

## دراسة انتشار كوليرا الطيور عند الدجاج في المنطقة الوسطى في سورية

محمد أبو جاسم\* حازم مللي\*\* محمد علي العمادي\*\*\*

(الإيداع: 16 أيار 2025. القبول: 24 أيلول 2025)

### الملخص:

تعتبر صناعة الدواجن من أهم مصادر البروتين الحيواني الرخيص نسبياً في جميع أنحاء العالم، ومن أهم المشاكل التي تواجه هذه الصناعة هي الإصابة بالعوامل البكتيرية لذلك وجب السيطرة بشكل فعال على تلك العوامل التي تكبح العملية الإنتاجية. يعد كوليرا الطيور مرض شديد العدوى ذو أهمية اقتصادية عالمية ناتج عن الإصابة بجراثيم الباستوريلا مالتوسيدا، في هذه الدراسة، تم تحديد مدى انتشار الباستوريلا مالتوسيدا في الدجاج المريض والسليم وذلك في المنطقة الوسطى من سوريا، تم جمع عينات من الرئة والقصبه الهوائية والقلب من (200) دجاجة مريضة كان منها (180) تجاري (أمهات وفروج) و(20) منزلي (بلدي)، كما تم جمع عينات من (100) دجاجة سليمة ظاهرياً كان منها (90) تجاري (أمهات وفروج) و(10) دجاج منزلي (بلدي) وذلك من عشر مواقع تربية مختلفة جغرافياً لعزل الباستوريلا مالتوسيدا، بحيث جمعت العينات من كل طائر من القصبه الهوائية والرئتين والقلب ثم تم إجراء الزرع على منبت الأغار المدمم وأغار ماكونكي كما تم فحص الجراثيم المشتبهه تحت المجهر بعد صبغها بصبغة غرام وكانت نسبة الانتشار التي حصلنا عليها من نتائج الزرع على المنابت التفريقية (5.6%)، ثم أجريت اختبارات الكيمياء الحيوية على العينات المشتبهه بالزرع الجرثومي وكانت نسبة الانتشار (4.3%)، ثم تم إجراء التحديد التأكيدي باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) وكانت نسبة الانتشار (3.6%).

الكلمات المفتاحية: كوليرا الطيور - الباستوريلا مالتوسيدا - دراسة انتشار.

\*طالب دراسات عليا (دكتوراه) - اختصاص أمراض الدواجن - قسم أمراض الحيوان - كلية الطب البيطري - جامعة حماة

\*\*أستاذ مساعد أمراض الدواجن - قسم أمراض الحيوان - كلية الطب البيطري - جامعة حماة

\*\*\*أستاذ أمراض الدواجن - قسم أمراض الحيوان - كلية الطب البيطري - جامعة حماة

## Study on the prevalence of fowl cholera in chickens in central region of Syria

Mohammad Ali Alemade\*\*\* Hazem Malle\*\* Mohammad Abo Jasem\*

(Received: 16 May 2025, Accepted: 24 September 2025)

The poultry industry is considered one of the most important and reliable sources for obtaining relatively cheap animal protein all over the world. One of the major production challenges in this industry is the prevalence of bacterial and viral infections. Therefore, those factors that inhibit the reproductive process must be effectively controlled. Avian cholera is a highly contagious disease of global economic importance resulting from infection with *Pasteurella multocida* bacteria. In this study, the extent of the spread of *Pasteurella multocida* in sick and healthy chickens in the central region of Syria was determined. Samples of the lungs, trachea, and heart were collected from (200) Sick chickens included (180) commercial (mothers and broilers) and (20) domestic (local) chickens. In addition, (100) apparently healthy chickens were sampled, including (90) commercial (broilers and Breeders) and (10) free range chickens. This was done from ten geographically different breeding sites to isolate *Pasteurella multocida*. From each bird, samples were collected from the trachea, lungs, and heart. Bacterial culture were performed on the blood agar and MacConky agar .

Suspected bacterial colonies were examined microscopically after Gram staining. Subsequently biochemical tests were conducted to further identify the bacteria.

The prevalence rate based on differential culture (5.6)%, while biochemical testing indicated a prevalence of (4.3)% , Confirmatory identification using polymerase chain reaction (PCR) revealed prevalence of (3.6)%.

**Key words:** Fowl cholera– *Pasteurella multocida*– prevalence.

\*Postgraduate student – Poultry Diseases – Department of Animal Diseases – Faculty of Veterinary Medicine – Hama University.

\*\* Assistant Professor of Poultry Diseases – Faculty of Veterinary Medicine – Department of Animal Diseases – Hama University.

\*\*\* Professor of Poultry Diseases – Faculty of Veterinary Medicine – Department of Animal Diseases – Hama University.

## 1- المقدمة Introduction :

تعتبر كوليرا الطيور من أكثر الأمراض التي تسبب خسائر اقتصادية في جميع أنحاء العالم. وهو مرض جرثومي معدي شائع يصيب معظم أنواع الطيور الداجنة و البرية ( Glisson, et al.2003 ) يحدث المرض نتيجة الإصابة بجراثيم *p.multocida* ( Xiao, et al.2015 ) ، التي تستعمر الجهاز التنفسي للحيوانات والطيور السليمة وتسبب أحيانا داء الباستوريلا تحت ظروف الإجهاد وتسبب كوليرا الطيور ( Bisgaard, et al .2003 ) . يمكن أن يأخذ المرض الشكل الحاد والذي يترافق مع نسبة إصابات ونفوق مرتفعة ( Glisson, et al.2008 ) ، بينما لا تظهر العلامات السريرية إلا قبل وقت قصير من النفوق والتي تكون عبارة عن ارتفاع في درجات الحرارة وفقدان للشهية بالإضافة لإفرازات من الأنف والفم وصعوبة في التنفس وأحيانا إسهالات مائية ( Glisson, et al.2003 ) . كما يمكن أن يأخذ المرض الشكل المزمن وعادة ما تتبع الإصابة بالشكل الحاد حيث تتركز الآفة المرضية في عضو معين في جسم الطير ويظهر هذا النوع عند بقاء المرض في القطيع لمدة طويلة أو عندما يكون المرض مستوطناً في مكان ما حيث تظهر الإصابات المرضية بعدة أشكال (الشكل الدالي والشكل التنفسي والشكل المفصلي والشكل العصبي)، تكون الأعراض في الشكل الدالي عبارة عن تورم أو استسقاء الداليتين وفي الشكل التنفسي إفرازات أنفية ودمعية وتورم الجيوب الأنفية والتهاب ملتحمة العين ، وفي الشكل المفصلي تورم مفاصل الساق و الأجنحة ووسادة القدم بالإضافة لالتهاب الأوتار وحدوث عرج، وفي الشكل العصبي التواء الرقبة واضطراب في حركة الطير، أما الطيور التي تتعافى من الشكل المزمن تبقى حاملة للمرض ( Glisson, et al.2003 ) . تنتمي الباستوريلا مالتوسيدا لعائلة (pasteurellaceae) التي تعد من أهم الجراثيم التي تسبب معدلات نفوق و خسائر اقتصادية عالية في مجال صناعة الدواجن ( Biswas, et al.2005 ) & (Marza, et al.2015) وهي جراثيم سلبية الغرام غير متحركة ،مغلقة ،وتشكل بذيرات ،تظهر منفردة أو في أزواج أو أحياناً كسلاسل أو خيوط (Akhtar, 2013) & (Harper, et al.2014) وحسب (Mutters,R. et al., 1985) فإن الأنواع تنقسم إلى ثلاث تحت أنواع وهي : *p.multocida* (subsp.multocida) & (subsp. Gallicida) & (*p.multocida* subsp.septica) وهذا التقسيم يعتمد على القدرة على تخمير الدولسيتول والسوربيتول. غالبية العزلات من الطيور البرية تنتمي إلى تحت نوع (*multocida*) ثم تليها تحت نوع (*gallicida*) بينما تحت نوع (*septica*) لا تشكل سوى جزء صغير من العزلات (Hirsh, et al.1990) . يمكن أن تسبب (*p.multocida*) وباء ينتشر إلى مئات أو آلاف الطيور (Botzler.1991). كما يمكن أن تسبب حالات عدوى حادة ومزمنة يمكن أن تترافق مع حالات نفوق عالية (Christen & Bisyaard 2000) ، العدوى عبارة عن تسمم دموي بكتيري ونظراً لسير المرض السريع عادة تكون الحالة العامة للطير جيدة (Mensik and Botzler 1989) . تظهر الأعراض على شكل نزيف نقطي في الأعضاء الداخلية بالإضافة إلى نخر في الكبد والتهاب الأمعاء المخاطي وإفراز مخاطي من فتحتي الأنف (Botzler.1991) .

تعد ظروف التربية غير المناسبة كالازدحام أو كثافة التربية وتغير المناخ المفاجئ مؤهلاً لحدوث المرض حيث وجد ( Botzler.1991) أنه على الرغم من أن كوليرا الطيور قد تحدث على مدار العام إلا أن معظم الحالات تحدث أثناء الشتاء والربيع. بشكل عام أشارت الدراسات إلى أن موقع الإصابة بجراثيم (*P. multocida*) هو الجهاز التنفسي (Rimler & Glisson 1997).

عند وصول الجراثيم لمجرى الدم تتكاثر بشكل كبير (Snipes ,et al 1987) أو من الممكن أن تستقر في الكبد والطحال بشكل أولي قبل حدوث تجرثم الدم. (Tsuji M. & Matsumoto M. 1989) .

تعتبر قدرة (*P. multocida*) في البقاء على قيد الحياة عبر القناة الهضمية محدودة (Rimler, & Glisson, 1997) ، ولكن وجود هذه الجراثيم في المذرق عند الطيور الحاملة للمرض يشير إلى إمكانية طرحها عبر الجهاز الهضمي وهذا ما أكدته

(Muhairwa, et al 2000) أن هذه الجراثيم تتواجد على الغشاء المخاطي للمزرق بدون أعراض والتي تشكل مصدر لتفشي الأمراض. كما أن دخول الجراثيم إلى الأنسجة الجلدية يسبب آفات موضعية (Glass & Panigrahy 1990)، و يمكن أن تدخل جراثيم (*P. multocida*) إلى مجرى الدم من خلال الآفات الجلدية وتؤدي إلى تسمم الدم (Rimler, & Rhoades 1989). العلامات السريرية لمرض كوليرا الطيور (*Fowl cholera*) هي فقدان الشهية والحمى وانتفاش الريش وإفرازات مخاطية من الفم وسرعة التنفس والاسهال المائي المصفر في البديهة والأخضر المخاطي في نهاية المرض. ( Rhoades & Rimler 1990). الشكل المزمن للمرض يحدث في الدجاج الذي يبقى على قيد الحياة بعد حدوث الشكل الحاد من المرض أو قد ينجم عن الإصابة بجراثيم منخفضة الفوعة نسبياً (Jordan,1985).. يمكن عزل جراثيم (*P. multocida*) بسهولة من أحشاء الطيور النافقة في الحالات الحادة / الكوليرا كما يمكن عزلها غالباً من الآفات الفحشية للحالات المزمنة (Rimler, & Glisson,1997). عادة ما يتم تحقيق العزل الأولي باستخدام وسائط مثل الآجار المدمم ، أو آجار سكر العنب أو آجار الصويا حيث يمكن تحسين العزل بإضافة 5% مصل معطل بالحرارة ، يتم التعرف على مستعمرات (*p.multocida*) من خلال شكل المستعمرات والقطبية الثنائية المميزة واختبارات الكيمياء الحيوية (Glisson et al.2008). الإختبارات الجزيئية للكشف عن *p.multocida* هي أكثر أهمية من الاختبارات المورفولوجية والكيميائية لأنها تتفوق على عوائل النمط الظاهري (Rajeev et al.2011).

## 2- أهمية وأهداف البحث : The importance and objectives of the research

دراسة انتشار (*P. multocida*) في قطعان الدجاج في المنطقة الوسطى في سورية.

## 3- مواد وطرائق البحث : Material and Methods

أولاً: جمع العينات: جمعت (300) عينة في الشهر الثالث، سنة 2024 من قطعان الدجاج على اختلاف أنواعها كمايلي:  
(200) عينة من الدجاج الذي تظهر عليه أعراض الإصابة:

✓ (180) عينة من مزارع الأمهات و البياض حسب مايلي:

✎ (20) عينة من كل مزرعة للدجاج والأمهات. (4 مزارع في محافظة حماة و4 مزارع في محافظة حمص)

✎ (10) عينة من كل مزرعة للفروج. (مزرعة في محافظة حماة ومزرعة في محافظة حمص)

✓ (20) عينة من مجمعات الدجاج البلدي حسب مايلي:

✎ (2) عينة من كل تجمع. (5 تجمعات في محافظة حماة و 5 تجمعات في محافظة حمص)

(100) عينة من الدجاج السليم ظاهرياً:

✓ (90) عينة من مزارع الأمهات والبياض حسب مايلي:

✎ (10) عينة من كل مزرعة للدجاج والأمهات. (4 مزارع في محافظة حماة و4 مزارع في محافظة حمص)

✎ (5) عينة من كل مزرعة للفروج. (مزرعة في محافظة حماة ومزرعة في محافظة حمص)

✓ (10) عينة من مجمعات الدجاج البلدي حسب مايلي:

✎ عينة من كل تجمع. ( 5 تجمعات في محافظة حماة و 5 تجمعات في محافظة حمص)

توزع المزارع كان كمايلي:

عدد المزارع الكلي ( 10) مزارع مختلفة في المنطقة الوسطى من سورية بمعدل: (4) مزارع للأمهات والبياض ومزرعة(1) واحدة للفروج في محافظة حماة بالإضافة ل(4) مزارع للأمهات والبياض ومزرعة(1) واحدة للفروج في محافظة حمص. كما تم جمع عينات الدجاج البلدي من (10) عشر تجمعات لتربية الدجاج البلدي (5) في كل محافظة.

طريقة جمع العينات:

فحصت الطيور وسجلت الحالة الظاهرية لكل طائر وأخذت العينات من الأعضاء الداخلية (القصبه الهوائية- الرئة- دم القلب) ، كما جمعت عينات القصبه الهوائية باستخدام المساحات القطنية المعقمة وجمعت عينات الرئة من أنسجة الرئتين بعد تشريح الطيور مع التأكد من الحفاظ على العقامة وعدم تلوث العينات، أما عينات دم القلب فقد جمعت باستخدام سيرنك 5 مل معاملة بالهيبارين لمنع تجلط الدم وأخذ الدم من القلب مباشرة، ثم حفظت جميع العينات في أكياس الثلج ونقلت في أسرع وقت ممكن إلى المختبر .

ثانياً: عزل وتحديد *P. multocida*:

1-العزل باستخدام المنابت التمييزية :

زرعت المسحات والعينات مباشرة على وسط (5%) آجار مدمى مضاف له دم الأغنام منزوع الفبرين وحضن عند 37° درجة مئوية لمدة 24-48 ساعة ثم فحصت لمعرفة مستعمرات (*P. multocida*) من خلال شكل المستعمرات والقطنية ، مستعمرات ال (*p.multocida*) ظهرت بشكل قطرات ندى مخاطية صغيرة في منبت آجار الدم بعد الحضانه عند 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة وظهرت على شكل عصيات سالبة الغرام عند صبغها بصبغة غرام (Kiran et al 2012) & (Moore,et al.1994)، ومسحات صبغة غرام تم تحضيرها تبعاً لتوصيات (merchant and packer 1967).  
وإستخدام منبت MacConky للتمييز بين (*p.multocida*) وأعضاء (Pasteurellaceae) حيث أن (*p.multocida*) تتميز بعدم نموها على هذا المنبت (Glisson, et al.2008).

2-العزل باستخدام اختبارات الكيمياء الحيوية:

تم تحديد الهوية بشكل أساسي على أساس نتائج الاختبار الكيمائي الحيوي المبينة فيمايلي:

Glucose(+), Mannitol(+), Arabinose(-), Lactose(-), Trehalose(-) Oxidase(+), Catalase (+), Indole Production(+), Nitrate Reduction(+), Urease Test(-). (Kiran et al 2012).

الزرع الجرثومي و اختبارات الكيمياء الحيوية أجريت في مخبر النور في محافظة حماة (الدكتور محمد نور الأحمد) و مخبر الدكتور (يوسف محفوظ أصبح) في مدينة حمدة.

3- التعرف على *P. multocida* بواسطة تفاعل البوليميراز المتسلسل:

تم استخدام المستعمرات الجرثومية التي تم تأكيد هويتها باختبارات الكيمياء الحيوية حيث تم استخراج الحمض النووي باستخدام كيت الاستخلاص من شركة (Qiagen, Germany) QIAamp DNA Mini kit وفقاً لتعليمات الشركة المصنعة ثم تم تضخيم جين *kmt1* لجراثيم *P. multocida* باستخدام بادئات *KMT1T7* و *KMT1SP6* (Townsend et al 1998). تم إجراء اختبار ال (PCR) في مخبر الدكتور (خلدون جصاصيني) في محافظة دمشق.

4-الحقن في فئران التجارب: تم زراعة كل عينة مفحوصة باختبار ال PCR في فئران التجارب من خلال زراعة كل عينة في المرق المغذي (Brain Hear Infusion) BHI لمدة 18 ساعة ثم تطعيم الفئران ب 0.2 مل من الملقح في الصفاق ومراقبتها لمدة 72 ساعة. (Varte et al., 2014).

ثالثاً: التحليل الإحصائي Statistical Analysis:

تم إجراء التحليل الإحصائي تم تحليل النتائج باستخدام برنامج التحليل الإحصائي (IBM SPSS STATISTICS) بالإصدار 24 . كما تم استخدام اختبار مربع كاي Chi-Square Test وذلك لمقارنة نسب الانتشار الوبائي المسجلة في النتائج وذلك حسب نوع الطيور تجارية ، بلدي ، تجارية وبلدي، وتم حساب قيمة P الاحتمالية وذلك عند مستوى المعنوية ألفا 0.05، مع الأخذ بالاعتبار أن قيمة درجة الحرية الإحصائية (DF= n-1)، وفق القانون الآتي:

$$x^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

$\chi^2$  : قيمة مربع كاي O : عدد الحالات المشاهدة E : عدد الحالات المتوقعة.

#### 4- النتائج Results :

##### 1- نسبة الانتشار للعينات المريضة ظاهريا في محافظة حماة:

يظهر الجدول رقم (1) نسبة الانتشار للعينات المريضة ظاهريا في محافظة حماة حيث تمت الدراسة على خمس مزارع أربع منها مزارع أمهات وبياض جمع من كل منها (20) عينة ومزرعة للفروج جمع منها (10) اختلفت نتائج تفاعل ال PCR مع نتائج الكيمياء الحيوية وتوافقت مع نتائج الحقن في فئران التجارب.

✓ نسبة الانتشار حسب الكيمياء الحيوية كانت (1.1% قصبه هوائية) (5.5% رنتين) (5.5% دم القلب).

✓ نسبة الانتشار حسب PCR كانت (1.1% قصبه هوائية) (4,4% رنتين) (4.4% دم القلب).

الجدول رقم (1): نسبة الانتشار للعينات المريضة ظاهريا في محافظة حماة للطبوري التجارية(كامل العينات 90):

| رقم المزرعة | نوع المزرعة | عدد العينات من كل مزرعة | عدد العينات الإيجابية بالزرع الجرثومي |   |   | نسبة الانتشار حسب اختبارات الكيمياء الحيوية |   |   | عدد العينات الإيجابية بتقنية ال PCR |   |   | نسبة الانتشار حسب PCR |   |   | عدد العينات الإيجابية بالحقن في فئران التجارب |   |   |
|-------------|-------------|-------------------------|---------------------------------------|---|---|---|---|---|-------------------------------------|---|---|-----------------------|---|---|---|---|---|
|             |             |                         | H                                     | L | K | H   | L | K | H                                   | L | K | H                     | L | K | H   | L | K |
| 1           | أمهات وبياض | 20                      | 0                                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 | 0                                   | 0 | 0 | 0                     | 0 | 0 | 0   | 0 |   |
| 2           | أمهات وبياض | 20                      | 2                                     | 2 | 1 | 2   | 2 | 2 | 1                                   | 1 | 1 | 1                     | 1 | 1 | 1   | 1 |   |
| 3           | أمهات وبياض | 20                      | 0                                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 | 0                                   | 0 | 0 | 0                     | 0 | 0 | 0   | 0 |   |
| 4           | أمهات وبياض | 20                      | 2                                     | 2 | 0 | 3   | 3 | 1 | 2                                   | 2 | 0 | 2                     | 2 | 0 | 2   | 2 |   |
| 5           | فروج        | 10                      | 1                                     | 1 | 0 | 2   | 2 | 0 | 1                                   | 1 | 0 | 1                     | 1 | 0 | 1   | 1 |   |

K: عينات مأخوذة من القصبه الهوائية، L: عينات مأخوذة من الرنتين، H: عينات مأخوذة من القلب

##### 2- نسبة الانتشار للعينات المريضة ظاهريا في محافظة حمص:

يظهر الجدول رقم (2) نسبة الانتشار للعينات المريضة ظاهريا في محافظة حمص حيث تمت الدراسة على خمس مزارع أربع منها مزارع أمهات وبياض جمع من كل منها (20) عينة ومزرعة للفروج جمع منها (10) عينات . اتفقت نتائج تفاعل ال PCR مع نتائج الكيمياء الحيوية ومع الحقن في فئران التجارب.

✓ نسبة الانتشار حسب الكيمياء الحيوية وال PCR كانت (0% قصبه هوائية) (2.2% رنتين) (1.1% دم القلب).

الجدول رقم (2): نسبة الانتشار للعينات المريضة ظاهريا في محافظة حمص للطبوري التجارية (كامل العينات 90)

| رقم المزرعة | نوع المزرعة | عدد العينات من كل مزرعة | عدد العينات الإيجابية بالزرع الجرثومي |   |   | نسبة الانتشار حسب اختبارات الكيمياء الحيوية % |   |   | عدد العينات الإيجابية بتقنية ال PCR |   |   | نسبة الانتشار حسب PCR % |      |    | عدد العينات الإيجابية بالحقن في فئران التجارب |   |   |
|-------------|-------------|-------------------------|---------------------------------------|---|---|---|---|---|-------------------------------------|---|---|-------------------------|------|----|---|---|---|
|             |             |                         | H                                     | L | K | H   | L | K | H                                   | L | K | H                       | L    | K  | H   | L | K |
| 1           | أمهات وبياض | 20                      | 0                                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 | 0                                   | 0 | 0 | 0                       | 0    | 0  | 0   | 0 |   |
| 2           | أمهات وبياض | 20                      | 0                                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 | 0                                   | 0 | 0 | 0                       | 0    | 0  | 0   | 0 |   |
| 3           | أمهات وبياض | 20                      | 1                                     | 2 | 0 | 2   | 2 | 0 | 1                                   | 2 | 0 | 1.1%                    | 2.2% | 0% | 1   | 2 | 0 |
| 4           | أمهات وبياض | 20                      | 0                                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 | 0                                   | 0 | 0 | 0                       | 0    | 0  | 0   | 0 | 0 |
| 5           | فروج        | 10                      | 0                                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 | 0                                   | 0 | 0 | 0                       | 0    | 0  | 0   | 0 | 0 |

K: عينات مأخوذة من القصبه الهوائية، L: عينات مأخوذة من الرنتين، H: عينات مأخوذة من القلب

3- نسبة الانتشار للعينات السليمة ظاهريا في محافظة حماة:

يظهر الجدول رقم (3) نسبة الانتشار للعينات السليمة ظاهريا في محافظة حماة حيث تمت الدراسة على خمس مزارع أربع منها مزارع أمهات وبياض جمع من كل منها (10) عينات ومزرعة للفروج جمع منها (5) عينات . اتفقت نتائج تفاعل ال PCR مع نتائج الكيمياء الحيوية ومع الحقن في فئران التجارب.

✓ نسبة الانتشار حسب الكيمياء الحيوية وال PCR كانت (0% قصبه هوائية) (2.2% رئتين) (0% دم القلب).

الجدول رقم (3): نسبة الانتشار للعينات السليمة ظاهريا في محافظة حماة للتطوير التجارية (كامل العينات 45)

| رقم المزرعة | نوع المزرعة | عدد العينات من كل مزرعة | عدد العينات الإيجابية بالزرع الجرثومي |   |   | عدد العينات الإيجابية بالكيمياء الحيوية |   |   | نسبة الانتشار حسب اختبارات الكيمياء الحيوية % |      |    | عدد العينات الإيجابية ال PCR بتقنية ال PCR |   |   | نسبة الانتشار حسب PCR % |      |    | عدد العينات الإيجابية بالحقن في فئران التجارب |   |   |
|-------------|-------------|-------------------------|---------------------------------------|---|---|---|---|---|---|------|----|--|---|---|-------------------------|------|----|---|---|---|
|             |             |                         | H                                     | L | K | H                                       | L | K | H   | L    | K  | H  | L | K | H                       | L    | K  | H   | L | K |
| 1           | أمهات وبياض | 10                      | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0%  | 2.2% | 0% | 0  | 0 | 0 | 0%                      | 2.2% | 0% | 0   | 0 | 0 |
| 2           | أمهات وبياض | 10                      | 1                                     | 1 | 1 | 0                                       | 0 | 0 | 0%  | 2.2% | 0% | 0  | 0 | 0 | 0%                      | 2.2% | 0% | 0   | 0 | 0 |
| 3           | أمهات وبياض | 10                      | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0%  | 2.2% | 0% | 0  | 0 | 0 | 0%                      | 2.2% | 0% | 0   | 0 | 0 |
| 4           | أمهات وبياض | 10                      | 1                                     | 1 | 1 | 0                                       | 1 | 0 | 0%  | 2.2% | 0% | 0  | 1 | 0 | 0%                      | 2.2% | 0% | 0   | 1 | 0 |
| 5           | فروج        | 5                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0%  | 2.2% | 0% | 0  | 0 | 0 | 0%                      | 2.2% | 0% | 0   | 0 | 0 |

K: عينات مأخوذة من القصبه الهوائية، L: عينات مأخوذة من الرئتين، H: عينات مأخوذة من القلب

4- نسبة الانتشار للعينات السليمة ظاهريا في محافظة حمص: يظهر الجدول رقم (4) نسبة الانتشار للعينات السليمة ظاهريا في محافظة حمص حيث تمت الدراسة على خمس مزارع أربع منها مزارع أمهات وبياض جمع من كل منها (10) عينات ومزرعة للفروج جمع منها (5) عينات . اتفقت نتائج تفاعل ال PCR مع نتائج الكيمياء الحيوية ومع الحقن في فئران التجارب.

✓ نسبة الانتشار حسب الكيمياء الحيوية وال PCR كانت (0% قصبه هوائية) (4.4% رئتين) (2.2% دم القلب).

الجدول رقم (4): نسبة الانتشار للعينات السليمة ظاهريا في محافظة حمص للتطوير التجارية (كامل العينات 45)

| رقم المزرعة | نوع المزرعة | عدد العينات من كل مزرعة | عدد العينات الإيجابية بالزرع الجرثومي |   |   | عدد العينات الإيجابية بالكيمياء الحيوية |   |   | نسبة الانتشار حسب اختبارات الكيمياء الحيوية % |      |    | عدد العينات الإيجابية ال PCR بتقنية ال PCR |   |   | نسبة الانتشار حسب PCR % |      |    | عدد العينات الإيجابية بالحقن في فئران التجارب |   |   |
|-------------|-------------|-------------------------|---------------------------------------|---|---|---|---|---|---|------|----|--|---|---|-------------------------|------|----|---|---|---|
|             |             |                         | H                                     | L | K | H                                       | L | K | H   | L    | K  | H  | L | K | H                       | L    | K  | H   | L | K |
| 1           | أمهات وبياض | 10                      | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0%  | 4.4% | 0% | 0  | 0 | 0 | 0%                      | 4.4% | 0% | 0   | 0 | 0 |
| 2           | أمهات وبياض | 10                      | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0%  | 4.4% | 0% | 0  | 0 | 0 | 0%                      | 4.4% | 0% | 0   | 0 | 0 |
| 3           | أمهات وبياض | 10                      | 2                                     | 2 | 0 | 1                                       | 2 | 0 | 2.2%  | 4.4% | 0% | 1  | 2 | 0 | 2.2%                    | 4.4% | 0% | 1   | 2 | 0 |
| 4           | أمهات وبياض | 10                      | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0%  | 4.4% | 0% | 0  | 0 | 0 | 0%                      | 4.4% | 0% | 0   | 0 | 0 |
| 5           | فروج        | 5                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0%  | 4.4% | 0% | 0  | 0 | 0 | 0%                      | 4.4% | 0% | 0   | 0 | 0 |

K: عينات مأخوذة من القصبه الهوائية، L: عينات مأخوذة من الرئتين، H: عينات مأخوذة من القلب

5- نسبة الانتشار للعينات المريضة ظاهريا للدجاج البلدي في محافظة حماة وحمص:

يظهر الجدول رقم (5) نسبة الانتشار للعينات المريضة ظاهريا للدجاج البلدي في محافظة حماة وحمص حيث تمت الدراسة على عشر تجمعات لتربية الدجاج البلدي جمع من كل منها (2) عينتان ، اختلفت نتائج تفاعل ال PCR مع نتائج الكيمياء الحيوية وتوافقت مع نتائج الحقن في فئران التجارب.

✓ نسبة الانتشار حسب الكيمياء الحيوية كانت (5% قصبه هوائية) (10% رئتين) (5% دم القلب)

✓ بينما نسبة الانتشار حسب ال PCR كانت (5% قصبه هوائية) (5% رئتين) (5% دم القلب)

الجدول رقم (5): نسبة الانتشار للعينات المريضة ظاهريا للدجاج البلدي في محافظة حماة وحمص (كامل العينات 20):

| رقم المجمع | نوعه      | عدد العينات من كل مزرعة | عدد العينات الإيجابية بالزرع الجرثومي |   |   | عدد العينات الإيجابية بالكيمياء الحيوية |   |   | نسبة الانتشار حسب اختبارات الكيمياء الحيوية % |     |    | عدد العينات الإيجابية ال بتقنية ال PCR |   |   | نسبة الانتشار حسب PCR % |    |    | عدد العينات الإيجابية بالحقن في فئران التجارب |   |   |
|------------|-----------|-------------------------|---------------------------------------|---|---|---|---|---|---|-----|----|--|---|---|-------------------------|----|----|---|---|---|
|            |           |                         | H                                     | L | K | H                                       | L | K | H   | L   | K  | H                                      | L | K | H                       | L  | K  | H   | L | K |
| 1          | دجاج بلدي | 2                       | 1                                     | 1 | 1 | 0                                       | 0 | 0 | 0   | 0   | 0  | 0                                      | 0 | 0 | 0                       | 0  | 0  | 0   | 0 | 0 |
| 2          | دجاج بلدي | 2                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0   | 0   | 0  | 0                                      | 0 | 0 | 0                       | 0  | 0  | 0   | 0 | 0 |
| 3          | دجاج بلدي | 2                       | 1                                     | 1 | 0 | 0                                       | 1 | 0 | 0   | 0   | 0  | 0                                      | 0 | 0 | 0                       | 0  | 0  | 0   | 0 | 0 |
| 4          | دجاج بلدي | 2                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0   | 0   | 0  | 0                                      | 0 | 0 | 0                       | 0  | 0  | 0   | 0 | 0 |
| 5          | دجاج بلدي | 2                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0   | 0   | 0  | 0                                      | 0 | 0 | 0                       | 0  | 0  | 0   | 0 | 0 |
| 6          | دجاج بلدي | 2                       | 1                                     | 1 | 1 | 1                                       | 1 | 1 | 5%  | 10% | 5% | 1                                      | 1 | 1 | 5%                      | 5% | 5% | 1   | 1 | 1 |
| 7          | دجاج بلدي | 2                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0   | 0   | 0  | 0                                      | 0 | 0 | 0                       | 0  | 0  | 0   | 0 | 0 |
| 8          | دجاج بلدي | 2                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0   | 0   | 0  | 0                                      | 0 | 0 | 0                       | 0  | 0  | 0   | 0 | 0 |
| 9          | دجاج بلدي | 2                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0   | 0   | 0  | 0                                      | 0 | 0 | 0                       | 0  | 0  | 0   | 0 | 0 |
| 10         | دجاج بلدي | 2                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                       | 0 | 0 | 0   | 0   | 0  | 0                                      | 0 | 0 | 0                       | 0  | 0  | 0   | 0 | 0 |

K: عينات مأخوذة من القصبه الهوائية، L: عينات مأخوذة من الرئتين، H: عينات مأخوذة من القلب

6- جدول رقم (6) نسبة الانتشار للعينات السليمة ظاهريا للدجاج البلدي في محافظة حماة وحمص:

يظهر الجدول رقم (6) نسبة الانتشار للعينات السليمة ظاهريا للدجاج البلدي في محافظة حماة وحمص حيث تمت الدراسة على عشر تجمعات لتربية الدجاج البلدي جمع من كل منها (1) عينة واحدة ، اتفقت نتائج تفاعل ال PCR مع نتائج الكيمياء الحيوية وكلا النتيجتين توافقت مع نتائج الحقن في فئران التجارب.

✓ نسبة الانتشار حسب الكيمياء الحيوية وال PCR كانت (10% قصبه هوائية) (10% رئتين) (0% دم القلب).

الجدول رقم (6): نسبة الانتشار للعينات السليمة ظاهريا للدجاج البلدي في محافظة حماة وحمص (كامل العينات 10)

| رقم المجمع | نوعه      | عدد العينات من كل مزرعة | عدد العينات الإيجابية بالزرع الجرثومي |   |   | عدد العينات الإيجابية بالكيما الحيوية |   |   | نسبة الانتشار حسب اختبارات الكيما الحيوية |     |     | عدد العينات الإيجابية بتقنية ال PCR |   |   | نسبة الانتشار حسب PCR |   |   | عدد العينات الإيجابية بالحقن في فئران التجارب |   |   |
|------------|-----------|-------------------------|---------------------------------------|---|---|---------------------------------------|---|---|---|-----|-----|-------------------------------------|---|---|-----------------------|---|---|---|---|---|
|            |           |                         | H                                     | L | K | H                                     | L | K | H   | L   | K   | H                                   | L | K | H                     | L | K | H   | L | K |
| 1          | دجاج بلدي | 1                       | 0                                     | 1 | 1 | 0                                     | 1 | 1 | 0%  | 10% | 10% | 0                                   | 1 | 1 | 0                     | 1 | 1 | 0   | 1 | 1 |
| 2          | دجاج بلدي | 1                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                     | 0 | 0 | 0%  | 10% | 10% | 0                                   | 0 | 0 | 0                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 |
| 3          | دجاج بلدي | 1                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                     | 0 | 0 | 0%  | 10% | 10% | 0                                   | 0 | 0 | 0                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 |
| 4          | دجاج بلدي | 1                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                     | 0 | 0 | 0%  | 10% | 10% | 0                                   | 0 | 0 | 0                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 |
| 5          | دجاج بلدي | 1                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                     | 0 | 0 | 0%  | 10% | 10% | 0                                   | 0 | 0 | 0                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 |
| 6          | دجاج بلدي | 1                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                     | 0 | 0 | 0%  | 10% | 10% | 0                                   | 0 | 0 | 0                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 |
| 7          | دجاج بلدي | 1                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                     | 0 | 0 | 0%  | 10% | 10% | 0                                   | 0 | 0 | 0                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 |
| 8          | دجاج بلدي | 1                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                     | 0 | 0 | 0%  | 10% | 10% | 0                                   | 0 | 0 | 0                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 |
| 9          | دجاج بلدي | 1                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                     | 0 | 0 | 0%  | 10% | 10% | 0                                   | 0 | 0 | 0                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 |
| 10         | دجاج بلدي | 1                       | 0                                     | 0 | 0 | 0                                     | 0 | 0 | 0%  | 10% | 10% | 0                                   | 0 | 0 | 0                     | 0 | 0 | 0   | 0 | 0 |

K: عينات مأخوذة من القصبه الهوائية، L: عينات مأخوذة من الرئتين، H: عينات مأخوذة من القلب

7- نسبة الانتشار الكلية للإصابة بـكوليرا الطيور عند قطعان الدجاج في المنطقة الوسطى من سورية:

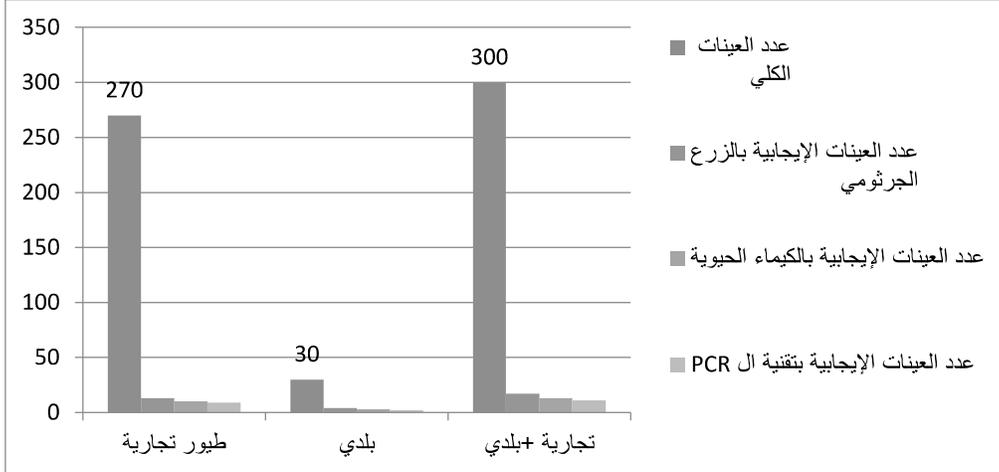
يظهر الجدول رقم (7) نسب الانتشار الكلية للإصابة بـكوليرا الطيور عند قطعان الدجاج في المنطقة الوسطى من سورية حيث كانت نسبة الانتشار حسب نتائج الزرع الجرثومي في القطعان التجارية (4.8%) وفي قطعان الدجاج البلدي (13.3%) والنسبة الكلية هي (5.6%) بينما كانت نسبة الانتشار حسب نتائج الكيما الحيوية في القطعان التجارية (3.7%) وفي قطعان الدجاج البلدي (10%) والنسبة الكلية هي (4.3%) أما نتائج ال PCR اختلفت مع نتائج الكيما الحيوية وكانت في القطعان التجارية (3.3%) وفي قطعان الدجاج البلدي (6.6%) والنسبة الكلية هي (3.6%).

الجدول رقم (7): نسبة الانتشار الكلية للإصابة بـكوليرا الطيور عند قطعان الدجاج في المنطقة الوسطى من سورية

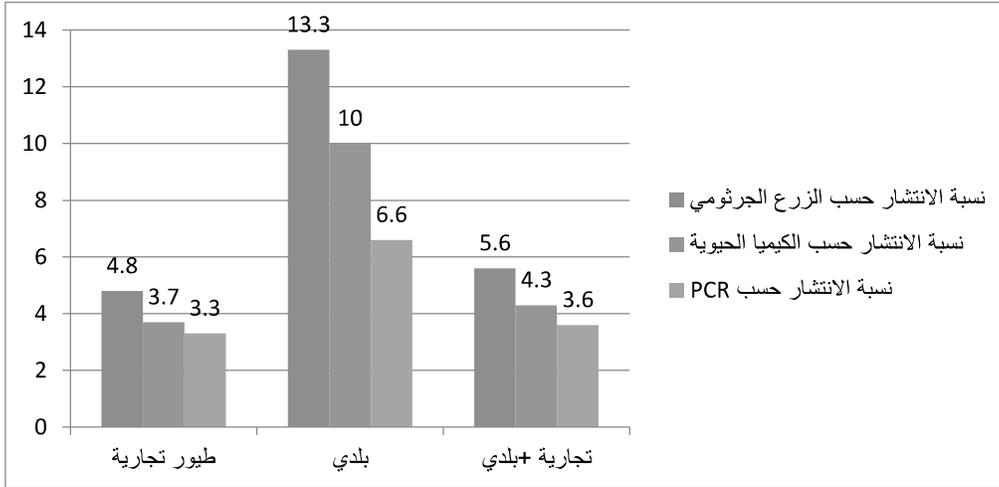
| نوع الطيور    | عدد العينات الكلي | عدد العينات الإيجابية بالزرع الجرثومي | نسبة الانتشار حسب الزرع الجرثومي | عدد العينات الإيجابية بالكيما الحيوية | نسبة الانتشار حسب الكيما الحيوية | عدد العينات الإيجابية بتقنية ال PCR | نسبة الانتشار حسب PCR | عدد العينات الإيجابية بالحقن في فئران التجارب |
|---------------|-------------------|---------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------|---|
| تجارية        | 270               | 13                                    | <sup>a</sup> 4.8%                | 10                                    | <sup>a</sup> 3.7%                | 9                                   | 3.3% <sub>a</sub>     | 9   |
| بلدي          | 30                | 4                                     | <sup>b</sup> 13.3%               | 3                                     | <sup>b</sup> 10%                 | 2                                   | 6.6% <sub>b</sub>     | 2   |
| تجارية + بلدي | 300               | 17                                    | <sup>a</sup> 5.6%                | 13                                    | <sup>a</sup> 4.3%                | 11                                  | 3.6% <sub>a</sub>     | 11  |

تدل الرموز a,b على وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، عند المقارنة بين مجموعات التجربة الثلاثة المدروسة فيما بينها.

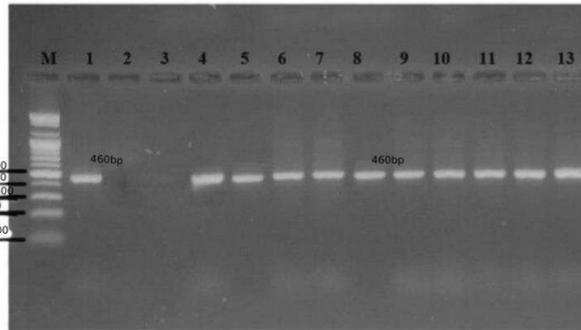
وقد لوحظ وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية بين نسبة الانتشار (حسب الزرع الجرثومي - حسب الكيمياء الحيوية - حسب PCR) بين المجموعات (تجارية وبلدي)، حيث كانت قيمة الاحتمالية  $P < 0.05$  عند مستوى المعنوية ألفا (0.05)، في حين لم تظهر فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى الدلالة 5% بين المجموعات (تجارية و(تجارية وبلدي)).



الشكل رقم (1): عدد العينات الكلية للإصابة بكوليرا الطيور عند قطعان الدجاج في المنطقة الوسطى من سورية



الشكل رقم (2): نسبة الانتشار الكلية للإصابة بكوليرا الطيور عند قطعان الدجاج في المنطقة الوسطى من سورية



الشكل رقم (3): نتائج اختبار ال PCR بطريقة التحليل الكهربائي لهلام الآغاروز.

التحليل الكهربائي لهلام الأغاروز لنتائج التضخيم لجين *Kmt1* الخاص بجراثيم (*P. multocida*)، حيث M : 100 bp DNA ladder ، العزلات 1 و 4- 13 عزلات (*P. multocida*) إيجابية بطول 460 bp والعزلات 2 و 3 سلبية .

#### 5- المناقشة Discussion:

تسبب جراثيم ال (*P. multocida*) حالات حادة يمكن أن تتوافق مع ارتفاع نسبة النفوق أو تنتهي بالتهابات مزمنة (Christen.Bisyaard 2000) ، لذلك فإن الإصابة ب*كوليرا الطيور* في صناعة الدواجن هي مصدر قلق كبير وهذا ما أكده ( Bisgaard et al .2003 ). في هذه الدراسة تم التقصي عن انتشار *كوليرا الطيور* الذي تسببه جراثيم *P. multocida* (Glisson et al 2003) ، في المنطقة الوسطى من سورية وهي محافظة حماة وحمص حيث تمت الدراسة على مزارع مختلفة للدجاج التجاري وتجمعات للدجاج المربي منزليا (البلدي).

تم في هذه الدراسة الكشف عن جراثيم ال (*P. multocida*) على وسط آجار الدم بعد التحضين عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة حيث لوحظت مستعمرات ال (*P. multocida*) على شكل قطرة الندى مخاطية القوام صغيرة الحجم ، ولم تنمو على منبت MacConky ، كما لوحظت خاصية ثائية القطبين على العصيات السلبية عند صبغها بصبغة غرام وهذا يتوافق مع نتائج مماثلة من قبل (Kiran et al 2012) . ثم بعد ذلك تم تحديد الهوية الجرثومية بالاعتماد على الاختبارات الكيميائية التي حددها (Shiva Chandra 2005) (Clanek et al 1997).

وبعد ذلك، تم استخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR للكشف عن الجين *kmt1* . أظهرت نتائج أن عزلات *P. multocida* أنتجت الأمبليكونات المتوقعة البالغة 460 نقطة أساس والتي تخص *P. multocida* (khamsepour et al. 2014) & (Mehmood et al. 2016).

فحصت الفئران التي تم حقنها بالعينات الإيجابية ولوحظ أن جميع العزلات تسببت بموت الفئران خلال 24 إلى 36 ساعة بعد الحقن، أظهر التشريح وجود التصاقات وتكبد أحمر وترسب للفبرين في الرئتين ،تضخم للكبد، وسوائل مصلية دموية في تجويف الصدر .

وأظهرت النتائج تقارب في نسبة الانتشار وخصوصا فيما يتعلق بانتشار المرض بين *طيور الدجاج البلدي* حيث كانت نسبة الانتشار في محافظة حماة وحمص لهذه الطيور هي (6.6%) قريبة للنسبة التي وجدها (Mohamed and Mageed 2014). في الدجاج البلدي في صعيد مصر وهي (7.6%) وربما يعود ذلك إلى التشابه في طريقة التربية وهي التربية الحرة التي تكون فيها الطيور على تماس مباشر مع الطيور البرية التي قد تلعب دور في نقل المرض. (Christensen et al 1998).

أما بالنسبة للدجاج التجاري فقد كانت نسبة الانتشار بين المحافظتين متقاربة مع زيادة في محافظة حماة عن محافظة حمص حيث كانت نسبة الانتشار للدجاج التجاري الذي ظهرت عليه أعراض تنفسية في محافظة حماة هي (4.4%) والذي لم تظهر عليه أعراض تنفسية هي (2.2%) بينما كانت نسبة الانتشار للدجاج التجاري الذي ظهرت عليه أعراض تنفسية في محافظة حمص هي (2.2%) والذي لم تظهر عليه أعراض تنفسية هي (4.4%) وربما يعود هذا الاختلاف إلى التباين في إجراءات الأمن الحيوي المتبعة في هذه المزارع بالإضافة إلى اختلاف أعمار الطيور والسلالات المرياة فيها.

كانت نسبة الانتشار الكلية في المنطقة الوسطى التي حصلنا عليها في هذه الدراسة (3.6%) متقاربة تقريبا مع النسبة التي وجدها (Everlon et al. 2013) الذي عزل (*P. multocida*) من الدجاج مع نسبة انتشار (3.3%) كما أن هذه النتائج مشابهة تقريبا للنتائج التي حصل عليها (Kiran et al. 2012).

بينما اختلفت عن النتائج التي وجدها كل من (Panna et al. 2015) في بنغلاديش فقد أعلن عن معدل انتشار قدره (11.42%) و (Victor et al., 2016) في جنوب غرب نيجيريا بنسبة انتشار وصلت (12.4%). كما تم الإبلاغ عن

Rigobelo معدل انتشار أقل بكثير في ولاية بلاتو (1.2%) (Kwage et al. 2013). في البرازيل، (et al. 2013) وجد أن نسبة الانتشار في الطيور المريضة كانت (13.3%) والطيور السليمة (3.3%). يمكن أن نفسر الاختلافات في معدلات الانتشار بين الدراسات من مختلف البلدان إلى سلالة الطيور وعمرها والبيئة والسلالة البكتيرية. وهذا يتوافق مع (Hasan et al. (2010).

في الدراسة الحالية، بلغ معدل انتشار *P. multocida* في العينات المفحوصة حسب الزرع الجرثومي (5.6%) ، بينما كانت النسبة حسب الطرق الجزيئية (PCR) (3.6%) والتي اختلفت مع اختبارات الكيمياء الحيوية (4.3%) وهذه النتائج أكدت قدرة الطرق الجزيئية على تجاوز العقبات المرتبطة بالأساليب المظهرية التقليدية. وهذا يتفق مع (Townsend et al. 2001).

في هذه الدراسة، كانت جميع سلالات *P. multocida* قاتلة للفئران. النتائج التي تم الحصول عليها تتفق مع النتائج السابقة (Mohamed et al., 2012). ولذلك، يعد هذا أمراً حيوياً في ضوء حقيقة أن العزلات التي تم اختبارها يمكن أن تكون مسببة للأمراض بشكل كبير وتسبب خسائر اقتصادية كبيرة في صناعة الدواجن.

#### 6-الاستنتاجات **Conclusions**:

1-تعد كوليرا الطيور من الأمراض الهامة عالمياً والتي ثبت وجودها في سوريا حسب دراستنا ولكن بنسبة انتشار منخفضة نسبياً.

2-اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل فعال ودقيق في تشخيص كوليرا الطيور ويتجاوز العقبات المرتبطة بالأساليب المظهرية التقليدية.

#### 7-التوصيات **Recommendations**:

1- يجب أن تركز مكافحة المرض على المستوى الوطني على تطبيق تدابير الأمن الحيوي المناسبة في موقع الإنتاج.

2- توفر هذه الدراسة نقطة انطلاق لمزيد من الأبحاث في مجال التشخيص الجزيئي لجراثيم ال (*P. multocida*) في سورية.

#### 8-References:

1. Akhtar, M., (2013). Isolation, Identification and Characterization of *Pasteurella Multocida* from Chicken and Development of Oil Based Vaccine, MS thesis, Department of Microbiology and Hygiene, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh.
2. Biswas, PK., Biswas, D., Ahmed, S., Rahman, A., Debnath, NC., (2005). A Longitudinal study of the Incidence of Major Endemic and Epidemic Diseases affecting Semi-Scavenging Chickens reared under the Participatory Livestock Development Project Areas in Bangladesh. *Avian Pathology*, 34: 303-312.
3. Bisgaard, M., Christensen, H., Bojese, AM., and Christensen, JP., (2003). Avian infections caused by species of *Pasteurellaceae*. Department of Veterinary Pathobiology, The Royal Veterinary and Agricultural University.
4. Botzler, R. G., (1991). Epizootiology of avian cholera in wildfowl. *Journal of Wildlife Diseases* 27: 367-395.

5. Christensen, J. P., Dietz, H. H., And Bisgaard, M., (1998). Phenotypic and genotypic characters of isolates of *Pasteurella multocida* obtained from backyard poultry and from two outbreaks of avian cholera in avifauna in Denmark. *Avian Pathology* 27: 373–381.
6. Christensen, J.P., and Bisgaard, M., (2000). Fowl cholera. *Revue Scientifique office International des Epizootics*, 19 (2): 626–637.
7. Everlon, C. R., Patrick, J. B., Renato, P. M., and Fernando, A.de A., (2013). Identification and Antimicrobial Susceptibility Patterns of *Pasteurella Multocida* isolated from Chickens and Japanese Quails in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 44,1,161–164.
8. Glass, S.E., Panigrahy, B., (1990). – Dermal necrosis caused by *Pasteurella multocida* infection in turkeys. *Avian Dis.*, 34, 491–494.
9. Glisson, J. R., Hofacre, C. L., and Christensen, J. P., (2003). Avian Pasteurellosis. In: Saif, Y. M., Barnes, H. J., Glison, J. R., Fadly, A. M., McDougald, L. R. and Swayne, D. E. (Eds), *Diseases of Poultry*, 11th Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, Pp. 658–676
10. Glisson, JR., Sandhu, TS., Hofacre, CL., (2008). Pasteurellosis, avibacteriosis, gallibacteriosis, riemerellosis and pseudotuberculosis. A laboratory manual for the isolation, identification and characterization of avian pathogens. Georgia: Am Assoc Avian Patholog pp:12–8.
11. Harper, M., St. Michael, F., John, M., Steen, J., Van Dorsten, L., Parnas, H., Vinogradov , E., Adler, B., Cox, A., Boyce, J., John, M., (2014). Structural Analysis of Lipopoly Saccharide produced by Heddleston serovars 10, 11, 12 and 15 and the Identification of anew *Pasteurella Multocida* Lipopolysaccharide Outer Core Biosynthesis Locus, L6. *Glycobiology*. 24(7): 649–659.
12. Hasan, AR., Ali, MH., Siddique, MP., (2010). Clinical and laboratory diagnoses of common bacterial diseases of broiler and layer chickens. *Bangladesh J Vet Med* 8:107–15.
13. Hirsh, D. C., Jessup, D. A., Snipes, K. P., Carpenter, T. E., Hird, D. W., Mccapes, R. H., (1990). Characteristics of *Pasteurella multocida* isolated from waterfowl and associated avian species in California. *Journal of Wildlife Diseases* 26: 204–209.
14. Khamesipour, F., Momtaz, H., Azhdary Mamoreh, M., (2014). Occurrence of virulence factors and antimicrobial resistance in *Pasteurella multocida* strains isolated from slaughter cattle in Iran. *Front Microbiol* 5:536.
15. Kiran, JK., Harshavardan, PR., Charitha, MD., (2012). Isolation and Partial Characterization of *Pasteurella multocida* from poultry farms around Tirupati. *J. Microbiol. Biotech. Res.*,2 (3): 393–395.
16. Kwage, JKP., Ekundayo, SO., Chuku, A., (2013). Phenotypic and genotypic characterization of *Pasteurella multocida* isolated from dead poultry in Jos, Plateau State. *Nig Vet J* 34:2.

17. Marza, AD., Abdullah, FFJ., Ahmed, IM., Chung, ELT., Ibrahim, HH., Zamri-Saad, M., Omar, AR., Bakar, MZA., Saharee, AA., Haron, AW., Lila, MAM., (2015). Involvement of Nervous System in Cattle and Buffaloes due to *Pasteurella Multocida* B:2 infection: A review of Clinicopathological and Pathophysiological Changes. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 2: 252–262.
18. Mensik, J. G., And Botzler, R. G., (1989). Epizootiological features of avian cholera at Centerville, Humboldt County, California. *Journal of Wildlife Diseases* 25: 240–245.
19. Merchant, I. A., and Packer, R. A., (1967). *Veterinary Bacteriology and Virology*. 1st edition. Iowa State University Press, Ames. Iowa, USA. pp. 339.
20. Mohamed, MA., Mohamed, MW., Ahmed, Al., (2012). *Pasteurella multocida* in backyard chickens in Upper Egypt: incidence with polymerase chain reaction analysis for capsule type, virulence in chicken embryos and antimicrobial resistance. *Vet Ital* 48:77–86.
21. Mohamed, MWA., and Mageed, MAA., (2014). Molecular analysis of *Pasteurella multocida* strains isolated from fowl cholera infection in backyard chickens. *Asian Pac J Trop Biomed* 4:8–12.
22. Moore, M.K., Cicnjak-Chubbs, L., Gates, R.J., (1994). – A new selective enrichment procedure for isolating *Pasteurella multocida* from avian and environmental samples. *Avian Dis.*, 38, 317–324.
23. Muhairwa, AP., Christensen, JP., Bisgaard, M., (2000). Investigations on the carrier rate of *P. multocida* in healthy commercial poultry flocks and flocks affected by fowl cholera. *Avian Pathol.* 29:133–142.
24. Mutters, R., Ihm, P., Pohl, S., Frederiksen, W., Mannheim, W., (1985). Reclassification of the genus *Pasteurella* Trevisan 1887 on the basis of deoxyribonucleic acid homology, with proposal for the new species *Pasteurella canis*, *Pasteurella dagmatis*, *Pasteurella stomatis*, *Pasteurella anatis*, and *Pasteurella langaa*. *International Journal of Systematic Bacteriology* 35: 309–322.
25. Panna, SN., Nazir, KNH., Rahman, MB., (2015). Isolation and molecular detection of *Pasteurella multocida* Type A from naturally infected chickens and their histopathological evaluation in artificially infected chickens in Bangladesh. *J Adv Vet Anim Res* 2:338–45.
26. Rajeev, R., Panda, SK., Acharya, AP., (2011). Molecular diagnosis of haemorrhagic septicaemia – A review. *Vet World* 4:189–92.
27. Rigobelo, EC., Blackall, PJ., Maluta, RP., (2013). Identification and antimicrobial susceptibility patterns of *Pasteurella multocida* isolated from chickens and Japanese quails in Brazil. *Brazilian J Microbiol* 44:161–4.

28. Rimler, R.B., Rhoades, K.R., (1989). – *Pasteurella multocida*. In *Pasteurella and pasteurellosis* (C. Adlam & J.M. Rutter, eds). Academic Press, London, 95–113.
29. Rhoades, KR., Rimler, RB., (1990b). *P. multocida* colonization and invasion in experimentally exposed turkey poults. *Avian Dis.* 34: 381–383.
30. Rimler, R. B., Glisson, J. R., (1997). Fowl cholera. In *Diseases of poultry*, 10th Edition, B. W. Calnek (ed.). Mosby–Wolfe, London, UK, pp. 143–159.
31. Snipes, K.P., Ghazikhanian, G.Y., Hirsh, D.C., (1987). Fate of *Pasteurella multocida* in the blood vascular system of turkeys following intravenous inoculation: comparison of an encapsulated, virulent strain with its avirulent, acapsular variant. *Avian Dis.*, 31, 254–259.
32. Townsend, KM., Frost, AJ., Lee, CW., (1998). Development of PCR assays for species–and type–specific identification of *Pasteurella multocida* isolates. *J Clin Microbiol* 36:1096–100.
33. Townsend, KM., Boyce, JD., Chung, JY., (2001). Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. *J Clin Microbiol* 39:924–9.
34. Tsuji, M., Matsumoto, M., (1989). Pathogenesis of fowl cholera: influence of encapsulation on the fate of *Pasteurella multocida* after intraveneous inoculation into turkeys. *Avian Dis.*, 33, 238–247.
35. Varte, Z., Dutta, TK., Roychoudhury, P., (2014). Isolation, identification, characterization and antibiogram of *Pasteurella multocida* isolated from pigs in Mizoram with special reference to progressive atrophic rhinitis. *Vet World* 7:95.
36. Victor, A., Mathew, B., Adekemi, O., (2016). Prevalence and antibiotic resistance of *Pasteurella multocida* isolated from chicken in Ado–Ekiti metropolis. *Int J Sci World* 27:40–2
37. Xiao, K., Liu, Q., Liu, XH., (2015). Identification of the avian *Pasteurella multocida* pho P gene and evaluation of the effects of pho P deletion on virulence and immunogenicity. *Int J Mol Sci* 7:12.