

دراسة عزل وتشخيص طفيلي *Toxoplasma gondii* في جنين الدجاج

م.م. حيدر علي ناصر

كلية العلوم - قسم علوم الحياة

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة على ١٠٢ بيضة مخصبة وقسمت الى مجموعتين (وحسبفترة حضانة) وبصورة متساوية بالعدد المجموعة الاولى ان البيضة بفترة حضانة ١-٥ يوم والمجموعة الثانية ان البيضة بفترة حضانة ٦-١٥ يوم وان الهدف من الدراسة هو تقصي ومعرفة تاثير الطفيلي على تطور جنين الدجاج واشتتت نتائج الدراسة وجود الطفيلي في المح باعداد اكثر من البياض والكلازا بالاضافة الى ان الطفيلي يبقى في الكلازا لحين تكسرها وعدم وجود الطفيلي على القشرة ويوجد الطفيلي في الدماغ والقلب والكبد مما يؤدي الى حدوث تتخر في هذه الاعضاء من ثم موت الجنين في المراحل المتقدمة.

Abstract

This study involved 102 fertilizer eggs were divided into two groups According to age with evenly in numbers the first group include 1-5 days in age while the second group include 6-15 days in age, the aim of this research is studythe effect of *Toxoplasma gondii* on development of chicken embryo.The results showed high presentof paraste in yolk from albomineandchalaza, the *Toxoplasma gondii* stay in chalaza until destroy while no found in shell, but present in brain, liver and heart that lead to necrosis of this organs and death of embryo in last stages

ان داء المقوسات Toxoplasmosis احد الامراض المعدية الذي ينتشر في جميع انحاء العالم وهو مرض خطير ويعتبر من الامراض المشتركة بين الانسان والحيوان Zoonotic disease ويسببه طفيلي *Toxoplasma gondii* الذي يعيش داخل الخلية (اجباري المعيشة) Obligate intracellular (١).

اما المصادر الاكثر شيوعا لاصابة الانسان هي ابتلاع الاكياس النسيجية Tissue cysts في اللحوم غير المطبوخة جيدا او الطعام والماء الملوث باكياس البيض المتبوعة Sporulateoocyst او عن طريق الانتقال المشيمي (٢).

ان داء المقوسات يسبب مجموعة واسعة من المتلازمات السريرية في البشر والحيوانات على الرغم من ان معظم الافراد لاتواجههم اي اعراض ولكن يمكن ان يكون هذا المرض خطير جدا وشديدا ومهددا للحياة وحتى يتسبب بموت بعض الافراد بما في ذلك الاجنة والاطفال حديثي الولادة والنساء الحوامل والاشخاص الذين يعانون من ضعف في الجهاز المناعي (٣).

تعد الطيور احدى المضائف الوسيطة المهمة التي ينتقل اليها الطفيلي جراء تغذيتها على اكياس البيض المتبوعة مع الاعلاف الملوثة ببراز القطط وان الدراسات في الطيور قليلة جدا مما ادى الى بقاء هذا المرض في الدواجن غير واضح (٤). وعلى الرغم من تسجيل حالات متفرقة من داء المقوسات في الدجاج والرومي وتكمن اهمية المرض من امكانية انتقاله الى الانسان عن طريق اكل لحوم الدواجن المصابة بالمقوسات الكوندية (٥).

المواد وطرائق العمل

اجريت هذه الدراسة في جامعة واسط/ كلية التربية وكلية العلوم/ قسم علوم الحياة واستخدم فيها ١٠٢ بيضة مخصبة (من قضاء الحي والموقفية وناحية الاحرار) وقسمت الى مجموعتين و حسب العمر، المجموعة الاولى بواقع ٥١ بيضة بفترة حضانة ١-٥ يوم والمجموعة الثانية ٥١ بيضة بفترة حضانة ٦-١٥ يوم ووضعت في الحضانة على درجة حرارة ٣٧ ° درجة مئوية وتم التحري عن الطفيلي عن طريق عمل مسحات من قشرة

البيض والمح والبياض والكلازا وصبغها بصبغة الكمزا فضلا عن دراسة التغيرات النسيجية في اجنة الدجاج وفحص الصفات التشريحية للقلب والكبد وتم الاحتفاظ بهما في محلول الفورمالين ١٠% وبعدها حضرت المقاطع النسيجية

وصبغت بصبغة الهيماتوكسلين وايوسين وحسب طريقة (7).

* عزل وتشخيص طفيلي *Toxoplasma gondii* في الفئران

وهي طريقة يتم فيها عزل وتشخيص طفيلي *Toxoplasma gondii* في الفئران حيث يتم اخذ عينة من جنين الدجاج المصاب بطفيلي *Toxoplasma gondii* وحقنه في التجويف البطني في (٥) فئران وبعد مرور ٣-٤ اسابيع شرحت الفئران وحضرت منها شرائح نسيجية للدماغ والكبد للتأكد من التشخيص وحسب الطريقة (8).

النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج عزل وتشخيص طفيلي في المجموعه الاولى وجود الطفيلي بشكل الاكياس النسيجية في البياض والمح والكلازا وكانت كالتالي : ١. في البياض : يلاحظ وجود الاكياس النسيجية بسهولة وتكون سريعة التكاثر وذات اعداد قليلة وذلك بسبب ان مادة البياض هي عبارة عن مادة بروتينية يمكن اختراقها بسهولة من قبل الطفيلي بسهولة كما يلاحظ في الشكل (١) وهذا يتفق مع (٩)

٢. في المح (الصفار) : يلاحظ وجود الاكياس النسيجية بسهولة واعداد كثيرة وذلك لان المح عبارة عن مادة دهنية ويمكن اختراقها بسهولة وهذا يتفق مع (١٠) كما يلاحظ في الشكل (٢)

٣. في الكلازا : ان الكلازا هي عبارة عن شبكة من الالياف البروتينية الملتفة حول المح والتي تقوم بتنشيط جنين من الجانبين وعند فحص هذه الشبكة تحت المجهر يلاحظ الاكياس النسيجية للطفيلي داخل الشبكة وبأعداد كبيرة ولا يمكن للطفيلي الانتقال من هذه الشبكة ودخول الى المح كما يلاحظ في الشكل (٣).

٤. قشرة البيض: نادرا ما يلاحظ وجود الاكياس النسيجية في قشرة البيض وعند المقارنة بين نمو وتكاثر الاكياس النسيجية في البياض والمح والكلازا استنتج ان المح قد تأثر بشدة بأكياس النسيجية اكثر من البياض

والكلازا وذلك بسبب وجود الجنين في المح وهذا يتفق مع ما اشار اليه (١١) او قد يعود السبب ان الاجنة في عمر ١-٥ ايام لاتزال مناعتها في طور التكوين وهذا يتفق مع (١٢) حيث يلاحظ عدم وجود المناعة خلال هذه الفترة والسبب ان الجهاز المناعي غير كامل التكوين . ويلاحظ عند فحص قشرة البيض عدم وجود الاكياس النسيجية التابعة للطفيلي وذلك لان الطفيلي قد دخل الى داخل البيضة وهذا يتفق مع (١٣) .

*المجموعه الثانيه تم تشخيص وجود الطفيلي بشكل الاكياس النسيجية في الدماغ و الكبد وكانت كالتالي :

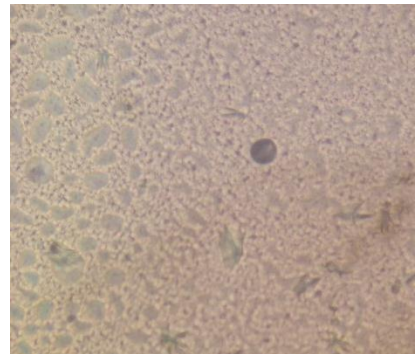
٥.التغيرات النسيجية في الدماغ : واجنة الدجاج المجموعه الثانية ذات عمر ٦-١٥ يوم اظهرت المقاطع النسيجية لادمغه الاجنة المصابة بالطفيلي وجود وذمه حول الخلايا والاوعية الدموية وتتكس شديد في العصبيات العصبية وتنخر في خلايا اخرى وازالة النخاعين بالاضافة الى وجود الدباق البؤري والمنتشر في المادة السنجابية عند الطبقة الحبيبية فضلا عن تواجد الاجسام الاشتمالية الكاذبة وتجمع للاكياس النسيجية في طبقة القشرة . كما يلاحظ في الشكل (٤)

٦.التغيرات النسيجية في الكبد :تمثلت التغيرات النسيجية لأكباد الاجنة المصابة بالطفيلي توسع شديد في الاوردة المركزية والجيبانيات وامتلائها بكريات الدم الحمر مع تنخر في الخلايا الكبدية القريبة من الاوردة المركزية ووجود الاكياس النسيجية في الخلايا الكبدية . كما يلاحظ في الشكل (٥)و سبب حدوث الوذمه التي ظهرت في المقاطع النسيجية هو زيادة في نضوحية الاوعية الدموية بسبب نقص الاوكسجين بفعل المواد التي يفرزها الطفيلي والتي تؤدي الى تجمع السوائل والبروتين بين خلايا النسيج (في الكبد والدماغ) وهذا يتفق مع (١٤) .

وان سبب حدوث الدباق البؤري في الدماغ ان هذه الخلايا عبارة عن خلايا دفاعية في النسيج العصبي وتعد من الخلايا البلعمية التي تقوم بتنظيف الدماغ من التلف والنخر الناتج عن الاصابة بالطفيلي ولذلك تتضخم هذه الخلايا عند حدوث تلف في النسيج العصبي وتأخذ شكلا مدورا وهذا يتطابق مع ما اشار اليه (١٥).

التغيرات النسيجية تحدث بسبب :

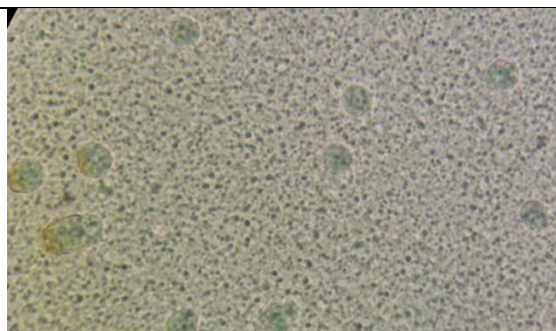
ان اختراق الطفيلي لأنسجة الدماغ والكبد يتم بطريقة فعالة ثم يتضاعف داخلها او قد يعود سبب حدوث هذه التغيرات النسيجية الى قابلية الطفيلي الى اختراق انسجة الاعضاء والذي يحفز العضو على تحرير بعض الوسائط الكيميائية الموسعة للأوعية الدموية في الدماغ والكبد والتالي تزيد من قابلية اختراق الطفيلي لجدار الاوعية الدموية والأنسجة الاخرى وتجمع مكونات الدم و الدهون داخل الجدار وقد تلتهم من قبل الخلايا البلعمية او تبقى بشكل فجوات في الجدار وهذا يتفق مع (١٦) ، ان اصابة البيض بالطفيلي وتطوره داخل البيضة اصبح يعد احدى طرق انتقال الطفيلي الى الحيوانات والانسان وهذا يتفق مع (١٧) ان تناول البيض المخمخ بالطفيلي من قبل الانسان بطريقة غير مطبوخة جيدا تعد طريقة اخرى لاصابة الانسان بالطفيلي بالاضافة الى ان هناك عدة مصادر لنقل الطفيلي للانسان والحيوانات الداجنة مثل اللحوم غير المطبوخة جيدا وخاصة لحوم الاغنام والماعز والابقار والتي تحوي على اكياس نسيجية وهذا يتطابق مع ما اشار اليه في (١٨) .



الشكل (١)

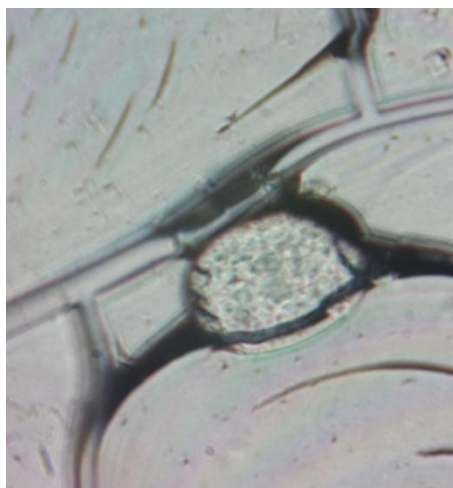
صورة نسيجية لمقطع في البياض (لجنين الدجاج بعمر ٢ يوم) يلاحظ وجود الاكياس النسيجية للطفيلي الصبغة الكمزا

قوة التكبير ١٠X



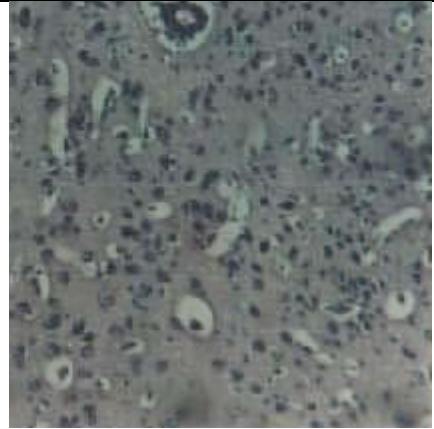
الشكل (٢)

صورة نسيجية لمقطع في المح (لجنين الدجاج بعمر ٥ يوم) يلاحظ وجود الاكياس النسيجية للطفيلي وباعداد كثيرة الصبغة الكمزا
قوة التكبير ١٠X



الشكل (٣)

صورة نسيجية لمقطع في الكلازا (لجنين الدجاج بعمر ٢ يوم) يلاحظ وجود الاكياس النسيجية للطفلي ليداخل الشبكة الكلازا
الصبغة الكمزا
قوة التكبير ١٠X



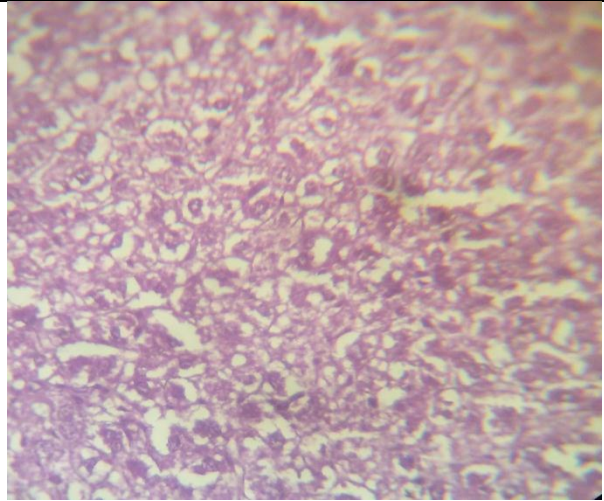
الشكل (٤)

صورة نسيجية لمقطع في الدماغ (الجنين الدجاج بعمر ١٣ يوم) يلاحظ وجود الاكياس النسيجية للطفيلي بين الخلايا العصبية مع وجوده حول الخلايا والاعوية الدموية وتتكس الشديد في العصبية العصبية وازالة النخاعين بالإضافة الى وجود الدباق البؤري

الصبغة الهيماتوكسلي نوالاوسين

(H&E)

قوة التكبير ١٠X



الشكل (٥)

صورة نسيجية لمقطع في الكبد (جنين الدجاج بعمر ١٣ يوم) يلاحظ وجود الاكياس النسيجية للطفيلي وتوسع شديد في الاوردة المركزية والجيبانيات مع تنخر في الخلايا الكبدية القريبة من الاوردة المركزية ووجود الاكياس النسيجية في الخلايا الكبدية الصبغة الهيماتوكسلين والايوسين

(H&E)

قوة التكبير X ١٠

References

- 1-Nelson, K.E. and williams,C.M.(2014).Toxoplasmosis in infections disease epidemiology . 3rd edition Burlington, MA Jones, Bartlett learning .P:420 - 425.
- 2-Robeat-G.F and Darde , M.L.(2012).Epidemiology and diagnostic strategies for Toxoplasmosis.C.I., *Micro bio. Rev.*, 25(2): 264-296 .
- 3-Abdulgohaimen, N. and Mezban, S.(2010).Evaluation of Apoptotic Proteins cp53 and Bcl-2 expression in trophoblastic tissue of women infecte with Toxoplasma Gondii diagnosed by polymerase chain reaction. *Egypt .Acad. J. biology .sci.2* (2):49-57.
- 4-Kavetz, J and Federman , D.(2005).Toxoplasma in pregnancy . *Am. J. med.*(118)p: 212-216.
- 5-Hunter, C.A.andsibley, L.D (2012). The comples life .cycle of Toxoplasma Gondii.,*Nature. REV. Microbiol.* 10:766-778.
- 6-Montoya, J. (2002). Laboratory diagnosis of Toxoplasma gondii infection and Toxoplasma .*J. Infection .DIS*, 185(1):73-82.
- 7- Bancroft, J.D& Steven, A.D.(1982). Theory & Practice of Histological Technique .Third edition .Churchill Living ston , New york .P: 72-80.
- 8- Dubey , p; Grahem ,D.H; Dahl, E; sreekumar,c;lemann, T; Devis, M.F.andmorishita,T.T(2003).Toxoplasma gondii isolates from free-Ranging chickens from united states .*J.para*.89(5): 1060-1062.
- 9-Beitrame, M.A., pena, H.F., Ton, N.C. and Line,S (2012). isolation ofToxoplasma gondii from. Free range chickens from spirit santo state, southeastern Brazil, *J .vet. Paras* . 188:225-230.
- 10-Alexander,D.M., marcio, D .B. ,Rosemeri ,D.O. and Rosangela,C.M.(2014).use of embryonated membranes in the standarqization of immunehistochemistry protocols for Toxoplasma gondii. *Rev. Bras. Med .vet.* 36(4):401-404.
- 11- Toshia,k(1961). studies an experimenalTox. Plasma chickens. *J vet Res.* 9(2) : 125-126.
- 12- Que, x: Wunderlich ,A ; Joine ,A .K&Reed ,S.L(2004).Toxopin -1is critical for infection in a novel chicken embyo model of congenital oxoplasmosis.*Inf.Immun*,27(5) : 2915-2912.
- 13- Dubey ,J.P (2010). Toxoplasma gondiinfectins in checkens (Gallus domesticus): prevalence , clinical disease, Diagnesis and puplic Health significance , *J . para* , 57 : 60-73.
- 14- Leon , J. and Marorie, L (1966).Toxoplasmosis in chickens .*J. para* .52: 1158-1162.



- 15- Fisher , H.G; Nitgen, B and Handing .U.(1997). cytokine responses by Toxo plasma gondii in astrocytes and microglial cells . *Eur. J. Immunol.*27:1534-1548 .
- 16- Jacobs, L. & melton , m.l (1966).Toxoplasmosis in chickens .*J parasitol* . 52: 1158-1162.
- 17- Luft, B.J. and chua, A. (2000).central nervous system Toxoplasmosis in HIV. Pathogenesis, diagnosis, and therapy .*curr. Infect. Dis. Rep.*2:358-362 .
- 18- Dubey ,J .p (1994).Toxoplasmosis .*J.Am . vet . med Assoc* . 205 p : 1593-1598.