

닭에서 *Ornithobacterium rhinotracheale* 감염증에 대한 연구

권용국, 전우진, 김재홍*

국립수의과학검역원
(게재승인: 2003년 3월 10일)

Studies on the *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in the chickens

Yong-Kuk Kwon, Woo-Jin Jeon, Jae-Hong Kim*

Avian Disease Division, National Veterinary Research & Quarantine Service

(Accepted: March 10, 2003)

Abstract: *Ornithobacterium rhinotracheale* (OR) is a bacterium responsible for a respiratory disease in turkeys and chickens, and has been identified as one of the emerging respiratory bacterial pathogens.

Ten cases of four hundred cases submitted to National Veterinary Research & Quarantine Service for diagnosis in 2001 and in 2002 were diagnosed as OR infection. The major clinical signs of chickens infected with OR were respiratory symptoms including sneezing, sniveling, wet eyes, and swelling of the sinus infraorbitalis at 3 to 4 weeks of age. At necropsy, gross lesions were commonly found to foamish, white, and yoghurt-like exudates in the peritonium and abdominal air sacs. Microscopically, epithelial metaplasia and proliferation of air sacs were prominent with accompanying inflammatory reactions characterized by heterophils, fibrins, and bacterial colonization. Ten field isolates were obtained from air sacs and peritonium of these affected chickens, and were identified as OR, resulted from by gram-staining, catalase, oxidase, API NE and API ZYM Kit. In addition, using a previously reported primer targeted to 16S rRNA of OR, 784bp fragment was successfully amplified from templates extracted from the isolates and a reference strain. This report describes an occurrence of *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in chickens in Korea.

Key words: *Ornithobacterium rhinotracheale*, infection, PCR, diagnosis, rRNA

서 론

Ornithobacterium rhinotracheale (OR)은 '90년대 초에 알려진 세균으로 닭과 칠면조에서 호흡기질병과 증체를 저하, 폐사를 일으키는 병원균이다^{1,2}. OR은 그람음성 간균으로 운동성이 없고 다형태성이며, 배양은 5-10%의 CO₂ 존재하에 5% 면양혈액배지에 37°C에서 48시간 이상 배양해야 특징적인 집락 형태를 관찰할 수 있다^{2,3,4}. 집락의 크기는 1-3 mm로 작은 원형을 이루고 있으며 색깔은 회색 또는 회백색을 보이며 낙산 (butyric acid)의

냄새를 낸다^{5,6}.

OR은 4-6주령의 육계에 주로 감염되어 호흡기 증상과 함께 약간의 폐사 그리고 성장지연을 특징적으로 일으키며^{6,7}, 육용종계에서는 24주령부터 52주령 사이에 감염되어 산란을 저하와 난질 불량을 유발한다⁸. OR에 감염된 닭에서 관찰되는 뚜렷한 병변으로는 복기낭에서 거품모양의 노란색 요구르트양 삼출물이 특징적이며 조직학적으로는 화농성·섬유소성 기낭염과 기관지성 폐렴이 독특하게 관찰된다^{1,5,6}.

OR 혈청형 동정은 한천 젤 침강반응법이 이용되고

* Corresponding author: Jae-Hong Kim

Avian Disease Division, National Veterinary Research & Quarantine Service, Anyang, 430-824, Korea
Tel: 031-467-1805, Fax: 031-467-1817, E-mail: kimjh@nvrqs.go.kr

있으며 현재까지 12개 (A-L형) 혈청형이 보고되었었다.²⁹ OR에 감염된 닭에서 분리되는 균주는 대부분 혈청형 A이며, 칠면조에서는 지역별과 나라별 서로 다른 혈청형이 분리된다고 알려져 있다^{10,11}.

OR 감염증의 진단방법으로는 균 분리·동정^{1,4,5}, 16S rRNA 특이유전자를 증폭하는 PCR법¹², enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 검사법¹¹, 면역조직화학적 염색법¹³ 등이 이용되고 있다.

본 연구에서는 국립수의과학검역원에 의뢰된 가검물 중에 OR 감염증으로 진단되었던 예에 대한 병력, 육안적 및 조직학적 특성과 분리된 OR균의 생화학적 성상을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 동물

2001년 9월부터 2002년 9월까지 국립수의과학검역원 조류질병과에 병성감정으로 의뢰된 가검물로서 기침, 안면종대 등 호흡기성 질병의 감염이 의심된 400 케이스의 육용계를 대상으로 OR 감염증 여부를 조사하였다.

2. 병리해부학적 검사

일반적인 부검술식에 준하여 개체의 외부검사를 실시한 다음 호흡기계부터 복강내 실질장기까지 검사하였다. 특히 호흡기계 장기인 부비동, 기관, 폐 및 기낭에서의 염증성 삼출물 저류 여부와 형태학적 변화 등을 세밀히 검사하였다.

3. 병리조직학적 검사

조직학적 병변을 관찰하기 위해 채취한 주요 장기를 10% 중성 포르말린에 고정한 후 각급 알콜로 탈수시키고 파라핀 포매한 다음 5 μ m 두께로 조직절편을 제작하였다. 그리고 Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색 후 광학면미경으로 검정하였다.

4. *Ornithobacterium rhinotracheale* (OR) 균 분리

호흡기와 관련된 특이 임상증상과 병변이 확인된 닭들을 대상으로 OR균 분리를 시도하였다. 균 분리는 5% 면양혈액배지에 기관, 폐, 기낭 등을 멸균된 면봉으로 도말하여 접종하였다. 접종한 혈액배지는 5% CO₂, 37°C 조건으로 배양기에서 48시간 이상 배양하였다. 그 후 증식한 균의 집락형태와 염색상에 따라 OR양 집락을 선별하였다. 의심된 OR균은 다시 순수분리 목적으로 하나의 집락을 계대한 후 Gram staining, catalase, oxidase 검

사를 실시하였다. 다른 생화학적 성상검사는 API 20NE와 API ZYM kit (BioMerieux, France)를 사용하여 제조회사에서 권장하는 방법에 따라 실시하였으며 30°C에서 48시간 배양하여 결과를 기록하였다. OR 표준주로는 미국 ATCC (American type culture collection)사에서 분양 받은 ATCC-51465 strain을 사용하였다.

5. 분리 균주의 somatic serotyping

분리주별 균체 항원은 다음과 같은 방법으로 준비하였다. 면양혈액배지에 각 OR균을 접종한 다음 24시간 이상 배양 후 증식된 집락을 획득하여 1 ml (0.85% NaCl)에 혼합하였다. 100°C에서 1시간동안 끓인 후 원심분리하여 상층액을 균체항원으로 사용하였다. 닭에서 가장 흔하게 분리되는 serotype A 표준 항혈청은 Netherlands Intervet 연구소의 Dr. van Empel 에게 분양받아 사용하였다. 혈청형 동정을 위해 사용된 한천 겔 침강반응법은 Heddeston 등¹⁴ 이 보고한 방법과 동일하게 실시하였다.

6. 종합효소 연쇄반응을 이용한 균의 동정

가. DNA 추출

혈액배지에서 의심되는 OR균의 집락을 선택하여 30 μ l의 3차 멸균 증류수에 부유시킨 후 100°C에서 5분간 끓인 다음 ice에서 보관한 후 12,000 rpm에서 10분간 원심분리한 상층액을 DNA template로 사용하였다.

나. Primer

PCR primer는 Hafez와 Beyer¹² 와 van Empel 등¹³이 OR의 동정을 위해 사용한 16S rRNA gene의 784bp를 증폭시키는 primer sets를 사용하였으며 그 염기 서열은 OR16S-F : 5-GAGAATTAATTTACGGATTAAG, OR16S-R : 5-TTCGCTTGGTCTCCGAAGAT 이었다.

다. PCR 조건 및 증폭산물 확인

PCR 반응 용액은 2 μ l의 10X PCR buffer (MgCl₂ plus, 20 mM), 2 μ l의 10 mM dNTP, 1 μ l씩 각각 10 pM primer, 1 Unit의 Taq polymerase, 3 μ l template DNA를 혼합하여 최종 반응량은 20 μ l가 되도록 멸균 증류수를 첨가하였다. 반응조건은 처음 94°C에서 5분간 pre-denaturation 시킨 후 denaturation 94°C 30초, annealing 52°C 60초, extension 72°C 90초의 반응을 35회 반복 실시한 후 마지막으로 72°C 5분간 extension하였다. PCR 증폭산물은 ethidium bromide가 첨가된 1.5% agarose gel에서 30분간 전기영동한 다음, ultraviolet light transilluminator에서 증폭산물을 확인하였다.

결 과

1. OR 감염증 발현 닭의 병력

2001과 2002년 국립수의과학검역원 조류질병과에 의뢰된 가검물 400건중 호흡기질환이 주 증상인 닭들을 중심으로 OR 감염증을 확인하기 위하여 균 분리·동정을 실시한 결과 Table 1과 같이 10건의 OR 감염증을 진단할 수 있었다. 육계 7건, 토종닭 3건이 OR 감염증으로 진단되었으며, 가장 빈번하게 혼합감염되는 질병으로는 대장균증이었고 다음으로는 전염성기관지염, 전염성 F낭병 등의 순이었다. OR 감염증에 의한 폐사율은 복합 감염된 질병의 종류에 따라 가검물별로 매우 다양하게 나타났으며 뉴캐슬병과 복합 감염된 예에서는 20% 이상의 높은 폐사율을 보였다.

2. 임상증상과 육안적인 병변

OR 감염증의 임상증상은 다른 호흡기성 질병에서 흔하게 관찰되는 안면종대, 결막의 충·출혈, 기침, 호흡곤란과 함께 깃털불량, 증체율저하, 침울 등을 볼 수 있었다.

OR에 감염된 닭들의 육안적 병변은 질병의 경과시간과 복합감염된 질병의 종류에 따라 다양하게 관찰되었다. 콕시듐증과 복합감염된 경우는 기포와 함께 노란색의 요구르트양 삼출물이 기낭에서 관찰되었으며(Fig. 1) 기관지 점막과 폐의 충·출혈 조건도 볼 수 있었다. 반면 대장균과 복합 감염된 닭들의 경우 기낭과 복강내

실질장기의 복막에서 섬유소성 삼출물이 관찰되었다. 또한 다른 바이러스성 질병과 혼합감염된 닭에서는 각각의 병변이 관찰되었다.

3. 조직학적 소견

OR에 감염된 닭들의 조직학적 병변은 호흡기계에서 국한되어 나타났다. 기관에서는 점막 상피세포의 증식과 화생 (metaplasia), 섬모의 위축과 탈락, 림프구의 침윤이 확인되었다. 폐에서는 소엽간 결합조직의 부종, 삼차 기관지와 폐포 내강에 섬유소, 다수의 대식세포, 염증성 삼출물, 헤테로필 침윤 및 많은 양의 혈액물질이 저류되어 있는 기관지성 폐렴을 볼 수 있었다 (Fig. 2). 폐실질 조직의 응고 괴사도 확인할 수 있었다. 대식세포가 군집을 이룬 거대세포의 출현이 특징적인 육아종성 염증반응도 동시에 관찰되었다 (Fig. 3). 기낭에서는 심한 부종과 함께 헤테로필과 대식세포, 섬유소로 구성된 화농성 및 섬유소성 위막 형성이 관찰되었다 (Fig. 4).

4. 분리 균주의 생화학적 성상

OR 균은 혈액배지상에서 회색 또는 희백색으로 직경 1-2mm 원형모양의 집락을 형성하였다. 야외에서 분리한 10주의 OR에 대한 생화학적 성상검사 결과는 Table 2에 요약되어 있다. 그람 음성의 간균으로 운동성과 용혈능력이 없고 catalase 음성, oxidase 양성을 보였으며, API ZYM kit 검사에서도 표준주 (ATCC-51465)와 일치된 성적을 보였다. API NE20 kit를 이용한 생화학검

Table 1. History of *Ornithobacterium rhinotracheale* local isolates

Isolates	Year	Type of chicken	Age (weeks)	Complicated disease	Somatic serotype*
OR-161	2002	Broiler	6	IB, Colibacillosis	type A
OR-1613AS	2002	Broiler	6	IB, Colibacillosis	type A
OR-240	2002	Broiler	5	IBD, Colibacillosis	type A
OR-2408AS	2002	Broiler	5	IBD, Colibacillosis	Unknown
OR-295	2002	Broiler	4	ND	type A
OR-2951P	2002	Broiler	4	ND, Colibacillosis	type A
OR-300	2002	Native chicken	5	ND, IB	type A
OR-339	2002	Native chicken	5	IB	type A
OR-642	2001	Native chicken	14	Coccidiosis	type A
OR-372	2002	Broiler	6	IBD, Colibacillosis	type A

IB: infectious bronchitis, IBD: infectious bursal disease, ND: newcastle disease.

* Somatic serotyping by gel diffusion precipitin test.

Table 2. Physiological and biochemical properties of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolates from the chickens submitted for diagnosis

Characteristics	Standard strain (ATCC-51465)	Isolates									
		OR-161	OR-1613 AS	OR-240	OR-2408 AS	OR-295	OR-2951 P	OR-300	OR-339	OR-642	OR-372
Gram staining	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Shape	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod
Nitrate	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indole	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urease	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+
Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Galactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lipase	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oxidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trypsin	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
Phosphatase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hemolysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Motility	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelatine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : negative, + : positive

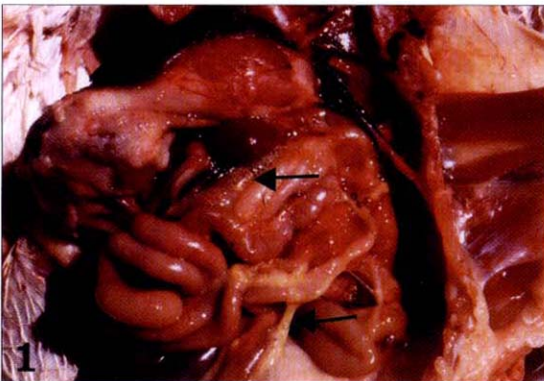


Fig. 1. Abdominal air sacs of 30 days old broiler chicken showing yellowish foamy exudates (arrow).

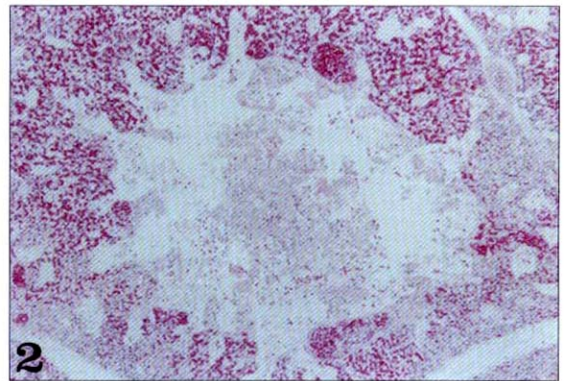


Fig. 2. Lungs from broiler infected with *Ornithobacterium rhinotracheale*. Bronchopneumonia characterized by inflammatory cellular infiltration. H&E stain, x 100.

사시 분리균의 성상은 API cod 0-2-2-0-0-0-4와 0-0-2-0-0-4로 분류되어 분리된 균이 OR균임을 나타내었다 (Manual of API2ONE, Biomerieux).

5. 분리 균주의 serotyping

야의 분리균 10주의 OR에 대한 균체 혈청형을 한천 젤침강반응법으로 검사한 결과 9주가 serotype A로 판명되었으며 나머지 1주는 혈청형 동정이 되지 않았다 (Table 1).

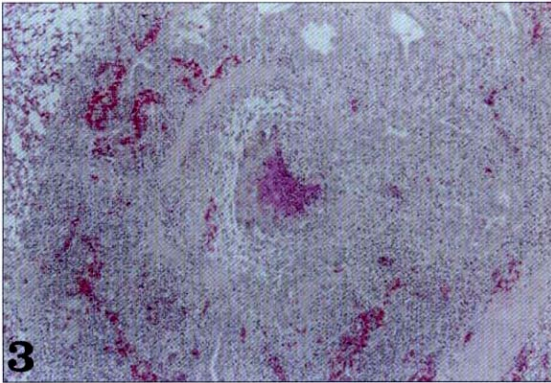


Fig. 3. Lungs from broiler infected with *Ornithobacterium rhinotracheale*. Granulomatous pneumonia characterized by giant cells, lymphocytes and necrotic cellular debris. H&E stain, x 100.

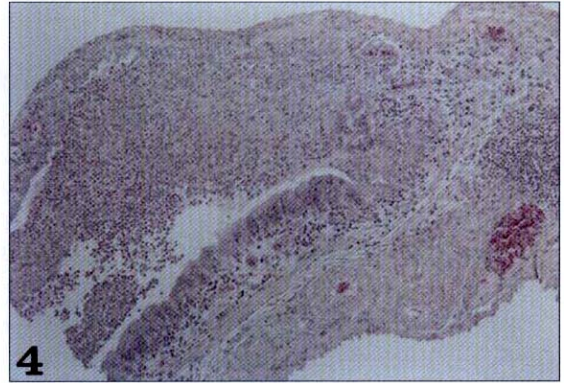


Fig. 4. Air sac from broiler infected with *Ornithobacterium rhinotracheale*. Fibrino-pululent airsacculitis. H&E stain, x100.

6. PCR법을 이용한 균 동정

생화학적 성상검사에서 OR로 판명되었던 10주의 OR 집락에서 추출한 DNA를 OR16S-F, OR16S-R의 primer set를 이용하여 PCR법으로 증폭시킨 결과 모든 균주에서 784 bp의 크기의 특이적인 산물을 관찰할 수 있었다 (Fig. 5).

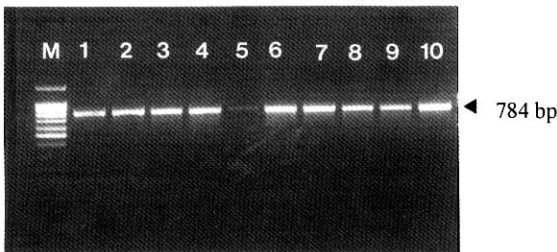


Fig. 5. *Ornithobacterium rhinotracheale*-specific PCR assay. The upper panels show the followings: lane M, 100-bp DNA marker; lane 1, OR-161; lane 2, OR-1613AS; lane 3, OR-240; lane 4, OR-2408AS; lane 5, OR-295; lane 6, OR-2951P; lane 7, OR-300; lane 8, OR-339; lane 9, OR-642; lane 10, OR-372.

고 찰

OR에 감염된 닭들의 특이적인 임상증상은 어린 병아리에서 잘 관찰되는데 약한 호흡기증상으로 재채기를 보이면서 다소의 폐사와 증체를 저하가 특징적이며, 부검해 보면 기포모양의 노란색 삼출물이 기낭, 특히 복기낭에서 잘 관찰된다고 많은 연구자들이 보고하였다^{1,2,4,15,16}. 그러나 수의과대학검역원 조류질병과에서 진단되

었던 10건의 OR 감염증은 모두 복합 감염된 예였으며, 그 중 9건이 다른 호흡기 질병과 합병되어 외국에서 보고되었던 전형적인 OR 병변은 관찰하기 어려웠다. 폭시듬증과 혼합 감염된 예에서는 OR 감염증의 특이적인 화농성 기낭염이 관찰되었다.

OR 감염증이 다른 호흡기 질병과 복합감염되는 예가 많은 이유는 가검물 의뢰시기와 밀접한 관련이 있는 것으로 추측된다. 농장에서 OR 단독감염 때에는 농장주나 종사자가 인지하지 못하고 있다가 다른 호흡기 질병과 복합감염됨으로써 심한 호흡기 증상과 병변, 폐사를 증가 등이 발현된 후 늦게 의뢰하기 때문인 것으로 보인다.

OR의 인공배양시 최적의 조건은 5% 면양혈액배지에 5-10%의 이산화탄소를 포함하는 상태이며, 성장속도가 느려서 48시간 이상 배양하여야 1-3 mm 직경의 집락을 형성하고, 연속 계대배양을 할 경우 균체의 크기가 균일해지며 액체 배지에 배양시 균의 모양은 다양해진다고 보고되었다^{3,4,6,17}. 분리한 야의 분리주들도 이들의 보고와 동일한 배양성상과 균의 형태를 보였다.

OR의 생화학적 성상은 다양한 연구자들에 의해서 보고되고 있다^{12,18,19}. 특히 van Empel 등¹⁰은 보통 생화학적 검사에 이용되는 액체배지에서 균이 증식하는 정도가 분리주 마다 다르기 때문에 생화학적 검사 결과가 일관되지 않을 수 있으므로 일정한 진단용 생화학적 키트를 사용하는 방법을 추천하였다. BioMerieux사의 API 20NE kit를 사용하여 1,150주의 OR 분리주를 검사한 결과, 99.95%의 균이 API 20NE code 0-2-2-0-0-4 (61%) 또는 0-0-2-0-0-4 (38.5%)으로 일정한 생화학적 성상을 보인다고 보고하였다. 우리가 분리한 균주의 경우 10개 분리주 중 7주는 0-2-2-0-0-4 (70%), 3주는 urease의 성상이

음성이어서 0-0-2-0-0-0-4 (30%)로 나타나 위의 결과와 매우 비슷한 양상을 보였다.

한천 겔 침강반응법이나 ELISA 검사법으로 OR과 *Pasteurella*, *Riemerella*, *Haemophilus* 등 다른 조류의 병원체와의 구분이 가능하며, 닭에서 분리된 분리주중 95%가 혈청형 A에 속했다고 보고된 바 있다^{2,9,11}. 분리한 OR 균주 중에 OR-2408AS를 제외한 나머지 9개의 균주가 혈청형 A로 판정되어 혈청학적으로도 OR임을 확인하였다.

OR 동정법인 PCR법이 많이 사용되어지고 있다¹. van Empel 등¹³이 보고한 primer set (OR16S-F, OR16S-R)은 OR의 16S rRNA 유전자를 증폭하여 특이성이 높아 유사한 균종들과의 감별에 적합한 것으로 알려져 있다. 동일한 primer set를 사용하여 OR 동정법으로 적용하면 생화학적 성상이나 다른 방법보다 빠르고 간편하게 동정할 수 있을 것으로 생각된다.

OR은 감염후기 때는 균 분리율이 매우 낮기 때문에 닭 조직에서 직접 OR 항원을 증명하는 면역조직화학적 진단법 개발 및 적용연구와 야외에서 분리된 OR의 병원성 연구가 필요하다고 생각된다.

결 론

국립수의과학검역원 조류질병과에 의뢰된 닭 병성감정 사례에서 육안 및 조직검사를 실시하고 OR균을 분리·동정한 결과와 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 2001년과 2002년에 병성감정으로 의뢰된 가검물 400예 중 육계 7예, 토종닭 예건 총10예가 OR 감염증으로 진단되었다.
2. OR 감염증의 특이적인 병변은 미만성 화농성 기낭염과 기관지성 폐렴이었다.
3. OR의 생화학적 성상은 그람 음성 간균으로서 운동성과 혈구용혈능이 없으며, 에너지 대사에 중요한 oxidase에 양성, catalase에 음성 반응을 나타내었고, API20NE 및 APIZYM kit 검사 결과 표준 OR 균주(ATCC-51465 strain)와 동일한 성상을 보였다.
4. 분리된 10주의 OR 균주 중에서 OR-2408AS를 제외한 나머지 9주는 혈청형 A로 판정되었다.
5. PCR법을 이용한 OR 동정법을 적용한 결과, 10주 모두 784 bp의 특이적인 유전자 산물을 확인하여 최종적으로 OR로 동정되었다.

참고문헌

1. Vandamme P, Segers P, Vancaneyt M, et al. Description

of *Ornithobacterium rhinotracheale* gen. nov. sp. nov. isolated from the avian respiratory tract. *Int J Syst Bacteriol*, 44:24-37, 1994.

2. van Beek PN, van Empel PC, van den Bosch G, et al. Respiratory problems, growth retardation and arthritis in turkeys and broilers caused by a *Pasteurella*-like organisms: *Ornithobacterium rhinotracheale* or Taxon 28. *Tijdschr Diergeneeskd*, 119:99-101, 1994.
3. Pages A, Fox A, March R, et al. Estudio bacteriologico de un agente asociado a problemas respiratorios en aves de produccion: *Ornithobacterium rhinotracheale*. *Medicina Veterinaria*, 12:585-587, 1995.
4. Odor E, Salem M, Pope C, et al. Case report: isolation of *Ornithobacterium* from commercial broiler flocks in the Delmarva Peninsula. *Avi Dis*, 41:257-260, 1997.
5. Roepke D, Back A, Shaw P, et al. Case report: isolation and identification of *Ornithobacterium rhinotracheale* from commercial turkey flocks in the upper Midwest. *Avi Dis*, 42:219-221, 1998.
6. Hafez HM, Friedrich S. Isolierung von *Ornithobacterium rhinotracheale* aus mastputen in osterreich. *Tierarztlichen Umschau*, 53:500-504, 1998.
7. Salem M, Odor E, Sample B, et al. *Ornithobacterium rhinotracheale*, update and field survey in the Delmarva Peninsula. In *Processings of the 46th Western Poultry Disease Conference, Sacramento*, pp59-60, 1997.
8. Travers A, Coetzee L, Gummow G. Pathogenicity differences between South African isolates of *Ornithobacterium rhinotracheale*. *Ondestepoor J Vet Res*, 63:197-207, 1996.
9. Hinz KH, Blome C, Ryll M. Acute exudative pneumonia and airsacculitis associated with *Ornithobacterium rhinotracheale* in turkeys. *Vet Rec*, 135:233-234, 1994.
10. van Empel PCM, van den Bosch H, Goovaerts D, et al. Experimental infection in turkeys and chickens with *Ornithobacterium rhinotracheale*. *Avi Dis*, 40:858-864, 1996.
11. van Empel PCM, van den Bosch. Vaccination of chickens against *Ornithobacterium rhinotracheale* infection. *Avi Dis*, 42:572-578, 1998.
12. Hafez HM, Beyer W. Preliminary investigation on *Ornithobacterium rhinotracheale* isolates using PCR fingerprints. In *Proceedings of the XIth International Congress of the World Veterinary Poultry Association, Budapest*, p51, 1997.

13. van Empel PCM, Vrijenhoek M, Goovaerts D, *et al.* Immuno-histochemical and serological investigation of experimental *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in chickens. *Avi Pathol*, 28:187-193, 1997.
14. Heddlestone KL, Gallagher JE, Rebers PA. Fowl cholera: gel diffusion precipitin test for serotyping *Pasteurella multocida* from avian species. *Avi Dis*, 16:925-936, 1972.
15. Franz G, Hein R, Bricker J, *et al.* Experimental studies in broilers with a Delmarva *Ornithobacterium rhinotracheale* isolate, *In proceedings of the 46th Western Poultry Disease Conference, Sacramento*, pp46-48, 1997.
16. Sprenger J, Back A, Shaw P, *et al.* *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in turkeys: experimental reproduction of the disease. *Avi Dis*, 42:154-161, 1998.
17. Leroy-Setrin S, Flaujac G, Thenaisy K, *et al.* Genetic diversity of *Ornithobacterium rhinotracheale* strains isolated from poultry in France. *Letters in Applied Microbiology*, 26:189-193, 1998.
18. Chin R, Droual R. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection. In B. W. Calnet (Ed.), *Diseases of Poultry (10th edn.)* pp 1012-1015, 1997.
19. Post K, Murphy S, Boyette J, *et al.* Evaluation of the rapid NF plus system for the identification of *Ornithobacterium rhinotracheale*. *In Proceedings of the 40th annual meeting of the American Association of Veterinary Diagnostics, Louisville*, p 88, 1997.