JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره یازدهم، شماره اول، ۱۳۹۴، پیاپی ۳۰: ۱۸-۱۱

مطالعه ارتباط بین ایمنی هومورال با دفع اووسیست در جوجه های آلوده به *ایمریا* و بررسی اثر درمان با سالینومایسین

فاطمه فخراحمد[۱]، صدیقه نبیان[۲*]، فاطمه عرب خزائلی[۳]

۱- دانشجوی دکترای تخصصی انگل شناسی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲- دانشیار بخش انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- استادیار بخش انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۹ بهمن ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: ۱ خرداد ۱۳۹۳

چکیده

این مطالعه به منظور ارزیابی پاسخ ایمنی هومورال در پرندگان آلوده به عفونت های مخلوط ایمریا شامل ایمریا ماکزیما، ایمریا تنلا، ایمریا نکاتریکس، ایمریا آسرولینا، ایمریا برونتی و ایمریا میتیس، قبل و پس از درمان با سالینومایسین انجام شد. همچنین ارتباط سطح آنتی بادی با دفع اووسیست نیز مورد مطالعه قرار گرفت. تعداد ۴۰ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ به ۵ گروه شامل ۲ گروه آلوده و دارو خورده ، ۲ گروه آلوده بدون مصرف دارو و یک گروه کنترل منفی تقسیم شدند که یکی از گروه های آلوده با جدایه مازندران (جدایه ۱) و دیگری با جدایه همدان (جدایه ۲) آلوده شدند و ارزیابی آنتی بادی ها علیه کوکسیدیوز با استفاده از روش الا یزا انجام گردید. اندیس اووسیست در مورد پرندگان چالش شده با جدایه ۲ دریافت کننده سالینومایسین با گروه چالش شده با جدایه مربوطه و فاقد ترکیب ضدکوکسیدیایی در جیره، اختلاف معناداری را نشان داد ($P\leq 0/05$)، اما در مورد جدایه ۱ این اختلاف معنادار نبود. طبق نتایج بدست آمده حدت جدایه ۲ بیش از جدایه ۱ بوده است. از لحاظ میزان جذب سرمی تنها بین گروه کنترل منفی با ۴ گروه دیگر اختلاف آماری معنادار وجود داشت ($P\leq 0/05$). چالش با اووسیست ها با هر دو جدایه سبب تحریک سیستم ایمنی از جهت تولید پادتن گردید و استفاده از سالینومایسین تاثیری روی میزان آن نداشته است. طبق نتایج بدست آمده، میان میزان دفع اووسیست و سطح آنتی بادی، تطابقی وجود ندارد.

کلمات کلیدی *ایمریا، ایمنی هومورال، اووسیست، سالینومایسین، الا یزا*

**نویسنده مسئول: صدیقه نبیان*

آدرس: دانشیار بخش انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

پست الکترونیک: nabian@ut.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

کوکسیدیوز از مهم‌ترین بیماری های انگلی طیور به شمار می آید که موجب خسارات اقتصادی فراوان در صنعت پرورش طیور می گردد. این بیماری توسط گروهی از تک یاخته ها متعلق به شاخه *اپی کمپلکسا*، رده *اسپوروزوآ*، زیررده *کوکسیدیا* و جنس *ایمریا* ایجاد می شود. کوکسیدیوز بر سیستم ایمنی اثر گذاشته و سیستم دفاعی را مختل می نماید. ایمنی در برابر کوکسیدیا شامل ایمنی سلولی و هومورال است. پاسخ سلولی نقش عمده ای در مقاومت علیه کوکسیدیوز ایفا می نماید. واکنش انگل با لنفوسیت های روده از ویژگی های مهم پاسخ ایمنی دستگاه گوارش است (۱۴). بافت های لنفوئیدی وابسته به لوله گوارش سبب بروز پاسخ های ایمنی اکتسابی در ماکیان علیه کوکسیدیا می شود (۲۱). همچنین بسیاری از محققین نقش پادتن ها را نیز در ایجاد ایمنی حفاظتی مورد توجه قرار داده اند (۱۹). وجود تیتر پادتن های سرمی، نمایانگر تماس اولیه میزبان با *ایمریا* بوده و احتمالا به موازات ایمنی سلولی در کنترل آلودگی ایفای نقش می نماید (۶). این تک یاخته موجب تاخیر در رشد، کاهش وزن، قانقاریایی شدن و پارگی سکوم، تخریب بافتی و به دنبال آن تکثیر بعضی از باکتری های بیماری زا نظیر *کلستریدیوم پرفرینجنس* و *سالمونلا تیفی موریوم* می‌گردد (۴). اووسیست های کوکسیدیایی در همه جا گسترش یافته و به سادگی در بستر مرغداری اسپوروله می شوند. تنها راه انتقال بیماری خوردن اووسیست های هاگدار زنده است (۱۱). کاستانون و همکاران (۲۰۰۷) روشی ابداع نمودند که با آنالیز کامپیوتری عکس های دیجیتال تهیه شده از گسترش های میکروسکوپی، شناسایی اووسیست های *ایمریا* را ممکن نموده است (۵). در کنار اقدامات مدیریتی، استفاده از دارو و واکسن به عنوان روش بسیار مهم در کنترل کوکسیدیوز کاربرد دارد (۳). در کشور ما علیرغم استفاده مداوم از داروهای ضدکوکسیدیایی در جیره، کوکسیدیوز مشکل عمده ای برای صنعت طیور محسوب می گردد (۱۳). غیرممکن بودن ریشه کنی کوکسیدیوز از یک سو و سهولت پیشگیری با تجویز دارو در غذا، هزینه اندک و نیاز به نیروی کار اندک سبب شده تا این روش پیشگیری در پرورش طیور همچنان ادامه داشته باشد. داروی مورد استفاده در طرح حاضر سالینومایسین می باشد که یک آنتی کوکسیدیال یونوفوره حاصل از استرپتومایسین آلبوس بوده که بر روی مروزوئیت، اسپوروزوئیت و شیزونت های بالغ تمام گونه های *ایمریا* اثر می گذارد. آمپرولیوم مدتی جهت پیشگیری و کنترل کوکسیدیوز به کار می رفت اما با ورود یونوفوره ها استفاده از این ترکیب کاهش یافت. در یک مطالعه، اثر ضدکوکسیدیایی گیاه درمنه خزری با داروهای سالینومایسین و آمپرولیوم مقایسه گردید که در گروه دریافت کننده ی دارو کاهش معنادار در دفع اووسیست دیده شده است (۱) . اکثر محققین صرفا اثربخشی دارو را بر دفع اووسیست، جراحات روده ای، افزایش وزن و... مورد بررسی قرار داده اند، در حالی که هدف از این تحقیق ، علاوه بر بررسی اثر دارو بر میزان دفع اووسیست ، بررسی ارتباط میان اندیس اووسیست با تیتر آنتی بادی نیز می باشد. تا کنون به منظور تعیین میزان پادتن های سرمی از روش هایی از جمله ایمونوفلورسنت، فلوسیتومتری، آگلوتیناسیون، پرسی پیتاسیون، نوترالیزاسیون و الایزا استفاده گردیده است. روش کار در مطالعه حاضر، الایزا می باشد. تعدادی از محققین در گذشته از روش الایزا جهت اندازه گیری آنتی بادی ها علیه *ایمریا* استفاده کردند (۱۶،۱۲، ۱۷ و ۱۸).

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش کار

جدایه های مزرعه ای *ایمریا* از ۵۰ مزرعه طیور صنعتی از استان های مختلف جمع آوری و دو جدایه مازندران (جدایه ۱) و همدان (جدایه ۲) که بیشترین تعداد اووسیست را دارا بودند، جهت آلوده سازی تجربی مورد استفاده قرار گرفتند. روده ها و نمونه های بستر به بخش انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل شدند. نمونه ها مطابق روش استاندارد جداسازی اووسیست های *ایمریا* مورد فرآوری قرار گرفتند (۷ و ۱۰). محتویات روده با میکروسکوپ نوری بررسی و در صورت مثبت بودن، روده ها به همراه دیکرومات پتاسیم ۲/۵ ٪ خرد شدند تا اووسیست های اسپوروله نشده آزاد گردند. این مخلوط فیلتر و سوسپانسیون باقی مانده با سرعت ۸۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. جهت خالص سازی اووسیست ها، محلول شکر اشباع اضافه گردیده و سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه انجام شد. اووسیست ها با محلول دی کرومات پتاسیم ۲/۵ درصد رقیق شده و به مدت ۷۲ ساعت به منظور هاگدار شدن نگهداری شدند. تعداد اووسیست های موجود در هر نمونه با استفاده از لام هموسایتومتر و بر اساس روش Conway و McKenzie شمارش گردید (۷). جدایه انتخابی به جوجه ها تلقیح و از روز ۵ تا ۱۰ پس از تلقیح ، مدفوع جمع آوری شده و اووسیست های دفعی تخلیص گردیدند. بر اساس شمارش های ابتدایی و درصد تقریبی گونه ها در هر جدایه و با توجه به مشاهدات در زمان تکثیر جدایه، دز عفونی به گونه ای تنظیم شد که بیشترین کاهش وزن و کمترین مرگ ومیر را در پرندگان داشته باشد. تعداد تقریبی ۳۰۰۰۰۰-۲۵۰۰۰۰ اووسیست به عنوان دز عفونی در زمان تکثیر استفاده شد. در ۴ روزگی ۳۴ قطعه از جوجه ها از طریق آب آشامیدنی داروی سالینومایسین را دریافت نمودند. در ۷ روزگی از جوجه های دارو داده شده و دارو داده نشده نمونه خون اخذ و سرم آنها جهت انجام ELISA جدا گردید. سپس جوجه ها به ۴ گروه تقسیم گردیدند. در ۱۴ روزگی جوجه های دارو داده شده و دارو داده نشده به صورت داخل چینه دانی مورد تلقیح سوسپانسیونی از مخلوط اووسیست های *ایمریایی* قرار گرفتند.در سن ۲۱ روزگی تمام جوجه ها کشتار و به گروه های زیر تقسیم گردیدند:

۱) جوجه های آلوده شده با جدایه ۱ و درمان شده
۲) جوجه های آلوده شده با جدایه ۱ بدون مصرف دارو
۳) جوجه های آلوده شده با جدایه ۲ و درمان شده
۴) جوجه های آلوده شده با جدایه ۲ بدون مصرف دارو
۵) جوجه های فاقد آلودگی بدون دریافت دارو (کنترل منفی)

در ۷ روزگی، از گروه های دارو داده شده و دارو داده نشده نمونه خون تهیه گردید. یک هفته پس از تلقیح دز عفونی(در ۲۱ روزگی هنگام سر بریدن)، مجددا نمونه خون جمع آوری گردید. محتویات روده طیور نیز جمع آوری شد. برای تهیه پادگن از روش والاش استفاده گردید (۲۰). مایع پادگنی با روش Warburge پروتئین سنجی شد (۹). در این بررسی از الایزای رقابتی غیر مستقیم استفاده شده است. به منظور دستیابی به بهترین غلظت پادگن و رقت سرمی از روش چکربورد استفاده شد.

پس از انجام الایزا، با استفاده از دستگاه خواننده الایزا با طول موج ۴۰۵ نانومتر جذب سرمی گوده ها ثبت گردید. به منظور کنترل مراحل مختلف کار همیشه در هر پلیت یک سرم کنترل مثبت و یک سرم کنترل منفی نیز وجود داشت. در ۲۱ روزگی گروه های مورد آزمایش ذبح و روده های آنها به آزمایشگاه منتقل شد.

Archive of SID

www.SID.ir

پس از خالی کردن محتویات هر روده اووسیست ها با استفاده از لام ماک ماستر مورد شمارش قرار گرفت. اندیس صفر تا ۵ به طور میانگین و پس از محاسبه میانگین تعداد اووسیست ها در پنج میدان میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۲۰ به صورت زیر ثبت شد:

۰: عدم وجود اووسیست در هر میدان میکروسکوپی

۱: ۱۰-۱ اووسیست در هر میدان میکروسکوپی

۲: ۲۰-۱۱ اووسیست در هر میدان میکروسکوپی

۳: ۵۰-۲۱ اووسیست در هر میدان میکروسکوپی

۴: ۱۰۰-۵۰ اووسیست در هر میدان میکروسکوپی

۵: بیش از ۱۰۰ اووسیست در هر میدان میکروسکوپی

تجزیه و تحلیل داده ها به روش T-test و ANOVA یک طرفه، توسط SPSS 18 انجام گرفت.

نتایج

درصد گونه ها در هر جدایه پس از شمارش و اندازه گیری ۱۰۰ اووسیست اسپورولوه و تعیین اندیس شکل (طول/عرض) به شرح زیر به دست آمد. در جدایه ۱ که متعلق به استان مازندران بود بیشترین تعداد اووسیست به *ایمریا ماکزیما* (۳۴ درصد) اختصاص داشت و بیشترین تعداد اووسیست در جدایه ۲ متعلق به استان همدان مربوط به *ایمریا آسروولینا* (۴۰ درصد) بود (جدول ۱). اندیس اووسیست در مورد پرندگان چالش شده با جدایه ۲ دریافت کننده سالینومایسین برابر با ۲ بوده که با گروه چالش شده با جدایه مربوطه و فاقد ترکیب ضدکوکسیدیایی در جیره که برابر با ۲/۶۱ بود، اختلاف معناداری ($P\leq 0/05$) را نشان داد اما در مورد جدایه ۱ این اختلاف معنادار نبود. جدایه ۲ بدون دریافت دارو با میانگین ۲/۶۱ باتمام گروه ها دارای اختلاف آماری معنادار ($P\leq 0/05$) بود (جدول ۲). در جوجه های آلوده شده با جدایه ۱ درمان شده با سالینومایسین میانگین جذب سرمی سرم این جوجه ها برابر ۰/۲۲۸ و میانگین جذب سرمی سرم ها در گروه آلوده شده با جدایه ۱ بدون مصرف دارو برابر ۰/۲۵۸ بوده است. همچنین در مورد جدایه ۲، میانگین جذب سرمی در گروه درمان شده با سالینومایسین برابر ۰/۲۳۴ و در گروه آلوده شده بدون مصرف دارو برابر ۰/۳۳۱ بود. میانگین میزان جذب سرمی در گروه کنترل منفی برابر با ۰/۰۵۱ بود.

جدول ۱- درصد گونه های *ایمریا* در هر یک از جدایه های بدست آمده از دو استان مازندران و همدان

جدایه	*E. acervulina*	*E. brunette*	*E.maxima*	*E.mitis*	*E. tenella*	*E. necatrix*
۱[a]	۲۴	۶	۳۴	۱۶	۱۸	۲
۲[b]	۴۰	۱۵	۲۵	۸	۶	۶

[a]: نمونه استان مازندران / [b]: نمونه استان همدان

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۲- اثر درمان با سالینومایسین بر اندیس اووسیست جوجه های گوشتی آلوده شده با ۲ جدایه مزرعه ای *ایمریا*

گروه	OD	اندیس اووسیست
س۱	۰/۲۲۸^{a}	۱^{cd}
س۲	۰/۲۳۴^{a}	۲^{b}
۳	۰/۲۵۸^{a}	۰/۷۵^{d}
٤	۰/۳۳۱^{a}	۲/۶۱^{a}
٥	۰/۰۵۱^{b}	۰

جدول ۳- نتایج حاصل از بررسی ارتباط میان OD و اندیس اووسیست

گروه	روده بالایی ۰+۱+۲+۳+٤+٥	روده میانی ۰+۱+۲+۳+٤+٥	روده پایینی ۰+۱+۲+۳+٤+٥	سکوم ۰+۱+۲+۳+٤+٥	میانگین
س۱	۲ ۰ ۳ ۲ ۲	۰ ۰ ۰ ۱ ۸ ۰	۰ ۰ ۰ ۰ ۵ ۴	۰ ۰ ۰ ۰ ۳ ۶	۱^{cd}
س۲	۱ ۰ ۰ ۱ ۳ ۴	۰ ۰ ۳ ۴ ۲ ۰	۰ ۰ ۱ ۱ ۳ ۴	۷ ۰ ۰ ۰ ۰ ۲	۲^{b}
۳	۰ ۰ ۰ ۰ ۹ ۰	۰ ۰ ۰ ۰ ۹ ۰	۰ ۰ ۰ ۰ ۹ ۰	۰ ۰ ۰ ۰ ۰ ۹	۰/۷۵^{d}
٤	۱ ۱ ۳ ۱ ۲ ۱	۱ ۰ ۲ ۰ ۵ ۱	۰ ۰ ۲ ۱ ۴ ۲	۸ ۱ ۰ ۰ ۰ ۰	۲/۶۱^{a}
٥	۰ ۰ ۰ ۰ ۰	۰ ۰ ۰ ۰ ۰ ۰	۰ ۰ ۰ ۰ ۰	۰ ۰ ۰ ۰ ۰ ۰	۰

حروف لاتین متفاوت در هر ستون: تفاوت آماری معنادار میان گروه ها / س۱: گروه آلوده شده با جدایه۱درمان شده با سالینومایسین/ س۲: گروه آلوده شده با جدایه۲درمان شده با سالینومایسین/ ۳و۴: به ترتیب گروه های آلوده شده با جدایه های ۱و۲ درمان نشده/ ۵: گروه آلوده نشده و درمان نشده (کنترل منفی)

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از بررسی ارتباط دارو با سطح سرمی نشان داد که میانگین جذب سرمی در جوجه های آلوده شده با جدایه ۱ درمان شده با سالینومایسین با گروه آلوده شده با جدایه ۱ بدون مصرف دارو از نظر آماری اختلاف معناداری نداشته است که بنظر می رسد مصرف دارو تفاوتی را در سطح سرمی در آلودگی با این جدایه نشان نداده است. در مورد جوجه های آلوده شده با جدایه ۲ و درمان شده با داروی سالینومایسین در مقایسه با جدایه ۲ بدون مصرف دارو، میانگین جذب سرمی از لحاظ آماری تفاوتی را نشان نمی دهد. از لحاظ میانگین میزان جذب سرمی، تنها بین گروه کنترل منفی با ۴ گروه دیگر اختلاف آماری معنادار وجود داشت ($P\leq 0/05$). اما میان هیچیک از ۴ گروه دیگر با هم اختلاف معناداری مشاهده نشد.این نتیجه حکایت از آن دارد که در هر صورت چالش با اووسیست ها با هر دو جدایه سبب تحریک سیستم ایمنی از جهت تولید پادتن گردیده و استفاده از سالینومایسین تاثیری روی میزان آن نداشته است. همچنین این گروه ها بطور مشخصی با جوجه های گروه فاقد آلودگی و بدون دریافت دارو (میانگین ۰/۰۵۱) اختلاف معناداری داشته‌اند. سطح آنتی بادی در سرم های مختلف متفاوت بوده است که تنوع در سطوح آنتی بادی پرندگان آلوده نیز احتمالا طبیعی بوده و ممکن است مربوط به اختلافاتی در تشخیص آنتی ژن های گونه های مختلف *ایمریا* توسط سیستم ایمنی جوجه ها باشد. با بررسی گروه های چالش شده بدون دریافت دارو، می توان چنین بیان نمود که جدایه ۲ از استان همدان حدت بیشتری در مقایسه با جدایه ۱ از استان مازندران داشته است. بیشترین درصد گونه در جدایه ۱ مربوط به *ایمریا ماکزیما* و در جدایه ۲، فراوانترین گونه *ایمریا آسرولینا* بوده است (جدول ۱). در برخی از تحقیقات انجام شده، سویه‌هایی از *ایمریای* پرندگان دارای بیماریزایی مختلف در مناطق جغرافیایی مختلف ایران شناسایی شده است. در مطالعه چرخکار و همکاران (۱۳۸۶) بیماریزایی *ایمریا تنلا* در مناطق مختلف با یکدیگر

Archive of SID

تفاوت داشتند به نحوی که گونه جداشده از استان مازندران و خراسان مرگ و میری را سبب نشد، اما *ایمریا تنلا* جدا شده از استان اصفهان تا ۲۰ درصد و انواع جداشده از استان های یزد و قزوین ۴۰ درصد مرگ و میر را نشان دادند (۲).

در طرح حاضر، ارتباط میان سطح آنتی بادی با دفع اووسیست بررسی گردید (جدول ۳) که حاکی از عدم تطابق میان میزان دفع اووسیست و سطح آنتی بادی بوده و با مطالعات تعدادی از محققین مطابقت دارد (۸، ۱۵ و ۱۸). نتیجه حاصل، نشاندهنده این موضوع است که میان سطح آنتی بادی با ایمنی حفاظتی ارتباطی وجود ندارد. بنظر می رسد عقیده کلی در مورد اثرات آنتی بادی های *ضدایمریا* و عدم وجود تطابق میان سطح آنتی بادی و حفاظت بدین صورت باشد که اولا" همه آنتی بادی ها حفاظت کننده نمی باشند و ثانیا" آن دسته از آنتی بادی ها که دارای اثر حفاظتی می باشند در مقادیر اندک حضور دارند.

در پایان پیشنهاد می گردد که طرح حاضر در دامنه وسیعتری برای آلودگی های مختلف *ایمریایی* به صورت تک گونه ای انجام گرفته و بررسی های بیشتری جهت نشان دادن حضور احتمالی مقاومت علیه داروهای مختلف صورت پذیرد، ممکن است برخی گونه ها به داروی خاصی مقاوم باشند.

منابع

۱. ترابی گودرزی، م.، یگانه پرست، م.، اسماعیل نیا، ک. (۱۳۸۲). بررسی اثرات ضدکوکسیدیایی گیاه درمنه خزری بر *ایمریا تنلا* در جوجه های گوشتی و مقایسه آن با سالینومایسین و آمپرولیوم. *پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان*، شماره ۶۱، صفحات ۷۵-۷۰.

۲. چرخکار، س.، بزرگمهری فرد، م.، رهبری، ص.، کیائی، م.، حسنی طباطبائی، ع. (۱۳۸۶). شناسایی گونه های *ایمریاهای* ماکیان در ایران بر اساس خصوصیات زیست شناسی، *مجله تحقیقات دامپزشکی*، دوره ۶۲، شماره ۶، صفحات ۴۱۵-۴۱۱.

3. Allen, P.C., Fetterer, R.H. (2002). Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. *Clinical Microbiology Review* **15**: 58-65.

4. Calnek, B.W., Barnes, H.J., Beard, C.W., Reid, W.M., Yoder, H.W. (1991). *Diseases of Poultry*. 9th Edition, Lowa State University Press. Wolfe Publishing Ltd., London.

5. Castanon, A.B.C., Fraga, J.S., Fernandez, S., Gruber, A., Costa, L.D.F. (2007). Biomorphological shape characterization for automatic image recognition and diagnosis of protozoan parasites of the genus *Eimeria*. *Pattern Recognition* **40**: 1899-910.

6. Constantinio, C.C., Molloy, J.B., Jorgensen, W.K., Coleman, G.T. (2008). Antibody response against endogenous stages of an attenuated strain of *Eimeria tenella*. *Veterinary Parasitology* **154**: 193-204.

7. Conway, D.P., McKenzie, M.E. (2007). *Poultry Coccidiosis Diagnosis and Testing Procedures*. 3rd Edition, Blackwell Publishing, Iowa, USA.

8. Gilbert, J.M., Bhanushali, J.K., McDougald, L.R. (1988). An enzyme-linked immunosorbent assay for coccidiosis in chicken: Correlation of antibody levels with prior exposure to coccidian in the laboratory and in the field. *Avian Diseases* **32**: 688-94.

9. Hudson, L., Hay, F.C. (1989) *Practical Immunology*. 3rd Edition, Blackwell Publishing, Caton, London.

10. Holdworth, P.A., Conway, D.P., McKenzie, M.E., Dayton, A.D.,

Archive of SID

www.SID.ir

Chapman, H.D., Mathis, G.F., Skinner, J.T., Mundt, H.C., Williams, R.B. (2004). World association for advancement of veterinary parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of anticoccidial drugs in chickens and turkeys. *Veterinary Parasithology* **121**: 189-212.

11. Jenkins, M.C., Chute, M.B., Danforth, H.D., Lillehoj, H.S. (1995). Gamma irradiated and non-irradiated *Eimeia tenella* sporozoite exhibit differential uracil uptake and expression of a 7 to 10 KD metabolic antigen. *Experimental Parasitology* **80**: 645-53.
12. Kiani, R., Farhang, H.H. (2008). Development of an ELISA test for serological diagnosis of coccidial infection and studing of resistance against coccidiostats based on flock history. *Asian Journal of Biological Sciences* **1**: 77-83.
13. Kiani, R., Rasadi, M., Mohammadian, M.N. (2007). Sources and routes of introduction of *Eimeria* oocysts into broiler chick's houses. *International Journal of Poultry Science* **6**: 925-7.
14. Lillehoj, H.S. (1996). Immunity and host genetic based control strategies for avian coccidiosis. *Misset World poultry* **35**: 17-19.
15. Lillehoj, H.S. (1989). Intestinal intraepithelial and splenic natural killer ce11 responses to *Eimerian* infections in inbred chickens. *Infection and Immunity* **57**: 1879-84.
16. Rose, M.E., Mocket, A.P.A. (1983). Antibodies to coccidian: detection by the enzyme- linked immunoassay (ELISA). *Parasite Immunology* **5**: 479-89.
17. Smith, N.C. (1994). Maternal transmission of immunity to *Eimeria maxima*: enzyme- linked immunosorbent assay (ELISA) analysis of protective antibodies induced by infection. *Infection and Immunity* **62**: 1348-57.
18. Talebi, A., Mulcahy, G. (1995). Correlation between immune responses and oocyst production in chicken's monospecifically infected with *Eimeria maxima*. *Avian Pathology* **24**: 485-95.
19 .Wallach, M., Halabi, A., Pillemer, G., Sar Shalom, O., Mencher, D., Gilad, Bendheim, U., Danforth, H.D., Augustine, P.C. (1992). Maternal immunization with gametocyte antigens as a means of providing immunity against *Eimeria maxima* in chickens. *Infection and Immunity* **60**: 2036-9.
20. Wallach, M., Smith, N.C., Miller, C.M.D., Ecket, J., Rose, M.E. (1994). *Eimeria maxima:* ELISA and western blot analyses of protective sera. *Parasite Immunology* **16**: 377-83.
21. Wallach, M., Smith, N.C., Petracca, M., Miller, C.M.D., Eckert, J., Braun, R. (1995). *Eimeria maxima* gametocyte antigens: Potential use in a subunit maternal vaccine against coccidiosis in chickens. *Vaccine* **13**: 347-54.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 11, Issue 1, 2015

Study on the Relationship between Humoral Immunity and Oocyst Shedding in *Eimeria* Infected Chickens and the Effect of Treatment with Salinomycin

Fakhr-Ahmad, F.[1], Nabian, S.[2]*, Arab-Khazaeli, F.[3]

1-PhD Student of Parasitology, Faculty of Specialized Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Associate Professor, Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
3- Assistant Professor, Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received date: 8 February 2014 *Acceptance date: 22 May 2014*

Abstract: *The purpose of this study is to evaluate humoral immunity response in broiler chickens with mixed Eimeria infection, before and after treating by Salinomycin. The relation between the antibody titer and oocyst shedding was also investigated. Forty Ross 308 chicks were divided into 5 groups including 2 infected groups which had been fed with drug, 2 infected groups without treatment, and one as negative control. One of the infected groups was selected from Mazandaran (denoted as category1) and the other from Hamedan (denoted as category2). The antibody titer was assessed using ELISA test. In treated chickens of category 2, OPG (oocyst per gram) had a more significant difference (P≤ 0/05) than non-treated chickens of the same category. While in category 1, there was no significant difference for this index. The results showed more virulence in category 2 compared to category 1. There was a significant difference of OD (optical density) in the negative control group compared to the other four groups (P≤ 0/05). Both groups fed with oocysts showed stimulation of the immunity system to generate antibody, however its amount was not affected by Salinomycin. The results showed that there is no significant relation between oocyst shedding and antibody titers.*

Keywords: *Eimeria, Humoral immunity, Oocyst, Salinomycin, ELISA*

**Corresponding Author: Nabian, S*
Address: Associate Professor, Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
Email: nabian@ut.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir