مطالعه سرولوژیک Avian Pneumovirus در گله‌های مرغ مادر گوشتی

دکتر منوچهر عالی مهر[1]* دکتر محمد طباطبایی[2] دکتر امین ممقانی[3]

دریافت مقاله: ۲۵ مردادماه ۱۳۸۳
پذیرش نهایی: ۴ تیرماه ۱۳۸۴

هدف: مشخص کردن آلودگی احتمالی گله‌های مرغ مادرگوشتی واقع در اطراف شهرستان ارومیه به نوموویروس (Avin Pneamovirus) از طریق مطالعه سرولوژیک.

طرح: بررسی میدانی.

حیوانات: مرغ مادرگوشتی.

روش: در این مطالعه از ۳۹ گله مرغ مادرگوشتی واقع درشهرستان ارومیه جمعا ۵۵۲ نمونه خون اخذگردید. گله‌های موردآزمایش به ۳گروه‌سنی ۲۰-۰ هفته، ۳۵-۲۱ هفته و ۵۵-۳۶ هفته تقسیم وسرم‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از یک کیت الیزای تجارتی جهت تعیین حضورآنتی بادیهای ضدنوموویروس پرندگان موردآزمایش قرارگرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری: آمار توصیفی.

نتایج: در مطالعه حاضر از ۵۵۲ نمونه خون اخذ شده، (۳۷درصد) ۲۰۷ مورد مثبت، (۲۸درصد) ۱۵۳ نمونه مشکوک و (۳۵درصد) ۱۹۲ نمونه منفی تشخیص داده‌شدند. بیشترین نمونه‌های مثبت درگله‌های مسن وپرندگانی بود که در دوران پس ازپیک تولید تخم مرغ قرار داشتند. ازسوی دیگر تنها ۲۳ درصد نمونه‌های موردآزمایش ازگله‌های جوان در حال پرورش بودند که دارای آنتی بادی برعلیه نوموویروس پرندگان بودند.

نتیجه‌گیری: با در نظرگرفتن نتایج حاصل از این مطالعه میتوان اظهار نمود که، گله‌های مرغ مادر واقع درشهرستان ارومیه در رابطه بانوموویروس پرندگان از نظرسرمی مثبت می‌باشند. با توجه به اینکه علائم بالینی و جراحات کالبدگشایی ناشی از ابتلا به‌نومو ویروس پرندگان اختصاصی نمی‌باشند، لذا توصیه می‌شود که در هنگام بروز بیماریهای تنفسی درگله‌های طیور علاوه بر ردیابی عوامل بیماریزای رایج (مانند نیوکاسل، برونشبت عفونی، انفلوانزا مایکو پلاسما، کلی باسیل). حضور احتمالی نومو ویروس پرندگان نیز مورد توجه قرارگیرد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۵، دوره ۶۱، شماره ۲، ۱۳۳-۱۲۹.

واژه‌های کلیدی: نومو ویروس پرندگان، مرغ مادر گوشتی، الیزا، سرولوژی.

در اواخر دهه ۱۹۷۰ یک بیماری جدید با علائم تنفسی ابتدا در بوقلمونها (۶) و سپس در ماکیان (۲۰) از کشور افریقای جنوبی گزارش گردید. این بیماری چون سبب رینوتراکئیت در بوقلمونها می‌شد، رینوتراکئیت بوقلمون (TRT turkey rhinotrachitis) نامیده شد. بعد از سال ۱۹۸۶ بیماری مذکور در بسیاری از کشورهای اروپایی مشاهده و گزارش شده است (۳،۸،۱۱،۱۷،۲۱). متعاقبا از بوقلمونهای مبتلا به ریتوتراکئیت ویروسی جدا شد که TRTV (turkey rhinotracheitis virus) نامیده شد. همچنین این ویروس بعنوان عامل سندرم کله باد (swollen head syndrome, SHS) در جوجه‌های گوشتی تلقی گردید (۳،۱۱،۲۰،۲۱).

براساس مشخصات فیزیکوشیمیایی و ژنتیکی نوموویروس پرندگان، ویروسی است از خانواده پارامیکسوریده (Paramyxoviridae)، تحت خانواده نوموویرینه (pneumovirinae) و از جنس متانوموویروس (Metapneumovirus). این ویروس پلی مورف، با اندازه ۲۰۰-۸۰ میکرون،

۱) گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.
۲) گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.
۳) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.
*) نویسنده مسؤول: m.allymehr@mail.urmia.ac.ir

Seroprevalence Study of Avian Pneumovirus Infection in Broiler Breeder Chickens

Allymehr, M.[1], Tabatabaei, M.[2], Mamaghani, A.[3]

[1]Department of Cliniacl Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia - Iran. [2]Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia - Iran. [3]Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia - Iran.

Objective: This study was carried out to investigste the seroprevalence of Avian Pneumovirus infection in broiler breeder farms which were located in Urmia city by using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Design: A field survey.

Animal: Brioler breeder chickens.

Procedure: In this study, 552 blood samples were taken from 39 broiler breeder flocks. The broiler breeder flocks were categorized in three age groups: 0-20, 21-35 and 36-55 weeks old. Serum samples were tested for Avian Pneumovirus antibodies by using a commercial blocking ELISA kit.

Statistical analysis: Descriptive statistics.

Results: The results of this study showed,207(37%) of serum samples were positive and 192 (35%) ones were negative.Furthermore, 153 (28%) of samlpes were suspected.

Clinical implications: Based on these findings, it can be concluded that broiler breeder farms which are located in Urmia city, are serologically positive in regard to Avian Pneumovirus infections. Since AVP has economical importance in poultry industry by inducing respiratory disease, the prevalence of AVP in prevention and control programs of respiratory diseases has to be highly considered. ***J.Fac.Vet.Med. Univ. Tehran. 61,2:129-133,2006.***

Keyword: Avian Pneumovirus, AVP, broiler breeder, ELISA.

Corresponding author's email:m.allymehr@mail.urmia.ac.ir

دارای پوشش خارجی (Viral envelope) بوده و ژنوم آن از نوع RNA تک رشته‌ای با مفهوم منفی می‌باشد، این ویروس فاقد فعالیت هماگلوتیناسیون و نروآمینیداز می‌باشد (۹،۲۲،۲۴). تاکنون چندین تحت تیپ از نوموویروس پرندگان مورد شناسایی قرار گرفته‌اند(۸،۹،۱۶). تحت تیپ A اولین بار از کشورهای آفریقای جنوبی و انگلستان جدا شد در حالی‌که تحت تیپ B از کشورهای اروپایی مانند مجارستان، ایتالیا و اسپانیا جدا گردید (۸). تحت تیپ C از آمریکا (۲۴، ۲۳، ۹) و اخیرا تحت تیپ D از فرانسه گزارش شده است(۴).

نوموویروس پرندگان در بوقلمون سبب یک بیماری تنفسی با انتشار سریع شده که با علائم عطسه، سرفه، آب ریزش از بینی، تورم ملتحمه همراه با ترشحات کف آلود و تورم سینوسهای زیر کاسه چشم مشخص می‌شود. این ویروس در ماکیان سبب سندرم کله باد (SHS) می‌شود که با تورم سینوسهای زیر کاسه چشم و پیچش گردن (torticollis) مشخص می‌گردد(۳،۱۱). همچنین گزارش گردیده که درگیری بانوموویروس پرندگان در گله‌های مادر بوقلمون و ماکیان سبب کاهش تولید تخم و کم شدن کیفیت پوسته نیز می‌شود (۱۷،۱۱،۳).

مواد و روش کار

نمونه‌گیری: درمدت ۶ ماه (دی الی خرداد) از ۳۹ گله مرغ مادر گوشتی واقع در شهرستان ارومیه جمعا ۵۵۲ نمونه خون اخذ گردید. گله‌های مورد آزمایش در ۳ گروه سنی ۲۰-۰ هفته (دوران پرورش)، ۳۵-۲۱ هفته (شروع و پیک تولید) و ۵۵-۳۶ هفته (اواخر تولید) مورد مطالعه قرار گرفتند. برای جدا سازی سرم، خون‌های گرفته شده بمدت یک شب در دمای آزمایشگاه (۲۴-۲۰ درجه) قرار گرفت یا اینکه بوسیلهٔ سانتریفوژ عمل جداسازی سرم انجام شد. سرم‌های تهیه شده درون میکروتیوپ‌های یکبار مصرف و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری شدند.

آزمایش الیزا: سرم‌های جمع‌آوری شده با استفاده از کیت APV-Ab شرکت SVANOA جهت حضور آنتی بادیهای ضدنوموویروس پرندگان مورد آزمایش قرار گرفتند. کیت مورد استفاده به روش الیزای رقابتی (Elisa Blocking) طراحی شده است. نتایج حاصل از آزمایش الیزا با استفاده از دستگاه قرائت الیزا و در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت می‌گردید. بعد از مشخص شدن میزان جذب نوری (Optical density, OD) نمونه‌ها وکنترلهای مثبت و منفی، درصد مهار (Percent of inhibition, PI) نمونه‌ها محاسبه و تفسیر می‌شدند، طبق توصیه شرکت سازنده کیت، درصد مهار (PI) کمتر از ۳۰درصد منفی، ۴۰درصد-۳۰درصد مشکوک و بیشتر از ۴۰درصد مثبت تلقی می‌شوند.

نتایج

در این مطالعه ۱۹۲ نمونه خون از ۱۳ گله مرغ مادر گوشتی واقع در دوران پرورش (۲۰-۰ هفته) اخذ گردید، که از این تعداد ۴۵ مورد مثبت، ۹۰ نمونه مشکوک و ۵۷ مورد منفی تشخیص داده شدند.

جدول۱- نتایج حاصل از مطالعه سرولوژیک Avian Pneumovirus در گله‌های مرغ مادر گوشتی واقع درشهرستان ارومیه.

سن (هفته)	تعداد نمونه	تعداد گله	نمونه			گله		
			مثبت (درصد)	مشکوک (درصد)	منفی (درصد)	مثبت (درصد)	مشکوک (درصد)	منفی (درصد)
۲۰-۰	۱۹۲	۱۳	۴۵(٪۲۳)	۹۰(٪۴۷)	۵۷(٪۳۰)	۶(٪۴۷)	۴(٪۳۰)	۳(٪۲۳)
۳۵-۲۱	۱۵۹	۱۵	۵۴(٪۳۴)	۱۸(٪۱۱)	۸۷(٪۵۵)	۸(٪۵۳)	۱(٪۷)	۶(٪۴۰)
۵۵-۳۶	۲۰۱	۱۱	۱۰۸(٪۵۴)	۴۵(٪۲۲)	۴۸(٪۲۴)	۱۰(٪۹۱)	-	۱(٪۹)
جمع کل	۵۵۲	۳۹	۲۰۷(٪۳۷)	۱۵۳(٪۲۸)	۱۹۲(٪۳۵)	۲۴(٪۶۲)	۵(٪۱۳)	۱۰(٪۲۳)

از گله‌های درحال شروع تولید وگله‌های در پیک تولید (جمعا ۱۵ گله) تعداد۱۵۹ نمونه سرمی مورد مطالعه قرار گرفت، که از این تعداد۵۴ مورد مثبت، ۱۸ نمونه مشکوک و ۸۷ فاقد آنتی بادی بر علیه‌نوموویروس پرندگان بودند. از ۱۱ گله واقع در سن ۳۶ الی ۵۵ هفته تعداد ۲۰۱ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت که ۱۰۸، ۴۵ و ۴۸ نمونه بترتیب مثبت، مشکوک و منفی تشخیص داده شدند. نتایج نمونه‌های مورد بررسی در این مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است.

بحث

بیماری‌های که در اثر ابتلا به‌نوموویروس پرندگان (APV) در بوقلمون و ماکیان ایجاد می‌شوند، تحت عناوین رینوتراکئیت بوقلمون (TRT Turkey rhinotrachitis,)، سندرم کله باد (SHS head syndrome, Swollen) و رینوتراکئیت پرندگان (Avian rhinotrachitis, ART) نامیده شده‌اند (۳،۱۱،۱۷). در ماکیان و بوقلمونهای مبتلا به‌نوموویروس پرندگان علائم بالینی مانند عطسه، سرفه، رال تنفسی، آب ریزش از بینی، ترشحات کف آلود در چشم، تورم سینوسهای صورت، کاهش تولید تخم و کم رنگ شدن پوسته‌ها مشاهده شده و جراحات کالبد گشایی شامل، ترشحات موکوییدی در مجرای بینی و نای، ترشحات ژلاتینی تا چرکی در بافتهای زیر جلدی ناحیه سر و گردن و تورم سینوسهای صورت می‌باشد. علائم و جراحات ذکر شده اختصاصی نوموویروس پرندگان نبوده و ممکن است با عوارض ناشی از مایکوپلاسما و اورنیتوباکتریوم رینوتراکیال اشتباه شود (۳،۱۱،۱۷).

آلودگی بانوموویروس پرندگان در بسیار از کشورهای جهان از جمله افریقای جنوبی(۶)، آلمان(۱۸)، آمریکا(۲۴،۲۳،۹)، انگلستان(۱۹)، ایتالیا(۸)، فرانسه(۴) و ژاپن(۲۶) گزارش شده است. با توجه به مشکل بودن کشت، جداسازی و شناسایی نوموویرو س پرندگان (۲۵،۲۴،۱۱،۱۰،۵) و حضور کوتاه مدت (تا ۷ روز بعد از آلودگی) ایر ویروس در نای، سینوسها و مجرای بینی پرنده گان مبتلا(۱۵)، آزمایشات سرولوژیکی بعنوان روشهای انتخابی جهت تشخیص آلودگی پرندگان به‌نوموویروسها مورد قبول محققین

می‌باشد. اگر چه می‌توان آنتی بادیهای ضدنومو ویروس پرندگان را با استفاده از روش خنثی سازی ویروس (VN) ردیابی نمود ولی آزمایش خنثی‌سازی ویروس، روشی وقت گیر و پرهزینه بوده و جهت بررسی تعداد زیادی نمونه سرمی در گله‌های طیور توصیه نمی‌شود(۳،۱۱،۱۷). همچنین آزمایش ایمنوفلوروسنت (IF) برای تست تعداد زیاد نمونه کاربرد محدودی دارد(۲۱). در حال حاضر آزمایش الیزا رایج‌ترین تست سرولوژیکی برای تشخیص ابتلا ماکیان و بوقلمونها به‌نومو ویروس پرندگان می‌باشد (۱۴،۱۹، ۳،۷،۱۱،۱۲) لذا در بررسی حاضر نیز از یک کیت الیزای رقابتی جهت ردیابی آنتی بادیهای ضدنومو ویروس پرندگان استفاده شد.

در مطالعه حاضر از ۵۵۲ نمونه خون اخذ شده از ۳۹ گله مرغ مادر گوشتی، (۳۷ درصد) ۲۰۷ مورد مثبت، (۲۸ درصد) ۱۵۳ نمونه مشکوک و (۳۵ درصد) ۱۹۲ نمونه منفی تشخیص داده شدند بیشترین نمونه‌های مثبت در گله‌های مسن و پرندگانی که در دوران پس از پیک تولید تخم مرغ قرار داشتند، مشاهده شد، در حالیکه تنها ۲۳ درصد نمونه‌های مورد آزمایش از گله‌های جوان دارای آنتی بادی بر ضدنومو ویروس پرندگان بودند(جدول۱). باتوجه به اینکه در ایران هیچگونه واکسیناسیونی در مقابل نومو ویروس پرندگان بصورت تجارتی در واحدهای پرورش طیور انجام نمی‌گیرد، بنابر این آنتی بادیهای ردیابی شده باید ناشی از آلودگی با ویروس مزرعه‌نومو ویروس پرندگان باشد.

McMullin براساس یک بررسی که جهت مقایسه دو کیت تجارتی الیزا و روش RT-PCR بر روی دو گله مرغ مادر گوشتی مشکوک به آلودگی بانومو ویروس پرندگان در انگلستان انجام داد، اعلام نمود که با استفاده از کیت الیزای رقابتی تمامی ۱۶ نمونه خون اخذ شده از گله اول (۲۶ هفته) مثبت تشخیص داده شدند، و از ۲۱ نمونه مورد آزمایش از گله دوم (۴۷ هفته) ۵۳ درصد مثبت، ۲۸ درصد مشکوک و ۱۹ درصد فاقد آنتی بادی بر علیه‌نومو ویروس پرندگان بودند، در حالی‌که اکثر نمونه‌های هر دو گله بااستفاده از کیت الیزا معمولی منفی تشخیص داد شدند. بادر نظر گرفتن این مطلب که با استفاده از روش RT-PCR آلودکی هر دو گله مذکور به‌نومو ویروس پرندگان ثابت شد، لذا نامبرده اظهار می‌کند که الیزای رقابتی در ردیابی آنتی بادیهای ضدنومو ویروس پرندگان حساستر از الیزای‌های رایج می‌باشد(۱۹). در یک مطالعه که طی سالهای ۲۰۰۱ الی ۲۰۰۳ و با استفاده از روش RT-PCR در گله‌های مرغ مادر گوشتی و مرغهای تخمگذار تجارتی آلمان صورت گرفت، Lüschow و همکاران اعلام کردند که ۳۲/۱ درصد گله‌های مرغ مادر و ۲۱/۸ درصد گله‌های تخمگذار آلوده به‌نومو ویروس پرندگان می‌باشند(۱۸). Goyal و همکاران در طی سالهای ۱۹۹۸ تا ۲۰۰۲ به بررسی سرولوژیکی آلودگی گله‌های بوقلمون منطقه مینوسوتای آمریکا به‌نومو ویروس پرندگان پرداخته و اظهار می‌کنند که میزان شیوع نومو ویروس پرندگان در گله‌های مورد مطالعه ۱۶/۲ درصد الی ۶۴/۸ درصد در نوسان می‌باشد و علیرغم اینکه موارد مثبت در طول فصول مختلف سال قابل مشاهده می‌باشند، ولی یک فراوانی فصلی نیز در میزان شیوع نومو ویروس پرندگان دیده می‌شود، به‌طوری‌که حداکثر شیوع در اواخر پاییز و بهار روی می‌دهد(۱۳). در بررسی دیگری که توسط Shin و همکاران انجام گرفت بیشترین میزان شیوع آلودگی به‌نومو ویروس پرندگان در طی ماههای پائیز اعلام شده است(۲۳). همچنین نشان داده شده است که قدرت زنده ماندن نومو ویروس پرندگان در بستر آلوده با کاهش دما بشدت (تا ۶۰ روز در ۱۲ـ درجه) افزایش می‌یابد(۲۷). با توجه به اینکه نمونه‌گیری جهت مطالعه حاضر فقط در طی فصول زمستان و بهار انجام گرفت، لذا نمی‌توان شیوع فصلی را تائید یا تکذیب نمود، ولی با در نظر گرفتن اظهارات محققین فوق الذکر شاید یکی از دلایل بالا بودن نسبی موارد مثبت، در رابطه با زمان نمونه‌گیری بررسی حاضر باشد. طرقی و همکاران در بررسی ۳ گله مرغ گوشتی واقع در مشهد با علائم بالینی مشکوک به SHS اظهار نمودند که از نمونه‌های مورد مطالعه فقط موفق به جداسازی باکتری اشریشیا کلی شده و در آزمایش الیزا ۲ گله از نظر TRT مثبت ارزیابی شده‌اند(۲). بنانی و همکاران به بررسی عوامل باکتریایی دخیل در ماکیان مبتلا به تورم سر و صورت پرداخته و اظهار میدارند که اورنیتو باکتریوم رینوتراکیال و اشریشیا کلی از عوامل اصلی مولد تورم سر و صورت در ماکیان می‌باشند(۱). با توجه به اینکه نشانی‌های بالینی ناشی از ابتلا به‌نومو ویروس پرندگان غیر اختصاصی بوده از طرفی دیگر SHS بعنوان یک سندرم با عوامل مولده مختلف مطرح می‌باشد، لذا در هنگام بروز بیماریهای تنفسی و بویژه در مواردی که تورم سر و صورت در ماکیان مبتلا مشاهده می‌شود، برای تشخیص صحیح، بهتر است کلیه عوامل ویروسی و باکتریایی مورد توجه قرار گیرند. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان اظهار نمود که، گله‌های مرغ مادر واقع در شهرستان ارومیه در رابطه بانومو ویروس پرندگان از نظر سرمی مثبت می‌باشند. بنابراین بررسی وضعیت آلودگی در سایر استانهای کشور و انجام مطالعات تکمیلی در راستای جداسازی و تعیین سروتیپ‌های نومو ویروس پرندگان جهت روشن‌تر شدن وضعیت آلودگی گله‌های طیور کشور ضروری بنظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان این مقاله از آقای دکتر نادر صدقی و آقای جلیل نژاد، کارشناسان محترم اداره کل دامپزشکی استان آذربایجان غربی که در رابطه اخذ نمونه‌های خون از گله‌های مرغ مادر ما را یاری نمودند، تقدیر و تشکر می‌نمایند.

References

۱. بنانی، م.، پوربخش، ع.، خاکی، پ.، موذنی جولا، غ.(۱۳۸۳): جداسازی و شناسایی عوامل باکتریایی از ماکیان تجارتی مبتلا به تورم سر و صورت، مجله تحقیقات دامپزشکی ایران دانشگاه شیراز، دوره پنجم شماره اول صفحه ۶۱-۴۹.

۲.طرقی، ر.، وند یوسفی، ج.، میرسلیمی، م.، پور نیا، ع.، شوشتری، ع.(۱۳۷۴): وقوع بیماری سندرم سرمتورم در گله‌های مرغ گوشتی شهرستان مشهد، پژوهش و سازندگی، شماره ۳۶، صفحه ۱۰۰-۹۸.

3. Alexander, D. J., Jones,R.J. (2001) Paramixoviridae. In: Poultry Disease, Edited by F. Jordan., M. Pattison., D. Alexander and T. Faragher, 5thEdn., PP. 257-280.(W.B. Saunders).

4. Bayon-Auboyer, M.H., Arnauld, C., Toquin, D. and. Eterradossi, N.(2000) Nucleotide sequences of the F, L and G protein genes of two non-A/non-B avian pneumoviruses (APV) reveal a novel APV subgroup. J. Gen. Virol. 81:2723-2733.

5. Bennett, R. S., McComb, B., Shin, H. J., Njenga, M. K., Nagaraja, K. V. and Halvorson, D. A. (2002) Detection of avian pneumovirus in wild Canada geese (Branta canadensis) and blue-winged teal (Anas discors). Avian Dis. 46:1025-1029.

6. Buys, S. B., DuPreez, J. H. (1980) A preliminary report on the isolation of a virus causing sinusitis in turkeys in South Africa and attempts to attenuate the virus. Turkey. 36:46.

7. Chiang, S. J., Dar, A. MGoyal,. , S. M., Sheikh, M. A., Pedersen, J. C., Panigrahy, B., Senne, D., Halvorson, D. A., Nagaraja, K. V. and Kapur, V.(2000) A modified enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of avian pneumovirus antibodies. J Vet Diagn Invest. 12:381-384.

8. Cook, J.K., Cavanagh, D. (2002) Detection and differentiation of avian pneumoviruses (metapneumoviruses). Avian Pathol. 31:117-132.

9. Cook, J.K., Huggins, M.B., Orbell, S.J. , Senne, D.A. (1999) Preliminary antigenic characterization of an avian pneumovirus isolated from commercial turkeys in Colorado, USA. Avian Pathol. 28:607-617.

10.Dar, A. M., Tune, K., Munir, S., Panigrahy, B., Goyal, S. M., and Kapur V. (2001) PCR-based detection of an emerging avian pneumovirus in U.S. turkey flocks. J Vet Diagn Invest. 13:201-205.

11.Gough,R.E.(2003) Avian pneumoviruses, In:Disease of Poultry , Edited by Y.M. Saif, H.J. Branes, J.R. Glisson, A.M. Fadly, L.R. McDougald and D.E. Swayne, 11th Edn., PP. 92-100 (Iowa State Press, Ames).

12. Goyal, S. M., Sheikh, M. A., Webb, J., Liu, L., Njenga, M. K. (2000)Avian pneumovirus ELISA: determining antibody titers from a single serum dilution. Gobbles. 56:19.

13. Goyal, S. M., Lauer, D., Friendshuh, K, Halvorson, D. A.(2003) Seroprevalence of Avian Pneumovirus in Minnesota Turkeys Avian Dis .47: 700-706.

14. Gulati, B.R., Cameron, K.T., Seal, B.S., Goyal, S.M., Halvorson, D. A. and Kariuki Njenga, M. (2000)Development of a Highly Sensitive and Specific Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Based on Recombinant Matrix Protein for Detection of Avian Pneumovirus Antibodies. J. of Clin Microbiol, 38: 4010-4014.

15. Jones, R. C. (1996)Avian pneumovirus infection: questions still unanswered. Avian Pathol. 25:639-648.

16. Juhasz, K., A.J. Easton, A.J. (1994) Extensive sequence variation in the attachment (G) protein gene of avian pneumovirus: evidence for two distinct subgroups. J Gen Virol. 75:2873-2880.

17.Lister, S.A., Alexander, D.J. (1986) Turkey Rhinotracheitsi - A review. Vet Bull. 56:637-663.

18.Lüschow, D., Wenzel. R., Hafez, H. M. (2004) Long-term filed investigation of Avian pneumovirus in poultry flocks in Germany. In: Proceedings of XXII World's Poultry Congress. Istanbul, 8-13. 6. 2004, PP. 738.

19. McMullin.P.(1998) Diagnosis, Management and Control of Avian Pneumovirus infection in broiler parent chickens. Presented at : FACTA Symposium, Campinas, Brazil, April 1998.

20. Morley, A.J., Thomson, D.K.(1984) Swollen-head syndrome in broiler chickens. Avian Dis. 28:238-243.

21. Naylor, C. J., R. C. Jones, R. C. (1993) Turkey rhinotracheitis: a review. Vet Bull. 63:439-449.

22. Pringle, C. R. (1998) Virus taxonomy. Arch Virol. 143: 1449-1159.

23. Shin, H.J., Cameron, K.T., Jacobs, J.A., Turpin, E.A., Halvorson, D.A., Goyal, S.M. Nagaraja, K.V., Kumar, M.C., Lauer, D.C., Seal, B.S.,and Njenga, M.K.(2002) Molecular epidemiology of subgroup C avian pneumoviruses isolated in the United States and comparison with subgroup A and B viruses. J. Clin. Microbiol. 40:1687-1693.

24.Senne, D. A., Edson, R. K., Pederson, J. C., Panigrahy, B. (1997) Avian pneumovirus update. In:

Proc. 134th Annual Convention of the American Veterinary Medicine Association, Reno, NV. p. 190.

25. Shin, H. J., Rajashekara, G., Jirjis, F. F., Shaw, D. P., Goyal, S. M., Halvorson, D. A., and Nagaraja, K. V.(2000) Specific detection of avian pneumovirus (APV) US isolates by RT-PCR. Arch. Virol. 145:1239-1246.
26. Uramoto, K., Hakogi, E., Watanabe, T., Ogura, Y., Hataya, M. and Otsuki, K.(1990) Primary occurrence of swollen head syndrome in Japanese broiler flocks. J. Jpn. Soc. Poult. Dis. 26:247-253. 1990.
27. Velayudhan, B. T., Lopes, V. C., Noll, S. L., Halvorson, D. A. and Kakambi, V. (2003) Avian Pneumovirus and Its Survival in Poul Litter. Avian Dis. 47: 764-768.