



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية العلوم

قسم البيئة

# التغيرات النسجية المرضية في كبد الفئران المصابة بطفيلي الاميبا الحالة للنسيج E.histalytica

بحث مقدم الى:

مجلس كلية العلوم/قسم البيئة كجزء من متطلبات نيل شهادة بكالوريوس علوم علوم بيئة

تقدم به كل من :

محمد عبد الجبار مرزوك الهلالي

طاهر محمد حسينا لايدامي

بأشراف

م.م. فاطمة إبراهيم محمد

القادسية / 2023 م

جمادي الاخر 1438 هـ

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

﴿هُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً لَكُمْ مِنْهُ شَرَابٌ وَمِنْهُ شَجَرٌ فِيهِ  
تَسْمُونَ ﴿١٠﴾ يَنْبُتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعُ وَالزَّيْتُونُ وَالنَّخِيلُ وَالْأَعْنَابُ وَمِنْ  
كُلِّ الثَّمَرَاتِ أَنْزَلَ فِي ذَلِكَ آيَةً لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة النحل

الآية (10-11)

# الاهداء

الى من غرسا الايمان والحق وحب الخير في اعماق نفسي

يامن تعجز عن وصفهم الكلمات وكل الكلمات

امي وابي حبا وتقديراً والى اخوتي محبة واعتزاز

.الى كل من قدم لي النصح والعون

عرفانا واحتراماً

## كلمة شكر

الحمد والشكر لله رب العالمين على النعم الكثيرة التي من بها علي والصلاة والسلام على

سيدنا محمد وعلى اله واصحابه ومن دعا بدعوته الى يوم الدين .

يسرني ان اتقدم بالشكر والتقدير الاستاذة المشرفة

(فاطمة ابراهيم محمد) لتفضله بالأشراف على البحث ومتابعته المستمرة التي ساعد

بإخراجه بشكله الحالي ولايفوتني ان اتقدم بالشكر الى اساتذتي وكلية التربية/قسم الكيمياء

لما قدموه من معرفة علمية واخيرا شكري وتقديري الى جميع من ساعدني في اعداد هذا

البحث وفاتني ذكر اسمه

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة التسليط الضوء على بعض الاعمال المؤثرة في نمو طفيلي الاميبا الحالة للنسيج Entamoebahistolytica وبداية عزل الطفيلي من براز وتمت تنميته وادامة نموه في وسطين زرعيين وهما Locke – egg medium و Liver infusion . وبعد ذلك درس تأثير بعض أنواع كريات الدم الحمر للإنسان على نمو ونشاط الاميبا . كما تضمنت الدراسة أيضا تنمية الاميبا الحالة للنسيج في الكائن الحي in vivo لدراسة التغيرات النسجية المرضية في الانسان .

كان عزل واستنبات الاميبا الحالة للنسيج ناجحا في الوسطين الزرعيين .

كان المحتوى البكتيري المتمثل ببكتريا Escherichia coli متطلبا أساسيا لنجاح استنبات طفيلي الاميبا الحالة للنسيج في الوسطين الزرعيين .

## المحتويات

الفصل الاول	
1	المقدمة
3	الهدف من الدراسة
الفصل الثاني	
4	استعراض المراجع
4	نبذة تاريخية
8	دورة حياة الاميبا الحالة للنسيج
11	الامراضية والاعراض السريرية
15	العلاج
16	التشخيص المختبري
الفصل الثالث	
19	المواد وطرائق العمل
23	المناقشة
35	الاستنتاجات
36	التوصيات
37	المصادر

# الفصل الأول

# المقدمة

## Introduction

### المقدمة

تعد الاميبا الحالة للنسيج Entamoebahistolytica من الطفيليات الابتدائية المهمة والتي قد تتسبب بموت الانسان وتعد ثالث اكثر الطفيليات شيوعا اذ يصاب بها قرابة 50 مليون شخص سنويا في العالم ووفاة مائة الف منهم أي حوالي (Tanyuksel and petri, 2003) 0.2% .

تنتشر الإصابة وتتركز في الدول الفقيرة والنامية بسبب تدني التجهيزات الصحية وتلوث مياه الشرب والغذاء بمياه الصرف الصحي وبالتالي تلوثه بالفضلات الحاوية على الاكياس رباعية النواة المعدية (Dimiceli, 2003).

تسبب الاميبا الحالة للنسيج الأحادية الخلية مرض الزحار الاميبي (Amoebic dysentery) او يعرف بداء المتحولات الاميبية (Amoebiasis) اذ يسبب الاسهال (Diarrhoea) او يتطور الى الزحار (Dysentery)



أي اختلاط البراز السائل مع الدم والمخاط. وقد ينتقل الطفيلي ليصيب الكبد ويسبب التهاب الكبد (Hepatitis) الذي يمكن ان يتطور الى خراج الكبد (Liver abscess) أي وجود قيح في الكبد وقد يتطور الى إصابات أخرى ثانوية معقدة تشمل الرئة والدماغ والجلد (Kotpal, 1994) ولهذا تعرف داء المتحولات الاميبية على انها إصابة تهاجم الأمعاء او خارج الأمعاء وبوجود الطفيلي الابتدائي E.histolytica (Que and Reed, 2000).

تظهر الاميبا في البراز بعدة اشكال : الشكل المتحرك وهو الطور المتغذي او الخضري (Trophozoite) والشكل ما قبل التكييس (pre-cyst) والشكل المتكييس (cyst) وهو الطور المعدي (Infective stage) والمسؤول عن انتقال العدوى من شخص الى اخر. تتوطن الاطوار المتغذية في الأمعاء الغليظة للإنسان اذ لها القدرة على مهاجمة الطبقة المخاطية (Mucosa) والطبقة التحت مخاطية (Submucosa) ولها القابلية على احداث التحلل الخلوي (Cytolysis) وتحلل الانسجة (Histolysis) وذلك بإفراز مواد سامة تحلل وتحطم الطبقة المخاطية للأمعاء ثم تتغذى على الانسجة المتحللة وكريات الدم الحمر والبكتريا الطبيعية (Bacterial flora) في الأمعاء. ونتيجة لذلك يحدث التخر (Necrosis) في بطانة الأمعاء وهذا ما يمكن الاميبا من الانتقال الى باقي انحاء الجسم عن طريق مجرى الدم وبشكل أساسي الى الكبد (Espinosa – Cantellano and Martinez – Palomo, 2000; Tanyuksel and Petri, 2003).

تبقى الإصابة بالاميبا الحالة للنسيج واحدة من المشاكل الصحية العالمية واخطر الامراض المعوية وخاصة في الدول النامية لذا فان سرعة ودقة التحري عن هذه الطفيليات يعد أساسيا في السيطرة على انتشار داء المتحولات الاميبية (Srivastava et al., 2005) خصوصا عندما تتواجد بعض الأنواع المتطابقة مظهريا وانسجاما مع ذلك فقد اقترح العالم Brumpt عام 1925 سلالة مطابقة مظهريا لـ E. histolytica لكنها مختلفة وراثيا عنها وتتوطن أيضا في الأمعاء الغليظة وعرفت بالحالة الغير المرضية لـ E. histolytica ولا يمكن تمييزها عن الحالة المرضية في الفحص المجهرى. (Staneley, 2003)

كذلك توجد حالات من E. histolytica تتوطن في تجويف الأمعاء ولكنها لا تهاجم الانسجة وتعيش بشكل تعايشي (Commensalisms) وتعرف بالإصابة اللااعراضية (Asymptomatic) ويعد الأشخاص في هذه الحالة حاملين للمرض. ويمكن ان تنتقل الإصابة الى شخص اخر عن طريق تلوث الطعام والماء ببراز الحاملين للمرض او ينتقل كمرض تناسلي ولا سيما في الشاذين جنسيا (Tanyuksel and Petri, 2003) (Homosexuals). ولتمييز هذه الطفيليات ودراسة امراضيتها اصبح التحري الكامل عن الاميبا المسببة لداء المتحولات الاميبية من اهم الأهداف في المختبرات الطبية والبحثية وطورت على أساسها الطرائق التشخيصية وخاصة لتمييز النوعين المختلفين وراثيا.

اعتمدت هذه الطرائق على ثلاثة معايير أساسية وهي الكيموحيوية والوراثية والمناعية بهدف الحصول على نتائج اكثر دقة في التشخيص وإعطاء معلومات وبائية دقيقة تساهم إيجابية في العلاج (Dimiceli, 2004) الا ان العقبة الأساسية وخاصة في الدول الفقيرة هي الكلفة العالية لهذه الطرائق وخاصة الحديثة منها. ان اكثر الاختبارات المناعية شيوعا واستخداما هو اختبار (Enzyme – linked immunosorbent assay) (ELISA) والذي يمتاز بحساسيته ونوعيته العالية للكشف عن اعداد الاميبا الا ان هذه التقنية وفي المناطق المستوطنة (Endemic) بالطفيلي لا يمكن التعويل على نتائجها في الكشف عن الإصابة وذلك بسبب استمرارية وجود الاضداد في امصال المرضى ولمدة طويلة بعد الإصابة قد تصل الى اشهر او سنين وبالتالي لا يمكن تحديد الإصابة الحديثة من الإصابة السابقة ومع ذلك تعد تقنية ELISA مهمة جدا في التمييز بين الإصابة بـ E. histolytica و E. dispar الى جانب الفحص المجهرى اذ ان E. dispar لا تحفز الجهاز المناعي لإنتاج اعداد نوعية خاصة بها (Espinosa – Cantellano and Martinez – Palomo, 2000; Tanyuksel and Petri, 2003). تتطلب هذه التقنيات اعداد كبيرة من العينات وبذلك يأتي دور تنمية الاميبا في الأوساط الزرعية التي تعد خطوة مهمة في الدراسات الوبائية والبحثية لدراسة الامراضية والطبيعة الاحيائية للاميبا الحالة للنسج (Clark et al., 2002) إضافة الى ان الاستنبات يكون أكثر حساسية مقارنة بطريقة التحضير الرطب المجهرية (Wet preparation) ويقلل من الحاجة الى عينات متعددة في التشخيص (Dagci et al., 2002).

ان اول من قام بأستنبات الاميبا للحالة للنسج هما Drobchav and Boeck عام 1925 في الوسط ثنائي الطور ومن ذلك الوقت بدأت تتطور الأوساط الزرعية لتأخذ شكلا اكثر تعقيدا واكثر ضمانا لنجاح الاستنبات . يمكن استنبات الطفيلي من عينة خروج او خراج وادامته في الوسط الزرعى لمدة طويلة تصل الى سنين وهذا يتيح لنا دراسة اكثر شمولاً عن السلالات الطفيلية والامراضية اذ قامت عدة دراسات لتحليل Isoenzymes لسلالات الطفيلي النامية في الوسط الزرعى اضافة الى دراسات أخرى اكثر نوعية وحساسية مثل الاحيائية الجزئية والكيموحيوية والمناعية بالإضافة الى الفحص المجهرى لزيادة دقة وحساسية النتائج . وعلى الرغم من ذلك انحسرت الأوساط الزرعية في المختبرات البحثية فقط وذلك بسبب استهلاكها للوقت وكلفتها العالية فلا تستخدم في المختبرات الطبية (Tanyuksel and petri, 2003 ; Dimicehi, 2004) .

### هدف الدراسة Aim of study

صممت الدراسة بهدف تسليط الضوء على بعض الجوانب الزرعية والعوامل المؤثرة في نمو طفيلي الاميبا الحالة للنسج بالإضافة الى التأثيرات المرضية لهذا الطفيلي في الانسان . ولغرض تحقيق ذلك أنجزت الفحوصات المختبرية لغرض الكشف عن نمو الاميبا الحالة للنسج وتأثيرها على صحة الانسان والعوامل المؤثرة على نشاطها وانتشارها.

# الفصل الثاني

# استعراض المراجع

## Literature Review

### الفصل الثاني

#### Literature Review استعراض المراجع

#### نبذة تاريخية عن طفيلي الاميبا الحالة للنسج

#### Historical review of E. histolytica

جاء وصف داء المتحولات الاميبية على يد العلماء الاغريق في الفترة 377-460 ق.م في مريض يعاني من الاسهال المصاحب بالدم وعداً في ذلك الوقت مرضاً مميتاً (Tanyuksel and petri, 2003) . ومنذ ذلك توالت الدراسات لتكشف الكثير عن هذا المرض .

#### Nomenclature of E.

#### تسمية طفيلي الاميبا الحالة للنسج

#### histolytica

تعد الاميبا الحالة للنسج Entamoebahistolytica من اكثر أنواع الاميبا خطراً وانتشاراً تذا

هذه الكلمة اللاتينية الأصل تحلل الانسجة . اما Entamoeba فتعني التغير في الداخل (Kotpal, 1994) وعلى مر الزمن شملت التسمية عدة مرادفات تصنيفية لتعطي الطفيلي اسماً اكثر شمولاً .

#### Taxonomy of E.histolytica تصنيف طفيلي الاميبا الحالة للنسج

ان احدث تصنيف لطفيلي الاميبا الحالة للنسج هو كما يلي:

- Diomain : Eukaryota

- Kingdom : Protozoa
- Subkingdom : Sarcomastigota
- Phylum : Amoebozoa
- Subphylum : Conosa
- Infraphylum : Archamoebae
- Class : Entamoeba
- Family : Entamoebidae
- Genus : Entamoeba
- Species : Histolytica

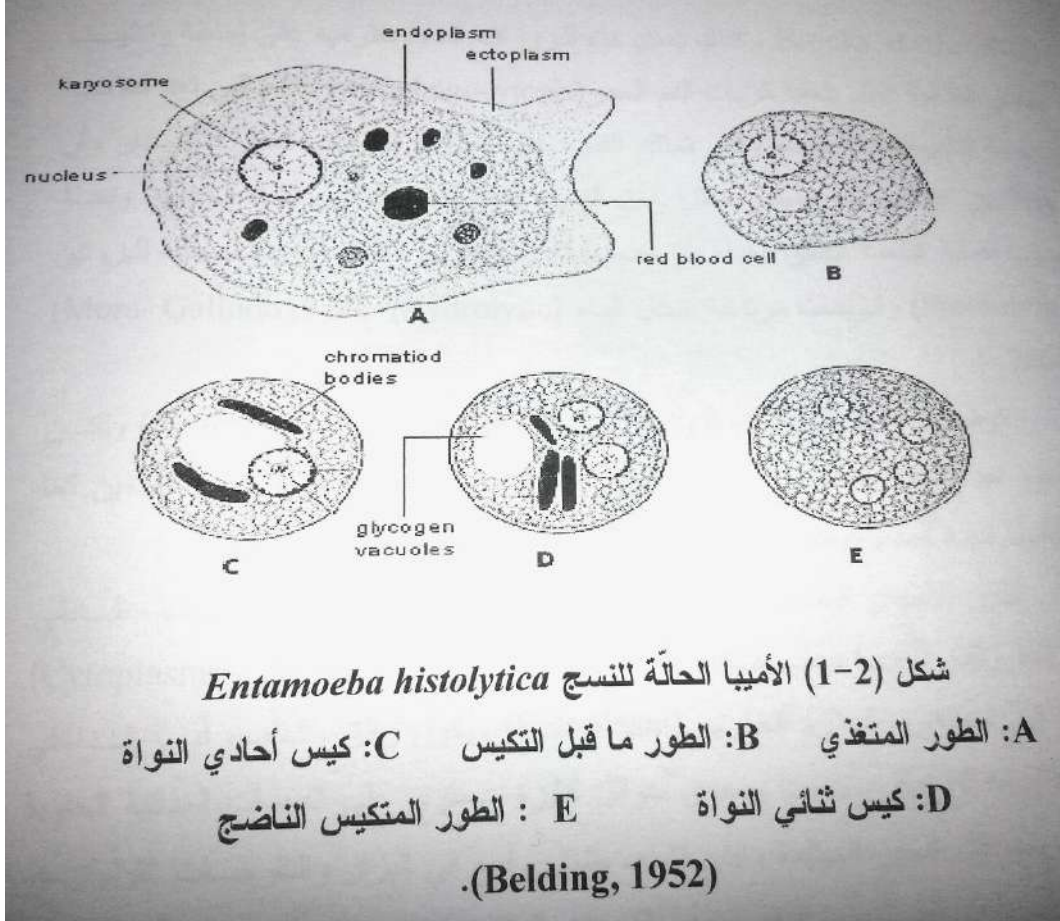
(Cavalier-Smith, 1998; Cavalier-Smith, 2002; لقد اعتمد هذا التصنيف في ضوء البحوث الاتية (Adl et al., 2005).

تصنف أنواع Entamoeba بالاعتماد على ميزات هذه الطفيليات مثل حجم الطور المتغذيوالمتكيس واعداد الانوية في الاكياس الناضجة وتركيبية النواة وموقعها وغيرها وتعد الاميبا الحالة للنسج (*E. histolytica*) الممرضة الوحيدة للإنسان في حين ان الأنواع الأخرى غير ممرضة ولا تهاجم الانسجة ويعيش اغلبها في الأمعاء بشكل تعايشي (Commensalisms). وتضم الاميبا الحالة للنسج 44 سلالة (Strains) وان اكثرها انتشارا هي السلالة HM1 : IMSS والتي تتغذى على بكتريا *Escherichia coli* علما بأن جميع هذه السلالات هي ممرضة للإنسان (Orozco et al.,1983; Tanyuksel and Petri,2003)

وبالاعتماد على الطرائق الكيموحيوية (Biochemical) والمناعية (Immunological) والوراثية (Genetic) لتشخيص الاميبا الحالة للنسج اعيد تصنيفها الى نوعين متطابقين مظهريا ولكن مميزين وراثيا هما *E. Dispar* و *E. histolytica* علما ان النوع الثاني هو غير ممرض للإنسان (Que and Reed, 2000).

## الوصف المظهري للطفيلي Morphologie of parasite

تمر الاميبا الحالة للنسج من خلال دورة حياتها بثلاثة اشكال مميزة مظهريا وهي الطور المتغذي (Trophozoite) والطور ما قبل التكيس (Precyst) والطور المتكيس (Cyst) ويمكن تمييز هذه الاطوار في البراز وكما موضح بالشكل (1-2).



### الطور المتغذي Trophozoite stage

يعرف هذا الطور ايضا Trophic او Magna (Kotpal, 1994) . ويكون هذا الطور متحركا ومتغذيا ونشطا يبلغ قطره 10-60 مايكرون ويتواجد في الانسجة وفي البراز السائل من خلال الزحار الاميبى (Brooks et al., 2004) . ويسبب الامراضية للإنسان من خلال مهاجمته الخلايا الظهارية للطبقة المخاطية (Mucosa) المبطننة لتجويف الأمعاء . تعد حركة الطفيلي عاملا أساسيا في الامراضية وفي الهجوم على الانسجة وتطور المرض الحاد . اذ تكون حركة الطور المتغذي قطبية بواسطة امتداد لبروز سايتو بلازمي يعرف بالقدم الكاذب (pseudopodium) (وتعرف أيضا Monopodia) وتعتمد الحركة على ديناميكية الاكتين مايوسين (actin-myosin) - كما توجد زوائد خلفية تعرف (uroid) وهي عبارة عن تراكم الاغشية . تكون الحركة شبيهة بالموجة وتحديث بتقدم الساييتوبلازم الخارجي للقدم الكاذبة بحيث تسيل نحو الهدف . وعند استنبات الاميبا في الأوساط الزرعية فأنها تهاجر من الجهة السطحية نحو الحافة التي يظهر فيها النمو البكتيري (Labruyere et al., 2003;

الطور ما قبل التكييس: precytic stage

ويعرف أيضا بالشكل Minute form والذي يمتاز بكونه صغير الحجم وبيضوي وكذلك غير متحرك وغير متغذي ولا يسبب الامراضية للإنسان ولا يحوي على الفجوات الغذائية ولا توجد فيه كريات دم حمراء حرة ويتواجد في تجويف القولون ونادرا ما يتواجد في الانسجة . قد يتحول هذا الطور الى طور متغذي مهاجم او يعاني التكتيس لاصابة عائل جديد وفي البداية يكون كيس احادي النواة ويحتوي على الفجوات الكلايوجينية واجسام كروماتينية ذات نهايات مدورة ثم يحدث انقسام للنواة داخل الكيس لينتج في النهاية كيس رباعي النواة الذي يمثل الطور المعدي (Kotpal, 1994).

### الطور المتكيس Cystic stage

ان الطور المتكيس هو المسؤول عن انتقال العدوى ويبلغ قطره 10-15 مايكرون ويحوي 1\_4 انوية وجسيم مركزي وكروماتين محيطي منتظم . يكون السايبتوبلازم شفاف ورائق ويحوي على بعض الغذاء المخزون على شكل كتل او فجوات كلايوجينية والتي تختفي بالتدرج اذ تنقص بالحجم والعدد كلما نضج الكيس ويحتوي أيضا على واحد او اكثر من الاجسام الكروماتينية ذات النهاية المدورة والتي تختفي بعد ذلك . ومن ضمن ستراتيجية البقاء ومقاومة الظروف البيئية يحيط الطفيلي نفسه بطبقة او جدار كاربوهيدراتي هو جدار الكيس الحاوي على خليط من البروتين والكاييتين (Chitin) لذا يستطيع البقاء حيا خارج العائل لعدة أسابيع او اشهر وخاصة في الظروف الرطبة ولكنه سريع التحطم في حرارة 5م° وفوق 40 م° ويقاوم الظروف البيئية الخارجية وينتقل عبر الماء الملوث والطعام ويقاوم حتى الكلورة ولا يهاجم الطور المتكيس الانسجة ولا يتكون فيها ((Eichinge, 2001; Tanyuksel and petri, 2003)).

### الامراضية والاعراض السريرية

#### Pathogenicity and Clinical Symptoms

ترتبط الامراضية بكل من عوامل العائل والطفيلي وتتركز بشكل اساس على الية عمل الطفيلي التي تقتصر مع داء المتحولات الاميبية (Espinosa-Cantellano and Martinez-palomo, 2000). تكون مدة الحضانة لداء المتحولات الاميبية الامعائية (Intestinal amoebiasis) متغايرة وتتراوح من ايام معدودة الى اشهر او سنين ولكنها بشكل عام ما بين 1-4 أسابيع (Tanyuksel and petri, 2003). عند وجود الاطوار المتغذية في تجويف الأمعاء الغليظة تبدأ ببلعمة كريات الدم الحمر وكذلك تحلل وبلعمة الانسجة وبالتالي حدوث التقرحات (Ulcerations) وفي بعض الحالات تخترق الاطوار المتغذية جدار الأمعاء لتنتقل عبر الدوران الباني الى الكبد لتسبب الخراج الكبدي (Liver abscess) اذ تلاحظ الاطوار المتغذية محاطة بخلايا كبدية ميتة ويحدث هذا في حوالي 10% من الإصابات وذلك عند توفر عوامل الفوعة (Stanley, 2003). وتقوم الاميبا الحالة للنسج بقتل وتحلل خلايا العائل بشكل متغاير ويشمل ذلك خلايا النظام المناعي المتمثلة بخلايا الدم البيض اذ تموت هذه الخلايا اما عن طريق التنخر (Necrosis) او بأستحداث الموت

المبرمج للخلايا (Apoptosis) ولكل منها صفاته المتميزة . ففي التنخر تحدث زيادة في حجم الخلية او بمعنى انتفاخ الخلايا ومن ثم تحطم الغشاء البلازمي وتحرر محتويات الخلية وهذا يشمل أيضا الاحماض النووية. اما في الموت المبرمج فيحدث انكماش للخلية وحدوث تحوصل غشائي (Membrane blebbing) (في سطح الغشاء وتكثف الكروماتين . واكد (Huston et al ., (2003 بأن هناك نسبة مئوية عالية في ابتلاع خلايا الموت المبرمج مقارنة بابتلاع الخلايا الطبيعية بواسطة الاطوار المتغذية للاميبيا الحالة للنسج اذ كانت النسبة المئوية 62% مقابل 30% على التوالي.

يحدث الزحار الاميبي نتيجة مهاجمة الطور المتغذي للخلايا الظهارية في الطبقة المخاطية المبطننة للأمعاء الغليظة وبمساعدة انزيمات محللة للبروتين (Brooks et al.,2004) وقد يحدث توطن للطفيلي بدون غزو الانسجة وبدون حدوث عوارضون نسبة 90% من الإصابات وقد يحدث التهاب القولون الاميبي (Amoebic colitis) في 10% من الإصابات للأفراد المصابين . وربما تمتد الإصابة خارج الأمعاء الى باقي الأعضاء الأخرى والتي اكثرها شيوعا هو الكبد ويحدث ذلك بنسبة حوالي 10% من الأشخاص المصابين بالإسهال ((Dimiceli, 2004.

## العلاج Treatment

تصنف العقاقير المضادة للاميبيا (Antiamoebic drugs) الى ثلاث مجاميع هي التجويقية (Luminal amoebicides) والنسجية (Tissue amoebicides) والمختلطة (Mixed amoebicides). وتقوم العقاقير الخاصة بتجويف الأمعاء بالقضاء على الاكياس ومن هذه العقاقير paromycin, diloxanide, Iodoquinol . اما العقاقير الخاصة بداء المتحولات المهاجمة للانسجة فتعمل على القضاء على الاطوار المتغذية في الانسجة ومن هذه العقاقير Chloroquine, Emetine, Metronidazole . (Upcroft and Upcroft,2001;Bansal et al ,2006).

## التشخيص Diagnosis

من الطرائق المستخدمة لتشخيص داء المتحولات الاميبية الامعانية اخذ خزعة (Scrapings) او (Biosies) من خلال المنظار السيني (Sigmoidoscopy) او المنظار القولوني (Colonscope) . اما الخراج الكبدي الاميبي فيشخص بوساطة مخطط الموجات فوق الصوتية (Ultra-sonography) وكذلك التصوير التتابقي (Computer Tomography) او صور الرنين المغناطيسي (Magnetic resonance imaging)(Stanley,2003).

الفصل الثالث

المناقشة

و

النتائج

**Discussion and  
Conclusions**



## المناقشة Discussion

بينت النتائج نجاح عزل الاميبا من البراز وتنميتها على الوسطين الزراعيين كما أظهرت الدراسة بأن نجاح الاستنبات يعتمد على طبيعة البراز المزروع إذ ان نسبة نجاح زرع البراز السائل المخاطي الدمى أكثر بالمقارنة مع البراز الغير سائلي (Formed feces) وذلك لوجود الاطوار المتغذية بكثرة في النوع الأول ووجود الاكياس في النوع الثاني وهذا ما أكده Clark and Diamond,(2002) . وبعد نجاح تنمية الاميبا الحالة للنسج في الوسطين الزراعيين تم ادامة المستنبت كل 48 ساعة وتم الحصول على افضل تعداد اميبي بعد 5 الى 6 نقلات زرعية وهذا ما يتوافق مع Dagci et al .,(2003) كما أظهرت الدراسة زيادة معدل تضاعف الاطوار المتغذية في Dagci et al .,(2003) . كما أظهرت الدراسة زيادة معدل تضاعف الاطوار المتغذية في 48-72 ساعة بعد التلقيح لكلا الوسطين الزراعيين وبعد ذلك يبدأ بالانخفاض وهذا ما يتوافق مع Dagci et al .,(2003) إذ اكد بأن معدل التضاعف يصل الى مستوى القمة له بعد 48 ساعة للتلقيح في جميع الأوساط الزرعوية وكذلك اكدت عدد من البحوث بأن 72 ساعة حضانة تمثل الطور اللوغارتمي والذي يتم فيه حصاد الاميبا (Mata-Cardenas et al.,2000<sup>a</sup> ; Clark and Diamond,2002) . وكذلك من الأمور الأساسية لوحظ نمو الاطوار المتغذية فقط في الوسطين الزراعيين وعدم وجود الاكياس او حدوث التكيس وهذا ما أكده كل من Eichinger ,(2001); Makioka et al., (2001);Makioka et al.,(2002<sup>b</sup>) .

## الاستنتاجات Conclusions

- 1- أظهرت الدراسة إمكانية تنمية الاميبا الحالة للنسج في الزجاج لمدة طويلة نسبيا.
- 2- ان للنمو البكتيري اثرا مهما في تعزيز النمو الاميبي.
- 3- تباين معدل التضاعف للنمو الاميبي من وسط زرعى الى اخر .
- 4- ان هناك اثرا مهما للدهون والبروتينات والكاربوهيدرات وايونات الحديد والكالسيوم في نمو الاميبا في الأوساط الزرعية.
- 5- اظهر مستخلص نبات الكجرات فعالية تثبيطية لمعدل تضاعف النمو الاميبي في الأوساط الزرعية.
- 6- انخفاض معدل التضاعف في الأوساط الزرعية الى حد التثبيط بشكل كامل وذلك عند إضافة مضادات الكالسيوم.
- 7- يمكن الاستغناء عن المصل في الوسط الزرعى في حالة استبداله بالاحماض الامينية والدهون المختلطة كما في الوسط الزرعى LEM اما وجودهما معا فيعطي نتيجة فعالة من ناحية النمو والحجم والنشاط.
- 8- قدرة الاميبا الحالة للنسج على تشكل افة كبد اميبي (Hepatic amoebic lesion) من الساعات الأولى للإصابة وتطور المرض في وقت قصير .

## التوصيات Recommendations

- 1- اجراء دراسة عن اثر المواد الغذائية المتنوعة والفيتامينات والمعادن المختلفة على النمو الاميبي في الزجاج وفي الحي .
- 2- الاتجاه الى استخدام شراب الكجرات في التخفيف من حدة داء المتحولات الاميبية .
- 3- دراسة تأثير نباتات طبية أخرى على الاميبا الحالة للنسج في الزجاج وفي الحي.
- 4- دراسة اثر مضادات الكالسيوم كبدايل علاجية ضد داء المتحولات الاميبية ز
- 5- اجراء دراسات نسجية لداء المتحولات الامعانية فضلا عن دراسة مناعية في حيوانات مختبرية مختلفة وخاصة المقاومة لداء المتحولات الاميبية.
- 6- اجراء دراسة عن طرق التشخيص الأخرى والحديثة مثل الـ ELISA و PCR.
- 7- اجراء دراسة عن علاقة طفيلي الاميبا الحالة للنسج مع الاحياء المجهرية الأخرى.

## المصادر العربية :

الحاج , حميد (1982) . المبادئ الأساسية للتحضير المجهرى الضوئى. دار جون وايلي  
وابنائه : 1-80 .

الشماع , علي عبد الحسين (1989) . العقاقير وكيمياء النباتات الطبية . دار الحكمة للطباعة  
والنشر , جامعة بغداد: 77-78.

الزبيدي , زهير نجيب ؛ بابان , هدى عبد الكريم وفليح, فارس كاظم (1996) . دليل العلاج  
بالاعشاب الطبية العراقية : 79-103.

محمود , مهند جميل ومجيد , سامي هاشم (1988) . النباتات والاعشاب العراقية بين الطب  
الشعبى والبحث العلمى . مجلس البحث العلمى : 50-55 .

أبو زيد , الشحات نصر (1986) . النباتات والاعشاب الطبية . الطبعة الأولى . دار البحار .  
بيروت : 235-448 .



## References

### A

- Abdul Ghaffar (2004). Intestinal and luminal protozoa. In: Murray, S. (Ed). *Parasitology*, 3<sup>rd</sup> ed. Microbiology and Immunology on-line, University of South Carolina : pp619-631.
- Adl, S.M.; Simpson, A.G.B.; Farmer, M.A.; Anderson, R.A.; Anderson, O.R.; Barta, J.R.; Bowser, S.S.; Brugerolle, G. ; Fensome, R.A.; Frederico, S.; James, T.Y.; Karpov, S.; Kugrens, P.; Krug, J.; Lane, C.E.; Lewis, L.A.; Lodge; Lynn, D.H.; Mann, D.G.; Mccourt, R.M.; Mendoza, L.; Moestrup, O.; Mozley-Standridge, S.E.; Nerad, T.S.; Shearer, C.A.; Smirnov, A.V.; Spiegel, F.W. and Taylor, M.F.J.R. (2005). The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *J. Eukaryot Microbiol.*, 52:399-451.
- ✓ Akindahunis, A.A. and Olaley, M. T. (2003). Toxicological investigation of aqueous- methanolic extract of the calyces of *Hibiscus sabdariffa* L. . *J. Ethnopharmacol.*, 89:161-164.
- ✓ Ali, B.H; Al-Wabel, N. ; Blunden, G. (2005). Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L. : a review. *Phytother Res.*, 19:369- 75. [Abstract]
- Amin, A. and Hamza, A.A. (2005). Hepatoprotective effects of *Hibiscus*, *Rosmarinus* and *Salvia* on azathioprine- induced toxicity in rats. *Life Sci.*, 77:266-278.
- Anaya-Velazquez, F. and Underdown, B.J. (1990). Early expression in mice of genetic resistance to intestinal amebiasis. *Arch Invest. Med. (Mex)*, 21:53-6. [Abstract]
- Anderson, J.R. (1980). Inflammation . In : Anderson, J.R (Ed). *Muris Textbook of Pathology*, 11<sup>th</sup> ed. Edward Arnold (Publishers) Ltd. London.pp 43-76.

### B

- Bancroft, J.D. and Stevens, A. (1982). Theory and practice of histological techniques, 2<sup>nd</sup> ed. Churchill Livingstone, London. pp109-120.
- Bansal, D.; Malla, N. and Mahajan, R.C. (2006). Drug resistance in amoebiasis. *Indian J Med Res.*, 123:115-118.

- Barron-Gonzalez, M.P.; Villarreal-Trevino, L.; Verduzco-Martinez, J.A.; Mata-Cardenas, B.D. and Morales-Vallarta, M.R. (2005). *Entamoeba invadens*: invitro axenic encystations with a serum substitute. *Exp. Parasitol.*, **110**:318-321.
- Belding, D.L. (1952). Textbook of clinical parasitology, 2<sup>nd</sup> ed. Appleton-Century-Crofts, Inc. New York. pp.74-112.
- Berninghausen, O. and Leippe, M. (1997). Necrosis versus apoptosis as the mechanism of target cell death induced by *Entamoeba histolytica*. *Infect. Immun.*, **65**:3615-3621.
- Bhattacharya, A.; Ghildyal, R.; Prasad, J.; Bhattacharya, S. and Dimmond, L.S. (1992). Modulation of a surface antigen of *Entamoeba histolytica* in response to bacteria. *Infect Immun.*, **60**:1711-1713.
- Blessmann, J.; Ali, I.K. M.; Ton Nu, P.A.; Dinh, B.T.; Ngo Viet, T.Q.; Le Van, A.; Clark, C.G. and Tannich, E. (2003). Longitudinal study of intestinal *Entamoeba histolytica* infections in asymptomatic adult carriers. *J. Clin. Microbiol.*, **11**:4745-4750.
- Bracha, R. and Mirelman, D. (1984). Virulence of *Entamoeba histolytica* trophozoites. effects of bacteria, microaerobic conditions, and metronidazole. *J. Exp. Med.*, **160**:353-368. [Abstract].
- Brooks, G.F.; Butel, J.S. and Morse, S.A (2004). Medical microbiology, 23<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill companies, United State of America, New York. pp 671-674.
- Brousseau, P.; Payette, Y.; Tryphonas, H. Blakley, B.; Boermans, H.; Flipo, D. and Fournier, M (1999). Manual of immunological methods. CRC Press LIC, United State of America, Florida. pp7-135.

## C

- Cavalier-Smith, T. (1998). A revised six-kingdom system of life. *Biol. Rev. Camb Philos Soc.*, **73**: 203-266. [Abstract].
- Cavalier-Smith, T. (2002). The phagotrophic origin of eukaryotes and phylogenetic classification of protozoa. *Int. J. Sys. Evol. Microbiol.*, **52**:297-354.
- Chavez-Munguia, B. ; Hernandez- Ramirez, V.; Angle, A.; Rios, A.; Talamas- Rohana, P.; Gonzalez-Robles, A.; Gonzalez- Lazaro, M. and Martinez-Palomo, A.(2004). *Entamoeba histolytica*: ultrastructure of trophozoites recovered from experimental liver lesions. *Exp. Parasitol.*, **107**:39-46.
- Cimanga, R.K.; Kambu, K.; Tona, L.; Hermans, N.; Apers, S.; Totte, J.; Pieters, L. and Vlietinck, A.J. (2006). Cytotoxicity and *in vitro*



susceptibility of *Entamoeba histolytica* to *Morinda morindoides* leaf extracts and its isolated constituents. *J. Ethnopharmacol.*, (corrected proof).

✓ Clark, C.G. and Diamond, L.S. (2002). Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *clin Microbiol Rev.*, 15:329-341.

Clark, C.G.; Zaki, M. and Ali, I.K.M. (2002). Genetic diversity in *Entamoeba histolytica*. *J. Biosci.*, 27:603-607.

Costa, A. O. ; Viana, J. C.; Assis, D.; Rocha, O.A. and silva, E.F. (2000). Comparison of xenic and monoxenic *Entamoeba dispar* cultures using hepatic inoculation in Hamster. *Arch. Med. Res.*, 31: s247-s248.

## D

✓ Dagci, H.; Balcioglu, C.; Ertabaklar, H.; Kurt, O. and Atambay, M. (2003). Effectiveness of peptone-yeast extract (P-Y) medium in the cultivation and isolation of *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar* in turkish patients. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 45:127-130.

Diamond, L.S.; Clark, C.G. and Cunnick, C.C. (1995). YI-S, a casein-free medium for axenic cultivation of *Entamoeba histolytica*, related *Entamoeba*, *Giardia intestinalis* and *Trichomonas vaginalis* *J. Eukaryot Microbiol.*, 42:277-278. [Abstract]

DiMambro, V.M. and Fonseca, M.J.V. (2005). Assays of physical stability and antioxidant activity of a topical formulation added with different plant extract. *J. pharm. Biomed. Anal.*, 37:287-295.

✓ DiMiceli, L.(2004). Distinguishing between pathogenic and non-pathogenic species of *Entamoeba*. *Lab. Med.*, 35:613-616.

## E

Eichinger, D.(2001). Encystation in parasitic protozoa. *Curr. Opin. Microbiol.*, 4:421-426.

✓ Espinosa-cantellano, M. and Martinez-Palomo, A.(2000). Pathogenesis of intestinal amebiasis : From molecules to disease. *Clin. Microbiol. Rev.*, 15:318-331.



## F

- Falade, O.S.; Otemuyiwa, I. O.; Oladipo, A.; Oyedapo, O.O.; Akinpleu, B.A. and Adewusi, S.R.A. (2005). The chemical composition and membrane stability activity of some herbs used in local therapy for anemia. *J. Ethnopharmacol.*, **102**:15-22.
- Frank, T.; Jan Ben, M.; Netzal, M.; Strab, G.; Kler, A.; Kriesl, E. and Bitsch, I. (2005). Pharmacokinetics of anthocyanidin-3-glycosides following consumption of *Hibiscus sabdariffa* L. extract. *J. Clin. Pharmacol.*, **45**:203-210.
- Fukai, T.; Satoh, K. ; Nomura, T. and Sakagami, H. (2003). Preliminary evaluation of antinephritis and radical scavenging activities of glabridin from *Glycyrrhiza glabra*. *Fitoterapia*, **74**:624-629.

## G

- Garvery, J.S.; Cremer, N.E. and Sussdorf, D.H. ( 1977). Method in immunology, a laboratory text for instruction and research, 3<sup>rd</sup> ed., W.A. Benjamin, Inc. Canada. pp518.
- Ghadirian, E. and Kongshavn, PA. (1984). Genetic control of susceptibility of mice to infection with *Entamoeba histolytica*. *parasite Immunol.*, **6**:349-360. [Abstract].
- Gilchrist, C.A.; Leo, M.; Line, C.G.; Mann, B.J. and Petri, W.A.(2003). Calcium modulates promoter occupancy by the *Entamoeba histolytica* Ca<sup>+2</sup>-binding transcription factor URE3-BP. *J. Biol. Chem.*, **278**:4646-4653.
- Gonzalez -Garza, M.T.; Castro-Garza, J.; Cruze-Vega, D.E.; Vargas-Villarreal, J.; Carranze-Rosales, P.; Mata-Cardenas, B.D.; Siller-Campos, L. and Said-Fernandez, S.(2000). *Entamoeba histolytica*: diminution of erythrophagocytosis, phospholipase A<sub>2</sub>, and hemolytic activities is related to virulence impairment in long-term axenic cultures. *Exp. Parasitol.*, **96**:116-119.
- Gutierrez-Alarcon, A.; Moguel-Torres, M.; Mata-Leyva, O.; Cuellar-Nevarez, G.; Siqueiros-Cendon, T.; Ramos-Martinez, E.; Talamas-Rohana, P. and Sanchez-Ramirez, B. (2006). *Entamoeba histolytica* : inflammatory process during amoebic liver abscess formation involves cyclooxygenase -2 expression in macrophages and trophozoites. *Exp. Parasitol.*, ( corrected proof).

## H

- Hirasawa, M. and Pittman, Q.J. (2003). Nifedipine facilitates neurotransmitter release independently of calcium channels. *PNAS*.100:6139-6144.
- Horga, M. A.; Naparst, T.R.; Dhawn, V. K.; Nissen, M. D.; Konop, R.; Weisse, M.; Tolan, R. W. and Steele, R. (2004). Amebiasis. Internet: <http://www.eMedicine.com>.
- Huston, C.D. (2004). Parasite and host contributions to the pathogenesis of amoebic colitis. *Trends parasitol.*, 20:23-26. [Abstract].
- Huston, C.D.; Boettner, D.R.; Miller-Sims, V. and Petri, W.A. (2003). Apoptotic killing and phagocytosis of host cell by the parasite *Entamoeba histolytica*, *Infect Immune.*, 71:964-972.

## J

- Jarillo-Luna, R.A.; Campos-Rodriguez, R. and Tsutsumi, V. (2002). *Entamoeba histolytica*: immunohistochemical study of hepatic amoebiasis in mouse, neutrophils and nitric oxide as possible factors of resistance. *Exp. Parasitol.*, 101:40-56.

## K

- Kirdar, S.; Bahar, I.H. and Yulug, N. (1998). Zymodeme patterns of *Entamoeba histolytica* strains isolated from clinical patients. *Parasitol. Inter.*, 47:283-389. [Abstract].
- Kotpal, R.L (1994). Protozoa: A textbook for college and university students 11<sup>th</sup> ed. National Press, Meerut, India. pp. 54-65.

## L

- Labruyere, E.; Zimmer, C.; Galy, V.; Olivo-Marin, J.C. and Guillen, N.(2003). EhPAK, a member of the P21-activated kinase family, is involved in the control of *Entamoeba histolytica* migration and phagocytosis. *J. Cell Sci.*, 116:61-71.
- Laughlin, R.C. and Temesvari, L. A. (2005). Life cycle of *Entamoeba histolytica* and the clinical manifestations of infections in humans. *Expert. Rev. Mol. Med.*, 7.
- Luna, L.G. (1968). Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology, 3<sup>rd</sup>ed Mc-Graw-Hill Book Company, New York. pp.1-77.
- Lwin, K.M. and Oo, M.(2004). *In vitro* antiamoebicidal activity of "Dysenzi" on *Entamoeba histolytica* in cultures. *FAME Pharmaceuticals Co., Ltd.* Internet: <http://Famepharma.com>.



## M

- MacSween, R.N.M. (1980). Liver, Biliary tract and Exocrine pancreas. In: Anderson, J.R. (Ed). *Muir's Textbook of Pathology*. 11<sup>th</sup> ed. Edward Arnold (publishers).Ltd. London.pp 661-722.
- Makioka, A.; Kumagai, M.; Kobayashi, S. and Takeuchi, T. (2002<sup>a</sup>). Possible role of calcium ions, calcium channels and calmodulin in excystation and metacystic development of *Entamoeba invadens*. *Parasitol.Res.*, **88**:837-843.
- Makioka, A.; Kumagai, M.; Ohtomo, H.; Kobayashi, S. and Takeuchi, T. (2001). Effect of calcium antagonists, calcium channel blockers and calmodulin inhibitors on the growth and encystation of *Entamoeba histolytica* and *E. invadens*. *Parasitol.Res.*, **87**:833-837.
- Makioka, A.; Kumagai, M.; Ohtomo, H.; Kobayashi, S. and Takeuchi, T. (2002<sup>b</sup>). Effect of proteasome inhibitors on the growth, encystation and excystation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba invadens*. *Parasitol.Res.*, **88**:454-459.
- Mata-Cardenas, B.D.; Vargas-Villarreal, J.; Gonzalez-Salazar, F. Martinez-Rodriguez, H.; Morales-Vallarta, M. and Said-Fernandez, S. (2000<sup>a</sup>). *Entamoeba histolytica* is unable to use free cholesterol, phospholipids, and fatty acids under axenic cultivation conditions. *Arch. Med. Res.*, **31**:S212-S213.
- Mata-Cardenas, B.D.; Vargas-Villarreal, J.; Martinez-Rodriguez, H.G.; Castro-Garza, J.; Gonzalez-Garza, M.T. and Said-Fernandez, S. (2000<sup>b</sup>). Autotrophy to lipoproteins of *Entamoeba histolytica* cultivated under axenic conditions. *Parasitol.Res.*, **86**:1018-1021. [Abstract].
- Mirelman, D. (1987). Amoeba-Bacterium relationship in amebiasis. *Microbiol. Rev.*, **51**:272-284.
- Mitra, B.N.; Kobayashi, S.; Saito Nakano, Y. and Nozaki, T. (2006). *Entamoeba histolytica* : differences in phagosome acidification and degradation between attenuated and virulent strains. *Exp Parasitol.*, (corrected proof).
- Moncada, D.; Keller, K. and Chadee, K. (2003). *Entamoeba histolytica* cysteine proteinases disrupt the polymeric structure of colonic mucin and alter it's protective function. *Infect. Immun.*, **71**:838-844.
- Mora-Galindo, J. and Anaya-Velazquez, F. (1993). Intracellular digestion of human erythrocytes by *Entamoeba histolytica* : a kinetic study *in vitro*. *Arch. Med. Res.*, **24**: 347-351. [Abstract]
- Mora-Galindo, J.; Anaya-Velazquez, F. ; Ramirez-Romo, S. and Gonzalez-Robles, A. (2004). *Entamoeba histolytica* : correlation of assessment methods to measure erythrocyte digestion, and effect

- of cysteine proteinases inhibitors in HM-1: IMSS and HK-9:NIH strains. *Exp. Parasitol.*, **108**:89-100.
- Mukhopadhyay, A.; Chakraborti, A.; Nahajan, R. C. and Ganguly, N.K. (2002). *Entamoeba histolytica* : rapid identification and differentiation of Indian isolates by riboprinting. *Exp. Parasitol.*, **102**:109-112.
- Myers, R.L. (1995). *Immunology ( a laboratory manual )*, 2<sup>nd</sup> ed. W.M.C. Brown publishers. Inc. United State of America , Dubuque. pp. 126-127.

- N**
- Nassereddin, R.A. and Yamani, M.I. (2005). Microbiological quality of soups and tamarind, traditional drinks consumed in Jordan. *J. Food prot.*, **68**: 773-777. [Abstract].
- Nickel, R.; Stern, R. and Leippe, M. (2000). Evidence that hyaluronidase is not involved in tissue invasion of the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Infect. Immun.*, **68**: 3053-3055.

- O**
- Olivos, A.; Ramos, E.; Nequiz, M.; Barba, C.; Tello, E.; Castanon, G.; Gonzalez, A.; Martinez, R.D.; Monotfort, I. and Perez-Tamayo, R. (2005). *Entamoeba histolytica* : mechanism of decrease of virulence of axenic cultures maintained for prolonged periods. *Exp Parasitol.*, **110**:309-312.
- Orozco, E.; Guarneros, G.; Martinez-Palomo, A. and Sanchez, T. (1983). *Entamoeba histolytica* . phagocytosis as a virulence factor. *J. Exp. Med.* , **158**:1511-1521. [Abstract].

- P**
- Padayachee, T. and Odhav, B. (2001). Anti-amoebic activity of plant compounds from *Virgilia orobodies* and *Chlorophora axelsa*. *J. Ethnopharmacol.*, **78**:59-66. [Abstract].
- Pillai, D.R. and Kain, K.C.(2005). *Entamoeba histolytica* : identification of a distinct B<sub>2</sub> integrin-like molecule with a potential role in cellular adherence. *Exp. Parasitol.*, **109**:135-142.
- Ptrei, W.A.; Haque, R. and Mann, B.J.(2002). The bittersweet interface of parasite and host: lectin-carbohydrate interactions during human invasion by the parasite *Entamoeba histolytica*. *Annu Rev. Microbiol.* , **56**:39-64.

## Z

Zaki, M.; Meelu, P.; Sun, W. and Clark, C.G.(2002). Simultaneous differentiation and typing of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. *J. Clin. Microbiol.* , 40:1271-1276. .

Zhang, X.; Zhang, Z.; Alexander, D.; Brach, R.; Mirelman, D. and Stanley, S.L.(2004). Expression of amoebapores is required for full expression of *Entamoeba histolytica* virulence in amebic liver abscess but is not necessary for the induction of inflammation or tissue damage in amebic colitis. *Infect. Immun.* 72:678-683.