جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی غنی سازی ناپلیوس آرتمیا اورمیانا با آنتی بیوتیک اکسولینیک اسید و تعیین میزان بازماندگی دارو در غلظت‌ها و زمانهای مختلف

میر یوسف یحیی‌زاده[۱] ؛ سعید جوان[۲]* ؛ مهدی سلطانی[۳] و صابر شیری[۴]

saeed_dvm2003@yahoo.com

۱ و ٤- مرکزتحقیقات آرتمیای کشور، اورمیه صندوق پستی: ٣٦٨

۲- مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان، بندر انزلی صندوق پستی: ١٦٥٥- ٤٣١٤٥

۳- دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران صندوق پستی: ۶۴۳۳-۱۴۱۵۵

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۸۶

چکیده

این تحقیق به منظور غنی سازی ناپلیوس آرتمیا اورمیانا (*Artemia urmiana*) با غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک اکسولینیک اسید و تعیین میزان تجمع دارو در بدن ناپلیوس در مدت زمانهای متفاوت تحت تاثیر، اجرا گردید . ناپلیوس‌های استحصالی از تخم‌گشایی سیست‌های آرتمیای دریاچه اورمیه بطور جداگانه در شرایط آزمایشگاهی تحت تاثیر غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از داروی اکسولینیک اسید خالص (Oxolinic acid-sigma) مخلوط شده با امولسیون چربی در مدت زمانهای ۲، ۴، ۶ و ۸ ساعت قرار گرفتند .کلیه شرایط محیط کشت شامل شوری آب، pH، نور، هوادهی، غلظت دارو و مدت زمان غنی‌سازی برای تمام تیمارها یکسان بود و هر تیمار با سه تکرار اجرا گردید. هر یک از نمونه‌های غنی‌سازی شده بعد از انجام مراحل آماده‌سازی، با دستگاه HPLC مورد آنالیز قرار گرفتند. سپس داده‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست دانکن مورد آنالیز قرار گرفتند. با توجه به نتایج بدست آمده و جدول آنالیز واریانس، اثر عوامل مدت زمان غنی‌سازی و غلظت دارو در میزان باقیماندگی دارو معنی‌دار بودند ($P<0.001$ و $P<0.05$). بیشترین میانگین میزان تجمع دارو از نظر غلظت دارویی در ناپلیوس آرتمیا در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیترطی ۶ ساعت غنی‌سازی و به میزان ۱۴/۳۸ ±۳۸/۸۴۳ µg\gr\w.w و کمترین مقدار آن در غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر طی ۸ ساعت و بمیزان ۰/۴۲۲µg\gr\w.w ± ۲/۵۸۳ بود.

لغات کلیدی : آرتمیا اورمیانا، *Artemia urmiana* ، اکسولینیک اسید، آنتی بیوتیک

* نویسندهٔ مسئول

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

بروز عفونتهای همه گیر در پرورش متراکم ماهی و انواع سخت‌پوستان خصوصاً میگو، بکارگیری روشهای کنترلی و دارو درمانی را اجتناب‌ناپذیر می‌سازد. در این میان بیماریهای میکروبی عمدتاً در اثر باکتریهای گرم منفی بوجود می‌آیند (Trust, 1986). با این حال، روشهای معمول و رایج درمان و پیشگیری از بیماریهای عفونی، اغلب با افزودن غلظت نسبتاً بالای انواع مختلف آنتی بیوتیکها در آب پرورشی یا مخلوط با غذا انجام می‌گیرد که از معایب عمده این روش، دامنه محدود آن در استفاده بموقع و غلظت مناسب دارو توسط ماهی می‌باشد که علاوه بر عدم استعمال آن در درمان، هزینه‌های سنگین اتلاف دارو و تکرار درمان را بر پرورش‌دهنده تحمیل می‌کند (Samuelson *et al.*, 1999). Leger & Sorgeloos, 1992). همچنین افزودن دارو به محیط، امکان ظهور مقاومت باکتریایی و مشکلات دیگری را نیز در بردارد (Bjorkland *et al.*, 1991). در شیوه پیشگیری و درمان بیماری، سلامتی انواع آبزیان خصوصاً لارو ماهی و میگو را بطور مستقیم از طریق خوراندن ترکیبات دارویی به موجود زنده و تغذیه آبزیان از آن موجود می‌توان تضمین نمود که موضوع فوق به واسطه روش غنی‌سازی به اثبات رسیده و یک روش مناسب و کنترل شده جهت رساندن دارو به انواع آبزیان و جلوگیری از بروز مشکلات مرتبط با درمانهای رایج است (Nelis ; Teuraki *et al.*, 1999 ; *et al.*, 1991 ; Hanaee *et al.*, 1995).

غذاهای زنده از منابع مهم غذایی در پرورش لارو ماهیان دریائی و میگو می‌باشند. یکی از رایج‌ترین غذاهای زنده مورد استفاده در تغذیه و پرورش انواع سخت‌پوستان و ماهی، میگوی آب شور یا آرتمیا می‌باشد که ناپلیوس آن در پرورش مرحله لاروی انواع ماهی و سخت‌پوستان و توده زنده آرتمیا در مرحله بلوغ ماهی و میگو مورد استفاده قرار می‌گیرد (Sorgeloos *et al.*, 1977).

در اکثر نقاط دنیا ارزش غذایی آرتمیا را با استفاده از روش غنی‌سازی با خوراندن ترکیبات و مواد انتخاب شده، تقویت می‌کنند (Leger & Sorgeloos, 1992). بطوریکه Mohney و Sorgeloos در سال ۱۹۹۰ با یک روش غنی‌سازی ابتکاری (تغذیه ناپلیوس آرتمیا با ترکیب دارویی غیر محلول در آب و استفاده از آن در تغذیه لارو میگو) از ناپلیوس آرتمیا بعنوان حامل دارو استفاده کردند که بتدریج موضوع غنی‌سازی آرتمیا با ترکیبات دارویی و استفاده از آن در کنترل و پیشگیری بیماریهای باکتریایی به اثبات رسید (Dhert & Sorgeloos, 1995 ; Verpraet *et al.*, 1992 ; Chair *et al.*, 1996). این تحقیق نیز در زمینه غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا اورمیانا با ترکیبات آنتی بیوتیک و تعیین میزان بازماندگی دارو در غلظت و زمانهای مختلف برای اولین بار با استفاده از آنتی بیوتیک اکسولینیک اسید (Oxolinic acid) اجرا گردید. آنتی بیوتیک اکسولینیک اسید از گروه کینولونها (Quinolones) بوده و بعلت موثر بودن علیه باکتریهای گرم منفی بویژه عفونتهای آئرومونا‌سی و گونه‌های ویبریو در بسیاری از کشورها در کنترل و درمان بیماریهای عفونی آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد.

مواد و روش کار

جهت انجام عملیات غنی‌سازی ناپلیوس، سیست آرتمیا اورمیانا به میزان مورد نیاز از دریاچه ارومیه تهیه شد و مطابق با روش پیشنهادی Sorgeloos و همکاران در سال ۱۹۷۷ هیدراته و طبق روش Moats در سال ۱۹۸۶ تخم‌گشایی گردیدند. سیست‌ها به مدت یک ساعت در آب شیرین هوادهی شده و سپس برای برداشتن لایه خارجی سیست (کوریون)، سیست‌ها کپسول برداری شدند. به این ترتیب که سیست‌ها در محلول حاوی ۷۵ میلی‌لیتر هیپوکلریت ۴۰ درصد، ۱۷۵ میلی‌لیتر آب دریای صناعی (با شوری ۳۳ گرم در لیتر) و ۹ میلی‌لیتر هیدروکسیدسدیم ۴۰ درصد بمدت ۱۵ دقیقه هوادهی شدند. بعد از کپسول‌زادیی، سیست‌ها با تیوسولفات سدیم به منظور متوقف ساختن واکنشهای شیمیایی شسته شدند. سیست‌های آرتمیا بمیزان ۲ گرم در لیتر در محیط تفریخ (دمای ۱±۲۸ درجه سانتیگراد، شوری ۳۵ppt و pH = ۷/۵) در ظروف مخروطی همراه با هوادهی و در حضور نور به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون شدند. بعد از تخم‌گشایی سیستها، ناپلیوس اینستار یک (Instar I) جداسازی و با شستشو درآب شیرین از باقیمانده نخاله‌های مربوط به تفریخ تفکیک گردیدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت از تخم‌گشایی که ناپلیوس‌ها شروع به تغذیه نمودند، با تراکم ۴۰۰ عدد ناپلیوس در هر میلی‌لیتر در لیوانهای شیشه‌ای مخروطی شکل با شوری ۷۵ گرم در لیتر و تحت دمای ۱± ۲۸ درجه سانتیگراد و هوادهی و نور و با سه تکرار کشت داده شدند. آنتی بیوتیک انتخابی یعنی اکسولینیک اسید با امولسیون چربی مخلوط و با غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به هر یک از محیطهای کشت اضافه گردید (Hanaee *et al.*, 1995). نمونه‌ها از هر یک از محیطهای کشت حاوی ناپلیوس آرتمیا و ماده

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

غنی‌سازی بترتیب بعد از مدت زمانهای ۲، ۴ ، ۶ و ۸ ساعت جمع‌آوری و جهت حذف محلول روغن و دارو از سطح بدن ناپلیوس، در الک ۱۰۰ میکرون کاملاً شستشو داده شدند. بعد از آبگیری هر نمونه، مقدار ۰/۵ گرم در ترازوی دیجیتالی وزن گردید و به پلت‌های دربدار شیشه‌ای استریل منتقل و جهت آنالیز در دمای ۲۰ - درجه سانتیگراد ذخیره شدند.

جهت تعیین و سنجش میزان باقیماندگی دارو و استخراج اکسولینیک اسید از بافت ناپلیوسهای غنی‌سازی شده، ۰/۵ گرم از نمونه‌های تهیه شده از هر تیمار را در هاون استریل له کرده، سپس در ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH = ۳) هموژنیزه گردیدند. محلول هموژنیزه شده در لوله‌های سانتریفوژ وارد و بمدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ (rpm) سانتریفوژ (مدل Hettich-D-7200) شد. این عمل جهت حذف پروتئینها و بافتهای موجود در محلول انجام شد. بعد از سانتریفوژ، لایه آبی بوجود آمده به یک لوله منتقل شده و روی فاز رسوبی باقیمانده مجددا ۳ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات اضافه کرده و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰، عمل سانتریفوژ تکرار و فاز آبی همانند مرحله اول جدا و به لوله قبلی منتقل و رسوب موجود حذف شد. جهت حذف چربی‌ها و کارتنوئیدها، ۶ میلی‌لیتر از محلول آبی بدست آمده را در یک لوله ریخته و ۵ میلی‌لیتر ماده شیمیایی n هگزان به آن اضافه و سانتریفوژ گردید. بعد از سانتریفوژ لایه آبی توسط پی پت پاستور از لایه چربی که کاملاً مشخص بود، جدا شد. به محلول آبی جدا شده مجدداً ۵ میلی‌لیتر n هگزان اضافه و عمل بهم زدن و سانتریفوژ کردن تکرار و محلول آبی کاملاً شفاف و عاری از چربی و کاروتنوئید جداسازی و بعد از فیلتر کردن جهت آنالیز و تعیین میزان باقیماندگی دارو به میزان ۲۰µl به دستگاه HPLC با پمپ نوع K-1001 و دریچه تزریق مدل D-14163 تزریق شد. اندازه‌گیری pH تمام نمونه‌ها در دمای ۱±۲۵ درجه سانتیگراد و با دستگاه pH متر Hanna مدل HI 9218 و با الکترود شیشه‌ای انجام گردید. برای جداسازی و آنالیز میزان باقیماندگی دارو در هر یک از نمونه‌ها از فاز متحرک حاوی ۳۰ درصد متانول و ۷۰ درصد آب و از ستون C۱۸ و دتکتور فرابنفش UV با طول موج ۲۵۴ نانومتر مدل V 7566 استفاده گردید (Nelis *et al.*, 1991).

داده‌های حاصله از دستگاه HPLC وارد نرم افزار SPSS13 گردیده و از طریق آنالیز واریانس یکطرفه اختلاف بین گروهها (غنی‌سازی با غلظتها و زمانهای مختلف) تعیین گردید. میزان Significance در حد ($P< 0.001$) و ($P<0.05$) انتخاب شده بودند. اختلاف بین تیمارها و همگونی واریانس بترتیب با آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و دانکن مورد مطالعه قرار گرفتند.

نتایج

نتایج حاصل از آنالیز نمونه‌ها و میزان باقیماندگی دارو در ناپلیوس آرتمیای دریاچه اورمیه بعد از غنی‌سازی با غلظتهای ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از اکسولینیک اسید در مدت زمانهای ۲، ۴ ، ۶ و ۸ ساعت بشرح جدول ۱ و نمودار ۱ می‌باشد.

جدول ۱ : میانگین و انحراف معیار میزان باقیماندگی اکسولینیک اسید در ناپلیوس آرتمیا اورمیانا

مدت زمان غنی‌سازی (ساعت) / غلظت داروی مصرفی (میلی‌گرم در لیتر)	میزان باقیماندگی اکسولینیک اسید در ناپلیوس آرتمیا (µg/g/w. w)			
	۲	٤	٦	۸
۱۰۰	۱۸/۵۳±۵/۳۵۱ ab	۹/۹۸۰± ۲/۹۱ ab	۳۸/۸٤۳± ۱٤/۳۷۹ b	۸/ ۸۲۰± ۰/۰٤۲۵ c
۷۵	۲۱/٤۳± ۱۳/۵۸ ab	۱۰/۲۳۳± ۱/٦۳ ab	۱۵/۰۵۷± ۱۳/٤۰٦ ab	۲/۵۸۳± ۰/٤۲۲ a
۵۰	۳۲/۳۸۳ ±۱۵/۷ b	۸/۸٤۷± ۲/٦٤۹ ab	۳/۱۷۳ ± ۰/۲۹۱ a	٦/۳۳۷ ± ۲/۹۸۹ ab
۲۵	٤/٦۸۳ ±۲/۳٤۲ a	٤/۰۰± ۱/۲٤٦ ab	۵/۱۸۰±۲/۵٦ ab	۷/۰٤۷ ±٤/۱۷۷ ab

در هر ستون مقادیری که با حروف مشابه مشخص شده‌اند اختلاف معنی‌دار ندارند.

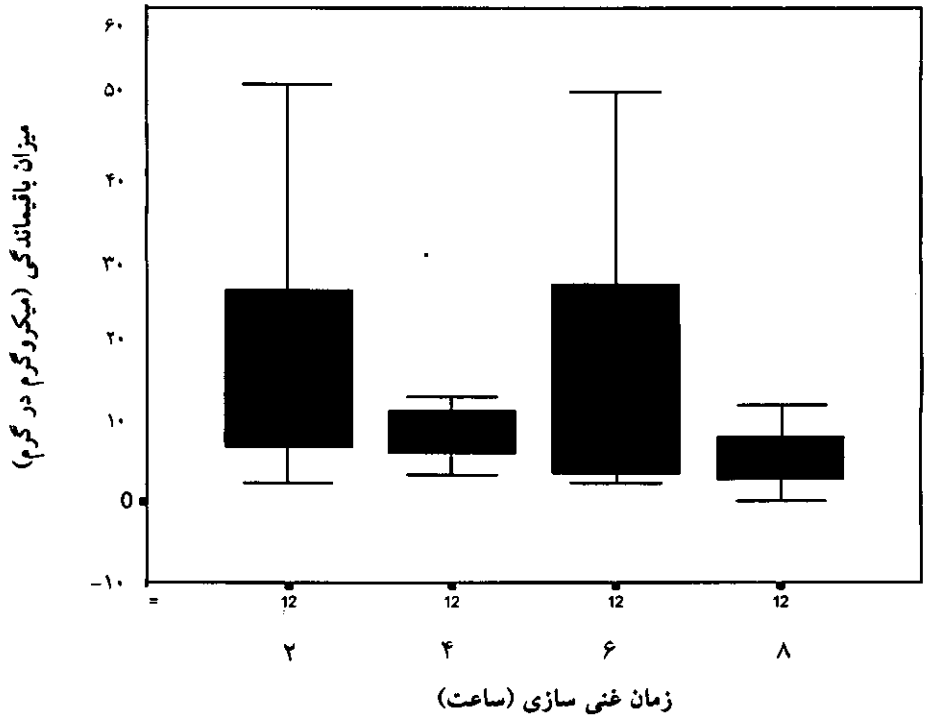
مطابق جداول آنالیز واریانس، اثر مدت زمان غنی‌سازی در میزان باقیماندگی دارو در ناپلیوس کاملاً معنی‌دار بود (P<0.001) و اثر غلظت دارو نیز معنی‌دار بوده است (P<0.05)(جداول ۲و۳).

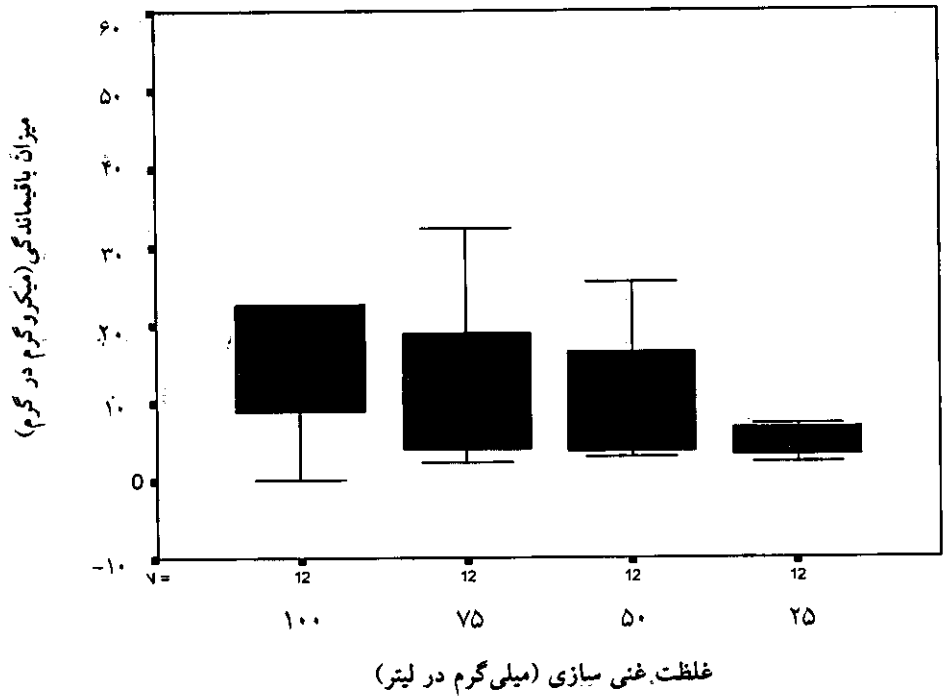
جدول ۲ : آنالیز واریانس اثر زمان در میزان باقیماندگی دارو در ناپلیوس

	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	میزان معنی‌دار بودن
بین گروهها	۱۲۴۹/۱۸۵	۳	۴۱۶/۳۹۵	۰/۰۳۳
داخل گروهها	۵۶۴۳/۳۸۶	۴۳	۱۳۱/۰۳۲	
کل	۶۸۸۳/۵۷۱	۴۶		

جدول ۳ : آنالیز واریانس اثر غلظت در میزان باقیماندگی دارو در ناپلیوس

	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	میزان معنی‌دار بودن
بین گروهها	۸۵۳۲۹/۴۱۹	۳	۲۸۴۴۳/۱۴۰	۰/۰۰۰
داخل گروهها	۱۷۱۲۱۶/۵۱۲	۴۴	۳۸۹۱/۲۸۴	
کل	۲۵۶۵۴۵/۹۳۲	۴۷		





نمودار ۱: باقیماندگی اکسولینیک اسید در بدن ناپلیوس آرتمیا در غلظتها و مدت زمانهای مختلف غنی‌سازی

بحث

آرتمیا بعنوان یک موجود زنده غذایی بطور وسیع و در اشکال متفاوت در تغذیه مرحله لاروی و بلوغ انواع ماهیان آب شیرین، دریایی و میگو مورد استفاده قرار می‌گیرد (Sorgeloos *et al.*, 1977 و حسینی قطره، ۱۳۷۶). علاوه بر ویژگی‌ها و ارزش غذایی آن، یکی از صفات اختصاصی و اصلی آرتمیا بعنوان حامل بیولوژیک مناسب، انتقال مواد ضروری، ترکیبات دارویی، واکسنها و هورمونها می‌باشد که با استفاده از روش غنی‌سازی علاوه بر نیل به اهداف مورد نظر از لحاظ اقتصادی و کاهش ضررهای زیست محیطی بطور موفقیت‌آمیز مورد توجه و بکار برده می‌شود (Lavens *et al.*, 1995).

غنی‌سازی آرتمیا و ناپلیوس با هر یک از ترکیبات دارویی ضد باکتریایی واکسنها و هورمونها و استفاده از آن در تغذیه انواع آبزیان بمنظور درمان و کنترل بیماریهای عفونی باکتریایی در چند مورد توسط محققین مختلف مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته و اثر بخشی روش غنی‌سازی در میزان باقیماندگی دارو، مدت زمان غنی‌سازی، داروی مورد استفاده و انتقال دارو بواسطه تغذیه ماهی و میگو از آرتمیا و ناپلیوس و در مواردی با سایر موجودات زنده از جمله روتیفر و نماتود بررسی و به اثبات رسیده است (Dixon *et al.*,;Mohney & Sorgeloos, 1990 ; Verpraet *et al.*, 1992 ; 1995a).

Mohney و Sorgeloos در سال ۱۹۹۰ غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia fransiscana*) با ترکیب غیر محلول در آب Romet-30 را به روش ابتکاری و تجربی بررسی نموده و میزان جذب دارو توسط ناپلیوس را ۰/۱ میکروگرم بر ناپلیوس آرتمیا با غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر در مدت زمان ۴ ساعت غنی‌سازی برآورد کرده‌اند.

در غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا فرانسیسکانا و روتیفر (*Brachionus plicatilis*) با غلظتهای ۱، ۵ و ۱۰ درصد از داروهای سولفامتاکسازول SMX و تری متوپریم TMP استفاده گردید که میزان کل داروی جذب شده (باقیمانده در بدن ناپلیوس و روتیفر) با غلظت ۱۰ درصد در مدت زمان ۲۴ ساعت غنی‌سازی در ناپلیوس و آرتمیا نسبت به روتیفر در مدت زمان ۶ ساعت غنی‌سازی بیشتر می‌باشد (Verpraet *et al.*, 1992).

در مطالعه دیگری غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا فرانسیسکانا و نماتود (*Panagrellus redivivus*) با غلظت ۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از داروی Romet-30 (۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر سولفا متوکسازول و ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اورمتوپریم) و با استفاده از سبوس برنج طی ۴ ساعت غنی‌سازی بررسی شده و میزان باقیماندگی دارو در ناپلیوس آرتمیا ۰/۱ µg/nauplii و در نماتود ۰/۲۵µg/nematode بدست آمده است (Leone *et al.*, 1990).

Dhart و Sorgeloos در سال ۱۹۹۵و Chair و همکاران در سال ۱۹۹۶ استفاده از آرتمیای غنی‌سازی شده با سولفانامیدها در تغذیه لارو ماهیان سی‌باس و قزل‌آلا موثر بودن انتقال دارو به روش خوراکی بعد از چهار ساعت تغذیه لارو ماهیان یاد شده از ناپلیوس آرتمیای غنی‌سازی شده را علیه *V. angillarum* نشان دادند.

Aguilar–Aguila و همکاران در سال ۱۹۹۴ با استفاده از غلظتهای ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از داروی Romet-30 ناپلیوس آرتمیا فرانسیسکانا را در مدت زمانهای ۲، ۴، ۶ و ۸ ساعت غنی‌سازی نموده و با استفاده از روش آنتی بیوگرام علیه یک گونه ویبریو پاتوژن، میزان و غلظت باقیماندگی دارو در ناپلیوس را در محدوده‌ای از صفر تا ۹ میکروگرم در BSN برآورد کرده و اعلام نمودند که میزان جذب و باقیماندگی دارو در بدن ناپلیوس آرتمیا وابسته به مقدار دارو و مدت زمان غنی‌سازی می‌باشد.

Dixon و همکاران (1995a) غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا فرانسیسکانا با غلظتهایی از ۱، ۵، ۱۵، ۲۰ و ۴۰ درصد از داروی سارافلوکساسین (Savafloxacin) در مدت زمانهای ۲ تا ۲۴ ساعت را بررسی کردند و با استفاده از روش تست حساسیت آنتی بیوتیکی و آغشته نمودن محیطهای کشت به عصاره ناپلیوس غنی‌سازی شده با غلظتهای یاد شده علیه سه گونه ویبریوپاتوژن آنگوئیلاروم و یک گونه *V. vulnificus* ، مشخص نمودند که غلظت ۱۵درصد دارو در مدت ۶ ساعت غنی‌سازی علیه هر چهار گونه ویبریوموثر می‌باشد ولی بقیه غلظت‌ها و حتی مدت زمانهای ۲ و ۴ ساعت غنی‌سازی موثر نیست. همچنین اعلام داشتند که مدت زمانهای طولانی (۲۴ساعت) غنی‌سازی هم نمی‌تواند اندازه منطقه مهارکنندهٔ رشد باکتری را افزایش دهد. همچنین غنی‌سازی آرتمیای بالغ را با Romet-30 و ترامایسین با تراکم ۵۰۰۰ آرتمیا در لیتر به مدت ۲ساعت با تست حساسیت آنتی بیوتیکی گونه‌های باکتری آئروموناس هیدروفیلا و آئروموناس سوبریا را بررسی نمودند.

تغذیه لارو ماهیان سی باس و قزل‌آلا از آرتمیای غنی‌سازی شده با غلظتهای ۲۰ و ۴۰ درصد سولفامتاکسازول+ تری متوپریم و ان استیل سولفامتوکسازول اهمیت و ارزش انتقال دارو بوسیله موجودات زنده غذایی به ماهی و میگو را بیان می‌کند. همچنین نتایج مطالعات Nelis و همکاران (1991) و Gapasin و همکاران (1996) را در ارتباط با غنی‌سازی آرتمیا با غلظتهای ۲۰ و ۴۰ درصد SMX+TMP در مدت ۶ و ۲۴ ساعت و تغذیه ماهی (*Dicentrarchus labrax*) اروپایی و میزان جذب دارو در بدن ماهی را تایید می‌کند (Chair *et al.*, 1996).

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که رساندن خوراکی ترکیبات ضد باکتریایی، واکسنها و هورمونها بواسطه روش غنی‌سازی موجودات زنده غذایی بویژه آرتمیا و ناپلیوس به راحتی انجام شده و روند دارو درمانی را تسهیل می‌نماید (Chair *et al.* 1996; Sorgeloos *et al.*, 2001; Teuraki *et al.*, 1999; Choo *et al.*, 1995).

نتایج حاصل از این تحقیق نیز که با هدف تعیین میزان بازماندگی داروی اکسولینیک اسید در ناپلیوس آرتمیا ارومیانا اجرا گردید نشان می‌دهد که میزان باقیماندگی دارو در ناپلیوس آرتمیا با استفاده از غلظتهای مختلف و مدت زمانهای متفاوت از دامنه صفر تا ۵۰ میکروگرم بر گرم وزن تر در ناپلیوس می‌باشد. با توجه به جدول آنالیز واریانس و میزان باقیماندگی‌های بدست آمده اثر غلظت دارو و مدت زمان غنی‌سازی در میزان باقیماندگی دارو کاملاً معنی‌دار بوده است. همچنین با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان با انجام تحقیقات لازم مبنی بر تعیین میزان داروی اکسولینیک اسید مورد نیاز بر علیه عفونتهای باکتریایی در شرایط آزمایشگاهی و کاربردی و همچنین تعیین میزان ذخیره دارو در بدن ماهی و میگو متعاقب استفاده از آرتمیا یا ناپلیوس غنی‌سازی شده وضعیت درمان و کنترل بیماری را با استفاده از روش غنی‌سازی بر مبنای نتایج بدست آمده بهبود بخشید.

میزان باقیماندگی دارو درآرتمیا و ناپلیوس علاوه بر مدت زمان حمام دارویی و غلظت دارو می‌تواند به نوع ترکیب دارویی و متابولسیم جانور، تراکم و عوامل متعددی از جمله گونه، شرایط تخم‌گشایی و مراحل غنی‌سازی بستگی داشته و البته این عوامل در مورد گونه‌های متفاوت و در مطالعات انجام گرفته به حد کافی

مورد بررسی قرار نگرفته است. بطوریکه غلظت ۱۵ درصد سارافلوکساسین در مدت ۶ ساعت غنی‌سازی علیه گونه‌های ویبریو در مدت زمانهای ۲، ۴ و ۲۴ ساعت غنی‌سازی تاثیری نداشته است. هیچ یک از غلظتهای SMX+TMP علیه گونه‌های ویبریو تحت شرایط مشابه غنی‌سازی با سارافلوکساسین موثر نبوده است (Dixon *et al.*, 1995b). در نهایت به رغم اینکه روش غنی‌سازی روش مناسبی برای رساندن ترکیبات ضد باکتریایی در درمان و کنترل بیماریهای عفونی در انواع آبزیان است، ولی این موضوع در آرتمیا اورمیانا با توجه به تفاوت گونه‌ای با سایر گونه‌های شناخته شده و نیز تاثیر عوامل متعدد و روشهای مختلف غنی‌سازی در میزان باقیماندگی دارو مورد مطالعه و بررسی قرار نگرفته است. لذا استفاده کاربردی و موفق‌آمیز مستلزم تعیین غلظتهای ترکیبات دارویی مختلف با رعایت و توجه به بروز مقاومت باکتریایی آنتی بیوتیکها بوده و در این راستا تحقیق در موضوعات زیر ضروری است :

- تاثیر تکنیکهای مختلف غنی سازی در میزان باقیماندگی دارو در بدن آرتمیا اورمیانا
- غنی‌سازی آرتمیا اورمیانا با ترکیبات مختلف آنتی بیوتیک و مقایسه میزان باقیماندگی هر یک از داروها با توجه به تفاوت سنتتیکی داروها؛
- تحقیق در مورد میزان انتقال ترکیبات دارویی به بدن ماهی و میگو متعاقب تغذیه از آرتمیا و ناپلیوس غنی‌سازی شده جهت دستیابی به غلظت موثر در درمان بیماری؛
- تعیین غلظت مهارکنندگی دارو بر علیه عفونتهای باکتریایی با روش غنی‌سازی آرتمیا و ناپلیوس با غلظتها و ترکیبات مختلف آنتی بیوتیک.

منابع

حسینی قطره، س.ح. ، ۱۳۷۶. بررسی ارزش غذایی آرتمیای دریاچه اورمیه با تاکید بر ارزیابی میزان پروتئین، چربی و ترکیب اسیدهای چرب آن در مراحل مختلف رشد. پایان نامه دکترای دامپزشکی شماره ۲۴۱، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، ۲۰۱ صفحه.

Aguilar–Aguila, A. ; Tejeda Mansir, A. and Ruiz Manriques, A. , 1994. Using Brine shrimp as a drug carrier for therapeutic application in aquaculture. Aqua cultural Engineering. Vol. 13, pp.301-309.

Bjorkland, H.V. ; Raberg, C.M.I. and Bland, G. , 1991. Residues of Oxolinic acid and Oxytetracycline in f fish and sediments from fish farms. Aquaculture. Vol. 97, pp.85-96.

Chair, M. ; Nelis, H.J. ; Leger, P. ; Sorgeloos, P. and De leenheer, A.P. , 1996. Accumulation of Trimethoprim, sulfamethoxazole, and n-acetylsul famethoxazole in fish and shrimp fed medicated *Artemia franciscana*. Antibacterial Agents and Chemotherapy. Vol. 40, No.7, pp.1649- 1652.

Choo, P.S. , 1995. Withdrawal time for oxytetracycline in Red tilapia cultured in freshwater. Asia Fisheries Science. Vol. 8, pp.169-176.

Dehert, Ph. and Sorgeloos, P. , 1995. Live feeds in aquaculture. *In*: (eds. K.P.P. Nambiar and T. Singh). Aquaculture towards the 21st century. Proceeding Info fish– Aquatech 94 Conference. Colombo, Srilanka, August 29-31, 1994. Info fish, Kuala Lumpur, Malsia. 287P.

Dixon, B.A. ; Van poucke, S.O. ; Kawahigashi, D. ; Chair, M. ; Dehasque, M. ; Nelis, H.J. ; Sorgeloos, P. and De leenheer, A.P. , 1995a. Bioencapsulation of antibacterial drugs in nauplii and adult Brine Shrimp, *Artemia franciscana*. *In*: (eds. P. Lavens; E. Jaspers and I. Roelants). Larvi 65- fish and shellfish larviculture symposium. European Aquaculture

Society, Special Publication, No. 24, Gent, Belgium. pp.508-510.

Dixon, B.A. ; Van poucke, S.O. ; Chair, M. ; Dehasque, M. ; Nelis, H.J. ; Sorgeloos, P. and Deleenheer, A.P. , 1995b. Bioencapsulation of the antibacterial drug sarafloxacin in nauplii of the brine shrimp *Artemia franciscana*. Journal of Aquatic Animal Health. Vol. 7, pp.42-45.

Gapasin, R.S.J. ; Nelis, H.J. ; Chair, M. ; Sorgeloos, P. , 1996. Drug assimilation in the tissue of European sea bass (Dicentrar chus labrax) fry delivered orally through bioencapsulation. Journal of Appl. Ichthyol. Vol. 12, pp.39-42.

Hanaee, J.A. ; Agh, N. ; Hanaee, M. ; Delazar, A. and Sarker, S.D. , 1995. Studies on the enrichment of *Artemia urmiana* cysts for improving fish food value. Animal Feed Science and Technology. Vol. 54, pp.95-105.

Lavens, P. ; Sorgeloos, P. ; Dhert, P. and Devresse, B. , 1995. Larval foods. *In*: (eds. N.R. Bromage and R.J. Roberts) Broodstock management and egg and larval quality. 424P.

Leger, Ph. and Sorgeloos, P. , 1992. Optimized feeding regimes in shrimp hatcheries. *In*: (eds. A.W. Fast and L.J. Lester), Marin shrimp culture: Principles and practices. Elsevier Science Publishers. pp.225-244.

Leone, L. ; Mohney, D.V. ; Lightner R.R. and Williams, S. , 1990. Bioencapsulation of therapeutic quantities of the antibacterial Romet–30 in nauplii of the Brine shrimp Artemia and in the Nematode panagrellus redivivus. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 21, No. 3, pp.54-63.

Moats, W.A. , 1986. Determination of tetracycline Antibiotics in tissues and blood serum of cattle and swine by HPLC. Journal of Chromatography. Elsevier Science Publishers. Vol. 385, pp.253-259.

Mohney, A. and Sorgeloos, P. , 1990. Bioencapsulation of Romet-30 using adult Brine shrimp, *Artemia franciscana*. Journal of Fish Disease. Vol. 43, Issue II, pp.101-105.

Nelis, H.J. ; Leger, F. ; Sorgeloos, P. and Deleenheer, A.P. , 1991. Liquid chromatographic determination of efficacy of incorporation of trimetoprim and sulfa metoxazole in brine shrimp (*Artemia spp.*) Used for prophylactic chemotherapy of fish. Antimicrob. Agents and Chemother. Vol. 35, No. 12, pp.2485-2489.

Salmuelsen, O.B. ; Hjeltnes, B. and Torkildsen, L. , 1999. Efficacy of orally administered oxolinic acid and Vetoquinol, an oxolinic acid ester, for the treatment of furunculosis in Atlantic salmon (*Salmo salar*) held in seawater. Inter research – Diseases of Aquatic Organisms (DAO). Vol. 37, No. 1, pp.53- 59.

Sorgeloos, P. ; Dhert, P. and Candreva, P. , 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia spp.*, in marine fish larviculture. Aquaculture. Vol. 200, pp.159-177.

Sorgeloos, P. ; Bossuyt, E. ; Lavina, E. ; Baeza Mesa, M. And Persoone, G. , 1977. Decapsulation of Artemia cysts: A simple technique for the improvement of the use of brine shrimp in aquaculture. Aquaculture. Vol. 12, pp.311-315.

Teuraki, M. ; Niopas, I. and Kastritsis, G. , 1999. Bioencapsulation of trimethoprim, sulfa-

Verpraet, R.; Chair, M.; Leger, Ph.; Nelis, H.; Sorgeloos, P. and De leenheer, A. , 1992. Live-food mediated drug delivery as a tool for disease treatment in larviculture. The Enrichment of therapeutics in Rotifers and Artemia nauplii. Aqua cultural Engineering. Vol. 11, pp.133-139.

methoxazole in Artemia nauplii and residual kinetics in sea bass larvae after repeated oral dosing of medicated nauplii. Aquaculture. Vol. 175, pp.15-30.

Trust, T.J. , 1986. Pathogenesis of infectious disease of fish. Annu. Rev. Microbiol. Vol. 40, pp.479-502.

Survey on enrichment of *Artemia urmiana* nauplii with Oxolinic Acid and determination of its accumulation rate in different dosages and times

Yahyazadeh M.Y.[(1)]; Javan S.[(2)*]; Soltani M.[(3)] and Shiri S.[(4)]

Saeed_dvm2003@yahoo.com

1,4- Iranian Artemia Research Center, P.O.Box: 368 Urmia, Iran

2- National Fish Prossecing Research Center, P.O.Box: 43145-1655 Bandar Anzali, Iran

3- Veterinary Faculty of Tehran University, P.O.Box: 6433-14155 Tehran, Iran

Received: October 2006 Accepted: September 2007

Keywords: *Artemia urmiana*, Oxolinic Acid, Antibacterial drug

Abstract

The nauplii of *Artemia urmiana* was enriched with oxolinic acid and the accumulation rate of this antibacterial drug in different times and dosages was determined. The nauplii which were hatched out of cysts from Urmia Lake's Artemia were incubated in the antibiotic / seawater suspension with dosages of 25, 50, 75 and 100mg/l of Oxolinic Acid, in intervals of 2, 4, 6 and 8 hours. All factors including salinity, pH, aeration, dosage and enrichment time were kept the same for all treatments. Each treatment was repeated three times. After enrichment, the concentration of Oxolinic Acid per sample was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). One way ANOVA and Duncan's tests were implemented to analyze the data. The results showed that the effect of enrichment time and dosage on the oxolinic acid residue in the nauplii of Artemia were significant ($P<0.05$, $P<0.001$). The maximum amount of accumulation rate in nauplii was found in a dosage rate of 100 mg/l during 6 hours of enrichment (38.84 ±14.38µg\gr\w.w) and the minimum amount was found in a dosage rate of 75mg/l during 8 hours of enrichment (2.583± 0.422µg\gr\w.w).

* Corresponding author