✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۵۲، پاییز ۱۳۸۰

مطالعه بیوتیپ و سروتیپ *Pasteurella multocida* جدا شده از طیور ایران

● **احمدرضا جباری**، عضو هیأت علمی مؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی
● **فرهاد اسماعیلی**، عضو هیأت علمی مؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی
● **مهدی وصفی مرندی**، عضو هیأت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
● **سیدعلی پوربخش**، عضو هیأت علمی مؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی
● **عزیز سهاری**، استادیار دانشکده دامپزشکی - دانشگاه UPM مالزی

تاریخ دریافت: شهریور ماه ۱۳۷۹ تاریخ پذیرش: خرداد ماه ۱۳۸۰

چکیده

الگوی واکنش بیوشیمیایی بیست و پنج سویه *P. multocida* جدا شده از پاستورلوز طیور در ایران با استفاده از هگزوزها، پنتوزها، دی ساکاریدها و الکل‌های پلی هیدریک تعیین گردید. از لحاظ الگوی خواص بیوشیمیایی تشابه زیادی بین سویه‌ها مشاهد شد. تمام سویه‌ها سوربیتول، مانیتول، گالاکتوز، دکستروز، فروکتوز، مانوز و سوکروز را مورد استفاده قرار داده و در محیط پایه قندی (فنل رد) اسید تولید نمودند. با این وجود هیچ کدام دلسیتول، اینوزیتول، آرابینوز، سالیسین، رافینوز و اینولین را تخمیر نکردند. با در نظر گرفتن این ویژگی‌ها تمامی نمونه‌های *P. multocida* در این مطالعه متعلق به بیوتیپ multocida شناخته شدند. آزمون حساسیت آنتی بیوتیک‌ها با روش دیسک، حساسیت سویه‌ها را در مقابل سیزده آنتی‌بیوتیک و یا ترکیب ضد میکروبی نشان داد. حساسیت سویه‌ها در مقابل سولفامتوکسازین - تری‌متوپریم، نیتروفورانتوئین و کلرامفنیکل ۱۰۰٪ و در مقابل تتراسیکلین و پنی سیلین به ترتیب ۹۶٪ و ۸۸٪ بود. از طرفی تمامی نمونه‌ها در مقابل باسیتراسین، لینکومایسین و کلوکساسیلین ۱۰۰ مقاوم بوده و پس از آنها فورازولیدن و کلیستین با ۸۴٪ و ۶۸٪ قرار می‌گیرند. سروتایپینگ نمونه‌ها به روش هدلستون و به کمک آنتی سرم‌های اختصاصی تولید شده در این مطالعه انجام شد. بر این اساس سروتیپ‌های ۱، ۳، ۴ و ۴×۳ بدست آمد که سروتیپ‌های ۳، ۴ و ۴×۳ برای اولین بار از ایران گزارش می‌شوند.

کلمات کلیدی: پاستورلا، بیوتیپ، سروتیپ، طیور

✓ **Pajouhesh & Sazandegi, No 52 PP: 64-67**

Study on biotyping and serotyping of *Pasteurella multocida* isolated from poultry in Iran

By: Jabbari A.R., Esmaily F., Academic Members of Razi Vaccine and Serum Research Institute; Vasfi Marandi M., Academic Member of Veterinary Medicine, Tehran University; Poorbakhsh S.A., Academic Member of Razi Vaccine and Serum Resaerch Institute Sahary, A. Veterinary faculty UPM university of Malaysia.

Biochemical patterns of twenty five *P. multocida* strains isolated from poultry in Iran were determined by using hexoses, pentoses, disaccarides and polyhdric alcohols. All strains were able ferment sorbitol. manitol, galactose, dextrose, fructose, glucose, Mannose, and sucrose. However each of them couldnot produce acid from dulcitol, inositol, arabinose, salicine, rhafinose and inoline. According to this pattern all of isolates belonged to subspecies (biotype) multocida. Antimicrobial sensitivity patterns were determined against 13 different therapeutic agents. Among antibiotics tested, chloramphenicol, combination of sulfamethoazine an trimethoprim and nitrofurantoion were found to be the most effective (100% sensitivity) followed by tetracycline (96%), penicilline (88%), and gentamycine (79%). Serotyping by Hedleston method showed that the isolates belonged to serotypes 1, 3, 4 and 3x4. Except serotype 1, others are reported for the first time from Iran in this research.

Keywords: *Pasteurella multocida*, Biotyping serotyping, poultry.

مقدمه

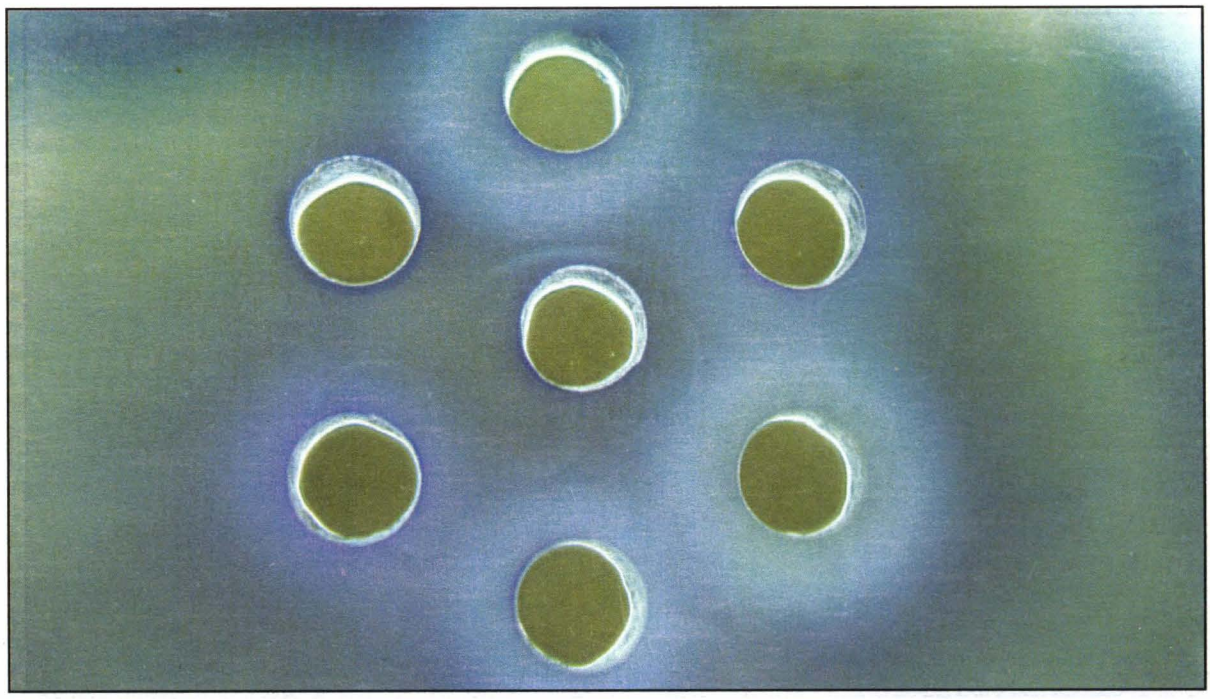
P. multocida باکتری گرم منفی است که عامل وبای مرغان و بیماری پاستورلوز در حیوانات دیگر می‌باشد. وبای مرغان بیش از دویست سال است که به‌عنوان یک بیماری مهم و عامل ضایعات اقتصادی در صنعت طیور مطرح می‌باشد (۱۰).

شناسائی *P. multocida* بر اساس ویژگی‌های بیوشیمیایی و آزمونهای سرولوژی انجام می‌شود. تحت گونه‌های *P. multocida* بر پایهٔ الگوی واکنش سویه در استفاده از برخی هیدروکربن‌ها شناخته می‌شوند. هیدروکربن‌های مهمی که به این منظور استفاده می‌شوند عبارتند از: پنتوزها (مثل زایلوز و آرابینوز)، دی ساکاریدها (مثل مالتوز و ترهالوز) و الکل‌های پلی هیدریک (نظیر سوربیتول، مانیتول و دولسیتول).

بر اساس آزمونهای سرولوژیک و به‌ویژه واکنش رسوب در ژل آگارز سروتیپ سویه‌های *P. multocida* تعیین می‌شود. تاکنون سروتیپ‌های مهمی که بیشتر از طیور به‌عنوان عامل وبای مرغان جدا شده‌اند عبارتند از سروتیپ‌های ۱، ۳، ۴×۳ و در مواردی نیز سروتیپ ۵ (۷).

بیماری وبای مرغان در ایران توسط بزرگمهری و همکاران (۱) و توسلی و همکاران(۱۳) در سالهای ۱۳۵۱ و ۱۳۶۴ با جداسازی عامل بیماری گزارش شده است. نمونه‌های *P. multocida* (۷ نمونه) جدا شده از واگیریهای منطقه گیلان جهت تایپینگ به مؤسسهٔ تحقیقات دامپزشکی (VRI) مالزی ارسال شده و به‌عنوان سروتیپ ۱ و گروه کپسولی A معرفی گردید (۱۲). جهت پیشگیری و کنترل بیماری یک واکسن کشتهٔ مونووالان حاوی باکترین تهیه شده از سویه محلی A1 همراه با هیدروکسید آلومینیوم به‌عنوان یاور در مؤسسهٔ تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تهیه شده و به‌طور وسیع در استان‌های شمالی و برخی مناطق دیگر کشور استفاده می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط توسلی و همکاران انجام شده گله‌های واکسینه شده توانستند در برابر بیماری مقاومت خوبی نشان داده و میزان تلفات تا حد چشمگیری کاهش یافت (۱۳).

در این مطالعه ویژگی‌های بیوشیمیایی سویه‌های *P. multocida* جدا شده از طیور به‌ویژه استان‌های شمالی کشور تا حد شناسائی بیوتیپ و نیز الگوی



شکل شماره ۱-

حساسیت داروئی آنها در مقابل آنتی‌بیوتیک‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. همچنین پس از تولید آنتی سرم‌های اختصاصی سروتایپینگ، تایپینگ *P. multocida* برای اولین بار در ایران راه‌اندازی شده و سروتیپ سویه‌های تحت مطالعه تعیین گردید.

مواد و روش کار

جداسازی و کشت

برداشت نمونه به کمک سوآپ استریل از خون قلب طیور تازه تلف شده با علائم مشکوک به پاستورلوز انجام شد. سواپ‌ها در شرایط استریل در محیط ترانسپورت به آزمایشگاه حمل گردید. در آزمایشگاه سوآپ‌های حامل نمونه به لوله‌های آزمایش حاوی ۳ میلی‌لیتر محیط آبگوشت برین هارت (BHI) انتقال یافتند و به مدت ۲۴ ساعت در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. نیم میلی لیتر از محیط مایع پس از کشت به موش نژاد Balb/c با وزن حدود ۲۰ ـ ۱۸ گرم تزریق گردید. موش‌های تلف شده پس از ۴۸ ـ ۲۴ ساعت کالبدگشائی شده و از خون قلب آنها به کمک آنس استریل روی محیط ژلوز خون آگار مک کانکی کشت داده شد. پلیت‌ها پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در ۳۷درجه سانتیگراد مورد بررسی قرار گرفته و پرگنه‌های ریز، شفاف، گرد و چسبنده بعنوان پرگنه‌های مشکوک جدا شده و پس از رنگ‌آمیزی گرم تست‌های تشخیص تکمیلی روی آنها انجام شد.

نگهداری سویه‌ها

پس از آنکه نمونه بدست آمد از نظر ویژگی‌های تشخیصی مطابق جداول موجود تأیید شد، برای نگهداری دراز مدت، کشت تازه تهیه شده از پلیت ژلوز خون، با شیر پس چرخ برداشت شده و در لوله‌های مخصوص خشک کردن به حجم تقریبی ۰/۵ میلی‌لیتر تقسیم شده و به کمک دستگاه لیوفیلیزاتور در شرایط خلاء خشک شدند. علاوه بر این یک نمونه از هر سویه نیز به‌صورت سوسپانسیون در محیط نگهدارنده در ۷۰- درجه‌سانتیگراد ذخیره گردید.

آزمون‌های تشخیصی

تشخیص *P. multocida* بر اساس شکل پرگنه، رشد روی آگار خوندار بدون همولیز، عدم رشد روی آگار مک کانکی، شکل با سیل کوتاه و گرم منفی، اکسیداز و کاتالاز مثبت، تولید بتاگالاکتوزیداز در TSI، تولید اندول، عدم مصرف سیترات به‌عنوان منبع انرژی، غیر متحرک و عدم تولید آنزیم اوره‌آز انجام شد (۱۱).

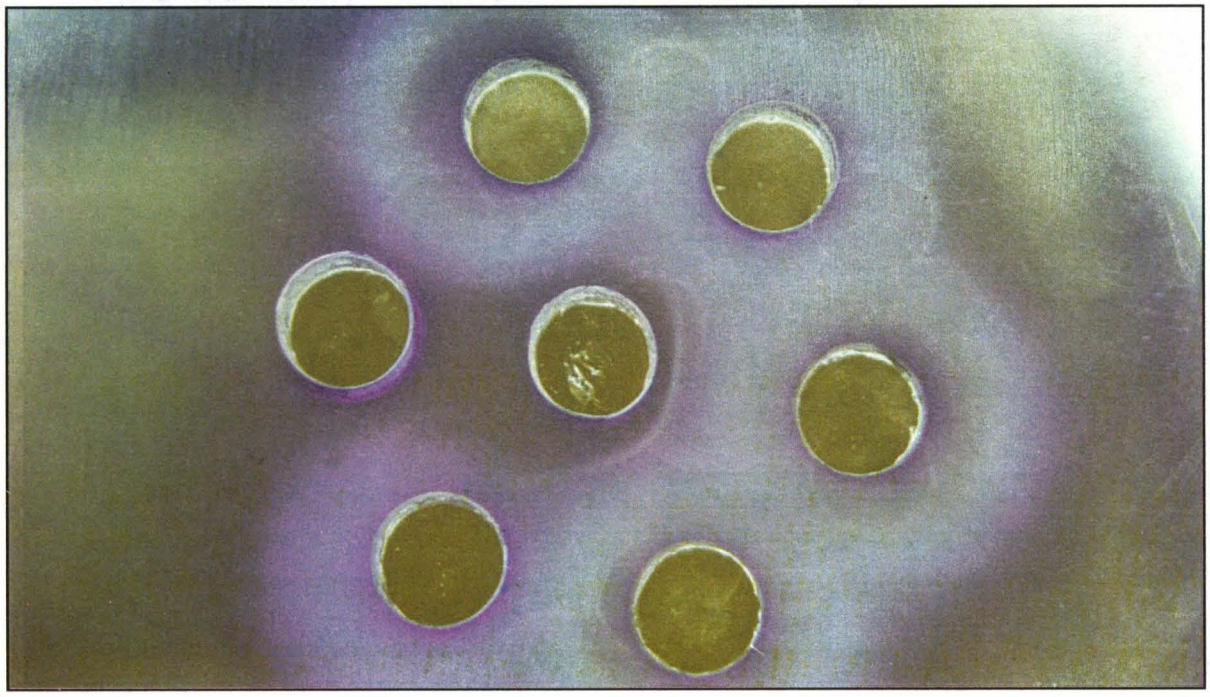
آزمون‌های بیوشیمیایی

تعیین قدرت تولید اسید از کربوهیدراتها در محیط پایه قندی فنل رد (پپتون ۱۵ گرم، سدیم کلراید ۱۰ گرم، فنل رد ۱ گرم و آب تا حجم یک لیتر) انجام شد. محیط پایه در لوله‌های آزمایش به حجم ۵ میلی‌لیتر تقسیم شده و در درجه حرارت ۱۲۱درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه سترون گردید. پس از آنکه لوله‌ها تا درجه حرارت ۳۰-۴۰ درجه سانتیگراد سرد شدند، از محلول قندی سترون با غلظت ۱۰٪ به حجم ۰/۵ میلی‌لیتر در شرایط سترون به لولهٔ حاوی محیط پایه قندی اضافه کرده و مخلوط شد. تمام محلول‌های قندی با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ میکرون سترون شدند زیرا حرارت اتوکلاو ساختمان فضایی برخی از آنها را خراب می‌کند.

به کمک آنس پلاتین یک پرگنه از محیط کشت ۲۴ ـ ۱۸ ساعته برداشته و در کنار شعله و زیر هود میکروبیولوژی به لوله حاوی محیط پایه و قند مورد نظر کشت داده شد و در گرمخانه ۳۷درجه سانتیگراد به‌مدت ۴۸ ساعت قرار داده و نتایج پس از ۲۴ ساعت یادداشت گردید. قدرت تخمیر سویه‌ها در مورد ترکیبات هیدروکربنی زیر مورد بررسی قرار گرفت: آرابینوز، دکسترین، دلسیتول، گالاکتوز، گلوکز، گلیسرول، اینوزیتول، انسولین، لاکتوز، مالتوز، مانیتول، رافینوز، سوربیتول، سوکروز، ترهالوز و زایلوز. با در نظر گرفتن توانایی یا عدم توانایی سویه در تخمیر قندهای آرابینوز، دلسیتول، مالتوز، سوربیتول، ترهالوز و زایلوز بیوتیپ هر نمونه مشخص گردید (جدول ۱).

آزمون تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی

این آزمون به روش انتشار از دیسک حاوی آنتی‌بیوتیک و بر روی محیط مولر هینتون انجام شده به کمک آنس استریل ۴ ـ ۵ پرگنه از محیط کشت ۱۸ ساعته برداشت شده و در کنار شعله به لوله آزمایش حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر محیط آبگوشت برین هارت سترون منتقل شد. لوله‌ها به مدت ۶ ـ ۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا آنکه غلظت میکروبی معادل لولهٔ ۰/۵ مک فارلند بدست آید، این غلظت حاوی حدوداً ۳×۱۰^{-۵} واحد تشکیل دهنده پرگنه (CFU) در میلی‌لیتر بود. یک سوآپ استریل در داخل سوسپانسیون باکتری وارد شد و پس از فشردن به کنارهٔ



شکل شماره ۲-

لوله، در تمام سطح پلیت حاوی آگار مولرهینتون کشت داده شد به‌طوریکه رشد یکدست و کاملی بدست آید. تحت شرایط سترون و به کمک پنس، دیسک‌های حاوی آنتی‌بیوتیک (شرکت پادتن طب) به فاصلهٔ ۲/۵ سانتیمتر از یکدیگر قرار گرفتند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانهٔ ۳۷درجه سانتیگراد قرار گرفته و سپس ناحیه مهار رشد به کمک خط کش مندرج اندازه‌گیری می‌شود (۱۰).

حساسیت سویه‌ها نسبت به داروهای ضد میکروبی زیر اندازه‌گیری شد: فورازولیدون، ترکیب سولفامتوکسازین و تری‌متوپریم، کلرامفنیکل، جنتامایسین، استرپتومایسین، کلوکساسیلین، پنی‌سیلین، تتراسیکلین، اریترومایسین، کلیستین، لینکومایسین، نیتروفورانتوئین، نئومایسین و باسیتراسین.

تهیهٔ آنتی سرم

به منظور تولید آنتی سرم‌های مورد استفاده در سروتایپینگ، سویه‌های رفرانس سروتیپ‌های ۱ تا ۵ در محیط ژلوز خون کشت داده شد پادگن تهیه شده به روش Hedleston (۵) و به گروه دوتایی جوجه‌های SPF در سن هشت هفتگی تزریق شد. ایمن‌سازی طبق برنامهٔ زمان‌بندی انجام شده و ده روز پس از آخرین تزریق خونگیری به‌عمل آمده و سرم بدست آمده تا زمان استفاده در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

تهیه پادگن

پادگن مقاوم به حرارت طبق روش Hedlestone (۵) از کشت باکتری ۱۸ ساعت تهیه گردید. کشت باکتری به کمک محلول کلرید سدیم ۰/۰۸ درصد شستشو داده شد. سوسپانسیون میکروبی به مدت ۵۰ دقیقه تحت حرارت ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت. پس از سانتریفوژ مایع رویی به‌عنوان پادگن به میکروتیوب جدید منتقل گردید. پادگن تهیه شده نیز تا زمان استفاده در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

آزمایش انتشار آگار ژل

محلول آگار ۰/۹ درصد پس از ذوب روی شعله داخل پلیت‌های شیشه‌ای به ضخامت ۵ میلی‌متر ریخته شد. سپس به کمک گوده بردار فلزی شش گوده به قطر ۵ میلی‌متر در مرکز پلیت در ژل آگار تعبیه شد.

برای انجام آزمون، پادگن در گودهٔ وسط و آنتی سرم‌های تایپینگ در گوده‌های اطراف قرار داده شدند. پلیت حاوی پادگن و آنتی سرم به مدت ۴۸تا۲۴ ساعت در درجه حرارت اتاق قرار گرفته و نتیجهٔ آزمون قرائت گردید.

نتایج

در این بررسی ۱۴ نمونه *P. multocida* پس از تزریق نمونه‌های مشکوک به موش و کشت از خون قلب و آزمون‌های تشخیصی جدا گردید. این تعداد به همراه یازده نمونه که از همه‌گیری‌های قبلی پاستورلوز طیور در مؤسسه رازی جدا شده بود (وندیوسفی، ستوده نیا) مجموعاً ۲۵ نمونه را تشکیل دادند که کلیهٔ آزمون‌های مذکور در قسمت مواد و روش‌ها بر روی آنها انجام شد.

ویژگی‌های تشخیصی و بیوشیمیایی

همهٔ بیست و پنج نمونه، باسیل‌های کوتاه گرم منفی بودند که بر روی آگار بدون ایجاد همولیز رشد کرده ولی هیچگونه رشدی بر روی محیط مک کانکی نداشتند تست‌های اندول، اکسیداز و کاتالاز به‌طور واضح مثبت بوده و به لحاظ مصرف سیترات منفی بودند. در تست قدرت تولید از نظر تخمیر کربوهیدراتها، همهٔ سویه‌ها سوربیتول، مانیتول، گالاکتوز، دکستروز، فروکتوز، مانوز و سوکروز را تخمیر کردند ولی هیچکدام دلسیتول، اینوزیتول، آرابینوز، سالیسین، رافینوز و اینولین را تخمیر نکردند.

تست‌های تولید اوره‌آز و ژلاتیناز نیز بیانگر عدم تولید این دو آنزیم در سویه‌های تحت مطالعه بود.

بر اساس ویژگی‌های بیوشیمیایی مذکور و نیز با در نظر گرفتن جدول ۱، مشخص می‌شود که همهٔ نمونه‌های *P. multocida* به تحت گونهٔ *P. multocida multocida* تعلق دارند.

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی

نمونه‌های *P. multocida* در این مطالعه در مقابل ۱۳ آنتی بیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفتند. جدول ۲ وضعیت حساسیت سویه‌ها را نشان می‌دهد. این بررسی نشان می‌دهد که همهٔ سویه‌ها حداقل نسبت به ۳ آنتی بیوتیک مقاوم هستند. سویه‌های PMI035 و PMI032 بیشترین طیف مقاومت یعنی به ترتیب نسبت به ۷ و ۶ آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند. سویه‌های PMI034 و (PMI041 و PMI044 ,PMI045 و PMI023 بیشترین طیف حساسیت را داشته و بطور متوسط به ۸ تا ۱۳ آنتی

بیوتیک حساس بودند. از بین آنتی‌بیوتیک‌ها، کلرامفنیکل، ترکیب سولفامتوکسازین- تری‌متوپریم و نیتروفورانتوئین دارای بهترین حساسیت (۱۰۰٪) بودند که تتراسیکلین (۹۶٪) و پنی سیلین (۸۸٪) و جنتامایسین (۷۶٪) در مقامهای بعدی قرار گرفتند. بیشترین مقاومت (۱۰۰٪) در برابر لینکومایسین، باسیتراسین و کلوکساسیلین و بعد از آن فورازولیدون (۸۴٪) و کلیستین (۶۸٪) مشاهده گردید.

تعیین سروتیپ

شانزده نمونه از سویه‌های تایپ شده در این مطالعه (۶۴٪) متعلق به سروتیپ ۱، سه نمونه متعلق به سروتیپ ۳ (۱۲٪)، سه نمونه متعلق به سروتیپ ۴×۳ (۱۲٪) و ۱ نمونه (۴٪) متعلق به سروتیپ ۴ شناخته شدند.

بحث و نتیجه گیری

بیماری پاستورلوز طیور، یک بیماری عمومی است که تقریباً تمام انواع پرندگان در جهان به آن مبتلا می‌شوند. این بیماری اغلب به‌صورت فوق حاد همراه با سپتی سمی و واگیری و تلفات زیاد بروز می‌نماید. بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی نشان می‌دهد که اغلب سویه‌ها الگوی مشابهی از این نظر دارند و از نظر بیوتیپ همه متعلق به بیوتیپ multocida هستند. لازم به ذکر است که تاکنون سه بیوتیپ برای گونه *P.multocida* معرفی شده که عبارتند از multocida, galicida و septica و این نتایج با یافته‌های Snipes همخوانی دارد (۱۱). او که ویژگی‌های بیوشیمیایی سویه‌های *P. multocida* جدا شده از بوقلمون در کالیفرنیا را بررسی کرد مشابهت قابل توجهی از این نظر بین سویه‌ها وجود داشت. او همچنین مشاهده کرد که ۹۵/۵٪ سویه‌ها متعلق به بیوتیپ multocida هستند.

Fegan و همکاران نیز در یک بررسی مشابه ۸۲/۷٪ از نمونه‌های *P. multocida* جدا شده از طیور را تحت بیوتیپ multocida طبقه‌بندی نمود (۴). مطالعهٔ حاضر نیز بیانگر آنست که بیوتیپ multocida، بیوتیپ غالب در نمونه‌های با منشاء طیور در ایران است.

نتایج حاصله از آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشانگر حساسیت خوب سویه‌های *P. multocida* نسبت به ترکیبات سولفامید - تری‌متوپریم، تتراسیکلین و پنی‌سیلین می‌باشد. *P. multocida* جزء معدود باکتری‌های گرم منفی است که نسبت به پنی‌سیلین حساس است. اگر چه این نسبت به کلرامفنیکل حساسیت کاملی نشان داد ولی نباید از نظر دور داشت که مصرف این آنتی‌بیوتیک در طیوری که مصرف غذایی برای انسان دارند منع مصرف دارد. فورازولیدون و کلیستین با توجه به آنکه بر علیه اغلب باکتری‌های گرم منفی مؤثر هستند ولی *P. multocida* مقاومت قابل توجهی در مقابل آنها نشان داد که باید مورد توجه قرار گیرد.

تولید آنتی سرم‌های اختصاصی و راه‌اندازی آزمون تایپینگ *P. multocida* برای اولین بار در ایران انجام شد. سروتیپ ۱ قبلاً گزارش شده بود (۸) ولی سروتیپ‌های ۳، ۴ و ۴×۳ برای اولین بار از ایران گزارش می‌شوند. سروتیپ‌های شناسایی شده در این مطالعه توسط سایر محققان از میزبان طیور گزارش شده‌اند.

P. multocida سروتیپ ۱ به‌عنوان تیپ غالب در بین سویه‌های جدا شده از راپتور (۸)، بوقلمون؛ ماکیان و غاز (۹) و پرندگان وحشی (۱۶) شناخته شده است. سروتیپ ۳ این ارگانیسم بعنوان عامل وبای مرغان در جورجیا - آمریکا (۱۴) کانادا (۲) بریتانیا (۳) گزارش گردیده است. در مطالعات بعدی سروتیپ غالب در ایالت جورجیا ۴×۳ اعلام شد (۱۵).

Hofacre و Glisson که *P. multocida* جدا شده از طیور ایالت کالیفرنیا را تعیین سروتیپ کردند اعلام داشتند ۱۹، ۱۲، ۵۴ درصد سویه‌ها به ترتیب متعلق به سروتیپ‌های ۱، ۳ و ۴×۳ بودند (۶).

Ireland و همکاران که سروتایپینگ نمونه‌های جدا شده از طیور استرالیا را مطالعه کردند، ۴۱/۵، ۱۸/۵، ۱۶/۵ درصد سویه‌ها را به ترتیب سروتیپ‌های ۳، ۱ و ۴×۳ گزارش نمودند (۷). سروتیپ ۴×۳ سویه‌ای است که حاوی خاصیت پادگنی هر دو تیپ ۳ و ۴ می‌باشد.

سروتایپینگ *P. multocida* به روش Hedlestone برای فهم بهتر اتیولوژی طیور از ارزش بالایی برخوردار است. برای مبارزه و پیشگری از بیماری داشتن یک برنامهٔ مدون و مؤثر برای واکسیناسیون لازم است. در حال حاضر دو نوع واکسن بطور عمده علیه این بیماری در دنیا مصرف می‌شود. واکسن‌های زنده تهیه شده از سویه‌های تخفیف حدت یافته یا غیر بیماریزا و واکسن‌های کشته شده که از سویه‌های محلی تهیه می‌شوند مزیت بکارگیری سویه‌های زنده این است که قادر به تولید ایمنی علیه سویه‌های هترولوگ یا به عبارتی ایمنیت متقاطع (Cross protection) می‌باشند ولی همواره خطر بروز بیماری و تلفات در گله پس از مصرف این واکسن‌ها وجود دارد. در مقابل استفاده از واکسن‌های کشته خطر بروز بیماری را مرتفع کرده‌اند اما ایمنیت حاصل از این واکسن‌ها تنها علیه سویه‌های همولوگ بوده و قادر به تولید ایمنی متقاطع نیست.

همانگونه که قبلاً اشاره شد در کشور ما هم اکنون یک واکسن مونووالان تهیه شده از سروتیپ ۱ جهت پیشگیری از بیماری پاستورلوز طیور مصرف می‌شود. نتایج این بررسی نشان داد که حداقل سه سروتیپ حائز اهمیت دیگر نیز در مناطق اندمیک بیماری وجود دارد. (سروتیپ‌های ۳، ۴×۳ و ۴). لذا به منظور داشتن ایمنی که پوشش کاملتری علیه سویه‌های فعال داشته باشد، پیشنهاد می‌شود یک واکسن‌تری‌والان متشکل از سویه‌های ۱، ۳ و ۴ تهیه شده و پس از انجام آزمونهای کنترلی لازم جایگزین واکسن فعلی گردد.

به دلیل آنکه به‌کارگیری روش‌های مولکولی توانسته سویه‌ها را در یک سروتیپ نیز از یکدیگر تفریق نماید، پیشنهاد می‌شود، جهت تکمیل مطالعهٔ سرولوژیک ویژگی‌های مولکولی سویه‌های بدست آمده نیز مورد بررسی گردد.

سپاسگزاری

بر خود لازم می‌دانیم از همکاری صمیمانهٔ همکاران در بخش بیوتکنولوژی مؤسسهٔ رازی به‌ویژه آقایان دکتر آشتیانی، محمد کاظمی، محسن محمدخانی و خانمها نگارین مظفریان و ناهید اسدی تشکر نمائیم.

منابع مورد استفاده

۱- بزرگمهری فرد. م. ح. ۱۳۵۱. یک مورد واگیری وبای طیور. نامهٔ دانشکده دامپزشکی شماره ۴ - صفحهٔ ۲۴ - ۲۹.

2. Bhasin,J.L. 1982. Serological types of *Pasteurella multocida* isolated from turkeys and chickens in Canada. Can. K. Microbiol. 28: 1078-1080.

3. Curtis. P.E. 1976. Serotyping British isolates of *P. multocida* from avian. species. Vet. Rec. 99:256-257.

4. Fegan., N.,P.J. Blackall, and J.L.Pahoff. 1995. Phenotypic characterization of *Pasteurella multocida* isolated from Australian poultry. Vet. Microbiol. 47: 281-286.

5. Hedleston, K.L., J.E. Gallagher, and P.A. Rebbers. 1972. Fowl cholera: Gel diffusion precipitin test for serotyping *Pasteurella multocida* from avian species. Avian Diseases, 16:925-935.

6. Hofacre, C.L. and J.R. Glisson. 1986. A serotype survey of *Pasteurella multocida* isolated from poultry. Avian diseases . 30: 632-633.

7. Ireland, L.R., A.R. Rimler, and I.J. Smart. 1989. Serotyping of isolates of *Pasteurella multocida* from chickens. Australian Vet. J. 66: 121-122.

8. Morishita, T.Y., L.J. Lowestine., D.C. Hirsh, and D.L. Brooks. 1996. *Pasteurella multocida* in raptors: Pervalence and characterization. Avian Diseases. 40: 908-918.

9. Mushin. R. 1979.Serotyping of *Pasteurella multocida* isolates from poultry. Avian Diseases. 23:608-615.

10. Quine. P.J., M.E. Carter., Berkey and G.R. Carter. 1994. Clinical veterinary microbiology. Wolf. PP 95-98.

11. Snipes K.P., C.Dwighl., W. Rick., T.E. Carpenter. D.W. Hird and R.H. Mac Capes. 1990. Homogenity of characteristics of *P. multocida* isolated from turkeys and wild life in California 1985-1988. Avian Dis.

12. Sotoodehnia, A., J. Vand Yousefi, and I. Aarabi. 1986. Isolation and typing of *Pasteurella multocida* poultry isolates from Iran. Arch. Inst. Razi. 36, 37: 85-86.

13. Tavasoli, A., A. Sotoodehnia., I. Aarani, and J. Vand Yousefi. 1984. A case report of fowl cholera disease in north of Iran. Arch. Inst. Razi. 34. 35: 39-41.

14. Walser M.M., and R.B. Davis. 1975. In vitro characterization of field isolates of *Pasteurella multocida* from Georgia turkeys. Avian Diseases 19:523-532.

15. Waltman W.D., and A.M. Horne. 1993. Characterization of fowl cholera diagnosed in Georgia 1989-91. Avian Diseaes. 37: 616-621.

16. Wilson, M.A., R.M. Duncan., G.E. Nordholm, B.M. Berlowski 1995. *Pasteurella multocida* isolated from wild birds of north America: A serotype and DNA fingerprint.