Journal of Microbial World
Volume 14, No. 4, March 2022

Original Article

# Molecular identification of adhesion genes in Pasteurella multocida isolates isolated from multiple livestock in Shiraz

**Fatane Moein Jahromi[1], Yahya Tahamtan[2], Mohammad Kargar[3], Abbas doosti[4], Farshid Kafilzadeh[3]**

[1]Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran. [2]Microbiology Department, Shiraz Branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran. [3] Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran. [4]Biotechnology Research Center, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

## Abstract

*Background & Objectives*: Pasteurella multocida is an opportunistic microorganism responsible for haemorrhagic septicaemia in cattle and buffalo and pneumonia in sheep and goats. Adhesion factors play crucial role in attachment to cell surfaces, host invasion and colonization. The aim of this study was to identify the frequency of adhesion genes from P. multocida isolated livestock.
*Materials & Methods:* This study was performed on 50 samples isolated from ailing sheep, goats and cattle. Amplification of kmt1 gene with the aim of determining the molecular identity of the isolates and identifying adhesion genes (fimA, hsf1 and hsf2) were performed by using simple PCR method.
*Results*: PCR results show that, the frequency of fimA and hsf2 genes were 44% and 80%, respectively. In addition, hsf1 did not exist in the isolates. hsf2 was the only adhesion gene which was identified in cattle. So it may be plays a crucial role in invasion of this host. Moreover, it was found that there is a significant correlation between hsf2 gene and capsule type D.
*Conclusion:* In the present study, new information was obtained regarding the frequency of adhesion genes in P.multocida strains isolated from multiple livestock in Shiraz. Investigating the pathogenicity role of adhesion genes in laboratory animals and determine the role of these factors in immunity to pasteurellosis are recommended.
*Keywords*: Pasteurella multocida, KMT1 gene, Adhesion genes.

Received: 1 September 2021 Revised: 2 January 2022 Accepted: 28 February 2022

**Correspondence to**: Yahya Tahamtan
Tel: +98 9177117940
E-mail: yahyatahamtan@yahoo.com
Journal of Microbial World 2022, 14(4): 41-48
DOI:10.30495/jmw.2021.690436

Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.

مجله دنیای میکروب‌ها
سال چهاردهم شماره چهارم (پیاپی ۴۹) زمستان ۱۴۰۰
صفحات ۴۸-۴۱

Original Article

# شناسایی مولکولی ژن‌های ادهسین در *پاستورلا مالتوسیدا* جدا شده از دام‌های مختلف در شیراز

**فتانه معین‌جهرمی[۱]، یحیی تهمتن[۲*]، محمد کارگر[۳]، عباس دوستی[۴]، فرشید کفیل‌زاده[۳]**

[۱]گروه میکروبیولوژی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران. [۲]بخش میکروب شناسی، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه شیراز، سازمان تحقیق، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران. [۳]گروه میکروبیولوژی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران. [۴]مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

## چکیده

*سابقه و هدف:* پاستورلا مالتوسیدا به عنوان یک باکتری فرصت طلب مسئول ایجاد عفونت هموراژیک در گاو و بوفالو و پنمونی دامی در بز و گوسفند می‌باشد. فاکتورهای ادهسین به عنوان فاکتورهای حدت بالقوه نقش حیاتی در کلونی‌زایی و تهاجم باکتری در میزبان را دارند. هدف از این پژوهش ارزیابی فراوانی ژن‌های ادهسین در پاستورلا مالتوسیدا جدا شده از دام بود.

*مواد و روش‌ها:* این پژوهش بر روی ۵۰ نمونه جدا شده از گوسفند، بز و گاو انجام گردید. تکثیر ژن kmt1 با هدف تعیین هویت مولکولی جدایه‌ها و شناسایی ژن‌های ادهسین fimA، hsf1 و hsf2 با روش Simple PCR انجام شد.

*یافته‌ها:* نتایج آنالیز PCR نشان داد فراوانی ژن‌های ادهسین fimA (۴۴٪) و hsf2 (۸۰٪) می‌باشد. علاوه بر این ژن hsf1 در هیچ کدام از جدایه‌ها یافت نشد. hsf2 تنها ژن ادهسین شناسایی شده در گاو بود بنابراین احتمالا می‌تواند نقش حیاتی در تهاجم در این میزبان را ایفا کند. علاوه بر این مشخص شد که بین ژن hsf2 و تایپ کپسولی D ارتباط معناداری وجود دارد.

*نتیجه‌گیری:* در مطالعه حاضر اطلاعات جدیدی در رابطه با فراوانی ژن‌های ادهسین در پاستورلا مالتوسیدا جدا شده از دام‌های مختلف در شیراز به دست آمد. بررسی قدرت بیماری‌زایی ژن‌های ادهسین در حیوان آزمایشگاهی و ارزیابی نقش این فاکتورها در ایجاد ایمنی در برابر پاستورلوز پیشنهاد می‌گردد.

*واژگان کلیدی:* : پاستورلا مالتوسیدا، ژن kmt1، ژن‌های ادهسین.

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۶/۱۰ ویرایش مقاله: ۱۴۰۰/۱۰/۱۲ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۱۲/۹

## مقدمه

پاستورلوز یکی از عوامل مهم مرگ ومیر در دامنه وسیعی از مهره‌داران می‌باشد. *پاستورلا مالتوسیدا* یک پاتوژن گرم منفی است و به طور معمول به عنوان نرمال فلور در حلق تعداد گوناگونی از حیوانات وحشی و اهلی یافت می‌شود. *پاستورلا مالتوسیدا* عامل تعدادی از عفونت‌های اولیه و ثانویه به‌ویژه در دام و انسان می‌باشد که از نظر اقتصادی بسیار پر اهمیت هستند. این عفونت‌ها عبارتند از: عفونت تنفسی و هموراژیک در گاو و بوفالو، پنمونی دامی در گاو، بز و گوسفند، راینیتیس آتروپیک در خوک، عفونت زخم در انسان که به دنبال آن آبسه،

* آدرس برای مکاتبه: بخش میکروب شناسی، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه شیراز، سازمان تحقیق، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران.
تلفن: ۰۹۱۷۷۱۱۷۹۴۰ پست الکترونیک: yahyatahamtan@yahoo.com

حقوق نویسندگان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد و تحت مجوز مالکیت خلاقانه (http://creativecommons.org/licenses/bync/4.0/) در فصلنامه دنیای میکروب‌ها منتشر شده است. هرگونه استفاده غیرتجاری فقط با استناد و ارجاع به اثر اصلی مجاز است.

آرتریت سپتیک و استئومیلیت به وجود می‌آید (٤و١). در مورد عفونت‌های تنفسی در گاو (Bovine respiratory disease) شرایط استرس‌زا شامل: فشارهای محیطی، عوامل مدیریتی، حمل و نقل و جا به جایی دام می‌تواند باعث تسریع ظهور علایم بالینی خفیف تا شدید در حیوان شود. دوره کمون بیماری بین ۳ تا۵ روز طول می‌کشد و علایم مختلف بیماری به صورت عفونت حاد تا مزمن بسته به شرایط میزبان تظاهر می‌یابد (۵).

تاکنون، پنج سروتیپ کپسولی (A، B، D، E و F) در این باکتری شناخته شده است. این کپسول‌ها نقش ضد فاگوسیتوزی را در *پاستورلا مالتوسیدا* بر عهده دارند (۷ و٦). فاکتورهای حدت متعددی با بیماری‌زایی *پاستورلا مالتوسیدا* در ارتباط هستند. فاکتورهای حدت گزارش شده در *پاستورلا مالتوسیدا* شامل: کپسول (*hyaD-hyaC*، *bcbD* و *dcbF*)، فیمبریه و دیگر ادهسین‌ها (*fimA*، *hsf1* و *hsf2*) توکسین (*toxA*)، آنزیم‌های خارج سلولی مانند هیالورونیداز (*pmHAS*)، نورامینیداز (*nanH* و *nanB*) و سوپر اکسید دسموتاز (*sodA* و *sodC*) و تعدادی از پروتین‌های غشاء خارجی (*ompH*، *oma87* و *plpB*) می‌باشد (۵).

یکی از مهم‌ترین عوامل حدت در *پاستورلا مالتوسیدا* فاکتورهای ادهسین است که نقش حیاتی در کلونی‌زایی و تهاجم در میزبان را دارند زیرا برای ایجاد عفونت باکتریایی اتصال باکتری به سلول میزبان یک مرحله اساسی است. بنابراین ادهسین‌ها به عنوان فاکتورهای حدت بالقوه در بیماری‌زایی به حساب می‌آیند (۹ و ۸). ادهسین‌ها علاوه بر این که باعث تسهیل فرایند کلونی‌زایی و تهاجم باکتری به میزبان شده، از طریق خنثی کردن مکانیسم‌های دفاعی میزبان، باعث تخریب بافت و یا تحریک پاسخ‌های التهابی مضر در میزبان می‌شوند (۱۰ و ۱). *پاستورلا مالتوسیدا* دارای چند ژن است که مسئول بیان کردن فیمبریه و دیگر ادهسین‌های مشابه با دیگر باکتری‌ها می‌باشند (۱۱). تصور بر این است که از بین ژن‌های مسئول ادهسین در *پاستورلا مولتوسیدا*، ژن‌های *hsf1*, *hsf2* و *fimA* دارای اهمیت بالاتری بوده و در تمام سوش‌های بیماری‌زا یافت می‌شوند (۱۲). بر طبق مطالعات اخیر بر روی ژن‌های بیماری‌زایی در *پاستورلا مالتوسیدا* ثابت شده است که ژن *fimA*، کد کننده فیمبریه و ژن‌های *hsf1* و *hsf2* کدکننده آتوترانسپورتر، هر دو مولد ادهسین می‌باشند. به‌ویژه مشخص شده است این ژن‌ها در جدایه‌های پاتوژنیک *پاستورلا مالتوسیدا* حضور دارند اما مکانیسم دقیق آن‌ها در ایجاد بیماری نامشخص است (۸). از طرفی مشخص شده است که تعدادی از ادهسین‌ها با تایپ کپسولی خاصی در ارتباط هستند (۹). هدف از این پژوهش تعیین فراوانی ژن‌های ادهسین در جدایه‌های حاصل از دام‌های مختلف (گاو، گوسفند و بز) در شیراز می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

*الف) سوش‌های باکتری:* این بررسی بر روی ۵۰ نمونه *پاستورلا مالتوسیدا* متعلق به گوسفند، بز و گاو بیمار با علائم تب بالای ٤٠ درجه و بی‌حالی انجام گردید. تمامی نمونه‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر، قبلا در آزمایشگاه تحقیقات میکروبیولوژی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شیراز جداسازی و تعیین هویت و تایپ‌های کپسولی آن‌ها شناسایی شده و در اختیار محققان این پژوهش قرار گرفته بود.

*ب) ارزیابی وجود پاستورلا مالتوسیدا با شناسایی ژن Kmt1:* در این پژوهش شناسایی ژن *kmt1* با هدف تعیین هویت قطعی نمونه‌ها، انجام شد. ژن *kmt1*، پروتین غشاء خارجی را کد می‌کند که در تمام سوش‌های *پاستورلا مالتوسیدا* وجود دارد (١٤).

استخراج DNA با استفاده از روش جوشاندن صورت گرفت. برای این منظور ابتدا هر باکتری در محیط brain hearth infusion (BHI) broth (Merck، آلمان) کشت داده و یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. سپس طبق روشی که توسط تهمتن و همکاران در سال ۲۰۱٤ انجام شده بود، ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه برای استخراج مورد استفاده قرار گرفت (۱۵).

توالی پرایمرهای اختصاصی مربوط به تکثیر ژن *kmt1* در جدول ۱ درج شده است. اندازه باند حاصل از تکثیر آن‌ها ٤٦٠

جفت بازاست. پرایمرهای یاد شده از شرکت تکاپوزیست تهیه شدند (تکاپوزیست، ایران).

مواد مورد نیاز برای PCR ژن *kmt1* با حجم واکنش ۲۵ میکرولیتر به شرح زیر است. دو میکرولیتر DNA از هر نمونه، ۱ میکرو لیتر از هر پرایمر، ۱ میکرولیتر $MgCl_2$، ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X، ۱ میکرولیتر dNTPs و ۰/۲۵ میکرولیتر آنزیم پلی‌مراز استفاده شد.

برنامه حرارتی با شرایط واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، ۳۲ چرخه شامل واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه، مرحله اتصال پرایمر در دمای ۵۵ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه، گسترش در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۲ دقیقه و گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) اجرا شد. محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد واجد اتیدیوم بروماید و به وسیله دستگاه ژل داک (Kodak company، آمریکا) بررسی و برای نشان دادن قطعات تکثیری از ladder ۱۰۰ جفت بازی استفاده شد.

*ج) شناسایی ژن‌های ادهسین پاستورلا مالتوسیدا:* در این مطالعه حضور و عدم حضور ژن‌های کد کننده ادهسین و فاکتورهای کلونی‌زایی (*fimA*، *hsf-1* و *hsf-2*) در *پاستورلا مالتوسیدا* به وسیله PCR مورد ارزیابی قرار گرفت.

تمامی پرایمرها از شرکت تکاپوزیست (تهران، ایران) تهیه شد. نام و توالی پرایمرها، سایز آمپلیکون و دمای اتصال هر پرایمر در جدول ۱ درج شده است (۵و۱۶). محصولات PCR با اتیدیوم بروماید روی ژل ۱/۳ درصد و به وسیله دستگاه ژل داک (ایالات متحده آمریکا، Kodak company) قابل رویت می‌شود. از سوش PMHI-9 (Genbank accession number: JF694004,1) به عنوان کنترل مثبت و مستر میکس بدون DNA به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

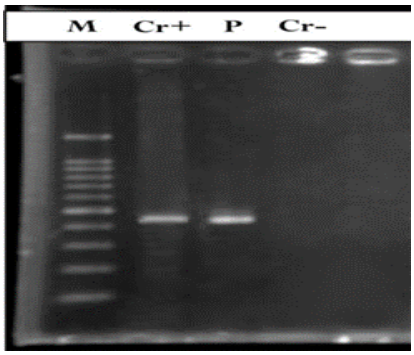
*د) تجزیه و تحلیل آماری:* تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نسخه بیست و چهارم نرم‌افزار *SPSS* و آزمون مربع کای انجام گرفت. مرز معنی داری در ($p<0.05$) محاسبه گردید.

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده جهت تعیین هویت مولکولی وشناسایی ژن‌های ادهسین در جدایه‌های *پاستورلا مالتوسیدا*.

| ژن | توالی پرایمر(3' → 5') | سایز آمپلیکون (bp) | دمای اتصال (c) | منبع |
|---|---|---|---|---|
| ***Kmt1*** | F: ATC CGC GAT TTA CCC AGTGG<br>R: GCT GTA AAC GAA CTC GCC AC | ٤٦٠ | ٥٥ | ٣ |
| ***fimA*** | F:CCATCGGATCTAAACGACCTA<br>R:AGTATTAGTTCCTGCGGGTG | ٨٦٦ | ٥٤ | ٥ |
| ***hsf1*** | F:TTGAGTCGGCTGTAGAGTTCG<br>R:ACTCTTTAGCAGTGGGGACAACCTC | ٦٥٤ | ٥٤ | ٥ |
| ***hsf2*** | F:ACCGCAACCATGCTCTTAC<br>R:TGACTGACATCGGCGGTAC | ٤٢٥ | ٥٠ | ٥ |

## یافته‌ها

همه ۵۰ جدایه *پاستورلا مالتوسیدا*، واجد باند ٤٦٠ جفت بازی بودند (شکل ۱). ۲۸ (۵٦٪) نمونه مربوط به گوسفند، ۱۵ (۳۰٪) نمونه مربوط به بز و ۷ (۱٤٪) نمونه مربوط به گاو بود.




شکل ۱: قطعات ٤٦٠ جفت بازی حاصل از تکثیر ژن *kmt1*.
+Cr: کنترل مثبت، -Cr: کنترل منفی، P: نمونه مثبت و M) سایز مارکر 100bp.

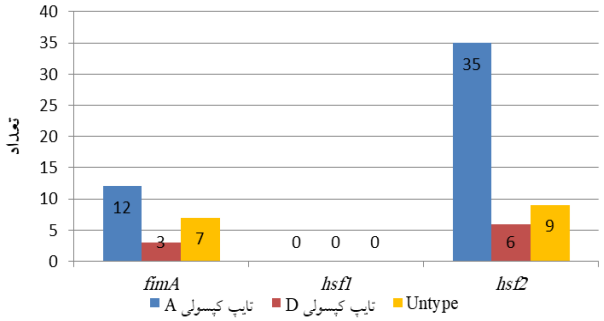
با استفاده از روش Simple PCR به شناسایی سه ژن ادهسین در *پاستورلا مالتوسیدا* پرداخته شد. جدول۲ فراوانی ژن‌های ادهسین را درنمونه‌های جداسازی شده نشان می‌دهد. ژن *hsf1* در هیچ کدام از جدایه‌ها شناسایی نشد.

جدول۲: فراوانی و درصد ژن‌های ادهسین در نمونه‌های *پاستورلا مالتوسیدا*.

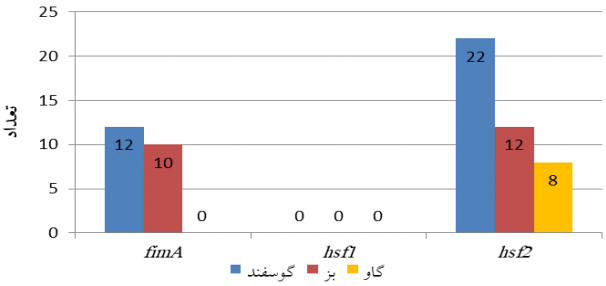
| ژن‌های ادهسین | تعداد | درصد |
|---|---|---|
| *fimA* | ٢٢ | ٤٤ |
| *hsf1* | ٠ | ٠ |
| *hsf2* | ٤٠ | ٨٠ |

نمودار ۱ فراوانی ژن‌های ادهسین را بر طبق تایپ‌های کپسولی در جدایه‌های *پاستورلا مالتوسیدا* نشان می‌دهد. تمام جدایه‌ها با

تایپ کپسولی D، واجد ژن *hsf2* بودند همچنین با استفاده از آزمون دقیق مربع کای مشخص شد که رابطه معنی‌داری بین ژن *hsf2* و تایپ کپسولی D در نمونه‌های مورد پژوهش وجود دارد ($p<0.05$).




نمودار ۱: تعداد ژن‌های ادهسین بر طبق تایپ‌های کپسولی در جدایه‌های *پاستورلا مالتوسیدا*.




نمودار ۲: تعداد ژن‌های ادهسین بر طبق میزبان در جدایه‌های *پاستورلا مالتوسیدا*.

## بحث

پاستورلوز یک بیماری زئونوز (مشترک بین انسان و حیوان) است و در کشورهایی که صنعت دامپروری در آن‌ها گسترده است به عنوان یک مشکل بزرگ تلقی می‌شود. فاکتورهای بیماری‌زایی نقش اساسی در ایجاد عفونت و بیماری دارند. اما در *پاستورلا مالتوسیدا* به دلیل تعدد فاکتورهای حدت، واضح نیست که کدام ژن نقش موثرتری را در ایجاد بیماری نسبت به بقیه فاکتورها دارد (۱۷). در مطالعه حاضر به بررسی شیوع ژن‌های ادهسین در جدایه‌های جدا شده از دام‌های مختلف در شیراز پرداخته شد. ژن‌های *fimA*، *hsf1* و *hsf2* در *پاستورلا مالتوسیدا* مسئول کد کردن پروتین‌هایی به شکل فیمبریه هستند. این پروتین‌ها مولکول‌های ادهسین بوده و بنابراین حضور این دسته از پروتین‌ها در سطح باکتری وابسته به بیماری‌زایی آن است (۸و۱۰و۱۸). خامسی‌پور (Khamesipour) وهمکاران در سال ۲۰۱۴ در شهرکرد به بررسی فاکتورهای حدت در *پاستورلا مالتوسیدا* جدا شده از گاوهای بیمار پرداختند و درصد شیوع ژن‌های *fimA*، *hsf1* و *hsf2* را به ترتیب ۸۰٪، ۶۰٪ و ۷۶/۷٪ اعلام کردند (۵). جباری (Jabbari) و همکاران در سال ۲۰۱۵ در شمال ایران اعلام کردند که درصد فراوانی ژن‌های *fimA* و *hsf1* در جدایه‌های گوسفندی به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۳/۳٪ می‌باشد (۸). علاوه بر این در مطالعاتی که توسط غریبی(Gharibi)و همکاران در اهواز در سال ۲۰۱۷، تانگ (Tang) و همکاران در سال ۲۰۰۹ و اورز (Ewers) و همکاران در سال ۲۰۰۶ در میزبان‌های مختلف انجام شد، گزارش شد که این سه ژن در تمام نمونه‌های پاتوژن حضور داشتند. اما نتایج حاضر به گونه‌ای دیگر بود. ژن *hsf1* در هیچ یک از نمونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش یافت نشد (۱۳و۱۹و۲۰). ژن‌های *fimA* و *hsf2* به ترتیب در ۴۴٪ و ۸۰٪ از جدایه‌های حضور داشتند. همچنین مشخص شد در جدایه‌های که از میزبان گاو جدا شده بودند، از بین سه ژن ادهسین، تنها واجد ژن *hsf2* می‌باشند. این نتیجه می‌تواند بیانگر این باشد که این ژن احتمالایک فاکتور اساسی در اتصال *پاستورلا* به سلول‌های اپیتلیال در میزبان گاو است.

با توجه به اطلاعات قبل در رابطه با سوش‌های مورد پژوهش در این مطالعه، تنها تایپ شناسایی شده در جدایه‌های گاوی تایپ کپسولی D بود. که این نتیجه مخالف با نتایج دابو (Dabo) و همکاران در سال ۲۰۰۸ می‌باشد. آن‌ها گزارش کردند که تایپ کپسولی B، مختص نمونه‌های جداسازی شده از گاوهای بیمار است. اما در این پژوهش تایپ B در هیچ یک از نمونه‌ها از جمله نمونه‌های گاوی یافت نشد. دلیل این نتیجه می‌تواند شرایط نگهداری دام‌ها باشد. به طوری‌که در بسیاری از دامداری‌ها محل نگهداری دام‌های مختلف، یکسان است و می‌تواند انتقال افقی رخ داده باشد (۲۱). همچنین تانگ (Tang) و همکاران اعلام کردند که بین ژن‌های ادهسین *hsf1* و *hsf2* و تایپ کپسولی D ارتباط معنا داری وجود دارد. اما در مطالعه حاضر مشخص شد که تنها بین تایپ کپسولی D و ژن *hsf2*

ارتباط معنی داری وجود دارد زیرا تمام جدایه‌ها با تایپ کپسولی D، واجد ژن *hsf2* بودند (۱۳).

## نتیجه‌گیری

در این مطالعه به ارزیابی فراوانی ژن‌های ادهسین *پاستورلا مالتوسیدا* جدا شده از دام‌های بیمار پرداخته شد. مشابه با مطالعات پیشین، فراوانی ژن‌های ادهسین در نمونه‌ها میزبان‌های مختلف بسیار گوناگون است. ژن *hsf1* در هیچ یک از نمونه‌ها حضور نداشت. نتایج در رابطه با ژن‌های ادهسین مشخص کرد که ژن *hsf2* در بین ادهسین‌های مورد مطالعه، بیشترین فراوانی را در همه میزبان‌ها به ویژه درجدایه‌های گاوی دارد و تنها ژن ادهسین شناسایی شده در این نمونه‌ها، ژن *hsf2* بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که احتمالا این ژن می‌تواند به عنوان یک فاکتور ادهسین اساسی در جدایه‌های جدا شده از میزبان گاو باشد. با توجه به تعدد فاکتورهای حدت در *پاستورلا مالتوسیدا* علاوه بر بررسی فراوانی دیگر فاکتورهای حدت در *پاستورلا مالتوسیدا* موجود در منطقه مورد پژوهش، بررسی قدرت بیماری‌زایی هر کدام از ژن‌های حدت در حیوان آزمایشگاهی با روش میانگین زمان مرگ (MDT= mean dead time) و ارزیابی نقش این فاکتورها در ایجاد ایمنی در برابر پاستورلوز پیشنهاد می‌گردد.

## ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمام نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان این تحقیق از بخش تحقیقات موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی شیراز شعبه جنوب کشور به دلیل کمک‌های معنوی کمال امتنان را دارند.

## تعارض منافع

وجود ندارد.

## References

1. Abed A, El-Seedy F, Hassan H, Nabih A, Khalifa E, Salem S, Wareth G, Menshaw A. serotyping, Genotyping and Virulence Genes Characterization of Pasteurella multocida and Mannheimia haemolytica Isolates Recovered from Pneumonic Cattle Calves in North Upper Egypt. Vet. Sci. 2020; 7, 1-13.
2. Abreu F, Rodríguez-Lucas C, Rodicio M.R, Vela A.I, Fernández-Garayzábal J.F, Leiva P.S, Cuesta F, Cid D, Fernández J. Human Pasteurella multocida infection with likely zoonotic transmission from a pet dog, Spain. Emerg. Infect. Dis. 2018; 24, 1145.
3. Ferreira T, Felizardo M, Gobbi D, Moreno M, Moreno A. Antimicrobial resistance and virulence gene profiles in P. multocida strains isolated from cats. Braz. J. Microbiol. 2015; 46, 271-277.
4. Katoch S, Sharma M, Patil R, Kumar S, Verma S. In vitro and in vivo pathogenicity studies of Pasteurella multocida strains harbouring different ompA. Vet. Res. Commun. 2014; 38, 183-191.

5. Khamesipour F, Momtaz H, Azhdary Mamoreh M. Occurrence of virulence factors and antimicrobial resistance in Pasteurella multocida strains isolated from slaughter cattle in Iran. Front. Microbiol. 2014; 5, 536.
6. Ryan J and Feder H. Dog licks baby. Baby gets Pasteurella multocida meningitis. Lancet. 2019; 393,e41.
7. Harper M, St. Michael F, Vinogradov E, John M, Boyce J, Adler B, Cox A. Characterization of the lipopolysaccharide from Pasteurella multocida Heddleston serovar 9: Identification of a proposed bi-functional dTDP-3-acetamido-3, 6-dideoxy-α-D-glucose biosynthesis enzyme. Glycobiology, 2012; 22; 3, 332-344.
8. Jabbari A, Rezaei E, Esmaelzad M. Distribution of virulence adhesin associated genes and antimicrobial susceptibility in Pasteurella multocida from ovine pasteurellosis in Iran. IJMCM. 2015; 5, 556-563.
9. Haghnazari S, Jabbari A, Tadayon K. Prevalence of adhesionVirlence factor genes, antibiogram and pathogenicity of avian Pasteurella multocida isolate from Iran. Arch. Razi Inst. 2016; 72, 83-90.
10. Harper M, Boyce J, Adler B. Pasteurella multocida pathogenesis: 125 years after Pasteur. FEMS Microbiol. Lett. 2006; 265, 1-10.
11. Hatfaludi T, Al-Hasani K, Boyce J, Adler B. Outer membrane proteins of Pasteurella multocida. Vet. Microbiol. 2010; 144, 1-17.
12. Sellyei B, Bányai K, Magyar T. Characterization of the ptf A Gene of Avian Pasteurella multocida Strains by Allele-Specific Polymerase Chain Reaction. J. Vet. Diagn. 2010; 22, 607-610.
13. Tang X, Zhao Z, Hu J, Wu B, Cai X, He Q, Chen H. Isolation, antimicrobial resistance, and virulence genes of Pasteurella multocida strains from swine in China. J. Clin. Microbiol. 2009; 47, 951-958.
14. Balakrishnan G, Roy P. Isolation, identification and antibiogram of Pasteurella multocida isolates of avian origin. J. Vet. Anim. Sci. 2012; 8, 199-202.
15. Tahamtan Y, Hayati M, Namavari M. Isolation and Identification of Pasteurella multocida by PCR from sheep and goats in Fars province, Iran. Arch. Razi Inst. 2014; 69, 89-93.
16. Townsend K, Boyce J, Chung J, Frost A, Adler B. 2001. Genetic organization of Pasteurella multocida cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. JCM, 2001; 39, 924-929.
17. Nanduri B, Shack L, Burgess S, Lawrence M. The transcriptional response of Pasteurella multocida to three classes of antibiotics. BMC Genomics. 2009; 10, S4.
18. Kline K, Fälker S, Dahlberg S, Normark S, Henriques-Normark B. Bacterial adhesins in host-microbe interaction. Cell Host Microbe. 2009; 5, 580–592.

19. Gharibi D, Hajikolae M, Ghorbanpour M, Barzegar S. Virulence gene profiles of Pasteurella multocida strains isolates from cattle and buffalo. Vet. Arhiv. 2017; 87, 677-690.

20. Ewers C, Lübke-Becker A, WieerL H. Pasteurella: insights into the virulence determinants of a heterogenous bacterial type. Berl Munch Tierarztl Wochenschr.2004; 117, 367–386.

21. Dabo S, Taylor J. Confer A. Pasteurella multocida and bovine respiratory disease. Anim. Health Res. Rev 2007; 8, 129.