Journal of Microbial World
Volume 14, No. 2, August 2021

Short Communication

The survey of frequency Chlamydiae in semen used for artificial insemination

Ali Sharifzadeh [1], Mohsen Forooghi [1]

[1] Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Chlamydia spp. is an obligate intracellular agent that causes chlamydiosis in animals and humans. Chlamydia infections in cows can cause abortion, infertility and other symptoms. The aim of this survey was to investigate the frequency of chlamydia infection in sperm used by artificial insemination.

Materials & Methods: In This survey semen samples were collected from semen supply centers. Then DNA was extracted using Cinnagen company kit. The samples were Analysed for the chlamydial agent by Nested polymerase chain reaction (Nested PCR) by 16SrRNA gene primer and then the PCR product was electrophoresed and positive samples were identified by genus and species.

Results: The finding of this survey indicated the prevalence of infection of different chlamydial species in the sperm samples. A Total of 100 samples were tested, 23 samples were positive for chlamydia spp.which are 12 positive samples separately for Chlamydia Pecorum,Chlamydia abortus 7 positive samples and 4 positive samples were identified for Chlamydia Psitassi.

Conclusion: The present survey showed that sperm samples can be an important source of chlamydial infection transmission in bulls.

Keywords: *Chlamydiae*, Insemination, Artificial, PCR.

Received: 15 March 2021 Revised: 1 June 2021 Accepted: 13 August 2021

Correspondence to:Ali Sharifzadeh

Tel: +98 9131812715

E-mail: sharifzadeh@iaushk.ac.ir

Journal of Microbial World 2021, 14(2): 48-57

DOI: 10.30495/jmw.2021.690447

Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.

مجله دنیای میکروب‌ها
سال چهاردهم شماره دوم (پیاپی۴۷) تابستان ۱۴۰۰
صفحات ۵۷-۴۸

Short Communication

بررسی میزان فراوانی آلودگی کلامیدیایی اسپرم‌های مورد استفاده در تلقیح مصنوعی

علی شریف‌زاده [۱*]، محسن فروغی [۱]

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: کلامیدیاسه‌ها ازباکتری‌های داخل سلولی اجباری می‌باشند که باعث طیف وسیعی ازبیمارنی‌ها در حیوانات و انسان می‌گردند. عفونت‌های کلامیدیایی در گاو باعث سقط جنین، ناباروری و طیفی از دیگر علایم می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی آلودگی کلامیدیایی دراسپرم‌های مورد استفاده حاصل ازتلقیح مصنوعی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: دراین تحقیق توصیفی،۱۰۰نمونه اسپرم ازگاوهای نر اعم از سالم یا از مراکز عرضه اسپرم جمع‌آوری شد. سپس اقدام به استخراج DNA با استفاده از کیت شرکت سیناژن گردید. برای Nested PCR از ژن S rRNA 16 پرایمر تهیه و سپس محصول PCR، الکتروفورز گردیده و موارد مثبت به تفکیک جنس و گونه مشخص گردید.

یافته‌ها: یافته‌های این بررسی حاکی از شیوع آلودگی گونه‌های مختلف کلامیدیا در نمونه‌های اسپرم بود. از مجموع ۱۰۰ نمونه بررسی شده، ۲۳ نمونه برای جنس کلامیدیا مثبت اعلام شد که به تفکیک برای گونه *کلامیدیاپکورروم* ۱۲ نمونه مثبت، گونه *کلامیدیا آبورتوس* ۷ نمونه مثبت و برای گونه *کلامیدیا پسیتاسی* ٤ نمونه مثبت مشخص گردید.

نتیجه‌گیری: بررسی حاضر نشان داد که نمونه‌های اسپرم می‌تواند به عنوان یکی از منابع مهم انتقال آلودگی کلامیدیایی درمورد گاوهای نر نقش داشته باشد.

واژگان کلیدی: کلامیدیا، تلقیح، مصنوعی، PCR.

دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۱۲/۲۵ ویرایش مقاله: ۱۴۰۰/۳/۱۱ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۵/۲۲

مقدمه

تلقیح مصنوعی، جمع‌آوری اسپرم دام به روش‌های مختلف و تلقیح آن به دام ماده فحل به صورت مصنوعی می‌باشد (۱). تلقیح مصنوعی دارای محاسن و فواید زیادی است از جمله جلوگیری از هزینه نگهداری گاونر، درصد باروری بالاتر و افزایش مدت بهره‌دهی. یکی از مهم‌ترین دلایل استفاده از تلقیح مصنوعی، درجلوگیری ازانتقال یک سری آلودگی‌های عفونی وانگلی است که از طریق جفت‌گیری سرایت می‌کند. یکی ازمشکلات مهم مراکز تلقیح مصنوعی ابتلای دام‌های نر به برخی بیماری‌ها به ویژه بیماری‌های قابل انتقال با اسپرم می‌باشد (۲). از آن جا که در تلقیح مصنوعی از اسپرم یک گاو نر تعداد زیادی گاو ماده آبستن می‌شود و در نتیجه تعداد زیادی گوساله بوجود می‌آید، وجود بعضی دام‌های نر با امراض قابل انتقال در مراکز تلقیح باعث انتقال سریع آلودگی دریک سطح وسیع خواهد شد (۳). کلامیدیاها باکتری‌های داخل سلولی اجباری وگرم منفی می‌باشند که بر

*) آدرس برای مکاتبه: گروه میکروبیولوژی،دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
تلفن: ۰۹۱۳۱۸۱۲۷۱۵ پست الکترونیک: sharifzadeh@iaushk.ac.ir

حقوق نویسندگان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد و تحت مجوز مالکیت خلاقانه (http://creativecommons.org/licenses/bync/4.0/) در فصلنامه دنیای میکروب‌ها منتشر شده است. هرگونه استفاده غیرتجاری فقط با استناد و ارجاع به اثر اصلی مجاز است.

اساس آخرین طبقه‌بندی، در راسته کلامیدیاله (Chlamydiales)، خانواده کلامیدیاآسه (Chlamydiacea) قرار دارد و دارای دو جنس کلامیدیا با سه گونه موری داروم، تراکماتیس، سویس و کلامیدوفیلا با پنج گونه پسیتاسی، آبورتوس، فلیس، کاویه ونومونیه می‌باشند (٤). به طور عمده بیماری در گله‌هایی که به روش متراکم پرورش می‌یابند و در ۳-۲ هفته آخر آبستنی ایجاد می‌گردد (۵). گونه‌های کلامیدوفیلا، انسان را نیز مبتلا ساخته و به خصوص برای زنان باردار تهدید کننده است به شکلی که لازم است از تماس با موارد سقطی جلوگیری نمایند (٦). هم اکنون واکسن زنده تخفیف حدت یافته‌ای وجود دارد که می‌بایست قبل از زایمان به مادران تزریق گردد. واکسن غیرفعال نیز می‌تواند در حیوانات آبستن استفاده گردد (۷و۸). هم اکنون روش‌های بررسی میکروسکوپی مستقیم، کیت‌های تجاری الایزا، کشت درتخم مرغ جنین دار یا تیره‌های سلولی، تثبیت کمپلمان، روش تکثیر جایگزینی زنجیره‌ای مشتمل بر توانایی آنزیم‌های اندونوکلئاز (SDA)، تکثیر اسیدنوکلئیک بصورت هم دما (TMA) برای تشخیص آلودگی استفاده می‌شود.

بـــاروش NAATs(Nucleic acid amplification test) نیزتشخیص مولکولی مقادیراندک ماده ژنتیکی میکروارگانیسم‌ها امکان پذیراست که شامل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) بوده و یکی دیگر ازروش‌های تشخیصی است که برای پی بردن به حضور DNA کلامیدیایی در نمونه‌ها تکوین یافته و ضمن سرعت بالا، امکان تمایزگونه‌های مختلف کلامیدیایی را از یکدیگر با استفاده از پرایمرهای اختصاصی مقدور می‌سازد (۹). در حال حاضر دو نوع تجاری از کیت‌های NAATS مورد تایید FDA می‌باشد که در هر دو روش امپلیفیکاسیون s ribosomal 16 با استفاده از یک پروب DNA انجام می‌شود. در هر حال از آن جا که علیرغم آن که کشورهایی که از واکسن تجاری استفاده می‌کنند با معضل سقط جنین کلامیدیایی مواجه بوده و در کشور ایران که استفاده از واکسن مرسوم نمی‌باشد نیز فراوانی سقط جنین‌های کلامیدیایی بالا می‌باشد و با توجه به آن که هیچ برنامه کنترلی برای غربالگری کلامیدیا در نمونه‌های اسپرم وجود ندارد لذا در تحقیق حاضر ردپای احتمالی حضور جنس کلامیدیا و سپس گونه‌های شایع در برخی از اسپرم‌های تولیدی توزیعی درسطح گاوداری‌های سنتی وصنعتی با روش مولکولی مورد جستجو وبررسی قرار گرفت تا بر طبق آن بتوان به دید روشنی در مورد وضعیت آلودگی این منبع بالقوه دست یافت.

مواد و روش‌ها

الف) نمونه‌گیری: نمونه‌ها از گاوداری‌های سطح استان‌های اصفهان و چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری گردید. این نمونه‌ها شامل ۱۰۰نمونه اسپرم از گاوداری‌هایی بود که از اسپرم داخلی استفاده می‌نمودند. نمونه‌ها اعم ازپروف شده (اسپرم‌های مراکز اصلاح نژاد که باعث افزایش بهره‌وری می‌شود) و غیرپروف شده از برندهای مختلف کاسپین، گودرز، بهرامن، آران، میشا، مازار، جریر، شه راد، بامداد، بهنات، آبنوس و رشادت بودند. نمونه‌ها تا زمان آزمایش و استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

ب) استخراج DNA: برای استخراج DNA بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت سیناژن اقدام گردید. غلظت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از نانودراپ (ND-1000 PeqLab) مورد ارزیابی قرارگرفت. DNAs استخراج شده تا زمان مصرف در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری گردیدند.

ج) آزمایش Nested PCR: برای جستجوی توالی اختصاصی مربوط به S rRNA16 کلامیدوفیلادرنمونه‌های DNA استخراج شده، از روش Nested PCR استفاده گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده و اندازه تقریبی محصول به دست آمده درجدول ۱ آمده است (۱۰). پرایمرها شامل یک جفت پرایمراختصاصی مربوط به جنس و یک جفت پرایمر داخلی مربوط به گونه بود که با نرم افزار Gene Runner طراحی گردید. پرایمرها توسط شرکت سیناژن (تهران – ایران) سنتز گردیدند. درروش Nested PCR به منظور افزایش حساسیت از دو جفت پرایمر استفاده می‌شود. ابتدا با جفت پرایمر اول، قطعات مشخصی از DNA

هدف تکثیر یافته و سپس محصول PCR حاصل به لوله دیگری منتقل و به عنوان الگو استفاده گردیده تا با جفت پرایمرهای دوم، مرحله دوم PCR انجام گیرد. واکنش PCR با استفاده از کیت تجاری شرکت سیناژن (CinnaGen PCR master kit) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، حاوی ۱۲/۵ میکرولیتر ازمسترمیکس باغلظت 2 X، ۰/٤ میکرومولار از هر یک از جفت پرایمرها و ۲ میکرولیتر ازنمونه اولیه DNA با محصول مرحله اول PCR انجام گرفت. کلیه آزمایشات روی نمونه‌های کنترل مثبت و منفی نیز صورت پذیرفت. نمونه‌های کنترل مثبت از نمونه‌های DNA فریز شده از تحقیقات قبلی در مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد تهیه گردید. در نمونه‌های کنترل منفی نیز بجای DNA نمونه، به همان میزان آب مقطر تزریقی استفاده گردید. تکثیر در دستگاه Mastercycler Gradient (ساخت شرکت Eppendorf، آلمان) انجام شد. همچنین شرایط دمایی برای تکثیر ژن شامل یک سیکل حرارتی دناتوراسیون اولیه در ۹٤ درجه سلسیوس به مدت ۲دقیقه، و ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹٤ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها در ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و امتداد در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه بود. در نهایت امتداد نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. در مرحله دوم Nested PCR نیز، ۱ میکرولیتر از محصول PCR مرحله اول به عنوان نمونه الگو جهت تکثیر استفاده گردید و تمام مراحل همانند مرحله قبل به جز آنکه پرایمرها متفاوت بودند تکرار گردید. چرخه‌ها شامل مراحل دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۷ دقیقه و ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹٤ درجه سلسیوس به مدت ۵۰ ثانیه، اتصال پرایمرها در ٥٤ درجه سلسیوس به مدت ۵۰ثانیه (دمای اتصال پرایمردر مورد گونه‌های پکوروم وابورتوس ۵۵ درجه سلسیوس و در مورد گونه پسیتاسی روی ٦۲ درجه سلسیوس تنظیم گردید) و امتداد در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه بود. در نهایت امتداد نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۸ دقیقه انجام گرفت. برای استفاده از پرایمرها ابتدا پرایمرهای مورد استفاده توسط شرکت سیناژن ساخته و سپس طبق دستورالعمل شرکت سازنده رقیق و استفاده گردید.

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای جنس و گونه‌های کلامیدیا (۱۰).

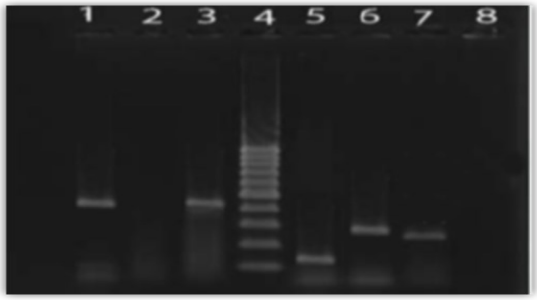
گونه	توالی پرایمرها	اندازه
Chlamydiaceae	F: 5′-ACGGAATAATGACTTCGG -3′ R: 5′-TACCTGGTACGCTCAATT-3′	436 bp
Chlamydia abortus	F:5′-ATAATGACTTCGGTTGTTATT-3′ R:5′- TGTTTAGATGCCTAAACAT-3′	127 bp
Chlamydia psittaci	F: 5’- AGTCAGTCCATGGCTTTCCG -3’ R: 5’-TGACCCAGGTTTATCGGCTG -3’	290 bp
Chlamydia pecorum	F: 5’–CCAATACGCACA ATCGAAACCTCGC-3’ R: 5’-CCACAAAATTTTCTAGA CTTCAACTTGTTAAT-3’	233 bp

پس از انجام PCR، به منظورمشخص کردن اندازه محصولات تولید شده از روش الکتروفورز استفاده شده و محصولات روی ژل آگاروز۱ درصد حاوی اتیدیوم بروماید منتقل و به همراه مارکرهای DNA در ۹۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه الکتروفورزگردیدند. در ژل الکتروفورز قطعات DNA براساس اندازه و طول قطعه از یکدیگر جدا شده و درون ژل با سرعت‌های متفاوت حرکت نمود. در نهایت اندازه باندهای حاصل از تکثیر ژن‌های مختلف با استفاده از مارکرهای 100bp (SM0241-Fermentase,Germany) تعیین گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه ۱۰۰ نمونه اسپرم گاو، برای حضور جنس و گونه‌های مختلف کلامیدیا مورد بررسی قرارگرفت. تکثیر ژن‌های مربوط به جنس با استفاده از پرایمر F و R منجر به تولید فرآورده‌ای با طول تقریبی ٤۳٦ جفت بازگردید و مرحله دوم آزمایش نیز در مورد گونه‌های *ابورتوس* با طول ۱۲۷ باز، *پسیتاسی* با ۲۹۰ باز و *پکوروم* با ۲۳۳ باز انجام گردید که نمونه‌ای از اشکال ژل در تصویر ۱ آمده است. در نهایت از ۱۰۰ نمونه بررسی شده، برای جنس *کلامیدیا* ۲۳ نمونه (۲۳٪) و همچنین برای گونه *آبورتوس* ۷ نمونه(۳۱٪)، گونه *پکوروم* ۱۲ نمونه (۵۲٪) و گونه *پسی تاسی* ٤ نمونه (۱۷٪) گزارش گردید. در نهایت نتایج حاصله با استفاده از نسخه ۲۲ نرم افزار SPSS، بین متغیرهای استان نمونه‌گیری، نوع اسپرم (پروف،

غیرپروف)، برند اسپرم و تعداد راس گاو در گاوداری با میزان و نوع آلودگی آزمون آماری مربع کای در مورد متغیرهای کیفی بهره گرفته شد صورت گرفت. ($p<0.05$) و اختلاف آماری معنا داری بین متغیرهای فوق و میزان آلودگی مشاهده نگردید.



تصویر ۱: تصویر ژل آگارز۱٪ الکتروفورز نمونه‌های کلامیدیا. از سمت چپ به ترتیب ستون ۱ کنترل مثبت، ستون ۲ کنترل منفی، ستون ۳ نمونه آلوده به جنس *کلامیدیا* (436bp)، ستون ٤ DNA ladder با اندازه 100 bp، ستون ٥ نمونه آلوده به گونه *ابورتوس* (127bp)، ستون ٦ نمونه آلوده به گونه *پسیتاسی* (290bp)، ستون ۷ نمونه آلوده به گونه *پکوروم* (233bp) ستون ۸ کنترل منفی.

بحث

دراین تحقیق میزان فراوانی عفونت کلامیدیایی در نمونه های اسپرم داخلی که برای تلقیح مصنوعی در ایران مورد استفاده قرار می‌گرفت مورد بررسی قرار گرفت که نتایج به دست آمده، گواه و دلیلی بر حضور و فراوانی نسبتا بالای عفونت می‌باشد. بر اساس یافته‌های محققین نقش این باکتری در ایجاد ناباروری و سقط جنین تاییدگردیده است (۱۱). بر اساس نتایج این تحقیق نیز، از ۱۰۰نمونه اسپرم جمع‌آوری شده ۲۳مورد (معادل۲۳٪) مرتبط باآلودگی به جنس کلامیدیا بود. همچنین در این بررسی، درصد آلودگی به گونه‌های کلامیدیا در موارد مثبت عفونت نیز بررسی شد که عبارت است از ٤٪ گونه *پسی تاسی*، ۷٪ گونه *آبورتوس* و ۱۲٪ در مورد گونه *پکوروم*. به دست آوردن این نتایج در حالی است که نام آوری و همکاران در سال ۲۰۱۲ میلادی در جنوب غربی ایران، نمونه‌های اخذ شده از ۱۳۵ گاو با سابقه سقط را از لحاظ حضور پادتن نئوسپورا کانینوم، ویروس اسهال ویروسی گاوها، ویروس رینوتراکئیت عفونی گاوها، *کلامیدیا آبورتوس* و *بروسلا آبورتوس* با روش الایزا مورد بررسی قرار دادند در این مطالعه میزان آلودگی با عوامل مذکور به ترتیب برابر با ۳۳/۳، ۲/۸،۳۱/۵۹ و ٤/٤ درصد گزارش شد (۱۲). Zhou و همکاران درسال۲۰۱۲ حضور پادتن کلامیدیا در جنوب چین را در ۲۹ رأس از ٤۰۰ گاو شیرده با روش هماگلوتیناسیون غیر مستقیم گزارش نمودند (۱۳). نتایج حاصل از پژوهش‌های مشابه روی آنتی‌بادی کلامیدیا در گاوهای شیرده در دیگر نقاط جهان مانند سوئد(۱) و ایرلند(۱٤) البته در صد بالاتری را نشان می‌دهد. علیرغم اینکه در تحقیقات مختلف، آزمایش‌های متعدد سرولوژیک از جمله ثبوت عناصر مکمل، الایزا و ایمنوفلورسنت غیر مستقیم جهت تشخیص عفونت‌های ناشی از کلامیدوفیلا و بر اساس آنتی‌ژن‌های کلامیدوفیلایی صورت گرفته است لیکن تفسیر نتایج می‌بایست با توجه به این حقیقت که بسیاری از روش‌های سرولوژیکی دردسترس، آنتی‌بادی‌های ضد LPS کلامیدیا را تعیین نموده و بنابراین اجازه تمایز بین گونه‌های کلامیدیایی را از هم نمی‌دهد انجام گیرد بعلاوه واکنش متقاطعی بین LPS و دیگر باکتری‌های گرم منفی وجود دارد. عرشی و همکاران درسال ۲۰۱۱ دراستان چهارمحال و بختیاری نیزدر ۱۸٪ موارد با روش مولکولی حضور کلامیدیا پسی تاسی را در نمونه‌های محتویات شیردان‌های ۱٤٥ جنین سقط شده تایید نمودند (۱٥). کافولد و همکارانش نیز در بررسی خود بر روی گاوهای نر، سه گونه از کلامیدیاها که *پسیتاسی* فراوان ترین آن‌ها بود را در مایع اسپرم آن‌ها مشاهده نمودند. در نمونه مدفوع این دام‌ها البته گونه *پکوروم* فراوان‌ترین گونه یافت شده بود (۱٦). بررسی دیگر بر روی ۷۲ راس از گاوهای شیرده درتایوان فراوانی گونه *ابورتوس* را در نمونه‌های واژینال و سقط شده ٤۰٪ گزارش نمود (۱۷). پتیت و همکارانش نیز در بررسی خود در استرالیا، ۹٪ از نمونه‌های واژینال و رحمی را برای گونه *پکوروم* مثبت وبرای *آبورتوس* منفی گزارش نمودند (۱۸). در آلمان نیز میزان شیوع عفونت‌های کلامیدیایی در مایع‌های واژینالی ٥٦٪ گزارش گردیده است (۱۹). Biesenkamp در

سال۲۰۰۷نیزمیزان شیوع سرمی آنتی‌بادی IGG1ضد *کلامیدیوفیلا* در گاوها را تا۱۰۰ درصد گزارش و مشخص نمود که تمامی گاوهای مورد بررسی، حداقل به یکی از گونه‌های این باکتری آلوده بوده‌اند (۲۰). در پژوهش دیگری که در کشور آلمان صورت گرفت، شیوع *کلامیدیا* پسی تاسی، *کلامیدیا آبورتوس* و *کلامیدیا* پکوروم در گاوهای مورد مطالعه به ترتیب برابر با ٥٦، ۳۷ و ۸ درصد بوده است (۲۱). طیف وسیعی از گونه‌های حیوانی و انسان به عفونت‌های کلامیدیایی حساس می‌باشند (۲۲). شدت و نوع بیماری ایجاد شده با کلامیدیاها از عفونت فاقد علامت درمانگاهی و عفونت‌های موضعی سطوح اپی‌تلیالی تا عفونت‌ها عمومی شدید متغیر است (۲۳). هر چند پرندگان به عنوان مخزن عمده آلودگی در گونه *پسیتاسی* مطرح می‌باشند ولی در گاو نیز می‌تواند منجر به پنومونی، پلی آرتریت، تورم جفت منجر به سقط جنین، تورم ملتحمه، انسفالیت و منتژیت، عفونت مجرای گوش و سندرم تورم وزیکال سمینال گردد (۲٤و۲٥و۲٦). آلودگی روده‌ای گاو با گونه پکوروم شایع است ولی انسفالومیلیت تک گیرگاو که به وسیله گونه پکوروم ایجاد می‌شود به طور اتفاقی رخ داده و در نقاط دیگر دنیا نیز از جمله آمریکا، ژاپن و اروپای مرکزی نیز گزارش شده است (۲۷و۲۸). حیوانات مبتلا که معمولا کمتر از سه سال سن دارند تب بالایی داشته و عدم هماهنگی، بی‌حالی، سیلان بزاق و اسهال را نشان می‌دهند. منبع عفونت بیماری عمدتا به صورت تنفسی حضوردارد (۲۹). در نهایت حیوان زمین گیر شده و ممکن است حالت اپیستوتونوس را نشان دهد. دوره بیماری دو هفته بوده و تا ۵۰٪ باعث تلفات درگله می‌گردد. ضایعات همراه با آسیب عروقی در مغز و دیگر اندام‌ها دیده می‌شود (۳۰و۳۱و۳۲). گونه *ابورتوس* (قبلا سویه گوسفندی *پسیتاسی* سروتیپ۱ خوانده می‌شد) نیز هر چند در گوسفند عمدتا باعث سقط انزئوتیک میش‌ها می‌گردد ولی از دیگر حیوانات اهلی مانند گاو و بز نیز گزارش گردیده که غالبا این عفونت‌ها منشا گوسفندی دارد. *کلامیدوفیلا ابورتوس* شایع‌ترین عامل سقط جنین نشخوارکنندگان کوچک در ۳۹٪ گوسفندان و ۲۳٪ بزهای سوئیس شناخته شده است (۳۳). هر چند هیچ واکسنی برای بیماری ساخته نشده و هیچ سیاست کنترلی برای بیماری وجود ندارد ولی دوز بالای آنتی‌بیوتیک‌ها مانند تتراسایکلین و تایلوزین می‌تواند موثر باشد (۳٤و۳٥). مطالعات دیگر در سایر کشورها حاکی از مقادیر بسیار متفاوتی از آلودگی به این جرم است؛ لیکن نکته مهمی که لازم است به آن توجه شود آن است که همه این مطالعات بر وجود *کلامیدیا آبورتوس* به عنوان عامل سقط گاوها در کشورهای خود تأکید کرده‌اند. اختلاف موجود در بررسی‌های فوق می‌تواند به روش آزمایش و شرایط بهداشتی مختلف در محل‌های مختلف تحقیق مرتبط باشد لیکن نکته مهمی که لازم است به آن توجه شود آن است که همه این مطالعات بر وجود *کلامیدیا آبورتوس* به عنوان عامل سقط گاوها در کشورهای خود تأکید کرده‌اند. هم اکنون دامداری‌های سنتی و صنعتی در مقیاس وسیع از اسپرم‌های تولیدی داخل اعم ازاسپرم‌های مرکز اصلاح نژاد دام کشور و یا مراکز مشابه دیگر استفاده می‌کنند و با فرض عدم آلودگی پایوت‌ها اقدام به تلقیح مصنوعی می‌نمایند.

درمراکز اصلاح نژاد و تولید اسپرم داخلی هم اکنون غالبا از روش‌های سرمی برای تشخیص وجود یا عدم وجود آلودگی استفاده می‌شود و در صورتی که صرفا با آزمون سرمی منفی باشد، به پایوت‌ها مجوزاستفاده داده می‌شود. هر چند امکان دارد که نمونه‌های مثبت درآزمون PCR نمونه‌هایی باشند که فعالیت میکروبی در آن‌ها از بین رفته باشد، ولی پر واضح است که صرفا اتکا به آزمون سرولوژی گاو نرآن هم الایزا، با آن همه نتایج مثبت و منفی کاذب نمی‌تواند ملاک مجوز عدم آلودگی در پایوت‌های اسپرم باشد. از آن جا که اصولا روش‌های سرولوژیکی برای جستجوی عوامل عفونی درگاوهای نر نیاز به افزایش عیار پادتنی داشته که چندین روز پس از علائم درمانگاهی به وجود می‌آید، ضمن اینکه در دوره کمون نیز نمی‌توان به جستجوی عامل آلودگی پرداخت به نظر می‌رسد استفاده از روش‌های مولکولی برای غربالگری اسپرم‌های توزیعی ضروری می‌باشد ضمن آن که می‌توان با تهیه کیت‌های براساس mPCR باصرفه‌جویی در وقت هم زمان آلودگی به

چند عفونت را بررسی نمود. در هر شکل با توجه به اینکه علائم درمانگاهی و کالبدگشایی کلامیدیوز برای تشخیص قطعی بیماری کافی نیست و کشت‌های آزمایشگاهی در مورد این باکتری نیز به زمان و شرایط خاص نیاز دارد، لذا استفاده از تست‌های آزمایشگاهی مطمئن و سریع امری ضروری است. روش‌هایی مانند PCR جهت تشخیص کلامیدیا جزو قابل اعتمادترین وسریع‌ترین روش‌های تشخیصی می‌باشد.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمامی نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از تلاش‌های آقای دکتر عباس دوستی رئیس مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاداسلامی واحد شهرکرد کمال تشکر و قدردانی را داشته باشند.

تعارض منافع

وجود ندارد.

References

1. Karlsson A, Alenius S, Björkman C. Persson Y. EnglundS.Investigation of Chlamydiaceae in semen and cauda epididymidis and seroprevalence of Chlamydophila abortus in breeding bulls. ActaVeterinaria Scandinavica .2010; 52(2).1-4.
2. Perumal P, Kumar T, Srivastava S.K.Infectious Causes Of Infertility In Buffalo Bull (Bubalusbubalis). Buffalo Bulletin.2013;32 (2). 71-96.
3. Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N. et al. Global estimates of the prevalence and incidence of four curable sexually transmitted infections in 2012 based on systematic review and global reporting. PLoS One.2015; 10(12). 1-17.
4. Mohammad KH, Rodolakis A.Recent advances in the understanding of Chlamydophila pecorum infections, sixteen years after it was named as the fourth species of the Chlamydiaceae family .Vet. Res.2010; 41(27).1-10.
5. Esmaeili H, Bolourchi M, Mokhber-Dezfouli MR.Seroprevalence of Chlamydia abortus infection in sheep and goats in Iran . IJVM.2015; 9(2).73-77.
6. Deguchi T, Hatazaki K, Ito S, Kondo H, Horie K, Nakane K. et al. Macrolide and fluoroquinolone resistance is uncommon in clinical strains of Chlamydia trachomatis. J. Infect. Chemother. 2018;24, 610–614.
7. Borel N, Thoma R, Spaeni P, Weilenmann R, Teankum K, Brugnera E. Chlamydia-related abortions in cattle from Graubunden, Switzerland. Veterinary pathology. 2006;43(5):702-8.

8. Giannitti F , Anderson M, Miller M, Rowe J, Sverlow K, Vasquez M. CantónG.Chlamydia pecorum: fetal and placental lesions in sporadic caprine abortion. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 2016;28(2). 184 –189.
9. Mahzounieh MR Moloudizargari M Ghasemi Shams Abadi M Baninameh Z Heidari Khoei.H Prevalence Rate and Phylogenetic Analysis of Chlamydia psittaci in Pigeon and House Sparrow Specimens and the Potential Human Infection Risk in Chahrmahal-va-Bakhtiari, Iran.Arch Clinic Infect Dis.2020;15(2)
10. Messmer TO, Skelton SK, Moroney JF, Daugharty H, Fields BS. Application of a nested, multiplex PCR to psittacosis outbreaks. Journal of Clinical Microbiology.1997; 35(8):2043 -2046.
11. Namavari M, Hosseini MH, Mansourian M, Shams Z, Amrabadi O, Tahamtan Y, Moazeni-Jula F. Testing for infective abortive agents in cattle in Iran. Online J Vet Res. 2012;16 (3). 147-153.
12. Borel N, Polkinghorne A, Pospischil A. A review on chlamydial diseases in animals: still a challenge for pathologists? Vet. Pathol. 2018;55. 374–390.
13. Zhou DH, Zhao FR, Xia HY, Xu MJ, Huang SY, Song HQ, Zhu XQ. Seroprevalence of chlamydial infection in dairy cattle in Guangzhou, southern China. Irish Vet J. 2013;66(1). 2.
14. Wilson K, Sammin D, Harmeyer S, Nath M, Livingstone M, Longbottom D. Seroprevalence of chlamydial infection in cattle in Ireland. Vet J. 2012;193: 583–585.
15. Arshi A,Doosti A,Sharifzadeh A. PCR Assay for Detection of Abortion Rate Caused By Chlamydia psittaci in Iranian Cattle. International Conference of Advances in Biotechnology and Pharmaceutical Sciences, (ICABPS), Bangkok Dec.2011
16. Kauffold J, Henning K, Bachmann R, Hotzel H, Melzer F. The prevalence of chlamydiae of bulls from six bull studs in Germany. Animal reproduction science.2007; 102(1).111-21.
17. Wentink G, Frankena K, Bosch J, Vandehoek J, vandenBerg T. Prevention of disease transmission by semen in cattle. Livestock Production Science. 2000;62(3).207-20.
18. Petit T, Spergser J, Aurich J, Rosengarten R.Prevalence of Chlamydiaceae and Mollicutes on the genital mucosa and serological findings in dairy cattle. Veterinary microbiology. 2008;127 (3):325-33.
19. Kemmerling K, Müller U, Mielenz M, Sauerwein H. Chlamydophila species in dairy farms: polymerase chain reaction prevalence, disease association, and risk factors identified in a cross -sectional study in western Germany. Journal of dairy science. 2009;92(9).4347-54.
20. BiesenkampUhe C, Li Y, HansRobert H.R, Sachse K, . Kalten B. Therapeutic chlamydophila abortus and C. pecorum vaccination transiently reduces bovine mastitis associated with chlamydophila infection. Infect & Immunol.2007; 75(2): 870–877.

21. Reinhold P, Sachse K, Kaltenboeck B. Chlamydiaceae in cattle: Commensals, trigger organisms, orpathogens?.Vet J . 2010.1-11

22. Taylor-Brown A, Polkinghorne A. New and emerging chlamydial infections of creatures great and small. New Microbes New Infect.2017; 18. 28–33.

23. Li J, Guo W, Kaltenboeck B, Sachse K, Yang Y, Lu G. et al. Chlamydia pecorum is the endemic intestinal species in cattle while C. gallinacea, C. psittaci and C. pneumoniae associate with sporadic systemic infection. Vet. Microbiol.2016; 193. 93–99.

24. Chu J, Zhang Q, Zuo Z, El-Ashram S, Guo Y, Zhao P. et al. Co-infection of Chlamydia psittaci with H9N2, ORT and Aspergillus fumigatus contributes to severe pneumonia and high mortality in SPF chickens. Sci. Rep.2017; 7(1)3-10.

25. Evelyn W, E. Moore C, Shearer P, Jelocnik M, Bommana S, Timms P. PolkinghorneA.Clinical, diagnostic and pathologic features of presumptive cases of Chlamydia pecorum -associated arthritis in Australian sheep flocks. BMC Veterinary Research .2016; 12:193.1-9.

26. Hogerwerf L, Degier B, Ban B, VanderHoek W. Chlamydia psittaci (psittacosis) as a cause of community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. Epidemiol. Infect.2017; 145. 3096–3105.

27. Bommana S, Walker E, Desclozeaux M, Jelocnik M, Timms P, Polkinghorne A. et al. Molecular and serological dynamics of Chlamydia pecorum infection in a longitudinal study of prime lamb production. PeerJ.2018; 6.2-15.

28. Burnard D, Huston W M, Webb JK, Jelocnik M, Reiss A, Gillett A. et al. Molecular evidence of Chlamydia pecorum and arthropod-associated Chlamydiae in an expanded range of marsupials. Sci. Rep.2017; 7:12844.

29. Bonner C, Byrne G, Jensen R. Chlamydia exploit the mammalian tryptophan-depletion defense strategy as a counter-defensive cue to trigger a survival state of persistence. Front. Cell. Infect. Microbiol.2014; 4:17.

30. Walker E, Jelocnik M, Bommana, S, Timms P, Carver S, Polkinghorne A. Understanding the health and production impacts of endemic Chlamydia pecorum infections in lambs. Vet. Microbiol.2018; 217. 90–96.

31. Walker E, Lee E,Timms P, Polkinghorne A.Chlamydia pecorum infections in sheep and cattle: A common and under-recognised infectious disease with significant impact on animal health. Vet J.2015; 206(3).252-260.

32. Walker E, Moore C, Shearer P, Jelocnik M, Bommana S, Timms P. et al. Clinical, diagnostic and pathologic features of presumptive cases of Chlamydia pecorum-associated arthritis in Australian sheep flocks. BMC Vet. Res.2016; 12:193.

33. Gerber A, Thoma R,Vretou E, Psarrou E, Kaiser C, Doherr M.G. et al. Ovine Enzootic Abortion (OEA): a comparison of antibody responses in vaccinated and naturally- infected Swiss sheep over a two year period. BMC Veterinary Research.2007; 3- 24.

34. Bommana S, Polkinghorne A.Mini Review: Antimicrobial Control of Chlamydial Infections in Animals: Current Practices and Issues . Frontiers in Microbiology.2019;10.113.1-9.

35. Jelocnik M, Forshaw D, Cotter J, Roberts D, Timms P, Polkinghorne A. Molecular and pathological insights into Chlamydia pecorum-associated sporadic bovine encephalomyelitis (SBE) in Western Australia. BMC Vet. Res.2014; 10.121.