دراسة مقارنة لأقطار الأكياس النسجية لطفيلي المقوسة الكوندية المعزولة من سخد النساء والنعاج والمعز والمحقونة تجريبيا في الفئران وأجنة أفراخ الدجاج

رضاء ناظم الحمو ، انتصار توما بطي ، أسماء ابراهيم العبادي

فرع الأحياء المجهرية ، كلية الطب البيطري ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

(استلم ٢٠ /١١ / ٢٠٠٧ ، قبل ٢٥ / ٢ / ٢٠٠٨)

الملخص:

تضمنت هذه الدراسة قياس أقطار الأكياس النسجية لطفيلي المقوسة الكوندية المعزولة من مضائف مختلفة (النساء ، النعاج ، المعز) ومقارنة أقطارها بعد حقنها في مضائف تجريبية مختلفة(الفئران البيضاء،أفراخ الدجاج) بالأكياس المعزولة من أسخاد تلك المضائف وخلال فترات زمنية مختلفة . وقد أظهرت الدراسة أن أقطار الأكياس النسجية العائدة لعزلة المعز كانت الأصغر بشكل عام من أقطار الأكياس النسجية العائدة لعزلة النعاج تليها النساء ، كما لم تسجل الدراسة وجود أي فرق معنوي لأقطار الأكياس النسجية بين الفئران البيض وأجنة أفراخ الدجاج،في حين كان الفرق معنوياً وواضحاً عند مقارنتها بأقطار الأكياس النسجية المعزولة من أسخاد المضائف الثلاثة : النساء(0.76 ± 93 مايكرومتر)، النعاج (2.1 ± 55 مايكرومتر) و المعز (2.03 ± 42 مايكرومتر) . ولغرض التعرف على الاختلافات في اقطار الاكياس النسجية العائدة لعتر طفيلي المقوسة الكوندية ومدى ضراوتها لمضائفها لاستخدامها كاحد الاسس التشخيصية لهذه العتر ، أجريت هذه الدراسة .

المقدمة

يعد طفيلي المقوسة الكوندية من الطفيليات التي تمتاز بتعدد العتر ، إذ ذكرت الدراسات أنها تملك ما يقارب 100 عترة ، تختلف في إمراضيتها ودرجة ضراوتها لمضائفها وفي صفات أخرى كثيرة منها ، حجم الأكياس النسجية وعدد الحوينات بطيئة التكاثر فيها (1 ، 2) . فقد ذكر Dubey *et al.*(1986) (١) انه عندما أخمج الفئران عن طريق الفم بأكياس البيضة العائدة لسلالات مختلفة من الطفيلي، لاحظ أن أحجام الأكياس النسجية اختلفت باختلاف هذه العزلات حيث وصل قطر البعض منها إلى 20مايكرون في حين وصل قطر الأكياس المعزولة من سلالات أخرى لحد 60 مايكرون . أما Odaert *et al.* (1996) (3) فقد لاحظ أن توزيع الأكياس النسجية على أعضاء جسم المضيف يتبع سلالة المقوسة الكوندية ، لاحظوا ذلك عندما أخمجوا الفئران بسلالة المقوسة الكوندية من نوع (1 – G1) حيث كان نمو الأكياس النسجية في الدماغ والعضلات بدرجة أكبر من باقي أعضاء الجسم في حين أدى إخماجها بالسلالة VEC إلى تركز الخمج في الدماغ فقط ، مع الأخذ بنظر الاعتبار استخدام نفس السلالة من الفئران. أما Fachado *et al.*(1997) (4) فقد لاحظ تواجد الأكياس النسجية للطفيلي بعد مرور 3 أيام في السائل البريتوني المعزول من فئران حقنت بالطفيلي داخل الخلب. من خلال ما تقدم تم خلال هذه الدراسة التركيز على أقطار الأكياس النسجية لعتر المقوسة الكوندية المعزولة من مضائف مختلفة للوقوف على الاختلافات في احجام الأكياس النسجية بين هذه العتر وملاحظة مدى التباين في حجم الأكياس النسجية في المضائف التجريبية المختلفة كالفئران وأفراخ الدجاج .

المواد وطرائق العمل

1- حجم العينات :

تم خلال هذه الدراسة جمع عينات الأسخاد الخمجة بطفيلي المقوسة الكوندية للنساء الخمجات من مستشفيات محافظة نينوى ، في حين جمعت أسخاد النعاج والمعز الخمجة بالطفيلي من العيادات البيطرية الخارجية ونقلت إلى المختبر لغرض عزل الطفيلي .

2- عزل الطفيلي :

تم عزل الطفيلي بصورته النقية من الأسخاد الخمجة وحسب طريقة Sharma and Dubey (1981) (5) بعدها شخص الطفيلي في المعلق وحضرت جرعة الحقن حسب طريقة Liesenfeld (2002) (6) .

3- الحقن في الحيوانات المختبرية :

أستخدمت الفئران المختبرية الإناث التي تم الحصول عليها من كليتي الطب والتربية في جامعة الموصل بواقع 80 فأرة أنثى بعمر 4–6 أسابيع ذات أوزان تتراوح بين 25 –30 غم. وبعد التأكد من خلوها من الإصابة باستخدام اختبار اللاتكس حقنت في التجويف الخلبي وبالجرعة المحضرة آنفاً . كما استخدمت أجنة أفراخ الدجاج التي تم الحصول عليها من المفاقس المحلية ، وحقنت في التجويف اللقانقي بالطفيلي المعزول من أسخاد المضائف الثلاثة وحسب الطريقة التي استخدمت من قبل الحمو (٢٠٠٥) (7) .

4- تصميم التجربة :

تم خلال هذه التجربة استخدام 80 فأرة أنثى قسمت إلى ثلاث مجاميع حقنت المجموعة الأولى 20 فأرة بمعلق الطفيلي المحضر من سخد النساء والمجموعة الثانية 20 فأرة بمعلق الطفيلي المحضر من سخد النعاج والمجموعة الثالثة 20 فأرة بمعلق الطفيلي المحضر من سخد المعز . في حين استخدمت 20 فأرة كمجموعة سيطرة . بعدها تم اجراء الصفة التشريحية بعد مرور 3 ، 14 ، 28 ، 45 يوماً من الخمج (٧) ، وذلك بسحب 5 فئران من كل مجموعة بعدها شرحت وأخذت عينة الدماغ ووضعت بالفورمالين الدارئ المتعادل 10% .

كذلك استخدمت 60 بيضة بعمر 11 يوماً ، قسمت إلى أربع مجاميع بواقع 15 بيضة لكل مجموعة تضمنت المجموعة الأولى كمجموعة سيطرة بدون اخماج في حين حقنت المجموعة الثانية بالمعلق المحضر من سخد النساء والثانية حقنت بالمعلق المحضر من سخد النعاج والأخيرة حقنت بالمعلق المحضر من سخد المعز .تم إجراء الصفة التشريحية للأجنة بعمر

4 ،7 ،21 يوماً من الخمج،إذ شرحت وأخذت عينة الدماغ ووضعت في دارئ الفورمالين المتعادل لتحضير المقاطع النسجية (٨) .

5- تحضير المقاطع النسجية :

حضرت المقاطع النسجية لعينة الدماغ المثبتة بمحلول الفورمالين الدارئ المتعادل وصبغت بصبغة الهيماتوكسلين – إيوسين حسب الطريقة المذكورة في Luna (1968) (8) .

6- قياس أقطار الأكياس النسجية :

حضرت الشرائح النسجية لأدمغة الفئران وأجنة أفراخ الدجاج . ثم قيست أقطار الأكياس النسجية باستخدام عدسة القياس Ocular micrometer وذلك بقياس أقطار 100 كيس نسجي لكل معاملة .

7- التحليل الإحصائي :

أجري تحليل التباين ثم أجري تحليل النتائج إحصائياً باستخدام اختبار (LSD) الطبعة العاشرة للبرنامج الإحصائي SPSS وذلك لاختبار معنوية الفروقات بين المتوسطات الحسابية للمجاميع المدروسة ومعرفة الخطأ القياسي (٩) .

النتائج

خلال متابعة النتائج في جدول 1 لم يظهر فرق معنوي بين أحجام الأكياس النسجية بين المجاميع الثلاثة بعد مرور 3 أيام على الخمج بعزلات الطفيلي في الفئران . واستمر الحال كذلك عند قياس أقطار الأكياس النسجية للمجاميع الثلاثة بعد مرور 14 يوماً من الخمج ، في حين كان الفرق معنوياً وواضحاً بعد مرور 28 يوماً من الخمج ، إذ سجلت أعلى قطر للأكياس النسجية في المجموعة الخمجة بعزلة النساء وكانت 2.03 ± 75 مايكرومتر، لكن تقاربت أقطار الأكياس النسجية للمجموعتين الخمجتين بعزلة النعاج والمعز وبعد مرور 45 يوماً استمر التفوق المعنوي في حجم أقطار الأكياس النسجية للمجاميع المخمجة بعزلة النساء في حين لم يلاحظ أي فرق معنوي بين أقطار الأكياس النسجية لمجموعتي النعاج والمعز . أما عند متابعة الفروقات المعنوية في أقطار الأكياس النسجية خلال الفترات الزمنية لنفس المجموعة لم يلاحظ عدم ظهور أي فرق معنوي في أقطار الأكياس النسجية لمجموعة النساء بعد مرور 3 – 28 يوماً في حين كان الفرق معنوياً بعد مرور 45 يوماً من الخمج مقارنة بالفترات الزمنية التي سبقتها . أما المجاميع المعاملة بعزلة النعاج والمعز فلم تظهر أي فرق معنوي خلال الفترات الزمنية المختلفة ، ما عدا المجموعة المخمجة بعزلة المعز بعد مرور 28 يوماً كما موضّح في الصورة ١.

جدول 2 يبين أقطار الأكياس النسجية لطفيلي المقوسة الكوندية في أدمغة أفراخ دجاج اللحم والمخمجة بعزلة النساء والنعاج والمعز فيظهر عدم وجود أي فرقٍ معنويٍ بين المجاميع الثلاثة في الأفراخ بعمر 14 يوماً والمخمجة بعزلات الطفيلي الثلاثة وكان الفرق معنوياً وواضحاً في أقطار الأكياس النسجية لأدمغة الأفراخ الخمجة بعزلة النعاج بعد مرور 17 يوماً مقارنة بالمجاميع الأخرى وكذلك الحال فقد كان الفرق معنوياً في أدمغة الأفراخ بعد مرور 21 يوماً للمجموعة المعاملة بعزلة النساء .

عند مقارنة تأثير الفترة الزمنية على نمو أقطار الأكياس النسجية نلاحظ عدم وجود أي فرق معنوي بتقدم العمر لأفراخ فروج اللحم الخمجة بعزلة النساء في حين كان الفرق معنوياً في أقطار الأكياس النسجية لأدمغة الأفراخ بعمر 21 يوماً مقارنة بمجاميع الأفراخ بعمر 14 و 17 يوماً . أما مجموعة الأفراخ الخمجة بعزلة المعز لم تظهر أية فروقات معنوية خلال الفترات الزمنية الثلاثة . من ملاحظة الجدول 3 الذي يظهر أقطار الأكياس النسجية في الأسخاد الخمجة بالمقوسة الكوندية والمعزولة من النساء والنعاج والمعز فيلاحظ وجود فرقاً معنوياً واضحاً في أقطار الأكياس النسجية لسخد النساء عن المجموعتين الأخرتين.

المناقشة

ان حجم الأكياس النسجية يعتمد على عمر الكيس النسيجي وكذلك على نوع العضو الذي يتواجد فيه الطفيلي فضلاً عن طريقة القياس المستخدمة لقياس حجم الأكياس النسجية (١٠) إذ ذكر Black and Boothryd (2000) (١١) أن الأكياس النسجية الفتية تكون أحجامها أقل من الأكياس البالغة إذ تحوي 2 إلى 3 حوينات بطئة التكاثر، كما أن الأكياس النسجية التي تنمو في الأنسجة الرخوة كالدماغ والكبد لها القدرة على النمو بشكل أفضل من الأكياس التي تتواجد في العضلات (١٢) . كما لا يفوتنا أن احجام الأكياس النسجية تختلف أيضاً باختلاف سلالات المقوسة الكوندية ، وهذا ما اشار إليه Roberts and Janovy (2000) (13) إذ ذكر أن العتر الشديدة الضراوة تتميز بسرعة تكاثر الحوينات سريعة التكاثر وتأخر انتاج الأكياس النسجية .

من متابعة نتائج جدول 1 لم يلاحظ وجود فرق معنوي بين أحجام الأكياس النسجية في مجاميع الفئران المخمجة بعزلة النساء والنعاج والمعز بعد مرور 3 – 14 يوماً من الخمج في حين كان الفرق معنوياً بعد مرور 28 يوماً من الخمج ، إذ سجلت أعلى قياس لقطر الأكياس النسجية في المجموعة المخمجة بعزلة النساء بعد مرور 45 يوماً، في حين سجل أقل حجم للأكياس النسجية في المجموعة المخمجة بعزلة المعز ، وقد يعود السبب لكون عزلة المعز أشد ضراوة من عزلة النساء والنعاج ، إذ أن للطفيلي القدرة على التكاثر بسرعة أكبر من العزلتين الأخرتين ، هذا بدوره يؤدي إلى زيادة الأكياس الفتية ذات الأحجام الصغيرة (٧).أما فيما يتعلق بزيادة أقطار الأكياس النسجية مع تقدم فترة الخمج فقد يعطي إشارة واضحة إلى تقدم النمو وزيادة أعداد الحوينات بطيئة التكاثر داخلها.من ملاحظة أقطار الأكياس النسجية في أدمغة الفئران المخمجة بالعزلات الثلاثة ومقارنتها مع أقطار الأكياس النسجية في أدمغة أفراخ الدجاج يلاحظ تقارباً واضحاً في أقطار الأكياس النسجية في حين سجلت النتائج أعلى معدل لأقطار الأكياس النسجية في نسيج السخد وعلى الرغم من قدرة الطفيلي على النمو والتطور بشكل أكبر في الأنسجة الرخوة كالدماغ مقارنة بنسيج السخد وقد يعود سبب ذلك لعمر الكيس النسيجي،فكما أسلفنا سابقاً بأن عمر الكيس النسيجي له دور في زيادة الحجم وسبب كون الأسخاد المستخدمة في هذه التجربة تعود لحالات إجهاض بعد مرور ثلاثة أشهر على الحمل وهذا يعطي صورة واضحة لتقدم عمر الكيس النسيجي من الأسخاد مقارنة بالأكياس المقاسة بعد مرور 45 يوماً كأقصى حدٍ .

نستنتج من ذلك أن أقطار الأكياس النسجية العائدة لعزلة المعز كان أصغر بشكل عام من أقطار الأكياس النسجية في النعاج وتليها عزلة النساء وهذا يؤيد ما توصلت إليه الحمو (٢٠٠٥) (7) إلى كون عزلة المعز أشد ضراوة من العزلتين الأخرتين .

جدول (1) معدل أقطار الأكياس النسجية بالمايكرون لطفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* المقاسة بالمايكرومتر في أدمغة الفئران المخمجة تجريبياً بالطفيلي المعزول من سخد النساء والنعاج والمعز بعد مرور (٣،١٤،٢٨،٤٥) يوما من عمر الفأرة

الفترات الزمنية (أيـام)	أقطار الأكياس النسجية لطفيلي المقوسة الكوندية (مايكرومتر)		
	المجموعة المخمجة بعزلة النساء	المجموعة المخمجة بعزلة النعاج	المجموعة المخمجة بعزلة المعز
3	21 ± 0.58 w / a	26 ± 1.29 wx / a	42 ± 1.00 x / ac
14	46 ± 0.33 wx / ab	43 ± 0.00 w / a	54 ± 1.52 w / ab
28	75 ± 2.03 y / abc	35 ± 0.88 wx / a	23 ± 0.67 x / bc
45	81 ± 0.67 y / b	55 ± 1.00 wx / ac	43 ± 1.55 w / ab

(wxy) وجود الأحرف المختلفة يعني وجود فرق معنوي بين المجاميع عند مستوى $P<0.05$.

(abc) وجود الأحرف المختلفة يعني وجود فرق معنوي بين الفترات الزمنية عند مستوى $P<0.05$.

جدول (2) معدل أقطار الأكياس النسجية (بالميكرون) لطفيلي المقوسة الكوندية المقاسة بالمايكرومتر في أدمغة أجنة الدجاج المخمجة تجريبياً بالطفيلي المعزول من سخد النساء والنعاج والمعز وبالأعمار (14 ، 17 ، 21) يوماً من عمر الجنين

عمر أجنة أفراخ الدجاج (أيـام)	أقطار الأكياس النسجية لطفيلي المقوسة الكوندية (مايكرومتر)		
	المجموعة المخمجة بعزلة النساء	المجموعة المخمجة بعزلة النعاج	المجموعة المخمجة بعزلة المعز
14	32 ± 0.33 wx / a	21 ± 1.20 w / a	23 ± 1.29 w / a
17	35 ± 0.55 w / a	66 ± 0.58 x / ac	42 ± 1.33 w / ab
21	72 ± 0.83 x / ac	45 ± 0.00 w / bc	35 ± 1.00 w / a

(wxy) وجود الأحرف المختلفة يعني وجود فرق معنوي بين المجاميع عند مستوى $P<0.05$.

(abc) وجود الأحرف المختلفة يعني وجود فرق معنوي بين الفترات الزمنية عند مستوى $P<0.05$.

جدول (3) معدل أقطار الأكياس النسجية (بالميكرون) لطفيلي المقوسة الكوندية المقاسة بالمايكرومتر في نسيج المشيمة الخمجة بالطفيلي والمعزولة من النساء والنعاج والمعز

نوع المشيمة	أقطار الأكياس النسجية (مايكرومتر)
إنسـان	93 ± 0.76 B
نعـاج	55 ± 2.1 a
معـز	42 ± 2.03 ab

(a b) وجود الأحرف المختلفة يعني وجود فرق معنوي بين المجاميع عند مستوى $P<0.05$.

المصادر

1- Dubey J P and Livington J R. Sarcocystis capracanis and *Toxoplasma gondii* infections in range goats from Texas. Am J Vet, 1986; 47(3): 523-524.

2- Sibley L D and Boothroyd J C. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. Nature, 1992; 359: 82-85.

3- Odaert H, Soete M, Fortier B, Camus D and Dubremetz J F. Stage conversion of *Toxoplasma gondii* mouse brain during infection and immunodepression. Parasitol Res, 1996; 82: 28-31.

4- Fachado A, Fonseca L, Alberti E, Cox R and Bandera F. *Toxoplasma gondii* antigenuria in patients with aquired immune deficiency syndrome. Mem Inst Oswaldo. Cruz., 1997; 29(5): 589-593.

5- Sharma S P and Dubey J P. Quantitative survival *Toxoplasma gondii* tachyzoites and Bradyzoites in pepsin and trypsin solution. Ann J Vet Res, 1981; 42: 128-130.

6- Liesenfeld O. Oral infection of C57BL/6mice with *Toxoplasma gondii*: Anew model of inflammatory bowel disease. J Infect Dis, 2002; 185(1): 596-601.

7- الحمو، رضاء ناظم. التغيرات المرضية في الفئران البيض وأجنة أفراخ الدجاج المخمجة تجريبياً بالمقوسة الكوندية المعزولة من سخد النساء والنعاج والمعز. أطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة الموصل، الموصل، 2005.

8- Luna L G. Manual of histological staining methods of the armed forces institute of pathology. 3rd ed, New York, McGraw Hill Bock Company, 1968; 38-76.

9- Steel RG, Toorie JH: Principles and Procedures of Statistics. 2nd ed., McGraw-Hill Co., London. 1980 .

10- Margaret WS, Kamp RL, and Zajac AM. Veterinary clinical parasitology. 6th ed, A Blackwell Publishing Company, Iowa 1994: 36-39.

11- Black M W and Boothryd J C. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. Am Soci Microbiol, 2000; 64(3): 1092.

12- Tenter A M, Barta J R, Beveridge I, Dusznski D W, Mehlhorn H, Morrison D A, Thompson A and Conrad P A. Invited review: The conceptual basis for a new classification of coccidia. Inter J Parasitol, 2002; 32: 595-616.

13-Roberts LS and Janovy J. Foundation of parasitology. 6th ed., McGraw Hill Company , London.

Comparative Study On Tissue Cyst Diameters Of *Toxoplasma Gondii* Isolated From Placenta Of Women, Ewe And Goat Experimentally Inoculated In Mice And Chickens Embryo

R. N. Al-Hamoo, E. T. Butty, A. I. Al-Aabadee

Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

This study concerned on the measurement of tissue cysts diameter of *Toxoplasma gondii* that is isolated from placenta of different hosts (women, ewe and goat) and also comparing this diameters after injection of tissue cysts in another hosts (albino mice & chick embryo) in different times. Results show that the diameter of tissue cysts isolated from goat are the smaller one, followed by that isolated from ewe and women placenta, respectively. Also this study reveal no significant difference between tissue cysts diameter, which isolated from mice & chick embryo, while the difference is significant when those diameters compared with that isolated from the placenta of women (93 µm ± 0.76), ewe (55 µm ± 2.1) and goat (42 µm ± 2.03). and finally this study was done to determined the tissue cyst diameter variations of different strains of *Toxoplasma gondii* and its relation to the virulence , and by using this method in diagnosis protocol in the future .