جداسازی و شناسائی مایکوپلاسماهای عامل بیماری آگالاکسی مُسری از گوسفند و بز در استان تهران

سیدجلال میریان*[۱]، سیدعلی پوربخش[۱]، احمدرضا محمدی[۱]، هرمزحمیدیه[۱]، عباس اشتری[۱]، منصور بنانی[۱]، سیدعلی امامی[۲]

۱ - عضوهیئت علمی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی)، کرج، ایران.
۲ - کارشناس ادره کل دامپزشکی استان تهران، ایران

دریافت مقاله : ۰۷ اسفند ۱۳۹۸، بازنگری: ۱۷ اسفند ۱۳۹۸، پذیرش نهایی: ۲۵ اسفند ۱۳۹۸

چکیده

بیماری آگالاکسی واگیر به عنوان یکی از بیماری‌های عفونی دامی در کشورهای مدیترانه‌ای، آفریقا، اروپا، آمریکا و درکشورهای غرب آسیا مانند ایران که پرورش متراکم دام دارند، از سال‌ها قبل شناخته شده است و سبب خسارات اقتصادی قابل ملاحظه‌ای می‌گردد. این بیماری با تب، بی‌اشتهایی، لنگش، افت شیر در میش‌های شیرده، از کاهش تا قطع کامل شیر و سقط جنین در دام‌های آبستن ظاهر می‌شود. تا کنون در رابطه با جداسازی عامل بیماری آگالاکسی و تعیین هویت مولکولی آن در گله‌های گوسفند و بز در استان تهران تحقیقی صورت نگرفته است. هدف از این تحقیق جداسازی و تعیین هویت مولکولی عامل بیماری آگالاکسی (مایکوپلاسما آگالاکتیه) در گوسفند و بز دارای علائم آگالاکسی به روش کشت و PCR در استان تهران بود. از ۳۳ نمونه‌ی اخذ شده، در ۱۴ نمونه جنس مایکوپلاسما تأیید شده که باند اختصاصی bp۱۶۳ را روی ژل آگارز نشان داده و در یک نمونه از ۱۴ نمونه مذکور کشت مثبت بوده است. نتایج این تحقیق، جداسازی مایکوپلاسما آگالاکتیه از گوسفند و بز مبتلا را برای اولین بار در تهران تأیید نمود. هدف اصلی از این پروژه جداسازی و شناسایی عوامل مایکوپلاسمایی از دام‌های زنده دارای علائم بیماری با استفاده از PCR و روش کشت درگله‌های گوسفند در استان تهران بود که از ۳۳ نمونه‌ی اخذ شده در ۱۴ نمونه جنس مایکوپلاسما تأیید شده که باند اختصاصی bp۱۶۳ را روی ژل آگارز نشان داده و در یک نمونه از ۱۴ نمونه مذکور کشت مثبت بوده است.

واژگان کلیدی: *مایکوپلاسما، آگالاکسی، گوسفند و بز، استان تهران*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: mirian@rvsri.ac.ir

مقدمه

بیماری آگالاکسی واگیردار به عنوان یکی از بیماری‌های عفونی دامی که در دنیا شیوع فراوان دارد همواره سبب خسارت‌های اقتصادی در جمعیت‌های دامی گوسفندان و بزها می‌شود. این بیماری در بسیاری از کشورهای خاور میانه و مدیترانه در جمعیت دام‌های اهلی و حیوانات وحشی شیوع دارد (۳).

بیماری باعث سقط جنین، فلجی و عدم تحرک مناسب دام، تورم مفاصل، لنگش، تورم قرنیه و ملتحمه چشم و در نهایت لاغری و ضعیف شدن دام‌ها می‌گردد (۲). گرچه این بیماری تلفات چندانی ندارد اما به دلیل طولانی بودن دوره بیماری در دامداری‌ها خسارت اقتصادی زیادی به همراه دارد.

تولید شیر حتی پس از بهبودی دام نیز به میزان عادی برنمی‌گردد. همچنین بالا بودن میزان سقط جنین در گله از جمله خسارت‌های اقتصادی شناخته شده است.

در جهت مقابله با بیماری هر ساله جمعیت گوسفند و بز استان با واکسن داخلی تولیدی مؤسسه رازی مایه‌کوبی شده ولی در بعضی گله‌ها علی‌رغم انجام منظم مایه‌کوبی همچنان درگیر بیماری می‌شوند.

نظر به اینکه تا کنون مطالعه‌ای در مورد جداسازی و شناسایی عوامل بیماری آگالاکسی در استان تهران انجام نشده، مطالعه حاضر به عنوان اولین مطالعه بیماری اگالاکسی در گوسفند و بز در استان تهران به حساب می‌آید.

بررسی نتایج مطالعه حاضر بیانگر این است که شیوع گله‌ای بیماری تا ۱۰۰ درصد رسیده که این مسئله نشان‌گر گسترش بیماری است.

در بررسی میزان حساسیت گوسفند و بز به مایکوپلاسما مشخص شده که میزان ابتلا در بزها ۲۸/۶ درصد و درگوسفندان ۴۶ درصد می‌باشد (۹).

استان تهران به دلیل موقعیت جغرافیایی (چهارراه تردد دام)؛ با داشتن بیشترین بازار مصرف گوشت کشور به عنوان یکی از قطب‌های دامپروری کشور به ویژه در امر پرواربندی محسوب می‌گردد.

با وجود شرایط ذکر شده بیماری‌های دامی متنوعی در این استان وجود دارد و از آن جمله بیماری آگالاکسی واگیردار (شیر آب) است. می‌توان از علائم بالینی (وقوع ورم پستان، تورم مفصل، تورم قرنیه و ملتحمه چشم) برای تشخیص اولیه کمک گرفت، تشخیص قطعی و نهایی بیماری با جدا کردن مایکوپلاسما از شیر، مایع مفصلی، اشک، ترشحات گوش یا بافت‌های صدمه دیده‌ی چشم و سپس شناسائی مایکوپلاسما آگالاکتیه امکان‌پذیر است. تشخیص عفونت‌های مایکوپلاسمائی عموماً بر پایه آزمایشات سرم‌شناسی شامل آزمایشات بیوشیمیائی و ایمونوفلورسنت و یا مشاهده آنتی‌بادی در شیر یا سرم به وسیله آزمایش ثبوت عناصر مکمل و یا الایزا و یا جداسازی ارگانیسم به روش کشت در آزمایشگاه صورت می‌گیرد (۵). به هر حال روش‌های سرم‌شناسی اغلب به دلیل ایجاد واکنش‌های متقاطع بین‌گونه‌ای مختل می‌شوند در حالی که روش کشت وقت‌گیر بوده و برای جداسازی بسیاری از مایکوپلاسماهای سخت‌رشد دشوار است. با استفاده از روش ردیابی DNA برای تشخیص اختصاصی گونه، امکان تمیز بین گونه‌های مختلف وجود دارد این روش، سرعت و ویژگی روش‌های تشخیصی را بهبود می‌بخشد. به طور معمول در آزمایشگاه، شیر یا نمونه مشکوک را در محیط کشت پایه اختصاصیPPLO Broth که به آن سرم نرمال اسب (۲۰ درصد) و استات تالیوم (یک در چهار هزار) افزوده شده، کشت داده و به مدت ۳ تا ۴ روز در گرمخانه ۳۷ درجه قرار می‌دهند. سپس قطره‌ای از آن را در سطح محیط کشت جامد اختصاصی

PPLO Agar که روش‌های معمول در تشخیص مایکوپلاسماها عمدتاً بر پایه‌ی روش‌های کلاسیک مانند تست‌های بیوشیمیائی و ایمونوفلورسنت قرار دارد. این روش‌ها وقت‌گیر بوده و تفسیر نتایج آنها اغلب دشوار است و در حال حاضر تست‌های استاندارد و مرجعی وجود ندارد تا بتوان توسط آنها نتایج به‌دست آمده در آزمایشگاه‌های مختلف را با هم مقایسه کرد.

پیرعلی و همکاران بیشترین نمونه‌های مثبت (۸۵ درصد) را از سوآب‌های چشمی اخذ شده از گوسفند و بزهای بیمار گزارش کردند (۱۵).

دلافا و همکارانش اولین جداسازی مایکوپلاسما آگالاکتیه را از منی بزهای نر در شرایط سلامت با استفاده از روش کشت و PCR انجام دادند (۸). آمورس و همکاران نشان دادند که روش PCR به عنوان روشی سریع و حساس در تشخیص و جداسازی مایکوپلاسما آگالاکتیه از سواب گوش بز می‌باشد (۸).

مواد و روش‌ها

مراحل اجرای این تحقیق به صورت زیر بود:

جامعه‌ی مورد بررسی در این پژوهش تمامی گوسفند و بزهای بیمار (مشکوک به بیماری آگالاکسی) استان تهران بوده و نمونه‌گیری مبتنی بر هدف (Purposive Sampling) انجام گرفت، بدین صورت که به مدت دو سال در چهار فصل مختلف در استان تهران از گله‌های مشکوک نمونه‌گیری به عمل آمده و پس از جداسازی عامل، نسبت به تأیید جنس و گونه‌ی باکتری عامل و تعیین هویت مولکولی جدایه‌ها اقدام گردید.

در این تحقیق ابتدا با مسئولین (رؤسای ادارات بررسی و مبارزه با بیماری‌های دامی شبکه‌های دامپزشکی) اداره کل دامپزشکی استان تهران، گفتگو و تبادل نظر به عمل آمده و در خصوص نحوه شناسائی و تشخیص گله‌های مشکوک به بیماری، جمع‌آوری آمار و نحوه نمونه‌برداری و انتقال آن به داخل ظروف محتوی مواد نگهدارنده (PPLO براث) انجام گردید. به دنبال گزارش کانون بیماری، همکاران مسئول طرح از گله‌های بیمار بازدید نموده و درصورت تأیید بیماری از نظر بالینی، نسبت به تکمیل پرسش‌نامه پیوستی اقدام می‌گردد. گله‌هائی تحت مطالعه قرار گرفت که حداقل در یک سال اخیر بر علیه بیماری آگالاکسی واکسینه نشده بود. از دام‌های بیمار نمونه‌های مرضی به صورت آسپتیک بسته به ناحیه درگیر، از شیر، و سواب چشمی، سواب گوش، ترشحات جنین سقط شده و یا ترشحات ریوی دام‌های بیمار جمع‌آوری گردیده و به محیط ترانسپورت شامل : محیط (Heart infusion broth + 20% سرم + ۱۰٪ عصاره مخمر + IU/ml 200 آمپی سیلین + گلوکز ۰/۱ ٪ + فنل رد ۰/۲ ٪) منتقل و بلافاصله در شرایط زنجیره سرد جهت جداسازی سویه و شناسائی به مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی ارسال گردید. در آزمایشگاه نمونه‌ها ابتدا روی محیط PPLO براث وسپس روی محیط PPLO آگار کشت شدند و هر یک به مدت ۳-۲۱روز در انکوباتور ۳۷ درجه قرار گرفتند. از روز سوم محیط کشت مایع از نظر کدورت و محیط کشت جامد از نظر وجود کلنی مورد ارزیابی قرار می‌گرفتند. به صورت موازی در این مطالعه جهت جداسازی عامل بیماری از PCR برای تشخیص موارد مثبت استفاده شده است . جهت تخلیص DNA با استفاده از کیت تجاری PCR Maser kit تهیه شده از شرکت سیناژن و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی با محصولاتی به طول 270bp در ژن 16SrRNA برای جنس مایکوپلاسما و 375bp در ژن لیپوپروتیین برای گونه مایکوپلاسما آگالاکتیه استفاده شد. جمعاً ۳۳ نمونه مرضی از ۳۳رأس گوسفند و بز بیمار برداشت گردید.

نتایج

پس از کشت و PCR از ۳۳نمونه اخذ شده در ۱۹ نمونه نتیجه آزمایش کشت و PCR منفی بود. و در یک نمونه نتیجه آزمایش کشت و PCR مثبت بود و در ۱۳ نمونه فقط PCR مثبت بود.

همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌گردد، نمونه‌های برداشت شده از ۵ گله مشکوک بوده‌اند.

جدول ۱- فراوانی گله‌ها بر اساس نتایج کشت، PCR جنس مایکوپلاسما

	کشت	PCR جنس مایکوپلاسما
+	۱	۵
-	۴	۰
جمع	۵	۵

در این مطالعه جمعاً از ۴ گله حداقل یک نمونه دارای مایکوپلاسمای آگالاکتیه جدا گردید و در یک گله هیچ نمونه‌ای مثبت نبود. به عبارتی میزان آلودگی گله‌ای به مایکوپلاسما آگالاکتیه ۲۰ درصد می‌باشد. همان‌طور که در جداول شماره ۳ و ۶ مشاهده می‌گردد از ۳۳ رأس گوسفند و بز بیمار نمونه‌برداری شده، از ۱۴ رأس در آزمایش انجام شده جنس مایکوپلاسما جدا گردید.

از ۲۶ رأس گوسفند مشکوک به بیماری نمونه‌برداری شده در ۱۲ رأس در آزمایش PCR جنس مایکوپلاسما از آنها جدا گردید. به عبارتی میزان آلودگی به جنس مایکوسما در گوسفندان نمونه‌برداری شده ۴۶/۱۵ درصد می‌باشد. از ۷ رأس بز بیمار نمونه‌برداری شد که از ۲ رأس در آزمایش PCR جنس مایکوپلاسما از آنها جدا گردید، به عبارتی میزان آلودگی به جنس مایکوسما در بزهای نمونه‌برداری شده ۲۸/۵۷ درصد می‌باشد.

جدول ۲- فراوانی نتایج PCR جنس مایکوپلاسما به تفکیک گوسفند و بز

	تعداد رأس دام نمونه‌برداری شده	PCR جنس مایکوپلاسما
گوسفند	۲۶	۱۲
بز	۷	۲
جمع	۳۳	۱۴

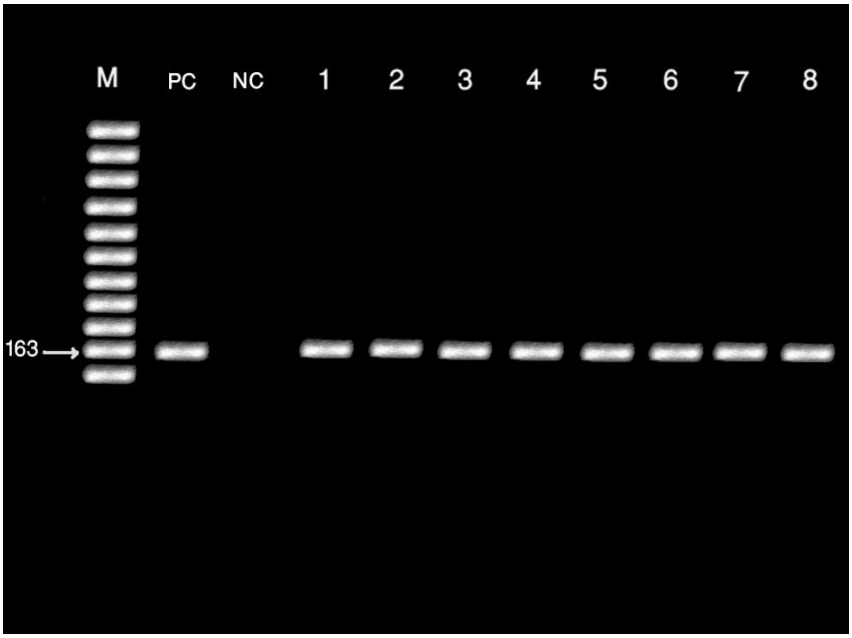
در این مطالعه جمعاً ۳۳ نمونه مرضی برداشت و به آزمایشگاه رفرانس مایکوپلاسما مؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی ارسال گردید.

نمونه‌های برداشت شده شامل سواپ چشم، شیر (جدول ۴) بود، بررسی نتایج نمونه‌های برداشت شده (جدول ۴) نشان می‌دهد که ۱۹ نمونه در

کشت و PCR منفی بودند. به عبارتی ۵۷/۵۷ درصد نمونه‌ها علی‌رغم داشتن علائم بالینی منفی بودند همچنین ۱۳ نمونه در آزمایش PCR مثبت بودند و ۱ نمونه هم در کشت و هم در PCR مثبت بود.

همان‌طور که در جدول شماره ۴ مشاهده می‌گردد از مجموع ۳۳ نمونه مرضی برداشت شده، بیشترین میزان فراوانی مربوط به شیر با ۶۶/۵ درصد نمونه و کمترین میزان فراوانی مربوط به سواب چشم است.

شکل ۱- تصویر میکروسکوپی (×۴۰) پرگنه‌های مشاهده شده بر روی محیط PPLO Agar



شکل۲- تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR با استفاده از آغازگر اختصاصی گونه‌ی مایکوپلاسما آگالاگتیه

از ۱۴ مورد جنس مایکوپلاسما مثبت در آزمایش PCR بیشترین میزان فراوانی موارد مثبت در محل‌های نمونه‌برداری مربوط به چشم با میزان ۴۵/۴۵ درصد و کمترین میزان مربوط به شیر با ۴۰/۹ درصد می‌باشد.

در این مطالعه مشخص شده که ۴۲ درصد نمونه‌های مرضی برداشت شده علی‌رغم بیمار بودن دام با علائم منتسب به آگالاکسی و در کشت و PCR جنس مایکوپلاسما جدا نگردید که این مسأله ضرورت توجه به دیگر عوامل عفونی که می‌توانند علائم شبیه اگالاکسی را به‌وجود آورند را نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

بیماری آگالاکسی بعنوان یکی از بیماری‌های عفونی که در دنیا شیوع فراوان دارد همواره سبب خسارت‌های اقتصادی در جمعیت‌های دامی خصوصاً گوسفند و بز می‌شود. مطالعات مختلفی به‌منظور شناسایی توزیع جغرافیایی بیماری، جداسازی و شناسایی عوامل مسبب بیماری انجام شده است. در مطالعه‌ای روی ۴۹۰ نمونه شیر جمع آوری شده از نواحی مختلف کشور ۹۶ نمونه از نظر آزمایشات بیوشیمیایی حاوی مایکوپلاسما بودندکه ۲۳ نمونه از آنها از نظر سرم‌شناسی، مایکوپلاسما آگالاکتیه تشخیص داده شدند (۱۵). قادرسهی و همکاران یک طرح تحقیقاتی تحت عنوان شناسایی مایکوپلاسما آگالاکتیه و دیگر عوامل مسبب آگالاکسی در گوسفند و بز به وسیله PCR و کشت در ایران در سال ۱۳۸۵ در مؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی جهت دسترسی به بذر عوامل مایکوپلاسمائی بیماری آگالاکسی گوسفند و بز انجام دادند (۹). در این طرح حدود ۲۰۰۰ نمونه را تحت آزمایش PCR و کشت قرار دادند. این تحقیق در ۱۷ استان کشور انجام شده است. نمونه‌های ذکر شده از حیوانات سالم و بیمار اخذ شده است و شیر، سوآب چشمی و مایع سینوویال مفصلی به‌عنوان نمونه استفاده شد. در پژوهش دیگری که توسط بیدهندی و همکاران انجام شده است جداسازی و شناسائی مایکوپلاسما آگالاکتیه از شیر گوسفندان و بزهای استان کردستان هدف از تحقیق ذکر شده است. در نهایت ۵ جدایه تعیین توالی نوکلئوتیدی گردیده و یکی از آنها با نام HQ722028 در بانک ژن ثبت شده است (۱۳). طبق مطالعات انجام شده روی عوامل مسبب بیماری آگالاکسی در گوسفند و بز مشخص شده، ۴ گونه مایکوپلاسما آگالاکتیه، مایکوپلاسما مایکوییدس تحت گونه کاپری و مایکوپلاسما کاپریکولوم تحت گونه کاپریکولوم و مایکوپلاسما پوتریفیسینس در بروز آگالاکسی دخیل هستند (۱۵).

بررسی سوابق بیماری در کشور این مسئله را تائید می‌کند که بیماری هر ساله باعث زیان فراوان اقتصادی به جمعیت دامی کشور می‌گردد (۱۳).

در جهت مقابله با بیماری هر ساله جمعیت گوسفند و بز استان با واکسن داخلی تولیدی مؤسسه رازی مایه‌کوبی شده ولی در بعضی گله‌ها علی‌رغم انجام منظم مایه‌کوبی همچنان درگیر بیماری می‌شوند. نظر به اینکه تا کنون مطالعه‌ای در مورد جداسازی و شناسایی عوامل بیماری آگالاکسی در استان تهران انجام نشده، مطالعه حاضر به‌عنوان اولین مطالعه بیماری اگالاکسی در گوسفند و بز در استان تهران به حساب می‌آید. بررسی نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که شیوع گله‌ای بیماری تا ۱۰۰ درصد می‌رسد که این مسئله گسترش بیماری را نشان می‌دهد.

در تحقیقات مشابه در ایران و کشورهای همسایه فقط از شیر جهت جداسازی عامل مذکور استفاده شده است (۱۳). در سال‌های اخیر به دلیل حساسیت بالا، اختصاصی بودن روش، سرعت تشخیص و سهولت در مطالعه و تحلیل، باعث شده

پژوهشگران به سمت مطالعات مولکولی به خصوص استفاده از روش PCR تمایل یابند.

تولا و همکاران (۱۶) اقدام به جداسازی و شناسایی مایکوپلاسما آگالاکتیه به روش PCR روی نمونه‌های شیر گوسفندان مبتلا به ورم پستان در چهار ناحیه ایتالیا نمود و نتیجه‌گیری کرد که این روش یک روش سریع و اختصاصی برای جداسازی مایکوپلاسما آگالاکتیه است. در پژوهش‌های مشابه در اردن و مراکش نیز توانسته‌اند گونه‌های مایکوپلاسما آگالاکتیه را از گوسفندان و بزهای مبتلا با روش PCR جدا نمایند. در ایران نیز برای جداسازی و شناسایی عوامل مایکوپلاسمایی بیماری آگالاکسی با استفاده از روش PCR تلاش فراوانی شده است از جمله پیرعلی و ابراهیمی از مایع اشک و شیر ۲۶ گله نمونه‌گیری و با روش PCR بررسی و از ۲۰ درصد نمونه‌ها باکتری مایکوپلاسما آگالاکتیه را جدا کردند (۱۵). مرادی و همکاران با استفاده از روش کشت و PCR از ۳۶۷ نمونه شیر اخذ شده در استان کردستان موفق به جداسازی ۱۲ مورد مایکوپلاسما شدند که ۵ مورد از آن آگالاکتیه بود (۱۳).

خیرخواه و همکاران با استفاده از روش کشت و PCRاز ۱۷ نمونه شیر اخذ شده درشهرستان بافت موفق به جدا کردن مایکوپلاسما از ۸ نمونه گردید که یکی از آنها گونه آگالاکتیه بود (۱۲).

این پژوهش نشان داد که بهترین محل نمونه‌گیری برای جداسازی عامل بیماری (مایکوپلاسما آگالاکتیه) به ترتیب اولویت ترشحات پستان و چشم هستند. در مطالعات محققین مختلف اعلام شده که مایکوپلاسما اگالاکتیه عامل اصلی بیماری اگالاکسی بوده است (۷). اما در این مطالعه همانند یافته‌های قادر سهی و همکاران و خیرخواه و همکاران تنها در ۲۱درصد موارد گونه آگالاکتیه جدا شده است و در بقیه موارد سایر گونه‌های مایکوپلاسما جدا شده. نتیجه مذکور تأثیر ضعیف واکسن فعلی در استان تهران و دیگر استان‌های کشور من‌جمله استان‌های قم و کرمان را تأیید می‌کند زیرا گونه مایکوپلاسما موجود در واکسن (گونه مایکوپلاسما آگالاکتیه) با گونه در گردش همخوانی کامل را ندارد.

بررسی میزان حساسیت گوسفند و بز به مایکوپلاسما آگالاکتیه مشخص شده که میزان ابتلا در بزها (۳۶درصد) بیشتر از گوسفندان (۱۴/۹۴ درصد) بوده است (۹).

در این مطالعه مشخص شده که ۳۶ درصد نمونه‌های مرضی برداشتی علی‌رغم بیمار بودن دام با علائم منتسب به آگالاکسی ولی در کشت و PCR جنس مایکوپلاسما جدا نگردید که این مسأله باعث توجه به دیگر عوامل عفونی که می‌توانند علائم شبیه اگالاکسی را به وجود آورند می‌گردد. از جمله دلایل عدم رشد باکتری در محیط کشت می‌توان به عدم رعایت شرایط مناسب اخذ، نگهداری و ارسال نمونه، عدم وجود مایکوپلاسما در نمونه اخذ شده به دلیل درگیری با سایر عوامل بیماری‌زا با علائم مشابه، استفاده از کورتون و یا آنتی‌بیوتیک از سوی دامدار قبل از نمونه‌گیری و کم بودن مایکوپلاسماهای رشد کرده در محیط کشت که قابل بررسی نبوده‌اند،و همچنین کند و سخت رشد بودن مایکوپلاسماها اشاره کرد.

مطالعه حاضر همانند مطالعه تولا و همکاران (۱۶) نشان داد که بیشترین میزان جداسازی گونه آگالاکتیه از نمونه‌های شیر و مایع مفصلی بوده است. در تحقیقات مشابه در ایران و کشورهای همسایه فقط از شیر جهت جداسازی عامل مذکور استفاده شده است (۱۳). نظر به اینکه ۷۹ درصد مایکوپلاسماهای جدا شده غیرآگالاکتیه بوده است، به همین دلیل مطالعات تکمیلی جهت شناسائی آنها در حال انجام است. جهت تکمیل مطالعات انجام

شده لازم است مطالعاتی با هدف شناسایی و تعیین هویت مولکولی عوامل مایکوپلاسمائی انجام گیرد و سویه‌های آگالاکتیه جداشده از نظر میزان شباهت با سویه‌های موجود در واکسن مورد بررسی مولکولی قرار گیرد و در صورت لزوم از سویه های جدید در تهیه واکسن استفاده گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان از مساعدت‌ها و زحمات مسئولین محترم مرکز تحقیقات کشاورزی و اداره کل دامپزشکی استان تهران قدردانی می‌نمایند و اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

References

1- Amores J, Corrales JC, Martin AG. Comparison of culture and PCR to detect *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *Capri* in ear swabs taken from goats. Vet. Mic. 2009; 102: 42-48.

2- Cokrevski S, Crcev D, Loria GR, Nicholas RAJ. Outbreaks of contagious agalactia in small ruminant in the republic of Macdonia. Vet. Rec. 2001; 148: 667-670.

3- Contreras AC, Luengo A, Corrales JC. The role of intramamary pathogens in dairy goats, Livestock Pro. Sci. 2003; 9: 273-283.

4- Corrales J, Ensal A, De La Fe C, Sanchez A, Assuncao P, Poveda J, Contreras A. Contagious agalactia in small ruminants. Small Ruminant Res. 2007; 68: 154-166.

5- Cottew GS. Caprine-ovine mycoplasmas. In: Tully JG, Whitcomb RF. the mycoplasmas. Human and animal mycoplasmas, ed., Academic press pp: 1979; 103-132.

6- DaMassa AJ, Brooks DL, Holmberg CA. Pathogenecity of *Mycoplasma capricolum* and *Mycoplasma putrefaciens*. Isr. J. Med. Sci. 1984; 20: 975-978.

7- Dedieu L, Mady V, Lefevre PC. Development of two PCR assays for the identification of mycoplasmas causing contagious agalactia. FEMS Microbiol. Lett. 1995; 129: 243-249.

8- De La Fe C, Assuncao P, Rosales RS, Antunes T, Poveda JB. Characterisation of Protein and antigen variability among *Mycoplasma Mycoides* subsp *Mycoides LC* and *Mycoplasma agalactiae* field strains by SDS-PAGE and immunoblotting. Vet. J. 2006; 171: 532-538**.**

9- Ghadersohy A,Madani R,Naseryrad Aa,Vandyousefi J. I dentification of Mycoplasmas causing contagious Agalactia syndrome in sheep & goats by using PCR and culture method in Iran ,Razi Vaccine and serum research Institue Karaj 2006; 10-12. [In Persian]

10- Gobel UB, Geiser A, Stanbridge FJ. Oligonucleotide probes complementary to two variable regions of ribosomal RNA discriminate between *Mycoplasma* species. J. Gen. Microbiol. 1987; 133: 1969-1974.

11- Hassani tabatabaee A,Firoozi R. Livstook bacterial diseases.Tehran university pub,pp 2001; 469-484. [In Persian]

12- Kheirkhah B,Pourbakhsh S A,Ashtary A,Amini K. Detection of *Mycoplasma agalactiae* by culture andPolymerase Chain Reaction (PCR) methods from affected sheep to contagious agalactiae in Baft.Jurnal of comparative pathobiology 2012; 1: 423-430. [In Persian]

13- Moradi Bidhendi S, Khaki P, Pilehchian Langroudi R. Isolation and identification of *Mycoplasma agalactiae* by culture and Polymerase Chain Reaction in sheep and goat milk samples in Kordestan province, Iran. Arch. Razi Ins. 2011; 66: 11-16. [In Persian]

14- Shimi A. veterinary bacteriology and bacterial diseases.Jehade danneshgahy pub,1998; 446-456. [In Persian]

15- Pirali K., Ebrahimi A. Investigation ofMycoplasma agalactiae in milk and conjunctival swab samples. [In Persian]

from Sheep !ocks in west central, Iran. Pakistanian Journal of Biological Sciences, 2007; 10(8), 1346-1348.

16- Tola S, Angioi A, Rocchigiani AM, Idini G, Manunta D, Galleri G, Leori G. Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by Polymerase Chain Reaction. Vet. Mic. 1997; 54(1): 17-22.

17- Tola S, Manunta D, Rocca S, Rocchigiani AM, Idini G, Angioi A, Leori G. Experimental vaccination against *Mycoplasma agalactiae* using different inactived vaccines. Vac. 1999; 17: 2764-2768.

18- Zendulkova D, Madanat A, Lany P, Pospisil Z, Ball HJ. Detection of *Mycoplasma agalactiae* antigen in sheep and goats by monocolonal antibody-based sandwitch ELISA, Acta. Vet. Brono. 2004; 73: 461-464.

Isolation and identification of Mycoplasmas which cause contagious Agalactia from sheep & goats in Tehran province

Seyed Jalal Mirian[*1], Seyed Ali Pourbakhsh[1], Ahmad Reza Mohammadi[1], Hormoz Hemidieh[1], Abbas Ashtari[1], Mansur Banani[1], Seyed Ali Emami[2]

1 - Faculty member of Razi vaccine and serum Research Institute,Karaj,Iran.
2 - Agriculture Research ,Education andExtension Organization Tehran,Iran.

Receive; February 26, 2020; Revise: March 7, 2020; Accept: March 15, 2020

Summary

Agalactia, has been known as a contagious disease in Mediterranean countries, Africa, Europe, and west Asia e.g. Iran where the livestock were reared massively for approximately several years ago and it has been led to noticeable economic damages and losses. This disease appears by symptoms such as fever, inappetence, lameness and loss of milk in dairy ewes, reduction to total lack of lactation and abortion in pregnant livestock. No study has been so far conducted on isolation of Agalactia disease factor and determining its molecular identity in ovine and caprine herds in Tehran province. The current research aimed to isolate and determine molecular identity of Agalactia disease factor (Agalactiae mycoplasma) in sheep and goat that suffered from Agalactia, using culture and PCR methods in Tehran province. Among the total 33 taken samples, 14 samples were confirmed as mycoplasma species that showed specific band (bp163) on agarose gel and in one of these 14 given samples, the culture was positive.

Keywords: *agalaxy, sheep,goat,Tehran*