DOI: 10.22092/vj.2018.121425.1452
شماره ۱۲۰ پاییز ۱۳۹۷
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

جداسازی و شناسایی میکروبیولوژیک جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا از گاو در کشتارگاه‌های البرز و تهران

• مجید ولدان
آزمایشگاه مرجع ملی پاستورلا، بخش واکسن‌های باکتریایی هوازی دامپزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• احمد رضا جباری
آزمایشگاه مرجع ملی پاستورلا، بخش واکسن‌های باکتریایی هوازی دامپزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• محمد سخاوتی
آزمایشگاه مرجع ملی پاستورلا، بخش واکسن‌های باکتریایی هوازی دامپزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• محی‌الدین نیرومند
آزمایشگاه مرجع ملی پاستورلا، بخش واکسن‌های باکتریایی هوازی دامپزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• علیرضا عرب
آزمایشگاه مرجع ملی پاستورلا، بخش واکسن‌های باکتریایی هوازی دامپزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• کیوان تدین (نویسنده مسئول)
آزمایشگاه مرجع ملی پاستورلا، بخش واکسن‌های باکتریایی هوازی دامپزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۲۸-۱۰-۱۳۹۶ تاریخ پذیرش:۲۸-۰۱-۱۳۹۷

Email: mmb093@gmail.com

چکیده

این مطالعه کشتارگاهی با هدف بررسی حضور پاستورلا مولتوسیدا، جمع‌آوری جدایه‌های آن و همچنین تعیین تیپ کپسولی آن‌ها در یک واحد صنعتی کشتارگاهی در استان البرز (شهرستان کرج) و ۵ واحد در استان تهران (رباط کریم، شهر ری، شهریار، کهریزک و ورامین) و انجام پذیرفت. تعداد ۸۹ نمونه ریه و ۵۹۵ سواب از مجاری تنفسی گوساله‌های گاو در یک کشتارگاه در کرج و ۵ کشتارگاه در تهران بر روی محیط‌های اختصاصی کشت گردیدند. در نتیجه از مجموع ۳۳۹ جدایه رشد یافته در کشت تعداد ۸۹ مورد در آزمون‌های متعارف بیوشیمیایی پاستورلا مولتوسیدا شناسایی شدند. اجرای آزمون PM-PCR هویت ۶۴ جدایه از ۸۹ جدایه را به عنوان پاستورلا مولتوسیدا مورد تایید قرار داد. با اجرای آزمون Cap-PCR ۶۰ جدایه دارای تیپ کپسولی A و ۱ جدایه نیز دارای تیپ کپسولی B نشان داده شدند در حالی‌که این آزمون نتوانست تیپ کپسولی ۳ جدایه را تعیین نماید. نویسندگان معتقدند هنوز تا شناخت کامل اپیدمیولوژی پاستورلا مولتوسیدا در ایران باید تحقیقات بیشتری انجام پذیرد.

کلمات کلیدی: پاستورلوز، پاستورلا مولتوسیدا، گوساله، تیپ کپسولی

Veterinary Researches & Biological Products No 120 pp: 64-69

Abattoir isolation and microbiological identification of field isolates of *Pasteurella multocida* collected from cattle at Tehran AND Alborz slaughterhouses

By: Valadan, M., National Research Laboratory of Pasteurella, Veterinary Aerobic Bacteria Vaccines Department, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Jabbari, A.R., National Research Laboratory of Pasteurella, Veterinary Aerobic Bacteria Vaccines Department, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Sekhavati M., National Research Laboratory of Pasteurella, Veterinary Aerobic Bacteria Vaccines Department, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran., Niroumand, M., National Research Laboratory of Pasteurella, Veterinary Aerobic Bacteria Vaccines Department, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Arab, A., National Research Laboratory of Pasteurella, Veterinary Aerobic Bacteria Vaccines Department, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. and Tadayon, K., National Research Laboratory of Pasteurella, Veterinary Aerobic Bacteria Vaccines Department, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Received: 2018-02-20 **Accepted: 2018-05-20**

Email: mmb093@gmail.com

This abattoir-based investigation was conducted in search for presence of *Pasteurella multocida*, collection of its isolates, characterization of their biochemical profiles and also classification of their capsular types in Tehran and Alborz provinces. Swabs from 89 lungs and 595 nasal passages of bovine calves at a single slaughterhouse in Karaj (Karaj city) and 5 slaughterhouses in Tehran (Shahriar, Shahr-e-Ray, Robat Karim, Kahrizak and Varamin) were cultured on specific media. Among the 339 non-haemolitic individual colonies, 89 were proved *P. multocida* by conventional biochemical tests. The PM-PCR assay confirmed identity of 64 isolates as Pm where 60 were shown to belong to the capsular type A and a single one to capsular type B. The remaining 3 isolates were non-typeable. We believe still a lot needs to be done at the national level to fully acknowledge the epidemiology of Pm in Iran.

Key words: *Pasteurella multocida*, calf, Capsular type

مقدمه

پاستورلا مولتوسیدا یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های باکتریایی در دامپزشکی است که نشخوارکنندگان اهلی و وحشی و از جمله اعضای خانواده گاوها نظیر گاو، گاومیش، گوزن، آهو و همچنین گوسفند و دیگر گونه‌های جانوری نظیر سگ و گربه (۱۵) و علاوه بر آن بسیاری از گونه‌های پرندگان (۳) را آلوده و بیمار می‌نماید. در سال ۲۰۱۵ میلادی در جریان یک اپیدمی منتسب به این پاتوژن بیش از ۲۰۰ هزار راس گوزن ظرف ۳ هفته در مناطق مرکزی قزاقستان تلف گردیدند (۱۰). این باکتری توانایی ایجاد بیماری در انسان را نیز دارا می‌باشد (۲۵). دلپی و رستگار و رفیعی در سال‌های نخستین دهه ۱۳۱۰ وجود و بیماریزای پاستورلا مولتوسیدا را در میان گله‌های گاو و گاومیش در خوزستان نشان دادند و موفق به جداسازی جدایه‌هایی از این باکتری گردیدند که یکی از آنها در حال حاضر به عنوان سویه واکسن در موسسه رازی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۸).

علیرغم اعمال برنامه واکسیناسیون غیر اجباری گله‌های گاو در ایران بر علیه پاستورلوز که در هشت دهه گذشته ادامه یافته است به دلیل فقدان برنامه‌ریزی و مدیریت متمرکز، این بیماری دربسیاری از مناطق دامپروری ایران مشاهده می‌گردد (۹ , ۱۵, ۲۱, ۲۴).

در سال ۱۹۵۴ کارتر بر مبنای هماگلوتیناسیون غیر مستقیم و با استفاده از مواجهه آنتی‌ژن‌های کپسولی پاستورلا مولتوسیدا با اریتروسیت‌های گروه خونی O انسان سویه‌های این باکتری را در چهار تیپ A , B , D , E طبقه‌بندی نمود (۲). در سال ۱۹۷۲ هدلستون روش دیگری را بر پایه آنتی‌ژن‌های پیکری پاستورلا مولتوسیدا طراحی و جدایه‌های باکتری را در ۱۶ گروه سرمی دسته‌بندی نمود. در حال حاضر اجرای تلفیقی از دو روش کارتر و هلستون در دسته‌بندی سرمی جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا مورد توجه قرار دارد و بصورت متعارف و بر اساس تیپ آنتی‌ژن‌های کپسولی جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا در ۵ گروه سرمی A, B, D, E و F طبقه‌بندی می گردند (۲۳).

در این مطالعه با هدف شناسایی فراوان‌ترین تیپ‌های کپسولی پاستورلا مولتوسیدا نسبت به نمونه‌برداری از گوساله‌های گاو در کشتار استان تهران و البرز اقدام و نمونه‌های جمع‌آوری شده در آزمایشگاه مورد کشت باکتریایی بر روی محیط‌های اختصاصی و آزمون‌های بیوشیمیایی و مولکولی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

در طول دوره زمانی آبان ۱۳۹۲ لغایت بهمن ۱۳۹۴ با مراجعه به شش واحد کشتارگاهی در استان‌های تهران و البرز اقدام به نمونه‌برداری از گوساله‌های زنده در سالن انتظار کشتار و همچنین لاشه دام‌های کشتار شده گردید. نمونه‌های اخذ شده پیش از کشتار شامل نمونه سواب بینی از گوساله‌های دارای تظاهرات بالینی التهاب ریه و در مورد لاشه‌ها مناطق دچار پرخونی شش‌ها و قلب و همچنین غدد لنفاوی مدیاستینال می‌گردید. برای تهیه نمونه از سواب‌های استریل یکبار مصرف استفاده گردید. هر سواب بصورت مجزا و پس از انجام نمونه‌برداری در یک لوله آزمایش محتوی ۱۰ میلی لیتر محیط انتقالی استوارت اصلاح شده Modified Stuart's transport medium (Highmedia, India) همراه با ونکومایسین (۶ mg/µl) و نیستاتین (۱۲/۵ mg/µl) قرار داده شد و سپس همه نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه رفرانس پاستورلا در موسسه رازی کرج منتقل گردیدند.

کشت میکروبی

در آزمایشگاه کلیه نمونه‌ها در همان روز دریافت بر روی پلیت‌های آگار خوندار (۵ درصد خون دفیبرینه گوسفند همراه با ونکومایسین و نیستاتین) کشت و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند. پلیت‌های کشت شده به دقت بصورت چشمی و در نور مناسب بازبینی شدند و تک پرگنه‌های رشدیافته فاقد خصوصیت همولیز و خاکستری رنگ کروی گرم منفی مجددا بر روی پلیت دیگری حاوی محیط آگار خوندار تجدید کشت گردیدند. علاوه بر این جدایه‌ها در لوله آزمایش محتوی ۳ میلی‌لیتر محیط مایع BHI تلقیح و به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در انکوباتور مجهز به تکانه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آزمایش‌های بیوشیمیائی

خصوصیات بیوشیمیایی جدایه‌های مشکوک به پاستورلا با اجرای آزمون‌های رشد در محیط‌های تفریقی (Kligler agar (Merck جهت بررسی تخمیر قندهای گلوکز و لاکتوز, ایجاد گاز H_2S، Ornithin decarboxilase broth (Merck), Urease (Himedia), MR-VP broth (Merck)) و SIM medium (Merck) برای بررسی تحرک باکتری و همچنین آزمون Indol، مورد ارزیابی قرار گرفت.

علاوه بر این آزمون حساسیت جدایه‌ها نسبت به پنی‌سیلین نیز اجرا گردید. بدین ترتیب که از کشت تازه (۶ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد) جدایه‌ها در محیط مایع BHI غلظت نیمه مك‌فارلن تهیه گردید و با استفاده از سوآب استریل بر روی پلیت آگار خوندار کشت کامل داده شد و یک عدد دیسك پنی‌سیلین (Himedia) در مرکز پلیت قرار داده شد. قرائت نتیجه ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت پذیرفت.

استخراج ژنوم باکتری

برای دستیابی به ماده ژنتیکی باکتری یك لوپ پلاستیکی (۱۰ میکرولیتر) کامل از کشت باکتری به یک میکروتیوب دارای واشر ضد نشت (O-ring) محتوی ۴۰۰ µl بافر TB-lysis انتقال و تیوب به مدت ۱۰ دقیقه در کف یک بن ماری حاوی آب در حال جوش (۹۵ درجه سانتی‌گراد) استقرار یافت. سوسپانسیون باکتری غیر فعال شده سانتریفوژ (۱۰ دقیقه در g۸۷۰۰) و بخش مایع بالایی شناور برداشت و از فیلتر سرسرنگی ۰٫۲ µl عبور داده شد. این محلول محتوی ژنوم باکتری‌ها تا زمان مصرف در یخچال یا فریزر نگهداری شد.

آزمایش‌های PCR

از ماشین ترموسایکلر اپندورف (منهایم، آلمان) و از کیت تجارتی آمپلیکون (Ampliquor®, Denmark) برای اجرای تمام آزمون‌های PCR استفاده شد. برای دستیابی به حجم نهایی هر واکنش معادل با ۱۲ µL از master mix برابر با ۶ میکرولیتر استفاده شد. برای هر واکنش مقدار ۱ میکرولیتر از هر کدام از دو پرایمر (غلظت ۵ پیکومول در میکرولیتر)، ۱ میکرولیتر از نمونه DNA و ۳ میکرولیتر از آب مقطر (دوبار تقطیر) استفاده شد. در مورد اجرای مراحل واکنش‌های PCR از دو پروتکل استفاده شد. پروتکل نخست (PM-PCR) متشکل از یك مرحله اولیه گرمایش به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و بدنبال آن ۳۵ نوبت از یك چرخه سه مرحله‌ای مشتمل بر گرمایش در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، گرمایش در دمای ۵۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و در نهایت یك مرحله گرمایش ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، گردید. پروتکل دوم (Cap-PCR) که به منظور شناسایی تیپ کپسولی جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا انجام پذیرفت یك مرحله اولیه گرمایش به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۳ درجه سانتی‌گراد و بدنبال آن ۳۵ نوبت از یك چرخه سه مرحله‌ای مشتمل بر گرمایش در دمای ۹۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، گرمایش در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و در نهایت یك مرحله گرمایش ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، گردید. الکتروفورز محصولات PCR با استفاده از آگاروز (۱/۵ درصد) و با اعمال جریان الکتریکی بمدت ۲ ساعت بر روی ژل (۲ v/cm) انجام شد.

همه جدایه‌های جمع‌آوری شده پاستورلا مولتوسیدا در میکروفیوژهای محتوی محیط محافظ Tryptose Phosphate Broth (TSB) همراه با گلیسیرین (۴۰ درصد) تلقیح و در آرشیو میکروبی آزمایشگاه رفرانس موسسه رازی در فریزرهای ۷۵ - درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

نتایج

در طول دوره تحقیق و در نتیجه ۳۶ نوبت مراجعه به یک واحد کشتارگاه صنعتی در شهرستان کرج مرکز استان البرز و ۵ واحد کشتارگاه صنعتی در شهرستان های رباط کریم، شهر ری، شهریار، کهریزک و

ورامین استان تهران در مجموع ۶۸۱ نمونه شامل ۴۲۱ مورد (۶۲ درصد) از استان تهران و ۲۶۰ مورد (۳۸ درصد) از استان البرز جمع‌آوری گردید. از نظر نوع، ۵۹۵ نمونه سوآب بینی (۸۷ درصد) و ۸۹ نمونه (۱۳ درصد)، بافت ریه به آزمایشگاه انتقال و مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایشگاه همه ۶۸۱ نمونه بر روی محیط آگار خوندار کشت گردیدند. در نتیجه انجام کشت ۶۲۳ مورد مثبت مورد توجه قرار گرفت. انجام بررسی‌های مرفولوژی و اقدامات جداسازی پرگنه‌های انفرادی منجر به شناسایی ۳۳۹ جدایه گردید که هیچکدام دارای توانایی ایجاد همولیز نبودند. علاوه بر این هیچ یک از جدایه‌ها در محیط مک کانکی آگار قادر به رشد نبودند و بدین ترتیب احتمال وجود منهیمیا همولیتیکا در میان آنها منتفی گردید. از طرف دیگر از میان این مجموعه ۸۹ جدایه در هر دو آزمون تعیین کننده کاتالاز و اکسیداز پاسخ مثبت ارائه نمودند. اجرای آزمون‌های تکمیلی نشان داد همه این جدایه‌ها نسبت به پنی‌سیلین حساس، فاقد قدرت حرکت، اوره آز و MR-VP منفی و همچنین دارای توان تخمیر گلوکز می‌باشند. این یافته‌های شاخص بیوشیمیایی هویت ۸۹ جدایه را پاستورلا مولتوسیدا نشان داد. با این حال اجرای آزمون PM-PCR هویت ۶۴ جدایه از ۸۹ جدابه را به عنوان پاستورلا مولتوسیدا مورد تایید قرار داد. با اجرای آزمون Cap-PCR ۶۰ جدایه دارای تیپ کپسولی A و ۱ جدایه نیز دارای تیپ کپسولی B نشان داده شدند در حالی‌که این آزمون نتوانست تیپ کپسولی ۳ جدایه را تعیین نماید و در عین حال تیپ‌های کپسولی D یا E یا F در میان جدایه‌ها مشاهده نگردید.

بحث

عدم موفقیت در کشت و جداسازی میکروبی در ۵۸ نمونه از مجموع ۶۸۱ نمونه اخذ شده علیرغم انتقال سریع آن‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه می‌تواند ناشی از غیر فعال شدن احتمالی باکتری علیرغم حضور در نمونه پیش از مرحله کشت آزمایشگاهی باشد.

بررسی‌های همه‌گیرشناسی در مورد جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا از جمعیت‌های پرندگان ایران در مناطق گیلان (۲۲) و مازندران (۷) و خوزستان (۵) در کنار دیگر نقاط ایران فراوان‌ترین تیپ کپسولی آلوده‌کننده پرندگان را A نشان داده‌اند. تیپ های B و D کپسولی نیز پیش از این بصورت محدود در میان جدایه‌های ایرانی پاستورلا مولتوسیدا جمع‌آوری‌شده از پرندگان گزارش گردیده‌اند (۱۶, ۱۷). علاوه بر این موارد گزارش شناسایی جدایه‌های پرندگان غیرقابل دسته‌بندی بر اساس

جدول۲- جزئیات پرایمرهای مربوط به لوکوس ها و مناطق ژنتیکی مورد استفاده در تحقیق حاضر. اندازه محصولات PCR مربوط به هر لوکوس ذکر شده است. در مورد لوکوس KMT1 توالی نوکلئوتیدها در پرایمر PmKMT1SP6 طراحی Townsend و قطعه هم ارز در ژنوم سویه Pm 70 مشخص شده است.

Locus/primer	Target gene	Nucleotide sequence (۳'→۵')	Target size (bp)	Reference (s)
PmKMT1T7	KMT۱	ATCCGCTATTTACCCAGTGG	460	(23)
PmKMT1SP6		GCCGTAAACGAACTCGCTAC (Townsend) GCTGTAAACGAACTCGCCAC (Pm70)		
capAf	hyaD-hyaC	TGCCAAAATCGCAGTCAG	1044	(23)
capAr		TTGCCATCATTGTCAGTG		
capBf	bcbD	CATTTATCCAAGCTCCACC	760	
capBr		GCCCGAGAGTTTCAATCC		
capDf	dcbF	TTACAAAAGAAAGACTAGGAGCCC	657	
capDr		CATCTACCCACTCAACCATATCAG		
capEf	ecbJ	TCCGCAGAAAATTATTGACTC	511	
capEr		GCTTGCTGCTTGATTTTGTC		
capFf	fcbD	AATCGGAGAACGCAGAAATCAG	851	

سیستم Townsend در ایران رو به افزایش می‌باشد (۵). اگر چه نقش پاستورلا مولتوسیدا در وقوع بیماری وبا در میان پرندگان حیات وحش ایران پیش از این نشان داده شده است اما اطلاعی از تیپ یا تیپ‌های کپسولی این باکتری‌ها در اختیار نیست (۴).

در مورد نشخوارکنندگان ایران نخستین گزارشات جداسازی و شناسایی پاستورلا مولتوسیدا به سال‌های نیمه نخست دهه ۱۳۱۰ باز می‌گردد هنگامی که در سال ۱۳۱۴ مطالعات جامعی در زمینه پاستورلوز در گله‌های گاو و گاومیش خوزستان توسط دلپی، رستگار و میرشمسی صورت پذیرفت (۱۸). بر اساس مطالعات انجام شده در سال‌های نزدیکتر فعالیت سویه‌های متعلق به تیپ کپسولیA (۶) و همچنین B و D (۶, ۱۳) در میان گله های گاومیش خوزستان و همچنین گاو در استان های مازندران (۸) و چهار محال و بختیاری (۹) نشان داده شده است. جدایه های تیپ های A و D از گله های بز در استان‌های آذربایجان غربی و شرقی و اردبیل (۱۴) و همچنین فارس (۱۱, ۲۰) جداسازی شده‌اند. در مطالعه حاضر فراوان‌ترین تیپ کپسولی شناسایی شده در میان دام‌های تحت بررسی تیپ A (۹۳ درصد) نشان داده شد. فراوانی، شدت و توان بیماریزایی جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا در تیپ کپسولی A در میزبان‌های مختلف اعم از پرندگان و نشخوارکنندگان در بسیاری از مناطق جهان پیش از این و از جمله در اروپا (۱۲) و خاورمیانه (۱) نشان داده شده است. تیپ کپسولی سویه‌های منفرد واکسن پاستورلوز گاو/گاومیش و پرندگان ساخت ایران بترتیب B و A معرفی شده است (۱۷, ۱۹). مطالعات ژنتیکی در حال انجام در موسسه رازی بر روی جمعیت پاستورلا مولتوسیدا وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه همراه با فعالیت اپیدمیولوژیک و چرخش چندین کلون را در پهنه جغرافیایی ایران نشان می‌دهند. در حال حاضر در زمینه کنترل پاستورلوز در نشخوارکنندگان کوچک ایران واکسن تجارتی در بازار موجود نمی‌باشد هرچند بر اساس اطلاعات شفاهی موجود مصرف واکسن گاو/گاومیش در گله‌های گوسفند با درجاتی از موفقیت همراه بوده است. یافته‌های مطالعه حاضر در کنار مشاهدات بدست امده در جریان دیگر تحقیقات در ایران نشان می‌دهند در بازنگری فرآیند تولید واکسن‌های پاستورلوز موسسه رازی ضمن رعایت ملاحظات فنی و تکنیکی انتخاب و افزودن سویه یا سویه‌های مناسب جدید در حال چرخش اپیدمیولوژیک ضمن افزایش پوشش ایمنی می‌تواند در زمینه عرضه واکسن برای مصرف در میزبان‌های دیگر نظیر نشخوارکنندگان کوچک و همچنین پرندگان حیات وحش نقش سازنده داشته باشد.

تشکر و قدردانی

۱) این تحقیق در زمینه تامین هزینه‌های مواد مصرفی و همچنین پشتیبانی لجستیکی در قالب پروژه تحقیقاتی به شماره ثبت ۹۶۰۴۸۷-۰۳۳-۱۸-۱۸-۲ مورد حمایت موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی قرار گرفته است.

۲) در دی ماه ۱۳۹۶ و همزمان با سالگرد تاسیس موسسه رازی یک واحد جدید و مدرن فرمانتور جهت تولید واکسن پاستورلوز در تاسیسات تولیدی موسسه در کرج راه اندازی گردید. نویسندگان مایلند مراتب خوشنودی خود را از بابت راه اندازی و آغاز تولید این واحد به هم‌میهنان گرامی اعلام نمایند.

منابع مورد استفاده

1- Al-Maary K.S., T.M. Dawoud, A.S. Mubarak, A.M. Hessain, H.M. Galal, S.A. Kabli and M.I. Mohamed. 2017. Molecular characterization of the capsular antigens of *Pasteurella multocida* isolates using multiplex PCR. *Saudi journal of biological sciences* 24,367-370.

2- Carter G.R. 1952. The type specific capsular antigen of *Pasteurella multocida*. *Canadian journal of medical sciences* 30,48-53.

3- Croville G., C. Foret, P. Heuillard, A. Senet, M. Delpont, M. Mouahid, M.F. Ducatez, F. Kichou and J.L. Guerin. 2018. Disclosing respiratory coinfections: a broad-range panel assay for avian respiratory pathogens on a nanofluidic PCR platform. *Avian pathology : Journal of the WVPA*,1-8.

4- Fereidouni S., H. Modir Rousta and F. Azin. 2006. The First Report of Avian Cholera in Miankaleh Wetland, Southeast Caspian Sea. *Podoces* 1,71-75.

5- Ghadimipour R., M. Ghorbanpoor, D. Gharibi, M. Mayahi and A. Jabbary. 2017. Pheno-and genotypic characteristics of *Pasteurella multocida* avian isolates in selected provinces of Iran. *Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences* 11.

6- Gharibi D., M. Hajikolaei, M. Ghorbanpour and S. Barzegar. 2017. Isolation, molecular characterization and antibiotic susceptibility pattern of *Pasteurella multocida* isolated from cattle and buffalo from Ahwaz, Iran. *Archives of Razi Institute* 72,91-98.

7- Jabbari A., M. Esmaelzadeh and G.R. Moazeni Jula. 2006. Polymerase chain reaction typing of *Pasteurella multocida* capsules isolated in Iran. *Iranian journal of veterinary research* 7,50-55.

8- Jamali H., M. Rezagholipour, S. Fallah, A. Dadrasnia, S. Chelliah, R.D. Velappan, K.S. Wei and S. Ismail. 2014. Prevalence, characterization and antibiotic resistance of *Pasteurella multocida* isolated from bovine respiratory infection. *Veterinary journal* (London, England : 1997) 202,381-383.

9- Khamesipour F., H. Momtaz and M.A. Mamoreh. 2014. Occurrence of virulence factors and antimicrobial resistance in Pasteurella multocida strains isolated from slaughter cattle in Iran. *Frontiers in microbiology* 5.

10- Kock R.A., M. Orynbayev, S. Robinson, S. Zuther, N.J. Singh, W. Beauvais, E.R. Morgan, A. Kerimbayev, S. Khomenko, H.M. Martineau, R. Rystaeva, Z. Omarova, S. Wolfs, F. Hawotte, J. Radoux and E.J. Milner-Gulland. 2018. Saigas on the brink: Multidisciplinary analysis of the factors influencing mass mortality events. *Science advances* 4,eaao2314.

11- Sahragard I., Y. Tahamtan, M. Valadan, M. Hyati, F. Moazeni and Z. Shirazi. 2012. Development of rapid PCR method for simultaneous identification of species, specific capsular type, and toxi-

genicity of Pasteurella sp. isolates. *Comparative clinical pathology* 21,1333-1336.

12- Sellyei B., A. Thuma, D. Volokhov and Z. Varga. 2017. Comparative Analysis of Pasteurella multocida Isolates from Acute and Chronic Fowl Cholera Cases in Hungary During the Period 2005 Through 2010. *Avian diseases* 61,457-465.

13- Shayegh J., M. Parvizi and M. Hejazi. 2010. Diversity of caprine and ovine *Pasteurella multocida* isolates based on 16S rRNA gene sequencing. *Iranian journal of veterinary research* 11,373-378.

14- Shayegh J., J. Sharaf, P. Mikaili and H. Namvar. 2009. Pheno- and genotyping of *Pasteurella multocida* isolated from goat in Iran. *African Journal of Biotechnology* 8.

15- Shirzad-Aski H. and M. Tabatabaei. 2016. Molecular characterization of *Pasteurella multocida* isolates obtained from poultry, ruminant, cats and dogs using RAPD and REP-PCR analysis. *Molecular biology research communications* 5,123-132.

16- Shirzad Aski H. and M. Tabatabaei. 2016. Occurrence of virulence-associated genes in *Pasteurella multocida* isolates obtained from different hosts. Microbial pathogenesis 96,52-57.

17- Sotoodehnia A., J. Vand Yousefi and I. Aarabi. 1986. Isolation and typing of *Pasteurella multocida* poultry isolates from Iran. *Arch Razi Inst* 36,85-86.

18- Sprague L.D. and K. Tadayon. 2017. Genome Sequence of *Pasteurella multocid*a Strain Razi_Pm0001. Genome announcements 5.

19- Tabatabaei M., G. Moazzeni Jula, A. Jabbari and M. Esmailzadeh. 2007. Pathogenicity and immunogenicity of native and mutant strains of *Pasteurella multocida*, the causative agents of haemorrhagic septicaemia. *Iranian journal of veterinary research* 8,40-44.

20- Tahamtan Y. and H. Mirghafari. 2016. Classification, capsular PCR typing and genetic diversity of *Pasteurella multocida* isolated from sheep and goats in Iran using Bam HI, Hind III restriction endonuclease enzymes by PCR-RFLP. *Tropical biomedicine* 33,535-542.

21- Tahamtan Y. and I. Sahragard. 2016. Characterization, ribotyping and capsular pcr typing of *Pasteurella multocida* isolated from iranian sheep and goats.

22- Tavasoli A., A. Sotoodeh, I. Aarabi and J. Vand Yosefi. 1984. A case report of fowl cholera disease in north of Iran. *Arch Inst Razi* 34 & 35,39-41.

23- Townsend K.M., J.D. Boyce, J.Y. Chung, A.J. Frost and B. Adler. 2001. Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap Loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. *Journal of clinical microbiology* 39,924-929.

24- Valadan M., A. Jabbari, M. Niroumand, Y. Tahamtan and H. Bani. 2014. Isolation and identification of Pasteurella multocida from sheep & goat in Iran. *Archives of Razi Institute* 69,47-55.

25- Zarlasht F. and M. Khan. 2018. A Case of Recurrent Pasteurella Bacteremia in an Immunocompetent Patient with No Animal Bite. *The American journal of case reports* 19,95-98.