

جداسازی مایکوپلاسماهای بیماریزا از مزارع پرورش شترمرغ در ایران

حامد مومیوند^۱، سیدعلی پوربخش^{۱*}، محمود جمشیدیان^۱

چکیده

در شتر مرغ‌ها، مایکوپلاسمها غالباً با بروز بیماری‌های تنفسی همراه بوده و موجب بروز رینوتراکتیت، 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 ۱۴٪ آنها به ترتیب مایکوپلاسم گالی‌سپتیکوم و مایکوپلاسم سینوویه بوده‌اند. در بررسی کشت باکتریایی، ۶/۱۴٪ نمونه‌ها از نظر مایکوپلاسم گالی‌سپتیکوم و ۷/۰۱٪ نمونه‌ها از نظر مایکوپلاسم 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 مایکوپلاسم‌های ماکیان در شترمرغ‌ها، بررسی دقیق بیماریزایی آن‌ها در شترمرغ ضروری می‌باشد، تا اهمیت پیشگیری مشخص شود

واژگان کلیدی: مایکوپلاسم، شترمرغ، کشت، واکنش زنجیره پلیمراز

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۱۳

مقدمه

مایکوپلاسموزیس به عنوان یک بیماری عفونی با گسترش جهانی بوده و طیور پرورشی را در تمام دنیا آلوده می‌نماید (۹). مایکوپلاسم‌ها 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 و ۲). مایکوپلاسم‌ها 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 ستنز دیواره سلول نیز مقاوم می‌باشند (۱). مایکوپلاسم‌های بیماریزای پرندگان شامل مایکوپلاسم

گالی‌سپتیکوم و مایکوپلاسم سینوویه در مرغ و خروس و بوقلمون، و مایکوپلاسم مله آگریدیس و مایکوپلاسم آیووه در بوقلمون بیماریزا می‌باشند (۲۶).

در شترمرغ‌ها، مایکوپلاسم عمدتاً باعث بروز بیماریهای تنفسی می‌شوند و منجر به رینوتراکتیت، التهاب کیسه‌های هوایی و تورم قسمت فوقانی سیستم تنفسی می‌شوند (۲۵ و ۳). رینوتراکتیت معمولاً در اثر سرما و متعاقب وزش باد در فصل زمستان و پس از استرس گرمائی در فصل تابستان مشاهده می‌شود (۲۵ و ۵). از شترمرغ‌های دچار بیماری تنفسی، مایکوپلاسم سینوویه به همراه علائم بیماری تنفسی نیز جدا شده است (۱۳ و ۱۵). برخی پژوهشگران علیرغم گزارش نمودن پاسخ سرمی نسبت به مایکوپلاسم‌های ماکیان (شامل مایکوپلاسم سینوویه، گالی‌سپتیکوم و مله آگریدیس) در شمال ایتالیا، نتوانسته‌اند مایکوپلاسم‌های ماکیان را از شترمرغ‌ها جداسازی بنمایند (۲۶ و ۱۶). 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 مایکوپلاسم گالی‌سپتیکوم و مایکوپلاسم سینوویه گزارش شده است (۶). 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 و ۴).

عفونت تجربی با مایکوپلاسم گالی‌سپتیکوم در شتر مرغ‌ها

کشت مایکوپلازما سینوویه به میزان ۱٪ نیکوتینامید آدنین دی-نوکلئوتید به محیط فوق اضافه شد. ابتدا نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت در محیط PPLO براث غنی‌سازی شدند و سپس به محیط PPLO آگار با ۵ درصد 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 مایکوپلازما بررسی شدند.

۲. روش PCR

استخراج DNA: جهت استخراج ژنوم از کیت استخراج DNA (Gene Transfer Pioneers, GTP, Cat. No.: DM05050) استفاده شد. ۱-۴ میلی‌لیتر از کشت باکتریایی در دور ۸۰۰۰ به مدت ۱ دقیقه سانتی‌فیوژ 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 ۴۰۰ میکرولیتر بافر شستشو و ۴۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه گردید و بمدت ۳۰ ثانیه مخلوط و سپس به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتی‌فیوژ گردید، و ۴۰۰ میکرولیتر از مایع رویی به میکروتیوب جدید منتقل و ۴۰۰ 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 سانتی‌فیوژ شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از بافر شستشو به ستون DNA اضافه شد و تا حذف اتانول باقیمانده سانتی‌فیوژ 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 تأیید حضور مایکوپلازما در نمونه‌ها، پرایمرهای عمومی و اختصاصی ۱۶S rRNA شامل GPO3، MGSO که توانایی شناسایی گونه و جنس مایکوپلازما را دارند، استفاده شدند (۲۴). برای شناسایی مایکوپلازما گالی سپتیکوم نیز از پرایمرهای M.SynF و

توسط پژوهشگران ایجاد شده است (۷). نتایج تحقیقات نشان داده است که مایکوپلازماهای ایجاد کننده بیماری در شترمرغ، مایکوپلازماهای ایجاد کننده بیماری در ماکیان نمی‌باشند (۱۹) و همچنین برخی پژوهشگران نیز بیان نموده‌اند که مایکوپلازماهای اختصاصی شترمرغ منجر به ایجاد عفونت در شترمرغ می‌شوند (۲۱ و ۱۸). پژوهشگران در ایران مایکوپلازما سینوویه را از شترمرغ‌های دچار بیماری تنفسی جداسازی نموده‌اند (۲۳). بطور کلی، مایکوپلازماها داخل گونه‌های حیوانی و بین گونه‌های با ارتباط نزدیک منتقل می‌شوند (۱۵ و ۱۱).

هدف از مطالعه حاضر بررسی سرمی میزان آلودگی به مایکوپلازماهای مختلف و جداسازی و کشت مایکوپلازماهای 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 بر علیه مایکوپلازما سینوویه و مایکوپلازما گالی‌سپتیکوم نیز اخذ گردید و از روش سریع بر روی لام برای تشخیص آنتی‌بادی‌ها استفاده گردید. در شترمرغ‌های دارای علائم بالینی عفونت تنفسی، از ریه‌ها، نای و کیسه‌های هوایی نمونه برداری گردید.

شناسایی باکتری مایکوپلازماها

۱. روش کشت و جداسازی

کشت: نمونه‌ها در محیط کشت PPLO براث و آگار فاقد کریستال ویوله (۲۱ گرم در لیتر)، ۲۰٪ سرم گرم‌آمده اسب، ۱۰٪ عصاره تازه مخمر، ۲٪ گلوکز، ۴٪ پیرووات سدیم، ۰/۰۴٪ آمپی‌سیلین و ۱ درصد آگار (Merck) کشت داده شدند. برای

M.Syn-R و مایکوپلاسمای سینوویه از پرایمرهای MS-1 و MS-2 استفاده به عمل آمد (۲۴ و ۱۲).

جدول ۱-توالی‌های نوکلئوتیدی و پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی مایکوپلاسمای شترمرغ

منبع	توالی نوکلئوتیدها	پرایمر
پرایمرهای عمومی مایکوپلاسمای		
(۲۴)	۳'-TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACC-۵	GPO3F (F)
	۳'-TGCACCATCTGTCACTCTGTAAACCTC-۵	MGSO (R)
پرایمرهای ۱۶S rRNA برای شناسایی مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم		
(۳)	۳'- GCGATGACGTGTAGTTATGCTG -۵	M.Syn (F)
	۳'- CCAATGCATACAATCGTTAAGC -۵	M.Syn-R (R)
پرایمرهای ۱۶S rRNA برای شناسایی مایکوپلاسمای سینوویه		
(۱۲)	۳'- GAAGCAAATAGTGATATCA -۵	MS-1
	۳'- GTCGTCTCCGAAGTTAACAA -۵	MS-2

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

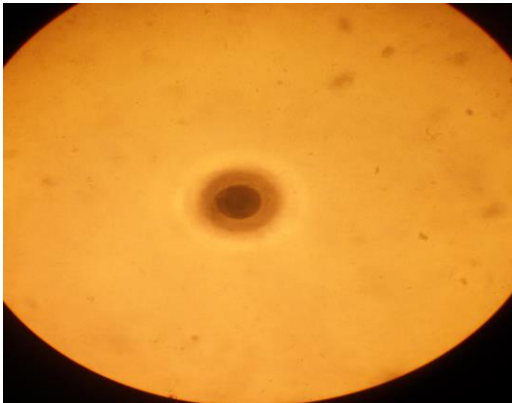
نتایج

تعداد ۱۱۴ نمونه مشکوک در آزمایش PCR مورد بررسی قرار گرفتند. در ۲۴ نمونه از شترمرغ‌ها، مایکوپلاسمای حضور داشت و نتیجه آزمایش مثبت گردید. همه نمونه‌های مثبت با پرایمر اختصاصی از نظر حضور مایکوپلاسمای گالی-سپتیکوم و سینوویه بررسی شدند که در مجموع از ۲۴ نمونه مثبت اولیه، ۵۸/۳۳٪ نمونه‌ها مایکوپلاسمای سینوویه و ۳۷/۵٪ نمونه‌ها مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم بودند (نگاره‌های ۱-۳).

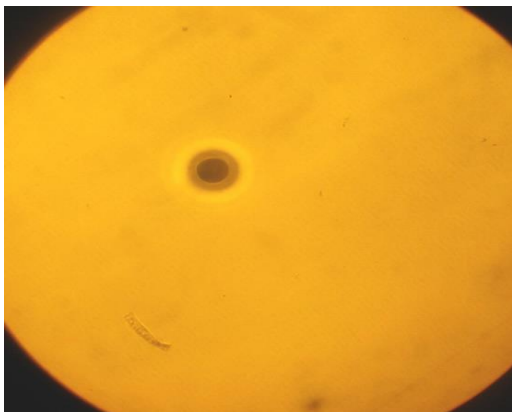
آزمایش واکنش زنجیره پلیمرز برای تشخیص ژن S rRNA: ۱۶: آزمایش PCR در تیوب‌های ۰/۵ میلی‌لیتری و حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام گردید. مخلوط آزمایش PCR شامل ۵ نانوگرم مخلوط DNA الگو، ۱ میلی‌مول $MgCl_2$ ، ۰/۸ میکرولیتر از هر پرایمر، ۲ میکرولیتر از بافر PCR $X10$ ، ۱۰۰ میلی‌مول dNTPs و ۱ واحد Taq از DNA پلیمرز 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 $95^{\circ}C$ (۵ دقیقه) جهت دناتوراسیون اولیه، سپس 35 سیکل دناتوراسیون در $95^{\circ}C$ (۴۰ ثانیه)، جفت شدن $52^{\circ}C$ (۶۰ ثانیه) و دراز شدن $72^{\circ}C$ (۶۰ ثانیه) و طویل شدن نهایی در $72^{\circ}C$ (۵ دقیقه) قرار گرفتند (۱۲). در نهایت DNA تکثیر شده در ژل آگارز ۱٪ حاوی ادیتیموم بروماید بررسی شد.

آزمون آماری

نگاره ۳- نتیجه آزمایش PCR با پرایمرهای اختصاصی مایکوپلازما گالی سپتیکوم، M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، (+) شاهد مثبت (atcc19610)، (-) شاهد منفی، ۱ تا ۱۲ نمونه‌ها، باند ۳۶۶ جفت بازی در نمونه‌های مثبت ثبت شده است.



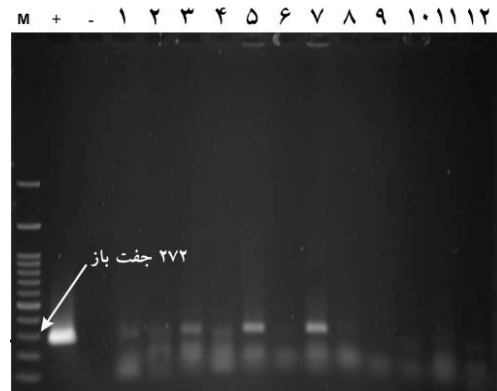
نگاره ۴- کشت مایکوپلازما



نگاره ۵- کشت مایکوپلازما

کلونی‌های مایکوپلازما، ۴۸ تا ۹۶ ساعت پس از تلقیح در محیط کشت مشاهده شدند. کلونی‌های مشخص مایکوپلازما در نمونه‌های کشت شده مشاهده شدند که در کلونی‌های به صورت تخم مرغ نیمرو در محیط کشت قابل مشاهده بود (نگاره ۵ و ۴). نتایج مطالعه نشان داد که ۲۴ نمونه از کل ۱۱۴ نمونه اخذ شده در محیط کشت از نظر رشد مایکوپلازما مثبت بودند. تعداد ۷ نمونه (۶/۱۴٪) مایکوپلازما گالی سپتیکوم و تعداد ۸ نمونه (۷/۰۱٪) مایکوپلازما سینوویه بودند.

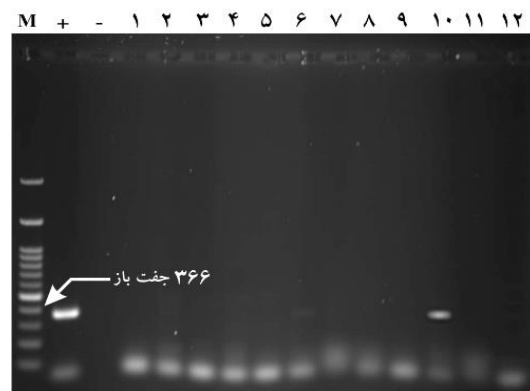
مقایسه روش‌های تشخیص باکتری به روش آماری



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



نگاره ۲- نتیجه آزمایش PCR با پرایمرهای اختصاصی مایکوپلازما سینوویه، M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، (+) شاهد مثبت (atcc:25204)، (-) شاهد منفی، ۱۵ تا ۳۳ نمونه‌ها، باند ۲۰۷ جفت بازی در نمونه‌های مثبت ثبت شده است.



اغلب مایکوپلاسمای جدا شده از ریه و نای شترمرغها همراه با بیماری بالینی نبوده است، علاوه بر آن براساس نتایج محققین مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم و مایکوپلاسمای سینوویه در بین ۳۲ مایکوپلاسمای جدا سازی شده از شترمرغ وجود نداشت (۱۹). با این حال مایکوپلاسمای سینوویه از عفونت سیستم تنفسی شترمرغها جدا سازی شده است (۲۵)، و پاسخ سرمی نسبت به مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم و مایکوپلاسمای سینوویه نیز قبلاً توسط پژوهشگران مختلفی گزارش شده است (۱۶ و ۶). علاوه بر آن عفونت تجربی با مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم همراه با ایجاد علائم بالینی نیز توسط محققین در شترمرغها گزارش شده است (۷). از این رو محققین بیان نموده اند که شناسایی گونه‌های عفونت‌زا مایکوپلاسمای در شترمرغ و ارزیابی میزان عفونت‌زایی و بیماری‌زایی آنها مهم می‌باشد (۱۶). همچنین به دلیل حساسیت شترمرغها به مایکوپلاسمای طيور، توصیه می‌شود مزارع پرورش شترمرغ عاری از گونه‌های ماکیان باشد (۲۵).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مزارع پرورش شترمرغ به مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم و مایکوپلاسمای سینوویه آلوده می‌باشند. نتایج مطالعه مزارع پرورش شترمرغ در استان کرمان نشان داد که ۵۲٪ نمونه‌ها از نظر مایکوپلاسمای سینوویه و ۴۸٪ نمونه‌ها از نظر سایر مایکوپلاسمای مثبت بوده‌اند (۲۳). بطور کلی، مایکوپلاسمای سینوویه به عنوان بیماری تنفسی تحت بالینی در طیور شناخته می‌شود، با اینحال خسارات اقتصادی ناشی از آن در طیور گزارش شده است (۸).

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

مقایسه آماری میزان تشخیص موارد مثبت در دو آزمایش کشت و PCR در مورد مایکوپلاسمای سینوویه و مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم اختلاف آماری معین‌داری نشان نداد (به ترتیب: $p=0/178$ و $p=0/592$).

نتایج مطالعه سرولوژیکی نشان داد ۱۹/۲۹، ۲۱/۹۲٪ نمونه‌های سرمی، به ترتیب از نظر مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم و مایکوپلاسمای سینوویه مثبت بودند. بررسی موارد مثبت در اندامهای مختلف نشان داد که به ترتیب ۴، ۲، و ۱ نمونه مربوط به ریه، کیسه‌های هوایی، و نای در کشت مایکوپلاسمای گالی- سپتیکوم مثبت بودند (نگاره ۴)، و نیز تعداد ۵، ۲، ۱ نمونه مربوط به ریه، کیسه‌های هوایی، و نای در کشت از نظر مایکوپلاسمای سینوویه مثبت بودند (نگاره ۵).

بحث

مایکوپلاسمای در شترمرغ، موجب بروز بیماری تنفسی، رینوترانژیت، تورم کیسه‌های هوایی و التهاب سیستم تنفسی فوقانی می‌گردد (۲۵ و ۱۳). در مطالعه حاضر، مایکوپلاسمای بیماریزا از ریه، نای و کیسه‌های هوایی شترمرغها در ایران به وسیله کشت جداسازی و ارزیابی شد، و نتایج نشان داد که مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم و مایکوپلاسمای سینوویه شترمرغهای پرورش در ایران را آلوده می‌نماید.

مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم و مایکوپلاسمای 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 مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم، مایکوپلاسمای سینوویه و مایکوپلاسمای مله آگریدیس حاکی از تغییرات سرمی در مورد همه مایکوپلاسمای فوق‌الاشاره بود (۱۶). همچنین مطالعه پژوهشگران نشان داده است که عفونت تجربی با مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم موجب کلونیزه شدن باکتری در نای شترمرغهای جوان می‌شود (۷). برخی پژوهشگران گزارش نموده‌اند که

بالینی را ناشی از مایکوپلاسماهای جدا شده ارزیابی نمود. همچنین سایر اندامها نیز بایستی بررسی شوند تا بیماریزایی مایکوپلاسمها در شترمرغ بصورت کامل مشخص گردد. علاوه بر این، آزمایش زنجیره پلیمرز نیز روش دقیق و مناسبی برای تشخیص مایکوپلاسمها می باشد (۲۰)، و پیش از بروز علائم بالینی بیماری می توان آن را تشخیص داد (۱۴)، و استفاده از آزمایش PCR در تشخیص و ارزیابی مزارع پرورش شترمرغ توصیه می شود.

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):

است (۱۷). نتایج بررسی مزارع پرورش شترمرغ در آفریقای جنوبی نشان داده است که مایکوپلاسمای جدیدی بنام *Mycoplasma struthiolus* شترمرغها را آلوده می نماید، همچنین بررسی های بیشتر نشان داد که سه نوع مایکوپلاسمای استروتیولوس مختلف با ۸۸/۴، ۸۸/۷ و ۹۳/۱٪ تشابه توالی باعث ایجاد عفونت در شترمرغها می شود (۵).

نتایج مطالعه حاضر در کشتارگاههای شترمرغ در ایران نشان داد که تنها مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم و مایکوپلاسمای سینیویه از شترمرغها جداسازی می شود و همچنین میزان عفونت مایکوپلاسمای سینیویه در شترمرغها بیشتر از مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم بود. با توجه به نتایج مطالعه حاضر نگهداری ماکیان در اطراف مزارع پرورش شترمرغ توصیه نمی شود. همچنین نتایج پژوهشگران در آفریقای جنوبی نشان داد که شترمرغهایی که در نزدیکی مزارع پرورش ماکیان نگهداری شده بودند تنها با مایکوپلاسمای استروتیولوس آلوده شده بودند ولی برخی محققین نیز عفونت ناشی از مایکوپلاسمای طيور در مزارع شترمرغ را گزارش نموده اند.

نمونه های اخذ شده از کشتارگاه شترمرغ نشان داد که میزان بالای از عفونت تنفسی توسط مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم و مایکوپلاسمای سینیویه در شترمرغها وجود دارد. همچنین بررسی ها نشان داد که ریه میزان بالای از عفونت را با مایکوپلاسمای گالی سپتیکوم و مایکوپلاسمای سینیویه داشته و پس از آن به ترتیب کیسه های هوایی و نای بیشترین میزان عفونت را دارا می باشند. نتایج پژوهش ها نشان داده است که مایکوپلاسمای سیستم تنفسی فوقانی شترمرغها را آلوده می نماید (۵)، اما عفونت ناشی از مایکوپلاسمای ماکیان و علائم بالینی ناشی از آنها در شترمرغ بصورت کامل مورد مطالعه قرار نگرفته است. از این رو بایستی مطالعات بیشتری برای بررسی بیماریزایی مایکوپلاسمای ماکیان در شترمرغ ضروری می باشد، چرا که نمونه های اخذ شده در این مطالعه مربوط به کشتارگاه بوده و نمی توان بطور دقیق علت بروز علائم

- 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 Cellular and 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., Bozorgmehrifard, 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.
 20. 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 rna 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.