International Journal of Innovation and Applied Studies
ISSN 2028-9324 Vol. 10 No. 4 Mar. 2015, pp. 1076-1085
© 2015 Innovative Space of Scientific Research Journals
http://www.ijias.issr-journals.org/

تأثير بعض المستخلصات المائية (نبات خناق الدجاج *Euphorbia helioscobia* واوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus globules* واوراق نبات الآس *Myrtus comminus*) على طفيلي الأميبا الحالة للنسيج *Entamoeba histolytica* المنمى في الوسط الزرعي خلاصة كبد الابقار

[Effect of Some Water Plant Extracts (*Euphorbia helioscobia* and leaves of *Eucalyptus globules* and *Myrtus comminus*) on The *Entamoeba histolytica* Parasites That Grown in Beef Liver Infusion Medium]

Sahar Abass Hussien, Hadi Mezeal Khudhair, and Ahmed Khudhair AL-Hamairy

Biology,
Babylon/Science College for Women,
Al-Hilla, Babylon Province, Iraq

Copyright © 2015 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the ***Creative Commons Attribution License***, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The present study has been conducted in Babylon/Science College for Women to detect the efficiency of three plant extracts (*Euphorbia helioscobia*, *Eucalyptus globules* and *Myrtus comminus* on the *Entamoeba histolytica* Parasites that grown in beef liver infusion medium at 37 centigreat temperature. Concentration of cooled and boiled plant extracts its(2.5 ,5 , 10) % of the three plants as well as control group(distelled water). The results revealed that the boiled plant extracts of three plants were the efficient from cooled plant extracts in killing the trophozoites of the *Entamoeba histolytica* . The *E. helioscobia* boiled plant extracts was the efficient to killing the trophozoites in the second day from the begining of the experiment with 10 mg\ml. And the next its boiled plant extracts of *Eucalyptus globules* and *Myrtus comminus* in the third day from the begining of the experiment with 5 mg\ml for each one .and all the three plant extracts inhibited the viability of *E. histolytica* that grown in beef liver infusion medium comparison with control group.as well as the metronidazole drug in one microliter\ml. finished the viability of trophozoites at the third day, and showed from the present study successfully grown *E. histolytica* in beef liver infusion medium.

KEYWORDS: Amebiasis, Metronidazole, grown *Entamoeba histolytica* in media culture, plant extracts.

ملخص: أُجريت الدراسة الحالية في مختبرات كلية العلوم للبنات / جامعة بابل للكشف عن تأثير المستخلصات المائية لنبات خناق الدجاج واوراق نباتات اليوكالبتوس والآس في النسبة المئوية لحيوية الأطوار الخضرية لطفيلي أميبا الحالة للنسيج والمنمى في الوسط الزرعي Beef liver infusion medium عند درجة حرارة 37 م^{o}, تم الاستخلاص بالماء البارد والمغلي وحُضرت التراكيز (2.5 , 5 ,10) % لكل من النباتات الثلاثة كلا على حده بالإضافة الى معامل السيطرة (الماء المقطر) .أظهرت النتائج ان تأثير المستخلص المائي المغلي لنباتات الثلاثة كان الأكثر تأثيراً في قتل الأطوار الخضرية لطفيلي الأميبا الحالة للنسيج من المستخلص الماء البارد , وبالنسبة للمستخلصات المائية المغلية ,فقد كان مستخلص نبات خناق الدجاج الأكفأ في قتل الأطوار الخضرية في اليوم الثاني من بدء التجربة بتركيز 10 ملغم / مليلتر وجاء بعده مستخلص اليوكالبتوس للماء المغلي والآس للماء المغلي في اليوم الثالث بتركيز 5 ملغم/ مليلتر لكل منهما, وان جميع تراكيز المستخلصات المائية لنباتات قيد الدراسة ثبطت النسبة المئوية لحيوية الأطوار الخضرية لطفيلي الأميبا الحالة للنسيج بالمقارنة مع معامل السيطرة . وعقار الميترونيدازول كان له تأثير أيضا في القضاء على الطفيلي في اليوم الثالث بتركيز 1 مكغم / مليلتر, وتبين من الدراسة الحالية نجاح الوسط الزرعي في تنمية الأميبا الحالة للنسيج لبضعة أيام فقط وانتهت حيويتها في اليوم السادس من التجرية .

كلمات دلالية: داء الاميبات , عقار الميترونيدازول , نمو الاميبا الحالة للنسيج في الوسط الزرعي , مستخلصات نباتية.

المقـــــــدمـــة

تسبب الطفيليات المعوية أمراضا عديدة للإنسان , تحد من نشاطه وقد تؤدي به أحياناً الى الموت (Kummar*et al.*,2003). ويعد طفيلي الأميبا الحالة للنسيج *E.histolytica* من الطفيليات الوحيدة الخلية والتي تصيب أمعاء الإنسان وتسبب لهُ داء المتحولات الأميبي Amebiasis , إذ تصيب الأمعاء الغليظة والمنطقة المتعرجة , ومن أهم الاعراض المرضية Symptomatic amebiasis التي تنتج عن الإصابة بها الإسهال الدموي المتقيح , المغص المعوي , صداع وحمى وينتج عنها داء المتحولات الأميبي الحاد Acute amebiasis أو داء المتحولات المزمن Chronic amebaisis ، او قد لا ينجم عن الإصابة أعراض مرضية Asymptomatic amebiasis ويسمى حاملو الطفيلي في هذه الحالة ب Asymptomatic carriers (Mehrotra& Sumbali,2009) .يمر الطفيلي خلال دورة حياته بطورين أساسيين هما الطور الخضري Trophozoite والطور المتكيس Cyst, ويعد الطور المتكيس هو الطور المعدي Infective stage وتتم الإصابة بالطفيلي عن طريق تناول الطعام والشراب الملوث بذلك الطور(Linford*et al.*,2009). هنالك عدة طرق للتشخيص , ولكن طريقة الفحص المجهري للبراز تعد من أهم وافضل الطرائق المعتمدة لتشخيص هذا الطفيلي (DiMiceli , 2004) .

نظراً للتوجه العالمي في الوقت الحاضر الى التوجه باستعمال الأعشاب والنباتات الطبية كعلاج , نظراً لما يحويه بعضها من مركبات تساعد في القضاء على القرح المعوية وشفاءها بالإضافة الى كونها أقل ضرراً وأقل سمية من العقاقير الكيميائية (Fontaine, 2005). والدراسة الحالية أجريت للكشف عن تأثير ثلاثة من المستخلصات النباتية في طفيلي*E.histolytica* خارج الجسم الحي*Invitro* وهم المستخلص المائي لخناق الدجاج*Euphorbia helioscobia* والمستخلص المائي لأوراق نبات اليوكالبتوس*Eucalyptus globules* والمستخلص المائي لأوراق نبات الآس*Myrtuscomminus* ومقارنتها مع عقار الميترونيدازول .

المواد وطرائق العمل

أولا : المواد

1–المحلول الملحي الفسيولوجي solution Physiological Normal Saline

حضر بإذابة 0.85غم من مادة كلوريد الصوديوم في100 مليلتر ماء مقطرفي قنينة زجاجية نظيفة بحيث أصبح التركيز0.85 % (جابك ,2013) .

2 –محلول داريء الفوسفات الملحي(Phosphate buffer saline (PBS

حُضرحسبطريقة(Hudson and Hay(1980 وذلك بإذابة المواد وهي0.144غم من فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين(KH2Po4) ثم0.795غم من فوسفات الهيدروجين ثنائية الصوديوم(Na2Hpo4)ثم 9غم من كلوريدالصوديومNaCl في لتر واحد من الماء المقطر, بعدها عقم المحلول بالموصدة في121م^{5}وتحت ضغط جوي15باوند/انج^{2}لمدة 15 دقيقة.

3 –صبغة اليود اللوكالي Lugol's Iodine

حُضر بإذابة10غم من يوديد البوتاسيومKIفي100مليلتر من الماء المقطر, ومن ثم أضيفت بلورات اليود تدريجيا مع التحريك المستمر حتى ذابت البلورات, ثم رشح المحلول الناتج وحفظة المحلول في قناني معقمة محكمة الغلق (Zeibig,1997) .

4 - صبغة الأيوسين(0.1%) Eosin Stain

تم بإذابة غرام واحد من مسحوق الأيوسين في 100مليلتر ماء مقطر (Zeibig,1997) .

5– مصل الدم

تم الحصول على مصل الدم Blood serum من مختبرات مستشفى المسيب العام ، ووضعت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة /دقيقة لمدة خمس دقائق، بعدها تم سحب مصل الدم المتواجد في الجزء الأعلى من الأنابيب باستعمال ماصة دقيقة Micropipette وتم جمع المصل في قنينة زجاجية , ثم عقم بالترشيح كما أورده (1989) Yang . بعدها وضع في حمام مائي Water bath بدرجة حرارة 56م لمدة 30دقيقة لغرض ابطال فعالية المتمم Complements inhibition (Harinsuta & Harinsuta, 1955)نقلا عن التكريتي وآخرون (مقبول للنشر) .

طرائق العمل :

1– الوسط الزرعي

يتكون من طورين , الطور الصلب Solid phaseوالمتكون من30 غرام نقيع كبد الأبقار مع الأكار Beef liver infusion agar ,3 غرام فوسفات ثنائية الصوديوم الهيدروجينية Na_2Hpo_4و100مليلتر ماء مقطر,أُذيبت المواد في دورق زجاجي سعة لتر واحد وكمل الحجم الى لتر واحد وسخنت مع التحريك لحين ذوبانها ثم وزعت في أنابيب زجاجية سعة 5-10 مليلتر احكم غلقها بسداد قطني مع سلوفين ثم عقمت بجهاز الموصدةAutoclaveبدرجة حرارة 121م وتحت ضغط15 باوند لمدة 20 دقيقة ثم برد المزيج ووضعت الأنابيب بعد التعقيم بشكل مائل , وللتأكد من خلو الوسط الزرعي من البكتريا وضعت الأنابيب في الحاضنة بدرجة 37 م^{5} لمدة

24 ساعة , أما الطور السائل والذي وضع فوق الجزء الصلب والمتمثل بالمحلول الملحي الفسلجي والذي يتكون من0.3 غرام فوسفات ثنائية الصوديوم الهيدروجينNa_2HPO_4، 0.5 غرام فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجينKH_2PO_4،0.42غرام محلول فسلجي (ملح طعام)Nacl(التكريتي وآخرون, 2008) . بعدها ثبت الرقم الهيدروجيني 7.2 , عقم المزيج بالموصدة بدرجة حرارة 121م وتحت ضغط15 باوند لمدة 20 دقيقة ثم برد المزيج ، وتمت إضافة الدارئ الفوسفات الملحي مع مصل الإنسان المعقم بنسبة واحد مليلتر مصل مع ستة مليلتر من دارئ الفوسفات الملحي ثم أضيف بعد ذلك المضاد الحيوي الكلورامفينيكول *Chloramphenicol*مع إجراء بعض التعديلات بإضافة المضادات الحيوية والمتمثلة بالنستاتينوالستربتومايسين والبنسلين لمنع التلوث بالفطريات ، ثم أضيف سبعة مليلتر من المزيج إلى كل أنبوبة اختبار حاوية على الوسط الصلب المحضر مسبقاً، بحيث كان مستوى المحلول المضاف أعلى من مستوى الوسط الصلب مع قليل بمقدار ملئ عروةLoop full من نشأ الرز المحضر بإذابة غرام من نشأ الرز في (50) مليلتر ماء مقطر معقم (العبادي,2005) .

2– جمع العينات

جمعت عينات البراز من المرضى المصابين بحالات الإسهال الحادة (الزحار الأميبي) والمراجعين الى مختبرات مستشفى بابل للأطفال ومستشفى إبن سيف للأطفال والمركز الصحي الحسين في ناحية ابي غرق والمركز الصحي لقضاء المسيب في محافظة بابل وللمدة من شهر تشرين الأول 2013 ولغاية تموز 2014 , جمعت العينات في قناني بلاستيكية معقمة ومزودة بسداد محكم للحفاظ على رطوبة العينة ومنع جفافها ونقلت مباشرة الى مختبر الطفيليات المتقدم في كلية العلوم للبنات/ جامعة بابل لغرض فحصها مباشرة و زراعتها على الوسط الزرعي الخاص بأميبا الحالة للنسيج لغرض تنميتها وكذلك معاملتها بالمستخلصات النباتية قيد الدراسة.

3– فحص العينات

فحصت عينات الغائط عيانيا قبل فحصها مجهريا, إذ ان قوام البراز يزود الشخص الفاحص بمعلومات مهمة فالإسهال المتسبب عن الأميبا الحالة للنسيج يكون ذو رائحة كريهة ويحتوي على مواد برازية كثيرة , وكذلك يجب الإنتباه عند أخذ العينة الى وجود الدم Blood والمخاط Mucous في العينة للإستدلال على وجود الأميبا الحالة للنسيج (المعموري2000). بعدها تم فحص عينة البراز مجهريا بطريقة المسحة المباشرة Directsmearmethod ,يوضع قطرة من المحلول الملحي الفسيولوجيNormal saline (0.85%) على شريحة زجاجية ثم أخذ جزء من البراز بوساطة عود خشبي Wooden stickمن اماكن مختلفة من العينة خصوصا الاماكن التي تحتوي على دم او مخاط ومزجه مع المحلول الملحي الفسيولوجي جيدا ليظهر بشكل متجانس وبعدها يتم وضع غطاء الشريحة الزجاجية وفحصها تحت المجهر لرؤية الأطوار الخضرية للطفيلي إذ يتميز بوجود نواة واحدة وأحتواءها على كريات الدم الحمر وكذلك ملاحظة الأطوار المتكيسة الناضجة والمتميزة بأحتواءها على اربعة أنوية, وتم أستعمال صبغةiodineLugols لتميز نواة الطور الخضري إذ لا نستطيع تميزها بطريقة المسحة المباشرة بأستعمال المحلول الفسيولوجي , وتتم من خلال وضع قطرة من محلول اليود على شريحة زجاجية وأخذ جزء من البراز بواسطة عود خشبي ومزجه مع محلول اليود ليظهر بشكل متجانس عند تغطيته بغطاء الشريحة الزجاجية دون وجود فقاعات هوائية وبعدها يفحص بالمجهر لرؤية الأطوار الخضرية تحت قوة تكبير x400 , 1000x ,إذ تصطبغ النواة الحاوية على الحبيبات الكروماتينيةChromatins granules والكاريوسومKaryosome بلون بني غامق والسايتوبلازم بلون أصفر أو بني فاتح ويستعمل محلول اليود لتشخيص الأكياس والأطوار الخضرية للطفيلي(Tanyuksel&Petri,2003). وللتأكد من حيوية الطفيلي تم إستعمال صبغة الإيوسين إذ يصطبغ الطور الخضري والطور المتكيس الميت باللون الأحمر ولا تصطبغ الطوار الحية باللون الأحمر وأنما تظهر بشكل أجسام بيضاء اللون أو شبه شفافة (Zeibig,1997) .

4– تنمية الطفيلي في الوسط الزرعي

تم بأخذ 0.5 غم من البراز الحاوي على الطفيلي بواسطة Loop معقم ومن المناطق الحاوية على الدم والمخاط , ووضع في الأنبوبة الحاوية على الوسط الزرعي المحضر مسبقا ووضعت في الحاضنة بدرجة 37م[5] , إذ تمت مراقبة نمو الطفيلي , وذلك بأخذ قطرة من الراسب الموجود بين الوسطين السائل والصلب بأستعمال ماصة دقيقةMicropipette ,إذ وضعت هذه القطرة على الشريحة وفحصت تحت المجهر , والتأكد من وجود الطفيلي دلالة على نجاح الوسط الزرعي (العياشي,2012)

5 – طريقة تحضير المستخلص المائي

حُضِر المستخلص الماء البارد لأوراق نباتات الآسواليوكالبتوس ولنبات خناق الدجاج كلاً على حده حسب طريقة المنصور (1995) بعد إجراء بعض التحويرات عليها من قبل الباحث بزيادة فترة الإستخلاص الى 24ساعة, إذ أخذ10غرام من مسحوق النبات الجاف لكل نبات على حدة ووضعت في دورق زجاجي سعة 500مليلتر وأضيف إليه 200 مل ماء مقطر بارد , ثم رج المزيج بقوة لمدة خمس دقائق وبعدها ترك المزيج لمدة 24 ساعة للحصول على أفضل إستخلاص وكمية وفيرة من المادة الفعالة وبعد إحكام غلق الدوارق لمنع التعفن , ثم بعد ذلك رشح المزيج بثلاث طبقات من قماش الشاش لفصل العوالق الكبيرة ومن ثم فصل الراشح بجهاز الطرد المركزي Centierfuge بسرعة3000دورة /دقيقة ولمدة عشر دقائق , وأخذ الراشح ووضع في فرن حراري بدرجة حرارة (45-50) درجة مئوية لغرض

تجفيف المستخلص والحصول على الثمالة الجافة للعينات المستخلصة . وكررت العملية نفسها بالنسبة لتحضير المستخلص الماء المغلي بأستبدال الماء المقطر البارد بماء مقطر مغلي . ولغرض تقدير الفعالية الحيوية للمستخلصات قيد الدراسة كلاً على حدة . أخذ 5 غرام من الثمالة الجافة لكل مستخلص على حده وأُذيبت 50 مل ماء مقطر فأصبح تركيز المحلول الأساسي Stocksolution (10%) ومنه تم تحضير التراكيز (2.5, 5 , 10) % أضافة الى معامل السيطرة فكانت بالماء المقطر فقط .

التحليل الإحصائي

حللت نتائج الدراسة وفق نموذج التجارب العاملية و بتصميم تام العشوائية Completely Randomized Design (C.R.D) (وتـــم استعمال اختبار اقل فرق معنوي Least Significant Differences (L.S.D) عند مستوى (P<0.05) لبيان معنوية النتائج (الراوي وخلف الله , 2000).

النتائج والمناقشة

يبين الشكل (1) تأثيرعامل نوع المستخلص (مغلي , بارد) في حيوية الأميباالحالة للنسيج خارج الجسم الحي إذ كان مستخلص الماءالمغلي أكثر تأثير في خفض حيوية الأميبا الحالة للنسيج من مستخلص الماءالبارد , إذ بلغ تنسبت الحيوية 39.72 في مستخلص الماءالمغلي بالمقارنة مع49.52 في مستخلص الماء البارد , دلت نتائج التحليل الإحصائي معنوية الفروقات الموجودة في النتائج التي تم الحصول عليها .

يبين الشكل (2) ان مستخلص نبات خناق الدجاج كان اكثر تأثيراً والأكفأ في خفض حيوية الطفيلي بالمقارنة مع مستخلص اليوكالبتوس والآس , إذ بلغت النسبة المئوية للحيوية في نبات خناق الدجاج 35.56 بالمقارنة مع 48.87 و 49.48 % على التوالي في مستخلصي نباتي اليوكالبتوس و الآس . دلت نتائج التحليل الإحصائي معنوية الفروقات الموجودة في النتائج التي تم الحصول عليها.

يبين الشكل (3) تأثير عامل المدة الزمنية في حيوية أميبا الحالة للنسيج خارج الجسم الحي ,إذ وجدة ان المدة الزمنية 72 ساعة كان الأكثر تأثيرا في خفض الحيوية, إذ بلغت نسبة الحيوية9.077 بالمقارنة مع 71.77 بعد مرور ساعة واحدة , ودلت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية في النتائج التي تم الحصول عليها .

يبين الشكل (4) تأثير عامل تراكيز المستخلص في حيوية الطفيلي إذ ظهر إن تركيز 10% أكثر تأثير في خفض حيوية أميبا الحالة للنسيج من بقية التراكيز الأخرى وبفروق معنوية واضحة , إذ بلغت نسبة الحيوية27.82%بالمقارنة مع 44.59 و 70.31% معامل السيطرة .

يبين الشكل (5) تأثير عامل تركيز عقار الميترونيدازول في حيوية الأطوار الخضرية للأميبا الحالة للنسيج , إذ بلغت النسبة المئوية للحيوية 0.5 % في أعلى تركيز للعقار والمتمثل ب 2 مايكروغرام / مليلتر بالمقارنة مع 70.27 % لمعامل السيطرة . ودلت نتائج التحليل الإحصائي معنوية الفروقات الموجودة في النتائج التي تم الحصول عليها .

يبين الشكل (6) تأثير عامل المدة الزمنية لعقار الميترونيدازول في حيوية الأطوار الخضرية للأميبا الحالة للنسيج , إذ بلغت النسبة المئوية للحيوية 29.47 % في مدة ساعة واحدة بالمقارنة مع 8.1 % في مدة 72 ساعة , ودلت نتائج التحليل الإحصائي معنوية الفروقات الموجودة .

ومن خلال جدول (1) نلاحظ نمو الأميبا الحالة للنسيج في الوسط الزرعي , إ ذ تم تحضير الوسط الزرعي ولقح بالطفيلي بدرجة حرارة 37 م^{o} وتم حساب عدد الطفيليات يوميا بإستخدام شريحة عد كريات الدم Haemocytometer وتم الحساب لخمس مكررات وتم استخراج المتوسط الحسابي وقيمة ال S.D. لكل مكرر .

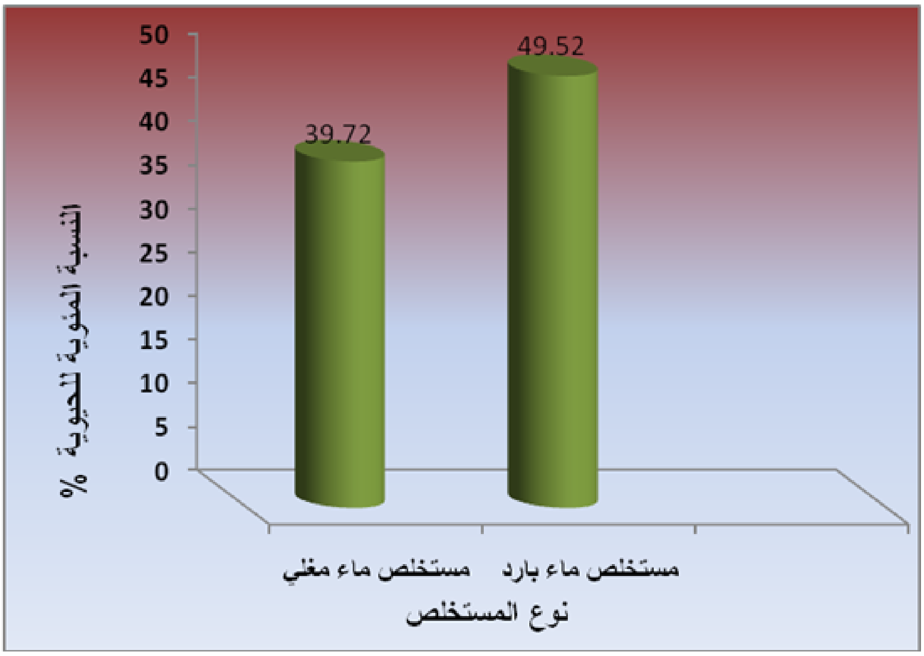
أستعمل الماء كمذيب في عملية الإستخلاص لكونة سائلاً متعادلاً ولا يؤثر على فعالية المركبات المستخلصة من النباتات , نتيجة عدم تداخلة مع المركبات المستخلصة(Al-Hilli,2000). بالأضافة الى ذلك وجود العديد من الدراسات التي تثبت إحتواء المستخلص المائي النباتي على مركبات فعالة ذات تأثير تثبيطي في الأحيـــاء المجــــهرية (Al-Tmimy,2001).أظهر التحليل الإحصائي إن المستخلص المائي المغلي للنباتات الثلاثة المستعملة في الدراسة الحالية كان لها أثر واضح في إنهاء حيوية الطور الخضري لأميبا الحالة للنسيج بالمقارنة مع المستخلص المائي البارد لتلك النباتات وبفروق معنوية واضحة وهذا يتفق مع ما أشار اليه الكبيسي (2007)و العياشي (2012) في إن استعمال المستخلص المائي المغلي لنباتات الرمان كان له أثر في قتل الطفيلي أكثر من أستعمال المستخلص المائي البارد ربما يعزى ذلك الى أن في الماء المغلي سوف تظهر مركبات ممكن أستخلاصها بأستعمال الماء المغلي وهذه الدراسة لا تتفق مع دراسات كثيرة ربما يعزى ذلك الى إختلاف نوع النبات سوف يؤثر على أختلاف نوع المستخلص النباتي ومن هذه الدراسات , دراسة باقر(1997) إذ سجل في دراسته أن مستخلص ماء البارد لقشور الرمان أكثر فعاليه ضد الأحياء المجهرية من المستخلص المائي المغلي.

وكذلك دراسة المسعودي (2001) و الطائي (2013) من أن المستخلص المائي البارد لنبات الرمان هو أكثر تأثيراً أو سمية من المستخلص المائي المغلي والكحولي. يتضح من النتائج في الشكل (2) أن نبات خناق الدجاج هو أفضل النباتات المستعملة في إنهاء حيوية الأميبا الحالة للنسيج وهذا يؤكد فعالية نبات خناق

الدجاج ضد الطفيليات او الأحياء المجهرية الممرضة وهذا يتفق مع ما توصل اليه الدوسري (2005) والشريفي (2010) الذين وجدو التأثير الفعال والمؤثر لنبات خناق الدجاج على الأحياء المجهرية الممرضة وقد يعود السبب الى أحتواء نبات خناق الدجاج على المركبات التربينية والتي لها فعالية ضد الأحياء المجهرية بصورة عامة وعلى طفيلي أميبا الحالة للنسيج بصورة خاصة أو يعزى السبب الى إحتواء هذه المستخلصات على مركبات فعالة إما طاردة أو مانعة للتغذية (Kleeberg&Hummal,2001) . أو ربما يعزى الى أحتواء سيقان نبات خناق الدجاج على المادة اللبنية والذي يكون لها مفعولا ساما وربما تؤدي سمية هذه المواد الى قتل الأميبا الحالة للنسيج , نستنتج من هذه النتائج أن نبات خناق الدجاج هو أفضل هذه النباتات المستعملة في القضاء على الطور الخضري لأميبا الحالة للنسيج . ويتضح من الشكل (3) إن زيادة المدة الزمنية لها تأثير كبير في حيوية أميبا الحالة للنسيج وهذا يتفق مع نتائج محمد (2009) و العياشي (2012) والذين وجدو أن التأثير على حيوية أميبا الحالة للنسيج يزداد بزيادة المدة الزمنية . وقد يعود السبب في ذلك الى أن زيادة المدة الزمنية تؤدي الى زيادة أختراق المواد الفعالة من التربينات في أختراقها لأغشية الطفيلي ثم تحطيمها أو يؤدي إلى أضعاف الطفيلي . أثبتت النتائج في الشكل (4) أن تركيز المستخلصات النباتية العالية له تأثير كبير في خفض حيوية أميبا الحالة للنسيج مقارنة بالتراكيز الأخرى وهذا يتفق مع ما وجده محمد (2009) الذي وجد أن التركيز واحد ملغم / مليلتر من الثوم أدى الى القضاء أو إزالة 92.7 % من الأطوار الخضرية لأميبا الحالة للنسيج خارج الجسم الحي وتتفق هذه النتائج مع دراسة الجبوري (2005) من إن أدنى تركيز قاتل للأطوار الخضرية لأميبا الحالة للنسيج هو 125مايكروغرام / مليلتر. ربما يعزى ذلك الى أن التركيز العالي يوفر مجال أكثر للتأثير على الطفيلي مقارنة بالتركيز القليل .

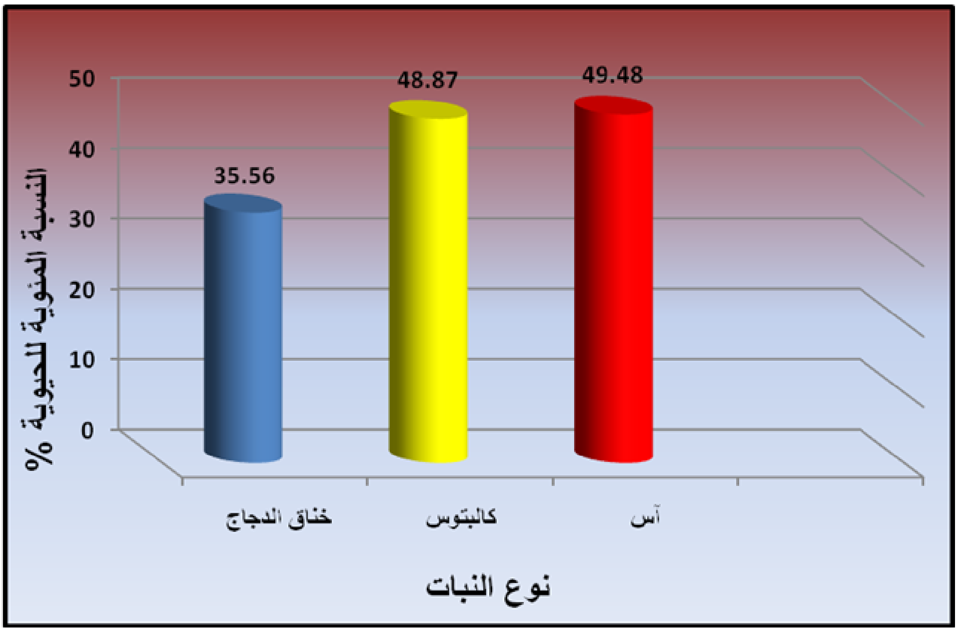
ومن خلال نتائج الدراسة الحالية في شكل (5) نلاحظ أن عقار الميترونيدازول أدى الى خفض الحيوية وبكفاءة عالية في التركيز 2مكغم / مل الى الصفر بعد مرور 72 ساعة من المعاملة خارج الجسم الحي وهذا يدل على كفاءة العقار في إنهاء الحيوية الى الصفر وهذه توافق نتيجة (2008) Behnia*et al.* والذي قام بأستعمال كميات معينة من العقار ضد الأطوار الخضرية للأميبا الحالة للنسيج خارج الجسم الحي والتي أدى بالنهاية الى تنخر وموت الأطوار الخضرية للأميباالحالة للنسيج . وأيضا توافق نتيجة(1992) Lau *et al.* والذي قام بأستعمال الميترونيدازول بجرعة عالية 400 ملغم/كغم في ذكور الجرذان ولمدة 4–2 أسابيع إلى انخفاض الكفاءة التناسلية ثمال عقم بسبب تثبيط عملية تكوين النطفSpermatogenisis ولوحظ ايضا انخفاض في حجم ووزن البربخ Epididymis والخصيتين Testes ولوحظ انخفاض في عددالنطف فضلا عن وجود الكثير من الإشكال المشوهة منها، وقد لوحظ بالفحص المجهري وجود تنكس حاد في ظهارة النبيبات المنوية Seminfrous tubules .

ومن خلال جدول (1) تم ملاحظة أن عدد الأميبا الحالة للنسيج تبقى حية لمدة 1-4أيام من الزرع ولكن النمو يبدأ بالأنخفاض تدريجيا بعد هذه الفترة إذ ينخفض النمو بصورة ملحوظة في اليوم الرابع وينعدم في اليوم الخامس من الزرع وربما يعزى سبب عدم إمكانية حفظ الطفيلي لفترات طويلة الى كثرة المواد الأفرازية الأبرازية للطفيلي وخاصة الأنزيمات الحالة للنسيج والتي تؤثر على حيوية ونشاط الطفيلي نفسة خارج الجسم الحي وكذلك حساسية الطفيلي لبعض الظروف البيئية المحيطة كالضوء وأستمرار نقص المكونات الرئيسية اللازمة لنموه وتكاثره كالمعادن والنشأ والمواد العضوية واللاعضوية الأخرى نتيجة لإستهلاكها من قبل الطفيلي وربما يتإثر الطفيلي أثناء نقله من الوسط الأولي الى الوسط الثانوي بتعرضه للأوكسجين فيهلك أو يتكيس ، أو وجود أحياء مجهرية ثانوية مقاومة للمضادات الحيوية والتي يمكن ان تسهم في التغلب على الطفيلي نظرا لما تحدثه من نواتج أيضية سمية للوسط وهذا يتفق مع ماتوصل إليه الكبيسي (2002) والذي أستطاع تنمية الطفيلي لمدة عشرة أيام بأستعمال مصل العجل في تحظير وسطSemi solid medium for parasiticAmoebae ودراسة التكريتي وآخرون (2008) ودراسة الكبيسي (2007) والذي أستخدم مصل دم الحصان في تحضير نفس الوسط المستعمل وبينما أستعمل في الدراسة الحالية مصل دم الأنسان , وكذلك بين العبادي (2005) و العياشي (2012) إمكانية تنمية أميبا الحالة للنسيج لمدة عشرة أيام في هذا الوسط وهذا لايتفق مع ماسجله (2003) Tanyuksel& William إذ أشار الى أمكانية إبقاء الطفيلي حيا لمدة غير محددة شريطة تزويد الوسط بالمغذيات بصورة مستمرة .



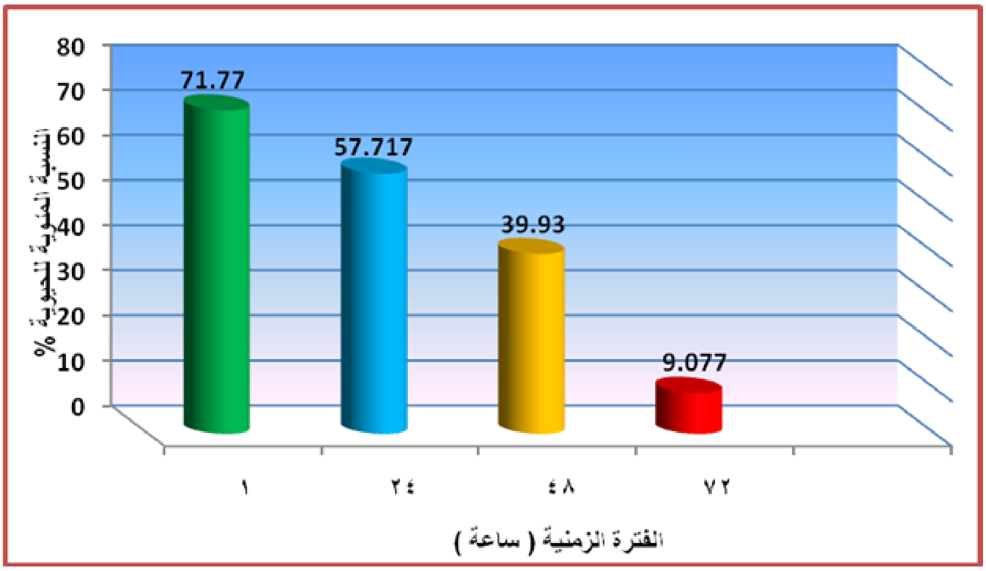
قيمة L.S.D تحت مستوى 0.05=2.024

شكل (1) : تأثير عامل نوع المستخلص في النسبة المئوية للأطوار الخضرية لحيوية الأميبا الحالة للنسيج E. histolytica



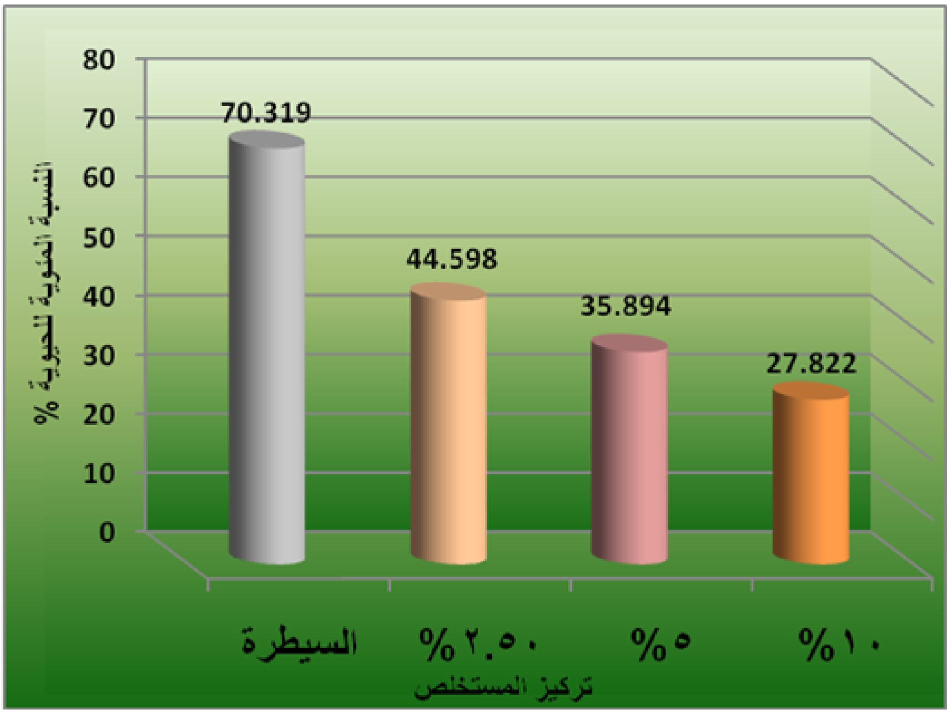
قيمة L.S.D تحت مستوى 0.05=3.42

شكل (2) : تأثير عامل نوع النبات في النسبة المئوية لحيوية الأطوار الخضرية للأميبا الحالة للنسيج E. histolytica



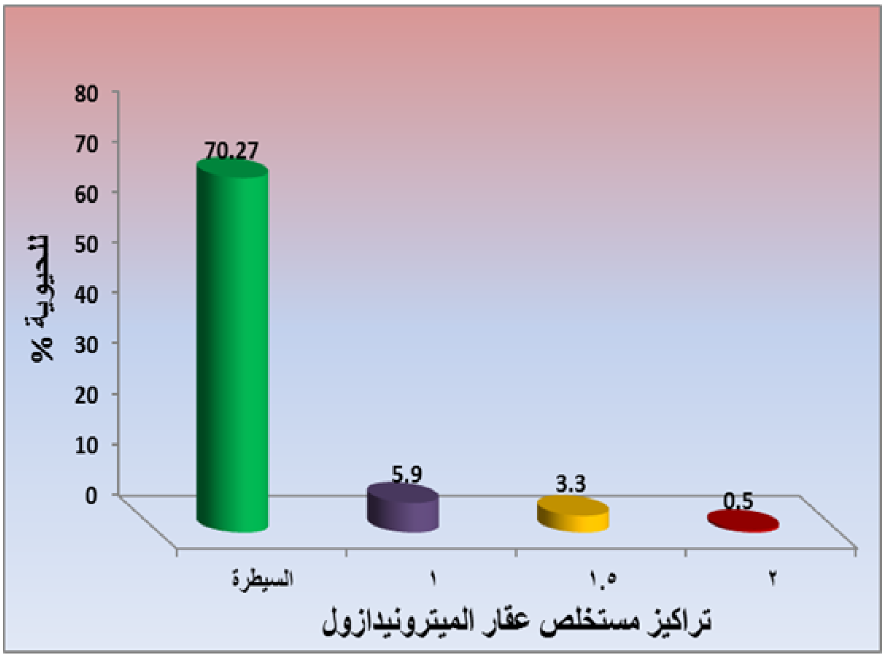
قيمة.L.S.D لعامل المدة الزمنية عند مستوى احتمال 0.05 = 9.201

شكل (3) : تاثير عامل المدة الزمنية في حيوية الأطوار الخضرية للأميبا الحالة للنسيج ***E. histolytica***



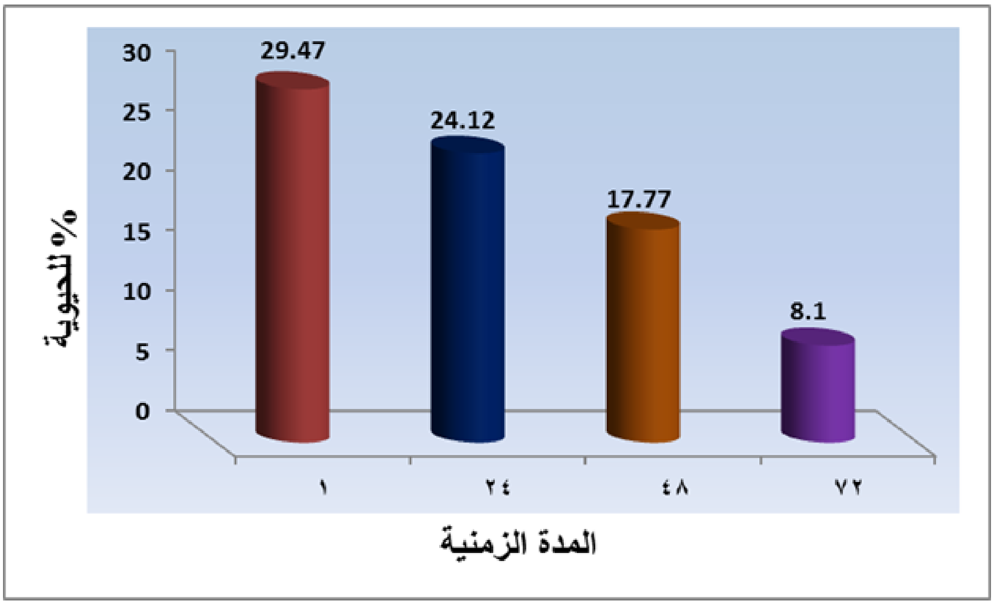
قيمة.L.S.D لعامل تراكيز المستخلص عند مستوى احتمال0.05 = 6.501

شكل (4) : تأثير عامل تراكيز المستخلص في حيوية الأطوار الخضرية للأميبا الحالة للنسيجhistolyticaE



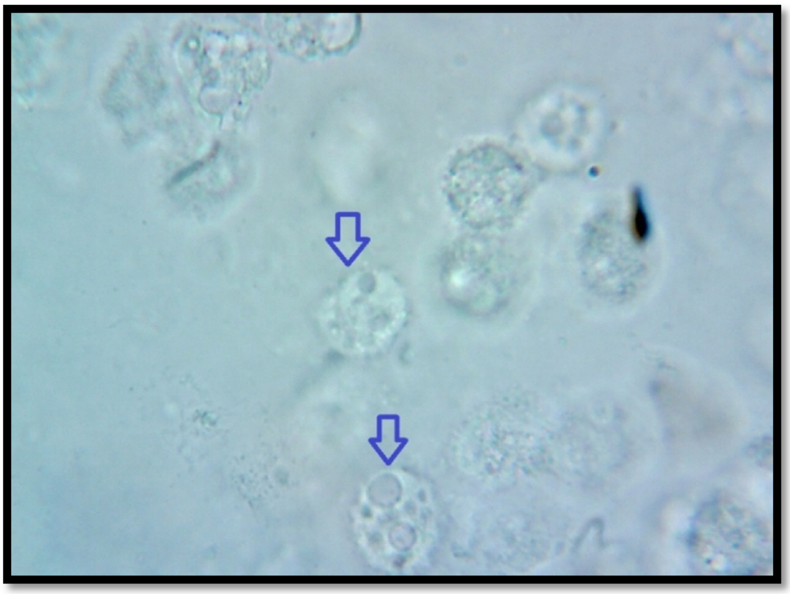
قيمةL.S.D. لعامل تراكيز مستخلص العقار عند مستوى احتمال 0.05 = 0.918

شكل (5) : تأثير عامل تراكيز مستخلص عقار الميترونيدازول في حيوية الأطوار الخضرية للأميبا الحالة للنسيج E. histolytica



قيمةL.S.D. لعامل المدة الزمنية للعقار عند مستوى احتمال 0.05 = 4.42

شكل (6) : تأثير عامل المدة الزمنية لعقار الميترونيدازول في حيوية الأطوار الخضرية للأميبا الحالة للنسيج E. Histolytica



لوحة (1) : الطور الخضري في الوسط الزرعي تحت قوة تكبير (x 1000) بدون معـــاملة بالمستخلصات بأضافة المحلول الملحي الفسيولوجي فقط 0.85 % (الطور الخضري)

شكر وتنويه :

نتقدم بالشكر الجزيل والامتنان الكبير الى قسم علوم الحياة / كلية العلوم للبنات ،جامعة بابل والمختبرات التابعة لهم باجراء البحث وتقديم التسهيلات اللازمة.

المراجع العربية

التكريتي،الهام عائد اسعد والجبوري، عبد الخالق علوان والتكريتي، علي حسين الطيف (مقبولللنشر). انتشار طفيلي الزحـار الاميبي *Entamoeba histolytica* في بيجي وضواحيها وتاثير مستخلص قشور الرمان*Punica granatum* في نمو الطفيلي بالوسط الزرعي . مجلة علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة تكريت (مقبول للنشر).

الدوسري , ناصر حميد (2005) . تأثير استخدام المستخلص الهكساني لنبات خناق الدجاج في بعض المظاهر الحياتية لحلمة الغبارOligonychusafrasiaticus . مجلة البصرة لأبحاث نخلة التمر , المجلد : 4 , العدد (1-2) , 11-23 صفحة .

الراوي ، خاشع محمود وخلف الله ، عبد العزيز محمد (2000) . تصميم وتحليل التجارب الزراعية . دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل .

الشريفي , إزدهار عباس علوان .(2010) . تأثير مستخلص المركبات التربينية والفينولية والقلوانية الخام لنبات خناق الدجاج *Euphorbia helioscopia* في بعض جوانب الأداء الحياتي للذبابة المنزلية *Musca domestica* . رسالة ماجستير , كلية العلوم للبنات / جامعة بابل . 78 صفحة .

الطائي , آلآء حمادي عبيد .(2013) . تأثير فعالية مستخلصات نباتات الرمان*Punica granatum* والشيح *Artemisia herba-alba* والثوم *Allium sativum* في نمو وتطور الاكياس العدرية للمشوكة الحبيبية*Echinococcus granulosus* خارج وداخل الجسم الحي . رسالة ماجستير كلية العلوم للبنات / جامعة بابل . 127 صفحة .

العبادي ، أريج عطية حسين (2005) . دراسة طفيلية ومناعية للأوالي المعوية *Giardia lamblia* و *Entamoeba histolytica* في بغداد . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة بغداد .

العياشي , مروة محسن حسين . (2012) . دراسة التأثير المضاد لبعض المستخلصات النباتية على طفيلي الزحار الأميبي *Entamoeba histolytica* في الفئران المصابة مختبريا . رسالة ماجستير , كلية العلوم , جامعة المثنى , 131 صفحة .

الكبيسي , عبد الوهاب بديوي حسين (2002) . دراسة مناعية وبائية للمرضى المصابين بالأميبا الحالة للنسيج . اطروحة دكتوراه , كلية العلوم الجامعة المستنصرية : 125 صفحة

الكبيسي، علي حسين مكي. (2007) . بعض التغيرات الناجمة عن الإصابة بالأحياء المجهرية المسببة للإسهال في أطفال محافظة كربلاء ومعالجتها مختبرياً بالمستخلصات النباتية. أطروحة دكتوراه. كلية التربية ابن الهيثم. جامعة بغداد.

المسعودي،هيا مخالص . (2001) .استخدام مستخلصات الثوم وقشور ثمار الرمان في معالجة الفئران البيض المصابة بالمشعرات الفأرية *Trichomonas muris* . رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعةبابل .

المعموري , أحمد خضير (2000) . وبائية الطفيليات المعوية وقمل الرأس لدى تلامذة بعض المدارس الابتدائية في قضاء المحاويل ,محافظة بابل . رسالة ماجستير , كلية العلوم , جامعة بابل , 122 صفحة .

المنصور, ناصر عبد علي (1995). تأثير مستخلص التربينات لأوراق قرن الغزال Inbicevaiutea في الأداء الحياتي لذبابة البيضاء *Bemisia tabaci*. مجلة جامعة بابل , العلوم الصرفية والتطبيقية 2(3) : 226-232.

باقر، ميعاد غالب (1997).تأثير قشور الرمان وبعض النباتات الطبية المضادة للجراثيم والفطريات المرضية. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة البصرة.

جابك , هالة عبد الهادي عبدالغني (2013) .دراسة بعض التغيرات النسجية والوظيفية لذكور الجرذان المصابة تجريبيا بالأميبا الحالة للنسيج *Entamoeba histolytica* . رسالة ماجستير, كلية العلوم للبنات، جامعة بابل , 130 صفحة .

محمد , بان جاسم . (2009) .تأثير المستخلصات المائية للثوم *Allium sativum* و الفلفل الحار *Capsicum* sp. على طفيلي أميبا الحالة للنسيج *E.histolytica* خارج الجسم الحي In vitro , مجلة بغداد للعلوم , 7 (1) 241-245: صفحة .

REFERENCES

[1] AL-Hilli,F.A., 2000 Study of Antimicrobial effect of leaves extract from *Callistemoncitrinus*on *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients. M.Sc. Thesis , Coll.Sci., Univ.AL-Mustansiriya.

[2] AL-Tmimy,A.A.,2001. Efficiency of *N.sativa* extracts against experimental infection with *E.coli* in white mice .M.Sc. Thesis, Coll. Edu., Uni. Baghdad . 20- AL-Rubhie ,S.S. ,1999. Effect of some plant extracts in attenuation protoscolices of *E.granulosis* (*in vitro*) and (*in vivo*) in white mouse. M.Sc. Thesis, Coll. Sci., Univ. Baghdad.

[3] Behnia, M., Haghighi, A., Komeylizadeh, H., Tabaei, S.S. and Abadi , A . (2008) . Inhibitory Effects of Iranian Thymus vulgaris Extracts on in Vitro Growth of *Entamoeba histolytica* . Korean J. Parasitol., 46 (3) : 153–156.

[4] DiMiceli, L. .(2004). Distinguishing between pathogenic and non-pathogenic species of *Entamoeba*. Lab. Med. , 35 (10): 613-616 .

[5] Fontaine, K.L. (2005). Complementary and alternative therapies for nursing practice.2th edn. . Pearson Prentice Hall. *University* of *Michigan* .USA.

[6] Harinasuta, C. & Harinasuta, T. (1955). Studies on the growth *in vitro* of strains of *Entamoeba histolytica.* Ann. Trop. Med. Parasitol. , 49: 331-332.

[7] Hudson, L. & Hay, F. C. (1980). Practical immunology (2nd ed.) Blackwell scient. Public.

[8] Kleeberg ,H. and Hummael , E.(2001). Experience with neemazal T/ S. in 1994-2000. Trifolio- Mgmbh , sonnenstr .22. Lahnan Germany .

[9] Kumar, V.; Cotran, R.S.& Robbins, S.L.(2003) . Basic pathology . 7thedn . ,W.B. Saunders . Co.,Philadelphia.

[10] Lau, A.H., Lam, N.P., Piscitelli, S.C., Wilkes, L. and Danziger, L.H. .(1992). Clinical pharmacokinetics of metronidazole and other nitroimidazole anti-infective. Clin. Pharmacokinetic,23(5):328-364.

[11] Linford , A.S. ;Heriberto , M. ;Kafelyn R.G. ; Hanbang , Z. ;Singh , V. ; Willian , A. and Petri , JR. ,2009. Short hairpin RNA.

[12] Mehrotra, R.S and Sumbali, G. (2009).Principles of Microbiology. First ed. .Tata McGraw-Hill Education. India. : 924pp.

[13] Tanyuksel , M and petri , W.A. (2003). Laboratory Diagnosis of Amebiasis . Clinical microbiology Reviews . , 16(4) : 713-729.

[14] Yang, S. (1989). Detection of *Entamoeba histolytica* trophozoites in liver pus by the indirect fluorescent antibody test for the aetiolgical diagnosis of amoebic liver abscess. Ann. Trop. Med. Parasitol., 83(3):253-255.

[15] Zeibig, E.A. (1997) . Clinical parasitology. a practical approach. W.B. Saunders Company. Philadelphia., 9-13 .