

Ocena skuteczności kwasu 4-nitrofenyloarsenowego w profilaktyce inwazji *Histomonas meleagridis* u indyków

ANDRZEJ KONCICKI, AGNIESZKA BUKOWSKA, BEATA MAZUR-GONKOWSKA,
ANNA KRASNOŁĘBSKA-DEPTA, TOMASZ STENZEL

Zespół Chorób Ptaków Katedry Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM,
ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn

Koncicki A., Bukowska A., Mazur-Gonkowska B., Krasnołębska-Depta A., Stenzel T.

Evaluating 4-nitrophenylarsonic acid efficacy in preventing *Histomonas meleagridis* invasions in turkeys

Summary

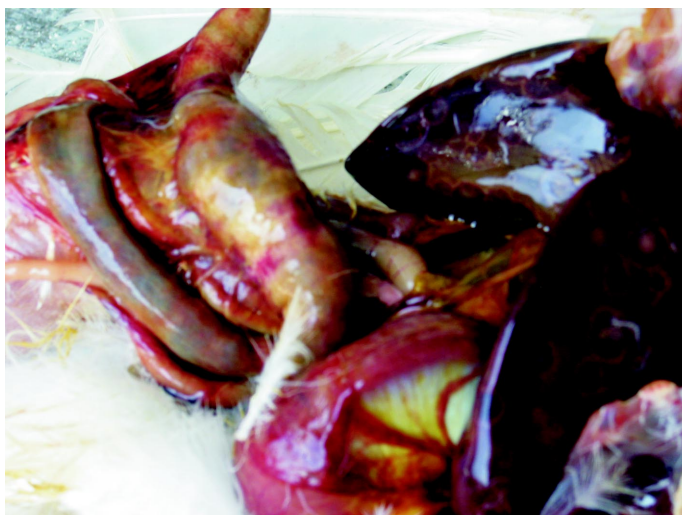
The aim of the study was to evaluate 4-nitrophenylarsonic acid efficacy (Histostat[®]₅₀; Alpharma Trade Inc., USA) and metronidazol (Avimetronid; Polfa Grodzisk) in preventing turkeys' histomoniasis. 10 turkeys with histomoniasis disorder and 10 healthy 10-week old turkeys were divided into three groups (I, II, III). Turkeys from group I were the control group. The turkeys from groups II and III were administered Avimetronid at a dose of 2.5 g/kg and Histostat[®]₅₀ at a dose of 0.37 g/kg in their feed for 5 weeks, respectively. Clinical observations, anatomopathological examinations, parasitological examinations of cloacae swabs as well as hematological (RBC, WBC, leukogram) and biochemical examinations (ALT, AST, LDH) of the blood were carried out before the experiment and in the 5th week of its duration. The results indicated that 4-nitrophenylarsonic acid is highly effective in preventing histomoniasis and that metronidazol also has therapeutic properties. Although no side effects were noted in the turkeys receiving the examined 4-nitrophenylarsonic acid, it nevertheless seems that there is a danger of arsenic compounds cumulating in turkeys' organisms.

Keywords: turkeys, histomoniasis

Różne gatunki pierwotniaków mogą wywoływać stany chorobowe przewodu pokarmowego u indyków, objawiające się spadkiem apetytu, biegunką i odwodnieniem, a w konsekwencji zahamowaniem przyrostów masy ciała i obniżeniem efektywności chowu tych ptaków. Należą do nich kokcydia i kryptosporidia oraz wiciowce, jak: *Colchlosoma anatis*, *Trichomonas gallinae*, *Hexamita meleagridis* i *Histomonas meleagridis*. *Cochlosoma* i *Hexamita* mogą wywoływać w okresie lata zapalenie błony śluzowej jelit u młodych indyków (1, 12). Jednak szczególnie niebezpieczny dla indyków jest rzęsiestek *Histomonas* (H.) *meleagridis* (5, 6, 10, 12, 13), który wywołuje chorobę zwaną czarną główką (histomonoza) (12). Histomonoza występuje najczęściej u indyków 2-16-tygodniowych. Zachorowalność indyków zakażonych tym pierwotniakiem może dochodzić do 90% ptaków w stadzie, a śmiertelność może wynosić ponad 70%. W przebiegu histomonozy następuje zahamowanie przyrostów masy ciała i wyniszczenie organizmu indyków (9, 12). Pierwotniaki wydalone są z odchodami zarażonych ptaków, w których przeżywają zaledwie kilka godzin. Często jednak *H. meleagridis* przenoszone są w jajach nicieni *Heterakis gallinarum*, w których w śro-

dowisku zewnętrznym mogą przetrwać 3-4 lata. Zakażenie indyków następuje na ogół *per os* z jajami *Heterakis gallinarum*, po czym pierwotniak ten uszkadza błonę śluzową jelit ślepych i rozprzestrzenia się z krwią do wielu narządów, przede wszystkim do wątroby (5, 12), w której wywołuje charakterystyczne ogniska martwicowe (9, 12, 13). Jelita ślepe są powiększone i wypełnione włóknikowymi czopami (9, 12).

Ostatnio wykazano, że inwazja tego wiciowca może szerzyć się w wyniku kontaktu ptaków zakażonych z niezakażonymi, a drogą wnikania pierwotniaków jest kloaka (7, 8). W przypadkach tych u indyków nie stwierdzono inwazji *Heterakis gallinarum* (7, 16). Hu i wsp. (8) w warunkach doświadczalnych wykazali, że *H. meleagridis* podany *per os* ginie w przewodzie pokarmowym z uwagi na niskie pH wola i żołądków. Wymienieni autorzy natomiast z powodzeniem zakażali indyki, wprowadzając hodowlę *H. meleagridis* do kloaki lub nanosząc ją na okolicę otworu stekowego. Powyższe informacje są bardzo istotne z punktu widzenia praktycznego, gdyż zmieniają one całkowicie panujący pogląd, iż jest mało prawdopodobne zarażenie indyków kałem chorych ptaków, jak również i to,



Ryc. 1. Ogniska martwicowe w wątrobie i powiększenie jelit ślepych w przebiegu histomonozy u indyków



Ryc. 2. Histomonoza indyków – charakterystyczne zmiany w jelitach ślepych

że systematyczne odrobaczanie indyków i eliminacja *Heterakis gallinarum* jest skutecznym zabiegiem w profilaktyce histomonozy.

Problem histomonozy nabiera ostatnio dużego znaczenia, gdyż mają miejsce liczne przypadki tej choroby u indyków w krajach Europy Zachodniej (5, 6, 15). Sytuacja ta jest spowodowana zakazem w krajach UE profilaktycznego stosowania u drobiu skutecznych preparatów używanych wcześniej. Problemu nie rozwiązują natomiast podejmowane próby stosowania w profilaktyce tej choroby wyciągów roślinnych (4).

Celem badań była ocena skuteczności kwasu 4-nitrofenyloarsenowego – substancji czynnej w preparacie Histostat[®]₅₀ (Alpharma Trade Inc., USA) w zapobieganiu histomonozie indyków w porównaniu do wcześniej stosowanego w kraju metranidazolu w preparacie Avimetronid (Grodziskie Zakłady Farmaceutyczne Polfa).

Materiał i metody

Do badań użyto ogółem 60 indyczek w wieku 10 tyg. Trzydzieści ptaków pochodziło ze stada chorego, w którym badaniem klinicznym, anatomopatologicznym (ryc. 1, 2) i parazytologicznym (18) zdiagnozowano histomonozę. Ptaki chore podzielono na trzy grupy po 10 indyczek i utrzymywano w oddzielnych kojach w wiwariach Zespołu Chorób Ptaków. W każdej z grup ptaków chorych umieszczono po 10 indyczek zdrowych (wskaźnikowych), wolnych od wiciowca *H. meleagridis*. Indyczki grupy I stanowiły kontrolę. Natomiast ptakom grupy II podawano przez okres 5 tyg. Avimetronid w dawce 2,5 g na 1 kg paszy, a indyczkom grupy III preparat Histostat[®]₅₀ (kwas 4-nitrofenyloarsenowy; nitarsony) w dawce 0,37 g na 1 kg paszy. Indyczki wszystkich grup poddano obserwacji klinicznej, a ptaki padłe badano anatomopatologicznie i parazytologicznie. Przed doświadczeniem i po 5 tyg. jego trwania wszystkie ptaki zważono, pobrano od nich wymazy z kloaki, które badano na obecność *H. meleagridis* bezpośrednio pod mi-

Tab. 1. Efektywność chemioprophylaktyki inwazji *Histomonas meleagridis* u indyczek (n = 20)

Grupa	Zastosowany preparat (dawka)	Wiek ptaków (tyg.)		Masa ciała indyczek (g) i (intensywność inwazji <i>H. meleagridis</i>)			
		przed doświadczeniem	po doświadczeniu	przed zastosowaniem chemioprophylaktyki	po 5 tyg. skarmiania paszy z dodatkiem badanego preparatu	ptaki chore	ptaki zdrowe (wskaźnikowe)
I (kontrolna)	–	10	15	2890 V% 5,6 (+++)	4331 V% 5,8 (–)	5138 ^a V% 6,6 (+++) (3 ptaki padły)	7895 ^a V% 6,6 (++)
II	Avimetronid (2,5 g/kg paszy)	10	15	2931 V% 6,1 (+++)	4283 V% 5,9 (–)	6762 ^b V% 6,0 (+)	9020 ^b V% 6,2 (–)
III	Histostat [®] 50 (0,37 g/1 kg paszy)	10	15	2998 V% 5,8 (+++)	4308 V% 5,8 (–)	5250 ^a V% 7,6 (+) (2 ptaki padły)	8994 ^b V% 6,2 (–)

Objaśnienia: a, b – różnica statystycznie istotna przy $p \leq 0,01$; intensywność inwazji: +++ liczne rzęśistki, ++ 10-20 rzęśistków, + pojedyncze rzęśistki, – brak rzęśistków

Tab. 2. Wyniki badań hematologicznych i biochemicznych u indyków zdrowych, narażonych na inwazję i w przebiegu histomonozy poddanych chemioprophylaktyce (n = 10)

Grupa	Zastosowany preparat (dawka)	Badane wskaźniki	Przed zastosowaniem chemioprophylaktyki		Po 5 tyg. skarmiania paszy z dodatkiem badanego preparatu	
			ptaki chore	ptaki zdrowe (wskaźnikowe)	ptaki chore	ptaki zdrowe (wskaźnikowe)
I (kontrolna)	-	RBC $10^{12}/l$	$2,46 \pm 0,21^a$	$2,17 \pm 0,16^b$	$2,31 \pm 0,22$	$2,36 \pm 0,18$
		WBC $10^9/l$	$58,2 \pm 20,17^a$	$21,60 \pm 0,10^b$	$56,6 \pm 21,3$	$57,8 \pm 18,3$
		Limfocyty %	$20,8 \pm 8,15^a$	$59,00 \pm 17,90^b$	$22,0 \pm 8,7$	$21,2 \pm 12,8$
		Heterofile %	$56,00 \pm 9,98^a$	$37,00 \pm 18,61^b$	$51,3 \pm 11,8$	$53,1 \pm 16,2$
		Bazofile %	$1,2 \pm 0,21$	$1,6 \pm 0,54$	$1,4 \pm 0,0$	$0,8 \pm 0,31$
		Eozynofile %	$21,0 \pm 9,02^a$	$0,6 \pm 0,55^b$	$25,3 \pm 13,1$	$23,0 \pm 10,4$
		Monocyty %	$1,0 \pm 0,20$	$1,8 \pm 0,83$	$0,0 \pm 0,0$	$1,9 \pm 0,3$
		ALT IU/l	$35,04 \pm 10,12^a$	$14,8 \pm 6,83^b$	$37,1 \pm 11,1$	$39,2 \pm 13,1$
		AST IU/l	$502,2 \pm 100,22^a$	$279,8 \pm 9,73^b$	$541,3 \pm 80,9$	$528,9 \pm 91,3$
		LDH IU/L	$2289,4 \pm 682,2^a$	$327,3 \pm 114,89^b$	$2548,0 \pm 901,2$	$2621,3 \pm 703,3$
II	Avimetronid (2,5 g/kg paszy)	RBC $10^{12}/l$	$2,51 \pm 0,28^a$	$2,26 \pm 0,08^b$	$2,44 \pm 0,12$	$2,32 \pm 0,09$
		WBC $10^9/l$	$61,3 \pm 28,56^a$	$22,98 \pm 0,75^b$	$28,61 \pm 4,82$	$21,05 \pm 2,84$
		Limfocyty %	$23,2 \pm 11,06^a$	$56,42 \pm 18,50^b$	$40,22 \pm 24,8^a$	$52,04 \pm 21,3^b$
		Heterofile %	$54,1 \pm 18,03^a$	$37,20 \pm 16,32^b$	$47,23 \pm 18,2^a$	$36,88 \pm 13,04^b$
		Bazofile %	$1,8 \pm 0,06$	$2,90 \pm 0,90$	$1,2 \pm 0,4$	$4,3 \pm 1,6$
		Eozynofile %	$19,9 \pm 10,31^a$	$2,31 \pm 0,22^b$	$10,2 \pm 3,3^a$	$5,85 \pm 0,08^b$
		Monocyty %	$1,0 \pm 0,0$	$1,17 \pm 0,00$	$1,15 \pm 0,0$	$1,00 \pm 0,0$
		ALT IU/l	$32,3 \pm 16,3^a$	$17,2 \pm 8,74^b$	$15,22 \pm 8,30$	$9,22 \pm 2,32$
		AST IU/l	$510,8 \pm 99,0$	$245,3 \pm 28,15^b$	$383,92 \pm 48,4$	$229,6 \pm 31,2$
		LDH IU/L	$2320,3 \pm 784,2^a$	$391,2 \pm 98,21^b$	$677,2 \pm 100,1$	$299,3 \pm 108,2$
III	Histostat [®] 50 (0,37 g/l kg paszy)	RBC $10^{12}/l$	$2,63 \pm 0,18^a$	$2,25 \pm 0,10^b$	$2,21 \pm 0,29$	$2,38 \pm 0,08$
		WBC $10^9/l$	$59,8 \pm 26,18^a$	$18,9 \pm 2,04^b$	$51,4 \pm 31,02^a$	$22,92 \pm 2,80^b$
		Limfocyty %	$21,3 \pm 16,02^a$	$55,6 \pm 11,25^b$	$25,1 \pm 13,11^a$	$52,18 \pm 19,2^b$
		Heterofile %	$55,1 \pm 9,09^a$	$38,8 \pm 9,98^b$	$51,8 \pm 10,28^a$	$38,02 \pm 10,4^b$
		Bazofile %	$0,9 \pm 0,03$	$3,2 \pm 1,3$	$1,4 \pm 0,9$	$4,1 \pm 1,3$
		Eozynofile %	$21,1 \pm 8,32^a$	$1,8 \pm 0,33^b$	$19,9 \pm 2,5^a$	$3,2 \pm 0,57^b$
		Monocyty %	$1,6 \pm 1,00$	$0,6 \pm 0,0$	$1,8 \pm 0,0$	$2,5 \pm 1,0$
		ALT IU/l	$35,8 \pm 21,00^a$	$13,8 \pm 5,28^b$	$32,4 \pm 18,0^a$	$8,41 \pm 7,4^b$
		AST IU/l	$488,1 \pm 56,02^a$	$268,4 \pm 31,15^b$	$399,9 \pm 22,8^a$	$202,8 \pm 19,4^b$
		LDH IU/L	$2609,6 \pm 133,2^a$	$326,2 \pm 101,28^b$	$2121,8 \pm 112,8^a$	$291,7 \pm 48,2^b$

Objaśnienia: a, b – różnica statystycznie istotna przy $p \leq 0,01$

kroscopem (18) oraz krew z żyły skrzydłowej do badań hematologicznych i biochemicznych.

W zakresie badań hematologicznych określano liczbę krwinek czerwonych (RBC) i białych (WBC) metodą komorową. Ponadto oznaczano skład odsetkowy krwinek białych (leukogram). W zakresie badań biochemicznych w surowicy krwi oznaczano aktywność enzymów: aminotransferazy alaninowej (ALT) i asparaginianowej (AST) oraz dehydrogenazy mleczanowej (LDH).

Wyniki opracowano statystycznie jedno- i dwuczynnikową analizą wariancji programem Stat 1. Istotność różnic między grupami określono testem Duncana.

Wyniki i omówienie

Aktualnie w krajach Unii Europejskiej nie ma zarejestrowanego leku do stosowania w zapobieganiu i leczeniu histomonozy indyków. Tymczasem w USA w profilaktyce tej choroby jest stosowany preparat o nazwie handlowej Histostat[®]50, w którym substancją czynną jest kwas 4-nitrofenyloarsenowy. Jest to organiczny związek arsenu z maksymalnie 1% zawartością trójwartościowego arsenu nieorganicznego – arseniku (As_2O_3). Arsenik jest bardziej toksyczny od arsenu pięciwartościowego (organicznego). Ten

ostatni jest nietoksyczny, ma silne działanie bakterio-bójcze i jest składnikiem niektórych enzymów. Arsen pięciowartościowy kumuluje się w organizmie i może redukować się do toksycznego arseniku. Histostat[®]₅₀ jest zalecany przez producenta do stosowania w dawce 0,37 g na 1 kg paszy (co odpowiada 0,01875% nitarsonu) z 5-dniowym okresem karencji. Sander i wsp. (17) wykazali, że arsen podawany z paszą w dawce 0,05 ppm nasila przebieg pododermatitis (14) u kur. Natomiast Brown i Julian (3) wykazali, że kwas 4-nitrofenyloarsenowy w dawce 600 mg/kg paszy może powodować u indyków obniżenie przyrostów masy ciała. Ci sami autorzy podają, że zahamowanie przyrostów masy ciała indyków może powodować arsenik w dawce 40 mg/kg paszy. Z powyższego wynika, że stosując Histostat[®]₅₀ w zalecanej przez producenta dawce, jeden kilogram paszy z tym preparatem może zawierać do 3,7 mg arseniku. Pomimo, że zawartość ta jest ponad 10 razy mniejsza od dawki toksycznej, to niewątpliwie stanowi ona wąski margines bezpieczeństwa (2).

Biorąc pod uwagę, z jednej strony, aspekty toksycznego oddziaływania arsenu na organizm ptaków, jak również fakt, że w krajach UE brak jest skutecznego preparatu do walki z *H. meleagridis*, a z drugiej, że istnieje duże ryzyko wybuchu tej niebezpiecznej choroby, podjęto badania, których celem była kliniczna ocena efektywności Histostatu[®]₅₀ w zapobieganiu i leczeniu histomonozы indyków. Kontrolę stanowiły indyki, które otrzymywały Avimetronid – preparat, w którym substancją czynną jest metronidazol z grupy imidazoli oraz ptaki, którym nie podawano żadnych specyfików.

Uzyskane wyniki badań klinicznych i parazytologicznych przedstawiono w tab. 1. Z danych tej tabeli wynika, że oba preparaty były skuteczne w zapobieganiu inwazji *H. meleagridis*, a metronidazol wykazywał także właściwości terapeutyczne. Należy podkreślić, że indyki zdrowe (wskaźnikowe) grupy I uległy zakażeniu *H. meleagridis* i pomimo że nie wykazywały klinicznych objawów histomonozы, to jednak wystąpiło u nich zahamowanie przyrostów masy ciała.

Wyniki badań hematologicznych i biochemicznych krwi indyków przedstawiono w tab. 2. Z danych tej tabeli wynika, że u indyków w przebiegu histomonozы występowała erytrocytoza i leukocytoza oraz heterofilia i eozynofilia. Następował również w surowicy krwi wzrost aktywności enzymów ALT, AST i LDH. Wyniki te korespondują z danymi uzyskanymi we wcześniejszych badaniach (10) i świadczą o uszkodzeniu przez wiciowce, a następnie martwicy hepatocytów i ściany jelit. Tego typu zmian w obrazie hematologicznym i wskaźnikach biochemicznych nie obserwowano u ptaków zdrowych (wskaźnikowych) ani w grupie otrzymującej preparat imidazolowy, ani nitarsonu.

Reasumując należy stwierdzić, że kwas 4-nitrofenyloarsenowy jest wysoce efektywny w zapobieganiu

histomonozы indyków. Pomimo że nie odnotowano objawów ubocznych u indyków otrzymujących oceniany preparat, to jednak wydaje się, że istnieje pewne niebezpieczeństwo kumulowania się związków arsenu w organizmie, jak również redukcji się nietoksycznego arsenu pięciowartościowego do toksycznego trójwartościowego arseniku.

Piśmiennictwo

1. Bermudez A. J.: Cochlosoma anatis infection, [w:] Saif Y. M. (red.): Diseases of Poultry. Iowa State Press, Ames, Iowa 2003, 996-1001.
2. Bowen T. E., Sullivan T. W., Grace O. D.: Effect of cupric sulphate on prophylactic efficacy of 3 arsenic acid compounds against histomoniasis in young turkeys. Poultry Sci. 1971, 50, 861-866.
3. Brown T. P., Julian R. J.: Other toxins and poisons, [w:] Saif Y. M. (red.): Diseases of Poultry. Iowa State Press, Ames, Iowa 2003, 1133-1159.
4. Duffy C. F., Sims M. D., Power R. F.: Evaluation of dietary Natustat[™] for control of Histomonas meleagridis in male turkeys on infected litter. Avian Dis. 2005, 49, 423-425.
5. Hafez H. M., Hauck R., Hoffmann T., Lischow D.: Dissemination of Histomonas meleagridis in different organs after natural infection in meat turkeys. Proc. 5th Internat. Symp. on Turkey Diseases, Berlin 16th-19th June 2004, s. 250-253.
6. Hess M., Grabensteiner E., Liebhart D., Weissenböck H., Loupal G.: Diagnosis investigations on Histomonas meleagridis following a severe outbreak in a turkey flock. Proc. 5th Internat. Symp. on Turkey Diseases, Berlin 16th-19th June 2004, s. 254-257.
7. Hu J., McDougald L. R.: Direct lateral transmission of Histomonas meleagridis in turkeys. Avian Dis. 2003, 47, 489-492.
8. Hu J., Fuller L., McDougald L. R.: Infection of turkeys with Histomonas meleagridis by the cloacal drop method. Avian Dis. 2004, 48, 746-750.
9. Koncicki A., Krasnodębska-Depta A., Guiró S.: Przypadek histomonadozy indyków oraz skuteczność różnych metod jej leczenia. Mat. VIII Symp. Drobniarskiego, Polanica Zdrój 25-27.09.1997, s. 134.
10. Koncicki A., Krasnodębska-Depta A., Guiró S.: Wskaźniki hematologiczne i biochemiczne krwi w przebiegu histomonadozy indyków. Medycyna Wet. 1999, 55, 674-676.
11. Krasnodębska-Depta A., Koncicki A.: Kontaktowe zapalenie skóry u kurcząt brojlerów i indyków. Medycyna Wet. 2003, 59, 208-212.
12. McDougald L. R.: Other protozoan diseases of the intestinal tract – Histomoniasis (Blackhead), [w:] Saif Y. M. (red.): Diseases of Poultry. Iowa State Press, Ames, Iowa 2003, 1001-1010.
13. McDougald L. R.: Enteric disorders in turkeys: the importance of parasitic diseases and interactions. Proc. 5th Internat. Symp. on Turkey Diseases, Berlin 16th-19th June 2004, s. 245-249.
14. McDougald L. R., Fuller L.: Blackhead disease in turkeys: direct transmission of Histomonas meleagridis from bird to bird in a laboratory model. Avian Dis. 2005, 49, 328-331.
15. McDougald L. R.: Blackhead disease (Histomoniasis) in Poultry: a critical review. Avian Dis. 2005, 49, 462-476.
16. Norton R. A., Clark F. D., Beasley J. N.: An outbreak of histomoniasis in turkeys infected with a moderate level of Ascaridia dissimilis but no Heterakis gallinarum. Avian Dis. 1999, 43, 342-348.
17. Sander J. E., Wilson J. L., Bush P. B., Rowland G. N.: Severe pododermatitis in broiler breeder hens housed on pressure-treated slats. Avian Dis. 1994, 38, 171-176.
18. Ziomko I., Tomczyk G., Musialik M., Kuczyńska E.: Tetratrichomonadoza (trichomonadoza) gęsi w Polsce. Medycyna Wet. 1991, 47, 452-453.

Adres autora: prof. dr hab. Andrzej Koncicki, ul. Baczyńskiego 1, 10-371 Olsztyn-Kieźliny; e-mail: koncicki@uwm.edu.pl