ضرورت کاربرد ضدعفونی‌کننده‌های اختصاصی جهت کنترل کوکسیدیوز

دکتر صادق رهبری[1] دکتر سیدمحمدمهدی کیانی[2] دکتر مهرداد مدیرصانعی[2] دکتر سیدمصطفی رضوی‌دینانی[3]

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۵، شماره ۴، ۲۹-۲۷، (۱۳۷۹)

جداسازی تک ااسیست *ایمریا تنلا* از سوش مزرعه‌ای انجام و از طریق لوله مری به ۲۰ قطعه جوجه یکروزه تلقیح شد. ااسیست‌های جوجه‌های آلوده جمع‌آوری، سپس ااسیست هاگدار تحت‌تأثیر محلول سترون‌کننده ااساید (Oo-cide) به مدت ۱ و ۶ ساعت و همچنین به‌عنوان شاهد در آب مقطر قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که محلول ۱/۲۰ ااساید می‌تواند از هاگدارشدن ااسیست ممانعت نماید. در تجربه‌ای دیگر دو گروه جوجه یکروزه انتخاب گردید، نتایج نشان داد جوجه‌های آلوده‌شده با ااسیست غوطه‌ورشده در ااساید دفع ااسیست در مدفوع نداشته در حالی‌که مرگ و میر و یک حداکثر ۸۰۰۰۰ ااسیست در هر گرم مدفوع در گروه شاهد مشاهده شد. دو پن ۱۵ متری در مؤسسه تحقیقاتی امین‌آباد دانشکده انتخاب گردید تا بتوان در هر یک از آنها ۱۵۰ جوجه جایگزین نمود. در ابتدا بستر هر دو پن با ۱۰۰۰۰۰ ااسیست در هر متر مربع آلوده سپس بستر یک پن با ااساید اسپری و بستر پن دیگر به‌عنوان شاهد با آب مقطر اسپری شد، شمارش ااسیست در هر گرم مدفوع جوجه‌ها نشان می‌دهد، دفع ااسیست در پن شاهد به‌طور معنی‌دار در مقایسه با پن درمان‌شده در طول دوران پرورش افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی : کوکسیدیوز، ااساید، *ایمریا تنلا*.

کوکسیدیوز در ماکیان از جمله بیماریهایی است که می‌توان آن را از طریق پیشگیری دارویی تحت کنترل درآورد. اما این روش مستلزم تجویز منظم و طولانی مدت داروهای ضدکوکسیدیوز می‌باشد. در این شیوه رعایت زمان قطع دارو قبل از ارسال ماکیان به کشتارگاه به‌منظور حذف بقایای دارویی لازم و ضروری است. در مرغهای مادر نیز مصرف دراز مدت این گونه داروها ممکن است موجب پیدایش سویه‌های مقاوم انگل در برابر ترکیبات ضدکوکسیدیوز گردد (۷). در سالهای اخیر استفاده از واکسنهای زنده کوکسیدیوز دیدگاه جدیدی را در زمینه جلوگیری از این بیماری باز نموده است (۶). وجود جداره سخت در ساختمان ااسیست موجب گردیده که تاکنون تحقیقات عدیده‌ای جهت سترون‌نمودن آن انجام پذیرد (۲).

هدف از این بررسی لزوم کاربرد سترون‌کننده‌های اختصاصی در کنترل کوکسیدیوز طیور می‌باشد. تکثیر تک ااسیست *ایمریا تنلا* در جوجه با استفاده از لایه نازکی از آگار مغذی ۵ درصد برروی اسلاید و با قراردادن ااسیست رقیق‌شده ایمریا برروی آن امکان جداسازی تک ااسیست را میسر نمود. تلقیح داخل چینه‌دانی برروی ۲۰ قطعه جوجه چهار روزه و جمع‌آوری ااسیست از فضولات جوجه‌های آلوده امکان تکثیر ااسیست‌های مورد لزوم را فراهم نمود (۵). تعداد ۱۵۰۰۰۰ ااسیست *ایمریا تنلا* را در غلظت ۱/۲۰ محلول سترون‌کننده اختصاصی ااساید در دو فاصله زمانی ۱ و ۶ ساعت قرار داده و سپس آنها را در آب مقطر شستشو و در نهایت رسوب حاصله در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر جمع‌آوری گردید و با افزودن تعدادی گلوله شیشه‌ای در لوله حاوی ااسیست محلول را به مدت ۴۵ ثانیه در دور ۲۴۰۰RPM تحت لرزش Test tube shaker قرار داده و پس از آن محلول حاصله به لوله استریل دیگر انتقال داده شد. پس از سه بار شستشو با محلول Hanks اسپوروسیست مورد نیاز جهت اجرای مرحله هضم جمع‌آوری گردید. ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط Hanks حاوی تریپسین ۲/۵ درصد و تورودی اکسی‌کولات سدیم ۴ درصد برای هضم دیواره اسپوروسیست تهیه و سپس مخلوط اسپوروسیت به آن اضافه گردید و به مدت ۱/۵ ساعت تحت گرمای ۴۱ درجه قرار داده شد. در نهایت به‌منظور جدانمودن اسپوروزایت محلول فوق به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۶۰۰G سانتریفوژ گردید (۳). مراحل فوق از طریق غوطه‌وری ااسیست در آب مقطر به‌عنوان شاهد نیز انجام شد. تعداد اسپوروسیت‌های شکفته‌شده شمارش و نتایج حاصل از غوطه‌وری ااسیست در محلول ااساید و آب مقطر مورد مقایسه آماری آزمون مربع کای قرار گرفت.

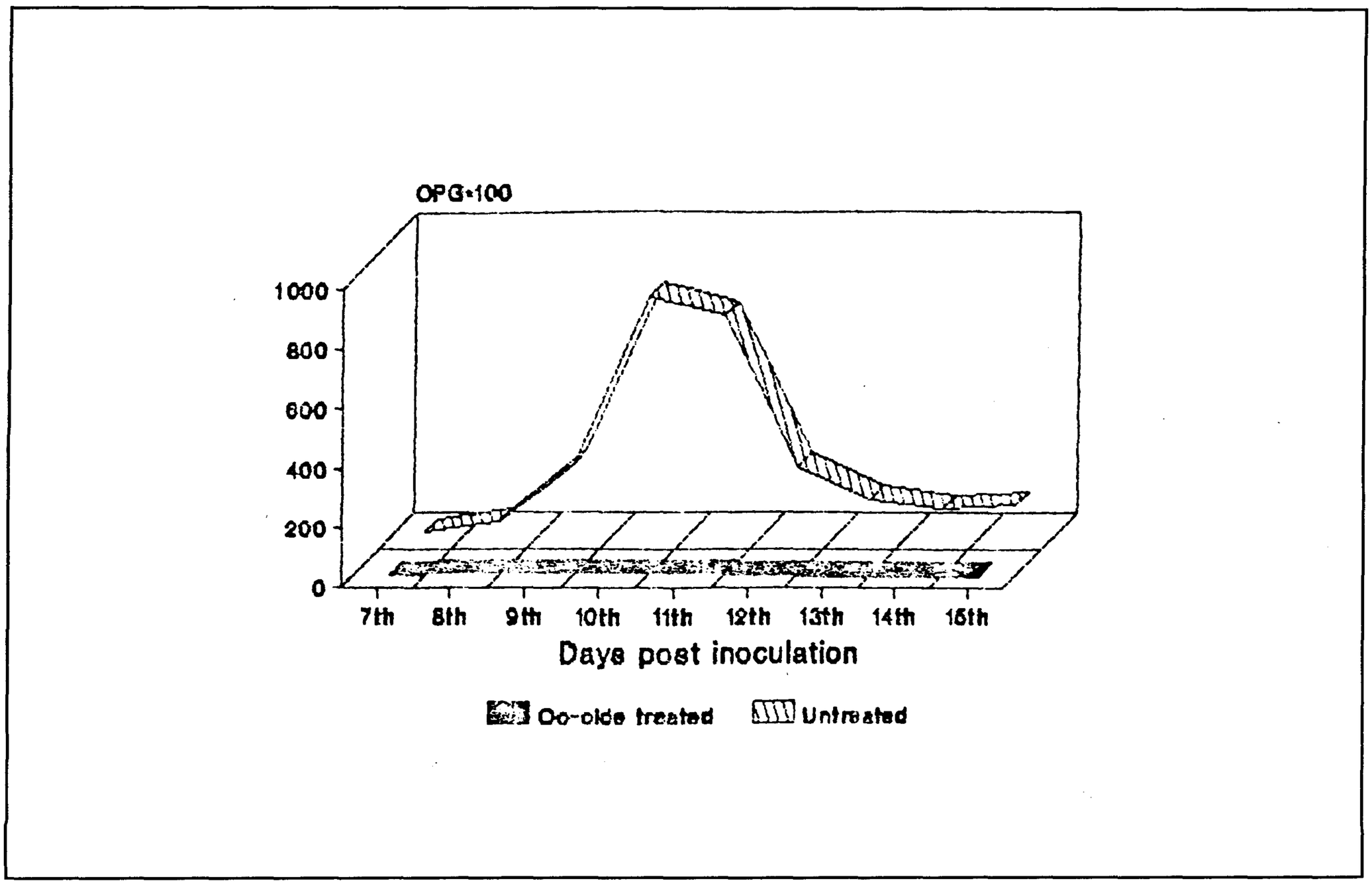
تعداد ۵۰۰۰ ااسیست *ایمریا تنلا* به ازای هر قطعه جوجه به‌منظور تلقیح داخل چینه دانی برای دوگروه هر کدام شامل ۱۰ قطعه جوجه در نظر گرفته شد. ااسیست‌های مورد نظر برای گروه اول ابتدا در محلول ااساید به مدت ۶ ساعت غوطه‌ور شده و سپس از طریق داخل چینه‌دانی به جوجه‌ها خورانده و جهت گروه شاهد نیز تعداد ۵۰۰۰ ااسیست نگهداری شده در آب مقطر به مدت ۶ ساعت از راه داخل چینه‌دانی به ۱۰ قطعه جوجه خورانده شد. در فواصل روزهای ۷ الی ۱۴ بعد از آلودگی فضولات هر گروه جمع‌آوری و میانگین OPG برای جوجه‌های هر گروه تعیین گردید و آزمون مربع کای جهت ارزیابی مورد استفاده قرار گرفت.

در بخش طیور مؤسسه تحقیقاتی امین‌آباد در یک سالن دو پن تجربی هر یک به مساحت ۱۵ متر مربع انتخاب گردید. یک پن به‌عنوان جایگاه گروه شاهد و پن دیگر به‌عنوان جایگاه گروه مورد آزمایش در نظر گرفته شد. بستر هر دو پن به ازای هر متر مربع با تعداد یکصد هزار ااسیست آلوده گردید. سپس بستر پن گروه مورد آزمایش مطابق دستورالعمل کارخانه سازنده با محلول یک و محلول دو ااساید اسپری شد. بستر پن گروه شاهد با آب مقطر اسپری گردید، سپس روز بعد تعداد ۱۵۰ جوجه یکروزه به هر پن معرفی گردید و در فواصل روزهای ۱۷، ۲۴، ۳۱، ۳۸، ۴۵ و ۵۲ بعد از آلودگی بستر، تعداد سه قطعه مقوای مشکی به ابعاد ۵۰×۵۰ در بستر هر پن به‌منظور جمع‌آوری فضولات روزانه طیور آن پن قرار داده شد و سرانجام بدین طریق نمونه فضولات جمع‌آوری شده مورد آزمایش برای تعیین OPG قرار گرفت و نتایج به‌دست آمده مورد آزمون آماری نیز قرار گرفت. میزان افزایش وزن در دو گروه تحت درمان و شاهد با توزین جوجه‌های موجود در هر گروه به‌صورت دستجات ده قطعه‌ای در پایان دوره آزمایش تعیین گردید و میانگین وزن در دو گروه با یکدیگر، براساس آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه مورد مقایسه قرار گرفت.

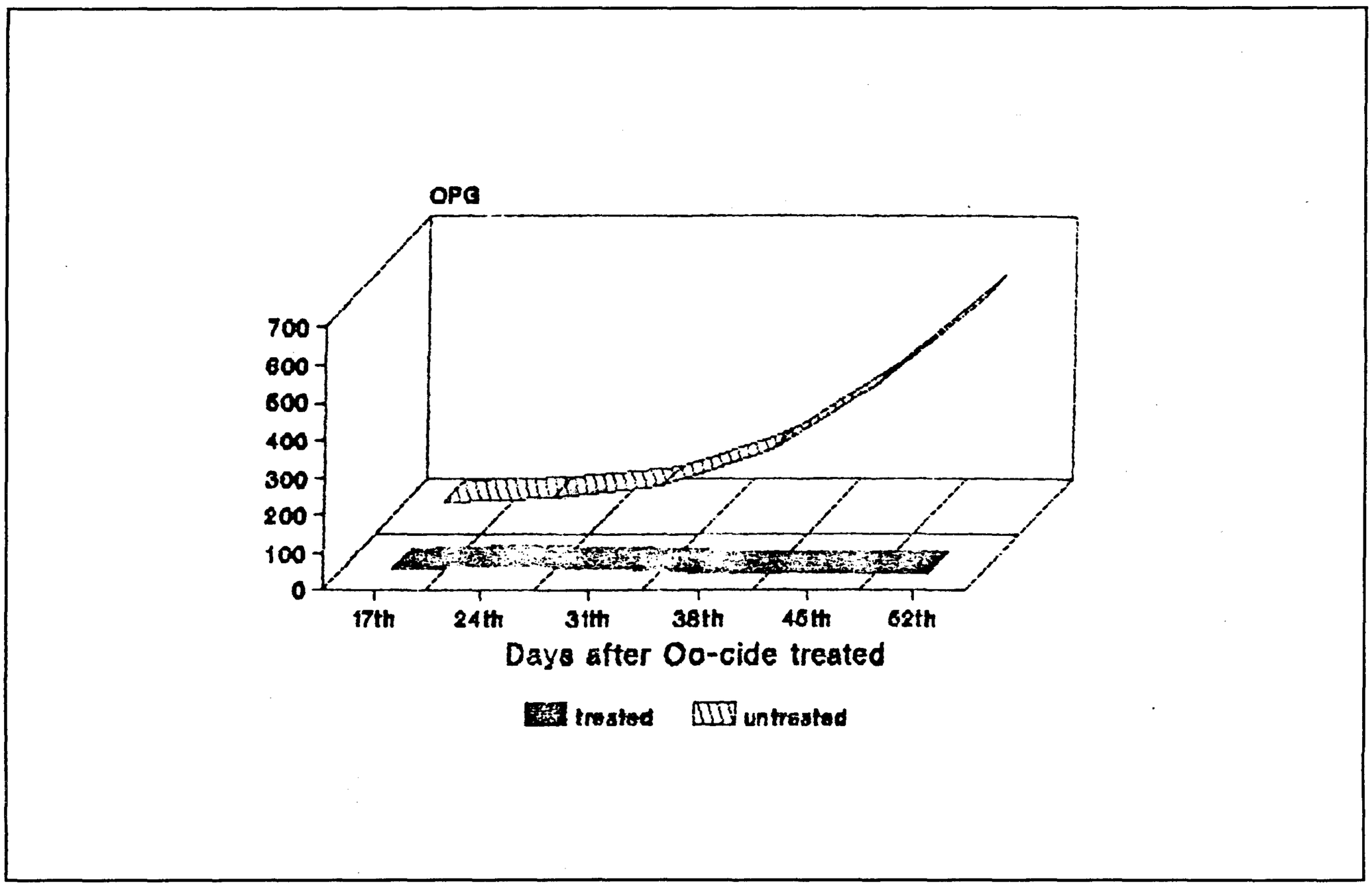
در این بررسی جداسازی و تکثیر تک ااسیست *ایمریا تنلا* که به‌عنوان مقدمات اولیه در نظر گرفته شده بود نشان داد که پس از تلقیح داخل چینه‌دانی، ۳۲ درصد جوجه‌های تحت تجربه آلوده گردیدند. در فواصل روزهای ۹ الی ۱۴ بعد از تلقیح از هر جوجه به‌طور متوسط روزانه یکصد هزار ااسیست جمع‌آوری گردید. حد متوسط هاگدارشدن برای ااسیست مذکور ۹۵ درصد محاسبه گردید.

نتایج حاصله از غوطه‌وری ااسیست در ااساید و آب مقطر نشان می‌دهد که ااسیست ایمریا تنلا چنانچه به‌مدت یک ساعت و یا شش ساعت تحت تأثیر محلول سترون‌کننده قرار گیرد توانایی تولید اسپروزوآیت را از دست خواهد داد، در حالی‌که ااسیست‌هایی که تحت‌تأثیر آب مقطر در فواصل زمانی ۱ و ۶ ساعت قرار گرفته‌اند واجد توانایی تولید اسپروزوآیت بوده، به‌علاوه جوجه‌های آلوده‌شده با ااسیست‌های غوطه‌ورشده به‌مدت ۶ ساعت در محلول سترون‌کننده

۱) گروه آموزشی انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۲) گروه آموزشی تغذیه و اصلاح نژاد دام دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۳) گروه آموزشی انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.



نمودار ۱ – تأثیر ااسید برروی ااسیست خورانده شده از راه چینه‌دان برحسب دفع تعداد ااسیست در گرم فضولات



نمودار ۲ – مقایسه تعداد ااسیست در بستر دو پن اسپری‌شده با ااسید و پن شاهد در طول پرورش

نیز قادر به دفع ااسیست نبوده در صورتی‌که در گروه شاهد از ده قطعه جوجه مورد آزمایش دو قطعه جوجه تلف شده که در کالبدگشایی، واجد خونریزی در ناحیه سکوم بوده‌اند و همچنین در تراشه مخاطی روده تهیه شده، شیزونت و مروزوآیت مشاهده گردید و هشت قطعه جوجه دیگر این گروه در فواصل زمانی روز یازدهم پس از آلودگی، حداکثر هشتاد هزار ااسیست در هر گرم فضولات دفع نمودند (نمودار ۱).

نتایج تجربه انجام یافته در بخش طیور مؤسسه تحقیقاتی امین‌آباد نشان می‌دهد که دفع ااسیست توسط جوجه‌های موجود در پن شاهد از روز هفدهم پس از آلوده‌نمودن بستر با حالت صعودی تا روز ۵۲ پس از آلودگی بستر ادامه داشته است که در مقام مقایسه با دفع ااسیست جوجه‌های پن اسپری‌شده با ااساید از نظر آزمون آماری واجد اختلاف معنی‌دار می‌باشد (نمودار ۲). همچنین مقایسه میانگین وزن در گروه تحت درمان با گروه شاهد، براساس آزمون آماری نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین دو گروه مذکور می‌باشد ($P<0/05$).

در این بررسی علاوه‌بر کسب نتایج به‌دست آمده تحت شرایط آزمایشگاه، ارزیابی این ماده سترون‌کننده ااسیست در شرایط مزرعه نیز نشان داد که این ترکیب به شکل مطلوب می‌تواند به‌منظور کنترل کوکسیدیوز مورد استفاده قرار گیرد. هیل بریش در سال ۱۹۷۵ ضمن مطالعه وسیعی برروی ساختار شیمیایی جداره ااسیست مقایسه‌ای برروی مواد شیمیایی مخرب‌کننده جداره ااسیست و ممانعت‌کننده هاگدارشدن ااسیست انجام داده و در نتایج به‌دست آمده اعلام می‌نماید که Lysococ و Incicoc واجد اثر قطعی سترون‌کننده برروی ااسیست‌های انواع گونه ایمریا می‌باشد (۲).

بلوت و انگوس در سال ۱۹۸۸ در مطالعه مواد شیمیایی سترون‌کننده ااسیست از ترکیب Oo-cide جهت ممانعت از شگفته‌شدن ااسیست هاگدار کریپتوسپوریدیوم استفاده نمود. نتایج مطالعه نامبرده نشان می‌دهد که این ترکیب به میزان ۹۷ درصد از شکفته‌شدن ااسیست ممانعت می‌نماید (۱).

یوچو و همکاران در سال ۱۹۸۸ اثر سترون‌کننده Incidin-anticoc را نیز به‌عنوان یک ماده شیمیایی مطلوب برروی ااسیست *ایمریا تنلا* در شرایط آزمایشگاه و مزرعه مورد تأیید قرار داده‌اند (۴).

ترکیب ااساید واجد دو ماده شیمیایی جداگانه می‌باشد. محلول شماره یک که با منشأ آمونیاکی بوده و ابتدا به‌عنوان محلول مرطوب‌کننده استفاده می‌شود و سپس از محلول دوم (بیوساید) به‌عنوان یک محلول فعال‌کننده برای رهاسازی آمونیاک استفاده می‌شود، نتایج این بررسی نشان می‌دهد که این ترکیب نیز نظیر سایر ترکیبات مشابه واجد اثر سترون‌کننده ااسیست می‌باشد به‌علاوه ایجاد رنگ صورتی در هنگام اسپری‌کردن محلول دوم می‌تواند بیانگر سترون‌شدن محل عمل باشد، همین مکانیسم موجب می‌گردد تا دقت عمل در هنگام سترون‌نمودن آشیانه ماکیان بیشتر از سایر ترکیبات مشابه باشد.

References

1. Blewet, D.A. and Angus, K.W. Cryptosporidiosis: Proceeding of the first international woekshop, Edinbrugh, 107-108, (1988).
2. Hilbrich, P. Disinfection experiments on Eimeria tenella oocytes. Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift, 88, 141-148, (1975).
3. Hofmann, J. and Raether, W. Improved techniques for in vitro cultivation of Eimeria tenella in primary chick kidney cells. Parasitology Research: 76, 479-486, (1990).
4. Iovchev, E., Kamburov, P., Kamenov, I., Monov, M. and Sherkov, Sh. A disinfectant effective against avian oocysts, Veterinarina Sbirka, 20(1): 31-34, (1988).
5. Lee, E.H. Single and low level oocyst infection of drug resistant fiestant field strains of *Eimeria tenella* in medicated bird. Can. Vet. J. 20(1): 102-104, (1979).
6. Rahbari, S., Mehrabani, H. and Hesami, A. Resistant development against some anticoccidal drugs in chicks. J. Fac. of Vet. Med. Univ. of Tehran. 48(3&4): 45-51, (1994).
7. Rahbari, S., Hesami, A. and Asmailnia, K. The primary rvaluation of liveb oocyst vaccine for immunization of chivk against coccidiosis and the role of vitamin E on immune-response. J. Fac. of Vet. Med. 51(3&4): 21-27, (1997).

An integrated approach is required to control coccidiosis

Rahbari, S.[1], Kiaei, M.M.[2], Modirsanei, M.[2], Razavi, M.

[1]*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.* [2]*Department of Nutrition and Animal Breedings, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.* [3]*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz - Iran.*

Singled-oocyst of field isolated of *Eimeria tenella* inoculated via gavage at one day old of 20 chicks, the oocysts of infected chicks harvested then sporulated oocysts were exposed for 2 and 6 hours in Oo-cide and distillated water respectively, it appears that a dilution of 1:20 of Oo-cide inhibits excystment of oocysts. Experimentally infected one day chicks with Oo-cide treated oocysts were carried out, the result showed that oocysts treated prevented excretion of oocysts in feaces of chicks. But mortality and a maximum of 80000 oocysts per gram of feaces was observed in control group. Two pen floor each consists of 15 square meters were selected in Faculty Research Institute in order to house 150 chicks in each of them. The pens was infested by the use of an application of *Eimeria tenella* oocysts at a concentration of 100000 oocysts to a square meter of the floor. Treated pen was achieved with Oo-cide over the entire area previously infested by oocysts, but the control pen had a water spray on the litter. Oocyst count of a gram of feaces showed signifcantly increased oocysts out put of the chicks which housed in untreated pen.

Key words : Coccidiosis, Oo-cide, *Eimeria tenella*.