

Tavuk ve Hindilerde Turkey Rhinotracheitis Virus (TRTV) Antikorlarının ELISA ile Belirlenmesi*

Yavuz ÇOKAL** Aysin ŞEN***

Geliş Tarihi: 09.10.2000

Özet: Bu çalışmada, Güney Marmara Bölgesi'ndeki tavuk ve hindi kümeslerinden elde edilen 735 serum örneği, indirekt ELISA tekniği ile anti-TRTV antikorlarının varlığı yönünden incelendi. Bu amaçla ticari ELISA kiti (Avisure Art Avian Rhinotracheitis- Vetoquinol Diagnostics) kullanıldı.

Klinik hastalık tablosu görülen 9 adet broyler ve 7 adet broyler damızlık işletmesinden toplam 426 kan serumu alındı. Çalışma süresince TRT klinik semptomu gösteren hindi kümesi tespit edilemedi. Klinik olarak sağlıklı hayvan grubu için 137 adet broyler ve 172 adet hindi kan serumu test edildi. Serolojik inceleme sonuçlarına göre, enfeksiyondan şüpheli 8 adet broyler işletmesinde %31.8 -75.9, broyler damızlıklarda ise %5.4 - 48.6 oranlarında anti-TRTV antikorları saptandı. Enfeksiyonun klinik semptomları; periorbital ödem, baş ve submandibular bölgede şişkinlik, gözlerde kapanma, konjunktivitis, oküler akıntı ve çapaklanma, nasal akıntı ve kurumadan dolayı burun deliklerinde tıkanma şeklinde gözlemlendi. Broyler damızlıklarda ayrıca inkoordinasyon, opisthotonus ve baş bölgesinde titreme dikkat çekiciydi. Broyler kümeslerde mortalite % 1 - 7 iken, broyler damızlıklarda %2.4 - 20 oranında mortalite ve %4 - 5 oranında yumurta verim düşüklüğü ile birlikte 1-2 hafta içinde iyileşme gözlemlendi. Hastalık broylerlerde 21-41'nci günlerde, broyler damızlıklarda ise 35-60'nci haftalarda saptandı. Sağlıklı hayvan grubunu oluşturan toplam 10 adet broyler kümesin 7 adedinde %5.5 - 80 oranlarında anti-TRTV antikorları saptandı.

Otuz-34 haftalık 4 adet besi hindi kümesinin üçünde ve 36-38 haftalık 6 adet damızlık hindi kümesinin ikisinde sırası ile %20, %24 ve %57; %10.5 ve %11.1 oranlarında anti-TRTV antikorları bulundu.

Anahtar Kelimeler: Turkey Rhinotracheitis Virus (TRTV), ELISA, tavuk, hindi

Detection of Antibodies to Turkey Rhinotracheitis Virus (TRTV) in Chicken and Turkey Using ELISA

Summary: In this study, 735 serum samples obtained from chicken and turkey flocks in North Marmara Region were tested for the presence of antibodies to TRTV by using the indirect ELISA. A commercial ELISA kit (Avisure Art Avian Rhinotracheitis- Vetoquinol Diagnostics) was used for this purpose.

A total of 426 serum samples were collected from 9 broiler and 7 broiler breeders flocks, which showed clinically disease sings. During the study, turkey flocks showing clinical sings of TRT were not detected. One hundred and thirty seven broiler sera and 172 turkey sera were tested for clinically healthy groups. The antibodies to TRTV in 8 broiler flocks, which were suspected to be infected, were found between 31.8% and 75.9% and in broiler breeder flocks were found between 5.4% and 48.6%, according to serological investigation. The following symptoms has been detected: Periorbital oedema, swelling of head and submandibular regions, closed eyes due to swelling, conjunctivitis, ocular discharge and gummies in eyes, nasal discharge and blockage of nares due to the dryness. In

* Bu çalışma, Uludağ Üniversitesi Araştırma Fonu'nun 1999/8 no. ile desteklediği doktora tez projesi kapsamında hazırlanmıştır.

** Balıkesir Üniversitesi Bandırma Meslek Yüksekokulu, Balıkesir, Türkiye

*** Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D., Bursa, Türkiye

addition, incoordination, opisthotonus and shaking of the head were remarkable in broiler breeders. Broiler breeder flocks with 2.4% to 20% mortality and 4% to 5% loss of egg production recovered within 1 to 2 weeks while mortality was 1% to 7% in broiler flocks. The disease was observed at 21 to 41 days of age in broilers and 35 to 60 weeks of age in broiler breeder. The antibodies to TRTV were detected between 5.5% and 80% in 7 out of 10 clinically healthy groups of broiler flocks.

The antibodies to TRTV for the three of the four fattening turkey flocks (30 to 34 weeks old) and the two of the six breeder turkey flocks (36 to 38 weeks old) were found 20%, 24% and 57%; 10.5% and 11.1%, respectively.

Key Words: Turkey Rhinotracheitis Virus (TRV), ELISA, chicken, turkey

Giriş

Turkey Rhinotracheitis Virusu (TRTV-Avian Pneumovirus) hindilerin bir üst solunum yolu infeksiyonu olan hindi rhinotracheitis'in etkenidir ve ayrıca tavuklarda Swollen Head Syndrome (SHS) olarak bilinen hastalık tablosunun da etyolojisi içinde ele alınmaktadır^{14,16,21}. Virus ilk defa 1978 yılında Güney Afrika'daki salgında hindilerden ve daha sonra İngiltere, Fransa, İtalya, Macaristan, İspanya, Hollanda, Brezilya, Belçika, Japonya, Tayvan, Amerika gibi birçok ülkede hindi ve/veya tavuklardan izole edilmiştir^{2,4,13,20,25}.

Virusun izolasyonu ve hücre kültürlerine adaptasyonu ile birlikte çeşitli ELISA teknikleri geliştirilmiştir^{3,8,10,22,26}. Bu test yöntemiyle hem TRT/SHS semptomu gösteren hindi ve tavuklarda anti-TRTV antikorları ortaya konmakta hem de infeksiyona karşı aşı bağışıklığı tespit edilmektedir^{1,9,27,29}. TRTV antikorlarının varlığı sağlıklı tavuk ve hindi sürülerinde de saptanmıştır^{5,19,28}. TRTV'un, tavuk ve hindileri klinik hastalık oluşturmaksızın da infekte edebildiği, infeksiyonun bazen subklinik seyrettiği^{3,5,23} ve klinik hastalığın oluşmasında sekonder patojenler ile bakım ve beslenme faktörlerinin önemli rol oynadığı bildirilmektedir^{6,11,12,13}. Nakamura ve ark.¹⁸ SHS'dan etkilenmiş sürüde klinik olarak normal görümlü tavuklardan TRTV'un izole edildiğini rapor etmiştir.

Bu çalışmada, Güney Marmara Bölgesi'nde, SHS/TRT klinik hastalık tablosu görülen tavuk ve hindi sürülerinde TRTV infeksiyonunun serolojik olarak belirlenmesi ve infeksiyonun klinik olarak sağlıklı sürülerdeki durumunun araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Serum Örnekleri:

Çalışmada SHS tablosu gözlenen 9 adet broyler kümesinden toplam 249 adet ve 7 adet broyler damızlık kümesinden toplam 177 adet kan örneği alındı. Klinik olarak sağlıklı hayvan grubu için ise 10 adet broyler kümesinden toplam 137 adet kan örneği alındı. Bu kümesler klinik hastalık tablosu görülen broyler kümeslerine yakın kümeslerdi. Yine sağlıklı 4 adet besi hindi kümesinden toplam 62 adet ve 6 adet damızlık hindi kümesinden 110 adet kan örneği sağlandı. Bu kan örneklerinin serumları çıkarılarak çalışılmak üzere -20°C'de saklandı. Kan serumu alınan tüm işletmelerin SHS/TRT aşısı kullanmadığı saptandı.

ELISA:

Tavuk ve hindi kümeslerinden alınan serum örneklerinde anti-TRTV antikorlarını ortaya koymak amacıyla Avisure Art Avian Rhinotracheitis ticari ELISA kiti (Vetequinol Diagnostics) kullanıldı.

Çalışmada indirekt-ELISA tekniği kullanıldı. Başlangıçta her bir serum örneğinin 41 katlı sulandırması (200 µl örnek sulandırma sıvısı + 5 µl serum örneği) yapıldı. Pozitif ve negatif kontrol serumları çift, şüpheli serum örnekleri ise tek çalışıldı. Sonuçların değerlendirilmesi, her örnek için 450 nm'deki absorpsiyon değeri belirlenerek S/P oranının (örnek OD/pozitif kontrol OD) hesaplanmasıyla yapıldı. S/P oranı 0.3'e eşit ya da daha büyük olan örnekler pozitif, 0.25'e eşit ya da daha küçük olan örnekler negatif olarak kabul edildi. Bu iki değer arasındaki sonuçlar şüpheli olarak değerlendirildi.

Bulgular

Kümeslere ait bulgular:

SHS klinik tablosu gösteren broyler ve broyler damızlıklara ait kümes kayıt bilgileri ile

bakım ve beslenme koşulları Tablo I ve II'de verilmiştir.

TABLO I

TABLO II

kümesinde % 10.5-11.1 oranlarında anti-TRTV antikorları saptandı. Diğer kümeslerde bu antikorların varlığı tespit edilemedi (Tablo VI).

Klinik semptomlar:

Ticari broyler işletmelerde hastalığın 21-41'nci günlerde ortaya çıktığı ve üst solunum yollarıyla ilgili klinik semptomların oluştuğu tespit edildi. Hayvanlarda tracheal hırıltı, genellikle tek taraflı periorbital ödem, baş ve submandibular bölgede şişkinlik belirdi. Vakaların çoğunluğunda durgunluk, tüylerde kabarma, konjunktivitis, okuler akıntı ve çapaklanma ile birlikte şişkinliğin olduğu taraftaki gözde kapanma, nasal akıntı ve akıntının kurumasından dolayı burun deliklerinde tıkanma ve sarı-beyazımsı sulu ishal tespit edildi. Bu kümeslerde % 2-15 oranında morbidite ve % 1-7 oranında mortalite saptandı.

Broyler damızlıklarda ise sinirsel semptomların daha belirgin olduğu gözlemlendi. Etkilenen hayvanların % 5-10'unda opisthotonus, ara sıra baş bölgesinde titreme ve denge sağlamada güçlük (inkoordinasyon) gözlemlendi ve bu hayvanlar sürekli oturur durumda idi. Bu belirtiler yanında hafif tracheal hırıltı, konjunktivitis, okuler akıntı, pupillada genişleme, periorbital ödem tespit edildi. Hayvanlar 35-60 haftalık yaş grubundaydı ve bu kümeslerde, % 5-30 oranında morbidite, % 2.4-20 oranında mortalite ve %4-5 oranında yumurta verim düşüklüğü ile birlikte 1-2 hafta içinde iyileşme gözlemlendi.

Seroloji:

Hastalıktan etkilenen 9 adet broyler kümesinden alınan serum örneklerinin incelenmesi sonucunda 8 adet kümeşte % 31.8-75.9 oranlarında (Tablo III) ve 7 adet broyler damızlık kümesinde ise % 5.4-48.6 oranlarında anti-TRTV antikorları saptandı (Tablo IV).

Klinik olarak sağlıklı hayvan grubunda, 10 adet broyler kümesinin 7 adedinde % 5.5-80 oranlarında anti-TRTV antikorları saptandı (Tablo V). Dört adet besi hindi kümesinden ve 6 adet damızlık hindi kümesinden alınan serum örneklerinin incelenmesi sonucunda ise 3 adet besi kümesinde % 20-57.1 ve 2 adet damızlık

Tablo III. SHS klinik tablosu gösteren broyler sürülerinde anti-TRTV antikorlarının ELISA sonuçları

Kümes No	Pozitif S./ Toplam S.	Şüpheli S./ Toplam S.	Negatif S./ Toplam S.	anti-TRTV antikor oranı (%)
1	13/27	6/27	8/27	48.1
2	12/21	6/21	3/21	57.1
3	17/23	3/23	3/23	73.9
4	7/17	2/17	8/17	41.1
5	25/38	8/38	5/38	65.7
6	41/54	8/54	5/54	75.9
7	21/28	4/28	3/28	75.0
8	7/22	6/22	9/22	31.8
9	0/19	0/19	19/19	0.0

Tablo IV. SHS klinik tablosu gösteren broyler damızlık sürülerinde anti-TRTV antikorlarının ELISA sonuçları

Kümes No	Pozitif S./ Toplam S.	Şüpheli S./ Toplam S.	Negatif S./ Toplam S.	anti-TRTV antikor oranı (%)
1	18/37	6/37	13/37	48.6
2	2/37	11/37	24/37	5.4
3	1/16	3/16	12/16	6.2
4	2/13	3/13	8/13	15.3
5	8/20	8/20	4/20	40.0
6	3/17	2/17	12/17	17.6
7	15/37	7/37	15/37	40.5

Tablo V. Klinik olarak sağlıklı broyler sürülerinde anti-TRTV antikorlarının ELISA sonuçları

Kümes No	Yaş (gün)	Pozitif S./ Toplam S.	Şüpheli S./ Toplam S.	Negatif S./ Toplam S.	anti-TRTV antikor oranı (%)
1	35	0/10	2/10	8/10	0.0
2	30	11/18	3/18	4/18	61.1
3	29	16/20	4/20	0/20	80.0
4	43	1/17	5/17	11/17	5.8
5	41	0/9	5/9	4/9	0.0
6	41	2/10	1/10	7/10	20.0
7	45	1/13	4/13	8/13	7.6

8	43	0/15	1/15	14/15	0.0
9	41	1/18	2/18	15/18	5.5
10	30	4/7	3/7	0/7	57.0

Tablo VI. Klinik olarak sağlıklı hindi sürülerinde anti-TRTV antikorlarının ELISA sonuçları

Kümes No	Yetiştirme Tipi	Yaş (hafta)	Pozitif S./ Toplam S.	Şüpheli S./ Toplam S.	Negatif S./ Toplam S.	anti-TRTV antikor oranı (%)
1	Besi	32	0/20	2/20	18/20	0.0
2	Besi	34	2/10	1/10	7/10	20.0
3	Besi	32	6/25	9/25	10/25	24.0
4	Besi	30	4/7	1/7	2/7	57.0
5	Damızlık	36	0/18	7/18	11/18	0.0
6	Damızlık	37	0/19	8/19	11/19	0.0
7	Damızlık	37	0/18	8/18	10/18	0.0
8	Damızlık	36	0/18	3/18	15/18	0.0
9	Damızlık	37	2/19	5/19	12/19	10.5
10	Damızlık	38	2/18	8/18	8/18	11.1

Tartışma ve Sonuç

Ticari bir ELISA kiti kullanılarak yapılan serolojik incelemede, SHS bulgularına sahip dokuz adet broyler kümesin sekizinde %31.8-75.9 oranlarında, yedi adet broyler damızlık kümesin ise tümünde %5.4-48.6 oranlarında anti-TRTV antikorları saptandı. Birçok ülkede, SHS salgınlarında, gerek broyler ve gerekse broyler damızlık tavuk işletmelerinde anti-TRTV antikorlarının oldukça yaygın olarak bulunduğu rapor edilmiştir^{23,24}. Cook ve ark.⁵ ticari yumurtacı tavuklarda da TRTV antikorlarının bulunduğunu bildirmişlerdir. Hastalığın klinik tablosu broylerlerde üst solunum yolu enfeksiyonu bulguları yanı sıra periorbital ve submandibular bölgede ödem ile karakterizedir. Broiler damızlıklarda ise solunum yolu semptomları yanı sıra sinirsel semptomlar (inkoordinasyon, başta sallanma) ve yumurta veriminde azalmalar dikkati çekmektedir^{11,17,19}. Bu çalışmada da SHS vakaları gözlenen broyler ve broyler damızlık tavuklarda benzer bulgular tespit edildi. Broilerlerde hastalık genellikle 21-41'nci günlerde, broiler damızlıklarda ise 35-60'ncü haftalarda saptandı. Mortalite broilerlerde %1-7 iken, broiler damızlıklarda %2.4-20 mortalite ve %4-5 yumurta verim düşüklüğünü takiben 1-2 hafta içinde iyileşme gözlendi. Avian pneumovirus'un neden olduğu enfeksiyonlarda sekonder bakteriyel patojenler, sürü yoğunluğu,

kümeadaki amonyak oranı, yetersiz havalandırma gibi çevresel koşulların önem taşıdığı bildirilmektedir^{15,18}. Bu çalışmada, SHS gözlenen broiler ve broiler damızlık kümeslerde genellikle amonyak düzeyinin yüksek olduğu, havalandırma koşullarının uygun olmadığı, yerleşim sıklığının ise normal sınırlar içinde bulunduğu tespit edildi. Özellikle broiler damızlıklarda %20 düzeyine ulaşan mortalitenin SHS yanısıra uygun olmayan bakım ve beslenme koşulları ile ilişkili olduğu görüşüne varılmıştır. Diğer yandan olumsuz çevresel faktörlere rağmen broilerlerde mortalitenin daha düşük düzeyde (%1-7) olması, yumurtacı ırkların daha hassas olduğunu düşündürmektedir.

Anti-TRTV antikorları klinik olarak sağlıklı tavuk populasyonlarında da bulunmakta ve TRT virusu tavukları klinik hastalık tablosu oluşturmaksızın da infekte edebilmektedir^{24,28,29}. Bu çalışmada sağlıklı broiler populasyonlarında yapılan serolojik incelemede, 10 adet broiler kümesin yedi adedinde %5.5-80 oranlarında anti-TRTV antikorları saptandı. SHS görülmeyen kümeslerde TRTV antikor taşıyıcılığının yüksekliği, sahada virusun oldukça yaygın olarak bulunduğunu ancak SHS tablosunun her zaman oluşmadığını düşündürmektedir.

TRTV enfeksiyonu tavuklardan önce hindilerde tespit edilmiştir. TRT ve SHS salgınlarından izole edilen virusların ortak antijenik ve kültürel özelliklere sahip olması ve genellikle hindilerde TRT salgınlarını takiben tavuklarda SHS vakalarının görülmesi nedenleri ile hindi orijinli izolatların tavuklar için bir kaynak olabileceği görüşü benimsenmiştir^{7,19}. Chettle ve Wyeth³, yaptıkları bir serosurvey çalışmada, 47 farklı yetiştirme biriminden TRT şüphesi ile gelen 753 hindi serumunu ELISA ile incelemişler ve 21 küme ait hindilerde anti-TRTV antikorlarını ortaya koymuşlardır. Aynı çalışmada, sağlıklı hindi kümeslerinin serolojik incelemesi sonucu altı kümesin birinde %100 oranında TRTV antikorları saptanmış ve bu küme subklinik bir enfeksiyon bulunabileceği belirtilmiştir. Bu çalışma süresi boyunca, klinik olarak TRT bulguları gösteren hindi kümesi tespit edilmedi. Sağlıklı hindi kümeslerinde ELISA ile yapılan serolojik incelemede, 30-34 haftalık dört adet besi hindi kümesinin üçünde sırası ile %20.0, %24.0 ve %57.0 ve altı adet damızlık hindi kümesinin ikisinde %10.5 ve %11.1 oranlarında anti-TRTV antikorları saptandı. Sağlıklı hindi ve tavuk populasyonlarında TRTV antikorlarının

varlığı iki şekilde yorumlanabilir. İlk olarak, bu kümeslerde subklinik bir TRT/SHS enfeksiyonu söz konusu olabilir. İkinci olarak ise, incelenen sağlıklı tavuk ve hindilerde TRTV'a yakın antijenik yapıda başka bir virus bulunabilir. Bu konunun açıklığa kavuşması için, tavuk ve hindi popülasyonlarında TRTV'unun varlığını ortaya koymaya yönelik çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Bu çalışma, ülkemizde SHS gözlenen tavuklar ile sağlıklı tavuk ve hindi popülasyonlarında TRTV antikörlerini ortaya koyması yönü ile önem taşımaktadır.

Kaynaklar

1. BAXTER-JONES, C., GRANT, M., JONES R.C., WILDING, G.P.: A comparison of three methods for detecting antibodies to turkey rhinotracheitis virus. *Avian Pathol.*, 18, 91-98 (1989)
2. BUYS, S.B., DU PREEZ, J.H., ELS, H.J.: Swollen Head Syndrome in chickens: a preliminary report on the isolation of a possible aetiological agent. *J. S. Afr. Vet. Ass.*, 60 (4), 221-222 (1989)
3. CHETTLE, N.J., WYETH, P.J.: Turkey Rhinotracheitis: Detection of antibodies using an ELISA test. *British Vet. J.*, 144, 282-287 (1988)
4. COLLINS, M.S., GOUGH, R.E., ALEXANDER, D.J.: Antigenic differentiation of avian pneumovirus isolates using polyclonal antisera and mouse monoclonal antibodies. *Avian Pathol.*, 22 (3), 469-479 (1993)
5. COOK, J.K.A., DOLBY, C.A., SOUTHEE, D.J., MOCKETT, A.P.A.: Demonstration of antibodies to turkey rhinotracheitis virus in serum from commercially reared flocks of chickens. *Avian Pathol.*, 17 (2), 403-410 (1988)
6. COOK, J.K.A., ELLIS, M.M., HUGGINS, M.B.: The pathogenesis of turkey rhinotracheitis virus in turkey poults inoculated with the virus alone or together with two strains of bacteria. *Avian Pathol.*, 20, 155-166 (1991)
7. COOK, J.K.A., JONES, B.W., ELLIS, M.M., JING, L., CAVANAGH, D.: Antigenic differentiation of strains of turkey rhinotracheitis virus using monoclonal antibodies. *Avian Pathol.*, 22 (2), 257-273 (1993)
8. ETERRADOSSI, N., TOQUIN, D., GUITTET, M., BENNEJEAN, G.: Discrepancies in turkey rhinotracheitis ELISA results using different antigens. *Vet. Rec.*, 131, 563-564 (1992)
9. GERRARD, C., WHITWORT, A., CHETTLE, N.J., WYETH, P.: Avian rhinotracheitis diagnostic kit. *Vet. Rec.*, 126, 342 (1990)
10. GRANT, M., BAXTER-JONES, C., WILDING, G.P.: An enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of turkey rhinotracheitis infection. *Vet. Rec.*, 120, 279-280 (1987)
11. HAFEZ, H.M.: The role of pneumovirus in Swollen Head Syndrome of chickens: review. *Arch. Gelflügelk.*, 57 (4), 181-185 (1993)
12. HECKERT, R.A., MYERS, D.J., AFSHAR, A., RIVA, J.: Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to avian pneumovirus. *Avian Dis.*, 38, 694-700 (1994)
13. LU, Y.S., SHIEN, Y.S., TSAI, H.J., TSENG, C.S., LEE, S.H., LIN, D.F.: Swollen head syndrome in Taiwan- isolation of an avian pneumovirus and serological survey. *Avian Pathol.*, 23, 169-174 (1994)
14. MAJO, N., MARTI, M., O'LOAN, C.J., ALLAN, G.M., PAGES, A., RAMIS, A.: Ultrastructural study of turkey rhinotracheitis virus infection in turbinates of experimentally infected chickens. *Vet. Microbiol.*, 52, 37-48 (1996)
15. MAJO, N., GIBERT, X., VILAFRANCA, M., O'LOAN, C.J., ALLAN, G.M., COSTA, L., PAGES, A., RAMIS, A.: Turkey rhinotracheitis virus and *Escherichia coli* experimental infection in chickens: histopathological, immunocytochemical and microbiological study. *Vet. Microbiol.*, 57, 29-40 (1997)
16. MASE, M., ASAH, S., IMAI, K., NAKAMURA, K., YAMAGUCHI, S.: Detection of Turkey Rhinotracheitis Virus from Chickens with Swollen Head Syndrome by Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). *J. Vet. Med. Sci.*, 58 (4), 359-361 (1996)
17. NAKAMURA K., MASE, M., TANIMURA, N., YAMAGUCHI, S., NAKAZAWA, M., YUASA, N.: Swollen head syndrome in broiler chickens in Japan: its pathology, microbiology and biochemistry. *Avian Pathol.*, 26, 139-154 (1997)
18. NAKAMURA K., MASE M., TANIMURA N., YAMAGUCHI S., YUASA N.: Attempts to reproduce swollen head syndrome in specific pathogen-free chickens by inoculating with *Escherichia coli* and/or turkey rhinotracheitis virus. *Avian Pathol.*, 27, 21-27 (1998)
19. NAYLOR, C.J., JONES, R.C.: Turkey Rhinotracheitis: a review. *Vet. Bul.* 63 (5), 439-449 (1993)
20. NAYLOR, C., SHAW, K., BRITTON, P., CAVANAGH D.: Appearance of type B avian pneumovirus in Great Britain. *Avian Pathol.*, 26, 327-338 (1997)
21. OBI, T., KOKUMAI, N., IBUKI, A., TAKUMA, H., TANAKA, M.: Antigenic differentiation of turkey rhinotracheitis virus strains using

- monoclonal antibodies and polyclonal antisera. *J.Vet.Med.Sci.*, 59 (9), 795-799 (1997)
22. O'LOAN, C.J., ALLAN, G., BAXTER-JONES, C., MCNULTY, M.S.: An improved ELISA and serum neutralisation test for the detection of turkey rhinotracheitis virus antibodies. *J. Virol. Met.*, 25 (3), 271-282 (1989)
23. OTSUKI, K., HIRAI, N., MITANI, M., ITANI, M., SHIMOHATA, T., KUNII, E., URAMOTO, K., KIYOTAKE, M., KATO, H., ELLIS, M.M., COOK J.K.A.: Demonstration of serum neutralising antibody to turkey rhinotracheitis virus in serum from chicken flocks in Japan. *J.Vet.Med.Sci.*, 58 (9), 869-874 (1996)
24. PATTISON, M., CHETTLE, N.J., RANDAL, C.J., WYETH, P.J.: Observation on swollen head syndrome in broiler and broiler breeder chickens. *Vet. Rec.*, 125 (9), 229-231 (1989)
25. SEAL, B.S.: Matrix protein gene nucleotid and predicted aminoacid sequence demonstrate that the first US avian pneumovirus isolate is distinct from European strains. *Virus Res.*, 58 (1-2), 45-52 (1998)
26. TANAKA, M., KOKUMAI, N., OBI, T., HIGASHIHARA, R., TAKUMA, H., HIRAMATSU, K., SHIMIZU, Y.: A serological survey of turkey rhinotracheitis virus infection in chicken in Japan. *J.Vet.Med.Sci.*, 58 (7), 689-691 (1996)
27. TOQUIN, D., ETERRODOSSI, N., GUITTET, M.: Use of a related ELISA antigen for efficient TRT serological testing following live vaccination. *Vet. Rec.*, 139, 71-72 (1996)
28. TORO, H., HIDALGO, H., IBANEZ, M., HAFEZ, H. M.: Serologic evidence of pneumovirus in Chile. *Avian Dis.*, 42, 815-817 (1998)
29. WYETH, P.J., CHETTLE, N.J., GOUGH, R.E., COLLINS, M.S.: Antibodies to TRT in chickens with swollen head syndrome. *Vet. Rec.*, 120, 286-287 (1987)