

مقایسه میزان آلودگی به مایکوپلازما آگالاکتیه (*Mycoplasma agalactiae*) در گوسفندان و بزهای مبتلا به آگالاکسی و اگیردار در استان کرمان

سیدعلی پوربخش^{۱*}، سودابه حمیداوی محمدپور^۱، بابک خیرخواه^۲، علیرضا آبتین^۱، عباس اشتری^۱

مهرداد شمس‌الدینی بافتی^۱

چکیده

شیر، لاغری دام، سقط جنین، تورم قرنیه و ملتحمه چشم، تورم مفاصل، لنگش و سایر علائم بالینی می‌شود که در بزها و بزغاله‌ها تلفات می‌تواند به دلیل سپتی‌سمی و پنومونی بالا باشد. در دام‌های بالغ مبتلا گرچه 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 و کاهش تولید شیر در گله از عوارض شناخته شده این بیماری است (۹). بیماری به صورت یک سندرم با عوامل مایکوپلاسمائی مختلف و از همه مهمتر مایکوپلازما آگالاکتیه عارض می‌گردد (۱۰). در برخی پژوهش‌ها نشان داده شده است که مایکوپلازما آگالاکتیه عامل اصلی ایجاد این بیماری بوده و گونه‌های دیگر مانند مایکوپلازما مایکوئیدس، مایکوپلازما کاپریکولوم و مایکوپلازما پورتریفینس در ایجاد علائم این بیماری در ایران دخیل هستند (۱۰). شدت نسبی علائم بالینی در گوسفندان در مقایسه با بزها بستگی به عفونت مایکوپلاسمایی داشته و با منطقه متغیر است و تفاوت‌های نژادی در حساسیت نسبت به بیماری وجود دارد (۱۴). جداسازی و تعیین هویت مولکولی جدایه‌های مایکوپلازما آگالاکتیه در بزهای مبتلا به بیماری آگالاکسی به روش کشت و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در استان کرمان صورت گرفته است.

مایکوپلازما آگالاکتیه بعنوان عامل آگالاکسی و اگیردار در گوسفند و بز شناخته شده است. این بیماری در بسیاری از نقاط جهان وجود دارد و در ایران نیز گزارش گردیده است. هدف از این تحقیق مقایسه میزان آلودگی به مایکوپلازما آگالاکتیه در گوسفندان و بزهای مبتلا به آگالاکسی و اگیردار با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در استان کرمان بود. این مطالعه مقایسه‌ای به مدت ۶ ماه بر روی نمونه‌های دریافتی مشکوک به آگالاکسی و اگیردار در گوسفندان و بزهای استان کرمان انجام گرفت. نمونه‌های دریافتی شامل ترشحات ملتحمه چشم، شیر و مایع مفصلی بود. جنس مایکوپلازما با استفاده از آغازگرهای اختصاصی در ناحیه ژن 16S rRNA با روش PCR و تشکیل باند ۱۶۳ جفت باز در نمونه‌های دریافتی شناسایی گردید. سپس تمامی نمونه‌های مثبت با استفاده از آغازگرهای اختصاصی در ناحیه لیو پروتئین سطحی با تشکیل باند ۳۷۵ جفت باز جهت ردیابی گونه مایکوپلازما آگالاکتیه مورد ارزیابی قرار گرفتند. از مجموع ۱۴۲ نمونه گوسفند و ۸۵ نمونه بز، تعداد ۵۹ (۴۱٪) نمونه گوسفندان و تعداد ۴۶ (۵۴٪) نمونه بزها از نظر جنس مایکوپلازما مثبت بودند. همچنین تعداد ۱۱۷ (۲۹٪) نمونه از گوسفندان و تعداد ۲۸ (۶۱٪) نمونه از بزها به گونه مایکوپلازما آگالاکتیه آلودگی داشتند. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که آلودگی به مایکوپلازما آگالاکتیه در بزها بیشتر از گوسفندان است. بنابراین مایکوپلازما آگالاکتیه یکی از عوامل اصلی بیماری آگالاکسی و اگیردار گوسفند و بز در استان کرمان می‌باشد. واژگان کلیدی: آگالاکسی و اگیردار، مایکوپلازما آگالاکتیه، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، گوسفند و بز، کرمان.

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۶

مقدمه

آگالاکسی و اگیردار یک بیماری عفونی و مسری در گوسفند و بز می‌باشد که در فصول زمستان و بهار شیوع زیادی می‌یابد (۵). این بیماری همراه با شیوع بالا در سطح گله سبب قطع ناگهانی

۱- آزمایشگاه رفرانس مایکوپلازما، مؤسسه تحقیقات واکنس و سرم سازی رازی، کرج، ایران

(a.pourbakhah@rvsri.ac.ir)

۲- گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بافت، بافت، ایران.

آگالاکتیه می‌باشد (۱). در پژوهشی دیگر از بزها و گوسفندان بیمار و سالم مایکوپلاسما آگالاکتیه جدا شده و توالی نوکلئوتیدی آنها در بانک ژن ثبت شده است. در این تحقیق فقط از شیر دام‌های مذکور نمونه‌گیری بعمل آمده است (۱۳). تاکنون پژوهش مستقلی بصورت مقایسه‌ای در خصوص میزان آلودگی به این عامل بین گوسفندان و بزها در استانهای کشور با استفاده از روش نوین PCR صورت نگرفته است. در بسیاری تحقیقات عنوان شده است که PCR از تست‌های معمول سریع‌تر است و می‌تواند بعنوان یک روش قابل اعتماد در جداسازی مایکوپلاسما آگالاکتیه از دام‌های بیمار بکار رود (۱۶ و ۱۰). در این پژوهش نیز از ولکس PCR که یکی از روش‌های پیشرفته در تشخیص عوامل میکروبی است، استفاده گردید. هدف از این تحقیق مقایسه میزان آلودگی به مایکوپلاسما آگالاکتیه در گوسفندان و بزهای مبتلا به آگالاکتیه و آگیردار با استفاده از روش PCR در استان کرمان بود.

مواد و روش کار

نمونه‌برداری. جامعه آماری این پژوهش تمامی گوسفندان و بزهای استان کرمان بوده و نمونه‌های دریافتی از دام‌های مشکوک به بیماری آگالاکتیه و آگیردار بودند. در این مطالعه از گوسفندان و بزهای استان کرمان طی ۶ ماه به ترتیب ۱۴۲ و ۸۵ نمونه مشکوک دریافت گردید. نمونه‌ها بصورت سواب از ضایعات چشمی، دوشش از پستان و پانکسیون مایعات مفصلی دام‌های مبتلا تهیه شدند. پس از افزودن محیط انتقالی (PPLO Broth) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در مدت زمان کمتر از ۲۴ ساعت به آزمایشگاه رفرنس مایکوپلاسما موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی ارسال شدند و مورد مطالعه مولکولی قرار گرفتند. نمونه‌های دریافتی بصورت دو سوکور (Double blind) بدون در نظر گرفتن نوع حیوان ابتدا برای یک دوره ۲۴ ساعته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد غنی‌سازی شده و پس از این مرحله جهت جداسازی و شناسایی مایکوپلاسما آگالاکتیه با روش مولکولی PCR مورد آزمایش قرار گرفتند.

نتایج این تحقیق جداسازی مایکوپلاسما آگالاکتیه از بزهای مبتلا را برای اولین بار در ایران تأیید نمود. ضمن اینکه نتایج نشان می‌دهد این باکتری عامل اصلی بیماری آگالاکتیه در بزهای استان کرمان است (۱۰). در پژوهش دیگری عنوان گردید که عامل اصلی بیماری آگالاکتیه در گوسفندان شهرستان بافت گونه آگالاکتیه نبوده و اغلب جدایه‌های بیماریزا را سایر گونه‌های مایکوپلاسمائی تشکیل می‌دهند (۲). ضمن اینکه دو پژوهش مذکور در یک دوره زمانی معین صورت نگرفته‌اند. در سایر استان‌های کشور نیز به منظور بررسی وضعیت عفونت‌های مایکوپلاسما آگالاکتیه در گله‌های گوسفند و بز پژوهش‌هایی انجام گردیده است (۱۳ و ۲، ۱۰). بر طبق آمار رسمی سازمان دامپزشکی کشور بیماری آگالاکتیه در تمامی مناطق کشور وجود داشته و گوسفند و بز را مبتلا می‌کند. جداسازی و شناسایی عامل بیماری آگالاکتیه در دام‌های مبتلا و بررسی هویت مولکولی آن کمک شایانی به شناخت عامل بیماری موجود در منطقه و کشور خواهد کرد و این مهم از اولویت‌های مؤسسات پژوهشی کشور است. استان کرمان بعنوان پهناورترین استان کشور از جمعیت بالای گوسفند و بز برخوردار است و پرورش این دام‌ها خصوصاً در بین عشایر استان بسیار مرسوم می‌باشد. سالانه خسارات اقتصادی زیادی بدلیل وجود این بیماری در این استان ایجاد می‌شود و هنوز جنبه‌های مجهول در خصوص هویت عامل بیماری وجود دارد. بسیاری از گزارشات در دنیا عامل اصلی این بیماری را مایکوپلاسما آگالاکتیه می‌دانند. یک مطالعه در شمال اردن جهت بررسی آلودگی مایکوپلاسما آگالاکتیه با استفاده از روش الیزا بر روی گله‌های بز و گوسفند صورت گرفت و تفاوت چندانی را در شیوع آگالاکتیه مسری در دام‌های مذکور نشان داد (۴) و در اسپانیا مایکوپلاسما آگالاکتیه عامل ۹۰ درصد از واگیری‌های این بیماری بوده است (۸). اگر چه اکثر تحقیقات در دنیا حساسیت بز به بیماری را بیشتر از گوسفند می‌دانند ولی گزارشات در ایران عنوان می‌کنند که گوسفندان بیشتر از بزها به بیماری مبتلا می‌شوند و عامل اصلی بیماری، مایکوپلاسما

آگلانتیه (NCTC 10123) استفاده شد. در این مطالعه با استفاده از آغازگرهای شناسائی جنس که قادر به تکثیر قطعه‌ای از ژن 16S rRNA به اندازه ۱۶۳ جفت باز بودند و از آغازگرهای FS1 و FS2 که جهت شناسائی گونه توانائی تکثیر قطعه‌ای از ژن Lipoprotein به اندازه ۳۷۵ جفت باز را دارند بر اساس جدول ۱ استفاده شد.

روش PCR. برای انجام آزمایش PCR در این تحقیق ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر نمونه‌های غنی‌شده سانتریفوژ شده و رسوب باکتری تهیه گردید. برای استخراج DNA باکتری روش شیمیائی فنل - کلروفرم و پروتکل Kojima و همکاران مورد استفاده قرار گرفت (۱۲). برای کنترل منفی از محیط PPLO و برای کنترل مثبت از سویه استاندارد مایکوپلاسما

جدول ۱: توالی نوکلئوتیدی آغازگرهای مورد استفاده در تشخیص جنس مایکوپلاسما و گونه مایکوپلاسما آگلانتیه به روش PCR

Primer	Target gene	Sequence	Length (bp)	Reference
M1F	16S rRNA	F: 5'-GCTGCGGTGAATACGTTCT-3'	163	Kojima et al. 1997
M3R		R: 5'-TCCCCACGTTCTCGTAGGG-3'		
FS1	Lipoprotein	F: 5'-AAAGGTGCTTGAGAAATGGC-3/	375	Tola et al. 1997
FS2		R: 5'-GTTGCAGAAGAAAGTCCAATCA-3'		

می‌دهد که آلودگی به مایکوپلاسما آگلانتیه در بزها (۶۱٪) بیشتر از گوسفندان (۲۹٪) است (جدول ۲).

جدول ۲: فراوانی و درصد آلودگی به جنس مایکوپلاسما و گونه آگلانتیه در نمونه‌های دریافتی گوسفندان و بزها

نوع دام	نتیجه PCR	تعداد نمونه	جنس مثبت		گونه مثبت	
			فراوانی	درصد	فراوانی	درصد
گوسفند	مثبت	۱۴۲	۵۹	۴۱	۱۷	۲۹
		۸۵	۴۶	۵۴	۲۸	۶۱

محصول PCR در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و هر میلی‌لیتر از محصول PCR با ۲ میلی‌لیتر از (4x) loading buffer مخلوط و محصول در ژل آگارز یک درصد که با سایر رنگ شده بود حرکت داده شد و تحت الکتروفورز مورد ارزیابی قرار گرفت. در سه چاهک اول به ترتیب مارکر، کنترل مثبت و کنترل منفی قرار گرفتند. باندهای ایجاد شده پس از انتقال به دستگاه پرتوتاب ماوراء بنفش (UV Transluminator) مشاهده و تصاویر حاصل ثبت گردیدند.

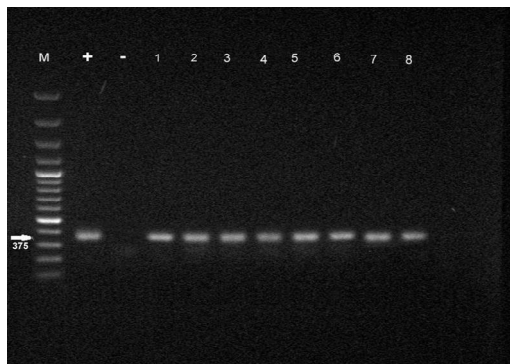
نتایج

در این مطالعه از گوسفندان و بزهای استان کرمان طی ۶ ماه به ترتیب ۱۴۲ و ۸۵ نمونه مشکوک دریافت گردید. بر اساس روش PCR، با استفاده از آغازگر اختصاصی جنس، در (۴۱٪/۵۹) مورد گوسفندان و (۵۴٪/۴۶) مورد بزها آلودگی به مایکوپلاسما تأیید شد (نگاره ۱). جهت شناسائی گونه مایکوپلاسما در آزمایش PCR از آغازگر اختصاصی گونه استفاده و نتیجه حرکت محصول PCR بر روی ژل آگارز تشکیل باند ۳۷۵ جفت باز در ۲۸ نمونه بز و ۱۷ نمونه گوسفند بود (نگاره ۲) که در آزمایشات PCR قبلی جنس مایکوپلاسمای آنها تأیید شده بود. نتایج این پژوهش نشان



نگاره ۱: بررسی محصول PCR جنس مایکوپلاسما بر روی ژل ۱٪ آگارز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی (M1F-M3R). باندهای ۱۶۳ جفت باز در ۸ نمونه مشکوک به آگلانتیه. M: مارکر (100bp)، PC: کنترل مثبت، NC: کنترل منفی، ۸ تا ۱ نمونه‌های مشکوک

مقایسه نتایج این پژوهش در نمونه‌های دریافتی گوسفند و بز بر اساس محل ضایعه با استفاده از آزمایش PCR در جدول ۳ نشان داده شده است. در هیچکدام از نمونه‌های جنس مثبت ضایعات چشمی، گونه مایکوپلاسما آگالاکتیه تأیید نگردید و بیشترین درصد آلودگی نمونه‌های دریافتی، به گونه آگالاکتیه در گوسفند از مایع مفصلی (۵۴٪) و در بز از شیر (۷۸٪) و مایع مفصلی (۷۵٪) بود.



نگاره ۲: بررسی محصول PCR گونه مایکوپلاسما آگالاکتیه بر روی ژل ۱٪ آگارز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی (FS1-FS2). باندهای ۳۷۵ جفت باز در ۸ نمونه مشکوک به آگالاکسی. M: مارکر (100bp)، PC: کنترل مثبت، NC: کنترل منفی، ۸ نمونه‌های مشکوک.

جدول ۳: فراوانی و درصد آلودگی مایکوپلاسمایی نمونه‌های دریافتی بر اساس محل ضایعه

تعداد	نمونه دریافتی		جنس مثبت		گونه مثبت		محل ضایعه
	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	
گوسفند	۳۰	۲۱	۱۷	۵۷	۰	۰	ترشحات چشم
بز	۱۹	۲۲	۹	۴۷	۰	۰	
گوسفند	۷۰	۴۹	۳۱	۴۴	۱۱	۳۵	شیر
بز	۱۸	۲۱	۹	۵۰	۷	۷۸	
گوسفند	۴۲	۳۰	۱۱	۲۶	۶	۵۴	مایع مفصلی
بز	۴۸	۵۷	۲۸	۵۸	۲۱	۷۵	

بحث

مایکوپلاسما آگالاکتیه یکی از عوامل اصلی بیماری آگالاکسی و آگیرداری گوسفند و بز در استان کرمان می باشد. در مقایسه نتایج آزمایش PCR در سطح جنس در گوسفند و بز مشخص گردید که بزها با درصد بالاتری (۵۴٪) نسبت به گوسفندان (۴۱٪) به مایکوپلاسما آلوده می گردند و همچنین موارد ابتلا به آگالاکسی با عامل مایکوپلاسما آگالاکتیه در بزها بیشتر از گوسفندان است، حال آنکه در تحقیقات گذشته در ایران گزارش شده است که گوسفندان بیشتر از بزها به این عامل بیماری آلوده می شوند و عامل اصلی بیماری آگالاکسی در

در این مطالعه، با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) و با بهره‌گیری از آغازگرهای اختصاصی در ناحیه ژن 16S rRNA جنس مایکوپلاسما در نمونه های مشکوک به آگالاکسی و آگیرداری در گوسفندان و بزهای استان کرمان شناسایی گردید. سپس تمامی نمونه‌های مثبت با استفاده از آغازگرهای اختصاصی در ناحیه لیپو پروتئین سطحی جهت ردیابی گونه مایکوپلاسما آگالاکتیه مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفتند. نتایج حاصله نشان داد که آلودگی به مایکوپلاسما آگالاکتیه در بزها بیشتر از گوسفندان است و

گوسفند و بز، مایکوپلازما آگالاکتیه می‌باشد (۱). در این مطالعه با استفاده از روش PCR، نسبت به مقایسه میزان آلودگی به مایکوپلازما آگالاکتیه در گوسفندان و بزهای مشکوک به بیماری آگالاکسی و اگیردار در استان کرمان اقدام شد. با توجه به اینکه در مورد اکولوژی این باکتری اطلاعات زیادی در دسترس نیست، انجام چنین تحقیقاتی در شناخت بهتر بیماری و عامل آن مؤثر است. اخیراً بر روی گله‌های گوسفند و بز در خصوص این بیماری مطالعات مشابهی صورت گرفته است، هرچند که این مطالعات بصورت پراکنده بوده و نتایج حاصل از آنها برای مقایسه میزان این بیماری در گوسفندان و بزها بر اساس عامل مایکوپلازما آگالاکتیه مورد بحث فرار نگرفته است (۱۳ و ۱۴).

مایکوپلازما آگالاکتیه از جمله باکتری‌هایی است که به سختی از گله‌های آلوده جدا می‌شود و در گذشته آزمایش‌های معمول جهت تشخیص جنس‌های مایکوپلازما عمدتاً بر پایه روش‌های کلاسیک مانند تست‌های بیوشیمیایی و آزمایشات ایمونولوژیست استوار بوده است. این روش‌ها گرچه سودمند هستند اما ممکن است با واکنش‌های مثبت کاذب همراه باشد (۱۷)، ضمن اینکه در دوره کمون نیز نمی‌توان به جستجوی مایکوپلازما پرداخت. واکنش‌های متقاطع سرمی نیز یک مشکل جدی هستند که حساسیت این مطلب را بیشتر تحت تأثیر قرار می‌دهد (۷). از آنجائی که بهترین و قطعی‌ترین روش شناسایی مایکوپلازماها در دام روش PCR می‌باشد (۵ و ۳) در پژوهش حاضر نیز آزمایش مولکولی با این روش جهت تأیید جنس و گونه بصورت موازی برای نمونه‌های گوسفند و بز انجام گرفت. در تحقیق حاضر تمامی نمونه‌هایی که از نظر جنس مایکوپلازما مثبت تشخیص داده شدند برای شناسایی گونه آگالاکتیه تحت آزمایش PCR قرار گرفتند و بیشترین درصد نمونه‌های مثبت در گوسفندان از مایع مفصلی (۵۴٪) و در بزها از شیر (۷۸٪) و مایع مفصلی (۷۵٪) جدا شد. اما در هیچکدام از نمونه‌های گوسفند و بز گونه آگالاکتیه از ضایعات چشم، جدا نگردید، که این یافته، نتایج برخی از تحقیقات دیگر در این استان و همچنین نتایج پژوهش‌های صورت گرفته در

خارج از ایران را تأیید می‌نماید (۱۰)، که عفونت با مایکوپلازما کانژنکتیو در گوسفند و بز را عامل ایجاد ضایعات چشمی ذکر کرده‌اند (۶).

نتایج این پژوهش بیانگر آن است که بهترین نمونه برای جداسازی عامل بیماری، مایع مفصلی در گوسفندان و شیر و مایع مفصلی در بزها می‌باشد. این پیشنهاد در راستای تشخیص بیماری نیز می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. در تحقیقات مشابه در ایران و کشورهای همسایه از تمامی نمونه‌های مذکور جهت جداسازی عامل بیماری استفاده شده است (۱۵ و ۱۱، ۱۳، ۹).

بطور کلی، بررسی میزان موارد آلودگی به عامل مایکوپلازما آگالاکتیه در گوسفندان مشخص می‌کند که درصد بالایی از گوسفندان مبتلا به آگالاکسی و اگیردار، آلوده به سایر گونه‌های مایکوپلازما می‌باشند. این وضعیت در خصوص بزهای مبتلا به این بیماری وجود نداشته و عامل اصلی بیماری گونه آگالاکتیه می‌باشد. پیشنهاد می‌گردد در تحقیقات آینده جهت شناسایی عامل بیماری در موارد مشکوک به آگالاکسی در گوسفندان به بررسی و مطالعه سایر گونه‌های مایکوپلازما پرداخته شود.

تشکر و سپاسگزاری

هزینه‌های این مطالعه از محل اعتبارات پروژه شماره ۸۷۰۴۳-۱۸-۱۸-۲ مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تأمین و پرداخت شده است. بدین وسیله از معاونت آموزش و تحقیقات سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی وزارت جهاد کشاورزی، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از همکاری‌های صمیمانه سرکار خانم‌ها: سلیمه آهنگران، مهناز باباخانی و آقای مهدی حمزه و تمامی کارکنان آزمایشگاه رفرانس مایکوپلازما مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج سپاسگزاری می‌گردد.

فهرست منابع

- Communities, Commissions of the European Community, Luxembourg, P: 1-6.
- 9- Kheirabadi, K. H., Ebrahimi, A. (2007): Investigation of *Mycoplasma agalactiae* in milk and conjunctival swab samples from sheep flocks in west central, Iran. *Pak. J. Bio. Sc.* 10(8): 1346-1348.
 - 10- Kheirkhah, B., Pourbakhsh, S.A., Nadaliyan, M.G.H., Banani, M., Ashtari, A. (2011): Detection of *Mycoplasma agalactiae* by culture and polymerase chain reaction (PCR) methods from Iranian goats. *African J. Micro. Res.* 5(13): 1668-1672.
 - 11- Kizil, O., Ozdemir, H. (2006): Clinical, haemological and biochemical studies in goats naturally infected with *Mycoplasma agalactiae*. *Bull. Vet. Ins. Pulawy.* 50: 325-328.
 - 12- Kojima, A., Takahashi, T., Kijima, M., Ogikubo, Y., Nishimura, Y., Nishimura, S., Arasawa, R., Tamura, Y. (1997): Detection of mycoplasma in avian live virus vaccines by polymerase chain reaction. *Bio.* 25: 365-371.
 - 13- Moradi Bidhendi, S., Khaki, P., Pilehchian Langroudi, R. (2011): 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.* 66: 11-16.
 - 14- Radostits, O. M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, R.D. (2007): *Goats*. 10th edition. Elsevier Saunders. P: 1138-1140.
 - 15- Sakhaei, D., Pourbakhsh, S.A., Banani, M., Lotfi, M., Akhlaghi, F., Asli, E. (2009): Using PCR and culture method for *Mycoplasma* testing in poliomyelitis vaccine. *Arch. Razi Ins.* 64: 109-114.
 - 16- Tola, S., Angioi, A., Rocchigiani, A. M. (1997): Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction. *Vet. Micro.* 54(1): 17-22.
 - 17- Zendulkova, D., Madanat, A., Lany, P. (2007): Detection of *Mycoplasma agalactiae* by Polymerase Chain Reaction in Jordanian Sheep and goat herds. *Acta Vet. Brono.* 76: 71-77.
 - 1- حسینی طباطبایی، ع.، فیروزی، ر. (۱۳۸۰): بیماری‌های باکتریایی دام، چاپ اول، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، تهران، ایران، صفحه: ۴۸۴-۴۶۹.
 - 2- خیرخواه، ب.، پوربخش، س. ع.، اشتری، ع.، امینی، ک. (۱۳۹۰): جداسازی مایکوپلاسما آگالاکتیه در گوسفندان مبتلا به بیماری آگالاکسی در شهرستان بافت، مجله پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، ۸ (۱): ۴۳۰-۴۲۳.
 - 3- Amores, J., Corrales, J.C., Martin, A.G. (2009): Comparison of culture and PCR to detect *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *Capri* in ear swabs taken from goats. *Vet. Micro.* 102: 42-48.
 - 4- Al-Momani, W., Nicholas, R.A., Abo-Shehada, M.N. (2008): Risk factors associated with *Mycoplasma agalactiae* infection of small ruminants in northern Jordan. *Prev. Vet. Med.* 83(1): 1-10.
 - 5- Bashiruddin, J.B., Frey, J., Konigsson, M.H., Johansson, K.E., Hotzel, H., Diller, R., Santis, P., Botelho, A., Ayling, R.D., Nicholas, R.A.J., Thiaucourt, F., Sachse, K. (2005): Evaluation of PCR system for the identification and differentiation of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma bovis*: A collaborative trial. *Vet. J.* 169: 268-275.
 - 6- Belloy, L., Janovsky, M., Vilei, M., Pilo, P. (2003): Molecular epidemiology of *Mycoplasma conjunctivae* in Caprinae: Transmission across species in natural outbreak. *App. Env. Micro.* 69: 1913-1919.
 - 7- De La Fe, C., Assuncao, P., Rosales, R.S., Antunes, T., Poveda, J.B. (2006): Characterization of Protein and antigen variability among *Mycoplasma Mycoides* subsp *Mycoides* LC and *Mycoplasma agalactiae* field strains by SDS-PAGE and immunoblotting. *Vet. J.* 171: 532-538.
 - 8- Garrido, F., Leon, L., Ladero, J.L., Cuellar, L., Diaz, M.A. (1987): Contagious agalactia and other mycoplasmal diseases of small ruminants, Office for Official Publications of the European