Journal of Gorgan University of Medical Sciences

e-ISSN: 2008-4080 p-ISSN: 1562-4765

2025 / Vol 27 / No 3

Chlamydial Infection in Ornamental Birds

Daniel Kalateh Meimari (DVM)[1] , Mehdi Rezaei (DVS.c)*[2] , Mohammd Reza Asgharzadeh (Ph.D)[3]

1 Doctor of Veterinary, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.

2 Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.

3 Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.

Research Article

Abstract

Background and Objective: *Chlamydia*, a zoonotic bacterial agent, is a major concern for both human and avian public health. This bacterium belongs to the family *Chlamydiaceae*, with 11 identified species. The *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*) species is shared between animal hosts and humans. Ornamental birds are among the hosts of *C. psittaci*. This bacterium causes respiratory and gastrointestinal problems in these birds. This study aimed to determine the prevalence of chlamydial infection in ornamental birds in Urmia, Iran.

Methods: This descriptive study was conducted on 60 fecal swabs collected from 60 ornamental birds in Urmia. Giemsa staining and molecular polymerase chain reaction (PCR) testing, using genus-specific primers to amplify a 580-base pair (bp) fragment of the ompA gene, were performed on the samples.

Results: The *Chlamydia* molecule was detected in 11.7% of budgerigars with gastrointestinal symptoms and in 5.88% of apparently healthy budgerigars. Additionally, the infection was detected in 11.11% of cockatiels, 14.28% of mynahs, 20% of canaries, and 11.11% of finches, but not in other species.

Conclusion: The results of this study demonstrate the presence of the *Chlamydia* bacterium in ornamental birds in Urmia, which can be considered a source of infection for gastrointestinal diseases.

Keywords: *Chlamydophila psittaci*; Birds; Polymerase Chain Reaction; Azure Stains

***Corresponding Author:** Mehdi Rezaei (DVS.c), **E-mail:** mehdi217mr@yahoo.com

Received 15 Feb 2025 **Received in revised form** 19 Apr 2025 **Accepted** 23 Apr 2025 **Available Online** 4 Oct 2025

Cite this article as: Kalateh Meimari D, Rezaei M, Asgharzadeh MR. [*Chlamydial* Infection in Ornamental Birds]. J Gorgan Univ Med Sci. 2025; 27(3): 67-74. [Article in Persian]

© The author(s)

Owned: Golestan University of Medical Sciences **Publisher:** Deputy of Research and Technology

Journal of Gorgan University of Medical Sciences

Extended Abstract

2025 / Vol 27 / No 3

Introduction

Chlamydia are obligate intracellular coccobacillary Gram-negative bacteria, measuring 150 to 200 nanometers and approximately 200 to 300 nanometers in diameter as inclusion bodies, and are classified as energy parasites. Pathogenically, this bacterium belongs to the family *Chlamydiaceae*, which is currently classified into one genus, *Chlamydia*, and 11 species

Chlamydia trachomatis (C. trachomatis) was first described by Halberstadter and Von Prowazek in 1907 as an intracytoplasmic inclusion in conjunctival scrapings from a patient with trachoma. In humans, it is known as *C. trachomatis*, while in birds it is designated as *Chlamydophila psittaci* (*C. psittaci*). The disease agent in humans and psittaciformes is called psittacosis, and in other avian species, it is referred to as ornithosis. *Chlamydiae* replicate within the host cell in a unique biphasic developmental cycle. This cycle begins when the small, infectious, but metabolically inactive elementary body (EB), which is approximately 0.3µm in size, infects host epithelial cells. Upon entry into the cell, the EB transforms into the reticular body (RB)—a metabolically active, replicating, mesh-like body approximately 1µm in size—which then begins replication. The presence of intracytoplasmic inclusions in stained smears and histological sections is one of the most important characteristics of the disease.

C. psittaci is classified into 10 genotypes, A through G, E/B, M56, and WC, based on the outer membrane protein. Recent research has added two new genotypes, J and I, to this classification.

Chlamydiosis is considered a public health threat and a zoonotic agent capable of infecting humans. Consequently, veterinarians, avian zoo personnel, poultry slaughterhouse workers, poultry farm staff, and individuals involved in the purchase and sale of ornamental birds are at risk of exposure to this disease.

Given the zoonotic nature of the bacterium, disease symptoms in birds range from influenza-like syndrome to severe atypical pneumonia, including fever, anorexia, respiratory distress, dehydration, yellowish-green diarrhea, weight loss, conjunctivitis, rhinitis, and sinusitis. Some birds may not exhibit specific clinical signs and instead transmit the disease as asymptomatic carriers. Other factors contributing to the significance of this disease, beyond its transmissibility to humans, are the economic losses it incurs.

The transmission of *C. psittaci* occurs primarily from an infected bird to other birds in its vicinity. The causative agent is present in the respiratory secretions (inhalation of aerosols containing bacterial exudates) and digestive excretions (feces) of carrier birds, primarily activated by nutritional deficiencies, prolonged transport, cold, reproduction, and active egg-laying. Contamination can also take place through shared wet water or soil habitats with wild waterfowl, inhalation of dust from grain storage and sheds contaminated with feces, and transmission from parents to young birds during feeding.

While only limited studies have been conducted on *Chlamydia* infection in ornamental birds, there is a lack of sufficient data in Urmia, particularly due to the importation of these birds into the country. Moreover, given the increase in the ornamental bird population in recent years and the close contact between these birds and their owners, this situation could play a major role in the transmission of the infection to these at-risk individuals. Therefore, this study was conducted to determine the prevalence of *Chlamydia* in ornamental birds in Urmia, Iran.

Methods

This descriptive study was conducted on 60 cloacal swabs collected from 60 ornamental birds in Urmia, Iran, during the first quarter of 2024. The collected fecal swab samples were placed in phosphate-buffered saline (PBS). Giemsa staining was performed on the samples. Subsequently, *chlamydial* inclusion bodies were examined using light microscopy. DNA extraction was carried out using the phenol-chloroform method.

The primer sequences, ompA-F: CAAACTCATCAGACGAG and ompA-R: CTTCTTTAAGAGGTTTTACCC, were utilized to amplify a 580 base pair (bp) fragment within the genomic region of the ompA gene.

To perform the polymerase chain reaction (PCR), the master mix for all tested samples was calculated and prepared in a final volume of 25 µL, consisting of 5 µL of extracted DNA, 1 µL of forward primer, 1 µL of reverse primer, 12.5 µL of Master Mix, and 5.5 µL of water. The thermal cycle program was executed using a thermocycler.

Subsequently, the PCR products were analyzed on a 1% agarose gel in tris-borate-ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (TBE) buffer, stained with safe stain (Sinaclon), and visualized using a UV illuminator.

Results

Results from the Giemsa staining test on the samples demonstrated that out of 17 prepared slides from the budgerigar species, 2 cases (11.7%) exhibited gastrointestinal signs and were positive for *Chlamydia*. The rates were determined to be 11.11% for the cockatiel species, 14.28% for the mynah species, 13.33% for the canary species, and 11.11% for the finch species. However, no positive cases were found in the African grey parrot and Agapornis roseicollis species.

Journal of Gorgan University of Medical Sciences

Extended Abstract

2025 / Vol 27 / No 3

In the PCR method, the results of amplifying the 580 bp fragment of the ompA gene on a 1% agarose gel indicated that, out of 17 samples collected from budgerigar species, 2 cases (11.7%) with gastrointestinal symptoms were positive for *Chlamydia* and formed a distinct band. Meanwhile, one case (5.88%) in an apparently healthy bird was positive. The prevalence was observed at 11.11% in cockatiels, 14.28% in mynahs, 20% in canaries, and at 11.11% in finches. Additionally, one case (14.28%) in the mynah species without gastrointestinal symptoms was also positive.

Conclusion

According to the results of the present study in Urmia, among ornamental birds, budgerigars, cockatiels, mynahs, canaries, and finches showed the highest prevalence of *Chlamydia* infection.

In the recent study, in addition to staining of fecal swab samples, the PCR molecular test was utilized. This high-accuracy and high-sensitivity method was performed based on the identification of the ompA gene in the gastrointestinal samples of the ornamental birds.

Given the zoonotic nature of the disease, infected birds remain carriers for the rest of their lives. These birds can transmit the illness to other birds or to their owners. This factor plays a significant role in the threat posed to the health of bird owners.

All *Chlamydia* infection species are transmissible to humans and may present asymptomatic or in a subclinical form. In such cases, the intermittent shedding of the organism persists for a prolonged period. Due to the zoonotic nature of the disease and direct or indirect human contact with birds, this asymptomatic shedding can pose a significant public health threat to humans. Mahzounieh et al. reported that 8 out of 32 (25%) fecal samples collected from clinically asymptomatic psittaciformes in different regions of Iran were positive for *C. psittaci*. The variation in prevalence rates across different studies is attributable to various factors, including the number of samples collected, stress factors, such as breeding seasons, food sources, relocation, and temperature changes, as well as the status of clinical signs among the sampled birds.

A cautionary note regarding the generalizability of this study's results is the greater number of bacterial positive cases identified by PCR testing compared to those found via Giemsa staining; this discrepancy may be attributed to staining errors versus the superior accuracy and sensitivity of the PCR test.

Ethical Statement

This study was approved by the Research Ethics Committee of Islamic Azad University, Urmia Branch (IR.IAU.URMIA.REC.1403.145).

Conflicts of Interest

No conflict of interest.

Acknowledgments

This article has been extracted from the DVM dissertation of Mr. Daniel Kalateh Meimari. We would like to sincerely thank all the individuals who assisted us in the execution of this study.

Authors' Contributions

Daniel Kalateh Meimari (DVM): Project execution, Data collection, Drafting of the initial manuscript.

Mehdi Rezaei (DVS.c): Project administration and design, Project execution, Data analysis, Interpretation of the results, Drafting of the initial manuscript, Approval of the final manuscript.

Mohammd Reza Asgharzadeh (Ph.D): Data analysis, Interpretation of the results.

Chlamydia bacterium was found in avian fecal samples collected from ornamental birds in Urmia, which could be considered a source of infection in gastrointestinal diseases.

مجله دانشگاه علوم پزشکی گرگان

پاییز ۱۴۰۴ / دوره ۲۷ / شماره ۳ (پی در پی ۹۵)

دارای رتبه علمی -پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

e-ISSN: ۲۰۰۸-۴۰۸۰ p-ISSN: ۱۵۶۲-۴۷۶۵

با دسترسی آزاد

تحقیقی

آلودگی کلامیدیا در پرندگان زینتی

دکتر دانیال کلاته میمری[۱]، دکتر مهدی رضائی*[۲]، دکتر محمدرضا اصغرزاده[۳]

۱ دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

۲ استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

۳ استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: *کلامیدیا به عنوان یک عامل باکتریایی زئونوز، در بهداشت عمومی انسان و پرندگان دارای اهمیت است. این باکتری از خانواده کلامیدیاسه و در ۱۱ گونه شناسایی شده است. گونه کلامیدیا پستاسی در میزبان‌های حیوانی و انسان مشترک است. از جمله میزبان‌های کلامیدیا پستاسی، پرندگان زینتی هستند. این باکتری در پرندگان زینتی باعث مشکلات تنفسی وگوارشی می‌گردد. این مطالعه به منظور تعیین آلودگی کلامیدیا در پرندگان زینتی شهرستان ارومیه انجام شد.*

روش بررسی: *این مطالعه توصیفی روی تعداد ۶۰ سواب مدفوعی از ۶۰ پرنده زینتی در شهرستان ارومیه انجام شد. رنگ‌آمیزی گیمسا و تست مولکولی PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی جنس از نظر تکثیر قطعه ۵۸۰ جفت بازی بر مبنای ژن ompA بر روی نمونه‌ها انجام شد.*

یافته‌ها: *در ۱۱/۷ درصد از مرغ عشق‌های واجد علایم گوارشی و در ۵/۸۸ درصد از مرغ عشق‌های به ظاهر سالم ملکول کلامیدیا ردیابی شد. علاوه بر آن در ۱۱/۱۱ درصد عروس هلندی، ۱۴/۲۸ درصد مرغ مینا، ۲۰ درصد قناری و ۱۱/۱۱ درصد فنچ‌ها این آلودگی ردیابی شد و در سایر گونه‌ها ردیابی نشد.*

نتیجه‌گیری: *نتایج این مطالعه نشان‌دهنده وجود باکتری کلامیدیا در پرندگان زینتی شهرستان ارومیه بود که می‌تواند به عنوان منبع آلودگی در عفونت‌های گوارشی مطرح باشد.*

واژه‌های کلیدی: *کلامیدیوفیلا سیتاسی ، پرندگان ، واکنش زنجیره پلیمراز ، رنگ‌آمیزی گیمسا*

* نویسنده مسؤول: دکتر مهدی رضائی ، پست الکترونیکی: mehdi217mr@yahoo.com

نشانی: ارومیه، جاده سلماس، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، دانشکده دامپزشکی ، تلفن ۰۴۴-۳۲۷۲۲۰۴۳

وصول ۱۴۰۳/۱۱/۲۷ اصلاح نهایی ۱۴۰۴/۱/۳۰ پذیرش ۱۴۰۴/۲/۳ انتشار ۱۴۰۴/۷/۱۲

مقدمه

کلامیدیا (*Chlamydia*) باکتری‌های گرم منفی کوکوباسیل به اندازه ۱۵۰ تا ۲۰۰ نانومتر با قطری حدود ۲۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر اجرام داخل سلول اجباری و به عنوان انگل انرژی هستند.[۱] این باکتری از لحاظ بیماری‌زایی جزء خانواده کلامیدیاسه است که در حال حاضر در یک جنس کلامیدیا و ۱۱ گونه طبقه‌بندی شده است.[۲]

کلامیدیا تراکوماتیس (*C. trachomatic*) اولین بار توسط Halberstadter و Von Prowazek در سال ۱۹۰۷ به عنوان یک گنجیدگی داخل سیتوپلاسمی در خراش‌های ملتحمه از یک بیمار مبتلا به تراخم توصیف شد.[۳] به‌طوری که در انسان با نام کلامیدیا تراکوماتیس و در پرندگان با عنوان کلامیدوفیلا پستاسی شناخته شده است.[۱] عامل بیماری در انسان و طوطی‌سانان پستاکوز و در سایر گونه‌های پرندگان اورنیتوز نامیده می‌شود. کلامیدیاها در چرخه رشد منحصر به فرد دوفازی در درون سلول میزبان تکثیر می‌یابند. این چرخه هنگامی شروع می‌شود که Elementary Body (EB) کوچک عفونی اما غیرفعال از نظر متابولیک که حدود ۰/۳ میکرومتر هستند؛ سلول‌های اپیتلیال میزبان را آلوده می‌کنند و پس از ورود به داخل سلول به Reticular Body (RB) که اجسام مشبک و فعال هستند و اندازه‌ای برابر یک میکرومتر دارند؛ تغییر می‌یابند و شروع به همانندسازی می‌کنند. وجود گنجیدگی‌های درون سیتوپلاسمی در گسترش‌های رنگ‌آمیزی شده و مقاطع بافت‌شناسی از مهم‌ترین خصوصیات بیماری است.[۴]

کلامیدیا پستاسی براساس پروتئین غشای خارجی به ۱۰ ژنوتیپ A تا G و E/B، M56 و WC تقسیم می‌شود که براساس تحقیقات جدید، دو ژنوتیپ J و I نیز به آنها افزوده شده است.[۵] آخرین سویه مشاهده شده با نام CPX0308 در طاووس و در چین ثبت شده است.[۶] ژنوتیپ A تا G و E/B به طور طبیعی پرندگان را آلوده می‌کنند.[۵]

بیماری کلامیدیا به عنوان یک تهدید برای سلامت عمومی و عامل زئونوز محسوب می‌شود که می‌تواند انسان را آلوده کند.[۳] بنابراین دامپزشکان، پرسنل باغ وحش‌های پرندگان وکشتارگاه‌های طیور، مرغداری‌ها و افراد مواجه با خرید و فروش پرندگان زینتی در معرض خطر آلودگی به این بیماری هستند.

با توجه به زئونوز بودن باکتری، علائم بیماری مشابه سندرم شبه‌آنفولانزا تا ذات الریه آتیپیک شدید در پرندگان شامل تب، بی‌اشتهایی، سختی تنفس، دهیدراسیون، اسهال زرد مایل به سبز، کاهش وزن، التهاب ملتحمه، التهاب بینی و التهاب سینوس است. بعضی از پرندگان ممکن است علائم بالینی خاصی از خود نشان ندهند و به‌صورت حامل بیماری را انتقال دهند.[۲] از دلایل دیگر اهمیت این بیماری علاوه بر قابلیت انتقال به انسان، ضررهای اقتصادی آن مطرح است.[۵]

انتقال کلامیدیا پسیتاسی در درجه اول از پرنده آلوده به سایر پرندگانی که در مجاورت آنها قرار دارد اتفاق می‌افتد. عامل بیماری در ترشحات تنفسی (استنشاق آئروسول‌های حاوی اگزوداهای باکتری) و گوارشی (مدفوع) پرندگان حامل وجود دارد که عمدتاً با کمبودهای تغذیه‌ای، جابجایی طولانی مدت، سرما، تولید مثل و تخم‌گذاری فعال می‌شود. همچنین آلودگی می‌تواند از طریق وجود زیستگاه آب یا خاک مرطوب مشترک با پرندگان آبی وحشی، استنشاق گرد و غبار محل ذخیره دانه و انبارهای آلوده با مدفوع، انتقال از والدین به پرندگان جوان در حین عمل غذا دادن صورت گیرد.[۷] گزارش‌های متعددی از انتقال بیماری در کشورها توسعه یافته اروپایی و آمریکا منتشر شده است. در این میان در یک ارزیابی در کشور بلژیک که بر روی انتقال ژنوتیک کلامیدیا پسیتاسی در مکان پرورش طوطی‌ها انجام شد؛ نشان داده شد ۱۹ درصد طوطی‌ها و ۱۳ درصد صاحبان آنها آلوده هستند.[۸]

در مورد عفونت کلامیدیا در پرندگان زینتی، مطالعات اندکی انجام شده است و در شهرستان ارومیه به سبب واردات این پرندگان به کشور اطلاعاتی کافی وجود ندارد. از طرفی با توجه به افزایش جمعیت پرندگان زینتی در سال‌های اخیر و تماس نزدیک بین پرندگان زینتی با صاحبانشان، می‌تواند در انتقال عفونت به این افراد در معرض خطر نقش عمده‌ای داشته باشد. لذا این مطالعه به منظور تعیین آلودگی کلامیدیا در پرندگان زینتی شهرستان ارومیه انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی روی تعداد ۶۰ سواب مدفوعی از ۶۰ پرنده زینتی در شهرستان ارومیه طی سه ماهه نخست سال ۱۴۰۳ انجام شد.

نمونه‌های سوآپ مدفوعی اخذ شده در محلول pbs قرار گرفتند. رنگ‌آمیزی گیمسا بر روی نمونه‌ها انجام شد. سپس گنجیدگی‌های کلامیدیایی با میکروسکوپ نوری بررسی شدند.[۹و۱۰]

استخراج DNA به روش فنل کلروفرم صورت گرفت. برای این کار میکروتیوپ‌های اخذ شده از دستگاه گوارش در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در نهایت سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰g انجام شد و سوپرناتانت حاوی DNA برای انجام واکنش PCR در یک تیوپ جدید انتقال داده شد و تا زمان انجام PCR در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای تکثیر قطعه ۵۸۰ جفت بازی بر روی ناحیه ژنومی ompA از توالی پرایمرهای ompA-F: CAAACTCATCAGACGAG و ompA-R: CTTCTTTAAGAGGTTTTACCC استفاده شد.[۱۱]

برای انجام PCR با احتساب تمام نمونه‌های مورد آزمایش مخلوط اصلی در حجم نهایی ۲۵ ماکرولیتر شامل ۵ ماکرولیتر DNA استخراج شده، ۱ ماکرولیتر پرایمرفوروارد، ۱ ماکرولیتر پرایمر ریورس، ۱۲/۵ ماکرولیتر Master Mix و ۵/۵ ماکرولیتر آب محاسبه و تهیه گردید. برنامه سیکل حرارت و زمان به شرح زیر با استفاده از دستگاه ترموسایکلر انجام شد.

مرحله اول دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ دقیقه، مرحله دوم ۴۰ سیکل شامل دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، آنلینگ در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و سنتز در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله سوم سنتز نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۷ دقیقه.

محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد در بافر TBE و با استفاده از رنگ‌آمیزی safe stain (سیناکلون) در دستگاه UV illuminator مشاهده شد.[۶]

یافته‌ها

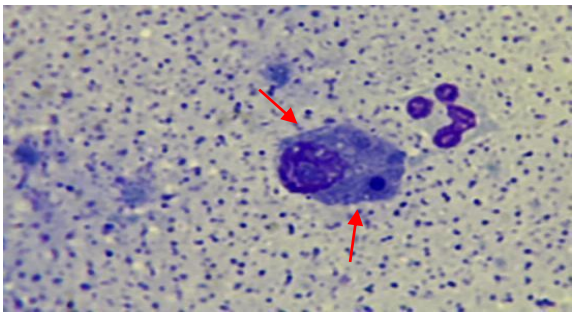
نتایج حاصل از آزمایش رنگ‌آمیزی گیمسا (شکل یک) بر روی نمونه‌ها نشان داد که از ۱۷ نمونه لام تهیه شده از گونه مرغ عشق، دو مورد (۱۱/۷ درصد) دارای علایم گوارشی و از لحاظ کلامیدیا مثبت بودند. این میزان در گونه عروس هلندی (۱۱/۱۱ درصد)، مرغ مینا (۱۴/۲۸ درصد)، قناری(۱۳/۳۳ درصد) و در فنچ (۱۱/۱۱ درصد) تعیین شد؛ اما در گونه‌های کاسکو و طوطی برزیلی هیچ مورد مثبتی یافت نشد.

در روش PCR (شکل ۲)، نتایج تکثیر قطعه ژن ompA به طول ۵۸۰ جفت باز بر روی ژل آگارز یک درصد بیانگر این بود که از ۱۷ نمونه تهیه شده از گونه مرغ عشق ۲ مورد (۱۱/۷ درصد) با علایم گوارشی از لحاظ کلامیدیا مثبت بودند و باند تشکیل دادند. در حالی که در یک مورد (۵/۸۸ درصد) در پرنده به ظاهر سالم مثبت بود. این میزان در عروس هلندی (۱۱/۱۱ درصد)، مرغ مینا (۱۴/۲۸

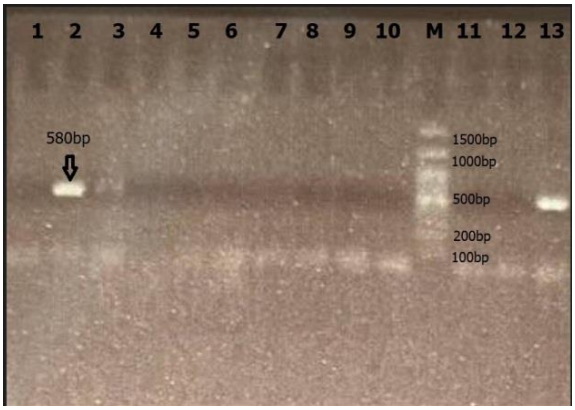
جدول ۱: وضعیت آلودگی کلامیدیا در روش PCR و رنگ آمیزی گیمسا

خانواده پرندگان	گونه	وارداتی/ ایرانی	فراوانی	روش گیمسا		روش PCR	
				دارای علایم	بدون علایم	دارای علایم	بدون علایم
طوسی سانان	مرغ عشق	ایرانی	۱۷	۲	-	۲	۱
	عروس هلندی	ایرانی	۹	۱	-	۱	-
	کاسکو	ایرانی	۲	-	-	-	-
	طوطی برزیلی	ایرانی	۳	-	-	-	-
گنجشک سانان	مرغ مینا	ایرانی	۷	۱	-	۱	۱
	قناری	ایرانی	۱۵	۲	-	۳	-
	فنچ	ایرانی	۷	۱	-	۱	-

درصد)، قناری (۲۰درصد) و فنچ (۱۱/۱۱ درصد) بود. همچنین در یک مورد (۱۴/۲۸ درصد) در مرغ مینا بدون علایم گوارشی مثبت بود (جدول یک).



شکل ۱ : وجود باکتری کلامیدیا در نمونه مدفوع پرندگان زینتی شهرستان ارومیه از طریق رنگ آمیزی گیمسا



شکل ۲ : نتایج الکتروفورز محصولات PCR
چاهک‌های ۱، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱و۱۲ نمونه‌های مورد بررسی منفی، چاهک‌های ۲، ۳ و ۱۳ نمونه‌های مورد بررسی مثبت و M : مارکر ۱۰۰ جفت بازی (سیناکلون)

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، در بین پرندگان زینتی شهرستان ارومیه مرغ عشق، عروس هلندی، مرغ مینا، قناری و فنچ بیشترین آلودگی به کلامیدیا را نشان دادند. تحقیقات انجام شده داخلی در مورد آلودگی کلامیدیا در پرندگان زینتی بسیار محدود است و در ارتباط با پرندگان خانگی از جمله کبوتر مطالعات بیشتری صورت گرفته است.

میرویسی میزان آلودگی کلامیدیا را در کبوترهای خانگی شهر اهواز با استفاده از روش PCR ۰/۰۷ درصد؛[۳] دوستی و همکاران شیوع کلامیدیا پسیتاسی را در کبوتران استان چهارمحال بختیاری با استفاده از روش PCR حدود ۱۴ درصد؛[۱۲] اصغری بیجارگاه شیوع باکتری کلامیدیا را در پرندگان وحشی با استفاده از روش PCR و تعیین توالی ژن ompA ۵/۱ درصد؛[۲] عباسی شیوع کلامیدیا پسیتاسی را ۲۵/۷۱ درصد[۱] و محزونیه و همکاران میزان شیوع کلامیدیا پسیتاسی در کبوترهای استان‌های چهارمحال‌وبختیاری و یزد را به وسیله PCR ۵۲ درصد[۱۳] گزارش نمودند.

همچنین مدنی و همکاران شیوع عفونت کلامیدیوز در پرندگان زینتی را با روش کشت سلول و رنگ‌آمیزی آن توسط گیمسا ۴۴درصد نشان دادند.[۹] در مطالعه حاضر نیز از همین روش رنگ‌آمیزی برای شناسایی اولیه باکتری کلامیدیا استفاده شد.

تشخیص بیماری از طریق جداسازی و شناسایی باکتری، بررسی ریزبینی و مشاهده گنجیدگی‌های داخل سیتوپلاسمی در سواب‌های اسمیر رنگ‌آمیزی شده، همچنین با استفاده از روش‌های سرولوژیکی و مولکولی انجام می‌شود. به دلیل هزینه‌های بالا در استفاده از محیط‌های کشت سلولی و وجود واکنش‌های متقاطع در تست‌های سرولوژیکی، در مطالعه اخیر علاوه بر رنگ‌آمیزی نمونه‌های سواب‌های مدفوعی، از تست مولکولی PCR استفاده شد. این روش با دقت و حساسیت بالا، بر مبنای شناسایی ژن ompA در نمونه‌های گوارشی پرندگان زینتی صورت گرفت[۱۲و۱۳] که نتایج آن با بسیاری از مطالعات همکاران هم‌خوانی دارد.[۳و۹و۱۴]

با توجه به زئونوز بودن بیماری پرندگان مبتلا تا پایان عمر به عنوان حامل باقی می‌مانند. این پرندگان می‌توانند بیماری را به سایر پرندگان یا صاحبان خود انتقال دهند. این موضوع نقش مهمی در تهدید سلامت صاحبان پرندگان ایفا می‌کند. به طوری که در مطالعه Smith و همکاران گزارشی مبنی بر درگیری ۹۳۵ مورد انسانی با بیماری ارنیتوزیس در آمریکا بین سال‌های ۱۹۸۸ تا ۲۰۰۳ میلادی ارائه دادند[۱۵] که توسط مرکز کنترل بیماری (CDC) مورد تأیید قرار گرفت. این درگیری‌ها عموماً به علت تماس با پرندگان زینتی آلوده به‌ویژه خانواده طوطی‌سانان بوده است.[۲] همچنین در مطالعه Hou و همکاران شیوع و ژنوتیپ‌های کلامیدیا پسیتاسی در پرندگان و

کارگران مرتبط به ترتیب ۳/۱۳ و ۳/۸۲ درصد گزارش شد.[۱۶] Muroni و همکاران آلودگی کلامیدیا پسیتاسی را در افراد مرتبط با مرکز خرید و فروش پرندگان در ایتالیا با استفاده از تست PCR گزارش نمودند.[۲]

مطالعات مختلفی در سطح بین‌المللی در رابطه با کلامیدیا و میزان شیوع آن انجام شده است. Lee و همکاران شیوع عفونت‌های بدون علامت کلامیدیا پسیتاسی در پرندگان پسیتاسین در کشور کره را ۳۳/۶۵ درصد گزارش کردند.[۱۷] Spörndly-Nees و همکاران شیوع کلامیدیا در پرندگان باغی را بین سال‌های ۲۰۰۹ تا ۲۰۱۹ به میزان ۲/۲ درصد گزارش کردند.[۱۸]

Sassa-O'Brien و همکاران حضور کلامیدیا در پرندگان وحشی و جوجه‌ها را در غنا به ترتیب ۲۴/۱ و ۲۶/۹ درصد گزارش کردند.[۱۹] Wang و همکاران در بررسی اپیدمیولوژیک و ژنوتیپ مواجهه با کلامیدیا در کبوترها در سه استان شمال چین را ۲۰/۴ درصد و بیشتر در پرندگان بالغ گزارش کردند.[۲۰] Santos و همکاران شیوع عفونت کلامیدیا پسیتاسی را در پرندگان پسیتاسین ۱۰/۶ درصد و با شیوع کمتر در پرندگان خانگی ۳/۴ درصد نسبت به بازار فروش پرندگان خانگی گزارش کردند.[۱۱] Blomqvist و همکاران شیوع عفونت کلامیدیا پسیتاسی در پرندگان تالاب‌های سوئد با استفاده از روش PCR را ۱/۲ درصد در سه گونه مختلف گزارش کردند.[۱۴]

تمام گونه‌های عفونت کلامیدیا قابلیت انتقال به انسان را دارند و ممکن است بدون علائم یا به صورت تحت بالینی ظاهر شوند. در این حالت، دفع متناوب ارگانیسم به صورت طولانی ادامه می‌یابد. این دفع بدون علامت به دلیل زئونوز بودن بیماری و تماس مستقیم یا غیرمستقیم انسان با پرندگان، می‌تواند تهدیدی برای سلامت عمومی انسان‌ها به شمار آید. محزونیه و همکاران تعداد ۸ نمونه از ۳۲ نمونه (۲۵ درصد) مدفوع طوطی‌سانان مناطق مختلف ایران که فاقد علائم بالینی بودند را از لحاظ وجود کلامیدیا پسیتاسی مثبت گزارش کردند.[۱۳] تنوع در میزان شیوع در مطالعات مختلف به دلایل مختلفی از جمله تعداد نمونه‌های جمع‌آوری‌شده، عوامل استرس‌زا مانند فصول تولیدمثل، منابع غذایی، جابجایی، استرس و تغییرات دما و همچنین وضعیت علائم در پرندگان نمونه‌گیری‌شده مرتبط است. به‌طوری که طبق مطالعه Stenzel و همکاران میزان بالایی از شیوع کلامیدیا پسیتاسی در فصل تولیدمثل مشاهده گردید.[۲۱]

از موارد احتیاط در تعمیم‌پذیری نتایج این مطالعه می‌توان به تعداد موارد مثبت شناسایی شده باکتری در تست PCR بیشتر از رنگ‌آمیزی گیمسا اشاره نمود که این موضوع می‌تواند ناشی از خطاهای حاصل از رنگ‌آمیزی در مقابل دقت و حساسیت بالاتر تست PCR باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان‌دهنده وجود باکتری کلامیدیا در پرندگان زینتی شهرستان ارومیه بود که می‌تواند به عنوان منبع آلودگی در عفونت‌های گوارشی مطرح باشد.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی- واحد ارومیه (IR.IAU.URMIA.REC.1403.145) قرار گرفت.

مشارکت نویسندگان

دکتر دانیال کلاته میمری: انجام پروژه، جمع‌آوری داده‌ها و نوشتن نسخه اولیه مقاله.

دکتر مهدی رضائی: مدیریت و طراحی پروژه، انجام پروژه، آنالیز داده‌ها، تفسیر نتایج، نوشتن نسخه اولیه مقاله و تایید نسخه نهایی مقاله.

دکتر محمدرضا اصغر زاده: آنالیز داده‌ها و تفسیر نتایج.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض منافع وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه آقای دانیال کلاته میمری برای اخذ درجه دکتری عمومی در رشته دامپزشکی از دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه بود. بدین‌وسیله از تمامی افرادی که در اجرای این مطالعه یاری نمودند؛ صمیمانه تشکر می‌نماییم.

References

1. Abasi M. [A review of Chlamydia in birds and humans]. Journal of Veterinary Clinical Research. 2020;10(2):33-38. [Article in Persian]
2. Muroni G, Pinna L, Serra E, Chisu V, Mandas D, Coccollone A, et al. A Chlamydia psittaci Outbreak in Psittacine Birds in Sardinia, Italy. Int J Environ Res Public Health. 2022 Oct;19(21):14204. https://doi.org/10.3390/ijerph192114204.
3. Mirvaisi H. [Investigation of the prevalence of chlamydiosis in pigeons of Ahvaz using PCR]. Doctoral Dissertation. Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz. 2013. [Persian]
4. Lausen M, Christiansen G, Bouet Guldbæk Poulsen T, Birkelund S. Immunobiology of monocytes and macrophages during Chlamydia trachomatis infection. Microbes Infect. 2019 Mar;21(2):73-84. https://doi.org/10.1016/j.micinf.2018.10.007.
5. Asghari Bijargah S. [Molecular tracking and genotyping of Chlamydophila psittaci species in fecal samples of wild pigeons using real-time PCR and sequencing of the ompA gene]. Doctoral Dissertation. Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University. 2019. [Persian]
6. McElnea CL, Cross GM. Methods of detection of Chlamydia psittaci in domesticated and wild birds. Aust Vet J. 1999 Aug;77(8):516-21. https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1999.tb12123.x.
7. Harkinezhad T, Geens T, Vanrompay D. Chlamydophila psittaci infections in birds: a review with emphasis on zoonotic consequences. Vet Microbiol. 2009 Mar;135(1-2):68-77. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.046.
8. 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 Jul;13(7):1108-10. https://doi.org/10.3201/eid1307.070074.

9. Madani SA, Peighambari SM, Barin A. Isolation of Chlamydophila psittaci from pet birds in Iran. Int J Vet Res. 2011;5(2):95-98.

10. Xiao L, Escalante L, Yang C, Sulaiman I, Escalante AA, Montali RJ, et al. Phylogenetic analysis of Cryptosporidium parasites based on the small-subunit rRNA gene locus. Appl Environ Microbiol. 1999 Apr;65(4):1578-83. https://doi.org/10.1128/aem.65.4.1578-1583.1999.

11. Santos F, Leal DC, Raso TF, Souza BMPS, Cunha RM, Martinez VHR, et al. Risk factors associated with Chlamydia psittaci infection in psittacine birds. J Med Microbiol. 2014 Mar;63(Pt 3):458-63. https://doi.org/10.1099/jmm.0.060632-0.

12. Doosti A, Arshi A, Ghasemi Dehkordi P. [Molecular study for detection of Chlamydia psittaci in feces of pigeons in Chaharmahal Va Bakhtiari province]. Journal of Microbial World. 2010;5(2):249-55. [Article in Persian]

13. Mahzonieh M, Heidari Khoei H, Ghasemi Shamsabadi M, Heidari F. [Prevalence of chlamydia psittaci in pigeons in Chaharmahal va Bakhtiari and Yazd provinces of Iran, by nested-PCR, 2012]. Iran J Med Microbiol. 2013;7(1):1-6. [Article in Persian]

14. Blomqvist M, Christerson L, Waldenström J, Herrmann B, Olsen B. Chlamydia psittaci in Swedish wetland birds: a risk to zoonotic infection? Avian Dis. 2012 Dec;56(4):737-40. https://doi.org/10.1637/10105-022812-resnote.1.

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, 2005. J Am Vet Med Assoc. 2005 Feb;226(4):532-39. https://doi.org/10.2460/javma.2005.226.532.

16. Hou L, Jia J, Qin X, Fang M, Liang S, Deng J, et al. Prevalence and genotypes of Chlamydia psittaci in birds and related workers in three cities of China. PLoS One. 2024 Aug;19(8):e0308532. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0308532.

17. Lee HJ, Lee OM, Kang SI, Yeo YG, Jeong JY, Kwon YK, et al. Prevalence of asymptomatic infections of Chlamydia psittaci in psittacine birds in Korea. Zoonoses Public Health. 2023 Aug;70(5):451-58. https://doi.org/10.1111/zph.13039.

18. Spörndly-Nees E, Uhlhorn H, Jinnerot T, Neimanis A. Chlamydia psittaci in garden birds in Sweden. One Health. 2023 Apr;16:100542. https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2023.100542.

19. Sassa-O'Brien Y, Ohya K, Yasuda-Koga S, Chahota R, Suganuma S, Inoue-Murayama M, Fukushi H, et al. Chlamydial species among wild birds and livestock in the foothills of Mt. Afadjato, Ghana. J Vet Med Sci. 2022 Jun;84(6):817-23. https://doi.org/10.1292/jvms.21-0600.

20. Wang X, Zhang NZ, Ma CF, Zhang XX, Zhao Q, Ni HB. Epidemiological Investigation and Genotype of Chlamydia Exposure in Pigeons in Three Provinces in Northern China. Vector Borne Zoonotic Dis. 2018 Mar;18(3):181-84. https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2214.

21. Stenzel T, Pestka D, Choszcz D. The prevalence and genetic characterization of Chlamydia psittaci from domestic and feral pigeons in Poland and the correlation between infection rate and incidence of pigeon circovirus. Poult Sci. 2014 Dec;93(12):3009-16. https://doi.org/10.3382/ps.2014-04219.