

تأثير بعض المواد الكيميائية على الاستجابة المناعية الخلطية في الفئران الممخجة تجريبياً بداء المقوسات

سرى سالم اغوان

فرع الاحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

الخلاصة

شملت الدراسة الحالية استخدام اربعة اختبارات مصلية لتشخيص داء المقوسات في الفئران المحقونة بالاكياس النسيجية المعاملة والغير المعاملة بالمواد الكيميائية وتضمنت هذه الاختبارات المصلية اختبار تلازن جزيئات اللاتكس واختبار تلازن جزيئات اللاتكس المحور واختبار IgM-ELISA واختبار IgG-ELISA وظهرت النتائج فعالية وكفاءة اختبار تلازن جزيئات اللاتكس المحور في الكشف عن داء المقوسات. من جهة اخرى شملت الدراسة تأثير ثلاثة مواد كيميائية على معايير الاضداد في الفئران المحقونة والاكياس النسيجية المعاملة بهذه المواد وظهرت النتائج كفاءة كلاً من المحلول الملحي المشبع لملح الطعام وحامض الخليك وحامض التارتاريك في رفع معايير الاضداد في الفئران المعاملة بهذه المواد وبالتالي يمكن استخدام هذه المواد كاضافات غذائية لتقليل نسبة الخمج بداء المقوسات من خلال رفع كفاءة الجهاز المناعي للمضيف.

Effect of some chemicals on the humoral immune response in mice experimentally infected with toxoplasmosis

S. S. Aghwan

Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

The present study was arranged to include the use of four serological testes for diagnosis of toxoplasmosis in infected mice with treated or non treated tissue cysts and these tests included that latex agglutination test, modified latex agglutination test, IgM-ELISA and IgG-ELISA; the results showed the efficiency of modified latex agglutination test in the diagnosis of toxoplasmosis. On the other hand this study included that the effect of three chemical substances on the antibodies titers of infected mice with treated tissue cysts with these substances, the results showed that efficiency of saturated salt solution of NaCl, acetic acid and tartaric acid to increase antibodies titer in treated mice with these substances and then can be use these substances as food additive for decrease the infection reissue with toxoplasmosis by increase the efficiency of host immune response.

Available online at <http://www.vetmedmosul.org/ijvs>

المقدمة

(16-40%)، بينما بلغت نسبة الخمج به في الدول الاخرى حوالي 80% (3). كما يمتلك الطفيلي نسبة انتشار واسعة في العراق حيث بلغت نسبة النساء المجهضات اللاتي يحملن اضعاداً متخصصة (34.7%) في محافظة بغداد (4)، في حين بلغت نسبة الخمج بهذا الطفيلي في نساء محافظة نينوى 69.2% (5). كما سجل داء المقوسات انتشاراً واسعاً في حيوانات المزرعة فتقدر نسبته في الاغنام ب (21%) والماعز (25%) والخيول

يعتبر طفيلي المقوسات الكوندية من الاوالي الطفيلية الاجبارية الداخل خلوية والذي يحدث الخمج في الانسان والحيوان (1). ويسبب هذا الطفيلي داء المقوسات وللطفيلي نسبة انتشار واسعة بين سكان العالم، حيث قدر عدد الاشخاص الممخجين بهذا الطفيلي حوالي ملياري شخص (2). في حين تراوحت نسبة الخمج بهذا الطفيلي في الولايات المتحدة بين

جمعت العينات من لحوم الضأن وقطعت هذه النماذج الى قطع صغيرة باستخدام المقص والملقط المعقمن ووزنت هذه القطع باستخدام الميزان الحساس واضيف اليها (10) امثال حجمها من محلول البيسين الحامضي وهضمي حسب طريقة Dubey & Thulliez (17)، وحقن المعلق النهائي في التجويف البريتوني لخمس فئران لغرض عزل الطفيلي بصورة نقية لاستخدامه في الدراسات اللاحقة وحسب طريقة Sharma & Dubey (18) فقد تم حساب عدد الاكياس النسبية للطفيلي لتحديد حجم المعلق المحقون، حيث بلغ حجم المعلق (1 سم³) والحاوي على (100) كيس نسيجي ثم عرضت هذه الاكياس الى تأثير المواد الكيميائية قيد الدراسة.

تصميم التجارب

تم قياس تأثير ثلاثة مواد كيميائية على الاستجابة المناعية الخلطية في الفئران المخمجة بطفيلي المقوسات الكوندية وبعده تراكيز لحين الوصول الى التركيز الفعال وخلال فترة زمنية تقدر بـ (10) دقائق للمعاملة الواحدة، وشملت هذه الدراسة قياس فعالية المواد الاتية:

المحلول الملحي المشبع لملاح الطعام NaCl

استخدم ملح الطعام النقي باربعة تراكيز هي (5% و 10% و 20% و 30%) حيث استخدمت اربعة انابيب مختبرية سعة (15 سم³) وتحتوي كل انبوبة على (2 سم³) من المحلول الملحي المشبع وحسب التركيز المستخدم، ثم اضيف الى كل انبوب (10 سم³) من معلق الاكياس النسيجية لطفيلي المقوسات الكوندية، تركت هذه الانابيب بدرجة حرارة الغرفة لمدة (10) دقائق وبعد انتهاء فترة التعريض ازيلت المادة الكيميائية وغسلت الاكياس النسيجية باستخدام محلول دارى الفوسفات المنظم ذي الدالة الحامضية (7.2-7.4) ثلاث مرات، ثم علقت هذه الاكياس في هذا المحلول وحقنت في التجويف البريتوني لعشر فئران لكل معاملة من المعاملات الكيميائية بغية دراسة تأثير هذه المادة المختارة على الاستجابة المناعية الخلطية لهذه الفئران.

حامض الخليك Acetic acid

استخدم حامض الخليك النقي بثلاث تراكيز هي (1% و 2% و 3%) واجري عليها نفس المعاملات الانفة الذكر.

حامض التارتاريك L-Tartaric acid

استخدم الحامض بثلاث تراكيز هي (5% و 10% و 15%) واجري عليها نفس المعاملات الانفة الذكر.

مجموعة السيطرة الموجبة

15% (6). كما سجلت نسبة الاصابة بالمرض في العراق نسبة عالية في الثروة الحيوانية (8،7). ينتقل الخمج بطفيلي المقوسات الكوندية بطرائق عدة منها تناول او ملامسة الاكياس النسيجية الموجودة في لحوم وانسجة المضائف الوسطية غير المطهية جيداً كما ينتقل الخمج اثناء شرب المياه وتناول الخضراوات والفواكه الملوثة باكياس بيض الطفيلي وقد يحدث الخمج نتيجة لشرب الحليب غير المبستر والملوث بالحوينات السريعة التكاثر، فضلاً عن التعامل مع التربة الملوثة ببراز القطط المخمجة ومن الطرائق المهمة ايضاً للانتقال هو حدوث الخمج عبر المشيمة (9-11). واخيراً ينتقل الخمج بالطفيلي عن طريق الجهاز التنفسي باستنشاق اكياس البيض المتبوع (12).

جرى استخدام العديد من العقارات لعلاج داء المقوسات ولوحظ فشل هذه العقارات بسبب تواجد الطفيلي بمراحل متعددة خلال دورة حياته حيث ينتج الطفيلي في كل مرحلة من مراحل حياته سلسلة متخصصة من البروتينات مما يساعد الطفيلي على مراوغة الجهاز المناعي للمضيف (13). فقد استخدم Gratzl وآخرون (14) عقار Spiramycin لوحده ولاحظوا فشل هذا العقار في منع الانتقال الخلقي للخمج بطفيلي المقوسات الكوندية من الام الى الجنين. كما لاحظ Scholer وآخرون (15) ان للعلاج التقليدي بمستحضرات الـ Sulfadizine مع الـ Pyrimethamine العديد من التأثيرات الجانبية. درست حمو (16) تأثير مجموعة من المواد الكيميائية على حيوية الرؤيسات الاولى للطفيلي *Echinococcus granulosus* في داخل وخارج جسم الكائن الحي ولاحظت قدرة هذه المواد على اختزال اعداد الاكياس المائية في الفئران المخمجة تجريبياً وكانت من المواد المستخدمة حامض الخليك وحامض التارتاريك ولهذا إرتأينا في دراستنا هذه استخدام هذه المواد الكيميائية فضلاً عن استخدام المحلول الملحي المشبع لملاح الطعام كإضافات غذائية لدراسة تأثيرها على الاستجابة المناعية الخلطية في الفئران المخمجة تجريبياً بالاكياس النسيجية لطفيلي المقوسات الكوندية المعاملة بهذه المواد وبتراكيزها المختلفة.

المواد وطرائق العمل

الحيوانات المختبرية

استخدمت الفئران البيض من سلالة (Balb/c) التي تم الحصول عليها من بيت الحيوانات التابع لكلية الطب البيطري /جامعة الموصل، وتم التأكد من خلوها من داء المقوسات الكوندية بفحصها مصلياً، وضعت الفئران في أقفاص بلاستيكية ووفرت لها الظروف المناسبة من درجة حرارة (20° ± 5 م) مع توفير التغذية والتهوية والإضاءة الملائمة لها.

عزل الطفيلي

السيطرة الموجبة)، في حين بلغت النسبة المئوية لأختبار IgG-ELISA (0%) في الفئران غير المعاملة، بينما كانت النسب المئوية لأختباري تالزن جزيئات اللاتكس LAT تالزن جزيئات اللاتكس المحور مع M-LAT 2-ME (100%) على التوالي في للفئران المعاملة بالمواد الكيميائية، في حين بلغت النسبة المئوية لأختبار IgM-ELISA في الفئران المعاملة بالمواد الكيميائية (20%)، بينما بلغت النسبة المئوية لأختبار IgG-ELISA في الفئران المعاملة (0%). ومن هنا نلاحظ الاختلافات في النسب المئوية لهذه الاختبارات.

الجدول (1): النسب المئوية للحالات الموجبة في الفئران المعاملة بالمواد الكيميائية وغير المعاملة بالاختبارات المصلية LAT و M-LAT و IgM-ELISA و IgG-ELISA.

النسب المئوية للحالات الموجبة				الاختبار
IgG-ELISA	IgM-ELISA	M-LAT	LAT	
%0	%20	%100	%100	الفئران المعاملة
%0	%100	%100	%100	الفئران غير المعاملة

أظهرت نتائج فحوصات الاستجابة المناعية الخلطية والمتمثلة بمعايير الاضداد لداء المقوسات الكوندية حدوث استجابة مناعية وتزايد في معايير الاضداد عند حقن الفئران بالاكياس النسيجية المعاملة بالمحلول الملحي المشبع لملاح الطعام فقد ازدادت معايير الاضداد معنوياً بزيادة تركيز المحلول الملحي فقد كانت معايير الاضداد عند التركيز (5%) (256:1) ثم بلغت (512:1) عند التركيز (10%) و (1024:1) عند التركيز (20%) ثم تناقصت معنوياً عند التركيز (30%)، وكما هو موضح في الجدول (2)، وكانت افضل معاملة للاكياس النسيجية هي باستخدام التركيز (20%).

تبين عند دراسة تأثير معاملة الاكياس النسيجية لطيفلي المقوسات الكوندية بحامض الخليك وبتركيزه المختلفة وجود زيادة معنوية في مستوى الاستجابة المناعية الخلطية متمثلة بمعايير الاضداد فقد كانت معايير الاضداد (512:1) عند استخدام التركيز (1 و 2%)، في حين كانت الاضداد في مجموعة السيطرة الموجبة (128:1) عند مستوى احتمال ($P \geq 0.05$)، بينما ازدادت معايير الاضداد زيادة ملحوظة عند استخدام المعاملة بالتركيز (3%) واعتبر هذا التركيز افضل التراكيز المستخدمة لمعاملة الاكياس النسيجية حيث بلغت معايير الاضداد (1024:1)، وكما موضح في الجدول (3).

الجدول (2): معايير الاضداد في الفئران المحقونة بالاكياس النسيجية المعاملة بالمحلول الملحي المشبع لملاح الطعام.

تم حقن (10) فئران بمعلق الاكياس النسيجية والغير المعاملة لطيفلي المقوسات الكوندية وذلك بغية قياس الاستجابة المناعية الخلطية لهذه الفئران.

جمع عينات المصل

سحب الدم من الفئران بعد مرور شهر على الحقن وذلك بوحز الجيب خلف الحجاجي (Retroorbital sinus) باستخدام الانابيب الشعرية الدقيقة وذلك لمعايرة التراكيز المستخدمة وللتعرف على معايير الاضداد باختلاف التراكيز المستخدمة بغية التعرف على افضل استجابة مناعية خلطية وذلك باستخدام اختبار تالزن جزيئات اللاتكس المحور مع (2- ME).

الفحوصات المصلية

فحص تالزن جزيئات اللاتكس Latex Agglutination test

اجري الفحص باستخدام عدة (Kit) تجارية تدعى Toxocell-Latex انتاج الشركة الأسبانية (Biokit).

فحص تالزن جزيئات اللاتكس المحور Modified Latex Agglutination Test

اجري الفحص باستخدام مركب (2- ME) للعينات الموجبة في فحص تالزن جزيئات اللاتكس وذلك لتشخيص نوع الكلوبولينات المناعية سواء كانت (IgG او IgM) وحسب طريقة Desmonts واخرون (19).

فحص ارتباط الأنزيم للادمصاص المناعي Enzyme - Linked Immunosorbent Assay (IgG - ELISA)

استخدمت عدة (Kit) تجارية من صنع شركة Nova Tec الألمانية للكشف عن الكلوبولين المناعي نوع IgG.

فحص ارتباط الأنزيم للادمصاص المناعي Enzyme - Linked Immunosorbent Assay (IgM- ELISA)

استخدمت عدة (Kit) تجارية من صنع شركة Nova Tec الألمانية للكشف عن الكلوبولين المناعي نوع IgM.

التحليل الإحصائي

حللت البيانات احصائياً باستخدام برنامج الحقيبة الإحصائية SPSS.

النتائج

يتضح من الجدول (1) والذي يمثل النسبة المئوية للحالات الموجبة في الفئران المعاملة بالمواد الكيميائية وغير المعاملة بالاختبارات المصلية (LAT و M-LAT و IgM-ELISA و IgG-ELISA) ان النسب المئوية للاختبارات المصلية الثلاثة الأولى كانت (100%) في مجموعة الفئران غير المعاملة (مجموعة

المناقشة

تبين عند دراسة النسب المئوية للاختبارات المصلية المختلفة والمتضمنة اختبار LAT واختبار M-LAT واختبار IgM-ELISA واختبار IgG-ELISA أن هناك تبايناً في النسب المئوية لهذه الاختبارات المصلية على حد سواء أكانت في مجموعة الفئران المعاملة بالمواد الكيميائية أو في مجموعة الفئران غير المعاملة وقد تعزى الأسباب التي أدت إلى ظهور مثل هذا التباين إلى عدة عوامل منها استخدام عدة كيت (Kit) جاهزة ومتوفرة في السوق المحلية حيث تستخدم هذه العدة لتشخيص داء المقوسات الكوندية في الإنسان وقد يمتلك المستضد المستخدم نوعاً من التخصص المضيفي والذي بدوره يجعل هذا الكيت يكشف عن الاخماج الموجبة في الإنسان ويعجز عن الكشف عن هذه الاخماج في الحيوانات المختبرية بالرغم من احداث الإصابة التجريبية في هذه الحيوانات المختبرية لذا يفضل لدراسة مثل هذه الظاهرة تحضير المستضد المستخدم يدوياً للوقوف الأكيد على سبب هذه الظاهرة، كما قد تعزى الأسباب التي أدت إلى تباين نتائج اختباري M-LAT و IgG-ELISA الى ان اختبار (M-LAT) هو اختبار شبه كمي، في حين يكون اختبار الاليزا (IgG-ELISA) أكثر تعبيراً عن نسبة الخمج، فضلاً عن اختبار تلازن جزيئات اللاتكس المحور قد يعطي نتائج موجبة مع طفيليات أخرى تمتلك استضادية مشتركة مع طفيلي المقوسات الكوندية مثل طفيلي Sarcocystis.

وأخيراً يعد اختبار تلازن جزيئات اللاتكس المحور مع (2-ME) هو الأفضل للتحري عن اعداد المقوسات الكوندية نوع (IgG) في الدراسات المسحية، فضلاً عن سهولة الاجراء وقلة الجهد والوقت اللازمين لاجرائه ولكلفته المناسبة (20،21). وقد سجل Lundem وآخرون (22) نسباً مئوية منخفضة لوجود الكلوبيولين المناعي نوع (IgG) في مستخلصات لحوم الخنازير المذبوحة في السويد باستخدام اختبار الاليزا غير المباشر المحور. من ناحية أخرى تبين وجود فروقات كبيرة بين نتائج دراستنا بالمقارنة مع دراسة عبد الله (23) التي سجلت نسبة مئوية عالية لتواجد الأضداد نوع (IgG) اذ بلغت (93.33%) في مصول الضأن التي كانت موجبة لاختبار تلازن جزيئات اللاتكس.

أظهرت نتائج فحوصات الاستجابة المناعية الخلطية والمتمثلة بمعايير الاضداد وجود زيادة معنوية في معايير الأضداد في الفئران المحقونة بالاكياس النسيجية المعاملة بالمواد الكيميائية كالمحلول الملحي المشبع وحامض الخليك وحامض التارتريك لغالبية الجرعة المحقونة، في حين حصل نقصان معنوي في معايير الاضداد في الفئران المعاملة بالمواد الكيميائية لبعض الجرعة عند مقارنتها بمعايير الاضداد لمجموعة السيطرة وقد تعزى الأسباب التي أدت إلى ارتفاع مستوى الاستجابة المناعية الخلطية إلى قدرة هذه المواد الكيميائية على تحفيز

الفئران المحقونة بالاكياس الملحي المشبع حسب التركيز	5%	10%	20%	30%	غير المعاملة
التركيز	256:1	512:1	1024:1	64:1	128:1

*فرق معنوي باحتمال ($P \geq 0.05$) بين المجموعة المعاملة ومجموعة السيطرة الموجبة. القيم تمثل المعدل $\pm$ الانحراف القياسي.

الجدول (3): معايير الاضداد في الفئران المحقونة بالاكياس النسيجية المعاملة بحامض الخليك.

الفئران المحقونة بالاكياس المعاملة بحامض الخليك حسب التركيز	1%	2%	3%	غير المعاملة
التركيز	512:1	512:1	1024:1	128:1

*فرق معنوي باحتمال ($P \geq 0.05$) بين المجموعة المعاملة ومجموعة السيطرة الموجبة. القيم تمثل المعدل $\pm$ الانحراف القياسي.

الجدول (4): معايير الاضداد في الفئران المحقونة بالاكياس النسيجية المعاملة بحامض التارتريك.

الفئران المحقونة بالاكياس المعاملة بحامض التارتريك حسب التركيز	5%	10%	15%	غير المعاملة
التركيز	128:1	256:1	256:1	128:1

*فرق معنوي باحتمال ($P \geq 0.05$) بين المجموعة المعاملة ومجموعة السيطرة الموجبة. القيم تمثل المعدل $\pm$ الانحراف القياسي.

كما درس تأثير المعاملة بحامض التارتريك على الاستجابة المناعية الخلطية في الفئران ولوحظ وجود زيادة معنوية في معايير الاضداد عند استخدام التركيزين (10 و 15%)، في حين لم يكن هناك فرق معنوي في مستوى الاستجابة المناعية الخلطية في مجموعة الفئران المعاملة بالتركيز (5%) عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة الموجبة عند مستوى احتمال ($P \geq 0.05$)، وكما موضح في الجدول (4).

11. Hiramoto RM., Borges MM, Galisteo AS, Meireles LR, Macre MS, Radem HF. Infectivity of cysts of the ME-49 *Toxoplasma gondii* Strain in bovine milk homemade Chess. Rev. Saude Publica. 2001;35(2):113-118.
12. Bagley CV. Infectious reproductive disease of small ruminants. J Infect Dis.2001;31:162-171.
13. BougdourA, Maubon D, Baldacci P, Ortet P, Bastien O, Bouillon A, Barale JC, Pelloux H, Menard R, Ali-Hakimi M. Drug inhibition of HDAC3 & epigenetic control of differentiation in Apicomplexa parasites. J Exp Med. 2009;206,4:953-966.
14. Gratzl R, Sodeck G, Platzer P, Jager W, Graf J, Pollak A, Thalhammer T. Treatment of Toxoplasmosis in pregnancy: Concentrations of spiramycin & Neospiramycin in maternal serum & amniotic fluid. European J Clin Micro Infect Dis.2002;21:12-16.
15. Scholer N, Kraus K, Kayser O, Muller RH, Borner K, Hahn H, Liesenfeld O. Atovaquone Nanosuspensions show excellent therapeutic effect in a new murine model of reactivated toxoplasmosis. Ameri Soci Microbiol. 2001;45, 6:1771-1779.
16. حمو، رضاء ناظم، داء الاكياس العدرية في محافظة نينوى والتاثير القاتل لاربع مواد كيميائية في الروبيسات الاولى (رسالة ماجستير). الموصل:جامعة الموصل، 1999.
17. Dubey JP, Thulliez MD. Persistence of tissue cysts in edible tissue of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. Am J Vet Res.1993;54(2):270-273.
18. Sharma SP, Dubey JP. Quantitative survival of *Toxoplasma gondii* tachyzoites & bradyzoites in pepsin & in trypsin solutions. Am J Vet Res. 1981;42:128-130.
19. Desmonts G, Naot Y, Ramington JS. Immunoglobulin M. and immunosorbent agglutination assay for diagnosis of infectious diseases:Diagnosis of acute congenital & acquired *Toxoplasma gondii* infection. J Clin Microbiol. 1981;14:486-491.
20. Mazumder P, Chuang HY, Wentz MW, Wiedbrank DL. Latex agglutination test for detection of antibodies to *Toxoplasma gondii*. J Clin Microbiol.1988;6:2444-2446.
21. Wilson M,Ware DA, Juranek DD. Serologic aspects of toxoplasmosis. J Am Vet Med Asso. 1990;196(2):277-281.
22. Lunden A, Lind P, Engvall E O, Gustavaaon K, Uggla A, Vagsholm I. Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in pigs Slaughtered in Sweden. Scand J Infect Dis. 2002;34:362-365.
23. عبد الله، دنيا عبد الرزاق. دراسة مصلية ونسجية لداء المقوسات الكوندية في الحيوانات المجزورة والاصابة التجريبية في الفئران (رسالة ماجستير). الموصل:جامعة الموصل، 2004.
24. Hunte CA, Reichmann, G. Immunology of Toxoplasma infection Toxoplasmosis:A comprehensive Clinical Guide. Cambridge University Press:London, 2001;pp.43-57.
25. Wise DJ, Carter GR. The nature of antigens:In Immunology a comprehensive review. A black well Science Company, Ames, Iowa, 2002. pp.25-30.

الاستجابة المناعية الخلطية من خلال دور الاستجابة المناعية الخلوية والتي تكون مصاحبة لعملية إنتاج الاضداد حيث تعمل الخلايا اللمفية التائية المساعدة (T4+) على تحفيز الخلايا اللمفية البائية (B-Cell) لإنتاج ألفة واطئة من الكلوبولينات المناعية نوع (IgM) وعند ازدياد تحفيز الخلايا اللمفية البائية وبلوغها ذروتها تقوم بإنتاج الكلوبولينات المناعية نوع (IgG) ذات الألفة العالية (24)، بينما تعزى الأسباب التي أدت إلى حدوث نقصان معنوي في معايير أضداد الفئران المعاملة بالمواد الكيميائية إلى حدوث حالة من التحمل المناعي الجزئي بسبب زيادة تراكيز هذه المواد الكيميائية المستخدمة (25).

المصادر

1. Fruth I.A., & Arrizabalaga, G. *Toxoplasma gondii*: Introduction of egress by Potassium ionophore nigericine. International. J. Parasitol. 2007;37:1559-1569.
2. Bout, D.T., Mevelec, M.N., Velge-Roussel, F., Dimier-Poisson, I. & Lebrum, M. Prospects for a human *Toxoplasma* vaccine. Curr Drug Tag Imm Endoc Metab Disor. 2002;2:227-234.
3. Hill D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. Clin Microbiol Infect. 2002;8:634-40.
4. الدجيلي، ختام يحيى عبيد. دراسة مصلية وبائية لداء المقوسات في النساء المجهضات في بغداد (رسالة ماجستير) بغداد: جامعة بغداد، 1998.
5. الخفاف، فرح حازم عمر. عزل ودراسة وبائية مصلية لداء المقوسات في النساء بسن الانجاب في محافظة نينوى (رسالة ماجستير). الموصل: جامعة الموصل، 2001.
6. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff, KW, Constable PD. Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horse, sheep, pigs, goat. Saunders, Elsevier, 2007;26:1518-1522.
7. السمعاني، رويد غانم ابلحد. دراسة مصلية لتشخيص داء المقوسات للاغنام والانسان في محافظة نينوى (رسالة ماجستير). الموصل: جامعة الموصل، 2006.
8. المقدسي، منهل خضر حسو. دراسة مسحية لحالات الاجهاض في الاغنام والانسان المتسببة عن طفيلي المقوسات في محافظة نينوى (رسالة ماجستير). الموصل: جامعة الموصل، 2000.
9. Brito AF, Souza LC, Silva AV, Langoni H. Epidemiological & serological aspects in Canine toxoplasmosis in animals with nervous symptoms. Men Inst Oswaldo Cruz. 2002;97(1):31-35.
10. Figueiredo J, Silva DA, Cabral D, Mineo J. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in goat indirect hemagglutination, Immunofluorescence and immunoenzymatic tests in the region of unberlandia, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo. Cruz. 2001, 97(5):687-692.