جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية الطب البيطري

فرع الطب الباطني والوقائي البيطري

تقييم الإصابة ب *Cryptosporidium parvum* وعوامل الخطر ، مستوى انترفيرون كاما وانترليوكين ١٠ لدى الاطفال دون سن خمس سنوات والعجول خلال سنة واحدة في بعقوبة –محافظه ديالى، العراق

رسالة مقدمه الى كليه الطب البيطري –جامعه ديالى

كجزء من متطلبات الحصول على درجه الماجستير في الطب البيطري /الامراض المشتركة

مقدمه من قبل

عبير ثائر كاظم العبيدي

طب بيطري وجراحة عامة

المشرف

ا.م.د. علي ابراهيم علي العزي

المشرف المشارك

ا.د. رعد حمودي حسون

١٤٣٩

٢٠١٨

الخلاصة :-

متكيسات خفيات الأبواغ هو طفيل وحيد الخلية داخل الخلية يعيش في الجهاز الهضمي للبشر والعديد من الحيوانات الفقارية الأخرى. وهي مصدر واسع الانتشار لأمراض الإسهال مما يؤدي إلى معدلات كبيرة من المراضة والوفيات .

أهداف الدراسة:

التحقيق في توزيع خفيات الأبواغ في الأطفال المصابين بالإسهال الذين تقل أعمارهم عن خمس سنوات والعجول في محافظة بعقوبة ديالى.تقييم تقنيات تلطيخ مختلفة لتشخيص تكيسات خفيات الأبواغ في عينات البراز. تقييم تقنية اميونوكروماتوكرافي لتشخيص تكيسات خفيات الأبواغ في عينات البراز. تقييم عوامل الخطر المحتملة لالتهاب تكيسات خفيات الأبواغ في الأطفال والإسهال الإسهال. تقييم الآثار المحتملة من مرض خفيات الابواغ على مستوى ;كاما انتر فيرون مستوى انتر لوكين ١٠ في مصل الأطفال والعجول المصابة.

الموضوعات والمواد والأساليب:

شمل ما مجموعه (١٠٠) من الأطفال المصابين بالإسهال الذين تتراوح أعمارهم (١-٤٨ أشهر) و ٥٠ من العجول الذين تتراوح أعمارهم (١-٨ أشهر). تم جمع عينات البراز في حاويات خاصة مانعة للتسرب. تم تقسيم كل عينة إلى جزأين ، واحدة تستخدم لتحديد متكيسات خفيات الابواغ بواسطة لوغل ايودين ومحلول السكر ، والاخرى تحفظ في الفورمالين بتركيز ١٠% لكشف عن كريبتوسبوريديم بواسطة تقنيات الصبغات (زيل نلسن الباردة ،التقنية الساخنة وصبغة الكنيون والسفرانين مثلين الازرق ،تعديل سفرانين مثيلين الازرق ، صبغة الكرموتروب –الكرام الساخن، صبغة الكرام ،صبغة الكمزا، صبغة النيكروسين وصبغة الملاكايت الأخضر . من كل مريض وعجل تم جمع ٥ مل من الدم الوريدي لفصل المصل والاحتفاظ به عند - ٢٠ لتقييم مستوى كاما انترفيرون و انترلوكين ١٠ .

النتائج :-

عدوى *c.parvum* كانت مرتفعة في كل من الأطفال (٧٤%) والعجول (٦٦%)تم الاتفاق عن اتفاق جيد جدا بين صبغة زيل نيلسون الساخنة و لوكل ايودين لتشخيص تكيسات خفيات الابواغ في العجول و الاطفال .

تم تسجيل أتفاق جيد جدا بين طريقة زيل نلسن الحارة والباردة لتشخيص متكيسات الأبواغ الخفية في الأطفال بالمقارنة مع أتفاق جيد في العجول. تم تسجيا اتفاق جيد جدا بين طريقة زيل نلسن الحارة وكنيون لتشخيص متكيسات خفيات الأبواغ في الأطفال بالمقارنة مع اتفاق متوسط في العجول. تم تسجيل اتفاق متوسط بين طريقة زيل نلسن الحارة و سفرانين المثيل الأزرق لتشخيص متكيسات خفيات الأبواغ في الأطفال بالمقارنة مع اتفاق جيد في العجول.

تم تسجيل اتفاق متوسط بين طريقة زيل نلسن الحارة، سفرانين المثيل الازرق المحدثة، تقنية كروم وتروب كرام الحارة لتشخيص متكيسات خفيات الأبواغ في الاطفال بالمقارنة مع اتفاق جيد في العجول.

تم تسجيل اتفاق متوسط بين طريقة زيل نلسن الحارة و صبغة كرام لتشخيص متكيسات خفيات الأبواغ في الاطفال والعجول. تم تسجيل اتفاق متوسط بين طريقة زيل نلسن الحارة وجيمزا، نيجر وسين لتشخيص متكيسات خفيات الأبواغ في الاطفال بالمقارنة مع اتفاق جيد في العجول. تم تسجيل اتفاق متوسط بين طريقة زيل نلسن الحارة والملاكيت الخضراء لتشخيص متكيسات خفيات الأبواغ في الاطفال والعجول.

عوامل الخطر الرئيسية مع وقت من احتمال العدوى مع كريبتوسبوريديم بين الاطفال كانت على النحو التالي : العيش في القرية / المدينة حوالي(١.١٦٠) مرة، العائلات ذات الحالة الاقتصادية المنخفضة و المتوسطة لها (١.٠١٦) و (١.٠٢٢) مرة ، ألسر التي لديها تعليم متوسط وثانوي لآباء لديها (١.٣٦١) و (١.١٧٨) مرة، ألأسر التي لديها تعليم اولي و متوسط و عالي للامهات (٢.١٤٣)، (١.٠٣١) و (١.٤٥٥) مرة، الاطفال الذين يعيشون بالقرب من الابقار والاغنام يمتلكون أعلى احتمالية لالتقاط عدوى خفيات الابواغ حوالي (١.١٠٢) مرة. الاطفال الذين لديهم الابقار والاغنام في المنزل يمتلكون أعلى احتمالية لالتقاط عدوى خفيات

الابواغ حوالي (١.٠٧٢) مرة.، الاطفال الذين لديهم من امهات يتبعون طريقة غسل اليد قبل التغذية يمتلكون أعلى احتمالية لالتقاط عدوى خفيات الابواغ حوالي (٠.٠٧٢)مرة. الاطفال الذين لديهم امهات يتبعون طريقة غسل اليد بعد التغذية يمتلكون أعلى احتمالية لالتقاط عدوى خفيات الابواغ حوالي (٠.٠٤٢) مرة. الاطفال الذين لديهم امهات يتبعون طريقة غسل اليد بعد تغيير الحفاض يمتلكون أعلى احتمالية لالتقاط عدوى خفيات الابواغ حوالي (١.٢٦٥) مرة. الاطفال الذين لديهم امهات يتبعون طريقة غسل اليد لتحضير الخضار والفواكه يمتلكون أعلى احتمالية لالتقاط عدوى خفيات الابواغ حوالي (١.٠٢٨) مرة. الأطفال الذين انحدروا من عائلة ذات تاريخ احتمالية لالتقاط يمتلكون أعلى احتمالية لالتقاط عدوى خفيات الابواغ حوالي (١.٠٥٧) مرة.

أما العجول، الذكور/ الاناث يمتلكون خطر الاصابة بعدوى خفيات الابواغ حوالي (١.٩٤٨). يعتبرشرب مياه النهر للإصابة (١.٠٧٨) مرة . تعتبر تغذية الحليب (٣.٨٨٢) مرة. تعتبر أشهر الشتاء وحزيران/ يونيو في الصيف عامل خطر خطير لالتقاط العجول العدوى حوالي (١.٠٤٥-١.٩٤١) مرة للشتاء و (١.٥٥٣) مرة لشهر يونيو بالمقارنة مع بقية الموسم. تعتبر البيئة ذات الحالة الصحية السيئة عامل خطر خطير لالتقاط العجول العدوى حوالي (٢.٥٠٠) مرة. يعتبر تاريخ الإصابة بالإسهال في أمهات العجول عامل خطر خطير لالتقاط العجول العدوى حوالي (٣.٥١٦) مرة ،يعتبر تاريخ الإصابة بالإسهال في القطيع عامل خطر خطير لالتقاط العجول العدوى حوالي (٣.٥١٦) مرة أكبر من الحالات السلبية. تركيز كاما انترفيرون و انترلوكين ١٠ في مصل العجول يرتبطان بشكل ايجابي مع متكيسات خفيات الابواغ و تركيز الكاما انترفيرةن وانترلوكين ١٠ في الاطفال غير مرتبطين بعدوت خفيات الابواغ .

ألأستنتاجات :-

١- تمثل الاصابة بالكريبتوسبوريديم مشكلة حرجة بين الاطفال المصابين بالإسهال والعجول في محافظة ديالى /بعقوبة .
٢- يعتبر صبغة لوغل ايودين كبديل جيد جدا من زيل نلسن الساخنة لتشخيص الكربتوسبوريديم .
٣- صبغة زيل نلسن الباردة والكينيون افضل بديل لتشخيص متكيسات خفيات الابواغ في الاطفال . سفرانين مثيلين الازرق وسفرانين مثيلين الازرق معدلة ، صبغة الكرم وتروب –كرام الساخنة ،صبغة الكرام ،صبغة الكمزا ، صبغة النيكروسين وصبغة الملاكيات الاخضر يمثلان الاختيار الثاني لتشخيص الكربتوسبوريديم .
٤- صبغة زيل نلسن الباردة ، سفرانين مثيلين الازرق وسفرانين مثيلين الازرق معدلة ، صبغة الكرم وتروب –كرام الساخنة ، صبغة الكمزا ، صبغة النيكروسين ، الخيار الثاني الكريبتوسبوريدم في العجول ، صبغة الكرام ، الكينيون وصبغة الملاكيات الاخضر يمثلان الخيار الثالث لتشخيص الكريبتو سبوريدم .
٥- العيش في القرى أو الوضع الاقتصادي أو تعليم الاباء أو التربية أو العيش مع اتصال وثيق مع الأغنام والأبقار وممارسة غسل اليدين والتاريخ السابق للإصابة بالإسهال يزيد من امكانية الاصابة بالمتكيسات خفيات الابواغ لدى الاطفال .
٦- الذكور وشرب ماء المختلط (الصنبور والنهر) ، تغذية الحليب ، أشهر الشتاء ويونيو في الصيف ،الحالة السيئة للبيئة ،تاريخ الاسهال للأمهات والقطيع مؤشر على زيادة امكانية الاصابة .
٧- تركيز كاما انترفيرون وانترلوكين ١٠ في مصل العجول يرتبطان بشكل ايجابي مع الاصابة بالكريبتوسبورديم بارفم . تركيز كاما انترفيرون وانترلوكين ١٠ في مصل الاطفال غير مرتبطين بعدوى *c.parvum*

Chapter one

Introduction

1. Introduction

Cryptosporidium is intracellular protozoan parasite that live in the gastrointestinal tract of mankind and many other vertebrates animals including mammals, reptiles, birds and fish (Da'as, 2010). They are the widespread source of diarrheal disease among both immunocompetent and immunocompromised individuals throughout the world leading to considerable morbidity and mortality, especially in developing countries and in individuals less than five years (Saneian *et al*., 2010;Kattula *et al*., 2016;Mohamed, 2016;Certad *et al*., 2017) .

The protozoan of genus Cryptosporidium ,responsible for diarrheal disease in human and animals (Dubey *et al*., 2018). The Cryptosporidium have the ability to live in the environment and tolerate its harsh agent such as disinfectants like chlorine by potent outer shell. (Suler *et al*., 2016). Cryptosporidiosis in human caused by either *C. hominis* which is specific for humankind or due to the zoonotic *C. parvum* (Roellig *et al*., 2017). Humans less frequently infected with other species of cryptosporidium (Xiao and Cama, 2018) . Ruminants represent the main source of zoonotic Cryptosporidium that transmitted to human via contaminated food and water or via direct contact with livestock(Robertson *et al*., 2010;Grothen *et al*., 2017)

Twenty six cryptosporidium species and nearly 50 genotypes have been reported (Abu Samra *et al*., 2013;Xiao and Cama, 2018). Human infected with at least ten species of Cryptosporidium and four genotypes ,mainly *C. hominis and C. parvum* . *C. meleagridis, C. cuniculis, C. suis, C. muris, C. canis, C. felis, C. ubiquitum and C. andersoni* have been occasionally found in humans(Abu Samra *et al*. , 2013;Stensvold *et al*., 2015) . Humans can acquire cryptosporidium infections through several transmission routes such as person to person transmission, zoonotic transmission, food borne transmission and waterborne transmission (Xiao, 2010).A single oocyst is sufficient to cause infection and disease(Food Drug Administration Code, 2009;Kothavade, 2012). When excreted, Oocysts are directly infectious and are able to survive for up to 6 months in a moist and cool environment. In water, oocysts remain viable for 140 days (Ramirez *et al*., 2004). In immunocompetent persons, cryptosporidium infection usually asymptomatic. in children under the age of five years and in immunosuppressed people, the infection leads to severe diarrhea. Nausea, vomiting, discomfort and low-grade fever

are other clinical symptoms which may occur during an infection with Cryptosporidium (Bouzid *et al*., 2013) . Symptoms in immunocompromised patients can be very severe and even death has been described(Adamu *et al*., 2014) .In developing countries 45% of the children are experiencing an infection before the age of two (Mor and Tzipori, 2008;Certad *et al*. , 2017).

1.1. Aims of the study :

[1] Investigating the distribution of *C. parvum* in diarrheic children under five years and calves in Baqubah-Diyala province .

[2] Evaluating the accuracy of staining techniques for detection of *C. parvum* in stool specimens .

[3] Evaluating the agreement between different staining techniques for detection of *C. parvum* in stool specimens .

[4] Evaluating the accuracy of immunocromatographic technique for detection of *C. parvum* in stool specimens .

[5] Evaluating the possible risk-factors for cryptosporidiosis in diarrheic children and claves .

[6] Evaluating the possible effects of cryptosporidiosis on INFγ and IL10 level in serum of infected children and calves.