المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد 21، العدد 1، 2007 (129-140)

دراسة مناعية وتجريبية لداء الأبواغ الخبيئة

محمد نجيب ألشاهري و منال حمادي حسن*
فرع الأحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل. الموصل- العراق

(الأستلام: 10 كانون الأول، 2006؛ القبول: 25 نيسان، 2007)

الخلاصـــة

اشتملت الدراسة الحالية على استخدام اختبار الضد المتألق غير المباشـــر IFAT للكشف عن أضداد أكياس بيض طفيلي الأبواغ الخبيئة *Cryptosporidium* الموجـــودة في مصل العجول، وبلغت النسبة الكلية للخمج بالطفيلي بهذا الاختبار 36.6%.كما وتـــم فحص 31 عينة براز موجبة للحيوانات التي سحب منها الدم وكانت نسبة الخمج 20.6% . وتبين أنه لا يمكن تحديد معايير للأجسام المضادة ذات أهمية تشخيصية في هذا النـــوع من الإصابة. كما أظهرت نتائج الدراسة أن للتثبيط المناعي ونقص التغذية تـــأثيراً علـــى الخمج بداء الابواغ الخبيئة في الفئران وذلك من خلال ملاحظة الفترة قبل البائنة والفترة البائنة كانت أطول ومعدل طرح الأكياس كان أعلى ومستوى الأجسام المضادة كان اقـــل في الحيوانات المثبطة مناعيا والتي تعاني نقصاً في التغذية. وكـــان مـــستوى الأجـــسام المضادة في الحيوانات المثبطة مناعياً مع تغذية طبيعية 320 بينما في الحيوانات المثبطة مناعياً مع نقص في التغذية كان مستوى الأجسام المضادة فيها 160. أما الحيوانات غير المثبـــطة مناعياً مع تغذية طبيعية أو نقص في التغذية كان مستوى الأجـــسام المـــضادة فيـــها 640.

IMMUNOLOGICAL AND EXPERIMENTAL STUDY FOR CRYPTOSPORIDIOSIS

Mohammed N. Al-Shahery and Manal H. Hassan

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

ABSTRACT

The present study included the use of IFAT to detect to *Cryptosporidium* Abs; the percentage of infection in calves with this parasite was 36.6%. Among these animals there were 31 positive cases (20.6%) , but we were unable to determine a significant diagnostic titer. The other part of our study showed that both immunodeficiency and malnutrition having an enhancing effect on Cryptosporidial infection in mice; since the prepatent, patent periods were longer, releasing of oocysts was higher and the Abs level were lower than normal.

* بحث مستل من أطروحة دكتوراه فلسفة (2005).

المقدمـــــة

يعد داء الأبواغ الخبيئة Cryptosporidiosis من الأمراض الطفيلية المـشتركة بين الإنسان والحيوان واسعة الانتشار في مختلف أنحاء العالم ، ويسببه أنواع طفيلي من جنس الأبواغ الخبيئة *Cryptosporidium* الذي ينتمي إلى مجموعة الأوالـي الأكريـة Coccidia ، ويعد هذا الطفيلي مسببا مهما للإسهال في الإنسان ومختلف الحيوانات (1).

إن الاستجابة المناعية الخلطية ضد الخمج بالطفيلي يمكن الكشف عليها بواسـطة اختبار الضد المتألق غير المباشر IFAT والاليزا ELISA واختبـار البقعـة المناعيـة Immunoblotting ويمكن من خلالها تمييز المستضدات ذات الأوزان الجزيئية المختلفة والقدرة على تمييز المستضدات تزداد مع تقدم العمر (2). أما الاستجابة المناعية الخلوية فهي ضعيفة في المراحل المبكرة للمرض ثم تتطور إلى إعادة بناء الخلايا المناعية بعد 6 أسابيع من الخمج (3). وبما أن البحوث المتعلقة بالمناعة ضد طفيلي الأبواغ الخبيئة ذات أهمية كبيرة حيث تسهل فهماً أفضل للبحوث الوبائية كما تسهل تـشخيص الخمـج فـي المضائف الطبيعية وفي الحيوانات التجريبية فضلاً عن أنها تجهّز وسائل للسيطرة علـى الخمج بالطفيلي (4)، ونظراً لكون الأبحاث عن المناعة ضد هذا الطفيلي قليلة لذلك فـإن هدف هذه الدراسة هو استخدام اختبار الضد المتألق غير المباشر لغرض تأكيد التشخيص لوجود الأجسام المضادة لأكياس بيض الطفيلي مع دراسة العلاقة ما بـين معـايير هـذه الأجسام ونتائج فحص البراز بالإضافة إلى إثبات دور تأثير التثبـيط المنـاعي ونقـص التغذية على الخمج التجريبي بداء الأبواغ الخبيئة في الفئران البيضاء.

المواد وطرائق العمل

ضمنت الدراسة إجراء بعض فحوصات الاستجابة المناعية على عينات المـصل التي أخذت عشوائياً من العجول وعلى الحيوانات التجريبية، وشملت هـذه الفحوصـات اختبار الـضد المتـألق غيـر المباشـر Indirect Fluorocience Antibody Test (IFAT) وتلازن الدم غير المباشر Indirect Haemagglutination (IHA).

1- **اختبار الضد المتألق غير المباشر:** أنجز الاختبار على 150 عينة دم التي جمعت من العجول والتي أخذت منها عينات البراز بوقت متزامن، وبأعمار مختلفة لغايـة عمـر 8 أشهر ومن كلا الجنسين، بواقع 5-6 مل لكل عينة، من حيوانات كان قسم منها يعاني من الإسهال، أما القسم الآخر فكانت بدون إسهال. وكان اختبار التألق المناعي على مراحـل عدة تضمنت:

أ. تحضير المستضد :

- غسلت أكياس البيض المعزولة من حالات الخمج الشديد من العجول والمحفوظة بمحلول ثنائي كرومات البوتاسيوم ثلاث مرات بمحلول دارئ الفوسفات ذو الدالة الحامضية pH : 7.2 باستعمال المنبذة وعلى سرعة 1000 دورة/دقيقة لمـدة 5 دقائق.
- وزع حجم 0.1 مل من الراسب الحاوي على أكياس البيض بشكل دوائـر علـى شريحة زجاجية نظيفة وتركت لتجف في درجة حرارة المختبر.
- تم تثبيت المستضد بالأسيتون المركز البارد لمدة 5 دقائق وحسب طريقـة (5) . كما استعمل الميثانول Methanol أيضا للتثبيت ولمدة 5 دقائق وحسب طريقـة (3) وتركت لتجف ثم فحصت تحت المجهر الضوئي بقوة 400 X.

- حددت مناطق تواجد المستضد بدوائر شمعية لمنع الاختلاط أثناء إجراء التفاعل.
- غلفت الشرائح بالورق النسيجي ثم بالورق الفضي، ووضعت في عبوات بلاستيكية حاوية على كمية قليلة من مانع الرطوبة Silica gel.
- حفظت في التجميد بدرجة (-20)°م لحين الاستعمال .

ب. تحضير مصول السيطرة: تم تحضير مصول السيطرة من عجول ثبتت إصابتها بطفيلي *Cryptosporidium* من خلال فحص البراز بطريقة الصبغة الصامدة للحامض المحورة.

ج. خطوات إجراء الاختبار: تمت حسب الطريقة التي ذكرها (6).

ودُرست العلاقة بين معايير الأجسام المضادة في العجول مع نتائج فحص البراز بطريقة الصبغة الصامدة للحامض المحوّرة.

2- الدراسة التجريبية:

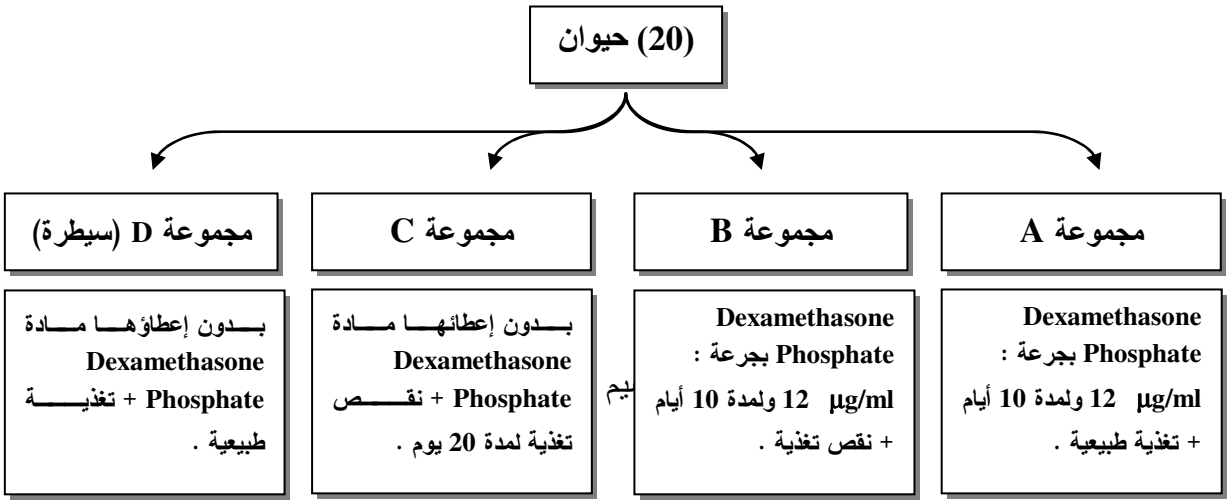
- حيوانات التجربة : تم استخدام إناث فئران مختبريه، بيضاء اللون، وتم فُحص براز الحيوانات بصورة دورية بالطريقة المباشرة للتأكد من خلوها من الإصابات المعوية الطفيلية.
- تحضير جرعات الطفيلي وخمج الفئران : حضرت الجرع الخمجة من أكياس بيض الطفيلي المعزولة من عجول خمجة بداء الابواغ الخبيئة حسب طريقة (7).

تأثير التثبيط المناعي ونقص التغذية على الخمج بداء الأبواغ الخبيئة في الفئران:

استخدمت في هذه الدراسة 40 حيوان من إناث الفئران بعمر 3 أسابيع وقسمت إلى 4 مجاميع وكما مذكور في الشكل (1). تم إعطاء الخمج بأكياس بيض الطفيلي بجرعة 2×10^3/ حيوان من المجاميع الأربعة المذكورة، مع الاستمرار بإعطاء مادة الدكساميثازون للمجموعتين A و B ولمدة 10 أيام بعد إعطاءها الخمج مع تقليل نسبة البروتين في الغذاء لمدة 20 يوماً بعد الخمج بالنسبة للمجموعتين B و C (نقص التغذية).

المعايير المستخدمة في هذه الدراسة :

- العلامات السريرية والهلاكات.
- ملاحظة طرح الأكياس وتقدير عدد الأكياس المطروحة لكل 1 غم من البراز باستخدام طريقة مكماستر (8) وتعيين الفترة قبل البائنة Prepatent Period (الفترة من إعطاء الخمج لغاية ظهور أول كيس في البراز) والفترة البائنة Patent Period (الفترة من ظهور أول كيس في البراز والمصاحبة للعلامات السريرية ولغاية اختفاء الأكياس بشكل كامل).
- قياس مستوى الأجسام المضادة عند الانتهاء من طرح الأكياس في براز مجاميع الحيوانات باستخدام اختبار تلازن الدم غير المباشر Indirect Haemagglutination (IHA).
- اختبار التلازن الدموي غير المباشر (IHA): أُجريَ حسب طريقة (9).



النتائـــج

1ـ اختبار الضد المتألق غير المباشــر Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT):

استخدم هذا الاختبار للكشف عن أضداد أكياس بيض الطفيلي الموجودة في مصل العجول وبعد إضافة المصل المقترن بالمادة المتألقة إليها وفحصها بالمجهر التألق المناعي تحت العدسة الزيتية X 1000 ظهرت الأكياس بشكل كروي أو بيــضوي وذات تــألق اخضر مصفر ومنتشر على نحو غير منتظم في مناطق التفاعل ، وبلغت نــسبة النتــائج الموجبة بهذا الطفيلي في العجول 36.6% بعدد 55 عينة مصل موجبة من مجموع 150 عينة مصل عشوائية مفحوصة، وكما كانت جميع نتائج فحوصــات مــصول الــسيطرة الموجبة ايجابية وفحوصات مصول السيطرة السالبة سلبية. في حين بينت نتائج فحــص عينات البراز المأخوذة من نفس الحيوانات التي أخذت منها المصول، إن نــسبة الخمــج 20.6% وبعدد 31 عينة براز موجبة باستخدام طريقــة الــصبغة الــصامدة للحــامض المحورة.

وعند قياس معايير الأجسام المضادة في عينات العجول الموجبة لوحظ أن هنالك حالات أعطت معايير عالية بمستوى 320 و 640 بلغ عددها 15 و 10 على التــوالي. وعلى العكس هنالك حالات أعطت معايير واطئة وبمستوى 10 و 20 وكانت أعدادها 6 و 4 على التوالي بينما كانت هنالك معايير مختلفة تتوسط بين هاتين الحالتين .

ومن خلال دراسة العلاقة ما بين معايير الأجسام المضادة ونتائج فحص البــراز تبين انه لا نستطيع تحديد معيار معنوي للأجسام المضادة ذي أهمية تشخيصية في هــذا النوع من الخمج جدول رقم (1) .

الجدول (1) العلاقة بين معايير الأجسام المضادة ونتائج فحص البراز الخمج بداء الأبواغ الخبيئة.

المعايير	أعداد المصول الموجبة	عينات البراز الموجبة
10	6	5
20	4	4
40	6	6
80	6	4
160	8	4
320	15	5
640	10	3
المجموع	**55**	**31**

2- تأثير التثبيط المناعي ونقص التغذية ، على الخمج بداء الابواغ الخبيئة في الفئران:

أشارت نتائج الخمج التجريبية لمجاميع الفئران التي أعطيت الخمج بجرعة مقدارها 2×10^3 كيس بيضة/حيوان مختبري إلى أن نسبة الخمج كانت 100% لجميع الحيوانات مع ملاحظة بعض العلامات السريرية على الفئران مثل فقدان الشهية ، خمول ، الضعف العام وتساقط الشعر ، لمجاميع الفئران A و B و C ولوحظ انتفاخات جلدية حمراء في حيوانات مجموعتي A و B مع ملاحظة التهاب العين لحيوانات مجموعة B عامة عند مقارنتها مع حيوانات مجموعة السيطرة D والتي لوحظ عليها الخمول فقط . وبلغ أعداد الهلاكات 4 ، 6 ، 1 لمجاميع الفئران A و B و C على التوالي من أصل 10 حيوانات لكل مجموعة عند مقارنتها بمجموعة السيطرة D التي لم يسجل فيها أي هلاكات.

تبين وجود اختلاف في الفترة قبل البائنة والبائنة بين مجاميع الحيوانات وقد وصلت الفترة البائنة إلى 43 يوماً لمجموعة A و 53 يوماً لمجموعة حيوانات B و 31 يوماً لمجموعة حيوانات C مقارنة مع مجموعة السيطرة D التي قد وصلت فيها إلى 26 يوماً جدول رقم (2) .

الجدول (2) يبين فترات طرح الأكياس في براز الحيوانات الخمجة بطفيلي الابواغ الخبيئة.

مجاميع الحيوانات	الفترة قبل البائنة	الفترة البائنة
A	2 - 4	40 - 43
B	2 - 3	50 - 53
C	3 - 4	30 - 31
D	4 - 5	23 - 26

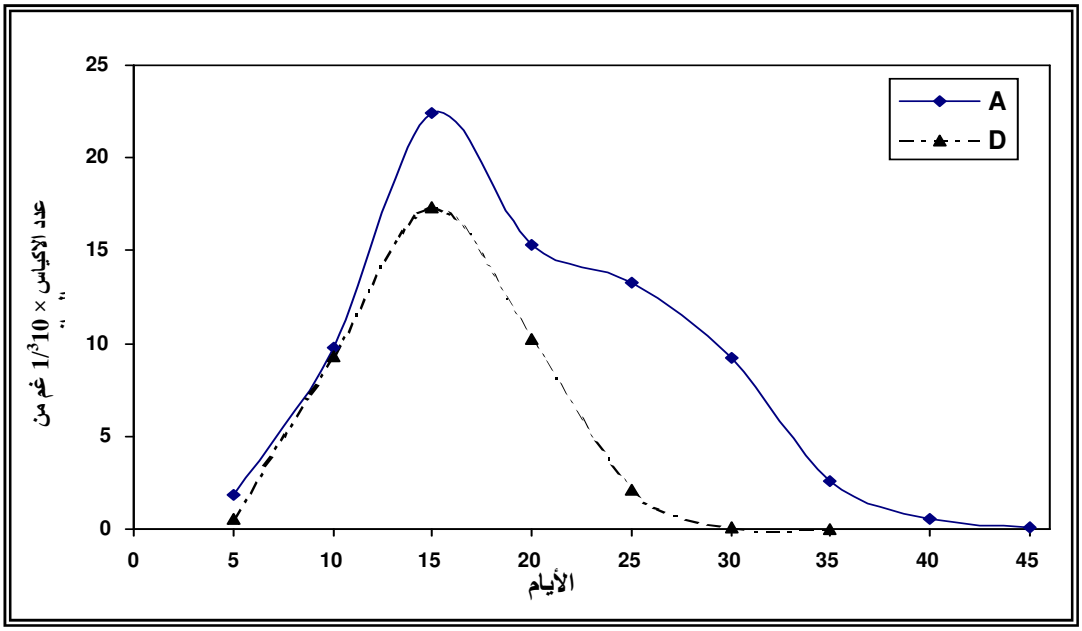
وسُجل أعلى معدل لأعداد أكياس البيض عند ذروة الخمج (أعلى معدل لأكياس البيض المطروحة / 1 غم) 28000 و 32600 كيس بيضة/غم من البراز للمجموعتين A و B على التوالي ، في حين كانت معدلات أكياس الطفيلي عند

ذروة الخمج لمجموعتي C و D اقل من ذلك فقد بلغت 24187 و 21222 كيس بيضة/غم من البراز على التوالي.

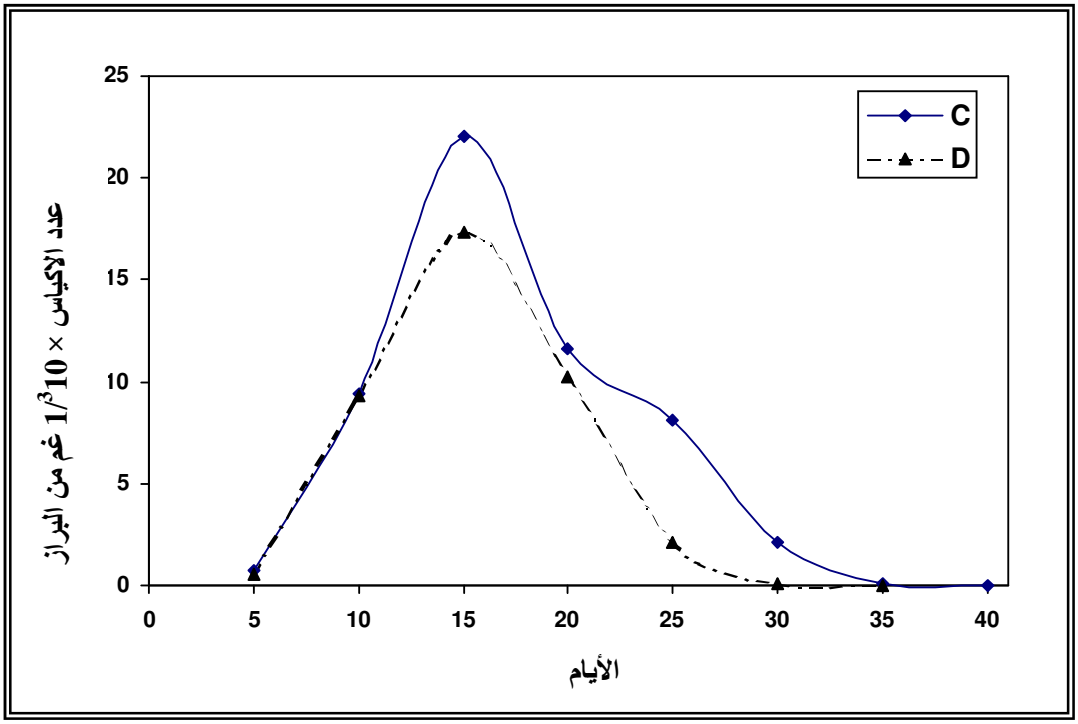
وعند تتبع مسار طرح الأكياس للمجموعتين A و D لتوضيح تأثير الدكساميثازون تبين أن معدل أعداد الأكياس المطروحة كانت أعلى وبفترة بائنة أطول في حيوانات مجموعة A المثبطة مناعيا بالدكساميثازون عند مقارنتها بمجموعة D كسيطرة (شكل 2) . ومن ناحية أخرى عند تتبع مسار طرح الأكياس للمجموعة C لتوضيح تأثير نقص التغذية تبين أن معدل أعداد الأكياس المطروحة كانت أعلى وبفترة بائنة أطول في حيوانات مجموعة C التي تعاني نقص التغذية عند مقارنتها بمجموعة D كسيطرة (شكل 3). و لتوضيح تأثير عقار الدكساميثازون على الخمج بداء الابواغ الخبيئة في حالة نقص التغذية تبين أن معدل أعداد الأكياس المطروحة كانت أعلى وبفترة بائنة أطول في مجموعة حيوانات B التي أعطيت الديكساميثازون مع نقص التغذية عند مقارنتها بمجموعة C التي تعاني نقص التغذية فقط (شكل 4) .

أما فيما يخص الفحص المصلي فان اختبار التلازن الدموي غير المباشر الذي اجري على مصول الحيوانات للمجاميع الأربع وباستعمال التركيز الأمثل لمستضد أكياس بيض الطفيلي 40 µg فقد أشار إلى وجود اختلاف في معايير الأجسام المضادة عند نهاية الخمج . وان معايير هذه الأجسام المضادة بهذا الاختبار لمجاميع A ، B ، C ، D كانت 320 ، 160 ، 640 ، 640 على التوالي .

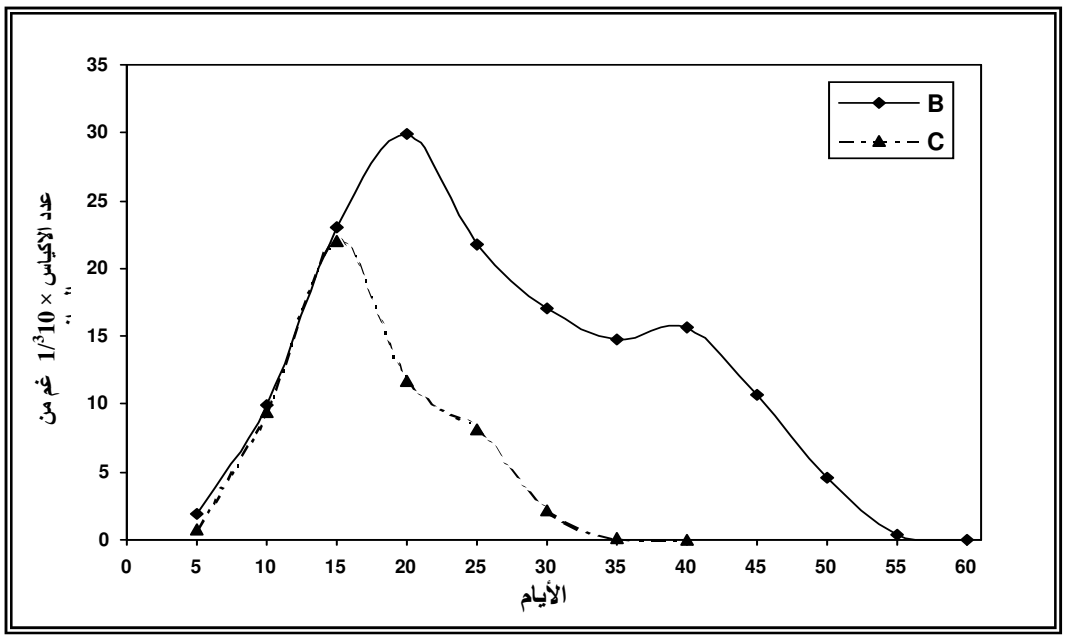
وعند دراسة علاقة مستوى الأجسام المضادة في المصل مع إعداد الأكياس المطروحة في البراز للمجاميع الأربعة فقد تبين أن الحيوانات التي كانت تطرح أكياس بيض أعلى عند ذروة الخمج وهي مجموعتين A و B وبلغت 28000 ، 32600 كيس بيض/غم على التوالي كان مستوى الأجسام المضادة فيها 320 و160 على التوالي ، مقارنة بالمجموعتين C و D التي كانت تطرح أكياس بيض عند ذروة الخمج 24187 و 21222 كيس بيض/غم على التوالي كان مستويات الأجسام المضادة فيها 640 في كلا المجموعتين (شكل 5) .



الشكل (2) تأثير التثبيط المناعي بعقار الدكساميثازون على الخمج بداء الابواغ الخبيئة
A المثبطة مناعيا + تغذية طبيعية
D غير المثبطة + تغذية طبيعية (سيطرة)



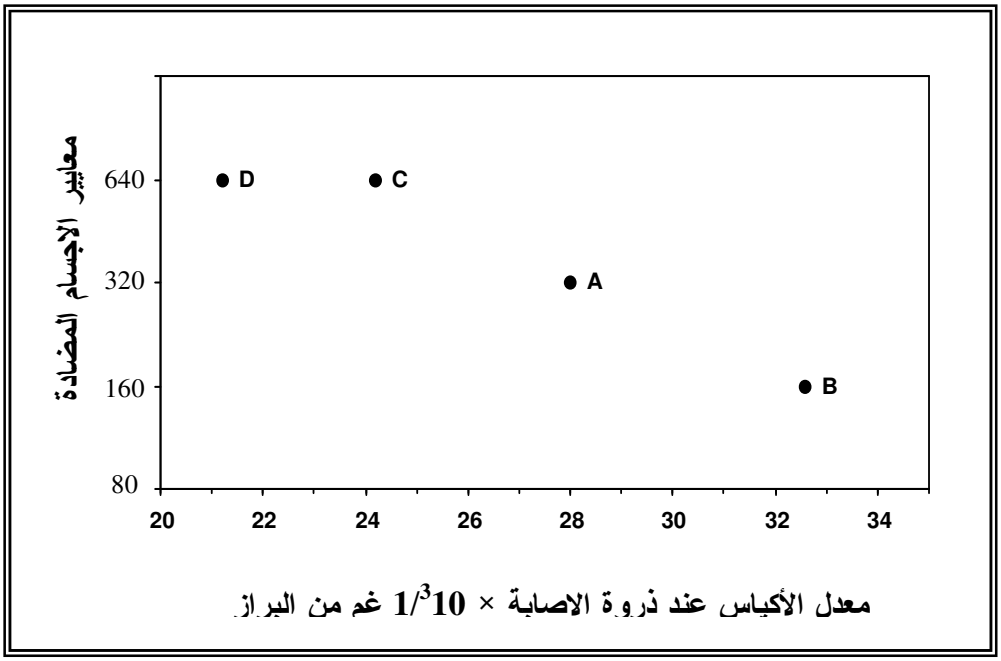
الشكل (3) تأثير نقص التغذية على الحالة المناعية أثناء الخمج بداء الابواغ الخبيئة
C غير المثبطة + نقص تغذية
D غير المثبطة + تغذية طبيعية (سيطرة)



الشكل (4) تأثير التثبيط المناعي بعقار الدكساميثازون على الخمج بداء الابواغ الخبيئة في الحيوانات التي تعاني من نقص التغذية

B المثبطة مناعيا + نقص تغذية

C غير المثبطة + نقص تغذية



الشكل (5) علاقة معدل طرح الأكياس مع معايير الأجسام المضادة

المناقشـــــة

لدعم تشخيص داء الابواغ الخبيئة في العجول استخدم اختبار الضد المتألق غير المباشر IFAT ، وبهذا الاختبار ظهرت أكياس بيض الطفيلي بشكل كروي أو بيضوي وذات تألق اخضر مصفر عند الفحص بمجهر التألق المناعي وباستخدام العدسة الزيتية X100 وهذا مطابق لما ذكره (10) . واظهر هذا الاختبار نسبة خمج بهذا الطفيلي 36.6% ، بينما أظهرت نتائج فحص عينات البراز المأخوذة من الحيوانات التي سحب منها الدم نفسها نسبة خمج 20.6% . وقد سجل (11) نسبة خمج 65.7 % في الأبقار في اسبانيا باختبار التألق المناعي غير المباشر . وفي محافظة بغداد سجلت (12) نسبة خمج 31% ، وقد يعزى هذا التباين في نسب الخمج إلى الاختلاف في عدد النماذج المفحوصة إضافة إلى اختلاف أعمار الحيوانات المفحوصة فضلا عن الاختلاف في الظروف المناخية وما لها من تأثير في نسب الخمج المختلفة في الحيوانات الحقلية .

ومن خلال دراسة العلاقة ما بين معايير الأجسام المضادة ونتائج فحص البراز ، تشير نتائج الاختبار إلى أن معايير الأجسام المضادة للحيوانات قد تراوحت بين 10-640 ، وكانت اغلب العينات يتراوح معيار الأجسام المضادة فيها بين 320-640 وكان الكثير من هذه العينات سالبة بفحص البراز . وقد يعزى سبب وجود الأجسام المضادة لطفيلي *Cryptosporidium* من نوع IgG في مصل الحيوان إلى أسباب عدة ؛ فأما أن تكون قادمة من الأمهات المصابة Maternal Abs ، أو نتيجة وجود خمج وعولج سابقاً ، أو قد يعود لحالات خمج موجبة ولم تشخص مجهريا أو لكثرة تعرض الحيوانات إلى الخمجات المتكررة في البيئة ، أخيرا يمكن أن تكون بسبب وجود أجسام مضادة لمستضدات ذات استضدادية مشتركة مع هذا الطفيلي *Cryptosporidium*.

وبنيت النتائج التي حصلنا عليها انه لا يمكن تحديد معيار معنوي للأجسام المضادة ذو أهمية تشخيصية في هذا النوع من الخمج وكان هذا متفق لما ذكره (13) إلى أن التعرض للخمج بطفيلي الابواغ الخبيئة يعطي حماية لمدة سنة بعد التعرض الاولي للخمج أي إن وجود الأجسام المضادة للطفيلي في مصل المضيف لا يرتبط بوجود آلي للخمج بشكل مطلق .

أما فيما يتعلق بدراستنا التجريبية فقد عمدنا في هذه الدراسة إلى إحداث التثبيط المناعي بإعطاء مادة الدكساميثازون كمادة مثبطة للمناعة ، ومن المعروف أن الكثير من الحيوانات بالإضافة إلى الإنسان تعاني من نقصان في المناعة بأنواعها المختلفة والذي قد يحدث لمسببات مختلفة منها ما يكون خلقيا كأمراض العوز المناعي الخلقي Congenital Immunodeficiency Diseases ومنها ما يكون مكتسبا Accquired Immunodeficiency Diseases ، كما يمكن أن يحدث نقصان في المناعة في الأعمار المتقدمة أو قد يكون نتيجة لنقصان في مستوى التغذية.

إن حالات الخمج تتأثر بالحالة المناعية ومستوى التغذية للمضيف لذلك اخترنا التثبيط المناعي ونقص التغذية معايير لها تأثير في الخمج بداء الابواغ الخبيئة ، الذي قد يتأثر بالحالة المناعية للمضيف شأنه شأن الإصابات الطفيلية والجرثومية والفيروسية الأخرى .

وقد أشارت نتائج الخمج التجريبي لمجاميع الفئران التي أعطيت خمج بالطفيلي وبجرعة 2×10^3 كيس بيضة/حيوان مختبري إلى أن الخمج قد حدث في جميع مجاميع الحيوانات دون استثناء ونسب الإصابة كانت 100% ، واتفقت هذه النتيجة مع ما بينه كل من (12 ,14) . وتؤكد نتائجنا فضلا عن ما بينه بقية الباحثين إلى استعداد الفئران

المختبرية للخمج بداء الابواغ الخبيئة والتي قد تحدث بأعمار مبكرة فضلا عن كونها ذات استعداد عال للخمج بالطفيلي لأول مرة كما تعتبر الفئران من الحيوانات المختبرية المناسبة لأجراء هذا النوع من الدراسات التجريبية .

ولغرض معرفة تأثير التثبيط المناعي ونقص التغذية في الخمج بداء الابواغ الخبيئة، أخذنا بنظر الاعتبار المعايير الآتية : العلامات السريرية المختلفة ، عدد الهلاكات في المجاميع المختلفة ، أعداد أكياس البيض للطفيلي لكل غم واحد من البراز وأخيرا الاختلافات في معايير الأجسام المضادة المصلية لطفيلي *Cryptosporidium sp.* وعلاقتها مع عدد الأكياس المطروحة في البراز .

إن من أهم العلامات السريرية التي لوحظت على الفئران المصابة هي فقدان الشهية، الخمول ، الضعف العام وسقوط الشعر لمجاميع الفئران A و B و C ولوحظ ظهور انتفاخات حمراء في الجلد في حيوانات مجموعتين A و B مع ملاحظة التهاب العين لحيوانات مجموعة B على نحو عام عند مقارنتها بحيوانات مجموعة السيطرة D التي لوحظت عليها علامات الخمول وهذا يتفق مع ما ذكره كل من (16, 15) إن الفئران المصابة تجريبيا تبدو ضعيفة وخاملة وبطيئة النمو . ولم يلاحظ أي علامات للإسهال لحيوانات جميع المجاميع وهذا يتفق مع ما أشار إليه (17) حول عدم وجود الإسهال في الفئران وهذا يمكن أن يفسر على أن معي الفئران يكون اقل حساسية للتفاعل النسيجي لتواجد طفيلي *Cryptosporidium sp.*. وقد لوحظت في دراستنا هذه العلامات السريرية المذكورة آنفا فضلا عن حصول هلاكات في مجاميع A و B و C قد تكون ناتجة عن التثبيط المناعي الذي حصل في فئران مجاميع A و B نتيجة لتأثير عقار الدكساميثازون وتأثير نقص التغذية معا .

كما بينت النتائج أن معدل أعداد أكياس البيض المطروحة كانت أعلى في حيوانات المثبطة مناعيا بواسطة الدكساميثازون عند مقارنتها مع الحيوانات التي لم تأخذ الدكساميثازون ومن ناحية أخرى لوحظ أن معدل أعداد أكياس البيض المطروحة كانت أعلى في الحيوانات المثبطة مناعيا بواسطة الدكساميثازون مع نقص التغذية عند مقارنتها مع الحيوانات التي لم تأخذ الدكساميثازون ولكنها تعاني من نقص التغذية وهذا يتفق مع ما أشار إليه كل من (18, 19) في دراستهم حول إحداث خمج تجريبي للجرذان المثبطة مناعيا وذكروا أن نقص المناعة يلعب دوراً مهماً في الخمج بداء الابواغ الخبيئة .

وبينت نتائجنا أن لنقص التغذية أيضا تأثيرا في الخمج بطفيلي *Cryptosporidium*حيث لوحظ ارتفاع لمعدل أعداد أكياس البيض المطروحة في الحيوانات التي كانت تعاني نقصاً في التغذية عند مقارنتها مع مجاميع الحيوانات التي كانت تغذيتها طبيعية . وهذا يتفق مع ما أشار إليه (20) عند دراسته لداء الابواغ الخبيئة عند الأطفال الذين يعانون من سوء تغذية وخصوصا من نقص البروتين فقد أشار إلى أن شدة الخمج كان أقوى عند الأطفال الذين يعانون من سوء تغذية عند مقارنتها بالخمج في الأطفال الذين يتلقون تغذية طبيعية .

إن الارتفاع في معدل أعداد أكياس البيض المطروحة في الحيوانات التي تعاني نقص التغذية في هذه الدراسة ، قد يعزى إلى حصول تثبيط في المناعة الخلوية نتيجة لحصول نقص في بروتين الجسم وبهذا يؤدي إلى تعزيز تواجد الطفيلي في أمعاء المضيف .

وبعد متابعة الخمج التجريبي لوحظ ظاهرة الـشفاء الـذاتي Self Cure Phenomina لجميع مجاميع الحيوانات مع وجود اختلاف في الفترة الزمنية وقد يعزى سبب ذلك إلـى اختلاف الحالة المناعية بين مجاميع الحيوانات .

المصـــــادر

1. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchchliff KW. Cryptosporidiosis. In: Veterinary Medicine Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. 9th ed., 2000: 1310–1314.
2. Ares–Mazas ME, Fernandez–dapnote B, Vergara–Castiblanco CA, Friere–Santos F, Quilez–Cinca J, Causape – Valenzuela AC and Sanchez–Acedo C. Ocysts, IgG levels and immunoblot patterns determination for *Cryptospordium parvum* in bovine examined during a visit to a farm (Northeastern Spain). Vet Parasitol 1999; 81: 185–193.
3. Laxer MA, Alcantara AK, Laxer MJ, Menorca DM, Fernando MT and Ponoa CP. Immune response to Cryptosporidiosis in Philippine children. Am J Trop Med Hyg 1990; 42(2): 131–139.
4. Lazo A, Barriga OO, Rdeman DR and Bech–Nielsen S. Identification by transfer blot of antigens reactive in the enzyme–linked immunosorbent assay (ELISA) in rabbits immunized and a calf infected with *Cryptosporidium sp*. Vet Parasitol 1986; 21: 151–163.
5. Casemore DP. The antibody response to *Cryptosporidium* development of a serological test and use in a study of immunologicall normal person. J Infect 1987; 14: 125–134.
6. Goldman M. Fluorescent Antibody Methods. 3rd ed. Academic Press, New York, London, 1968: 158.
7. Harp JA, Fayer R, Pesch BA and Jackson GJ. Effect of pasteurization on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocyst in water and milk. Appl Environ Mircobiol 1996; 62(8): 2866–2868.
8. Soulsby EJL. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7th ed, Bailliere Tindall, London, 1982: 773.
9. Hudson L and Hay FC. Practical immunology. Oxford London Edinburgh Melbourne. 1976: 125–130.
10. Webster KA, Green JA, Dawson C, Giles M and Catchpole J. Diagnostic methods for detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in faeces. J Protozoal Res 1996; 6: 113–120.
11. Quilez J, Ares–Mazas S, Sanchez–Acedo C, del–Cacho E, Clavel A and Causape AC. Comparison of oocyst shedding and the serum immune response to *Cryptosporidium parvum* in cattle and pigs. Parasitol Res 1996; 82(6): 529–34.
12. العزاوي، مي حميد. دراسة في وبائية داء الابواغ الخبيئـة Cryptosporidiosis وعزل مستضدات الطفيلي وتشخيصها واستعمال بعض مستخلصات النباتات الطبية كمحاولة للعلاج . أطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة بغـداد، بغـداد، العراق (2003).
13. Okhysen PC, Chappell CL, Sterling CR, Jakubowski W and Dupont HL. Susceptibility and serologic response of healthy adults to reinfection with *Cryptosporidium parvum*. Infec Immun 1998; 66(2): 441–443.

14. Reese NC, Current WI, Ernst JV and Bailey WS. Cryptosporidiosis of man and calf: a case report and results of experimental infections in mice and rats. Am J Trop Med Hyg 1982; 31(2): 226–229.
15. Current WL and Reese NC. A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. J Protozool 1986; 33: 98–103.
16. الجرجري، سيناء عبد الله. دراسة في وبائية داء البويغيات الخبيئة Cryptosporidiosis ودور المياه في انتشار الطفيلي، رسالة ماجستير، كلية التربية للبنات، جامعة تكريت، تكريت، العراق (2001).
17. Tzipori S. Cryptosporidiosis in perspective. Advance Parasitol 1988; 27: 63–129.
18. Brasseur P, Lemeteial D and Ballet JJ. Rate model for human Cryptosporidiosis. J Clinc Microbiol 1988; 26(5): 1037–1039.
19. Uner A, Inceboz T, Hacialioglu M and Dagei H. Inmmunedeficiency and Cryptosporidiosis in rats. Acat Parasitolgica 2000; 45(3): 205.
20. Abdel–Moneim MA, El–Domiaty BA, Amin SM and El–Saragy AMA. Cryptosporidiosis in infants with sever protein energy malnutrition. Alex J Pediatr 1989; 3(3): 275–279.