

## تاثیر استفاده توام پروبیوتیک و واکسن کوکسیدیوز بر آلودگی تجربی کوکسیدیایی در جوجه‌های گوشتی

رامین نجفی<sup>۱</sup> بهرام شجاع دوست<sup>۱\*</sup> مهرداد مدیر صانعی<sup>۲</sup> صادق رهبری<sup>۳</sup> بهزاد منصوری<sup>۲</sup>

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 منشأ لاکتوباسیلوس (پریمالاک) و واکسن کوکسیدیوز (پاراوکس-۵) بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در ابتدای 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 اسپورولس‌ها و لوله شده‌ها آلوده شدند. نتایج نشان داد که پروبیوتیک و واکسن کوکسیدیوز به تنهایی و به صورت توأم در کاهش تلفات و افزایش وزن و افزایش ضریب تبدیل و 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 (۰/۰۱ p). نتیجه این که واکسن پاراکوکس و احتمالاً پروبیوتیک (با منشأ لاکتوباسیلوس) می‌توانند در کنترل کوکسیدیوز و با 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 اسپورولس در مدفوع.

اشریشیاکلی و گونه‌های سالمونلا را در محیط تجربی مهار کنند (۹،۱۵). همچنین نشان داده شده است که لاکتوباسیل ها در مهار آلودگی های انگلی هم موثر هستند که بخش اعظم بررسی های صورت گرفته در این مورد بصورت *In vivo* می باشد به عنوان نمونه Alak و همکاران در سال ۱۹۹۹ (۱) و نیز Waters و همکاران در سال ۱۹۹۹ (۴۲) مشاهده کردند که لاکتوباسیل ها در کنترل کریپتوسپوری دیوم 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 جوجه هایی که لاکتوباسیلوس را در غذا دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل پس از چالش با ایمر یا آسرو لینا، OPG کمتری داشتند (۵). Tortuero در سال ۱۹۷۳ خاصیت آنتاگونیسم لاکتوباسیل ها با انتر و باکتریاسه را نشان داد و مشاهده کرد که لاکتوباسیلوس از شدت بیماری در آلودگی با ایمر یا تنلا می کاهد (۳۸). Lee و همکاران نیز در سال ۲۰۰۷ مشاهده کردند که پروبیوتیک با منشأ *Pediococcus acidilactici* باعث افزایش مقاومت جوجه های گوشتی در مقابل آلودگی با ایمر یا آسرو لینا می شود به طوری که بهبود رشد و کاهش مقدار OPG در جوجه هایی که پروبیوتیک دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه شاهد کاملاً 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 اثر مهاری لاکتوباسیلوس را روی *Giardia intestinalis* نشان دادند (۲۹). در مطالعه Tierney و همکاران در

### مقدمه

کوکسیدیوز پرندگان مهمترین بیماری انگلی طیور است که موجب تلفات، سوء جذب، افزایش ضریب تبدیل غذایی، کاهش میزان وزن گیری در جوجه های گوشتی و کاهش تولید تخم مرغ در مرغان تخمگذاری می شود (۲۰) و میزان مرگ و میر مربوط به آن ۶ تا ۱۰ درصد کل مرگ و میری می باشد که در گله های طیور رخ می دهد (۴۵). تخمین زده می شود که این بیماری سالانه بیش از سه میلیارد دلار به صنعت طیور جهان خسارت وارد می کند (۴). داروها و واکسن های زنده و ابزار اصلی پیشگیری از این بیماری محسوب می شوند اما به علت بروز مقاومت های دارویی در اثر مصرف طولانی مدت و همچنین مشکلات ناشی از باقیمانده های دارویی در گوشت (۲۴) و از طرفی بالا بودن قیمت واکسن ها، سیاست های جایگزین به منظور کنترل موثر و بهداشتی تر بیماری کوکسیدیوز در جوجه ها مورد نیاز است (۴).

نقش میکروفلور روده ای 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، گونه های لاکتوباسیلوس توانایی چسبیدن به سلول ها، کاهش دادن اتصال عوامل بیماریزای به مخاط روده یا دفع آنها، پایداری، تکثیر و تولید اسیدها، پراکسید هیدروژن و باکتریوسین ها را دارند (۳۰، ۴۱). چندین گونه لاکتوباسیلوس در دستگاه گوارش مرغ زندگی می کنند و هر کدام به صورت اختصاصی در قسمتی از روده رشد می کنند (۹، ۱۶). لاکتوباسیل ها قادرند





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

مواد اولیه (بر حسب درصد)	جیره آغازی (۱۴ تا ۱۶ روزگی)	جیره رشد (۲۸ تا ۱۵ روزگی)	جیره پایانی (تا 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
کرینات 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
پروتئین	۲۲/۱	۲۰/۵۵	۱۸/۰۵
آرزئین	۱/۴۱	۱/۳۰۲	۱/۱۳۴
لیزین	۱/۳۲	۱/۳۱۸	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 منشأ لاکتوباسیلوس در کنترل بیماری کوکسیدیوز و عوارض ناشی از آن و نیز تاثیر آن در پاسخ واکسن‌های تخفیف حدت یافته کوکسیدیوز (پاراوکس) 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 اسپست در گروه شاهد مثبت (آلوده) اختلاف بسیار معنی داری با گروهی که پروبیوتیک دریافت کرده بود داشت این بدان معنی است که پروبیوتیک با منشأ لاکتوباسیلوس میزان دفع اسپست 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 اسپست‌ها در پرندگانی که با ایمریا آسرولینا آلوده شده بودند نسبت به گروه شاهد آلوده گردید ولی در مورد ایمریا تنلاهر چند که کاهش دفع اسپست 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

OPG، بیشترین تعداد اسپست مربوط به گروه شاهد آلوده بود و کمترین شمارش اسپست‌ها به گروه شاهد غیر آلوده اختصاص داشت. در این بررسی تجربی به کارگیری پروبیوتیک و واکسن به صورت جداگانه و باهم سبب کاهش دفع اسپست‌ها از طریق مدفوع گردید به طوری که اختلاف بین شمارش اسپست‌ها در این گروه‌ها با گروه شاهد آلوده تازه روز بعد از آلوده سازی کاملاً 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 هر چند 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 معنی دار 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 - ۲۸ و ۲۲ - ۲۸ در بین گروه‌های مختلف اختلاف معنی داری با همدیگر نداشتند. در سن ۲۱ - ۲۸ و 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 معنی داری با گروه‌های آلوده داشت ( $p \leq 0/05$ ) همچنین میزان افزایش وزن بدن از یک روزگی تا ۴۲ روزگی در گروه شاهد غیر آلوده اختلاف معنی داری با گروه‌های آلوده داشت ( $p \leq 0/05$ ) 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 معنی داری 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 غیر آلوده 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 (غیر آلوده) 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 غیر آلوده بود، در عین 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 غیر آلوده نسبت به گروه‌های آلوده به صورت معنی داری بیشتر بود ( $p \leq 0/01$ ). اما بین گروه‌های آلوده اختلاف معنی داری وجود نداشت هر



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

روز ۶ پس از چالش	قبل از چالش	گروه آزمایشی		
		چالش	واکسن	پروبیوتیک
۱۱۰/۳۲	۸۷/۳۱ <sup>a</sup>	-	-	-
۲۶/۳۰ <sup>b</sup>	۵۳/۲۵	+	-	-
۳۶/۳۴ <sup>b</sup>	۵۵/۷۷	+	-	+
۲۸/۵۹ <sup>b</sup>	۶۴/۶۸	+	+	-
۴۳/۱۲ <sup>b</sup>	۸۶/۸۲	+	+	+
۱۲/۱	۱۶	SEM		
۰/۰۰۱	۰/۹۷	p-value		

انتشار ایسیست ها کاهش می یابد (۵). این مسئله با یافته های موجود در مطالعه حاضر همخوانی دارد. بالا بودن غیر معنی دار OPG در گروه پروبیوتیک نسبت به گروه واکسن می تواند ناشی از تاثیر بهتر واکسن نسبت به پروبیوتیک باشد.

برجسته ترین علامت بارز کوكسیديوز پرندگان کاهش رشد می باشد 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 می شود (۴). لذا در این مطالعه در بررسی شاخص های تولیدی مشخص گردید که در گروه دریافت کننده پروبیوتیک، مقدار افزایش وزن، میزان اخذ غذا، مقدار تلفات، ضریب تبدیل غذایی، شاخص کارایی تولید و مقدار کاروتن سرم نسبت به گروه شاهد آلوده بهبودی نسبی نشان داد. اگرچه پیش بینی می کردیم که بین پارامترهای مختلف با کاهش OPG، ارتباط مستقیم و معنی داری مشاهده کنیم ولی بنا بر عقیده Dalloul و همکاران در سال ۲۰۰۵ در مطالعات پروبیوتیک همیشه کاهش میزان دفع ایسیست ها با افزایش وزن همراه نیست (۳). دیگران نیز مشابه چنین نتایجی را مشاهده کردند (۸، ۳۵).

در گروه دریافت کننده پروبیوتیک، در مقدار افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، میزان تلفات و میزان اخذ غذا و مقدار کاروتن سرم، قبل از چالش با سوش های حاد ایمریا اختلاف معنی داری با گروه شاهد منفی (غیر آلوده) مشاهده نگردید این نتیجه با مشاهدات Jin و همکاران در سال ۱۹۹۷ مطابقت می کند. به عقیده Jin و همکاران، اثرات مفید پروبیوتیک ها تنها پس از ۲۸ روزگی بروز می کند و پس از ۴۹ روزگی تاثیر در رشد پرندگی ندارد. با این حال میزان بهبودی در بازده غذایی پرندگان که پروبیوتیک دریافت می کنند جزئی است (۱۳). Modirsanei و همکاران نیز در سال ۱۳۸۲ در یک بررسی مقایسه ای 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 معنی داری بین وزن بدن در گروه های دریافت کننده پروبیوتیک ها و گروه شاهد وجود نداشت (۲۶).

جدول ۲- تاثیر استفاده توام پروبیوتیک و واکسن تخفیف حدت یافته کوكسیديوز بر میزان دفع ایسیست در مدفوع (OPG) بر حسب لگاریتم در جوجه های گوشتی در روزهای مختلف نمونه برداری پس از چالش با سوشهای حاد گونه های بیماریزای ایمریا. SEM: Standard error

گروه آزمایشی	واکسن	پروبیوتیک	آنزیم	چالش	۶	۷	۸	۹	۱۰
۱	-	-	-	-	۱/۰ <sup>d</sup>	۱/۰ <sup>c</sup>	۱/۰ <sup>c</sup>	۱/۰ <sup>d</sup>	۱/۰ <sup>b</sup>
۲	-	-	-	+	۴/۹۲۱ <sup>a</sup>	۵/۰۰۹ <sup>a</sup>	۵/۰۴۹ <sup>a</sup>	۴/۲۸۵ <sup>a</sup>	۳/۹۸۵ <sup>a</sup>
۳	-	+	-	+	۳/۹۸۴ <sup>b</sup>	۳/۷۱۷ <sup>b</sup>	۳/۷۱۱ <sup>b</sup>	۳/۹۱۹ <sup>ab</sup>	۳/۹۴۵ <sup>a</sup>
۴	+	-	-	+	۳/۴۱۳ <sup>c</sup>	۳/۱۴۳ <sup>b</sup>	۳/۰۶۳ <sup>b</sup>	۳/۳۴۲ <sup>bc</sup>	۳/۵۸۵ <sup>a</sup>
۵	+	+	-	+	۳/۷۴۱ <sup>bc</sup>	۳/۲۹۷ <sup>b</sup>	۳/۱۴۹ <sup>b</sup>	۲/۹۰۷ <sup>c</sup>	۳/۷۱۷ <sup>a</sup>
SEM					۰/۱۷	۰/۳۲	۰/۲۵	۰/۲۳	۰/۱۹
p value					۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

مخاطبی و عمومی را بطور معنی داری افزایش می دهد (۶، ۲۸) مکانیسم دقیق این محافظت علیه بیماری کوكسیديوز روشن نیست، احتمالاً بخشی از این محافظت به تحریک اولیه اجزاء سیستم ایمنی (لنفوسیت های بین سلول های اپیتلیال (IEL)) در روده بوسیله باکتری های پروبیوتیک مربوط می شود که منجر به تسریع پاسخ ایمنی به ایمریا (اسپوروزوئیت ها) می شود. در موش، تخلیه سلول های CD4<sup>+</sup> در نتیجه افزایش تولید ایسیست در طول عفونت اولیه ایمریا، نشان دهنده نقش مهم سلول های CD4<sup>+</sup> یا سیتوکین هایی که تولید می کنند در کنترل تکثیر انگل می باشد (۳۱). با این وجود در مطالعه Lillehoj و Trout در سال ۱۹۹۶ مشاهده گردید که تخلیه سلول های CD4<sup>+</sup> تاثیر بر عفونت اولیه ایمریا آسرولینا در مرغ ندارد (۲۱). Trout و Lillehoj در سال ۱۹۹۵ دریافتند که سلول های CD8<sup>+</sup> درست ۲۴ ساعت پس از آلودگی با ایمریا آسرولینا به مقدار فراوانی در مخاط روده وجود دارند و بطور معنی داری اسپوروزوئیت های زیادی در داخل یا کنار سلول های CD8<sup>+</sup> یافت شد که نشان دهنده نقش سلول های T در پاسخهای ایمنی در برابر بیماری کوكسیديوز می باشد (۳۹). بنابراین تحریک اولیه سلول های ایمنی در اپیتلیوم روده، می تواند مقاومت جوجه های گوشتی را نسبت به آلودگی های کوكسیديویی افزایش دهد. ایمریا انگل داخل سلولی است و به منظور تکثیر باید به سلول های میزبان حمله کند لذا برای این کار ابتدا باید به سطوح اپیتلیال بچسبند. باکتری های پروبیوتیک سازگار یافته با روده ممکن است جهت چسبیدن به مخاط روده با ایمریاها رقابت کنند و گیرنده های موجود در سلول های اپیتلیال روده را اشغال کنند این کار باعث تعویق در نفوذ و ترشح اسپوروزوئیت های ایمریاها به مخاط روده می شود، در نتیجه تکثیر و



جدول ۴- اثر استفاده از پروبیوتیک و واکسن تخفیف حدت یافته کوکسیدیوز بر میانگین 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. PEI: Production Efficiency Index. FCR: Feed Conversion Rate. FI:

گروه آزمایشی	۱-۲۱ روزگی			۲۹-۴۲ روزگی			۲۲-۲۸ روزگی			۱-۲۱ روزگی			چالش	واکسن	پروبیوتیک	گروه	
	PEI	FCR	FI	BWG	FCR	FI	BWG	FCR	FI	BWG	FCR	FI					BWG
۱	۳۳۲/۴ <sup>a</sup>	۱/۷۰	۴۲۹۶	۲۴۶۷ <sup>a</sup>	۲/۱۸	۲۳۴۸	۱۱۸ <sup>a</sup>	۱/۷۶	۸۷۷	۴۹۸	۱/۳۴	۱۰۷۲	۷۸۹	-	-	-	۱
۲	۲۴۵/۲ <sup>b</sup>	۱/۸۳	۴۱۱۶	۲۲۱ <sup>b</sup>	۳/۹۷	۲۱۶۶	۹۳۹ <sup>b</sup>	۱/۹۶	۸۷۹	۴۸۸	۱/۳۵	۱۰۷۱	۷۸۳	+	-	-	۲
۳	۲۶۰/۷ <sup>b</sup>	۱/۷۹	۳۹۸۶	۲۲۰ <sup>b</sup>	۳/۳۵	۲۰۹۵	۹۵۷ <sup>b</sup>	۱/۸۶	۸۳۴	۴۶۴	۱/۳۲	۱۰۵۷	۷۸۸	+	-	+	۳
۴	۲۷۹/۹ <sup>b</sup>	۱/۷۶	۴۰۸۳	۲۲۶ <sup>b</sup>	۲/۶۰	۲۱۸۴	۹۹۲ <sup>b</sup>	۱/۷۸	۸۴۴	۴۹۵	۱/۳۵	۱۰۵۵	۷۷۵	+	+	-	۴
۵	۲۷۹/۴ <sup>b</sup>	۱/۸۲	۴۰۸۱	۲۲۱۴ <sup>b</sup>	۲/۹۸	۲۱۶۵	۹۶۵ <sup>b</sup>	۱/۸۱	۸۵۲	۴۷۱	۱/۳۶	۱۰۶۴	۷۷۹	+	+	+	۵
	۱۵/۶	-/۰۳	۸۰/۶	۵۸	۰/۴۵	۷۱	۵۰	۰/۰۵	۲۰/۶	۱۷/۵	۰/۰۲۸	۲۳/۵	۱۷	SEM			
	۰/۰۱	۰/۰۸	۰/۱۴۹	۰/۰۲	۰/۱۰۳	۰/۱۹۶	۰/۰۲۳	۰/۱۱۰	۰/۴۶۸	۰/۵۸۰	۰/۸۸	۰/۹۷۶	۰/۹۷۰	p value			

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 اسپوروزویت‌ها شده است. از طرفی بالا بودن مقدار کاروتن سرم در گروهی که به همراه واکسن، پروبیوتیک دریافت کرده است، احتمالاً 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 حالی که 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 ایمر یا باشد.

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

هر چند که اختلاف مقدار افزایش وزن تا ۲۱ روزگی در بین گروه‌های مختلف معنی دار 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 کارایی تولید در گروه شاهد غیر آلوده نسبت به گروه‌های

مطالعات زیادی وجود دارد که در آنها نتایج مثبتی از مصرف پروبیوتیک‌ها روی شاخص‌های تولیدی مشاهده نشده است. Kratzer و Watkins 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 معنی داری مشاهده نکردند (۲۲). متفاوت بودن اثرات پروبیوتیک‌ها بر روی جوجه‌ها که در مطالعات متعددی مشاهده گردیده است احتمالاً به تفاوت سویه‌ها و شکل باکتری‌های مورد استفاده و مقدار مورد استفاده مربوط می‌شود.

شواهد فراوانی از کارآزمایی‌های تجربی در مورد نقش پروبیوتیک‌ها - 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 احتمالاً عدم وجود کیفیت استاندارد در محصولات تجاری می‌باشد که ترکیب و قابلیت زنده مانگی متفاوتی دارند (۷،۱۰،۱۱،۲۶،۴۳). دلیل بعدی، کارایی ضعیف پروبیوتیک‌ها بر اساس 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 - روده‌ای توصیف اثرات مشخص پروبیوتیک‌ها را در بهداشت و بیماری دسوار می‌سازد. دوم آن که اشتباه در تشخیص قابلیت زنده مانگی 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 اسیست در روز نهم پس از چالش در





## References

- 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.
- Conway, D. P., McKenzie, M. E. (1991) Poultry Coccidiosis Diagnostic and Testing Procedures. 2<sup>nd</sup> ed. Pfizer Inc., New York, USA. pp.17-35.
- Dalloul, R. A., Lillehoj, H. S. (2005) Recent advances in immunomodulation and vaccination strategies against coccidiosis. *Avian Dis.* 49: 1-8.
- Dalloul, R. A., Bliss, T. W., Honga, Y. H., Ben-Choukha, 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
- 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.
- Famularo, G., De Simone, C., Matteuzzi, D., Pirovano, F. (1999) Traditional and high potency probiotic preparations for oral bacteriotherapy. *BioDrugs.* 12: 455-470.
- 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.
- 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.
- Gusils, C., Gonzalez, S.N., Oliver, G. (1999) Some probiotic properties of chicken *Lactobacilli*. *Can. J. Microbiol.* 45: 981-987.
- Hamilton-Miller, J. M., Shah, S. (2002) Deficiencies in microbiological quality and labelling of probiotic supplements. *Int. J. Food Microbiol.* 72: 175-176.
- Hamilton-Miller, J. M., Shah, S., Winkler, J.T. (1999) آلوده به طور معنی داری بیشتر بود که دلیل آن درگیری گروه‌های آلوده با بیماری کوکسیدیوز می‌باشد. در بین گروه‌های آلوده، کمترین شاخص کارایی 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 کارایی 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 معنی دار OPG، کاهش نسبی ضریب تبدیل غذایی، میزان تلفات و افزایش نسبی شاخص کارایی تولید در گروه پروبیوتیک نسبت به گروه شاهد آلوده می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که استفاده از پروبیوتیک پریمالاک می‌تواند تاثیر مثبتی در کنترل بیماری کوکسیدیوز داشته باشد همچنین با توجه به کاهش معنی دار میزان دفع اسپست و کاهش نسبی میزان تلفات و افزایش نسبی مقدار کاروتن سرم، شاخص کارایی 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 معنی دار در پارامترها و شاخص‌های تولیدی ذکر شده در گروهی که پریمالاک + پاراکوکس را دریافت کرده بود نسبت به گروه واکسینه شده با واکسن پاراکوکس، احتمالاً مصرف پروبیوتیک با منشأ 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.

Public health issues arising from microbiological and labelling quality of foods and supplements containing probiotic microorganisms. *Public Health Nutr.* 2: 223-229.

- 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*. 9<sup>th</sup> ed., 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 oocyst production in chickens monospecifically infected with *Eimeria maxima*. *Avian 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.<sup>1</sup>, Shojadoost, B.<sup>1\*</sup>, Modirsanei, M.<sup>2</sup>, Mansoori, B.<sup>2</sup>, Rahbari, S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran -Iran .

<sup>2</sup>Department of Animal breeding and Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran .

<sup>3</sup>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 oocysts 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](mailto:bshojae@ut.ac.ir), Tel: 021-61117150, Fax: 021-66933222

