

تأثير التجميد على معدل فترة فقس بيوض ديدان الكبد *Fasciola spp.*

منير عبد الامير الفتلاوي
فادي جواد الشمري
كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية

الخلاصة

عزلت بيوض ديدان الكبد *Fasciola spp.* من كبد بقرة مصابة بالطور المزمن من الداء، والمذبوحة في مجزرة الديوانية المركزية. قسمت العينة الى ٤ مجاميع وضعت في درجات حرارة مختلفة ٤٠ درجة مئوية، ٥٠ درجة مئوية و ٤٠ درجة مئوية وفحصت يومياً لملاحظة التغيرات التي يمكن ان تطرأ على البيوض. بدأت البيوض بعد ١٠ و ٤٥ و ٦٠ يوماً بالفقس في العينات الاولى والثانية والثالثة على التوالي. وضعت العينة الرابعة في درجة التجميد لمدة ٢٠ يوم، ثم وضعت في حاضنة بدرجة حرارة ٢٤ درجة مئوية فأظهرت نسبة فقس ٨٥%. أظهرت نتائج التجربة ان بيوض ديدان الكبد *Fasciola spp.* لها قابلية على مقاومة التجميد.

المقدمة

تصيب ديدان الكبد الابقار والاعنام والماعز، وتصيب الانسان بصورة عرضية من خلال تناوله الخضروات الملوثة بطور الميتاسركاريا، حيث يصاب بالطور الحاد والزمن من داء الكبد، حيث يظهر الشكل الحاد خلال ١-٣ اسابيع من تناوله اكثر من ٢٥٠٠ ميتاسركاريا، ان معظم حالات الاصابة الحادة بديدان الكبد ناتجة عن تناول الميتاسركاريا في نهاية موسم الصيف. تخترق الديدان غير الناضجة جدار الامعاء نحو تجويف البريتونيوم وتخترق محفظة الكبد نحو متن الكبد والى القنوات الصفراوية، اما الشكل المزمن فيظهر خلال ٣-٤ اشهر بعد تناول اقل من ٥٠٠ ميتاسركاريا، اما حالات الاصابة المزمنة فهي ناتجة غالباً عن الميتاسركاريا التي طرحت في الصيف وبقيت خلال موسم الربيع والشتاء في المزرعة وتناولتها الاعنام والابقار في نهاية الشتاء. تطرح البيوض مع المادة الصفراء، ويمكن لديدان الكبد ان تصيب الرئتين والقلب والجهاز العصبي (Al-mekhaizeem et al., 2004; Urquhart et al., 2003; Soulsby, 1968). بين Richey & Courtney (2002) ان ديدان الكبد البالغات تتواجد في الاقنية الصفراوية لكبد الحيوانات وهي تطرح بيوضها الى داخل تجويف الامعاء مع المادة الصفراء وتخرج مع البراز لتتطور الميراسيديوم داخل البيوض، حيث ان تعرض البيوض لاشعة الشمس يساعد على فقسها، حيث بينت (Hanna, 2003) ان دورة حياة ديدان الكبد تعتمد على العوامل البيئية وتوفر المضيف الوسيط، فضلاً عن ان بقاء الميراسيديوم حياً يعتمد على الرطوبة ودرجة الحرارة للبيئة المحيطة ذكر

Rowcliffe & Ollerenshaw (1960) ان بيوض ديدان الكبد في بريطانيا تحت تأثير الظروف الحقلية تحتاج على الاقل الى ٣ اسابيع للفقس، وفي استراليا تحتاج ٢١ يوم في الصيف و ٩٠ يوم في الشتاء (Boray, 1963) (مقتبس من Soulsby, 1968). تبدأ الميراسيديوم (المهدبة) بالبحث عن المضيف الوسيط (القوقع) خلال ساعات والا ماتت حيث تخترق جسم القوقع ثم تقوم بنزع الغطاء المهذب وتكون كيس الابواغ Sporocyst حيث يولد الاخير ٥-٨ من طور الريدبا والتي تتحول كل منها الى طور المذبحة Cercariae والتي تخرج من القوقع، تعطي كل مهدبة مئات المذببات، تتسلق المذببات الاعشاب وتتحول الى الطور المتكيس للمذببات Metacercaria، حيث تصاب الحيوانات بديدان الكبد من خلال تناول الاخير (Richey & Courtney, 2002). ذكر Espino et al. (1998) ان اصابة الانسان بديدان الكبد غير شائعة بالمقارنة مع اصابة الحيوان بها، وقد سجلت الاصابة في اكثر من ٤٠ بلد في العالم. سجلت الاصابة بديدان الكبد في المومياة فضلاً عن تسجيله في بقايا الابقار والاعنام حيث عزلت بيوض الديدان من تربة في منطقة حوض انسان يعود عمره الى ٤٥٠٠ عام، وتبقى ديدان الكبد داخل الكبد للمضيف النهائي ٣٥-٤٥ عام (Dittmar & Teegen, 2003). ولغرض التعرف على تأثير العوامل البيئية من درجة حرارة وضوء على سرعة فقس بيوض ديدان الكبد اجريت هذه التجربة.

المواد وطرق العمل

جمع كيس من كبد بقرة بعمر ٧ سنوات ذبحت في مجزرة الديوانية المركزية جنوب بغداد ٨٨ كم، كانت مصابة بالطور المزمن من داء ديدان الكبد. وضعت العينة في حاوية مبردة بعد ان تم ربط الجزء المفتوح منعاً لتسرب المادة الصفراء ونقلتها الى مختبر الطفيليات في كلية الطب البيطري في جامعة بغداد. أفرغ السائل من كيس الصفراء الى داخل اناء

زجاجي، وترك السائل لمدة ٢٠ دقيقة ليتركب بعدها افرغ من نصف الكمية العلوية واضيف بقدرها ماء جاري، كررت العملية اثنا عشر مرة للتخلص من اكبر كمية من املاح الصفراء، ثم ركز السائل المتبقي باستخدام مجهر اولمبس الضوئي لتشخيص وجود بيوض ديدان الكبد نوع *Fasciola spp.* تم حساب عدد البيوض في الـ ٥ امل من السائل، حيث حسب

٢٠٠٢). وزعت عينة السائل الحاوية على البيوض الى اربعة انابيب زجاجية وبشكل متساوي (الجدول ١)

عددها في ٥ مربعات واستخرج معدلها في القطرة الواحدة ثم ضربت في عدد القطرات المكونة لجميع السائل المجموع بعد التركيز (الفتلاوي،

الجدول (١) توزيع عينات السائل الحاوي على البيوض.

رقم الانبوب	درجة الحرارة / مئوية	مكان الحفظ
١	٤٠	حاضنة ميمرت المانية
٢	١٠	في المختبر في فصل الشتاء
٣	٤	الثلاجة
٤	صفر	في جزء التجميد من الثلاجة

الصنع في التجربة، فضلاً عن استخدام المجهر الضوئي نوع اولمبس لفحص العينة. أستخرج معدل فقس البيوض للعينات الموجبة للفحص.

فحصت العينات ١، ٢، ٣ يومياً لملاحظة أي تغيرات يمكن ان تطرأ على البيوض. استخدمت حاضنة نوع ميمرت المانية الصنع وثلاجة نوع فيليبس هولندية

النتائج

املاح الصفراء بأستخدام طريقة التخفيف بالماء الجاري، حيث قدر عدد البيوض ١٥٠٠٠ في الـ ١٥ مل فحصدت عينات البيوض في الانابيب المختبرية، عدا عينة التجميد يومياً (الجدول ٢).

جمع كيس مرارة من كبد بقرة بعمر ٧ سنوات ذبحت في مجزرة الديوانية المركزية جنوب بغداد ١٨٨ كم، كانت مصابة بالشكل المزمّن من داء ديدان الكبد. تم حساب عدد البيوض في ١٥ مل من حجم السائل المركز بأستخدام المنبذة بعد ازالة كمية كبيرة من

جدول (٢) يبين درجات الحرارة واعداد البيوض ونسبة الفقس.

رقم العينة	درجة الحرارة	مكان الحفظ	عدد البيوض	اخر يوم للفحص	نسبة الفقس %	مدة الفقس	الملاحظات
١	٤٠	حاضنة ميمرت	٢٥٠٠	٧٠	٢٥	-١٠ ٢٥	
٢	١٠	المختبر	٤٠٠٠	٧٠	٤٥	-٤٥ ٥٥	تعرض للضوء ١٢ ساعة يومياً
٣	٤	الثلاجة	٣٨٠٠	٧٠	٥٠	-٦٠ ٧٠	تعرض للضوء ساعة يومياً

التجميد، بعدها وضعت في حاضنة ميمرت بدرجة ٢٤° مئوية وبدعت بالفقس في اليوم ١٣ بعد الحضانة واستمرت لغاية اليوم ١٨. لوحظت عملية الفقس بصورة واضحة اثناء فحص العينة الاخيرة في مجهر الاولمبس وتحت تأثير درجة حرارة مصباح المجهر وبحضور (الاستاذ الدكتور رعد حربي رهيف والاستاذ الدكتور عالية يوسف يعقوب)، حيث أبدوا اعجابهم لرؤية المهدبات وهي تقوم بدفع غطاء أبيضه Operculum وتخرج من البيضة وتسبح في السائل الموضوع فوق الشريحة الزجاجية وهي تتحرك بصورة نشطة جداً.

اظهرت العينات ١، ٢، ٣ المحفوظة في ٤٠° مئوية و ١٠° مئوية و ٤° مئوية في حاضنة ميمرت والمختبر والثلاجة، فقس للبيوض خلال ١٠ يوم، ٤٥ يوم، ٦٠ يوم من بدء الفحص واستمرت لغاية ٢٥، ٥٥، ٧٠ يوم على التوالي. تم حساب اعداد البيوض في كل انبوب مختبري بعد توزيع العينة على اربعة انابيب حيث ظهرت اعدادها ٢٥٠٠، ٤٠٠٠، ٣٨٠٠ و ٤٥٠٠ بيضة/ انبوب للانايب ١، ٢، ٣ و ٤ على التوالي. وضعت العينة الرابعة، بعد التجميد لمدة ٢٠ يوم، في جو المختبر للذوبان واعيد حساب عدد البيوض المتبقية الحاوية على الخلايا الجنينية، وجدت ٤٠٠ بيضة فقط من اصل ٤٥٠٠ بيضة موضوعة قبل

المناقشة

الضوء في اليوم العاشر وهو مطابق لما ذكره Idris & Fried (1996) حيث حفظت البيوض في الظلام

فقت البيوض في العينة الاولى المحفوظة في ٤٠ درجة مئوية خلال ١٠ ايام بعد تعرض البيوض

ووجد ٤٠٠ بيضة فقط، وقد يعود ذلك الى تحلل الجزء الكبير من البيوض المحفوظة، وبعد حوالي ٩ أيام من الحفظ في الحاضنة بدرجة ٢٤ درجة مئوية بدعت الميراسيديم تتكون داخل البيوض وفتت بفعل تأثير حرارة ضوء المجهر في اليوم ١٣ اثناء فحصها على الشريحة وهو مقارب لما ذكره (1968) Soulsby في ان البيوض تحتاج ٢٦ درجة مئوية للفقس في يوم، ولما بينه (1996) Idris & Fried بأن البيوض تبدأ بالتطور الجنيني خلال صفر - ١٠ يوم في ٢٨ درجة مئوية، ولما بينه (1977) Gold & Goldberg بأن اسرع تطور للبيوض بين ٢٤-٢٨ درجة مئوية. بين (1989) Altaif et al., ان البيوض تحتاج ١٢-١٦ يوم في درجة حرارة ٢٦-٢٨ درجة مئوية لتفقس في ظروف مختبرية. ان نجاح البيوض في التفقس وتكوين الميراسيديم على الرغم من التجميد يبين مدى قابلية بيوض ديدان الكبد *Fasciola spp* على مقاومة الظروف البيئية القاسية (التجميد)، فضلاً عن ان نسبة الفقس في الـ ٤٠٠ بيضة بلغت ٨٥% وقد يعزى ذلك الى ان عملية التجميد ومن ثم تعرضها للحرارة حفز البيوض المتبقية وبالتالي اظهرت النسبة المرتفعة للفقس، او ان البيوض ضعيفة المقاومة للعوامل البيئية قد تحللت بالتجميد وبقيت البيوض ذات القابلية على المقاومة والفقس. وتبين نتائج التجربة ان بيوض ديدان الكبد لها قابلية تحمل للبرودة اكثر من الحرارة حيث كانت نسبة الفقس للبيوض المحفوظة في ٤٠ درجة مئوية ٢٥% بينما التي عرضت للتجميد ٨٥% وكانت ٤٥% و ٥٠% للعينات الثانية والثالثة وقد يعزى ذلك الى استهلاك الخلايا الجنينية لغذائها المخزون بسرعة وثم الهلاك في الجو الحار مقارنة مع الجو البارد.

عشرة ايام وعرضت للضوء لمدة ثلاثة ساعات وفتت بعدها البيوض، وكذلك يطابق ما بينه Richey & Courtney (2002) ان الميراسيديم يمكن ان تتطور في ٤٣ درجة مئوية، وقد يعود ذلك الى ان بقاء العينة في الجو المظلم للحاضنة اثر على عملية تكون الميراسيديم وان تعرضها في اليوم العاشر للضوء حفز تطورها السريع والفقس وهو مطابق لما ذكره Gold (1977) & Goldberg حول ان درجة الحرارة الثابتة والظلام المستمر يجعل البيوض لا تفقس، وان تعرض البيوض للضوء يؤدي الى تطورها مقارنة مع البيوض الموضوعة في الظلام (Suhardon et al., 2006). اما العينة الثانية المحفوظة في ١٠ درجة مئوية خلال ٤٥ يوم وهو مقارب لما بينه Soulsby (1968) ان بيوض ديدان الكبد تفقس خلال ٦٠ يوم في ١٢ درجة مئوية و ٤٠ يوم في ١٥ درجة مئوية، وقد يعزى ذلك الى ان انخفاض درجة الحرارة يؤدي الى بطيء عمليات التكون الجنيني، ويخالف لما بينه (2003) Hanna حيث ذكر ان فترة تطور البيوض بين ٨٠ يوم في ١٠ درجة مئوية الى ١٠ ايام في ٢٥ درجة مئوية. اظهرت العينة الثالثة، والمحفوفة في ٤ درجة مئوية، الفقس خلال ٦٠ يوم للفقس، وهو مطابق لما ذكره (1977) Gold & Goldberg، حيث بين ان البيوض تفقس في درجة حرارة ٤-٢٤ درجة مئوية حتى في الجو المظلم، ويخالف لما ذكره Soulsby (1968) و (2003) Hanna اللذان بينا ان تطور البيوض يتوقف تحت ١٠ درجة مئوية. حفظت العينة الرابعة الحاوية على ٤٥٠٠ بيضة في درجة التجميد لفحص مدى قابلية البيوض على مقاومة الظروف البيئية غير الملائمة حيث وضعت بعد ذلك في درجة حرارة الغرفة للذوبان وحسب عدد البيوض المتبقي

المصادر

1. Urquhart, G. M.; Armour, J.; Duncan, J.I.; Dunn, A. M. and Jennings, F. W. (2003). Veterinary parasitology. Blackwell publishing, 2 ed .
2. Al- Mekhaizeem, K.; Al- Mukhaizeem, F. and Habib, M. A. (2004). Fasciola hepatica infection presenting as biliary obstruction 11 years after open cholecystectomy and CBD exploration. Kuwait Medical Journal, 36(4): 293-295.
3. Richey, E.J. and Courtney, C. (2002). Liver fluke control in beef cattle. Extension institute of food and agricultural sciences, Uni: of Florida, Pp. 1-5
4. Hanna, B. (2003). Liver fluke explained. Vatline in Northern Ireland Veterinary Today. Under publishing.
5. Soulsby, E. J. L. (1968). Helminthe , Arthropod and protozoa of domesticated animals. London, Baillier, Tindal and Cassel.
6. Espino, A. M.; Diaz, A.; Perez, A. And Finlay, C. M. (1998). Dynamics of antigenemia and coproantigens during a human fasciola hepatica outbreak. J. Clinic. Microbiol., 36(9): 2723-2726.
7. Dittmar, K. and Teegen, W.r. (2003). The presence of fasciola hepatica (liver- fluke) in humans and cattle from a 4500 year old

- Archaeological site in the sale-unstrut valley, Germany. Meminst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 98(1): 141- 143.
٨. الفتلاوي، منير عبد الامير عبد (١٩٩٦). دراسة في وبائية وبايولوجية الاكياس العدرية في محافظة القادسية. أطروحة ماجستير/ كلية الطب البيطري-جامعة بغداد.
9. Idris, N. and Fried, B. (1996). Development, hatching , and infectivity of Echinostoma caproni (Trematoda) eggs, histologic and histochemical observations on the miracidium. Parasitol. Res., 82(2):136- 142.
10. Sunardono, Roberts, J. A. and Copeman, D. B. (2006). Variation in the survival of fasciola gigantica eggs in bovine during stored in the sun as opposed to the shade. Trop. Anim. Helth. And prod., 38(5): 379- 382.
11. Gold, D. and Goldberg, M. (1977). Effect of light and temperature on hatching in fasciola hepatica (Trematoda fasciolidae). Israel Journal of Zoology, 25(4): 178- 185.
12. Altaif, K.L.; Al- Zubaidy, A. J.; Abbas, M. K. and Al- Mashadaani (1989). Factors affecting and development of larval stage of liver fluke fasciola gigantica in the snails lymnaea auricularias complex. Helminthologia, 26: 211- 218.

Effect of freezing on hatching period of *Fasciola spp.* eggs

M. AA Al-fatlawi F. JH Al-Shimary
Coll.of Vete.Med./ Univ.of AL-Qadisyia

Abstract

Eggs of Fasciola spp. isolated from gall bladder of infected cattle, with chronic form of fascioliasis, slaughter at Al- diwaniya abattoir. Sample divided into 4 groups, in different temperature, 40c, 10c and 4c and examined daily to any development in eggs. Hatching began in 10, 45, and 60 days in first, second and third sample in sequence. Fourth sample put in freezing for 20 days and then trans to incubator at 24c, hatching percent reach to 85%. Result showed that eggs of Fasciola spp. resistance to freezing.