

استعمال فحص تلازن اللاتكس وتقنية تفاعل السلسلة المتبلعمة (PCR) في الكشف عن الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* في بعض الطيور الداجنة في مدينة الديوانية/العراق

هادي مدلول حمزة الميالي

محمد حبيب داخل الغزي

قسم علوم الحياة /كلية التربية /جامعة القادسية

الخلاصة

أظهرت نتائج الفحوصات المختبرية باستعمال فحص تلازن اللاتكس (LAT) وجود الإصابة بداء المقوسات الناتج عن طفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* في الطيور المستعملة في الدراسة وبنسب إصابة مئوية مختلفة، إذ بينت نتائج الفحص المناعي لـ 150 عينة من مصول الدجاج المحلي أن 49 عينة كانت موجبة وبنسبة إصابة مئوية بلغت 32.6 %، وكانت أعلى نسبة ايجابية 34.7 % (17 عينة) ضمن التركيز 1\80، أما أوطاً نسبة ايجابية فكانت 2 % (عينة واحدة) ضمن التركيز 1\20. أما بالنسبة لنتائج فحص مصول الحمام المنزلي فأظهرت وجود 32 عينة موجبة وبنسبة أصابه مئوية بلغت 24.6 %، وكانت أعلى نسبة ايجابية 34.4 % (11 عينة) ضمن التركيز 1\320 وأوطاً نسبة ايجابية هي 3.1 % بواقع عينة واحدة ضمن تركيز 1\20، أما في الحمام الطوراني فكانت نتائج فحص المصل وجود 42 عينة موجبة وبنسبة إصابة مئوية بلغت 32.3 %. حيث كانت أعلى نسبة ايجابية 38 % بواقع 16 عينة ضمن التركيز 1\320 أما أوطاً نسبة ايجابية فكانت 4.76 % بواقع 2 عينة ضمن التركيز 1\20. تم تأكيد إصابة الطيور الداجنة بطفيلي المقوسة الكوندية من خلال استعمال تقنية تفاعل السلسلة المتبلعمة (PCR)، إذ تم الكشف عن الجين B₁ ذو الوزن الجزيئي (Pb₃₂₅) الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية في 6 عينات من مجموع 24 عينة أخذت بصورة عشوائية وكانت نسبة الإصابة 25 %. بينت نتائج الدراسة الحالية أيضاً الدور الكبير الذي تلعبه الطيور الداجنة في نقل الإصابة بداء المقوسات إلى الإنسان باعتباره من الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان وذلك من خلال تحديد الجين الخاص بالطفيلي في مصولها.

وتعد الدراسة الحالية و تحديد الجين B₁ (Pb₃₂₅) الخاص بالطفيلي باستعمال تقنية PCR هي الأولى في العراق حول طفيلي المقوسة الكوندية في طيور الحمام.

المقدمة

يعود

طفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* إلى رتبة البوغيات (sporozoa) (Nemotollah and Maghaddamg, 2008). وهو طفيلي داخل خلوي إجباري (Obligate intracellular Parasite)، قادر على إصابة مختلف الأنسجة في العديد من اللبائن (Mammals) والطيور (Birds) مسبباً داء المقوسات (Toxoplasmosis) (Akca et al., 2004). ويعد من الأمراض المشتركة (Zoonotic disease) الواسعة الانتشار عالمياً بين الإنسان والحيوان من جهة (Kim et al., 2008). ومن جهة ثانية فهو إصابة انتهازية (Opportunistic infection) (Khan et al., 2005). وتأتي أهميته بالدرجة الأولى في النساء الحوامل ومستلمي الأعضاء والمرضى والمصابين بفايروس نقص المناعة المكتسبة (HIV) (Fallah et al., 2008). يصيب طفيلي المقوسة الكوندية فضلاً عن الإنسان، الخراف، الماعز، الخيول، الطيور، الفئران و الذئاب، حين تكون في تماس مع غائط المصاب والذي يمكن أن يحوي أكياس البيض (Oocysts) (NZMH, 2001). كما سجلت الإصابة أيضاً في عدد من اللبائن البحرية كالحياتان، الدلافين، اسود و كلاب البحر (Gillbertson et al., 2005; Lambourn, 2001) و نظراً لأهمية الكبيرة للطيور الداجنة وقربها وتماسها المباشر مع الإنسان وخاصة الدجاج والحمام، ولعدم وجود دراسات سابقة حول هذا الطفيلي في تلك الحيوانات في العراق وخاصة في محافظة الديوانية بالرغم من الاهتمام العالمي الكبير بهذه الحيوانات كمضيف وسطي لطفيلي المقوسة الكوندية بالإضافة إلى القطط وكونها أكثر قرباً وتماساً مع الإنسان من القطط وبسبب الانتشار الواسع لداء المقوسات في النساء الحوامل في محافظة الديوانية من خلال الدراسات السابقة فقد جاءت الدراسة الحالية والتي تهدف إلى تأكيد وجود طفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* المسبب لداء المقوسات في بعض الطيور الداجنة والمنزلية في العراق كما تشير بعض الدراسات العالمية من خلال الكشف عن وجود اجسام الضد للطفيلي في دم الطيور الداجنة والمنزلية باستعمال فحص التلازن اللاتكس (LAT) (Latex Agglutination test) وتأكيد وجود الطفيلي باستعمال تقنية تفاعل السلسلة المتبلعمة (PCR) Polymerase Chain Reaction من خلال تأكيد وجود الجين الخاص بهذا الطفيلي.

تم جمع 150 طيراً من الدجاج المنزلي نوع *Gallus gallus domesticus* و 130 طيراً من الحمام المنزلي *Columba domestica* و 130 طيراً من الحمام الطوراني *Columba livia*، خلال المدة من شهر تشرين الثاني 2010 ولغاية شهر أيار 2011، من مناطق مختلفة من محافظة الديوانية شملت البيوت والاسواق المحلية . بعد جمع العينات جلبت الى مختبر الطفيليات في البيت الحيواني، قسم علوم الحياة، كلية التربية وسجل تاريخ الحصول على العينات وجنسها وتمت عملية فحص الطيور وعزل الطفيلي وكما يلي :

1- جمع عينات الدم

Collection of Blood sample

سحبت عينات الدم من الدجاج المحلي والحمام المنزلي والحمام الطوراني من الوريد في المنطقة تحت الجناح بواسطة Syringe محقنه طبيه حجم 5مل (Sturkie, 1965) وبمعدل 3-5 مل من الدم ثم وضعت في أنابيب اختبار معقمة بعدها فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 2500 دوره ولمدة 5 دقائق وسحب المصل بواسطة ماصة معقمة لكل عينة ومن ثم وضع في أنابيب خاصة معقمة سجل عليها رقم الحيوان وجنسه وتاريخ الفصل وحفظت في -20 م° لحين إجراء الفحوصات عليها.

2- طرائق التشخيص Methods of Diagnosis

1- أختيار تلازن اللاتكس Latex agglutination test

اعتمدت العدة المجهزه من قبل شركة biokit الاسبانيه الخاصه لفحص التوكسوبلازما وحسب الطريقه المرفقه مع عدة الفحص وكمايلي :-

- تم أخراج عدة الاختبار المبردة والمصل المجمد من الثلاجة وترك لحين الوصول إلى درجة حرارة الغرفة .
- وضع 50 مايكروليتر (ml) من المحلول الفسلجي على الحقول السوداء للشريحة من الحقل 2- 6 فقط.
- وضع 50 مايكروليتر من نموذج المصل المراد فحصه إلى الحقل رقم 1,2 باستعمال الماصة الأوتوماتيكية Micropipette.
- خلط المزيج جيداً بنفس الماصة وتم نقل 50 مايكروليتر من المصل المخفف من الحقل رقم 2 إلى الحقل رقم 3 ثم الحقل رقم 4 وهكذا حتى نهاية الحقل رقم 6 ثم سحب 50 مايكروليتر من الحقل الأخير ويرمى.
- رجت قنينة الكاشف وأضيف 50 مايكروليتر إلى الحقول من 1-6.
- في حالة العينات الموجبة للفحص يلاحظ حصول تجلط agglutination في الحقول وحسب التخفيف وكما في ادناه .

الحقل	1	2	3	4	5	6
المعيارية	1:	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
	1					

3- استخلاص الحامض النووي منقوص الأوكسجين DNA Extraction

تم استخلاص الحامض النووي منقوص الأوكسجين باستعمال الطريقة الخاصة بهذا الغرض والمصنعة من قبل شركة Geneaid الالمانيه وحسب طريقة العمل المرفقة مع العدة .

4- الترحيل الكهربائي في هلام الاكاروز Agarose- gel electrophoresis

1-تحضير هلام الاكاروز

حضر هلام الاكاروز حسب طريقة (Sambrook et al., 1989) بإذابة 0.8غم من مسحوق الاكاروز في 100 مل من محلول الترحيل TBE في حمام مائي عند درجة حرارة 100م°، ثم أضيفت صبغة الاثيديوم برومايد (15 مايكروليتر/100مل) بعد أن برد الهلام إلى درجة حرارة 50م° ثم رحل باستخدام جهاز electrophoresis gel وبطول موجي 256 نانوميتر بواسطة جهاز Uv translluminator.

5- اختبار تفاعل سلسلة المتبلمرة (PCR)

- تم إجراء هذا الاختبار باستعمال العدة الخاصة بهذا الاختبار المجهزة من قبل شركة (Sacace) الإيطالية وحسب طريقة العمل المرفقه وهو خاص بإجراء اختبار تفاعل سلسلة المتبلمرة الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* ويعتمد هذا الاختبار على ثلاث عمليات هي :
 - تحضير العينات.
 - تضاعف الحامض النووي باستعمال البادئات الخاصة بطفيلي *T. gondii* (محضر مع عدة الفحص).
 - تحديد نتائج التضاعف على هلام الاكاروز.
- * طريقة العمل :

- 1- استخدمت أنابيب الاختبار الخاصة بأختبار تفاعل سلسلة المتبلمرة التي تدعى (PCR Mix tube) (مجهز مع عدة الفحص) ثم حضر مزيج التفاعل كما في الجدول الآتي :

PCR Component	Master mix Volume (μ l)
PCR. Mix2	10. μ l
DNA template	10 μ l
Total volume	20 μ l per sample

كذلك تم تحضير مزيج تفاعل السيطرة الموجبة والسالبة وكما في الجداول التالية :

أ- السيطرة الموجبة

Positive control	Master mix Volume (μ l)
PCR. Mix2	10. μ l
Positive control	10 μ l
Total volume	20 μ l

ب- السيطرة السالبة :

Negative control	Master mix Volume (μ l)
PCR. Mix2	10. μ l
DNA Buffer	10 μ l
Total volume	20 μ l per sample

- 2- تم نقل جميع أنابيب الاختبار لـ PCR الحاوية على مزيج التفاعل ووضعت في جهاز PCR وتم إجراء التفاعل وحسب الخطوات الآتية والمبينة من قبل الشركة مع عدة الفحص (kit) وهي دورة واحدة بدرجة حرارة 95 م° لمدة 5 دقائق لغرض المسخ البدائي (Initial denaturation) ثم 42 دورة بدرجة حرارة 95 م° لمدة 15 ثانية و65 م° لمدة 25 ثانية ثم 72 لمدة 25 ثانية وأخيرا 72 م° لمدة دقيقة واحدة لإعطاء الناتج النهائي ثم الحفظ بدرجة 10 م° .

- 3- تم تحليل النتائج من خلال تحضير هلام الاكاروز بنسبة (2%) والبحث عن وجود أو عدم وجود الحزم المتخصصة بجين طفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* والتي طولها (Pb₃₂₅).

Results

النتائج

- (1) تشخيص الإصابة بالمقوسة الكوندية في الطيور باستعمال فحص اللاتكس

أظهرت نتائج الفحوصات المختبرية وجود الإصابة بداء المقوسات الناتج عن طفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* وبنسب إصابة مئوية مختلفة ، حيث بينت نتائج الفحص المناعي لـ 150 عينة من مصل الدجاج المحلي ان 49 عينة كانت موجبة وبنسبة إصابة مئوية بلغت 32.6 % أما بالنسبة لنتائج فحص 130 عينة من مصل الحمام المنزلي فكانت 32 عينة موجبة وبنسبة أصابه مئوية بلغت 24.6 % ، أما في الحمام الطوراني فكانت نتائج فحص 130 عينة من المصل وجود 42 عينة موجبة وبنسبة إصابة مئوية بلغت 32.3 % ، وقد لوحظ من خلال الدراسة أن أعلى نسبة إصابة بداء المقوسات كان في الدجاج المحلي وبنسبة 32.6% يليه الحمام الطوراني بنسبة 32.3% ، بينما أقل نسبة كانت في الحمام المنزلي

وبنسبة 24.6% على التوالي ، وقد لوحظ وجود فروق معنوية في نسبة الإصابة بين الحمام المنزلي والحمام الطوراني باستعمال مربع كاي (χ^2) عند مستوى الاحتمالية $P \leq 0.05$ بينما لم تظهر أي فروق معنوية في نسبة الإصابة بين الدجاج المحلي والحمام الطوراني عند مستوى الاحتمالية هذا كما يظهر في الجدول (1) .

الجدول (1) يبين النسبة المئوية للإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii* في الطيور المدروسة في محافظة الديوانية خلال مدة الدراسة باستعمال فحص اللاتكس.

نوع العينة	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المصابة	النسبة المئوية للإصابة%
الدجاج المحلي	150	49	32.6*
الحمام المنزلي	130	32	24.6*
الحمام الطوراني	130	42	32.3
المجموع الكلي	410	113	27.56

القيمة المحسوبة (χ^2) 1.374 القيمة الجدولية (χ^2) 0.503 * يوجد فروق معنوية عند مستوى الاحتمالية $P \leq 0.05$

(2) معيارية أجسام الضد في الدجاج المحلي المصاب بداء المقوسات باستعمال فحص اللاتكس.

بينت نتائج الفحص المناعي لـ 150 عينة من مصل الدجاج المحلي ان 49 عينة منها كانت موجبة للفحص وبنسبة إصابة مئوية بلغت 32.6 % وكانت أعلى نسبة ايجابية 34.7 % (17 عينة) ضمن التركيز 1\80، أما أوطاً نسبة ايجابية في الدجاج المحلي فكانت 2% (عينة واحدة) ضمن التركيز 1\20 أما النسب الباقية فكانت 12.24 % (6 عينات) ضمن التركيز 1\40 و 18.36 % (9 عينات) ضمن التركيز 1\60 و 32.64 % (16 عينة) ضمن التركيز 1\320 وكما مبين في الجدول (2) والشكل (1) . وقد لوحظ وجود فروق معنوية في معيارية أجسام الضد عند مستوى احتمالية (χ^2) $P \leq 0.05$.

(3) معيارية أجسام الضد في الحمام المنزلي المصاب بداء المقوسات باستعمال فحص اللاتكس.

أشارت نتائج الفحص المناعي لـ 130 عينة من مصل الحمام المنزلي وجود 32 عينة موجبة للفحص وبنسبة إصابة مئوية بلغت 24.6 % وكانت أعلى نسبة ايجابية 34.4 % (11 عينة) ضمن التركيز 1\320 أوطاً نسبة ايجابية هي 3.1 % بواقع عينة واحدة ضمن تركيز 1\20 ، أما النسب الباقية فكانت 18.75 % بواقع 6 عينات ضمن التركيز 1\40 و 25 % بواقع 8 عينات ضمن التركيز 1\80 و 18.75 % بواقع 6 عينات ضمن التركيز 1\160 وكما مبين في الجدول (2) .

(4) معيارية أجسام الضد في الحمام الطوراني المصاب بداء المقوسات باستعمال فحص اللاتكس

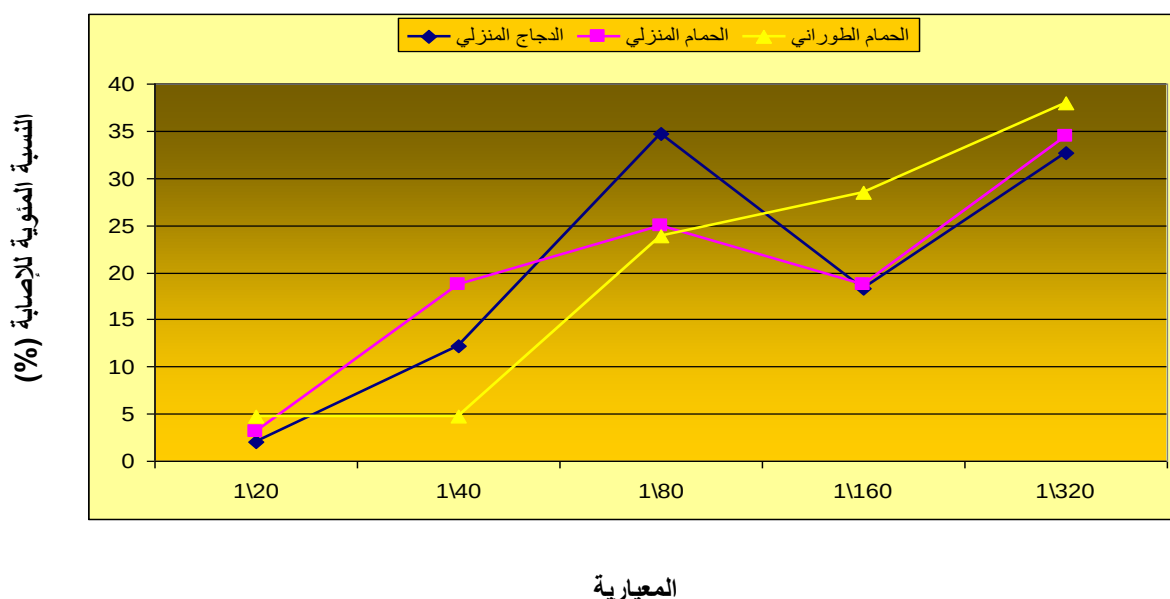
بينت نتائج الفحص المناعي لـ 130 عينة من مصل الحمام الطوراني وجود 42 عينة كانت موجبة و بنسبة مئوية بلغت 32.3 % حيث كانت أعلى نسبة ايجابية 38% بواقع 16 عينة ضمن التركيز 1\320 ، أما أوطاً نسبة ايجابية فكانت 4.76 % بواقع 2 عينة ضمن التركيز 1\20 وكانت النسب الباقية 4.76% بواقع 2 عينات ضمن التركيز 1\40 و 23.8% بواقع 10 عينة ضمن التركيز 1\80 و 28.5 % بواقع 12 عينة ضمن التركيز 1\160 وكما مبين في الجدول (2).

لوحظ من خلال الدراسة أن أعلى معيارية موجبة للفحص كانت عند التركيز 1/320 وكانت 32.6% و 34.4% و 38% في الدجاج المحلي والحمام المنزلي والحمام الطوراني على التوالي.(الجدول2) وقد أظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية في المعيارية باستعمال مربع كاي (χ^2) عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$.

الجدول (2) معيارية أجسام الضد لطفي المقوسة الكونية *T.gondii* في الطيور المدروسة في محافظة الديوانية باستعمال فحص اللاتكس.

نوع العينة	المعيارية عدد العينات الموجبة	1/20		1/40		1/80		1/160		*1/320	
		العدد	النسب المئوية	العدد	النسب المئوية	العدد	النسب المئوية	العدد	النسب المئوية	العدد	النسب المئوية
الدجاج المنزلي	49	1	2	6	12.24	17	34.7	9	18.36	16	32.64
الحمام المنزلي	32	1	3.1	6	18.75	8	25	6	18.75	11	34.4
الحمام الطوراني	42	2	4.76	2	4.76	10	23.8	12	28.5	16	38

القيمة المحسوبة (χ^2) 1.08 القيمة الجدولية (χ^2) 0.58 مستوى الاحتمالية $P \leq 0.05$



الشكل (2): معيارية أجسام الضد لطفي المقوسة الكونية *T. gondii* في الطيور المدروسة في محافظة القادسية باستعمال فحص اللاتكس.

(5) توزيع الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية في الدجاج المحلي حسب مناطق الجمع

تم جمع نماذج الدجاج المحلي من مناطق الريف (34) والمدينة (116) وقد لوحظ وجود فروق معنوية من نسبة الإصابة عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ حيث أعلى نسبة إصابة موجبة في العينات المأخوذة من المناطق الريفية وقد بلغت 44.11 % بواقع 15 عينة موجبة للفحص من مجموع 34 عينة أما بالنسبة للمدينة فقد كانت النسبة أقل حيث بلغت 29 % بواقع 34 عينة موجبة للفحص من مجموع 116 عينة و كما في الجدول (3).

الجدول (3) العلاقة بين الحالات الموجبة لداء المقوسات في الدجاج المحلي ومنطقة التربية باستعمال فحص تلازن اللاتكس LAT.

مناطق الجمع	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية للإصابة
ريف	34	15	44.11*
مدينة	116	34	29.31
المجموع	150	49	32.6

القيمة المحسوبة (χ^2) 0.333 القيمة الجدولية (χ^2) 0.564

*يوجد فروق معنوية باستعمال مربع كاي عند مستوى الاحتمالية $P \leq 0.05$

(6) تأكيد الإصابة بالمقوسة الكوندية في الطيور باستعمال تقنية تفاعل السلسلة المتبلعمة (PCR) Polymerase Chain Reaction

استخدمت تقنية تفاعل السلسلة المتبلعمة (PCR) على الطيور في هذه الدراسة لأول مرة في العراق، حيث تم من خلالها تأكيد إصابة الطيور المدروسة (الدجاج المحلي، الحمام المنزلي، الحمام الطوراني) بطفيلي المقوسة الكوندية في العينات الموجبة لفحص اللاتكس حيث تم أخذ 24 عينة عشوائية من مجموع العينات الموجبة لفحص اللاتكس وبمعدل 8 عينات لكل نوع من أنواع الطيور المدروسة وفحصت باستعمال تقنية PCR لتحديد الجين B_1 (pb₃₂₅) والخاص بطفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii*، أظهرت النتائج أن 6 عينات كانت موجبة باستعمال تقنية تفاعل السلسلة المتبلعمة PCR من مجموع العينات الموجبة لفحص اللاتكس وكانت أعلى نسبة في الحمام الطوراني إذ بلغت 37.5 % (3 عينات) من مجموع 8 عينات موجبة لفحص اللاتكس أما أوطا نسبة كانت في الحمام المنزلي، بلغت 12.5 % (عينة واحدة) من مجموع 8 عينات موجبة، أما في الدجاج المحلي فكانت نسبة الإصابة 25 % بواقع عینتان من مجموع 8 عينات وقد لوحظ عدم وجود فروق معنوية في نسبة الإصابة بين الدجاج المحلي، الحمام الطوراني والحمام المنزلي عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ كما مبين في الجدول (4) والشكل (2 و 3).

الجدول (4) يبين عدد العينات الموجبة في الطيور المدروسة باستعمال تقنية تفاعل السلسلة المتبلعمة (PCR).

نوع العينة	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية
الدجاج المحلي	8	2	25%
الحمام المنزلي	8	1	12.5%
الحمام الطوراني	8	3	37.5%
المجموع	24	6	25%

القيمة المحسوبة (χ^2) 0.013 القيمة الجدولية (χ^2) 0.993 مستوى الاحتمالية $P \leq 0.05$



5/22/2011 1:24:35 PM
Enhancement: 471
Exposure Time: 3321

Brightness: 31
Contrast: 81
Gamma: 25

الشكل (2) صورة تبين عملية الترحيل الكهربائي لعينات مصل الطيور على هلام الاكاروز. (24) العينات الموجبه لفحص اللاتكس العمود (-ve) يمثل السيطرة السالبة . العمود (+ve) يمثل السيطرة الموجبة.



الشكل (3) يمثل ناتج عملية التضاعف باستعمال تقنية (PCR) .

الاعدة 14-24 عينات المصل المأخوذة من الطيور المدروسة.

العمود (-Ve) يمثل السيطرة السالبة

العمود (+Ve) يمثل السيطرة الموجبة

الاعدة (15 ، 16 ، 17 ، 18 ، 19 ، 21) تمثل العينات الموجبة حيث يظهر الجين B1 (الوزن الجزيئي Pb325) الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية T.gondii في العينات الموجبة.

Discussion

المناقشة

أن تسجيل الإصابة بداء المقوسات Toxoplasmosis في الدجاج المحلي، الحمام المنزلي والحمام الطوراني في محافظة الديوانية تتفق مع العديد من الدراسات العالمية التي تؤكد أن هذا المرض واسع الانتشار في الإنسان والحيوانات وللطيور دور رئيسي في نقل المرض إلى الإنسان ويصيب كذلك مختلف الحيوانات. إن هذه الدراسة تعد الأولى التي أشارت إلى أصابه طيور الحمام بطفيلي المقوسة الكوندية في العراق.

أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى أن عدد الحالات الموجبة لداء المقوسات في الدجاج المحلي كانت 49 حالة من مجموع 150 عينة وبنسبة كلية بلغت 32.6 % لفحص التلازن اللاتكس Latex agglutination test وهي أقل من النسبة التي سجلها Chumpolbanchorn., (2009) في تايلاند باستعمال فحص تألق الضد غير المباشر (IFAT) وطلبة (2004) في مصر و (2005) Dubey et al., (2006) Dubey and Shen., في أمريكا الجنوبية وشيلي باستعمال فحص التلازن المحور (MAT) وفي كل من جمهورية الكونغو الديمقراطية ومالي وبوركينا فاسو وكينا باستعمال فحص التلازن المحور (MAT) و (2007) Dubey et al., في كل من كوستاريكا وأمريكا الوسطى باستعمال فحص التلازن المحور (MAT) و (2003) Dubey. في البرازيل باستعمال فحص التلازن المحور (MAT) و (2003) Singh. في الهند و (2005) Dubey et al., في النمسا باستعمال فحص التلازن المحور (MAT) وهي 59.6 % و 55.3 % و 50 % و 40.1 % و 40 % و 39.5 % و 36.3 % على التوالي ، وأعلى من النسبة التي سجلها (2005) Dubey et al., في الأرجنتين و (2003) Sreekumar et al., في الهند باستعمال فحص التلازن المحور (MAT) و (1993) Literakalkheglicek., في تشيكوسلوفاكيا باستعمال فحص صبغة سابين- فيلدمان و (2009) Yan في جمهورية الصين الشعبية باستعمال فحص التلازن المحور (MAT) و (2003) Dubey في الولايات المتحدة باستعمال فحص التلازن المحور (MAT) وهي 20 % و 17.9 % و 5.1 % و 4.1 % و 16.9 % على التوالي اما في العراق فلا توجد دراسات حول الدجاج. وقد يعود السبب في اختلاف نسب الإصابة بهذا الطفيلي في الدجاج في الدراسات المختلفة الى اختلاف مناطق الدراسة وفترة اجراءها فضلاً عن اختلاف نوع الفحوصات المستخدمة في تلك الدراسات ، وتعتمد اغلب الدراسات العالمية حول طفيلي المقوسة الكوندية في الحيوانات على استعمال فحص التلازن المحور Modified agglutination test (MAT) وهو فحص ذو حساسية وخصوصية عاليتين ومصادق عليها عالمياً (Dubey, 2008) ومن أكثر الفحوصات خصوصية وحساسية في اكتشاف الإصابة بداء المقوسات في الحيوانات (Zarnke et al., 2001) . أما في دراستنا هذه فقد تم استعمال فحص التلازن المباشر Direct Latex agglutination test (LAT) لعدم توفر فحص التلازن المحور (MAT) وهو أيضاً من الاختبارات ذات الخصوصية والحساسية العاليتين في الكشف عن داء المقوسات الكوندية اذا ما قورنت نتائجه مع بقية الاختبارات (Fleck, 1989) وهو أيضاً من الفحوصات المستخدمة بشكل واسع في الدراسات الوبائية لداء المقوسات الكوندية في الطيور وبشكل خاص ومنها الدجاج والحمام (Ali et al., 2006) .

ويعد الدجاج مصدراً لغذاء الإنسان لذا تنتقل العدوى عن طريق أكل لحوم الدجاج غير المطبوخة جيداً وتهدف الدراسات العالمية المتوفرة الى معرفة مدى الانتشار العالمي لطفيلي المقوسة الكوندية في الدجاج ولتقييم دور الدجاج المصاب في وبائية الطفيلي وانتشار داء القطط Toxoplasmosis في الإنسان (Dubey, 2009) تنتشر المقوسة الكوندية على نحو واسع وكبير بين البشر والحيوانات الاخرى بما في ذلك الدواجن المحلية في كافة انحاء العالم لكن المعروف عن انتشارها في الدجاج والبط قليل نوعاً ما. ان معظم الاصابات بالمقوسة الكوندية في الدجاج تأتي عن طريق تغذيته من التربة التي تكون ملوثة بأكياس البيض Oocyst وان انتشار الاجسام المضادة للمقوسة الكوندية في الدجاج هو مؤشر جيد للسلاسل السائدة في تلك البيئات (Fremkel and Ruiz, 1980) أما بالنسبة للحمام فكانت عدد الحالات الموجبة لداء المقوسات الكوندية في الحمام المنزلي 32 حالة من أصل 130 وبنسبة كلية بلغت 24.6 % وفي الحمام الطوراني 42 حالة من أصل 130 وبنسبة كلية بلغت 32.3

% لفحص اللاتكس Latex agglutination test وهي اعلى من النسبة التي سجلها Yan et al., (2010) في الصين الشعبية باستعمال فحص التلازن المحور (MAT) و (Waap et al., 2008) في البرتغال باستعمال فحص التلازن المحور المباشر (DAT) و (Keshaverz and Abraham, 1994) في إيران باستعمال التلازن المحور (MAT) وهي 8.7 % و 4.7 % و 1.5 % على التوالي.

ويمكن ان نفسر سبب اختلاف نسب الإصابة بالمقوسة الكوندية في الدراسات أعلاه على أساس اختلاف عدد العينات المفحوصة وحساسية وخصوصية الفحوصات المستعملة في التشخيص وتباين الموقع الجغرافي والبيئي لتلك المناطق ، ان ارتفاع نسبة الإصابة بداء المقوسات في الطيور المدروسة يعطي دليلاً واضحاً عن مدى تلوث الغذاء والماء والترربة بأكياس البيض الناضجة لهذا الطفيلي التي تطرح مع براز القطط. تكون الإصابة في الحمام الطوراني أعلى من الحمام المنزلي بسبب طبيعة تغذية الحمام الطوراني المشابهة لتغذية الدجاج حر المعيشة ، أما الحمام المنزلي فتكون تغذيته اقل تلوث بأكياس البيض Oocysts للمقوسة الكوندية بسبب السيطرة على تغذيته واقتصارها على انواع محددة وخاصة الحبوب. وأظهرت نتائج الدراسة الحالية إلى أن عدد الحالات الموجبة لداء المقوسات في كلاً من الدجاج المحلي ، الحمام المنزلي والحمام الطوراني هي 6 حالات من مجموع 24 حالة ونسبة بلغت 25 % باستعمال تقنية تفاعل السلسلة المتبلعمة (PCR) إذ تم الكشف عن جين B1 (Pb₃₂₅) الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية في الدجاج المحلي بواقع عينتان ، الحمام المنزلي عينة واحدة والحمام الطوراني ثلاث عينات وبلغت نسبة الإصابة في الطيور المدروسة 25 % ، 12.5 % و 37.5 % على التوالي، وقد جاءت هذه النتائج مقاربة لما توصل إليه كل من (deGodoi et al., ; Asgari et al., 2009; Brandao et al., 2006) في إيران والبرازيل والحمام الطوراني في اوغندا (Lindstrom et al., 2007) حيث تم تأكيد نتائج الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية للفحوصات المناعية المختلفة باستعمال فحص تفاعل السلسلة المتبلعمة (PCR) للتحري عن جين الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية حيث كانت النتائج موجبة ويعود الاختلاف في نتائج الفحصية في هذه الدراسة الى كون فحص PCR اكثر دقة وحساسية في الكشف عن الطفيلي .

ظهرت اعلى معيارية موجبة للجسام المضادة باستعمال فحص اللاتكس في الدجاج المحلي والحمام عند التركيز 1/320 وكانت 32.6 % و 34.4 % و 38 % على التوالي واقلها عند التركيز 1/20 وهذا يتفق مع ماتوصل إليه بطي (2009) في الدجاج الرومي باستعمال فحص اللاتكس حيث لاحظ ان اعلى نسبة معيارية للجسام المضادة في تلك الطيور كانت 1/60 واقلها 1/20 وتشير التراكمات العالية للجسام المضادة في مصل هذه الطيور الى وجود حالات الإصابة الحادة بالطفيلي. هنالك عدد كبير من التقارير تتعلق بحدوث خمج المقوسات الكوندية في الطيور الا ان العديد من هذه التسجيلات جاءت نتيجة ظهور الطفيلي في المقاط النسيجية وقد سجل المرض المنسوب الى داء المقوسات في الدجاج من قبل Ericksen and Harbor عام 1953 في النرويج إذا أشاروا إلى وجود دواجن ميتة دون أي دليل من اعتلال سابق بينما أظهرت أخريات علامات الشحوب التي تستمر لحقب تصل إلى شهر تقريباً وتكون ملامح الإسهال والعمى موجودة في الدجاج ومن الناحية النسيجية يؤدي إلى التهاب التامور والتهاب عضلات القلب البؤري او المنتشر والتهاب الدماغ البؤري والتهاب الكبد الأنخري وقروح القناة المعوية (الجنابي وآخرون، 1986)

المصادر References

- الجنابي، بهجت محمد طه والعباسي، صالح ناجي وحياني، زهير غالب وعبد اللطيف، بهاء محمد (1986). علم الطفيليات البيطرية. مفصلية الأرجل والاولالي الحيوانية، الجزء الثاني. 1390 صفحة.
- بطي، أنتصار توما (2009). دراسة تشخيصية للمقوسات الكوندية في الديك الرومي *Meleagris gallopavo* في بعض مناطق محافظة نينوى، العراق. المجلة العراقية للعلوم البيطرية. 23: 57-62.
- طلبة ، محمد عيسى مرغني (2004). بعض الدراسات عن المقوسة الكوندية في الدواجن والتي تنتقل للإنسان. رسالة ماجستير، كلية الطب ، جامعة اسيوط.
- Akca, A.; Babur, C.; Arslan, M.; Gicik, A.; Kara, M. and Kilic, S. (2004). Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses in the Province of Kars, Turkey. Vet. Med. J., 49(1) : 9-13.
- Ali, N.; Valian, H.; Rezaian, M.; Khorramizadeh, MR.; Kazemi, B.; Fazaeli, A. and Darde, M. (2006). Molecular Characterization of *Toxoplasma gondii* from Bird Hosts. Iranian. J. Publ. Health., 34(3):27-30.

- Asgari, Q.; Motazedian, MH.; Esmaeelzadeh, B.; Kalantari, M. and Hatam, GhR.(2009). The Prevalence of *Toxoplasma* Infection among Free-Rang-ing Chickens in Southern Iran Using IFA and Nested-PCR . Iranian.J. Parasitol.,4(4):29-36.
- Brandao, G.P.; Ferreira, A.M.; Melo, M.N.and Vttor, R.W.A. (2006). Characterization of *Toxoplasma gondii* from Domestic Animals from Minas Gerais, Brazil. Parasite.,13:143-149.
- deGodoi, F.; Nishi ,S.; Pena, H. and Gennari, S.(2010). *Toxoplasma gondii*: diagnosis of experimental and natural infection in pigeons (*Columba livia*) by serological, biological and molecular techniques. Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal., 19(4): 238-243.
- Dubey, J. P. (2003). *Toxoplasma gondii*. Vet. Parasitol., 86: 235-248.
- Dubey, J.P. (2009).*Toxoplasma gondii* Infections in Chickens (*Gallus domesticus*): Prevalence, Clinical Disease, Diagnosis and Public Health Significance . This article is a US Government work and is in the public domain in the USA., 57 : 60-73.
- Dubey, J.P.(2008).The History *Toxoplasma gondii*-The first 100 years. J. Eukaryot. Microbiol., 55(6).467-475.
- Dubey, J.P.; Edelhofer, R .; Marcet,P.; Vianna, M.C.B.; Kwok, O.C.H.and , Lehmann, T.(2005) Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* infections in free-range chickens from Austria.Vet. Parasitol.,133:299-306.
- Dubey, J.P.; Webb, D.M.; Sundar, N.; Velmurugan, G.V.; Bandini, L.A.and Kwork, O.C.H.(2007). Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens(*Gallus domesticus*) and goose(*Anser anser*).Illinois. Vet. Parasitol., 148:207-212.
- Dubey,J.P.; Marcet, P.L. and Lehmann, T.(2005).Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free- range chickens from Argentina. J. Parasitol., 91(6):1335-1339.
- Dubey,J.P.and Shen, S.K.(2006).Characterization of *Toxoplasma gondii* in free- range chickens from Chile, south America. Vet. Parasitol., 140: 76-82.
- Fallah, M.; Rabiee, S.; Matini, M. and Taherkhani, H.(2008). Seroepidemiology of Toxoplasmosis in Primigravida women in Hamadan, Islamic Republic of Iran, 2004. Eastern Mediterranwan Health J., 14(1):163-171.
- Fleck, DG. (1989). Annotation: diagnosis of toxoplasmosis. J. Clin. Pathol., 42: 191-93
- Frenkel, J.K. & Ruiz, A. (1980).Endemicity of toxoplasmosis in Costa Rica transmission between cats, soil, Intermediate hosts and humans. Am. J. Epidemiol., 113: 254 – 269.
- Gilbertson, J.; Mandsager, R. and Funk, B.(2005).Preventing infection with *Toxoplasma gondii*. Bulletin, State of Alaska Epidemiology 7:1. [www.epi.Alaska.gov].
- Keshavarz, H. & Ebrahimi, A.(1994). Prevalence of *Toxoplasma gondii* in Birds of Kerman City by Serological and Parasitological Methods. Iranian .J. Public Health., 23(1-4) : 25-34.
- Khan, A.; Su, C.; German, M.; Storch, G.; Clifford, D. and Slibley, L.(2005). Genotyping of *Toxoplasma gondii* strain from immunocompromised patients reveals high prevalence of type I strains . J. Clin. Microbiol., 43(12) : 5881-5887.
- Kim, H.;Kim, Y.;Kang, S.; lee, H.; Rhie, H.; Ahn, H.; Nam, H.and lee, s.(2008). Prevalence of *Toxoplasma gondii* in stary cats of Gyonggi-do, Korea. Korean J. Parasitol. 46(3) : 199-201.

- Lambourn, D.; Jeffries, S. and Dubey, J.(2001). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in harbor Seals (Phocavitulina) in Southern Puget sound, Washington. J. Parasitol.,87(5): 1196-1197.
- Lindstrom, I.; Sundar, N.; Lindh, J.; Kironde, F.; Kabasa, J.D.; Kwok, O.C.H.; Dubey, J.P. and Smith, J.E. (2007). Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from Ugandan chickens reveals frequent multiple infections. Parasitol.,135:39-45.
- Nematollahi, A. & Moghddam, G.(2008). Survey on seroprevalence of anti- *Toxoplasma gondii* antibodies in cattle in Tabriz(Iran) by IFAT. Am. J. Anim. Vet. Sci., 3(1): 40-42.
- New Zealand Ministry of Health (NZMH) (2001). *Toxoplasma gondii* : A report. Inst. Environ. Sci. Res. Ltd. New Zealand.
- Singh, S. (2003). Mother-to-child transmission and diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. Indian J. Med. Microbiol., 21(2) :69-76.
- Sturkie, P.D.(1965). Avian physiology. Cornell. Uni. Press:75.
- Waap, A.; Vilares, V.; Rebelo, E., Gomes, S. and Ângelo, H.(2008). Epidemiological and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* in urban pigeons from the area of Lisbon (Portugal). Parasitol. Vet., 157(7):306-309.
- Yan, C.; Yue, C.; Qiu, S.; Li, H.; Zhang, H.; Song, H.; Huang, S.; Zou, F.; Liao, M. and Zhu, X. (2010). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigeons (*Columba livia*) in Guangdong Province of southern China. Parasitol. Vet., 177: 371-373.
- Zarnke, R.; Dubey, J.; Hoef, J.; McNay, M and Kwok, O.(2001). Serologic survey *Toxoplasma gondii* in Lynx from interior Alaska. J. Wildlife Dis., 37(1):36-38.

