mukoze creva velikim brojem makrofaga u kojima se nalazi veliki broj acido rezistentnih bakterija. Ovakav nalaz odgovara promenama koje su Rajya and Singh [33] označili kao tip I, Perez *et al* [29] tip IIIb, a Clarke and Little [9] kao „multibacillary” tip. Promene tuberkuloidnog tipa, koje navedeni autori opisuju kao tip II, IIIc i „paucibacillary”, istim redom, karakteriše prisustvo većeg broja limfocita, dok je nalaz acidorezistentnih bakterija veoma oskudan ili potpuno izostaje. Kod lepromatoznog oblika paratuberkuloze broj



džinovskih ćelija je oskudan, dok je njihovo masovnije pojavljivanje vezano za drugi, tuberkuloidni tip paratuberkuloze. Lepromatozni tip promena, pored karakteristične patohistološke slike, karakteriše prisustvo velikog broja acido-resistentnih bakterija, snažan, ali neefikasan humoralni i slab celularni imunski odgovor, što govori o slaboj otpornosti životinje [9]. U patogenezi ovakve granulomatozne inflamacije značajnu ulogu imaju limfokini TNF alfa, IL-1 i IL-6 čije povećanje u promenjenom tkivu su ustanovili Alzuherri *et al* [2].

Slika 3. Veliki broj acidorezistentnih bakterija u citoplazmi makrofaga koji infiltruju laminu propriju (ZN, x 200) /

Figure 3. Numerous acidoresistent bacteria in cytoplasm of macrophages infiltrating lamina propria (ZN, x200)

Dijagnostika / *Diagnostics*

Dug inkubacioni period, hronični tok i ne baš uvek jasno ispoljena klinička slika čine dijagnostiku paratuberkuloze veoma kompleksnom i pored postojanja mnogobrojnih dijagnostičkih metoda. Progresivno mršavljenje životinje uz pojavljivanje proliva, kao i negativan odgovor na terapiju antibioticima i antihelminticima treba da pobude sumnju u paratuberkulozu. U sumnjivim zapažanjima može da se pristupi pregledu izmeta sumnjivih ili svih životinja. Uzorci izmeta posle obrade i bojenja metodom po Zeihl Neelsenu posmatraju se mikroskopski ili se zasejavanje obavlja na odgovarajuće podloge, što daje bolje rezultate u od-

nosu na mikroskopski pregled [10]. Uspeh mikroskopske metode zavisi od količine bakterija u fecesu i on je u početnim fazama bolesti slab, dok je u kasnijim fazama, koje prate i klinički simptomi, mnogo veći. Uzorci biopsije creva i mleko takođe mogu da se koriste za mikroskopski pregled i kultivaciju uzročnika.

Kutani test zasnovan na fenomenu kasne preosetljivosti, slično kao kod tuberkuloze, može da se primeni i u dijagnostikovanju paratuberkuloze. Kao antigen koristi se ekstrakt *M. avium* (avijarni tuberkulin) ili ekstrakt *M. a. paratuberculosis* (johnin) koji se daju intradermalno. Test se primenjuje samo kod goveda, rezultat testa čita se posle 72 časa. Umesto u kožu odgovarajući antigeni mogu da se daju intravenski u količini od 2 do 4 ml i kod životinja se posle tri do sedam časova meri telesna temperatura. Povišenje temperature tela za 1 stepen označava pozitivnu reakciju. Intradermalni i intravenski test su niske specifičnosti i osetljivosti. Pokazuju veliki broj lažno pozitivnih i lažno negativnih slučajeva. Lažno negativni rezultat je posebno čest u odmaklom stadijumu bolesti [15].

Postoji nekoliko seroloških testova pomoću kojih je moguće da se otkriju antitela protiv *M. a. paratuberculosis* kod inficiranih životinja. Najčešće se koriste reakcija vezivanja komplementa (RVK), agar-gel imunodifuzioni test (AGID) i imunoenzimski test (ELISA). RVK je serološki test osrednje osetljivosti i specifičnosti. Koristi se za potvrđivanje kliničkih slučajeva paratuberkuloze, dok je u otkrivanju rane, supkliničke infekcije manje efikasna [15]. AGID predstavlja prikladan test za otkrivanje bolesnih životinja, jer je relativno brz i jeftin. Slično RVK, njegova osetljivost kada su u pitanju supklinički inficirane životinje je ograničenog dometa. Njegove karakteristike što se tiče specifičnosti i osetljivosti u SAD su poboljšane prečišćavanjem antigena. Komercijalnim AGID testom za goveda postignuti su dobri rezultati u ispitivanju i na ovcama. ELISA zbog svoje specifičnosti predstavlja metodu izbora u serološkom dokazivanju paratuberkuloze [28]. U poslednje vreme razvijen je ELISA test kojim se meri *in vitro* oslobađanje γ interferona iz limfocita inficirane životinje, što ga čini veoma osetljivim u otkrivanju supklinički inficiranih životinja [10, 39].

Dijagnoza paratuberkuloze na uginulim ili žrtvovanim životinjama postavlja se na osnovu patoanatomskog i patohistološkog nalaza. Patoanatomska slika nije uvek karakteristična i upečatljiva, kao što je prethodno rečeno. Kada su u pitanju ovce u oko 30 posto kliničkih slučajeva paratuberkuloze makroskopski nalaz može da bude negativan. Patohistološki nalaz, naročito u ileumu, veoma je karakterističan i on se dopunjava nalazom acidorezistentnih bakterija metodom bojenja po Ziehle Neelsenu. Iz radova pojedinih autora [9, 26] vidi se da ZN metodom kada je u pitanju „multibacilarni” tip promena kod ovaca, mogu da se dokažu mikobakterije u sto posto slučajeva. Kada je u pitanju drugi tip promena („paucibacilarni”) dokazivanje bakterija je daleko teže. Nešto bolji rezultati postignuti su imunohistohemijskim metodama, antitelima protiv *M. a. paratuberculosis* i markerima za makrofage.

Izolacija uzročnika predstavlja važnu metodu u dijagnostikovanju paratuberkuloze. Materijal za izolaciju mogu da budu delovi tkiva dobijeni obdukcijom.

jom ili biopsijom, feces i uzorci mleka. Materijal se posle odgovarajuće obrade zasejava na selektivne hranljive podloge kao što su Heroldova agar-žumančana podloga, modifikovana Dubos podloga, Levenstajn-Jansenova podloga i druge. Nedostatak metoda kultivisanja uzročnika je taj što je to skup i spor način postavljanja dijagnoze. Kada je upitanju paratuberkuloza ovaca, o vrednost metode kultivisanja uzročnika postoje protivrečni podaci. Pojedini autori [6, 31] navode da se sojevi *M. a. paratuberculosis* koji izaziva paratuberkulozu ovaca teško kultivišu. Značajno bolje rezultate sa Levenstajn-Jansen podlogom imali su Perez *et al.* [26]. Ovakva diskrepancija može da bude uslovljena primenjenim postupkom, kao i sojem agensa. U novije vreme osetljivost izolacije uzročnika, uz istovremeno smanjenje utrošenog vremena i troškova koštanja postignuto je uvođenjem radiometrijske detekcije u kulturi *M. a. paratuberculosis* [10, 15]. Dokazivanje uzročnika u materijalu, naročito fecesu ispitivanih životinja, znatno je poboljšano primenom molekularnih metoda kao što je PCR putem kojih se u materijalu otkriva specifični fragment DNA *M. a. paratuberculosis* označen kao IS900.

Profilaksa i terapija / Prophylaxis and therapy

Paratuberkuloza je u svetu veoma rasprostranjena bolest. Računa se da je u SAD inficirano 18 posto goveda, dok u Engleskoj taj broj iznosi 15 posto. Paratuberkuloza predstavlja veliki problem u pojedinim zemljama nanoseći velike ekonomske štete koje se ispoljavaju u direktnim i indirektnim gubicima u stočarskoj proizvodnji. Najidealniji način zaštite od paratuberkuloze je da se ne dozvoli unošenje bolesti u zapaat. S obzirom na prirodu bolesti i mogućnost izlučivanja uzročnika mnogo pre nego što se pojave klinički simptomi, kao i otežano otkrivanje životinja u toj fazi bolesti, apsolutna kontrola bolesti je skoro nemoguća. U zapaatima, u kojima bolest postoji, primenom zoohigijenskih mera kao što je rano odvajanje mladunčadi od majke i napajanje kolostrumom i mlekom može da se smanji broj obolelih životinja. U pojedinim zemljama primenjuje se vakcinacija životinja. Vakcinišu se životinje u prvim mesecima života vakcinama koje sadrže žive ili inaktivisane uzročnike. Vakcine sa živim uzročnikom pružaju bolju zaštitu, ali su reakcije na mestu aplikacije jače izražene [10]. Vakcinisane životinje su serološki pozitivne i na tuberkulinski test tako da se vakcinacija može da primenjuje samo u stadima „slobodnim” od tuberkuloze.

Terapija obolelih životinja uglavnom ne daje zadovoljavajuće rezultate. Ispitivani su razni antibiotici kao amino-glikozidi (gentamicin, kanamicin, neomicin, streptomycin) kapreomicin, rifabutin, rifampin i viomicin i zapažena je velika nepodudarnost između rezultata dobijenih *in vitro* i *in vivo*. Teškoće u terapiji svakako proističu i iz činjenice da je *M. a. paratuberculosis* intracelularna bakterija. Pojedini lekovi kao što su isoniazid, klofazamin, rifampin i gentamicin omogućavaju izvesna klinička poboljšanja, ali ne eliminišu prouzrokovača i ne vode do potpunog izlečenja tretiranih životinja [28].

Paratuberkuloza i Crohnova bolesti ljudi / *Paratuberculosis and Crohn's disease in humans*

Paratuberkuloza preživara u kliničkom, morfološkom i etiološkom aspektu ima izvesne sličnosti sa Crohnovom bolesti ljudi (CB) [8,10]. Oba oboljenja jedinki se javljaju kod mlađih jedinki i manifestuju se stalnom ili povremenom dijarejom uz primetan gubitak telesne mase. Promene najčešće zahvataju ileum, mada i drugi delovi digestivnog trakta mogu da budu zahvaćeni, dok se u slučajevima CB govori i o sistemskom oboljenju [23]. Patohistološke nalaze u crevima kod obe bolesti karakterišu granulomatozne promene bez prisustva kazeozne nekroze, mada kod životinja uglavnom izostaju ulceracije i ne stvaraju se fistule kao što je to slučaj kod CB. Etiologija paratuberkuloze životinja je prilično jasna, dok se kao mogući uzroci CB pominju genetski, imunološki i mikrobiološki činioci i njihove različite kombinacije [40]. Za razliku od paratuberkuloze, acidorezistentne bakterije su retko bile dokazane u granulomima pacijenata obolelih od CB [22]. Međutim, produženom kultivacijom uzoraka biopsije pored drugih mikobakterija i mikroorganizama sličnih protoplastu, dobijene su i kolonije acidorezistentnih *M. paratuberculosis*. Raniji pokušaji da se inficiraju laboratorijske životinje tkivom obolelih od CB bili su neuspešni ili su se dobijale neodgovarajuće promene [8]. Međutim, jednim izolatom *M. a. paratuberculosis* dobijenim od kliničkog slučaja CB uspešno je inficirana koza i dobijene su karakteristične paratuberkulozne promene [41]. Takođe, *M.a paratuberculosis* može da izazove promene kod majmuna što govori o njegovoj patogenosti za primata [25]. U novije vreme identifikacija mikobakterija je znatno olakšana zahvaljujući određivanju specifične mikobakterijske DNA putem PCR metode. Ovom metodom, sekvenca DNA označena kao IS 900, specifična za *M. a. paratuberculosis*, otkrivena je u pojedinim istraživanjima i do 72 posto u tkivu creva pacijenata obolelih od CB [3, 11, 12, 13, 25, 35, 36]. Međutim, ova istraživanja još uvek ne daju odgovor na pitanje da li ova bakterija ima primarni etiološki značaj ili je njeno prisustvo sekundarno.

Zaključak / Conclusion

Mada je paratuberkuloza poznata više od jednog veka, ona je zbog svoje rasprostranjenosti, ekonomskih šteta koje izaziva i tvrdokornosti koju pokazuje pri suzbijanju, veoma aktuelna i u današnje vreme. U našoj zemlji se ova bolest nije opsežnije izučavala. S obzirom na značaj ove bolesti, potrebno je da se pristupiti njenom sistematskom praćenju, kako bi se otkrile obolele jedinke i zaražena stada i na vreme pristupilo sprečavanju širenja i iskorenjivanju ove bolesti. Posebna pažnja treba da se obrati na zapate ovaca i govoda u kojima se nalaze životinje iz uvoza.

Literatura / References

1. Angus K. W.: Intestinal lesion resembling paratuberculosis in a wild rabbit, *Journal of Comparative Pathology*, 1, 101-105, 1990. - 2. Alzuherri H. M., Woodall C. J., Clarke C. J.: Increased intestinal TNF- α , IL-1 β and IL-6 expression in ovine paratuberculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 49, 331-345, 1996. - 3. Autschbach F., Eisold S., Hinz U., Zinser S., Linnebacher M., Giese T., Löffler T, Büchler MW, Schmidt J.: High prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis IS900 DNA in gut tissues from individuals with Crohn's disease, *Gut*, 54, 7, 944-949, 2005. - 4. Ayele W. Y., Bartos M., Svastova P., Pavlik I.: Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in organs of naturally infected bull-calves and breeding bulls. *Vet Microbiol.*, 103, 3-4, 209-217. 2004. - 5. Bendixen P. H.: Immunological reactions caused by infection with *Mycobacterium paratuberculosis*, *Nordisk Veterinær Medicin*, 30, 163-168, 1978. - 6. Carrigan M. J., Seaman J., T.: The pathology of Johne's disease in sheep. *Australian Veterinary Journal*, 67, 47-50, 1990. - 7. Chiodini R. J., Van Kruiningen H. J., Merkal R. S.: Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): the current status and future prospects. *Cornell Veterinarian*, 74, 218-262, 1984. - 8. Clarke C. J.: The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species, *Journal of Comparative Pathology*, 116, 217-261, 1997. - 9. Clarke C. J., Little D.: The pathology of ovine paratuberculosis: Gross and histological changes in the intestine and other tissues. *Journal of Comparative Pathology*, 114, 419-437, 1996. - 10. Cocito C., Gilot Ph., Coene M., De Kesel M., Poupard P., Vannuffel P.: Paratuberculosis, *Clinical Microbiology Reviews*, 7, 328-345, 1994. - 11. Erasmus D. L., Victor T. C., Van Eeden P. J., Van Helden P.: *Mycobacterium paratuberculosis* and Crohn's disease, *Gut*, 36, 942, 1995. - 12. Fidler H. M., Thurrell W., Johnson N. M., Rook, G. A. W., McFadden J. J.: Specific detection of *Mycobacterium paratuberculosis* DNA associated with granulomatous tissue in Crohn's disease, *Gut*, 35, 506-510, 1994. - 13. Gaya D., Black R., MacKenzie J.: Crohn's disease and MAP. *Lancet*. 31, 364, 9452, 2179, 2004. - 14. Huntely J. F. J., Whitlock R. H., Bannantine J. P., Stabel J. R.: Comparison of Diagnostic Detection Methods for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in North American Bison, *Vet Pathol.*, 42, 42-51, 2005. - 15. Johnson-Ifearewundu J. Y., Kaneene B. J.: Epidemiology and economic impact of subclinical Johne's disease: a review, *Veterinary Bulletin*, 67, 6, 437-447, 1997. - 16. Jovanović M., Knežević Milijana: Diagnosing sheep paratuberculosis - our experience, 3rd International conference of sheep and goat production, 80, Ohrid, Macedonia, 1995. - 17. Jovanović M., Knežević Milijana, Merčep D.: First diagnosis of sheep paratuberculosis in Serbia, *Acta veterinaria*, 49, 1, 51-61, 1999. - 18. Jovanović M.: Paratuberkuloza (John-ova bolest) domaćih životinja. Zbornik predavanja XXI seminara za inovacije znanja veterinara, 101-109, Beograd, 1998. - 19. Jovanović M., Knežević Milijana, Merčep Drinka: First diagnosis of sheep paratuberculosis in Serbia, *Acta veterinaria*, 49, 1, 51-61, 1999. - 20. Jovanović M., Knežević Milijana: Paratuberkuloza (John-ova bolest) – osnovne karakteristike i stanje kod nas. Zbornik kratkih sadržaja, Simpozijum VII epizootiološki dani, Jagodina, 2005. - 21. Larsen A. B., Kopecky K. E.: *Mycobacterium paratuberculosis* in reproductive organs and semen of bulls. *American Journal of Veterinary Research*, 31, 255-258, 1970. - 22. Kobayashi K., Blaser J. M., Brown R. W.: Immunohistochemical examination for mycobacteria in intestinal tissues from patients with Crohn's disease, *Gastroenterology*, 96, 1009-1015, 1989. - 23. Kumar V., Cotran S. R., Robbins L. S.: *Basic Pathology*, sixth edition, W.B. Saunders Company, 1997. - 24. Kunze Z. M., Portaels F., McFadden J. J.: Biologically distinct subtypes of *Mycobacterium avium* differ in possession of insertion sequence IS901.: *Journal of Clinical Microbiology*, 30, 2366-2372, 1992. - 25. McClure H. M., Chiodini R. J., Anderson D. C., Swenson R. B., Thayer W. R., Coutu J. A.: *Mycobacterium paratuberculosis* infection in colony of stump-tail macaques (*Macaca arctoides*), *Journal of Infectious Diseases*, 155, 1011-1019, 1987. - 26. Momotani E., Whipple E., Thiermann A.,

Cheville N.: Role of M cells and macrophages in the entrance of *Mycobacterium paratuberculosis* into domes of ileal Peyer patches in calves. *Veterinary Pathology*, 25, 131-137, 1988. - 27. Moss M. T., Sanderson J. D., Tizard M. L. V., Herman-Taylor J., El-Zaatari F. A. K., Markesich D. C., Graham D. Y.: Polymerase chain reaction detection of *Mycobacterium paratuberculosis* and *Mycobacterium avium* subsp. *silvaticum* in long term cultures from Crohn's disease and control tissues. *Gut*, 33, 1209-1213, 1992. - 28. Munjal S. K., Tripathi N. B., Paliwal P. O.: Progressive Immunopathological Changes during Early Stages of Experimental Infection of Goats with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, *Vet Pathol*, 42, 427-436, 2005. - 29. Perez V., Garcia Marin J. F., Badiola J. J.: Description and classification of different types of lesion associated with natural paratuberculosis infection in sheep. *Journal of Comparative Pathology*, 114, 107-122, 1996. - 30. Pogacnik M., Juntos P., Senk L.: Complement fixation test and excretion of *M. paratuberculosis* with feces in correlation to pathological lesions in subclinical and clinical form of ovine paratuberculosis. *Proceedings of 13th European Congress on Veterinary Pathology*, 27th-30th September, Edinburgh, U.K, 1995. - 31. Radostits M. O., Blood C. D., Gay C. C.: *Veterinary Medicine*, 841-850, Eighth edition, Saunders Company, 1997. - 32. Raizman E. A., Wells S. J., Jordan P. A., DelGiudice G. D., Bey R. R.: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from free-ranging deer and rabbits surrounding Minnesota dairy herds. *Can J Vet Res*, 69, 1, 32-38, 2005. - 33. Rajya B. S., Singh C. M.: Studies on the pathology of Johne's disease in sheep. III. Pathologic changes in sheep with naturally occurring infections. *American Journal of Veterinary Research*, 22, 189-203, 1961. - 34. Roussel A. J., Libal M. C., Whitlock R. L., Hairgrove T. B., Barling K. S., Thompson J. A.: Prevalence of and risk factors for paratuberculosis in purebred beef cattle. *J Am Vet Med Assoc.*, 226, 5, 773-778, 2005. - 35. Sanderson J. D., Moss M. T., Tizard M. L., Hermon-Taylor J.: *Mycobacterium paratuberculosis* DNA in Crohn's disease tissue, *Gut*, 33, 890-896, 1992. - 36. Sartor B. R.: Does *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* cause Crohn's disease, *Gut*, 54, 7, 896-898, 2005. - 37. Saxegard F.: Experimental infection of calves with an apparently specific goat pathogenic strain of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Journal of Comparative Pathology*, 102, 149-156, 1990. - 38. Shanahan F. M. D., O'Mahony J.: The *Mycobacteria* Story in Crohn's Disease, *Am. J. Gastroenterology*, 100, 7, 1537-1538, 2005. - 39. Storset A. K., Berg I., Djonne B.: Evaluation of the gamma interferon test for diagnosis of paratuberculosis in goats, *Vet Immunol Immunopathol.*, 107, 1-2, 87-94, 2005. - 40. Thompson D. E.: The role of mycobacteria in Crohn's disease. *Journal of medical Microbiology*, 41, 74-94, 1994. - 41. Van Kruiningen H. J., Chiodini R. J., Thayer W. R., Coutu J. A., Markel R. S., Runnels P. L.: Experimental disease in infant goats induced by a *Mycobacterium* isolated from a patient with crohn's disease, *Digestive Disease and Sciences*, 31, 1351-1360, 1986. - 42. Valheim M., Sigurdardottir G., Storset K. A., Aune G. L., Press McL. C.: Characterization of Macrophages and Occurrence of T cells in Intestinal Lesions of Subclinical Paratuberculosis in Goats. *J. Comp. Path.*, Vol. 131, 221-232, 2004. - 43. Veazey S. R. *et al.*: Histopathology of C57BL/6 mice inoculated orally with *Mycobacterium paratuberculosis*, *J. Comp. Path.*, 1, 75-80, 1995. - 44. Vidić Branka, Grgić Ž., Bjelajac B., Trkulja R.: Ispitivanje rasprostranjenosti paratuberkuloze kod goveda i ovaca, *Vet. glasnik*, 55, 1-2, 9-16, 2001. - 45. Vuković A.: Specijalna patološka anatomija domaćih životinja, 140, Naučna knjiga, Beograd, 1948.

ENGLISH

PARATUBERCULOSIS (JOHNE'S DISEASE) – BASIC CHARACTERISTICS AND CURRENT SITUATION LOCALLY

M. Jovanovic, Milijana Knezevic

Paratuberculosis or Johne's Disease, is a disease of the digestive tract of animals caused by *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (*M. a. paratuberculosis*). Paratuberculosis has been registered in many countries and it today presents one of the most widely-spread bacterial diseases in ruminants that causes severe economic damages. In our country, paratuberculosis has not been studied extensively. The disease was registered for the first time in Serbia in 1995 in an isolated herd of sheep of the Il-de-France breed, and serologically positive cattle were determined in 2001.

Infection with *M.a. paratuberculosis* occurs mostly in young animals which are the most sensitive to infection. The main source of infection is the feces of diseased animals. Furthermore, colostrum and milk of diseased animals can contain microbacteria, and there is a possibility also of intra-uterine infection.

A long period of incubation, a chronic course, and not always clear clinical picture render diagnosis of paratuberculosis very complex, in spite of the existence of numerous diagnostic methods. There are a number of serological tests with which it is possible to detect antibodies against *M.a. paratuberculosis* in infected animals. The most frequently used are complement binding reaction (CBR), the agar gel immunodiffusion test (AGID), and the immunoenzyme test (ELISA). The isolation of causes or parts of their genome, present important methods in the diagnosis of paratuberculosis. Pieces of tissue obtained through autopsies or biopsies, feces or milk samples, can serve as material for isolation. A diagnosis of paratuberculosis for dead or sacrificed animals is made on the grounds of pathoanatomical or pathohistological findings.

Paratuberculosis of ruminants has certain similarities with Crohn's Disease in humans, from the clinical, morphological, and etiological aspects.

Key words: paratuberculosis (Johne's disease), cattle, sheep, changes, diagnostic

РУССКИЙ

ПАРАТУБЕРКУЛЁЗ (БОЛЕЗНЬ ЙОХНЕ) – ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И СОСТОЯНИЕ У НАС

М. Йованович, Милияна Кнежевич

Паратуберкулёз или болезнь Йохне заболевание пищеварительного тракта животных, пичинено *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (*M. a. paratuberculosis*). Паратуберкулёз записан в многих странах и он в настоящее время представляет собой одну из наиболее расширённых болезней жвачных, вызывающая большие экономические ушербы. В нашей стране паратуберкулёз на более объёмисто изучиван. В Сербии впервые болезнь открыта 1995 года в одном изолированном стаде овец породы *Il de France*, а серологически положительный крупный рогатый скот 2001 года.

Инфекция с *M. a. paratuberculosis* наступает главным образом у молодняка, который на инфекцию и наиболее чувствителен. Основным источником инфекции кал больных животных. Также, колострум и молоко заболевших животных могут содержать микобактерии, а существует возможность и внутриматочной инфекции.

Долгая инкубация, хроническое течение и не именно всегда ясно проявленная клиническая картина, составляют диагностику паратуберкулёза очень комплексной и возле существовании численных диагностических методов. Существует несколько серологических тестов с помощью, которых возможно открыть антитела против *M. a. paratuberculosis* в инфицированных животных. Чаще всего пользуются реакцией связывания комплемента (РСК), агар гелем иммунодиффузионный тест (АГИД) и иммуоэнзимный тест (*ELISA*). Изоляция возбудителя или частей его генома, представляют собой важные методы в диагностике паратуберкулёза. Материал для изоляции могут быть части тканей, полученные обдукцией или биопсией, кал и образчики молока. Диагноз паратуберкулёза на околённых или жёртвованных животных поставляется на основе патоанатомических и патогистологических результатов.

Паратуберкулёз жвачных в клиническом, морфологическом и этиологическом аспекте имеет известные подобија с болезнью Крохне людей.

Ключевые слова: паратуберкулёз (болезнь Йохне), крупны рогаты скот, овец, изменения, диагностика