

تعیین حضور مایکوپلازما گالی سبتیکوم و مایکوپلازما سینوویه در سندرم تنفسی مرغان گوشتی شهرستان همدان با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

محمد مهدی گوران^۱، جلال شایق^{۲*}

۱- دانش آموخته دکترای حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران.

۲- استادیار گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۱۶

چکیده

عفونت‌های مایکوپلاسمایی در طیور از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردارند و موجب افزایش هزینه‌های ناشی از درمان و کاهش عملکرد طیور می‌شوند. هدف از مطالعه‌ی حاضر، تعیین حضور مایکوپلازما گالی سبتیکوم و مایکوپلازما سینوویه در سندرم تنفسی مرغان گوشتی شهرستان همدان با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بود. بدین منظور از گله‌های طیور مبتلا به سندرم تنفسی در شهرستان همدان نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌ها با سوآب از قسمت فوقانی نای برداشته شد و اطلاعات هر گله نیز ثبت گردید. در مجموع ۲۷۹ نمونه از ۳۱ گله مورد آزمایش قرار گرفت. نمونه‌ها با استفاده از آزمایش PCR از نظر حضور مایکوپلازما گالی سبتیکوم و مایکوپلازما سینوویه ارزیابی شدند. نتایج آزمایش PCR نشان داد که ۶۳ نمونه (۲۲/۵۸ درصد) از ۱۲ گله (۳۹ درصد) آلوده به مایکوپلازما گالی سبتیکوم بودند. همچنین هیچکدام از نمونه‌ها از نظر حضور مایکوپلازما سینوویه مثبت نبودند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان آلودگی با مایکوپلازما گالی سبتیکوم در گله‌های طیور شهرستان همدان بالا می‌باشد و بایستی در حین بررسی وضعیت گله‌های مبتلا به سندرم تنفسی، احتمال عفونت چندگانه به‌ویژه مایکوپلازما گالی سبتیکوم مدنظر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: مایکوپلازما گالی سبتیکوم، مایکوپلازما سینوویه، سندرم تنفسی، مرغان گوشتی، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز.

* نویسنده مسئول: جلال شایق

آدرس: شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی شبستر، گروه دامپزشکی. تلفن: ۰۴۱۴۲۴۲۵۳۱۱

پست الکترونیک: Jalalshayegh@gmail.com

مقدمه

مایکوپلازماها عضوی از کلاس مولیکوتس و راسته‌ی مایکوپلازما تاسه می‌باشند که سبب ایجاد یک بیماری عفونی با گسترش جهانی به نام مایکوپلازما سیموزیس می‌شوند که طیور پرورشی در سراسر دنیا را تهدید می‌کنند (۹). با توجه به اهمیت اقتصادی این میکروارگانیزم که باعث ایجاد بیماری تنفسی، لنگش پا (عفونت سینوویال)، کاهش رشد، کاهش تولید تخم مرغ و به تبع آن کاهش میزان جوجه‌درآوری می‌شود، بنابراین تشخیص دقیق و شناسایی به موقع مایکوپلازماها در صنعت پرورش طیور در سراسر دنیا، بسیار حائز اهمیت می‌باشد (۵ و ۹). مایکوپلازماها در طبیعت گسترده بوده و به دلیل نداشتن دیواره سلولی، در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر بر سنتز دیواره‌ی سلول، مقاوم می‌باشند (۴). جنس مایکوپلازما بیش از ۱۲۰ گونه دارد که تاکنون ۲۳ گونه‌ی مختلف مایکوپلازما از پرندگان جدا شده است که ماکیان و همچنین بوقلمون میزبان ۱۶ گونه از آن‌ها هستند، که از میان آن‌ها ۲ گونه‌ی مایکوپلازما گالی‌سپتیکوم و مایکوپلازما سینوویه در مرغ، خروس و بوقلمون ایجاد بیماری می‌کنند (۳ و ۲۱). با توجه به اهمیت مایکوپلازما گالی‌سپتیکوم و مایکوپلازما سینوویه از نظر اقتصادی و با توجه به این که این عوامل عفونی سبب ایجاد درگیری‌های تنفسی، کاهش تولید (گوشت و تخم مرغ) و باعث افزایش تلفات ناشی از بیماری‌های ویروسی (برونشیت عفونی و آنفوانزای طیور) می‌شوند و با توجه به هزینه‌های درمانی زیادی که دارند و ممکن است عدم پاسخ به درمان نیز مشاهده شود، استفاده از روش‌های تشخیص سریع و مطمئن که بتواند در حداقل زمان ممکن و با درصد احتمال بسیار بالا این عوامل عفونی را تشخیص دهد، بسیار مورد توجه قرار گرفته

است. تشخیص سریع و به موقع این عوامل، هم از نظر متولیان پرورش طیور و هم از نظر سازمان دامپزشکی بسیار حائز اهمیت می‌باشد (۱). با توجه به این که روش غربالگری سرولوژی هنوز به عنوان یک آزمون سریع و اولیه مورد استفاده قرار می‌گیرد، ممکن است در تشخیص عفونت‌های تحت بالینی به ویژه در ابتدای آلودگی گله‌ها، دارای حساسیت کافی نباشد (۷ و ۱۴) و همچنین روش کشت مایکوپلازماها که نیازمند وقت و هزینه‌ی زیادی می‌باشد، کارآیی استفاده از این روش‌ها را به عنوان یک روش معمول در تشخیص مایکوپلازماها کمتر می‌کند (۷). اما امروزه با توجه به برخی نقص‌ها و مشکلات مربوط به برخی از روش‌های تشخیصی رایج (سرولوژی و جداسازی باکتری)، استفاده از روش‌های تشخیص سریع و دقیق جهت جلوگیری از انتشار عفونت در سطح گله و منطقه و همچنین کنترل سریع و به موقع این میکروارگانیزم، بسیار ضروری به نظر می‌رسد (۲). با توجه به اهمیت تشخیص سریع، امروزه استفاده از روش PCR (Polymerase chain reaction) برای تشخیص گونه‌ای مایکوپلازماها اهمیت ویژه‌ای یافته است، به طوری که این روش به میزان وسیع در دنیا و ایران مورد استفاده قرار گرفته است. چندین مورد از گزارش شیوع مایکوپلازما سیموزیس با استفاده از روش PCR مبتنی بر جستجوی 16SrRNA ژنوم مایکوپلازماها در استان‌های مختلف ایران وجود دارد. با این حال گزارشی در این خصوص در شهرستان همدان وجود ندارد (۶)، (۱۱ و ۲۰). با توجه به اهمیت اقتصادی پرورش طیور در شهرستان همدان، انجام چنین تحقیقی برای بررسی میزان حضور گونه‌های مایکوپلازما گالی‌سپتیکوم و مایکوپلازما سینوویه ضروری است. لذا هدف از این تحقیق بررسی و تعیین میزان حضور و سهم هر کدام از

۳۰۰g به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایعی که در قسمت بالایی قرار گرفت به یک میکروتیوب استریل دیگر منتقل شد. میکروتیوب‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۳۰۰g به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. قسمت رویی با دقت برداشته شده و رسوب در ۲۵µl از PPLO برات مجدداً به صورت سوسپانسیون درآمد. سپس این نمونه دوباره سانتریفیوژ شده و یکبار دیگر با کمک PPLO برات شستشو داده شد. پس از دو بار شستشو رسوب در ۲۵µl از PPLO برات توسط ورتکس به صورت سوسپانسیون درآمد و به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار داده شد و پس از آن سریعاً میکروتیوب‌ها روی یخ قرار گرفت و پس از ۱۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰g به مدت ۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. قسمت رویی که حاوی DNA بود با دقت توسط سمپلر برداشته و به میکروتیوب دیگری منتقل گردید و در ۴ درجه سانتی‌گراد (یا در ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای طولانی مدت) نگهداری شد (۱۵). در نهایت با استفاده از دستگاه نانو درآپ کیفیت DNA استخراج شده مناسب برای PCR تشخیص داده شد.

PCR به منظور تشخیص مایکوپلازما

به منظور تایید حضور مایکوپلازما گالی سبتیکوم و مایکوپلازما سینوویه از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس استفاده شد. پرایمرهای استفاده شده، اختصاصی ژن 16S rRNA-PCR در مایکوپلازما گالی سبتیکوم و مایکوپلازما سینوویه بودند و این پرایمرها جهت شناسایی مایکوپلازما گالی سبتیکوم و مایکوپلازما سینوویه در کشت خالص و یا نمونه‌های بالینی به طور گسترده‌ای استفاده می‌شوند.

این دو عامل مایکوپلازمایی در سندرم تنفسی مرغان گوستی در شهرستان همدان بود.

مواد و روش کار

جمع‌آوری نمونه

در طی این تحقیق از ۳۱ مرغداری گوشتی شهرستان همدان که هر یک به نوعی دارای نشانه‌های بالینی ابتلا به بیماری تنفسی حاد با هر علتی (ویروسی، باکتریایی و محیطی) بودند در فصل تابستان سال ۱۳۹۶، نمونه‌برداری انجام گرفت. از هر مرغداری حداقل ۹ نمونه و در مجموع ۲۷۹ نمونه جمع‌آوری شد.

نمونه‌گیری با سوآب برداری استریل از قسمت فوقانی نای و شکاف کامی صورت گرفت. سپس سوآب‌ها داخل محیط PPLO برات تلقیح گردیدند و به آزمایشگاه منتقل شدند. به این صورت که در ابتدا محیط کشت PPLO برات با رعایت شرایط استریل در کنار شعله به میزان حدود ۸-۵ میلی‌لیتر در هر ظرف مخصوص (ظروف یونیورسال) تقسیم گردید و در محل نمونه‌برداری اقدام به تهیه نمونه شد (۱۲). در نهایت درخصوص هر مرغداری سن جوجه‌ها، سابقه بیماری‌های دوره‌ی پرورشی، آلودگی‌های توام، عفونت‌های همزمان و نیز سابقه‌ی درمان‌های آنتی‌بیوتیکی هر گله از پرونده مرغداری‌های مورد آزمایش استخراج گردید.

استخراج DNA

به منظور انجام فرایند PCR، DNA نمونه‌های ارسال شده به آزمایشگاه به روش جوشاندن استخراج شد؛ به این صورت که، هر سوآب داخل لوله آزمایش حاوی یک سی‌سی محلول PPLO برات قرار گرفته و ورتکس شد. سوآب‌ها پس از آنگیری با فشردن به جدار لوله با دقت بالا حذف گردیدند. سپس محتویات لوله به یک میکروتیوب استریل منتقل گردید و در دور

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده، جهت تشخیص گونه‌های مایکوپلازما گالی سیتیکوم و مایکوپلازما سینوویه (۱۳).

توالی نوکلئوتیدی	اندازه قطعه	پرایمر
5'-GAG CTA ATC TGT AAA GTT GGT C-3' 5'-GCT TCC TTG CGG TTA GCA AC-3'	186bp	MG-14F MG-13R
5'-GAG AAG CAA AAT AGT GAT ATC A-3' 5'-CAG TCG TCT CCG AAG TTA ACA A-3'	214bp	MS-F MS-R

مایکوپلازما گالی سیتیکوم (۱۸۶bp) و مایکوپلازما سینوویه (۲۱۴bp) مورد بررسی قرار گرفت.

آزمون آماری

جهت بررسی‌های آماری نتایج به دست آمده از آزمایش PCR، برای مطالعه روابط بین متغیرها با توجه به این که متغیرها کیفی بودند، از آزمون کای دو (Chi-square) استفاده شد و برای انجام عملیات آماری از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۰ استفاده گردید.

نتایج

نتایج PCR نمونه‌های ارسالی

تعداد ۲۷۹ نمونه‌ی مشکوک از ۳۱ گله‌ی جمع آوری شده در آزمایشگاه PCR مورد بررسی قرار گرفتند. همه‌ی نمونه‌های موجود با پرایمرهای اختصاصی از نظر حضور مایکوپلازما گالی سیتیکوم و مایکوپلازما سینوویه بررسی شدند. نتایج PCR برای گونه‌ی مایکوپلازما گالی سیتیکوم، ۶۳ نمونه (۲۲/۵۸ درصد) مثبت و ۲۱۶ نمونه (۷۷/۴۲ درصد) منفی گزارش شد. اما نتایج PCR برای گونه‌ی مایکوپلازما سینوویه در کلیه نمونه‌های ارسال شده به آزمایشگاه (۲۷۹ نمونه)، منفی گزارش شد. نتایج آلودگی گله‌ها به این صورت بود که، از ۳۱ گله مورد مطالعه، تعداد ۱۲ گله (۳۹ درصد) آلوده به مایکوپلازما گالی سیتیکوم و ۱۹ گله (۶۱ درصد) از لحاظ آلودگی با مایکوپلازما گالی سیتیکوم منفی گزارش شد. اما در ارتباط با گونه‌ی مایکوپلازما سینوویه، در هیچ کدام از گله‌ها مایکوپلازما سینوویه

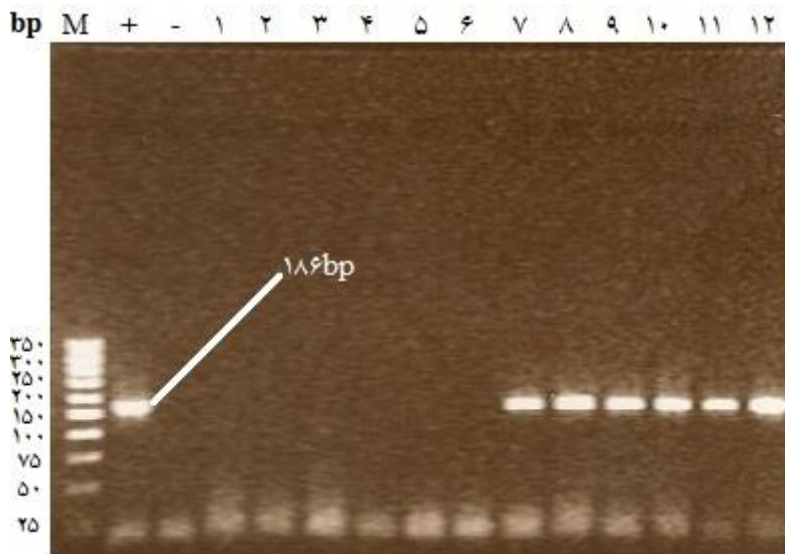
از سویه‌های استاندارد ts-11 (استرالیا، Bioproperties) و S6 (لیورپول، انگلستان) برای گونه‌ی مایکوپلازما گالی سیتیکوم و از سویه‌ی استاندارد MS-H (استرالیا، Bioproperties) برای گونه‌ی مایکوپلازما سینوویه در آزمایش PCR به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. برای انجام PCR، نمونه‌ها در حجم ۵۰ μl آماده و در دستگاه ترموسایکلر (آمریکا، BioRad) قرار داده شد. هر نمونه شامل ۵ μl بافر PCR (۱۰X)، ۱ μl (۱۰mM) dNTP، ۰/۵ μl پرایمر اختصاصی، ۰/۲۵ μl Taq DNA پلیمرز ۵ واحد و ۲ μl (۵۰mM) Mgcl2 بود. به هر نمونه میزان ۱ μl از DNA نمونه استخراج شده اضافه گردید. برنامه‌ی PCR شامل یک مرحله واسرشتی اولیه به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد و مرحله بسط نهایی ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد انجام گردید. واکنش PCR بین این دو، در ۳۰ چرخه شامل، مرحله واسرشتی در ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه، مرحله چسبیدن پرایمرها در ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله بسط در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه انجام شد (۱۳).

جهت شناسایی و رویت محصول PCR از الکتروفورز (آمریکا، BioRad) بر روی ژل و بافر TBE استفاده شد. بدین منظور، نمونه‌ها در ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شده و در دستگاه ژل داکتیومنت قرار گرفت و حضور یا عدم حضور باندهای اختصاصی برای

سندرم تنفسی مرغان گوشتی وجود دارد، بنابراین می توان حضور مایکوپلازما گالی سبتیکوم را در سندرم تنفسی مرغان گوشتی شهرستان همدان مؤثر دانست (مقدار کای دو: ۱۴/۸۸ و $p=۰/۰۰۰۱$).

حضور نداشت و همه ی ۳۱ گله (۱۰۰ درصد) نمونه گیری شده، از نظر حضور مایکوپلازما سینوویه منفی گزارش شد.

نتایج آزمون آماری کای دو نشان داد که، ارتباط آماری معناداری بین حضور مایکوپلازما گالی سبتیکوم با



شکل ۱- بررسی محصول PCR با پرایمرهای اختصاصی مایکوپلازما گالی سبتیکوم بر روی ژل آگارز ۲ درصد،

M: مارکر (DNA Ladder 25bp)، (+) شاهد مثبت: سویه های استاندارد IS-11، (-) شاهد منفی: محیط کشت بدون تلقیح باکتری، ۱ تا ۱۲ تعدادی از نمونه های مورد

آزمایش، ۷ تا ۱۲: تعدادی از نمونه های مثبت، باند ۱۸۶bp برای نمونه های مثبت ثبت شده است.

مایکوپلازما گالی سبتیکوم به طور قابل توجهی کمتر گزارش شد ($p=۰/۰۰۰۱$).

بحث و نتیجه گیری

باتوجه به آزمایش های صورت گرفته، مشخص شد که در ۶۳ نمونه (۲۲/۵۸ درصد)، از ۱۲ گله (۳۹ درصد) گونه ی مایکوپلازما گالی سبتیکوم حضور دارد، در صورتی که حضور گونه ی مایکوپلازما سینوویه در هیچ یک از گله های مورد مطالعه تایید نشد و همه ی ۲۷۹ نمونه در ۳۱ گله ی نمونه گیری شده عاری از حضور مایکوپلازما سینوویه بودند. نتایج بررسی پژوهشگران در شمال و مرکز ایران در سال ۲۰۱۱، نشان داد که تنها ۱۰ درصد گله ها از نظر مایکوپلازما

نتایج آزمون آماری کای دو نشان داد که، ارتباط آماری معناداری بین حضور مایکوپلازما گالی سبتیکوم با سن طیور وجود ندارد و نمونه های مورد مطالعه از نظر سن، پراکندگی یکسانی ندارند ($p=۰/۰۱۴$).

با توجه به تاریخچه ی مصرف آنتی بیوتیک گله ها، در طی دوره ی پرورشی که نمونه برداری انجام شد، نتایج آزمون آماری کای دو نشان داد که، ارتباط آماری معناداری بین مصرف آنتی بیوتیک و میزان شیوع مایکوپلازما گالی سبتیکوم در گله های مورد مطالعه وجود دارد؛ به این صورت که در گله هایی که آنتی بیوتیک مصرف کرده بودند، میزان شیوع

می‌باشد (۱۶). ردیابی مایکوپلازما و تایید حضور آن در گله‌های طیور هم‌اکنون، معمولاً با روش‌های کشت و سرولوژی صورت می‌گیرد. اما این روش‌ها دارای نواقصی می‌باشند که می‌توان به امکان از بین رفتن عامل مایکوپلازما در فاصله‌ی زمانی نمونه‌برداری تا انتقال به آزمایشگاه، عدم رشد این ارگانیزم در محیط کشت به علت سخت رشد بودن عامل مایکوپلازما، خطای آزمایش ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک در گله‌ها و عدم استفاده‌ی مناسب از احتیاجات رشد مایکوپلازما در آزمایشگاه اشاره کرد. امروزه استفاده از روش PCR بسیار مورد توجه واقع شده است، زیرا علاوه بر عدم وجود مشکلاتی که در بالا ذکر شد، دارای مزایایی از جمله تشخیص سریع و به موقع ارگانیزم بوده و همچنین مهم‌ترین موردی که می‌توان به آن اشاره کرد این است که، تشخیص عامل بستگی به وجود جرم زنده ندارد (۱۹). در طی این مطالعه نشان داده شد که مرغداری‌های گوشتی شهرستان همدان که هر یک به نوعی درگیر سندرم تنفسی (ویروسی، باکتریایی و محیطی) بودند، با استفاده از انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به مایکوپلازما گالی‌سپتیکوم آلوده می‌باشند، در حالی که حضور مایکوپلازما سینیوویه در هیچ یک از گله‌های مورد آزمایش تایید نشد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر که ۱۲ گله (۳۹ درصد) از گله‌های نمونه‌گیری شده، آلوده به مایکوپلازما گالی‌سپتیکوم بودند، می‌توان حضور این عامل را در سندرم تنفسی مرغان گوشتی شهرستان همدان مؤثر دانست. نهایتاً مرغداران (متولیان پرورش طیور) و دامپزشکان باید حضور این عامل را در سندرم تنفسی جدی بگیرند و راه کارهای درمانی را جهت درمان یا راه کارهای پیشگیرانه را جهت جلوگیری از پیشرفت این عامل که در وخیم‌تر شدن وضعیت تنفسی پرندگان در سندرم

گالی‌سپتیکوم مثبت بودند و در مورد مایکوپلازما سینیوویه نیز ۴۲/۵ درصد گله‌ها مثبت بودند، نمونه‌های سرمی نیز ۶/۲۵ درصد در مورد مایکوپلازما گالی‌سپتیکوم و ۱۸/۵۵ درصد نمونه‌ها از نظر مایکوپلازما سینیوویه، مثبت بودند (۱۰). نتایج بررسی طیور بومی در اقلید در سال ۲۰۱۳ با استفاده از روش سرولوژیک نشان داد که، ۸۵ درصد گله‌ها از نظر مایکوپلازما گالی‌سپتیکوم و ۲ درصد گله‌ها از نظر مایکوپلازما سینیوویه مثبت بودند (۱۸). نتایج بررسی گله‌های مادر گوشتی در شمال غربی ایران با استفاده از روش سرولوژیک، در سال ۲۰۱۳ نشان داد که، ۳۳ درصد گله‌ها از نظر مایکوپلازما گالی‌سپتیکوم مثبت بوده‌اند (۸). نتایج مطالعه میزان بروز مایکوپلازما سینیوویه، با استفاده از روش سرولوژیک در گله‌های طیور ایران در سال ۲۰۱۲ نشان داد که، بیشترین میزان شیوع در زمستان و کم‌ترین میزان آن در تابستان می‌باشد، بیشترین میزان شیوع در گله‌های مادر گوشتی در سن ۶۰ هفتگی به بالا (۴۷/۸ درصد) بوده و کم‌ترین میزان شیوع در سن ۱۰ تا ۲۰ هفتگی (۱۴/۲ درصد) بود؛ همچنین نتایج مطالعه مذکور نشان داد که، میزان بروز مایکوپلازما سینیوویه رابطه معنی‌داری با سن و محل نمونه‌برداری پرند دارد (۱۷). نتایج ارزیابی طیور در کشور بلژیک در سال ۲۰۱۶ نشان داد که، میزان بروز مایکوپلازما گالی‌سپتیکوم در گله‌های تخم‌گذار (۰/۹ درصد) و گوشتی (۲/۷ درصد) بسیار پایین می‌باشد که احتمالاً به دلیل کاهش انتقال عمودی از طریق کنترل این بیماری در گله‌های مادر بوده است. اما میزان شیوع مایکوپلازما سینیوویه در گله‌های گوشتی، ۱۲/۹ درصد بود؛ همچنین مایکوپلازما از پرندگان وحشی ارزیابی شده به میزان کمی جدا شد که نشان دهنده عدم نقش این پرندگان در انتقال این بیماری به مزارع پرورشی

5. Azizpour, A. and Bozorgmehri Fard, M.H. (2011). A comparative survey on performance of *Mycoplasma gallisepticum*-free and *Mycoplasma gallisepticum*-infected layer flocks in Tabriz area of Iran. *Journal of Applied Animal Research*, **39**: 295-297.
6. Bayatzade, M.A., Pournabakhsh, S.A., Homayounmehr, A.R., Ashtari, A. and Abtin, A.R. (2011). Application of culture and polymerase chain reaction (PCR) methods for isolation and identification of *Mycoplasma synoviae* on broiler chicken farms. *Archives of Razi Institute*, **66**: 87-94.
7. Ewing, L., Cookson, K.C., Phillips, R.A., Turner, K.R. and Kleven, S. H. (1998). Experimental infection and transmissibility of *Mycoplasma synoviae* with delayed serological response in chickens. *Avian Diseases*, **42**: 230-238.
8. Feizi, A., Bijanzad, P., Khakpour, M., Nikpiran, H., Kaboli, K. and Moggadam, A. R. J. (2013). Seroprevalence of *Mycoplasma gallisepticum* infection in Iranian north-west broiler breeder farms. *Annals of Biological Research*, **4**: 109-111.
9. Ferguson-Noel, N. (2013). Mycoplasmosis. In: *Diseases of Poultry*. 13th edition, Swayne, D.E., Glisson, J.R., McDougald, L.R., Nolan, L.K., Suarez., D.L. and Naire, V. editors. Iowa, USA, John Wiley and Sons: 875-877.
10. Haghghi-Khoshkhou, P., Akbariazad, G., Roohi, M., Inanlo, J., Masoumi, M. and Sami-Yousefi, P. (2011). Seroprevalence of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infection in the commercial layer flocks of Iran. *African Journal of Microbiology Research*, **5**: 2834-2837.
11. Kaboli, K., Bijanzad, P., Jeyranimoggadam, A.R., Shahbazi, M. and Hosseini, H. (2013). Evaluation of *Mycoplasma Gallisepticum* infection diagnosis in rural poultry by 16S rRNA

تنفسی مؤثر است را، جزء روش کار خود قرار دهند. اما با توجه به نتایج تحقیق حاضر، در ارتباط با عدم حضور مایکوپلازما سینوویه در کلیه گله‌های مورد مطالعه، می‌توان حضور این ارگانیزم را در سندرم تنفسی مرغان گوشتی شهرستان همدان رد کرد. لذا پیشنهاد می‌شود پژوهشگران، در پژوهش‌های آتی تعیین حضور این ارگانیزم (مایکوپلازما سینوویه) را در سندرم تنفسی مرغان گوشتی در مناطق مختلف مورد توجه خود قرار دهند.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از رساله دکتری حرفه‌ای نویسنده‌ی اول مقاله می‌باشد. بدین وسیله از حوزه‌ی پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر، تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

۱. طیبی دراز کلا، ا.، پوربخش، س.ع.، بنائی، م.، حجتی، پ.، صلاحی، ز. و ارمی، م. (۱۳۹۰). جداسازی و شناسایی مایکوپلازما گالی سیتیکوم از مرغداری‌های گوشتی شهرستان قائم شهر. *پاتوبیولوژی مقایسه‌ای*، دوره ۸، شماره ۳، صفحات ۵۴۶-۵۳۹.
۲. غفوری، س.ع.، بزرگمهری فرد، م.ح.، کریمی، و.، ناظم شیرازی، م.ح.، نورمحمدی، ا. و حسینی، ح. (۱۳۹۰). تشخیص و تفریق تعدادی از جدایه‌های مایکوپلازما سینوویه ایران به روش PCR براساس تکثیر بخشی از ناحیه ژن *VlhA*. *مجله تحقیقات دامپزشکی*، دوره ۶۶، شماره ۲، صفحات ۱۱۷-۱۲۲.
۳. مومیوند، ح.، پوربخش، س.ع.، و جمشیدیان، م. (۱۳۹۶). جداسازی مایکوپلازماهای بیماری‌زا از مزارع پرورش شتر مرغ در ایران. *پاتوبیولوژی مقایسه‌ای*، دوره ۱۴، شماره ۳، صفحات ۲۲۸۸-۲۲۸۱.
4. Al-ankari, A.S. and Bradbury, J.M. (1996). *Mycoplasma iowea*: A review. *Avian Pathology*, **25**: 205-229.

20. Tebyanian, H., Mirhosseney, S.H., Kheyrikhah, B., Hassanshahian, M. and Farhadian, H. (2014). Isolation and identification of *Mycoplasma synoviae* from suspected ostriches by polymerase chain reaction, in Kerman province, Iran. *Gundishapur Journal of Microbiology*, **7**: e19262.
21. Wood, B. and Wilson, S. (2013). *Mycoplasma iowae* in turkeys (meleagris gallopavo). *Worlds Poultry Science Journal*, **69**: 909-916.
- PCR methods. *European Journal of Zoological Research*, **2**: 63-66.
12. Kleven, S.H., Barnes, Y.M., Glisson, J.R., Fadly, A.M., Dougald, M C. and Swayne, D.E. (2003). Mycoplasmosis. In: Diseases of poultry, 11th edition. Iowa state press: 719-722.
13. Kleven, S.H., Fulton, R.M., Garcia, M., Ikuta, V.N., Leiting, V.A., Liu, T., Ley, D.H., Opengart, K.N., Rowland, G.N. and Wallner-Pendleton, E. (2004). Molecular characterization of *Mycoplasma gallisepticum* isolates from turkeys. *Avian Diseases*, **48**: 562-569.
14. Kleven, S.H., Rowland, G.N. and Kumar, M.C. (2001). Poor serologic response to upper respiratory infection with *Mycoplasma synoviae* in turkeys. *Avian Diseases*, **45**: 719-723.
15. Liu, T., Garcia, M., Levisohn, S., Yogev, D. and Kleven, S.H. (2001). Molecular variability of the adhesin-encoding gene *vpA* among *Mycoplasma gallisepticum* strains and its application in diagnosis. *Journal of Clinical Microbiology*, **39**: 1882-1888.
16. Michiels, T., Welby, S., Vanrobaeys, M., Quinet, C., Rouffaer, L., Lens, L., et al. (2016). Prevalence of *Mycoplasma Gallisepticum* and *Mycoplasma Synoviae* in commercial poultry, racing pigeons and wild birds in Belgium. *Avian Pathology*, **45**: 244-252.
17. Seifi, S. and Shirzad, M. (2012). Incidence and risk factors of *Mycoplasma Synoviae* infection in broiler breeder farms of Iran. *Veterinary World*, **5**: 265-268.
18. Shadmanesh, A. and Mokhtari, M. (2013). Serological investigation of five diseases; Influenza, Newcastle disease, Salmonella, *Mycoplasma Gallisepticum* and *Mycoplasma Synoviae* in native hens of Eghlid, Iran. *Veterinary World*, **6**: 126-130.
19. Swayne, D.E., Mcdougald, L., Nolan, L.K., Suarez, D.L. and Nair, V. (2013). Diseases of Poultry. 13th edition, John Wiley & Sons, Iowa, USA: 877-893.