مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (29) العدد (3) 2007
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research - Biological Sciences Series Vol. (29) No. (3) 2007

دراسة معمقة لتحديد هوية مثقوبات ثنائية الجيل في أمعاء الثوي النهائي

الدكتور حسن محمد سلمان*
الدكتور عبد الرازق يوسف الدسوقي**
الدكتور محمود عبد النبي الصيفي***

(تاريخ الإيداع 5 / 6 / 2007. قبل للنشر في 2007/7/22)

□ الملخّص □

شملت الدراسة عددا من الحيوانات التجريبية بلغت 6 قطط صغيرة و12 فرخ إوز، جرى خمجها صنعيا في المخبر بيرقات (خليفة ذانبة متكيسة غير معروفة EMC encysted Metacercariae) من خلال تغذيتها بعضلات أوغلاصم أسماك مشط نيلي حاوية عليها. تم تحديد هوية الديدان المتشكلة من تطور تلك اليرقات في أمعاء حيوانات التجربة، وكانت على النحو التالي:

Prohemistomum vivax أمامية الثغير النشطة, *Mesostephanus appendiculatus*, *Paracoenogonimus ovatus* جانبية المناسل البيضوية.

كلمات مفتاحية: خليفة الذانبة، سمك المشط النيلي، مثقوبات، قطط، إوز.

* **أستاذ في قسم علم الحيوان، جامعة تشرين، كلية العلوم، سورية.**
** **أستاذ مساعد في قسم الطفيليات، كلية الطب البيطري، جامعة كفر الشيخ، مصر.**
*** **أستاذ في قسم الطفيليات، كلية الطب البيطري، جامعة كفر الشيخ، مصر.**

مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (29) العدد (3) 2007
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research - Biological Sciences Series Vol. (29) No. (3) 2007

An Intensive Study to Identify of Digenic Trematoda in Intestine of End Host

Dr. Hassan Mohamad Salman*
Dr. Abd Elrasik Yousif Dissouky**
Dr. Mahmoud Abd El-Naby El-Seify***

(Received 5 / 6 / 2007. Accepted 22/7/2007)

□ ABSTRACT □

A total of 6 cats and 12 geese were infected artificially in laboratory with undefined encysted Metacercariae (EMC) through eating of muscles or gill filaments of *Tilapia sp*. Fish contained it. The Identification of formed worms in the intestine of experimental animals was performed as following: *Prohemistomum vivax, Mesostephanus appendiculatus, Paracoenogonimus ovatus.*

Key wards: Metacercariae, Tilapia Fish, Trematoda, Cats, Geese.

***Professor, Department of Zoology, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
****Associate Professor, Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine. Kafr El-Sheikh Univesity, Egypt.**
*****Professor in Parasitology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Kafr El-Sheikh Univesity,Egypt.**

المقدمة:

تعد الأسماك من مصادر البروتين الحيواني المهمة لتغذية الإنسان وبعض الحيوانات الأخرى، وهي معرضة كغيرها من الفقاريات الأخرى للخمج بالعديد من الطفيليات، ذلك أنها يمكن أن تلعب دور الثوي (العائل) النهائي End host لبعض الطفيليات [1و2] أو ثوي وسيط Intermediated Host لطفيليات أخرى [3و4]، من خلال احتواء عضلات وغلاصم تلك الأسماك على مراحل تطورية محددة لبعض الطفيليات، مثل اليرقات المتكيسة encysted Larvae (خليفة ذانبة متكيسة EMC encysted Metacercariae). تؤدي بعض أنواع أسماك المشط *Tilapia sp.*، التي تربى (تستزرع) بكثرة في أحواض استزراع الأسماك في محافظة كفر الشيخ في دلتا النيل في مصر، هذا الدور.

لقد اهتم العديد من الباحثين في مصر بدراسة انتشار أخماج أسماك المياه العذبة بالمراحل التطورية اليرقية للطفيليات، مثل [5 و 6و 7 و8]، وأشاروا إلى مظاهر مرضية مختلفة الشدة عند تلك الأسماك، تختلف باختلاف موضع الخمج وشدته، أهمها: مرض البقع السوداء black spots، وظلمة عدسة العين eye cataract، وظهور نقاط بيضاء حول قرنية العين، وضيق تنفس الغلاصم وتخربها مترافقاً بمظاهر اختناق، وأعراض هضمية مختلفة، وزيادة نسبة نفوق الأسماك، وغيرها [9 و 10 و 11].

أما عالميا فقد أشار [12] إلى ظهور بقع سوداء مرضية تحت الجلد، وفي أدمة أسماك البلطي النهري Cichlid نتيجة الخمج بخليفة ذانبة متكيسة encysted Metacercariae للطفيلي *Posthodiplostomum*، ووجد [13] أن الاختبارات السريرية لأسماك مخموجة باليرقات خليفة الذانبة المتكيسة لديدان المتغايرات المتغايرة *Heterophyes heterophyes*، أظهرت تخرباً شديداً للغلاصم، وضيق تنفس لتلك الأسماك، وقد أشار [14] في اليابان إلى انتشار الخمج باليرقات خليفة الذانبة بكثرة في أسماك الانكليس eel المستزرعة في إقليم تايوان، مسببة ابيضاضاً وجحوظاً في أعين الأسماك.

تنمو اليرقات خليفة الذانبة المتكيسة بعد وصولها إلى الجهاز الهضمي للثوي النهائي الملائم للطفيلي، وتتحول إلى ديدان ناضجة مسببة العديد من الأعراض المرضية المعوية، وقد تم معرفة عددٍ من أنواع هذه الديدان مثل:

Prohemistomum vivax أمامية الثغير النشطة, *Mesostephanus appendiculatus* ,

Paracoenogonimus ovatus جانبية المناسل البيضوية،

Heterophyes heterophyes المتغايرات المتغايرة وغيرها [15 و 16و 17و 18].

أهمية البحث وأهدافه:

لقد هدفت الدراسة إلى تحديد هوية الديدان المثقوبة المنتقلة تجريبيا من أسماك المشط النيلي *Oreochromis niloticus* إلى القطط والإوز، وإلى تعيين أنواع اليرقات خليفة الذانبة Metacercariae المتكيسة في عضلات الأسماك المدروسة، التي تكونت منها تلك الديدان. وتأتي أهميتها من كونها تبين الدور الصحي الذي تؤديه هذه الأسماك كأثوياء وسيطة لبعض الديدان الطفيلية، وتسهم في نقلها إلى الإنسان وبقية آكلات الأسماك.

طريقة البحث ومواده:

حضرت حيوانات التجربة بمواصفات وخصائص محددة كما هو موضح في الجدول(1) إضافة

جدول (1) حيوانات التجربة وخصائصها

	العدد	العمر/يوم	الوزن/غرام
صغار القطط	6	25-20	1400-1000
صغار الإوز	12	20-15	125-100

تم توزيعها إلى إوزتين وقطة بنفس المواصفات كعينات شاهدة، ثم وضعت في أقفاص نظيفة ومناسبة، وغذيت بالغذاء

المناسب [19]، وتم فحصها عدة مرات [20] للتأكد من خلوها من الطفيليات، كما أعطيت جرعات مناسبة من طاردات الديدان مثل Niclosamide، أما أسماك المشط النيلي *Oreochromis niloticus* المفترض أنها تحتوي على اليرقات خليفة الذانبة المتكيسة، فقد كانت بأعمار وأوزان مختلفة (جدول 1) وقدمت عضلاتها وغلاصمها لحيوانات التجربة.

* **فحص عضلات الأسماك وغلاصمها:** وضعت الأجزاء المراد فحصها، بحثا عن اليرقات خليفة الذانبة المتكيسة، في وعاء زجاجي يحوي محلولاً فيزيولوجياً، نزعت اليرقات هذه بلطف، وأخرجت من كيسها، وتركت في المحلول مدة 6 ساعات، ثم وضعت تلك اليرقات على صفائح زجاجية، وثبتت في محلول فورمالين 5%، ولونت بملون كارمن حمضي، وغطيت بساترات، ثم فحصت عينات منها تحت عدسة المجهر، وقد صنعت مقاطع من عضلات الأسماك باستخدام المقطاع الثلجي بثخانة 4-6 ميكرون وثبتت ولونت لتحديد كثافة خليفة الذانبة فيها وتوزعها [12و 21و 22].
* **إجراء الخمج الصنعي لصغار القطط والإوز:** أخذت الأجزاء العضلية والغلاصم الأكثر خمجا باليرقات خليفة الذانبة المتكيسة المجهولة النوع، من أسماك المشط النيلي، وأعطيت بأوزان محددة عبر الفم لحيوانات التجربة مدة ثلاثة أيام متتابعة [23و 24]:

- صغار القطط: قسمت إلى مجموعتين، 3 في كل مجموعة، وحصلت كل قطة صغيرة على 50 غرام من عضلات أسماك المشط النيلي أو غلاصمها.
- صغار الإوز: قسمت إلى مجموعتين، 6 في كل مجموعة، وحصلت كل إوزة صغيرة على 20 غرام من عضلات أسماك المشط النيلي أو غلاصمها.

* **البحث عن الديدان الناضجة في أمعاء حيوانات التجربة:** تم معرفة حيوانات التجربة المخموجة بالطفيليات من خلال مشاهدة بويضات (بيوض) Eggs الديدان في روث الحيوانات، وتم ذلك بطريقة الترسيب أو التعويم [25]، وذلك خلال 2-3 أسابيع من حصول حيوانات التجربة على عينات الأسماك، ذبحت تلك الحيوانات بعد ذلك تباعا، وفُحصت أمعاؤها بحثا عن الديدان المتشكلة، حيث فتحت واستخلصت الديدان، ووضعت في ماء دافئ للاسترخاء، وثبتت كل دودة بالفورمالين 10% بعد وضعها على صفيحة زجاجية نظيفة، ولونت بملون كارمن حمضي، وغسلت بالماء المقطر، وجففت بسلسلة كحول إيتيلي 50%، 70 %، 90%، ثم 100%، وأضيف إليها الكزيلول وزيت القرنفل وبلسم كندا، وغطيت بساترة، وحضنت الصفائح هذه مدة 24 ساعة في الدرجة 60 مئوية، للتخلص من فقاعات الهواء المتشكلة في أثناء تحضير الصفائح الحاملة للديدان [22].

* **تحديد هوية الطفيليات:** تم ذلك اعتمادا على مفاتيح تصنيفية عالمية، استندت إلى الخصائص والمواصفات الشكلية العامة المعتمدة من قبل [12 و15]، مثل المحاجم وبعض الأجهزة الداخلية كالهضم والتناسل وأبعاد الديدان.

النتائج والمناقشة:

لقد تم تحديد دور الحضانة prepatent period، عند حيوانات التجربة المخموجة صنعيا (في المخبر)، الذي ينتهي مع ظهور أول بويضة للديدان الطفيلية في روث تلك الحيوانات، وقد تراوح هذا الدور بين 8–12 يوما. وهذا ما اتفق مع ما توصل إليه [5 و 26].

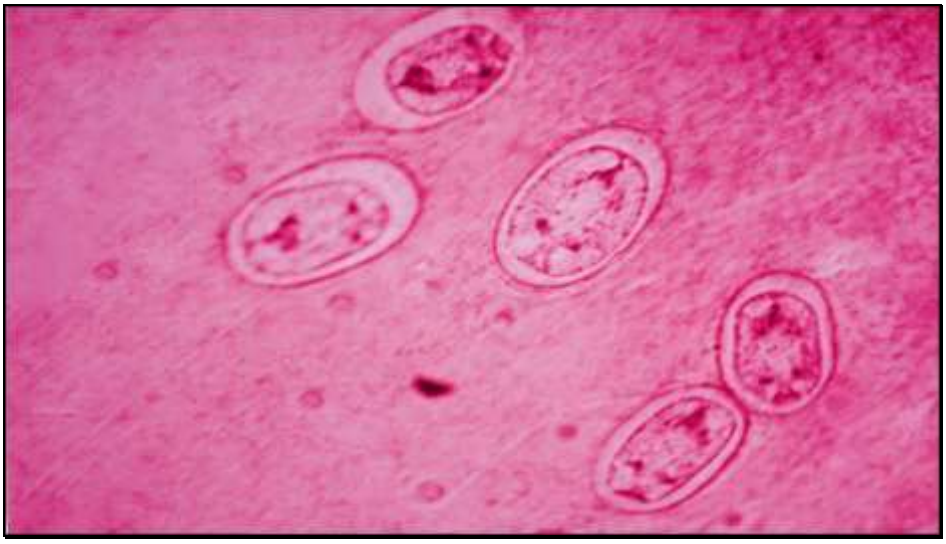
جدول (2) الديدان المعزولة من أمعاء القطط ومصدر الـ EMC

نوع الدودة المعزولة	مدة دور الحضانة /يوم	عدد الديدان المعزولة	عدد القطط المصابة	عدد EMC/غ	مصدر EMC	عدد القطط	مج
Prohemistomum vivax	12–8	150	2	2	عضلات	3	1
Mesostephanus appendiculatus	12–8	6	1	1/ خيط غلصمي	غلاصم	3	2

جدول(3) الديدان المعزولة من أمعاء الإوز ومصدر الـ EMC

نوع الدودة المعزولة	مدة دور الحضانة /يوم	عدد الديدان المعزولة	عدد الإوزات المصابة	عدد EMC/غ	مصدر EMC	عدد الإوزات	مج
Paracoenogonimus ovatus	12–8	6	3	2	عضلات	6	1
Paracoenogonimus ovatus	12–8	2	2	1/ خيط غلصمي	غلاصم	6	2

يلخص الجدولان (2) و (3) النتائج التي تم التوصل إليها في هذه الدراسة، وكما هو واضح من الجدول 2 و3 فإن عدد الأجنة المذنبة المتكيسة { اليرقات، شكل (1)} في 1 غرام عضلات بلغ 2، وجنين مذنب متكيس واحد لكل خيط غلصمي. وكان عدد الديدان المعزولة من حيوانات التجربة، التي غذيت بعينات عضلات الأسماك المحتوية على الأجنة المذنبة المتكيسة، أكبر مما هو عليه عند تلك التي غذيت بأجزاء الغلاصم المصابة بها، وهذا عادي، لأن وزن جرعات التغذية مختلفة، وعدد الأجنة المذنبة المتكيسة غير متطابق، وقد توافق ذلك إلى حدٍّ بعيد مع النتائج التي توصل إليها [6 و25]، واختلفت قليلا عما توصل إليه [5]



شكل (1) يرقات ديدان مثقوبة في عضلات اسماك المشط، ملون كارمن حمضي، تكبير 40×

لقد تم تحديد هوية الديدان المعزولة اعتمادا على مفاتيح تصنيفية عالمية [12 و15]، وكانت على النحو التالي: شكل (2) و(3) و(4).

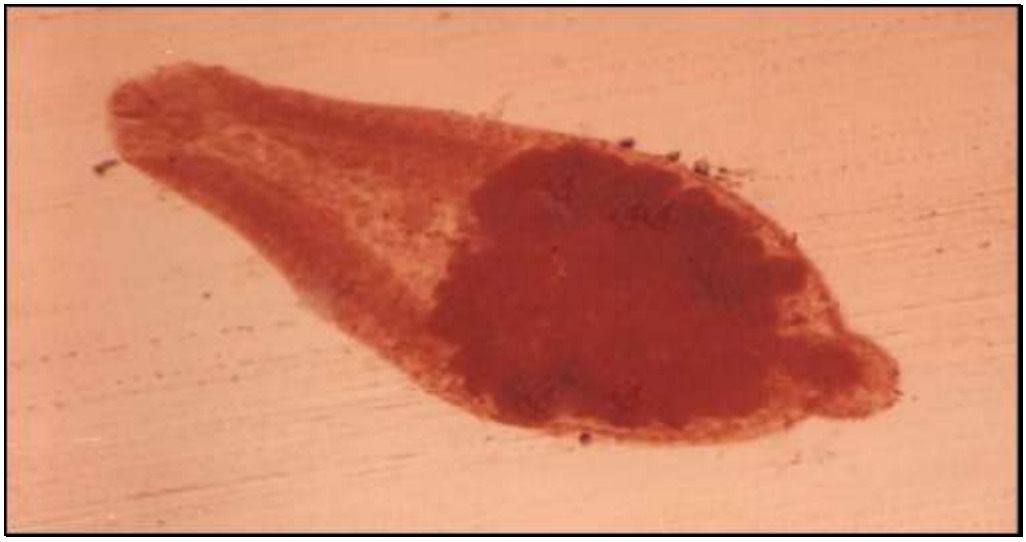
Prohemistomum vivax أمامية الثغير النشطة, *Mesostephanus appendiculatus*, *Paracoenogonimus ovatus* جانبية المناسل البيضوية.

وجاءت هذه النتائج منسجمة مع ما توصل إليه [25 و 26 و 27 و 28] فقد عثروا على بعض هذه الأنواع في أمعاء البط الذي غذي بالغلاصم والعضلات لأسماك مشط يحتوي على اليرقات خليفة الذانبة المتكيسة، ومع نتائج دراسة [23 و 29] الذي وجد بعض أنواع هذه الديدان في أمعاء الكلاب، التي غذيت بالغلاصم والعضلات لأسماك مشط مخموجة باليرقات آنفة الذكر.

وقد أكد [27 و28 و30] أن عدد اليرقات خليفة الذانبة المتكيسة في عضلات أسماك المشط وغلاصمه *Tilapia sp.* تلك المستزرعة في مزارع أسماك عديدة، أكد أنه كبير، وحددت أنواع الديدان المتطورة عنها.

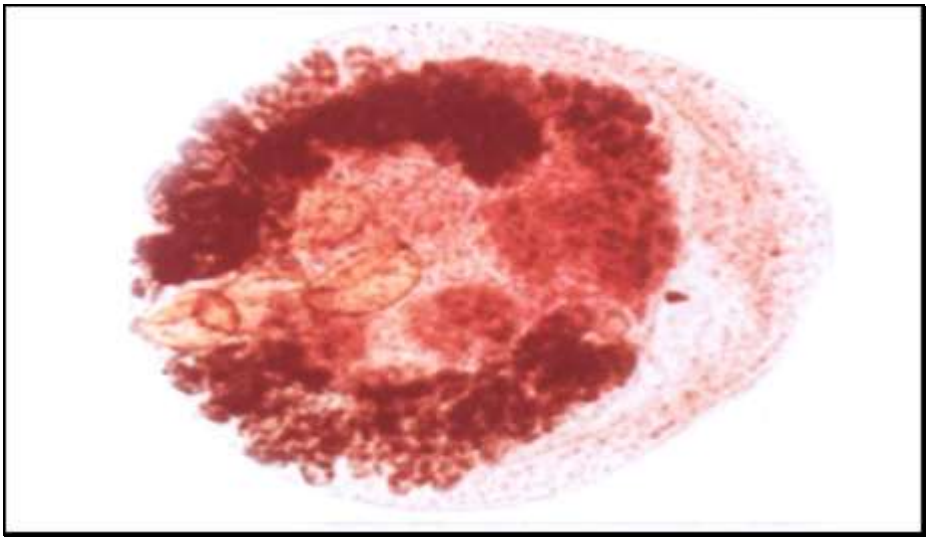
الاستنتاجات والتوصيات:

- تلعب أسماك المشط النيلي دور ثوي وسيط للعديد من الديدان الطفيلية في البيئات المحلية والعربية.
- متابعة هذه الدراسات للكشف عن معظم الطفيليات التي تنتقل إلى الإنسان وآكلات الأسماك.
- الاهتمام بالمزارع السمكية، ومعالجتها للحد من أخطارها على الصحة العامة، والإقلال من سلبيتها على الناتج الاقتصادي.
- إجراء دراسات مستقبلية مشابهة على الأنواع السمكية المستزرعة في سورية.



شكل (2) الدودة المثقوبة أمامية الثغير النشطة *Prohemistomum vivax* ملون كارمن حمضي،تكبير 40×

شكل(3) الدودة المثقوبة *Mesostephanus appindiculatus*، ملون كارمن حمضي، تكبير40×



شكل (4) الدودة المثقوبة جانبية المناسل البيضوية *Paracoenogonimus ovatus* ملون كارمن حمضي وتكبير 40 ×

المراجع:

1-ABD El-AٍAL, A. M. I. *Studies on tissue parasites in fish*. Ph.D. Thesis, Fac. Vet. Med., Tanta Univ. 2000, 218.

2- WOO, P. T. K. *Fish diseases and disorders*. CAB, Int. Wallingford, Oxon, Uk. 1995, 361.

3- AMANY ABBASS, A. A. R. *Role of fish as an intermediate host of some trematodes in birds.* Ph.D. Thesis, Fac. Vet. Med. (Moshtohor), Zagazig Univ., Egypt. 1997, 257.

4-AMAL ATWA, A.S. *Studies on some prevailing internal parasitic diseases in catfish (Clarias gariepinus).Master*. Ph.D. Thesis, Fac. Vet. Med., Suez Canal University, 2006, 261.

5- NOOR El-DEEN,A.I.S. *Comparative studies on the prevailing parasitic diseases in monosex Tilapia and natural male Tilapia in Kafr El-sheikh governorate fish farms.* Theses.Ph..Dr. vet. Med. Kafr El-sheikh.Uni. 2007, 219.

6- IBRAHIM, T. B. E. *Studies on metacerarial parasitic infestation in some fresh water fishes. Master*., Thesis, Ph.D.. Vet. Med., Cairo Univ. 2000, 197.

7-TAGHREED, B. El-DEEN, I.: *Further studies on metacerarial parasitic infestation in fresh water fishes*. ph. D. Sc. Thesis, Fac. Vet. Med., Cairo. University. 2005, 223.

8- ALI, S; MAYBERRY; El-MELEGY, A. and El- GAWADY, H.M. *Pathologic studies on parasitic infections in Tilapia nilotica in Egypt*. J. Comp. Clin. Pathol., 1995, 8 (2): 147- 157.

9- HASSAN; M. A *Studies on some parasitic affections in fresh water fishes in Beni Suef governorate.* Ph. D. Thesis Vet. Med.,. Cairo Univ. 1992, 218.

10- AMER O. H. and El-ASHRAM A. M. M. *The occurrence of Prohemistomatidae metacercariae among cultured Tilapia in El- Abbassa fish farm with special reference to its control*. J. Vet. Med. Res.,11, 2000, 15-23.

11- EISSA, I. A. M.; A. S. DIAB and A. F. BADRAN *Studies on some internal parasitic diseases among wild and cultured Oreochromis niloticus fish. 7th* Sci. Cong., 17-19. Nov. Egypt. 1996, 211.

12- PAPERNA, I *Parasitic infestation and diseases of fish in Africa*. FAO, CIFA Technical paper, 1980, 51- 62.

13- NOGA, E.J. and FLOWERS,J.R. *Invasion of Tilapia mossambica* (Cichlidae*) viscera by the* monogenean *Enterogyrus cichlidarum*. J. Parasitol., 1(5), 1995, 815-817.

14- OOI, HONG – KEAN, WANG, WAY – SHYAN, TU, CHIANG - YU, CHANG, HONG- YOU, CHEN, VHERG- I. *Natural mass infection by heterophyid metacerariae in a aquaculture Japanese eel in Taiwan.* Dis. Aquat. Org.,Vol.35, 1999, 31-36.

15- YAMAGUTI, S. *Systema helminthes of fish.Vol 1.Digentic Trematodes of the vertebrates part1 and 2*,Interscience publishers,Inc. New York. 1985, 378.

16- PAPERNa, I. *Parasite infestation and disease of fishes in Africa. An Update CIFA Technical paper,* No. 31, Rome, FAO. 1996, 189.

17- MOUSA, W. M.; MAHDY, A. and OMINA, K. M. *Electrophoresis analysis to confirm the identification of some Kinds of encysted metacercariae from Oreochromis niloticus.* Assiut Vet. Med. J., Vol. 43, (85), 2000, 199-209.

18- NEGM El- DIn, M.M.; NAGWA, E. and FAYED, S. A. *Some studies on helminthes parasites of fresh water in Egypt.* Alex. J. Vet. Sci.,4 (1), 1988, 357 – 367.

19- FARRIS, E. J. *The care and breeding of laboratory animals*. 7 Ed., pp. 182-201. John Wily & Sons, Inc. New York, London and Sydney. 1967,152.
20- MORAVEC, F. *Some digenetic trematodes from Egyptian fresh water fishes*. Vest. Cs. Spol. Zool., 41, 1977, 52-67.
21- SHALABY, S. I.; IBRAHIM, M. M.; MAHMOUD, N. A. and El-Assely T. N. *Parasitological and pathological studies on encysted metacercariae in the muscles and different organs of Tilapia nilotica. Egypt*. J. Comp. Pathol. & Clin. Pathol., Vol. 12 (1), 1989, 199 – 205.
22- KABATA, Z. *parasites and diseases of fish culture in the tropics.* Printed in Great Britain by Taylor and Franks,Ltd. Basingstoke Hants.1985,127-161.
23- SHALAbY, S. I.; SELIM, M. K. and TAWFIK, M. A. A. *Some studies on encysted metacercariae in some Nile fishes. Egypt*. J. Vet. Sci., 24, 1987, 63 – 71.
24- EL- NAFFAR, M. K. and El- SHAHAWY, G. A. *Studies on the metacercariae of the Nile fishes at El- Minia Province, Egypt*. Assiut Vet. Med. J., 15 (30), 1986, 38- 55.
25- SOULSBY, E. J. L. *Helminthes, Arthropods and Protozoa of domesticated animals*. Sixth edition. London, Bailliere, Tindall and Cassell. 1978, 436.
26- KENAWY, A. M. *Affections of grass carp in different localities with special reference to pollution*. Ph. D. Thesis, Fac. Vet. Med., Cairo. Univ. 2005, 251.
27- OLFAT M. A.; MANAL, A. A.; ISSA, A. A. and ISSA, M. *Parasitological and pathological studies on Heterophidae infection in Tilapia species from Manzala lake, Egypt. Egypt.* J. Comp. Pathol. and Clinic Pathol.,8(2), 1995, 131-145.
28- IBTISAM, B. E. D. *Studies on some prevailing parasitic diseases among cultured Tilapia fish*. Ph. D. Thesis, Fac. Vet. Med., Suez Canal University. 2004, 198.
29- El- D◌ALLY, K. M. H. *The role of fish as intermediate host for transmitting* some parasites of zoonotic importance, in Behera Governorate. M. V. Sc. Thesis, Master. Vet. Med., Alex. Univ. 1988.
30- MAHDY, O. A. and SHAHEED, I. B.: *Studies on the metacercarial infection among Tilapia species in Egypt*. J. Egypt.Vet.Med.Ass.,60,(6), 2000, 147- 163.