

مدى انتشار طفيلي المصورة *Plasmodium* المسبب لمرض البرداء
(الملاريا) في الدجاج في محافظة صلاح الدين

مولود محمد شذر عاليه يوسف يعقوب

فرع الطفيليات - كلية الطب البيطري - جامعة بغداد - بغداد - العراق.

تاريخ الاستلام 2001/11/24 تاريخ القبول 2002/5/2

الخلاصة

تضمنت الدراسة محورين، شمل الاول دراسة انتشار طفيلي المصورة المسبب لمرض البرداء في الدجاج في مناطق مختلفة من محافظة صلاح الدين، وكانت نسبة الاصابة 3.16 % من مجموع 443 عينة دم مفحوصة. وجدت اطوار مختلفة من الطفيلي تمثلت بشكل الناشطة و المفلوقات وبدرجة اقل الامشاج. المرحلة الثانية هي مرحلة الاصابة التجريبية ، اذ بينت امكانية احداث الاصابة التجريبية في الانفراخ بعمر 7 ايام عن طريق حقن الدم في غشاء الخلب وكانت الفترة قبل البانة 9-12 يوم و تراوح مستوى الطفيليية بين 0.1 - 1.2 %، اما اشكال الطفيلي فتمثلت بشكل الناشطة الحلقى والنصف الحلقى، المفلوقات ثم الامشاج. ظهرت على الانفراخ علامات سريرية وهي الشال والشحوب والهزال وافات عيانية تمثلت بأحتقان الكبد والطحال مع تضخمها، احتقان الدماغ مع اختفاء التلاقيف المخية. تمت ملاحظة الاطوار خارج كريات الدم الحمر في الخلايا المنافية للكبد و الطحال، بینت الدراسة وجود ارتفاع في الخلايا المنافية في مجموعة الاصابة مقارنة بمجموعة السيطرة. اكدت الدراسة على امكانية استعمال مستضد المصورة المسببة لبرداء الانسان في تشخيص برداء الطيور بطريقة الاستشعار المناعي غير المباشر (IFAT).

DISTRIBUTION OF PLASMODIUM PARASITES CAUSING MALARIA AMONG LOCAL CHICKENS IN SALAHUDDIN PROVINCE , IRAQ.

M.M. Shader

A. Y. Akoob

Department of Parasitology – College of Veterinary Medicine – University of Baghdad – Baghdad – Iraq.

Summary

This study included two stages, the first one was as epidemiological study of malaria in the local chickens of variuos areas in Salahuddin province the infection rate was 3.16 % out of 433 samples taken. There was different blood stages of the parasite which are represented by trophzoites, schizonts and to less extent gametocytes. The second stage was the experimental study,

which showed the ability of induction of infection via intraperitoneal blood inoculation (subinoculation technique). Prepatent period was represented by the presence of trophozoites in schizonts and gametocytes. The most important clinical signs was partial paralysis , dullness and emaciation. The pathological changes showed congestion and enlargement of liver and spleen. congestion of brain with absence of exo-erythrocytic mild lymphocytosis in the infected group. it was concluded the ability of diagnosis of avian malaria using human malaria antigen by the indirect fluorescence antibody technique.

المقدمة

بعد داء البرداء (المalaria) احد الامراض التي تصيب الطيور و لاسيما الدواجن و الذي تسببه احد الاولى الدموية من جنس *Plasmodium* و النوعين الشائعين في الدواجن هما *P. gallinaceum* و *P. juxtanuclear*⁽¹⁾. يوجد ما يقارب 65 نوع من البرداء تصيب 450 نوعاً من الطيور ومنها 35 نوعاً الاكثر شيوعاً⁽²⁾. تمتاز دورة حياة الطفيلي بوجود مرحلتين الاولى لا جنسية في المضيف الفقاري حيث يحدث التكاثر الانفلقي في الكريات الحمر والخلايا البطانية للأعضاء الداخلية والاخرى جنسية في المضيف اللافقاري وهي اناث بعض اجناس *Culex* و *Aedes* و *Armigeras*⁽³⁾.
تشير البحوث الحديثة الى سعة انتشار المرض – اذ سجلت نسبة اصابة في اسيا 6% و في امريكا الجنوبية 36.9%⁽⁴⁾، وفي البرازيل 33%⁽⁵⁾ و شبه الصحرااء الافريقية 7.5%⁽⁶⁾، وفي الوطن العربي سجلت الاصابة في كل من مصر و سوريا وبنسبة 37% و 24% في الطيور المحلية والمستوردة⁽⁷⁾، وفي العراق سجل Shamsuddin & Mohammed⁽⁸⁾ نسبة اصابة 1.4% في الطيور البرية، ووجد الاولوسي واخرون⁽⁹⁾ نسبة اصابة 2.8% في الديك الرومي.

المواد وطرق العمل

جمعت 443 عينة دم من الدجاج المحلي ابتداءً من منتصف شهر تشرين الاول 1998 ولغاية شهر اذار 1999 في مناطق مختلفة من محافظة صلاح الدين – العراق.
اخذت عينات من وريد الجناح وعملت مسحات خفيفة ثم تركت لتجف وثبتت بالکحول الميثيلي لمدة 3-2 دقيقة وصبغة بصبغة الكمرا Giemsa بتركيز 5%， ثم فحصت تحت المجهر على العدسة X 1000⁽¹⁰⁾.

خلال المسح الميداني اختيرت حالتين من الدجاج مصابتين بالبرداء و بنسبة طفل دموي (طفيلي) 0.2%， جلبت افراخ لحم عدد 15 و بعمر يوم واحد، تركت 7 ايام، ثم قسمت الى مجموعتين،

المجموعة الاولى ضمت 10 افراخ واعتبرت مجموعة اصابة، وضمت المجموعة الثانية 5 افراخ اعتبرت مجموعة سيطرة .

حققت مجموعة الاصابة وبعمر 7 ايام بجرعة 0.5 مل من الدم المصايب داخل البريتون، جرت مراقبة الافراخ يومياً لمتابعة العلامات السريرية التي تظهر عليها ولمدة ثلاثة اشهر. أخذت مسحات دموية من الوريد الجنحاني للافراخ المصابة مررتين في الاسبوع ولمدة اربعة اسابيع لتشخيص الطفيلي وملاحظة الاطوار الدمية وحساب الطفيليمية⁽¹¹⁾.

تم جمع الدم من الافراخ المصابة بواقع 2 مل وحفظت بأنابيب بلاستيكية، وتم الحصول على مستضدات بصورة شرائح زجاجية محفزة وثبتة مسبقاً من مختبر الصحة في مستشفى كركوك العام، وتم اجراء الاختبار في مختبر الطفيلييات في كلية الطب البيطري - بغداد⁽¹²⁾.

النتائج

اظهرت الدراسة نسبة اصابة الدجاج المحلي بطيفلي البرداء في محافظة صلاح الدين كانت على النحو الاتي :

في اطراف قضاء بلد 6.56 % وسوق الدجاج في قضاء بلد 4 % ولم يعثر على الطفيلي في الدجاج في قضاء سامراء وناحية الاسحاقى (الجدول 1).

الجدول 1: نسب الاصابة بطيفلي برداء الدواجن في مناطق المسح الميداني

المنطقة	مجموع العينات المفحوصة	عدد العينات المصابة	النسبة المئوية (%)
اطراف قضاء بلد	137	9	6.56
سوق الدجاج في قضاء بلد	125	5	4
قضاء سامراء	113	-	-
ناحية الاسحاقى	68	-	-
المجموع	443	14	3.16

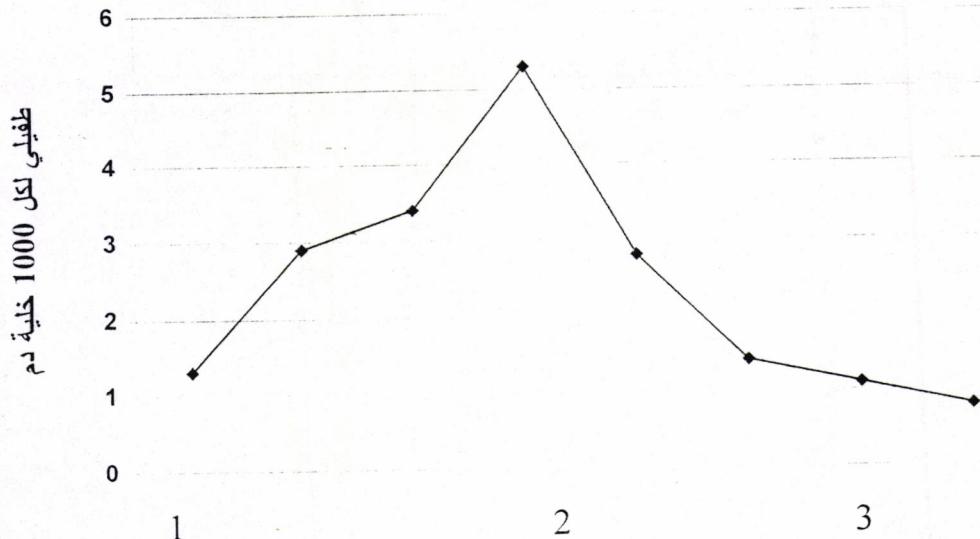
اهم الاطوار التي لوحظت خلال مدة المسح الميداني هي طور الناشطة trophozoites بشكلها الحلقي او نصف الحلقي او غير المنتظم تليها المفلوقات schizonts وشكلها غير المنتظم، ولم تلاحظ أي اطوار في خلايا الدم البيض.

اجريت الاصابة التجريبية ولأول مرة في القطر لاحادث الاصابة بطفيلي البرداء. ظهرت على الافراخ المصابة تجريبيا علامات سريرية تمثلت بالهزال والشحوب وال الخمول والانعزال في احدى الزوايا، وبعضها كان بحالة صحية جيدة، ومن العلامات السريرية المهمة الشلل الجزئي Partial paralysis، اذ لوحظ في週الا週 من الاصابة بعمر 57 يوم، وظهر تأثيره الشديد في الافراخ المصابة، وقبل ال�لاك عانت الافراخ من عدم القدرة على الحركة وفي مراحلها الاخيرة كانت اصابعها معقوفة الى الداخل، وبدأت بالزحف مع تقنيات وشنونات عصبية، ومن العلامات المصاحبة الاخرى الاسهال الذي ظهر على الافراخ التي عانت من الشلل ابتداءً من اليوم 49 بعد الاصابة لحين ال�لاك. هلك اثنان من الافراخ في الايام 36 و 81 بعد ان عانيا هزاً شديداً وعرجاً لمدة 3-6 ايام، وبلغ مجموع الافراخ التي هلكت من بداية التجربة حتى النهاية 5 افراخ في الايام 21 و 30 و 34 و 63 و 81 بعد الاصابة بينما لم تهلك أي من افراخ السيطرة.

من خلال فحص المسحات الدموية الماخوذة من الافراخ المصابة، اتضح وجود اطوار مختلفة من الطفيلي ابتداءً من شكل الناشطة الحلقي او نصف الحلقي (الصورة 1) وتصف موقعها جانبياً للنواة او ملائقاً لها، وفي حالات قليلة في موقع قطبى للنواة، وتراوح قياسها بين 2 مايكرومتر طولاً و 1.2 مايكرومتر عرضاً، لوحظت اطوار اخرى هي المفلوقات بشكلها غير المنتظم (اميبي) وصغيرة الحجم، اغلبها تتلخص بنواة كرية الدم الحمراء، ذات لون غامق نتیجة وجود الصبغة الداكنة (الصورة 2)، اما الامشاج فقد اتصفت بشكلها غير المنتظم وقلة عددها.

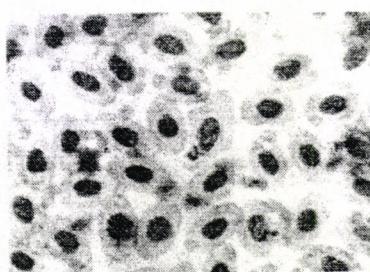
ومن خلال فحص المسحات ظهر ايضاً وجود المفلوقات داخل الخلايا اللمفية وهي متزامنة مع ارتفاع وانخفاض الطفيليمية، إذ ظهر وجود شكلين، مفلوقات صغيرة Microschizonts، بعدد انوية يتراوح بين 5-16 شكلأً وبقياس 0.5 مايكرومتر و مفلوقات كبيرة Macroschizonts بعدد انوية يتراوح بين 2-9 شكلها دائري او منطاطولي قليلاً بقياس 1-2 مايكرومتر (الصورة 3، 4).

تراوحت الطفيليمية في الافراخ المصابة بين 0.1 - 1.2% اذ بلغت اعلاها في週الا週 من الاصابة ثم بدأت بالانخفاض لتصل في بعض الحالات الى طفيلي واحد او اثنين لكل 1000 خلية دم حمراء وكانت المدة قبل الباثنة Prepatent period 9-12 يوم كما في الشكل 1.

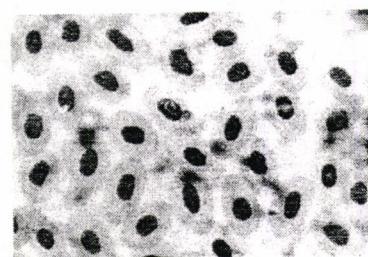


الشكل 1: طفيليية برداء الدواجن خلال مدة الاصابة التجريبية

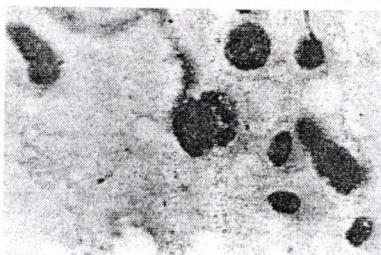
شخصت الاصابة بطريقة الاستشعار المناعي غير المباشر IFAT في الافراخ المصابة تجريبياً بعد مرور اربعين من الاصابة التجريبية باستعمال مستضد برداء الانسان، وقد لوحظت في مختلف المراحل المشعة من الطفيلي. اذ اظهرت المفلوقات النامية النمو اكثراً اشعاعاً من بقية الاطوار عند تفاعلها مع الاجسام المضادة، ثالثاً الناشطات التي اظهرت اشعاعاً اقل (الصورة 5).



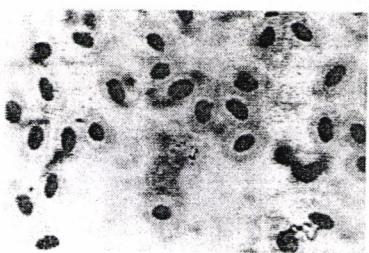
الصورة 2: الشكل الحلقى المفلوقة الناضجة لطفيلي البرداء في احد الافراخ المصابة تجريبياً وتظهر بلون غامق وغير منتظم (X100)



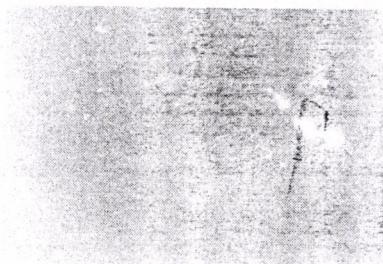
الصورة 1: الشكل الحلقى للناشطة الفتية لطفيلي البرداء في احد الافراخ المصابة تجريبياً (X100)



الصورة 4: لمفلوقات كبيرة لطفيلي البرداء في رشمة كبد احد الافراخ المصابة تجريبيا (X100)



الصورة 3: لمفلوقات صغيرة لطفيلي البرداء باشكال غير منتظمة في هيولى الخلية اللمفية لحد الافراخ المصابة تجريبيا (X100)



الصورة 5: اشكال مختلفة من المصورة تحت المجهر التالقي باستعمال فحص الاستشعاع المناعي الغير مباشر

المناقشة

اظهرت نتائج الدراسة ان نسبة اصابة الدجاج المحلي بطفيلي البرداء كانت 3.16% وهي مقاربة لما سجل في الدجاج والبط والذيك الرومي والطيور البرية⁽¹³⁾ في حين اختلفت عما سجل في الدجاج المحلي في مصر⁽⁷⁾، وفي الطيور في جنوب افريقيا⁽¹⁴⁾ وفي البطريق في امريكا⁽¹⁵⁾. ان انخفاض هذه النسبة في الدجاج المحلي يعزى الى اختلاف انتشار وجود الوسيط الناقل *Aedes culex* كما ان العينات قد جمعت من الدجاج المنزلي و بأعمار كبيرة والتي اكتسبت مناعة من جراء التعرض للإصابة الاولية بهذا الطفيلي Acquired immunity or premunition⁽¹⁹⁾ الى حدوث ظاهرة الطفيليème القليلة المزمنة Chronic low grade parasitaemia. اظهرت النتائج اختلافاً كبيراً في نسب الاصابة في مناطق الدراسة المختلفة فقد وجدت زيادة في اعداد الدجاج المصاب في المناطق التي تكثر فيها المسطحات المائية كالبزول والسوافي والانبار والبرك وهذا يتفق مع ما اشار اليه

Zahar (17) اذ ذكر حدوث ظاهرة الملاريا المكتونة بواسطة الانسان Man made malaria فضلاً عن كون اجسام الدجاج مكسوة بشكل كامل تقريباً بالريش مقارنة مع اللبان التي تظهر نسب اصابة عالية (18).

بينت نتائج الدراسة انه بالامكان احداث الاصابة التجريبية بطيفي البرداء في الافراخ من نوع ايزوبراوون isobrown بعمر 7 ايام عن طريق حقن الدم المصاب في غشاء الخلب والتي تعد محاولة اولى وقد كانت المدة قبل البائنة 9 - 12 يوماً وهي مقاربة لما سجله Forrther (19) في الديك الرومي عند حقن الدم المصاب ، اذ كانت 10 و 7 ايام عند حقن 6.1×10^4 طيفي في العضلة كما أيد ذلك كل من Swan & Kreier (20) وقد ذكر Granham (21)، ان هذه المدة قد بلغت 4 ايام عند حقن ناشطات النوع *P. juxtanuclear* في الوريد وان تلك الده بلغت اكثراً من ذلك في حالة برداء الرومي (22). كما تقارب هذه الدراسة مع تلك التي اجرتها Herman (23) في الوز وتتفق مع نتائج نفس الباحث في المدة قبل البائنة والتي تعتمد على الجرعة وطريقة الاعطاء.

ويظهر من النتائج وجود اطوار مختلفة من الطيفي وان اكثراً الاطوار هو الطور الناشط بالشكل الدائري والنصف حلقي ذات لون غامق، تليها المفلوقات في حين ظهرت الامشاج اقل نسبة، وتشير جميع الدلائل الى ان النوع الذي تم تشخيصه في هذا البحث هو *P. juxtanuclear* وهذا يتفق مع Bennett (24) و Granham (21)، اذ اشار الاول الى ان مفلوقات وامشاج *P. juxtanuclear* نادراً ما يتم رؤيتها في حين ذكر Manwell (25) ان امشاج هذا النوع تكون اصغر او مساوية لنواة كرية الدم الحمراء المصابة بهذا النوع من الطيفي. واكدت النتائج وجود المفلوقات في الخلايا اللمفية وهذا يتفق مع Seed (4) اذ اشارا الى وجود المفلوقات داخل خلايا الدم البيض والصفائح الدموية وهي صفة مهمة لبرداء الطيور. ان الطيفيليمية كانت واطئة في الدراسة الحالية (0.1-1.2%) وقد يعزى السبب الى كون الدم المحقون كان يحمل طيفيليمية واطئة 0.2% وان الحقن في البريتون يستوجب مدة اطول عن باقي انواع الحقن (بالوريد او العضلة) والتي تكون استجابتها سريعة في ظهور الطيفي (23).

أكدت هذه الدراسة على امكانية استعمال مستضد برداء الانسان في تشخيص برداء الطيور بطريقة الاستشعاع المناعي غير المباشر، فقد اشار Kielman et al. (26) تشخيص برداء الانسان باستعمال مستضد برداء الطيور بهذه الطريقة.

References

1. Springer, W.T. (1977) Other blood and tissue protozoa. In: Clanek, B.W. (ed). Disease of Poultry. 10th ed. Iowa State University Press.: 900-911.
2. Gills, H.M. (1990) Bruchwattle Essential Malaria, Geneva , WHO.
3. Adams, K.M.G.; Paul, J. and Zaman, V. (1971) Medical and veterinary protozoology. An illustrated guide. Edinburgh, Churchill Living Stone.
4. Seed, T.M. and Manwell, R.D. (1977) Plasmodia of birds. In: Krieier, J.P. Parasitic Protozoa. New York Academic Press.
5. Iorencio-de-Olivoria, R. and De-Castro,F. (1991) *Culex saltanensis* natural vector of *P. juxtanuclear* in Rio De Janeiro, Brazil. Mem. Inst. Osal do-cruz. 76:87-94.
6. Bennett, G.F. (1993) Avian Haematozoa in the boreal environment. Proc. Zolll. Soc. Calcutla. Haidane. Comm., 53:53-56.
7. El-Kordy, A.M. and Ahmed, H.M. (1960). Cited by Gurnham, P.E.C. Malaria Parasites and other Haemosporidia Oxf. Blackwell Scientific Pub.
8. Shamsuddin, M. and Manwell, R.D. (1977) Haematozoa of some Iraqi birds with description of *Haemoproteus pterocli* (n.sp.) and *Lecucytozoan nycticroxi* (n.sp.). Bull. Nat. Hist. Res. Cen., 7:111-154.
9. الالوسي، توفيق ابراهيم، محسن سعدون داود والبياتي، محمد عباس (1994) دراسة الطفيليات الداخلية في الديك الرومي في الموصل - العراق. المجلة العراقية لعلوم البيطرية. 7: 129-123.
10. WHO. (1974). Basic malaria microscopy. Part I , Geneva.
11. Coles, E.H. (1986)Veterinary Clinical Pathology. 4th ed. W.B. Saunders Company.
12. WHO (1974) Serological testing in malaria: WHO memoanda. Bull WHO, 50:527-535.
13. Al-Heyali, H.M; Al-Heyali, B.M. and Al-Kalidi, J.A. (1998). Prevalence of Haematozoa in different species of birds in Baghdad province. J. Ibn Al-Haithem for Pure and Applied Science. 9:37-44.
14. Verghese,T. (1987). Endoparasites of birds of paradise in Papua New Guinea. Vet. Parasitol. 26:131-144.
15. Stephen, E. (1982). Avian malaria at high altitude and occurrence of *P. convylla* Vanghanni in Zonotrichia. J. Parasitol, 68:166-167.
16. Cohen,S. (1977) Mechanisms of malaria Immunity. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 71:282-286.

17. Zahar, A.R. (1984) Vector control operation in the Africa context. Bull. WHO. 62:98-100.
18. Tanner, M. (1997) Malaria from molecular biology to epidemiology. Swiss Trop. Inst. Biennial. Report. 1977-1998. Bas. Switzerland.
19. Forrester, D.J. ; Humphreg, P.P. and Telford, V.R. (1980) Effect of blood induced infection of *P hermani* on domestic and wild turkey. Poult. J. Wild. Life. Dis. 16:237-244.
20. Bwam, A.J. and Kneier, J.D. (1973) *Plasmodium gallinaceum* mechanism of anemia in infected chickens. Exp. Parasitol. 33:79-88.
21. Garbham, P.C.C. (1966) Malaria parasite and other Haemosporidia. Oxf. Blackwell. Sci. Publ.
22. Barnes, H.L. (1974) *Plasmodium* species infecting turkey in North Nigeria. Vet. Rec. 95:218-219.
23. Herman, G.M. (1996) Subincoulation as a technique in the diagnosis of avian plasmodium. Avi. Dos., 19:541-547.
24. Barnes, H.F. and Warren, M. (1966) Biology of the Malaysian strain of *Plasmodium juxtanclear*. Versiani and Gomes 1941. Desciption of the stages in the vertebrate host. J. Parasitol. 52:565-569.
25. Manwell, R.D. and Stone, W.S. (1966) The role of anemia in pinotti malaria in pigeon. J. Parasitol 52:1145-1149.
26. Kielmannm, A.; Weiss, V. and Sarasin, J. (1970) *Plasmodium gallinacecum* as antigen in the diagnosis of human malaria. Bull. WHO. 43:617-822.