

تضمنت الدراسة الحالية الكشف عن طفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* في أربع أنواع من الطيور ضمت الدجاج المحلي *Gallus gallus domesticus* والديك الرومي *Meleagris gallopavo* والإوز الأريدي *Anser anser* والبط المحلي *Anas platyrhynchos domesticus* في منطقة الفرات الأوسط (الديوانية، كربلاء، النجف، بابل) من العراق خلال الفترة من شهر تموز لعام 2011 ولغاية شهر آب 2013. لذلك في القطط المنزلية في محافظة الديوانية باستخدام الاختبارات المصلية (اختبار تلازن اللاتكس والكاسيت السريع) والاختبارات الجزيئية كاختبارات تأكيدية (تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional-PCR وتفاعل سلسلة البلمرة من النوع المتداخل Nested-PCR) للتحري عن الجين B1 الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية في عينات دم الطيور والقطط وأعضائها المختلفة مثل الكبد والقلب والدماغ والعين والرئتين والعضلات الصدرية والأمعاء الدقيقة والطحال وعضلات الساق للطيور والقطط الموجبة مصلياً لاختبار الكاسيت السريع (IgG, IgG+IgM) كما تضمنت الدراسة الكشف عن أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في تربة الحدائق المنزلية لعشرة أحياء سكنية في محافظة الديوانية ضمت حي الصدر الأول، حي النهضة، حي الفرات، حي الوحدة العربية، حي الاسكان القديم، حي الحكيم، حي العروبة، حي الجزائر، حي المتقاعدين، حي الجامعة باستخدام طريقة الترسيب والتطويف كتشخيص أولي كما تم استخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة للتحري عن الجين B1 في عينات التربة.

تم جمع 320 طائر ضمت 80 عينة لكل نوع من الطيور المشمولة بالدراسة موزعة على 20 عينة لكل من الدجاج المحلي والديك الرومي والإوز الأريدي والبط المحلي لكل محافظة من محافظات الفرات الأوسط (الديوانية وبابل والنجف وكربلاء)، فضلاً عن عشرة قطط منزلية، أما بالنسبة لتربة الحدائق المنزلية فقد تم جمع 100 عينة لعشرة أحياء سكنية في محافظة الديوانية، خضعت جميع عينات الطيور والقطط المنزلية للاختبارات المصلية المتمثلة باختبار تلازن اللاتكس الذي أظهر بأن هناك 96 عينة مصابة ونسبة 30%، ضمت 31 عينة (38.75%) من الدجاج المحلي و 28 عينة (35%) من الديك الرومي و 22 عينة (27.5%) من الإوز و 15 عينة (18.75%) من البط المحلي و 5 عينات (50%) من القطط المنزلية وأن أعلى نسبة إصابة في الطيور سجلت عند المعيار 1/160 وبلغت 23.95% في حين كانت أقل نسبة إصابة عند المعيار 1/640 بلغت 3.73%، أما في القطط كانت أعلى نسبة إصابة عند المعيارية 1/20 وبلغت 40% وأقل نسبة عند المعايير 1/40، 1/80، 1/160، حيث بلغت 20% لكل معيار

أشارت نتائج اختبار الكاسيت السريع إلى أن هناك 60 عينة من مجموع 320 عينة بنسبة كلية بلغت 18.75% ضمت 24 عينة (30%) من الدجاج المحلي و 19 عينة (23.75%) من الديك الرومي و 10 عينات (12.5%) من الإوز الأريدي و 7 عينات (8.75%) من البط المحلي و 3 عينات (30%) من القطط المنزلية كانت مصابة بطفيلي المقوسة الكوندية .

## Summary

The current study was conducted to detect of *Toxoplasma gondii* in five species of avian including, *Gallus gallus domesticus*, *Meleagris gallopavo*, *Anser anser*, *Anas platyrhynchos domesticus* in middle Euphrates provinces of Iraq, also in cats in AL-Diwania province, during 2011-2013 by using serological tests (Latex, Rapid test cassette) and molecular test (conventional-PCR and Nested-PCR) as confirmative tests to detect of B1 gene which was specific gene of *T.gondii* in blood and Tissue samples of different organs such as Liver, Heart, Brain, Eye, Lung, Pectoral muscles, Small intestine, Spleen, and Leg muscles of avian and cats which were seropositive cases of Rapid test cassette, also the study was included the detection Oocysts of *T.gondii* in soil samples of ten cities from Al-Diwania province by using sedimentation and floatation methods as primary diagnosis, also using the polymerase chain reaction to detect of B1 gene in these samples.

A total of 320 Avian collected, include 80 samples of each species (20 samples of chicken, Turkey, geese, and Ducks) of each province of middle Euphrates (AL-Diwania, Babylon, AL-Najaf and Karbala) ,in addition to 10 samples of cats and 100 samples of soil from the center of AL-Diwania province, samples of avian and cats were involved to serological test such as LAT, the results showed there were 96 positive samples in percentage %30, include, 31(%38.75) of chicken, 28 (%35) of turkey, 22 (%27.5) of geese, 15 (%18.75) of ducks and 5 (%50) of cats, the higher Percentage (%23.95) of infection with *T. gondii* in avian was in titer 1/160 and the lower percentage (%3.73) in titer 1/640, Whereas in cats, the higher percentage in titer 1/20 and lower percentage in titers 1/40,1/80,1/160 which reaches %20.

The results of Rapid test cassette were showed there were 60 out of 320 samples in percentage %18.75, include 24 (%30) of chicken, 19 in

(%23.75) of turkey, 10(%12.5) of geese, 7(% 8.75) of duck and 3(%30) of cats.

Also the results of Rapid test cassette were showed the higher percentage of types of antibodies in the serum of avian was %36.66 of IgG +IgM together and the lower percentage was %28.33 of IgM, whereas in cats, the higher percentage was %66.66 of IgG and the lower percentage was %33.34 of IgG +IgM together.

To confirm the infection of avian by *T.gondii*, Polymerase Chain Reaction was used to detect the B1 gene (399 bp) in 320 blood samples of avian and 10 samples of cats, the results were showed there were 34 samples (%10.62) of avian gave positive result, include,14 (%17.5) of chicken,12 (%15) of Turkey, 8 (%10) of geese, whereas the results were showed the B1 gene was not present in the blood samples of ducks and cats.

The results of Latex, Rapid test cassette and polymerase Chain Reaction were showed, the higher percentage was recorded in chicken % 17.5, %30, %35,whereas the lower percentages were %18.75, %8.75, %0 in Ducks by using the three tests, respectively.

According to the results of Rapid test cassette (IgG, IgM +IgG), the results of polymerase Chain Reaction to detect the B1 gene in 16 samples of avian (4 samples of each species) out of 39 samples and 3 samples of cats, showed there were 9 samples (%56.25), include 4 (%100) of chickens, 3(%75) of turkey,1(%25) of geese, and 2(%66.66) of cats and the higher percentage of B1gene (399bp) in livers of avian was %55.55, %22.22 in pectoral muscles then heart, spleen and small intestine in percentage %11.11 for each one of them, whereas in cats the percentage were % 66.66 in liver while in brain and kidney the percentage was %33.34 of each one of them.

The results of Nested Polymerase Chain Reaction for amplification the gene B1 in 12 blood samples (4 samples of each species of birds except ducks) was positive for conventional-PCR, Showed the amplification occurs in 4 samples in percentage % 33.33 during the first round of reaction and 3 samples in percentage %75 in the second round, in 10 samples of tissues, the amplification occurred in 6 samples in

percentage %60 during the first round and in 4 samples in percentage %66.66 during the second round of reaction.

Also the results were showed the percentage of *T.gondii* antibodies in serum of four types of avian (except pigeons ) according to the provinces were %28.75 in AL-Diwania, %40 (Higher percentage) in Babylon,%12.5(Low percentage) in AL-Najaf and %38.75 in Karbala by latex test, whereas the percentages %26.25 (higher percentage), %10 (lower percentage),%12.25,%17.5 in each of Karbala, AL-Najaf, Babylon, AL-Diwania province respectively by Rapid test cassette, and by using polymerase chain reaction, the percentages were %16.25 (Higher percentage), %5(Lower percentage), %6.25, %15 in AL-Diwania, Babylon, AL-Najaf and Karbala province, respectively.

Also the results showed, the percentage of infection in AL-Diwania province the samples of rural areas were higher (%37.5,%22.5,%17.5) whereas the percentages were lower ( %20,%12.5,%12.5) in urban areas by using latex, rapid test cassette, and polymerase chain reaction, respectively.

The results of comparison between two serological tests and Polymerase Chain Reaction, showed the percentages of infection were %10.62 (34),%18.75 (60),%30 (96) by using Polymerase chain reaction, Rapid test cassette, latex test, respectively, also the sensitivity and specificity of latex test were %35, %72 whereas the sensitivity and specificity of Rapid test cassette were %35, %88, respectively in compared with standard Polymerase Chain Reaction.

In the soil samples, the percentage of presence of Oocysts of *T.gondii* was %10 by using floatation method and %4 by conventional Polymerase Chain Reaction.

. The study of grossly and microscopy pathological changes in avian and cats which infected with *T. gondii*, was showed there were lesions on each of liver, heart, pectoral muscles, small intestine, brain and kidney.

## 1- المقدمة Introduction

إن داء المقوسات Toxoplasmosis واحد من الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان Zoonotic Diseases والذي يسببه طفيلي يعود إلى مجموعة الأكريات Coccidia، صنف البوغيات Sporozoa يعرف بطفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* وهو طفيلي داخل خلوي إجباري Intracellular obligate parasite وخاصة في الخلايا ذات الأنوية كما لوحظ وجوده داخل النواة (Remington & Gentry, 1970) يصيب هذا الطفيلي مختلف الأنسجة لجميع أنواع اللبائن من ضمنها الإنسان والقطط (Montoya & Remington, 2008; Hill & Dubey, 2002; )، إذ تشكل عائلة السنوريات Felidae المضيف النهائي للطفيلي وأحياناً وسطي بينما تمثل اللبائن والطيور مضائف وسطية له (Remington et al., 1995) كما سجلت الإصابة بداء المقوسات أيضاً في اللبائن البحرية كالحياتان والدلافين وأسد البحر وكلاب البحر (Lambourn et al., 2001).

يمتاز هذا الطفيلي بوجود ثلاثة أطوار معدية وهي طور كيس البيض Oocyst الذي يطرح إلى البيئة الخارجية مع براز القطط المصابة التي تتكون بداخله الأبواغ المصبية لاحقاً وطور الحويينات سريعة التكاثر Tachyzoite التي تنقسم بسرعة داخل جميع خلايا المضيف النهائي والوسطي وأحياناً تحاط كائنات هذا الطور بكيس غير منتظم الشكل رقيق الجدار يعرف بالكيس الكاذب Pseudocyst، وطور الحويينات البطيئة التكاثر Bradyzoite التي تتكاثر ببطيء داخل كيس ذو جدار سميك يعرف بالكيس النسيجي Tissue cyst الذي يتكون داخل الأعضاء المختلفة من جسم المضيف ويختلف هذا الكيس في الحجم والشكل تبعاً للعمر وموقع الإصابة إذ أنه يكون ذو شكل متطاوّل في العضلات ودائري أو بيضوي الشكل في بقية الأعضاء (Foulon et al., 1999).

ينتج عن الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية آفات Lesions يرافقها تفاعل التهابي وتخر Necrosis في الأعضاء مما يؤدي إلى ظهور أعراض منها فقر الدم وأوجاع الرأس وحدوث الحمى والآم في العضلات، وقد يؤدي المرض إلى حدوث مضاعفات ينتج عنها تحطيم الخلايا في الأعضاء المختلفة من جسم المضيف كالدماع والعين والرئتين والكبد والقلب، وأحياناً الجهاز العصبي المركزي وقد يصبح المرض مزمناً يرافقه التضاعف السريع للحويينات سريعة التكاثر وتكوين أكياس النسيج Tissue cysts الحاوية على الحويينات البطيئة التكاثر والتي تبقى داخل الأنسجة لعدة سنوات دون أحداث أي أعراض سريرية (Simpson, 2002).

ينتقل المرض إلى الإنسان بالدرجة الأساس عن طريق تناول اللحوم غير المطبوخة جيداً والحاوية على أكياس النسيج الحيه والغذاء والماء الملوثين بأكياس البيض، بالإضافة إلى عمليات نقل الدم التي تعد

مهمة في نقل المرض في طوره الحاد وكذلك عمليات نقل الأعضاء والتي قد تكون مصابة إلى الأشخاص الأصحاء الذين يتم إعطائهم أدوية مثبطة للمناعة والتي تلعب دوراً مهماً في حدوث المرض (Slavin & Mayers, 1994) ولاتزال هنالك طرق مهمة أخرى في نقل المرض مثل استنشاق الغبار الملوث بأكياس البيض أو تناول الحليب الطازج غير المبستر والحاوي على الأطوار المعدية للطفيلي (Lynfield & Nicholas, 1997) فضلا عن طريقة الانتقال من الأم إلى جنينها عبر المشيمة (Foulon *et al.*, 1999; Desmonts & Remington, 1980).

يلعب الجهاز المناعي وبنوعية المتأصل Innate Immune System والمكتسب Acquired Immune System دوراً كبيراً في السيطرة على الإصابة وإكساب الفرد مناعة ضد عودة الإصابة ولكن قد يعمل الجهاز المناعي على تحجيم الإصابة وتحويل الطفيلي إلى أكياس ساكنة داخل الأنسجة وهذا يشكل خطورة بسبب احتمال عودة الإصابة عند حدوث أي خلل في الجهاز المناعي فيسلك الطفيلي سلوكاً انتهازياً منتقلاً من الإصابة المزمنة Chronic infection إلى الحادة Acute infection ليعود الطفيلي إلى شكله النشط (Joyanson, 1999).

حظي داء المقوسات في السنوات الأخيرة باهتمامات طبية وبحثية نظراً لانتشاره الواسع في أنحاء العالم وما ثبت له من آثار خطيرة على الإنسان وخاصة المرضى المصابين بفايروس نقص المناعة المكتسب (AIDS) Acquired Immunodeficiency syndrome والنساء الحوامل والأطفال حديثي الولادة (Fallah *et al.*, 2008)، إذ يسبب الطفيلي حالات من الإجهاض Abortion أو الولادات الميتة وهو ينتقل من الأم إلى الجنين في أثناء الحمل وحتى إذا ولد الطفل بعد تمام شهور الحمل تظهر عليه أعراض خطيرة مثل التهاب الشبكية Chorioretinitis أو التخلف العقلي Mental retardation أو العمى Blindness أو الاستسقاء المائي Hydrocephalus أو صغر الرأس Microcephaly (Jones *et al.*, 2003) أما إصابة الجهاز اللمفاوي فقد ينتج عنها تضخم الكبد والطحال Hepato-splenomegaly وارتفاع درجة الحرارة ولكون الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية بدون أعراض Asymptomatic في الأشخاص البالغين لذا لا يمكن الاعتماد عليها في التشخيص المؤكد لذلك يعتمد التشخيص على الطرق النسيجية والمناعية والجزيئية (Hill & Barrs *et al.*, 2006; Dubey, 2002).

نظراً للأهمية الاقتصادية للطيور الداجنة إذ تشكل مورداً من الموارد الاقتصادية المهمة بالإضافة إلى الدور الكبير الذي تؤديه الطيور في توفير البروتين الحيواني أدى إلى حصول تطور هائل في تربية الطيور من ناحية اتساع الرقعة الجغرافية لتلك التربية (Zander *et al.*, 1997)، فهي تربي في المدن والأرياف لغرض الاستفادة من بيوضها ولحومها التي تحتوي على

الكثير من المركبات التي لا يمكن الاستغناء عنها كالأحماض الأمينية الأساسية Essential Amino Acids والفيتامينات التي تعد مصدراً مهماً لمجموعة B-complex فضلاً عن احتوائها على الحديد ونسب أقل من الكولسترول لذا تفضل من الناحية الطبية (Boorman, 1992) وعلى الرغم من تلك الأهمية للطيور إلا أنها في بعض الأحيان تكون مستودعات لأنواع من مسببات المرضية للإنسان والحيوان كالجراثيمية والفايروسية والطفيلية (مهدي، 1982) إذ تلعب الطيور دوراً كبيراً في نشر الطفيلي ضمن مدى جغرافي واسع نتيجة لهجرتها وخاصة البرية منها واحتكاكها بظروف بيئية مختلفة كما أنها تقوم بنقل الطفيلي إلى حيوانات الحقول والمزارع وكذلك مزارع الأسماك والحيوانات المنزلية كالكلاب والقطط وإلى الإنسان أحياناً (Webster, 1982).

يأخذ استهلاك لحوم الطيور وخاصة الدواجن مجالاً كبيراً في تناول اللحوم مما جعلنا نتجه إلى التحري عن حالات الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في لحوم أربع أنواع من الطيور في منطقة الفرات الأوسط من العراق لما لهذا المرض من تأثيرات خطيرة على صحة الإنسان والحيوانات في حالة انتقاله لها إذ يسبب الكثير من الاضطرابات الحادة عند المصابين وخاصة مرضى العوز المناعي وكذلك عند الحوامل نظراً لما يسببه من آفات خلقية في الأجنة عند انتقاله من الأم المصابة عبر المشيمة إلى جنينها (Foulon et al., 1999).

## (1-1): أهداف الدراسة Aims of study

1- الكشف عن طفيلي المقوسة الكوندية *T. gondii* في أربع أنواع من الطيور شملت الدجاج المحلي والديك الرومي والاوز الأريد والبط المحلي في محافظات منطقة الفرات الأوسط من العراق وبيان أيها أكثر إصابة بالطفيلي من خلال تشخيص أجسام الضد (Abs) Antibodies للطفيلي في مصولها وكذلك مصول القطط المنزلية باستعمال الاختبارات المصلية (تلازن اللاتكس) Latex Agglutination Test (LAT) والكاسيت السريع Rapid Test cassette (Toxo- IgG, IgM) كاختبارات أولية Pretests والاختبارات الجزيئية (تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي والمتداخل Conventional Polymerase Chain Reaction و Nested Polymerase Chain Reaction) كأختبارات تأكيدية من خلال تأكيد وجود الجين B1 الخاص بهذا الطفيلي في عينات دم الطيور والقطط وأنسجتهما (الكبد والطحال والرئتين والدماغ والعين والعضلات الصدرية والأمعاء الدقيقة وعضلات الساق والكلية)..

2- دراسة التغيرات العيانية والنسجية المرضية Grossly Histopathological changes and الناتجة من تواجد الطفيلي في أنسجة الطيور والقطط المصابة والموجبة للاختبارات المصلية والجزئية.

3- التحري عن أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في تربة الحدائق المنزلية بطريقة الترسيب والتطويق كطرق تشخيص أولي وتقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي كتشخيص تأكيدي.

## 1- المقدمة Introduction

إن داء المقوسات Toxoplasmosis واحد من الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان Zoonotic Diseases والذي يسببه طفيلي يعود إلى مجموعة الأكريات Coccidia، صنف البوغيات Sporozoa يعرف بطفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* وهو طفيلي داخل خلوي إجباري Intracellular obligate parasite وخاصة في الخلايا ذات الأنوية كما لوحظ وجوده داخل النواة (Remington & Gentry, 1970) يصيب هذا الطفيلي مختلف الأنسجة لجميع أنواع اللبائن من ضمنها الإنسان والقطط (Montoya & Remington, 2008; Hill & Dubey, 2002;)، إذ تشكل عائلة السنوريات Felidae المضيف النهائي للطفيلي وأحياناً وسطي بينما تمثل اللبائن والطيور مضائف وسطية له (Remington et al., 1995) كما سجلت الإصابة بداء المقوسات أيضاً في اللبائن البحرية كالحياتان والدلافين وأسد البحر وكلاب البحر (Lambourn et al., 2001).

يمتاز هذا الطفيلي بوجود ثلاثة أطوار معدية وهي طور كيس البيض Oocyst الذي يطرح إلى البيئة الخارجية مع براز القطط المصابة التي تتكون بداخله الأبواغ المصبية لاحقاً وطور الحويئات سريعة التكاثر Tachyzoite التي تنقسم بسرعة داخل جميع خلايا المضيف النهائي والوسطي وأحياناً تحاط كائنات هذا الطور بكيس غير منتظم الشكل رقيق الجدار يعرف بالكيس الكاذب Pseudocyst، وطور الحويئات البطيئة التكاثر Bradyzoite التي تتكاثر ببطيء داخل كيس ذو جدار سميك يعرف بالكيس النسيجي Tissue cyst الذي يتكون داخل الأعضاء المختلفة من جسم المضيف ويختلف هذا الكيس في الحجم والشكل تبعاً للعمر وموقع الإصابة إذ أنه يكون ذو شكل متطاوّل في العضلات ودائري أو بيضوي الشكل في بقية الأعضاء (Foulon et al., 1999).



ينتج عن الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية آفات Lesions يرافقها تفاعل التهابي وتخر Necrosis في الأعضاء مما يؤدي إلى ظهور أعراض منها فقر الدم وأوجاع الرأس وحدوث الحمى والآم في العضلات، وقد يؤدي المرض إلى حدوث مضاعفات ينتج عنها تحطيم الخلايا في الأعضاء المختلفة من جسم المضيف كالدماغ والعين والرئتين والكبد والقلب، وأحياناً الجهاز العصبي المركزي وقد يصبح المرض مزمناً يرافقه التضاعف السريع للحويئات سريعة التكاثر وتكوين أكياس النسيج Tissue cysts الحاوية على الحويئات البطيئة التكاثر والتي تبقى داخل الأنسجة لعدة سنوات دون أحداث أي أعراض سريرية (Simpson, 2002).

ينتقل المرض إلى الإنسان بالدرجة الأساس عن طريق تناول اللحوم غير المطبوخة جيداً والحواوية على أكياس النسيج الحيه والغذاء والماء الملوثين بأكياس البيض، بالإضافة إلى عمليات نقل الدم التي تعد مهمة في نقل المرض في طوره الحاد وكذلك عمليات نقل الأعضاء والتي قد تكون مصابة إلى الأشخاص الأصحاء الذين يتم إعطائهم أدوية مثبطة للمناعة والتي تلعب دوراً مهماً في حدوث المرض (Slavin & Mayers, 1994) ولا تزال هنالك طرق مهمة اخرى في نقل المرض مثل استنشاق الغبار الملوث بأكياس البيض أو تناول الحليب الطازج غير المبستر والحواوي على الأطوار المعدية للطفيلي (Lynfield & Nicholas, 1997) فضلا عن طريقة الانتقال من الأم إلى جنينها عبر المشيمة (Foulon et al., 1999; Desmonts & Remington, 1980).

يلعب الجهاز المناعي وبنوعية المتأصل Innate Immune System والمكتسب Acquired Immune System دوراً كبيراً في السيطرة على الإصابة وإكساب الفرد مناعة ضد عودة الإصابة ولكن قد يعمل الجهاز المناعي على تحجيم الإصابة وتحويل الطفيلي إلى أكياس ساكنة داخل الأنسجة وهذا يشكل خطورة بسبب احتمال عودة الإصابة عند حدوث أي خلل في الجهاز المناعي فيسلك الطفيلي سلوكاً انتهازياً منتقلاً من الإصابة المزمنة Chronic infection إلى الحادة Acute infection ليعود الطفيلي إلى شكله النشط (Joyanson, 1999).

حظي داء المقوسات في السنوات الأخيرة باهتمامات طبية وبحثية نظراً لانتشاره الواسع في أنحاء العالم وما ثبت له من آثار خطيرة على الإنسان وخاصة المرضى المصابين بفايروس نقص المناعة المكتسب (AIDS) Acquired Immunodeficiency syndrome والنساء الحوامل والأطفال حديثي الولادة (Fallah et al., 2008)، إذ يسبب الطفيلي حالات من الإجهاض Abortion أو الولادات الميتة وهو ينتقل من الأم إلى الجنين في أثناء الحمل وحتى إذا ولد الطفل بعد تمام شهور الحمل تظهر عليه أعراض خطيرة مثل التهاب الشبكية Chorioretinitis أو التخلف العقلي Mental retardation أو العمى Blindness أو الاستسقاء المائي Hydrocephalus أو صغر الرأس Microcephaly (Jones et al., )

2003) أما إصابة الجهاز اللمفاوي فقد ينتج عنها تضخم الكبد والطحال Hepato-splenomegaly وارتفاع درجة الحرارة وكون الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية بدون أعراض Asymptomatic في الأشخاص البالغين لذا لا يمكن الاعتماد عليها في التشخيص المؤكد لذلك يعتمد التشخيص على الطرق النسيجية والمناعية والجزيئية ( Barrs et al., 2006; Hill & Dubey, 2002).

نظراً للأهمية الاقتصادية للطيور الداجنة إذ تشكل مورداً من الموارد الاقتصادية المهمة بالإضافة إلى الدور الكبير الذي تؤديه الطيور في توفير البروتين الحيواني أدى إلى حصول تطور هائل في تربية الطيور من ناحية اتساع الرقعة الجغرافية لتلك التربية ( Zander et al., 1997)، فهي تربي في المدن والأرياف لغرض الاستفادة من بيوضها ولحومها التي تحتوي على الكثير من المركبات التي لا يمكن الاستغناء عنها كالأحماض الأمينية الأساسية Essential Amino Acids والفيتامينات التي تعد مصدراً مهماً لمجموعة B-complex فضلاً عن احتوائها على الحديد ونسب أقل من الكولسترول لذا تفضل من الناحية الطبية ( Boorman, 1992) وعلى الرغم من تلك الأهمية للطيور إلا أنها في بعض الأحيان تكون مستودعات لأنواع من المسببات المرضية للإنسان والحيوان كالجراثيمية والفايروسية والطفيلية (مهدي، 1982) إذ تلعب الطيور دوراً كبيراً في نشر الطفيلي ضمن مدى جغرافي واسع نتيجة لهجرتها وخاصة البرية منها واحتكاكها بظروف بيئية مختلفة كما أنها تقوم بنقل الطفيلي إلى حيوانات الحقول والمزارع وكذلك مزارع الأسماك والحيوانات المنزلية كالكلاب والقطط وإلى الإنسان أحياناً (Webster, 1982).

يأخذ استهلاك لحوم الطيور وخاصة الدواجن مجالاً كبيراً في تناول اللحوم مما جعلنا نتجه إلى التحري عن حالات الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في لحوم أربع أنواع من الطيور في منطقة الفرات الأوسط من العراق لما لهذا المرض من تأثيرات خطيرة على صحة الإنسان والحيوانات في حالة انتقاله لها إذ يسبب الكثير من الاضطرابات الحادة عند المصابين وخاصة مرضى العوز المناعي وكذلك عند الحوامل نظراً لما يسببه من آفات خلقية في الأجنة عند انتقاله من الأم المصابة عبر المشيمة إلى جنينها (Foulon et al., 1999).

## (1-1): أهداف الدراسة Aims of study

1- الكشف عن طفيلي المقوسة الكوندية *T. gondii* في أربع أنواع من الطيور شملت الدجاج المحلي والديك الرومي والاوز الأريدي والبط المحلي في محافظات منطقة الفرات الأوسط من العراق وبيان أيها أكثر إصابة بالطفيلي من خلال تشخيص أجسام الضد (Abs)

Antibodies للطفيلي في مصولها وكذلك مصول القط المنزلية باستعمال الاختبارات المصلية (تلازن اللاتكس) Latex Agglutination Test (LAT) والكاسيت السريع Rapid Test cassette (Toxo- IgG, IgM) كاختبارات أولية Pretests والاختبارات الجزيئية (تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي والمتداخل Conventional Polymerase Chain Reaction و Nested Polymerase Chain Reaction) كأختبارات تأكيدية من خلال تأكيد وجود الجين B1 الخاص بهذا الطفيلي في عينات دم الطيور والقط وأنسجتهما (الكبد والطحال والرئتين والدماغ والعين والعضلات الصدرية والأمعاء الدقيقة وعضلات الساق والكلية)..

2- دراسة التغيرات العيانية والنسجية المرضية Grossly Histopathological changes and الناتجة من تواجد الطفيلي في أنسجة الطيور والقط المصابة والموجبة للاختبارات المصلية والجزيئية.

3- التحري عن أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في تربة الحدائق المنزلية بطريقة الترسيب والتطويق كطرق تشخيص أولي وتقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي كتشخيص تأكدي.

## 2- استعراض المراجع Literatures Review

### (1-2):مراجعة تاريخية Historical Review

لاحظ (1900) Laveran ولأول مرة طفيلي المقوسة الكوندية في طحال ونخاع عظم العصفور الدوري في جزيرة جاوا Java، وفي عام 1908 وجد Nicolle & Manceaux الطفيلي في كبد أحد حيوانات القندس المعروف بأسم *Ctenodactylus gondii* الذي يعيش في شمال أفريقيا في مختبرات باستور في تونس، وفي العام نفسه قام Splendore بوصف الطفيلي في أحد الأرانب المختبرية في المستشفى الإيطالي في مدينة سان باولو البرازيلية.

جاءت تسمية الطفيلي بأسم *Toxoplasma gondii* اعتماداً على شكله الهلالي حيث أشتق من الكلمة الأخرقية Arc=Toxo وتعني القوس و Form=Plasma وتعني الشكل (Dubey, 2008; Taweanan, 2004).

اثبت الباحث (1910) Mello وجود داء المقوسات في الكلاب ، وفي عام 1923 تم تسجيل أول حالة لداء المقوسات في الإنسان من قبل Janku حيث لاحظ أكياس الطفيلي في شبكية العين لطفل مصاب بداء المقوسات الخلقي Congenital Toxoplasmosis، إذ كان الطفل يعاني من استسقاء مائي Hydrocephalus وصغر حجم العين Microphthalmia .

عرّف (1937) Wolf & Cowan داء المقوسات بأنه آفة Lesion الجهاز المركزي للإطفال الرضع المصابين بالمرض، وسجل (1939) Wolf *et al.* إصابات بشرية أخرى لداء المقوسات الولادي في الرأس والعين.

في العراق سجل طفيلي المقوسة الكوندية لأول مرة من قبل (1938) Machattie عندما لاحظ الطفيلي في مسحات الطحال والرئة لأحد الكلاب السائبة في بغداد، أما في القطط فقد تم تسجيل أول حالة مميته لمرض المقوسات في عام 1942 إذ تم التعرف على الطفيلي في براز القطط بعد اطعامها فئران مخمجة بطفيلي المقوسة الكوندية (Dubey & Beattie, 1988).

اكتشف (1948) Sabin & Feldman أول اختبار مصلي لتشخيص الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii* والمعروف بأسم Feldman-Sabin Test .

لاحظ الباحث (1970) Dubey *et al.* أن الإصابة تحدث من خلال تكوين أكياس البيض داخل أمعاء القطط ومنه تم التأكيد على دور القطط في نقل وانتشار المرض وبقيت دورة حياة هذا الطفيلي غامضة إلى ان تم تشخيص القطط مضيفاً نهائياً من قبل (1972) Dubey & Frankel .

## Classification of parasite

## (2-2): تصنيف الطفيلي

غالبا مايعتمد تصنيف طفيلي المقوسة الكوندية *T. gondii* على المقارنة الشكلية بين أطوار الحياة المختلفة للطفيلي واكثرها أهمية الطور الجنسي، وفي أدناة التصنيف النهائي للطفيلي حسب ماذكره (Hill *et al.*) (2007).

Kingdom :Protista

Phylum: Apicomplexa

Class: Sporozoasidae

Sub class:Coccidiansina

Order:Eimeriorina

Family: Toxoplasmatidae

Genus: *Toxoplasma*

Species: *Toxoplasma gondii*

## Structure and Morphology of parasite

## (3-2): شكل وتركيب الطفيلي

لطفيلي المقوسة الكوندية ثلاثة أطوار معدية، وهي مهمة لفهم وتشخيص المرض وهذه الأطوار هي:

### (1-3-2): الطور سريع التكاثر Tachyzoite

سمي بهذا الأسم لسرعة انقسامه وزيادة أعداده في خلايا المضيف الوسطي، يتواجد هذا الطور داخل كيس كاذب Pseudocyst أو يتواجد بأشكال منفردة في هيولي خلايا المضيف الوسطي والنهائي، إذ يتواجد في سوائل الجسم المختلفة مثل السائل النخاعي والسائل البريتوني والسائل الجنيني كما أنه يفرز في الحليب والإفرازات المخاطية وإفرازات العين (عرفه، 2005).

اشتق مصطلح الـ Tachyzoite من الكلمة الأخرقية Tachos=Speed وتعني سريع ويطلق عليه أحياناً الطور الداخلي Endozoite والشكل التكاثري Proliferative form والشكل المتغذي Trophozoite (Dubey *et al.*, 1998).

يمتاز هذا الطور بأنه ذو شكل هلالى Crescent shape نهايته الأمامية مستدقة تفرز نوعين من البروتينات (ROP18, ROP16) Proteins إذ تفرز هذه البروتينات إلى خلايا المضيف أثناء تماس أو تقارب الطفيلي مع تلك الخلايا (Saeij *et al.*, 2006) أما النهاية الخلفية تكون دائرية بأبعاد 4-8 مايكرون طولاً و 2-4 مايكرون عرضاً، يحتوي هذا الطور على الجليد Pellicle ويحاط الطفيلي بغلاف داخلي وآخر خارجي، يفتح الغلاف الداخلي عند ثلاث مناطق في النهاية الأمامية حيث الحلقة القمية Apical ring، تحاط الحلقة القمية بمخروط يدعى Conoid ويتألف بدورة من واحد أو أكثر من النبيبات الملتوية التي تساعد الطفيلي في إختراق خلية المضيف أو للأنبساط والتقلص خلال حركة الطفيلي كما يوجد ضمن المخروط أجسام هراوية الشكل تدعى Rhoptres التي يتراوح عددها بين 8-10 وهي ذات طبيعة غدية تقوم بطرح محتوياتها إلى الـ Conoid (Tenter *et al.*, 2000) فضلاً عن وجود العديد من العضيات الخلوية منها النبيبات الدقيقة Microtubles وجهاز كولجي والميتوكوندريا والشبكة الأندوبلازمية والرايبوسومات والمعقد القمي Apicoplast والنقيير Micropore والنواة التي تقع في مركز الخلية أو بالقرب من النهاية الخلفية لها (Sibley & Ajioka, 2008) كما في الشكل (1-2).

يصاحب هذا الطور الإصابات الحادة Acute infection ويمكن التحري عنه في الدم والعديد من الأنسجة ويدوم الحال طالما أن المضيف لم يكتسب مناعة ضد الإصابة كما يمكن ملاحظته أثناء الإصابات المزمنة Chronic infections وأثناء عودة الإصابة (Frenkel & Escajakillo, 1987).

ينضاعف هذا الطور بسرعة بواسطة التبرعم الداخلي Endodygony حتى تتفجر خلية المضيف وتحرر منها الأطوار سريعة التكاثر لتخترق خلايا جديدة للمضيف وتكرر العملية حتى موت المضيف أو تطور المناعة ضد الطفيلي مؤدياً إلى تحويله إلى أكياس النسيج Tissue cysts أو الطور البطئ التكاثر Bradyzoite (Eaton *et al.*, 1996) يمتاز الطور سريع التكاثر بحساسيته العالية للإنزيمات المحللة للبروتينات، إذ يتحطم أثناء الهضم المعدي بسبب تأثير حامض الهيدروكلوريك عليه ويفقد حيويته وقدرته على الإصابة (Dubey, 1998)

## (2-3-2): الطور البطئ التكاثري Bradyzoite

اشتق مصطلح Bradyzoite من الكلمة الأغريقية Slow=Brady وتعني بطئ ويتخذ هذا الطور شكلاً اسطوانياً Cylinder ذو حجم يبلغ  $1.5 \times 7$  مايكرون تقريباً، تقع النواة فيه قرب النهاية الخلفية للخلية (Radke & White, 1998) يوجد هذا الطور ضمن تركيب يدعى اليكيس النسيجي Tissue cyst الذي يحاط بغلاف من أنسجة المضيف وبذلك يتجنب الجهاز المناعي للمضيف والمضادات الحيوية ويمتاز بقابليته العالية على مقاومة الأنزيمات الحالة على العكس من الطور سريع التكاثري الذي يتحلل سريعاً بفعل الأنزيمات الحالة (Ferreira et al., 2009).

تتخذ الأكياس النسيجية أشكالاً وأحجاماً مختلفة فقد يصل حجم الكيس إلى 5 مايكرون وخاصة الأكياس حديثة التكوين أما الأكياس المتكونه منذ مدة طويلة فيبلغ حجمها 50-60 مايكرون (Schwarz et al., 2005) وقد يصل إلى 155 مايكرون (Dubey & Thulliez, 1993) ويعتمد ذلك على عدد الحويصلات البطيئة التكاثري الموجودة داخل الكيس والتي قد تصل إلى 3000 حويصل بطئ التكاثري (Wong & James, 1998 Remington, 1993) كما تختلف أشكالها فقد تكون كروية الشكل أثناء وجودها في الدماغ أو تكون متطاولة في العضلات القلبية والهيكلية (Dubey, 1997).

تمتاز الأطوار البطيئة التكاثري بكونها مشابهة للأطوار سريعة التكاثري الأ أنها اصغر حجماً وتكون نواتها قريبة من النهاية الخلفية للطفيلي مع احتوائها على الحبيبات الكلايكوجينية التي تأخذ الصبغة الحمراء عند استخدام الصبغة الخاصة للكشف عن الكاربوهيدرات (PAS) Periodic Acids Schiff، تتميز الأكياس النسيجية عند تنشيط الإصابة محررة الأطوار البطيئة التكاثري والتي تكون قادرة على إصابة خلايا أخرى (Dubey, 1977; 2003).

يمثل هذا الطور الحالة المزمنة للإصابة في الحيوانات آكلات اللحوم والإنسان (Fouts & Boothroyd, 2007) وهو مهم في انتقال الإصابة بداء المقوسات إذ يتواجد في أنسجة الحيوانات التي تتغذى عليها المضائف الأخرى، يمتلك هذا الطور القابلية على البقاء داخل أنسجة الكائن الحي لسنوات طويلة أما عند موت الكائن فيبقى الكيس النسيجي لبضعة أيام ولكنه يدمر بسهولة عند تجميد في -25 م أو عند الطبخ تحت 67 م أو أكثر لمدة 10 دقائق أو أكثر (Dubey & Thulliez, Fraser, 1986) (1993).

## (2-3-2-1): نشوء وبابولوجية الحويصلات البطيئة التكاثري والأكياس النسيجية في

التجارب داخل جسم المضيف Development and Biology of Bradyzoites and Tissue cysts in Experiments in Vivo

يعد الباحث (Levaditi et al. 1928) هو أول من أستنتج أن طفيلي المقوسة الكوندية يتواجد على هيئة أكياس في أنسجة مضائفة المختلفة والتي قد تبقى إلى عدة شهور، وظل الشك قائماً لعدة سنين في تسمية الأكياس الكاذبة Pseudocysts أو الأكياس Cysts الى أن تمكن (Wanko et al. 1962) من وصف التركيب العام للأكياس ومحتوياتها.

أشار (Lainson 1958) إلى أن تكوين الأكياس يكون مبكراً أذ تتكون في اليوم الثامن بعد حقن الأطوار البطيئة وإن هذه الأكياس تحتوي على أربعة كائنات، أما في اليوم العاشر من الحقن فتحتوي على عشرين كائناً، كما ذكر بأنه للمقوسة الكوندية أكياساً فتية Young cysts وإن الأكياس المسنة Old قد تصل أقطارها إلى 60 مايكرون وتحتوي على 3000 كائن تقريباً.

في حين ذكر (Frenkel & Dubey 1973) أن الأكياس تتكون في اليوم الثالث من حقن الفئران بالحيوانات سريعة التكاثر وإن القطط التي تعد مضاييف نهائية للطفيلي تطرح أكياس البيض Oocysts خلال فترة تتراوح 3-10 أيام من ابتلاعها للأطوار البطيئة التكاثر في حين تكون الفترة أطول (أكثر من 14 يوم) في حالة ابتلاع القطط للحيوانات السريعة أو الأكياس البوغية Sporocysts.

قام (Hutchison 1965) بدراسة موسعة عن تكوين الأكياس النسجية وتركيبها الدقيق وتجنباً للالتباس بين هذه الأكياس والأكياس البوغية يجب إطلاق تسمية الأكياس النسجية على التراكيب التي تتكون داخل الأنسجة المختلفة للمضائفة الوسطية لطفيلي المقوسة الكوندية وإن معظم الملاحظات بهذا الخصوص قد عملت مع الأكياس النسجية في أدمغة الفئران، لكن فعالية الأنزيمات الهاضمة والتقييم الحيوي في القطط أثبت وجود الأكياس النسجية في عدة مواقع أخرى فضلاً عن وجودها في الجهاز العصبي وإن آلية أنتشار هذه الأكياس تقع تحت سيطرة سلالة المضيف والطفيلي (Dubey & Beattie, 1988)، إذ وجد أن أدمغة الفئران أكثر احتواء على الأكياس النسجية من الأعضاء الأخرى في حين تكون الأنسجة العضلية أكثر احتواء على الأكياس النسجية مقارنة بأدمغة الكلاب والقطط والخنازير (Dubey, 1995).

## (2-2-3-2): حجم الأكياس النسجية وأعداد الحويئات البطيئة التكاثر

### Size of Tissue Cysts and Numbers of Bradyzoite

يختلف حجم الكيس النسجي تبعاً لعنزة Strain الطفيلي وضرارته Virulence كما إن ليست هناك أرقام ثابتة حول أعداد الحويئات البطيئة في الأكياس النسجية، ففي الفئران هنالك أختلاف في حجم الأكياس بنسبة 30% في الشهر الثاني بعد أصابتها بأكياس البيض لسلاسل مختلفة من الطفيلي عن طريق الفم وقد تصل أقطار بعض الأكياس النسجية لبعض العزلات إلى 20 مايكرون فقط في حين تصل أقطار غيرها من الأكياس إلى 60 مايكرون، يعتمد حجم الكيس النسجي على عمر الكيس ونمط الخلايا

المضيضة والطريقة الخلوية المستعملة لقياسة و يبلغ قطر الكيس النسجي الفتى الحاو على اثنين من الحويئات البطيئة حوالي 5 مايكرون (Dubey *et al.*, 1998).

قام (Beverley 1958) بدراسة لقياس حجم الأكياس النسجية في أدمغة الفئران إذ قام بسحق تلك الأدمغة في هاون خاص وباستعمل المحلول الفسلجي 0.85 NaCl وأشار إلى أن الأكياس النسجية تنمو بمعدلات ثابتة حتى بلوغها الأسبوع العاشر وبعدها تظهر الأختلافات في حجمها وقد يعود سبب ذلك إلى نشوء جيل ثان من الأكياس النسجية وقد يصل قطرها إلى 58 مايكرون.

### (3-2-3-2): التنظيم الوراثي لأعداد الأكياس النسجية

#### Genetic Regulation of Tissue Cysts Number

تمثل الأكياس النسجية دور الراحة للطفيلي في المضيف (Dubey, 1977) ومما هو معروف بأن الحيوانات المختبرية كالفئران تستخدم لأغراض التجارب العلمية وغالباً ماتستخدم للحصول على الأكياس النسجية لطفيلي المقوسة الكوندية وخاصة من سلالة Beverley ME49 لهذا الخصوص (McLeod *et al.*, 1989).

تختلف أعداد الأكياس النسجية في أدمغة الفئران اعتماداً على سلالة الفأر المستخدم وسلالة الطفيلي ومسار الحقن وأعداد الكائنات المحفونه، إذ إن المئات من الأكياس النسجية الكبيرة الحجم لوحظت في الفئران بعد قتلها وخاصة بعد 12 أسبوع من الإصابة التجريبية عن طريق حقنها تحت الجلد بسلالة Beverley النقية وإن أعداد الأكياس النسجية في أدمغة الفئران تخضع لترتيب وراثي معين (Blackwell *et al.*, 1993).

قام (Suzuki *et al.* 1993) بدراسة مقارنة تابع من خلالها ظاهرة تكوين الأكياس وأعداد الحيوانات النافقة في سلالتين من الفئران حقنتا داخل البريتون بجرع متساويه من الأكياس النسجية العائدة لطفيلي المقوسة الكوندية من سلالة ME49 إذ لاحظ أن أعداد الأكياس النسجية المتكونه في أدمغة الفئران من سلالة Cba/ca هي أكثر بعشر مرات من تلك المتكونه في أدمغة الفئران من سلالة Balb/c بعد ثلاثة أسابيع من حقنها وإن جميع أفراد سلالة Cba/ca بقيت حيه في حين هلك فردان من سلالة Balb/c، وعلى الرغم من وجود الأكياس لكل غرام من أنسجة الفئران مقارنة بغيرها من المضائف إلا إنه من الصعب دراسة مصير تلك الأكياس بسبب كون الفئران تفتقر إلى المناعة الكاملة لطفيلي المقوسة الكوندية لتكوين الأكياس النسجية في الإصابات المزمنة كما لوحظ وجود الحويئات السريعة التكاثر أيضاً في أدمغة الفئران المصابة بالمرحلة المزمنة من المرض (Ferguson *et al.*, 1994).

### (3-3-2): كيس البيض Oocyst



تكون أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية كروية الشكل أو شبة كروية يتراوح قطرها بين 10-12 مايكرون محاطة بغشاء متين ثنائي الطبقة وتتكون أكياس البيض غير الناضجة لطفيلي المقوسة الكوندية في الخلايا الطلائية لأمعاء المضيف النهائي والمتمثل بعائلة القطط (Sherding, 1994).  
تطرح الأكياس غير المتبوعة مع براز المضائف النهائية للطفيلي إلى المحيط الخارجي وتحتاج إلى 21 يوماً حتى تحصل فيها عملية التبوغ Sporulation تحت درجة حرارة تتراوح 11-25 م وتهوية ورطوبة مناسبة (Frenkel, 1990)، يبلغ قطر كيس البيض المتبوغ Sporulated Oocyst 11x13 مايكرون ويحتوي على كيسين بوعيين Sporocysts ذوات شكل بيضوي ابعاد كل منهما 8x6 مايكرون في داخل كل كيس من هذه الأكياس تتواجد أربعة من الحويصلات البوغية Sporozoites هلالية الشكل يبلغ حجمها حوالي 2x8 مايكرون (Dubey et al., 1996)، يشابه الـ Sporozoites من حيث التركيب كل من الطور سريع التكاثر وبطيء التكاثر (Speer & Dubey, 1998) كما في الشكل (1-2).  
تتحرر الأبواغ في تجويف الأمعاء الدقيقة للمضيف النهائي ومن ثم تخترق الخلايا الطلائية لها وتحاط بفجوة طفيلية Parasitophorous vacuole وتتكاثر بواسطة التبرعم الداخلي Endodygony (Schaes et al., 2008)،

تفقد أكياس البيض غير المتبوعة Unsporulated (شكل (1-2)) قابليتها على التبوغ عند التجميد بدرجة 20- م لمدة يوم واحد وعند درجة 6- م لمدة سبعة أيام وكذلك بالحرارة عند درجة 50 م لمدة عشرة دقائق (Frenkel & Dubey, 1973; Dubey et al., 1970) أما التبريد بدرجة 4 م لمدة 6-11 اسبوع غير كاف لمنع تطور قابلية الإصابة بأكياس البيض للمضائف الوسطية والنهائية (Lindsay et al., 2002) ولكن تقل حيوية أكياس البيض عندما تزداد درجة الحرارة (Frenkel et al., 1995).

كما أن التجميد غير كاف لقتل أكياس البيض المتبوعة إذ تبقى الأكياس ذات حيوية لمدة 28 يوماً بعد التجميد بدرجة 21- م (Fenkel & Dubey, 1973) بالإضافة إلى أن التقلب في درجات الحرارة يؤثر بشكل خاص على وقت حيوية أكياس البيض في الماء وفي التربه، إذ يمكنها البقاء بشكل فعال بعد مرور فصل الشتاء القارص (Frenkel et al., 1975) في حين يعد التعرض المباشر لأشعة الشمس ذا تأثير على تبوغ أكياس البيض (Yilmaz & Hopkins, 1972) تمتلك أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية قابلية البقاء في المياه العذبة ودليل ذلك إصابة لبائن المياة العذبة بالطفيلي (Dubey & Beattie, 1988).

يستطيع المحار Oysters إزالة أكياس بيض طفيلي المقوسة من مياة البحار الملوثة بتلك الأكياس تجريبياً (Lindsay et al., 2001) وعليه تعمل النواع Molluscs كمصدر للإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية لكونها تعد مصدر غذائياً للإنسان واللبائن الأخرى عند الكثير من الشعوب (Freire-Santos et al., 2000; Fayer et al., 1998).



بمرحلة تكوين الأمشاج Gametogony (الدورة الجنسية) (Dubey, 2002) تتحرك الأمشاج الذكرية المسوطة Microgametes لتتحد مع الأمشاج الأنثوية Macrogametes لتكوين البيضة المخصبة Zygote بعد ذلك تحاط بغلافين لتكوين أكياس البيض Oocysts التي تطرح مع براز القطط (Dubey & Frenkel, 1972).

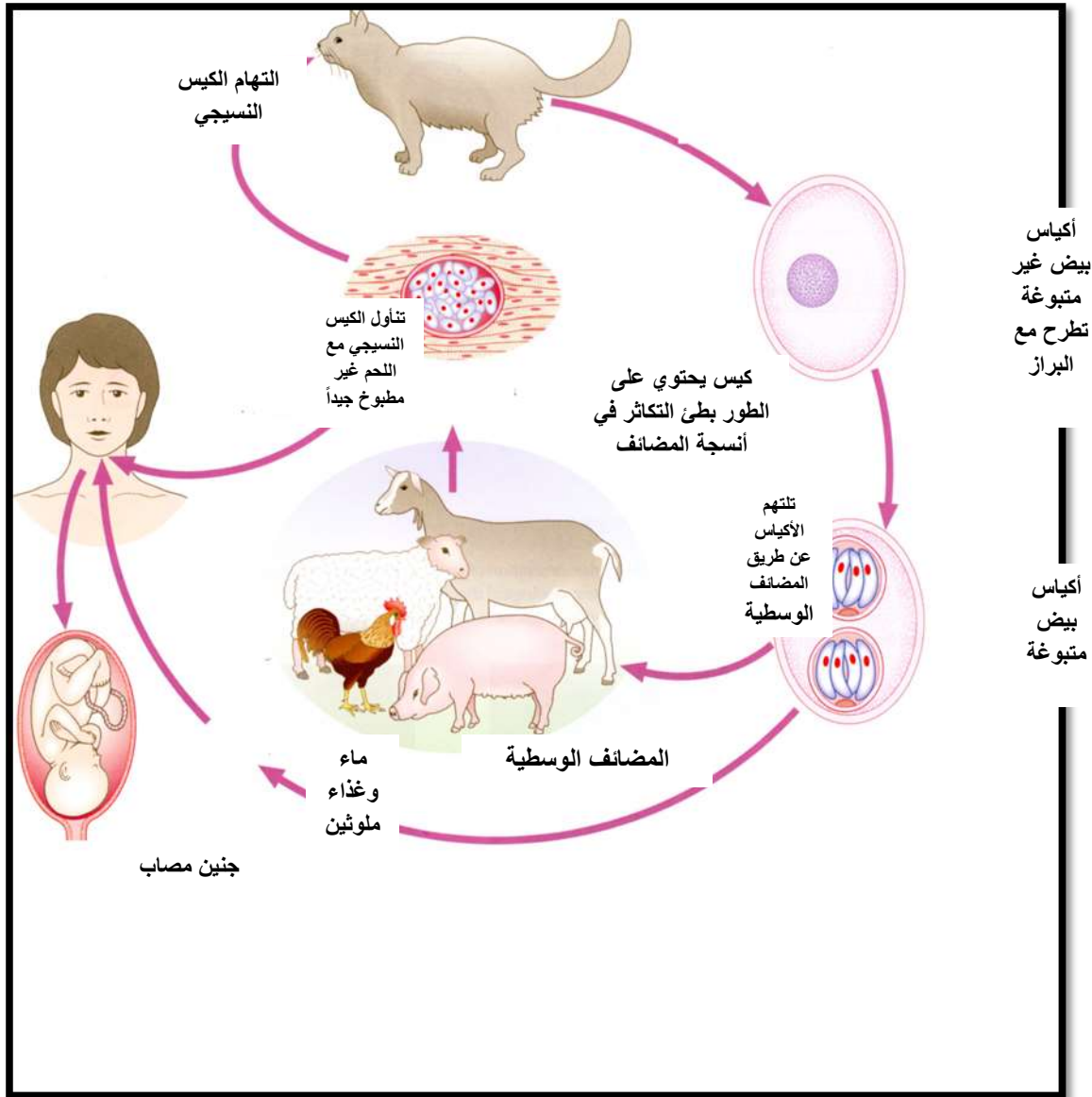
يحتاج الكيس 1-5 يوم ليصبح معدياً وتتكون فيه اثنتان من الأكياس البوغية Sporocysts وكل منها تحوي على أربع من البويضات Sporozoites وهي تعد معدية في هذه المرحلة (Gajadhar *et al.*, 2004).

### (2-4-2): الدورة خارج المعوية Extraintestinal cycle

تعرف أيضاً بالمرحلة غير السنورية أو الطور اللاجنسي Asexual phase وتحدث هذه المرحلة في المضائف الوسطية المتمثلة باللبائن ومن ضمنها الإنسان والقطط والطيور عن طريق تناول غذاء ملوث بأكياس البيض Oocysts أو تناول الحويئات البطيئة التكاثر الموجودة داخل الأكياس النسجية أو ملامسة تربة ملوثة ببراز القطط المصابة كما تحدث عن طريق الرحم (Mims *et al.*, 2004).

تتحرر الحويئات البطيئة التكاثر من الأكياس النسجية، كما تتحرر البويضات من أكياس البيض المتبوغة وتنطلق في الأمعاء وتخرق الطبقة المخاطية لكي تتطور في الصفيحة اللبادية حيث تبدأ الأبواغ Sporozoite بالانقسام والتمايز لتكوين الطور سريع التكاثر Tachyzoite الذي قد يحاط بكيس مرن ومنتظم يعرف بالكيس الكاذب Pseudocyst الذي يتكون نتيجة انخفاض المناعة فتحدث الإصابة الحادة Acute infection (داود، 2007)، بعد تضاعف الطور سريع التكاثر داخل الكيس تتحرر الناشرات ثم تنتشر عن طريق الدورة الدموية واللمف إلى الأنسجة والأعضاء الحشوية، حيث تصل إلى العقد اللمفية المساريقية ثم الكبد وإلى بقية الأنسجة الأخرى لتتكاثر داخل الخلايا بواسطة النمو الداخلي Endodygony فينتج عن هذا التكاثر الطور بطيء التكاثر Bradyzoite فتحدث الإصابة المزمنة Chronic Infection وتتجمع بأعداد قليلة وتكون محاطة بغلاف خشن وتدعى عندئذ بالكيس النسجي Tissue cyst (Dubey & Jones, 2008; Morrissette & Sibley, 2002) الذي يمثل المرحلة الساكنة Quiescent stage للطفيلي ويتمزق هذه الأكياس تتحرر الحويئات البطيئة التكاثر لتدخل خلايا أخرى وبهذا تكتمل دورة الحياة اللاجنسية وتبقى الأكياس النسجية لحين انتهاء حياة المضيف الواسطي كالضأن والماعز والخنازير في حين تخنفي في الماشية والغزلان (Buxton, 1990). وكما في الشكل (2-2).

المضيف النهائي



شكل (2-2) دورة حياة طفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii* (Aliberti, 2005)

## (5-2): عترة الطفيلي Parasite strain

تتباين المعايير الخاصة بتميز العترة وخاصة في الطفيليات فمثلاً لحجم وضاوة العترة أهمية في تميز العترة (Roberts & Janovy, 1996) كذلك يمكن تميز العترة عن طريق ماتفرزه من أنزيمات متناظرة Izoenzymes كما هو الحال في طفيلي المقوسة الكوندية، يضم هذا الطفيلي ثلاث مجاميع اعتماداً على الطراز الجيني Genotype والتحليل الكيموحيوي للأنزيمات المتناظرة وما زال أنتشار هذه الأنماط الجينية الثلاثة في الإصابات البشرية دون السريرية غير معروف (Howe & Sible, 1995; Darde et al., 1992; Darde et al., 1988).

يوجد طفيلي المقوسة الكوندية بعدة عتر، إذ إن هناك 95% منه تقع في ثلاث عتر جينية وهي (I,II,III)، يكون النوع I عالي الضراوة Virulent في الفئران أما النوع II يكون شائع في إصابة الحيوانات كالأغنام والماعز وغالباً ماترافق الإصابات البشرية هذا النوع، تمتاز هذه العتر بأنها تحتوي على عوامل إمرضية مثل عامل الأختراق والمستضد الغشائي 23KD (Gross et al.,1991) في حين يكون النوع III عديم الضراوة (Barragan & Sibley, 2003)، إذ يكون هذا النوع حاو على المستضد الغشائي 27KD (Bohne et al., 1993) .

تكون عزلات المجموعة الأولى ذات ضراوة عالية في أنماط داء المقوسات في الفئران وبجرعة قاتلة LD100 في أقل من عشرة من كائنات المقوسة الكوندية وعادة ما تتكرر عترة هذه المجموعة مع الإصابات الخلقية بنسبة 25% أكثر من تكرارها في الإصابات المزمنة بالحيوانات (Sibley & Howe, 1996) وهي مقترنة بالطفيلية الدموية Parasitemia (Sibley & Boothroyd, 1992).

تمتاز عزلات النوع II بالتحول السريع من الحيوانات السريعة إلى الحيوانات البطيئة التكاثر لذا هي تقترب بتواجد الأكياس النسجية والإمراضية المزمنة في الفئران، وهي تضم ما يزيد على 70% من العزلات المسؤولة عن داء المقوسات في الإنسان و40% منها فقط في الحيوانات (Howe et al.,1997)، أما عزلات النوع الثالث III فيضم 45% من عزلات الحيوانات ونادراً ما تعزل من الإصابات السريرية في الإنسان (Sibley & Boothroyd, 1992).

## **(2-6): ضراوة العترة وتحسس المضيف Strain virulence and host susceptibility**

تبقى العوامل التي تحدد الأختلافات في ضراوة الطفيلي في الحيوانات المختبرية عند إصابتها تجريبياً بعتر معزولة من الإنسان والحيوانات الأخرى غير المحسنة، غير معروفة تماماً على الرغم من مرور وقت طويل على معرفة العلاقة بين سرعة التكاثر واختراق عترة الطفيلي وضراوته في الفئران (Kaufman et al., 1958).

أكد (Pettersen 1977) على الترابط بين سرعة التكاثر للعترة وضراوتها عند تقييم زمن التكاثر Generation time لسلالة عديمة الضراوة ثم جعلها ذات ضراوة من خلال التمير السريع والمتكرر للحيوانات الداخلية Endozoite ليختزل الزمن تجريبياً من 6-7 ساعة إلى 4 ساعات.

قام (Henry & Beverley 1976) بوصف التغيرات المرضية الناتجة من الإصابة بعترة ذات ضراوة في العقد اللمفاوية والطحال والغدة الزعترية Thymus gland، إذ أدت تلك العترة إلى نقصان لمفاوي سريع في تلك الأعضاء مع حصول حالات من التنخر Necrosis إضافة إلى التأثير السمي Toxic effect الذي ظهر على الجهاز الطلائي الشبكي Reticuloendothelial system مما أدى إلى تكاثر الطفيلي بسرعة غير محددة.

اقترح (Beverley *et al.*, 1978) أسلوباً للتحويلات في ضراوة الطفيلي بواسطة الكفاءة المناعية للمضيف Host immune-competence في الحيوانات ذات العوز المناعي ويعمر واحد والمصابة تجريبياً إذ تمكن من زيادة ضراوة الطفيلي.

تتغير ضراوة عترة مصيبة لمضيف معين عن طريق تمريرها المسبق في مضيف من نوع آخر فمثلاً عترة ذات ضراوة في الفئران لكنها معدية للخنازير وفي حالة تمريرها في مضيف آخر تصبح ذات ضراوة في الفئران وغير معدية للخنازير وإن التمرير المتكرر من النوع ذاته من المضاف قد يرفع كثيراً من ضراوة الطفيلي (Tadros & Laarman, 1982).

## (2-7): عمليات الألتصاق والأختراق Attachment and Invasion process

تعتمد عمليتي التصاق واختراق الطفيلي لخلايا المضيف على حركة خيوط الأكتين-المايوسين Actin-Myosin motor التي تعد مكوناً أساسياً من مكونات الهيكل الخلوي Cytoskeleton للطفيلي، إذ يستطيع الطفيلي اختراق خلايا المضيف بسرعة خلال فترة قصيرة جداً (15-30) ثانية (Morisaki *et al.*, 1995).

كما هو معروف بأن طفيلي المقوسة الكوندية يتحرك حركة أنزلاقية وثابة Saltatory gliding مدعومة بواسطة الأدينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) والعناصر الهيكلية الخلوية والتي تسمح للطفيلي بتوجيه النهاية القمية Apical end للتصاق على سطح خلية المضيف (Dobrowski & Sibley, 1996).

تحدث عملية التصاق الطفيلي بخلايا المضيف عن طريق تركيب يعرف بالـ Conoid الموجود في المقدمة الأمامية للطور سريع التكاثر فبمجرد ملامسة هذا التركيب لسطح خلايا المضيف يحدث أنبعاث في الغشاء البلازمي لخلية المضيف ثم يأخذ هذا الأنبعاث بالتوسع كلما ضغط الطفيلي من خلال الرابط المتحرك Moving Junction في نقطة الموقع البؤري Focal point الذي تلتحم عنده الهياكل الخلوية معاً لكل من المضيف والطفيلي (Chiappino *et al.*, 1984).

لاحظ (Furtado *et al.*, 1992) أن طفيلي المقوسة الكوندية يرتبط بالرقائق البروتينية خارج الخلية Extracellular matrix protein laminin التي تتوسط الألتصاق إلى المستقبل B1 وهو من المستقبلات المتواجدة على الأرومات الليفيه Fibroblast في الإنسان.

أن التصاق الطفيلي بخلايا المضيف يفترض وجود مستقبل عام General receptor لخلية المضيف أو مستقبلات متعددة نظراً لتباين مضائف هذا الطفيلي، علماً بأنه لم يتم التعرف على مستقبل الغشاء البلازمي لخلايا المضيف (Siverman & Joiner, 1996) إضافة إلى المستقبلات الخاصة لسطوح خلايا المضيف، تعد الفجوات Parasitovorus vacuole التي يتواجد فيها الطفيلي داخل أنسجة

المضيف مواقع عالية التخصص وضرورية لنمو الطفيلي وتطوره إذ يعمل غشاء الفجوة Parasitovorus vacuole membrane(PVM) عمل معبر مهم بين سايتوبلازم الخلية وفراغ الفجوة الطفيلية (Lingelbach & Joiner, 1998)، تكون هذه الفجوات مغلقة تماماً بمادة بروتينية تعرف Vimentine ومنظرة في شبكة من الخيوط الوسطية لخلية المضيف وعند الانقسام المتكرر للطفيلي تكبر الفجوة وتظهر بأنها تعمل على تحفيز التحولات في توزيع هذه الخيوط لخلايا المضيف ( Halonen & Weidner, 1994) كما أن الهراوي ROP 2 يفرز في وقت الأقتحام ويتموضع على غشاء الفجوة الطفيلية ويعمل بوصفه وسيطاً لالتصاق غشاء الفجوة بالشبكة الأندوبلازمية ومايتوكوندريا خلية المضيف (Vance & Shiao, 1996)، إذ يعمل غشاء الفجوة عمل مصفى جزئي Molecular sieve يسمح بدخول الجزيئات الصغيرة (<1400-Da) من سايتوبلازم خلية المضيف إلى فراغ الفجوة وبالعكس (Schawab et al., 1994).

أشار Sibley et al.(1995) إلى أن فراغ الفجوة يكون مملوءاً بشبكة من الأنابيب الوعائية Tubulovascular network لتصبح هذه المواقع امتداداً لغشاء الفجوة والتي تزيد من التبادل السطحي بين سايتوبلازم خلية المضيف والطفيلي وهذه الشبكة سريعة التحور مستعينة بإفرازات البروتينية من الحبيبات الكثيفة Dense granules التي تساهم في تفتيت المواد الغذائية.

قام Carruthers (2000) بدراسة بين من خلالها أن البروتينات السكرية الحاوية على الكبريت Sulfated proteoglycan ذات الأنتشار الواسع هي واحدة من المحددات Derterminants التي يستخدمها الطفيلي للتعرف على الخلايا والمواد الأساسية Substrats للأنزيمات.

ومما هو معروف بأن سطوح الحويئات السريعة التكاثر تضم خمسة من مستضدات السطوح التي تعود إلى مستضد SAG أو العوامل القريبة لتسلسل مستضدات السطح (SRS) Surface relatal sequence التي تعمل عمل وسائط لالتصاق الطفيلي (Boothroyd, Grimwood & Smith, 1996) (1998).

إن قدرة طفيلي المقوسة على الألتصاق والأختراق تتخفف في بعض الحالات مثل الأضطرابات المناعية او الدوائية وعلى سبيل المثال الهيبارين Heparin وكبريتات الهيبارين Heparin sulfates إذ تقلل مثل هذه المواد قدرة الطفيلي وفي سلالات مختلفة منه على الألتصاق بخلايا المضيف البشري (Carruthers, 2000)، كما إن الطفيليات المطفرة والفاقة للمستضد السطحي SAG3 وبوجود مضادات السطح Anti- SAG1 تتخفف فيها القدرة على الألتصاق بنسبة 90%، إذ تعد البروتينات SAG1,SAG3 من البروتينات السطحية الضرورية للالتصاق (Dezierszinski et al., 2000).

## (8-2): المداخلات بين طفيلي المقوسة الكوندية وخلايا مضائفة من اللبائن

### Interaction between *T.gondii* and It's mammalian host cells

يختلف أنجذاب طفيلي المقوسة نحو خلايا مضائفة من اللبائن باختلاف عمر تلك الخلايا وطورها، إذ تكون أعظم حالات الأختراق عندما تكون الخلية في وسط طور السكون Stationary phase كما إن الخلايا المعمرة معرضة للاختراق أكثر من مثيلاتها من الخلايا الفتية (Dvork & Howe, 1977). يمتلك طفيلي المقوسة إمكانية اختراق للخلايا ذات الأنوية لمضائفة من اللبائن ومن ثم الانقسام بداخلها (Dubey & Beattie, 1988)، إذ تضم خلية المضيف الواحد أعداداً من الطفيلي تصل إلى مايقارب 128-64 كائن والتي تنتشر داخل تلك الخلية ويتوالد زمني Generation time يتراوح بين 6-9 ساعات في الزجاج مما يؤدي إلى تحفيز الخلية المصابة لإصابة الخلايا المجاورة (Radke & White, 1998).

## (9-2): الأمراض Pathogenicity

### (1-9-2): الأمراض في الإنسان

تعتمد الأمراض على مدة الإصابة ونوع المضيف وعمره وعترة الطفيلي وضراوة العترة وحساسية المضيف ودرجة المناعة المكتسبة للمضيف كما إن المعلومات الوراثية تلعب دوراً هاماً في زيادة حساسية المضيف لطفيلي المقوسة الكوندية (Dalgic, 2008; Bhopale, 2002; Suzuki, 2002). تعد الإصابة بداء المقوسات من المشاكل الصحية والمهمة لاسيما في المواليد الجدد والأشخاص المثبتين مناعياً وكذلك حدوث الإصابة خلال الحمل المبكر أو النصف الأول منه إذ يكون أكثر ضرراً مما عليه خلال النصف الثاني من الحمل (Peterson & Liesenfeld, 2007). يعد طفيلي المقوسة الكوندية من أكثر الطفيليات الأنتهازية Opportunistic parasites، يمتاز بقدرته على إحداث الإصابة في جميع الحيوانات ذوات الدم الحار، ففي الإنسان تكون الإصابة بدون أعراض Asymptomatic لكن قد يؤدي إلى مضاعفات خطيرة في الأفراد الذين يعانون نقصاً مناعياً (Luft & Remington, 1989).

تقسم أمراض الطفيلي إلى ثلاثة أطوار هي:

### 1-الطور الحاد Acute stage

يعتبر الطور سريع التكاثر Tachyzoite هو العامل المرضي الرئيسي في هذا الطور والذي يسبب تحطم خلايا المضيف بسرعة كبيرة تفوق قابلية الخلايا على إعادة التجديد (Suzuki et al., 2007)، ينقسم الطور السريع التكاثر في هذا الطور كل 5-12 ساعة وإن حوالي 16-32 طوراً منها تكون كافية لتحطيم خلايا المضيف (Frenkel, 1990)، تؤدي الزيادة الحاصلة في أعداد الطفيلي في الحالات الحادة



إلى اليرقان Jaundice والتهاب الدماغ والسحايا وورم العقد اللمفاوية غير المؤلم في العنق وفوق الترقوة ومنطقة الأرب Inguinal region، تزول هذه الأعراض تلقائياً خلال أسابيع أو أشهر وقد يرافقها حرارة وصداع والآم عضلية وإعياء وتقرح البلعوم مع فقر دم وأحياناً مضاعفات رئوية وموت الجنين في رحم الأم إذا كانت حاملاً وقد تتطور الإصابة في حالات عدم تكون المناعة الى حالات خطيرة مثل التهاب عضلة القلب Myocarditis والتهاب المخ Encephalitis والتهاب المشيمة وشبكية العين Retinochorioditis الذي يسبب العمى في بعض الأحيان وتجمع السوائل في الرأس Hydrocephalus أو التكلس داخل الدماغ (Remington et al, 2001; Bout et al., 2002; ;).

## 2-الطور تحت الحاد Sub acute stage

يحدث هذا الطور عند استجابة الجهاز المناعي إذ تتحطم الخلايا مسببة آفات تخرية Necrosis lesions في الأعضاء المختلفة كالقلب والرئة والدماغ والعين وتكون الأعراض أشد في الجهاز العصبي المركزي عما عليه في الأعضاء الأخرى بسبب قلة الحصانة المناعية في هذه الأنسجة (Remington et al., 2001)، في هذا الطور يبدأ أولاً الكلوبولين المناعي من نوع IgM بالظهور في الأسبوع الأول والثاني بعد الإصابة ثم ينخفض مستواه ويرتفع الكلوبولين المناعي من نوع IgG حيث يصل إلى أعلى تركيز بعد شهرين ويبقى لمدة طويلة، حيث تساعد هذه الأضداد على التخلص من الأطوار السريعة التكاثر الموجودة في اللمف والدم ومن المضاعفات التي تظهر خلال هذا الطور هي تكلس الدماغ أو صغر حجمه والتهاب الشبكية والتهاب السحايا والتهاب المشيمة وشبكية العين (Markell et al., 1999).

## 3-الطور المزمن Chronic stage

تكون الاستجابة المناعية خلال هذا الطور بالمستوى المطلوب والكافي لتثبيط تكاثر الأطوار السريعة يعقبه تكوين الأطوار البطيئة التكاثر Bradyzoite أو ما تعرف بالأكياس النسجية Tissue cyst التي تتموضع في الأنسجة المختلفة لجسم المضيف والتي تمتاز بقابليتها على البقاء مدى الحياة (Luft & Remington, 1989).

قد تتحطم الأكياس فتحرر محتوياتها من الحويصلات بطيئة التكاثر والتي معظمها تقتل بواسطة فعاليات المضيف المناعية النامية وعلى الرغم من ذلك أن عدداً منها قد يفلح في تكوين أكياس نسيجية جديدة، في حين يؤدي موت الحويصلات بطيئة التكاثر في إحداث فرط الحساسية والتي إذا ما حصلت في الدماغ فإن هذه المواقع سوف يحل محلها تدريجياً عقيدات من الخلايا الدبقية وحدوث هذه الحالة في شبكية العين قد تسبب العمى أحياناً (James, 1998; Stalhein, 1980).

## (2-9-2): الأمراض في الطيور Pathogenicity in Avian

يكون الدجاج المحلي والديك الرومي أكثر مقاومة للإصابة بداء المقوسات Toxoplasmosis مقارنة مع بقية الطيور الداجنة الأخرى وهناك العديد من المحاولات العلمية التي هدفت إلى حث ظهور الأعراض السريرية لداء المقوسات في الدجاج لكن أغلبها كانت غير ناجحة وقبل استخدام تقنية زرع الأنسجة لنمو طفيلي المقوسة الكوندية في المختبر، استخدمت طريقة حقن الطفيلي في أغشية أجنة الدجاج وهو لا يزال داخل البيضة إذ أدت هذه الطريقة إلى ظهور أعراض سريرية على الأجنة بعد تفقيسها، تمثلت تلك الأعراض ببيئة آفات Lesions تشبه البثرات (Que *et al.*, 2004; Caballero-Servin, 1974; Nockiewicz, 1972; Macfarlane & Ruchman, 1948).

قبل اكتشاف انتقال طفيلي المقوسة الكوندية عن طريق الفم ومقاومة أكياس البيض Oocyst للظروف البيئية استخدمت طريقة الحقن في الدجاج سواء الحقن تحت الجلد Subcutaneously أو داخل العضلة Intramuscularly أو داخل البريتون Intraperitoneally أو داخل الدماغ Intracranially غير أن تلك الطرق لم تؤدي إلى ظهور علامات سريرية في الدجاج المحقون (Sokolov, 1970; Grzywin'ski, 1967;)

ذكر (Bickford & Saunders (1966) في الولايات المتحدة الأمريكية إن الدجاج بعمر يوم واحد والمحقون بطفيلي المقوسة الكوندية داخل المخ Intracerebrally ظهرت عليه أعراض شديدة للإصابة بداء المقوسات تمثلت بعدم تناسق في المشي Incoordination وترنح Ataxia والتواء الرقبة Torticollis إضافة إلى التأثيرات المرضية النسجية التي ظهرت في نسيج الدماغ.

أدى حقن الأكياس النسجية Tissue cysts لطفيلي المقوسة داخل الوريد Intravein وداخل البريتون Intraperiton وداخل العضلات Intramuscles وداخل المخ Intracerebrum إلى ظهور حالة تسمم Parasitemia وحدوث الإصابة المزمنة Chronic infection بطفيلي المقوسة الكوندية في طيور الدجاج المتقدمة بالعمر (Kinjo, 1972; Lund, 1972) في بريطانيا والبرازيل على التوالي.

أشار (Biancificiori *et al.* (1986) إلى أن إعطاء 50,000 كيس بيض لطفيلي المقوسة الكوندية لثلاث عشرة دجاجة لم يؤدي إلى ظهور علامات سريرية باستثناء حصول انخفاض في معدل إنتاج البيض ومن العلامات السريرية التي سجلت على الدجاج المحلي المصاب طبيعياً بطفيلي المقوسة الكوندية هي فقدان الشهية Anorexia وإسهال Diarrhea وفقدان الوزن Weight loss وترنح Ataxia وعدم تناسق في المشي Incoordination وشحوب الأمشاط Pale combs وحصول حالات تشنج Spasms وشلل Paralysis إضافة إلى فقدان البصر Loss of eyesight (Dubey & Beattie, 1988).

في فانزويلا درس (Dubey et al. 1993b) التأثيرات الناتجة عن الإصابة المستحثة في طيور السمان *virginanus Colinus* بعمر شهر واحد عن طريق تغذيتها على أكياس البيض لسلاطين لطيفلي المقوسة الكوندية هما Me-49,GT1 ، إذا أشار في هذه الدراسة إلى عدم ظهور تغيرات مرضية في 17 طائر متغذي على 100,000,10,000,1000 من أكياس البيض للسلاطة Me-49 في حين أظهرت خمسة طيور متغذية على 100,000 من أكياس البيض للسلاطة GT1 فقداناً للشهية وموت أحد الطيور بعد سبعة أيام من المعاملة ولوحظ وجود آفات التخر البؤري Focal Necrosis في أمعاء وكبد وطحال ذلك الطائر، كما وجد كيس نسجي منفرد في دماغ أحد الطيور الخمسة بعد تشريحها وكذلك وجود أكياس نسجية في قلب ثلاثة من الطيور وفي عضلات الساق لطائرين في حين لم يتم تسجيل وجود للأكياس في عضلات صدر تلك الطيور.

أشار (Goodwin et al. 1994) في أمريكا إلى وجود حالات من الإصابة بداء المقوسات في الدجاج المحلي المصاب ظهر فيها التهاب العصب البصري الخارجي Peripheral neuritis المتمثل في حالات الهزال Emaciation وصعوبة الوقوف في حين سجل (Quist et al. 1995) في أمريكا بعض العلامات السريرية في الديك الرومي البري المصاب بداء المقوسات والتي تمثلت بالهزال والضعف العام وسهولة مسك الطائر Readly capture.

ذكر (Kaneto et al. 1997) في أمريكا بأن تغذية صغار الدجاج المحلي على 50,000,5000,500 كيس بيض من سلالة P لطيفلي المقوسة الكوندية لم يظهر أي تغيرات مرضية أو علامات سريرية تذكر سوى الحمى Pyrexia في الطيور المتغذية على 50,000 كيس بيض للطفيلي.

## (10-2): التغيرات النسجية المرضية Histopathological changes

تتميز الإصابة بداء المقوسات في النعاج في الولايات المتحدة الأمريكية بكونها تؤدي إلى أحداث تغيرات نسجية متباينة تتمثل بحدوث تخر تجلطي للطبقة الظهارية Coagulative necrosis of epithelial layer التي يتواجد من خلالها الطفيلي في حافات المناطق المتخررة وبعد فترة يتحول هذا التخر إلى تخر تجنبي Caseous necrosis وبالتالي تصبح هذه الآفات قديمة (Dubey & Sharma, 1980).

تتمثل الآفات المصاحبة لإصابة الجهاز العصبي للجنين في الولايات المتحدة الأمريكية بوجود بؤر وتجمعات من الخلايا الدباقية المحيطة بمراكز متخررة أو متكلسة إضافة إلى بعض التضخات في الغدد اللمفية والتهاب اغشية السحايا مما يدل على حدوث الاستجابة المناعية للجنين فضلاً عن ارتشاح الخلايا احادية النواة (Buxton & Finlayson, 1986).

ذكر Dubey *et al.* (1992) بأن أهم التغيرات التي ظهرت على طحال الارانب هي وجود مساحات كبيرة من النخر وتكون بؤر نخرية إلى نخرية متخثرة حاوية على خلايا مختلفة، إذ شملت هذه النخر الحويجزات مع وجود الأطوار السريعة التكاثر أما في الرئة فقد لوحظ وجود خلايا البلعم الكبير مع وجود التهابات رئوية اضافة إلى وجود الحويينات السريعة التكاثر وفي القلب لوحظ حصول ضمور في عضلة القلب مع وجود البؤر النخرية فضلاً عن وجود الحويينات السريعة التكاثر في مراكز هذه البؤر.

في الدنيمارك بين Wingstrand *et al.* (1997) وجود تفاعلات التهابية ضد الأكياس النسجية والأطوار السريعة التكاثر لطفيلي المقوسة الكوندية في أنسجة الخنازير المصابة، وفي الأرانب المصابة تجريبياً بطفيلي المقوسة الكوندية لوحظ حدوث آفات في الدماغ تمثلت بحدوث التهاب مشيمي لمفي والتهاب السحايا من النوع اللمفي اضافة إلى تجمع الخلايا الدبقية في مواضع العصبات Neurons في قشرة المخ (Dzbenki *et al.*, 1998).

في ماريلاند أشار Lam *et al.* (1999) إلى أن إصابة صغار الفئران بطفيلي المقوسة الكوندية أدى إلى ظهور تغيرات نسجية في الكلية تمثلت بحدوث التهاب الكبيبات الغشائي، في حين أشار Jungersen *et al.* (1999) في الدنيمارك إلى حدوث التهاب الكبد النخري البؤري في الخنازير المصابة بطفيلي المقوسة الكوندية أما في الطحال لوحظ وجود الأكياس النسجية مع انعدام التغيرات النسجية فيه في حين تمثلت التغيرات النسجية في الرئة بحدوث ذات الرئة النخري الليفيني البؤري.

في الموصل دراسة تجريبية أخرى على الفئران لوحظ حدوث التهاب في الدماغ متمثلاً بارتشاح الخلايا الألتهايبية وسيادة الدباق العصبي فضلاً عن وجود النخر والوذمة في نسيج الدماغ كما لوحظ حصول تضخم في الكبد (الدليمي، 2002).

ذكرت عبد الله (2004) في الموصل وجود تغيرات تنكسية ونخرية في النبيبات الكلوية للفئران المصابة بالطفيلي وارتشاح بعض الخلايا وحيدة النواة في النسيج الخلالي متمثلة بالخلايا اللمفيه والبلعمات بهيئة بؤر إضافة إلى وجود احتقان شديد في اللمة الكبيبية وفي الأمعاء لوحظ وجود نخر شديد مع ارتشاح للخلايا الألتهايبية وخاصة اللمفيه والبلعمية في الخباء مع احتقان في الأوعية الدموية إضافة إلى الوذمة وفرط تنسج للخلايا الظهارية ووجود الأكياس النسجية في الزغابات المعوية كما لوحظ وجود الوذمة Odema مع النخر في بعض الألياف العضلية القلبية اضافة إلى وجود التنكس الزجاجي Hyalin degeneration في الألياف العضلية وتنكس فجوي Vaculative degeneration في هيولي الخلايا العضلية فضلاً عن وجود الحويينات السريعة التكاثر وفي الكبد لوحظ وجود النخر التجلطي الشديد إضافة إلى وجود الأطوار السريعة التكاثر في خلايا الكبد وخلايا كوفر وفي الجيبانبات.

يمتاز طفيلي المقوسة الكوندية بعدم امتلاكه خصوصية للمضيف اي إنه يصيب الإنسان وأنواع مختلفة من الحيوانات دون أن تظهر عليها العلامات السريرية، إضافة إلى تطفله الأجنبي داخل الخلية بحيث أن مرحلة تكاثر الحويثات سريعة التكاثر تحدث داخل الخلية وعندما يصبح عدد الطفيليات داخل الخلية كبيراً تتحطم وتحرر الطفيليات لتغزو خلايا أخرى غير أن آلية اختراق الطفيلي لتلك الخلايا غير معروفة جيداً ويعتقد بأنها تشبه عملية البلعمة، فعندما تغزو الأطوار سريعة التكاثر Tachyzoite البلعمات الكبيرة فإنها لا تتحطم بفعل خمائر الأجسام الحالة Lysosomes بسبب إحاطة الطفيلي نفسه بفجوة تدعى الفجوة الطفيلية التي تقيه من الاستجابة المناعية بشكل كبير (Fatoohi et al., 2002).

يلعب الجهاز المناعي دوراً هاماً في السيطرة على الإصابة بداء المقوسات من خلال الآليات المناعية الآتية Innate immune mechanism والاستجابة المناعية المتكيفة Adaptive immune response، إذ تحفز الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية أنتاج نوعين من الاستجابة المناعية التي تتضمن الاستجابة المناعية الخلوية Humoral immune response والاستجابة المناعية الخلوية Cell immune response (Roberts et al., 2007; Filisetti & Candolfi, 2004).

## (1-11-2): المناعة الآتية Innate immunity

تلعب المناعة الآتية دوراً مهماً في الدفاع ضد الإصابات الطفيلية فهي لا تتأثر بالتعرض المسبق للطفيليات وتشمل الحواجز الفيزيائية والكيميائية كالجلد والأغشية المخاطية والنسيج الطلائي المبطن للأعضاء الداخلية كالمسالك التنفسية والبولية والأمعاء فضلاً عن الخلايا الشجرية (Dc) Dendritic cells وخلايا البلعم الكبير Macrophage والخلايا القاتلة الطبيعية (Nk) Natural killer والخلايا الحبيبية Granulocytes كالخلايا العدلة Neutrophils والحمضة Eosinophils (Dziubek et al., 2001).

يتم تنشيط الاستجابة المناعية المتخصصة Specific immune response عندما يجتاز طفيلي المقوسة الكوندية الحواجز الكيميائية والفيزيائية، إذ تلعب تلك الاستجابة المناعية دورها في حماية المضيف من خلال تحفيز خلايا البلعم الكبير والخلايا الشجرية على إنتاج الحركيات الخلوية قبل الانتهاء Pro-inflammatory cytokines كعامل تنخر الورم Tumor Necrosis Factor نوع الفا (TNF- $\alpha$ ) والأنترفيرون كما Interferone (INF- $\gamma$ ) والأنترلوكين-12 (IL-12) وهذه جميعها تعمل على تنظيم عملية الاستجابة المناعية الالتهابية (Alexander & Hunter, 1998) ومن أهم الحركيات الخلوية هو الأنترلوكين-12 وذلك لدوره الهام في تنظيم الآليات المناعية الآتية إضافة إلى دوره في تحديد فترة الاستجابة المناعية المتكيفة ونوعها (Sher & Oswald, 1993) إذ يقوم هذا العامل بتحفيز الخلايا القاتلة الطبيعية NK على إنتاج ال-INF- $\gamma$  الذي له أهمية في الحد من تكاثر وانتشار الطفيلي في الإصابات

الحادة من خلال تنشيط فعالية الخلايا البلعمية Phagocytes cells في قتل الطفيلي ( Suzuki *et al.*, 1988).

### (2-11-2): المناعة المتكيفة Adaptive immunity

إذا لم تتمكن المناعة الآتية من قتل الطفيلي عندها يتم تنشيط الاستجابة المناعية المتخصصة Specific Immune Response التي تلعب دوراً هاماً في حماية المضيف ضد الطفيلي وهذه المناعة تكون على نوعين هما الاستجابة المناعية الخلطية والاستجابة المناعية الخلوية, Decoster & Lecolier, (1996).

### (1-2-11-2): المناعة الخلطية Humoral immunity

يتميز هذا النوع من الاستجابة المناعية بتكوين أجسام الضد المناعية Antibodies التي تعمل وبالتعاون مع المتمم Complement على إزالة الطفيلي الموجود بصورة حرة في سوائل الجسم لذا يمكن تسميتها بالمناعة التي تتوسطها أجسام الضد Antibody mediated immunity ( Dziubek *et al.*, 2001).

من الأجسام المضادة التي يمكن تحديدها بشكل مبكر خلال المرحلة الحادة من الإصابة هي IgE, IgM , IgA (Paul, 1997; Remington *et al.*, 1995), إذ يبدأ الضد IgA بالظهور عند دخول الطفيلي عن طريق الفم واختراقه بطانة الأمعاء ويشكل هذا الضد حوالي 80% من مناعة الأمعاء حيث يوجد عادة على السطوح المخاطية ويفرز هذا الضد من قبل خلايا المضيف ويعد وجوده مؤشراً على الإصابة الخلقية والحادة وقد يختفي بين 4-7 أشهر من الإصابة (Villena *et al.*, 1999) كما يبدأ الضد IgE بالظهور خلال المراحل الأولى من الإصابة ويزداد مستواه نتيجة إفراز الحركيات الخلوية Cytokines في الخلايا البدنية Mast cells ولهذا الضد دورٌ كبير في آلية القتل الخلوي للخلايا الحمضة تحت تأثير الحركيات الخلوية (IL-5 & INF-  $\alpha$ ) المنتجة من قبل الخلايا البدنية (Gross *et al.*, 1997) أما فيما يتعلق بالضد IgG فيظهر بعد 2-3 أسابيع من ظهور الـ IgM ويصل إلى أعلى مستوياته خلال شهر إلى شهرين ويختفي بنسب مختلفة وعادة ما يبقى مدى الحياة (Pelloux *et al.*, 1998) ويقسم الضد IgG إلى ما يسمى بتحت الصنف Subclass إلى أربعة أنواع هي: IgG4, IgG3, IgG2, IgG1, ويعد النوعان IgG3, IgG1 من أكثر الأنواع المشاركة في الحد من أنتشار الطفيلي، إذ إنهما يتصلان مع المستقبلات FC في الخلايا القاتلة الطبيعية Natural killer cells ومع مستقبلات الخلايا السمية الوسطية المعتمدة على الأجسام المضادة Antibody-dependent cell mediated

cytotoxicity، إذ يتحد ضد IgG الذي يغطي الطفيلي مع سطوح هذه الخلايا ومن ثم يمكن هذه الخلايا من الاتحاد مع الطفيلي وحمله إلى ما يسمى بالخلية الهدف Target cell ثم يتم قتل هذه الخلية الهدف بواسطة السموم الخلوية Cytotoxic وبالتالي يؤدي إلى الحد من أنتشار الطفيلي (Dzierszynski, 2000).

يعمل ضد IgG كمادة مفرزة لمساعدة الخلايا البلعمية على الألتهام (Fadul *et al.*, 1995) ومن الجدير بالذكر إن أجسام ضد IgM,IgG هما الأكثر اعتماداً في تشخيص الإصابة بداء المقوسات (Derouin *et al.*,1987)، وإن ضد IgG له القدرة على اختراق المشيمة لذا نجد أن النساء اللواتي تعرضن سابقاً للإصابة قبل حدوث الحمل قد لاتتأثر أجنتهن بعد ذلك بسبب أنتقال الضد إلى الجنين وتوفر الحماية (Mordue *et al.*, 2001).

## (2-2-11-2): المناعة الخلوية Cellular immunity

يعرف هذا النوع من المناعة أيضاً بالمناعة التي تتوسطها الخلايا ( Cell –mediated immunity)، إذ يشارك في هذا النوع من المناعة بصورة أساسية الخلايا للمفاوية البلعمية والتائية-T cells الحاوية على المستقبل CD4 التي تقوم بتنسيق وتنظيم التفاعلات تحت تأثير السايوتوكينات Cytokines التي تفرزها والتي هي عبارة عن بروتينات تحفز أو تثبط وظائف خلايا الأستجابة المناعية بالإضافة إلى تحفيزها لعملية التمايز Differentiation لتلك الخلايا، كما وتقوم خلايا البلعم الكبير والخلايا الشجرية DC بأنتاج أنترلوكين IL-12 الذي يعمل على تنظيم وتمايز الخلايا للمفاوية المساعدة في كلا من الخلايا المساعدة النوع الأول Th1 والتي تقوم بإنتاج السايوتوكينات السابقة للالتهاب Pro-inflammatory cytokines والتي أهمها الأنترفيرون كما  $\gamma$ -INF وعوامل تنخر الورم نوع ألفا TNF- $\alpha$  الذي يلعب دوراً كبيراً في تنشيط آلية داخل الخلية المصابة وهي آلية قتل الطفيلي عندما يكون داخل الخلية المصابة (القتل داخل خلوي Intra cellular killing) خلال الإصابة الحادة بداء المقوسات إذ يثبط التضاعف السريع للحوينات سريع التكاثر وتحوله إلى الطور بطئ التكاثر والخلايا المساعدة النوع الثاني Th2 (Lambert *et al.*, 2006) التي تقوم بإنتاج السايوتوكينات المضادة للالتهاب Anti-inflammatory cytokines ومن أهمها IL5, IL4, IL6, IL10 ذات الأهمية في تثبيط إنتاج عدد من السايوتوكينات التي تنتج من الخلايا للمفاوية المساعدة النوع الأول Th1 والتي منها IL-12 و  $\alpha$ -INF و  $\gamma$ -INF و IL-2 إضافة إلى تثبيط السايوتوكينات من الخلايا القاتلة (Butcher *et al.*, 2005) وتعمل الأنترلوكينات هذه على زيادة الأجسام المضادة نوع IgG1,IgE إذ إنها مسؤولة عن قتل خارج خلوي Extra-killing (Gomez *et al.*, 1997) كما يعمل الأنترلوكين-5 على زيادة خلايا الحمضات (Vogel *et al.*, 1996).

تقوم الخلايا البلعمية بإفراز الأنترلوكين-12 الذي ينشط تكوين الخلايا القاتلة الطبيعية NK التي تلعب دوراً أساسياً في القضاء على الطفيلي بطوره الحاد، إذ تعد خلايا سمية Cytotoxic cells تحمل

نوعين من المستقبلات البروتينية على سطحها كما إنها تعد المصدر الأخير لإفراز الأنترفيرون كاما-INF (Yap & Shera, 1999).

بعد خروج الطفيلي من الأمعاء ودخوله إلى مجرى الدم قد يلتهم من قبل خلايا البلعم الكبير Macrophage حيث يقوم الطفيلي في حالة التهامه بالتكاثر داخل الخلايا البلعمية، وبمجرد ملامسة الطور سريع التكاثر مع غشاء الخلية البلعمية وقبل التهامه يعاني من تغيرات في طبيعة غشائه إذ يغطي الطفيلي بطبقة بروتينية خارج خلوية، كما يقوم هذا الطور بطرح إفرازات خاصة من تراكيب معينة داخل الطفيلي تعرف بالأجسام الرابتدية Rhoptries تساعد هذه الإفرازات في حماية الطفيلي من عملية البلعمة (Tristran *et al.*, 2001).

تتفاعل مستقبلات الخلية البلعمية والمعروفة بـ Integrins مع طبقة الـ Lamex مؤدية بذلك إلى تنشيط عملية البلعمة الطبيعية وتنشيط الانفجار التنفسي Oxidative burst للخلية البلعمية اللذان يؤديان إلى قتل الطفيلي (Roitt *et al.*, 2001) ونتيجة حركة غشاء الخلية البلعمية يدخل الطور السريع التكاثر إلى داخلها مكوناً حوله فجوة تعرف بالفجوة الطفيلية Parasitovorus vacuole التي يعتقد أنها ناتجة من إفرازات الأجسام الرابتدية الحاوية على مكونات بروتينية غير مميزة عن بروتينات غشاء الخلية البلعمية (Jawests *et al.*, 2001) وفائدة هذه الفجوة منع الأنزيم الحال من مهاجمة الطفيلي ومن ثم قتله أو تحطيمه وبذلك يبقى الطفيلي فعال داخل الخلية البلعمية وهذا هو سبب الحالة المزمنة لدى المريض (Helen & Mansel, 1999) ولكي تتم عملية تحطيم الطفيلي في داخل الخلية البلعمية يجب أن يغطي الطفيلي بالأجسام المضادة الخصوصية قبل دخوله الخلية البلعمية ومن ثم تتحد هذه الأجسام مع المستقبلات (FC receptors) الموجودة على سطح الخلية البلعمية وبالتالي حدوث عملية البلعمة بشكلها الطبيعي (Benjamini *et al.*, 2000) وحال ابتلاع الخلية البلعمية للطفيلي يحاط بما يسمى بالفجوة البلعمية Phagosome للجسم الحال والتي تسمح للأنزيم الحال من النفاذ من خلالها وتحطيم الطفيلي داخل تلك الفجوة (Bogdan & Rolinghof, 2004).

## (2-12): وبائية داء المقوسات في الطيور **Epidemiology of Toxoplasmosis in Avian**

يعد داء المقوسات من الأمراض المشتركة Zoonotic diseases الواسعة الانتشار لاسيما في المناطق الدافئة والرطبة ويصيب جميع اللبائن ومنها الإنسان والعديد من الحيوانات آكلة الأعشاب وآكلة اللحوم وكذلك الطيور (Dubey & Beattie, 1988).

### أولاً: الوبائية في العراق

تلعب الطيور واللبنائن دوراً مهماً في وبائية طفيلي المقوسة الكوندية، إذ تعد هذه المجموعة من الحيوانات أهم المضائف الوسطية التي تحدث فيها الدورة اللاجنسية للطفيلي نظراً للعلاقة الأفتراسية التي



ترتبط بها الحيوانات (Beaman *et al.*, 1994) أجريت بعض الدراسات في العراق والتي أشارت إلى أنتشار داء المقوسات في الطيور الداجنة ومنها:

ذكر بطي (2009) في دراسته التي أجراها على طيور الديك الرومي *M. galbpavol* في محافظة نينوى إن نسبة الإصابة بداء المقوسات كانت 76.63% بعد فحصه 107 طائراً باستخدام اختبار تلازن اللاتكس.

وأشارت الجبوري (2010) إلى أن نسبة تفشي حالات الإصابة بداء المقوسات في الدجاج المحلي *G. gallus domesticus* في محافظة الديوانية كانت 65% بعد فحص 100 عينة وباستخدام اختبار تلازن اللاتكس.

إجرى (AL-Ramahy (2011) دراسة لمعرفة مدى أنتشار طفيلي المقوسة الكوندية بين الدجاج المحلي في محافظة بابل باستخدام اختبار تلازن اللاتكس Latex Agglutination test إذ سجل نسبة إصابة بلغت 45.11% .

كما ذكر داخل (2012) بعد فحصه 150 عينة من الدجاج المحلي *G. gallus domesticus* و130 عينة من الحمام المنزلي *C. livia domesticus* و130 عينة من الحمام الطوراني *C. livia* في محافظة الديوانية، إن نسب الإصابة بداء المقوسات كانت 32.6%، 24.6%، 32.3% على التوالي باستخدام اختبار تلازن اللاتكس و25% باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي (PCR).

في حين أجرى (AL-Khaled (2012) في محافظة بغداد دراسة فحص من خلالها 200 عينة من الدجاج حر المعيشة Free-range chicken و200 عينة من الدجاج التجاري Indestrал chicken و50 عينة من البط Ducks، سجل من خلالها نسب إصابة بداء المقوسات بلغت 67%، 31%، 56% على التوالي وباستخدام اختبار تلازن اللاتكس في حين بلغت نسبة الإصابة وباستخدام اختبار الأليزا 51.11% في الدجاج حر المعيشة و28.88% في الدجاج التجاري وباستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي سجل نسبة تواجد الجين B1 بلغت 48.13% في 13 عينة اختيرت عشوائياً من مجموع 27 عينة موجبة. كما ذكر السلطاني (2012) إن نسبة إصابة الحمام المنزلي *C. livia domesticus* بطفيلي المقوسة الكوندية في محافظة بابل وباستخدام اختبار تلازن اللاتكس Latex Agglutination قد بلغت 20% بعد فحصه مئة عينة .

## ثانياً: الوبائية في العالم

إن معظم الإصابات بداء المقوسات في الطيور تأتي عن طريق تغذيتها من التربة التي تكون ملوثة بأكياس البيض Oocysts (Freckl & Ruiz, 1980).

أشار كل من (Literak & Hejli'ck (1993 في مدينة كيش الإيرانية إلى أن نسبة إصابة الدجاج المحلي ودجاج المزارع بلغت 5%، 0.01% على التوالي بعد فحصهما 338 عينة من الدجاج المحلي و1120 عينة من دجاج المزارع التجارية باستخدام اختبار صبغة سابين- فيلدمان، باستخدام فحص التلازن المحور MAT وجد إن نسبة الإصابة بداء المقوسات كانت 1.5% بعد فحص 36 عينة من الحمام البري في مدينة كرمان الإيرانية (Keshavarz & Ebrahimi, 1994).

ذكر (David *et al.* (1993 في مدينة الباما الأمريكية أن نسبة الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية بلغت 26.7% في أنسجة القلب وعضلات الصدر لـ 101 عينة من الطيور البرية والتي شملت الصقور Hawks والنسور Eagles واليوم Owls وطيور الشَّماط Ospreys وطيور العقبان السوداء Black vultures، وفي البرازيل أشار (Dubey *et al.* (2002 إلى إرتفاع نسبة أجسام الضد لطفيلي المقوسة في الدجاج المنزلي وباستخدام فحص التلازن المحور، إذ سجل نسبة إصابة بلغت 35.6% بعد فحصة 200 عينة.

في منطقة بارا البرازيلية سجل (Dubey *et al.* (2003a نسبة إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في الدجاج بلغت 40% باستخدام اختبار التلازن المحور، في حين سجل (Singh (2003 نسبة أنتشار بلغت 1.22% لطفيلي المقوسة في الدجاج المنزلي في الولايات المتحدة الأمريكية بعد فحصه 11 عينة باستخدام اختبار التلازن المحور.

كما أشار (Sreekumar *et al.* (2003 إلى أن نسبة أنتشار داء المقوسات في الدجاج في الهند كانت 17.9% وباستخدام فحص التلازن المحور في حين ذكر (Dubey *et al.* (2003b في مصر أن نسبة إصابة الدجاج المحلي بطفيلي المقوسة الكوندية بلغت 40.4% باستخدام اختبار تلازن اللاتكس المحور.

وفي دراسة هدفت للتحري عن داء المقوسات في الدجاج في أربع مناطق إفريقية شملت كلا من جمهورية الكونغو الديمقراطية وبوركينافاسو ومالي وكينا، ذكر (Dubey *et al.* (2005a أن نسبة الإصابة بلغت 50% باستخدام فحص التلازن المحور وفي مناطق الأرجنتين أشار (Dubey *et al.* (2005b إلى أن نسبة أنتشار أجسام الضد لطفيلي المقوسة في الدجاج حر التربية قد بلغت 20% بعد فحصة 220 عينة باستخدام اختبار التلازن المحور.

قام (Tsai *et al.* (2006 بدراسة تضمنت فحص 665 عينة من الحمام البري في تايوان باستخدام اختبار التلازن المحور، سجل نسبة إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية بلغت 4.7% وكانت نسبة أنتشار المرض في المناطق الشمالية والبالغة 6% أعلى من نسبته البالغة 1.8% في المناطق الشرقية، وأكد الباحث على إمكانية انتقال المرض إلى الإنسان عن طريق التلامس مع الطيور المصابة، كما أن إصابة الطيور تعد مؤشراً جيداً لتلوث التربة بأكياس البيض Oocysts الخاصة بالمقوسة الكوندية ويعود ذلك لتغذيتها الطبيعية المباشرة من التربة.

في حين أشار Ali et al.(2005) بعد فحصه 58 عينة من الدجاج المحلي في ايران وباستخدام فحص التلازن المحور إلى وجود 25 عينة موجبة وبنسبة بلغت 43 % كما إن حقن أعضاء العينات الموجبة كالقلب والدماغ في الفئران المختبرية أدى بعد فترة إلى اكتشاف الجين الخاص بالمقوسة الكوندية في أعضاء تلك الفئران وباستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي(PCR) ولوحظ وجود أكياس النسيج في مقاطع أعضاء الفئران المصابة تجريبياً.

في امريكا الجنوبية وشيلي ذكر Dubey & Shen (2006) أن نسبة أنتشار الأجسام المضادة لطفيلي المقوسة الكوندية في الدجاج وباستخدام فحص التلازن المحور كانت 55.3%، في حين ذكر (2006) Asgari et al. أن نسبة أنتشار الأجسام المضادة لطفيلي المقوسة في مصول الدجاج في مدينة شيراز الإيرانية كانت 36.1% باستخدام اختبار تآلق الضد غير المباشر (IFAT) كما أشار الباحث نفسه الى أن أنتشار الأجسام المضادة للطفيلي في الدجاج المحلي في كل من ايران واستراليا والهند والبرازيل والولايات المتحدة و بيرو كانت 33%، 36.3%، 39.5%، 10.3%، 7%، 26% على التوالي.

كما ذكر Dubey et al.(2006) أن نسبة الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في الدجاج المحلي وباستخدام فحص التلازن المحور كانت 40.1 % في كل من كوستاريكا وإمريكا الجنوبية كما وجد Dubey et al.(2007) في دراسته التي هدفت إلى التحري عن المقوسة الكوندية في الدجاج المحلي والأوز في ولاية أيلينوي أن أجسام الضد ترتفع عند التخفيف 1:4 باستعمال فحص التلازن المحور. لتقييم مدى أنتشار الإصابة بالمقوسة الكوندية في 695 عينة من الحمام البري في مناطق مختلفة من البرتغال سجل Waap et al. (2008) نسبة إصابة بلغت 2.5 % باستخدام فحص التلازن المباشر (DAT).

قام Chumpolbanchorn et al.(2009) بدراسة تضمنت فحص 303 عينة من الدجاج المنزلي في تايلند باستخدام فحص تآلق الضد غير المباشر (IFAT)، إذ أشار هناك 194 عينة مصابة وبنسبة 64.3%.

في دراسة قام بها Yan et al.(2009) في جنوب الصين هدفت إلى التحري عن طفيلي المقوسة الكوندية في 349 عينة من البط المنزلي و 361 من البط البري و 244 من الدجاج المنزلي وباستخدام فحص التلازن المحور وجد الباحث أن أعلى نسبة إصابة كانت في البط المنزلي إذ بلغت 16% كما سجل نسب إصابة بلغت 11.4%، 4.1% في البط البري والدجاج المنزلي على التوالي.

في حين ذكر Yan et al.(2010) بعد فحصه 275 عينة من الحمام في جنوب الصين باستخدام فحص التلازن المحور (MAT) أن نسبة وجود الأجسام المضادة لطفيلي المقوسة الكوندية وخاصة عند التركيز >1.5 بلغت 8.7% وقام الباحث نفسه بدراسة مسحية توصل من خلالها إلى أن هناك ثمانية قطعان من الدواجن كانت مصابة وبنسبة 18.2% وأكد بأن هذه النتائج تشير إلى وجود خطر محتمل لعدوى الإنسان بالمقوسة الكوندية.

باستخدام فحص تآلق الضد غير المباشر (IFAT) وفحص التلازن المحور (MAT) وجد (deGodoi *et al.* 2010) أن نسبة إصابة الحمام البري بطفيلي المقوسة الكوندية كانت 13.3 % كما تم تأكيد وجود الجين الخاص بالطفيلي باستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي (PCR). بينما أشار (Eliane de Souse *et al.* 2010) في دراسته التي اجراها في البرازيل إلى أن نسبة إصابة الحمام المنزلي بطفيلي المقوسة قد بلغت 0.83% بعد فحصة 120 عينة حمام اي أن هناك عينة واحدة أعطت نتيجة موجبة لفحص تآلق الضد غير المباشر.

قام (Sedlak *et al.* 2010) بدراسة تجريبية في البرازيل على مجموعة من الطيور شملت الحجل *Perdix perdix* والديك الرومي *Meleagris galpavol* والدجاج المنزلي *Gallus domesticus*، إذ تم تجريع الطيور بـ  $10^3$  أو  $10^5$  من أكياس البيض Oocysts لطفيلي المقوسة وأشارت النتائج إلى أن طيور الحجل كانت أكثر حساسية للإصابة من بقية الطيور في حين أظهر الدجاج مقاومة للإصابة من خلال الكشف عن الأجسام المضادة للطفيلي في مصول تلك الطيور.

## (2-13): وبائية داء المقوسات في القطط Epidemiology of Toxoplasmosis in Cats

تصاب القطط بطفيلي المقوسة الكوندية نتيجة لتناولها أنسجة المضائف الوسطية المصابة بالطفيلي والحماية على الأكياس النسجية مثل القوارض والطيور أو بواسطة أكياس البيض المطروحة من قبل قطط مصابة أخرى والمنتوعة في البيئة (Dubey, 2002)، إذ تطرح القطط المصابة لأول مرة بطفيلي المقوسة الكوندية ما يقارب 100 مليون كيس بيض في برازها قبل أن تتولد الأجسام المضادة في مصولها (Tenter *et al.*, 2000) لذلك يفضل فحص براز القطط عند تشخيص طفيلي المقوسة الكوندية أكثر من الكشف عن الأجسام المضادة (Dubey, 1973).

أشار كل من (Rodgers & Baldwin 1990) في دراستهما التي تضمنت فحص 618 قطة منزلية في الولايات المتحدة الأمريكية باستخدام اختبار اللاتكس بأن نسبة الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية كانت 22 % في حين ذكر (Smith *et al.* 1992) بأن نسبة إصابة القطط بطفيلي المقوسة في الولايات المتحدة الأمريكية كانت 41.9 % باستخدام اختبار التلازن المحور (MAT) وباستخدام نفس الأختبار بلغت نسبة إصابة 391 قطة منزلية بطفيلي المقوسة 63.3 % وأن أعلى معيارية كانت عند المعيار >2000 (Dubey *et al.*, 1995b).

كما أشار (Hill *et al.* 1998) في البرازيل إلى أن نسبة إصابة القطط بطفيلي المقوسة الكوندية بلغت 80 % باستخدام اختبار التلازن المحور، في حين سجل في الولايات المتحدة الأمريكية (Hill 2000) *et al.* نسبة إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في القطط بلغت 23.6 % باستخدام اختبار الأليزا.

بالاعتماد على طرق التشخيص المصلي وجد Tenter *et al.*(2000) بأن نسبة إصابة القطط بطفيلي المقوسة الكوندية بلغت 74% وخاصة القطط المتقدمة بالعمر، إذ أن الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية تزداد بتقدم عمر القط كذلك تكون نسبة الإصابة في القطط البرية أعلى من القطط الأليفة (Dubey, 1973).

أما Defeo *et al.*(2002) فقد سجل في المكسيك نسبة إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في القطط بلغت 48% باستخدام اختبار التلازن المحور و13.4% باستخدام اختبار الأليزا في حين ذكر (2005) Vollaire *et al.* في الولايات المتحدة الأمريكية بأن نسبة إصابة القطط بطفيلي المقوسة الكوندية بلغت 31.6% باستخدام اختبار الأليزا.

أشار Pena *et al.*(2006) إلى أن نسبة إصابة القطط في البرازيل بطفيلي المقوسة الكوندية بلغت 35% باستخدام اختبار التالق ضد غير المباشر.

في البرازيل وباستخدام اختبار تألق ضد غير المباشر سجل كل من Garcia *et al.*(1999) و Langoni *et al.* (2001) و Ortolani *et al.*(2005) و Pinto *et al.* (2009) في نسبة إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في القطط بلغت (13/28) 46.4%، (93/245) 37.9%، 19.4% (13/191)، (27/125) 21.6% على التوالي وكانت هذه الحالات جميعها تركزت في المعيارية >1.16. كما ذكر Willian *et al.*(2011) في دراسته التي تضمنت فحص 70 قطة في البرازيل بأن هناك 11 عينة وبنسبة 15.7% أعطت نتيجة موجبة لاختبار تألق ضد غير المباشر وإن أغلب الحالات تركزت في المعيارية >64.

## (14-2): التشخيص Diagnosis

لايعتمد التشخيص على وجود الأعراض والعلامات السريرية سواء في الإنسان أو في الحيوان، إذ إن المضيف قد لا يحمل أي علامة سريرية أو قد تتشابه أعراض داء المقوسات مع الكثير من الأمراض الأخرى لذا يتم التشخيص مختبرياً وهذا يعتمد على وجود الأعراض التشريحية المرضية ووجود الطفيلي في المقاطع النسجية وكذلك اجراء الأختبارات المصلية للكشف عن أجسام الضد الخاصة بطفيلي المقوسة الكوندية وخاصة الأضداد IgG, IgM (Lappalainen & Hedman, 2004) والأختبارات غير المصلية وكذلك الكشف عن المادة النووية لطفيلي المقوسة باستعمال الطرق الجزيئية (Edvinsson, 2006) وهناك نوعان من طرق التشخيص المستعملة في الكشف عن الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية هما:

## (1-14-2): الأختبارات المصلية Serological tests

تعتمد هذه الأختبارات على تشخيص الأضداد Antibodies وخاصة IgG, IgM وأضداد تثبيت المتم ومن أهم هذه الأختبارات:

### 1 - اختبار صبغة سابين - فيلدمان Sabin -Feldman dye test

يعد أول اختبار مصلي استخدم للكشف عن الأضداد المتخصصة لداء المقوسات من قبل الباحثين Sabin &Feldman في عام 1948 (Tenter *et al.*, 2000) وفي عام 1966 طور الباحثان Lam & Feldman هذا الفحص بما يتلاءم مع قلة وجود الطفيلي وعينة المصل، إذ أنه ذو حساسية وخصوصية عاليتين إلا إن الخطورة الوحيدة فيه هو استخدامه طفيليات حيه في طورها سريع التكاثر، إذ أن هذا الفحص يقدر الكمية الكلية لفعالية المتم Complement activating وكذلك الأجسام المضادة في مصل المريض ويسمى هذا الاختبار أيضاً بأختبار صبغة أزرق المثلين (Methylene-blue dye) (Burg *et al.*, 1989) وذلك لاصطبغ الطفيلي بصبغة زرقاء غامقة بعد إضافة الصبغة القاعدية للطور السريع التكاثر الحي للطفيلي وحضنه لمدة ساعة واحده بدرجة حرارة 37 م مع مصل غير حاو على أجسام مضادة خاصة بطفيلي المقوسة (Feldman &Lamb, 1966) في حين لايصطبغ الطور سريع التكاثر بالصبغة القاعدية في حالة حضنه مع مصل المريض الحاوي على الأجسام المضادة للمقوسة وذلك لأن المتم المضاف سوف ينشط بواسطة الأجسام المضادة الملامسة لسطح المستضد الذي هو بمثابة الطور السريع التكاثر للطفيلي ويستخدم المجهر العاكس Reflective Microscope لملاحظة هذه التفاعلات ولتحضير معيارية للفحص تعمل تخافيف للمصل الحاوي على الطفيليات المقتولة والباقية بدون صبغة إذ تصل معيارية الأشخاص المصابين بداء المقوسات إلى >300 وحدة دولية / سم<sup>3</sup> (Hansen *et al.*, 1994).

### 2- اختبار التلازن الدموي غير المباشر Indirect Heamagglutination Test

وصف هذا الأختبار واستخدم لأول مرة من قبل Lunde & Jacobs عام 1957 في فحص خلايا الدم الحمراء المحسسه بواسطة المستضد الذائب Soluble Ag لطفيلي المقوسة الكوندية، إذ تعمل هذه الخلايا تلامزاً مع بعضها عند وجود الأجسام الخاصه بالطفيلي في مصل المريض إذا حضن هذا المصل مع خلايا الدم الحمراء المحسسه، إذ تعمل الأجسام المضادة أن وجدت على لصق الخلايا المحسسه مع بعضها مكونة شبكة من التلازن (السمعاني، 2000) يكون هذا الأختبار قليل الحساسية مقارنة بأختبار فيلدمان - سابين، كذلك لا يتمكن هذا الأختبار من الكشف عن الإصابة الخلقية لمرض المقوسات في الأطفال حديثي الولادة الأ في الحالات المتقدمة من المرض (Wilson & McAuley, 1999).

### 3- اختبار تآلق الضد غير المباشر Indirect Fluorescent Antibody Test

أستخدم هذا الأختبار في تشخيص داء المقوسات أول مرة من قبل Goldman في عام 1957، يتطلب هذا الأختبار استخدام مجهر التآلق Fluorescent microscope، يعتمد مبدأ هذا الأختبار على ارتباط المستضدات المحضرة من فئران محقونه مسبقاً بمقوسات كوندري (Fletcher, 1965) مع الأضداد النوعية الموجودة في مصل المريض ومن خلاله يتم الكشف عن الضد IgM حتى لمدة 6 أشهر وهذا يشير إلى الإصابة الحادة (الخفاف، 2001) يتم الأختبار بتهيئة المستضد المتمثل بالطور السريع التكاثر بواسطة الفورمالين على شريحة زجاجية ثم يجفف ويحضر مع مصل المريض على الشريحة نفسها وبعدها تغسل الشريحة ويضاف إليها مضاد الكلوبيولين المناعي المعلم بالفلوريسين Fluorescein-Labeled antihuman globulin الحاو على الأجسام المضادة IgG , IgM ثم يعاد الغسل والحضن مرة أخرى ويستخدم مجهر التآلق لقراءة النتيجة فإذا ظهر لون اخضر مصفر فيدل ذلك على ايجابية الأختبار، في حين يدل اللون الأحمر المعتم في كل مساحة الشريحة المستعملة على سلبية الأختبار (Azab *et al.*, 1993).  
يمتاز هذا الأختبار بحساسيته العالية وسهولة اجرائه كذلك يعطي نتائج موجبة في المراحل المبكرة جداً من الإصابة بالمرض إضافة إلى كونه أكثر أماناً وأقل كلفة (Cola *et al.*, 2010).

### 4- اختبار التلازن الدموي المباشر Direct Heamagglutination Test

أول من وصف واستخدم هذا الأختبار هما العالمان Fulton & Turk عام 1959 ويمتاز هذا الأختبار بأنه سريع وعديم الخطورة ويستخدم فيه المستضد المقتول بالفورمالين وفيه يتم تشخيص الأجسام المضادة لسطح الطفيلي كما هو الحال في اختبار تثبيت المتمم (CFT) وتآلق الضد غير المباشر (Karim & Ludlam, 1975).

### 5- اختبار التلازن المحور Modified Agglutination Test

يستخدم هذا الأختبار للكشف عن الأجسام المضادة في مصل المريض وخاصة الضد IgG بعد تحطيم الضد IgM في المصل بواسطة استخدام مركب 2-Mercaptoethanol (Dubey *et al.*, 1995a).

### 6- اختبار تثبيت المتمم Complement Fixation Test

يعد هذا الأختبار من الأختبارات المصلية المهمة التي تستخدم للكشف عن الأجسام المضادة المثبتة للمتمم والتي تبدأ بالظهور بعد 4 أسابيع من الإصابة وتتنخفض بعد عدة أشهر لتبقى بمستويات واطئة للغاية 2-4 سنوات وتحضر المستضدات المستخدمة في هذا الأختبار من النضحة البريتونية للفئران أو من الأغشية الجنينية لاجنة الدجاج المصاب وهي مستضدات ذاتية أو مستضدات لسطح الخلية (Wilson *et al.*, 1990).

يعتبر هذا الأختبار أكثر خصوصية ولكن أقل حساسية من اختبار صيغة سابين- فيلدمان وفحص التلازن الدموي غير المباشر، إذ تعتمد حساسيته على نوع المستضد المستخدم ومصدره وطريقة تحضيره، نادراً ما يستخدم هذا الأختبار وذلك بسبب صعوبة التقنية الخاصة به وفقدانه للحساسية مقارنة مع الفحوصات الأخرى (Barriga, 1981).

## 7- اختبار تلازن اللاتكس Latex Agglutination Test

يمتاز هذا الأختبار بسهولة أجرائه ولكلفته المناسبة وقلة الوقت والجهد اللازمين لإجرائه وخصوصيته للكشف عن الكلوبولينات المناعية من نوع IgG, IgM الخاصة بطفيلي المقوسة الكوندية (Gamble *et al.*, 2005)، تستعمل في هذا الأختبار حبيبات اللاتكس المكونه من مادة البولي ستيرين Polystyrene القابلة للذوبان والتي تكون مغطاة بالمستضد الذائب والخاص بالطفيلي (Rye *et al.*, 1996; Mazumder *et al.*, 1988).

## 8- اختبار الأدمصاص المناعي المرتبط بالأنزيم

### Enzyme Linked Immunosorbent Assay

يعد هذا الفحص من أكثر الأختبارات الدقيقة والمستعملة حالياً للكشف عن الأضداد الخاصة بطفيلي المقوسة الكوندية ومنها IgA, IgE, IgM, IgG (Camargo *et al.*, 1978)، استخدم هذا الأختبار لأول مرة عام 1971 من قبل Van-Waeman & Schurus في هولندا وبعدها في السويد من قبل Engavell & Perlmann وكان ذلك عام 1972.

يمتاز فحص Elisa-IgM الذي يستخدم فيه مضاد الكلوبولين المناعي IgM بحساسية وخصوصية عاليتين في تحديد الطور الحاد للإصابة كما أنه لايعطي نتائج موجبة كاذبة مع وجود Rheumatoid Factor وأن الضد IgM يستمر مدة 12 سنة بعد حدوث الإصابة (Montoya, 2002). يستخدم Elisa-IgG لتحديد الطور المزمن للإصابة بالإضافة إلى تحديد الإصابة الخلقية عند الأطفال حديثي الولادة كذلك يمكن الكشف عن الضد IgE في مصل الدم بتقنية Elisa لدى البالغين والأطفال حديثي الولادة وتكون تراكيز الضد IgE في الدم أقل من اضداد IgG, IgM وهذا يفيد في تشخيص الإصابات الحديثة المكتسبة (Salman *et al.*, 2009) وإن الضد IgA يمكن الكشف عنه بتقنية الاليزا إذ يبقى في الدم مدة 2-3 اشهر وهذا يفيد في تشخيص الإصابة عند البالغين (Wilson *et al.*, 1997).

## 2-14-2): الأختبارات غير المصلية Non-Serological tests



وتتضمن مجموعة من الفحوصات منها:

### 1- الفحص المجهرى المباشر Direct Microscopic Examination

من الفحوصات المختبرية البسيطة وقليلة الحساسية والسريعة جداً للتحري عن الطور السريع التكاثر Tachyzoite في رواسب الطرد المركزي للسوائل الجسمية كالدّم وسائل النخاع الشوكي والسائل الأمنيوني والقشع أو وجود الأكياس في أنسجة الجسم مثل نسيج المشيمة وأنسجة الدماغ بعد تثبيتها بالكحول المثلي على شرائح زجاجية ثم صبغها بصبغة كمزا وفحصها بالمجهر الضوئي تحت القوة الكبرى أو بالعدسة الزيتية (Paniker, 2002; Brook *et al.*, 2001) كذلك يمكن تشخيص الطفيلي في الأحشاء الداخلية بعد هضمها بأنزيم الببسين للسماح للطور السريع التكاثر بالتحري منها ثم يفحص الراسب المتبقي (رشيد، 1984).

### 2- اختبار الجلد Skin Test (Toxoplasmien test)

يعد من الاختبارات المهمة للكشف عن طفيلي المقوسة الكوندية ويعرف أيضاً بالاختبار ذي الحساسية المفرطة المتأخر داخل الأوعية Intradermal delayed hypersensitivity test ويستعمل في هذا الاختبار مستضد Toxoplasmin، إذ يعد التفاعل موجباً عند ظهور بقعة حمراء اللون لالتزيد عن 7 سم خلال 48 ساعة من حقن المستضد (Feldman, 1996) ويستخدم هذا الاختبار في المسح الوبائي ويمكن أن تحصل فيه نتائج سالبة كاذبة في أول أسبوعين من الإصابة وفي الأشهر التسعة الأولى من عمر الطفل، لا يستخدم هذا الاختبار في الكشف عن داء المقوسات الخلقي لأن نتائجه تكون سالبة لحد الشهر التاسع من العمر ولكن التفاعل السالب لايعني أنعدام الإصابة عند البالغين (Niazi *et al.*, 1992).

### 3- عزل الطفيلي Isolation of the Parasite

تعد من الطرق البايولوجية التقليدية المستخدمة في تشخيص طفيلي المقوسة الكوندية، وتتضمن هذه الطريقة عزل الطفيلي من أعضاء الأشخاص المصابين بداء المقوسات (شعبان، 1986)، إذ يتم حقن نسيج المريض بعد هرسه وتعليقه بالمحلول الملحي الفسلجي أو دارى الفوسفات المنظم (BPS) المعامل بالمضادات الحياتية، ويتم اختيار النسيج المراد حقنه اعتماداً على الظروف المرضية فمثلاً يتم اختيار الدم والقشع ونخاع العظم والسائل الشوكي المخي والعقد للمفاوية والنضحة الألتهايبية وخزغ من العضلات المخططة، إذ تمتاز هذه الأنسجة لاحتمال كونها أكثر احتواء للطفيلي من غيرها (Dubey, 1977) حيث يتم الحقن داخل حيوانات مختبرية كالقتران والجرذان وقد يكون الحقن تحت الجلد أو داخل البريتون أو يتم عن طريق التجريع الفموي لتلك الحيوانات (Dubey & Sharma, 1980).

في عام 1981 تمكن Dubey من عزل أكياس طفيلي المقوسة الكوندية من ثلاثة طيور من الدجاج المحلي، حيث وجد أكياس الطفيلي في أنسجة القلب للطيور الثلاثة وفي دماغ واحدة منها في حين لم يتم عزل أكياس الطفيلي من رئة وطحال وكبد وكلية وعضلات الصدر لتلك الطيور، و تمكن (1986) *Biancifiori et al.* من عزل طفيلي المقوسة الكوندية من رئة وطحال الحمام البري. كما قام *Dubey et al.* (1994) بعزل طفيلي المقوسة الكوندية من العضلات الهيكلية والقلب والدماغ لطيور الدراج من نوع *Phasianus colchicus*. أشار *Literak et al.* (1999) إلى وجود الأوكياس النسيجية لطفيلي المقوسة الكوندية في دماغ عصفوراً وأحداً من مجموع 31 عصفور مصاب تجريبياً. كما تمكن *Sedlak et al.* (2010) في دراسته التي تضمنت التحري عن طفيلي المقوسة الكوندية في طيور الحجل والدجاج المنزلي والديك الرومي، من عزل طفيلي المقوسة الكوندية من أنسجة كل من الدماغ والكبد والطحال والقلب وعضلات الساق لطيور الحجل إضافة إلى وجود حالات الالتهاب المعوي في الطيور النافقة كما عزل *Dubey et al.* (2001) طفيلي المقوسة الكوندية من الجراب Bursa لطيور البط والأوز.

#### 4- الزراعة النسيجية Tissue Culture

أستخدمت طريقة العزل بواسطة الزراعة النسيجية من قبل *Derouin et al.* (1987)، إذ تم زرع الأرومات الليفية للإنسان Human embryonic fibroblasts في أطباق ذات 24 حفرة، تتضمن هذه الطريقة أخذ 15 مل من راسب السائل الأمينوني Amniotic fluid وبعاد تعليقها resuspended في 8 مل من وسط أساسي أدنى Minimum Essential Medium (MEM) مضافاً إليه 10% من مصل العجول الوليدة و 51 وحدة / مل بنسلين و 50 ملغم / مل سترينتومايسين ثم يؤخذ 1 مل من المحلول المعلق ليحقن في ست من حفر الزرع الخلوي وتحضن لفترة 72 إلى 96 ساعة بدرجة 37 م وبعد ذلك تغسل في دارى فوسفات الصوديوم Phosphate buffered-saline ثم تثبت في الأسيتون البارد ثم تفحص بطريقة التآلق المناعي غير المباشر Indirect Immune Fluorescence بواسطة مجهر التآلق بعد وضع غطاء الشريحة على الشريحة الزجاجية، يقوم بعض الباحثين بصبغ غطاء الشريحة بصبغة رايت Wright أو صبغة كمزا لمشاهدة طفيلي المقوسة الكوندية (*Remington et al., 2001*).

#### 5 - التشخيص النسيجي Histologic Diagnosis

تتضمن هذه الطريقة أخذ خزعات Biopsy من الأفات Lesions المتولدة في أنسجة المضيف من جراء الإصابة وتعمل منها مسحات على شرائح زجاجية وكذلك الحال مع دم المضيف ثم تجفف تلك

المسحات لمدة 10-30 ثانية بعد تثبيت بالكحول المثيلي Methyl alcohole ثم تصبغ باستخدام صبغة كمزا Giemsa stain وتفحص باستخدام المجهر المركب لملاحظة الطفيلي الهلالي الشكل أو أكياس النسيج في احيان نادرة، وتعد هذه الطريقة مهمة في الأفراد الذين يعانون اختلالاً مناعياً أو مرضى الأيدز وذلك لكون عملية بناء الأجسام المضادة والتي يعتمد عليها التشخيص المناعي تكون متأخرة وواطئة (Dubey, 1998).

## 6- التشخيص بواسطة الرسم الطبقي المحوري الإلكتروني والتصوير بالرنين المغناطيسي Diagnosis by Computerized Tomography Scane (CT) & Magnetic Resonance Imaging (MRI)

تعتمد هذه الطريقة على أخذ صور لأنسجة الدماغ وعن طريق هذه الصور يمكن تشخيص اية حالة شذوذ أو التهاب في الدماغ والتي قد تكون ناتجة من الإصابة بداء المقوسات، إذ تعد هذه الطريقة من الطرق الحديثة في التشخيص تعد طريقة MRI اكثر حساسية من طريقة CT في تشخيص الاصابة TE وخاصة في المرضى المشكوك بأصابتهم (Warren,1993).

## 7- التشخيص الجزيئي Molecular Diagnosis

تعتمد طرق التشخيص الجزيئية على تضخيم الجينات وتسمح بالتحري عن كميات قليلة جداً من دنا الطفيلي بخصوصية تصل إلى 97 %، من أهم التطورات التي حصلت في السنوات الأخيرة في علم الأحياء الجزيئي هو اكتشاف تقنية تفاعل سلسلة البلمرة Polymerase Chain Reaction (PCR) من قبل Kary mullis في عام 1985 ومن خلال هذه التقنية يمكن تضخيم الكميات الدقيقة من الحامض النووي منقوص الأوكسجين (DNA) إلى ملايين النسخ المماثلة، حظيت هذه التقنية باهتمام كبير في مجالات البحث المختلفة وخاصة في علم الأحياء الجزيئي والطب السريري (Eisenstein, 1990).

تستهدف تقنية تفاعل سلسلة البلمرة عدة جينات خاصة بطفيلي المقوسة الكوندية هي B1, Sag1, fo/1 b10, tub2, tub1, act hsp70, gra4, sag3 (Kompalic-cristo *et al.*, 2007; Switaj *et al.*, 2005; Reischl *et al.*, 2003; Smielewska, 2003).

تستخدم طريقة تفاعل سلسلة البلمرة للتحري وتشخيص الكائنات الحية التي يصعب تشخيصها مظهرياً ومناعياً (Grover *et al.*, 1990) وتمتاز هذه التقنية بحساسيتها العالية التي تصل إلى 97.4% فضلاً عن خصوصيتها التي تصل إلى 100% (Mullis, 1990)، إذ تستطيع هذه التقنية الكشف عن طفيلي المقوسة الكوندية في الجسم فهي قادرة على تحسس أقل من 10 من الحويينات السريعة التكاثر كما تكشف عن الطفيلي الحي والميت (Jenum, 1999).

المبدأ الأساس لتقنية تفاعل سلسلة البلمرة يقوم على أساس عمل نسخ مماثلة لتتابع خاص للدنا والذي قد يكون هذا التتابع جين معين أو جزء من جين أو امتداد بسيط لنيوكليوتيدات في تتابع من دنا معروف لكن وظيفة هذا التتابع قد تكون غير معروفة (White, 1996)، يمكن اكتشاف السلاسل المتضخمة من خلال الترحيل على هلام الأكاروز Gel Agarose وإذا كان التتابع النيوكليوتيدي للدنا الهدف غير موجود في العينة المفحوصة هذا يعني بأن البادئات Primers المضافة لا تجد ما تتحد معه لذا لا يحدث تضخيم في مثل هذه الحالة (Mcpherson & Moller, 2000) .

تعد هذه التقنية بديلاً عن الأختبارات المصلية فهي تكشف عن الحامض النووي (DNA) للطفيلي في المصل والسوائل الجسمية المختلفة كالدّم والسائل الأمنيوني والسائل المخي الشوكي والسائل القصيبي الحويصلي والبول والسائل المائي والزجاجي في الأطفال المصابين خلقياً لصعوبة تشخيص الداء فيهم (Montoya, 2002) وتكشف عن مجموعة من المورثات (tgr, B1, P30) التي تعد مؤشراً للإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية (Hafid *et al.*, 2001; Buxton, 2000).

هنالك ثلاث خطوات رئيسية في تفاعل سلسلة البلمرة والتي تتكرر 30 أو 40 دورة عن طريق الدوار الآلي Automated cycler الذي يقوم بتسخين وتبريد الأنابيب الحاوية على مزيج التفاعل في فترة زمنية قصيرة (Mcpherson & Moller, 2000; Mullis, 1990) وكما موضح في الشكل (2-3) وهذه الخطوات كما يلي:

### 1-المسخ Denaturation at 94 C°

يتم خلال هذه الخطوة مسخ في حلزون الدنا المزدوج مما يؤدي إلى انفصال الشريطين عن بعضهما وخلال هذه الخطوة تتوقف جميع التفاعلات الأنزيمية (مثلاً عملية الأستطالة للدورة السابقة) كما موضح في الشكل (2-4).

### 2-الألتصاق Annealing at 56 C°

في هذه الخطوة تبدأ البادئات Primers بالأهتزاز بسبب الحركة البراونية Brownian Motion وتبدأ الروابط الأيونية الثابتة بالتشكيل بين شريط البادئات والصفيرة المفردة في شريط القالب وهكذا ترتبط هذه السلسلة البوليميرية وتبدأ بعملية نسخ القالب شكل (2-5).

### 3-الأستطالة Extension at 72C°

تكون هذه الدرجة الحرارية مثالية لعمل البادئات، إذ إن هنالك عدد قليل من القواعد النتروجينية التي بنيت تربطها قوى جذب أيونية قوية إلى شريط القالب تكون هذه القوى أكبر من القوى اللازمة لكسر هذه الجاذبية، في هذه الخطوة ترتبط القواعد النتروجينية المكملة للقالب إلى البادئة في النهاية end<sup>-3</sup> كما يقوم أنزيم البلمرة بإضافة القواعد النتروجينية الطليقة (dNTPs) في النهاية 5<sup>-</sup>←3<sup>-</sup> أما قراءة القالب فتكون 3<sup>-</sup>←5<sup>-</sup> وهكذا يتم نسخ الصفيرتين خلال تفاعل سلسلة البلمرة، حيث يلاحظ زيادة آسية في عدد

نسخ الجين المطلوب تضخيمه ولنفترض هناك نسخة واحدة من الجين المطلوب قبل إجراء دورات الـ PCR فبعد دورة واحدة يصبح عدد نسخ الجين اثنان وبعد دورتين يصبح العدد أربعة وهكذا كما في الشكل (2-6).

### (1-7): البادئات Primers

البادئة هي قطعة قصيرة من النيوكليوتيدات والتي تكون مكملة لمقطع من الدنا الذي يراد تضخيمه، تلتصق Annealed البادئة إلى قالب الدنا الممسوخ وهذه تمثل نقطة بداية لاستئطالة جزيئة دنا جديدة، قد تكون البادئات متخصصة لتتابع نيوكليوتيدي معين من الدنا أو ربما تكون عالمية Universal وهذه تكون مكملة لتتابعات نكلوتيدية والتي تكون عامة في مجموعة من جزيئات الدنا وهكذا تكون البادئات العالمية قادرة على الارتباط إلى قوالب دنا متعددة بشكل واسع (Mullis, 1990).

أن نهاية البادئة التي يجب أن ترتبط بشكل مثالي بالقالب هي النهاية 3' end<sup>-</sup> ومنها تحصل عملية الأستئطالة بواسطة إنزيم البلمرة وهي أكثر أهمية لضمان أو لتأكيد خصوصية الألتصاق الصحيح للتتابع الهدف (Eckert & Kunkel, 1995).

بشكل عام يجب أن ترتبط النيوكليوتيدات الثلاثة الأولى في النهاية 3' end<sup>-</sup> بالقالب وبشكل تام، أما النهاية 5' end<sup>-</sup> من البادئة فهي أقل أهمية في تحديد خصوصية الألتصاق إلى التتابع الهدف وهذا يعني بأنه محتمل تعديل السلسلة بحسب الأسلوب المرغوب لتسهيل استئطاخ لاحق Subsequent cloning أو تلعب Manipulation أو طفرة Mutagenesis أو إعادة ارتباط Recombination أو تعبير Expression لنتائج تفاعل سلسلة البلمرة (Mcpherson & Moller, 2000).

### (2-7): أنواع تفاعل سلسلة البلمرة

#### من أنواع تفاعل سلسلة البلمرة مايلي:

#### (1-2-7): تفاعل سلسلة البلمرة الأعتيادي Conventional-PCR

تستخدم طريقة تفاعل سلسلة البلمرة بصورة رئيسية بعد عزل وتكثير الطفيلي بواسطة زراعة الأنسجة أو عن طريق إجراء إصابات تجريبية في الفئران (Garcia et al., 2006)، تتضمن طريقة تفاعل سلسلة البلمرة الأعتيادي تضخيم كمية الدنا المستخلص عن طريق عدد من الدورات بحيث تزداد كمية الدنا في كل دورة بعد ذلك ترحل هذه الكمية من الدنا خلال هلام الأكاروز ويمكن ملاحظة حزم الدنا المصبوغة بصبغة الأثيديوم بعد فحصها تحت الأشعة فوق البنفسجية (Edvinsson, 2006).

ذكر Burg *et al.* (1989) بأن تقنية تفاعل سلسلة البلمرة قادرة على الكشف المباشر عن الحامض النووي حتى لكائن حي مجهري مفرد في الخلايا المتحللة.

### (2-2-7): تفاعل سلسلة البلمرة من النوع المتداخل Nested-PCR

تستخدم تقنية تفاعل سلسلة البلمرة من النوع المتداخل لحل مشاكل الكشف المرتبطة بعينات الأنسجة التي تحتوي على عدد قليل من نسخ الدنا الهدف الموجود مع الكميات الكبيرة من دنا أنسجة المضيف والتي قد تثبط عمل أنزيم البلمرة DNA-polymerase، تتضمن طريقة العمل النموذجية لهذه التقنية دورتين، تبدأ الدورة الأولى First round للتضخيم باستخدام زوج من البادئات التي يطلق عليها Outer primers وتتضمن هذه الدورة 30-35 دورة بعد ذلك يستخدم ناتج (Product) الدورة الأولى كقالب Template للدورة الثانية Second round باستخدام الزوج الأخر من البادئات والتي يطلق عليها Inner primers، وتعد هذه التقنية هي الأفضل والأكثر نجاح من طريقة التخفيف وإعادة التضخيم باستخدام نفس البادئات (كما يحدث في تقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي)، إذ يعد الزوج الداخلي من البادئات عامل محدد لحساسية وخصوصية الأختبار (Albert & Fenyo, 1990).

يمكن الكشف عن وعزل دنا طفيلي المقوسة الكوندية باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة المتداخل-N PCR (Montoya *et al.*, 2009 ; Jalal *et al.*, 2004).

ذكر Sachse & Frey (2008) بأن تقنية تفاعل سلسلة البلمرة المتداخل تمثل طريقة للتفريق بسبب اختيار البادئات الخارجية Outer primers لمواقع ارتباط في قطعة من الدنا التي قد تكون مشتركة بين مجموعة من الكائنات الحية (العائلة Family، الجنس Genus، الأنواع Species) وموضع البادئات الداخلية في مواقع متخصصة للأنواع في هذه المناطق وتعطي تقنية تفاعل سلسلة البلمرة المتداخل معلومات موثوقة عن وبائية طفيلي المقوسة الكوندية وتصنيفه كذلك تمتاز هذه التقنية بإمكانية إعادة التضخيم لنواتج الدورة الأولى والتي قد تكون غير متخصصة Non-specific بسبب استخدام بادئات مختلفة في الدورة الثانية.

كما إن السلالات المختلفة لطفيلي المقوسة الكوندية يمكن تشخيصها باستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة المتداخل (Howe *et al.*, 2001; Fuentes *et al.*, 2003; Behzadi *et al.*, 2006; Gallego *et al.*, 2006; Messaritakis *et al.*, 2008; Zakimi *et al.*, 1997).

### (2-15): طرق انتقال الإصابة بداء المقوسات Transmission Methods

تختلف طرق انتقال داء المقوسات بين البلدان المختلفة اعتماداً على ثقافة تلك البلدان وعاداتهم في الأكل كما تتغير تبعاً لطبيعة السكن والعمر والمناخ (Buffolano *et al.*, 1996) ومن أهم طرق الانتقال مايلي:

### (2-15-1): الانتقال الفموي Oral Transmission

تلعب القطط البرية والأليفة وبقية السنوريات دوراً مهماً في نقل الإصابة إلى الإنسان باعتبارها المضائف النهائية للطفيلي، إذ إن التلامس مع القطط أو مع برازها الحاوي على أعداد كبيرة من أكياس البيض Oocysts يؤدي إلى تلوث الأيدي بتلك الأكياس (Lass *et al.*, 2009; Isaac-Renton *et al.*, 1998) كذلك قيام النساء وخاصة الحوامل بتنظيف البيوت والأماكن الخاصة بالقطط يعد من العوامل الرئيسية في حدوث الإصابة وانتقال المرض إلى الجنين (Beattie, 1988) إضافة إلى أن أكل اللحوم النيئة أو غير المطبوخة جيداً وخاصة في الدول الأوروبية يكون أحد أسباب الإصابة بداء المقوسات، إذ وجدت بعض الدراسات المسحية في العديد من بلدان العالم أن 30-60% من الإصابات ناتجة عن هذا الطريق (Baghurst, 1999) كما يشكل عدم الاحتراز في استعمال ادوات المطبخ وخاصة السكاكين في تقطيع اللحوم مصدراً من مصادر الإصابة، إضافة إلى عملية تذوق اللحم المصاب أثناء طبخة يعد مصدراً للإصابة بالمرض (Dias *et al.*, 2005) فسي حين لاتعد اللحوم المجمدة تحت درجة 20 - م من العوامل الخطرة، إذ أن التجميد يقتل الأكياس النسيجية كما تقل نسبة الإصابة في اللحوم المملحة (Warnekulasuriya *et al.*, 1998) كذلك تناول الفاكهة والخضروات غير المغسولة جيداً يعد مصدراً للإصابة إضافة إلى التربة والمياه الملوثة بأكياس البيض المطروحة مع براز القطط المصابة بالطفيلي (Vimercati *et al.*, 2000).

### (2-15-2): الانتقال المشيمي Placental Transmission

يحدث داء المقوسات الولادي أو الخلقي Congenital Toxoplasmosis نتيجة لعبور الطفيلي من الأم ذات الإصابة الحادة إلى جنينها عن طريق المشيمة (Gnansia, 2003) مسبباً أضراراً خطيرة في أنسجة الجنين وقد يؤدي إلى حدوث الأجهاض في الحالات الشديدة (Pozio, 2003)، يصل الطفيلي إلى الجنين مشيمياً مسبباً درجات مختلفة من الخطورة اعتماداً على ضراوة الطفيلي والاستجابة المناعية للأم الحامل وفترة الحمل التي أصيبت بها الأم (Lopes *et al.*, 2009) إذ تكون الإصابة أكثر خطورة إذا كانت في الفترة الأولى من الحمل بينما تقل الخطورة إذا حدثت الإصابة في الأشهر الثلاثة الأخيرة من الحمل نظراً لتكامل نمو الجنين في هذه الفترة (Bouhamdan *et al.*, 2010).

### (2-15-3): طرق الانتقال الأخرى Others transmission methods

هنالك طرائق أخرى لأنتقال الإصابة بداء المقوسات إلى الإنسان منها عمليات نقل الدم، إذ سجلت أربعة حالات نتيجة نقل الدم من اشخاص مصابين كذلك تحصل الإصابة عن طريق زراعة الأعضاء

والأنسجة بينما يكون حدوثها نادراً عن طريق الجروح الجلدية (Dubey, 2002)، كما أشارت الكثير من البحوث إلى أن الحليب غير المبستر يعد أحد مصادر انتقال المرض خصوصاً في المناطق الريفية (Powell *et al.*, 2001) إضافة إلى الدور الذي تلعبه الحشرات كالذباب والصراصير في نقل أكياس البيض من براز القطط إلى الطعام أو قد تنتقل بالحوادث المختبرية لدى العاملين في المختبر (Kapperud *et al.*, 1996).

## (2-16): الوقاية والسيطرة Prevention and Control

تكون الوقاية من الإصابة بداء المقوسات من خلال نشر الوعي الصحي والثقافي والتثبيته عن اخطار المرض وخاصة في المناطق التي ينتشر فيها (Yasodhara *et al.*, 2004) والتأكد من طبخ اللحم جيداً بدرجة حرارة 66 م ولمدة 20 دقيقة للقضاء على الأطوار الحية للطفيلي كما يجب غسل اليدين بالماء والصابون بعد ملامسة اللحم أثناء أعدادها للطبخ أو بعد ملامستها لبراز القطط الحاوي على الأطوار البيضية للطفيلي (Studenicova *et al.*, 2006) إضافة إلى بسترة حليب البقر والماعز قبل تناوله وعدم تناول الفواكة والخضار غير المغسولة كما يجب ارتداء القفازات عند العمل في الحدائق أو التماس مع التربة التي قد تكون ملوثة ويجب أن يكون للمؤسسات الصحية دور في مراقبة المطاعم وأماكن إنتاج الغذاء الأخرى للوقاية من الإصابة (Lopez *et al.*, 2000) كما يجب السيطرة على تغذية القطط ومنعها وخصوصاً القطط المنزلية من افتراس نواقل المرض ومعاملة براز القطط بالماء المغلي أو بالفورمالين واليود والتخلص من القطط السائبة ومكافحة الفئران لأنها من أكثر المصادر إصابة بهذا المرض (Monotoya & Remengton, 2008).

كما يجب على المرأة الحامل إجراء الفحوصات وبصورة دورية للتحري عن اضرار الطفيلي IgA, IgM, التي تظهر بعد ايام قليلة من حدوث الإصابة وإعطاء العلاج لغرض الوقاية والتقليل من خطر الإصابة إلى ادنى حد (Dubey & Jones, 2008).

ونظراً للدور الذي تلعبه القطط في إصابة الحيوانات آكلات الأعشاب وخاصة الأغنام لذا يجب إتخاذ الاحتياطات اللازمة لتقليل تلوث المراعي ببراز تلك القطط والحيوانات الأخرى كما يجب عدم استعمال فضلات القطط في السماد العضوي للحدائق (Bowman *et al.*, 2002) إضافة إلى استعمال مبيدات الحشرات للقضاء عليها لأنها تعد نواقل للطفيلي وخاصة الذباب والصراصير (Dubey, 2002).

## (2-17): التلقيح Vaccination



تختلف أهمية اللقاحات المستعملة في تلقيح الإنسان والمضائف الوسطية الأخرى والقطط التي تعد المضيف النهائي للمقوسة الكوندية بمدى أمان اللقاح المستخدم ومن بين أفضل تراكيب اللقاحات المرشحة للاستعمال البشري هو البروتين السطحي للطور سريع التكاثر SAG1 لكونه يحفظ بدرجة كبيرة من سلالات الطفيلي كما أنه يحث على تكوين معدلات عالية من أجسام الضد في البشر ( Li *et al.*, 2011).

مما هو معروف بأن التلقيح ضد الأطوار المختلفة لطفيلي المقوسة الكوندية يهدف إلى تقليل إصابة الإنسان والحيوانات بداء المقوسات (Bout *et al.*, 2002) إذ إن تلقيح المضائف النهائية والوسطية يقلل من معدلات تكوين أكياس النسيج أو إنتاج وطرح أكياس البيض في القطط وهذا يفيد في تقليل تلوث البيئة وبالتالي يساعد في منع انتقال الطفيلي إلى الإنسان والحيوان والذي قد يسبب لهما الولادات المميتة أو الأجهاضات التلقائية (Dlugonska *et al.*, 2007).

بينت الدراسات والبحوث المنجزة إن هنالك خطوات واعدة وخاصة إن مرحلة تصنيع اللقاح وصلت للمستوى الثالث في التجريب Phase III trials (Igarashi *et al.*, 2008).

## Materials and Methods

## 3- المواد وطرائق العمل

### (1-3): طرائق العمل

#### Collection of samples

#### (1-1-3): جمع العينات

#### (1-1-1-3): جمع عينات الطيور والقطط

تم جمع 320 طائر ضمت 80 طائراً لكل نوع من الأنواع التالية: الدجاج المحلي والديك الرومي والبط المحلي والإوز الأريدي، إذ تم شراء الطيور من مناطق مختلفة إضافة إلى الأسواق المحلية التابعة لمحافظة الفرات الأوسط والتي شملت كل من محافظة الديوانية والنجف وبابل وكربلاء وخلال الفترة من شهر حزيران عام 2011 ولغاية شهر آب عام 2013.

اما بالنسبة للقطط فقد تم اصطياد عشرة حيوانات من بعض الاحياء السكنية في محافظة الديوانية بواسطة شباك خاصة عملت لهذا الغرض.

### **Collection of blood samples (1-1-1-1-3): جمع عينات الدم**

سحبت عينات الدم من 320 طائرا من الوريد في المنطقة تحت الجناح أما بالنسبة للقطط تم سحب الدم من القلب مباشرة بواسطة محاقن طبية Syringe حجم 5cc وحسب ما ذكر في (Sturkie, 1965) وبمعدل 3-5 مل ثم قسمت العينة على جزئين، جزء وضع في أنابيب اختبار معقمة خالية من مادة EDTA المانعة للتخثر لإجراء الاختبارات المصلية والجزء الثاني وضع في أنابيب حاوية على مادة EDTA لإجراء اختبار تفاعل سلسلة البلمرة Polymerase Chain Reaction، بعد جمع عينات الدم سجل اسم ورقم الحيوان وتاريخ جمع العينة ثم جلبت الى مختبر الطفيليات في كلية التربية/جامعة القادسية. فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000 دورة/ دقيقة ولمدة 5 دقائق بعدها سحب المصل بواسطة ماصة معقمة ومن ثم وضع في أنابيب معقمة أخرى سجل عليها رقم الطائر وبحسب النوع وتاريخ الفصل وحفظت العينات في درجة حرارة 20- م لحين إجراء الاختبارات المصلية عليها.

### **Collection of soil samples (2-1-1-3): جمع عينات التربة**

تم جمع 100 عينة (500 غرام للعينة الواحدة) من تربة الحدائق المنزلية (تربة رملية وطينية) لعشرة احياء سكنية في محافظة الديوانية التي شملت حي النهضة، حي الوحدة العربية، حي الصدر الاولى، حي الإسكان القديم، حي العروبة، حي الجزائر، حي الفرات، حي الحكيم، حي المتقاعدين، حي الجامعة، وبعمق 10 سم، جلبت العينات إلى مختبر الطفيليات في كلية التربية/ جامعة القادسية بعد تسجيل رقم العينة ومكان وتاريخ الجمع.

### **Samples examination (2-1-3): فحص العينات**

### **Soil samples examination (1-2-1-3): فحص عينات التربة**

فحصت العينات بطريقتين:

### **Sedimentation method (1-1-2-1-3): طريقة الترسيب**

اتبعت طريقة (Dubey et al. (1972) المحورة التي تضمنت أخذ 250 غرام من كل عينة ووضعت في بيكر زجاجي سعة 1000 مل وعلقت العينات بـ750 مل من الماء المقطر لكل عينة ثم رشح العالق بواسطة عدة طبقات من الشاش لإزالة المواد الخشنة منه بعد ذلك جمع الراشح ووزع على أنابيب

اختبار سعة 5 مل ثم طردت الأنابيب بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 5 دقائق، جمع الراسب في دورق زجاجي سعة 1000 مل وعلق في 100 مل من المحلول السكري (1.150sp.gr) ثم وزع العالق على أنابيب اختبار وطرقت مرة أخرى بسرعة 1000 دورة/ دقيقة لمدة 5 دقائق، ثم أخذ 25 مل من الطافي الكلي وخفف بالماء خمسة مرات ثم وزع مرة أخرى على أنابيب الاختبار وطرقت بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 5 دقائق، أخذ الراسب وفحص بوضع قطرة من الراسب على شريحة زجاجية ووضع فوقها غطاء الشريحة، ثم فحصت تحت المجهر للتحري عن أكياس بيض طفيلي المقوسة الكونديية باستخدام قوة التكبير 40X.

### (2-1-2-1-3): طريقة التطويق وتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي

#### Flotation Method and Polymerase Chain Reaction

اتبعت طريقة (2005) Mizgajska-Wiktor التي تضمنت أخذ 250 غرام المتبقية من كل عينه، جففت العينات بدرجة حرارة الغرفة لمدة يومين ثم نخلت التربة بواسطة مناخل ذات فتحات بلغت 4.75mm ، بعد ذلك تم أخذ 40 غرام من التربة المجففة، لغرض تركيز أكياس بيض الطفيلي في العينات استخدمت طريقة التطويق باستخدام محلول نترات الصوديوم المشبع ( $\text{NaNO}_3$ ) ذي الكثافة  $1.282 \text{ g / cm}^3$ ، وضعت عينة التربة في دورق زجاجي سعة 2000 مل ثم أضيف إليها 100 مل من محلول NaOH بتركيز 5% وخلط المزيج بواسطة الهزاز Shaker لمدة 20 دقيقة ثم وزعت العينات على أنابيب اختبار بلاستيكية سعة 5 مل، طردت الأنابيب بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/ دقيقة لمدة 3 دقائق بعد ذلك أزيل الطافي وأخذت الحبيبات المترسبة Pellets وغسلت بالماء المقطر ثم طردت مرة أخرى بالسرعة والمدة الزمنية المذكورتين سابقاً، علقت الحبيبات المترسبة في محلول نترات الصوديوم المشبع ومزج الخليط جيداً ثم طردت الأنابيب مرة أخرى وبنفس السرعة والمدة الزمنية المذكورتين اعلاه ثم أضيفت كمية أخرى من محلول نترات الصوديوم المشبع حتى وصل إلى فوهة الأنبوية، غطيت فوهات الأنابيب بواسطة غطاء الشريحة Cover slid لمدة 15 دقيقة بعدها أخذت أغطية الشرائح وغسلت بالماء المقطر وجمع ماء الغسيل بأنابيب Eppendorff سعة 1.5 مل ( وقبل غسل أغطية الشرائح، أخذت كمية قليلة بحجم رأس عود الثقاب من عالق غطاء الشريحة بواسطة عيدان خشبية Sticks ووضعت على شريحة زجاجية ثم وضع غطاء الشريحة عليها وفحصت تحت المجهر للكشف عن أكياس بيض طفيلي المقوسة الكونديية بطريقة التطويق باستخدام قوة التكبير (10X) ، في حين حفظت أنابيب Eppendorff بدرجة حرارة 20- م لحين استخلاص الدنا DNA Extraction منها .

#### Diagnosis Methods

#### (3-1-3): طرائق التشخيص

#### Latex Agglutination Test

#### (1-3-1-3): اختبار تلازن اللاتكس

### (1-1-3-1-3) العينات Samples

استخدمت عينات المصل المفصولة سابقاً والمجمدة بدرجة 20- م وتركت بعد استخراجها من الثلاجة لحين الوصول إلى درجة حرارة الغرفة .  
وبحسب الطريقة الموصوفة من قبل (1973) Jacobs تحفظ عدة الاختبار مبردة بدرجة 2-8 م لحين الاستعمال كما مبين في الملحق (28).

### (2-1-3-1-3) طريقة الاختبار Test Procedure

- 1- تم إخراج عدة الاختبار المبردة والمصل المجمد من الثلاجة وترك لحين الوصول إلى درجة حرارة الغرفة.
- 2- وضع 50 مايكروليتر من المحلول الفسلجي على الحقول السوداء (1-6) للشريحة.
- 3- وضع 50 مايكروليتر من نموذج المصل المراد فحصه على الحقول من 1-6 باستخدام الماصة الأوتوماتيكية Micropipette .
- 4- خلط المزيج جيداً بالماصة نفسها وتم نقل 50 مايكروليتر من المصل المخفف من الحقل رقم 1 إلى الحقل رقم 2 ومنه إلى الحقل رقم 3 وهكذا حتى نهاية الحقل رقم 6 ثم سحب 50 مايكروليتر من الحقل الأخير ورمي.
- 5- رجت قنينة الكاشف وأضيف 50 مايكروليتر إلى الحقول من 1-6 .
- 6- مزجت القطرات بواسطة العيدان الخشبية المجهزة مع عدة الاختبار.
- 7- في حالة وجود حالات موجبة للاختبار يلاحظ حصول تجلط Agglutination في الحقول وبحسب التخفيف الموضحة في الجدول التالي:

### الجدول (1-3): يبين التخفيف المستخدمة لمعرفة معيارية الأجسام المضادة في عينات المصل.

الحقل	1	2	3	4	5	6
التخفيف	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640

### (2-3-1-3): اختبار الكاسيت السريع (Toxo- Rapid Test Cassette IgG/IgM)

### **Samples العينات (1-2-3-1-3)**

استخدم المصل المفصول سابقاً والمجمد بدرجة حرارة 20- م والمتبقي بعد إجراء اختبار تلازن اللاتكس حيث استخرجت العينات وتركت لحين الوصول إلى درجة حرارة الغرفة.

### **Test Procedure طريقة الاختبار (2-2-3-1-3)**

- 1- تم إخراج عينات المصل المجمدة وتركت لحين الوصول إلى درجة حرارة الغرفة ويجب رج عينة المصل برفق قبل استخدامها.
- 2- استخرجت أداة الاختبار Device test من غلافها ووضعت في مكان مستو ونظيف.
- 3- تم تسجيل رقم العينة ID المراد فحصها على الأداة.
- 4- تملأ القطارة البلاستيكية الموجودة مع عدة الاختبار (ملحق 29) بـ 60-90 مايكروليتر (2-3) قطرات من المصل مع تجنب وجود فقاعة هوائية أثناء سحب المصل ويوضع المصل بشكل عمودي في الحفرة الموجودة في الأداة.
- 5- بعد ذلك يتم وضع 60-90 مايكروليتر من عينة التخفيف في حفرة الأداة أيضاً.
- 6- تقرأ النتيجة خلال 15 دقيقة من وضع المكونات في الحفرة.

### **Polymerase Chain Reaction(PCR) اختبار تفاعل سلسلة البلمرة (3-3-1-3)**

تم إجراء هذا الاختبار باستخدام العدد الخاصة به والمجهزة من قبل شركة BIONEER ويعتمد هذا الاختبار على ثلاث مراحل:

- 1- استخراج Extraction الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA من العينات وتضمن مايلي:
  - A- الاستخلاص من عينات الدم.
  - B- الاستخلاص من عينات الانسجة.
  - C- الاستخلاص من عينات التربة.
- 2- تضاعف Amplification الحامض النووي منقوص الاوكسجين باستخدام البادئات Primers الخاصة بطفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii*
- 3- تحديد نتائج التضاعف على هلام الأكاروز.

## A- الاستخلاص من عينات الدم Extraction from blood samples

تم استخلاص الحامض النووي منقوص الأوكسجين من عينات الدم باستخدام العدة الخاصة لهذا الغرض والمصنعة من قبل شركة BIONEER وبحسب طريقة العمل المرفقة مع العدة المبينه في الملحق (30) وكما يلي :

- 1- أخذ 1 مل من الدم في أنبوبة اختبار تحتوي على مانع التخثر (EDTA-K3).
- 2- نقل 300 مايكروليتر من الدم إلى أنبوبة دقيقة Eppendorff tube بحجم 1.5 مل بعد ذلك أضيفت ثلاثة أحجام (3X) من المحلول الدائري المحلل لكريات الدم الحمراء RBC Lysis Buffer ومزج الخليط جيداً بواسطة التقليب.
- 3- حضنت الأنابيب لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة.
- 4- وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي المبرد Cooling Centrifuge ودورت بسرعة-14000 16000 دورة / دقيقة ولمدة 5 دقائق ثم بعدها تم إزالة السائل الطافي Supernatant.
- 5- أضيف 100 مايكروليتر من محلول RBC Lysis Buffer .
- 6- أضيف 200 مايكروليتر من محلول GB Buffer إلى الأنابيب نفسها لتحليل الخلايا وتحطيم البروتين ومزج الخليط بواسطة الرج الشديد.
- 7- حضنت الأنابيب في حمام مائي بدرجة حرارة 60 م لمدة 10 دقائق وتم تقليب الأنابيب كل ثلاث دقائق.
- 8- أضيف 200 مايكروليتر من الكحول الأيثيلي المطلق إلى جميع العينات ومزج بالرج الشديد بواسطة المازج الدوار Vortex لمدة 10 ثوان.
- 9- تم استخدام أنابيب جمع صغيرة Collection tubes بحجم 2 مل وضعت بداخلها أنابيب صغيرة Columns حاوية على مرشح Filter خاص بالحامض النووي (مجهز مع العدة)، نقل المزيج إلى تلك الأنابيب ووضعت في جهاز الطرد المركزي المبرد ودورت بسرعة 14,000-16,000 دورة / دقيقة ولمدة 5 دقائق.
- 10- نقلت الأنابيب الصغيرة Columns والحاوية على الحامض النووي إلى أنابيب جمع أخرى بحجم 2 مل وتم التخلص من الأنابيب القديمة الحاوية على الراشح.
- 11- أضيف 400 مايكروليتر من المحلول الدائري (W1Buffer) إلى جميع العينات ووضعت في جهاز الطرد المركزي المبرد وطردت بسرعة 14000 دورة / دقيقة لمدة 30 ثانية.
- 12- تم التخلص من الراشح وأضيف 600 مايكروليتر من محلول الغسل Washing Buffer ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة / دقيقة لمدة 30 ثانية.
- 13- تم التخلص من الراشح ووضعت جميع الأنابيب الصغيرة الحاوية على الحامض النووي في أنابيب Eppendorff جديدة بحجم 1.5 مل.

14- أخيراً أضيف 100 مايكروليتر من محلول الإذابة Elution Buffer لغرض ترشيح الحامض النووي العالق بالمرشح والحفاظ عليه .

15- تركت الأنابيب في درجة حرارة الغرفة لكي يجف المرشح Filter لمدة خمس دقائق.

16- وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي بسرعة 14000 دورة / دقيقة ولمدة 30 ثانية وبعدها تم التخلص من الأنابيب الصغيرة Columns وحفظ محلول الحامض النووي بدرجة حرارة 20- م لحين الاستعمال.

### B- الاستخلاص من عينات الأنسجة Extraction from tissue samples

بعد أن تم ترشيح الطيور والقطط التي أعطيت نتيجة موجبة لاختبار الكاسيت السريع Rapid Test cassette وخاصة الحالات المزمنة للإصابة (IgG, IgG + IgM)، أخذت قطع من أنسجة القلب Heart والكبد liver والطحال Spleen والعضلات الصدرية Pectoral muscles والعين Eye والدماغ Brain والامعاء الدقيقة Small intestine والرئة Lung والكلية Kidney وعضلات الساق Leg قسمت قطع الأنسجة على جزئين، جزء وضع في محلول الفورمالين بتركيز 10% لغرض التثبيت Fixation ودراسة التغيرات المرضية النسجية Histopathological changes، أما الجزء الثاني فاستعمل لاستخلاص الحامض النووي المنقوص الأوكسجين من تلك الأنسجة وبحسب الطريقة الموصوفة في عدة الاختبار المجهزة من شركة BIONEER والموضحة في الملحق (31) وكالاتي:

1- تم أخذ 30 ملغم من الأنسجة ونقلت إلى أنابيب Eppendorff tubes بحجم 1.5 مل وفي حالة الطحال والكبد يختزل الحجم إلى 10 ملغم.

2- سحق الأنسجة التي وضعت في الأنابيب بواسطة عيدان السحق Micro pestle المجهزة مع العدة.

3- أضيف 200 مايكروليتر من محلول GT المنظم إلى محتويات الأنابيب واستمرت عملية السحق إلى أن تجانست العينات.

4- أضيف 20 مايكروليتر من Proteinase k إلى المحتويات ومزجت بواسطة المازج الدوار Vortex 5 - حضنت الأنابيب في حمام مائي بدرجة 60 م لمدة 30 دقيقة حتى تتحلل العينات وخلال الحضانة تقلب الأنابيب كل 5 دقائق.

6- أضيف 200 مايكروليتر من محلول GBT المنظم ومزجت العينات بواسطة المازج الدوار لمدة 5 ثوان، ثم حضنت الأنابيب بدرجة 60 م لمدة 20 دقيقة للتأكد من تحلل العينات، قلبت الأنابيب خلال الحضانة كل 5 دقائق وفي هذا الوقت تم تحضير محلول Elution Buffer (200µl/sample) ثم حضنت هذا المحلول بدرجة 60 م لحين استخدامه في الخطوة 18 .

- 7- أضيف 200 مايكروليتر من كحول الأيثانول المطلق لمحتويات الأنابيب ومزجت المحتويات بواسطة المازج الدوار لمدة 10 ثواني .
- 8- وضعت الأنابيب الصغيرة Columns الحاوية على مرشح Filter في أنابيب الجمع Collection tubes حجم 2 مل.
- 9- نقل الخليط بأكمله وبضمنه الراسب إلى الأنابيب الصغيرة الحاوية على المرشح.
- 10- أدخلت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي المبرد وطرقت بسرعة 14,000-16,000 دورة بالدقيقة ولمدة دقيقتان.
- 11- نقلت الأنابيب الصغيرة Columns والحوية على الحامض النووي إلى أنابيب أخرى بحجم 2 مل وتم التخلص من الأنابيب القديمة الحاوية على الراشح.
- 12- ثم أضيف 400 مايكروليتر من محلول W1 المنظم إلى الأنابيب الصغيرة.
- 13- طردت الأنابيب بجهاز الطرد المركزي المبرد بسرعة 14,000-16,000 دورة /دقيقة لمدة 30 ثانية رمي السائل المترشح في الأنبوبة وأعيدت الأنابيب الصغيرة الحاوية على المرشح إلى الأنابيب القديمة.
- 14- أضيف 600 مايكروليتر من محلول الغسل المنظم Wash Buffer المضاف إليه الإيثانول إلى الأنابيب الصغيرة.
- 15- طردت الأنابيب بسرعة 14,000-16,000 دورة/ دقيقة لمدة 30 ثانية ورمي السائل المترشح وأعيدت الأنابيب الصغيرة إلى أنابيب الجمع القديمة.
- 16- ثم طردت الأنابيب بسرعة 14,000-16,000 دورة / دقيقة ولمدة 3 دقائق لكي تجف الأنابيب الحاوية على المرشح.
- 17- نقلت الأنابيب الصغيرة المجففة إلى أنابيب Eppendorff tubes بحجم 1.5 مل جديدة ونظيفة.
- 18- أضيف 100-50 مايكروليتر من محلول Elution Buffer إلى الأنابيب الحاوية على المرشح.
- 19- تركت الأنابيب ثابتة لمدة لا تقل عن 5 دقائق للتأكد من امتصاص محلول Elution Buffer من قبل المرشح.
- 20- بعد ذلك طردت الأنابيب بسرعة 14,000-16,000 دورة / دقيقة لمدة 30 ثانية لتركيز الDNA ونزوله في أنبوبة Eppendorff tube بعد ذلك حفظ محلول الحامض النووي بدرجة حرارة 20- م لحين الاستعمال.



- تم استخلاص الحامض النووي حسب الطريقة المذكورة في (Junji *et al.*, 2004) وكمايلي:
- 1- استخرجت أنابيب Eppendroff المجمدة وتركت لحين إذابتها ثم طردت الأنابيب بسرعة 14000-16000 دورة / دقيقة لمدة 5 دقائق.
  - 2- أضيف 100 مايكروليتر من محلول TE buffer الحاوي على 1.5% من SDS و1% من PVP إلى الأنابيب للتخلص من المثبطات الموجودة في عينات التربة.
  - 3- تركت الأنابيب مستقرة لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة.
  - 4- أضيف 200 مايكروليتر من محلول Phenol-Chloroform إلى الأنابيب ثم طردت بسرعة 14000-16000 دورة/ دقيقة لمدة 30 ثانية.
  - 5- أضيف 200 مايكروليتر من كحول Isopropyl إلى الأنابيب ثم طردت الأنابيب بسرعة 14000-16000 دورة / الدقيقة لمدة 30 ثانية ثم سكب الطافي Supernatant وتركت الحبيبات المترسبة Pellets .
  - 6- أضيف كحول الإيثانول (80%) إلى الأنابيب ثم طردت بسرعة 14000-16000 دورة/ دقيقة لمدة 30 ثانية.
  - 7- سكب الطافي وتركت الأنابيب الحاوية على ال Pellets في درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق.
  - 8- أضيف 8 مايكروليتر من الماء الخالي من أنزيم النيوكليز Ionized distal water إلى الأنابيب بعد ذلك حفظت الأنابيب بدرجة 20- م لحين الاستخدام.
- وبعد أن تم الاستخلاص من جميع العينات تم تفاعل السلسلة البلمرة باستخدام بادئات متخصصة Specific primers حيث استخدم زوج من البادئات Pairs of primers الخاصة بالجين التشخيصي B1 (399bp) الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية بالنسبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي -Conventional PCR أما بالنسبة لتفاعل سلسلة البلمرة المتداخل Nested-PCR فاستخدم فيه زوجان من البادئات Two pairs primers وجميع البادئات تم تصميمها باستخدام (NCB1 Gene-Bank , No.AF179871.1) وكما موضح تتابعها Primer3 وجهزت من قبل شركة (BIONEER Company, Korea) وكما موضح تتابعها النيوكلوئيدي في الجدول (2-3) و(3-6) ويتكون خليط التفاعل من مايلي:
- 1- إنزيم البلمرة Taq polymerase.
  - 2- خليط من القواعد النتروجينية الاربع dNTPs mixture.
  - 3- محلول ال PCR المنظم (10X).
  - 4- كلوريد المغنيسيوم MgCl<sub>2</sub>.
  - 5- ماء خالي من إنزيم النيوكليز H<sub>2</sub>O free nuclease.
  - 6- DNA template.
- (المكونات من 1-5 تكون موجودة بشكل جاهز في أنبوبة ال PCR Mix Tube المجهز مع العدة).

**الجدول (2-3): التتابع النيوكلوטיدي المفرد للقواعد النتروجينية للبادئات Primers وحجم ناتج تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional PCR**

حجم الناتج product(bp)size	تتابع القواعد النتروجينية Sequence	البادئات Primers
399bp	5 <sup>-</sup> -GAACCACCAAAAATCGGAGA-3 <sup>-</sup>	Forward primer
	5 <sup>-</sup> -GATCCTTTTGCACGGTTGTT-3 <sup>-</sup>	Reverse primer

**(1-3-3-1-3): طريقة اختبار تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Test Producer of conventional PCR**

حُضر مزيج التفاعل باستخدام عدة الـ Accu Power-PCR Premix المجهزة من قبل شركة الـ BIONEER الكورية وحسب تعليمات الشركة وكالاتي:  
 1- استخدمت أنابيب الاختبار الخاصة باختبار تفاعل سلسلة البلمرة التي تدعى PCR Mix Tubes (والمجهزة مع عدة الاختبار) والحاوية على مكونات تفاعل سلسلة البلمرة وضيفت المكونات الأخرى لمزيج التفاعل وكما في الجدول (3-3):

**الجدول (3-3): مكونات خليط تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional PCR.**

PCR Master mix		Master Mix Volume (µl)
DNA template		5 µl
Primers	F.Primer	1.5 µl
	R.Primer	1.5 µl
PCR water		12 µl
Total		20 µl

2- بعد أكمل تحضير مزيج التفاعل تم غلق الأنابيب ومزجت بعناية بجهاز المازج Vortex لمدة خمس ثوان.

3- نقلت جميع أنابيب اختبار الـ PCR الحاوية على مزيج التفاعل ووضعت في جهاز الـ Thermal cycler وتم إجراء التفاعل وبحسب خطوات البرنامج التالية والمبينة مع عدة الاختبار:

- a- دورة واحدة بدرجة حرارة 95 م لمدة 5 دقائق لغرض المسخ الابتدائي Initial denaturation .
- b- ثم 42 دورة بدرجة حرارة 95 م لمدة خمسة عشرة ثانية و65 م لمدة خمس وعشرون ثانية ثم 72 م لمدة خمس وعشرون ثانية أيضا وأخيرا 72 دورة لمدة دقيقة واحدة لإعطاء الناتج النهائي كما موضح في الجدول (4-3) .

c - تعد العينة موجبة عند ظهور الحزمة (399bp) المتخصصة بالجين B1 الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii* بالنسبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

### (2-3-3-1-3): برنامج تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional-PCR Program

يخضع خليط التفاعل داخل جهاز ال Thermal cyler الى الظروف المبينة في البرنامج الموضح في الجدول (4-3).

### الجدول(4-3): برنامج تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional PCR لتضخيم الجين B1 الخاص بطفيلي المقوسة. *T.gondii*.

Steps	Temperature(C°)	Time	Cycle
Initial denaturation	95	5 min.	1
Denaturation	95	15 sec.	42
Annealing	65	25 sec.	
Extension	72	25 sec.	
Final extension	72	1 min.	1

### (3-3-3-1-3): طريقة اختبار تفاعل سلسلة البلمرة من النوع المتداخل Test procedure of N-PCR

تضمن تفاعل سلسلة البلمرة من النوع المتداخل دورتين هما:

#### 1-الدورة الأولى First round

يحدث في هذه الدورة تفاعل لتضخيم قطعة البادئة 580bp للجين B1 الخاص بطفيلي المقوسة، يكون حجم خليط التفاعل في هذه الدورة 20 مايكروليتر ويتكون الخليط مما يأتي:  
 -a H<sub>2</sub>O . -b PCR buffer . -c MgCl<sub>2</sub> . -d dNTPs mix .  
 -e Forward and Reverse primers . -f Taq polymerase -g DNA template .

بعد ذلك مزجت المكونات أعلاه بواسطة المازج الدوار ووضعت في جهاز ال Thermal )PCR (cyler). كما في الجدول (5-3).

### الجدول(5-3): مكونات خليط تفاعل سلسلة البلمرة من النوع المتداخل Nested-PCR.

N-PCR master mix	Master Mix Volume (µl)
------------------	------------------------

PCR product(template)		10 µl
Nested-PCR	F.Primer	1.5 µl
	R.Primer	1.5 µl
	PCR water	7 µl
Total volume		20 µl/sample

## 2-الدورة الثانية Second round

في هذه الدورة يتم تضخيم قطعة البادئة 531 للجين B1، حيث تم أخذ 10 مايكروليتر من ناتج (Product) الدورة الأولى كقالب Template لتفاعل الخطوة الثانية ومن العينات التي أظهرت إيجابيه للتفاعل الأول فقط أما بالنسبة لحجم ومكونات التفاعل هي نفسها في الدورة الأولى ماعدا البادئات إذ أستخدم في هذه الخطوة الـ Inner primers ثم وضعت العينات في جهاز الـ Thermal cycler.

### الجدول (6-3): التتابع النيوكليوتيدي المفرد للقواعد النتروجينية للبادئات Primers وحجم ناتج تفاعل سلسلة البلمرة المتداخلة Nested-PCR.

حجم الناتج (bp)	تتابع القواعد النتروجينية DNA Sequence	بادئات Primers	
580bp	5 <sup>-</sup> - TGT TCT GTC CTA TCG CAA CG-3 <sup>-</sup>	F	Outer
	5 <sup>-</sup> - ACG GAT GCA GTT CCT TTC TG-3 <sup>-</sup>	R	
531bp	5 <sup>-</sup> - TCT TCC CAG ACG TGG ATT TC-3 <sup>-</sup>	F	Inner
	5 <sup>-</sup> - CTC GAC AAT ACG CTG CTT GA-3 <sup>-</sup>	R	

### (4-3-3-1-3): برنامج تفاعل سلسلة البلمرة من النوع المتداخل N-PCR

يخضع خليط التفاعل داخل جهاز الـ Thermal cycler إلى الظروف program

المبينة في البرنامج المبين في الجدول (7-3).

### الجدول (7-3): برنامج الدورة الأولى والثانية لتفاعل Nested-PCR لتضخيم جين B1 الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية.

Steps	Temperature	Time	Number of cycle
Initial denaturation	94	2 min.	1
Denaturation	93	10 sec.	40
Annealing	57(65)*	10 sec.	

Extension	72	30 sec.	
Final extension	72	5 min.	1

\*درجة الحرارة اللازمة لالتصاق البادنة في الدورة الثانية من التفاعل.

### (5-3-3-1-3): تحضير هلام الأكاروز Preparation of Agarose-gel

حضر هلام الأكاروز بحسب الطريقة الموصوفة من قبل Sambrook *et al.* (1989) وذلك بإذابة 1.5 غرام من مسحوق الأكاروز في 100 مل من محلول الترحيل TBE على صفيحة حرارية Hot plate عند درجة حرارة 100م ثم أضيفت اليه صبغة الاثيديوم برومايد المشعة (0.3 مايكروليتر/100مل) بعد أن برد الهلام إلى درجة حرارة 50 م.

### (6-3-3-1-3): تحضير صفيحة الإسناد Preparation of Tray

بعد أن برد هلام الأكاروز إلى درجة حرارة 50 م، صب الهلام في صفيحة الإسناد بعد أن تم تثبيت مشط التنقيب (Comb) على بعد 1 سم من الحافة الأمامية للصفيحة ترك الهلام ليتصلب لمدة 20 دقيقة بعدها رفع المشط بحذر تاركاً الحفر Wells في الهلام التي سوف يتم فيه تحميل عينات الـ DNA المستخلص .

### (7-3-3-1-3): تحميل عينات DNA Loading of DNA Samples

تم تحميل عينات الـ DNA المستخلص كمايلي:

- 1- أخرجت العينات من جهاز الـ Thermal cycler.
- 2- أخذ 10 مايكروليتر من كل عينة من العينات ونزلت كل عينة بحذر داخل الحفرة في هلام الاكاروز المتصلب ابتداء من الحفرة رقم 2، أما الحفرة رقم 1 فتم تحميلها بـ 8 مايكروليتر محلول الـ Ladder والمجهز مع عدة الاختبار من قبل شركة BIONEER.
- 3- غمر هلام الاكاروز تماما بمحلول الترحيل TBE ثم أدخلت الصفيحة Tray في خلية الترحيل الكهربائي.

### (8-3-3-1-3): الترحيل الكهربائي Electrophoresis

استخدم جهاز القدرة الكهربائي Power Supplier لتجهيز خلية الترحيل الكهربائي بفرق جهد 40 فولت لمدة 1-3 ساعة عند درجة حرارة الغرفة وبعد اكتمال الوقت استخدم جهاز UV-Transilluminator كمصدر للأشعة فوق البنفسجية بطول موجي 256 نانوميتر لفحص مواقع حزم الدنا الكروموسومي

والبلازميدي ( Mary, 1998; Struelenset *al.*, 1992 ) وبعد ذلك تم تصوير النتائج باستخدام كاميرا من نوع Sony.

### Measurement of Sensitivity & الخصومية والخاصية (9-3-3-1-3)

Specificity نظراً لأهمية قياس حساسية الاختبارات وخصوصيتها تم إجراء الحسابات الخاصة

بذلك وكما يلي:

1- الحساسية Sensitivity

هي احتمالية أن يكون الفحص موجب Positive عندما تكون الإصابة موجودة.

2- الخصومية Specificity

هي احتمالية أن يكون الفحص سالباً Negative عندما تكون الإصابة غير موجودة ويمكن حساب الحساسية والخصومية كما يلي:

عدد الحالات الموجبة الحقيقية (TP)

الحساسية =  $100x \frac{\text{عدد الحالات الموجبة الحقيقية (TP)}}{\text{عدد الحالات الموجبة الحقيقية (TP) + عدد الحالات السالبة الكاذبة (FN)}}$

عدد الحالات السالبة الحقيقية (TN)

عدد الحالات السالبة الحقيقية (TN)

الخصومية =  $100x \frac{\text{عدد الحالات السالبة الحقيقية (TN)}}{\text{عدد الحالات السالبة الحقيقية (TN) + عدد الحالات الموجبة الكاذبة (FP)}}$

عدد الحالات السالبة الحقيقية (TN)

حيث أن:

TP= True Positive  
TN = True Negative  
FP = False Positive  
FN = False Negative  
(Meredith *et al.*, 1995).

### **Histopatological changes دراسة التغيرات المرضية النسجية (10-3-3-1-3) study**

درست التغيرات المرضية النسجية باستعمال الشرائح النسيجية التي حضرت بحسب الطريقة المقطعية Sectioning التي وصفت من قبل (Bancroft & Stevens, 1982).

#### **1- خطوات تحضير الشرائح النسجية The preparation of histological slides**

##### **A- الغسل Washing**

تضمن استخراج النماذج من المحلول المثبت (الفورمالين 10%) وغسلها بالكحول الأثيلي ذي تركيز 70% لإزالة المثبت.

##### **B- الأنكاز والترويق Clearing & Dehydration**

تم سحب الماء من النماذج بإمراره بسلسلة تصاعديه من الكحول الأثيلي 70%, 80%, 90%, 95%, (50% مطلق) ولمدة ساعتين في كل تركيز وتم الترويق بالزيلين لمدة 2-3 ساعة.

##### **C- التشريب Impregnation**

استعمل شمع البارافين Paraffin Wax بدرجة انصهار 58م وتضمنت هذه العملية وضع النماذج بخليط من الزيولين والشمع المنصهر بنسبة 1:1 لمدة نصف ساعة وبعدها تم تشريب النماذج بوضعها في شمع منصهر لمدة نصف ساعة وبعدها تغيرات لضمان تشرب العينة بشمع البارافين بصورة تامة.

#### D- الطمر Embedding

تم عمل قوالب من الشمع حاوية على نماذج من العينات المثبتة وذلك من خلال صب الشمع المنصهر في قوالب بلاستيكية خاصة وطمرت العينات فيها وتركها لحين تصلب الشمع ثم فصلها من القوالب وحفظها في مكان بارد لحين تقطيعها.

#### E- التشذيب Trimming

شدبت قوالب العينات باستعمال شفرة حادة للتخلص من الشمع الزائد، بعد ذلك ثبتت على قاعدة جهاز المشراح الدوار Rotaring Microtome وتم تقطيع النماذج بسمك 5 مايكرون، حملت المقاطع على شرائح زجاجية بعد إجراء عملية الفرش ثم وضعت الشرائح على الصفيحة الساخنة Hotplate بدرجة حرارة 40-53 م لأجل فرش النسيج وتجفيفه وإذابة الشمع.

#### F- التصبغ والتحميل Staining & Mounting

من اجل الحصول على شرائح نسيجية مصبوغة لايد من التخلص من الشمع بوصفة مادة سائدة إذ وضعت الشرائح المحملة والحاوية على نماذج العينات في الزيولين لمدة عشر دقائق ثم مررت بتراكيز تنازليه من الكحول الأيثلي (مطلق، 90%، 80%، 70%، 50%) ولمدة دقيقتين في كل تركيز ثم صبغت بصبغة الهيماتوكسلين لمدة دقيقة واحدة ثم غسلت بماء الحنفية لمدة خمس دقائق ثم صبغت بصبغة الأيوسين لمدة دقيقة واحدة ووضعت في الكحول الحامضي غطسة واحدة بعدها نقلت إلى سلسلة تصاعدية من تراكيز الكحول الأيثلي (50%، 70%، 80%، 90%، 95% مطلق) ولمدة دقيقتين لكل تركيز وبعدها تم ترويقه بالزيولين مدة عشر دقائق ثم تم تحميلها باستعمال المادة اللاصقة بلسم كندا Canada balsam لغرض تثبيتها بشكل نهائي بعد وضع غطاء الشريحة Cover slid ووضع الشرائح على الصفيحة الساخنة لتجف وتكون جاهزة للفحص المجهرى.

فحصت الشرائح الزجاجية باستعمال المجهر الضوئي المركب وقد تم التقاط صور فوتوغرافية للمقاطع النسيجية باستعمال كاميرا من نوع Sony.

#### (4-3): التحليل الإحصائي Statistical analysis



تم تحليل البيانات باستعمال البرنامج الاحصائي (SPSS version 10.5 software) حيث استخدم اختبار مربع كاي X<sup>2</sup>-Square لتحديد الفروقات المعنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  وحسب ما ذكر في (Niazi, 2001).

## Results

## 4-النتائج

### Immunological Detection

### (1-4):الكشف المناعي

(1-1-4):الكشف عن داء المقوسات في الطيور المشمولة بالدراسة باستخدام اختبار تلازن الالاتكس.

ويشمل نوعين من الاختبارات:

### Qualitative Immunological Detection

### A-الكشف المناعي النوعي

أظهرت نتائج الكشف المناعي النوعي عن داء المقوسات في اربع أنواع من الطيور والتي شملت الدجاج المحلي والديك الرومي والأوز الأريدي والبط المحلي في منطقة الفرات الأوسط بأن عدد العينات الموجبة للاختبار كانت 96 عينة من مجموع 320 عينة مفحوصه (80 عينة لكل نوع من الطيور) وبنسبة إصابة بلغت 30%، ضمت 31 عينة موجبة من الدجاج المحلي بنسبة إصابة 38.75 % و28 عينة موجبة من الديك الرومي وبنسبة 35% و22 عينة موجبة من طيور الإوز وبنسبة 27.5% و15 عينة موجبة من طيور البط المحلي وبنسبة إصابة بلغت 18.75% ويلاحظ من نتائج هذا الاختبار بأن أعلى نسبة إصابة كانت في الدجاج المحلي بلغت 38.75% بواقع 31 عينة موجبة واقلها في البط المحلي اذ بلغت 18.75% وأشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود فروق معنوية في نسبة الإصابة في البط المحلي مقارنة مع بقية الأنواع الأخرى من الطيور تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  وكما موضح في الجدول (1-4) والملحق (5).

**الجدول (1-4) أعداد ونسب الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii* في الطيور المشمولة بالدراسة باستخدام اختبار تلازن اللاتكس.**

نوع العينة	العدد الكلي	عدد العينات الموجبة (%)	عدد العينات السالبة (%)
الدجاج المحلي	80	31 (38.75) A	49 (61.25)
الديك الرومي	80	28 (35) A	52 (65)
الاوز الأربيد	80	22 (27.5)A	58 (72.5)
البط المحلي	80	15 (18.75)BC	65 (81.25)
المجموع	320	96 (30)	224 (70)

تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة الى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$ . كما تشير الحروف الكبيرة Capital letters الى ان القراءة الإحصائية عمودية.

**B- الكشف المناعي الكمي Quantative Immunological Detection**

أشارت نتائج الكشف المناعي الكمي لمعيارية الأجسام المضادة في عينات مصول الطيور المشمولة بالدراسة إلى أن أعلى نسبة للأجسام المضادة لطفيلي المقوسة الكوندية قد بلغت 23.95% بواقع 23 عينة موجبة في المعيارية 1/160 في حين كانت أقل نسبة للأجسام المضادة 3.73% بواقع 4 عينات في المعيارية 1/640، أما بالنسبة لأنواع الطيور فقد لوحظ في الدجاج المحلي كانت أعلى نسبة لتواجد الأجسام المضادة 25.81% بواقع 8 عينات في المعيارية 1/80 في حين كانت أقل نسبة 6.45% بواقع عينتان في المعيارية 1/640 أما في الديك الرومي بلغت أعلى نسبة للأجسام المضادة 32.14% بواقع 9 عينات في المعيارية 1/20 وأقل نسبة 7.14% بواقع عينتان في كلا من المعياريتين 1/320، 1/640 وفي طيور الاوز سجلت أعلى نسبة للأجسام المضادة لطفيلي المقوسة الكوندية في المعيارية 1/320 بلغت 36.36% بواقع 8 عينات أما أقل نسبه بلغت 4.54% بواقع عينة واحدة في المعيارية 1/40 في حين سجلت أعلى نسبة للأجسام المضادة في مصول طيور البط المحلي في المعيارية 1/160 وبلغت 40% بواقع 6 عينات وأقل نسبة كانت 6.66% بواقع عينة واحدة في المعيارية 1/80. وأشارت نتائج التحليل الاحصائي الى وجود انخفاض معنوي في معيارية أجسام الضد عند المعيار 1/640 مقارنة مع بقية المعايير كما موضح في الجدول (2-4) والملحق (6).

**الجدول (2-4): أعداد ونسب معيارية أجسام الضد لطفييلي المقوسة *T.gondii* في  
مصول الطيور المشمولة بالدراسة باستخدام اختبار تلازن اللاتكس.**

المعيارية						العدد الموجب (%)	العدد المفحوص الكلي	نوع العينة
1/640	1/320	1/160	1/80	1/40	1/20			
العدد الموجب (%)	العدد الموجب (%)	العدد الموجب (%)	العدد الموجب (%)	العدد الموجب (%)	العدد الموجب (%)			
2 (6.45)c	4 (12.9)ac	7 (22.58)ba	8 (25.81)b	4 (12.9)ca	6 (19.35)ab	31 (38.75)	80	الدجاج المحلي
2 (7.14)d	2 (7.14)d	3 (10.71)cd	5 (17.85)bc	7 (25)ab	9 (32.14)a	28 (35)	80	الديك الرومي
0 (0)d	8 (36.36)a	7 (31.82)a	4 (18.18)c	1 (4.54)b	2 (9.09)bc	22 (27.5)	80	الإوز الأريدي
0 (0)d	0 (0)d	6 (40)b	1 (6.66)c	3 (20)a	5 (33.34)b	15 (18.75)	80	البط المحلي
4 (3.73)b	14 (14.58)a	23 (23.95)a	18 (18.75)a	15 (15.62)a	22 (22.91)a	96 (30)	400	المجموع

تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة الى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$ . كما تشير الحروف الصغيرة Small litters الى ان القراءة الاحصائية افقية.

**(1-1-1-4): توزيع الإصابة بداء المقوسات في الطيور المشمولة بالدراسة**

**بحسب محافظات الفرات الأوسط باستخدام اختبار تلازن اللاتكس.**

تم جمع 320 عينة من الطيور المشمولة بالدراسة موزعة بواقع 80 عينة لكل محافظة (20 عينة لكل من الدجاج المحلي والديك الرومي والإوز الأريدي والبط المحلي) وعند فحص العينات باستخدام اختبار اللاتكس وجد بأن هناك 31 عينة موجبة ونسبة 38.75% من الدجاج المحلي موزعة على 9 عينات موجبة ونسبة إصابة بلغت 45% في محافظة الديوانية و7 عينات ونسبة 35% في محافظة بابل و3 عينات ونسبة إصابة 15% في محافظة النجف و12 عينة ونسبة إصابة بلغت 60% في محافظة كربلاء.

أما بالنسبة لعينات طيور الديك الرومي فقد دلت نتائج اختبار اللاتكس على وجود 28 عينة موجبة ونسبة 35% شملت 7 عينات ونسبة 35% في محافظة الديوانية و11 عينة ونسبة 55% في محافظة بابل و6 عينات ونسبة 30% في محافظة النجف و4 عينات ونسبة إصابة 20% في محافظة كربلاء كما تبين من خلال فحص عينات طيور الإوز أن هناك 22 عينة موجبة بنسبة 27.5% ضمت 5 عينات موجبة ونسبة إصابة بلغت 25% في محافظة الديوانية

و9 عينات موجبة وبنسبة 45% في محافظة بابل و8 عينات موجبة وبنسبة إصابة 40% في محافظة كربلاء ولم يتم تسجيل أي حالة إصابة في هذا النوع من الطيور في محافظة النجف، في حين أشارت نتائج فحص عينات طيور البط المحلي إلى وجود 15 عينة موجبة وبنسبة إصابة بلغت 18.75% شملت عينتان موجبتان وبنسبة إصابة بلغت 10% في محافظة الديوانية و5 عينات موجبة وبنسبة 25% في محافظة بابل وعينه واحدة موجبة وبنسبة 5% في محافظة النجف و7 عينات موجبة وبنسبة إصابة 35% في محافظة كربلاء.

لوحظ بشكل عام بأن أعلى نسبة إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية قد سجلت في محافظة بابل بلغت 40% بواقع 32 عينة وأقل نسبة إصابة في محافظة النجف بلغت 12.5% بواقع 10 عينات ودلت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود انخفاض معنوي في نسبة الإصابة في محافظة النجف مقارنة مع بقية المحافظات تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  وكما مبين في الجدول (3-4) والملحق (7).

**الجدول (3-4) أعداد ونسب الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii* في الطيور المشمولة بالدراسة بحسب محافظات الفرات الأوسط باستخدام اختبار اللاتكس.**

الجموع (%)	البط المحلي		الأوز الأربيد		الديك الرومي		دجاج محلي		نوع العينه المحافظة
	العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	
23 (28.75)A	2 (10)a	20	5 (25)a	20	7 (35)a	20	9 (45)ac	20	الديوانية
32 (40)A	5 (25)bc	20	9 (45)b	20	11 (55)b	20	7 (35)a	20	بابل
10 (12.5)B	1 (5)a	20	0 (0)c	20	6 (30)ac	20	3 (15)b	20	النجف

31 (38.75)A	7 (35)b	20	8 (40)b	20	4 (20)c	20	12 (60)c	20	كربلاء
96 (30)	15 (18.75)	80	22 (27.5)	80	28 (35)	80	31 (38.75)	80	المجموع

تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة الى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  كما تشير الحروف الصغيرة الى ان القراءة الإحصائية أفقية أما الحروف الكبيرة تشير الى ان القراءة الإحصائية عمودية.

#### (4-1-1-2): توزيع الإصابة ببدء المقوسات في الطيور المشمولة بالدراسة بحسب مناطق جمع العينات في محافظة الديوانية باستخدام اختبار تلازن اللاتكس

تم جمع 80 عينة (20 عينة لكل من الدجاج المحلي والديك الرومي والاوز الأريدي والبط المحلي) وعند فحص مصول الطيور باستخدام اختبار اللاتكس أظهرت النتائج بأن هناك 9 عينات من الدجاج المحلي أعطت نتيجة موجبة بنسبة 45 % موزعة على 7 عينات موجبة وبنسبة 70% من عينات المناطق الريفية وعينتان فقط وبنسبة 20% من عينات المدينة، أما بالنسبة لعينات الديك الرومي فوجد أن هناك 7 عينات موجبة ضمت 3 عينات من المناطق الريفية وبنسبة 30% و4 عينات بنسبة 40% من عينات المدينة في حين أشارت نتائج الاختبار إلى وجود 5 عينات موجبة من الإوز بنسبة 50 % من عينات المناطق الريفية ولم تسجل أي حالة إصابة ضمن عينات المدينة، أما بالنسبة لعينات البط المحلي وجد هناك عينتان أعطت نتيجة موجبة للاختبار بنسبة بلغت 20 % من عينات المدينة ولم تسجل أي حالة إصابة في عينات المناطق الريفية، لوحظ من نتائج اختبار اللاتكس بأن أعلى نسبة إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية قد سجلت ضمن عينات الريف وبلغت 37.5 % بواقع 15 عينة مقارنة بنسبة الإصابة في عينات المدينة والبالغة 20% بواقع 8 عينات، وأشارت نتائج التحليل الاحصائي إلى وجود ارتفاع معنوي في نسبة الإصابة في عينات المناطق الريفية مقارنة مع مركز المدينة تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  كما في الجدول (4-4) والملحق (8).

#### الجدول (4-4) أعداد ونسب الإصابة بطفيلي المقوسة *T.gondii* في الطيور المشمولة بالدراسة بحسب مناطق جمع العينات في محافظة الديوانية باستخدام اختبار تلازن اللاتكس.

العدد الموجب الكلي	المنطقة		العدد المفحوص الكلي	منطقة الجمع
	المدينة	الريف		

نوع العينة	العدد	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	(%)
الدجاج المحلي	20	7 (70) a	10	2	2 (20)b	9 (45)
الديك الرومي	20	3 (30) a	10	4	4 (40)a	7 (35)
الأوز الأريدي	20	5 (50) a	10	0	0 (0)b	5 (25)
البط المحلي	20	0 (0)a	10	2	2 (20)b	2 (10)
المجموع	80	15 (37.5)a	40	8	8 (20)b	23 (28.75)

تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة الى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  كما تشير الحروف الصغيرة الى ان القراءة الاحصائية افقية.

#### (4-1-2): الكشف عن الإصابة بداء المقوسات في الطيور المشمولة بالدراسة

#### باستخدام اختبار الكاسيت السريع Rapid test cassette

أشارت نتائج الكشف المناعي لـ 320 عينة من الطيور المشمولة بالدراسة في منطقة الفرات الأوسط باستخدام اختبار الكاسيت السريع إلى وجود 60 عينة موجبة للاختبار وبنسبة 18.75 % موزعة بواقع 24 عينة من الدجاج المحلي وبنسبة إصابة بلغت 30% و 19 عينة موجبة من طيور الديك الرومي وبنسبة إصابة 23.75 % و 10 عينات من طيور الأوز وبنسبة إصابة 12.5 % في حين سجلت نسبة إصابة بلغت 8.75 % وبواقع 7 عينات موجبة من طيور البط المحلي، واتضح من نتائج الاختبار بأن أعلى نسبة قد سجلت في الدجاج المحلي وكانت 30% في حين كانت أقل نسبة إصابة 8.75 % في البط المحلي.

ودلت نتائج التحليل الاحصائي إلى وجود ارتفاع معنوي في نسبة إصابة الدجاج المحلي عنه في بقية أنواع الطيور الأخرى تحت مستوى احتمالية  $P < 0.05$  كما موضح في الجدول (4-5) والملحق (9).

الجدول (4-5) أعداد ونسب الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية *T. gondii* في الطيور المشمولة بالدراسة باستخدام اختبار الكاسيت السريع.

نوع العينة	العدد الكلي	العدد الموجب	%	العدد السالب	%
الدجاج محلي	80	24	30) A	56	(70)

(76.25)	61	(23.75) AB	19	80	الديك الرومي
(87.5)	70	(12.5) BC	10	80	الأوز الأريدي
(91.25)	73	(8.75) C	7	80	البط المحلي
(81.25)	260	(18.75)	60	320	المجموع

تشير الحروف المتشابهة إلى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$ . كما تشير الحروف الكبيرة إلى أن القراءة الاحصائية عمودية.

#### (1-2-1-4): تحديد أنواع أجسام الضد في مصول الطيور المشمولة بالدراسة

##### في منطقة الفرات الأوسط باستخدام اختبار الكاسيت السريع .

أشارت نتائج اختبار الكاسيت السريع المستخدم لفحص 320 عينة مصل مأخوذة من الطيور المشمولة بالدراسة إلى أن نسبة وجود جسم الضد من نوع IgG كانت 28.33 % وبواقع 17 عينة موجبة موزعة على 8 عينات من الدجاج المحلي وبنسبة بلغت 33.34 % و 5 عينات موجبة من الديك الرومي وبنسبة 26.32 وعينتان لكل من الأوز الأريدي والبط المحلي وبنسبة 20%، 28.57% على التوالي، في حين كانت نسبة تواجد جسم الضد من نوع IgM 35% بواقع 21 عينة ضمت 6 عينات من الدجاج المحلي وبنسبة 25 % و 7 عينات من الديك الرومي وبنسبة 36.84 % و 5 عينات من الأوز وبنسبة 50 % و 3 عينات من البط المحلي وبنسبة إصابة 42.86 % ، كما أشارت النتائج إلى أن نسبة تواجد أجسام الضد من النوعين IgM +IgG معاً كانت 36.66 % وبواقع 22 عينة شملت 10 عينات وبنسبة 41.66 % من الدجاج المحلي و 7 عينات من الديك الرومي وبنسبة 36.84% و 3 عينات من الأوز وبنسبة 30 % على التوالي وعينتان من طيور البط المحلي وبنسبة 28.57 %، ولوحظ بأن أعلى نسبة تواجد كانت 36.66% لأجسام الضد من النوعين معاً ( IgM+IgG ) بواقع 22 عينة في حين كانت أقل نسبة تواجد لأجسام الضد من نوع IgG وبلغت 28.33 % بواقع 17 عينة وأشارت نتائج التحليل الاحصائي إلى عدم وجود فروقات معنوية بين أنواع أجسام الضد تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  كما موضح في الجدول (4-6) والملحق (10) .

#### الجدول (4-6): أنواع ونسب الأجسام المضادة لطفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii*

##### في مصول الطيور المشمولة بالدراسة باستخدام اختبار الكاسيت السريع .

نوع الجسم المضاد					
IgG+IgM	IgM	IgG			
العدد الموجب	العدد الموجب	العدد الموجب	العدد الموجب	العدد المخصوص	نوع العينة

	الكلي	الكلي (%)	(%)	(%)	(%)
الدجاج المحلي	80	24 (30)	8 (33.34) ab	6 (25) a	10 (41.66) b
الديك الرومي	80	19 (23.75)	5 (26.32) a	7 (36.84) a	7 (36.84) a
الأوز الأريدي	80	10 (12.5)	2 (20) a	5 (50) b	3 (30) a
البط المحلي	80	7 (8.75)	2 (28.57) a	3 (42.86) b	2 (28.57) a
المجموع	320	60 (18.75)	17 (28.33)a	21 (35)a	22 (36.66)a

تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة الى وجود فروقات معنوية مستوى احتمالية 0.05 P<. كما تشير الحروف الصغيرة الى ان القراءة الاحصائية افقية.

#### (4-1-2-2): توزيع الإصابة بداء المقوسات في الطيور المشمولة بالدراسة

##### بحسب محافظات الفرات الأوسط باستخدام اختبار الكاسيت السريع

يوضح الجدول (4-7) والملحق (11) نتائج فحص 320 عينة مصل (20 عينة لكل من الدجاج المحلي والديك الرومي والأوز الأريدي والبط المحلي لكل محافظة من المحافظات الاربع)، حيث لوحظ بأن نسبة الإصابة بداء المقوسات بين عينات الدجاج المحلي كانت 30% بواقع 24 عينة موزعة على 7 عينات وبنسبة إصابة 35% في محافظة الديوانية و 5 عينات وبنسبة 25% في محافظة بابل وعينتان وبنسبة 10% في محافظة النجف و 10 عينات وبنسبة 50% في محافظة كربلاء، أما في طيور الديك الرومي فقد سجلت نسبة إصابة بلغت 23.75% بواقع 19 عينة ضمت 4 عينات وبنسبة 20% في محافظة الديوانية و 7 عينات في بابل وبنسبة 35% و 5 عينات في محافظة النجف وبنسبة 25% و 3 عينات وبنسبة 15% في محافظة كربلاء.

في حين سجلت نسبة إصابة في الأوز بلغت 12.5% و بواقع 10 عينات ضمت عينتان في محافظة الديوانية وبنسبة إصابة 10% و 3 عينات وبنسبة 15% في محافظة بابل وعينه واحدة وبنسبة 5% في محافظة النجف و 4 عينات وبنسبة 20% في محافظة كربلاء، أما في طيور البط المحلي سجلت نسبة إصابة بلغت 8.75% و بواقع 7 عينات شملت عينة واحدة وبنسبة 5% في محافظة الديوانية وعينتان وبنسبة إصابة بلغت 10% في محافظة بابل و 4 عينات وبنسبة 20% في محافظة كربلاء ولم يتم تسجيل أي حالة إصابة في محافظة النجف ضمن هذا النوع من الطيور.



بشكل عام لوحظ بأن أعلى نسبة إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية بين أنواع الطيور سجلت في محافظة كربلاء وقد بلغت 26.25% بواقع 21 عينة في حين كانت أقل نسبة إصابة في محافظة النجف بلغت 10% بواقع 8 عينات .

أشارت نتائج التحليل الاحصائي إلى وجود فروق معنوية في نسب الإصابة بين محافظة النجف وبقية المحافظات في حين كانت الفروقات غير معنوية في نسبة الإصابة بين محافظة الديوانية وبابل وكربلاء تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$ .

**الجدول (4-7): أعداد ونسب الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii* في الطيور المشمولة بالدراسة بحسب محافظات منطقة الفرات الأوسط باستخدام اختبار الكاسيت السريع.**

المجموع الكلي (%)	البط		الإوز		الديك الرومي		الدجاج محلي		نوع العينة المحافظة
	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	
14 (17.5)AB	1 (5)a	20	2 (10)ab	20	4 (20) a	20	7 (35) a	20	الديوانية
17 (21.25)A	2 (10)ac	20	3 (15)a	20	7 (35) b	20	5 (25) a	20	بابل
8 (10)B	0 (0)b	20	1 (5)b	20	5 (25) abc	20	2 (10) b	20	النجف
21 (26.25)A	4 (20)c	20	4 (20)a	20	3 (15) c	20	10 (50)c	20	كربلاء
60 (18.75)	7 (8.75)	80	10 (12.5)	80	19 (23.75)	80	24 (30)	80	المجموع

تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة الى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$ . كما تشير الحروف الكبيرة الى إن القراءة الإحصائية عمودية بينما تشير الحروف الصغيرة الى إن القراءة الإحصائية أفقية.

**(4-1-2-3): توزيع الإصابة بداء المقوسات في الطيور المشمولة بالدراسة بحسب مناطق جمع العينات في محافظة الديوانية باستخدام اختبار الكاسيت السريع .**

أشارت نتائج اختبار الكاسيت السريع لـ 80 عينة مصل (20 عينة لكل نوع) إلى أن هناك 7 عينات من الدجاج المحلي أعطت نتيجة موجبة ونسبة إصابة 35% ضمت 4 عينات ونسبة 40% من عينات الريف و3 عينات ونسبة 30% من عينات المدينة أما بالنسبة لطيور الديك الرومي وجد بأن هناك 4 عينات بنسبة 40% من عينات الريف ولم يتم تسجيل أي حالة إصابة ضمن عينات المدينة.

كما أشارت النتائج إلى أن عدد عينات طيور الاوز التي أعطت نتيجة موجبة للاختبار كانت عينتان فقط بنسبة 20% من عينات المدينة ولم تسجل أي حالة إصابة ضمن عينات الريف، أما البط المحلي فقد وجد هناك عينة واحدة ضمن عينات الريف أعطت نتيجة موجبة ونسبة إصابة 10% ولم تظهر أي نتيجة إيجابية للاختبار بالنسبة لعينات المدينة.

كما اتضح من النتائج بأن أعلى نسبة إصابة سجلت ضمن عينات الريف بلغت 22.5% في حين سجلت أقل نسبة إصابة ضمن عينات المدينة بلغت 12.5% وأشارت نتائج التحليل الاحصائي إلى وجود فروقات معنوية في نسبة الإصابة بين الريف ومركز المدينة تحت مستوى احتمالية  $p \leq 0.05$  كما موضح في الجدول (4-8) والملحق (12).

**الجدول (4-8): أعداد ونسب الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في الطيور بحسب مناطق جمع العينات في محافظة الديوانية باستخدام اختبار الكاسيت السريع.**

العدد الموجب الكلي	المدينة		الريف		العدد المفحوص الكلي	نوع العينة
	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص		
7 (35)	3 (30) a	10	4 (40) a	10	20	الدجاج المحلي
4 (20)	0 (0) b	10	4 (40) a	10	20	الديك الرومي
2 (10)	2 (20) b	10	0 (0) a	10	20	الاوز الاريد
1 (5)	0 (0) b	10	1 (10) a	10	20	البط المحلي
14 (17.5)	5 (12.5) b	40	9 (22.5) a	40	80	المجموع

تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة الى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$ . كما تشير الحروف الصغيرة الى ان القراءة الاحصائية افقية.

**Molecular detection الكشف الجزيئي (3-1-4)**

#### (1-3-1-4): الكشف باستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي

#### (1-1-3-1-4): تقدير الحالات الموجبة لداء المقوسات في عينات دم الطيور باستخدام

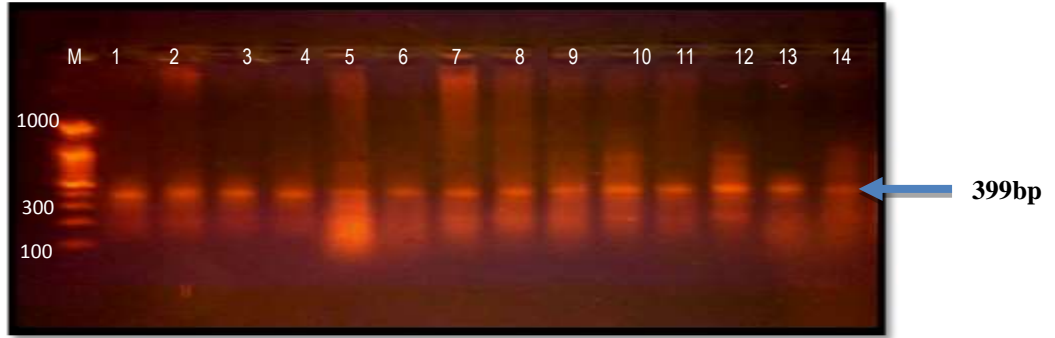
#### تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

أشارت نتائج استخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي لفحص 320 عينة دم جمعت من الطيور المشمولة بالدراسة، إلى أن نسبة تواجد الجين التشخيصي B<sub>1</sub> ذو الوزن الجزيئي 399bp الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية قد بلغت 10.62 % وواقع 34 عينة من المجموع الكلي للعينات توزعت على 14 عينة من الدجاج المحلي وبنسبة 17.5 % و 12 عينة من الديك الرومي وبنسبة 15 % و 8 عينات وبنسبة 10% من الاوز الأريدي في حين لم تسجل أي حالة لتواجد الجين B<sub>1</sub> في عينات دم البط المحلي واتضح بأن أعلى نسبة قد سجلت في الدجاج المحلي وبلغت 17.5 % وأقل نسبة كانت في الاوز الأريدي وبلغت 10 %، وأشارت نتائج التحليل الاحصائي إلى وجود فروقات معنوية في نسبة تواجد الجين B<sub>1</sub> في البط المحلي عنه في بقية الطيور المشمولة بالدراسة تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  وكما موضح في الجدول (9-4) والملحق (13) والصور (1-4 ← 4-4).

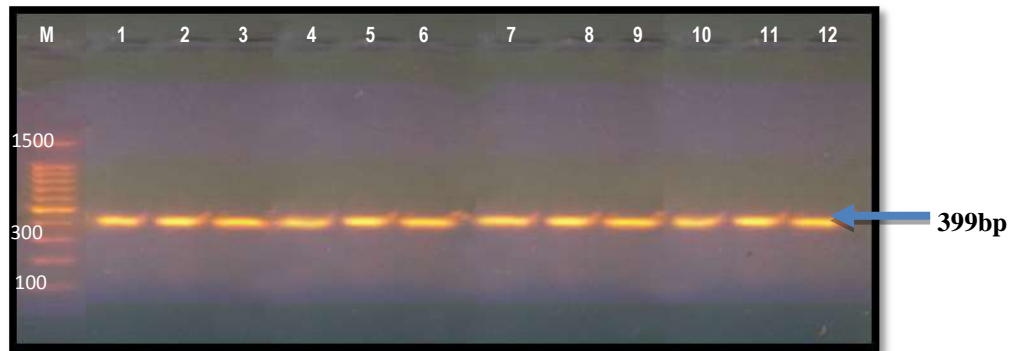
#### الجدول (9-4): أعداد ونسب تواجد الجين التشخيصي B<sub>1</sub> (399bp) الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية *T. gondii* في عينات دم الطيور باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي PCR.

نوع العينة	العدد المفحوص الكلي	العدد الموجب (%)	العدد السالب (%)
الدجاج المحلي	80	14 (17.5) A	66 (82.5)
الديك الرومي	80	12 (15) A	68 (85)
الاوز الأريدي	80	8 (10) AC	72 (90)
البط المحلي	80	0 (0)B	80 (100)
المجموع	320	34 (10.62)	286 (89.38)

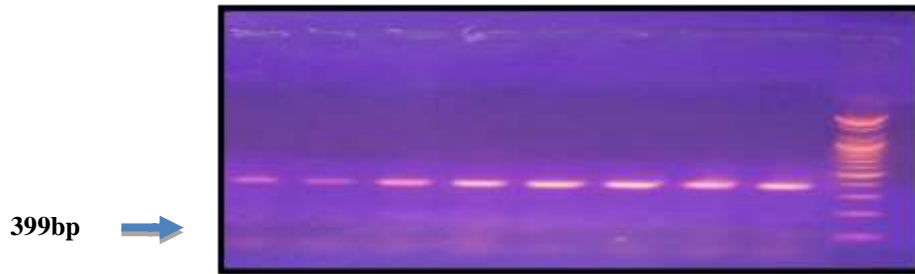
تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة الى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $p \leq 0.05$ . كما تشير الحروف الكبيرة الى ان القراءة الاحصائية عمودية.



الصورة (1-4): الأعمدة 1-14 تمثل عينات دم الدجاج المحلي الموجبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي ، حيث يظهر الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp الخاص بطفيلي المقوسة الكونديية في اربع عشرة عينة، العمود M يمثل Ladder ذو الوزن الجزيئي 100-1000 .



الصورة (2-4): الأعمدة 1-12 تمثل عينات دم طيور الديك الرومي الموجبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي، حيث يظهر الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp الخاص بطفيلي المقوسة الكونديية في اثنتا عشرة عينة، العمود M يمثل Ladder ذو الوزن الجزيئي 100-1500 .



الصورة (3-4): الأعمدة 1-8 تمثل عينات دم طيور الاوز الموجبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي ، حيث يظهر الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp الخاص بطفيلي المقوسة الكونديية في ثماني عينات ، العمود M يمثل Ladder ذو الوزن الجزيئي 100-1500 bp .



الصورة (4-4): الأعمدة 1-12 تمثل عينات دم طيور البط المحلي السالبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي، حيث لم يظهر الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية في العينات، العمود M يمثل Ladder ذو الوزن الجزيئي 1500-100 bp.

#### (4-1-3-1-2): توزيع الإصابة بداء المقوسات في عينات الطيور بحسب

#### محافظات منطقة الفرات الأوسط باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

أشارت نتائج الكشف الجزيئي باستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي لـ 320 عينة دم بواقع 20 عينة من كل محافظة من محافظات الفرات الأوسط ولكل نوع من الأنواع، إلى أن نسبة تواجد الجين B1 في عينات الدجاج المحلي بلغت 18.75% بواقع 15 عينة موجبة ضمت 6 عينات وبنسبة 30% من محافظة الديوانية و3 عينات وبنسبة 15% من محافظة بابل وعينتان وبنسبة 10% من محافظة النجف و4 عينات وبنسبة 20% من محافظة كربلاء وفي الديك الرومي بلغت نسبة تواجد الجين المذكور 15% بواقع 12 عينة موجبة شملت 4 عينات وبنسبة 20% من محافظة الديوانية وعينتان وبنسبة 10% من محافظة بابل و6 عينات وبنسبة 30% من محافظة كربلاء في حين لم تسجل أي حالة تواجد للجين B1 في محافظة النجف في هذا النوع من الطيور أما في الأوز فقد سجلت نسبة تواجد للجين بلغت 8.75% بواقع 7 عينات موجبة ضمت عينتان وبنسبة 10% لكل من محافظة الديوانية ومحافظة النجف و3 عينات وبنسبة 15% من محافظة كربلاء ولم تسجل أي حالة تواجد للجين المعني في محافظة بابل ضمن هذا الأنواع من الطيور كما لم يتم تسجيل أي إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في البط المحلي في كافة محافظات الفرات الأوسط.

أتضح من النتائج بأن أعلى نسبة لتواجد الجين B1 (399bp) كانت في محافظة كربلاء بلغت 16.25% بواقع 13 عينة في حين كانت أقل نسبة في محافظة النجف بلغت 5% بواقع 4 عينات كما أشارت نتائج التحليل الاحصائي إلى وجود ارتفاع معنوي في نسبة تواجد الجين B1 في محافظتي كربلاء والديوانية مقارنة مع بقية المحافظات الأخرى في حين لم تسجل فروقات معنوية في نسبة تواجد الجين بين محافظتي بابل والنجف تحت مستوى احتمالية 0.05  $p \leq$  كما مبين في الجدول (4-10) والملحق (14).

**الجدول (4-10): أعداد ونسب تواجد الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp في عينات دم الطيور بحسب محافظات الفرات الأوسط باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.**

المجموع الكلي (%)	البط المحلي		الاوز الأريذ		الديك الرومي		الدجاج المحلي		نوع العينه المحافظة
	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	
12 (15) AC	0 (0)a	20	2 (10) a	20	4 (20)ab	20	6 (30) a	20	الديوانية
5 (6.25) AB	0 (0)a	20	0 (0)b	20	2 (10) a	20	3 (15) b	20	بابل
4 (5)B	0 (0)a	20	2 (10) a	20	0 (0)c	20	2 (10) b	20	النجف
13 (16.25)C	0 (0)a	20	3 (15) a	20	6 (30) b	20	4 (20)ab	20	كربلاء
34 (10.625)	0 (0)	80	7 (8.75)	80	12 (15)	80	15 (18.75)	80	المجموع

تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $p \leq 0.05$ . كما تشير الحروف الكبيرة إلى أن القراءة الاحصائية عمودية بينما تشير الحروف الصغيرة إلى أن القراءة الاحصائية افقية.

#### (4-1-3-1-3): توزيع الإصابة بداء المقوسات في الطيور المشمولة بالدراسة بحسب مناطق جمع العينات في محافظة الديوانية باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

أشارت نتائج فحص 80 عينه دم (20 عينه لكل نوع من الطيور) وباستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي إلى أن نسبة إصابة الدجاج المحلي بطفيلي المقوسة الكوندية بلغت 30% بواقع 6 عينات ضمت 5 منها من عينات الريف ونسبة 50% وعينه واحدة ونسبة 10% من عينات المدينة، أما بالنسبة للديك الرومي بلغت نسبة إصابته 20% بواقع 4 عينات اثنتان منها من عينات الريف واثنتان من عينات المدينة ونسبة 20% لكل منهما، كما سجلت نسبة إصابة في طيور الاوز بلغت 10% بواقع عينتان اقتصرتا على عينات المدينة فقط في حين لم تسجل أي حالة إصابة في عينات الريف كما لم يتم تسجيل أي إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في طيور البط المحلي، واتضح بأن أعلى نسبة لتواجد الجين كانت ضمن عينات الريف بلغت 17.5% وأقلها ضمن عينات المدينة بلغت 12.5%.

وأشارت نتائج التحليل الاحصائي إلى عدم وجود فروق معنوية في نسبة تواجد الجين B1 بين الريف ومركز المدينة تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  كما موضح في الجدول (4-11) والملحق (15).

**الجدول (4-11): أعداد ونسب تواجد الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp في عينات دم الطيور المشمولة بالدراسة في محافظة الديوانية باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.**

العدد الموجب الكلي (%)	المدينة		الريف		العدد المفحوص الكلي	نوع العينة
	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص		
6 (30)	1 (10) b	10	5 (50) a	10	20	الدجاج المحلي
4 (20)	2 (20) a	10	2 (20) a	10	20	الديك الرومي
2 (10)	2 (20) b	10	0 (0) a	10	20	الإوز الأريدي
0 (0)	0 (0) a	10	0 (0) a	10	20	البط المحلي
12 (15)	5 (12.5) a	40	7 (17.5) a	40	80	المجموع

تشير الحروف المتشابهة إلى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$ . كما تشير الحروف الصغيرة إلى أن القراءة الاحصائية أفقية.

#### (4-1-3-1-4): تقدير الحالات الموجبة لداء المقوسات في عينات الأنسجة

##### بحسب نوع الطائر باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي .

بالاعتماد على نتائج اختبار الكاسيت السريع الذي أستخدم لتحديد أجسام الضد في مصول الطيور المشمولة بالدراسة (IgG , IgG + IgM) تم اختيار 16 عينة (4 عينات لكل نوع) لتشريحها والتحري عن الجين B1 (399bp) في أعضائها المختلفة (الكبد والقلب والدماغ والعين والرئة والطحال وعضلات الصدر والأمعاء الدقيقة) باستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي، أشارت النتائج إلى أن هناك 9 عينات أعطت نتيجة موجبة للاختبار بنسبة كلية بلغت 56.25% موزعة على 4 عينات من الدجاج المحلي وبنسبة 100% وثلاث عينات من

طيور الديك الرومي وبنسبة 75% وعينتان من طيور الاوز وبنسبة 50% ولم تسجل أي حالة لتواجد الجين في عينات البط المحلي، أشارت نتائج التحليل الاحصائي إلى وجود فروقات معنوية في نسبة تواجد الجين B1 في أنسجة البط عنه في بقية أنواع الطيور تحت مستوى احتمالية  $P < 0.05$  كما موضح في الجدول (4-12) والملحق (16).

#### الجدول(4-12) أعداد ونسب تواجد الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp باستخدام

تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي بحسب نوع الطائر.

نوع العينه	العدد الكلي	العدد الموجب لاختبار الكاسيت السريع (IgG, IgM+ IgG) (%)	العدد المفحوص	العدد الموجب لتقنية PCR-Tissue (%)
الدجاج محلي	80	18 (22.5)	4	4 (100)A
الديك الرومي	80	12 (15)	4	3 (75)B
الاوز الاريد	80	5 (6.25)	4	2 (50)C
البط المحلي	80	4 (5)	4	0 (0)D
المجموع	320	39 (12.18)	16 (41.02)	9 (56.25)

تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة الى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $p \leq 0.05$  كما تشير الحروف الكبيرة الى ان القراءة الاحصائية عمودية.

#### (4-1-3-1-5): تقدير الحالات الموجبة لداء المقوسات بحسب نوع العضو

#### المصاب باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

بينت نتائج استخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي للتحري عن الجين B1 في أنسجة اعضاء 9 عينات من الطيور المصابة بداء المقوسات الكوندية بأن عينات الدجاج المحلي البالغ عددها 4 عينات احتوت على الجين B1 في أنسجة الكبد لإحدى العينات وفي عضلات الصدر للثانية وفي طحال الثالثة وفي أمعاء العينة الرابعة وبنسبة 25% لكل عضو، أما عينات الديك الرومي البالغة 3 عينات فقد احتوت اثنتان منها على الجين في الكبد بنسبة 50% في حين احتوت العينة الثالثة على الجين في القلب بنسبة 25% وفي الاوز وجد هناك عينتان احتوت على الجين في الكبد بنسبة 50% كما لوحظ بأن أعلى نسبة لتواجد الجين B1

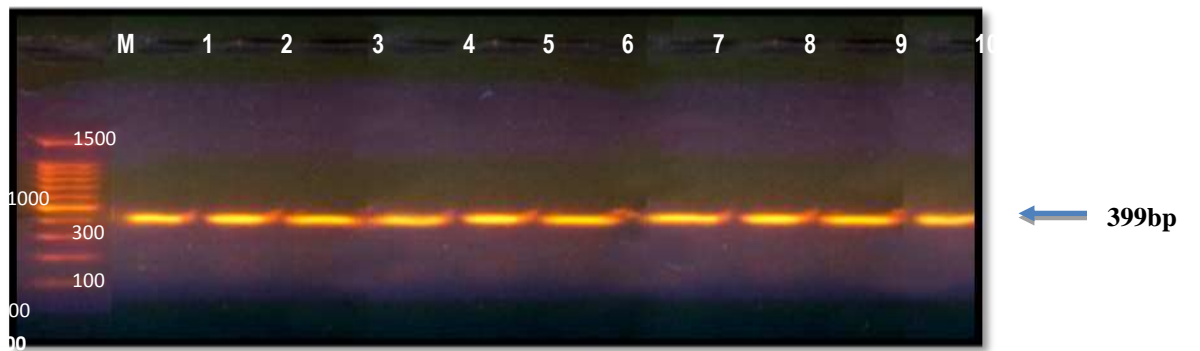


الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية قد سجلت في الكبد وبنسبة 55.55% بواقع 5 عينات يليه عضلات الصدر بنسبة 22.22% بواقع عينتان ثم يليه كل من القلب والطحال والأمعاء الدقيقة وبنسبة 11.11% بواقع عينة واحدة لكل منهم ولم تشير النتائج إلى وجود الجين B1 في كل من أنسجة الدماغ والعين والرئة، كما بينت نتائج التحليل الاحصائي إلى أن نسبة تواجد الجين B1 كانت متفوقة احصائياً في الكبد مقارنة مع بقية الأعضاء في حين كانت النسبة منخفضة إحصائياً في الدماغ والرئة والعين تحت مستوى احتمالية  $p \leq 0.05$  وكما مبين في الجدول (4-13) والملحق (17) والصورة (4-6).

#### الجدول (4-13): أعداد ونسب تواجد الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي بحسب نوع العضو المصاب .

العضو المصاب	العدد الموجب لاختبار الكاسيت (IgG, IgG + IgM)	العدد المخصوص	العدد الموجب للPCR (%)	الكبد	عضلات الصدر	القلب	الدماغ	العين	الطحال	الأمعاء الدقيقة	الرئة
نوع العينة	العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)
الدجاج الحلبي	18	4	4 (100)	1 (25)	1 (25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (25)	1 (25)	0 (0)
الديك الرومي	12	4	3 (75)	2 (50)	0 (0)	1 (25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
الأوز الأريدي	5	4	2 (50)	2 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
البط الحلبي	4	4	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
المجموع	39	16	9 (56.25)	5 (55.55)	2 (22.22)	1 (11.11)	0 (0)	0 (0)	1 (11.11)	1 (11.11)	0 (0)

تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة الى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $p \leq 0.05$ . كما تشير الحروف الصغيرة الى ان القراءة الاحصائية افقية.



الصورة (4-5): الأعمدة 1-5 تمثل عينات أكباد، 6-7 تمثل عينات عضلات الصدر، 8 تمثل عينة قلب، 9 تمثل عينة طحال، 10 تمثل عينة أمعاء دقيقة للطيور المصابة حيث يظهر الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية في عشرة عينات، العمود، M يمثل Ladder ذو الوزن الجزيئي 1500-100 bp.

#### (4-1-3-2): الكشف التأكدي للجين التشخيصي B<sub>1</sub> باستخدام تفاعل

#### سلسلة البلمرة من النوع المتداخل في عينات الدم.

بينت نتائج تضخيم الجين B<sub>1</sub> بواسطة تفاعل سلسلة البلمرة من النوع المتداخل Nested-PCR لـ 12 عينة دم موجبة (4 عينات لكل نوع) من مجموع 34 عينة موجبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي، حدوث تضخيم للجين B<sub>1</sub> ذو الوزن الجزيئي 580bp في اربع عينات بنسبة تضخيم كلية بلغت 33.33%، ضمت عينتان لكل من الدجاج المحلي والديك الرومي وبنسبة 50% لكل منهما في حين لم يحصل تضخيم للجين B<sub>1</sub> في عينات الاوز خلال الدورة الاولى من التفاعل أما في الدورة الثانية من التفاعل حصل تضخيم للجين B<sub>1</sub> ذو الوزن الجزيئي 531bp في ثلاث عينات بنسبة كلية بلغت 75% من مجموع اربع عينات (العينات التي حصل فيها تضخيم خلال الدورة الاولى) ضمت عينة واحدة من الدجاج المحلي بنسبة 50% وعينتان من الديك الرومي بنسبة 100% وأشارت نتائج التحليل الاحصائي إلى وجود فروقات معنوية في نسبة تضخيم الجين B<sub>1</sub> بين الاوز عنه في الدجاج المحلي والديك الرومي عند مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  كما في الجدول (4-4) والجدول (4-5) والملحق (18) والملحق (19) والصور (4-7 4-8).

#### الجدول (4-4) أعداد ونسب تضخيم الجين B<sub>1</sub> ذو الوزن الجزيئي 580bp في عينات

دم الطيور باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة المتداخل N-PCR (الدورة الأولى).

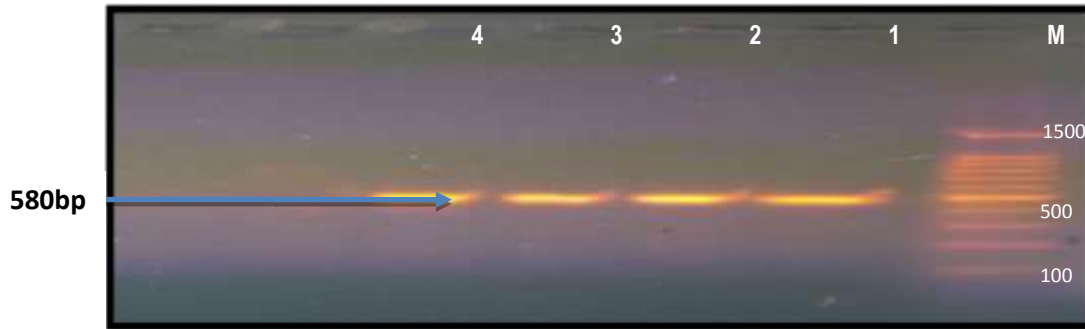
نوع العينة	عدد عينات الدم المفحوصة	عدد العينات الموجبة لـ N-PCR (الدورة الأولى) (%)	عدد العينات السالبة (%)
الدجاج المحلي	4	2 (50) A	2 (50)
الديك الرومي	4	2 (50) A	2 (50)
الاوز الأربيد	4	0 (0) B	4 (100)
المجموع	12	4 (33.33)	8 (66.67)

تشير الحروف المتشابهة إلى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$ . كما تشير الحروف الكبيرة إلى أن القراءة الاحصائية عمودية.

**الجدول (4-15): أعداد ونسب تضخيم الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 531bp في عينات دم الطيور باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة المتداخل N-PCR (الدورة الثانية).**

نوع العينة	عدد العينات الموجبة لـ N-PCR (الدورة الأولى)	عدد العينات الموجبة لـ N-PCR (الدورة الثانية) (%)	عدد العينات السالبة (%)
الدجاج المحلي	2	1 (50)A	1 (50)
الديك الرومي	2	2 (100)B	0 (0)
الأوز الأريدي	0	0 (0)C	0 (0)
المجموع	4	3 (75)	1 (25)

تشير الحروف المتشابهة إلى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$ ، كما تشير الحروف الكبيرة إلى أن القراءة الاحصائية عمودية.



الصورة (4-6): الأعمدة 1-2 تمثل عينات دم الدجاج المحلي، 3-4 تمثل عينات دم طيور الديك الرومي الموجبة لتفاعل سلسلة البلمرة من النوع المتداخل Nested-PCR (الدورة الأولى) حيث يظهر الجين B1 الخاص بطفيلي المقوسة ذو الوزن الجزيئي 580bp M، يمثل Ladder ذو الوزن الجزيئي 1500-100bp.



الصورة (4-7): العمود 1 يمثل عينة دم الدجاج المحلي، 2 يمثل عينة دم سالبة، 3-4 يمثل عينات دم طيور الديك الرومي الموجبة لتفاعل سلسلة البلمرة من النوع المتداخل N-PCR (الدورة الثانية) حيث يظهر الجين B1 الخاص بطفيلي المقوسة ذو الوزن الجزيئي 531bp M، يمثل Ladder ذو الوزن الجزيئي 1500-100bp.

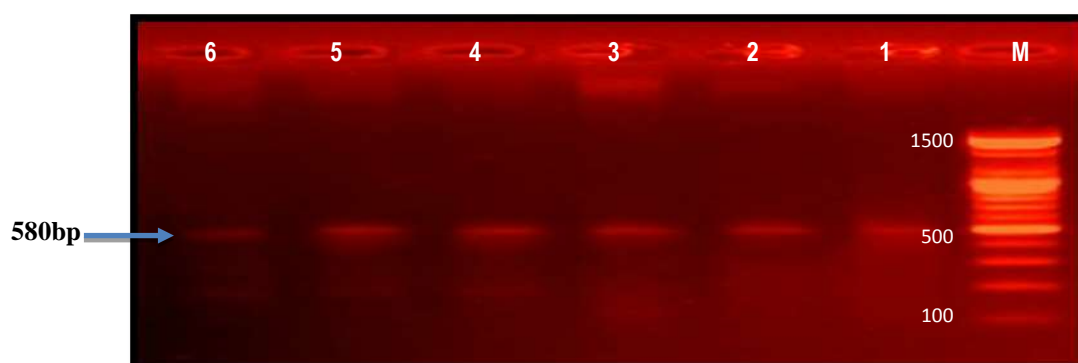
**(3-3-1-4): الكشف التأكدي للجين التشخيصي B1 باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة من النوع المتداخل في عينات الأنسجة.**

لتضخيم الجين B1 الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية في عينات الأنسجة الموجبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي تم اختبار العينات والبالغ عددها 10 عينات موزعة بحسب نوع العضو وباستخدام تفاعل سلسلة البلمرة من النوع المتداخل N-PCR وقد تبين خلال الدورة الاولى بأن هناك 6 عينات بنسبة 60% تم فيها تضخيم الجين B1 (580bp) ضمت عينتان من عينات الكبد وبنسبة 40% وعينه واحدة من عينات القلب بنسبة 50% وعينه واحدة لكل من عضلات الصدر والطحال والأمعاء الدقيقة بنسبة 100% لكل منهم، أما في الدورة الثانية حصل تضخيم للجين B1 (531bp) في أربع عينات بنسبة 66.66% ضمت عينه واحدة من الكبد بنسبة تضخيم 50% وعينه واحدة لكل من القلب وعضلات الصدر والأمعاء بنسبة 100% لكل منهم في حين لم يحصل تضخيم للجين B1 في عينات الطحال، وأشارت نتائج التحليل الاحصائي الى وجود فروقات معنوية في نسبة تضخيم الجين B1 بين الأعضاء تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  وكما موضح في الجداول (4-16) (4-17) والملحق (20) والملحق (21) والصور (4-9) (4-10).

**الجدول (4-16) أعداد ونسب تضخيم الجين B1 (580bp) في عينات أنسجة الطيور (الموجبة لتقنية ال PCR باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة المتداخل N-PCR) (الدورة الأولى).**

اسم العضو المصاب	عدد العينات المفحوصة	عدد عينات الأنسجة الموجبة لل PCR الاعتيادي	عدد العينات الموجبة لل N-PCR	%	عدد العينات السالبة	%
الكبد	9	5	2	(40)A	3	60
القلب	9	2	1	(50)A	1	50
عضلات الصدر	9	1	1	(100) B	0	0
الطحال	9	1	1	(100)B	0	0
الأمعاء الدقيقة	9	1	1	(100)B	0	0
المجموع	45	10	6	60	4	40

تشير الحروف المتشابهة إلى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  ، كما تشير الحروف الكبيرة إلى أن القراءة الاحصائية عمودية.

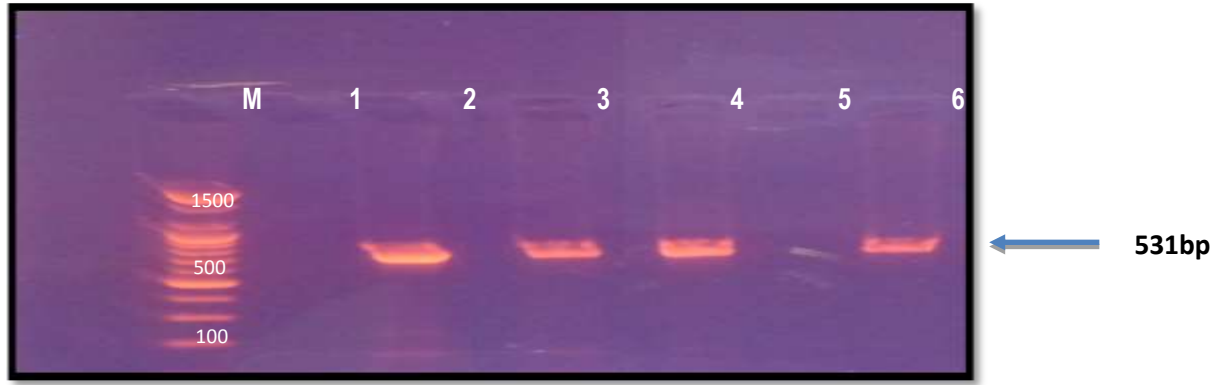


صورة (4-8): الأعمدة 1,2 تمثل عينات كبد، 3 تمثل عينة القلب، 4 تمثل عينة عضلات الصدر، 5 تمثل عينة الطحال، 6 تمثل عينة الأمعاء الدقيقة الموجبة لتفاعل سلسلة البلمرة المتداخل (الدورة الأولى) حيث يظهر الجين B1 الخاص بطفيلي المقوسة ذو الوزن الجزيئي 580bp. M يمثل Ladder ذو الوزن الجزيئي 1500-100bp.

#### الجدول (4-17): أعداد ونسب تضخيم الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 531bp في عينات أنسجة الطيور باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة المتداخل N-PCR (الدورة الثانية).

اسم العضو المصاب	عدد العينات المفحوصة	عدد عينات الأنسجة الموجبة للـ N-PCR (الدورة الأولى)	عدد العينات الموجبة للـ N-PCR (الدورة الثانية)	%	عدد العينات السالبة	%
الكبد	9	2	1	(50)A	1	50
القلب	9	1	1	(100)B	0	0
عضلات الصدر	9	1	1	(100)B	0	0
الطحال	9	1	0	(0)C	1	100
الأمعاء الدقيقة	9	1	1	(100)B	0	0
المجموع	45	6	4	66.66	2	33.34

تشير الحروف المتشابهة إلى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  . كما تشير الحروف الكبيرة إلى أن القراءة الاحصائية عمودية.



صورة (4-9) : الاعمدة، 1 يمثل عينة كبد سالبة، 2 يمثل عينة كبد موجبة، 3 يمثل عينة قلب موجبة، 4 يمثل عينة عضلات صدر موجبة، 5 يمثل عينة طحال سالبة، 6 يمثل عينة أمعاء موجبة لتفاعل سلسلة البلمرة المتداخل (الدورة الثانية) حيث يظهر الجين B1 الخاص بطفيلي المقوسسة ذو الوزن الجزيئي 531bp، M يمثل Ladder ذو الوزن الجزيئي 1500-100bp.

#### **(4-1-4): مقارنة بين نتائج اختبار تلازن اللاتكس واختبار الكاسيت السريع وتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي لعينات دم الطيور المشمولة بالدراسة .**

أشارت نتائج المقارنة بين نتائج طرق الاختبار الثلاث المستخدمة في الكشف عن الإصابة بداء المقوسات في الطيور المشمولة بالدراسة في منطقة الفرات الأوسط، إلى حصول تدرج تنازلي في نسب الإصابة، ففي الدجاج المحلي تدرجت النسبة من 38.75 % (31 عينة) باستخدام اختبار اللاتكس الى 30 % (24 عينة) باستخدام اختبار الكاسيت السريع ثم 17.5 % (14 عينة) باستخدام اختبار تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي، أما بالنسبة لعينات الديك الرومي فقد تدرجت النسبة من 35 % (28 عينة) الى 23.75 % (19 عينة) ثم 15 % (12 عينة) باستخدام اللاتكس، الكاسيت السريع، تفاعل سلسلة البلمرة على التوالي في حين تدرجت النسبة في طيور الإوز من 27.5 % (22 عينة) الى 12.5 % (10 عينات) ثم 10 % (8 عينات) باستخدام الاختبارات الثلاثة (اللاتكس، الكاسيت السريع، تفاعل سلسلة البلمرة) على التوالي، كما إن استخدام اختباري اللاتكس والكاسيت السريع لفحص عينات البط المحلي أوضح أن نسب الإصابة كانت 18.75 % (15 عينة)، 8.75 % (7 عينات) على التوالي في حين لم يعط تفاعل سلسلة البلمرة أي نتائج إيجابية في هذا النوع من الطيور، وبشكل عام يلاحظ أن نسبة الإصابة باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة قد بلغت 10.62 % (34 عينة) في حين بلغت النسبة

18.75 % (60 عينه) باستخدام اختبار الكاسيت السريع و30% (96عينه) باستخدام اختبار اللاتكس كما موضح في الجدول (4-18) والملحق (22).

**الجدول (4-18) أعداد ونسب الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii* باستخدام الاختبارات التشخيصية الثلاثة ( Latex, Rapid test cassette and Conventional PCR).**

تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي -blood-	الكاسيت السريع	اللاتكس	العدد المفحوص	نوع الاختبار نوع العينه
العدد الموجب (%)	العدد الموجب (%)	العدد الموجب (%)		
14 (17.5)	24 (30)	31 (38.75)	80	الدجاج المحلي
12 (15)	19 (23.75)	28 (35)	80	الديك الرومي
8 (10)	10 (12.5)	22 (27.5)	80	الأوز الأريدي
0 (0)	7 (8.75)	15 (18.75)	80	البط المحلي
34 (10.62)	60 (18.75)	96 (30)	320	المجموع

كما أشارت نتائج حساب حساسية Sensitivity وخصوصية Specificity اختبار تلازن اللاتكس باستخدام نتائج تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي كنتائج قياسية Standard إذ كانت القيم كما يلي 35%، 72% على التوالي كما مبين في الجدول (4-19).

**الجدول (4-19) حساسية وخصوصية الاختبارات المستخدمة (اللاتكس وتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي) في تشخيص طفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii***

الخصوصية %	الحساسية %	المجموع	PCR		التقنية
			السالبي	الموجب	
		96	62 FP	34 TP	الموجب

72%	35%	224	162 TN	62 FN	السالب	Latex
		320	224	96	المجموع	

كما استخرجت حساسية وخصوصية اختبار الكاسيت السريع بالاعتماد على نتائج تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي كنتائج قياسية Standard وكانت كما يلي 35%، 88% على التوالي كما مبين في الجدول (4-20).

**الجدول (4-20) حساسية وخصوصية الاختبارات (الكاسيت السريع وتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي) المستخدمة في تشخيص طفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii*.**

الخصوصية %	الحساسية %	المجموع	PCR		التقنية	
			السالب	الموجب	الموجب	السالب
88%	35%	60	26 FP	34 TP	الموجب	Rapid test cassette
		260	198 TN	62 FN	السالب	
		320	224	96	المجموع	

**(4-1-5): الكشف عن طفيلي المقوسة الكوندية في القط المنزلية في**

**محافظة الديوانية**

**(4-1-5-1): اختبار تلازن اللاتكس.**

**A- الكشف المناعي النوعي Qualitative Immunological Detection**

أشارت نتائج الفحص المناعي النوعي باستخدام تلازن اللاتكس لفحص عشرة قطط منزلية، إلى أن هناك خمس قطط كانت مصابة بطفيلي المقوسة الكوندية بنسبة 50% كما مبين في الجدول (4-21)

**الجدول (4-21) عدد ونسبة الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في مصول القطط**

**المنزلية باستخدام فحص تلازن اللاتكس.**

العدد المفحوص	العدد الموجب (%)	العدد السالب (%)
10	5 (50)	5 (50)



## Quantative Immunological Detection

## B- الكشف المناعي الكمي

دلت نتائج الفحص المناعي الكمي باستخدام فحص تلازن اللاتكس، على أن أعلى نسبة للأجسام المضادة لطيفلي المقوسة الكوندية كانت في المعيارية 1/20 بلغت 40 % بواقع عينتان موجبة في حين كانت أقل نسبة مسجلة في كل من المعيارية 1/40، 1/80، 1/160 بنسبة 20% بواقع عينه واحدة لكل معيارية، أشارت نتائج التحليل الاحصائي الى وجود ارتفاع معنوي في معيارية أجسام الضد عند المعيار 1/20 مقارنة مع بقية المعايير تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  كما مبين في الجدول (4-22) والملحق (23).

### الجدول (4-22): أعداد ونسب معيارية أجسام الضد لطيفلي المقوسة الكوندية في

### مصول القطط المنزلية باستخدام فحص اللاتكس.

المعيارية						العدد المفحوص	العدد الموجب (%)
1/640	1/320	1/160	1/80	1/40	1/20		
العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)		
0	0	1	1	1	2	5	10
(0)c	(0)c	(20)b	(20)b	(20)b	(40)a	(50)	

تشير الحروف المتشابهة إلى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$ . كما تشير الحروف الصغيرة إلى أن القراءة الاحصائية أفقية.

## Rapid test cassette

## (4-1-5-2): اختبار الكاسيت السريع

بينت نتائج استخدام فحص الكاسيت السريع بأن هناك ثلاث قطط أعطت نتيجة موجبة للاختبار بنسبة 30% احتوت مصول اثنتان منها على الجسم المضاد من نوع IgG بنسبة 66.66% في حين احتوى مصل العينه الثالثة على الأجسام المضادة من نوع IgG و IgM معاً بنسبة 33.34%، كما أشارت النتائج إلى عدم وجود للجسم المضاد من نوع IgM، بينت نتائج التحليل الاحصائي الى وجود فروقات معنوية بين أنواع أجسام الضد تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  كما مبين في الجدول (4-23) والملحق (24).

### الجدول (4-23) أعداد ونسب الإصابة بطيفلي المقوسة الكوندية في مصول القطط المنزلية

### باستخدام الكاسيت السريع.

نوع الجسم المضاد	
------------------	--

IgG+IgM	IgG	IgM			
العدد	العدد	العدد			
(%)	(%)	(%)	العدد السالب (%)	العدد الموجب (%)	العدد المفحوص
1 (33.34) c	2 (66.66) b	0 (0) a	7 (70)	3 (30)	10

تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$ . كما تشير الحروف الصغيرة إلى أن القراءة الاحصائية أفقية.

### (4-1-5-3): الكشف الجزيئي عن الجين B1 في عينات دم وأنسجة القط باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Polymerase Chain Reaction

أشارت نتائج استخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي لتشخيص الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp في عينات دم عشر قطط منزلية، إلى عدم وجود أي حالة إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في حين أشارت نتائج التحري عن الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp في أنسجة القطط الثلاث الموجبة لاختبار الكاسيت السريع، إلى أن إحدى القطط احتوت على الجين في أنسجة الكبد والدماغ في حين احتوت الثانية على الجين في الكبد والكلية أما الثالثة فلم يتم تسجيل حالة تواجد للجين B1 في أنسجة أعضائها، كما مبين في الجدول (4-24).

### الجدول (4-24): تواجد الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp في عينات أنسجة القط باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

نوع النسيج	الكبد	الدماغ	القلب	الكلية	الرئتين	عضلات الساق	الطحال	الأمعاء الدقيقة
تسلسل الحيوان	العدد	العدد	العدد	العدد	العدد	العدد	العدد	العدد
1	+	+	-	-	-	-	-	-
2	+	-	-	+	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-

+ : تشير إلى وجود الجين B1 في العضو .  
- : تشير إلى عدم وجود الجين في العضو .

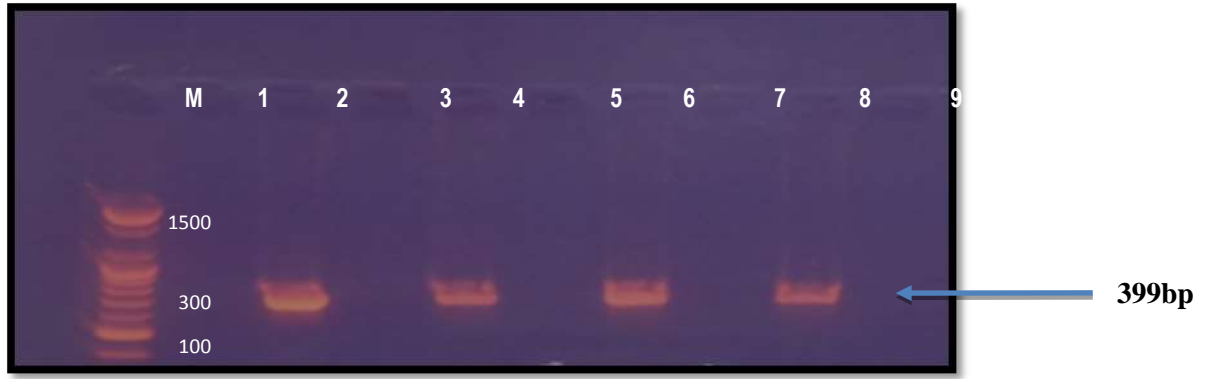
كما يتضح من الجدول (25-4) والملحق (25) والصورة (4-11) بأن أعلى نسبة إصابة سجلت في

الكبد بلغت 66.66% بواقع عينتان يليه الدماغ والكلية بنسبة 33.34% وبواقع عينه واحده لكل منهما ولم يتم تسجيل أي حالة تواجد للجين B1 في أنسجة كل من القلب والرئتين وعضلات الساق والطحال والأمعاء الدقيقة، اشارت نتائج التحليل الاحصائي الى وجود ارتفاع معنوي في نسبة تواجد الجين في الكبد عنه في بقية الاعضاء تحت مستوى احتماليه  $P \leq 0.05$ .

**الجدول (25-4): أعداد ونسب تواجد الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp في أنسجة القطط المنزلية بحسب العضو المصاب باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.**

اسم العضو	عدد العينات المختصة	عدد العينات الموجبة	(%)	عدد العينات السالبة	(%)
الكبد	3	2	(66.66)A	1	(33.34)
الدماغ	3	1	(33.34) B	2	(66.66)
الكلية	3	1	(33.34) B	2	(66.66)
القلب	3	0	(0)C	3	(100)
الرئة	3	0	(0)C	3	(100)
عضلات الساق	3	0	(0)C	3	(100)
الطحال	3	0	(0)C	3	(100)
الأمعاء الدقيقة	3	0	(0)C	3	(100)
المجموع	24	4	(16.66)	20	(83.34)

تشير الحروف المتشابهة إلى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$ . كما تشير الحروف الكبيرة إلى أن القراءة الاحصائية عمودية.



صورة (4-10): الاعمدة 2,4 تمثل عينات الكبد، 6 عينة الدماغ، 8 عينة الكلية الموجبة لتفاعل سلسلة البلمرة، حيث يظهر الجين B1 الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية ذو الوزن الجزيئي 399bp في حين يمثل 1 عينة القلب، 3 عينة عضلات الساق، 5 عينة الطحال، 7 عينة رئة، 9 عينة الأمعاء الدقيقة السالبة للتفاعل، M يمثل Ladder ذو الوزن الجزيئي 1500-100 bp

## Histopathological study **(4-1-6): الدراسة المرضية النسجية**

### A - التغيرات المرضية النسجية العيانية Gross histopathological changes

أظهرت نتائج تشريح الطيور والقطط التي تم التأكد من إصابتها بطفيلي المقوسة الكوندية *T. gondii* وجود العديد من التغيرات المرضية العيانية على بعض أعضائها وكما يلي:

#### 1-الكبد Liver

من أهم التغيرات المرضية التي لوحظت على أكباد الطيور والقطط المصابه هي حصول تغير في لون نسيج الكبد Discoloration من اللون الأحمر إلى اللون الأصفر في بعض أجزائه بهيئة تبقع إضافة إلى حصول تضخم Hepatomegaly فيه كما موضح في الصور (4-11 4-13).

#### 2-الدماغ Brain

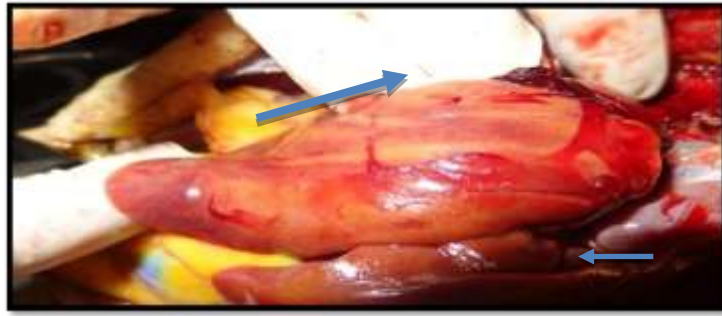
تمثلت التغيرات المرضية العيانية في دماغ الطيور بوجود احتقان Congestion في الأوعية الدموية المنتشرة في أغشية السحايا Meningeal membranes، كما مبين في الصورة (4-14).

#### 3-الطحال Spleen

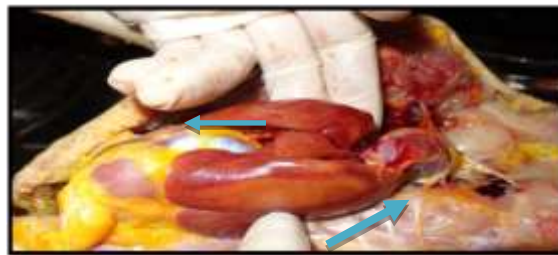
وفي الطحال Spleen لوحظ حصول تضخم Splenomegaly مع وجود نزف دموي Hemorrhage، الصورة (4-15).

#### 4-الكلية Kidney

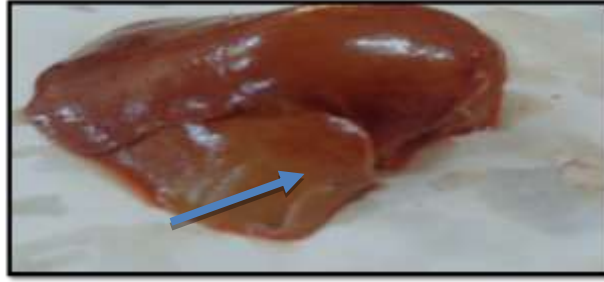
من أهم التغيرات المرضية التي لوحظت على كلية القبط المصابة بطفيلي المقوسة الكوندية، حصول احتقان Congestion في الأوعية الدموية كما مبين في الصورة (4-16)، في حين لم تتم ملاحظة أي تغيرات مرضية في عضلات الصدر والأمعاء والقلب بالنسبة للطيور كما لم تتم ملاحظة أي تغيرات مرضية عيانية على أنسجة القلب وعضلات الساق والدماغ والطحال والرئتين والأمعاء الدقيقة العائدة للقطط المنزلية.



الصورة (4-11): تمثل كبد الاوز *Anser anser* المصاب بطفيلي المقوسة الكوندية يظهر فيه تغير في اللون Discoloration الى اللون الأصفر ( إضافة الى حصول تضخم



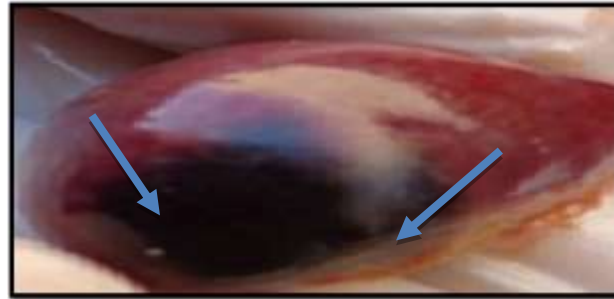
الصورة (4-12): تمثل كبد دجاجة محلية *Gallus gallus domesticus* مصابة بطفيلي المقوسة الكوندية يظهر فيه حصول تغير في اللون الأحمر الى اللون الأصفر ( في بعض اجزائه اضافة الى تضخمه 16X.Hepatomegaly).



الصورة (4-13): تمثل كبد قط مصاب بطفيلي المقوسة الكوندية يظهر فيه حصول تغير في اللون الأحمر إلى اللون الأصفر Discoloration (←) في بعض اجزائه. 16X.



الصورة (4-14): تمثل دماغ دجاجة محلية *Gallus gallus domesticus* مصابة بطفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii*، يلاحظ فيه احتقان الأغشية الدموية المنتشرة في غشاء السحايا Meningeal membrane (←).



الصورة (4-15): تمثل طحال دجاجة محلية *Gallus gallus domesticus* مصابة بطفيلي المقوسة الكوندية يلاحظ فيه حصول تضخم Splenomegaly مع وجود نزف دموي Hemorrhage (←). 16X.



الصورة (4-16): تمثل كلية قط مصاب بطفيلي المقوسة الكوندية يلاحظ فيه حصول احتقان Congestion في الأغشية الدموية (←). 16X.

## B-التغيرات النسجية المرضية المجهرية

### Microscopic

### histopathological

### changes

أظهرت نتائج الفحص المجهرية للمقاطع النسجية لأعضاء الطيور والقطط المنزلية المصابة بطفيلي المقوسة الكوندية وجود عدد من التغيرات المرضية على الأعضاء المصابة وكما يلي:

#### 1-الكبد Liver

تمثلت التغيرات المرضية النسجية في الكبد بوجود احتقان Congestion في الاوعية الدموية مع وجود كيس نسجي محاط بنسيج ليفي كما موضح في الصور (17-4 - 18-4) فضلاً عن احتقان في الوعاء الدموي وتوسع في الجيبانيات Dilation of sinusoids مع وجود كيس نسجي الموضح في الصورة(4-19) كما لوحظ احتقان في الاوعية الدموية فضلاً عن حصول تنكس فجوي Vacuolated degeneration للخلايا الكبدية والمبين في الصورة (-20) 4) اضافة الى وجود تنخر Necrosis مع كيس نسجي متكلس كما في الصورة(4-21) هذا بالمقارنة مع نسيج الكبد السليم الموضح في الصورة (4-22).

#### 2-عضلات الصدر Pectoral muscles

تميزت التغيرات المرضية في المقاطع العرضية لعضلات الصدر بوجود تنخر Necrosis في الألياف العضلية فضلاً عن وجود الأطوار سريعة التكاثر Tachyzoites والأكياس النسجية Tissue cysts بين الألياف العضلية كما مبين في الصورة(4-23) عند مقارنتها مع مثيلاتها السليمة والمبينة في الصورة (4-24).

#### 3-القلب Heart

من أهم التغيرات المرضية النسجية في مقاطع القلب هي فقدان التخطيط العرضي Cross-striation للألياف العضلية إضافة إلى وجود كيس نسجي بين الألياف العضلية فضلاً عن وجود الأطوار سريعة التكاثر Tachyzoites كما موضح في الصور(4-25 - 4-27) بالمقارنة مع نسيج القلب السليم الموضح في الصورة (4-28).

#### 4- الأمعاء الدقيقة Small intestine

أظهرت نتائج الفحص المجهرى لمقاطع الأمعاء الدقيقة وجود حصول فرط تنسج Hyperplasia في الزغابات، كما موضح في الصورة (4-29) عند مقارنتها مع الأمعاء السليمة المبينة في الصورة (4-30).

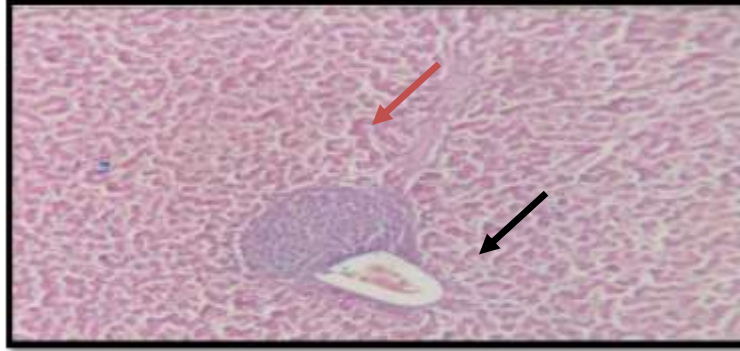
#### 5- الدماغ Brain

امتازت المقاطع العرضية للدماغ بوجود احتقان في الوعاء الدموي مع إرتشاح للخلايا النجمية Astrocytes والخلايا الدبقة Microglia كما في الصورة (4-31) فضلاً عن وجود كيس نسجي Tissue cyst منكلس وكذلك ارتشاح Infiltration للخلايا النجمية والدبقة المبينة في الصورة (4-32) هذا بالمقارنة مع نسيج الدماغ السليم المبين في الصورة (4-33).

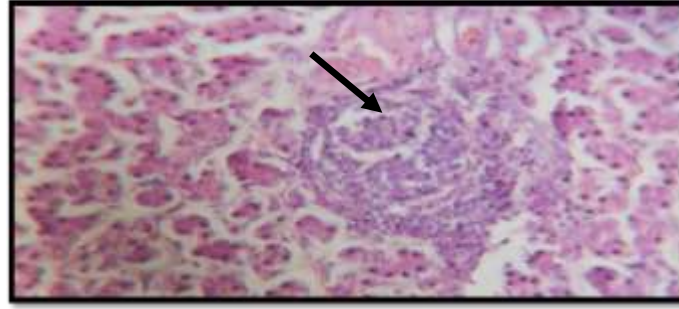
#### 6- الكليه Kidney

تمثلت التغيرات المرضيه في الكليه بوجود تكلس Calcification في بعض الكبيبات الكلويه Renal glomuli فضلاً عن وجود توسع في النبيبات الكلوية الملتنوية Renal convoluted tubules كما مبين في الصورة (4-34) مقارنة بنسيج الكليه السليم الموضح في الصورة (4-35).

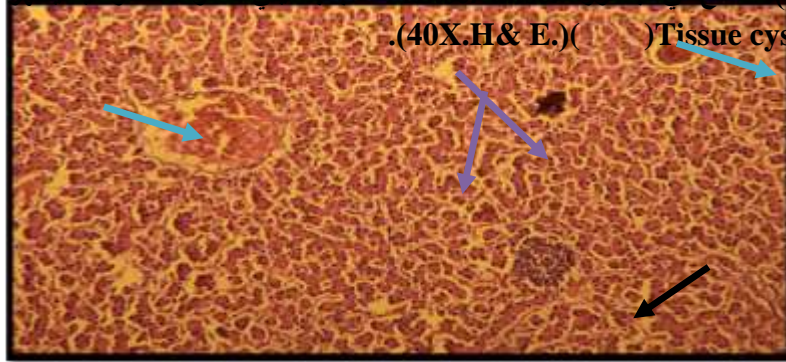




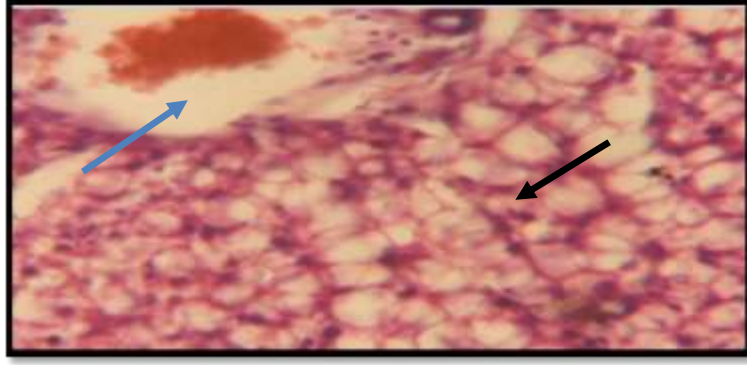
الصورة (4-17): مقطع في كبد دجاجة محلية *Gallus gallus domesticus* مصابه بطفيلي المقوسة الكونديه يلاحظ فيه حصول احتقان الوعاء الدموي (←) مع وجود كيس نسجي Tissue cyst واقع بالقرب من الوعاء ومحاط بنسيج ليفي (←) (10X.H&E).



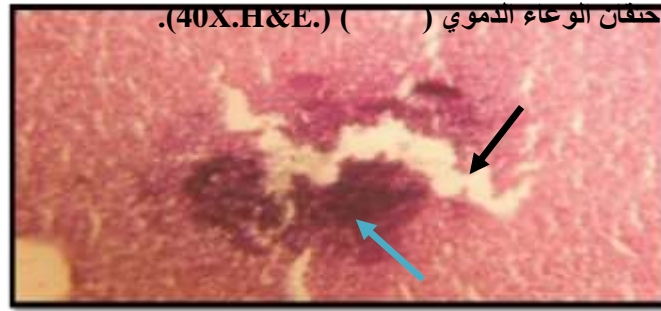
الصورة (4-18): مقطع في كبد اوز *Anser anser* مصاب بطفيلي المقوسة الكونديه يظهر فيه كيس نسجي Tissue cyst (←) (40X.H&E).



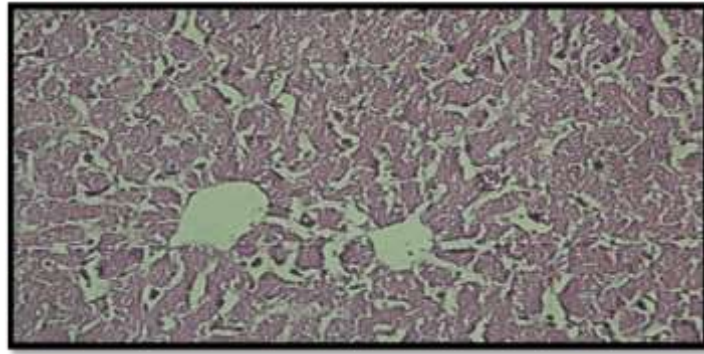
الصورة (4-19): مقطع في كبد ديك رومي *Meleagris galpavol* مصاب بطفيلي المقوسة الكونديه يلاحظ احتقان الوعاء الدموي (←) فضلاً عن توسع الجيبانيات (←) مع وجود كيس نسجي للطفيلي (←) (10X.H&E).



الصورة (20-4): مقطع في كبد قط مصاب بطفيلي المقوسة الكونديه يلاحظ فيه تنكس فجوي

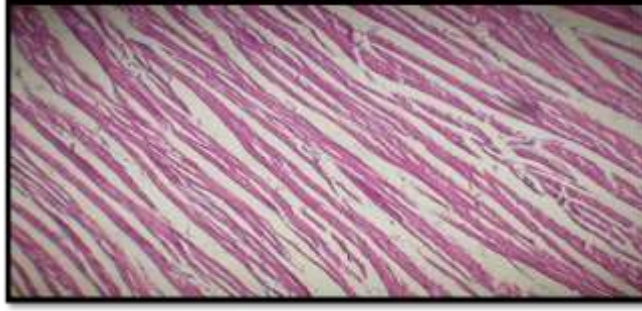


الصورة (21-4): مقطع في كبد قط مصاب بطفيلي المقوسة الكونديه يلاحظ فيه حصول تنخر ( ) في النسيج مع وجود كيس نسيجي Tissue cyst متكلس ( ) (10X.H&E).

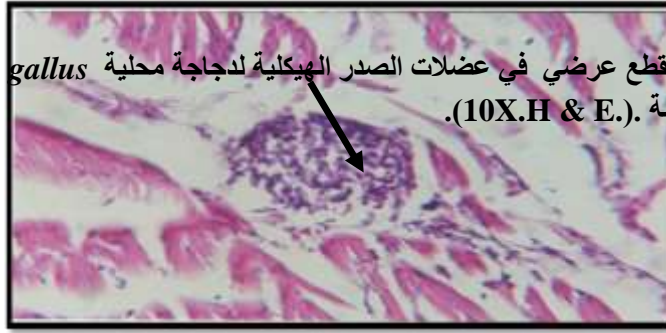


الصورة (22-4): مقطع في كبد قط سليم (10X.H&E).

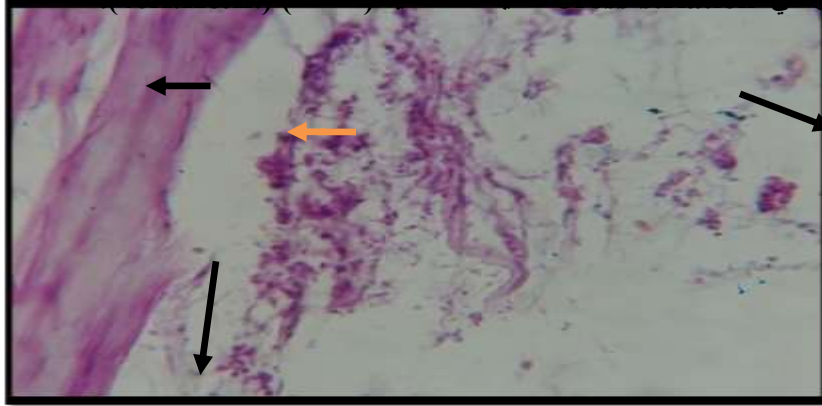
الصورة (23-4): مقطع عرضي في عضلات الصدر الهيكلية لدجاجة محلية *Gallus domesticus* مصابه بطفيلي المقوسة الكونديه تظهر فيه الاطوار سريعة التكاثر Tachyzoites ( ) بين الالياف العضلية فضلا عن تنخر النسيج (40X.H&E).



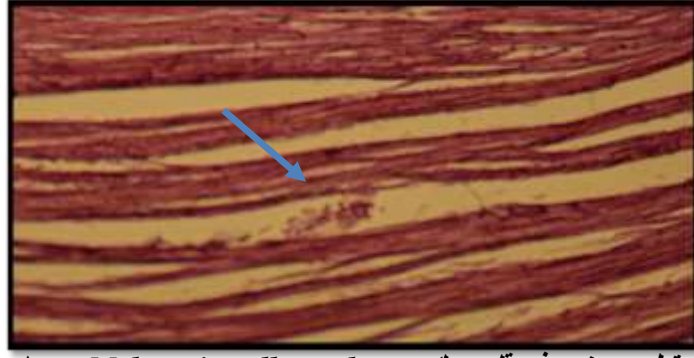
الصورة (4-24): مقطع عرضي في عضلات الصدر الهيكلية لدجاجة محلية *Gallus gallus domesticus* سليمة. (10X.H & E.).



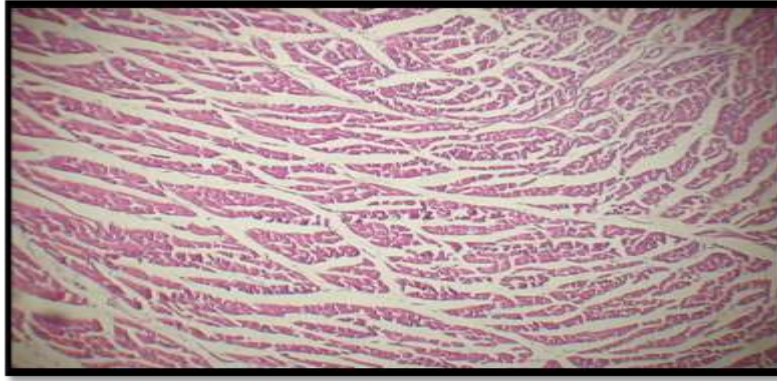
الصورة (4-25): مقطع عرضي لقلب ديك رومي *Meleagris galpavol* مصاب بطفيلي المقوسة الكونديه يوضح وجود كيس نسجي بين الالياف العضلية القلبية ( ) فضلاً عن فقدان التخطيط العرضي *Cross-striation* للألياف العضلية ( ) (40X H&E)



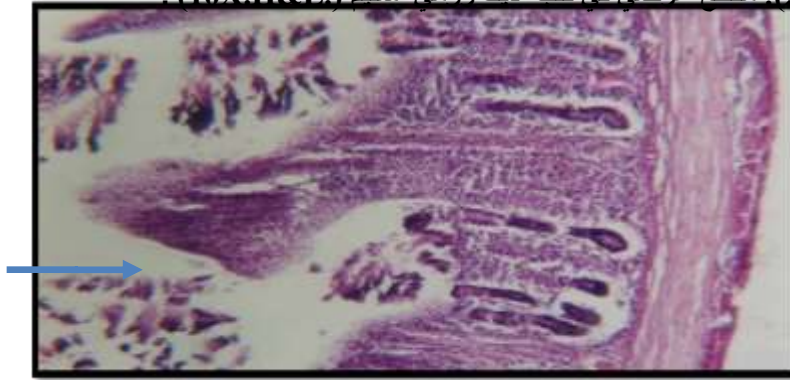
الصورة (4-26): مقطع عرضي في عضلات قلب ديك رومي *Meleagris galpavol* مصاب بطفيلي المقوسة الكونديه تظهر فيه الاطوار سريعة التكاثر *Tachyzoites* ( ) (40X.H&E).



الصورة (27-4): مقطع عرضي في قلب ديك رومي *Meleagris gallopavo* مصاب بطفيلي المقوسة الكونديه يلاحظ فيه كيس نسجي بين الالياف العضلية (←) (10X.H&E).



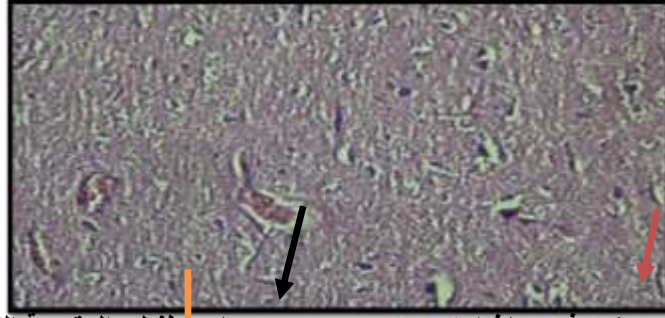
الصورة (28-4): مقطع عرضي في قلب ديك رومي سليم (10X.H&E).



الصورة (29-4): مقطع عرضي في الامعاء الدقيقة لدجاجة محلية *Gallus gallus domesticus* مصابه بطفيلي المقوسة الكونديه يظهر فيه فرط التنسج Hyperplasia في الزغابات (←) (10X.H&E).



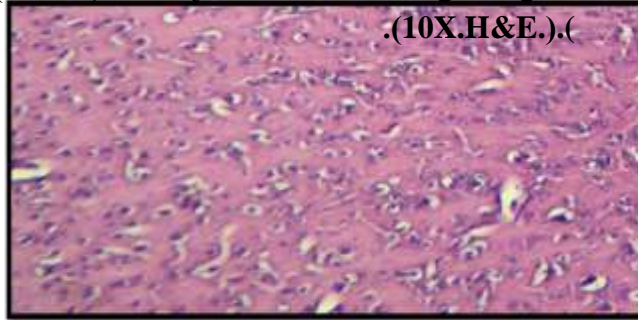
الصورة (30-4): مقطع عرضي في الامعاء الدقيقة لدجاجة محلية سليمة (10X.H&E).



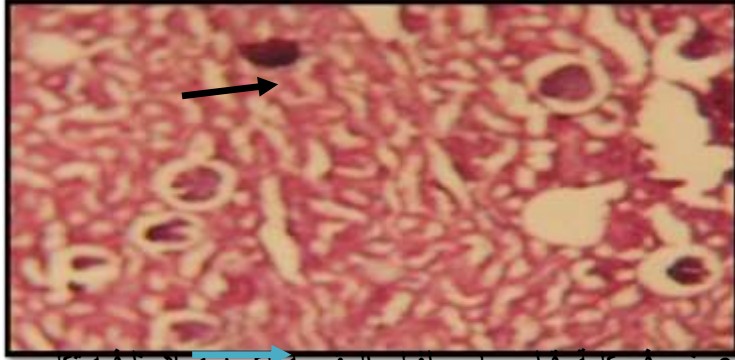
الصورة (31-4): مقطع عرضي في دماغ اوز *Anser anser* مصاب طفيلي المقوسة الكونديه  
 يلاحظ حصول الاحتقان في الوعاء الدموي ( — ) مع ارتشاح للخلايا النجمية Astrocytes  
 ( — ) الخلايا الدبقة الدقيقة Microglia ( — ). (40X.H&E).



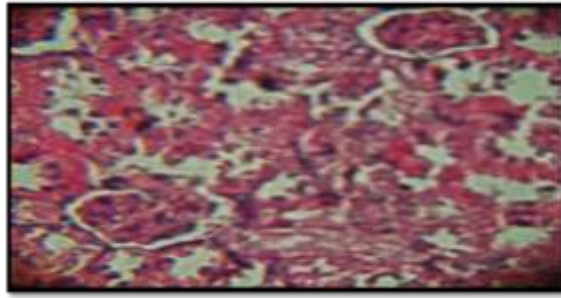
الصورة (32-4): مقطع عرضي في دماغ قط مصاب بطفيلي المقوسة الكونديه يظهر فيه كيس نسجي  
 Tissue cyst ( ) متكلس مع ارتشاح للخلايا النجمية Astrocytes ( ) والخلايا الدبقة  
 الدقيقة Microglia ( ). (10X.H&E).



الصورة (33-4): مقطع عرضي في دماغ قط سليم. (10X.H&E).



الصورة (4-34): مقطع عرضي في كلية قط مصاب بطفيلي المقوسة الكوندية يلاحظ فيه تكلس بعض الكبيبات الكلوية ( ) فضلاً عن توسع النبيبات الكلوية الملتوية ( ) (10X.H&E).



الصورة (4-35): مقطع عرضي في كلية قط سليم. (40X.H&E).

#### (4-1-7): الكشف عن أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في تربة

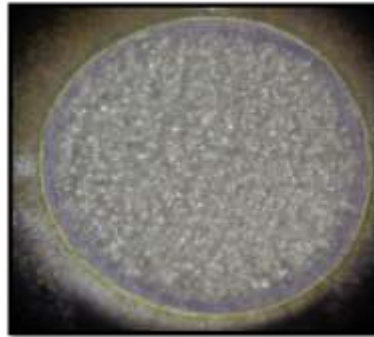
##### بعض الأحياء السكنية في محافظة الديوانية.

##### A- طريقة الترسيب Sedimentation method

لم تعطي نتائج فحص 50 عينه تربة من الحدائق المنزلية لعشرة أحياء سكنية من محافظة الديوانية أي نتيجة إيجابية عند استخدام طريقة الترسيب بحثاً عن أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في تلك العينات.

##### B- طريقة التطويق Flootation method

أشارت نتائج فحص 50 عينة تربة من الأحياء السكنية في محافظة الديوانية باستخدام طريقة التطوير إلى وجود 5 عينات بنسبة 10% أعطت نتيجة موجبة للفحص باستخدام محلول نترات الصوديوم المشبع  $\text{NaNO}_3$  ، ضمت عينتان بنسبة 40% من حي الصدر الاولي وعينه واحدة بنسبة 20% لكل من حي النهضة وحي الوحدة العربية وحي العروبة في حين لم تسجل أي حالة تواجد لأكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في بقية الأحياء المشمولة بالدراسة، دلت نتائج التحليل الاحصائي إلى وجود ارتفاع معنوي في نسبة تواجد أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في منطقة الصدر الاولي مقارنة مع بقية الأحياء السكنية تحت مستوى احتمال  $P \leq 0.05$  . كما مبين في الجدول (4-26) والملحق (26) والصورة (4-36).



الصورة (4-36) تبين كيس بيض غير متبوغ لطفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii* في عينات التربة بطريقة التطوير 10X.

**الجدول (4-26) أعداد ونسب تواجد أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في عينات تربة الحدائق المنزلية لبعض الأحياء السكنية في محافظة الديوانية باستخدام طريقة التطوير.**

الحي السكني	العدد المفحوص	العدد الموجب	(%)	العدد السالب	(%)
حي الصدر الاولي	5	2	(40) A	3	(60)
حي النهضة	5	1	(20) B	4	(80)
حي الأسكان القديم	5	0	(0) C	5	(100)
حي الوحدة العربية	5	1	(20) B	4	(80)

(80)	4	(20) B	1	5	هي العروبة
(100)	5	(0) C	0	5	هي الفرات
(100)	5	(0) C	0	5	هي الجزائر
(100)	5	(0) C	0	5	هي الحكيم
(100)	5	(0) C	0	5	هي المتقاعدين
(100)	5	(0) C	0	5	هي الجامعة
(90)	45	(10)	5	50	المجموع

تشير الحروف المتشابهة إلى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  كما تشير الحروف الكبيرة إلى أن القراءة الاحصائية عمودية.

## C – الكشف الجزيئي باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي

### Conventional Polymerase Chain Reaction

أشارت نتائج فحص 50 عينة تربة من الحدائق المنزلية لعشرة أحياء سكنية في محافظة الديوانية باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي إلى أن هناك عينتان فقط أعطت نتيجة إيجابية وبنسبة 4 % ضمت عينه من منطقة حي الصدر الاولى وعينه من منطقة حي الفرات وبنسبة 20% لكل واحدة منهما ولم تسجل أي حالة لتواجد الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية في تربة بقية الأحياء السكنية، وأشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود فروقات معنوية في نسبة تواجد الجين B1 في تربة حدائق حي الصدر الاولى وحي الفرات عنها في بقية الأحياء السكنية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  كما مبين في الجدول (4-27) والملحق (27) والصورة (4-37).

**الجدول (4-27) أعداد ونسب تواجد الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp في عينات تربة الحدائق المنزلية لبعض الأحياء السكنية في محافظة الديوانية باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي .**

الحي السكني	العدد المفحوص	العدد الموجب	(%)	العدد السالب	(%)
حي الصدر الأولى	5	1	(20) A	4	(80)



(100)	5	(0) B	0	5	هي النمضة
(100)	5	(0) B	0	5	هي الأسكان القديم
(100)	5	(0) B	0	5	هي الوحدة العربية
(100)	5	(0) B	0	5	هي العروبة
(80)	4	(20) A	1	5	هي الفرات
(100)	5	(0) B	0	5	هي الجزائر
(100)	5	(0) B	0	5	هي الحكيم
(100)	5	(0) B	0	5	هي المتقاعدين
(100)	5	(0) B	0	5	هي الجامعة
(96)	48	(4)	2	50	المجموع

تشير الحروف المتشابهة إلى عدم وجود فروقات معنوية في حين تشير الحروف المختلفة إلى وجود فروقات معنوية تحت مستوى احتمالية  $P \leq 0.05$  كما تشير الحروف الكبيرة إلى أن القراءة الاحصائية عمودية.



الصورة (4-37): تمثل الاعمدة 11,12 عينات تربة الحدائق المنزلية الموجبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي حيث يظهر الجين B1 الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية ذو الوزن الجزيئي 399bp اما الاعمدة 1-10 تمثل عينات التربة السالبة، M يمثل Ladder ذو الوزن الجزيئي 1500-100bp.

## 5- المناقشة Discussion

تعد الطيور من المضائف الوسطية التي تلعب دوراً مهماً في وبائية الكثير من الطفيليات وخاصة طفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* ونقل الإصابة إلى الإنسان عن طريق تناول لحومها النيئة أو غير المطبوخة جيداً (Freckl & Ruiz, 1980)، ونظراً لطبيعة تغذية الطيور الداجنة من التربة الملوثة بأكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية التي تمتاز بمقاومتها للظروف البيئية المختلفة وبقائها لمدة قد تصل إلى سنة مما يؤدي إلى إصابة تلك الطيور بالطفيلي وبالتالي انتقال الإصابة إلى الإنسان نتيجة لتغذيته على لحوم تلك الطيور وهنا تكمن أهمية داء المقوسات في الطيور (Yan *et al.*, 2009) لذا تعد إصابة الطيور بطفيلي المقوسة الكوندية مؤشراً جيداً لتلوث التربة بأكياس بيض الطفيلي نتيجة لتغذيتها المباشرة من التربة (Tsai *et al.*, 2006)، وقد تأتي إصابة الطيور والقوارض عن طريق تناول الغذاء والماء الملوثين بأكياس البيض أو ملامسة التربة الملوثة ببراز القطط المصابة (Mims *et al.*, 1998; Devada *et al.*, 2004).

أن تشخيص الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية مجهداً صعب جداً سواء في الإنسان أو في الحيوانات وذلك بسبب تشابه الطفيلي مع الكثير من الطفيليات الأخرى وخاصة طفيلي *Sarcocystis spp*, *Leishmania spp* (Darabus *et al.*, 2006; Cosoroaba, 2005) لذلك يجب اعتماد طرق تشخيصية جزيئية ومصلية أكثر حساسية وخصوصية (Brenier-Pinchart *et al.*, 2007).

### (1-5): اختباري تلازن اللاتكس والكاسيت السريع

استخدم اختبار تلازن اللاتكس بشكل واسع لتشخيص الإصابة بداء المقوسات *Toxoplasmosis* ويعود سبب ذلك إلى سهولة استخدامه وقلة كلفته وكذلك قلة الوقت والجهد

اللازمين لإجرائه (Hasson, 2004) إذ تظهر نتيجة الفحص بعد 3-5 دقائق ويعتمد بصورة رئيسية على كفاءة ودقة المستخدم ومهاراته في إجراء الاختبار كما أنه لا يحتاج إلى أجهزة باهظة الثمن (الغريبي، 2007) وهو من الاختبارات المستخدمة في الدراسات الوبائية لداء المقوسات في الطيور وبشكل خاص الدجاج المحلي والحمام (Ali et al., 2005). أشارت نتائج الكشف المناعي النوعي باستخدام اختبار تلازن اللاتكس لـ 320 عينة مصل مأخوذة من الطيور المشمولة بالدراسية، بأن نسبة الإصابة الاجمالية بلغت 30% (96 عينة موجبه) في حين بلغت نسبة الإصابة باستخدام اختبار الكاسيت السريع 18.75% (60 عينة موجبه) وبحسب أنواع الطيور المشمولة بالدراسة كانت نسب الاصابة كما يلي:

#### **(1-1-5): الدجاج المحلي (*Gallus gallus domesticus* (Chickens))**

بينت نتائج الكشف المناعي النوعي باستخدام اختبار اللاتكس، بأن نسبة الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في الدجاج المحلي بلغت 38.75% (31 عينة موجبه) في حين كانت النسبة في هذا النوع من الطيور 30% (24 عينة موجبه) باستخدام اختبار الكاسيت السريع وهي أعلى نسبة مسجلة في هذه الدراسة مقارنة مع بقية أنواع الطيور في حين كانت أقل من النسبة التي سجلت باستخدام اختبار اللاتكس المحور من قبل كل من (El-massry et al., 2000) و (Dubey et al., 2005c) والطائي وآخرون (2005) و (Dubey & Shen (2006) والجبوري (2010) و (Al-Ramahi (2011) و (ALkhaled (2012) والتي بلغت 55.3%، 45.11%، 47.2%، 50%، 51%، 81.81% على التوالي وأعلى مما سجل في دراسة كل من (Sreekumar et al. (2003) وأغوان (2005) و (Yan et al. (2009) والتي بلغت نسبهم 17.9%، 26%، 4.1% على التوالي باستخدام تلازن اللاتكس المحور ومقاربه لما سجلت كل من (Dubey et al. (2003c) و (Dubey et al. (2007) و (Dubey & Jones (2008) وباللغة 40%، 36.3%، 40% على التوالي باستخدام اختبار تلازن اللاتكس المحور كذلك مقاربه للنسبة 36.1% المسجلة من قبل (Asgari et al. (2006) باستخدام اختبار تألق الضد غير المباشر ومقاربه للنسبة 32.66% المسجلة من قبل داخل (2012) باستخدام اختبار تلازن اللاتكس.

#### **(2-1-5): الديك الرومي (*Meleagris gallopav* (Turkey))**

أما نتائج الدراسة الحالية المتعلقة بعينات الديك الرومي فأن نسبة الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية بلغت 35% (28 عينة موجبه)، 23.75% (19 عينة موجبه) باستخدام اختباري تلازن اللاتكس والكاسيت السريع على التوالي وهذه النسبة أعلى من النسبة التي سجلت باستخدام اختبار تلازن اللاتكس المحور من قبل كل من (1993a) Dubey et al. و Quist et al. (1995) وبالغاة 14%، 10% على التوالي وأقل من النسبة التي أشار إليها كل من (1995) Chariotte et al. وبطي (2009) والتي بلغت 40%، 76.63% على التوالي باستخدام اختبار تلازن اللاتكس وكذلك أقل من النسبة 40% المسجلة من قبل Sedlak et al. (2010) باستخدام اختبار تألق الضد غير المباشر.

من خلال النتائج المذكورة يلاحظ بأن نسبة الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية كانت متقاربة في الدجاج المحلي والديك الرومي وكذلك اعلى من نسبة الاصابة بالطفيلي في بقية أنواع الطيور باستخدام اختبار تلازن اللاتكس والكاسيت السريع وقد يرجع سبب ذلك اسلوب تغذيتها ونوع البيئة التي تعيش فيها هذه الطيور، إذ أن وكما هو معروف أن الدجاج المحلي والديك الرومي تعيش في بيئة اليابسة وقريبه من المصدر الرئيسي للإصابة والتمثل بالقطط .

### (3-1-5): الإوز والبط المحلي

#### *Anas platyrhynchos domesticus and Anser (Ducks and Geese)*

*anser* بينت نتائج استخدام اختبار تلازن اللاتكس واختبار الكاسيت السريع بأن نسبة الإصابة في طيور الإوز بلغت 27.5% (22 عينة موجبه)، 12.5% (10 عينات موجبه) في حين بلغت نسبة اصابة البط المحلي 18.75% (15 عينة موجبة)، 8.75% (7 عينات موجية) باستخدام اختبار اللاتكس والكاسيت السريع على التوالي.

أن نسبة إصابة البط المحلي بطفيلي المقوسة الكوندية بالدراسة الحالية كانت أقل من النسبه التي سجلت باستخدام تلازن اللاتكس المحور من قبل (2000) El-massry et al. و (2012) Alkhaled والتي بلغت 50%، 56% على التوالي وأعلى من النسبه المسجلة من قبل كل من (1993) Literak & Hejli'ck و (2005) Ali et al. باستخدام اختبار تلازن اللاتكس وبالغاة 1.7%، 5.3% على التوالي.

قد يعود سبب انخفاض نسبة الإصابة في طيور الاوز والبط المحلي الى ان هذه الانواع من الطيور تقضي معظم الوقت في البيئة المائية التي يقل فيها التعرض إلى مصدر الإصابة بالطفيلي . بشكل عام قد يعود سبب إصابة الطيور

المشمولة بالدراسة بطفيلي المقوسة الكوندية إلى طبيعة تغذيتها غير المسيطر عليها والتقاطها

مختلف أنواع الاغذية وبراز الحيوانات من التربة التي تعد مصدر رئيسي للإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية نتيجة لتلوثها ببراز القطط المصابة .

أن سبب اختلاف نسب الإصابة المسجلة بالدراسة الحالية والدراسات السابقة يعزى إلى عدة عوامل منها تباين الموقع الجغرافي لتلك البلدان فضلاً عن الاختلاف في طرق التحري عن طفيلي المقوسة الكوندية وحساسية وخصوصية الاختبارات المستخدمة وهذا يتفق مع ما ذكره Hashemi-Fesharki (1996)، إذ تعتمد أغلب الدراسات العالمية في تشخيص طفيلي المقوسة الكوندية كتشخيص أولي على استخدام اختبار التلازن المحور لما يمتاز به هذا الاختبار من حساسية وخصوصية في اكتشاف الإصابة بداء المقوسات في الحيوانات ( Zarnke et al., 2001)، إضافة إلى اختلاف أعمار الطيور وجنسها، فضلاً عن تواجد القطط ووجود وحيوية أكياس البيض في منطقة الدراسة وطريقة خزن العلف المستخدم في تغذية الدواجن فقد تكون الأجواء ملائمة لنمو البكتريا والفطريات التي تعد إحدى المثبتات المناعية وبالتالي تساعد على الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية (Ghazaei, 2006; Van Der Puije et al., 2000) في حين عزى باحثون آخرون هذا الاختلاف إلى عوامل بيئية إذ سجل Van Der Puije et al. ارتفاع في نسبة الإصابة في المناطق الرطبة والدافئة مقارنة مع المناطق الجافة والباردة والتي تؤثر على حيوية أكياس البيض في البيئة، كذلك مستوى الارتفاع عن سطح البحر وحجم قطعان التربية (Caballero-Ortega et al., 2008).

أشارت نتائج الكشف المناعي الكمي بالدراسة الحالية باستخدام اختبار تلازن اللاتكس، إلى أن أعلى معيارية للأجسام المضادة لطفيلي المقوسة الكوندية في مصول الطيور المشمولة بالدراسة سجلت عند المعيار 1/160 (23.95%) وأقلها عند المعيار 1/640 (3.73%) كما لوحظ بأن أعلى معيارية في مصول الدجاج المحلي كانت عند المعيار 1/80 (25.81%) وأقلها عند المعيار 1/640 (6.45%) وفي الديك الرومي عند المعيار 1/20 (32.14%) وأقلها عند المعيار 1/640 (7.14%) على التوالي.

أما في مصول طيور الإوز والبط المحلي سجلت أعلى معيارية للأجسام المضادة عند كل من المعيار 1/320 (36.36%) و 1/160 (40%) وأقلها عند المعيار 1/40 (4.54%) و 1/80 (6.66%).

من الجدير بالذكر أن نتائج معيارية الأجسام المضادة في هذه الدراسة تختلف عما سجل في الدراسات الاجنبية والعربية السابقة حيث ذكر كل من Lindsay et al. (1994) والطائي وآخرون (2005) و Dubey et al. (2005c) و Sedlak et al. (2010) و داخل (2012) و Alkhaled (2012)، بأن أعلى معيارية للأجسام المضادة في مصول الدجاج المحلي وفروج اللحم كانت عند المعيار 1/60 (45.45%) و 1/320 (30.5%) و 1/10, 1/5 (28%) لكل

معيار) و 1/128 (15%) و 1/320 (32.6%) و 1/128 (34.32%) على التوالي، في حين ذكر كل من Sedlak et al. (2010) و Alkhaled (2012) و داخل (2012) بأن أقل معيارية لأجسام الضد في مصول الدجاج المحلي كانت عند المعيار 1/20 (5%)، 1/20 (2%)، 1/2 (5.22%) على التوالي.

أما في الديك الرومي فقد ذكر كل من بطي (2009) و Sedlak et al. (2010) بأن أعلى معيارية للأجسام المضادة كانت عند المعيار 1/160 (66.66%) و 1024 (16%) وأقلها عند المعيار 1/20 (9.09%) والمعيار 160 (4%) على التوالي وفي البط المحلي أشار Alkhaled (2012) إلى أن أعلى معيارية للأجسام المضادة كانت عند المعيار 1/32 (35.7%) وأقلها عند المعيار 1/16 (3.57%) في حين أشار داخل (2012) بأن أعلى معيارية للأجسام المضادة في مصول الحمام الطوراني كانت عند المعيار 1/320 (38.4%) وأقلها عند المعيار 1/20 (4.76%).

تشير التراكيز العالية للأجسام المضادة في مصول الطيور إلى وجود الإصابات الحادة Acute infections بطفيلي المقوسة الكوندية والذي يدل على التعرض المسبق للطفيلي في حين تدل التراكيز الواطئة للأجسام المضادة إلى وجود الإصابات المزمنة Chronic infections بالطفيلي وهذا يتفق مع ما ذكر (Dubey et al. 1996).

قد يعزى سبب التذبذب الحاصل في معايير الأجسام المضادة في مصول الطيور المشمولة بالدراسة الحالية إلى أن طفيلي المقوسة الكوندية له القدرة على تحفيز المناعة السابقة Premunition في أجسام مضائفه والتي تبقى فيها هذه المناعة طوال فترة بقاء الطفيلي في أجسامها إلى حين الوصول إلى حالة الاتزان المناعي الذي تسيطر من خلاله تلك المضائف على وجود الطفيلي وبالتالي تمنع تأثيراته المرضية، ولكن في حالة حدوث أي انخفاض في الحالة المناعية للجسم ولأي سبب كان سوف يؤدي ذلك إلى تنشيط الأكياس النسجية الكامنة في أعضاء جسم المضيف وبالتالي تمزقها وتحرر الحويصلات التي قد تتفاعل مع الأجسام المضادة الموجودة سابقاً مؤدية إلى انخفاض في معايير الأجسام المضادة كما يؤدي ذلك إلى تحفيز جديد للجهاز المناعي وبالتالي توليد أجسام مضادة أخرى وهذا يزيد من معايير الأجسام المضادة (Buxton, 1988; Barriga, 1981).

## (2-5): توزيع الإصابة بداء المقوسات في الطيور بحسب محافظات منطقة الفرات الأوسط باستخدام اختباري تلازن اللاتكس والكاسيت السريع

بينت نتائج اختبار تلازن اللاتكس بأن أعلى نسبة إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية قد سجلت في محافظة بابل حيث بلغت 40% (32 عينة موجبه) وأقلها في محافظة النجف والتي

بلغت 12.5% (10 عينات موجبه)، في حين سجلت نتائج اختبار الكاسيت السريع أعلى نسبة إصابة في محافظة كربلاء وبلغت 26.25% (21 عينة موجبه) وأقلها في محافظة النجف حيث بلغت 10% (8 عينات موجبه) وهذه النتائج لاتتفق مع ما ذكره (Alkhaled 2012) إذ أشار إلى أن أعلى نسبة إصابة سجلت في محافظة الديوانية وبلغت 71.42% وأقلها في محافظة النجف وبلغت 55.38% باستخدام اختبار تلازن اللاتكس المحور .

أن تقارب وارتفاع نسب الإصابة المسجلة بالدراسة الحالية في محافظة بابل وكربلاء والديوانية (40%، 38.75%، 28.75%)، باستخدام اختبار تلازن اللاتكس وتقاربه (21.25%، 26.25%، 17.5%) باستخدام اختبار الكاسيت السريع قد يعود إلى توفر نفس الظروف البيئية والمناخية كدرجة الحرارة والرطوبة والأمطار التي تعد من الأسباب الرئيسية والمساعدة على اطالة مدة بقاء أكياس البيض Oocysts التي تعتبر المصدر الرئيسي لانتشار الإصابة بداء المقوسات في تلك المدن وهذا يتفق مع ما أشار اليه (Beaman et al. 1995) أو قد يرجع السبب إلى زيادة فرص التعرض إلى مصادر الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية (Dubey et al., 1996) أما سبب انخفاض نسبة الاصابة في محافظة النجف ربما يعود الى ما تمتاز به هذه المحافظة من بيئة جافة مما يؤثر على حيوية أكياس البيض في البيئة وهذا يتفق مع ما ذكره (Caballero-Ortega et al. 2008) الذي اكد على وجود تأثير للبرودة والجفاف على حيوية اكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية.

### **(3-5): توزيع الإصابة بداء المقوسات في الطيور المدروسة بحسب مناطق جمع العينات في محافظة الديوانية باستخدام اختباري تلازن اللاتكس والكاسيت السريع.**

أوضحت نتائج اختبار تلازن اللاتكس والكاسيت السريع بأن أعلى نسبة إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية سجلت في العينات المأخوذة من المناطق الريفية إذ بلغت النسبة 37.5% (15 عينة موجبه)، 22.5% (9 عينات موجبه) باستخدام الاختبارين على التوالي مقارنة مع نسبة الإصابة المسجلة في العينات المأخوذة من مركز المدينة والبالغة 20% (8 عينات موجبه)، 12.5% (5 عينات موجبه) على التوالي وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه AL-Ramahi et al. (2005) الذي أشار إلى أن نسبة الإصابة في المناطق الريفية كانت 68.5% وهي أعلى من النسبة المسجلة في المناطق الحضرية والبالغة 60.8% باستخدام اختبار تلازن اللاتكس وكذلك تتفق مع ما أشار اليه داخل (2012)، إذ اكد على أن نسبة الإصابة في المناطق الريفية بلغت 44.11% وهي أعلى مما في المدينة والتي بلغت 29.31% باستخدام اختبار تلازن اللاتكس في حين لا تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه كاظم (2011) الذي ذكر بأن نسبة الإصابة في مركز المدينة بلغت 47% وهي أعلى من النسبة المسجلة في المناطق الريفية والبالغة 20% باستخدام اختبار تلازن اللاتكس .

يمكن أن يفسر سبب ارتفاع نسبة الإصابة في عينات المناطق الريفية إلى وجود العامل الرئيسي للإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية وهو القطط المتواجدة وأعدادها فضلاً عن كون المناطق الريفية مناطق مفتوحة بمساحات واسعة وبالتالي زيادة المساحة الملوثة ببراز القطط الحاوي على أكياس بيض الطفيلي وبسبب طبيعة التغذية الحرة غير المسيطر عليها للطيور الداجنة والبرية أدى ذلك إلى إصابتها بالطفيلي كما قد تحصل إصابة الطيور عن طريق النقل الآلي لأكياس البيض بواسطة الصراصير والذباب وديدان الأرض والخنافس التي تعد من مصادر التغذية الرئيسية للطيور هذا عند المقارنة بنسبة الإصابة المنخفضة في عينات المدينة والتي قد يرجع سبب ذلك إلى قلة أعداد القطط وصغر المساحة التي تتواجد فيها والمتمثلة بالحدائق المنزلية فضلاً عن طبيعة التغذية المسيطر عليها بالنسبة للطيور المرباة في المدينة مما يجعلها أقل عرضة للإصابة (Martin-Sanchez *et al.*, 2007).

#### **(4-5): تحديد أنواع أجسام الضد في مصول الطيور المدروسة باستخدام اختبار الكاسيت السريع**

أشارت نتائج استخدام اختبار الكاسيت السريع المستخدم لتحديد أنواع الأجسام المضادة لطفيلي المقوسة الكوندية في مصول الطيور المشمولة بالدراسة إلى أن أعلى نسبة تواجده كانت للجسمين المضادين من النوع IgG+IgM معاً وبلغت 36.66% (22 عينة موجبه) في حين كانت أقل نسبه تواجده للجسم المضاد من النوع IgG حيث بلغت 28.33% (17 عينة موجبه) وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه (Aayiz (2010)، إذ أشار إلى أن أعلى نسبه لتواجد الأجسام المضادة كانت للجسم المضاد IgG+IgM والتي بلغت 47.4% وأقلها للجسم المضاد من نوع IgG والبالغة 5.7% ولا تتفق مع نتائج العبيدي (2011) التي أشارت الى أن أعلى نسبة كانت للجسم المضاد IgG إذ بلغت 30.96% وأقلها للجسمين المضادين IgG + IgM والبالغة 0.64% كذلك لا تتفق مع نتائج كل من السمعاني (2000) والخفاف (2001) اللذان ذكرا بأن أعلى نسبة كانت للجسم المضاد من نوع IgM بلغت 5.7%، 52% على التوالي كما لا تتفق مع ما سجله كل من (Lunden *et al.* (2002) والدليمي (2002) وعبد الله (2004) الذين أشاروا إلى أن أعلى نسبة كانت للجسم المضاد IgG وبلغت 5.2%، 56%، 93.33% على التوالي كذلك لا تتفق مع نتائج (Jamshaid & Nabila (2007) الذي ذكر بأن أعلى نسبه كانت للجسم المضاد IgG والتي بلغت 53.1% وأقلها للجسم المضاد IgM والبالغة 31.8% وكذلك لا تتفق مع نتائج (ALKhaled (2012) الذي ذكر بأن أعلى نسبه لتواجد الجسم المضاد IgG بلغت 98.5% وأقلها للجسم المضاد IgM والبالغة 1.5%.



أن تواجد الأجسام المضادة بكل الأنواع IgG و IgG+IgM و IgM يشير إلى وجود كل من الإصابيتين الحادة Acute والمزمنة Chronic أو إعادة الإصابة بالطفيلي وهذا ما أكده Khurana *et al.* (2010)

## (5-5): الكشف الجزيئي Molecular Detection

### (1-5-5): تقدير الحالات الموجبة لداء المقوسات في عينات دم الطيور

#### باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

استخدمت تقنية تفاعل سلسلة البلمرة كطريقة تشخيصية لتأكيد نتائج الاختبارات المصلية التي تمثلت باختبار تلازن اللاتكس والكاسيت السريع، لما تمتاز به هذه التقنية من حساسية وخصوصية عاليتين عند استخدامها للكشف عن طفيلي المقوسة الكوندية في مختلف العينات البايولوجية (Ho-Yen, 1992; Burg *et al.*, 1989).

أشارت نتائج استخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي للكشف عن الجين B1(399bp) الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية في 320 عينة دم، إلى أن النسبة الكلية لوجود الجين B1 بلغت 10.62% (34 عينة موجبة) وأن أعلى نسبة لتواجد الجين سجلت في عينات الدجاج المحلي وبلغت 17.5% (14 عينة موجبة) في حين كانت أقل نسبة تواجد في عينات الاوز الاريد إذ بلغت 10% (8 عينات موجبة) كما أشارت النتائج إلى عدم وجود للجين B1 في عينات البط المحلي.

أن نسبة تواجد الجين B1 المسجلة بالدراسة الحالية في الدجاج المحلي هي مقاربه للنسبة المسجلة في الدجاج المحلي من قبل Lindstrom *et al.* (2007) و Asgari *et al.* (2009) وبالباغة 18.25%، 15% على التوالي كذلك مقاربه للنسبة 15% المسجلة في الدجاج المحلي وأقل من النسبة 37.5% المسجلة في الحمام الطوراني من قبل داخل (2012).

قد يعزى سبب الاختلاف في النسب المسجلة بالدراسة الحالية والدراسات الأخرى، إلى اختلاف الظروف المختبرية غير المسيطر عليها التي تؤثر على تفاعل سلسلة البلمرة.

### (2-5-5): توزيع الإصابة بداء المقوسات في الطيور بحسب محافظات الفرات الأوسط

#### باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي .

بينت نتائج الدراسة الحالية باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي للكشف عن الجين B1 (399bp) في عينات دم الطيور المشمولة بالدراسة إلى وجود ارتفاع معنوي في نسبة تواجد الجين B1 (399bp) في عينات محافظة كربلاء والديوانية والبالغة 16.25%، 15% على

التتالي مقارنة مع بقية المحافظات، ولوحظ بأن أعلى نسبة إصابة سجلت في محافظة كربلاء بلغت 16.25% وأقل نسبه في محافظة النجف وبلغت 5% وهذه النسب أقل من النسب التي أشار اليها (AL-Khaled 2012) إذ ذكر بأن أعلى نسبة إصابة سجلت في محافظة الديوانية بلغت 71.42% و أقلها في محافظة النجف وبلغت 55.36%.

أن سبب تقارب وارتفاع نسب الإصابة في محافظتي كربلاء والديوانية في الدراسة الحالية قد يعود إلى توفر نفس الظروف البيئية والمناخية كدرجة الحرارة والرطوبة والأمطار التي تعد من الأسباب الرئيسية والمساعدة على إطالة مدة بقاء أكياس البيض Oocysts التي تعتبر المصدر الرئيسي لانتشار الإصابة بداء المقوسات في تلك المدن وهذا يتفق مع ما أشار اليه ( Beaman et al., 1995) أو قد يرجع السبب إلى زيادة فرص التعرض إلى مصادر الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية (Dubey et al., 1996) أما سبب انخفاض النسبة في محافظة النجف ربما يعود الى ما تمتاز به هذه المحافظة من بيئه جافة مما يؤثر على حيوية أكياس البيض في البيئة وهذا يتفق مع ما ذكره (Caballero-Ortega et al., 2008) الذي اكد على وجود تأثير للبرودة والجفاف على حيوية اكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية.

### **(5-5-3): توزيع الإصابة بداء المقوسات في الطيور في محافظة الديوانية باستخدام**

#### **تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.**

أشارت نتائج استخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي لاختبار 80 عينة (20 لكل نوع)، إلى عدم وجود فروقات معنوية في نسبة تواجد الجين B1 (399bp) بين عينات الريف والمدينة، حيث بلغت أعلى نسبه لتواجد الجين B1 في العينات المأخوذة من الريف 17.5% (7 عينات) مقارنة مع النسبة المسجلة في العينات المأخوذة من المدينة والبالغة 12.5% (5 عينات)، ونتائج هذه الدراسة تتفق مع نتائج كل من (AL-Wattary 2005) والعدلان (2007) اللذان أشارا إلى عدم وجود فروق معنوية في نسبة الإصابة في المناطق الريفية والحضرية، وقد يعود تقارب نسب الاصابة بين الريف والمدينة الى تواجد المضيف النهائي المتمثل بالقطط وتماسها مع تلك الطيور في كل من الريف والمدينة.

### **(5-5-4): تقدير الحالات الموجبة لداء المقوسات في عينات الأنسجة بحسب نوع الطائر**

#### **والعضو المصاب باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.**

بالاعتماد على نتائج اختبار الكاسيت السريع (IgG, IgG + IgM) تم اختيار 16 طائر (4 عينات من كل نوع من الطيور المشمولة بالدراسة) لتشريحها والكشف عن الجين B1 (399bp) في أعضائها المختلفة (الكبد والقلب والدماغ والعين والرئة والطحال وعضلات الصدر والأمعاء الدقيقة) باستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي، أشارت النتائج إلى أن نسبة تواجد الجين B1 بلغت 56.25% (9 طيور) وكانت أعلى نسبة تواجد للجين سجلت في أنسجة الدجاج المحلي وبنسبة 100% (4 عينات) في حين كانت أقل نسبة تواجد للجين في أنسجة طيور الإوز وبلغت 25% (عينة واحدة) كما أشارت النتائج إلى عدم تسجيل أي حالة تواجد للجين B1 في أنسجة البط المحلي وقد يعزى سبب ارتفاع الإصابة في الدجاج المحلي إلى كونه أكثر حساسية تجاه الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية مقارنة مع بقية أنواع الطيور المشمولة بالدراسة وهذا ما أكده Devada et al. (1998).

كما بينت النتائج بأن أعلى نسبة لتواجد الجين B1 الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية قد سجلت في الكبد وبنسبة 55.55% (5 عينات موجبه) في حين كانت أقل نسبة تواجد للجين في القلب والطحال والأمعاء الدقيقة وبنسبة 11.11% (عينة واحدة لكل عضو) ولم تشير النتائج إلى وجود الجين B1 في كل من أنسجة الدماغ والعين والرئة .

من خلال النتائج أعلاه يلاحظ أن نسبة تواجد الجين B1 المسجلة في أكباد الطيور هي أعلى من النسبة التي ذكرها داخل (2012) في أكباد الدجاج المحلي والحمام المنزلي والحمام الطوراني والتي بلغت 34.6%, 28%, 19% وفي القلب بلغت 2%, 2%, 3% وفي الدماغ كانت 3%, 2%, 4% على التوالي وأقل من النسبة 93.1% المسجلة من قبل Asgari et al. (2009) في أكباد الدجاج المحلي كذلك أقل من النسبة التي سجلها (2012) Alkhaled في أعضاء الدجاج المحلي والدجاج التجاري والبط المحلي والتي بلغت 77.77%, 22.22%, 44.44% بالنسبة للكبد والدماغ والقلب على التوالي.

يعزى سبب ارتفاع نسبة إصابة الكبد بطفيلي المقوسة الكوندية إلى أن الكبد يعتبر العضو المرشح الأول الذي يتم فيه ترشيح الدم وتخليصه من المكونات الغريبة فضلاً عن كونه غني بالمواد الغذائية (Gyton & Hull, 1995) ويمكن القول بأن تواجد طفيلي المقوسة الكوندية في عضلات وأكباد الطيور الداجنة والبرية يعد مصدراً مهماً من مصادر إصابة الإنسان بالطفيلي نتيجة لتغذيته على لحوم تلك الطيور وخاصة الأكباد التي قد تؤكل من قبل البعض وهي شبه نيئه كما قد يعود سبب عدم تواجد الطفيلي في أنسجة الدماغ والعين والرئة الى عدم وجود الطفيلي في ذلك الجزء من النسيج (30 ملغم) أو ربما لكون الطفيلي لم يصل إلى تلك الأنسجة بعد وهذا يتفق مع ما أشار Dubey et al. (1995b) في دراسته التي تضمنت فحص 22 طائراً

بعدم وجود دنا طفيلي المقوسة الكوندية في أنسجة تلك الطيور باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

### **(5-5-5): الكشف التأكيدي عن الجين B1 في عينات دم وأنسجة الطيور المدروسة باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة المتداخل Nested-PCR.**

تستخدم تقنية تفاعل سلسلة البلمرة من النوع المتداخل N-PCR عندما تكون هنالك مشكلة أو صعوبة في تشخيص طفيلي المقوسة الكوندية عند استخدام الطرق التشخيصية الأخرى وخاصة الطرق المصلية وكذلك تستخدم هذه الطريقة عند التحري عن طفيلي المقوسة الكوندية في عينات الأنسجة المصابة والمحتوية على عدد قليل من نسخ الدنا الهدف وتمييزها عن دنا أنسجة المضيف إضافة إلى قدرته على تميز الأوالي المتطفلة الشديدة الشبه بطفيلي المقوسة الكوندية عن بعضها (Albert & Fenyo, 1990).

أشارت نتائج استخدام تفاعل سلسلة البلمرة المتداخل لتضخيم الجين B1 (580bp) الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية في 12 عينة دم موجبه (4 عينات لكل من الدجاج المحلي والديك الرومي والاوز الازيد)، إلى أن التضخيم حدث في أربعة عينات فقط بنسبه كلية بلغت 33.33% خلال الدورة الأولى من التفاعل، أما في الدورة الثانية من التفاعل حدث التضخيم للجين B1 (531bp) في ثلاثة عينات بنسبة كلية بلغت 75% .

كما أوضحت نتائج استخدام تفاعل سلسلة البلمرة المتداخل لتضخيم الجين B1 (580bp) في عينات الأنسجة، أن هناك 6 عينات من مجموع 10 عينات حصل فيها تضخيم للجين المعني بنسبة 60% خلال الدورة الأولى من التفاعل كما لوحظ بأن أقل نسبة تضخيم حصلت في عينات الكبد والقلب بلغت 40%، 50% على التوالي مقارنة مع بقية الأعضاء (عضلات الصدر، الطحال، الأمعاء الدقيقة) التي حدث فيها التضخيم بنسبة 100% في حين في الدورة الثانية من التفاعل حدث التضخيم للجين B1 (531bp) في أربعة عينات بنسبة 66.66% ولوحظ بأن أقل نسبة تضخيم حدثت في عينات الكبد بنسبة 50% مقارنة مع عينات القلب وعضلات الصدر ولم يحصل تضخيم للجين في عينات الطحال.

أن نسبة تضخيم الجين B1 في عينات أنسجة كبد وقلب الدجاج المحلي بالدراسة الحالية كانت أعلى من نسبة التضخيم البالغة 10.3%، 17.1% المسجلة من قبل Garcia *et al.* (2000) في كبد وقلب الدجاج المحلي على التوالي، كذلك أعلى من نسبة تضخيم الجين B1 في عينات أكباد الدجاج المحلي والبالغة 32% ومقاربه لنسبة التضخيم في عينات القلب والبالغة

55% والتي أشار اليها (Dubey *et al.* (2005a) واقل من نسبة تضخيم الجين B1 في عينات كبد الدجاج المحلي والبالغة 57.14% التي ذكرها (Alkhaled (2012).  
أن سبب عدم حصول تضخيم للجين B1 في بعض العينات خلال الدورة الثانية من التفاعل قد يشير الى أن تلك العينات قد تحتوي على كائنات طفيلية أخرى شبيهة بطفيلي المقوسة الكوندية بحيث اعطت نتيجة ايجابية أي حصل فيها التضخيم للجين B1 خلال الدورة الأولى من التفاعل في حين لم يحصل فيها التضخيم في الدورة الثانية، إذ يقوم الزوج الخارجي outer primers من البادئات (580bp) بالارتباط بموقع من الشريط القالب وهذا الموقع يكون مشترك بين مجموعة من الكائنات الحية التي قد تعود لنفس العائلة Family او لنفس الجنس Genus في حين يرتبط الزوج الداخلي من البادئات Inner primers (531bp) بموقع من القالب يكون ذو خصوصية عالية للنوع Species أو تحت النوع وهذا يتفق مع ما أشار اليه Sachse & Frey (2008).

#### **(5-5-6): المقارنة بين اختبار اللاتكس والكاسيت السريع وتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي لعينات دم الطيور المشمولة بالدراسة.**

أوضحت نتائج المقارنة بين اختبار تالزن اللاتكس والكاسيت السريع وتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي المستخدمة للكشف عن الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في 320 عينة دم من الطيور المشمولة بالدراسة بأن نسبة الإصابة تدرجت من 30% 18.75% 10.62% باستخدام الاختبارات الثلاثة على التوالي.

قد تعزى الأسباب التي أدت إلى وجود اختلافات في النسب المئوية للإصابة باستخدام الاختبارات الثلاثة إلى أن اختبار تالزن اللاتكس قد يعطي نتائج موجبه مع طفيليات أخرى تمتلك إستضادية مشتركة مع طفيلي المقوسات الكوندية مثل طفيلي Sarcocystis أو قد تعود النسب العالية لاختبار تالزن اللاتكس والكاسيت السريع مقارنة مع تفاعل سلسلة البلمرة إلى أن فحوصات المصول تكون فيها الأجسام المضادة متجولة في الدم وبمستويات عالية تتأثر بعدة عوامل منها بيولوجية (الإستضادية المشتركة) أو تقنية (اعتماداً على نوع الاختبار المستخدم وحساسيته وخصوصيته) وهذا يتفق مع ما ذكره (Azab *et al.* (1993).

ويمكن القول بأن تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي هو الأفضل والاكثر دقة في التحري عن طفيلي المقوسة الكوندية في الطيور المشمولة بالدراسة من خلال نسب الإصابة المسجلة بهذه التقنية مقارنة بالنسب المرتفعة باستخدام اختبار اللاتكس والكاسيت السريع، كذلك من خلال حساسية وخصوصية تفاعل سلسلة البلمرة العاليتين في التشخيص مقارنة مع حساسية وخصوصية اختبار تالزن اللاتكس والبالغة 35%, 72% وحساسية وخصوصية اختبار الكاسيت

السريع 35%، 88% والمسجلة بالدراسة الحالية وهذه النتائج مختلفة عما أشار اليه Aayiz (2010) الذي بين أن حساسية وخصوصية اختبار اللاتكس بلغت 50%، 64%، وكذلك مختلفة عما ذكره (2012) AL-Khaled عن حساسية وخصوصية اختبار تلازن اللاتكس بأنهما كانتا 87%، 47.4% على التوالي.

#### **(5-5-7): الكشف عن طفيلي المقوسة الكوندية في القطط المنزلية**

تلعب القطط دوراً مهماً في وبائية داء المقوسات من خلال المحافظة على وجود واستمرارية طفيلي المقوسة الكوندية في البيئة، إذ تنعدم الإصابة بداء المقوسات في المناطق الخالية من القطط (Wallace, 1973).

تصاب المضائف ومنها الأنسان والقطط بطفيلي المقوسة الكوندية عن طريق تناول أكياس بيض الطفيلي الموجودة في براز القطط المصابة أو من خلال تناول اللحوم المصابة بالأكياس النسجية للطفيلي أو عن طريق انتقال الأطوار السريعة التكاثر Tachyzoites خلال المشيمة من الأم المصابة إلى الجنين (Barker et al., 1993).

#### **(5-5-7-1): اختبار تلازن اللاتكس Latex Agglutination test**

أشارت نتائج الكشف المناعي النوعي لعشرة قطط منزلية، إلى أن هناك 5 قطط أعطت مصولها نتيجة إيجابية للاختبار بنسبه 50% .

أن النسبة المسجلة في هذه الدراسة مقاربه للنسبة 48% المسجلة من قبل DeFeo et al. (2002) وأعلى مما سجلت كل من Rodgers & Baldwin (1990) و Smith et al. (1992) و Hill et al. (2000) و Vollaire et al. (2005) و Pena et al. (2006) والتي بلغت 22%، 41.9%، 23.6%، 13.4%، 31.6% على التوالي باستخدام تلازن اللاتكس المحور وأقل من النسب المسجلة باستخدام اختبار تلازن اللاتكس المحور من قبل كل من Dubey (1995) و Hill et al. (1998) و Tenter et al. (2000) والتي بلغت 80%، 74%، 63.3% على التوالي.

كما بينت نتائج الكشف المناعي الكمي لفحص 10 قطط منزلية أن أعلى معيارية للأجسام المضادة في مصول تلك القطط كانت عند المعيار 1/20 بنسبه 40% وأقلها عند كل من المعايير 1/160، 1/80، 1/40 بنسبه 20% لكل معيار، في حين أشار Dubey & Carpenter (1993) بأن أعلى معيارية للأجسام المضادة في مصول القطط المصابة بطفيلي المقوسة الكوندية تركزت عند المعيار >2000 باستخدام اختبار التلازن المحور كما سجل كل من (1999) Garcia et al. و (2001) Langoni et al. و (2005) Ortolani et al. نسبة

إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في القطط بلغت 46.4%، 37.9%، 19.4% على التوالي جميعها تركزت عند المعيارية 1.16 > في حين ذكر (Willian et al., 2011) بأن أعلى معيارية لأجسام الضد في مصول القطط تركزت عند المعيار 64 > بنسبه 15.7% باستخدام تآلق الضد غير المباشر وتشير التراكيز المنخفضة لمعيارية الأجسام المضادة المسجلة في الدراسة الحالية إلى وجود حالات الإصابة المزمنة بالطفيلي.

أن ظهور النتائج السالبة لأختبار اللاتكس ل 5 قطط ليس دليلاً قاطع على خلوها من الإصابة وذلك لعدة أسباب منها كون اختبار اللاتكس غير نوعي Non-specific فضلاً عن أن التعرض المستمر للمقوسة الكوندية في الطبيعة للقطط يعطي مناعة وقائية Protective immunity إضافة الى أن هذا الاختبار يعطي بعض معايير الاضداد الواطئة جداً، لذا لا يمكن ان يعد الاختبار الأكثر دقة في تشخيص داء المقوسات ( Walls & Remington, 1983).

#### (5-5-7-2): اختبار الكاسيت السريع Rapid test cassette

أشارت نتائج استخدام اختبار الكاسيت السريع كتشخيص تأكيدي لطفيلي المقوسة الكوندية في عشرة قطط منزلية، إلى وجود ثلاثة قطط احتوت مصولها على الأجسام المضادة للطفيلي، حيث لوحظ وجود ارتفاع معنوي في نسبة الجسم المضاد من نوع IgG التي بلغت 66.66% مقارنة مع بقية أنواع الأجسام المضادة الأخرى وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه (2001) Elikira et al. والذي أشار إلى أن أعلى نسبة كانت للجسم المضاد IgG والتي بلغت 20.7%.

أن وجود الجسم المضاد من نوع IgG يشير إلى وجود اصابات مزمنة بالطفيلي أو إعادة إصابة أو عبور هذا النوع من الأجسام المضادة من الام المصابة الى الجنين عبر المشيمة فيما إذا كانت الام مصابة بطفيلي المقوسة الكوندية مما أدى إلى ارتفاع مستواه في مصول القطط (Dubey & Carpenter, 1993).

#### (5-5-7-3): الكشف عن طفيلي المقوسة الكوندية في عينات دم وأنسجة القطط

##### المنزلية باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional-PCR

تعتبر طريقة تفاعل سلسلة البلمرة افضل من الطرق المصلية في تشخيص طفيلي المقوسة الكوندية في الكائنات الحية المختلفة ومنها القطط (Martin-Sanchez et al., 2007). أشارت نتائج تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي لفحص 10 عينات دم مأخوذة من القطط المنزلية إلى عدم تسجيل أي حالة تواجد للجين B1 (399bp) في تلك العينات قد يعود سبب ذلك إلى كون الإصابات مزمنة أي يكون الطفيلي متكيس في الأنسجة بعيداً عن مجرى الدم

ومما يؤكد ذلك هو وجود الاكياس النسجية Tissue cysts للطفيلي التي تمت ملاحظتها في المقاطع العرضية لأنسجة الاعضاء وخاصة الكبد والدماغ والكلية فضلاً عن النتائج الايجابية التأكيدية لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي المسجلة في الدراسة الحالية.

في حين أشارت نتائج التحري عن الجين B1(399bp) في أنسجة القطط الثلاثة التي أعطت نتيجة موجبه لاختبار الكاسيت السريع باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي، إلى أن أعلى نسبة لتواجد الجين سجلت في الكبد بلغت 66.66% بواقع عينتان وأقل نسبة سجلت في الدماغ والكلية بنسبه 33.34% بواقع عينة واحدة لكل منهما ويرجع سبب ارتفاع نسبة الإصابة في الكبد مقارنة مع بقية الاعضاء إلى كون الكبد هو العضو الرئيسي الأول الذي يتم فيه ترشيح الدم وتخليصه من الأجسام الغريبة فضلاً عن كونه غني بالمواد الغذائية ( Gyton & Hull, 1995)، أما سبب عدم وجود الجين B1 في أنسجة القلب والرئة وعضلات الساق والطحال والامعاء الدقيقة للقطط قد يعود الى عدم وجود الطفيلي في ذلك الجزء القليل الوزن (30 mg) من النسيج أو عدم وصول الطفيلي الى تلك الأنسجة.

#### **Gross histopathological changes (5-5-8): التغيرات المرضية النسجية العيانية**

من أهم التغيرات المرضية العيانية التي لوحظت على أعضاء الطيور والقطط المصابة التي تم تشريحها كما يلي:

في كبد كل من الطيور والقطط لوحظ حصول تغير في اللون من الاحمر إلى اللون الاصفر مع حصول تضخم فيه وفي دماغ الطيور لوحظ حصول احتقان في الأوعية الدموية في حين تمثلت التغيرات في الطحال بوجود نزف وتضخم في حجمه أما في كلية القطط المصابة لوحظ وجود احتقان في الأوعية الدموية وهذا يتفق مع ما ذكره السيدية (2005) الذي أشار الى حصول تضخم في الكبد Hepatomegaly إضافة إلى وجود بؤر نخرية ذات لون أبيض فضلاً عن تضخم الطحال Splenomegaly كما لاحظ حصول احتقان في أغشية السحايا وتلايف المخ والمخيخ فضلاً عن وجود بؤر نخرية في أدمغة القطط والفئران المصابة تجريبياً بطفيلي المقوسة الكوندية، كما تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما ذكرته الكنانة وآخرون (2006) حيث أشارت إلى وجود تغيرات مرضية عيانية على أعضاء فروج اللحم تمثلت بتغير لون الكبد من الاحمر إلى الاحمر المسود مع تضخم في الطحال والأمعاء واحتقان شديد في الأوعية الدموية للدماغ مع وجود مراحل التكدب الرمادي Gray hepatization للرئتين وكذلك تتفق النتائج مع نتائج (2012) Alkhaled الذي أشار إلى وجود احتقان مع نزف حبري Petechial



hemorrhage في دماغ الدجاج المحلي والبط المحلي المصاب بطفيلي المقوسة الكوندية واحتقان وتورم الكبد وتضخم في الطحال والكلية.

يمكن أن يعزى سبب حصول التغيرات المرضية إلى قدرة الطفيلي على احداث الاضرار في أعضاء أجسام مضائفه ويعتمد ذلك على مناعة المضيف ونوع وطبيعة العضو المصاب فمثلا هناك بعض الأعضاء تتأثر بشكل كبير بحيث تتحطم خلاياها وبالتالي تتأثر وظيفة تلك الأعضاء كما في حالة إصابة العين أو الدماغ ( Sibley & Boothroyd, 1992; Frenkel & Escajakillo, 1987) وقد يعود سبب الاحتقان في الأوعية الدموية أيضاً إلى الضغط الشديد الذي يسلطه الطفيلي اثناء تضاعفه وتكاثره، أما سبب النزف في الطحال فقد يعود إلى قابلية الطفيلي على اختراق خلايا البطانة وبالتالي اختراق الجدار وهذا يتفق مع مذكرته الكناني(2004) حين أشارت إلى أن لطفيلي المقوسة الكوندية القابلية على اختراق خلايا البطانة في الطحال محفزاً ذلك العضو على تحرير الوسائط الكيميائية الموسعة للشرايين والمتمثلة بالهستامين وأول أكسيد النتريت(NO) وبالتالي اختراق الطفيلي لجدار الطحال وتجمع مكونات الدم والمصل ومنها الدهون داخل الجدار ومن ثم أكسدتها إلى شحوم بروتينية مؤكسدة Oxidized Low Density Lipoproteins (OX-LDL) كما أن لهذا الطفيلي القدرة على أحداث الإجهاد التأكسدي Oxidative stress وإنتاج الجذور الحرة Free radicals مثل أول أكسيد النتريت والتي بدورها تأكسد الشحوم البروتينية وتحولها إلى شحوم بروتينية تلتهم من قبل الخلايا العضلية الملساء الوعائية أو تبقى بشكل فجوات دهنية في الجدار .

#### (5-5-9): التغيرات المرضية النسجية المجهرية

تمثلت التغيرات المرضية النسجية في الكبد بوجود احتقان في الأوعية الدموية فضلاً عن فقدان البنيان الهندسي للكبد مع وجود توسع في الجيبانيات إضافة الى حصول تنكس فجوي مع تنخر في النسيج كما لوحظ وجود كيس نسجي للطفيلي واقع قرب الوعاء الدموي وهذا يتفق مع ما توصل اليه كل من Howerth & Rodenrth (1985) و Work et al. (2002) والكناني وآخرون (2006) و Sedlak et al. (2010) و Amin et al. (2012) و Alkhaled (2012) الذين اشاروا الى وجود بؤر نخرية صغيرة فضلاً عن وجود فرط تنسج للخلايا الكبدية.

كما لوحظ وجود أكياس نسجية محاطة بنسيج ليفي احدها متكلس وهذا يتفق مع ما توصل اليه كل من Miller et al. (1972) و Ali et al. (2005) في حين أشار Williams (2001) et al. إلى وجود أكياس نسجية في كبد ودماغ طيور الكناري Canary بدون أن يرافقها أي حالة التهاب وهذا مؤشر على تطور المناعة ضد الطفيلي

يعتقد أن سبب ظهور الاحتقان في الأوعية الدموية هو قابلية طفيلي المقوسة الكوندية على الانتقال والانتشار خلال الدم إضافة عن قابليته على إفراز بعض المواد البروتينية التي تقوم بتحفيز الصفائح الدموية وخلايا البطانة على إفراز بعض الوسائط الكيميائية التي تساعد بالتالي على التصاق وتجمع الصفائح الدموية ومكونات الدم على جدران الأوعية الدموية كما تعمل تلك المواد على زيادة نفوذية الأوعية وبالتالي دخولها إلى الأنسجة واستقرارها في العضو (Barraga; & Sibley, 2003 Burney *et al.*, 1999)، أما سبب حصول التنخر والتكس الفجوي في أنسجة الكبد قد يعزى الى وجود الطفيلي داخل الخلايا البلعمية وبالتالي تحفيزها على إنتاج الجذور الحرة Free radicals التي ادت الى تلف تلك الخلايا والنسيج مما سبب ظهور البؤر النخرية كذلك قد يعود الى التكاثر الكبير للطفيلي داخل الخلايا مما يؤدي الى موت الخلايا البلعمية والخلايا العدلة وبالتالي يسبب تحطيم للجسيمات الحالة Lysosomes وتحرر الانزيمات الحالة Lytic enzymes منها وبالتالي تلف النسيج Tissue damage (Robbins *et al.*, 2003) أو ربما تحدث مثل هذه التغيرات نتيجة لحصول طفيلية الدم Parasitemia (Bhopale, 2002) أو نتيجة تأثير الطفيلي أو المواد التي يفرزها على نفاذية الاغشية الخلوية ومن ثم حدوث خلل في الضغط التناظفي للخلايا الكبدية مما يؤدي إلى نضح السوائل إلى خارج الخلايا الكبدية ومن ثم موتها وتركها المواقع فارغة (Beeson & Dermott, 1975) أما سبب وجود الأوكياس النسجية للطفيلي حول الأوعية الدموية يعود إلى الغزو الكبير الذي يحصل للنسيج من قبل الطفيلي وتضاعفه داخله وبالتالي يؤدي ذلك إلى حصول نقصان في الأوكسجين والمواد الغذائية فيتجه الطفيلي باتجاه الأوعية الدموية من أجل الحصول على الكمية الكافية من الأوكسجين والغذاء لتضاعفه ونموه وهذا ما أكدته الكنانى وآخرون (2006).

تميزت التغيرات المرضية في المقاطع العرضية لعضلات الصدر بوجود تنخر في الألياف العضلية فضلاً عن وجود الأطوار سريعة التكاثر مع عن فقدان التخطيط العرضي للألياف كما تميزت التغيرات المرضية النسجية في مقاطع القلب بوجود تنخر مع فقدان التخطيط العرضي للألياف العضلية إضافة إلى وجود كيس نسجي بين الألياف فضلاً عن وجود الأطوار سريعة التكاثر وهذا يتفق مع ما أشار إليه كل من (Work *et al.*, 2000) والكنانى وآخرون (2006) و (Sedlak *et al.*, 2010) و (Alkhaled, 2012) الذين أكدوا على وجود تنخر في الالياف العضلية القلبية، قد يعود سبب التنخر الحاصل في عضلات قلب الطيور الى وصول اعداد كبيرة من الطفيلي الى القلب مع الدم.

في حين تمثلت التغيرات النسجية في الأمعاء الدقيقة بوجود فرط التنسج في الزغابات وهذا يتفق مع ما توصل اليه كل من الكنانى وآخرون (2006) و (Amin *et al.*, 2012)

و (Sedlak et al., 2012) الذين لاحظوا حصول فرط تنسج في زغابات الامعاء، وقد يعود سبب ذلك إلى آلية اختراق الطفيلي لخلايا الأمعاء مؤدياً ذلك إلى حدوث ما يعرف بالموت المبرمج Apoptosis للخلايا من أجل أن تتخلص من الطفيلي إضافة إلى قابلية تلك الخلايا على التجدد السريع لذلك تظهر علامات التجدد بهيئة خلايا غير منتظمة الاحجام والاشكال متمثلة بفرط التنسج (Liesefeld, 2002).

كما امتازت المقاطع العرضية للدماغ بوجود احتقان في الوعاء الدموي مع ارتشاح للخلايا النجمية والخلايا الدبقة وهذا يشير الى وجود حالة التهاب وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره كل من Schulden (1954) و Literak et al. (1999) والسيدية (2005) والكناني وآخرون (2011) و Alkhaled (2012) حين اشاروا الى حصول ارتشاح للخلايا النجمية والدبقة في المقاطع العرضية للدماغ.

كما أشارت نتائج الدراسة الحالية لفحص المقاطع العرضية للدماغ إلى وجود كيس نسجي متكلس وهذا يتفق مع ما ذكرته الكناني وآخرون (2006) .

قد يعزى سبب احتقان الأوعية يعود إلى الضغط الذي يسلطه الطفيلي على نسيج الدماغ وبالتالي على الأوعية الدموية أما ارتشاح وتجمع الخلايا النجمية والدبقة والتي تعرف بظاهرة الدباق فهذا يشير إلى وجود حالة الالتهاب إذ أن سبب تجمع هذه الخلايا هو أن هذه الخلايا تعتبر الخلايا الدفاعية في النسيج العصبي فهي تعد نوع من الخلايا البلعمية التي تقوم بتنظيف نسيج الدماغ من الخلايا التالفة الناتجة من الإصابة وكذلك من الأجسام الغريبة وتتضخم هذه الخلايا عند حدوث تلف في النسيج العصبي وتأخذ شكلاً مدوراً وهذا ما أكده ( Fischer et al., 1997) أما سبب تكلس الكيس النسجي قد يعود إلى كون الإصابة قديمة مما أدى إلى موت الطفيلي وتكلسه (Robbins et al., 2003).

وفي مقاطع الكلية تمثلت التغيرات المرضية بوجود تكلس في بعض الكبيبات الكلوية وقد يعود سبب ذلك إلى فقدان الخلايا للسوائل والأملاح كالكالسيوم والفسفور وغيرها ومن ثم تلف تلك الخلايا كما لوحظ وجود توسع في النبيبات الكلوية الملتوية وقد يعود سبب ذلك أيضاً إلى أن طفيلي المقوسة الكوندية يفرز مواد سامة تؤثر على نضوحية الاغشية الخلوية وخاصة الغشاء القاعدي للنبيبات مما يؤدي إلى حصول حالة أنكماش Shrinking للغشاء القاعدي وبالتالي توسع النبيبات الكلوية (Coles, 2000).

## (5-5-10): الكشف عن أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في عينات تربه الحدائق المنزلية باستخدام طريقتي الترسيب والتطويف

أشارت نتائج فحص عينات تربة الحدائق المنزلية لعشرة أحياء سكنية في محافظة الديوانية باستخدام طريقة الترسيب إلى عدم تسجيل أي حالة موجبه وباستخدام طريقة التطويف إلى وجود 5 عينات موجبة بنسبة 10% باستخدام محلول نترات الصوديوم المشبع  $\text{NaNO}_3$ ، أن النسبة المسجلة بالدراسة الحالية هي أقل من النسبة المسجلة من قبل (Coutinho *et al.*, 1982) وأغوان (2005) والبالغة 68%، 20% على التوالي بدراستهما التي تضمنت الكشف عن أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في تربه الحدائق المنزلية وتربه المزارع بطريقة الترسيب. يمكن أن يعزى سبب الاختلاف في النسبة المسجلة بالدراسة الحالية والدراسات الأخرى إلى تواجد المضائف النهائية للطفيلي واعدادها وكذلك اختلاف الظروف البيئية والصحية لكل بلد من البلدان ولكل منطقة ضمن البلد الواحد وهذا ما اكدته أغوان (2005).

أما سبب انخفاض نسبة تواجد أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية بالدراسة الحالية مقارنة مع النسب المسجلة في الدراسات الأخرى، يرجع إلى أن على الرغم من أن طريقة التطويف هي طريقة مهمة في الكشف عن أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في التربة الا أنها لا تعطي نتيجة موجبة الا عندما تكون تلك العينات تحتوي على الأقل  $10^3$  من أكياس بيض الطفيلي (Afonso *et al.*, 2006; Dumetre & Darde, 2003) وأن تؤخذ عينة التربة بعمق مناسب إذ تبقى أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية على السطح بعمق 10cm لكن انتقالها داخل التربة غير معروف في حين تبقى في اسفل الماء نتيجة لكثافتها النوعية البالغة (Dubey *et al.*, 1970) 1.104-1.140 كما تعد طريقة التطويف باستخدام محلول السكر ذات الكثافة النوعية  $>1.15$  من الطرق الشائعة لتتقية أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية ذات الكثافة 1.104-1.140 من المواد العالقة المعقدة في عينات التربة; Dubey & Beattie, 1988) (Dubey *et al.*, 1970) لكن من الصعب جداً التمييز بين أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية وبقية الطفيليات مثل *Neospora sp*، *Hommondia sp* إذ تتشابه أكياس هذه الطفيليات إلى حد ما إضافة إلى شيوع تواجدها في البيئة (Dubey *et al.*, 2002; Frenkel *et al.*, 1975).

ويمكن أن يعزى سبب تواجد أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في تربه الحدائق المنزلية، إلى أن الحدائق المنزلية تكون ذات مساحات محدودة كما تعد أماكن مناسبة تطرح فيها القطط فضلاتها مما يؤدي إلى تركيز أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية فيها بشكل عالي وبذلك يزداد خطر إصابة الإنسان بداء المقوسات نتيجة للتلوث الذي قد يحصل، على العكس من الحدائق العامة الذي تكون ذو مساحات واسعة لطرح أكياس بيض الطفيلي مع فضلات

القطط المصابة وبذلك تتركز أكياس البيض بصورة أقل من الحالة السابقة لذلك ينخفض خطر الإصابة في المناطق المفتوحة (Diaz-Suarez & Esterez, 2009).

من الجدير بالذكر أن وجود أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في التربة يؤكد الدور الهام للقطط في تلوث المزارع والحدائق ونشر الإصابة، إذ تتبوغ أكياس البيض بتوفر درجة الحرارة المناسبة والرطوبة التي تؤدي إلى نضج أكياس البيض وبذلك تصبح معدية وتبقى محتفظة بقابليتها على أحداث الإصابة لعدة شهور أو سنوات وغالباً ما تتواجد أكياس البيض فوق سطح التربة عند هطول الأمطار وهذا ما ذكره (Kapperud et al., 1996).

### **(5-5-11): الكشف عن الجين B1 (399bp) الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية في عينات تربه الحدائق المنزلية باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي**

في السنوات الأخيرة استخدمت طرق تشخيصية حديثة للتحري عن أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في التربة ومن تلك الطرق هي تقنية سلسلة البلمرة الاعتيادي بسبب الخصوصية والحساسية العاليتين لهذه التقنية ( Lebech et al., 1992; Grover et al., 1990).

أشارت نتائج الدراسة الحالية التي تضمنت فحص 50 عينة تربه من الحدائق المنزلية لعشرة احياء سكنية في محافظة الديوانية باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي إلى أن هناك عينتان وبنسبة 4% أعطت نتيجة إيجابية ضمت عينة من منطقة حي الصدر الاول وعينه من منطقة حي الفرات وبنسبة 20% لكل واحدة منهما ولم تسجل أي حالة لتواجد الجين B1(399bp) الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية في تربه بقية الاحياء المشمولة بالدراسة الحالية.

أن النسبة المسجلة بالدراسة الحالية هي أقل من النسب 10%, 17.8% التي ذكرها كل من Junji et al. (2004) و Lass et al. (2009) في دراساتها التي تضمنت الكشف عن أكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في عينات التربة باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

وقد يرجع سبب انخفاض النسبة المسجلة في الدراسة الحالية إلى أن استخدام طريقة تفاعل سلسلة البلمرة في تشخيص أكياس بيض طفيلي المقوسة صعب نوعاً ما في التربة مقارنة باستخدامها في تشخيص الطفيلي في أنسجة وسوائل جسم المضائف والتي تعتمد على تضخيم الجين B1 (Ellis, 1998) وترجع اسباب ذلك إلى كون استخلاص الدنا الطفيلي من عينات التربة صعب جداً إضافة إلى كون المكونات البيئية الموجودة في التربة تعمل على تثبيط تفاعل سلسلة البلمرة (Zhao et al., 2001) ومن تلك المثبطات هو حامض Humic acid والطين والسكريات المتعددة (Chung et al., 1998; Wiedenmann et al., 1998).

## Conclusions & Recommendations

## 6- الاستنتاجات والتوصيات

### Conclusions

### (1-6): الاستنتاجات

1- أظهرت الدراسة الحالية بأن الدجاج المحلي والديك الرومي والاوز الاريد والقطط عرضه للاصابة بطفيلي المقوسة الكوندية، وأن اعلى نسبة إصابة سجلت في الدجاج المحلي بالمقارنة مع بقية انواع الطيور الاخرى باستخدام الاختبارات المصلية (اختبار تلازن اللاتكس واختبار الكاسيت السريع) والجزئييه (تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي والمتداخل)، في حين لم تسجل اي حالة اصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في طيور البط المحلي. وهذا المؤشر الاول في هذه الدراسة على تلوث البيئة بأكياس بيض الطفيلي.

2- أظهرت النتائج بأن أعلى نسبة أصابة بطفيلي المقوسة الكوندية سجلت في محافظة كربلاء في حين كانت اقل نسبة اصابة في محافظة النجف كما أن نسبة الاصابة في العينات المأخوذة من المناطق الريفية في محافظة الديوانية كانت أعلى من نسبة الاصابة في العينات المأخوذة من المدينة باستخدام اختبار تلازن اللاتكس والكاسيت السريع وتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

3- وجد بأن اختبار تفاعل سلسلة البلمرة هو الافضل لتشخيص طفيلي المقوسة الكوندية.

4- الاصابة بطفيلي المقوسة الكوندية سبب العديد من التغيرات المرضية النسجية العيانية والمجهرية في الاعضاء المصابة.

5- اثبتت الدراسة وجود اكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية في تربة الحدائق المنزلية باستخدام طريقة التطويق وتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي وهذا مؤشر اخر على تلوث البيئة بأكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية.

## (2-6): التوصيات Recommendations

- 1- إجراء دراسة للتعرف على عوامل الضراوة المسؤولة عن امراضية طفيلي المقوسة الكوندية.
- 2- إجراء دراسة للتعرف على الطرز الوراثية Genotype لطفيلي المقوسة الكوندية في الطيور والقطط والتربة.
- 3- تربية الطيور الداجنة في أقفاص مغلقة والسيطرة على تغذيتها ومنع اقترابها من الطيور المهاجرة من اجل التقليل من انتقال المسببات المرضية وخاصة الطفيلية منها فيما بينها.
- 4- إخضاع الطيور والقطط الى برنامج معالجة بالأدوية المناسبة وبشكل دوري.
- 5- منع الاطفال من اللعب في الحدائق تجنباً لتلوثهم بأكياس طفيلي المقوسة الكوندية المنتشرة في التربة وبالتالي منع إصابتهم بهذا الطفيلي اضافة الى ارتداء القفازات عند تنظيف الحدائق كما يجب تجنب اللعب مع القطط وإبعادها قدر المستطاع خارج المساكن .
- 6- التخلص من الاحشاء الداخلية للطيور وحرقتها من اجل منع القطط من تناولها وبالتالي منعها من الاصابة بالطفيلي.
- 7- طهي لحوم الطيور الداجنة بشكل جيد من اجل تحطيم الاكياس النسجية المتواجدة فيها فيما اذا كانت تلك الطيور مصابة بطفيلي المقوسة الكوندية.
- 8- نشر الوعي الصحي في المناطق الريفية والمدنية حول خطورة التعامل مع الدواجن وتوعية الجميع بمخاطر اكل الاعضاء وهي غير مطبوخة جيداً وخاصة الكبد لما لها من دور في نقل الاصابة بطفيلي المقوسة الكوندية.