

ĐẶC ĐIỂM CỦA VI KHUẨN *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) PHÂN LẬP TỪ ĐÀN GÀ NUÔI TẠI MỘT SỐ TỈNH PHÍA BẮC VIỆT NAM

**Nguyễn Thị Lan, Chu Đức Thắng*, Nguyễn Bá Hiên, Phạm Hồng Ngân,
Lê Văn Hùng¹, Nguyễn Thị Yến¹**

Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Email: Thangchu1956@gmail.com*

Ngày gửi bài: 16.09.2016

Ngày chấp nhận: 27.11.2016

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu một số đặc điểm của vi khuẩn gây bệnh *Ornithobacterium rhinotracheale* - ORT. Tổng cộng 60 mẫu bệnh phẩm bao gồm swabs khí quản, phổi và túi khí thu thập từ nhiều gà khác nhau (gà nuôi thịt, gà đẻ trứng, gà bản địa) với triệu chứng khó thở, thở khò khè, suy nhược, xù lông được phân tích bằng phương pháp vi khuẩn học. Mẫu bệnh phẩm được nuôi cấy trong môi trường thạch máu Columbia blood agar base, có bổ sung 10 µg/ml Gentamycin ở điều kiện 37°C, 5% CO₂ trong thời gian 48 giờ. Khuẩn lạc có kích thước nhỏ, màu xám đến xám trắng, không dung huyết; vi khuẩn bắt màu gram âm và có kích thước dài ngắn khác nhau, dạng hình que. Có 30/60 gốc khuẩn lạc nghi ngờ cho phản ứng catalase, indol âm tính, oxidase dương tính, không mọc trên môi trường thạch MacConkey. *Ornithobacterium rhinotracheale* - ORT có khả năng phân giải đường fructose, galactose, glucose, lactose, maltose; không có khả năng phân giải đường sucrose và chúng có khả năng phân giải urease nhưng không có khả năng phân giải muối nitrate; không di động. Các chủng vi khuẩn ORT phân lập được được khẳng định bằng phản ứng PCR, sản phẩm có độ dài 784 bp. Kết quả kháng sinh đồ cho thấy loài vi khuẩn này có tính mẫn cảm cao với 2 loại kháng sinh amoxicillin/clavulanic acid và ampicillin. Tuy nhiên, vi khuẩn đề kháng cao với erythromycin, gentamycin, enrofloxacin, norfloxacin.

Từ khóa: *Ornithobacterium rhinotracheale*, phân lập, đặc tính sinh hóa, mẫn cảm kháng sinh.

Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) Isolated from Chickens Raised in Northern Provinces of Vietnam

ABSTRACT

In this study, we investigated some characteristics of *Ornithobacterium rhinotracheale* - ORT. Tracheal swabs, lung and airsacculitis were collected from 60 chickens showing clinical signs including loss of condition, gasping respirations and coughing for bacterial isolation and identification. The collected samples were cultured on Columbia Blood Agar Basal medium supplementing with 5% sheep blood or rabbit blood and 5 µg/ml Gentamycin, incubated at 37°C and 5% CO₂ for 48 hours. Small colonies were observed with some characteristics such as gray to grayish color, non-hemolysis, gram (-) staining, various lengths and rod shape. 30/60 colonies showed negative results in reaction with Catalase and Indol, but positive results in reaction with Oxidase, and were unable to grow on MacConkey medium. ORT isolates were able to resolve fructose, galactose, glucose, lactose, maltose and urease, but could not resolve sucrose and nitrate. ORT isolated strains were confirmed by PCR, showing approximate 784 bp-length products. The isolates were highly susceptible to amoxicillin/clavulanic acid and ampicillin while they were resistant to erythromycin, gentamycin, enrofloxacin and norfloxacin.

Keywords: *Ornithobacterium rhinotracheale*, Isolated, biochemical character of ORT, antibiotic susceptibility.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh hô hấp phức hợp trên gà là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm do vi khuẩn *Ornithobacterium rhinotracheale* - ORT gây ra, thường gặp ở gà và gà tây mọi lứa tuổi (Hinz *et al.*, 1994). Năm 1981, lần đầu tiên người ta đã phân lập được vi khuẩn ORT tại phía Bắc nước Đức từ đàn gà tây 5 tuần tuổi. Đến năm 1993, người ta đã mô tả một số đặc điểm của bệnh do vi khuẩn ORT gây nên đó là bệnh khó phòng và điều trị gây giảm khả năng sản xuất, thiệt hại lớn về kinh tế (Van *et al.*, 1999) với những triệu chứng, bệnh tích như: ho, khó thở, đờm không khí, màng niêm mạc mắt viêm thủy thũng, phế quản gạc có kén mủ, khí quản bị xung huyết, có nhiều dịch nhầy, phổi viêm tơ huyết... (Tanyi *et al.*, 1995). Nếu gà bị nhiễm bệnh ở 2 tuần tuổi thường chảy nước mũi, sau đó sưng phù đầu và sưng xoang hốc mắt (Hafez, 1996).

Tại Việt Nam các công trình nghiên cứu về ORT còn nhiều hạn chế. Tháng 6 năm 2014, lần đầu tiên đã có báo cáo tổng hợp cụ thể về tình hình nghiên cứu trên thế giới và các đặc điểm quan trọng của ORT làm cơ sở cho việc chẩn đoán xét nghiệm (Nguyễn Thị Lan và cs., 2014). Đến tháng 12 năm 2014, đã tiến hành nghiên cứu nhận dạng, phân lập và xác định mức độ mẫn cảm kháng sinh của vi khuẩn *Ornithobacterium rhinotracheale* (Võ Thị Trà An và cs., 2014). Và cho đến nay vẫn chưa có thêm nghiên cứu nào về sự lưu hành của vi khuẩn ORT trên gà tại Việt Nam.

Trước thực trạng trên, việc nghiên cứu một số đặc điểm của vi khuẩn ORT gây bệnh trên đàn gà là nhiệm vụ cấp thiết trong bối cảnh hiện nay, nhằm xây dựng cơ sở dữ liệu cho việc chẩn đoán, xét nghiệm phục vụ trong quá trình phòng và trị bệnh giúp người chăn nuôi giảm thiểu thiệt hại về kinh tế.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Mẫu bệnh phẩm được thu thập từ gà nuôi thịt, gà đẻ trứng, gà bản địa bị bệnh do nhiễm ORT thu thập được tại một số tỉnh phía Bắc Việt Nam bao gồm: Swabs khí quản, phổi và túi khí.

- Đối chứng dương: ONL1 (Võ Thị Trà An, Đại học Nông lâm Thành phố Hồ Chí Minh cung cấp).

- Môi trường, hóa chất sử dụng gồm: thạch Columbia Blood Agar Base (Oxoid); Brain Heart Broth-BHB (Merck); Catalase (Việt Nam); Oxidase (Remel); Kovac's/Indol (Merck); Triple Sugar Iron Agar-TSI (Merck); Urê; bộ Kit nhuộm Gram (Merck); Kit chiết tách ADN: QIAamp ADN Mini Kit (QIAGEN Inc., USA).

- Trang thiết bị sử dụng trong nghiên cứu: tủ ấm CO₂, cabinet vô trùng, máy PCR, máy vortex, tủ lạnh dương, tủ lạnh âm sâu (âm 86°C); dụng cụ bảo hộ lao động...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nuôi cấy và phân lập vi khuẩn

Mẫu bệnh phẩm được nuôi cấy trên môi trường thạch máu Columbia Blood agar Base (CBA) đã bổ sung 10 µg/ml Gentamycin, ủ 37°C, 5% CO₂, ở điều kiện hiếu khí trong thời gian 24 - 48 giờ (Zahra *et al.*, 2013).

Lựa chọn khuẩn lạc nghi ngờ cấy chuyển sang môi trường tương tự hoặc tăng sinh trên môi trường Brain Heart Broth (BHB) để thử một số đặc tính sinh hóa: Catalase; Oxidase; Kovac's/Indol và thực hiện một số phản ứng lên men đường như: sucrose, lactose, glucose...; phản ứng phân giải urê...

2.2.2. Phương pháp PCR

Chiết tách ADN từ mẫu bệnh phẩm hoặc từ canh khuẩn theo Kit QIAamp ADN Mini Kit (QIAGEN inc., USA).

Sử dụng cặp mồi đặc hiệu để khuếch đại đoạn gen rnn: OR16S - F1: GAG AAT TAA TTT ACG GAT TAA G; OR16S - R1: TTC GCT TGG TCT CCG AAG AT (Van and Hafez, 1999). Thành phần phản ứng trong tổng 25 µl gồm: nuclease-free water: 6,5 µl; master mix: 12,5 µl; reverse primer: 0,5 µl; forward primer: 0,5 µl; khuôn mẫu ADN: 5 µl. Chu trình nhiệt được thực hiện gồm 4 giai đoạn. Giai đoạn tiền biến tính ở nhiệt độ 94°C trong 5 phút; giai đoạn bắt cặp 94°C trong 90 giây, 55°C trong 60 giây, 72°C trong 90 giây (chu kỳ được lặp lại 35 lần); giai đoạn hoàn thành ở 72°C trong 7 phút. Sản

phẩm PCR có độ dài 784 bp được điện di trên gel 1,2% trong môi trường TBE 1X.

2.2.3. Thử kháng sinh đồ

Sử dụng phương pháp khuếch tán trên thạch để thử nghiệm khả năng mẫn cảm của vi khuẩn ORT với 14 loại kháng sinh: kanamycin (30 µg), gentamycin (10 µg), amoxicillin/clavulanic (20/10 µg), ampicillin (10 µg), erythromycin (15 µg), doxycycline (30 µg), tetracycline (30 µg), norfloxacin (10 µg), colistin (10 µg), lincomycin (10 µg), flofenicol (30 µg), enrofloxacin (50 µg), tylosin (50 µg), tiamulin (100 µg) (do công ty Nam Khoa sản xuất). Kết quả được tính dựa trên tiêu chuẩn của CLSI (2012).

2.2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được ghi chép và lưu trong file excel. Các tỉ lệ, số trung bình được tính toán trong phần mềm Excel, Microsoft Windows, phiên bản 7.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập vi khuẩn ORT từ mẫu bệnh phẩm thu thập được

Chúng tôi đã tiến hành phân lập vi khuẩn ORT từ 60 mẫu bệnh phẩm thu thập được tại một số tỉnh phía Bắc Việt Nam (Bảng 1).

Kết quả bảng 1 cho thấy trong tổng số 60 mẫu bệnh phẩm được phân lập có 41 mẫu cho khuẩn lạc nghi ngờ ORT, chiếm tỷ lệ 68,33% (41/60). Trong số các mẫu bệnh phẩm từ cơ quan nội tạng của gà, tỷ lệ phân lập cao nhất ở mẫu swabs khí quản (80,00%); tiếp đến là phổi (65,00%) và thấp nhất là túi khí (60,00%). Như vậy, số liệu phân tích cho thấy: vi khuẩn gây bệnh ORT đã tấn công toàn bộ hệ hô hấp của gà,

làm cho con vật suy hô hấp (Pan *et al.*, 2012). Mặt khác, đối với gia cầm nói chung và gà nói riêng, hệ hô hấp của chúng ngoài phổi còn có 7-9 túi khí cũng tham gia vào quá trình hô hấp (hô hấp bị động), để làm mát tinh hoàn, tim và các nội quan khác; làm giảm khối lượng tương đối của gia cầm giúp gia cầm bay và bơi được tốt; tăng độ ẩm của không khí hít vào; giúp cho việc giữ cân bằng khi các cơ quan bên trong thay đổi vị trí tương đối của nó... (Nguyễn Thị Mai và cs., 2009). Tuy nhiên, khi túi khí bị vi khuẩn tấn công, chúng làm giảm độ ẩm không khí hít vào, dẫn đến mất cân bằng giữa các cơ quan trong cơ thể, sức đề kháng của con vật giảm, tạo điều kiện cho vi khuẩn phát triển và tấn công lên các cơ quan khác (phổi, khí quản) nên bệnh càng trở nên trầm trọng hơn, tỷ lệ chết cao, khoảng 70% (Pan *et al.*, 2012). Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu trước đây của Zahra *et al.*(2013) khi tiến hành phân lập lại 27 trong tổng số 321 mẫu bệnh phẩm thu thập được thì có 21 mẫu cho khuẩn lạc nghi ngờ ORT, chiếm 77,80% (Zahra *et al.*, 2013).

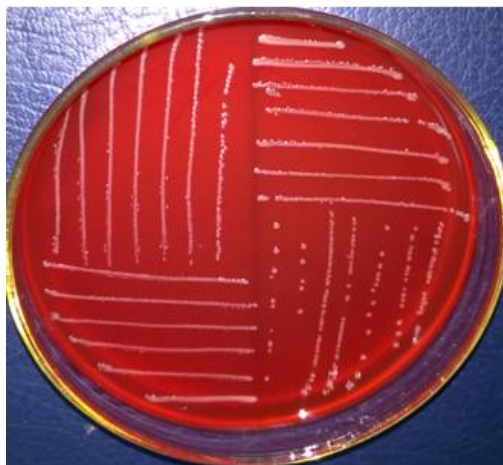
3.2. Giám định một số đặc tính nuôi cấy và sinh hóa của các chủng ORT

3.2.1. Đặc tính nuôi cấy của các chủng ORT

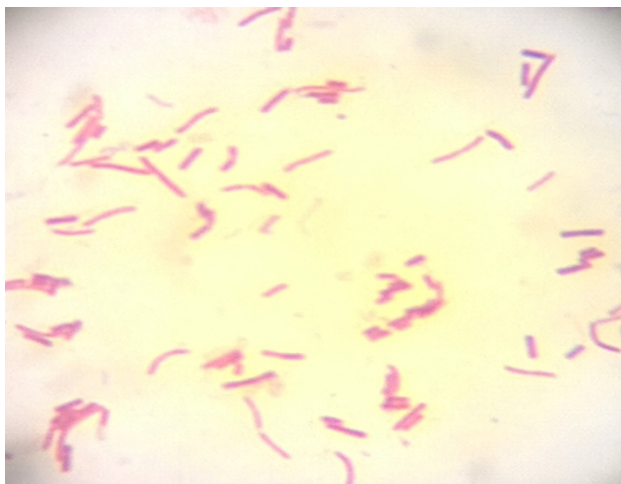
Trong tổng số 60 mẫu nghiên cứu có 41 mẫu cho khuẩn lạc nghi ngờ trên môi trường thạch máu (Columbia blood agar) với một số đặc điểm như: hình thành những đám khuẩn lạc nhỏ có kích thước khác nhau, to bằng đầu đinh ghim, tròn, đục, có màu xám đến xám trắng; không gây dung huyết (Zahra *et al.*, 2013) (Hình 1). Cấy chuyển khuẩn lạc nghi ngờ trên sang môi trường dinh dưỡng lỏng Brain Heart Broth (BHB), sau 48 giờ nuôi cấy ở điều kiện 37°C, 5%

Bảng 1. Kết quả phân lập vi khuẩn ORT từ gà mắc bệnh đường hô hấp

Bệnh phẩm	Số xét nghiệm	Số dương	Tỷ lệ (%)
Swabs khí quản	20	16	80,00
Phổi	20	13	65,00
Túi khí	20	12	60,00
Tổng	60	41	68,33



Hình 1. Khuẩn lạc ORT trên môi trường thạch máu sau 48 giờ nuôi cấy



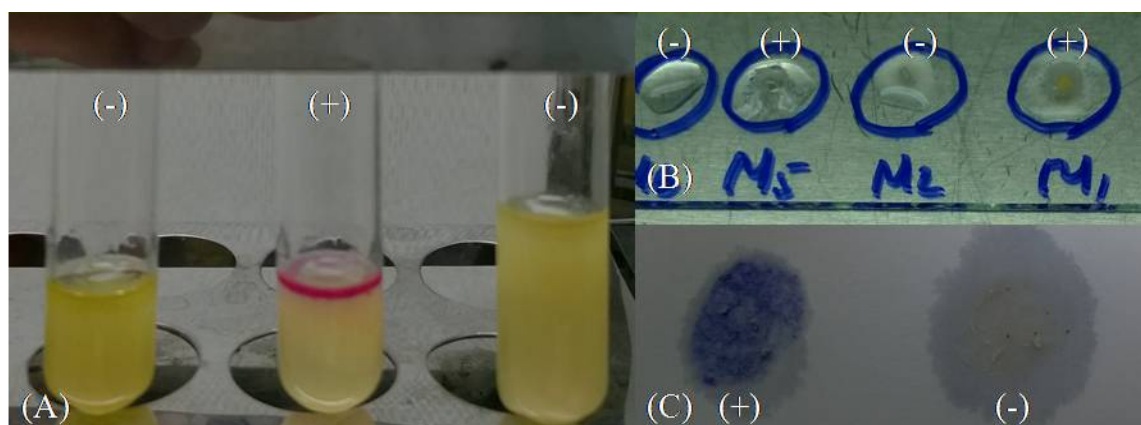
Hình 2. Hình thái vi khuẩn ORT dưới kính hiển vi (độ phóng đại 1.000 lần)

CO₂, chúng tôi nhận thấy: 35/60 mẫu làm cho môi trường đục, bề mặt môi trường hình thành một lớp váng màu trắng, khi lắc lớp váng này tan đều trong môi trường. Khi tiến hành cấy chuyển khuẩn lạc nghi ngờ sang môi trường MacConkey, 30/60 mẫu cho khuẩn lạc nghi ngờ không có khả năng phát triển trên môi trường này (Soriano *et al.*, 2002).

Kiểm tra hình thái vi khuẩn dưới kính hiển vi chúng tôi nhận thấy vi khuẩn ORT là vi khuẩn Gram âm, bắt màu hồng hoặc đỏ, có kích thước dài ngắn khác nhau (đa hình thái) (Hình 2). Theo Zahara *et al.* (2013) và Soriano *et al.* (2002); vi khuẩn ORT là vi khuẩn gram âm, đa dạng về hình thái (kích thước vi khuẩn dài ngắn khác nhau), là vi khuẩn có dạng hình que.

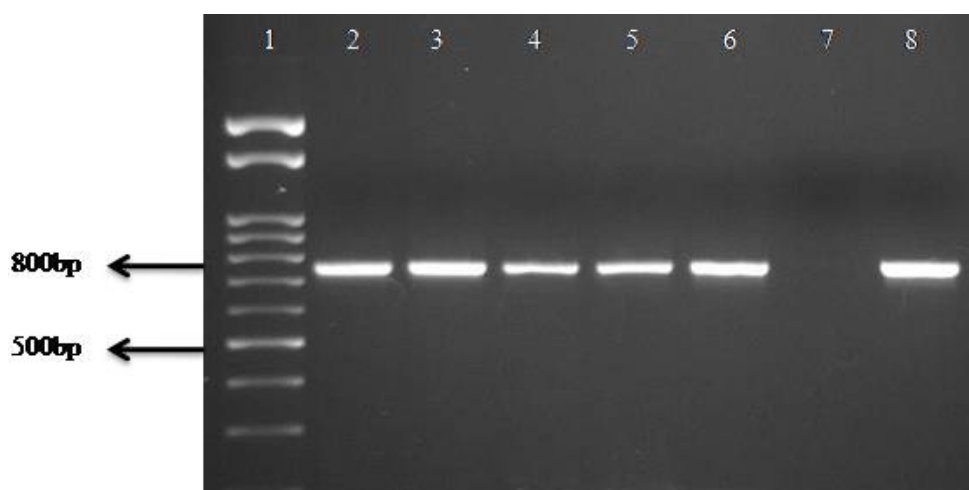
3.2.2. Một số đặc tính sinh hóa của các chủng ORT

Trong tổng số 41 mẫu cho khuẩn lạc nghi ngờ ORT, có 32 mẫu cho phản ứng Catalase, Indol âm tính; 30/41 mẫu cho phản ứng Oxidase dương tính (Hình 3). Có 30 mẫu có khả năng phân giải đường fructose, galactose, glucose, lactose, maltose; không có khả năng phân giải đường sucrose và chúng có khả năng phân giải urease nhưng không có khả năng phân giải muối nitrate. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây cho rằng: vi khuẩn ORT cho phản ứng catalase, indol âm tính; phản ứng oxidase dương tính; các chủng ORT có khả năng phân giải đường fructose, galactose, glucose, lactose, maltose; không có khả năng phân giải



Hình 3. Kết quả kiểm tra một số đặc tính sinh hóa của chủng ORT

Ghi chú: A: phản ứng thử Indol; B: phản ứng thử catalase; C: phản ứng thử oxidase



Hình 4. Kết quả giám định ORT bằng phản ứng PCR

Ghi chú: 1 là 100 bp ADN ladder; 7 là đối chứng âm; 8 là đối chứng dương; 2, 3, 4, 5, 6 là các mẫu cần kiểm tra

đường sucrose và chúng có khả năng phân giải urê nhưng không có khả năng phân giải muối nitrate; không có khả năng di động và vi khuẩn không phát triển trên môi trường thạch nghiêng TSI (Soriano *et al.*, 2002; Pan *et al.*, 2012).

Để khẳng định có hay không có ADN của vi khuẩn ORT trong các mẫu trên, chúng tôi đã tiến hành phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu, sản phẩm PCR có độ dài 784 bp (Hình 4).

Kết quả hình 4 cho thấy: đối chứng dương lên vạch, cho sản phẩm PCR nhỏ hơn 800 bp (khoảng 784 bp như trong thiết kế cặp mồi đặc hiệu); đối chứng âm không lên vạch, không cho

sản phẩm PCR như đối chứng dương; chúng tỏ phản ứng đặc hiệu, cho độ tin cậy cao trong quá trình phân tích và đánh giá kết quả.

Trong tổng số 32 mẫu xét nghiệm, có 30 mẫu cho sản phẩm PCR có kích thước tương ứng với đối chứng dương (khoảng 784 bp). Kết quả cho thấy: 30 mẫu phân lập trên có chứa ADN của vi khuẩn ORT.

3.3. Kết quả kiểm tra tính mẫn cảm của vi khuẩn ORT với một số loại kháng sinh

Mức độ mẫn cảm của 30 chủng vi khuẩn ORT phân lập được với 14 loại kháng sinh được tổng hợp và trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả kiểm tra tính mẫn cảm của vi khuẩn ORT với một số loại kháng sinh

Kháng sinh	Số kiểm tra	Mẫn cảm		Kháng	
		Số mẫn	Tỷ lệ (%)	Số kháng	Tỷ lệ (%)
Kanamycin	30	2	6,67	28	93,33
Gentamycin	30	0	0,00	30	100,00
Amoxicillin/clavulanic	30	30	100,00	0	0,00
Ampicillin	30	29	96,67	1	3,33
Erythromycin	30	0	00,00	30	100,00
Tylosin	30	5	16,67	25	83,33
Doxycycline	30	15	50,00	15	50,00
Tetracycline	30	12	40,00	18	60,00
Enrofloxacin	30	0	0,00	30	100,00
Norfloxacin	30	0	0,00	30	100,00
Colistin	30	1	3,33	29	96,67
Lincomycin	30	9	30,00	21	70,00
Flofenicol	30	15	50,00	15	50,00
Tiamulin	30	11	36,67	19	63,33

Kết quả bảng 2 cho thấy: Trong 9 nhóm kháng sinh được thử nghiệm (aminoglycosides, β -lactams, macrolides, quinolon, tetracyclines, polymyxine, lincosazides, phenicols và pleuromutilin); nhóm kháng sinh có tỷ lệ mẫn cảm cao với vi khuẩn ORT là β -lactams với 2 loại kháng sinh được thử nghiệm, tỷ lệ mẫn cảm với từng loại kháng sinh amoxicillin/clavulanic, ampicillin lần lượt là 100% (30/30) và 96,67% (29/30). Tiếp đến là nhóm tetracyclines, tỷ lệ mẫn cảm cho từng loại kháng sinh doxycycline, tetracycline là 40% (12/30) và 50% (15/30). Vi khuẩn ORT cũng có độ mẫn cảm cao với nhóm phenicol, khoảng 50% (15/30). Mặt khác, vi khuẩn ORT không mẫn cảm với nhóm quinolon; erythromycin (nhóm macrolides); gentamycin (nhóm aminoglycoside) với tỷ lệ 0% (0/30). Kết quả trong nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu trước đây cho rằng, vi khuẩn ORT có tính mẫn cảm cao với kháng sinh amoxicillin/clavulanic, ampicillin. Tuy nhiên, vi khuẩn lại kháng với thuốc norfloxacin (thuộc nhóm Quinolon) (Zhara *et al.*, 2013; Võ Thị Trà An và cs. 2014). Cũng theo Võ Thị Trà An và cs. (2014), vi khuẩn ORT cũng kháng với thuốc erythromycin là 100% (5/5). Theo Phạm Khắc

Hiếu, dùng phối hợp với amoxicillin, ampicillin để điều trị nhiễm khuẩn hỗn hợp ở đường hô hấp và đường tiết niệu do các vi khuẩn Gram âm đường ruột, *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Staphylococcus*,... cho thuốc qua đường tiêu hóa hoặc đường tiêm đều tốt. Kết quả phân tích cho thấy, vi khuẩn kháng phần lớn với thuốc kể cả thuốc điều trị đường hô hấp hoặc vi khuẩn gram âm. Nguyên nhân là do tình trạng sử dụng thuốc kháng sinh tràn lan không theo hướng dẫn của nhà sản xuất hoặc theo chỉ dẫn của bác sĩ Thú y. Mặt khác, hiện nay một số công ty nhỏ lẻ hoặc cá nhân vì lợi nhuận cao nên đã tự mua nguyên liệu về để pha chế thuốc làm cho các cơ quan quản lý nhà nước rất khó kiểm soát. Đây là hồi chuông cảnh tỉnh cho các nhà quản lý, các hộ chăn nuôi nói chung và chăn nuôi gà nói riêng về tình trạng sử dụng kháng sinh không rõ nguồn gốc cũng như sự kháng với thuốc của vi khuẩn.

4. KẾT LUẬN

Có 30 trong tổng số 60 mẫu bệnh phẩm thu thập được cho kết quả dương tính với vi khuẩn ORT và được khẳng định bằng kỹ thuật PCR. Vi khuẩn ORT phát triển tốt trên môi trường thạch

Columbia blood agar base có bổ sung 5% máu cừu và 10 µg/ml gentamycin trong điều kiện 37°C, 5% CO₂. Khuẩn lạc nhỏ có kích thước khác nhau, to bằng đầu đinh ghim, tròn, đục, có màu xám đến xám trắng; không gây dung huyết thạch máu. ORT là vi khuẩn Gram âm, bắt màu hồng hoặc đỏ, có kích thước dài ngắn khác nhau (đa hình thái). Phản ứng Catalase, Indol âm tính; phản ứng Oxidase dương tính; ORT có khả năng phân giải đường fructose, galactose, glucose, lactose, maltose; không có khả năng phân giải đường sucrose và chúng có khả năng phân giải urê nhưng không có khả năng phân giải muối nitrate; không di động và vi khuẩn không phát triển trên môi trường MacConkey. Vi khuẩn ORT có tính mẫn cảm cao với 2 loại kháng sinh là: Amoxicillin/Clavulanic, Ampicillin lần lượt chiếm 100% (30/30) và 96,67% (29/30).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Võ Thị Trà An Nguyễn Thị Bích Liên, Trần Thị Ngọc Hân, Hồ Quang Dũng, Niwwat Chansiripornchai (2014). Nhận dạng, phân lập và xác định mức độ mẫn cảm kháng sinh của vi khuẩn *Ornithobacterium rhinotracheale* ở gà. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y, 21(7): 23-27.
- Nguyễn Vũ Sơn, Nguyễn Hữu Nam, Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Thị Hoa, Lê Văn Năm (2014). Bệnh do *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) trên gà những thông tin cơ bản để chẩn đoán, phòng và trị bệnh (bài tổng hợp). Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y, 21(5): 77- 83.
- Phạm Khắc Hiếu (2009). Giáo trình Dược lý học Thú y. Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, tr. 65.
- Nguyễn Thị Mai, Bùi Hữu Đoàn, Hoàng Thanh (2009). Giáo trình chăn nuôi gia cầm. Nhà xuất bản Nông nghiệp, tr. 20-21.
- Clinical and Laboratory Standards Institute-CLSI (2012). USA.
- Hinz K. H., Blome, C. and Ryll, M. (1994). Acute exudative pneumonia and airsacculitis associated with *Ornithobacterium rhinotracheale* in turkeys. Vet. Rec., 135: 233-234.
- Hafez H.M. (1996). Current status on the Role of *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) in respiratory disease complexes in poultry. Arch Getluegk, 60(5): 208-211.
- Pan Q, Liu A, Zhang F, Ling Y, Ou C, Hou N, He C. (2012). Co-infection of broilers with *Ornithobacterium rhinotracheale* and H9N2 avian influenza virus. BMC Vet Res., 8: 104.
- Soriano V. E, Longinos M. G, Navarrete P. G, and Fernández R. P. (2002). Identification and Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* Isolates from Mexico. American Association of Avian Pathologists. Avian Diseases, 46(3): 686-690.
- Tanyi J, Bistyk A, Kaszanyitzky E, Vetesi F, Dobos-Kovacs M (1995). Isolation of *Ornithobacterium rhinotracheale* from chickens, hens and turkeys showing respiratory symptoms. Magyar Allatorvosok Lapja 1995/1996, 50: 328-330.
- Zahra M., Ferreri. M., Alkasir. R., Yin. J., Han. B., Su. J. (2013). Isolation and characterization of small-colony variants of *Ornithobacterium rhinotracheale*. J Clin Microbiol., 51(10): 3228-3236.