

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

فاطمه فخر احمد^۱، صدیقه نبیان^{۲*}، فاطمه عرب خزانی^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 پذیرش: ۱ خرداد ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۹ بهمن ۱۳۹۲

چکیده

این مطالعه به منظور ارزیابی پاسخ ایمنی هومورال در پرندگان آلوده به عفونت های مخلوط ایمریا شامل ایمریا ماکزیمیا، ایمریا تنلا، ایمریا نکاتریکس، ایمریا آسرولینا، ایمریا برونٹی و ایمریا میتیس، قبل و پس از درمان با سالینومایسین انجام شد. همچنین ارتباط سطح آنتی بادی با دفع اووسیت 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 الیزا انجام گردید. اندیس اووسیت در مورد پرندگان چالش شده با جدایه ۲ دریافت کننده سالینومایسین با گروه چالش شده با جدایه مربوطه و فاقد ترکیب ضد کوکسیدیایی 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 اووسیت 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 اووسیت و سطح آنتی بادی، تطابقی وجود ندارد.

کلمات کلیدی ایمریا، ایمنی هومورال، اووسیت، سالینومایسین، الیزا

*نویسنده مسئول: صدیقه نبیان

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

پست الکترونیک: nabian@ut.ac.ir

مقدمه

کوکسیدیوز از مهم ترین بیماری های انگلی طيور به شمار می آید که موجب خسارات اقتصادی فراوان در صنعت پرورش طيور می گردد. این بیماری توسط گروهی از تک یاخته ها متعلق به شاخه /پی 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 تیترا پادتن های سرمی، نمایانگر تماس اولیه میزبان با /ایمریا بوده و احتمالاً 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 می - گردد (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 دیجیتالی 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 ضد کوکسیدیایی در جیره، کوکسیدیوز مشکل عمده ای برای صنعت طيور 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 طيور همچنان ادامه داشته باشد. داروی مورد استفاده در طرح حاضر سالینومايسين می باشد که یک آنتی کوکسیدیا ل یونوفوره حاصل از استرپتومايسين 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 ضد کوکسیدیایی گیاه درمنه خزری با داروهای سالینومايسين و آمپرولیوم مقایسه گردید که در گروه دریافت کننده ی دارو کاهش معنادار در دفع اووسیست دیده شده است (۱). اکثر محققین صرفاً 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 تیترا 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 الیزا استفاده گردیده است. روش کار در مطالعه حاضر، الیزا می باشد. تعدادی از محققین در گذشته از روش الیزا جهت اندازه گیری آنتی بادی ها علیه /ایمریا استفاده کردند (۱۲، ۱۶، ۱۷ و ۱۸).

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 اوویسیست 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 اوویسیست 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 اوویسیست های اسپوروله نشده آزاد گردند. این مخلوط فیلتر و سوسپانسیون باقی مانده با سرعت ۸۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. جهت خالص سازی اوویسیست ها، محلول شکر اشباع اضافه گردیده و سانتریفیوژ با سرعت ۴۰۰ دور در دقیقه انجام شد. اوویسیست ها با محلول دی کرومات پتاسیم ۲/۵ درصد رقیق شده و به مدت ۷۲ ساعت به منظور هاگدار شدن نگهداری شدند. تعداد اوویسیست 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 اوویسیست 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 و میر را در پرندگان داشته باشد. تعداد تقریبی ۳۰۰۰۰۰-۲۵۰۰۰۰ اوویسیست 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 اوویسیست 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)، مجدداً 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 چکربرد 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.

داشت و بیشترین تعداد اووسیست در جدایه ۲ متعلق به استان همدان مربوط به *ایمریا آسرولینا* (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 ضد کوکسیدیایی 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 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.

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: ۱-۱ اووسیست در هر میدان میکروسکوپی
 - ۲: ۲-۱۱ اووسیست در هر میدان میکروسکوپی
 - ۳: ۲۱-۵۰ اووسیست در هر میدان میکروسکوپی
 - ۴: ۵۰-۱۰۰ 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 اسپوروله 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 ماکریمما* (۳۴ درصد) اختصاص

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

جدایه	<i>E. acervulina</i>	<i>E. brunette</i>	<i>E. maxima</i>	<i>E. mitis</i>	<i>E. tenella</i>	<i>E. necatrix</i>
۱ ^a	۲۴	۶	۳۴	۱۶	۱۸	۲
۲ ^b	۴۰	۱۵	۲۵	۸	۶	۶

^a: نمونه استان مازندران / ^b: نمونه استان همدان

جدول ۲- اثر درمان با سالینومایسین بر اندیس اووویست جوجه های گوشتی آلوده شده با ۲ جدایه مزرحه ای /ایمریا

گروه	OD	اندیس اووویست
س ۱	۰/۲۲۸ ^a	۱ ^{cd}
س ۲	۰/۲۳۴ ^a	۲ ^b
۳	۰/۲۵۸ ^a	۰/۷۵ ^d
۴	۰/۳۳۱ ^a	۲/۶۱ ^a
۵	۰/۰۵۱ ^b	۰

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

گروه	روده بالایی +۵ +۴ +۳ +۲ +۱ ۰	روده میانی +۵ +۴ +۳ +۲ +۱ ۰	روده پایینی +۵ +۴ +۳ +۲ +۱ ۰	سکوم +۵ +۴ +۳ +۲ +۱ ۰	میانگین
س ۱	۲۰۰۰۳۲۲	۰۰۰۱۸۰	۰۰۰۰۵۴	۰۰۰۰۳۶	۱ ^{cd}
س ۲	۱۰۰۱۳۴	۰۰۳۴۲۰	۰۰۱۱۳۴	۷۰۰۰۰۲	۲ ^b
۳	۰۰۰۰۹۰	۰۰۰۰۹۰	۰۰۰۰۹۰	۰۰۰۰۰۹	۰/۷۵ ^d
۴	۱۱۳۱۲۱	۱۰۲۰۵۱	۰۰۲۱۴۲	۸۱۰۰۰۰	۲/۶۱ ^a
۵	۰۰۰۰۰۰	۰۰۰۰۰۰	۰۰۰۰۰۰	۰۰۰۰۰۰	۰

حروف لاتین متفاوت در هر ستون: تفاوت آماری معنادار میان گروه ها / س ۱: گروه آلوده شده با جدایه ۱درمان شده با سالینومایسین/ س ۲: گروه آلوده شده با جدایه ۲درمان شده با سالینومایسین/ ۳و ۴: به ترتیب گروه های آلوده شده با جدایه های ۱و ۲درمان 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 اووویست 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 نداشته اند. سطح آنتی بادی در سرم های مختلف متفاوت بوده است که تنوع در سطوح آنتی بادی پرندگان آلوده نیز احتمالاً 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 ماکزیمیا و در جدایه ۲، فراوانترین گونه /ایمریا آسرولینا بوده است (جدول ۱). در برخی از تحقیقات انجام شده، سوبه هایی 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

ایمیریهایی 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, Iowa 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. Constantino, 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.,

تفاوت داشتند به نحوی که گونه جداشده از استان مازندران و خراسان مرگ و میری را سبب نشد، اما ایمیریا 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 اوویست بررسی گردید (جدول ۳) که حاکی از عدم تطابق میان میزان دفع اوویست 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 ضد/ایمیریا و عدم وجود تطابق میان سطح آنتی بادی و حفاظت بدین صورت باشد که اولاً همه آنتی بادی ها حفاظت کننده نمی باشند و ثانیاً 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 ایمیریایی 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 ایمیریا 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.، کیانی، م.، حسنی طباطبائی، ع. (۱۳۸۶). شناسایی گونه های



- 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.
- 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 Parasitology* **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 cell 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

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 ($P \leq 0/05$) 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 ($P \leq 0/05$). 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