مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری

دوره ۱۰، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳

صفحات ۲۳۵-۲۲۵

Online ISSN: ٤٤٩٣-٢٤٧٦

Print ISSN: ٢٠٢٠-٢٥٣٨

www.irijournals.com

بررسی کلامیدیوزیس در طوطی سانان استان گلستان به روش PCR

سعید شاطری [۱*]، شمسعلی هادی زاده معلم [۲]، زهرا سادات حسینی [۳]

[۱] استادیار گروه علوم درمانگاهی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران(نویسنده مسئول مکاتبات)

[۲] مربی گروه علوم درمانگاهی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

[۳] دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

*مسئول مکاتبات

چکیده

کلامیدیوزیس یک بیماری مشترک بین انسان و دام می باشد که در طیف وسیعی از پرندگان وحشی تا اهلی شناسایی شده است و تهدید مهمی در پرندگان محسوب می شود. پسیتاکوزیس که به عنوان تب طوطی نیز شناخته می شود، توسط *Chlamydophila psittaci*، یک باکتری داخل سلولی اجباری ایجاد می شود. در این مطالعه در طی سالهای ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ از ۵۰ طوطی سان در استان گلستان که دارای علائم تنفسی، کاهش اشتها و مدفوع سبز بودند، نمونه مدفوع گرفته شد و با روش PCR، ژن 16S RNA که نشان دهنده حضور باکتری مورد نظر می باشد توسط پرایمرهای اختصاصی بررسی شد. سه نمونه از ۵۰ نمونه آلوده بودند که بیانگر ۶ درصد آلودگی در بین طوطی سانان مورد مطالعه می باشد. در نتیجه پیشگیری از این بیماری به دلیل نبود واکسن و زئونوز بودن بسیار مهم است و باییستی نکات بهداشتی رعایت شود. چنین مطالعه ای بایستی در سایر استان ها انجام شود و در صورت شناسایی این بیماری در پرندگان به اداره دامپزشکی و اداره بهداشت منطقه اطلاع رسانی شود.

واژه های کلیدی: *کلامیدوفیلا پسی تاسی*، PCR، استان گلستان

۱-مقدمه

پسیتاکوز که به عنوان تب طوطی نیز شناخته می شود، توسط *Chlamydophila psittaci*، یک باکتری داخل سلولی اجباری ایجاد می شود(House & Bailey, 2024). آلودگی به این باکتری(که قبلاً به عنوان *Chlamydia psittaci* شناخته می شد) عامل بیماری سیستمیک در پرندگان همراه (پرندگانی که توسط انسان به عنوان حیوان خانگی نگهداری می شوند) و طیور است. این بیماری اغلب به عنوان کلامیدیوز پرندگان (همچنین به عنوان پسیتاکوز، اورنیتوز و تب طوطی نیز شناخته می شود) در پرندگان نامیده می شود(Stokes et al., 2021). سویه های کلامیدوفیلای پرندگان، به سویه های با حدت بسیار زیاد که عفونتهای اپیزوتیک حاد را موجب می شوند و سویه های با حدت کم که به یک عفونت با انتشار آهسته منتهی می گردند، تقسیم می شوند(صدرزاده، ۱۳۹۵:Laroucau et al., 2020). *C. psittaci* یک گونه مشترک بین انسان و دام است که باعث ایجاد یک بیماری شدید در انسان به نام پسیتاکوز می شود که می تواند منجر به ذات الریه شود و در ۸۳ درصد موارد و در صورت عدم درمان، مرگ و میر قابل توجهی وجود دارد(Stokes et al., 2021). *C. psittaci* به دلیل پتانسیل انتشار از طریق آئروسل و آلوده کردن قربانیان با نرخ مرگ و میر نسبتاً پایین، به عنوان عامل جنگ بیولوژیکی کلاس B مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری (CDC) طبقه بندی می شود. حمله بیولوژیکی به یک جمعیت بزرگ احتمالا منجر به یک اپیدمی می شود. این باکتری معمولاً از طریق استنشاق یا تماس مستقیم با ترشحات عفونی حیوانات آلوده به دست می آید(House & Bailey, 2024).

این باکتری گرم منفی و کوکوئیدی است. سیر تکاملی آن منحصر به فرد است شامل تکثیر داخل سلولی اجباری در واکوئولهای سیتوپلاسمی سلولهای یوکاریوت می باشد. سیر تکاملی در داخل میزبان که حدود ۳۰ ساعت به طول می انجامد، با تبدیل شدن اجسام رتیکولر به اجسام اولیه کامل می شود. اجسام اولیه از سلول خارج می شوند و به طور خارج سلولی زنده می مانند تا میزبانهای جدیدی را آلوده نمایند(Borel et al., 2018). این باکتری نیز اغلب در طیور یافت می شود و در مرغان بومی در نظر گرفته می شود(Vanrompay, 2020). امروزه آن را از ۳۰ راسته و ۴۶۵ گونه از پرندگان جدا کرده اند(Kaleta & Today, 2003). همچنین گزاره مسیرهای انتقال جدید، به طور خاص، انتقال از پرندگان وحشی به اسب و سپس به انسان گزارش شده است(Jelocnik et al., 2017). پسیتاکوزیس یک بیماری عفونی مشترک بین انسان و دام است که در اثر انتقال باکتری *C. psittaci* از پرندگان به انسان ایجاد می شود(Hogerwerf et al., 2017). این باکتری بیماریزاترین عامل موجود در پرندگان نظیر کبوترهای وحشی است که می توانند به انسان منتقل شوند(Sariya et al., 2015). گزارش های موردی انتقال از گوسفند، گاو، گربه و سگ آلوده را نیز توصیف می کند. انتقال از انسان به انسان نادر است(House & Bailey, 2024).

(*C. psittaci*) *Chlamydophila psittaci*، را می توان به هشت سروار طبقه بندی کرد (A تا F, WC, و M56) و با استفاده از آنتی بادی مونوکلونال مخصوص اپی توپ بر روی پروتئین غشای خارجی اصلی (OMP) به ۹ ژنوتیپ های (A تا F، E/B، WC و M56) بر اساس توالی ژن ompA طبقه بندی کرد. تمام ژنوتیپ های این باکتری می توانند انسان را آلوده کند ژن پروتئین A غشای خارجی(ompa) پروتئین اصلی غشای خارجی را کد می کند. تمام ژنوتیپ ها به آسانی به انسان قابل انتقال اند(Sariya et al., 2015). این بیماری یک بیماری تنفسی، معمولاً سیستمیک و گاهی اوقات کشنده است(حبیبی و همکاران، ۱۳۹۴) علائم بیماری در پرندگان آلوده (به نام پسیتاکوز یا کلامیدیوز پرندگان) می تواند شامل بی حالی، بیماری تنفسی، بی اشتهایی و ورم ملتحمه باشد، اگرچه عفونت نیز می تواند تحت بالینی باشد(Stokes et al., 2021). این باکتری می تواند به انسان منتقل شود. بیماری در انسان و پرندگان، پسیتاکوز یا تب طوطی نامیده می شد. زیرا این بیماری ابتدا در طوطی سانان و افرادی که با طوطی سانان در ارتباط بودند، شناسایی شد (Cheong et al., 2019).

در مطالعه ای در استرالیا از هر ۳ پرنده ای که در بیمارستان حیوانات آزمایش شده بودند، یک پرنده به کلامیدیا مبتلا بود(Jelocnik, 2019). Harkinezhad و همکاران انتقال *کلامیدوفیلا پسیتاسی*(*Cp. psittaci*) ژنوتیپ B/E از طوطی خاکستری آفریقایی به انسان که سی و شش پرنده از یک مرکز امداد و پرورش طوطی و همچنین مدیر آنجا، از نظر وجود این باکتری مورد بررسی قرار گرفتند. ۵ طوطی از ۲۰ طوطی خاکستری آفریقایی افسردگی، پرهای ژولیده، کاهش وزن و تنگی

نفس خفیف را نشان دادند. پرندگان هیچ درمان آنتی بیوتیکی دریافت نکردند. پرندگان واحد پرورش ۱۴ عدد ماکائو آبی و طلایی و ۲ عدد ماکائو بال سبز سالم بودند. آنها در شروع هر فصل تولید مثل، داکسی سایکلین دریافت کردند. مدیر مجموعه از تنگی نفس شکایت داشت اما هیچ دارویی مصرف نکرد. با استفاده از روش PCR این باکتری در مدفوع هر پنج پرنده بیمار و همچنین در سواب بینی و حلق مدیر، دامپزشک نیز تشخیص داده شد و از هر ۵پرنده ۳پرنده بدون نشان دادن علائم بالینی، جواب ازمایش PCR مثبت اعلام شد. اعتقاد بر این است که این اولین گزارش در مورد این باکتری است و انتقال B/E از طوطی به انسان در تناقض با سویه‌های ژنوتیپ A، که تصور می‌شود هم برای پرندگان و هم برای مردان بسیار بدخیم هستند، ولی ژنوتیپ B/E که در حال حاضر توضیح داده شده است ظاهراً هیچ علائم بالینی شدیدی در طوطی‌ها یا انسان ایجاد نکرده است(Harkinezhad et al., 2007).

طوطی سانان، غالبا به عفونت بدون نشانه های بالینی مشخص دچار می شوند، اما به دنبال تنش های محیطی مثل جابه جایی و تغییر محیط زندگی با جیره غذایی، معمولا نشانه های بالینی مشخصی مثل بی اشتهایی، بی حالی، اسهال و آب ریزش از بینی و چشم را نشان می دهند. در برخی پرندگان مبتلا به عفونت های مزمن، ممکن است در اثر پارگی کبد و اسپرز (طحال)، که افزایش اندازه پیدا کرده است، مرگ ناگهانی رخ دهد(صدرزاده، ۱۳۹۵). در طوطی سانان، جراحات کالبد گشایی معمولا به کبد، اسپرز(طحال) و کیسه های هوایی محدود است. تغییرات پرولیفراتیو و نکروتیک در اندامهای درگیر، به همراه التهاب نای(تراکئیت)، ذات الریه(پنومونی) و نکروزهای کانونی در کبد، به ویژه در طوطی ها، ضایعات ریزبینی کلامیدیوز را تشکیل میدهند(Woldehiwet, 2008). بروز بیماری به شکل بالینی در پرندگان جوان معمول تر از بالغین است. عواملی مانند استرس ناشی از جابه جایی پرندگان، تراکم بالا، تغییر جیره یا تغییر محیط و عفونت های همراه با دیگر ارگانیسم ها مانند سالمونلا با *پاستورلا مولتوسیدا*، عواملی هستند که ممکن است بر بروز بیماری و شدت آن تاثیر گذار باشند(صدرزاده، ۱۳۹۵). در سالهای اخیر جمعیتهای پرندگان زینتی در ایران به سرعت افزایش یافته است. این نوع از پرندگان به تعداد زیادی در بازارهای پرندگان زینتی خرید و فروش می شوند و متعاقباً سلامت پرندگان و صاحبان پرندگان زینتی را بـه شـدت بـه خطـر می اندازند. تهاجم موضعی مستقیم به پارانشیم ریوی منجر به بیماری با دوره کمون نسبتاً کوتاه می شود. معمولاً باکتریمی اولیه منجر به عفونت سلول‌های رتیکولواندوتلیال کبد و طحال می‌شود و در نتیجه دوره کمون طولانی‌تر می‌شود(House & Bailey, 2024).

عفونت *C. psittaci* می تواند از پرندگان آلوده به انسان منتقل شود. بیماری ناشی از عفونت *C. psittaci* در انسان پسیتاکوزیس (همچنین به عنوان بیماری طوطی، تب طوطی و کلامیدیوز شناخته می شود) نامیده می شود. بیشتر عفونت‌ها معمولاً از قرار گرفتن در معرض پسیتاسین حیوان خانگی (طوطی، ماکائو، طوطی‌ها) پرندگان به دست می‌آیند(Stokes et al., 2021). در انسان، دوره کمون معمولا بین ۵ تا ۱۴ روز است، اگرچه دوره های طولانی تری نیز دیده شده است(Smith et al., 2011) . عفونت ها ممکن است از عفونت های نهفته تا بیماری حاد سیستمیک همراه با پنومونی متغیر باشند(Belland et al., 2001). پسیتاکوز معمولاً به صورت یک پنومونی غیر معمول با درجات مختلف شدت از بیماری خفیف غیر ظاهری تا بیماری سیستمیک شدید و تهدید کننده زندگی و نارسایی تنفسی نشان می دهد(House & Bailey, 2024). عفونت با *C. psittaci* معمولاً زمانی رخ می دهد که فرد ارگانیسم هایی را استنشاق کند که از مدفوع خشک یا ترشحات دستگاه تنفسی پرندگان آلوده آئروسل شده اند. راه های دیگر قرار گرفتن در معرض شامل تماس دهان به منقار و دست زدن به پرها و بافت های آلوده پرندگان است. پسیتاکوز می تواند منجر به مشکلات جدی سلامتی از جمله ذات الریه کشنده شود. تشخیص پسیتاکوز می تواند دشوار باشد. درمان آنتی بیوتیکی توصیه می شود(Stokes et al., 2021).

مهم‌ترین چالش در پرداختن به حمله این باکتری، شناخت این رویداد است. سرنخ‌های بالینی در مورد احتمال پسیتاکوزیس شامل یک بیماری تنفسی با علائم و نشانه‌های غیرعادی سیستمیک است. سردرد شدید، ناهنجاری ها یا عوارض عصبی، طحال یا افزایش سطح ترانس آمیناز در بیمار با یافته های اشعه ایکس منطبق با پنومونی آتیپیک، پسیتاکوز را به عنوان یک تشخیص احتمالی پیشنهاد می کند. روش ارجح برای تشخیص سرولوژی بوده است(House & Bailey, 2024). بدلیل

مشترک بودن بیماری کلامیدیوز بین انسان ها و طوطی سانان، نبود واکسن موثر، افزایش تقاضا برای حیوانات خانگی و پرورش و واردات انواع طوطی سانان به کشور، بررسی شیوع این بیماری برای پیشگیری، درمان و آگاهی رسانی به دارندگان طوطی سانان مثمر ثمر خواهد بود. بنابراین در این تحقیق به روش مولکولی به بررسی عفونت کلامیدیوز در طوطی سانان در استان گلستان پرداخته شد.

۲-روش کار

از ۵۰ طوطی که وارد کلینیک شدند و دارای علائم افسردگی، مشکلات تنفسی و مدفوع سبز رنگ بودند، نمونه مدفوع جمع آوری شد. این کار با اجازه از دامپزشک کلینیک و صاحب پرندگان انجام گردید. در قفس طوطی سانان کاغذ های استریل شده قرار داده شد، این کار برای جلوگیری از اختلاط عوامل بیماری زا در صورت آلوده بودن کاغذ انجام گرفت. سپس مدفوع را در لوله فالکون های استریل قرار داده و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شد. طوطی سانان استان گلستان که دارای علائم تنفسی بودند و مشکوک به *کلامیدیوفیلا پسیتاسی* بودند نمونه برداری شد. در مطالعه حاضر که در طول سال های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ در شهرهای استان گلستان انجام گرفت، تعداد ۵۰ نمونه جمع آوری شد و از نظر درگیری با *کلامیدیا پسیتاسی* با روش مولکولی، بررسی شدند.

روش PCR: کیت مورد نظر برای استخراج DNA ژنومیک از باکتری های گرم منفی طراحی شده است. با استفاده از این کیت می توان DNA ژنومیک را در زمان کوتاه و با کیفیت بالا خارج کرد.DNA استخراج شده می تواند در مواردی از جمله PCR، تعیین توالی، تعیین ژنوتایپ و هضم مورد استفاده قرار گیرد.

پرایمر مورد استفاده برای واکنش PCR: DNA استخراج شده روی ژل سنجیده شد. برای بررسی از نظر کمی نیز OD ۲۶۰ نانومتر به معنای بررسی غلظت DNAاستخراج شده است. طول موجی که برای بررسی DNA و RNAاستفاده شد ۲۶۰ نانومتر، برای پروتئین ۲۸۰ نانومتر است. Rateدیگری که وجود دارد نسبت ۲۶۰ به روی ۲۸۰ نانومتر می باشد. این عدد باید ۱/۸را نشان دهد. در reaction های PCR از ۲لاندا استفاده شد. بدین صورت که این دو پرایمر یا آغازگری که به صورت اختصاصی استفاده میشود یکی از آنها نشان دهنده جنس باکتری و دیگری گونه باکتری می باشد. ۴۳۷ برای گونه و ۱۲۸ برای پرایمر جنس می باشد. در ابتدا باید دید آیا RNA s۱۶ ژنی که مربوط به ریبوزوم های کلامیدیوز است، در مدفوع طوطی سانان نمونه گرفته شده هست یا خیر. بعد از آنکه کلامیدیوز به وسیله این ژن که زیر واحد ریبوزوم در کلامیدیوزها است، مشاهده شد و باند ۴۳۷ دیده شد، مجددا این DNA برای تشخیص پسی تاسی گذاشته شد و اگر باند ۱۲۸ مشاهده گردید، در نتیجه پسی تاسی در نمونه ها وجود دارد.

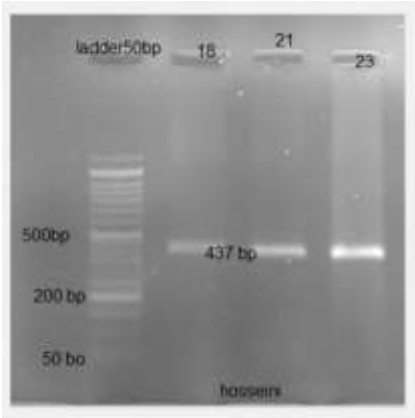
پرایمر مورد استفاده: ابتدا DNA استخراج شده، کیت مخصوص(PCR)Mix master PCR آغازگرهای رو به جلو (primer forward) و آغازگرهای رو به عقب (primer Reverse) را از فریزر خارج کرده و مدتی در دمای اتاق قرار داده تا آب شوند. از میکروتیوب ۲/۰ استفاده شد(Harkinezhad et al., 2007).

ACGGAATAATGACTTCGG
primer Reverse
primer Forward
۱۸ ACGGAATAATGACTTCGG۱

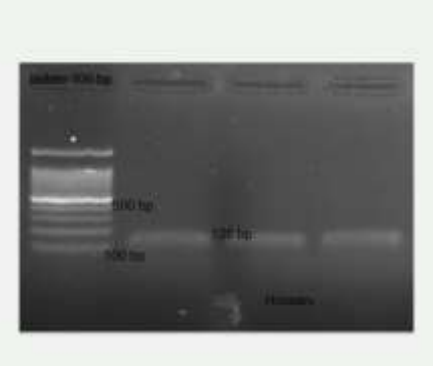
روش انجام الکتروفورز: ژل آگارز ۲ درصد تهیه شد. ظرف حاوی ژل را در تانک الکتروفورز قرار داده و بافر x۱TBE را به تانک اضافه می‌نماییم. سپس به هر چاهک محصول PCR اضافه شد در کنار آن نیز کنترل های منفی و مثبت و شاخص اندازه DNA. دستگاه Power به تانک الکتروفورز وصل شد و به مدت ۴۵ دقیقه در ولتاژ ۸۰ ولت و در دمای آزمایشگاه به جریان برق مستقیم متصل شد. باید توجه شود که چاهک‌ها از سمت قطب منفی به سمت قطب مثبت باشد. بعد از اتمام الکتروفورز ژل خارج شده در معرض UV با استفاده از دستگاه ژل داکیو منتیشن باند DNA مورد بررسی قرار گرفت.

۳-نتایج

نتایج آنالیز PCR: در این مطالعه تعداد ۵۰ نمونه برای وجود *کلامیدیا پسی تاسی* بر اساس روش PCR مورد مطالعه قرار گرفتند و نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر بیانگر آن بود که ۳نمونه(۶٪)آنها به این باکتری آلوده می باشند. توالی به دست آمده با توالی های موجود در بانک ژنی هم تراز(blast) گردید.



شکل ۱-نتایج الکتروفورز ژن Rna s۱۶ کلامیدیا



شکل ۲-نتایج الکتروفورز ژن جنس Psittacula

نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر حاکی از آن بودند در۲۶ نمونه مرغ عشق یک مورد، در ۱۹مورد عروس هلندی ۲مورد از نتایج مثبت اعلام شد و از دو نمونه کوتوله برزیلی، یک مورد طوطی کوچک اسکندر و یک شاه طوطی نمونه ها منفی بودند.

جدول ۱- توزیع فراوانی آلودگی *کلامیدیوفیلا پسیتاسی* در طوطی در استان گلستان

نام جنس	نام گونه	نام متعارف فارسی	تعداد نمونه	تعداد موارد مثبت
Melopsittacus	Melopsittacus undulatus	مرغ عشق	۲۶	۱
Nymphicus	Nymphicus hollandicus	عروس هلندی	۱۹	۲
Agepornis	Agepornis rsonatape	کوتوله برزیلی	۲	۰
Psittacula	Psittacula krameri	طوطی کوچک اسکندر	۲	۰
Psittacula	Psittacula	شاه طوطی	۱	۰

eupatria

نتایج توالی یابی (Sequencing)

برای تایید باندهای ایجاد شده محصول PCR سکانس گردید. توالی به دست آمده با توالی های موجود در بانک ژنی هم تراز (Blast) گردید. برای تایید باند های ایجاد شده محصول PCR سکانسگردید.

جدول ۲-پرایمر قطعه ۴۳۷

s۱۶-kla-F	۳-ACGGAATAATGACTTCGG-۵
s۱۶-kla-R	۳-TACCTGGTACGCTCAAAT-۵

توالی محصول PCR با توجه به پرایمرهای بالا

-۵

TCCCAAGCGTACCTGGTACGCTCAAATCGATTGGATATTAGCCAATCTCTCTTAT
AAAGTGCTTTACAACCCTAGAGCCTTCATCACACACGCGGCGTCGCTTCGTCAGA
CTTTCGTCCATTGCGAAAGATTCTCGACTGCAGCCTTCCGTAGAAGTCTGGGCAG
TGTCTCAGTCCCAGTGTTGGCGGTCAATCTCTCAATCCGCCTAGACGTCAAAGCC
TTGGTAGGCCATTACCCCACCAACAAGCTGATATCCCATAGACTCTCCCTCAACC
TATGTTTTAGATGCCTAAACATACCACAGAAAGGTCCGAAGATCCCCTTCTTTAA
TTCGGTATTAGCGGTCGTTTCCAACCGTTATTCCCAAGTTGAGGACAGATTATCT
۳-ATGTATTACTAACCCTTCCGCCACTAAATAATAACCGAAGTCATTATTCCGT

شکل ۳- آلاین توالی تکثیر شده و سکانس توالی

با توجه به سکانس توالی بالا و آلاین کردن توالی با توجه به توالی اورجینال

شکل ۴-توالی سکانس شده در نرم افراز کروماس

جدول ۳-قطعه ژن ۱۲۸

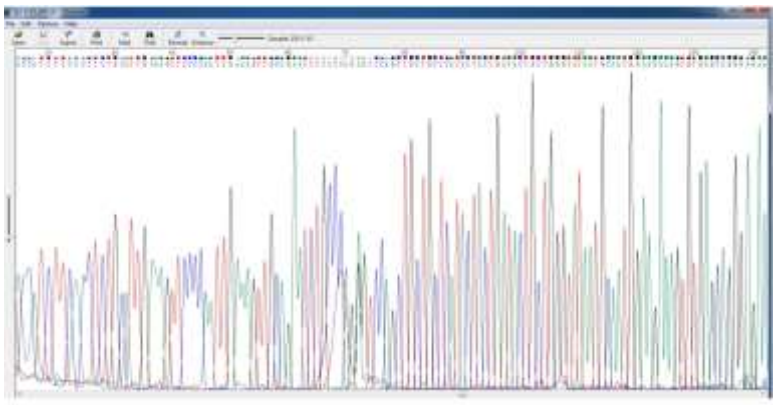
PESI-F	۳-ATAATGACTTCGGTTGTTATT-۵
PESI-R	۳-TGTTTTAGATGCCTAAACAT-۵

توالی محصول PCR با توجه به پرایمرهای بالا

-۵

TGTTTTAGATGCCTAAACATACCACATTCGGTATTAGCGGTCGTTTCCAACCGTTA
ATGTATTACTAACCCTTCCGCCACTAAATATTCCCAAGTTGAGGACAGATTATCT
۳-ATAACCGAAGTCATTAT

آلاین توالی تکثیر شده و سکانس توالی با توجه به سکانس توالی بالا و آلاین کردن توالی با توجه توالی اورجینال، نتایج بالا دست امد.



شکل ۵-توالی سکانس شده در نرم افزار کروماس

۴-بحث و نتیجه گیری

کلامیدیوفیلا پسیتاسی باکتری گرم منفی، کوکوئیدی و درون سلولی اجباری، جز خانواده کلامیدیاسه می باشد که عفونت تنفسی سیستماتیک گاها کشنده در پرندگان ایجاد کرده و تهدید مهمی در پرورش صنعتی و همچنین پرندگان به عنوان حیوان خانگی و اسیر در قفس محسوب می شود. بیماری در انسان و پرندگان، پسیتاکوز یا تب طوطی نامیده می شد. غالب عفونت ها از طریق تنفس هوای آلوده با آئروسل ها حاصل می شوند(رزمیار، ۱۳۹۸). این بیماری ممکن است بدون علائم باشد به همین دلیل خطر آن برای سایر طوطی سانان و انسان ها قابل ملاحظه می باشد. همچنین پیشگیری از این بیماری به دلیل نبود واکسن و زئونوز بودن بسیار مهم است. پس افرادی که با طوطی سانان تماس مستقیم دارند اعم از دامپزشکان، کارگران کشتارگاه های طیور، بازرسین طیور و کارکنان ایستگاه های قرنطینه، تکنسین های آزمایشگاه و کارگران باغ وحش و صاحبان طوطی سانان در معرض خطرند و باید نکات بهداشتی را رعایت کنند(Stokes et al., 2021). از ۶۰ میکروب(ویروس ها، باکتری ها، قارچ ها و تک یاخته ها) بیماری زا مختلف انسانی موجود در حیوانات در پناگاه، تنها هفت پاتوژن، یعنی *سالمونلا انتریک*، *C. psittaci*، *Histoplasma capsulatum*، *Aspergillus spp.*، *کاندیدا پاراپسیلوزیس*، *کریپتوکوکوس نئوفورمانس* و *توکسوپلاسما گونده ای* به طور معمول به انسان منتقل می شوند(Sariya et al., 2015).

در مطالعه حاضر، ۶درصد طوطی سانانی که از استان گلستان نمونه گرفته شد مبتلا به کلامیدیوزیس بودند. در پژوهش محزونیه و همکاران درصد ابتلا این بیماری در طوطی سانان ۲۵درصد گزارش شد که نشان دهنده آلودگی کمتر طوطی سانان گلستان به این بیماری ست(Mahzounieh et al., 2014). Sariya و همکاران *Chlamydophila psittaci (C. psittaci)* در کبوترهای بدون علامت را در مرکز تایلند بررسی کردند. ۱۰/۸ درصد از کبوترهای وحشی نمونه مثبت بودند که

توسط PCR مخصوص C. psittaci ژن پروتئین غشای خارجی A (ompA) مثبت بود(Sariya et al., 2015). در مطالعه دیگر شیوع عفونت *psittaci Chlamydophila* در ۹۵ طوطی آمازون به ظاهر سالم و اسیر از سه مجموعه پرورش دهنده برزیل ارزیابی شد. شیوع عفونت فعال با تشخیص DIF به ترتیب ۱۶,۷٪، ۲۲,۲٪ و ۵۶,۱٪ و شیوع سرمی ۱۰۰٪، ۸۷,۵٪ و ۶۰٪ در گله های A، B و C بود(de Freitas Raso et al., 2002). Mahzounieh و همکاران با تشخیص مولکولی *کلامیدیا پسی‌تاسی* را از نمونه‌های مدفوعی طوطیان بدون علامت در مازندران، بررسی نمودند که در کل، ۳۲ نمونه مدفوعی از گونه‌های مختلف طوطی در ایران جمع‌آوری گردید. بعد از تکثیر قطعات DNA استخراج شده از مدفوع پرندگان به وسیله PCR، در ۸ نمونه (۲۵٪) از ۳۲ نمونه DNA *کلامیدیا پسی‌تاسی* یافت شد(Mahzounieh et al., 2014). Madani و همکاران از نمونه های بافت ملتحمه چشم، شکاف کام، مدفوع کلواک و یا فضله تازه دفع شده از ۱۷ پرنده طوطی ۱۴ پرنده *کلامیدوفیلا پسی تاسی* در ایران را جدا کردند(Madani et al., 2011). عباسی و همکاران میزان شیوع *کلامیدیا پسی تاسی* از موارد مشکوک به کلامیدیوزیس ارجاعی به کلینیک دانشکده دامپزشکی فردوسی مشهد را بررسی کردند. در این مطالعه از ۷۰ قطعه پرنده اغلب از خانواده طوطی سانان(مشکوک به کلامیدیوزیس که دارای علایم بالینی به ویژه علایم تنفسی از جمله ترشحات چشم و بینی، التهاب ملتحمه، مدفوع زرد یا زرد مایل به سبز بودند، نمونه گیری به عمل آمد. بر اساس نتایج بدست آمده تعداد ۱۹ نمونه از ۷۰ کیس مورد بررسی (۱۴/۲۷ درصد) در این آزمایش مثبت شدند(عباسی و همکاران، ۱۳۹۵). در مطالعه ای دیگر که توسط رزم یار در بیمارستان دامپزشکی فردوسی مشهد انجام شد میزان ابتلا به پسیتاکوز ۱۴/۲۷درصد اعلام شد که باز هم نشان دهنده کمتر بودن شیوع این بیماری در استان گلستان می باشد. در مطالعه ای که در لهستان توسط Piasecki و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام شد میزان ابتلا ۳/۱۰٪گزارش شد(Piasecki et al., 2012). در پژوهشی که روی ۹۵ طوطی آمازون در برزیل توسط Raso Freitas de و همکاران در سال ۲۰۰۲ انجام شد. با روش ایمونوفلورسانس مستقیم به طور میانگین در ۳گروه B,Aو C شیوع بیماری ۶/۳۱ و با آزمایش در نمونه های سرمی ۵/۸۲درصد می باشد که بیانگر شیوع گسترده این بیماری در برزیل است و در مقایسه با استان گلستان بسیار بیشتر است(et Raso Freitas deal., 2002).

انتقال عفونت یا به طور مستقیم از راه تماس نزدیک با پرنده مبتلا یا غیر مستقیم از ناقلین غیرزنده صورت میگیرد. کلامیدیا پسیتاسی در دماهای پایین زنده می ماند و به خشکی مقاوم است(Harkinezhad et al., 2007). عفونت زایی در مدت چند دقیقه در اثر مواجهه با مواد ضدعفونی کننده معمولی مثل کلرید بنزالکونیوم، محلول ید الکلی، اتانول ۷۰ درصد، هیدروژن پراکسید ۳ درصد و نیترات نقره از بین می رود، اما به ترکیبات کرزول و آهک مقاوم اند. واکسن های تجاری کلامیدیا برای طیور در دسترس نیستند(حبیبی و همکاران، ۱۳۹۴). مطالعه حاضر نشان میدهد در مکان های جغرافیایی مختلف درصد ابتلا به پسیتاکوز متفاوت است و در منطقه مطالعه شده، میزان ابتلا کم می باشد ولی موضوع حائز اهمیت پیشگیری و کنترل این بیماری با آزمایش بر روی نمونه های بیشتر و وضع قوانین سختگیرانه تر واردکنندگان پرندگان زینتی وارداتی می باشد تا از شیوع بیشتر این بیماری جلوگیری شود. این نتایج نشان از شیوع پسیتاکوزیس در جمعیت طوطی های استان گلستان بوده و بنابراین می‌تواند یک عامل خطر انتقال بیماری مشترک به انسان از لحاظ سلامت عمومی باشد و از آنجا که افراد زیادی در ایران در تماس نزدیک با این پرندگان هستند، نیاز به آموزش عمومی بیشتر، در رابطه با این بیماری می‌باشد. با توجه به زئونوز بودن این بیماری، تمایل روزافزون افراد به نگهداری از پرندگان زینتی در خانه و تماس مستقیم افراد حساس از جمله کودکان و افراد مسن و خانم های باردار و همچنین تماس مداوم پرورش دهندگان پرندگان زینتی و دامپزشکان با پرندگان بیمار، اهمیت بررسی میزان شیوع این بیماری را در پرندگانی که دارای علایم تنفسی هستند، بیان می کندو لزوم چنین مطالعه ای در سایر استانها توصیه می گردد.

منابع

۱. حبیبی، م. و همکاران. (۱۳۹۴). کتاب جامع بیماری های طیور صنعتی. انتشارات نوربخش

۲. رزمیار ج.(۱۳۹۸). تب طوطی:مروری بر کلامیدیوز در پرندگان و انسان. انتشارات دانشگاه تهران

۳. صدرزاده، ا.(۱۳۹۵). بیماری های طیور صنعتی و مدیریت مزارع مادر.

۴. عباسی م.، رزم یار ج.، اکبرزاده ف. کارگر س.ع. (۱۳۹۵). بررسی میزان شیوع کلامیدیا پسیتاسی از موارد مشکوک به کلامیدیوزیس ارجاعی به کلینیک دانشکده دامپزشکی فردوسی مشهد. همایش ملی بیماریهای مشترک بین انسان و دام ۴ و ۵ اسفند ۱۳۹۵.

5. Beeckman, D. S. A., & Vanrompay, D. C. (2010). Bacterial secretion systems with an emphasis on the chlamydial Type III secretion system. Current issues in molecular biology, 12(1), 17-42.

6. Belland, R. J., Scidmore, M. A., Crane, D. D., Hogan, D. M., Whitmire, W., McClarty, G., & Caldwell, H. D. (2001). Chlamydia trachomatis cytotoxicity associated with complete and partial cytotoxin genes. Proceedings of the National Academy of Sciences, 98(24), 13984-13989.

7. Borel, N., Polkinghorne, A., & Pospischil, A. (2018). A review on chlamydial diseases in animals: still a challenge for pathologists?. Veterinary pathology, 55(3), 374-390.

8. de Freitas Raso, T., Júnior, Â. B., & Pinto, A. A. (2002). Evidence of Chlamydophila psittaci infection in captive Amazon parrots in Brazil. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 33(2), 118-121.

9. Dickx, V., & Vanrompay, D. (2011). Zoonotic transmission of Chlamydia psittaci in a chicken and turkey hatchery. Journal of medical microbiology, 60(6), 775-779.

10. Dickx, V., Geens, T., Deschuyffeleer, T., Tyberghien, L., Harkinezhad, T., Beeckman, D. S. A., ... & Vanrompay, D. (2010). Chlamydophila psittaci zoonotic risk assessment in a chicken and turkey slaughterhouse. Journal of clinical microbiology, 48(9), 3244-3250.

11. Dickx, V., Beeckman, D. S. A., Dossche, L., Tavernier, P., & Vanrompay, D. (2010). Chlamydophila psittaci in homing and feral pigeons and zoonotic transmission. Journal of Medical Microbiology, 59(11), 1348-1353.

12. Harkinezhad, T., Geens, T., & Vanrompay, D. (2009). Chlamydophila psittaci infections in birds: a review with emphasis on zoonotic consequences. Veterinary microbiology, 135(1-2), 68-77.

13. Harkinezhad, T., Verminnen, K., Van Droogenbroeck, C., & Vanrompay, D. (2007). Chlamydophila psittaci genotype E/B transmission from African grey parrots to humans. Journal of medical microbiology, 56(8), 1097-1100.

14. Hogerwerf, L., De Gier, B., Baan, B., & Van Der Hoek, W. (2017). Chlamydia psittaci (psittacosis) as a cause of community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. Epidemiology & Infection, 145(15), 3096-3105.

15. House, H. R., & Bailey, O. E. (2024). Chlamydophila psittaci (Psittacosis) Attack. In Ciottone's Disaster Medicine (pp. 779-781). Elsevier.

16. Jelocnik, M., Branley, J., Heller, J., Raidal, S., Alderson, S., Galea, F., ... & Polkinghorne, A. (2017). Multilocus sequence typing identifies an avian-like Chlamydia psittaci strain involved in equine placentitis and associated with subsequent human psittacosis. Emerging microbes & infections, 6(1), 1-3.

17. Jelocnik, M. (2019). Chlamydiae from down under: The curious cases of chlamydial infections in Australia. Microorganisms, 7(12), 602.

18. Kaleta, E. F., & Taday, E. M. (2003). Avian host range of Chlamydophila spp. based on isolation, antigen detection and serology. Avian pathology, 32(5), 435-462.

19. Laroucau, K., Ortega, N., Vorimore, F., Aaziz, R., Mitura, A., Szymanska-Czerwinska, M., ... & Caro, M. R. (2020). Detection of a novel Chlamydia species in captive spur-thighed tortoises (Testudo graeca) in southeastern Spain and proposal of Candidatus Chlamydia testudinis. Systematic and applied microbiology, 43(2), 126071.
20. Mahzounieh, M. R., Khoei, H. H., Niknejad, M., & Yektaneh, F. (2014). Molecular detection of Chlamydia psittaci in fecal samples of asymptomatic parrots in Mazandaran, Iran. Pajoohandeh Journal, 18(6), 337-343.
21. Madani, S.A., Peighambari, S.M. and Barin, A. (2011). International Journal of Veterinary Research. 5(2): 95-98.
22. Meyer, K. F., Eddie, B., & Yanamura, H. Y. (1942). Ornithosis (psittacosis) in pigeons and its relation to human pneumonitis. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 49(4), 609-615.
23. Piasecki, T., Chrząstek, K., & Wieliczko, A. (2012). Detection and identification of Chlamydophila psittaci in asymptomatic parrots in Poland. BMC veterinary research, 8, 1-6.
24. Sariya, L., Prompiram, P., Tangsudjai, S., Poltep, K., Chamsai, T., Mongkolphan, C., ... & Sakdajivachareon, V. (2015). Detection and characterization of Chlamydophila psittaci in asymptomatic feral pigeons (Columba livia domestica) in central Thailand. Asian Pacific journal of tropical medicine, 8(2), 94-97.
25. Smith, K. A., Campbell, C. T., Murphy, J., Stobierski, M. G., & Tengelsen, L. A. (2011). Compendium of measures to control Chlamydophila psittaci infection among humans (psittacosis) and pet birds (avian chlamydiosis), 2010 National Association of State Public Health Veterinarians (NASPHV). Journal of Exotic Pet Medicine, 20(1), 32-45.
26. Stokes, H. S., Berg, M. L., & Bennett, A. T. (2021). A review of chlamydial infections in wild birds. Pathogens, 10(8), 948.
27. Cheong, H. C., Lee, C. Y. Q., Cheok, Y. Y., Tan, G. M. Y., Looi, C. Y., & Wong, W. F. (2019). Chlamydiaceae: diseases in primary hosts and zoonosis. Microorganisms, 7(5), 146.
28. Vanrompay, D. Avian Chlamydiosis. In Diseases of Poultry, 14th ed.; Swayne, D.E., Boulianne, M., Logue, C.M., McDougald, L.R., Nair, V., Suarez, D.L., de Wit, S., Grimes, T., Johnson, D., Kromm, M., et al., Eds.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2020.
29. Woldehiwet, Z. (2008). Avian chlamydophilosis (chlamydiosis/psittacosis/ornithosis). In Poultry diseases (pp. 235-242). WB Saunders.

مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری

دوره ۱۰، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳، صفحات ۲۳۵-۲۲۵

Investigation of Chlamydiosis in parrots by PCR method in Golestan province

Saeed Shateri[1*], Shamsali Hadizadeh Moallem[2], Zahra Sadat Hosseini[3]

[1*]*Department of Veterinary clinical science, Faculty of Veterinary, Babol Branch, Islamic Azad University Babol, Iran*
[2]*Department of Veterinary clinical science, Faculty of Veterinary, Babol Branch, Islamic Azad University Babol, Iran*
[3]*Gradated student, Faculty of Veterinary, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.*

Abstract

Chlamydia is a zoonotic disease that has been identified in a wide range of birds from wild to domestic and is considered an important threat in pet and caged birds. Psittacosis, also known as parrot fever, is caused by *Chlamydophila psittaci*, an obligate intracellular bacterium. In this study, during the years 2022 and 2023, from 50 parrots in Golestan province that had respiratory symptoms, loss of appetite and green stool, stool samples were taken and by PCR method, the 16S RNA gene, which indicates the presence of bacteria, was detected by primers Exclusively checked. Three of the 50 samples were infected, which represents 6% of the contamination among the sampled parrots. Therefore, it is recommended that the prevention of this disease is very important due to the lack of a vaccine and zoonosis . Such a study should be conducted in other provinces and if this disease is detected, the veterinary department and the health department should be informed.

Key word: *Chlamydophila psittaci*, PCR, Golestan Province