الجمهورية العربية السورية

جامعة حماه

كلية الطب البيطري

قسم أمراض الحيوان

التقصي عن انتشار كوليرا الطيور عند قطعان الدجاج في المنطقة الوسطى في سورية

رسالة مقدمة من الطبيب البيطري محمد قاسم أبو جاسم

ماجستير أمراض الدواجن

لنيل درجة الدكتوراه في العلوم الطبية البيطرية

اختصاص أمراض الدواجن

بإشراف

الأستاذ الدكتور محمد علي العمادي

المشرف العلمي

اختصاص أمراض الدواجن

قسم أمراض الحيوان – كلية الطب البيطري – جامعة حماة

والأستاذ المساعد الدكتور حازم مللي

المشرف المشارك

اختصاص أمراض الدواجن

قسم أمراض الحيوان – كلية الطب البيطري – جامعة حماة

الجمهورية العربية السورية
جامعة حماة
كلية الطب البيطري

Syrian Arab Republic
Hama Universit
Faculty of Veterinary.-Medicine

هاتف : 2510180 – 2510181 2510181 0096333 - فاكس : 00963332510514 - بريد الكتروني : vet-med@net.sy

الرقم :
التاريخ :

التصنيف :
الموضوع :

قرار لجنة الحكم والمناقشة

استناداً إلى قرار مجلس الشؤون العلمية رقم (223) المتخذ بالجلسة رقم (16) للعام الدراسي 2026/2025 المنعقدة بتاريخ /18/ ذو القعدة 1447هـ الموافق 2026/5/5 القاضي بتشكيل لجنة الحكم والمناقشة لرسالة الدكتوراه للطالب محمد أبو جاسم الموسومة بعنوان

/التقصي عن انتشار كوليرا الطيور عند قطعان الدجاج في المنطقة الوسطى في سوريا/

وبعد عرض الرسالة وسردها ومناقشتها، اجتمعت لجنة الحكم والمناقشة بتاريخ 2026/6/10 وبعد المداولة قررت اللجنة ترشيح طالب الدراسات العليا محمد أبو جاسم لنيل درجة الدكتوراه في العلوم الطبية البيطرية – اختصاص (أمراض الدواجن) بتقدير عام (جيد جداً) وبدرجة (٧٩,٨) من مئة وثمان بالمئة من الدرجة

وتوصي اللجنة بصرف تكاليف طباعة الأطروحة على نفقة الجامعة نظراً للجهد الذي بذله الطالب والتكاليف التي تكبدها إضافة إلى تناولها موضوعاً حساساً من الناحية الاقتصادية في القطر.

أعضاء اللجنة : التوقيع

أ. د. محمد علي العمادي
اختصاص أمراض الدواجن
كلية الطب البيطري- جامعة حماه

أ . د. محمد فاضل
اختصاص أمراض الدواجن
كلية الصيدلة -جامعة الوطنية الخاصة

أ . د. سامر ابراهيم
اختصاص التشخيص المخبري-جراثيم
كلية الطب البيطري - جامعة حماه

د. نوال القرواني
اختصاص أمتراض الدواجن
كلية الطب البيطري- جامعة حماه

د. عمران فاعور
اختصاص وبائيات
كلية الطب البيطري- جامعة حماه

Syrian Arab Republic
Hama Universit
Faculty of Veterinary.-Medicine

الجمهورية العربية السورية
جامعة حماة
كلية الطب البيطري

هاتف : 2510180 – 2510181 2510181 0096333 - فاكس : 00963332510514 - بريد الكتروني : vet-med@net.sy

الرقم :
التاريخ :

التصنيف :
الموضوع :

كلية الطب البيطري

بعد الاطلاع على الأطروحة المعدلة من رسالة الدكتوراه المقدمة من قبل المرشح لنيل درجة الدكتوراه في العلوم الطبية البيطرية الطبيب البيطري طالب الدراسات العليا **محمد أبو جاسم** في قسم وظائف أمراض الحيوان اختصـــــاص (**أمراض الدواجن**) الموسومة بعنوان :

/ التقصي عن انتشار كوليرا الطيور عند قطعان الدجاج في المنطقة الوسطى في سوريا /

نفيدكم بأن الأطروحة بشكلها الحالي قد استوفت التعديلات التي أشارت لها لجنة الحكم والمناقشة التي عقدت يوم الاربعاء بتاريخ 6/10 / 2026 لمناقشة الرسالة، ونعتبر أن الرسالة بهذه الصورة جاهزة للطباعة بشكلها النهائي.

/ /2026

جامعة حماة
كلية الطب البيطري
الرقم ١٥٢٨ / و
التاريخ ٢٠٢٦/٦/٣٠

يرجى الاطـــــلاع

وتفضلوا بقبول فائق الاحترام والتقدير

عضو	عضو	عضو	عضو	رئيس اللجنة
د. عمران فاعور	د. نوال القرواني	أ. د .سامر ابراهيم	أ. د . محمد فاضل	أ.د . محمد علي العمادي

رئيس قسم أمراض الحيوان

الدكتور عمران فاعور

مصدق عميـــد الكلية

إلى من يهمه الأمر

تم التدقيق اللغوي لرسالة الدكتوراه لطالب الدراسات العليا محمد أبو جاسم في قسم أمراض الحيوان في كلية الطب البيطري بجامعة حماة والموسومة بعنوان

(التقصي عن انتشار كوليرا الطيور عند قطعان الدجاج في المنطقة الوسطى في سورية)

و قد قمت بتقويم ما فيها من مآخذ لغوية وإملائية

المدقق اللغوي

أ. طلحة سفاف

إجازة في اللغة العربية وآدابها

تصريح

أصرح بأن هذا البحث الموسوم بعنوان (التقصي عن انتشار كوليرا الطيور عند قطعان الدجاج في المنطقة الوسطى في سورية) لم يسبق أن قبل للحصول على أي شهادة ولا هو مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المرشح

محمد قاسم أبو جاسم

التاريخ / / ٢٠٢٦

DECLARATION

It is hereby declared that this work (Investigation of the Prevalence of Fowl Cholera in Chicken Flocks In the Central Region Of Syria) has not been accepted already for any degree ,nor is being submitted concurrently for any other degree.

Candidate

Mohammad Abo Jasem

Date / / 2026

شهادة

نشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة هو نتيجة بحث قام به المرشح الطالب محمد قاسم أبو جاسم تحت إشراف الأستاذ الدكتور محمد علي العمادي أستاذ في قسم أمراض الحيوان في كلية الطب البيطري في جامعة حماة ،وأي رجوع إلى بحث آخر في هذا الموضوع موثق في النص.

المرشح	المشرف العلمي
محمد قاسم أبو جاسم	أ.د محمد علي العمادي

certificate

it is hereby certified that the work described in this thesis is the result of own investigation Mohammad Abo Jasem Under the supervision of Prof. Dr. Mohammad Ali Alemade ,Professor of Poultry Diseases - Faculty of Veterinary Medicine - Department of Animal Diseases - Hama University. And any reference to other researcher work has been acknowledged in the paragraphs.

Candidate **Prof. Dr. Mohammad Ali Alemade**

Mohammad Abo Jasem **Scientific Supervision**

Date / / 2026

فهرس المحتويات

رقم العنوان	العنوان	الصفحة
1	المقدمة والأهداف	1
1-1	المقدمة	1
2-1	الأهداف	2
2	الدراسة المرجعية	4
1-2	تعريف كوليرا الطيور	4
2-2	لمحة تاريخية عن المرض	4
3-2	العامل المسبب	5
4-2	الاهمية الاقتصادية	6
5-2	وصف وتصنيف الباستوريلة	7
6-2	الخواص الشكلية والتلوينية	7
7-2	الخواص المزرعية	8
8-2	الخواص الكيمياحيوية	8
9-2	الامراضية والتطور المرضي	9
10-2	الوبائية والانتشار	10
11-2	الأعراض والآفات المرضية	12
12-2	تشخيص كوليرا الطيور	13
13-2	المناعة	13
14-2	السيطرة والتحكم بإصابات كوليرا الطيور عند الدواجن	14
15-2	المعالجة	15
3	مواد وطرائق البحث	17
1-3	المواد	17
1-1-3	العينات	17
2-1-3	الأدوات والأوساط والإضافات المستخدمة في الفحص الجرثومي	18
1-2-1-3	الأدوات المستخدمة في جمع ونقل العينات	18
2-2-1-3	الأوساط المستخدمة في عزل الباستوريلة القتّالة	18
1-2-2-1-3	وسط الآغار المدمم	18
2-2-2-1-3	وسط ماكونكي	18

3-2-1-3	الأوساط المستخدمة في دراسة حساسية الجراثيم للصادات الحيوية	18
4-2-1-3	الصبغات المستخدم في دراسة الصفات الشكليائية والتلوينية لجراثيم الباستوريلة القتَالة	18
3-1-3	المواد المستخدمة في اختبارات الكيماء الحيوية الخاص بالباستوريلة القتَالة	19
4-1-3	مواد خاصة باجراء اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل	19
5-1-3	الأجهزة والمعدات المستخدم في الدراسة	19
1-5-1-3	الأجهزة والمعدات المستخدمة في العزل الجرثومي	19
2-5-1-3	الأجهزة والمعدات المستخدمة في تفاعل البوليميراز المتسلسل	20
3-5-1-3	الأجهزة والمعدات المستخدمة في اختبار الحساسية	20
2-3	طرائق البحث	22
1-2-3	العزل والتصنيف الجرثومي الباستوريلة القَتَالة	22
1-1-2-3	جمع العينات	22
2-1-2-3	تحضير الأوساط الزرعية	22
3-1-2-3	زرع وعزل الباستوريلة القتَالة	23
2-2-3	دراسة الخواص الشكلية والمزرعية الباستوريلة القتَالة	23
3-2-3	العزل باستخدام الاختبارات الكيميائية الحيوية	24
1-3-2-3	اختبار الCatalase	24
2-3-2-3	اختبار ال Oxidase	25
3-3-2-3	تخمير التريهالوز(Trehalose Fermentation Test)	26
4-3-2-3	تخمير اللاكتوز (Lactose Fermentation Test)	26
5-3-2-3	تخمير الأرابينوز(Arabinose Fermentation Test)	27
6-3-2-3	تخمير المانيتول (mannitol Fermentation Test)	27
7-3-2-3	تخمير الغلوكوز (Glucose Fermentation Test)	28
8-3-2-3	اختبار ال Urease	28
9-3-2-3	اختزال النترات (Nitrate Reduction Test)	29
10-3-2-3	اختبار ال Indol	30
4-2-3	التعرف على الباستوريلة القتَالة بواسطة تفاعل البوليميراز المتسلسل	32
1-4-2-3	استخلاص الدنا من الجراثيم	32
2-4-2-3	تحضير مزيج التفاعل	33
3-4-2-3	تضخيم الحمض النووي	34

4-4-2-3	الكشف عن نواتج تفاعل البوليميراز المتسمسل	35
5-2-3	اختبار فعالية الصادات	35
6-2-3	التحليل الإحصائي Statistical Analysis	35
4	النتائج	41
1-4	المشاهدات الحقلية والأعراض السريرية للطيور التي أخذت منها عينات البحث	41
2-4	نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة نويع القتّالة	41
1-2-4	نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات -بياض)في محافظة حماة	41
2-2-4	نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري (فروج) في محافظة حماة	42
3-2-4	نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة	43
4-2-4	نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات -بياض) في محافظة حماة	44
5-2-4	نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة	45
6-2-4	نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة	45
7-2-4	نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري (أمات - بياض) في محافظة حمص	46
8-2-4	نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري (فروج) في محافظة حمص	47
9-2-4	نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات	48

	المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص	
4-2-10	نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات –بياض) في محافظة حمص	49
4-2-11	نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حمص	50
4-2-12	نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص	50
4-3	نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي	51
4-3-1	نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات –البياض) في محافظة حماة	52
4-3-2	نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة	53
4-3-3	نتائج اختبار ال PCR على جراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة	54
4-3-4	نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات –بياض) في محافظة حماة	54
4-3-5	نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة	55
4-3-6	نتائج اختبار ال PCR على جراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة	55
4-3-7	نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية	56

	للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات –البياض) في محافظة حمص	
8-3-4	نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حمص	57
9-3-4	نتائج اختبار ال PCR على جراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص	57
10-3-4	نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات –بياض) في محافظة حمص	58
11-3-4	نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حمص	59
12-3-4	نتائج اختبار ال PCR على جراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص	59
4-4	نسبة الانتشار لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات المدروسة في المنطقة الوسطى من سورية	59
5-4	نتائج اختبار حساسية جراثيم الباستوريلة القتّالة للصادات	61
5	المناقشة	64
1-5	العلامات السريرية والصفات التشريحية المشاهدة على طيور الدراسة	64
1-1-5	العلامات السريرية	64
1-1-1-5	في الطيور السليمة ظاهرياً	64
2-1-1-5	في الطيور المشتبه ظاهرياً	64
3-1-1-5	في الطيور النافقة حديثاً	64
2-1-5	الصفات التشريحية	65
1-2-1-5	في الطيور السليمة ظاهرياً	65
2-2-1-5	في الطيور المشتبه ظاهرياً	65
3-2-1-5	في الطيور النافقة حديثاً	65
2-5	مناقشة نتائج العزل	65

1-2-5	مناقشة نتائج العزل حسب طرق العزل المختلفة المستخدمة في الدراسة	65
2-2-5	مناقشة نتائج العزل على المستوى المحلي(سورية)	66
3-2-5	مناقشة نتائج العزل على المستوى الاقليمي	66
4-2-5	مناقشة نتائج العزل على المستوى العالمي	67
3-5	مناقشة نتائج اختبار حساسية جراثيم الباستوريلة القتَالة للصادات	68
6	الاستنتاجات والتوصيات	71
1-6	الاستنتاجات	71
2-6	التوصيات	71
7	المراجع	73
8	الملخص العربي	87
9	الملخص الانكليزي	89

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
1	طريقة توزع العينات	18
2	اختبارات الكيمياء الحيوية	24
3	مكونات الـ (Master Mix) الخاص باختبار ال PCR	34
4	التسلسل النيكلوتيدي للبادئات	34
5	برنامج المدور الحراري للكشف عن الباستوريلة القتّالة	34
6	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات-بياض)في محافظة حماة	41
7	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة	42
8	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة	43
9	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات-بياض) في محافظة حماة	44
10	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة	45
11	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة	46
12	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات-بياض) في محافظة حمص	47
13	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حمص	48
14	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص	48
15	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات-بياض) في محافظة حمص	49
16	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حمص	50
17	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً	51

	المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص	
18	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حماة	52
19	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة	53
20	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة	54
21	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حماة	54
22	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة	55
23	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص	56
24	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص	57
25	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص	58
26	نسبة الانتشار الكلية لجراثيم الباستوريلة القتّالة عند قطعان الدجاج المدروسة في المنطقة الوسطى من سورية	59
27	توزع حساسية عزلات الباستوريلة القتّالة للصادات المدروسة	61
28	مقاومةعزلات الباستوريلة القتّالة للصادات بالنسبة المئوية%	61

قائمة المخططات البيانية

رقم المخطط	عنوان المخطط البياني	الصفحة
1	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض)في محافظة حماة	42
2	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة	43
3	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة	44
4	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حماة	45
5	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة	46
6	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص	47
7	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص	49
8	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص	50
9	نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص	51
10	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حماة	53
11	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة	53
12	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حماة	55
13	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة	56

	حماة	
14	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص	57
15	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص	58
16	نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص	58
17	عدد العينات الكلية للإصابة بكوليرا الطيور عند قطعان الدجاج المدروسة في المنطقة الوسطى من سورية	60
18	نسبة الانتشار الكلية للإصابة بكوليرا الطيور عند قطعان الدجاج المدروسة في المنطقة الوسطى من سورية	60
19	شكل رقم (19) مخطط تدفق يوضح مسار العينات	60
20	مقاومة عزلات الباستوريلة القتّالة للصادات بالنسبة المئوية%	62

قائمة الصور

رقم الصورة	العنوان	رقم الصفحة
1	الزرع الجرثومي	20
2	توحيد المعلق الجرثومي	20
3	دراسة الصفات التلوينية للجراثيم	21
4	تحضير المنابت	21
5	صب المنابت	21
6	المنابت المستخدمة	21
7	مراحل تحضير صبغة غرام	21
8	اختبار الكاتلاز (Catalase Test)	31
9	اختبار الأوكسيداز (Oxidase Test)	31
10	اختبارات الكيمياء الحيوية تخمر السكريات	31
11	نتائج اختبارات الكيمياء الحيوية	31
12	اختبار اختزال النترات (Nitrate Reduction Test)	32
13	اختبار الاندول (Indol Test)	32
14	اختبار اليوياز (Urease Test)	32
15	فحص الحالة العامة للطيور	36
16	فحص الحالة الظاهرية	36
17	فحص الحالة الظاهرية	36
18	فحص الحالة العامة	36
19	تشريح وجمع عينات	37
20	تشريح وجمع عينات	37
21	جمع العينات النسيجية	37
22	جمع عينات دم القلب	37
23	بهتان العرف والداليتين	37
24	افرازرات التهابية متجبنة	37
25	افرازات أنفية والتهاب الجيوب	38
26	افرازات والتهاب ملتحمة	38

27	تورم المفاصل	38
28	إلتواء الرقبة	38
29	نزف على دهن البطن	39
30	نزف على القلب	39
31	احتقان عام وتورم الطحال	39
32	تورم الكبد	39
33	نتائج اختبار ال PCR بطريقة التحليل الكهربائي لهلام الآغاروز	52

قائمة الاختصارات

Abbreviation	Meaning
OIE	Office International Epizootie
PCR	Polymerase chain reaction
PH	Power of hydrogen
TBE	Tris-Boric Acid-EDTA
DNA	Deoxyribonucleic acid
bp	Base pair

الفصل الأول

المقدمة والأهداف

Introduction

1-المقدمة والأهداف :

1-1-المقدمة:

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 *Pasteurella Multocida* الباستوريلة القتَالة (Xiao, *et al.*,2015)،التي تستوطن الجهاز التنفسي للحيوانات والطيور السليمة وتسبب أحيانا داء الباستوريلة تحت ظروف الإجهاد وتسبب كوليرا الطيور (Bisgaard, *et al* .,2003) .

تنتشر الباستوريلة القتَالة لدى الكثير من العوائل سواء الثدييات أو الطيور وتختلف باختلاف العائل والسلالة(Petersen,2001) .

يمكن أن تسبب الباستوريلة القتَالة وباء ينتشر إلى مئات أو آلاف الطيور (Botzler,1991). كما يمكن أن تسبب حالات عدوى حادة ومزمنة يمكن أن تترافق مع حالات نفوق عالية وهذا ما أكده كل من (Christensen, & Bisgaard,2000) العدوى عبارة عن تسمم دموي بكتيري ونظرا لسير المرض السريع عادة تكون الحالة العامة للطيور جيدة (Mensik, & Botzler, 1989).

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 وانتفاش الريش وفقدان للشهية بالإضافة لإفرازات من الأنف والفم وصعوبة في التنفس وأحيانا إسهالات مائية مصفرة في البداية وخضراء مخاطية في نهاية المرض (Glisson, *et al.*,2003) (Rhoades, & Rimler, 1990) ، يضاف أيضاً التهاب الملتحمة والعرج والصرع وتورم الداليتين والجيوب الأنفية ومفاصل الأطراف ووسادة القدم وأحيانا الجراب القصي(Curtis,1980) .

يمكن أن يأخذ المرض الشكل المزمن وعادة ما تتبع الاصابة بالشكل الحاد أو قد ينجم عن الاصابة بجرثوم منخفض الفوعة نسبياً (Gordon,and Jordan,1985)، 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 الاصابات الموضعية بعدة أشكال (الشكل الدالي والشكل التنفسي والشكل المفصلي والشكل العصبي)، تكون الأعراض في الشكل الدالي عبارة عن تورم أو استسقاء الداليتين وفي الشكل التنفسي افرازات أنفية ودمعية وتورم الجيوب الأنفية والتهاب ملتحمة العين ،وفي الشكل المفصلي تورم مفاصل الساق والأجنحة ووسادة القدم بالإضافة لالتهاب الأوتار وحدوث عرج، وفي الشكل العصبي التواء الرقبة واضطراب في حركة الطير، أما الطيور التي تتماثل للشفاء من الشكل المزمن تبقى حاملة للمرض (Glisson, *et al.*,2003) .

تعد ظروف التربية غير المناسبة كالازدحام أو كثافة التربية وتغير المناخ المفاجئ من العوامل المؤهبة 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.

في إطار انتقال العدوى وجد(Christensen,*et al.*,1998) علاقة وثيقة بين عزلات كوليرا الطيور البرية وبين العزلات في الدواجن المنزلية وتوصل إلى أن هذه العلاقة يمكن أن تشير الى تبادل الذراري بين الطيور البرية والدواجن المنزلية.

عادة ما يتم إجراء العزل الأولي باستخدام أوساط مثل الآجار المدمم ، أو آجار الغلوكوز أو أجار الصويا، يتم التعرف على مستعمرات الباستوريلة القتّالة من خلال شكل المستعمرات وظاهرة ثنائية القطبية عند الصبغ بالصبغات الأنيلينية والاختبارات الكيميائية الحيوية (Frank, 1988) (Glisson, *et al.*,2008).

الإختبارات الجزيئية للكشف عن الباستوريلة القتّالة هي أكثر أهمية من الاختبارات المورفولوجية والكيمياحيوية لأنها تتفوق على عوائق النمط الظاهري (Rajeev, *et al.*,2011) .

يعتمد على الصادات بشكل كبير لعلاج كوليرا الطيور إلا أن الاستخدام المطول والعشوائي للصادات يؤدي إلى نشوء مقاومة لدى جراثيم الكوليرا (Arora,2005) .

وقد أشار(Levy,1998) إلى أن مقاومة الجراثيم للصادات أصبحت مشكلة متنامية في كل من الطب البيطري والبشري، وقد أشارت العديد من الدراسات إلى أن استخدام الصادات الحيوية في تربية الحيوانات يشكل سبباً لظهور ذراري مقاومة لبعض الأنواع الجرثومية المسببة للأمراض.

(Witte, 1998) (Shea, 2003) أشارا إلى أن هناك زيادة كبيرة في ظهور مسببات الأمراض المقاومة للأدوية المتعددة على مدى السنوات العشر إلى الخمس عشرة الماضية .

ونظراً لوجود مؤشرات حقلية لانتشار الإصابات التي تسببها الباستوريلة القتّالة وما ينتج عنها من مشاكل مرضية وانتاجية بين قطعان الدجاج في سورية، بالإضافة للعلاج العشوائي المتبع في مكافحة المرض فقد هدفت هذه الدراسة إلى:

1-2-الأهداف:

1-2-1-عزل الباستوريلة القتّالة من الطيور التي تظهر عليها أعراض مرضية والطيور السليمة ظاهرياً.

1-2-2-التعرف على جراثيم الباستوريلة القتّالة من خلال الزرع الجرثومي واختبارات الكيمياء الحيوية.

1-2-3-الكشف الجزيئي عن عزولات الباستوريلة القتّالة باستخدام طريقة تفاعل البوليميراز المتسلسل polymerase chain reaction (PCR).

1-2-4-تحديد نسب انتشار الاصابة بكوليرا الطيور المسبب بجراثيم الباستوريلة القتّالة في منطقة الدراسة.

1-2-5-تقييم فعالية بعض الصادات المستخدمة في علاج كوليرا الطيور من خلال دراسة نمط تحسس عزولات الباستوريلة القتّالة.

الفصل الثاني

الدراسة المرجعية

literature Review

2-الدراسة المرجعية :

2-1-تعريف كوليرا الطيور:

كوليرا الطيور (Fowl Cholera)، المعروف أيضًا باسم داء الباستوريلة الطيري (Avian Pasteurellosis)، هو مرض جرثومي حاد أو مزمن يصيب الطيور الداجنة والبرية على حد سواء. يتميز المرض بنفوق مفاجئ في القطعان المصابة مع أعراض سريرية تشمل الخمول، والزرقة، والإسهال، وصعوبة التنفس (Christensen, & Bisgaard, 2008). يعد المرض من الأمراض الهامة اقتصاديًا في صناعة الدواجن بسبب الخسائر الفادحة التي يتسبب بها من خلال النفوق المرتفع، وانخفاض الإنتاجية، وتكاليف العلاج والوقاية (Biswas, *et al.*,2005) (Marza,*et al.*,2015) (Wilkie ,*et al.*,2012).

2-2-لمحة تاريخية عن المرض:

يُعد مرض كوليرا الطيور من الأمراض المعروفة منذ قرون، وقد لعب دورًا محوريًا في تطور علم الأحياء الدقيقة وعلم اللقاحات، ففي القرن الثامن عشر تم تسجيل أولى حالات للمرض في أوروبا ،حيث تم وصف مرض كوليرا الطيور لأول مرة بشكل مفصل من قبل العالم الإيطالي Eduardo Bertoni في عام (1878)، وأعطاه اسم "كوليرا الطيور".(Christensen, & Bisgaard, 2000).

قام الطبيب البيطري Jean-Joseph Henri Toussaint المدرس في مدرسة تولوز البيطرية في فرنسا عام 1879 بإرسال عينة بكتيرية إلى Louis Pasteur، الذي نجح في عزل البكتيريا وتنميتها في مزرعة نقية لأول مرة، حيث أجرى تجاربه على الدجاج وأثبت العلاقة السببية بين البكتيريا والمرض، مما أدى إلى تسمية الجنس باسم Pasteurella تكريمًا له. (Marina,*et al.*,2006)

أعلن Louis Pasteur في ديسمبر (1880) للأكاديمية الفرنسية للعلوم عن عمله على تطوير أول لقاح ضد كوليرا الطيور. وعلى الرغم من أن نتائج هذا اللقاح المبكر كانت غير منتظمة واعتُبرت فاشلة من الناحية العملية، إلا أن البحث في هذه التجربة ساهم لاحقًا في تطوير مبادئ التلقيح بجرعات مضعفة (Christensen, & Bisgaard, 2000).

سُجل المرض لأول مرة منتصف القرن العشرين وما بعده في أمريكا الشمالية بين 1943-1944، وانتشر المرض على مستوى عالمي وأصبح محط اهتمام كبير في مجال الطب البيطري وأصبح منذ ذلك الحين متفشيًا بشكل شبه سنوي بين الطيور البرية، ولا سيما الطيور المائية(Christensen, & Bisgaard, 2000).

ساهم تطوير اللقاحات المعطلة في أوائل القرن العشرين في السيطرة الجزئية على المرض، لكنه لا يزال يشكل تحدياً بسبب ظهور ذراري جديدة ومقاومة للمضادات الحيوية (Glisson, *et al.*, 2003).

2-3-العامل المسبب:

استخدم سابقاً مصطلح "داء الباستوريلة الطيري" للإشارة إلى مجموعة من الأمراض التي تسببها الباستوريلة والكائنات الحية الشبيهة بها ،تم استبعاد بعض مسببات الأمراض ، مثل *Riemerella anatipestifer* (Smith, & Thal , 1965) *Yersinia pseudotuberculosis* (Segers ,*et al*., 1993) *Ornithobacterium rhinotracheale* (Vandamme ,*et al*., 1994) من عائلة الباستوريلة (Christensen, & Bisgaard, 1997).

يضم جنس الباستوريلة القتّالة أحد عشر نوعًا على الأقل(Mutters, *et al*., 1985)، ولكن سبعة أنواع فقط (*p.multocida*) مع أنواعها الفرعية الثلاثة *(p.multocida subsp.multocida) &* (*p.multocida subsp. Gallicida*) & *(p.multocida subsp.septica)* (Hirsh, et al.,1990) و باستوريلة جالياروم *(P. gallinarum)* ، و باستوريلة أفيوم *(P. avium)* ، و الباستوريلة فولانتيوم *(P. volantium)* ، و الباستوريلة أناتيس *(P. anatis)* ، و باستوريلة لانجا *(P. langaa)* ، ارتبطت بمضيفين من الطيور (Bisgaard , 1993). من بين هذه الأنواع تُعتبر الباستوريلة القتّالة العامل المسبب لكوليرا الطيور (Rimler , & Glisson , 1997) وتأكيداً لذلك وجد (Bisgaard, 1993) أن كل الأنواع المذكورة عدا الباستوريلة القتّالة لاتعتبر من العوامل المتسببة في مرض حاد يشبه الكوليرا أو أن له أي أهمية اقتصادية كبيرة في الطيور.

ظل تصنيف الكائنات الحية التي تم الإبلاغ عنها سابقًا على أنها (*P.haemolytica*) غير مؤكد لسنوات عديدة. أعادت الدراسات الحديثة تصنيف العزلات الثنية على أنه *Manheimia* ، وهو جنس مختلف يحتوي على خمسة أنواع على الأقل (Angen, ,*et al*.,1999) بينما تنتمي العزلات الطيرية إلى جنس آخر ضمن عائلة *pasteurellaceae* (Christensen, *et al*., 1999).

وجد (Wilkie, *et al*., 2012) أن العامل المسبب الرئيسي لكوليرا الطيور هو جراثيم الباستوريلة القتّالة، وهي جراثيم انتهازية سلبية الغرام، غير متحركة، لا تكون الأبواغ، وغالباً يكون لها محفظة . تظهر بشكل مفرد أو بشكل مزدوج أو أحيانًا كسلاسل أو خيوط (Akhtar,2013) (Harper, *et al*.,2014)

يمثل النمط المصلي A:1، A:3، A:4 الأكثر شيوعاً والأكثر ضراوة في طيور الدجاج على الرغم أن الباستوريلة القتّالة هو العامل الرئيسي، إلا أن بعض الأنواع الأخرى من جنس (*Pasteurella*) مثل (*P. gallinarum*) و(*P. avium*) قد تسبب أمراضاً مشابهة لكنها أقل حدة (Christensen, and Bisgaard, 2008).

تحتوي الباستوريلة القتّالة على أنواع فرعية ومستضدات مصلية متعددة (مثل أنواع المحفظة A,B,D,E,F) مما يزيد من تعقيد السيطرة عليها(El-Demerdash, *et al*., 2023)

يمكن أن تؤثر عوامل أخرى غير تلك المرتبطة بالجراثيم على نتيجة عدوى الباستوريلة القتَالة على الرغم من أن معظم أنواع الطيور تُعتبر عرضة للإصابة حيث تم عزل الباستوريلة القتَالة من أكثر من 100 نوع مختلف من الطيور .(Botzler ,1991)

كما أن أنواع الطيور تختلف اختلافًا كبيرًا في قابليتها للإصابة، حيث تعتبر الديوك الرومية هي أكثر الأنواع عرضة للإصابة، كما أن الطيور المائية حساسة للغاية للإصابة، حيث تتسبب حالات التفشي في خسائر فادحة بين الطيور المائية (Botzler ,1991)،

في حين أن الدجاج يُعتبر مقاومًا نسبيًا مقارنة مع الديوك الرومية والحجل (Rimler, & Glisson ,1997)، وقد تم إثبات ذلك بوضوح من خلال العدوى التجريبية لعدة أنواع من الطيور باستخدام سلالة متفشية من الباستوريلة القتَالة معزولة أصلاً من طيور العيدر أو ال (Eider) (Christensen, & Bisgaard , 1998)، لم يؤدِ التلقيح داخل الرغامى للدجاج البالغ من العمر 17 أسبوعًا بـ 10 وحدات مستعمرة إلى النفوق و لم يكن من الممكن اكتشاف الكائن الحي في الكبد أو الطحال بعد 48 ساعة من الإصابة، على الرغم من ملاحظة آفات نموذجية في الرئتين لدى غالبية الطيور. في المقابل، نفقت جميع طيور الحجل من نفس العمر في غضون 24 ساعة من الإصابة.

كما أدت إصابة الديوك الرومية البالغة من العمر ثلاثة أسابيع إلى نفوق 100% في غضون 24 ساعة. ويبدو أن طيور التدرج ذات قابلية متوسطة للإصابة، حيث لوحظ نفوق ما يقرب من 50% بعد 24 ساعة (Petersen ,*et al.*, 2000).

تشمل العوامل الأخرى التي تم الإبلاغ عن تأثيرها على شدة المرض وانتشاره العوامل البيئية مثل الازدحام والمناخ (Simensen , 1980)، والأمراض المصاحبة (Collins , 1977)، وسوء التغذية (Eveleth,1949) وعمر العائل (Hungerford , 1968) حيث يؤثر العمر بشكل ملحوظ على نتيجة العدوى، على الأقل في الدجاج، حيث تكون الطيور التي تقل أعمارها عن ستة عشر أسبوعًا مقاومة نسبيًا. في الظروف الطبيعية، قد تتراوح نسبة الوفيات من بضعة بالمائة فقط إلى ما يقرب من 100%، اعتمادًا على العوامل المذكورة أعلاه (Rimler ,& Glisson ,1997).

2-4-الاهمية الاقتصادية:

يعتبر مرض كوليرا الطيور من الأمراض ذات الأهمية الاقتصادية البالغة في قطاع الدواجن على مستوى العالم، وخاصة في أنظمة الإنتاج المكثفة، تتجلى الخسائر الاقتصادية من خلال النقاط التالية:

· النفوق المرتفع: قد تصل نسبة النفوق في الحالات الحادة غير المعالجة إلى 50-70% من القطيع (Rhoades, & Rimler, 1990).

· انخفاض الأداء الإنتاجي: يشمل انخفاض معدل النمو، وهبوط في إنتاج البيض، وضعف معامل تحويل الغذاء في القطعان المصابة بشكل تحت حاد أو مزمن.

· تكاليف المكافحة: تشمل تكاليف التشخيص، والعلاج بالمضادات الحيوية، وتطبيق برامج التحصين.

· الخسائر التجارية: تحد القيود التجارية الدولية على الدواجن والمنتجات الداجنة من المناطق الموبوءة.

· تكاليف الإعدام والتخلص: تتطلب القطعان المصابة بشدة إعدامها والتخلص الآمن الصحي من الجثث، مما يشكل عبئاً مالياً إضافياً.(christensen,& Bisgaard, 2008)

2-5-وصف وتصنيف الباستوريلة:

حسب (Christensen, & Bisgaard, 1997) تم تصنيف جراثيم الباستوريلة القتّالة كمايلي:

· النطاق: بكتيريا (Bacteria).

· الشعبة: مستدميات (Pseudomonadota).

· الصف: متقلبات غاما (Gammaproteobacteria).

· الرتبة: باستوريلات (Pasteurellales).

· العائلة: باستوريلات (Pasteurellaceae).

· الجنس: باستوريلة (Pasteurella).

· النوع: مالوتوسيدا (multocida).

يشتق اسم النوع"multocida" من اللاتينية وتعني "قاتل الكثير"، في إشارة إلى قدرته على إصابة مجموعة واسعة من العوائل (Wilson,& Ho,2013). يتم التمييز بين السلالات بناءً على:

1. النمط المصلي للكبسولة (على أساس مستضدات المحفظة): A، B، D، E، F. النمط A هو المسيطر في حالات كوليرا الطيور.

2. النمط المصلي الجسدي (عديد السكريد الشحمي): 16 نمطاً فرعياً (1-16). التركيبة A:1 هي الأكثر ارتباطاً بالوبائيات في الدجاج (Rimler,& Rhoades,1987).

2-6-الخواص الشكلية والتلوينية:

وصف الباحث (Quinn,*et al.*,2011) جراثيم الباستوريلة القتّالة بأنها عصيات قصيرة ، يبلغ طولها 0.5-1.0 ميكرومتر وعرضها 0.3-0.5 ميكرومتر، تظهر عادة بشكل منفرد أو ثنائيات، ونادراً تكون على شكل سلاسل قصيرة، سلبية الغرام بشكل واضح ،عند التلوين بصبغة غرام تظهر الجراثيم باللون الأحمر/الوردي، معظم السلالات المعزولة من الحالات المرضية تكون متمحفظة ، تلعب المحفظة دوراً رئيساً في الفوعة عن طريق مقاومة البلعمة،غير متحركة، ولا تمتلك أسواطاً ،ولا تكون أبواغاً .

2-7-الخواص المزرعية:

حسب (Rimler,& Rhoades,1987) فإن مستعمرات الباستوريلة القتّالة تتصف بأنها:

هوائية ولاهوائية اختيارية ،درجة الحرارة المثلى للنمو هي 37°م وتحتاج لوسط غني بالمغذيات لتنمو، كما تُضاف غالباً مستخلصات الخميرة أو الدم لأوساطها .

1-عند زراعتها على وسط الآجار المدمم والتحضين لمدة 24 ساعة عند 37°م، تنمو مستعمرات تتصف بمايلي:

ناعمة، لامعة، محدبة، رمادية اللون، وقطرها حوالي 1-2 مم.

لا تحلل كريات الدم الحمراء على أجار دم الغنم، وهي خاصية تميزها عن بعض الجراثيم الأخرى.

قد تظهر بعض الذراري أو العزولات بمظهر "مرصوف بالحصى" أو مخاطي بسبب إنتاج المحفظة الغزير.

2-لاتنمو على وسط ماكونكي

.2-8-الخواص الكيمياحيوية:

حسب الباحثين (Shivachandra, 2005) & (Quinn, *et al.*, 2011) فإن جراثيم الباستوريلة القتّالة تتصف بمايلي:

- أوكسيداز: موجب (+)Oxidase(+).
- كاتالاز: موجب (+)Catalase (+).
- تخمير الجلوكوز Glucose(+) والمانيتول Mannitol (+) والأرابينوز Arabinose ((- واللاكتوز Lactose(-).
- إنتاج الإندول Indole Production (+).
- انتاج اليوريا: سالب (-)Urease Test(-).
- اختزال النترات إلى نيتريت: موجب (+)Nitrate Reduction (+).

2-9-الامراضية والتطور المرضي:

أكد (Wilkie,*et al.*,2012) أن الجراثيم تدخل الجسم عبر الجهاز التنفسي العلوي (الغشاء المخاطي للأنف والحنجرة)، أو عبر الملتحمة، أو من خلال الجروح الجلدية، كما أن العدوى عبر القناة الهضمية ممكنة لكنها أقل شيوعاً .

وحسب (Maheswaran, *et al.*, 1973) (Rimler , & Glisson , 1997).). فإن موقع الإصابة بجراثيم الباستوريلة القتَالة هو الجهاز التنفسي وقد أشار (Prantner,*et al.*,1990) ، أن التلقيح عبر الطرق العينية الأنفية الفموية أيضًا قد يؤدي إلى ظهور آفات رئوية نموذجية وتجرثم دموي ، مما يشير إلى أن الأغشية المخاطية الأخرى قد تعمل كبوابات دخول.وهذا يدل على أن قدرة باستوريلة القتَالة على البقاء على قيد الحياة أثناء مرورها عبر الجهاز الهضمي محدودة (Rimler , & Glisson , 1997)، لكن وجود باستوريلة القتَالة على سطح المجمع لدى الطيور الحاملة يشير إلى أن بعض الجراثيم قد تبقى حية بعد المرور عبر الجهاز الهضمي (Muhairwa,*et al.*,2000). كما تشير الدراسات بأن بعض ذراري الباستوريلة القتَالة يمكن أن تكون ضارية ومحفزة للمناعة بعد تناولها عن طريق الفم حيث تسبب حدوث غزو معوي أو تفاعل مع الغشاء المخاطي المعوي (Frost,*et al.*,1999)،(Lee,*et al.*,1988). كما قد تدخل الباستوريلة القتَالة الأنسجة عبر الآفات الجلدية وتؤدي إلى تسمم الدم (Rimler , & Rhoades , 1989) أو آفات جلدية موضعية (Frame ,*et al.*,1994) (Glass , & Panigrahy , 1990).

بعد الإصابة بعدوى الجهاز التنفسي العلوي، قد تنتشر الباستوريلة القتَالة لاحقًا إلى الرئتين وتتكاثر قبل دخول مجرى الدم (Matsumuto ,*et al.*,1991). بمجرد دخولها مجرى الدم، تتكاثر الباستوريلة القتَالة بسرعة (Snipes ,*et al.*, 1987) أو تتمركز في الكبد والطحال حيث يحدث التكاثر الأولي قبل حدوث تجرثم الدم (Pabs-Garnon , & Soltys , 1971) (Tsuji ,& Matsumoto ,1989).

يُفترض أن النفوق ناجم عن تأثيرات الذيفان الداخلي (Collins ,1977) (Rhoades ,1964) (Heddleston ,*et al.*,1964)، حيث تم استنساخ علامات كوليرا الدواجن الحادة عن طريق حقن الذيفان الداخلي من الباستوريلة القتَالة (Heddleston, & Rebers ,1975) (Rhoades , & Rimler, 1987).

وجد مجموعة واسعة من العلامات في حالات العدوى بجراثيم الباستوريلة القتَالة، وذلك اعتمادًا على طبيعة العدوى، قد تكون هناك علامات قليلة في حالات العدوى الحادة جدًا والحادة (والتي يُشار إليها غالبًا باسم الكوليرا). في هذه الحالات، غالبًا يكون النفوق هو العلامة الوحيدة للمرض في القطيع (Rimler, & Glisson ,1997).

في الحالات الأكثر استمرارية للمرض، قد تُلاحظ إفرازات مخاطية من الفم والأنف والأذنين، والزرقة، والاكتئاب العام وانتفاش الريش، والإسهال(Rimler, & Glisson ,1997).

في حالات العدوى المزمنة، تعود العلامات بشكل أساسي إلى العدوى الموضعية في مفاصل الأرجل أو الجناح، والعرف، والدواليات، والأنسجة تحت الجلد في الرأس (Gustafson ,1998) وقناة البيض (Bisgaard , 1995)، والجهاز التنفسي (Rimler , & Glisson ,1997). كما تم الإبلاغ عن أشكال حادة من نخر الجلد في الديك الرومي (Frame ,*et al.*,1994) (Glass, & Panigrahy ,1990).

وجد (Harper,*et al.*,2014) أن عوامل الفوعة لجراثيم الباستوريلة القتّالة تنتج عن مايلي:

1. المحفظة عديدة السكاريد: تمنع البلعمة بواسطة الخلايا البلعمية.
2. ذيفان داخلي (LPS): يسبب أعراض الإنتان والصدمة.
3. بروتينات الغشاء الخارجي (OMPs): تسهل الالتصاق والغزو.
4. الحديد الرابط بالبروتينات: مثل بروتين TbpA، تسهل الحصول على الحديد من العائل.
5. الأنزيمات المحللة للنسيج: مثل الهيالورونيداز

يحدث التطور المرضي حسب (Rhoades,& Rimler,1990) كمايلي:

1. الالتصاق: تلتصق البكتيريا بالخلايا الطلائية للأغشية المخاطية.

2. الانتشار: تخترق الحاجز المخاطي وتنتشر عبر الدم (تجرثم الدم) إلى الأعضاء الداخلية (الكبد، الطحال، الرئتين، المفاصل).

3. تلف الأنسجة: تسبب الالتهابات النزفية في الأعضاء المستهدفة، وخاصة الكبد والطحال.

4. الإنتان والصدمة: يؤدي إطلاق الذيفان الداخلي (LPS) إلى استجابة التهابية جهازية شديدة، واضطرابات تخثر، وانخفاض ضغط الدم، ونفوق الطائر.

2-10-الوبائية والانتشار:

كوليرا الطيور من المحتمل أن تحدث في جميع أنحاء العالم (Rimler , & Glisson , 1997) وهو مرض عالمي الانتشار، مسجل في جميع قارات العالم يصيب الدجاج والديوك الرومية والبط والإوز والطيور المائية البرية وطيور الزينة والدجاج البالغ أكثر عرضة من الصغار وينتقل بالاتصال المباشر مع طيور مريضة أو حاملة للمرض. وبشكل أقل بالاستنشاق للرذاذ التنفسي الملوث ومن خلال تلوث الماء والعلف بإفرازات الأنف أو البراز من طيور مصابة، كما تلعب النواقل الميكانيكية مثل العاملين والمعدات والمركبات والقوارض والحشرات دوراً في نقل العدوى وتعتبر الطيور البرية، وخاصة الطيور المائية خزاناً طبيعياً للمرض ويمكن أن تنقل العدوى إلى طيور التربية المنزلية(Samuel,*et al.*,2007) .

أجريت دراسات على نطاق واسع لسنوات عديدة، ولكن لا تزال المعرفة الأساسية، مثل طريقة انتقال كوليرا الدواجن إلى القطيع، غير دقيقة. نظرًا للاختلافات المورثية داخل الأنماط المصلية، فإن تحديد النمط

المصـــلي فـــي كثيـــر مـــن الحـــالات لا يـــوفر معلومـــات تفصـــيلية كافيـــة لتحديـــد وبائيـــات العـــدوى (Kim, & Nagaraja,1990) (Christensen , *et al.,* 1998) (Carpenter , *et al.,* 1991) (Snipes , *et al.*,1989) (Wilson ,*et al.,*1993).

جراثيم الباستوريلة القتّالة حساسة إلى حد ما، وتتعطل بسهولة بواسطة المطهرات الشائعة، وأشعة الشمس، والتجفيف أو الحرارة. وتشير التجارب إلى أن الباستوريلة القتّالة ستعيش لمدة أقصاها ثلاثون يومًا في البيئة (مثل الماء أو التربة) وبالتالي، لا يُعتقد أن البيئات الملوثة تعمل كمستودعات لفترات تزيد عن ثلاثين يومًا، علـــى الـــرغم مـــن أن العوامـــل غيـــر المعروفـــة حتـــى الآن قـــد يكـــون لهـــا دور وقـــائي (Backstrand , & Botzler, 1986) (Rimler, & Glisson, 1997) (Rosen,1969)

يمكن أن تعمل العديد من المصادر كمستودع محتمل نظرًا لإمكانية تواجد الباستوريلة القتّالة على الأسطح المخاطية للثدييات والطيور والانسان، (Bisgaard ,1993).

إن الانتقال بين الطيور البرية وطيور التربية المنزلية ممكن والطيور البرية قادرة على نشر المرض إلى مناطق جديدة (Christensen, *et al.*,1998) (Christensen, *et al.*,1999) (Snipes,*et al.*,1990).

أظهرت بعض الدراسات أن أكثر من 80% من حالات الإصابة بجراثيم الباستوريلة القتّالة التي تم تشخيصها في الدواجن في الدنمارك خلال الفترة من 1995 إلى 1997 شملت دواجن كانت على اتصال بالحيوانات البرية (Christensen, *et al.*,1999).

وجد (Christensen,*et al.*,1998) (Christensen,*et al.*,1999) (Petersen,*et al.*,2000). أن الذراري المعزولة من الطيور البرية متطابقة أو وثيقة الصلة بتلك المعزولة من طيور التربية المنزلية. كما ثبت أن هذه الذراري ضارية للدواجن في العدوى التجريبية ومع ذلك، قد تعمل الكلاب والقطط والخنازير، على وجه الخصوص، كمستودعات لذراري الباستوريلة القتّالة الضارية للدواجن (Korbel ,et al.,1992) ، (Snipes,*et al.* ,1989) (Rimler,& Glisson, 1997) (Van Sambeek ,*et al.*,1995). كما أشار أن الطيور الحاملة تلعب دورًا رئيسيًا في نشر المرض وتشير العديد من الدراسات إلى أن الطيور الناجية داخل قطيع مريض قد تعمل كخزانات للعدوى. ومع ذلك، فقد أشار تحقيق أجراه (Muhairwa ,et al., 2000) إلى أنه قد يوجد معدل مرتفع لحاملي الباستوريلة القتّالة نويع القتّالة ونويع سيبتيكا في قطعان الدواجن التي تبدو سليمة (بما في ذلك الدجاج والبط) .

وجد (Rimler ,& Glisson,1997) أن انتقال جراثيم الباستوريلة القتّالة عبر البيض لا يمثل خطرًا، على الرغم من أن تلوث قشور البيض يمكن أن يحدث نظريًا أثناء مرورها عبر المجمع. ومع ذلك، نظرًا للطبيعة الحساسة للجراثيم، فمن المرجح أن يكون التلوث من هذا النوع ضئيلًا.

كما أشار (Christense,&Bisgaard,2008) أن عوامل الإجهاد مثل النقل و التغيرات المناخية ووضع البيض والازدحام وسوء التهوية والإصابة ببعض الأمراض (مثل النيوكاسل والتهاب الشعب المعدي) تلعب دوراً هاماً في حدوث الإمراضية.

2-11-الأعراض والأفات المرضية:

أولاً: الأعراض الحقلية: ،

في الشكل فوق الحاد يحدث نفوق مفاجئ بدون أعراض سابقة (غالباً أولى الحالات في القطيع) أما الشكل الحاد وهو الأكثر شيوعاً نشاهد خمول وفقدان الشهية وانتفاش للريش وزرقة في العرف والدواليات كما يحدث إسهال مائي أصفر أو أخضر وصعوبة تنفس وإفرازات أنفية وفموية وارتفاع مفاجئ في معدل النفوق أما الشكل تحت الحاد أو المزمن فنشاهد عرج بسبب التهاب المفاصل ،وتورم في الوجه (الدواليات، الجفون) أو العرف و إفرازات أنفية وعينية كما يحدث انخفاض في إنتاج البيض وهزال(Glisson, *et al.*, 2003).

ثانياً: الآفات التشريحية:

تكون الطيور النافقة بالإصابة فوق الحادة في حالة جيدة مع وجود بقايا غذاء في القونصة (Quinn, *et al.*, 2011)، كما تهيمن على نتائج التشريح في الإصابة الحادة أو فوق الحادة من المرض آفات تسمم الدم العامة، بما في ذلك الاضطرابات الوعائية، كما يتضح الاحتقان في جميع أنحاء الطائر، و غالبًا ما تظهر آفات نزفية نقطية تحت الجلد وفي دهون البطن والشرايين التاجية وعلى التامور والشغاف وغالبا يحدث التهاب القلب التاموري مع وجود سائل مصفر أو ليفي في التامور ، وقد تُلاحظ نزوف في الغشاء المخاطي المعوي وعلى الأسطح تحت المصلية في تجاويف الصدر والبطن والدهون المحيطة. غالبًا ما يكون الكبد والطحال متورمين وقد يحتويان على مناطق بؤرية صغيرة متعددة من النخر التخثري أو قد تتعرض الأعضاء لنخر أكثر شمولاً. غالبًا ما تتأثر الرئتان، خاصة في الديك الرومي، حيث تكون الآفات مميزة للغاية. في أكثر أشكال العدوى حدة، تهيمن آفات الرئة عن طريق النزيف، ولكن سرعان ما يتبعه نخر والتهاب رئوي ليفي حيث تكون المناطق المصابة مميزة بوضوح عن الأنسجة غير المصابة. من الشائع حدوث التهاب منتج أحادي الجانب أو ثنائي الجانب في غشاء الجنب والرئتين مع نضح واسع النطاق من الفيبرين (Botzler.1991) (Quinn, *et al.*, 2011) (Rimler,& Glisson, 1997) (Rimler , & Rhoades, 1989).

في الإصابة المزمنة من عدوى الباستوريلة القتَالة ، قد تنتشر الآفات القيحية على نطاق واسع، وغالبًا ما تشمل الجهاز التنفسي والملتحمة والأنسجة المجاورة للرأس (Rimler ,& Glisson ,1997). يعد التهاب المفاصل المتجبن والتهاب تجويف الصفاق وقناة البيض المنتج شائعًا في حالات العدوى المزمنة. لوحظ التهاب جلدي تنخري ليفي يشمل الأجزاء الذيلية من الظهر والبطن والصدر، ويشمل الجلد والطبقة تحت الجلدية والعضلات ، في الديك الرومي والدجاج اللاحم (Frame ,*et al.*,1994)& (Glass ,& Panigrahy ,1990).

2-12-تشخيص كوليرا الطيور:

قد يكون تاريخ المرض والعلامات السريرية والآفات العيانية مفيدة في التشخيص، لكنها غير كافية للسماح بتشخيص نهائي للمرض. يعتمد التشخيص النهائي على عزل العامل المسبب وعادةً ما يتم العزل الأولي باستخدام أوساط مثل أجار الدم أو أجار نشاء الدكستروز أو أجار فول الصويا، (Office International des Epizooties (OIE) 1996). يمكن عزل الباستوريلة القتّالة بسهولة من أحشاء الطيور النافقة بسبب كوليرا الطيور الحادة وفوق الحادة، وغالبًا من الآفات القيحيّة للحالات المزمنة، في حالات كوليرا الطيور الحادة، يمكن إثبات خاصية ثنائية القطب في لطاخات الكبد باستخدام صبغة رايت أو جيمسا (Office International des Epizooties (OIE) 1996) (Rimler , & Glisson , 1997) (Geda, *et al.*,2025)

بعد العزل، يعتمد تحديد الهوية على نتائج اختبارات الكيمياء الحيوية ومع ذلك، فإن مفاتيح التشخيص البسيطة لا تسمح بتشخيص قاطع داخل عائلة *Pasteurellaceae*. (Rimler , & Glisson , 1997)

لا تُستخدم الاختبارات المصلية لتشخيص كوليرا الطيور، ولكنها استُخدمت لمقايسة المناعة المتشكلة في الطيور الملقحة (Office International des Epizooties (OIE) 1996). كما يمكن استخدام تفاعل التلزن المناعي أو تفاعل التراص على الشريحة لتحديد النمط المصلي للمحفظة A، B، D، E،F .(Rimler,& Rhoades,1987)

استُخدمت تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل بنجاح للكشف عن الحيوانات الحاملة للمرض داخل قطعان الديك الرومي (Kasten ,*et al* 1997) كما استخدمت على طيور مصابة بجراثيم باستوريلة القتّالة ذات أصول مختلفة، بما في ذلك سلالات معزولة من طيور برية (Christensen , & Bisgaard , 1998) (Wilson , *et al.*,1995a) (Morishita , *et al.*,1996) (Christensen ,*et al.*, 1999) .(Wilson ,*et al.*, 1995b)

يستخدم تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR): لتحديد النوع والنمط المصلي للبكتيريا بدقة وسرعة عالية .(Townsend, *et al.*, 2001)

كما أشار (Glisson, et al., 2003) إلى ضرورة التشخيص التفريقي و استبعاد الأمراض المشابهة مثل: (داء نظيرة التيفوئيد (السالمونيلا)، الإشريكية القولونية (الإسهال القولوني)، التهاب الأكياس الهوائية بالميكوبلازما(المفطورات) ،النيوكاسل و إنفلونزا الطيور (شديدة الضراوة).

2-13-المناعة:

تعد الطيور بأعمار صغيرة مقاومة نسبياً و تلعب الخلايا البلعمية (البلعميات) الدور الأساسي في الدفاع الأولي،أما الطيور الكبيرة فبعد حدوث العدوى تتكون في الطيور مناعة مكتسبة حيث تنتج الطيور الناجية أضداد (igY و IgM) ضد مستضدات المحفظة والذيفان الداخلي،و لكن المناعة تكون خاصة بالنمط ولا تحمي ضد

الأنماط المصلية الأخرى لذلك تعتبر المناعة الخلطية هي الأكثر أهمية في الحماية حيث تستخدم لقاحات معطلة (مقتولة) محضرة من جراثيم من أنماط مصلية محلية (Belay, *et al.*, 2025) ، تعطي مناعة جيدة لكنها قصيرة الأمد (4–6 أشهر) ويمكن أن تتطلب جرعتين أو لقاحات حية موهنة مثل سلالة 1–PM والتي تعطي مناعة أطول وأوسع لكن قد تظهر بعض الأعراض في الطيور المجهدة (Heddleston, *et al.*, 1975).

2–14–السيطرة والتحكم بإصابات كوليرا الطيور عند الدواجن:

تعتمد على مبدأ الوقاية خير من العلاج وذلك باتخاذ:

(Wilkie, *et al.*, 2012) (Belay, *et al.*, 2025).

1. إجراءات الأمن الحيوي الصارمة:

- منع دخول الأشخاص والمركبات غير المصرح لها.
- وجود مغاطس تطهير على مداخل المزارع.
- التحكم في القوارض والحشرات والطيور البرية.

2. الإدارة السليمة:

- نظام "كل الداخل – كل الخارج" ومنع دخول القوارض والطيور البرية والحيوانات الأليفة.
- تجنب الازدحام، وتوفير تهوية مناسبة، والحفاظ على الفرشة جافة ونظيفة.
- تقليل عوامل الإجهاد.

3. التحصين: في المناطق الموبوءة، استخدام برامج تلقيح مناسبة تشمل لقاحات معطلة محضرة من السلالات المحلية المنتشرة.

4. المراقبة الدورية: الكشف المبكر عن الحالات وعزل القطعان المصابة فوراً.

5. التخلص الآمن: من النافق وإفرازات الطيور المريضة بالحرق أو الدفن العميق .

2-15-المعالجة:

من بين الصادات المستخدمة هناك خيارات شائعة الاستخدام حقلياً مثل:

1-التتراسيكلينات (دوكسيسيكلين): في العلف أو الماء(semjen,*et al.,* 1998).

2-الفلوروكوينولونات (إنروفلوكساسين): عالية الفعالية، لكن محظورة في بعض البلدان للاستخدام البيطري بسبب المخاوف من مقاومة الإنسان.(hinz,*et al.*,1991)

3-أموكسيسيلين + حمض الكلافيولانيك.(abdo,*et al.*,2025)

بينما وجد (Belay, *et al.*, 2025) **أن** العلاج الأكثر فعالية في قطعان التربية هو الجمع بين الحقن العضلي الفردي لمضاد حيوي طويل المفعول (مثل التتراسيكلين) وإعطاء نفس المضاد في ماء الشرب.

كما أشار إلى أن هذه المضادات(مثل مركبات السلفا، والتتراسيكلين، والبنسلين) بالرغم من إمكانية استخدامها للسيطرة على الخسائر، ولكنها لا تقضي على البكتيريا من القطيع وقد تسبب ظهور ذراري مقاومة .

وأشار (Christensen, and Bisgaard, 2008) إلى أن العلاج قد يقلل من الخسائر ولكنه لا يخلص القطيع من الجراثيم تماماً، حيث تتحول بعض الطيور إلى حاملة للعامل الممرض، مما يستدعي إعدام القطيع في النهاية في حالات الإصابة الشديدة من أجل السيطرة على المرض ،وحذر من ظهور ذراري مقاومة متعددة للأدوية (MDR) ونصح بالعلاج الداعم من خلال تحسين الظروف البيئية، وتوفير فيتامينات ومحفزات المناعة في ماء الشرب.

الفصل الثالث

مواد وطرائق البحث

Material and Methods

3-مواد وطرائق البحث:

3-1-المواد:

3-1-1-العينات :

تم جمع(300)عينة مخبرية من قطعان الدجاج على اختلاف أنواعها في الشهر الثالث من سنة 2024 على الشكل التالي:

(200) عينة من الدجاج الذي تظهر عليه أعراض اشتباه الإصابة:

- ✓ (180) عينة من مزارع الأمات و البياض حسب مايلي:
  - ◤ (20) عينة من كل مزرعة للدجاج والأمات.(4 مزارع في محافظة حماة و4 مزارع في محافظة حمص)- المجموع (160).
  - ◤ (10) عينة من كل مزرعة للفروج.(مزرعة في محافظة حماة ومزرعة في محافظة حمص)- المجموع (20).
- ✓ (20) عينة من مجمعات دجاج التربية المنزلية حسب مايلي:
  - ◤ (2) عينة من كل تجمع.(5 تجمعات في محافظة حماة و 5 تجمعات في محافظة حمص) -المجموع (20).

(100) عينة من الدجاج السليم ظاهرياً:

- ✓ (90) عينة من مزارع الأمات والبياض حسب مايلي:
  - ◤ (10) عينة من كل مزرعة للدجاج والأمات. (4 مزارع في محافظة حماة و4 مزارع في محافظة حمص)- المجموع (80).
  - ◤ (5) عينة من كل مزرعة للفروج.(مزرعة في محافظة حماة ومزرعة في محافظة حمص)- المجموع (10).
- ✓ (10) عينة من مجمعات الدجاج التربية المنزلية حسب مايلي:
  - ◤ عينة من كل تجمع. (5 تجمعات في محافظة حماة و 5 تجمعات في محافظة حمص)- المجموع (10).

توزع المزارع كمايلي:

- عدد المزارع الكلي(10) مزارع مختلفة في المنطقة الوسطى من سورية بمعدل:
  - ✓ (4) مزارع للأمات والبياض في محافظة حماة.
  - ✓ (1) مزرعة واحدة للفروج في محافظة حماة.
  - ✓ (4) مزارع للأمات والبياض في محافظة حمص.
  - ✓ (1) مزرعة واحدة للفروج في محافظة حمص.

- كما تم جمع عينات دجاج التربية المنزلية من(10) تجمعات لتربية دجاج التربية المنزلية:

✓ (5) تجمعات لتربية دجاج التربية المنزلية في محافظة حماة.

✓ (5) تجمعات لتربية دجاج التربية المنزلية في محافظة حمص.

جدول رقم (1) طريقة توزع العينات:

العدد الكلي 300 عينة												
مشتبهة 200						سليمة 100						
المحافظة	حماة			حمص			حماة			حمص		
عدد المزارع	4	1	5	4	1	5	4	1	5	4	1	5
نوع المزرعة	أمات وبياض	فروج	تربية منزلية	أمات وبياض	فروج	تربية منزلية	أمات وبياض	فروج	تربية منزلية	أمات وبياض	فروج	تربية منزلية
عدد العينات من كل مزرعة	20	10	2	20	10	2	10	5	1	10	5	1
	20		2	20		2	10		1	10		1
	20		2	20		2	10		1	10		1
	20		2	20		2	10		1	10		1
			2			2			1			1
المجموع	80	10	10	80	10	10	40	5	5	40	5	5
	100			100			50			50		

3-1-2-الأدوات والأوساط والإضافات المستخدمة في الفحص الجرثومي:

3-1-2-1-الأدوات المستخدمة في جمع ونقل العينات:

تم استخدام ماسحات قطنية معقمة موضوعة في أنابيب تحتوي عل وسط مغذي لجمع المسحات الرغامية –محاقن لجمع عينات الدم(5مل)–حافظة ثلجية–أنابيب زجاجية معقمة–قطن–شرائح مجهرية–كحول إيتيلي 70% –قفازات –عدة تشريح –عبوات معقمة لجمع العينات النسيجية–أطباق بتري.

3-1-2-2-الأوساط المستخدمة في عزل الباستوريلة القتّالة:

3-1-2-2-1-وسط الآغار المدمم :

تم تحضيره تبعاً لتوصيات الشركة المصنعة واستخدم في عزل ودراسة الخواص الشكلية والمزرعية لجراثيم الباستوريلة القتّالة ،وهو منتج من شركة (Accumix) .

3-1-2-2-2-وسط ماكونكي :

تم تحضيره تبعاً لتوصيات الشركة المصنعة واستخدم للمساعدة في التمييز بين الباستوريلة القتّالة وبين الجراثيم سلبية الغرام التي تنمو على منبت ماكونكي وهو من انتاج شركة(Accumix) .

3-1-2-3-الأوساط المستخدمة في دراسة حساسية الجراثيم للصادات الحيوية:

تم استخدام منبت مولر هنتون لدراسة حساسية الجراثيم لبعض الصادات الحيوي المستخدمة في الحقل وهو من انتاج شركة (Accumix).

3-1-2-4-الصبغات المستخدمة في دراسة الصفات الشكليائية والتلوينية لجراثيم الباستوريلة القتّالة:

3-1-2-4-1-صبغة غرام:

تم تحضيز الصبغة من مواد مصنعة من قبل شركة (Himedia) الهندية وتتألف من بنفسجية الكريستال والأيودين والايثانول والسفرانين.

3-1-3-المواد المستخدمة في اختبارات الكيماء الحيوية الخاص بالباستوريلة القتَالة:

1- بيروكسايد الهيدروجين المستخدم في اختبار الكاتلاز وهو من تصنيع شركة(Himedia) الهندية.

2- محلول كوفاتش أوكسيداز المستخدم في اختبار الأوكسيداز وهو من تصنيع شركة(Himedia) الهندية.

3- مؤشر pH (الفينول الأحمر) المستخدم في اختبارات تخمر السكريات وهو من تصنيع شركة(Himedia) الهندية.

4- السكريات(التريهالوز-اللاكتوز-الأرابينوز-المانيتول-الغلوكوز) المستخدمة في اختبارات تخمر السكريات وهي من تصنيع شركة(Himedia) الهندية.

5- كواشف اختبار اختزال النترات وهي من تصنيع شركة (Himedia) الهندية.

6- كاشف كوفاك المستخدم في اختبار الاندول وهو من تصنيع شركة (Himedia) الهندية.

3-1-4-مواد خاصة باجراء اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل:

3-1-4-1- كواشف خاصة بتفاعل البوليميراز المتسلسل: Amp GT PCR master mix (Takara.japan)

3-1-4-2- بادئات من انتاج شركة Invitrogen; Carlsbad, USA

3-1-4-3-معلم الوزن الجزيئي DNA laeder 100pb(Takara.Japan)

3-1-4-4-صبغ الايثيديوم بروميد Ethidium Bromid (Takara.Japan)

3-1-4-5-دارئ التحمل loading buffer(Takara.Japan)

3-1-4-6-أغاروز Peq lap. Germany

3-1-4-7-دارئ الراحلان TBE buffer (Takara.Japan)

3-1-5-الأجهزة والمعدات المستخدمة في الدراسة:

3-1-5-1-الأجهزة والمعدات المستخدمة في العزل الجرثومي:

1-معقمة رطبة(autoclave)

2-معقمة جافة

3-حاضنة جرثومية

4-ميزان حساس.

5-محم مائي.

6-مجهر ضوئي من انتاج شركة(Quasmo) الهندية

3-1-5-2-الأجهزة والمعدات المستخدمة في تفاعل البوليميراز المتسلسل:

1-حجرة معقمة.

2- مثفلة عالية السرعة مع تحكم بدرجة الحرارة centrifuge 5810R (Eppendorf, Germany)

3-جهاز Thermal cycler Mastercycler nexus (Eppendorf, Germany)

4-حجرة قراءة بالأشعة فوق البنفسجية(azure(biosystem,USA

5-جهاز رحلان كهربائي خاص بكشف نواتج اختبار البوليميراز المتسلسل.

6-جهاز حاسب وطابعة.

3-1-5-3-الأجهزة والمعدات المستخدم في اختبارالحساسية:

1-جهاز قياس العكارة (توحيد المعلق الجرثومي) عند امتصاص 450 نانومتر من تصنيع شركة (Biotech) الصينية

صورة(1) الزرع الجرثومي

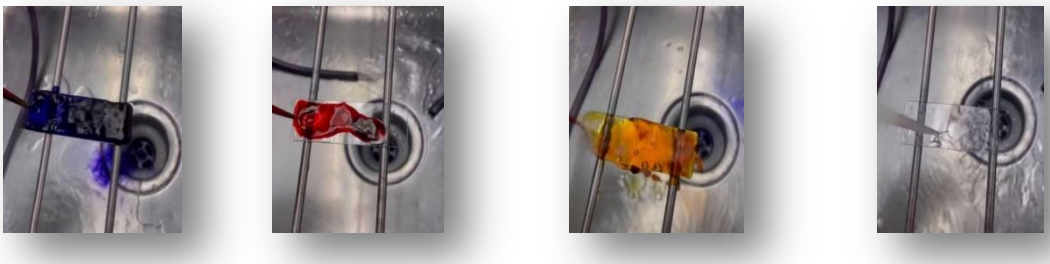
صورة(2)توحيد المعلق الجرثومي

صورة(3) دراسة الصفات التلوينية للجراثيم

صورة(4)تحضير المنابت

صورة(5) صب المنابت

صورة(6) المنابت المستخدمة



صورة(7) مراحل إجراء صبغة غرام

3-2-طرائق البحث:

3-2-1-العزل والتصنيف الجرثومي للباستوريلة القتّالة:

3-2-1-1-جمع العينات : (Quinn,*et al.*,2011)

3-2-1-1-1-عينات المسحات الرغامية:

تم جمع عينات المسحات الرغامية من الطيور الحية السليمة ومن الطيور التي كانت تعاني من أعراض تنفسية بالاضافة للطيور النافقة حديثاً باستخدام ماسحات قطنية معقمة موضوعة في أنابيب معقمة تحتوي على وسط مغذي وذلك من خلال فتح فم الطائر وادخال الماسحة إلى رغامى الطير وحك الماسحة بالغشاء المخاطي لجدار الرغامى للحصول على افرازات مخاطية وخلايا ظهارية تحتوي على العامل المسبب ثم وضعت الماسحات في الانابيب الخاصة بها ووضعت الأنابيب في حافظة تحتوي على ثلج ونقلت إلى المختبر بالسرعة الممكنة.

3-2-1-1-2-عينات الرئتين:

تم تشريح بعض الطيور التي كانت تعاني من أعراض تنفسية بالإضافة للطيور النافقة حديثاً وذلك من خلال استخدام مقص ومشرط معقم وبعد الفتح تم أخذ أجزاء من الرئة بشكل عقيم ووضعت في عبوات خاصة بجمع العينات النسيجية وتم وضعها في حافظة ثلجية ونقلت إلى المختبر بالسرعة الممكنة.

3-2-1-1-3-عينات دم القلب:

جمعت عينات الدم من القلب مباشرة باستخدام محاقن معقمة تحتوي على الهيبارين من نفس الطيور التي أخذت منها عينات الزرع وذلك بعد التعقيم باستخدام الكحول الايتيلي 70% ثم وضعت العينات في حافظة ثلجية ونقلت إلى المختبر بالسرعة الممكنة.

3-2-1-2-تحضير الأوساط الزرعية:

تم إجراء التجارب الزرعية والكيميائية الحيوية في مختبر النور (د. محمد نور الأحمد) في محافظة حماة، حيث تم اتباع تعليمات الشركة المصنعة للمنبت المسجلة على عبوة المنبت وهي كمايلي:

- وسط آجار دم الأغنام: وزن كمية 40 جرام من المنبت لكل 950 مل من الماء المقطر.
- وسط ماكونكي: وزن 51.5 جرام من المنبت لكل لترمن الماء المقطر.
- وسط مولر هنتون: وزن 38 جرام من المنبت لكل لتر من الماء المقطر.

3-2-1-2-1-متطلبات التحضير:

- مصدر لهب غازي.
- ميزان الكتروني.
- أدوات: حوجلة معقمة، دورق معقم، معقمة رطبة(اوتوكلاف)، إلخ.

3-2-1-2-2-خطوات التحضير:

1-تم تجهيز دورق وتم وضع المسحوق فيه ثم أضيف 200 مل من الماء الدافئ مع المزج ثم أضيف باقي الحجم من الماء وذلك لمنع التكتل.

2-تم وضع الدورق على سخان حراري مع التأكد من ذوبان المنبت بشكل جيد.

3-تم إغلاق الدورق ب(قطن وسيلفان) لكي لايتلوث المنبت.

4-تم وضع الدورق الحاوي على المنبت في جهاز الموصدة (الأوتوكلاف) للتعقيم وضبط الجهاز على حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة.

5-تم إخراج المنبت وترك ليبرد لدرجة 45-50 م .

6-تلهب فوهة الدورق ثم نضيف الدم بنسبة 5% (في حال وسط آغار دم الأغنام) ونخلط جيدا.

7-تلهب الفوهة ونصب الوسط في الأطباق (لنصف الطبق) وننتظره ليتصلب.

3-2-1-3-زرع وعزل جراثيم الباستوريلة القتّالة:

3-2-1-3-1-الزرع والعزل من عينات المسحات الرغامية:

تم الزرع من خلال أخذ 25 ميكروليتر من وسط النقل السائل الموجود ضمن أنابيب الماسحات القطنية المحتوي على العينة إلى طبق يحتوي على الآغار المدمم وباستخدام عروة الزرع تم فرد العينة بشكل جيد على الطبق ،حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37°م لمدة24 ساعة ثم فحصت لمعرفة مستعمرات الباستوريلة القتّالة من خلال شكل المستعمرات وحجمها. (Quinn,*et al.*,2011)

3-2-1-3-2-الزرع والعزل من عينات الرئتين:

تم وضع أجزاء من عينات الرئتين في طبق بتري معقم وباستخدام مشرط ومقص معقم تم هرس هذه القطع وبعد تمام السحق تم تمرير ماسحة قطنية معقمة على هذه الأجزاء الصغيرة وتم أخذ مسحة نسيجية ووضعت في الانبوب الخاص بالماسحة الحاوي على الوسط المغذي وحركت جيدا ثم تم استخدام نفس الاجراء السابق للزرع على المنابت وفحصت الأطباق بعد التحضين بنفس الطريقة سابقة الذكر.

(Quinn,*et al.*,2011)

3-2-1-3-3-الزرع والعزل من عينات دم القلب: (Quinn,*et al.*,2011)

تم الزرع من خلال أخذ 25 ميكروليتر من الدم الموجود ضمن المحاقن المحتوية على العينة ثم تم استخدام نفس الاجراء السابق للزرع على المنابت وفحصت الأطباق بعد التحضين بنفس الطريقة سابقة الذكر.

3-2-2-دراسة الخواص الشكلية والمزرعية للباستوريلة القتّالة:

3-2-2-1-دراسة الخواص الشكلية والتلوينية:

1-صبغة غرام:

تم استخدام صبغة غرام والتي هي من تصنيع شركة (Himedia) حيث اتبعت الخطوات التالية بعد تحضير وتثبيت اللطاخة الجرثومية:

1-صبغ المحضرة بمحلول بنفسجية الكريستال لمدة دقيقة.

2-غسل المحضرة بالماء المقطر.

3-غمر المحضرة بمحلول الأيودين وتركها لمدة دقيقة.

4-غسل المحضرة بالماء المقطر.

5-غمر االمحضرة بالكحول الايتيلي وتركها لمدة 15-30 ثانية.

6-غسل المحضر بالماء المقطر.

7-غمر المحضرة بصبغ السفرانين وتركها لمدة دقيقة.

8-غسل المحضر بالماء المقطر.

9-تجفف المحضر وتفحص بالمجهر الضوئي تحت العدسة الزيتية الغاطسة(X100).

(Merchant, & packer, 1967)

3-2-3-العزل باستخدام الاختبارات الكيميائية الحيوية:

تم تحديد الهوية الجرثومية على أساس نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية المبينة فيمايلي:

جدول رقم (2) اختبارات الكيمياء الحيوية:

نوع الاختبار	النتيجة
Catalase	+
Oxidase	+
Trehalose	-
Lactose	-
Arabinose	- +
Mannitol	+
Glucose	+
Urease Test	-
Nitrate Reduction	+
Indole Production	+

(Calnek, 1997)(Shivachandra, 2005)(Kiran, *et al*., 2012)

الزرع الجرثومي و اختبارات الكيمياء الحيوية أجريت في مخبر النور في محافظة حماة(الدكتور محمد نور الأحمد).

3-2-3-1-اختبار الكاتلاز (Catalase Test) :

طريقة الشريحة(Macfaddin, 2000)

المبدأ العلمي للاختبار:

يختبر قدرة الجراثيم على انتاج أنزيم الكاتلاز الذي يحمي الخلية الجرثومية من سمية بيروكسيد الهيدروجين الناتج عن عملية التمثيل الغذاء في وجود الأوكسجين. يحفز الانزيم تحلل بيروكسيد الهيدروجين(H_2O_2) إلى ماء(H_2O) وأكسجين(O_2) .

متطلبات إجراء الاختبار:

1-شريحة زجاجية معقمة.

2-محلول بيروكساييد الهيدروجين بتركيز 3%.

طريقة العمل المخبرية:

1-تم وضع شريحة مجهرية ضمن طبق بتري مفتوح الغطاء وذلك للحد من رذاذ الكاتلاز الذي ثبت أنه يحمل خلايا بكتيرية حية(duke,& Jarvis, 1972)

2- باستخدام عود خشبي يتم التقاط كمية صغيرة من المستعمرة الجرثومية وتوضع على الشريحة

3-باستخدام ماصة توضع قطرة واحدة من محلول بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 3% على المستعمرة الموجودة على الشريحة ثم يتم تغطية طبق بتري فورا للحد من انتشار الرذاذ .

قراءة النتائج:

النتيجة الايجابية:

ظهور فقاعات غاز الاوكسجين فورا وبغزارة.

النتيجة السلبية:

عدم ظهور فقاعات أو ظهور عدد قليل جدا وببطء.

3-2-3-2-اختبار الأوكسيداز (Oxidase Test):

طريقة ورق الترشيح(Kovacs, 1956)

المبدأ العلمي للاختبار:

يستخدم للكشف عن قدرة الجراثيم على انتاج أنزيم (cytochrome c oxidase) هذا الانزيم أساسي في السلسلة التنفسية النهائية عند بعض الجراثيم. يستخدم مادة (tetrammethyl-p-phenylenediaminne dihydrochloride) وعند أكستدها بواسط الانزيم يتحول لونها من عديم اللون إل الأزرق الغامق أو البنفسجي.

متطلبات اجراء الاختبار:

1-ورق ترشيح معقم.

2-محلول كوفاتش أوكسيداز بتركيز 1%.

طريقة العمل المخبرية:

1-يتم نقع قطعة من ورقة الترشيح في محلول كوفاتش أوكسيداز بتركيز 1% ثم تترك لتجف.

2-باستخدام عود خشبي نأخذ مستعمرة بكتيرية مباشرة من المنبت ونفركها على ورق الترشيح المشبع بالكاشف .

3-يراقب تغير اللون.

قراءة النتائج:

النتيجة الايجابية:

عندما يتغير اللون إلى أرجواني خلال 5 إلى 10 ثوان وتكون موجبة للأوكسيداز المتأخر عندما يغير اللون إلى أرجواني خلال 60 إلى 90 ثانية.

النتيجة السلبية:

إذا لم يتغير اللون أو استغرق تغيره أكثر من دقيقتين.

3-2-3-3- اختبار تخمير التريهالوز (Trehalose Fermentation Test) :

(CLSI Guidelines ,2022) (Tille, 2023)(Brenner,2000) .

المبدأ العلمي للاختبار:

الكشف عن قدرة البكتيريا على تخمير سكر االتريهالوز بإنتاج الحمض باستخدام وسط زرعي مع مشعر لوني.

متطلبات إجراء الاختبار:

· مرق ال peptone المعقم بالأوتوكلاف ،أضيف له (Trehalose % 1-0.5) المعقم بشكل منفصل في الأوتوكلاف.

. مشعر pH (الفينول الأحمر)(Phenol Red) .

· أدوات: أنابيب معقمة، حلقات تلقيح، حاضنة، إلخ.

طريقة العمل المخبرية :

1. تعقم حلقة التلقيح، ثم تنقل عينة جرثومية من مستعمرة معزولة إلى أنبوب المرق.
2. تحضن عند 37°م لمدة 18–24 ساعة.

قراءة النتائج:

· إيجابي: تحول لون المرق إلى أصفر (نتيجة إنتاج حمض) .

· سلبي: يبقى المرق أحمر/وردي، أو يتحول إلى وردي غامق (قلوي).

3-2-3-4-اختبار تخمير اللاكتوز (Lactose Fermentation Test):

(CLSI Guidelines ,2022) (Tille, 2023)(Brenner,2000)

المبدأ العلمي للاختبار:

الكشف عن قدرة البكتيريا على تخمير سكر اللاكتوز بإنتاج الحمض باستخدام وسط زرعي مع مشعر لوني.

متطلبات إجراء الاختبار:

· مرق ال peptone المعقم بالأوتوكلاف ،أضيف له (Lactose % 1-0.5) المعقم بشكل منفصل في الأوتوكلاف.

. مشعر pH (الفينول الأحمر)(Phenol Red) .

· أدوات: أنابيب معقمة، حلقات تلقيح، حاضنة، إلخ.

طريقة العمل المخبرية :

1. تعقم حلقة التلقيح، ثم تنقل عينة بكتيرية من مستعمرة معزولة إلى أنبوب المرق.
2. تحضن عند 37°م لمدة 18–24 ساعة.

قراءة النتائج:

· إيجابي: تحول لون المرق إلى أصفر (نتيجة إنتاج حمض) .

· سلبي: يبقى المرق أحمر/وردي، أو يتحول إلى وردي غامق (قلوي)

3-2-3-5-اختبار تخمير الأرابينوز(Arabinose Fermentation Test):

(Brenner,2000)(Tille, 2023) (CLSI Guidelines .2022)

المبدأ العلمي للاختبار:

الكشف عن قدرة البكتيريا على تخمير سكر الأرابينوز بإنتاج الحمض باستخدام وسط زرعي مع مشعر لوني.

متطلبات إجراء الاختبار:

· مرق ال peptone المعقم بالأوتوكلاف ،أضيف له (Arabinose % 1-0.5) المعقم بشكل منفصل في الأوتوكلاف.

. مشعر pH (الفينول الأحمر)(Phenol Red) .

· أدوات: أنابيب معقمة، حلقات تلقيح، حاضنة، إلخ.

طريقة العمل المخبرية :

1. تعقم حلقة التلقيح، ثم تنقل عينة جرثومية من مستعمرة معزولة إلى أنبوب المرق.
2. تحضن عند 37°م لمدة 18-24 ساعة.

قراءة النتائج:

· إيجابي: تحول لون المرق إلى أصفر (نتيجة إنتاج حمض) .

· سلبي: يبقى المرق أحمر/وردي، أو يتحول إلى وردي غامق (قلوي)

3-2-3-6-اختبار تخمير المانيتول (mannitol Fermentation Test):

(Brenner,2000)(Tille, 2023) (CLSI Guidelines ,2022)

المبدأ العلمي للاختبار:

الكشف عن قدرة البكتيريا على تخمير سكر المانيتول بإنتاج الحمض باستخدام وسط زرعي مع مشعر لوني.

متطلبات إجراء الاختبار:

· مرق ال peptone المعقم بالأوتوكلاف ،أضيف له (mannitol % 1-0.5) المعقم بشكل منفصل في الأوتوكلاف.

. مشعر pH (الفينول الأحمر)(Phenol Red) .

· أدوات: أنابيب معقمة، حلقات تلقيح، حاضنة، إلخ.

طريقة العمل المخبرية :

1. تعقم حلقة التلقيح، ثم تنقل عينة جرثومية من مستعمرة معزولة إلى أنبوب المرق.
2. تحضن عند 37°م لمدة 18-24 ساعة.

قراءة النتائج:

· إيجابي: تحول لون المرق إلى أصفر (نتيجة إنتاج حمض) .

· سلبي: يبقى المرق أحمر/وردي، أو يتحول إلى وردي غامق (قلوي)

3-2-3-7-اختبار تخمير الغلوكوز (Glucose Fermentation Test):

(Brenner,2000)(Tille, 2023) (CLSI Guidelines ,2022)

المبدأ العلمي للاختبار:

الكشف عن قدرة البكتيريا على تخمير سكر اللاكتوز بإنتاج الحمض باستخدام وسط زرعي مع مشعر لوني.

متطلبات إجراء الاختبار:

· مرق ال peptone المعقم بالأوتوكلاف ،أضيف له (Glucose % 1-0.5) المعقم بشكل منفصل في الأوتوكلاف.

. مشعر pH (الفينول الأحمر)(Phenol Red) .

· أدوات: أنابيب معقمة، حلقات تلقيح، حاضنة، إلخ.

طريقة العمل المخبرية :

1. تعقم حلقة التلقيح، ثم تنقل عينة جرثومية من مستعمرة معزولة إلى أنبوب المرق.

2. تحضن عند 37°م لمدة 18-24 ساعة.

قراءة النتائج:

· إيجابي: تحول لون المرق إلى أصفر (نتيجة إنتاج حمض) .

· سلبي: يبقى المرق أحمر/وردي، أو يتحول إلى وردي غامق (قلوي)

3-2-3-8-اختبار اليوياز (Urease Test) :

(Tille, 2023) (Christensen, 1946)

المبدأ العلمي للاختبار

يهدف الاختبار إلى الكشف عن قدرة البكتيريا على إنتاج إنزيم "اليورياز" (Urease). يحفز هذا الإنزيم تحلل مادة اليوريا إلى أمونيا وثاني أكسيد الكربون. تؤدي الأمونيا الناتجة إلى رفع درجة الحموضة (pH) في الوسط المحيط، مما يسبب تغيراً في لون الكاشف الحمضي (مثل الأحمر الفينولي) إلى اللون الوردي أو الأحمر القوي، وهو دلالة على النتيجة الإيجابية.

متطلبات الاختبار:

· وسط أغار اليورياز المائل مضاف إليه اليوريا وكاشف الأحمر الفينولي.

· أدوات: أنابيب معقمة، حلقات تلقيح، حاضنة، إلخ.

طريقة العمل المخبرية : (الطريقة الأنبوبية باستخدام Agar Slope)

1. باستخدام إبرة التلقيح، تأخذ عينة من مستعمرة بكتيرية نقية عمرها 18-24 ساعة. تلقح سطح وسط آجار اليوريز المائل (Slant) ، ونقوم بطعن قاعدة الآجار (العمق) أيضاً.

2. الحضانة: تحضن الأنبوبة في الحاضنة عند درجة حرارة 37°م لمدة تتراوح من 18 إلى 24 ساعة. يمكن متابعة التغيير في اللون كل بضع ساعات.

قراء النتائج:

· نتيجة إيجابية (Urease +): تحول لون الوسط بالكامل إلى وردي أو أحمر قوي خلال فترة الحضانة (من ساعتين إلى 24 ساعة). يشير شدة اللون وسرعة التغير إلى قوة إنتاج الإنزيم.

· نتيجة سلبية (Urease –): عدم حدوث تغيير في اللون، أو بقاء الوسط بلونه الأصلي (الأصفر/البرتقالي). قد يتحول لون السطح فقط إلى الأحمر الخفيف بعد فترة طويلة (أكثر من 24 ساعة) نتيجة تحلل الببتونات في الوسط، ولا يعتبر ذلك نتيجة إيجابية.

3-2-3-9-اختبار اختزال النترات (Nitrate Reduction Test):

(Tille, 2023) (Skerman, 1967)

المبدأ العلمي للاختبار

يختبر هذا الاختبار قدرة الجراثيم على إنتاج إنزيم (Nitrate Reductase)، والذي يحول النترات (NO_3^-) إلى نتريت (NO_2^-). قد تقوم بعض الجراثيم بعد ذلك باختزال النتريت بشكل كامل إلى غازات نيتروجينية (مثل أكسيد النيتريك، أو النيتروز، أو النيتروجين) أو إلى أمونيا.

يتم الكشف عن النتريت بواسطة كواشف كيميائية، وإذا لم يتم اكتشاف النتريت، تُستخدم خطوة إضافية مع مسحوق الزنك لتحديد ما إذا كان التفاعل سلبيًا حقيقيًا أم أن النترات تم اختزالها بالكامل إلى ما بعد مرحلة النتريت.

متطلبات إجراء الاختبار:

· الوسط الزراعي: مرق النترات (Nitrate Broth)، ويتكون من:

· بيبتون (5 غ/لتر).

· خلاصة لحم (3 غ/لتر).

· نترات البوتاسيوم (1 غ/لتر) كمصدر للنترات.

· درجة حموضة نهائية 7.0 ± 0.2.

· الكواشف:

· الكاشف أ: حمض السلفانيلك (Sulfanilic acid).

· الكاشف ب: ثنائي ميثيل ألفا-نفثيل أمين (Dimethyl-alpha-naphthylamine).

· الكاشف ج (الزنك): مسحوق الزنك (Zinc dust).

· أدوات: أنابيب معقمة، حلقات تلقيح، حاضنة، إلخ.

طرق العمل المختبرية:

1. التلقيح والحضانة:

· تلقّيح أنابيب مرق النترات بالمستعمرات المدروسة.

· تحضين الأنابيب عند درجة الحرارة (35-37°م) لمدة 24 إلى 48 ساعة.

2. خطوات الكشف (تتم بعد الحضانة)

لضمان تفسير صحيح،يجب اتباع الخطوات بالترتيب التالي:

الخطوة الأولى: الكشف عن النتريت:

· نضيف حوالي 5–8 قطرات من الكاشف أ، ثم 5–8 قطرات من الكاشف ب إلى الأنبوب.
· نخلط برفق ونراقب تغير اللون خلال 1–2 دقيقة.
الخطوة الثانية: تفسير اللون والخطوة التأكيدية:
· إذا ظهر لون أحمر/وردي: يعني ذلك وجود النتريت، والنتيجة موجبة لاختزال النترات إلى نتريت.
· إذا لم يظهر أي لون أحمر: تكون النتيجة غير حاسمة. نتابع إلى الخطوة التالية.
· نضف كمية صغيرة من مسحوق الزنك إلى نفس الأنبوب، وننتظر لمدة تصل إلى 10 دقائق.

تفسير النتائج:

يتم تفسير النتائج بناءً على تسلسل الخطوات السابقة:

• نتيجة إيجابية (اختزال النترات إلى نتريت)

الملاحظة:ظهور لون أحمر/وردي بعد إضافة الكواشف أ و ب مباشرة.

التفسير:البكتيريا أنتجت إنزيم نترات الريداكتيز واختزلت النترات إلى نتريت.

• نتيجة إيجابية (اختزال النترات إلى ما بعد النتريت)

الملاحظة:لا يظهر لون أحمر بعد الكواشف أ و ب، ولا يظهر لون أحمر بعد إضافة الزنك.

التفسير:البكتيريا اختزلت النترات إلى نتريت ثم واصلت اختزاله بالكامل إلى غازات نيتروجينية أو أمونيا.

• نتيجة سلبية (عدم اختزال النترات):

الملاحظة:لا يظهر لون أحمر بعد الكواشف أ و ب، ولكن يظهر لون أحمر بعد إضافة الزنك.

التفسير:البكتيريا لا تملك القدرة على اختزال النترات. اللون الأحمر سببته قدرة الزنك الكيميائية على تحويل النترات المتبقية في الوسط إلى نتريت.

ملاحظة مهمة: خطوة إضافة الزنك ضرورية لتجنب الحصول على نتيجة سلبية خاطئة للبكتيريا التي تختزل النترات بالكامل إلى ما بعد النتريت.

3–2–3–10–اختبار الاندول (Indol Test) :

(MacFaddin, 2000)

المبدأ العلمي للاختبار:

الكشف عن قدرة الجراثيم على انتاج أنزيم (التربتوفاناز) الذي يحطم الحمض الأميني (التربتوفان) إلى(اندول وحمض اليروفيك والأمونيوم) عند اضافة كاشف كوفاك (الذي يحتوي عل حمض الهيدروكلوريك وبارا–ثنائي ميثيل أمينوبنزالدهيد في كحول الأميل) يتفاعل مع الاندول ليتحول لون المحلول من الأصفر إلى الأحمرالقرمزي. ولأن كحول الأميل غير قابل للذوبان في الماء يتشكل اللون الأحمر في طبقة زيتية على سطح المرق.

متطلبات إجراء الاختبار:

· مرق ال peptone.
.كاشف كوفاكس (kovac s Reaget)
· أدوات: أنابيب معقمة، حلقات تلقيح، حاضنة، إلخ.

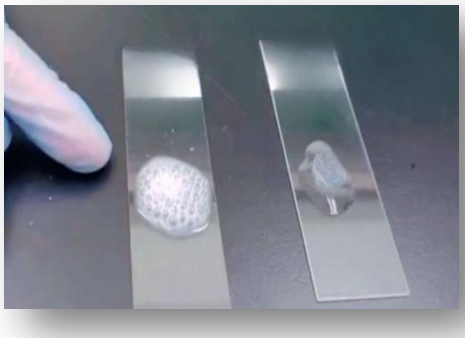
طريقة العمل المخبرية :

1. تعقم حلقة التلقيح، ثم تنقل عينة جرثومية من مستعمرة معزولة إلى أنبوب المرق.
2. تحضن عند 37°م لمدة 18–24 ساعة.
3. يضاف 0.5 مل من كاشف كوفاك ويرج برفق.

3. قراءة النتائج:

نتيجة إيجابية: تكون حلقة حمراء قرمزية في أعلى المرق.

نتيجة سلبية: عدم تغير اللون.



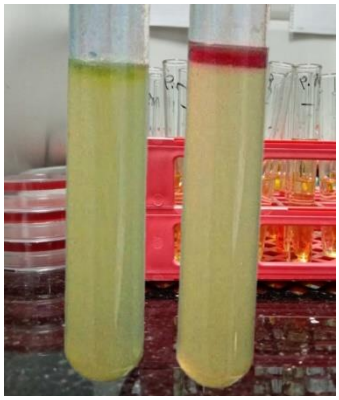
صورة(8)اختبار الكاتلاز (Catalase Test)

صورة(9)اختبار الأوكسيداز (Oxidase Test)

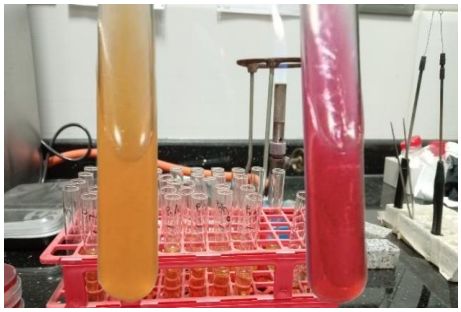
صورة(10)اختبارات الكيمياء الحيوية تخمر السكريات

صورة(11) نتائج اختبارات الكيمياء الحيوية

صورة(12) اختبار اختزال النترات
(Nitrate Reduction Test)



صورة(13)اختبار الاندول (Indol Test)



صورة(14) اختبار اليوياز
(Urease Test)

3 -2-4-التعرف على الباستوريلة القتّالة بواسطة تفاعل البوليميراز المتسلسل:

تم إجراء اختبار ال PCR في مختبر الجسر الأبيض للتحاليل الطبية(د. خلدون جباصيني) في محافظة دمشق.

تم استخدام المستعمرات الجرثومية وعددها(13) عزولة التي تم تأكيد هويتها باختبارات الكيمياء الحيوية حيث تم استخلاص الحمض النووي باستخدام كيت الاستخلاص من شركة QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, Germany) وفقا لتعليمات الشركة المصنعة ثم أجري الاختبار حسب الخطوات التالية:

3-2-4-1-استخلاص الدنا من الجراثيم :

حيث تم استخلاص الحمض النووي باستخدام كيت الاستخلاص من شركة QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, Germany) وفقا لتعليمات الشركة المصنعة وهي على الشكل التالي:

1-تم وضع 20 ميكروليتر من (QIAGEN protease) في انبوب (1.5 ml micro centrifuge tube.)

2-تم اضافة 200 ميكروليتر من المعلق الجرثومي .

3-أضيف 200 ميكروليتر من (buffer AL) للعينة ومزجت بشكل جيد على المازج بشكل لطيف.

4-حضنت العينة بدرجة حرارة 56 درجة مئوية لمدة عشر دقائق.

5-تم التأكد من ازالة القطرات العالقة بغطاء الانبوب بتدويره مرتين بجهاز الطرد المركزي.

6-أضيف 200ميكروليتر من الايثانول(96%) للعينة وخلطت مرة أخرى على المازج لمد 15 ثانية ثم وضع الانبوب بجهاز الطرد المركزي لازالة القطرات من الغطاء.

7-وضع المزيج من الانبوب سابق الذكر في (QIAamp mini spin column) ووضع في انبوب جمع سعة 2ml وأغلق الغطاء ووضع الانبوب في جهاز الطرد المركزي بسرعة 8000 دورة في الدقيقة لمدة دقيقة واحدة .

8-نقل ال (QIAamp mini spin column) إلى انبوب جمع سعة 2ml جديد وتم التخلص من الانبوب الذي يحوي عل الرشاحة.

9-أضيف 500 ميكروليتر من دارئة الغسل 1(buffer AW1) لانبوب (QIAamp mini spin column) سابق الذكر واغلق الغطاء ووضع في الطرد المركزي بسرعة 8000 دورة في الدقيقة لمدة دقيقة واحدة .

10- نقل ال (QIAamp mini spin column) إلى انبوب جمع سعة 2ml جديد وتم التخلص من الانبوب الذي يحوي عل الرشاحة.

11-أضيف 500 ميكروليتر من دارئة الغسل 2 (buffer AW2) لانبوب (QIAamp mini spin column) وأغلق الغطاء ووضع في الطرد المركزي على أعلى سرعة لمدة3دقائق.

12- نقل ال (QIAamp mini spin column) إلى انبوب جمع سعة 2ml جديد وتم التخلص من الانبوب الذي يحوي عل الرشاحة ثم وضع بجهاز الطرد المركزي على أعلى سرعة لمدة دقيقة.

13- نقل ال (QIAamp mini spin column) إلى انبوب ابندورف سعة 1.5 مل (1.5 ml microcentrifuge tube,) وتم إهمال الانبوب الحاوي عل الرشاحة.

14-أضيف 100 ميكروليتر من دارئة (buffer AE) لانبوب (QIAamp mini spin column) ثم حضن بدرجة حرارة الغرفة لمدة دقيقة واحدة ثم وضع بجهاز الطرد المركزي بسرعة 8000 دورة في الدقيقة لمدة دقيقة واحدة.

15-الرشاحة في (1.5 ml microcentrifuge tube) تمثل العينة الحاوية على ال DNA المدروس.

3-2-4-2-تحضير مزيج التفاعل:

حيث تم تحضير الـ (Master Mix) للPCR حسب (Takara) Amp GT PCR master mix:

كمايلي: تم تحديد الحجم النهائي للمزيج ب 28 ميكروليتر مكون من:

جدول رقم (3) مكونات الـ (Master Mix) الخاص باختبار ال PCR :

المكونات	الكمية
Emerald Amp GT PCR mastermix	12.5 µl
PCR grade water	4.5 µl
Forward primer(20 pmol)	1 µl
Reverse primer (20 pmol)	1 µl
Template DNA	9 µl
المجموع	28 µl

بعد تجهيز المزيج في كل انبوب وضعت الانابيب في جهاز المدور الحراري Thermocycler .

3-2-4-3-تضخيم الحمض النووي:

تم تضخيم جين kmt1 لجراثيم الباستوريلة القتّالة حسب(Townsend, *et al.*, 1998). باستخدام بادئات KMT1T7 و KMT1SP6 مع تسلسل نيكلوتيدات على الشكل التالي:

جدول رقم (4) التسلسل النيكلوتيدي للبادئات:

Target gene	Primer	'Sequence (5' -3)
kmt1	KMT1T7	**ATCCGCTATTTACCCAGTGG**
	KMT1SP6	**GCTGTAAACGAACTCGCCAC**

حيث نقلت الأنابيب المحتوية على مزيج التفاعل إلى جهاز المدور الحراري Thermocycler Mastercycler nexus (Eppendorf, Germany) وتم تشغيل الجهاز بعد إعداد البرنامج الخاص بالاختبار وفقاً ل (Townsend, *et al.*, 1998) والموضح في

الجدول رقم (5) برنامج المدور الحراري للكشف عن الباستوريلة القتّالة:

المرحلة	درجة الحرارة	المدة	عدد الدورات
مرحلة التمسخ الأولي Initial Denaturation	95 c	4 دقائق	1
مرحلة التمسخ Denaturation	95 c	1 دقيقة	30
مرحلة ارتباط البادئات Primer-annealing step	55 c	1 دقيقة	
مرحلة الاستطالة وتضخيم الدنا DNA extension step	72 c	1 دقيقة	
مرحلة الاستطالة النهائية Final DNA extension	72 c	9 دقيقة	1

3-2-4-4-الكشف عن نواتج تفاعل البوليميراز المتسلسل:

1-تم إذابة (2غرام) من الآغار في 100 مل من محلول TBE في حوجلة زجاجية معقمة.

2-وضعت الحوجلة في الميكرووف لإذابة جميع الحبيبات مع التحريك المستمر.

3-ترك ليبرد حتى درجة حرارة 70 مئوية.

4-تم إضافة 0.5 ميكروغرام لكل مل من بروميد الايثيديوم ومزج جيدا.

5-سكب الآغار الدافئ مباشرة في خزان جهاز الرحلان ووضع المشط المناسب لعدد العينات وترك في حرارة الغرفة ليتصلب.

6-أزيل المشط وملئ خزان الرحلان الكهربائي بمحلول TBE .

7-مزج 10 ميكروليتر من كل ناتج تفاعل البوليميراز (PCR) مع 1 ميكروليتر من محلول التحميل (loading buffer)

8-وضع المزيج في آبار الآغاروز ووضع أيضا 6 ميكروليتر من معلم الوزن الجزيئي للحمض النووي.

9-ضبط الجهاز على جهد 100 فولت لمدة 60 دقيقة.

10-نقل الجل بعد انتهاء الوقت لحجرة الأشعة فوق البنفسجية للقراءة.

11- نتائج تفاعل PCR المتوقعة لجين Kmtl الخاص بجراثيم الباستوريلة القتّالة على الآغاروز عصائب بطول 460 أساس آزوتي.(khamesipour, *et al.*, 2014)

3-2-5-اختبار فعالية الصادات:

تم تحديد حساسية عزلات الباستوريلة القتّالة بالنسبة للصادات الحيوية في المختبر من خلال إجراء الانتشار القرصي القياسي حيث تم توحيد المعلق الجرثومي حسب معيار McFarland (0.5) تبعاً للإجراء الذي حددته (NCCLS,2008) ثم تم تلقيح العينات على آجار Muller-Hinton ،تم اختيار صادات الجراثيم التالية:

Doxycycline (DOX), Gentamicin (GEN), Ciprofloxacin (CIP), Tylosin (TLY), Amoxicillin (AMC), Enrofloxacin (ENR), Tetracyclin (TE).

تم حضن الأطباق عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة ،ثم تم قياس أقطار مناطق التثبيط (بالمليمتر) ومقارنتها بالمعيار المقبول دوليا لتحديد حساسية أومقاومة العزلات تبعاً لدليل (NCCLS,2008)

3-2-6-التحليل الإحصائي Statistical Analysis:

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

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

x^2 : قيمة مربع كاي O : عدد الحالات المشاهدة E :عدد الحالات المتوقعة.

صورة(15) فحص الحالة العامة للطيور	صورة(16) فحص الحالة الظاهرية
صورة(17) فحص الحالة الظاهرية	صورة(18) فحص الحالة العامة

صورة(19) تشريح وجمع عينات

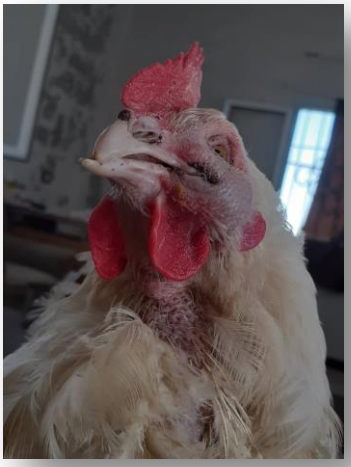
صورة(20) تشريح وجمع عينات

صورة(21) جمع العينات النسيجية

صورة(22) جمع عينات دم القلب

صورة(23) بهتان العرف والداليتين

صورة(24)افرازرات التهابية متجبنة

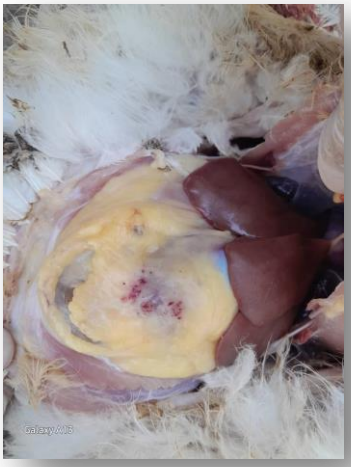


صورة(25) افرازات أنفية والتهاب الجيوب

صورة(26) افرازات والتهاب ملتحمة

صورة(27) تورم المفاصل

صورة(28) إلتواء الرقبة



صورة(29) نزف على دهن البطن

صورة(30) نزف على القلب

صورة(31) احتقان عام وتورم الطحال

صورة(32) تورم الكبد

الفصل الرابع

النتائج

THE RESULTS

4-النتائج :

4-1-المشاهدات الحقلية والأعراض السريرية للطيور التي أخذت منها عينات البحث:

توزعت العينات بين طيور سليمة لاتعاني من أعراض مرضية وطيور تعاني من أعراض مرضية حيث لوحظ على معظم طيور الدراسة المريضة والمنتمية لقطعان دجاج البياض والأمات ودجاج اللحم والتربية المنزلية المنتشرة في ريف حماة وحمص والتي جمعت منها العينات ،أعراض تنفسية تتمثل بصعوبة تنفس وإفرازات أنفية و دمعية مع التهاب في ملتحمة العين وزرقة في العرف والدواليتين، بالإضافة لخمول عام وفقدان للشهية، كما سجل في بعض القطعان حالات ارتفاع مفاجئ في معدل النفوق، بالإضافة إلى انخفاض في معدل انتاج البيض ووجود حالات عرج ضمن القطيع بسبب التهاب المفاصل.

4-2- نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة نويع القتّالة:

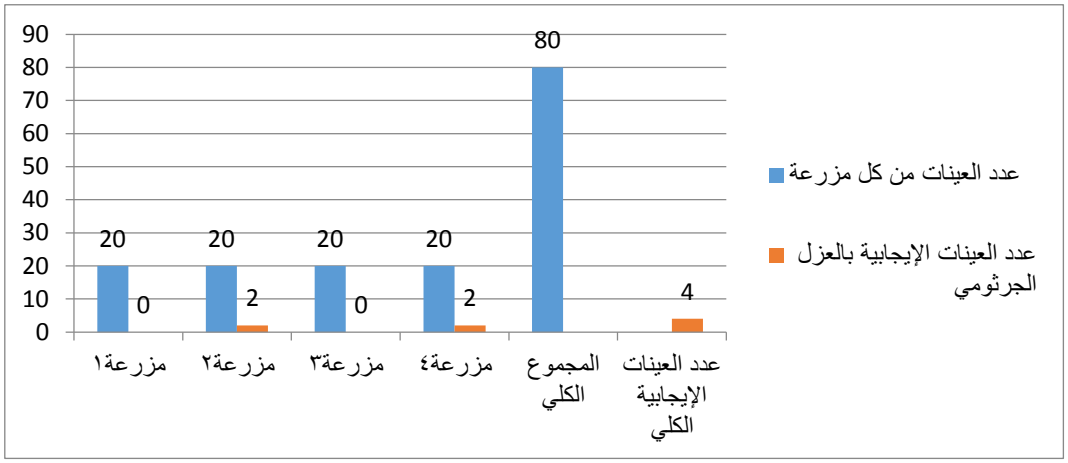
ظهرت مستعمرات الباستوريلة القتّالة مخاطية صغيرة في منبت آجار الدم تشبه قطرات الندى بعد حضنها لمدة 24 ساعة وظهرت على شكل عصيات سالبة الغرام عند صبغها بصبغة غرام ،كما لم تنمو على وسط MacConky كما أظهرت نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية المطبقة على الجراثيم التي تم عزلها بالزرع الجرثومي أنها تخمر الغلوكوز والمانيتولGlucose (+)Mannitol(+) ولاتخمر الأرابينوز Arabinose(−) واللاكتوزLactose (−) والتريهالوز Trehalose(−) وكانت منتجة لأنزيم الكاتلاز Catalase (+) وأنزيم Oxidase(cytochrome c oxidase) (+), وأنزيم Nitrate Reduction (Nitrate Reductase) (+)وأنزيم (التربتوفاناز)Indole Production (+) وغير منتجة لأنزيم اليورياز Urease Test (−)

4-2-1-نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات -بياض)في محافظة حماة:

يظهر الجدول رقم (6) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة للعينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري (أمات -بياض) حيث تمت الدراسة على أربع مزارع في ريف محافظة حماة جمع من كل منها عينات توزعت بين مسحات من الرغامى وعينات من الرئتين وعينات من دم القلب بحيث يكون العدد الكلي للعينات المجموعة من هذه المزارع 80 عينة وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود (4)عينات إيجابية لجراثيم الباستوريلة القتّالة توزعت على المزارع رقم (2-4).

جدول رقم (6) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات-بياض)في محافظة حماة:

رقم المزرعة	نوع المزرعة	عدد العينات من كل مزرعة	عدد العينات الإيجابية بالعزل الجرثومي	نسبة الانتشار
1	أمات وبياض	20	0	
2	أمات وبياض	20	2	
3	أمات وبياض	20	0	
4	أمات وبياض	20	2	
المجموع الكلي		80	4	%5



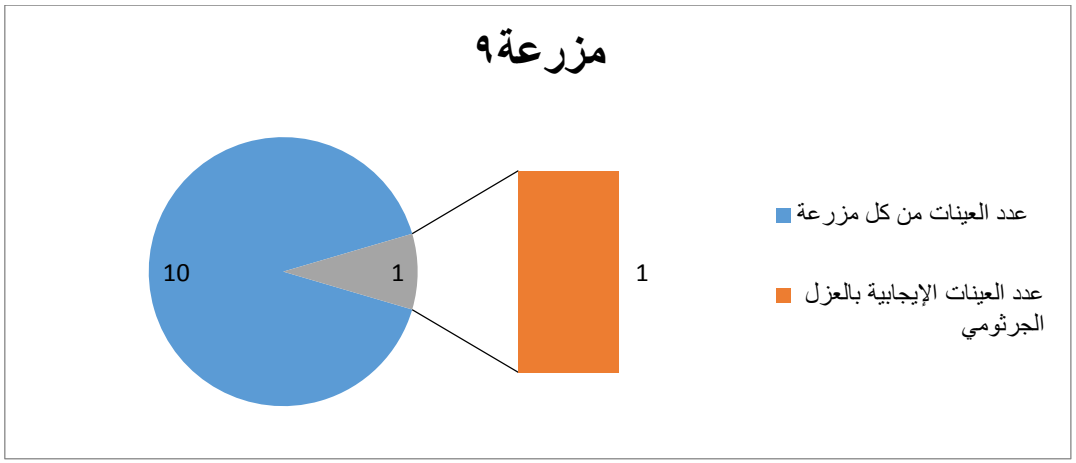
شكل رقم(1) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض)في محافظة حماة

4-2-2-نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري (فروج) في محافظة حماة:

يظهر الجدول رقم (7) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة للعينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري (فروج) حيث تمت الدراسة على مزرعة واحدة في ريف محافظة حماة جمع منها عينات توزعت بين مسحات من الرغامى وعينات من الرئتين وعينات من دم القلب بحيث يكون العدد الكلي للعينات المجموعة من هذه المزارعة 10 عينات وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود (1)عينة إيجابية لجراثيم الباستوريلة القتّالة.

جدول رقم (7) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة:

رقم المزرعة	نوع المزرعة	عدد العينات من كل مزرعة	عدد العينات الإيجابية بالعزل الجرثومي	نسبة الانتشار
9	فروج	10	1	%10



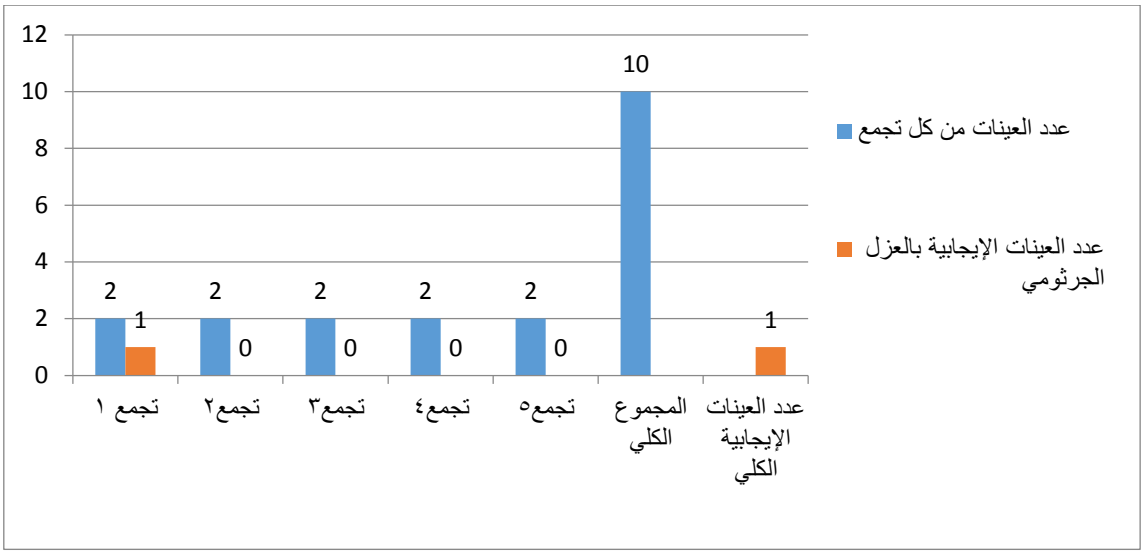
شكل رقم (2) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة

4-2-3-نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة:

يظهر الجدول رقم (8) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة للعينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان دجاج التربية المنزلية حيث تمت الدراسة على خمس تجمعات في ريف محافظة حماة جمع من كل منها (2) عينة توزعت بين مسحات من الرغامى وعينات نسيجية من الرئتين وعينات من دم القلب بحيث يكون العدد الكلي للعينات المجموعة من هذه المزارع (10) عينات وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود (1) عينة إيجابية لجراثيم الباستوريلة القتّالة في المزارع رقم (1).

جدول رقم (8) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة:

رقم التجمع	نوعه	عدد العينات من كل تجمع	عدد العينات الإيجابية بالعزل الجرثومي	نسبة الانتشار
1	دجاج تربية منزلية	2	1	
2	دجاج تربية منزلية	2	0	
3	دجاج تربية منزلية	2	0	
4	دجاج تربية منزلية	2	0	
5	دجاج تربية منزلية	2	0	
المجموع الكلي		10	1	%10



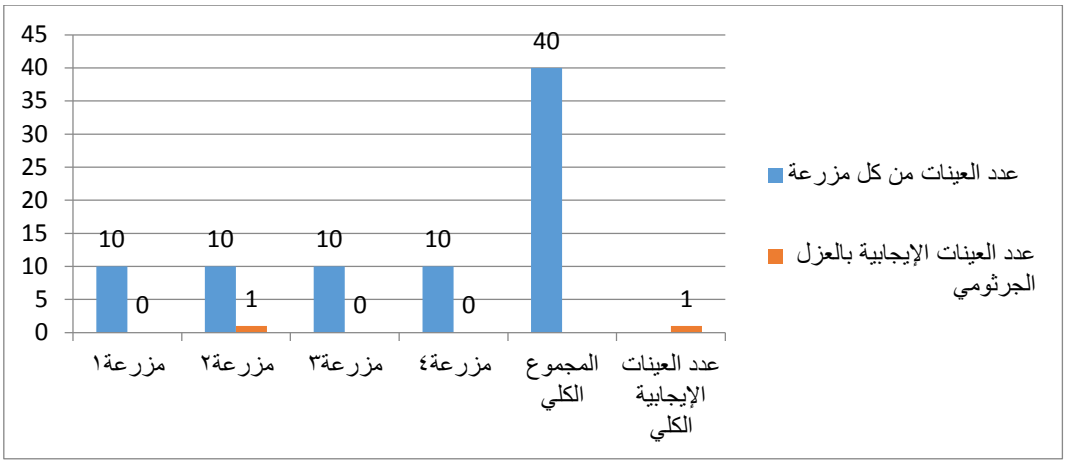
شكل رقم (3) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة

4-2-4-نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات –بياض) في محافظة حماة:

يظهر الجدول رقم (9) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة للعينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري (أمات –بياض) حيث تمت الدراسة على أربع مزارع في ريف محافظة حماة جمع من كل منها عينات توزعت بين مسحات من الرغامى وعينات نسيجية من الرئتين وعينات من دم القلب بحيث يكون العدد الكلي للعينات المجموعة من هذه المزارع (40)عينة وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود (1) عينة إيجابية لجراثيم الباستوريلة القتّالة توزعت على المزارع رقم (2).

جدول رقم (9) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حماة :

رقم المزرعة	نوع المزرعة	عدد العينات من كل مزرعة	عدد العينات الإيجابية بالعزل الجرثومي	نسبة الانتشار
1	أمات وبياض	10	0	
2	أمات وبياض	10	1	
3	أمات وبياض	10	0	
4	أمات وبياض	10	0	
المجموع الكلي		40	1	%2.5



شكل رقم (4) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حماة

4-2-5-نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة:

يظهر الجدول رقم (10) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة للعينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري (فروج) حيث تمت الدراسة على مزرعة واحدة في ريف محافظة حماة جمع منها عينات توزعت بين مسحات من الرغامى وعينات نسيجية من الرئتين وعينات من دم القلب بحيث يكون العدد الكلي للعينات المجموعة من هذه المزرعة (5)عينات وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها عدم وجود أي عينات إيجابية لجراثيم الباستوريلة القتّالة .

جدول رقم (10) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة :

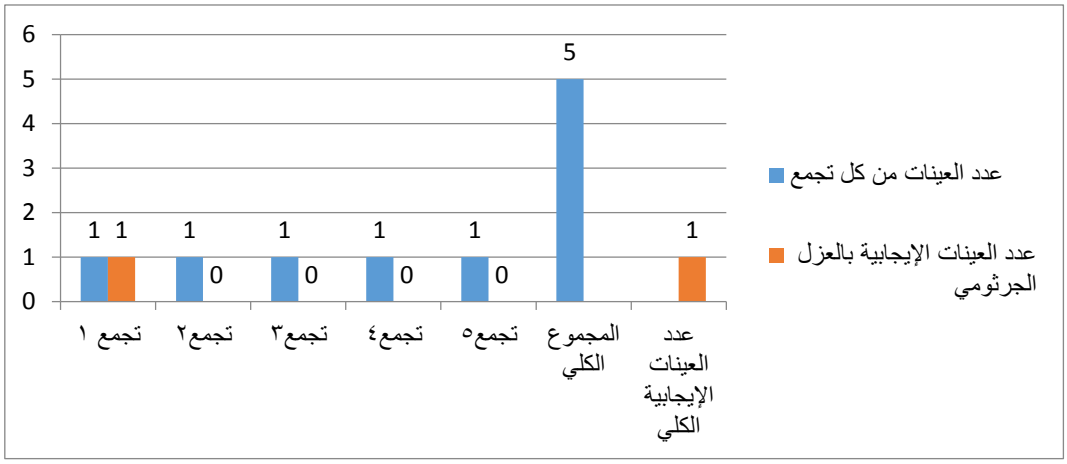
رقم المزرعة	نوع المزرعة	عدد العينات من كل مزرعة	عدد العينات الإيجابية بالعزل الجرثومي	نسبة الانتشار
9	فروج	5	0	%0

4-2-6-نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة:

يظهر الجدول رقم (11) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة للعينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان دجاج التربية المنزلية حيث تمت الدراسة على خمس تجمعات في ريف محافظة حماة جمع من كل منها (1) عينة واحدة توزعت بين مسحات من الرغامى وعينات نسيجية من الرئتين وعينات من دم القلب بحيث يكون العدد الكلي للعينات المجموعة من هذه المزارع (5) عينة وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود عينة إيجابية لجراثيم الباستوريلة القتّالة في المزرعة رقم (1).

جدول رقم (11) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة:

رقم التجمع	نوعه	عدد العينات من كل تجمع	عدد العينات الإيجابية بالعزل الجرثومي	نسبة الانتشار
1	دجاج تربية منزلية	1	1	
2	دجاج تربية منزلية	1	0	
3	دجاج تربية منزلية	1	0	
4	دجاج تربية منزلية	1	0	
5	دجاج تربية منزلية	1	0	
المجموع الكلي		5	1	%20



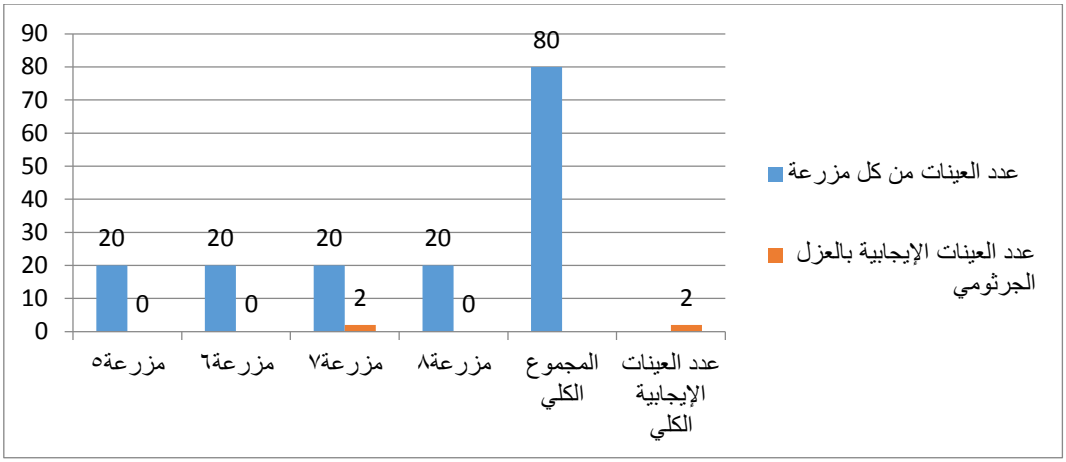
شكل رقم (5) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة

4-2-7-نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري (أمات – بياض) في محافظة حمص:

يظهر الجدول رقم (12) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة للعينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري (أمات –بياض) حيث تمت الدراسة على أربع مزارع في ريف محافظة حمص جمع من كل منها عينات توزعت بين مسحات من الرغامى وعينات من الرئتين وعينات من دم القلب بحيث يكون العدد الكلي للعينات المجموعة من هذه المزارع 80 عينة وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود (2)عينة إيجابية لجراثيم الباستوريلة القتّالة في المزرعة رقم (7).

جدول رقم (12) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص:

رقم المزرعة	نوع المزرعة	عدد العينات من كل مزرعة	عدد العينات الإيجابية بالعزل الجرثومي	نسبة الانتشار
5	أمات وبياض	20	0	
6	أمات وبياض	20	0	
7	أمات وبياض	20	2	
8	أمات وبياض	20	0	
المجموع الكلي		80	2	%2.5



شكل رقم (6) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص

4-2-8-نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري (فروج) في محافظة حمص:

يظهر الجدول رقم (13) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة للعينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري (فروج) حيث تمت الدراسة على مزارعة واحدة في ريف محافظة حمص جمع منها عينات توزعت بين مسحات من الرغامى وعينات من الرئتين وعينات من دم القلب بحيث يكون العدد الكلي للعينات المجموعة من هذه المزارعة 10 عينات وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها عدم وجود أي عينات إيجابية لجراثيم الباستوريلة القتّالة.

جدول رقم (13) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حمص:

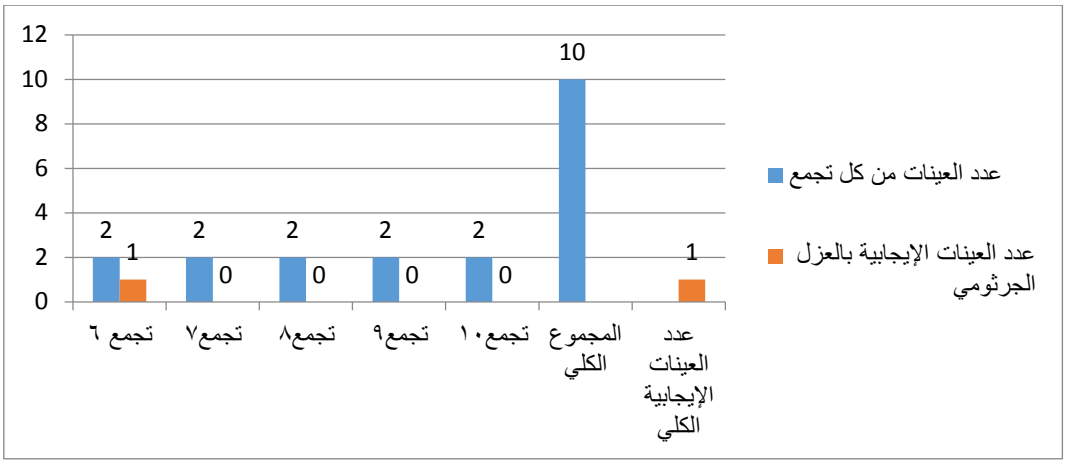
رقم المزرعة	نوع المزرعة	عدد العينات من كل مزرعة	عدد العينات الإيجابية بالعزل الجرثومي	نسبة الانتشار
10	فروج	10	0	%0

4-2-9-نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص:

يظهر الجدول رقم (14) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة للعينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان دجاج التربية المنزلية حيث تمت الدراسة على خمس تجمعات في ريف محافظة حمص جمع من كل منها (2) عينة توزعت بين مسحات من الرغامى وعينات نسيجية من الرئتين وعينات من دم القلب بحيث يكون العدد الكلي للعينات المجموعة من هذه المزارع (10) عينات وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود (1) عينة إيجابية لجراثيم الباستوريلة القتّالة في المزارع رقم (6).

جدول رقم (14) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص:

رقم التجمع	نوعه	عدد العينات من كل تجمع	عدد العينات الإيجابية بالعزل الجرثومي	نسبة الانتشار
6	دجاج تربية منزلية	2	1	
7	دجاج تربية منزلية	2	0	
8	دجاج تربية منزلية	2	0	
9	دجاج تربية منزلية	2	0	
10	دجاج تربية منزلية	2	0	
المجموع الكلي		10	1	%10



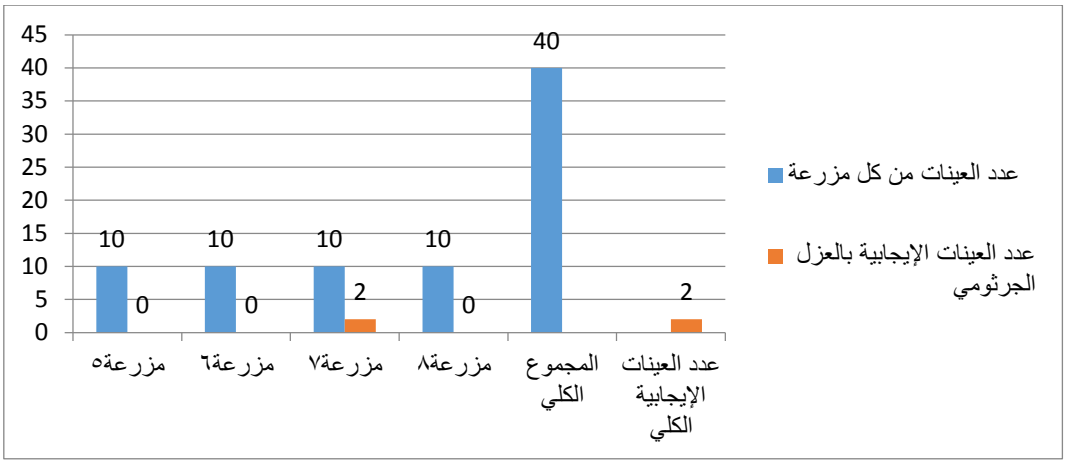
شكل رقم (7) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص

4-2-10-نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات –بياض) في محافظة حمص:

يظهر الجدول رقم (15) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة للعينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري (أمات –بياض) حيث تمت الدراسة على أربع مزارع في ريف محافظة حمص جمع من كل منها عينات توزعت بين مسحات من الرغامى وعينات نسيجية من الرئتين وعينات من دم القلب بحيث يكون العدد الكلي للعينات المجموعة من هذه المزارع (40)عينة وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود (2) عينة إيجابية لجراثيم الباستوريلة القتّالة توزعت على المزارع رقم (7).

جدول رقم (15) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص :

رقم المزرعة	نوع المزرعة	عدد العينات من كل مزرعة	عدد العينات الإيجابية بالعزل الجرثومي	نسبة الانتشار
5	أمات وبياض	10	0	
6	أمات وبياض	10	0	
7	أمات وبياض	10	2	
8	أمات وبياض	10	0	
المجموع الكلي		40	2	%5



شكل رقم (8) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص

4-2-11-نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حمص:

يظهر الجدول رقم (16) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة للعينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري (فروج) حيث تمت الدراسة على مزرعة واحدة في ريف محافظة حمص جمع منها عينات توزعت بين مسحات من الرغامى وعينات نسيجية من الرئتين وعينات من دم القلب بحيث يكون العدد الكلي للعينات المجموعة من هذه المزرعة (5)عينات وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها عدم وجود أي عينات إيجابية لجراثيم الباستوريلة القتّالة .

جدول رقم (16) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حمص:

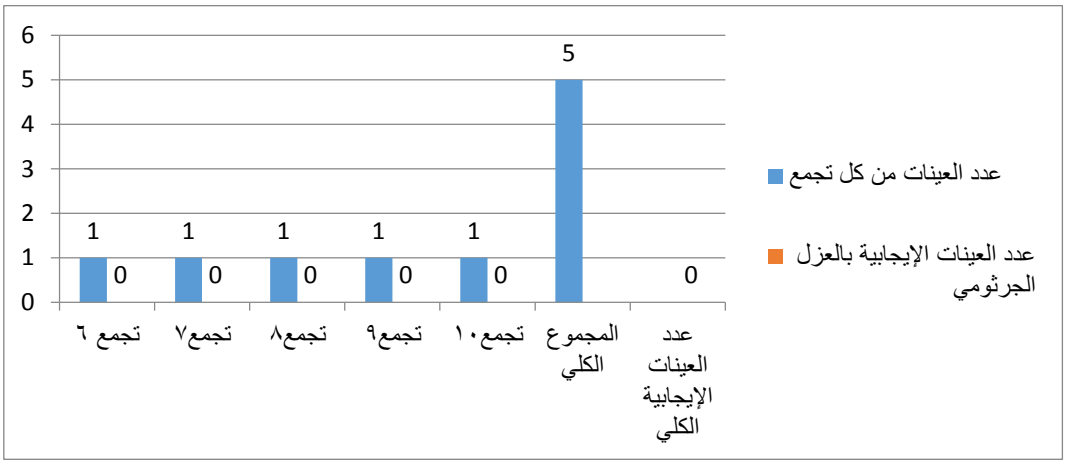
رقم المزرعة	نوع المزرعة	عدد العينات من كل مزرعة	عدد العينات الإيجابية بالعزل الجرثومي	نسبة الانتشار
10	فروج	5	0	%0

4-2-12-نتائج العزل الجرثومي لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص:

يظهر الجدول رقم (17) نسبة العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة للعينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان دجاج التربية المنزلية حيث تمت الدراسة على خمس تجمعات في ريف محافظة حمص جمع من كل منها (1) عينة واحدة توزعت بين مسحات من الرغامى وعينات نسيجية من الرئتين وعينات من دم القلب بحيث يكون العدد الكلي للعينات المجموعة من هذه المزارع (5) عينة وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها عدم وجود أي عينة إيجابية لجراثيم الباستوريلة القتّالة .

جدول رقم (17) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص:

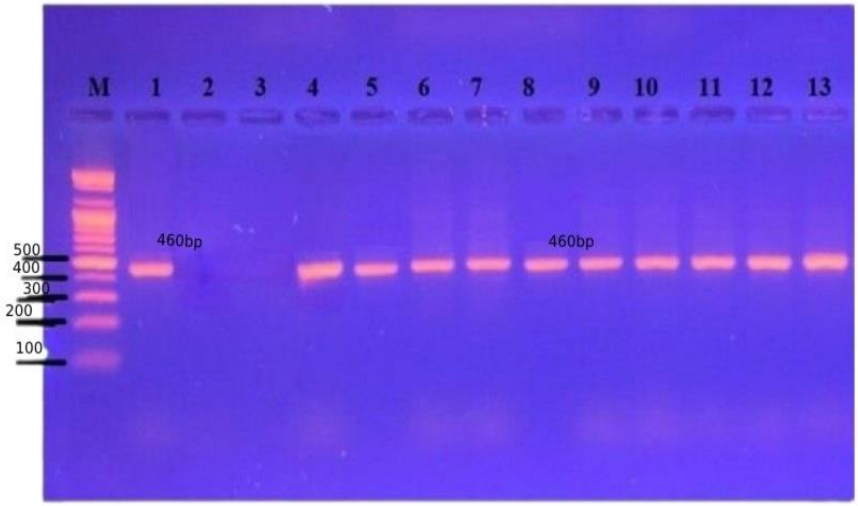
رقم التجمع	نوعه	عدد العينات من كل تجمع	عدد العينات الإيجابية بالعزل الجرثومي	نسبة الانتشار
6	دجاج تربية منزلية	1	0	
7	دجاج تربية منزلية	1	0	
8	دجاج تربية منزلية	1	0	
9	دجاج تربية منزلية	1	0	
10	دجاج تربية منزلية	1	0	
المجموع الكلي		5	0	%0



شكل رقم (9) نتائج العزل لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان(دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص

4-3- نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي:

تم استخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR للكشف عن الجين kmt1. أظهرت نتائجنا أن عزلات الباستوريلة القتّالة أنتجت الأمبليكونات المتوقعة البالغة 460 نقطة أساس والتي تخص الباستوريلة القتّالة



صورة رقم (33) نتائج اختبار ال PCR بطريقة التحليل الكهربائي لهلام الآغاروز.

الرحلان الكهربائي لهلام الآغاروز لنتائج التضخيم لجين Kmtl الخاص بجراثيم الباستوريلة القتّالة،

حيث M : 100 bp DNA ladder ،العزلات 1 و 4- 13 عزلات الباستوريلة القتّالة إيجابية بطول 460 bp والعزلات 2 و3 سلبية .

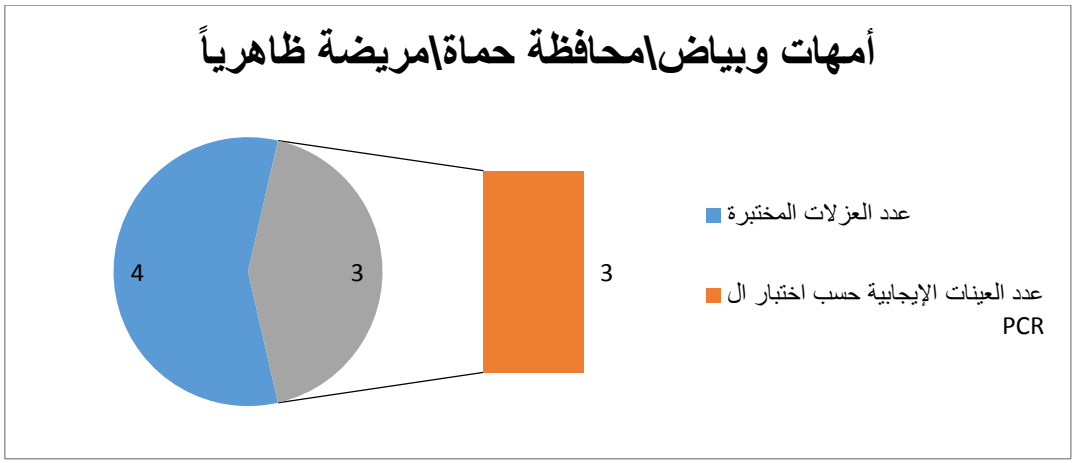
تظهر الصورة رقم (33) نتائج تفاعل ال PCR حيث تم ترحيل نتيجة التضخيم لجين Kmtl الخاص بجراثيم الباستوريلة القتّالة على الآغاروز وتبين وجود عصائب بطول 460 أساس آزوتي.

4-3-1-نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات –البياض) في محافظة حماة:

يظهر الجدول رقم (18) نتائج العزل حسب اختبار PCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات-بياض) في محافظة حماة حيث أجريت الاختبارات على أربع عينات وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود 3 عينات ايجابية.

جدول رقم (18) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات-بياض) في محافظة حماة :

نوع المزرعة	عدد العزلات المختبرة	عدد العينات الإيجابية حسب اختبار ال PCR
أمات وبياض	4	3



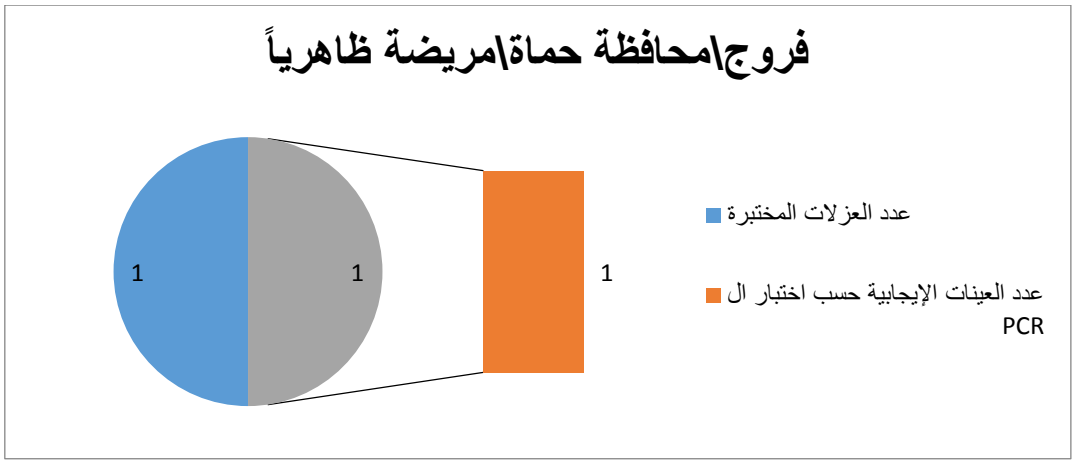
شكل رقم (10) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات-بياض) في محافظة حماة

4-3-2-نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة:

يظهر الجدول رقم (19) نتائج العزل حسب اختبار PCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة حيث أجريت الاختبارات على عينة واحدة وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود عينة واحدة ايجابية.

جدول رقم (19) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة :

نوع المزرعة	عدد العزلات المختبرة	عدد العينات الإيجابية حسب اختبار ال PCR
فروج	1	1



شكل رقم (11) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة

4-3-3- نتائج اختبار ال PCR على جراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة:

يظهر الجدول رقم (20) نتائج العزل حسب اختبار PCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان دجاج التربية المنزلية في محافظة حماة حيث أجريت الاختبارات على عينة واحدة وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها عدم وجود أي عينة ايجابية.

جدول رقم (20) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة:

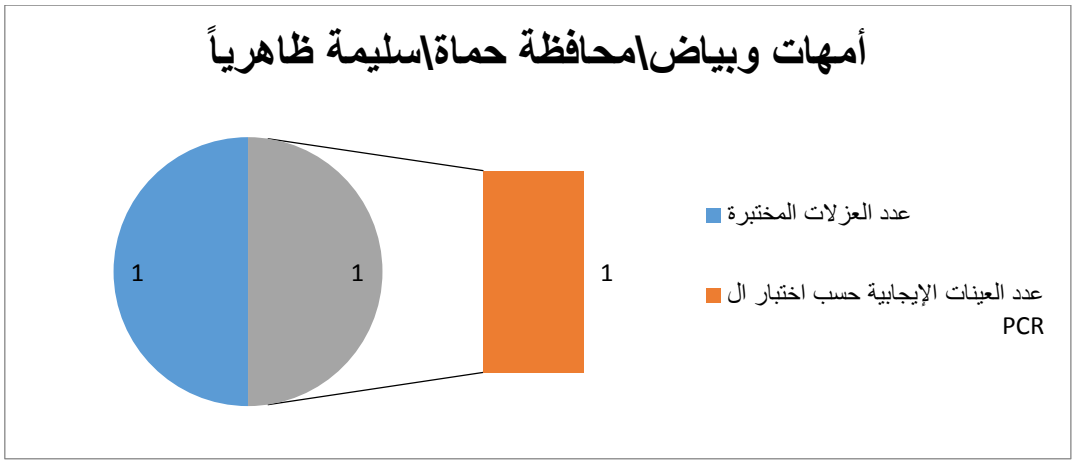
نوع المزرعة	عدد العزلات المختبرة	عدد العينات الإيجابية حسب اختبار ال PCR
دجاج التربية المنزلية	1	0

4-3-4- نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات –بياض) في محافظة حماة:

يظهر الجدول رقم (21) نتائج العزل حسب اختبار PCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حماة حيث أجريت الاختبارات على عينة واحدة وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود عينة واحدة ايجابية.

جدول رقم (21) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حماة :

نوع المزرعة	عدد العزلات المختبرة	عدد العينات الإيجابية حسب اختبار ال PCR
أمات وبياض	1	1



شكل رقم (12) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات-بياض) في محافظة حماة

4-3-5-نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حماة:

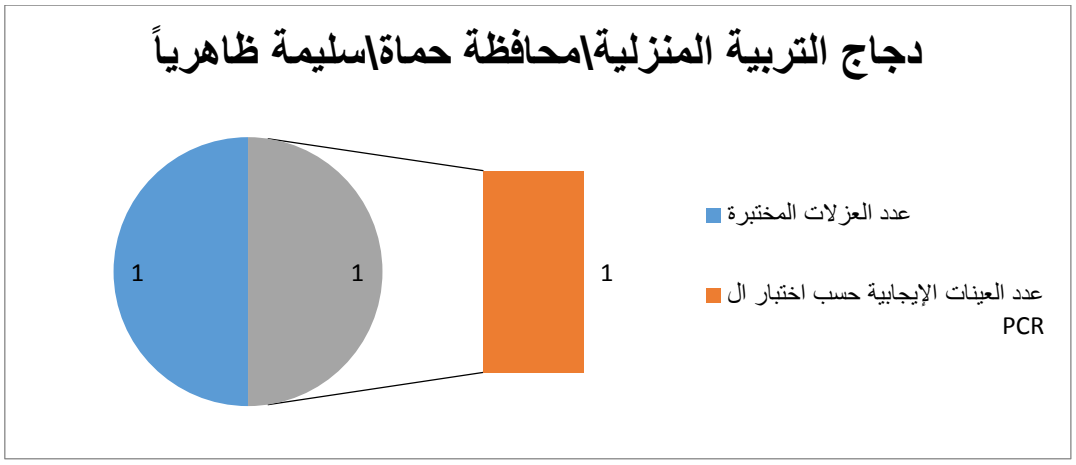
لم يجر اختبار ال PCR لأنه لم يكن هناك نتائج ايجابية حسب العزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الفروج في محافظة حماة.

4-3-6- نتائج اختبار ال PCR على جراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة:

يظهر الجدول رقم (22) نتائج العزل حسب اختبار PCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان دجاج التربية المنزلية في محافظة حماة حيث أجريت الاختبارات على عينة واحدة وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود عينة واحدة ايجابية.

جدول رقم (22) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة :

نوع المزرعة	عدد العزلات المختبرة	عدد العينات الإيجابية حسب اختبار ال PCR
دجاج التربية المنزلية	1	1



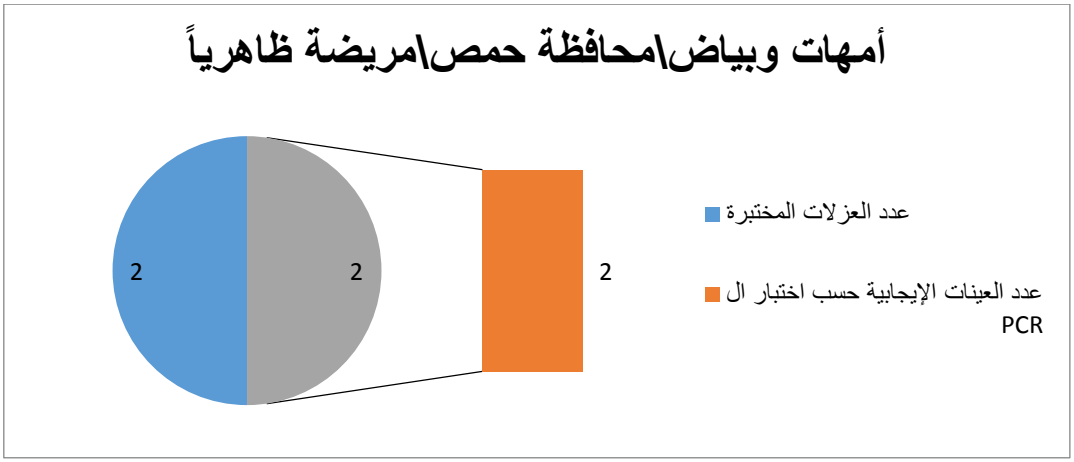
شكل رقم (13) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حماة

4-3-7-نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات –البياض) في محافظة حمص:

يظهر الجدول رقم (23) نتائج العزل حسب اختبار PCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص حيث أجريت الاختبارات على عينتين وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود عينتين ايجابيتين.

جدول رقم (23) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص :

نوع المزرعة	عدد العزلات المختبرة	عدد العينات الإيجابية حسب اختبار ال PCR
أمات وبياض	2	2



شكل رقم (14) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات-بياض) في محافظة حمص

4-3-8-نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حمص:

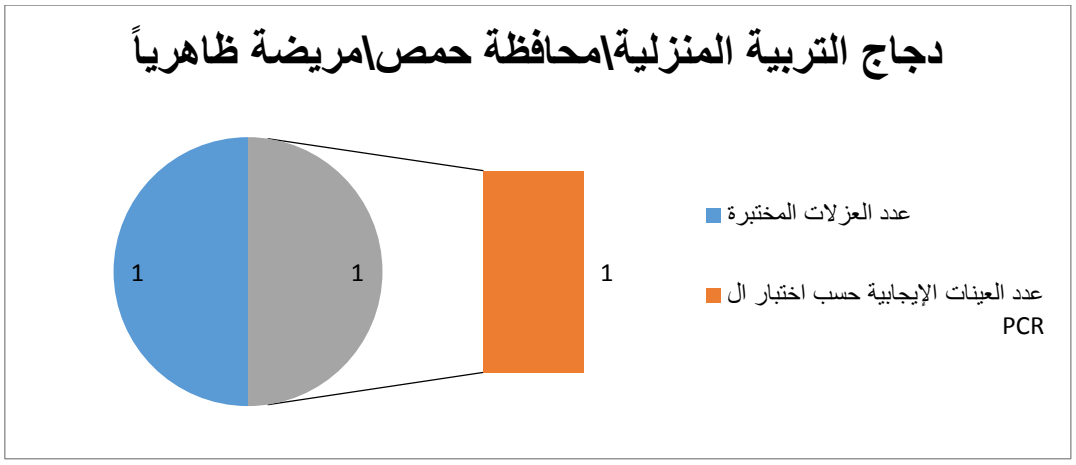
لم يجر اختبار ال PCR لأنه لم يكن هناك نتائج ايجابية حسب العزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان الفروج في محافظة حمص.

4-3-9- نتائج اختبار ال PCR على جراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص:

يظهر الجدول رقم (24) نتائج العزل حسب اختبار PCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات المشتبهة ظاهرياً المدروسة في قطعان دجاج التربية المنزلية في محافظة حمص حيث أجريت الاختبارات على عينة واحدة وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود عينة واحدة ايجابية.

جدول رقم (24) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص:

نوع المزرعة	عدد العزلات المختبرة	عدد العينات الإيجابية حسب اختبار ال PCR
دجاج التربية المنزلية	1	1



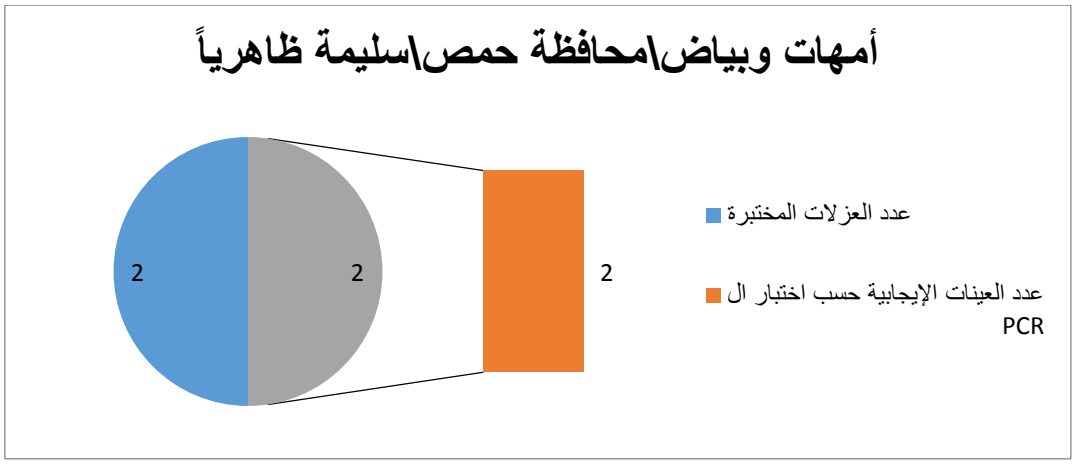
شكل رقم (15) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات المشتبهة ظاهرياً المجموعة من قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص

4-3-10- نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات –بياض) في محافظة حمص:

يظهر الجدول رقم (25) نتائج العزل حسب اختبار PCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص حيث أجريت الاختبارات على عينتين وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها وجود عينتين ايجابيتين.

جدول رقم (25) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص :

نوع المزرعة	عدد العزلات المختبرة	عدد العينات الإيجابية حسب اختبار ال PCR
أمات وبياض	2	2



شكل رقم (16) نتائج العزل حسب اختبار الPCR لجراثيم الباستوريلة القتّالة في العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الدجاج التجاري(أمات–بياض) في محافظة حمص

4-3-11-نتائج اختبار ال PCR على عزلات الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان الدجاج التجاري(فروج) في محافظة حمص:

لم يجر اختبار ال PCR لأنه لم يكن هناك نتائج ايجابية حسب العزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان الفروج في محافظة حمص.

4-3-12- نتائج اختبار ال PCR على جراثيم الباستوريلة القتّالة الايجابية للعزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المدروسة في قطعان (دجاج التربية المنزلية) في محافظة حمص:

لم يجر اختبار ال PCR لأنه لم يكن هناك نتائج ايجابية حسب العزل الجرثومي من العينات السليمة ظاهرياً المجموعة من قطعان دجاج التربية المنزلية في محافظة حمص.

4-4-نسبة الانتشار لجراثيم الباستوريلة القتّالة من العينات المدروسة في المنطقة الوسطى من سورية:

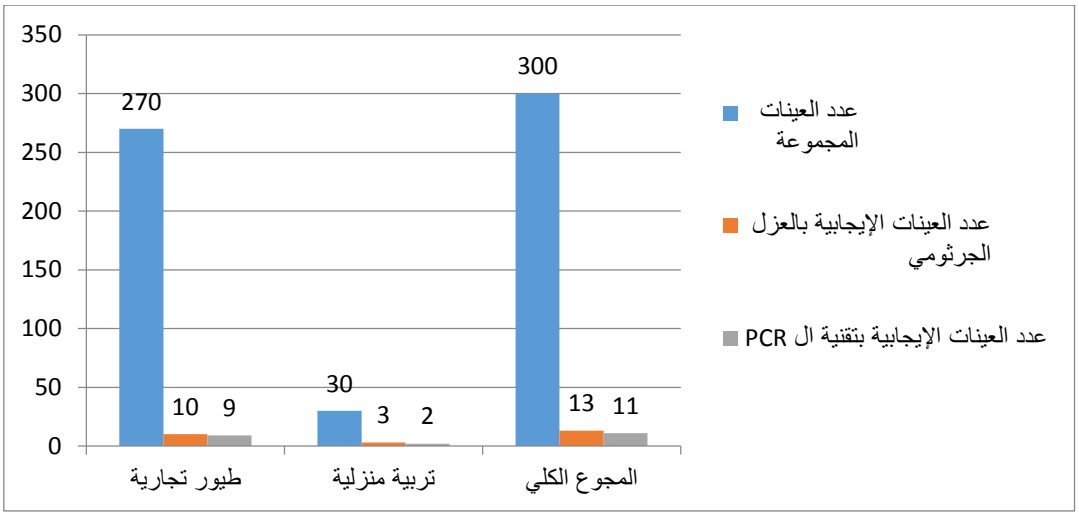
يظهر الجدول رقم (26) والشكل رقم (17-18) نسب الانتشار الكلية للإصابة بكوليرا الطيور عند قطعان الدجاج في المنطقة الوسطى من سورية حيث كانت نسبة الانتشار حسب نتائج العزل الجرثومي في القطعان التجارية **(3.7%)** وفي قطعان دجاج التربية المنزلية **(10%)** والنسبة الكلية هي**(4.3%)** أما نتائج ال **PCR** فكانت في القطعان التجارية **(3.3%)** وفي قطعان دجاج التربية المنزلية **(6.6%)** والنسبة الكلية هي**(3.6%)** .

جدول رقم (26) نسبة الانتشار الكلية لجراثيم الباستوريلة القتّالة عند قطعان الدجاج المدروسة في المنطقة الوسطى من سورية:

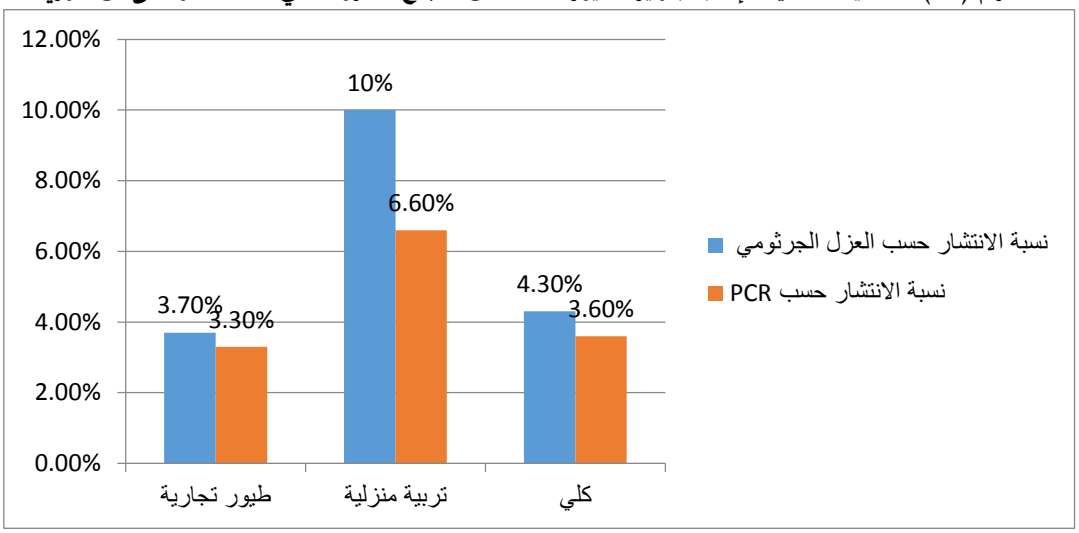
نوع الطيور	عدد العينات الكلي	عدد العينات الإيجابية بالعزل الجرثومي	نسبة الانتشار حسب العزل الجرثومي	عدد العينات الإيجابية بتقنية ال PCR	نسبة الانتشار حسبPCR
تجارية	270	10	[a] 3.7%	9	[a] 3.3%
دجاج التربية المنزلية	30	3	[b] 10%	2	[b] 6.6%
المجموع	300	13	4.3%	11	3.6%

تدل الرموز a,b على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية 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 العزل الجرثومي – حسب PCR) بين المجموعات (تجارية وتربية منزلية) ، حيث كانت قيمة الاحتمالية $P<0.05$ عند مستوى المعنوية ألفا (0.05).



شكل رقم (17)عدد العينات الكلية للإصابة بكوليرا الطيور عند قطعان الدجاج المدروسة في المنطقة الوسطى من سورية



شكل رقم (18) نسبة الانتشار الكلية للإصابة بكوليرا الطيور عند قطعان الدجاج المدروسة في المنطقة الوسطى من سورية

شكل رقم (19) مخطط تدفق يوضح مسار العينات

4-5-نتائج اختبار حساسية جراثيم الباستوريلة القتّالة للصادات :

يظهر الجدول رقم (27) نتائج فحص حساسية العزلات التي اختلفت حسب آلية فعالية الصاد وحسب تشكل مقاومة لهذا الصاد حيث أظهرت العزلة رقم (7) مقاومة لجميع الصادات المختبرة ،بينما العزلة رقم (10)كانت حساسة لجميع الصادات المختبرة ،كما نلاحظ أن العزلة رقم (1) كانت حساسة لجميع الصادات المختبرة عدا (TYL10،CIP5) وتوافقت معها العزلة رقم(11)،ونلاحظ العزلتان رقم (2-3) وهما عزلتان من مزرعة واحدة أظهرتا مقاومة لجميع الصادات المختبرة عدا (TE30،ENR10 ،CIP5) , بينما نلاحظ أن العزلة رقم (4) كانت حساسة لجميع الصادات المختبرة عدا (TYL10) ، و العزلتان رقم (5-6) وهما عزلتان من مزرعة واحدة أظهرتا حساسية لجميع الصادات المختبرة عدا (TYL10،DOX10) ،أما العزلتان رقم (8-9) وهما عزلتان من مزرعة واحدة أظهرتا حساسية لجميع الصادات المختبرة عدا (DOX10).

جدول رقم (27) توزع حساسية عزلات الباستوريلة القتّالة للصادات المدروسة:

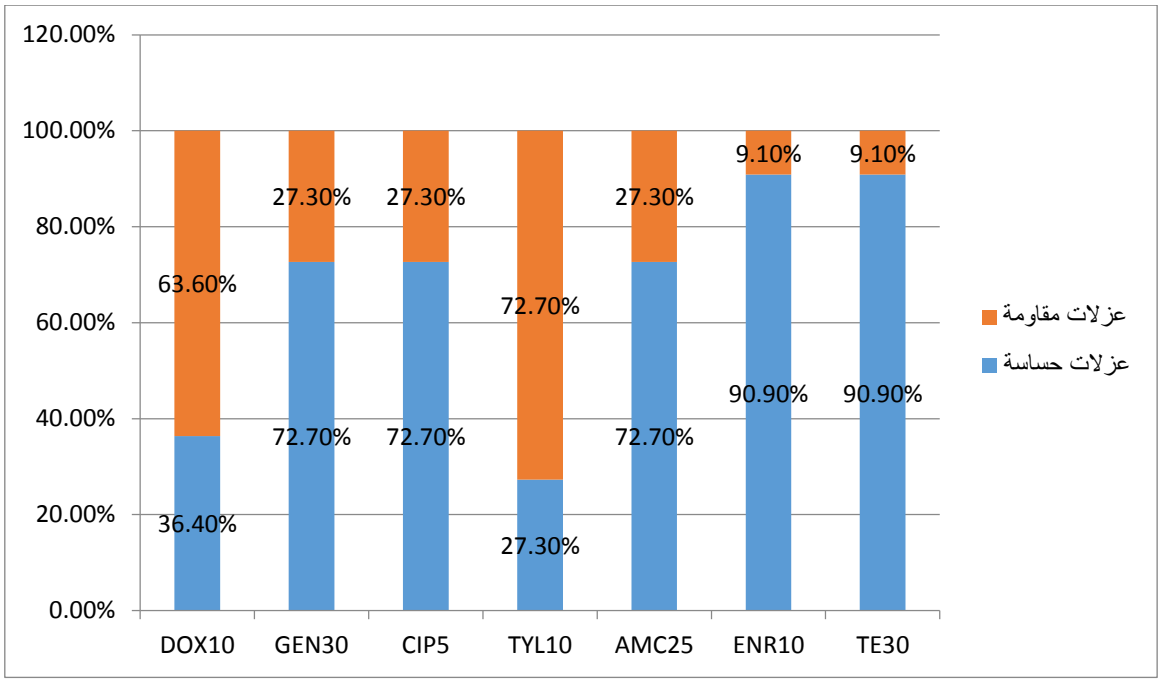
الصاد الحيوي المدروس	عزلة رقم1	عزلة رقم2	عزلة رقم3	عزلة رقم4	عزلة رقم5	عزلة رقم6	عزلة رقم7	عزلة رقم8	عزلة رقم9	عزلة رقم10	عزلة رقم11
DOX10	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S
GEN30	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S
CIP5	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
TYL10	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
AMC25	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S
ENR10	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
TE30	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S

Key: Doxycycline (DOX), Gentamicin (GEN), Ciprofloxacin (CIP), Tylosin (TLY), Amoxicillin (AMC), Enrofloxacin (ENR), Tetracyclin (TE),R(resistant),S(sensitive)

كما يظهر الجدول رقم (28) مقاومة عزلات الباستوريلة القتّالة للصادات المستخدمة حيث نلاحظ أن النسبة المئوية للعزلات المقاومة للصادين (ENR) بتركيز (µg10) و (TE) بتركيز (µg30) كانت هي الأدنى، بينما كانت النسبة المئوية للعزلات المقاومة لكل من الصادات (AMC25، CIP5،GEN30) أعلى قليلاً ،بينما نسبة العزلات المقاومة للدوكسيسيكلين (DOX) بتركيز (µg10) كانت مرتفعة نسبياً و مرتفعة جداً للتايلوزين (TYL) بتركيز (µg10).

جدول رقم (28) مقاومةعزلات الباستوريلة القتّالة للصادات بالنسبة المئوية%

الصاد الحيوي	العزلات الحساسة		العزلات المقاومة	
	العدد	%	العدد	%
DOX10	4	36.4	7	63.6
GEN30	8	72.7	3	27.3
CIP5	8	72.7	3	27.3
TYL10	3	27.3	8	72.7
AMC25	8	72.7	3	27.3
ENR10	10	90.9	1	9.1
TE30	10	90.9	1	9.1



شكل رقم (20) مقاومة عزلات الباستوريلة القتّالة للصادات بالنسبة المئوية%

الفصل الخامس
المناقشة
Discussion

5-المناقشة:

تسبب جراثيم الباستوريلة القتّالة حالات حادة يمكن أن تترافق مع ارتفاع نسبة النفوق أو تنتهي بالتهابات مزمنة (Christen, & Bisyaard, 2000) ، لذلك فان الاصابة بكوليرا 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 الباستوريلة القتّالة (Glisson, *et al.,* 2003)، في المنطقة الوسطى من سورية وهي محافظة حماة وحمص حيث تمت الدراسة على مزارع مختلفة للدجاج التجاري وتجمعات للدجاج المربى منزليا (التربية المنزلية).

5-1-العلامات السريرية والصفات التشريحية المشاهدة على طيور الدراسة:

5-1-1-العلامات السريرية:

5-1-1-1-في الطيور السليمة ظاهرياً:

لم يكن هناك علامات مرضية تدل على إصابة معينة للطيور المدروسة وتفسير وجود عينات إيجابية للباستوريلة بين هذه الطيور هو كون هذه الطيور مخالطة لطيور مصابة ضمن نفس القطيع ومن الممكن أن تكون في بداية الإصابة ،وهذا ما أشار إليه (Rimler,& Glisson ,1997) حيث ذكر بأنه قد تُلاحظ علامات قليلة في حالات العدوى فوق الحاد والحادة (والتي يُشار إليها غالبًا باسم الكوليرا). في هذه الحالات، غالبًا ما يكون الموت هو العلامة الوحيدة للمرض في القطيع.

5-1-1-2-في الطيور المشتبهة ظاهرياً:

توافقت العلامات السريرية والعيانية المسجلة في هذه الدراسة على الحالات الإيجابية والتي تضمنت خمول و فقدان الشهية وانتفاش للريش وزرقة في العرف والداليات بالإضافة لحالات إسهال مائي أصفر أو أخضر وصعوبة تنفس وإفرازات أنفية وفموية وعينية ، وهو ما يتوافق مع ما ذكر في الدراسات السابقة من قبل كل من (Glisson, *et al.*, 2003) (Rimler,& Glisson, 1997).

5-1-1-3-في الطيور النافقة حديثاً:

توافقت العلامات السريرية والعيانية المسجلة والتي تضمنت زرقة وتورم في العرف والداليات بالإضافة لإفرازات أنفية وفموية وعينية كما شوهد حالات من التهاب المفاصل وهو ما يتوافق مع ما ذكر في الدراسات السابقة من قبل كل من(Glisson, *et al.*, 2003) (Rimler,& Glisson, 1997).

5-1-2-الصفات التشريحية:

5-1-2-1-في الطيور السليمة ظاهرياً:

بعض الطيور المشرحة لم يشاهد عليها علامات تشريحية مرضية بينما شوهد عند بعض الطيور نقط نزفية تحت الجلد وفي دهون البطن والدهون المحيطة والتي تندرج ضمن العلامات التشريحية للكوليرا وهذا يتوافق مع (Quinn, *et al.*, 2011) .

5-1-2-2-في الطيور المشتبهة ظاهرياً:

سجلت نتائج التشريح للطيور المشتبهة ظاهرياً والتي هيمنت عليها حالات من الاحتقان في جميع أنحاء الطائر، كما ظهر في بعض الحالات آفات نقطية نزفية تحت الجلد وفي دهون البطن بالإضافة لنزوف في الغشاء المخاطي المعوي وعلى الأسطح تحت المصلية في تجاويف الصدر والبطن والدهون المحيطة، لوحظ أيضاً تورم في الكبد والطحال مع وجود بئر نخرية صغيرة في الكبد ،كما لوحظ وجود حالات من الالتهاب الرئوي مع نضح واسع النطاق من الفيبرين وهذه النتائج تتوافق مع دراسات سابقة لكل من (Rimler , & Rhoades , 1989) (Rimler,& Glisson, 1997) (Quinn, *et al.*, 2011).

5-1-2-3- في الطيور النافقة حديثاً:

بعض الحالات من النفوق لم تظهر عليها أي علامات تشريحية مميزة ومن الممكن أن تكون هذه الحالات غير مصابة أو أنها نوع من الإصابة فوق الحادة وهذا يتوافق مع دراسات سابقة حيث أشار (Quinn, *et al.*, 2011) أن حالات النفوق الناتجة عن الإصابة فوق الحادة تكون الطيور النافقة في حالة جيدة، كما شوهدت أيضاً حالات تشريحية مطابقة للمشاهدات السابقة الذكر في نتائج تشريح الطيور المشتبهة ظاهرياً.

كما لوحظ في بعض حالات النفوق وجود التهاب مفاصل متجبن والتهاب قناة البيض كما ترافقت مع وجود بؤر نخرية في الجلد ويفسر ذلك غالبا بسبب حالات من الاصابة المزمنة بجراثيم الباستوريلة القتَالة ويتوافق ذلك مع (Frame ,*et al.*,1994)،(Glass ,& Panigrahy ,1990) (Rimler ,& Glisson ,1997.) .

5-2-مناقشة نتائج العزل:

5-2-1-مناقشة نتائج العزل حسب طرق العزل المختلفة المستخدمة في الدراسة:

يتم العزل الأولي باستخدام أوساط مثل أجار الدم Office International des Epizooties (OIE) (1996) كما يعد عزل العامل المسبب دليلاً قوياً على وجود الإصابة (Arora, 2005) حيث ظهرت مستعمرات الباستوريلة القتَالة مخاطية صغيرة في منبت آجار الدم تشبه قطرات الندى بعد حضنها لمدة 24 ساعة وظهرت على شكل عصيات سالبة الغرام عند صبغها بصبغة غرام وهذا يتوافق مع ماوجده كل من

(Kiran, *et al.,* 2012) (Moore,*et al.*,1994).كما لم تنمو على وسط MacConky وهذا يتوافق مع (Glisson, *et al.*,2008)(Abd, El., Dayem,1990) .

تم تطبيق اختبارات الكيمياء الحيوية التي أوصى بها كل من (Quinn, *et al.*, 2011) (Shivachandra, 2005) على الجراثيم المشتبهة بالزرع الجرثومي وأظهرت النتائج التي حصلنا عليها اختلاف في عدد العينات المختبرة والتي كانت إيجابية حسب الزرع على المنابت بين (75%–100%) ويمكن تفسير هذا التفاوت في النتائج لوجود نسبة من المستعمرات النامية على الأوساط تعود لجراثيم غير الباستوريلة القتَالة رغم تشابهها شكلياً.

كما تم استخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR للكشف عن الجين kmt1 على العينات التي تم تأكيد هويتها حسب الخواص المزرعية والكيمياء الحيوية وأظهرت نتائجنا أن عزلات الباستوريلة القتَالة أنتجت الأمبليكونات المتوقعة البالغة 460 نقطة أساس والتي تخص الباستوريلة القتَالة (khamesipour, *et al.*, 2014)
وكانت نسبة العزل بين ال PCR و الخواص المزرعية والكيمياء الحيوية هي (75%–100%) وهذا يتوافق مع ما وجده (Rajeev, *et al.*,2011) حيث أشار إلى عوائق النمط الظاهري التي يمكن أن تؤثر على طرق التشخيص الشكلية بما فيها طرق الزرع الجرثومي واختبارات الكيمياء الحيوية.

5-2-2-مناقشة نتائج العزل على المستوى المحلي(سورية):

لا توجد في السجلات البحثية المتاحة دراسة سورية سابقة عن كوليرا الطيور في الدجاج. الدراسة السورية الوحيدة المتاحة تناولت الأغنام (عواس) وليس الدواجن، وسجلت انتشاراً مقداره 13.9% في الأغنام السورية.
هذا يشير إلى أن الجرثومة متوطنة في الثروة الحيوانية السورية،
(Al-haj Ali, & Al- Balaa, 2021).

5-2-3-مناقشة نتائج العزل على المستوى الاقليمي:

حسب الدراسة التي أجراها(Samahe,*et al.*,2019) وآخرون كانت نسبة الانتشار قي دراستنا قريبة لنتائجهم حيث سجل الباحثون نسبة انتشار لجراثيم الباستوريلة القتَالة (4%) قريبة من نسبة الانتشار المسجلة في دراستنا والتي كانت (3.6%) حيث تمت الدراسة في مصر على طيور الدجاج بغض النظر عن الحالة الظاهرية للطائر.

كما أجرت الباحثة المصرية (walaa, 2020) دراسة على 300 عينة من طيور الدجاج التجاري السليمة ظاهرياً وجمعت العينات من الرغامى والرئة والقلب وكانت النتائج على الشكل التالي:

العزل الجرثومي(7%) ونتائج الكيمياء الحيوية(2%) ونتائج اختبار ال PCR (2%)

نلاحظ أن نسبة الانتشار حسب اختبار ال PCR في دراستنا الحالية للطيور التجارية السليمة ظاهرياً (3.3%) وهي أعلى من نتائج الدراسة المصرية (2%) وربما يعود هذا الاختلاف إلى اختلاف منطقة الدراسة

والظروف البيئية بالإضافة لإمكانية استخدام اللقاحات والعلاجات بالصادات الحيوية النوعية والوقائية في بلد الدراسة.

الفجوة في دراستنا (.4.4% مقابل 3.3%) قريبة للفجوة بين العزل الجرثومي (7%) و(2%) PCR في الدراسة المصرية ، مما يؤكد أن نسبة من المستعمرات النامية على الأوساط تعود لجراثيم غير الباستوريلة القتَالة رغم تشابهها شكلياً، وهذا ما أشار إليه(Rajeev, *et al.*,2011) أن الإختبارات الجزيئية للكشف عن الباستوريلة القتَالة هي أكثر أهمية من الاختبارات المورفولوجية والكيمياحيوية لأنها تتفوق على عوائق النمط الظاهري .

كما نلاحظ توافق بين نتائج ال PCR ونتائج الكيمياء الحيوية في الدراسة المصرية فيما اختلفت في دراستنا وربما يمكن تفسير ذلك باختلاف الجينات المستهدفة بين الدراستين أو إمكانية النتائج الكاذبة وخاصة في نتائج الكيميا الحيوية.

وفي دراسة (Mohamed, & Mageed, 2014) التي أجريت على طيور دجاج التربية المنزلية في صعيد مصر وأظهرت النتائج تقارب في نسبة الانتشار فيما يتعلق بانتشار المرض بين طيور دجاج التربية المنزلية حيث كانت نسبة الانتشار في هذه الدراسة (7.6%) قريبة للنسبة التي حصلنا عليها في دراستنا وهي (6.6%) .

وفي المقابل نجد في دراسة ل (Shalaby,2021) أجريت على 220 عينة من طيور الدجاج المنزلي(التربية المنزلية) السليم والمريض ظاهرياً في مصر، أظهرت نتائج الدراسة أن جميع السلالات المكتشفة كانت من النوع المصلي (A) ونلاحظ عند مقارنة نتائج الانتشار حسب اختبار ال PCR في الدراسة المصرية التي كانت (10%) أنها أعلى من نسبة الانتشار في هذه الدراسة بالنسبة للدجاج المنزلي حسب اختبار ال PCR والتي كانت (6.6%) يمكن تفسير الفرق غالباً بالكثافة الإنتاجية العالية في التربية المصرية واستخداماً مكثفاً للمضادات الحيوية، مما يزيد الضغط الانتخابي ويسهل انتشار الذراري المقاومة.

وكشفت البيانات التي تم الحصول عليها من دراسة (El-Demerdash, *et al.*, 2023)التي أجريت حالات من التهاب الرئة في عدة أنواع من الطيور في مصر عن حدوث إصابة بنسبة 9.4% بجراثيم الباستوريلة القتَالة بين الطيور التي تم فحصها (الدجاج، والبط، والسمان، والديك الرومي) وهي نسبة أعلى من النسبة التي حصلنا عليها في دراستنا وغالبا يعود سبب الاختلاف لطبيعة الدراسة التي أجريت على طيور مريضة ظاهرياً فقط بالإضافة للاختلاف في السلالة كما لابد أن نذكر فرق الكثافة الانتاجية في التربية المصرية.

5-2-4-مناقشة نتائج العزل على المستوى العالمي:

الدراسة التي أجراها (Chen, *et al.*, 2024) في الصين والتي تمت على 193 عينة من طيور الأوز المريضة ،كانت النتائج على الشكل التالي:

نسبة الانتشار 43% وهي نسبة كبيرة جداً مقارنة بنتائج الدراسة الحالية وهذا يعكس خصوصية النوع (الأوز) وقابليته العالية للإصابة، وليس بالضرورة اختلافاً في الظروف الوبائية.

كما أجريت دراسة في بنغلادش من قبل الباحث (Sayedun,*et al.*,2015) وأخرون لعزل وتحديد هوية جراثيم الباستوريلة القتّالة من النوع أ من الدجاج، والكشف عنها جزيئيًا. جُمعت عينات من الكبد والقلب والطحال من دجاج يُشتبه في نفوقه من منطقتي غازيبور وبابنا في بنغلاديش. عُزلت البكتيريا المستهدفة من العينات، وحُددت هويتها، ووُصفت بناءً على شكلها، وصبغها، وخصائصها الميكروبية والكيميائية الحيوية، واختبار قدرتها على إحداث المرض، ودراستها النسيجية المرضية، وتفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) وكانت نسبة العزل 11.42% وهي أعلى من النسبة في دراستنا ويمكننا تفسير هذا الفرق في النتائج باختلاف السلالات المدروسة وطبيعة العينات المجموعة من طيور نافقة بسبب أعراض مرضية تنفسية.

وأجرى الباحث (Everlon, *et al.*, 2013) وآخرون دراسة في البرازيل على الدجاج وطيور السمان الياباني قسمت لمجموعات مختلفة بعضها تظهر عليها أعراض تنفسية وبعضها خالية من الأعراض المرضية وبأعمار مختلفة تراوحت نسب العزل للدجاج بين 3.3% لطيور الدجاج بعمر أقل من 6 أسابيع وخالية من أعراض مرضية وحتى 62.3% لطيور أكبر من 6أسابيع مع أعراض تنفسية مرضية نلاحظ وجود فروقات كبيرة في نسبة الانتشار بالمقارنة مع نسب الانتشار في دراستنا الحالية حيث بلغت نسبة الانتشار لدى الطيور التجارية المصابة بأعراض تنفسية 3.8% وهي أقل بكثير من النسبة 62.3% وربما يعود هذا الاختلاف لاختلاف أعمار الطيور في الدراسة وسلالة الطيور والبيئة والسلالة البكتيرية. وهذا يتوافق مع (Hasan, *et al.*, 2010) .بينما توافقت تقريبا" نتائج الانتشار لدى الطيور السليمة ظاهرياً وبعمر أقل من 6 أسابيع مع نتائجنا 3.3% يمكن أن تفسر هذه الاختلافات والتوافقات غير المنتظمة بين الدراستين باختلاف سلالة الطيور المدروسة وعمر الطيور (Hasan, *et al.*, 2010).

كما أجريت دراسة في جنوب غرب نيجيريا من قبل(Victor, *et al.*, 2016) وآخرون وكانت نتائج الدراسة لنسبة الانتشار الكلية هي 12.4% وهي أيضاً مختلفة عن نتائج دراستنا ويمكن تفسير ذلك باختلاف السلالات والأعمار والمناخ وكثافة التربية.

5-3-مناقشة نتائج اختبار حساسية جراثيم الباستوريلة القتّالة للصادات:

تعد هذه الدراسة هي الاولى من نوعها لمقاومة جراثيم الباستوريلة القتّالة في الدواجن في سورية للصادات حيث أظهرت هذه الجراثيم مقاومة عالية للصادات تراوحت بين (9.1% و 72.7%) مقارنة بدراسات سابقة حيث وجد (Everlon,2013) أن مقاومة الباستوريلة القتّالة للصادات تتراوح بين (1.5% و 5.2%) بينما وجد (Dashe, 2013) أن المقاومة تتراوح بين (6.7% و 46.7%) ،كما نجد في أبحاث مختلفة أخرى لـ (Moemen,2012) (Shivachandra, 2004) أن مستوى المقاومة ليس مرتفعا كما هو موجود في هذه الدراسة و يمكن أن يفسر ذلك نتيجة لسوء استخدام الصادات من قبل المربين وعدم الاستعانة بالمختصين في هذا المجال و تتوافق هذه النتيجة مع دراسة (Arora, 2005) حيث وجد أن الاستخدام المفرط للصادات في الدواجن ساهم بشكل ملحوظ في نشوء سلالات من الباستوريلة القتّالة مقاومة لهذه الصادات.

نلاحظ من خلال النتائج أن هناك مقاومة مرتفعة على وجه الخصوص للتيلوسين (72.7%) و الدوكسيسيكلين (63.6%) ويمكن أن يعزى ذلك إلى استخدام الصادات كإضافات في أعلاف الدواجن وهذا ما أشار إليه كل من(Atere,2015) (Dashe, 2013) أنه من المفترض أن تعزى مقاومة الباستوريلة القتّالة

للأدوية المتنوعة إلى استخدام الصادات كإضافات في أعلاف الدواجن من قبل مزارعي الدواجن والممارسين البيطرين. وهذا ما يتوافق أيضا مع (Babetsa ,2012) الذي أشار إلى أن التتراسيكلينات من بين الأدوية المستخدمة على نطاق واسع للوقاية وكمحفز نمو في صناعة الدواجن وهذا يفسر تطور مقاومة الجراثيم للكثير من الصادات بين العزلات في هذه الدراسة.

كما أظهرت العزلات مقاومة متوسطة للجنتاميسين وهو من فئة الأمينوكلوزيدات وهذه النتائج اختلفت مع النتائج التي وجدها(Atere, 2016) حيث أشار إلى فعالية كبيرة للجنتاميسين في القضاء على جراثيم الباستوريلة القتَالة. وبنفس السياق اتفقت مع نتائج كل من ,(Furian, *et al.*,2016) (Victor,2016) (Cid,*et al.*,2019) الذين أشاروا لارتفاع معدل المقاومة تجاه صادات متعددة مثل الماكروليدات والفينيكولات والأمينوكلوزيدات. علاوة على ذلك كانت معدلات المقاومة لمعظم الصادات المدروسة أعلى من تلك المبلغ عنها في دراسات سابقة مثل(Cid,*et al.*,2019) (Furian, *et al.*,2016) ويمكن تفسير ذلك بسبب الكمية الكبيرة من الصادات المستخدمة في صناعة الدواجن في بلدنا و حدوث طفرات جديدة في المادة الوراثية لهذه الجراثيم.

في هذه الدراسة كانت العزلات حساسة للانروفلوكساسين وهو صاد حيوي من مجموعة الفلوروكينولون وتوافقت نتائجنا مع دراسة لـ (Sarangi, 2011) بينما اختلفت مع نتائج لـ (Furian, 2014) الذي وجد مقاومة عالية لهذا الصاد لدى جراثيم الباستوريلة، السيبروفلوكساسين كان أقل تأثيرا حيث أظهرت العزلات مقاومة أعلى له من الانروفلوكساسين. أظهرت العزلات في هذه الدراسة مقاومة متوسطة للأموكسيسلين وهذه النتائج مختلفة عن ما وجده (Dieb, 2020)حيث وجد مقاومة عالية لعزلات الباستوريلة القتَالة مقابل الاموكسيسلين.

أظهر التتراسيكلين في هذه الدراسة فعالية كبيرة في مواجهة جراثيم الباستوريلة القتَالة حيث أظهرت عشر عزلات من أصل أحد عشر عزلة حساسية لهذا الصاد وهذه النتيجة اختلفت عن ما وجده (Shivachandra, 2004)الذي أفاد بارتفاع مستويات المقاومة للتتراسيكلين في دراسة أجراها في الهند وربما يعود ذلك لاختلاف نوعية الطيور التي أجريت عليها الدراسة واختلاف المنطقة الجغرافية وهذا ما أكده (Caprioli,2000) الذي أشار إلى أن مقاومة عزلات الباستوريلة القتَالة للصادات تختلف وفقا للحيوان العائل والنوع والوقت والأصل الجغرافي ومعالجة الحيوان السابقة بالصادات. كما أن هذا الصاد بالرغم من أنه من عائلة التتراسكلينات إلا أنه لايستخدم بشكل واسع حقلياً على المستوى المحلي، لذلك أظهر حساسية عالية وعدم نشوء سلالات مقاومة ،تشير هذه النتائج إلى ضرورة إجراء اختبارات الحساسية للصادات للسيطرة على كوليرا الطيور بسبب مقاومة الأدوية الناشئة في الباستوريلة القتَالة.

الفصل السادس الاستنتاجات والتوصيات

Conclusion & Recommendations

6-الاستنتاجات والتوصيات:

6-1-الاستنتاجات:

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

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

3-أثبتت بعض الصادات فاعليتها في علاج كوليرا الطيور مثل Enrofloxacin, Tetracyclin.

6-2-التوصيات:

1- يجب أن تركز مكافحة المرض على المستوى الوطني على تطبيق تدابير الأمن الحيوي المناسبة في موقع الإنتاج وإصدار التشريعات اللازمة بهذا الخصوص.
2- مع زيادة مقاومة الصادات التي وجدت فمن الأفضل إجراء اختبارات الحساسية للصادات قبل استخدامها في العلاج.
3- ضرورة إجراء المزيد من الدراسات حول استخدام الصادات في علاج الباستوريلة القتَالة.
4- توفر هذه الدراسة نقطة انطلاق لمزيد من الأبحاث في مجال التشخيص الجزيئي لجراثيم الباستوريلة القتَالة في سورية.
5- توصية باستخدام الطرق الجزيئية مثل تفاعل البوليميراز المتسلسل في تشخيص كوليرا الطيور عند الدجاج.
6- اجراء دراسات معمقة لتحديد وتنميط الذراري الحقلية للباستوريلة القتَالة عند الدجاج باستخدام الطرق الجزيئية الحديثة.

الفصل السابع

References
المراجع

المراجع

7-References:

1. Abd, El., Dayem, N.S., (1990). Pasteurella infection in poultry in Kaloubia province. M. V. Sc. Thesis, (Microbiology), Faculty of Veterinary Medicine, Zagazig University,(39),63
2. Abdo,M.,G.,Aregash,W.,Solomon,L.,Bereket,D.,Liyuwork,T.,Eyob,A.,Kenaw,B.,Getaw, D.,Dawit,D.,Gashaw,E.,Mulusew,T.,Tadesse,M.,(2025).molecular detection and antibiogram profiling of Pasteurella Multocida isolated from breeder Chickens suspected of fowl cholera in gondar city,Ethiopia.int j microbial.21,2025:8356389.
3. 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.
4. Al-haj Ali, H., & B., Al Balaa., (2021). Characterisation and pathogenicity of Pasteurella multocida capsular serogroup A isolates from Awassi sheep in Syria. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 24(4), 487–496. DOI: 10.15547/bjvm.2299
5. Angen O., Mutters R., Caugant DA., Olsen J.E., & Bisgaard M., (1999) . Taxonomic relationships of the [Pasteurella] haemolytica complex as evaluated by DNA-DNA hybridizations and 16S rRNA sequencing with proposal of Mannheimia haemolytica gen. nov., comb, nov., Mannheimia granulomatis comb., nov., Mannheimia glucosida sp. nov., Mannheimia ruminaiis sp. nov. and Mannheimia varيgena sp. nov. Int. J. syst. Bacteriol., 49, 67-86.
6. Arora, A. K., Virmani, S. K. J. And Oberoi, M. S., (2005). Isolation, characterization and antibiogram of Pasteurella multocida isolates from different animal species. The Indian Journal of Animal Sciences, (75), 749-752.
7. Atere, V. A, Bamikole, A. M. And Ajurojo, O. A., (2015). Antibiotic Susceptibility of Bacteria Isolated from Poultry Feeds Sold in Ado Ekiti, Nigeria. Journal of Advancement in Medical and Life Sciences V3I2.
8. Atere, V. A., Bamikole, A. M., Ajurojo, O. A., Oluyege, A.O., Alo, O. S., (2016). Prevalence and antibiotic resistance of Pasteurella multocida isolated from chicken in Ado-Ekiti metropolis. International Journal of Scientific World, 4(2), 40-42

9. Babetsa,M.,Vassilios,S.,Vougidou,C.,Zdragas,A.,Sivropoulou,A.,Psaroulali,P.,Ekaterini adoul,L.V., (2012). Tetracycline resistance genes in Pasteurella multocida isolates from bovine, ovine, caprine and swine pneumonic lungs originated from different Greek prefectures. African J ournal of pig farming,Microbiol Res (6),3917-23
10. Backstrand J.M. & Botzler R.G., (1986). Survival of Pasteurella multocida in soil and water in an area where avian cholera is enzootic. J. MM. Dis., 22, 257-259.
11. Belay, E., Bitew, M., Ibrahim, S. M., Dessalegn, B., Abey, S. L., Dejene, H., Birhan, M., Duffera, D., Asefa, E., Tesfaw, L., Abayneh, T., Sherefa, K., W/Medhin, W., Tesfaye, Y., Tuki, K., Gelaye, E., Kangethe, R. T., Wijewardana, V., & Bravo De Rueda, C. (2025). Gamma-irradiated fowl cholera vaccines formulated with different adjuvants induced antibody response and cytokine expression in chickens. Frontiers inImmunology,16,Article1513443.
https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1513443[reference:3
Doi:10.11.1128\9781555818814.ch3.171
12. Bisgaard M., (1993). Ecology and significance of Pasteurellaceae in animals. Zentralbl. Bakteriol., 279, 7-26.
13. 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,(26),4-11
14. 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.
15. Botzler, R. G., (1991). Epizootiology of avian cholera in wildfowl. Journal of Wildlife Diseases 27: 367-395.
16. Brenner, D. J., (2000) .Biochemical Identification of Enterobacteriaceae ".Journal of Clinical Microbiology, 38(3), 1231-1234.
17. Calnek, B.W., Barnes, H.J., Beard, C.W., Mcdougald, L.I.L., Saif, Y.M., (1997). Diseases of poultry 10th edition. Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp. 143-150.
18. Caprioli, A., Busani, L.,Martel, J. L., Helmuth, R., (2000). Monitoring of antibiotic resistance in bacteria of animal origin: Epidemiological and microbiological

methodologies. Int. J. Antimicrobial Agents, 14: 295- 301. http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579(00)00140-0.

19. Carpenter T.E., Hirsh D.C., Kasten R.W., Hird D.W., Snipes K.P. & McCapes R.H., (1989). Pasteurella multocida recovered from live turkeys: prevalence and virulence in turkeys. Avian Dis., 33, 12-17.

20. Carpenter T.E., Snipes K.P., Kasten R.W., Hird D.W. & Hirsh D,C., (1991). Molecular epidemiology of Pasteurella multocida in turkeys. Am. J., vet. Res., 52, 1345-1349.

21. Chen,Y.,Chen,J.,Zhong,J.,Zhang,M.,Yang,Z.,Su,W.,Zhang,Y.,Zhang,J., (2024). Isolation and identification of Pasteurella multocida from geese in Guangdong, detection of antimicrobial resistance phenotype and drug resistance gene and correlation analysis. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 46(2), 121-127.

22. Christensen,w.,b.,(1946) .urea decoposition as aeans of differentiating proteus and paracolon cultures from eash other and from salmonella and shigella types.jornal of bacteriology,52(4),461-466.

23. Christensen J.P., & Bisgaard M., (1997). Avian pasteurellosis: taxonomy of the organisms involved and aspects of pathogenesis. Avian Pathol., 26, 461-483.

24. 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.

25. Christensen H., Mutters R., Piechulla K. & Bisgaard M., (1999). Phylogenetic relationship among phenotypes of avian isolates classified as Pasteurella haemolytica or Actinobacillus salpingitidis with proposal of Salpingitia gen. nov. In Proc. Haemophilus, Actinobacillus and Pasteurella (HAP) Conference, 13-17 September, Mabula, South Africa. University of the Orange Free State, Bloemfontein, 6.

26. Christensen J.P., Petersen K.D., Hansen H.C. & Bisgaard M.,(1999). Occurence of fowl cholera in Danish wild birds, and poultry production. Possible connections [in Danish, summary in English]. Dansk Vettidsskr., 82, 342-346.

27. Christensen, J.P., and Bisgaard, M., (2000). Fowl cholera. Revue Scientifique office International des Epizootics, 19 (2): 626-637.
28. Christensen, J.P., and Bisgaard, M., (2008). Avian pasteurellosis (fowl cholera). In: Pattison, M., McMullin, P.F., Bradbury, J.M., and Alexander, D.J. (Eds.), Poultry Diseases (6th ed.). Saunders Elsevier, pp. 174-185.
29. CLSI Guidelines (2022). Principles and Procedures for Biochemical Tests. Clinical and Laboratory Standards Institute.
30. Collins F.M., (1977). Mechanisms of acquired resistance to Pasteurella multocida infections. A review. Cornell Vet, 67, 103-138.
31. Curtis, P.E., Ollerhead, G.E., Ellis,C.E., (1980). Virulence and morphology of P. multocida of avian origin. Vet. Rec. 107: 105- 108.
32. Dashe, Y. D., Raji, M. A., Abdu, P. A., Oladele, B. S. Sugun, M. Y. ,(2013). Multidrug Resistant Pasteurella multocida Strains Isolated from Chickens with Cases of Fowl Cholera in Jos, Nigeria. International Journal of Poultry Science, 12 (10), 596-600. http://dx.doi.org/10.3923/ijps.2013.596.600.
33. Dieb, A., Salib, F., Adel, Y., And Amin, M., (2020). Multi-Drug resistant Pasteurella multocida and mannheimia haemolytica strains isolated from different hosts affected by pneumonic pasteurellosis in Egypt. Advances in Animal and Veterinary Sciences, 9(3), 356-364. DOI https://www.doi.org/10.17582/journal.aavs/2021/9.3.356.364.
34. Duke,p,b.,& Jarvis, j.d .,(1972). the catalase test-a cutionary tale.j.med.lab technol .29 (2) :203-204.
35. El-Demerdash, A. S., Mowafy,R.,E.,Fahmy,H.,A.,Matter,A.,A.,Samir,M.,(2023). Pathognomonic features of Pasteurella multocida isolates among various avian species in Sharkia Governorate, Egypt. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 39(12), Article 335. -03774-023-https://doi.org/10.1007/s11274 reference:2]2.[
36. Eveleth D.F., Goldsby A.E. & Nelson C.I., (1949). Fowl cholera (Pasteurella multocida). Vet Med., 64, 73-78.
37. 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. http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822013000100023

38. Frame, D.D., Clark, F.D., & Smart, R.A., (1994). Recurrentoutbreaks of a cutaneous form of Pasteurella multocida infection in turkeys. Avian Diseases (38), 390-392.

39. Frank, G.H., (1988). When Pasteurella haemolytica colonizes the nasal passage of cattle. Vet Med (83) 1060-1064.

40. Frost A., O'Boyle D., Wilkie I. & Townsend K., (1999). Live metabolic drift vaccines for pasteurellosis in chickens and ducks. In Proc. Haemophilus, Actinobacillus and Pasteurella (HAP) Conference, 13-17 September, Mabula, South Africa. University of the Orange Free State, Bloemfontein, 42.

41. Furian, T., Borges, K., Pilatti, R.M., Almeida, C., Nascimento, V., Salle, C., Moraes, H., (2014). Identification of the capsule type of Pasteurella multocida isolates from cases of fowl cholera by multiplex PCR and comparison with phenotypic methods. Revista Brasileira de Ciência Avícola, 16: 31-36.

42. Furian,T.Q.,Borges,K.A.,Laviniki,V.,Rocha,S.L.D.S.,Almeida,C.N.,Nascimento,V.P.,Salle,C.T.P.,Moraes,H.L.S., (2016). Virulence genes and antimicrobial resistance of Pasteurella multocida isolated from poultry and swine. *Brazilian Journal of Microbiology* (47),210-6.

43. Geda, A. M., (2025). Molecular detection and antibiogram profiling of Pasteurella multocida isolated from breeder chickens suspected of fowl cholera in Gondar City, Ethiopia. International Journal of Microbiology, 2025, Article 8356389. https://doi.org/10.1155/ijm/8356389[reference:1.[

44. Glass, S.E.,and Panigrahy, B., (1990). Dermal necrosis caused by Pasteurella multocida infection in turkeys. Avian Dis., 34, 491-494.

45. Glisson, J.R., Hofacre, C.L., and Christensen, J.P., (2003). Fowl cholera. In: Saif, Y.M., Barnes, H.J., Glisson, J.R., Fadly, A.M., McDougald, L.R., and Swayne, D.E. (Eds.), Diseases of Poultry (11th ed.). Iowa State Press, pp. 658-676.

46. 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

47. Glisson, J.R., Sandhu, T.S., Hofacre, C.L., (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.

48. Gordon, R.F., And Jordan, F,T., (1985). Poultry Diseases. 2nd edition, ELBS, Baillier Tindall, London, pp. 44-46.

49. Gustafson C.R., Cooper G.L., Charlton B.R. & Bickford A.A., (1998). Pasteurella multocida infection involving cranial air spaces in White Leghorn chickens. Avian Dis., 42, 413-417.

50. 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.

51. Hasan, A.r., Ali, M.h., Siddique, M.p., ,Rahman,M.M.,Islam,M.A., (2010). Clinical and laboratory diagnoses of common bacterial diseases of broiler and layer chickens. Bangladesh *J Vet Med* 8:107-15.

52. Heddleston K.L., Watko L.P. & Rebers P.A., (1964). Dissociation of a fowl cholera strain of Pasteurella multocida. Avian Dis., 8, 649-657.

53. Heddleston K.L. & Rebers P.A., (1975). Properties of free endotoxin from Pasteurella multocida. Am. J. vet. Res., 36, 573-574.

54. Hinz,K.,H., and Luders,H.,(1991). Pasteurella multocida as the cause of disease outbreaks In commercial poultry flocks.berl munch tierarzt w.,1:104(9):298-303

55. 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.

56. Hungerford T.G., (1968). A clinical note on avian cholera. The effect of age on susceptibility of fowls. Aust. vet. J., 44, 31-32.

57.Kasten R.W., Carpenter T.E., Snipes K.P. & Hirsh D.C. ,(1997). Detection of Pasteurella multocida-specific DNA in turkey flocks by the use of the polymerase chain reaction. Avian Dis., 41, 676-682.

58.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.

59.Kim C.J. & Nagaraja K.V., (1990). DNA fingerprinting for differentiation of field isolates from reference vaccine strains of Pasteurella multocida in turkeys. Am. J. vet. Res., 51, 207-210.

60.Kiran, J.K., Harshavardan, P.R., Charitha, M.D., (2012). Isolation and Partial Characterization of Pasteurella multocida from poultry farms around Tirupati. *J.* Microbiol. Biotech. Res.,2 (3): 393-395.

61.Korbel Gerlach H, Bisgaard M. & Hafez H.M., (1992). Further investigations on Pasteurella multocida infections in feral birds injured by cats. J. vet. Med., 39, 10-18.

62.Kovacs,N.,(1956).idetification of pseudoonnas pyocyaea by the oxidase reaction .nature (london)178:703.

63.Lee M.D., Wooley R.E., Glisson J.R. & Brown J., (1988). Comparison of Pasteurella multocida serotype 3,4 isolates from turkeys with fowl cholera. Avian Dis., 32, 501-508.

64.Levy, S.B.,(1998). The challenge of antibiotic resistance. *Sc AM* 278:46-53.

65.Macfaddin ,j.f., 2000 biocheical tests for identification of medical bacteria ,3rd ed.lippincott Williams and wilkins ,Philadelphia ,pa.

66.Maheswaran S.K., McDowell J.R. & Pomeroy B.S., (1973). Studies on Pasteurella multocida. I. Efficacy of an avirulent mutant as live vaccine in turkeys. Avian Dis., 17, 396-405.

67.Marina,H.,john,D.,B.,Ben,A.,(2006). Pasteurella multocida pathogenesis:123 years after Pasteur.fems microbial let.265(1):1-10

68.Marza, A.D., Abdullah, F.F.J., Ahmed, I.M., Chung, E.L.T., Ibrahim, H.H., Zamri-Saad, M., Omar, A.R., Bakar, M.Z.A., Saharee, A.A., Haron, A.W., Lila, M.A.M., (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.

69. Matsumuto M., Strain J.G. & Engel H.N., (1991). The fate of Pasteurella multocida after intratracheal inoculation into turkeys. Poult. Sci., 70, 2259-2266.

70. 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.

71. Merchant, I. A., and Packer, R. A., (1967). Veterinary Bacteriology and Virology. 1st edition. Iowa State University Press, Ames. Iowa, USA. pp. 339.

72. Moemen, A. M., Mohamed,W. A. M., Ahmed, I. A., Awad, A. I., Mohamed, S. A., (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. Veterinaria Italiana, 48 (1), 77- 86.

73. Mohamed, M.W.A., and Mageed, M.A.A., (2014). Molecular analysis of Pasteurella multocida strains isolated from fowl cholera infection in backyard chickens. *Asian Pac J Trop Biomed* 4:8-12.

74. 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.

75. Morishita T.Y., Lowenstine L.J., Hirsh D.C. & Brooks D.L., (1996). Pasteurella multocida in raptors: prevalence and characterization. Avian Dis., 40, 908-918.

76. Muhairwa, A.P., Christensen, J.P., 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.

77. 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.

78. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2008). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria

Isolated from Animals; Approved Standard, 2nd Edn. NCCLS Document M31-A3. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards.

79. Office International Des Epizooties (OIE)., (1996). Fowl cholera (avian pasteurellosis), chapter 3.6.11. In Manual of standards for diagnostic tests and vaccines, 3rd Ed. OIE,Paris, 572-577.

80. Pabs-Garnon L.F. & Soltys M.A., (1971). Multiplication of Pasteurella multocida in the spleen, liver, and blood of turkeys inoculated intraveneously. Can.], comp. Med., 35, 147-149.

81. Petersen K.D., Christensen J.P., Permin A. & Bisgaard M., (2000). Investigation on the significance of the avifauna in the epidemiology of fowl cholera in domestic avian species. Avian Pathol .

82. Petersen, K. D., Christensen, J. P., Permin, A., Bisgaard, M., (2001). Virulence of Pasteurella multocida subsp. multocida isolated from outbreaks of fowl cholera in wild birds for domestic poultry and game birds. *Avian Pathology* (30) 27–31.

83. Prantner M.M., Harmon B.G., Glisson J.R. & Mahaffey E.A., (1990). Septicemia in vaccinated and nonvaccinated turkeys inoculated with Pasteurella multocida serotype A:3,4. Vet. Pathol, 27, 254-260.

84. Quinn, P. J., Carter, M. E., Markey, B. Carter, G. R., (1994). Clinical veterinary Microbiology. Wolf, London, Pp. 95–102.

85. Quinn, P.J., Markey, B.K., Leonard, F.C., FitzPatrick, E.S., Fanning, S., and Hartigan, P.J.,(2011). Veterinary Microbiology and Microbial Disease (2nd ed.). Wiley-Blackwell.

86. Rajeev, R., Panda, SK., Acharya, AP., (2011). Molecular diagnosis of haemorrhagic septicaemia-A review. *Vet World* 4:189-92.

87. Rhoades K.R., (1964). The microscopic lesions of acute fowl cholera in mature chickens. Avian Dis., 8, 658-665.

88. Rhoades K.R. & Rimler R.B., (1987). Effects of Pasteurella multocida endotoxins on turkey poults. Avian Dis., 31,523-526.

89. Rhoades, K.R., and Rimler, R.B., (1990). Virulence of Pasteurella multocida in turkeys: use of a plasmid coding for antimicrobial resistance as a marker. Avian Diseases, 34(2), 429-434.

90.Rimler, R.B., and Rhoades, K.R., (1987). Serogroup F, a new capsule serogroup of Pasteurella multocida. Journal of Clinical Microbiology, 25(4), 615-618.

91.Rimler, R.B., Rhoades, K.R., (1989). Pasteurella multocida. In Pasteurella and pasteurellosis (C. Adlam & J.M. Rutter, eds). Academic Press, London, 95-113.

92.Rimler R.B. & Glisson J.R.,(1997). Fowl cholera. In Diseases of poultry, 10th Ed. (B.W. Calnek with H.J. Barnes, C.W. Beard, L.R. McDougald & Y.M. Saif, eds). Iowa State University Press, Ames, 143-161.

93.Rosen M.N., (1969). Species susceptibility to avian cholera. Bull. Wildl. Dis. Assoc., 5, 195-200.

94.Samahe,I.,Khalil,M.,R.,Amira,A.,M.,Nagwa,s.,r.,&Mona,M.,S.,(2019).Phenotypic,geotypic,multidrug resistace genes and disinfectant biocidal effect of pasteurella multocida isolated from chickens poultry dis.dept.faculty of veterinary Medicine, cairo university .

95.Samuel, M.D., Shadduck, D.J., Goldberg, D.R., and Johnson, W.P. ,(2007). Avian cholera and waterfowl biology: a review of the disease and its impact on waterfowl populations. Journal of Wildlife Diseases, 43(3), 437-449.

96.Sarangi, L.N., And Panda, H., (2011).Antibiotic sensitivity of avian isolates of Pasteurella multocida. *The Indian Veterinary Journal*, (88), 85-86. https://www.doi.org/10.1590/1516-635x160231-36

97.Sayedun N., P., Nazmul H., N.,Bahanur,M., R.,Sultan A.,Golam S.,Shovon C.,Tazrin K., and Ummay H., M.,(2015). Isolation and molecular detection of Pasteurella multocida Type A from naturally infected chickens, and their histopathological evaluation in artificially infected chickens in Bangladesh.Department of Microbiology and Hygiene, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh-2202, Bangladesh؛

98.Segers P., Mannheim W., Vancanneyt M., De Brandt K., Hinz K.-H, Kersters K. & Vandamme P., (1993). Riemerella anatipestijer gen. nov., comb. nov., the causative agent of septicemia anserum exsudativa, and its phylogenetic affiliation within the Plavobacterium-Cytophaga Rrna homology group. IntJ. syst. Bacteriol, 43, 768-776.

99. Semjen,g.,Magyar,t.,laczay,p.,(1998).therapeutic efficacy of doxycycline agaist experimental Pasteurella multocida infection in broiler chickes.acta vet hung. 46(1):85-93

100. Shalaby, A. G., Bakry, N. R., & El-Demerdash, A. S.,(2021). Virulence attitude estimation of Pasteurella multocida isolates in embryonated chicken eggs. Benha Veterinary Medical Journal, 40(1), 88-92.

101. Shea, K.M., (2003). Antibiotic resistance. What is the impact of agricultural uses of antibiotics on children health? Pediatrics (112),253-258.

102. Shivachandra, S. B., Kumar, A. A., Biswas, A., Ramakrishnan, M. A., Singh, V. P., Srivastava, S. K., (2004). Antibiotic sensitivity patterns among India strains of avian Pasteurella multocida. Trop. *Anim.Health Product*, (36) 743-750.

103. Shivachandra,S.B., Kumar, A.A.,Gautam, R.,Saxena, M.K.,Chaudhuri, P. And Srivastava, S.K., (2005). Detection of multiple strains of Pasteurella multocida in fowl cholera outbreaks by polymerase chain reaction-based typing. *Avian Pathology*, 34 (6), 456-462.

104. Simensen L., Olsen D. & Hahn G.L., (1980). Effects of high and low environmental temperatures on clinical course of fowl cholera in turkeys. Avian Dis., 24, 1007-1010.

105. Skerman,V.,B.D.,(1967). A guide to the identification of the genera of bacteria,2nd Ed.

106. Smith J.E. & Thal E. ,(1965). A taxonomic study of the genus Pasteurella using a numerical technique. Acta pathol. microbiol. immunol. scand., 64, 213-223. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 19 (2) 637

107. Snipes K.P., Hirsh D.C., Kasten R.W., Carpenter T.E., Hird D.W. & McCapes R.H. ,(1990). Homogeneity of characteristics of Pasteurella multocida isolated from turkeys and wildlife in California, 1985-88. Avian Dis., 34, 315-320.

108. 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.

109. Snipes K.P., Hirsh D.C., Kasten R.W., Hansen L.M., Hird D.W., Carpenter T.E. & Hirsh McCapes R.H., (1989). Use of an rRNA probe and restriction

endonuclease analysis to fingerprint Pasteurella multocida isolated from turkeys and wildlife. J. clin. Microbiol., 27, 1847-1853.

110. Tille, P. M., (2023). Bailey& Scott's Diagnostic Microbiology (15th ed.). *Elsevier*.

111. Townsend, K.M.,Frost, AJ., Lee, C.W., Papadimitriou,J.M.,Dawkins,H.J., (1998). Development of PCR assays for species-and type-specific identification of Pasteurella multocida isolates. *J Clin Microbiol* 36:1096-100.

112. Townsend, KM., Boyce, JD., Chung, JY.,Frost,A.J.,And Adler,b.,(2001). Genetic organization of Pasteurella multocida cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. *J Clin Microbiol* 39:(3) 929-924 .

113. 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.

114. Vandamme P., Segers P., Vancanneyt M., Van Hove K., Mutters R., Hommez J., Dewhirst F., Paster B., Kersters K., Falsen E., Devriese L.A., Bisgaard M., Hinz K.-H. & Mannheim W., (1994). Ornithobacterium rhinotracheale gen. nov., sp. nov., isolated from the avian respiratory tract. int. J. syst. Bacteriol, 44, 24-37,

115. Van Sambeek F., McMurray B.L. & Page R.K.,(1995). Incidence of Pasteurella multocida in poultry house cats used.

116. Victor, A., Mathew, B., Adekemi, O., Ayo,A.,Odunayo,A., (2016). Prevalence and antibiotic resistance of Pasteurella multocida isolated from chicken in Ado-Ekiti metropolis. *Int J Sci* World 27:40-2

117. Walaa,Z.,A.,(2020). Phenotypic And Genotypic Characterization Of Pasteurella Multocida Isolated From Chickens. Benha Veterinary Medical Journal, 39(1), 63-67. DOI: 10.21608/Bvmj.2020.35909.1222

118. Wilkie, I.W., Grimes, S.E., O'Boyle, D., and Frost, A.J., (2012). The virulence and protective efficacy for chickens of Pasteurella multocida administered by different routes. Veterinary Microbiology, 160(1-2), 230-235.

119. Wilson M.A., Morgan M.J. & Barger G.E. ,(1993)a. Comparison of DNA fingerprinting and serotyping for identification of avian Pasteurella multocida isolates. J . clin. Microbiol, 31, 255-259.

120. Wilson M.A., Duncan R.M., Nordholm G.E. & Berlowski B.M., (1995)b. Serotypes and DNA fingerprint profiles of Pasteurella multocida isolated from raptors. Avian Dis., 39, 94-99.

121. Wilson M.A., Duncan R.M., Nordholm G.E. & Berlowski B.M., (1995)a. Pasteurella multocida isolated from wild birds of North America: a serotype and DNA fingerprint study of isolates from 1978 to 1993. Avian Dis. 39, 587-593.

122. Wilson, B.A., and Ho, M., (2013). Pasteurella multocida: from zoonosis to cellular microbiology. Clinical Microbiology Reviews, 26(3), 631-655.

123. Witte, W., (1998).Medical consequences of antibiotic use in agriculture.Scienc 279:996-997.

124. 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.

الملخص العربي

Arabic summary

الملخص:

تم جمع (300) عينة مخبرية من (200) دجاجة مشتبهة ظاهرياً كان منها عينات من (180) دجاجة من التربية التجارية (أمات وبياض وفروج) وعينات من (20) دجاجة من التربية المنزلية كما تم جمع عينات من (100) دجاجة سليمة ظاهرياً كان منها عينات من (90) دجاجة من التربية التجارية (أمات وبياض وفروج) و عينات من (10) دجاجة من التربية المنزلية ،جمعت العينات بالنسبة للتربية التجارية من خمس مزارع في محافظة حماة وخمس مزارع في محافظة حمص، كما جمعت العينات بالنسبة للتربية المنزلية من خمس تجمعات في محافظة حماة وخمس تجمعات في محافظة حمص بحيث شملت العينات مسحات من الرغامى وعينات من الرئتين ودم القلب نقلت العينات في حافظة مبردة بالسرعة المناسبة إلى المختبر وتم إجراء الزرع الجرثومي للعينات على وسط الآغار المدمم ووسط ماكونكي ثم حضنت المنابت بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة ودُرست المزارع النامية ثم تم إجراء لطاخه مجهرية وصبغت بصبغة غرام، للعزلات الجرثومية النامية والتي ظهرت مستعمراتها على وسط الآغار المدمم على شكل مستعمرات صغيرة ملساء مخاطية غير محللة للدم ولم تنمو على وسط ماكونكي، ودُرست تحت المجهر على العدسة الزيتية (X100)،للتأكد من سلبية الجراثيم، ثم تم إجراء الاختبارات الكيميائية الحيوية على هذه العزلات وصُنّفت العزلات التي كانت إيجابية لاختبار الكاتلاز والأوكسيداز والإندول واختزال النترات وتخمر الغلوكوز وتخمر المانيتول وسلبية لاختبار اليورياز وتخمر التريهالوز وتخمر اللاكتوز وتخمر الأرابينوز ،على أنها عزلات لجراثيم الباستوريلة القتّالة ،حيث كان عددها 13 عزلة بنسبة انتشار كلية 4.3% شملت هذه العزلات على 10 عزلات من دجاج التربية التجارية بنسبة انتشار 3.7% و3 عزلات من دجاج التربية المنزلية بنسبة انتشار 10% ،ثم تم إجراء اختبار البوليميراز المتسلسل على هذه العزلات بعد استخلاص ال DNA الجرثومي واستخدمت البادئات KMT1T7 و KMT1SP6 لاستهداف الجين kmt1 وكانت نتيجة الاختبار تأكيد 11 عزلة بنسبة انتشار كلية 3.6%، كان منها 9 عزلات من التربية التجارية بنسبة انتشار 3.3% وعزلتان من التربية المنزلية بنسبة انتشار 6.6% بعد ذلك أجري اختبار الحساسية لبعض الصادات المستخدمة في العلاج بطريقة الانتشار القرصي على وسط مولر هنتون، حيث تم توحيد المعلق الجرثومي حسب معيار ماك فارلاند ولقحت الأطباق بالعزلات المختبرة ووضعت أقراص الصادات ثم حضنت 24 ساعة وتم قياس قطر التثبيط بالملم وحسبت على أساسه حساسية كل صاد بعد مقارنتها بالمعيار الدولي المقبول حيث أظهر كل من الصادين تتراسيكلين وانروفلوكساسن فعالية عالية نسبياً بمقدار 90.9% بينما كانت فعالية كل من الصادات جنتامايسين وسيبروفلوكساسين وأموكسيسيللين 72.7% وكانت فعالية الصاد دوكسي سايكلين 36.4% وأقل فعالية كانت للصاد تايلوزين 27.7% .

الملخص الإنكليزي

English summary

summary

(300) laboratory samples were collected from (200) apparently suspected chickens, including samples from (180) commercially raised hens (breeders, layers, and broilers) and samples from (20) backyard chickens. Samples were also collected from (100) apparently healthy chickens, including samples from (90) commercially raised hens (breeders, layers, and broilers) and samples from (10) backyard chickens. The samples from commercially raised hens were collected from five farms in Hama Governorate and five farms in Homs Governorate. The samples from backyard chickens were collected from five clusters in Hama Governorate and five clusters in Homs Governorate. The samples included tracheal swabs, lung samples, and heart blood samples. The samples were transported in a refrigerated container at the appropriate speed to the laboratory. Bacterial cultures were performed on blood agar and MacConkey agar. The cultures were then incubated at 37°C for 24 hours. The growing cultures were studied, and then a microscopic smear was performed and stained The growing bacterial isolates, whose colonies appeared on blood agar, non-hemolytic, as small, smooth, mucous colonies and did not grow on MacConkey agar, were examined under an oil immersion microscope (100x) to confirm its negative status for gram stain. Biochemical tests were then performed on these isolates. Isolates that were positive for catalase, oxidase, indole, nitrate reduction, glucose fermentation, and mannitol fermentation, and negative for urease, trehalose fermentation, lactose fermentation, and arabinose fermentation, were classified as Pasteurella multocida isolates. Thirteen (13) isolates were identified, representing an overall prevalence of (4.3%). These included (10) isolates from commercially raised chickens (3.7%) and (3) isolates from backyard chickens (10%). After extraction of the bacterial DNA, polymerase chain reaction (PCR) was performed on these isolates using the primers KMT1T7 and KMT1SP6 to target the gene kmt1 .The test result confirmed (11) isolates with an overall prevalence of (3.6%). These included (9) isolates from commercially raised chickens (3.3%) and (2) isolates from backyard chickens (6.6%). Antimicrobial susceptibility testing was performed on the confirmed isolates using the disk diffusion method on Mueller-Hinton agar. The inoculum was standardized to McFarland turbidity standards, plates

were swabbed with the test isolates, antibiotic discs were applied, and plates were incubated for 24 hours. Inhibition zone diameters were measured and interpreted according to international standards. The results showed that tetracycline and enrofloxacin exhibited the highest efficacy (90.9% each). Gentamicin, ciprofloxacin, and amoxicillin showed moderate activity (72.7% each). Doxycycline had lower activity (36.4%), while tylosin demonstrated the weakest efficacy (27.3%).

Syrian Arab Republic
Hama University
Faculty Of Veterinary Medicine
Department of Animal Diseases

Investigation Of The Prevalence Of Fowl Cholera In Chicken Flocks In The Central Region Of Syria

Thesis Presented By **Mohammad Abo Jasem**

Msc. Vet. Med. Sc.Poultry Diseases
For
Doctorate Degree in Vet. Med. Sc. Poultry Diseases

Under the supervision of

Prof. Dr. **Mohammad Ali Alemade**

Professor of Poultry Diseases - Faculty of Veterinary Medicine - Department of Animal Diseases - Hama University.

&Dr.**Hazem Melly**

Assistant Professor of Poultry Diseases - Faculty of Veterinary Medicine - Department of Animal Diseases - Hama University