پژوهش و سازندگی
امور دام و آبزیان شماره ۷۶ پاییز ۱۳۸۶

مقایسه دو روش ایجاد گوسفنددهنده *Ostertagia circumcincta* (Donor)

• **علیرضا البرزی**
استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران
• **ناصرحقوقی راد**
استاد دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی- تهران، ایران
• **هادی نداف**
استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران
• **لیلی نبوی**
استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران

تاریخ دریافت: دی ماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: مرداد ماه ۱۳۸۵

Email: alirezaalborzi@yahoo.com

چکیده

درمطالعه آزمایشگاهی و تجربی حاضر به منظور ایجاد گوسفند دهنده *O. circumcincta* با روش کانولاگذاری شیردان و مقایسه آن با روش لوله معدی، شیردان یک بره ۹ ماهه به روش جراحی کانولاگذاری گردید. از تعدادی شیردان گوسفند تازه ذبح شده، تعداد ۲۸۵ کرم نر و ماده بالغ *O. circumcincta* از آنها جداسازی، شناسایی و از طریق کانولا وارد شیردان گردید. ۵ روز بعد تخم این نماتود در مدفوع بره و به تعداد کم ظاهرگردید، وطی روزهای بعد تا روز ۵۵، تعداد تخم در گرم مدفوع (EPG) روزانه به طور متوسط ۱۴±۳۰ تعیین شد. حدود ده هزار نوزاد عفونی زا (L۳) زنده حاصل از کشت مدفوع این بره از طریق لوله معدی به بره دیگری که ۶ ماهه بود خورانده شد. دراین بره حدود ۲۱-۱۹ روز بعد تعداد بسیار کمی تخم مشاهده و سپس در روزهای دیگر تعداد تخم‌ها زیاد شد به‌نحوی‌که متوسط تعداد تخم در گرم مدفوع آن ۹۹ ±۱۰۰ تخم در روز تعیین شد. میانگین تعداد تخم تبدیل شده به نوزاد مرحله سوم عفونی زا ۳۵/۱ درصد تعیین گردید. گرچه تعداد تخم‌های حاصل از بره کانولاگذاری شده نسبت به بره آلوده شده از راه لوله معدی ظاهراً کمتر بود، ولی به‌نظر می‌رسد که روش کانولاگذاری به‌خاطر مشخص بودن تعداد کرم‌های بالغ موجود در شیردان، دسترسی سریع‌تر به تخم و کشت آن، و جلوگیری از اتلاف چشمگیر نوزادان کرم که ضمن عبور از لوله گوارشی در روش استفاده از لوله معدی دیده می‌شود دارای امتیازات بیشتری باشد

کلمات کلیدی: *Ostertagia circumcincta*، کانولاگذاری، گوسفند دهنده، لوله معدی

Pajouhesh & Sazandegi No:76 pp: 132-137

Comparison of two methods of *Ostertagia circumcincta* donor sheep production

By: A. Alborzi, Department of Pathobiology, Veterinary Faculty of Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran; N. Hoghooghi Rad, Department of Parasitology, School of Veterinary Medicine Specialised Sciences; Islamic Azad University, Tehran, Iran. H. Naddaf, Department of Clinical Sciences, Veterinary Faculty of Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran L. Nabavi, Department of Pathobiology, Veterinary Faculty of Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

Ostertagia circumcincta is a major cause of ovine parasitic gastritis in temprate regions and the most frequent species affecting abomasum of small ruminants in Iran. These nematodes cause serious losses world-wide by imparing weight gain and wool production.Having a donor animal is essential for various studies. An *Ostertagia circumcincta* donor was produced by transplanting of adult forms of this worm into abomasum of the lamb (9 months of age) through a surgically established cannula. Ten thousands infective larvae (L3) from the lamb's faecal culture were given to another worm–free lamb of six months age through a stomach tube. Few eggs of *O.circumcintca* appeared in the cannulated lamb's faeces, after 5 days of transplanting. The number of eggs per gram of faeces(EPG) increased in the following days. The average number of EPG reached up to 30± 14 per day. Very scanty number of eggs appeared, then, after 19-21 days of post-infection. However the number of eggs increased gradually, so that its daily average number of EPG reached up to 100±99 during 60 days of post–infection. Average number of eggs developmented to infective larvae (L3) was 35.1 percent. Although the number of eggs, laid by worms transplanted in cannulated lamb, was less than that of worms, grown from L3 in the abomasum, the abomasal cannulation method seems more preferable due to some advantages such as defined number of worms transplanted into abomasums, rapid access to the eggs and their culture and less loss of worm larvae during passing through the digestive tract.

Keywords: *Ostertagia circumcincta*,Cannulation,Donor sheep,Stomach tube

مقدمه

استرتاژیوزیس ناشی از نماتودهای جنس استرتاژیا که به کرم‌های قهوه‌ای شیردان[1] معروفند، شاید در نواحی معتدل جهان مهمترین آلودگی کرمی‌گاوان و گوسفندانی باشد که چرای آزاد دارند. مهمترین گونه آن در گاو *O. ostertagi* و در گوسفند *O. circumcincta* است(۱،۱۱). این انگل عامل اصلی گاستریت انگلی گوسفند است و به‌دلیل تغییر دادن ساختار،pH و عملکرد شیردان با ایجاد اختلال درهضم آنزیمی مواد غذایی به ویژه پروتئین‌ها، سبب کاهش تولید شیر، پشم و وزن دام می‌گردد و درنتیجه خسارت فراوانی به اقتصاد دامپروری وارد می‌سازد(۱۷). ازمیان ۴ گونه شناخته شده آن در ایران، *O. circumcincta* شایع ترین گونه استرتاژیای شیردان گوسفند و بز ایران است. به طور طبیعی آلودگی به این انگل به صورت مخلوط با سایر انگل‌ها و نماتودهای گوارشی وجود دارد(۱). به منظور انجام بررسی و مطالعات مختلف انگل شناسی، پاتولوژیکی، فارماکولوژیکی، ایمونولوژیکی و... وجود حیوان دهنده (Donor) یعنی حیوانی که تن‌ها به *O. circumcincta* آلوده باشد ضروری است. و در صورت داشتن چنین گوسفندی می‌توان به بررسی راه‌های مبارزه با استرتاژیوزیس در گوسفند و بز اقدام نمود. برخی از محققین کشورهای دیگر، گوسفند دهنده مناسب را با روش کانولاگذاری و نیز با خوراندن نوزادهای این انگل با استفاده از لوله معدی به‌وجود آورند(۵، ۱۶). اما تا کنون در ایران نه تنها گزارشی از ایجاد گوسفند دهنده این کرم با روش کانولاگذاری در دست نیست بلکه حتی با خوراندن نوزادهای عفونی‌زای(L۳) این کرم نیز در برخی از مراکز آموزشی موفقیتی حاصل نشده است(تماس‌های شخصی). بدین‌جهت تصمیم گرفته شد برای اولین بار در ایران با انجام روش کانولاگذاری و مقایسه این روش با خوراندن نوزادهای عفونی‌زا به بررسی محاسن و معایب هر دو روش برای ایجاد گوسفند دهنده *O. circumcincta* پرداخته شود.

مواد و روش کار

الف- انتخاب حیوان

تعداد ۲راس بره ۳ و ۶ ماهه نژاد عربی از دامپروری وابسته به مجتمع آموزش عالی و پژوهشی رامین خریداری شد. مدفوع این برهها چندین بار آزمایش شد و علیرغم عدم مشاهده تخم انگل آلبندازول و لوامیزول به مقدار۷/۵ میلی گرم برای هرکیلوگرم وزن بدن بهطورخوراکی و آیورمکتین به مقدار۰/۲میلی گرم برای هر کیلو گرم وزن بدن از راه تزریق زیرجلدی به هر بره داده شد. سپس برهها در قفس و در جایگاه شسته شده محصور و مجزا با تغذیه کاه، جو و مکمل غذایی نگهداری شدند. آزمایشهای مدفوع و دادن دارو و اطمینان از وضعیت برهها از نظر پاک بودن از هر گونه نماتد گوارشی جمعاً سه ماه بطول انجامید.

ب- روش کانولا گذاری شیردان به یکی از برهها که ۹ ماهه شده بود، مدت ۲۰ساعت پرهیز غذایی داده شد. تا در هنگام عمل جراحی، یافتن شیردان و پیلور بدون مشکل صورت گیرد. با آمادهسازی محل عمل و ایجاد بی حسی موضعی با گزیلوکائین در پهلوی راست درست خلف قوس دندهای، حدود خط میانی بین وضعیت پشتی شکمی با اسکالپل برشی به طول۷ سانتیمتر داده شد. با رسیدن به شیردان، آنرا به آرامی به طرف محل برش برده با لمس دریچه پیلور و مشخص کردن آن، پیلور را حدود ۷ تا ۸ سانتیمتر به بالا و عقب کشیده، سپس درطرف راست آن برشی مناسب به طول ۴ سانتیمتر داده شد. بعد از زدن یک بخیه سرکیسهای بخش لبهدار(پایه) کانولا راداخل آن قرار داده و با استفاده از فورسپس لبههای برش را به داخل برگردانده تا سطح صفاقی (سروزی) در تماس با کانولا قرار گیرد. در این حال اولین ردیف بخیه را محکم کرده، گره زده شد. دومین ردیف بخیه هم صورت گرفت. سپس با ایجاد یک برش۲ سانتیمتر ی در فاصله ۲/۵ سانتیمتری از وسط برش اصلی روی پوست و لایههای زیرین آن حلقهای را ایجاد کرده لوله کانولا را ازآن خارج کرده با نصب حلقه کانولا کنارههای آن بخیه زده شد. بدینترتیب کانولا تثبیت شد و با بخیه برش اصلی عمل پایان یافت(تصویرهای ۱ و ۲) (۶). حیوان بعد ازعمل به مدت ۴ روز با آنتی بیوتیک، داروهای تقویتی و ضد درد تحت مراقبت قرار گرفت.

ج ـ روش جداسازی، شناسائی کرمها و انتقال آنها به شیردان

با اقتباس از روش Copland (۵) تعداد ۲۱ عدد شیردان از گوسفندان تازه کشتار شده در کشتارگاه اهواز انتخاب و با بستن دو سر هر شیردان با نخ، سریعا به آزمایشگاه انگل شناسی برده شد. محتویات شیردان درطشتی ریخته شد و سطح مخاط شیردان نیز برای یافتن کرم مورد بررسی قرار میگرفت، درصورتیکه تعداد کرمهای قهوهای رنگ به تعداد کافی موجود بود در اینصورت با استفاده از الک ۱۰۰ و شستشوی کامل شیردان زیر شیر آب، محتویات الک در ظرفی ریخته میشد و با استفاده از استرئومیکروسکوپ و میکروسکوپ نوری اقدام به جداسازی و شناسایی اولیه کرمهای آن میگردید. از دو شیردان که بر اساس شناسایی کرم نر دارای ۸۶ و ۸۹ درصدآلودگی به این انگل بودند. تعداد ۱۶۵ کرم نر بالغ و۱۲۰ کرم ماده *O. circumcincta*، مطابق کلیدهای تشخیصی(۴، ۱۳، ۱۷) و با توجه به پرده فرجی تقریباً ۲۱۰ درجه، دم بلندتر و اووژکتور بسیار بزرگتر از طول پرده فرجی انتخاب شد و بر اساس روش Scott و McKeller (۱۶) و Dougherty (۷) در درون شیردان بره کانولاگذاری شده قرار داده شد(تصویر۲).

تصویر۱: گوسفند کانولاگذاری شده در قفس

تصویر۲: نحوه ی وارد کردن کرمها از طریق کانولای شیردان

نتایج

مجموعاً تعداد ۲۸۵ عدد کرم نر و ماده*O. circumcincta* به شیردان بره ۹ ماهه از راه کانولا انتقال داده شد.آزمایش مدفوع تا چهار روز بعد منفی بود و در روز پنجم تعداد تخم در هرگرم مدفوع (EPG) ۳ عدد بود که به تدریج در روزهای دیگر زیادتر شد بهنحویکه بهطور متوسط تعداد تخمها درهر گرم مدفوع ۱۴ $\pm$ ۳۰ عدد طی ۵۵ روز که دوره بررسی حاضر بود تعیین شد. مقدار مدفوع روزانه حیوان طی این مدت از ۲۷۰ گرم تا ۵۶۰ گرم متغیر بود، به عبارت دیگرحالت غیر عادی در وضعیت حیوان از نظرتغذیه دیده نشد. از روز هشتم بعد از وارد کردن کرمها به شیردان ،کشت مدفوع روزانه انجام میگرفت و نوزادها با استفاده از دستگاه برمن جدا و شمارش میشدند. تعداد نوزادهای بدست آمده در هر کشت نیز از ۳۲ تا ۶۰۰۰ متفاوت بود. تعداد نوزادهای حاصل از کشت کمتر از

مقدار تخم موجـوددر EPG آن‌ها بود میانگین تعداد تخم تبدیل شـده به نوزادمرحله سـوم عفونی زا ۳۵/۱ درصد تعیین شـد. نوزادهـای عفونی زا (L۳) در سرم فیزیولوژی و در دمای ۴ درجه سانتی گراد یخچال نگهداری می‌شدند. برای مقایسه روش کانولا گذاری با روش خوراندن نوزادها توسط لولـه معدی، تعداد ۱۰/۰۰۰ نوزاد L۳ حاصل از کشـت مدفوع گوسـفند کانولاگذاری‌شـده با لوله معدی وارد معده بره دیگری که عاری از کرم بود، گردیـد. آزمایش مدفوع از این بره روزانه صـورت می‌گرفت. ۱۹ روز بعد از آلودگی تخم‌ها در مدفوع ظاهر شدند بدین ترتیب که از روز بیستم تا بیست وهشتم فقط یک تخم در هرگرم مدفوع در هر روز مشاهده گردید اما از روز سـی‌ام تعداد تخم‌ها افزایش یافت به‌نحوی‌که طی دو ماه بعد تعداد تخم‌ها در هر گرم مدفوع به طور متوسـط ۹۹ ± ۱۰۰ متغیر بود. درنمودار شماره ۱ افزایش دفع تخم توسـط بره مزبور در مقایسـه با بره کانولا گذاری شده نشان داده شده است

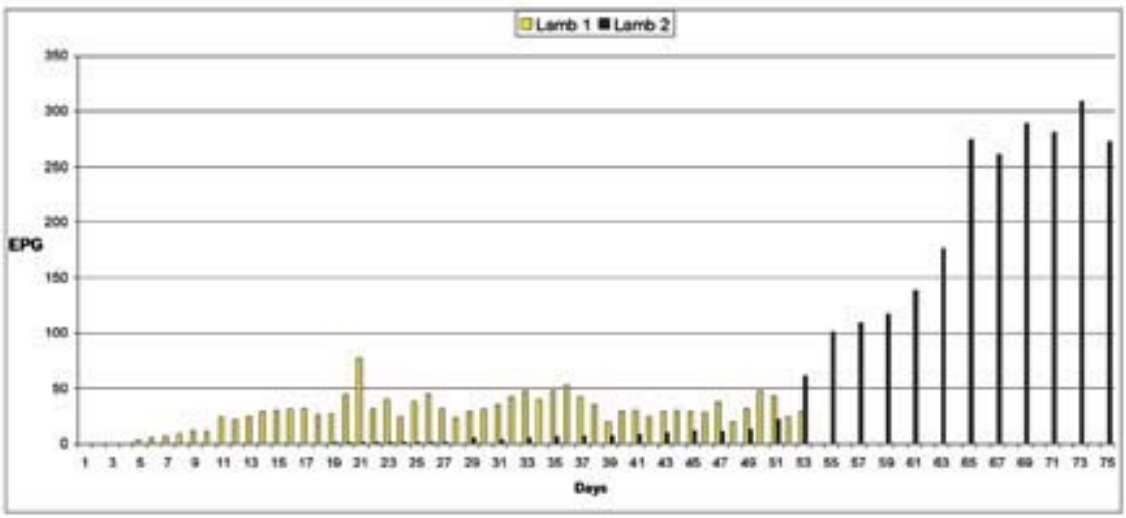
بحث

بـا توجـه به نتایج بررسـی حاضر دیده می‌شـود کـه می‌توان بـا روش کانولاگـذاری تعـداد معینی کرم‌هـای نر و مـاده حیوان دهنده *O. circumcincta* را وارد شـیردان گوسـفند کرد و حدود ۳ تا ۴ روز بعـد تخـم کـرم را در مدفوع حیوان مشـاهده نمـود. در حالی‌که جمع‌آوری نوزادهای عفونی زا (L۳) و خوراندن آن‌ها به گوسفند به کمک لوله معدی گرچه به ظاهر سـاده‌تر به‌نظر می‌رسد ولی عملاً تعداد زیادی از نوزادها به دلایلی که نامشـخص هسـتند ضمن عبور از لوله گوارشی تا رسیدن به شیردان گوسـفند تلف می‌شوند. از طرف دیگر تعداد کرم‌های بالـغ *O. circumcincta* که با خوراندن L۳ در گوسـفند بوجود می‌آیند مشـخص نیسـتند و تخم کرم هم سـه چهار هفته بعد در مدفـوع ظاهر می‌شـوند. براساس نتایج بررسـی حاضر مزایای روش کانولاگذاری شامل:

۱) دسترسـی سـریع به شـیردان و انتقال کرم‌های بالغ به آن، ۲) امکان افزایـش تعداد کرم‌ها در شـیردان در زمان‌های متفاوت ودرصـورت کم بـودن تعداد تخم‌های دفع شـده، ۳)عدم نیاز به زمـان طولانی برای بالغ شدن کرم‌ها، ۴) دستیابی سریع‌تر به تخم کرم در مدفوع و کشت آن بوده و معایب آن شـامل: ۱)نیاز به مهـارت در جراحی و کانولاگذاری، ۲) نیاز به تهیه کانولای مناسـب، ۳) انجام مراقبت‌های ویژه پس از عمل جراحی، ۴) امکان انتقال کرم‌های ماده پیر به شـیردان که در نتیجه باروری کمی خواهند داشت، می‌باشند.

مزایای روش خوراندن نوزادهای L۳ با لوله معدی شـامل: ۱) سـهولت خوراندن نوزادهای L۳ به گوسـفند، ۲)عدم نیاز بـه مراقبت‌های ویژه پس از خوراندن نوزادها، ۳) کرم‌های بالغ شـده از ایـن راه دارای قدرت باروری بیشـتری بوده و تخم‌های زیـادی تولید می‌کنند. و معایب آن شـامل: ۱) مشکل تهیه تعداد کافی فقط نوزادهای *O. circumcincta* از محیط کشت، ۲) مردن تعداد زیادی از نوزادهایL۳ طی عبور از لوله گوارشـی، ۳) انتظار طولانی برای مشاهده تخم کرم در مدفوع حیوان، می‌باشند.

از روش کانولاگذاری نه تن‌ها در مورد استرتاژیا بلکه در موارد دیگر نیز اسـتفاده شده اسـت.مثلاً Waller وهمکاران (۱۸) با کانولا گذاری شیردان و ایلئوم گوسـفند به بررسـی اثرات برخی قارچ‌های نماتـد خوار به صورت *in vivo* بـرای کنترل مراحل آزادزی نماتود در مدفـوع پرداختند. Pfeffer و همکاران(۱۵) با وارد کردن *Trichostrongylus axei* درشـیردان گوسفند به بررسـی پاسخ‌های سـلولی و هومورال بافت شـیردان وخون پرداختند. Ali و همـکاران (۳) بـا کانولاگذاری شـیردان و شـکمبه گوسـفند اثرات فارماکوکینتیک برخی داروهای ضد انگل را مورد بررسـی قرار دادند.Knox و همـکاران(۱۲) طـرح مزبـور را درمـورد گاو و گاومیـش اجـرا کردند. Mukhpadhyay وهمـکاران(۱۴) کرم‌های بالغ و بـارور *Setaria digitata* (انـگل گاو) را باگذاشـتن در داخل صفاق یک حیـوان مدل و Duncan و



نمودار۱: مقایسه تخمگذاری کرمهای *Ostertagia circumcincta* در بره۱ (آلوده شده از طریق کانولا) و بره۲ (آلوده شده با لوله معدی)

همکاران (۱۰) با گذاشتن *Strongylus vulgaris* بالغ در سکوم یک اسب ایمنولوژی و شیمی درمانی این انگل‌ها را بررسی کردند.

در بررسی حاضر که ۲۸۵ عددکرم ماده و نر بالغ در شیردان بره گذاشته، مشاهده گردید که تخم‌های *O. circumcincta* پس از سه الی چهار روز شروع به ظاهر شدن در مدفوع حیوان مبتلا نمودند. ولی طی ۵۵ روز مجموع تخم‌های دفع شده از کرم‌های ماده با روش کانولاگذاری تقریباً حدود یک سوم تعداد تخم‌های استرتاژیاهایی بود که در روش خوراندن L۳ با استفاده از لوله معدی طی همین مدت همراه مدفوع حیوان دفع شدند. علت کاهش تخم‌های دفع شده با روش کانولاگذاری احتمالاً به دلیل پیر بودن و یا عدم استقرار کافی کرم‌های وارد شده در شیردان بوده است در حالی‌که در روش خوراندن L۳ با استفاده از لوله معدی احتمالاً آن تعداد از کرم‌های بالغ شده در شیردان به علت جوان بودن قدرت تخمگذاری کافی داشتند و توانستند تخم‌های بیشتری تولید کنند همانگونه که Scott و McKellar (۱۶) قبلاً گزارش کرده بودند. انتخاب کرم‌های نر *O. circumcincta* درمیان نماتودهای دیگر موجود در شیردان گوسفندان کشتار شده به علت دارا بودن خصوصیات جنس و گونه‌ای و نیز دارا بودن اسپیکول‌های بلند(۳۲۰-۲۸۰ میکرونی) (۱۷) و تفریق آن از کرم‌های نر *O.triforcata* که دارای اسپیکول‌های کوتاه هستند(۱۸۰-۱۵۰ میکرونی)(۱۷) چندان مشکل نبود ولی انتخاب کرم‌های ماده *O. circumcincta* و تفریق آن از *O. triforcata* به دلیل وجود شباهت‌های زیاد موجب اشکالات و صرف وقت زیاد شد گرچه استفاده از کلیدهای تشخیصیDrozdz،(۴) Angus (۹) وLancaster و Hony (۱۳) ابهامات زیادی را برطرف ساخت ولی نظر Copland (۵) که گونه *O. circumcincta* به عنوان گونه غالب عمل کرده و در پاساژ بعدی با استفاده از نرهای *O. circumcincta* گونه‌های دیگر محو خواهند شد هر گونه تردید در مورد ایجاد گوسفند دهنده‌ی *O. circumcincta* خالص را بر طرف می‌سازد. میانگین تعداد تخم‌های تبدیل شده به L۳ در محیط کشت مدفوع بره کانولاگذاری شده و همچنین بره آلوده شده از راه دهان با استفاده از لوله معدی در بررسی حاضر حدود ۳۵/۱ درصد بوده است. مرگ نوزادها بیشتر در مراحل L۱ و L۲ دیده شد. این نسبت با بررسی‌های Dobson و همکاران(۶) در مورد توانایی رشد L۳ در محیط کشت تطبیق دارد. محققین مزبور گزارش کردند که میزان مرگ و میر نوزادان *O. circumcincta* نسبت به نوزادان *Tricostrongylus colubriformis* بالاتر است، بدین‌صورت که میانگین تبدیل تخم به L۳ در *O. circumcincta* و *Tricostrongylus colubriformis* به ترتیب ۳۹ و ۶۰ درصد می‌باشد. ضمناً می‌توان به‌جای ایجاد گوسفند دهنده *O. circumcincta* از وسایل و مواد آزمایشگاهی برای تهیه کرم‌های این گونه استفاده کرد. Douvres و Malakatis (۸) توانستند از نوزادهای عفونی زا *O. ostertagi* در محیط کشت کرم‌های بالغ نر و ماده بوجود آوردند به‌نحوی‌که کرم‌های ماده قادر به تولید تخم‌های بارور بودند. این روش آزمایشگاهی مستلزم هزینه، مواد و صرف وقت زیاد است و نتایج بررسی بر روی کرم‌های آزمایشگاهی نمی‌تواند مشابه بررسی‌های مختلف در روی این کرم در میزبان طبیعی اش باشد. در خاتمه با بررسی حاضر در مجموع به‌نظر می‌آید که روش کانولاگذاری برای ایجاد گوسفند دهنده *O. circumcincta* نسبت به روش‌های دیگر مناسب‌تر است.

تشکر وقدردانی

بدین‌وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از آقای دکتر محمد نوری استاد محترم گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی اهواز و آقای مهندس ابراهیمی‌عضو محترم دانشگاه فردوسی مشهد به‌خاطر مساعدت درتهیه کانولا ابراز می‌دارند.

پاورقی‌ها

1 - Brown stomach worms

منابع مورد استفاده

۱ - اسلامی، ع. ۱۳۷۶؛کرم شناسی دامپزشکی ،نماتودها ،جلد سوم انتشارات دانشگاه تهران،ص ۳۲۵-۳۲۶

۲ - نجف زاده، ح، ۱۳۷۵؛ تعیین انواع نماتودها ی بالغ و نا بالغ دستگاه گوارش گوسفندان استان خوزستان در کشتارگاه اهواز، پایان نامه دکترای دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، ص ۴۵، ۴۶،۵۴

3-Ali-DN, Hennessy, DR.,1995; The effect of level of feed intake on the pharmacokinetic disposition of oxfendazole in sheep, International Journal for Parasitology. 25: 1, 63-70 .

4-Angus,M,D.1969; Veterinary Helminthology. William Heinemann Medical Books LTD, London, pp: 23-26

5-Copland,J.W, 1965; Establishment of a pure infection of the nematode *Ostertagia circumcincta* in the sheep, Nature. 18, 208

6-Dobson, RJ ; Barnes, EH; Birclijin, SD; Gill, JH., 1992;The survival of *Ostertagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubrifomis* in faecal culture as a source of bias in approtioning egg counts to worm species. International Journal for Parasitology, 22: 7, 1005-1008

7-Dougherty,R.W.,1981; Experimental surgery in farm animals.The Iowa State University Press/Ames,pp:28-33

8-Douvres,F.W., Malakatis,G.M.,1977; *in vitro* cultivation of *Ostertagia ostertagi*, the medium stomach worm of cattle.I.development from infective larvae to egg-laying adults, The Journal of Parasitology,63: 3,520-527

9-Drozdz, J., 1995; Polymorphism in the *Ostertagiinae lopezNeyra*, 1947 and comments on the systematics of these nematodes, Systematic Parasitology, 32: 2, 91-99

10-Duncan, JL, Campbell, JR., 1973; Further observation on the maintenance of a monospecific infection of *Strongylus vulgaris* in the horse, Veterinary Record, 92:20 ,533

11-Kaufmann, J., 1996; Parasitic Infections of domestic animals:

A Dignostic Manual, Birkhauser Verlag ,Basel.Boston.Berlin, pp: 8-9,42

12- Knox,MR. Kennedy, PM. Hennessy, DR. Steel, JW. LeJambre, LF., 1994, Comparative pharmacokinetics of fenbendazole in buffalo and cattle, Veterinary Research Communication, 18: 3, 209-216

13- Lancaster,M.B. Hong,C.,1990; The identification of females within the subfamily *Ostertagiinae lopezneyra*.Veterinary Parasitology, 35:21 35:21-27

14- Mukhopadhyay,S. Dash,AP. Ravindran,B.,1996; *Setaria digitata* microfilaraemia in *Mastomys coucha*: An animal model for chemotherapeutic and immunological studies, Parasitology, 113:4,323-33

15- Pfeffer,A. Douch, PGC. Shaw,RJ. Gatehouse, TK. Rabel, B. Green,RS. Shirer,CL.Jonas, WE. Bisset, S., 1996; Sequental cellular and humoral responses in the abomasal mucosa and blood of Romney sheep dosed with *Trichostrongylus axei*, International Journal for Parasitology, 26:7,765-775

16- Scott, EW. McKellar, QA., 1988; Production of strains of the parasite *Ostertagia circumcincta* by implantation of adult parasites into the abomasum of lambs, Research in Veterinary Science, 45,120-121

17- Soulsby, E.J.L.,1982; Helminths, arthropods and Protozoa of domesticated animals, 7 th ed. Bailliere Tindall, pp: 219-220

18- Waller,PJ. Larsen,M. Hennessy,DR., 1994; The potential of nemtophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: *in vitro* and *in vivo* studies, Veterinary Parasitology, 51: 3-4,289-299