

## Infectious bursal disease virus 감염이 닭 괴사성 장염의 병원성에 미치는 영향

김홍집 · 강문일\* · 정운익

(주) 미원 축산과학연구소  
전남대학교 수의과대학\*  
(1996년 5월 18일 접수)

### Effect of infectious bursal disease virus infection on pathogenesis of necrotic enteritis in chicken

Hong-jib Kim, Mun-il Kang\*, Un-ik Chung

Miwon Institute of Animal Science, Ichon  
College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Kwangju\*  
(Received May18, 1996)

**Abstract** : For understanding the role of infectious bursal disease virus(IBDV) to the pathogenesis of necrotic enteritis due to *Clostridium perfringens*(CP), all 15 day-old chickens used were divided as the following groups; A and E group with the feeding of feed contaminated with CP, B group with oral administration of IBDV(50 $\mu$ l/head, 10<sup>3.4</sup>EID<sub>50</sub> of P<sub>4</sub> strain) and simultaneously feeding of feed contaminated with CP, C group treated with IBDV alone, F group with the feeding of feed contaminated with CP at 3 weeks after oral inoculation of IBDV, D and G group with the feeding of normal feed as controls.

In mortality, B group(30%) was not a difference compared to A group(20%)(p>0.05), but in the pathological lesions the former was more severe degree than the latter. The mortality of F group(70%) was a significant difference to those of A, B or E group (20%)(p<0.01). Also, showed much F group more marked lesions than A, B or E group. In the chickens occurred the death during the study, mean concentration of CP was reached at 10<sup>8</sup>~10<sup>9</sup>CFU/g in the intestinal contents. B group showed higher mortality and more severe pathological changes than A and E group.

Consequently, the results in the study were confirmed that the IBDV could be a role as a enhancing factor in pathogenesis of necrotic enteritis due to CP under the field condition.

**Key words** : infectious bursal disease, pathogenesis, necrotic enteritis, *Clostridium perfringens*.

## 서 론

닭 피사성 장염의 재현을 위한 연구로는 *Clostridium perfringens*의 배양균액을 경구접종<sup>1,2</sup>, 배양균액을 소낭내 접종<sup>3,4</sup>, 배양균액, 균체와 독소를 십이지장내 접종<sup>5-8</sup>, 배양균액을 정맥내 접종<sup>9,10</sup>한 실험예가 있으며 또한 *Cl perfringens*로 오염된 사료의 급여실험<sup>8,9,11-14</sup>, 오염된 계사와 깔짚에 의한 사육실험<sup>15-18</sup> 등이 보고된 바 있다. 이러한 일련의 연구를 통하여 *Cl perfringens*에 의한 닭 피사성 장염의 다양한 기병성들이 밝혀져 왔다. 그러나 본 병의 발생에 대한 기병성은 아직까지도 완전히 이해되지 못한 부분이 많이 남아 있다.

지금까지는 *Cl perfringens*가 닭에 감염을 일으키는데 관한 요인들이 주로 보고되어 왔으나 최근에는 육종개량과 각종 주변환경의 스트레스에 따른 항병력 저하 등이 관련요인으로 거론되고 있다. 또한 세균 및 바이러스 감염증 중 특히 닭에서 면역기능을 억제시키는 infectious bursal disease(IBM) virus, chicken anemia virus, Marek's disease virus 등과 혼합감염시 닭피사성 장염의 발생과 병변의 정도가 심해질 것으로 추정하고 있다.

본 연구에서는 병원체 단독감염에 의한 질병보다도 혼합감염이 다발하고 있는 국내 양계농장의 현실을 감안해 볼 때, 이미 상재하여 빈발하고 있는 IBM과 피사성 장염의 혼합감염 모델을 통하여 IBM virus가 피사성 장염의 발생에 미치는 영향을 규명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

사용균주와 바이러스 : *Cl perfringens*는 피사성 장염이 발생한 닭으로부터 분리한 A형 독소 생산주를 cooked meat medium (Difco)에 접종하여 배양하였고, 증균배지로서는 Long과 Truscott<sup>11</sup>의 방법에 따라 독소 생산량을 높이기 위하여 용해성 전분을 2% 첨가한 thioglycollate broth(Difco)를 사용하였다. 접종액내의 세균량은  $10^7 \sim 10^8$  colony forming unit(CFU)/ml로 조정하여 사용하였다. IBM virus는 수의과학연구소로부터 분양받은 P<sub>4</sub> strain( $10^{3.4}$  EID<sub>50</sub>)을 수당 50μl씩 경구접종하였다.

실험동물 : 시판 2주령 Arbor Acres종 육계를 구입하여 주요한 닭 질병의 항체가 측정(Table 1)과 콕시듐 총관검사를 실시하였으며, 그 결과 IBM virus항체 음성이고, 콕

시듐에 감염되지 않은 닭만을 선별하여 격리된 장소의 battery에서 사육하였다.

Table 1. Mean serum antibody titer of chickens to several diseases prior to the experiment

Diseases	Mean titer	Methods*
Pullorum disease	negative	PA
Newcastle disease	5.7	HI
Infectious bronchitis	6.1	HI
Infectious bursal disease	negative	ELISA

\* PA : plate agglutination test.

HI : hemagglutination inhibition test (log<sub>2</sub> titer).

ELISA : FlockChek, IDEXX Co., USA.

*Cl perfringens* 오염사료 준비 : 항생제와 항콕시듐제가 첨가되어 있지 않은 시판 산란계사료(미원, 슈퍼산란 ; CP: 15%)에 thioglycollate broth에서 자란 대수증식기의 균을 사료 : broth가 1 : 1.25(W/V)의 비율이 되도록 혼합하였다. 오염사료를 급여하기 전까지는 시판 육계사료(미원, 육계 전기; CP: 17%)를 무제한 급여하였고, 시험 시작 12시간 전부터 절식시킨 후 오염사료를 1일 2회 무제한 급여하였으며, 잔여사료는 항상 제거하고 물은 충분히 공급하였다. IBM virus 단독 급여군과 대조군은 전술한 시판 산란계사료를 계속 급여하였다.

접종계획 : 실험계획은 15일령의 닭에 *Cl perfringens*로 오염시킨 사료와 IBM virus에 동시에 노출시키는 실험 1과 15일령의 닭에 IBM virus로 먼저 감염시킨 다음 3주 후에 *Cl perfringens*의 오염사료로 감염시키는 실험 2로 나누어 실시하였다(Table 2).

Table 2. Experimental design

Experiment*	Group	No. of tested	Infection methods
1	A	20	Feeding of feed contaminated with <i>Clostridium perfringens</i> (CP)
	B	20	IBM virus, orally + feeding of feed contaminated with CP
	C	30	IBM virus alone, orally + feeding of normal feed
	D	10	Control, feeding of normal feed only
2	E	20	Feeding of feed contaminated with CP
	F	20	IBM virus, orally at 15 day-old and then feeding of feed contaminated with CP at 35 day-old chickens
	G	10	Control, feeding of normal feed only

\* The experiment 1 and 2 were used the chickens of 15 and 35 day-old, respectively.

육안적 검사 : 접종후 12일동안 관찰하고 실험기간중 폐사한 닭과 13일째 살아 있는 닭을 경추 탈골시켜 통상적인 닭 부검술식에 의거, 각 장기와 기관을 조사하여 자세히 기록하였다. 육안적 병변등급은 Prescott<sup>13</sup>의 기준 (Table 3)에 따라 판정하였다.

Table 3. Gross lesion scores at necropsy

Scores	Lesions
0	No gross changes (Fig 1)
1 +	Thin walled or friable small intestine (Fig 1)
2 +	Focal necrosis or ulceration (Fig 2)
3 +	Larger patches of necrosis (Fig 3)
4 +	Typically severe and extensive necrosis (Fig 4)

병리조직학적 검사 : 부검시 각종 실질장기를 절취하여 10% 중성포르말린에 24~48시간 고정된 후 파라핀에 포매하여 5µm의 조직절편을 만든 다음, 통상적인 hematoxylin-eosin (H & E) 염색을 실시하였고, 필요에 따라 조직내의 세균을 확인하기 위해서는 MacCallum-Good pasture 염색<sup>19</sup>을 실시하였다.

세균학적 검사 : 폐사한 닭의 장관 내용물에서 *Cl perfringens*의 CFU/g을 확인하기 위하여 내용물 1g을 채취, 멸균된 10ml thioglycollate broth(Difco)에 혼합한 후 75℃에서 20분간 유지하였다. 그후 1ml를 취하여 phosphate-buffered-saline(pH 7.0)에 10배 계단희석하여 sulfite-polymixin-sulfadiazine(PS) agar(BBL)에 각각 접종하고, 배지를 37℃에서 24시간 혐기배양한 후 CFU/g을 계산하였다.

통계처리 : 계군별 처리간 유의성 검정은 두 모집단

비율간의 차이 비교로서 z검정을 실시하였다.

## 결 과

*Cl perfringens*로 오염시킨 사료와 IBD virus의 동시 감염에 의한 영향 : A와 B군 모두에서 24시간 후부터 폐사가 발생하였고 나머지 닭에서는 침울, 거동기피 증상이 보였으며 백색 및 녹색의 변이 간간히 보이기 시작하였다(Fig 5). 3일째 부터는 식욕이 급격히 떨어지면서 A군과 B군 모두 사료섭취시 침을 흘리는 증상을 보였고, 장점막 상피세포가 섞인 황갈색 설사(Fig 6) 및 소수에서 암갈색 혈변도 보였다.

A군에서는 *Cl perfringens*에 의한 오염사료 급여후 5일째부터 회복하였고, B군에서는 7일째까지 지속적으로 폐사가 나타나다가 A군에 비하여 8일째부터 회복을 보였으나 회복된 닭은 심한 성장지연과 깃털이 불량했다. C군에서는 백색 수양성 설사가 지속되면서, 침울, 거동기피, 식욕감퇴 증상을 보이다가 9일째 부터 사료섭취량이 늘기 시작하면서 점차 회복되었고, 관찰기간동안 2수의 폐사가 발생하였는데 원인은 대장균중이었다. 대조군인 D군에서는 어떠한 임상증상이나 폐사도 발생하지 않았다. 폐사율은 IBD virus와 오염된 사료의 동시감염군인 B군(30%)이 오염사료 단독 급여군인 A군(20%)보다 다소 폐사율이 높았으나 유의차(p>0.05)는 인정되지 않았다(Table 4).

육안적 소견은 A와 B군의 초기폐사 발생시는 소화되지 않은 사료가 장에 가득 차있었으며 시간이 지날수록

Table 4. Mortality and gross lesions of chickens in experiment 1

Group <sup>a</sup>	Death of chickens post infection												No. died / No. tested(%)	Lesion scores of survivors <sup>b</sup>				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12(days)		0	1+	2+	3+	4+
A	0	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4/20(20.0)	9	3	3	1	0
B	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	6/20(30.0) <sup>c</sup>	4	3	2	3	2
C	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2/30(6.6) <sup>d</sup>	28	0	0	0	0
D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10(0.0)	10	0	0	0	0

a : A ; feeding of feed contaminated with *Clostridium perfringens* (CP).

B ; IBD virus, orally and feeding of feed contaminated with CP.

C ; IBD virus alone, orally.

D ; control.

b : Lesion scores of survivors according to Prescott (1979) methods.

c : No statistically significant difference from A group (p>0.05)

d : Death due to colibacillosis.

Table 5. Mortality and gross lesions of chickens in experiment 2

Group <sup>a</sup>	Death of chickens post infection												No. died / No. tested(%)	Lesion scores of survivors <sup>b</sup>				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12(days)		0	1+	2+	3+	4+
E	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4/20(20.0)	8	5	2	1	0
F	1	2	3	2	2	2	1	1	0	0	0	0	14/20(70.0) <sup>c</sup>	0	1	2	2	1
G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10(0.0) <sup>d</sup>	0	0	0	0	0

a : E ; feeding of feed contaminated with *Clostridium perfringens* (CP).

F ; feeding of feed contaminated with CP at 35 day-old after infection with IBD virus at 15 day-old chickens.

G ; control.

b : Lesion scores of survivors according to Prescott(1979) methods.

c : Statistically significant difference from E, B group (p<0.01).

가스로 인한 장의 팽만(Fig 7)과 황갈색 내지 녹색의 장내용물이 가득 차있었으며, 부검시 장은 취약하여 부분적으로 쉽게 단락되었고, 점막은 충·출혈, 괴양 및 괴사 등의 다양한 병변을 보였다. 이들 병변은 주로 공장과 회장에서 자주 관찰되었으며 때때로 폐사한 닭의 간은 충혈되어 있었다. 13일째 부검한 결과 B군의 육안적 병변이 A군 보다 전반적으로 심하였으며 두군 모두 장벽의 비후가 관찰되었다(Fig 8). 특히 B군은 F낭이 심하게 위축되어 있었다(Fig 9).

A와 B군의 폐사한 닭의 조직학적 소견은 소장점막의 용모상부는 다수의 균집락의 정착(Fig 10)을 비롯 상피세포의 변성에서부터 응고괴사에 이르기까지 다양하였다. 특히 *Cl perfringens*의 집락이 삼출물과 장점막 부위에 심하게 부착(Fig 11)되어 있었고, 장관의 관강내에는 수많은 균괴와 적혈구, 섬유소 및 괴사세포편 등이 섞인 삼출물이 있었다.

또한 A군에서 3일째 폐사한 닭에서는 장음와의 증식과 확장소견이 관찰되었고, B군에서 2일째 폐사한 닭 1수에서 패혈증으로 인한 F낭의 전반적인 괴사와 낭포양으로 형성된 관강과 관벽에 무수한 균괴가 정착되어 있었다(Fig 12). 특히 장음모의 손상은 3일과 4일째 폐사한 닭에서 심하였으며 B군의 병변이 A군보다 더욱 심하였다. 생존한 닭에서는 장음와 상피세포의 뚜렷한 재생성 변화가 관찰되었으며 장음모는 짧아지고 편평해졌다.

IBD virus 감염후 *CL perfringens* 오염사료에 의한 감염의 영향 : E군에서는 Table 5에서 보는 바와 같이 오염된 사료섭취후 24시간 이내에 패혈증에 의한 폐사가 나타나았으며 그외에 일반적인 증상은 A군의 소견과 거의 유사하였다.

F군에서는 B군(Table 4)에서와 같이 매일 지속적으로 폐사가 발생하지 않고 오염된 사료급여를 시작한 1일째부터 폐사를 보여 감염후 초기인 5일 이내 폐사가 다발하였다.

F군(70%)의 폐사율은 E군(20%)에 비해 매우 높아 유의(p<0.01)성이 인정되었으며 또한 B군(30%)에 비교해서도 유의성(p<0.01)이 인정되었다(Table 5).

F군의 육안적 소견 및 조직학적 소견은 A, B, E군의 소견에 비하여 매우 심한 병변을 보였다. 본 실험중 폐사한 닭들의 장관 내용물에서는 10<sup>8</sup>~10<sup>9</sup> CFU/g의 높은 비율로 *Cl perfringens*가 검출되었다.

## 고 찰

닭 괴사성 장염(necrotic enteritis, NE)의 발생에 대한 기병성은 매우 다양한데 지금까지 많은 연구들이 *Cl perfringens*라는 병원체 자체에 대한 기병력 파악에 주력해왔고 닭의 체내 항병력 저하에 따른 NE 발생에 대한 보고는 많지 않다. Parish<sup>1</sup>는 일찌기 스트레스가 본 병의 소인이 된다고 보고하였고, Wyeth<sup>20</sup>는 IBD virus로 면역기능억제제 *Salmonella typhimurium*과 *Escherichia coli* 감염에 대한 감수성이 높아져 폐사율이 높아진다고 하였으며, Lerman과 Weidanz<sup>21</sup>는 닭에게 cyclophosphamide를 투여시 체액 면역반응이 억제된다고 보고하였다. 한편 Bernier와 Filion<sup>9</sup>은 adrenaline의 투여후 NE 발생이 용이하게 재현되었다고 보고하기도 하였다.

그러나 NE에 대한 IBD virus의 역할에 대한 연구는 아직까지 수행된 바 없어서 본 실험을 하게 되었다. 그 결과 임상증상은 선현들의 연구보고와 같이 침울, 거동기피 증상이 나타났으며, 특이하게 Naim과 Bamford<sup>2</sup>가 아

외발생예에서 유연이 있다고 보고한 것처럼 *Cl perfringens*로 오염된 사료섭취시 유연이 나타났다.

*Cl perfringens*로 오염시킨 사료만을 급여한 A군과 오염사료와 IBD virus를 동시에 접종한 B군의 임상증상은 거의 비슷하였으나 B군에서는 7일째까지 지속적인 폐사가 진행되다가 A군에 비하여 늦은 8일째부터 회복을 보였고, 회복된 닭은 심한 성장지연과 깃털이 불량해졌으며, 육안적 및 조직학적 병변정도가 상대적으로 A군 보다 심하게 나타났는데 이는 IBD virus에 의한 면역기능의 저하에 따른 결과로 사료되어진다. 그러나 폐사율은 A군과 B군사이에 통계학적으로 유의차( $p>0.05$ )가 인정되지 않아 *Cl perfringens*와 IBD virus의 동시감염시에는 병변만 증폭시킬뿐 직접적인 폐사에는 영향을 미치지 않는 것으로 판단되었다.

15일령에 IBD virus로 면역기능을 억제시킨 F군은 B군에서 처럼 매일 지속적인 폐사가 발생하지 않고 *Cl perfringens*로 오염된 사료급여 1일째부터 시작하여 감염 초기에 집중적으로 폐사가 발생한 후 6일째를 고비로 점차 줄어들었으나 폐사율은 70.0%로 상당히 높아 타군(A, B, E)에 비하여 유의차가 인정되었다( $p<0.01$ ). 이러한 결과는 3주 이전에 IBD virus에 감염된 닭은 F낭의 손상 결과 면역기능의 저하를 초래한 바, NE 발생에 대한 감수성이 높아짐을 확인할 수 있었다.

조직학적 소견중 특이한 것은 B군중 2일째에 폐사한 닭 1수에서 *Cl perfringens*에 의한 F낭의 심한 괴사성 병변이 있었으나 맹장에서의 병변은 관찰되지 않았다. 야외의 NE 발생예에서는 일부 감염계의 맹장에서 병변이 보였는데 본 감염실험에서는 관찰되지 않아 다소 상반된 결과를 얻었는데, 이는 야외발생의 경우 콕시듐의 혼합감염 여부와 상관성이 있다고 사료된다.

세균학적 검사결과 폐사한 닭의 장관 내용물에서는  $10^8 \sim 10^6$  CFU/g의 높은 비율로 *Cl perfringens*가 검출되었다. 즉, 폐사계의 장관내에 높은 세균수의 농도는 정상 세균총 보다는 숫적으로 우세한 상태가 본 질병의 발생

을 용이하게 할 수 있음을 시사해주고 있다.

이와 같이 *Cl perfringens*와 IBD virus의 동시감염시에는 병변만이 증폭되고 폐사에는 영향을 미치지 않았으나 IBD virus로 15일령에 면역기능을 억제시킨 다음 *Cl perfringens*를 감염시켰을 때는 심한 피해가 나타났다.

## 결 론

15일령 및 35일령의 닭에 *Cl perfringens*로 오염시킨 사료만을 급여한 군(A, E)과 IBD virus를 *Cl perfringens*와 동시 감염시킨 군(B), IBD virus만을 단독접종한 군(C), IBD virus를 접종한 후 3주째에 *Cl perfringens*로 오염된 사료를 공격 접종한 군(F)을 설정하여 실험하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다. 정상사료만을 급여하였던 군(D, G)을 대조군으로 하였다.

1. 폐사율은 B군(30%)이 A군(20%) 보다 다소 폐사율이 높았으나 유의성( $p>0.05$ )은 인정되지 않았고 단지 A군에 비하여 회복속도가 느렸고 육안적 및 조직학적 병변정도도 더 심하였다. 그러나 F군의 폐사율(70%)은 A, B, E군(20%)에 대하여 유의성 있는 폐사율의 차이( $p<0.01$ )가 인정되었다. F군의 육안적 및 조직학적 소견은 A, E, B군에 비하여 매우 심한 병변정도를 보였다.

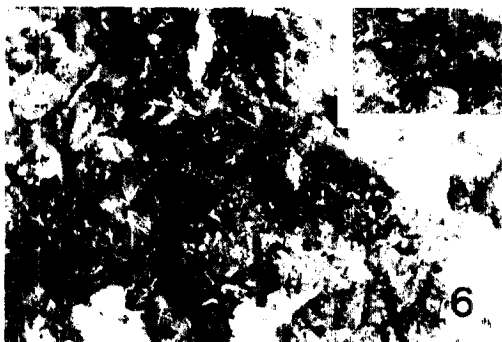
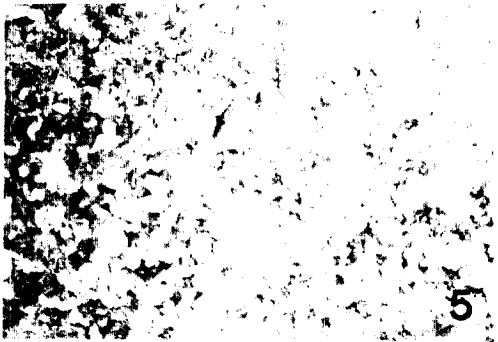
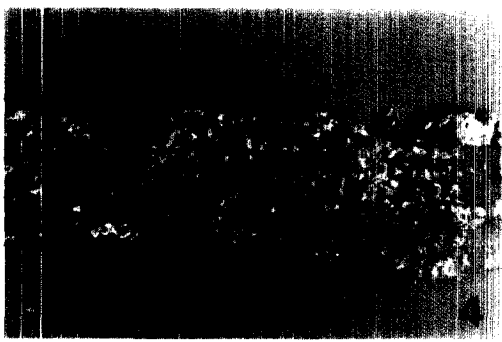
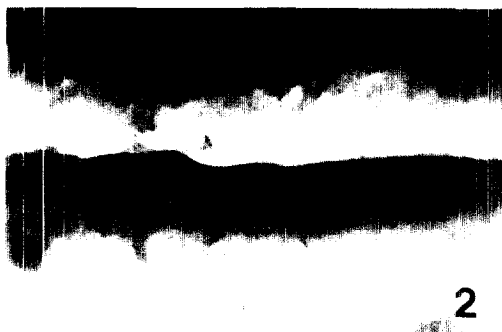
2. 세균학적 검사결과 폐사한 닭의 장관 내용물에서는  $10^6 \sim 10^9$  CFU/g의 높은 비율로 *Cl perfringens*가 검출되었다.

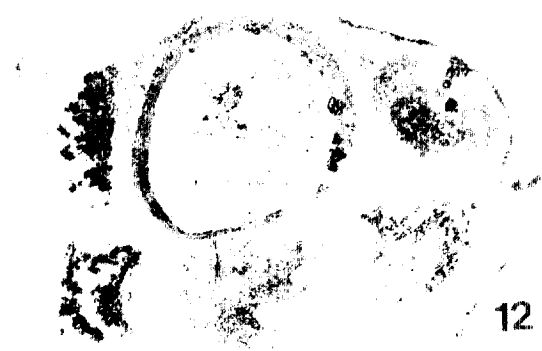
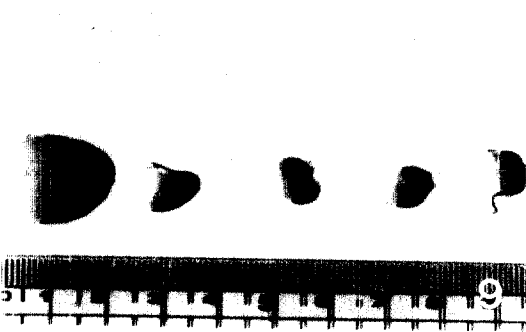
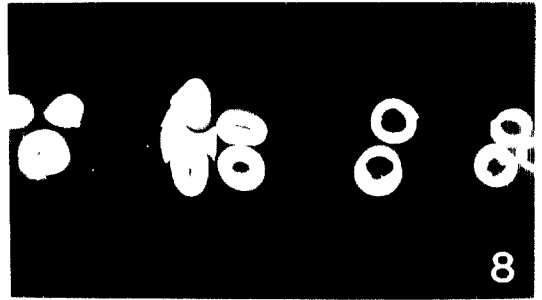
3. 결국 *Cl perfringens*에 의한 괴사성 장염은 IBD virus와 동시감염시 병변이 증폭되었으나 폐사율에는 차이가 없었다. 또한 IBD virus로 면역억제후 *Cl perfringens*를 감염시킬 경우 병변과 폐사율에서 *Cl perfringens* 단독감염과 심한 차이를 보여 이러한 감염모델은 IBD virus가 괴사성 장염의 발생에 커다란 영향을 미칠 수 있음을 확인하였다.

\* 사사 : 본 연구의 참고문헌과 사진준비에 한동운 선생의 도움이 있었기에 이에 감사를 표한다.

## Legends for figures

- Fig 1. Gross lesions of necrotic enteritis (normal and score 1+). A : no gross changes ; B : thin walled and congested mucosa of jejunum.
- Fig 2. Gross lesions of necrotic enteritis (score 2+). Note multifocally hemorrhagic necrosis of jejunal mucosa.
- Fig 3. Gross lesions of necrotic enteritis (score 3+). Note larger patches of necrosis and multiple ulceration of jejunal mucosa.
- Fig 4. Gross lesions of necrotic enteritis (score 4+). Note typically severe and extensive necrosis of jejunal mucosa.
- Fig 5. Semisolid whitish to yellowish feces of chickens at a 24 hours after feeding of feed contaminated with *Clostridium perfringens*.
- Fig 6. Feces of chickens at 3 days after infection with infectious bursal disease virus and feeding of feed contaminated with *Clostridium perfringens*. Note severely watery, yellowish-greenish, and slightly hemorrhagic diarrhea. (Insert) Bloody diarrhea containing desquamated intestinal epithelium.
- Fig 7. Distended jejunum of a chicken due to gas formation at 3 days after feeding of feed contaminated with *Clostridium perfringens*.
- Fig 8. Jejunal wall of chickens at 13 days after feeding of feed contaminated with *Clostridium perfringens*. Note marked thickening of jejunal wall on the right two groups compared with the two control groups on the left.
- Fig 9. Comparison of the bursas of Fabricius between normal chicken(N) and infected chickens at 13 days after infection with infectious bursal disease virus and feeding of feed contaminated with *Clostridium perfringens*. Note severe atrophy of the bursa of Fabricius in the infected chickens.
- Fig 10. Jejunum of a chicken at 3 days after feeding of feed contaminated with *Clostridium perfringens*. Note coagulative necrosis massively covering with clostridial colonies on the top of villi of the upper part of mucosa clearly divided into the lower part of the lamina propria including cystic dilatation of some crypt glands. MacCallum-Good pasture stain.  $\times 100$ .
- Fig 11. Higher magnification of Fig 10. Note numerous clostridial colonies covering the necrotic mucosa as well as some necrotizing cells and erythrocytes. MacCallum-Good pasture stain.  $\times 400$ .
- Fig 12. Bursa of Fabricius of a chicken at 2 days after feeding of feed contaminated with *Clostridium perfringens* and infection with infectious bursal disease virus. Note multifocal localization of massive clostridial colonies in necrotic areas as well as in cyst-like lumen. MacCallum-Good pasture stain.  $\times 100$ .







## 참 고 문 헌

1. Parish WE. Necrotic enteritis in the fowl. III. The experimental disease. *J Comp Pathol*, 71: 405-413, 1961.
2. Naim ME, Bamford VW. Necrotic enteritis of broiler chickens in western Australia. *Aust Vet J*, 43: 49-54, 1967.
3. Wijewanta EA, Seneviratna P. Bacteriological studies of fatal *Clostridium perfringens* type-A infection in chickens. *Avian Dis*, 15: 654-661, 1971.
4. George BA, Quarles CL, Fagerberg DJ. Virginiamycin effects on controlling necrotic enteritis infection in chickens. *Poult Sci*, 61: 447-450, 1982.
5. Al-Sheikhly F, Truscott RB. The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of broth cultures of *Clostridium perfringens* into the duodenum. *Avian Dis*, 21: 230-240, 1977.
6. Al-Sheikhly F, Truscott RB. The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of crude toxins of *Clostridium perfringens* into the duodenum. *Avian Dis*, 21: 241-255, 1977.
7. Al-Sheikhly F, Truscott RB. The interaction of *Clostridium perfringens* and its toxins in the production of necrotic enteritis of chickens. *Avian Dis*, 21: 256-263, 1977.
8. Truscott RB, Al-Sheikhly F. Reproduction and treatment of necrotic enteritis in broilers. *Am J Vet Res*, 38: 857-861, 1977.
9. Bernier G, Filion R. Necrotic enteritis in broiler chickens. *JAVMA*, 158: 1896-1897, 1971.
10. Bernier G, Phaneuf JB, Filion R. Enterite necrotique chez le poulet de gril. III. Etude des facteurs favorisant la multiplication de *Clostridium perfringens* et la transmission experimentale de la maladie. *Can J Comp Med*, 41: 112-116, 1977.
11. Long JR, Truscott JR. Necrotic enteritis in broiler chickens. III. Reproduction of the disease. *Can J Comp Med*, 40: 53-59, 1976.
12. Prescott JF, Sivendra R, Barnum DA. The use of bacitracin in the prevention and treatment of experimentally induced necrotic enteritis in the chicken. *Can Vet J*, 19: 181-183, 1978.
13. Prescott JF. The prevention of experimentally induced necrotic enteritis in chickens by avoparcin. *Avian Dis*, 23: 1072-1074, 1979.
14. Al-Sheikhly F, Al-Saieg A. Role of coccidia in the occurrence of necrotic enteritis of chickens. *Avian Dis*, 24: 324-333, 1980.
15. Maxey BW, Page RK. Efficacy of lincomycin feed medication for the control of necrotic enteritis in broiler type chickens. *Poult Sci*, 56: 1909-1913, 1977.
16. Wicker DL, Isgrigg WN, Trammel JH, et al. The control and prevention of necrotic enteritis in broilers with zinc bacitracin. *Poult Sci*, 56: 1229-1231, 1977.
17. Hamdy AH, Thomas RW, Kratzer DD, et al. Lincomycin dose response for treatment of necrotic enteritis in broilers. *Poult Sci*, 62: 585-588, 1983.
18. Hamdy AH, Thomas RW, Yancey RJ, et al. Therapeutic effect of optimal lincomycin concentration in drinking water on necrotic enteritis in broilers. *Poult Sci*, 62: 589-591, 1983.
19. Luna LG. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*, 3rd ed. McGraw-Hill NY, 225, 1967.
20. Wyeth PJ. Effect of infectious bursal disease on the response of chickens to *S typhimurium* and *E coli* infections. *Vet Rec*, 96: 238-243, 1975.
21. Lerman SP, Weidanz WP. The effect of cyclophosphamide on the ontogeny of the humoral immune response in chickens. *J Immunol*, 105: 614-619, 1970.