

بررسی ضایعات آسیب‌شناسی نای در موارد مصرف هم‌زمان واکسن

H120 و 4/91 برونشیت عفونی در جوجه‌های گوشتی

میلاد محمدی^۱، مجید غلامی‌آهنگران^{۲*}، عزت‌اله فتحی‌هفشجانی^۳

چکیده

بیماری برونشیت عفونی یکی از بیماری‌های مهم عفونی در صنعت طیور است. ویروس برونشیت عفونی دارای سروتیپ‌های متعدد است که ایمنی علیه هر یک از سروتیپ‌ها اختصاصی است. حفاظت علیه هر سروتیپ با واکسیناسیون علیه همان سروتیپ قابل انتظار است. در ایران، سروتیپ‌های ماساچوست و 4/91 شایع هستند و واکسن‌های تجاری مختلف علیه این سروتیپ‌ها استفاده می‌شود. با توجه به عدم وجود تداخل بین سویه‌های مختلف از سروتیپ‌های مختلف ویروس برونشیت عفونی به‌نظر می‌رسد استفاده از واکسن‌های مختلف برونشیت عفونی به‌طور هم‌زمان و یا با فاصله اندک از یکدیگر برای افزایش دامنه حفاظت می‌تواند موثر باشد. لذا در این مطالعه واکنش بعد از واکسیناسیون به‌دنبال استفاده هم‌زمان از دو سروتیپ مجزا با روش پاتولوژی بررسی شد. به‌همین منظور در فارم‌های تجاری از واکسن H120 و 4/91 به شکل مجزا و توأم استفاده شد. به‌دنبال اجرای برنامه‌های مختلف واکسیناسیون، ضایعات پاتولوژی در نای پرندگان بررسی و مقایسه شد. نتایج نشان داد استفاده توأم از واکسن H120 و 4/91 می‌تواند باعث القای جراحات بافتی در نای بیش از واکسن‌های منفرد شود. با توجه به بروز واکنش‌های واکسیناسیون بیشتر به‌دنبال استفاده توأم از واکسن H120 و 4/91، توصیه می‌شود در موارد واکسیناسیون علیه برونشیت عفونی حتی‌الامکان از واکسن‌های متعلق به سروتیپ‌های مختلف با فاصله زمانی استفاده شود و نسبت به مصرف توأم آن‌ها خودداری گردد.

واژگان کلیدی: برونشیت عفونی، جوجه گوشتی، واکسن، آسیب‌شناسی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۴

مقدمه

بیماری برونشیت عفونی یک بیماری ویروسی با ضایعات تنفسی، ادراری و تولیدمثلی است که در تمام کشورهای دارای صنعت پرورش طیور شایع شده است. این بیماری از لحاظ اقتصادی یکی از بیماری‌های مهم طیور است که می‌تواند باعث تلفات، افزایش هزینه‌های مربوط به دارو درمانی، حذف لاشه در کشتارگاه، کاهش راندمان غذایی و در گله‌های تخم‌گذار

باعث کاهش تولید شود. متأسفانه این بیماری یکی از شایع‌ترین بیماری‌های تنفسی در ایران است (۸). عامل بیماری یک کروناویروس است که به‌دلیل پدیده نوترکیبی دارای سروتیپ‌های متعدد است. تاکنون از این ویروس حدود صد سروتیپ و واریانت گزارش شده است (۶). لذا کنترل این بیماری در شرایط فعلی از طریق واکسیناسیون با واکسن‌های متعلق به سروتیپ‌های شایع امکان‌پذیر است (۱۰). با توجه به شیوع سروتیپ‌های ماساچوست و 4/91 در ایران (۸) استفاده از واکسن‌های متعلق به این دو سروتیپ توصیه می‌شود. از آنجایی‌که تداخل همولوگ بین سروتیپ‌های ویروس برونشیت عفونی گزارش نشده است (۱۱) در فارم‌های صنعتی در مواردی برای افزایش دامنه حفاظت فاصله زمانی بین استفاده از واکسن‌های متعلق به این دو سروتیپ رعایت نمی‌شود و حتی گاهی مشاهده می‌شود که از واکسن‌های متعلق به این دو سروتیپ مختلف به‌طور هم‌زمان استفاده می‌شود. مشاهدات بالینی نشان می‌دهد در اکثر موارد که از سویه H120 و 4/91 به‌طور هم‌زمان استفاده شده است، علائم تنفسی به‌دنبال واکسیناسیون مشاهده می‌گردد. واکنش‌های بعد از واکسیناسیون یکی از عوارض واکسیناسیون است که در فارم‌هایی که به شکل تحت‌بالینی با عوامل ثانویه آلوده باشند می‌تواند آغازگر یک عفونت شدید باشد. لذا در این مطالعه به بررسی جراحات نای در جوجه‌های دریافت‌کننده برنامه‌های مختلف واکسیناسیون برونشیت با سویه‌های H120 و 4/91 پرداخته گردید.

۱- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد، ایران.

*۲- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران (mgolamia1388@yahoo.com)

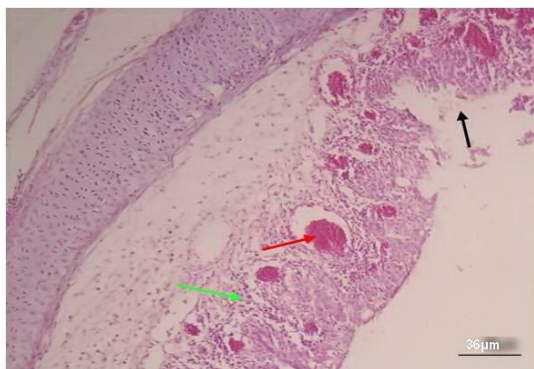
۳- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

مواد و روش کار

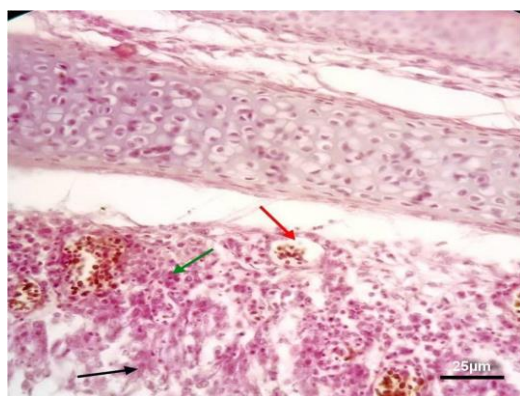
در این بررسی، به منظور ارزیابی و مقایسه واکنش بعد واکسیناسیون، پس از اجرای برنامه‌های مختلف واکسیناسیون علیه تیپ‌های ماساچوست و ۴/۹۱ برونشیت عفونی اقدام به نمونه‌گیری شد. مطالعه حاضر در مدت ۶ ماه از ابتدای تابستان تا ابتدای زمستان ۱۳۹۵ در فارم‌های مختلف جوجه گوشتی شهرستان اصفهان اجرا شد. براساس برنامه واکسیناسیون علیه برونشیت عفونی، فارم‌های مورد مطالعه به چهار دسته تقسیم شدند. گروه اول که در ۲۰ روز اول پرورش از واکسن H1۲۰ به شکل تنهایی استفاده کردند. گروه دوم که در همین بازه زمانی از واکسن ۴/۹۱ به شکل تنهایی استفاده کردند. گروه سوم که از واکسن H1۲۰ و ۴/۹۱ به طور هم‌زمان استفاده کردند. گروه چهارم از جوجه‌هایی که در همین بازه زمانی، حداقل ۱۰ روز منتهی به نمونه‌گیری از واکسن برونشیت استفاده نکرده و علائم تنفسی نداشتند، نمونه‌گیری شد. هر برنامه واکسیناسیون در حداقل ۳ فارم آزمایش شد و برای نمونه برداری، ۳ روز بعد از هر برنامه واکسیناسیون اقدام به نمونه‌برداری شد. از هر فارم ۱۰ جوجه انتخاب شد و پس از کشتار نمونه نای در فرمالین ۱۰٪ جمع‌آوری گردد. ۲۴ ساعت پس از نمونه‌گیری فرمالین تعویض شد و پس از پارافینه کردن نمونه‌ها و تهیه مقاطع به ضخامت ۴ میکرون، مقاطع هیستوپاتولوژی به روش هماتوکسیلین - ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی گردید (۳). در این بررسی درجه هر جراحی در هر مقطع میکروسکوپی نای از صفر تا ۳ بر مبنای شدت و وسعت ضایعه گزارش شد به طوری که درجه صفر، ۱، ۲ و ۳ به ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود جراحی، جراحی خفیف، متوسط و شدید بود (۹، ۱۲ و ۱۳). میانگین داده‌ها در هر گروه با برنامه نرم‌افزاری SPSS و با روش آنالیز یک‌طرفه داده‌ها (One way ANOVA) با سطح اطمینان ۹۵٪ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

مشاهده مقاطع آسیب شناسی بافتی نای در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده واکسن، نشان‌دهنده طیف گسترده‌ای از جراحات با شدت و وسعت متفاوت بود که جراحات مورد بررسی شامل وجود پرخونی در بافت زیر مخاط پوششی نای، نفوذ سلول‌های آماسی در مخاط و زیرمخاط نای، از دست دادن مژک‌ها، کاهش غدد مخاطی، هیپرپلازی، خونریزی، استحاله، جدا شدگی، نکروز و متاپلازی بافت پوششی نای بود (نگاره ۱ تا ۴).



نگاره ۱- نکروز، پرخونی و نفوذ سلول‌های آماسی در مقطع میکروسکوپی نای، نکروز بافت پوششی نای (پیکان مشکی)، پرخونی شدید مویرگی زیر مخاط (پیکان قرمز) و نفوذ سلول‌های آماسی (پیکان سبز) [(H&E, 10×)].



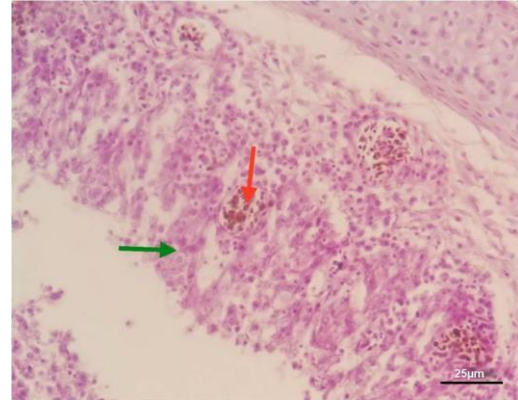
نگاره ۲- نکروز، استحاله، پرخونی و نفوذ سلول‌های آماسی در مقطع میکروسکوپی نای، [پرخونی مویرگی (پیکان قرمز)، نفوذ کم سلول‌های آماسی (پیکان سبز)، استحاله و نکروز خفیف بافت پوششی استوانه شبه مطابق مژده‌دار (پیکان مشکی)] [(H&E, 40×)].

اختلاف معنی‌داری دیده نشد. اما در گروه‌های عدم دریافت واکسن و دریافت‌کننده منفرد H120 و دریافت‌کننده منفرد 4/91 با یکدیگر مشابه و بدون اختلاف معنی‌داری بودند. از نظر از دست دادن مژه‌ها دو گروه دریافت‌کننده واکسن منفرد H120 و دریافت‌کننده واکسن منفرد 4/91 با هم مشابه و بدون اختلاف معنی‌داری بودند و دو گروه عدم دریافت واکسن و دریافت‌کننده واکسن مخلوط تجربی (H120 + 4/91) با هم مشابه و بدون اختلاف معنی‌دار بودند. اما بین گروه دریافت‌کننده واکسن مخلوط تجربی (H120 + 4/91) با دو گروه دریافت‌کننده واکسن منفرد H120 و 4/91 اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در حالی که بین گروه عدم دریافت واکسن با دو گروه دریافت‌کننده واکسن منفرد H120 و 4/91 اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

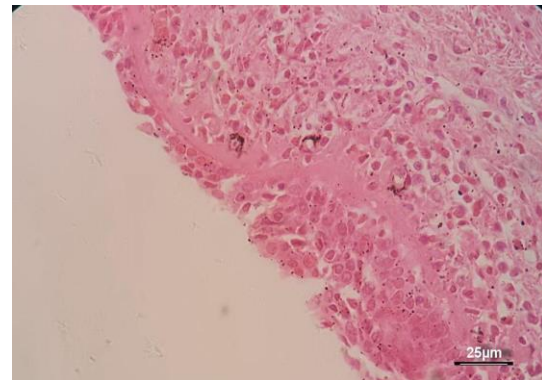
از نظر کاهش غدد مخاطی سه گروه عدم دریافت واکسن و گروه‌های دریافت واکسن منفرد H120 و 4/91 با یکدیگر مشابه و بدون اختلاف معنی‌دار بودند همچنین سه گروه دریافت‌کننده واکسن مخلوط تجربی (H120 + 4/91) و گروه‌های دریافت‌کننده واکسن منفرد H120 و 4/91 با یکدیگر مشابه و بدون اختلاف معنی‌دار بودند. در حالی که بین گروه عدم دریافت‌کننده واکسن با گروه دریافت‌کننده واکسن مخلوط تجربی (H120 + 4/91) اختلاف معنی‌داری وجود داشت.

از نظر هایپرپلازی بافت پوششی گروه‌های عدم دریافت واکسن و دریافت‌کننده واکسن منفرد H120 با هم مشابه و بدون اختلاف معنی‌دار بودند و گروه‌های دریافت‌کننده واکسن منفرد 4/91 و دریافت‌کننده واکسن مخلوط تجربی (H120 + 4/91) با هم مشابه و بدون اختلاف معنی‌داری بودند اما این دو گروه با گروه‌های عدم دریافت واکسن و دریافت‌کننده واکسن منفرد H120 دارای اختلاف معنی‌داری بودند.

از نظر متاپلازی بافت پوششی همه‌ی گروه‌های مورد مطالعه مشابه و بدون اختلاف معنی‌دار بودند. از نظر خونریزی بافت پوششی گروه‌های دریافت‌کننده واکسن منفرد H120 و



نگاره ۳- هایپرپلازی بافت پوششی استوانه شبه مطبق مژه دار و پرخونی در نای، [هایپرپلازی (پیکان سبز)، پرخونی زیر مخاط (پیکان قرمز)] (H&E, 40×).



نگاره ۴- متاپلازی سنگ‌فرشی بافت پوششی (H&E, 40×).

تجزیه و تحلیل آماری نتایج نشان دهنده ی وجود اختلاف معنی‌دار در بین گروه‌های مختلف دریافت‌کننده واکسن منفرد، و مخلوط تجربی برونشیت عفونی از لحاظ جراحات آسیب شناسی در نای بود ($p < 0.05$) (جدول ۱).

از نظر پرخونی در زیر مخاط بافت پوششی گروه‌های عدم دریافت واکسن و دریافت‌کننده واکسن منفرد H120 مشابه بودند و اختلاف معنی‌داری دیده نشد. همچنین بین گروه دریافت‌کننده‌ی واکسن مخلوط تجربی (H120 + 4/91) با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت.

از نظر نفوذ سلول‌های التهابی در مخاط و زیر مخاط بین گروه دریافت‌کننده مخلوط تجربی (H120 + 4/91) با سایر گروه‌ها

از نظر میانگین کل جراحات بین گروه‌های دریافت‌کننده واکسن مخلوط تجربی با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری دیده شد همچنین در بین گروه‌های عدم دریافت واکسن و گروه دریافت‌کننده واکسن ۴/۹۱ اختلاف معنی‌داری وجود داشت در حالی که گروه دریافت‌کننده واکسن H120 بصورت منفرد با گروه‌های دریافت‌کننده واکسن ۴/۹۱ بصورت منفرد و گروه عدم دریافت واکسن اختلاف معنی‌داری نداشت.

دریافت‌کننده واکسن منفرد ۴/۹۱ با هم مشابه و بدون اختلاف معنی‌دار بودند در حالی که گروه عدم دریافت واکسن با سایر گروه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری بود، همچنین گروه دریافت‌کننده واکسن مخلوط تجربی (H120+4/91) با سایر گروه‌های دارای اختلاف معنی‌داری بود.

از نظر جداسازی و نکروز بافت پوششی نتایج به‌دست آمده مشابه نتایج به‌دست آمده در خونریزی بافت پوششی بود.

جدول ۱- میانگین درجه جراحات نای در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

گروه چهار	گروه سه	گروه دو	گروه یک	گروه‌ها	جراحات
(عدم دریافت واکسن)	(دریافت‌کننده واکسن)	(دریافت‌کننده واکسن)	(دریافت‌کننده واکسن منفرد H120)		
(واکسن)	مخلوط تجربی (H120 + 4/91)	منفرد (4/91)	واکسن منفرد H120)		
0/0 ± 80/44 ^a	2/0 ± 80/44 ^c	1/0 ± 66/51 ^b	0/0 ± 75/50 ^a		پرخونی در زیر مخاط بافت پوششی
0/0 ± 80/44 ^a	2/0 ± 80/44 ^b	0/0 ± 50/54 ^a	0/0 ± 50/57 ^a		نفوذ سلول‌های التهابی در مخاط و زیر مخاط
1/0 ± 20/44 ^{ab}	2/0 ± 0/70 ^b	0/0 ± 83/75 ^a	0/0 ± 50/57 ^a		از دست دادن مژه‌ها
0/0 ± 60/54 ^a	2/0 ± 20/83 ^b	1/0 ± 33/51 ^{ab}	1/0 ± 25/50 ^{ab}		کاهش غدد مخاط
0/0 ± 20/44 ^a	1/0 ± 80/83 ^b	1/0 ± 16/40 ^b	0/0 ± 50/57 ^c		هایپرپلازی بافت پوششی
1/0 ± 40/54 ^a	0/0 ± 80/83 ^a	1/0 ± 25/50 ^a	1/0 ± 50/54 ^a		متاپلازی بافت پوششی
. b	2/0 ± 60/54 ^c	1/0 ± 50/54 ^a	1/0 ± 50/57 ^a		خونریزی بافت پوششی
. b	2/0 ± 60/54 ^c	1/0 ± 33/51 ^a	1/0 ± 50/57 ^a		جداسازی و نکروز بافت پوششی
0/0 ± 54/11 ^a	2/0 ± 34/23 ^c	1/0 ± 19/23 ^b	1/0 ± 03/41 ^{ab}		میانگین کل جراحات

• بالانویس‌های نامشابه در هر سطر نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین داده‌ها است (p < 0/05)

بحث

سروتیپ محافظت دهد و حفاظت متقابل در بین سروتیپ در برونشیت عفونی جزئی است (۶ و ۱۱). لذا در تدوین برنامه واکسیناسیون علیه این بیماری لازم است سروتیپ‌های شایع در منطقه شناسایی و صرفاً علیه آن‌ها واکسیناسیون صورت بگیرد. از بین سروتیپ‌های شایع در جهان سروتیپ Mass پراکندگی جهانی دارد (۱۰) و شیوع آن در ایران به گزارش آقاخان و همکاران در سال ۱۹۹۴ برمی‌گردد (۱) که از آن زمان علیه این سروتیپ در فارم‌های پرورش مرغ واکسیناسیون صورت می‌گیرد. پس از آن و با شناسایی

نتایج مطالعه اخیر نشان داد استفاده از واکسن ۴/۹۱ و H120 به‌طور هم‌زمان می‌تواند باعث واکنش واکسنی در سطح مخاطات دستگاه تنفس فوقانی گردد و عوارض پاتولوژی ایجاد کند که این واکنش واکسنی یا عوارض پاتولوژیک بطور معنی‌دار از زمانیکه این دو واکسن با فاصله استفاده شوند بیشتر است.

بیماری برونشیت عفونی دارای سروتیپ‌های زیادی است که معمولاً واکسن متعلق به یک سروتیپ می‌تواند علیه همان

زمانیکه از واکسن H120 همراه CRM در سن یک‌روزگی و از واکسن CRM در سن 14 روزگی استفاده شده است (2). این برنامه واکسیناسیون توانسته حفاظت 80 درصدی را علیه سروتیپ‌های هترولوگ ایجاد کند. متأسفانه در این مطالعات صرفاً به پاسخ ایمنی و حفاظت علیه ویروس برونشیت پرداخته شده است و واکنش‌های واکسنی و یا بروز علائم تنفسی که در فاصله‌های پرورش می‌تواند زمینه‌ساز فعالیت عفونت‌های ثانویه باشد، مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار نگرفته است. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که استفاده از واکسن H120 و 4/91 به تنهایی می‌تواند ایجاد ضایعات پاتولوژیک خفیفی در سطح نای داشته باشند اما زمانی که از این دو واکسن به طور همزمان استفاده شود ضایعات التهابی در سطح مخاطات نای بطور معنی‌دار افزایش می‌یابد. طبق اطلاعات موجود مطالعه مشابهی در این خصوص صورت نگرفته است. اما یافته‌های فرعی در مطالعاتی که از این دو واکسن برای افزایش دامنه حفاظت استفاده شده است می‌تواند در تأیید نتایج حاصله کمک کننده باشد. برای مثال Ganapathy و همکاران در سال 2016 برنامه‌های مختلف واکسیناسیون علیه Mass و 4/91 را با یکدیگر مقایسه کردند و اثر همزمان Ma5 و CRM را در سن یک‌روزگی بر میزان حفاظت جوجه‌ها بررسی کردند. در این مطالعه اگرچه استفاده هم‌زمان از این دو واکسن حفاظت مناسبی علیه سروتیپ‌های 4/91 و H120 حاصل کرده است اما یافته فرعی این مطالعه مشاهده علائم خفیف تنفسی بدنبال استفاده توأم از واکسن H120 و CRM در یک‌روزگی بوده است که حتی منجر به افزایش بیشتر تلفات در این گروه گردیده است (7). به جز این مطالعه، بررسی دیگری در تأیید یا رد یافته‌های مطالعه حاضر وجود ندارد. به‌طورکلی، بر اساس نتایج مطالعه اخیر بهتر است واکسن‌های مختلف برونشیت عفونی جهت القای عوارض پاتولوژیک کمتر در سطح مخاطات تنفسی با فاصله و به‌شکل مجزا استفاده شوند.

سروتیپ 4/91 در ایران، به منظور افزایش دامنه و وسعت حفاظت پرندگان در مقابل سروتیپ‌های شایع، معمولاً از دو یا چند نوبت واکسن برونشیت با سویه‌های مختلف سروتیپ Mass و 4/91 استفاده می‌شود. مطالعات مختلفی در ارتباط با استفاده از واکسن Mass و 4/91 جهت افزایش حفاظت پرنده‌ها علیه حتی سروتیپ‌های هترولوگ صورت گرفته است و نشان داده‌اند که استفاده از این برنامه واکسیناسیون می‌تواند در مناطقی که برونشیت عفونی شایع است، محافظت بهتری را القا کند (7 و 2، 5). برای مثال Cook و همکاران در سال 1999 برنامه‌های مختلف استفاده از Ma5 و واکسن 4/91 را بررسی کردند و بیان کردند زمانی که Ma5 در یک‌روزگی و واکسن 4/91 در 2 هفتهگی استفاده شود بیشترین تاثیر و حفاظت علیه چالش با ویروس‌های بیماری‌زای M41 و 4/91 حاصل می‌شود (5) و حتی اخیراً Chhabra و همکاران در سال 2015 بیان کردند که استفاده از واکسن H120 (از سروتیپ Mass) و CRM (از سروتیپ 4/91) می‌تواند پاسخ ایمنی مخاطی و سلولی بیشتر و یک حفاظت نسبی در مقابل QXIBV ایجاد کند در حالیکه اثری در زمانیکه فقط از واکسن H120 یا CRM در طول دوره پرورش استفاده شود، حاصل نمی‌شود (4). عدم تداخل در بین سویه‌های هترولوگ ویروس برونشیت و از طرفی نتایج مثبت استفاده از واکسن‌های 4/91 و Mass باعث ترویج استفاده از این برنامه واکسیناسیون در کشورهای شده است که دو تیپ Mass و 4/91 در آنجا شایع است. تا جایی که بعضاً برای افزایش وسعت حفاظت در سنین پایین‌تر از این دو واکسن به طور همزمان استفاده می‌شود. برای مثال Ganapathy و همکاران در سال 2016 بیان کردند که استفاده از H120 و CRM در سن یک‌روزگی می‌تواند پاسخ سرولوژی مناسب القا کند و علیه چالش ویروس بیماری‌زای M41 (از سروتیپ Mass) محافظت بدهد (7). در مطالعه Awad و همکاران در سال 2015

فهرست منابع

1. Aghakhan, S.M., Abshar, N., Fereidouni, S.R., Marunesi, C., Khodashenas, M. (1994): Studies on avian viral infectiones in Iran. Arch. Razi Inst. 44/45 1-5.
2. Awad, F., Forrester, A., Baylis, M., Lemiere, S., Ganapathy, K. (2015): Protection conferred by live infectious bronchitis vaccine viruses against variant Middle East IS/885/00-like and IS/1494/06-like isolates in commercial broiler chicks. Vet. Rec. Open 2(2) e000111.
3. Bancroft, J.D., Stevens, A. (1996): Theory and practice of histopathological techniques. Churchill livingstone, London. P: 100-110.
4. Chhabra, R., Forrester, A., Lemiere, S., Awad, F., Chantrey, J., Ganapathy, K. (2015): Mucosal, cellular, and humoral immune responses induced by different live infectious bronchitis virus vaccination regimes and protection conferred against infectious bronchitis virus Q1 strain. Clin. Vaccine Immunol. 22(9): 1050-1059.
5. Cook, J.K.A., Orbell, S.F., Woods, M.A., Huggins, M.B. (1999): Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes. Avian Pathol. 28: 477-485.
6. De Wit, J.J., Cook, J.K.A., van der Heijden Harold, M.J.F. (2011): Infectious bronchitis virus variants: a review of the history, current situation and control measures. Avian Pathol. 40: 223-235.
7. Ganapathy, K.C., Ball Forrester, A., Herrmann, A., Lemiere, S. (2016): Simultaneous vaccination of a live Newcastle disease and two live infectious bronchitis vaccines in commercial broiler chicks. In: Proceeding of 9th international symposium on avian corona and pneumoviruses, Utrecht, The Netherlands, 21-24 June, p: 52.
8. Gholami-Ahangaran, M., Charkhkar, S., Shoushtari, A.H. Bozorgmehri-Fard, M.H., Eshratbadi, F. (2008): Molecular identification and typing of infectiou bronchitis virus in respiratory cases of broiler chickens in Isfahn province. Iran. J. Vet. Sci. 3: 476-469.
9. Gholami-Ahangaran, M., Namjoo, A.R., Ataei-Naeini, B. (2012): The comparison of pathologic tracheal injuries, immune response and growth indices following using commercial combined and experimental mixed Newcastle and bronchitis live vaccines in broiler chickens. Iran. Vet. J. 8(1): 76-84.
10. Jackwood, M. (2012): Review of infectious bronchitis virus around the world. Avian Dis. 56: 634-641.
11. Jackwood, M.W., de Wit, S. (2013): Infectious bronchitis. In: Disease of Poultry, 13th edition (ed. Swayne DE, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Suarez DL, Nair VL). Wiley-Blackwell: Massachusetts; 139-161.
12. Nakamura, K., Narita, M., Imai, K., Matsumura, T., Maeda, M., Tanimura, T. (1992): The effect of mixed live vaccines of Newcastle disease and infectious bronchitis on the chicken respiratory tract. J. Comp. Pathol. 106(4): 341-50.
13. Nakamura, K., Ueda, H., Tanimura, T., Noguchi, K. (1994): Effect of mixed live vaccine (Newcastle disease and infectious bronchitis) and Mycoplasma gallisepticum on the chicken respiratory tract and on Escherichia coli infection. J. Comp. Pathol. 111(1): 33-42.