بررسی سرمی اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال در گله های مرغ مادر گوشتی استان گیلان به روش الیزا

دکتر یداله اسدپور[۱]، دکتر محمد حسن بزرگمهری فرد*[۲]، دکتر سید علی پور بخش[۳]، دکتر منصور بنانی[۳]، دکتر سعید چرخکار[۴]

چکیده

اورنیتوباکتریوم باکتری گرم منفی، پلی مورف و میله ای شکل که با بیماری های تنفسی طیور مرتبط می باشد. این مطالعه جهت تعیین میزان شیوع عفونت اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال در گله های مرغ مادر گوشتی استان گیلان با استفاده از الیزای تجاری انجام شد. در این مطالعه ۴۶۰ نمونه سرم از ۲۲ گله مرغ مادر گوشتی متعلق به ۵ شرکت جمع آوری گردید. نتایج نشان داد که تمامی گله ها نسبت به عفونت مثبت بودند (۱۰۰ درصد). آنتی بادی اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال در ۲۸۹ نمونه (۶۲/۸۳ درصد) از ۴۶۰ نمونه شناسایی شد. با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون مربع کای، بین سنین مختلف گله و تیتر های آنتی بادی اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال ارتباط معنی دار ومعکوس وجود داشت ($p<۰/۰۵$). نتایج دلالت بر شیوع بالای آنتی بادی اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال در مرغان مادر گوشتی گیلان دارد.

واژگان کلیدی: *بررسی سرمی، اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال، مرغ مادر گوشتی، الیزا، گیلان*

مقدمه

در سال ۱۹۹۱ یک بیماری جدید تنفسی در گله های گوشتی آفریقای جنوبی بوسیله یک محقق مشاهده شد(۱۲). علائم نسبتاً خفیف تنفسی که در سن ۲۸ روزگی با عطسه شروع شده وتا پایان دوره پرورش ادامه می یافت و همراه با افزایش تلفات و کاهش پارامترهای عملکرد (ضریب تبدیل ورشد روزانه) بود (۱۴و۱۵). از خصوصیات برجسته در کالبد گشائی وجود ترشحات سفید کف آلود، مشاهده گردید. درآزمایشات باکتریولوژی نیز، باکتری میله ای گرم منفی پلی مورف، با رشد آهسته‌ای مشاهده شد که

Seroprevalence of Ornithobacterium rhinotracheale infection in broiler breeder flocks of Guilan province by ELISA

Asadpour, Y.[1], Bozorgmehrifard, M. H.[2]*, Pourbakhsh, S. A.[3], Banani, M.[3] ,Charkhkar, S.[4]

1-Graduated of Poultry Diseases, Faculty of specialized veterinary sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

*2-*Department of Poultry Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran (mhbfard@ut.ac.ir)*

3-Department of Avian Diseases Research and Diagnosis, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran

4-Department of Poultry Diseases, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

Ornithobacterium rhinotracheale is a pleomorphic gram- negative rod shaped bacterium that is associated with respiratory diseases in poultry. This study was conducted to determine the seroprevalence of *O. rhinotracheale* infection in broiler breeder flocks of guilan province by using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay. 460 serum samples were collected from 22 broiler breeder flocks of 5 companies. Results showed that all the flocks (100%) were positive to ORT infection. Antibodies of the bacterium were detected in 289 (62/83%) of the 460 serum samples. There was significant correlation between different ages and ORT titers ($p< 0.05$) by using of SPSS & K^2 test.The results indicated that the prevalence of *O.rhinotracheale* antibodies is high in the broiler breeder flocks in guilan.

Key words: *Seroprevalence, Ornithobacterium rhinotrachea , broiler breede , ELISA,Guilan*

۱- دانش آموخته دوره تخصصی بیماریهای طیور، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

*۲- بخش بیماریهای طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران mhbfard@ut.ac.ir

۳ - بخش تحقیق و تشخیص بیماریهای طیورموسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، کرج، ایران

۴- بخش بیماریهای طیور، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

قبلاً در هیچ یک از گروه‌های باکتریایی شناخته شده، طبقه‌بندی نشده بود این باکتری ابتدا (ORT) در سال ۱۹۹۳ تشخیص داده شد که بعنوان باکتری میله ای گرم منفی پلی مورف (PGNR) یا شبه پاستورلا و یا شبه کینگلا و نیز TAXON 28 نامیده شد (۱۲، ۱۴و۱۵). محقق دیگر و همکاران او در سال ۱۹۹۴ نام اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال را پیشنهاد کردند (۴). اورنیتوباکتریوم در سراسر جهان از تعداد زیادی از انواع پرندگان مانند جوجه، کبک، کبک خاکستری، غاز، مرغ شاخدار، مرغ نوروزی، شترمرغ، قرقاول، کبوتر، بلدرچین، کلاغ سیاه و بوقلمون جدا شده است (۱ ،۲). در ایران نیز اولین جداسازی در سال ۱۳۷۹ از ریه و نای جوجه‌های گوشتی مبتلا به پنومونی یکطرفه و از سینوس زیرچشمی پولت‌های مبتلا به سینوزیت صورت گرفت (۲). وجود اورنیتوباکتریوم در گله‌های تجاری و همچنین در پرندگان وحشی نشاندهنده انتشار جهانی و وسیع این بیماری می‌باشد و این مساله نشان می‌دهد که این باکتری بطور بالقوه دارای مخازن گسترده‌ای است (۱و۱۵). طیور تجاری در تمام سنین به بیماری حساس بوده هرچند که بطور معنی‌داری در طیور مسن شدت بیماریزایی افزایش می‌یابد. بطور کلی در جوجه‌های گوشتی معمولاً عفونت در سن ۳ تا ۴ هفتگی رخ می‌دهد اما در مرغهای مادر گوشتی اکثراً در سن ۵۲-۲۴ هفتگی، مخصوصاً در اوج تولید تخم مرغ ایجاد می شود (۷). انتقال ORT از طریق افقی بوسیله چالش ریز قطرات و بشکل مستقیم و غیر مستقیم اتفاق می‌افتد (۱۵). علاوه بر آن انتقال عمودی نیز امکان پذیر بوده (۱۴) گرچه انتقال عمودی بصورت انتقال از طریق تخمدان ویا از طریق کلوآک هنوز اثبات نشده است. مطالعات نشان داده که ORT با وقوع بسیار پایین از دستگاه تناسلی و تخم های جوجه کشی و جنین های مرده قابل جداسازی می‌باشد(۶). عفونت اورنیتوباکتریوم به مقدار خیلی کم(در حدود کمتر از ۱٪) از پوسته های تخم مرغ و کیسه‌های زرده جوجه یک روزه نیز جدا شده است (۱۳). شدت علائم، طول مدت بیماری و میزان تلفات ناشی از شیوع اورنیتوباکتریوم خیلی متغیر بوده که می تواند تحت تاثیر فاکتورهای محیطی نظیر مدیریت ضعیف، تهویه نامناسب، تراکم بیش از اندازه گله، شرایط بد بستر، بهداشت نامناسب، بالا بودن گاز آمونیاک، تداخل با دیگر بیماریها و انواع عفونتهای ثانویه قرار گیرد (۱، ۴، ۶و۱۵). در مرغان مادر، بیماری در دوره تخمگذاری پرندگان را مبتلا می نماید که ابتدا در پیک تولید و یا قبل از ورود گله به زمان تولید می باشد، میزان تلفات اندکی افزایش یافته و سبب کاهش در مصرف دان و علائم خفیف تنفسی می گردد. کاهش در تولید تخم مرغ، کاهش اندازه و کیفیت نامطلوب پوسته تخم مرغ نیز می تواند مشاهده گردد، در موارد زیادی اختلال در میزان باروری و تفریخ صورت نمی گیرد. تشخیص قطعی اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال بر اساس علائم کلینیکی و یافته‌های کالبدگشایی مشکل بنظر می رسد. تشخیص قطعی آن براساس جداسازی و شناسایی اورنیتوباکتریوم و یا براساس تشخیص آنتی بادی است(۴، ۶و۱۵). روشهای سرولوژی برای پایش گله یا بعنوان وسیله کمکی جهت تشخیصORT مفید می باشند. تا کنون ۱۸ سروتیپ از این باکتری شناسایی شده (A – R) و آزمایش الیزا قادر است تنها ۱۲ سروتیپ از ۱۸ سروتیپ را شناسایی نماید(۴) .از آنجائیکه اطلاعات کمی در ارتباط با عفونت اورنیتوباکتریوم در گله های مرغ مادر در ایران وجود دارد، بررسی سرولوژی این تحقیق می تواند زمینه ای برای مطالعات بعدی باشد.

مواد و روش کار

با هماهنگی معاونت امور دام جهاد استان، از گله های مرغ مادر که واکسن ORT دریافت نکرده و در طی دوره پرورش و تولید مشکلات تنفسی داشتند با سرنگ ۲

سی‌سی خونگیری از ورید زیر بال پرنده بعد از ضد عفونی انجام گردید (نمونه های خون در هر گله بصورت ضربدری بود) و پس از انتقال به آزمایشگاه و قرار گرفتن سرم در بالای لخته خون اقدام به جداسازی سرم نموده و تا زمان آزمایش سرولوژی در فریزر۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید در روش الیزا از کیت تجاری Flock Check®IDEXX بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده استفاده شد. پلیت ها در طول موج ۶۵۰ nm قرائت گردید تیتر نمونه های سرم بر اساس OD نمونه در هر پلیت، با استفاده از نرم افزار SPSS و بر اساس فرمول زیر محاسبه شد :

$$S/P = \frac{\text{میانگین کنترل منفی} - \text{OD نمونه های سرم}}{\text{میانگین کنترل منفی} - \text{میانگین کنترل مثبت}}$$

$$\text{Log}_{10}\ \text{titer} = ۱/۰۹ \times (\ \text{Log}_{10}\ S/P) + ۳/۳۶$$

$$\text{Anti Log}_{10} = \text{عیار سرم}$$

تفسیر نمونه های سرم با نسبتS/P کمتر و یا مساوی با ۰/۴ بعنوان منفی تلقی شده و بیش از ۰/۴(تیترهای بالاتر از ۸۴۴) بعنوان مثبت ارزیابی شد .با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون مربع کای، اطلاعات بدست آمده در خصوص سنین مختلف گله و تیتر های آنتی بادی اورنیتوباکتریوم آنالیز آماری شد.

نتایج

تعداد ۴۶۰ نمونه خون از ۲۲ گله اخذ گردید که ۱۰۰ درصد گله ها از نظر تیتر آنتی بادی نسبت به عفونت اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال مثبت بودند.تعداد سرم مثبت به ازاء هر پرنده در گله۲۸۹ (۶۲/۸۳٪) و تعداد سرم منفی ۱۷۱ (۳۷/۱۷٪) بود. نتیجه آنالیز آماری نشان داد که بین سنین مختلف گله با میزان تیتر آنتی بادی اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال یک ارتباط معنی دار و معکوس بوده ($p<۰/۰۵$) بطوریکه با افزایش سن گله ، میزان تیتر آنتی بادی کاهش می یابد (نمودار ۱).

بحث

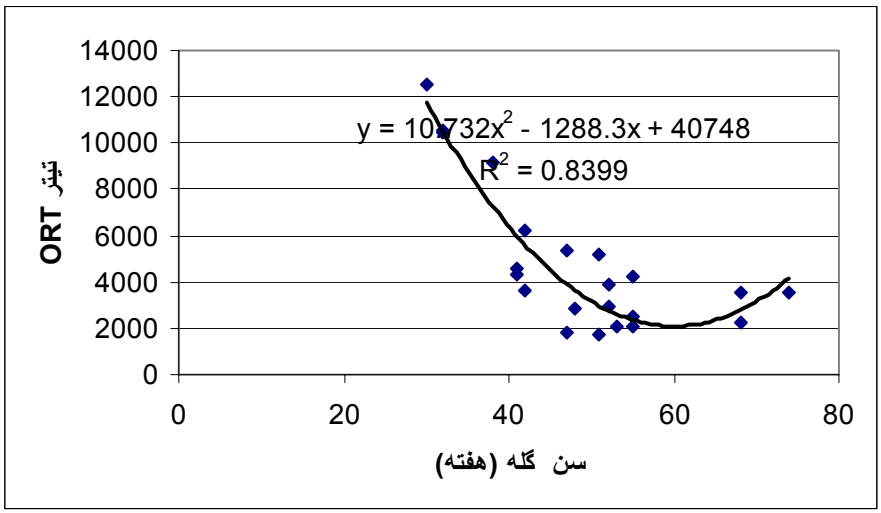
اورنیتوباکتریوم دارای رشد خیلی آهسته بوده و بعد از ۴۸ ساعت از انکوباسیون تحت شرایط میکروآئروفیلیک رشد می کند و همچنین سریعاً توسط باکتریهای سریع الرشد نظیر اشریشیاکلی، پروتئوس یا سودوموناس پوشیده می شود، بنابراین جداسازی و شناسایی آن مشکل بوده و باعث شده تا تعداد زیادی از محققین تشخیص بیماری را از طریق سرولوژی پیگیری نمایند(۴، ۱۴و۱۵). گروهی از محققین گزارش نمودند که الیزا برای تشخیص آنتی بادی ORT در جوجه های یک روزه و در زرده تخم مرغ مفید می باشد(۱۴). همچنین محقق دیگری نتایج الیزا را با آگلوتیناسیون سریع مقایسه نمود و مشخص نمود که تست آگلوتیناسیون، آنتی بادی اختصاصی را تنها در ۵۶ درصد از عفونت های تجربی بوقلمون در دو هفته اول عفونت شنا سایی می نماید، در صورتیکه الیزا می تواند تا ۱۰۰ درصد پرندگان مبتلا را تا ۸ هفته پس از عفونت، شناسایی کند(۸). الیزا همچنین بوسیله Hafez و همکاران(۲۰۰۰)، Sakaei و همکاران(۲۰۰۰)، El-Gohary و همکاران(۲۰۰۲)، عالی مهر(۲۰۰۶)، Ozbey و همکاران(۲۰۰۴)، Canal و همکاران(۲۰۰۳)، Refaei و همکاران(۲۰۰۵) برای تشخیص ORT در طیور استفاده شده است(۲و۱۱). دو کیت تجاری آیدکس و بیوچک جهت ردیابی آنتی بادی در دسترس می باشند که می تواند ۱۲ سروتیپ از ۱۸ سروتیپORT را شناسایی نماید(۱۴). در یک بررسیدیگر محققین آنتی بادی در برابر عفونت اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال را تا ۷۹ درصد گزارش نمودند که ۲۶ درصد آن مربوط به گله های گوشتی و ۵۵ درصد آن مربوط به

بوقلمون بوده و هیچگونه عفونت آشکاری در گله ها مشاهده نکردند(۹).

محققین دیگر در استان الازیق ترکیه، وجود آنتی بادی اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال در ۳۳ سرم از تعداد ۳۲۴ سرم به روش الیزا(۱۰/۲ درصد) گزارش نمودند(۱۰). در مطالعه دیگری تعداد ۱۵۵۰ نمونه سرم از ۵۰ گله گوشتی در طول زمان کشتار متعلق به ۹ شرکت و همچنین تعداد ۴۸۰ سرم مادران گوشتی از ۴۰ گله مربوط به ۱۲ شرکت به روش الیزا در جنوب برزیل مورد سنجش قرار گرفت. شیوع آنتی بادی در گله های گوشتی ۶۳/۸۳ درصد بود اما در داخل گله، تعدادسرم های مثبت تنها ۶/۵۲ درصد بوده است ، شیوع عفونت اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال در گله های مادر گوشتی ۱۰۰ درصد و به ازاء هر پرنده در گله، شیوع آلودگی ۹۴/۶ درصد بود(۳). محققین دیگر در کشور مصر نیز آنتی بادی اختصاصی اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال را در نمونه های سرم ۲۴ گله گوشتی در سنین مختلف ۴۲-۱ روزگی و ۱۱ گله مادر گوشتی(سنین ۵۶-۲۶ هفتگی) بوسیله دو کیت تجاری بیوچک وآیدکس مورد بررسی قرار دادند. برای تست ۳۶۳ نمونه سرم از ۱۲ گله گوشتی از کیت بیوچک که نتایج آن ۷۴ نمونه ۲۰/۳ درصد مثبت و ۴۹ نمونه ۱۳/۵ درصد مشکوک بودند.کیت آیدکس الیزا برای تست ۱۴۸ نمونه سرم از ۱۲ گله مختلف گوشتی استفاده شد که نتایج آن ۱۱۵ نمونه (۷۷/۵ درصد) مثبت بود(۱۱).

۷۰ نمونه سرم متعلق به ۵ گله مادر گوشتی که کاهش تولید آن در حدود ۴/۵-۱ درصد و در سنین مختلف بودند با کیت بیوچک الیزا، ۷۸/۵ درصد از نمونه ها مثبت و حدود۲۱/۴ درصد مشکوک بودند و همچنین ۳۳۸ نمونه سرم متعلق به ۶ گله مادر گوشتی که دارای کاهش تولید بودند با استفاده از کیت آیدکس ۲۸۶ نمونه (۸۴/۶ درصد) مثبت شد. میانگین تیتر مثبت در شروع تولید تخم مرغ و در انتهای تولید بالا بود(۱۱). یک محقق ایرانی با استفاده از کیت آیدکس الیزا تعداد ۴۶۳ سرم از گله های گوشتی(۵۰ گله) و ۴۷۲ سرم از تعداد ۴۲ گله مادر گوشتی در استان آذربایجان غربی را مورد آزمایش قرار داده وی مشاهده کرد که ۴۱ گله گوشتی(۸۲ درصد) و ۳۹ گله مادر (۹۲/۸ درصد) از نظر تیتر آنتی بادی اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال مثبت بودند. آنتی بادی اورنیتوباکتریوم در ۲۰۵ سرم (۴۴/۲ درصد) از تعداد ۴۶۳ سرم جوجه گوشتی شناسایی شد و از تعداد ۴۷۲ سرم خون گله های مادر گوشتی ۳۴۰ سرم (۷۲ درصد) مثبت بوده است. در این مطالعه گله های مادر گوشتی در سه سن مورد بررسی قرار گرفتند. قبل از تخمگذاری در سنین ۲۲-۷ هفتگی که از تعداد ۱۶۰ نمونه خون، ۷۷ سرم (۴۸/۱ درصد) مثبت بود. در سنین ۳۵-۲۳ هفتگی نیز تعداد ۲۲۷ سرم اخذ گردید که ۱۸۹ نمونه (۸۳/۲ درصد) مثبت بوده و تنها یک گله در این گروه منفی بوده است. سومین گروه در سنین ۴۵-۳۶ هفتگی بعد از پیک تولید بوده که تمام گله ها در این گروه نسبت به اورنیتوباکتریوم مثبت بوده است(۲). با توجه به بررسی حاضر که ۱۰۰ درصد گله های مرغ مادر دارای تیتر آنتی بادی اورنیتوباکتریوم بودند نتایج با مطالعه انجام شده در جنوب برزیل که شیوع عفونت در گله های مادر گوشتی را ۱۰۰ درصد گزارش کردند و همچنین با مطالعه انجام شده در آذربایجان غربی که آلودگی مرغان مادر ۹۲/۸ درصد و بعد از پیک تولید ۱۰۰ درصد اعلام نمودند، مشابهت دارد(۲و۳). علاوه بر گزارشات بسیاری از محققین مبنی بر آلودگی گله های مرغ مادر که بیشتر در سنین ۵۲-۲۴ هفتگی اتفاق می افتد، با توجه به نتیجه تحقیق انجام شده در کشور مصر و این تحقیق(جدول ۱)، آلودگی گله های مرغ مادر در سنین بالاتر نیز مشاهده می شود. بطوریکه در گله های مرغ مادر در کشور مصر، در سن ۵۶ هفتگی از تعداد ۶۲ نمونه سرم خون، ۵۹ نمونه (۹۵/۱ درصد) و در سن ۵۷ هفتگی از تعداد ۶۰ نمونه خون، ۵۹ نمونه (۹۸/۳ درصد) مثبت بوده(۱۱) و در این تحقیق نیز گله هایی با سنین ۶۸ و ۷۴ هفتگی نیز آلودگی را نشان دادند. لازم به ذکر است که گله F_{20} (۷۴ هفتگی) گله تولکی F_3، (۳۰ هفتگی) بوده که

میزان تیتر آنتی بادی (F_3=۱۲۵۴۴) بوده و تیتر بالا نشاندهنده عفونت ORT می باشد. بر اساس آنالیز آماری نیز ارتباط بین سنین مختلف گله با تیتر آنتی بادی اورنیتوباکتریوم یک ارتباط معکوس بوده بطوریکه با افزایش سن گله، میزان تیتر آنتی بادی اورنیتوباکتریوم کاهش می یابد. همانطور که اشاره شد، اورنیتوباکتریوم بیشتر در زمان قبل از ورود گله به تخمگذاری و یا در پیک تولید، گله ها را درگیر می کند و استرس تخمگذاری بعنوان یکی از فاکتورهای محیطی نقش بسیار مهمی ایفا می کند. ممکن است در گله های تولکی (۷۴هفتگی) نیز چنین استنباط گردد که استرس تخمگذاری در آنها نقش داشته است. با توجه به اینکه گزارش زیادی مبنی بر درگیری گله در سنین بالا وجود ندارد، بنابراین لازم است بررسی بیشتری در این زمینه انجام شود.



نمودار ۱- ارتباط معنی دار سن گله و تیتر سرمی اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال

جدول ۱- تیتر آنتی بادی اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال بوسیله الیزا در سنین مختلف گله های مرغ مادر با استفاده از کیتIDEXX

گله	سن(هفته)	تعداد سرم	سرم مثبت	درصدسرم مثبت	میانگین تیتر
F_1	۳۲	۲۳	۲۲	۹۵/۶۵	۱۰۵۸۴
F_2	۳۲	۲۳	۲۱	۹۱/۳	۱۰۲۹۸
F_3	۳۰	۲۲	۱۹	۸۶/۳۶	۱۲۵۵۴
F_4	۴۱	۲۱	۱۸	۸۵/۷۱	۴۳۲۳
F_5	۴۷	۲۲	۱۶	۷۲/۷۳	۵۳۱۷
F_6	۵۱	۱۷	۶	۳۵/۲۹	۱۷۵۹
F_7	۵۳	۲۱	۹	۴۲/۸۵	۲۰۴۲
F_8	۳۸	۲۲	۱۶	۷۲/۷۳	۹۱۷۵
F_9	۴۲	۲۱	۱۵	۷۱/۴۳	۶۲۴۱
F_{10}	۴۷	۱۹	۷	۳۶/۸۴	۱۸۰۶
F_{11}	۴۱	۱۹	۱۰	۵۲/۶۳	۲۵۹۵
F_{12}	۵۲	۲۱	۱۱	۵۲/۳۸	۲۹۵۵
F_{13}	۵۵	۱۸	۶	۳۳/۳۳	۲۰۸۷
F_{14}	۶۸	۱۷	۱۰	۵۸/۸۲	۲۲۲۰
F_{15}	۵۵	۲۲	۱۵	۶۸/۱۸	۴۲۱۸
F_{16}	۶۸	۲۲	۱۰	۴۵/۴۵	۳۵۲۸
F_{17}	۴۸	۲۰	۱۱	۵۵	۲۸۳۸
F_{18}	۵۱	۲۲	۱۱	۵۰	۵۲۲۰
F_{19}	۴۲	۲۱	۱۵	۷۱/۴۳	۳۶۴۱
F_{20}	۷۴	۲۲	۵	۲۲/۷۳	۳۵۲۳
F_{21}	۵۲	۲۲	۱۹	۸۶/۳۶	۳۸۶۰
F_{22}	۵۵	۲۳	۱۷	۷۳/۹۱	۲۵۴۵

فهرست منابع

1. Abdul-Aziz, T. A. (1997): Ornithobacterium rhinotracheale developing into a serious infection. World Poultry Misset. 13(8):47-48.

2. Allymehr, M. (2006): Seroprevalence of ornithobacterium rhinotracheale infection in broiler and broiler breeder chickens in west Azarbaijan province,Iran. J. Vet. Med. 53:40-42.

3. Canal, CW. Leao, JA. Ferreira, DJ. Macagnan, M. Pippi Salle, CT. and Back, A. (2003): Prevalence of antibodies against ornithobacterium rhinotracheale in broiler and breeders in southern Brazil .Avian Dis. 47(3):731-7.

4. Chin, R.P., Van empel, P.C. M. and Hafez, M.H. (2003): Ornithobacterium rhinotracheale in: Saif, Y.M, Calnek. B.W, Barnes,et al, Disease of poultry. chapter (11th eds). Ames. Iowa state university press PP: 683-688.

5. Hafez, M.H and Sting, R. (1999): Investigation on different ornithobacterium rhinotracheale infection. Avian Dis. 43: 1-7.

6. Hafez, M.H. (2002): Diagnosis of ornithobacterium rhinotracheale. International Journal of Poultry Science. 1(5):114-118.

7. Hinz, K.H., Blome, C. and Ryll, M. (1994): Acute exudative pneumonia and airsacculitis associated with ORT in turkey. Vet. Rec. 135: 233-234.

8. Lopes, V.C., Velayudhan, B., Halvorson, D.A. and Nagarja,K.V. (2002): Survival of ornithobacterium rhinotracheale in Sterilized Poultry Litter. Avian Dis. 46:1011-1014.

9. Naeem, K., Malik, A. and Ullah, A. (2003): Seroprevalence of ornithobacterium rhinotracheale in chickens in Pakistan. Vet. Rec. 153:533-534.

10. Ozbey, G., Ongor, H., Balik, D.T., Celik,V., Kilic, A. and Muz, A. (2004): Investigation on ornithobacterium rhinotracheale in broiler flocks in Elazig province located in the east of Turkey. Vet. Med-Czech. 49 (8):305-311.

11. Refaei, M., El-Gohary, A., Attia, S.A. and Khalifa, R.A.(2005): Diagnosis of ornithobacterium rhinotracheale infection in chickens by Elisa. Egypt J Immunol. 12 (1): 87-93.

12. Van beek, P., Van empel, P., Van den bosch, G., Storm, P., Bongers, J. and Dupreez, J. (1994): Ademhalingsproblemn, groeivertraging en gewricht sotsteking bij kalkoenen en V leeskuiken door een Pasteurella-achtige bacteria: ornithobacterium rhinotracheale or taxon 28. tijdshrift voor Diergeneeskunde. 119:99-101.

13. Van empel, P., Bosch, H.V.D., Loeffen, P. and Storm, P. (1997): Identification and serotyping ornithobacterium rhinotracheale. Journal of Clinical Microbiology. Pp: 418-421.

14. Van empel, P. and Hafez, M.H. (1999): Ornithobacterium rhinotracheale: A review. Avian Pathol. 28:217-227.

15. Van empel, P. (2002): ornithobacterium rhinotracheale in: Jordan, F., Pattison, M., Alexander, D. and Faragher. Poultry Diseasees. (5th eds). T. WB Sunders. Pp: 138-145.