تأثير التمنيع بمستضدات الأميبا الحالة للنسيج على الأرانب النيوزلندية البيضاء

حميد شاحوذ عبد الحياني*، عبد الوهاب بديوي حسين الكبيسي و اسراء عدنان شاكر***

*كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة الأنبار

كلية الطب البيطري/ جامعة الأنبار

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة على 40 من الأرانب النيوزلندية عن طريق حقنها بجرع من مستضدات الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج وكذلك بالمواد الإفرازية الابرازية للطور الخضري وخلايا الطحال والمصل الممنع لتحفيز الاستجابة المناعية للحيوانات الممنعة وتوفير الحماية ضد الإصابة بخراج الكبد الأميبي.

أعطى التمنيع بمستخلص الطور الخضري في التجويف ألخلبي للأرانب النيوزلندية البيضاء أعلى نسبة حماية (91.63%)ضد الإصابة بخراج الكبد الأميبي في حين بلغت نسبة الحماية (88.43 %،81.49 %) عند إعطاء جرع التمنيع في العضلات وتحت الجلد على التوالي بينما أعطى التمنيع بالمواد الإفرازية الابرازية في التجويف ألخلبي أعلى نسبة حماية (54.13%)ضد الإصابة بخراج الكبد الأميبي في حين كانت نسبة الحماية (48.77%، 38.14%) عند إعطاء جرع التمنيع في العضلات وتحت الجلد على التوالي.

ارتفع معدل تراكيز الأجسام المضادة نوع IgA ، IgG معنويا عند التمنيع بمستخلص الطور الخضري في العضلة إذ بلغ معدل تركيز الأجسام المضادة 260 ملغم 100 /مل أما معدل الأجسام المضادة IgG فكان 1132 ملغم/ مل في حين لم يكن هناك ارتفاع معنويا في معدل تركيز الأجسام المضادة نوع IgM إذ بلغ معدلها 250ملغم/ مل.

ارتفع معدل تركيز المتمين C3، C4 معنويا عند التمنيع بمستخلص الطور ألخضري في العضلة إذ بلغ معدل تركيز المتمم C3 171 ملغم 100/مل في حين بلغ مدل تركيز المتمم C4 65 ملغم 100 /مل.

أعطى التمنيع بمستخلص الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج في التجويف ألخلبي تأثير معنوي في اختزال صبغة NBT اذ بلغت النسبة المئوية للخلايا المكونة للفورمازان (16.33%)مقارنة بالسيطرة (6.67%) .

انخفض وزن كل من الكبد والطحال بدلالة التضخم وبلغت أعلى نسبة انخفاض في وزن الكبد بدلالة التضخم (2.92) عند التمنيع بخلايا الطحال الممنع عن طريق التجويف الخلبي ، وبلغت أعلى نسبة اختزال في وزن الطحال بدلالة التضخم (0.04)عند التمنيع بمستخلص الطور الخضري وخلايا الطحال الممنع عن طريق العضلة والتجويف الخلبي. أظهرت مستضدات مستخلص الطور الخضري والمواد الإفرازية الابرازية للطفيلي تفاعلات جلدية متميزة عند إجراء اختبار فرط الحساسية المتأخرة إذ بلغ معدل سمك طيتي الجلد (6.13 , 7.21)ملم ومساحة المنطقة المتهيجة (41.49 , 46.41) ملم 2 بعد (24-48) ساعة على التوالي في المجموعة المحقونة لمستخلص الطور الخضري في حين بلغ معدل سمك طيتي الجلد (5, 12, 5, 36) ملم ومساحة المنطقة المتهيجة (34.63, 31.63)ملم 2 بعد-48) (24ساعة على التوالي في المجموعة المحقونة بالمواد الإفرازية الابرازية للطفيلي.

بلغت النسبة المئوية لعيوشية الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج في الزجاج في الساعة 204 (9.33، 22.33، 25.67) % على التوالي عند التركيز (0.5، 0.25، 0.125) مل من المصل الممنع .

نستنتج من ذلك ان للتمنيع بمستضدات الاميبا الحالة للنسيج له اثر في التقليل أو الحد من الإصابة بخراج الكبد الأميبي.

The Immunological effects of *Entamoeba histolytica* Antigens in White New Zealand Rabbits

H. Sh. Al- Hayani*, A. B. H. Al- Kubaisi, A. A. Shaker***
*** College of Education for Pure Science\ University of Anbar**
****College of Veterinary Medicine\ University of Anbar**

Abstract

This study was conducted on 40 white New Zealand rabbits by injecting them with different Amoeba trophozoite antigens and the secretary and excretory products.

The immunization with extract of amoebic trophozoite intraperotoneally against amoebic liver abscess gave a high protection (91.63)% as compared to intramuscular (88.43)% or subcutaneous routes (81.49)% respectively while immunization with the secretary and excretory products gave a protection of 54.13% against amoebic liver abscess, while the intramuscular and subcutaneous routes gave a protection of 48.77% and 38.14% respectively.

There was a significant increase in the concentrations of antibodies type IgA , IgG (260 mg/ 100 ml, 1132 mg/ 100ml respectively) while there was no significant effect on the concentrations of antibodies type IgM (250 mg /100 ml).

Results showed that immunization with trophozoite in muscle tissue gave a significant effect in increasing the concentrations of the complement C3 (171 mg/ 100 ml) and C4 (65 mg/ 100ml)

Peritoneal immunizations had significant effects in reducing NBT stain. The percent of the cells forming formazan particles was (16.33) as compared to control group (6.67).

Immunization with trophozoite, secretary excretory products, immunized serum and spleen cells showed a decrease in the liver and spleen weight. The highest decrease in the liver weight reached 2.92 when immunization had occurred with spleen cells intraperotoneally, while the highest reduction in the weight of spleen reached 0.04 when immunized with trophozoite extract and spleen cells through intramuscular and intraperotoneal routes.

The Antigens of trophozoite stage gave a distinguished double–fold skin thickness (7.21, 6.13 mm) and erythema area (41.49, 46.41 mm2) after 24 and 48 hrs respectively. The same was true for secretary and excretory antigens that gave 5.36 , 5.12 mm double skin thickness and 31.34 , 34.63 mm2 for erythema area after 24 and 48 hrs. respectively , when hypersensitivity test was conducted.

The viability percentages at the hour 204 *In vitro* were (9.33 , 22.33 and 25.67) % at the concentrations 0.5, 0.25 and 0.125 ml of immunized serum respectively. Immunized serum had a significant effect on killing *E. histolytica* trophozoite *In vitro* .

It was concluded that immunization with amoebic antigens of *E. histolytica* reduces or limits the infection with amoebic liver abscess.

المقدمة

تعد المتحولة الحالة للنسيج *Entamoeba histolytica* من الطفيليات الابتدائية المعوية Intestinal Protozoan Parasites التي تسبب داء المتحولات Amoebiasis وتأتي بالدرجة الثالثة من الطفيليات التي تسبب الوفيات في العالم بعد البلهارزيا Schistosomiasis والملاريا Malaria وتتضمن المظاهر السريرية لداء المتحولات بتكوين المستعمرات بدون ظهور أعراض Asymptomatic Colonization والتهاب القولون الغشائي الأميبي Colitis وخراج الكبد أو الدماغ الأميبي .Liver or Brain Abscesses ولوحظ ان الاميبا الحالة للنسيج قادرة على اختراق الأنسجة وتحطيمها وهناك عوامل مختلفة تساعدها على الامراضية منها إفراز الأنزيمات ومن أهمها Cystein Proteinase ويعد الإسهال المسبب الرئيس لامراضية وموت الأطفال المصابين بالطفيلي (1، 2).

تزداد الإصابة بالاميبا المخترقة وغير المخترقة للأمعاء في المصابين بالايدز عند الفحص بطريقة Indirect Haemagglutination Assay (IHA) (3). ينتشر داء المتحولات في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية والمناطق الفقيرة ويعد الإنسان الخازن الرئيس للطفيلي وتزداد خطورة الإصابة بداء المتحولات الاميبي في حالة العلاج بمركبات Corticosteroid لدى الأطفال لعدم نضج الجهاز المناعي والنساء الحوامل لضعف الجهاز المناعي خلال فترة الحمل (4).

تحصل الإصابة بالطفيلي نتيجة تناول الطعام والماء الملوث بأكياس الطفيلي من قبل المضيف وبعدها يحصل خروج Excystation الطور الخضري Trophozoite من الأكياس في الأمعاء الدقيقة وينتقل بعدها إلى الأمعاء الغليظة ويخترق الطبقة المخاطية للقولون ويسبب التهاب القولون الغشائي الأميبي وينتقل عن طريق الدورة البوابية الكبدية إلى الكبد ويسبب خراج الكبد الأميبي (5).

يعد الكبد من الأعضاء الرئيسة التي تصاب بالطفيلي وقد يصيب أعضاء أخرى مثل الرئة والجلد والدماغ والتامور ومن أعراض الإصابة بالطفيلي إسهال ومغص وألم بطني وحمى بدرجة واطئة ووجود دم وجراحة في الخروج وان 100% من الأعراض السريرية المتقدمة هي الدزنتري Dysentery والتهاب القولون الغشائي وورم حبيبي أميبي Amoeboma (6). وجد ان هنك عوامل تساعد في زيادة اختراق الطفيلي هي تقلب درجات الحرارة والأغذية الحارة المهيجة وبعض الحالات الالتهابية وكذلك وجد إصابة الثدييات الراقية بالطفيلي مثل الكلاب والقطط وأنواع من القوارض (7)تحفز الاميبا الحالة للنسيج كلا من الاستجابة المناعية الخلوية والخلطية للإنسان وتوصل الباحثون إلى ان الميكانيكية المناعية لا تحد من اختراق الطفيلي ولكن تجهز مناعة ضد تكرار الإصابة وبين الباحثين .ان تكرار الإصابة بعد الشفاء من خراج الكبد الأميبي أو التهاب القولون الغشائي الأميبي يبدوا قليلا جدا إذ وجد ان الاستجابة المناعة الخلوية والخلطية تزداد بعد الشفاء من الإصابة ولوحظ ان اللقاح المعزز يجهز مناعة طبيعية مكتسبة ضد اختراق الطفيلي (8).

بالرغم من الأهمية الصحية لهذا الطفيلي فقد ركز الكثير من الباحثين على دراسة انتشار الطفيلي في مختلف مناطق العراق ولا توجد دراسات كافية في القطر حول إمكانية الحصول على لقاح لمنع الإصابة بهذا الطفيلي لذا كان الهدف من هذه الدراسة هو:

1. تنمية الطفيلي في وسط Semi- solid medium للحصول على مستخلص الطفيلي والمواد الإفرازية الابرازية للطفيلي.

2. استخدام مستخلص الطور الخضري والمواد الإفرازية الابرازية كلقاح في تمنيع الحيوانات عن طريق البريتون وتحت الجلد والعضلة.
3. معرفة استجابة الحيوانات الممنعة عن طريق الكبد ضد الإصابة بالطفيلي مقارنة بالسيطرة.
4. رفع مستوى الأجسام المضادة لتوفير الحماية اللازمة ضد الإصابة.
5. نقل المناعة الخلطية بوساطة المصل الممنع للأرانب.
6. نقل المناعة الخلوية بوساطة خلايا الطحال الممنعة.

المواد وطرائق العمل

- **الحيوانات المستعملة بالتجارب:** استخدمت (40)من الأرانب النيوزلندية البيضاء والتي تم شرائها من معمل أدوية سامراء وبأوزان تراوحت (800 -710) غم وبعمر يتراوح (8 -4) أسابيع إذ وضعت هذه الحيوانات في غرف خاصة وفي أقفاص بلاستيكية معدة لهذا الغرض وتركت هذه الحيوانات في ظروف بيئية ملائمة من حيث درجة الحرارة والإضاءة وتم تزويدها بالعلف والماء يوميا .
- **المصول Sera:**

1. **مصل الحصان:** تم سحب الدم من الوريد العنقي للحصان التابع لكلية الطب البيطري/ جامعة الأنبار ووضع في أنابيب بلاستيكية معقمة ومحكمة الغلق وترك ليتخثر ثم دور بجهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة /دقيقة لمدة (10)دقائق وبعدها اخذ الرائق وترك الراسب ومن ثم وضع المصل في حمام مائي بدرجة (56م لمدة نصف ساعة لقتل المتمم.
2. **مصل الأرانب:** جمعت عينات الدم في أنابيب بلاستيكية معقمة ثم تركت لتتجلط وبعدها دورت في جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/ دقيقة لمدة (9) دقائق استخدم جزء منه في تمنيع الارانب مباشرة واحتفظ بجزء آخر في (-0م من اجل استعماله في قياس تراكيز الأجسام المضادة وا جراء اختبار التنافذ المناعي ومعرفة تأثير المصل الممنع في عيوشيه الاميبا الحالة للنسيج.

- **الوسط الزرعي للاميبا الحالة للنسيج:** حضر الوسط الزرعي حسب طريقة (10).
- **جمع العينات:** تم جمع عينات البراز من الأشخاص الذين تأكد لنا أنهم مصابين بالطور الخضري Trophozoite من الطفيلي إذ أخذت مسحة من البراز وز رعت على الأوساط الزرعية المحضرة.
- **طريقة التمنيع:** تم حقن الأرانب النيوزلندية البيضاء حسب طريقة (11) ثم شرحت جميع الحيوانات بعد (21) يوم من إعطاء جرعة التحدي حيث تم ملاحظة تضخم الكبد ووزنه وعدد الخراجات الموجودة فيها وكذلك تضخم الطحال ووزنه.
- **طريقة حقن المصل الممنع:** تم حقن المصل الممنع في الأرانب حسب طريقة (12) ، وشرحت جميع الحيوانات بعد (21)يوم من إعطاء جرعة التحدي حيث تم ملاحظة تضخم الكبد ووزنه وعدد الخراجات الموجودة فيها وحجمها وكذلك تضخم الطحال ووزنه.
- **طريقة حقن الخلايا اللمفاوية:** تم حقن الحيواناتفي البر يتون بالخلايا اللمفاوية المأخوذة من الدم المحيطي حسب طريقة (13).

- **قياس فاعلية البلعمة:** استعملت طريقة (14) لاكتشاف فاعلية البلعمة.
- **اختبار التنافذ المناعي المزدوج:** تم الاختبار تبعا لطريقة (15) وتم تحضير تخافيف من المصل (1، 5/1، 10/1، 20/1، 40/1). فحصت الأطباق عن وجود خطوط الترسيب Precipitation Line.
- **اختبار فرط الحساسية المتأخرة:** اجري الاختبار حسب طريقة الباحث (16) قسمت الحيوانات إلى ثلاث مجاميع هي:

1. **<u>المجموعة الأولى</u>:** تشمل (3) حيوانات حقنت 0.1 مل من مستخلص الطور الخضري للطفيلي في أدمة الجلد في منطقة الرقبة.
2. **<u>المجموعة الثانية:</u>** تشمل (3) حيوانات حقنت 0.1 مل من السوائل الإفرازية الابرازية للطور الخضري في أدمة الجلد لمنطقة الرقبة.
3. **<u>المجموعة الثالثة:</u>** تشمل (3) سيطرة حقنت بالمحلول الملحي وبنفس المكان والكمية.

- **فحص تركيز الأجسام المضادة:** بعد جمع المصل من الحيوانات الممنعة ومجموعة السيطرة غير المصابة نأخذ 5 مايكروليتر من المصل بواسطة مايكروبايبيت خاصة لهذا الغرض ووضع في حفر الأطباق الخاصة لهذا الغرض Single Radial Immunodiffusion Test Kits وحسب الترقيم المدون على نماذج المصول والأطباق وتركت على طاولة المختبر لمدة 48 ساعة لجميع أنواع الأجسام المضادة Ig والمتمم C3 و C4 عدا IgM فتركت لمدة 72ساعة ثم تم قياس قطر الحلقة بواسطة عدسة عينية خاصة لهذا الغرض وتم التحويل إلى مستوى تركيز الأجسام المضادة بالـ ملغم / 100مل بالرجوع إلى الجداول الخاصة بها .استخدمت أطباق من تصنيع شركة Snafu .
- **دراسة تأثير المصل الممنع على عيوشية الامبيا الحالة للنسيج في الزجاج:** بعد جمع المصل من الأرانب الممنعة بمستخلص الطور الخضري للامبيا الحالة للنسيج في العضلة أخذت منه تراكيز مختلفة هي (0.5، 0.25، 0.125) وأضيفت إلى تراكيز (1.5، 1.75، 1.875) مل على التوالي من مزرعة الطفيلي وتم حساب عيوشية الطور الخضري للطفيلي كل 12 ساعة.

النتائج والمناقشة

- **تأثير التمنيع بالمستضدات المختلفة للامبيا الحالة للنسيج على وزن الكبد والطحال بدلالة التضخم.**

يوضح جدول (1) انخفاض وزن الكبد أو الطحال بدلالة التضخم في مجموعة الأرانب الممنعة بجرعتين من مستخلص الطور الخضري بالعضلة والتي أعطيت جرعة التحدي في الكبد بعد (28) يوم من إعطاء جرعة التمنيع الأولى حيث بلغ وزن الكبد بدلالة التضخم (5.7) في المجموعة الممنعة في حين بلغ وزن الكبد بدلالة التضخم (6.8) في مجموعة السيطرة التابعة لها، وفيما يخص لوزن الطحال بدلالة التضخم فبلغ (0.04) في المجموعة الممنعة مقابل(0.11) في مجموعة السيطرة أما وزن الكبد والطحال بدلالة التضخم في مجموعة الأرانب الممنعة بجرعتين من مستخلص الطور الخضري في التجويف الخلبي والتي أعطيت جرعة التحدي في الكبد بعد (28) يوما من إعطاء جرعة التمنيع الأولى إذ بلغ وزن الكبد بدلالة التضخم(4.39) في المجموعة الممنعة في حين بلغ وزن الكبد بدلالة التضخم في مجموعة السيطرة (6.73) ولوحظ أيضا انخفاض وزن الطحال بدلالة التضخم في مجموعة الحيوانات الممنعة فكان

(0.05)مقابل (0.12) في مجموعة السيطرة ، كان لمستخلص الطور الخضري تأثير على انخفاض وزن الكبد والطحال بدلالة التضخم في مجموعة الأرانب الممنعة بجرعتين من مستخلص الطور الخضري تحت الجلد والتي أعطيت جرعة التحدي في الكبد بعد (28) يوما من إعطاء جرعة التمنيع الأولى إذ بلغ وزن الكبد بدلالة التضخم (5.42)مقابل (6.87) في مجموعة السيطرة، ولوحظ أيضا انخفاض وزن الطحال بدلالة التضخم في المجموعة الممنعة (0.07) مقارنة مع مجموعة السيطرة (0.11).

جدول (1) تأثير التمنيع بالمستضدات المختلفة للاميبا الحالة للنسيج على وزن الكبد والطحال بدلالة التضخم

المجموعة	معدل وزن الأرنب (غم) ± الانحراف المعياري	معدل وزن الكبد (غم) ± الانحراف المعياري	وزن الكبد بدلالة التضخم	معدل وزن الطحال (غم) ± الانحراف المعياري	وزن الطحال بدلالة التضخم
الممنعة بالطور الخضري عن طريق العضلة	1.15±789.33	1.01±45.36	5.7	0.02 ± 0.34	0.04
السيطرة معاملة بالمحلول الملحي	7.07 ±755.00	0.7 ±51.63	6.8	0.04 ± 0.83	0.11
الممنعة بالطور الخضري بالتجويف ألخلبي	6.43 ± 792.67	0.88 ± 34.78	4.39	0.01 ± 0.37	0.05
السيطرة معاملة بالمحلول الملحي	14.14 ± 760.00	1.44 ± 51.14	6.73	0.01 ± 0.91	0.12
الممنعة بالطور الخضري تحت الجلد	2.52 ± 777.67	1.01 ± 42.15	5.42	0.01 ± 0.52	0.07
السيطرة معاملة بالمحلول الملحي	7.07 ± 737.00	0.35 ± 50.5	6.87	0.01 ± 0.78	0.11
لممنعة بالمواد الإفرازية الابرازية في العضلة	10 ± 730	0.99 ± 36.86	5.05	0.01 ± 0.46	0.06
السيطرة معاملة بالمحلول الملحي	14.14 ± 770	0.88 ± 48.88	6.35	0.03 ± 0.73	0.09
لممنعة بالمواد الافرازية الابرازية في الخلب	10.54 ± 751.0	0.99 ± 32.13	4.28	0.01 ± 0.63	0.08
السيطرة معاملة بالمحلول الملحي	3.54 ± 777.5	0.71 ± 47.62	6.12	0.01 ± 0.91	0.12
لممنعة بالمواد الافرازية الابرازية تحت الجلد	15.28 ± 733	1.01 ± 37.42	5.11	0.01 ± 0.49	0.07
السيطرة معاملة بالمحلول الملحي	7.07 ± 785	0.73 ± 52.73	6.72	0.01 ± 0.77	0.11
الممنعة بالمصل الممنع عن طريق الوريد الاذني	4.04 ± 713.67	2.08 ± 25.79	3.61	0.01 ± 0.34	0.05
السيطرة معاملة بالمحلول الملحي	3.54 ± 737.50	2.09 ± 33.73	4.57	0.02 ± 0.74	0.10
الممنعة بخلايا الطحال في التجويف ألخلبي	3.79 ± 727.67	1.01 ± 21.23	2.92	0.01 ± 0.30	0.04
السيطرة معاملة بالمحلول الملحي	12.58 ± 751.67	1.01 ± 36.12	4.81	0.02 ± 0.67	0.09

كان للتمنيع بالمواد الإفرازية الابرازية تأثير على انخفاض وزن الكبد والطحال بدلالة التضخم إذ بلغ وزن الكبد بدلالة التضخم في مجموعة الأرانب الممنعة بجرعتين من المواد الإفرازية الابرازية بالعضلة والتي أعطيت جرعة التحدي

في الكبد بعد (28) يوم في إعطاء جرعة التمنيع الأولى (5.05) مقارنة بمجموعة السيطرة التابعة لها (6.35) أما وزن الطحال بدلالة التضخم فبلغ (0.06) في مجموعة الحيوانات الممنعة مقابل (0.09) في مجموعة السيطرة.

ان التمنيع بجرعتين من المواد الإفرازية الابرازية للطور الخضري للطفيلي في التجويف الخابي دورا في انخفاض وزن الكبد والطحال بدلالة التضخم في مجموعة الأرانب الممنعة مقارنة بالسيطرة اذ بلغ وزن الكبد بدلالة التضخم (4.28)في المجموعة الممنعة مقابل (6.12) في مجموعة السيطرة أما وزن الطحال بدلالة التضخم فبلغ (0.08) في المجموعة الممنعة مقارنة مع وزن الطحال بدلالة التضخم (0.12) في مجموعة السيطرة.

انخفض وزن الكبد والطحال بدلالة التضخم في مجموعة الأرانب الممنعة بجرعتين من المواد الإفرازية الابرازية تحت الجلد والتي أعطيت جرعة التحدي في الكبد بعد (28) يوما من إعطاء جرعة التمنيع الأولى إذ بلغ وزن الكبد بدلالة التضخم (5.11) في المجموعة الممنعة مقابل (6.72) في مجموعة السيطرة أما وزن الطحال بدلالة التضخم فكان (0.07) في مجموعة الحيوانات الممنعة بالمواد الإفرازية الابرازية تحت الجلد مقابل (0.11) في مجموعة السيطرة.

وانخفض أيضا وزن الكبد بدلالة التضخم في مجموعة الأرانب التي حقنت بالمصل الممنع في الوريد الاذني والتي أعطيت جرعة التحدي في الكبد بعد (24) ساعة من التمنيع إذ بلغ وزن الكبد بدلالة التضخم (3.61) في المجموعة الممنعة مقابل (4.57) في مجموعة السيطرة ولوحظ أيضا من النتائج ان التمنيع بالمصل الممنع له تأثير على انخفاض وزن الطحال بدلالة التضخم إذ بلغ وزن الطحال بدلالة التضخم (0.05) في المجموعة الممنعة مقابل (0.10) في مجموعة السيطرة.

انخفض وزن الكبد بدلالة التضخم في مجموعة الحيوانات التي منعت بخلايا طحال أرنب ممنع عن طريق التجويف الخلبي والتي أعطيت جرعة التحدي في الكبد بعد (24) ساعة من التمنيع إذ بلغ وزن الكبد بدلالة التضخم في المجموعة الممنعة (2.92)مقارنة بمجموعة السيطرة المحقونة بمحلول ملحي (4.81) ولوحظ أيضا ان التمنيع بخلايا طحال ممنع له تأثير على انخفاض وزن الطحال بدلالة التضخم إذ بلغ وزن الطحال بدلالة التضخم (0.04) في المجموعة الممنعة مقارنة بمجموعة السيطرة التابعة لها (0.09) .

- **معدل عدد الخراجات والنسبة المئوية للحماية التي توفرها جرعتي التمنيع من مستخلص الطور الخضري والمواد الإفرازية الابرازية للاميبا الحالة للنسيج في العضلة والتجويف الخلبي وتحت الجلد.**

ظهرت نتائج الدراسة ان التمنيع بمستضدات الاميبا الحالة للنسيج وفر حماية ضد الإصابة بخراج الكبد الأميبي عند إعطاء جرعة التحدي في الكبد فنلاحظ ان أعلى نسبة حماية تحققت عند تمنيع الأرانب النيوزلندية البيضاء بجرعتي من مستخلص الطور الخضري المطحون في التجويف الخلبي إذ وفرت نسبة حماية (% 91.63)ضد الإصابة بخراج الكبد الأميبي عند إعطاءها جرعة التحدي في الكبد في حين حصلت للأرانب الممنعة بجرعتين من مستخلص الطور الخضري المطحون في العضلة على نسبة حماية (% 88.43)ضد الإصابة بخراج الكبد الأميبي عند إعطاءها جرعة التحدي في الكبد أما الأرانب الممنعة بجرعتين من مستخلص الطور الخضري المطحون تحت الجلد حصلت على نسبة حماية (% 81.49)ضد الإصابة بخراج الكبد الأميبي عند إعطاءها جرعة التحدي في الكبد.

لوحظ أيضا ان تمنيع الأرانب النيوزلندية البيضاء بجرعتين من المواد الإفرازية الابرازية في التجويف الخلبي وفر نسبة حماية (% 54.13)ضد الإصابة بخراج الكبد الأميبي عند إعطاءها جرعة التحدي في الكبد أما مجموعة الأرانب الممنعة بجرعتين من المواد الإفرازية الابرازية في العضلة فقد حصلت على نسبة حماية

(48.77 %)ضد الإصابة بخراج الكبد الأميبي عند إعطاءها جرعة التحدي في الكبد في حين حصلت الأرانب الممنعة بجرعتين من المواد الإفرازية الابرازية تحت الجلد على نسبة حماية (38.14 %)ضد الإصابة بخراج الكبد الاميبي عند إعطاءها جرعة التحدي في الكبد جدول (2).

جدول (2) معدل عدد الخراجات والنسبة المئوية للحماية في المجاميع الممنعة بمستخلص الطور الخضري والمواد الإفرازية الابرازية للاميبا الحالة للنسيج في العضلة والتجويف الخلبي وتحت الجلد

المستضد المستخدم	طريقة حقن المستضد	معدل عدد الخراجات في المجاميع ±الانحراف المعياري		النسبة المئوية للحماية
		المجموعة الممنعة	مجموعة السيطرة	
مستخلص الطورالخضري للاميبا الحالة للنسيج	العضلة	0.58 ± 1.33	0.71±11.50	88.43 %
	التجويف الخلبي	0.58±0.67	1.41±8.00	91.63 %
	تحت الجلد	0.58±1.67	1.41±9.00	81.49 %
المواد الافرازية الابرازية للطور الخضري للطفيلي	العضلة	1.53±3.33	0.71±6.50	48.77 %
	التجويف الخلبي	1.15±3.67	1.41±8.00	54.13 %
	تحت الجلد	0.58±4.33	1.41±7.00	38.14 %

ان أعلى نسبة اختزال لوزن الطحال بدلالة التضخم حصلت في مجموعة الحيوانات الممنعة بمستخلص الطور الخضري في العضلة وجاءت هذه النتيجة متفقة مع ما ذكره العالمان (17) والذي عزى ذلك إلى ان المستضدات الاميبية ذات الأوزان الجزيئية العالية منعت تكوين خراج الكبد الأميبي في حين ان المستضدات الأميبية ذات الأوزان الجزيئية الواطئة قللت فقط من وزن وحجم خراج الكبد ، ولوحظ ان (INF- α) الذي تفرزه الخلايا العدلة له دور في تثبيط هجرة الخلايا، وان التمنيع بالمستضدات الأميبية يحفز على تولد الأجسام المضادة في المضيف والتي توفر الحماية ضد الإصابة بخراج الكبد الأميبي ويتضح من ذلك ان للمستضدات الأميبية أهمية في توفير الحماية ضد الإصابة القادمة بالطفيلي (18).

تشير الدراسية الحالية ان الحماية التي يوفرها مستخلص الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج ضد الإصابة بخراج الكبد الأميبي أعلى من تلك التي توفرها المواد الإفرازية الابرازية للطفيلي وقد يعزى سبب ذلك إلى ان مستخلص الطور الخضري يحوي بروتينات ذات أوزان جزيئية أعلى مقارنة بالبروتينات الموجودة في المواد الإفرازية الابرازية واتفقت هذه النتيجة مع (19).

يلعب الطحال دورا مهما في الدفاع ضد الإصابة بالاميبا الحالة للنسيج ويعمل على اختزال تكوين خراج الكبد الأميبي ولاحظ ان استئصال عقد لمفاوية أولية أو ثانوية من الحيوانات المختبرية يقلل من مقاومة المضيف للإصابة بالطفيلي. أشار (20) ان الخلايا اللمفاوية والخلايا البريتونية المعزولة من الحيوانات المختبرية الممنعة بالمستضدات الأميبية تمكنت من قتل الطور النشط للاميبا الحالة للنسيج في الزجاج *In vitro* .

ان الخلايا اللمفاوية المعزولة من المرضى المصابين بخراج الكبد الأميبي تكون سامة للطور النشط للاميبا وان هذا التأثير يعود إلى المنتجات الخلوية وعند حضن الخلايا اللمفاوية مع مستضد أميبي تصبح قادرة على قتل الطور النشط للطفيلي، كما لوحظ ان الخلايا اللمفاوية المعزولة من الدم المحيطي للمرضى المصابين بخراج الكبد الأميبي تحفز التحول اللمفاوي عند معاملتها بمستخلص الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج في حين لم تستجب الخلايا اللمفاوية المعزولة من أشخاص غير مصابين(21).

- **تأثير التمنيع بمستخلص الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج على اختزال صبغة (NBT).**

أظهرت النتائج ان تمنيع الأرانب النيوزلندية البيضاء بجرعتين من مستخلص الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج في التجويف الخلبي له تأثير معنوي على اختزال صبغة (NBT) مقارنة بمجموعة السيطرة غير الممنعة (الطبيعية) إذ بلغ معدل النسبة المئوية لخلايا اعدلة الملتهمة لحبيبات الفورمازان Formazan (16.33 ±1.52) في المجموعة الممنعة في حين بلغ معدل النسبة المئوية للخلايا العدلة الملتهمة لحبيبات الفورمازان (6.67±1.15)في مجموعة السيطرة غير الممنعة (الطبيعية).

ان قدرة المستضدات على تحفيز الاستجابة المناعية للكائن الحي تعتمد على عدة عوامل منها التركيز البروتيني للمستضد وعلى طبيعة ونوع المستضد وعلى مدى اختلاف جزيئات المستضد عن الكائن الحي (كونه جسم غريب) واختلاف حجم جزيئات المستضد ونمط ارتباطها وتركيبها الكيمياوي وطريقة إعطاء المستضد وكمية الجرعة المستخدمة، ا ن التمنيع المباشر بالمستضدات يحفز استجابة مناعية أولية وان إعطاء جرعة ثانية من المستضد يحفز الجهاز المناعي بصورة أعلى وأكفأ من التعرض الأول وهذا التغير يعزى إلى وجود خلايا الذاكرة وان التمنيع الفاعل بالمستضدات يعطي مقاومة طويلة الأمد اعتمادا على قدرة خلايا الذاكرة للاستجابة السريعة عند التعرض اللاحق للمستضد (22).

وجد بعض الباحثين ان تنشيط الخلايا البلعمية بالمستضد الأميبي يحفزها على إنتاج العديد من الوسائط الخلوية من بينها الانترلوكين (IL-2) الذي يحفز بدوره الخلايا اللمفاوية التائية المساعدة (Th) على إفراز عامل تثبيط الهجرة (MIF)الذي له القدرة على الارتباط بالشحوم السكرية Glycolipids الموجودة على سطح الخلايا البلعمية ومنع هجرتها بعيدا عن موقع الإصابة ويمكن ان يكون مصدر (MIF) ناتج عن استجابة الخلايا التائية للمستضدات الأخرى (23). وتشير نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود فروق معنوية تحت مستوى ($P<0.05$) بين المجموعة الممنعة ومجموعة السيطرة.

- **تفاعل التنافذ المناعي المزدوج.**

بينت تفاعلات التنافذ المزدوج بين المصول التي جمعت من الأرانب الممنعة بجرعتي تمنيع من مستخلص الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج في العضلة ثم أعطيت جرعة التحدي في الكبد بعد (28) يوما من إعطاء جرعة التمنيع الأولى ومستضدات مستخلص الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج والمواد الإفرازية الابرازية للطور الخضري يلاحظ تكون خط واحد من الراسب بين مستضدات المواد الإفرازية الابرازية للطفيلي وتراكيز المصول 1، 5 /1 فقط في حين لم يلاحظ تكون خطوط الترسيب بين مستضدات مستخلص الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج والمصول.

أما نتائج اختبار التنافذ المناعي فقد أظهرت النتائج تكون خطوط الترسيب بين مستضد المواد الإفرازية الابرازية وتراكيز المصل الممنع (1 ،5/1) مل في حين لم يلاحظ ظهور خطوط الترسيب بين مستخلص الطور الخضري

والمصل الممنع وربما يرجع سبب حدوث التفاعل بين المصل الممنع والمواد الإفرازية الابرازية للطفيلي إلى طبيعة البروتينات المكونة لهذه المواد والتي تختلف عن مستخلص الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج والتي تمتاز بصغر وزنها الجزيئي مقارنة بالوزن الجزيئي لمستخلص الطور الخضري لهذا لم يحدث تفاعل بين مستخلص الطور الخضري والمصل الممنع وهذا يتفق مع ما توصل إليه الباحثان (17).

- **تأثير التمنيع بجرعتين من مستخلص الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج بالعضلة على معدل تركيز الأجسام المضادة نوع IgA، IgG ، IgM في مصل الأرانب.**

أظهرت نتائج الدراسة ارتفاع معنوي في معدل تركيز الأجسام المضادة نوع IgA ، IgG في مصل الأرانب الممنعة بجرعتين من مستخلص الطور الخضري في العضلة والتي أعطيت جرعة التحدي في الكبد بعد (28) يوما من التمنيع إذ بلغ معدل تركيز الأجسام المضادة نوع IgA (260 ملغم 100 /مل) في المجموعة الممنعة مقارنة بمجموعة السيطرة التابعة لها (145ملغم 100 /مل) ، بلغ معدل تركيز الأجسام المضادة نوع IgG 1132 ملغم 100 / مل في المجموعة الممنعة مقابل (550 ملغم 100 /مل) في مجموعة السيطرة التابعة لها كما أظهرت النتائج ان معدل تركيز الأجسام المضادة نوع IgM لم يرتفع معنويا في المجموعة الممنعة مقارنة بالسيطرة التابعة لها إذ بلغ معدل تركيز الأجسام المضادة IgM (250.0 ملغم100/مل) في المجموعة الممنعة مقابل (241.5ملغم 100 /مل) في مجموعة السيطرة،و وجد ان الأجسام المضادة للبروتينات الأميبية نوع IgG ، IgA موجودة في مصول المصابين بالتهاب القولون الغشائي وغالبية المصابين الذين لا تظهر عليهم الأعراض المرضية(20) .

- **تأثير التمنيع بجرعتين من مستخلص الطور الخضري بالعضلة على تركيز المتممين نوع C3، C4 ملغم / 100مل.**

أظهرت نتائج الدراسة ارتفاع معنوي في معدل تركيزي المتممين C3، C4 في مجموعة الحيوانات الممنعة بجرعتين من مستخلص الطور الخضري بالعضلة والتي أعطيت جرعة التحدي في الكبد بعد (28) يوما من التمنيع إذ بلغ معدل تركيز المتمم C3 (171 ملغم 100 /مل) في المجموعة الممنعة في حين بلغ معدل تركيز المتمم C3 (126 ملغم 100 /مل) في مجموعة السيطرة غير الممنعة أما معدل تركيز المتمم C4 فبلغ (65 ملغم100 /مل) في المجموعة الممنعة مقارنة بمجموعة السيطرة الذي بلغ فيها معدل تركيز المتمم (14 ملغم100/مل).

وعزى بعض الباحثين ارتفاع مستوى المتمم C3 ربما يعود إلى الإنزيم الأميبي 56-KDa Neutral Cysteine Proteinase الذي يحفز نظام المتمم على إنتاج C3 (24) .

ان إنزيم Cystein Protinase التابع للاميبا الحالة للنسيج يحفز انقسام مركبات المتممات C3، C4 وتعمل بروتينات المتممات معا على تحفيز الخلايا الالتهابية وتحطيم الطفيلي بواسطة تحسين فاعلية البلعمة Opsonizing وتمزق الغشاء البلازمي وتسبب موت الطفيلي وتخلص الجسم من معقدات الأجسام المضادة والمستضدات Neutralized Antigen Antibody Complex (25) .

- **اختبار فرط الحساسية المتأخرة (DTH).**

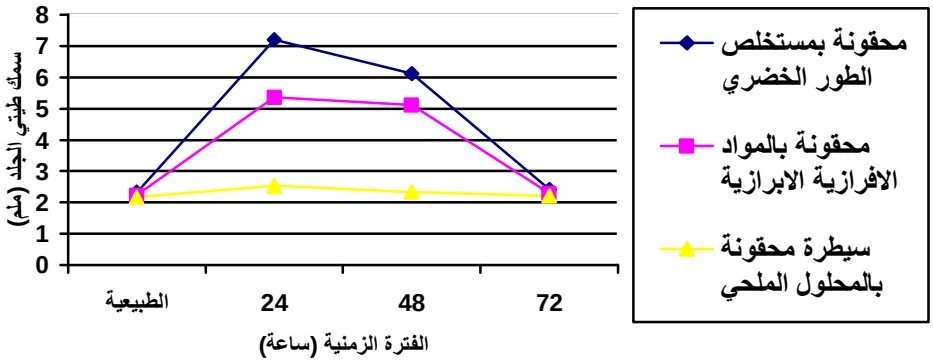
أشارت نتائج لدراسة إلى حدوث تفاعلات جلدية متميزة في كل من مجموعة الحيوانات المحقونة (0.1) مل من مستخلص الطور الخضري والمواد الإفرازية الابرازية مقارنة بمجموعة السيطرة المحقونة بالمحلول الملحي التي لم تظهر تفاعلات جلدية مؤثرة حيث بلغ سمك طيتي الجلد (7.21 ، 6.13 ملم) بعد (24 ، 48) ساعة من الحقن في مجموعة

الحيوانات المحقونة بمستخلص الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج في منطقة الرقبة وبلغت مساحة المنطقة المتهيجة (41.49 ،46.41) ملم2 بعد(24 ، 48 ساعة) من الحقن في نفس المجموعة أما المجموعة المحقونة بالمواد الإفرازية الابرازية فكان سمك طبقتي الجلد(5.36، 5.12) ملم وبلغت مساحة المنطقة المتهجية (31.34 ، 34.63)ملم 2 بعد (24 ، 48) ساعة من الحقن بالمستضدات المختلفة (جدول 3) وشكل (1،2).

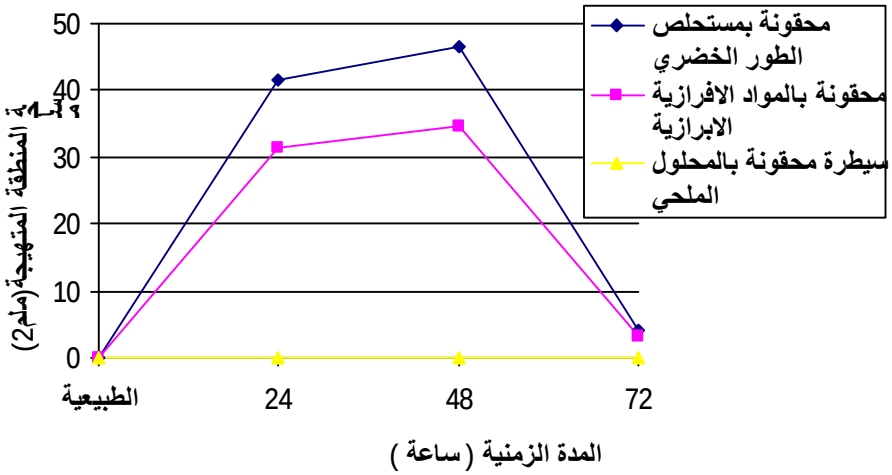
جدول (3) اختبار فرط الحساسية المتأخرة بعد فترات زمنية من الحقن بالمستضدات المختلفة

المادة المستضدية المحقونة	سمك طيتي الجلد (ملم)	بعد 24 ساعة		بعد 48 ساعة		بعد 72 ساعة	
		سمك طيتي الجلد (ملم)	مساحة المنطقة المتهيجة ($ملم^2$)	سمك طيتي الجلد (ملم)	مساحة المنطقة المتهيجة ($ملم^2$)	سمك طيتي الجلد (ملم)	مساحة المنطقة المتهيجة ($ملم^2$)
المجموعة الأولى مستخلص الطور الخضري	2.32 ± 0.17	7.21 ± A0.08 a	41.49 ± A0.99 a	6.13 ± A0.02 b	46.41 ± A0.85 b	2.41 ± A0.01 c	4.03 ± A0.5 c
المجموعة الثانية المواد الإفرازي الابرازي للطور الخضري	2.23 ± 0.02	5.36 ± 0.04B a	31.34 ± 1.07B a	5.12 ± 0.03B b	34.63 ± 0.57B b	2.28 ± 0.03B c	3.20 ± 0.05B c
المجموعة الثالثة السيطرة	2.17 ± 0.05	2.53 ± 0.02	صفر	2.33 ± 0.02	صفر	2.21 ± 0.06	صفر

- المعدلات ± الانحراف المعياري.
- تشير الحروف الكبيرة إلى وجود فروق معنوية بين المجاميع المختلفة.
- تشير الحروف الصغيرة إلى وجود فروق معنوية بين المدد الزمنية المختلفة.



شكل (1) يبين سمك طيتي الجلد (ملم) ولمدد زمنية مختلفة من الحقن بمستضدات الاميبا الحالة للنسيج المختلفة



شكل (2) يبين مساحة المنطقة المتهيجة (ملم2) ولمدد زمنية من الحقن بمستضدات الاميبا الحالة للنسيج المختلفة

تعد تفاعلات فرط الحساسية المتأخرة دليلا على وجود استجابة مناعية خلوية أي إنها ليست ناتجة عن الأجسام المضادة (26) ، وان الخلايا المسؤولة عن هذه الاستجابة تمثل الخلايا (CD4 T Cells) التي تدعى بخلايا (TDTH) من خلال إنتاجها السايتوكاينات التي تؤثر في تعزيز فعالية خلايا البلعم الكبير، وأضاف آخرون إلى ان نوع المستضد المحقون وصفته المستضدية هما اللذان يحفزان تكوين الأنواع المتخصصة من الخلايا الخاصة بالجهاز المناعي والتي لها القدرة على إحداث الاستجابة المناعية وتتمثل هذه الخلايا بالخلايا التائية التي ترتبط بمواقع معينة epitopesعلى المستضد الداخل محررة بذلك اللمفوكاينات والتي تعمل على إحداث تفاعلات معينة قد تؤدي إلى تنشيط وجذب خلايا البلعم الكبير الذي بدوره ينتج وسائط التهابية تسبب تهيجات نسيجية أخرى حول منطقة الحقن (22).

- **تأثير إضافة تراكيز مختلفة من المصل الممنع على عيوشية الاميبا الحالة للنسيج في الزجاج.**

أظهرت النتائج ان للمصل الممنع تأثير معنوي على عيوشية الاميبا الحالة للنسيج في الزجاج حيث نلاحظ ان النسبة المئوية لعيوشية الطور الخضري بلغت في الساعة 12 (68.00 ، 73.00، 77.33 %) عند استخدام التراكيز(0.5،0.25 ، 0.125) مل من المصل الممنع مقابل (79.67، 78.67، 79.33 %) في مجموعة السيطرة واستمر الانخفاض التدريجي في النسبة المئوية لعيوشية الطور الخضري للطفيلي الى ان وصل في الساعة (39.00 (72) ، 53.67 ، 64.00 %) على التوالي عند تركيز (0.5 ، 0.25 ، 0.125) مل من المصل الممنع مقابل (68.33، 74.00 ، 72.33 %) على التوالي في مجموعة السيطرة وبينت النتائج ان تركيز (0.5) مل من المصل الممنع أعطى أعلى تأثير في قتل الطور الخضري في الزجاج خلال فترة (48-204) ، كما نلاحظ ان النسبة المئوية لعيوشية الطور الخضري في الساعة (156) كانت (19.00 ، 30.67، 38.33 %) على التوالي عند تركيز (0.5 ، 0.25 ، 0.125) مل من المصل الممنع واستمر تأثير المصل الممنع في قتل الطور الخضري في الزجاج إلى ان وصل في الساعة(204) (9.33 ، 22.33 ، 25.67 %) على التوالي عند تركيز(0.5، 0.25 ، 0.125) مل من المصل الممنع مقابل (47.00 ، 55.33 ، 59.33 %) في مجموعة السيطرة .

ويلاحظ من الجدول (4) ان للمصل الممنع تأثير معنوي في قتل الاميبا الحالة للنسيج في الزجاج ولكل الأوقات

مقارنة بالسيطرة وأظهرت النتائج ان هناك فروق معنوية تحت مستوى احتمالية ($P<0.05$)بين التراكيز المختلفة من المصل الممنع وأيضا بين المدد الزمنية المختلفة.

جدول (4) تأثير تراكيز من المصل الممنع على عيوشية الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج في الزجاج

الوقت ساعة	النسبة المئوية لعيوشية الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج في تركيز (0.5)مل من المصل الممنع ±الانحراف المعياري		النسبة المئوية لعيوشية الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج في تركيز (0.25)مل من المصل الممنع ±الانحراف المعياري		النسبة المئوية لعيوشية الطور الخضري للاميبا الحالة للنسيج في تركيز (0.125)مل من المصل الممنع ±الانحراف المعياري	
	ممنع	سيطرة	ممنع	سيطرة	ممنع	سيطرة
0	4 ± 80	1 ± 80	2 ± 80	1 ± 80	1 ± 80	1 ± 80
12	2 ± 68.00	0.58 ± 79.67	1.72 ± 73.00	1.53 ± 78.67	0.58 ± 77.33	0.58 ± 79.33
24	3.61± 54.00	1.53 ± 76.33	1.53 ± 64.33	1.53 ± 77.67	1.53 ± 74.67	0.58 ± 78.67
36	0.58 ± 50.67	1.53 ± 73.33	0.58 ± 62.67	1.15 ± 76.33	0.58 ± 72.67	1 ± 78.00
48	1.53 ± 47.67	2 ± 70.00	1.15 ± 60.67	1 ± 76.00	0.58 ± 69.33	0.58 ± 74.33
60	2.86 ± 41.67	2.08 ± 69.67	1.73 ± 56.00	2 ± 75.00	1.73 ± 68.00	1 ± 74.00
72	1 ± 39.00	1.53 ± 68.33	2.08 ± 53.67	2 ± 74.00	1.73 ± 64.00	1.53 ± 72.33
84	1.73 ± 33.00	2.89 ± 66.67	0.58 ± 49.33	0.58 ± 70.33	0.58 ± 61.67	1.53 ± 72.33
96	1 ± 31.00	0.58 ± 65.33	1.15 ± 47.67	1 ± 69.00	1 ± 58.00	0.58 ± 70.33
108	0.58 ± 27.67	1 ± 61.00	0.58 ± 42.33	0.58 ± 68.33	1.15 ± 55.67	0.58 ± 68.33
120	3.61 ± 27.00	0.58 ± 59.67	2.52 ± 39.33	2.08 ± 67.67	0.58 ± 50.33	0.58 ± 67.33
132	4 ± 25.00	1.53 ± 57.33	1.53 ± 37.67	0.58 ± 66.33	1 ± 46.00	1.53 ± 66.33
144	2.52 ± 22.33	5 ± 55.00	1.73 ± 33.00	0.58 ± 65.67	1.15 ± 40.67	0.58 ± 64.67
156	3 ± 19.00	5 ± 53.00	1.15 ± 30.67	0.58 ± 64.67	0.58 ± 38.33	0.58 ± 62.67
168	3.21 ± 16.67	1 ± 52.00	2.65 ± 28.00	1.53 ± 63.33	1.15 ±30.67	0.58 ± 61.67
180	5.03 ± 14.67	0.58 ± 50.33	5.15 ± 25.67	1.15 ± 60.67	1.15 ± 29.33	1 ± 61.00
192	2.08 ± 12.33	1.53 ± 48.67	1.53 ± 24.67	1.15 ± 58.67	0.58 ± 29.33	0.58 ± 60.67
204	0.58 ± 9.33	1 ± 47.00	0.58 ± 22.33	5.03 ± 55.33	0.58 ± 25.67	0.58 ± 59.33

المصادر

1. Ocadiz, R.; Orozco, E.; Carrillo, E.; Quintas, L.; Ortega- Lopez, J. & Garcia- Perez, R. (2005). Ehcp112 is an *Entamoeba histolytica* secreted cystein proteinase that maybe involved in the parasite. virulence. Cell Microbiol., 7: 221- 232.
2. Haque, R.; Mondal, D.; Duggal, P.; Kabir, M.; Roy, J.; Farr, B. M.; Sack, R. B.; & Petri, W. A. J. R. (2006). *Entamoeba histolytica* infection in children and protection from subsequent amoebiasis. Infect. Immun., 74 (2): 904- 909.
3. Kosek, M.; Bern, C. & Gurrant, R. L. (2003). The global burden of diarrheal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. Bull. W. H. O., 81: 197- 204.
4. Haque, R.; Huston, C. D.; Hughes, M.; Houpt, E. & Petri, W. A. J. R. (2003). Current concepts: Amoebiasis. N. Engl. J. Med., 348: 1565- 1573.
5. Barnel, C. M.; Kirschning, C. J.; Rosenistein, Y.; Rocha, L. M. & Rois- Sarabia, N. (2005). The innate Immune response to *Entamoeba histolytica* lipopeptido

phodphoglycan is mediated by toll- like receptors 2 and 4. Parasite. Immuno., 27(4):127- 137.
6. Murray, P. R.; Baron, G. J.; Pfaller, M. A.; Tenover, F. C. & Yolken, R. H. (1999). Manual of clinical microbiology 7th ed., Massachusetts Arenue. N. w. American society for microbiology, Washington. P: 1390- 1396.
7. Marquardt, W. C.; Demaree, R. S. & Grieve, R. B. (2000). Parasitology and Vector Biology. Second ed., Academic press. Harcourt Science and Technology Comp. Sandego. Cali, U.S.A.,P. 101- 110.
8. Abd- Alla, M. D.; Terry, F. G. H.; Tyson, R.; Selvan, R. & Ravdin, J. I. (2006). Mucosal Immunity to Asymptomatic *Entamoeba histolytico* and *Entamoeba dispar* infection is associated with a peak intestinal Anti- lectin Immunoglobulin A Antibody response. Infect. Immunity., 74 (7): 3897- 3903.
9. Metcalf, J.; Gallin, J.; Nauseef, W. & Root, A. (1986). Transduction mechanisms receptor expression in laboratory manual of neutrophil function Raven press. New York. P. 78- 79.
10. Allen, J. W.; Shuller, C.f.; Mendes, R. W. & Latt, S. A. (1977). A simplified technique for in vitro analysis of sister chromatid exchange using 5 bromodeoxy- uridinc tables. Cytogen.,18: 231.
11. Alder, S. & Foner, A. (1941). Culture of intestinal protozoa. Lancet., 240: 243- 244. (Cited by Taylor, A. E. R. & Baker, J. R. The cultivation of parasite in vitro Blackwell scientific publications oxford and Edinburgh.
12. Dodson, J. M.; Lenkowski, P. W. J. R. & Eubanks, A. C. (1999). Role of the *Entamoeba histolytica* adhesion carbohydrate recognition domain of the *Entamoeba histolytica* Gal/ Gal NAc lectin. J. Infect. Dis., 179: 460- 466.
13. Al- Gumaily, S. K. (1990). Study of the efficiency of vaccination with different antigen from *Toxocara cati, Toxascaris Ieonina*. M.Sc. Thesis College Sciences, University of Baghdad.
14. Khalifa, K. A.; Rhida, Y. R.; Hassan, F. K. & Al- Razak, A. A. (1984). The use of nitroblue tetrazolium test for detection of phagocytic activity in adult rats infected with bacteria. Indian J. Comp. Microbial. Immunol., Infect. Dis., 5 (3): 103- 106.
15. Ouchterlony, O. (1958). Hand book of experimental Immunology. 2nd (ed), Chapter 19. Blackmell. Scientific Publication, Oxford. (Cited by Ouchterlony, O. & Nilsson, D. M., 1973).
16. Bacharach, G.; Banai, M.; Bardenstein, S.; Hoida, G.; Genizi, A. & Brecovier, H. (1994). The bearing of delayed- type hypersensitivity in brucella melitensis-sensitizes Guinea pigs. Infect. Immun., 62 (12): 5361- 5366.
17. Ghadirian, E. & Meerovitch, E. (1980).Protection against amoebic liver abscess in hamsters by means of Immunization with amoebic antigen and some of its fractions. Am. J. Trop. Med. Hyg., 29 (5): 779- 784.
18. Houpt, E.; Barroso, L.; Lockhart, L.; Wright, R.; Cramer, C.; Lyerly, D. & Petri, W. A. (2004). Prevention amoebiasis by vaccination with the *Entamoeba histolytica* Gal/ Gal Nac lectin. Vaccine., 22: 611: 617.
19. Jain, P.; Sawhney, S. & Vinayak, V. K. (1980). Experimental amoebic infection in Guinea- Pigs immunized with low grade amoebic infection trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 74: 347.
20. Ravdin, J. I. (1995). Amoebiasis. Clin. Infect. Dis., 20: 1453- 1466.

21. Bliss, S. K.; Gavirlescu, L.C.; Alcaraz, A. & Denkers, E. Y. (2001). Neutrophil depletion during *Toxoplasma gondii* infection leads to impaired immunity and lethal systemic pathology. Infect. Immun., 69: 4898- 4905.
22. Al- Hayani, H. Sh. A. (2003). Immunization of Newzealand Rabbits and calves with tick antigens. Ph.D. Thesis.
23. Kuby, J. (1994). Immunology. 2nd ed., W. H. Freeman and Company. New York. P. 245.
24. Lopez- Melendez, S. G.; Ken, H.; Youngchool, C.; Choles, C. & Elisabeth, H. (2007). Use of recombinant *Entamoeba histolytica* cystein proteinase 1 to identify a potent inhibitor of Amoebic invasive in a human colonic model. Eukaryotic Cell., 6 (7): 1130- 1136.
25. Janeway, C. A. J. R. (2005). Immunobiology: 6th ed., Garland Science. ISBNO-443-07310-4.
26. Roitt, I. M.; Brostoff & Male, (2001). Immunology,6th ed.,Mosby,P.1- 16.