مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۸، دوره ۶۴، شماره ۱، ۴۰-۳۳

تاثیر استفاده توام پروبیوتیک و واکسن کوکسیدیوز بر آلودگی تجربی کوکسیدیایی درجوجه‌های گوشتی

رامین نجفی [۱] بهرام شجاعدوست [۱]* مهرداد مدیرصانعی [۲] صادق رهبری [۳] بهزاد منصوری [۲]

۱) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۲) گروه بهداشت و تغذیه دام و طیور، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۳) گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۱ شهریور ماه ۱۳۸۶ ، پذیرش نهایی: ۲۷ اسفند ماه ۱۳۸۷)

چکیده

با هدف بررسی تاثیر استفاده توام پروبیوتیک با منشا لاکتوباسیلوس (پریمالاک) و واکسن کوکسیدیوز (پاراکوکس- ۵) بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در ابتلا ی تجربی به کوکسیدیوز، تعداد ۶۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر به طور تصادفی به پنج گروه آزمایشی ۱۲۰ قطعه‌ای با چهار تکرار تقسیم شدند. گروه‌های سوم، چهارم و پنجم به ترتیب پروبیوتیک، واکسن کوکسیدیوز و پروبیوتیک + واکسن کوکسیدیوز را دریافت کردند. در ۲۶ روزگی تمام گروه‌ها (به غیر از گروه اول) با مخلوطی از اسیست‌های اسپورولهشده سه‌گونه آیمریا (آسرولینا، ماگزیما و تنلا) چالش گردیدند. مقدار کاروتن سرم تمام گروه‌ها، درست قبل از چالش و ۶ روز بعد از آن تعیین گردید. میزان OPG مدفوع در ۶ الی ۱۰ روز پس از چالش اندازه‌گیری شد. شاخص‌های تولیدی از قبیل افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، مقدار اخذ غذا و شاخص کارایی تولید نیز اندازه‌گیری شدند. در گروه‌هایی که واکسن و / یا پروبیوتیک را مصرف کرده بودند، میزان OPG به صورت معنی‌داری کمتر از گروه شاهد مثبت بود ($p \leq ۰/۰۱$). نتیجه این که واکسن پاراکوکس و احتمالا پروبیوتیک (با منشا لاکتوباسیلوس) می‌توانند در کنترل کوکسیدیوز و یا عوارض ناشی از آن تاثیر مثبت داشته باشند و مصرف پروبیوتیک تداخلی با عملکرد واکسن کوکسیدیوز ندارد.

واژه‌های کلیدی: واکسن کوکسیدیوز، پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس، جوجه گوشتی، دفع اسیست در مدفوع.

مقدمه

کوکسیدیوز پرندگان مهمترین بیماری انگلی طیور است که موجب تلفات، سوء جذب، افزایش ضریب تبدیل غذایی، کاهش میزان وزن گیری در جوجه‌های گوشتی و کاهش تولید تخم مرغ در مرغان تخمگذار می‌شود (۲۰) و میزان مرگ و میر مربوط به آن ۶ تا ۱۰ درصد کل مرگ و میری می‌باشد که در گله‌های طیور رخ می‌دهد (۴۵). تخمین زده می‌شود که این بیماری سالانه بیش از سه میلیارد دلار به صنعت طیور جهان خسارت وارد می‌کند (۴). داروها و واکسن‌های زنده دو ابزار اصلی پیشگیری از این بیماری محسوب می‌شوند اما به علت بروز مقاومت‌های دارویی در اثر مصرف طولانی مدت و همچنین مشکلات ناشی از باقیمانده‌های دارویی در گوشت (۲۴) و از طرفی بالا بودن قیمت واکسن‌ها، سیاست‌های جایگزین به منظور کنترل موثر و بهداشتی تر بیماری کوکسیدیوز در جوجه‌ها مورد نیاز است (۴).

نقش میکروفلور روده‌ای در حفظ سلامتی و پیشگیری از بیماری بخصوص در محافظت میزبان در مقابل تجمع و تکثیر عوامل بیماریزای مختلف در روده آشکار گردیده است (۱۷،۲۳). در بین انواع میکروفلور طبیعی، گونه‌های لاکتوباسیلوس توانایی چسبیدن به سلول‌ها، کاهش دادن اتصال عوامل بیماریزا به مخاط روده یا دفع آنها، پایداری، تکثیر و تولید اسیدها، پراکسید هیدروژن و باکتریوسین‌ها را دارند (۳۰،۴۱). چندین گونه لاکتوباسیلوس در دستگاه گوارش مرغ زندگی می‌کنند و هر کدام به صورت اختصاصی در قسمتی از روده رشد می‌کنند (۹،۱۶). لاکتوباسیل‌ها قادرند اشریشیاکلی و گونه‌های سالمونلا را در محیط تجربی مهار کنند (۹،۱۵). همچنین نشان داده شده است که لاکتوباسیل‌ها در مهار آلودگی‌های انگلی هم موثر هستند که بخش اعظم بررسی‌های صورت گرفته در این مورد بصورت *In vivo* می‌باشد به عنوان نمونه Alak و همکاران در سال ۱۹۹۹ (۱) و نیز Waters و همکاران در سال ۱۹۹۹ (۴۲) مشاهده کردند که لاکتوباسیل‌ها در کنترل کریپتوسپوریدیوم پاروم موثر هستند.

Singer و Nash در سال ۲۰۰۰ اثر لاکتوباسیل را روی Giardia lamblia نشان دادند (۳۳) و نیز در مطالعه Dalloul و همکاران در سال ۲۰۰۳ جوجه‌هایی که لاکتوباسیلوس را در غذا دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل پس از چالش با ایمریا آسرولینا، OPG کمتری داشتند (۵). Tortuero در سال ۱۹۷۳ خاصیت آنتاگونیسم لاکتوباسیل‌ها با انتروباکتریاسه را نشان داد و مشاهده کرد که لاکتوباسیلوس از شدت بیماری در آلودگی با ایمریا تنلا می‌کاهد (۳۸). Lee و همکاران نیز در سال ۲۰۰۷ مشاهده کردند که پروبیوتیک با منشا Pediococcus acidilactici باعث افزایش مقاومت جوجه‌های گوشتی در مقابل آلودگی با ایمریا آسرولینا می‌شود به طوریکه بهبود رشد و کاهش مقدار OPG در جوجه‌هایی که پروبیوتیک دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه شاهد کاملا معنی دار بود (۱۹).

در مطالعات In Vitro اثر مهاری لاکتوباسیلوس روی تریکوموناس واژینالیس توسط Mc Grory و همکاران در سال ۱۹۹۴ نشان داده شد (۲۵) و Perez و همکاران نیز در سال ۲۰۰۱ اثرمهاری لاکتوباسیلوس را روی Giardia intestinalis نشان دادند (۲۹). در مطالعه Tierney و همکاران در

*) نویسنده مسؤول: تلفن: ۶۱۱۱۷۱۵۰-۰۲۱، نمابر: ۶۶۹۳۳۲۲۲-۰۲۱ Email: bshojae@ut.ac.ir

سال ۲۰۰۴ نشان داده شد که در کشت سلولی، لاکتوباسیلوس ایمریا تنلا را مهار می‌کند(۳۷). مشابه چنین مهاری درشرایط تجربی در رابطه با باکتری‌های بیماریزای پرندگان توسط Gusils و همکاران در سال ۱۹۹۹(۹)، Jin و همکاران در سال ۱۹۹۶(۱۴) نشان داده شده است. لذا با توجه به تحقیقات انجام شده که حاکی از تاثیرمثبت پروبیوتیک‌های با منشا لاکتوباسیلوس بر روی انگل‌های تک یاخته‌ای پرندگان بخصوص آیمریاها می‌باشد، در این مطالعه، تاثیر پروبیوتیک بامنشا لاکتوباسیلوس (پریمالاک) در کنترل بیماری کوکسیدیوز در مقایسه با واکسن‌های کوکسیدیوز و نیز تاثیر آن بر پاسخ واکسن‌های تخفیف حدت یافته کوکسیدیوز (پاراکوکس) در استفاده همزمان، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد وروش کار

حیوانات مورد استفاده وگروه بندی: تعداد ۶۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر از سویه تجاری راس ۳۰۸ به ۵ گروه ۱۲۰ قطعه‌ای تقسیم گردیدند به طوری که هر گروه مشتمل بر چهار زیر گروه (تکرار) ۳۰ قطعه‌ای بود. جوجه‌های هر تکرار به صورت تصادفی در یک پن مجزا بر روی بستری از تراشه چوب و در شرایط کاملا مشابه نگهداری شدند. تغذیه جوجه‌ها در طی دوره پرورش با جیره غذایی بر پایه ذرت و کنجاله سویا (مطابق با NRC سال ۱۹۹۴) در سه مرحله آغازین ۱ تا ۱۴ روزگی، رشد ۱۵ تا ۲۸ روزگی و پایانی ۲۹ تا آخر دوره صورت گرفت (جدول ۱) و جوجه‌ها در تمام طول آزمایش به طور آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند.

از میان گروه‌های آزمایشی گروه اول به عنوان گروه شاهد منفی (غیر آلوده) و گروه دوم به عنوان شاهد مثبت (آلوده) در نظر گرفته شدند. گروه‌های سوم و پنجم پروبیوتیک لاکتوباسیلوس (پریمالاک) را مطابق توصیه شرکت سازنده به همراه جیره پایه دریافت کردند بدین صورت که در دان آغازین و رشد به میزان ۰/۱ درصد پریمالاک به دان اضافه گردید و در دان پایانی به میزان ۰/۰۵ درصد به جیره غذایی افزوده شد. گروه‌های چهارم و پنجم با استفاده از واکسن تخفیف حدت یافته کوکسیدیوز (Paracox -5) در پنج روزگی بصورت خوراکی (تلقیح دهانی) علیه بیماری کوکسیدیوز واکسینه شدند. هر دز از واکسن پاراکوکس ساخت شرکت شرینگ پلاو دارای ۵۰۰-۶۵۰ اسیست ایمریا آسرولینا، ۲۰۰-۲۶۰ اسیست ایمریا ماگزیما سویه cp و ۱۰۰- ۱۳۰ اسیست ایمریا ماگزیما سویه MFP و ۱۰۰۰ - ۱۳۰۰ اسیست ایمریا میتیس و ۵۰۰-۶۵۰ اسیست ایمریا تنلا می‌باشد.

نحوه آماده سازی اسیست‌ها وچگونگی چالش گروه‌ها: ۳۰ قطعه جوجه ۱۴ روزه با سوش تعریف شده ایمریا (اسیست‌های اسپوریله شده) تلقیح گردیدند، بعد از روز ششم، مدفوع طیور بصورت روزانه جهت جداسازی ایمریا جمع آوری و به آزمایشگاه ارسال شد. در آزمایشگاه اسیست‌ها جداسازی شدند و با محلول ۲/۵ درصد دی کرومات پتاسیم رقیق سازی صورت گرفت.

به جز گروه اول، تمام گروه‌ها در سن ۲۶ روزگی با مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون حاوی مخلوطی از اسیست‌های سه گونه ایمریای شایع در ایران (به ترتیب شامل ۴×۱۰^{۴} عدد ایمریا تنلا، ۶×۱۰^{۴} عدد ایمریا ماگزیما، $۲/۴\times۱۰^{۵}$ عدد ایمریا آسرولینا) به روش تلقیح در داخل مری چالش شدند.

چگونگی اندازه گیری بتاکاروتن: قبل از چالش، و شش روز بعد از آلودگی به منظور اندازه گیری بتا کاروتن سرم، مقدار ۵ سی سی خون از پرندگان گروه‌های مختلف اخذ گردید. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه به مدت نیم ساعت در انکوباتور ۵۶ درجه سانتیگراد قرارگرفتند سپس سرم جدا شده به لوله‌های اپندرف با حجم یک و نیم سی سی منتقل شدند و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا انجام آزمایش نگهداری شدند. در تمام مراحل مختلف سعی می‌شد نمونه‌ها در معرض نور مستقیم قرار نگیرند. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و با روش Jun- ichi Suzuki (۳۴) بتا کاروتن سرم‌ها اندازه گیری شد که خلاصه روش از قرار زیر می‌باشد: یک سی سی سرم با یک سی سی اتانول ۹۶ درصد مخلوط شد و با Vortex به هم زده شد، سپس با ۳ سی سی محلول هگزان مخلوط گردید. مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه Shaker به هم زده شد. سپس در دور ۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. بتا کاروتن به همراه هگزان درقسمت بالا قرار می‌گیرد که به آرامی مایع رویی برداشته شد و در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۴۵۳ نانومتر میزان جذب اندازه شد و با استفاده از فرمول زیر میزان بتا کاروتن محاسبه گردید(۳۴):

بتاکاروتن سرم = میزان جذب در طول موج ۴۵۳ نانومتر ÷ ۰/۰۰۲۵۸.

اندازه گیری اسیست‌های دفع شده (OPG): از روز ششم بعد از ایجاد آلودگی با قراردادن یک قطعه مقوای سفید رنگ در داخل هر پن، به مدت پنج روز نمونه‌های مدفوع بصورت روزانه جمع آوری شد و تعداد اسیست دفع شده در هر گرم مدفوع (Oocyst per gram=OPG) با استفاده از تکنیک Conway and McKenizie مورد شمارش قرار گرفت(۲). به منظور انجام آنالیز آماری لگاریتم اعداد به دست آمده محاسبه گردید.

شاخص‌های تولید: به منظور ارزیابی شاخص‌های تولید، تمامی جوجه‌های هر پن در روزهای صفر، ۲۱، ۲۸ و ۴۲ توزین گردیدند و مقدار غذای مصرفی نیز ثبت گردید و بر اساس اطلاعات ثبت شده مقدار افزایش وزن، مقدار اخذ غذا، میزان ضریب تبدیل غذایی(۱۲)، میزان تلفات و نیز شاخص کارآیی تولید (۳۲) محاسبه گردید.

آنالیز آماری: نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار Minitab، بر اساس آزمون آنالیز واریانس ANOVA مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و با استفاده از آزمون Fisher با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج

میزان دفع اسیست (OPG): نتایج مربوط به تعداد اسیست‌های دفع شده که در جدول ۲ ارائه شده است نشان می‌دهند که به طور کلی تلقیح اسیست‌ها در ایجاد آلودگی تجربی، به صورت معنی‌دار، موثر بوده است($p\leq۰/۰۰۱$) در تمام طول مدت نمونه برداری از مدفوع به منظور تعیین

OPG، بیشترین تعداد اوسیست مربوط به گروه شاهد آلوده بود و کمترین شمارش اوسیست‌ها به گروه شاهد غیر آلوده اختصاص داشت. در این بررسی تجربی به کارگیری پروبیوتیک و واکسن به صورت جداگانه و باهم سبب کاهش دفع اوسیست‌ها از طریق مدفوع گردید به طوری که اختلاف بین شمارش اوسیست‌ها در این گروه‌ها با گروه شاهد آلوده تا ده روز بعد از آلوده سازی کاملا معنی دار و با گروه شاهد منفی غیر معنی دار بود. مقدار OPG در گروه دریافت کننده پروبیوتیک در مقایسه با گروه واکسن بالاتر بود هرچند که این تفاوت معنی دار نبود.

میزان بتا کاروتن سرم: مطابق جدول ۳ میزان بتا کاروتن قبل از ایجاد آلودگی در بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی داری با همدیگر نداشتند. ۶ روز پس از چالش، ایجاد آلودگی تجربی موجب کاهش معنی‌دار مقدار کاروتن سرم در مقایسه با گروه شاهد منفی (غیر آلوده) گردید. افزودن پروبیوتیک به خوراک و یا تجویز واکسن کوکسیدیوز اگرچه سبب افزایش نسبی در میزان کاروتن سرم در مقایسه با گروه شاهد مثبت (گروه آلوده) گردید ولی تفاوت معنی دار نبود. در بین گروه‌های آلوده میزان بتا کاروتن در گروه پروبیوتیک + واکسن بالاتر بود.

شاخص‌های تولید - الف) افزایش وزن بدن: مطابق جدول ۴ افزایش وزن پرندگان در روزهای ۲۱ - ۱ و ۲۸ - ۲۲ در بین گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری با همدیگر نداشتند. در سن ۲۱ -۱ و ۲۸ - ۲۲ روزگی بیشترین افزایش وزن مربوط به گروه شاهد منفی بود. میزان افزایش وزن گروه شاهد منفی (غیر آلوده) در ۲۹ تا ۴۲ روزگی اختلاف معنی‌داری با گروه‌های آلوده داشت ($p\leq ۰/۰۵$) همچنین میزان افزایش وزن بدن از یک روزگی تا ۴۲ روزگی در گروه شاهد غیرآلوده اختلاف معنی داری با گروه‌های آلوده داشت ($p\leq ۰/۰۵$) در حالی که بین گروه‌های آلوده با همدیگر اختلاف معنی داری مشاهده نگردید.

ب) میزان اخذ غذا: مطابق جدول ۴ از لحاظ میزان اخذ غذا اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مختلف وجود نداشت با این حال بیشترین غذا را گروه شاهد غیر آلوده خورده بود و کمترین غذا را گروه پروبیوتیک دریافت کرده بود.

ج) ضریب تبدیل غذایی: مطابق جدول ۴ در پایان دوره آزمایش اختلاف معنی داری در مقدار ضریب تبدیل غذایی گروه شاهد غیرآلوده در مقایسه با گروه‌های آلوده وجود نداشت. با این حال کمترین و بیشترین مقدار ضریب تبدیل غذایی در طول دوره آزمایش به ترتیب به گروه‌های شاهد منفی (غیرآلوده) و شاهد مثبت (آلوده) اختصاص داشت.

د) میزان تلفات: بیشترین میزان تلفات مربوط به گروه شاهد آلوده بود و کمترین تلفات مربوط به گروه شاهد غیرآلوده بود، درعین حال از نظر آماری اختلاف معنی داری بین گروه‌های مختلف وجود نداشت.

ه) شاخص کارایی تولید: مطابق جدول ۴ میزان شاخص کارایی تولید در گروه شاهد غیرآلوده نسبت به گروه‌های آلوده به صورت معنی‌داری بیشتر بود ($p\leq ۰/۰۱$). اما بین گروه‌های آلوده اختلاف معنی‌داری وجود نداشت هر

جدول ۱- درصد مواد اولیه و ترکیب شیمیایی جیره‌های غذایی پایه.

مواد اولیه (برحسب درصد)	جیره آغازی (۱ تا ۱۴ روزگی)	جیره رشد (۱۵ تا ۲۸ روزگی)	جیره پایانی (۲۹ تا پایان دوره)
ذرت	۵۵/۰۷	۵۸/۰۱	۶۴/۴۶
سویا	۳۸/۱۷۰	۳۴/۴۵	۲۸
اسید چرب	۲/۴۴	۳/۴۲	۳/۵
دی کلسیم فسفات	۲	۱/۷۶	۱/۶۵
کربنات کلسیم	۱/۱	۱/۰۱	۱/۱
نمک	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴
متیونین	۰/۲۴	۰/۲۳	۰/۲
لیزین	۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۱۸
مکمل ویتامینه	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
ویتامین E	۰/۱	۰/۱	۰/۱
ترکیب شیمیایی محاسبه شده:			
انرژی (کیلوکالری)	۲۹۲۴	۳۰۰۰	۳۰۷۹/۳
پروتیین	۲۲/۱	۲۰/۵۵	۱۸/۰۵
آرژنین	۱/۴۱	۱/۳۰۲	۱/۱۲۴
لیزین	۱/۳۲	۱/۲۱۸	۱/۰۶۱
متیونین	۰/۵۷۲	۰/۵۴۳	۰/۴۸۶
متیونین + سیستئین	۰/۹۲۴	۰/۸۷۵	۰/۷۸۷
ترئونین	۰/۸۱۸	۰/۷۶۱	۰/۶۶۹
تریپتوفان	۰/۳۱۶	۰/۲۹۰	۰/۲۴۶
کلسیم	۱/۰۲	۰/۹۲	۰/۹۱
فسفر در دسترس	۰/۵۱	۰/۴۲	۰/۴۳
سدیم	۰/۱۶	۰/۱۵	۰/۱۵
فیبر خام	۳/۹	۳/۶۹	۳/۳۸
چربی خام	۲/۴۲	۲/۴۸	۲/۶۷

چند که پایین ترین شاخص کارایی تولید مربوط به گروه شاهد آلوده بود.

بحث

این مطالعه به منظور ارزیابی تاثیر پروبیوتیک با منشا لاکتوباسیلوس در کنترل بیماری کوکسیدیوز و عوارض ناشی از آن و نیز تاثیر آن در پاسخ واکسن‌های تخفیف حدت یافته کوکسیدیوز (پاراکوکس) طراحی و انجام گردید. بر اساس نتایج حاصل از شمارش OPG در روزهای ۶، ۷، ۸ و ۹ پس از چالش با سوش‌های حاد ایمریا میزان دفع اوسیست در گروه شاهد مثبت (آلوده) اختلاف بسیار معنی داری با گروهی که پروبیوتیک دریافت کرده بود داشت این بدان معنی است که پروبیوتیک با منشا لاکتوباسیلوس میزان دفع اوسیست را بطور قابل توجهی کاهش می‌دهد. این نتیجه با یافته‌های Dalloul و همکاران در سال ۲۰۰۳ همخوانی دارد. در مطالعه Dalloul و همکاران در سال ۲۰۰۳ جوجه‌هایی که لاکتوباسیلوس را در غذا دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل پس از چالش با ایمریا آسرولینا، OPG کمتری داشتند(۵). Lee و همکاران نیز در سال ۲۰۰۷ مشاهده کردند که پروبیوتیک Pediococcus acidilactici باعث کاهش معنی دار دفع اوسیست‌ها در پرندگانی که با ایمریا آسرولینا آلوده شده بودند نسبت به گروه شاهد آلوده گردید ولی در مورد ایمریا تنلا هرچند که کاهش دفع اوسیست در مدفوع رخ داد ولی این کاهش معنی دار نبود(۱۹).

اگرچه مکانیسم‌های محافظتی پروبیوتیک‌ها هنوز به طور کامل شناخته نشده است، در موش‌های آزمایشگاهی نشان داده شده است که استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک در تغذیه طیور، پاسخ‌های ایمنی

جدول ۲- تاثیر استفاده توام پروبیوتیک و واکسن تخفیف حدت یافته کوکسیدیوز بر میزان دفع ااسیست در مدفوع (OPG) بر حسب لگاریتم در جوجه‌های گوشتی در روزهای مختلف نمونه برداری پس از چالش با سوشهای حاد گونه‌های بیماریزای ایمریا. SEM: Standard error of mean.

گروه آزمایشی	واکسن	پروبیوتیک	آنزیم	چالش	۶	۷	۸	۹	۱۰
۱	-	-	-	-	۱/۰^{d}	۱/۰^{c}	۱/۰^{c}	۱/۰^{d}	۱/۰^{b}
۲	-	-	-	+	۴/۹۲۱^{a}	۵/۰۰۹^{a}	۵/۰۴۹^{a}	۴/۲۸۵^{a}	۳/۹۸۵^{a}
۳	-	+	-	+	۳/۹۸۴^{b}	۳/۷۱۷^{b}	۳/۷۱۱^{b}	۳/۹۱۹^{ab}	۳/۹۴۵^{a}
۴	+	-	-	+	۳/۴۱۳^{c}	۳/۱۴۳^{b}	۳/۰۶۲^{b}	۳/۳۴۲^{bc}	۳/۵۸۵^{a}
۵	+	+	-	+	۳/۷۴۱^{bc}	۳/۲۹۷^{b}	۳/۱۴۹^{b}	۲/۹۰۷^{c}	۳/۷۱۷^{a}
SEM					۰/۱۷	۰/۳۲	۰/۳۵	۰/۲۳	۰/۱۹
p value					۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

مخاطی و عمومی را بطور معنی داری افزایش می دهد(۶،۲۸) مکانیسم دقیق این محافظت علیه بیماری کوکسیدیوز روشن نیست، احتمالا بخشی از این محافظت به تحریک اولیه اجزاء سیستم ایمنی (لنفوسیت‌های بین سلول‌های اپیتلیال (IEL)) در روده بوسیله باکتری‌های پروبیوتیک مربوط می‌شود که منجر به تسریع پاسخ ایمنی به ایمریا (اسپوروزوئیت‌ها) می‌شود. در موش، تخلیه سلول‌های $CD4^{+}$ در نتیجه افزایش تولید ااسیست در طول عفونت اولیه ایمریا، نشان دهنده نقش مهم سلول‌های $CD4^{+}$ یا سیتوکین‌هایی که تولید می‌کنند در کنترل تکثیر انگل می‌باشد(۳۱). با این وجود در مطالعه Trout و Lillehoj در سال ۱۹۹۶ مشاهده گردید که تخلیه سلول‌های $CD4^{+}$ تاثیری بر عفونت اولیه ایمریا آسرولینا در مرغ ندارد(۲۱). Trout و Lillehoj در سال ۱۹۹۵ دریافتند که سلول‌های $CD8^{+}$ درست ۲۴ ساعت پس از آلودگی با ایمریا آسرولینا به مقدار فراوانی در مخاط روده وجود دارند و بطور معنی داری اسپوروزوئیت‌های زیادی در داخل یا کنار سلول‌های $CD8^{+}$ یافت شد که نشان دهنده نقش سلول‌های T در پاسخهای ایمنی در برابر بیماری کوکسیدیوز می‌باشد(۳۹). بنابراین تحریک اولیه سلول‌های ایمنی در اپیتلیوم روده، می‌تواند مقاومت جوجه‌های گوشتی را نسبت به آلودگی‌های کوکسیدیایی افزایش دهد. ایمریا انگل داخل سلولی است و به منظور تکثیر باید به سلول‌های میزبان حمله کند لذا برای این کار ابتدا باید به سطوح اپیتلیال بچسبد. باکتری‌های پروبیوتیک سازگار یافته با روده ممکن است جهت چسبیدن به مخاط روده با ایمریاها رقابت کنند و گیرنده‌های موجود در سلول‌های اپیتلیال روده را اشغال کنند این کار باعث تعویق در نفوذ و ترشح اسپوروزوئیت‌های ایمریاها به مخاط روده می‌شود، در نتیجه تکثیر و

جدول ۳- تاثیر استفاده از پروبیوتیک و واکسن تخفیف حدت یافته کوکسیدیوز بر مقدار کاروتن سرم (میکروگرم در میلی لیتر) در جوجه‌های گوشتی قبل و بعد از چالش با سوشهای حاد گونه‌های بیماریزای ایمریا. SEM: Standard error of mean.

گروه آزمایشی			قبل از چالش	۶ روز پس از چالش
پروبیوتیک	واکسن	چالش		
-	-	-	۸۷/۳۱^{a}	۱۱۰/ ۳۲
-	-	+	۵۳/۲۵	۳۶/۳۰^{b}
+	-	+	۵۵/۷۷	۳۶/۳۴^{b}
-	+	+	۶۴/۶۸	۲۸/۵۹^{b}
+	+	+	۸۶/۸۲	۴۳/۱۲^{b}
SEM			۱۶	۱۲/۱
p -value			۰/۹۷	۰/۰۰۱

انتشار ااسیست‌ها کاهش می‌یابد(۵). این مسئله با یافته‌های موجود در مطالعه حاضر همخوانی دارد. بالا بودن غیر معنی‌دار OPG در گروه پروبیوتیک نسبت به گروه واکسن می‌تواند ناشی از تاثیر بهتر واکسن نسبت به پروبیوتیک باشد.

برجسته ترین علامت بارز کوکسیدیوز پرندگان کاهش رشد می‌باشد که در مواردی که بیماری شدید است با کاهش وزن گیری و یا حتی از دست دادن وزن بدن همراه است و منجر به وارد شدن زیان اقتصادی شدید به صنعت طیور می‌شود(۴). لذا در این مطالعه در بررسی شاخص‌های تولیدی مشخص گردید که در گروه دریافت کننده پروبیوتیک، مقدار افزایش وزن، میزان اخذ غذا، مقدار تلفات، ضریب تبدیل غذایی، شاخص کارآیی تولید و مقدار کاروتن سرم نسبت به گروه شاهد آلوده بهبودی نسبی نشان داد، اگرچه پیش بینی می‌کردیم که بین پارامترهای مختلف با کاهش OPG، ارتباط مستقیم و معنی‌داری مشاهده کنیم ولی بنا بر عقیده Dalloul و همکاران در سال ۲۰۰۵ در مطالعات پروبیوتیک همیشه کاهش میزان دفع ااسیست‌ها با افزایش وزن همراه نیست(۳). دیگران نیز مشابه چنین نتایجی را مشاهده کردند(۸،۳۵).

درگروه دریافت کننده پروبیوتیک، در مقدار افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، میزان تلفات و میزان اخذ غذا و مقدار کاروتن سرم، قبل از چالش با سوش‌های حاد ایمریا اختلاف معنی داری با گروه شاهد منفی (غیر آلوده) مشاهده نگردید این نتیجه با مشاهدات Jin و همکاران در سال ۱۹۹۷ مطابقت می‌کند. به عقیده Jin و همکاران، اثرات مفید پروبیوتیک‌ها تنها پس از ۲۸ روزگی بروز می‌کند و پس از ۴۹ روزگی تاثیری در رشد پرنده ندارد. با این حال میزان بهبودی در بازده غذایی پرندگانی که پروبیوتیک دریافت می‌کنند جزیی است(۱۳). Modirsanei و همکاران نیز در سال ۱۳۸۲ در یک بررسی مقایسه‌ای مشاهده کردند که افزودن دو نوع پروبیوتیک تجاری مختلف به غذا سبب افزایش معنی دار وزن بدن تا سن ۲۱ روزگی گردید در حالی که اضافه کردن پروبیوتیک سوم به خوراک تاثیر معنی داری بر وزن بدن نداشت. آنها دریافتند که در پایان دوره پرورش تفاوت معنی‌داری بین وزن بدن در گروه‌های دریافت کننده پروبیوتیک‌ها و گروه شاهد وجود نداشت(۲۶).

جدول۴- اثر استفاده از پروبیوتیک و واکسن تخفیف حدت یافته کوکسیدیوز برمیانگین افزایش وزن (BWG) و میانگین سرانه اخذ غذا (FI) بر حسب گرم، میزان ضریب تبدیل غذایی (FCR) و شاخص کارایی تولید (PEI) در جوجه‌های گوشتی در آلودگی تجربی به کوکسیدیوز در مقاطع سنی مختلف. SEM: Standard error of mea. BWG: Body Weigh Gain. Feed Intake. FI: Feed Conversion Rate. FCR: Production Efficiency Index. PEI.

گروه آزمایشی					۱-۲۱روزگی			۲۲-۲۸روزگی			۲۹-۴۲روزگی			۱-۴۲روزگی			
	پروبیوتیک	واکسن	چالش	BWG	FI	FCR	BWG	FI	FCR	BWG	FI	FCR	BWG	FI	FCR	PEI
۱	-	-	-	۷۸۹	۱۰۷۲	۱/۳۴	۴۹۸	۸۷۷	۱/۷۶	۱۱۸۰[a]	۲۳۴۸	۲/۱۸	۲۴۶۷[a]	۴۲۹۶	۱/۷۰	۳۳۲/۴[a]
۲	-	-	+	۷۸۳	۱۰۷۱	۱/۳۵	۴۸۸	۸۷۹	۱/۹۶	۹۳۹[b]	۲۱۶۶	۳/۹۷	۲۲۱۰[b]	۴۱۱۶	۱/۸۳	۲۴۵/۲[b]
۳	+	-	+	۷۸۸	۱۰۵۷	۱/۳۲	۴۶۴	۸۳۴	۱/۸۶	۹۵۷[b]	۲۰۹۵	۳/۳۵	۲۲۰۹[b]	۳۹۸۶	۱/۷۹	۲۶۰/۷[b]
۴	-	+	+	۷۷۵	۱۰۵۵	۱/۳۵	۴۹۵	۸۴۴	۱/۷۸	۹۹۲[b]	۲۱۸۴	۲/۶۰	۲۲۶۱[b]	۴۰۸۳	۱/۷۶	۲۷۹/۹[b]
۵	+	+	+	۷۷۹	۱۰۶۴	۱/۳۶	۴۷۱	۸۵۲	۱/۸۱	۹۶۵[b]	۲۱۶۵	۲/۹۸	۲۲۱۴[b]	۴۰۸۱	۱/۸۲	۲۷۹/۴[b]
SEM				۱۷	۲۳/۵	۰/۰۲۸	۱۷/۵	۲۰/۶	۰/۰۵	۵۰	۷۱	۰/۴۵	۵۸	۸۰/۶	۰/۰۳	۱۵/۶
p value				۰/۹۷۰	۰/۹۷۶	۰/۸۸	۰/۵۸۰	۰/۴۶۸	۰/۱۱۰	۰/۰۲۳	۰/۱۹۶	۰/۱۰۳	۰/۰۲	۰/۱۴۹	۰/۰۸	۰/۰۱

مطالعات زیادی وجود دارد که در آنها نتایج مثبتی از مصرف پروبیوتیک‌ها روی شاخص‌های تولیدی مشاهده نشده است. Watkins و Kratzer در سال ۱۹۸۴ از سویه‌های اختصاصی میزبان لاکتوباسیلوس (KTM 74/1 & 59) و غیراختصاصی لاکتوباسیلوس به شکل تجاری استفاده کردند و در رشد جوجه‌ها تغییری مشاهده نکردند. مشابه آنها Maiolino و همکاران در سال ۱۹۹۲ در وزن بدن جوجه‌هایی که پروبیوتیک لاکتوباسیلوس و استرپتوکوکوس فاسیوم را از ۸ روزگی تا ۶۰ روزگی دریافت کردند اختلاف معنی‌داری مشاهده نکردند(۲۲). متفاوت بودن اثرات پروبیوتیک‌ها بر روی جوجه‌ها که در مطالعات متعددی مشاهده گردیده است احتمالا به تفاوت سویه‌ها و شکل باکتری‌های مورد استفاده و مقدار مورد استفاده مربوط می‌شود.

شواهد فراوانی از کارآزمایی‌های تجربی در مورد نقش پروبیوتیک‌ها ـ بخصوص در مورد باکتری‌های لاکتیک اسید و بیفیدو باکترها در پیشگیری از بروز بیماری‌های مختلف وجود دارد(۳۶) علیرغم این شواهد اثربخشی پروبیوتیک‌ها در عمل مورد شک و تردید است. دلیل اصلی این کار احتمالا عدم وجود کیفیت استاندارد در محصولات تجاری می‌باشد که ترکیب و قابلیت زنده مانی متفاوتی دارند(۷،۱۰،۱۱،۳۶،۴۳). دلیل بعدی، کارآیی ضعیف پروبیوتیکها براساس کارآزمایی‌های بالینی است(۱۸).

حداقل سه عامل با تشخیص اثرات بهداشتی مخصوص پروبیوتیکها تداخل می‌کند، اول این که پیچیدگی و تنوع محیط زیست دستگاه گوارش در ارتباط با بیماری‌های معدی ـ روده‌ای توصیف اثرات مشخص پروبیوتیکها را در بهداشت و بیماری دشوار می‌سازد. دوم آن که اشتباه در تشخیص قابلیت زنده مانی و فعالیت سویه‌های پروبیوتیک منجر به تشخیص اشتباه در کشت‌هایی می‌گردد که در تحقیقات بالینی استفاده می‌شوند. سوم این که به نظر می‌رسد پروبیوتیک‌های تک سویه‌ای اثرات متفاوت در بین افراد مختلف جمعیت یک آزمایش ایجاد می‌کنند(۱۸). با این وجود در بررسی حاضر، با توجه به استفاده از یک محصول تجاری (پریمالاک)، نتایج مثبتی مشاهده گردیده است. بالا بودن میزان ااسیست در روز نهم پس از چالش در گروه دریافت کننده پروبیوتیک در مقایسه با گروه‌هایی که واکسن دریافت کرده بودند، می‌تواند موید این مساله باشد که در روزهای اول پس از چالش، پروبیوتیک با مکانیسم رقابتی مانع از حمله اسپوروزوییت‌ها شده است. از طرفی بالا بودن مقدار کاروتن سرم در گروهی که به همراه واکسن، پروبیوتیک دریافت کرده است، احتمالا نشان دهنده تاثیر مثبت پروبیوتیک در هنگام آلودگی با کوکسیدیوز است که با تحریک ایمنی مخاطی موجب بهبود پاسخهای ایمنی مخاطی در برابر واکسیناسیون می‌گردد و در هنگام چالش با بیماری کوکسیدیوز با مکانیسم رقابتی اثر تخریبی این بیماری را در مخاط روده کاهش میدهد. میزان OPG در گروهی که فقط واکسن دریافت کرده بود نیز کاهش بسیار معنی داری نسبت به گروه شاهد آلوده داشت که دلالت بر افزایش ایمنیت پرنده در برابر بیماری می‌باشد، این نتایج با نتایج Williams (۴۴،۴۵) و Williams و Catchpol (۴۶) مطابقت دارد.

در بین گروه‌های آلوده در ۲۲ تا ۲۸ روزگی و ۲۹ تا ۴۲ روزگی بیشترین مقدار ضریب تبدیل غذایی مربوط به گروه شاهد آلوده بود در حالی‌که گروهی که فقط واکسن را دریافت کرده است کمترین مقدار ضریب تبدیل غذایی را در بین گروه‌های آلوده نشان می‌دهد که می‌تواند حاکی از ایمنیت ایجاد شده توسط واکسن پاراکوکس در برابر چالش با سویه‌های حاد ایمریا باشد.

هر چند در گروه‌های دریافت کننده واکسن نیز در مقایسه با گروه شاهد آلوده اختلاف معنی‌داری بین پارامترهای افزایش وزن بدن، میزان اخذ غذا، میزان تلفات و شاخص کارآیی تولید مشاهده نگردید این مسئله تضادی با افزایش مقاومت پرنده در برابر بیماری کوکسیدیوز به دنبال واکسیناسیون ندارد.

هرچند که اختلاف مقدار افزایش وزن تا ۲۱ روزگی در بین گروه‌های مختلف معنی‌دار نیست ولی کمترین افزایش وزن مربوط به گروهی است که واکسن دریافت کرده است. این مسئله یافته‌های ویلیامز در سال ۲۰۰۲ را تایید می‌کند که واکسن‌های کوکسیدیوز پس از واکسیناسیون باعث اندکی کاهش رشد می‌شوند ولی با بالا رفتن سن این کاهش جبران می‌گردد.

میزان شاخص کارآیی تولید در گروه شاهد غیر آلوده نسبت به گروه‌های

آلوده به طور معنی‌داری بیشتر بود که دلیل آن درگیری گروه‌های آلوده با بیماری کوکسیدیوز می‌باشد. در بین گروه‌های آلوده، کمترین شاخص کارآیی تولید مربوط به گروه شاهد آلوده می‌باشد در عین حال گروه‌هایی که واکسن پاراکوکس را دریافت کردند نسبت به گروه دریافت کننده فقط پروبیوتیک، شاخص کارآیی تولید بهتری نشان دادند این مسئله نشان می‌دهد که واکسیناسیون با استفاده از واکسن پاراکوکس در کنترل بیماری کوکسیدیوز و عوارض ناشی از آن نسبت به پروبیوتیک پریمالاک موثرتر است.

در نتیجه‌گیری کلی با توجه به کاهش معنی‌دار OPG، کاهش نسبی ضریب تبدیل غذایی، میزان تلفات و افزایش نسبی شاخص کارآیی تولید در گروه پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد آلوده می‌توان چنین نتیجه گیری کرد که استفاده از پروبیوتیک پریمالاک می‌تواند تاثیر مثبتی در کنترل بیماری کوکسیدیوز داشته باشد همچنین با توجه به کاهش معنی‌دار میزان دفع ااسیست و کاهش نسبی میزان تلفات و افزایش نسبی مقدار کاروتن سرم، شاخص کارآیی تولید و بهبود ضریب تبدیل غذایی در گروه‌هایی که واکسن پاراکوکس را دریافت نمودند نسبت به گروه شاهد آلوده، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که واکسن پاراکوکس در کنترل بیماری کوکسیدیوز و عوارض ناشی از آن تاثیر مثبتی دارد.

همچنین با توجه به عدم تغییر معنی‌دار در پارامترها و شاخص‌های تولیدی ذکر شده در گروهی که پریمالاک + پاراکوکس را دریافت کرده بود نسبت به گروه واکسینه شده با واکسن پاراکوکس، احتمالا مصرف پروبیوتیک با منشا لاکتوباسیلوس تداخلی با اثر واکسن پاراکوکس ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به خاطر تصویب و تامین هزینه‌های انجام طرح سپاسگذاری می‌نمایند.

References

1. Alak, J. I., Wolf, B.W., Mdurvwa, E.G., Pimentel-Smith, G.E., Kolavala, S., Abdelrahman, H., Suppiramaniam, V. (1999) Supplementation with Lactobacillus reuteri or L. acidophilus reduced intestinal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in immunodeficient C57BL/6 mice. Cell. Mol. Biol. 45: 855-863.
2. Conway, D. P., McKenzie, M. E. (1991)Poultry Coccidiosis Diagnostic and Testing Procedures. 2nd ed. Pfizer Inc., New York, USA. pp.17-35.
3. Dalloul, R. A., Lillehoj, H. S. (2005) Recent advances in immunomodulation and vaccination strategies against coccidiosis. Avian Dis. 49: 1-8.
4. Dalloul, R. A, Bliss. T. W., Honga, Y. H., Ben-Chouikha, I., Park, D.W., Keeler, C. K., Lillehoj, H. S. (2006) Unique responses of the avian macrophage to different species of Eimeria. Mol. Imm. 44: 558-566
5. Dalloul, R. A., Lillehoj, H. S., Shellem, T. A., Doerr, J. A. (2003) Enhanced mucosal immunity against Eimeria acervulina in broilers fed a Lactobacillus-based probiotic. Poult. Sci. 82: 62-66.
6. Famularo, G., De Simone, C., Matteuzzi, D., Pirovano, F. (1999) Traditional and high potency probiotic preparations for oral bacteriotherapy. BioDrugs. 12: 455-470.
7. Fasoli, S., Marzotto, M., Rizzotti, L., Rossi, F., Dellaglio, F., Torriani, S. (2003) Bacterial composition of commercial probiotic products as evaluated by PCR-DGGE analysis. Int. J. Food Microbiol. 82: 59- 70.
8. Gabriel, S., Mallet, M., Leconte, G. F., Naciri, M. (2006) Effects of whole wheat feeding on the development of coccidial infection in broiler chickens until market-age. Anim Feed Sci Tech. 129: 279-303.
9. Gusils, C., Gonzalez, S.N., Oliver, G. (1999) Some probiotic properties of chicken Lactobacilli. Can. J. Microbiol. 45: 981-987.
10. Hamilton-Miller, J. M., Shah, S. (2002) Deficiencies in microbiological quality and labelling of probiotic supplements. Int. J. Food Microbiol. 72: 175- 176.
11. Hamilton-Miller, J. M., Shah, S., Winkler, J.T. (1999) Public health issues arising from microbiological and labelling quality of foods and supplements containing probiotic microorganisms. Public Health Nutr. 2: 223- 229.
12. Holdsworth, P. A., Conway, D. P., McKenzie, M. E., Dayton, A. D. Chapman, H. D., Mathis, G. F., Skinner, J. T., Mundt, H. C., Williams, R. B. (2004) World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of anticoccidial drugs in

chickens and turkeys. Vet. Parasit. 121: 189-212.
13. Jin, L. Z., Ho Y.W., Abdullah, N., Jalaludin, S. (1997) Probiotics in poultry: modes of action. World's Poul. Sci. J. 53: 351-368.
14. Jin, L..Z., Ho, Y.W., Abdullah, N., Ali, M.A. and Jalaludin, S. (1996) Antagonistic effects of intestinal Lactobacillus isolates on pathogens of chicken. Lett. Appl. Microbiol. 23: 67-71.
15. Jin, L. Z., Ho, Y. W., Ali, M. A., Abdullah, N., Jalaludin, S. (1996) Effect of adherent Lactobacillus spp. on in vitro adherence of Salmonellae to the intestinal epithelial cells of chicken. J. Appl. Bacteriol. 81: 201-206.
16. Jin, L. Z., Ho, Y. W., Ali, M.A., Abdullah, N., Ong, K.B., Jalaludin, S. (1996) Adhesion of Lactobacillus isolates to intestinal epithelial cells of chicken. Lett. Appl. Microbiol. 22: 229-232.
17. Kasper, H. (1998) Protection against gastrointestinal diseases-present facts and future developments. Int. J. Food Microbiol. 41: 127-131.
18. Klaenhammer, T. R., Kullen, M. J. (1999) Selection and design of probiotics. Int. J. Food Microbiol. 50: 45-57.
19. Lee, S. H., Lillehoj, H. S., Dalloul, R. A., Park, D. W., Hong, Y. H., Lin, J. J. (2007) Influence of Pediococcus-Based Probiotic on Coccidiosis in Broiler Chickens. Poult. Sci. 86: 63-66.
20. Lillehoj, H. S., Min, W., Dalloul, R.A. (2004) Recent progress on the cytokine regulation of intestinal immune responses to Eimeria. Poult. Sci. 83: 611-623.
21. Lillehoj, H. S., Trout, J. M. (1996) Avian gut-associated lymphoid tissues and intestinal immune responses to Eimeria parasites. Clin. Microbiol. Rev. 9: 349-360.
22. Maiolino, R., A. Fioretti, L. F. Menna, and C. Meo.(1992) Research on the efficiency of probiotics in diets for broiler chickens. Nutr. Abstr. Rev. Ser. B 62: 482.
23. Mc Cracken, V.J., Lorenz, R.G. (2001) The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota. Cell. Microbiol. 3: 1-11.
24. McEvoy, J. (2001) Safe limits for veterinary drug residues: what do they mean? Northern Ireland Veterinary Today, Spring. New Delhi, India. pp. 37-40.
25. McGrory, T., Meysick, K., Lemchuk-Favel, L.T., Garber, G. E. (1994) The interaction of Lactobacillus acidophilus and Trichomonas vaginalis in vitro. J. Parasitol. 80: 50-54.
26. Modirsanei, M., Kiaei, S. M. M., Peighambari, S. M., Imam, G. (2003) Effects of supplementation broilers' ration with commercial probiotics on performance. J. Fac. Vet. Med., Univ. Tehran. 58: 261-266.
27. National Research Council. (1994) Nutrient Requirements of Poultry. 9thed., National Academy Press, Washington, DC., USA. pp. 19-34.
28. Perdigon, P., Alvarez. S. (1992) Probiotics and the immune state. In Probiotics: The Scientific Basis. (R. Fuller, ed.) Chapman and Hill, London., UK. pp. 145-180.
29. Perez, P. F., Minnaard, J., Rouvet, M., Knabenhans, C., Brassart, D., De Antoni, G. L., Schiffrin, E. J. (2001) Inhibition of Giardia intestinalis by extracellular factors from Lactobacilli: an in vitro study. Appl. Environ. Microbiol. 67: 5037-5042.
30. Reid, G. (1999) The scientific basis for probiotic strains of Lactobacillus. Appl. Environ. Microbiol. 65: 3763-3766.
31. Rose, M. E., Hesketh, P., Wakelin, D. (1992) Immune control of murine coccidiosis: CD4 and CD8 T lymphocytes differentially contribute in resistance to primary and secondary infections. Parasitol. 105: 349-354.
32. Santurio, J.M., Mallmann, C.A., Rosa, A.P., Appel, G., Heer, A., Dageforde, S. (1999) Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxins. Bri Poult. Sci. 40: 115-119.
33. Singer, S.M., Nash, T. E. (2000) The role of normal flora in Giardia lamblia infections in mice. J. Infect. Dis. 181: 1510-1512.
34. Suzuki, J., Katoh, N. (1990) A simple and cheap methods for measuring serum vitamin A in cattle using only a spectrophotometer. Jpn. J. Vet. Sci. 52: 1281-1283.
35. Talebi, A., Mulcahy, G. (1995) Correlation between

immune responses and oocyste production in chickens monospecifically infected with Eimeria maxima. Avin Pathol. 24: 485-495.

36. Temmerman, R., Scheirlinck, I., Huys, G., Swings, J. (2003) Culture independent analysis of probiotic products by denaturing gradient gel electrophoresis. Appl. Environ. Microbiol. 69: 220- 226.
37. Tierney, J., Gowing, H., Van Sinderen, D., Flynn, S., Stanley, L., McHardy, N., Hallahan, S., Mulcahy, G. (2004) In vitro inhibition of Eimeria tenella invasion by indigenous chicken Lactobacillus species. Vet. Parasitol. 122: 171-182.
38. Tortuero, F. (1973) Influence of the implantation of Lactobacillus acidophilus in chicks on the growth, feed conversion, malabsorption of fats syndrome and intestinal flora. Poult. Sci. 52: 197-203.
39. Trout, J. M., Lillehoj, H. S. (1995) Eimeria acervulina infection: evidence for the involvement of CD8T lymphocytes in sporozoites transport and host protection. Poult. Sci. 74: 1117- 1125.
40. Trout, J. M., Lillehoj, H. S. (1996) T lymphocyte roles during Eimeria acervulina and Eimeria tenella infections. Vet. Immunol. Immunopathol. 53: 163-172.
41. Vaughan, E. E., Mollet, B., DeVos, W. M. (1999) Functionality of probiotics and intestinal Lactobacilli: light in the intestinal tract tunnel. Curr. Opin. Biotechnol. 10: 505-510.
42. Waters, W. R., Harp, J. A., Wannemuehler, M. J., Carbajal, N.Y, Casas, I. A. (1999) Effects of Lactobacillus reuteri on *Cryptosporidium parvum* infection of gnotobiotic TCR-alpha-deficient mice. J. Eukaryot. Microbiol. 46: 60S-61S.
43. Weese, J. S. (2002) Microbiologic evaluation of commercial probiotics. J. Am. Vet. Med. Assoc. 220: 794- 797.
44. Williams, R. B., Gobbi, L. (2002) Comparison of an attenuated anticoccidial vaccine and an anticoccidial drug programme in commercial broiler chickens in Italy. Avian Pathol. 31: 253-265.
45. Williams, R. B., Johnson, J.D., Andrews, S. J. (2000) Anticoccidial vaccination of broiler chickens in various management programmes: relationship between oocyst accumulation in litter and the development of protective immunity. Vet. Res. Comm. 24: 309- 325.
46. Williams, R. B., Catchpole, J. (2000) A new protocol for a challenge test to assess the efficacy of live anticoccidial vaccines for chickens. Vac. 18: 1178-1185.

EFFECT OF CONCOMITANT USE OF PROBIOTIC AND COCCIDIOSIS VACCINE IN EXPERIMENTAL COCCIDIAL INFECTION OF BROILER CHICKENS

Najafi, R.[1], Shojadoost, B.[1]*, Modirsanei, M.[2], Mansoori, B.[2], Rahbari, S.[3]

[1]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran -Iran .*

[2]*Department of Animal breeding and Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran .*

[3]*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.*

(Received 23 August 2007 , Accepted 17 March 2009)

Abstract:

In order to study the effect of concomitant use of a probiotic with Lactobacillus origin (Primalac) and a coccidiosis vaccine (Paracox-5) in experimental coccidial infection of broilers, 600 day old male broiler chickens were randomly divided into five groups of 120 with four replicates. Groups three, four and five received probiotic , coccidiosis vaccine and probiotic + coccidiosis vaccine , respectively . At 26 days of age all groups(except first group) were challenged orally with a suspension of sporulated oocystes of E. acervulina , E. maxima and E. tenella . Serum carotenoid levels were determined before challenge and 6 days after that . OPG of the feces was measured at 6 to 10 days post challenge . Performance parameters were also determined during the experiment . OPG of the treated groups with vaccine and /or probiotic were significantly lower than the positive control ($p< 0.05$). It was concluded that and coccidiosis vaccine probiotic with Lactobacillus origin (to some extent) are able to control negative impacts of coccidial infection. In the meantime simultaneous usage of probiotic and coccidiosis vaccine, did not have any interaction with efficacy of the vaccine .

Key words: coccidiosis vaccine , probiotic , Lactobacillus , broiler , oocyst per gram.

***Corresponding author's email: bshojae@ut.ac.ir, Tel: 021-61117150, Fax: 021-66933222**