الكشف عن طفيلي المقوسة الكوندية في الطيور الداجنة في منطقة الفرات الاوسط من العراق باستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

أ.د. هادي مدلول الميالي [1]　　أ.د. خيري عبد الله العكيلي[2]　　م. خديجة عبيس حمود الخالدي[3]

1- جامعة القادسية / كلية التربية　2 – جامعة القادسية / كلية الطب　3- جامعة القادسية / كلية العلوم

الخلاصة　　Summary

تضمنت الدراسة الحالية التحري عن طفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* في خمسة أنواع من الطيور ضمت الدجاج المحلي *Gallus gallus domesticus* والديك الرومي *Meleagris galbpavol* والإوز الأربد *Anser anser* والبط المحلي *Anas platyrhychos domesticus* والحمام الطوراني *Columba livia* في منطقة الفرات الأوسط من العراق باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional Polymerase Chain Reaction كمحاولة للتحري عن الجين B1 الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية في عينات دم الطيور.

تم جمع 400 طيرا ضمت 80 عينة لكل نوع من الطيور المشمولة بالدراسة موزعة على 20 عينة لكل من الدجاج المحلي والديك الرومي والإوز الاربد والبط المحلي لكل محافظة من محافظات الفرات الاوسط (الديوانية وبابل والنجف وكربلاء) إضافة إلى 80 عينة من الحمام الطوراني من مركز محافظة الديوانية فقط.

أشارت نتائج اختبار400 عينة دم من الطيور المشمولة بالدراسة الى أن هناك 38 عينة (9.5%) أعطت نتيجة موجبة للاختبار ، ضمت 14 عينة (17.5%) من الدجاج المحلي و12 عينة (15%) من الديك الرومي و8 عينات (10%) من الاوز الأربد و4 عينات من الحمام الطوراني في حين لم تسجل أي حالة تواجد للجين B1(399bp) في عينات دم البط المحلي، وأن أعلى نسبة إصابة بطفيلي المقوسة الكوندية قد سجلت في الدجاج المحلي وبلغت 17.5% وأقلها في الحمام الطوراني وبلغت 5%.

كذلك أوضحت النتائج أن النسبة المئوية لإصابة أربعة أنواع (ماعدا الحمام الطوراني*) من الطيور المشمولة بالدراسة وبحسب محافظات الدراسة ، بلغت 15% ,6.25% ،5% (أقل نسبة) ، 16.25%

(أعلى نسبة) في كل من محافظة الديوانية وبابل والنجف وكربلاء على التوالي .

كما بينت النتائج بأن نسبة الاصابة في العينات المأخوذة من المناطق الريفية كانت 17.5% أعلى من النسبة 12.5% المسجلة في عينات المدينة والبالغة 12.5% .

Abstract

The current study was conducted to detection the *Toxoplasma gondii* in five species of avian including , *Gallus gallus domesticus* , *Meleagris galbpavol* , *Anser anser* , *Anasplatyrhychos domesticus and Columba livia* in middle Euphrates province of Iraq ,during 2012-2013 by using conventional Polymerase Chain Reaction to detect of B1 gene which was specific gene of *T.gondii* in blood samples of avian .

A total of 400 Avian , collected , including 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 80 samples of pigeons from the center of AL-Diwania province.

The results of 400 blood samples of avian were showed there were 38 samples (%9.5) gave positive result , include ,14 (% 17.5) from chicken , 12 (%15) from Turkey , 8 (%10) from geese , 4 (%5) from pigeon ,whereas the results were showed the B1 gene was not present in the blood samples of ducks and .

the highest percentage was recorded in chicken %17.5,whereas the lowest percentages were %5 in pigeon.

Also the results were showed the percentage of four types of avian (except pigeons) according to the provinces were, the percentages were %16.25(High percentage) , %5 (Low percentage) ,% 6.25 ,% 15 in Karbala, AL-Najaf AL-Diwania , Babylon province.

The results showed ,the percentage of infection in the samples areas were highest (%17.5) whereas in the urban areas were lowest (%12.5) polymerase chain reaction.

*عند إضافة الحمام الطوراني يؤثر على نسبة الاصابة في محافظة الديوانية وبالتالي لايمكن المقارنة بين المحافظات الاربعة.

بحث مستل / أطروحة دكتوراه.

المقدمة Introduction

إن مرض 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 (31).

يصيب هذا الطفيلي مختلف الأنسجة لجميع أنواع اللبائن من ضمنها الإنسان والقطط (27, 21 , 25) ، إذ تشكل عائلة السنوريات Felidae المضيف النهائي للطفيلي وأحياناً وسطي بينما تمثل اللبائن والطيور مضايف وسطية له(30,35) كما سجلت الإصابة بداء المقوسات أيضا في اللبائن البحرية كالحيتان والدلافين وأسد البحر وكلاب البحر (23).

يمتاز هذا الطفيلي بوجود ثلاثة أطوار معدية وهي طور كيس البيض Oocyst الذي يطرح إلى البيئة الخارجية مع براز القطط المصابة التي تتكون بداخلة الأبواغ المصبية لاحقاً وطور الحوينات 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 Pseudo cyst ، وطور الحوينات 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 متطاول في العضلات ودائري أو بيضوي الشكل في بقية الاعضاء (18).

نظراً للأهمية الاقتصادية للطيور الداجنة إذ تشكل مورداً من الموارد الاقتصادية المهمة (1) بالإضافة إلى الدور الكبير الذي تؤديه الطيور في توفير البروتين الحيواني ذي التكلفة الواطئة أدى إلى حصول تطور هائل في تربية الطيور من ناحية اتساع الرقعة الجغرافية لتلك التربية (40) فهي تربى 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 مصدرا مهما لمجموعة B-complex فضلاً عن احتواءها على الحديد ونسب أقل من الكولسترول لذا تفضل من الناحية الطبية (9) على الرغم من تلك الأهمية للطيور الا أنها في بعض الأحيان تكون مستودعات لأنواع من المسببات المرضية البكتيرية والفايروسية والطفيلية للإنسان والحيوان (4) إذ أنها تلعب دورا كبيراً في نشر الطفيلي ضمن مدى جغرافي واسع نتيجة لهجرة الطيور 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 احياناً (37).

١-أهداف الدراسة Aims of study

نظراً للأهمية الاقتصادية للطيور وقربها وتماسها مع الإنسان وخاصة الدجاج والحمام والبط والإوز والديك الرومي هذه الأنواع من الطيور تكون ناقلا وسطياً لطفيلي المقوسة الكوندية فضلاً عن القطط ، وبسبب الانتشار الواسع لداء المقوسات في النساء الحوامل في منطقة الفرات الأوسط التي أثبتتها الدراسات السابقة في المنطقة بالإضافة إلى التأثير السلبي للمرض على المجتمع بسبب كلفة العلاج والفحوصات المصلية للنساء الحوامل فضلاً عن الخسارة في معدلات الإنتاج والأطفال المصابين (20) جاءت الدراسة الحالية التي هدفت إلى مايلي:

١- التحري عن طفيلي المقوسة الكوندية *T. gondii* في خمسة أنواع من الطيور ضمت الدجاج المحلي والديك الرومي والاوز الأربد والبط المحلي والحمام الطوراني في منطقة الفرات الاوسط من العراق باستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional Polymerase Chain Reaction (PCR).

٢- المواد وطرائق العمل Materials and Methods

١- جمع العينات Collection of samples

تم جمع 400 طائراً ضمت 80 طائر لكل نوع من الأنواع التاليه:الدجاج المحلي *Gallus gallus domesticus* والديك الرومي *Meleagris galbpavol* والبط المحلي *Anasplatyrhychos domesticus* والإوز *Anser anser* والحمام الطوراني *Columba livia* ، اذ تم شراء 80 طائراً لكل نوع من مناطق مختلفة إضافة إلى الأسواق المحلية التابعة لمحافظات الفرات الأوسط والتي شملت كل من محافظة الديوانية والنجف وبابل وكربلاء ماعدا الحمام الطوراني فقد تم الحصول علية محافظة الديوانية بواقع 80 طائر أيضا.

وبعد جمع العينات من الطيور جلبت إلى مختبر الطفيليات في البيت الحيواني قسم علوم الحياة / كلية التربية/جامعة القادسية. اذ تم إعطاء رقم لكل حيوان وسجل تاريخ الحصول على العينات.

٢-جمع عينات الدم Collection Of Blood Sample

سحبت عينات الدم من الطيور من الوريد في المنطقة تحت الجناح بواسطة محاقن طبية Syringe حجم 5 مل (34) وبمعدل 3-5 مل وضع في أنابيب حاوية على مادة EDTA المانعة للتخثر لإجراء اختبار تفاعل سلسلة البلمرة Polymerase Chain Reaction(PCR)، سجل على الانابيب رقم الطائر وحسب النوع وتاريخ الجمع وحفظت العينات في درجة حرارة 20- مْ لحين إجراء الاختبار عليها.

٣-طريقة التشخيص Diagnostic Method

١-تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Polymerase Chain Reaction

تم الكشف عن طفيلي المقوسة الكوندية *T.gondii* في عينات دم الطيور باستخدام طريقة تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Polymerase Chain Reaction (PCR) ويعتمد هذا الاختبار على ثلاث مراحل:

أ-استخلاص Extraction الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA من عينات الدم.

ب-تضاعف Amplification الحامض النووي منقوص الاوكسجين باستخدام البادئات (Primers).

ج- تحديد نتائج التضاعف على هلام الاكاروز.

أ- الاستخلاص من عينات الدم Blood samples

تم استخلاص الحامض النووي منقوص الأوكسجين من عينات الدم باستخدام العدة الخاصة لهذا الغرض والمصنعة من قبل شركة BIONEER وحسب طريقة العمل المرفقة مع العدة .

ب-تضاعف Amplification الحامض النووي منقوص الاوكسجين باستخدام البادئات (Primers).

استخدم زوج من البادئات Pairs of primers الخاصة بالجين التشخيصيB1 (399bp) الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية بالنسبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional- PCR تم تصميمها باستخدام (NCB1 Gene-Bank Primer3 , No.AF179871.1) وجهزت من قبل شركة (BIONEER company , Korea) وكما موضح تتابعاها النيوكلوتيدية في الجدول (2-1) و(2-2) ويتكون خليط التفاعل من مايلي:

١- إنزيم البلمرة Taq polymerase.
٢- خليط من القواعد النتروجينية الاربع DNTPs mixture.
٣- محلول الـ PCR المنظم (10X).
٤- كلوريد المغنيسيومMgCL2.
٥- ماء خالي من إنزيم النيوكليز H2O free nuclease.
٦- DNA template.

(المكونات من١-٥ تكون موجودة بشكل جاهز في أنبوبة الـ PCR Mix Tube المجهز مع العدة).

الجدول (2-1) التتابع النيوكلوتيدي المفرد للقواعد النتروجينيه للبادئات Primers وحجم ناتج تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional PCR .

بادئات Primers	تتابع القواعد النيتروجينيةSequence	حجم الناتج Size product(bp)
Forward primer	5-GAACCACCAAAAATCGGAGA-3	339
Reverse primer	5-GATCCTTTTGCACGGTTGTT-3	

١-٢-طريقة اختبار تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Test Prouder of conventional –PCR

استخدمت انابيب الاختبار الخاصة باختبار تفاعل سلسلة البلمرة التي تدعى PCR Mix Tube (والمجهز مع عدة الاختبار) ثم حضر مزيج التفاعل كما مبين في الجدول التالي:

الجدول(2-2) مكونات خليط تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional PCR

PCR Components	Master Mix Volume (µl)
PCR.Mix	15 µl
DNA template	5 µl
Total volume	20 µl/sample

٢- نقلت جميع انابيب اختبار الـ PCR الحاوية على مزيج التفاعل ووضعت في جهاز الـ PCR وتم اجراء التفاعل وحسب خطوات البرنامج التالية والمبينة مع عدة الاختبار:

١-دورة واحدة بدرجة حرارة 95 م° لمدة 5 دقائق لغرض المسخ الابتدائي Initial denaturation

٢- ثم 42 دورة بدرجة حرارة 95 م° لمدة خمسة عشرة ثانية و65 م لمدة خمس وعشرون ثانية ثم 72 م لمدة خمس وعشرون ثانية ايضاً واخيراً72دورة لمدة دقيقة واحدة لإعطاء الناتج النهائي ثم الحفظ بدرجة 10م° وكما في جدول(3-2)

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

الجدول (3-2) برنامج تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional PCR لتضخيم الجين B1 الخاص بطفيلي المقوسه *T.gondii*

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

١-٣- تحضير هلام الاكاروز Preparation of Agarose- gel

حضر هلام الاكاروز حسب الطريقة الموصوفة من قبل (32) وذلك بإذابة 1.5 غرام من مسحوق الاكاروز في 100 مل من محلول الترحيل TBE على صفيحة حرارية Hot plate عند درجة حرارة 100م ثم اضيفت اليه صبغة الاثيديوم بروومايد(0.3 مايكروليتر/100مل) بعد ان برد الهلام الى درجة حراره 50 م° بعد ذلك صب الهلام في صفيحة الاسناد بعد ان تم تثبيت مشط التثقيب (Comb) على بعد 1 سم من الحافة الامامية للصفيحة ترك الهلام ليتصلب لمدة 20 دقيقة بعدها رفع المشط بحذر تاركاً الحفر Wells في الهلام التي سوف يتم فيها تحميل عينات الـDNA المستخلص ثم تم الترحيل الكهربائي لمدة 3-1 ساعة ثم استخدمت الاشعة فوق البنفسجيه لفحص مواقع الدنا الكروموسومي والبلازميدي (26,33) وبعد ذلك تم تصوير النتائج باستخدام كاميرا من نوع Sony.

١-٤- التحليل الإحصائي Statistical Analysis

تم تحليل البيانات باستعمال البرنامج الاحصائي (SPSS version 10.5 software) حيث استخدم اختبار مربع كاي X^2-Square لتحديد الفروقات المعنوية تحت مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ وحسب ماذكر في (29).

٣-النتائج Results

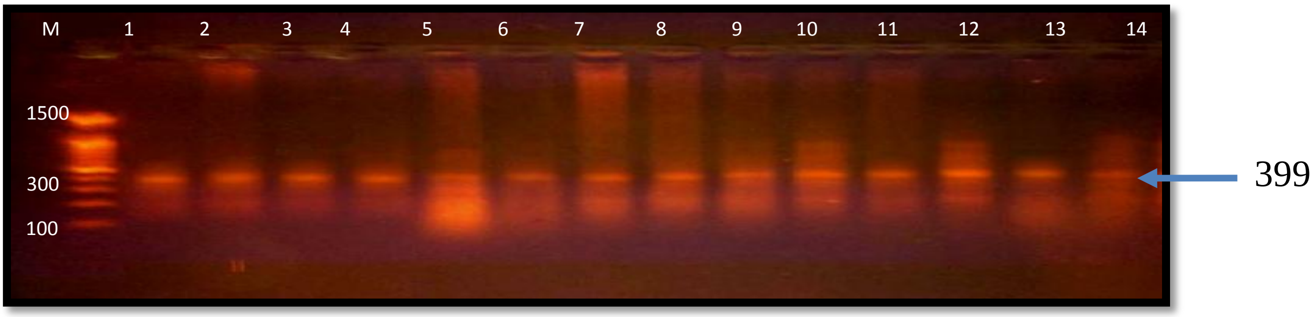
٣-١- تقدير الحالات الموجبة لداء المقوسات في عينات دم الطيور باستخدام تقنية تفاعل سلسة البلمرة الاعتيادي(PCR) Conventional Polymerase Chain Reaction

أشارت نتائج استخدام تقنية سلسلة البلمرة الاعتيادي لفحص 400 عينة دم جمعت من الطيور الداجنه المشمولة بالدراسة ،إلى أن نسبة تواجد الجين التشخيصي B_1 الخاص بطفيلي المقوسة الكونديه قد بلغت 9.5 %وبواقع 38 عينه من المجموع الكلي للعينات توزعت على 14 عينة من الدجاج المحلي وبنسبة 17.5 % و12 عينه من طيور الديك الرومي وبنسبة 11 % و8 عينات في الإوز وبنسبة 10% و4 عينات من الحمام الطوراني وبنسبة 5 % في حين لم تسجل أي حالة أصابه في طيور البط ويتضح بأن أعلى نسبة قد سجلت في الدجاج المحلي وبلغت 7.5 % واقل نسبه كانت في الحمام الطوراني 5 %.

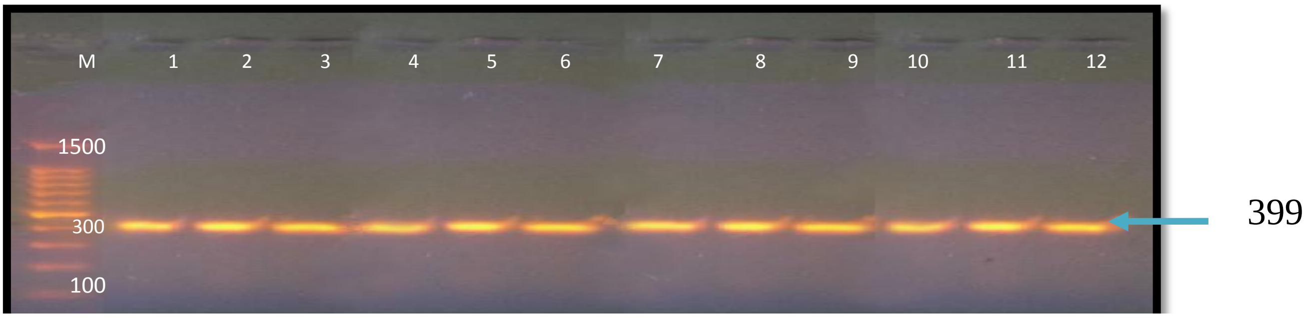
وأشارت نتائج التحليل الاحصائي إلى وجود فروقات معنوية في نسبة تواجد الجين B1 في البط المحلي عنه في بقية الطيور المشمولة بالدراسة ولم تكن الفروقات معنوية بين الدجاج المحلي والديك الرومي والإوز وبين الحمام الطوراني والإوز تحت مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ وكما موضح في الجدول وكما موضح في الجدول (3-3)، الصور (3-1)،(3-2)،(3-3)،(3-4)،(3-5).

الجدول (3-3) يبين أعداد ونسب تواجد الجين التشخيصي B_1 الخاص بطفيلي المقوسة الكونديه *T.gondii* في عينات دم الطيور المدروسة في منطقة الفرات الأوسط باستخدام تقنيه سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional PCR.

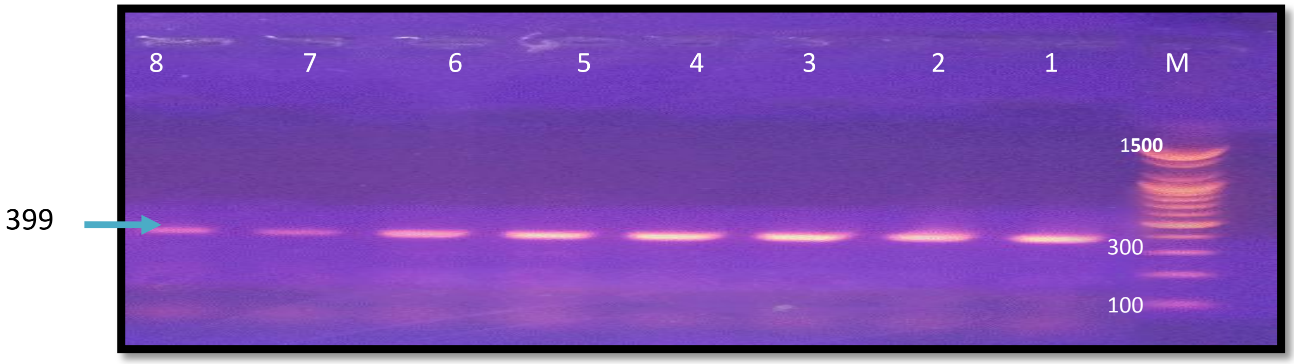
نوع العينة	العدد المفحوص الكلي	عدد العينات الموجبة	%	عدد العينات السالبة	%
دجاج محلي *Gallus gallus domesticus*	80	14	17.5	66	82.5
الديك الرومي *Meleagris galbpavol*	80	12	15	68	85
الاوز *Anser anser*	80	8	10	72	90
البط *Anasplatyrhychos domesticus*	80	-	-	80	100
الحمام الطوراني *Columba livia*	80	4	5	76	95
المجموع	400	38	9.5	362	90.5



الصورة (3-1):الأعمدة 1-14 تمثل عينات دم الدجاج المحلي *Gallus gallus Domesticus* الموجبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي **Conventional PCR** ، حيث يظهر الجين **B1** ذو الوزن الجزيئي **399bp** الخاص بطفيلي المقوسة الكونديه في اربعة عشر عينه ،العمود **M** يمثل الـ **Leader** ذو الوزن الجزيئي **100-1500bp** .

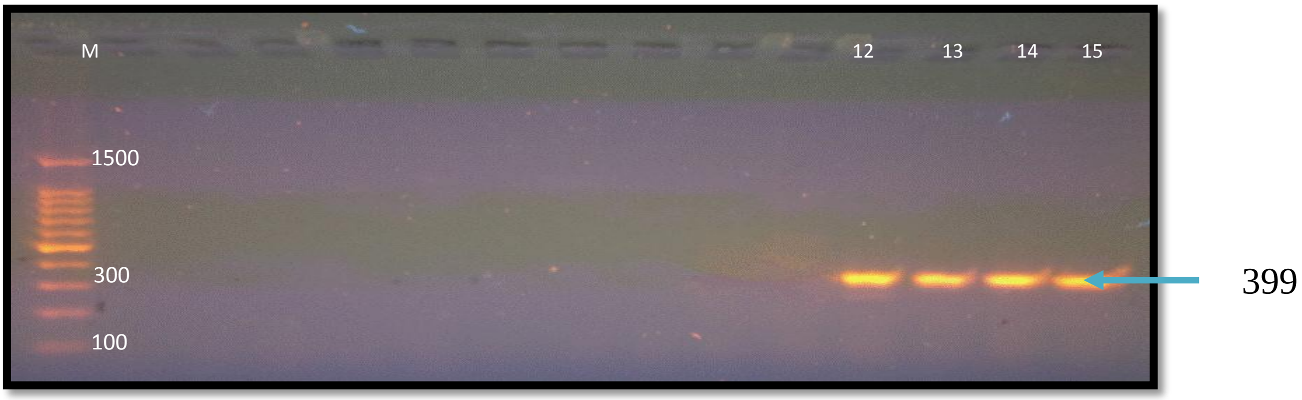


الصورة (3-2):الأعمدة 1-12 تمثل عينات دم طيور الديك الرومي الموجبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي **Conventional PCR**، حيث يظهر الجين **B1** ذو الوزن الجزيئي**399 bp** الخاص بطفيلي المقوسة الكونديه في اثنتا عشر عينه، العمود **M** يمثل الـ **Leader** ذو الوزن الجزيئي **100-1500 bp** .



الصورة (3-3):الأعمدة 1-8 تمثل عينات دم طيور الاوز الموجبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي **Conventional PCR** ، حيث يظهر الجين **B1** ذو الوزن الجزيئي **399 bp** الخاص بطفيلي المقوسة الكونديه في ثمان عينات ،العمود **M** يمثل الـ **Leader** ذو الوزن الجزيئي **100-1500bp** .

الصورة (3-4):الأعمدة 1-14 تمثل عينات دم طيور البط المحلي السالبة لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional PCR ، حيث لم يظهر الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp الخاص بطفيلي المقوسة الكونديه في العينات ،العمود M يمثل الـ Leader ذو الوزن الجزيئي 100-1500 bp .



الصورة (3-5):الأعمدة 12-15 تمثل عينات دم طيور الحمام الطوراني الموجبه لتفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي Conventional PCR ، حيث يظهر الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp الخاص بطفيلي المقوسة الكونديه في اربع عينات ،العمود، M يمثل الـ Leader ذو الوزن الجزيئي 100-1500bp.

٣-٢- توزيع الإصابة بداء المقوسات في عينات دم أربع أنواع من الطيور بحسب محافظات منطقة الفرات الأوسط باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

أشارت نتائج الكشف الجزيئي باستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي لـ 320 دم (20 عينة لكل من الدجاج المحلي والديك الرومي والإوز الأربد والبط المحلي) 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 في 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 بنسبة 30% من محافظة كربلاء في حين لم تسجل أي حالة تواجد للجين B1 في محافظة النجف في هذا النوع من الطيور أما في الاوز فقد سجلت نسبة تواجد للجين بلغت 8.75% بواقع 7 عينات موجبة ضمت عينتان وبنسبة 10% من 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 النواع 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 الجينB1 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 $p \leq 0.05$ كما مبين في الجدول (3-4).

الجدول(3-4) أعداد ونسب تواجد الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp في عينات دم أربع أنواع من الطيور بحسب محافظات الفرات الأوسط باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

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

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 تشيرالحروف الصغيرة إلى أن القراءة الاحصائية افقية.

٣-٣- توزيع الإصابة بداء المقوسات في أربع أنواع من الطيور المشمولة بالدراسة حسب مناطق جمع العينات في محافظة الديوانية باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

أشارت نتائج فحص 80 عينة دم (20 عينة لكل من الدجاج المحلي والديك الرومي والإوز الأربد والبط المحلي) 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 وبنسبة 50 % وعينة واحدة وبنسبة 10 % من عينات المدينة أما بالنسبة للديك الرومي بلغت نسبة إصابته 20 % بواقع 4 عينات اثنتان منها من عينات الريف واثنتان من عينات المدينة وبنسبة 20% لكل منهما، كما سجلت نسبة إصابة في طيور الاوز بلغت 10 % بواقع عينتان اقتصرت 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 7.5 % 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 (3-5).

الجدول (3-5) أعداد ونسب تواجد الجين B1 ذو الوزن الجزيئي 399bp في عينات دم أربع أنواع من الطيور المشمولة بالدراسة في محافظة الديوانية باستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي.

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

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 بينما الحروف الصغيرة تشير الى ان القراءة الاحصائية افقية.

٤- المناقشة Discussion

تعد الطيور من المضايف الوسطية التي تلعب دوراً مهماً في وبائية طفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* ونقل الإصابة إلى الأنسان عن طريق تناول لحومها النيئة أو غير المطبوخة جيداً (19) ونظراً لطبيعة تغذية الطيور الداجنة من التربة الملوثة بأكياس بيض طفيلي المقوسة الكوندية التي تمتاز بمقاومتها للظروف البيئية المختلفة وبقاءها لمدة قد تصل إلى سنة مما يؤدي إلى إصابة تلك الطيور بالطفيلي وبالتالي انتقال الإصابة إلى الأنسان نتيجة لتغذيته على لحوم تلك الطيور وهنا تكمن أهمية داء المقوسات في الطيور (38) كما تعد إصابة الطيور بطفيلي المقوسة الكوندية مؤشراً جيداً لتلوث التربة بأكياس بيض الطفيلي نتيجة لتغذية الطيور المباشرة من التربة (36)، وقد تأتي إصابة الطيور والقوارض عن طريق تناول الغذاء والماء الملوثـــين بأكياس البيض أو ملامســـة التربة الملوثـــــة ببراز القطط المصابة (15,28).

أن تشخيص الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية صعب جداً سواء في الأنسان أو في الحيوانات وذلك بسبب تشابه الطفيلي مع الكثير من الطفيليات الأخرى وخاصة طفيلي *Sarcocystis spp* (13,14) لذلك يجب اعتماد طرق تشخيصية جزيئية ومصلية أكثر حساسية وخصوصية (10).

١- تقدير الحالات الموجبة لداء المقوسات في عينات دم الطيور باستخدام تفاعل سلسة 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 البايلوجية (22 ,11).

أشارت نتائج استخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي للكشف عن الجين B1(399bp) الخاص بطفيلي المقوسة الكوندية في 400 عينة دم لخمسة أنواع من الطيور، إلى أن النسبة الكلية لوجود الجين B1 بلغت 9.5% (38 عينة موجبه) وأن أعلى نسبه لتواجد الجين سجلت في عينات الدجاج المحلي وبلغت 17.5% (14 عينة موجبه) في حين كانت أقل نسبه تواجد في عينات الحمام الطوراني التي بلغت 5% (4 عينات موجبه) كما أشارت النتائج إلى عدم وجود للجين B1 في عينات البط المحلي.

أن نسبه تواجد الجين B1 المسجلة بالدراسة الحالية في الدجاج المحلي هي أقل من النسبة المسجلة في الدجاج المحلي من قبل (7) والبالغة 15% وأقل من النسبة التي أشار اليها (2) في الدجاج المحلي والحمام الطوراني والتي بلغت 15%,37.5% على التتالي، كذلك أقل من النسبة التي أشار اليها (24) والبالغة 18.25% وقد يعزى سبب الاختلاف في النسب المسجلة بالدراسة الحالية والدراسات الأخرى ، إلى اختلاف عدد العينات المفحوصة والظروف المختبرية غير المسيطر عليها التي تؤثر على تفاعل سلسلة البلمرة.

٢- توزيع الإصابة بداء المقوسات 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 أربعة أنواع من الطيور المشمولة بالدراسة (ماعدا الحمام الطوراني) إلى وجود ارتفاع معنوي في نسبه تواجد الجين B1(399bp) في عينات محافظة كربلاء والديوانية والبالغة 16.25% ،15% على التتالي مقارنة مع بقية المحافظات ، ولوحظ بأن أعلى نسبه إصابة سجلت في محافظة كربلاء بلغت 16.25% وأقل نسبه في محافظة النجف وصلت 5% وهذه النسب أقل من النسب التي أشار اليها (5) إذ ذكر بأن أعلى نسبه إصابة سجلت في محافظة الديوانية بلغت 71.42% و أقلها في محافظة النجف وبلغت 55.36%.

أن سبب تقارب 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 التـــي تعتبر المصـــدر الرئيسي لأنتشار الإصابة بداء المقوسات في تلك المدن وهذا يتفق مع ما أشار اليه (8) أو قد يرجع السبب إلى زيادة فرص التعرض إلى مصادر الإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية (17) أما سبب انخفاض النسبة في محافظة النجف قد يعود إلى ما تمتاز به هذه المحافظة من جو بارد وجاف مما يؤثر على حيوية أكياس البيض في البيئة وهذا يتفق مع ما ذكره (12).

٣- توزيع الإصابة بداء المقوسات في محافظة الديوانية باستخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي

أشارت نتائج استخدام تفاعل سلسلة البلمرة الاعتيادي لاختبار 80 عينة (20 لكل من الدجاج المحلي والديك الرومي والإوز الأربد والبط المحلي) ، إلى عدم وجود فروقات معنوية في نسبه تواجد الجين B1(399bp) في عينات الريف والمدينة، حيث بلغت أعلى نسبه لتواجد الجين B1 في العينات المأخوذة من الريف 17.5% (7 عينات) وهو ارتفاع غير معنوي في نسبه تواجد الجين بالمقارنة مع النسبة المسجلة في العينات المأخوذة من المدينة والبالغة 12.5% (5 عينات) ، أما بالنسبة لعينات الحمام الطوراني البالغة 80 عينة تم جمعها من مركز محافظة الديوانية فقد وجد الجين B1 في 4 عينات وبنسبه 5% ونتائج هذه الدراسة تتفق مع نتائج كل من (3,6) الذين أشارا إلى عدم وجود فروق معنوية في نسبه الإصابة في المناطق الريفية والحضرية باستخدام اختبار تلازن اللاتكس .

المصادر العربية

1-الجنابي ، بهجت محمد طه والعباس، صالح ناجي وحياني ، زهير غالب وعبد اللطيف، بهاء محمد(1986).علم الطفيليات البيطرية. مفصلية الارجل والاوالي الحيوانية، الجزء الثاني.1340صفحة.

2- داخل، محمد حبيب.(2012). دراسة بايلوجية جزيئية ومناعية للإصابة بطفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* في الحمام البري والمنزلي والدجاج المحلي. رسالة ماجستير. جامعة القادسية. كلية التربية .119 صفحة.

3-العدلان ، أسعد عباس جلود.(2007).دراسة تشخيصية ومصلية لطفيلي المقوسة الكوندية *Toxoplasma gondii* عند النساء المجهضات باستعمال تقنية الـ PCR في محافظة ذي قار. رسالة ماجستير. جامعة ذي قار. كلية التربية. 105 صفحة.

4-مهدي ، شفيق (1982).الطيور المائية في العراق والوطن العربي .دار الرشيد للنشر، بغداد :242 صفحه.

References المصادر الاجنبية

5-ALkhaled , M.;J.A.(2012).Serological and Molecular study of Toxoplasmosis in Chickens and Ducks in some regions of middle Euphrates .Uni. Baghdad. Vet .Med. 135p.

6-AL-Wattary ,T.A.(2005).Prevalence of anti-Toxoplasmosis antibodies among women in Mosul city .M.Sc. Thesis, college of Medicine ,University of Mousul , Iraq.

7-Asgari,Q.;Motazedian,M.H.;Esmaeelzadeh,B.;Kalantari, M. and Hatam M. and Hatam ,Gh . R . (2009).The prevalence of Toxoplasma infection among Free-Ranging chickens in southern Iran using IFA and Nested- PCR. Iranian. J.Parasitol.,4(4):29-36.

8-Beaman, M.; Mecabe ,R.E .;Wonh,S and Remington,J.S. (1995). *Toxoplasma gondii*; In principles and Practice of infectious disease .Mandell ,G.L.;Benett ,J.E.;Dolin, R. (eds), FourthEdition,Newyouk.14-28 .

9-Boorman,N.(1992).Protein Quality Amino acid utilization in poultry 51-70.In:RecentAdvances in animal nutrition garnsworthy,P.C.;Haresigh,H&cole,D.J.A.(eds).Butterworth Heinman Ltd.,Boston,M.A.

10-Brenier-Pinchart .P.,Morand-Bui V.,Fricker-Hidalgo H.,Equy V., Marlu R.,Pelloux H . (2007) . Adapting a conventional PCR assay for *Toxoplasma gondii* detection to real-time quantitative PCR including a competitive internal control,Parasite14(2):149-154 .

11-Burg,J.L.;Grover,C.M.;Pouletty,P. and Boothroyd,J .(1989). Direct and sensitive detection of apathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*,by polymerase chain reaction. J.Clin . Microb iol.,27(8):1787-1792 .

12-Caballero-Ortega,H.,Palma,J.,Garcia-Marquez,L.Gildo-Cardenas,A. and Correa,D. (2008). Frequency and risk factors for toxoplasmosis in ovine of various regions of the state of

colimsMexico.Parasitology.135,1385-1389.

13-Cosoroaba,I.(2005).ParazitaryZoonosis,Ed.First,Timisoara.Coutnho,S. G.,Lobo, R.and Dutra, G. Isolation of Toxoplasma from the soil during an outbreak of Toxoplasmosis in area in Brazil.J. Parasitol.68:866-868.

14-Darabus GH.,Oprescu I.,Morariu S.,and Narcisa Mederle.(2006). Parasitology and parasite diseases ,Mirton Timisoara.

15-Devada ,K.;Anandan ,R.and Dubey.(1998). prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens in Madras ,India .J.Parasitol.,84:621-622. .

16-Dubey,J.P.(1972).Oral infections with Toxoplasma cysts and Oocysts in felines ,other mammals ,and in birds.J.Parasitol .V.(58):No. (9),Pp.28-37. .

17-Dubey,J.P.,J.K.Lunney,S.K. Shen,O.C.H.Kwok,D.A. Ashford , and P.Thulliez. (1996). Infectivity of low numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts to pigs.J.Parasitol.82:438-443.

18-Foulon ,W.;Villena ,I.;Stray-Pedersen ,B.(1999).Treatment of toxoplasmosis during pregnancy:amultinuclear study of impact on fetal transmission and childrens squelae at age1yearAm.J.Obstet.Gynecol.,180:410-415 .

19-Frcekel,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.

20-Gilbert,R.and Gras,L.(2003).Effect of timing and type of treatment on the risk of mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*.European multicentre study on congenital Toxoplasmosis,V. (110):Pp.112-20. .

21-Hill, D. and Dubey,J.P.(2002).*Toxoplasma gondii* transmission, diagnosis and prevention . Clin. Microbiol Infect.,V.(8):Pp. 634-640.

22-Ho-Yen ,DO.(1992).Clinical features.In D.O.Ho-Yen,and A. W.L.Joss(ed.),Human toxoplasmaosis.Oxford Medical Publications,Oxford,United,Kingdom,56-78.

23-Lambourn,d.M.;Jeffries,S.J. and Dubey.J.P.(2001).Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in harbor seals, phoca vitulina in southern Puget Sound Washington .J. parasitol . V.(87):Pp.1996-1197 .

24- 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. J.Parasitol,135:39-45.

25- Monotoya,J. and Remington ,J.(2008).Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy.Clin.Pract.,47(15).554-566. .

26-Mary, E.K.(1998).Pulsed-Field Gel Electrophoresis .Molecular Bacteriology.Centralpublic health laboratory, London, UK.,3:33-50.

27-Miller,N.L.;Frenkel,J.K.and Dubey,J.P.(1972).Oral infections with Toxoplasma cysts and Oocysts in felines, other mammals, and in birds .J.Parasitol.V.(58):No.(9),Pp.28-37.

28- Mims,C.;Dockrell,H.M.;Goering,R.V.,Roitt,I.;Wakeline,D.andZukerman,M.(2004).Medical Microbiology .updated 3th Ed .Elserier Ltd., U.S.A.

29-Niazi,A.D.(2001).Statistical analysis in medical research. Nahrei.University.Republic of Iraq.

30-Remington J.s,Meleod R.and Desmots G.,(1995).Toxoplasmosis in Regmington JS,klicn Ioeds . infectious diseases of the fetus and newborn infant.4(ed) philadelphia:WB Saunders. Pp140-267.

31-Remington,,J.S.& Gentry,L.O.(1970).Acquired toxoplasmosis: infection versus disease .Ann. N. YAcad .Sci.174:1006- 1017 .

32-Sambrook;J.;Fritsch,E.F, and Maniatis,T.(1989).Molcular cloning: alaboratory manual (2th.Ed).Gold spring harbor. New York. USA.

33-Struelens,M.J.;Deplano,A;and Serruys E.(1992).Epidemilogical typing and delineation of genetic relatedness of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* .J. Clin .Microbiol.,30:2519-2602.

34- Sturkie ,P.D.(1965).Avian physiology.Cornell.Uni-Press:75.

35-Tenter,A.M.;Heckeroth,A.R.andWeiss,L.M.(2000). *Toxoplasma gondii* from animals to humanInter.J.Parasitol.,30:1247-1258.

36-Tsai,Y.;Chung,W,;Lei,H. and Wu,Y.(2006).Prevalence of Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Pigeons (*Columba livia*) in Taiwan.J.Parasitolo.,92(4):871.

37-Webster, L.J.P. (1982). Prevalence and transmission of *Toxoplasma gondii* in wild brown rats, *rattus norvigicus*. Parasitol., 108: 407-411.

38- Yan,C.;Yue,C.L.;Yuan,Z.G.;He,Y.;Yin,C.C.;Lin,R.Q.;Dubey,J .P. and Zhu,X.Q. (2009).*Toxoplasma gondii* infection in domestic ducks, free-range and caged chickens in southern China.Vet.Parasitol.,165(3-4):337-40.

40-Zander,D.V.;Bermudez,A.J.&Mallinson,E.T.(1997).principles of Disease prevention: Diagnosis and control in Disease of poultry.Caluek,B. W.(eds) . 10thed.Mosby-wolfe.P.73.