مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۷ – شماره ۱ – بهار ۱۳۹۲

Journal homepage: www.ijmm.ir

میزان شیوع *کلامیدیا پسی‌تاسی* در کبوترهای استان‌های چهارمحال و بختیاری و یزد با استفاده از روش nested-PCR، در سال ۱۳۹۱

عنوان کوتاه: میزان شیوع *کلامیدیا پسی‌تاسی* در کبوتر

محمدرضا محزونیه[۱،۲]، حیدر حیدری خوئی[۱*]، محمد قاسمی شمس‌آبادی[۲]، فاطمه حیدری[۲]

۱. پژوهشکده بیماری‌های مشترک انسان و دام، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت:۱۳۹۲/۰۱/۱۰

پذیرش:۱۳۹۲/۰۳/۱۰

انتشار آنلاین:۱۳۹۲/۰۸/۱۵

IJMM 1392; 7(1): P 1-6

نویسنده مسئول:

حیدر حیدری خوئی

پژوهشکده بیماری‌های مشترک انسان و دام، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تلفن: ۰۹۱۳۶۷۷۵۹۰۹

پست الکترونیک:

heidarheidari@yahoo.com

چکیده

زمینه و اهداف: *کلامیدیا پسی‌تاسی* باکتری داخل سلولی اجباری است که عفونت با آن موجب بروز کلامیدیوز بومی در پرندگان و پسیتاکوز تنفسی در انسان می‌شود. پرندگان وحشی و ماکیان خانگی میزبان‌های بالقوهٔ باکتری‌اند. کبوترهای وحشی و خانگی معمولاً در اکثر مناطق دنیا آلوده‌اند و احتمال آلودگی انسان با استنشاق مواد دفعی خشک‌شدهٔ آلوده وجود دارد. هدف مطالعه حاضر، تعیین میزان شیوع *کلامیدیا پسی‌تاسی* در مدفوع کبوتران استان‌های چهارمحال و بختیاری و یزد با استفاده از روش nested-PCR است.

مواد و روش کار: ۸۸ نمونهٔ مدفوع کبوتران اهلی از پرنده‌فروشی‌ها، حیاط یا قفس خانه‌ها گرفته شد. استخراج DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت و براساس دستورالعملی سازنده انجام گردید. حضور DNA *کلامیدیا پسی‌تاسی* در DNA استخراج‌شده از نمونه‌ها با روش nested-PCR خاص جنس و گونه، آزمایش شد. برای توالی نوکلئوتیدی 16S rRNA پرایمرهای اختصاصی طراحی گردید، به‌طوری‌که پرایمرهای دور اول PCR، مختص جنس باکتری و زوج پرایمر دوم، مختص گونه بود.

یافته‌ها: پس از تکثیر قطعات DNA به‌وسیله واکنش nested-PCR از تعداد ۸۸ نمونه مورد مطالعه، ٤٦ مورد (۵۲ درصد) نتیجه مثبت در حد انتظار به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: با توجه به حضور گسترده کبوتران در مناطق شهری و روستایی ایران و درصد بالا وجود DNA *کلامیدیا پسی‌تاسی* در مدفوع این پرندگان و احتمال آلوده شدن افراد به‌خصوص دامپزشکان و کودکان، *کلامیدیا پسی‌تاسی* از نظر سلامت عمومی اهمیت بالایی دارد؛ بنابراین نیاز به آموزش عمومی دربارهٔ خطرات ابتلای افراد و به‌خصوص کودکان بیش از پیش احساس می‌شود.

کلمات کلیدی: *کلامیدیا پسی‌تاسی*، کبوتر، nested-PCR، کلامیدیوز، ایران

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

پسیتاکوز عموماً نوعی بیماری عفونی در پرندگان است که توسط *کلامیدیا پسی‌تاسی* (*Chlamydia psittaci*) ایجاد می‌شود. برخی متخصصین واژه‌های پسیتاکوز و اورنیتوز را به‌صورت مترادف هم به‌کار می‌برند. پسیتاکوز نوعی از بیماری ناشی از *کلامیدیا پسی‌تاسی* است که در خانواده طوطی رخ می‌دهد و اورنیتوز نوع دیگر این بیماری با همین عامل است که در سایر پرندگان رخ می‌دهد و در مورد انسان از حدّت کمتری برخوردار است.

عامل بیماری، باکتری *کلامیدیا پسی‌تاسی*، یک ریزاندامگان (Microorganism) درون‌سلولی اجباری و گرم‌منفی است. کبوتران نیز مانند اغلب گونه‌های پرندگان می‌توانند حامل

این باکتری باشند و باعث پراکندگی عامل در محیط شوند (۱،۲). از آنجا که این باکتری توان آلوده کردن طیف وسیعی از پرندگان را دارد و می‌تواند ۴۶۵ گونه در ۳۰ راسته از پرندگان را آلوده کند، از نظر سلامت عمومی بسیار حائز اهمیت است (۵، ۴، ۳).

این باکتری دارای ۶ سرووار پرندگان (A-F) و ۲ سرووار پستانداران (M56 and WC) است و با استفاده از روش PCR و جست‌وجوی ژن OMP، حداقل ۹ ژنوتیپ آن تعیین شده است (۶). کالتن‌بوئک (Kaltenboek) و همکارانش برای تشخیص و تمایز سویه‌های *کلامیدیا پسی‌تاسی* از روش nested-PCR استفاده کرده‌اند (۷). در کبوتران، ژنوتیپ‌های A تا E و E/B یافت می‌شوند (۹، ۸) اما بیشترین آلودگی را با ژنوتیپ B و گاهی اوقات E دارند (۱۰). اگرچه سویه‌های *کلامیدیا پسی‌تاسی* مربوط به پستانداران به‌عنوان عامل عفونت در انسان شناخته نشده‌اند، اما این باکتری می‌تواند از پرندگان آلوده و به‌خصوص پرندگان خانگی به انسان منتقل شود (۱۲، ۱۱).

ویژگی خاص کلامیدیا، چرخه تکثیر دوفازی آن است. دو شکل ریزاندامگان شامل جسم اولیه خارج سلولی (EB) و جسم مشبک داخل سلولی (RB) است. EB به‌صورت ذره غیرفعال متابولیکی فرم عفونی را از یک شخص به شخص دیگر منتقل می‌کند (۱۴، ۱۳). *کلامیدیا پسی‌تاسی* در بافت‌ها و ترشحات و مدفوع پرندگان وجود دارد و استنشاق مدفوع آلوده خشک‌شده، معمول‌ترین راه انتقال عامل به انسان است (۱۵). برای انتقال عامل بیماری نیازی به تماس طولانی‌مدت نیست؛ حتی یک تماس با عامل عفونی و یا چند دقیقه حضور در محیطی که قبلاً پرنده آلوده‌ای در آنجا بوده، می‌تواند برای آلوده شدن انسان کافی باشد (۱۷، ۱۶).

پسیتاکوز را می‌توان یک بیماری شغلی در افراد در معرض تماس با پرندگان زینتی، کبوتران و ماکیان مانند فروشندگان حیوانات خانگی، کارکنان مرغداری‌ها، کبوتربازها، دامپزشکان و کارکنان حیات وحش در نظر گرفت. پسیتاکوز در انسان‌های سالم بیماری قابل توجهی ایجاد نمی‌کند (۱۸). اگر چه احتمال انتقال انسان به انسان این بیماری وجود دارد، ولی به‌ندرت رخ می‌دهد (۱۶).

کلامیدیا پسی‌تاسی گاهی در پرندگان ایجاد بیماری سیستمیک و کشنده می‌کند. علائم بالینی در پرندگان بر اساس گونه پرنده، سن آن و سویه کلامیدیا بسیار متفاوت است. در پرندگان اهلی همچون کبوتر متداول‌ترین علائم شامل بی‌اشتهایی، کاهش وزن، اسهال، سینوزیت، التهاب ملتحمه، ریزش اشک و دیسترس تنفسی است (۱۹).

تظاهرات بالینی و سیر بیماری در انسان نیز به شدّت متغیّر است. دوره کمون بیماری معمولاً ۵ تا ۱۴ روز است و علائمی همچون بی‌اشتهایی، سردرد، درد عضلانی و احساس سرما دیده می‌شود (۲۱، ۲۰).

برای پیشگیری از کلامیدیوز در طیور، واکسن تجاری وجود ندارد. موفقیت تلاش‌هایی که برای ساخت واکسن صورت گرفته ناچیز بوده است. امروزه آنتی‌بیوتیک‌ها تنها داروهای مؤثر جهت پیشگیری هستند. داروی انتخابی در کشورهای مختلف متفاوت است. درمان نیازمند کامل کردن یک دوره نسبتاً طولانی‌مدت است و در پرندگان خانگی درمان آنتی‌بیوتیکی ۴۵ روزه توصیه می‌شود (۲۲).

در بخش مراقبت از بیماری‌های عفونی، یافتن منابع اصلی عفونت برای حیوانات و انسان، مقدمه هر گونه اقدام و توصیهٔ دیگری است. برای شناسایی ناقلین، حاملین و بیماران مبتلا به کلامیدیوز، . راه‌های مختلفی وجود دارد که می‌توان به روش‌های سرم‌شناسی، کشت و جداسازی و روش‌های تشخیص مولکولی اشاره کرد که در این میان روش‌های مبتنی بر PCR با توجه به حساسیت و ویژگی بالا از اقبال بهتری برخوردارند. از طرف دیگر کشت و جداسازی نیاز به امکانات کشت سلول دارد که هزینه زیادی را نیاز دارد و حساسیت آن کمتر از روش‌های مبتنی بر PCR است و روش‌های سرم‌شناسی نیز عفونت قبلی را نشان می‌دهد و نمی‌تواند معرف دفع باکتری در زمان آزمایش باشد. به‌همین دلیل برای تعیین میزان آلودگی کبوتران اهلی به *کلامیدیا پسی‌تاسی* از روش nested-PCR، که بیشترین حساسیت را در شناسایی موارد آلوده دارد، استفاده شد.

مواد و روش‌ها:

نمونه‌گیری

در سال ۱۳۹۱ جمعاً تعداد ۸۸ نمونه مدفوع کبوتر از نواحی مختلف استان‌های چهارمحال و بختیاری و یزد جمع‌آوری شد. بیشتر پرندگان هیچ‌گونه علائمی نداشتند و به ظاهر سالم بودند اما تعدادی از پرندگان قبل از نمونه‌گیری از سوی صاحبانشان

آنتی‌بیوتیک دریافت کرده بودند. با پهن کردن ورقه‌های کاغذی در کف قفس پرندگان، نمونه‌ها جمع‌آوری شدند. نمونه‌های مدفوع به لوله‌های استریل منتقل و شماره‌گذاری شدند و تا زمان آزمایش در فریزر در دمای ۲۰- درجه سلسیوس ذخیره گردیدند. در زمان نمونه‌گیری، اطلاعات هر نمونه در فرم مخصوص ثبت می‌شد.

استخراج DNA

DNA ژنگانی (genome) از ۵۰ میلی‌گرم سوسپانسیون مدفوعی با استفاده از کیت استخراج DNA ، محصول شرکت سیناژن ایران، مطابق دستورالعمل کارخانه استخراج شد. DNA استخراج‌شده تا زمان انجام PCR در فریزر و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. از آب مقطر استریل به‌عنوان نمونهٔ منفی استفاده گردید.

PCR amplification

محلول‌های ۲۵ میکرولیتری واکنش PCR شامل اجزاء زیر بودند:

۵ میکرولیتر PCR reaction buffer (10X)، ۲/۵ میکرولیتر $MgCl_2$، ۱ میکرولیتر dNTP mix (2 mM each)، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (20 pmol/µl)، ۰/۲ میکرولیتر *Taq* DNA polymerase (5 U/µl)، ۱۲/۳ میکرولیتر آب مقطر استریل. به‌عنوان DNA الگو، در مرحله اول PCR (اختصاصی جنس کلامیدیا) ۲ میکرولیتر از DNA استخراج‌شده و در مرحله دوم (اختصاصی گونه *کلامیدیا پسی‌تاسی*) ۲ میکرولیتر از محصول PCR مرحله اول اضافه شد. از نمونه‌ی جدایهٔ کلینیکی که مطابقت توالی نوکلئوتیدی ژن محافظت‌شده آن یعنی 16s rRNA با *کلامیدیا پسی‌تاسی* تأیید شده بود، به‌عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر، به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد.

نمونه‌ها درون ترموسایکلر (Applied Biosystems, USA) قرار گرفتند. برنامه‌ی دمایی شامل موارد زیر بود: یک سیکل ۹۵°C به‌مدت ۴ دقیقه، به دنبال آن ۳۵ سیکل ۹۴°C به مدت یک دقیقه، ۵۵°C به مدت سی ثانیه، ۷۲°C به مدت یک دقیقه و در نهایت بسط نهایی در ۷۲ °C به مدت هفت دقیقه انجام شد. مرحله دوم PCR نیز به‌همین صورت اما با استفاده از محصول مرحله اول به جای DNA نمونه انجام شد. جهت کاهش موارد مثبت کاذب هر مرحله PCR در زیر جریان هود و با استفاده از وسایل استریل صورت پذیرفت.

پرایمرهای مورد استفاده برای تشخیص ژنگان باکتری، در جدول ۱ آورده شده‌اند. لازم به ذکر است که پرایمر آنتی‌سنس برای شناسایی جنس کلامیدیا با تغییر یک نوکلئوتید بر اساس منبع شماره ۲۳ ساخته شد.

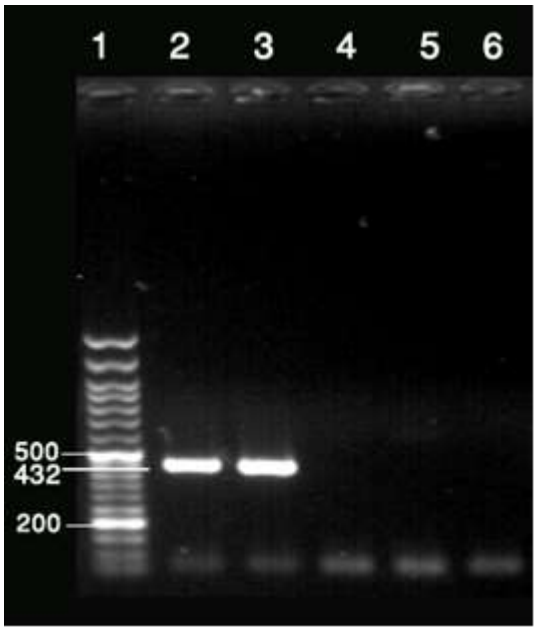
نتایج حاصل پس از قرار گرفتن محصول PCR در ژل آگاروز ۲ درصد مشخص شدند. انتظار می‌رفت که پس از الکتروفورز و عکس‌برداری با اشعه‌ی فرابنفش از ژل، باندی به اندازه 127bp در محصولات مرحله دوم PCR مشاهده شود. در صورت مشاهده باند مورد انتظار، نمونه به‌عنوان مثبت در نظر گرفته می‌شد.

جدول ۱: ژن هدف و پرایمرهای استفاده‌شده در این مطالعه (۲۳)

اختصاصیت	ژن هدف	نام پرایمر	توالی پرایمر(5′-3′)	اندازه باند (bp)
اختصاصی جنس	16S rRNA	Sense	ACG GAA TAA TGA CTT CGG	436 bp
		Antisense	TAC CTG GTA CGC TCA AAT	
اختصاصی گونه	16S rRNA	*C. p* sense	ATA ATG ACT TCG GTT GTT ATT	127 bp
		C. p antisense	TGT TTT AGA TGC CTA AAC AT	

یافته‌ها:

از تعداد ۸۸ نمونه، ۴۶ مورد (۵۲ درصد) در تست PCR نتیجه مثبت در حد انتظار داشتند (جدول ۲). آنالیز محصول PCR از نظر وجود ژن 16S rRNA باکتری *کلامیدیا پسی‌تاسی* بر روی ژل آگاروز ۲٪ یک باند با اندازه ۴۳۲ bp را در مرحله اول واکنش نشان می‌دهد (شکل ۱).



شکل ۱: تصویر ژل آگارز مربوط به جنس کلامیدیا، ستون ۱: مارکر ۵۰ جفت بازی، ستون ۲: کنترل مثبت، ستون ۳: باند ۴۳۲ جفت بازی نمونه‌ی مثبت، ستون ۶: کنترل منفی

اکثر نمونه‌های مثبت‌شده از نظر PCR علائم پسیتاکوز را نشان نمی‌دادند. از طرفی برخی از نمونه‌ها به رغم دریافت آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر تتراسایکلین و انروفلوکساسین از نظر جستجوی ژن *کلامیدیا پسی‌تاسی* در مدفوع آن‌ها مثبت شدند که احتمالاً می‌تواند نشان‌دهنده عدم پاک شدن کامل پرنده به علت وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی در عامل بیماری‌زا یا نامناسب بودن روش یا طول دورهٔ درمان باشد. برای تعیین توالی نوکلئوتیدی نمونه‌های مثبت، محصول PCR مرحله دوم به شرکت سیناژن فرستاده شد. توالی نوکلئوتیدی به‌دست آمده از این نمونه‌ها با توالی‌های مشابه ثبت‌شده در GenBank، ۹۵ تا صد درصد همولوگی نشان دادند.

نتایج نشان می‌دهند که عفونت *کلامیدیا پسی‌تاسی* در کبوتران این استان‌ها بالا است و در اثر تماس مستقیم کبوتران با یکدیگر افزایش نیز می‌یابد.

جدول ۲: نتایج آزمایش نمونه‌های مدفوع کبوتران از نظر حضور توالی نوکلئوتیدی اختصاصی *کلامیدیا پسی‌تاسی* و رابطه با دریافت آنتی‌بیوتیک

استان	کل نمونه‌های مثبت شده (٪) کل نمونه‌ها / تعداد موارد مثبت	نمونه‌های درمان شده با آنتی‌بیوتیک (٪) کل نمونه‌ها / تعداد نمونه‌های مثبت
چهارمحال و بختیاری	۲۷/۵۱ (٪۵۲/۹)	۶/۸ (٪۷۵)
یزد	۱۹/۳۷ (٪۵۱/۳)	۵/۸ (٪۶۲/۵)
جمع	۴۶/۸۸ (٪۵۲)	۱۱/۱۶ (٪۶۹)

بحث:

پسیتاکوز یکی از بیماری‌های منتقل‌شونده از طریق پرندگان به انسان است. در بررسی‌های انجام‌شده برای تعیین میزان شیوع *کلامیدیا پسی‌تاسی* در نقاط مختلف دنیا از روش‌های مختلف استفاده شده است. این روش‌ها شامل شناسایی عامل بیماری‌زا با استفاده از روش‌های جداسازی عامل در کشت سلول، رنگ‌آمیزی‌های هیستوشیمیایی و ایمنوهیستوشیمی، الایزا و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)و همچنین روش‌های سرم‌شناختی مانند(Complement-Fixation Test (CFT است. PCRروشی با حساسیت و ویژگی بالا است که برای تشخیص توالی DNA به‌کار می‌رود و تنها وابسته به حضور اندامگان (organism)در نمونه است. از آنجا که اغلب نمونه‌های بالینی پس از مرحله خالص‌سازی حاوی مهارکننده‌های PCR (PCR inhibitor) هستند، nested-PCR به خاطر افزایش حساسیت به‌کار رفت. این روش آزمایشگاهی معمولاً اثر مهارکننده‌ها را در نمونه‌های بالینی کاهش می‌دهد. همچنین با استفاده از روش دو مرحله‌ای یا آشیانه‌ای، در مواردی که محصول مرحله اول آن قدر کم باشد که با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید نمایان نشود، محصول کافی جهت تشخیص روی ژل آگارز در مرحله دوم ساخته خواهد شد.

در این مطالعه میزان شیوع *کلامیدیا پسی‌تاسی* در کبوتر به‌طور متوسط ۵۲ درصد است که با نتایج منتشرشده از تعدادی از مطالعات قبلی در این زمینه، نزدیک بود. میزان شیوع در گزارش‌هایی که بر پایه روش‌های PCR بوده‌اند، بین ۳/۴ درصد تا ۵۰ درصد بیان شده است (۲۴). درحالی‌که در روش‌های سرم‌شناختی این میزان بین ۱۲/۵ درصد تا ۹۵/۶ بیان شده است

(۲۵، ۱). روش‌های سرم‌شناسی غالباً نمی‌توانند بین عفونت جدید و عفونت قبلی تمایز ایجاد کنند، زیرا در غیاب باکتری در بدن هم ممکن است تا مدتی مثبت باقی بمانند.

Sareyyupoglu و همکاران، *کلامیدیا پسی‌تاسی* را در ۴۳ نمونه از ۴۷ نمونه مدفوعی (تقریباً ۹۱٪) پرندگان زینتی یافتند (۲۶)، اما نمونه‌های مثبت‌شده تماماً از پرندگان بیمار و مبتلا به مشکلات تنفسی خفیف تا شدید دیده شده بود. در بررسی حاضر اکثر پرندگان، علائم بالینی خاصی نشان نمی‌دادند که می‌تواند به دلیل آلودگی به *کلامیدیا پسی‌تاسی* در کبوتران به‌صورت تحت بالینی باشد. در این حالت، اندامگان (Organism) به‌صورت متناوب در یک دوره زمانی طولانی از پرنده دفع می‌شود. برخی مطالعات نیز میزان آلودگی را پایین‌تر گزارش کرده‌اند. برای نمونه در مطالعه‌ای در آمستردام هلند، میزان شیوع در مدفوع کبوتران بین ۵ تا ۱۰ درصد بیان شده است (۲)، یا در مطالعه‌ای که Tanaka و همکاران در ژاپن انجام دادند، میزان شیوع در مدفوع کبوتران نزدیک ۲۳ درصد گزارش شده است (۲۷). Dickx و همکاران، در یک بررسی در کشور بلژیک نشان دادند که اغلب کبوتران خانگی آلوده‌اند و میزان شیوع در یک کبوترداری در زمان آمیزش ۴۰/۶ درصد بوده است (۱).

تعداد ۱۱ مورد از تعداد ۱۶ نمونه مثبت، (۶۹ درصد)، به رغم استفاده از آنتی‌بیوتیک، نتیجه مثبت نشان دادند که نشان‌دهنده‌ی این است که با وجود کشته شدن باکتری، ژنگان آن‌ها هنوز در مدفوع حضور دارد. از آنجا که بیشتر صاحبان کبوتران به‌طور مرتب از آنتی‌بیوتیک‌ها و به‌صورت غالب تتراسایکلین جهت درمان بیماری‌های تنفسی و یا حتی به‌منظور پیشگیری استفاده می‌کنند، احتمال گسترش مقاومت *کلامیدیا پسی‌تاسی* به آنتی‌بیوتیک‌ها بسیار بالاست. البته امکان کاربرد آنتی‌بیوتیک جهت تعداد بیشتری از نمونه‌ها وجود دارد، اما صاحبان آن‌ها به‌دلیل نداشتن اطلاعات کافی از نوع داروهای مصرفی ممکن است اطلاعات کاملاً درستی به نویسندگان نداده باشند.

درصد آلودگی در انسان‌ها نیز متفاوت است. چندین مطالعه در رابطه با انتقال بیماری از کبوتر به انسان قبلاً انجام شده است (۲۴، ۲۱، ۱). در بررسی که Harkinezhad و همکاران، در بلژیک روی ۵۴۰ نفر انجام دادند، شیوع باکتری در حدود ۱۲/۷ درصد برای افراد در ارتباط با پرندگان اعلام شده است که حدود ۲۲/۴ افرادی که روزانه با پرندگان ارتباط داشتند، از نظر وجود DNA باکتری، مثبت شده‌اند (۲۱) که اهمیت پرندگان و به‌خصوص کبوتر را از نظر سلامت عمومی نشان می‌دهد.

با توجه به حضور گسترده کبوتر در مناطق شهری و روستایی ایران و درصد شیوع بالا و احتمال آلوده شدن افراد به‌خصوص دامپزشکان و کودکان، *کلامیدیا پسی‌تاسی* از نظر بهداشت عمومی اهمیت بالایی دارد. بنابراین نیاز به آموزش عمومی نسبت به خطرات ابتلای افراد و به‌خصوص کودکان بیش از پیش احساس می‌شود.

توصیه می‌شود که افراد حساس مانند کودکان، سالمندان، افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی و حتی افراد سالم تا آنجا که ممکن است از تماس نزدیک غیرضروری با کبوتران خودداری کنند. دامپزشکان نیز به دلیل برخورد با پرندگان بیماری که احتمال وجود عامل بیماری‌زا در آن‌ها بسیار بیشتر است، در تماس با پرندگان اصول حفاظتی را رعایت کنند. نویسندگان پیشنهاد می‌کنند که با توجه به ژنوتیپ‌های متفاوت باکتری، در مطالعات آتی، ژنوتیپ‌های خاص مناطق و همچنین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نیازمند مطالعات گسترده‌تری است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد، کارکنان پژوهشکده بیماری‌های مشترک انسان و دام دانشگاه شهرکرد و کلیه عزیزانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، اعلام می‌دارند.

References

1. Dickx, V., Beekman, D. S. A., Dosshe, L., Tavanier, P. and Vanrompay, D. *Chlamydophila psittaci* in homing and feral pigeons and zoonotic transmission. *J. Med. Microbiol.*, 2010; 59,1348-1353.
2. Heddema, E. R., Ter Sluis, S., Buys, J. A., Vandenbroucke-Grauls, C. M., van Wijnen, J. H. and Visser, C. E. Prevalence of *Chlamydophila psittaci* in fecal droppings from feral pigeons in Amsterdam, The Netherlands. *Appl. Environ. Microb.*, 2006; 72:4423-4425.
3. Kaleta E. F., Taday E. M. Avian host range of *Chlamydophila spp*. Based on isolation, antigen

detection and serology. *Avian Pathol.*; 2003; 32:435–461.
4. Van Loock, M., Verminnen, K., Messmer, T. O., Volckaert, G., Goddeeris, B. M., Vanrompay, D. Use of a nested PCR-enzyme immunoassay with an internal control to detect *Chlamydophila psittaci* in turkeys. *BMC Infect. Dis.*, 2005; 5:76-84.
5. 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. *Infect. Dis.*, 2007; 13:1108-1110.
6. Vanrompay, D., Butayw, P., Sayada, C., Ducatelle, R.; Haesebrouck, F. Characterisation of *avian psittaci* strains using omp1 restriction mapping and serovar-specific monoclonal antibodies. *Res. Microbiol*., 1997; 148:327-333.
7. Kaltenboeck, B., Kousoulas, K. G. & Storz, J. Detection and strain differentiation of *Chlamydia psittaci* mediated by a two-step polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 1991; 29:1969-1975.
8. Andersen A .A. Two new serovars of *Chlamydia psittaci* from North American birds. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1997; 9:159–164.
9. Geens, T., Desplanques, A., Van Loock, M., Bonner, B. M., Kaleta, E. F., Magnino, S., Andersen, A. A., Everett, K. D. & Vanrompay, D. Sequencing of the *Chlamydophila psittaci ompA* gene reveals a new genotype, E/B, and the need for a rapid discriminatory genotyping method. *J. Clin. Microbiol.*, 2005; 43:2456-2461.
10. Harkinezhad, T., Verminnen, K., Van Droogenbroeck, C. & Vanrompay, D. *Chlamydophila psittaci* genotype E/B transmission from African grey parrots to humans. *J. Med. Microbiol.*, 2007; 56:1097–1100.
11. Everett K. D. E. *Chlamydia* and *Chlamydiales*: more than meets the eye. *Vet. Microbiol.*, 2000; 75:109-126.
12. Johnston, W. B., Eidson, M., Smith, K. A. & Stobierski, M. G. Compendium of chlamydiosis (psittacosis) control. *J. Vet. Med. Assoc.*, 1999; 214:640-649.
13. Binet, R. & Maurelli, A. T. Frequency of development and associated physiological cost of azithromycin resistance in *Chlamydia psittaci* 6BC and C. trachomatis L2. *Antimicrob.Agents Ch.*, 2007; 51:4267-4275.
14. Goellner, S., Schubert, E., Liebler-Tenorio, E., Hotzel, H., Saluz, H.P., Sachse, K. Transcriptional response patterns of *Chlamydophila psittaci* in different in vitro models of persistent infection. *Infect. Immun*., 2006; 74:4801–4808.
15. Smith, K. A., Bradley, K. K., Stobierski, M. G. & Tengelsen, L. A. Compendium of measures to control *Chlamydophila psittaci* (formerly *Chlamydia psittaci*) infection among humans (psittacosis) and pet birds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2005; 226:532–539.
16. Branley, J. M., Roy, B., Dwyer, D. E., Sorrell, T. C. Real-time PCR detection and quantitation of *Chlamydophila psittaci* in human and avian specimens from a veterinary clinic cluster. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 2008; 27:269–273.
17. Matsui, T., Nakashima, K., Ohyama, T., Kobayashi, J., Arima, Y., Kishimoto, T. *et al*. An outbreak of psittacosis in a bird park in Japan. *Epidemiol. Infect.*, 2008; 136:492–495.
18. Zweifel, D., Hoop, R., Sachse, K., Pospischil, A., Borel, N. Prevalence of *Chlamydophila psittaci* in wild birds—potential risk for domestic poultry, pet birds, and public health. *Eur. J. Wildl. Res.*, 2009; 55:575-581.
19. Mohan R. Epidemiologic and laboratory observations of *Chlamydia psittaci* infection in pet birds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1984; 184:1372-1374.
20. Beeckman, D .S., Vanrompay, D. C. Zoonotic *Chlamydophila psittaci* infections from a clinical perspective. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2009; 15:11–17.
21. Harkinezhad, T., Verminnen, K., Buyzere, M. D., Rietzschel, E., Bekaert, S. and Vanrompay, D. Prevalence of *Chlamydophila psittaci* infections in a human population in contact with domestic and companion birds. *J. Med. Microbiol.*, 2009; 58:1207-1212.
22. Vanrompay, D., Ducatelle, R., Haesebrouck, F. Chlamydia psittaci infections: a review with emphasis on avian chlamydiosis. *Vet. Microbiol.*1995; 45:93–119.
23. Messmer, T. O., Skelton, S. K., Moroney, J. F., Daugharty, H., Fields, B. S. Application of a Nested, Multiplex PCR to Psittacosis Outbreaks. *J. Clin. Microbiol.*, 1997; 35:2043-2047.
24. Magnino, S., Haag-Wackernagel, D., Geigenfeind, I., Helmecke, S., Dovc, A., Prukner-Radovcic, E. *et al*. Chlamydial infections in feral pigeons in Europe: review of data and focus on public health implications. *Vet. Microbiol*. 2009; 135:54–67.
25. Haag-Wackernagel, D. & Moch, H. Health hazards posed by feral pigeons. *J. Infect. Dis.*, 2004; 48:307-313.
26. Sareyyupoglu, B., Cantekin, Z. and Bas, B. *Chlamydophila psittaci* DNA detection in faeces of Cage Birds. *Zoonoses Public Health*, 2007; 54:237–242.
27. Tanaka, C., Miyazawa, T., Watarai, M. & Ishiguro, N. Bacteriological survey of feces from feral pigeons in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 2005; 67:951-953.