DOI: 10.22055/IVJ.2021.254952.2319
DOR: 20.1001.1.17356873.1402.19.2.7.4

بررسی مولکولی آلودگی به *تری-تریکوموناس فتوس* در گربه‌های شهرستان اهواز

حسین حمیدی‌نجات[1*]، آتوسا حمد باغستانی[2]، سارا لرکی[4] و بهمن مصلی‌نژاد[3]

[1] استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[2] دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[3] استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[4] استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۸/۱۵ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۱۹

چکیده

تریکومونیازیس در گربه‌ها توسط انگل اجباری *تری‌تریکوموناس فتوس* ایجاد می‌گردد. این تک یاخته سبب التهاب رودهٔ بزرگ، اسهال آبکی و گاهی نیمه‌شل و خونی، نفخ، زورپیچ و بی‌اختیاری در دفع مدفوع گربه‌های مبتلا می‌شود. هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی آلودگی گربه‌های خانگی شهرستان اهواز به این انگل از طریق روش گسترش مستقیم و کشت در محیط دورسه و روش مولکولی PCR بوده است. بدین منظور از ۱۰۰ قلاده گربهٔ خانگی مورد مطالعه، نمونه‌گیری از مدفوع به‌طور روزانه انجام گرفت و سن و جنسیت حیوانات ثبت گردید. نمونه‌گیری از مدفوع گربه‌ها با استفاده از سوآپ به‌صورت مستقیم انجام شد و لام مرطوب تهیه گردید. از لام‌های تهیه شده یک درصد آلوده به انگل *تری‌تریکوموناس فتوس* بودند. کشت در محیط کشت دورسه جهت بازیابی و تکثیر انگل صورت گرفت و پس از استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج از مدفوع، PCR اولیه و سپس ثانویه بر روی نمونه‌ها انجام گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان داد که ۱۸ درصد (۱۸ از ۱۰۰) از گربه‌ها به انگل *تری‌تریکوموناس* آلوده بودند. بیشترین میزان آلودگی در گربه‌های اسهالی و دارای سابقه اسهال به میزان ۸۳/۳ درصد (۱۵ از ۱۸) بود و بعد از آن گربه‌های دارای سابقه اسهال ۶۶/۶۶ درصد (۸ از ۱۲) بود. همچنین میزان آلودگی در گربه‌های زیر یک سال ۱۴ درصد (۱۴ از ۱۰۰) بود که به‌صورت معنی‌داری بیشتر از گربه‌های با سن بالای یک سال، ۴ درصد (۴ از ۱۰۰)، بود. لازم به ذکر است که جنس گربه‌ها در میزان آلودگی نقشی نداشت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که درصد قابل توجهی از گربه‌های خانگی شهرستان اهواز در معرض آلودگی به این انگل قرار داشتند.

کلمات کلیدی: *تری‌تریکوموناس فتوس*، محیط کشت، تریکومونیازیس، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)، گربه

مقدمه

تری‌تریکوموناس فتوس[1] عامل ایجاد تریکومونیازیس، بیماری مقاربتی گاوان در بسیاری از نقاط دنیا به‌خصوص در اروپا و آمریکای شمالی است. میزبانان طبیعی این انگل، گاوهای نژاد *بوس تاروس*[2] و *بوس ایندیکوس*[3] می‌باشند.

*نویسنده مسئول: حسین حمیدی‌نجات، استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
E-mail: hsa.hamidinejat@gmail.com

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

1 *Tritrichomonas foetus*
2 *Bos taurus*
3 *Bos indicus*

تری‌تریکوموناس فتوس در چرخهٔ زندگی خود تنها به شکل تروفوزوئیت مشاهده می‌شود و به‌هیچ‌وجه اشکال کیستی تولید نمی‌کند. تقسیم آن به‌شکل دوتایی ساده، ابتدا در امتداد محور طولی و سپس عرضی است. انگل عمدتاً در دستگاه تناسلی گاوهای نر و ماده دیده می‌شود. در گاوهای نر، انگل در محوطهٔ غلاف قضیب و گاهی در سوراخ مجرای ادراری، بیضه، اپیدیدیم و وزیکول سمینال مستقر می‌گردد که بیشترین تراکم را در مخاط آلت تناسلی گاو نر، نزدیک ناحیهٔ خلفی غلاف قضیب دارد (Xenoulis et al, 2013). در گاوهای ماده، رحم مهمترین محل عفونت است و آلودگی این اندام، متعاقب آلودگی واژن صورت می‌گیرد. بسیاری از مطالعات نشان داده است که محل ترجیحی *تری‌تریکوموناس فتوس*، در گاو ماده، گردن رحم می‌باشد (Pereira-Neves and Ribeiro, 2003). هرچند این تک‌یاخته از انگل‌های آلوده‌کنندهٔ دستگاه تناسلی گاو محسوب می‌شود، اما در سال‌های اخیر گزارشاتی از آلودگی به *تری‌تریکوموناس فتوس* به‌عنوان عامل تریکومونیازیس گوارشی در گربه‌ها در نقاط مختلف جهان دیده شده است که موجب اسهال‌های مزمن در گربه‌های آلوده می‌شود (Yao and Coster, 2015). همچنین *تری‌تریکوموناس فتوس* در گربه‌های فاقد نشانه‌های بالینی نیز به میزان کمتری گزارش گردیده است (Gruffydd-Jones et al, 2013). تا کنون آلودگی گاوان به‌عنوان منبع عفونت برای گربه‌ها به اثبات نرسیده است، زیرا در بسیاری از نقاط دنیا علی‌رغم ریشه‌کن‌شدن بیماری در گاوان، آلودگی بالا در گربه‌ها وجود داشته است. در برخی گزارشات، حتی تفاوت اندک میان سویه‌های گاوی و گربه‌ای را مطرح کرده‌اند، هر چند به‌نظر نمی‌رسد تفاوت سویه‌ای بین این دو میزبان مطرح باشد (Slapta et al, 2013). هر چند برخی گزارشات از احتمال دخالت عوامل عفونی دیگر نظیر ویروس نقص ایمنی گربه‌ها[1] و یا ویروس لوسمی گربه‌ها[2] در بیماری‌زایی این تک یاخته در گربه‌ها را بیان کرده‌اند (Hora et al, 2017).

تریکومونیازیس در گربه‌ها با اسهال مزمن که از چند هفته تا چندین ماه تداوم دارد، مشخص می‌گردد. محل استقرار این تک‌یاخته در گربه‌ها محدود به سکوم و ایلئوم و کولون است. علائم بالینی تریکومونیازیس در گربه‌ها از عفونت محدود و بدون علائم اسهال (Hora et al, 2017) تا التهاب شدید روده، اسهال آبکی و گاهی نیمه‌شل و خونی (خون تازه و مخاط)، نفخ، زورپیچ و دهیدراتاسیون متغیر است. در مواردی که اسهال شدید باشد ممکن است انسداد روده ایجاد شود و سبب بی‌اختیاری در دفع مدفوع گردد. علائم بیماری متناوب است و اغلب با داروهای ضد میکروبی و اخیرا مترونیدازول (Gookin et al, 2004) برطرف می‌شود (Filho et al, 2018). جهت درمان مؤثر انگل نیاز به شناسایی دقیق عامل عفونت‌زا در حداقل زمان ممکن است. روش معمول در شناسایی انگل استفاده از آزمایش‌های میکروسکوپی و تهیهٔ گسترش ساده مدفوع است. از آن‌جا که تشخیص انگل بستگی به زنده بودن تک-یاخته دارد، نمونه‌های مدفوع باید تازه و ترجیحاً اسهالی بوده و به‌سرعت بررسی شوند (Gookin et al, 2001). علاوه بر این، شناسایی نمونه‌های مثبت انگل بسیار مشکل می‌باشد و *تری‌تریکوموناس فتوس* را با اطمینان نمی‌توان از سایر تریکومونادهای روده‌ای نظیر *پنتاتریکوموناس هومینیس*، صرفاً بر اساس میکروسکوپ نوری یا کشت انتخابی مدفوع تشخیص داد (Gookin et al, 2002). همچنین با استفاده از روش‌های میکروسکوپی و کشت مدفوع احتمال یافتن انگل بسیار کم است و برای همهٔ انواع نمونه‌های مدفوعی به‌خصوص درصورت تازه نبودن مدفوع قابل استفاده نمی‌باشد. بر این اساس، مطالعات بسیاری جهت شناسایی دقیق انگل و استفاده از روش‌هایی با حساسیت و ویژگی بالا به‌کار برده شده که از آن جمله می‌توان به روش کشت انگل در محیط خارج تنی و نیز

1 Feline immunodeficiency virus (FIV)
2 Feline leukemia virus (FeLV)

مطالعات ملکولی اشاره کرد (Mening, 2010; Walker et al, 2003). مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که ژن‌های RNA ریبوزومی انتخاب مناسبی جهت تکثیر تک‌یاخته *تری‌تریکوموناس فتوس* توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[1] (PCR) می‌باشد (Chakrabarti et al, 1992; Chen and Li, 2001; Felleisen et al, 1998; Felleisen, 1997; Parker et al, 2001). در ژنوم *تری‌تریکوموناس فتوس* دوازده نسخهٔ ژنی RNA ریبوزومی وجود دارد (Chakrabarti et al, 1992). Felleisen و همکاران در سال ۱۹۹۸ به بررسی و مقایسهٔ توالی ژنومی 5.8S rRNA، ITS1 و ITS2 جدایه‌های مجزای *تری‌تریکوموناس فتوس* از تریکومونادهای مختلف در نواحی مختلف جغرافیایی پرداختند. نتایج این مطالعه و سایر مطالعات نشان داد که توالی ژنی RNA ریبوزومی در جدایه‌های *تری‌تریکوموناس فتوس* بسیار محافظت‌شده می‌باشد و به‌طور قابل اطمینانی این تک‌یاخته را از سایر تریکومونادهای مرتبط، نظیر *تریکوموناس واژینالیس*، *تریکوموناس گالینه*، *تریکوموناس گالیناروم*، *تریکوموناس تناکس* و *پنتاتریکوموناس هومینیس* متمایز می‌کند (Delgado-Viscogliosi et al, 2000; Felleisen, 1997). تا کنون و بر اساس بررسی‌های صورت گرفته در منابع، مطالعه‌ای در این خصوص در ایران صورت نگرفته است، لذا هدف از بررسی حاضر بررسی فراوانی آلودگی به *تری‌تریکوموناس فتوس* در گربه‌های خانگی شهرستان اهواز به روش مولکولی و کشت خارج تنی با توجه به پراکنش جهانی آن می‌باشد.

مواد و روش کار

مطالعهٔ حاضر بر روی ۱۰۰ قلاده گربه خانگی ارجاعی به بیمارستان دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز و در فاصله زمانی آذرماه سال ۱۳۹۶ لغایت اسفندماه سال ۱۳۹۷ صورت گرفت که از این تعداد گربه ۴۹ قلاده ماده و ۵۱ قلاده نر بودند. گربه‌ها در فاصلهٔ سنی دو ماه تا ۳ سال و ۶ ماهه انتخاب شدند، که تعداد ۱۴ قلاده از آن‌ها دارای اسهال و ۱۲ قلاده دارای سابقه اسهال در تاریخچهٔ خود بودند.

از ۱۰۰ نمونه گربهٔ خانگی مورد مطالعه، پس از معاینه بالینی، تاریخچه وجود و یا عدم وجود اسهال و مشخصات حیوان، شامل سن و جنسیت آن‌ها، نمونه‌گیری از مدفوع به عمل آمد. نمونه‌گیری به‌کمک سوآپ از رکتوم هر گربه تهیه شد. نمونه‌ها در دمای ۳۷-۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد در ظرف حاوی نمونه مدفوع مناسب به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل شدند. ابتدا با استفاده از یک اپلیکاتور، مقداری مدفوع جهت انجام آزمایش مستقیم روی لام گذاشته شد و با آب شهری مخلوط گردید. پیش از اینکه انگل از حرکت بازایستد، لام تهیه شده به‌کمک میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰× مورد بررسی و مشاهده قرار گرفت. نکتهٔ مهم در آزمایش مستقیم (گسترش مرطوب) این است که انگل باید در مدت‌زمان ۲۰-۱۰دقیقه مورد بررسی قرار گیرد، بنابراین در همان چند دقیقهٔ ابتدایی، نمونه‌ها بررسی شدند. مابقی مدفوع در ظرف مخصوص و جهت انجام آزمایش‌های مولکولی در فریزر ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری گردید.

جهت کشت انگل از نمونه‌های مورد مطالعه یک سوآپ درون مقعد حیوان فروبرده شد و سپس نمونه در ظرف حاوی محیط کشت دورسه[2] وارد گردید و در انکوباتور ۳۷ درجه، به‌مدت ۵ روز قرار گرفت. محیط‌های کشت، پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از نظر وجود تروفوزوئیت‌های فعال انگل در زیر میکروسکوپ مورد بررسی و آزمایش قرار گرفتند. محیطی که پس از ۷۲ ساعت فاقد *تریکوموناس* باشد از نظر آلودگی به انگل منفی تلقی میشد، هر چند جهت اطمینان بیشتر، محیط‌های عاری از انگل مدت‌زمان بیشتری در انکوباتور نگهداری گردیدند. جهت ساخت محیط کشت دورسه پس از تهیهٔ تعدادی تخم مرغ و

1 Polymerase Chain Reaction
2 Dorset egg medium

شستشو و ضدعفونی آن‌ها، قطعه‌ای از پوسته تخم مرغ برداشته و محتویات آن‌ها در یک ارلن بزرگتر قرار داده می‌شد. به‌میزان یک‌دهم وزن محتویات تخم مرغ‌ها آب مقطر استریل افزوده شد و سپس توسط پیپت پاستور تا به‌دست آمدن مایع همگن (بدون کف کردن) کاملاً مخلوط گردید. محیط حاصل در شرایط استریل به‌میزان ۲-۳ میلی-لیتر در لوله‌های آزمایش استریل درپیچ‌دار ریخته شد و پس از آن به‌صورت نیمه افقی در دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد بن‌ماری به مدت ۳۰ دقیقه قرارداده شد تا منعقد گردد. این فاز جامد محیط کشت دورسه به‌مدت ۲-۱ ماه قابل نگهداری در یخچال بود. جهت تهیهٔ فاز مایع محیط کشت در شرایط استریل، به هر لولهٔ کشت فاز جامد، ۲-۳ میلی-لیتر محلول رینگر همراه با ۲-۱ قطره آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین (۱۰۰IU/ml) و استرپتومایسین (۱۰۰mg/kg) و به‌میزان w/v ۱ درصد نشاسته افزوده شد، به‌نحوی‌که سطح فاز جامد محیط کشت را کاملاً دربرگرفت. لازم به ذکر است که فاز مایع محیط در هنگام نمونه‌گیری به محیط کشت جامد دورسه اضافه گردید. این محیط دوفازی به‌مدت یک هفته در دمای یخچال قابل نگهداری بود.

استخراج DNA از همهٔ نمونه‌های مدفوع جمع‌آوری شده با استفاده از کیت استخراج DNA از مدفوع (Favorgen Biotech corporation ping-Tung, Taiwan) با توجه به دستورالعمل موجود در کیت انجام گرفت. در نهایت، پس از پایان انکوباسیون، پلیت‌های نامحلول باقی‌مانده در دیواره‌های میکروتیوب با سانتریفوژ رسوب داده شد و مایع رویی به‌عنوان مایع حاوی DNA مستقیماً در واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور شناسایی حضور انگل در نمونه‌های تحت کشت و پس از جداسازی DNA، از روش Nested-PCR با استفاده از دو جفت پرایمر که محصولی به‌اندازهٔ تقریبی ۳۵۰bp و ۲۴۰bp ایجاد می‌کنند، استفاده گردید. ابتدا نمونه‌ها با جفت پرایمر TFR3 و TFR4 تکثیر شدند و در مرحلهٔ بعد، نمونه‌هایی که با روش PCR اولیه مثبت شده بودند با جفت پرایمر TFITS-F و TFITS-R تأیید گردیدند. جهت کنترل مثبت، از DNA *تریکوموناس گالینه* با تکثیر توسط پرایمرهای اختصاصی این گونه (Frey et al, 2009) و برای کنترل منفی به‌جای DNA از آب مقطر استفاده شد. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر، حاوی ۱۲/۵ میکرولیتر از مخلوط واکنش آماده PCR (Polymerase 2x master mix ReD) دارای ۱/۵ میکرومول کلرید منیزیوم، ۴۰۰ میکرومول مخلوط dNTP و ۱ واحد (۰/۲ میکرولیتر) آنزیم Taq DNA polymerase به‌علاوه ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای اولیه TFR3 و TFR4 با غلظت ۱۰ میکرومول و ۴ میکرولیتر از DNA استخراج شده (۱ نانوگرم) به‌همراه ۶/۵ میکرولیتر آب مقطر انجام گرفت. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Eppendor, Germany) شامل ۴۰ چرخه، ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۶۴/۵ درجه به‌مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه به‌مدت ۶۰ ثانیه انجام پذیرفت. محصول PCR به‌دست آمده با استفاده از الکتروفورز و بر روی ژل آگاروز مورد بررسی قرار گرفت.

از قطعات تکثیرشده در آزمایش PCR اولیه به عنوان DNA الگو در آزمایش PCR ثانویه استفاده گردید. واکنش PCR ثانویه در حجم ۲۵ میکرولیتر از مخلوط واکنش آماده PCR دارای ۱/۵ میکرومول کلرید منیزیوم، ۴۰۰ میکرومول مخلوط dNTP و ۱ واحد (۰/۲ میکرولیتر) آنزیم Taq DNA polymerase به‌علاوه، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای ثانویه TFITS-f و TFITS-R با غلظت ۱۰ میکرومول، ۴ میکرولیتر از DNA استخراج شده و ۶/۵ میکرولیتر آب مقطر انجام گرفت. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Eppendor, Germany) شامل ۴۰ چرخه، ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۶۰ ثانیه انجام پذیرفت.

پرایمرهای پیش‌ران و پس‌ران عبارت بودند از (Gookin et al, 2002):

TFR3 5'-CGGGTCTTCTATGAGACAGAACC-3'
TFR4 5'-CCTGCCGTTGGAGTTTCGTTAA-3'
TFITS-f 5'-CCTGCCGTTGGATCAGTTTCG-3'
TFITS-R 5'-GCAATGTGCATTCAAAGATCG-3'

در پایان هر یک از مراحل فوق، محصولات PCR به دست آمده، با استفاده از الکتروفورز مورد ارزیابی قرار گرفتند. پس از آماده‌شدن تانک الکتروفورز، ۵ میکرولیتر از محصول PCR با ۱ میکرولیتر بافر بارگذاری مخلوط و درون چاهک‌ها ریخته شد. جهت اطمینان از صحت طول قطعهٔ تکثیریافته، از نشان‌گر ۱۰۰ جفت بازی استفاده گردید. پس از پایان الکتروفورز و قرار دادن ژل در دستگاه ترانس-ایلومیناتور، با تابش نور فرابنفش به ژل، باند DNA از نظر صحت، بررسی گردید.

جهت ارزیابی داده‌ها و مقایسه بین گروه‌های مختلف، آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۱۸ صورت پذیرفت. میانگین صفات مورد مطالعه با استفاده از آزمون مربع کای با مقدار استاندارد مقایسه شد. مقادیرP<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

نتایج

در این مطالعه، جهت ارزیابی آلودگی به *تری-تریکوموناس فتوس*، تعداد ۱۰۰ قلاده گربه خانگی با استفاده از دو روش کشت در محیط دورسه به‌دنبال گسترش مستقیم و PCR مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تنها در یک نمونهٔ مدفوع، تروفوزئیت *تری‌تریکوموناس فتوس* در محیط کشت دورسه مشاهده گردید (Figure 1). تروفوزوئیت *تری‌تریکوموناس فتوس* عمدتاً گلابی‌شکل و گاهی به‌شکل کشیده در زیر میکروسکوپ مشاهده گردید، در کشت‌هایی که ۴۸ یا ۷۲ ساعت پس از کشت اولیه مشاهده شدند، تروفوزوئیت‌ها عمدتاً به‌شکل کروی بودند. در موارد مشخص، غشای مواج در سراسر طول بدن تک-یاخته گسترش یافته و به بخش آزاد تاژک خلفی منتهی میشد. تعداد تاژک‌های قدامی در تروفوزوئیت‌های نمونهٔ مثبت کشت ثابت و به‌صورت ۳ تاژک قدامی و یک تاژک خلفی بود. اندام پلتا در بخش قدامی تروفوزوئیت در نقطهٔ شروع تاژک‌های قدامی، پارابازال‌بادی بر روی هسته وبه شکل کشیده، کوستا به‌صورت یک رشتل باریک در زیر غشای مواج و آگزواستیل در تمام طول خود مشخص و واضح، به‌شکل استوانه‌ای در ابتدای بدنه خود قطور و در ادامه تا حدی مخروطی‌شکل، مشاهده گردید. همچنین، هسته در بخش قدامی بدن به‌شکل بیضی تا کشیده و به-صورت پشتی بر روی آگزواستیل قرار داشت.

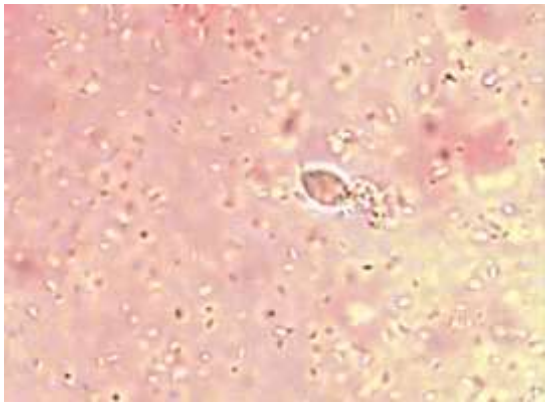

Figure 1: *Tritrichomonas foetus* **in Dorset's egg medium (× 400)**

در آزمایش Nested-PCR حضور ۱۸ مورد آلودگی به انگل در نمونه‌های مدفوع تأیید شد (Figure 2). در ۱۶/۳۲ درصد از گربه‌های ماده (۸ از ۴۹ قلاده) و ۱۹/۶ درصد از گربه‌های نر (۱۰ از ۵۱ قلاده) آلودگی به انگل مورد تشخیص قرار گرفت. هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در میزان آلودگی جنس نر و ماده گربه‌های مورد مطالعه مشاهده نگردید (P>۰/۰۵)، اما شانس ابتلا در گربه‌های نر با شانس ابتلا ۱/۰۳ بیشتر از گربه‌های ماده بود.

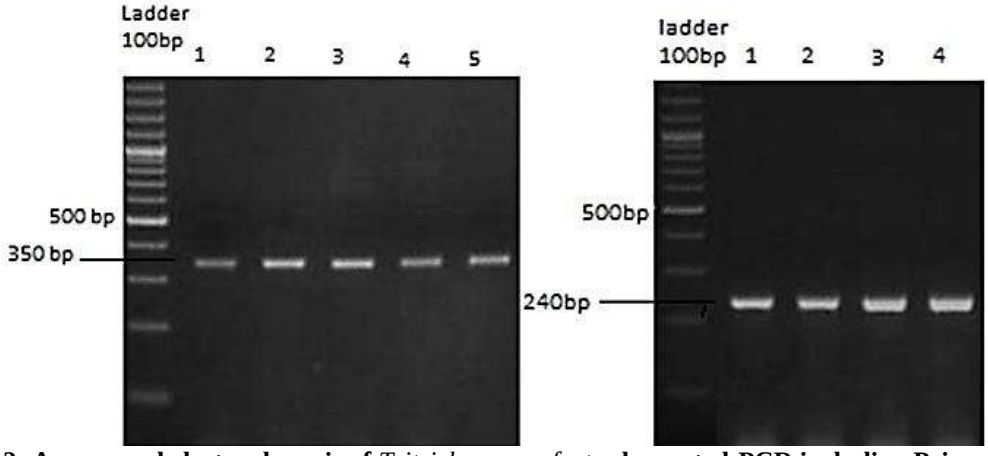

Figure 2: Agarose gel electrophoresis of *Tritrichomonas foetus* by nested-PCR including Primary PCR (left) and secondary PCR (right). Positive samples (1, 2, 3, 4) and positive control (number 5).

انگل *تری‌تریکوموناس فتوس* در ۵۰ درصد از موارد اسهالی (۷ از ۱۴ قلاده) و ۶۶/۶۶ درصد از موارد دارای سابقهٔ اسهال (۸ از ۱۲ قلاده) مشاهده گردید. از نظر آماری میان گربه‌های آلودهٔ با سابقه اسهال و گربه‌های غیر آلودهٔ با سابقه اسهال اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (P>۰/۰۵)، درحالی‌که مقایسهٔ آماری میان گربه‌های اسهالی با سابقهٔ قبلی اسهال و گربه‌های غیر آلودهٔ اسهالی با سابقهٔ قبلی اسهال، اختلاف معنی‌داری دیده شد (P<۰/۰۵) که بر این اساس، شانس ابتلا ۳۳/۳۱ درصد محاسبه گردید. ۱۴ درصد (۱۴ از ۱۰۰ قلاده) از گربه‌های زیر یک سال و ۴ درصد (۴ از ۱۰۰ قلاده) از گربه‌های در محدوده سنی ۲-۱ سال آلودگی به این انگل را نشان دادند. هیچ‌گونه آلودگی به انگل در گربه‌های بالای ۲ سال مشاهده نگردید. از نظر آماری، میان میزان آلودگی در گربه‌های زیر یک سال و در محدودهٔ ۲-۱ سال اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵). شانس ابتلا در گربه‌های زیر یک سال به‌میزان ۱۶/۴۷ بیشتر از گربه‌های در محدوده سنی ۲-۱ سال بود.

بحث

تری‌تریکوموناس فتوس یک تک‌یاختهٔ تریکومونادی است که به‌خاطر تنوع در انتخاب محل استقرارش در میزبان‌های مختلف بسیار فریبنده عمل می‌کند (Yao and Coster, 2015). این تک‌یاخته، انگل اجباری دستگاه تناسلی گاوان و گوارش گربه‌ها و مسبب تریکومونیازیس این حیوانات است. تریکومونیازیس گاو بیماری مقاربتی تک‌گیر است درحالی‌که تریکومونیازیس گربه یک بیماری با الگوی آلودگی دهانی- مدفوعی با انتشار وسیع می‌باشد. علاوه بر این، تریکومونادهای انگلی در فلور طبیعی مجاری بینی، معده، سکوم و قولون خوک وجود دارند. از اواخر دههٔ ۱۹۹۰ و اوایل دههٔ ۲۰۰۰ که *تری‌تریکوموناس فتوس* به عنوان عامل بالقوه ایجادکنندهٔ اسهال مزمن در گربه‌های اهلی شناخته شد، پیشرفت‌های بسیاری در درک بیولوژی تریکومونادها و به‌خصوص تریکومونیازیس گربه‌ها صورت پذیرفت (Yao and Coster, 2015). در سال‌های اخیر، گزارش‌های زیادی مبنی بر وجود آلودگی در گربه‌ها در سراسر جهان با شیوع ۵۹-۲ درصد صورت گرفته است (Gookin et al, 2017). این انگل در ۲۳/۶ درصد از گربه‌های بررسی شده در کانادا مشاهده گردیده است (Hosein et al, 2013). در ایالات متحده، شیوع آلودگی به این تک‌یاخته تا ۳۸ درصد گزارش می‌شود (Polak et al, 2014). به‌طور کلی، این تک‌یاخته در جمعیت گربه‌های آسیایی با فراوانی کمتر (۸/۸ درصد) در کشورهای ژاپن و ترکیه شناسایی شده است (Doi et al, 2012; Yildiz and Sursa, 2019). مطالعهٔ حاضر، اولین بررسی فراوانی *تری-تریکوموناس فتوس* در گربه‌ها در ایران است، که به روش

کشت انگل و بررسی مولکولی عامل ایجادکننده تریکومونیازیس در گربه‌های شهرستان اهواز می‌پردازد.

نتایج حاصل از کشت مدفوع در گربه‌های تحت مطالعه، تنها ۱ درصد آلودگی به این انگل را نشان داد، درحالی‌که آزمایش‌های مولکولی مدفوع، آلودگی در ۱۸ درصد از گربه‌های مورد مطالعه را تأیید کرد. در مطالعات مختلف بررسی میزان حساسیت PCR، حداقل میزان DNA *تری‌تریکوموناس فتوس* جهت شناسایی با پرایمرهای مورد مطالعه را به‌میزان ۰/۰۳ پیکوگرم بیان کرده‌اند (Felleisen et al, 1998). همچنین یافته‌های مطالعهٔ Gookin و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان داد که این روش برای ۱۰ ارگانیسم در هر ۲۰۰ میلی‌گرم مدفوع، در ۹۰ درصد مواقع و برای ۱۰۰ ارگانیسم در هر همین مقدار مدفوع، در ۱۰۰ درصد مواقع قابلیت تشخیص دارد. در مطالعهٔ حاضر نتایج حاصل از میزان آلودگی در محیط کشت دورسه به مراتب پایین‌تر از نتایج به‌دست آمده در روش مولکولی بود. از آنجایی‌که در مطالعات دیگر از محیط کشت دیاموندز استفاده گردید، در این بررسی به علت عدم رشد نمونه‌های مثبت در محیط کشت دیاموندز، علی‌رغم تهیه این محیط از یک برند معتبر، از محیط ارزان‌قیمت دورسه استفاده شد. در بسیاری از مطالعات انجام گرفته به استفاده از محیط کشت‌های دیاموندز[1] محیط کشت اختصاصی اینپاچ[2] و دورسه برای تشخیص جنس *تریکوموناس* توصیه شده است (Slapeta et al, 2013; Gookin et al, 2004). هرچند محیط کشت دورسه برای کشت *تری‌تریکوموناس واژینالیس* مناسب است، اما مطالعهٔ حاضر نشان می‌دهد که این محیط کشت برای بررسی *تری‌تریکوموناس فتوس* مناسب نیست. احتمال دیگر این است که شدت آلودگی در گربه‌های تحت مطالعه پایین بوده به‌نحوی‌که تنها در روش‌های مولکولی DNA تروفوزوئیت‌ها قابل تشخیص بود. در بررسی مدفوع گربه‌های درگیر اسهال با روش‌های کشت مدفوع آلوده به *تری‌تریکوموناس فتوس* در محیط دیاموندز و PCR توسط Foster و همکاران در سال ۲۰۰۴ مشاهده شد که کشت مدفوع قادر به شناسایی ۱×۱۰^{۴} ارگانیسم در هر گرم مدفوع است. آن‌ها مشاهده کردند که تعدادی از نمونه‌های اخذ شده علی‌رغم نتیجهٔ منفی در کشت، در آزمایش PCR نتایج مثبت نشان دادند و علت عدم رشد در محیط کشت را با تعداد کم ارگانیسم‌های موجود در مدفوع مرتبط دانستند (Foster et al, 2004). تکنیک PCR حساسیت بالایی در شناسایی کمتر از ۵۰۰ ارگانیسم در هر گرم مدفوع را دارد (Gookin et al, 2002). برای ارزیابی دقیق آلودگی به *تری‌تریکوموناس فتوس* در هر نمونه مدفوع، ۱ تا ۵ واکنش PCR نیاز است تا rDNA انگل را به‌میزان کافی تکثیر کند (Foster et al, 2004). مطالعات مولکولی فراوانی جهت تشخیص این انگل در مدفوع گربه‌ها در کشورهای مختلف صورت گرفته است (Profizi et al, 2013; Kuehner et al, 2011; Frey et al, 2009; Tysnes et al, 2011; Dabrowska et al, 2020) که بیان کرده‌اند روش مولکولی Single-Tube Nested PCR حساس‌ترین و اختصاصی‌ترین روش جهت تشخیص *تری‌تریکوموناس فتوس* است. مطالعات Foster و همکاران در سال ۲۰۰۴ با روش PCR و کشت در محیط دیاموندز اصلاح‌شده نشان داد که از ۲۶ گربهٔ اسهالی ۱۶ گربه با روش کشت آلودگی به *تری‌تریکوموناس فتوس* و ۲۲ گربه در آزمایش مولکولی PCR لانه‌ای آلودگی را نشان دادند. همچنین این آلودگی تا ۳۹ ماه پس از برطرف شدن علائم اسهال در گربه‌ها نیز گزارش گردید. تداوم عفونت در گربه‌های بدون نشانهٔ بالینی، ممکن است مربوط به تعداد پایین ارگانیسم‌های انگلی و یا فاکتورهای ناشناختهٔ دیگر، نظیر عوامل ژنتیکی میزبان و انگل باشد.

فراوانی آلودگی در گربه‌های ایرانی با برخی مطالعات انجام گرفته در فرانسه (۱۴/۳ درصد) (Profizi et al, 2013)، آلمان (۱۵/۷ درصد) (Kuehner et al, 2011)، سوئیس (۲۴/۴ درصد) (Frey et al, 2009)، نروژ (۲۱

1 Diamond Medium
2 InPouch TV culture system

درصد) (Tysnes et al, 2011) و هلند (۲۰/۵۱ درصد) (Dabrowska et al, 2020) قابل مقایسه می‌باشد. در بررسی حاضر از محیط کشت دورسه استفاده گردید. Gookin و همکاران در سال ۲۰۰۴ بیان کردند که یافته‌های این مطالعه ارتباط بین بروز بیشتر آلودگی به انگل *تری‌تریکوموناس فتوس* در میان گربه‌های جوانتر (کمتر از یک سال) را نشان می‌دهد که با مطالعات انجام گرفته در اسپانیا (Miró et al, 2011)، انگلستان (Gunn-Moore et al, 2007)، یونان (Xenoulis et al, 2010) و چین (Yang et al, 2012) هم-خوانی دارد، هرچند این ارتباط همیشگی نیست. به‌نحوی-که در مطالعهٔ انجام‌گرفته در ایتالیا، بیشترین میزان ابتلا به انگل (۳۲ درصد) در حیوانات بیش از ۱۸ ماه (Holliday et al, 2009) و همچنین در گربه‌های آزمایش شده در نروژ با میانگین سنی ۲۹/۹ ماه دیده شد (Tysnes et al, 2011). علت این تفاوت می‌تواند به‌دلیل کافی نبودن تعداد نمونه‌ها در گروه‌های سنی مختلف و یا کیفیت تغذیه و ایمنی گربه-های مورد مطالعه باشد. به‌نظر می‌رسد که با افزایش سن، محافظت ایمنی در بدن گربه‌ها ایجاد می‌گردد. لازم به ذکر است گربه‌های مطالعهٔ حاضر همگی خانگی بوده و عمدتاً تحت نظارت صاحبان خود از غذای تجاری و پخته‌شده به‌دور از آلودگی تغذیه می‌کردند. Lucio-Forster و Bowman در سال ۲۰۱۱ در مطالعات خود بیان کردند که آلودگی به *تری‌تریکوموناس فتوس* در گربه‌های ولگرد بیشتر از گربه‌های خانگی است. در مطالعهٔ حاضر تنها جمعیت گربه‌های خانگی مورد مطالعه قرار گرفت که با توجه به تماس نزدیک با صاحبانشان اهمیت تحقیق در این دسته از گربه‌ها را مضاعف می‌سازد.

همچنین *تری‌تریکوموناس فتوس* عمدتاً (۸۳/۳ درصد) در مدفوع حیوانات اسهالی و دارای سابقهٔ اسهال مورد تشخیص قرار گرفت و به‌شکل معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود. این امر در مقایسه با سایر مطالعات انجام شده تعجب‌آور نیست، در مطالعات Bell و همکاران (۲۰۱۰) و Gookin و همکاران (۲۰۰۴) میزان حضور انگل در نمونه-های اسهالی به‌ترتیب ۷۷ درصد و ۷۰ درصد گزارش شده است. بنابراین یافته‌های این مطالعه وجود آلودگی به *تری-تریکوموناس فتوس* را با علامت بالینی اسهال در گربه‌ها تأیید می‌کند.

از آن‌جا که *تری‌تریکوموناس فتوس* یکی از عوامل اسهال گربه‌ها شناخته می‌شود (Yao and Coster, 2015)، این یافته غیر قابل پیش‌بینی نبوده است، اما فراوانی در گربه‌های با سابقهٔ اسهال نشان می‌دهد که آلودگی در گربه‌ها احتمالاً به شکل مزمن باقی می‌ماند. اهمیت این مسئله در آن است که این گونه آلودگی‌ها با ضعف سیستم ایمنی و یا شرایط نامناسب تغذیه‌ای و بهداشتی مجدداً سبب بروز نشانه‌های بالینی می‌گردد. وجود آلودگی در سنین پایین‌تر گربه‌ها احتمالاً مربوط به وضعیت تکامل سیستم ایمنی و برخورد مداوم گربه‌ها با عوامل عفونی‌زا دارد. نتایج بررسی حاضر نشان داد که آلودگی در منطقه به‌شکل قابل توجهی وجود دارد و تریکومونیازیس یک عفونت آنزئوتیک است و گربه‌ها در تمام عمر خود با این تک‌یاخته احتمال برخورد دارند. این مسئله سبب می‌گردد به‌تدریج سطحی از ایمنی در بدن آن‌ها شکل گیرد و موجب گردد تا با افزایش سن میزان شیوع در گربه‌ها پایین بیاید. این مسئلهٔ غیر آنزئوتیک که گربه‌ها با عامل عفونی به‌شکل مداوم ارتباط ندارند صدق نمی‌کند و وجود برخی مغایرت‌ها در مطالعهٔ حاضر با سایر مطالعات می‌تواند به همین دلیل باشد.

مطالعهٔ انجام شده نشان داد که تریکومونیازیس در گربه-های شهرستان اهواز باید همواره به‌عنوان یکی از عوامل مسبب اسهال مدنظر دامپزشکان قرار گیرد. این نگرش باید در بچه‌گربه‌ها با اهمیت بیشتری دنبال گردد. درضمن، بچه گربه‌ها همزمان ممکن است تحت تأثیر سایر عوامل عفونی نظیر *ژیاردیا دئودنالیس* و اسهال‌های ویروسی قرار گرفته و وضعیت سلامتی آن‌ها وخیم گردد.

مطالعات بیشتری لازم است که به بررسی حضور این انگل در مدفوع میزبان‌های دیگر و سایر فاکتورهای خطر محیطی مانند محل زندگی حیوان و دام‌های مرتبط با حیوان بپردازد. حضور این تک‌یاخته در گربه‌ها و ارتباط مکرر و نزدیک گربه‌ها و گاوان در شرایط پرورش حیوانات در

استان خوزستان، راه انتقال تک‌یاخته میان این دو حیوان را بسیار تسهیل می‌کند، اما تا کنون موردی از آلودگی گاوان در استان خوزستان و حتی ایران به *تری‌تریکوموناس فتوس* مشاهده نگردیده است. این مسئله لزوم بررسی‌های دقیق فیلوژنی جدایه‌های گاوی و گربه‌ای و ارتباط میان آن‌ها را مشخص و همچنین رعایت نکات مربوط به کنترل و پیش-گیری از این آلودگی توسط صاحبان حیوانات را لازم می-سازد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله، مراتب تشکر و قدردانی خود را از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز ابراز می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع مالی

هزینه پایان‌نامه مزبور، در قالب پژوهانه، از دانشگاه شهید چمران اهواز تأمین شده است.

منابع

Bell, E. T., Gowan, R. A., Lingard, A. E., McCoy, R. J., Šlapeta, J., & Malik, R. (2010). Naturally occurring *Tritrichomonas foetus* infections in Australian cats: 38 cases. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *12*, 889–898.

Chakrabarti, D., Dame, J. B., Gutell, R. R. & Yowell, C. A. (1992). Characterization of the rDNA unit and sequence analysis of the small subunit rRNA and 5.8S rRNA genes from *Tritrichomonas foetus*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 52, 75–84.

Chen, X. G., & Li, J. (2001). Increasing the sensitivity of PCR detection in bovine prepucial smegma spiked with *Tritrichomonas foetus* by the additon of agar and resin. *Parasitology Research*, 87, 556–558.

Dąbrowska, J., Karamon, J., Kochanowski, M., Sroka, J., Skrzypek, K., Zdybel, J., Różycki, M., Jabłoński, A., & Cencek, T. (2020). *Tritrichomonas Foetus*: A Study of Prevalence in Animal Hosts in Poland. *Pathogens*, *9*(3), 203.

Delgado-Viscogliosi, P., Viscogliosi, E., Gerbod, D., Kulda, J., Sogin, M. L. & Edgcomb, V. P. (2000). Molecular phylogeny of parabasalids based on small subunit rRNA sequences, with emphasis on the Trichomonadinae subfamily. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 47, 70–75.

Doi, J., Abe, N., & Oku, Y. (2012). Molecular survey of *Tritrichomonas suis* (=*T. foetus*) 'cat'and 'cattle'genotypes in pigs in Japan. *Journal of veterinary medical science*, *12*, 377.

Felleisen, R. S. J. (1997). Comparative sequence analysis of 5.8S rRNA genes and internal transcribed spacer (ITS) regions of trichomonadid protozoa. *Parasitology*, 115, 111–119.

Felleisen, R. S. J., Lambelet, N., Bachmann, P., Nicolet, J., Muller, N., & Gottstein B. (1998). Detection of *Tritrichomonas foetus* by PCR and DNA enzyme immunoassay based on rRNA gene unit sequences. *Journal of Clinical Microbiology*, 36, 513–519.

Filho, R. B. O., Malta, K. C., & Borges, J. M. (2018). Prevalence and risk factors associated with *Tritrichomonas foetus* infection in cattle in the state of Paraíba, Brazil. *Acta Parasitologica*, *63*(2), 346-353.

Foster, D. M., Gookin, J. L., Poore, M. F., Stebbins, M. E., Levy, M. G. (2004). Outcome of cats with diarrhea and *Tritrichomonas foetus* infection. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225, 888-892.

Frey, C. F., Schild, M., Hemphill, A., Stunzi, P., Muller, N., Gottstein, B., & Burgener, I. A. (2009). Intestinal *Tritrichomonas foetus* infection in cats in Switzerland detected by *in vitro* cultivation and PCR. *Parasitology research*, *104*, 783–788.

Gookin, J. L., Birkenheuer, A. J., Breitschwerdt, E. B., & Levy, M. G. (2002). Single-tube nested PCR for detection of *tritrichomonas foetus* in feline feces. Journal of clinical microbiology, 40(11), 4126–4130.

Gookin, J. L., Hanrahan, K., & Levy, M. G. (2017). The conundrum of feline Trichomonosis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *19*, 261–274.

Gookin, J. L., Levy, M. G., Law, J. M., Papich, M. G., Poore, M. F. & Breitschwerdt, E. B. (2001). Experimental infection of cats with *Tritrichomonas foetus*. *American Journal of Veterinary Resarch*. 62:1690–1697.

Gookin, J. L., Stebbins, M. E., & Hunt, E. (2004). Prevalence of and risk factors for feline *Tritrichomonas foetus* and *Giardia* infection. *Journal of Clinical Medicine Research*, *42*(5), 2707–2710.

Gruffydd-Jones, T., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Hartmann, K., Hosie, M. J., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Möstl, K., Pennisi, M. G., Radford, A. D., Thiry, E., Truyen, U., & Horzinek, M. C. (2013). Tritrichomoniasis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *15*(7), 647-930.

Gunn-Moore, D. A., McCann, T. M., Reed, N., Simpson, K. E., & Tennant, B. (2007). Prevalence of *Tritrichomonas foetus* infection in cats with diarrhoea in the UK. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *9*, 214–218.

Holliday, M., Deni, D., & Gunn-Moore, D. A. (2009). *Tritrichomonas foetus* infection in cats with diarrhoea in a rescue colony in Italy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *11*, 131–134.

Hora, A. S., Miyashiro, S. I., Cassiano, F. C., Brandão, P. E., Reche-Junior, A., & Pena, H. F. J. (2017). Report of the first clinical case of intestinal trichomoniasis caused by *Tritrichomonas foetus* in a cat with chronic diarrhoea in Brazil. *BMC Veterinary Research*, *13*(1), 109.

Hosein, A., Kruth, S. A., Pearl, D. L., Richardson, D., Maggs, J. C., Peach, H. A., & Peregrine, A. S. (2013). Isolation of Tritrichomonas foetus from cats sampled at a cat clinic, cat shows and a humane society in southern Ontario. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *15*, 706–711.

Kuehner, K. A., Marks, S. L., Kass, P. H., Sauter-Louis, C., Grahn, R. A., Barutzki, D., & Hartmann, K. (2011). *Tritrichomonas foetus* infection in purebred cats in Germany: Prevalence of clinical signs and the role of co-infection with other enteroparasites. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *13*, 251–258.

Lucio-Forster, A., & Bowman, D. D. (2011). Prevalence of fecal-borne parasites detected by centrifugal flotation in feline samples from two shelters in upstate New York. *Jurnal of Feline Medicine and Surgery*. *13*, 300-303.

Manning, K. (2010). Update on the diagnosis and management of *Tritrichomonas foetus* infections in cats. *Top Companion Animal Medicine*, *25*(3), 145-148.

Miró, G., Hernández, L., Montoya, A., Arranz-Solís, D., Dado, D., Rojo-Montejo, S., Mendoza-Ibarra, J. A., Ortega-Mora, L. M., & Pedraza-Díaz, S. (2011). First description of naturally acquired *Tritrichomonas foetus* infection in a Persian cattery in Spain. *Parasitology research*, *109*, 1151–1154.

Parker, S., Lun, Z. R., & Gajadhar, A. (2001). Application of a PCR assay to enhance the getection and identification of *Tritrichomonas foetus* in cultured prepucial samples. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 13, 508–513.

Pereira-Neves, A., & Ribeiro, K. C. (2003). Pseudocysts in trichomonads–new insights. *Protist*, *154*, 313–329.

Polak, K. C., Levy, J. K., Crawford, P. C., Leutenegger, C. M., & Moriello, K. A. (2014). Infectious diseases in large-scale cat hoarding investigations. *Veterinary Journal*, *201*, 189–195.

Profizi, C., Cian, A., Meloni, D., Hugonnard, M., Lambert, V., Groud, K., Gagnon, A. C., Viscogliosi, E., & Zenner, L. (2013). Prevalence of *Tritrichomonas foetus* infections in French catteries. *Veterinary parasitology*, *196*, 50–55.

Slapeta, J., Craig, S., McDonell, D., & Emery, D. (2013). *Tritrichomonas foetus* from domestic cats and cattle are genetically distinct. *Exprimental Parasitology*, *126*(2), 209-213.

Tysnes, K., Gjerde, B., Nødtvedt, A., & Skancke, E. (2011). A cross-sectional study of *Tritrichomonas foetus* infection among healthy cats at shows in Norway. *Acta veterinaria scandinavica*, *53*, 39.

Walker, R. L., Hayes, D. C., Sawyer, S. J., Nordhausen, R.W., Van Hoosear, K. A. & BonDurant, R. H. (2003). Comparison of the 5.8S rRNA gene and internal transcribed spacer regions of trichomonadid protozoa recovered from the bovine preputial cavity. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *15*, 14–20.

Xenoulis, P. G., Lopinski, D. J., Read, S. A., Suchodolski, J. S., & Steiner, J. M. (2013). Intestinal *Tritrichomonas foetus* infection in cats: a retrospective study of 104 cases. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *15*, 1098–1103.

Xenoulis, P. G., Saridomichelakis, M. N., Read, S. A., Suchodolski, J. S., & Steiner, J. M. (2010). Detection of *Tritrichomonas foetus* in cats in Greece. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *12*, 831–833.

Yang, N., Cui, X., Qian, W., Yu, S., & Liu, Q. (2012). Survey of nine abortifacient infectious agents in aborted bovine fetuses from dairy farms in Beijing, China, by PCR. *Acta veterinaria Hungarica*, *60*, 83–92.

Yao, C., & Koster, L. S. (2015). *Tritrichomonas foetus* infection, a cause of chronic diarrhea in the domestic cat. *Veterinary Research*, *46*(7), 70-79.

Yildiz, K., & Sursal, N. (2019). The first report of *Tritrichomonas foetus* in cats from Turkey. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, *74*, 127–133.

Received: 05.11.2020
Accepted: 10.08.2021

Vol. 19, No. 2, Summer, 2023 **Original Article**
DOI: 10.22055/IVJ.2021.254952.2319
DOR: 20.1001.1.17356873.1402.19.2.7.4

Molecular Survey on *Tritrichomonas foetus* infection in cats of Southwestern Iran

Hossein Hamidinejat[1*], Atousa Hamd Baghestani[2], Sara Larki[3] and Bahman Mosalanezhad[4]

[1] Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[2] DVM Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[4] Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 05.11.2020 Accepted: 10.08.2021

Abstract

Trichomoniosis is caused by the obligatory parasite, *Tritrichomonas foetus* in cats. This protozoan causes some gastrointestinal symptoms such as colitis, semi-formed to liquid diarrhea, and sometimes fresh bloody or mucoid feces, bloating, and bowel incontinence in the infected cats. The present study aimed to diagnose the *Tritrichomonas foetus* in cats in Ahvaz city by direct smear and culture methods in the Dorset medium. After observation of motile trichomonads, polymerase chain reaction (PCR) is a diagnostic technique carried out to confirm the organism. In the present study, fecal sampling was taken from 100 cats directly using swap. In wet smear, the motile flagellates that were similar in size to *T. foetus* by rolling motion' were identified. Positive samples were cultured in the Dorset medium. A portion of the culture medium was used for extracting genomic DNA followed by nested-PCR assay with two pair primers. The molecular findings showed that 18% of the cats (positive cases) were infected with *Tritrichomonas foetus*. The cats with diarrhetic history had the most infection rate with 83/3% and 66/66%, respectively. Also, the rate of infection in cats less than one year was 14% and more than the cats of more than one year (4%) significantly. PCR assay was useful in differentiating between *T. foetus* and another trichomonad observed in fecal samples of the cats.

Key words: *Tritrichomonas foetus*, Culture medium, Trichomonosis, Polymerase chain reaction, Cat

[*] **Corresponding Author**: Hossein Hamidinejat, Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
E-mail: hsa.hamidinejat@gmail.com

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).