عزل وتشخيص جرثومة *pasteurella multocida* من الاغنام والماعز

سراب سلمان كاظم*، ضحى سعد صالح، اسماعيل كاظم شبر**

*وزارة العلوم والتكنلوجيا

** قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة بغداد. بغداد – العراق

الخلاصة

جمعت 185 عينة من الحيوانات الحقلية (اغنام وماعز) سليمة ، واخرى تعاني من اعراض تنفسية، للفترة من تشرين الاول 2003 لغاية شهر اذار 2004، ومن مناطق مختلفة في مدينة بغداد (حقول الوردية في منطقة التويثة 65 نموذج ، منطقة جسر ديالى 25 نموذج، الرياض 27 نموذج وابو غريب 68 نموذج) والعينات كانت عبارة عن مسحات انفية، وعينات دم ، كذلك رئات مصابة.

تمت دراسة الصفات الشكلية للجرثومة المعزولة ، واشكال المستعمرات للعزلات الجرثومية ودراست الصفات الكيموحيوية واستخدام ايضاً نظام api-l 20E لتأكيد تشخيص الجرثومة. كذلك اختبرت مقاومة عزلات بكتريا *P. multocida* مع (12) مضاد حيوي مختلف .

وقد تمكنا من عزل الجرثومة من التجويف الانفي للحيوانات السليمة والمصابة باعراض تنفسية وتم الحصول على (11) عزلة من بكتريا *Pasteurella multocida* من حيوانات سليمة وحيوانات مصابة باعراض تنفسية، وعزلة واحدة كان مصدرها رئه حيوان مصاب بينما لم تعزل البكتريا من نماذج الدم، وكانت نسبة العزل الاجمالية (7.6%) من الاغنام، ونحو (3%) من الماعز من المجموع الكلي للعينات. وقد اظهرت جميع العزلات قيد الدراسة حساسيتها للبنسلين والكلور مفنيكول، وجاءت بقية المضادات وهي السيفالوثين Cephalothin والاميكاسين Amigacin، والاموكسلين Amoxicillin، والامبسلين Impicilin ، والتتراسايكلين Tetracycline ، وثم الترايمثيريم Trimetheprium بعد ذلك على التوالي في تأثيرها على العزلات اذ كانت معظم العزلات حساسه لها وبنسب متفاوته. وقد بينت الدراسة وجود تفاوت في نسب المقاومة لكل من مضاد الجنتامسين Genetamicin والستربتومايسين Streptomycin واللنكومايسين Lincoamycin .

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *Pasteurella multocida* From Farm Animals .

Abstract

This study was carried out for isolation of Pasteurella multocida from sheep and goat and identification by using biochemical and morphological characterization. On hundred eighty five samples included (nasal swabs blood and infected lungs) from animals with respiratory infection ,and from normal animals, were collected for this purpose. Twelve isolates of *P.multocida* were identified by using biochemical and morphological characterization total isolation was (7.6%) from sheep, and (3%) from goats .All isolates are susceptible for penicillin and chlormphenical , while

other antibiotic like Cephalothin, Amigacin, Amoxicillin, Impicilin, Tetracycline,and Trimetheprium, show a different level of susceptibility consequently as well as this study shows that there are a different level of resistant for Gentamicin,Streptomycin,and Lincomycin. Gentamicin,Streptomycin,and Lincomycin.

المقدمة

جراثيم *P. multocida* من الجراثيم واسعة الانتشار في العالم تعود الى عائلة Pasteurellacea من جنس *Pasteurella*، اذ يحتوي هذا الجنس على (16) نوعاً وهي جراثيم صغيرة الحجم ذات شكل عصوي بيضي او بيضي كروي (Coccabacilli) ، تترتب خلاياها بشكل مفرد او ازواج، واحيانا تنتظم بشكل سلاسل قصيرة [1] ، قطر الجرثومة يتراوح 0.2-2.5 مايكرومتر، سالبة لصبغة غرام، غير متحركة، وغير منتجة للابواغ، تتميز بوجود ظاهرة (bipolarity) عند صبغ الشرائح بصبغة كمزا Gemza stain، او صبغة رايت Right stain وصبغة المثلين الازرق Methylin Blue stain معظم الجراثيم المعزولة حديثاً تحتوي على المحفظة Capsule، وعند تكرار زرعها على الاوساط الزرعية سرعان ما تفقد المحفظة[1] جراثيم الـ*P. multocida* من الانواع الهوائية واللاهوائية اختيارية Facultative anaerobic ، تنمو الجرثومة بصورة جيدة على وسط اغار الدم، ولا تحدث أي نوع من التحلل الدموي يرافق بعض مستعمراتها اخضرار قليل، تكون ذات رائحة مميزة تشبه رائحة الفاكهه المتعفنة (Sweetish odor) وإنها لاتنمو على وسط اغار الماكونكي ومنتجة للاندول [2 ,1].

جرثومة أل *pasteurella* معروفة بأهميتها الاقتصادية لما تسببه من امراض للانسان والحيوانات والطيور، واهم نوعين بالنسبة لاحداث المرض هما *P. haemolytica*, *P. multocida* ففي الابقار والجاموس تسبب بكتريا *P. multocida* النوع المصلي E,B مرض عفونة الدم النزفية (Hemorrhagic Septicemia) [3] ، أما النوع المصلي A فيعد المسبب المرضي لمرض حمى النقل (Shipping fever) والتهاب الضرع الشديد (Mastitis) في الابقار والجاموس[4]. تسبب جرثومة *P. multocida* حالات مرضية عديدة في الاغنام والماعز في معظم بلدان العالم وبأعمار مختلفة، تسبب الجرثومة مرض حمى النقل (Shipping fever) في الاغنام وذات الرئة (Enzootic pneumonia) في الاغنام والماعز [5] . وفي دراسة حول مرض التهاب الرئة في اغنام العراق وجد ان المسبب الرئيسي لها هي جرثومة *P. multocida* قياساً مع ما في بلدان العالم فأن *P. haemolytica* غالباً ما تسبب احداث هذا المرض [6,7]وتسبب الجرثومة مرض كوليرا الدواجن (Fowl cholera) في الدجاج والدجاج الرومي [8,9]أما الإصابة في الإنسان تحدث نتيجة للتعرض لعضات الكلاب وخدش القطط او انتقال الجرثومة عن طريق التماس مع حيوانات الحقل المصابة[10,11].

طرائق العمل

تم جمع 185 عينة من الحيوانات السليمة والحيوانات التي تعاني من اعراض تنفسية، جرى التعامل مع المسحات الانفية ونماذج الدم بزرعها مباشرة على وسط نقيع القلب والدماغ (Brain Heart infusion agar) ووسط الاغار المغذي (Nutrient agar) . أما نماذج الرئة المصابة فوضعت في كيس أو طبق معقم وأشر عليها ونقلت الى المختبر (يجب ان تكون الفترة الزمنية لاتزيد عن اربعة ساعات) وزرعت زرعاً مباشراً، عن طريق حرق السطح الخارجي بالملوق الساخن (Spatula) ومن ثم قطعت باستعمال مقص وملقط معقمين، ثم أخذت قطعة صغيرة من الجزء الداخلي للرئه. بعد ذلك مسحت على الوسط الزرعي ويشمل كل من وسط آغار الدم بنسبة 7% من دم الابقار (مضافاً إلية مادة الهيبارين بنسبة 1%) ، وعلى وسط آغار الماكونكي . أما بالنسبه لنماذج الدم فتم سحبها من الوريد الوداجي، وزرعت بالمرق المغذي،ومرق نقيع القلب والدماغ مباشرة حيث يتم زرع حوالي 0.5 مل في انبوبة حاوية على 5-8 مل وسط زرعي. إن الفترة الزمنية لنقل النماذج من مصدرها لحين وصولها الى المختبر لا تزيد عن اربعة ساعات حضنت العينات بعد جمعها بدرجه (37)م لمدة 24 ساعة على الاوساط الزرعية المناسبة لكل نموذج، عزلت بعد الفحص المجهري الجراثيم الحاوية على عصيات كروية (سالبة لصبغة غرام والمستقطبة لصبغة المثلين الازرق)، بعدها زرعت على وسط آغار الدم، وآغار ماكونكي، ووسط البارستوريلا ملتوسيدا الانتقائي السائل (PMSB) (Pasteurella multocida selective broth) والصلب (PMSA) (Pasteurella

multocida selective agar) المحضر بحسب طريقة[12] ، وحضنت بدرجة 37م لمدة 24 – 48 ساعة.

درست أشكال المستعمرات النامية وخواصها على عدد من الأوساط الزرعية: وسط آغار الدم، وآغار الدكستروز والنشأ، ووسط الباستوريلا ملتوسيدا الانتخابي، ووسط آغار ماكونكي ، ثم أجريت عليها عدد من الاختبارات التشخيصية وهي على النحو الآتي:

- حضرت شرائح من المستعمرات النامية على وسط الباستوريلا ملتوسيدا الانتقائي الصلب (PMSA) وكذلك من الانسجه المصابه، صبغت مباشرة بصبغة غرام، والمثلين الازرق لملاحظة ظاهرة (Bipolarity) ، وصبغت أيضاً بصبغة المحفظة [13].

-أجريت عدة فحوصات كيموحيوية تفريقية على العزلات بحسب ما ذكر في[14]. وكما موضح في جدول رقم (2).

وقد تم استخدام العدة التشخيصية الخاصة بنظام api-20E لتأكيد تشخيص الجرثومة. اذ يحتوي هذا النظام على عشرين اختبارا كيموحيويا، ويستخدم لغرض تشخيص الجراثيم السالبة لصبغة غرام. يحوي الشريط على عشرين انبوبة صغيرة تحوي كل منها على المادة الاساس الخاصة بفحص كيموحيوي معين جربت إدامة العزلات بأعادة زرعها على وسط آغار نقيع القلب والدماغ المضاف اليه الدم بنسبة 5% مرة كل 10-15 يوماً ، ولإدامة فوعه (Virulence) الجرثومة جرى حقنها في الفئران مرة كل ثلاثة الى أربع أسابيع، وأعادة استنباتها من دم القلب المسحوب من الفأر عند أحتضار الحيوان أو موته.

أختبار الحساسية للمضادات الجرثومية Antibacterial sensitivity test

أُجري الأختبار بحسب طريقة Kirby- Bauer (1966) المأخوذة من [15].

1- زرعت الجراثيم على وسط نقيع القلب والدماغ، وحضنت لمدة 24 ساعة بدرجة 37م.

2- نشر 0.1 ملليتر من المزروع اعلاه بعد قياس عكرة النمو فيه مع محلول ثابت العكرة القياسي (ماكفرلاند)والذي يعطي عدداً تقريبياً للخلايا 1.5×10^6 في وسط مولر هنتون المضاف اليه الدم بنسبة 5% بواسطة الناشر وترك لمدة (10-15) دقيقه الى أن يجف .

3- إضافة أقراص المضادات الجرثومية الى الطبق وتثبيتها بحيث تكون هناك مسافات متساوية بين قرص وآخر، وحضنت بدرجة 37م لمدة 24 ساعه.

سجلت النتائج من خلال قراءة نطاق التثبيط حول القرص وموازنتها مع القراءات القياسيه بحسب ماورد في National Committee Laboratory Standards (NCLS)

النتائج والمناقشة Result and Discussion

العزل والتشخيص

اظهرت نتائج عزل البكتريا حسبما موضح في الجدول رقم (1) ما يأتي:-

إن أفضل نموذج لعزل هذه الجراثيم هي المسحات الانفية، وكان عدد النماذج الموجبة المعزولة من المسحات الانفية (11) من اصل (12) نموذجاً موجباً، وذلك لان الجرثومة تتمركز طبيعياً في المجاري التنفسية العليا للحيوانات وهذا يتفق مع ما ذكره الباحثون[10,14]

جدول (1): يوضح مصدر ونوع أعداد العينات الحيوانية التي تم جمعها.

مصدر العينة	نوع العينة	عدد العينات	عدد العزلات
اغنام سليمة	مسحات انفية	33	3
	عينات دم	4	0
اغنام مصابة	مسحات انفية	36	3
	عينات دم	4	0
	رئه مصابة	14	1
ماعز سليمة	مسحات انفية	34	2
	عينات دم	7	0
ماعز مصابه	مسحات انفية	44	3
	عينات دم	3	0
	رئة مصابة	6	0
المجموع		185	12

استخدم عدد من الأوساط الزرعية للزرع المبدئي للبكتريا، وقد نمت بصورة جيدة على اغار نقيع القلب والدماغ(شكل 1) ،

وعلى آغار الدم، وآغار الدكستروز والنشأ المضاف اليه مصل الاغنام بتركيز 5%، وهذا الوسط أعطى للمستعمرات شكلها المميز إذ نمت مستعمرات شفافه صغيرة الحجم تشبه قطرات الندى لماعه مائله الى اللون الابيض او الرمادي وتعد هذه الاوساط من الاوساط الغذائية الغنية التي تساعد على نمو الجراثيم. وقد استخدم الوسط الانتقائي للباستوريلا ملتوسيدا السائل والصلب (PMSA , PMSB) للعزل الاولي للبكتريا، وبعد حضانة (24-48) ساعة ظهرت المستعمرات على الوسط الصلب بشكل دائري صغير الحجم (0.5-2) ملليمتر منفردة ذات لون أسود متجانس، وذات حافات محددة مرتفعة قليلاً عن السطح .

يعد الوسط الانتقائي للباستوريلا ملتوسيدا (PMSM) من افضل الاوساط لعزل بكتريا *P . multocida* [12] ،اذ يحتوي هذا الوسط على تراكيز معينة من الجنتاميسين ومادة توليرات البوتاسيوم اذ تعد هذه المواد مثبطات جيدة لنمو جراثيم اخرى دون التأثير على نمو *P. multocida* ، كذلك ويحتوي الوسط على مضاد الفطريات النيستاتين، والذي منع التلوث الفطري. وعند نقل المستعمرات النامية على وسط (PMSA) الى آغار الدم نمت المستعمرات على هذا الوسط بدون حدوث تحلل دموي حول المستعمرات شكل (2)، وهذا يتفق مع ما لاحظه الباحثان[16] ،وظهرت المستعمرات صغيره الى متوسطة الحجم ذات حافات محددة، دائرية ملساء متقزحه تميل الى اللون الرمادي، وأعطت بعضها مستعمرات خشنة تميل الى البياض، وكانت تنبعث منها رائحة تشبة رائحة العفونة سيما في الاطباق المغلقه لمدة طويلة .

لم تنمُ عزلات *P. multocida* على آغار الماكونكي، لاحتوائه على مادة الصفراء التي تعيق نمو الجرثومة[2].

إنَّ نمو الجرثومة على هذه الأوساط وأشكال مستعمراتها تعد من الامور التشخيصية المهمة في العزل الجرثومي لجراثيم *P.multocida* [17].

الصفات الشكلية

عند تصبيغ المسحات الجرثومية بصبغة غرام، ظهرت بكتريا *P. multocida* بشكل عصيات كروية (coccobacilli) صغيرة الحجم سالبة لصبغة غرام ، وكانت اما بشكل مفرد ،أو مزدوج ،أو بشكل سلاسل قصيره ، غير مكونة للابواغ.

وعند صبغها بصبغة المثلين الزرقاء، لوحظ أصطباغ الاطراف بلون أغمق من وسط الجرثومة Bipolarity ،وهي من الصفات المميزة لجراثيم *Pasteurella*[10] . يعود السبب لهذة الظاهرة هو تمركز المواد السايتوبلازمية عند طرفي الخلية عند تثبيت الشرائح بالحرارة.

اما عند صبغ الشرائح المحضرة من الأنسجة المصابة أو المستعمرات المخاطية والملساء بصبغة المحفظة فلوحظ احتواء بعض العزلات عليها، ويعود ذلك لكون المحفظة أحدى أهم عوامل الضراوه والتي تساهم في حدوث الحالات الحادة [16,18]، ولم تلاحظ المحفظة في المزارع القديمة او عند استمرار نقلها من مزرعة الى أخرى، وهذا يتفق مع ما ذكره الباحثون [19].

الفحوصات الكيموحيوية

لقد استخدمت الاختبارات الكيموحيوية لغرض تأكيد جراثيم *P. multocida* والنتائج موضحة بالجدول رقم(2).

أظهرت عدم نمو البكتريا على وسط آغار الماكونكي، وهذة صفة تشخيصية مهمة تميزها عن النوع *haemolytica* التي تنمو على الوسط بشكل نقاط صغيرة [16].

وكانت العزلات جميعها قيد الدراسة منتجة للآندول أن أيجابية هذا الفحص تعد من الامور المهمة في تشخيص عزلات الجنس *Pasteurella* [1] وقد اظهرت نتائج فحص الاوكسيداز ان العزلات جميعها قيد الدراسة أعطت فحصاً ايجابياً وعند الفحص المباشر لهذا الاختبار اعطت العزلات نتيجة موجبة ايضاً ، متفقين بذلك مع [2].

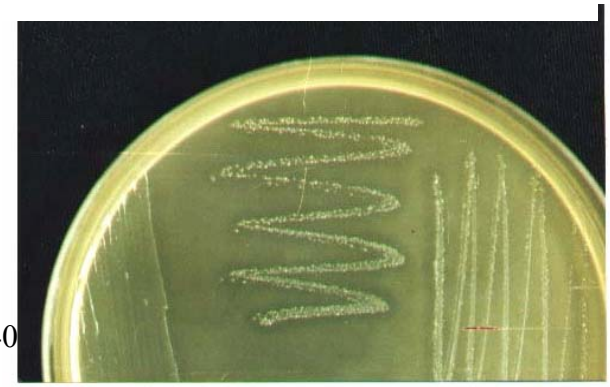
أما نتائج اختبار الكاتلاز واليورياز ، فأن العزلات جميعها أعطت فحصاً موجباً للكاتلاز، وعدم القدره على انتاج اليورياز ،وهذا يتفق مع الخصائص التصنيفية المهمة لنوع *P . multocida* [2, 1] واعتمادا على هذا الفحص أمكن تمييزها عن نوع *P. pneumotropica* إذ تكون الاخيرة موجبة لهذا التفاعل [20].

بينت نتائج تخمر السكريات ان معظم العزلات كانت مخمره لسكر الكلوكوز، والسكروز ، والمانيتول، وغير مخمرة للاكتوز، والمالتوز. وكانت موجبة لاختبار النايترات ومنتجه للـ H2Sوغير مميعة للجلاتين ، وبهذا أمكن تفريقها عن بقية انواع *Pasteurella* (*P. gallinerum* و *P.haemolytica*) وقد أكدت نتائج هذه الاختبارات على تشخيص العزلات كونها *P. multocida* مثلما أشار اليها[2] وقد جاءت نتائج نظام E

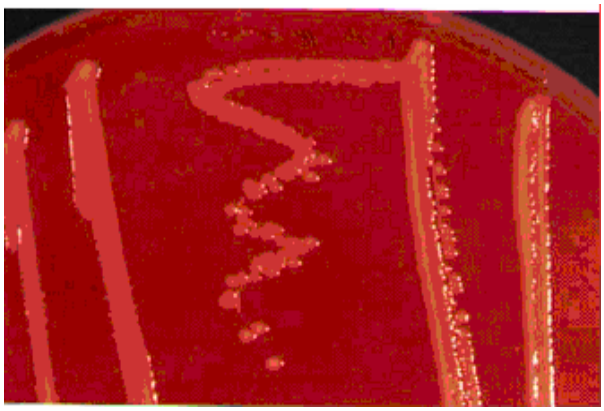
api 20 مشابه لنتائج اختبارات النظام التقليدي السابق، وقد أجري الفحص على خمس عزلات، وعند مقارنة نتائج هذا الفحص مع الدليل المرفق بهذه العده تبين أن العزلات البكتيرية جميعها التي خضعت للفحص كانت *P. multocida* ، وقد أعطت نتيجة موجبة مشتركة لكل من الاختبارات SAC, (ND) SOR, MAN, في حين اظهرت نتيجة سالبة للاختبارات (AMY, MEL, RHA, ONP, GEL, UP, TDA, URE, H2S, CIT, ODC, LDC, ADH, DNPG) مقارنة مع السيطرة السالبة المتمثلة بالشريط غير المزروع.

جدول (2): الصفات الكيموحيوية التفريقية للعزلات الجرثومية لـ *P. multocida*

الفحوصات الكيموحيوية	عدد العزلات الموجبة	عدد العزلات السالبة	عدد العزلات التي اعطت نتيجة مغايره
- النمو على وسط آغار الماكونكي	0	12	0
- انتاج الاندول	12	0	0
- انتاج اليورياز	0	12	0
- انتاج الاوكسيداز	12	0	0
- انتاج الكاتاليز	12	0	0
- التحلل الدموي نوع B	0	12	0
- تخمر الكلوكوز	10	1	1
- تخمر السكروز	11	0	1
- تخمر المانيتول	8	0	4
- تخمر اللاكتوز	0	12	0
- تخمر المالتوز	0	12	0
- اختبار النايترات	12	0	0
- انتاج H2S	11	0	1
- تمييع الجيلاتين	0	12	0



شكل (1) : مستعمرات بكتيريا *P. multocida* منماة على وسط نقيع القلب والدماغ تبدو المستعمرات شفافه مائله الى اللون الابيض صغيره دائرية الشكل.



شكل (2) : مستعمرات بكتيريا *P. multocida* منماة على وسط اغار الدم دون حدوث أي تحلل دموي

أختبار الحساسية للمضادات الجرثومية :

اختبرت مقاومة عزلات بكتريا *Pasteurella multocida* مع (12) مضاد حيوي مختلف (شكل 3) ، ويشير الجدول (3) الى نتائج اختبار الحساسية للمضادات الجرثومية إذ أظهرت أن العزلات جميعها حساسه للبنسلين Penicillin وهذه من الامور المميزة لجراثيم *P.multmocida* عن بقية الجراثيم السالبة لصبغة غرام [10,1,21] ويعتبر البنسلين العلاج المناسب لاصابات هذه البكتريا [10,22] مثلما أظهرت العزلات قيد الدراسة حساسيتها للكلورمفنيكول متفقين مع [23]، لقد منع استيراد هذا المضاد واستخدامه في العلاج محلياً نتيجه لتأثيراته السمية [24] ،وأن قلة استخدام المضاد يجعل الجراثيم حساسه له [17] . وجاءت بقية المضادات وهي السيفالوثين Cephalothin والاميكاسين Amigacin والاموكسلين Amoxicillin والامبسلين Ampicillin والتتراسايكلين Tetracycline ثم الترايمثبريم Trimetheprium بعد ذلك على التوالي في تأثيرها في العزلات إذ كانت معظم العزلات حساسه لها وبنسب متفاوته، وهذا يتفق مع ماتوصل اليه كل من [25,26,27,10] أما فيما يخص نتائج مقاومة العزلات للمضادات فقد بينت الدراسة وجود تفاوت في نسب المقاومة إذ جاءت فعالية مضاد الجنتامسين Gentamicin بعد كل من مضادي الستربتومايسين

Streptomycin ، ثـم اللنكومايـسين وبنـسبة (58.3% ، 83.3% ، 91.6%) على التوالي، جاءت هذة النتيجة مقاربة لما توصل اليه الباحثون[28,21,29].

أن الاستعمال العشوائي للمضادات الحيوية ادى الى ظهور حالات المقاومة لها وعدم الاستجابه للعلاج [30,8] كذلك امتلاك بعض سلالات *P.multocida* لأنزيم البيتالاكتماز (Beta Lactams) [23] ، ومن الجدير بالذكر ان مقاومة جراثيم *P. multocida* للمضادات الحيوية هو أحتوائها بلازميدات نوع R-plasmid (R) [31,21] .

a Lincoamycin	g Chloramphenicol
b Pencillin 30	h Streptomycin
c Ampicillin	i Cephalothein 30
d Tetracycline	j Trimethopriom
e Penicillin 25	k Lincoamycin
f Amigacin	l Gentamicin

شكل (3): أختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية لجرثومة *P. multocida*

ت	المضاد الجرثومي	قطر منطقة التثبيط ملم	عدد العزلات			النسبة المئوية للمقاومة
			حساس	وسط	مقاوم	
1	امبسلين Ampicillin10	18	8	3	1	8.3
2	اميكاسين Amigacin	18	9	2	1	8.3
3	اموكسلين Amoxicillin 30	16	9	2	1	8.3
4	بنسلين Penicillin30	25	12	0	0	0.0
5	بنسلين Penicillin25	20	10	1	1	8.3
6	تتراسايكلين Tetracycline	20	8	3	1	8.3
7	ترايمثوبريم Trimethoprim125	17	7	3	2	16.6
8	جنتاميسين Gentamicin 10	17	2	3	7	58.3
9	ستربتومايسين Streptomycin10	1	0	2	10	83.3
10	سيفالوثين Cephalothin30	22	10	2	0	0
11	كلورومفنيكول Chloromphenicol	32	12	0	0	0
12	لنكومايسين Lincoamycin	12	0	1	11	91.6

جدول (3): نسب مقاومة عزلات *P. multocida* للمضادات الحيوية باستخدام طريقة الاقراص

أن الخسائر الاقتصادية الناتجة من الاصابة بالجرثومة كبيرة ، فضلاً عن الانخفاض في أنتاج اللحوم وزيادة في استهلاك الادوية العلاجية والتي غالباً ما لا تجيد نفعاً إذ أوضحت نتائج أختبار الحساسية أن العزلات الجرثومية تمتلك المقاومة للعديد من المضادات الجرثومية وأحتمالية نقل هذه المقاومة الى الانسان جراء استخدام اللحوم [17] فضلاً على الكلفة العالية لهذة المضادات لذا فان عزل الجرثومة محليا تعد خطوة مهمه واساسية لمعرفة الانواع المنتشرة وتحديد العترة اللقاحيه التي توفر افضل حماية للثروة الحيوانية ضد الاصابة بالجرثومة.

References

1. Quinn, P . J . ; Cater , M . E . , Narkey , B . K . and Carter , G . R . , **1998 .** "*Pasteurella* species". In: clinic. Vet. Microb. 2nd ed.: 254-258.

2. Holt, J.C., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Stalely, J. T. and Williams, S.T., **1994.** "*Pasteurella*.Bergey's manual of

14. Holmes , B . ,**1998** . " *Actinobacillus , Pasteurella and Eikenella* " .Topley and Wilson's Microbiology 9th ed. Edited by collser, L., Balows, A. and Sussman, M.:2.119-1203.
15. Philip , E . , **1997** . " *Skirbey- Bauer In: Investigation microbiology*". Alaboratory manual for general microbiology. 1st ed. Edited by Phillip, E.S. 243.
16. Diallo, I.S. and Forst, A.,**2000**. "*Characteristics of a haemolytic extract from avian Pasteurella multocida*".vet. Micro. 72:37-45.
17. Foryman, *R* . , **1999** ."*Antimicrobial Medication in domestic poultry*"**.** Poultry diseases, 4th ed. Edited by Jordan, C.T.W. and Paterson, M.:484-495.
18. Chung, J. Y.; Wilkie, J. , Boyce, J. D., Townsened , K. M., Forst, A. J., Cjoddusi, M. and Adler, B.**2001**. *Role of capsule in the pathogenesis of fpwl cholera caused by Pasteurella multocida serogroup A.* . Infec. And Immun. 69(4): 2487-2492.
19. Smith, G. and Wilson, G.,**1983.** "*Pasteurella, Francisella and Yersinia"*. principles of bacteriology, virology and immunity" by Wilson, G. , Miles, A. and Parker, T.M. Edward Arnold publishers P.356-362 (London).
20- Weaver, E.R.; Hollis, D.G. and Bottone, E.J.,**1985**." *Gram negative fermentative bacteria and Francisella tularensis,"* in manual of clinical microbiology, 4th ed. By lennette, E., Balows, A., Hausler, W. and shadomy, H.American Society for Microbiology (U.S.A).
21. Cote, S.; Harel, J., Higgins, R. and Jacques, M.,**1991**." *Resistance to antimicrobial agents and prevalence of R-plasmid in Pasteurella multocida from swine.*"Am. J. vet. Res., 52(10): 1653-1657.
22. Aviril , J .M. and Donnio , P. Y. *,* **1995** *"Pasteurellosis*" (editorial) . Prosse , .Med.24(11):516-518(abstract).
23. Lion, C.; Lozniewski, A.; Rosner, v. and Weber, M., **1999**." *Lung abscess due to beta- lactamase- producing Pasteurella multocida*".Clin.Infec.Dise.29:1345-1346.
24. Brunneau, C.V., Descauses, M.C.; Martel, J.L; Lafont, J.P. and Dancla, E.C.,**1996.** Journal of Antimicrobial chemotherapy. 38:205-213.
25. Cho, S.K., Park, J.M., and Yoon, Y.D.,**1989**." *Studies on development of* determinative bacteriology". 9th edited by William and Wilkins: 550-558.

3. Rimler, R.B., **2000**."*Restriction endonuclease analysis using Hhal and Hpal to discriminate among group B Pasteurella multocida associated with haemorrhagic septicaemia*".J. Med. Microbiol. 49(1): 81-87.

4. Allan, E. M.; Wiseman, A., Gibbs, H.A. and Selman, I.E., 1**985**." *Pasteurella* Species *isolated from the Bovine Respiratory tract and their antimicrobial sensitivity patterns*". Veterinary Record**,** 117,629-631.

5. Barbour , E . K . ; Nabbut , N.H., Hamadeh, S.K. and Al-Nakhli, H.M., **1997**. " *Bacterial identity and characteristics in healthy and unhealthy respiratory tracts of sheep and Calves*".Vet.Res. Commun. . 21(6):421-430.

6. Alsultan, I.I., **1976**." *Pathology of some Bacterial Pneumonia in sheep in Iraq with special reference to Pasteurella_infection*". (M. Sc. Thesis).Collage of Veterinary Medicine University of Baghdad.

7. *Rusvai*, M. and Fodor, L.,**(1998)** . "*Occurrence of Some viruses and bacteria involved in respiratory diseases of ruminants*"**.**Hungary. Acta. Vet. Hung. 46(4):405-414.

8. Chakrabarti, A**.**, **1999**. "*Fowl cholera*". In: Practice of poultry medicine 1st ed.: 52-57.

9- النعيمي،حاتم حميد. *دراسة عن مرض الباستورلوسسز* في الدواجن **2002**. رسالة دكتوراه مقدمة الى مجلس جامعة بغداد/الطب البيطري.

10. Lafeber, T.; Cantey, J. R.; Lutwick, L.; Talavera, F.; Glatt, A.; Mylonakis, E. and Cunha, B.A.,**2002**. *"Pasterella multocida Infection*" .medicine. 2-14 (internet).

11. Liu, W., Chemaly, R. F., Tuohy; M. J. Lasalvia, M. M. and Procop, G.W., **2003**."*Pasteurella multocida urinary tract infection with molecular evidence of zoonotic transmission*". Infect. Dis. 36(4):58-60.

12. Moore , M. K.; Lidija, C .C., and Robert, J. G.*A.*,**1994**.*"new selective enrichment procedure for isolating Pasteurella multocida_ from avian and environmental Samples*". Avian.Dis. 38: 317-324.

13. Atlas, R.M.; Brown, A.E. and Parks, C**.**, **1995**. *"Laboratory manual experimental microbiology*"**.** By Mosby- Year Book, lnc, (USA).

combined vaccine for control of snuffles Pasteurella multocida, Bordetella bronchiseptica infections) in Rabbits". The Research Reports of the Rural Development Administration Veterinary.

26. Stephens , C.P., Gibson , J. A. and Riehyson, B.,**1995** . "*Antimicrobial susceptibility of Pasteurella multocida isolates from cases of pneumonia in slaughter swine. from south. east Queensland [Pigs]*" Australian .Vet. J. 72(4):156.
27. Morishita, T.Y.; Lowenstine, L. J.; Hirsh, D. C.; and Books, D. L**., 1996.** "Pasteurella multocida in raptors: Prevalence and characterization**".** AV. 40(4): 908-918.
28. Chang, W.H. and Carter, G.R.,**1976**. " *Multiple Drug Resistance in multocida and Pasteurella haemolytica from cattle and swine*". J.A.U.M.A. vol.196(7): 710-712.
29. Mobarak , S . S . A; Shubber , E . K . and Raheem , A . S., **2002** ".*Study on pathogenicity of Pasteurella multocida which isolated from animals and man*" .Jornal of Iraqi Vet .Medicine , vol . 26 No. 1: 74 – 81.
30. Kim, W. J. and Park, S. J.,**1998**. "*Bacterial resistance to antimicrobial agent*". Yonsei. Med. J. , 39:488-494.
31. Hirsh, D.C.; Jessup, D.A.; Snipes, K.P.; Carpchter, T.E.; Hird, D.W. and Mccapes, R.H., **1990**. "*Characteristics of Pasteurella multocida_isolated from water fowl and assoiated avian species in California*"**.** J. Wild life Dis. 26:204-209.