المجلة الطبية البيطرية العراقية 35 (2): 145 – 155 ،2011.

دراسة في وبائية طفيلي الابواغ الخبيئة ومقارنة كفاءة طريقة الاليزا مع بعض الطرائق التقليدية في تشخيص الاصابة في العجول

منى موسى خليل **محمد ثابت صالح الزبيدي*** **فوزية شعبان كاظم ***
* فرع الطفيليات – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد

الخلاصة

يعد طفيلي الابواغ الخبيئة من اهم مسببات الخسائر الاقتصادية في مزارع تربية العجول بسبب الاسهال الناجم عن الاصابة بهذا الطفيلي، وتختلف كفاءة طرائق تشخيص الاصابة، لذلك استهدفت هذه الدراسة مقارنة كفاءة طريقة الاليزا مع بعض الطرائق التقليدية في تشخيص الاصابة في العجول. جمعت 422 عينة براز من ثلاثة مجاميع من العجول بأعمار 1- 30 يوما ومن كلا الجنسين للمدة من بداية تشرين الثاني 2009 الى نهاية نيسان 2010، اذ كانت المجموعة الاولى تعاني اسهالا مائيا والثانية كان برازها عجينيا، والثالثة كانت طبيعية. فحصت عينات البراز الـ 92 الاولى بثلاث طرائق مختبرية هي طريقة الصبغ بصبغة زيل نلسن المحورة وطريقة التطويف بالمحلول السكري المشبع وطريقة الاليزا. فيما فحصت باقي العينات (330 عينة) بطريقتي الصبغ بزيل نلسن والتطويف بالمحلول السكري المشبع. سجلت أعلى نسبة للاصابة بالطفيلي في العجول ذات الفئة العمرية 6-10 ايام اذ بلغت 61.25 % واقل نسبة في الفئة العمرية 26-30 يوما، وبلغت 13.33 % ($P<0.01$). لم يسجل فرق معنوي بين نسبتي الاصابة في الذكور والاناث اذ بلغت 34% و 35.09% على التوالي. فيما يخص قوام البراز كانت أعلى نسبة للاصابة في العجول التي تعاني من الاسهال اذ بلغت 48.29 % مقارنة مع 36.36 % في العجول ذات البراز العجيني و19.58% في العجول الطبيعية. وسجلت اعلى نسبة للاصابة (41.25 %) في شهر نيسان واقل نسبة (27.14 %) في شهر تشرين الثاني ($P<0.01$). أظهرت الدراسة عدم وجود فرق معنوي مهم في كفاءة طريقة الاليزا في الكشف عن اكياس بيض الطفيلي في عينات البراز مقارنة بطرائق التشخيص التقليدية، فمن بين 92 عينة براز اعطت طريقة الاليزا 35 عينة موجبة (38.04 %) مقارنة بـ 34 عينة موجبة (36.95 %) لكل من طريقتي الصبغ بصبغة زيل نلسن المحورة وطريقة التطويف بالمحلول السكري المشبع .

Prevalence of Cryptosporidiosis in Calves and Efficiency of ELISA in Detection of The Infection Compared with Some Traditional Methods

Muna M. Khalil **Mohammad TH. S. Al- Zubaidi*** **Fawzia S. Kadhim***
*Department of parasitology – College of veterinary medicine – Baghdad University

Accepted on 15/6/2011

Summary

Cryptosporidiosis is one of the main causes of economical losses in calf breeding farms due to the diarrhea which results from the infection with this parasite. Diagnostic methods for detection of this infection vary in their efficiency. This study aimed to investigate the prevalence of cryptosporidial infection in Al-Nasr station and compare the efficiency of ELISA in detection of cryptosporidial oocysts with some traditional laboratory methods. A total of 422 faecal samples were collected from three groups of 1-30 day-old calves of both sexes during the period from

November 2009 to April 2010. The first group was suffering from watery diarrhea , the second group had pasty faeces, while the third group was normal calves. The first 92 samples were examined with three laboratory methods : Modified Zeihl -Neelsen stain, Floatation with saturated sugar solution, and ELISA, whereas the remained samples were examined with the two first methods only . The overall infection rate with *Cryptosporidium* in young calves was 34.83 %. The oocysts stained with Modified Zeihl-Neelsen appeared spherical or oval in shape and had red colour. The average oocysts measurement was 4.4×5.2µm. Calves 6-10 day-old had the highest rate of infection (61.25%), while the lowest infection rate was among calves 26-30 days – old 13.33% ($P<0.05$). Male and female had very close rate of infection (34 % and 35.09% respectively). Regarding faeces consistency, 48.29 % of calves with diarrhea was infected compared with 36.36 % of calves with pasty faeces and 19.58 % of normal calves. The highest rate of infection was recorded in April (41.25%) while the lowest rate was in November 27.14% ($P<0.01$). The study revealed no significant differences in the efficiency of ELISA in detecting cryptosporidial oocysts in faecal samples when compared with traditional laboratory methods. Among 92 examined samples ELISA gave 35 positive results (38.04%) compared with 34 positive samples (36.95%) for each of MZN and floatation with saturated sugar solution.

Keywords : Zoonoses;*Cryptosporidium parvum* ;Epidemiology

Email : mosamona63@yahoo.com

المقدمة

استخدمت العديد من الطرائق المختبرية لتشخيص الاصابة بطفيلي الابواغ الخبيئة ، ففي الطريقة المباشرة تضاف صبغة اليود الى المسحة المحضرة من براز الحيوان المصاب ، وبسبب صغر حجم اكياس بيض الطفيلي وعدم امكانية تفريقها عن الخمائر فان الفحص الروتيني للبراز يعد غير كافي لتشخيص الاصابة (1). تعتمد طرائق التطويف على الكثافة النوعية لاكياس بيض الطفيلي والبالغة 1.05 غرام/ م^3 ولذلك يستخدم محلول اكثر كثافة اذ تطفو الاكياس عند سطح هذا المحلول حيث يسهل شفطها وفحصها . اما طرائق الصبغ فقد استخدمت بنجاح في تشخيص الاصابة بالطفيلي ومن اشهر هذه الطرائق صبغة زيل نلسن المحورة وصبغة سفرانيين- المثلين الزرقاء . وحيث ان الاصابة بالطفيلي تؤدي الى استجابة مناعية ، فأن الكشف عن الاجسام المضادة الخاصة بالطفيلي هو احدى طرائق التشخيص (2). تمتاز طريقة الاليزا بسهولة اجراءها وقصر الفترة الزمنية اللازمة لاتمامها وبامكانية التعامل مع عدد كبير نسبيا من العينات في وقت واحد، وقد استخدمت هذه الطريقة في تشخيص الاصابة بالابواغ الخبيئة فقد اظهر(3) ان هذا الاختبار يعطي نتائج ايجابية عندما يكون عدد أكياس بيض الطفيلي في البراز3 ×10^5 كيس بيضة/ غرام من البراز مقارنة مع 3×10^3 كيس بيضة / غرام من البراز بطريقة التألق المناعي غير المباشر، و1 ×10^6 كيس بيضة/ غرام من البراز بطريقة الصبغ بصبغة زيل نلسن. وعند المقارنة بين طريقة الأليزا وطريقة التطويف بالمحلول السكري المشبع وجد أن كفاءة الطريقتين في الكشف عن الأصابة في الأبقار متساوية تقريباً (4). واشير الى عدم أمكانية استخدام طريقة الأليزا في تشخيص الأصابة (بدون أسهال) إ ذ إنه يحتوي على أعداد قليلة من أكياس البيض و التي غالباً ما تؤدي الى نتائج سلبية خاطئة (4).

استهدفت هذه الدراسة دراسة وبائية طفيلي الابواغ الخبيئة في محطة النصر لتربية الابقار ومقارنة كفاءة طريقة الاليزا في تشخيص الاصابة بهذا الطفيلي مع بعض الطرائق التقليدية الاخرى.

المواد وطرائق العمل

جمعت 422 عينة براز من عجول حديثة الولادة بعمر (1 – 30 يوما) من محطة النصر خلال المدة من بداية شهر تشرين الثاني 2009 الى نهاية شهر نيسان 2010 وبمعدل زيارة واحدة اسبوعيا، مع عدم تكرار اخذ العينة من العجل نفسه لاكثر من مرة واحدة .

قسمت العينات الى ثلاث مجموعات: المجموعة الاولى (147 عينة) مأخوذة من حيوانات تعاني من اسهال مائي ذي لون اخضر او اصفر، المجموعة الثانية (132 عينة) مأخوذة من حيوانات ذات براز عجيني وبدون علامات سريرية، المجموعة الثالثة (143 عينة) مأخوذة من حيوانات ذات براز طبيعي وبدون علامات سريرية. فحصت العينات الـ (92 عينة) الاولى بثلاث طرائق مختبرية هي الصبغ بصبغة زيل نلسن المحورة والتطويف بالمحلول السكري المشبع، وطريقة ا لـ ELISA ، فيما فحصت العينات الاخرى (330 عينة) بطريقتي الصبغ والتطويف المذكورتين اعلاه فقط. قسمت كل عينة الى جزئين :الجزء الاول لعمل مسحات خفيفة و صبغها بصبغة زيل نلسن المحورة Modified Zehil Neelsen ، فيما استخدم الجزء الثاني لاجراء فحص التطويف بالمحلول السكري المشبع Saturated suger solution.

تحضير مسحات البراز وصبغها بصبغة الزيل نلسن المحورة(2): مزجت كمية قليلة من البراز بقدر راس عود الثقاب على شريحة زجاجية نظيفة مع قطرة من الماء ثم فرشت على المساحة الكلية للشريحة ، وتركت لتجف بالهواء لمدة 10 دقائق. ثبتت المسحة بالكحول المثيلي المطلق لمدة 5 دقائق وتركت لتجف واضيف الى المسحة المثبتة صبغة الكاربول فوكسين الحمراء المركزة وتركت لمدة 3 دقائق. غسلت المسحة بماء الحنفية وقصرت بالكحول المحمض 3% لمدة 30 ثانية وغسلت بالماء مرة اخرى. صبغت بصبغة المثلين الزرقاء لمدة دقيقتين ثم غسلت بماء الحنفية وتركت لتجف. فحصت العينات المصبوغة بالمجهر الضوئي تحت القوة 40 × ثم القوة 100 × للتحري عن اكياس بيض الطفيلي .

التطويف بالمحلول السكري المشبع (5): مزجت 5 غرامات من كل عينة براز في دورق زجاجي نظيف مع كمية من الماء المقطر20 مليلتر ثم رشح المزيج خلال 4 طبقات من الشا ش للتخلص من الفضلات العالقة بالعينة ، وجمع الراشح في انابيب اختبار سعة 10 مليلتر دورت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 500g / دقيقة لمدة 15 دقيقة ، سكب الرائق واضيف 9 مليلتر من المحلول السكري المشبع الى الراسب مع المزج الجيد بوساطة عيدان خشبية ثم دور بجهاز الطرد المركزي بالسرعة والوقت السابقين اعلاه، ثم وضعت الانابيب على حامل خشبي وتركت لتستقر مدة 10 دقائق. سحبت قطرة من سطح الانبوبة بوساطة ماصة باستور ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة وغطيت بغطاء الشريحة ثم فحصت بالمجهر الضوئي تحت القوتين 40 × و100 × .

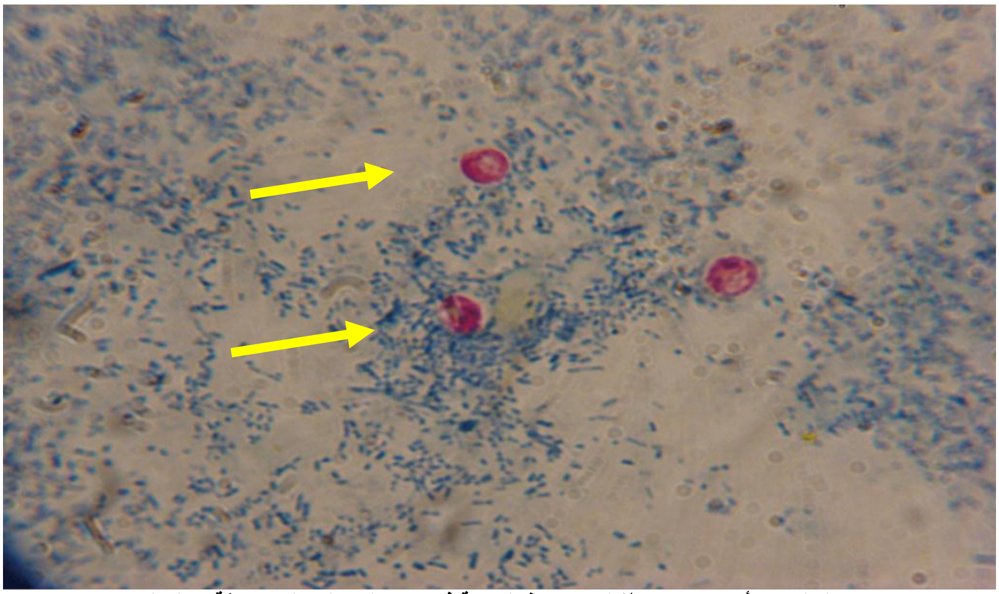
تقنية الاليزا: استخدمت في هذه التقنية اجسام مضادة خاصة لأكياس بيض طفيلي *C. parvum* حيث وضعت هذه الاجسام في حفر الصفيحة الخاصة بطريقة الاليزا ، ولهذه الاجسام القابلية على التفاعل مع اكياس بيض الطفيلي الموجودة في عينة البراز الموجبة .خففت عينة البراز المراد فحصها بمحلول التخفيف Dilution buffer (0.5ml / 0.5ml) واضيفت الى الحفر ثم حضنت الصفيحة لمدة ساعة بدرجة 21± 3 م°، بعدها تغسل الصفيحة بمحلول الغسل Washing solution ، ثم يضاف محلول الاقتران (وهو محلول حاوي على اجسام مضادة للطفيلي مرتبطة بأنزيم البيروكسديز)، ويعاد الحضن بنفس الظروف السابقة ثم يعاد غسل الصفيحة .تم اضافة Chromogen tetramethylbenzidine (وهو عبارة عن محلول المادة المتفاعلة والذي يوجد داخل قنينة سعة 25مل مع مكونات عدة تشخيص الاليزا) فاذا كان البراز حاو على اكياس بيض الطفيلي فان محلول الاقتران يبقى مرتبطا بالحفرة وأثناء

ذلك يقوم الانزيم بتحويل الـ Chromogen عديم اللون الى مركب ذي لون ازرق، وتتناسب قوة هذا اللون مع عدد اكياس البيض الموجودة في العينة التي تم فحصها. اوقف تفاعل الانزيم بعد اضافة محلول حامض الفوسفوريك (زيادة الحامضية)، ثم قيست الكثافة الضوئية عند الطول الموجي 450 nm بأستخدام جهاز الطيف الضوئي .

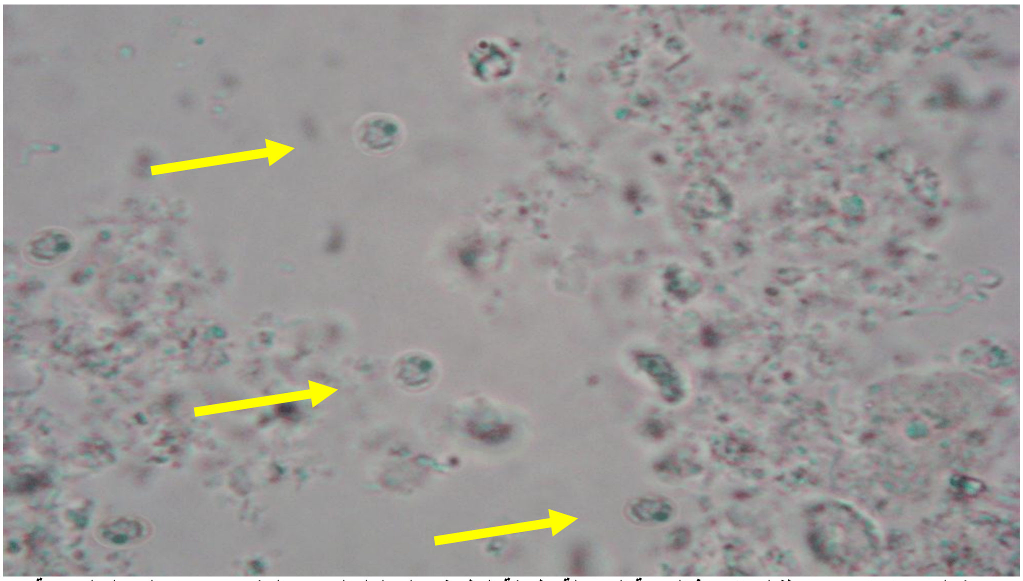
التحليل الاحصائي: استخدم اختبار مربع كاي (Chi-square) لمقارنة نسب الاصابة في الاشهر المختلفة، بين الذكور والاناث، الفئات العمرية المختلفة ، قوام البراز وكفاءة طرائق التشخيص المختلفة في الكشف عن الاصابة .

النتائج

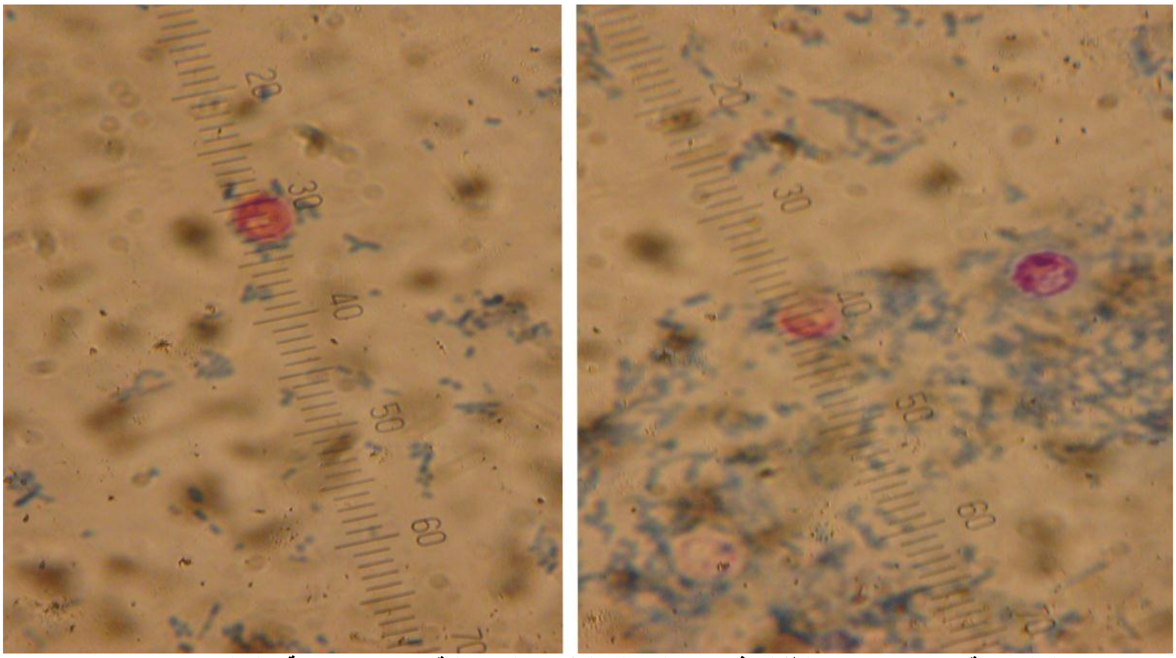
بأستعمال صبغة زيل نلسن المحورة ظهرت اكياس بيض الطفيلي اما كروية او بيضوية الشكل حمراء اللون ذات جدارين وظهرت البويغات ذات لون اسود غامق (شكل 1) ، فيما ظهرت اكياس البيض باستخدام طريقة التطويف بالمحلول السكري المشبع كروية او بيضوية الشكل محاطة بجدار واحد سميك ويحاط الكيس بهالة شفافة ويحتوي بداخله على حبيبات مختلفة الاحجام غير واضحة المعالم ، واحتوت الاكياس على ثلمة في احد قطبيها تمثل مكان خروج البويغات (شكل 2)، وبلغت ابعاد اكياس البيض 4.1-4.7 ×5-5.5 مايكرومتر وبمعدل 4.4×5.2 ±0.2 مايكرومتر(شكل 3) مما يدل على ان اكياس البيض تعود الى النوع *C.parvum* .



شكل (1) أكياس بيض طفيلي الابواغ الخبيئة في براز العجول والمصبوغة بزيل نلسن 100 ×



شكل (2) اكياس بيض طفيلي الابواغ الخبيئة المعزولة بطريقة التطويف بالمحلول السكري المشبع من براز العجول الرضيعة 100 × .



شكل (3) قياس اكياس بيض الطفيلي في براز العجول بالمقياس العيني الدقيق 100 ×(صبغة زيل نلسن) .

انتشار الاصابة في العجول حديثة الولادة بلغت نسبة الاصابة الكلية في العجول الرضيعة 34.83 % (147 عينة موجبة من مجموع 422 عينة). اشتملت العلامات السريرية على اسهال مائي مخاطي بلون أخضر أو أصفر مخضر وبرائحة كريهة مع قلة الشهية والجفاف والرقاد في بعض الحالات, فيما لم تظهر أية علامات سريرية واضحة على عدد من العجول التي أعطت نتائج إيجابية. بلغت اعلى نسبة اصابة في العجول الرضيعة في شهر نيسان (41.25 %) ، فيما كانت اقل نسبة اصابة في العجول الرضيعة (27.14 %) في شهر تشرين الثاني (جدول1).

جدول (1) نسبة الأصابة بطفيلي الابواغ الخبيئة في العجول الرضيعة خلال اشهر الدراسة

الشهر	العينات المفحوصة	العينات الموجبة	نسبة الاصابة %
تشرين الثاني	70	19	27.14
كانون الاول	69	24	34.78
كانون الثاني	65	25	38.46
شباط	70	21	30
اذار	68	25	36
نيسان	80	33	41.25
المجموع	422	147	34.83

أظهرت النتائج تقارب نسبتي الأصابة بين الذكور والأناث , إذ بلغت نسبة الاصابة في الذكور 34 % (34 عينة موجبة من مجموع 100 عينة) و في الأناث 35.09% (113 عينة موجبة من مجموع 322 عينة) ، ولم يكن هناك فرقاً معنوياً بين النسبتين (جدول 2).

جدول (2) نسبة الأصابة بطفيلي الابواغ الخبيئة في الذكور والاناث

الجنس	العينات المفحوصة	العينات الموجبة	نسبة الاصابة %
الذكور	100	34	34
الاناث	322	113	35.09
المجموع	422	147	34.83

بلغت أعلى نسبة للاصابة في الفئة العمرية 6 - 10 أيام اذ كانت 61.25 % (49 عينة موجبة من مجموع 80 عينة) ، وانخفضت نسبة الاصابة تدريجياً مع تقدم العمر إذ بلغت 13.33 % (8 عينات موجبة من مجموع 60 عينة) في الفئة العمرية 26 - 30 يوم و بفارق معنوي ($P< 0.01$) انظر (جدول 3) .

جدول (3) نسبة الأصابة بطفيلي الابواغ الخبيئة في الفئات العمرية المختلفة

الفئات العمرية(ايام)	العينات المفحوصة	العينات الموجبة	نسبة الاصابة %
5-1	74	25	33.78
10-6	80	49	61.25
15-11	75	32	42.66
20-16	68	21	30.88
25-21	65	12	18.46
30-26	60	8	13.33
المجموع	422	147	34.83

بلغت نسبة الأصابة في العجول التي تعاني من الأسهال 48.29 % (71 عينة موجبة من مجموع 147 عينة) مقارنة مع 36.36 % (48 عينة موجبة من مجموع 132 عينة) في العجول ذات البراز العجيني و 19.58 % (28 عينة موجبة من مجموع 143 عينة) في العجول ذات البراز الطبيعي و بفارق معنوي (P< 0.01) لاحظ (جدول 4).

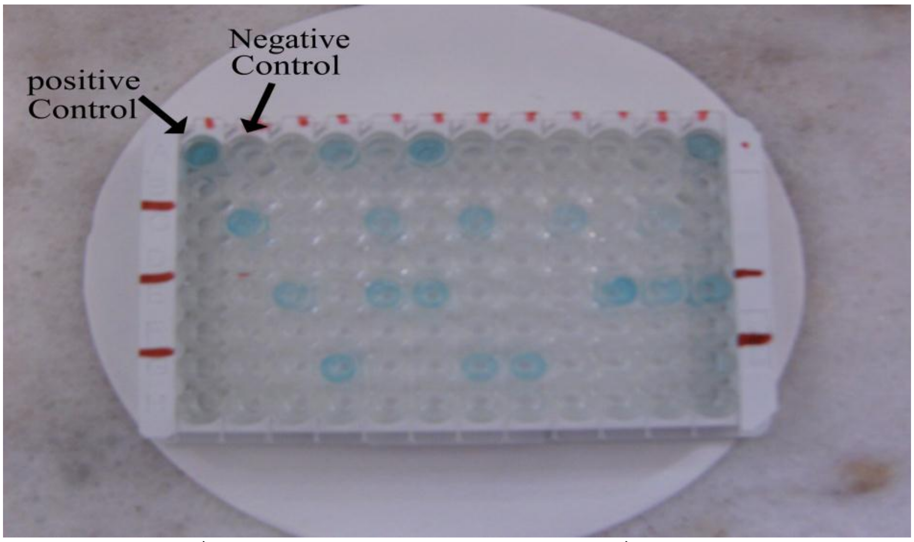
جدول (4) نسبة الأصابة بطفيلي الابواغ الخبيئة حسب قوام البراز

نوع البراز	العينات المفحوصة	العينات الموجبة	نسبة الاصابة %
اسهال	147	71	48.29
عجيني	132	48	36.36
طبيعي	143	28	19.58
المجموع	422	147	34.83

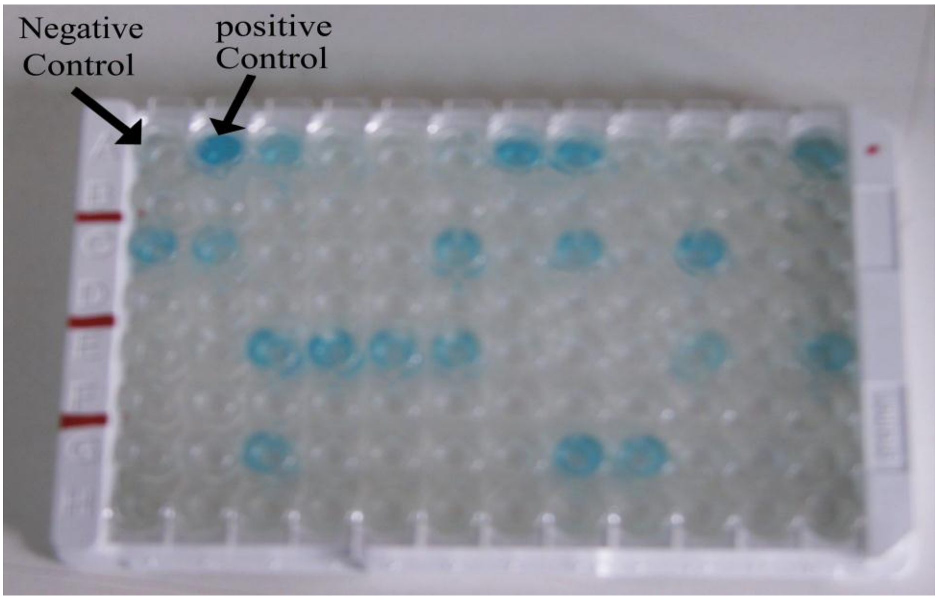
عند مقارنة كفاءة طريقة الاليزا مع طريقتي الصبغ والتطويف أظهرت نتائج الدراسة عدم وجود فرق معنوي في كفاءة طريقة الاليزا(شكل 5 و 6) في الكشف عن أكياس بيض الطفيلي في براز العجول المصابة مقارنة بطريقتي الصبغ بصبغة زيل نلسن المحورة والتطويف بالمحلول السكري المشبع اذ بلغت النسبة المئوية للعينات الموجبة من مجموع 92 عينة برازمفحوصة بالطرائق الثلاث 38.04%, 36.95% و 36.95% على التوالي (جدول 5).

جدول (5) كفاءة طرائق التشخيص المستعملة

طريقة التشخيص	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية%
الاليزا	92	35	38.04
صبغة الزيل نلسن	92	34	36.95
التطويف بالمحلول السكري المشبع	92	34	36.95



شكل (5) الصفيحة الاولى لفحص الاليزا تظهر عليها العينات الموجبة باللون الازرق



شكل (6) الصفيحة الثانية لفحص الاليزا تظهر عليها العينات الموجبة باللون الازرق

المناقشة

اجريت العديد من الدراسات حول مدى انتشار الاصابة بطفيلي الابواغ الخبيئة في العجول الرضيعة وجاءت نتائج هذه الدراسة متفقة مع العديد من هذه الدراسات السابقة في العراق (6و7و8و9) وعالمياً (10و11و12و13) اذ ذكروا أن الأسهال كان من اهم العلامات السريرية للأصابة بطفيلي الابواغ الخبيئة لا سيما في صغار الحيوانات وأن نسبة الأصابة أعلى في هذه الحيوانات مقارنة مع تلك التي لا تعاني من الاسهال. بلغت أعلى نسبة للاصابة في شهر نيسان (41.25 %) فيما سجلت أوطأ نسبة للاصابة في شهر تشرين الثاني (27.14%) . تتفق هذه النتائج مع ما ذكره (6) و(8) الذين وجدوا ان نسبة اصابة العجول الرضيعة في اشهر فصل الربيع أعلى مما عليه في الشتاء , ومع ماذكره (14و15و16و17و18) والذين سجلوا أعلى نسب للاصابة في فصل الربيع .

ويمكن ان يعزى سبب ارتفاع نسبة الاصابة في شهر نيسان الى ملائمة الظروف المناخية التي تساعد على بقاء اكياس بيض الطفيلي في البيئة وزيادة استهلاك الماء الملوث بها في فصل الربيع مقارنة مع فصل الشتاء وتكاثر الحشرات التي تؤدي دورا مهما في نقل الاصابة (19).

اتفقت نتائج هذه الدراسة مع ماذكره (20و21) الذين وصفوا أكياس بيض الطفيلي المعزولة بالمحلول السكري المشبع بكونها بيضوية ومحاطة بهالة وحاوية على حبيبات صغيرة واجسام هلالية تمثل البويغات. من خلال العديد من الدراسات السابقة لم يلاحظ فرقا معنويا في نسب الاصابة بين الذكور والاناث (14,8 في العجول و 22,9 % في الاغنام). وحيث ان هذه الدراسة قد اجريت في محطة تربية تخضع فيها الذكور و الأناث إلى ظروف تربية متشابهة في الشهر الأول بعد الولادة فإن الجنسين كليهما يتعرض الى الظروف البيئية نفسها و مصادر التلوث على حدٍ سواء، إذ لايوجد لدى الذكور او الأناث عامل محدد يزيد من إستعداد الحيوان للأصابة أو يسهم في مقاومتها. وعند عزل الذكور عن الأناث كل بظروف تربية معينة، يحدث اختلاف في نسب الاصابة وهذا ما أشار إليه (6) عند دراسته لانتشار المرض في العجول في محطات تربية الابقار. أن شدة الاصابة في الحيوانات صغيرة العمر و العلاقة العكسية بين نسبة الأصابة و العمر هي حقيقة قد أكدتها معظم الابحاث السابقة في هذا المجال (6و7و9و23و24)، و يحدث ذلك لسببين رئيسين الأول هو عدم كفاءة الجهاز المناعي لهذه المواليد و الثاني تعرضها الى أعداد كبيرة من اكياس البيض المطروحة مع براز الأبقار حديثة الولادة (12 و 25). أما سبب أنخفاض نسبة الأصابة في الفئة العمرية 1 - 5 أيام مقارنة بالفئتين العمريتين 6- 10 أيام و 11 - 15 يوم فقد يعود الى مدة حضانة الطفيلي التي تكون بين 2- 7 أيام لذا فأن عدداً من عجول هذه الفئة العمرية لم يطرح أكياس البيض مع البراز . و تعد نسبة العجول السليمة ظاهرياً التي تطرح أكياس البيض مرتفعة مقارنة مع الدراسات السابقة فقد ذكر أن 0- 14 % من العجول السليمة ظاهرياً تكون حاملة للطفيلي (26). فيما أن 9 % من العجول السليمة ظاهرياً في محطات تربية الأبقار تطرح أكياس البيض مقارنة مع نسبة أصابة 50.9% من العجول التي تعاني من الأسهال (6. بينما في دراسة اخرى وجد أن 15.47 % من العجول ذات البراز الطبيعي تطرح أكياس البيض مقارنة مع 52.54 % في العجول التي تعاني من أسهال شديد و 30.23 % في العجول ذات البراز العجيني (8). ويمكن ان يعزى هذا الارتفاع في نسبة العجول السليمة ظاهريا التي تطرح اكياس البيض في هذه الدراسة الى وجود نوع من التكيف لدى الحيوانات اذ تصبح حاملة للطفيلي بسبب تعرضها للاصابة لفترات طويلة مما يؤدي الى تكاثر الطفيلي داخل الحيوان وطرح اكياس البيض دون ظهور العلامات السريرية (27).

يعتمد التشخيص المختبري لمرض الابواغ الخبيئة في الحيوانات بشكل عام على طريقة الصبغ بصبغة زيل نلسن المحورة، وقد اشار العديد الباحثين الى كفاءة هذه الطريقة في الكشف عن أكياس بيض الطفيلي (5و6و8و28) الا انها تحتاج الى وقت طويل نسبيا لتحضير العينة وصبغها (على الرغم من سهولة الفحص بعد التحضير)، وقد يتم اللجوء الى طرائق التركيز(التطويف والترسيب) عندما يكون عدد أكياس البيض في البراز قليل نسبيا (29). ان استخدام هذه الطريقة يصبح غير عملي عندما يكون عدد العينات المراد فحصها كبيرا وبمدة زمنية محدودة .

تعد طريقة التطويف بالمحلول السكري المشبع ذات كفاءة مشابهة لطريقة الصبغ بصبغة الزيل نلسن المحورة في الكشف عن الاصابة بالطفيلي (8 و 30) وان تحضير عينة البراز لا تحتاج مدة زمنية طويلة وانخفاض التكلفة المادية مقارنة بطريقة الزيل نلسن، الا ان عملية الفحص وتشخيص الطفيلي لا تتم بسهولة وتحتاج الى خبرة طويلة لاجل تميز أكياس البيض الصغيرة الحجم وبدون ان تصبغ .

من اهم مميزات طريقة الاليزا مقارنة بطريقة زيل نلسن المحورة هي البساطة والموضوعية في قراءة النتائج , وقصر المدة الزمنية للتشخيص، اذ تحتاج كمعدل الى 60 دقيقة عمل و120 دقيقة حضن لاكمال فحص 48 عينة براز مقارنة مع حوالي 45 دقيقة عمل وانتظار (اثناء عمل المسحة والتجفيف والصبغ والفحص) لكل عينة بطريقة الزيل نلسن على الرغم من انه يمكن صبغ عدة شرائح في وقت واحد (31). لم يظهر فرق معنوي بين كفاءة طريقة الاليزا مقارنة

بطريقتي الصبغ بزيل نلسن المحورة والتطويف بالمحلول السكري المشبع، وهناك افضلية لكل طريقة في حالات معينة دون الحالات الاخرى ، ففي حالة وجود عدد كبير من العينات التي يراد فحصها في مدة زمنية قصيرة وخاصة في حالات المسح الوبائي يمكن اللجوء الى طريقة الاليزا لتوفير الوقت والجهد . اما عندما يكون عدد العينات قليلا او يراد أجراء التشخيص المختبري لحالات فردية فان الاعتماد على طريقة الزيل نلسن المحورة يعد الخيار الافضل . أما اذا كان الفاحص على درجة عالية من الكفاءة والخبرة في تميز أكياس البيض فيمكن الاعتماد على طريقة التطويف بالمحلول السكري المشبع لاسيما عندما يكون عدد العينات كبير نسبيا .

تستنتج الدراسة :جود نسبة اصابة عالية (34.83%) بطفيلي الابواغ الخبيئة في العجول حديثة الولادة .هناك نسبة من العجول الحاملة للطفيلي دون ظهور علامة الاسهال عليها (19.58%) .أعلى نسبة للاصابة بالطفيلي سجلت في العجول ذات الفئة العمرية 6-10 ايام اذ بلغت (61.25%). الدراسة أظهرت عدم وجود فرق معنوي مهم في كفاءة طريقة الاليزا في الكشف عن اكياس بيض الطفيلي في عينات البراز مقارنة بطرائق التشخيص التقليدية .

المصادر

1. Ma P and Soave R (1983). Three steps stool examination for Cryptosporidiosis in (10) homosexual men with protracted watery diarrhea. J Infec Dis .147(5): 824-828.
2. Beaver PC and Jung RC (1985). Animal Agents and Vectors of Human Disease . 5th ed. Lea and Febiger Philadelphia. P: 249.
3. Anusz KZ Mason PH Riggs MW and Perryman LE (1990). Detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in bovine feces by monoclonal antibody capture enzyme- linked immunosorbent assay.J Clin Microbiol. 28: 2770 - 2774.
4. Robert B Ginter A Antonie H Collard A and Coppe P (1990). Diagnosis of bovine cryptosporidiosis by an enzyme-linked immunosorbent assay. Vet Parasitol. 37: 1-8.
5. Chermette R and Boufassa QS (1988). Cryptosporidiosis a Cosmopital Disease in Animals and Man , 2nd ed. Office International Epizooties France.
6. الزبيدي،محمد ثابت صالح (1994). دراسة في داء الكربتوسبوريديوسز في العجول. رسالة ماجستير ،كلية الطب البيطري,جامعة بغداد.
7. الكيلاني،بان عبد الوهاب (1998). دراسة في وبائية داء الابواغ الخبيئة Cryptosporidiosis في بغداد .رسالة ماجستير ،كلية الطب البيطري ،جامعة بغداد.
8. العزاوي، مي حميد كوان (2003). دراسة في وبائية الاصابة بطفيلي الابواغ الخبيئة واستخدام مستضده في التشخيص و تجريب فعالية زيوت بعض النباتات الطبية في العلاج . اطروحة دكتوراه،كلية الطب البيطري,جامعة بغداد.
9. كاظم ، ذرى عواد (2009). دراسة وبائية نسيجية لداء الابواغ الخبيئة Cryptosporidiosis في اغنام محافظة بغداد رسالة ماجستير ،كلية الطب البيطري ،جامعة بغداد.
10. Matos-Fernandez M J Pereira-Bueno J Ortega-Mora L M Pilar-Izquierdo M Ferre I and Rojo-Vazquez FA (1993). Prevalencia de la infeccion por *Cryptosporidium parvum* en corderos , cabritos y terneros en la provincial de Leon . III Congreso Iberico de Parasitologia Lisboa Potugal 4 -8 de Octubre.
11. Ulutas B and Voyvoda H.(2004). Cryptosporidiosis in diarrhoeic lambs on sheep farm.Turkiye parasitol Derg. 28:15-17.
12. Sevinc F Usla V and Derinbay O (2005). The prevalence of *Cryptosporidium parvum* in lambs around Konya . Turk J Vet Anim Sci. 29 : 1191 – 1194.
13. Zorona M Katic-Radivojevic S and Kulisic Z (2006). *Cryptosporidium* infection in lambs and kids in Serbia . Vet. Acta. 56 : 49 -54.

14. Tzipori S (1983). Cryptosporidiosis in animals humans . Microbio Rev. 47 : 84 – 96.
15. Bukhari Z and Smith H (1996). Detection of *Cryptosporidium muris* oocysts in the faeces of adult dairy cattle in Scotland . Vet Rec. 138 : 207 – 208.
16. Fayer R Trout JM and Jenkins MC (1998). Infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts stored in water at environmental temperatures . J Parasitol. 84: 1165 – 1169.
17. Mohammed HO Wade SE and Schaaf S (1999). Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State . Vet Parasitol. 83: 1 -13.
18. Faubert G and Litrinsky Y (2000). Natural transmission of *Cryptosporidium parvum* between dams and calves on a dairy farm. J Parasitol. 86: 495 - 500.
19. الكيلاني، بان عبد الوهاب و يعقوب ، عالية يوسف و كاظم ،فوزية شعبان و علي ،جواد كاظم (2001). دور بعض الحشرات في انتشار طفيلي *Cryptosporidium* ،مجلة التقني 15: 7-11 .
20. Upton S and Current W (1985). the species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa; Cryptosporidiae) infecting mammals. J Parasitol .71(5): 625-629.
21. Lorenzo-Lorenzo M J Ares-Mazas E and Villacorta-Martinez de Maturana I (1993). Detection of oocysts and IgG antibodies to *Cryptosporidium parvum* in asymptomatic adult cattle . Vet Parasitol. 51: 9 -15.
22. عبد الوهاب ،اقبال حسن (2003). دراسة في وبائية الاوالي المعوية (*Cryptosporidium* , *Giardia* ,*Eimeria* spp) في الاغنام في محافظة بغداد ،رسالة ماجستير ،جامعة بغداد .
23. Tzipori S (1988). Cryptosporidiosis in perspective . Adv Parasitol Edited by Baker J R and Muller Academic Press. 27: 63 – 128.
24. Fayer R (1997). *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis 1st ed CRC Press Boca Raton Fl . pp: 1 -41.
25. Xiao L Herd RP and McClure KE (1994). Periparturient rise in the excretion of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts as a source of infection for lambs . J Parasitol. 80: 55 – 59.
26. Moon HW (1978). pathogenie relationship & rotavirus, *E. coli* and other Agents in mixed infection in calves. J Am Vet Med Assoc. 173(5): 577-583.
27. Fayer R and Xiao L (2008). *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis . 2nd ed CRC Press.
28. الكيلاني بان عبد الوهاب (2003). دراسة وبائية وتشخيصية لطفيلي الابواغ الخبيئة *Cryptosporidium* في الانسان والحيوان في قرية الذهب الابيض . اطروحة دكتوراه ،كلية الطب البيطري ،جامعة بغداد.
29. Weber R Bryan RT and Juranek DD(1992). Improved stool concentration procedure for detection of *Cryptosporidium* oocysts in fecal specimens. J Clni Microbiol. 30:2869-2873 .
30. الزبيدي محمد ثابت صالح (2009). بعض الجوانب الوبائية لداء الابواغ الخبيئة Cryptosporidiosis في الماعز ودراسة طفيلية بالمجهر الالكتروني . اطروحة دكتوراه ،كلية الطب البيطري,جامعة بغداد.
31. Newman RD Xinazu S Lima AA and Sears CL (1994). Household Epidemiology of *Cryptosporidium parvum* in an urban community in northeast Brazil Ann Int Med. 120: 500 – 505.