



جامعة الموصل

كلية الطب البيطري

التشخيص التقليدي والجزئي لبعض أنواع الأوالي في الأسماك في مدينة الموصل

اسراء عبد الواحد فتحي حسن الطائي

رسالة ماجستير

الطب البيطري / الطفيليات البيطروية

إشراف

الأستاذ الدكتور

نادية سلطان الحيالي

التشخيص التقليدي والجزئي لبعض أنواع الأولي في الأسماك في مدينة الموصل

رسالة تقدّمت بها

اسراء عبد الواحد فتحي حسن الطائي

إلى

مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير

في اختصاص الطب البيطري / الطفيليات البيطريّة

إشراف

الأستاذ الدكتور

نادية سلطان الحيالي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

{وَمَا يَسْتَوِي الْبَحْرَانِ هَذَا عَذْبٌ فُرَاثٌ
سَاعِيْغٌ شَرَابُهُ وَهَذَا مِلْعٌ أَجَاجٌ وَمِنْ كُلِّ
تَأْكُلُونَ لَحْمًا طَرِيقًا وَتَسْتَخْرِجُونَ حِلْيَةً
تَلْبِسُونَهَا وَتَرِي الْفُلْكَ فِيهِ مَوَاحِرَ لِتَتَنَعَّوْا
مِنْ فَضْلِهِ وَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ}

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

سورة فاطر الآية ١٢

إقرار المشرف

أشهد بـأنَّ إعداد هذه الرسالة قد جرى بإشرافي في جامعة الموصل، وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في اختصاص الطب البيطري / الطفiliات البيطريَّة.

التوقيع:
المشرف: أ.د. نادية سلطان الحيالي
التاريخ: / 2024 م

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أنَّ هذه الرسالة الموسومة بـ (التشخيص التقليدي والجزئي لبعض أنواع الأُوالي في الأَسماك في مدينة الموصل) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية، وبذلك صارت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:
الاسم: أ.م.د. شيبان اديب رمضان
التاريخ: / 2024 م

إقرار المقوم الإحصائي

أشهد أنَّ هذه الرسالة الموسومة بـ (التشخيص التقليدي والجزئي لبعض أنواع الأُوالي في الأَسماك في مدينة الموصل) تمت مراجعتها من الناحية الإحصائية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء إحصائية، وبذلك صارت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:
الاسم: م.د. الاء عبد الستار داود
التاريخ: / 2024 م

إقرار رئيس فرع الأحياء المجهرية

بناءً على التوصيات المقدمة من المشرف والمقوم اللغوي والمقوم الإحصائي، أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:
الاسم: أ.د. صفوان يوسف البارودي
التاريخ: / 2024 م

إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على التوصيات المقدمة من المشرف والمقوم اللغوي والمقوم الإحصائي ورئيس فرع الأحياء المجهرية، أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:
الاسم: أ.د. رعد عبد الغني السنجري
التاريخ: / 2024 م

إقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا أعضاء لجنة التقويم والمناقشة، قد اطلعنا على هذه الرسالة وناقشتنا الطالبة في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ / 2024، وإنها جديرة لنيل شهادة الماجستير في اختصاص الطفiliات البيطريَّة.

عضو لجنة المناقشة

أ.د. أزهار علي فرج

التاريخ: / 2024 م

عضو لجنة المناقشة

أ.د. وسن أمجد أحمد

التاريخ: / 2024 م

عضو لجنة المناقشة (المشرف)

أ.د. نادية سلطان الحيالي

التاريخ: / 2024 م

رئيس لجنة المناقشة

أ.د. رعد عبد الغني السنجري

التاريخ: / 2024 م

قرار مجلس الكلية

اجتمع مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل بجلسته (.....) والمنعقدة بتاريخ: / 2024 م، وقرر منحها شهادة الماجستير في اختصاص الطفiliات البيطريَّة بتقدير

عميد الكلية

الاسم: أ. د. ظافر محمد عزيز

التاريخ: / 2024 م

مقرر مجلس الكلية

الاسم: أ.د. رعد عبد الغني السنجري

التاريخ: / 2024 م

شكر وتقدير

أولاًً وقبل كل شيء، الحمد لله الذي وفقني واعطاني القوة والصبر لإتمام رسالتي أخيراً، بعد كل التحديات والصعوبات. أتقدم بالشكر إلى مشرفتي الأستاذة الدكتورة نادية سلطان الحيالي على تحفيزها العالي ومساهمتها الأهم في هذه الرسالة، وإرشادها لي خلال بحثي، لقد كان دعمها واقتراباتها الملهمة مفيدة للغاية لتطوير محتوى هذه الرسالة.

أنا ممتنة جداً لعمادة كلية الطب البيطري ولرئاسة فرع الاحياء المجهرية والى جميع أستاذة الفرع وموظفيهم لما أبدوه لي من مساعدة ونصح.

وأخيراً، أود أن أتقدم بالشكر لأهم شخص في حياتي، زوجي العزيز، يمكنني أن أقول بصدق أنه لم يكن من الممكن إنتهاء هذا المشروع لو لا تصميمه المستمر وتشجيعه الدائم لي.

إسراء

الخلاصة

جمعت 200 سمكة حية من الأسواق المحلية 56 من نوع الشبوط، 54 من نوع الكارب الاعتيادي، 35 من نوع البني، 30 من نوع البلعوط الملكي (الزولي) و25 من نوع الكطان من مدينة الموصل وبواقع 3-2 زيارة، بمعدل 9-6 أسماك أسبوعياً للمدة من شهر آب 2023 إلى شهر شباط 2024. تمأخذ قشطات خارجية من الجلد والglasma والزعانف، أظهرت نتائج الفحص المجهرى للأوالي الخارجية بالقشطات الرطبة وبالاعتماد على الصفات الشكلية؛ إذ ظهر طفيلي *Trichodina spp.* بأشكال كثيرة أو مستديرة حسب نوع الطفيلي، حاوي على العديد من الفجوات الغذائية وكذلك على نواتين، وبلون ذهبي إلى بني، ويتميز بوجود الأهداب التي تحيط بالسطح الخارجي للطفيلي. يتراوح قطره ما بين 37-60 ميكرومتر. وحاوي على قرص التثبيت (Adhesive disc) الذي يحتوى هذا القرص أيضاً على تراكيب هيكلية معقدة بشكل ثلاث حلقات متمركزة مع بعضها، الحلقة الخارجية منها تكون بارزة جداً تدعى بالحلقة المسننة (Denticulate ring) في حين ظهر طفيلي *Ichthyophthirius spp.* بالقشطات الرطبة بشكل كثيري وبحجم يتراوح من 0.03 إلى 1 ملم. ويتميز بوجود نواتين بداخله إحداهما كبيرة الشكل على شكل حدوة حصان والأخرى دائرية. وظهر طفيلي *Chillodenella spp.* في القشطات الرطبة من الغلاصم للأسماك الخمجة على شكل ورقة بيضاوية ومسطحة ظهرياً بطنياً، يحتوى على نواة كبيرة، السيتوبلازم محبب ويحتوى على العديد من الفجوات الصغيرة فضلاً عن فجوتين متقلصتين مهدب؛ يتراوح حجم الطفيلي 40-50×30-70 ميكرومتر. وكشفت الدراسة للأول مرة طفيلي *Piscinoodinium spp.* في القشطات الرطبة من الغلاصم والجلد؛ إذ لوحظ العديد من مرحلة الناشطة بأشكال كثيرة أو مستديرة وب أحجام مختلفة، بلون ذهبي إلى بني، ولوحظ المئات من الطفيلي على شكل مستعمرات باستعمال المجهر التشريحى، إذ تفاوتت أماكن وجود الطفيليات الخارجية؛ إذ عزل طفيلي *Trichodina spp.* من الجلد والglasma والزعانف في حين عزل طفيلي *Ichthyophthirius spp.* من الجلد والزعانف، أما كل من *Piscinoodinium spp.* و *Chillodenella spp.* فكانت أماكن وجودهم في الجلد والglasma. بيّنت نتائج الدراسة أنَّ الأسماك خمجة بأربعة أنواع من الأوالي الخارجية وهي *Trichodina spp.*, *Ichthyophthirius spp.*, *Piscinoodinium spp.*, *Chillodenella spp.*; إذ بلغت أعلى نسبة خمج بطفيلي *Trichodina spp.* 19.5% ومع فرق معنوي وتلتها *Ichthyophthirius spp.* وبنسبة 7.5% على التوالي وأقلها *Piscinoodinium spp.* بطفيلي 3%.

لم تسجل الدراسة الحالية فروق معنوية دالة إحصائياً بين نسب الخمج في أوالي الطفيلييات الخارجية خلال أشهر آب إلى شباط عند $P \geq 0.05$ إذ تراوحت نسب الإصابة بين 32.43% و 14.28%؛ إذ بلغت أعلى نسبة خمج في شهر آب وبنسبة بلغت 32.43% وأقلها في شهر شباط وبنسبة خمج بلغت 14.28%.

أثبتت نتائج الدراسة الجزيئية باستعمال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR للكشف عن طفيلي *Trichodina spp.* بتضخيم الجين *SSUrDNA* وبناتج تفاعل بحجم 1700 زوج قاعدي وأثبتت نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل للتحري عن طفيلي *Ichthyophthirius spp.* وبحجم ناتج 1700 زوج قاعدي. أكدت نتائج تعاقب الجينات لتفاعل البلمرة المتسلسل في عينات الجلد والغلاصم والزعناف للأسماك الخمجية بالأوالي الخارجية موجبة لطفيلي *Trichodina spp.* وتم تسجيل العزلة الموجبة في (NCBI) تحت الرقم التسلسلي PQ012982 وعزلة لطفيلي *Ichthyophthirius spp.* تحت الرقم التسلسلي PQ012981 تعود للنوع *Ichthyophthirius spp.* وفقاً لتحليل الشجرة الجينية لكلا الطفيليين.

وُشُخّص مجهرياً عن طريق عمل مسحات دقيقة من قشط المعدة والأمعاء وصبغها بصبغة كيمزا واللوكل ايودين وطريقة الطفو باستعمال محلول السكر المشبع. أظهرت النتائج أنَّ الأسماك خمجة بأربعة أنواع من الأوالي الداخلية *Eimeria spp.* و *Cryptosporidium spp.* و *Cryptosporidium spp.* و *Giardia spp.* و *Entamoeba spp.* و *Giardia spp.* و *Eimeria spp.* على التوالي. بينما كان معدل الإصابة أقل مع *Giardia spp.* و 21.5% على التوالي. تراوحت معدلات الإصابة للأشهر بين 3.5% و 34.28% على التوالي. في حين ظهرت معدلات الإصابة للأشهر بين 14.28% و 34.28% وكان أعلى معدل في تشرين الأول 34.28% وأدنى معدل في شباط 14.28% مع عدم وجود فروق معنوية عند $P \geq 0.05$ مجهرياً ظهرت أكياس بيض طفيلي الأبواغ الخبيثة بأشكال كروية أو بيضاوية بأحجام من $4.7-5.5 \times 3.8$ ميكرومتر. في حين ظهرت أكياس بيض الإيميريا كروية إلى بيضاوية بحجم 12-19 ميكرومتر. أمَّا الطفيلي *Entamoeba spp.* فيكون كروي الشكل بحجم من 10-18 ميكرومتر، في حين ظهرت أكياس طفيلي الجيارديا بشكل بيضاوي يحتوي على أربع نوى محاطة بجدار واقي 8-12 ميكرومتر. يرجع وجود الأوالي المعاوية في أنواع الأسماك المفحوصة إلى عمر أنواع الأسماك وتلوث المياه وهي الدراسة الأولى للكشف عن الأوالي المعاوية في أنواع الأسماك في الموصل، العراق.

أظهرت قشطات من المعدة والأمعاء المصبوغة بصبغة الزيل- نيلسن (ZN) أكياس البيض إضافة لطفيلي الأبواغ الخبيثة بأشكال كروية أو بيضاوية وبحجم يتراوح من $5.5-4.6 \times 3.8$ ميكرومتر. أظهر تفاعل البلمرة المتسلسل وتحليل تتابع التسلسل الجيني لأربع عزلات

باستعمال الجين *18SrRNA* كانت إيجابية لكلا النوعين *Cryptosporidium parvum* وبالأرقام التسلسلية PP593584 وثلاث *C. parvum* للنوع *Cryptosporidium hominis* عزلات PP593585 و PP593586 و PP593587 وكانت متطابقة بنسبة 100% لنتائج دراسات أخرى في العراق وبلدان أخرى والمسجلة في بنك الجينات GenBank of NCBI.

ثبات المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع
أ	الخلاصة
د	ثبات المحتويات
و	ثبات الأشكال
ط	ثبات الجداول
1	الفصل الأول: المقدمة
1	1-1: المقدمة
3	2-1: أهداف الدراسة
4	الفصل الثاني: استعراض المراجع
4	2-2: نبذة تاريخية
6	2-2: الأوالي التي تصيب أسماك Fish Protozoa
7	1-2-2: الأوالي الخارجية External protozoa
7	1-1-2-2: الهدبيات Ciliophora
7	1-1-1-2-2: الطفيلي الهدبي Chilodonella spp.
9	2-1-1-2-2: الطفيلي الهدبي Ichthyophthirius spp.
12	3-1-1-2-2: الطفيلي الهدبي Trichodina spp.
14	2-1-2-2: السوطيات Flagellata
15	1-2-1-2-2: طفيلي Piscinoodinium spp.
17	2-2-2: الأوالي الداخلية Internal Protozoa
17	1-2-2-2: طفيلي الأبواغ الخبيثة Cryptosporidium spp.
22	2-2-2-2: طفيلي الإيميريا Eimeria spp.
24	3-2-2-2: طفيلي الجيارديا Giardia spp.
26	4-2-2-2: طفيلي Entamoeba spp.
29	2-3: الوقاية والسيطرة
30	1-3-2: الطرائق الميكانيكية
30	2-3-2: العلاج الكيميائي
31	3-3-2: المستخلصات النباتية
32	4-3-2: الأدوية
33	الفصل الثالث: المواد وطرق العمل
33	3-1: الأجهزة والأدوات المستخدمة
34	3-2: تحضير المحاليل والصبغات المستخدمة في الدراسة
35	3-3: المواد المستخدمة في الدراسة
35	4-3: جمع العينات
38	5-3: الفحص المجهرى

38	1-5-3: الأولى الخارجية
39	2-8-3: الأولى الداخلية
40	6-3: الدراسة الجزيئية
40	1-6-3: استخلاص الحمض النووي النووي منزوع الأوكسجين DNA extraction
41	2-6-3: البادئات Primers
41	3-6-3: تحضير مزيج التفاعل الرئيسي (Master mix preparation)
42	4-6-3: تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي والعنزي
43	5-6-3: الترحيل الكهربائي في هلام الأكاروز Agarose gel electrophoresis
44	7-3: فحص التتابع الجيني DNA sequencing
44	8-3: التحليل الإحصائي Statistical analysis
45	الفصل الرابع: النتائج
45	4-1: نتائج الكشف عن الأولى الخارجية
47	1-1-4: نتائج الفحص المجهرى
50	2-1-4: نتائج الدراسة الجزيئية لـ الأولى الخارجية
50	1-2-1-4: نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل
52	2-2-1-4: نتائج تحليل التتابع الجيني
55	2-4: نتائج الكشف عن الأولى الداخلية
56	1-2-4: نتائج الفحص المجهرى
57	2-2-4: نتائج الدراسة الجزيئية لـ الأولى الداخلية
57	1-2-2-4: نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل
59	2-2-2-4: نتائج تحليل التتابع الجيني
62	الفصل الخامس: المناقشة
67	الفصل السادس: الاستنتاجات والتوصيات
67	1-6: الاستنتاجات
68	2-6: التوصيات
69	المصادر
100	الملاحق
A	Abstract

ثُبَّتُ الأَشْكَال

رقم الصفحة	اسم الشكل	رقم الشكل
11	دورة حياة طفيلي <i>Ichthyophthirius spp.</i>	1-2
16	دورة حياة طفيلي <i>Piscinoodinium spp.</i>	2-2
18	دورة حياة طفيلي الابواغ الخبيثة <i>Cryptosporidium spp.</i>	3-2
23	دورة حياة الإيميريا	4-2
36	يُوضِّحُ الأَدْوَاتُ الْمُسْتَخْدَمَةُ فِي نَقْلِ عِينَاتِ الأَسْمَاكِ	1-3
36	يُوضِّحُ أَنْوَاعَ الأَسْمَاكِ الْمُفَحَّوْصَةَ (a) الْكَارْبُ الْأَعْتَيَادِيُّ <i>Arabibarbus</i> (b) الشَّبُوطُ <i>Cyprinus carpio</i> . <i>grypus</i>	2-3
37	يُوضِّحُ أَنْوَاعَ الأَسْمَاكِ الْمُفَحَّوْصَةَ (a) الْبَنِيُّ <i>Mesopotamichthys sharpeyi</i> (b) الْبَلْعُوتُ الْمَلْكِيُّ (الْزَّوْلِيُّ) (c) الْكَطَانُ <i>Chondrostoma regium</i> <i>Luciobarbus xanthopterus</i>	3-3
39	طَرِيقَةُ عَمَلِ قَشْطَاتِ رَطْبَةٍ (a) الزَّعَافَ، (b) الْجَلْدُ، (c) الْغَلَاصُمُ.	4-3
40	يُوضِّحُ (a) تَشْرِيفُ السَّمْكَةِ، (b) عَزْلُ الْأَمْعَاءِ الدَّاخِلِيَّةِ.	5-3
47	يُوضِّحُ أَنْوَاعَ طَفِيلِيٍّ <i>Trichodina spp.</i> فِي الْقَشْطَاتِ الْرَّطْبَةِ مِنَ الْجَلْدِ تَحْتَ قُوَّةِ تَكْبِيرٍ 40×. (a,b) فِي الْقَشْطَاتِ الْرَّطْبَةِ. (c) بِصَبْغَةِ الْلَّوْكَلِ اِيُودِينِ. (d) الْاِنْشَطَارُ الثَّانِيُّ لِلْطَّفِيلِيِّ.	1-4
48	يُوضِّحُ أَنْوَاعَ طَفِيلِيٍّ <i>Trichodina spp.</i> فِي الْقَشْطَاتِ الْرَّطْبَةِ مِنَ الْجَلْدِ. (a) الطَّفِيلِيِّ مَصْبُوغٌ بِصَبْغَةِ الْكِيمِزا X100. (b) الْطَّفِيلِيِّ وَالْمَصْبُوغٌ بِصَبْغَةِ الْكِيمِزا X40.	2-4
48	شَكْلُ طَفِيلِيٍّ <i>Ichthyophthirius spp.</i> فِي الْقَشْطَاتِ الْرَّطْبَةِ تَحْتَ قُوَّةِ التَّكْبِيرِ 40× (a,b) الْجَلْدُ. (c) الزَّعَافَ.	3-4
49	يُوضِّحُ طَفِيلِيٍّ <i>Ichthyophthirius spp.</i> تَحْتَ قُوَّةِ تَكْبِيرٍ 40× (a) قَشْطَةٌ رَطْبَةٌ مَبَاشِرَةٌ مِنَ الْجَلْدِ. (b) مَسْحَةٌ مَبَاشِرَةٌ مِنَ الزَّعَافَ مَصْبُوغَةٌ بِصَبْغَةِ الْكِيمِزا.	4-4
49	يُوضِّحُ طَفِيلِيٍّ <i>Chilodenella spp.</i> فِي الْمَسْحَةِ الْرَّطْبَةِ مِنَ الْغَلَاصُمِ X100.	5-4
50	يُوضِّحُ طَفِيلِيٍّ <i>Piscinoodinium spp.</i> فِي الْقَشْطَاتِ الْرَّطْبَةِ (a, b) فِي الْغَلَاصُمِ X40. (c) فِي الْجَلْدِ X10. (d) فِي الْخِيُوطِ الْغَلَصِمِيَّةِ تَحْتَ الْمَجَهَرِ التَّشْرِيحيِّ X25.	6-4

51	الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز (1,5%) لنواتج تفاعل البلمرة المتسلسل للكشف عن <i>Trichodina spp.</i> : المسار M: يمثل المؤشر حجم 100 زوج قاعدي. المسار 4 و 5 و 7 و 8 يمثل عينات موجبة وبحجم ناتج 1700 زوج قاعدي، المسار 1 و 2 و 3 و 6 و 9 و 10 يمثل عينات سالبة، المسار 11 يمثل السيطرة السالبة.	7-4
51	الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز (1,5%) لنواتج تفاعل البلمرة المتسلسل للكشف عن <i>Ichthyophthirius spp.</i> المسار M: يمثل المؤشر حجم 100 زوج قاعدي. المسار 1 و 2 و 5 و 6 يمثل عينات موجبة وبحجم ناتج 1700 زوج قاعدي، المسار 3 و 4 و 7 يمثل العينات السالبة والمسار 8 يمثل السيطرة السالبة.	8-4
54	شجرة النشوء والتطور بين العزلة المحلية نوع <i>Trichodina spp.</i> مع العزلات الأخرى المسجلة في بنك الجينات العالمي	9-4
54	شجرة النشوء والتطور بين العزلة المحلية نوع <i>Ichthyophthirius spp.</i> مع العزلات الأخرى المسجلة في بنك الجينات العالمي	10-4
56	يُوضّح أكياس بيض طفيلي <i>Cryptosporidium spp.</i> في براز الأسماك الخمجة (a) بطريقة الطفو بالمحلول السكري المشبع باللوكل-ايودين بقوة تكبير X40. (b) بطريقة القشطة المباشرة من جدار المعدة والأمعاء بصبغة الزيل-نلسن بقوة تكبير X100.	11-4
56	يوضح أكياس بيض طفيلي <i>Eimeria spp.</i> في براز الأسماك بطريقة الطفو بالمحلول السكري المشبع X40.	12-4
57	يوضح أكياس طفيلي <i>Entamoeba spp.</i> في براز الأسماك بطريقة الطفو بالمحلول السكري المشبع تحت قوة تكبير (a) X100 (b) X40	13-4
57	يوضح أكياس طفيلي <i>Giardia spp.</i> في براز الأسماك الخمجة بطريقة الطفو بالمحلول السكري المشبع باللوكل-ايودين بقوة تكبير X40.	14-4
58	الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز (1,5%) لنواتج تفاعل البلمرة المتسلسل للبادئ الخارجي الخاص للكشف عن النوع <i>Cryptosporidium spp.</i> المسار M: يمثل المؤشر حجم 100 زوج قاعدي، المسار 2 و 3 و 4 يمثل عينات موجبة وبحجم 784 زوج قاعدي، المسار 1 و 5-8 يمثل العينات السالبة والمسار رقم 9 يمثل السيطرة السالبة.	15-4

58	الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز (1,5%) لنوافج تفاعل البلمرة المتسلسل للبادئ الداخلي الخاص للكشف عن النوع M: يمثل المؤشر حجم 100 زوج قاعدي، المسار 1-6 يمثل عينات موجبة وبحجم 588 زوج قاعدي، المسار 7 يمثل سيطرة سالبة.	16-4
61	شجرة النشوء والتطور بين العزلات المحلية للنوعين <i>Cryptosporidium</i> و <i>Cryptosporidium parvum</i> مع العزلات الأخرى المسجلة في بنك الجينات العالمي.	17-4

ثُبَّتُ الجَدَوْلُ

رقم الصفحة	اسم الجدول	رقم الجدول
33	الأجهزة والأدوات المختبرية المستخدمة في الدراسة	1-3
34	المحاليل والصبغات المستخدمة في الدراسة	2-3
35	المواد المستخدمة في الدراسة	3-3
41	البادئات الخاصة المستخدمة للكشف عن طفيليات الأسماك	4-3
42	مكونات المزيج الرئيس الخاص بتفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي والغشلي	5-3
43	خطوات عمل برنامج تفاعل البلمرة المتسلسل	6-3
44	عدد العينات ونوع البادئ المرسلة لغرض التتابع الجيني	7-3
45	يبين نسب الخمج الكلية لكل الأولى الخارجية في الأسماك الخمجية	1-4
46	عدد ونسبة الأسماك الخمجية بالأولى الخارجية حسب أشهر الدراسة	2-4
46	يبين موقع إصابة الأولى الخارجية في جسم السمكة	3-4
52	النسب المئوية للتشابه بين العزلة المحلية نوع <i>Trichodina spp.</i> مع العزلات الأخرى المسجلة في بنك الجينات العالمي	4-4
53	النسب المئوية للتشابه بين العزلة المحلية نوع <i>Ichthyophthirius spp.</i> مع العزلات الأخرى المسجلة في بنك الجينات العالمي	5-4
55	يبين نسب الخمج بالأولى الداخلية في الأسماك الخمجية	6-4
55	يبين عدد الأسماك الخمجية بالأولى الداخلية حسب أشهر الدراسة	7-4
59	النسب المئوية للتشابه بين العزلات المحلية للنوعين <i>Cryptosporidium parvum</i> و <i>Cryptosporidium hominis</i> مع العزلات الأخرى المسجلة في بنك الجينات العالمي	8-4

الفصل الأول
المقدمة

Introduction

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

1-1: المقدمة

تعد الأسماك من شعبة: Chordata وهي المجموعة الأكثر تنوعاً من الكائنات المائية المعروفة باسم الفقاريات ذوات الدم البارد تمتلك خياليم وزعافل للتنفس والسباحة وتحمي الأسماك نفسها بوساطة الحرشف، وأنها تتمتع بجسم فعال يساعدها بالحركة في الماء (Tedesco *et al.*, 2017). تُعد الأسماك جزءاً ممِيزاً من غذاء الإنسان ولذلك تؤدي دوراً ممِيزاً في اقتصاد مختلف دول العالم (Kouamélan *et al.*, 2003; Andronova and Yakimovich, 2019). هناك 28.900 نوع من الأسماك الموجودة في العالم، منها 13.000 نوع يعرف بالمياه العذبة، تضم 170 فصيلة و2513 جنساً، توجد في الأنهر والبحيرات التي تشكل (1% من إجمالي المياه المتوفرة على الأرض)، في حين أن الأنواع المتبقية والبالغ عددها 16.000 نوع توجد في المياه المالحة التي تغطي ما نسبته 70% من الأرض (Levêque *et al.*, 2008). منذ عام 1961م، زاد استهلاك الأسماك بمعدل نمو سنوي متوسط قدره 3.1%， متجاوزاً ذلك متوسط معدلات النمو السنوية لجميع البروتينات الحيوانية الأخرى، باستثناء لحوم الدواجن (2.7% سنوياً). وفي عام 2017م بلغ استهلاك الفرد من الأسماك قيمة 20.3 كجم، وهو ما يمثل 17% من إجمالي البروتين الحيواني. ويختلف نصيب الفرد من استهلاك الأسماك السنوي بشكل كبير بين مناطق العالم؛ إذ يكون أقل في البلدان النامية. ومع ذلك، تمثل الأسماك في هذه البلدان نسبة أعلى من البروتين الحيواني (29% في أقل البلدان نمواً)، مما يشكل عنصراً قيماً في نظامها الغذائي (FAO, 2020). إن الفلق المتزايد من اتباع نظام غذائي صحي للوقاية من الأمراض يُعد أحد أبرز الأسباب الرئيسية في زيادة الاستهلاك العالمي للأسماك (Broglia and Kapel, 2011). تشمل تركيبة الأسماك على عناصر غذائية أساسية مختلفة مثل أحماض أوميغا 3 الدهنية المتعددة غير المشبعة أو السيلينيوم أو التورين أو فيتامين د التي لها خصائص مثيرة للاهتمام لصحة الإنسان. علاوة على ذلك، وُرِبِطَ استهلاك الأسماك بانخفاض معدل النفوق بأمراض القلب التاجية، والنفوق الناجم عن أمراض القلب والأوعية الدموية، وخطر الإصابة بالسكتة الدماغية، واحتشاء عضلة القلب، وفشل القلب. وأنه يقلل من خطر الإصابة ببعض أنواع

السرطان (مثل سرطان الجهاز الهضمي، أو سرطان الدماغ، أو سرطان الرئة، أو المايلوما المتعددة) وخطر الإصابة بالاكتئاب أو الضعف الإدراكي (Li *et al.*, 2020; Chai *et al.*, 2005). تعمل غالبية الأسماك كمضيف وسطي للعديد من الطفيليات مما يقلل من القيمة الغذائية للأسماك ويسبب النفوق الجماعي (Galli *et al.*, 2001; Bunkley-Williams *et al.*, 2006). 80% من أمراض الأسماك تكون طفيليّة خاصة في أسماك المياه الدافئة (Eissa and Gharib, 2005). التي تؤثر على الأسماك مما يؤدي إلى تأخر النمو خاصة بالنسبة للأسماك الصغيرة وزيادة احتمالية الإصابة بالالتهابات الثانوية عن طريق تقليل مناعة الأسماك (Paperna and Lengy, 1963; Elamie, 2001) إلى عائلة Cichlidae وتحت أكثر مقاومة مقارنة بالأنواع الأخرى من الأسماك المستزرعة (Bondad-Reantaso *et al.*, 2005; Akoll *et al.*, 2012). في السنوات الأخيرة، هناك وعي متزايد بضرورة دراسة التغذى في ضوء الظروف البيئية المعنية (MacKenzie *et al.*, 2004; Lafferty *et al.*, 1995). تتأثر الأسماك بشكل مباشر أو غير مباشر بأنواع مختلفة من الطفيليات، مما يتسبب في ارتفاع نسبة النفوق في هذا النوع. أربع مجموعات رئيسية من الطفيليات، التي تسبب العدوى في الأسماك هي: البروتوزوا (الأهاب، والسوطيات، والأبواغ الدقيقة، والميكوزوانز)، والديدان المسطحة (أحادية المنشأ، والديجينية، والديدان الخيطية)، والديدان الخيطية، والأكانثوسيفالا. تسهل فسيولوجيا الأسماك حدوث العديد من الأمراض الفتاكة التي تؤدي إلى نفوق جماعي (Al-Marjan and Abdullah, 2009; Lerssuthichawal *et al.*, 2009). 2016 الأولى تشكل مجموعة مهمة من الطفيليات التي تصيب الأسماك التي تربى تحت نظام تربية الأسماك المكثف. المجموعات الرئيسية للأولي التي تصيب الأسماك هي المخاطيات، والبوغيات، والهديبيات، والسوطيات (Wang *et al.*, 2019). يمكن لهذه الطفيليات أن تزيد أعدادها عندما يكون السمكمضيف مكتظاً جداً، مما يؤدي إلى فقدان الوزن والهزال والنفوق (Gomes *et al.*, 2017). من بين المجموعات المختلفة من الأولى، تتمتع الهديبيات والسوطيات بدوره حياة مباشرة وتصيب في الغالب أسماك المياه البركية. من ناحية أخرى، فإن البوغيات هي طفيليات داخلية وتحتاج أنسجة المضيف لتكاثر (FAO, 2015). تصيب الأسماك بالعدوى عن طريق تناول الأبواغ من الأسماك المصابة أو مصادر الغذاء (Manbe *et al.*, 2020). تبدأ الخلايا التي تحتوي على الطفيليات في الزيادة في الحجم لاستيعاب تكاثر الطفيلي (التطور التبرعمي والبولي). يؤدي تكاثر هذه البوغيات داخل الخلية إلى ظهور كتل تشبه الورم في أنسجة الأسماك المختلفة (Saha and Bandyopadhyay, 2017).

بالسرطان عقيدات بيضاء متعددة على الأنسجة وزيادة في سمك جدار المرارة (FAO, 2015). قد يحدث فقر الدم الحاد قد في حالة الإصابة بأوالي الدم (Maciel *et al.*, 2018). الأوالي الطفيليّة هي إما طفيليّات خارجية أو داخلية، موجودة بأعداد كبيرة على سطح الجلد أو الخياشيم أو في الأعضاء الداخليّة للأسماك تتميّز دوره حياة الأوالي كونها مباشرة ومما يؤدي إلى تراكم أعداد كبيرة جدًا في وقت قصير خاصّة عندما تكون الأسماك في بيئه مزدحمة. الأوالي الأكثر شيوعًا هي الهدبيّات والسوطّيات والبوغيّات (Fayer *et al.*, 2004). سجلت اصبابات طفيليّة مختلفة بالديدان الاسطوانية والشرطيّة والمنقوّبات والمفصليّات في أسماك الكارب في معظم انحاء العراق في الموصل وصلاح الدين وبابل والديوانية وأربيل والنجف الأشرف (FAO, 2020; Chalmers *et al.*, 2020; Ryan *et al.*, 2014; Thompson and Ash, 2016). إلا أنّه مازال هناك دراسات قليلة حول الإصابة بالأوالي الداخليّة والخارجية التي تصيب الأسماك ولذلك اعدت هذه الدراسة من أجل توفير معلومات عن الإصابة بالأوالي في الأسماك من أجل العلاج والسيطرة الصحيحة للقضاء على مثل هذه الإصبابات.

1-2: أهداف الدراسة

1. الكشف المجهري عن الأوالي الخارجية من خلال عمل قشطات رطبة للجلد والزعانف والglas.
2. الكشف المجهري عن الأوالي الداخلية من خلال الطرق المباشرة والتطويف بال محلول السكري المشبع.
3. تأكيد الإصابة لبعض الأوالي الخارجية والداخلية من خلال استخدام تفاعل البلمرة المتسلسل PCR و التتابع الجيني لها في NCBI.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literatures Review

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literatures Review

2-1: نبذة تاريخية

تضم شعبة الأولى العديد من الكائنات الحية المختلفة منها كطفيليات خارجية وأخرى داخلية تصيب الأسماك (Lom and Dyková, 1992)، وكذلك في الفقاريات الأخرى واللافقاريات. يمكن أن تسبب الأولى أمراض مختلفة للأسمك المستترعة أو النهرية وتسبب اضرار منها انخفاض نمو الأسماك المصابة (Moraes and Martins, 2004)، مما ينتج عنها اصابات جرثومية ثانوية وهلاكات (Xu *et al.*, 2012). إن الأمراض الطفيليّة ليست مسؤولة فقط عن خسائر فادحة لصناعة الصيد التجاري، ولكن أيضًا عن التأثير الاجتماعي السلبي في البلدان النامية. تعود الدراسات المبكرة لطفيليات الأسماك إلى قرون مضت، تمت دراسة علم طفيلييات الأسماك على نطاق واسع من العلماء والباحثين في جميع أنحاء العالم. تشمل أمثلة الدراسات المبكرة عندما قام Dogiel (1961) بجمع معلومات مختلفة تتعلق بالنهج البيئي للأمراض المعدية الطفيليّة التي تصيب الأسماك. وبعد عام نشر الباحث Bykhovskaya-Pavlovskaya وجماعته (1962) نظاماً لتصنيف طفيلييات سمك المياه العذبة في الاتحاد السوفيتي. وكان هذا هو الأساس في الأمراض المعدية التي تصيب الأسماك وبالأخص طفيلييات الأسماك، مما أدى إلى نشر الباحث Hoffman (1967) دراسة حول طفيلييات سمك المياه العذبة في شمال أمريكا. لقد كانت طفيلييات الأسماك موضوع اهتمام علماء الأحياء في العراق نظراً لأهمية تربية الأسماك والتأثير المحتمل للطفيلييات على صحة الأسماك وإنتجيتها. أجريت العديد من الدراسات على الأولى للأسماك في العراق. أول دراسة عن طفيلييات الأسماك العراقية أجراها الألماني Herzog (1969)؛ إذ قام بفحص ستة عشر نوعاً من سمك المياه العذبة في وسط وجنوب العراق وسجل تسعه عشر نوعاً من الطفيلييات، بما في ذلك ستة أنواع من الأولى ونوع واحد من المثقوبات، والديدان الشريطي، والديدان الخطيطية *Acanthocephalus*، وثلاثة أنواع من القشريات، وأربعة أنواع من الديدان الخطيطية، ونوعين من القشريات *Hirudinea* والعلق. بلغ عدد الأبحاث والرسائل الجامعية والأطاريح المتعلقة بدراسة الأولى التي تتطفل على الأسماك العراقية أكثر من 350 بحثاً وكشفت عن وجود العديد من الأولى البدائية والمثقوبات أحادية المنشأ وثنائية

المنشاً والديدان الشريطية والخيطية وشوكية الرأس فضلاً عن العلق والقشريات والرخويات. وفيما يلي استعراض لبعض الدراسات التي أجريت على الأسماك في المسطحات المائية الطبيعية والبرك في العراق التي تتعلق بجانب مهم وهو تشخيص الأولي.

سجل الطفيلي الهندي *Ichthyophthirius multifiliis* لأول مرة في العراق على جلد غلاصم سمكة البياح *Mugil dussumieri* (Herzog, 1969) وسمكة البنيني كبير الفم *Cyprinodon macrostomum* وسمكة الخشني *Liza abu* من نهر دجلة عند مدينة الموصل وسمكة الحمري *Barbus luteus* (خميس، 1983) وفي السمكة الذهبية *Cyprinodon kais* وسمكة البنيني صغير الفم *Carassius auratus* من هور ابن نجم في النجف الاشرف (العزبياوي، 2010) ومن أسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* والكارب العشبى *Hypophthalmichthys Ctenopharyngodon idella* والكارب الفضي *Barbus grypus* والشبوط الاعتيادي *Aspius vorax* والشلك *molitrix* والقطان *sharpeyi* (Abdullah and Mhaisen, 2006; Mama and *B. xanthopterus* Abdullah, 2012) وسجل طفيلي الهندي *Trichodina domerguei* لأول مرة في العراق على جلد و غلاصم ثمانية أنواع من أسماك (البز والشبوط الاعتيادي والحمري والبنى والقطان والكارب الاعتيادي والخشني والجري الاسيوى) مأخوذة من نهر دجلة وبحيرة الثرثار وأسواق بغداد (Shamsuddin *et al.*, 1971) ثم سجل لاحقاً في عدد من المضافات الجديدة من مناطق شمال ووسط العراق بحيث وصل العدد الكلي للمضافات هذا الطفيلي 24 نوعاً (Mhaisen and *Aplosoma robusta* Shwani Al-Nasiri, 2009) كل من الهدبيات التالية (Al-Marjan, 2010) على أسماك الجري الاسيوى من نهر *Tetrahymena pyriformis* و *Scyphidia arctica* والزاب الكبير. وسجل الطفيلي الهندي *Trichodina anguillid* لأول مرة في العراق على الجلد والزعانف والغلاصم والتجويف الفمي لأسماك الكارب الاعتيادي التي جمعت من أسواق مدينة أربيل (Al-Marjan, 2010) وسجلت الهدبيات المتطفلة *Chilodonella cyprinid* على أسماك الكارب الاعتيادي من نهر الزاب الصغير وأحواض عينكاوة في مدينة أربيل (Mama and Abdullah, 2012) ويعُد الطفيلي *Costia necatrix* من الطفيلييات المسوطة التي تتغذى على الجلد والغلاصم والزعانف والذنب وتسبب مرض *Costiasis* فقد سجل اول مرة بالعراق من قبل (Bhatti 1979) على جلد سمكة ابي الحكم (الجمهوري) *Heteropneutes fossilis* من قناة العشار في البصرة وتعُد الأسماك الذهبية والبنيني صغير الفم مضائق جديدة لهذا الطفيلي.

أمّا بالنسبة للطفيليات البوغية فقد سُجلت ثلاثة أنواع لأول مرة في العراق وهي نوع *M. mulleri* من سمكة الشلّاك والبز والبن والشبوط الاعتيادي والنوع *Myxobolus oviformis* من سمك الكطان ونوع ثالث غير مشخص *Myxobolus sp.* من البز والشبوط والكطان (Herzog, 1969).

ووُجد Rahemo (1976) في كبد سمكة الشبوط الاعتيادي في نهر دجلة في الموصل نوعاً جديداً من البوغيات *Unicauda lumae*, وسُجل نوعاً من البوغيات هو *Myxobolus pfeifferi* في غلاصم سمكة الخشني (خميس، 1983) ثم سُجل في 26 مضيفاً آخرًا في مناطق مختلفة من العراق (Mhaisen and Al-Nasiri, 2012). وُوصف الطفيلي البوغي *Myxobolus diversus* من زعانف سمك البياج الأخضر *Liza subviridis* المصطادة من هور حرير التابع لأهوار الحمار في البصرة؛ إذ عد هذا الوصف بمثابة التسجيل الأول للطفيلي في المياه العذبة العراقية (جوري، 2007). سُجلت Al-Taee (2008) أنواع من الطفيلي *Eimeria spp.* في سمكة الخشني في نهر دجلة بمدينة الموصل وكان النوع السائد هو *E. subepitheliasis percae* وهو نوع معروف يسبب الكوكسيديا العقدية في ظهارة أمعاء الأسماك، وسُجلت Al-Taee (2008) لأول مرة في العراق كيس البيض لطفيلي الأبواغ الخبيثة *Cryptosporidium spp.* وبنسبة حمج 28.7% في سمكة الخشني وهي نسبة غير قليلة ويجب أن تؤخذ بنظر الاعتبار وذلك لانتقال الخمج إلى الإنسان بتناول الأيدي لمحتويات الأمعاء أثناء التنظيف وأعداد الطعام أو عند تناول الأسماك مشوية أو مطهوة بشكل غير كافٍ وُوصف الطفيلي *Eimeria dogieli* من أسماك الكارب الاعتيادي (Mhaisen and Al-Nasiri, 2012). وشخص نوعان جديدان من البوغيات هما *Myrobolus* و *Eimeria sinensi* من سمكة الخشني وسمكة البنيني كبير الفم على التوالي من نهر دجلة عند مدينة تكريت (Al-Nasiri, 2013).

2-2: الأولي التي تصيب أسماك Fish Protozoa

الأولي هي كائنات وحيدة الخلية توجد غالباً في البيئة المائية ككائنات حية حرة وتمتلك القدرة على التكاثر داخل وخارج مضائقها (Chandra, 2006). اعتماداً على النوع، يمكن أن تكون الأولي إما خارجية أو داخلية، ويمكن للطفيليات الخارجية من الأولي التي تظهر عادة في الأسماك المستزرعة أن تتغذى على الطبقة العليا من الجلد (Faruk, 2018) وتتميز بدورة حياة مباشرة وتناثر الأولي بشكل أساسي بالانشطار الثنائي؛ ومع ذلك، فإن بعض الأنواع لها شكل كيس مستقل عن المضيف. عادة ما تظهر هذه الطفيلييات بأعداد كبيرة على سطح السمة أو داخل

الغلاصم أو كليهما. التأثير العام لهذه الطفيليات هو تهيج السطح الظهاري، مما يؤدي إلى زيادة إنتاج المادة المخاطية. هناك ثلات مجموعات رئيسة: الهدبيات والسوطيات والأمبيات (Faruk, 2018; Hoffman, 2019).

1-2-2: الأولي الخارجية *External protozoa*

1-1-2-2: الهدبيات *Ciliophora*

الهدبيات هي كائنات حقيقة النواة وحيدة الخلية حاوية على امتدادات خيطية (نمو سايتوبلازمي قصير ودقيق) تنشأ من الطبقة الخارجية للخلية؛ إذ تكون موجودة في كل مراحل دورة حياتها أو بعضها تسمى بالأهداب (Martins *et al.*, 2015). وتحتوي على نوعين من الانوية هما النواة الكبيرة (macronucleus) تقوم بالوظائف أو الفعاليات الحيوية كافة عدا التكاثر وأخرى تدعى النواة الصغيرة (micronucleus) تكون مسؤولة عن الفعاليات التكاثرية وتحتوي على فم خلوي (cytostome) يؤدي إلى بلعوم خلوي (cytopharynx) قرب النهاية الامامية. وتوجد في النهاية الخلفية عضية غير واضحة تمثل المخرج الخلوي (cytopype). تتكاثر الهدبيات جنسياً بطريقه الاخصاب المتبادل (conjugation) ولا جنسياً بطريقه الانشطار العرضي (Transverse binary fission) تُعدُّ الأوليات الهدبية من بين الطفيليات الخارجية الأكثر شيوعاً التي تسبب نفوق عدد من الأسماك البرية والمستزرعة (Faruk, 2018). ومن أبرز الهدبيات التي تصيب الأسماك:

1-1-1-2-2: الطفيلي الهدبي *Chilodonella spp.*

أ- **تصنيف الطفيلي:** بالاعتماد على (Lom and Dyková, 1992)

Kingdom: Protista

Subkingdom: Protozoa

Phylum: Ciliophora

Class: Phyllopharyngea

Order: Cyrtophorida

Family: Chilodonellidae

Genus: *Chilodonella*

هو طفيلي أولي مهدب منتشر في كل مكان ويفصي أنواع الأسماك التي تعيش في المياه العذبة والمالحة. يتراوح طول طفيلي الكايلودينيلا بين 50-70 ميكرومتر وعرضه 30-40

مايكروميتر ويكون على شكل ورقة، بيضاوية الشكل، ومسطحة ظهرىًّا بطنىًّا، غير المتماثلة قليلاً وبه سطح مدبب وأخر مقرع. يوجد في الجزء الخلفي منه نواة كبيرة السايتوبلازم محبب ويحتوى على العديد من الفجوات الصغيرة فضلاً عن فجوتين متقلصتين. وتوجد الأهداب على شكل خطوط على السطح البطنى للطفيل (Martins *et al.*, 2015). ويوجد بعضاً من الأهداب الكبيرة امام الفم الخلوي مباشرة. يمكن لبنية الفم المتخصصة أن تلتصق بقوة بالسطح عن طريق إنتاج فراغ على الجانب البطنى أو عن طريق أهداب متخصصة تعمل كمادة لاصقة (Risse-Buhl *et al.*, 2009). يتغذى هذا الطفيلي على مخاط جلد السمك والبكتيريا والمواد العضوية الموجودة داخل الغلاصم مما يسبب استجابة التهابية من المضيف (Lom and Dyková, 1992; Urawa *et al.*, 1992; Padua *et al.*, 2013). يصيب الطفيلي الجلد والغلاصم مما يؤدي إلى ظهور كدمات بيضاء مزرقة على جلد السمكة المصابة. وسُجِّل هذا الطفيل في العراق لأول مرة بواسطة (Ali *et al.*, 1987) من أسماك الجري *Mystus pelusius* من نهر دجلة في بغداد. وسُجِّل وجود الطفيلي في أسماك الكارب الشائع *C. carpio* في مزرعة أسماك الزعفرانية، بغداد (Sadek, 1999).

ب- دورة الحياة

تُظَهِّر *Chilodonella spp.* دورة حياة وحيدة الخلية مع انقسام عرضي على المضيف إلى جانب التكاثر الجنسي عن طريق الاقتران (Pyne *et al.*, 1974; Pádua *et al.*, 2013). تتالف مراحل دورة حياة الطفيلي ثم مرحلة الناشطة (Trophont) تكون بيضاوية الشكل وتلتصق بالأسماك باستعمال هيكل تسمى الخطافات، إذ تتغذى الناشطة على جلد السمكة والأنسجة الظهارية، ومرحلة التكاثر (Tomont) على عكس بعض الطفيليات الأخرى، تتكاثر (Chilodonella spp.) لا جنسياً بطريقة الانشطار الثنائي؛ إذ تنقسم الناشطة إلى خلتين متماثلتين، وتنفصل الخلايا الجديدة عن السمكة لمدة قصيرة لتبثج بحرية وتكتمل دورة حياتها خلال 12-24 ساعة فقط في درجات حرارة مثالية. وهذا التكاثر السريع يؤدي إلى انتشار سريع للخمج.

ج- تشخيص الطفيلي

يُشَخَّص بالفحص المجهرى لقشطات الجلد والزعانف والغلاصم للأسماك المصابة؛ إذ يمكن ملاحظة حركة الطفيلي التي عادة ما تكون باتجاه واحد. تشكل تقنية التشرب بنترات الفضة (Silver nitrate impregnation technique) وصبغة كيمزا (Giemsa) أو الهيماتوكسيلين (Hematoxylin) أساساً لملاحظة الخصائص التصنيفية الرئيسية للطفيلي (Pádua *et al.*, 2013).

(2013) يعتبر عدد الحركيات الهدبية (ciliary kineties) أبرز خاصية تصنيفية تميز *C. piscicola hexasticha* عن *C. piscicola* بهذه الطريقة، ويمتلك الأخير أهداب أكثر عدداً وأقل تباعداً (Kazubski and Migala, 1974) وكذلك تُعدُّ الشرائح النسيجية أيضاً طريقة للتشخيص النهائي. ومع ذلك، لا يمكن ملاحظة جميع التغيرات في الأنسجة المصابة مما يسمح فقط بتحديدها على مستوى الجنس.

د- الإِمْرَاضِيَّةُ وَالعَلَامَاتُ السَّرِيرِيَّةُ لِلْطَّفِيليِّ

تسبب الإصابة *Chilodonella spp.* آفات شديدة عند مقارنتها بالهدبيات الأخرى، مثل طفيلي *Trichodina spp.* على سبيل المثال. ترتبط التغيرات المرضية التي تسببها *Chilodonella spp.* بتأثيرها القا什ط على ظهارة المضيف؛ إذ إنَّ خيوط الغلاصم هي العضو الأكثر حساسية للإصابة بالطفيلي. في الحالات الحادة، يمكن ملاحظة زيادة في إنتاج المخاط مع ما يترتب على ذلك من احتقان في الغلاصم وبالتالي، في الأسماك المصابة بشدة، تكاثر الظهارة والنخر والتقرش الذي يتتطور إلى تمزق الشعيرات الدموية وتسلل الخلايا الالتهابية وحيدة النواة (Pádua *et al.*, 2013). وعادة ما يصاحبه أخماج ثانوية جرثومية تؤدي إلى إصابة جهازية مما تؤدي إلى هلاك المضيف. تشمل الأعراض السريرية على صعوبة التنفس وفقدان التوازن والشهية والآفات البيضاء على الغلاصم، والقشور، والجلد الداكن، وتقرحات الجلد والزعناف، والمناطق النزفية شائعة في الإصابة المختلطة بالجراثيم.

2-1-1-2-2: الطفيلي الهدبي *Ichthyophthirius spp.*

أ- **تصنيف الطفيلي:** بالاعتماد على (Lom and Dyková, 1992)

Kingdom: Protista

Subkingdom: Protozoa

Phylum: Ciliophora

Class: Oligohymenophorea

Sub class: Hymenostomata

Order: Hymenostomatida

Sub Order: Ophryoglenina

Family: Ichthyophthiriidae

Genus: *Ichthyophthirius*

يعد طفيلي *Ichthyophthirius spp.* من الأولي الهدبية وحيدة الخلية كمثريه الشكل يتراوح قطره من 0.03-1 ملم، ومحاط بالكامل من الخارج بأهداب قصيرة منتظمة ومتزاوية الطول. ويتميز باحتوائه نواتين بداخله إحداها كبيرة الشكل على شكل حدوة حصان والأخرى دائرية وصغيرة (Dickerson, 2012; Martins *et al.*, 2015) ويسبب داء النقطة البيضاء ويعُد من الامراض الرئيسة لمربى الأسماك على مستوى العالم. ويحدث *Ichthyophthiriasis* الخمج في جميع أعمار الأسماك من عمر يوماً واحداً (von Gersdorff Jørgensen, 2017).

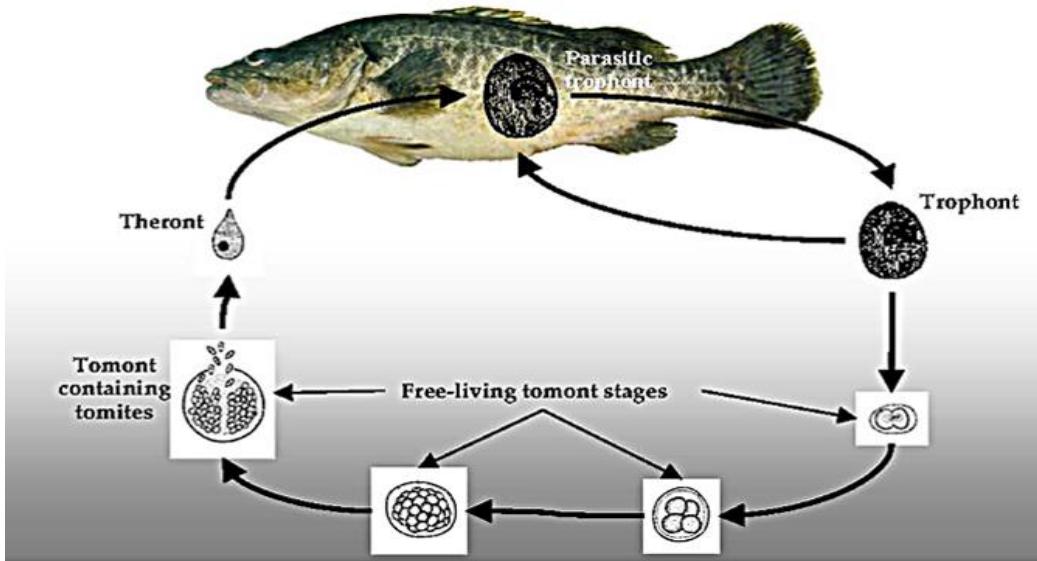
يعد النوع *Ichthyophthirius multifiliis* الذي يشار إليه عادة باسم "Ich"، هو العامل المسبب لداء السمك، أو داء البقعة البيضاء. وهو العامل الممرض الأكثر شيوعاً للأولي لأسماك المياه العذبة في جميع أنحاء العالم (Dickerson, 2012) ويُخمج جميع الأعمار بما في ذلك اليرقات والإصبعيات والأسماك البالغة وأسماك التي تضع البيض. يمكن أن يسبب الطفيلي أوبئة حيوانية كارثية في تربية الأسماك في المياه الدافئة والمعتدلة وقد يتسبب في خسائر في الأسماك البرية في بعض الأحيان. فضلاً عن الخسائر الكبيرة في مزارع أسماك الكارب، وتراتوت قوس قزح، والبلطي، وثعبان البحر، وسمك السلور، وكذلك أسماك الزينة (Elsayed *et al.*, 2006).

سجلت حالات تفشي طبيعية لداء السمك، المعروف أيضاً باسم مرض البقع في الأسماك التي تربى في المزارع في معظم القارات، إذ له القدرة على الانتشار السريع من سمة إلى أخرى؛ إذ يمكن لطفيلي واحد أن ينتج مئات إلىآلاف من (Theront) المعدية في أقل من يوم (Matthews, 2005). يغزو الطفيلي الأنسجة الظهارية للغلاصم أو الجلد أو الزعانف، ويترك جرحاً صغيراً وبقعة بيضاء مرئية أو عُقيدة، تكون الأسماك الخمجة خاملة للغایة ومحاطة بنقطاً بيضاء مرئية. ويسبب هلاكات سريعة وكارثية. تؤدي العدوى الشديدة بالـ *Ich* إلى إتلاف جلد الأسماك وغلاصمها، وفضلاً عن فقدان وظائف الجهاز التنفسى والإخراج والتنظيم التناصحي، وقد تكون بمثابة بوابة دخول للجراثيم الثانوية، مما يؤدي في النهاية إلى موت السمكة (Dickerson, 2012).

ب- دورة الحياة

دورة حياة الطفيلي *Ichthyophthirius spp.*؛ إذ تكتمل دورة حياتها على سمة واحدة فقط لإكمالها. وت تكون دورة حياتها من ثلاثة مراحل، طور (Theront) الشكل المعدى والمتحرك وبلغ حجمه من 30-50 ميكرومتر. ويمتلك هذا الطور *Perforatorium* الذي تساعد على اختراق خلايا الأسماك أمّا طور (Trophont) فيمكن أن يبلغ طوله من 100-800

ميكروميتر، ويوجد في ظهارة الأسماك أمّا طور (Tomont) فيمثل الطور الحر للطفيلي يتكون داخل كيس (الشكل 1-2) (Dickerson, 2012).



الشكل (1-2): دورة حياة طفيلي (VHF, 2005) *Ichthyophthirius spp.*

ج- الانتقال وطرق الاتصال

وجدت دراسة اجراها Xu وجماعته (2007) انه يمكن انتقال داء النقطة البيضاء عن طريق الاختلاط مع الأسماك المصابة أو مباشرة من طور (Theront) نفسها، ويمكن أن ينتقل المرض عن طريق الأدوات المستخدمة في تربية الأسماك ومركبات نقل المياه التي يمكن أن تكون ناقلة للمرض. يعتمد تطور (Theront) في الماء على درجة الحرارة تكون دورة حياة الطفيلي مثالية وسريعة عند 24 درجة مئوية أمّا درجات الحرارة التي تقل عن 10 درجة مئوية أو تزيد عن 28 درجة مئوية فيمكن أن تتعطل دورة حياة الطفيلي (Ishikawa *et al.*, 2012).

د- الإِمراضيَّة والعلامات السريريَّة للطفيلي

ترتبط التغيرات المرضية المصاحبة لداء النقطة البيضاء بعزو طور اليرقة لطبقات الظهارة مع مرحلة البلعمة للخلايا النسيجية (Histophagia) التي تحدث بعد التحول إلى طور الناشطة. تحفز هذه العملية استجابة التهابية لدى المضيف مع تكاثر ظهاري شديد للخلايا الكأسية (goblet cells)، وفي الحالات الشديدة يمكن ملاحظة اندماج للصفائح الثانوية وتتكسر (necrosis) في خلايا الظهارة لت تكون عدة قرح (Ulcers) على الطبقة الظهارية بعد إطلاق طور الناشطة الناضج (de Pádua *et al.*, 2014). وتعزز علامة سريرية هي وجود نقاط بيضاء على سطح السمكة بما في ذلك الجلد والزعانف والعينين والتجويف الفموي والغلاصم. ومن الشائع ملاحظة

صعوبة في التنفس لدى الأسماك، وسلوك الاحتكاك في البرك وأحواض السمك وأسماك الأفلاس على شبكات الأفلاس، مما يؤدي إلى تعرق المياه في البرك الترابية (Martins *et al.*, 2000; Ishikawa *et al.*, 2012).

٥- التشخيص

يُشخص داء النقطة البيضاء على أساس الفحص العياني لطور الناشطة (Trophont) داخل جلد المضيف والفحص المجهرى لعينات الجلد والزعانف وبقايا الغلاصم باستعمال المجهر الضوئي، فيكون طور (Theront) المتحركة على شكل كمثرى أمّا طور الناشطة فيكون مغطاة بشكل موحد بطبقة من الأهداب الخارجية مع نواة على شكل حدوة حصان. ويعُد الفحص النسيجي المرضي أيضًا من الطرائق الكفؤة في التشخيص.

3-1-1-2-2: الطفيلي الهدبي *Trichodina spp.*

أ- تصنیف الطفيلي

Kingdom: Protozoa

Phylum: Ciliophora

Class: Oligohymenophorea

Order: Mobilida

Family: Trichodinidae

Genus: *Trichodina*

هو طفيلي وحيد الخلية من عائلة Trichodinidae اكتُشِف لأول مرة من قبل Shulman- (1950)، وأكَّد وجوده من قبل Bykhovskaya-Pavlovskaya وجماعته (1962). ويعُد من الطفيليات الشائعة التي تصيب الأسماك البرية أو المستزرعة وتعيش في المياه المالحة والمعذبة. تعرف هذه الطفيليات عادةً بأنها من الطفيليات الخارجية والأولي المهدبة (Martins and Ghiraldelli, 2008). تتميز طفيليات *Trichodina spp.* بشكلها الدائري أو القرصي مع بنية مرنّة ومسطحة نسبياً. يتراوح قطرها عادةً بين 41-80 ميكرومتر، مما يجعلها مرئية تحت المجهر الضوئي ومتناهٍ. *Trichodina spp.* صفاً من الأشواك أو الأهداب التي تحيط بالحافة الخارجية للطفيلي. تساعد هذه الأهداب في حركة الطفيلي وتُعرَف أحياناً باسم "القرص الشعاعي" أو "القرص السليلاني" (ciliary disc). داخل جسم الطفيلي، يمكن رؤية النواة المركزية (macronucleus) تكون كبيرة ومحوّدة عادةً في منتصف الطفيلي والنواة الصغيرة

تكون أقلّ وضوحاً وصغيرة الحجم (micronucleus) تحت التكبير العالى. واحدة من السمات الأكثر تميّزاً في *Trichodina spp.* هي وجود قرص لاصق مركزي يُعرف بالقرص الكيتيّنى (adhesive disc) الذي يستخدمه الطفيلي للالتصاق بالمضيف يحتوي على أشواك صغيرة (denticles) مرتبة بشكل دائري، مما يعطيه مظهراً يشبه التروس أو العجلة يستخدم الطفيلي هذه الأشواك للتشبث بقوة بسطح المضيف (Mudeed *et al.*, 2020).

ب- دورة الحياة

يمتلك الطفيلي دورة حياة بسيطة و مباشرة، يحتاج مضيفاً واحداً و تكاثر بشكل رئيس عن طريق الانشطار الثنائي على المضيف (Van As and Basson, 1989; Martins *et al.*, 2015).

ج- الانتقال وطرائق الخمج للطفيلي:

يوجد 300 نوع من هذا الطفيلي في بيئات مختلفة حول العالم. تمتاز هذه الطفيليات المهدبة بخمج المضيف خلال مدة زمنية قصيرة جدّاً بسبب انتقالها المباشر و تصيب بشكل رئيس الأسماك التي تُربى في ظروف دون المستوى المطلوب، يُحث الخمج بشكل مباشر أو عن طريق المياه الملوثة تُعد أدوات تربية الأسماك الملوثة مصدراً مهماً آخر لانتقال. يزداد تفاصم المرض مع سوء نوعية المياه والإجهاد (Lom, 1995; Tang and Zhao, 2012).

د- الإِمراضيَّة والعلامات السريريَّة للطفيلي

داء *Trichodinasis*، هو مرض طفيلي يصيب الأسماك في جميع أنحاء العالم. ينجم هذا المرض عن تكاثر هائل للطفيليات الخارجية من عائلة *Trichodinidae*، التي تصيب أسماك المياه العذبة والبحرية على حد سواء (Lom and Dyková, 1992). مسبباً في أضرار جسيمة لمضائفها، مما يؤدي إلى حدوث هلاكات. تُعد الإصابة ذات أهمية خاصة في تربية الأحياء المائية مسببة في انخفاض النمو (Ekanem and Oblekezie, 1996) والنفوق المزمن أثناء إنتاج الأقفال (Valladão *et al.*, 2013) قد يحدث المرض بشكل حاد بشكل رئيس في اليرقات والإصبعيات مما يتسبب في تقرحات، وذمة تحت الظهارة، وإزاحة الصفائح الثانوية في خيوط الخيشومية، وفرط تنفس وارتشاح التهابي مما يؤدي إلى إتلاف أنسجة المضيف (Valladão *et al.*, 2014).

يتحرك الطفيلي على سطح الغلاصم والجلد بحركة دورانية، مما يسبب تهيجاً خطيراً وتلفاً للخلايا الظهارية أو البشرة للأسماك واستهلاك الطفيلي الحطام النسيجي الناتج عن التلف الذي

يُسببه (Hassan, 1999). غالباً ما يكون للأسماك المصابة مظهر رمادي بسبب الإفراز الزائد للمخاط، وقد تصبح الزعانف مهترئة. في النهاية، يحدث تأكل للظهارة (Roberts, 2012). وتعد الغلاصم هي العضو المستهدف الرئيس للإصابة (Biagini *et al.*, 2009)؛ التغيرات المرضية الرئيسية المرتبطة بهذه الإصابة الطفيليَّة تتعلق بنسيج الغلاصم، مثل فرط التنسج، تضخم الخلايا، الوذمة، والارتشاح الالتهابي، والنخر (Yemmen *et al.*, 2011a,b; Valladão *et al.*, 2014) ويمكن للأسماك المصابة أن تظهر اسوداداً في الجلد ومناطق بيضاء في الخياشيم ونقص الأكسجة ووميض على سطح البرك أو الأحواض (Martins *et al.*, 2013; Valladão *et al.*, 2014) 2015. غالباً ما يلاحظ الخمول والسباحة غير المنتظمة وحركة بطيئة، وفقدان الشهية، وفقدان الوزن، وآفات الجلد، وتأكل الزعانف، وزيادة إنتاج المخاط، وتنخر الغلاصم.

٥- تشخيص الطفيلي

بعد الفحص المجهرى من أبرز الطرائق في تشخيص *Trichodina spp.* بأخذ عينات من الجلد والزعانف والغلاصم للأسماك الخمجة وفحصها تحت المجهر الضوئي أو تحت المجهر المركب؛ إذ يمتاز هذا الطفيلي بالتحرك بسرعة بشكل حركة دورانية. ويمكن استخدام الصبغات نترات الفضة وصبغ كيمزاً أو الهيماتوكسيلين. في المقاطع النسيجية للتعرف على الطفيليات على مستوى الجنس فقط، نظراً لتنوع شكل الأشواك داخل الأجناس (Lom, 1958; Van As and Basson, 1989).

2-1-2-2: السوطيات *Flagellata*

تتميز الأولى السوطية بشكل رئيس بوجود سوط أو أكثر للحركة. الغالبية منها تكون طفيليات خارجية بينما يمكن العثور على بعضها يتطفل على الأعضاء الداخلية تصيب كل من الأسماك العذبة والبحرية (Bruno *et al.*, 2006). تتكاثر السوطيات بالانشطار الطولي وقد يكون لها طور متكيس ولها دورة حياة بسيطة. تتكاثر عن طريق الانشطار الثنائي الطولي أو دورة حياة ثلاثة المراحل (Martins *et al.*, 2015). يعتبر كل من *Amyloodinium* و *Cryptobia* و *Trypanosoma* و *Piscinoodinium pillulare* و *ocellatum* و *Ichthyobodo spp.* من الأمثلة الرئيسية لهذا النوع:

1-2-1-2-2: طفيلي الد - *Piscinoodinium spp.*

أ- **تصنيف الطفيلي:** بالاعتماد على (Noga and Levy, 2006)

Kingdom: Protista

Phylum: Dinoflagellata

Class: Dinophyceae

Order: Blastodiniales

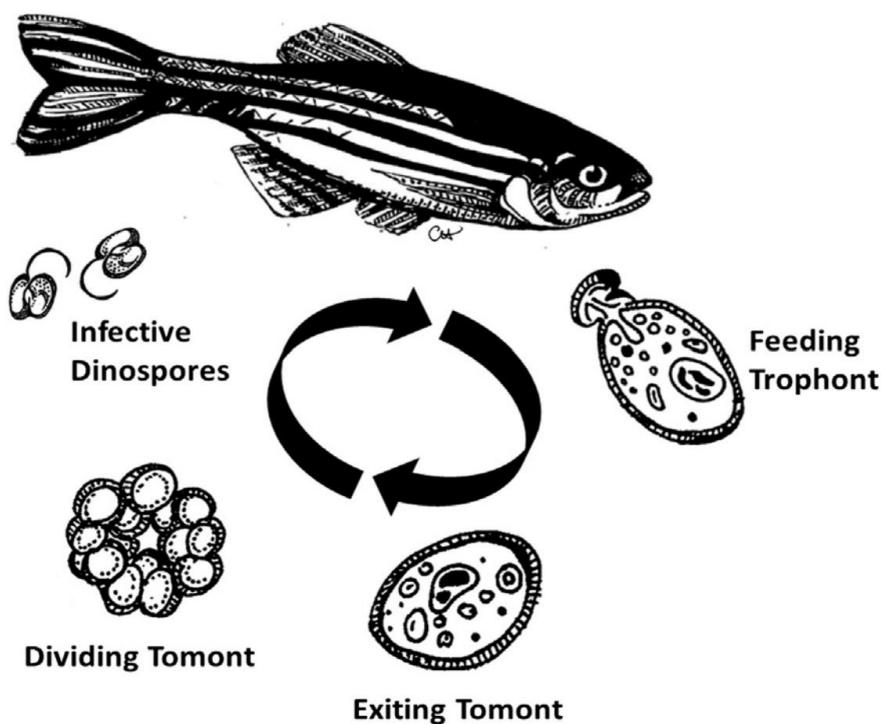
Family: Oodiniaceae

Genus: *Piscinoodinium*

يظهر الطفيلي تحت المجهر بثلاثة أشكال: الشكل الكمثرى، الشكل الموزي، والطفيلي الناضج المستدير ذو اللون البني (Dyková and Lom, 1981). يسبب لمرض "الصدأ" أو "مرض المحمولة في المياه العذبة"، الذي يُعرف بعلامة سريرية مميزة تتمثل في ظهور بريق ذهبي مخمر على جلد السمكة المصابة. توجد مراحل الناشطة لهذا الطفيلي على الخياشيم والجلد والزعفنة للأسماك المصابة، مما يعطيها مظهراً يشبه المholm أو الصداً (Martins *et al.*, 2015). يتميز هذا الطفيلي بانتشاره العالمي ونطاق مضيقه الواسع، خاصة في الأسماك الاستوائية وتحت الاستوائية. علاوة على ذلك، أُبلغ عن وجود الطفيلي في الأسماك الزيينة وأسماك الطعام في الهند أُبلغ سابقاً عن نقشى *Piscinoodinium spp.* (Noga and Levy, 2006). في الكارب الشائع *Oreochromis* *khudree* والماهير *Tor* *carpio* والبلطي *Cyprinus* *mossambicus* على الجلد. يتشبث الطفيلي، مما يسبب نحراً، وتضخماً، واندماجاً في الخياشيم، مما يؤدي إلى صعوبة في التنفس (Martins *et al.*, 2015).

ب- دورة حياة الطفيلي:

دورة ثلاثة المراحل، طور التغذية (Trophont)، طور التكاثر (Tomont)، وطور (Dinospore) على المضييف أو في البيئة المائية. طور التغذية غير المتحرك يلتصق بالمضييف بواسطة الجذور (Martins *et al.*, 2001). طور التكاثر على المضييف يخضع لانقسامات متتالية لإنتاج (Dinospores) حرة السباحة مزودة بالسوط (الشكل 2-2).



الشكل (2-2): دورة حياة طفيلي (Kent and Sanders, 2020) *Piscinoodinium spp.*

ج- الانتقال وطرق الخمج للطفيلي:

يمكن أن ينتقل *Piscinoodinium spp.* عن طريق التلامس بالأسماك المصابة و *Dinospores* من الماء الملوث وأيضاً بواسطة أدوات تربية الأسماك التي لم تُظهر بعد استخدامها. يمثل نقل الأسماك الحية بين مزارع الأسماك وسيلة فعالة لنقل الأمراض الطفيلية المعدية؛ إذ يمكن أن يحتوي الماء مراحل معدية أو مقاومة من الطفيليات، البكتيريا والفيروسات ذات الأهمية الصحية (Martins *et al.*, 2001).

د - تشخيص الطفيلي:

يُستعمل التشخيص التقليدي بعمل فحصات لسطح الجسم والخياشيم ومشاهدتها في المجهر الضوئي لتشخيص الطفيلي في الأسماك. يسمح اكتشاف مرحلة الناشطة بالتشخيص النهائي في الشرائح المثبتة بالكحول الميثيلي لمدة 10 دقائق والمصبوغة بصبغة الكييمزا المخففة أو صبغة اليود لرؤية الحبيبات النشووية. يمكن أيضاً أن يوفر التحليل النسيجي الروتيني تشخيصاً نهائياً بمشاهدة الناشطات الملتصقة على خيوط الخياشيم. ونظراً لأن الإصابات الطفيلية القليلة غير مصاحبة لعلامات سريرية وأمراض في الأسماك، لذلك يجب اعتماد التدابير الوقائية (Martins *et al.*, 2001).

2-2-2: الأولي الداخلية Internal Protozoa

2-2-2-1: طفيلي الأبواغ الخبيثة *Cryptosporidium spp.*

أ. **تصنيف الطفيلي:** بالاعتماد على (Ryan *et al.*, 2021)

Kingdom: Protista

Phylum: Apicomplexa

Class: Sporozoa

Subclass: Coccidiasina

Order: Eucoccidiorida

Suborder: Eimeriorina

Family: Cryptosporidiidae

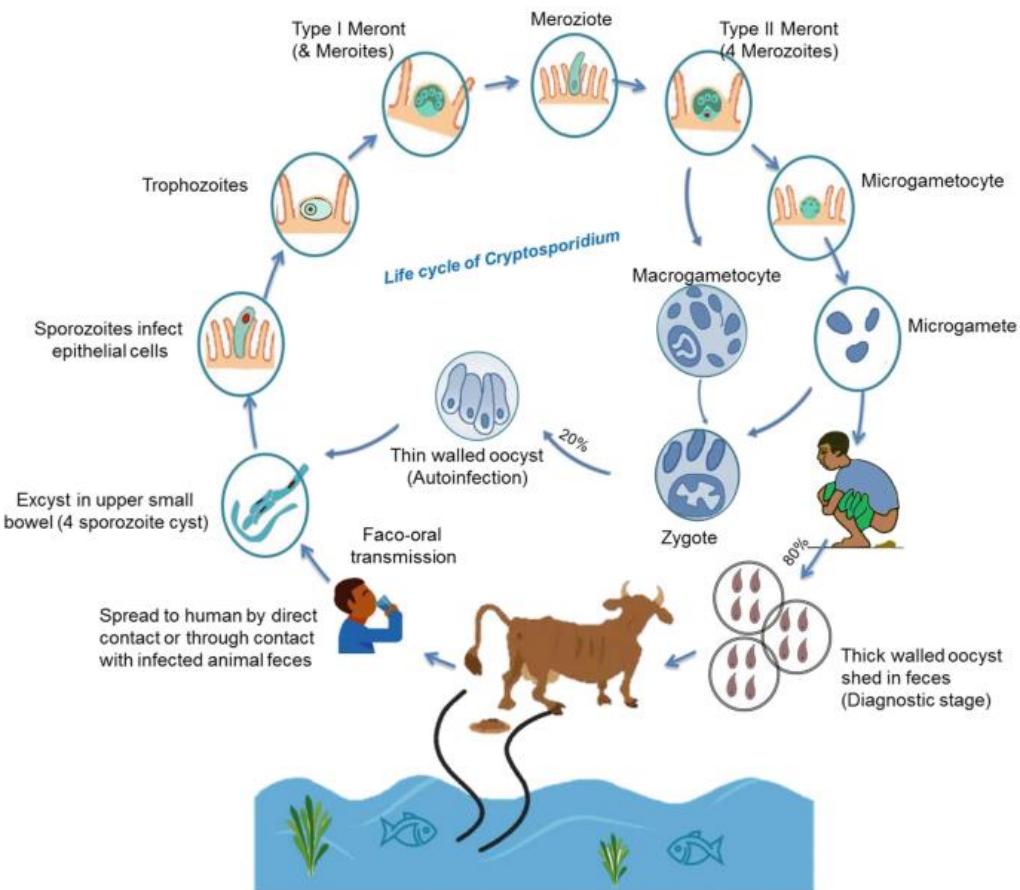
Genus: *Cryptosporidium*

طفيلي الأبواغ الخبيثة من الأولي الواسعة الانتشار يصيب مجموعة كبيرة من الفقاريات، بما في ذلك الإنسان. يُعد داء الأبواغ الخبيثة خمجاً طفيليًّا ينتقل عن طريق المياه والغذاء، ويعتبر أحد الأسباب الرئيسية للإسهال، خاصةً لدى الأشخاص الذين يعانون من ضعف في الجهاز المناعي والأطفال (Slapeta, 2013; Moratal *et al.*, 2020). هناك عدة أنواع من هذا الطفيلي التي تصيب الإنسان والأكثر انتشاراً هما *Cryptosporidium hominis* (يُنتقل أساساً من إنسان إلى آخر) والنوع *C. parvum* (منشأ حيواني)، ولكن هناك العديد من الأنواع الحيوانية الأخرى من الطفيلي مثل *C. canis* و *C. felis* و *C. meleagridis* و *C. hominis* و *C. parvum* هذه الطفيليات شائعة في الأسماك المستزرعة وأسماك الأحواض ويعود استهلاك الأسماك النية المصابة يمكن أن يسبب الإصابة بداء الأبواغ الخبيثة (Ryan *et al.*, 2018; Golomazou *et al.*, 2021).

ب- دورة حياة الطفيلي

يُطرح الكيس البوغي المُكتَوَن في براز المضيف المصايب. يحدث الخمج بتلوث البيئة، الطعام، أو الماء، وتُتبَّع أكياس البيضة (Oocyst). في القناة الهضمية أو الجهاز التنفسي للمضيف، تُطلق البوغيات (Sporozoites) من الكيس البوغي وتصاب الخلايا الظهارية. تُوجد البوغيات والمراحل التطورية اللاحقة على السطح الظهاري للمعى. على الرغم من أن الطفيلي يبدو غالباً ملتصقاً بسطح الخلايا، فإن جميع المراحل تكون داخل الخلايا، محاطة بغشاء الخلية المضيفة ولكنها خارج السيتوبلازم. تتحول البوغيات إلى طفيليّات كروية تُسمى الناشطات

(Trophozoites) تتميز بنواة بارزة واحدة ينتج من الانقسام النووي التكاثر اللاجنسي (Schizogony) تتطور نوعان من المفلوقات (Schizonts) بشكل لاجنسي. يحتوي المفلوق من النوع الأول على ستة إلى ثمانية أنوية تدمج في ستة إلى ثمانية أقسام عند نضج المفلوق ينفجر ويغزو كل بويغ خلية مضيفة جديدة؛ إذ يستمر دورة حياته. وتتميز قسم من الأقسام إلى امتصاص ذكرية وأنوثية، بعد الاصطدام تتكون الأزجة ومن ثم تنضج وتتطور إلى أكياس البيض، تستكمل دورة الحياة في أقل من 3 أيام داخل المضيف الواحد، مما يساعده في الانتشار السريع للطيفي (الشكل 3-2) (Ostrovska and Paperna, 1990).



الشكل (3-2): دورة حياة طيفي الأبواغ الخبيثة (Vanathy, *Cryptosporidium spp.* 2022).

ج- الانتقال وطرق الخمج للطيفي

يمكن أن تصيب الحيوانات بأنواع متعددة من الأبواغ الخبيثة ويمكنها نقل الإصابة إلى الإنسان (Xiao *et al.*, 2004). معظم حالات الأبواغ الخبيثة لدى الإنسان تُعزى إلى النوعين *C. Parvum* و *C. hominis* (Xiao, 2010). الحالات البشرية شائعة في دور الرعاية، ومراكيز رعاية الأطفال، والمدارس، والكليات، وما إلى ذلك (Gharpure *et al.*, 2019). على

العكس من ذلك، تكون الحالات الحيوانية المنشأ الأكثر انتشاراً في المناطق الريفية والزراعية؛ إذ يكون التعرض للحيوانات المزرعية مثل الأبقار والماعز والأغنام شائعاً (Gharpure *et al.*, 2019).

د- الإِمْرَاضِيَّةُ وَالعَلَامَاتُ السَّرِيرِيَّةُ لِلْطَّفِيلِيِّ:

يتطفل طفيلي الأَبُواغُ الْخَبِيَّةُ عَلَى الْخَلَى وَيُصَبِّبُ بِشَكْلِ رَئِيسِ الْحَدُودِ الْزَّغَابِيَّةِ الْدَّقِيقَةِ لِظَهَارَةِ الْجَهَازِ الْهَضْمِيِّ. عَلَى الْعَكْسِ مِنْ الْمَوْقِعِ فَوْقِ الْخَلُوِيِّ لِأَنْوَاعِ الطَّفِيلِيِّ مِنِ الْفَقَارِيَّاتِ الْأُخْرَى، فِي حَالَةِ أَنْوَاعِ الطَّفِيلِيِّ السَّمْكِيَّةِ، يَحْدُثُ تَكَاثُرٌ لِلْطَّفِيلِيِّ عَمِيقاً دَاخِلَ الظَّهَارَةِ- (Alvarez- Pellitero *et al.*, 2004; Palenzuela *et al.*, 2010; Ryan *et al.*, 2015) تَعْتمَدُ إِمْرَاضِيَّة دَاءِ الْأَبُواغِ الْخَبِيَّةِ عَلَى حَسَاسِيَّةِ الْمُضِيفِ وَاسْتِجَابَتِهِ ضِدِ الطَّفِيلِيِّ. فِي بَعْضِ الْحَالَاتِ، تَكُونُ نَسْبَةُ وَشَدَّةِ الْإِصَابَةِ خَفِيفَةً وَلَا يَظْهُرُ أَيْ تَأْثِيرٌ مَرْضِيٌّ أَوْ يَكُونُ التَّأْثِيرُ خَفِيفاً جَدًّا؛ إِذْ تَظَهُرُ الْأَكِيَّاسُ الْبَوَّاعِيَّةُ مَتَحَلَّةً وَمَحَاطَةً بِرَدِّ فَعْلِ خَلُوِيِّ الْمُضِيفِ، وَفِي حَالَةِ سَمْكِ الْقَارُوسِ الْمُصَابِ بِالْطَّفِيلِيِّ *C. molnari* عَنْدَمَا تَكُونُ الْإِصَابَةُ شَدِيدَةً، تَصَابُ الْأَسْمَاكُ بِالْخَمْولِ، ضَمُورُ الْعَضُلَاتِ وَالْهَزَالُ اِنْخَافَضُ مَعَدَّلَاتُ النَّمُوِّ وَزَيَادَةُ فِي مَعْدَلِ النَّفُوقِ، وَلَوْحَظَ فَقْدَانُ الشَّهِيَّةِ، الْهَزَالُ الشَّدِيدُ أَوْ تَجْوِيفُ الْبَطْنِ الْمُتَوَرِّمِ وَالْإِنْتَفَاجُ الْبَطْنِيِّ. وَالصَّفَاتُ التَّشْرِيُّيَّةُ تَظَهُرُ تَوْسِعَ الْأَمْعَاءِ بِسَبَبِ مَحْتَوِيَّاتِ مَخَاطِيَّةِ، الْغَازَاتِ وَالْبَرَازِ الْأَبِيَضِ (Murphy *et al.*, 2009; Zanguee *et al.*, 2010). يَكُونُ التَّأْثِيرُ النَّسِيجِيُّ الْمَرْضِيُّ لِلْطَّفِيلِيِّ مُشَابِهًا فِي مُعَظَّمِ الْحَالَاتِ؛ إِذْ يَلَاحِظُ نَخْرُ الْخَلَى الظَّهَارِيَّةُ فِي الْأَنْسِجَةِ الْمَصَابَةِ (Baragahare *et al.*, 2011) فِي حَالَةِ دَاءِ الْأَبُواغِ الْخَبِيَّةِ الْمَعْدِيِّ، يَظَهُرُ الطَّفِيلِيُّ بَيْنِ الْغَشَاءِ الْمَخَاطِيِّ فِي الْمَعْدَةِ. وَيَكُونُ التَّهَابُ الْمَعْدَةِ فِي الْأَسْمَاكِ الْمَصَابَةِ، مِنْ خَفِيفٍ إِلَى مَتْوَسِطٍ، اِعْتِمَاداً عَلَى نَوْعِ الطَّفِيلِيِّ (Sitjà-Bobadilla and Alvarez-Pellitero, 2003) عَنْدَمَا يَكُونُ الْتَهَابُ شَدِيداً، قَدْ يَحْدُثُ نَخْرًا فِي الْخَلَى الظَّهَارِيَّةِ الْمَخَاطِيَّةِ فِي الْمَعْدَةِ، وَضَمُورُ غَدِيِّ الْمَخَاطِيِّ وَفَقْدَانُ غَدِيِّ بَيْنِمَا فِي الْأَسْمَاكِ الْمَصَابَةِ بِشَدَّةٍ يَظَهُرُ الطَّفِيلِيُّ بِشَكْلٍ وَاسِعٍ فِي ظَهَارَةِ الْأَمْعَاءِ (Sitjà-Bobadilla and Alvarez-Pellitero, 2003). تَظَهُرُ الْأَمْعَاءُ الْمَصَابَةُ أَيْضًا درَجَاتٍ مُتَفَوِّتَةً مِنَ الْإِذَى، مَعْتَمِدَةً عَلَى شَدَّةِ الْإِصَابَةِ. مَعْ تَغْيِيرِ الزَّغِيبَاتِ الصَّغِيرَةِ وَالْمَسَافَةِ الْبَادِئَةِ الْبَوَّرِيَّةِ فِي مَوْقِعِ تَعْلُقِ الطَّفِيلِيَّاتِ عَلَى الظَّهَارَةِ الْمَخَاطِيَّةِ (Hoover *et al.*, 1981) فِي الْإِلَتَهَابِاتِ الْمُتَوَسِطَةِ، تَلَاحِظُ آفَاتُ مَعْوِيَّةٍ خَفِيفَةً، بَيْنَمَا فِي الْإِلَتَهَابِاتِ وَاسِعَةِ النَّطَاقِ، تُلَاحِظُ آفَاتُ مَعْوِيَّةٍ حَادَةً يُعْطِي مُعْظَمَ السَّطْحِ الظَّهَارِيِّ بِأَكِيَّاسِ بَيْضِ الطَّفِيلِيِّ. وَمَعَ تَقدِيمِ الْإِصَابَةِ، يَحْدُثُ تَغْيِيرٌ لِبَنْيَةِ الْغَشَاءِ الْمَخَاطِيِّ الطَّبِيعِيِّ، مِمَّا يُؤْدِي إِلَى اِنْسَلَاخِ الْغَشَاءِ الْمَخَاطِيِّ لِلْأَمْعَاءِ، مَعْ اِنْتَفَاجِ الْخَلَى الظَّهَارِيَّةِ بِوَاسِطَةِ فَجُوَاتٍ كَبِيرَةٍ حَاوِيَّةٍ عَلَى أَكِيَّاسِ بَيْضِ، سُجَّلَ الطَّفِيلِيُّ فِي الْخَلَى

الظهارية للقناة الصفراوية لسمك الترس، متسبياً تليفاً في القنوات الصفراوية ونخراً للخلايا الكبدية المجاورة (Saraiva *et al.*, 2009). وقد يصاب الكبد أيضاً، إذ يظهر بلون بنيّ شاحب مع آفات التهابية حبيبية شديدة (Yang *et al.*, 2016).

٥- تشخيص الطفيلي

تتوفر طرائق عديدة للكشف عن الطفيلي، في الدراسات المختبرية والميدانية. لكل من هذه الطرائق مزايا وعيوب، مثل مدى الكشف، الحساسية، الخصوصية، التكلفة، وقت المعالجة، مستوى الصعوبة ومتطلبات المعدات (O'Leary *et al.*, 2021).

١- الفحص المجهرى *Microscopy-based methods*

يستخدم الفحص المجهرى عادة للكشف عن أكياس بيض الطفيلي ولكن لا يمكن الاعتماد عليه في تحديد الأنواع وحده بسبب تشابه الصفات الشكلية بين الأنواع. وتعد تقنيات الصبغ مثل (Ziehl-Neelsen) وصبغة الملاكت الأخضر كفؤة في التشخيص.

يستخدم الفحص المجهرى عادة للكشف عن الطفيلي في الماء، الطعام، والبراز (O'Donoghue, 1995). ومع ذلك، فإن تحديد الأنواع المختلفة للطفيلي ليس دقيقاً بما فيه الكفاية، لأن العديد من أنواع الطفيلي تشتراك في الخصائص الشكلية المشابهة (Fall *et al.*, 2003). تُعد صبغة (Ziehl-Neelsen)، المعروفة أيضاً باسم الصبغة الصامدة للحامض (Acid fast stain)، وهي الصبغة المباشرة الأكثر استخداماً (Henriksen and Pohlenz, 1981). الصبغات بويضات وردية اللون لتمييزها عن مكونات البراز (Vohra *et al.*, 2012). الصبغات السلبية مثل الملاكت الأخضر (Malachite Green) تُسْتَعمل لصبغ المادة الخلفية على الشرائح وترك مكونات أكياس البيض غير ملونة (Elliot *et al.*, 1999).

٢- الفحوصات المناعية

تُسْتَعمل الطرائق المناعية للكشف عن أكياس بيض الطفيلي بالاعتماد على الأجسام المضادة الخاصة ومن هذه الطرائق المناعية الشائعة مثلاً الفحص المناعي الإنزيمي (Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)) هو تقنية تُسْتَعمل للكشف عن مستضدات الطفيلي. تعتمد هذه الطريقة على استخدام الأجسام المضادة المرتبطة بإنزيم معين، وعند تفاعل المستضد مع الجسم المضاد، يحدث تفاعل يسبب تغير لون يمكن قياسه باستعمال جهاز قارئ (ELISA) (Ghoshal *et al.*, 2018). وكذلك الفحص المناعي التألفي (Immunofluorescence assay (IFA))؛ إذ تُسْتَعمل هذه

الطريقة أجسام مضادة موسومة بصيغة متالقة للكشف عن أكياس البيض تحت المجهر التالقي. يعتبر الفحص المناعي التالقي من الأساليب الدقيقة للكشف عن الطفيلي (Jex *et al.*, 2008; Smith and Nichols, 2010). والفصل المناعي المغناطيسي (Immunomagnetic separation (IMS)) المغناطيسي على استخدام جسيمات مغناطيسية مغلفة بأجسام مضادة خاصة بالطفيلي. بعد تفاعل أكياس البيض مع الجسيمات، يُستعمل مجال مغناطيسي لفصل البيوض عن باقي العينة (Smith and Grimason, 2003).

3- طرائق تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)

تُعد طرائق تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) من التقنيات الفعالة والدقيقة للكشف عن طفيلي الأبواغ الخبيئة؛ إذ تعتمد على تضخيم الحمض النووي للطفيلي لتحديد وجوده في العينات. ويستخدم تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي (Conventional PCR) لتضخيم جزء محدد من الجين المستهدف إلى عدة ملايين من النسخ القابلة للكشف خلال مذكرة قصيرة باستعمال بادئات (primers) خاصة، ويُكشف عن المنتج بعد انتهاء عملية التضخيم. تُعد هذه الطريقة من الطرائق المعتمدة والحساسة للكشف عن طفيلي الأبواغ الخبيئة، تُستعمل الفحوصات المعتمدة على تقنية (PCR) على نطاق واسع للكشف عن الأكياس البيوض للطفيلي وتحديد الأنواع والأنماط الجينية في عينات بيئية وسريرية مختلفة (Jex *et al.*, 2008; Smith and Nichols 2010). كذلك تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي (Quantitative PCR أو qPCR) ويُستخدم على نطاق واسع في الكشف عن مختلف أنواع مسببات الأمراض في العينات البيئية والسريرية. على عكس (PCR) التقليدي، يسمح (qPCR) بالمراقبة في الوقت الحقيقي لتضخيم الحمض النووي ضمن نطاق ديناميكي واسع. يوفر (qPCR) تحديداً وتحديداً كمياً سريعاً وفعلاً من حيث التكلفة وحساساً لأنواع *Cryptosporidium spp.* يُستعمل (qPCR) للكشف عن النوعين *C. hominis* و *parvum* بشكل منفصل أو مختلط، دون تفاعل تصاليبي مع الأجناس الأخرى (Singh *et al.*, 2016; Hanabara and Ueda, 2016). وتفاعل البلمرة المتسلسل المداخل (Nested PCR) تُستعمل تقنية (Nested PCR) مجموعتين من البادئات (primers)، إذ ترتبط المجموعة الأولى بمتسلسلات خارج الحمض النووي المستهدف، ويُستخدم المنتج ك قالب لمجموعة البادئات الثانية. تزيد هذه التقنية من الحساسية والنوعية بتقليل الرابط غير المحدد الناتج عن المجموعة الأولى من البادئات. استُعمل (Nested PCR) للكشف عن الأكياس البيوض للطفيلي في المياه السطحية والمياه

العادمة وفي عينات البراز والإنسان والحيوان. فضلاً عن تفاعل البلمرة المتسلسل الرقمي القطرى (Droplet Digital PCR) أو (ddPCR)؛ إذ طُورت تقنية (ddPCR) حديثاً لتحسين تقدير الحمض النووي لمختلف مسببات الأمراض في البيئات المعقدة. على عكس (qPCR) التقليدي، يسمح (ddPCR) بتحديد كمية الحمض النووي دون الحاجة إلى منحنيات معايرة قياسية، التي يصعب توليدها بسبب نقص المعايير المرجعية (Baker 2012; Pavšič *et al.*, 2016) على نطاق واسع للكشف عن الطفيلي، إلا أنَّ الدراسات الحديثة أفادت باستعمالها في تقدير الطفيلي في عينات المياه والبراز باستهداف موقع جينية مثل *18SrRNA* وجين الأكتين. أظهرت الدقة العالية لـ (ddPCR) مقارنة بـ (qPCR)، لكن دقة (ddPCR) تقل مع انخفاض تركيز الحمض النووي، في حين أن (qPCR) لم يتأثر.

2-2-2-2: طفيلي الإيميريا *Eimeria spp.*

أ. **تصنيف الطفيلي:** بالاعتماد على (Lee *et al.*, 2001)

Kingdom Protista

Subkingdom Protozoa

Phylum Apicomplexa

Class Conoidasida

Subclass Gregarinina

Subclass Coccidiina

Suborder Eimeriorina

Family: Eimeriidae

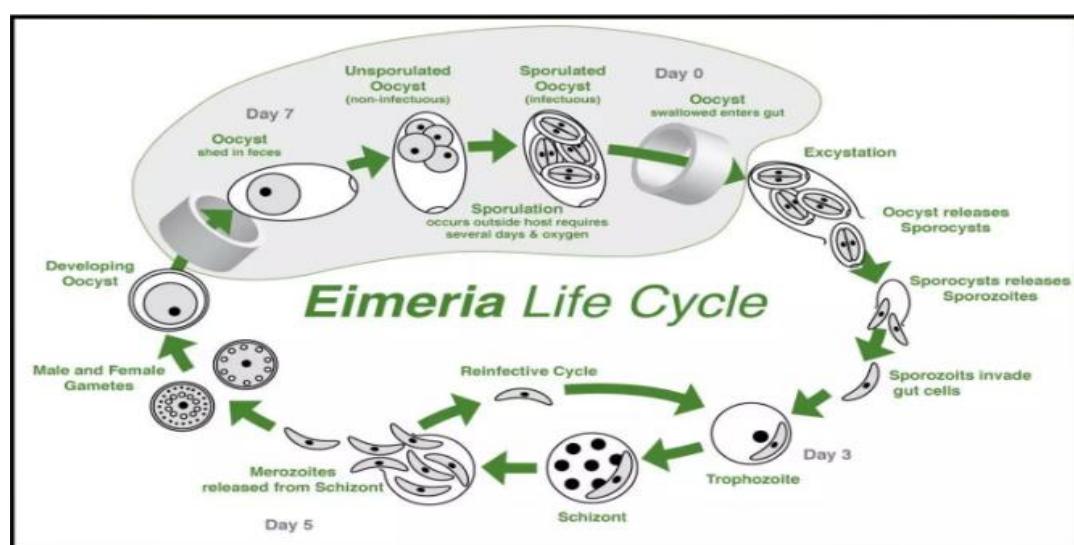
Genus: *Eimeria*

يضم جنس الإيميريا مجموعة واسعة الانتشار من طفيليات الفقاريات المعقدة. لقد حصل تفليبياً استكشاف تنوعها وعلاقتها المتبادلة بالدراسة الشكلية، بمساعدة في السنوات الأخيرة بأدوات التشخيص الجزيئي (Morrison *et al.*, 2004). وهو من الأولى أحادية الخلية التي تنتمي إلى شعبة المعقد الفمي (Apicomplexa) وتعد من الطفيليات الداخلية للفقاريات. هناك العديد من الدراسات على الأنواع التي تصيب الثدييات والطيور بسبب أهميتها الاقتصادية، على عكس أنواع الكوكسيديا بالأسماك لم يتم الاهتمام بها. ومع ذلك، تؤدي هذه الطفيليات دوراً ممِيزاً في النظم البيئية المائية، وقد تؤثر بشكل كبير على صحة الأسماك (Molnár *et al.*, 2012).

تشمل الإيميريا السمية عدة أنواع توجد في الأسماك البحري، والبحرية النهرية، والعلبة ذات الأصل البحري. تعيش هذه الطفيليات داخل خلايا الأمعاء للأسماك وتتكاثر داخلها. تتميز بوجود بويضات تحتوي على أربعة أكياس بوجية، كل منها يحتوي على بوجين (Landsberg and Paperna, 1987; Molnár *et al.*, 2012).

بـ- دورة حياة الطفيلي

دورة حياة الإيميريا مباشرة ولا تحتاج إلى مضيف وسطي (Molnár *et al.*, 2012); إذ تخرج أكياس البيض مع براز الأسماك المصابة وبظروف بيئية معينة مثل الرطوبة ودرجة الحرارة المناسبة تتحفز عملية التبويبغ؛ إذ تنقسم الخلية الداخلية للأكياس (Sporoblast) عدة مرات لتكوين جيل جديد من الأبواغ (Sporozoites) وتصاب الأسماك عن طريق ابتلاع أكياس البيض (Sporulated oocysts) الموجودة في الماء أو عن طريق تناول الطعام الملوث وب مجرد دخول الأمعاء، تتحلل جدران الأكياس بفعل الإنزيمات المعاوية، مما يسمح للبويغيات بالخروج (Excystation) تتحرك البويغيات نحو خلايا الأمعاء للأسماك لتغزوها. يحدث التكاثر اللاجنسي داخل الخلايا الظهارية للأمعاء؛ إذ يتكاثر الطفيلي بالانقسام المتعدد مكوناً العديد من الأقسام. فيما بعد يحدث التكاثر الجنسي بعد اجيال من التكاثر اللاجنسي، تتطور بعض الخلايا الجنسية الأولى إلى أمشاج ذكرية (Microgametes) وأمشاج أنثوية (Macrogametes) يحدث أخصاب لتكوين البيضة المخصبة (Zygote) وبعد عدة انقسامات لها مكونة البويغيات محاطة بغلاف مقاوم للبيئة تخرج الأكياس غير الناضجة مع براز السمك المصايب لتستمر دورة الحياة (الشكل 4-2) (Dyková and Lom, 1981; Landsberg and Paperna, 1987; Molnár *et al.*, 2012).



الشكل (4-2): دورة حياة الإيميريا (Veterinaria Digital, 2019).

ج- الإِمْرَاضِيَّةُ وَالعَلَامَاتُ السَّرِيرِيَّةُ لِلْطَّفِيليِّ

معظم أنواع الإيميريا التي تصيب الأسماك تخمج الأمعاء وخاصة الأمعاء الدقيقة والبعض الآخر في الطحال والكبد وفي بعض الأحيان في أنسجة أخرى (Dyková and Lom, 1981). مجهريا وبعمل مقاطع نسجية من نسيج الأمعاء يمكن مشاهدة مراحل دورة الحياة من امشاج ذكرية وامشاج انثوية والزريحة وأكياس البيض الغير ناضجة متصلة على سطح الخلايا المعاوية. فضلاً عن رؤية المراحل التطورية داخل الخلايا الظهارية للأمعاء مما تحفز التغيرات التنسكية في خلايا المضيف وتؤدي الاصابات الشديدة إلى تمزق الخلايا المصابة واحداث استجابات التهابية، ينتج عنها التهاب معي حاد (Molnár *et al.*, 2012).

3-2-2-2: طفيلي الجيارديا *Giardia spp.*

أ- **تصنيف الطفيلي:** بالاعتماد على (Ryan *et al.*, 2021)

Phylum: Metamonada

Subphylum: Trichozoa,

Superclass: Eopharyngia,

Class: Trepomonadea,

Subclass: Diplozoa,

Order: Giardiida

Family: Giardiidae

Genus: *Giardia*

يعد طفيلي الجيارديا من الأُوالي الداخلية المسوطة وواحدة من أكثر أسباب الإسهال شيوعاً في الإنسان والحيوان (Cacciò and Ryan, 2008). يتميز الطفيلي بشكل يشبه الدمعة؛ إذ تكون النهاية الامامية مستديرة والخلفية مستدقّة، جانبياً، تأخذ شكل الكمثرى مقوسة طولياً إلى جزئين، محدب ظهرياً ومسطح من الجهة البطنية ويحتوي على القرص الماصل or Sucking يساعد الطفيلي في الالتصاق بالغشاء المخاطي للأمعاء، وله ثمانية أسواط تنشأ Adhesive disc من ثمانى جسيمات حركية واقعة امام الحافات الامامية للنواتين، يتراوح طول الطفيلي 12–15 ميكرومتر يصيب غالباً الأسماك البرية أكثر من الأسماك المستزرعة (Feng and Xiao, 2011; Einarsson *et al.*, 2016; Bardhan, 2022).

اجريت أول دراسة من Lasek-Nesselquist وجماعته (2008) حول علم الأوبئة الجزيئي للجيارديا المعاوية في الفقاريات البحرية؛ إذ حُدد الطفيلي في براز ومحتوى أمعاء سمكة

قرش الثريشر *Alopias vulpinus* وفي دراسة أخرى من Yang وجماعته (2010) ووجدت الجبارديا المغوية التجمعات A و B و E في 3.8% في أسماك الأحواض المستزرعة، أسماك مياه عذبة برية، وأسماك بحرية برية مما يشير إلى أن الأسماك مصابة بالفعل وليس مجرد نقلات ميكانيكية. ودراسة أخرى سجلت في مصر نسبة إصابة 3.3% بالطفيلي بالجماعات الحيوانية المنشأ A و B في براز الأسماك المزرعية والبرية (Ghoneim *et al.*, 2012). اجريت في إيران دراسة حول الكشف النسيجي المرضي عن الطفيليات الداخلية في أسماك الزينة في المياه العذبة في هذه الدراسة، لوحظ وجود الجبارديا في أمعاء إحدى أسماك الأوسكار *Astronotus ocellatus* (Nematollahi *et al.*, 2016).

ب- دورة حياة الطفيلي

تتميز الجبارديا بدورة حياة بسيطة؛ إذ تتضمن طورين، الطور الخضري أو الناشطة والطور الكيسي (Cyst)، يحتوي الطور الخضري على نواتين والقرص الماصل، وأربع أزواج من الأسواط. تحدث الإصابة بالجبارديا بابتلاع الأكياس مع الماء أو الطعام ويتحلل الكيس بفعل الوسط الحمضي في المعدة ووجود الصفراء والتربيسين في الثاني عشر؛ إذ تتحول بسرعة إلى الناشطة التي تثبت نفسها بالخلايا الظهارية للأمعاء بفعل القرص الماصل الذي يعد عامل الضراوة (Ankarklev *et al.*, 2010; Dawson, 2010).

ج- الإِمْرَاضِيَّةُ وَالعَلَامَاتُ السُّرِيرِيَّةُ لِلْطَّفِيليِّ

يتسبب هذا الطفيلي بمرض يدعى Giardiasis أو Lambliasis؛ إذ يتسبب الطفيلي بعرقلة عملية امتصاص الدهون والفيتامينات التي تذوب بالدهون وخاصة فيتامين A، مما يؤدي إلى الإصابة بنقص الفيتامينات، و يؤدي وجود الدهون في الغائط إلى الإسهال المستمر المصحوب بكميات كبيرة من المواد المخاطية والشحمية مسبباً الإسهال ذات الطبيعة الشحمية Steatorrhea، هذا الإسهال ليس دموياً لأن الطفيلي لا يغزو الأنسجة (Einarsson *et al.*, 2016). قد تظهر أعراض أخرى مختلفة مثل الآم البطن والضعف العام وقدان الوزن والإسهال، وآلام في البطن من أبرز العلامات السريرية في الاصابات الشديدة، و يؤدي إلى اليرقان (الاصرفان) نتيجة التهاب قناة الصفراء عند غزو الطفيلي لقناة الصفراء اذ يؤدي إلى تنخر جدار القناة وتضيقها ومرور المادة الصفراء إلى الدم، الإسهال الشديد لهذا الطفيلي يحوي 14 مليون طور متغذى بينما الإسهال المتوسط يحوي بحدود 3005 مليون كيس. يصيب هذا الطفيلي الإنسان بمختلف الأعمار ولكنه أكثر شيوعاً في الأطفال وينتقل بسرعة ضمن أفراد العائلة، هذا الطفيلي دائمي؛ إذ إن الإصابة به تستمر أحياناً لعدة سنين (Feng and Xiao, 2011; Einarsson *et al.*, 2016). وداء

الجيارديا وهو من الامراض الواسعة الانتشار يسبب في 280 مليون حالة إسهال سنويًا في جميع أنحاء العالم. من بين أنواعه الثمانية، فقط الجيارديا المعاوية تُعد حيوانية المنشأ، مما يعني أنها يمكن أن تصيب الإنسان (Ryan *et al.*, 2019; Moratal *et al.*, 2020) الجيارديا المعاوية هي نوع معقد يحتوي على ثماني تجمعات مختلفة (A-H)، مع التجمعات A و B المعروفة تقليديًا بأنها تصيب الإنسان، على الرغم من أنه حُددت التجمعات C و D و E و F أيضًا في الإنسان. يُقسم التجمع A إلى ثلاثة أنواع فرعية (AI-AIII)، والنوع الفرعي AII هو الأكثر شيوعًا في الإنسان (Yang *et al.*, 2010; Ryan *et al.*, 2019). تتميز أكياس الجيارديا لمقاومتها بيئيًا، يحدث الخمج عن طريق الماء والطعام الملوث. غالباً ما يعد استهلاك الأسماك الطازجة، أو النية أو غير المطهية جيدًا مصدراً لإحداث الخمج فضلاً عن تلوث مياه الري بالبراز الحاوي على أكياس الجيارديا. ذكر Yang وجماعته (2010) أن الأسماك تعمل كناقلات ميكانيكية مما يجعل استهلاك الأسماك مصدراً جديداً بالجيارديا المعاوية الحيوانية المنشأ للإنسان.

د- تشخيص الطفيلي

يشخص الطفيلي بالكشف عن الأطوار الخضرية أو الأكياس في البراز؛ إذ توجد غالباً الأكياس في الغائط أما الأطوار الخضرية والأكياس معاً في حالات الإسهال الحادة فتُعد طريقة الطفو باستعمال محلول كبريتات الزنك المركز بتركيز 33% مع صبغ الطفيلي بصبغة اليود بتركيز 5-10% الذي يصبح الكلايوكجين الموجود فيه باللون الأبيض منطرائق الجيدة للتشخيص، وتعد الطرائق المناعية للكشف عن المستضد لعينات مصل الدم أو البراز منطرائق الحساسة. وتعد تقنية تفاعل البولمرة المتسلسل (PCR) منطرائق الحساسة والكفاءة للكشف عن الإصابة (Ryan *et al.*, 2019).

4-2-2-2: *Entamoeba spp.* طفيلي

أ. **تصنيف الطفيلي:** بالاعتماد على (Pánek *et al.*, 2016)

Kingdom: Protista

Subkingdom: Protozoa

Phylum: Amoebozoa

Class: Archamoebae

Order: Amoebida

Family: Entamoebidae

Genus: *Entamoeba*

تضم رتبة Amoebida الأنواع الحرة المعيشة من الامبيات التي تعيش إماً في التربة الرطبة أو المياه العذبة أو المالحة أو في القناة الهضمية للحيوانات. ومن ضمن هذه الرتبة عائلة Entamoebidae أوالي تقطن أمعاء الفقريات واللافقاريات ولها طور خضري صغير وفجوات غذائية دون وجود فجوات متقلصة وتنكون لأغلبها أكياس. تُستعمل أنواع *Entamoeba spp.* الأقدام الكاذبة للحركة، وجهاز كولجي المميز شكلياً، والبيبروكسيسومات، والميتوكوندриا التقليدية (Loftus *et al.*, 2005). هناك ستة أنواع من جنس الأمببيا التي توجد في تجويف الأمعاء *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, *Entamoeba poleki*, *Entamoeba coli* and *Entamoeba hartmanni* (Fotedar *et al.*, 2007)

ب- دورة حياة الطفيلي

تتضمن دورة حياة طفيلي الامببيا طورين، الأول يتمثل بالطور الخضري (Trophozoite) الذي يمتاز بحركته السريعة بواسطة الأقدام الكاذبة الاصبعية الشكل ويتراوح قطره بين 10-30 ميكرومتر وقد يصل إلى 60 ميكرومتر بمعدل 20 ميكرومتر. الفجوات الغذائية حاوية على كريات دم حمر ولاسيما في حالة الإسهال الشديد. النواة غير واضحة بالنماذج الحية وهي كروية الشكل وحويصلية التركيب والغشاء النووي مبطن من الداخل بحبيلات كرومانتينية صغيرة منتظمة ومتراسة، النوية صغيرة ومركزية الموضع (Guillén, 2023). أما الطور الثاني فهو طور الأكياس؛ إذ عندما تجد الأمببيا نفسها في وسط غير مناسب لمعيشتها، قبل تكون الكيس يمر الطور الخضري بمرحلة ما قبل الكيس (Precyst)؛ إذ تتوقف عن الحركة وتطرح المواد الغذائية غير المهضومة ويحول الباقى منها إلى أجسام صبغانية قضبانية الشكل غامقة اللون مدوره النهاية (قضبان كرومانتودية Chromatoid). ويفرز غشاء كثيف أو كيس يحفظه من المتغيرات البيئية. تظهر كتلة كلايوجينية (Glycogen mass) تمثل الطعام المخزون للطفيلي ونواة واحدة (Chowdhury *et al.*, 2022). أما الأكياس الناضجة (Mature cyst) فيتراوح قطرها بين 5-20 ميكرومتر وهو كروي إلى بيضاوي ويكون بالبداية ثنائى النوى (Binucleated) ومن ثم يصير رباعي النوى (Quadrinucleated) وقد تختفي الأجسام الكرومانتودية أو تصبح غير واضحة وتستهلك كتلة الكلايوجين بمرور الزمن، تكون الأكياس البالغة مقاومة للانجماد ولكنها حساسة للجفاف والتعفن. ويعُد الكيس الناضج هو الطور الخمج (Infective stage). تعانى النواة داخل الكيس انقساماً واحداً أو أكثر حسب نوع الطفيلي، وعندما يجد هذا الطور وسطاً ملائماً (داخل جسم المضيف بعد الإصابة) يحيط كل جزء من النواة نفسه بجزء من السينتوبلازم ثم ينفجر

الكيس مكوناً الأفراد الصغيرة وتنمو إلى الطور الناشطة (Guillén, 2023). تخرج الأكياس مع البراز وهي تقاوم الظروف غير المناسبة. وعندما يتلوث الغذاء أو الماء بالأكياس مباشرةً أو بواسطة الحشرات فإنها تصل المعدة وهناك يضعف غلاف الكيس ويذوب هذا الغلاف بالأمعاء الدقيقة وتخرج منه ثمانية أفراد صغيرة تسمى (Metacystic trophs) بعد آخر انقسام للأنوية الأربع. وهذه الأفراد تهاجر للأمعاء الغليظة؛ إذ تهاجم الغشاء المخاطي للأمعاء وتتغذى. بعد ذلك تتكاثر بالانشطار مكونةً أفراداً حضريّة جديدة يتحول بعضها إلى طور متكيّس؛ ليطرح خارجاً مع الغائط (Molnár *et al.*, 2012).

ج- الإِمْرَاضِيَّةُ وَالعَلَامَاتُ السَّرِيرِيَّةُ لِلْطَّفِيليِّ

يسبب طفيلي الأنتمبيا خمجاً يعرف بالزحار الأنميبي (Amoebic dysentery) أو الأنميبيا المغوية (Amoebiasis)، ويحتل هذا المرض المرتبة الثانية من حيث الأهمية بين الطفيلييات المسببة للموت في العالم (Pal, 2020)، داء الأنميبيات يسبب عما يقارب 100.000 حالة وفاة كل عام (Pal, 2020; Matar and Neamah, 2021). تنتشر الإصابة في جميع بلدان العالم إلا أنه أكثر وجوداً في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية سيما في المجتمعات المزدحمة التي تفتقر إلى الشروط الصحية. على الرغم من أن الإنسان هو المضيف الوحيد لطفيلي *E. histolytica*، إلا أنه يمكن أن يكون طفيليّاً حيوانياً؛ إذ وجد Ai وجماعته (2021) براز الخيول والإبل والأغنام والماعز.

تظهر الأعراض المرضية للإصابة لـ 10% من المصابين، بينما تبقى 90% من الإصابات بدون أي أعراض مرضية (Asymptomatic) (Tannich *et al.*, 1989). تؤدي عدة عوامل دوراً مهماً في تحديد إمراضية هذه الأنميبيا، منها سوء التغذية (Malnutrition) وتناول بعض الأدوية التي تقلل المناعة. يتصف مرض الزحار الأنميبي بخروج الدم ومواد مخاطية مع البراز، فضلاً عن تقرحات معوية عميقة. تُعد الأمعاء الغليظة الموقعة الرئيس للإصابة بسبب بطيء حركة القولون مما يعطي فرصة لطفيلي لمحاجمة الطبقة المخاطية للأمعاء (Chowdhury *et al.*, 2022).

يحدث التأثير المرضي لطفيلي عند مهاجمته الطبقة المخاطية للقولون (الخلايا الطلائية العمودية في ثنياً ليبركون في القولون). تتلامس الأنميبيا مباشرةً مع الخلية وتلتتصق بها، تقتلها وتبدأ بتحليها، مما يؤدي إلى تحطم الطبقة المخاطية للقولون في موقع الالتصاق. تسهم الجزيئات السطحية في خلايا الطور الخضري لأنميبيا في الارتباط مع بعض البروتينات السكرية (Glycoproteins) الموجودة في الطبقة المخاطية للقولون. بعد الالتصاق، يُحترق الطور

الخضري للطفيلي الطبقة السطحية للغشاء المخاطي، وتنسهل عملية الاختراق بواسطة أنزيمات محللة تطلقها الأميبا (Guillén, 2023).

الإصابة تؤدي إلى نخر مساحة صغيرة قد يصل قطرها إلى سنتيمتر واحد أو أكثر في الطبقة السطحية للغشاء المخاطي، مسببة قرحة (Ulcer) ذات حفافات مرتفعة تحتوي في قعرها على الطور المتغذى وعلى خلايا متحللة. القرح المكونة قد تشفى ذاتياً أو يمتد التقرح في الإصابات المزمنة إلى الطبقة تحت المخاطية، مما يزيد من أعداد الأطوار الخضرية بالانشطار وتكون أشبه بالمستعمرات. هذا يسبب تجلط الأوعية الدموية وقد يؤدي إلى تحطم الأنسجة مسبباً التتخر (Necrosis) وتثقب الأمعاء. تنتشر القرح الأميبية في القولون، وتشمل القولون السيني (Flask shaped Sigmoido-rectal region)، وتأخذ شكل القدح وتسمى القرح بهذا الشكل (Flask shaped ulcers) تتميز القرح بالامتداد العرضي وليس العمودي وقد تصل أحياناً إلى الطبقة العضلية مسببة التهاب البريتون (Peritonitis) ونزف في الأوعية الدموية (Chowdhury *et al.*, 2022). هذه القرح تشفى بالعلاج ولكن قد تسبب أحياناً نمو ورم حبيبي في جدار الأمعاء (Granulomatous growth) في الحالات المزمنة. تنتقل بعض الأطوار الخضرية عبر الوريد البوابي إلى الكبد، تستقر هناك وتتكاثر، ثم تبدأ بتحليل الخلايا محدثة نخراً والتهابات في مناطق استقرارها في جيوب الكبد، غالباً ما يحدث هذا في الفص الأيمن من الكبد، مسببة زيادة حجمه ونخره وزيادة ارتشاح خلايا الدم البيضاء (Chowdhury *et al.*, 2022; Guillén, 2023). تسمى هذه المرحلة بالإصابة الثانوية وتحديداً الأميبا الكبدية (Hepatic amoebiasis) أو التهاب الكبد الأميبى (Amoebic hepatitis). يزداد النخر وقد يتسبب في تليف الكبد مما يضعف عمله، ويظهر اليرقان عندما يصل التقرح للقناة الصفراوية. إذا لم تُعالج، فإن النخر قد يمتد ليصيب أنسجة أخرى مثل نسيج المعدة، جدار البطن أو الجلد، سُجلت حالات نادرة للإصابة بالرئة بالزحار الأميبى (Pulmonary amoebiasis) كإصابة ثانوية نتيجة للنزف الحاصل في القولون؛ إذ تنتقل بعض الأطوار الخضرية إلى الرئة اليمنى وتصيبها بالطفيلي (Pal, 2020).

2-3: الوقاية والسيطرة

تعد السيطرة على الأولي الحيوانية المنشأ في الأسماك تحدياً لأن الأسماك تربى في نظام يعتمد على الظروف البيئية الطبيعية. معظم أمراض الأسماك تسببها تدهور البيئة المائية، والبيئة أيضاً تمثل عاملًا مهمًا يؤثر على صحة الأسماك. ونتيجة لذلك، فإن الاستراتيجيات متعددة التخصصات التي تشمل المعلومات حول مسببات الأمراض المحتملة للأسماك، عناصر بيولوجيا الأسماك، وفهمًا جيدًا للعوامل البيئية ستمكن من تطبيق التدابير المناسبة للوقاية والسيطرة على

الأمراض، هناك عدة طرق واستراتيجيات للوقاية والسيطرة على الأولى (Toranzo *et al.*, 2005).

1-3-2: الطرائق الميكانيكية

أكثر الطرائق مباشرةً للحد من تطور الاصابات الطفيليّة هي قطع دورة الحياة. بالنسبة لبعض الطفيليّات التي لديها مراحل معدية تعيش بحرية، يمكن تحقيق ذلك بالترشيح الميكانيكي المستمر لمياه خزانات الأسماك. يمكن اختيار أحجام شبكات المرشحات لتناسب حجم الطفيلي. على سبيل المثال، طفيلي *Ichthyophthirius spp.* بقطر يصل إلى عدة مئات من микرومتر (Heinecke and Buchmann, 2009)، مما أدى إلى عدم تكوين الكيس ومن ثم عدم إنتاج ما يعادل 1000 طور معدى في غضون 36 ساعة، اعتماداً على درجة الحرارة (Larsen *et al.*, 2005).

اكتد الدراسات أن الحفاظ على جودة المياه العالية أمر بالغ الأهمية للوقاية من الاصابات بالأولي. يمكن للمياه الملوثة أن تجهد الأسماك، مما يجعلها أكثر عرضة للإصابة بالأمراض ويعُد تنظيف وتعقيم البرك بشكل فعال لتعطيل دورة الحياة. تساعد مراقبة معايير المياه مثل مستويات الأمونيا والنتريت والنترات في الحفاظ على الظروف المثلى لصحة الأسماك (Colt, 2006; Clausen *et al.*, 2012; Tran *et al.*, 2019).

2-3-2: العلاج الكيميائي

استعملت صبغة الملاكات الخضراء العضوية بتراكيز منخفضة للقضاء على الطفيليّات مثل *Saprolegnia* من بيوس الأسماك ويرقات الأسماك. وأنها تقتل بفعالية الطفيليّات الهدبية مثل *Ichthyobodo spp.* *Ichthyophthirius multifiliis* والسوطيات مثل *Amyloodinium spp.* و *Piscinoodinium spp.* (Alderman, 1985). وقد أظهرت الدراسات أن هذه المادة سامة للجينات ومسببة للسرطان (EFSA, 2016). بعد حظر الملاكات الخضراء منذ عدة عقود، واستعملت مواد كيميائية أخرى ذات فعالية أقل بكثير متساوية (مثل الملاطيون والباراثيون) سابقاً للقضاء على الطفيليّات الفشرية (Kabata, 1985). ولكن المشاكل البيئية، بما في ذلك السمية للأسماء والعاملين، تحد من تطبيقها. أظهرت الدراسات أنه يمكن التخلص من الطفيليّات الخارجيه على الأسماك بالمياه العذبة عن طريق غمر الأسماك المصابة في تراكيز عاليه من كلوريد الصوديوم. يمكن للإجهاد الأسموزي الناجم عن تغيير الملوحة أن يقتل مجموعة من الطفيليّات الأولى (الأميبيات، السوطيات، الهدبيات) أو ستنمع الملوحة العالية

تطور المراحل اليرقية للأوالي، مما يؤدي إلى كسر دورة الحياة واستنفاد تعداد الطفيلي (Aihua and Buchmann, 2001) وبيّنت الدراسات فعالية استخدام الفورمالين بشكل مباشر في مياه خزانات الأسماك التي تحتوي على الأسماك المصابة الحية في المزارع التقليدية وحتى في بعض الأنظمة المعاد تدويرها. (Madsen *et al.*, 2000; Noga, 2012) القضاء على الطفيليّات مثل (الهديبيات، السوطيات، الأمبيات) (Buchmann and Bresciani, 1997; Noga, 2012) بما في ذلك *Ichthyobodo* و *Amyloodinium* من أسطح الأسماك (Jaafar *et al.*, 2013)، من جلد الأسماك (Buchmann and Kristensson, 2003) والخياشيم (Buchmann and Kristensson, 1988) وتقتل المراحل الحرة المعدية مثل *Diplostomum spp.* و *Ichthyophthirius spp.* في مياه الخزان. (Larsen *et al.*, 2005) وان هناك مركب آخر يستخدم على نطاق واسع هو كبريتات النحاس ذات تأثير قاتل للطفيليّات الخارجية أو المراحل المعدية الخارجية (Lasee, 1995; Ichthyobodo *et al.*, 2012). له تأثيرات سامة موثقة على *Ichthyophthirius spp.* و *Amyloodinium spp.* والطفيلي القشري *Argulus spp.* واستعملت برميغات البوتاسيوم لاغراض مماثلة. (Lasee, 1995; Straus and Griffin, 2001; Noga, 2012) واكدا الباحثون ان ببروكسيد الهيدروجين، بيكربونات الصوديوم، وحمض البيراسيتيك عوامل مؤكسدة قوية تُستعمل على نطاق واسع في أحواض الأسماك كبديل للملكات الأخضر والفورمالين (Rach *et al.*, 2000; Meinelt *et al.*, 2009; Straus and Meinelt, 2010; Jaafar *et al.*, 2013) تُستعمل هذه المركبات لاستحمام الأسماك المصابة وتفاعل بفعالية مع مختلف الطفيليّات الخارجية وتقتل الاطوار الحرة الخارجية مثل ثيرونتات *Ichthyobodo necator* و *Ichthyophthirius spp.*.

2-3-2: المستخلصات النباتية

أجري العديد من الدراسات حول استعمال المستخلصات النباتية للسيطرة على أمراض الأسماك، بما في ذلك الأمراض الناتجة عن الاصابات الجرثومية (Zheng *et al.*, 2009; Madsen *et al.*, 2000; Tedesco *et al.*, 2017) والطفيليّات الخارجية (Diler *et al.*, 2017) وُجد أن الجزيئات المتطايرة في الثوم، الزعتر، الأوريغانو، والكزبرة لها تأثير مؤقت في دراسات داخل المختبر تجريبيا على طفيلي *Ichthyophthirius spp.* في سمك السلمون المرقط (Mathiessen *et al.*, 2021)، وُجد أن مستخلصات الأوريغانو قاتلة لـ (Mizuno *et al.*, 2018) *Ichthyobodo spp.* و *Trichodina spp.* كذلك أظهرت الأدوية

العشبية الصينية مثل الزنجبيل *Zingiber officinale* تأثيراً كبيراً في تقليل الإصابة *I. multifiliis* في سمك الكارب العشبي (Lin *et al.*, 2016).

4-3-2: الأدوية

تُستعمل مجموعة متنوعة من الأدوية لعلاج الطفيليات التي تصيب الأسماك، من أبرز الأدوية المستخدمة مجموعة النيتروإيميدازولات (Nitroimidazoles) فعالة ضد السوطيات والهدبيات، ومضادات الكوكسيديا (Anticoccidials) مثل تولترزوريل (Baycox®) التي تُستعمل ضد الطفيليات الهدبية مثل *Apiosoma spp.* و *Ichthyophthirius spp.* و *Trichodina spp.* وأظهرت تأثيراً وقائياً عند استخدامها في الأعلاف، ولكن نصف العمر الطويل في البيئة يثير مخاوف بيئية (Tokşen and Nemli, 2010; Jaafar and Buchmann, 2011).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and

Methods

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3-1: الأجهزة والأدوات المستخدمة

استعمل عدد من الأجهزة والمواد المختبرية في الدراسة الحالية، ودرج في الجدول .(1-3)

الجدول (1-3): الأجهزة والأدوات المختبرية المستخدمة في الدراسة

المنشأ	اسم الجهاز	ت
Olympus	المجهر الضوئي Compound Microscope	1
Germany, Human scope stereo 110-250v/50-60Hz	المجهر التشريحي Microscopic anatomical	2
Germany	سيت تشريح Dissecting Set	3
Wisd, Germany	جهاز الطرد المركزي Eppendorf microcentrifuge	4
Want, China	ميزان الكتروني حساس Sensitive electric balance	5
Gemmy, Taiwan	حمام مائي Water bath	6
LG, Korea	فرن مایکروویف Microwave oven	7
Thermo, USA	جهاز مزج العينات Vortex shaker	8
BioRad, USA	جهاز المدوار الحراري Thermocycler	9
BioRad, USA	جهاز الترحيل الكهربائي Gel electrophoresis system	10
BioRad, USA	جهاز تصوير هلامنة الأكاروز Gel Doc EZ Gel Documentation System	11
Apple, USA	كاميرا رقمية Iphone 12 pro max Digital Camera	12
China	شرائح زجاجية Microscope Slides	13

China	غطاء شريحة Cover Slides	14
China	ماسات بلاستيكية Transfer Pipettes	15
China	محاقن نبيدة Disposable Syringes	16
China	عدسة القياس العينية Ocular Micrometer	17
China	كوف مطاطية Rubber Gloves	18
China	أطباق بتري Petri Dishes	19
Dragon, China	ماسات متعددة الأحجام Pipettes variable (1000, 100, 10 μ l)	20
Slamed, Germany	ماسة متعددة الأحجام Multichannel pipette	21
Citotest, China	رؤوس ماسات Tips (different sizes)	22
Citotest, China	أنابيب ابندورف Eppendorf tubes 1.5 ml	23
Citotest, China	أنابيب PCR tubes 0.2 ml	24

3-2: تحضير المحاليل والصبغات المستخدمة في الدراسة

الجدول (2-3): المحاليل والصبغات المستخدمة في الدراسة

المادة	طريقة التحضير	ت
محلول السكر المشبع Sheather's Sugar Solution-Sp. Gr. 1.20	حضر بإذابة 500 غم من السكر في 320 مل من الماء المقطر؛ إذ أذيب السكر في الماء بوضعه على نار هادئة مع التحريك حتى اكتمال الذوبان وإضافة 2 مل من 37% فور مالديهاب (Coles, 1986).	1
محلول الملح الفسيولوجي Normal physiological saline	حضر بإذابة 8.5 غم من كلوريد الصوديوم النقي في 1 لتر من الماء المقطر (Coles, 1986).	2
صبغة كمرا Giemsa Stain	تتكون الصبغة من (1.5 غم مسحوق صبغة كمرا، 66 مل كلسيرين و 66 مل كحول اثيلي) تخفف الصبغة بعد تحضيرها بإضافة 1 مل من الصبغة إلى 50 مل من الماء المقطر (Luna, 1968)	3
صبغة اللوكل ايودين	حُضِّرت صبغة اليود بإذابة 10 غم من ايوديد البوتاسيوم في 100 مل من الماء المقطر وأضيف إليها	4

5 غم من مسحوق بلورات الأيدوبين لتحضير 5% من محلول اليود (Luna, 1968)		
Atom Scientific Ltd/ United Kingdom	صبغة الزيل- نيلسن Ziehl-Neelsen Stain	5

3-3: المواد المستخدمة في الدراسة

الجدول (3-3): المواد المستخدمة في الدراسة

الشركة المصنعة والمنشأ	المادة	ت
BDH, England	كحول اثيلي Ethanol % 70	1
BDH, England	كحول مثيلي Methanol % 100	2
Addbio, Korea	عدة استخلاص الحامض النووي AddPrep Tissue Genomic DNA DNA Extraction Kit	3
Addbio, Korea	محلول مزيج التفاعل الرئيسي 2X Master mix	4
Addbio, Korea	ماء خاص بتفاعل البمerra المتسلسل PCR grade water	5
Addbio, Korea	المؤشر DNA ladder (100 bp) GeneDirex H3, Korea	6
Addbio, Korea	الصبغة الآمنة Gel Red	7
Addbio, Korea	اكاروز Agarose	8
Addbio, Korea	المحلول الدrai للترحيل TBE buffer 10x	9

4-3: جمع العينات

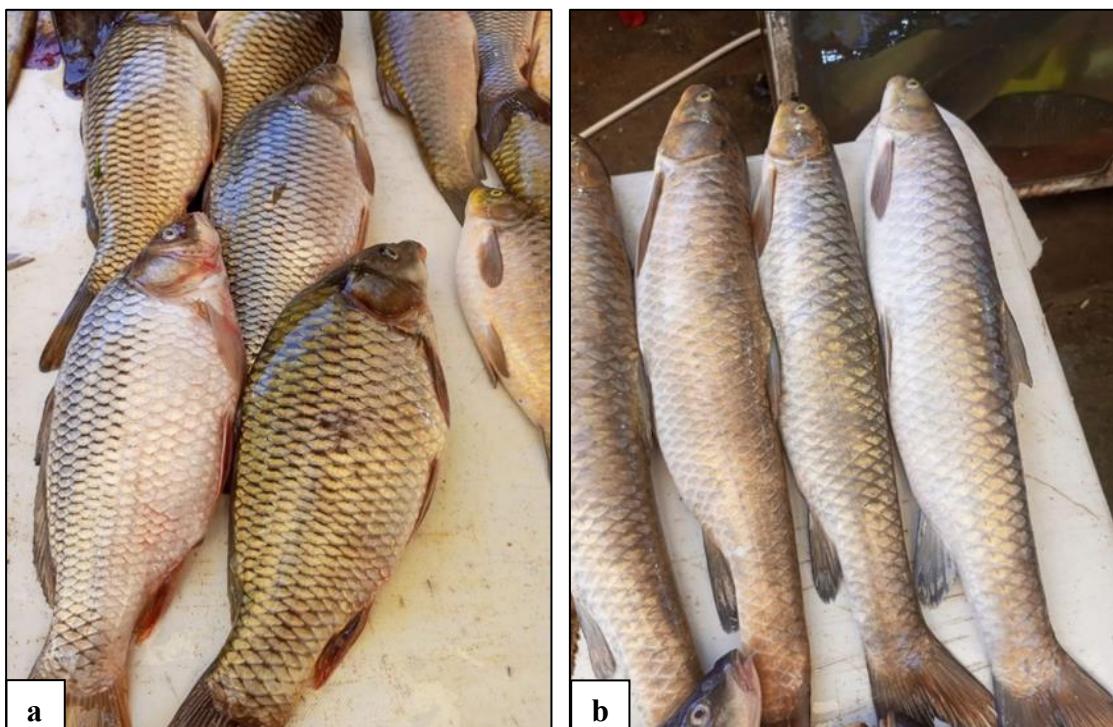
جمعت 200 سمكة حية من الأسواق المحلية من مدينة الموصل وبواقع 3-2 زيارة، بمعدل 9-6 سمك اسبوعياً، للمرة من شهر آب 2023 إلى شهر شباط 2024؛ إذ استعمل صندوق تبريد وأكياس بلاستيكية (الشكل 1-3) لنقل بعض مياه النهر المحتوي عليها ومن ثم نقلها إلى مختبر الطفيليات في كلية الطب البيطري في جامعة الموصل لغرض التحري عن إصابتها بالأوالي فقد استند على (Brown *et al.*, 1986; Nepszy, 1988). وصنفت الأسماك اعتماداً على كتاب أسماك المياه العذبة في العراق (Coad, 2010).



الشكل (1-3): يُوضّح الأدوات المستخدمة في نقل عينات الأسماك.

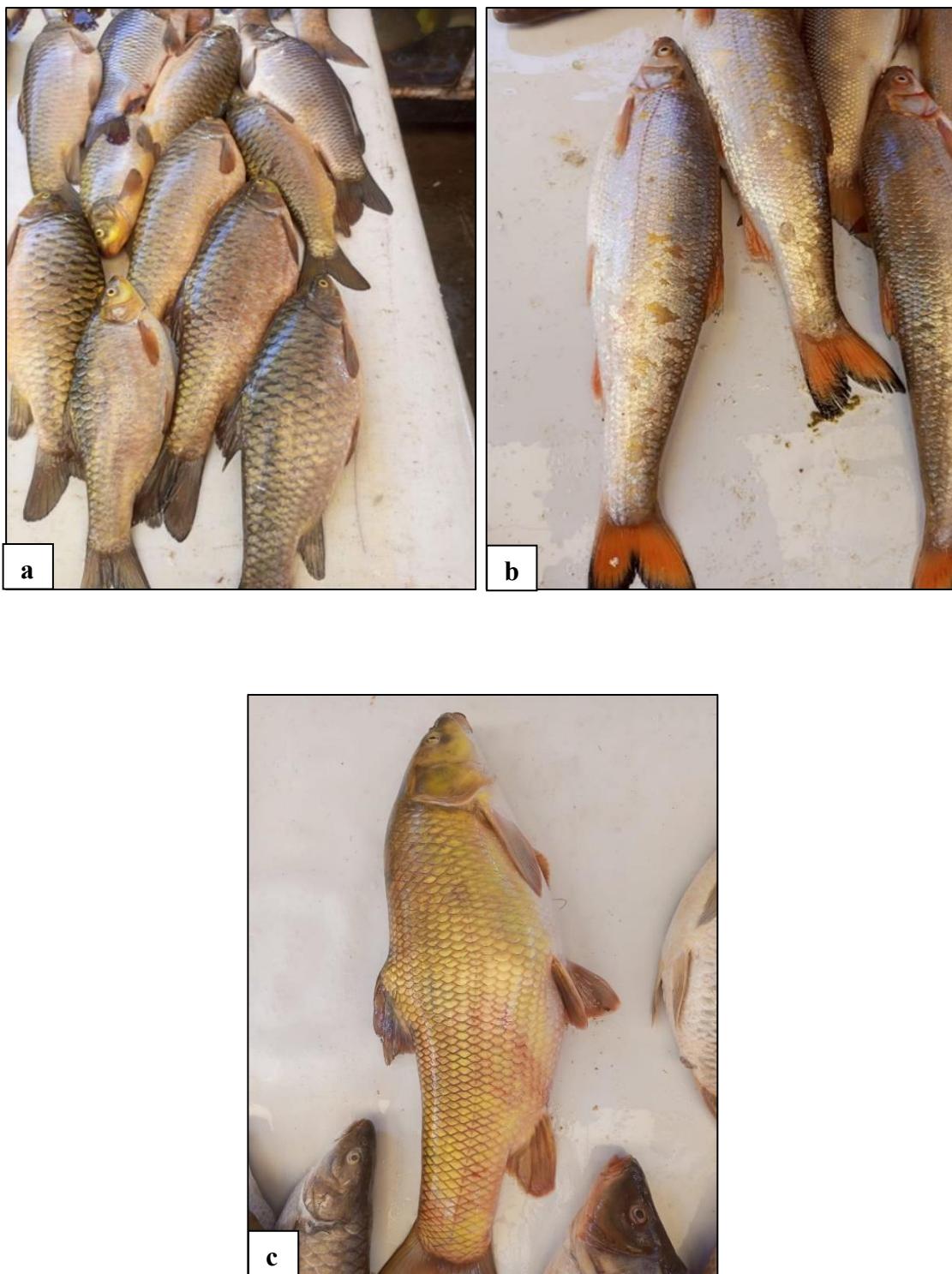
إذ جُمعت وفُحصت 200 عينة لخمسة أنواع من الأسماك الآتية وبواقع:

- 56 من نوع الشبوط *Arabibarbus grypus*
- 54 من نوع الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio*
- 35 من نوع البني *Mesopotamichthys sharpeyi*
- 30 من نوع البلوط الملكي (الزولي) *Chondrostoma regium*
- 25 من نوع الكطان *Luciobarbus xanthopterus*



الشكل (2-3): يُوضّح أنواع الأسماك المحفوظة (a) الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio*

(b) الشبوط *Arabibarbus grypus*



الشكل (3-3): يُوضّح أنواع الأسماك المحفوظة (a) البنّي *Mesopotamichthys sharpeyi*،
 (b) البلوط الملكي (الزولي) *Chondrostoma regium* (c) الكطان *Luciobarbus xanthopterus*

3-5: الفحص المجهرى

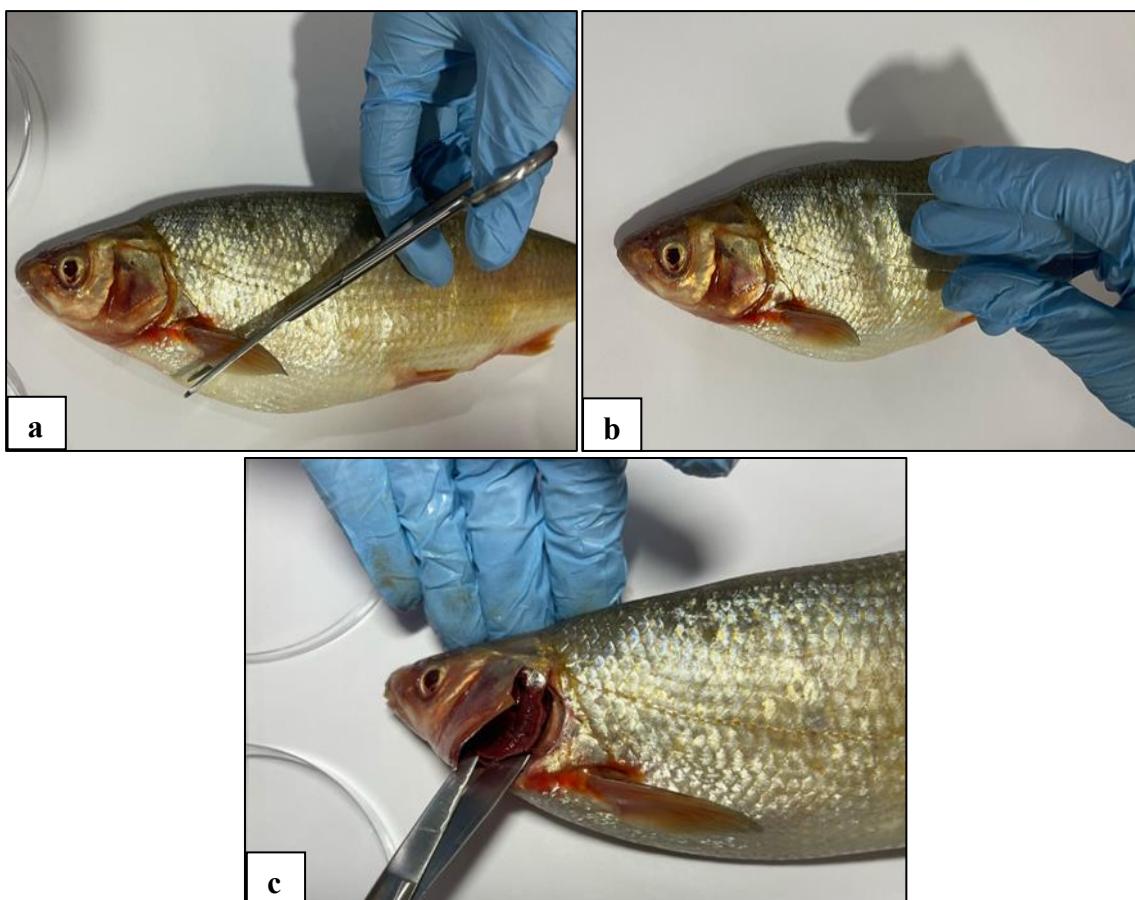
1-5-3: الأولي الخارجية

نقلت الأسماك حية إلى المختبر وقتلت مباشرة بعد ذلك بطريقة الضرب بقطعة خشبية على الرأس. فحصت الأسماك خارجياً بالعين المجردة، ثم عملت مسحات (Smears) من الجلد والزعانف، وبعد ذلك قصّلت الغلاصم من تجويفها الغلصمي ووضعت في طبق بتري يحوي ماء حنفيّة وفحصت بالعين المجردة أولاً ثم عملت مسحات من الغلاصم وفحصت بالمجهر المركب من طراز (Olympus CH) واستعملت قوة تكبير تتراوح بين 40-1000 X ثم صنفت الطفيليّات المعزولة.

عمل قشطات من مناطق مختلفة من جلد السمكة (قشطات مخاطية) وقصّل كل من الزعناف والغلاصم ووضعهم في أطباق بتري لعمل قشطات، وفحصت القشطات باستعمال المجهر الضوئي بقوة X40 للكشف عن الأولي الخارجية.

من أجل دراسة الأنواع الأولي استعملت الطريقة المباشرة للتعرف على معظم العينات، دون استخدام أي تقنيات، وبدلاً من ذلك حضرت مسحة رطبة من مناطق مختلفة من الجسم مثل بقايا الجلد والزعانف والخياشيم، ووضعها على شريحة مجهرية ثم نشرت بعناية باستعمال غطاء الشريحة. بعد ذلك، وأخذت القياسات المميزة في الاعتبار لكل نوع من الأولي باستعمال المقياس العيني (Amlacher, 1970) وفقاً لطريقة (Ocular micrometer).

في الحالات التي عثّرنا فيها على *Trichodina spp.*، كان تُحضر المسحات ومن ثم تثبيت الشرائح باستعمال كحول الميثيلي المطلق لمدة 1-2 دقيقة. أعقب هذه الخطوة صبغ جيمزا بتخفيف 1:10 لمدة 40-30 دقيقة، ثم غسلت وجففت مرة أخرى حسب طريقة (Shuaib and Osman, 2015).

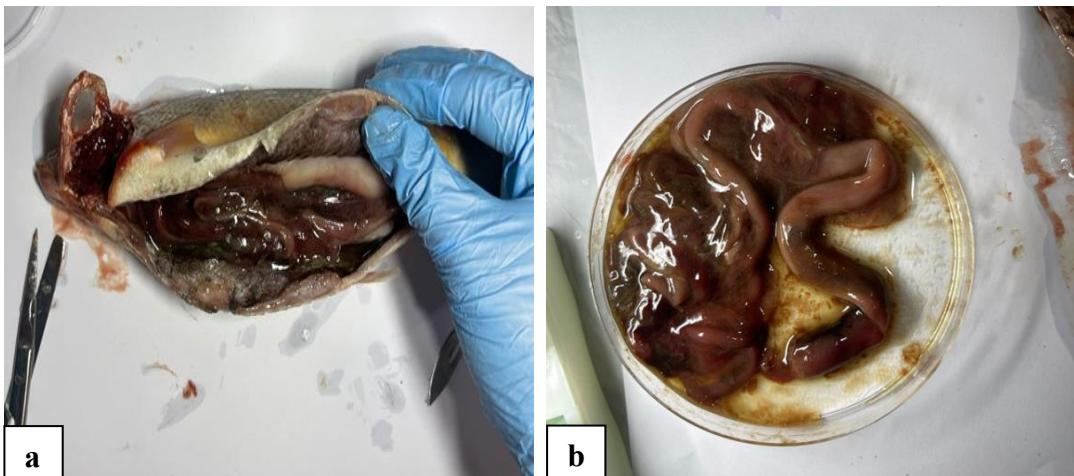


الشكل (4-3): طريقة عمل فشطات رطبة (a) الزعانف، (b) الجلد، (c) الغلاصم.

3-5-2: الأولي الداخلية

شُرّحت السمكة بعمل شق طولي في الخط الوسطي البطني والممتد من بداية رأس السمكة حتى نهاية فتحة المخرج ثم عمل شق آخر يمتد من نهاية الشق الأول حتى غطاء الغلاصم بعدها أزيلت القطعة من الجسم. وعزلت المعدة والأمعاء ووضعها بطبق بتري لإجراء الفحص المباشر والتطويف بال محلول السكري.

فصلت القناة الهضمية من منطقة اتصالها بتجويف الفم وفتحة المخرج، فتحت الأمعاء على طولها داخل طبق بتري (Petri dish) باستعمال ملقط ومقص وعملت مسحات منها وفحست محتوياتها باستعمال كل من الطريقة المباشرة تحت المجهر الضوئي بقوة X40 للكشف عن الأولي الداخلية وفُشِّط جدار الأمعاء واستعملت تقنية التطويف بال محلول السكري واللوكل-ايدين وصبغة الزيل- نلسن وصبغة كيمزا.



الشكل (3-5): يُوضّح (a) تشيّح السمكة، (b) عزل الأمعاء الداخلية.

3-6: الدراسة الجزيئية

3-6-1: استخلاص الحمض النووي منزوع الأوكسجين **DNA extraction**
عزل الحمض النووي من عينات الأسماك وفقاً للتعليمات الخاصة بعدة الاستخلاص (genomic DNA extraction kit, AddPrep, South Korea) حيث تم الاستخلاص حسب تعليمات الشركة المصنعة وعلى النحو التالي:

- وضع 20 ملغم من كل عينة مع 200 ميكروليتر من دارئ التحلل (Lysis Buffer) في أنبوب إيبندورف سعة 1,5 مل.
- أضيف 20 ميكروليتر من Proteinase K (20 ملغم/مل) إلى العينات، ثم مزجت بجهاز Vortex وحُضنت العينات في حمام مائي عند 56 درجة مئوية لمدة ساعة.
- بعد مدة الحضانة، وُضعت الأنابيب الحاوية على الخليط في جهاز الطرد المركزي لمدة عشر ثواني لإزالة قطرات من داخل العطاء. بعد ذلك، أضيف 20 ميكروليتر من RNase A (10 ملغم/مل).
- أضيف 200 ميكروليتر من دارئ الارتباط (Binding Buffer) إلى جميع العينات، ثم مزجت جيداً لمدة 15 ثانية حتى تكوين محلولاً متجانساً وحُضنت جميع العينات في حمام مائي عند 56 درجة مئوية لمدة 10 دقائق.
- أضيف 200 ميكروليتر من الكحول الإيثيلي المطلق إلى العينات ومزجت جيداً لمدة 15 ثانية.
- وضع الخليط بعناية في أنبوب عمود الدوران (Spin column)، ثم وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي عند 13000 دورة في الدقيقة لمدة دقيقة واحدة. بعدها تم التخلص من الرشح المتجمد في أنبوب التجميد.

- وضع عمود الدوران في أنبوب التجمیع مرة أخرى وأضیف 500 مایکرولیتر من دارئ الغسل 1، ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي عند 13000 دورة في الدقيقة لمدة دقيقة واحدة. بعدها تم التخلص من الراش.
- أضیف 500 مایکرولیتر من دارئ الغسل 2، ثم وضعتها في جهاز الطرد المركزي عند 13000 دورة في الدقيقة لمدة دقيقة واحدة.
- جفف عمود الدوران عن طريق الطرد المركزي الإضافي عند 13000 دورة في الدقيقة لمدة 1 دقيقة.
- وضع عمود الدوران في أنبوب إیندورف سعة 1,5 مل وأضیف 100 میکرو لیتر من دارئ الشطف (Elution Buffer) وترك الأنابيب لمدة دقيقة واحدة.
- وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي عند 13000 دورة في الدقيقة لمدة 1 دقيقة ومن ثم احتفظ بالحمض النووي عند 20 درجة مئوية لحين إجراء الفحوصات الجزيئية.

2-6-3: الbadies (Primers)

استخدمت الbadies المتخصصة والمذكورة في الجدول (4-3) للكشف عن الطفيلييات التي تم فحصها وتشخيصها مجهرياً من الأسماك.

الجدول 4-3: الbadies الخاصة المستخدمة للكشف عن طفيلييات الأسماك

المصدر	نوع الطفيلي	حجم الناتج (bp)	تسلاسل الbadie' 3' - 5'	الbadie	ت
Mizuno <i>et al.</i> , 2016	<i>Trichodina spp.</i>	1700	AACCTGGTTGATCCTGCC	Tri-F	1
			TGATCCTTCTGCAGGTT	Tri-R	
Kumar <i>et al.</i> , 2022	<i>Ichthyophthirius spp.</i>	1700	ACCTGGTTGATCCTGCCAG	18S-F	2
			CTTCCGCAGGTTCACCTACGG	18s-R	
Certad <i>et al.</i> , 2015	<i>Cryptosporidium spp.</i>	784	GACATATCWTTYAAGTTCTGACC	JerExtF	3
			CTGAAGGAGTAAGGAACAACC	JerExtR	
		588	CCTATCAGCTTGMACGGTAGG	JerIntF	4
			TCTAAGAATTCACCTCTGACTG	JerIntR	

3-6-3: تحضير مزيج التفاعل الرئيسي (Master mix preparation)

حضر المزيج الرئيسي الخاص بالمرحلة الأولى من تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي الخاص بتشخيص طفيلييات *Cryptosporidium spp.* و *Trichodina spp.* و *Ichthyophthirius spp.* لكل عينة كما موضح في الجدول (5-3). حيث استُخدم لكل تفاعل زوج من الbadies المتخصصة التي تمثل جين معين من الجينات المراد الكشف عنها؛ إذ مُزجت المواد المضافة

شكل جيد وزع بحجم 23 مل على أنابيب إيبندورف سعة 0.2 مل. بعد ذلك، أضيف 2 مل ميكروليتر من الحمض النووي المستخلص من العينات وبشكل منفصل في الأنابيب الخاصة بكل عينة؛ ليصبح الحجم الكلي في كل أنبوبة 25 مل ميكروليتر. في حين أضيف 1 مل ميكروليتر من نواتج المرحلة الأولى بدلاً من الحمض النووي في المزيج الرئيس الخاص بالمرحلة الثانية من تفاعل البلمرة المتسلسل العُشّي الخاص بتشخيص طفيلي *Cryptosporidium spp.* (جدول 3-5).

الجدول 5-3: مكونات المزيج الرئيس الخاص بتفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي والعشبي

3-6-4: تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي والعشري

وضعت أنابيب إيندورف الخاصة بالتفاعل في جهاز المدور الحراري Thermocycler, Bio-(Rad, USA) واستخدم البرنامج الخاص بالتفاعل كما هو موضح في الجدول (6-3). حيث تضمن المسخ الأولى عند 95 درجة مئوية لمدة 10 دقائق، ثم خضعت لخمس وثلاثون دورة من المسخ عند 95 درجة مئوية لمدة 45 ثانية، ثم مرحلة ارتباط البادئ (Annealing) بدرجة حرارة معتمدة على نوع البادئ لمدة 45 ثانية، ثم مرحلة استطاله البادئ (Extension) عند 72 درجة مئوية لمدة دقيقة واحدة مع إضافة 5 دقائق من التمديد عند 72 درجة مئوية (جدول 6-3). بعدها رُفعت الأنابيب من الجهاز ووضعت في الثلاجة 4 °م لحين إجراء الترحيل الكهربائي للكشف عن نواتج عملية تضخيم الجين.

الجدول 3-6: خطوات عمل برنامج تفاعل البلمرة المتسلسل

الخطوة	درجة الحرارة °م	المدة المطلوبة	عدد الدورات	ت
المسخ الأولي	95	10 دقائق	1	Primary denaturation
المسخ Denaturation	95	45 ثانية	x35	2
	*	45 ثانية		3
	72	1 دقيقة		4
الاستطالة البادئات		10 دقائق	1	Final extension
التبريد Cooling	4	∞	-	6

* درجة حرارة البادئ الخاص بالـ *Trichodina spp.*

* درجة حرارة البادئ الخاص بالـ *Ichthyophthirius spp.*

* درجة حرارة البادئ الخارجي الخاص بالـ *Cryptosporidium spp.* = 55 درجة مئوية

* درجة حرارة البادئ الداخلي الخاص بالـ *Cryptosporidium spp.* = 55 درجة مئوية

3-6-3: الترحيل الكهربائي في هلام الأكاروز Agarose gel electrophoresis

حضر هلام الأكاروز بتركيز 1,5% وذلك بإذابة 1,5 غم من مسحوق الأكاروز في 100 مل من داري (TBE) 1X (Tris-Borate EDTA buffer) باستعمال دورق زجاجي سعة 250 مل، بعدها رُجَّ الدورق للتأكد من مزج المحلول بالداري، ثم وضع الدورق بفرن المايكروويف لمدة دقيقة ونصف حتى الغليان بعدها ترك ليبرد، وقبل التصلب أضيف 3 مایکرولیتر من الصبغة (GelRed, Addbio, South Korea) ومزجه جيداً، ومن ثم صب في القالب (Casting tray) الخاص بجهاز الترحيل الكهربائي الذي يحتوي على المشط (Comb)، وترك الهلام ليتصلب لمدة 15-20 دقيقة في درجة حرارة الغرفة بعدها سحب المشط من الأكار المتصلب بعناية تاركاً حفراً فارغاً وجاهزة، بعد ذلك وضع هلام الأكاروز في حوض الترحيل وأُضيف 800 مل من داري (TBE1X) حتى ينغمم هلام الأكاروز بالكامل، ومن بعدها وضع 8 مایکرولیتر من نواتج عملية تضخيم الجين في الحفر المحددة، أما المؤشر (DNA ladder) 100 bp, Addbio, South Korea فقدُ وضع 5 مایکرولیتر منه في الحفرة الأولى الموجودة في هلام الأكاروز. رُبط مجهز الفولتية وبمقدار 80 فولت و300 ملي أمبير لمدة 60 دقيقة. بعد إتمام عملية الترحيل استخرج الهلام ووضعه في جهاز خاص بالتصوير (Gel Doc EZ Gel Documentation System, BioRad, USA) الذي يسلط الأشعة فوق البنفسجية UV للكشف عن نواتج التضخيم وبعدها حُفظت صور النتائج لغرض تحليلها لاحقاً.

3-7: فحص التتابع الجيني DNA sequencing

أرسلت نواتج التضخيم مع البادئات الخاصة إلى شركة ماكروجين الكورية (Macrogen, South Korea) وذلك لمعرفة التتابع الجيني للجين المستهدف بالدراسة لكل نوع من أنواع الطفيليات المدروسة وحسب الجدول (7-3) الذي يوضح عدد العينات المُرسلة؛ إذ استلمت الملفات الخاصة بالتابع الجيني على شكل (Text file). تم إيجاد مدى التشابه والاختلاف بين التسلسلات المستلمة والموجودة في قواعد البيانات الخاصة بالمركز الوطني للمعلومات التقنية الحيوية (NCBI) باستخدام برنامج (BLAST Basic Local Alignment Search Tool) ومن ثم تحليلها باستخدام برنامج تحليل معاذرة التسلسل المتعدد (Multiple sequence alignment) وإنشاء شجرة النشوء والتطور باستخدام برامج خاصة ضمن البرنامج الرئيسي MEGA.11.

الجدول 3-7: عدد العينات ونوع البادئ المُرسلة لغرض التتابع الجيني

نوع البادئ	عدد العينات المُرسلة	نوع الطفيلي	ت
Tri-F	3	<i>Trichodina spp.</i>	1
18S-F	3	<i>Ichthyophthirius spp.</i>	2
JerIntF	2	<i>Cryptosporidium spp.</i>	3

3-8: التحليل الإحصائي Statistical analysis

حسبت النسب المئوية للبيانات في هذه الدراسة؛ إذ تأكينا من وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية باستخدام اختبار مربع كاي للاستقلالية (Chi square) وفي حال وجود اختلافات معنوية بين المجاميع استعمل اختبار (Bonferroni correction) لتبسيط مواضع تلك الاختلافات؛ إذ أجريت الاختبارات جميعها باستخدام برنامج IBM SPSS v27, UK (Petrie and Watson, 2006) عند قيمة معنوية $p \leq 0.05$.

الفصل الرابع

النتائج

Results

الفصل الرابع

النتائج

Results

4-1: نتائج الكشف عن الأُوالي الخارجية

بيّنت نتائج الدراسة أنَّ الأسماك خمجة بأربعة أنواع من الأُوالي الخارجية وهي *Trichodina spp.*, *Ichthyophthirius spp.*, *Piscinoodinium spp.*, *Chillodenella spp.* إذ بلغت أعلى نسبة خمج بطيولي *Trichodina spp.* 19.5% ومع فرق معنوي وتلتها *Ichthyophthirius spp.* وبنسبة 7.5% و*Piscinoodinium spp.* وبنسبة 6.5% على التوالي وأقلّها *Chillodenella spp.* بطيولي. *Piscinoodinium spp.* وبنسبة خمج 3% الجدول (4-1).

الجدول (4-1): يبيّن نسب الخمج الكلية لكل الأُوالي الخارجية في الأسماك الخمجة

نوع الأُوالي	عدد الأسماك المفحوصة	عدد الأسماك الخمجة	نسبة الخمج لكل طفيلي
<i>Trichodina spp.</i>	200	39	% 19.5 a
<i>Ichthyophthirius spp.</i>		13	% 6.5 b
<i>Piscinoodinium spp.</i>		6	% 3 b
<i>Chillodenella spp.</i>		15	% 7.5 b

الحراف المختلفة بين نسب الخمج تدل على وجود فروقات معنوية عند قيمة معنوية $P \leq 0.05$.

يُوضّح الجدول (4-2) وجود فروقات معنوية دالة إحصائياً بين نسب الخمج في أُوالي الخارجية خلال أشهر آب إلى شباط عند $P \leq 0.05$ إذ تراوحت نسب الإصابة بين 32.43% و14.28%؛ إذ بلغت أعلى نسبة خمج في شهر آب وبنسبة بلغت 32.43% وأقلّها في شهر شباط وبنسبة خمج بلغت 14.28%.

الجدول (4-2): عدد ونسبة الأسماك الخمجة بالأوالي الخارجية حسب أشهر الدراسة

أشهر الدراسة	عدد الأسماك المفحوصة	عدد الأسماك الخمجة	نسبة الخمج
آب	37	12	% 32.43 a
أيلول	31	9	% 29.03 a
تشرين الأول	35	9	% 25.7 a
تشرين الثاني	27	6	% 22.22 a
كانون الأول	33	7	% 21.21 a
كانون الثاني	23	4	% 17.39 a
شباط	14	2	% 14.28 a
المجموع / نسبة الخمج الكلي	200	49	% 24.5

الحرروف المختلفة بين نسب الخمج تدل على وجود فروقات معنوية عند قيمة معنوية $P \leq 0.05$.

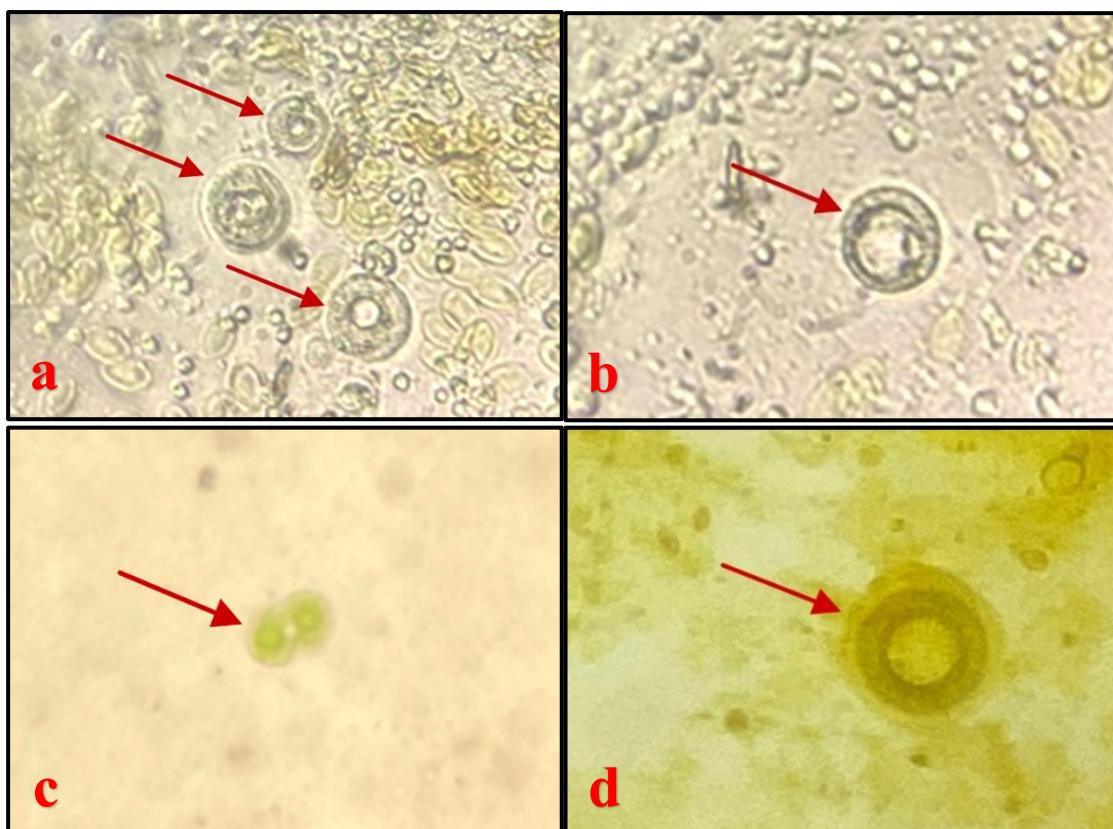
أوضحت الدراسة وبأخذ قشطات خارجية من الجلد والglasma والزعانف؛ إذ تفاوتت أماكن وجود الطفيليات الخارجية؛ إذ عزل طفيلي *Trichodina spp.* من الجلد والglasma والزعانف في حين عزل طفيلي *Ichthyophthirius spp.* من الجلد والزعانف، أمّا كل من *Piscinoodinium spp.* و *Chillodenella spp.* فكانت أماكن وجودهم في الجلد والglasma وكما مثبت في (الجدول 4-3).

الجدول (4-3): يبين موقع إصابة الأوالي الخارجية في جسم السمكة

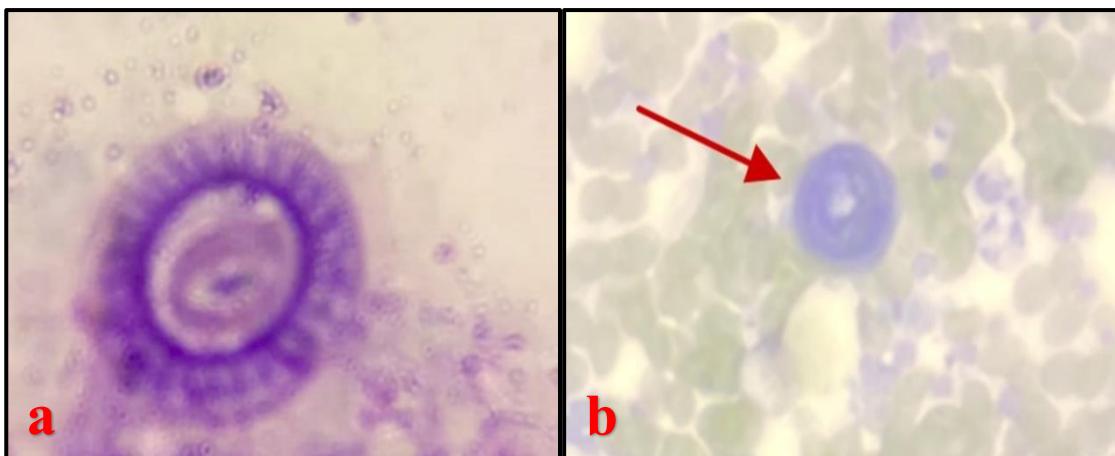
موقع الإصابة			الطفيليات
الجلد	الglasma	الزعانف	
+	+	+	<i>Trichodina spp.</i>
+	-	+	<i>Ichthyophthirius spp.</i>
-	+	+	<i>Piscinoodinium spp.</i>
-	+	+	<i>Chillodenella spp.</i>

4-1-1: نتائج الفحص المجهرى

أظهرت نتائج الفحص المجهرى للأوالي الخارجية بالقسطات الرطبة وبالاعتماد على الصفات الشكلية، إذ ظهر طفيلي *Trichodina spp.* بأشكال كمثرية أو مستديرة حسب نوع الطفيلي، حاوي على العديد من الفجوات الغذائية وكذلك على التواه الكبيرة والتواه الصغيرة، وبلون ذهبي إلى بني، ويتميز بوجود الأهداب التي تحيط بالسطح الخارجي للطفيل. يتراوح قطره ما بين 37-60 ميكرومتر. وحاوي على قرص التثبيت (Adhesive disc) الذي يحتوى هذا القرص أيضًا على تراكيب هيكلية معقدة بشكل ثلاث حلقات متمركزة مع بعضها، الحلقة الخارجية منها تكون بارزة جدًا تدعى بالحلقة المسننة (Denticulate ring) وكما موضح في الأشكال 4-1 و4-2.

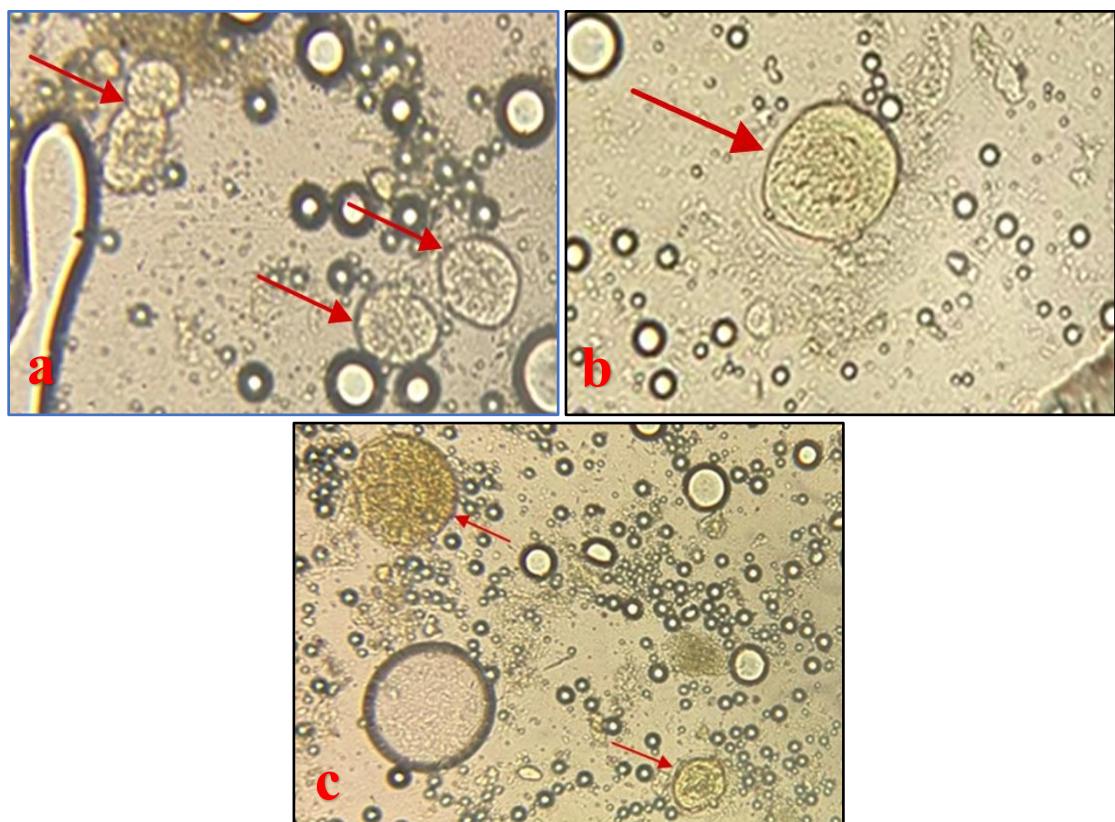


الشكل (4-1): يُوضِّح أنواع طفيلي *Trichodina spp.* في القسطات الرطبة من الجلد تحت قوة تكبير $40\times$. (a,b) في القسطات الرطبة. (c) بصبغة اللوكل ايودين. (d) الانشطار الثنائي للطفيلي.

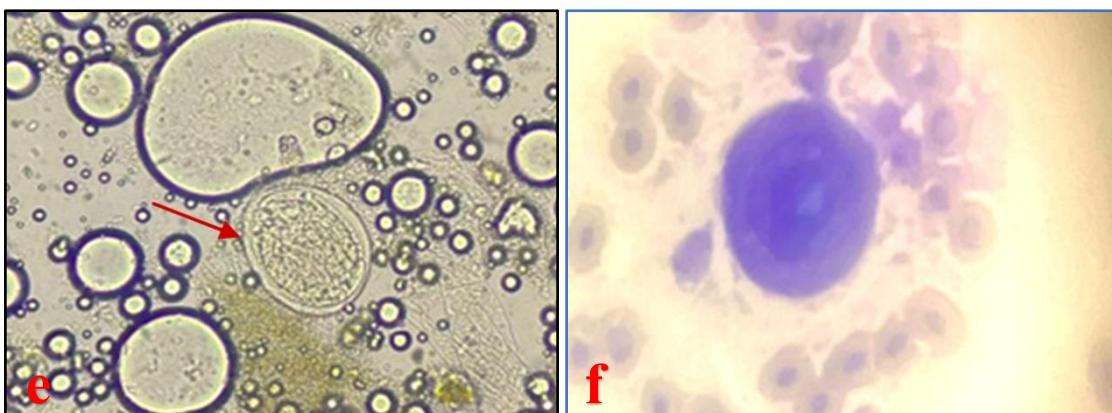


الشكل (2-4): يُوضّح أنواع طفيلي *Trichodina spp.* في القشطات الرطبة من الجلد. (a) الطفيلي المصبوغ بصبغة الكيمزا X100. (b) الطفيلي المصبوغ بصبغة الكيمزا X40.

في حين ظهر طفيلي *Ichthyophthirius spp.* بالقشطات الرطبة بشكل كمثري وبحجم يتراوح من 0.03 إلى 1 ملم. ويتميز بوجود نواتين بداخله إحداهما كبيرة الشكل على شكل حذوة حسان والأخرى دائرية وصغيرة وكما موضح في الأشكال (3-4).

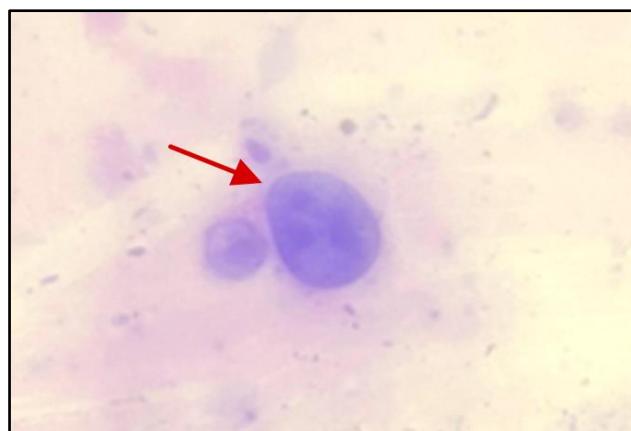


الشكل (3-4): شكل طفيلي *Ichthyophthirius spp.* في القشطات الرطبة تحت قوة التكبير ×40 (a,b) الجلد. (c) الزعناف



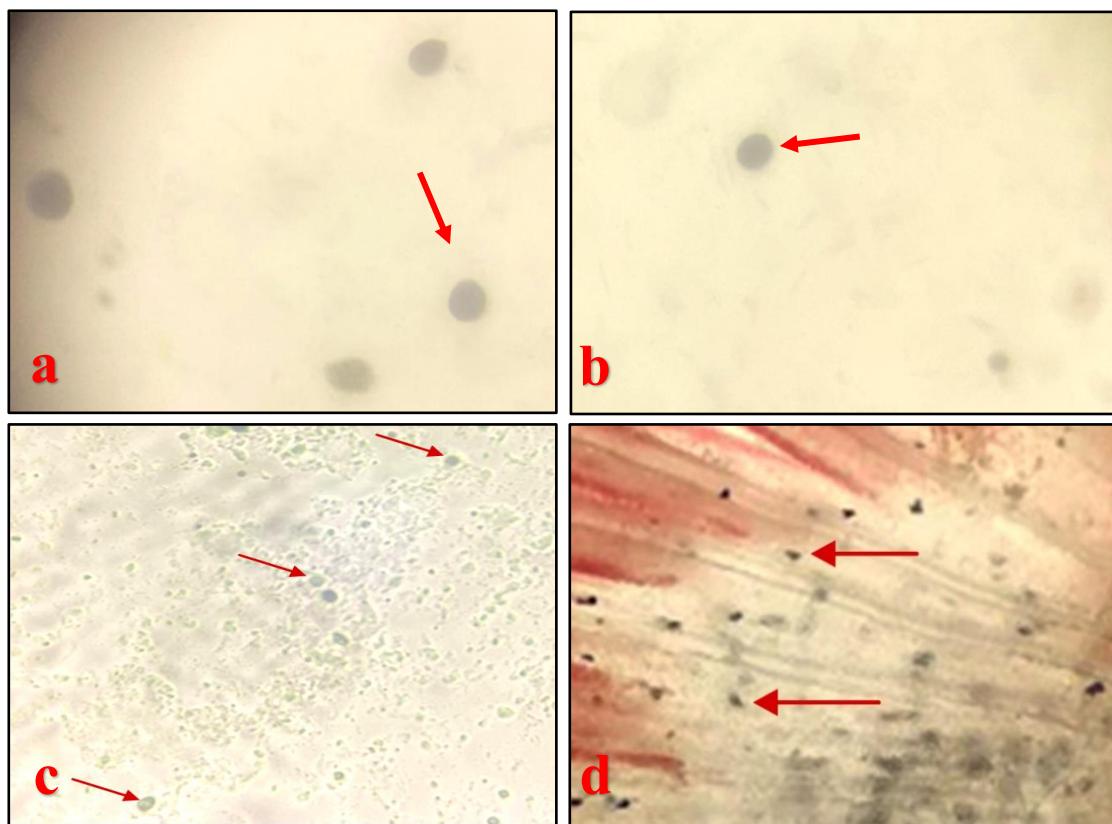
الشكل (4-4): يوضح طفيلي *Ichthyophthirius spp.* تحت قوة تكبير $40\times$ (a) قشطة رطبة مباشرة من الجلد. (b) مسحة مباشرة من الزعناف مصبوبة بصبغة الكيما.

في حين ظهر طفيلي *Chilodenella spp.* في القشطات الرطبة من الغلاصم للأسماك الخجنة على شكل ورقة بيضاوية ومسطحة ظهرياً بطنياً، يحتوي على نواة كبيرة، السيتوبلازم محبب ويحتوي على العديد من الفجوات الصغيرة فضلاً عن فجوتين متقلصتين مهدب. يتراوح حجم الطفيلي $50-70\times 30-40$ ميكرومتر وكما موضح في (الشكل 4-5).



الشكل (5-4): يوضح طفيلي *Chilodenella spp.* في المسحة الرطبة من الغلاصم $\times 100$.

ظهر طفيلي *Piscinoodinium spp.* في القشطات الرطبة من الغلاصم والجلد؛ إذ لوحظ العديد من مرحلة الناشطة بأشكال كمثرية أو مستديرة وب أحجام مختلفة، بلون ذهبي إلى بني، ولوحظ المئات من الطفيلي على شكل مستعمرات باستعمال المجهر التشريري وكما موضح بالشكل (6-4).

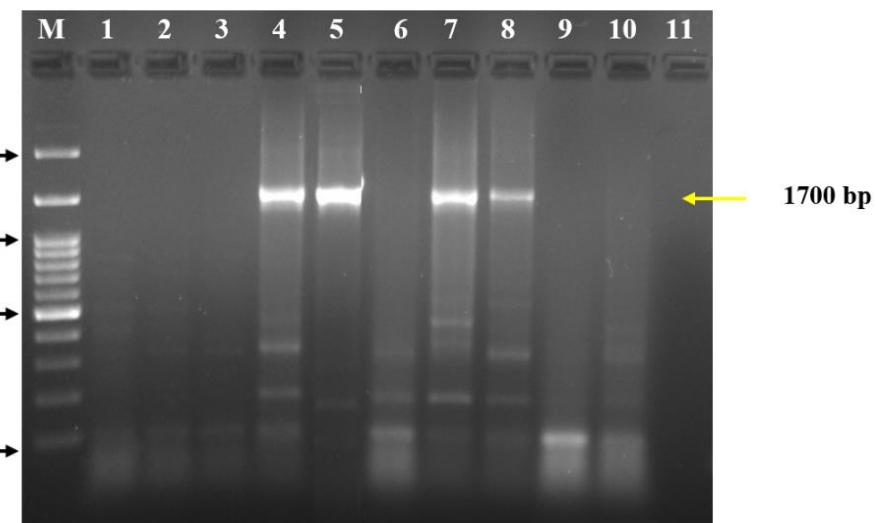


الشكل (6-4): يوضح طفيلي *Piscinoodinium spp.* في القشطات الرطبة (a, b) في الغلاصم (c) في الجلد X10. (d) في الخيوط الغلصمية تحت المجهر التشريري X40.

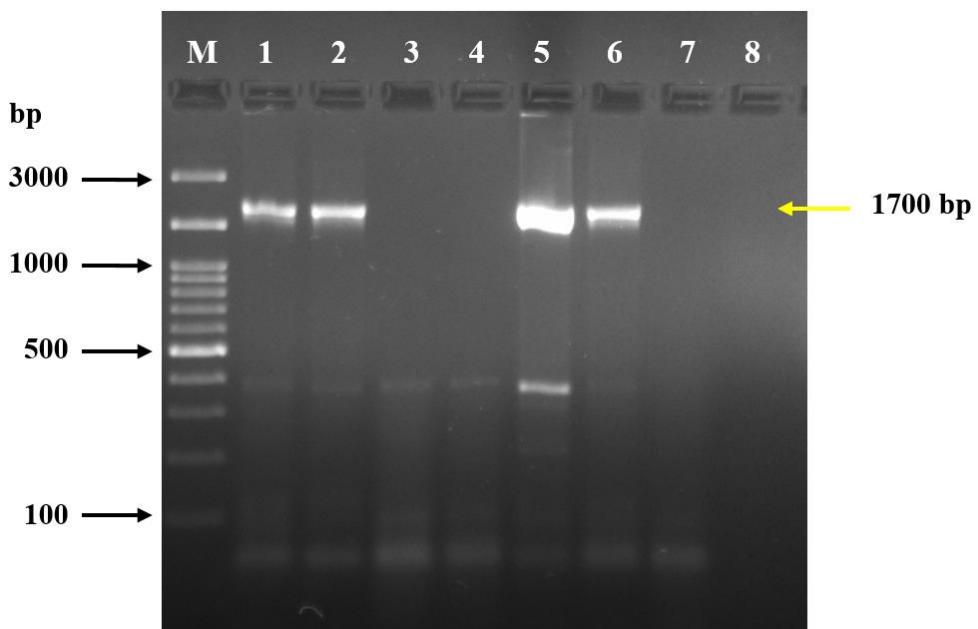
4-1-2: نتائج الدراسة الجزيئية للأوالي الخارجية

4-2-1: نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل

بيّنت نتائج الدراسة الجزيئية للكشف عن النوع *Trichodina spp.* بأن العينات ذات الأرقام 4 و 5 و 7 و 8 في هلام الأكاروز كانت موجبة وبحجم تضخيم 1700 زوج قاعدي، في حين العينات ذات الأرقام 1 و 2 و 3 و 6 و 9 و 10 كانت سالبة، أمّا المسار رقم 11 فتمثل السيطرة السالبة كما موضح في (الشكل 7-4). وأثبتت نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل للتحري عن النوع *Ichthyophthirius spp.* بأنّ ناتج التضخيم للعينات الموجبة 1 و 2 و 5 و 6 كان بحجم 1700 زوج قاعدي، في حين العينات 3 و 4 و 7 كانت سالبة والمسار 8 يمثل السيطرة السالبة كما موضح في (الشكل 4-8).



الشكل (7-4): الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز (1,5%) لنواتج تفاعل البلمرة المتسلسل للكشف عن *Trichodina spp.*: المسار M: يمثل المؤشر حجم 100 زوج قاعدي. المسار 4 و5 و7 و8 يمثل عينات موجبة وبحجم ناتج 1700 زوج قاعدي، المسار 1 و2 و3 و6 و9 و10 يمثل عينات سالبة، المسار 11 يمثل السيطرة السالبة.



الشكل (8-4): الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز (1,5%) لنواتج تفاعل البلمرة المتسلسل للكشف عن *Ichthyophthirius spp.*: المسار M: يمثل المؤشر حجم 100 زوج قاعدي. المسار 1 و2 و5 و6 يمثل عينات موجبة وبحجم ناتج 1700 زوج قاعدي، المسار 3 و4 و7 يمثل العينات السالبة والمسار 8 يمثل السيطرة السالبة.

4-2-1-4: نتائج تحليل التتابع الجيني

سُجلت عُزلتين من الأولي الخارجية في المركز الوطني للمعلومات التقنية الحيوية (NCBI)، أحدهما خاصة بال النوع *Trichodina spp.* بالرقم التسلسلي PQ012982 والأخرى خاصة بال النوع *Ichthyophthirius spp.* PQ012981. كما أظهرت نتائج تسلسل الجين *SSurDNA* لعزلة طفيلي *Trichodina spp.* بعد مطابقتها مع عزلات مسجلة في بنك الجينات العالمي (NCBI) بأن نسبة التطابق كانت 100% مع كل من العزلات OQ940397, OQ940396, OQ940395, OQ940394, OQ940392, OQ940391, OP445703, OP811527, OP811526, OP445708, OP445707, OP445706 كوريا الجنوبية وكما موضح بالجدول (4-4). كما اثبتت نتائج تسلسل الجين *18SrRNA* للعزلة نوع *Ichthyophthirius spp.* بعد مطابقتها مع عزلات مسجلة في بنك الجينات العالمي (NCBI) بأن نسبة التطابق كانت 100% مع كل من KJ690571, KJ690572, KJ690570, KJ690568, KJ690567, KJ690566, KJ690565 في الولايات المتحدة وبنسبة 100% مع العزلات OM865867, OM302501 في الهند والصين على التوالي وبنسبة 99.93% للعزلات MN372056, ON797789, ON797786 في الفلبين والصين على التوالي كما موضح بالجدول (4-5).

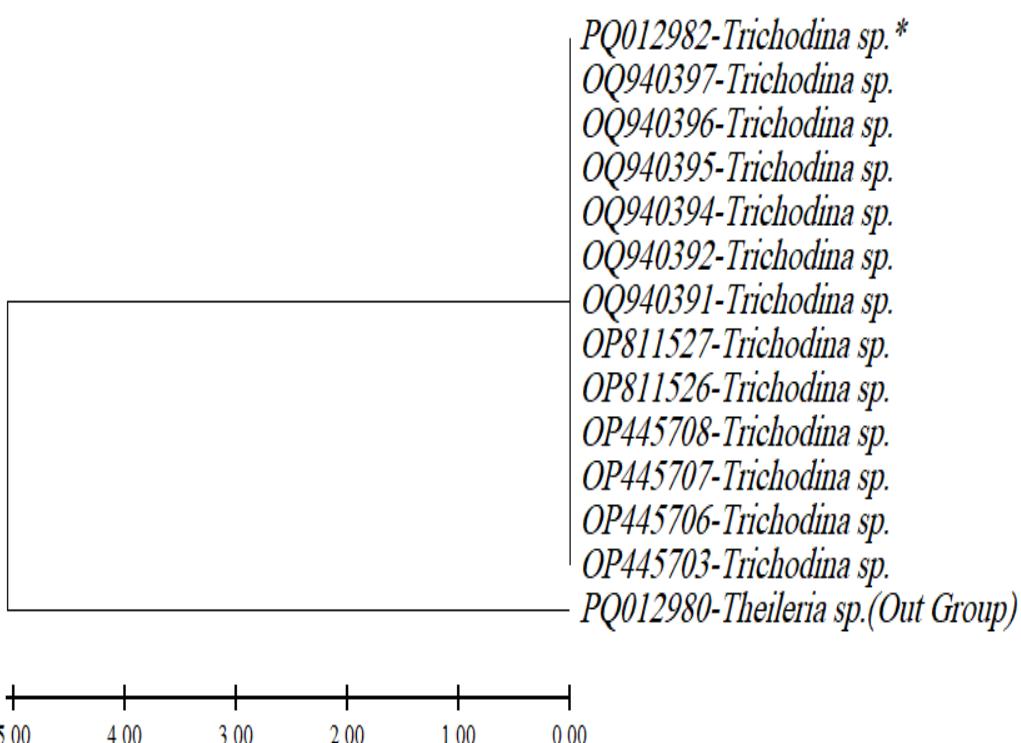
الجدول (4-4): النسب المئوية للتشابه بين العزلة المحلية نوع *Trichodina spp.* مع العزلات الأخرى المسجلة في بنك الجينات العالمي

Sample Accession Number	Parasite Identified	Query Cover %	Sequence identity %	Genbank Accession Number	Country Identification
PQ012982	<i>Trichodina spp.</i>	100	100	OQ940397	South Korea
		100	100	OQ940396	South Korea
		100	100	OQ940395	South Korea
		100	100	OQ940394	South Korea
		100	100	OQ940392	South Korea
		100	100	OQ940391	South Korea
		100	100	OP811527	South Korea
		100	100	OP811526	South Korea
		100	100	OP445708	South Korea
		100	100	OP445707	South Korea
		100	100	OP445706	South Korea

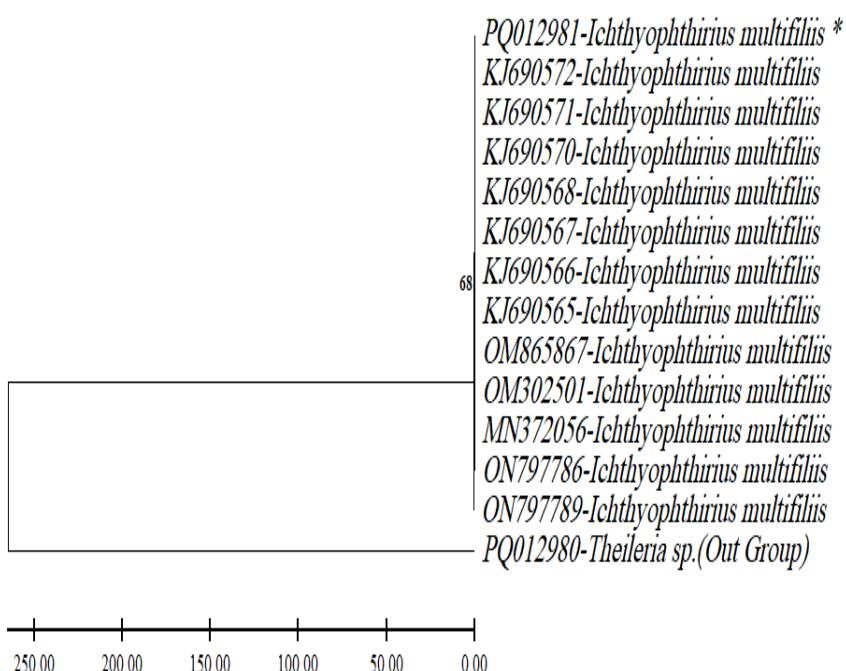
الجدول (5-4): النسب المئوية للتشابه بين العزلة المحلية نوع *Ichthyophthirius spp.* مع العزلات الأخرى المسجلة في بنك الجينات العالمي

Sample Accession Number	Parasite Identified	Query Cover %	Sequence identity %	Genbank Accession Number	Country Identification
PQ012981	<i>Ichthyophthirius spp.</i>	100	100	KJ690571	USA
		100	100	KJ690572	USA
		100	100	KJ690570	USA
		100	100	KJ690568	USA
		100	100	KJ690567	USA
		100	100	KJ690566	USA
		100	100	KJ690565	USA
		100	100	OM865867	India
		100	100	OM302501	China
		100	99.93	MN372056	Philippines

بيّنت نتائج شجرة النشوء والتطور الوراثي بأن العزلة المحلية نوع *Trichodina spp.* تقع ضمن العزلات التي تم تشخيصها في كوريا الجنوبية والمُسجلة في بنك الجينات بالاعتماد على تسلسل الجين 18SrRNA (الشكل 4-9). كما لوحظ من النتائج أيضاً بأن العزلة المحلية أقرب للعزلة ذات الرقم التسلسلي OQ940397، هذا يشير إلى أصل تطوري مشترك لإسلاف هاتين العزلتين (الشكل 4-9). فيما يخص العزلة المحلية نوع *Ichthyophthirius spp.* أظهرت نتائج شجرة النشوء والتطور بوجود تقارب وراثي بينها والعزلات التي تم تشخيصها في الولايات المتحدة الأمريكية والهند والفلبين والصين والمُسجلة في بنك الجينات (الشكل 4-10). كما بيّنت النتائج أيضاً بوجود علاقة تطورية مطلقة (100%) بين العزلة المحلية والعزلات ذات التسلسلات OM302501 و OM865867 و KJ690572-KJ690565 في الولايات المتحدة الأمريكية والهند والصين، على التوالي. أظهرت النتائج بأن العزلة المحلية أقرب للعزلة ذات الرقم التسلسلي KJ690572 والمعزولة في الولايات المتحدة الأمريكية (الشكل 4-10).



الشكل (9-4): شجرة النشوء والتطور بين العزلة المحلية نوع *Trichodina spp.* مع العزلات الأخرى المسجلة في بنك الجينات العالمي



الشكل (10-4): شجرة النشوء والتطور بين العزلة المحلية نوع *Ichthyophthirius spp.* مع العزلات الأخرى المسجلة في بنك الجينات العالمي

4-2: نتائج الكشف عن الأُوالي الداخلية

أظهرت النتائج أنَّ الأسماك قيد الدراسة خمجة بأربعة أنواع من الأُوالي الداخلية، وكانت *Giardia spp.* و *Entamoeba spp.* و *Eimeria spp.* و *Cryptosporidium spp.* أعلى نسبة إصابة بـ 26.5% و 21.5% و 21.5% على التوالي. بينما كان معدل الإصابة أقل مع *Giardia spp.* و *Entamoeba spp.* و *Cryptosporidium spp.* على التوالي مع عدم وجود فروق معنوية بينهما وكما موضح بالجدول (4-6).

الجدول (4-6): يبين نسب الخمج بالأُوالي الداخلية في الأسماك الخمجة

نسبة الخمج	عدد الأسماك الخمجة	عدد الأسماك المفحوصة	نوع الأُوالي
% 26.5 a	53	200	<i>Cryptosporidium spp.</i>
% 21.5 a	43	200	<i>Eimeria spp.</i>
% 1 b	2	200	<i>Entamoeba spp.</i>
% 3.5 b	7	200	<i>Giardia spp.</i>

الحراف المختلفة بين نسب الخمج تدل على وجود فروقات معنوية عند قيمة معنوية $P \leq 0.05$.

يُوضِّح الجدول (7-4) عدم وجود فروقات معنوية دالة إحصائياً بين نسب الخمج بالأُوالي الداخلية خلال المُدَّة من شهر آب إلى شباط عند $P \geq 0.05$. اذ تراوحت نسب الخمج بين 34.28% و 14.28%؛ إذ بلغت أعلى نسبة خمج في شهر تشرين الأول وبنسبة بلغت 34.28% وأقلها في شهر شباط وبنسبة خمج بلغت 14.28%.

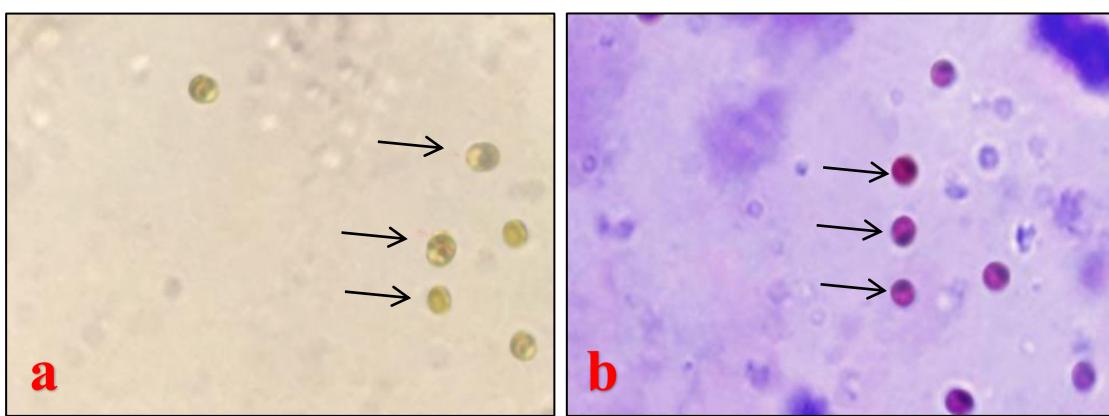
الجدول (7-4): يبين عدد الأسماك الخمجة بالأُوالي الداخلية حسب أشهر الدراسة

نسبة الخمج	عدد الأسماك الخمجة	عدد الأسماك المفحوصة	أشهر الدراسة
% 27.02 a	10	37	آب
% 29.03 a	9	31	أيلول
% 34.28 a	12	35	تشرين الأول
% 29.62 a	8	27	تشرين الثاني
% 24.24 a	8	33	كانون الأول
% 17.39 a	4	23	كانون الثاني
% 14.28 a	2	14	شباط
% 26.5	53	200	المجموع / نسبة الخمج الكلي

يُوضِّح الجدول عدم وجود فروقات معنوية دالة إحصائياً بين نسب الخمج في أولي الطفيليات الداخلية خلال أشهر الدراسة

4-2-1: نتائج الفحص المجهرى

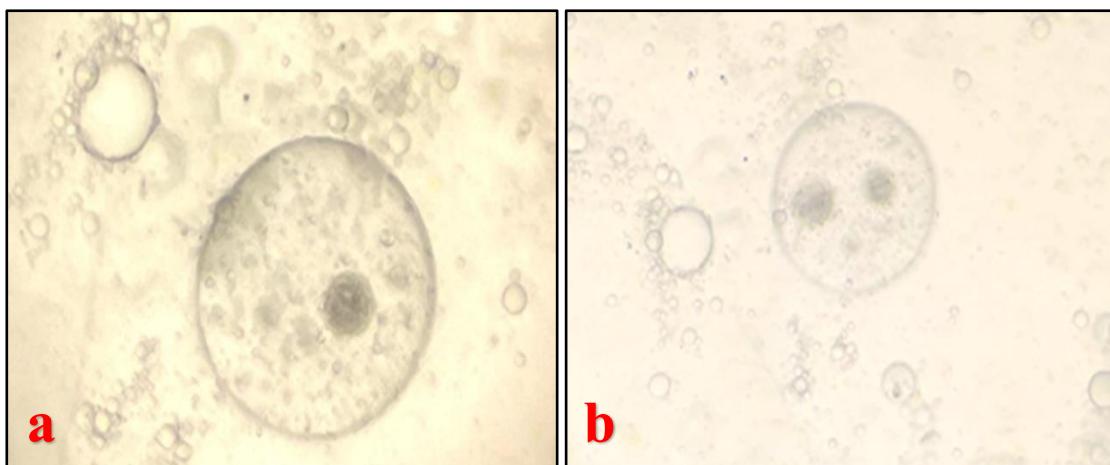
شُخّص مجهرياً بالمسحات المباشرة من قشطات المعدة والأمعاء المصبوغة بصبغة كيمزا واللوكل ايودين وطريقة الطفو باستعمال محلول السكر المشبع؛ إذ أظهرت نتائج الفحص المجهرى بأنَّ أكياس بيض طفيلي الأَبُواغ الخبيثة ذات أشكال كروية أو بيضاوية بأحجام من $3.8 \times 5.5 - 4.6$ ميكرومتر. في حين ظهرت أكياس بيض الإيميريا كروية إلى بيضاوية بحجم 12-19 ميكرومتر. أمَّا الطفيلي *Entamoeba spp.* كروي الشكل فيكون بحجم من 10-18 ميكرومتر، في حين ظهرت أكياس طفيلي الجيارديا بشكل بيضاوي يحتوي على أربع نوى محاطة بجدار واقى 8-12 ميكرومتر وكما موضح بالأشكال (11-4 و 12-4 و 13-4).



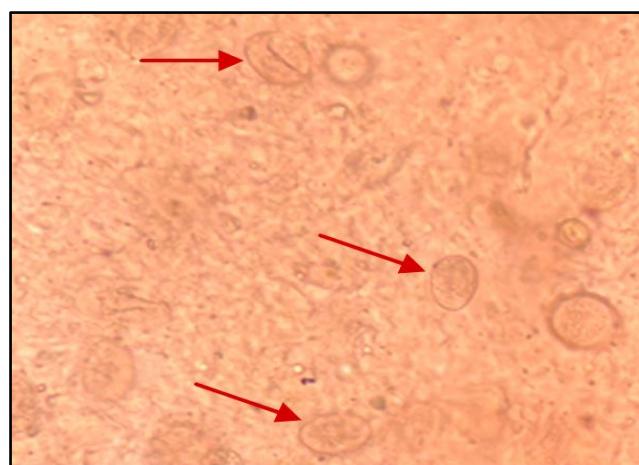
الشكل (11-4): يُوضّح أكياس بيض طفيلي *Cryptosporidium spp.* في براز الأسماك الخامجة (a) بطريقة الطفو بال محلول السكري المشبع باللوكل-ايودين بقوة تكبير X40. (b) بطريقة القشطة المباشرة من جدار المعدة والأمعاء بصبغة الزيل-نلسن بقوة تكبير X100.



الشكل (12-4): يوضح أكياس بيض طفيلي *Eimeria spp.* في براز الأسماك بطريقة الطفو بال محلول السكري المشبع X40.



الشكل (4-13): يوضح أكياس طفيلي *Entamoeba spp.* في براز الأسماك بطريقة الطفو بال محلول السكري المشبع تحت قوة تكبير (a) X40، (b) X100.

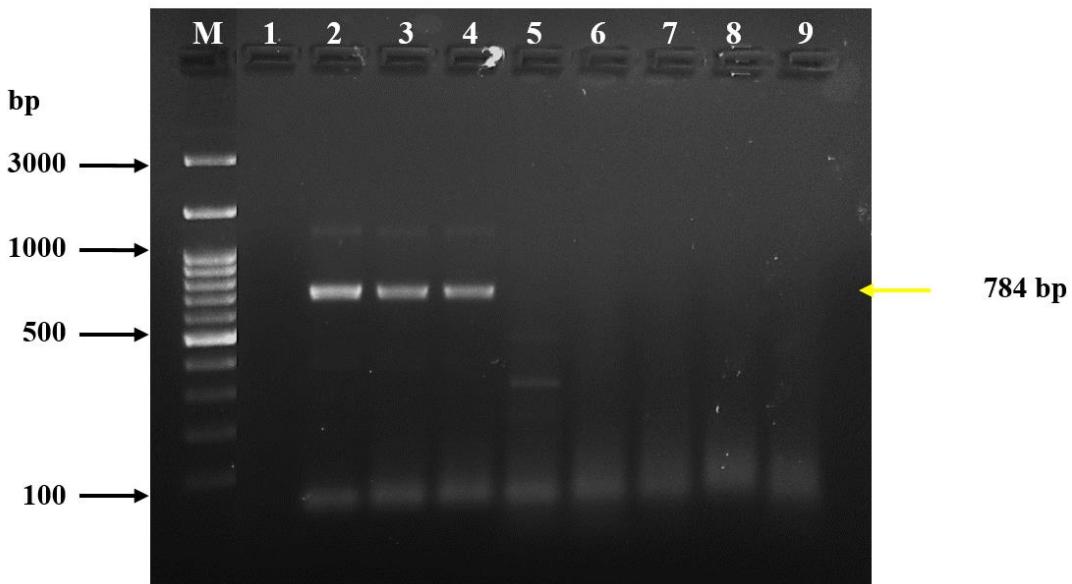


الشكل (14-4): يوضح أكياس طفيلي *Giardia spp.* في براز الأسماك الخمجة بطريقة الطفو بال محلول السكري المشبع باللوكل-ايدين بقوة تكبير X40.

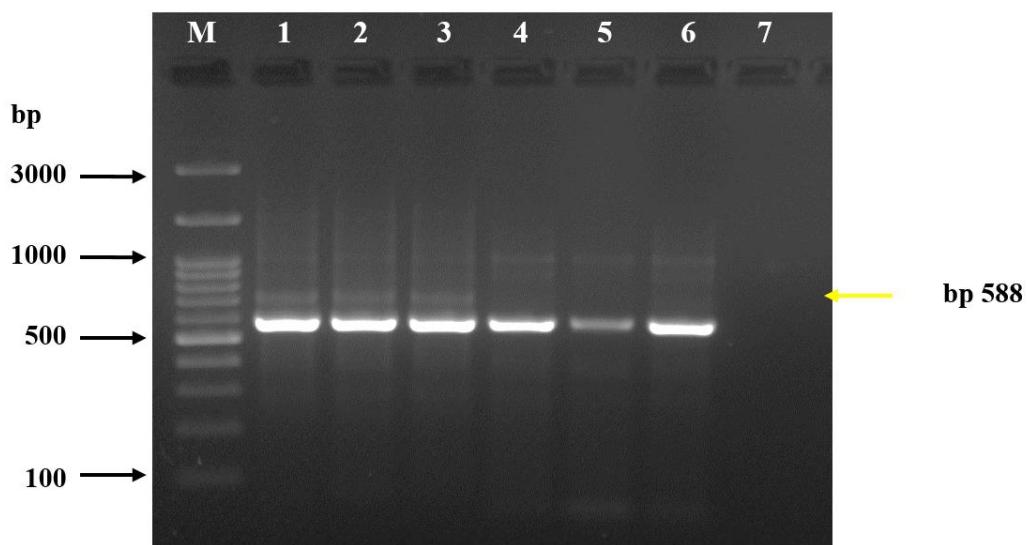
4-2-2: نتائج الدراسة الجزيئية للأوالي الداخلية

4-2-2-1: نتائج تفاعل البُلْمِرَة المُتَسْلِسِل

أثبتت نتائج الدراسة الجزيئية للكشف عن النوع *Cryptosporidium spp.* بأن العينات ذات الأرقام 2 و 3 و 4 في هلام الأكاروز كانت موجبة وبحجم تضخيم 784 زوج قاعدي للبادئ الخارجي، في حين العينات ذات الأرقام 1 و 5-8 كانت سالبة، أمّا المسار رقم 9 فتمثل السيطرة السالبة كما موضح في الشكل (15-4). كانت نواتج التضخيم للبادئ الداخلي الخاص بال النوع ذات الأرقام من 1 إلى 6، بحجم 588 زوج قاعدي للعينات الموجبة ذات الأرقام من 1 إلى 7، في حين المسار 7 يمثل سيطرة سالبة، كما هو موضح في الشكل (16-4).



الشكل (15-4): الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز (1,5%) لنتائج تفاعل البلمرة المتسلسل للبادئ الخارجي الخاص للكشف عن النوع *Cryptosporidium spp.* المسار M: يمثل المؤشر حجم 100 زوج قاعدي، المسار 2 و3 و4 يمثل عينات موجبة وبحجم 784 زوج قاعدي، المسار 1 و5-8 يمثل العينات السالبة والمسار رقم 9 يمثل السيطرة السالبة.



الشكل (16-4): الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز (1,5%) لنتائج تفاعل البلمرة المتسلسل للبادئ الداخلي الخاص للكشف عن النوع *Cryptosporidium spp.* المسار M: يمثل المؤشر حجم 100 زوج قاعدي، المسار 1-6 يمثل عينات موجبة وبحجم 588 زوج قاعدي، المسار 7 يمثل سيطرة سالبة.

4-2-2-2: نتائج تحليل التتابع الجيني

سُجلت أربع عزلات لأنواع *Cryptosporidium spp.* والتي تم تشخيصها من عينات الأمعاء والمعدة للأسماك الخمسة وتأكيدتها بتفاعل البلمرة المتسلسل بالإعتماد على البادي الداخلي. حيث أظهرت نتائج التسلسل الجيني بأن هذه الأنواع هي *C. parvum* و *C. hominis* والتي سُجلت في بنك الجينات العالمي برقم تسلسلي PP593584 للنوع *Cryptosporidium parvum* وبثلاث أرقام تسلسلية PP593585 و PP593586 و PP593587 للنوع *Cryptosporidium hominis*. كما لوحظ من نتائج تطابق العزلات المحلية مع تلك المسجلة في بنك الجينات ومن مختلف أنحاء العالم بأن نسبة التطابق كانت 100% (الجدول 4-8).

الجدول (4-8): النسب المئوية للتشابه بين العزلات المحلية للنوعين *Cryptosporidium hominis* و *Cryptosporidium parvum* مع العزلات الأخرى المسجلة في بنك الجينات العالمي

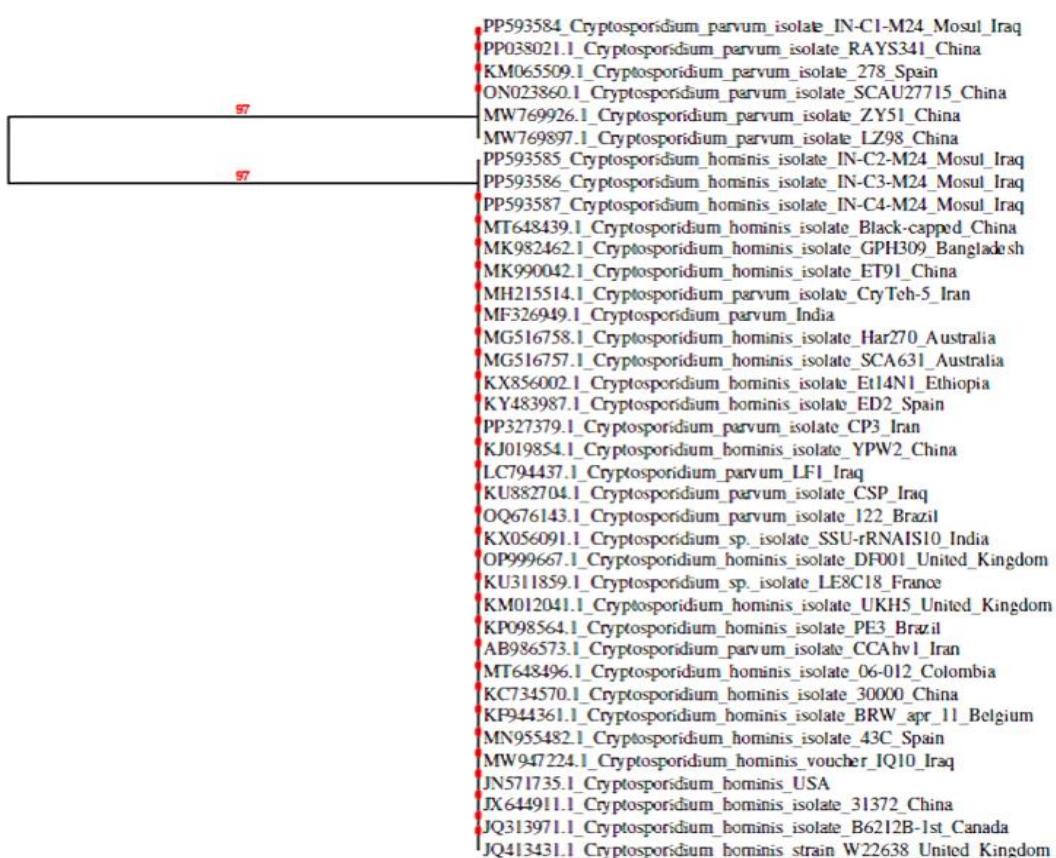
No.	<i>Cryptosporidium parvum</i> PP593584, and <i>Cryptosporidium hominis</i> PP593585, PP593586, PP593587	Gene name	GenBank accession number	Country	Sequence identity %
1	<i>Cryptosporidium parvum</i> isolate RAYS341	Small subunit ribosomal RNA	PP038021.1	China	100
2	<i>Cryptosporidium parvum</i> isolate 278	Small subunit ribosomal RNA	KM065509.1	Spain	100
3	<i>Cryptosporidium parvum</i> isolate SCAU27715	Small subunit ribosomal RNA	ON023860.1	China	100
4	<i>Cryptosporidium parvum</i> isolate ZY51	Small subunit ribosomal RNA	MW769926.1	China	100
5	<i>Cryptosporidium parvum</i> isolate LZ98	Small subunit ribosomal RNA	MW769897.1	China	100
6	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate Black-capped	Small subunit ribosomal RNA	MT648439.1	China	100
7	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate GPH309	18S ribosomal RNA	MK982462.1	Bangladesh	100
8	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate ET91	Small subunit ribosomal RNA gene	MK990042.1	China	100
9	<i>Cryptosporidium parvum</i> isolate CryTeh-5	Small subunit ribosomal RNA	MH215514.1	Iran	100
10	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Small subunit ribosomal RNA	MF326949.1	India	100

11	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate Har270	18S ribosomal RNA	MG516758.1	Australia	100
12	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate SCA631	18S ribosomal RNA	MG516757.1	Australia	100
13	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate Et14N1	18S ribosomal RNA	KX856002.1	Ethiopia	100
14	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate ED2	Small subunit ribosomal RNA	KY483987.1	Spain	100
15	<i>Cryptosporidium parvum</i> isolate CP3	Small subunit ribosomal RNA	PP327379.1	Iran	100
16	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate YPW2	18S ribosomal RNA	KJ019854.1	China	100
17	<i>Cryptosporidium parvum</i> LF1	18S ribosomal RNA	LC794437.1	Iraq	100
18	<i>Cryptosporidium parvum</i> isolate CSP	18S ribosomal RNA	KU882704.1	Iraq	100
19	<i>Cryptosporidium parvum</i> isolate 122	Small subunit ribosomal RNA	OQ676143.1	Brazil	100
20	<i>Cryptosporidium</i> sp. isolate SSU-rRNAIS10	Small subunit ribosomal RNA	KX056091.1	India	100
21	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate DF001	Small subunit ribosomal RNA	OP999667.1	United Kingdom	100
22	<i>Cryptosporidium</i> sp. isolate LE8C18	18S ribosomal RNA	KU311859.1	France	100
23	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate UKH5	18S ribosomal RNA	KM012041.1	United Kingdom	100
24	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate PE3	18S ribosomal RNA	KP098564.1	Brazil	100
25	<i>Cryptosporidium parvum</i> isolate: CCAhv1	18S ribosomal RNA	AB986573.1	Iran	100
26	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate 06-012	Small subunit ribosomal RNA	MT648496.1	Colombia	100
27	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate 30000	Small subunit ribosomal RNA	KC734570.1	China	100
28	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate BRW_apr'11	18S ribosomal RNA	KF944361.1	Belgium	100
29	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate 43C	Small subunit ribosomal RNA	MN955482.1	Spain	100
30	<i>Cryptosporidium hominis</i> voucher IQ10	Small subunit ribosomal RNA	MW947224.1	Iraq	100
31	<i>Cryptosporidium hominis</i>	Small subunit ribosomal RNA	JN571735.1	USA	100
32	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate 31372	18S ribosomal RNA	JX644911.1	China	100

33	<i>Cryptosporidium hominis</i> strain W22638	Small subunit ribosomal RNA	JQ413431.1	United Kingdom	100
34	<i>Cryptosporidium hominis</i> isolate B6212B-1st	Small subunit ribosomal RNA	JQ313971.1	Canada	100

بيّنت نتائج شجرة النشوء والتطور الوراثي بأن العزلات المحلية للنوع *Cryptosporidium spp.* تقع ضمن العزلات التي تم تشخيصها في مختلف بلدان العالم بالاعتماد على نتائج تسلسل الجين 18SrRNA (الشكل 17-4). كما لوحظ من النتائج أيضاً بأن العزلة المحلية نوع *Cryptosporidium parvum* ذات التسلسل PP59358 أقرب للعزلة ذات الرقم التسلسلي PP038021.1 والمشخصة في الصين. في حين كانت العزلات المحلية للنوع PP593585, PP593586, PP593587 ذات الأرقام التسلسليّة *Cryptosporidium hominis* أقرب للعزلة ذات الرقم التسلسلي MT648439.1 والمشخصة في الصين أيضاً

الشكل 17-4



0.3

الشكل (17-4): شجرة النشوء والتطور بين العزلات المحلية للنوعين *Cryptosporidium hominis* و *Cryptosporidium parvum* مع العزلات الأخرى المسجلة في بنك الجينات العالمي.

الفصل الخامس
المناقشة

Discussion

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

تعد الأوالي من أبرز الطفيليات التي تتطفل في أو على الأسماك كونها تمتلك دورات حياة مباشرة ولا تتطلب مضائق وسطية لإكمال دورة حياتها؛ إذ تنتقل هذه الأوالي بسهولة ما بين الأسماك ويُعد التماس المباشر من أبرز طرق انتقال الخمج خصوصاً في المزارع المزدحمة وتُعد الأوالي الخارجية أكثر طفيليات الأسماك إمراضية؛ إذ تسبب الهلاكات في الاصابات الشديدة فضلاً على أنَّ الأوالي الخارجية التي تتطفل على الغلاصم و الجلد مسؤولة عن فقدان الوزن تغيير في سلوك الأسماك، تشوهات في الغلاصم وتأثيرها على التكاثر (Aksoy *et al.*, 2006; Nematollahi *et al.*, 2013).

تضمنت الدراسة الحالية لمعرفة نسبة انتشار الخمج بالأوالي الخارجية والداخلية في 200 عينة من خمسة أنواع من الأسماك *Cyprinus carpio* و *Arabibarbus grypus* و *Luciobarbus* و *Chondrostoma regium* و *Mesopotamichthys sharpeyi* و *xanthopterus* التي تعد الأكثر استهلاكاً في مدينة الموصل، وأنَّ نتائج الفحص المجهرى للدراسة الحالية بأنَّ الأسماك مصابة بأربعة أنواع من الأوالي الخارجية *Trichodina spp.*, *Ichthyophthirius spp.*, *Piscinoodinium spp.*, *Chillodenella spp.* هذه الأوالي المختلفة نسب خمج متفاوتة؛ إذ سجلت أعلى نسبة خمج بطفيلي *Trichodina spp.* 19.5% وبفارق معنوي مع كل من *Piscinoodinium spp.* 6.5% و *Ichthyophthirius spp.* 7.5% و أقلها 3% *Chillodenella spp.* وقد يرجع هذا التباين إلى أسباب عديدة منها تعود للمضيف كعمره وغذائه وحالته الصحية و المناعية وكذلك إلى حيالية المضيف باختلاف أنواع الأسماك وفضلاً عن حيالية الطفيلي من ناحية دورة حياته وتكاثره وتأثير العوامل البيئية (فصول السنة، الموقع الجغرافي، عمق المياه) ويمكن أن يفسر تباين الأنواع المختلفة في أنواع وأعداد الطفيليات إلى اختلاف أعداد الأسماك المفحوصة طيلة مدة الدراسة. وتتفق نتائج هذه الدراسة مع دراسة الباحثين حسين وجماعته (2011) في محافظة بابل؛ إذ سجلوا إصابة بطفيلي *Trichodina cottidarum* و *Ichthyophthirius multifiliis* صلاح الدين Muhammad وجماعته (2013)؛ إذ سجل الباحثون نسبة إصابة بالطفيلي

نسبة خمج 25%، ولكنها اختلفت مع ما سجله Zangana (2008) الذي سجل نسبة خمج 31% وقد يعزى سبب الاختلاف في نسب الخمج لطفيلي نوع *Trichodina spp.* للسمك طبقاً لما اثبتته الباحثون Mudeed وجماعتها (2020)؛ إذ سجلوا نسب خمج 13.8% في كل من أسماك الجري وأسماك البنبي على التوالي.

سجلت نسبة خمج بطفيلي *Icthyophthirius spp.* 6.5% من الزعناف والجلد وهذا أقل بكثير مما سجله الباحثون في محافظة أربيل 50% بهذا الطفيلي في أسماك الكارب بنسبة 50% في كل من الزعناف والglascom والجلد وكذلك مع دراسة Zangana (2008)؛ إذ سجل 28.6% في مدينة الموصل، وفي دراسات أخرى سُجل هذا الطفيلي في تسعه عشر نوعاً مختلفاً للأسماء من العديد من المزارع السمكية في وسط وجنوب العراق (Mhaisen and Al-Nasiri, 2012) ومن نهر الزاب الصغير وبحيرة دربندخان في إقليم كردستان (Abdullah, 2002) (Abdullah, 2005) على التوالي. سجل الباحثون Obaid وجماعته (2021) نسبة خمج بطفيلي *Icthyophthirius spp.* في الجلد والglascom وبنسبة 5.6% مطابقة لنسبة الخمج في الدراسة الحالية، وسجلوا نسبة خمج في طفيلي *Trichodina spp.* 17.2% مقاربة لنسبة الخمج في الدراسة الحالية وهي 19.5%. وسجلت الدراسة الحالية نسبة خمج بطفيلي *Chilodonella spp.* 7.5% في الجلد والglascom وهذه النسبة مقاربة لما سجله الباحثون في محافظة أربيل نسبة 9.5% للطفيلي في الجلد فقط. وسُجل هذا الطفيل في العراق لأول مرة من Ali وجماعته (1987) من أسماك المياه العذبة *Mystus pelusius* من نهر دجلة في بغداد وفي أسماك الكارب في الزعفرانية ببغداد (Sadek, 1999). وسجل الباحثون Mudeed وجماعتها (2020) بهذا الطفيلي على جلد وglascom سمك الكارب والكتان 7.9% و 7.5% على التوالي وهذا مطابق لنتائج الدراسة الحالية. ويعُد الجلد هو حاجز وقائي أساسي في الكائنات المائية ويعمل كخط دفاع أول ضد البيئة الخارجية ومسببات الأمراض المعدية. وأشارت دراستنا وبالاتفاق مع معظم الدراسات السابقة بأن الجلد هو الموضع المفضل للطفيل للأوالي الخارجية ثم الغlascom ثم الزعناف (Gonzalez *et al.*, 2007). وحصل في هذه الدراسة الكشف ولأول مرة بالعراق وبالتحديد في مدينة الموصل عن تسجيل طفيلي *Piscinoodinium pillulare*، إذ ظهر بأشكال كمثرية ودائمة تدل على مراحل تطورية مختلفة للطفيلي وهذا يتفق مع ما لاحظه Martins وجماعته (2001) (Foin (2005).

وأظهرت نتائج الدراسة المسحية عدم وجود فروقات معنوية للخمج بالأوالي الخارجية والداخلية حسب أشهر الدراسة؛ إذ كانت أعلى أنّ نسب الخمج لوحظت خلال أشهر الصيف وأقلّها في الأشهر الباردة. وهذا يتفق مع نتائج كل من Certad وجماعته (2015) و Saad-Alla (2015).

وجماعته (2022) الذين سجلوا أعلى نسب خمج 87.5% في حزيران وأقلها 44.4% في كانون الثاني. وقد يعود ذلك إلى أسباب عديدة منها تعود إلى فسحة المضيف والمناعة والتغذية ويتميز بطرح أعداد كبيرة من أكياس البيض الخمجية التي تبقى لفترات طويلة حية في الماء، فضلاً عن قدرتها على خمج المضيف مباشرة حال خروجها مع البراز، ومقاومتها لمعظم المعقمات المستخدمة في تعقيم المياه لسمك جدارها وقدرتها على البقاء حية في الماء لمدة 66 يوماً (Certad *et al.*, 2015; Taylor *et al.*, 2016).

تعد تقنية الدراسة الجزيئية بتفاعل البلمرة المتسلسل من الطرائق الحساسة والنوعية في التحري عن الأولي التي تصيب الأسماك نظراً للتشابه الموجود في الصفات الشكلية الخارجية فضلاً عن صعوبة تحديد الأنواع بالطرق التقليدية لذلك، تُعد التقنيات البيولوجية الجزيئية مهمة جداً من أجل الوصول للتشخيص الدقيق وتأكيد الأنواع (Irwin *et al.*, 2017; Wiroonpan and Purivirojkul, 2019). أظهرت نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل باستعمال الجين SSUrDNA بنتائج تفاعل 1700 زوج قاعدي تطابقاً مع نتائج الباحثون Mizuno وجماعته (2016) مما يؤكد الإصابة بطفيلي *Trichodina spp.* وتطابقت نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل باستعمال الجين 18SrRNA *Icthyophthirius spp.* وبناتج 1700 زوج قاعدي مع دراسة الباحثون Kumar وجماعته (2022).

كما واثبتت نتائج الشجرة الجينية وتعاقب تسلسل الجينات لطفيلي *Trichodina spp.* و *Icthyophthirius* في هذه الدراسة مطابقة مع عزلات أخرى مسجلة في العديد من البلدان تم جمعها من قاعدة بيانات بنك الجينات العالمي بنسبة 100% للنوع *Ichthyophthirius multifiliis* وبنسبة 100% لجنس طفيلي *Trichodina spp.* كما وتطابقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج كل من Mizuno وجماعته (2016) و Kumar وجماعته (2022).

تسبب الأولي المغوية أمراضاً خطيرة وخاصة في أماكن التربية المزدحمة بسبب دورة حياتها المباشرة وتكاثرها السريع بطريقة الانشطار الثنائي، فبعض منها ذات خصوصية لخم الأسماك، في حين أن الأنواع الأخرى مشتركة (Moratal *et al.*, 2020)؛ إذ تُعد الأسماك كمضيف خازن لهذه الأولي الحيوانية المنشأ مثل *Giardia spp.* و *Cryptosporidium spp.* و *Entamoeba spp.* و *Eimeria spp.* و *Cryptosporidium spp.* و *Giardia spp.* و *Entamoeba spp.* على التوالي؛ إذ سجلت أعلى نسبة خمج كلية 26.5% و 21.5% و 1% و 3.5% على التوالي؛ إذ سجلت أعلى نسبة خمج 26.5% لطفيلي الحيواني المنشأ *Cryptosporidium spp.* وتنطبق هذه النتيجة مع دراسة في الموصل للباحثة Al-Taee (2008)؛ إذ سجلت

28.97% في سمك ليزا أبو، وختلفت مع كل من Karawan وجماعته (2012) و Hussein (2017) في الديوانية وفي ذي قار؛ إذ سجلوا نسب خمج كلية قليلة بالطفيلي حيث بلغت 6.18% في الديوانية وفي ذي قار؛ إذ سجلوا نسب خمج كلية قليلة بالطفيلي حيث بلغت 12.02% على التوالي.

وسجلت الدراسة نسبة خمج بطيولي *Giardia spp.*؛ إذ بلغت 3.5% وهذه يشير إلى تلوث البيئة المائية وسوء الصرف الصحي، وذكر الباحثون Ghoneim وجماعته (2012) أن *Giardia duodenalis* هي أكثر الطفيليات المنقوله بالماء ومن الأنواع الحيوانية المنشأ المسجلة في الأسماك، وبلغت نسبة الخمج الكلية بطيولي *Entamoeba histolytica* 1% وعلى الرغم من أنها نسبة خمج قليلة ولكنها تُعد مؤشراً مهماً على تلوث المياه وسوء الصرف الصحي وقلة النظافة. ويعُد هذا النوع *Entamoeba spp.* من الأنواع الحيوانية المنشأ المهمة التي تنتقلها الأسماك، وذكر الباحثون Chai وجماعته (2005) و Ryan وجماعته (2018) أن سبب الاندلاعات المرضية في دول جنوب شرق آسيا مثل فيتنام وتايلاند قد يعود إلى استهلاك الأسماك غير المطبوخة جيداً بطرق الطهي التقليدية والمصطادة من مزارع ملوثة بمياه الصرف الصحي هي العوامل الرئيسية المسببة لها، وسجلت أعلى نسبة خمج بطيولي *Eimeria spp.* بلغت 21.5% وهذه الدراسة تتفق مع دراسة أخرى في الموصل للباحثة Al-Taee (2008)؛ إذ سجلت نسبة 23.29% وتتطابق أيضاً مع Ryan وجماعته (2018) الذين سجلوا 20.6% وبطريقة فحص براز الأسماك وقسطل الأمعاء بالقشطات الرطبة وأعلى لما سجله الباحثون Mudeed وجماعته (2020) في كركوك 14.8% في أسماك الجري و 6.08% في أسماك البني و 8.17% في الكتان و 9.589% في الكارب بينما لم يسجل خمج في أسماك الحمرى في هذا الطفيلي ومع ذلك، قد يعزى وجودها في أنواع الأسماك ناتجاً عن عمر أنواع الأسماك وتلوث المياه.

على الرغم من أن الفحص المجهرى لقشطات المعدة والأمعاء اثبت وجود أكياس بيض طفيلي الأبواغ الخبيثة إلا أنَّه من الصعب تحديد الأنواع لأنَّها متشابهة بالصفات الشكلية ولذلك بعد التحليل الجزيئي أمر بالغ الأهمية لتمييز الأنواع؛ إذ ظهرت أكياس بيض الطفيلي بأشكال كروية حمراء أو بيضاوية الشكل بصبغة الزيل- نيلسن mZN وبحجم تراوح ما بين 4.6-5.5 × 3.8-4.7 ميكروميتر إلا أنَّ هذا الوصف المجهرى لا يعد كافياً على مستوى الأنواع لأنَّ أحجام أكياس البيض لا تختلف كثيراً على سبيل المثال الأنواع التي تصيب الأسماك *C. molnari* هي 4.5 × 4.7 ميكروميتر متشابهة في الحجم مع الأنواع الحيوانية المنشأ *C. parvum* التي تصيب الأبقار والأغنام والماعز والإنسان 4.5 × 5 ميكروميتر و *C. hominis* تصيب الإنسان والأغنام 5.5 × 4.5 ميكروميتر (Taylor et al., 2016).

وذكر Mehlhorn (2016) أن جميع أنواع طفيلي الأبواغ الخبيثة تراوحت من 5-6 ميكرومتر ما عدا *C. muris* التي تكون أكبر 7 ميكرومتر.

اكدت نتائج الدراسة الجزيئية بتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل المتداخل بانها أكثر كفاءة لتحديد أنواع طفيلي الأبواغ الخبيثة بتضخيم الجين (Couso-Pérez *et al.*, 18SrRNA 2018; Shahbazi *et al.*, 2020) في خمسة أنواع من الأسماك وأثبتت نتائج الشجرة الجينية للنوعين *C. hominis* و *parvum* المعزولين في هذه الدراسة مطابقة وبنسبة 100% مع عزلات أخرى مسجلة في العديد من البلدان جُمعت من قاعدة بيانات بنك الجينات العالمي. ويعُد وجود الأنواع لطيفيلي الأبواغ الخبيثة *C. parvum* و *C. hominis* التي تُعد من الطفيليات حيوانية المنشأ و مهمة من الصحة العامة التي تصيب بشكل خاص الصيادون والمرضى الذين يعانون من كبت المناعة أكثر عرضة لخطر الإصابة إما عن طريق استهلاك الأسماك غير المطبوخة جيداً أو عن طريق التلامس المباشر (Oshima, 1987; Audicana and Kennedy, 2008; Moratal, 2020).

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

*Conclusions and
Recommendations*

الفصل السادس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

1-6: الاستنتاجات:

- الفحص المجهري بالمسحة الرطبة للاوالي هي الخطوة الأولى للتشخيص.
- على نسبة خمج بالاوالي الخارجية كانت *Trichodina spp.*
- سجل طفيلي *Piscinoodinium spp.* ولأول مرة في العراق - الموصل.
- على نسبة خمج بالاوالي الداخلية كانت بطفيلي الابواغ الخبيثة وطفيلي الاميريا واقلها بطفيلي الجيارديا وطفيلي الانتيميا.
- توجد فروق معنوية في نسب الخمج بالاوالي الخارجية والداخلية حسب أشهر الدراسة.
- تواجد الاوالي المشتركة وهي الابواغ الخبيثة والجياردديا والانتيميا تدل على ان الاسماك تعد من المضائق الخازنة ومصدرا جديدا لانتقال الطفيليات إلى الإنسان بالإضافة إلى الماشية وتعتبر الأسماك علامة جيدة لتلوث المياه بالطفيليات.
- الأسماك خمجة بالاوالي الخارجية بطفيلي *Trichodina spp.* وبالرقم التسلسلي PQ012982 وبالنوع *Ichthyophthirius spp.* تحت الرقم التسلسلي PQ012981 وفقا لتحليل الشجرة الجينية لكلا الطفيليين.
- أظهر تعاقب الجينات لتفاعل البلمرة المتسلسل لأربع عينات من الأمعاء والمعدة للأسماك الخمجة ان انواع الطفيلي الكريبيتوسبوريديوم الذي تم تحديده هو *C. parvum* و *C. hominis* وتم تسجيل العزلات في NCBI تحت الرقم التسلسلي PP593584 للنوع *Cryptosporidium parvum* وثلاث ارقام تسلسلية PP593585 و PP593586 و PP593587 للنوع *Cryptosporidium hominis* وفقا لتحليل الشجرة الجينية.

6-2: التوصيات:

1. اجراء المزيد من الدراسات حول التحري عن الاولى الداخلية والخارجية التي تصيب الاسماك وال الاولى المشتركة.
2. اجراء المزيد من الدراسات الوبائية حول الاولى مع الاخذ بنظر الاعتبار اعمار الاسماك وانواعها وطريقة تربيتها.
3. استخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل في تحديد انواع الاولى وبشكل خاص المتشابهة في الصفات الشكلية بسبب كفاءة وحساسية هذه التقنية.
4. الفحص الدوري لأسماك في احواض التربية والانهار للتحري عن الإصابات الطفافية.
5. نوصي بإجراء دراسات جزئية أخرى.

المصادر

References

المصادر

References

أ. المصادر باللغة العربية:

العزيبياوي ، سكينة جبار مشيت (2010). عزل وتشخيص بعض الطفيليات الخارجية في أسماك هور أبن نجم والعوامل البيئية المؤثرة عليها في محافظة النجف الاشرف. رسالة ماجستير، كلية التربية للبنات، جامعة الكوفة.

جوري، منى محمد (2007). تسجيل جديد للابتدائي البوغي *Myxobolus diversus* في زعانف البياح الاخضر *Liza subviridis* (Val.,1836) جنوبى هور الحمار، البصرة - العراق. مجلة البصرة. 6(2):22-16.

حسين، تخيل حسين؛ عمار، حامد هويدى؛ حسام، حسين عليوي؛ وحيدر، مالك عبد علي. (2011). مسح للطفيليات الخارجية على اسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* في ثلاثة مزارع س מקية في الإسكندرية، محافظة بابل. مجلة جامعة كربلاء العلمية. 9(1):126-131.

خميس، نجم رجب (1983). دراسة حول طفيليات أسماك الحمرى *Carasobarbus luteus* والخشنى *Aspius vorax* (Heckel) والشك *Liza abu* (Heckel) من نهر مهigrان - جنوب البصرة. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة البصرة.

ب. المصادر باللغة الانكليزية:

Abdullah, S. M. A. (2002). Ecology, taxonomy and biology of some parasites of fishes from Lesser Zab and Greater Zab rivers in north of Iraq. PhD thesis: College of Education (Ibn Al-Haitham), University of Baghdad. Baghdad-Iraq. pp. 153.

Abdullah, S. M. A. and Mhaisen, F. T. (2006). Parasitic infections with Protozoa and Crustacea on fishes of Lesser Zab and Greater Zab rivers, north of Iraq. In Proceeding 4th Scientific Conference of College of Veterinary Medicine, University of Mosul. 1: 51-58.

- Abdullah, S.M. A. (2005). Parasitic fauna of some freshwater fishes from Darbandikhan lake, North of Iraq. *Journal of Dohuk University*. 8(1): 29-35.
- Agboola, A. F., Omidiwura, B. R. O., Okiwelu, E. I., and Agbuza, S. (2021). Effects of dietary fish oil supplementation on performance, gut morphology, protozoan load and histopathological indices of broiler chickens. *Egyptian Poultry Science Journal*. 41(2): 263-249.
- Ai, S., Zhang, Z., Wang, X., Zhang, Q., Yin, W., and Duan, Z. (2021). The first survey and molecular identification of *Entamoeba* spp. in farm animals on Qinghai-Tibetan Plateau of China. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 75: 101607.
- Aihua, L., and Buchmann, K. (2001). Temperature-and salinity-dependent development of a Nordic strain of *Ichthyophthirius multifiliis* from rainbow trout. *Journal of Applied Ichthyology*. 17(6): 273-276.
- Akoll, P., Konecny, R., Mwanja, W. W., Nattabi, J. K., Agoe, C. and Schiemer, F. (2012). Parasite fauna of farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African catfish (*Clarias gariepinus*) in Uganda. *Parasitology research*. 110: 315-323.
- Aksoy, S., Saglam, N., and Dorucu, M. (2006). External parasites of three cyprinid fish species from Lake Hazar in Turkey. *Indian Veterinary Jurnal*. 83:100–101.
- Alderman, D. J. (1985). Malachite green: a review. *Journal of fish diseases*. 8(3): 289-298.

- Ali, N. M., Salih, N. E., & Abdul-Ameer, K. N. (1987). Parasitic fauna of some freshwater fishes from Tigris river, Baghdad, Iraq. IV. Nematoda. *Journal of Biological Sciences Research*. 18(2): 11-17.
- Al-Marjan, K. S. (2010). First record of *Trichodina anguilli* Wu, 1961 (Ciliophora: Peri-trichida: Trichodinidae) in Iraq, on *Cyprinus carpio* collected from Erbil markets, Kurdistan region. *Zanco Journal of Pure Applied Science*. 23(1): 99-103.
- Al-Marjan, K. S. and Abdullah, S. M. (2009). Some ectoparasites of the common carp (*Cyprinus carpio*) in Ainkawa fish hatchery, Erbil province. In Second Kurdistan conference on biological science. *Journal of Dohuk University*. 12(1): 102-107.
- Al-Nasiri, F. S. (2013). Protozoan parasites of five fish species from the Tigris river in Salah-Al-Deen province, Iraq. *Tikrit Journal for Agricultural Sciences*. 13(1): 355- 359.
- Al-Taee, A.F. (2008) Endoparasites of the fresh water fish *Liza abu* in Mosul, Iraq. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 22(1): 25–29.
- Alvarez-Pellitero, P., Quiroga, M.I., Sitjà-Bobadilla, A., Redondo, M.J., Palenzuela, O., Padrós, F., Vázquez, S. and Nieto, J.M. (2004). *Cryptosporidium scophthalmi* n. sp.(Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from cultured turbot *Scophthalmus maximus*. Light and electron microscope description and histopathological study. *Diseases of Aquatic Organisms*. 62(1-2): 133-145.
- Amlacher, E. (1970). *Textbook of fish diseases*. Neptune City, New York, TFH Publications Inc.

- Andronova, I. V., and Yakimovich, E. A. (2019). World fish market: current trends, state and prospects. *RUDN Journal of Economics*. 27(2): 259-268.
- Ankarklev, J., Jerlström-Hultqvist, J., Ringqvist, E., Troell, K., and Svärd, S. G. (2010). Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. *Nature Reviews Microbiology*. 8(6): 413-422.
- Audicana, M. T., and Kennedy, M. W. (2008). *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clinical microbiology reviews*. 21(2): 360-379.
- Baker, M. (2012). Digital PCR hits its stride. *Nature Methods*. 9(6): 541-544.
- Baragahare, R., Becker, J. A., Landos, M., Šlapeta, J., and Dennis, M. M. (2011). Gastric cryptosporidiosis in farmed Australian Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. *Aquaculture*. 314(1-4): 1-6.
- Bardhan, A. (2022). Fish-borne parasites proficient in zoonotic diseases: a mini review. *Insights in Veterinary Science*. 6: 005-012.
- Bhatti, M. N. (1979). A note on the occurrence of costiasis disease in the stinging catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) from Basrah waters. *Arab Gulf*. 11(1): 216.
- Biagini, F. R., de Oliveira David, J. A., and Fontanetti, C. S. (2009). The use of histological, histochemical and ultramorphological techniques to detect gill alterations in *Oreochromis niloticus* reared in treated polluted waters. *Micron*. 40(8): 839-844.

- Bondad-Reantaso, M.G., Subasinghe, R.P., Arthur, J.R., Ogawa, K., Chinabut, S., Adlard, R., Tan, Z. and Shariff, M. (2005). Disease and health management in Asian aquaculture. *Veterinary parasitology*. 132(3-4): 249-272.
- Broglia, A., and Kapel, C. (2011). Changing dietary habits in a changing world: Emerging drivers for the transmission of foodborne parasitic zoonoses. *Veterinary Parasitology*. 182(1): 2–13.
- Brown, A. F., Chubb, J. C., and Veltkamp, C. J. (1986). A key to the species of Acanthocephala parasitic in British freshwater fishes. *Journal of Fish Biology*. 2(8): 327-334.
- Bruno, D. W., Nowak, B., and Elliott, D. G. (2006). Guide to the identification of fish protozoan and metazoan parasites in stained tissue sections. *Diseases of aquatic organisms*. 70(1-2): 1-36.
- Bruzio, M., and Buchmann, K. (2010). The effect of peracetic acid products on parasites causing white spot disease. 24(1): 25-27.
- Buchmann, K. (1988). Epidemiology of pseudodactylogyrosis in an intensive eel-culture system. *Diseases of Aquatic Organisms*. 5(2): 81-85.
- Buchmann, K., and Bresciani, J. (1997). Parasitic infections in pond-reared rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in Denmark. *Diseases of Aquatic Organisms*. 28(2): 125-138.
- Buchmann, K., and Kristensson, R. T. (2003). Efficacy of sodium percarbonate and formaldehyde bath treatments against *Gyrodactylus derjavini* infestations of rainbow trout. *North American Journal of Aquaculture*. 65(1): 25-27.

- Bunkley-Williams, L., Williams Jr, E. H. and Bashirullah, A. K. (2006). Isopods (Isopoda: Aegidae, Cymothoidae, Gnathiidae) associated with Venezuelan marine fishes (Elasmobranchii, Actinopterygii). *Revista de Biología Tropical*. 54:175-188.
- Bykhovskaya-Pavlovskaya, I.E., Gusev, A.V., Dubinina, M.N., Izyumova, N.A., Smirnova, T.S., Sokolovskaya, I.L., Shtein, G.A., Shul'man, S.S. and Epshtein, V.M. (1962). Key to parasites of freshwater fish of the USSR. *Izdatel'svo Akademii Nauk SSR*. 12(9): 727-730.
- Cacciò, S. M., and Ryan, U. (2008). Molecular epidemiology of giardiasis. *Molecular and biochemical parasitology*. 160(2): 75-80.
- Certad, G., Dupouy-Camet, J., Gantois, N., Hammouma-Ghelboun, O., Pottier, M., Guyot, K., Benamrouz, S., Osman, M., Delaire, B., Creusy, C. and Viscogliosi, E. (2015). Identification of Cryptosporidium species in fish from Lake Geneva (Lac Léman) in France. *PLoS One*. 10(7): e0133047.
- Chai, J. Y., Murrell, K. D. and Lymbery, A. J. (2005). Fish-borne parasitic zoonoses: Status and issues. In *International Journal for Parasitology*. 35(11–12): 1233–1254.
- Chalmers, R.M., Robertson, L.J., Dorny, P., Jordan, S., Kärssin, A., Katzer, F., La Carbona, S., Lalle, M., Lassen, B., Mladineo, I. and Rozycki, M. (2020). Parasite detection in food: Current status and future needs for validation. *Trends in Food Science & Technology*. 99: 337-350.
- Chandra, K. J. (2006). Fish parasitological studies in Bangladesh: a review. *Journal of Agriculture & Rural Development*. 4(1): 9-18.

- Chowdhury, R. A., Esiobu, N., Meeroff, D. E., and Bloetscher, F. (2022). Different detection and treatment methods for *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in water/wastewater: a review. *Journal of Environmental Protection*. 13(1): 126-149.
- Clausen, J.H., Madsen, H., Murrell, K.D., Van, P.T., Thu, H.N.T., Do, D.T., Thi, L.A.N., Manh, H.N. and Dalsgaard, A. (2012). Prevention and control of fish-borne zoonotic trematodes in fish nurseries, Vietnam. *Emerging infectious diseases*. 18(9): 1438.
- Coad, B.W. (2010). Freshwater fishes of Iraq. Sofia, Moscow, Pensoft Publication. pp. 294.
- Coles, E.H. (1986). *Veterinary Clinical Pathology*. 4th Edition. Philadelphia, USA, Saunders Company. pp. 377.
- Colt, J. (2006). Water quality requirements for reuse systems. *Aquacultural Engineering*. 34(3): 143-156.
- Couso-Pérez, S., Ares-Mazás, E., and Gómez-Couso, H. (2018). Identification of a novel piscine *Cryptosporidium* genotype and *Cryptosporidium parvum* in cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Parasitology research*, 117, 2987-2996.
- Dawson, S. C. (2010). An insider's guide to the microtubule cytoskeleton of *Giardia*. *Cellular microbiology*. 12(5): 588-598.
- de Pádua, S.B., Jerônimo, G.T., Ishikawa, M.M., Belo, M.D.A., Martins, M.L., Pelisari, T., Kasai, R.Y.D. and Carrijo-Mauad, J.R. (2014). Parasitological assessment and host-parasite relationship in farmed Cachara catfish fingerlings (*Pseudoplatystoma reticulatum* Eigenmann & Eigenmann 1889), Mato Grosso do Sul, Brazil. *Neotropical Helminthology*. 8(1): 37-45.

- Dickerson, H.W. (2012). *Ichthyophthirius multifiliis*. In: P. T. K. Woo, P.T.K. and Buchmann, K. (Eds.) *Fish parasites: pathobiology and protection*. Wallingford, United Kingdom, CABI. pp. 55-72.
- Diler, O., Gormez, O., Diler, I., and Metin, S. E. Ç. İ. L. (2017). Effect of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture nutrition*. 23(4): 844-851.
- Dogiel, V. A. (1961). Ecology of the parasites of freshwater fishes. *Parasitology of fishes.*, 8: 1-47.
- Dyková, I., and Lom, J. (1981). Fish coccidia: critical notes on life cycles, classification and pathogenicity. *Journal of Fish Diseases*. 4(6): 487-505.
- EFSA Contam Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain) (2016). Scientific opinion on malachite green in food. *EFSA Journal*. 14(7): 4530.
- Einarsson, E., Ma'ayeh, S., and Svärd, S. G. (2016). An up-date on *Giardia* and giardiasis. *Current Opinion in Microbiology*. 34: 47-52.
- Eissa, I. A. M. and Gharib, A. F. (2005). Studies on Lamproglensis in cultured *Oreochromis niloticus*. Special. *Egyptian Veterinary Medical Society of Parasitology Journal*. 11(2): 429-437.
- Ekanem, D. A., and Obiekezie, A. I. (1996). Growth reduction in African catfish fry infected with *Trichodina maritinkae* Basson & Van As, 1991 (Ciliophora: Peritrichida). *Journal of Aquaculture in the Tropics*. 11(2): 91-96.

- Elamie, M.M. (2001). Studies on the diseases resulting from encysted metacercariosis in some freshwater fishes. PhD thesis: Faculty of Veterinary Medicine, Suez Canal University, Egypt.
- Elliot, A., Morgan, U. M. and Thompson, R. C. (1999). Improved staining method for detecting *Cryptosporidium* oocysts in stools using malachite green. *J The Journal of general and applied microbiology*. 45(3): 139-142.
- Elsayed, E. E., El Dien, N. E., and Mahmoud, M. A. (2006). Ichthyophthiriasis: various fish susceptibility or presence of more than one strain of the parasite. *Nature and Science*. 4(3): 5-13.
- Fall, A., Thompson, R. C. A., Hobbs, R. P., and Morgan-Ryan, U. (2003). Morphology is not a reliable tool for delineating species within *Cryptosporidium*. *Journal of Parasitology*. 89(2): 399-402.
- FAO. (2015). FAOSTAT statistics database of the Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO). Rome, Italy. Available online: <http://faostat3.fao.org/>
- FAO. (2020) The State of World Fisheries and Aquaculture. Sustainability in Action. Available online: <http://www.fao.org/3/ca9229en/online/ca9229en.html>
- Faruk, M. A. R. (2018). Fish parasite: infectious diseases associated with fish parasite. In: Bari, L. and Yamazaki, K. (Eds.) *Seafood Safety and Quality* Boca Raton, USA, CRC Press. pp. 154-176.
- Fattohy, Z. I. (1975). Studies on the parasites of certain teleostean fishes from the river Tigris, Mosul, Iraq. PhD thesis: University of Mosul. Mosul-Iraq.

- Fayer, R., Dubey, J. P., and Lindsay, D. S. (2004). Zoonotic protozoa: from land to sea. *Trends in parasitology*. 20(11): 531-536.
- Feng, Y., and Xiao, L. (2011). Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews*. 24(1): 110-140.
- Fion, A.A. (2005). Parasites and parasitoses of freshwater ornamental fish: diagnostic aid and treatment proposals MSc Dissertation: Maisons-Alfort: National Veterinary School of Alfort.
- Fotedar, R., Stark, D., Beebe, N., Marriott, D., Ellis, J. and Harkness, J. (2007) PCR Detection of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii* in Stool Samples from Sydney, Australia. *Journal of Clinical Microbiology*. 45: 1035-1037.
- Galli, Crosa, Bertoglio, Mariniello and Ortis. (2001). Populations of *Lamproglena pulchella* von Nordmann 1832 (Copepoda: Eudactylinidae) in cyprinid fish in rivers with different pollution levels. *Journal of Applied Ichthyology*. 17(2): 93-96.
- Gharpure, R., Perez, A., Miller, A. D., Wikswo, M. E., Silver, R., and Hlavsa, M. C. (2019). Cryptosporidiosis outbreaks—United states, 2009–2017. *American Journal of Transplantation*. 19(9): 2650-2654.
- Ghoneim, N. H., Abdel-Moein, K. A., and Saeed, H. (2012). Fish as a possible reservoir for zoonotic *Giardia duodenalis* assemblages. *Parasitology research*. 110: 2193-2196.

- Ghoshal, U., Jain, V., Dey, A., and Ranjan, P. (2018). Evaluation of enzyme linked immunosorbent assay for stool antigen detection for the diagnosis of cryptosporidiosis among HIV negative immunocompromised patients in a tertiary care hospital of northern India. *Journal of infection and public health*. 11(1): 115-119.
- Golomazou, E., Malandrakis, E. E., Panagiotaki, P., and Karanis, P. (2021). Cryptosporidium in fish: Implications for aquaculture and beyond. *Water Research*. 201: 117357.
- Gomes, G. B., Hutson, K. S., Domingos, J. A., Chung, C., Hayward, S., Miller, T. L., and Jerry, D. R. (2017). Use of environmental DNA (eDNA) and water quality data to predict protozoan parasites outbreaks in fish farms. *Aquaculture*. 479: 467-473.
- Gonzalez, S. F., Buchmann, K., and Nielsen, M. E. (2007). Real-time gene expression analysis in carp (*Cyprinus carpio* L.) skin: inflammatory responses caused by the ectoparasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Fish & shellfish immunology*. 22(6): 641-650.
- Guillén, N. (2023). Pathogenicity and virulence of *Entamoeba histolytica*, the agent of amoebiasis. *Virulence*. 14(1): 2158656.
- Hanabara, Y., and Ueda, Y. (2016). A rapid and simple real-time PCR assay for detecting foodborne pathogenic bacteria in human feces. *Japanese journal of infectious diseases*. 69(6): 471-476.
- Hassan, M.A.H. (1999). Trichodiniasis in farmed freshwater Tilapia in Eastern Saudi Arabia. *Marine Science*. 10: 157–168.

- Heinecke, R.D. and Buchmann, K. (2009). Control of *Ichthyophthirius multifiliis* using a combination of water filtration and sodium percarbonate: dose-response studies. *Aquaculture*. 288(1-2): 32-35.
- Henriksen, S. A. and Pohlenz, J. F. (1981). Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta veterinaria scandinavica*, 22(3-4), 594.
- Herzog, P. H. (1969). Untersuchungen über die parasiten der süßwasserfische des Irak. *Archiv für Fischereiwissenschaft*. 20(2/3): 132-147.
- Hoffman, G. L. (1967). Parasites of North American freshwater fishes. Berkeley, USA, University of California Press. pp. 486.
- Hoffman, G. L. (2019). Parasites of North American freshwater fishes. 2nd Edition. London, United Kingdom, Cornell University Press. pp. 532-539.
- Hoover, D. M., Hoerr, F. J., Carlton, W. W., Hinsman, E. J., and Ferguson, H. W. (1981). Enteric cryptosporidiosis in a naso tang, *Naso lituratus* Bloch and Schneider. *Journal of Fish Diseases*. 4(5).
- Hussein, Z. A. (2017). Seasonal changes and their impact on the Incidence internal parasites of fish *Liza abu* in the-Qar covernorate. *Al-Qadisiyah Journal of Pure Science*, 22(1).
- Irwin, N. A., Sabetrasekh, M., and Lynn, D. H. (2017). Diversification and Phylogenetics of Mobilid Peritrichs (Ciliophora) with Description of *Urceolaria parakorschelti* sp. nov. *Protist*. 168(4): 481-493.

- Ishikawa, M. M., de Pádua, S. B., Ventura, A. S., Jerônimo, G. T., Russo, M. R., Carrijo-Mauad, J. R., and Martins, M. L. (2012). Biologia e estratégias na sanidade de alevinos de bagres carnívoros. pp. 1-35.
- Jaafar, R.M. and Buchmann, K. (2011). Toltrazuril (Baycox® vet.) in feed can reduce *Ichthyophthirius multifiliis* invasion of rainbow trout (Salmonidae). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*. 41(1): 63-66.
- Jaafar, R.M., Kuhn, J.A., Chettri, J.K. and Buchmann, K. (2013). Comparative efficacies of sodium percarbonate, peracetic acid, and formaldehyde for control of *Ichthyobodo necator*—an ectoparasitic flagellate from rainbow trout. *Acta ichthyologica et piscatoria*. 43(2): 139-143.
- Jex, A.R., Smith, H.V., Monis, P.T., Campbell, B.E. and Gasser, R.B. (2008). *Cryptosporidium*—biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. *Biotechnology advances*. 26(4): 304-317.
- Kabata, Z. (1985). Parasites and diseases of fish cultured in the tropics. London, United Kingdom, Taylor & Francis Ltd. pp. 318.
- Karawan, A. C., Ab-Abed, A., and Ali, M. J. (2012). Study of some internal Parasites isolated from some pure water fishes *Liza abu* in Al-Dewania city. *Al-Anbar Journal of Veterinary Sciences*. 5(2).
- Kazubski, S. L., and Migala, K. (1974). Studies on the distinctness of *Chilodonella cyprini* (Moroff) and *Ch. hexasticha* (Kiernik)(*Chlamydodontidae, Gymnostomatida*), ciliate parasites of fishes. *Acta Protozoologica*. 13(1-10).

- Kent, M. L., and Sanders, J. L. (2020). Important parasites of zebrafish in research facilities. In: Cartner, S.C., Eisen, J.S. and Sanders, G.E. (Eds.) *The zebrafish in biomedical research*. United Kingdom, Academic Press. pp. 479-494.
- Kouamélan, E.P., Teugels, G. G., N'douba, V., Gooré Bi, G., and Koné, T. (2003). Fish diversity and its relationships with environmental variables in a West African basin. *Hydrobiologia*. 505: 139-146.
- Kumar, V., Das, B.K., Swain, H.S., Chowdhury, H., Roy, S., Bera, A.K., Das, R., Parida, S.N., Dhar, S., Jana, A.K. and Behera, B.K. (2022). Outbreak of *Ichthyophthirius multifiliis* associated with *Aeromonas hydrophila* in *Pangasianodon hypophthalmus*: The role of turmeric oil in enhancing immunity and inducing resistance against co-infection. *Frontiers in immunology*. 13: 956478.
- Lafferty, K. D., Porter, J. W. and Ford, S. E. (2004). Are diseases increasing in the ocean?. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 35(1): 31-54.
- Landsberg, J.H. and Paperna, I. (1987) Intestinal infections by *Eimeria* (s. l.) *vanasi* n. sp. (Eimeriidae, Apicomplexa, Protozoa) in cichlid fish. *Annales de parasitologie humaine et comparée*. 62(4): 283–293.
- Larsen, A. H., Bresciani, J., and Buchmann, K. (2005). Pathogenicity of *Diplostomum cercariae* in rainbow trout, and alternative measures to prevent diplostomosis in fish farms. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*. 25(1): 20-27.

- Lasee, B.A. (1995). Introduction to Fish Health Management. 2nd Edition. Onalaska, Wisconsin: USA, Fish and Wildlife Service, La Crosse Fish Health Center. pp. 139.
- Lasek-Nesselquist, E., Bogomolni, A. L., Gast, R. J., Welch, D. M., Ellis, J. C., Sogin, M. L., and Moore, M. J. (2008). Molecular characterization of *Giardia intestinalis* haplotypes in marine animals: variation and zoonotic potential. Diseases of Aquatic Organisms. 81(1): 39-51.
- Lee, J.J., Hutm, S.H., and Bovee, E.C., (2001). The Illustrated Guide to the Protozoa. 2nd Edition. Lawrence, USA, Society of Protozoologists.
- Lerssuthichawal, T., Maneepitaksanti, W., and Purivirojkul, W. (2016). Gill monogeneans of potentially cultured tilapias and first record of *Cichlidogyrus mbirizei* Buringa et al., 2012, in Thailand. Walailak Journal of Science and Technology (WJST). 13(7): 543-553.
- Levêque, C., Oberdorff, T., PAUGY, D., Stiassny, M. L. J. and Tedesco, P. A. (2008). Global diversity of fish (Pisces) in freshwater. In: Balian, E.V., Lévêque, C., Segers, H. and Martens, K. (Eds.) Freshwater animal diversity assessment. Netherlands, Springer Dordrecht. pp. 545-567.
- Li, N., Wu, X., Zhuang, W., Xia, L., Chen, Y., Wu, C., Rao, Z., Du, L., Zhao, R., Yi, M. and Wan, Q. (2020). Fish consumption and multiple health outcomes: Umbrella review. Trends in Food Science & Technology. 99: 273-283.
- Loftus, B., Anderson, I., Davies, R., Alsmark, U.C.M., Samuelson, J., Amedeo, P., Roncaglia, P., Berriman, M., Hirt, R.P., Mann, B.J.

- and Nozaki, T. (2005) The genome of the protist parasite *Entamoeba histolytica*. *Nature*. 433: 865-868.
- Lom J. (1995). Trichodinidae and Other Ciliates (Phylum: Ciliophora). Fish Diseases and Disorders, protozoan and metazoan infections. Wallingford, UK, CAB International. pp. 229-262.
- Lom, J. (1958). A contribution to the systematics and morphology of endoparasitic trichodinids from amphibians, with a proposal of uniform specific characteristics. *The Journal of Protozoology*. 5(4): 251-263.
- Lom, J. (1981). Fish invading dinoflagellates: a synopsis of existing and newly proposed genera. *Folia Parasitologica*. 28: 3-11.
- Lom, J. and Dyková, I. (1992). Protozoan parasites of fishes. USA, Elsevier. pp. 315.
- Luna, L.G. (1968). Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology.3rd Edition. The Blakiston Division, New York, USA, McGraw-Hill Book Co. pp. 34-127.
- Maciel, P. O., Garcia, F., Chagas, E. C., Fujimoto, R. Y., and Tavares-Dias, M. (2018). Trichodinidae in commercial fish in South America. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 28: 33-56.
- MacKenzie, K., Williams, H. H., Williams, B., McVicar, A. H. and Siddall, R. (1995). Parasites as indicators of water quality and the potential use of helminth transmission in marine pollution studies. *Advances in parasitology*. 35: 85-144.

- Madsen, H.C., Buchmann, K. and Møllergaard, S. (2000). Treatment of trichodiniasis in eel (*Anguilla anguilla*) reared in recirculation systems in Denmark: alternatives to formaldehyde. *Aquaculture*. 186(3-4): 221-231.
- Manbe, M. Y., Mohammed, A. K., Abdulfatai, I., Muaz, U., and Hussaini, K. (2020). Prevalence of protozoan parasites in some freshwater fishes of Dangana Lake Lapai Niger State Nigeria. *Aquaculture*. 4(6).
- Martins ML, Moraes JRE, Andrade PM, Schalch SHC, Moraes FR. (2001). *Piscinoodinium pillulare* (Schäperclaus, 1954) Lom, 1981 (Dinoflagellida) infection in cultivated freshwater fish from the Northeast region of São Paulo State, Brazil: parasitological and pathological aspects. *Brazilian Journal of Biology*. 61(4): 639–644.
- Martins, M. L., Cardoso, L., Marchiori, N., and Benites de Pádua, S. (2015) Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 24(1): 1–20.
- Martins, M. L., Moraes, F. R., Fujimoto, R. Y., Onaka, E. M., Nomura, D. T., Silva, C. A. H., and Schalch, S. H. C. (2000). Parasitic infections in cultivated freshwater fishes a survey of diagnosticated cases from 1993 to 1998. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 9(1): 23-28.
- Martins, M. L., and Ghiraldelli, L. (2008). *Trichodina magna* van As and Basson, 1989 (Ciliophora: Peritrichia) from cultured Nile tilapia in the state of Santa Catarina, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*. 68: 169-172.

- Matar, N.K. and Neamah, S.R., (2021) Isolation and Diagnosis of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* from Children Infected with Diarrheal at Mohammed AL-Moussawi Hospital in Dhi-Qar Province. International Journal of Science Engineering and Management. 6: 10-13.
- Mathiessen, H., Jaafar, R. M., Al-Jubury, A., von Gersdorff Jørgensen, L., Kania, P. W., and Buchmann, K. (2021). Comparative in vitro and in vivo effects of feed additives on rainbow trout response to *Ichthyophthirius multifiliis*. North American Journal of Aquaculture. 83(2): 67-77.
- Matthews, R. A. (2005). *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet and ichthyophthiriosis in freshwater teleosts. Advances in parasitology. 59: 159-241.
- Mehlhorn, H. (2016). Animal parasites: diagnosis, treatment, prevention. Switzerland, Springer International Publishing. pp. 33-56.
- Meinelt, T. H. O. M. A. S., Matzke, S., Stüber, A., Pietrock, M., Wienke, A., Mitchell, A. J., and Straus, D. L. (2009). Toxicity of peracetic acid (PAA) to tomonts of *Ichthyophthirius multifiliis*. Diseases of Aquatic Organisms. 86(1): 51-56.
- Mhaisen, F.T. and Al-Nasiri, F.S. (2012). Literature review on the parasites of fishes of Salah Al-Deen Province, Iraq. Tikrit Journal for Agricultural Sciences. 12: 209-219.
- Mizuno S., Urawa S., Miyarnoto M., Hatakeyama M., Saneyoshi H., Sasaki Y., Koide N. and Ueda H. (2016). The epidemiology of the Trichodinid ciliate *Trichodina truttae* on hatchery-reared and wild salmonid fish in Hokkaido. Fish pathology. 51(4): 199-209.

- Mizuno, S., Urawa, S., Miyamoto, M., Hatakeyama, M., Sasaki, Y., Koide, N., Tada, S. and Ueda, H. (2018). Effects of dietary supplementation with oregano essential oil on prevention of the ectoparasitic protozoans *Ichthyobodo salmonis* and *Trichodina truttae* in juvenile chum salmon *Oncorhynchus keta*. *Journal of Fish Biology*. 93(3): 528-539.
- Molnár, K., Ostoros, G., Dunams-Morel, D., and Rosenthal, B. M. (2012). Eimeria that infect fish are diverse and are related to, but distinct from, those that infect terrestrial vertebrates. *Infection, genetics and evolution*. 12(8): 1810-1815.
- Moraes, F. R., and Martins, M. L. (2004). Condições predisponentes e principais enfermidades de teleósteos em piscicultura intensiva. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo, TecArt. pp. 343-383.
- Moratal, S., Dea-Ayuela, M. A., Cardells, J., Marco-Hirs, N. M., Puigcercós, S., Lizana, V., and López-Ramon, J. (2020). Potential risk of three zoonotic protozoa (*Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, and *Toxoplasma gondii*) transmission from fish consumption. *Foods*. 9(12): 1913.
- Morrison, D. A., Bornstein, S., Thebo, P., Wernery, U., Kinne, J., and Mattsson, J. G. (2004). The current status of the small subunit rRNA phylogeny of the coccidia (Sporozoa). *International Journal for Parasitology*. 34(4): 501-514.
- Mudeed, M. M., Mahmoud, A. J., and Owaid, Y. H. (2020). Environmental and Diagnostic study of External parasites of some fish of lower Zab River and Development ponds fishes in Kirkuk Governorate. *Kirkuk Journal of Science*. 15(2).

- Muhammad, I. M., Dhahir, S. F., and Bilal, S. J. (2013). Parasitic fauna of some freshwater fishes from Greater Zab River, Kurdistan region, Iraq. *Science Journal of University of Zakho*. 1(2): 620-627.
- Murphy, B. G., Bradway, D., Walsh, T., Sanders, G. E., and Snekvik, K. (2009). Gastric cryptosporidiosis in freshwater angelfish (*Pterophyllum scalare*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 21(5): 722-727.
- Nematollahi, A., Ahmadi, A., Mohammadpour, H., and Ebrahimi, M. (2013). External parasite infection of common carp (*Cyprinus carpio*) and big head (*Hypophthalmichthys nobilis*) in fish farms of Mashhad, northeast of Iran. *Journal of parasitic diseases*. 37: 131-133.
- Nematollahi, A., Jaberi, S., Helan, J. A., and Sheikhzadeh, N. (2016). Histopathological study on parasites in freshwater ornamental fishes in Iran. *Journal of Parasitic Diseases*. 40: 756-759.
- Nepszy, S. J. (1988). Parasites of fishes in the Canadian waters of the Great Lakes. Great Lakes Fisheries Commission. Technical Report. 5(1): 43-106.
- Noga, E. J. (2012). *Amyloodinium ocellatum*. In: Woo, P. T. K. and Buchmann, K. (Eds.) *Fish parasites: Pathobiology and protection* Wallingford, United Kingdom, CABI. pp. 19-29.
- Noga, E. J., and Levy, M. G. (2006). *Phylum Dinoflagellata*. In: Woo, P.T.K. (Ed.) *Fish diseases and disorders. Volume 1: protozoan and metazoan infections*. Wallingford, United Kingdom, CABI. pp. 16-45.

- Obaid, H. M., Hussein, N. F., Obed, T. M., and Boundenga, L. (2021). Common Carp (*Cyprinus carpio*) parasites diversity and prevalence in Erbil aquacultures: gills, skin and intestinal infections. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*. 13(1):34-41.
- O'Donoghue, P. J. (1995). Cryptosporidium and cryptosporidiosis in man and animals. *International journal for parasitology*. 25(2): 139-195.
- O'Leary, J. K., Sleator, R. D., and Lucey, B. (2021). *Cryptosporidium* spp. diagnosis and research in the 21st century. *Food and waterborne parasitology*. 24: e00131.
- Oshima, T. (1987). Anisakiasis—is the sushi bar guilty?. *Parasitology Today*. 3(2): 44-48.
- Ostrovska, K., & Paperna, I. (1990). *Cryptosporidium* sp. of the starred lizard *Agama stellio*: ultrastructure and life cycle. *Parasitology Research*. 76: 712-720.
- Padua S.B., Martins M.L., Carrijo-Mauad J.R., Ishikawa M.M., Jeronimo G.T., Dias-Neto J. and Filarski F. (2013) First record of *Chilodonella hexasticha* (Ciliophora: Chilodonellidae) in Brazilian cultured fish: a morphological and pathological assessment. *Veterinary Parasitology*. 191: 154–160.
- Pádua, S. B., Martins, M. L., Carrijo-Mauad, J. R., Ishikawa, M. M., Jerônimo, G. T., Dias-Neto, J., and Pilarski, F. (2013). First record of *Chilodonella hexasticha* (Ciliophora: Chilodonellidae) in Brazilian cultured fish: a morphological and pathological assessment. *Veterinary Parasitology*. 191(1-2): 154-160.

- Pal, M. (2020). Amoebiasis: An Important Foodborne Disease of Global Public Health Concern. *Archives of Nutrition and Public Health.* 2: 1-3.
- Palenzuela, O., Alvarez-Pellitero, P. and Sitjà-Bobadilla, A. (2010). Molecular characterization of *Cryptosporidium molnari* reveals a distinct piscine clade. *Applied and Environmental Microbiology.* 76(22): 7646-7649.
- Pánek T, Zadrobílková E, Walker G, Brown MW, Gentekaki E, Hroudová M, Kang S, Roger AJ, Tice AK, Vlček Č and Čepička I (2016) First multigene analysis of Archamoebae (Amoebozoa: Conosa) robustly reveals its phylogeny and shows that Entamoebidae represents a deep lineage of the group. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 98: 41-51.
- Paperna, I., & Lengy, J. (1963). Notes on A New Subspecies of *Bolbophorus confusus* (Krause, 1914) Dubois 1935 (Trematoda, Diplostomatidae), A Fish-Transmittted Bird Parasite. *Israel Journal of Ecology and Evolution.* 12(1-4): 171-182.
- Pavšič, J., Žel, J., and Milavec, M. (2016). Assessment of the real-time PCR and different digital PCR platforms for DNA quantification. *Analytical and bioanalytical chemistry.* 408: 107-121.
- Petrie, A., and Watson, P. (2006). *Statistics for Veterinary and Animal Science.* 3rd Edition. USA, Wiley-Blackwell.
- Pyne, C. K., Ruch, F., Leemann, U., and Schneider, S. (1974). Development of the macronuclear anlage in the ciliate *Chilodonella uncinata*: I. Morphological and cytophotometric studies on the evolution of DNA. *Chromosoma.* 48(3): 225-238.

- Rach, J.J., Gaikowski, M.P. and Ramsay, R. T. (2000). Efficacy of hydrogen peroxide to control parasitic infestations on hatchery-reared fish. *Journal of Aquatic Animal Health*. 12(4): 267-273.
- Rahemo, Z. I. (1976). *Unicauda lumae* sp. n. (Myoxsporidia: Myobolidae) from a fresh water fish, *Barbus grypus* Heckel, from river Tigris in Iraq. *Zeitschrift für Parasitenkunde*. 51: 1-5.
- Ramesh, K. S., Mohan, C. V., Shankar, K. M., & Ahmed, I. (2000). *Piscinoodinium* sp. infection in juveniles of common carp (*Cyprinus carpio*), mahseer (*Tor khudree*) and tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of Aquaculture in the Tropics*. 15(3): 281-288.
- Rintamäki-Kinnunen, P., Rahkonen, M., Mannermaa-Keränen, A. L., Suomalainen, L. R., Mykrä, H., and Valtonen, E. T. (2005). Treatment of ichthyophthiriasis after malachite green. I. Concrete tanks at salmonid farms. *Diseases of aquatic organisms*. 64(1): 69-76.
- Risse-Buhl, U., Scherwass, A., Schlüssel, A., Arndt, H., Kröwer, S., and Küsel, K. (2009). Detachment and motility of surface-associated ciliates at increased flow velocities. *Aquatic microbial ecology*. 55(3): 209-218.
- Roberts, R. J. (2012). The parasitology of teleosts. In: Roberts, R. J. (Ed.) *Fish Pathology*, 4th Edition. London, United Kingdom, Blackwell Publishing Ltd. pp. 292-338.
- Ryan, U. M., Feng, Y., Fayer, R., and Xiao, L. (2021). Taxonomy and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* and *Giardia*—a 50 year perspective (1971–2021). *International Journal for Parasitology*. 51(13-14): 1099-1119.

- Ryan, U. N. A., Fayer, R., and Xiao, L. (2014). Cryptosporidium species in humans and animals: current understanding and research needs. *Parasitology*. 141(13): 1667-1685.
- Ryan, U., Hijjawi, N., and Xiao, L. (2018). Foodborne cryptosporidiosis. *International journal for parasitology*. 48(1): 1-12.
- Ryan, U., Hijjawi, N., Feng, Y., and Xiao, L. (2019). Giardia: an under-reported foodborne parasite. *International Journal for Parasitology*. 49(1):1-11.
- Ryan, U., Paparini, A., Tong, K., Yang, R., Gibson-Kueh, S., O'Hara, A., Lymbery, A. and Xiao, L. (2015). *Cryptosporidium huwi n. sp.*(Apicomplexa: Eimeriidae) from the guppy (*Poecilia reticulata*). *Experimental Parasitology*. 150: 31-35.
- Saad-Alla, G.I., Shaapan, R.M., Varjabedian, K.G., Abdel Ghafar, F.A., and Khalil, F.A.M. (2022). Cryptosporidiosis in *Clarias gariepinus* fish: incidence and molecular aspect. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*. 26(3): 775-786.
- Sadek, A. A. (1999). Ectoparasites of the juvenile of the common carp (*Cyprinus carpio*) stocked in high density during winter and autman. MSc Dissertation: College of Education. (Ibn Al-Haitham). University of Baghdad. Baghdad-Iraq. pp. 100.
- Saha, M., and Bandyopadhyay, P. K. (2017). Seasonal incidence of protozoan parasitic infestation in ornamental fishes of West Bengal, India. *Journal of Parasitic Diseases*. 41: 523-526.

- Saraiva, A., Ramos, M.F., Barandela, T., Sousa, J.A. and Rodrigues, P.N. (2009). *Cryptosporidium* sp. (Apicomplexa) from cultured turbot *Psetta maxima*. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists. 29(1): 34.
- Shahbazi, P., Aligolzadeh, A., Khordadmehr, M., Farhang, H. H., and Katiraei, F. (2020). Molecular study and genotyping of *Cryptosporidium baileyi* and *Cryptosporidium parvum* from free-range and commercial broiler chickens in Guilan province, Iran. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. 69: 101411.
- Shamsuddin, M., Nader, I. A., and Al-Azzawi, M. J. (1971). Parasites of common fishes from Iraq with special reference to larval forms of *Contracaecum* (Nematoda: Heterocheilidae). Bulletin of the Biological Research Centre University of Baghdad. 5: 66-78.
- Shuaib, M. E. and Osman, H.A. (2015). Survey of internal protozoan parasites of fresh water fish on *Oreochromis niloticus* in White Nile in Sudan. Direct Research Journal of Agriculture and Food Science. 3(3): 62-69.
- Shwani, A. A. A. (2009). The parasitic fauna of Asian Califshes *Silurus triostegus* (Heckel,1843) from Greater Zab river-Kurdistan Region-Iraq. MSc Dissertation: Science Education, University of Salahaddin. Erbil-Iraq.
- Singh, G., Vajpayee, P., Rani, N., Amoah, I.D., Stenström, T.A. and Shanker, R. (2016). Exploring the potential reservoirs of non specific TEM beta lactamase (blaTEM) gene in the Indo-Gangetic region: a risk assessment approach to predict health hazards. Journal of hazardous materials. 314: 121-128.

- Sitjà-Bobadilla, A. and Alvarez-Pellitero, P. (2003). Experimental transmission of *Cryptosporidium molnari* (Apicomplexa: Coccidia) to gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Parasitology research*. 91: 209-214.
- Šlapeta, J. (2013). Cryptosporidiosis and *Cryptosporidium* species in animals and humans: a thirty colour rainbow?. *International Journal for Parasitology*. 43(12-13): 957-970.
- Smith, H.V. and Grimason, A.M. (2003). Giardia and *Cryptosporidium* in water and wastewater. In: Mara, D. and Horan, N.J. (Eds.) *Handbook of water and wastewater microbiology*. United Kingdom, Academic Press. pp. 695-756.
- Smith, H.V. and Nichols, R.A. (2010). *Cryptosporidium*: detection in water and food. *Experimental parasitology*. 124(1): 61-79.
- Straus, D.L. and Griffin, B.R. (2001). Prevention of an initial infestation of *Ichthyophthirius multifiliis* in channel catfish and blue tilapia by potassium permanganate treatment. *North American Journal of Aquaculture*. 63(1): 11-16.
- Straus, D.L. and Meinelt, T. (2009). Acute toxicity of peracetic acid (PAA) formulations to *Ichthyophthirius multifiliis* theronts. *Parasitology research*, 104: 1237-1241.
- Tang, F.H. and Zhao, Y.J. (2012). Two trichodinids of *Paratrichodina* (Ciliophora, Peritrichida, Trichodinidae) infecting gills of *Ictalurus punctatus* from Chongqing, China. *African Journal of Microbiology Research*. 6: 2145–2149.

- Tannich, E., Horstmann, R. D., Knobloch, J., and Arnold, H. H. (1989). Genomic DNA differences between pathogenic and nonpathogenic *Entamoeba histolytica*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 86(13): 5118-5122.
- Taylor, M. A., Coop, R. L., and Wall, R. (2016). *Veterinary parasitology*. USA, John Wiley & Sons.
- Tedesco, P., Beraldo, P., Massimo, M., Fioravanti, M. L., Volpatti, D., Dirks, R., and Galuppi, R. (2020). Comparative therapeutic effects of natural compounds against *Saprolegnia* spp. (Oomycota) and *Amyloodinium ocellatum* (Dinophyceae). *Frontiers in veterinary science*. 7: 83.
- Tedesco, P.A., Beauchard, O., Bigorne, R., Blanchet, S., Buisson, L., Conti, L., Cornu, J.F., Dias, M.S., Grenouillet, G., Hugueny, B. and Jézéquel, C. (2017). A global database on freshwater fish species occurrence in drainage basins. *Scientific data*. 4(1): 1-6.
- Thompson, R. C. A., and Ash, A. (2016). Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections. *Infection, Genetics and Evolution*. 40: 315-323.
- Tokşen, E. and Nemli, E. (2010). Oral treatment trials on telescope fish (*Carassius auratus*) experimentally infected with *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet, 1876). *Bulletin of the European Association for Fish Pathologists*. 30(2): 48-54.
- Toranzo, A.E., Magariños, B. and Romalde, J.L. (2005). A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aquaculture*. 246(1-4): 37-61.

- Tran, A.K.T., Doan, H.T., Do, A.N., Nguyen, V.T., Hoang, S.X., Le, H.T.T., Hoang, H.T., Le, N.H., Le, Q.B.T. and Le, T.A. (2019). Prevalence, species distribution, and related factors of fish-borne trematode infection in Ninh Binh province, Vietnam. BioMed research international. 2019(1): 8581379.
- Urawa S. and Yamao S. (1992) Scanning electron microscopy and pathogenicity of *Chilodonella piscicola* (Ciliophora) on juvenile salmonids. *Journal of Aquatic Animal Health*. 4: 188–197.
- Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., Pádua, S.B., Martins, M.L. and Pilarski, F. (2014). *Trichodna heterodentata* (Ciliophora) infestation on *Prochilodus lineatus* larvae: a host-parasite relationship study. *Parasitology*. 141: 662–669.
- Valladão, G.M.R., Pádua, S.B., Gallani, S.U., Menezes-Filho, R.N., Dias-Neto, J., Martins, M.L. and Pilarski, F. (2013). *Paratrichodina africana* (Ciliophora): a pathogenic gill parasite in farmed Nile tilapia. *Veterinary Parasitology*. 197: 705–710.
- Van As, J. G., and Basson, L. (1989). A further contribution to the taxonomy of the Trichodinidae (Ciliophora: Peritrichia) and a review of the taxonomic status of some fish ectoparasitic trichodinids. *Systematic parasitology*. 14(3): 157-179.
- Vanathy, K. (2022). Cryptosporidiosis. In: Parija, S.C., Chaudhury, A. (Eds.) *Textbook of Parasitic Zoonoses. Microbial Zoonoses*. Singapore, Springer. pp. 171–180.
- Veterinaria Digital. (2019). Avian coccidiosis: current situation in Southeast Asia and natural control methods. Available From: <https://www.veterinariadigital.com>.

- VHF (Victorian Fisheries Authority). (2005) Fish Health Management. Available from: <https://vfa.vic.gov.au/aquaculture/murray-cod-aquaculture/fish-health-management>.
- Vohra, P., Sharma, M. and Chaudhary, U. (2012). A comprehensive review of diagnostic techniques for detection of cryptosporidium parvum in stool samples. *Journal of Pharmacy*. 2: 15–26.
- von Gersdorff Jørgensen, L. (2017). The fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*—host immunology, vaccines and novel treatments. *Fish & shellfish immunology*. 67: 586-595.
- Wang, Q., Yu, Y., Zhang, X., and Xu, Z. (2019). Immune responses of fish to *Ichthyophthirius multifiliis* (Ich): A model for understanding immunity against protozoan parasites. *Developmental & Comparative Immunology*. 93: 93-102.
- Wiroonpan, P., and Purivirojkul, W. (2019). New record of *Trichodina unionis* (Ciliophora, Trichodinidae) from freshwater gastropods in Bangkok, Thailand. *Parasite*. 26.
- Xiao, L. (2010). Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. *Experimental parasitology*. 124(1): 80-89.
- Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U. and Upton, S.J. (2004). Cryptosporidium taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clinical microbiology reviews*. 17(1): 72-97.
- Xu, D. H., Klesius, P. H., and Shoemaker, C. A. (2007). Evaluation of a cohabitation challenge model in immunization trials for channel catfish *Ictalurus punctatus* against *Ichthyophthirius multifiliis*. *Diseases of aquatic organisms*. 74(1): 49-55.

- Xu, D. H., Shoemaker, C. A., Martins, M. L., Pridgeon, J. W., and Klesius, P. H. (2012). Enhanced susceptibility of channel catfish to the bacterium *Edwardsiella ictaluri* after parasitism by *Ichthyophthirius multifiliis*. *Veterinary Microbiology*. 158(1-2): 216-219.
- Yang, R., Dorrestein, G. M., and Ryan, U. (2016). Molecular characterisation of a disseminated *Cryptosporidium* infection in a Koi carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Parasitology*. 226: 53-56.
- Yang, R., Reid, A., Lymbery, A., and Ryan, U. (2010). Identification of zoonotic *Giardia* genotypes in fish. *International journal for parasitology*. 40(7): 779-785.
- Yemmen, C., Ktari, M. H., and Bahri, S. (2011a). Seasonality and histopathology of *Trichodina puytoraci* Lom, 1962, a parasite of flathead mullet (*Mugil cephalus*) from Tunisia. *Acta adriatica*. 52(1): 15-20.
- Yemmen, C., Quilichini, Y., Ktari, M.H., Marchand, B. and Bahri, S. (2011b). Morphological, ecological and histopathological studies of *Trichodina gobii* Raabe, 1959 (Ciliophora: Peritrichida) infecting the gills of *Solea aegyptiaca*. *Protistology*. 6(4): 258-263.
- Zangana, M. G. M. A. (2008). Survey study of parasites of freshwater fishes from Al-Khazir River in Nineveh province. MSc Dissertation: College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul-Iraq. pp. 123.
- Zanguee, N., Lymbery, J.A., Lau, J., Suzuki, A., Yang, R., Ng, J. and Ryan, U. (2010). Identification of novel *Cryptosporidium* species in aquarium fish. *Veterinary Parasitology*. 174(1-2): 43-48.

- Zheng, Z.L., Tan, J.Y., Liu, H.Y., Zhou, X.H., Xiang, X. and Wang, K.Y. (2009). Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*. 292(3-4): 214-218.

الملاحق

Appendices

الملاحق

Appendices

PP593584_Crypto	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTAG
PP593585_Crypto	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTTT
PP593586_Crypto	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
PP593587_Crypto	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
PP038021_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
KM065509_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
ON023860_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
MW769926_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
MW769897_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
MT648439_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
MK982462_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
MK990042_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
MH215514_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
MF326949_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
MG516758_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
MG516757_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
KX856002_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
KY483987_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
PP327379_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
KJ019854_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
LC794437_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
KU882704_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
QQ676143_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
KX056091_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
OP999667_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
KU311859_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
KM012041_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
KP098564_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
AB986573_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
MT648496_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
KC734570_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
KF944361_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
MN955482_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
MW947224_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
JN571735_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
JX644911_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
JQ413431_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT
JQ313971_1_Cryp	ATATTTTGATGAATATTATATAAATTAAACATAATTCAATTACTATATTTTTT

Multiple sequence alignment between local *Cryptosporidium parvum* isolate IN-C1-M24 (PP593584) and *Cryptosporidium hominis* isolate IN-C2-M24 (PP593585- PP593587), and others have recorded in the GeneBank

9/25/24, 10:11 PM

Ichthyophthirius multifiliis isolate IN-IC-M24 small subunit ribosomal - Nucleotide - NCBI



Here's how you know

[Log in](#)

Nucleotide

GenBank (full)

Ichthyophthirius multifiliis isolate IN-IC-M24 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: PQ012981.1

FASTA Graphics

[Go top](#)

[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/PQ012981.1?report=gbwithparts&log\\$=seqview](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/PQ012981.1?report=gbwithparts&log$=seqview)

1/2

9/25/24, 10:11 PM Ichthyophthirus multifilis isolate IN-IC-M24 small subunit ribosomal - Nucleotide - NCBI
1141 agctcttttg tgatttttg ggtgggtggt catggccgtt ctttagttgggt ggagggtgattt
1281 gtcgggttaa ttccgttaac gaacgagacc ttaacctgct aactagtgcg cctgtgaca
1261 acgggttta cttcttagag ggactattgt gcatttaaagc caatggaaat ttaaggcaat
1321 aacaggctcg tgatccccct agacgtgctc ggccgcacgc gggttacaat ggctggctca
1381 aaaagtattt cctgacctgg aaagggttcgg gtaatctt
//

9/25/24, 10:16 PM

Trichodina sp. Isolate IN-TR-M24 small subunit ribosomal RNA gene, par - Nucleotide - NCBI



An official website of the United States government
How's this for you know

[Log in](#)

Nucleotide

GenBank (full)

Trichodina sp. isolate IN-TR-M24 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: PQ0012982-1

FASTA Graphics

Go to:

[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/PQ012982.1?report=qbwithparts&log\\$=seqview](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/PQ012982.1?report=qbwithparts&log$=seqview)

1/2

9/25/24, 10:25 PM

Cryptosporidium hominis Isolate IN-C2-M24 small subunit ribosomal RNA - Nucleotide - NCBI

An official website of the United States government
[Here's how you know](#)[Log in](#)[Nucleotide](#)

GenBank

Cryptosporidium hominis isolate IN-C2-M24 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: PP593585.1

[FASTA](#) [Graphics](#)[Go to:](#)

LOCUS PP593585 372 bp DNA linear INV 11-APR-2024
 DEFINITION Cryptosporidium hominis isolate IN-C2-M24 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.
 ACCESSION PP593585
 VERSION PP593585.1
 KEYWORDS .
 SOURCE Cryptosporidium hominis
 ORGANISM [Cryptosporidium hominis](#)
 Eukaryota; Sar; Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eucoccidiiorida; Eimeriorina; Cryptosporidiidae; Cryptosporidium.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 372)
 AUTHORS Altaie,I.A. and Alhayali,N.S.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (06-APR-2024) College of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, University of Mosul, Almajmoaa Althaqafya, Mosul, Nineveh 41002, Iraq
 COMMENT ##Assembly-Data-START##
 Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
 ##Assembly-Data-END##
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..372
 /organism="Cryptosporidium hominis"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="IN-C2-M24"
 /isolation_source="intestine"
 /host="Fish-Common Carp (*Cyprinus carpio*)"
 /db_xref="taxon:237895"
 /geo_loc_name="Iraq: Mosul"
 /collection_date="18-Dec-2023"
 rRNA <1..>372
 /product="small subunit ribosomal RNA"
 ORIGIN
 1 cgtggcaatg acgggttaacg gggaaattagg gttcgattcc ggagaggggg cctgagaaac
 61 ggctaccaca tctaaggaaag gcacggcg cgcacaaattac ccaatctaa tacaggagg
 121 tagtgacaag aaataacaat acaggacttt ttgggtttgt aatggaaatg agttaatgt
 181 aaacccctttt acaagtatca atggagggc aagtctggc ccacgcggc cggtaattcc
 241 agcttcaataa gcgtatatta aatgtttgc agttaaaaag ctctgtttttt gatttcttt
 301 aataatattat ataaaaatatt ttgtatgataa ttatataat attaacaataa ttcatattac
 361 tatttttttt tt
 //

9/25/24, 10:26 PM Cryptosporidium hominis isolate IN-C4-M24 small subunit ribosomal RNA - Nucleotide - NCBI



An official website of the United States government
[Here's how you know](#)

[Log in](#)

[Nucleotide](#)

GenBank

Cryptosporidium hominis isolate IN-C4-M24 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: PP593587.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go In:](#)

LOCUS PP593587 372 bp DNA linear INV 11-APR-2024
 DEFINITION Cryptosporidium hominis isolate IN-C4-M24 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.
 ACCESSION PP593587
 VERSION PP593587.1
 KEYWORDS -
 SOURCE Cryptosporidium hominis
 ORGANISM [Cryptosporidium hominis](#)
 Eukaryota; Sar; Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eucoccidiiorida; Eimeriorina; Cryptosporidiidae; Cryptosporidium.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 372)
 AUTHORS Altaie,I.A. and Alhayali,N.S.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (06-APR-2024) College of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, University of Mosul, Almajmoaa Althaqafya, Mosul, Nineveh 41002, Iraq
 COMMENT ##Assembly-Data-START##
 Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
 ##Assembly-Data-END##
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..372
 /organism="Cryptosporidium hominis"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="IN-C4-M24"
 /isolation_source="intestine"
 /host="Fish-Common Carp (*Cyprinus carpio*)"
 /db_xref="taxon:237895"
 /geo_loc_name="Iraq: Mosul"
 /collection_date="10-Dec-2023"
 tRNA <1..372
 /product="small subunit ribosomal RNA"
 ORIGIN
 1 cgtggcaatg acgggttaacg gggaaattagg gttcgattcc ggagagggag cctgagaaaac
 61 ggcttaccaca tctaaaggaaag gcagcaggcg ccaaaattac ccaatctaa tacaggagg
 121 tagtgacaag aaaaacaat acaggacttt ttggttttgt aatggaaatg agttaatgt
 181 aaaccctttt acaagtatca attgaggggc aagtctggtg ccagcagccg cggtaatcc
 241 agctccaaata gcgtatataa aagtgtgc aatggaaaag ctctgtatgt gatttcgtt
 301 aataatattat ataaaaatatt ttgatgaaata ttatataat attaacataa ttcatattac
 361 tatttttttt tt
 //

9/25/24, 10:22 PM Cryptosporidium parvum isolate IN-C1-M24 small subunit ribosomal RNA g - Nucleotide - NCBI

An official website of the United States government
[Here's how you know](#)[Log in](#)[Nucleotide](#) [GenBank \(full\)](#)

Cryptosporidium parvum isolate IN-C1-M24 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: PP593584.1

[FASTA](#) [Graphics](#)[Go to:](#)

LOCUS PP593584 365 bp DNA linear INV 11-APR-2024
 DEFINITION Cryptosporidium parvum isolate IN-C1-M24 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.
 ACCESSION PP593584
 VERSION PP593584.1
 KEYWORDS .
 SOURCE Cryptosporidium parvum
 ORGANISM [Cryptosporidium parvum](#)
 Eukaryota; Sar; Alveolata; Apicomplexa; Conoidasida; Coccidia; Eucoccidiiorida; Eimeriorina; Cryptosporidiidae; Cryptosporidium.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 365)
 AUTHORS Altaie,I.A. and Alhayali,N.S.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (06-APR-2024) College of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, University of Mosul, Almajmoaa Althaqafya, Mosul, Nineveh 41002, Iraq
 COMMENT ##Assembly-Data-START##
 Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
 ##Assembly-Data-END##
 FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..365
 /organism="Cryptosporidium parvum"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="IN-C1-M24"
 /isolation_source="intestine"
 /host="Fish-Common Carp (Cyprinus carpio)"
 /db_xref="taxon:5887"
 /geo_loc_name="Iraq: Mosul"
 /collection_date="10-Dec-2023"
 rRNA <1..>365
 /product="small subunit ribosomal RNA"
 ORIGIN
 1 atgacgggtt acggggattt agggttcgat tccggagagg gagccgtt gacggcttacc
 61 acatctaagg aaggcagcag ggcgcgaaat taccatcc taatcagg aggtatgtac
 121 aaaaaataac aatacaggac tttttgggttt tggatggtaatgatggataatgataaccc
 181 tttacaagta tcaattggag gccaatgtcg gtggcagcag cccgggttaat tccagcttca
 241 atagcgatata taaaatgtt tgcgtttaaa aagctcgtag ttggatttct gttataatatt
 301 tatataaaat attttgatgtat atttttatataatattaaca taatttcatat tactatattt
 361 ttttag
 //

Abstract

A total of 200 fresh fish of five species 56 *Arabibarbus grypus*, 54 *Cyprinus carpio*, 35 *Mesopotamichthys sharpeyi*, 30 *Chondrostoma regium* and 25 *Luciobarbus xanthopterus* were collected from local markets from Mosul city for the period from August 2023 to February 2024 to detect the infections with ectoparasites and endoparasites. The results of the current study showed that the fish are infected with four types of external protozoa, *Trichodina spp.*, *Ichthyophthirius spp.*, *Piscinoodinium spp.* and *Chillodenella spp.*, where the highest incidence in *Trichodina spp.* parasite reached 19.5% with a significant difference, followed by *Chillodenella spp.* and *Ichthyophthirius spp.* 7.5%, 6.5% respectively, and the lowest with the parasite *Piscinoodinium spp.* with an infection rate of 3%. There were no significant differences in the infection rates between endoparasites and ectoparasites during the months of August to February at $P \leq 0.05$. The infection rates ranged between 32.43% and 14.28%, where the highest rate of infection was in August 32.43%, and the lowest in February 14.28%. The study showed that by external scraping from skin, gills and fins, where the locations of the external parasites varied, where the *Trichodina spp.* parasite was isolated from the skin, gills and fins, while *Ichthyophthirius spp.* parasite was isolated from the skin and fins, while both *Chillodenella spp.* and *Piscinoodinium spp.* were their places in the skin and gills.

The results of microscopic examination of the external protozoa showed wet scraping and depending on the morphological characters, where *Trichodina spp.* parasite appeared in pear or round shapes depending on the type of parasite, containing many food vacuoles as well as large and small nucleus, and in golden to brown in color, and is characterized by the presence of cilia that surround the outer surface of the parasite. Its diameter

varies between 37-60 μm . It contains the adhesive disc which also contains complex structures in the form of three rings positioned together, the outer ring of which is very prominent called the denticulate ring. While the parasite *Ichthyophthirius spp.* appeared with wet scrape as pear-shaped and ranging from 0.03 to 1 mm. It is characterized by the presence of two nuclei inside, one of which is large in shape in the form of a horseshoe and the other is circular. The *Chillodenella spp.* parasite appeared the wet mount of fish in the form of an oval leaf and flat dorsally ventrally, containing a large nucleus, granular cytoplasm and many small gaps in addition to two ciliated vacuoles. The size of the parasite ranges from 50-70 x 30-40 μm . The study revealed for the first time the parasite *Piscinoodinium spp.* in the wet mount of skin where many active phases were observed in pear or round shapes and in different sizes, golden to brown in color, and hundreds of the parasite were observed in the form of colonies using anatomical microscopy.

The results of the molecular study using polymerase chain reaction (PCR) technique to detect the parasite *Trichodina spp.* by amplifying the *SSUrDNA* gene and a reaction product of 1700 bp while the results of the PCR for the investigation of the parasite *Ichthyophthirius spp.* were also proven with product 1700 bp.

Results of gene sequencing analysis for skin, gills and fin samples of were confirmed positive for *Trichodina spp.* under accession number PQ012982 and isolate of *Ichthyophthirius spp.* under the accession number PQ012981 belongs to the species *Ichthyophthirius spp.* according to the analysis of the genetic tree of both parasites.

Microscopic examination was carried by scraping smears from the stomach and intestine stained by Giemsa, Lugal iodine and floatation method with saturated sugar solution. Results revealed that fish were infected with four species of internal protozoa, *Cryptosporidium spp.*,

Eimeria spp., *Entamoeba spp.* and *Giardia spp.* The highest incidence of *Cryptosporidium spp.* and *Eimeria spp.* were 26.5% and 21.5% respectively. While the incidence rate was lower with *Giardia spp.* and *Entamoeba spp.* 3.5% and 1% respectively with no significant differences between them. The infection rates for months ranged between 34.28% and 14.28%, the highest rate was in October 34.28% and the lowest in February 14.28% with no significant differences at $P \leq 0.05$. Morphological characteristics of *Cryptosporidium spp.* oocysts appeared spheroidal or ovoidal with diameter ranged from 4.6-5.5 X 3.8-4.7 μm . The oocysts of *Eimeria spp.* are spherical to ovoid 12-19 μm in size. The parasite *Entamoeba spp.* cysts are spherical 10 to 18 μm ., while cysts of *Giardia spp.* parasite appeared as oval containing four nuclei surrounded by a protective wall and about 8-12 μm . Presence of intestinal protozoa in fish species is due to age factor and water contamination. This is the first report concerning prevalence of intestinal protozoa in fish species in Mosul, Iraq. Nested PCR and sequence analysis of four samples using *18SrRNA* gene showed positive for both zoonotic species *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* under accession numbers PP593584 of *Cryptosporidium parvum* and three isolates PP593585, PP593586 and PP593587 for *Cryptosporidium hominis* were 100% identical to the same species in other studies in Iraq and other countries according to blast in GenBank of NCBI.

Traditional and Molecular Diagnosis of Some Protozoa in Fish in Mosul City

A Thesis Submitted
By
Israa Abdulwahed Fathe Hasan Altaie

To
The Council of the College of Veterinary Medicine
University of Mosul
In
Partial Fulfillment of the Requirements
For the Degree of Master of Science
In
Veterinary Medicine / Veterinary Parasitology

Supervised by
Professor
Dr. Nadia Sultan Alhayali

University of Mosul
College of Veterinary Medicine



Traditional and Molecular Diagnosis of Some Protozoa in Fish in Mosul City

Israa Abdulwahed Fathe Hasan Altaie

MSc/Thesis
Veterinary Medicine / Veterinary Parasitology

Supervised by

Professor

Dr. Nadia Sultan Alhayali