Dept. of Microbiology,
Faculty of Veterinary Medicine,
Al-Baath University, Syrian Arab Republic.

DETECTION OF *TOXOPLASMA GONDII* IN SHEEP AND HUMAN IN HAMA\ SYRIA

(With 7 Tables)

By
E.Z. ADI and A. ALKHALED

(Received at 25/10/2010)

الكشف عن الإصابة بالمقوسة القندية في الأغنام والإنسان في محافظة حماه/ سورية

عماد عدي ، عبد الكريم الخالد

تم فحص /291/ عينة مصلية لأغنام عواس من مناطق مختلفة في محافظة حماه، وذلك بهدف كشف نسبة الإصابة بالمقوسة القندية، حيث بلغت نسبة الإصابة /56.01% (291/163). كما تم فحص /72/ عينة مصلية مأخوذة من النساء، للهدف نفسه، وقد بلغت نسبة انتشار الإصابة فيها / 68.05% (72/49). وقد أُستخدم اختبار التراص السريع لاتكس واختبار التراص لاتكس في الأنابيب (البليت أو الأطباق ذات الحُفر)، وأُعتبرت العيارات الإيجابية بدءاً من (64/1) عند الأغنام ، ومن (32/1) عند الإنسان. وتم دراسة العلاقة بين نسبة انتشار الإصابة والمجموعات العمرية، وتبين أن نسبة انتشار الإصابة في الأغنام التي كانت أعمارها / 1-3/ أشهر قد بلغت /36.95% (46/17)، وفي الأغنام التي كانت أعمارها / 3-6/ أشهر / 49.12% (57/28)، وفي الأغنام التي كانت أعمارها / 6-9/ أشهر /62.5% (104/65)، وفي الأغنام التي كانت أعمارها أكثر من عام /63.09% (84/53). كما تم أيضاً فحص عينات أدمغة أغنام /50/ دماغ وذلك بعد حقنها بفئران التجارب (100 فأرة) ومراقبة الفئران لمدة شهر ، حيث تم عزل كيسات المقوسة القندية من /4/ أدمغة أي بنسبة /8%/.

SUMMARY

A total of 291 serological samples of Ewassi sheep were collected from different regions in Hama Mhafazat, in order to detect the morbidity rate of *Toxoplasma gondii*. The reported morbidity rate was 56.01%. Besides, 72 serological samples were collected from women for the same purpose, and the prevalence of infection was reported as 68.05%. Latex rapid agglutination and Latex Plate- agglutination tests were used in the examination of samples. The Positive titers were started from titer 1/64 in sheep and cats and from 1/32 in human population. The relationship between morbidity rate and age of sheep categories was studied. It was reported that morbidity rate in ages between 1-3 months was 36.95%; in ages between 3-6 months was 49.12%, and in ages between 6-9 months old was 62.5%. In sheep the infection was characterized in ages greater than one year, generally was 63.09%. Experimental infection of mice using 50 brain sheep samples for one month revealed that 4 brains, (8%) were positive for *Toxoplasma*-cyst.

Key words: *Toxoplasmosis, T.gondii, sheep, latex agglutination tests.*

INTRODUCTION
المقدمة

تعد المقوسة القندية (*T. gondii*) من الطفيليات الأوالي التي تنتمي إلى عائلة الكيسات اللحمية (Sarcocystidae)، وهي تصيب الحيوانات ذوات الدم الحار والطيور والإنسان، وتنتشر الإصابة بهذا النوع عالمياً على نحو واسع (Dubey and Beattie, 1988; Eckert *et al*., 2008) ، وتتميز المقوسة القندية بأهمية اقتصادية كبيرة عند المجترات الصغيرة، ولاسيما في مزارع التربية المكثفة نظراً لعلاقتها بالإجهاض. إذ تسبب الإصابة بها خسائر اقتصادية فادحة في مجال تربية الأغنام في مناطق واسعة من بلدان العالم (Dubey and Beattie, 1988 Buxton *et al*., 2007). ويعتبر داء المقوسات من الأمراض المشتركة بين الإنسان و الحيوان ، ويعد عاملاً مسبباً للإجهاض في الأغنام (Dubey and Kirkbrid, 1984) ، ويسبب اضطرابات تناسلية كولادة أجنة مجهضة (Beverly and Waston, 1961)، أو خراف ضعيفة (Perry *et al*., 1979). وقد تبين أن هذا المرض يهدد النساء الحوامل ويسبب الإجهاض عندهن (Fleck and Kwantes,

1980)، حيث وجد في مصر عيارات مرتفعة للمقوسة القندية في دماء النساء اللواتي كان لهن تماس مباشر مع القطط (Ghoneim *et al*.,1984). وتعد المقوسة القندية طفيلياً مجبراً أو مجبراً ومخيراً ثنائي المثوى ، ويتطور داخل الخلية (Eckert *et al*., 2008)، أما بالنسبة للمسبب فتعد الكيسة البيضية (Oocyst) هي مسبب الإصابة، وهي تنتمي إلى نمط البوغة الأسوية الكيسية (Isospora)، التي تتشكل في المعي الدقيق للقطة (الثوي النهائي) بشكل رئيسي وتطرح إلى الوسط الخارجي (العراء) ليحصل تبوغها، وقد تلعب بعض أنواع السنيوريات دوراً كثوي نهائي (Final Host). وتقيس هذه الكيسة (10.5–13.5×9.5–10.5) مكروناً، وهي مدورة الشكل تقريباً، ولها جدار شفاف، وتتبوغ في العراء وتشكل الكيسة البيضية المتبوغة التي تحتوي على كيسين بوغيين في كل منها (4) أبواغ، وهي تمثل الطور الخامج (Dubey, 2009; Eckert *et al*., 2008) و(الخالد 2002). وتمثل التربة مستودعاً للمقوسات (Frenkel and Ruiz,1981)، حيث يمكن للكيسات البيضية أن تبقى حية في التربة الرطبة المظللة لفترة أطول من عام (Frenkel and Ruiz, 1981)، كما قد تكون المياه الملوثة بالكيسات البيضية المتبوغة مسؤولة عن خمج الإنسان (Benenson *et al*., 1982). وأما عن طرق الانتقال فيمكن للمرض أن ينتقل عن طريق المشيمة ولادياً وتحصل الإصابة بالمقوسات القندية في الأجنة عن هذا الطريق (30–40%) في النساء التي تصاب لأول مرة خلال حملها الأول (1984, Frenkel) ولا توجد إثباتات تؤكد انتقال المرض من إنسان لآخر بأي طريقة أخرى (Hubbert *et al*., 1975). ويحدث خمج القطط بتناول كيسات بيض المقوسة القندية التي تبوغت في العراء أو بتناول كيسات المقوسة القندية الموجودة في أعضاء جسم الجرذان ولحوم الحيوانات الأخرى التي تقوم بدور الثوي المتوسط (Mehlhorn *et al*., 2002)، أما خمج الأغنام وكذلك الجرذان فيتم بتناول كيسات بيض المقوسة القندية المتبوغة مع الأعلاف أو الطعام والماء الملوثة بها (Eckert *et al*., 2008). ويحصل خمج الإنسان عن طريق تناول كيسات بيضية متبوغة في العراء بعد إطراحها من القطط مع برازها الذي قد يلوث الأطعمة والماء المستخدم في الشرب (Benenson *et al*., 1982 Cook *et al*., 2000)، كما يحصل خمج الإنسان بالمقوسة القندية انطلاقاً من تناول لحوم الأثوياء المتوسطة (أغنام، ماعز....) التي تحتوي على كيسات المقوسة القندية، وذلك في الحالات

النيئة أو غير المطبوخة جيداً (Kean *et al.*, 1969). كما قد يحصل خمج مخبري للعاملين في المخابر عندما يحقنون أنفسهم عرضياً بالحيوانات السريعة (Luft,1983)، وكذلك عن طريق نقل الدم (Acha,1989).

الانتشار Prevalence of T. gondii :

1 – عند الأغنام:

تختلف نسبة انتشار الإصابة بالمقوسة القندية عند الأغنام من مكان لآخر ، ويتعلق ذلك بمدى انتشار القطط وبالعوامل البيئية والوبيئية.

حيث أنجزت عدة أبحاث علمية في القطر العربي السوري حول مدى انتشار الإصابة بهذا الطفيلي عند الأغنام، ويمكن بيانها في هذا السياق وفق مايلي:

فحصت هبو في سوريا (حلب) عام (1999) /252/ عينة مصلية لأغنام أعمارها أكثر من ست سنوات بطريقة اختبار التراص الدموي المباشر Hemagglutination Antibody Test (HAT)، وقد كانت نسبة الإصابة / 59.87%، حيث أكدت أن العوامل الوبيئية تلعب دوراً كبيراً في تأرجح نسبة الإصابة، ولاسيما وجود القطط ونظم التربية والإجراءات الصحية المتخذة ضمن الحظائر.

كما وجد El-Moukdad عام (2002) أن متوسط انتشار الإصابة بداء المقوسة القندية عند الأغنام في سوريا هو /44.6%، ففي (حماه) كانت نسبة الانتشار/72.5%، وفي (درعا) / 63.4%، وفي (حمص) / 40.0%، وفي (ادلب) / 74.46%، وفي (حلب) /17.02%، وفي (الحسكة) / 51.11%، وفي (دير الزور) / 13.79%، وفي (السويداء) /46.98%، وفي (دمشق) / 23.48%، وقد استخدم الباحث اختبار سابين _ فليدمان (Sabin and Feldman) وكان قد فحص / 810/ عينة مصل لأغنام عواس جُمعت من تسع محافظات سورية، وأكد El-Moukdad أن الخمج بالمقوسة القندية من الأسباب الرئيسة للإجهاض عند الأغنام.

كما فحص الياسينو وشنكل عام (2003) /980/ عينة دم من أغنام مجهضة، وترعى بشكل طليق وبأعمار أكثر من عامين بطريقة اختبار التراص لاتكس

(Latex Agglutination Test)، وقد كان عدد العينات الايجابية / 266/، أي بنسبة انتشار قدرها /27.14%/، وكان العيار المستخدم 1:256 .

وأجرى الياسين وقطرنجي عام (2009) دراسة على /133/ عينة مصل دم أغنام عواس بأعمار أكثر من سنة جمعت من المحطات الحكومية ذات النظام الإنتاجي المكثف /32/ عينة، ومن قطعان المربين ذات النظام السرحي الشائع في باديتي محافظتي حماة ودرعا /101/ عينة، وقد استخدما طريقة اختبار التألق المناعي غير المباشر Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT) وكانت نسبة العينات الايجابية في المحطات الحكومية /6.25%/ وفي قطعان المربين/38.61%/.

وفي الأردن فحص Harps عام (1993) /559/ عينة مصلية لأغنام أخذت من مزارع مرباة بشكل نصف مفتوح وذلك باستخدام طريقة اختبار التراص لاتكس (Latex) وبالعيار 1:16 فكانت نسبة انتشار الإصابة /20.6%/.

أما في مصر فقد فحص El-Ghaysh and Mansour عام (1994) /102/ عينة مصلية لأغنام أخذت من مزارع مرباة بنظام تربية نصف مفتوح وحاوية على حالات إجهاض وذلك بطريقة اختبار التراص المعدل Modified Agglutination Test(MAT)، وقد استخدما العيار 1:49 فكانت نسبة العينات الإيجابية /49%/.

كما فحص Shaapan ورفاقه عام (2008) في مصر / 300/ عينة مصلية لأغنام مجهضة مذبوحة في المسالخ وذلك بطريقة اختبار التراص المعدل (MAT) بالعيار 1:25، وقد وجدوا أن نسبة انتشار الإصابة قد بلغت /43.7%/.

أما في السعودية فقد قام El-Metenawy عام (2000) بفحص /150/ عينة مصلية لأغنام مأخوذة من قطعان غير حاوية على حالات إجهاض بطريقة اختبار التراص الدموي غير المباشر Indirect Hemagglutination Antibody Test (IHAT) مستخدماً العيار 1:128، حيث بلغت نسبة الإصابة /3.3%/.

وفحص (Benkirane *et al*.,1990) في المغرب / 304/ عينة مصلية لأغنام مذبوحة في المسالخ بطريقة اختبار التراص لاتكس (Latex) مستخدماً العيار 1:64، حيث كشفوا الإصابة في /29%/ من العينات المفحوصة.

أما في تركيا فقد قام Zeybek ورفاقه عام (1995) بفحص /1050/ عينة مصلية لأغنام أُخذت من مزارع مرباة بشكل نصف مفتوح بطريقة اختبار التراص لاتكس (Latex) مستخدمين العيار 1:64، وبرهنوا على انتشار الإصابة في /14.6/% من الحالات.

وفي إيران فحص Hoghooghi-Rad and Afraa عام (1993) /138/ عينة مصلية لأغنام مذبوحة في المسالخ بطريقة اختبار التراص لاتكس (Latex) باستخدام العيار 1:8 فكانت نسبة العينات الإيجابية / 13.8/%، أما Hashemi-Fesharki عام (1996) ونتيجة لفحوصاته في إيران كذلك لـ / 2209/ عينة مصلية لأغنام أخذت من مزارع مرباة وفق نظام تربية نصف مفتوح مستخدماً نفس العيار السابق فقد كشف الإصابة في /24.3/% من العينات المفحوصة.

وفي خارج المنطقة العربية والشرق الأوسط فقد تم إجراء فحوصات كثيرة حول نفس الطفيلي، ويمكن إيراد بعضاً منها:

ففي البرازيل فحص Freire وزملائه عام (1995) /370/ عينة مصلية بطريقة اختبار التألق المناعي غير المباشر (IFAT) مستخدمين العيار 1:64 فكانت نسبة الإصابة /47.8/%. وقد لاحظوا أن انتشار الإصابة يزداد بازدياد العمر بينما لم يجدوا أي علاقة بين انتشار الإصابة والجنس.

وفي نفس الدولة (البرازيل) فحص (Garcia *et al*.,1999) /228/ عينة مصلية بطريقة التألق المناعي غير المباشر (IFAT) مستخدمين نفس العيار السابق (1:64)، وقد وجدوا أن نسبة انتشار الإصابة قد بلغت / 51.8/%. وقد أكدوا على أن وجود القطط بالقرب من مزارع الأغنام يعد العامل الرئيس في ازدياد انتشار الإصابة، كما أن ازدياد العمر يلعب دوراً حيوياً مهماً في ذلك، وعلى العكس من ذلك لم يجدوا أي علاقة بين انتشار الإصابة والجنس.

أما في الهند فقد فحص Verma ورفاقه عام (1988) /164/ عينة مصلية لأغنام مأخوذة من قطعان لا يوجد فيها حالات إجهاض وذلك بطريقة اختبار التراص الدموي غير المباشر (IHAT) مستخدماً العيار 1:16 فكانت نسبة العينات الإيجابية /8/%.

وفي السويد فحص **(**Lunde´n *et al*., 1992**)** /704/ عينة مصلية لأغنام مأخوذة من قطعان لايوجد فيها حالات إجهاض وذلك بطريقة المقايسة المناعية المرتبطة بالأنظيم Enzyme Linked Immuno-sorbent Assay (ELISA)، حيث بلغت نسبة انتشار الإصابة /19/%.

وفي أمريكا فحص **(**Dubey and Welcome ,1988**)** /592/ عينة مصلية لأغنام من مزارع نظام نصف مفتوح وفيها حالات إجهاض وذلك بطريقة اختبار التراص المعدل (MAT) مستخدماً العيار 1:50، وقد كانت نسبة انتشار الإصابة /73.8/%.

وحول انتشار الإصابة بهذا النوع من الطفيليات وعلاقة ذلك مع العمر، فقد وُجد أن انتشار الإصابة بالمقوسة القندية عند النعاج كان أكثر بمرتين مما هو عليه الحال عند الحملان، وقد تم تفسير ذلك بالعلاقة مع ازدياد العمر وفرص احتمالات تعرض الحيوان للخمج بشكل أكثر، وقد أكدت ذلك دراسات علمية عديدة منها:

(Figliuolo *et al*., 2004 Gorman *et al*., 1999 ; Lund´en *et al*., 1994 ; Ragozo *et al*., 2008 ; Dume` tre *et al*., 2006 ; Rozette *et al*., 2005**)**

وقام **(**Vesco *et al*., 2007**)** بفحص /1961/ من الخراف من / 62/ مزرعة في جنوب إيطاليا، وقد أشار هؤلاء إلى أن وجود القطط في المزرعة التي تستخدم المياه السطحية للشرب و كذلك زيادة مساحة المزرعة يلعبان دوراً في زيادة انتشار الإصابة وقد فسروا ذلك بقلة امكانيات السيطرة والتحكم بانتشار القطط في المزارع الكبيرة.

وأجرى **(**Mainar *et al*., 1996**)** دراسة في اسبانيا استخلصوا منها أن وجود القطط وكذلك حالات الإجهاض السابقة كان لها دوراً كبيراً في زيادة انتشار الإصابة في الأغنام والماعز.

ووجد **(**Caballero-Ortega *et al*., 2008b**)** في المكسيك أن الارتفاع عن سطح البحر ومساحة المزرعة تؤثران في نسبة الإصابة، حيث تنتشر الإصابة أكثر في المنخفضات وفي المزارع الكبيرة، وقد فسروا ذلك بكثرة انتشار القطط في المنخفضات مقارنة مع المناطق المرتفعة.

2 – عند الانسان:

تمّ إجراء فحوصات مصلية عديدة لتشخيص وكشف الإصابة بطفيلي المقوسة القندية عندهم، ويمكن فيما يلي بيان بعضاً من تلك الدراسات والبحوث:

حيث فحصت هبو في سوريا (حلب) عام (1999) /81/ عينة مصلية لنساء غير حوامل بأعمار / 18–45/ عاماً، وذلك باستخدام اختبار التراص الدموي غير المباشر، وقد بلغت نسبة الإصابة عندهن /74.07/%.

وأظهرت الدراسات المصلية في الولايات المتحدة الأمريكية أن وجود أضداد المقوسات القندية في الإنسان تراوحت بين / 3 – 40/ %، وقد تم تفسير هذا الاختلاف بناءاً على عمر المجموعات المفحوصة والمنطقة الجغرافية (Feldman *et al*.,1965).

أما في فنلندا (Lappalainen *et al*.,1992) فقد كانت نسبة الإصابة عند النساء باستخدام اختبار التألق المناعي غير المباشر /20.3/%.

وفي دراسة مصلية لانتشار المقوسات القندية عند النساء في الدنمارك (Lebech *et al*.,1993) استخدم فيها اختبار التألق المناعي غير المباشر أظهرت النتائج أن نسبة الإصابة بلغت /27.4/%.

كما فحص (Jenum *et al*.,1998) /35940/ عينة مصلية لنساء حوامل في النرويج باستخدام اختبار التألق المناعي غير المباشر لفحص أضداد المقوسة القندية (IgG) فكانت نسبة الانتشار العام للمقوسة القندية /10/% وقد تم دراسة العلاقة بين نسبة الإصابة ومجموعة عوامل (العمر، الجنسية، المنطقة، عدد الأطفال) (الجدول رقم1).

حيث كان الانتشار الأعلى في المقاطعات الجنوبية، إذ يسود مناخ ساحلي معتدل رطب يساعد على بقيا (بقاء) كيسات بيض المقوسات القندية في التربة، كما لوحظ ارتفاع نسبة الانتشار مع ازدياد العمر.

جدول 1: نسب انتشار المقوسة عند النساء في النرويج (Jenum *et al*.,1998).

العمر(سنة)	الانتشار	الجنسية	الانتشار	المنطقة	الانتشار	عدد	الانتشار

%	الأطفال	%		%		%	
8.8	لايوجد	6.7	الشمال	10	نروجية	9.7	20>
10.2	1	9.7	الوسط			10.2	24-20
12.3	2	8.2	الداخل			10.1	29-25
		13.4	الجنوب	22.6	أجنبية	11	34-30
14.9	3 أوأكثر	13.2	العاصمة (أوسلو)			14.3	39-35
						16.7	40<

MATERIALS and METHODS
مواد وطرائق العمل

1 - جمع العينات Collection of Samples:

تمّ جمع العينات الدموية المأخوذة من الأغنام في أنابيب معقمة مفرغة من الهواء، (وذلك من الأغنام التي تربى في المنطقتين الشرقية والغربية لمحافظة حماه إضافة إلى الأغنام المرباة في منطقة المزارب التابعة لمدينة حماه).

حيث أخذت عينات دم الأغنام من الوريد الوداجي ، وتم 稧 استبعاد القطرات الأولى من الدم التي سالت أولاً لضمان عدم تلوث العينات بجزيئات الجلد أو الجراثيم أو الأتربة وغيرها، ثمّ تُركت العينات حتى يتجلط الدم في درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة واحدة، ثمّ فُصل المصل من كل أنبوب و نُقل إلى أنبوب آخر معقم، ثمّ ثُفلت هذه العينات عند /3000/ دورة في الدقيقة لمدة / 15/ دقيقة، وبعد ذلك تمّ رشف المصل بوساطة ماصة باستور المعقمة ونُقل إلى أنابيب إبندورف (Ebendorf)، التي تُستعمل لمرة واحدة فقط، وتمّ بعد ذلك ترقيم هذه الأنابيب بشكل متسلسل بحسب رقم العينة التي أُخذت من كل حيوان، وأجريت عليها الاختبارات مباشرة، أما في الحالات التي لم يتم إجراء الاختبار عليها في نفس اليوم، فقد تمّ تخزين المصل لمدة / 48/ ساعة عند درجة حرارة تتراوح ما بين /+2/ مْ و/+8/ مْ. أما عينات المصول التي يراد فحصها لاحقاً بعد فترة أكثر من / 3/ أيام فقد تمّ حفظها عند درجة /- 20/ مْ ، وتم إذابتها عند الفحص لمرة واحدة فقط، مع

العلم أنه تم استبعاد عينات المصل التي ظهر فيها التحلل الدموي (Haemolysis) أو أي تلوث كما هو الحال في كل الاختبارات المصلية.

2 – الاختبارات Tests:

2-1 اختبار التراص لاتكس السريع
Rapid Latex Agglutination Test

أُستخدم في هذا الاختبار كاشف (كيت-*Kit*) (*TOXOCELL LATEX*) من قبل شركة (*BIOKIT*)، وهذا الكاشف هو معلق من جسيمات لاتكس البوليسترينية ذات الحجم الموحد والمغطاة بمستضد المقوسة القندية الذواب في دارئة حاوية على ألبومين المصل البقري (فيه أقل من 0,1% أزيد الصوديوم). وتسمح هذه الجسيمات بمشاهدة مرئية لتفاعل (الضد- المستضد). بحيث أنه وفي حال حدوث تفاعل نتيجة لوجود مستضدات المقوسة في المصل فإن معلق لاتكس يتغير مظهره المتجانس ويحدث تراص واضح. وعند مزج كاشف لاتكس مع المصل يظهر تراص واضح إذا كان المصل يحتوي على أكثر من /10وحدة دولية/مل/ من أضداد المقوسة تقريباً.

ويعبّر عن النتائج بـ (وحدة دولية/مل)، و يعد هذا العيار ثالث عيار عالمي من قبل منظمة الصحة العالمية وذلك كما ورد في النشرة المرفقة بالكاشف (كيت-kit) .

2-1-1 الكواشف والشواهد Reagents and Controls:

إن (*TOXOCELL LATEX*) عبارة عن كاشف (كيت- *Kit*) يستعمل مخبرياً لكشف الإصابة بداء المقوسات ويحتوي على:

1- كاشف لاتكس : المشار إليه أعلاه.

2- شاهد إيجابي: وهو عبارة عن مصل بشري ممدد يحتوي على الغلوبيولين المناعي الأرنبي Ig G (فيه أقل من 0,1% أزيد الصوديوم).

3- شاهد سلبي: عبارة عن مصل بشري ممدد غير فعال (فيه أقل من 0,1% أزيد الصوديوم).

4- شرائح: /18/ شريحة تحتوي كل منها /6/ حفر بحيث يتم وضع في الحفرة /1، 2/ الشاهدين الإيجابي والسلبي على الترتيب وفي الحفر الباقية وعددها /4/ المصول المراد فحصها.

2-1-2 التخزين Storage:

تحافظ الكواشف على فعاليتها حتى نهاية التاريخ المحدد لصلاحيتها والمدون على بطاقة الكاشف (كيت- *Kit*)، وذلك عند الحفظ في درجة حرارة مابين /+ 2 / و /+8 / مئوية.

2-1-3 مواد اخرى غير موجودة في علبة الكاشف (كيت- *Kit*)
Materials Required But Not Provided

ممص آلي ، رجاجة، عيدان للمزج، مؤقتة زمنية .

2-1-4 طريقة العمل Test Procedure :

1- يجب أن تصل درجة حرارة الكاشف إلى درجة حرارة الغرفة.
2- يتم وضع /50/ ميكروليتر من المصول المراد فحصها في كل حفرة من حفر الشريحة (أو قطرة من الشاهد).
3- يتم رج عبوة الكاشف ووضع قطرة منه إلى جانب قطرة العينة .
4- يتم مزج كلا القطرتين بواسطة ملوق (loup) المزج حتى تغطي كامل الحفرة.
5- يتم رج الشريحة لمدة خمس دقائق يدوياً أو على الرجاجة /80-100/ دورة بالدقيقة.
6- يُلاحظ وجود أو غياب التراص.

في حال التفاعل الإيجابي :

يُلاحظ وجود تراص +3 : خثرات كبيرة على خلفية واضحة.
+2: خثرات متوسطة مع سائل عكر قليلا .
+1: خثرات صغيرة مع سائل عكر.

في حال التفاعل السلبي: يُلاحظ غياب التراص ويكون المعلق متجانساً.

2-2 اختبار التراص لاتكس في الأنابيب (البليت أو الأطباق ذات الحُفر)
Latex Agglutination Test In Plate

يعتمد هذا الاختبار على الكشف عن الأضداد IgG، وهو اختبار تراص بالأنابيب، ويعتمد من حيث المبدأ على رص المستضد مع الضد على شكل دائرة في قعر الأنبوب ويلزم لعمل هذا الإختبار مجموعة من الأنابيب النظيفة والمعقمة بالإضافة إلى

بليتة (plate) وهي تحتوي /96/ حفرة مقعرة على شكل حرف (U) بالإضافة إلى حاضنة ورجاجة ومحلول دارئة الفوسفات الملحي (المحلول الواقي– pbs) .

2-2-1 طريقة العمل Test Procedure:

- يتم وضع / 350/ ميكروليتر من محلول pbs في كل أنبوب ثم يتم إضافة / 50/ ميكروليتر من كل عينة إلى كل أنبوب مع الحفاظ على الترقيم ثم يتم المزج جيداً .
  إن البليتة تحتوي /96/ حفرة على شكل /12/ صف و/8/أعمدة .
- يتم وضع/25/ ميكروليتر محلول pbs في كل حفرة من حفر البليتة.
- يتم إضافة /25/ ميكروليتر من كل أنبوب على الترتيب مع الحفاظ على الترقيم إلى كل حفرة من حفر الصف الأول.
- يتم التمديد بأخذ / 25/ ميكروليتر من كل حفرة من حفر الصف الأول إلى الحفرة المقابلة في الصف الثاني، ومن حفر الصف الثاني للصف الثالث وهكذا حتى بلوغ الصف الثامن، حيث يُؤخذ من كل حفرة / 25/ ميكروليتر وتُرمى خارجا، وهكذا يكون العيار من الصف الأول إلى الصف الثامن وفق مايلي:

(2048/1-1024/1-512/1-256/1-128/1-64/1-32/1-16/1) على الترتيب.

- يُضاف /25/ ميكروليتر من الأنتيجين إلى كل حفرة من حفر البليتة.

ويتم رج البليتة بعد تغطيتها على الرجاجة ، ثم تُحضن بالحاضنة على الدرجة / 37/ مْ لمدة /4/ ساعات ويتم عقب ذلك قراءة نتائج التفاعل.

ونشير هنا إلى أن هذا الاختبار قد طبق فقط على العينات الإيجابية.

2-2-2 قراءة النتائج Reading Results :

– تعد النتيجة إيجابية في حال حصول تراص، ويكون العيار إيجابياً بالنسبة للحيوانات (غنم ، قطط) بدءاً من 1/ 64 ، بينما يكون العيار إيجابياً بالنسبة للإنسان بدءاً من 1/ 32، وذلك حسب ماورد في النشرة المرفقة مع الكاشف (كيت–*Kit*) حيث لا توجد حلقة في قاع الحفرة، وقد يلاحظ في بعض الأحيان وجود حلقة طرفية رقيقة ويعطى العيار للتمديد الأول الذي يبدو بشكل حلقة محيطية عريضة.

– تعد النتيجة سلبية في حال عدم حصول تراص دموي، حيث يلاحظ وجود حلقة قد تكون واسعة إلى قليلة الاتساع .

3-3 عزل المقوسة القندية من أنسجة الحيوانات
Isolation of *Toxoplasma gondii* from Animal Tissues

1 – يتم إزالة الدهون والأنسجة المتصلة من المادة المراد فحصها.

2 – يُزان /10/غ تقريباً من المادة وتوضع في طبق خلاط مجانس/500/مل.

3 – يتم فرم القطع النسيجية جيداً بمقص.

4 – يتم إضافة / 100/مل تقريباً من المحلول الملحي (pbs) فوق العينة السابقة الذكر في وعاء من أجل التجانس.

5 – تُجانس العينة مع المحلول في المجانس بسرعة / 500/ دورة/الدقيقة لمدة / 3-5/ دقائق مع وجود الثلج للتبريد.

6 – يتم فلترة المعلق من خلال طبقتين من الشاش في أنابيب التثفيل.

7 – يُثفل المعلق بسرعة /2500/ دورة/الدقيقة لمدة /5-10/ دقائق.

8 – يتم استبعاد الطافي بعد التثفيل.

9 – يُعلق الراسب بعدة مليلترات من السالين الحاوي على مضادات حيوية (بنسلين، ستربتومايسين)

(St:100 u /ml, PN:1.000u/ml).

10 – يتم حقن من (1/2-1) مل من كل معلق ب/3-5/ فأر.

11 – تُراقب الفئران مرتين يومياً لمدة شهر.

فحص الإصابة بالمقوسة القندية في الفئران المحقونة:
Examination of *Toxoplasma*-Infection in Mice Inoculated

1 – في حالة ظهور أعراض سريرية:

– يتم حقن /1/ مل تقريباً من المحلول الملحي (pbs) في جوف الصفاق للفأرة.

– يُشفط السائل البريتوني بعد عدة ضخات.

– يتم تقطير كمية قليلة من السائل البريتوني على الشريحة وتُوضع الساترة فوقها.

– يتم الفحص من أجل وجود الحيوانات السريعة للمقوسة القندية على التكبير / 200 أو 400/.

*فحص إضافي: لطاخة ملونة للسائل البريتوني (صبغة جيمزا)

2 – في حالة موت الفئران أثناء فترة المراقبة:

(1) إذا ماتت مباشرة: يتم فحص السائل البريتوني و/أو السائل الجنبي بواسطة اللطخة الطازجة أو الملونة.

(2) الموت أبكر من /3/ أسابيع بعد الحقن:

– يتم جمع قطعة صغيرة (تقريباً 2 سم) من العقدة اللمفاوية المساريقية أو الرئة وتُوضع على الشريحة.

– تُفرم القطعة جيداً بواسطة المقص.

– يتم إضافة قطرة واحدة من المحلول الملحي (pbs) على النسيج المحضر وتُزال الحطام الكبيرة منه.

– يُغطى المعلق النسيجي بواسطة ساترة.

– يتم الفحص من أجل وجود الحيوانات السريعة للمقوسة القندية على التكبير/ 200 أو400/.

(3) موت الفئران بعد أكثر من /3/ أسبوع بعد الخمج:

A– تُفحص العقدة اللمفاوية المساريقية أو الرئة كما في الطريقة(2).

B– يُفحص الدماغ للكشف عن وجود كيسات المقوسة القندية:

– يُؤخذ الدماغ.

– يتم قطع جزئين صغيرين من المادة السنجابية من الدماغ و توضعان على الشريحة.

– يتم إزالة أجزاء الجمجمة الموجودة على النسيج الدماغي.

– يتم وضع الساترة على النسيج الدماغي.

– يتم هرس النسيج بالضغط بواسطة الأنامل.

– يتم الفحص على التكبير /100 أو 200/ .

* فحص الكيسات: يكون مفيداً جداً خصوصاً في حالة الموت للفئران بعد أكثر من /3/ أسابيع بعد الخمج.

3– في حالة البقاء على قيد الحياة:

A– يتم جمع دم عند قتل الفئران من أجل فحص وجود أضداد المقوسات.

B– يتم فحص دماغ الفئران من أجل وجود كيسات المقوسة بنفس الطريقة (3)–B) .

* يجب أن تجرى جميع الفحوص دون تأخير.
* يجب أن يتم أخذ العينة بعقامة قدر الإمكان.
* جميع المعدات والأدوات المستخدمة في العمل والفحص يجب أن تُغمس ليلاً بمحلول مطهر أو يتم غليها في ماء ساخن أو بواسطة اللهب.

RESULTS
النتائج

في إطار هذا البحث تم 稦 فحص /291 / عينة مصلية المصلية لأغنام عواس، وذلك بهدف كشف نسبة الإصابة بالمقوسة القندية، وقد بلغت هذه النسبة / 56.01/% (جدول رقم 2).

جدول 2 : نسبة انتشار الإصابة بالمقوسة القندية في الأغنام وذلك بحسب اختبار التراص لاتكس السريع.

عدد العينات المفحوصة	العينات الإيجابية		العينات السلبية	
	العدد	النسبة المئوية%	العدد	النسبة المئوية%
291	163	56.01	128	43.99

كما تم稦 فحص /72/ عينة مصلية مأخوذة من الانسان (نساء)، للهدف نفسه، وقد بلغت نسبة انتشار الإصابة عندهن (68.05)% (جدول رقم 3).

جدول 3: نسبة انتشار الإصابة بالمقوسة القندية في الانسان وذلك بحسب اختبار التراص لاتكس السريع.

عدد العينات المفحوصة	العينات الإيجابية		العينات السلبية	
	العدد	النسبة المئوية%	العدد	النسبة المئوية%
72	49	68.05	23	31.95

وقد أُستخدم اختبار التراص السريع لاتكس واختبار التراص لاتكس في الأنابيب (البليت أو الأطباق ذات الحُفر)، واعتبرت الـعيارات إيجابية بدءاً من (64/1) وحتى (2048/1) عند الأغنام ، بينما كانت عند الإنسان بدءاً من (32/1) وذلك حسب ماورد في نشرة الكاشف (كيت*Kit*).

وتم دراسة العلاقة بين نسبة انتشار الإصابة والمجموعات العمرية، وتبين أن نسبة الإصابة في الأغنام التي كانت أعمارها / 1-3/ أشهر /36.95%، وفي الأغنام التي كانت أعمارها / 3-6/ أشهر/49.12%، وفي الأغنام التي كانت أعمارها / 6-9/ أشهر/62.5%، وفي الأغنام التي كانت أعمارها أكثر من عام / 63.09% (جدول رقم 4).

جدول 4: نسبة انتشار الإصابة بالمقوسة القندية في الأغنام وذلك بحسب اختبار التراص لاتكس السريع حسب العمر.

العمر	العدد المفحوص	العدد الإيجابي	النسبة المئوية%
1-3أشهر	46	17	36.95
3-6 أشهر	57	28	49.12
6-9 أشهر	104	65	62.5
أكثر من عام	84	53	63.09

أما نسب الإصابة بالمقوسة القندية في الأغنام بحسب عيارات الأضداد في حفر الأطباق (Plate) كالتالي: / 38.66%عند العيار 64/1، و /30.06%عند العيار 128/1، و /14.11%عند العيار 256/1، و /9.20%عند العيار 512/1، و/4.90%عند العيار 1024/1، و /3.07% عند العيار 2048/1 (جدول رقم 5).

جدول 5: نسب انتشار الإصابة بالمقوسة القندية في الأغنام بحسب عيارات الأضداد في حفر الأطباق (Plate).

عيارات الأضداد	64/1	128/1	256/1	512/1	1024/1	2048/1	المجموع

عدد العينات	63	49	23	15	8	5	163
النسبة المئوية%	%38.66	%30.06	%14.11	%9.20	%4.90	%3.07	%100

أما عند الإنسان (نساء) فقد بلغت نسب انتشار الإصابة بالمقوسة القندية بحسب عيارات الأضداد في حفر الأطباق (Plate) فقد كانت كالتالي: / 18.37%عند العيار 32/1، و /20.41%عند العيار 64/1، و /20.41%عند العيار 128/1، و /18.37%عند العيار 256/1، و /2.04%عند العيار 512/1، و /10.20%عند العيار 1024/1، و /10.20%عند العيار 2048/1 (جدول رقم 6).

جدول 6: نسب انتشار الإصابة بالمقوسة القندية في الانسان بحسب عيارات الأضداد في حفر الأطباق (Plate).

عيارات الأضداد	32/1	64/1	/1 128	/1 256	/1 512	/1 1024	/1 2048	المجموع
عدد العينات	9	10	10	9	1	5	5	49
النسبة المئوية%	18.37%	20.41%	20.41%	18.37%	2.04%	10.20%	10.20%	%100

كما تم في إطار هذا البحث أيضاً فحص عينات أدمغة أغنام /50/ دماغ وذلك بعد حقن الأدمغة المعاملة مع المحلول الواقي بفئران التجارب /100/ فأرة ومراقبة الفئران لمدة شهر، حيث تم عزل كيسات المقوسة القندية من /4/ أدمغة فقط أي بنسبة/ 8%/ (جدول رقم 7).

جدول 7: نسب انتشار الإصابة بالمقوسة القندية في أدمغة الأغنام بعد الحقن في فئران التجارب.

عدد الأدمغة المفحوصة	العينات الإيجابية		العينات السلبية	
50	العدد	النسبة المئوية%	العدد	النسبة المئوية%

	4	8	46	92

التحليل الإحصائي والوبائي لنتائج البحث:

أُستخدمت تقنية اختبار بيرسون مربع كاي (Pearson's Chi Square) لمقارنة النسب المئوية لمعدلات الإصابة ومعايير الأضداد الإيجابية. وقد سجلت الدراسة النتائج المدرجة أدناه:

- بمقارنة الفروقات بين النسب المئوية للعينات الإيجابية والسلبية في الأغنام (اختبار التراص لاتكس السريع) لم توجد هناك فروقات معنوية بين كل 鑤 من العينات الإيجابية والسلبية (X^2 =2.881 , P = 0.0897).
- بمقارنة النسب المئوية لمعدلات الإصابة بين الفئات العمرية في الأغنام فقد سُجلت النتائج التالية:

1- وجدت هناك فروقات معنوية واضحة في معدلات الإصابة بين الفئة العمرية الأولى (1-3 أشهر) والفئة العمرية الثالثة (6- 9 أشهر) (X^2 =12.63 , P = 0.0004).

2- وجدت هناك فروقات معنوية واضحة في معدلات الإصابة بين الفئة العمرية الأولى (1-3 أشهر) والفئة العمرية الرابعة (أكثر من عام) (X^2 =14.44 , P = 0.0001) .

3- وجدت هناك فروقات معنوية بسيطة في معدلات الإصابة بين الفئة العمرية الثانية (3- 6 أشهر) والفئة العمرية الرابعة (أكثر من عام) (X^2 =3.98, P = 0.0460).

بينما كانت المعاملات الأخرى التالية بلا أية فروقات معنوية:

4- لم توجد هناك فروقات معنوية في معدلات الإصابة بين الفئة العمرية الأولى (1-3 أشهر) والفئة العمرية الثانية (3- 6 أشهر) (X^2 =3.35 , P = 0.0673).

5- لم توجد هناك فروقات معنوية في معدلات الإصابة بين الفئة العمرية الثانية (3-6 أشهر) والفئة العمرية الثالثة (6- 9 أشهر) (X^2 =3.50 , P = 0.0614).

6- لم توجد هناك فروقات معنوية في معدلات الإصابة بين الفئة العمرية الثالثة (6-9 أشهر) والفئة العمرية الرابعة (أكثر من عام) (X^2 =0.02, P = 0.9001)

- بمقارنة الفروقات بين النسب المئوية للعينات الإيجابية والسلبية في الانسان (اختبار التراص لاتكس السريع) وُجدت هناك فروقات معنوية واضحة جداً بين كل鏁 من العينات الإيجابية والسلبية (X^2 =25.92 , P = 0.0000).
- كما تم穐 حساب المتوسط الهندسي للمعايير الإيجابية للإصابة بالمقوسة القندية في الأغنام (اختبار التراص لاتكس في الأنابيب) حسب (Martine *et al.*, 1987):

$$Gm = \sqrt[n]{x1 \times x2 \ldots\ldots\ldots xn}$$

Gm Titers =362.0387

إذ وجدت هناك فروقات معنوية واضحة جداً بمقارنة المعايير الإيجابية التي تقع دون مستويات معيار المتوسط الهندسي مع المستويات التي تقع بشكل أعلى من قيمة معيار المتوسط الهندسي (P = 0.0000).

- كما تم穐 حساب المتوسط الهندسي للمعايير الإيجابية للإصابة بالمقوسة القندية في الانسان (اختبار التراص لاتكس في الأنابيب) حسب (Martine *et al.*, 1987) :

$$Gm = \sqrt[n]{x1 \times x2 \ldots\ldots\ldots xn}$$

Gm Titers =256

حيث وجدت هناك فروقات معنوية بسيطة بمقارنة المعايير الإيجابية التي تقع دون مستويات معيار المتوسط الهندسي مع المستويات التي تقع بشكل أعلى من قيمة معيار المتوسط الهندسي (P = 0.0009).

- بمقارنة الفروقات بين النسب المئوية للعينات الإيجابية والسلبية (طريقة الحقن في فئران التجارب) فقد وُجدت هناك فروقات معنوية واضحة جداً بين كل鏁 من العينات الإيجابية والسلبية (X^2 =141.12 , P = 0.000).

DISCUSSION

المناقشـة

بينت نتائج هذا العمل أن نسبة انتشار الإصابة بالمقوسة القندية عند الأغنام المفحوصة / 56.01% (163 عينة ايجابية من أصل 291 عينة مصل مفحوصة) (جدول رقم2).

وتعد هذه النسبة أعلى مما ورد في دراسة الياسين وقطرنجي عام (2009) والتي بلغت / 38.61%، ودراسة الياسينو وشنكل عام (2003) والتي بلغت /27.14%، ودراسة El-Moukdad عام (2002) والتي بلغت فيها هذه النسبة / 44.6%، إلا أنها كانت قريبة ومتوافقة تقريباً مع دراسة هبو (1999) التي وجدت نسبة انتشار قد بلغت /59.87%. وقد يمكن تفسير ذلك عموماً باختلاف مناطق الفحوصات، والعوامل والظروف البيئية والوبيئية التي تخضع لها كل من مناطق الفحص، ولاسيما ما يتعلق بظروف الطقس والأمطار ودرجتي الرطوبة والحرارة وكذلك وجود الثوي النهائي (القطط).

– كما لوحظ أن هناك تباينات بين نتائج هذه الدراسة وغيرها من الدراسات في بلدان آخرى، فقد بلغت نسبة الإصابة في الهند / 8% (Verma *et al.*,1988)، وفي أمريكا /73.8% (Dubey and Welcome, 1988)، وفي المغرب /29% (Benkirane *et al.*,1990)، وفي السويد /19% (Lunde´n *et al.*, 1992)، وفي الأردن /20.6% (Harps, 1993) ، وفي إيران /13.8% (Hoghooghi-Rad and ، 1993) ، وفي مصر / 49% (El-Afraa) ،24.3%/ (Hashemi-Fesharki، 1996) ، وفي تركيا /14.6% (Zeybek *et al.*, 1995)، وفي البرازيل /47.8% (Freire *et al.*, 1995)، /51.8% (Garcia *et al.*,1999)، وفي السعودية /3.3% (El-Metenawy, 2000).

ولا شك بأن عوامل الطقس والمناخ التي تساهم في تبوغ واستمرارية حياة الكيسة البيضية المتبوغة، ومدى وجود القطط كثوي نهائي يطرح الكيسات البيضية تلعب الدور المحوري والرئيس في ذلك، ولايمكننا في هذا المجال إغفال طرائق الفحص ونوعية الكواشف وأحياناً نسب التمديد التي قد تلعب دوراً في هذا المجال.

كما يبين (الجدول رقم 4) أن نسبة انتشار الإصابة في الأغنام التي كانت أعمارها / 1–3/ أشهر/ 36.95%، وفي الأغنام التي كانت أعمارها / 3–6/ أشهر/49.12%، وفي الأغنام التي كانت أعمارها /6–9/ أشهر/62.5%، وفي الأغنام التي كانت أعمارها أكثر من عام / 63.09%، حيث أن احتمالات التعرض للخمج أكثر ولفترة أطول بالنسبة للحيوانات الأكبر سناً، وذلك بتناول كيسات بيض المقوسة القندية التي تتبوغ في العراء هو العامل الرئيس في ذلك، وقد بين ذلك كل من Freire *et*

(*al.*,1995)، و(Garcia *et al.*, 1999)، بالإضافة إلى دراسات وأبحاث آخرى. (Figliuolo *et al.*, 2004 ; Gorman *et al.*, 1999 ; Lund´en *et al.*, 1994 ; Ragozo *et al.*, 2008 ; Dume` tre *et al.*, 2006 ; Rozette *et al.*, 2005).

أما عند الانسان (نساء)، فقد بلغت نسبة انتشار الإصابة وبحسب ماورد في (الجدول رقم 3) /68.05%/ (72/49)، وجاءت هذه النتائج أعلى من (Feldman *et al.*, 1965) في أمريكا والتي بلغت لديه النسبة مابين / 3-40%،ومن (Lappalainen *et al.*,1992) في فلندا والتي بلغت النسبة في دراستهم / 20.3%، ومن (Lebech *et al.*, 1993) في الدانمرك / 27.4%، ومن (Jenum *et al.*, 1998) في النرويج /10%، بينما كانت هذه النتائج أقل من دراسة هبو (1999) التي وجدت نسبة انتشار أعلى، إذ بلغت / 74.07%، وقد يعزى هذا الاختلاف إلى اختلاف المنطقة الجغرافية واختلاف الأعمار وكذلك اختلاف أنواع الأطعمة والمواد الغذائية (اللحوم والخضار) عند الشعوب وعاداتها في تربية القطط في المنازل من عدمه.

CONCLUSIONS and RECOMMENDATIONS
الاستنتاجات والتوصيات

تبين من نتائج البحث وجود إصابة بالمقوسات القندية في محافظة حماه، ولهذا لابد من اتخاذ الإجراءات الصحية المناسبة لتفادي حدوث خسائر اقتصادية كبيرة في قطعان الأغنام، ولاسيما أن الإصابة بها تلعب دوراً مهماً في حدوث الإجهاض وموت الأجنة أو امتصاصها داخل الرحم والعقم عند إناث الأغنام، وهكذا لابد من أخذ ذلك بعين الاعتبار عند دراسة الإجهاض في قطعان الأغنام، وبذلك لابد من إيلاء النقاط التالية أهمية في ذلك:

1 – يتوجب العمل لإبعاد القطط عن محطات ومواطن التربية والرعي للأغنام، نظراً لأنها تمثل الثوي النهائي الرئيسي والمستودع الهام للطفيلي .

2 – أخذ صحة الانسان بعين الاعتبار، ولاسيما بإتباع وسائل التصحيح (الصحة العامة) وعدم تلوث الأطعمة ولاسيما الخضار والفواكه بأطوار خامجة، هذا بالإضافة لأهمية

طبخ وطهي اللحوم بشكل جيد، بحيث يتم تجنب الخمج بكيسات المقوسة (Cysts) التي توجد في لحوم الحيوانات، إذ أن درجة حرارة / 67/ مْ فما فوق تؤدي للتخلص من هذه الكيسات .

3 – معالجة القطط التي تربى في المنازل أو في مراكز التربية والتسمين.

REFERENCES
المراجع

المراجع العربية Arabic References :

الخالد عبد الكريم (2002): الطفيليات الطبية كلية الطب البشري/جامعة البعث/ الجمهورية العربية السورية.

الياسين ، عبد المنعم ، قطرنجي ، محمد محسن (2009): بعض العوامل المؤثرة في انتشار المقوسة القندية عند المجترات الصغيرة في محافظتي حماة ودرعا، المجلة العربية للبيئات الجافة– أكساد– سورية، 2(2):66–61.

الياسينو ، ياسين وفرنك شنكل (2003): دراسة عن وجود وانتشار داء المقوسات القندية في بعض الحيوانات الأهلية ، مجلة جامعة البعث– سورية ، 25(6): 187– 182.

هبو ، لقاء إبراهيم (1999): دراسة عن العدوى بداء المقوسات القندية (داء التوكسوبلازما) في الحيوانات والإنسان في حلب، رسالة ماجستير، كلية العلوم– جامعة حلب. سورية.

المراجع الإنكليزية English References :

Acha, P.N. and Szyfres, B. (1989): Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. Pan American Health Organization, Washington USA, 963 P.

Benenson, M.W.; Takafuji, E.T.; Lemon, S.M; Greenup, R.L. and Sulzer, A.J. (1982): Oocysts transmitted Toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. N. Engl. J. Med. 307: 666-669.

Benkirane, A.; Jabli, N. and Rodolakis, A. (1990): Fre´quence d'avortement et se´ ropre´ valence des principales maladies infectieuses abortives ovines dans la re´gion de Rabat (Maroc). Ann. Rech. Vet. 21: 267–273.

Beverley, J.K.A. and Watson, W.A. (1961): Further studies on Toxoplasmosis in Yorkshire sheep. Vet. Res. 73: 6.

Buxton, D.; Maley, S.W.; Wright, S.E.; Rodger, S.; Bartley, P. and Innes, E.A. (2007): Toxoplasma gondii and ovine toxoplasmosis: new aspects of an old story. Vet. Parasitol. 149: 25–28.

Caballero-Ortega, H.; Palma, J.M.; Garcı´aMa´ rquez, L.J.; Gildo-Ca´ rdenas, A. and Correa, D. (2008b): Frequency and risk factors for toxoplasmosis in ovines of various regions of the State of Colima, Mexico. Parasitology 135: 1385–1389.

Cook, A.J.C.; Gilbert, R.E.; Buffolano, W.; Zufferey, J.; Petersen, E.; Jenum, P.A.; Foulon, W.; Semprini, A.E. and Dunn, D.T. (2000): Sources of Toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre casecontrol study. Br. Med. J. 321: 142–147.

Dubey, J.P. and Beattie, C.P. (1988): Toxoplasmosis of Animals and Man. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 1–220.

Dubey, J.P. and Welcome, F.L. (1988): Toxoplasma gondii induced abortion in sheep. J. Am. Vet. Med. Assoc. 193: 697–700.

Dubey, J.P. and Kirkbride, C.A. (1984): Epizootics of ovine abortion due to Toxoplasms gondii in north central United States. J. Am. Vet. Med. Assoc. 184: 6, 657-660.

Dubey, J.P. (2009): Toxoplasmosis in sheep-The last 20 years, Veterinary Parasitology 163: 1–14.

Dume` tre, A.; Ajzenberg, D.; Rozette, L.; Mercier, A. and Darde´, M.L. (2006): Toxoplasma gondii infection in sheep from Haute-Vienne, France: seroprevalence and isolate genotyping by microsatellite analysis. Vet. Parasitol. 142: 376–379.

Eckert, J.; Friedhoff, K.T.; Zahner, H. and Deplazes, P. (2008): Lehrbuch der parasitologie fuer die Tiermedizin Enke Verlag Sstuttgart.

El-Ghaysh, A.A. and Mansour, M.M. (1994): Detection of antibodies to Toxoplasma gondii in an Egyptian sheep-herd using modern serological techniques. J. Egypt. Assoc. Immunol. 1: 117–121.

El-Metenawy, T.M. (2000): Seroprevalence of Toxoplasma gondii antibodies among domesticated ruminants at Al-Qassim Region, Saudi Arabia. Dtsch. Tiera¨ rztl. Wschr. 107: 32–33.

EL-Moukdad, A.R. (2002): Serologische Untersuchung uber die pravalenz von Toxopplasma gondii bei Awassi-Schafen in syrien. Berl.Munch.Tierarztl. Wschr. 115: 173-178.

Feldman, H.A. and Amer J. Epidemiol (1965): 81:385-391

Figliuolo, L.P.C.; Kasai, N.; Ragozo, A.M.A.; De Paula, V.S.O.; Dias, R.A.; Souza, S.L.P. and Gennari, S.M. (2004): Prevalence of anti-Toxoplasma gondii and anti-Neospora caninum antibodies in ovine from Sa˜o Paulo State, Brazil. Vet. Parasitol. 123: 161–166.

Fleck, D.G. and Kwantes, W. (1980): The Laboratory Diagnosis of Toxoplasmosis. London U.K., H.M. Stationary Office.

Freire, R.L.; Giraldi, N.; Vidotto, O. and Navarro, I.T. (1995): Levantamento soroepidemiolo´ gico da toxoplasmose em ovinos na rgia˜o de Londrina, Parana´. Arquivos Brasileiro de Medicina Veterina´ ria e Zootecnia 47: 609–612.

Frenkel, J.K. (1984): Toxoplasmosis in Hunter‹s Tropical Medicine"ed. Strickland, G.T., PP.593. W.B. Saunders Company: Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Roi de Janeiro, Sydney, Tokyo.

Frenkel, J.K. and Ruiz, A. (1981): Endemicity of Toxoplasmosis in Coctarica: Transmissiom between Cats, Soil, intermediate hosts and humans. Am. J. of Epidemiology, 133(3): 254.

Garcia, J.L.; Navarro, I.T.; Ogawa, L. and de Oliveira, R.C. (1999): Soroprevaleˆncia do Toxoplasma gondii, em suı´nos, bovinos, ovinos e equ¨ inos, e sua correlac¸a˜o com humanos, felinos e caninos, oriundos, de propriedades rurais do norte do Parana´ - Brasil. Cieˆncia Rural. 29: 91–97.

Ghoneim, N.I.I.; Marzouk, M.A.; Mowafy, L.E. and Siam, M.A. (1984): Toxoplasmosis as a cause of genital Toxoplasmosis in Egypt. Vet. Med. J. 23: 3.

Gorman, T.; Pablo Arancibia, J.; Lorca, M.; Hird, D. and Alcaino, H. (1999): Seroprevalence of Toxoplasma gondii infection in sheep and alpacas (Llama pacos) in Chile. Prev. Vet. Med. 40: 143–149.

Harps, O. (1993): Untersuchungen u¨ ber die Seropra¨valenz von Toxoplasma- Infektionen bei kleinen Wiederka¨ueren in Jordanien. D.V.M. Thesis. Hannover, Germany, pp. 1–137.

Hashemi-Fesharki, R. (1996): Seroprevalence of Toxoplasma gondii in cattle, sheep and goats in Iran. Vet. Parasitol. 61: 1–3.

Hoghooghi-Rad, N. and Afraa, M. (1993): Prevalence of toxoplasmosis in humans and domestic animals in Ahwaz, Capital of Khoozestan Province, South-West Iran. J. Trop. Med. Hyg. 96 (3): 163–168.

Hubbert, W.T.; Mcculloch, W.F. and Schnurenberger, P.R. (1975): Diseases Transmitted from Animals to Man. Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Ilonois 6th Ed., U.S.A., 1206 P.

Jenum, P.A; Kapperud, G.; Stray-Pedersen, B.; Melby, K.K.; Eskild, A. and ENG, J. (1998): Prevalence of Toxoplasma gondii specific immunoglobulinG antibodies among pregnant women in Norway: Epidemiol. Infect., 120: 87–92.

Kean, B.H.; Kimball, A.C. and Christenson, W.N. (1969): An epidemic of acute Toxoplasmosis. J. Am. Med. Assoc., 208: 1002-1004.

Lappalainen, M.; Koskela, P. and Hedman, K. et al. (1992): Incidence of primary Toxoplasma infections during pregnancy in southern Finland: A prospective cohort study. Scand J. Infect Dis; 24: 97-104.

Lebech, M. Larsen, SO. and Petersen, E. (1993): Prevalence, incidence and geographical distribution of Toxoplasma antibodies in pregnant women in Denmark. Scand. J. Infect. Dis.; 25: 751-6.

Luft, B.J. and Remington, J.S. (1983): Toxoplasmosis. in Infectious Diseases ed. Hoeprich, P.D.PP.1133. Harper & Row Puplishers: Philadelphia, Cambridge, New York, Hagerstown, San Francisco, London, Mexico, Sao Paulo, Sydney.

Lunde´n, A.; Carlsson, U. and Na¨slund, K. (1992): Toxoplasmosis and border disease in 54 swedish sheep flocks-Seroprevalence and incidence during one gestation period. Acta Vet. Scand. 33: 175–184.

Lunde´n, A.; Na¨sholm, A. and Uggla, A. (1994): Long-term study of Toxoplasma gondii infection in a Swedish sheep flock. Acta Vet. Scand. 35: 273– 281.

Mainar, R.C.; De la Cruz, C.; Asensio, A.; Domı´nguez, L. and Va´zquez-Boland, J.A. (1996): Prevalence of agglutinating antibodies to Toxoplasma gondii in small ruminants of the Madrid region, Spain, and identification of factors influencing seropositivity by multivariate analysis. Vet. Res. Commun. 20: 153–159.

Martin, S.W. (1987): Veterinary Epidemiology. Hand Book, Pages 30-35. USA..

Mehlhorn, H. and Piekarski, G. (2002): Grundriss der parasitenkunde 6Auf. Gustav fischer verlag Stuttgart. Jena .

Perry, B.D.; Mogollon, J.D.; Grieve, A.S. and Galvis, A.L.H. (1979): Serological study of ovine Toxoplasmosis in Colombia epidemiological study of a field outbreak. Vet. Rec. 104, 11: 231-234.

Ragozo, A.M.A.; Yai, L.E.O.; Oliveira, L.N.; Dias, R.A.; Dubey, J.P. and Gennari, S.M. (2008): Seroprevalence and isolation of Toxoplasma gondii from sheep from Sa˜o Paulo State. Brazil. J. Parasitol. 94: 1259–1263.

Rozette, L.; Dume`tre, A.; Couquet, C.Y. and Darde´, M.L. (2005): Seroprevalence de la toxoplasmose chez des ovins et des bovins en Haute-Vienne. E´ pide´miologie et Sante´ Animale 48: 97–99.

Shaapan, R.M.; El-Nawawi, F.A. and Tawfik, M.A.A. (2008): Sensitivity and specificity of various serological tests for the detection of Toxoplasma gondii infection in naturally infected sheep. Vet. Parasitol. 153: 359– 362.

Verma, S.P.; Bhardwaj, R.M. and Gautam, O.P. (1988): Seroprevalene of Toxoplasma antibodies in aborted ewes. Indian J. Vet. Med. 8: 132–133.

Vesco, G.; Buffolano, W.; La Chiusa, S.; Mancuso, G.; Caracappa, S.; Chianca, A.; Villari, S.; Curro`, V.; Liga, F. and Petersen, E. (2007): Toxoplasma gondii infections in sheep in Sicily, southern Italy. Vet. Parasitol. 146: 3–8.

Zeybek, H.; Yarali, C.; Nishikawa, H.; Nishikawa, F. and Du¨ ndar, B. (1995): The prevalence of toxoplasmosis in sheep of Ankara region. Etlik Vet. Mikrob. Derg. 8: 80–86 [in Turkish].