

تشخیص مولکولی کلامیدیا پسی تاسی در نمونه‌های مدفوعی طوطیان بدون علامت در مازندران، ایران

دکتر محمدرضا محزونیه^۱، حیدر حیدری خوئی^{۲*}، مهسا نیک‌نژاد^۲، فاطمه یکتانه^۲

۱. دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، پژوهشکده بیماری‌های مشترک انسان و دام، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

۲. دانشجوی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، پژوهشکده بیماری‌های مشترک انسان و دام، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

۳. کارشناس آزمایشگاه، دانشکده دامپزشکی، پژوهشکده بیماری‌های مشترک انسان و دام، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

چکیده

سابقه و هدف: پسیتاکوز (کلامیدیوز) یک بیماری زئونوز (مشترک بین انسان و پرندگان) است که توسط کلامیدیا پسی تاسی ایجاد می‌شود. این باکتری، درون سلولی اجباری و عضو خانواده‌ی کلامیدیاسه است. علایم بالینی بیماری به گونه و سن پرنده و همچنین سویه‌ی کلامیدیا پسی تاسی بستگی دارد. این بیماری می‌تواند به صورت بدون علامت بوده و یا به صورت تحت بالینی درآید که در این صورت دفع متناوب ارگانیسم به مدت طولانی صورت می‌گیرد و با توجه به آن که عفونت از طریق تماس نزدیک به انسان منتقل می‌شود، دفع بدون علامت ارگانیسم یک عامل تهدیدکننده برای سلامت عمومی انسان‌ها می‌باشد. هدف از این مطالعه، تشخیص مولکولی کلامیدیا پسی تاسی در نمونه‌های مدفوعی چند گونه‌ی متفاوت طوطی‌سانان در ایران بوده است.

مواد و روش‌ها: در کل، ۳۲ نمونه‌ی مدفوعی از گونه‌های مختلف طوطی در ایران جمع‌آوری گردید. DNA با استفاده از کیت ساخت شرکت سیناکلون و مطابق با دستورالعمل کارخانه استخراج شد. سپس، به وسیله‌ی PCR و با استفاده از دو جفت پرایمر که توالی هدف آنها به ترتیب قطعات ۴۳۲ و ۱۲۷ جفت بازی از DNA باکتری در مرحله‌ی اول و دوم واکنش PCR بود، تکثیر پیدا کرد.

یافته‌ها: بعد از تکثیر قطعات DNA استخراج شده از مدفوع پرندگان به وسیله‌ی PCR، در ۸ نمونه (۲۵٪) از ۳۲ نمونه DNA کلامیدیا پسی تاسی یافت شد.

نتیجه‌گیری: این نتایج نشان از شیوع متوسط پسیتاکوز تحت بالینی در جمعیت طوطیان ایران 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. مطالعات بیشتری جهت جست و جوی ژنوتیپ‌های کلامیدیا پسی تاسی در جمعیت طوطی‌سانان ایران نیاز است.

واژگان کلیدی: کلامیدیا پسی تاسی، طوطی‌سانان، PCR، بیماری مشترک، ایران

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Mahzounieh MR, Heidari Khoei H, Niknejad M, Yektaneh F. Molecular detection of *Chlamydia psittaci* in fecal samples of asymptomatic parrots in Mazandaran, Iran. *Pejouhandeh* 2014;18(6):337-343.

مقدمه

پسیتاکوز، یک بیماری مشترک بین انسان و پرندگان است که توسط باکتری کلامیدیا پسی تاسی ایجاد می‌شود. این باکتری، انگل داخل سلولی اجباری بوده و متعلق به خانواده‌ی کلامیدیاسه می‌باشد (۱). علایم بالینی عفونت به کلامیدیا پسی تاسی در پرندگان، طیف وسیعی داشته و از بیماری بدون

علامت تا بیماری سیستمیک همراه با علایم تنفسی و روده‌ای شدید، متفاوت است. شدت علایم، به گونه و سن پرنده و همچنین عامل ایجاد کننده، وابسته است. علایم بالینی معمولاً شامل دیسترس تنفسی، ترشحات چرکی-موکوسی بینی، اسهال، پر ادراری، بی حالی، سینوزیت و اختلالات سیستم اعصاب مرکزی است (۲).

کلامیدیا پسی تاسی در بیشتر موارد، پرندگان متعلق به راسته‌ی طوطی‌سانان را مبتلا می‌کند، هرچند گزارشاتی از آلودگی پرندگان متعلق به راسته کیبوترسانان، ماکیان‌سانان و

*نویسنده مسؤول مکاتبات: حیدر حیدری خوئی؛ شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، پژوهشکده بیماری‌های مشترک انسان و دام، کد پستی: ۸۸۴۷۱۶۴۳۵۱، تلفن: ۰۹۱۳۶۷۷۵۹۰۹؛ پست الکترونیک: heidarheidari@yahoo.com

بررسی‌های سرولوژی، ویژگی لازم را برای تشخیص گونه‌های کلامیدیا دارا نبوده و نمی‌توانند به طور کامل گونه‌های کلامیدیایی را از هم متمایز کنند. واکنش زنجیره‌های پلیمرز آشیانه‌ای (nested PCR) یک روش سریع، با حساسیت و ویژگی بالا جهت تشخیص عفونت کلامیدیا پسی تاسی است. هدف از این بررسی، تشخیص مولکولی کلامیدیا پسی تاسی در نمونه‌های مدفوعی چند گونه‌ی متفاوت طوطی در ایران بود.

مواد و روش‌ها

در کل، ۳۲ نمونه‌ی مدفوعی از گونه‌های مختلف طوطی در ایران جمع‌آوری گردید (جدول ۱). نمونه‌ها در بهار سال ۱۳۹۲ از پرندگان موجود از پرندفروشی‌های شهر قائم‌شهر در استان مازندران، با پهن کردن کاغذهای استریل در کف قفس آنها و در میکروتیوب‌های استریل جمع‌آوری گردیدند. و در کنار یخ به آزمایشگاه میکروبیولوژی پژوهشکده‌ی بیماری‌های مشترک انسان و دام در دانشگاه شهرکرد، منتقل گردیدند. برخی از این طوطی‌سانان در تماس نزدیک با پرندگان دیگری همچون کبوتر و فنچ و قناری بودند. معاینات بالینی و گرفتن تاریخچه از صاحب پرندگان، شواهدی از وجود بیماری پسی تاکوز در آنها نشان نمی‌داد. این تحقیق با رضایت صاحب پرنده و با رعایت اخلاق صورت پذیرفت.

DNA، از نمونه‌های مدفوع و با استفاده از کیت DNPTTM ساخت شرکت سیناکلون ایران، مطابق با دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده، جداسازی و غلظت آن توسط اسپکتروفتومتر (Biophotometr, Eppendorf, Germany) با جذب نور ماورای بنفش در طول موج‌های ۲۶۰ نانومتر و ۲۸۰ نانومتر سنجیده شد، که نمونه‌های با خلوص مناسب که نسبت جذب نوری (جذب نوری ۲۶۰ به ۲۸۰) ۱/۷ تا ۲ داشتند، در مرحله‌ی بعد مورد استفاده قرار گرفتند. DNA استخراج شده تا زمان انجام مراحل بعدی آزمایش، در فریزر منفی ۲۰ نگهداری شدند.

تشخیص کلامیدیا پسی تاسی به وسیله‌ی PCR و بر اساس تشخیص ژن‌های 16S rRNA و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی جنس کلامیدیا (مرحله‌ی اول PCR) شامل سنس 5'-ACGGAATAATGACTTCGG-3' و آنتی سنس 5'-TACCTGGTACGCTCAAAT-3' پرایمرهای اختصاصی گونه (مرحله دوم PCR) شامل سنس 5'-ATAATGACTTCGGTTGTTATT-3' و آنتی سنس 5'-TGTTTTAGATGCCTAAACAT-3' صورت گرفت. حجم واکنش ۲۵ میکرولیتری PCR شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر

گنجشک‌سانان به این باکتری نیز وجود دارد (۳). بیماری در انسان با عناوینی همچون پسی تاکوز، تب طوطی، کلامیدیوز و اورنیتوز شناخته می‌شود. انسان مبتلا، معمولاً در تماس نزدیک با پرندگان اهلی و از طریق استنشاق عامل بیماری که در ذرات غبار و ترشحات تنفسی و مدفوع خشک شده که از پرنده آلوده دفع شده است، در معرض بیماری قرار می‌گیرد (۴).

علائم بالینی در انسان نیز بسیار متغیر بوده و معمولاً به صورت علائم غیراختصاصی و شبیه آنفلوآنزا شامل تب، گرفتگی و درد عضلانی، سردرد و سرفه‌های خفیف می‌باشد. هرچند، احتمال ایجاد پنومونی شدید، اندوکاردیت و انسفالیت نیز وجود دارد (۵-۷). به دلیل انتقال به انسان، پسی تاکوز به عنوان یک بیماری مشترک بین انسان و پرندگان، حایز اهمیت است.

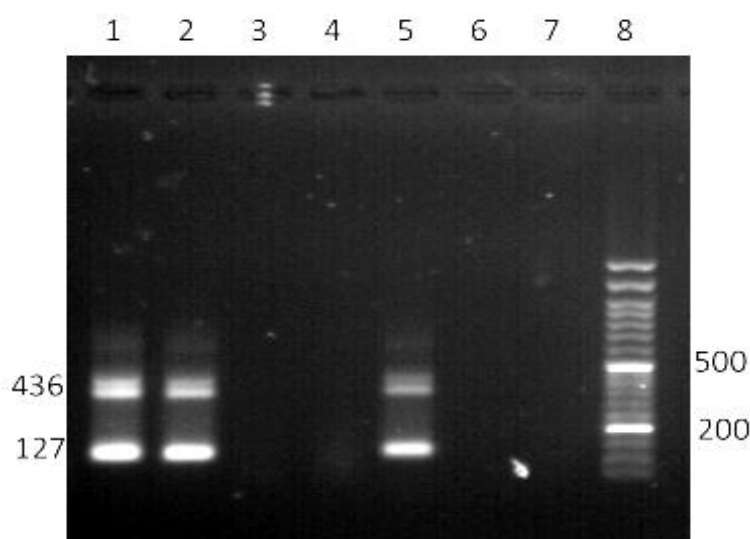
در طوطی‌سانان، دوره‌ی کمون بیماری معمولاً از چند روز تا چند هفته طول می‌کشد. در عفونت خاموش، علائم بالینی ممکن است برای چندین ماه یا سال بعد از برخورد با عامل بیماری ظهور کند. علائم شامل بی‌حالی، لرزش عضلانی، پره‌های خشن، ترشحات بینی، التهاب ملتحمه، رال و سخی تنفس و اسهال است (۸). در طی فاز مزمن علائم ممکن است تحت بالینی شوند (۹). در طی این مرحله، پرندگان علائم بالینی نشان نداده و به طور متناوب عامل بیماری را از طریق ترشحات تنفسی، ترشحات چشمی و مدفوعی و به طور عمده در شرایط استرس‌زا مانند تراکم زیاد پرندگان، دستکاری، تخم‌گذاری و جوجه درآوری، دفع کنند (۱۰). به دلیل عدم وجود واکنش تجاری، کنترل عفونت کلامیدیایی بر پایه‌ی مدیریت صحیح مراکز پرورش و نگهداری شامل نظافت، رعایت اصول بهداشتی و قرنطینه‌ی پرندگان اهلی، استوار است.

طوطی‌سانان در مناطق شهری و روستایی اکثر نقاط جهان وجود داشته و با انسان در مناطق عمومی همچون باغ وحش‌ها در تماس نزدیک هستند. امروزه نیز پرورش طوطی یک فعالیت تفریحی و اقتصادی در بین جوانان شده و امکان تماس با پرندگان آلوده وجود دارد که می‌تواند باعث عفونت در انسان شود.

روش‌های شناسایی کلامیدیا پسی تاسی متفاوت است. به دلیل دشواری کشت باکتری‌های درون سلولی اجباری، زمان‌بر بودن و نیاز به تجهیزات ویژه و نیاز به تخم مرغ‌های جنین‌دار SPF یا روش‌های کشت سلولی که در بیشتر آزمایشگاه‌ها موجود نمی‌باشند، و نیز خطر انتقال احتمالی عامل بیماری به کارکنان آزمایشگاه، معمولاً استفاده نمی‌شود. همچنین

مدت یک دقیقه، ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و در نهایت ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه، جهت گسترش نهایی در دستگاه ترموسایکلر (Applied Biosystem, US) بود. سپس محصولات PCR، در ژل آگاروز ۲ درصد و در کنار کنترل‌های منفی و مثبت و شاخص اندازه‌ی DNA، الکتروفورز و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید و در معرض UV با دستگاه ژل داکيومنتیشن (UVitec, UK) مورد ارزیابی قرار گرفت. اندازه‌ی باند مورد انتظار در مرحله‌ی اول، ۴۳۲ جفت باز و در مرحله‌ی دوم، ۱۲۷ جفت باز بود (شکل ۱).

PCR 10×، ۰/۷۵ میلی‌مول $MgCl_2$ ، ۰/۰۲ میلی‌مول dNTP، واحد آنزیم Taq polymerase (شرکت سیناکلون، ایران) و ۲۰ پیکومول از هر پرایمر (پرایمرهای اختصاصی گونه در مرحله‌ی اول و پرایمرهای اختصاصی جنس در مرحله دوم) و یک میکروگرم DNA الگو بوده است. DNA استخراج شده از نمونه در مرحله‌ی اول و محصول PCR مرحله‌ی اول، در PCR مرحله‌ی دوم استفاده شد. از آب مقطر به عنوان کنترل منفی و از نمونه تعیین توالی شده با روش سنگر (Sanger) به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید (۱۲ و ۱۳). برنامه‌ی دمایی شامل: واسرشت ابتدایی ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۵ سیکل با دماهای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به



شکل ۱. نتایج PCR ژن 16S rRNA کلامیدیا پسی‌تاسی بر روی ژل آگارز. ستون ۱: کنترل مثبت، ستون ۲ و ۵: نمونه‌ی مثبت، ستون ۷: کنترل منفی، ستون ۸: مارکر ۵۰ جفت بازی.

نتایج

هشت نمونه (۲۵ درصد) از ۳۲ طوطی تست شده با استفاده از پرایمرهای مورد استفاده برای ژن 16S rRNA، مثبت شدند (جدول ۱). در این میان، اعضای جنس *Psittacula* بیشترین موارد مثبت را نشان دادند. نکته جالب در این خصوص، مثبت بودن نمونه‌ها علی‌رغم عدم وجود علائم بالینی بیماری پسیتاکوز بود و تمامی طوطی‌های تست شده از نظر ظاهری، سالم به نظر می‌رسیدند. همین امر، اهمیت آشنایی افراد در ارتباط با پرندگان به خصوص راسته‌ی طوطی‌سانان، از بیماری پسیتاکوز به عنوان یک بیماری زئونوز را نشان می‌دهد.

بحث

کلامیدیا پسی‌تاسی عموماً برای پرندگان بیماری‌زا می‌باشد،

ولی می‌تواند به انسان نیز منتقل و باعث بیماری در انسان (اورنیتوز) شود. بیشتر موارد درگیری انسان در برخورد نزدیک با طوطی‌سانان اتفاق می‌افتد. با این حال، گزارشاتی از انتقال بیماری توسط ماکیان، پرندگان شکاری، کبوتر، فاخته و پرندگان ساحلی نیز وجود دارد (۱۴). انسان اغلب در اثر استنشاق میکروارگانیسم‌ها که در مدفوع خشک شده یا ترشحات دستگاه تنفسی پرنده آلوده وجود دارد، مبتلا می‌شوند. Smith و همکاران گزارش کردند که از سال ۱۹۸۸ تا ۲۰۰۳ میلادی، ۹۳۵ مورد از درگیری انسان با بیماری اورنیتوز در آمریکا توسط مرکز پیشگیری و کنترل بیماری (CDC) مورد تأیید قرار گرفته است، که عموماً این درگیری‌ها به علت تماس با پرندگان زینتی آلوده و به خصوص خانواده‌ی طوطی‌سانان بوده است (۱۵). گزارش‌های دیگری نیز از انتقال بیماری به انسان در اثر تماس با پرندگان آلوده وجود دارد.

جدول ۱. میزان موارد مثبت از نظر PCR در نمونه‌های گونه‌های مختلف طوطی در ایران.

نام جنس پرند	نام گونه پرند	نام فارسی متعارف	تعداد پرندگان تست شده	تعداد موارد مثبت شده از نظر PCR
Agapornis	<i>Agapornis personata</i>	طوطی برزیلی کوتوله	۱	۱
	<i>Agapornis roseicollis</i>	طوطی برزیلی صورت گلی	۱	۰
Amazona	<i>Amazona amazonica</i>	طوطی آمازون بال نارنجی	۱	۰
Anodorhynchus	<i>Anodorhynchus hyacinthinus</i>	ماکائو سنبله	۱	۰
Ara	<i>Ara ararauna</i>	آرای آبی	۲	۰
	<i>Ara macao</i>	آرا رنگارنگ	۱	۱
Aratinga	<i>Aratinga solstitialis</i>	طوطی خورشیدی	۲	۰
Cacatua	<i>Cacatua sanguinea</i>	کاکادو چشم برهنه	۱	۰
Cyanopsitta	<i>Cyanopsitta spixii</i>	ماکائو کوچک آبی	۱	۰
Eclectus	<i>Eclectus roratus</i>	طوطی اکلکتوس	۱	۰
Melopsittacus	<i>Melopsittacus undulatus</i>	مرغ عشق	۴	۰
Nymphicus	<i>Nymphicus hollandicus</i>	عروس هلندی	۵	۱
	<i>Psittacula alexandri</i>	طوطی سینه صورتی	۱	۰
	<i>Psittacula cyanocephala</i>	طوطی سر آلبی	۱	۰
Psittacula	<i>Psittacula erithacustimneh</i>	طوطی خاکستری یا کاسکو	۳	۳
	<i>Psittacula eupatria</i>	شاه طوطی	۳	۱
	<i>Psittacula krameri</i>	طوطی کوچک اسکندر	۳	۱
مجموع			۳۲	۸ (۲۵ درصد)

Vanrompay و همکاران در بررسی خطر انتقال بیماری مشترک از پرندگان اهلی به انسان، با بررسی ژن *ompA* DNA کلامیدیا پسی‌تاسی را در ۱۹/۲ درصد از طوطیان تست شده و ۱۳ درصد از صاحبانشان یافتند که نشان از افزایش خطر انتقال بیماری در صورت برخورد با پرندگان آلوده می‌باشد (۱۶). میزان وجود DNA کلامیدیا پسی‌تاسی در مطالعه‌ی مذکور، با یافته‌های ما مطابقت دارد. به رغم تشخیص کلامیدیا پسی‌تاسی در انسان، مطالعات اندکی از وجود عفونت در طوطیان ایران وجود دارد. هدف از این بررسی، به دست آوردن اطلاعات ابتدایی در مورد میزان حضور DNA کلامیدیا پسی‌تاسی در مدفوع طوطی‌سانان ایران با استفاده از روش nested-PCR بود، که می‌تواند اهمیت این پرندگان را در حفظ و انتقال عامل بیماری به انسان، نشان دهد.

در مطالعه‌ی حاضر، ۳۲ پرند از ۱۷ گونه‌ی مختلف راسته طوطی‌سانان مورد بررسی قرار گرفت که از بین آنها، ۸ مورد (۲۵ درصد) از نظر وجود DNA کلامیدیا پسی‌تاسی با استفاده از روش PCR مثبت شدند که با برخی از بررسی‌ها در نقاط مختلف جهان قابل مقایسه می‌باشد. روش‌های مبتنی بر PCR، قبلاً توسط چندین محقق جهت شناسایی DNA نمونه‌های مدفوعی و کواکی مورد استفاده قرار گرفته است.

Messmer و همکاران در سال ۱۹۹۷، برای شناسایی گونه‌های متفاوت کلامیدیا در انسان و پرندگان، از روش nested, multiplex PCR بر روی ژن 16S rRNA استفاده کردند و دقت بالای این روش را در تمایز گونه‌های مختلف کلامیدیا، نشان دادند (۱۱). Sareyyupoglu و همکاران در ترکیه، مطالعه‌ای روی ۴۷ نمونه انجام داده و DNA را با استفاده از پرایمرهای طراحی شده برای ژن *pmp* کلامیدیا پسی‌تاسی را در ۴۳ نمونه (۹۱/۵ درصد) شناسایی کردند، اما بیشتر پرندگان مورد مطالعه‌ی در تحقیقات آنها، علایمی از بیماری کلامیدوز را نشان می‌دادند (۱۷).

Gartrella و همکاران در سال ۲۰۱۳ در کشور نیوزلند، از روش PCR برای تشخیص کلامیدیا پسی‌تاسی در گنجشکان بومی وحشی این کشور استفاده نمودند (۱۸).

علاوه بر روش‌های مولکولی، از روش‌های تشخیصی دیگری نیز برای شناسایی آلودگی به کلامیدیا پسی‌تاسی استفاده می‌شود. در یک بررسی که روی ۹۵ طوطی آمازون در برزیل انجام گرفت، میزان شیوع با استفاده از روش ایمونوفلورسنس مستقیم، از ۱۶/۷ تا ۵۶/۱ درصد تشخیص داده شد و این میزان از نظر سرولوژی با استفاده از الایزا از ۶۰ تا ۱۰۰ درصد متفاوت بود (۱۹). علت اختلاف با نتایج به دست آمده در این مطالعه، تفاوت در جمعیت و نوع پرندگان در دو محیط

Amazona ochrocephala (آمازون پیشانی زرد) بوده است (۲۳).

در ایران، مطالعات زیادی روی این ارگانیزم انجام نگرفته است. در مطالعه‌ی Madani و همکاران که روی پرندگان زینتی انجام گرفته است، در حدود ۲۴ درصد از نمونه‌های مورد آزمایش، وجود گنجیدگی کلامیدیایی در کشت سلولی، نشان داده شد (۲۴). در مطالعه‌ی Shariatnejhad و همکاران که روی پرندگان خانوادگی طوطی‌سانان انجام گرفت، ۱۰ مورد از ۳۰ نمونه‌ی مورد آزمایش با استفاده از PCR، مثبت تشخیص داده شد، اما تمامی نمونه‌های گرفته شده، مشکوک به کلامیدوز بودند (۲۵).

باید توجه داشت که پرندگان در هر دو وضعیت تحت بالینی و حالتی که به ظاهر بیمار هستند، می‌توانند باکتری را در مدفوع و ترشحات تنفسی، دفع کنند. در تأیید این موضوع، Boseret و همکاران نشان دادند طوطیانی که مدت زیادی همراه با دوره‌ی کمون بیماری، زنده می‌مانند، می‌توانند عامل بیماری را به طور متناوب و در زمان طولانی، وارد محیط زیست کنند (۲۶). شایان ذکر است که کلامیدیا معمولاً به دنبال استرس ناشی از کمبودهای تغذیه‌ای، نقل و انتقالات طولانی مدت، جوجه درآوری، درمان و دستکاری، دفع می‌شود. بنابراین امکان آن وجود دارد که میزان موارد مثبت، حتی بیش از میزان به دست آمده در این مطالعه باشد. علاوه بر این، میزان دفع عامل در طی عفونت طبیعی ممکن است بسته به حدت عامل کلامیدیایی، میزان عفونت و وضعیت ایمنی میزبان متفاوت باشد (۱۴). با توجه به مطالعات متعددی که حاکی از انتقال بیماری از طوطی‌سانان به انسان می‌باشند، اهمیت اطلاع از بیماری و آموزش عمومی در این ارتباط، بیش از پیش احساس می‌گردد.

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر، میزان موارد مثبت، بالا و در حدود ۲۵ درصد نمونه‌های مدفوعی طوطی‌سانان مورد آزمایش بوده و نشان از موارد مثبت بالا در جمعیت مورد مطالعه دارد و می‌تواند برای سلامت عمومی افرادی که در تماس نزدیک با پرندگان این راسته هستند، خطر ساز باشد.

پیشنهاد می‌شود که بررسی جامع‌تری روی گروه‌های مختلف پرندگان و همچنین تعداد بیشتری از پرندگان این راسته انجام گیرد و ژنوتیپ‌های غالب کلامیدیا پسی‌تاسی در ایران نیز تعیین گردد.

جغرافیایی با اقلیم مختلف و محل نگهداری، پرورش و مدیریت متفاوت است. در ضمن، در روش به کار رفته در این تحقیق، نمونه‌گیری از پرندگان فاقد علایم بالینی به عمل آمد. طبیعی است که پرندگان مبتلا به شکل بالینی، آلودگی بالاتری نشان می‌دهند. به علاوه، در این دو تحقیق، از دو روش تشخیصی متفاوت استفاده شده است. حضور آنتی‌بادی به خصوص از نوع IgG در آزمون‌های سرولوژی از جمله الیزا، عفونت قبلی را نشان می‌دهند. به همین دلیل، در بیشتر مطالعات، نتایج مثبت بیشتری نسبت به کشت یا روش‌های جست و جوی ژنومی نشان می‌دهند. در حالی که در پژوهش حاضر از روش جست و جوی ژنومی با روش کاملاً حساسی که قادر است حضور تعداد کمی از ژنوم باکتری را نشان دهد، بهره گرفته شده است. شاید اگر از روش‌های جست و جوی IgM استفاده می‌شد، نتایج به دست آمده، به نتایج PCR نزدیک‌تر بود. همین اختلاف، با نتایج حاصل از مطالعه‌ی دیگری که توسط Raso و همکاران روی ۲۶ طوطی ماکائو سنبله (*Anodorhynchus hyacinthinus*) با استفاده از دو روش تثبیت کمپلمان (complement fixation test) و seminested PCR انجام شده، دیده می‌شود (۲۰). نتایج مطالعه‌ی آنها نیز نشان داد ۶۵/۴ درصد از نمونه‌ها، حداقل با یکی از این دو روش مثبت دیده می‌شود. در مطالعات Krizek و همکاران نیز که روی ۱۷۷ طوطی انجام گرفت، ۲۲ مورد (۱۲/۴ درصد) با روش الیزا و ۲۱ مورد (۱۱/۸ درصد) با استفاده از روش PCR بر روی ژن *ompA*، مثبت تلقی شدند که نشان از ویژگی بالاتر روش PCR در مقابل روش الیزاست. همچنین، این محققین میزان موارد مثبت با روش PCR را برای کبوتر ۱۳ درصد و قناری ۱۵/۵ درصد بیان کردند (۲۱).

مطالعاتی نیز روی طوطی‌سانان فاقد علایم بیماری انجام گرفته است که نشان از وجود بیماری به صورت تحت بالینی در این راسته دارد. در مطالعه‌ای که در کشور لهستان بر روی ۱۷۷ پرنده از راسته طوطی‌سانان انجام گرفت، میزان موارد مثبت شده از نظر PCR، ۱۶ مورد (۱۰/۲۶ درصد) بوده و تمامی پرندگان مورد مطالعه از نظر بالینی سالم به نظر می‌رسیدند (۲۲). در مطالعه‌ی Sheleby-Elías و همکاران، ۴ مورد (۳/۴ درصد) از ۱۱۷ پرنده‌ی راسته‌ی طوطی‌سانان که مورد بررسی قرار گرفتند، از نظر آزمایشات PCR مثبت شدند. این در حالی بود که هیچ کدام از پرنده‌ها، علایمی از بیماری را نشان نمی‌دادند. از بین ۴ مورد مثبت شده سه مورد مربوط به گونه‌ی *Ara macao* (آرا رنگارنگ) بوده که در مطالعه‌ی ما نیز این گونه مثبت شده است و یک مورد مربوط به گونه‌ی

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر خود را از تمامی افرادی که ما را در این تحقیق یاری نمودند، به خصوص معاونت پژوهشی دانشگاه

شهرکرد که پشتیبانی مالی از این تحقیق را بر اساس قرارداد شماره ۹۱۰۱۱۱۷/ت/د برعهده داشتند، اعلام می‌دارند.

REFERENCES

1. Greub G. International Committee on Systematics of Prokaryotes. Subcommittee on the taxonomy of the Chlamydiae: minutes of the closed meeting, 21 June 2010, Hof bei Salzburg, Austria. Int J Syst Evol Microbiol 2010;60:2694.
2. Vanrompay D, Ducatelle R, Haesebrouck F. *Chlamydia psittaci* infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis. Vet Microbiol 1995;45:93–119.
3. Magnino S, Haag-Wackernagel D, Geingenfeind I, Helmecke S, Dovc A, Prukner-Radovcic E, et al. Chlamydial infection in feral pigeons in Europe: review of data and focus on public health implications. Vet Microbiol 2009; 135:54–67.
4. Caroline VD, Delphine SA, Beeckman A, Kristel V, Maja M, Hans N, et al. Simultaneous zoonotic transmission of *Chlamydophila psittaci* genotypes D, F and E/B to a veterinary scientist. Vet Microbiol 2009;135:78–81.
5. Stewardson A, Grayson M. Psittacosis. Infect Dis Clin North Am 2010;24(1):25–7.
6. Johnson-Delaney C. Potential zoonoses from nontraditional pets with particular attention to the immunocompromised pet owner. J Sm Exotic Anim Med 1993;2:103–11.
7. Salisch H, Malottki KV, Ryll M, Hinz KH. Chlamydial infections of poultry and human health. Worlds Poultry Sci J 1996;52:279–308.
8. Andersen AA, Vanrompay D. Avian chlamydiosis (psittacosis, ornithosis). In: Diseases of Poultry. Saif YM, editor. 12th ed. Iowa State University Press; 2008. p. 971–86.
9. Gerlach H. Chlamidia. In: Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR, editors. Avian medicine: principles and application. Wingers Publishing, Lake Worth; 1994. p. 984–96.
10. Elena C, Pugliese N, Todisco G, Cafiero MA, Sparagano OA, Camarda EA. *Chlamydia psittaci* infection in canaries heavily infested by *Dermanyssus gallinae*. Exp Appl Acarol 2011;55:329–38.
11. Messmer T, Skelton S, Moroney J, Daugharty H, Fields B. Application of a nested, multiplex PCR to psittacosis outbreaks. J Clin Microbiol 1997;35(8):2043–7.
12. Sanger F, Air GM, Barrell BG, Brown NL, Coulson AR, Fiddes CA, et al. Nucleotide sequence of bacteriophage ϕ X174 DNA. Nature 1977;265(5596):687–95.
13. Sanger F. Nobel lecture: Determination of nucleotide sequences in DNA. Available from: <http://www.Nobelprize.org>. 1980; retrieved 18 October 2010.
14. Harkinezhad T, Geens T, Vanrompay D. *Chlamydophila psittaci* infections in birds: a review with emphasis on zoonotic consequences. Vet Microbiol 2009;135:68–77.
15. Smith KA, Bradley KK, Stobierski MG, Tengelsen LA. Compendium of measures to control *Chlamydophila psittaci* (formerly *Chlamydia psittaci*) infection among humans (psittacosis) and pet birds. J Am Vet Med Assoc 2005;226:532–9.
16. Vanrompay D, Harkinezhad T, van de Walle M, Beeckman D, van Droogenbroeck C, Verminnen K, et al. *Chlamydophila psittaci* Transmission from Pet Birds to Humans. Emerg Infect Dis 2007;13:1108–10.
17. Sareyyupoglu B, Cantekin Z, Bas B. *Chlamydophila psittaci* DNA Detection in the Faeces of Cage Birds. Zoonoses Public Health 2007;54:237–42.
18. Gartrell BD, French NP, Howe L, Nelson NJ, Houston M, Burrows EA, et al. First detection of *Chlamydia psittaci* from a wild native passerine bird in New Zealand. N Z Vet J 2013 61(3):174–6.
19. Raso Tde F, Júnior AB, Pinto AA. Evidence of infection in captive *Chlamydophila psittaci* Amazon parrots in Brazil. J Zoo Wildl Med 2002;33:118–21.
20. Raso T, Teixeira R, Carrasco A, Araújo JJ, Pinto A. *Chlamydophila psittaci* infections in hyacinth macaws (*Anodorhynchus hyacinthinus*) confiscated in Brazil. J Zoo Wildl Med 2013;44(1):169–72.
21. Krizek I, Horvatek D, Gottstein Z, Steiner Z, Galovic D, Ervacinovic Z, et al. Epidemiological study of *chlamydophila psittaci* in pet birds in Croatia. Acta Veterinaria (Beograd) 2012;62:325–31.
22. Piasecki T, Chrzastek K, Wieliczko A. Detection and identification of *Chlamydophila psittaci* in asymptomatic parrots in Poland. BMC Vet Res 2012;8:233–8.

23. Sheleby-Elías J, Solórzano-Morales Á, Romero-Zuñiga JJ, Dolz G. Molecular detection and genotyping of *Chlamydia psittaci* in captive psittacines from Costa Rica. Vet Med Int 2013;2013:142962. doi: 10.1155/2013/142962.
24. Madani SA, Peighambari SM, Barin A. Isolation of *Chlamydophila psittaci* from pet birds in Iran. Int J Vet Res 2011;5:95–8.
25. Shariatnejhad M, Haghbin Nazarpak H, Sheikhi N. Molecular Detection of *Chlamydophila Psittaci* among dead and suspected cases of parrots in Tehran. J Vet Microbiol 2012;8(1):31–8. (Full Text in Persian)
26. Boseret G, Losson B, Mainil J, Thiry E, Saegerman C. Zoonoses in pet birds: review and perspectives. Vet Res 2013;44(1):36. doi: 10.1186/1297–9716–44–36.