

سمية المكيسات العضلية *Sarcocystis gigantea* المعزولة من الضأن في محافظة نينوى

أحلام فتحي الطائي و نادية سلطان الحيالي

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

(الاستلام: ٢٦ آذار، ٢٠٠٧؛ القبول: ٧ تشرين الأول، ٢٠٠٧)

### الخلاصة

تضمنت الدراسة للكشف عن الخمج بطفيلي المكيسات العضلية النوع العباني *Sarcocystis gigantea* في الضأن، حيث ظهرت الأطوار الكيسية الناضجة للطفيلي بأشكال بيضوية أو اسطوانية وبلغ معدل أبعاد الأكياس  $7,8 \times 2,8$  ملم، وبدأ جدار الكياس العضلية العيانية الناضجة سمكاً ذات تخططات عرضية مميزة وبسمك ١,٥ ميكرومتر. وبلغت نسبة الخمج للإصابة بطفيلي المكيسات العضلية في مريء الضأن ٩٤,٨%. كما تم عزل وترسيب البروتين الخام المستخلص من الأكياس العضلية العيانية الناضجة لطفيلي *S. gigantea* باستخدام أملاح كبريتات الامونيوم، وتم عزل الأجزاء البروتينية a، b من البروتين الخام للأكياس العضلية العيانية بتقنية الترشيح الهلامي باستخدام مادة الهلام Sephadex G-50، وحدد الوزن الجزيئي للحزمة a و b بواسطة تقنية الهجرة الكهربية باستخدام SDS-PAGE وكانت ٦٣٠٩٥ و ٢٧٤١٠ دالتون، على التوالي.

درس التأثير السمي للحزمة البروتينية b بعد حقنها في خلب الجرذان بثلاث تراكيز ٠,١ و ٠,٣ و ٠,٥ ملغم/كغم من وزن الجسم وأظهرت الجرذان علامات عصبية شملت بالارتجاج العضلي والشلل الجزئي أو الكلي وعسر التنفس ومن ثم هلاك الحيوان المصاب وكان التركيز ٠,٥ ملغم/كغم من وزن الجسم هو الأكثر تأثيراً مقارنة بالتركيز الأقل. ودرست كذلك التأثيرات السمية للحزمة b على صورة الدم حيث لوحظ انخفاض تركيز خضاب الدم وحجم خلايا الدم المرصوفة في الجرذان المعاملة وزيادة معنوية في العدد الكلي لخلايا الدم البيض، فضلاً عن الزيادة المعنوية في مستوى خمائر الاسبرتيت والالانسون ناقلة الأمين في مصال الجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة. وأشارت النتائج إلى التثبيط المعنوي الذي لوحظ في مستوى خميرة الكولين استراز في دماغ الجرذان المعاملة بالمقارنة بمجموعة السيطرة.

## TOXICITY OF *SARCOCYSTIS GIGANTEA* DETECTED FROM SHEEP IN NINEVAH GOVERNORATE

A. F. Al-Taee and N. S. Al-Hyali

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

### ABSTRACT

This study was included the detection of the infection with *Sarcocystis gigantea* in sheep, the mature cystic stages was appeared oval or cylindrical shaped with a diameter of  $7.8 \times 2.8$  mm and  $1.5 \mu\text{m}$  thick striped cyst wall. The total rate of infection with the macroscopic type in sheep oesophagus reached 94.8%.

Isolation and precipitation of crude protein extracted from macrosarcocysts of *S. gigantea* was performed using saturated ammonium sulphate solution. Fractions of this protein (a and b) were isolated by employing Gel Filtration Technique on Sephadex G-50. The molecular weight of these proteins fractions were determined as about 63095 and 27410 dalton respectively using (SDS-PAGE) electrophoresis technique.

The toxic effect of b protein fraction was studied in rats peritoneal injection at concentration 0.1, 0.3, and 0.5 mg /kg body weight. These animals experienced acute toxicological nervous signs including tremors, complete and partial paralysis. The highest dose (0.5 mg/kg) of b fraction was the most toxic among the injected concentrations. Blood picture in injected rats revealed a significant reduction in hemoglobin and packed cell volume and increase in total leukocyte count. Significant increase in serum aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase enzymes was observed. There was also a significant inhibition in the brain cholinesterase activity in the treated rats.

### المقدمة

تسبب أنواع جنس المكريسات العضلية إصابات مرضية واسعة الانتشار في جميع أنحاء العالم، متطفلة داخل خلايا المضيف وتنتمي إلى شعبة Apicomplexa ورتبة Eucoccidiorida وعائلة Sarcocystidae. يعد الطفيلي من أهم طفيليات الكرمسيديا المكونة للأكياس Cysts forming coccidia. وهو من احد مسببات الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان وبذلك يكتسب أهمية طبية وبيطرية. يمتاز الطفيلي بدورة حياة مختلفة المضائف Heteroxenous life cycle، فالأكياس العضلية تتكون عادة في العضلات الهيكلية للمضائف الوسطية من أكلات الأعشاب Herbivores، أما المراحل لجنسية فتتكون في مخاطية أمعاء المضائف النهائية من أكلات اللحوم Carnivores (١).

يطلق على الأكياس العضلية الكاملة النضج والتي يكونها الطفيلي في الأنسجة العضلية والعصبية للمضائف الوسطية مصطلح Sarcocystis أو الأكياس العضلية Muscular cysts،

وهو يختلف عن المتلازمة السريرية التي تسبق تكون الأكياس والتي يشار إليها بمصطلح Sarcocystosis، في حين يشمل مصطلح Sarcosporidiosis كلا الخمجين لعظلي والمعوي (٢).

لقد تم تسجيل أكثر من مائة نوع لجنس المكيسات العضلية متطفلة على الحيوانات. الأليفة والبرية، إذ عرف العديد منها كالأغنام والأبقار والخيول والخنازير والكلاب والقطط والأرانب والفران والدواجن والإنسان. معظم الاخماج التي تسببها أنواع جنس المكيسات العضلية في المضائف النهائية ليس لها أعراض سريرية واضحة A. symptomatic، بينما تكون الاخماج ذات طبيعة سريرية Symptomatic في المضائف الوسيطة، ومن هنا جاءت أهمية المرض إذ تكون نسبة الخمج في المجترات ما بين ١٠% إلى ١٠٠% (٣).

تؤدي الإصابة بالطفيلي إلى هلاك الحيوان أو الإجهاض فضلا عن الضعف والذبل وانخفاض إنتاجية الحيوانات من اللحوم والحليب وكذلك التهاب الدماغ. كما يسبب التهاب العضلات الحمضي Eosinophilic myositis خسائر تقدر بملايين الدولارات سنويا. ذلك بسبب اللبذ الجزئي أو الكلي للحوم أو التقليل من قيمتها المادية بسبب احتوائها على الأكياس العضلية العيانية كما إن تحلل الطور الكيسي للطفيلي في عضلات المضائف الوسيطة يحرر سموماً داخلية يطلق عليها الساركوسستين Sarcocystin أو الساركوتوكسين (السم العضلي) Sarcotoxin والذي يكون مميتاً للضأن والمعز والخنازير إذا ما تحرر داخل عضلات قلب والجهاز التنفسي (٤).

إن معظم الدراسات السابقة ركزت على وبائية الطفيلي للتحري عن الخمج المبهري والعياني في حيوانات المزرعة والإنسان، ولعدم تطرق الدراسات السابقة لسُموم الطفيلي ودورها في الأمراض، ولخطورة هذا الداء على صحة الإنسان والثروة الحيوانية فقد ارتأينا القيام بهذه الدراسة والتي تعد الأولى من نوعها في القطر والتي يتم فيها فصل الأجزاء البروتينية للأكياس العضلية الناضجة لطفيلي *S. gigantea* والمأخوذة من مريء الضأن، مع دراسة تأثير الحزمة البروتينية الحاوية على المادة السمية (الساركوسستين) على الجرذان من خلال دراسة التغيرات الحاصلة في صورة الدم ومستوى الأنزيمات.

#### المواد وطرائق العمل

جمع العينات: جمعت الأكياس العضلية العيانية من مريء الضأن المخمجة «أبيعبس» بالخمج العياني لطفيلي المكيسات العضلية وبأعمار من سنة واحدة فأكثر ومن كلا الجنسين.

وتم فحص ٦٠٠ عينة مريء ضأن، ودرست الأكياس العضلية العيانية مسن ناحية الشكل والحجم إذ جرى قياس أبعاد الأكياس بالمسطرة المدرجة، ولتأكيد النوع تم عمل مقاطع نسجية للأطوار الكيسية الناضجة وصبغها بصبغة PAS (٥) لغرض قياس سمك جدارها.

فصل وتنقية البروتين الخام لمستخلص الأكياس العضلية العيانية: شملت الأكياس العضلية العيانية بدري الفوسفات الملحي بأما ٧,٢ لعدة مرات، ثم مزجت بدري ثيوسلفات الملحي بنسبة ٢:١، وقد تم استخدام كبريتات الأمونيوم لعزل البروتين الخام من مستخلص الأكياس بطريقة الإزاحة الملحية Protein salting out (١٢)، واتبعت طريقة لاوري المحورة (٦) لتقدير الكميات الدقيقة من البروتين. استخدم في فصل وتنقية المركبات اعتماداً على حجم جزيئاتها Molecular sizes وعلى أوزانها الجزيئية Molecular weights تقنية الترشيح الهلامي، وقد جففت المواد البروتينية الناتجة من تقنية الترشيح الهلامي بجراء تقنية التجفيد بالتجميد للحصول على هذه المواد البروتينية على هيئة مسحوق جاف. وتم تعيين الوزن الجزيئي التقريبي للأجزاء البروتينية المفصولة بتقنية الهجرة الكهربية باستخدام SDS-PAGE حسب طريقة (٧).

دراسة التأثيرات السمية لتراكيز مختلفة من الحزمة b للبروتين الخام لمستخلص الأكياس العضلية العيانية: اتبعت طريقة الباحث (٨) في تقدير الجرعة المميئة الواسية التي كانت ٠,٦٧ ملغم/كغم، وعليه تم اختيار ثلاثة تراكيز مختلفة (٠,١ و ٠,٣ و ٠,٥ ملغم/كغم من وزن الجسم من مسحوق الحزمة b. إذ استخدم في هذه التجربة 96 جرذاً، قسمت إلى أربع مجاميع متساوية، ضمت كل مجموعة 24 حيواناً وحفظت داخل الخلب (I.P.) Intraperitoneal.

المعايير المستخدمة في الدراسة السمية: تمت مراقبة الحيوانات للمدد ٢٤، ٤٨، ٧٢ و ٩٦ ساعة وتسجيل العلامات السريرية لظاهرة عليها، ومتابعة التغيرات في صورة الدم التي أجريت على عينات الدم التي تم الحصول عليها قبل قتل الحيوان، والمتمثلة بحجم الخلايا المرصوصة وتركيز خضاب الدم، والعد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض (٩). كما تمت دراسة التغيرات في نشاط خميرة الانين ناقلة الأمين وخميرة الاسبريت ناقلة الأمين، وقينر نشاط خميرة الكولين استراز بطريقة كهرومترية (١٠).

وتم تحليل البيانات ومقارنة متوسطات المعاملات للتجارب باختبار ANOVA تحليل التباين ذي البعد الواحد، على اعتبار أن مجموعة السيطرة هي المجموعة القياسية، عند مستوى احتمال ( $P < 0.05$ ) (١١).

### النتائج

بلغت أعداد عينات مريء الضأن المفحوصة ٦٠٠ عينة أظهر ٥٦٩ منها وجود أكياس عيانية لطفيلى *S. gigantea*، أي بنسبة ٩٤,٨%. إذ ظهرت بأشكال بيضوية أو أسطوانية ذات لون ابيض جدارها ناعم الملمس منتفخة من الوسط مع نهايات غير مدببة، وعديدة متناثرة على طول المريء (الطبقة المصلية) والبعض الآخر متركز في الجزء المنقي منه، بعضها بارز والبعض الآخر غائر في العضو، وبأحجام مختلفة بلغ معدل أبعاد الأياس الناضجة  $٧,٨ \times ٢,٨$  ملم، وأظهرت صبغة PAS بأن جدار الطور الكيسي للعياني الناضج ذو سمك ١,٥ ميكروميتر، شكل رقم (١).



الشكل (١) صورة فوتوغرافية لأكياس عيانية لطفيلى *Sarcocystis gigantea* في مريء الضأن X1.3.

تم الحصول على الجزئين البروتينيين a, b الناتجين من الراسب البروتيني لمستخلص الأكياس العضلية العيانية بتقنية الترشيح الهلامي باستخدام الهلام Sephadex-50 إذ بلغ حجم روغان الحزمة البروتينية الأولى a ٥٤ مل، بينما بلغ حجم روغان الحزمة البروتينية الثانية b ١٥٧ مل، وتشير نتائج تقنية الهجرة الكهربائية الحاوية على SDS أن السوز الجزيئي التقريبي للحزمة a هو ٦٣٠٩٥ دالتون وللحزمة b هو ٢٧٤١٠ دالتون.

لم تظهر الحزمة a أية تأثيرات سمية على الجرذان في حين أظهرت الحزمة b تأثيرات سمية. وأشارت نتائج تجربة الجرعة المميئة الوسطية (الجم - 50) لحزمة b المحقونة في ذكور الجرذان كانت ٠,٦٧ ملغم / كغم من وزن الجسم، و اعتمدت شدة العلامات السريرية على كمية الجرعة المعطاة، إذ أظهرت جرذان المجموعة الثالثة المعاملة بالحزمة b بتركيز ٠,٥ ملغم/ كغم من وزن الجسم، علامات عصبية شديدة تمثلت بـالتهدج العصبي، الصراخ، علامات تنفسية شديدة كعسر التنفس، تشنجات عضلية وحركات لاإادية والرجفة والشلل، فضلا عن خروج الدم من فتحات المنخرين (أي حدوث نرف) من الجدير بالملاحظة أن الدم كان مائل إلى اللون الأسود وغير متجلط، ومن ثم هلك قسم من الجرذان، أما المجموعتان الأولى والثانية المعاملة بالحزمة b بتركيز ٠,١ و ٠,٣ ملغم/ كغم من وزن الجسم أظهرت علامات عصبية أقل حدة من جرذان المجموعة الثالثة والتي تمثلت، بالضمول، وانتصاب الشعر، والانزواء في أحد أركان القفص والخوف وشلل الأطراف الخلفية بعد الحقن مباشرة واستمر لعدة ساعات بعدها عادت الجرذان إلى الحالة الطبيعية. كما أظهرت التغيرات الدموية انخفاضاً معنوياً في معدلات تركيز خضاب الدم وحجم خلايا الدم المرصوصة، في المجموعات الثلاث المعاملة بالتركيز المختلفة من الحزمة b، إذ انخفض تركيز خضاب الدم معنوياً خلال ٢٤ ساعة الأولى من الحقن في المجموعتين الأولى والثالثة خلال ٤٠ ساعة مقارنة بقيم مجموعة السيطرة، كما انخفض تركيز خضاب الدم وبشكل معنوي في حيوانات المجموعة الثانية خلال ٧٢ ساعة مقارنة مع مجموعة السيطرة، جدول رقم (١). يبلغ معدل حجم خلايا الدم المرصوصة أدنى مستوى له خلال ٢٤، ٤٨ ساعة في حيوانات المجموعة الثالثة مقارنة بقيم مجموعة السيطرة، جدول رقم (٢).

جدول ١: يوضح للتغيرات في تركيز خضاب الدم (غم/ ١٠٠ مل) في المجاميع المعاملة بتركيز مختلفة من الحزمة b بالمقارنة بمجموعة السيطرة.

المجاميع	الساعات	٢٤ ساعة	٤٨ ساعة	٧٢ ساعة	٩٦ ساعة
مجموعة السيطرة		٤,٢ ± ١٧,٣ <sup>a</sup>	٦,٧ ± ١٧,٥ <sup>a</sup>	٦,٧ ± ١٧,٣ <sup>a</sup>	٦,١ ± ١٧,١ <sup>a</sup>
المجموعة الأولى (٠,١ ملغم/ كغم)		٥,٨ ± ١٤ <sup>b</sup>	١,٣ ± ١٣ <sup>b</sup>	١,٣ ± ١٣,٥ <sup>b</sup>	٤,٣ ± ١٤,٥ <sup>b</sup>
المجموعة الثانية (٠,٣ ملغم/ كغم)		٦,٠ ± ١٥,٨ <sup>a</sup>	٦,٠ ± ١٦,٢ <sup>a</sup>	٥,٨ ± ١٤ <sup>b</sup>	٥,١ ± ١٥ <sup>b</sup>
المجموعة الثالثة (٠,٥ ملغم/ كغم)		٦,٠ ± ١٠,٨ <sup>c</sup>	٣,٦ ± ١٢ <sup>b</sup>	٤,٩ ± ١٣,٧ <sup>b</sup>	٥,٦ ± ١٤ <sup>b</sup>

الحروف (a,b,c) المختلفة عمودياً تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال  $P < 0.05$ . القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي لـ ٢٤ حيواناً في كل مجموعة.

جدول ٢: يبين معدل حجم الخلايا المرصوفة (%) في المجاميع المعاملة بتركيز مختلفة من الحزمة b بالمقارنة بمجموعة السيطرة

المجاميع	الساعات	٢٤ ساعة	٤٨ ساعة	٧٢ ساعة	٩٦ ساعة
مجموعة السيطرة		٢,٢٤ ± ٥٠,٥ <sup>a</sup>	٤,٥ ± ٥١ <sup>a</sup>	٤,٥ ± ٥١ <sup>a</sup>	٤,٧ ± ٤٦,٨ <sup>a</sup>
المجموعة الأولى (٠,١ ملغم/ كغم)		٧,٣ ± ٤٤ <sup>c</sup>	١,١ ± ٤٤,٧ <sup>b</sup>	٢,٢ ± ٤١,٥ <sup>b</sup>	٣,٧ ± ٤٤,٦ <sup>a</sup>
المجموعة الثانية (٠,٣ ملغم/ كغم)		١,٨ ± ٤٨ <sup>b</sup>	٢,٠٣ ± ٤٩ <sup>ab</sup>	٧,٦ ± ٤٣,٧ <sup>b</sup>	١,٥ ± ٤٤,٦ <sup>a</sup>
المجموعة الثالثة (٠,٥ ملغم/ كغم)		٢,٣ ± ٣٠ <sup>d</sup>	٢,٠١ ± ٣٦,٣ <sup>c</sup>	١,٨ ± ٤٤ <sup>b</sup>	٤,٤ ± ٤٧ <sup>a</sup>

الحروف (a,b,c) المختلفة عمودياً تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال  $P < 0.05$ . القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي لـ ٢٤ حيواناً في كل مجموعة.

كما أظهرت نتائج العد الكلي لخلايا الدم البيض انخفاضاً معنوياً في قيمها خلال ٢٤ ساعة في حيوانات المجموعات الثلاث مقارنة بقيم مجموعة السيطرة، ثم ارتفعت قيمها معنوياً في حيوانات المجموعة الأولى خلال ٤٨ ، ٩٦ ساعة، واستمرت قيمها بالانخفاض معنوياً في حيوانات المجموعة الثانية مقارنة مع مجموعة السيطرة، كما أظهرت حيوانات المجموعة الأولى انخفاضاً في قيم العد الكلي لخلايا الدم البيض بعد ٧٢ ساعة في حين ارتفعت أعدادها معنوياً في حيوانات المجموعة الثانية خلال ٧٢ ، ٩٦ ساعة، في حين استمرت أعدادها بالانخفاض معنوياً في حيوانات المجموعة الثالثة إلى نهاية التجربة ٩٦ ساعة خلال ٤٨ ساعة، جدول رقم (٣).

جدول ٣: يوضح أعداد خلايا الدم البيض الكلي (خلية  $\times 10^3$  / ملم<sup>٣</sup>) في المجاميع المعاملة بتركيز مختلف من الحزمة b بالمقارنة بمجموعة السيطرة

المجاميع	الساعات	٢٤ ساعة	٤٨ ساعة	٧٢ ساعة	٩٦ ساعة
مجموعة السيطرة		$0.2 \pm 7.3^a$	$0.14 \pm 7.7^b$	$0.3 \pm 6.84^b$	$0.1 \pm 6.0^c$
المجموعة الأولى (٠.١ ملغم/كغم)		$0.8 \pm 6.7^b$	$0.4 \pm 13.1^a$	$0.8 \pm 6.7^b$	$0.5 \pm 8.6^b$
المجموعة الثانية (٠.٣ ملغم/كغم)		$0.4 \pm 4.8^b$	$0.12 \pm 6.6^c$	$0.2 \pm 10.65^a$	$0.5 \pm 11.1^a$
المجموعة الثالثة (٠.٥ ملغم/كغم)		$0.7 \pm 5.7^{ab}$	$0.4 \pm 5.3^d$	$0.7 \pm 7.2^b$	$0.1 \pm 5.4^c$

الحروف (a,b,c) المختلفة عمودياً تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال  $P < 0.05$ . القيم تمثل المعدل  $\pm$  الخطأ القياسي لـ ٢٤ حيواناً في كل مجموعة.

وقد أظهرت نتائج الدراسة تغيرات معنوية في مستوى خمائر المصل إذ ارتفع مستوى خميرة الاسبريتيت ناقلة الأمين AST في حيوانات المجموعة الثالثة التي عوملت بتركيز ٠.٥ ملغم/كغم من وزن الجسم منذ ٢٤ ساعة من الحقن مقارنة بمجموعة السيطرة إلى أعلى حد لها في الزيادة خلال ٩٦ ساعة مقارنة بمجموعة السيطرة، كما سجل ارتفاعاً معنوياً في قيمها في المجموعة الثانية خلال ٩٦ ساعة مقارنة بقيم مجموعة السيطرة، جدول رقم (٤)، في حين أظهرت نتائج الدراسة زيادة معنوية في مستوى خميرة الاندين ناقلة الأمين ALT في حيوانات المجموعة الثانية خلال ٧٢ ، ٩٦ ساعة مقارنة بمجموعة السيطرة عسي التوالي، في حين أظهرت حيوانات المجموعة الثالثة زيادة معنوية في مستوياتها منذ ٢٤ ساعة



من الحقل واستمرت الزيادة وبلغت أعلى حد لها خلال ٩٦ ساعة مقارنة مع مجموعة السيطرة، جدول رقم (٥).

جدول ٤: يوضح التغيرات في مستوى خميرة الأسبريت ناقلية الأمين AST (وحدة دولية/لتر) في المجموع المعاملة بتركيز مختلفة من الحزمة b بالمقارنة بمجموعة السيطرة

AST				الساعات المجاميع
٩٦ ساعة	٧٢ ساعة	٤٨ ساعة	٢٤ ساعة	
$٧,٦ \pm ١٢,٣^c$	$١,٣ \pm ١١,٧^b$	$٧,٦ \pm ١٠,٦^b$	$١,٢ \pm ١١,٣^b$	مجموعة السيطرة
$٢,٠ \pm ١٠^c$	$٩,٢ \pm ١٢,٧^b$	$١,١ \pm ٩,٧^b$	$٧,٦ \pm ١٠,٣^b$	المجموعة الأولى (0.1 ملغم/ كغم)
$٦,٢ \pm ١٦,٥^b$	$١,٥ \pm ١٣,٧^b$	$٢,٢ \pm ١٠,٥^b$	$١,٣ \pm ١٣^b$	المجموعة الثانية (0.3 ملغم/ كغم)
$١,٧ \pm ٥٩^a$	$٩,٧ \pm ٤١^a$	$٥,٦ \pm ٣٠,٣^a$	$٧,٦ \pm ٢٧,٧^a$	المجموعة الثالثة (0.5 ملغم/ كغم)

الحروف (a,b,c) المختلفة عمودياً تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال  $P < 0.05$ . القيم تمثل المعدل  $\pm$  الخطأ القياسي لـ ٢٤ حيواناً في كل مجموعة.

جدول ٥: يوضح التغيرات في مستوى خميرة الأنين ناقلية الأمين ALT (وحدة دولية/لتر) في المجموع المعاملة بتركيز مختلفة من الحزمة b بالمقارنة بمجموعة السيطرة

ALT				الساعات المجاميع
٩٦ ساعة	٧٢ ساعة	٤٨ ساعة	٢٤ ساعة	
$٦,٧ \pm ٢٦,٥^c$	$١,١ \pm ٢٢^c$	$٢,٩ \pm ٢٤^b$	$٦,٧ \pm ٢٠,٥^{bc}$	مجموعة السيطرة
$٧,٦ \pm ٢٥,٧^c$	$٦,٧ \pm ٢٣,٥^c$	$١,١ \pm ٢١,٣^b$	$١,٥٠ \pm ١٧,٥^c$	المجموعة الأولى (0.1 ملغم/ كغم)
$٢,٦ \pm ٣٤^b$	$٧,٦ \pm ٢٨,٧^b$	$٤,٥ \pm ٢١^b$	$٢,٠١ \pm ٢٢,٥^b$	المجموعة الثانية (0.3 ملغم/ كغم)
$٨,٩ \pm ٦٧^a$	$٤,٥ \pm ٤٩^a$	$١,٥ \pm ٥٢^a$	$٥,٦ \pm ٣٩,٧^a$	المجموعة الثالثة (0.5 ملغم/ كغم)

الحروف (a,b,c) المختلفة عمودياً تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال  $P < 0.05$ . القيم تمثل المعدل  $\pm$  الخطأ القياسي لـ ٢٤ حيواناً في كل مجموعة.

كما بينت نتائج الدراسة تثبيطاً معنوياً في نشاط خميرة الكولين ستراتز في جاتسة دماغ الجرذان المعاملة بتركيز مختلفة من الحزمة b إذ أظهرت حيوانات المجموعة الأرسى تثبيطاً معنوياً في نشاط الخميرة بنسبة ٤٨,٤% خلال ٧٢ ساعة في حين أظهرت حيوانات المجموعتين الثانية والثالثة تثبيطاً معنوياً في نشاط هذه الخميرة خلال ٢٤ و ٤٨ ساعة وبلغ أدنى مستوى لها خلال ٤٨ ساعة إذ بلغت نسبة التثبيط ٤١,٧% و ٥٠% لكل منهما على التوالي، جدول رقم (٦).

### المناقشة

أظهرت نتائج الدراسة إلى أن الأكياس العضلية العيانية كانت من نوع *S. gigantea* في مريء الضأن وظهت بأشكال بيضوية أو اسطوانية ومعدل أبعادها  $7,8 \times 2,8$  ملم، وهذه مطابقة لما ذكره الباحثون (١) ومقارب في وصفه وقياساته لما سجله (١٢) الذي وجد معدل إبعاد الأكياس  $8 \times 2,5$  ملم، و(١٣) وبمعدل  $7,5 \times 2,2$  ملم، ويتبين من خلال صبغة PAS إن معدل سمك جدار الطور الكيسي العياني الناضج ١,٥ ميكروميتر وأما سمك ذا تخطيطات عرضية مميزة وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره (١٢) الذي أكد إن سمك الجدار يتراوح ما بين ١-٢ ميكروميتر ومخطط شعاعياً وإن هذه الصفات تؤكد تطابقها مع نتائجنا. بلغت نسبة الخمج العياني في مريء الضأن ٩٤,٨% وهذا يتفق مع كل من (١٢)، (١٣) الذين سجلوا أعلى نسب خمج في مريء الضأن ٨٨% و ٩٥,٣% و ١٠٠% وعلى التوالي، كما يتفق مع (١٤) إذ وجد بأن لطيفلي المكيسات العضلية أعضاء مفضلة، ويعزى تفضيل لطيفلي *S. gigantea* للمريء لاحتوائه على نسب عالية من النوع الثاني من الألياف العضلية وهي ألياف حركية فعالة ومحللة للكلايوجين، فضلاً عن احتوائها على كميات كبيرة من ATPase و Myophosphorylase (١٥) إذ لوحظ إن عدد وحجم الأكياس العضلية العيانية تزداد بزيادة سمك وقطر الطبقة العضلية ولا سيما في عنق المريء وهذا ما أكدته (١٦) من إن سمك وقطر المريء يتناسب طردياً مع تقدم العمر في المجترات وخاصة في الضأن والمعز وهذا ما يفسر الارتفاع الحاصل في نسبة الخمج العياني لداء الأكياس العضلية في الأعمار الكبيرة (١٧)، وبالاعتماد على هذه النسبة العالية لخمج المريء فقد تم استخدامه كمصدر لجمع الأكياس العضلية العيانية الناضجة للنوع *S. gigantea* لأجراء الدراسة السمية.

جدول ٦: تأثير التراكيز المختلفة للحرمة B في نشاط خميرة الكولين استراز في دماغ الجرذان في الزجاج

النسبة المئوية للتثبيت	المجموعة الثالثة (٠,٥ ملغم/كغم)		المجموعة الثانية (٠,٣ ملغم/كغم)		المجموعة الأولى (٠,١ ملغم/كغم)		مجموعة السيطرة		المجموع
	النسبة المئوية للتثبيت	معدل التغير في الأها/ ٣٠ دقيقة ± الخطأ القياسي	النسبة المئوية للتثبيت	معدل التغير في الأها/ ٣٠ دقيقة ± الخطأ القياسي	النسبة المئوية للتثبيت	معدل التغير في الأها/ ٣٠ دقيقة ± الخطأ القياسي	النسبة المئوية للتثبيت	معدل التغير في الأها/ ٣٠ دقيقة ± الخطأ القياسي	
٦٦,٧	٥٠	٠,٠٠٣ ± ٠,١ <sup>b</sup>	٥٠	٠,٠٠٢ ± ٠,١٥ <sup>b</sup>	٦٠	٠,٠١٥ ± ٠,٢٤ <sup>a</sup>	-	٠,٠٤٥ ± ٠,٣٠ <sup>a</sup>	٢٤ ساعة
٥٠	٤١,٧	٠,٠٠٢ ± ٠,١٢ <sup>b</sup>	٤١,٧	٠,٠١٩ ± ٠,١٤ <sup>b</sup>	٨,٣	٠,٠١٤ ± ٠,٢٢ <sup>a</sup>	-	٠,٠١٥ ± ٠,٢٤ <sup>a</sup>	٤٨ ساعة
٣,٢	١٦,١	٠,٠٣٨ ± ٠,٣٠ <sup>a</sup>	١٦,١	٠,٠٣١ ± ٠,٢٦ <sup>a</sup>	٤٨,٤	٠,٠١٩ ± ٠,١٦ <sup>b</sup>	-	٠,٠٢٩ ± ٠,٣١ <sup>a</sup>	٧٢ ساعة
٨,٦	٢,٩	٠,٠٣٧ ± ٠,٣٣ <sup>a</sup>	٢,٩	٠,٠٣ ± ٠,٣٤ <sup>a</sup>	١٤,٣	٠,٠٣٨ ± ٠,٣٠ <sup>a</sup>	-	٠,٠٣٣ ± ٠,٣٥ <sup>a</sup>	٩٦ ساعة

الحروف (a,b,c) المختلفة عمودياً تكل على وجود فرق معنوي عند مستوى احتمال  $P < 0.05$ . القيم تمثل المعدل ± الخطأ القياسي لـ ٢٤ حيواناً في كل مجموعة.

كما أشارت نتائج الدراسة الحالية باستخدام الراسب أليروتيني لمستخلص الأكياس العضلية العيانية الناضجة لطفيي *S. gigantea* إلى أن الحزم البروتينية الناتجة من تقنية الترشيح الهلامي هي حزمتين a، b إذ ظهرت الحزمة a بعد ٤١,٥ دقيقة من بداية الفصل وبحجم روغان ٥٤ مل، أما الحزمة b فقد ظهرت بعد ١٢٠,٧ دقيقة من بداية الفصل وبحجم روغان ١٥٧ مل، وقد أشار الباحثون (١٨) باستخدام تقنية الترشيح الهلامي لمستخلص أليروتيني للأكياس المجهرية للنوع *S. tenella* المعزول من العضلات الهيكلية لضأن إسي وجود خمسة أجزاء بروتينية لهذه الأكياس، إن الاختلاف الحاصل بين هذه الترامدة والترامدة المشار إليها أعلاه قد يعود لاختلاف نوع الطفيي ومصدره إذ اشتملت الدراسة النهائية على النوع العياني المعزول من مريء الضأن فضلا عن الاختلاف التقني والذي يشير إلى طريقة الترسيب واستخلاص المادة البروتينية الخام من الأكياس العيانية ولإبعاد مصدر الفصل الزجاجي والتي كانت  $106 \times 2,4$  سم وحجم ٣٤٦ مل وسرعة جريان ٢,٦ مل/دقيقة دور في اختلاف هذه النتائج.

ومن ناحية أخرى بينت الدراسة الحالية أن الوزن الجزيئي التقريبي للحزمة أليروتينية b بتقنية الترحيل الكهربائي كانت ٢٧٤١٠ دالتون، وهذه النتيجة تتفق مع مبدوت إمكانية الفصل لمادة الهلام Sephadex G-50 والتي تقع ما بين ١٥٠٠-٥٠٠٠٠ دالتون، وهذا أكده (١٩) من إن المادة السمية لطفيي *S. gigantea* تكون بأوزان جزيئية أقل من ٥٠٠٠٠ دالتون، وهذه النتيجة تتفق مع ما وجدته (٢٠) من إن الوزن الجزيئي التقريبي لمستخلص حويئات النوع ألمجهرى *S. cruzi* المعزول من العضلات الهيكلية للأبقار أكثر كانت من ٨٠٠٠ دالتون وقد يعزى الاختلاف في الوزن الجزيئي التقريبي إلى نوع الطفيي والمصدر الحيواني المعزول منه، فضلا عن مصدر المستخلص أليروتيني (أكياس عيانية أو مجهرية أو حويئات الكيس) والتقنية المستخدمة، بينما تمكن الباحثون (٢١) من عزل مستخلص أليروتيني للأكياس العيانية لطفيي *S. gigantea* إلى جزأين، الأول (SGL) *S. gigantea* lectin إما الثاني فهو *S. gigantea* toxin fraction (SGTF) باستخدام تقنية Affinity chromatography، إذ إن SGL له قابلية على تشطير Mitogenic الخلايا وحيدة السواء والذي له تأثير معاكس للعمل السمي لـ SGTF.

كما بينت نتائج دراستنا أن الجرذان حساسة جدا للتأثير السمي للحزمة a المستخلصة من الراسب أليروتيني للأكياس العيانية لطفيي *S. gigantea* عند حقنها في الذب إذ بلغت الجرعة المميتة الوسطية للجرذان ٠,٦٧ ملغم/كغم من وزن الجسم، أما الباحثون (١٨) فقد

بينوا إن المادة السمية المستخلصة من الأكياس المجهرية لطفيلي *S. tenella* ذات تأثير مدمت سريع جدا على الأرانب وبتركيز (٠,٨ ، ٠,٤) ملغم/كغم من وزن الجسم وعلى التحوالي إلا إن (٢٢) أشاروا إلى إن الفئران والأرانب كلاهما حساس جدا للتأثير السمي القاتل للاستخدام البروتيني الخام للأكياس العيانية لطفيلي *S. fusiformis* المعزول من عضلات مريء الجاموس وبتركيز 2 ملغم/كغم من وزن الجسم، بينما أظهرت نتائج دراسة (٢٣) من إن الأرانب فقط حساسة للتأثير السمي للمستخلص البروتيني للأكياس العيانية لطفيلي *S. gigantea* في حين لم تظهر الجرذان والفئران والهامستر وخنزير غنيا أي حساسية لهذا التأثير. إن ما يعزز وجود سم عصبي Neurotoxin في الحزمة b، هو ظهور العلامات العصبية التي ظهرت على جرذان المجاميع الثلاث المعاملة بتراكوز مختلفة من الحزمة b وهذا ما أكدته (٢٤)، والذي أدى إلى انخفاض معنوي واضح في مستوى خميرة الكولين استراز في دماغ الجرذان المعاملة إذ يعزى ظهور التشنجات العضلية والحركات اللاإرادية والرجفة والشلل إلى التأثيرات النيكوتينية Nicotinic effect للاستيل كولين نتيجة التثبيط الحاصل لخميرة الكولين استراز إذ يؤدي هذا التثبيط إلى تجمع أو تراكم الاستيل كولين في الأنسجة مما يسبب ظهور تأثيراته السمية. وجاءت هذه الأعراض المرضية مطابقة لنتائج الباحثين (٢٥)، على الضأن المخمجة تجريبيا بطفيلي المكومبات العضلية إذ سجلوا أعراضا عصبية مثل رآة حركة العين Nystagmus وتقومر الظهور Opisthotonus الشلل والرجفة والرقود ثم الموت إذ تكون الأعراض في الضأن والمعز اشد مما هي عليه في الأبقار، كما جاءت مطابقة مع نتائج (٢٦) على الأرانب تجريبيا، فبالا عن (٢٠) في تفسيره لظهور الأعراض العصبية على الجراء التي تناولت لحوم الأبقار المخمجة بالتنوع أمجهرى لطفيلي *S. cruzi* والذي عزى إلى تأثير العامل السمي أكثر من تأثير الطفيلي نفسه الذي يستهدف الأمعاء.

أوضحت نتائج تغيرات صورة الدم المتمثلة بانخفاض تركيز خضاب الدم وحجم خلايا الدم المرصوصة في الجرذان المعاملة بتراكيز مختلفة من الحزمة b إلى حدوث فقر الدم الانحلالي والتي تتفق مع ما ذكره (٢٧) من إن الخمج يؤدي إلى إحداث انخفاض سريع في حجم خلايا الدم والذي يعزى إلى فقدان الدم أو تحلله في الأسبوع الثالث والرابع من الخمج وبنسبة ٢٠% في الحيوانات المصابة بالطور الحاد والمعتدل، مسببا للزيادة في العدد الكلي لخلايا الدم البيض إذ يترافق فقر الدم الانحلالي مع زيادة فعالية نقي العظم (٢٨).

كما إن الزيادة في مستوى خميرة الالانين ناقلة الأمين ALT وخميرة الاسبرثيت ناقلة الأمين AST اتفقت مع ما لاحظته كل من (٢٥) وتتشابه هذه التغيرات في مستوى لزيومات

ALT وAST مع ما وجدوه (٢٩) على الضأن المخمجة تجريبيا بطفيلي المكيسات العضلية في الطور الحاد وهذا ما أكدته (٣٠) من إن الخمج بطفيلي المكيسات العضلية يسبب تغيرات في مستوى إنزيمات بلازما الدم والأنسجة في الطور الحاد وبداية الطور المزمن من الخمج، تمثل الزيادة في مستوى خميرة الألتين ناقلة الأمين ALT في مصل الجرذان المعدلة انعكاساً لتتسكس أو تحطم في خلايا الكبد، أما الزيادة الحاصلة في مستوى خميرة الأسبرينيت ناقلة الأمين AST فإنها ذات قيمة في دعم تشخيص التتسكس العضلي إذ تظهر هذه الخميرة بتركيز عالية جدا في العضلات الهيكلية والقلبية فضلا عن إن مستوى هذه الخميرة يزداد مع حدوث حالات التتسكس الكبدية إذ إن الأوقات المرضية والتتسكس قد يصيب الخلايا الكبدية والعضلات المخططة والقلبية أو كلاهما مما يسمح بهروب كميات كبيرة من هذه الخميرة إلى الدم مما يؤدي إلى زيادة مستواها في المصل.

#### المصادر

- 1- Marquardt WC, Demaree RS, Grieve RB. *Sarcocystis* and *Sarcocystosis*. In: Parasitology and Vector Biology, 2<sup>nd</sup> Edition. Academic Press. 2000: 178-183.
- 2- Markos MB. *Sarcocystis* and *Sarcocystosis* in domestic animals and man. *Adv Vet Sci Comparative Med* 1978; 22: 159-188.
- 3- Center for Food Security and Public Health College of Veterinary Medicine, Iowa state University, Institute for International Cooperation in Animal Biologics 2005; *Sarcocystosis*: 1-6.
- 4- Foreyt WJ, Parish SM, Leathers CW. Bovine *Sarcocystosis*: How would you handle an outbreak. *Vet Med* 1986; 81: 275-279.
- 5- Luna LG. *Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology*. 3<sup>rd</sup> Ed. McGraw-Hill Book Company, New York, 1968: 1-46, 236.
- 6- Schacterle GR, Pollack RL. A simplified method for the quantitation assay of small amount of protein biological material. *Anal Biochem* 1973; 51: 654-655.
- 7- Leenenli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage *Nature* 1970; 14: 227,680.
- 8- Dixon WJ. Efficient analysis of experimental observations. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 1980; 20: 441-462.
- 9- Coles EH. Leukocytes. In: *Veterinary clinical pathology*. 4<sup>th</sup> ed. WB Saunders company Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Riode Janeiro, Sydney, Tokyo, Hong Kong, 1986: 43-74.
- 10- Mohammad FK, Faris GAM, Al-Kassim NA. A modified electrometric method for measurement of erythrocyte acetylcholinesterase activity in sheep. *Vet Hum Toxicol* 1997; 39: 337-339.
- 11- Petrie A, Watson P. *Statistics for veterinary and Animal Science*, Blackwell Publishing. 1999.
- ١٢- الدليمي، جواد كاظم علي. دراسة في وبائية داء الحويصلات المنوبرية في الاغنام في مدينة بغداد. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، بغداد، العراق. ١٩٩٢.

- ١٣- الطائي، مجيد حمود حسين. دراسة في وبائية داء الأيكباس السنوبرية في الإنسان وحيوانات المزرعة في محافظة ديالى. أطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، بغداد، العراق. ٢٠٠٢.
- ١٤- الحمد، نعمان ناجي عايز. دراسة وبائية في داء الحويصلات السنوبرية في الجمال في محافظة القادسية. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد. ١٩٩٩.
- 15- Powell EC, Pezeshkpour G, Dubey JP, Fayer R. Types of myofibers parasitized in experimentally induced infections with *Sarcocystis cruzi* and *Sarcocystis capricanis*. Am J Vet Res 1986; 47(3): 514-517.
- ١٦- جعفر، سميرة عيسى وحسان، نجاح هاشم. دراسة شكلية - قياسية للمريء في الاغنام والمعاز المعدية باعمار مختلفة، مجلة التربية والعلم، ٢٠٠٠؛ 40 : 27-35.
- 17- Abo-Shehada MN. Age variations in the prevalence of Sarcocystosis in sheep and goats from northern and central Jordan. Preventive. Vet Med 1996; 27: 135-140.
- 18- Senaud J, Vendrely R, Tronche P. Sur La nature de la substance toxique des kystes de Sarcosporidies du mouton (Toxoplasmea), active sur le Lapin. C.R. Acad. S.C. Paris, Serie D, 1968: 266, 1137-1138.
- 19- Montag T, Brose E, Kiessig S, Weichold F, Coupek J. Isolation and partial characterization of a lectin and other proteins of *Sarcocystis gigantea*. Presented at the 13<sup>th</sup> conference of World Association for Advancement. Vet Parasitol, Berlin, GDR, 1989: 1-17.
- 20- Fayer R, Andrews C, Dubey JP. Lysates of *Sarcocystis cruzi* bradyzoites stimulate RAW 264.7 macrophages to produce tumor necrosis factor (cachectin). J Parasitol 1988; 74(4): 660-664.
- 21- Tietz HJ, Brose E, Widera P, Gantenberg R, Volk HD, Hiepe F, Mann W, Montag T. Studies on immunomodulating activities of proteins obtained from *Sarcocystis gigantea*. Presented at the 3<sup>th</sup> conference of World Association for Advancement. Vet Parasitol. Berlin, GDR, 1989: 1-19.
- 22- Saleque A, Bhatia BB, Juyal PD, Rahman H. Toxicity of cyst extract of *Sarcocystis fusiformis* from buffalo in rabbits and mice. Vet Parasitol. 1991; 38: 61-65.
- 23- Brose EE, Tietz HJ, Montag T, Widera P, Volk HD, Hiepe F, Kiessig S, Mann W, Jungmann R, Schmidt G, Hiepe T. *Sarcocystis gigantea* influences host reaction. Presented at the 13<sup>th</sup> Conference of World Association for the advancement of veterinary Parasitology, berlin, GDR, 1989; 71: 7-11.
- 24- Pamphlett R, Odonoghue P. *Sarcocystis* infection of human muscle. Aust NZ J Med 1990; 20: 705-707.
- 25- Markus MB, Van der Lugt JJ. In Sarcocystosis 1998; Vol II, Chapter 19: 253-265.
- 26- Euzéby J. Les Sarcocystoses zoonosiques: des coccidioses a *Sarcocystis* ala myosite eosinophilique Sarcocystique. Bull Soc Path Ex 1997; 90(3): 200-204.
- 27- Mahaffey EA, George JW, Duncan JR, Prasse KW, Fayer R. Hematologic values in calves infected with *Sarcocystis cruzi* Vet Parasitol. 1986; 19: 275-280.
- 28- Haen PJ. Principle of haematology. WMC Brown Communications, Inc. USA, 1995: 214-221.
- 29- Jeffrey M, Low JC and Ugglia A. A myopathy of sheep associated with *Sarcocystis* infection and monensin administration. Vet Rec 1989; 124: 422-426.
- 30- Faugschies A, Hintz J, Henning M, Rommel M. Growth performance, meat quality and activities of glycolytic enzymes in the blood and muscle tissue of calves infected with *Sarcocystis cruzi*. Vet Parasitol 2000; 88(1-2): 7-16.