الفصل الأول

المقدمة
Introduction

منذ نشأة الإنسان الأولى والغذاء يعتبر شغله الشاغل كأحد مقومات البقاء ولربما اهتدى فطرياً منذ عصوره الأولى إلى صيد بعض الحيوانات لترويضها والاستئناس بها والاستفادة منها بشكل عام ومن لحومها بشكل خاص (Fasl-deen , 2007).

وفي المملكة العربية السعودية حيث يزداد النمو السكاني ويزداد مع هذا النمو الإحتياج إلى منتجات الغذاء الحيوانية ، اتجهت الأهداف إلى تنمية وزيادة الثروة الحيوانية التي بدورها تحتاج إلى سيطرة بيطرية قوية حيث أن هناك العديد من الأمراض التي تصيب هذه الحيوانات والتي منها ماهو بكتيري أو فيروسي أو طفيلي (Fasl-deen , 2007).

تنتقل بعض الأمراض الطفيلية من حيوان إلى حيوان أخر وبعضها ينتقل من الحيوان إلى الإنسان وهذه مشكلة أخرى قائمة بذاتها، ومع تدني مستوى الثقافة الصحية لدى بعض الناس وعدم مراعاة الخدمات البيطرية على الوجه الأمثل انتشرت هذه الأمراض الطفيلية مسببه مشاكل صحية

على مستوى العالم (Moro&Schantz,2008) ، ومن أهم هذه الأمراض التي هي مجال بحثنا هو داء الأكياس المائية hydatidosis الذي يعتبر واحداً من أهم الأمراض الطفيلية الخطيرة التي تنتقل من الحيوانات آكلات اللحوم كالكلاب إلى الإنسان مسبباً تدهورا في حالته الصحية وأيضا تنتقل إلى الحيوانات آكلات الأعشاب مثل الإبل والأبقار والضأن والماعز مسبباً خسارة اقتصادية كبيرة في إنتاجية اللحوم وإنخفاض جودتها وقيمتها الغذائية (Carabin *et al*.,2005)

وتحدث الإصابة من خلال ابتلاع بويضات الدودة الشريطية لجنس المشوكات *Echinococcus* التي تعيش في الأمعاء الدقيقة للحيوانات آكلات اللحوم مثل الكلاب وذلك بالاتصال المباشر مع هذه الحيوانات ، وبتناول الخضروات النية والفاكهة الملوثة بهذه البويضات . وبعد تناول الإنسان أو الحيوان هذه البويضات تفقس ويخرج منها جنين يخترق جدار الأمعاء وينتقل إلى الدم ثم إلى أماكن مختلفة في الجسم كالكبد والرئة والمخ والكل ى والعضلات وغيرها مكوناً مايعرف بالأكياس المائية مسبباً مرض الأكياس المائية ، أو أكياس العطش أو المرض العذ ري (عرفه, 2003).

قد يسكن المرض داخل جسم الإنسان أو الحيوان لفترة طويلة دون وجود أعراض مرضية وتتراوح هذه المدة من 10-20 سنه (Ramos *et al* .,2006) ولكنه عند تزايد أعداد الأكياس المائية أوعند كبر حجمها تحدث الأعراض التي تختلف تبعاً لنوع العضو المصاب، فقد يحدث ضيق في التنفس والتهابات رئوية خطيرة إذا وجدت في الرئتين ، واضطراب في الهضم وانتفاخ بطني إذا وجدت في الكبد ، آلاماً مبرحة بالبطن إذا وجدت بالأمعاء ، أعراض عصبية وتشنجات

في حالة تأثير هذه الأكياس على أحد المراكز الحيوية بالمخ ، فرط الحساسية anaphylactic shock في حالة انفجار الكيس المائي مؤدياً إلى الوفاة

. (Khanfar, 2004 and Tsang & File , 2008)

تنتشر الإصابة بالأكياس المائية في جميع أنحاء العالم وخاصة في الأماكن التي يكثربها إختلاط رعي الماشية مع العائل النهائي مثل دول أمريكا الوسطى والشمالية ،شواطئ البحر المتوسط ، الشرق الأوسط، جنوب غرب أسيا، شمال أفريقيا، أوغندا، كينيا ، نيوزيلندا ، أوروبا و الصين (Li *et al* ., 2008).

وفي المملكة العربية السعودية كان هناك بعض الدراسات على مدى انتشار داء الأكياس المائية بين الماشية المحلية والمستوردة وأيضاً في الإنسان ، ففي جدة أقر Baeshen (1998) أن نسب الإصابة بلغت 7.55% ، 0.67 % للحيوانات المحلية والمستوردة على التوالي . وأجرى Malaika *et al* .(1981) دراسات شاملة على 188 مصاب من مختلف مستشفيات المملكة ووجد أن أعلى نسبة إصابة سجلت في المرضى بالمنطقة الجنوبية الغربية تلاها المنطقة الوسطى .

يتم تشخيص مرض الأكياس المائية في الحيوان بواسطة الفحص بعد الذبح أو التشريح بعد الوفاة بالطرق التقليدية وبالفحص النسيجي لتلك اليرقات مجهريا للتفريق بينها وبين اليرقات الشريطية الأخرى (عرفه ، 2004) ، أما في الإنسان فيتم التشخيص بعمل الأشعة السينية والموجات فوق الصوتية أو بفحص الأكياس التي يحصل عليها جراحياً بعد الاستئصال الكلى لها

وعمل الدراسة النسيجية عليها ويتم أيضاً عن طريق التشخيص المناعي للمرض و ذلك بالبحث عن وجود أجسام مضادة لتلك الأكياس في مصل المصابين (Sarisoy *et al*., 2008).

مازال العلاج الوحيد لمرض الأكياس المائية في الإنسان هو استئصال الأكياس المائية جراحيا بحذر لتفادى نشر محتويات الكيس المائي عند ثقبه (Brahim *et al* ., 2008) . وعن فعالية المعالجة الكيمائية فقد سجل Ceballs *et al* .(2008) فعالية استخدام عقار البندازول Albendazole على المدى الطويل ولكنه أشار إلى عدم إمتصاصه جيدا وإلى إنخفاض قدرته على المرور من خلال جدار الكيس . بينما أشار Khanfar (2004) أنه إذا استخدم هذا العقار مع عقار الـبرازيكونتيل Paraziquntel فإنه يعطي نتائج جيدة.

الهدف من البحث The Aim of Work

قال النبيِّ صلى الله عليه وسلم :(إذا ولغ الكلب في الإناء فاغسلوه سبع مرات، وعفروه الثامنة في التراب) رواه مسلم .

منطلقا من هذا الحديث يبين الرسول صلى الله عليه وسلم خطورة لمس الكلاب ومداعبتها والتعرض لفضلاتها و لعابها ، ونظراً لتزايد اقتناء الكلاب في المنازل و كثرت تربيتها في الآونة الأخيرة مع خطورة إصابتها بالعديد من الأمراض الطفيلية التي تنتقل منها للإنسان والحيوانات المختلفة مثل داء الأكياس المائية **فإن الدراسة الحالية تهدف إلى** :-

أولاً -توفير رؤية واضحة عن مدى انتشار مرض الأكياس المائية hydatidosis في الحيوانات المحلية والمستوردة المختلفة في محافظة جدة وذلك بعمل زيارات ميدانية لمسلخ جدة الشمالي خلال عام ابتداء من شهر يناير عام 2009 إلى شهر يناير عام 2010م ثم إخضاع البيانات للدراسات الإحصائية لتحديد :

1- نسب الإصابة بالأكياس المائية بين أنواع الحيوانات المحلية المختلفة .

2- نسب الإصابة بالأكياس المائية بين أنواع الحيوانات المستوردة المختلفة .

3- العلاقة بين نسب الإصابة بالأكياس المائية وبين كون الحيوانات محلية أو مستوردة.

4- تأثير الاختلافات الموسمية على نسب الإصابة بالأكياس المائية على مدار العام .

5- تحديد أنواع وأعداد الأعضاء المصابة في جميع الحيوانات الخاضعة للدراسة .

ثانياُ-التعرف على بعض خصائص الأكياس المائية المستخرجة من بعض الأعضاء المصابة من مختلف الحيوانات الخاضعة للدراسة وذلك من خلال عمل بعض الدراسات الطفيلية وإخضاع نتائجها للدراسات الإحصائية لتحديد ارتباط هذه الخصائص بنوع الحيوان أو بنوع العضو المصاب و تشمل هذه الدراسات الطفيلية :

1- عد الأكياس بكل عضو مصاب لتحديد شدة إصابة الأعضاء .

2- قياس حجم السائل المائي بكل كيس لتحديد حجم الأكياس المائية .

3- قياس مدى خصوبة هذه الأكياس وحيويتها لتحديد أكثر الأعضاء وأكثر أنواع الحيوانات المصابة خصوبة .

4- عدوة عدد من الفئران بسائل مائي خصب مستخرج من نوعين مختلفين من الحيوانات المصابة للتعرف على مدى فاعلية كل منهما في إحداث الإصابة .

ثالثاً التعرف على التركيب النسيجي للأكياس المائية المستخرجة من بعض الأعضاء المصابة وعلى التغيرات النسيجية المرضية التي تحدثها هذه الأكياس في أنسجة العضو المصاب .

الفصل الثاني

استعراض الأبحاث السابقة

Review of literatures

نبذة تاريخية عن طفيل الأكينوكوكس

Historical background on *Echinococcus*

تعد الإصابة بمرض الأكياس المائية hydatidosis أقدم الإصابات بالديدان الشريطية التي عرفها الإنسان ،إذ سجل أبو قراط قبل 2000 عام حالات إمتلاء الكبد بالماء كما وصف الطبيب العربي أبو بكر الرازي في عام 900 م حالات من إصابة الكبد في الإنسان بنوع من الأكياس (Baeshen,1998) . وفي عام 1687م استطاع العالمان Hartman and Tyson من وصف بعض النواحي البيولوجية للطفيل. كما وصف Batsch عام 1786م والعالم Rudolphi عام 1801 م شكل الديدان البالغة وسماها بجنس *Echinococcus*، ثم عرفت بعد ذلك دورة الحياة (بالدراسات المعملية) وذلك بجهد العالم Von Siebold في عام 1852م والعالم Haubner في عام 1855 م (Thompson ,2001) .

تم إكتشاف أول حالة إصابة بـالأكياس المائية الحويصلية alveolar echinococcosis عام 1852 م بواسطة العالم Buhl في ألمانيا على شكل ورم بالكبد وسمى باسم المادة الغروية

الحويصلية alveolar colloid وفي عام جاء 1855 م جاء العالم Virchow ليفرق بين الطبيعة المتعددة للأكياس المائية وبين الأكياس ذات الغرفة الواحدة التي يحدثها طفيل *E.granulosus* وأقر العالم Pos selt في استراليا أنه عندما قام بإصابة معملية لكلب من كيس بكبد إنسان مصاب وجد دودة شريطية صغيرة في أمعاء الكلاب تختلف تماما عن *E.granulosus* ثم جاء العالم Leuckart في عام 1863 م وصنف هذا الطفيل بـ *E.multiocularis* وبعد مائة عام جاء العلماء Rausch & Schiller عام 1954 بألاسكا و Vogelفي عام 1957 م بالمانيا وأثبتوا أن *E.multiocularis* هو نوع مختلف عن *E.granulosus* وهو المسبب لمرض الأكياس المائية الحويصلية في الإنسان human alveolar echinococcosis (Eckert , 1998).

الوضع التصنيفي لطفيل الأكينوكوكس

Taxonomic position of *Echinococcus* (Schmidt & Roberts , 1985)

Kingdom	:Animalia (Linnaeus , 1758)
Phylum	: Platyhelminthes (Gegenbaur,1859)
Class	: Cestoidea (Rudolphi,1808; Fuhrmann,1931)
Subclass	: Cestoda (Van *Beneden*,1848)
Order	: Cyclophllidea (Braun,1900)
Superfamily	:Taeniidae (Zwicke,1841)
Family	:Taeniidae (Ludwig,1886)
Genus	:*Echinococcus* (Batsch,1786; Rudolphi,1801)
Species	1-granulosus (Rudolphi,1801)
	2- multilocularis (Leuckart,1863)
	Or alveolaris (Klamm,1883)

هناك ستة أنواع تم اكتشافها من جنس *Echinococcus* ولكن أربعة فقط لهم أهمية طبية واقتصادية وهم : *E.granulosus* التي تسبب داء الأكياس المائية ذو الغرفة الواحدة (cystic echinococcosis)، *E.multilocularis*، *E.vogeli* و *E.oligarthrus* اللذان يسببان داء الأكياس المتعددة (polycystic echinococcosis) (Moro &Schantz,2008) (جدول 1).

ومن خلال الدراسات العديدة التي تمت على أنواع طفيل *Echinococcosus* اتضح أن هناك أعداد كبيرة مختلفة داخل النوع نفسه وسميت في الوضع التصنيفي بتحت النوع subspecies أو سلالات strains (جدول 2).هناك إختلافات عديدة في هذه السلالات تشمل الشكل الخارجي morphology ، النمو development ، عمليات الأيض metabolism ، وهجين الـ hybridization DNA ، وتخصصها في إصابة العائل الوسيط intermediate host specificity أي أن سلالة واحدة من الطفيل تتكيف مع نوع واحد من العائل الوسيط حيث ثبت أن الأنواع التي تصيب الأبقار ، الأحصنة ، الأغنام و الخنازير لا تنمو ولاتتطور بشكل جيد في الأنواع الأخرى . فمثلاً في الإنسان هناك سلالات لها دلالة وبائية ولكنها تختلف حسب المناطق ففي أوروبا السلالة التي تصيب الحصان والخنازير لاتعدي الإنسان على الأرجح ولكن السلالات التي تصيب الأبقار و الأغنام تكون معدية له (Schmidt & Robert,2000) .

بالنسبة لطفيل *E.granulosus* أكتشف إنجذاب سلالات واضحة لعوائل خاصة بها وذلك بإستخدام الدراسات الجزيئية (Mitochondrial DNA sequences) . وقد تم التعرف على عشرة أنواع جينية واضحة (G1- G10) (جدول 3)، ولكن البيانات الوبائية والجينية الحديثة أعطت دلالات كافية على اعتبار هذه السلالات أنواع جديدة . تشمل هذه الأنواع سلالتين بالضأن (G1andG2) ، سلالتين بالبقر (G3 and G5) ، سلالة في الحصان (G4) ، سلالة في الجمال (G6) ، سلالة في الخنزير (G7)، سلالة بالآيائل (G8) ، سلالة بالخنزير في بولاندا (G9) ، سلالة بحيوان الرنة في أوراسيا(G10) . تعتبر سلالة الضأن (G1) هي الأكثر انتشاراً وهي الأكثر إصابة في للإنسان (McManus &Thombson ,2003) .

يبدو أن طفيل *Echinococcus equinus* أو (سلالة G *E.granulosus*) ليست ذات علاقة بالإنسان والعوائل الوحيدة التي سجلت حتى الآن هي الخيول ، وهي واسعة الإنتشار في إيرلندا (Torgerson & Budke ,2003) . وقد عرفت *E.equinus* بتميزها من سلالة الضأن وعرفت إلى درجة تحت نوع (subspecies) (*E.granulosus equinus*) ثم ألغيت هذه النظرية لأن سلالة الضأن والخيل تتواجدان من غير تنافر . وعلى كل فقد أيد ورجح علم الأوبئة خاصة المتعلق بخاصية العائل نظرية الإنفصال التصنيفي . فالدليل الجزيئي الحديث الذي يتضمن أن السلالة (G4) *E.granulosus* تختلف عن سلالة الضأن (G1) وأن الاثنين ليستا من السلالة *E.multilocularis* ويدعم ويؤيد بقوة الوضع التصنيفي *E.equinus* كأنواع منفصلة (Le *et al* .,2002 ; McManus ,2002 and Thompson & McManus ,2002)

تنتشر سلالة G8 في شمال أمريكا الشمالية وأوراسيا ويكون العائل النهائي لها الذئاب والكلاب والموظ والرنة ، ، تصيب أساسا رئة الإنسان وتكون الإصابة أقل بطئاً وأقل في حدوث المضاعفات عن بقية السلالات (McManus & Thompson ,2003).

إن التعرف على سلالات طفيل *E.granulosus* له أهمية كبيرة للصحة العامة ، حيث عندما تقصر فترة بلوغ الدودة البالغة في أمعاء الكلاب تقصر الفترة الفاصلة التي يتم فيها إعطاء العقاقير ضد الطفيل للكلاب المصابة خاصة في الأماكن التي ينتشر بها سلالات G2، G5، G6 (Rosenzvit *et al* .,1999) .

جدول 1 أشكال الإصابة بطفيل الأكينوكوكس في الإنسان (Eckert & Deplazes,2004)

Name of disease (according to WHO/ OIE;[223])	Cystic echinococcosis	Alveolar echinococcosis	Polycytic echinoccosis	
Causative agent other names of the disease	*E.granulosus* Hydatid diseas, hydatidosis	*E.multilocularis* Alveolar hydatid disease	*E.vogeli* E.vogeli echinococcosis, neotropical echinococcosis	*E.oligarthrus* *E.oligarthrus echinococcosis,* neotropical echinococcosis
Adult parasite *Length (mm)* *No.of proglottids*	2.0-7.0 3(4-6)	1.2 -4.5 5(2-6)	3.9-5.6 3	2.2-2.9 3
Definitive hosts	Domestic dog,wild canids (coyote , dingo , erd fox, etc)	Red fox,arctic fox, raccoon dog , coyote, domestic dog , cat	Bush dog , domestic dog	Wild felidae : pampas cat , Geoffrey's cat , ocelot, jaguarondi , puma, bobcat
Intermediate hosts	Primarily ungulates , also marsupials	Rodents , other small mammals	Rodents: pace and agouti	Rodents: agouti, spiny rat, paca
Geographic distribution of the parasite	Worldwide	North America, northern and central Eurasia	Central and South America	Central and South America
Larval parasite in humans Organ localization	Visceral , predominantly liver and lungs	Visceral , primarily liver, metastases in lungs,brain , bones ,etc.	Visceral,mainly liver,abdomen ,lung	Orbital , heart
Morphology	Fluid-filmed mostly solitary (and less frequently multiple) cysts, unilocular or multichambered , diam 1-›15 cm often with protoscoleces	Masses of numerous small cysts (diam microscopic up to 3 cm) , often interconnected , surrounded by dense connective tissue , no cyst fluid , appearance of cheeselike mass, sometimes with central necrosis ; rarely a few protoscoleces	Polycystic;fluid –filled cystic , diam up to 4-6 cm , solitary , but often aggregated , interconnected and multichambered ; thick laminated layer ; protoscoleces frequently present	Fluid-filled cysts with tendency for multicystic development, less subdivision than in E.vogeli , and laminated layer thinner; protoscoleces formed.
Type of growth in humans	*Concentric expansion*	*Exogenous proliferation , tumorlike , infiltrative*	*Exogenous and endogenous proliferation*	*Expansive , no indication of exogenous proliferation*

جدول 2 أنواع وسلالات طفيل الأكينوكوكس (Thompson , 2001)

Suggested taxonomic designation	Known definitive hosts	Known intermediate hosts	Probable geograohic distribution	Synonyms	Strains
E.granulosus	Dog , fox, dingo, jackal , hyena	**S**heep , cattle , pigs, goats, buffalo , camels , macropods , humans	Australia **,** Europe , USA, New, Zealand , Africa , China , Middle East , Asia , South America , Russia	*E.pampeanus* , *E.cepanaza, E.granulosus, E.newzealandensid*	Common sheep strain , Tasmanian sheep strain , buffalo strain
E.multilocularis	Fox, dog , cat	Rodents, pigs , horses, humans	Europe, North America , Canada, Japan , China	*E.sibiricensis*	Europen strain , North American strain , Alaskan strain , Hokkaido strain
E.vogell	Bush dog	Rodents, humans	South America	*E.pampeanus, E.cruzi*	-
E.oligarthrus	Felines	Rodents, humans	South America	-	-

جدول 3 سلالات طفيل *الأكينوكوكس جرانيلوسس*(Eckert & Deplazes,2004)

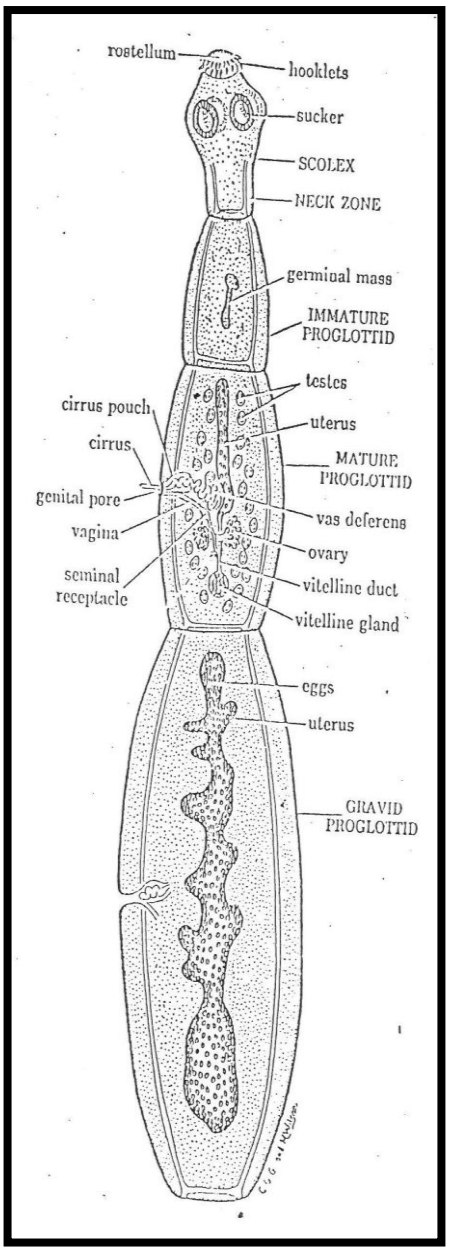
Strain or isolate	Definitive and intermediate hosts	Infectivity for humans	Probable geographic distribution
G1:common sheep strain	D:dog,fox,dingo,jackal,hyena	Yes	Europe ,Middle East ,Africa , Iran ,India,Nepal,China,Russia, Australian mainland ,Tasmania ,New Zealand , United States,South America
G2:Tasmanian sheep strain	1: sheep , cattle ,pig,camel ,goat,macropods		
G3:(buffalo strain)?	D:dog,fox 1:sheep,cattle?	Yes	Tasmania,Argentina
G4:horse strain	D:dog,fox? 1:buffalo,cattle?	?	Asia
G5:cattle strain	D:dog 1:horse,other equines	No/?	Europe,Middle East ,South Africa (New Zealand ?, United States?)
		Yes	Europe,South Africa , India ,Nepal,Sri Lanka,Russia,South America?
G6:camel strain	D:dog 1:cattle , buffalo , sheep, goat	Yes	Middle East , Iran,Africa ,China,Nepal, Argentina
G7:pig strain	D:dog 1:camel , goat ,cattle	Yes	Poland , Slovakia, Ukraine , Russia,Argentina
G8:cervid strain (G8)	D:wolf,dog 1:cervids	Yes	North America,Eurasis
G9:? Lion strain	? D:lion 1:zebra,wildebeest , warthog,bushpig,buffalo,various antelope species, giraffe?,hippopotamus?	Yes ?	Poland Africa

الشكل العام لطفيل الأكينوكوكس (الأطوار البالغة)

General morphology of *Echinococcus* (Adult stage) (Schmidt & Roberts,2000)

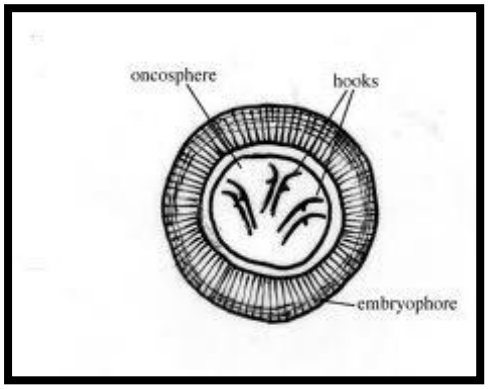
يتميز الطور البالغ لديدان *Echinococcus* بصغر حجمه حيث يصل طوله حوالي 6 ملمً ويتكون جسمه من الرأس (Scolex) والعنق (Neck) والقطع اللسانية (proglottids). الرأس به حامل الأشواك أو الهوز Rostellum الذي يحمل صفين من الأشواك (hooks) ، كل صف به من 28 إلى 40 شوكة ويصل طول الشوكة من 22 إلى 40 ميكرون بالإضافة إلى أربعة ممصات (suckers) ، يتراوح عدد القطع اللسانية من 3 - 5 قطع لسانية ، الأولى غير ناضجة (Immature) وقبل الأخيرة ناضجة(Mature) والأخيرة حبلى (Gravid) .القطع الناضجة بها مبيض (Ovary)عبارة عن صفين وغدة محية (Vitelline gland) في الطرف النهائي للجسم وبها أيضاً 40 إلى 60 خصية (Testes) متناسقة على جانبي الجسم وفتحة تناسلية (Genital pore) تفتح مرة على الجانب الأيمن ومرة على الجانب الأيسر ،أما القطعة الحبلى فهي أطول من نصف طول الدودة البالغة وتحتوي على 5000بيضة تقريباً (شكل 1).

يتراوح حجم بيض *Echinococcus* مابين 30 -60 ميكرون وتحتوى البيضة على جنين سداسي الأشواك (Hexacanth embryo أو Onchosphere) ولها جدار عبارة عن قشرة مخططة سميكة تسمى بالحامل الجنيني (Embryophore) ، وللبيض القدرة على البقاء في التربة الرطبة لمدة تتراوح ما بين 6 إلى 12 شهر دون أن يفقد حيويته (شكل 2).



شكل (1): الطور البالغ لطفيل الأكينوكوكس ***Echinococcus*** **Adult stage of**

.(Noble &Noble ,1982)



شكل (2): بيض طفيل الأكينوكوكس

Egg of Echinococcus

.(Noble &Noble ,1982)

الأطوار اليرقية لطفيل الأكينوكوكس (الأكياس المائية)

Larval stages of *Echinococcus* (Hydatid cysts) (Thompson,2001)

عند الإصابة بالشوكاء المحببة *E. granulosus* تنمو الأكياس المائية تدريجياً ولا يكتمل نموها إلا بعد سنة أو سنتين من وصولها للجسم ، بينما عند الإصابة ب الشوكاء متعددة الفراغات *E.multilocularis* فإن الأكياس المائية يكتمل نموها بعد 3 - 4 شهور من الإصابة.

يتكون جدار الكيس من : (شكل 3):-

1)غشاء خارجي غير خلوي يسمى بالطبقة الصفائحية laminated layer : وهي عبارة عن صفائح رقيقة متراصة ، لها سمك متباين variable thickness ، ذو لون أبيض عاجي هش، غني بالجليكوبروتين ، تسمح بمرور المواد المغذية ولكنه ا مقاومة لمرور البكتريا ، تغطي طبقة النمو الرقيقة.

2) غشاء داخلي ويسمى بطبقة النمو أو الطبقة الجرثومية Germinal layer : تتكون من طبقة واحدة من الخلايا الرقيقة، يتبرعم منها الرؤيسات المجهرية scolices . والحويصلات الثانوية brood capsules وأحيانا الأكياس البنوية daughter cysts . ينمو داخل كل حويصلة 5 - 20 رأس دودة أولى ، كل رأس يحتوي على أربعة ممصات وبروز به أشواك هذا البروز إما إن يكون ملتوياً للداخل أو بارزاً للخارج . أحياناً تتحرر الحويصلات الثانوية و تسبح في السائل الهيداتي hydatid fluid الموجود في الكيس . وقد تخرج منها الرؤوس في هذا السائل ويسمى في هذه الحالة بالرمل الهيداتي hydatid sand .

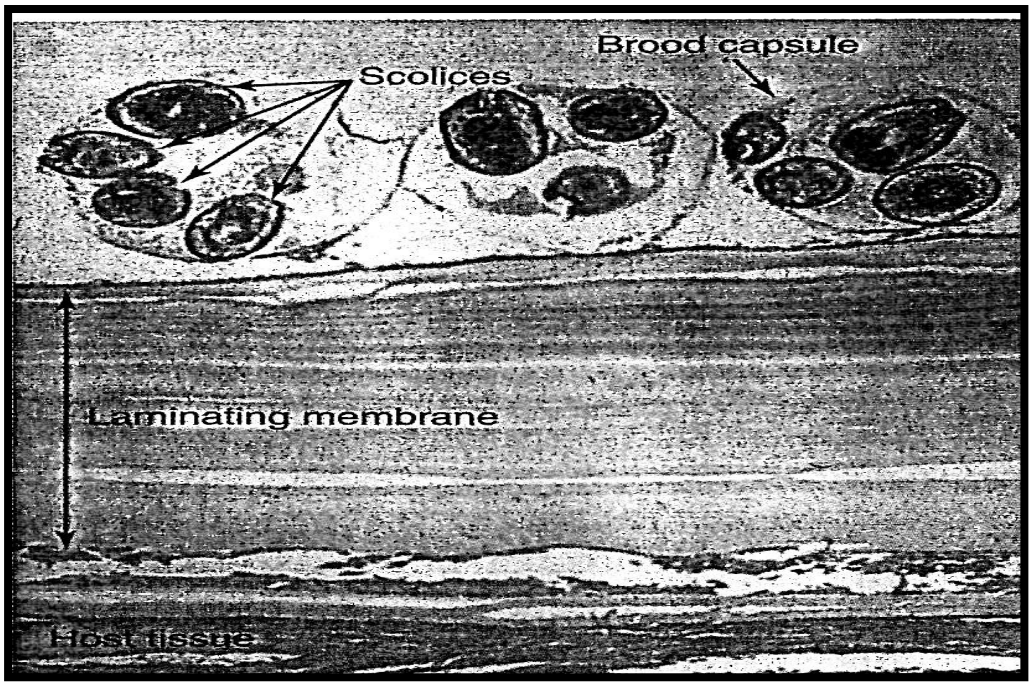
الأكياس المائية لدودة *E.multilocular*is تكون أكثر تعقيداً عن الأكياس المائية لدودة *E.granulosus* حيث أنها تكون عديدة الغرف multilocular (شكل 4) ، بينما في *E.granulosus* تكون ذو غرفة واحدة unilocular.

في الأكياس المائية لطفيلي *E.granulosus* يكون هناك طبقة تسمى بالطبقة الليفية Fibrous capsule أو Adventitial layer تحيط بالأكياس المكتملة النمو بينما في الأكياس المائية لطفيل *E.multilocularis* لا يتكون بها هذة الطبقة حيث أنه يتكون من حويصلات عديدة صغيرة محشورة في شبكة من النسيج الضام .

في الأكياس المائية لطفيل *E.multilocularis* يحدث تكاثر للخلايا الغير متخصصة بالطبقة الجنينية داخلياً وخارجياً من الكيس مكونة بروزات خلوية من شبكات خيطية مكونة تركيبات أنبوبية أو كيسية . وعند انفصال هذه الطبقة الجنينه تنتقل من خلال الدم أو الليمف إلى بؤر بعيدة أخرى مكونة أكياس جديدة وهذا يعطى طبيعة المرض في الإنسان والذي يشبه الورم الخبيث في الشكل وفي السلوك .

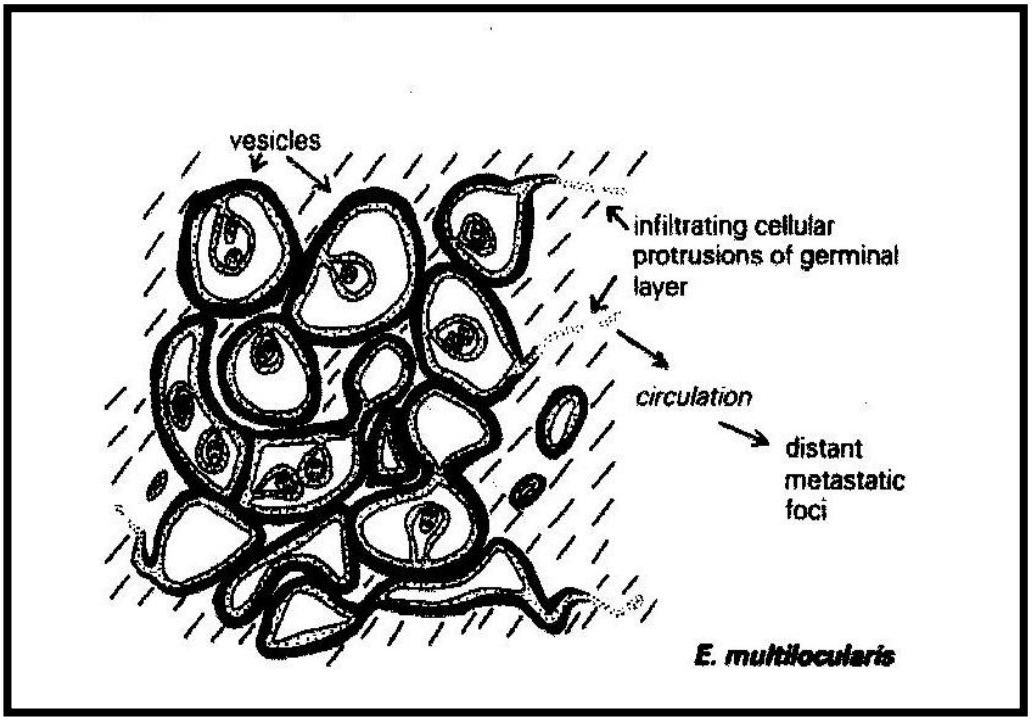
يوجد ثلاثة أنواع من الأكياس المائية :خصبة fertile تحتوي على رؤوس ،وعقيمة sterile لا يتكون بداخلها الرؤوس وقد تكون متكلسة calcified بمعنى أنه عند اكتمال نموها ووصولها لحجم كبير تتوقف عن إنتاج الحويصلات الثانوية.

يختلف حجم الأكياس في جسم الإنسان بنسب متفاوتة عالية ، ودائماً يتراوح ما بين 1 – 15 سم ولكن هناك أيضاً أكياس كبيرة الحجم تصل إلى 20 سم.



شكل (3) : كيس مائي لطفيل الأكينوكوكس جرانيلوسس

Hydatid cyst of *E.granulosus* (Bowman, 2009)



شكل (4) : كيس مائي لطفيل الأكينوكوكس ماليتلوكيلارس

Hydatid cyst of *E.multilocularis(Eckert & Deplazes.2001)*

دورة حياة طفيل الأكينوكوكس

Life Cycle of *Echinococcus*

دورة حياة طفيل *Echinococcus* تمر بين عائلين ، العائل النهائي definitive host حيث تعيش الأطوار البالغة في أمعاء الحيوانات آكلات اللحوم مثل الكلاب ، والعائل المتوسط intermediate host حيث تعيش الأطوار اليرقية "الأكياس المائية" hydatid cyst في الأحشاء الداخلية للحيوانات آكلات الأعشاب مثل الأغنام ، الجمال ، الأبقار وغيرها بالإضافة إلى الإنسان وبذلك يسمى هذا النوع من دورة الحياة بدورة الحياة التعاقبية (Metagenesis life cycle). عندما يخرج البيض من جسم العائل النهائي مع البراز وذلك بانفجار القطع اللسانية الحبلى التي تحتوي على أعداد كبيرة منه ، قد يلتصق بجسم أو شعر العائل النهائي أو قد يلوث البيئة الموجودة في منطقة الرعي (الأعشاب ،الخضروات ،الفواكه) وعند ابتلاع العوائل الوسيطة لهذه البويضات تحدث الإصابة بالطفيل (Eckert & Daplazes.,2004) .

ومن طرق حدوث الإصابة : مداعبة الكلاب المصابة وبالتالي التصاق البيض على الأصابع ووصوله للفم ، أكل الخضروات النيئة والفواكه الطازجة الملوثة بالبيض ، قد ينتقل البيض بفعل النواقل الميكانيكية مثل الحشرات أو الطيور إلى الغذاء أو الماء مسبباً الإصابة وقد يتلوث الهواء بالبيض بفعل الرياح وحركة الهواء مسبباً الإصابة عند الاستنشاق (Zhang *et al.*, 2008)

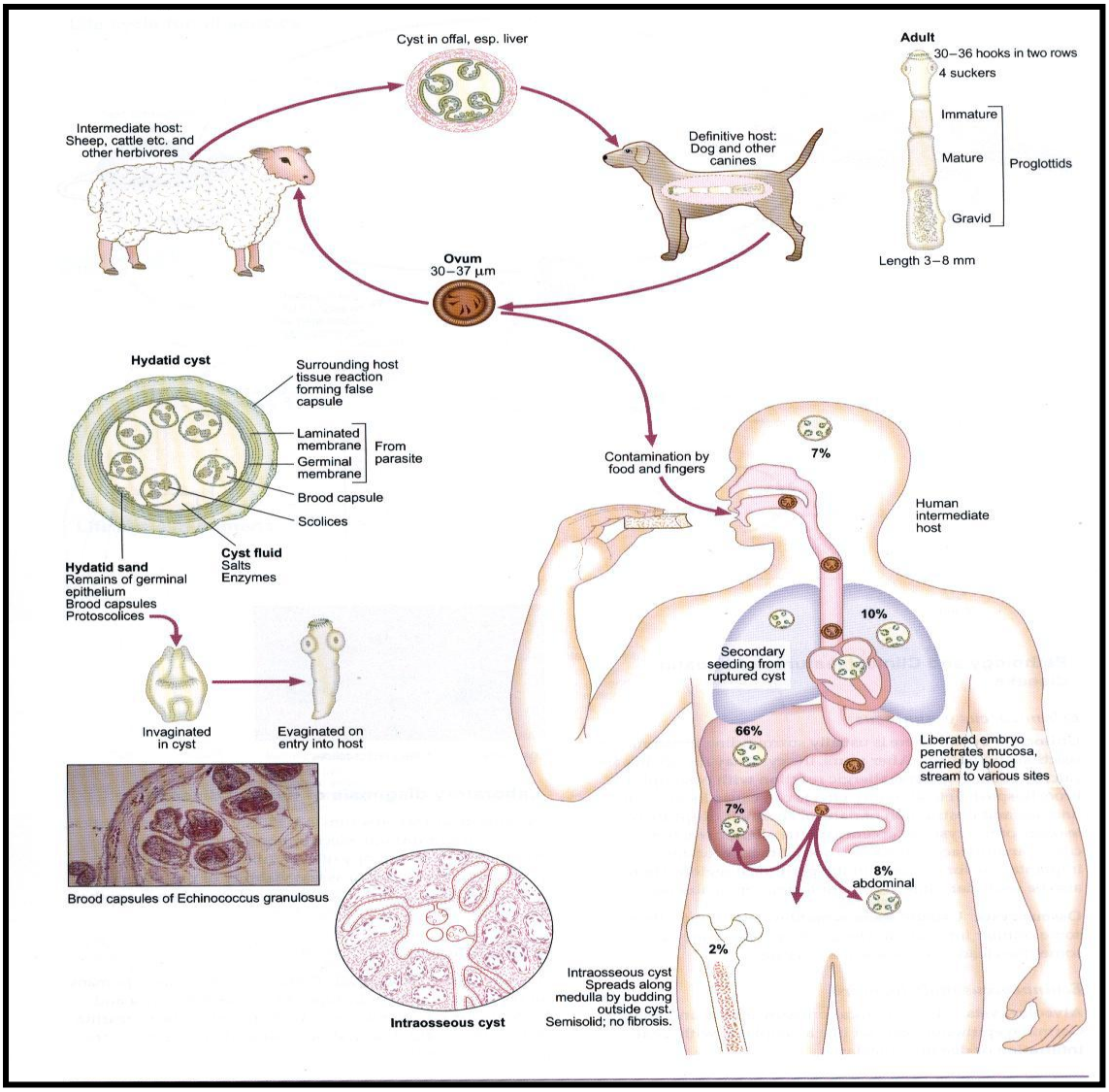
بعد تناول الإنسان أو الحيوان هذه البويضات تفقس ويخرج منها جنين يخترق جدار الأ معاء الدقيقة بواسطة الأشواك وحركة الجسم وإفرازته ، ويصل إلى تيار الدم ومن ثم إلى الأماكن

المختلفة في الجسم كالكبد والرئتين والعضلات والكلى والمخ وغيرها وعندئذ يفقد أشواكه ويبدأ بتكوين الأطوار اليرقية التي تعرف بالأكياس المائية (شكل 5)

. (Eckert & Daplazes ., 2004)

بعد ابتلاع البيض بواسطة العائل الوسيط وتكون الأكياس في المناطق المتعددة للجسم يسمى هذا النوع من الإصابة بالإصابة الأولية (primary cystic echinococcosis) . أما الإصابة الثانوية (secondary cystic echinococcosis) فإنها تحدث عادة في التجويف البطنى نتيجة انفجار الكيس بواسطة حادث أو من تلقاء نفسه والذي على أثره تتحرر الرؤوس المتواجدة في السائل المائي أو تتحرر الحويصلات الثانوية ثم تنمو لتعطي أكياس جديدة

(Pawlowski *et al* .,2001)



شكل (5): دورة حياة طفيل الأكينوكوكس *Echinococcus* Life cycle of

(Chiodini *et al.*,2001)

التوزيع ومعدل إنتشار الإصابة (شكل 6 ،7)

Distribution and prevalence rate

I- في العـــــوائـــــل النـــــهـــــائية Definitive hosts

في المملكة العربية السعودية: قاما كلا من Ghandour&Saleh (1983) بدراسة على 32 كلب في منطقة جدة للكشف عن الإصابة بطفيل *Echinococcus* وأظهرت النتائج خلو الكلاب من الإصابة. في منطقة الإحساء شرح (1984). Kawasemah *et al* 73 كلباً للكشف عن الإصابة بالطفيل . أوضحت النتائج إصابة الكلاب بنسبة 15%، وأرجع ذلك إلى طبيعة منطقة الإحساء التي تتميز برعي طبيعي للأغنام مقارنة بمنطقة جدة حيث لايتم أي رعي طبيعي بها.

في بعض البلدان العربية: ذكرت الدراسة التي أجراها (Molan &Baban (1992 في العراق إن نسبة إصابة الكلاب بطفيل *Echinococcus* بلغت 38 %. أما في فلسطين المحتلة فقد بلغت نسبة الإصابة 14.2% (Furth *et al* ., 1994). وفي جمهورية مصر العربية خضع 500كلب من مختلف الأعمار والأجناس من العيادات الخاصة والمستشفيات البيطرية الحكومية للفحص لتحديد ا لإصابة بالطفيل وأوضحت النتائج إصابة9 كلاب فقط بنسبة 1.8 % (Haridy *et al*.,2008) .

في بعض بلدان العالم: ذكر Altintas (2003) إن نسب إصابة الكلاب بطفيل *E.granulosus* في مناطق مختلفة بتركيا تراوحت مابين 0.32-40% وأرجع هذا التفاوت أساسا إلى إختلاف الموقع الجغرافي .

وذكر(2003). Hirvela- koski *et al* أن حيوان الرنه في فلندا هو العائل النهائي لطفيل *E. granulosus* وانه على الرغم من انتشار هذا الطفيل في السنوات الأخيرة إلا أن نسبة الإصابة به لاتزال منخفضة جدا حيث بلغت 0.013%.

في إيطاليا فحص (2004). Guberti *et al* 119 ذئب في الفترة مابين 1987- 1999 لمعرفة مدى انتشار الإصابة بطفيل *E.granulosus* فوجد 18 ذئباً مصاب بنسبة 15 % وقد فحص (2009) . Bruzinskaite *et al* 240 عينة برازية من الكلاب الريفية في أوروبا الشرقية وأظهرت النتائج وجود 9 إصابات بطفيل *E.granulosus* .

وذكر (2002).Jimenez *et al* أن نسبة إصابة الكلاب بشمال أسبانيا وصل إلى 50% مما دفع الإدارة العامة لبرنامج السيطرة من توثيق مدى انتشار المرض وتوعية المواطنين بمخاطر المرض ومعالجة جميع الكلاب الضالة والذي أدى بدوره إلى خفض نسبة الإصابة بين المرضى من 7% إلى 2%.

قام (2009). Torgerson *et al* بدراسة نسب الإصابة بمنطقة شرق كازاخستان أشارت النتائج إصابة 5 % بطفيل *E.granulosus*. وفي غرب الصين فحص Budke *et al*. (2005) 371 كلب لمعرفة مدى انتشار الإصابة بطفيل *Echinococcus* في الفترة 2002-2003 مابين أثبتت النتائج حدوث الإصابة بنسبة 8% . وفي نفس البلد قام Zhang *et al*. (2006) بدراسة على 30 كلب ضال فوجد إصابة 17 منهم . بينما في عام 2009 أجريت الدراسة على 74 كلب وأوضحت النتائج إصابة 17 منهم (Zhao *et al*.,2009).

II- العوائل المتوسطة Intermediate hosts

أ-الحيوانات آكلات الأعشاب.

في المملكة العربية السعودية: من أوائل الدراسات تلك التي أجراها Hassounah & Behbehani (1976) على الأغنام بالمنطقة الشرقية وقد بلغت نسبة إصابتها 10. 04 % من إجمالي الأغنام المذبوحة . و ذكر Ghandour & Saleh (1983) أن نسبة إصابة كل من الضأن والجمال والأبقار بمحافظة جدة بلغت 87. 0%، 3.5%، 2.8% على التوالي. وسجل Kawasemeh *et al*. (1984) نسبة الإصابة في المواشي المستوردة والمحلية في منطقة الإحساء في كل من الضأن والأبقار والجمال المستوردة وقد بلغت 4.6 % ،0.6% ، 4.6 % على التوالي ، أما في المواشي المحلية فقد بلغت نسبة الإصابة 0.3 %، 0.7 % ، 0.8% على التوالي. وفي دراسة أخرى قام بها (Baeshen (1998 في منطقة جدة لمعرفة نسبة الإصابة بالأكياس المائية في كل من الحيوانات المحلية والمستوردة التي ذبحت في الفترة مابين (1994- 1995) أوضحت النتائج أن أعلى نسب الإصابة كانت في الحيوانات المحلية مقارنة بالحيوانات المستوردة ماعدا الماعز وكانت الجمال هي الأعلى في نسب الإصابة. وفحص Haroun *et al* . (2008) 200 من الإبل بمسلخ مكة المكرمة وأظهرت النتائج إصابة 32 منهم بنسبة 16% . ذكر (2007) Fasl-deen إن أعلى نسبة إصابة بمرض الأكياس المائية في المدينة المنورة لعام 2003 كانت في الجمال (7.21%) تلاها الأبقار (6.35%) ثم الضأن (2.60 %) وأدناها إصابة في الماعز (1.84 %) ، وفي عام 2004 سجلت الجمال أعلى نسبة إصابة (6.30 %) تلاها الضأن (1.90 %) ثم الماعز (1.21 %) وأدناها إصابة في الأبقار (0.49%) ، وكانت أعلى نسبة إصابة على مدى العامين معاً في الجمال (6.75 %) ثم الأبقار (3.42 %) ثم الضأن(2.25%) و أخيرا الماعز(1.53%).

في بعض البلدان العربية : في مصر أقر Haridy *et al*.(2006) بأن أعلى نسبة إصابة كانت بالجمال بنسبة 9 % . بينما في الأغنام بلغت 3 % . ووجد Haridy *et al*. (2008) إصابة 17 حماراً بمرض الأكياس المائية من إجمالي 160 وكانت الإصابة واضحة بالعين المجردة وكذلك بالمجهر.

وفي ليبيا بلغت نسبة الإصابة في كل من الضأن والماعز والجمال والأبقار 20% ، 3.4%، 13.6% و11% على التوالي (Tashani *et al* .,2002) .

وجد (2003). Bardonnet *et al* أن الإصابة بالأكياس المائية في سلالة الأغنام بشمال الجزائر منتشرة بين الماشية والضأن ، بينما في جنوب الجزائر وجد النوع نفسه منتشراً بين الأغنام والجمال.

وفي المغرب قام (Azlaf & Dakkak (2006 بإجراء دراسة لمدة عامين على عدد من الخرفان و الماعز و الجمال وقد سجلت نسب الإصابة بالأكياس المائية 10.58% و 1.88% و12.03% على التوالي .

أما في تونس فقد خضعت الجمال للدراسة في محافظتين لمعرفه مدى تفشي الداء فيها وذلك من خلال الدراسة التي قام بها (2004). Lahmar *et al* على 103 من الجمال في المحافظة الأولى وأثبت الفحص عدم تفشي الداء فيها بينما في محافظة الأخرى وجد 19جمل من إجمالي 188 مصاباً بنسبة 10.1%.

في بعض بلدان العالم : في تركيا قام العديد من العلماء بدراسة إنتشار مرض الأكياس المائية بين الحيوانات. حيث قام (Yildiz &Gurcan (2003 بدراسة على الأغنام وأظهرت النتائج إصابة الأغنام البالغة بنسبة 50.9 % ، والأغنام الصغيرة بنسبة 3.2 % . كما ذكر Altintas(2003) بأن نسبة الإصابة في الحيوانات الأليفة تراوحت مابين 11.2 %- 50.7% وأرجع هذا التفاوت إلى إختلاف الموقع الجغرافي .

كما أجرى(2005) Yildiz &Tuncer دراسة على 847 من الماشية المذبوحة فوجد إصابة 120 منهم وواصل(2008). Acionz *et al* الدراسة على 765 من الماشية المذبوحة وقد وجد أن نسبة الإصابة 35.7%.

ذكر(2004) . Garippa *et al* بأن مرض الأكياس المائية عرف من ذو القدم في ايطاليا و خاصة في المناطق التي يتواجد فيها الكلاب مع الماشية و الإنسان . اجرى Capuano *et al*. (2006) دراسة على 772 من الجاموس في جنوب ايطاليا فوجد إصابة 576 منهم بنسبة 10.5% . وتابع (2007) Cringoli *et al*. الدراسة على كل من الماشية والجاموس وقد أوضحت النتائج أن الماشية هي الأعلى في الإصابة (20 %) بينما بلغت إصابة الجاموس (12.4 %) . كما قام(2008) Rinaldi *et al*. بدراسة على 434 من الماشية في جنوب ايطاليا فوجد إصابة 363 منهم بنسبة 1.19% وذكر (2009) Scala & Mazzetta أن معدل انتشار داء الأكياس المائية في الضأن كان عالياً حيث بلغت نسبة إصابتها 70% .

أما في اليونان فقد قام (2007) Varcasia *et al*. بدراسة على الحيوانات المذبوحة لتحديد إصابتها بالأكياس المائية وقد شملت الدراسة 210 من الضأن و 190من الماعز وقد أظهرت النتائج إصابة الضأن بنسبة 30.4 % ، وإصابة الماعز بنسبة 14.7% . كما قام (2008). Christodoulopoulos *et al* بفحص 700 من الأغنام الصغيرة (عند عمر سنة) و1500 من الأغنام البالغة فوجد ارتفاع نسبة الإصابة في الأغنام الصغيرة عنها في الأعمار الكبيرة حيث سجلت 39.32% و29.41% على التوالي .

وفي أسبانيا ذكر (2008). Carmena *et al* بأن نسبة الإصابة في الأبقار بلغت 23 % .

أما في الصين فقد أجريت دراسات عديدة على مدى انتشار مرض الأكياس المائية منها التي قام بها (2008). Wang *et al* الذي أثبت أن هذا الداء ينتشر في وسط وغرب الصين . كما أجرى (2005). Budke *et al* دراسة على الماشية فوجد أن نسبة الإصابة بلغت 8%. قد أجرى (2008). Yu *et al* دراسة على الَضأن والثيران فوجد أن نسب الإصابة 75.5 % ، 82.6 % على التوالي .وأوضح (2009). Zhao *et al* في دراسته إصابة 113 من الخراف المصابة من أصل 1021 بنسبة بلغت 11.1% وإصابة 126 من الثيران من إجمالي 634 بنسبة 19.9%.

وحظت أثيوبيا بدراسات عديدة فقد قام (2008) .Kebede *et al* بدراسة لمده عام على 400 من الماشية فوجد إصابة 64 منها بنسبة 16% . و قام (2008) . Sarisoy *et al* بدراسة لمدة عامين على كل من الضأن والماعز وقد أظهرت النتائج إصابة كل من الضأن والماعز بنسبة 26%، 68 % على التوالي . وتابع (2009) Berhe الدراسة لمدة عام على 4481 من الماشية المذبوحة وأظهرت النتائج حدوث الإصابة بنسبة 32.1 % .

وفي الدراسة التي قام بها (2009)Nonga & Karimuribo لمدة ثلاث أعوام على الماشية والخنازير الصغيرة في الجنوب الأفريقي، أثبتت النتائج ارتفاع نسب الإصابة في الخنازير(6.02 %) عنها في الماشية (4.2%) .

2-الإنسان

في المملكة العربية السعودية: يعتبر Marsafy & Morsy (1975) ممن كان لهم السبق في دراسة انتشار هذا المرض في الإنسان حيث استطاع استئصال 9 أكياس مائية من إجمالي مائة مريض أثناء عمليات جراحية أجراها في منطقة الرياض. وجد Saidi (1976) تفاوت إصابة الأعضاء في الإنسان بالأكياس المائية حيث سجل كل من الكبد والرئتين إصابة عالية (75 % ، 8.5%) على التوالي ، بينما كانت بقية الأعضاء منخفضة (العضلات 5.5% الطحال 2.5% ، الكلى 0.2% المخ1.5%، العظام 0.1%، القلب0.5 % وفي أعضاء أخرى 3.5 %).

أجرى(1981).Malaika *et al* دراسات شاملة على 188 مصاب من مختلف مستشفيات المملكة ووجد أن أعلى نسبة إصابة سجلت في المرضى بالمنطقة الجنوبية الغربية تلاها المنطقة الوسطى ،وكانت أعلى نسبة إصابة في أعمار المرضى مابين 31-40 سنة وأقلها في الأعمار مابين 1-10 سنوات و 70-80 سنة . كما سجلت أعلى نسبة إصابة في الإناث عنها في الذكور حيث بلغت في الإناث 72.76% بينما في الذكور 37.24 % وشملت أيضا الدراسة تحديد أكثر الأعضاء إصابة لهؤلاء المرضى فكان الكبد الأكثر إصابة بنسبة 61.2% ثم الرئة بنسبة 29.8% ثم باقي الأعضاء بنسبة 13.8%.

في بعض البلدان العربية: في تونس أجرى (2009). Bellil *et al* دراسة مابين عام 1990 إلى عام 2007 على مدى انتشار داء الأكياس المائية وأظهرت النتائج حدوث الإصابة بنسبة 24.1% .

في بعض بلدان العالم : قام (2001) .Frider *et al* بإجراء دراسة على 719شخص يسكنون المناطق الريفية في الأرجنتين فوجد أن نسبة الإصابة بلغت 1.1% .وتابع الدراسة (2007).Dopchiz *et al* لمعرفة تفشي المرض في نفس البلد وأظهرت نتائج الدراسة تراوح

نسب الإصابة مابين 68.3% إلى 75% وسجل الكبد أعلى نسبة إصابة عن بقية الأعضاء (89.2 %). كما فحص Zanini *et al*. (2009) 1400 شخص من سكان الريف من الأطفال والكبار باستخدام الأشعة فوق صوتية وأظهرت النتائج أن معدل الانتشار بلغ 0.9 % و نسبة إصابة الأطفال أعلى منها في الكبار .

في الصين قام Liu *et al* .(2008) بفحص 2512 شخص من خلال اختبار التراص الدموي (IHA) وظهر 207 شخص إيجابي للمرض بنسبة 9.2%.
كما فحص Han *et al* .(2009) 1723 شخص عن طريق الموجات الفوق صوتية وأظهرت النتائج تواجد الإصابة بنسبة 13.7% (5.5% مصاب بداء CE و8.2% مصاب بداء AE) وكانت نسبة الإصابة في الذكور والإناث 11.6%، 15.6% على التوالي .

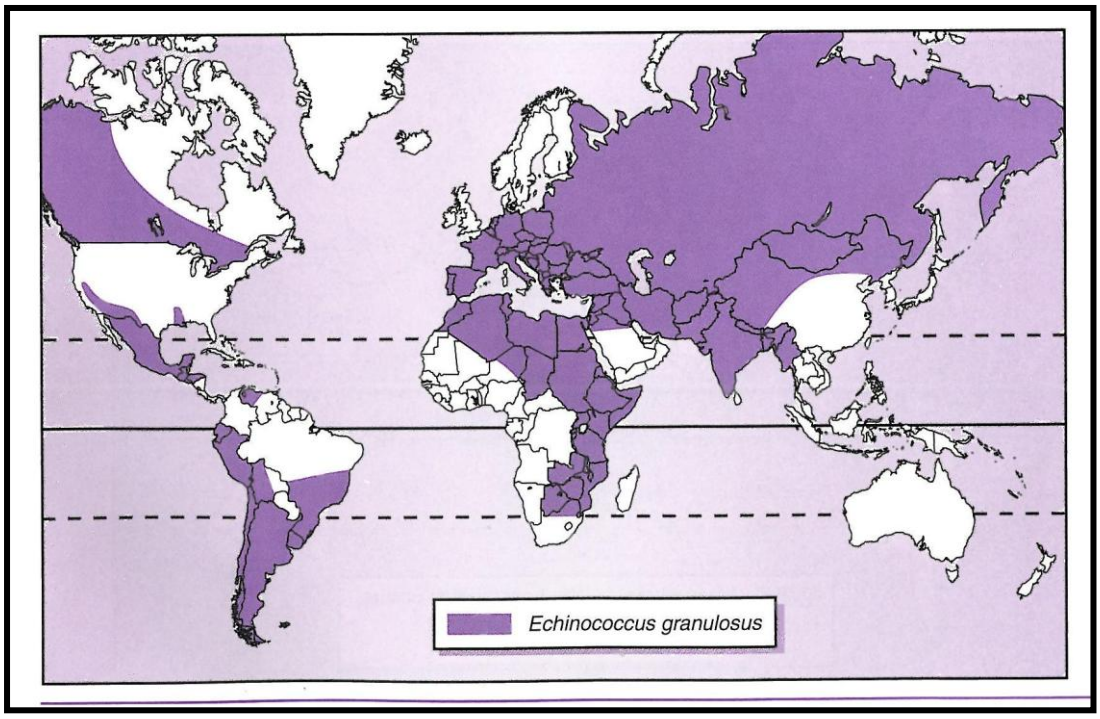
قام Carmena *et al*. (2008) بجمع معلومات عن مدى انتشار المرض في أسبانيا خلال خمس سنوات حيث وجد أن أكثر المناطق المتضررة هي الشمال الشرقي والأوسط والغربي من البلاد، فبلغ معدل إصابة الإنسان فيها مابين 1.1% إلى 3.4 % .

في تركيا قام (Yazar *et al*. (2008 بإجراء دراسة لمعرفة مدى انتشار المرض فوجد 14789إصابة من إجمالي 19789.

أفاد Yoshida *et al* .(2009) بأن داء الأكياس المائية موجود في اليونان وأن أكثر حالات الإصابة تكون في البالغين و نادراً ماتكون في الأطفال وأرجع ذلك إلى نمو المرض ببطء وظهور الإصابة متأخرا.

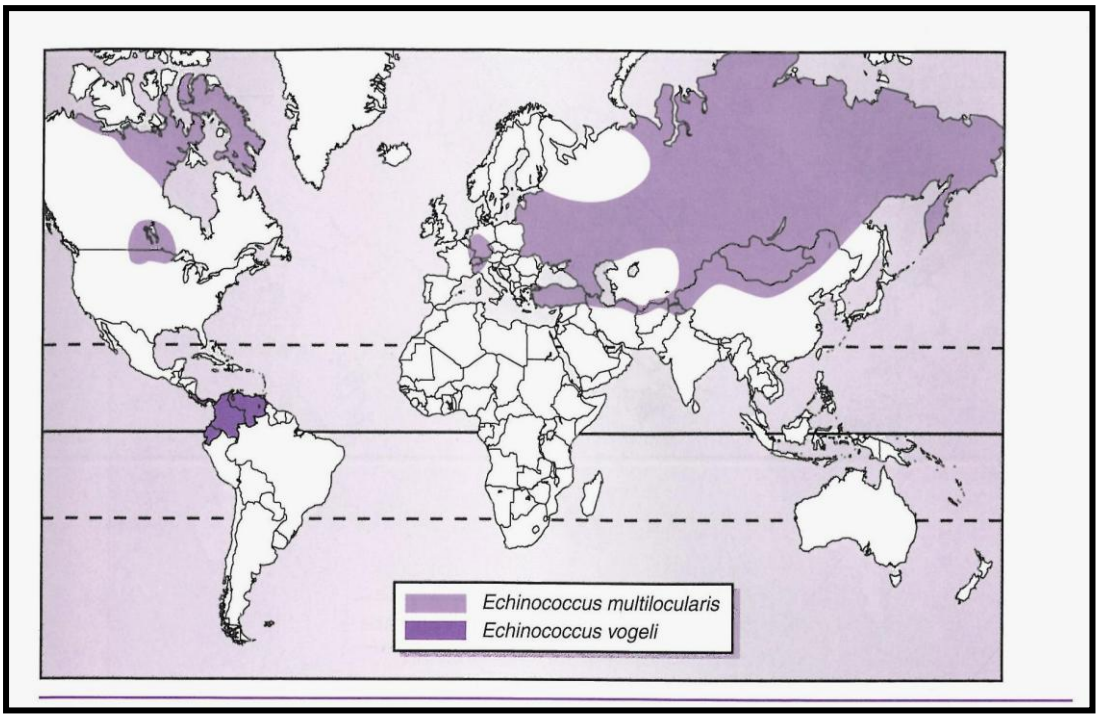
وفي إيران أجرى (2008) Ahmadi & Hamidi دراسة على 179 مصاب وقد بلغت نسبة الإصابة في الذكور 44.1 % بينما بلغت في الإناث 55.9%وكانت نسبة الإصابة في المدن أكثر منها في المناطق الريفية وبلغت نسبة الإصابة في ربات البيوت 47.3 % بينما في المزارعين 16.6% والعمال 16%. كما أظهرت نتائج الدراسة المصلية التي قام بها Sarkari *et al* . (2009) في إيران إصابة 36 من500 شخص تم فحصهم (49.6% من النساء و50.4% من الرجال) وكانت أعلى نسبة إصابة في المرضى الذين تتراوح أعمارهم مابين 30- 39 عام .

وفي ألمانيا اكتشف Meimarakis *al et*.(2009) إصابة عشرة من المرضى من أصل 250 بنسبة بلغت 4 %.



شكل (6): التوزيع الجغرافي لطفيل إكينوكوكس جرانيلوسس

Geographical distribution of *E. granulosus* (Markell &Voges,2006)



شكل (7): التوزيع الجغرافي لطفيل إكينوكوكس ماليتلوكيلارس وإكينوكوكس فوجل

Geographical distribution of *E. mulitilocularis* and *E. vogeli*(Markell &Voges,2006)

الإستجابات المناعية عند الإصابة بداء الأكياس المائية

Immune responses in hydatidosis

I- الإستجابات الفطرية Innate responses

أوضحت نتائج الدراسات التجريبية تعدد آليات المناعة الفطرية في مقاومة resistance أو إحتمالية الإصابة susceptibility بالأكياس المائية (Dempster *et al* ., 1991) .

عند معاملة الفئران بمستضد غير متخصص non specific antigen أدى ذلك إلى حماية الفئران من الإصابة بالأكياس المائية لطفيل *E.multilocularis* من خلال زيادة أعداد الخلايا أحادية النواة monocytes والخلايا الكبيرة الأكولة macrophages (Reuben *et al* ., 1978).

أظهرت الفئران التي بها المكمل Complement C5 مقاومتها للإصابة بطفيل *E.granulosus* عن الفئران التي ينقص بها المكمل موضحا أن طريق المكمل المتبادل alternative complement pathway له علاقة بمقاومة أوإحتمالية الإصابة (Ferreira *et al* ., 2000).

هناك دلائل تبين الإرتشاح بالخلايا المتعادلة neutrophils والخلايا الكبيرةالأكولة macrophages أثناء المراحل الأولية للإصابة بكل من طفيل *E.granulosus* ، وطفيل *E.multilocularis* . وبعد تقدم الإصابة يلاحظ زيادة الخلايا الحامضية eosinophils ، والخلايا الليمفاوية lymphocytes ، والخلايا الكبيرة الأكولة مما يؤدي ذلك إلى حدوث تغيرات نسيجية مرضية (Barnes *et al* .,2007).

الخلايا الحامضية هي خلايا مؤثرة قوية ضد المراحل اليرقية المعدية ولكن ليس ضد الطفيل البالغ لأكثرية الطفيليات ومنها *E.granulosus* (Meeusen & Balic , 2000) . عند تحلل الخلايا الحامضية يخرج نوع من البروتين والذي يعتبر أعلى مكون لحبيبات الخلايا الحامضية وهو cationic protein والذي يصل إلى مستوى ضار للطفيل

.(Ramos *et al* .,2006)

في المرحلة المزمنة للإصابة بطفيل *E.granulosus* هناك خلايا مرتشحة أخرى غير الخلايا المتعادلة والخلايا الكبيرة الأكولة و الخلايا الحامضية وهي الخلايا المكونة للألياف fibrocystic cells في الطبقة الليفية للكيس المائي مؤديا إلى تليفات / نخر (Peng *et al* .,2006).

هناك دراسات قليلة توضح دور الخلايا القاتلة الطبيعية natural killer cells في الإصابة بطفيل *Echinococcus* رغم أن هذه الخلايا لها دور هام في المناعة الطبيعية ضد الممرضات الداخل خلوية intracellular مثل الفيروسات ، البكتيريا والأوليات (Zhang *et al* .,2008) ومن هذه الدراسات تلك التي قام بها Hernandez *et al*. (1999) حيث لاحظ العلماء زيادة في الخلايا القاتلة الطبيعية في دم المرضي المصابين بأكياس مائية نشطة عن الأشخاص الأصحاء.

وعن دور TLR في الإستجابة المناعية فإن الدراسات عليه قليلة ، ومنها التي قام بها Rigano *et al* .(2007) والتي أثبت فيها أن مستضد طفيل *E.granulosus* يعمل على تنظيم ونضج الخلايا المتشعبة dentritic cells من خلال TLR وبالتالي يساعد في الإستجابة المناعية ضد الطفيل.

II الإستجابات المكتسبة Acquired responses

بالرغم من محدودية البيانات على هذه المناعة الإ أن هناك دلائل على وجود استجابات مناعية دلالية بالعائل من خلال التجارب على الفئران التي تم عدوتها ، وتشمل نوعين: الإستجابة الخلوية البائية B cell response ، الإستجابة الخلوية التائية .T cell response.

أ-الإستجابة الخلوية البائية B-cell response

لاحظ Zhang *et al* .(2003) ظهور الإستجابة الأولية للمضاد IgG ضد أنتيجنات السائل المائي و أنتجينات الجنين بعد 2، 11 أسبوع على التوالي من إصابة الفئران والأغنام بالبيض أو الجنين لطفيل *E.granulosus* . في المرحلة المزمنة لإصابة الإنسان بداء الأكياس المائية CE يحدث زيادة في مستوى المضادات خاصة IgE،IgM،IgG ويكون IgG4 and IgG1 هي الأكثر شيوعاً (Daeki *et al* .,2000 and Khabiri *et al* .,2006).

في الإصابة الأولية لطفيل *E.multilocularis* في فئران التجارب ضد مستضد الرؤوس تكون الإستجابات المناعية ضعيفة ومتأخرة ولكن عند تقدم الإصابة تزداد هذه الإستجابات. ويزداد مستوى IgG1 and IgG3 ازدياداً معنوياً عند الأسبوع الثامن بعد العدوى ويظل مرتفعاً بعد ذلك . (Bauder *et al* .,1999 and Li *et al* .,2003)

ب- الإستجابة الخلوية التائية T- cell response

هناك دراسات عديدة على الإستجابات المناعية التائية في الإصابة بداء الأكياس المائية في الإنسان وفي حيوانات التجارب أثبتت النتائج أن :

* في المراحل الأولية للإصابة بكل من *E.granulosus* ، *E.multilocularis* تنتج السيتوكينات الخاصة بـ Th1 والتي لها القدرة على قتل الأطوار اليرقية. تعمل السيتوكينات Th1 Cytokines على تعزيز الخلايا حول الطور اليرقي مؤديا إلى تكون إرتشاح خلوي مزمن ثم ورم حبيبي كامل حول الطور اليرقي (الأكياس المائية) بالإضافة إلى حدوث التليفات و التنكرز ولكن عند تقدم الإصابة وفي المرحلة المزمنة تنتج السيتوكينات الخاصة بـ Th2 والتي تعتبر مسئولة عن وقف قتل الطفيل نتيجة عمل الأنتركولن IL10 كمضاد للإلتهاب anti-inflammatory.

IL10 يحد من الإستجابات الإلتهابية وينهيها وينظم أو يخصص الخلايا الدموية البيضاء وله دور في تخصص وعمل الخلايا التائية المنتظمة (Bauder *et al* .,1999) . *هذا الإتحاد بين Th1 و Th2 للإستجابة المناعية يؤدي إلى حماية مؤقتة للأطوار اليرقية لكل من (*E.granulosus, E.multilocularis)* وأيضا لحماية العائل . وفي نفس الوقت تعتبر هي المسئولة عن المضاعفات الشديدة للمرض (Moore *et al* .,2001).

* البروتينات والكربوهيدرات للمستضد (وربما المكونات الغير مستضدة) لكل من الجنين onchosphere والطور اليرقي hydatid cyst لها القدرة على معارضة تقديم المستضد antigen presentation ، وتنشيط الخلية وبالتالي تقوم الخلايا الليمفاوية للعائل وبعض الخلايا الأخرى بإنتاج السيتوكينات Cylokines (خاصة IL-10) وعوامل أخرى وسيطة mediators والتي لها القدرة على وقف المرحلة الفعالة effector phase للتفاعل المناعي الخلوي cellular immune reaction (Vuitton , 2003).

*إن تحفيز Th2 يعمل على تكون مضاد IgE وتنشيط خلايا mast cells المسئولين عن إحداث تفاعلات فرط الحساسية anaphylactic reactions في داء الإصابة بالأكياس المائية لطفيل

*E.granulosus*والذي يكون نادرا في حالات الإصابة بالأكياس المائية لطفيل *E.multilocularis* (Rigano *et al* ., 1995).

* توجد كميات كبيرة من الخلايا الليمفاوية التائية CD4+ Tcells في المرضى المصابون بداء alveolar echinococosis في مراحلة الميتة ولكن في المرحلة النشطة هناك زيادة في الخلايا التائية CD 8+Tcells وذلك يوضح أن CD4+ Tcells ممكن أن يلعب دوراً في عملية قتل الطفيل والتخلص منه (Dai *et al* .,2001).

* الصفات المناعية الجينية للعائل immunogenetic characteristics ضرورية لإنحراف الاستجابة المناعية التي يسببها الطفيل.

*أيضا إنترفيرون – ألفا INF.alpha له دور كبير في الإستجابة المناعية للعائل ضد طفيل *E.granulosus* وتقلل من أعراض الإصابة ومضاعفاتها (Vuitton , 2003).

الأعراض السريرية للإصابة بداء الأكياس المائية

Clinical feature of hydatidosis

في العائل النهائي Definitive host

بالرغم من أن الكلاب المستأنسة هي العائل الأساسي لطفيل *E.granulosus* ولكن في بعض المناطق تعتبر الفصائل الكلبية (ذو الأنياب) هي الأخرى عائلا أساسياً . و بالرغم من قدرة طفيل *E.granulosus* على الإختراق بعمق بين خملات الأمعاء الدقيقة إلا انه لا يحدث أي تأثيرات مرضية حتى لو كانت الإصابة شديدة . لذلك يعتبر العائل النهائي حاملاً للإصابة بدون أي أعراض (Eckert & Deplazes, 2004).

في العائل الوسطي Intermediate hosts

- **الحيوانات آكلات الأعشاب**

إصابة الحيوانات كالجمال ، الأبقار ، الضأن ، الماعز وغيرها بالأكياس المائية تكون أيضا بدون أعراض. أحيانا تؤدي الإصابة في الخيول إلى أعراض بالغة ومزمنة (Eckert & Deplazes ., 2004).

- **الإنسـان**

بعد إبتلاع البويضات ، تفقس في الأمعاء الدقيقة ويخرج جنين يخترق الطبقة المخاطية للأمعاء ويسير مع الدم إلى الكبد وأماكن أخرى حيث تتكون الأكياس المائية . معظم إصابات الإنسان تكون على شكل كيس واحد ولكن هناك 20-40% من الأشخاص يعانوا من الإصابة بأكياس متعددة أو إصابة أعضاء عديدة . الكبد هو المكان الأكثر شيوعا في الإصابة ومعظم الإصابات تكون في الفص الأيمن (أكثر من 65%) يليه إصابة الرئة (25%) والأقل إصابة يكون في الأعضاء الأخرى مثل الطحال ، الكلى ، القلب ، العظم ، الجهاز العصبي (Moro & Schantz ,2008).

تختلف فترة الحضانة من عدة شهور إلى عده سنوات (Ammann & Eckert,1996)، وتختلف أيضاً الأعراض السريرية تبعاً لعدة عوامل منها ـ سلالة الطفيل ، معدل نمو الكيس وحجمه وأماكن تواجده ، نوع العضو المصاب ، حدوث مضاعفات مثل أنفجار الكيس وإنتشار الرؤوس وحدوث إصابات بكترية ثانوية (Pawlowski *et al* .,2001 and Thompson , 2001)

في المراحل الأولى من الإصابة **بطفيل *E.granulosus*** تكون غالبا بدون أعراض بنسبة (38-60 %) حيث تكون الأكياس مغلفة جيداً أو صغيرة (أقل من 5 سم) . بعد مرور فترة غير محددة قد تمتد شهوراً أو عدة سنوات قد تصل إلى 20 سنة من بعد الإصابة (إذا بقى الشخص على قيد الحياة) قد تواصل الأكياس المائية نموها. وتظهر الأعراض حيث يضغط الكيس على النسيج وبالتالي يعمل على الإعاقة لوظيفة العضو المصاب مع إمكانية حدوث تلوث بكتيري كما تظهر الأعراض نتيجة تفاعل العائل تجاه الطفيل مسببا تغيرات نسيجية مرضية (Pawlowski *et al* ., 2001) أحيانا يحدث شفاء طبيعي للأكياس الأولية وذلك نتيجة حدوث تكلسات calcification أو انكماشات collapse بهذه الأكياس (Eckert & Deplazes, 2004).

إن داء Alveolar echinococcosis (AE) الناتج من الإصابة بالمرحلة اليرقية لطفيل ***E.muliltocularis*** غالبا مايكون حالة قاتلة بنسبة 80% إذا مالم تتم معالجته . في الإصابة المزمنة تأخذ الإصابة بالكبد شكل تجويف متنكرز مركزي مملوء بمادة بيضاء مغطاة بطبقة رقيقة طرفية من نسيج ليفي سميك . يوجد أيضا مساحات موضعية من التكلس وأيضا ارتشاحات مكثفة من الحويصلات المتكاثرة (Didier *et al* .,1985). والكيس متعدد الحويصلات ذو مقدرة عالية على التسرب والتغلغل في المنطقة المحيطة به ويعد الكبد المكان الأول لنمو الطور اليرقي

في الإنسان وفي العوائل الوسيطة الأخرى ويتبع ذلك إصابة الأعضاء الأخرى نتيجة التمدد الموضعي للإصابة ونتيجة الإنتشار metastases مما يصعب العمل الجراحي بها . في الأعراض الأولية يظهر على المصابين اليرقان Jundice، الاستسقاء ascitis ، آلام بالبطن ، الفتور ، فقدان الوزن ، تضخم الكبد hepatomegaly (MacSween *et al* ., 2002).

إن الإصابة **بطفيل *E.oligathus*** **وطفيل *E.vogeli*** في الإنسان يؤدي إلى ظهور أكياس متعددة . هذه الإصابة قليلة الإنتشار وكلها كانت في أمريكا اللاتينية . 80% من الإصابة تكون في الكبد والبقية في الرئة أو أجزاء أخرى في الجسم (D 'Alessandro ,1997) . تشمل غالبية الأعراض تضخم الكبد ، انتفاخ البطن ، فقدان الوزن وارتفاع درجة الحرارة. في حوالي 25% من الحالات تظهر بها مضاعفات مثل الإفراط في الضغط الصفراوي ، وانسداد القنوات الصفراوية . بلغت نسبة الوفاة 26% بين الحالات المحدودة التي تم التعرف عليها (Torgerson & Budke ,2003).

*** الأكياس المائية الكبدية Hepatic hydatid cyst** .

تظهر أعراض المرض نتيجة الحيز الذي يشغله الأكياس Space- occupying lesions ، حيث تضغط على المجاري الصفراوية biliary tree فتترسب العصارة الصفراوية cholestasis مسببة اليرقان jundice مع حدوث إصابة بكتيرية . وقد يحدث ارتفاع ضغط الدم بالوريد البابي portal hypertension نتيجة الضغط عليه. وتظهر الأعراض على شكل آلام في الجزء الأعلى من البطن ، غثيان ، قئ وتضخم في الكبد hepatomegally ، وانتفاخ البطن ascitis . نسبة صغيرة من الأكياس قد تنفجر نحو التجويف البريتوني peritoneal cavity مسببة إصابة ثانوية. ومن ثم خلال الحجاب الحاجز إلى داخل التجويف ال بلوري

pleural cavity . وهذا الإنفجار يؤدي أحيانا إلى تفاعلات حساسية allergic reactions وتتراوح مابين بسيط إلى خطير (فرط الحساسية) anaphylactic shock (MacSween *et al* .,2002).

*** الأكياس المائية الرئوية Pulmonary hydatid cyst .**

قد تكون بدون أعراض في 75 % من المرضى في بداية المرض . وتظهر الأعراض عندما تكبر الأكياس حيث تضغط على القصيبات القريبة مؤدياً إلى أعراض تنفسية (Ramos *et al*.,2001) . كثيرا تحدث المضاعفات على شكل التهاب خلوي شديد (التهاب رئوي) pneumonia والتي أحيانا تؤدي إلى هدم فص الرئة degeneration of lung acini تشمل أعراض الإصابة : الكحة ، آلام بالصدر ، دم مع المخاط ، ضيق في التنفس ، تفاعلات حساسية ، إرتفاع درجة الحرارة .قد تنفجر الأكياس بنسبة 25% داخل الشعب الهوائية وتخرج مع السعال مع حدوث إصابات ملوثة بالبكتريا (Kern ,2003).

*** الأكياس المائية في أعضاء أخرى.**

- الأكياس المائية المخية نادرة الحدوث وتمثل فقط 0.5 – 3 % من الإصابات الكلية وغالبا ماتظهر في الأطفال والأكياس إما أن تكون انفرادية أو متعددة ، وقد تحدث الأكياس المتعددة المخية عادة نتيجة تمزق جراحي أو صدمة وقد يحدث تمزق تلقائي (Turkoglu *et al.* ,2005) . أوضح (2004) .Tuzun *et al* إصابة 13 طفل بأكياس مائية في المخ في الفترة مابين 1993- 2003 وقد خضعوا للجراحة لإزالة هذه الأكياس . وكان الصداع وضعف الحركة أهم الأعراض الرئيسية لهولاء المرضى.

●ذكر Papathanassiou *et al* . (2008) أن وجود الأكياس في مقلة العين نادر الحدوث ويمثل نسبة صغيرة وتكون الإصابة أولية (مباشرة) حيث وجد إصابة بالكيس في مقلة العين بدون أعراض مع إصابات أخرى في الكبد والرئة . وقد أقر العلماء بوجوب وضع هذه الإصابة في الاعتبار التشخيصي للمرضى الذين يعانون من جحوظ العين exophthalmos خاصة في البلدان التي يتوطن بها المرض.

●ذكر Zulfikaroglu *et al* . (2008) بأن مرض الأكياس المائية في الغدة الدرقية نادر الحدوث ولكنه اكتشف حالة مرضية تبلغ من العمر 50 عام تعاني من كتلة عنقية في منطقة الغدة الدرقية وعندما أزيل الورم بالكامل وحلل نسيجيا ، أثبتت النتائج أنه كيس مائي وقد وجدت أكياس أخرى في مواقع أخرى بعد الجراحة لذلك أوصى العلماء بضرورة الأخذ في الاعتبار مرض الأكياس المائية في المرضى الذين يعانون من أورام في الغدة الدرقية.

● أقر Karadereler *et al* . (2002) بأن الإصابة في العمود الفقري بمرض الأكياس المائية نادر الحدوث ولكنه يسبب خطراً شديداً على صحة الإنسان وقد وجد طفل يبلغ من العمر 8 سنوات يعاني من آلام في الظهر وضعف في الحركة وتنميل في ساقيه . كما ذكر Papanikolaou (2008) أن إصابة العظام بالأكياس المائية يمثل 0.2-4 % ويؤثر على العمود الفقري في نصف الحالات تقريبا وعادة ما تكون الإصابة صامتة حتى تصبح أكثر تعقيدا مؤدية إلى شلل سفلي أو كسور مضاعفة.

●ذكر Joshi *et al* .(2007) أنه ليس شائعاً إصابة الحبل الشوكى بالأكياس المائية وقد اكتشف إصابة مريض يبلغ من العمر 59 عام يعاني من آلام في الظهر وسلس البول . كشف الفحص عن وجود أعراض ضيق في الحبل الشوكي وتم التشخيص بإستخدام الرنين المغناطيسي

والتصوير المقطعي والإختبار المناعي و كانت النتائج إيجابية لمرض الأكياس المائية وأوصوا بضرورة الأخذ في الاعتبار الإصابة بالأكياس المائية في التشخيص التفريقي لأي كتلة عظمية في الجسم.

- وجد Halefoglu & Yasar (2007) مريضاً يعاني من آلام بالبطن مع تبول متكرر وبالفحص الإكلينكى وجدت كتلة ضخمة في أسفل البطن وبعد إجراء الفحوص المناعية والتصوير بالأشعة تبين إصابته بالأكياس المائية. لذلك أقر العلماء بضرورة إعتبار الإصابة بالأكياس المائية من ضمن التشخيصات التفريقية لأى كتلة في منطقة الحوض والبطن خاصة في المناطق الموبؤة في العالم.

- ذكر Krige *et al* .(2005) أن إصابة البنكرياس بمرض الأكياس المائية غير شائع وقد وجد في أربعة مرضى أصيبوا بالداء في البنكرياس . وكانوا يعانوا من اليرقان وألم في البطن وفقدان في الوزن. وأوصى العلماء بضرورة استخدام التشخيص التفريقي في حالة وجود أعراض عن إصابة البنكرياس بالأكياس المائية خاصة في المناطق المستوطنة.

- اكتشف Astarcioglu *et al* .(2001) إصابة غير عادية بالأكياس المائية في القولون (mesosigmoidal) وكان المريض يعاني من آلم في البطن وانتفاخ لمده ثلاثة أيام وقئ وحمى . أجريت له جراحة في إطار التشخيص الإفتراضي وكانت النتائج أثناء العملية موحية جدا بأنه سرطان بالقولون وبتحليل العينة المرضية للكيس المنعزل تبين أنه كيس مائي لذلك أوصى العلماء بضرورة الأخذ في الاعتبار الإصابة بالأكياس المائية في التشخيصي التفريقي بين مسببات عرقلة الأمعاء الميكانيكية وخصوصا في المناطق الموبوءة.

داء الأكياس المائية في الطحال غير شائع وتصل نسبة الإصابة به إلى 10-20%. وتحدث الإصابة نتيجة انتقالها من الكبد إلى أي مكان آخر بالجسم مثل الطحال أو قد تحدث الإصابة مباشرة بسبب انعكاس تدفق البوابة . ينمو الكيس ببطء شديد جدا و لمدة طويلة وبدون أعراض ولكن عندما يصل الكيس إلى حجم كبير تظهر الأعراض السريرية نتيجة الضغط على الأنسجة المجاورة . ومنها الضغط على الشريان مسبباً ارتفاع في ضغط الدم مع ازدياد الخلايا الحمضية في أقل من 30 % من المرضى (Kiresi *et al* .,2003 and Versaci *et al* .,2005).

- ذكر Kutay *et al*. (2003) بوجود حالة لمريض مصاب بالأكياس المائية في القلب وكان يشتكي من آلام في الصدر وضيق في التنفس وخفقان وحمى واعياء وأظهرت الموجات الصوتية وجود كتلة كيسية بقطر 7 سم بالبطين الأيسر للقلب وأكد التصوير بالرنين المغناطيسي والاختبار المناعي إصابة القلب بالأكياس المائية . وأيضا اكتشف (2008 Aleksic-Shihabi & Vidolin) إصابة بالأكياس المائية بقلب رجل عمره 27 عام ، يعمل كجزار ويعيش في مزرعة مع الكلاب ، وقد خضع للعلاج الجراحي ولكنه بعد عامين ظهرت الإصابة مرة أخرى في الدماغ والقلب .

- وجد Papageorgiou *et al* .(2005) رجل يبلغ من العمر 68 عاماً مصاباً بورم في الظهر، وشخص الورم على أنه كيس دهني lipoma . وبعد إتمام العملية الجراحية له وتحليل الكيس نسيجياً أظهرت النتائج أنه كيس مائي . عند أخذ التاريخ المرضي اكتشف أن هذا المريض قد جاء من قبل مع أعراض تمزق الكيس المائي وسعال مصاحب بدم. لذلك أوصى العلماء بضرورة الأخذ في الاعتبار التشخيص التفريقي للآفات الكيسية في كل موقع تشريحي وخاصة عندما توجد إصابات في المناطق الموبوءة .ذكر (2008). Sarisoy *et al* أن العدوى الأولية للعضلات بمرض الأكياس المائية نادرة جدا وقد اكتشف مريضاً يبلغ من العمر 31 عام

مصاباً بأكياس مائية متعددة في الفخد الأيمن وقد تم تشخيصها بواسطة الأشعة الفوق صوتية والتصوير بالرنين المغناطيسي والاختبارات المصلية . أزيلت الأكياس جراحيا ولم تظهر الإصابة بعد الجراحة مرة أخرى . توصل Gupta *et al* (2008) في دراسته عن إصابة طفلة تبلغ من العمر 12 سنة تعاني من ورم في الكتف غير مؤلم ولكنه يتزايد تدريجيا في الحجم بعد التشخيص اكتشف أنه كيس مائي.

تشخيص داء الأكياس المائية Diagnosis of hydatidosis

I: التشخيص في الكلاب

إستخدمت طريقتين على نطاق واسع لتشخيص الإصابة وهما : طريقة التطهير بإستخدام arecoline وهذه الطريقة صعبة التشخيص حيث أن جزئيات الدودة التي تخرج مع البراز لا يمكن ملاحظتها وأن فحص البيض الخاص بالدودة بالمجهر الضوئي لايمكن التفرقة بينه وبين أنواع بيض الأكينوكوكس الأخرى أو أنواع الديدان الشريطية الأخرى من نوع التينيا Taenea species والطريقة الأخرى هي إستخدام اختبار الأليزا لإكتشاف الأجسام المولدة المناعية للدودة في براز الحيوان (Deplazes *et al* ., 1994 and Craig *et al* .,1995). حديثاً تم تطوير طريقة أخرى للكشف عن الحمض النووي DNA لبيض دودة *E. granulosus* بعد عزل بيض الطفيل من قبل النخل باستخدام P C R (Eckert & Deplazes ,2004).

II:التشخيص في العوائل المتوسطة

1- الحيوانات آكلات الأعشاب

أوضح Yong *et al* .(1984) أن التشخيص المصلى في الثروة الحيوانية يكون صعباً حيث أن ردود الأجسام المضادة تكون متشابهة لعدة أنواع من الديدان الشريطية كما أضاف Lightowlers & Gottstein (1995) أن مستوى هذه الردود يكون ضعيفاً بالمقارنة مع المستويات العالية نسبيا للأجسام المضادة في العدوى الإنسانية.

أقر Eckert *et al* .(2001) بعدم وجود طريقة دقيقة للتشخيص في الحيوانات الحية وأوضح أنه في بعض الحالات النادرة يمكن تشخيص ا لأكياس بواسطة الموجات الصوتية أو بالكشف على الأجسام المناعية في الدم مع الموجات الصوتية .

كما أشار Kittelberger *et al* (2002). أنه يمكن أ ستخدام طريقة الأليزا في تشخيص الأكياس المائية في الأغنام في حالات القطعان الكبيرة وليس في الحالات المفردة من الأغنام . ولكنه أقر بأن الطريقة الأكيدة في التشخيص هي اكتشاف وجود الأكياس المائية أثناء فحص الحيوان بعد الذبح .

أوضح Thompson (2001) أن الأكياس المائية يمكن ملاحظتها بالعين المجردة أو باللمس وفي حالة عدم التأكد من وجودها ينصح بعمل قطع في الأعضاء خاصة التي يستهلكها الإنسان، كما أكد بضرورة عمل القطاعات النسيجية وذلك للتفرقة بين الإصابة بالأكياس المائية وبين الإصابة بالطفيليات الأخرى .

2-الإنـــســـان

إن تشخيص الأكياس المائية في الأشخاص تعتمد على تحديد شكل الكيس باستخدام الموجات الصوتية ultrasound و الكمبيوتر computed tomography والأشعة السينية radiography ويتم التأكد من المرض بواسطة الأجسام المضادة الخاصة في سيرم الدم بواسطة الاختبارات التشخيصية المناعية (Teggi &Vico ,2002).

أ - الموجات الفوق صوتية

إن إستخدام الموجات الفوق صوتية والماسحات الضوئية المحمولة تسهل الفحص الجماعي في المجتمعات الريفية النائية حيث أن التشخيص المبكر في المناطق الموبؤة يؤدى إلى التقدير لما بعد العلاج .وتتراوح حساسية الموجات الفوق صوتية مابين 88-98 % ويعتبرهذا الإستخدام مقياس أساسي بالرغم أنه مازال يعتبر اختبار غير دقيق ويفضل إستخدام الطرق التصويرية

الأخرى مثل الرنين المغناطيسي MRI والأشعة المقطعية والأشعة بالصبغة (Macpherson& Milner,2003).

الموجات الفوق صوتية التي تستخدم الوخز بإبر دقيقة قد تم استخدامها حديثاً في السنوات القليلة الماضية لتشخيص الأكياس المائية في الحالات المشكوك فيها ، أو في حالة عدم ظهور أجسام مناعية للدودة (Pawlowski *et al* .,2001) وهذه الطريقة تفحص السائل الهائي المسحوب لاكتشاف الرؤوس أو الأجسام المناعية للدودة أو الحامض النووي DNA (Siles -Lucas ,2001).

ذكر Akyidiz *et al* .(2009) أن استعمال الموجات الصوتية كافية لتشخيص داء الأكياس المائية المتكرر والمصاحب للأعراض في خلال سنتين بعد إجراء الجراحة . وأوصى بضرورة إجراء هذه الطريقة بعد العملية مباشرة وسنوياً لمدة 5 سنوات على الأقل.

ب -الطرق المناعية Immunodiagnosis

يفضل إستخدام الطرق المناعية في التشخيص Immunodiagnosis لمتابعة المرضى بعد العمليات الجراحية أو المعالجة الكيميائية (Rickard& Lightowlers ,1986 and Ito *et al* .,2007)

أقرت بعض الدراسات أن ظهور المضادات antibody response يكون أقل حساسية في الأكياس المائية الرئوية (50%-56%) بمقارنة بالأكياس المائية الكبدية (80%-90%) (Gottstein ,1992).

عندما أستخدم Eris *et al* . (2009) كل من إختبار الإليزا ElISA وإختبار الترسب الغير مباشر IHA في تشخيص حالات الأكياس المائية الرئوية أظهرت النتائج أن حساسية كل منهما بلغت 84.2 %.

إن إكتشاف المستضد antigen الخاص بطفيل *E.granulosus* في مصل المرضى يكون أقل حساسية عن أكتشاف مضادات الطفيل antibody الذي يعتبر هو الطريقة المثلى (Zhang *et al* .,2003).

فحص El-Shazly *et al* .(2010) ثلاثين مريضا بالأكياس المائية بعد إجراء الجراحة لهم. و استخدم كل من إختبار الاليزا ElISA ، وإختبار IHAT لإكتشاف مضدات الطفيل في مصل المرضي . بلغت حساسية sensitivity وتخصص specificity اختبار ElISA 96.7% ، 97.5% على التوالي . بينما بلغت حساسية و تخصص إختبار IHAT 89.5% ، 86.7% على التوالي .

علاج الإصابة بداء الأكياس المائية

Treatment of hydatidosis

توجد طرق عديدة لعلاج الأكياس المائية والتي تشمل الجراحة ، الثقب بالإبر لسحب السائل والعلاج الكيميائي .

أ-الجراحة Surgery

تبعا لمكان وحالة الكيس يتم إستخدام طريقة إزالة الكيس بالكامل pericystectomy مع تجنب عدم انفجاره وانتشار محتوياته . أو طريقة سحب السائل من الكيس ثم إزالته simple drainage , capitonnage , marsupialization and resection of the involved organ .(Perdomo *et al* .,1997)

يفضل التدخل الجراحي لإزالة الكيس في الحالات التي بها إصابة بكيس كبدي كبير (أكبر من 10 سم) ، أو إصابة بكيس ملوث بالبكتيريا ، أو إصابة أعضاء أخرى مثل الكلى ، الرئة ، المخ .

ولايفضل التدخل الجراحي في المرضى الغير راغبين له ، المرضى الحوامل ، المرضى الذين تلقوا علاجاً طبياً من قبل وصحتهم تتعرض للخطر في حالة إجراء الجراحة لهم ، وفي حالات الإصابة بأكياس عديدة .وتصل نسبة الوفاة نتيجة التدخل الجراحي إلى (0.5-4%) ولكنها ترتفع مع التدخل الجراحي المتعدد ومع عدم وجود تسهيلات كافية لإجراء هذه الجراحة .(Moro & Schantz ,2008)

ب-الثقب والسحب والحقن وإعادة التفريغ

Puncture , Aspiration , Injection , Reaspiration (PAIR)

توصف هذه الطريقة للمصابين بكيس واحد في الكبد ويكون قطره أقل من أو يساوي 5 سم وللكتلة التي تحتوي على أكياس صغيرة أخرى ، وللأكياس التي لها جدار يفصلها عن العضو ، وأيضا في حالة الأكياس المتعددة التي قد تنفجر ولاينصح بها في حالة الأكياس التي تتصل بالقنوات الصفراوية ، أو الأكياس الموجودة في الأماكن الحرجة من الجسم مثل التجويف البطني والرئة والمخ والقلب والنخاع . (World Health Organization Infermal Working Group of Echinococcosis,2001)

تم العمل بهذه الطريقة في منتصف الثمانينات من القرن الماضي وهي تقنية بسيطة تشمل:-

i - بذل الكيس تحت الجلد بمتابعة الموجات الصوتية ii - سحب السائل الهائي (10-15 مل)

iii - حقن سائل قاتل للديدان (95% أيثانول) مايعادل تقريباً ثلث السائل الذي تم سحبه

iv - .إعادة سحب السائل بعد 5 دقائق ، يمكن أستخدام سائل أخر قاتل للديدان أخر من كلوريد الصوديوم بتركيز 15 % كحد أعلى ولكن لبطء عمل كلوريد الصوديوم يترتب عليه بأن يتم سحب السائل بعد 15-20 دقيقة من حقنه . ويشترط في هذه الطريقة أن تتم بواسطة طبيب ماهر ذو خبرة مهيأ للتعامل مع أي مضا عفات . ويجب أن تتم هذه العملية بإضافة ال علاج الكيمائي لمنع الإصابة الثانوية بالأكياس التي قد تحدث نتيجة تسرب بعض المواد الطفيلية أو تركها

(World Health Organization Informal Working Group of Echinococcosis,2001)

قام Hossenini *et al* .(2006) بدراسة على قدرة بعض المركبات الكيميائية على قتل الرؤوس حيث عرض رؤوس حية (مستخرجة من أكياس بضأن مصاب) لتركيزات مختلفة من محلول الجلوكوز glucose بالإضافة إلى مركبات أخرى مثل ستيرميد cetrimide ، نترات الفضة silver nitrate ، محلول ملحي عالي التوتر Hypertonic saline أظهرت النتائج أن محلول الجلوكوز بتركيز 50% كان له تأثير عالي على الرؤوس ولكن هذا التأثير كان أضعف من تأثير ستيرميد cetrimide.

كما قام أيضا Adas *et al* .(2009) بدراسة تأثير كل من albendazole sulfone(ABZ sulfone)، albendazole sulfoxide (ABZ sulfoxide)، بالإضافة إلى بعض المركبات الأخرى على حيوية الرؤوس المتحصل عليها من 25 مريض مصاب بأكياس كبدية .أظهرت النتائج أنه بعد 5 دقائق من المعاملة كانت نسبة التأثير المميت 97.3% ، 98.4% لكل من ABZ sulfone ، ABZ sulfoxide على التوالي.

كما تم دراسة تأثير chlorhexidine gluconate كمركب قاتل للرؤوس حيث حقنه Topcu *et al* .(2009) بتركيز (0.04%) لمده 5 دقائق بداخل 45 كيس كبدي خصب وفحصت حيوية الرؤوس بعد الحقن أظهرت النتائج موت هذه الرؤوس.

ج-أستخدام الحرارة في معالجة الكيس Percutaneaus thermal ablation

أستخدم Brunetti & Filice (2001) نوع جديد من العلاج وهو معاملة الكيس حرارياً وبالأخص الطبقة الجرثومية بأستخدام تردد الموجات الإشعاعية ، ومن أهم م ميزات هذه الطريقة هو عدم الحاجة لحقن مبيد طفيلي في الكيس.

د- العلاج الكيميائي Chemotherap

يوصف العلاج الكيمائي باستخدام benzimidazole (albendazole or mebendazole) للمصابين بعدد من الأكياس الغير محدود ، والمصابين بالأكياس في عضوين أو أكثر وأيضا للمصابين بالأكياس في مناطق خطرة مثل العظام (Ben Brahim *et al* .,2008).

بناءاً على متطلبات منظمة الصحة العالمية يتم أعطاء albendazole بجرعات يومية 10-15 ملجم /كجم من وزن الجسم مقسمة على جرعتين عن طريق الحقن لمدة 3-6 أشهر . ويتم إعطاء mebendazole بجرعة 40-50 ملجم /كجم من وزن الجسم يومياً لمدة 3-6 أشهر على الأقل

(World Health Organization Infermal Working Group of Echinococcosis,2001)

تم تقييم هذه الطريقة من خلال متابعة 2000 مريض تم معالجتهم بأستخدام benzimidazale لمدة 12 شهراً أظهرت النتائج أختفاء الأكياس في 10-30 % من المرضى (شفوا تماما) ، إستجابة ملحوظة في 50- 70% منهم (تقلص في حجم الحويصلات) عدم حدوث أي إستجابة في 20-30% بين المرضى(Horton ,2003 and Pawlowski *et al* .,2001).

أشار Yasawy *et al* .(2001) and Jamshidi *et al* .(2008) إلى فعالية استخدام البندازول albendazale مع البرازيكونتل praziquantel في علاج الأكياس المائية ، وأوصى باستخدامه بدلا من الجراحة في الأكياس المنتشرة والمتعددة. كما أشاروا إلى ضرورة أستخدامه قبل العملية وبعدها للتقليل من خطر تسرب السائل المائي من الكيس وانتشاره أثناء العملية أو أثناء إستخدام طريقة البذل.

إستخدم Yetim *et al* .(2005) كل من الكحول وعقار albendazole كمحاليل مميتة للرؤوس في حقن أكياس كبدية بأرانب ثم عدوتها تجريبيا ولاحظ فعالية كل منهما ولكن مع ظهور أثار جانبية للكحول على النسيج الكبدي .

قام Aribas *et al* .(2002) بعلاج مريض مصاب بأكياس مائية في الكلى (رفض إجراء جراحة له) باعطائة عقار albendazole بالفم لمدة أسبوع ثم خضع المريض لحقن كل من محلول محلي (Nacl 0.09%) ومحلول povidone iodine من خلال أنبوبتين منفصلتين في الكيس المائي . بالفحص والمتابعة لمدة 31 شهر من الحقن لوحظ عدم تكرر الإصابة مرة أخرى (cystic recurrence).

كما قام Ma *et al* .(2007) بدراسة تأثير المستخلص القلوي من بذور نبات الصفيراء من العائلة البقولية وهو ذو أزهار صفراء alkaloids from Sophora moorcroftiana seeds لوحده أوبإضافة عقار albendazale وذلك تجريبا في الفئران التي تم عدوتها بالرؤوس الحية في الغشاء البريتوني . أعطى المستخلص بجرعة 50mg/kg/d يوميا لمده 3 شهور . تم

وزن الأكياس بعد العلاج بالإضافة إلى دراسة مستوى IL4، IL2، IgE في المصل و أثبتت النتائج فعالية المستخلص خاصة إذا أستعمل معه عقار albendazale.

وفي الدراسة التي قام بها Winning *et al* .(2009) تم استخدم عقار nitazoxanide بجرعة 500 ملجم / مرتين في اليوم و لمدة 3 شهور بالإضافة إلى عقار albendazale في علاج مريضة مصابة بأكياس مائية بالعظام وكانت الحالة متدهورة progressive . بعد العلاج تحسنت الحالة لذلك أوصى العلماء بضرورة تناول هذا العلاج خاصة في المرضى المصابون بالأكياس في مراحلها المتطورة والذين خضعوا لطرق علاجية أخرى من قبل ولم تتحسن حالتهم.

قام Bygott & Chiodini (2009) بدراسة لتقيم استعمال عقار praziquantel في علاج داء الأكياس المائية وذلك خارجياً (In vitro) وداخلياً (In vivo) بالحيوانات وإكلينيكيا في الإنسان . وقد أوضحت النتائج أن هذا العقار يمنع تكون الرؤوس و يوقف تكون أكياس ثانوية ويعمل أيضاً على فقد حيوية الأكياس الصغيرة قبل أن تتخصص cyst differentiation وقبل أن تنمو الطبقة الليفية . لذلك أوصى بضرورة إستخدام هذا العقار مع عقار albendazole للتقليل من خطورة ظهور الأكياس مرة أخرى وخطورة انتشار الإصابة بالغشاء البريتوني نتيجة إنفجار الكيس (بعد الجراحة أو من تلقاء نفسه) ولكنه نصح بالمزيد من الأبحاث على إستخدام عقار praziquantel كعلاج كيميائي طويل المدى في حالات الإصابة التي يتعذر بها إجراء الجراحة .

إن إختيار العلاج الأمثل يعتمد على أربعة عناصر هم :المريض ، الأكياس ، الطبيب ، نوعية العلاج . **بالنسبة للمريض** : من ناحية العمر يمنع إستخدام PAIR في الأطفال الذين تقل

أعمارهم عن ثلاث سنوات ومن ناحية الجنس يمنع إستخدام العلاج الكيميائي في الحوامل ومن ناحية الحالة المرضية يمنع إستخدام الجراحة والعلاج الكيميائي عند إصابته بأمراض أخرى . **بالنسبة للأكياس** فإن إختيار العلاج المناسب يعتمد على أعدادها ، احجامها ، أماكن تواجدها ، صفاتها (ممرضة أم لا)، مصاحبة بمضاعفات أو لا . والعلاج الأمثل أيضاً يعتمد على **مهارة وخبرة الطبيب** حيث أن العلاج بطريقة PAIR تحتاج إلى مهارة عالية .كما أن إختيار **نوعية العلاج المناسبة** يساعد على الشفاء (: الجراحة surgery ، أو PAIR، أوالعلاج الكيميائي chemotherapy (Menezes dasilva, 2003).

الفصل الثالث

المواد والطرق

Materials and Methods

1- الدراسة الميدانية Field study

1-1 الموقع :

تم عمل زيارة ميدانية لمسلخ جدة الشمالي الرئيسي بمعدل ثلاث مرات أسبوعيا لمده عام كامل (من شهر يناير لعام 2009 م إلى شهر يناير لعام 2010 م) وذلك لتحديد نسب انتشار الإصابة بداء الأكياس المائية بين مختلف الحيوانات المحلية والمستوردة من جمال و أبقار و ضأن وماعز ، من مختلف الأعمار والأجناس.

يقع هذا المسلخ ضمن نطاق حي النخيل بمحافظة جدة الواقعة غرب المملكة العربية السعودية . تم أنشا ئه سنة 1400 هـ ، ويتم الذبح فيه للأهالي ومحلات بيع اللحوم والمطابخ وقصور الأفراح وبعض القصور الخاصة ومتعهدي الإعاشة .

1-2 الحيوانات الخاضعة للدراسة :

في فترة الدراسة تم ذبح (541، 2361) ،(615، 17796) ،(48370، 89787) ، (41822، 22914) للجمال والأبقار والضأن والماعز للمحلى والمستورد على التوالي . بعد سلخ جلد الذبيحة تم معاينة سطحها الخارجي بحثاً عن أيه إصابة ثم شق التجويف البطني مع إبراز الأحشاء والأعضاء الداخلية وتركها معلقة ليتم فحصها من خلال الفحص العيني visual inspection ، و الفحص اليدوي palpation للكشف عن الأكياس الصغيرة ، بالإضافة إلى عمل قطع systematic incision بكل عضو خاصة الكبد ، الرئة ، الكلى ، القلب ، الطحال (شكل 1) وقد تم ذلك بمساعدة الأطباء البيطريين بالمسلخ تبعاً للخطوات التي أوصى بها FAO (1994). سجلت أعداد الإصابة بالأكياس المائية بين أنواع الحيوانات المختلفة (المحلية والمستوردة) كما سجلت أنواع الأعضاء المصابة في كل حيوان وأعدادها . أخذت عينات عشوائية من كل من الكبد والرئة المصابة إلى معمل الطفيليات بكلية العلوم للبنات لعمل بعض الدراسات الطفيلية والنسيجية المرضية .

1-3 التحليل الإحصائي Statistical Analysis

خضعت جميع البيانات إلى ا لتحليل الإحصائي لتحديد العلاقة بين الإصابة بداء الأكياس المائية وبين نوع الحيوان (جمال ،أبقار ، ضأن وماعز) و كونه (محلى أو مستورد) وأيضا لتحديد العلاقة بين هذه الإصابة وبين الإختلافات الموسمية الأربعة . أستخدم برنامج الحاسب الآلي (SPSS 0.12 , 2005) لتحديد المتوسط العددي Arithmetic mean والانحراف القياسي Standard deviation وإجراء اختبار Student (t) test واختبار كاي سكوير Chi Square(X^2) لإيجاد قيمة p-value . وتعتبر القيمة المحسوبة باستخدام جميع الأساليب الإحصائية السابقة ذات دلالة معنوية إذا كانت درجة الاحتمالات الخاصة بها (p) أقل من

(0.05) وذات دلالة كبيرة إذا كانت أقل من (0.01) وذات دلالة كبيرة جدا إذا كانت أقل من (0.001) وغير معنوية إذا كانت أكبر من (0.05).

شكل (1): الفحص العيني للأكياس المائية في الحيوانات المذبوحة بالمسلخ.

II -الدراسات الطفيلية Parasitological studies

تم جمع عينات من كبد و رئة مصابة من مختلف الحيوانات الخاضعة للدراسة في عبوات بها 10% فورمالين ثم أخذت إلى معمل الطفيليات بكلية العلوم للبنات بجامعه الملك عبد العزي ز لعمل بعض الدراسات الطفيلية للتعرف على بعض خصائص هذه الأكياس ومدى ارتباط هذه الخصائص بنوع الحيوان أو بنوع العضو المصاب وقد تم عمل الآتي:

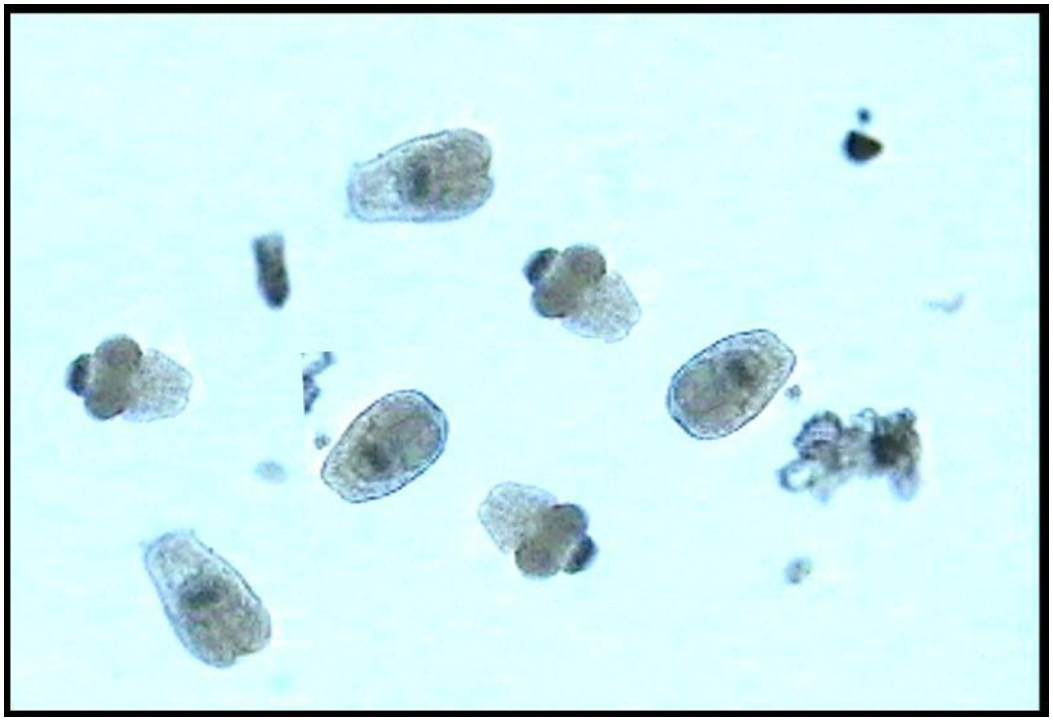
II-1 العد الكلي للأكياس Total cyst count لكل عضو مصاب .

II-2 قياس حجم السائل المائيHydatid fluid volume بكل كيس :

سحب السائل المائي من كل كيس بواسطة إبرة ونقل كل على حده في قارورة مدرجة. وقد قسم إلى ثلاث درجات تبعا لما ذكره (Berhe (2009: قليل (إذا كان حجمه أقل من 6 ملل)، متوسط (إذا كان حجمه من 6-20 ملل) وكبير (إذا كان حجمه أكبر من 20 ملل) .

II-3 دراسة خصوبة الأكياس المائية Cyst fertility .

بعد سحب السائل المائي من الكيس ترك حتى ترسب محتواه ، سحب الجزء العلوي وتم التخلص منه، وضعت نقطة من الراسب على شريحة نظيفة وغطت بالغطاء وفحصت مجهرياً (40x) للبحث عن وجود رؤوس scolices ، حويصلات ثانوية broad capsules أو أكياس بنوية daughter cysts(شكل 2) .



شكل (2): رؤوس منتشرة بالسائل المائي للأكياس الخصبة .

(X40)

حيث أن وجود الرؤوس في السائل دليل على خصوبة الأكياس ، أما عدمها دليلا على عدم خصوبتها وهذه الأكياس الغير خصبة إما أن تكون عقيمة (بها سائل لايحتوي على الرؤوس) أو متكلسة (لايوجد بها سائل) (Ibrahim ,2010) .

II -4 دراسة حيوية الرؤوس بالأكياس الخصبة Viability of scolices

وقد تم ذلك من خلال الفحص المجهري وذلك بوضع نقطة من الراسب المحتوي على الرؤوس على الشريحة و تغطيتها بغطاء الشريحة و فحصها مجهريا بالعدسة الشيئية (40x) لمعاينة حركه الخلايا اللهبية Motility of flame cells (Smyth &Barrett,1980). في حالة عدم الرؤية الجيدة وضعت نقطة من محلول أيوسين aqueous eosin solution (0. 1%) على الشريحة حيث اصطبغت الرؤوس الميتة بلون الصبغة بينما الرؤوس الحية لم تصطبغ (Macpherson ,1985) .ولحساب معدل الحيوية تم أخذ مجموع الرؤوس الحية / مجموع الرؤوس الخصبة في 3 عينات مختلفة لأكياس خصبة من كبد ورئة لكل نوع من الحيوانات الخاضعة للدراسة .

II-5 دراسة مدى فاعلية الرؤوس الحية في إحداث العدوى تجريبياً

. Virulence of scolices

أ ـ تحضير مصدر العدوى

أخذت عينات عديدة من السائل المائي بالأكياس الخصبة الحية المستخرجة من كل الجمال والماعز كل على حدة وعدت الرؤوس الحية بها عن طريق الميكروسكوب وقد تم تحضير الجرعة تبعا Aboul-Atta *et al.*(1998) حيث احتوى 0.5 مل من السائل على2000 ± من الرؤوس الحية التي تم معالجتها قبل استعماله بإضافة 100 وحدة من البنسلين pencillin / ملل مع200 ميكروجرام / ملل من ستربتوميسين stryptomycin تبعا Kakru *et al.* (2008)

ب - فحص فئران التجارب وتقسيمها وتجهيزها للدراسة.

أجريت هذه الدراسة على عدد 60 فأر من نوع Swiss albino mice والبالغ عمرها ثلاث أسابيع (في مرحلة مابعد الفطام) والخالية من أي إصابات طفيلية وقد تم الحصول عليها من بيت الحيوان بمركز الملك فهد في جامعه الملك عبد العزيز بجدة ،وأستخدم لتربيتها أقفاص بلاستيكية وقد زودت بعلف حيوانات التجارب القياسي من مركز الملك فهد ووضعت تحت ظروف صحية ملائمة لمدة أثنا عشر شهرا .

- قسمت فئران التجارب إلى مجموعتين كل مجموعة 30 فأر:

المجموعة الأولى :تم عدوة كل فأر بحقنه في الغشاء البرتوني(بواسطة أبره 1 مل متصلة بقطر داخلي لمحقن 10مل) بالجرعة السابق ذكرها من السائل المائي الخصب المستخرج من أكياس مائية بكبد ماعز مصاب .

المجوعة الثانية: تم عدوة كل فأر بحقنه في الغشاء البرتوني بالجرعة السابق ذكرها من السائل المائي الخصب المستخرج من أكياس مائية برئه جمل مصاب.

ج- برنامج الدراسة .

فحصت فئران التجارب شهرياً لمدة 12 شهراً لمتابعة حالتهم الصحية من حيث النشاط ، والحركة ، وجود إنتفاخ بالبطن من عدمه . وقد تم اختيار 2-3 من الفئران المعداه والأكثر تدهورا من كل مجموعة كل شهر حتى نهاية فترة التجربة . تم تخديرهم بالأثير و فتح التجويف البطني والقفص الصدري وفحصا بعناية وبدقة بالعين المجردة وبإستخدام العدسة اليدوية للبحث عن أي كيس مائي كما تم فتح جمجمة كل فأر وأزيل المخ والعينين لفحصهما .

III الدراسة المرضية النسيجية Histopathological Study

أخذت أجزاء صغيرة من كل من الكبد والرئة المصابة مع جزء من الكيس كما أخذت عينات كاملة للأكياس إضافة إلى أجزاء أخرى من كبد ورئة سليمة . وضعت العينات في عبوات بها 10 % فورمالين .

تم عمل دراسات نسيجية على بعض الأكياس المائية للتعرف على تركيبيها النسيجي واستخدمت العينات المصابة في الدراسة النسيجية المرضية لملاحظة التغيرات النسيجية التي قد يحدثها وجود هذه الأكياس بها . واستخدمت العينات السليمة كعينة ضابطة (control).

اتبعت الخطوات التاليه تبعا Bancroft & Stevens (1977) :

*بعد جمع العينات في مثبت الفورمالين10% تركت لمدة 24 ساعة .

*غسلت العينات جيدا بالماء الجاري لإزالة الفورمالين المتبقي ، ولنزع الماء (Dehydration) مررت العينات في تركيزات تصاعدية من الكحول الأيثلي (100%، 95 % ، 80 %،70 %) ثم روقت (Clearing) باستخدام الزايلول ثم طمرت (Embedding) في شمع البرافين الذي تصل نقطة انصهاره (56 °C) حيث وضعت في فرن عند درجة حرارة (62- 64 °C) لمدة ساعتين ، ثم عملت قطاعات عرضية رقيقة (thin section) يتراوح سمكها (5 – 3) ميكرون باستخدام الميكروتوم العادي Rotary microtome وحملت على شرائح زجاجية .

صبغت بعض القطاعات النسيجية بصبغة الهيماتوكسلين والأيوسين Hematoxylin and Eosin (H&E) وبعضها الأخر بصبغة الماسون ترايكروم Masson Thichrome بعد إزالة الشمع عنها ثم فحصت بالمجهر الضوئي .