

## كشف أكياس بيض طفيلي الكريبتوسبورديوم في مرارة الضأن المذبوح في الموصل، العراق

إيمان غانم سليمان، انتصار توما بطي و أسماء إبراهيم العبادي

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

(الإستلام ٩ آذار ٢٠١١؛ القبول ١٩ تشرين الأول ٢٠١١)

### الخلاصة

أوضحت نتائج الدراسة الحالية تواجد طفيلي الابواغ الخبيثة في سائل ونسيج مرارة الضأن المذبوح في مدينة الموصل وذلك من خلال استخدام عدة تقنيات تشخيصية مختلفة متمثلة بالفحص المباشر وطريقة التصبغ بالصبغة الصامدة للحمض المحورة الباردة وعمل عدة قشطات من الطبقة المخاطية لكيس المرارة إضافة إلى فحص المقاطع النسجية المصبوغة بصبغة الهيماتوكسلين - ايوسين وبنسبة خمج ٢٠%. لوحظ وجود فرق معنوي في نسبة الخمج بين كل من عينات أكياس المرارة ٢٠% والبراز ٤١%. أظهر فحص المقاطع النسجية تواجد طفيلي الكريبتوسبورديوم ملتصقا على سطح الخلايا الظهارية المبطنة لكيس المرارة كما ان نسبة الخمج بهذا الطفيلي كانت مرتفعة في إناث الضأن وبلغت ٣٠% مع ملاحظة عدم وجود فرق معنوي في نسبة الخمج بين أكياس مرارة كل من الإناث والذكور.

## Detection of oocysts of *Cryptosporidium spp* in gall bladder of sheep slaughtered in Mosul, Iraq

E. G. Suleiman, E. T. Butty and A. A. AL-Abadi

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

### Abstract

The current study revealed the presence of oocysts of *Cryptosporidium* in the fluid and tissue of gall bladder of sheep which is slaughtered in Mosul city by using different diagnostic techniques, including direct smear method, staining method by modified Zeil-Nelseen stain, scraping of mucosal layer of gall bladder and histological examination, the percentage of infection 20% and there were significant differences in the percentages of infection between gall bladder 20% and fecal samples 41%. The histological study showed that the oocyst of *Cryptosporidium* was attached on the surface of the epithelial cells of gall bladder. The high percentage of infection appeared in ewes was 30% and there was no significant differences in the infection of gall bladder between rams and ewes.

Available online at <http://www.vetmedmosul.org/ijvs>

### المقدمة

المختلفة وحدث الاسهال المائي الغزير (٤) تختلف دورة حياة هذا الطفيلي عن دورة حياة الايميريا بكون مراحل الطفيلي التطورية تحدث ضمن مايعرف بالفجوة الطفيلية في منطقة الزغابات المعوية وتتبع أكياس بيضة الطفيلي داخل خلية المضيف وتصبح خمجة عند مرورها مع البراز في حين أكياس بيضة الايميريا لا تتبوغ إلا بعد تركها جسم المضيف (١) يمتاز طفيلي الابواغ الخبيثة بفقدانه لصفة التخصص تجاه العائل وقدرته على خمج انواع مختلفة من الأنسجة إذ أشار الباحثون إلى انه قد تم تشخيص الخمج في مواقع مختلفة من الجسم غير الأمعاء إذ لوحظ أن النوع *C.muris* يصيب الغدد المعدية في الأبقار

يعد طفيلي الابواغ الخبيثة *Cryptosporidium* احد الطفيليات الواسعة الانتشار في مختلف دول العالم كما ويعد من الطفيليات المشتركة بين الإنسان والحيوان ويقع ضمن مجموعة الاوالي المعويه التابعة لرتبة الكرويات *Euococcidia* (١). يسبب هذا الطفيلي الاسهال في الانسان ومختلف الحيوانات (٢) وله القدرة على خمج العديد من المضائف كالأسمك والزواحف والطيور (٣) تكمن خطورة الطفيلي في تعدد طرق انتقاله من خلال تلوث الغذاء والماء وقدرته على إحداث الخمج الذاتي في المضائف

micrometer في قياس أبعاد أكياس بيض طفيلي الكريبتوسبورديوم وأجريت عملية التحليل الإحصائي للنتائج باستخدام مربع كاي (١٧).

### النتائج

تبين من خلال فحص ١٠٠ عينة من كل من اكياس المرارة والبراز والمأخوذة من الضأن المذبوح في مناطق مختلفة في مدينة الموصل وذلك للكشف عن اكياس بيضة طفيلي الكريبتوسبورديوم باستخدام عدة تقنيات تشخيصية مختلفة وهي الفحص المباشر وتقنية التصبيغ بالصبغة الصامدة للحمض المحورة الباردة وعمل عدة قشطات من الطبقة المخاطية لكيس المرارة وصبغها بالصبغة الصامدة للحمض المحورة الباردة إضافة إلى إجراء الفحص النسجي لأكياس المرارة التي أعطت نتائج موجبة بالتقنيات السابقة.

بلغ عدد اكياس المرارة الخمجة باكياس بيض الابواغ الخبيثة ٢٠ كيسا أي بنسبة خمج ٢٠% في حين بلغ عدد عينات البراز الخمجة بأكياس البيض ٤١ عينة أي بنسبة ٤١% وعند تحليل النتائج احصائيا لوحظ وجود فرق معنوي في نسبة الخمج بين كل من عينات المرارة والبراز وذلك عند مستوى معنوية  $P < 0.01$  جدول (١) وقد ظهرت أكياس بيض طفيلي الكريبتوسبورديوم المشخصة في كل من عينات المرارة والبراز على شكل اجسام كروية وبيضوية الشكل وبمعدل قياس بلغ ٤,٦٩ مايكرون وبمدى تراوح ما بين ٢,٥ - ٦,٥ مايكرون وعند استخدام صبغة الكاربول - فوكسين (الزليل - نلسن المحورة الباردة) ظهر الطفيلي باللون الاحمر البراق وكما موضح في الشكل (١, ٢).

اظهر فحص المقاطع النسجية والمصبوغة بصبغة الهيماتوكسلين- ايوسين تواجد اكياس بيض الكريبتوسبورديوم ملتصقا على سطح الخلايا الظهارية لكيس المرارة وكما موضح في الشكل (٣).

ظهرت نسبة الخمج مرتفعة في اكياس المرارة المأخوذة من الاناث اذ بلغت النسبة ٣٠% في حين بلغت نسبة الخمج في الذكور ١٥,٧١% مع ملاحظة عدم وجود فرق معنوي في نسبة الخمج بين ذكور واناث الضان وذلك عند مستوى معنوية  $P = 0.173$  وكما موضح في الجدول (٢).

الجدول ١: اعداد كل من اكياس المرارة وعينات البراز المفحوصة ونسبة الخمج بأكياس بيض طفيلي *Cryptosporidium*.

العينات المفحوصة	العدد	عدد العينات الخمجة	نسبة الخمج %
أكياس المرارة	١٠٠	٢٠	*٢٠
عينات البراز	١٠٠	٤١	٤١

\*فرق معنوي  $P < 0.01$ .

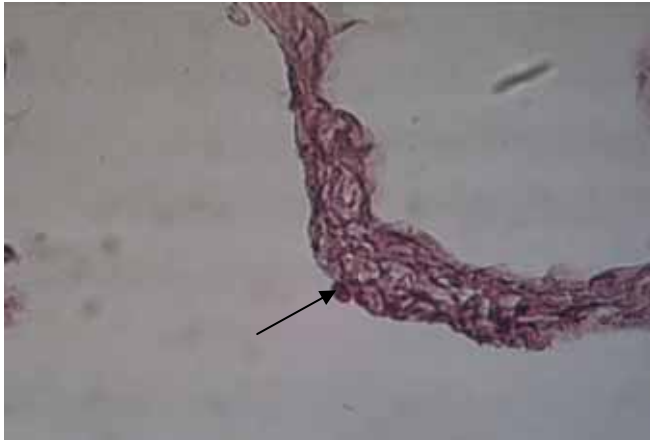
ويسبب داء الابواغ الخبيثة المنفحي Abomasal cryptosporidiosis (٥) كما تم تشخيص الخمج بالطفيلي في كل من الكبد والبنكرياس وكيس المرارة والعقد اللمفية المسارية والجهاز التنفسي العلوي والسفلي و في الرحم في مختلف أنواع المضائف كالحملان والمعز والخنازير والدواجن والفئران (٦-١٢) وقد أورد الباحثون بأنه توجد علاقة معنوية بين كل من الخمج المعوي وحمج القناة الصفراوية والجهاز التنفسي (١٣,١١) وأشار Sunderman *et al.* (١٢) ان للصفراء القدرة على تحفيز عملية نزع كيس البيضة وهذه النسبة قد بلغت في صفراء المعز ٦٩,٥% و ٤٥% في صفراء الخنازير و ٣٣% في صفراء الدجاج و ٣٤,٥% في صفراء الديك الرومي كما أشارت بعض الدراسات إلى إن قسم من المضائف المثبطة مناعيا قد يصل فيها الخمج الى القناة الصفراوية والجهاز التنفسي مسببا بذلك تفاعلات التهابية حادة (١١,٧) ونظرا لقلة الدراسات المحلية حول خمج الطفيلي للانسجة خارج الامعاء وبغية الوصول الى فكرة واضحة حول داء الابواغ الخبيثة الصفراوي Biliary cryptosporidiosis تم اجراء هذه الدراسة لغرض تحديد نسبة الاصابة بهذا الطفيلي في كيس مرارة الضأن باستخدام تقنيات تشخيصية مختلفة.

### المواد وطرائق العمل

تم جمع ١٠٠ كيس مرارة من الضان المذبوح في مجزرة الموصل ومن محلات مختلفة لبيع اللحوم (القصابين) للكشف عن اكياس بيض الكريبتوسبورديوم في سائل ونسيج المرارة إضافة الى جمع ١٠٠ عينة براز من نفس الحيوانات المذبوحة وفحصت باستخدام طريقة التطويق بالمحلول السكري (١٤).

تم غسل اكياس المرارة بماء الحنفية أولا ثم بالماء المقطر وفتحت وجمع منها السائل المراري وحفظ به ٢,٥% من ثنائي كرومات البوتاسيوم في عبوات بلاستيكية نظيفة وتم إجراء كل من التقنيات التشخيصية المتمثلة بالطريقة المباشرة (١٤) و طريقة التصبيغ بالصبغة الصامدة للحمض المحورة الباردة وذلك بعد نشر سائل المرارة وتثبيتها بعد جفافه بشكل تام على شرائح زجاجية نظيفة باستخدام الكحول المثلبي المطلق، كما تم عمل عدة قشطات من الطبقة المخاطية لأكياس المرارة باستخدام مشرط حاد وثبتت هذه القشطات على شرائح زجاجية نظيفة باستخدام الكحول المثلبي المطلق وصبغت أيضا باستخدام الصبغة الصامدة للحمض المحورة الباردة (١٥).

أكياس المرارة التي أعطت نتائج موجبة غمرت بمحلول الفورمالين تركيز ١٠% وبعد ٤٨ ساعة تم تمرير العينات بترابيز مختلفة من الكحول الايثيلي ابتداءا بتركيز ٧٠% و ٩٠% و ١٠٠% ثم وضعت العينات في محلول الزايلين وطمرت بشمع البارافين وتم تحضير شرائح نسجية بسمك ٤-٦ مايكرون لصبغها بصبغة الهيماتوكسلين - ايوسين لملاحظة اكياس البيض في نسيج المرارة (١٦). تم استخدام المقياس العيني ocular



الشكل ٣: كيس البيضة لطفيلي الابواغ الخبيثة على سطح الخلايا الظهارية لتسيج مرارة الضان وذلك باستخدام الكاميرا الرقمية بقوة تكبير ١٠٠X.

#### المناقشة

ان طفيلي الكريبتوسبورديوم له القدرة على خمج القناة المعوية للانسان ومختلف انواع الحيوانات ويعد واحدا من الطفيليات المشتركة ما بين الإنسان والحيوان مسببا حدوث الاسهال (١٨). لقد اجريت دراسات عديدة في العراق حول حدوثية الخمج بهذا الطفيلي في الأمعاء وتم تسجيل نسب خمج مختلفة في مختلف أنواع المضائف (١٩-٢١) ولكن الدراسات حول خمج الطفيلي للأنسجة الأخرى غير الأمعاء تبدو قليلة.

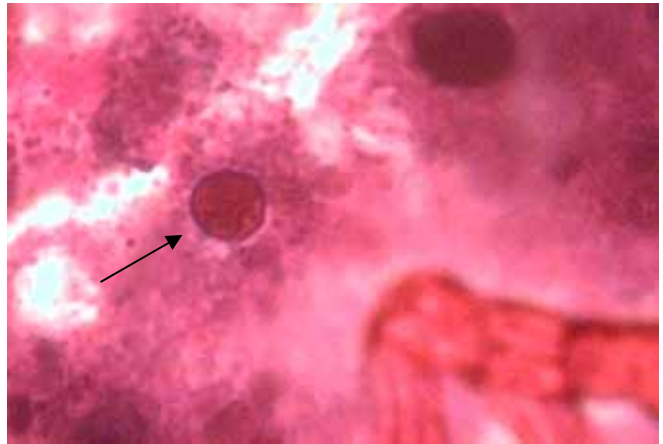
أما في هذه الدراسة تم تشخيص الخمج بطفيلي *Cryptosporidium* في كل من سائل ونسيج اكياس المرارة المأخوذة من الضان المذبوح في مدينة الموصل و بنسبة خمج ٢٠% ان هذه النتيجة تتفق مع ما ذكره العديد من الباحثين حول إمكانية هذا الطفيلي خمج أعضاء أخرى غير الامعاء كالكبد والبنكرياس والاقنية الصفراوية وكيس المرارة (٦،٧،٩،١٢،١٨) كما ان نسبة الخمج المسجلة في هذه الدراسة مقارنة لما سجله Abbassa (٢٢) اذ اشار الى ان نسبة الخمج بهذا الطفيلي في اكياس مرارة المعز المذبوح في مجزرة الموصل هي ٢٣,٦% كما سجل Kaup *et al.* (٩) نسبة خمج بلغت ٣٦% في كل من الكبد والاقنية الصفراوية والبنكرياس مع ملاحظة تفاعلات التهابية تحت الحادة ومزمنة. لوحظ في هذه الدراسة وجود فرق معنوي في نسبة الخمج بين كل من عينات اكياس المرارة والبراز وهذا يتفق مع العديد من الدراسات بان طفيلي الكريبتوسبورديوم يصيب بالدرجة الرئيسية القناة المعوية ويسبب الاسهال لمدى واسع من المضائف (١).

وقد ذكر Verdon *et al.* (٢٣) ان خمج الطفيلي للقناة الصفراوية وكيس المرارة يعد واحدا من مضاعفات داء الابواغ الخبيثة المعوي خاصة عند الاشخاص المثبطين مناعيا. ان طفيلي

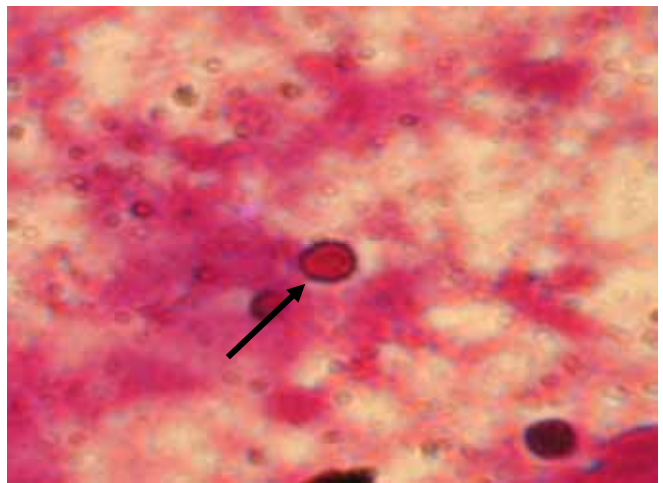
الجدول ٢: علاقة نسبة الخمج بطفيلي *Cryptosporidium* في اكياس المرارة بجنس الحيوان.

الجنس	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الخمجة	نسبة الخمج %
الذكور	٧٠	١١	١٥,٧١*
الإناث	٣٠	٩	٣٠
المجموع	١٠٠	٢٠	٢٠

\* غير معنوي P= 0.173.



الشكل ١: كيس البيضة لطفيلي الابواغ الخبيثة في السائل المراري وباستخدام صبغة الزيل-نلسن المحورة الباردة باستخدام الكاميرا الرقمية بقوة تكبير ٤٠٠X.



الشكل ٢: كيس البيضة لطفيلي الابواغ الخبيثة في القشدة المأخوذة من الطبقة المخاطية لكيس المرارة والمصبوغة بصبغة الزيل-نلسن المحورة الباردة باستخدام الكاميرا الرقمية بقوة تكبير ١٠٠٠X.

5. Laberge I, Griffiths MW. Review article prevalence, detection and control of cryptosporidiosis in food. Int J Food Microbiology. 1996;32:1-26.
6. Fleta J, Sanchez-Acedo C, Clavel A, Quilez J. Detection of *Cryptosporidium* oocysts in extra-intestinal tissues of sheep and pigs. Vet Parasitol. 1995;59(3-4):201-5.
7. Chen XM, Larusso NF. Mechanisms of attachment and internalization of *Cryptosporidium parvum* to biliary and intestinal epithelial cells. Gastroenterology. 2000;118:368-379.
8. Dhillon AS, Thacker HL, Dietzel AV, Winterfield RW. Respiratory cryptosporidiosis in broiler chickens. Avian Dis. 1981;25(3):747-51.
9. Kaup FJ, Kuhn EM, Makoschey B, Hunsmann G. Cryptosporidiosis of liver and pancreas in rhesus monkeys with experimental SIV infection. J Med Primatol. 1994;(23):304-8.
10. Mason RW, Hartley WJ. Respiratory cryptosporidiosis in a peacock chick. Avian Dis. 1980;24(3):771-6.
11. Yanai T, Chalifoux LV, Mansfield KG, Lackner AA, Simon MA. Pulmonary cryptosporidiosis in simian immunodeficiency virus-infected Rhesus Macaques. Vet Pathol. 2000;37:472-475.
12. Sundermann CA, Lindsay DS, Blagburn BL. *In vitro* excystation of *Cryptosporidium baileyi* from chickens. J Protozool. 1987;34(1):28-30.
13. Goodin MA, Brown J, Fletcher OJ. The relationship of *Cryptosporidium* infection of the bursa of fabrici, intestinal tract, and respiratory system of chicken in Georgia, 1974-1988. Avian Dis. 1990;34(3):701-3.
14. Kassai T. Veterinary helminthology. Great Britain Bath Press Somerset. Oxford Auckland Boston Johannesburg Melbourne New Delhi; 1999. p.183-188.
15. Baron EJO, Peterson L, Finegold SM. Diagnostic microbiology. 9<sup>th</sup> ed. Mosby Year Book Inc. St Louis; 1994. 792p.
16. Luna LG. Manual of histological staining methods of the armed forces institute of pathology. 3<sup>rd</sup> ed., McGraw Hill Book Company, New York; 1968. p.38-76.
17. Petrie WP. Statistics for veterinary and animal science. Blackwell Science. London; 2003. p.101-113
18. Garcia LS and Current WL. Cryptosporidiosis: Clinical features and diagnosis. Crit Rev Clin Lab Sci. 1989;27(6):439-6
19. Bakir MHH. The study of epidemiology, experimental, immunity and transmission for cryptosporidiosis in Ninevah Governorate [dissertation]. Mosul: College of Veterinary Medicine, University of Mosul; 2005.
20. Suleiman EG. Diagnostic study of some intestinal protozoa in domestic rabbits in Mosul area. Iraqi J Vet Med. 2005;19(2):123-133.
21. Al-Taeef AF. Endoparasites of fresh water fish *Liza abu* in Mosul, Iraq. Iraqi J Vet Med. 2008;22(1):25-29.
22. Abbassa ET. Detection of *Cryptosporidium* in bile of gall bladder of goats in Ninevah province, Iraq J Dohuk Univ. 2006;9(1):149-152.
23. Verdon R, Polianski D, Gordet L, Garry L, Carbon C. *Cryptosporidium parvum* biliary tract infection in adult immuno-competent and immuno-suppressed mice. J Med Micro. 1998;47:171-77.
24. Chen XM, Levine SA, Splinter POL, Tietz PS, Ganong AL, Jobin C, Gores GJ, Paya CV, Larusso NF. *Cryptosporidium parvum* activates nuclear factor KB in Biliary epithelia preventing epithelial cell apoptosis. Gastroenterology. 2001;120:1774-1783.

الكربتوسبورديوم أثناء دورة حياته وعند تناول اكياس البيض وبعد تعرض هذه الأكياس إلى تأثير حموضة المعدة وأملاح الصفراء والإنزيمات الهاضمة سوف تحفز عملية نزع الكيس وتحرر البويغيات وتنتقل إلى الخلايا الظهارية للأمعاء محدثة الإسهال كما أن البويغيات لها القدرة على الانتقال إلى تفرعات الصفراء واصابة الخلايا الظهارية المبطنة للقنوات الصفراوية وكيس المرارة محدثة تفاعلات التهابية شديدة ومزمنة وان هذا النوع من التأثير يزداد حدوثه عند الأشخاص المصابين بمرض الايدز اذ تصل النسبة إلى أكثر من ٦٥% (٢٤،٧). اظهرت المقاطع النسجية المفحوصة تواجد طفيلي الكربتوسبورديوم ملتصقا بسطح الخلايا الظهارية المبطنة لكيس المرارة وهذا يتفق مع ما ذكره Yanai *et al.* (١١). تم في هذه الدراسة تسجيل نسبة خمج مرتفعة في اناث الاغنام وبلغت ٣٠% مع ملاحظة عدم وجود فرق معنوي في نسبة الخمج بين الذكور والاناث وهذا يتفق مع ما سجله Abbassa (٢٢) في اناث المعز اذ بلغت نسبة الاصابة ٣٣,٦%. ان اختلاف نسبة الخمج بين ذكور واناث الضان قد يرجع إلى عوامل عديدة منها ما يتعلق بعدد العينات المفحوصة اولا ومنها ما يتعلق بالحيوان وبالظروف المحيطة به والادارة والإجهاد الذي يتعرض له الحيوان إضافة إلى الإصابة بالأمراض الأخرى كما أشارت بعض الدراسات التي اجريت على مختلف انواع الحيوانات وفي ما يخص الخمج بهذا الطفيلي انه قد لا يوجد فرق معنوي في نسبة الخمج بين ذكور واناث الحيوانات وان كل من الإناث والذكور تتأثر بشكل متساوي بالعوامل الممهدة للإصابة وان جنس الحيوان قد لا يلعب دورا مهما في حدوث الخمج (٢٠،٢٢).

#### المصادر

1. Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM., Jennings FW. Veterinary Parasitology. 2<sup>nd</sup> ed. Blackwell Science Ltd. Oxford; 2003. p.233-234.
2. Radostitis OM, Gay CC Blood DC, Hinchcliff KW. Veterinary medicine. A text book of the diseases of cattle, sheep, pigs and horses. 9<sup>th</sup> ed. WB. Saunders Company Ltd. Edinburgh London New York Oxford Philadelphia St Louis Sydney Toronto; 2000. p.1310-1314.
3. Casemore DP. Human cryptosporidiosis. Clinical aspect, epidemiology and control. Proc R. coll Physicians. 2000;30:287-293.
4. Current WL. Cryptosporidiosis. JAVMA. 1985;187(12):1334-1338.