التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري (الفيروس الرئوي)

AVIAN RHINOTRACHEITIS (ART) (PNEMOVIRUS)

ريتشارد إ. غوف، ودينيس ج. ألكسندر، وبيتر ج. وايث

Richard E. Gough, Dennis J. Alexander, and Peter J. Wyeth

الملخص Summary

التهاب الأنف قصبي الطيري (ART) هو إصابة الجهاز التنفسي العلوي في الرومي والدجاج ويسببه فيروس ينتمي لجنس الفيروس الرئوي *Pneumovirus*. يسبب المرض خسائر اقتصادية معنوية في قطعان الرومي، وخاصة عند حدوث إصابات بميكروبات ثانوية. تتفاوت نسبة النفوق لكنها قد تزيد عن ٨٠٪ في الرومي الصغير القابل للإصابة. يمكن أن تحدث الإصابة في قطعان التربية مسببة مشاكل خطيرة في إنتاج البيض.

تعريف المسبب Agent Identification

يمكن أن يكون العزل الفيروسي صعباً إذا لم تؤخذ العينات في المرحلة المبكرة من المرض. الزراعة من القصبة الهوائية هي أكثر الطرق حساسية في العزل والزرع لفيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري. تستخدم تقنيات المجهر الإلكتروني وتعادل الفيروس كثيراً للتعرف على الفيروس. أوضح استخدام الأجسام المضادة أحادية النسيلة والدراسات تعكس الجزيئية التنوع الأنتيجيني بين المعزولات تحت الدراسة.

الكشف المصلي في العائل Serologic Detection in the Host

أفضل طرق تأكيد الإصابة يتم بواسطة الاختبارات المصلية، خصوصاً طرق الإليزا. يمارس التحصين في البلاد حيث ينتشر المرض في كلٍّ من الرومي والدجاج. لم يتم تسجيل التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري في أستراليا وأمريكا الشمالية.

مقدمة Introduction

التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري هو إصابة حادة عالية الوبائية في الرومي والدجاج وتسبب عدوى الجهاز التفسي العلوي. المسبب المسؤول عن المرض هو فيروس ينتمي لجنس الفيروس الرئوي *Pnemovirus* وعائلة باراميكسو (1). يسبب المرض في الرومي مرض يسمى التهاب الأنف والقصبة الهوائية في الرومي (TRT). يصيب الفيروس أيضاً الدجاج ويرتبط بمتلازمة تضخم الرأس (SHS) (2). تشير الأدلة المصلية أن المرض ينتشر خلال العالم ، لكنه لا يوجد في الولايات المتحدة وأستراليا. عزلت الفيروسات الرئوية من الدواجن التي بها مرض تنفسي في العديد من البلاد الأوروبية والأفريقية والشرق الأقصى.

المرض الإكلينيكي Clinical Disease

أوجزت الأعراض الإكلينيكية المختلفة لمرض التهاب الأنف والقصبة الهوائية في الرومي (9). تشمل الأعراض في الرومي الصغير نتر الرأس بشدة snicking ، أصوات تنفسية خشنة وعطس وإفرازات أنفية والتهاب الملتحمة الرغوي وتضخم الجيوب الأنفية وأديما تحت الفكين. تضاعف العوامل الثانوية الطارئة الأعراض المرضية بشكل مأسوي. في الرومي البياض. تسبب الإصابة العادية أعراضاً تنفسية خفيفة لكن مع هبوط ملحوظ في إنتاج البيض لحد ٧٠٪. في بعض قطعان الرومي البالغ اكتشفت الإصابات تحت الإكلينيكية بواسطة التحول المصلي. عند رؤية المرض تكون نسبة الإصابة بالمرض كحد أعلى ١٠٠٪ ، مع نفوق يتراوح من ٠,٥٪ في الطيور البالغة حتى ٨٥٪ في الطيور الصغيرة. الأعراض السريرية للإصابة في الدجاج أقل تميزاً عن المرض في الرومي. في القطعان البياضة ، خصوصاً أمهات اللاحم يسبق الأعراض التنفسية غالباً الانخفاض الملحوظ في إنتاج البيض. قد تحدث أعراضاً تنفسية شديدة في بدارى الدجاج خاصة عند المضاعفة بالممرضات الثانوية مثل فيروس الالتهاب الشعبي والميكوبلازما والإشريكية القولونية. ترتبط الأعراض المرضية مع تضخم الجيوب الأنفية تحت وفوق الحجاجية (التي تسمى متلازمة تضخم الرأس) ، والتواء الرقبة ، وعدم اتزان الحركة ، والخمول. تم وصف الدلائل التشريحية المرضية والإكلينيكية للفيروس الرئوي المرتبط مع متلازمة تضخم الرأس تفصيلاً في موضع آخر (10).

جمع العينات Sample Collection

إظهار الأجسام المضادة النوعية في عينات المصل من الحالات الحادة والشفاء هو الطريقة المعتادة للتشخيص. عزل فيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري من القصبة الهوائية والرئتين والأحشاء من الطيور المصابة ، لكن أغلب العينات نجاحاً لحد بعيد تكون من إفراز الأنف وكحتات نسيج الجيوب الأنفية. أخذ العينات من الطيور

الظاهرة لأعراض مبكرة من الإصابة مهماً جداً، لأن محاولات العزل تمت بنجاح كبير من الطيور التي بها أعراض شديدة خصوصاً من الدجاج الذي به تضخم رأس واضح.

لعزل الفيروس، يعمل معلق ٢٠٪ (حجم/حجم) من الإفراز الأنفي والأنسجة المطحونة في منظم ملح فوسفات يحتوي على مضادات حيوية وعند درجة رقم حموضة ٧.٠ – ٧.٤. ينقى بالطرد المركزي عند ١٠٠٠ إكس جي لمدة ١٠ دقائق ويمرر خلال مرشح غشائي ٤٥ نانوميكروناً.

المواد وبيئة الزرع المفضلة Preferred Culture Media and Substrate

أفضل الطرق للعزل الفيروسي الأولي من الطيور المصابة يكون في مزارع عضو القصبة الهوائية أو بيض الدجاج والرومي المخصب والزرع التالي في مزارع الخلية.

مزرعة عضو القصبة الهوائية Tracheal Organ Culture

تحضر مزرعة عضو القصبة من أجنة الرومي أو الرومي الصغير جداً المأخوذ من قطعان خالية من الأجسام المضادة النوعية لفيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري. يمكن أيضاً أن تستخدم القصبات من أجنة الدجاج أو صيصان دجاج عمر يوم أو يومين. تغسل قطاعات عرضية من القصبة في محلول فسيولوجي رقم حموضة ٧.٢، وتوضع في أنبوب يحتوي على وسط إيجل السائل مع مضادات حيوية ويترك عند ٣٧°م. للحقن بالمادة الممرضة، يصرف السائل من الأنبوبة ويضاف ٠.١ مل من الطعم. بعد التحضين لمدة ساعة عند ٣٧°م تضاف بيئة النمو وتحضن المزرعة عند ٣٧°م على هزاز يهتز بمعدل ٣٠ دورة في الساعة. تفحص المزارع يومياً بعد الهز على مازج معملي لإزالة الشوائب من التجويف. قد يحدث سكون في الأهداب خلال سبعة أيام من الحقن عند التمرير الأولي لكن عادة يحدث سريعاً وبثبات فقط بعد عدة تمريرات عمياء.

الزرع في بيض الأجنة Culture in Embryonating Eggs

يحقن بيض أجنة الدجاج والرومي عند عمر ٦ – ٧ أيام مأخوذ من قطعان معلوم خلوها من الأجسام المضادة لفيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري عن طريق كيس المح بكمية ٠.١ – ٠.٢ مل من المادة الخالية من البكتيريا والمأخوذة من طيور مصابة ويحضن البيض عند ٣٧°م. في خلال ٧ – ١٠ أيام، يكون هناك عادة مؤشر لتقزم الأجنة وبعض النفوق. من العادي رؤية نفوق الأجنة بثبات بعد ٤ – ٥ تمريرات فقط.

obeikandl.com

مزرعة الخلية Cell Culture

ثبت أن مزرعة الخلية ناجحة للعزل الأولي للفيروس، إلا أنه بمجرد تأقلم الفيروس لأي من الأنظمة الموصوفة سابقاً، ينمو فيها فقط لمستويات قليلة، يكون الفيروس معداً للتكاثر لمستويات عالية في خلايا أجنة الدجاج أو الرومي الابتدائية وخلايا فيرو Vero وخلايا BSC-1. يحدث الفيروس تأثيراً مرضياً خلوياً متميزاً مع تكوين مدمج خلوي في خلال سبعة أيام.

تعريف المسبب Agent Identification

الشكل المورفولوجي Morphology

الفيروس له شكل فيروسات باراميكسو بواسطة التباين السالب بالمجهر الإلكتروني. عادة تشاهد جزيئات مهدبة متعددة الشكل وخشنة كروية ونصف قطرها من ٨٠ – ٢٠٠ نانوميكرون. أحياناً يوجد أشكال خيطية أكبر التي قد تصل إلى ١٠٠٠ نانوميكرون في الطول. البروزات السطحية تكون ١٣- ١٤ نانوميكروناً في الطول والنيكليوكابسيد اللولبي الذي يمكن أن يرى أحياناً منبعثاً من جزيئات قطرها ١٤ نانوميكرون بمنحدر تقديري سبعة نانوميكرونات لكل دور (4).

الخواص الفيزيوكيميائية Physicochemical Properties

الفيروسات الرئوية للطيور هي أعضاء من جنس الفيروس الرئوي تنتمي إلى عائلة باراميكسو وهي فيروسات بها الحامض النووي الريبوزي مع التماثل اللولبي. المجين غير مقسم ومفرد الشريط وسالب القطبية. في تدريج السكروز تكون كثافة الطفو لفيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري من الرومي ١.٢١ جم/مل مع وزن جزيئي تقريبي ٥٠٠ x ١٠^{٦} (4). بالاشتراك مع الأعضاء الآخرين لعائلة باراميكسو، تتأثر حيوية أو إمراضية فيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري سريعاً بمذيبات الدهون والحرارة (٥٦ $^{\circ}$م لمدة ٣٠ دقيقة) والأس الهيدروجيني الشديد القاعدية.

الخواص البيولوجية Biological Properties

بخلاف الأعضاء الأخرى لعائلة باراميكسو، لا يمتلك فيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري نشاط تلازن الدم وإنزيم نيورامينيداز.

التعرف الجزيئي Molecular Identification

باستخدام تحليل الفصل الكهربائي في هلام عديد الأكريلاميد بواسطة دوديسيل سلفات الصوديوم (SDS-PAGE) يتضح أن فيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري يمتلك ثلاث حلقات ببتيدية تركيبية عديدة structural polypeptides مميزة للفيروسات الرئوية وتفرقها من فيروسات موربيلي وباراميكسو (11)، إلا أنه باستخدام تقنيات الترسيب المناعي التصالبي لم تظهر علاقات أنتيجينية بين معزولات الرومي والفيروسات الرئوية في الثدييات (2). استخدم اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل لكشف فيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري في مسحات من الرومي المصاب (7). استخدم هذا الاختبار أيضاً لتأكيد تشابه فيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري المعزول من الدجاج (12).

الكشف الأنتيجيني Antigen Detection

سجلت طريقة الكشف عن أنتيجينات فيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري في الرومي في الأنسجة المثبتة بالفورمالين باستعمال طريقة الإنزيم المناعي المقترن بالإستربت-أفيدين-بيوتين streptavidin-biotin-immunoperoxidase (12).

التقنيات المناعية Immunological Techniques

يمكن استخدام اختبارات التعادل باستعمال المضاد المصلي الأحادي النوعي لفيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري لتأكيد تشابه الفيروسات المعزولة في مزارع الخلية أو العضو. نظراً لقلة تركيز الفيروس الطريقة التي تستخدم أكثر شيوعاً هي اختبار ألفا (مصل ثابت – فيروس مخفف). يحضن مخلوط المصل والفيروس عند ٣٧° م لمدة ٤٥ دقيقة ويقاس بعد ذلك في مزارع الخلية أو العضو للفيروس الحي. انخفاض مستوى الإمراضية حتى ١٠^{٢} أو أكثر يعتبر معنوياً.

استخدم أيضاً اختبار الانتشار المناعي لتأكيد التشابه في معزولات التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري (6). باختصار تزرع المعزولات في مزارع الخلايا لتعطي مستوى إمراضية تقريباً ١٠^{٦} $TCID_{50}$ لكل ملليتر. بعد حدوث تأثير مرضي خلوي شديد، يزال راسب الخلايا وتركز السوائل الرائقة بالطرد االمركزي الفائق السرعة. يعامل المركز الناتج بمحلول ٠.٢٪ لوريل ساركوسين N-lauroylsarcosine لإنتاج أنتيجينات لاختبار الانتشار المناعي. يختبر الأنتيجين باستعمال مضاد مصل أحادي النسيلة لفيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري بواسطة الانتشار المناعي المزدوج في ١٪ آجاروز. بعد ٢٤ ساعة تقريباً عند ٣٧° م. تفحص الاختبارات وأي خطوط ترسيب تصبغ بصبغة كوماسي الزرقاء ٠.٢٪ Coomassie brilliant blue تفسر كايجابية. يشمل الاختبار الضوابط الإيجابية والسالبة

المناسبة للأنتيجينات والأمصال. خط الترسيب بين المضاد المصلي النوع الأحادي المرجعي والأنتيجين المختبر يؤكد تعريف الفيروس.

الكشف المصلي في العائل Serologic Detection in the Host

نظراً للصعوبة في العزل والتعرف على فيروسات التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري، تأكيد العدوى يكون عادة بواسطة طرق المصلية. أكثر الطرق التي توظف هي الإليزا. تشمل الطرق الأخرى تعادل الفيروس والتألق المناعي واختبارات الانتشار المناعي.

كلٌّ من عينات المصل من الحالات الحرجة والناقهة يجب الحصول عليها للاختبار ويجب أن تسخن عند ٥٦ °م لمدة ٣٠ دقيقة وتخزن عند -٢٠ °م عند حتمية التأخر في الاختبار.

اختبار الإليزا Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

تطورت عدة أطقم تجارية جنباً إلى جنب مع طرق تقييم سريعة للكشف عن الأجسام المضادة لفيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري (11). على الرغم أن الإليزا مفيدة جداً في فحص عدد كبير من الأمصال، سجلت الفروق في الحساسية والنوعية بين الاختبارات (14) وهذا يكون أساساً نتيجة للتباين في الأنتيجينية والنقاء للأنتيجينات الفيروسية المستخدمة في تجهيز أطقم الإليزا. تطورت حديثاً الإليزا التنافسية أو التوقيفية competitive or blocking ELISA بالاتحاد مع الأجسام المضادة أحادية النسيلة المحضرة لطيف واسع الحساسية للكشف عن الأجسام المضادة للعديد من عترات فيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري.

إنتاج الأنتيجين Antigen Production

يعدى مندمج الطبقة الأحادية لمزرعة خلايا الدجاج الليفية (CEF) بفيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري عند تعددية تقريبية من ٠,٠١ إلى ٠,١ $TCID_{50}$ لكل خلية وتحضن عند ٣٧ °م حتى ملاحظة التأثير المرضي الخلوي، وعند هذا الوقت تخضع لدورة تجميد وإذابة يعقبها المعاملة بمحلول Nonidet P40 ٠,٥٪ (حجم/حجم) المنتجة من شركة (BDH Chemicals, Ltd., Lutterworth, Leicestershire, United Kingdom) في محلول ملح فوسفات رقم حموضة ٧,٢ لمدة ساعة عند ٤ °م. ينقى المعلق الناتج بعد ذلك بالطرد المركزي عند ٣٠٠٠ إكس جي لمدة ١٠ دقائق. تبطن أطباق الإليزا بكمية ١٠٠ ميكروليتر من الأنتيجين المخفف ١ : ١٠٠٠ في محلول ملح التبطين (٥٠ ملي مول من محلول كاربونات/بيكربونات رقم حموضة ٩,٦) وتترك طوال الليل عند ٤ °م. بعد إزالة السائل الإضافي،

تغسل الحفر ٥ مرات في محلول الغسيل (PBS 7.2 + 0.05% Tween 80). تزال السوائل الإضافية وتجفف عند ٣٧ °م. يمكن تخزين أطباق مبطنة بمزارع خلايا غير مصابة لتستخدم كضابط سالب.

طريقة الاختبار Test Procedure

تخفف الأمصال المختبرة معاً والأمصال الضابط الإيجابية السالبة ١ : ١٠٠ في محلول التخفيف (PBS 7.2 + 0.05% Tween 80 + 5% fetal calf serum) وتضاعف ١٠٠ ميكروليتر من العينات يضاف لكل حفرة. تحضن الأطباق لمدة ساعة عند ٣٧ °م وتغسل خمس مرات كما وصف سابقاً. بعد إزالة السوائل الزائدة، يضاف ١٠٠ ميكروليتر من تخفيف ١ : ١٠٠٠ من goat anti-turkey IgG peroxidase-labeled conjugate لكل حفرة وتحضن لمدة ساعة عند ٣٧ °م. يمكن استخدام (Goat anti-chicken IgG conjugate) لاختبار أمصال الدجاج. تغسل الأطباق خمس مرات وتزال أي سوائل زائدة. يضاف ١٠٠ ميكروليتر من مادة TMB لكل حفرة وبعد ١٥ دقيقة عند حرارة الغرفة يوقف التفاعل بمحلول الإيقاف ١٠٠ ميكروليتر (٢,٥ مللي مول حمض كبريتيك). تقرأ الأطباق بجهاز قياس الطيف عند ٤٥٠ نانوميتر خلال ١٥ دقيقة من إضافة محلول التوقيف. قيمة الامتصاص لكل مصل يعبر كنسبة قيمة العينة بالنسبة إلى قيمة الضابط الإيجابي S/P ratio كالتالي :

$$\text{نسبة العينة/الإيجابي} = \frac{\text{امتصاص العينة} - \text{امتصاص الضابط السالب}}{\text{امتصاص الضابط الموجب} - \text{امتصاص الضابط السالب}}$$

الأمصال التي لها نسبة S/P (>0.25) تعتبر إيجابية.

اختبار التألق المناعي Fluorescent Antibody Test

وصفت عدة طرق لكشف الأجسام المضادة لفيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري باستخدام اختبارات التألق المناعي غير المباشرة على الأنسجة المصابة أو مزارع الخلايا (11). أظهرت الدراسات أن الأجسام المضادة للفيروس يمكن أن تكتشف بواسطة هذا الاختبار حوالي خمسة أيام بعد ظهور الأعراض المرضية.

اختبار تعادل الفيروس Virus Neutralization Test

يمكن اكتشاف الأجسام المضادة للفيروس بتقنيات التعادل القياسية في مزارع عضو القصبة ومزارع الخلية الحساسة المختلفة مثل خلايا أجنة الدجاج الليفية وكبد أجنة الدجاج وخلايا فيرو (11). اتضح باستعمال قياس

التعادل في خلايا أجنة الدجاج الليفية الأجسام المضادة التعادلية يمكن اكتشافها خلال خمسة أيام بعد ظهور الأعراض المرضية وتبدأ في الانحدار عند اليوم ١٣. أظهرت النتائج ارتباطاً جيداً مع الإليزا والتألق المناعي (3). يمكن أن يجرى اختبار تعادل الفيروس في مندمج الطبقة الواحدة لخلايا أجنة الدجاج في طبق المعايرة الدقيقة مسطح القاع ذو ٩٦ حفرة. باختصار، يتفاعل الفيروس (٣٠ – ٣٠٠ $TCID_{50}$) مع تخفيفات مزدوجة ثنائية من المصل تحت الاختبار عند ٣٧°م في ٥٪ ثاني أكسيد الكربون. بعد ساعة ينقل ٢٥ ميكروليتراً من كل تخفيف في طبق التعادل للحفرة المقابلة في طبق مزرعة الخلية. تغلق الأطباق وتحضن عند ٣٧°م في ٥٪ ثاني أكسيد الكربون مع ضوابط المصل والفيروس المناسبة. بعد ساعة يضاف ٢٠٠ ميكروليتراً من بيئة النمو لكل حفرة وتغلق الأطباق وتحضن عند ٣٧°م في ٥٪ ثاني أكسيد الكربون لمدة ٧ أيام. تفحص المزارع يومياً للتأثير المرضي الخلوي لمدة أسبوع ويحدد معيار المصل ويعبر عنه بمقلوب (لوغاريتم ٢) أعلى تخفيف من المصل يوقف التأثير المرضي الخلوي الفيروسي. يعتبر المعيار (2^3 <) إيجابياً.

التفريق من العوامل الممرضة قريبة الشبه Differentiation from Closely Related Agents

تباين العترة Strain Variability

باستخدام الاختبارات المصلية التقليدية، سجلت العلاقة الأنتجينية بين المعزولات لفيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري من المملكة المتحدة وفرنسا (11). أوضحت حديثاً استخدام الأجسام المضادة أحادية النسيلة الاختلاف الأنتيجيني بين المعزولات الأوربية للفيروس (5). أظهر التتابع النيوكليوتيدي لجينات البروتينات النشوية الملتصقة من خمسة فيروسات أوروبية أنه يوجد على الأقل عدد ٢ تحت مجموعة والتي يمكن تفريقهما على أساس الهضم بالقصر الإنزيمي لناتج تفاعل البلمرة المتسلسل ممثلاً للجين الكامل (8).

مرض نيوكاسيل Newcastle Disease

يمكن أن تسبب بعض عترات فيروس مرض نيوكاسيل وبعض أعضاء جنس فيروسات باراميكسو مثل PMV-3 (انظر الفصل الثلاثون على مرض نيوكاسيل وفيروسات باراميكسو الأخرى) مرضاً تنفسياً ومشاكل في إنتاج البيض في الدجاج والرومي قريبة الشبه بفيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري. تتشابه فيروسات باراميكسو في الشكل لكنها عادة سهلة التفريق من فيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري بسبب امتلاكها خاصية تلازن الدم ونشاط إنزيم نيورامينيداز.

الالتهاب الشعبي المعدي Infectious Bronchitis

الإصابة بهذا الفيروس يمكن أن يسبب مرضاً تنفسياً ومشاكل في إنتاج البيض مشابهة لمرض التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري. التعريف المصلي للفيروس الممرض هو أسهل الطرق لعمل التشخيص التفريقي.

إنفلونزا الطيور Avian Influenza

يمكن أن تتسبب إصابة الدجاج والرومي بالعترات الخفيفة لإنفلونزا الطيور في مرض مشابه لمرض التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري. العزل الفيروسي وإظهار خاصية تلازن الدم بواسطة فيروس الإنفلونزا تفرق بين هذه الفيروسات.

البكتيريا والميكوبلازما Bacteria and Mycoplasma

يوجد مدى واسع من البكتيريا والميكوبلازما تسبب أعراضاً مرضية مشابهة لمرض الالتهاب الأنف القصبي الطيري. قد توجد مثل هذه الميكروبات كإصابات ثانوية أو طارئة في حالة التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري ومن ثم تسبب مشاكل تشخيصية. يعتمد التشخيص على العزل السلبي أو إظهار الأجسام المضادة لفيروس التهاب الأنف والقصبة الهوائية الطيري.

المراجع References

1. Alexander, D. J. Pneumovirus infections (turkey rhinotracheitis and swollen head syndrome of chickens). In: Diseases of poultry, 9th ed. B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, W. M. Reid, and H. W. Yoder, eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa. pp. 669-673. 1991.
2. Alexander, D. J. Pneumoviruses (turkey rhinotracheitis and swollen head syndrome of chickens). In: Virus infections of birds. J. B. McFerran and M. S. McNulty, eds. Elsevier Science Publishers, B.V., Amsterdam, The Netherlands, pp. 375-382. 1993.
3. Baxter-Jones, C., M. Grant, R. C. Jones and G. P. Wilding. A comparison of three methods for detecting antibodies to turkey rhinotracheitis virus. Avian Pathol. 18:91-98. 1989.
4. Collins, M. S. and R. E. Gough. Characterisation of a virus associated with turkey rhinotracheitis. J. Gen. Virol. 69:909-912. 1988.
5. Collins, M. S., R. E. Gough, and D. J. Alexander. Antigenic differentiation of avian pneumovirus isolates using polyclonal antisera and mouse monoclonal antibodies. Avian Pathol. 22:469-479. 1993.
6. Gough, R. E. and M. S. Collins. Antigenic relationships of three turkey rhinotracheitis viruses. Avian Pathol. 18:227-238. 1989.
7. Jing, L., J. K. A. Cook, T. D. K. Brown, K. Shaw, and D. Cavanagh. Detection of turkey rhinotracheitis virus in turkeys using the polymerase chain reaction. Avian Pathol. 22:771-783. 1993.
8. Juhasz, K., and A. J. Easton. Extensive sequence variation in the attachment (G) protein gene of avian pneumovirus: evidence for two distinct subgroups. J. Gen. Virol. 75:2873-2880. 1994.
9. Lister, S. A. and D. J. Alexander. Turkey rhinotracheitis: A review. Vet. Bull. 56:637-663. 1986.
10. Lu, Y. S., Y. S. Shien, H. J. Tsai, C. S. Tseng, S. H. Lee, and D. F. Lin. Swollen head syndrome in Taiwan - isolation of an avian pneumovims and serological survey. Avian Pathol. 23:169-174. 1994.
11. Naylor, C. J., and R. C. Jones. Turkey rhinotracheitis: a review. Vet. Bull. 63:439-449. 1993.

obeikandl.com

12. O'Loan, C. J., and G. M. Allan. The detection of turkey rhinotracheitis virus antigen in formalin fixed, paraffin embedded tissue using a streptavidin-biotin-immunoperoxidase method. Avian Pathol. 19:401-407. 1990.
13. Tanaka, M., H. Takuma, N. Kokumai, E. Oishi, T. Obi, K. Hiramatsu, and Y. Shimuzu. Turkey rhinotracheitis virus isolated from broiler chickens with swollen head syndrome in Japan. J. Vet. Med. Sci. 57:939-941. 1995.
14. Toquin, D., N. Eterradossi, and M. Guittet. Use of a related ELISA antigen for efficient TRT serological testing following live vaccination. Vet. Rec. 139:71-72. 1996.

obeikandl.com