



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصّرفة

قسم علوم الحياة

عزل وتشخيص مخرم الكبد العملاق *Fasciola gigantica*

من المضائف الوسطية والنهائية

رسالة

مقدمة إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصّرفة - جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير

في علوم الحياة

تقدّمت بها

نغم عماد عبد الحميد

بكالوريوس علوم الحياة كلية التربية للعلوم الصّرفة / جامعة ديالى

2005-2004

بإشراف

أ.م.د. خنساء سلمان فرمان

أ.د. نغم ياسين البياتي

2021 م

1442 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَلَوْلَا فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ وَرَحْمَتُهُ لَهَمَّتْ طَائِفَةٌ مِّنْهُمْ
أَنْ يُضِلُّوكَ وَمَا يُضِلُّونَ إِلَّا أَنْفُسَهُمْ وَمَا يَضُرُّونَكَ
مِنْ شَيْءٍ وَأَنْزَلَ اللَّهُ عَلَيْكَ الْكِتَابَ وَالْحِكْمَةَ وَعَلَّمَكَ
مَا لَمْ تَكُن تَعْلَمُ وَكَانَ فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ عَظِيمًا

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

سورة النساء/ الآية (113)

إقرار لجنة المشرفين

نشهد بأن إعداد هذه الرسالة الموسومة بـ (عزل وتشخيص مخرم الكبد

العماق *Fasciola gigantica* من المضائف الوسطية والنهائية) التي قدمتها طالبة الماجستير (نغم عماد عبد الحميد) قد جرت تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة .

التوقيع:

التوقيع:

المشرف: أ.د. نغم ياسين البياتي

المشرف: : أ.م.د. خنساء سلمان فرمان

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

التاريخ / / 2021

التاريخ / / 2021

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوصيات المتوافرة نرشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع:

الاسم: د.ذكرى عطا ابراهيم

اللقب العلمي: أستاذ مساعد دكتور

رئيس قسم علوم الحياة

التاريخ: / / 2021

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة بـ (عزل وتشخيص مخرم الكبد العملاق *Fasciola gigantica* من المضائف الوسطية والنهائية) التي قدمتها طالبة الماجستير (نغم عماد عبد الحميد) قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية، وصُحِّحَ ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع :

الاسم :

المرتبة العلمية :

التاريخ / / 2021

إقرار المقوم العلمي

أشهد أنّ هذه الرسالة الموسومة بـ (عزل وتشخيص مخرم الكبد العملاق *Fasciola gigantica* من المضائف الوسطية والنهائية) التي قدمتها طالبة الماجستير (نغم عماد عبد الحميد) قد تمت مراجعتها من الناحية العلمية، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة.

التوقيع :

الاسم :

المرتبة العلمية :

التاريخ / / 2021

اقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة، أننا اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة بـ (عزل وتشخيص مخرم الكبد العملاق *Fasciola gigantica* من المضائف الوسطية والنهائية) التي قدمتها طالبة الماجستير (نغم عماد عبد الحميد) وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها، وفيما له علاقة بها وذلك بتاريخ (/ / 2021) ونقدر إنها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة .

التوقيع :

الأسم : د. منذر حمزة راضي

المرتبة العلمية : استاذ

التاريخ : / / 2021

رئيس اللجنة

التوقيع :

الأسم: د. سعدية شهاب حمد

المرتبة العلمية : استاذ

التاريخ : / / 2021

عضوا

التوقيع:

الأسم : د. مها فالح نزال

المرتبة العلمية: استاذ مساعد

التاريخ : / / 2021

عضوا

التوقيع:

المشرف: أ.د. نغم ياسين البياتي

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

التاريخ : / / 2021

عضوا ومشرفا

التوقيع:

المشرف : أ.م.د. خنساء سلمان فرمان

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

التاريخ : / / 2021

عضوا ومشرفا

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

أصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع :

الأسم : د. غالب ادريس عطية

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2021

الإهداء

إلى من أحمل أسمهم بكل فخر إلى الشمعة المتقدة التي تنير ظلمة حياتي إلى من كان دعائهم سر نجاحي وحنانهم بلسم جراحي إلى كل من في الوجود بعد الله ورسوله... (أبي وأمي)

إلى توأم روحي ورفيق دربي إلى من رافقني منذ أن حملنا الحقايب الصغيرة إلى من تطلع لنجاحي وبمحبتة أزهرت أيامي اللهم أحفظه ووفقه... (ياسر)

إلى سندي وملأذي بعد الله إلى من أرى التفاؤل في أعينهم والسعادة في ضحكتهم إلى من أظهروا لي ماهو أجمل من الحياة إلى رياحين حياتي... (أخواتي الغاليات)

إلى رفيقي في الكفاح في مسيرة الحياة إلى من أخذ بيدي، وشد عزمي في تخطي الصعاب دمت لي عمراً جميلاً لا ينتهي... (زوجي العزيز)

إلى من ساعدني و كان عوناً لي في انجاز هذا البحث إلى من كان نعم الأخ الأصغر لي اسأل الله له كل الخير والتوفيق... (وعد محمود أحمد الجبوري)

إلى من تحلوا بالإخاء وتميزوا بالوفاء إلى من معهم سعدت وبرفقتهم في دروب الحياة سرت إلى من كانوا معي في طريق النجاح والخير إلى من سأفتقدهم... (طلاب قسم علوم الحياة)

نغم

الشكر والتقدير

اشكر الله عز وجل أن وفقني لإنجاز هذه الدراسة ،
وأن سخر لعبده الضعيف الممكن والمستحيل .

بعد أن وفقني الله سبحانه وتعالى، وأعانني على أنجاز هذا الجهد المتواضع لا يسعني إلا أن
أقف بين يدي الله متضرعة شاكرة لنعمته متوجهة إليه بالشكر والحمد اعترافاً وطلباً للقبول أنه
نعم المولى ونعم النصير .

ولا يتم الشكر لله تعالى إلا بشكر عباده الذين كثيراً ما ساعدوني لكي يظهر هذا العمل على هذا
الشكل ، ولهذا أتقدم

بالشكر الجزيل والعرفان والاشادة بالجهد الذي بذلوه معي مُشرفتيّ، أ. د نغم ياسين البياتي و أ.
د. م خنساء سلمان فرمان، قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى في
اقتراح موضوع البحث وإخراجه بالشكل الذي أصبح عليه، وما قدمته لي من نصائح وتوجيهات
خلال مدة الإشراف والمتابعة المستمرة لي متمنية لهما دوام التوفيق والنجاح .

كذلك أوجه شكري وتقديري إلى عمادة كلية التربية /جامعة ديالى ، وإلى أ. م. د ذكرى عطا
ابراهيم رئيسة قسم علوم الحياة على رعايتها وتعاونها بإخلاص . كذلك اوجه شكري إلى أ. د
عمار أحمد سلطان على رعايته الأبوية خلال مدة الدراسة .

كما اقدم شكري وتقديري إلى الطبيب الدكتور خالد عبد الواحد كنه على كل ما قدمه لي من المساعدات
والتسهيلات والمعلومات وتوجيهاته لي واتمنى له التوفيق ودوام الصحة والسلامة . والتمس العذر ممن
فاتتني ذكره وشكره سائلة الله العلي القدير أن يجزيهم عني أفضل الجزاء.

وختاماً فهذا الجهد ابتغيت به مرضاة ربي وأرجو الله تعالى أن يجعله ذخراً في العاجل وأجراً في الآجل
أنه على ما يشاء قدير والحمد لله رب العالمين .

الخلاصة :

تهدف الدراسة الحالية بيان مدى وبائية طفيلي *Fasciola gigantica* في المضائف الوسطية ، وعلاقتها بتباين نسبة الإصابة في المضيف النهائي (الحيوانات والإنسان) في محافظتي ديالى وكركوك. ونفذت الدراسة في مختبر علم الحيوان / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى للفترة من شهر تشرين الثاني من العام 2019 ولغاية شهر ايلول 2020 .

تضمنت الدراسة الحالية التحري عن نوع القواقع المضيضة للطور اليرقي لطفيلي *F. gigantica* ، و بيان نسبة الإصابة به حيث تم فحص عينات القواقع التي بلغت 535 قوقع شملت خمسة أنواع مختلفة ، والتي تم جمعها من مناطق رعي مختلفة تابعة لمحافظة ديالى، وكركوك توافرت فيها القنوات الأروائية، والجداول، والمستنقعات، والحاوية على النباتات المائية ، والتي تمثل بيئة مناسبة للقواقع ، وسُجِّل أعلى نسبة إصابة باليرقات في القواقع من نوع *Lymnea auricularia* 30 % ، تليها النوع *Melanopsis costata* بنسبة 29 % ثم النوع *Lymnea natalensis* بنسبة 21.8 % والنوع *Physa acuta* 7.6 % ، أما القواقع من نوع *Melanoides tuberculata* ، فلم تسجل أي نسبة إصابة بيرقات الطفيلي.

تم فحص 77 عينة من الاكباد بواقع (33 كبد للأبقار و 44 كبد للأغنام) من مناطق مختلفة من المحافظتين، وتسجيل نسبة الإصابة فيهما، فتبعاً لنوع الحيوان كانت نسبة الإصابة في محافظة كركوك 40 % للأبقار، وفي محافظة ديالى 16.6% للأبقار في حين لم يتم تسجيل الإصابة في الأغنام في كلا المحافظتين وكانت النسبة الكلية للإصابة في كل من محافظتي كركوك وديالى هي 14.63% و 8.33% على التوالي .

II

وتبعاً لجنس الحيوان كانت نسبة الإصابة في محافظة كركوك بواقع 41.6% للإناث، و الذكور 33.4% ،أما محافظة ديالى كانت نسبة الإصابة هي 27.27% في الإناث فقط ، ولم تسجل نسبة إصابة في الذكور .

كذلك سجلت نسب الإصابة في الحيوانات تبعاً لمناطق جمع العينة، ففي محافظة كركوك كانت نسبة الإصابة في مجزرة كركوك العصرية 16.21% ، ولم تسجل نسبة إصابة في محلات قصابة الكورنيش / حي غرناطة أما في محافظة ديالى فكانت ، نسبة الإصابة في مناطق الأطراف (القرى القريبة من مركز المحافظة) 14.28% ، ولم تسجل أي إصابة في مركز المحافظة .

وقد اظهرت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فرق معنوي في نسبة الإصابة بالنسبة لنوع و جنس الحيوان ومنطقة العينة وفي كلا المحافظتين.

كما تضمنت الدراسة الحالية تشخيص الإصابة بطفيلي *F. gigantea* بين الأشخاص المعرضين للإصابة في أرياف كلتا المحافظتين وكان العدد الكلي للمتبرعين 90 متبرع ، والذين كانوا من القصابين والفلاحين وأصحاب المواشي حيث كان لهم تماس مباشر مع الحيوانات ، وتم استخدام تقنية الاليزا باستخدام العدة المختبرية *Accu DiagTM Fasciola ELISA Kit* لـ *F.gigantica* للأستخدام التشخيصي في الدراسة الحالية للكشف عن مستضد *F.gigantica* في مصل الدم . كان العدد الكلي للمتبرعين في محافظة ديالى 17 متبرع وكانت نسبة الإصابة الكلية لديهم 35.29% . اما في محافظة كركوك كان العدد الكلي للمتبرعين 73 متبرع و كانت نسبة الإصابة أعلى في محافظة كركوك 35.61% وظهر التحليل الاحصائي عدم وجود فرق معنوي في نسبة الإصابة في الأشخاص المعرضين في كلا المحافظتين . حيث اظهرت النتائج أنّ النسبة الاعلى لإصابة محافظة ديالى كانت بين الفلاحين 41.66% تليها أصحاب المواشي 20% ، ولم

III

يتم تسجيل نسبة إصابة لدى القصابين أمّا في محافظة كركوك فتم تسجيل أعلى نسبة إصابة لدى الفلاحين 38.46% يليه أصحاب المواشي 35.48% ، ، ثم القصابين 31.25% .

List of contents

قائمة المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع	ت
I-III	الخلاصة	
IV	قائمة المحتويات	
VII	قائمة الجداول	
VIII	قائمة الأشكال	
IX	قائمة المختصرات	
الفصل الأول: المقدمة Introduction		
1-3	المقدمة	1
الفصل الثاني: استعراض المراجع Literature Review		
4	استعراض المراجع Literature Review	2
4-5	الطفيلي : لمحة تاريخية The parasite : historical overview	1-2
5	تصنيف الطفيلي Classification of parasite	2-2
6	وصف الطفيلي Description of parasit	3-2
6	الديدان البالغة Adult worms	1-3-2
7	البيضة Egg	2-3-2
8	الأطوار اليرقية Larval phases	3-3-2
8-9	الريديا Redia	4-3-2
9	السركاريا Cercaria	5-3-2
10-12	المضيف الوسيط intermediate host	4-2
13	المضائف النهائية Final hosts	5-2
13-14	دورة الحياة Life cycle	6 -2
15-18	الوبائية The epidemiology	7 -2
18-19	الإمراضية والاعراض Pathogenicity and symptoms	8-2
19-22	التشخيص Diagnosis	9-2
22-25	المناعة ضد الطفيلي Immunity against the parasite	10-2

Materials and methods الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل		
26	Materials and methods المواد وطرائق العمل	3
26	المواد والأجهزة	1-3
26	Equipments and Tools Used الأجهزة والأدوات المستعملة	1-3
27	Chemical الكيمياء مواد المستعملة في الدراسة: Materials used	2-3
28	Laboratory Kit العدة المختبرية	3-3
28	Methods: طرائق العمل	2-3
28	Samples collection: جمع العينات	1-2-3
28-29	Livers collection جمع الكبدا	أ
29	Snail collection جمع القواقع	ب
29-30	Blood samples collection جمع عينات الدم	ج
30	Isolation and staining of worms عزل الديدان وتصيغها	2-2-3
30	Isolation of worms عزل الديدان	أ
30-31	Staining عملية التصيغ	ب
31	Mounting عملية التحميل (الأرساء)	ج
31	Microscope examination التشخيص المجهرى	د
31	Photomicrography التصوير المجهرى	هـ
31	Infection diagnosis تشخيص الإصابة	3-2-3
31	Route methods الطرائق الروتينية	1-3-2-3
31-32	In intermediate host (Snail) في المضافات الوسيطة (القواقع)	أ
32	Final host (Human) (الإنسان) في المضافات النهائية	ب
33	الكشف عن الإصابة باستخدام تقنية الاليزا	2-3-2-3
33	Dignostic العدة المختبرية المستخدمة Automation	أ
33	Principle of test مبدأ الاختبار	ب
33-34	Step of test خطوات العمل	ج
36	Statistical analysis التحليل الاحصائي	3-3

Results and Discussion الفصل الرابع: النتائج والمناقشة		
37	النتائج والمناقشة	4
37	الإصابة في المضائف الوسطية	1-4
38-40	النوع <i>Physa acuta</i>	1-1-4
41	النوع <i>Lymnea natalensis</i>	2-1-4
42	النوع <i>Lymnea auricularia</i>	3-1-4
43-44	النوع <i>Melanoides tuberculata</i>	4-1-4
44-45	النوع <i>Melanopsis costata</i>	5-1-4
45	الإصابة في المضائف النهائية (الحيوانات)	2-4
46-51	في محافظة كركوك	2-2-4
51-59	في محافظة ديالى	3-2-4
59-62	الإصابة في الإنسان	3-4
Conclusions and Recommendations الفصل الخامس: الاستنتاجات والتوصيات		
63	الاستنتاجات والتوصيات	5
63	الاستنتاجات	1-5
63-64	التوصيات	2-5
References المصادر		
65	المصادر العربية	
66-82	المصادر الاجنبية	
83	استمارة الإستبيان (قائمة جمع المعلومات)	
I-IVI	الخلاصة باللغة الإنكليزية	

List of Table

قائمة الجداول

رقم الصفحة	العنوان	رقم الجدول
26	الأجهزة والأدوات المستعملة Equipments and Tools Used	1-1-3
27	الكيمياويات المستعملة في الدراسة: Chemical Materials used:	2-1-3
28	العدد المختبرية	3-1-3
37	جدول يوضح مناطق واعداد القواقع التي تم جمعها من محافظتي ديالى وكركوك	1-4
38	النسبة المئوية للإصابة باليرقات بين أنواع القواقع المعزولة خلال مدة الدراسة	2-4
47	النسبة المئوية للإصابة بطفيلي <i>F.gigantica</i> بين الأبقار والأغنام في محافظة كركوك	3-4
49	النسبة المئوية للإصابة بطفيلي <i>F.gigantica</i> بين الأبقار والأغنام اعتمادا على جنس الحيوان في محافظة كركوك	4-4
50	النسبة المئوية للإصابة بطفيلي <i>F.gigantica</i> بين الأبقار والأغنام اعتمادا على مكان جمع العينة في محافظة كركوك	5-4
52	النسبة المئوية للإصابة بطفيلي <i>F.gigantica</i> بين الأبقار والأغنام في محافظة ديالى	6-4
53	النسبة المئوية للإصابة بطفيلي <i>F.gigantica</i> بين الأبقار والأغنام اعتمادا على جنس الحيوان في محافظة ديالى	7-4
54	النسبة المئوية للإصابة بطفيلي <i>F.gigantica</i> بين الأبقار والأغنام اعتمادا على مكان جمع العينة في محافظة ديالى	8-4
55	مقارنة بين عدد الحيوانات المصابة بطفيلي <i>F.gigantica</i> لمحافظتي كركوك وديالى	9-4
57	كثافة الإصابة بطفيلي <i>F. gigantea</i> في الأبقار والأغنام في محافظة كركوك ومحافظة ديالى	10-4
59	الخصائص المظهرية للديدان المعزولة من الاكباد في كلا المحافظين (ديالى و كركوك).	11-4
61	النسبة المئوية للإصابة بطفيلي <i>F. gigantea</i> بين الأشخاص المعرضين للإصابة	12-4

List of Figures

قائمة الاشكال والصور

رقم الصفحة	العنوان	رقم الشكل
7	A نموذج لدودة بالغة معزولة من الدراسة الحالية B - مأخوذ من Abdisa	1-1
7	البيضة مأخوذ من Hussein وآخرون	2-2
9	الاطوار اليرقية <i>F. gigantea</i> داخل جسم القوقع <i>Lymnaea auricularia rubiginosa</i> : مأخوذ من Phalee وآخرون	3-2
12	<i>L. columella</i> (c) <i>L. natalensis</i> (b) و <i>Lymnaea</i> : (a) و <i>L. truncatula</i> (e) و (d) Brown	4-2
14	دورة حياة <i>Fsciola gigantea</i> مأخوذ من Andrews	5-2
34	الغسل بعد تخفيف عينات مصل الدم بمحلول dilution buffer	1-3
35	اضافة Enzym conjugate وغسلها ثلاث مرات	2-3
35	اضافة Chromogen (tetramethylbenzidine or TMB)	3-3
35	اضافة محلول التوقف Stop Solution	4-3
39	الطور اليرقي للمذبذبة cercaria تحت قوة تكبير 40X	1-4
39	الطور اليرقي redia تحت قوة تكبير 40X	2-4
40	قوقع <i>Physa acuta</i>	3-4
40	الديدان الحلقية قليلة الاهلاب جنس <i>Chaetogaster</i>	4-4
41	قوقع <i>Lymnea natalensis</i>	5-4
42	قوقع <i>Lymnea auricularia</i>	6-4
44	قوقع <i>Melanoides tuberculata</i>	7-4
45	<i>Melanopsis costata</i>	8-4
46	الديدان البالغة التي عزلت في الدراسة الحالية	9-4

List of Abbreviations

قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح العلمي	المصطلح العربي
NTD	Neglected Tropical Diseases	الامراض المدارية المهملة
HF	Human fasciolosis	داء المخرمات التي تصيب الإنسان
W.H.O	World health organization	منظمة الصحة العالمية
PCR	polymerase chain reaction	تفاعل البوليميراز المتسلسل
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay	مقياس المناعة الأفرزية المرتبطة بالإنزيم
Th2	T-Helper-2	الخلايا المساعدة-2
Th1	T-Helper-1	الخلايا المساعدة-1
Th17	T-Helper-17	الخلايا المساعدة-17
IFN	Interferon	انترفيرون (بروتينات)
IL-4	Interleukin-4	انترلوكين-4
IL-10	Interleukin-10	انترلوكين-10
IL-13	Interleukin-13	انترلوكين-13
TGF- β	Tumor Growth Factor- β	عامل نمو الورم-بيتا
Treg	Regulatory Tcells	الخلايا التائية التنظيمية
IgG1	Immunoglobulin	الكلوبيولين المناعي-G
IL-5	Interleukin-5	انترلوكين - 5
TMB	tetramethylbenzidine	الكروموجين (رباعي مثيل البنزيداين)
SPSS	Statistical Package of Social Science	التحليل الاحصائي
IFN - γ	Tumor Necrosis Factor Gamma	عامل نخر الورم كاما
μ l	Microliter	ميكروليتر
mm	Millimeter	مليمتر
Std.d	Standard deviation	الانحراف المعياري

Introduction:**1. المقدمة:**

يعدُّ داء تعفن الكبد Fascioliasis من الأمراض الناتجة عن الإصابة بمخمرات أو (متقبات) الكبد من نوع *Fasciola hepatica* وكذلك *Fasciola gigantica* . وهذا المرض حيواني المنشأ ينتقل عن طريق تناول النباتات الملوثة بالسركاريا المتكيسة metacercaria والتي هي الطور المعدي لهذا الطفيلي (Mas-Coma وآخرون ، 2005). فضلاً عن أن هناك حوالي 750 مليون شخص في العالم معرضين لخطر الإصابة بأحد أنواع المخمرات (Ullah وآخرون ، 2016)، فقد أشارت بعض المصادر إلى أن هذا الداء أو المرضُ صُنِفَ كأحد الأمراض المدارية المهملة في العالم (NTD) Neglected Tropical Diseases (Young وآخرون، 2011؛ Farrar وآخرون، 2013) .

لقد أوضح (Nyindo و Lukambagire ، 2015) أن الطفيلي مخرم الكبد العملاق *F.gigantica* يصيب البشر لكن مضيفه الرئيسي هو المجترات مثل الأبقار، والأغنام لذا فهو من الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان . يسبب الطفيلي أضراراً صحية كبيرة للإنسان ناتجة عن التغييرات النسيجية في الكبد والقناة الصفراوية، وقد وجد أن الأضرار النسيجية الناتجة عن الإصابة بالدودة *F. gigantica* تعدُّ أكثر شدة من تلك الناتجة عن الإصابة بالدودة *F. hepatica* (Adela Valero وآخرون، 2016). فضلاً عن أن الأعراض غالباً ما تكون غير ظاهرة في معظم الإصابات إلا أن هناك أعراض تظهر في الإصابات الشديدة ، وفي هذه الحالة، فإن المرض يتميز بوجود مرحلتين الأولى المرحلة الحادة ، وتظهر بعد 4 إلى 7 أيام من الإصابة والتي تتميز بالحمى fever ، الغثيان nausea، الاجهاد malaise ، ألم في البطن abdominal pain فيما يصاب القليل من المرضى بأعراض urticaria الطفح الجلدي (الشرى) و ظهور عقد تحت الجلد ، و تظهر المرحلة المزمنة بعد 12 إلى 16 أسبوع بعد الإصابة وتستمر

من أشهر إلى سنوات عدة وتتميز بظهور الألم في منطقة الصفراء biliary colic والركود الصفراوي cholestasis والتهاب الاقنية الصفراوية cholangitis (Lukambagire وجماعته، 2015 ؛ Xia وجماعته ، 2015). وتعود معظم هذه الأعراض إلى الاستجابة الالتهابية الناتجة عن بقاء الدودة لفترة طويلة والتي تؤدي إلى تحطيم القنوات الصفراوية وضرر في النسيج الكبدي مؤدياً إلى حصول تليف في الكبد أو تضخم الكبد وظهور الحصى في المرارة المترافق مع الإسهال ، وفقر الدم (Nazar وجماعته، 2017 ؛ Nyirenda وجماعته، 2019).

تسبب الدودة فضلاً عن الأضرار الصحية عند الإنسان، أضرار اقتصادية كبيرة تصل إلى ملايين الدولارات ناتجة عن إصابة أنواع عديدة من الحيوانات، كالأغنام ، والأبقار، وغيرها من الحيوانات آكلة الأعشاب، والتي تعدّ ثروة اقتصادية للعديد من البلدان، فقد تسبب الإصابة في الحيوانات إلى حصول سوء التغذية و انخفاض الوزن وانخفاض في إنتاجية اللحوم والحليب فضلاً عن الخسائر الناتجة عن موت الحيوانات (Gebrie و Engdaw ، 2015).

تحتاج دورة حياة الدودة إلى مضيفين النهائي المتمثل بالحيوانات آكلة الأعشاب herbivores والإنسان، إذ تكون الدودة البالغة متواجدة في الأقنية الصفراوية، فيما تكون الأطوار اليرقية متواجدة في القواقع وخصوصاً القواقع التي تعود إلى عائلة Lymnaeidae و منها الأنواع التي تعود إلى الجنس Lymnaea ومنها (*L. viridis*, *L. columella*, *L. cousin*, *L. ollula*, *L. natalensis*, *L. auricularia rubiginosa*). Farrar وآخرون ، 2013).

يتم تشخيص الطفيلي بإيجاد البيوض في براز المضائف النهائية المصابة أو الطرائق المصلية والجزئية أو إيجاد الأطوار اليرقية في المضائف الوسيطة. ولكون مخرم الكبد العملاق من الأمراض المهمة فقد صممت هذه الدراسة لغرض:

أهداف الدراسة : Aim of study:

- 1- التحري عن ديدان مخرمات مخرمات الكبد *F.gigantica* في المضائف الوسطية (القواقع).
- 2- إيجاد العلاقة بين إصابة القواقع *F.gigantica* وإصابة الأبقار والأغنام وكذلك البشر الذين يتعاملون مع هذه الذبائح .
- 3- المقارنة بين نسبة الإصابة بين البشر في محافظتي ديالى وكركوك .
- 4- دراسة الخصائص المظهرية للديدان المعزولة من الأكباد في كلا المحافظتين.

Literature Review :

2.استعراض المراجع:

The parasite : Historical overview

1.2. الطفيلي : لمحة تاريخية

مخرم الكبد العملاق *Fasciola gigantica* من الطفيليات التي تعود إلى الديدان المسطحة *Platyhelminthes* و تعود لعائلة *Fasciolidae* والتي تصيب القنوات الصفراوية في المضائف النهائية من الحيوانات آكلة الأعشاب والإنسان (Oyarzún-Ruiz وآخرون ، 2019). ويسبب الطفيلي مع شبيهه الأكثر انتشارا *F. hepatica* مرض تعفن الكبد مسببا اضرارا صحية واقتصادية للإنسان وتزداد أهمية المرض في الدول النامية إلى اضعاف ما موجود في الدول المتقدمة (Rana وآخرون، 2014).

تعدُّ دودة المخرم العملاق من الديدان الطفيلية التي وصفت في أوراق البردي في عام 1550 قبل الميلاد، ويعدُّ العالم Jehan de Brie أول من وصف الدودة عام 1379م فيما يعود أول تقرير نشر حول الإصابة البشرية بالدودة إلى القرن السابع عشر عندما ذكرت من قبل كل من Malpighi عام 1697 و Bidloo في العام نفسه كما وُصفت دورة حياة وفقس البيضة لأول مرة في عام 1803 Zeder تم اكتشاف ديدان مخرم الكبد العملاق في المثانة ومرارة الانسان اثناء الوفاة (Partridge 1846 ; Duval 1842 ; Fortassin 1804) .

وقد كشف كل من Leukart and Thomas عام 1883 عن دورة حياتها ودور القواقع كمضيف وسطي لها كما وصف Lutz في عام 1892 طريقة انتقاله الى المضيف النهائي (Gupta، 2014). كما وصفت من قبل العالم Cobbold عام 1855 وذلك بعد عزلها من زرافة وسميت عام 1856 باسم *Cladocoelium giganticum*، وفي عام 1895 عزلت من المواشي المذبوحة في أفريقيا حيث وصفها Railliet واطلق عليها *Fasciola hepatica angusta* وبعد

عام من هذا التاريخ عزلت من الأبقار والجاموس في مصر من قبل Looss والذي أطلق عليها التسمية *Distomum hepaticum var. aegyptiaca* ويعدُّ هذا النوع مايعرف الآن *Fasciola gigantica* (Sumruayphol وآخرون، 2020). في العراق تم الإبلاغ عن أول حالة لداء تعفن الكبد في القناة الصفراوية في عام 1964 (Fattah وآخرون ، 1964) .

Classification of parasite

2.2. تصنيف الطفيلي

صنّف الطفيلي على إنه يعود إلى شعبة الديدان تحت الشعبة الديدان المسطحة صنف

المخرمات ، وذلك بالاعتماد على تصنيف Gupta (2014)

Phylum : Helminthes

Sub-Phylum : Platyhelminthes

Class : Trematoda

Sub-Class : Digenea

Order : Prosostomata

Suborder : Distomata

Superfamily : Fascioloidea

Family : Fasciolidae

Sub-Family : Fasciolinae

Genus : *Fasciola*

Species: *gigantica*

3.2. وصف الطفيلي

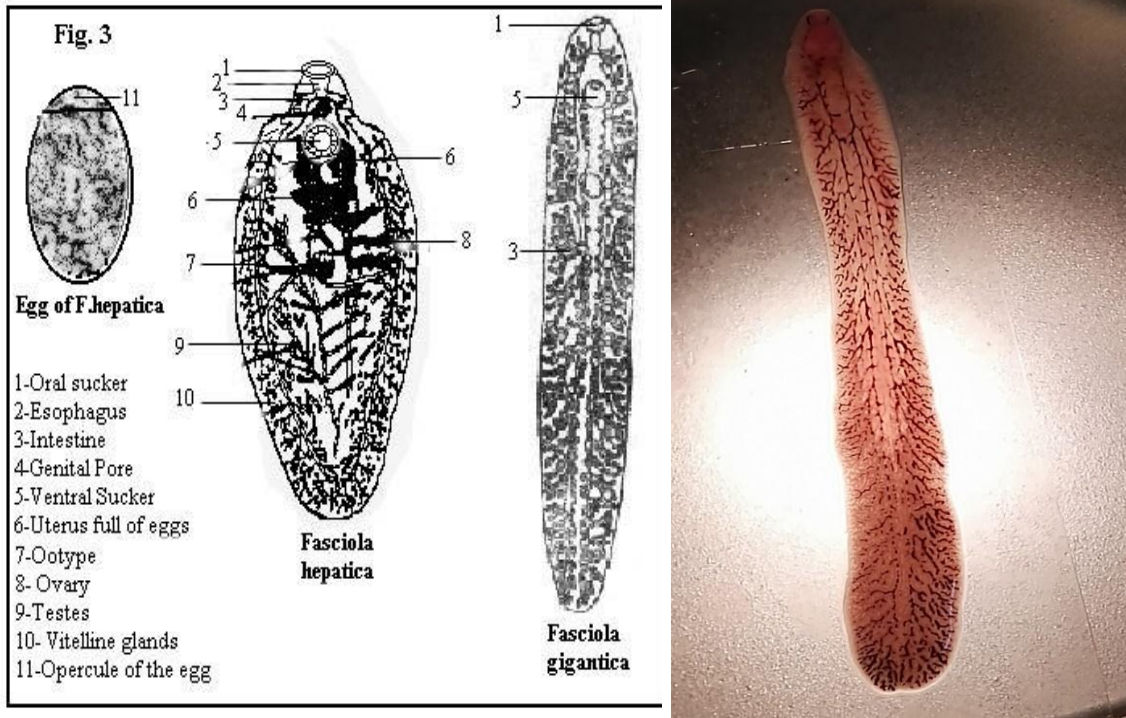
Description of parasite

من بين الأنواع المختلفة من جنس Fasciola يعدّ النوع *F. hepatica* أكثر انتشاراً من النوع *F. gigantica* والاثنتان بالإمكان أن يسببان الإصابة البشرية ويتشابه هذان النوعين في الشكل ودورة الحياة مع بعض الاختلافات (Ibrahim, 2017) وسوف يتم وصف الطفيلي كالآتي:

1-3-2 الديدان البالغة Adult worms: الديدان البالغة على شكل أوراق الشجر تشبه "أوراق

الغار" ذات لون بني رمادي يتراوح طول *F. gigantica* بين 30 إلى 70 ملم وعرضها من 5 إلى 12 ملم إذ أن طول الجسم يمتد بواقع ثلاث إلى أربع مرات العرض ، الاكتاف أما غير موجودة أو انها غير واضحة كما في النوع *F. hepatica* كما ان المخروط الامامي في *F. gigantica* قصير ومستمر مع الجسم وهذا السبب في عدم وضوح الاكتاف وتكون المحاجم الفمية والبطنية واضحة ذات نهاية خلفية مدورة بصورة مختلفة عن *F. hepatica* ذات النهاية الخلفية التي تكون مائلة إلى ان تكون مدببة (Gupta, 2014؛ Ibrahim, 2017). ويبرز المحجم البطني للأمام قليلا مع وجود البلعوم والمريء القصير يكون الاغورين المعويين ذات تفرعات عديدة فيما يقع المبيض Ovary في النصف الأيمن من الجسم امام القناة المحية المستعرضة transverse vitelline ducts و تشغل الخصيتان (التي تكون متفرعة بإفراط) المنطقة الوسطية خلف القنوات المحية vitelline ducts ويقع الرحم uterus ذو الشكل الشبيه بالوردة بين القنوات المحية والمحجم البطني وتكون غدة مهلس Mehlis' gland موجودة على مستوى المستودع و تترتب الغدد المحية Vitellaria جانبيا على امتداد طول الجسم بأكمله. الحويصلة المنوية Seminal vesicle تقع في تجويف كيس الذؤابة cirrus sac فيما لا يوجد مستقبل منوي Seminal receptacle (Gupta, 2014؛ Shaldoum, 2015). ويمكن ملاحظة شكل الدودة البالغة كما يظهر في الشكل (1-2).

2-3-2 البيضة Eggs: البيضة كبيرة الحجم ذات لون بني مصفر وقشرة رقيقة كما تحوي على غطاء بالكاد يرى في نهايتها الامامية اما في نهايتها الخلفية فتحتوي على انبعاج يشبه السرة (Gupta, 2014) كما في الشكل (2-2).



شكل(1-2): A-نموذج لدودة بالغة معزولة من الدراسة الحالية B- مأخوذ من Abdisa و Jilo (2017)



شكل (2-2): البيضة مأخوذ من Hussein وآخرون (2010)

2-3-3 الأطوار اليرقية Larval phase : على عكس الديدان الخيطية Nemathelminthes

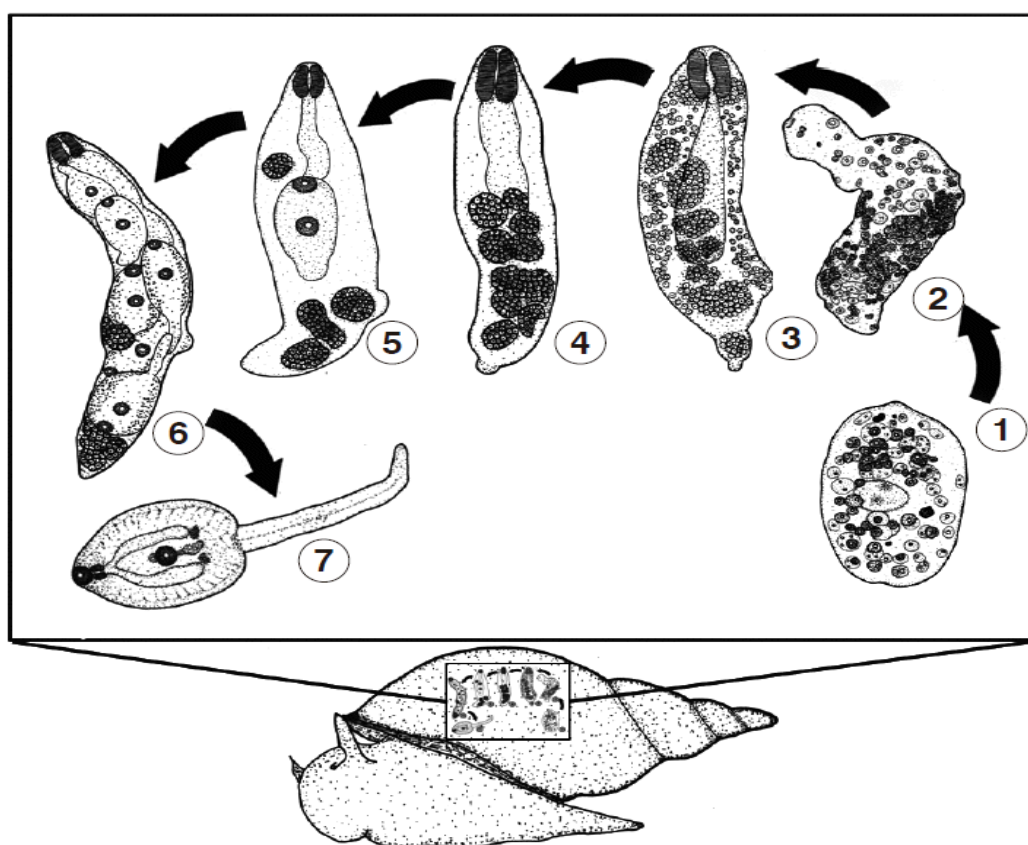
والشريطية Cestoda (باستثناء القليل) ، تخضع يرقات المخرمات بشكل واسع إلى التكاثر اللاجنسي والتضاعف في مختلف مراحل النمو داخل المضيف الوسيط، والذي غالبا ما يكون من الرخويات خصوصا القواقع (Phalee وآخرون، 2015).

تحتوي يرقة الميراسيديوم Meracidium على جسم متطاوّل يبلغ حوالي 150 مايكرومتر و تكون مغطاة بالكامل بالأهداب. وتتحرّك بشكل فعال للغاية وتسبح بسرعة في جميع الاتجاهات إذ انها تدور حول محورها الطولي. يمكن أن تعيش لمدة 36 إلى 40 ساعة ولكن يجب أن تجد المضيف (القوقع) المناسب في غضون ساعات قليلة من فقس البيضة قبل ان تستنفذ الطاقة المطلوبة لاختراق الحلزون. وهذه اليرقة تكون غير قادرة على النجاة من أشعة الشمس المباشرة حتى 2 سم من العمق. تخترق الميراسيديوم جسم القوقع خلال 30 دقيقة باستخدام وسائط ميكانيكية وانزيمية ، إذ انها تحتوي على حليلة قمية Apical papilla تفتح فيها الغدة القمية Apical gland وغدتا الاختراق Penetrate glands كما وتحتوي هذه اليرقة على زوج من الخلايا اللمبية تقع في نهاية الثلث الثاني من جسم اليرقة وتعمل اليرقة على التخلص من الغطاء الهدي خارج جسم القوقع وتتحول إلى جسم يشبه الكيس يدعى الكيس البوغي Sporocyst يحتوي الكيس البوغي على خلايا جرثومية وبقع عينية و تنتج الخلايا الجرثومية أعدادا كثيرة من الطور اليرقي اللاحق الريديا Redia (Hussein وآخرون، 2010؛ Gupta، 2014).

الريديا Redia لها جسم متطاوّل مسطح وتحتوي في نهايتها الامامية على بروز دائري أو تاجي ينتهي بامتداد حلمي الشكل على عكس الكيس البوغي تمتلك فمًا يؤدي إلى كيس أنبوبي مثل القناة الهضمية ، إذ تحتوي الريديا على بعلوم عضلي وامعاء أولية كما وتحتوي خلايا جرثومية تتحول إلى الجيل الثاني من الريديا المسماة بالريديا البنوية Daughter redia. وتنتج الخلايا الجرثومية

للريديا المزيد من الريديا البنوية لتصل إلى مرحلة تبدأ فيها الريديات البنوية بإنتاج الطور اللاحق والمسمى بالسركاريا *Cercaria* والتي تخرج من فتحات خاصة تسمى فتحات الولادة Birth pore (Phalee وآخرون، 2015).

السركاريا *Cercaria* يتكون جسمها من جزئين أمامي بيضوي الشكل، والخلفي على شكل ذنب. يحتوي الجسم على محجم فمي، ومحجم بطني (الأكبر حجما من الفمي) وبلعوم ومرئ يؤدي إلى زوج من الأعورين المعويين غير المتفرعين يحيطان بالمحجم البطني، ويكون جسم السركاريا مغطى بالأسشواك (Hussein وآخرون، 2010).



شكل (2-3): الأطوار اليرقية *F. gigantea* داخل جسم القوقع *L. auricularia*
 1- الكيس البوغي ، 2 و 3- ريديا غير مكتملة النمو ، 4 و 5- ريديا ، 6- ريديا *rubiginosa* :
 بنوية، 7- سركاريا : مأخوذ من Phalee وآخرون (2015).

4.2. المضيف الوسطي

Intermediate host

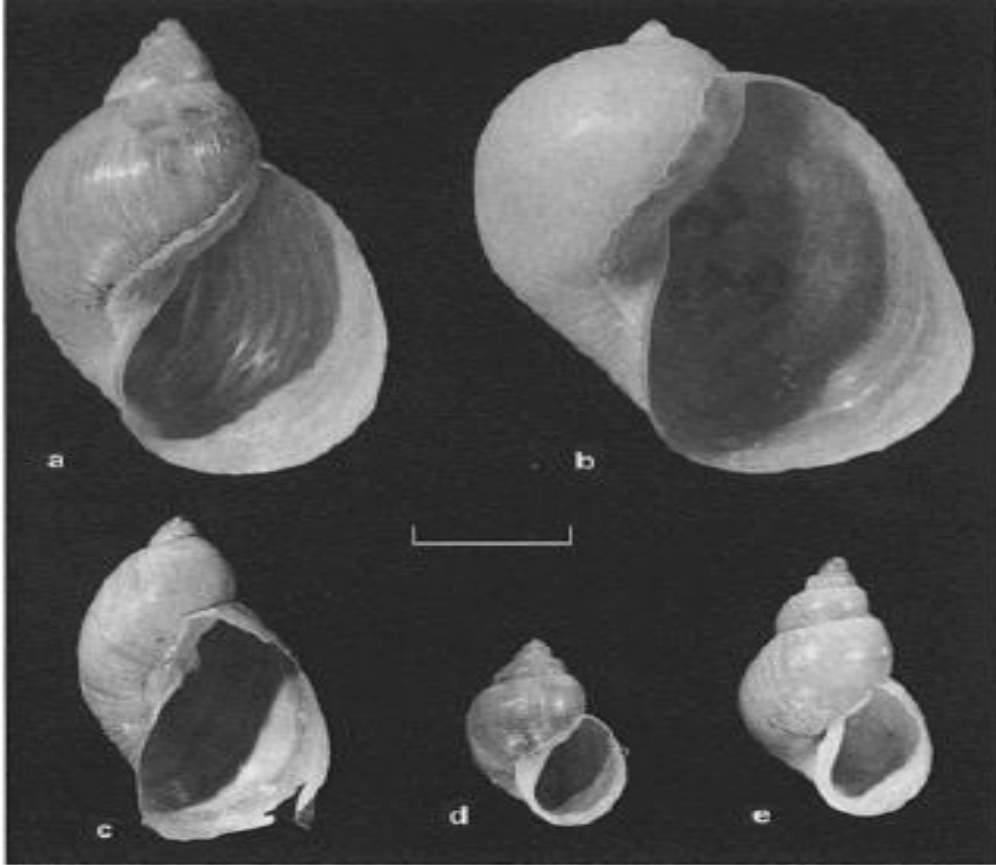
لاكمال دورة حياة الطفيلي مخرم الكبد العملاق فانه يتطلب وجود مضيف وسطي، وعلى الأغلب فإن الطفيلي يميل إلى مجموعة من قواقع المياه العذبة التي تعود إلى عائلة Lymnaeidae، وهي مجموعة من القواقع المائية التي تكون عالمية التوزيع والانتشار وتعيش في بيئات مائية مختلفة وتظهر تنوعاً في البيئة التي تعيش فيها وهي تفضل المياه العذبة (Joyce، 2002). ويعد أفراد هذه العائلة مضيفاً وسطياً للعديد من الطفيليات التي تصيب الإنسان والحيوانات البرية والمستأنسة والتي يسبب أغلبها أضراراً صحية واقتصادية بالغة (Bargues وآخرون، 2001). تعيش هذه القواقع في بيئات مختلفة من العالم منها المنجمدة و المناطق الحارة المشمسة و في البحيرات الكبيرة ، ومناطق التيارات المتدفقة وفي المياه المالحة وفي برك أو مسطحات مائية التي قد تتحول إلى منطقة موحلة (Ali وآخرون، 2008). لقد عزلت الأطوار اليرقية للدودة من *Radix spp* و *Galba truncatula* و *Physa acuta* ومع ذلك فإن قوقع *Lymnaea* يعدّ المضيف الوسطي الرئيسي (Pantelouris، 1965).

وحتى وقت قريب نسبياً ، تم تصنيف القواقع التي تعود إلى هذه العائلة إلى جنس واحد *Lymnaea* مع تنوع مظهري ملحوظ بينها الشكل (2-4)؛ ولكن مع تطبيق علم الوراثة الجزيئي والشجرة الجينية، أصبح هناك تسميات لهذا الجنس منها *Galba* و *Radix* مستخدمة الآن كأفراد تعود إلى هذه العائلة بالإمكان ان تستخدم كمضائف وسطية للمخرمات (Lydeard و Cummings، 2019). في أفريقيا ، على سبيل المثال ، سجل *Galba truncatula* (المعروف باسم *L. truncatula* أيضاً) على انه مضيف وسطي للمخرم *F. hepatica* بينما القوقع *Radix natalensis* تم تسجيله كمضيف وسطي للمخرم *F. gigantica* (Lydeard و Cummings، 2019). و كمضيف وسطي للمخرم *F. hepatica* (المسؤول إلى حد كبير عن

الأمراض البشرية المعروفة بتعفن لكبد)، فان القوقع *G. truncatula* يتميز بأسلوب حياته البرمائي ، والتكيف مع البيئات الأكثر برودة ، فضلاً عن قدرته على تحمل عوامل الجفاف والظروف البيئية القاسية الأخرى في البيئات المائية غير المستقرة (Dillon، 2000؛ Lydeard و Cummings، 2019). ولا يزال موضع تصنيف القواقع بطنية الأرجل وعائلة Lymnaeidae موضوع بحث ونقاش، وقد ساعد علم الوراثة الجزيئي في فهم تصنيف هذه العائلة إذ ساهم هذا العلم في تمييز بعض الأنواع المخفية التي لا يمكن تفريقها مظهرياً ومن بين هذه الأنواع *L. cubensis* و *L. schirazensis* ، وهما نوعان تم الخلط بينهما سابقاً مع *G. truncatula* قبل إدخال الطرق الجزيئية للتصنيف. مثل هذه الحالة المربكة لها آثار مهمة على انتقال الطفيليات وعلم الأوبئة، لأن الأنواع الخفية قد تختلف في كفاءتها لنقل مسببات المرضية ونجاح نموها داخل هذه القواقع (Mahulu وآخرون، 2019).

في العراق تم تسجيل إصابة الجنسين *Lymnaea* والجنس *Radix* كمضيفين لمخرم الكبد *F. gigantica* . ويتميز الجنس *Lymnaea* Lamarck, 1799 بأن له قشرة صغيرة مستدقة مدببة تتباين على نطاق واسع في الارتفاع ، رقيقة الجدران وهشة. اللوامس مسطحة ومثلثة ويعد القوقع خنثي تقع الفتحتان التناسلية على الجانب الأيمن. يودع البيض في كبسولة هلامية (Brown، 1994 ; Brown، 2005). تتنفس هذه القواقع هوائياً من خلال الرئة وهي تفتقد إلى الخياشيم إذ تحور mantle cavity إلى رئة لهذا فهو يفضل العيش في المياه ذات التدفق البطيء وكما انه يفضل العيش على سطح أو حواف هذه المياه بالقرب من النباتات، لها لوامس قصيرة والعيون قاعدية ويكون اتجاه فتحة القشرة باتجاه عقرب الساعة كما تكون الفتحة كبيرة الحجم تفتح على اليمين تكون القشرة ذات لون بني فاتح (Bargues وآخرون، 2001؛ Ali وآخرون 2008؛ Hawrami وآخرون، 2013).

ينتشر هذا القوقع في جميع انحاء العالم وفي المناطق العربية ينتشر في حوض النيل، والسودان ، و شبه الجزيرة العربية ، ومدغشقر، وجزر القمر، وينتشر في مناطق كثيرة من افريقيا أيضا سواء المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية من افريقيا أمّا في العراق ، فينتشر في جميع المناطق من الشمال إلى الجنوب (Ali وآخرون، 2008؛ Hawrami وآخرون، 2013).



شكل(2-4): جنس *Lymnaea* : (a) و (b) *L. natalensis* (c) *L. columella* (d) و (e) *L. truncatula* التباين المظهري لجنس الليمنيا مأخوذ من Brown (1994)

كما تم تسجيل الجنس *Radix sp* في وسط وجنوب العراق وهناك حوالي 1800 نوع يعود إلى هذا الجنس ويظهر هذا الجنس أيضا تباين في شكل القشرة والتصبغات والجهاز التناسلي (Al-Waaly وآخرون، 2018). ويتشابه مظهرها وتشريحها مع الليمنيا الا انه يتميز بقصر القناة الناقلة للنفث (Brown، 1994).

5.2. المضائف النهائية :

Final hosts:

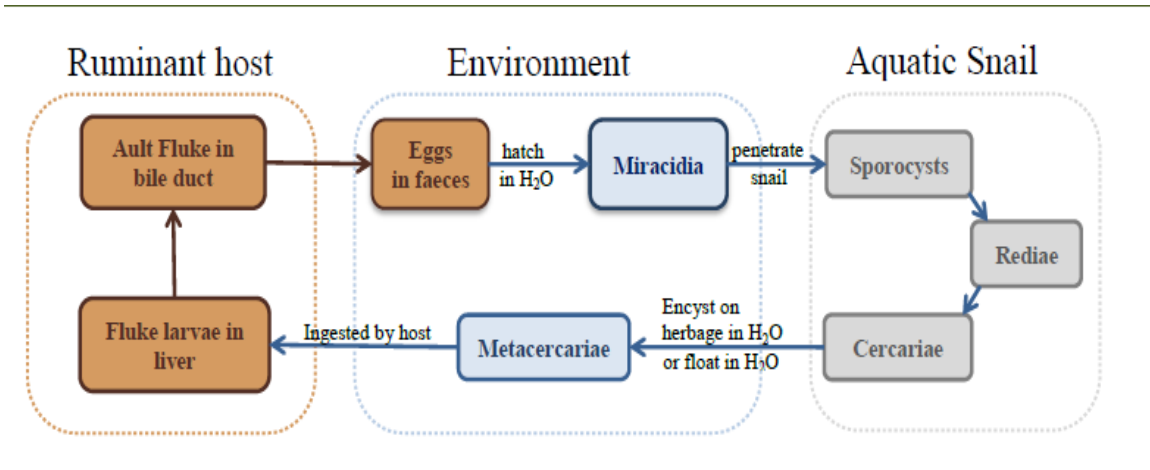
جميع الثدييات عرضة للإصابة بهذا الطفيلي ولكن يجب توفر شرط تناول الطور المعدي لهذا الطفيلي من قبل المضيف النهائي (Al-Mahmood و Al-Sabaawy، 2019). ويعد الإنسان والعديد من الحيوانات مضائف نهائية لهذا الطفيلي كما ان هناك العديد من المجترات التي تعد مضائف نهائية وخازنة للطفيلي كالأبقار والأغنام والماعز والغزلان والخيول وكما يمكن أن تصاب الخنازير به (Marif وآخرون، 2016). وتعد الحيوانات الأخرى مثل الكنغر والأرانب مضائف خازنة قد تحافظ على الإصابة وتلويث البيئة ببيض الطفيلي في المراعي فضلا عن إمكانية إصابة الخيول بهذا الطفيلي ليعدّ مضيفا خازناً. حيث يعيش الطفيلي في القناة الصفراوية لهذه المضائف ، ويسبب مايعرف بداء تعفن الكبد (Rana وآخرون، 2014 ؛ Hamoo وآخرون، 2020). ولقد ذكر Mas-Coma وجماعته (2005) ان القوارض واللاما والكنغر تعد مضائف نهائية لهذا الطفيلي في استراليا.

6.2 دورة الحياة :

Life cycle :

تبدأ الديدان البالغة الموجودة في القناة الصفراوية بوضع البيض في الصفراء التي تدخل بدورها إلى الأمعاء. و يصل البيض إلى البيئة الخارجية عن طريق مروره من القناة الصفراوية المشتركة ومنها إلى الأمعاء ثم تخرج مع البراز. وتكون البيوض غير ناضجة إذ يتطلب نضجها وتكوين الجنين فيها عشرة أيام على الأقل ثم الوصول إلى المراحل التالية (مرحلة اليرقة المهدبة الميراسيدوم meracidium) (Kassai، 1999). والتي تتسم بأنها متحركة، و يستغرق هذا النمو 9 أيام في درجة الحرارة المثلى لهذا النمو من 22 - 26 درجة مئوية ويحدث نمو أقل عند درجة حرارة 10 درجة مئوية (Marquardt وآخرون، 2000). فترة حياة هذه اليرقة قصيرة إذ يجب أن تجد

القوقع المناسب في غضون 3 ساعات و في حالة حدوث اختراق ناجح لأنسجة القوقع يستمر نمو اليرقة المهدبة الميراسيديوم meracidium داخل أنسجة القوقع لتتحول إلى الكيس البوغي sporocyst ثم الريديا redia ثم إلى السركاريا cercaria التي تهرب من القوقع سابحة ومتحركة باتجاه الأعشاب المائية لتلتصق عليها مكونة الطور المعدي السركاريا المتكيسة metacercaria. تستغرق هذه الأطوار وتطورها ما لا يقل عن 6-7 أسابيع لإكمال التطور من الميراسيديوم meracidium إلى السركاريا المتكيسة metacercaria (Zhang وآخرون، 2019). يمكن أن ينتج عن إصابة القوقع بميراسيديوم meracidium واحد أكثر من 600 سركاريا متكيسة metacercaria. وعند تناول المضيف النهائي للأعشاب الملوثة بالطور المعدي (السركاريا المتكيسة وتخترق جدار الأمعاء الدقيقة ومن خلال الغشاء البريتوني تصل إلى الكبد وتخترقه، تحفر الدودة اليافة نسيج الكبد وتبقى لفترة 6 - 8 أسابيع ثم تدخل إلى القناة الصفراوية حيث تهاجر إلى القنوات الكبيرة وأحياناً المرارة (Scott و Goll ، 1977). يصاب البشر في بعض الأحيان نتيجة ابتلاع السركاريا المتكيسة التي تتكيس على نباتات المياه أو أطباق الكبد النيئة المصابة بدودة *Fasciola* غير الناضجة أو اليافة (Spithil و Dalton ، 1998؛ Wakuma، 2009).



شكل (5-2) دورة حياة *F. gigantica* مأخوذ من Andrews (1999)

7.2. الوبائية

The epidemiology

هناك ما يقرب من 2.5 مليون و 180 شخص تحت خطر الإصابة في جميع انحاء العالم مصاب بهذا الطفيلي (Caravedo و Cabada ، 2020 ؛ Meharennet و Shit ، 2021)، كما ان الطفيلي يصيب حوالي 300 مليون بقرة و 250 مليون من الأغنام في العالم (Burden وآخرون ، 1983 ؛ Fürst وآخرون 2012). وتلعب الظروف البيئية والاجتماعية ووجود المضيف الوسطي دورا مهما في الإصابة وانتشارها (Takang وآخرون، 2020). ويرتبط ظهور الإصابة بالمناطق التي يكثر فيها قواقع المياه العذبة الجنس *Lymnaea* والجنس *Radix* (المضيف الوسطي الأول للطفيلي) والذي يقوم بطرح الطور المعدي للبيئة معرضاً المضيف النهائي لخطر الإصابة في حال تعرضه أو تماسه للبيئة الملوثة ، ومن هنا تكون المواشي التي تتواجد بالقرب من تلك البيئة أكثر عرضة من غيرها ، إذ انها تتناول الأعشاب الملوثة وتشرب من المياه الملوثة اثناء الرعي (Hamed وآخرون، 2014).

تبدأ البيوض في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية في الموسم المطير بالنمو إلى الميراسيديوم التي تدخل القوقع لتكمل نموها إلى السركاريا مع نهاية هذا الموسم لتخرج السركاريا وتتكيس على الأعشاب لتدخل إلى المضيف النهائي وتخرج كبيوض في الموسم المطير التالي (Zhang وآخرون؛ 2020).

إن دورة الحياة تتطلب مضيفين، احدهما: فقري (المواشي والإنسان) والآخر: لافقري، وهي تتكون من أربع مراحل: (1) إصابة المضيف النهائي، وتتمثل بهجرة اليرقات لتصل مرحلة البلوغ في الكبد ثم تبدأ بطرح البيوض (2) الانتقال بين المضائف النهائية وبين المضيف الوسطي القوقع (اللافقري) إذ تطرح البيوض إلى البيئة مع البراز وتنمو إلى الميراسيديوم meracidium (الطور النشط القصير) في المياه العذبة، وهنا تختلف الخصائص الفيزيائية والكيميائية للمضيف اختلافاً

واسعاً (3) النمو داخل المضيف الوسطي إلى أطوار متعددة sporocyst و redia و cercariae التي تخرج من القوقع خلال 38-86 يوماً تعتمد على درجة الحرارة ، كلما كانت درجات حرارة أعلى تقل فترة النمو (4) الانتقال بين مضيفي القوقع، والتدبيات تشمل مرحلة السباحة لطور cercariae وتحولها إلى السركاريا المتكيسة وتعتمد أيضاً على درجة الحرارة (Mas-Coma وآخرون، 2005 ؛ Gebrie و Engdaw ، 2015).

إنّ نجاح الطفيلي في إتمام هذه العملية يؤدي إلى انتشار الطفيلي بمدى واسع والذي يعتمد على وجود المضائف الوسطية والنهائية ، لذا نجد ان معظم المصابين أو السكان المعرضون للخطر هم في الولايات المتحدة الأمريكية ، وأجزاء من أوروبا، وجنوب أفريقيا، والشرق الأوسط ، وآسيا حيث تتوافر العوامل المؤدية لانتشار الطفيلي (Mas-Coma وآخرون ، 2020). وفي الشرق الأوسط فإن أعلى الإصابات البشرية بداء الفاشيولا سُجِلت في كل من إيران، والعراق، والسعودية، وسوريا فضلاً عن تسجيله في شمال أفريقيا في مصر واثيوبيا (Nyindo و Lukambagire ، 2015). فقد سجلت بعض الدراسات في وقت قريب الإصابة بهذا الطفيلي في الإنسان وعلى الرغم من محدودية هذه الدراسات نذكر منها دراسة أجريت في إيران تم فيها تسجيل نسبة إصابة بلغت 1.86% من العينة المفحوصة بالطريقة المصلية (Sarkari وآخرون ، 2012) . كما سجلت نسبة إصابة 1.3% بين السكان في محافظة Lorestan غرب إيران وقد استخدمت الطريقة المصلية أيضاً للتشخيص في هذه الدراسة (Heydarian وآخرون، 2017) وفي نفس المحافظة تم تسجيل نسبة إصابة بلغت 1.7% في دراسة أجريت من قبل Bozorgomid وآخرون (2018). وأشارت دراسة Khademvatan وآخرون (2019) إلى أن نسبة الإصابة بين المفحوصين مصليا كانت 50% في مدينة Guilan في إيران من خلال استعراض نتائج دراسات اجريت من عام 1999 وحتى عام 2019.

اما في تركيا فقد تم تسجيل ست حالات في محافظة وان Van شرق تركيا في المستشفى التعليمي لجامعة Yuzuncu Yil (Bayhan وآخرون، 2020).

أما في المواشي، فقد كانت هناك دراسات منها دراسة استعراضية لإصابة الحيوانات في العديد من محافظات مصر أشار فيها Soliman (2008) إلى أن نسب الإصابة بداء الفاشيولا تتراوح بين 3% في شمال سيناء و 59.5% في الدقهلية في الأبقار والجاموس أما في الأغنام، فكانت النسبة تتراوح بين 11% في البحر الأحمر وبين 78% في الدقهلية . وفي مصر أيضا أشار كل من Hussein و Khalifa (2010) إلى أن نسبة الإصابة بداء الفاشيولا كانت 30.3% توزعت في الأبقار 28.6% كانت، وفي الجاموس 33.7% أما في الأغنام 17.2%. ونشر Nguyen وآخرون (2011) دراسة بينت انتشار داء الفاشيولا في المواشي في المناطق التي يتوطن بها المرض البشري (وجود إصابات بشرية) إذ أن 54.9% من الحيوانات المفحوصة في مدينة Binh Dinh في وسط جنوب الفيتنام ، تبين أنها مصابة وأن البيوض موجودة في برازها. وفي نايجيريا في مدينة Port Harcourt وجد أن حوالي 70.2% من المواشي المفحوصة في موسم الأمطار كانت مصابة أما في موسم الجفاف فكانت نسبة الإصابة 21.3% ولم تكن هناك فروق معنوية في نسبة إصابة الذكور و الإناث (Barine، 2012). وأشارت دراسة مرجعية استعرضت نتائج دراسات سابقة امتدت لعشر سنوات (من 1999 وحتى 2019) أن نسبة الإصابة بين المواشي كانت بين الأغنام 4.2%، وبين الأبقار كانت 9% فيما كانت 3.1% بين الماعز (Khademvatan وآخرون، 2019). وبين Hambal وآخرون (2020) أن نسبة الإصابة في المواشي بداء الفاشيولا كانت 41% في مدينة Banda Aceh City في اندونيسيا.

وقد تم التأكيد على أهمية النظافة والعادات الصحية في السيطرة على المرض من خلال اتباع عادات غسل الأيدي، وعدم استعمال البراز كسماد وغسل الخضراوات قبل تناولها وهذا يعتمد على

المستوى الثقافي، والتعليمي للأفراد فضلاً عن السيطرة على المضيف الوسيط ورعاية المواشي ونظافتها، واعطائها مضادات الديدان للتخلص من مصادر الإصابة (Rast وآخرون 2015؛ Nyirenda وآخرون 2019؛ Mas-Coma وآخرون 2020).

8.2 . الأمراض والأعراض Pathogenicity and symptoms

في المواشي يمكن تمييز ثلاث مظاهر للأمراض اعتماداً على عدد الديدان وعلى فترة الإصابة:

المرحلة الحادة تحدث في حالة الإصابة بأعداد كبيرة من السركاريا المتكيسة في وقت قصير وتؤدي مثل هذه الحالة إلى تنخر الكبد من قبل الديدان البالغة وحدوث نزف يؤدي إلى موت المواشي نتيجة فقدان الدم وتحدث هذه الحالات في المواسم المطيرة التي تكون ملائمة لنمو المضيف الوسيط (Yap، 2018).

المرحلة شبه الحادة تتميز بحدوث اليرقان وفقدان الوزن وفقر الدم. يحدث فقر الدم الشديد نتيجة تلف أنسجة الكبد ويمكن أن يؤدي النزيف أيضاً إلى الوفاة في غضون 8-10 أسابيع.

المرحلة المزمنة وهو الشكل الأكثر شيوعاً لداء الفاشيولا في الأغنام والماعز والأبقار ، حيث تتطور العلامات السريرية ببطء. وتظهر الأعراض على شكل انخفاض الشهية ، وفقر الدم ، وشحوب الأغشية المخاطية في الفم والعينين ، حدوث وذمة تحت فك الأغنام والإسهال في الماشية. ان تلف الكبد الطفيلي يكون بمثابة بيئة مناسبة لنمو بكتيريا *Clostridium novyi* من النوع B ، والتي تسبب مرض الكبد الحاد والمميت المعروف باسم مرض الأسود في البشر ، هناك مرحلتان سريريتان متميزتان للمرض - مرحلة برنكيما الكبد الحادة ومرحلة الاقنية (المزمنة) في الإنسان. إنَّ مرحلة الكبد الحادة تحدث عادة بعد 6-9 أسابيع من الإصابة اثناء هجرة الديدان اليافعة عبر الكبد

و خلال هذه المرحلة ، يتجلى المرض على شكل حمى وألم في الربع العلوي من الجسم فضلا عن فرط الحمضات. يتطور المرض إلى المرحلة المزمنة حيث تدخل الديدان البالغة القنوات الصفراوية وقد تسبب اليرقان الانسدادي (Figtree وآخرون ، 2015).

9.2. التشخيص

Diagnosis

هناك ثلاثة تقنيات مستخدمة للتشخيص في داء الفاشيولا، اعتمادا على معايير منظمة الصحة العالمية والتي تشمل طرائق التشخيص الطفيلية، والطرائق المناعية، والطرائق الجزيئية ، (Sumruayphol وآخرون ، 2020). ويعتمد تشخيص داء تعفن الكبد في البداية على العينات أو الحالات المشتبه بها بالإصابة بداء الفاشيولا وهنا يتم تتبع تاريخ استهلاك الطعام وتناول الخضروات النيئة ، وجود عدد من الحمضات في الدم يزيد عن 500-1000 لكل ميكرو لتر من الدم ، وعلى نتائج التصوير بالموجات فوق الصوتية، أو التصوير المقطعي و يعتمد تأكيد التشخيص على التقنيات المذكورة في أعلاه (Yap، 2018) .

التشخيص باستخدام تقنية التشخيص الطفيلية (الفحص المباشر) ، تخضع عينات البراز التي يتم جمعها من المرضى أو الحيوانات إلى استخدام إحدى أو كلا الطريقتين هما التعويم flotation، و الترسيب sedimentation ثم يتم الفحص المجهرى ، ولا يمكن استخدام هذه التقنية إلا في المرحلة المزمنة عندما يتم إخراج البيض بنشاط من الجهاز الهضمي للمضيف (Tsega ، 2015؛ Rast وآخرون ، 2015). إن استخدام الفحص للبحث عن الانتجين (البيضة) في البراز له أفضلية لكن تعدُّ الطرائق المصلية أكثر تفضيلا للاعتبارات التالية (Sarkari و Khabisi ، 2017) :

1- حساسية وخصوصية الفحص.

2- القدرة على فحص عدد كبير من العينات في المجتمع وخصوصاً في الدراسات الوبائية

3- القدرة على اكتشاف المستضد في وقت مبكر (حوالي شهرين) وقبل بدء المرحلة المزمنة لمتابعة

المرض وعلاجه

4- القدرة على الكشف عن الإصابة في حال وجود اعداد منخفضة جداً من البيض .

لذا يمكن إجراء التشخيص باستخدام التقنيات المناعية مثل مقايضة الممتص المناعي المرتبط بالإنزيم Enzyme linked Immunosorbent Assay (ELISA) عن طريق قياس إما الجسم المضاد الخاص بالفاشيولا أو المستضد. إن قياس الأجسام المضادة له قيود لأن وجود الأجسام المضادة يمكن أن يشير إلى التعرض السابق للطفيلي أيضاً ، بدلاً من الإصابة الحالية. فضلاً عن إمكانية الكشف عن المستضد الخاص بالفاشيولا باستخدام عينات البراز أو الأمصال، بينما الكشف عن الأجسام المضادة الخاصة بالفاشيولا يتطلب عينات من الأمصال (McDougall، 2012).

كما أن هناك محاولة لتطوير الطرائق التشخيصية، لتكون أكثر حساسية وباعتماد أنواع أخرى من العينات لكن تبقى تعتمد على المبدأ الأساس للتشخيص، فمنها ما يعتمد على البحث عن الأجسام المضادة في مصل الحيوانات المصابة التي يمكنها الكشف عن الإصابة من 2 إلى 4 أسابيع بعد الإصابة ، والأخرى تعتمد على الكشف عن المستضد الطفيلي المتداول باستخدام ELISA ، حيث يتم اكتشافه من 4 إلى 6 أسابيع من الإصابة وينخفض بمجرد دخول الديدان إلى القنوات الصفراوية. ولكن قد يكون اختبار المصل لقطعان كبيرة أمراً صعباً لذا كانت هناك محاولة لاستخدام المضادات أو المستضدات الموجودة في البراز حلاً للمشكلة، وقد امتازت هذه الطريقة (وبحسب الدراسة التي اعتمدتها) بسهولة الحصول على البراز مقارنة بالمصل في حال وجود اعداد كبيرة من الحيوانات ولا تستغرق وقتاً طويلاً والعدة تكون مستقرة عند 4 درجات مئوية كما يمكن أن تعكس كمية المستضد أعداد الديدان لذا عدت الدراسة ان هذا الاختبار يعد جيداً (Gupta)

وآخرون، 2020). كما أظهرت دراسة Munita وآخرون (2019) إنّ الاختبارات التي استخدموها لتشخيص الإصابة في حليب الحيوانات في غير موسم التعرض للإصابة قد تكون أداة موثوقة لرصد الإصابة بطفيلي *F. hepatica* بصورة عالية .

أمّا التقنيات الجزيئية، فكشفت عن مسبب داء الفاشيولا، مثل: تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) ، فلا تزال في المرحلة التجريبية وبالتالي فهي غير مناسبة للاستخدام على نطاق واسع (Ichikawa-Seki وآخرون ، 2016). وهناك دراسة تصف طريقة PCR لتشخيص داء الفاشيولا يستخدم ثلاثة بواقي تستهدف الحمض النووي للميتوكوندريا ، حيث يكون البادئ الأول موجود في كل من *F. hepatica* و *F. gigantica* بينما الاثنان الاخران ، أحدهما خاص بـ *F. hepatica* والآخر خاص بـ *F. gigantica* (Le وآخرون ، 2012). ان هذه التقنية قادرة على الكشف عن الفاشيولا من عينات البراز والتمييز بين أنواع الفاشيولا التي تسبب الإصابة في خطوة واحدة. بالإضافة إلى ذلك ، فإن استخدام DNA الميتوكوندريا كقالب هو أكثر حساسية ، لأن الخلية الواحدة قد تحتوي على مئات من الميتوكوندريا وقد استخدمت هذه الطريقة في بعض المناطق الموبوءة (Nguyen وآخرون، 2011؛ Ichikawa-Seki وآخرون، 2016 ؛ Ichikawa-Seki وآخرون ، 2017a ؛ Ichikawa-Seki وآخرون ، 2017b).

فضلا عما تم ذكره من طرائق تشخيص فقد تستخدم في بعض الأحيان المقاطع النسجية في الدراسات أو عند اخذ الخزع وتتم من خلال اكتشاف الديدان البالغة التي تظهر في المقاطع في الكبد وتعد من الطرائق الموثوقة نظراً لظهور الديدان أو انسجتها في الكبد المصاب كما يمكن الاعتماد على مشاهدة الديدان وخصوصا في الدراسات المسحية (Kaufman ، 1996). كما يمكن استخدام الموجات فوق الصوتية التي قد تكشف الديدان البالغة في القناة الصفراوية

والانسجة الحشوية للكبد وقد تظهر الحفر التي تصنعها والتمدد في اقطار القنوات الصفراوية في هذا الفحص (Ichikawa-Seki وآخرون ، 2017 b).

Immunity against the parasite

10.2. المناعة ضد الطفيلي

يقوم المضيف الوسطي بردود فعل دفاعية مختلفة لدفع الإذى الناجم عن تأثيرات الإصابة والنتيجة بفعل الأطوار اليرقية في المضيف الوسطي فعملية البلعمة وتغليف الطفيلي بعلبة تعد احد ردود الفعل كما يمكن للخلايا الأميبية amoeboid cells القيام بعملية الإلتهايم اذ انها تقوم بمهاجمة يرقات المخرمات مؤدية إلى اضرار ميكانيكية لها مسببة موتها ، وتقسم الاستجابة المناعية التي تحدث في القواقع إلى مرحلتين : المرحلة الأولى يتم فيها تكوين الأغلفة الخلوية حول الأطوار اليرقية لتعزلها عن أنسجة الجسم ، أما المرحلة الثانية فيتم فيها تحلل الأطوار اليرقية و ازالة ترسبات وبقايا الأغلفة العازلة (Rojas وآخرون ، 2015 ؛ Ryan وآخرون ، 2020 ؛ Yaoyao وآخرون ؛ 2020). الجهاز المناعي للقواقع يشمل الاستجابة المناعية الفطرية Innate Immunity التي تتكون من الاستجابة المناعية اذ ان هناك خلايا مناعية في الرخويات تعادل خلايا الدم البيضاء في الحيوانات العليا والتي تلعب دورًا في الاستجابة المناعية غير النوعية. تسمى هذه الخلايا خلايا الدم وان معظم هذه الخلايا قادرة على ابتلاع الجزيئات خارج الخلية عن طريق البلعمة ، والالتقام ، والتغليف، وهي تساهم في عمليات قتل وإزالة الكائنات الحية الدقيقة الغريبة (Nasredin و Zaki ، 2020 ؛ Comesana وآخرون ، 2012). للخلايا الدموية وظائف عديدة ، كونها المؤثرات الرئيسية للنظام المناعي (Loker ، 2010 ؛ Ray وآخرون ، 2013). وقد وجد نوعان من الخلايا الصغيرة والكبيرة و إنّ الخلايا الصغيرة المسماة الخلايا غير المحببة (agranulocytes) هي خلايا صغيرة نسبيًا وتسمى أيضًا الخلايا الهياينية ، حجمها أقل

من 8 ميكرومتر و لها كفاءة مناعية منخفضة نسبياً ، في حين أنَّ الخلايا الكبيرة ذات الاقدام الكاذبة (والتي تسمى بالخلايا شبه الحبيبية و الخلايا المحببة semigranulocytes and granulocytes) هي خلايا ذات انتشار أكبر ولها اقدام كاذبة ونواة متعددة الأشكال كما لها قدرات تعزز التحمل المناعي Immune tolerance و ترفع النشاط البلعمي (Nasredin و Zaki ، 2020). وأكدت الدراسات التجريبية على التأثير الإيجابي للإصابة الطفيلية على عدد كريات الدم في Hemolymph للأنواع المختلفة من القواقع (Ferreira وآخرون ، 2010 ؛ Freire ، 2020). وقد وجد انه في بداية الإصابة تتحول الخلايا الصغيرة (الخلايا المحببة) إلى خلايا حبيبية ذات حجم كبير، و سايتوبلازم كثيف وأقدام كاذبة طويلة (Gorbushin و Iakovleva ، 2006). هذه الخلايا المحببة هي الخلايا المستجيبة للتحفيز بالإصابة و التي تهاجر إلى موقع الإصابة وتعمل على مهاجمة الاجسام الغريبة ومنها اليرقات الطفيلية (Barcant وآخرون ، 2012 ؛ Freire، 2020).

وفيما يخص المضيف النهائي فقد تم دراسة آليات المقاومة من قبل العديد من الباحثين في الأنواع الحيوانية المختلفة. وقد تساعد هذه الدراسات على فهم الاستجابة المناعية ضد طفيلي *F. hepatica* في المضيف بشكل أفضل وتكون ضرورية في تطوير لقاح ضد الطفيلي. لقد ثبت أن الماشية تكتسب مقاومة لتصدي الإصابة للـ *F. gigantica* و *F. hepatica* عندما يتم تحسسهم بالتهاب أولي واضح أو إصابة محدودة (شدة إصابة قليلة) بالداء (Haroun و Hillyer، 1986). وبينت البياتي (2010) أنَّ كبد البقر المصابة بالطفيلي *F. gigantica* أو *F. hepatica* لايعطيها مناعة من إصابتها بالنوع الآخر مما يسبب انخفاض مناعة الحيوان وإصابته بأكثر من نوع من الطفيليات وقد يظهر في القنوات الصفراوية فرط التنسج عند الإصابة بديدان

الكبد وتؤدي الإصابة المزدوجة إلى ضيق الأوعية الصفراوية الناتج عن التخريش المتسبب عن الإصابة بالطفيليات.

يتسم مخرم الكبد بأن لديه نطاق واسع من المضائف النهائية وينتشر في مناطق ذات توزيع جغرافي واسع النطاق وقدرة على البقاء على مدى طويل في المضيف ، والصفة الأخيرة تعتمد على طرق معقدة لتعديل الاستجابات المناعية للمضيف لصالح بقاء الطفيلي (Flynn وآخرون، 2010). إذ يقوم الطفيلي بتحفيز الاستجابة المناعية بالخلايا Th2 ، وتنشيط استجابات الخلايا التائية 17 والخلايا التائية من النوع الأول Th1 / Th17 ، وتنشيط الخلايا البلعمية ، وتنشيط الموت المبرمج Apoptosis للخلايا الحمضة ، وتنشيط نضوج الخلايا الشجرية (Flynn و Mulcahy، 2008a ; 2008b)

لقد استخدمت الإصابة التجريبية للفئران بالمنشقات و *F. hepatica* و *F. gigantica* لفهم الاستجابة المناعية للمخمرات إذ وجد انه في المرحلة الأولى من الإصابة وبدا انتشار الخلايا المناعية في موضع الإصابة يبدأ تخليق الحركي الخلوي انترفيرون IFN (الأسبوع 0-2) وتبدأ الاستجابة بالنمط الثاني من الخلايا والتي تشمل Th2 النوع الثاني وتبدأ هيمنة إنتاج الحركيان الخليويان (IL-4) و (IL-13) وهنا تبدأ الاستجابات الخلوية بالانخفاض (الأسبوع 2 إلى الأسبوع 6-8)، وهنا تكون التفاعلات الالتهابية واضحة وعندها تبدأ هيمنة إنتاج الحركيان الخليويان (IL-10) وعامل نمو الورم - بيتا Tumor Growth Factor ($TGF-\beta$) يرافق ذلك فرط في الحمضات وتنشيط الخلايا البلعمية وانحسار انتاج IgG1 بعد ان كان مهيمنا في الفترة السابقة (Flynn وآخرون، 2010) .

أثناء المراحل الحادة من الإصابة ، تظهر الماشية استجابة مناعية خلطية Humoral Immunity مع ارتفاع IL- 10 ، $TGF - \beta$ ، IL- 4 و $IFN - \gamma$. ومع ذلك ، مع تقدم الإصابة تصبح الاستجابات المناعية Th2 / Treg أكثر هيمنة أما في المرحلة المزمنة ، تطلق خلايا Treg حركات خلوية تمنع إنتاج حركات Th1 / Th2 الالتهابية (Flynn و Mulcahy ، 2008).

وهذه الاستجابة المناعية مشابهة لما في الأغنام المصابة بـ *F. hepatica* ، حيث أنه يظهر أيضاً صورة مختلطة للخلايا التائية Th1 / Th2 المختلطة في الطحال في الأسبوع الثالث بعد الإصابة ومع تقدم الإصابة ، يتم التعبير الجيني لـ Th2 ولكن لا يلاحظ الخلايا التائية Th1 (Freire ، 2020) . وعلى الرغم من هيمنة الاستجابة المناعية بالخلايا التائية إلا أن هناك تغيرات في الحركات المنتجة حسب الموقع التشريحي للحيوان ففي الأغنام ينتج الحركي (IL-5) في الغدد الليمفاوية بينما لوحظ في الطحال إنتاج الحركي الخلوي IL-10 بشكل أساسي (Hacariz وآخرون ، 2009). بينما في الماعز ، يمكن ملاحظة وجود الحركي $IFN - \gamma$ ومستويات عالية من الحركي IL- 4 في كل من العقد الليمفاوية الكبدية و في الكبد (Mendes وآخرون ، 2010). ولهذا فإن التطور بالاستجابة المناعية بصورة متدرجة يثبط الاستجابة الوقائية الطبيعية وبالتالي يضمن بقاء الطفيلي لوقت طويل (Flynn و Mulcahy ، 2008b).

Materials and Methods:

3- المواد وطرائق العمل :

1-3:المواد والأجهزة

1-1-3:الأجهزة والأدوات المستعملة Equipments and Tools Used

استعملت في الدراسة الحالية الأجهزة والأدوات المدرجة في الجدول (1-3)

الجدول (1-3):- الأدوات والأجهزة المستعملة في الدراسة الحالية:

ت	الأدوات والأجهزة المستعملة	الشركة المصنعة	المنشأ
1	حاوية بلاستيكية لحفظ الأكباد	Plastic storage containers	Tmurat plastik Turkey
2	حاوية بلاستيكية 100 ml لجمع القواقع	Plastic container	Benoy lab China
3	سلايدات	Microscope slides	Sail Brand China
4	أنابيب جل حفظ الدم	Gel Tube	Benoy lab China
5	أنابيب أبندروف لحفظ المصل	Eppendorf Tubes	promega USA
6	حاوية زجاجية 250 ml لحفظ السلايدات	Glass Container	Paul Marienfeld GmbH&Co.KG Germany
7	حوض زجاجي لتربية الأسماك	Aquarium	صنع محلي Iraq
8	طقم تشريح	Dissecting set	CNiOrigin China
9	حقن سعة 5 ml	Syringe 5 ml	Zhejiang wantu China
10	كفوف	Gloves	Baoshunli China
11	اطباق بتري	Petri Dish	Labware China
12	ماصة	Pipette	Brand Germany
13	زجاجة غسل بلاستيكية	Squeeze bottle for washing strips	OEM China
14	الأسطوانة المدرجة	Graduated cylinder	Cleavage UK
15	أنابيب لتخفيف العينة	Tubes for sample Dilution	Benoy lab China
16	مقياس فيرنيه	vernier	CO.Limited China
17	صفحة لجهاز الاليزا	Plate	DIATEK China
18	جهاز الطرد المركزي	Centrifuge	Shanghai Lu Xiangyi Centrifuge Instrument Co.,Ltd. China
19	مجهر ضوئي	Light Microscop	Kyuss Germany
20	مجهر تشريح	Dissecting Microscope	Olympus U.S.A
21	كاميرا رقمية	Digital camera	Sony Japan

2-1-3 : الكيماويات المستعملة في الدراسة Chemical Materials used:

استعملت في الدراسة الحالية المواد الكيميائية الموضحة تفصيلها في الجدول (2-3)

جدول (2-3):- المواد الكيماوية المستعملة في الدراسة الحالية

ت	المواد الكيميائية	الشركة المصنعة	المنشأ
1	ايثانول 70% Ethyl Alcohol 70%	Tebah cosmaetics	Iraq
2	فورمالين Formaldehyde	Chemanol	Saudi Arabia
3	اسيتو كارمن Aceto-carmen	Thomas Baker(Chemicals)	India
4	زايلين Xylene	Biosolve BV	France
5	كلوريد الهيدروجين المركز Hydrochloric acid	Central Drug House(P)lab	India
6	ايثانول 100% Alcohol Ethyl 100% or 99%	Chem Lab nv	Belgium
7	بلسم كندا للحفاظ الدائم للمنوعج Canada Balsam	Schuchardt Manchen	Germany

Laboratory Kit:

3-1-3: العدة المختبرية :

استخدمت عدة مختبرية في الدراسة الحالية لتشخيص الإصابة بالطفيلي موضحة محتوياتها في الجدول (3-3)

جدول (3-3):- مكونات مجموعة أدوات الاختبار *Fasciola* IgG ELISA kit

ت	المواد	مكوناتها
1	الصفحة	تحتوي على 96 حفرة اختبار مبطنة بمستضدات <i>Fasciola gigantica</i> ES
2	انزيم اقتران	زجاجة واحدة تحتوي على 11 ml من IgM+IgG للبشر المقترن مع البيروكسيداز
3	السيطرة الموجبة	قنينة واحدة تحتوي على 1 ml من مصل الأرانب الموجب المخفف
4	السيطرة السالبة	قنينة واحدة تحتوي على 1ml من المصل البشري السالب المخفف
5	الكروموجين	زجاجة واحدة تحتوي على 11 ml من كروماجين رباعي مثيل بنزيد (TMB)
6	محلول الغسل المركز	قنينة واحدة 25 ml من محلول الغسل المركز
7	محلول التخفيف	زجاجتان تحتويان على 30 ml من محلول التخفيف
8	محلول التوقف	زجاجة واحدة تحتوي على 11ml من M 1 حامض الفسفوريك

2-3:طرائق العمل Methods:

1-2-3:جمع العينات Samples collection:

أ- جمع الأكباد Livers collection:

في هذه الدراسة تم فحص 77 من اكباد الأبقار والأغنام من مجزرة كركوك العصرية ، ومن القصابين الذين يقومون بعملية الذبح خارج المجزرة في محافظتي كركوك وديالى مع أخذ المعلومات الخاصة لكل حيوان مصاب وحسب الإستمارة الملحقة في صفحة 80 . جمعت العينات للفترة التي امتدت من الخامس من تشرين الثاني لعام 2019 ولغاية الثاني والعشرون من شهر ايلول لعام 2020. وقد جمعت العينات بواقع 41 كبد من محافظة كركوك 15 كبد للأبقار و 26

كبد للأغنام (كان عدد الأكباد المجموعة من مجزرة كركوك العصرية 37 كبد منها 13 كبد للأبقار و24 كبد للأغنام، وكان عدد الأكباد المجموعة من قصابة الكورنيش/ حي غرناطة هو 4 منها 2 للأغنام 2 للبقر، اما من محافظة ديالى فتم جمع 36 كبد، كان عدد اكباد الأبقار المجموعة 18 ولأغنام 18 شملت مناطق المركز والأطراف (كان عدد الأكباد المجموعة من مناطق المركز 15 كبد منها 8 أكباد للأبقار ، 7 أكباد للأغنام ، وكان عدد الأكباد المجموعة من مناطق الأطراف 21 منها 10 أكباد للأبقار و 11 كبد للأغنام) .

ب- جمع القواقع : Snails collection

تم جمع (535) قوقع من عدة مناطق مختلفة في محافظتي كركوك وديالى ، شملت ناحية الملتقى، سد شيرين، الخاصة صو، قره جوخ الواقعة في محافظة كركوك، أما محافظة ديالى فشملت المناطق التي جمعت منها القواقع كل من كنعان ، الحويش ، دلي عباس ، ابي صيدا ، بلدروز، والخالص ومن قنوات الري واماكن رعي الحيوانات.

تم جمع العينات أما بواسطة اليد ، أو بأستعمال مغرفة ، وسجلت المعلومات، مثل : اسم المنطقة، و تاريخ الجمع في فصلي الخريف والربيع.

فحصت العينات وشخصت إلى مستوى النوع اعتماداً على المفاتيح التصنيفية المعتمدة , (Burch 1982) .

ج- جمع عينات الدم: Blood samples collection

تم جمع 5 مل من الدم الوريدي لكل من القصابين والرعاة والفلاحين. كان العدد الكلي للمتبرعين من كلا المحافظتين 90 متبرع من العينة المقصودة. كان عدد المتبرعين بالدم من محافظة كركوك

73 شخص، فيما كان عدد المتبرعين في محافظة ديالى 17 شخص (تم جمع اكثر من 80 عينة والتي يتم نقلها الى مختبر علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى لكن تلفت نتيجة الحظر الصحي وتم التعويض بجمع عينات جديدة بلغت 17 عينة).

2-2-3: عزل وتصيبغ الديدان: Isolation and staining of worms

أ- عزل الديدان : Isolation of worms

تم جمع عينات أكباد الحيوانات ونقلها إلى مختبر علم الحيوان في قسم علوم الحياة جامعة ديالى. شمل الفحص الأولي على التصوير ومسك الأعضاء باليد بعد ارتداء الكفوف والبحث عن الديدان ، اما الفحص الثانوي تم بعمل أكثر من شق في اجزاء مختلفة من الكبد والقنوات الصفراوية ثم الضغط على الكبد المقطوع والقنوات الصفراوية لاستخراج ديدان مخزومات الكبد *F. gigantica* من الأنسجة والقنوات الصفراوية (Soulsby، 1982). غُسلت الديدان بمحلول فسلجي NaCl بتركيز 0.9 %. وتم تحضير 57 شريحة زجاجية لهذه الديدان وذلك بوضع الدودة بين شريحتين زجاجيتين والضغط عليها برفق لتتضح معالم الجسم بالكامل لتصيبغها فيما بعد بصبغة اسيتوكارمن Aceto-carmen ومن ثم وضعت الشرائح المحضرة في أوعية زجاجية سعة 250 مل تحوي على كحول بتركيز 70 وحفظت في الثلاجة .

ب- عملية التصيبغ : Staining

تمت عملية تصيبغ النماذج التي تم حفظها في كحول الإيثانول 70 % لمدة 48 ساعة إذ تم غسلها بالماء المقطر ثم مُررت النماذج بسلسلة تنازلية من الكحول الأيثلي (50% ، 30 %) لمدة 20 دقيقة بواقع 10 دقائق لكل تركيز ثم غُمِرت النماذج بمحلول صبغة الأسيتوكارمن Aceto-carmen (2%) تترتات الصوديوم مع 1.5% اسيتوكارمن في إيثانول 35%) وثُرِكت لمدة يوم كامل أو 36 ساعة (إلى ان تأخذ اللون المطلوب). في اليوم التالي تم غسل الديدان بالماء مرتين ثم مُررت بسلسلة تصاعدية من كحول الأيثلين (20 % ، 35 % ، 50 % ، 70 %)

لمدة 20 دقيقة وبواقع 5 دقائق لكل تركيز و مُرِّرَت النماذج بالكحول 70 % مرة أخرى ثم وُضعت في الزايلين ومن ثم تم رُفِعت وُوضِعت في طبق بتري Petri Dish .

ج-عملية التحميل (الأرساء) : Mounting

استخدم بلسم كندا (Canada balsam) للحفاظ الدائم للنموذج ثم وُضِع غطاء الشريحة cover slide بزواوية حادة 45 درجة وبحذر شديد حتى لا تتكون فقاعات هوائية ثم جُفِف النموذج وتم حفظه.

د- التشخيص المجهرى : Microscope dignosis

أُستعمل المجهر الضوئي Light Microscope ومجهر التشريح بقوة 40X بما يتناسب مع متطلبات الدراسة لغرض التشخيص .

هـ-التصوير المجهرى: Photomicrography

تم التصوير باستخدام كاميرا رقمية.

3-2-3:تشخيص الإصابة : Infection diagnosis

1-3-2-3:الطرائق الروتينية:Route methods

أ- في المضائف الوسيطة (القواقع):In intermediate hosts (Snails)

نُقلت القواقع إلى مختبر علم الحيوان في كلية التربية للعلوم الصرفة جامعة ديالى للتعرف على القواقع مظهرها وتشخيصها بالاعتماد على الصفات المظهرية وشكل المجسات في تصنيف القواقع (Al-Mashhadani، 1970). إذ نقلت في أوعية بلاستيكية سعة 100 مل وُوضِعت في حوض زجاجي لتربية الأسماك يحتوي على ماء الحنفية والذي تم تحضيره مسبقا للتخلص من

الكلور وتمت تغذيتها بالكرفس والخس طيلة فترة حفظها كما تم تسليط الضوء عليها لتحفيز خروج السركاريا في الساعة الأولى من حفظها ثم توالى هذه العملية كل يوم ، ثم فُحصت بعد ذلك كل عينة لغرض معرفة اصابتها ببرقات الطفيلي .

تم التحري عن القواقع المصابة باليرقات المذنبة بالفحص المجهرى وبطريقة التمزيق Crushing method، إذ وضع كل قوقع في طبق زجاجي حاوي على الماء وكسرت الصدفة وازيلت ووضعت العينة تحت المجهر بعد تمزيق الجزء الطري بواسطة ابرة تشريح وملاقط وتم فحصها باستخدام مجهر تشريح (Farahnak وآخرون ، 2006) أو تم ضغطها بين شريحتين زجاجيتين وفحصها باستخدام المجهر الضوئي المركب .

وتم تشخيص اليرقات المذنبة بالأعتماد على عدد من الصفات التي يمكن ملاحظتها في اليرقات ، منها: الطية الزعنفية fin fold ، وجود الممصان الفمي والبطني ، وجود الذنب أو عدمه بالإضافة إلى التخصص المضيفي اعتمادا على (Mukherjee ، 1986 ؛ Krailaesi وآخرون ، 2003).

ب-المضائف النهائية (الإنسان) : Final hosts (Human)

تم نقل عينات الدم إلى انابيب حاوية على مادة جل Gel Tube (لا يحتوي على مانع تخثر) وحُفظ الدم ونُقلت العينات إلى المختبر ليتم فصل المصل وذلك بطرد الدم مركزيا بجهاز الطرد المركزي بواقع 3500 دورة في الدقيقة و لمدة 5 دقائق ثم نقل مصل الدم إلى انابيب ابندروف Eppendorf tubes و تجميدها عند درجة حرارة -20 م ° حتى يتم استخدام العينات للتشخيص فيما بعد .

3-2-3-1: الكشف عن الإصابة باستخدام تقنية الاليزا الغير مباشرة:

أ-العدة المختبرية المستخدمة: Dignostic Automation

استخدمت العدة المختبرية *F. gigantea* Accu DiagTM للاستخدام التشخيصي في الدراسة الحالية في المختبر والمصنعة في الولايات المتحدة الأمريكية .

ب-مبدأ الاختبار: Principle of test:

استخدمت صفيحة مطلية الحُفر بمستضد *F. gigantea* ES. إذ يتم خلال الاختبار اجراء حضن أولي لهذه الحفر بالمصل المخفف للمرضى (المشتبه بهم) ، عند ذلك فان اي اجسام مضادة تتفاعل مع المستضد و ترتبط المستضد بالحفر المطلية . و يضاف Enzyme Conjugate (انزيم الاقتران) بعد الغسل . إذا كانت الأجسام المضادة مرتبطة بالأبار فسوف يرتبط انزيم الاقتران Enzyme Conjugate مع هذه الأجسام المضادة. بعد سلسلة اخرى من الغسل يضاف الكروموجين (tetramethylbenzidine or TMB) إذا كان انزيم الاقتران Enzyme Conjugate موجودا فان البيروكسيديز سيحفز التفاعل ويتحول الكروموجين من اللون الصافي إلى اللون الأزرق.

تؤدي اضافة محلول التوقف Stop Solution إلى انهاء التفاعل وتحويل اللون الأزرق إلى اللون الأصفر الساطع. يمكن بعد ذلك قراءة التفاعل بصريا أو باستخدام قارئ ELISA .

ج-خطوات العمل: Steps of work:

1-تم تحضير الصفيحة بحيث كان توزيع الحفر كالاتي (اثان للسيطرة السالبة واثان للسيطرة الموجبة واثان للبلانك Blunk والمتبقي للعينات) ووضعت في حامل الشريط

2- تم إضافة 100 مايكروليتر من السيطرة السالبة للحفرة الأولى و 100 مايكروليتر من السيطرة الموجبة للحفرة الثانية و 100 مايكروليتر من محلول التخفيف (1:100) للحفر المتبقية (مع ملاحظة عدم تخفيف السيطرة)

3-يتم حضن الصفيحة بدرجة حرارة الغرفة (15- 25 درجة مئوية) ولمدة 30 دقيقة

- 4- يتم تحريك الصفيحة عدة مرات ثم يتم الغسل ثلاث مرات بمحلول الغسل المخفف
- 5- يتم إضافة 100 مايكروليتر من محلول الاقتران لكل حفر الصفيحة
- 6- يتم الحضان بدرجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق
- 7- يتم تحريك الصفيحة عدة مرات ثم يتم الغسل ثلاث مرات بمحلول الغسل المخفف ثم تقلب على ورق النشاف لغرض التجفيف
- 8- يتم إضافة 100 مايكروليتر من الكروماجين Chromagen لكل الحفر (يتحول اللون الصافي إلى اللون الأزرق)
- 9- يتم الحضان لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة
- 10- تضاف قطرتين من محلول التوقف ثم تحرك الصفيحة لغرض الخلط (يتحول اللون الأزرق إلى الأصفر)
- 11- تمت قراءة التفاعل باستخدام قارئ ELISA. الاشكال 1-3 و 2-3 و 3-3 و 4-3 توضح خطوات العمل التي أجريت في الدراسة الحالية.



شكل (1-3): الغسل بعد تخفيف عينات مصل الدم بمحلول dilution buffer



شكل (2-3): اضافة Enzym conjugate وغسلها ثلاث مرات



شكل (3-3): اضافة Chromogen (tetramethylbenzidine or TMB)



شكل (4-3): اضافة محلول التوقف Stop Solution

3-3 التحليل الإحصائي : Statistical analysis

حللت النتائج احصائيا باستخدام البرنامج الاحصائي SPSS (Statistical Pack of Social) (Verion17) بتطبيق اختبار مربع كاي Chi- Square و t- test وتمت مقارنة المتوسطات تحت مستوى احتمالية بلغت $P < 0.05$ و $P < 0.01$. كذلك تم التعبير عن البيانات بصيغة النسب المئوية في كلا المحافظتين (الراوي ، 2000) .

Results and Discussion

4. النتائج والمناقشة :

1.4 الإصابة في المضائف الوسطية :

تشكل قواقع المياه العذبة مضائف وسطية لأنواع عدة من الديدان المسطحة الطفيلية من صنف المخرمات أو المتقوبات Trematoda .

في الدراسة الحالية تم جمع القواقع من محافظتي كركوك وديالى ، بالأعداد، والأنواع الموضحة بالجدول (1-4) وجدول (2-4) وقد اظهرت النتائج إصابة 4 أجناس من القواقع التي تم جمعها وتشخيصها خلال فترة الدراسة بالأطوار اليرقية المذنبة cercaria شكل (1-4) وطور الريديا redia في شكل (2-4) .

جدول (1-4):- يوضح مناطق واعداد القواقع التي تم جمعها من محافظتي ديالى وكركوك

مناطق محافظة كركوك		مناطق محافظة ديالى	
عدد القواقع لمفحوصة	المنطقة	عدد القواقع لمفحوصة	المنطقة
93	ناحية الملتقى	80	كنعان
25	سد شيرين	40	الحويش
15	الخاصة صو	12	دلي عباس
30	قره جوخ	20	ابي صيدا
85	ناحية الرياض	55	بلدروز
17	التون كوبري	63	الخالص
265	المجموع	270	المجموع

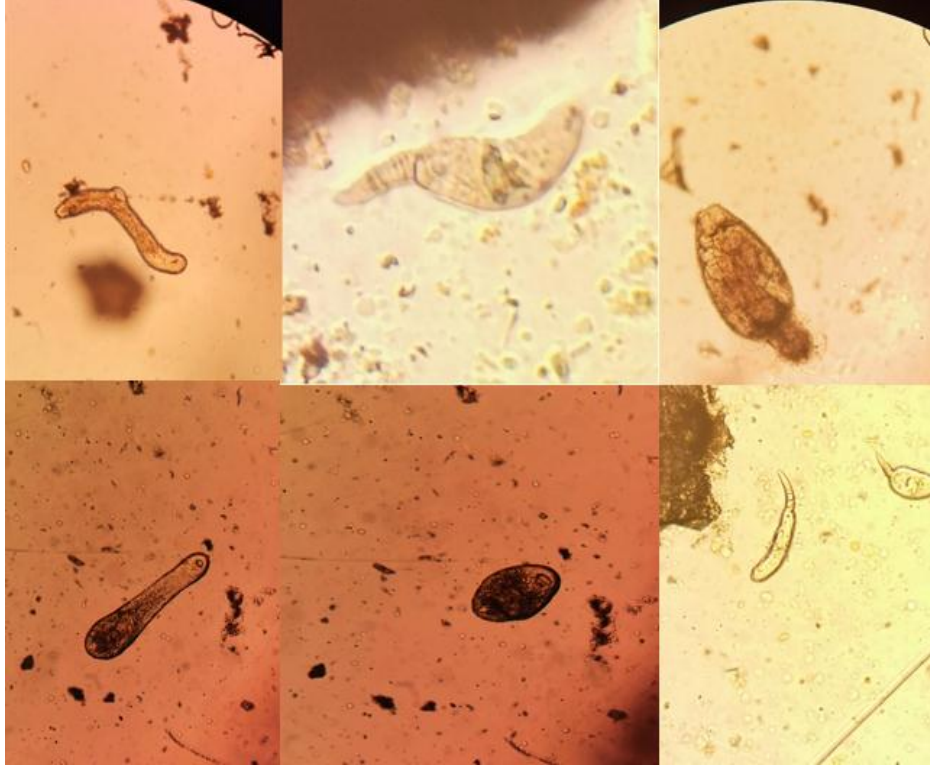
جدول (2-4):- النسبة المئوية للإصابة باليرقات بين انواع القواقع المعزولة خلال مدة الدراسة

نوع القوقع	عدد القواقع الكلية	عدد القواقع المصابة	النسبة المئوية للإصابة %
<i>Physa acuta</i>	302	23	7.61
<i>Lymnea natalensis</i>	137	30	21.9
<i>Lymnea auricularia</i>	30	9	30
<i>Melanoides tuberculata</i>	4	0	0
<i>Melanopsis costata</i>	62	18	29.03
المجموع	535	80	14.95

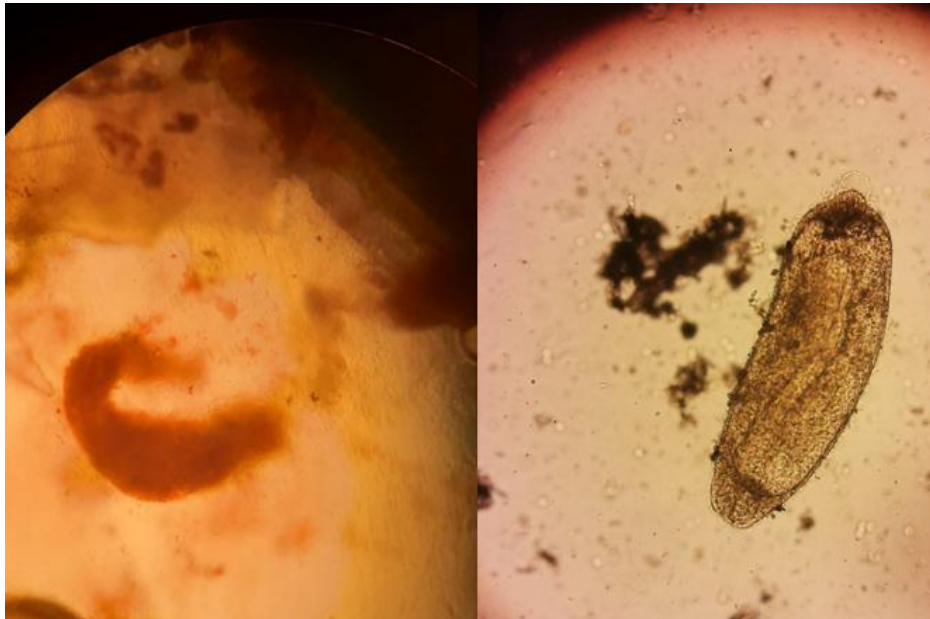
1-1-4 النوع *Physa acuta* :

افراد هذا النوع من القواقع صغيرة والصدفة صغيرة وهشة يسارية اللفة ذات لون اصفر إلى البني وتحوي على عدد من البقع وللصدفة فتحة واسعة وليس لها غطاء ولها رأس واضح و زوج من المجسات الخيطية شكل (3-4). ويعود هذا النوع من القواقع إلى عائلة Physidae التي تعتبر من العوائل الأكثر انتشارا في العالم من باقي الرئويات بطنية القدم (Burch ، 1989 ، Dillon وآخرون 2002) . يتواجد هذا النوع من القواقع في بيئة المياه العذبة والراكدة (Brown، 1994 ؛ DE Kock and Wolmarans، 2007) وهذه البيئات متوفرة في كلا المحافظتين . وقد اظهرت النتائج إصابة هذا النوع بنسبة 7.6% من كلا المحافظتين (ديالو وكركوك) فضلاً عن ملاحظة إصابتها بنوع من الديدان الحلقية القليلة الأهلاب جنس *Chaetogaster* شكل(4-4) وهذا ما سجلته (الراعي ، 2014) في دراستها للأنواع المتطفلة داخل قواقع المياه العذبة كما أكد العباد (2009) على وجود علاقة طفيلية بين هذا النوع من الديدان الحلقية القليلة الأهلاب والمذنبات الموجودة في تجويف الجبة وأكد قدرة هذا الحيوان على إبتلاع ما يقارب 10 مذنبات

،وربما يكون هذا سبب إختفاء المذنبات في اغلب الافراد إذ تكون غذاء لهذا النوع ويمكن عدّها سيطرة طبيعية بايولوجية للمذنبات والحد من إطلاقها إلى البيئة .



شكل (1-4): الطور اليرقي للمذنبه cercaria تحت قوة تكبير 40X



شكل(2-4): الطور اليرقي redia تحت قوة تكبير 40X



شكل (3-4): قوقع *Physa acuta*



شكل (4-4): الديدان الحلقية قليلة الاهلاب جنس *Chaetogaster*

L. natalensis النوع 2-1-4

تم جمع 137 قوقع من هذا النوع شكل (4-5) من كلا المحافظتين (ديالى و كركوك) وقد تم تشخيص 30 قوقع مصاب باليرقات المذنبة وكانت نسبة الإصابة 21.8 % ، حيث يعد هذا النوع من المضائف الوسطية لجنس الطفيلي *Fasciola spp* ومن اهمها *F.gigantica* (Ibrahim و Ahmmed ، 2019) وهذا يتفق مع ما ذكره (Utzing و Tanner ، 2000) في ان هذا القوقع يعمل كمضيف لطفيلي *F.gigantica* التي تصيب البشر . وقد لوحظ تواجده في المياه الشبه الراكدة . وقد ذكر كل من (Dillon ، 2000 ؛ Hussein وآخرون، 2011) ان النوع *L. natalensis* يفضل المياه الضحلة نظراً لقدرته المنخفضة جداً على المقاومة للجفاف الشديد .



شكل (4-5): قوقع *L. natalensis*

3-1-4 النوع *L. auricularia* :

تم جمع 30 فرد من هذا النوع شكل (4-6) من كلا المحافظتين (ديالى و كركوك) ، هذا القوقع ينتمي إلى عائلة Lymnaeidea (Bargues ، 2001) ، صدفة هذا النوع من القواقع صفراء اللون إلى البني وعدد لفات الصدفة 4 لفات كما ان الصدفة تكون يمينية اللفة وهشة عديمة الغطاء وفتحة الصدفة اشبه بصيوان الإذن وللرأس زوج من المجسات مثلثة الشكل . وهذا النوع يتواجد في مياه البطيئة الجريان والبرك الطينية والانهار والبحيرات (Jokinen ، 1992 ؛ Sysma وآخرون 2004) . وقد سجلت نتائج الدراسة الحالية أعلى نسبة للإصابة بالأطوار اليرقية في هذا القوقع وبلغت 30 % فقد أكدت الدراسات أن هذا النوع يعدّ مضيئاً وسطياً ملائماً للطفيلي *F.gigantica* الجبوري (2008) ، كما أكد كل من الطائي (2011) و الراعي (2014) بإصابة هذا النوع من القواقع بالعديد من المذنبات الثنائية المنشأ.

شكل (4-6): قوقع *L. auricularia*

4-1-4 النوع *M. tuberculata* :

عزل من هذا النوع 4 مواقع خلال فترة الدراسة ، وسُجل تواجد هذا النوع في محافظة ديالى فقط ولم تُسجل في محافظة كركوك ، ولم يتم تسجيل نسبة إصابة بطفيلي *F.gigantica* بسبب صغر حجم العينة حيث لوحظ تواجده بأعداد قليلة وانخفاض كثافته في فصل الشتاء والربيع وقد تبين في دراسة (Toy ، 2007) إنّ هذا القوقع يموت بسبب الانخفاض في درجات الحرارة في بعض المناطق شتاءً ، أو أنها تكون في سبات خلال فصل الشتاء (Livshits و Fishelson ، 1983 ; Derraik ، 2008) . إن لهذا النوع من القواقع صدفة متطاولة مخروطية ذات لفات كثيرة تحوي على بروزات بأعداد كبيرة كما أنّ لون الصدفة بني فاتح ذات بقع بلون الصدا (شكل 7-4) ، كما ان هذا النوع من القواقع يمتلك زوج من المجسات المتطاولة تكون العيون في قاعدتها ، كما ان الخطوط الموجودة على الغطاء متوازية لا تدور حول مركزه .

وقد بينت نتائج الدراسة الحالية أنّ هذا النوع من القواقع نادر الوجود ضمن منطقة الدراسة وتفسير ذلك هو أنّ القواقع يتواجد في البيئات الدافئة العميقة ، والمالحة ، وتتواجد في المياه البطيئة الجريان (Toy ، 2007 ; Derraik ، 2008) ولم يسجل هذا النوع أي إصابة بأي نوع من أنواع المذنبات، وهذا لا يتوافق مع دراسة الراعي (2014) و الطائي (2011) اللذان سجلا إصابة هذا النوع بعدة اشكال من اليرقات المذنبية



شكل (4-7): *M. tuberculata* قوقع

5-1-4 النوع *M. costata* :

تم جمع 62 قوقع من هذا النوع شكل (4-8) من محافظة ديالى فقط ، ولم تسجل في محافظة كركوك وينتمي هذا القوقع إلى عائلة Melanopsidae التي تعتبر من العوائل المهمة من أفراد بطنية الأقدام (Bandel ، 2000) . والأنواع التي تنتمي إلى جنس *Melanopsis* لها تكون متكيفة لبيئات مائية مختلفة . وتم تشخيص 18 قوقع مصاب باليرقات المذنبة وكانت نسبة الإصابة 29 % وقد سجلت العديد من الدراسات إصابة هذا النوع بالعديد من أشكال المذنبات التابعة للطفيليات ثنائية المنشأ (Ismail and Badair ، 1989 ; Mansooria ، 2001) .



شكل (8-4) : موقع *M. costata*

2-4 الإصابة في المضائف النهائية (الحيوانات):

في الدراسة الحالية تم تدوين المعلومات لجميع العينات التي تم الحصول عليها مثل نوع الحيوان والجنس وأماكن جمع العينات في كلا المحافظتين قيد الدراسة (كركوك و ديالى) إذ بلغ العدد الكلي للحيوانات المذبوحة والتي فحصت اكبادها 77 حيوان منها 41 كبد من محافظة كركوك وكان عدد الأكباد المصابة منها 6 اكباد للأبقار ونسبة الإصابة كانت 14.63% ومن محافظة ديالى كان عدد الأكباد الكلي 36 كبد وكان عدد الأكباد المصابة منها 3 اكباد ونسبة الإصابة كانت 8.33% في حين لم تسجل اي إصابة في الأغنام في كلا المحافظتين في الشكل (4-9) الديدان التي عزلت في الدراسة الحالية .



شكل (4-9): الديدان البالغة التي عزلت في الدراسة الحالية

1-2-4 محافظة كركوك :

يبين الجدول (4-3) النسبة المئوية للإصابة بطفيلي *F. gigantea* بين الأبقار والأغنام المذبوحة في محافظة كركوك، إذ كانت الأكباد المفحوصة والبالغ عددها 41 كبد تضمنت 15 كبد للأبقار، و 26 كبد للأغنام وكان عدد الحيوانات المصابة 6 والتي تعود إلى أكباد الأبقار فقط ونسبة 14.63% من المجموع الكلي للأكباد المفحوصة (40% من مجموع أكباد الأبقار) وبما ان قيمة P-value كانت 0.0005 مما يؤكد وجود فرق معنوي بين انواع الحيوانات في محافظة كركوك

جدول (3-4):- النسبة المئوية للإصابة بطفيلي *F.gigantica* بين الأبقار والأغنام في محافظة

كركوك

الحيوان	عدد الحيوانات المفحوصة	عدد الحيوانات الغير مصابة	عدد الحيوانات المصابة	النسبة المئوية للإصابة (%)	χ^2	P-Value
الأبقار	15	9	6	40	** 12.183 DF = 1	0.0005
الأغنام	26	26	0	0		
المجموع	41	35	6	14.63		

وتتفق هذه الدراسة مع داخل و المياح (2013) اللذان سجلا نسبة إصابة في الأبقار (10.22%) أعلى منها في الأغنام (1.62%) وذلك بعد فحص 478 رأس من الأبقار و 185 رأس من الأغنام من مجزرة العمارة في محافظة ميسان، كما ذكر Abass وآخرون (2018) ان الإصابة في الأبقار المذبوحة كانت 1.35% من سجل إصابة 150 بقرة من اصل 11077 بقرة مفحوصة (مذبوحة) أما الإصابة في الأغنام كانت 0.28% من 114 من اصل 40488 خروف وهذا يتفق مع الدراسة الحالية من ان الإصابة في الأبقار هي الأعلى وقد يعود عدم تسجيل إصابة في الأغنام في الدراسة الحالية إلى صغر حجم العينة المفحوصة مقارنة مع حجم العينة في دراسة Abass وآخرون (2018).

قد يكون تفسير ذلك هو انخفاض معدلات الانتشار بسبب اجراء عمليات التلقيح (التمنيع) المستمرة في ارياف محافظة كركوك) وهو ما ذكره الدكتور نبيل رشيد امين مدير المستشفى البيطري في محافظة كركوك). أو قد يكون تفسير اختلاف نسب الإصابة بين الأبقار والأغنام هو

الموت المفاجيء للأغنام في المرحلة الحادة للإصابة دون ظهور اعراض مرضية سابقة بعد ابتلاعها وعلى شكل دفعة واحدة لأكثر من 5000 من السركاريا المتكيسة من قبل الحيوان (الأغنام) مما يتسبب في موتها دون ظهور علامات مرضية بسبب تاثر الجهاز المناعي مع ما تفرزه الديدان وتحرير مواد مماثلة للهستامين وغالبا ما يحدث النزف الداخلي بسبب حدوث تفاعل فرط التحسس مما يؤدي إلى موت الحيوان (داخل والمياح ، 2013) ، كما بين Umer وآخرون (2018) ان هجرة الطفيليات الصغيرة إلى الكبد تسبب أضرارا كبيرة ونزيفا في ذلك العضو الذي يؤدي إلى التهاب الكبد مما يتسبب في فقر الدم وفقدان الشهية والخمول في الحيوانات المصابة. بالإضافة إلى ان الإصابة تؤدي إلى تغير النسيج مما يؤدي إلى تدهور وظائف الكبد في الإصابات المزمنة والتي تؤدي إلى اختلال بعض الوظائف التي ترتبط بانزيمات الكبد مما يؤثر على الحالة المناعية والصحية للحيوان كذلك في الإصابة الشديدة تسبب المثقوبة الوهن العام في الحيوانات حتى الموت (Umer وآخرون، 2018). كما قد تفسر النتائج على أساس الاختلاف في عادات الرعي و التعرض أو تناول الأطوار المعدية (Umer وآخرون ، 2018).

أما الجدول (4-4) فيوضح النسبة المئوية للإصابة بالطفيلي بين الأبقار والأغنام اعتمادا على جنس الحيوان في محافظة كركوك، فكانت نسبة الإصابة في الأبقار بين الذكور و الإناث هي 2.44% و 12.19% على التوالي من مجموع الأعداد المفحوصة (33.33% في الذكور من مجموع اعداد الذكور المفحوصة و 41.66% من مجموع اعداد الاناث المفحوصة) وهذا يتفق مع ذكرته الباحثة Farhan (2016) في دراستها من ان نسبة إصابة اناث الأبقار كانت 3.3% والذكور 0.82% في الأبقار المصابة والمذبوحة في مجزرة البصرة في محافظة البصرة والذي يشير إلى ان نسبة إصابة اناث الأبقار كانت أعلى من نسبة إصابة الذكور كما في الدراسة الحالية، ويتفق مع ما سجله Hussain و Zghair (2017) في محافظة كربلاء إذ بلغت نسبة

الإصابة الكلية في الأبقار 3.61% (0.67 و 2.94% للذكور والإناث ،على التوالي) ونسبة الإصابة الكلية للأغنام كانت 5.77% (2.27 و 3.5% للذكور والإناث على التوالي).

جدول (4-4):- النسبة المئوية للإصابة بطفيلي *F.gigantica* بين الأبقار والأغنام اعتمادا على جنس الحيوان في محافظة كركوك

نوع الحيوان	الجنس	عدد الحيوانات المفحوصة	عدد الحيوانات المصابة	النسبة المئوية للإصابة (%)	χ^2	P-Value
أبقار	ذكور	3	1	33.3	ns 0.069 DF = 1	0.792
	إناث	12	5	41.6		
أغنام	ذكور	22	0	0	ns 0.0	1.00
	إناث	4	0	0		
المجموع		41	6	14.63	** 12.316 DF = 3	0.0005

وبالرغم من أن التحليل الإحصائي أظهر أن معدل الإصابة في إناث الأبقار كان أعلى بالمقارنة مع ذكور الأبقار إلا ان قيمة p-value كانت 0.792 مما يؤكد عدم وجود فرق معنوي بين الذكور والإناث في نوع الحيوان (الأبقار) اي ان الجنس ليس له تأثير على معدلات الإصابة. وهو ما أكدته الدراسات حيث ان كلا من الذكور والإناث معرضون للإصابة بالمرض لكونهما يتأثران بنفس فرص التعرض (Al-Mamun وآخرون ، 2011 ؛ Assefa وآخرون ، 2015) وقد يكون السبب هو تركها ترعى في المراعي بحرية من اجل تحسين انتاج الحليب (Ullah وآخرون ، 2016). ويبين الجدول عدم وجود إصابة في الأغنام وتفسير ذلك كما ذكر سابقا هو الموت المفاجيء

للأغنام في المرحلة الحادة للإصابة وبما ان قيمة p-value كانت 1.00 مما يؤكد عدم وجود فرق معنوي للإصابة بين ذكور وإناث الأغنام.

الجدول (4-5) يبين النسبة المئوية للإصابة بالطفيلي بين الأبقار والأغنام اعتماداً على مكان جمع العينة حيث كانت النسبة 16.21% فقط في مجزرة كركوك العصرية دون وجود إصابة بالطفيلي في الحيوانات المذبوحة في محلات القصابة في الكورنيش/ حي غرناطة وبما ان قيمة p-value كانت 0.381 مما يؤكد عدم وجود فرق معنوي في الإصابة بين انواع الحيوانات اعتماداً على مكان جمع العينة.

جدول (4-5):- النسبة المئوية للإصابة بطفيلي *F.gigantica* بين الأبقار والأغنام اعتماداً على مكان جمع العينة في محافظة كركوك

مكان الجمع	عدد الحيوانات المفحوصة (ابقار واغنام)	عدد الحيوانات المصابة (ابقار واغنام)	النسبة المئوية للإصابة (%)	χ^2	P-Value
مجزرة كركوك العصرية	37	6	16.21	ns 0.760 DF= 1	0.831
الكورنيش / حي غرناطة	4	0	0		
المجموع	41	6	14.63		

قد يكون تفسير ذلك هو ان اغلب الحيوانات تجلب من مناطق مختلفة من ارياف المحافظة إلى المجزرة ومن النتائج للدراسة الحالية يتوضح ان توزيع القواقع يشير إلى وجود قواقع مصابة في قضاء الحويجة وان اغلب الذبائح المصابة في مجزرة كركوك كانت من الحويجة وهذا يتفق مع كل من Mahdi و Al-Baldawi (1987) و Al-Delemi (2005). ان الإصابة تكثر في المناطق الي تكثر فيها المضائف الوسطية وهذا بديهي كون ذلك يوفر فرصة لتعرض المضائف

النهائية للأطوار المعدية اثناء الرعي من خلال تناولها للأعشاب أو شربها المياه الملوثة بهذه الأطوار (Zewde وآخرون، 2019).

2-2-4 محافظة ديالى :

يظهر الجدول (4-6) النسبة المئوية للإصابة بطفيلي *F. gigantea* بين الأبقار والأغنام في محافظة ديالى ، إذ بلغت النسبة المئوية الكلية للإصابة 8.33% و كانت الإصابة في الأبقار فقط (سجلت نسبة إصابة بين اكباد الأبقار المفحوصة 16.66%) دون تسجيل نسب إصابة في الأغنام وبما أن قيمة p-value كانت 0.050 فإن ذلك يدل على وجود فرق معنوي للإصابة بين انواع الحيوانات وقد يعود سبب ذلك إلى فرص التعرض نفسها وتواجد الحيوانات بنفس البيئة أو بيئات متشابهة ومع ذلك فان الأبقار كانت أكثر تعرضاً للإصابة، و قد يعود ذلك إلى ان تعرض الأغنام للإصابة الحادة وكما ذكر سابقا يؤدي إلى موت الحيوان نظرا لاختلاف نوع نسيج الكبد (الأغنام تحتوي على الياف اقل بينما الأبقار العكس من ذلك) كما ان أعداد الأطوار المعدية تختلف تأثيرها نظراً لاختلاف جسم الحيوان والعوامل الفسلجية لكل نوع والتي تجعل من الأبقار اكثر قدرة على المقاومة للأطوار الحادة من الأغنام (Boray، 2017؛ Kusumarini وآخرون، 2020).

جدول (4-6) :- النسبة المئوية للإصابة بطفيلي *F.gigantica* بين الأبقار والأغنام في محافظة

ديالى

الحيوان	عدد الحيوانات المفحوصة	عدد الحيوانات المصابة	النسبة المئوية للإصابة (%)	χ^2	P-Value
الأبقار	18	3	16.6	* 3.273 DF = 1	0.050
الأغنام	18	0	0		
المجموع	36	3	8.33		

أما الجدول (4-7) فيوضح النسبة المئوية للإصابة بالطفيلي بين الأبقار والأغنام اعتمادا على جنس الحيوان فكانت نسبة الإصابة في إناث الأبقار هي 8.33% من مجموع الحيوانات المفحوصة (27.27% من مجموع الإناث المفحوصة) ولم تسجل إصابة في ذكور الأبقار ولم تسجل إصابة في الأغنام لكلا الجنسين وبما ان قيمة p-value كانت 0.130 فان ذلك يؤكد على عدم وجود فرق معنوي بين ذكور وإناث الأبقار اي ان الجنس ليس له تأثير على معدلات الإصابة وتفسير ذلك و كما ذكر في محافظة كركوك ان الحيوانات لها نفس فرص التعرض للإصابة وتبقى إصابة الإناث أعلى من الذكور لأسباب عديدة منها الجهد العالي اثناء الولادة وضعف البنية والتغذية إذ يلجا العديد من السكان إلى تغذية إناث الأبقار المرضعة منها خصوصا بالأعشاب اثناء فصل الجفاف التي تنمو بالقرب من مصادر المياه للحصول على إنتاجية حليب عالية (Gul وآخرون، 2016).

جدول (7-4) :- النسبة المئوية للإصابة بطفيلي *F.gigantica* بين الأبقار والأغنام اعتماداً على جنس الحيوان في محافظة ديالى

نوع الحيوان	الجنس	عدد الحيوانات المفحوصة	عدد الحيوانات المصابة	النسبة المئوية للإصابة	χ^2	P-Value
أبقار	ذكور	7	0	0	ns 2.291 DF = 1	0.130
	إناث	11	3	27.27		
أغنام	ذكور	6	0	0	0.0	1.00
	إناث	12	0	0		
المجموع		36	3	8.33	0	1

بينما الجدول (8-4) يبين النسبة المئوية للإصابة بالطفيلي بين الأبقار والأغنام اعتماداً على مكان جمع العينة حيث كانت النسبة 8.33% فقط في أطراف محافظة ديالى (14.28% من مجموع الأكياد المفحوصة من مناطق اطراف بعقوبة) دون وجود إصابة بالطفيلي في الحيوانات المذبوحة في محلات القصابة في المركز التابع للمحافظة وقد كانت قيمة $p\text{-value} = 0.126$ مما يؤكد عدم وجود فرق معنوي في الإصابة اعتماداً على مكان جمع العينة وقد يكون تفسير ذلك هو ان الحيوانات المصابة في اطراف المحافظة ترعى في مناطق تتوفر فيها الجداول والسواقي (مناطق زراعية) التي تكون بيئة مناسبة لنمو القواقع التي تعد المضيف الوسطي للأطوار اليرقية لطفيلي *F.gigantica* (Alves وآخرون، 2011) .

جدول (4-8):- النسبة المئوية للإصابة بطفيلي *F.gigantica* بين الأبقار والأغنام اعتمادا على مكان جمع العينة في محافظة ديالى

مكان الجمع	عدد الحيوانات المفحوصة (ابقار واغنام)	عدد الحيوانات المصابة (ابقار واغنام)	النسبة المئوية للإصابة (%)	χ^2	P-Value
المركز	15	0	0	ns	0.126
الاطراف	21	3	14.28	2.338	
المجموع	36	3	8.33	DF = 1	

يبين الجدول (4-9) مقارنة بين عدد الحيوانات المصابة بطفيلي *F.gigantica* في كل من محافظتي ديالى وكركوك 8.33% و 14.63%، على التوالي حيث ان الإصابة الأعلى كانت في محافظة كركوك وقد تبين ان نسب إصابة الحيوانات في كلا المحافظتين كانت أقل من الإصابة التي سجلت في منطقتين تابعة لمحافظة البصرة (Awad و Al-Mayah ، 2006) اللذان سجلا نسبة إصابة كلية بلغت 17% من اصل 229 بقرة و 5.1% من اصل 214 من الأغنام فيما كانت نسبة الإصابة أعلى مما سجل في مدينة الموصل في محافظة نينوى إذ سجلت نسبة إصابة كلية بلغت 4% من مجموع 425 ذبيحة تم فحصها (Al- و Al- Mahmood Sabaawy، 2019). وعند اجراء التحليل الاحصائي تبين أن قيمة P-Value كانت 0.391 مما يؤكد عدم وجود فرق معنوي للإصابة في الحيوانات لكلا المحافظتين .

جدول (4-9):- مقارنة بين عدد الحيوانات المصابة بطفيلي *F. gigantea* لمحافظة كركوك وديالى

المحافظة	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات المصابة	النسبة المئوية %	χ^2	P-Value
ديالى	36	3	8.33	ns 0.737 DF = 1	0.391
كركوك	41	6	14.63		
المجموع	77	9	11.68		

ويمكن تفسير اختلاف النسب المئوية للإصابة إلى إختلاف المواقع البيئية والمناخ وتواجد القواقع وتلوث المراعي ، ويعود السبب في ان النسبة المئوية للإصابة في محافظة كركوك هي الأعلى هو ارتفاع نسبة الرطوبة. إذ بين Pandya وآخرون (2015) ان هطول الأمطار لفترة طويلة خلال فصل الشتاء يساعد على تكاثر المضيف الوسطي (القوقع) كما بين Bhutto وآخرون (2012) وجود ارتباط كبير بين الرطوبة وانتشار داء الفاشيولا (داء المخرمات)، وان تكرار الإصابة في الشتاء أعلى منه في الصيف بسبب ملائمة المناخ وتوافر القنوات والبرك للمضائف الوسطية (القواقع) وبيضها وقد تكون الإصابة على مدار العام ناتجة عن استمرار تعرض الحيوانات للميتاسركاريا المتكيسة في ضفاف البرك والجداول في موسم الجفاف ولا توجد رقابة مناسبة على حركة الحيوانات من المنطقة التي تتوفر فيها الإصابة أو تلك التي لا تتوفر فيها إصابة. وقد فسر داخل و المياح (2013) ان طفيلي *F. gigantea* انها من الطفيليات المعمرة حيث انها قد تعيش طول فترة حياة المضيف النهائي و ان معدلات الإصابة لا تتأثر بنوع الحيوان أو حتى تغير المواسم حيث ان هذه الحيوانات تكون معرضة للإصابة متى ما توفرت الفرص للتماس بينها وبين الميتاسركاريا.

يوضح الجدول (4-10) كثافة الإصابة بطفيلي *F. gigantea* في الأبقار لكلا المحافظتين ديالى وكركوك حيث كانت 50 و 50.66 على التوالي ، إذ كانت كثافة الإصابة بطفيلي مخرم الكبد العملاق *F. gigantea* في محافظة كركوك أعلى من محافظة ديالى وبما ان قيمة P-value كانت 0.985 مما يؤكد عدم وجود فرق معنوي في كثافة الإصابة بين المحافظتين . إن نتائج الدراسة الحالية تشير إلى أن كثافة الديدان في الأكباد المفحوصة كانت عالية مقارنة مع ما سجله الباحثان Abraham و Jude (2014) للذان ذكرا ان كثافة الإصابة في العينات التي فحصت من قبلهما كانت 8-10 دودة لكبد الأبقار و 4-5 دودة لكبد الأغنام ولعل السبب في ذلك يعود إلى طبيعة التغذية وشدة إصابة المضيف النهائي إذ ان الذبائح للدراسة الحالية كانت ترعى في المناطق الزراعية القريبة من مصادر المياه فيما اشر الباحثان Abraham و Jude (2014) ان الحيوانات كانت تأكل الاعلاف وقد كانت نسبة الإصابة وكثافتها في المناطق التي اعتمدت تغذية الحيوانات على الرعي أعلى من تلك التي كانت تتناول الاعلاف فضلا عن الرعي. وبين Piri وآخرون (2017) ان كثافة الإصابة في الأبقار كانت 22.07 ± 26.13 في محافظة Hamadan في إيران، وهي أقل من شدة الإصابة المسجلة في الدراسة الحالية، وقد عزى الباحث ذلك إلى كون المنطقة متوطن بها المرض فضلا عن وجود المضيف الواسطي مما يؤدي إلى تعرض المضائف النهائية إلى الإصابة بصورة متكررة.

جدول (4-10):- كثافة الإصابة بطفيلي *F. gigantea* في الأبقار والأغنام في محافظتي كركوك وديالى

الحيوان	عدد الأكباد المصابة	عدد الديدان المعزولة	الكثافة	χ^2	P-Value
أبقار كركوك	6	304	50.66	ns 0.0002 DF = 1	0.985
أبقار ديالى	3	150	50		
المجموع	9	454	50.44		

يوضح الجدول (4-11) نتائج دراسة الخصائص المظهرية للديدان المعزولة من الأكباد في كلا المحافظتين والمتضمن قياس طول وعرض الديدان وطول الخطم وعرض الخطم باستخدام مقياس vernier الإلكتروني ومن الجدول يتضح وجود اختلاف في احجام الديدان المعزولة من المحافظتين إذ تبين ان الديدان المعزولة من اكباد الأبقار في محافظة كركوك اكبر حجما من الديدان المعزولة من اكباد الأبقار في محافظة ديالى وعند اجراء التحليل الإحصائي تبين ان قيمة P-value كانت 0.0003 مما يؤكد وجود فرق معنوي في طول الديدان المعزولة من أكباد الأبقار في كلا المحافظتين ، كما أظهر التحليل الإحصائي ان قيمة P-value كانت 0.278 مما يؤكد عدم وجود فرق معنوي في عرض الديدان المعزولة ، كذلك بين التحليل الإحصائي أن قيمة P-value 0.370 و 0.388 مما يؤكد عدم وجود فرق معنوي في طول وعرض الخطم للديدان المعزولة من أكباد الأبقار في كلا المحافظتين والذي قد يعزى الى وجود سلالتين مختلفتين في المحافظتين والتي تستوجب دراسة اخرى مثلا الطرائق الجزيئية لتحديدتها (لم تحدد في هذه الدراسة) كما ان

اعمار الأبقار التي عُزلت منها الديدان في محافظة كركوك كانت أكبر من اعمار الأبقار التي عُزلت منها الديدان في محافظة ديالى وهذا يدل على دور الفترة الزمنية اللازمة لوجود الديدان الى احجام اكبر بالنسبة الى أكباد محافظة كركوك والديدان المعزولة منها وقد بين (الكبيسي ، 1986) وجود عزلتين من طفيلي *F.gigantica* في الجاموس والأغنام معتمداً على الاختلاف في الحجم كما بين Oktaviana وآخرون (2019) وجود مجموعتين من ديدان *F.gigantica* اعتمادا على حجم الديدان التي تم عزلها من الأبقار في الدراسة ، إذ تراوح طول الديدان بين 16.06 ملم و 36.48 ملم وعرضها 3.42 ملم و 8.25 ملم و قد عزى ذلك إلى كثافة الإصابة وعمر ومناعة المضيف الناتجة عن إصابات سابقة وبما ان كثافة الإصابة في الدراسة الحالية لم تظهر اختلافا معنويا للديدان المعزولة من المحافظتين لذا فيرجح ان عمر الحيوان ومناعته كانا السبب في الاختلاف إذ إن احجام اكباد الأبقار التي جُمعت من كركوك كانت أكبر من تلك التي جُمعت من ديالى . كما بين Oktaviana وآخرون (2019) ان الإختلاف قد يعود إلى اختلاف الموقع الجغرافي إذ ان الباحثين المذكورين عزلوا الديدان من ابقار في جزيرة بالي وعند مقارنتها بما عزل في مناطق أخرى (أو عند مقارنتها بمعدلات الأبعاد القياسية للطفيلي) تبين وجود اختلاف عزاه الباحثين إلى تكوين الامشاج والاختلافات الوراثية مما يستوجب إعادة النظر في دراستها من الناحية الوراثية والجزيئية وهذا ما ينطبق على الدراسة الحالية. وقد ذكر ان الأختلاف في احجام الديدان المعزولة هو امر طبيعي حيث ان هذه الديدان تمارس تكيفها تبعاً للمضيف النهائي والحيز المتاح للطفيليات في مختلف المضائف النهائية (Fernández وآخرون ، 2013 ؛ Chapius ، 2009).

جدول (4-11):- الخصائص المظهرية للديدان المعزولة من الأكياد في كلا المحافظين (ديالى و كركوك).

المحافظة	معدل طول الديدان M(mm) SE±	معدل عرض الديدان M(mm) SE±	معدل طول الخطم M(mm) SE±	معدل عرض الخطم M(mm) SE±
ديالى	32.25 ±1.3 b	9.81 ± 0.14 a	3.27 ± 0.22 a	3.72 ± 0.30 a
كركوك	41.93 ± 0.71 a	10.01 ± 0.11 a	3.47± 0.037 a	3.99 ± 0.045 a
P-Value	0.0003	0.278	0.370	0.388

3-4 الإصابة في الإنسان

إنَّ الأهتمام الدولي المتزايد لداء تعفن الكبد التي تصيب البشر أعادت التوجه للأهتمام بهذا الطفيلي ودراسة انتشاره بين البشر. ولأنه ليس من السهل تشخيص الإصابة بالبشر بناءً على اكتشاف بيضة الطفيلي في البراز، لكون أغلب الإصابات تكون خفيفة ، ويكون عدد البيوض المطروحة قليل لذا فقد توجهت الأنظار للاعتماد على الطرائق المصلية للكشف عن الأجسام المضادة لل *F. gigantica* أو الكشف عن المستضد في مصل أو براز الأشخاص المصابين بهذا المرض (Sarkari و Khabisi ، 2017).

في الدراسة الحالية تم تحديد مستضد المخرم الكبدي من الأمصال البشرية للأفراد المشكوك بإصابتهم بواسطة ELISA Kit . ويبين الجدول (4-12) النسبة المئوية للإصابة بطفيلي *F. gigantica* بين الأشخاص المعرضين للإصابة وكانوا جميعهم من ارياف محافظة

كركوك وديالى كانت النسبة المئوية بالنسبة للقصابين المصابين 31.25 % في محافظة كركوك اما في محافظة ديالى لم يتوفر بسبب اجراءات الحظر ، أما بالنسبة لأصحاب المواشي ، في كل من محافظة ديالى وكركوك كانت النسبة المئوية للإصابة 20% و 35.48% على التوالي اما بالنسبة للفلاحين المصابين بالطفيلي في كل من محافظة ديالى وكركوك كانت النسبة المئوية للإصابة 41.66% و 38.46% ، أما النسبة المئوية الكلية للإصابة في محافظة ديالى وكركوك كانت 35.29% و 35.61% على التوالي وعند اجراء التحليل الإحصائي تبين ان قيمة P-Value كانت 0.394 مما يؤكد عدم وجود فرق معنوي لإصابة الأشخاص بالطفيلي في محافظة ديالى كما أظهر التحليل الإحصائي ان قيمة P-Value كانت 0.894 مما يؤكد عدم وجود فرق معنوي لإصابة الأشخاص بالطفيلي في محافظة كركوك ، واطهر تحليل الإحصائي أن قيمة P-Value كانت 0.240 مما يؤكد عدم وجود فرق معنوي لإصابة الأشخاص بالطفيلي في كلا المحافظتين وهذا يتوافق مع دراسة Hussain و Zghair (2018) إذ تم تسجيل نسبة إصابة بلغت 3.29% في الأشخاص المفحوصين وقد استنتجت في دراستها وجود داء المخزومات لدى البشر في محافظة كربلاء . وسجل في مختبر الطفيليات لكلية الطب جامعة Yüzüncü Yıl في محافظة وان التركية نسبة إصابة بلغت 5.6% من عينة للمرضى المراجعين للعيادات الخارجية Cengiz وآخرون (2015) وهي نسبة اقل مما سجل في الدراسة الحالية كما سجل Naeini وآخرون (2016) نسبة إصابة بلغت 0.135% في محافظة Bakhtiyari في الجنوب الغربي لإيران وهي أيضاً أقل من ما سجل في الدراسة الحالية .

جدول (4-12):- النسبة المئوية للإصابة بطفيلي *F. gigantea* بين الأشخاص المعرضين للإصابة

P-Value	χ^2	كر كوك			ديالى			المهنة
		النسبة المئوية %	عدد المصابين	عدد المفحوصين	النسبة المئوية %	عدد المصابين	عدد المفحوصين	
0.240	ns 5.495 DF = 5	31.25	5	16	0	0	0	القصابين
		35.48	11	31	20	1	5	اصحاب المواشي
		38.46	10	26	41.66	5	12	الفلاحين
		35.61	26	73	35.29	6	17	المجموع
		ns 0.225 DF = 5			ns 0.726 DF = 5			χ^2
		0.894			0.394			P-Value

إن داء المخرمات التي يصيب الإنسان في العراق لا يمكن التحقق من مدى إنتشاره على وجه الدقة ومع ذلك تشير التقارير الأخيرة ان عدد حالات الإصابة البشرية المتزايدة أساسا من محافظة السليمانية في شمال العراق (Ezzat وآخرون 2010 ؛ Hawramy وآخرون ، 2012) وذلك كون السليمانية لها حدود مشتركة مع المحافظات الغربية الإيرانية وتعد ايران من المواقع الرئيسية التي يكون فيها داء المخرمات متوطن بسبب ظروف البيئية والعادات الغذائية (Ashrafi ، 2015) كما و تم توثيق 34 حالة إصابة بشرية بالمرض من عام 1998 إلى عام 2008 في ايران

، مما يؤكد وجود حالات وبائية مماثلة في هذه المنطقة المجاورة إذ يمكن ان تكون لعوامل السياحة دور في انتقال المرض من الدول المجاورة في حال عدم الالتزام بقواعد الصحة (Hatami وآخرون ، 2012) . و يلعب استهلاك النباتات المائية كأحد اهم عوامل الخطر في الإصابة بداء تعفن الكبد (Sripa وآخرون ، 2010).

5- الاستنتاجات والتوصيات

1-1 الاستنتاجات Conclusions

1- تسجيل إصابة العديد من أنواع قواقع المياه العذبة وهي *Physa acuta* ، *Lymnea natalensis*

، *Lymnea auricularia* ، *Melanopsis costata* باليرقات التي تعود الى صنف المخرمات .

2- إرتفاع نسبة إصابة قواقع *Lymnea auricularia* باليرقات المذنبة في منطقة الدراسة (ديالى

وكركوك) مقارنة مع انواع القواقع الأخرى .

3- جنس الحيوان المصاب لا يؤثر على شدة الإصابة

4- اظهرت تقنية ELISA Kit فعالية عالية في الكشف عن مستضدات *F.gigantica* في

عينات دم الأشخاص في محافظتي كركوك وديالى .

5-الاختلاف في حجم الديدان المعزولة من اكباد الحيوانات في كلا المحافظتين يدل على وجود

طرازين من الديدان .

2-2 التوصيات Recommendations

1- إجراء دراسات بيئية حول إنتشار أنواع القواقع المضيضة للأطوار اليرقية لل *F. gigantea* لما

لهذا الطفيلي من اضراراً صحية واقتصادية تهتم صحة الإنسان والحيوانات المهمة اقتصادياً.

2-إجراء المزيد من الدراسات حول فعالية استخدام الديدان الحلقية القليلة الأهلاب من جنس

Chaetogaster كعامل حيوي في مكافحة الأطوار اليرقية للطفيلي .

3-إجراء المزيد من الدراسات المسحية لمعرفة إصابة القواقع بأنواع أخرى من الطفيليات فضلا عن تحديد الأنواع والأجناس التي تعود لها يرقات المخزومات اما من خلال دورة الحياة التجريبية او الطرائق الجزيئية.

4-استخدام الطرائق الجزيئية لتحديد فيما لو كان هناك طرز مختلفة للديدان في مضائفها النهائية.

5-استخدام طرق حديثة في دراسة وبائية هذا المرض لدى الإنسان ودراسة طرق وصول الطور المعدي له .

6-دراسة الجوانب المناعية والمرضية في المضائف النهائية المرتبطة بالاصابة بهذا الطفيلي .

7-دراسة الجوانب البيئية التي تؤثر على انتشار القواقع كمضائف وسطية وتأثيرها على إصابة القواقع بالطفيليات .

المصادر العربية :

- البياتي ، هدى سعدون. (2010). التغييرات المرضية لأكباد الأبقار المصابة بالديدان في محافظة بابل .مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري. 9(2): 47-54
- الجبوري ، مؤيد مجبل عبيد (2008) . دراسة وبائية حيوية حول إصابة المضائف النهائية والوسطية بطفيلي المتورقة العملاقة *Fasciola gigantica* في كربلاء . رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة كربلاء : 79 صفحة.
- الراعي ، حسناء حسين عبد علي (2014) . الارتباط بين ديدان قليلة الأهلاب والقواقع في بيئات مائية وسط العراق . رسالة ماجستير ، كلية العلوم للبنات ، جامعة بغداد .
- الراوي ، خاشع محمود. المدخل الى الإحصاء.كلية الزراعة والغابات . الطبعة الثانية. 2000
- الطائي ، صباح فاضل عبد الحسين (2011) .دراسة بيئية لأنواع القواقع المائية في جدول الحسينية / محافظة كربلاء المقدسة كمضائف وسطية لديدان ثنائية المنشأ.رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة كربلاء المقدسة .
- العباد ، مرتضى يوسف مهدي (2009). تشخيص وحياتية النوع *Chaetogaster limnaei* (Oligochaeta : Naididae) 1827 von baer المعزول من بعض أنواع قواقع أهوار البصرة جنوب العراق ، أطروحة دكتوراه ، كلية التربية – جامعة البصرة .
- الكبيسي ، رافع ياسين سلمان (1986) . دراسة مقارنة لعزلي الأغنام والجاموس لطفيلي *F.gigantica* في القوقع *Lymnaea auricularia* والماعر . رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد ، صفحة 128.
- داخل ، هدى غانم و المياح، صبيح هليل (2013) . وبائية الإصابة بمرض تعفن الكبد Fascioliasis في الأبقار والأغنام والمضيف الوسطي في محافظة ميسان / جنوب العراق . مجلة ابحاث ميسان ، 9 (18):169-195.

- Abass, K. S., Ibrahim, E. K., Khalaf, R. N., and Esmail, R. H.(2018). Prevalence of Liver Fluke Infections in Slaughtered Animals in Kirkuk Province. Iraq. J. Anim. Sci. Livest. Prod., 2(2): 05.
- Abdisa, T. and Jilo, K. (2017). Review on ovine fasciolosis in Ethiopian. J. Vet. Sci. Res., 2: 1-10.
- Abraham, J. T., and Jude, I. B. (2014). Fascioliasis in cattle and goat slaughtered at Calabar abattoirs. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare, 4(18), 34-40.
- Adela-Valero, M.; Bargues, D.;Khoubbane,M.;Artiges, P.;Quesada, C.; Berinde, L.; Ubeira,F.M.; Mezo,m.; Hernandz,J. Land Agramunt, V. H. (2016) .Higher physiopathogenicity by *Fasciola gigantica* than by the genetically close *F. hepatica* : experimental follow up of biochemical markers. Trans. R.Y. Soc . Trop-Med . Hyg., 110(1): 55-66.
- Al-Delemi, J. (2005). Epidemiological and immunological study for *Fasciola gigantica* among cattle in Babylon province. Ph. D. thesis, College of Veterinary Medicine, University of Baghdad, Iraq.
- Ali, H.; Ai, L.; Song, H. Q.; Ali, S.; Lin, R. Q.; Seyni, B. and Zhu, X. Q. (2008). Genetic characterisation of *Fasciola* samples from different host species and geographical localities revealed the existence of *F. hepatica* and *F. gigantica* in Niger. Parasitol Res. , 102(5): 1021-1024 .
- Al-Mahmood, S. S. and Al-Sabaawy, H. B. (2019). Fasciolosis: grading the histopathological lesions in naturally infected bovine liver in Mosul city. Iraqi J. Vet. Sci., 33(2): 379-387.
- Al-Mamun, M.; Bhuiyan, M. J. U.; Zinnah, M. A.; Hassan, M. M.; Mohammad, A.and Uddin, M. B. (2011). Prevalence of *Fasciola sp.* infection in ruminants. Eurasian J. Vet. Sci., 27(4): 241-244

- Al-Mashhadani , H.M. (1970) .Morphology and ecology of Lymnaeid snails of Iraq with special reference to fascioliasis. M.Sc. thesis, University of Bahgdad , Science college ,Iraq.
- Alves, D.P.; Carneiro, M.B.; Martins, I. V.F.; Bernardo, C.C.,; Donatele, D.M.; Pereira, O.S.; Almaeida, B.R., Avelar, B.R. and Leão A.G.C.(2011). Disrbution and factors associated with *Fasciola hepatica* infection in cattle in the south of Espirito Santo State,Brazil. J. Venom. Anim. Tox. Trop. Dis.17(3): 271-276.
- Al-Waaly, A. B.; Triwitayakorn, K.; Srisawad, N.; Smith, D. R.; Mohammad, M. K. and Sraphet, S. (2018). Genetic diversity in *Radix* species from the Middle and South of Iraq based on simple sequence repeats. Afr. J. Biotechnol., 17(36): 1119-1128.
- Andrews, S. (1999). The Life Cycle of *Fasciola hepatica*: Fasciolosis, J. P. Dalton.Oxford , C.A.B. International: 1-30.
- Ashrafi, K. (2015).The status of human and animal fascioliasis in Iran: a narrative review article. Iran J. Parasitol., 2015;10(3):306-28
- Assefa, A.; Assefa, Z.; Beyene, D. and Desissa, F. (2015). Prevalence of bovine fasciolosis in and around Inchini town, West Showa Zone, Adaa Bega Woreda, Central Ethiopia. J.Vet. Med. and Anim. Health, 7(6): 241-248.
- Awad, A. H. and AL-Mayah, A. A. S.(2006). The Epizootiology of Ruminant Fascioliasis in Basrah Province.(2006) . Al-Qadisiyah J. Vet. Med. Sci., 5(1): 38-4.
- Bandle, K. (2000). Speciation among the malanopsidae (caenogastropoda) , special emphasis to the melanopsidae of the pannonion lake at pontain time (late Miocene) and the Pleistocene and recent of Jordan . Mitt.Geol.Palaont . Ins. Univ.Hamburg:84pp
- Barçante, J. M.; Barçante, T. A.; Peconick, A. P.; Pereira, L. J.; Lima, W. S. and Negrão-Corrêa, D. A. (2012). Parasitic infections and inflammatory diseases. Inflammation, Chronic Diseases and

- Cancer—Cell and Molecular Biology, Immunology and Clinical Bases, IntechWeb, 205-218.
- Bargues, M. D.; Vigo, M.; Horak, P.; Dvorak, J.; Patzner, R. A.; Pointier, J. P. and Mas-Coma, S. (2001). European Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda), intermediate hosts of trematodiasis, based on nuclear ribosomal DNA ITS-2 sequences. *Infection, Genetics and Evolution*, 1(2), 85-107
 - Barine , G.L.(2012). Seasonal prevalence of *Fasciola gigantica* in aslaughter cattle in major abattoirs in Port Harcourt Adv. Agr . Sci. , Eng. Res ., 2 (9): 336-340.
 - Bayhan, G. İ.; Özkan, A. T. and Beyhan, Y. E. (2020). The clinical characteristics of fascioliasis in pediatric patients. *Turkish Arch.Pediat.*, 55(1): 67.
 - Bhutto, B. ; Arijo,A.; Phullan, M. S. and Rind, R. (2012). Prevalence of fascioliasis in buffaloes under different agroclimatic areas of Sindh Province of Pakistan . *Int . J. Agric . Biol.*, 14(2): 241- 245.
 - Boray ,J. C. (2017). Liver fluke disease in sheep and cattle , primefact 446, fourth edition .NSW Department of primary Industries,:14p.
 - Bozorgomid, A.; Nazari, N.; Eshrat Beigom , K. I. A.; Mohebbali, M.; Hajaran, H.; HYDARIAN, P. and Rokni, M. B. (2018). Epidemiology of fascioliasis in Kermanshah Province, western Iran. *Iranian J. pub. Health*, 47(7): 967.
 - Brown, D. S. (1994). Fresh water snails of Africa and their medical importance . Tylor and Francis London , 2nd edn.
 - Brown,D.S.(2005).Freshwater snails of Africa and their medical importance.Revised 2nd edn ,Taylor and Francis Ltd.
 - Burch, J. B. (1982). North American fresh water snails . identification keys , generic synonymy ,supplemental notes , glossary

- , references , index . Society for Experimental and Descriptive Malacology Walk Erana ,4th edn.
- Burch, J. B. (1989). North American fresh water snails (No.3). Malacological publications.
 - Burden D, Bland A, HammetN, Hughes D(1983) F. hepatica migration of newly excysted juveniles in resistan rats. Exp parasitol 56: 277 – 288.
 - Caravedo, M. A., and Cabada , M. M.(2020) .Human Fascioliasis : Current Epidemiological Status and Strategies For Diagnosis , Treatment , and Control. Research and reports in tropical medicine, 11, 149.
 - Cengiz, Z.T.; Yilmaz, H.; Dulger, A.C.; Akdeniz, H.; Karahocagil, M.K and Cicek, M.(2015). Seroprevalence of human fasciolasis in Van province Turkey. Turk J. Gastroentrol, 26: 259-262.
 - Chapuis, E. (2009). Correlation between parasite prevalence and adult size in a trematode-mollusc system: evidence for evolutionary gigantism in the freshwater snail *Galba truncatula*?. J. Mollus. Stud., 75(4), 391-396.
 - Comesaña, P.; Casas, S. M.; Cao, A.; Abollo, E.; Arzul, I.; Morga, B. and Villalba, A. (2012). Comparison of haemocytic parameters among flat oyster *Ostrea edulis* stocks with different susceptibility to bonamiosis and the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. J. Inverteb. Pathol., 109(3): 274-286 .
 - De Kock, K.N. and Wolmarans, C.T. (2007) . Distribution and habitats of the alien invader fresh water snail *Physa acuta* in South Africa . Water S.A., 33 (5):717:722.
 - Derraik, J.G.B (2008). The potential significance to human health associated with the establishment of the snail *Melanoides tuberculata* in New Zealand. J. New Zealand Med. Assoc., 121, (1280):5-32.

- Dillon, R. T. (2000). The ecology of freshwater molluscs. Cambridge University Press.
- Dillon , R. T.; Wethington, A. R.; Rhett, J. M. and Smith, T. P. (2002). Populations of the European freshwater pulmonate *Physa acuta* are not reproductively isolated from American *Physa heterostropha* or *Physa integra*. Invertebrate Biology, 121(3), 226-234.
- Ezzat, R.F.; Karboli, T.A.; Kasnazani, K.A. and Hamawandi, A.M. (2010). Endoscopic management of biliary fascioliasis: a case report. J. Med. Case Rep., 4: 83.
- Farahnak , A. ;Vafaie-Darian ,R. and Mobedi , I. (2006) .A faunaistic survey of cercariae from fresh water snails :*Melanopsis* spp. And their role in disease transmission J. Iran. Publ. Health, 35(4):70-74.
- Farhan, H. S. (2016). Morphological and Molecular Study of *Fasciola gigantica* in Buffaloes and Cows . Ph.D. Thesis, College of Veterinary Medicine, University of Basrah:200p
- Farrar, J., Hotez, P. J., Junghanss, T., Kang, G., Lalloo, D.,and White, N. J. (2013). Manson's Tropical Diseases E-Book. Elsevier Health Sciences
- Fernandez, M.V.; Hamann, M.L. and Kehr, A.L.(2013). Biology of *Kalipharynx* sp. (Tremata:Digenea) in *Biomphalaria* (Gastropoda: Planorbidae) from Northeastern Argentina. Rev. Biol. Trop., 61(4):1647-1656.
- Figtree, M.; Beaman, M. H.; Lee, R.; Porter, M.; Torey, E.; Hugh, T. J. and Hudson, B. J. (2015). Fascioliasis in Australian travellers to Bali. Med. J.Australia, 203(4): 186-188.
- Fatta, F.N. Babero,B.B., Karaghoulis , A. A., and Shaheen, A.S. (1964). The zoonosis of animal parasites in Iraq. The American journal of tropical medicine and hygiene , 13(2) , 291-294.

- Flynn, R. J. and Mulcahy, G. (2008a). The roles of IL-10 and TGF- β in controlling IL-4 and IFN- γ production during experimental *Fasciola hepatica* infection. *International journal for parasitology*, 38(14), 1673-1680.
- Flynn, R. J. and Mulcahy, G. (2008b). Possible role for Toll-like receptors in interaction of *Fasciola hepatica* excretory/secretory products with bovine macrophages. *Infection and immunity*, 76(2), 678-684.
- Flynn, R. J.; Mulcahy, G. and Elsheikha, H. M. (2010). Coordinating innate and adaptive immunity in *Fasciola hepatica* infection: implications for control. *Vet. Parasitol.*, 169(3-4): 235-240.
- Freire m T. (2020) .Evolution of the immune response regulatory properties of dendritic cells during *Fasciola hepatica* infection . In: Cancela , M., Maffioli , G(eds.)*Fasciola hepatica* . Methods in Molecula Biology , Vol 2137.Humana , New Yorek , NY.[https : //doi . org 110.1007/978.1.0716-0475-5](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0475-5).
- Fürst T, Duthaler U, Sripa B, Utzinger J, Keiser J(2012) Trematode infections : Liver and lung flukes . *Infect Dis Clin* 26: 399-419.
- Gebrie, M., and Engdaw, T. A. (2015). Prevalence of Bovine Fasciolosis in and Around Gondar, Northwestern Ethiopia.
- Gorbushin , A. M., and Iakovleva, N. V. (2006). Haemogram of *Littorina littorea*. *JMBA-Journal of the Marine Biological Association of the United Kigdom*, 86(5), 1175-1182.
- Gul, N.; Tak, H.; Fazili, K. M.; Abdullah, I. and Sofi, T.A.(2016). Prevalence of *Fasciola* infection in slaughtered animals in Kashmir.*Inter. J. Vet. Sci. Anim. Husb.*1(2);30-36.
- Gupta, N.; Shalaby, S. I.; Gupta, D. K. and Awad, M. A. (2020). Diagnosis of Tropical Fascioliasis Using Specific Antigen Detection in Feces of Infected Human Being or Animal Species.

- In Experimental Protocols in Biotechnology . Humana, New York, NY. (pp. 19-27)
- Gupta, S. C. (2014). Fasciolosis in man and animals: an overview retrospect to historical perspective. In Acts del XXIV national congress of veterinary parasitology and national symposium on “towards food security through sustainable animal production and integrated parasite management (pp. 5-7).
 - Hacariz, O.; Sayers, G.; McCullough, M.; Garrett, M.; O'Donovan, J. and Mulcahy, G. (2009). The effect of Quil A adjuvant on the course of experimental *Fasciola hepatica* infection in sheep. Vaccine, 27(1), 45-50.
 - Hambal, M.; Ayuni, R., Vanda, H., Amiruddin, A., and Athaillah, F. (2020). Occurrence of *Fasciola gigantica* and *Paramphistomum spp* Infection in Aceh Cattle. In E3S Web of Conferences (Vol. 151, p. 01025). EDP Sciences.
 - Hamed, N.; Ayadi, A. and Hammami, H. (2014). Epidemiological studies on fasciolosis in northern Tunisia. Revue Méd. Vét, 165: 49-56.
 - Hamoo, R. N.; Al-Rubaye, F. S. and Mustafa, N. G. (2020). Genotyping study of *Fasciola gigantica* isolated from cattle in Aqrah city, Iraq. Iraqi J. of Vet. Sci, 34(1): 123-127.
 - Haroun, E. T. and Hillyer, G. V. (1986). Resistance to fascioliasis--a review. Vet. Parasitol. 20(1-3): 63.
 - Hatami, H.; Asmar, M.; Massoud, J.; Mansouri, F.; Namdaritabar, H. and Ramazankhani, A. (2012). The first epidemic and new emerging human fascioliasis in Kermanshah, western Iran, and a ten-year follow up, 1998–2008. Int. J. Prev. Med., 3 (4): 266–72.
 - Hawrami, T.; Nassrullah, O. and Seerwan, K. (2013). Histological detection of *Fasciola* larva stage in snail in Sulaimani–Kurdistan–Iraq. Assiut Vet. Med, 59(138), 27-31.

- Hawramy, T. A. H., Saeed, K. A., Qaradaghy, S. H. S., Karboli, T. A., Nore, B. F., and Bayati, N. H. A. (2012). Sporadic incidence of Fascioliasis detected during Hepatobiliary procedures: A study of 18 patients from Sulaimaniyah governorate. BMC research notes, 5(1), 691.
- Heydarian, P.; Ashrafi, K.; Mohebbali, M.; Kia, E. B.; Aryaeipour, M., SHARAFI, A. C. and Rokni, M. B. (2017). Seroprevalence of human fasciolosis in Lorestan Province, western Iran, in 2015–16. Iranian journal of parasitol., 12(3): 389.
- Hussain, A. A.; Hassan, I.M. and Khalifa, R. M.A.(2010). Development and hatching mechanism of Fasciola eggs light and scanning electron microscopic studies . Saudi J. Biol. Sci., 17: 247-251.
- Hussain, K. L. and Zghair, Z. R. (2017). Prevalence of fasciolosis in ruminant city .J. Entomol. Zool. Stud.; 5(5): 364-369.
- Hussain, K. L. and Zghair, Z. R. (2018). Prevalence of human fasciolosis in Karbala , Iraq .J. Vet. Res., 22(1): 83-86
- Hussein , M. A.; Obuid-Allah , A. H.; Mahmoud , A.A. and Fangary, H. M. (in Karbala 2011). Population dynamics of freshwater snails (Mollusca : Gastropoda) at Qena Governorate , upper Egypt. Egyptian Academic J. Biol. Sci. B.Zoology , 3(1): 11-22.
- Hussein, A. N. A., and Khalifa, R. M. (2010). Fascioliasis prevalence among animals and human in Upper Egypt. J. King Saud Uni. Sci., 22(1): 15-19.
- Ibrahim, A. M. and Ahmed, A. K. (2019). Trematoda cercarial Fuana obtained from the field collected fresh water snail *Lymnaea natalensis* . in Egypt. Bull. Nat. Res. Centre , 43: B6.
- Ibrahim, N. (2017). Fascioliasis: systematic review. Advances in Biol. Res., 11(5): 278-285.

- Ichikawa-Seki, M.; Ortiz, P.; Cabrera, M.; Hobán, C. and Itagaki, T. (2016). Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Fasciola hepatica* from Peru. *Parasitology international*, 65(3): 171-174.
- Ichikawa-Seki, M.; Peng, M.; Hayashi, K.; Shoriki, T.; Mohanta, U. K.; Shibahara, T. and Itagaki, T. (2017a). Nuclear and mitochondrial DNA analysis reveals that hybridization between *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* occurred in China. *Parasitol.* 144(2), 206-213.
- Ichikawa-Seki, M.; Shiroma, T.; Kariya, T.; Nakao, R.; Ohari, Y.; Hayashi, K. and Fukumoto, S. (2017b). Molecular characterization of *Fasciola* flukes obtained from wild sika deer and domestic cattle in Hokkaido, Japan. *Parasitology international*, 66(5), 519-521
- Ismail, N. S. and Bdair, S. M. (1989). Two new furcocercariae from *Melanopsis praemorsa* (L., 1875)(Thiaridae) snails in Jordan. *Helminthologia* , 26(1): 15-20.
- Jokinen, E.(1992). The freshwater snails (Mollusca: Gastropoda) of New York State. The University of the State of New York,the State Education Department, The New York State Museum, Albany , New York 12230.
- Joyce, S. R. (2002). Phylogenetics of Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda) with Emphasis on the Evolution of Susceptibility to *Fascioloides magna* Infection. M. SC. Thesis, Biological Sciences ,Eastern Illinois University:61p
- Kassai , T., (1999) . *Veterinary Parasitology* Butterworth - Heinemann, Linacre House, Jordan Hill Oxford OX28DP, ISBN 07506 35630.
- Kaufmann, J. (1996). Parasites of sheep and goats. In *Parasitic Infections of Domestic Animals* Birkhäuser, Basel. (pp. 145-201).

- Khademvatan, S.; Majidiani, H.; Khalkhali, H.; Taghipour, A., Asadi, N. and Yousefi, E. (2019). Prevalence of fasciolosis in livestock and humans: A systematic review and meta-analysis in Iran. *Com. Immunol. Microbiology Infect.ious Dis.* 65: 116-123.
- Krailaes , D.Dechruksa , W. Ukong , and Janecharut , T. (2003) . Cercarialifection in paludomus petrosus , fresh water snail in PALA-U water fall. *Southeast Asian Health*, 34 : 286-290.
- Kusumarini, S.R.; Permata, F.S.; Widyaputri, T. and Prasetyo, D. (2020). Prevalence of fasciolosis emphasis on age, origin, body condition and post mortem by geographic information systems on sacrificial examination in Malang District-East Java . *J. Physics: Conference Series*, 1430 (1): 012025.
- Le, T. H.; Nguyen, K. T.; Nguyen, N. T. B.; Doan, H. T. T.; Le, X. T. K.; Hoang, C. T. M. and Van De, N. (2012). Development and evaluation of a single-step duplex PCR for simultaneous detection of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* (family Fasciolidae, class Trematoda, phylum Platyhelminthes). *J.clin. Microbiol*, 50(8): 2720-2726.
- Livshits , G. and L. Fishelson . (1983) . Biology and reproduction the fresh water snail *Melanoides tuberculata* (Gastropoda : Prosobranchia) in Israel . *Israel J. Zool.*, 32:21- 29.
- Loker, E. S. (2010). *Gastropod immunobiology*. In *Invertebrate immunity* Springer, Boston, MA (pp. 17-43).
- Lukambagire, A. H. S., Mchaile, D. N., and Nyindo, M. (2015). Diagnosis of human fascioliasis in Arusha region, northern Tanzania by microscopy and clinical manifestations in patients. *BMC infectious diseases*, 15(1), 578
- Lydeard, C. and Cummings, K. S. (2019). *Freshwater mollusks of the world: a distribution atlas*. JHU Press .

- Mahdi, N. and Al-Baldawi, F. (1987). Hepatic fascioliasis in the abattoirs of Basrah. Ann. Trop. Med. Parasitol., 81:377-379.
- Mahulu, A.; Clewing, C.; Stelbrink, B.; Chibwana, F. D.; Tumwebaze, I.; Stothard, J. R. and Albrecht, C. (2019). Cryptic intermediate snail host of the liver fluke *Fasciola hepatica* in Africa. Parasit. Vect., 12(1): 573.
- Mansooria, A. (2001) .Fresh water gastropod of Khuzestan province,south-west of Iran.J. Iran. Inter.Sci. ,2(2) :96-103.
- Marif, H. F.; Rashid, Z. M. and Muhamad, H. O. (2016). Liver fluke (fascioliasis). Int. J. Appl. Res., 2(3): 265-271.
- Marquardt, W. C.; Demaree, R. S. and Grieve, R. B., (2000). *Parasitology and vector biology*. 2nd ed. Academic Press London , pp: 702.
- Mas-Coma, S.; Bargues, M. D. and Valero, M. A. (2020). Human fascioliasis infection sources, their diversity, incidence factors, analytical methods and prevention measures-Corrigendum. Parasitology, 147(5): 601-601.
- Mas-Coma, S.; Bargues, M. D.; and Valero, M. A. (2005). Fascioliasis and other plant-borne trematode zoonoses. Intern. J. parasitol, 35(11-12): 1255-1278.
- McDougall, H. C. (2012). Identifying “hidden” antigens in the liver fluke, *Fasciola hepatica* . (Doctoral dissertation, University of Glasgow.
- Meharennet, B., and Shitu, D. (2021) . Concurrent infection of Fascioliasis and Trypanosomosis and associated risk Factors in local Zebu Breed cattle of Western Ethiopia . Veterinary medicine: Research and reports, 12, 15.
- Mendes, R. E.; Zafra, R.; Pérez-Écija, R. A.; Buffoni, L.; Martínez-Moreno, Á.; Tendler, M. and Pérez, J. (2010). Evaluation of local immune response to *Fasciola hepatica* experimental infection in the

- liver and hepatic lymph nodes of goats immunized with Sm14 vaccine antigen. Mem. Instit. Oswaldo Cruz, 105(5): 698-705.
- Mukherjee, R. P. (1986). The fauna of India the adjacent countries zool. Surv. Of Ind. Calcutta.
 - Munita, M. P., Rea, R., Martinez-Ibeas, A. M., Byrne, N., Kennedy, A., Sekiya, M., and Sayers, R. (2019). Comparison of four commercially available ELISA kits for diagnosis of *Fasciola hepatica* in Irish cattle. BMC Veterinary Research, 15(1), 1-12.
 - Naeini, K.M.; Nasiri, F.M.; Rokni, B. and Kheiri, S.(2016). Seroprevalence of human fasciolosis in Chaharmahal and Bakhtiari Province , South Western Iran. Iran J. Pub. Healt., 45(6): 774-780.
 - Nasredin , N . and Zaki, R.S. (2020) . Biochemical and immunological investigation of Fascioliasis in cattle in Egypt. Vet. WORLD . 13(5):923-93.
 - Nazar, E.; Azmoudeh-Ardalan, F.; Mobedi, I.; Dashti, S. H.; Salahshour, F., and Ahmadinejad, Z. (2017). *Fasciola hepatica* in explanted cirrhotic liver of a patient with chronic hepatitis B virus infection: an accidental finding. Hepat. Mon., 17(11): 61214.
 - Nguyyen, T.G; Le, T.H.; Dao, T.HT; Trans, T.L.;Prael; N.; Speybroeck, N.; Vercruysse, J. and Dorny, P. (2011). Bovine fasciolosis in the human fasciolosis hyper endemic Bin Dinh province in central Vietnam. Acta Trop., 111:19-22
 - Nguyen, S.; Amer, S.;Ichikawa, M .; Hagaki,T .; Fakuda, Y . and Nakai , Y . (2011). Molecular Identification of *fasciola* spp. (Digenea :Platyhelminth) in cattle from Vietnam . Parasite , 19:85-89.
 - Nyindo, M and Lukumbagire, A. H. (2015). Fascioliasis: an ongoing zoonotic trematode infection. BioMed research . international. <http://dx.doi.org / 10.1155/2015/786195> .
 - Nyirenda, S. S.; Sakala, M., Moonde, L.; Kayesa, E.; Fandamu, P.; Banda, F.; and Sinkala, Y. (2019). Prevalence of bovine fascioliasis

- and economic impact associated with liver condemnation in abattoirs in Mongu district of Zambia. BMC veterinary research, 15(1),33.
- Oktaviana, P. A., Suratma, N. A., and Wandia, I. N. (2019). Morphometry of Liver Fluke (*Fasciola Gigantica*) Infecting Balinese Cattle. Journal of Veterinary and Animal Sciences, 2(1), 10-17.
 - Oyarzún-Ruiz, P.; Alvelo, C.; Vera, F.; and Moroni, M. (2019). Histopathological findings of *Fasciola hepatica* infection in non-native European hare (*Lepus europaeus*) in Southern Chile. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 28(1),145-150
 - Pandya, S.S.; Hasnani, J.J.; Patel, P.; Chauhan, V.D.; Hirani, N.D.; Shukla. R. and Dhamsanlya, H.B. (2015). Study on prevalence of Fasciolosis in buffaloes at Anand and Ahmedabad districts, Gujarat, India. Vet. Worl., 8(7):870- 874.
 - Pantelouris, E. M. (1965). Effects of host hormones on the internal parasite, *Fasciola hepatica*. Res. in Vet. Sci., 6(3): 330-335
 - Phalee, A.; Wongsawad, C.; Rojanapaibul, A. and Chai, J. Y. (2015). Experimental life history and biological characteristics of *Fasciola gigantica* (Digenea: Fasciolidae). Korean J. Parasitol., 53(1): 59.
 - Piri , K.; Maghsood, A. H.; Matini,M. and Fallah, M.(2017) Prevalence and Intensity of *Fasciola* spp. Infection in Slaughtered Livestock in the Hamadan Slaughterhouse in 2015. Sci. J. Hamadan Univ. Med .Sci. 24(2):164-170.
 - Rana, M. A. A.; Roohi, N. and Khan, M. A. (2014). Fascioliasis in cattle-a review. J. Anim. Plant Sci, 24(3): 668-675.
 - Rast, L.; Nampanya S, Toribio, J.A.; Khounsy, S. and Windsor, P.A. (2015) *Fasciola gigantica* infection in large ruminants in northern Laos: smallholder knowledge and parasites . Anim. Livest. Res., 57(1):141-146.
 - Ray, A.; Chakraborty, K.; and Ray, P. (2013). Immunosuppressive MDSCs induced by TLR signaling during infection and role in

- resolution of inflammation. *Frontiers in cellul. Infection Microbiology.*, 3: 1-8.
- Rojas, C. A. A.; Ansell, B. R.; Hall, R. S.; Gasser, R. B.; Young, N. D.; Jex, A. R. and Scheerlinck, J. P. Y. (2015). Transcriptional analysis identifies key genes involved in metabolism, fibrosis/tissue repair and the immune response against *Fasciola hepatica* in sheep liver. *Parasit.Vect.*8(1): 124-138.
 - Ryan , S.; Shiels , j.; Taggart, C.C.; Dalton, J.P. and Weldon , S. (2020). *Fasciola hepatica* derived molecules as regulators of the host immune response . *Fron . Immunol.* , 11: 2182.
 - Sarkari, B., and Khabisi, S. A. (2017). Immunodiagnosis of human fascioliasis: an update of concepts and performances of the serological assays. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 11(6), OE05.
 - Sarkari, B.; Ghobakhloo, N.; Moshfea, A. A. and Eilami, O. (2012). Seroprevalence of human fasciolosis in a new-emerging focus of fasciolosis in Yasuj district, southwest of Iran. *Iranian J. Parasitol.* 7(2): 15-20.
 - Scott, J. M. and Goll, P. H. (1977). The epidemiology and anthelmintic control of ovine fascioliasis in the Ethiopian central highlands. *British Vet. J.* 133(3): 273-280.
 - Shaldoum, F. M. A.; Muhammad A.A.; Sadek, A.G. and Yassin, M.K.; Elmadawy, A.O and Gobaara, I.M. (2015) .Advanced and classical diagnosis of *Fasciola* spp. in Egypt. *J . Am. Sci.* 11: 1003-1545
 - Soliman, M. F. (2008). Epidemiological review of human and animal fascioliasis in Egypt. *J. Infec. Develop. Coun.*, 2(03): 182-189.
 - Soulsby, E. J. L. (1982). *Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals.* Bailliere tindall, London. :630-637, 654.

- Spithill, T. W. and Dalton, J. P. (1998). Progress in development of liver fluke vaccines. *Parasitol. Tod.*, 14(6), 224-228 .
- Sripa, B.; Kaewkes, S.; Intapan, P.M.; Maleewong, W. and Brindley, P.J. (2010). Food-borne trematodiasis in Southeast Asia epidemiology, pathology, clinical manifestation and control. *Adv. Parasitol.*, 72:305-350 .
- Sumruayphol, S.; Siribat, P.; Dujardin, J. P.; Dujardin, S.; Komalamisra, C., and Thaenkham, U. (2020). *Fasciola gigantica*, *F. hepatica* and *Fasciola* intermediate forms: geometric morphometrics and an artificial neural network to help morphological identification. *PeerJ*, 8: e8597 .
- Sysma, M.D. J.R. Cordell, J.W. Chapman and R.C. Draheim, (2004). Lower Columbia River Aquatic no-indigenous species survey 2001-2004. Final technical Report, The United States Coast Guard and the United States fish and wild life services:78p.
- Takang, E.E., LeBreton, M., Ayuk, C.E., and Macleod, E. T.(2020). A socio-economic study of *Fasciola* infections in cattle and sheep at the Etoudi slaughterhouse, Yaounde, Cameroon. *Journal of helminthology*, 94 .
- Toy, S. (2007). Malaysian trumpet snail (*Melanoides tuberculata*). Wellington : Unpubliehed internal report . MAF Biosecurity New Zealand .
- Tsega, M.; Dereso, S. and Getu, A. (2015). A review on Ruminant Fasciolosis. *Open Access Lib. J.*, 2: e1655.
- Ullah, I.; Nisar, M.F.; Jadoon, A.A.K. and Tabssum, S.(2016). Prevalence of *Fasciola hepatica* in domestic cattle of District Karak, Khyber Pakhunkhwa, Pakistan. *Asian J. Anim. Sci.*, 10(1): 85-91

- Umer, S.; Bolukbas, G.S.; Gurler, T.; Sayilir, K. and Acici, .(2018). *Fasciola gigantica* cases in ruminants from Sumsun province, Turkey. Vet. Parasitol. Region. Stud. Rep., 13:1-4.
- Urquhart, G. M., Armour, J., Duncan, J. L., Dunn, A. M., and Jennings, F. W. (1996). Veterinary parasitology. black well science Ltd. Oxford, UK, 213, 242-251.
- Utzinger, J. And Tanner, M. (2000). Microhabitat preferences of *Biomphalaria pfeifferi* and *Lymnaea natalensis* in a natural and a man-made habitat in southeastern Tanzania. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 95(3), 287-294 .
- Wakuma, M. (2009). Prevalence and economic significance of bovine fasciolosis at Bedele municipal abattoir. DVM thesis, Jimma University, Faculty of Veterinary Medicine, Jimma, Ethiopia.
- Xia, J.,Jiang , S. and Peng , H.(2015).Association between liver fluke infection and hepatobiliary pathological changes ; a systematic review and neta analysis –PLOS one , 10(7):eo132673.
- Yap, H.Y. (2018). Function and molecular interactions of the *Fasciola hepatica* cathepsin L5. protease.Ph. D. thesis ,School of Science , Colloge of Science , Engineering and Health, RMIT Univerity : 328p.
- Young, N. D., Jex, A. R; Cantacessi; C.; Hall, R. S.; Campbell, B. E.; Spithill, T. W.; and Gasser, R. B. (2011). A portrait of the transcriptome of the neglected trematode, *Fasciola gigantica* Biological and biotechnological implications. PLoS Negl Trop Dis, 5(2), e1004.
- Zewde, A., Bayu, Y. and Wondimu, A. (2019). Prevalence of Bovine Fasciolosis and Its Economic Loss due to Liver Condemnation at Wolaita Sodo Municipal Abattair, Ethiopia. Veterinary Medicine International, 2019.

- Zhang , y. ; Mei; X .; Liang , Y ., Zhu, B.; Sheng ,Z. ; Shi, W., Wang , D. and Huang , W. (2020) .Newly excysted juveniles (NEJs) of *Fasciola gigantica* induce mice liver fibrosis and M2 macrophage-like phenotype in vivo . Microbial pathogenesis , 139, 103909.

استمارة الأستبيان (قائمة جمع المعلومات)

نوع الحيوان المصاب :

جنس الحيوان :

عمر الحيوان :

مكان جمع العينة :

نوع العينة المعزولة :

وزن الأكباد المعزولة :

عدد الديدان المعزولة :

الإصابة ☐ مصاب ☐ غير مصاب

Summary:

The present study aims indication of the extent of its epidemiology of the parasite *Fasciola gigantica* in the intermediate hosts and its relationship to the variation of infection rate in the final host (animals and humans) in Diyala and Kirkuk provinces .The study was carried out in the animal science Laboratory / College of Education for Pure Sciences / University of Diyala for period from November of 2019 until September 2020.

The current study included detective the type of snails hosting the larval stage of the parasite *F. gigantica* and indicating the incidence of it, Where samples of 535 snails were included five species were examined and collected from different areas of Diyala and Kirkuk governorates, in which irrigation channels, streams, swamps were provided on aquatic plants, which represent a suitable environment for snails. the highest rate of infection was recorded in the snails of the type *Lymnea auricularia* 30%, It was followed by *Melanopsis costata* with 29%, *Lymnea natalensis* 21.8%, and *Physa acuta* 7.6%, while *Melanoides tuberculata* no incidence of parasite larvae was recorded.

Seventy-seven livers samples were examined (33 cattle livers and 44 sheep livers) from different regions of the two governorates and the incidence of infection was recorded in them. Depending on the kind of animal, the infection rate in Kirkuk governorate was 40% for cows and in Diyala governorate 16.6% for cows, while the infection was not recorded in sheep in both governorates. The percentage of infections in Kirkuk and Diyala are 14.63% , 8.33% respectively.

The infection rate was also recorded according to the sex of the animal in both governorates. In Kirkuk governorate, the infection rate in females was 41.6% and the percentage of infected males was 33.3%. As for Diyala

II

Governorate, the infection rate was 27.27% in females only, and no infection rate in males was recorded.

The infection rates in animals were also recorded according to the sample collection areas. In Kirkuk governorate, the infection rate in the modern Kirkuk massacre was 16.21%, and no injury rate was recorded in the Corniche shops/Granada neighborhood. In Diyala governorate, the infection rate was in the periphery areas (villages near the governorate center) 14.28% and no injuries were recorded in the governorate center. The results of the statistical analysis showed that there was no significant difference in the rate of infection with respect to the type and sex of the animal and the sample area and in both governorates.

The current study also included the diagnosis of the parasite *F. gigantica* among the vulnerable people in the countryside of both governorates, The total number of donors was 90 donors, who were butchers, farmers and livestock owners, as they had direct contact with animals. ELISA Kit Accu DiagTM *Fasciola gigantica* for diagnostic use in the current study to detect *F. gigantica* antigen in serum. The total number of donors in Diyala governorate was 17 and the overall infection rate in Diyala governorate was 35.29%, while in the Kirkuk the total number of donors was 73 and the infection rate was higher in Kirkuk governorate 35.61%, and the statistical analysis showed no significant difference in the incidence rate in people exposed in both governorates. As the results showed that the highest rate of infection in Diyala governorate was 41.66% among farmers, followed by 20% of livestock owners, and no injury rate was recorded among the butchers, either in Kirkuk governorate, where the highest infection rate was recorded among livestock farmers 38.46% followed by owners 35.48%, then the butchers 31.25% .

Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Diyala
College of Education for Pure Science
Department of Biology



Isolation and Diagnosis of a giant liver fluke *Fasciola gigantica* from intermediate and final host

A thesis submitted to the
College of Education for pure Science as a Partial
Fulfillment of the Requirements for the Degree of
M.Sc.in Biology

By

Nagham Emad Abdul-Hameed

B.Sc. Biology, College of Education for Pure Sciences
University of Diyala 2004-2005

Supervised by

Prof.

Assist. Prof.

Dr. Nagham yassin Al-Bayati

Dr. Khansaa Salman Farman

2021 A.D.

1442 A.H.