جداسازی مایکوپلاسماهای بیماریزا از مزارع پرورش شترمرغ در ایران

حامد مومیوند[۱]، سیدعلی پوربخش[۱*]، محمود جمشیدیان[۱]

چکیده

در شتر مرغ‌ها، مایکوپلاسماها غالباً با بروز بیماری‌های تنفسی همراه بوده و موجب بروز رینوتراکئیت، التهاب کیسه‌های هوایی، و التهاب سیستم تنفسی فوقانی می‌شوند. هدف از مطالعه حاضر جداسازی و ارزیابی مایکوپلاسماهای بیماریزای شترمرغ در ایران می‌باشد.

در این مطالعه تعداد ۱۰۰ نمونه از ریه‌ها، نای، و کیسه‌های هوایی شترمرغ‌های دارای علائم بالینی بیماری تنفسی، در زمان کشتار اخذ گردید. نمونه‌ها با استفاده از آزمایش سریع، کشت میکروبی و آزمایش مولکولی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

۲۱/۰۵٪ نمونه‌ها در آزمایش واکنش زنجیره پلیمراز مثبت بوده‌اند که به ترتیب ۷/۸۹٪ و ۱٤٪ آنها به ترتیب مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم و مایکوپلاسما سینوویه بوده‌اند. در بررسی کشت باکتریایی، ٦/۱٤٪ نمونه‌ها از نظر مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم و ۷/۰۱٪ نمونه‌ها از نظر مایکوپلاسما سینوویه مثبت بودند. همچنین براساس ارزیابی بالینی بیشترین میزان موارد مثبت کشت به ترتیب مربوط به ریه، کیسه‌های هوایی و نای بود. با توجه به شیوع مایکوپلاسماهای ماکیان در شترمرغ‌ها، بررسی دقیق بیماریزایی آن‌ها در شترمرغ ضروری می‌باشد، تا اهمیت پیشگیری مشخص شود

واژگان کلیدی: *مایکوپلاسما، شترمرغ، کشت، واکنش زنجیره پلیمراز*

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹٦/۲/۱۳

مقدمه

مایکوپلاسموزیس به عنوان یک بیماری عفونی با گسترش جهانی بوده و طیور پرورشی را در تمام دنیا آلوده می‌نماید(۹). مایکوپلاسما بدلیل ایجاد بیماری تنفسی، اختلالات لنگش پا، رشد و کاهش تولید تخم مرغ و کاهش میزان جوجه‌درآوری دارای اهمیت بسیار زیادی در صنعت پرورش طیور و شتر مرغ دارد (۹ و۲). مایکوپلاسماها در طبیعت گسترده بوده و از سایر باکتریها بدلیل اندازه و عدم وجود دیواره متفاوت می‌باشند (۹)، بعلاوه دارای میزبان اختصاصی بوده و بطور کامل در برابر آنتی‌بیوتیک‌های موثر بر سنتز دیواره سلول نیز مقاوم می‌باشند (۱). مایکوپلاسماهای بیماریزای پرندگان شامل مایکوپلاسما گـالی‌سپتیکـوم و مـایکوپلاسما سینوویه در مرغ و خروس و بوقلمون، و مایکوپلاسما مله آگریدیس و مایکوپلاسما آیووه در بوقلمون بیماریزا می‌باشند (۲٦).

در شترمرغ‌ها، مایکوپلاسما عمدتاً باعث بروز بیماریهای تنفسی می‌شوند و منجربه رینوتراکئیت، التهاب کیسه‌های هوایی و تورم قسمت فوقانی سیستم تنفسی می‌شوند (۲۵و ۳). رینوتراکئیت معمولاً در اثر سرما و متعاقب وزش باد در فصل زمستان و پس از استرس گرمائی در فصل تابستان مشاهده می‌شود (۲۵ و۵). از شترمرغ‌های دچار بیماری تنفسی، مایکوپلاسما سینوویه به همراه علائم بیماری تنفسی نیز جدا شده است (۱۵و۱۳). برخی پژوهشگران علیرغم گزارش نمودن پاسخ سرمی نسبت به مایکوپلاسماهای ماکیان (شامل مایکوپلاسما سینوویه، گالی-سپتیکوم و مله‌آگریدیس) در شمال ایتالیا، نتوانسته‌اند مایکوپلاسماهای ماکیان را از شترمرغ‌ها جداسازی بنمایند (۲٦ و۱٦). همچنین پژوهشگران گزارش نموده‌اند که عفونت‌های همزمان در شترمرغ‌ها موجب کاهش میزان تولید، کاهش کیفیت لاشه، و در نهایت منجر به خسارات اقتصادی فراوان به صنعت پرورش شترمرغ می‌شود (۵).

در کشتارگاه شترمرغ در کشور زیمبابوه پاسخ مثبت سرمی نسبت به مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم و مایکوپلاسما سینوویه گزارش شده است (٦). علاوه بر آن عفونت‌های همزمان مایکوپلاسمایی با سایر عوامل بیماریزا نظیر اشیریشیا کولی، سودوموناس آئروژینوزا، و گونه‌های پاستورلا و گهگاهی آوی‌باکتریوم پاراگالیناروم از سندرم‌های بالینی شترمرغ‌ها گزارش شده است (۲۵ و٤).

عفونت تجربی با مایکوپلاسما گالی سپتیکوم در شتر مرغ‌ها

*۱- گروه میکروبیولوژی، واحدعلوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران pourbakhs@gmail.com

توسط پژوهشگران ایجاد شده است (۷). نتایج تحقیقات نشان داده است که مایکوپلاسماهای ایجاد کننده بیماری در شترمرغ، مایکوپلاسماهای ایجاد کننده بیماری در ماکیان نمی-باشند (۱۹) و همچنین برخی پژوهشگران نیز بیان نموده‌اند که مایکوپلاسماهای اختصاصی شترمرغ منجربه ایجاد عفونت در شترمرغ می‌شوند (۲۱و۱۸). پژوهشگران در ایران مایکوپلاسما سینوویه را از شترمرغ‌های دچار بیماری تنفسی جداسازی نموده‌اند (۲۳). بطور کلی، مایکوپلاسماها داخل گونه‌های حیوانی و بین گونه‌های با ارتباط نزدیک منتقل می‌شوند (۱۵ و۱۱).

هدف از مطالعه حاضر بررسی سرمی میزان آلودگی به مایکوپلاسماهای مختلف و جداسازی و کشت مایکوپلاسماهای آلوده کننده شترمرغ‌های کشتار شده در مناطق مختلف ایران بود.

مواد و روش کار

نمونه‌ها: برای انجام مطالعه حاضر از شترمرغ‌های کشتاری از نقاط مختلف ایران تعداد ۱۰۰ نمونه اخذ شد و با استفاده از آزمایش‌های میکروبیولوژیکی و کشت باکتریایی مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه سرمی از شترمرغ‌های با علائم تنفسی به منظور بررسی وجود آنتی‌بادی برعلیه مایکوپلاسما سینوویه و مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم نیز اخذ گردید و از روش سریع بر روی لام برای تشخیص آنتی‌بادی‌ها استفاده گردید. در شترمرغ-های دارای علائم بالینی عفونت تنفسی، از ریه‌ها، نای و کیسه-های هوایی نمونه برداری گردید.

شناسایی باکتری مایکوپلاسماها

۱. روش کشت و جداسازی

کشت: نمونه‌ها در محیط کشت PPLO براث و آگار فاقد کریستال ویوله (۲۱گرم در لیتر)، ۲۰٪ سرم گرمادیده اسب، ۱۰٪ عصاره تازه مخمر، ۰/۲٪ گلوکز، ۰/٤٪ پیرووات سدیم، ۰/۰٤٪ آمپی‌سیلین و ۱ درصد آگار (Merck) کشت داده شدند. برای کشت مایکوپلاسما سینوویه به میزان ۱٪ نیکوتینامید آدنین دی-نوکلئوتید به محیط فوق اضافه شد. ابتدا نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲٤ ساعت در محیط PPLO براث غنی‌سازی شدند و سپس به محیط PPLO آگار با ۵درصد CO2 به مدت ۷ تا ۱۰ روز منتقل شدند (۲۲). پلیت‌ها بصورت روزانه از نظر رشد باکتری بررسی شدند، و پس از رشد در محیط کشت با استفاده از رنگ‌آمیزی اختصاصی از نظر حضور مایکوپلاسما بررسی شدند.

۲. روش PCR

استخراج DNA: جهت استخراج ژنوم از کیت استخراج DNA (Gene Transfer Pioneers, GTP, Cat. No.: DM05050) استفاده شد. ۱-٤ میلی‌لیتر از کشت باکتریایی در دور ۸۰۰۰ به مدت ۱ دقیقه سانتیریفیوژ شد و مایع رویی خارج گردید، سپس ۲۵۰ میکرولیتر RNase A به باکتری اضافه گردید و به مدت ۱۵ ثانیه مخلوط گردید. بعد از آن ٤۰۰ میکرولیتر بافر شستشو و ٤۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه گردید و بمدت ۳۰ ثانیه مخلوط و سپس به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید، و ٤۰۰ میکرولیتر از مایع رویی به میکروتیوب جدید منتقل و ٤۰۰ میکرولیتر هیدروکلرید گوانیدین به آن افزوده و به آرامی مخلوط گردید. محلول آماده شده به ستون DNA اضافه شد و به مدت ۱ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از بافر شستشو به ستون DNA اضافه شد و تا حذف اتانول باقیمانده سانتریفیوژ شد. سپس بافر پاکسازی گرم شده به دیواره ستون اضافه شد و به مدت ۳ دقیقه نگهداری شد. در نهایت، ۵-۱۰ میکرولیتر از DNA استخراج شده در ژل الکتروفورز بررسی گردید.

پرایمرهای مورد استفاده: برای تائید حضور مایکوپلاسما در نمونه‌ها، پرایمرهای عمومی و اختصاصی ۱٦S rRNA شامل GPO3، MGSO که توانایی شناسایی گونه و جنس مایکوپلاسما را دارند، استفاده شدند (۲٤). برای شناسایی مایکوپلاسما گالی سپتیکوم نیز از پرایمرهای M.SynF و

M.Syn-R و مایکوپلاسما سینوویه از پرایمرهای MS-۱ و MS-۲ استفاده به عمل آمد(۲٤ و۱۲).

جدول ۱-توالی‌های نوکلئوتیدی و پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی مایکوپلاسماها در نمونه‌های شترمرغ

پرایمر	توالی نوکلئوتیدها	منبع
	پرایمرهای عمومی مایکوپلاسما	
GPO3F (F)	۵-TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACC-۳´	(۲٤)
MGSO (R)	۵-TGCACCATCTGTCACTCTGTTAACCTC-۳´	
	پرایمرهای ۱٦S rRNA برای شناسایی مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم	
M.Syn (F)	۵- GCGATGACGTGTAGTTATGCTG -۳´	(۳)
M.Syn-R (R)	۵- CCAATGCATACAATCGTTAAGC -۳´	
	پرایمرهای ۱٦S rRNA برای شناسایی مایکوپلاسما سینوویه	
MS-1	۵- GAAGCAAAATAGTGATATCA -۳´	(۱۲)
MS-2	۵- GTCGTCTCCGAAGTTAACAA -۳´	

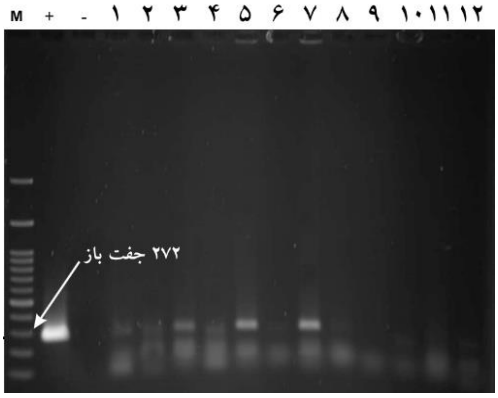
آزمایش واکنش زنجیره پلیمراز برای تشخیص ژن S ۱٦rRNA: آزمایش PCR در تیوب‌های ۰/۵ میلی‌لیتری و حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام گردید. مخلوط آزمایش PCR شامل ۵ نانوگرم مخلوط DNA الگو، ۱ میلی‌مول $MgCl_2$، ۰/۸ میکرولیتر از هر پرایمر، ۲ میکرولیتر از بافر PCR X۱۰، ۱۰۰ میلی‌مول dNTPs، و ۱ واحد Taq از DNA پلیمراز بود. آزمایش PCR طبق روش توصیف شده توسط پژوهشگران در سال ۲۰۰۵ انجام گرفت (۵). پس از تکثیر DNA همه محصولات در دستگاه ترموسایکلر با ۹۵°C (۵دقیقه) جهت دناتوراسیون اولیه، سپس ۳۵ سیکل دناتوراسیون در ۹۵°C (٤۰ثانیه)، جفت شدن ۵۲°C (٦۰ثانیه) و دراز شدن °C ۷۲ (٦۰ ثانیه) و طویل شدن نهایی در °C ۷۲ (۵دقیقه) قرار گرفتند(۱۲). در نهایت DNA تکثیر شده در ژل اگارز ۱٪ حاوی ادیتیوم بروماید بررسی شد.

آزمون آماری

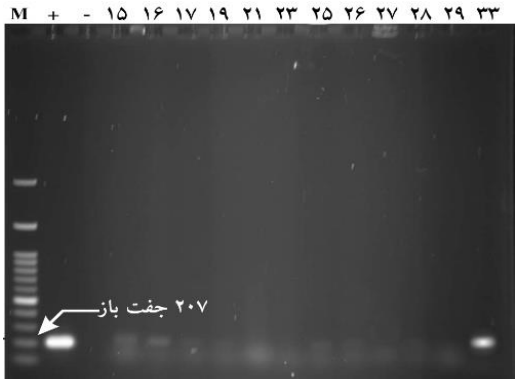
جهت بررسی رابطه بین روش‌های تشخیصی کشت و PCR از آزمون آماری مربع کای و بسته نرم‌افزاری SPSS ویرایش ۲۳ استفاده به عمل آمد.

نتایج

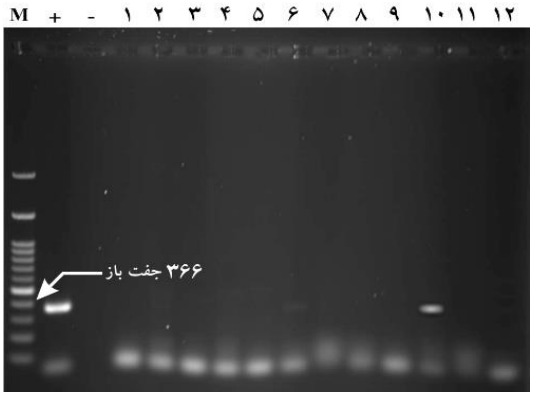
تعداد ۱۱٤ نمونه مشکوک در آزمایش PCR مورد بررسی قرار گرفتند. در ۲٤ نمونه از شترمرغ‌ها، مایکوپلاسما حضور داشت و نتیجه آزمایش مثبت گردید. همه نمونه‌های مثبت با پرایمر اختصاصی از نظر حضور مایکوپلاسما گالی-سپتیکوم و سینوویه بررسی شدند که در مجموع از ۲٤ نمونه مثبت اولیه، ۵۸/۳۳٪ نمونه‌ها مایکوپلاسما سینوویه و ۳۷/۵٪ نمونه‌ها مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم بودند(نگاره های ۳-۱).



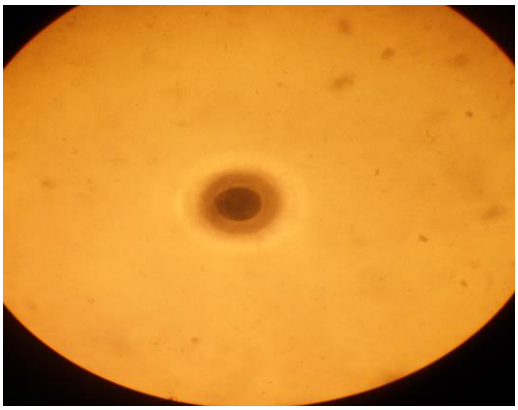
نگاره۱- نتیجه آزمایش PCR با پرایمرهای اختصاصی مایکوپلاسما، M: مارکر ۱۰۰جفت بازی، (+) شاهد مثبت، (-)شاهد منفی، ۱ تا ۱۲ نمونه-ها، باند ۲۷۲ جفت بازی در نمونه‌های مثبت ثبت شده است.



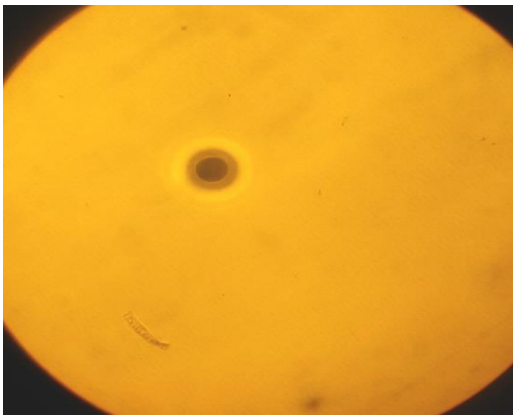
نگاره۲- نتیجه آزمایش PCR با پرایمرهای اختصاصی مایکوپلاسما سینوویه، M: مارکر ۱۰۰جفت بازی، (+) شاهد مثبت(atcc:25204)، (-) شاهد منفی، ۱۵ تا ۳۳ نمونه‌ها، باند ۲۰۷ جفت بازی در نمونه‌های مثبت ثبت شده است.



نگاره۳-نتیجه آزمایش PCR با پرایمرهای اختصاصی مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم، M: مارکر ۱۰۰جفت بازی، (+) شاهد مثبت (atcc19610)، (-) شاهد منفی، ۱ تا ۱۲ نمونه‌ها، باند ۳٦٦ جفت بازی در نمونه‌های مثبت ثبت شده است.



نگاره٤- کشت مایکوپلاسما



نگاره٥-کشت مایکوپلاسما

کلونی‌های مایکوپلاسما، ٤٨ تا ٩٦ ساعت پس از تلقیح در محیط کشت مشاهده شدند. کلونی‌های مشخص مایکوپلاسما در نمونه‌های کشت شده مشاهده شدند که در کلونی‌های به صورت تخم مرغ نیمرو در محیط کشت قابل مشاهده بود(نگاره ٥و٤). نتایج مطالعه نشان داد که ٢٤ نمونه از کل ١١٤ نمونه اخذ شده در محیط کشت از نظر رشد مایکوپلاسما مثبت بودند. تعداد ٧ نمونه (٦/١٤٪) مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم و تعداد ٨ نمونه (٧/٠١٪) مایکوپلاسما سینوویه بودند.

مقایسه روش‌های تشخیص باکتری به روش آماری

مقایسه آماری میزان تشخیص موارد مثبت در دو آزمایش کشت و PCR در مورد مایکوپلاسما سینوویه و مایکوپلاسما گالی سپتیکوم اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد (به ترتیب: p=۰/۱۷۸ و p=۰/۵۹۲).

نتایج مطالعه سرولوژیکی نشان داد ۱۹/۲۹، ۲۱/۹۲٪ نمونه‌های سرمی، به ترتیب از نظر مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم و مایکوپلاسما سینوویه مثبت بودند. بررسی موارد مثبت در اندامهای مختلف نشان داد که به ترتیب ٤، ۲، و ۱ نمونه مربوط به ریه، کیسه های هوایی، و نای در کشت مایکوپلاسما گالی-سپتیکوم مثبت بودند(نگاره٤)، و نیز تعداد ۵، ۲، ۱ نمونه مربوط به ریه، کیسه‌های هوایی، و نای در کشت از نظر مایکوپلاسما سینوویه مثبت بودند(نگاره۵).

بحث

مایکوپلاسماها در شترمرغ، موجب بروز بیماری تنفسی، رینوتراکئیت، تورم کیسه‌های هوایی و التهاب سیستم تنفسی فوقانی می‌گردد (۲۵ و۱۳). در مطالعه حاضر، مایکوپلاسماهای بیماریزا از ریه، نای و کیسه‌های هوایی شترمرغ‌ها در ایران به وسیله کشت جداسازی و ارزیابی شد، و نتایج نشان داد که مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم و مایکوپلاسما سینوویه شترمرغ‌های پرورش در ایران را آلوده می‌نماید.

مایکوپلاسما گالی سپتیکوم و مایکوپلاسما سینوویه از شترمرغ-های دچار علائم تنفسی در آفریقای جنوبی بطور معمول در فصل زمستان جدا می‌شود (۲۵). در شمال ایتالیا ارزیابی‌های سرولوژیکی، با استفاده از آزمایش سریع با آنتی‌ژن اختصاصی مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم، مایکوپلاسما سینوویه و مایکوپلاسما مله آگریدیس حاکی از تغییرات سرمی در مورد همه مایکوپلاسماهای فوق‌الاشاره بود (١٦). همچنین مطالعه پژوهشگران نشان داده است که عفونت تجربی با مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم موجب کلونیزه شدن باکتری در نای شترمرغ‌های جوان می‌شود (۷). برخی پژوهشگران گزارش نموده‌اند که اغلب مایکوپلاسماهای جداشده از ریه و نای شترمرغ‌ها همراه با بیماری بالینی نبوده است، علاوه بر آن براساس نتایج محققین مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم و مایکوپلاسما سینوویه در بین ۳۲ مایکوپلاسما جداسازی شده از شترمرغ وجود نداشت (۱۹). با این حال مایکوپلاسما سینوویه از عفونت سیستم تنفسی شترمرغ‌ها جداسازی شده است (۲۵)، و پاسخ سرمی نسبت به مایکوپلاسما گالی سپتیکوم و مایکوپلاسما سینوویه نیز قبلاً توسط پژوهشگران مختلفی گزارش شده است (١٦ و٦). علاوه بر آن عفونت تجربی با مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم همراه با ایجاد علائم بالینی نیز توسط محققین در شترمرغ‌ها گزارش شده است (۷). از این‌رو محققین بیان نموده اند که شناسایی گونه‌های عفونت‌زا مایکوپلاسما در شترمرغ و ارزیابی میزان عفونت‌زایی و بیماریزایی آن‌ها مهم می‌باشد (١٦). همچنین به دلیل حساسیت شترمرغ‌ها به مایکوپلاسماهای طیور، توصیه می‌شود مزارع پرورش شترمرغ عاری از گونه‌های ماکیان باشد (۲۵).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مزارع پرورش شترمرغ به مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم و مایکوپلاسما سینوویه آلوده می-باشند. نتایج مطالعه مزارع پرورش شترمرغ در استان کرمان نشان داد که ۵۲٪ نمونه‌ها از نظر مایکوپلاسما سینوویه و ٤۸٪ نمونه‌ها از نظر سایر مایکوپلاسماها مثبت بوده‌اند (۲۳). بطور کلی، مایکوپلاسما سینوویه به عنوان بیماری تنفسی تحت بالینی در طیور شناخته می‌شود، با اینحال خسارات اقتصادی ناشی از آن در طیور گزارش شده است (۸).

مایکوپلاسما گالی سپتیکوم از مزارع پرورش مرغ توسط آزمایش PCR و RFLP در استان فارس جداسازی و شناسایی شده است، در حالی‌که مایکوپلاسما سینوویه از نمونه‌های مذکور جداسازی نشد (۱۰). همچنین براساس بررسی محققین مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم با آزمایش RAPD از مناطق مختلف ایران شناسایی شده است، این در حالی می باشد که مایکوپلاسما سینوویه در نمونه‌های اخذ شده منفی بوده

است(۱۷). نتایج بررسی مزارع پرورش شترمرغ در آفریقای جنوبی نشان داده است که مایکوپلاسمای جدیدی بنام *Mycoplasma struthiolus* شترمرغ‌ها را آلوده می‌نماید، همچنین بررسی‌های بیشتر نشان داد که سه نوع مایکوپلاسما استروتیولوس مختلف با ۸۸/٤٪، ۸۸/۷٪ و ۹۳/۱٪ تشابه توالی باعث ایجاد عفونت در شترمرغ‌ها می‌شود (۵).

نتایج مطالعه حاضر در کشتارگاههای شترمرغ در ایران نشان داد که تنها مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم و مایکوپلاسما سینوویه از شترمرغ‌ها جداسازی می‌شود و همچنین میزان عفونت مایکوپلاسما سینوویه در شترمرغ‌ها بیشتر از مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم بود. با توجه به نتایج مطالعه حاضر نگهداری ماکیان در اطراف مزارع پرورش شترمرغ توصیه نمی‌شود. همچنین نتایج پژوهشگران در آفریقای جنوبی نشان داد که شترمرغ‌هایی که در نزدیکی مزارع پرورش ماکیان نگهداری شده بودند تنها با مایکوپلاسما استروتیولوس آلوده شده بودند ولی برخی محققین نیز عفونت ناشی از مایکوپلاسماهای طیور در مزارع شترمرغ را گزارش نموده‌اند.

نمونه‌های اخذ شده از کشتارگاه شترمرغ نشان داد که میزان بالایی از عفونت تنفسی توسط مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم و مایکوپلاسما سینوویه در شترمرغ‌ها وجود دارد. همچنین بررسی‌ها نشان داد که ریه میزان بالایی از عفونت را با مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم و مایکوپلاسما سینوویه داشته و پس از آن به ترتیب کیسه‌های هوایی و نای بیشترین میزان عفونت را دارا می‌باشند. نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که مایکوپلاسماها سیستم تنفسی فوقانی شترمرغ‌ها را آلوده می‌نماید (۵)، اما عفونت ناشی از مایکوپلاسماهای ماکیان و علایم بالینی ناشی از آنها در شترمرغ بصورت کامل مورد مطالعه قرار نگرفته است. از این‌رو بایستی مطالعات بیشتری برای بررسی بیماریزایی مایکوپلاسماهای ماکیان در شترمرغ ضروری می‌باشد، چرا که نمونه‌های اخذ شده در این مطالعه مربوط به کشتارگاه بوده و نمی‌توان بطور دقیق علت بروز علائم بالینی را ناشی از مایکوپلاسماهای جدا شده ارزیابی نمود. همچنین سایر اندامها نیز بایستی بررسی شوند تا بیماریزایی مایکوپلاسماها در شترمرغ بصورت کامل مشخص گردد. علاوه بر این، آزمایش زنجیره پلیمراز نیز روش دقیق و مناسبی برای تشخیص مایکوپلاسماها می‌باشد (۲۰)، و پیش از بروز علائم بالینی بیماری می‌توان آن را تشخیص داد (١٤)، و استفاده از آزمایش PCR در تشخیص و ارزیابی مزارع پرورش شترمرغ توصیه می‌شود.

فهرست منابع

1. Al-Ankari, A.R.S., Bradbury, J.M. (1996): Mycoplasma iowae: A review. Avian Pathol. 25(2): 205-229.
2. Azizpour, A., Bozorgmehri Fard, M.H. (2011): A comparative survey on performance of m gallisepticum-free and m gallisepticum-infected layer flocks in tabriz area of iran. J Appl Anim Res. 39(4): 295-297.
3. Bagheri, H., Doosti, A., Arshi, A. (2011): Detection of mycoplasma gallisepticum in chaharmahal va bakhtiari province poultry using pcr. Global Vet. 7(1): 54-59.
4. Blackall, P.J., Christensen, H., Beckenham, T., Blackall, L.L., Bisgaard, M. (2005): Reclassification of pasteurella gallinarum,[haemophilus] paragallinarum, pasteurella avium and pasteurella volantium as avibacterium gallinarum gen. Nov., comb. Nov., avibacterium paragallinarum comb. Nov., avibacterium avium comb. Nov. And avibacterium volantium comb. Nov. Int J Syst Evol Microbiol. 55(1): 353-362.
5. Botes, A., Peyrot, B., Olivier, A., Burger, W., Bellstedt, D. (2005): Identification of three novel mycoplasma species from ostriches in south africa. Vet Microbiol. 111(3): 159-169.
6. Cadman, H.F., Kelly, P.J., Zhou, R., Davelaar, F., Mason, P.R. (1994): A serosurvey using enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies against poultry pathogens in ostriches (struthio camelus) from zimbabwe. Avian Dis. 38(3): 621-625.
7. Cline, J. L.,, Turner, K.S., O'connor, R.J., Gomez, J., L. B.,, Kleven, S.H. (1997):

D.E., Glisson, J.R., Mcdougald, L.R., Nolan, L.K., Suarez, D.L., Nair, V.). John Wiley & Sons: Iowa, USA; 875-941.

10. Ghaleh Golab Behbahan, N., Asasi, A., Afsharifar, A., Pourbakhsh, S. (2005): Isolation and detection of mycoplasma gallisepticum by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism. Iran J Vet Res. 6(1): 35-41.

11. Kleven, S.H. (2008): Control of avian mycoplasma infections in commercial poultry. Avian Dis. 52(3): 367-374.

12. Lauerman, L.H., Hoerr, F.J., Sharpton, A.R., Shah, S.M., Van Santen, V.L. (1993): Development and application of a polymerase chain reaction assay for mycoplasma synoviae. Avian Dis. 37(3): 829-834.

13. Mirhosseiny, S.H., Kheirkhah, B., Hassanshahian, M. (2014): Isolation of infected mycoplasma. Synoviae from the ostrich's lungs in kerman province. New Cellularand Molecular Biotechnology Journal. 4(14): 109-114.

14. Moalic, P.-Y., Gesbert, F., Laigret, F., Kempf, I. (1997): Evaluation of polymerase chain reaction for detection of mycoplasma meleagridis infection in turkeys. Vet Microbiol. 58(2): 187-193.

15. Nascimento, E., Pereira, V., Nascimento, M., Barreto, M. (2005): Avian mycoplasmosis update. Rev. Bras. Cienc. Avic. 71-9.

16. Peccati, C., Grilli, G., Gallazzi, D., Rampin, T. (1996):Serological survey in ostriches in northern italy. Improving our Understanding of Ratites in a Farming Environment; 47.

17. Peighambari, S., BozorgmehrifardÙ, M., Hosseini, H., Pourbakhsh, S., Razzazian, M. (2006): Random amplified polymorphic DNA (rapd) fingerprinting of mycoplasma gallisepticum isolates from chickens. Arch. Razi Ins. 61(2): 67.

18. Shane, S.M. (1998): Infectious diseases and parasites of ratites. Vet Clin N Am-Food A. 14(3): 455-483, iv.

19. Shivaprasad, H. (1993): Neonatal mortality in ostriches: An overview of possible causes. Annual Conference of the Association of Avian Veterinarians, Proceedings. 282-293.

Determination of colonisation of mycoplasma gallisepticum and mycoplasma synoviae in ostriches. Am. Ostrich, Special Annu. Res. 12-13.

8. Elhamnia, F., Banani, M., Shokri, G., Pourbakhsh, S., Ashtari, A. (2016): Detection of mycoplasma synoviae infection in broiler breeder farms of tehran province using pcr and culture methods. Arch. Razi Ins. 65(2): 75-81.

9. Ferguson-Noel, N. (2013): Mycoplasmosis. In: Diseases of poultry, edition (ed. Swayne,

20. Simkiss, K. (1997): Embryo manipulation of the germplasm. Poult Sci. 76(8): 1093-1100.

21. Smith, C. (1993): Ostrich chick survival presents challenge. J Am Vet Med Assoc. 203(5): 637-643.

22. Swayne, D.E. (1998): Laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. American Association of Avian Pathologists, University of Pennsylvania. P: 74-80.

23. Tebyanian, H., Mirhosseiny, S.H., Kheirkhah, B., Hassanshahian, M. (2014): Isolation and identification of mycoplasma synoviae from suspected ostriches by polymerase chain reaction, in kerman province, iran. Jundishapur J.Microbiol. 7(9): 1-5.

24. Van Kuppeveld, F., Van Der Logt, J., Angulo, A., Van Zoest, M., Quint, W., Niesters, H., Galama, J., Melchers, W. (1992): Genus-and species-specific identification of mycoplasmas by 16s rrna amplification. Appl Environ Microbiol. 58(8): 2606-2615.

25. Verwoerd, D. (2000): Ostrich diseases. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics). 19(2): 638-661.

26. Wood, B., Wilson, S. (2013): Mycoplasma iowae in turkeys (meleagris gallopavo). World's Poultry Science Journal. 69(04): 909-916.