عزل وتوصيف المسبب المرضي لكوليرا الدجاج في العراق وتحضير لقاحات ضد المرض

1- عزل المسبب المرضي لكوليرا الدجاج ودراسة صفاته .

حاتم مجيد مهنا* أثير كامل كسّاب* إسماعيل كاظم شبر**

* جامعة بغداد / كلية الطب البيطري / فرع الامراض والدواجن.

** منظمة الطاقة الذرية العراقية / دائرة البحوث الزراعية والبايولوجية. ص.ب 765 بغداد.

أمكن الحصول على سبعة عشرة عزلة باستوريلا ملتوسيدا من دجاج بياض مخمج بمرض كوليرا الدجاج . ثلاث من هذه العزلات كانت من أخماج مزمنة و14 كانت من اخماج حادة. درست صفات هذه العزلات ووجد إن 15 منها تعود إلى تحت النوع ملتوسيدا واثنان إلى كاليسيدا . كما لوحظ إن 10 عزلات تعود إلى العزلة SE-190 وعزلة واحدة تعود إلى SE-077 أما البقية فلم تشخص. واحتوت 12 من هذه العزلات على محفظة. وعند إجراء اختبار الجرعة المميتة لنصف عدد الحيوانات LD_{50} كانت الجرع متفاوتة. كما اظهر اختبار الحساسية للمضادات الجرثومية إن جميع العزلات مقاومة للينكومايسين وحساسة للبنسلين وتتفاوت في حساسيتها بالنسبة لبقية المضادات الجرثومية وبمدى متفاوت من التركيز المثبط الأدنى.

Isolation and identification of the causative agent of fowl cholera in Iraq and preparation of vaccines against the disease

1- Isolation of the causative agent of fowl cholera and study of it's properties.

Hatem M .Mhanam* Ather K. Kassab* Esmail K. Shubber**

It was possible to obtain 17 isolates of *Pasteurella multocida* from infected laying chickens with fowl cholera. Three isolates were from the chronic phases of the naturally infected chickens and other fourteen were from the acute phases. The identification of these isolates was considered. Fifteen isolates belong to the sub species multocida and two isolates to gallicida, ten isolates belong to the SE-190 isolate and one to SE-077, while six isolates were not identified. Twelve of the isolates have a capsule. The LD_{50}s of these isolates were varied. The results of sensitivity to antibacterial drugs revieled that all isolates were sensitive to Penicillin and resistance to Lincomycin with various degrees of sensitivity to other antibacterial drugs.

المقدمة

مرض كوليرا الدجاج Fowl cholera من الامراض المكتشفة قديماً والواسعة الانتشار. يصيب المرض عدداً غير قليل من المضائف شاملاً تقريباً جميع انواع الطيور[1] .

ينتشر هذا المرض في مناطق واسعة من العالم ويكثر الخمج به في المناطق الحارة وتكون اعلى نسبة للخمج في فصل الصيف [2] اذ تعد الطيور الحاملة والاماكن المتوطنة من المصادر المهمة لانتشار المرض. تساهم الطيور المهاجرة في نقل المرض من منطقة الى اخرى[3]. ومن مراقبة الحالات يمكن القول بانه يخمج كل انواع الطيور والاقل مقاومة مؤدياً الى هلاكات عالية ولوحظ ان جميع الاعمار في الدجاج الرومي لها استعداد للخمج وان الاعمار الناضجة هي الاكثر استعداداً للخمج [4] حيث يتصف المرض بطورين. الطور الحاد والذي يؤدي الى هلاكات عالية وبصورة مفاجئة والطور المزمن والذي يتموضع فيه الخمج بمناطق محددة من الجسم [5] . تعد الارانب والفئران من الحيوانات عالية الاستعداد للخمج التجريبي والطبيعي [6] . يتسبب المرض عن جراثيم الباستوريلا ملتوسيدا *Pasteurella multocida* وهي من الجراثيم السالبة لصبغة كرام صغيرة الحجم وغير متحركة وغير منتجة للابواغ [7]. معظم العزلات الضارية تحوي محفظة لا سيما في العزل الاولي المباشر من الطيور المريضة او الهالكة و تفقدها في حالة تكرار الزرع على الاوساط الزرعية المختبرية [8].

تم تقسيم عزلات هذه الجراثيم الى اربع مجاميع مصلية Serogroups وهي A,B,D,E وحديثاً اضيف النوع الخامس F واعتماداً على متعدد السكريد المحفظي الذائب Soluble capsular polysaccharide وباختبار التلازن الدموي غير المباشر Indirect slide agglutination test [9].

في عام 1972 قسم Heddleston وجماعته [10] الانماط المصلية الى ستة عشر نمطاً مصلياً Serotypes باستخدام اختبار الانتشار المناعي في هلامة الاكار وباعتماد المستضد الثابت للحرارة Heat stable antigen . ظهرت في العراق ولا سيما في السنوات الاخيرة العديد من الثورات المرضية والتي تشير الى كون الحالة هي كوليرا الدجاج والتي ادت الى خسائر اقتصادية كبيرة مما دفع الى دراسة هذا المرض وعزل المسبب ودراسة اهم صفاته.

المواد وطرائق العمل

- **عزل وتوصيف المسبب المرضي**

جمعت النماذج المرضية للعزل الجرثومي من الطيور المخمجة والهالكة بعد التشخيص الاولى المعتمد على تاريخ الحالة والعلامات السريرية والافات العيانية وقد جمعت العينات من 37 حقلاً للدجاج البياض اذ تم الزرع الجرثومي من اعضاء مختلفة من الجسم و زرعت اولاً على وسط مرق نقيع القلب والدماغ ثم حضنت بالحاضنة بدرجة 37ºم لمدة 24 ساعة بعدها زرعت على اوساط اكار الدم واكار مكونكي واكار دكستروز النشأ المضاف اليه مصل دم الدجاج بنسبة 5% وحضنت بالحاضنة بدرجة 37ºم لمدة 24–48 ساعة. وكما تم الزرع على الوسط الانتقائي السائل PMSB والصلب PMSA المحضر من قبل Moore وجماعته(1994)(11).

تم حقن جزء من المرق المزروع في الفئران داخل البريتون و مراقبة الفئران الى حين موتها واعادة عزلها من دم القلب. بعد ظهور المستعمرات ودراسة اشكالها تم اخذ احدى المستعمرات المختارة والتي يجب ان تكون منفردة ومعزولة وصبغها بالصبغات كرام ، المثلين الزرقاء، رايت، المحفظة، البوغ مع اجراء اختبار الحركة. وبعد دراسة الصفات الشكلية للجراثيم اجريت الختبارات الكيمياحياتية كما وتمت معاملة العزلات بنظام api-20-E

- **دراسة صفات العزلات الجرثومية**

تحديد الانماط تحت النوع

تم تحديد الانماط تحت النوع اعتماداً على تخمر بعض السكريات وكما في الجدول (1)

الجدول (1) الاختبارات المعتمدة لتحديد الانماط تحت النوع للباستوريلا ملتوسيدا

الاختبار	Multocida	Septica	Gallicida
تخمر التريهالوز Trehalos	V	+	-
تخمر الزايلوز D-xylose	V	+	+
تخمر الارابينوز L-Arabinose	−	−	V
تخمر السوربيتول Sorbitol	+	−	+
تخمر الدولسيتول Dulcitol	-	-	+

V = متغير Variable

تحديد العزلة

استخدم اختبار الانتشار المناعي في هلامة الاكار لمعرفة تفاعل العزلات مع الامصال القياسية للعزلتين SE-190 و SE-077 .

الجرعة القاتلة لنصف عدد الحيوانات (LD_{50}) Lethal dose $_{50}$

اجري هذا الاختبار حسب طريقة Reed and Muench (1938) [12] وكما يلي:

تم اختيار أكثر العزلات ضراوة لغرض التحدي وتم حساب LD_{50} على الدجاج بعمر 16 أسبوعاً .

اختبار الحساسية للمضادات الجرثومية

أجرى هذا الاختبار حسب طريقة Kirby - Bauer (1966) والمستلة من Philip E.S(1997) [13] .

تقدير التركيز المثبط الأدنى

تم قياس التركيز المثبط الأدنى للمضادات المستخدمة حسب طريقة Stock and Ridgway (1987) [14]

النتائج

العزلات والمواقع التي تم العزل منها

تم عزل سبع عشرة عزلة باستوريلا ملتوسيدا *P. multocida* المسببة لمرض الكوليرا في الدجاج موزعة على سبعة وثلاثين حقلاً في أطراف محافظات بغداد وصلاح الدين و ديالى وكما موضح في الجدول (2).

أظهرت العزلات نمواً جيداً على الأوساط المغذية الغنية وعلى الوسط الانتقائي بعد حضنها لمدة 24–48 ساعة بدرجة 37ºم و نمت المستعمرات نمواً جيداً على وسط اكار الدم وكانت المستعمرات صغيرة الى متوسطة الحجم ذات لون شفاف مائل الى الرمادي او الاخضر الفاتح. واحياناً أظهرت المستعمرات قواماً لزجاً مخاطياً ولم تظهر أي تحلل دمي.

أعطى وسط اكار الدكستروز – النشا المضاف إليه مصل دم الدجاج بنسبة 5% شكلاً واضحاً للمستعمرات. كما و نمت العزلات في الوسط الانتقائي السائل نمو ذو عتامة . أما في الوسط الانتقائي الصلب كانت المستعمرات سوداء اللون صغيرة الحجم دائرية الشكل ذات حواف منتظمة مرتفعة قليلاً عن السطح . و لم تظهر العزلات أي نمو على اكار المكونكي.

أظهرت المسحات الجرثومية التي تم تحضيرها من العزلات الصفات الشكلية لهذه الجراثيم والتي كانت على الأغلب عصوية الشكل أو عصوية كروية وأحياناً تأخذ أشكال أخرى . صغيرة الحجم وتكون بشكل مفرد أو مزدوج وأحياناً على شكل سلاسل تركزت الصبغة على أطراف الخلية الجرثومية عند الصبغ مما أضفى عليها صفة ثنائية القطب biopolarity . أما عند صبغها بصبغة المحفظة أظهرت نتائج هذه الصبغة إن إحدى عشر عزلة كانت تحتوي على محفظة وجميعها من عزلات الطور الحادة.

الجدول (2) المحافظات التي تم منها عزل الجرثومة وطور المرض والعضو الذي عزل منه

العزلة	المحافظة	طور المرض	العضو
1	بغداد	المزمن	الوجه
2	بغداد	المزمن	الوجه
3	بغداد	المزمن	الدلايات
4	بغداد	الحاد	نقي العظم
5	بغداد	الحاد	نقي العظم
6	بغداد	الحاد	نقي العظم
7	بغداد	الحاد	نقي العظم
8	بغداد	الحاد	نقي العظم
9	بغداد	الحاد	نقي العظم
10	بغداد	الحاد	نقي العظم
11	بغداد	الحاد	نقي العظم
12	صلاح الدين	الحاد	نقي العظم
13	صلاح الدين	الحاد	نقي العظم
14	صلاح الدين	الحاد	نقي العظم
15	صلاح الدين	الحاد	نقي العظم
16	ديالى	الحاد	نقي العظم
17	ديالى	الحاد	نقي العظم

الاختبارات الكيموحيوية

نتائج الاختبارات الكيموحيوية والمعتمدة في تشخيص الباستوريلا ملتوسيدا وتفريقها عن بقية الانواع اظهرت العزلات نتائج ايجابية لاختباري الكاتيليز والاوكسيديز والاندول، وكانت مخمرة لسكريات الكلوكوز والسكروز والمانيتول وموجبة لاختبار النايترات ومنتجة للـ H_2S وكانت 15 عزلة موجبة لاختبار الاورنيثين ديكاربوكسيليز في حين كانت سالبة لاختبار تميع الجيلاتين واليوريز واللاكتوز والمالتوز ولاختبار المثيل الاحمر / الفوكس بروسكاور MR/VP .

وكان لنتائج اختبار نظام api-20-E تشابه تقريبي للاختبارات الموصى بها في المصادر المعتمدة بأستثناء سكريات الاورنيثين ديكاربوكسيليز والسوربيتول والارابينوز واحياناً الاينوسيتول اذ اظهرت بعض الاختلاف في التخمر.

تحديد الانماط تحت النوع

بينت نتائج هذا الاختبار ان 15 من العزلات كانت تعود الى تحت النوع ملتوسيدا واثنتين الى تحت النوع كاليسيدا ولم تكن هناك أي واحدة تعود الى تحت النوع سيبتكا.

تحديد العزلة

اظهر اختبار الانتشار المناعي في هلامة الاكار للعزلات الحقلية مع الامصال القياسية لعزلات SE-190 و ES-077 ان عشر عزلات اظهرت تفاعل موجب في المصل القياسي للعزلة SE-190 وواحدة فقط مع SE-077 ولم تظهر بقية العزلات أي تفاعل ايجابي مع هذه الامصال.

الجرعة القاتلة لنصف العدد في الحيوانات

يظهر من الجدول (3) وجود تفاوت بين العزلات في الجرعة القاتلة لنصف العدد من الفئران اذ كانت اقل جرعة هي 1.4×10^{6} للعزلة رقم 15 واعلاها 1.2×10^{7} للعزلة رقم 3. وقد بدأ الهلاك بزمن مبكر وبعد حوالي ستة ساعات من الحقن.

وتم دراسة الجرعة القاتلة لنصف العدد للعزلة رقم 15 في الطيور لغرض استخدامها في التحدي وكانت جرعتها في الطيور 57×10^{9}.

الجدول (3) تحديد وجود المحفظة والجرعة القاتلة لنصف العدد من الفئران للعزلات الجرثومية.

العزلة	وجود المحفظة	LD_{50}
1	–	10×0.9^{7}
2	–	10×1^{7}
3	–	10×1.2^{7}
4	–	10×9.0^{6}
5	+	10×3.7^{6}
6	+	10×3.5^{6}
7	+	10×3.1^{6}
8	+	10×2.8^{6}
9	–	10×4^{6}
10	+	10×3.5^{6}
11	–	10×7.0^{6}
12	+	10×2.5^{6}
13	+	10×2.3^{6}
14	+	10×2.1^{6}
15	+	10×1.4^{6}
16	+	10×1.8^{6}
17	+	10×3^{6}

اختبار الحساسية للمضادات الجرثومية والتركيز المثبط الادنى

يشير الجدول (4) الى نتائج اختبار الحساسية للمضادات الجرثومية. اذ اظهرت نتائج هذا الاختبار ان جميع العزلات حساسة للبنسلين اما حساسيتها لبقية المضادات الجرثومية فتتفاوت من مضاد الى آخر.

اختبار التركيز المثبط الادنى

تشير نتائج هذا الاختبار الى اقل تركيز من المضاد الجرثومي يمنع من حدوث نمو للعزلات الجرثومية وكما موضح في الجدول (4). فقد كان هذا المدى للبنسلين 0.3–40 وحدة دولية لكل مل. اما

المديات لبقية المضادات الجرثومية فتقاس بالمايكروغرام / مل وكانت كما اشار اليها الجدول بمديات مختلفة اعتماداً على نوع المضاد .

جدول (4) نتائج اختبار الحساسية للمضادات الجرثومية والتركيز المثبط الادنى للعزلات الجرثومية.

المضاد الجرثومي	عدد العزلات			التركيز المثبط الادنى*
	حساس	وسط	مقاوم	
انروفلوكساسين	11	3	3	19-0.1
كلورمفينكول	13	2	2	9.6-1.2
سلفوناميد	11	3	3	4.8-0.6
سلفا + ترايميثوبريم	14	3	0	2.4-0.2
ترايميثوبريم	9	4	4	8.4-0.6
ستربتومايسين	11	6	0	2.4-0.1
بنسلين ج	17	0	0	40-0.3
نيومايسين	2	5	10	38.4-1.2
اريثرومايسين	1	6	10	9.6-1.2
لينكومايسين	0	0	17	153-4.8
امبيسيلين	9	6	2	2.4-0.6
اموكسيسلين	9	4	4	76.8-0.6
تيتراسايكلين	10	4	3	27.0-0.29
جنتامايسين	4	5	8	153-2.4

*** الوحدات - بنسلين ج - وحدة دولية / مل.**

- بقية المضادات - µg/ مل.

المناقشة

اوضحت نتائج العزل انه امكن عزل سبع عشرة عزلة للباستوريلا ملتوسيدا من حالات مرضية حادة ومزمنة حيث عزلت في الحالات المزمنة من الوجه والدلايات، حيث يتمركز الخمج في هذه الاماكن في الحالات المزمنة وتكون محاطة بنضحة تجبنية [5]. اما في الحالات الحادة فامكن العزل من عدة

اعضاء من الجسم وقد اعطى نقي العظم اكثر العزلات نقاوة منسجماً مع ما اشار اليه (Ahmed and Rasool,1990)[15] وتم العزل من محافظات بغداد وصلاح الدين وديالى والتي تشهد تربية مكثفة لدجاج البيض والامهات والقريبة من منطقة العمل.

عند زرع العزلات الجرثومية على الاوساط الزرعية نمت بشكل جيد على مرق نقيع القلب والدماغ وعلى وسط اكار الدم واكار الدكستروز والنشأ المضاف اليه مصل دم الدجاج بتركيز 5% وهذا الوسط اعطى للمستعمرات شكلها المميز، اذ نمت العزلات على اكار الدم بدون حدوث تحلل دموي حول المستعمرات. ولم تنمو هذه العزلات على اكار المكونكي لاحتوائه على مادة الصفراء التي تعيق نمو جراثيم الباستوريلا ملتوسيدا[9]. ان نمو جراثيم الباستوريلا ملتوسيدا على هذه الاوساط ونموها على الوسط الانتقائي واشكال مستعمراتها يعد من الامور التشخيصة المهمة في العزل والتشخيص [16].

اما عند الصبغ بصبغة المحفظة فلوحظ ان معظم العزلات و لاسيما المعزولة من الحالات الحادة تحوي محفظة ويعود ذلك لكون المحفظة احد اهم عوامل الضراوة والتي تساهم في حدوث الحالات الحادة من اخماج كوليرا الدجاج [17]. لقد استخدمت الاختبارات الكيموحيوية لغرض تأكيد تشخيص الباستوريلا ملتوسيدا وتفريقها عن بقية انواع الباستوريلا الطيرية وقد اكدت نتائج هذه الاختبارات على تشخيص العزلات كونها باستوريلا ملتوسيدا، كما اظهرت نتائج نظام api-20-E تشابه في معظم الاختبارات مع نتائج اختبارات النظام التقليدي السابق منسجماً مع ما اشار اليه Collins وجماعته (1981)[18].

اظهرت نتائج اختبارات تحديد الانماط تحت النوع ان معظم العزلات تعود الى تحت النوع ملتوسيدا وهذا النوع هو اكثر الانواع التي عزلت من حالات كوليرا الدجاج في مناطق مختلفة في العالم [9] ويبدو هو الغالب في العراق حسب ظروف هذه الدراسة.

كما وتشير الدراسة الى ان 10 عزلات من العزلات السبع عشرة كانت من نوع SE-190 في حين كانت واحدة فقط من نوع SE-077 مما يشير الى كثرة انتشار العزلة الاولى في المناطق التي تم العزل منها وقد يكون السبب هو التربية المكثفة في هذه المناطق مما يساعد على انتشار المسبب المرضي نفسه في القطعان القريبة حيث ينتشر المرض في المناطق كثيفة التربية بصورة اسرع [19] .

ان دراسة الجرعة القاتلة لنصف العدد من الحيوانات اوضحت وجود تفاوت واضح بين العزلات ويعود هذا التفاوت بصورة رئيسية الى اختلاف ضراوة هذه العزلات فكلما زادت الضراوة قلت الجرعة اللازمة لقتل نصف العدد من الحيوانات [20]. وقد يرجع هذا التباين في ضراوة العزلات الى احتواء قسم من هذه العزلات للمحفظة فضلاً عن قدرة قسم من هذه العزلات على انتاج بعض البروتينات والسموم والتي تساهم في زيادة ضراوة هذه العزلات [21] .

اشارت دراسة حساسية هذه العزلات للمضادات الجرثومية الى كون جميع العزلات حساسة للبنسلين وهذا من الامور المميزة لجراثيم الباستوريلا ملتوسيدا عن بقية الجراثيم السالبة لصبغة كرام[9]. في حين تتفاوت حساسيتها لبقية المضادات ويأتي هذا التفاوت نتيجة العديد من العوامل منها قلة او كثرة استخدام المضاد. اذ ان قلة استخدام المضاد الجرثومي يجعل من الجراثيم حساسة له [22].

اما نتائج التركيز المثبط الادنى فيتفاوت من مضاد الى آخر ويأتي هذا التفاوت متناسباً مع عدد العزلات الحساسة والمقاومة ففي حالة كون جميع العزلات حساسة يكون المدى قليل كما في البنسلين اما في حالة كون جميع العزلات مقاومة او وجود عدد من العزلات المقاومة يكون المدى اكبر كما في اللينكوسين وهذا يتفق مع ما اشار اليه [23] .

References

1. Micheal D.; Samuel, J.Y.; Takekawa, G.S. and Goldberg , D.R. (1999). Avian cholera mortality in lesser snow geese nesting on banks island, northwest territories. Wildlife society bulletin. 27(3): 780-787.
2. Madison, W. (2000). Wetland, Waterfowl and avian cholera outbreaks. National wild life heath center:1-3.
3. Michael, P.M. and Oscar J.F.(1988). Diagnostic summary of 1986 turkey broiler breeder and layer necropsy cases at the university of Georgia. Av. Dis. 32:391-403.
4. Jeffery, J.S.; Shivaprased, H.L.; Duran, L.; Cardona, C.J. and charlton, B.R. (1993). Facial cellulitis associated with fowl cholera in commercial turkeys flocks in 1986. Av. Dis. 32:404-405.
5. Chakrabarti, A. (1999). Fowl cholera. In: Practice of poultry medicine 1st ed.: 52- 57.
6. Collins, F.M.(1987).Growth of Pasteurella multocida in vaccinated and normal mice infection and immunity.8(6):868-875.
7. Douglas, J. S. (1998). Parvobacteria In: Notes in medical bacteriology 5th ed. edited by Moray and Timbury: 91-101.
8. Fegan, N.; Blackall, P.J. and Pahoff, J.L.(1995). Phenotypic characterization of Pasteurella multocida isolates from Australian poultry. Vet. Microb. 47:281-286
9. Holt, J.C.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.; Stalely, J.T. and Williams, S.T. (1994). Pasteurella In: Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th edited by William and Wilkins: 550 - 558.
10. Heddeleston, K.L.; Challagher, J.E. and Ribers, P.A. (1972). Fowl cholera: gel diffusion precipitin test for serotyping Pasteurella multocida from avian species. Av. Dis.. 16 (4): 225-236.

11. Moore, M.K.; Chubbs, L.C. and Gates, R.J. (1994). A new selective enrichment procedure for isolating Pasteurella multocida from avian and environmental samples. Av. Dis. 38:314-324.
12. Reed, L. J. and Muench, H. (1938). A simple method for estimation fifty percent end points. Am. J. Hyg. 27:493-497.
13. Philip, E.S. (1997) Kirbey- Bauer In: Investigation microbiology. A Laboratory manual for general microbiology, 1st ed. Edited by Philip, E.S. :243.
14. Stocks, E.J. and Ridgway, G.L. (1987). Handling clincal specimens for microbiological studies. 5th ed. :173-201.
15. Ahmed, W.A and Rasool, H.S.(1990).Isolation and identification of Pasteurella multocida: causative agent of fowl cholera in poultry farms in Iraq. The second conference of foundation of technique Institutes.77-91.
16. Holmes, B.(1998). Actinobacillus, Pasteurella and Eikenella in : Topley and Wilson's Microbiology 9^{th} ed. Edited by collser, L., Balows, A. and Sussman, M.: 2. 1199-2-1203.
17. Diallo, I.S and Frost, A.J. (2000). Characteristics of a haemolytic extract from avian Pasteurella multocida , Vet. Microb. 72:37-45.
18. Collins, M.T.; Weaver, N. and Ellis, R.P(1981). Identification of Pasteurella multocida and Pasteurella haemolytica by APi20E, Minitek, and oxi/Ferm systems. J. of. Clinc. Microb.13(3):433-437.
19. Rimler, R.B. and Glisson, J.R.(1997) .Fowl cholera .In: Disease of poultry 10^{th} ed Edited by Calnek, B.W.; Barnes, H.J.; Beard, C.W.; Mcdougald, L.R. and Saif, Y.M. :143-160.
20. Hussein,A.A.; Chandrasekaran,S.; Ong G.H.; Aminahkadariah, L.; Harizam, M.Y.; Yeab, P.C. (1996) Infection with Pasteruella multocida and an a viriant veterniry association Malaysia scientific congress: 68-70.
21. Truscott, W.M. and Hirsh, D.C.(1988).Demonstration of an outer membrane protein with antiphagocytic activity from Pasteurella multocida of avian origin. Infect. and Immun. 56(6) 1538-1544.
22. Foryman, R.(1999). Antimicrobial Medication in domestic poultry In: Poultry diseases, 4th ed edited by Jordan, C.T.W. and Paterson M.:484-495.
23. Atlas, R.M. (1995). Control of Microbiology In: Principles of Microbiology 1st ed. : 364-366.