زهراء عبد الرحيم أحمد عبد الله
Saturday, December 25, 2010
4:31 PM

دور كريات الدم الحمر في نمو الاطوار المتغذية للأميبا الحالّة للنسج (*Entamoeba histolytica*) في الزجاج

زهراء عبد الرحيم أحمد عبد الله* آمنة نصيف جاسم* علي حسين أدحية**

تاريخ قبول النشر 1 /3 /2010

الخلاصة

تم عزل و تنمية وأدامة نموالاميبا الحالة للنسج في الزجاج باستخدام الوسطين الزرعيين Locke-egg medium (LEM) و Liver infusion Agar medium (LIAM) ، ثم درس تأثير بعض أنواع كريات الدم الحمر للإنسان والخروف على نمو ونشاط الأميبا في الوسطين الزرعيين.

أوضحت النتائج الى أمتلاك الاميبا الحاله للنسج القابلية على هضم وتحلل كريات الدم الحمر للأنسان والخروف والمجهزة في الوسط الزرعي وكان لهذه الكريات دوراً مهماً في تعزيز قيم معدل التضاعف للطفيلي المستنبت، إلا أن ذلك كان معتمداً على نوع الوسط الزرعي والتركيز. إذ أزداد معدل التضاعف معنوياً في الوسط الزرعي LEM الحاوي على كريات الدم الحمر للانسان مجموعة الدم B بتركيز 0.11 x 10^6 كرية/مل ومجموعة الدم O بتركيزي 0.13 x 10^6 و0.15 x 10^6 كرية /مل وبنسبة 66.0 و57.5 و58.6%، على التوالي . كما أظهرت كريات الدم الحمر للخروف تأثيراً مماثلا في زيادة النسبة المئوية لمعدل التضاعف (56.1%) عند التركيز 0.13 x 10^6 كرية /مل. وعلى العكس من ذلك فأن إضافة كريات الدم الحمر إلى الوسط الزرعي LIAM لم يظهر فرقاً معنوياً في معدل التضاعف.

كلمات مفتاحية: أستنبات ، الاميبا الحالة للنسج ، كريات الدم الحمر

المقدمة :

تظهر الأميبا الحالة للنسج (*Entamoeba histolytica*)خلال دورة حياتها بثلاثة أشكال مميزة مظهرياً، وهي الشكل المتحرك وهو الطور المتغذي أو الخضري (Trophozoite) والشكل ما قبل التكيس (Precyst) والشكل المتكيس (Cyst) . تتوطن الأطوار المتغذية في الأمعاء الغليظة للإنسان، إذ تتغذى على الأنسجة المتحللة وكريات الدم الحمر والبكتريا الطبيعية (Bacterial flora) [1]. و قد تم دراسة تغذية الأميبا الحالة للنسج في داخل الكائن الحي (*in vivo*) وفي الأوساط الزرعية (*in vitro*) ، ففي العائل تمتص المواد الغذائية من الأنسجة المتحللة بواسطة أنزيمات محللة للخلايا إضافة الى ابتلاع كريات الدم الحمر. أما في الأوساط الزرعية فتمتص المواد الغذائية المذابة في المادة الأساس وابتلاع البكتريا والخمائر والحبيبات النشوية والدهون وكريات الدم الحمر. أذ أن لوجود كريات الدم الحمر أهمية في الوسط الزرعي إذ تجهز بالبروتين وتسمح بازدياد حجم الأميبا [2]، كذلك لها أثر في تجهيز المعادن كالحديد المأخوذ من خضاب الدم وقد يحقق أقصى نمو للأميبا الحالة للنسج في الوسط الزرعي [3]. وعلى هذا الاساس أجريت هذه الدراسة والتي هدفت الى دراسة فعالية كريات الدم الحمر للانسان والخروف على نمو ونشاط الطفيلي في الاوساط الزرعية.

المواد وطرائق العمل:

جمع وعزل الطفيلي من عينة البراز

جمعت عينات البراز من أشخاص بالغين يعانون من الإسهال وغير خاضعين للعلاج والمراجعين لمستشفى اليرموك التعليمي/ بغداد للفتره من كانون الثاني ولغاية آذار 2005 . وتم التأكد من خمجهم بطفيلي الأميبا الحالّة للنسج من خلال الفحص المجهري للبراز وتشخيص طوري الطفيلي المتغذي والمتكيس. ثم عزلت الأميبا الحالة للنسج من عينة البراز بأخذ غرام واحد من العينة وخصوصاً المنطقة الحاوية على الدم أو المخاط ، ثم مزجت العينة مع 3 مل من المحلول الملحي الفسلجي ، ومررت من خلال طبقة من الشاش المعقم لغرض إزالة الدقائق الكبيرة من المستحلب قبل إضافته الى الوسط الزرعي [4] ، وبعد العزل أضيف حجم 0.5 مل من المستحلب الى أنابيب الوسط الزرعي ثم حضنت أنابيب الأوساط الزرعية بوضع عمودي في الحاضنة بحرارة 37 مْ لمدة 48 ساعة [4,5].

* قسم علوم الحياة/ كلية العلوم للبنات/ جامعة بغداد
**وحدة الأبحاث البايولوجية للمناطق الحارة /كلية العلوم جامعة بغداد

Unfiled Notes Page 1

تحضير الأوساط الزرعية Culture Media

حضرت نوعين من الأوساط الزرعية من نوع Xenic culture media لتنمية الأميبا الحالة للنسج، وهذه الأوساط ذات بيئة ثنائية الطور (Diphasic media) .

أ- الوسط الزرعي Locke- egg (LE) medium (LE)

حضر الوسط الزرعي والذي يتكون من طورين بحسب طريقة [Boeck and Drobohlav,1925]

1. **الطور الصلب** : أن المكون الأساسي لهذا الطور هو محتوى بيض الدجاج و يمثل السطح الصلب المائل بمقدار 5 مل.

2. الطور السائل : محتوى هذا الطور هو محلول لوكس (Locke's solution) و يمثل الطور السائل العلوي بمقدار 6 مل [4] .

ب- الوسط الزرعي نقيع الكبد مع الأكار Liver infusion agar medium

حضر الوسط بحسب طريقة (Cleveland and Collier,1930) ويتكون ايضاً من طورين :

1. الطور الصلب : أن المكون الأساسي لهذا الطور هو نقيع كبد البقر(Beef liver infusion) و يمثل السطح الصلب المائل بمقدار 5 مل .

2. الطور السائل: يتألف هذا الطور من دارئ المحلول الفسيولوجي والمصل المعقم لدم الخروف ، إذ مزجا بنسبة 1:5 ، والذي يمثل الطور السائل العلوي بمقدار 6 مل [5].

المضادات الحيوية Antibiotics

أضيف كل من Streptomycin Sulphate بمقدار 2 ملغم/مل و Procaine Benzylpenicillin بمقدار 1000وحدة دولية/مل و Nystatin بمقدار 2 ملغم/مل الى الطور السائل للوسط الزرعي [4 ; 5] .

جمع عينات دم الإنسان والخروف وتوصيفها وتهيئة عالق الخلايا

جمعت عينات دم الإنسان من أشخاص متطوعين أصحاء مظهرياً ، وبعد التعرف على مجموعة الدم وضعت العينة في أنبوبة اختبار حاوية على مادة الهيبارين (Heparin) المانعة لتخثر الدم . أما بالنسبة لعينة دم الخروف فقد تم سحب 10 مل من دم الخروف من الوريد الوداجي (Jugular vein) ووضع في حجم مساوي من محلول السفير . وبعد التخلص من البلازما وطبقة خلايا الدم البيض غسلت كريات الدم الحمر تم حضن 0.08 x 10^6 طور متغذي /مل مع كريات الدم الحمر للانسان والخروف بثلاث احجام بالمحلول الملحي الفسيولوجي ثلاث مرات أو حتى يصبح محلول الغسل رائقاً ولا يحوي كريات دم متحللة، أضيفت كريات الدم الحمر الى الأوساط الزرعية بثلاثة تراكيز وهي0.11× 10^6 ، 0.13 × 10^6 ، 0.15 × 10^6 كرية دم حمراء /مل من الطور السائل للوسط الزرعي ، أضيف بعد ذلك 0.08×10^6 طور متغذي / مل من الطور السائل للوسط الزرعي الى الاوساط الزرعية المعاملة وغير المعاملة ثم حضنت بحرارة 37 مْ ، وقد تم تحديد كمية العالق الحاوي على الاطوار المتغذية للطفيلي والمضافة للاوساط الزرعية بواسطة شريحة عد الخلايا Haemocytometer [6].

قياس فعالية المعاملة

تم قياس فعالية المعاملة بأستخدام المعادلة الاتية وحسب ماجاء في [7] :

$$\text{فعالية المعاملة (\%)} = \frac{\text{السيطرة (طور متغذي /مل)} - \text{المعاملة (طور متغذي /مل)}}{\text{السيطرة (طور متغذي /مل)}} \times 100$$

التحليل الإحصائي Statistical Analysis

حللت النتائج باستخدام اختبار أقل فرق معنوي Least significant difference (LSD) وكذلك استعمل اختبار دنكن المتعدد المدى Duncan Multiple Range Test بأستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز (SPSS) .

النتائج والمناقشة:

النتائج:

استند طيلة مدة البحث على سلالة أميبية عزلت من أحد المصابين بالاميبا الحالة للنسج وذلك بعد التأكد من خمجهِ ، وكان البراز ذو قوام إسهالي مخاطي مع وجود قليل من الدم، وعند عزل الأميبا الحالة للنسج وتنميتها في الوسطين الزرعيين لوحظ النمو بعد 48 ساعة حضانة لكلا الوسطين الزرعيين، وبعد نقل المزروع لأكثر من 5-6 مرات تم الحصول على أفضل نمو تعدادي للأميبا لكلا الوسطين الزرعيين . تم استخدام الوسطين الزرعيين (LEM) و (LIAM) واللذان يمتازان عن بعضهما البعض بأن وسط LIAM مغطى بالمصل بينما وسط LEM لا يحتوي على المصل في الطور السائل، إضافة الى المكونات الغذائية المختلفة لكلا الوسطين الزرعيين . سجل هذان الوسطان الزرعيان كفاءة ونجاح متماثلين في عزل الأميبا من البراز وكانت نسبة نمو ونشاط الأميبا متقاربة في كلا الوسطين الزرعيين بعد 48 ساعة حضانة من العزلة الأولى.

مختلفة (0.1 و 0.2 و 0.3 مل الى الوسط الزرعي) وكانت هذه الأحجام مساوية الى (0.11

Unfiled Notes Page 2

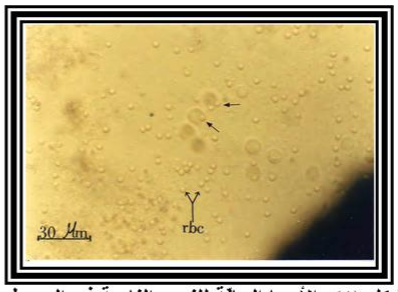
10^6 x 10 و 10^6 x 0.13 و 10^6 x 0.15 كريـة دم حمراء/مل وسـط زرعـي) وعلـى التـوالي ولـثلاث مكررات لكل تركيز وبعد الحضانة لمدة 48 ساعة، لوحظ أن التركيز الأول كـان أفضـل مـن التركيـزين الثـاني والثالـث مـن حيـث معـدل التضـاعف ولكـل مجـاميع الـدم للإنسـان وكـذلك دم الخـروف ، كمـا شـوهدت وبشـكل عـام فـي التراكيز الثلاثـة التصـاق كريات الدم الحمر بسطح الأطوار المتغذية (شكل 1). أمـــا معـــدل نشـــاط بلعمـــة كريـــات الـــدم الحمـــر (Erythrophagocytosis) مـــن قبـــل الأطوار المتغذية للأميبا فكانت متباينة وكذلك الحال لحجم الفجوات وعددها إذ لوحظ عادة وجود فجوة واحدة في داخل الأميبا حاوية على كرية دم حمراء واحـدة (شـكل 2)، وأحيانـاً عـدة كريـات متراصـة داخل الأميبـا (شكل 3)، وكذلك وجود اعداد مـن الفجوات الصغيره المتباينه في الحجم والعدد (شكل 4)، كما لوحظ وخلال ابتلاع الطفيلي لكريات الدم تلون الفجوة بـاللون الأحمر أو البني الأسمر والذي يختفـي تـدريجياً أو يبهت متصـاحباً مـع تنـاقص فـي حجم الفجـوة الغذائيـة (شكل 5)، كمـا لـم تلاحظ أي حالـة تكيس فـي الأوسـاط الزرعيـة ولجميـع تراكيـز كريـات الـدم الحمـر سـواء كـان ذلـك لـدم الإنسـان أو الخروف، ولوحظ بعد 48 ساعة حضانة قلة كريات الدم الحمر للتركيز الأول والثاني أما التركيز الثالث فامتاز بكثرة كريات الدم الحمر (شكل 1).

كمـا أظهـرت النتـائج عـدم وجـود فـروق معنويــة بــين التراكيــز الثلاثــة لمجموعــة الــدم A والسيطرة و لكلا الوسطين الزرعيين وكذلك الحال بالنسبة لمجموعة الدم AB ، أما مجموعة الدم B فقد أظهـرت فـروق معنويـة عنـد مسـتوى احتماليـة ≥0.01 بـين التركيـز الأول والسـيطرة فـي وسـط LEM بينمـا لـم تظهـر فـروق معنويـة للتركيـزين الثاني والثالث مع السيطرة في نفس الوسط، وكذلك الحـال للتراكيز الثلاثة لمجموعة الدم B والسيطرة في وسط LIAM، أما مجموعة الدم O فقد لوحظ فرقاً معنوياً عند مستوى احتمالية ≥0.01 للتركيزين الثـاني والثالـث مـع السيطرة فـي وسـط LEM أمـا التركيز الأول فلم يلاحظ فرق معنوي مع السيطرة، امـا بالنسـبة للوسـط LIAM فلـم تظهـر فروقـات معنويــة بــين التراكيــز الثلاثــة لمجموعــة الــدم O والسـيطرة، أمـا كريـات الـدم الحمـر للخـروف فقـد لوحظ وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية ≥0.01 بـين التركيـز الثـاني والسـيطرة فـي وسـط LEM ولايوجـد فـرق معنـوي بـين التركيـز الأول والثالث مع السيطرة، كما لم تظهر فروقات معنوية بين التراكيز الثلاثة مع السيطرة في وسط LIAM (جدول 1) .

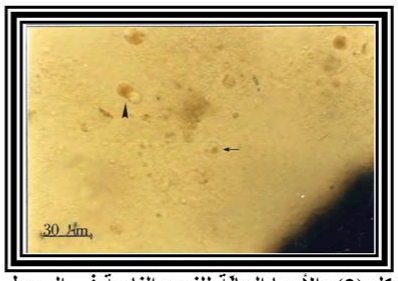
جدول (1) : تأثير كريات الدم الحمر للإنسان والخروف على نمو طفيلي الأميبا الحالة للنّسجُ والنامية في الوسطين الزرعيين Locke-Egg Medium(LEM) و Liver Infusion Agar Medium(LIAM) .

المجاميع		عدد كريات الدم الحمر × 10^6/مل/وسط زرعي	** معدل أعداد الطفيلي النامية ± الخطأ القياسي × 10^6/مل LEM	** معدل أعداد الطفيلي النامية ± الخطأ القياسي × 10^6/مل LIAM	فعالية المعاملة (%) في وسطي LEM	فعالية المعاملة (%) في وسطي LIAM	* الاحتمالية ≥
السيطرة		0.00	أ 0.084±0.905	أ 0.085±0.386			0.001
مجاميع الدم لكريات الدم الحمر في الإنسان	A	0.11	أ 0.014±1.076	أ 0.026±0.403	18.8+	4.4+	0.001
	A	0.13	أ جـ 0.115±0.876	ب 0.028±0.243	3.2-	37.0-	0.01
	A	0.15	أ جـ 0.080±0.956	ب 0.01±0.280	5.6+	27.4-	0.001
	B	0.11	ب 0.17±1.503	ب 0.035±0.243	66.0+	37.0-	0.01
	B	0.13	ب 0.184±1.273	ب 0.03±0.260	40.6+	32.6-	0.01
	B	0.15	ب د 0.066±1.233	ب جـ 0.023±0.160	36.2+	58.5-	0.001
	AB	0.11	ب د 0.070±1.206	أ د 0.063±0.683	33.2+	76.9+	0.01
	AB	0.13	ب د 0.015±1.170	ب 0.038±0.306	29.2+	20.7-	0.001
	AB	0.15	ب د 0.034±1.176	ب جـ 0.033±0.183	29.9+	52.5-	0.001
	O	0.11	أ 0.026±1.046	أ جـ 0.028±0.173	15.5+	55.1-	0.001
	O	0.13	ب 0.078±1.426	أ ب 0.011±0.210	57.5+	45.5-	0.001
	O	0.15	ب د 0.003±1.436	أ 0.087±0.420	58.6+	8.8+	0.001
كريات الدم الحمر للخروف		0.11	أ 0.049±0.960	أ ب 0.020±0.216	6.0+	44.0-	0.001
		0.13	ب 0.131±1.413	ب جـ 0.042±0.136	56.1+	64.7-	0.001
		0.15	أ 0.038±0.933	أ ب 0.034±0.230	3.0+	40.4-	0.001

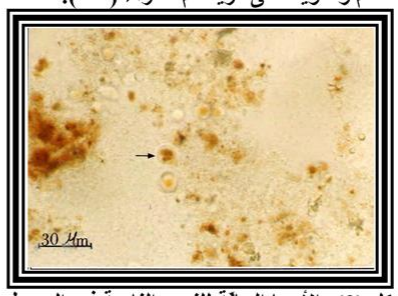
* الاحتمالية : المقارنة مابين الوسطين الزرعيين LEM و LIAM .
** الاحـــرف المختلفـــة : فـــرق معنـــوي (الاحتماليـــة ≤ 0.05) مـــابين معـــدلات العمـــود الواحـــد.



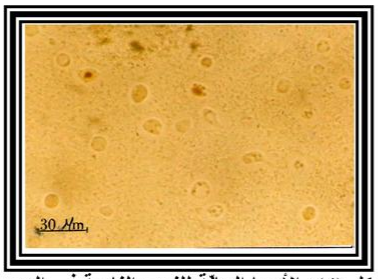
شكل (1): الأميبا الحالة للنسج النامية في الوسط الزرعي المعامل بكريات الدم الحمر للخروف، توضح التصاق الكريات بسطح الأميبا (↑)، فضلاً عن كثرة أعداد كريات الدم الحمر(rbc) بعد 48 ساعة حضانة عند التركيز الثالث للمعاملة.



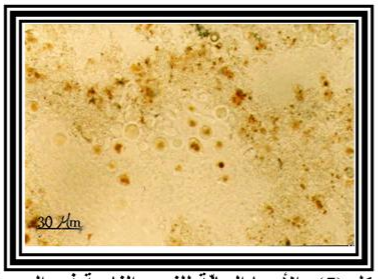
شكل (2): الأميبا الحالة للنسج النامية في الوسط الزرعي المعامل بكريات الدم الحمر للانسان، توضح احتواء الأميبا على كرية دم حمراء واحدة بداخلها (↑) فضلاً عن وجود اميبا في حالة انقسام وحاوية على كرية دم حمراء ( ).



شكل (3): الأميبا الحالة للنسج النامية في الوسط الزرعي المعامل بكريات الدم الحمر للانسان، توضح احتواء الأميبا على عدة كريات دم حمر متراصة (↑).



شكل (4): الأميبا الحالة للنسج النامية في الوسط الزرعي المعامل بكريات الدم الحمر للإنسان، توضح تباين أعداد وأحجام الفجوات الغذائية في المجتمع الاميبي .



شكل (5): الأميبا الحالة للنسج النامية في الوسط الزرعي المعامل بكريات الدم الحمر للإنسان، توضح تدرج ألوان الفجوات الحاوية على كريات الدم الحمر بحسب مراحل الهضم الداخل خلوي.

المناقشة :

بينت النتائج نجاح عزل الأميبا من البراز وتنميتها على الوسطين الزرعيين(LEM) و (LIAM) وهذا ما يؤكده [5] ، وأكد[8] بأن الطور المتكيس لا يمكن أستحثاثه في الزجاج بسبب توفر المواد الغذائية وغياب التحفيز البيئي.

اما بالنسبة للوسطين الزرعيين فقد أظهر التحليل الأحصائي وجود فروق معنوية بين الوسطين الزرعيين في معدل التضاعف . وفيما يخص اكتساب الغذاء فقد أكد كل من[9] بأن الأطوار المتغذية تحرر كمية كبيرة من أنزيمات Cysteine Proteinase في داخل الأوساط الزرعية وهذه الأنزيمات مهمة لأجل اكتساب المواد الغذائية حتى من الطور السائل الحاوي على الأملاح، ولوحظ استهلاك الغذاء من الأوساط الزرعية بسرعة مما يؤدي الى هلاك الأميبا لذلك تتم الادامة كل 48-72 ساعة لتبديل المواد الغذائية للأوساط الزرعية.

أن للأطوار المتغذية للأميبا الحالة للنسج القدرة على أن تحلل كريات الدم الحمر للإنسان وذلك بفقدان المادة الخلوية الأساس لكريات

الدم(Erythrocyte cellular matrix) وتحلل الغشاء البلازمي بحسب ما شاهده[3] ويستمر مع نقصان في حجم الفجوة الهاضمة (Digestive vacuole) ، وفي الدراسة الحالية أظهرت النتائج التصاق كريات الدم الحمر بسطح الأميبا إضافة الى وجود فجوة غذائية داخل الأميبا حاوية على كرية دم حمراء واحده أو أكثر من واحدة وبشكل متراص وذات لون بني أو أحمر غامق أو فاقدة لخضاب الدم ، وقد تحتوي كذلك على عدد من الفجوات الصغيرة وهذا أيضاً ما لاحظه[10,3]، وقد أكد[3] بأن 96% من خضاب الدم (Hemoglobin) المبتلع يتحلل بواسطة الأطوار المتغذية في غضون 3 ساعات ولاحظوا ارتباط الحديد داخل الفجوة بعد عملية بلعمة كريات الدم الحمر (Erythrophagocytosis) إذ شوهد ذلك بواسطة X-ray spectroscopy.

يتحدد نشاط الاطوار المتغذية بمجموعة من تفاعلات النشاط الأنزيمي الداخل خلوي وعملية الاخراج الخلوي (Exocytosis) ، أما عملية البلعمة في الأميبا الحالة للنسج فهي مقترنة بأخذ الغذاء ولها أهمية في حدوث الأمراضية (Pathogensis) . وقد استخدمت كريات دم الحمر للإنسان وباقي اللبائن كخلايا هدف لدراسة البلعمة والهضم الداخل خلوي للأميبا الحالة للنسج، إذ قام [11] بتلقيح 2.4×10^{5} طور متغذي مع 2.4×10^{7} كريات دم حمر للإنسان لعشر دقائق بحرارة 37 مْ وعلى وسط زرعي TY1S-33 ، أما [3] فقد لقح 4×10^{6} طور متغذي /مل مع 4×10^{8} كريات دم الأنسان مجموعة O^{+} لكل مل من الوسط الزرعي BI-S-33 بحرارة 37 مْ ولفترات من 5 دقائق الى ثلاث ساعات ،أتضح من هاتين الدراستين بأن الهضم الداخل خلوي بواسطة الأطوار المتغذية للأميبا الحالة للنسج يرتبط مع تفاعل إنزيم حال للبروتين(Proteolytic) وباقي الأنزيمات المحللة للماء(Hydrolytic) الى جانب امتلاك الأميبا الحالة للنسج لأنزيمات Cysteine proteinases، كما يوصف بأن أنزيم Acid proteinases هو المحلل الرئيس للبروتين في كريات الدم الحمر والذي يمثل خضاب الدم. أن هذه الانزيمات ذات أهمية كبيرة في فوعة الأميبا إذ لها دور في التأثير المرضي الخلوي للأميبا (Cytopathic) في الزجاج [3] ، ففي عملية البلعمة تعمل الأميبا على تحرير Cysteine proteinases الخارج خلوي [9]، كما أن لها دور في الهضم الداخل خلوي بعد ابتلاع كريات الدم الحمر والبكتريا وكذلك تقوم بتنشيط باقي الأنزيمات[12]. وذكر[3] بأن موقع هذا الأنزيم يكون داخل الحويصلات الأمييبة بعد بلعمة كريات الدم الحمر لمساهمتها كأنزيم هاضم، كما لوحظ بأنه يمكن غلق عملية البلعمة بواسطة تثبيط أنزيم Cysteine proteinases بحيث لا يمكن ان تبتلع كريات الدم الحمر كما لوحظ تجمع لخضاب الدم غير المتحلل وذلك لدور هذا الانزيم في الفجوات الغذائية وباقي الأنزيمات المحللة للبروتين الضرورية لتحلل خضاب الدم، وقد تعد هذه العملية علاجاً لهذا المرض لأن أمراضية الأميبا تعتمد على نشاط البلعمة والهضم الداخل والخارج خلوي وكذلك تحلل البروتين و باستخدام المثبطات لهذا الانزيم قد يؤدي ذلك الى اعاقة هجوم الاطوار المتغذية.

إذن يتطلب تنمية الأميبا الحالة للنسج في الزجاج وجود الحديد بجانب الأحماض الأمينية وباقي المكونات الأيضية ، ويتم الحصول على الحديد الضروري من خضاب الدم بواسطة أنزيم Hemoglobinase المهم في هضم كريات الدم المبتلعة [13]. وذكر[14] بأن الأطوار المتغذية للأميبا الحالة للنسج تعتمد على الحديد في النمو ولذا يجب استخدام بعض جزيئات الحديد لمتطلبات النمو، وأكد [3] بأن الأطوار المتغذية تتطلب أقل من 60 مايكرو مول من الحديد في الوسط الزرعي لكي يحقق أقصى حد للنمو. أما بالنسبة للسلالات الأميبية فهي مختلفة في نشاطها البلعمي لكريات الدم الحمر فقد أوضح [3] بأن الأطوار المتغذية لسلالة HM1:IMSS مميزة بنشاطها العالي لبلعمة كريات الدم الحمر مقارنة بباقي السلالات للأميبا الحالة للنسج والنامية في الزجاج ، وكذلك الحال بالنسبة لنشاط الهضم الداخل خلوي. إذ لوحظ بعد 5 دقائق من حضانة كريات الدم الحمر مع الأطوار المتغذية لسلالة HM1:IMSS حدوث بلعمة بمعدل عالي لكريات الدم الحمر ، وقد لوحظ في الدراسة الحالية نقص في أعداد كريات الدم الحمر المضافه الى الوسط الزرعي وجمود أو تباطئ حركة الأميبا خلال هضم كريات الدم الحمر وهذا ما يتوافق مع [3]، وذكر[1] بأن للأميبا الحالة للنسج في الزجاج معدل بلعمة عال في هضم كريات الدم الحمر مقارنة بالأنواع الأخرى غير الممرضة، وبرهنت دراسة [3] بأن معدل البلعمة لسلالة HM1:IMSS تكون بمعدل ثمانية كريات دم حمراء لكل طور متغذي خلال خمس دقائق، وعلى الرغم من ذلك فأن مجتمع (Population) الأميبا معروفة باحتوائه على خليط من الأفراد المختلفة عن بعضها البعض في الفعالية البلعميه. ويتضح من هذه الدراسة أهمية كريات الدم الحمر المهضومة كمفتاح للأحماض الأمينية والحديد الضرورية للأطوار المتغذية عند غزو الأنسجة داخل الكائن الحي *in vivo* وفي التغذية والنمو في الزجاج *in vitro* .

Unfiled Notes Page 5

المصادر:

1. Tanyuksel, M. and Petri, W.A. 2003. Laboratory Diagnosis of Amoebiasis. *Clin. Microbiol. Rev.*, **16**:713-729.
2. Rifaat, M.A. and Morsy, T.A. 1967. Manual of Medical Parasitology, 2nd ed. Dar Memphis, Cairo: pp 193-197.
3. 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.
4. Clark, C.G. and Diamond, L.S. 2002. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clin. Microbiol. Rev.*, **15**:329-341.
5. Taylor, A.E.R. and Baker, J.R. 1968. The cultivation of parasites *in vitro* . Black Well Science Publ., Oxford .pp.120-144.
6. 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.
7. Lwin, K.M. and Oo, M. 2004. *In vitro* anteamoebicidial activity of "Dysenzi" on *Entamoeba histolytica* in cultures. *FAME Pharmaceuticals Co., Ltd.* Internet:http://Famepharma.com.
8. 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.
9. Que, X.and Reed, S.L. 2000. Cystine proteinases and the pathogenesis of amebiasis. *Clin. Microbiol. Rev*., **13**:196-206.
10. 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]
11. 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.
12. Stanley, S. L. and Reed, S.L. 2001. Microbes and microbial toxins: Paradigms for microbial-mucosal interactions VI. *Entamoeba histolytica* : parasite- host interactions. *Am. J. Physiol Gastrointest liver Physiol*., **280**:G1049-G1054.
13. Espinosa-Cantellano, M. and Martinez-Palomo, A. 2000. Pathogenesis of intestinal amebiasis : From molecules to disease. *Clin. Microbiol. Rev*., **15**:318-331.
14. Reyes-Lopez, M. ; Serrano-Luna, J.J.; Negrete-Abascal, E.; Sicairos, N.; Guerrero-Barrera, A.L. and de-la-Garza, M. 2001. *Entamoeba histolytica* : transferrin binding proteins. *Exp. Parasitol*., **99**:132-140. [Abstract].
15. 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.

The role of some types of erythrocytes on the growth of *Entamoeba histolytica* trophozoite *in vitro*

*Zahra'a Abdul-Raheem Ahmed** *Amna N. Jasim**
*Ali H. Ad'hiah***

*Department of Biology, College of Science for Women, University of Baghdad
** Tropical-Biological Research Unit, College of Science, University of Baghdad.

Abstract:

The parasite *E.histolytica* was first isolated from a stool sample, and then cultivated and maintained *in vitro* using Locke-egg medium (LEM) and Liver infusion agar medium (LIAM) . Then, the effect of some types of erythrocytes (human and sheep), on the growth and activity of the parasite in the two culture media was investigated.

The parasite was able to ingest and lysis erythrocytes of human and sheep that were supplemented to the culture media and such manipulation was able to augment the reproduction rate of the cultivated *E. histolytica*, however, such consequence was media- and concentration-dependent. The reproduction rate was significantly increased (66.0, 57.5 and 58.6%, respectively) in LEM medium containing human erythrocytes types B at 0.11×10^6 cells/ml and O at 0.13×10^6 and 0.15×10^6 cells/ml. The sheep erythrocytes showed a similar enhancement (56.1%) at a concentration of 0.13×10^6 cells/ml. In contrast, adding erythrocytes to LIAM medium did not enhance the reproduction rate of the parasite significantly.