

## Profil Saraf Nitroergik *Sekum* Ayam Pedaging yang Diinfeksi *Eimeria tenella*

(THE PROFILE OF NEURAL NITROERGIC IN THE COECUM OF BROILER INFECTED WITH *Eimeria tenella*)

Amelia Hana, Pudji Astuti, Yuda Heru Fibrianto,  
Sarmin, Claude Mona Airin

Bagian Fisiologi, Fakultas Kedokteran Hewan,  
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.  
Jl. Fauna 2, Karangmalang, Yogyakarta. 55281  
Telpon 024560864; Email : amy\_khugm@yahoo.co.id

### ABSTRAK

Neurotransmitter yang terdapat pada sistem saraf enterik berperan penting dalam berbagai enteropati, termasuk radang pada usus. Beberapa laporan telah membuktikan bahwa peradangan dapat mengubah neuron nitroergik. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui profil saraf nitroergik pada sekum ayam pedaging yang diinfeksi oleh *Eimeria tenella* dan pewarnaan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate-diaphorase* (NADPH-d). Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 36 ekor ayam umur dua minggu yang sehat dan bebas koksidiosis. Seluruh ayam percobaan diadaptasikan dengan kondisi kandang selama tujuh hari dengan pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Ayam percobaan dibagi secara acak menjadi tiga kelompok masing-masing kelompok berjumlah 12 ekor. Ayam kelompok I tidak diinfeksi dengan oosista hanya diberi 1,0 mL akuades/ekor peroral, kelompok II diinfeksi dosis tunggal  $5 \times 10^3$  oosista/ekor peroral, dan kelompok III diinfeksi dosis tunggal  $2 \times 10^4$  oosista/ekor peroral. Pada hari ke-7 pascainfeksi, seluruh ayam dipuasakan selama 12 jam, kemudian dikorbankan nyawanya, dinekropsi dan diambil jaringan sekumnya. Sampel sekum dinilai skor pelukaannya. Sampel jaringan sekum dibuat preparat histokimia dengan menggunakan pewarnaan NADPH-d untuk mengetahui perubahan morfometrik neuron nitroergiknya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa skor pelukaan sekum kelompok I= 0, kelompok II=2+, kelompok III= 3+. Kepadatan neuron pada sekum ayam kelompok I=2794,96±4,65 neuron/cm<sup>2</sup>, kelompok II=4930,36±63,73 neuron/cm<sup>2</sup>, dan kelompok III=7892,31±44,97 neuron/cm<sup>2</sup>. Kepadatan neuron kelompok II dan III meningkat sangat signifikan ( $p < 0,01$ ) dibanding kelompok I. Kepadatan neuron nitroergik kelompok III meningkat signifikan dibanding kelompok II ( $P < 0,05$ ). Disimpulkan bahwa infeksi *E. tenella* menyebabkan peningkatan jumlah neuron mienterik nitroergik sekum ayam. Semakin tinggi tingkatan skor pelukaan sekum semakin meningkat jumlah neuron mienterik nitroergik sekum.

Kata-kata kunci : ayam pedaging, sekum, *Eimeria tenella*, neuron nitroergik

### ABSTRACT

Neurotransmitter found in the enteric nervous system that plays an important role in a variety of enteropathies, including inflammatory bowel disease. Alteration of nitroergic neurons has been reported to be dependent on the manner by which inflammation is caused. This study was performed to determine the profile of neural nitroergic with *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate-diaphorase* (NADPH-d) staining in the cecum of broiler infected by *Eimeria tenella* (*E. tenella*). Thirty six health free of coccidiosis broiler one-day old chickens (DOC) used in this study. All of broiler adapted for 7 days with food and drink given *ad libitum* then divided into three groups, each group consisted of 12 broilers. The 1<sup>st</sup> group was control only given orally 1.0 ml of distilled water/ heads, while 2<sup>nd</sup> group was infected with a single dose of  $5 \times 10^3$  oocysts/ head orally, and 3<sup>rd</sup> group was infected with a single dose of  $2 \times 10^4$  oocysts/ head orally. On day 7 post infection, all of chickens were fasted for 12 hours then were euthanized and cecum was taken. Lesion score of cecum was assessed. Furthermore, tissue of the coecum was prepared for histochemical using NADPH-d staining to determine morphology, and morphometric of nitroergic neurons. The result shown that cecum lesion score of group I is 0, group II is +2, group III is +3. Neuron density in the cecum of group I is 2794.96±4.65 neuron/cm<sup>2</sup>, group II is 4930.36±63.73 neuron/cm<sup>2</sup> and group III is 7892.31±44.97

neuron/cm<sup>2</sup>. Neuron density of group II and III increased significantly ( $p < 0.001$ ) than group I. Nitregic neuron desity of group III increased significantly ( $p < 0.05$ ) than that of group II. It was concluded that the infection of *E.tenella* led to increase the number of neutrl mienteric nitregic of the cecum. The higher lesion score of cecum led to increase the number of mienteric nitregic neuron.

Keywords: broiler chicken, coecum, *Eimeria tenela*, neural nitregic

## PENDAHULUAN

Salah satu penyebab perubahan patologi yang spesifik pada intestinal adalah koksidirosis. Adanya gangguan, ditandai oleh atrofi mukosa *intestinum tenue* akibat infeksi atau defisiensi, absorpsi metabolit-metabolit sangat terganggu, mengakibatkan terjadinya sindroma malabsorpsi (Gharekhani *et al.*, 2014; Zulpo *et al.*, 2007).

Ayam rentan terhadap tujuh spesies *Eimeria* yaitu *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. brunetti*, *E. mitis*, dan *E. praecox*. Spesies yang paling umum menginfeksi adalah *E. tenella*, yang menyebabkan koksidirosis sekalis atau koksidirosis berdarah. Parasit *E. tenella* berkembang dalam sel-sel sekum, yang merupakan dua kantung buntu berada di dekat ujung belakang usus halus. Parasit *E. tenella* adalah salah satu koksidia yang paling patogen menginfeksi ayam. Infeksi akut, terjadi paling sering pada ayam muda. Infeksi dapat ditandai dengan adanya darah dalam tinja dan dengan morbiditas dan mortalitas yang tinggi (Gharekhani *et al.* 2014; Alberta, 2001).

Beberapa spesies *Eimeria* dapat menyerang dan merusak epitel usus halus dan sekum, sehingga dapat mengakibatkan peningkatan sekresi mukus, menurunkan absorpsi, hemoragi dan kebocoran cairan dari mukosa yang rusak. Secara umum *Eimeria sp* menimbulkan gangguan mekanik, serta menimbulkan radang yang dapat merusak fungsi seluruh atau sebagian usus halus. Patogenisitas *Eimeria sp.* tergantung beberapa faktor yaitu umur inang, kondisi tubuh inang, dan jumlah oosista yang ditelan inang dalam waktu singkat. Semakin tinggi jumlah oosista yang tertelan, maka semakin banyak jumlah skizon generasi II yang terbentuk dan semakin tinggi pula derajat keparahan penyakit yang ditimbulkan. Keparahan lesi meningkat secara signifikan dengan peningkatan dosis oosista yang diberikan (Chapman *et al.*, 2010).

Pergerakan gastrointestinal terutama diatur oleh pleksus mienterikus. Pleksus submukosa terutama mengatur sekresi

gastrointestinal dan aliran darah lokal. Sistem saraf yang mengatur motilitas usus mengandung neuron sensorik intrinsik, beberapa tipe interneuron, neuron motor eksitatori, dan inhibitor (Bolekova *et al.*, 2011).

Apabila kepadatan neuron mienterik turun maka inervasi mengalami penurunan, mengubah sensitivitas, sehingga menyebabkan gerak peristaltik turun. Sebaliknya apabila kepadatan neuron mienterik naik maka inervasi meningkat, sehingga gelombang peristaltik meningkat (Aube *et al.*, 2006). Perubahan populasi neuron mienterik usus tersebut merupakan respons adaptasi terhadap peningkatan beban kerja (Natali *et al.*, 2003). Hubungan tingkat perdarahan dengan peningkatan neuron nitregik belum banyak dilaporkan.

Ada hubungan antara kepadatan neuron mienterik dengan inervasi di usus. Apabila kepadatan neuron di usus halus turun, maka inervasi di usus tersebut turun, sehingga motilitas di usus turun yang mengakibatkan peristaltik di usus turun (Amelia *et al.*, 2011; Aube *et al.*, 2006).

*Neuronal nicotinamide adenine dinucleotide phosphate diaphorase* (NADPH-d) adalah *nitric oxide synthase* (NOS). Pewarnaan histokimia terhadap NADPH-d dapat dilakukan untuk melacak neuron nitregik, yang mengandung *neuronal nitric oxide synthase* (nNOS). Atas dasar tersebut maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh pemahaman yang lebih baik tentang patofisiologi radang sekum ayam pedaging yang diinfeksi *E. tenella* yaitu perubahan profil saraf di sekum dengan teknik pewarnaan NADPH-d.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi untuk preparasi oosista *E. tenella* infeksi, dan pemeliharaan ayam percobaan; serta di Laboratorium Anatomi dan Fisiologi FKH UGM untuk preparasi dan pewarnaan saraf nitregik sekum ayam dengan teknik NADPH-d

Penelitian ini diawali dengan preparasi oosista infeksi *E. tenella* (modifikasi metode Guimaraes *et al.*, 2007; Hamidinejat *et al.*, 2010). Sebanyak 36 ekor *Day Old Chick* (DOC) ayam pedaging digunakan dalam penelitian ini. Seluruh ayam tersebut diadaptasikan selama tujuh hari dengan pakan BR 1 dan air minum diberikan *ad libitum*. Ayam percobaan dibagi secara acak menjadi tiga kelompok yaitu kelompok I (sebagai kontrol), kelompok II, dan III masing-masing kelompok berjumlah 12 ekor. Ayam kelompok I tidak diinfeksi dengan oosista *E. tenella*, namun diberi 1,0 mL akuades/ekor *per oral*, kelompok II diinfeksi dosis tunggal dengan  $5 \times 10^3$  oosista *E. tenella*/ekor *per oral*, dan kelompok III dengan  $2 \times 10^4$  oosista *E. tenella*/ekor *per oral*. Pada hari ke-7 pascainfeksi semua ayam dipuaskan selama 12 jam, kemudian dikorbankan nyawanya dengan cara dieutanasia dan diambil sekumnya. Sampel jaringan sekum dinilai derajat skor perlukaannya (metode Raman *et al.*, 2011). Selanjutnya sampel jaringan sekum dibuat preparat histokimia dengan menggunakan teknik pewarnaan NADPH-d (metode Bolekova *et al.*, 2011; Lee dan Nam, 2006; Neunlist *et al.*, 2003; Marsala *et al.*, 2001), kemudian diamati di bawah mikroskop cahaya untuk mengetahui perubahan morfologi dan morfometrik neuron nitregiknya.

Data kepadatan neuron mienterik nitregik sekum ayam, dianalisis dengan sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji Duncan (Gomez dan Gomez, 2007).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Skor perlukaan sekum ayam pedaging yang diinfeksi *E. tenella* ditampilkan pada Gambar 1. Berdasarkan derajat perlukaan (skor lesi), kerusakan jaringan dan perdarahan pada sekum ayam kelompok I (kontrol) menunjukkan tidak ada perlukaan (skor perlukaan=0, Gambar 1a); sekum ayam kelompok II (kelompok yang diinfeksi  $5 \times 10^3$  oosista *E. tenella*/ekor dosis tunggal) menunjukkan ada bercak dan perdarahan sedang (skor +2, Gambar 1b); sekum ayam kelompok III (kelompok yang diinfeksi  $2 \times 10^4$  oosista *E. tenella*/ekor, dosis tunggal) menunjukkan ada perlukaan dan perdarahan berat (skor +3, Gambar 1c).

Adanya perdarahan pada sekum dimulai setelah oosista *E. tenella* infeksi ditelan ayam. Di dalam lambung, dinding oosista secara mekanik didestruksi dibantu oleh tripsin dan

garam empedu, sehingga sporokista dilepaskan. Sporokista eksis menjadi trophozoit, menginfeksi sel-sel epitel mukosa sekum, dan melalui lamina propria ke sel-sel epitel kriptas. Sporozoit infeksi menyerang dan merusak epitel dan sel-sel lain dalam lamina propria sekum. Infeksi melanjut melukai sistem pembuluh darah (Percy dan Barthold, 2007). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa derajat skor perdarahan ayam kelompok III lebih parah dibanding kelompok I dan II, sehingga semakin besar dosis infeksi *E. tenella* yang diberikan semakin parah perdarahannya.

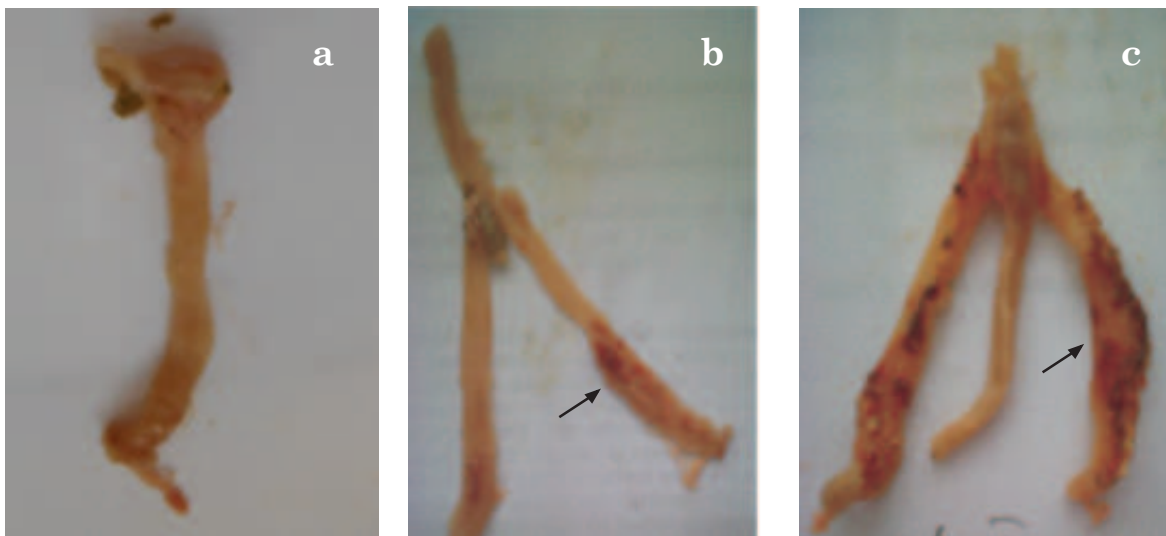
Hasil pewarnaan NADPH-d terhadap neuron sekum ayam kelompok I, II, dan III menunjukkan bahwa morfologi neuron sekum ayam kelompok I sama dengan kelompok yang diinfeksi *E. tenella* (Gambar 2), Namun, hasil perhitungan kepadatan neuron sekum ayam kelompok I, II, dan III, berbeda (Tabel 1).

Kepadatan neuron pada sekum ayam kelompok I (kontrol), adalah  $2794,96 \pm 4,65$  neuron/cm<sup>2</sup>, kelompok II adalah  $4930,36 \pm 63,73$  neuron/cm<sup>2</sup>, dan kelompok III adalah  $7892,31 \pm 44,97$  neuron/cm<sup>2</sup>. Kepadatan neuron kelompok II dan III menunjukkan peningkatan jumlah neuron yang sangat signifikan ( $p < 0,01$ ) dibanding kelompok I (kontrol). Ada perbedaan signifikan peningkatan kepadatan neuron nitregik sekum kelompok III dibanding kelompok II ( $P < 0,05$ ).

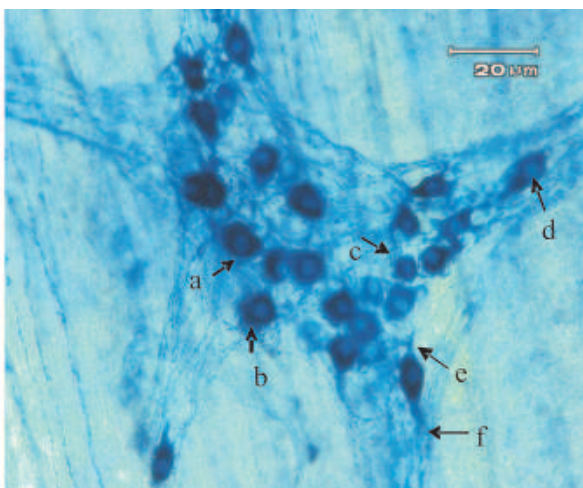
Ada hubungan antara peningkatan perdarahan dengan peningkatan jumlah neuron nitregik. Infeksi *E. tenella* menyebabkan kerusakan epitel dan peradangan di pembuluh darah sekum, sehingga integritas sebagai barrier pelindung rusak, sekresi mukus meningkat (hipersekreasi), kehilangan darah, gangguan proses digesti, penurunan absorpsi nutrien, dehidrasi, penurunan konduksi transmural, dan pelepasan ion-ion (Hoerr, 2001). Sekum ayam diinfeksi oleh serabut saraf dari nervus vagus, serangkaian saraf simpatik, dan kumpulan

Tabel 1. Rataan jumlah neuron mienterik sekum ayam yang diinfeksi oosista *E. tenella*

Perlakuan infeksi oosista	Jumlah neuron sekum/ 1 cm <sup>2</sup> x ± sd
0/ ekor	2794,96±4,65
$5 \times 10^3$ / ekor	4930,36±63,73
$2 \times 10^4$ / ekor	7892,31± 44,97



Gambar 1. Sekum ayam pedaging. Keterangan: (a) sekum ayam kelompok I (kontrol); (b) sekum ayam kelompok II; dan (c.) sekum ayam kelompok III. Tanda panah menunjukkan adanya perlukaan dan perdarahan berat.



Gambar 2. Morfologi neuron nitroergik normal sekum ayam. Keterangan: a. neuron ukuran besar, b. neuron ukuran sedang, c. neuron ukuran kecil, d. nukleus, e. dendrit, f. akson. Pewarnaan NADPH-d, mikroskop cahaya, perbesaran 40x10.

ganglia yang terletak di membrana mukosa membantu menginervasi sekum. Saraf-saraf tersebut mempunyai fungsi transmisi yang tergantung pada adanya pembebasan oksida nitrat (*nitric oxide*, NO) disebut dengan nitroergik, dan nervus ini diketahui mempunyai peranan dalam mengontrol tekanan otot polos. Oksida nitrat merupakan radikal bebas labil yang memegang peranan penting pada berbagai proses fisiologi dan patologi pada berbagai bentuk

peradangan dan sebagai inhibitor neurotransmitter. Secara normal NO dihasilkan dalam jumlah kecil oleh famili enzim *nitric oxide synthase (NOS)* dalam jaringan saraf melalui proses oksidasi enzimatik group *guadino L-arginine*, yang berfungsi untuk mengontrol transmisi saraf. Selama infeksi atau radang, sitokin dilepaskan oleh sistem imun untuk merangsang berbagai tipe sel, termasuk makrofag, untuk mensintesis sejumlah besar NO dengan menginduksi NOS (Lalatta-Costerbosa *et al.*, 2007). Senyawa NO adalah salah satu *inhibitory nonadrenergic noncholinergic (iNANC)* pada otot polos, NOS mempunyai aktivitas *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase (NADPH-d)*. Aktivitas enzim NOS dijadikan dasar metode histokimia sederhana untuk menggambarkan sel yang mengandung NOS yaitu dengan pewarnaan NADPH-d (Shirli *et al.*, 2014; Benesova *et al.*, 2004).

Kerusakan mukosa sekum menyebabkan masuknya kalsium ( $Ca^{2+}$ ) ke dalam dinding sekum, sebagai akibatnya potensial aksi dalam sel-sel ganglion mienterik meningkat. Potensial aksi itu selanjutnya menimbulkan depolarisasi membran retikulum sarkoplasmikum dan mendorong pembebasan ion  $Ca^{2+}$  ke dalam sarkoplasma. Proses tersebut menyebabkan peningkatan kontraksi yang tampak sebagai peningkatan amplitudo peristalsis (Vanner dan Mac Naughton, 2004).

Kepadatan sel saraf nitroergik di intestinum meningkat pada tikus *Sprague Dawley*



defisiensi protein (Natali *et al.*, 2003). Perubahan populasi neuron merupakan respons adaptasi terhadap peningkatan beban kerja (Ekblad *et al.*, 1998; Natali *et al.*, 2003).

Analisis korelasi antara lama waktu infeksi *E. tenella* selama tujuh hari dengan gejala klinis (adanya perdarahan pada sekum ayam) dan peningkatan jumlah neuron mienterik nitregik kelompok II dan III menunjukkan bahwa semakin lama waktu penelitian, maka semakin parah kerusakan sekum. Kerusakan sekum menyebabkan peningkatan jumlah neuron nitregik sekum. Adanya peningkatan jumlah neuron nitregik sekum semakin menghambat motilitas pada sekum. Adanya infeksi *E. tenella* menyebabkan adanya hiperplasia sekum (Natali, *et al.*, 2003) dan peningkatan jumlah neuron nitregik. Adapun respons adaptasi ini tergantung pada beban kerja sekum dalam merespons akibat infeksi yang terjadi (Benesova *et al.* 2004). Selain itu ditemukan adanya korelasi antara lama waktu infeksi *E. tenella* selama tujuh hari dengan gejala klinis (adanya perdarahan pada sekum ayam) dan peningkatan jumlah neuron mienterik nitregik kelompok II dan III menunjukkan bahwa semakin lama waktu penelitian, maka semakin parah kerusakan sekum.

### SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa infeksi *E. tenella* menyebabkan peningkatan jumlah neuron mienterik nitregik sekum ayam. Semakin tinggi tingkatan skor perlukaan sekum, semakin meningkat jumlah neuron mienterik nitregik sekum

### SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menghasilkan profil neuron nitregik usus halus yang tepat dengan menggunakan data jumlah kasus yang lebih banyak dan variatif, supaya model profil saraf nitregik di usus halus yang dihasilkan lebih mengeneralisasi semua data.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Fakultas Kedokteran Hewan UGM melalui hibah

Pengembangan Bagian Tahun 2013 dengan No. Kontrak: 1671/J.1.1.22/Hk 4/2013 tanggal 03 Mei 2013. Terima kasih disampaikan kepada drh Eryl Sri Rohayati, SU dan Dr drh Dwi Priyowidodo, MP, di Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran Hewan, UGM yang telah membantu menyediakan bahan oosista *E. tenella* pada penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Alberta CA. 2001. Coccidiosis in chickens, Agriculture and Rural Development, *Agdex* 663-665.
- Amelia H, Soesanto M, Siti IOS, Dwi L. 2011. Respon peristalsis dan neuron mienterik nitregik usus halus kelinci yang diinfeksi *Eimeria magna*. *J Veteriner* 12(2): 83-90.
- Aube AC, Cabarrocas J, Bauer J, Philippe DP, Aubert Doulay F, Liblau R, Galmiche JP, Neunlist M. 2006. Changes in enteric neurons phenotype and intestinal functions in a transgenic mouse model of enteric glia disruption. *J Gut* 55: 630-637.
- Benesova P, Langmeier M, Betka J, Trojan S. 2004. Changes in the number of nitregic neurons following kainic acid administration and repeated long-term hypoxia. *Physiol Res* 53(3): 343-349.
- Bolekova A, Spakovska T, Kluchova D, Toth S, Vesela J. 2011. NADPH-diaphorase expression in the rat jejunum after intestinal ischemia/ reperfusion. *European Journal of Histochemistry* 55(3): 23
- Chapman HD, Jeffers TK, Williams RB. 2010. Forty years of monensin for the control of coccidiosis in poultry. *Poult Sci* 89(9): 1788-801
- Gharekhani J, Sadeghi-Dehkordi Z, Bahrami M. 2014. Prevalence of coccidiosis in broiler chicken farms in Western Iran. *J Vet Med* 1-4
- Gomez KA, Gomez AA. 2007. *Prosedur Statistik Untuk Penelitian Pertanian*. Edisi ke-2, Penerjemah Sjamsuddin E, Baharsjah JS. Jakarta. UI-Press.
- Guimaraes JS, Bogado ALG, Da Cunha TCB, Garcia JL. 2007. In vitro evaluation of the disinfection efficacy on *Eimeria tenella* unsporulated oocyst isolated from broilers. *J Vet Parasitol* 16: 67-71.

- Hamidinejat H, Shapouri MRS, Mayahi M, Borujeni, PM. 2010. Characterization Of *Eimeria* species in commercial broilers by PCR based on its1 regions Of RDNA. *J Parasitol* 5(4): 48–54.
- Hoerr FJ. 2001. *Intestinal Integrity and The Impact of Losing It*, State of Alabama Veterinary Diagnostic Laboratories, USA.
- Lalatta-Costerbosa G, Mazzoni M, Clavenzani P, Di Guardo G, Mazzuoli G, Marruchella G, De Grossi L, Agrimi U, Chiocchetti R. 2007. Nitric oxide synthase immunoreactivity and NADPH-d histochemistry in the enteric nervous system of Sarda breed sheep with different PrP genotype in whole-mouath and cryostat preparation. *J Histochem and Cytochem* 55(4): 387-401.
- Lee HS, Nam YS. 2006. Immunohistochemical localization of calcium binding proteins and some neurotransmitters in myenteric plexus of goat stomach. *J Vet Sci* 7(4): 315-319.
- Maifirino L B M Liberti E A Watanabe II-S De-Souza R R. 1999. Morphometry and acetylcholinesterase activity of the myenteric neurons of the mouse colon in the chronic phase of experimental trypanosoma cruzi infection. *Am J Trop Med Hyg* 60(5): 721-725.
- Marsala J, Cízkova D, Kafka J, Lukacova N, Lukac I, Marsala M. 2001. Densitometric patterns of NADPH diaphorase staining in the spinal cord of dog. *J Biol Bratislava* 56(6): 685-693.
- Natali MRM, Miranda-Neto MH, Marcos A. 2003. Morphometry and quantification of the myenteric neurons of the duodenum of adult rats fed with hypoproteic chow. *J Morphol* 21: 273-277.
- Neunlist M, Aubert P, Toquet C, Oreshkova CT Barouk J, Lehur PA, Schemann M, Galmiche JP. 2003. Changes in chemical coding of myenteric neurones in ulcerative colitis. *J Gut* 52: 84-90.
- Percy H, Barthold SW. 2007. *Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits*, 3<sup>rd</sup> ed, Iowa, USA, Blackwell Publishing.
- Raman MRU, Banu SS, Banu SS, Gomathinayagam SGA, Raj GD. 2011. Lesion scoring technique for assessing the virulence and lesion scoring technique for assessing the virulence and pathogenicity of indian pathogenicity of indian field isolates of avian *Eimeria* species species. *Vet Arhiv* 81(2): 259-271.
- Sehirli US, Tugtepe H, Verimli U, Kirazli O, Ozkan M, Dagli ET. 2014. Expression of NADPH-d in the vagal nuclei of the chronic esophagitis model in rats. *J Med Sci* 44: 243-248.
- Sung TS, La JH, Kim TW, Yang IS. 2006. Alteration of nitrenergic neuromuscular transmission as a result of acute experimental colitis in rat. *J Vet Sci* 7(2): 143-150.
- Vanner S, Macnaughton WK. 2004. Submucosal Secretomotor and Vasodilator Reflexes. *J Neurogast and Motil* 16: 39-43.
- Zulpo DL, Peretti J, Ono LM, Longhi E, Oliveira MR, Guimaraes IG, Headley SA, Guimaraes Jr JS, Garcia JL. 2007 Pathogenicity and histopathological, observations of commercial broiler chicks experimentally infected with isolates of *Eimeria tenella*, *Eimeria acervulina* and *Eimeria maxima*. *J Ciencia Agrarias Londrina* 28: 97-104.