مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۸، دوره ۶۴، شماره ۲، ۱۰۷-۱۰۳

تأثیر عفونت تجربی کوکسیدیایی بر ایمنی سلولی حاصل از واکسیناسیون نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی

بهرام شجاعدوست[۱]* فرهید همت زاده[۲] جلال غلامی سید کلایی[۱] صادق رهبری[۳] محمد طاهری[۴]

۱) گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۲) گروه میکرب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۳) گروه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۴) آزمایشگاه رفرانس، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۲۳ آبان ماه ۱۳۸۵، پذیرش نهایی: ۱۵ اسفند ماه ۱۳۸۶)

چکیده

با هدف بررسی اثر تضعیف ایمنی احتمالی عفونت کوکسیدیایی بر ایمنی سلولی جوجه‌های گوشتی، ۶۴۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه از جنس نرسویه تجاری راس ۲۰۸ بطور تصادفی به ۴ گروه ۱۶۰ قطعه‌ای (هر یک شامل ۴ تکرار ۴۰ تایی) تقسیم شدند. گروه شاهد منفی تا انتهای آزمایش چالش نشده باقی ماند، در حالی که ۳ گروه دیگر مخلوطی از آیمریا آسروولینا و آیمریا ماکزیما را در غالب دوزهای بالا، متوسط و پایین در سن ۱۵ روزگی دریافت کردند. برای ارزیابی فعالیت سیستم ایمنی سلولی پرنده از آزمایش ممانعت از مهاجرت ماکروفاژ (MIF) استفاده شد. و به همین منظور خونگیری در سنین ۱۵، ۲۲ و ۳۶ روزگی انجام شد. در سن ۱۵ روزگی (قبل از چالش) اختلاف معنی‌داری در میزان MIF بین گروه‌های مختلف، دیده نشد ($p>0/05$). در سنین ۲۲ و ۳۶ روزگی (۱ و ۳ هفته پس از چالش) اختلاف معنی‌داری در میزان MIF بین گروه چالش شده با دوز بالا و شاهد منفی مشاهده گردید ($p<0/05$). بر اساس این مطالعه مشخص گردید که آلودگی به عفونت کوکسیدیایی با دوز بالا در جوجه‌های گوشتی موجب تضعیف ایمنی سلولی اختصاصی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: کوکسیدیوز، ایمنی سلولی، جوجه گوشتی.

مقدمه

کوکسیدیوز یکی از بیماری‌های انگلی است که توسط تک یاخته‌هایی از جنس آیمریا ایجاد می‌شود. این انگل از طریق ایجاد انتریت، کاهش بازدهی و افزایش تلفات در گله‌های طیور خسارات فراوانی را به صنعت طیور ایران و سایر کشورهای جهان وارد می‌نماید (۸،۱۳).

گله‌های سالم معمولاً بازدهی خوبی دارند، اما پرورش یک گله سالم به عوامل متعددی بستگی دارد. مدیریت تغذیه، برنامه واکسیناسیون و مهمتر از همه وضعیت تکامل سیستم ایمنی پرنده از جمله این عوامل می‌باشند (۱۷). سرکوب پاسخ‌های ایمنی در پرنده باعث کاهش سطوح محافظت ایجاد شده بوسیله واکسن و افزایش شدت بیماریزایی عوامل بیماریزای طیور شده و بدنبال آن کاهش رشد، کاهش بازدهی گله، افزایش تلفات، افزایش مصرف دارو در گله و در نهایت خسارت‌های اقتصادی رخ می‌دهد. کوکسیدیاها به واسطه تکثیر در سلول‌های اپی تلیال باعث تخریب آنها شده و از طریق آسیبی که به مخاط وزیر مخاط روده وارد می‌کنند، در روده ایجاد جراحت می‌نمایند (۱۷). در پی آسیب به روده و ضخیم شدن ویلی‌ها اختلال در هضم و جذب مواد غذایی، بی اشتهایی و میل کمتر به آب در موارد حاد می‌گردد (۱۷). میزان متابولیسم پایه در پرندگان آلوده به کوکسیدیا کمتر از پرندگان غیرعفونی است. به علاوه میزان آلبومن، کاروتنوئید، آهن، گلوکز، فسفر و سدیم پلاسما در این پرندگان نسبت به گروه کنترل کمتر است (۳،۵،۱۹،۲۰) در یکی از تحقیقات انجام شده مشخص شد میزان سدیم، کلسیم، فسفر و آهن در پرندگان آلوده به کوکسید یا کمتر از پرندگان سالم است (۶). در ضمن عفونت کوکسیدیایی سبب کاهش رشد و بازده غذای استفاده شده می‌گردد (۶،۸). به علاوه غلظت روی کبدی توسط کوکسیدیوز کاهش می‌یابد (۵). علاوه بر آن میزان Fe پلاسما و Fe باند شده در کوکسیدیوز حاد کاهش می‌یابد (۲۰). در تحقیقی دیگر معلوم شد عفونت کوکسیدیایی سبب کاهش آرژنین، اسید آسپاراژنیک، ترئونین، سرین، پرولین، گلیسین در پلاسمای خون جوجه‌های آلوده می‌گردد (۱۶،۲۰). به علاوه در عفونت کوکسیدیایی غلظت اسید آسکوربیک پلاسما نیز کاهش می‌یابد (۱۶) نقش یافته‌های فوق هنگامی اهمیت بیشتری می‌یابد که بدانیم Vit A، اسیدهای آمینه و پروتئین، Vit E، سلنیم، Vit C، Vit B12، روی و آهن دارای نقش مسلم در ایمنی سلولی و هومورال پرنده می‌باشند (۲۳).

از آنجاکه تکثیر ایمریاها در لوله گوارش سبب آسیب و تخریب بافتی و بدنبال آن وقفه تغذیه‌ای و اختلال در جذب مواد مغذی ضروری در رشد و نمو دستگاه‌های بدن از جمله سیستم ایمنی می‌گردد. این سوال در ذهن ایجاد میگردد که آیا عملکرد ایمریاها بر سیستم ایمنی سلولی تاثیر سؤ دارد یا خیر؟ بدین منظور مطالعه‌ای با ایجاد عفونت تجربی کوکسیدیایی در جوجه‌های گوشتی و با استفاده از روش سنجش ممانعت از مهاجرت ماکروفاژ صورت گرفت. هدف از بکارگیری این آزمون مطالعه اثر عفونت کوکسیدیایی بر وضعیت ایمنی سلولی اختصاصی (وابسته به آنتی ژن) بود.

در آزمایش ممانعت از مهاجرت، لمفوسیت‌های حساس شده به آنتی ژن خاص و ماکروفاژها دخالت دارند. در صورتی که جمعیت ماکروفاژی خالص

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

در لوله مویینه ریخته شوند به منظور دریافت مواد غذایی بیشتر از لوله موئین به خارج مهاجرت می‌کنند. ولی اگر لمفوسیت‌های متعلق به حیوان حساس با ماکروفاژهای حیوان حساس و یا غیر حساس مخلوط شده و در مجاورت پادگن قرار گیرند از مهاجرت ماکروفاژها ممانعت خواهد شد. بنابراین ممانعت بستگی به تعداد لمفوسیت‌های حساس دارد و به نظر می‌رسد که یک لمفوسیت فعال با ترشع عامل ممانعت از مهاجرت مانع از مهاجرت ۱۰۰۰ ماکروفاژ می‌گردد. لمفوسیت‌های حساس وقتی در مجاورت پادگن مربوطه قرار گیرند، پروتئین مخصوصی را می‌سازند که از مهاجرت ماکروفاژها جلوگیری می‌کند. این پروتئین به نام عامل ممانعت از مهاجرت(Factor Migration Inhibition= MIF) معروف است.

MIF در زمره سایتوکاین‌های مترشحه از لمفوسیت‌ها است که با شناسایی انواع مختلف سایتو کاین‌ها به نظر می‌رسد پدیده ممانعت از مهاجرت ماکروفاژها، وابسته به عملکرد شبکه‌ای از اینترلوکین‌ها بوده و عامل منفردی مسئولیت این پدیده را بر عهده ندارد(۱). نکته دیگر آنکه، MIF قبل از تماس با پادگن در لمفوسیت‌ها موجود نیست(۲۳).

مواد وروش کار

برای انجام این مطالعه ۶۴۰ قطعه جوجه یکروزه نرگوشتی سویه راس ۲۰۸ به چهار گروه ۱۶۰ قطعه‌ای که هر یک شامل چهار تکرار ۴۰ قطعه‌ای بود، استفاده شد. تمام گروه‌ها از نظر وضعیت مدیریت بهداشت و پرورش، جیره غذایی و برنامه واکسیناسیون (برونشیت، نیوکاسل، گامبورو) وضعیت یکسانی داشتند.

گروه یک، گروه کنترل منفی بود که هیچگونه چالش با سویه‌های ایمریای مورد مطالعه در آن صورت نگرفت. اما گروه ۲ با دوز پایین (۱۲۵۰۰ اووسیست اسپوریله ایمریاماکزیماو۶۲۵۰۰ اووسیست اسپوریله ایمریاآسرولینا)و گروه ۳ با دوز متوسط(۲۵۰۰۰ اووسیست اسپوریله ایمریاماکزیماو۱۲۵۰۰۰ اووسیست اسپوریله ایمریاآسرولینا) و گروه ۴ با دوز بالا (۵۰۰۰۰ اووسیست اسپوریله ایمریاماکزیما و۲۵۰۰۰۰ اووسیست اسپوریله ایمریاآسرولینا) چالش شدند و بر روی بستر پرورش یافتند. برنامه چالش ایمریا و خونگیری به قرار زیر صورت گرفت:

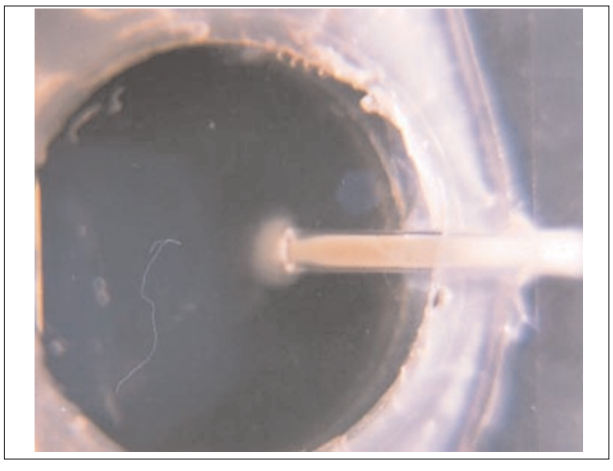
بعد از تکثیر و تنظیم مقدار اووسیست‌های اسپورولهٔ چالش ایمریاها در سن۱۵ روزگی و برنامه خونگیری در سنین۱۵و۲۲و۳۶ روزگی انجام گرفت. برای ارزیابی فعالیت سیستم ایمنی سلولی پرنده از آزمایش ممانعت از مهاجرت ماکروفاژها استفاده شد. لازم به ذکر است که ساخت ست MIF بطور ابتکاری بوده و از آنجا که مراحل روش MIF برای مرغ آماده بکار نبود، در راستای انجام طرح لازم بود تا آماده بکار (Set up) شود. در ضمن آزمایش OPG بستر از روز هفتم پس از چالش به مدت ۵ روز پیاپی انجام شد.

تهیه محیط کشت سلول: محیط کشت مورد استفاده در این آزمون محیط کشت سلول RPMI(محیط کشت سلولی معمولی) ۱۶۴۰ ساخت شرکت GIBCO بود که مطابق دستورالعمل سازنده تهیه شده و بعد از فیلتراسیون به میزان ده درصد FBS و ده هزار واحد پنی سیلین و ده میلی گرم استرپتومایسین در میلی لیتر به آن اضافه گردید.

برای تهیه محیط کشت سلول مخصوص محفظهٔ ست MIF به ۲۰ میلی لیتر از RPMI، ۳ میلی لیتر FBS، ۶۰۰ میلی گرم آنتی ژن ویروس نیوکاسل، ۲۰۰ میکرولیتر از محلول آنتی بیوتیکی که حاوی ۱۰.۰۰۰ واحد در میلی لیتر پنی سیلین و ۱۰.۰۰۰ میکرو گرم در میلی لیتر استرپتومایسین بوده اضافه گردید. برای شمارش و تنظیم تعداد سلول‌ها بعد از جداسازی هتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها و منوسیت‌ها،از رنگ آمیزی با تریپان بلو استفاده گردید. برای مشخص کردن سلول‌های خونی در مراحل مختلف جداسازی از رنگ آمیزی گیمسا استفاده شد.

تهیه سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی مرغ: ابتدا از ورید بالی جوجه‌ها (که به صورت تصادفی انتخاب می‌شدند با سرنگ هپارینه به میزان ۲ml اقدام به خونگیری می‌شد. سپس خون هپارینه به لوله فالکون ۱۵ml در کنار شعله منتقل گردیده و لوله‌های فالکون در ۸۰۰g و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده وسپس لایه بافی کوت آن به همراه حداقل ممکنه از گلبول‌های قرمز توسط پیپت کشیده شده و به لوله فالکون دیگری منتقل می‌گردید. هم حجم لایه بافی کوت و RBCهای برداشتی محیط کشت سلول RPMI اضافه می‌شد و به آرامی بر روی 2ml فایکول منتقل می‌گردید به‌طوری‌که حداقل اختلاط بین فاز فایکول و خون ایجادشود. لوله حاوی مواد مذکوردر ۵۰۰ g، به مدت ۱۰ دقیقه و در ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژشده، پس از پایان زمان سانتریفوژ لوله‌های مذکور به آرامی خارج شده و فازهای سلولی تشکیل شده مشاهده می‌شدند.در زیرین ترین لایه‌ها گلبول‌های قرمز مستقر شده ودرسطح گلبول‌های قرمز لایه فایکول به همراه هتروفیل‌های خون محیطی مرغ قرار می‌گیرند. در روی لایه فایکول تجمع تک هسته‌ای‌ها قرار داشته که به شکل یک لایه نازک سفیدرنگ مشاهده می‌گردند. در روی لایه تک هسته‌ای‌ها پلاسمای رقیق شده قرار می‌گیرد.

در این آزمایش چون تنها به سلول‌های تک هسته‌ای نیاز است، با دقت تمام لایه تک هسته‌ای‌ها توسط سمپلر برداشته شده و به یک لوله اپندرف منتقل می‌گردید و در ۵۰۰g در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ می‌گردید. پس از انجام سانتریفوژ محلول رویی را خارج کرده و پلت تشکیل شده در ته لوله با محیط کشت سلول شسته شده و مجددا در ۵۰۰ g به مدت ۵ دقیقه ودمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ می‌شدند. جمعیت ماکروفاژها به روش هموسیتومتر شمارش شده و در نهایت تعلیقی که حاوی 16×10^{6} سلول درمیلی لیتر از محیط RPMI حاوی ۱۰درصد سرم و آنتی بیوتیک به اضافه ۳۰ میکروگرم به ازای میلی لیتر محیط کشت، آنتی ژن ویروس نیوکاسل به حالت تعلیق درمی‌آمد. سپس محلول سلول‌های جداشده در محیط کشت سلولی به داخل لوله هماتوکریت کشیده شده و در ۲۵۰g به مدت ۵ دقیقه و ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ می‌شد. پس از سانتریفوژ لوله‌های هماتوکریت سلیکونه، لوله حاوی سلول‌های ته نشین شده با استفاده از قلم الماسه در یک میلی متر جلوی محل ته نشست سلول‌ها بریده و به آرامی شکسته و دردرون



تصویر ۱- در تصویر فوق لوله موئینه که در محفظه MIF قرار داده شده مشاهده می گردد. مهاجرت ماکرو فاژها به صورت هاله‌ای در انتهای لوله مشخص می باشد.

مخزن مهاجرت قرار می‌گرفت.

مخزن مهاجرت به شکل یک گوده‌ای است که در کنار آن شیاری به اندازه لوله هماتوکریت تعبیه شده است. لوله هماتوکریت به شکلی درمخزن قرار می‌گیرد که قسمت باز لوله تقریباً در مرکز گوده قرار گرفته و در اطراف آن محیط کشت سلولی با ترکیبی مشابه آنچه قبلاً ذکر گردید ریخته می‌شود. جهت جلوگیری از نشت مایع کشت سلول از مخزن مهاجرت، اطراف مخزن و اطراف لوله موجود درشیار توسط سلیکاژل مسدود می گردید، درنهایت سطح مخـزن توسط لامل استریل پوشانده شده و مجموعه حاصله به انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد در اتمسفر CO_2 ۵ درصد به مدت ۴۸ساعت گرمخانه‌گذاری می‌گردید. در هرمورد شاهدمنفی (مخزن فاقدآنتی ژن) در نظر گرفته می‌شد (۲،۴).

نحوه ارزیابی تست MIF: میزان مهاجرت هر نمونه در مقایسه با شاهد بر اساس مسافت طی شده از انتهای محفظه مهاجرت بر حسب میلیمتر سنجیده می‌شد. معمولا چون پراکندگی ماکروفاژهای مهاجرت کرده به شکل کلاهک قارچ مانند است (تصویر۱) لذا مسافت طی شده توسط سلول‌ها از انتهای محفظه تا راس کلاهک قارچ مانند به عنوان میزان مهاجرت سنجیده و در نظر گرفته می‌شود. معمولا میزان مهاجرت در حضور آنتی ژن کمتر از میزان مهاجرت در عدم حضور آنتی ژن است. براساس فرمول زیر خارج قسمت این دومعیار به عنوان میزان ممانعت از مهاجرت در نظر گرفته می‌شود.

میزان مهاجرت = X تقسیم بر Y ضرب در ۱۰۰

X= میزان مهاجرت ماکروفاژها در محفظه حاوی محیط کشت سلول و آنتی ژن

Y = میزان مهاجرت ماکروفاژها در محفظه حاوی محیط کشت سلول و بدون آنتی ژن

اطلاعات بدست آمده از تست MIF با استفاده از نرم افزار آماری SPSS10 و با استفاده از روش ANOVA مورد بررسی قرارگرفت سطح اطمینان ۰/۹۵ درصورت معنی‌داربودن از روش توکی برای تجزیه وتحلیل آماری داده‌ها استفاده گردید.

نتایج

MIF: بر اساس اطلاعات بدست آمده در این تحقیق، درسن ۱۵روزگی وقبل از چالش ایمریاها اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مختلف چالش شده وچالش نشده از نظر آزمون ممانعت از مهاجرت ماکرو فاژها (MIF) مشاهده نشد ($p<۰/۰۵$) (جدول۱). در سن ۲۲ روزگی و یک هفته پـس از چالش ایمریامیزان مهاجرت ماکروفاژها براساس فرمول نسبت مهاجرت در گروه‌های چالش شده نسبت به گـروه شاهد منفی افزایش چشمگیری داشته و این اختلاف بخصوص بین گروه چالش با دز بالا و گروه شاهد معنی‌داربوده است ($p<۰/۰۵$) (جدول۱).

در سن ۳۶ روزگی(۳هفته پس از چالش ایمریا) نیز بر اساس فرمول، نسبت مهاجرت در گروه‌های عفونی نسبت به گروه شاهد منفی افزایش داشته و ایـن اختلاف بخصوص بین گروه عفونی با دز بالا و گروه شاهد معنی‌داربوده است ($p<۰/۰۵$) (جدول۱). درضمن میزان دفع ااسیست‌ها در گروه شاهد منفی، برابر با صفر بود.

بحث

اثرات تضعیف ایمنی برخی از بیماری‌های انگلی در پرندگان مورد بررسی قرار گرفته است (۷). از آنجایی که کوکسیدیوز بصورت بالینی و تحت بالینی صنعت طیور کشور را تهدید می‌کند و باتوجه به اثراتی که کوکسیدیا بر ساختار و اعمال روده می‌گذارد این سوال پیش می‌آید که آیا عفونت کوکسیدیایی بر ایمنی پرنده نیز اثراتی دارد یا خیر؟ در این تحقیق تأثیرات این عفونت بر دستگاه ایمنی طیور مورد بررسی قرار گرفت. شاید کاهش جذب عوامل تغذیه ای شرکت کننده در مراحل مختلف ایمنی سلولی در پی بیماری کوکسیدیوز (همچنان که در قسمت مقدمه به تفصیل در مورد آنها صحبت شد) بتواند تا حدی توجیه کننده تضعیف ایمنی ایجاد شده باشد. با وجود این، برای یافتن چگونگی مکانیسم اثر تضعیف ایمنی توسط ایمریاها نیاز به تحقیقات گسترده می‌باشد.

دراین مطالعه در میزان مهاجرت ماکروفاژها با استفاده از روش MIF یک هفته و سه هفته بعد از چالش اووسیست‌ها بین گروه دریافت کنندهٔ بالاترین میزان اووسیست‌ها و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد($p<۰/۰۵$). در برخی از تحقیقات انجام شده اثرات عفونت کوکسیدیایی بر ایمنی طیورمورد بررسی قرار گرفته است. در یک تحقیق اثر عفونت با E.necatrix روی پاسخ جوجه‌ها به واکسن نیوکاسل بررسی شد و در پایان مشخص شد عفونت بااین آیمریا باعث تضعیف پاسخ ایمنی به واکسیناسیون با روش HI شده است.(۱۱) در یک تحقیق دیگر اثر عفونت E.necatrix بر پاسخ جوجه‌ها به واکسن نیوکاسل بررسی شد و در پایان مشخص شد بین تیتر متوسط گروه‌های آلوده و تیتر گروه کنترل اختلاف معنی‌دار وجود

جدول ۱- میزان مهاجرت ماکروفاژها براساس نسبت x/y در سنین مختلف (قبل و پس از چالش) (خطای استاندارد میانگین)، * غیر معنی‌دار، ** معنی‌دار، توجه: اعدادی که باحروف انگلیسی غیر مشترک نشان داده شده‌اند دارای اختلاف آماری معنی‌دارهستند (در سطح (p<۰/۰۵) معنی‌دار است).

x/y درسنین مختلف / نام گروه	۱۵روزگی	۲۲روزگی	۳۶روزگی
شاهد	۲۳±۵/۶	۷۰/۲±۵/۷[a]	۸۱/۵±۴/۸[a]
دوزبالا	۲۷±۵/۱	۱۰۹/۵±۹/۳b	۱۳۳/۱±۲۲/۱[b]
دوزمتوسط	۲۶±۶/۰	۱۰۲/۶±۱۲/۸[ab]	۱۰۲/۰±۵/۲[ab]
دوزپایین	۲۱±۳/۳	۷۵/۸±۶/۴[ab]	۹۱/۴±۷/۴[ab]
p.value	*۰/۶	**۰/۰۱	**۰/۰۳

داشت. جوجه‌ها در گروهی که به طور همزمان به همراه واکسیناسیون با E.necatrix آلوده شدند یک اثر تضعیف کنندگی از سومین دوره شیزونت روی شکل گیری آنتی بادی داشتند(۱۲). مطالعه دیگری نشان هنده اثر تضعیف ایمنی حاصل از عفونت E.tenella بر ایمنی هومرال بوده است (۶). در یک تحقیق انجام شده تیتر آنتی بادی علیه NDV در تمامی گروه‌های آلوده شده با E.grenieri نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. (۱۵) در ضمن مشخص شد E.necatrix سبب سرکوب معنی‌دار ایمنی هورال می‌گردد(۱۱).

عفونت با E.necatix قبل، حین و بعد از واکسن زنده نیوکاسل (در ۷ روزگی) به مدت یک هفته موجب سرکوب ایمنی می‌شود (۱۲). در یک تحقیق که با عنوان ارزیابی پاسخ ایمنی سلولی در جوجه‌های واکسینه شده با واکسن بیماری نیوکاسل انجام شد سه هفته بعداز واکسیناسیون زیرجلدی جوجه‌ها در سن ۸-۶ هفتگی با واکسن R2B حداکثر میزان ممانعت از مهاجرت لکوسیت و فاکتور واکنش دهنده پوست دیده شد(۲۱).

در پی مواجهه لنفوسیت‌ها با آنتی ژن اختصاصی موادی تحت عنوان فاکتور ممانعت کننده مهاجرت ماکروفاژها ترشح می‌شود که در پی تکرار این برخورد میزان و سرعت تولید این ماده بیشتر می‌شود. در زمانی که ماده ممانعت کننده از مهاجرت ماکروفاژها توسط لنفوسیت‌ها ترشح نشود، ماکروفاژها به سمت محیط کشت با غذای بیشتر مهاجرت می‌کنند که این مسئله در دوحالت اتفاق می‌افتد. اول آنکه اگر آنتی ژن درمحیط موجود نباشد تا لنفوسیت‌های خاطره‌ای به صورت اختصاصی فاکتور ممانعت از مهاجرت را ترشح کنند.دوم آنکه عمل سرکوب سیستم ایمنی رخ دهد. آزمایش مورد نظر تحت شرایط ذکر شده مسئله سرکوب سیستم ایمنی سلولی رادر ۱و۳هفته پس از چالش ایمریا در روش MIF نشان می‌دهد.

اماازآنجا که نتایج این تحقیق حاکی از بروز تضعیف ایمنی سلولی فقط در گروهی بود که بـا دوز بالای ایمریاها چالش شده بودند، لذا می‌توان به این نتیجه رسید که شدت عفونت کوکسیدیایی در میزان تضعیف ایمنی حاصله دخیل است. لذا چه بسا که عفونت‌های با شدت بیشتر موجب تضعیف شدیدتری در ایمنی سلولی گردند. بنابراین احتمالاً ایجاد عفونت با تعداد بیشتر اووسیست، تکرار چالش به دفعات بیشتر ویا استفاده از ایمریاهای با قـدرت بیماری زایی بالاتر (مانند ایمریا تنلا ونکاتریکس) می‌تواند باعث تضعیف شدیدتر ایمنی سلولی گردد که بروز شرایط فوق در فارم دور از انتظارنمی باشد. اما برای مشخص شدن جزئیات بیشتردرمورد چگونگی بروز این تضعیف ایمنی، انجام تحقیقات بیشتر ضروری است.

تشکر وقدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند که از زحمات فراوان و بی شائبه کارشناسان محترم آزمایشگاه مرکزی و بخش میکرب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، خصوصا سرکار خانم یوسفی، سرکار خانم احمدزاده و جناب آقای غفاری قدردانی نماید. ضمنا از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی، به جهت تامین هزینه‌های این طرح تشکر می‌گردد.

References

1. Abol, K. A. (2000) Cellular and Molecular Immunology. (4th ed.) Saunders company, Philaselphia, USA. pp. 1447-1454.
2. Agrawal, P., Reynolds, D.L. (1991) Evaluation of the cell-mediated immune response of chickens vaccinated with Newcastle Disease virus as determined by the under-agarose leukocyte- mirgration- inhibition technique. Avian Dis. 35: 360 - 364.
3. Augustine, P.C., Ruff, M.D. (1983) Changes in carotenoid and vitamin A levels in young turkeys infected with E. meleagrimitis or E.adenoeides. Avian Dis. 27: 963-971.
4. Bavry, R., Bloom. (1971) Invitro methods in cell mediated immunity. Academic Press. New york, USA. pp. 289-312.
5. Bafundo, K. W., BAKER, D. H., Fitzgerald, P.R. (1984) The iron-zink interrelationship in the chicl as in fluanced by E.acervulina infection. J. Nutr. 114:1306-1312.
6. Bhanushali, J.K., Long, P. L. (1985) E.tenella infection: does it affect humoral immune responses to heterologous antigens? J. Parasitol. 71: 850-852.
7. Bhopale, S. T., Deore, M. D. (1998) Immunosuppression in birds experimentally infected with single and mixed parasitic infections. J. Bombay Vet. Coll. 6: 17-19.
8. Calnek, B.W., Barner, J.H., Beard, C.W., Reid, W.M., Yoder, H.W. (1996) Dis. Poult. (10th ed.) Iowa, USA. pp. 865-883.

9. Cihak, et al. (1994) T cell development in the chicken. Poultry Sci. 73: 1012-1018.
10. Elchiev, Y.A. (1980) Biochemical assessment of the therapeutic efficacy of coccidin (dinitalmide) in chicken coccidiosis. Parazitologiya. 14: 452-456.
11. Elwanis, N.A., Derhalli, E. L. (1991) Effect of infection with E.necatrix on the response of chickens to ND vaccines. l. Using mesogenic komarov K strain of NDV. Assiut Vet. Med. J. 26: 124-137.
12. Elwanis, N. A., Derhalli, E. L. (1991) Effect of infection with E.necatrix on the response of chickens to ND vaccines. Ll. Using lentogenic Hitchner B. (HB1) Strain of NDV. Assiut Vet. Med. J. 25: 80-88.
13. Jordan, F.T.W. (1996) Poultry diseases. (4th ed.) Saunders company. London, England. pp. 411-421.
14. Koinarski,V., Kamburov, P. (1985) Changes in some blood indices in turkey poults with experimental E.adenoides infection; Veterinarn omeditsinski Nouki. 22: 20-26.
15. Onaby, F., Edris, A., Hegazy, G. O. (1994) Possible immunosuppressive effect of E.grenier infected guinea fowl: the effect on vaccination with Newcastle Disease virus K strain. Ann. Agric. Sci. Moshtohor. 32: 2205- 2211.
16. Padmavathi, P., Muralidharam, S.R.G. (1986) Studies on the alteration in the serum metabolites during the E.tenella infection in chicks. Indian. Vet. J. 63: 530 - 536.
17. Seif, Y. M. (2008) Diseases of poultry. (12th ed.) Blackwell publishin, Iowa. USA. pp. 1068-1085.
18. Singh, C.V., Joshi,H.I. (1976) Biochemical studies in intestinal coccidiosis of poultry. Pantnagar J. Res. l: 63-66.
19. Southern, L. L., Baker, D. H. (1983) E. acervulina infection and the zinc- copper interrelation ship in the chick. Poultry Sci. 62: 401 - 404.
20. Southern, L. L., Baker, D. H. (1982) Iron status of the chick as affected by E. acervulina infection and by variable iron ingestion. J. Nutr. 112: 2353- 2362.
21. Sundar, N., Basith, S. A. (2002) Effect of E. necatrix infection on Ranikhet Disease vaccination in chicken. Indian Vet. J. 7: 619 - 621.
22. Tajbakhsh, H. (1981) Fundamental immunology. (1st ed.) University of Tehran, Iran. press. pp. 305-
23. 311.
Tizard Ian, R. (2000) Veterinary immunology: an introduction. (6th ed.) Saunders company. Philadelphia, USA. pp. 391-426.

J.Vet.Res. 64,2:103-107,2009

EFFECT OF EXPERIMENTAL COCCIDIAL INFECTION ON CELLULAR IMMUNITY INDUCED BY NEWCASTLE DISEASE VACCINATION IN BROILERS

Shojadoost, B.[1]*, Hemmat zade, F.[2], Gholami seyed klaee, J.[1], Rahbari, S.[3], Taheri,M.[4]

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

[2]*Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran .*

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

(Received 14 November 2006 , Accepted 6 March 2008)

Abstract:

In order to evaluate the possible immunosuppressive effects of coccidial infection on Cell Mediated Immunity (CMI) of broiler chickens, 640 Ross male day old broiler chicks were randomly divided into 4 equal groups of 160 (each consist of 4 replicates of 40). The negative control group remained unchallenged, while the other three groups challenged with 3 different levels of high, medium and low doses of mixed inoculums of *E.acervulina* and *E.maxima* at 15 days of age. For the assessment of CMI, Macrophage Migration Inhibition (MIF) test was performed. For this purpose blood samples were collected at 15, 22, 36 days of age. No significant difference was observed among MIF of different groups at 15 days of age ($p > 0.05$) . At 22 and 36 days of age a significant difference observed among MIF of high dose and control groups ($p<0.05$). According to the results, it can be concluded that severe coccidial infection may compromise specific CMI activity in broilers.

Key words: coccidiosis, cellular, immunity, broiler.

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