جداسازی و شناسایی پاستورلا مولتوسیدا از طیور بومی استان گلستان، ایران

پرستو پورغفور لنگرودی*[۱]، مجید ولدان[۱]، بهارک محمدیان[۱]

۱- عضو هیات علمی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

دریافت مقاله: ۱۷ مرداد ۱۴۰۱، بازنگری: ۰۵ شهریور ۱۴۰۱، پذیرش نهایی: ۰۵ شهریور ۱۴۰۱

چکیده

بیماری پاستورلوز طیور، بیماری باکتریایی مسری و حاد پرندگان اهلی و وحشی است که موجب تلفات و خسارت‌های اقتصادی قابل توجه می‌شود. این مطالعه مقطعی به‌منظور جداسازی و شناسایی پاستورلا مولتوسیدا از پرندگان بومی انجام شد. بدین منظور در فاصله زمانی دو ساله، تعداد ۳۵۰ نمونه سواب حلقی از طیور بومی مشکوک به بیماری پاستورلوز در استان گلستان جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها در محیط انتقالی پاستورلا قرار گرفته و به‌منظور انجام آزمایشات باکتریولوژی به مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی منتقل شدند. از ۳۵۰ نمونه بررسی شده فقط ۲ نمونه بر اساس کشت‌های باکتریایی، خصوصیات مورفولوژی و آزمایش‌های بیوشیمیایی، پاستورلا مولتوسیدا تشخیص داده شد. در مرحله بعد برای تعیین ژن اختصاصیkmt1، جدایه‌ها تحت واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) قرار گرفتند. بر اساس نتایج PCR هیچ کدام از جدایه‌ها به‌عنوان پاستورلا مولتوسیدا تأیید نشدند. از آنجایی که طیور بومی مخازن باکتری‌های مهم از نظر اقتصادی و بهداشت عمومی هستند، اجرای برنامه‌های مراقبت و امنیت زیستی به منظور کنترل بیماری مفید می‌باشد.

واژگان کلیدی: *وبای مرغان، جداسازی، شناسایی، پاستورلا مولتوسیدا، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: poorghafoor@yahoo.com

مقدمه

بیماری پاستورلوز یا وبای مرغان، بیماری عفونی حاد و کشنده‌ای است که بیش از ۱۰۰ گونه از پرندگان را تحت تأثیر قرار می‌دهد و به دلیل ایجاد تلفات و کاهش تولید باعث خسارت‌های فراوان در زمینه تولید ماکیان خانگی و تجاری در سراسر جهان می‌شود (۱). عامل این بیماری، پاستورلا مولتوسیدا، یک باکتری کوکوباسیل گرم منفی، غیر متحرک، غیر همولتیک بدون اسپور می‌باشد. این باکتری بر اساس آنتی‌ژن‌های لیپو پلی‌ساکارید به ۱۶ سروگروپ پیکری (۱۶-۱) و بر اساس آنتی‌ژن‌های کپسولی به ۵ تیپ کپسولی A, B, D, (E, F) طبقه‌بندی می‌شود و هر کدام میزبان اختصاصی خود را دارد (۲، ۳). سویه‌های تیپ کپسولی A شامل A1, A3, A4 از معمول‌ترین عوامل ایجاد بیماری پاستورلوز طیور در بیشتر کشورها از جمله ایران می‌باشند، هر چند تمامی ۱۶ سروتیپ پیکری پاستورلا مولتوسیدا و حتی برخی سویه‌های مربوط به تیپ کپسولی D و F نیز به‌عنوان عامل بیماری گزارش شده‌اند (۴).

پاستورلا مولتوسیدا عامل بیماری‌های مختلف از جمله وبای پرندگان اهلی و وحشی، سپتی‌سمی هموراژیک سم داران، تب حمل و نقل و پنومونی در گوسفند و بز، رینیت آتروفیک خوک و خرناس خرگوش‌ها می‌باشد (۴، ۵). بعلاوه این باکتری موجب استئومیلیت و سپتی‌سمی انسان در اثر گازگرفتگی به‌وسیله سگ و گربه می‌شود (۶، ۷). پرندگان در همه سنین به آلودگی با پاستورلا مولتوسیدا حساس هستند. بیماری به‌صورت فوق حاد/حاد و تحت حاد/ مزمن اتفاق می‌افتد. بوقلمون، قرقاول و کبک به فرم تحت حاد و حاد خیلی حساس هستند. ابتلا و تلفات پرندگان به‌خصوص جوجه‌ها و اردک‌ها زیاد است (۷، ۸).

تشخیص بیماری بر جداسازی ارگانیسم از پرندگان دارای علائم و ضایعات ناشی از بیماری استوار است. روش‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی برای شناسایی باکتری سخت و زمان‌بر است (۴) در حالی که استفاده از تکنیک‌های مولکولی، به‌ویژه PCR برای تشخیص مولکولی و شناسایی آنتی‌ژن‌های کپسولی پاستورلا جهت تشخیص و شناسایی سریع و اختصاصی ارگانیسم بسیار مهم است (۳).

به منظور پیشگیری از بیماری، واکسیناسیون انجام می‌شود. با توجه به وجود برخی مشکلات در استفاده از واکسن زنده، برای پیشگیری از پاستورلوز طیور از باکترین استفاده می‌شود. واکسن معمولاً به شکل چندگانه و مرکب از سروتیپ‌های سوماتیک ۱، ۳، ۴ تولید و استفاده می‌شود (۹). در ایران نیز مانند سایر کشورهایی که این بیماری در آنها وجود دارد، واکسیناسیون مهم‌ترین روش پیشگیری محسوب می‌شود. واکسیناسیون در مقابل هر سروتیپ باعث ایجاد محافظت در برابر سایر سروتیپ‌ها نمی‌گردد به همین دلیل برای ایجاد محافظت کامل در برابر سویه‌های عامل بیماری در عموم کشورها در تهیه واکسن پاستورلوز طیور، از تمام سروتیپ‌های موجود در منطقه استفاده می‌گردد (۹).

وجود تنوع در سروتیپ‌های عامل بیماری پاستورلوز طیور از یک سو و عدم ایجاد مقاومت کامل محافظت کننده به وسیله واکسن مونووالان در برابر تیپ‌های دیگر، انجام تحقیقات مرتبط با شناسائی عوامل ایمنی‌زای مشترک بین تیپ‌های مختلف را الزامی ساخته است. بر این اساس مطالعه حاضر با هدف جداسازی و شناسائی عامل پاستورلوز از طریق نمونه‌گیری از طیور بومی و انجام آزمون‌های میکروب‌شناسی، بیوشیمیائی و مولکولی به‌منظور دستیابی به سوش(های) لازم برای انجام بررسی‌های مرتبط با تهیه واکسن پلی‌والان پاستورلوز طیور انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مقطعی انجام شد. متعاقب بروز پاستورلوز طیور در مناطق مختلف استان گلستان به مناطق گزارش شده مراجعه و از طیور مشکوک به بیماری نمونه سوآب حلقی اخذ و پس از قراردادن نمونه‌ها در Modified Stuart Transport Medium، در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شد. در مجموع ۳۵۰ نمونه از طیور بومی (۱۰ گونه/جنس) اخذ و آزمایش‌های لازم بر روی آنها انجام شد.

کشت و جداسازی: نمونه‌های سوآب دریافتی برای انجام آزمایشات میکروبی، در شرایط استریل در آگار خونی کشت و سپس با توجه به تنوع باکتری‌های رشد یافته روی محیط، اندازه، رنگ و شکل کلنی‌های پاستورلا، کشت مجدد روی آگار خونی و خالص‌سازی انجام شد. پس از رشد در محیط مذکور و بررسی‌های ظاهرشناسی، رنگ‌آمیزی گرم بر روی گسترش‌ها انجام شد. در صورت گرم منفی بودن، رشد در محیط مایع آبگوشت قلب و مغز بررسی شد.

در مواردی که کشت در محیط مایع نیز موفقیت‌آمیز بود، آزمون‌های کاتالاز و اکسیداز انجام شد. در صورت تطبیق نتایج آزمایشات انجام شده با استاندارد پاستورلا، آزمون‌های حساسیت به پنی‌سیلین و سپس اندل انجام و در صورت مثبت بودن نتیجه آزمایش اندل، برای تائید پاستورلا مولتوسیدا، PCR انجام شد. به‌منظور استخراج DNA مربوط به جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا از کشت ۲۴ ساعته در محیط آگار خونی و از روش Boiling استفاده و آزمایشات براساس روش کار مطالعه حق‌نظری و همکاران (۱۳۹۵) انجام شد (۱۰). پرایمر و مواد به کار رفته در این آزمایش، توسط شرکت سیناژن سنتز گردید (۴). جدول شماره ۱ مشخصات پرایمر مورد استفاده، توالی و سایز آن را نشان می‌دهد.

جدول ۱- مشخصات پرایمر استفاده شده برای تشخیص *پاستورلا مولتوسیدا*

Primer name	Description	Primer sequence(5'-3')	Amplicon (size bp)
(KMT1)	Identification all *Pasteurella multocida*	ATCCGCTATTTACCCAGTGG GCTGTAAACGAACTCGCCAC	460

آنالیز داده‌ها: داده‌های حاصل از آزمایشات انجام شده در نرم‌افزار اکسل ثبت و با نرم‌افزار SPSS ver21 و استفاده از آمار توصیفی تجزیه و تحلیل شد.

نتایج آزمایش PCR : برای تشخیص *پاستورلا مولتوسیدا* از پرایمر PM (KMT1) استفاده شد. تعداد ۲ نمونه از جدایه‌های حاصل از کشت، جداسازی و آزمایشات بیوشیمیایی تحت آزمایش PCRقرار گرفت. هیچ یک از جدایه‌ها به‌عنوان *پاستورلا مولتوسیدا* تائید نشد.

نتایج

جدول ۲- نتایج حاصل از بررسی خصوصیات کشت و مورفولوژی نمونه‌ها به تفکیک گونه

گونه	تعداد نمونه	رشد در بلاد آگار		همولیز		نتیجه رنگ‌آمیزی گرم		رشد در محیط مایع	
		مثبت	منفی	مثبت	منفی	گرم مثبت	گرم منفی	مثبت	منفی
مرغ و خروس محلی	۲۱۴	۲۶	۱۸۹	-	۲۱۴	۲۶	۱۸۹	۲۶	۱۸۹
مرغ و خروس لاری	۱۱	۳	۸	-	۱۱	۳	۸	۳	۸
بوقلمون	۱۴	۱	۱۳	-	۱۴	۱	۱۳	۱	۱۳
اردک	۷۱	۱۸	۵۳	-	۷۱	۱۸	۵۳	۱۸	۵۳
غاز	۱۷	۱	۱۷	-	۱۷	۱	۱۷	۱	۱۷
کبک	۱	-	۱	-	۱	-	۱	-	۱
مرغ شاخدار	۱۲	۴	۸	-	۱۲	۴	۸	۴	۸
قرقاول	۶	-	۶	-	۶	-	۶	-	۶
بلدرچین	۲	۱	۱	-	۲	۱	۱	۱	۱
طاووس	۲	-	۲	-	۲	-	۲	-	۲
جمع	۳۵۰	۵۴	۲۹۶	-	۳۵۰	۵۴	۲۹۶	۵۴	۲۹۶

جدول ۳- نتایج حاصل از بررسی خصوصیات بیوشیمیایی نمونه‌ها برحسب گونه

گونه	تعداد نمونه	اکسیداز		کاتالاز		حساسیت به پنی سیلین		اندل	
		مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی
مرغ و خروس محلی	۲۱۴	۲۶	۱۸۹	۲۶	۱۸۹	۲۶	۱۸۹	-	۲۱۴
مرغ و خروس لاری	۱۱	۳	۸	۳	۸	۳	۸	-	۱۱
بوقلمون	۱۴	۱	۱۳	۱	۱۳	۱	۱۳	-	۱۴
اردک	۷۱	۱۸	۵۳	۱۸	۵۳	۱۸	۵۳	۲	۶۹
غاز	۱۷	۱	۱۷	۱	۱۷	۱	۱۷	-	۱۷
کبک	۱	-	۱	-	۱	-	۱	-	۱
مرغ شاخدار	۱۲	۴	۸	۴	۸	۴	۸	-	۱۲
قرقاول	۶	-	۶	-	۶	-	۶	-	۶
بلدرچین	۲	۱	۱	۱	۱	۱	۱	-	۲
طاووس	۲	-	۲	-	۲	-	۲	-	۲
جمع	۳۵۰	۵۴	۲۹۶	۵۴	۲۹۶	۵۴	۲۹۶	۲	۳۴۸

جدول ۴- تعداد نمونه‌ها و جدایه‌ها به تفکیک فصل

تعداد	بهار	تابستان	پاییز	زمستان	جمع
نمونه	۷۸	۳۲	۱۶۳	۷۷	۳۵۰
جدایه	-	-	۱	۱	۲
درصد	-	-	۰/۶۱	۱/۳۰	۰/۵۷

بحث و نتیجه‌گیری

بیماری پاستورلوز در اکثر کشورهای جهان وجود دارد و شیوع آن در حال افزایش است. این بیماری با ابتلا و مرگ و میر بالا، کاهش مصرف غذا و کاهش رشد شناسایی می‌شود. بر اساس مطالعات انجام شده بروز بیماری مذکور ۷۰-۳۰ درصد و مرگ و میر در اثر این بیماری ۸۰-۳۰ درصد می‌باشد (۶). بر اساس مطالعات مختلف در ایران، پاستورلوزیس طیور در مناطق شمالی کشور اندمیک است و طغیان‌های این بیماری از مناطق مختلف کشور به‌خصوص در مناطق اندمیک گزارش شده است (۱۱).

در این مطالعه ۳۵۰ نمونه سواب حلقی از طیور بومی مشکوک به بیماری پاستورلوز در استان گلستان با استفاده از روش‌های باکتریولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی بررسی شد. از مجموع ۳۵۰ کشت اولیه در ۵۴ مورد (۱۵/۴۳ درصد) خالص‌سازی کلنی‌های پاستورلا ممکن شد. دلیل این مهم، صرفاً وجود عوامل میکروبی متعدد در کشت اولیه و اندک بودن توان پاستورلا در رقابت با سایر باکتری‌ها در رشد روی محیط کشت می‌باشد. علیرغم عدم رشد باکتری در محیط مک‌کانکی، تمام ۵۴ جدایه، در محیط مایع رشد کردند. نتایج آزمون‌های کاتالاز و اکسیداز در ۵۴ نمونه رشد کرده در محیط مایع مثبت بود و بررسی نمونه‌ها از نظر حساسیت به پنی‌سیلین نشان‌دهنده حساسیت همه نمونه‌ها بود. به دلیل اختصاصی بودن آزمایش اندل در تشخیص پاستورلا، آزمایش مذکور انجام و بر اساس نتایج دو نمونه (مربوط به اردک) اندل مثبت بود. علاوه بر آزمایشات مذکور، برای تشخیص پاستورلا مولتوسیدا از روش مولکولی با پرایمرهای اختصاصی ژن kmt1 این ارگانیسم استفاده شد و بر اساس نتایج هیچ کدام از جدایه‌ها به‌عنوان پاستورلا مولتوسیدا تائید نشدند.

بر اساس تحقیقات متعدد جداسازی و شناسائی پاستورلا از پرندگان وحشی و طیور غیر صنعتی انجام شده و قرابت آنها با سویه‌های عامل بیماری وبا در طیور صنعتی و همچنین امکان ناقل بودن آنها، بررسی شده که به تعدادی از آنها اشاره می‌شود.

در مطالعه قدیمی‌پور و همکاران (۱۳۹۶)، از بررسی ۷۰۱ نمونه سوآب نایی، با استفاده از روش‌های مبتنی بر کشت، ۱۲(۱/۷ درصد) جدایه مظنون به پاستورلا مولتوسیدا از نمونه‌ها جداسازی گردید که با بکارگیری پرایمرهای اختصاصی ژن kmt1 تعداد ۷ (۰/۹ درصد) جدایه‌ها تأیید مولکولی شدند. بر اساس آزمایش‌های تعیین بیوتیپ، تمامی جدایه‌ها متعلق به پاستورلا مولتوسیدا تحت گونه مولتوسیدا بودند (۱۱).

جباری و همکاران (۲۰۰۶) با استفاده از روش چندگانه تعیین تیپ کپسولی، ۳۹ جدایه پاستورلا مولتوسیدای طیور متعلق به تیپ کپسولی A را شناسایی و این گروه را عامل اکثر موارد وبای مرغی در ایران گزارش کردند (۱۲).

فریدونی و همکاران در سال ۲۰۰۶ عامل وبای مرغی را در پرندگان آبزی وحشی در شمال ایران (میانکاله) با کمک کشت‌های باکتریایی شناسایی کرده و باکتری جدا شده را پاستورلا مولتوسیدا تحت گونه مولتوسیدا تعیین هویت کردند (۱۳).

در برخی تحقیقات، مجموعه روش‌های میکروب‌شناسی، ظاهرشناسی و آزمون‌های بیوشیمیائی را برای جداسازی و شناسائی پاستورلا، تشخیص گونه‌ها و حتی تیپ‌های کپسولی و آنتی‌ژن‌های پیکری آن کافی دانسته‌اند. از آن جمله می‌توان به پژوهش‌های جباری و همکاران (۱۴)، Rutkowska و همکاران (۱۵)، Kuczkowski و همکاران (۱۶)، Yakubu و همکاران (۱۷) اشاره نمود.

در بررسی Woo و همکاران (۲۰۰۶) ، درصد

موفقیت بررسی‌های ظاهرشناسی و آزمایشات بیوشیمیائی استاندارد در تشخیص *پاستورلا مولتوسیدا* را ۹۹/۷ اعلام نمودند (۱۸) در حالی که در مطالعه حاضر هیچ کدام از جدایه‌های حاصل از آزمایشات میکروبیولوژی و بیوشیمیایی از نظر مولکولی تأیید نشدند.

پاستورلا مولتوسیدا به لحاظ تنوع بیماری‌هایی که ایجاد می‌کند، در دامپزشکی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. تأیید این بیماری با روش‌های آزمایشگاهی به دلیل علائم بالینی متعدد این بیماری و زمان‌بر بودن این روش‌ها، مشکل می‌باشد علاوه بر این، به‌دست آوردن کشت خالص پاستورلا مولتوسیدا از جدایه‌های بالینی به دلیل آلاینده‌ها و یا مرگ ارگانیسم‌ها دشوار است در حالی که PCR به دلیل بالا بودن سرعت و اختصاصی بودن و همچنین عدم نیاز به کشت و حیوانات آزمایشگاهی روشی حساس‌تر و دقیق‌تر نسبت به روش‌های مرسوم می‌باشد (۱۷). با توجه به این که ایجاد ایمنی متقاطع بین سروتیپ‌های مختلف پاستورلا در هاله‌ای از ابهام قرار دارد، بررسی مداوم سویه‌های عامل بیماری در منطقه و تولید واکسن پلی‌والان پاستورلوز طیور برای ایجاد محافظت کامل بر علیه بیماری، مطالعات گسترده روی جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدای بومی مناطق مختلف ایران و ارزیابی میزان بیماری‌زایی این جدایه‌ها در انواع جمعیت‌های طیور و تعیین تأثیر اقتصادی عفونت‌های ناشی از پاستورلا از جمله مواردی است که باید به آن توجه شود.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی با کد ۹۶۰۴۸۷-۰۳۳-۱۸-۱۸-۲ می‌باشد. آزمایشات این کار تحقیقاتی در آزمایشگاه رفرنس پاستورلا در مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی انجام شد که از همکاران محترم در این آزمایشگاه کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

1- Li Z, Cheng F, Lan S, Guo J, Liu W, Li X, *et al.* Investigation of genetic diversity and epidemiological characteristics of *Pasteurella multocida* isolates from poultry in southwest China by population structure, multi-locus sequence typing and virulence-associated gene profile analysis. *J.Vet.Med.Sci*. 2018; 80(6): 921–929.

2- Jeong J, Kang MS, Jeong OM, Lee HJ, Lee JY, Kwon YK, *et al.* vestigation of genetic diversity of *Pasteurella multocida* isolated from diseased poultry in Korea.BRAZ. *J POULTRY SCi*. 2021; 23(2): 1–10.

3- Laban S, MR K, Moawad A, Rabie N, Sobhy N. Phenotypic, genotypic, multidrug resistance genes and disinfectant biocidal effect of *pasteurella multocida* isolated from chickens. *Assiut Vet.Med.J*. 2019; 21; 65(163): 10-18.

4- Ghadimipour R, Ghorbanpoor M, Gharibi D, Mayahi M, Jabbari A.R. Effects of Selected Adjuvants on Immunogenicity and Protectivity of *Pasteurella multocida* Bacterin Vaccine in Chickens.Arch.Razi.Inst. 2021; 76(4): 741–749. [In Persian]

5- Haghnazari S, Jabbari A.R, Tadayon K. Prevalence of adhesion virulence factor genes, antibiogram, and pathogenicity of avian *Pasteurella multocida* isolate from Iran.Arch.Razi.Inst. 2017; 72(2): 83-91. [In Persian]

6- Xiao J, Li Y, Hu Z, Zhang Y, Chang YF, Zhou Q, *et al.* Characterization of *Pasteurella multocida* isolated from ducks in China from 2017 to 2019. *Microbial pathogenesis*. 2021; 160: 105-196.

7- Harper M, Boyce JD, Adler B. Pasteurella multocida pathogenesis: 125 years after Pasteur. FEMS. Microbiol.Lett.2006; 265(1):1-10.

8- El-Ghany WAA, Ahmed HA, Qandoos AZ. Characterization of *Pasteurella multocida* in different Egyptian chicken flocks. JAPS: *J Anim Plant Sci*. 2018; 28(6): 1693-1700.

9- Jabbari A.R, Moazini Jula, Gh.R. Fowl

cholera: Evaluation of a Trivalent *Pasteurella multocida* vaccine consisted of Serotypes 1, 3 and 4. *Arch Razi Inst*. 2005; 59: 103-111.

10- Haghnazari S, Jabbari A.R, Tadayon K. Molecular Study of Virulence Factors of *Pasteurella multocida* isolates from Poultry in Iran. *J Vet. Microbiol*. 2016; 12(1): 101-112. [In Persian]

11- Ghadimipour R, Ghorbanpoor M, Gharibi D, Mayahi M, Jabbari A.R. Pheno- and genotypic characteristics of *Pasteurella multocida* avian isolates in selected provinces of Iran. *Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences*. 2017; 11(1): 3-13. [In Persian]

12- Jabbari A.R, Esmaelzadeh M, Moazeni Jula Gh.R. Polymerase chain reaction typing of Pasteurella multocida capsules isolated in Iran. *Iran J Vet Res*. 2006; 7(3): 50-55.

13- Fereidouni S, Modir-rousta H, Azin F. The first report of avian cholera in Miankaleh wetland, southeast Caspian Sea. *Podoces J*. 2006; 1(1, 2): 71-75. [In Persian]

14- Jabbari A.R, Esmaily F, Vasfi Marandi M, Pourbakhsh S.A, Saharee A. Study on Biotyping and Serotyping Of *Pasteurella Multocida* Isolated From Poultry in Iran. *Pajouhesh-Va-Sazandegi, in Animal and Fisheries Sciences.* 2001; 14(3): 64-67. [In Persian]

15- Rutkowska I.J, Borkowska BO. Biochemical properties of *Pasteurella multocida* strains isolated from poultry. *Bull.Vet. Inst. Pulawy*. 2000; 44: 161-167.

16- Kuczkowski M, Krol J, Wieliczko A, Gaweł A, Schmidt J, Mazurkiewicz M. Prevalence of fowl cholera in poultry and characteristics of isolated *Pasteurella sp*. strains. *Med. Weter*. 2006; 62(5): 574-578.

17- Yakubu D, Moshood R, Paul A, Blessing O, Philip O, Peterside K, *et al.* Clinicopathological Manifestations of *Pasteurella Multocida* (Serotypes A: 1, 3 And 4) Infections in Commercial Chickens in Jos, Nigeria. *J. World's Poult. Res*. 2015; 5(4): 98-103.

18- Woo YK, and Kim JH. Fowl cholera outbreak in domestic poultry and epidemiological properties of Pasteurella multocida isolate. *J.Microbiol*. 2006; 44(3): 344-353.

Isolation and Identification of Pasteurella multocida from backyard poultry in Golestan Province, Iran

Parastoo poorghafour langeroodi[1], Majid Valadan[1], Baharak Mohamadiyan[1]

1- Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Receive: August 8, 2022; Revise: August 27, 2022; Accept: August 27, 2022

Summary

Avian pasteurellosis, a highly contagious and severe bacterial disease of wild and domestic birds, causing mortality and important devastating economic losses. This cross sectional study was performed to isolate and identify pasteurella multocida in backyard poultry. For the purpose of the study, a total of 350 pharyngeal swab specimens collected from backyard birds suspected of illness during two years in Golestan Province, Iran. Samples were packaged in modified stuart's transport medium, and transferred to the Razi vaccine and Serum Research Institute for bacteriological examination. Out of 350 samples, two isolates were identified as p. multocida on the basis of bacterial cultures, morphological and biochemical characteristics. The isolates were subjected to polymerase chain reaction (PCR) for the detection of KMT1 species specific gene fragment. According to the results of PCR assay none isolates have been confirmed as p. multocida. Since Backyard birds may serve as source of public health and economically important bacteria, implementation of a pasteurellosis surveillance program and biosecurity measures will be helpful to develop disease control measures in the future.

Key words: *Fowl cholera, Isolation, Identification, pasteurella multucida, PCR*