

## تحسين الاستجابة المناعية ضد الإصابة بداء الجيارديا في ذكور الجرذان البيض باستخدام الأمواج فوق الصوتية

أسماء عبد العزيز علي\*  
هبة محمود خضر  
قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة الموصل  
\* E-mail: assssali@uomosul.edu.iq

(أستلم 2018/ 6 /20 ؛ نُبل 2018/ 11 / 1)

### الملخص

تناولت الدراسة الحالية تحديد تأثير الموجات فوق الصوتية، بوصفها محفزاً للمناعة، ضد الإصابة بداء الجيارديا Giardiasis المتسبب عن طفيلي *Giardia lamblia* في الجرذان النرويجية *Rattus norvegicus*. وتمت متابعة التغيرات المرضية في الجرذان المجرعة فموياً بأكياس الجيارديا لامبليا المعرضة لفترات زمنية مختلفة، 60 ثانية، 150 ثانية، 210 ثانية و 240 ثانية، على التوالي، ويتردد ثابت لكل المعاملات بلغ 20000 نبضة الثانية (1.8 w/cm<sup>2</sup>) مقارنة بمجموعة السيطرة (الجرذان المجرعة فموياً بأكياس الجيارديا غير المعرضة للموجات فوق الصوتية) طيلة فترة التجربة، اعتماداً على معايير عديدة تضمنت التغيرات الحاصلة في التعداد الكلي والتفاضلي لخلايا الدم البيض، والاستجابة المناعية الخلوية المتمثلة باختبار فرط الحساسية المتأخر. وقد اظهرت نتائج الدراسة ارتفاعاً معنوياً ( $p \leq 0.01$ ) في معدل التعداد الكلي لخلايا الدم البيض بلغ أقصاه 10600 خلية/سم<sup>3</sup> في الفترة 210 ثانية، ومن خلال ارتفاع اعداد الخلايا للمفاوية، والتفاوت في اعداد الخلايا الوحيدة في الحيوانات المعاملة، كما حصلت زيادة معنوية ( $p \leq 0.01$ ) في الاستجابة المناعية الخلوية متمثلة بارتفاع معدلات سمك وسادة القدم (الانتفاخ)، بلغ أقصاه 1.75 ملم في الفترة 240 ثانية بعد مرور 3 ساعات من الحقن، ورافقه أيضاً زيادة في الحيوانات المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة (0.225 ملم).

الكلمات الدالة: *Giardia lamblia*، الامواج فوق الصوتية، الاستجابة المناعية.

## Immune Response Improvement Against Giardiasis in Male Albino Rats by Using Ultrasound

Asmaa A. Aziz Ali

Hiba M. Khethr

Department of Biology/ College of Education for Pure Sciences/University of Mosul

### ABSTRACT

The present study investigated the effect of the direct ultrasonic waves, as an immune stimulator, against infection with giardiasis caused by *Giardia lamblia* in Norwegian rats *Rattus norvegicus*. The pathological changes occurred in the rats administered orally with the cysts of *G. lamblia*, exposed to different durations of ultrasonic waves 60 seconds, 150s, 210s and 240s, respectively, with constant frequency 20.000 pulse\second(1.8w/cm<sup>2</sup>) were followed in comparison with the control group (rats administered orally with the cysts of *G. lamblia*, without exposure to the ultrasonic waves), along the experiments period, depending on many criteria, included the changes in the total and differential count of leukocytes (WBCs), and specific (cellular) immunity, represented by skin- delayed type hypersensitivity test. The results of the present study revealed a significant increase ( $p \leq 0.01$ ) in the total count of leukocytes, the maximum count was 10600

cell/cm<sup>3</sup> at duration 210s, expressed by increase in lymphocytes, variation in monocytes numbers in treated animals. A significant increase ( $p \leq 0.01$ ) in the cellular immunity, represented by elevation in the rates of foot pad thickness (swelling), the maximum thickness was 1.75mm at duration 240s in treated animals, in comparison with control group (0.225 mm).

**Keywords:** *Giardia lamblia* , Ultrasonic waves, Immune stimulator

### المقدمة

يعد طفيلي الجيارديا *Giardia lamblia* من الابتدائيات المعوية، التي تصيب الأمعاء الدقيقة للحيوانات الفقرية، البرمائيات، الزواحف، الطيور واللبائن ومن ضمنها الإنسان، وهو واسع الانتشار في البلدان المتطورة والنامية، وتتحقق الإصابة بداء الجيارديا بعوامل عدة مثل العمر والظروف البيئية و الظروف الاجتماعية والاقتصادية و المهنة و الحالة الغذائية والدالة الحامضية pH (تفضل المعتدلة) وحالة المضيف المناعية (Aycan-Kaya et al., 2012; Kamda et al., 2012; Samn et al., 2012; Omarova et al., 2018).

وتتضمن أفراد مجموعة *G. duodenalis* او ما يسمى بـ *Giardia intestinalis* معقداً من الأنواع مع القليل من الاختلافات الشكلية بينها. وينقسم طفيلي الجيارديا الى ثماني مجاميع وراثية متميزة (A,B,C,D,E,F,G,H) (Caccio and Ryan, 2008; Monis et al., 2009, Cotton et al., 2014; Turki et al., 2015) تصيبان الانسان هما A و B (Buret, 2008). يشكل طفيلي الجيارديا المسبب الشائع للإسهال الشحمي Steatorrhea ويؤدي الى حالات إمرضية ووفيات عالية (Carmena, 2010; Ringqvista et al., 2011) ويؤدي ايضاً الى تأخر النمو في الأطفال (مثل) (Kamda et al., 2012; Beatty et al., 2014; Yousaf et al., 2018). وعادة ما يكون الأشخاص المثبطون مناعياً (مثل الأطفال، المسنون، مرضى الايدز و السرطان)، والاشخاص الذين يعانون من نقص في الكلوبولينات المناعية hypogammaglobulinemic اكثر عرضة للإصابة بالجيارديا (Carmena, 2010; Inabo et al., 2012; Zhang et al., 2016).

ولازالت ميكانيكية الإمرضية لهذا الطفيلي و استجابة المضيف للإصابة مبهمة، لكن الدراسات الحديثة تقترح بأن الأطوار المتغذية للطفيل، تعد عملية فسلجية مرضية متعددة العوامل تتضمن تحطيم الحافة الفرشائية Brush Border للأمعاء والطبقة المخاطية، حث الاستجابات المناعية والالتهابية للمضيف وتحطيم وظيفة البنكرياس وتبدل الفلورا الموجودة في الاثني عشري (Beatty et al., 2014; Bhargava et al., 2014; Cotton et al., 2014; Gerbaba et al., 2014).

و يعد هيدروكلوريد الكيناكرين العلاج المفضل لداء الجيارديا وكثيراً ما يحصل دوار وصداع وقيء بفعل هذا الدواء، وقد يؤدي احياناً الى ذهان سمي واعتلال دموي شرى والتهاب جلدي، تلون الجلد بالاصفر وتصبغ الاظفار باللون الازرق والأسود، لذلك تعد مشتقات Nitroimidazole التي تتضمن (Ornidazole, Tinidazole, Metronidazole) العلاج البديل وجميعها تثبط بناء الحامض النووي الرايبوزي المنقوص الاوكسجين DNA، ولكن سجل عدد من التأثيرات الجانبية الحادة له مثل التهاب البنكرياس وتسمم الجهاز العصبي المركزي فضلاً عن كونه من المركبات المسرطنة. واستعمل الـ Benzimidazole الذي يتضمن Albendazol وMebendazol لعلاج داء الجيارديا مع نسب نجاح تتراوح بين (62 - 95%)، فضلاً عن أدوية آخر مثل Quinacrine, Furazolidone, Paromomycin (Carmena, 2010).

واتجه الباحثون إلى ايجاد وسائل بديلة لمكافحة الجيارديا منها التيار الكهربائي، إذ هدف الباحثون Poorsaadat et al. (2004) إلى تحديد تأثير التيار الكهربائي المباشر Direct electricity current في تطهير الماء الجاري (ماء الحنفية) من طفيل *G. lambi*، وأظهرت النتائج التي توصل اليها Ahmad (2013) أن التيار الكهربائي ساعد على تقليل اختزال مدة بقاء

الطفل في جسم المضيف وقل من طرح الطور المتكيس في الجرذان النرويجية بمستوى معنوي عال، وتبين ان عدداً من سلالات بكتريا *Lactobacillus* (Probiotics) لها تأثير تثبيطي قوي على *G.intestinalis* خارج الجسم، ان بكتريا Probiotics تمنح علاجاً سائداً بديلاً للإصابات المعدية المعوية بواسطة عملها كفلورا طبيعية دقيقة بواسطة ميكانيكيات مثل انتاج المواد المضادة للمكروبات وتثبيط انتاج السموم وتثبيط دخول المكروبات إلى داخل الخلية وتحفيز الاستجابة المناعية والمناعة الجهازية والمخاطية ضد داء الجيارديا في مختلف نماذج الحيوانات مثل (الكلاب و القوارض) (Simpson et al., 2009; Shukla et al., 2010).

واتجه الباحثون في السنوات الأخيرة إلى تطبيق تقنية الموجات فوق الصوتية ultrasonic waves كطريقة حرارية، غير اختراقية لاستئصال الأنسجة ولمعالجة الأمراض المختلفة التي تضم التليف تحت المخاطي Submucosal Fibroid (Wang et al., 2012) وسرطان الخلايا الكبدية Hepatic Cellular Carcinoma (Cheung et al., 2012) والسرطان الغدي البروستاتي Prostate Adeno Carcinoma (NICE, 2012; Liu et al., 2013) وتليف الرحم Uterine Fibrosis، سرطان البنكرياس Pancreatic Carcinoma وسرطان الثدي Breast Carcinoma وسرطان الغدد اللمفاوية المنتشر Lymph Node Metastasis وسرطان العظام الخبيث المنتشر Malignant Osteo Carcinoma وسرطان الأنسجة الرابطة والعضلية Sarcoma، سرطان الكلى Renal Carcinoma وأورام الغدد الصم العصبية Neuroendocrine Tumors (Al- Bataineh et al., 2012; NICE, 2012). وقد طبقت تقنية الموجات فوق الصوتية أيضاً لمعالجة الأمراض البكتيرية (Monisn et al., 2009) والأمراض الطفيلية مثل داء الأكياس العدرية Hydatid disease (Cai et al., 2013; Hydatid disease) (liu et al., 2013; Zhang et al., 2013) وأكياس الجيارديا خارج الجسم (Al-Sabi et al., 2011).

نظراً للأعراض الجانبية الكثيرة التي تسببها الأدوية المستعملة في علاج الجيارديا، لذا هدفت الدراسة الحالية الى استعمال الموجات فوق الصوتية في معالجة الإصابة بداء الجيارديا في الجرذان النرويجية ودراسة تأثيرها في المناعة الخلوية فيها من خلال تأثير الموجات فوق الصوتية في التعداد الكلي والتفاضلي لخلايا الدم البيض وفي المناعة الخلوية المتمثلة باختبار فرط الحساسية المتأخر في الحيوانات المعاملة مقارنة بحيوانات السيطرة.

ومن خلال الاطلاع على ما تم نشره من بحوث علمية، لوحظ عدم تطرق الباحثين الى استعمال تقنية الموجات فوق الصوتية لمعالجة الإصابة بداء الجيارديا داخل الجسم الحي، في الجرذان النرويجية من خلال تعريض الأكياس الى الموجات فوق الصوتية ولفترات مختلفة، لذا جاءت فكرة هذا البحث اذ أجري تعريض أكياس الجيارديا الى الموجات فوق الصوتية بتردد 20 الف نبضة/ثانية ولأربع فترات زمنية (60، 150، 210، 240) ثانية.

### المواد وطرائق العمل

#### الحيوانات المستخدمة

#### تهيئة الحيوانات

تم الحصول على الجرذان النرويجية نوع *Rattus norvegicus* بعمر (6-7) أشهر من بيت الحيوانات التابع لكلية الطب البيطري في جامعة الموصل، وتم تكثير هذه الحيوانات في غرفة تربية الحيوانات في كلية التربية/ قسم علوم الحياة في جامعة الموصل. وجرى فحص براز الحيوانات بالطريقة المباشرة للتأكد من خلوها من الطفيليات المعوية. كثرت هذه الحيوانات وعزلت الذكور منها عن الإناث في أقفاص لوحدها وبواقع 4 ذكور لكل قفص، إذ استخدمت في التجارب المختلفة بعمر (3-4) أسابيع مع مراعاة الحفاظ عليها في ظروف ملائمة من درجة حرارة وغذاء ملائمين لنموها لغرض تأقلمها مع هذه الظروف.

### جمع وعزل عينات الطفيليات

جُمعت العينات من مختبر الطفيليات في مستشفى السلام في الموصل للفترة من تشرين الثاني 2012 ولغاية تشرين الأول 2013 بعد فحص الغائط الوارد إلى المختبر المذكور فحصاً مباشراً باستعمال المحلول الملحي الفسلجي بتركيز 0.9% ومحلول اليوداللوكالي Lugol's iodine solution لغرض التحري عن طفيلي الجيارديا. وعزلت أكياس طفيلي الجيارديا بحسب طريقة Bingham *et al.* (1979) مع عدد من التحويلات التي اتبعتها (Shnawa 1995).

### تجريب الحيوانات المختبرية

جرعت الجرذان المختبرية عن طريق الفم orally في هذه الدراسة بمعلق الأكياس في المحلول الملحي الفسلجي الحاوي على ما يقرب من  $(2 \times 10^4)$  كيسا/ مل باستعمال إبرة معقوفة قياس 18 G اذ أُدخلت الإبرة عن طريق الفم إلى المريء ثم المعدة ودفع السائل الحاوي على الأكياس إلى داخل المعدة مباشرة (Roberts-Thomson *et al.*, 1976).

### تصميم التجربة

قسمت ذكور الجرذان الى خمس مجاميع بواقع أربعة حيوانات لكل مجموعة، وعدت المجموعة الاولى كمجموعة السيطرة فيما مثلت المجاميع الأربعة الباقية المجاميع التجريبية.

والمجموعة الاولى هي مجموعة السيطرة: الجرعة بأكياس طفيلي الجيارديا وغير المعاملة بالموجات فوق الصوتية، وهي عبارة عن أربعة جرذان تمت إصابتها بطفيلي الجيارديا عن طريق التجريب الفموي وبمعدل  $(2 \times 10^4)$  كيس/مل. في حين شملت المجموعة الثانية والثالثة والرابعة والخامسة أربع مجاميع من الجرذان الذكور الجرعة بأكياس الجيارديا المعرضة بالموجات فوق الصوتية عند التردد 20 ألف ذبذبة /ثانية ولفترات زمنية مختلفة (60، 150، 210، 240) ثانية، على التوالي، وبواقع أربعة جرذان لكل تجربة ودرست فيها المعايير المستعملة في الدراسة الحالية.

### الجهاز المستخدم في الدراسة الحالية

استخدم في الدراسة الحالية جهاز الموجات فوق الصوتية Ultrasonic انكليزي المنشأ، في قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة الموصل، الذي وفرته شركة Omniinternational كما مبين في الشكل (1).



### الشكل 1: جهاز الموجات فوق الصوتية Ultrasonic

#### المعايير المختارة في الدراسة

#### جمع الدم

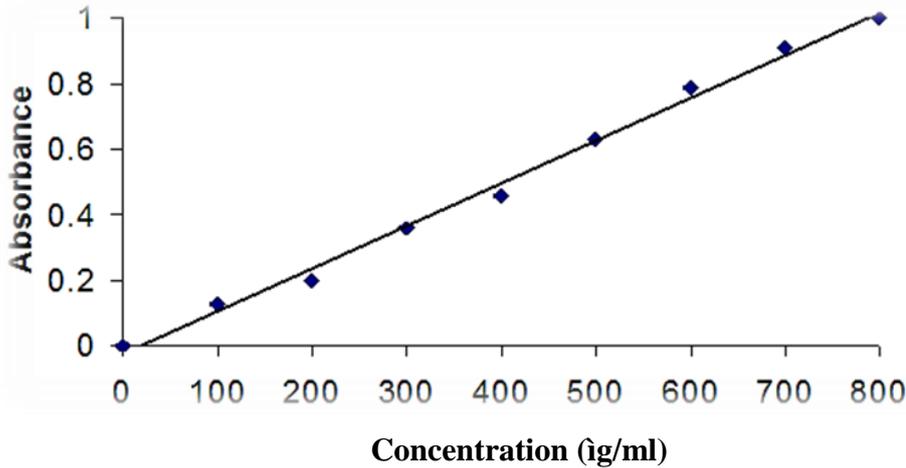
بعد معاملة الجرذان وعند انتهاء الفترات المذكورة انفا، اذ خدرت الجرذان باستعمال ثنائي ايثيل الايثر Diethylether وسحب الدم من محجر العين باستعمال أنبوبة شعرية وفق طريقة (Waynforth 1980)، وجمع الدم في أنابيب بسعة 5 مل حاوية على مانع التخثر EDTA Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid لغرض حساب العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض.

#### الاستجابة المناعية الخلوية (اختبار فرط الحساسية المتأخر)

تم تحضير المستضد وفقاً لطريقة (Craft and Nelson 1982). اذ حُطمت أو فُجرت الأكياس للحصول على مستضد الجيارديا باستعمال جهاز الترددات فوق الصوتية وذلك بتسليط 12000 نبضة لكل ثانية لمدة 15 ثانية، كُررت العملية أربع مرات مع فترات توقف لمدة 5 دقائق تقريباً لغرض الحفاظ على درجة الحرارة الواطئة للمحلول. اجريت بعد ذلك عملية الديليزة Dialysis لمدة 48 ساعة ضد الماء المقطر.

#### تقدير كمية البروتين

قدرت كمية البروتين الكلي وفق طريقة (Schacterle and Pollack 1973) المحورة في بعض المواد البايولوجية، قيست شدة الامتصاصية عند طول موجي 650 نانومتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي ( Spectrophotometersingle beam) نوع (CAMBRIDGE.1011) الذي جهزته شركة Cecil Instrument limited. تم تحديد تركيز البروتين الكلي في العينة باستعمال المنحنى القياسي للبروتين الذي حضر بأخذ تراكيز مختلفة تراوحت بين (0-1000) مايكروغرام/مل من ألبومين المصل البقري (Bovine Serum Albumin (BSA) كما مبين في الشكل (2).



الشكل 2 : المنحنى القياسي لتقدير كمية البروتين

#### حقن المستضد

اُتُبعت طريقة (Ali Khan 1978) لقياس فرط الحساسية المتأخر، إذ حُقنت وسادة القدم اليمنى للجرذ بمستضد أكياس طفيل الجيارديا بتركيز 174 مايكروغرام بعد تعقيم منطقة الحقن بالكحول (70%) وباستعمال محقنة طبية بحجم 1 مل ذات إبرة قياس 25G، أما القدم الأخرى فحقنت بالحجم نفسه من دارئ الفوسفات الملحي المعقم. تم قياس سمك القدم باستعمال

القمة Vernier بعد 3، 24، 48 ساعة من الحقن لحساب الفرق بين القراءتين لوسادتي القدم اليمنى واليسرى بوصفها مقياساً لفرط الحساسية المتأخر.

### التحليل الإحصائي

حلت بيانات الصفات المختلفة بحسب طريقة التصميم العشوائي الكامل Complete Random Design (CRD) واختبرت الفروقات بين متوسطات العوامل (الوقت والذئبة) وكذلك التوافق بين العوامل بحسب طريقة دنكن متعدد المدى (Duncan's Multiple Range Test) (Gomez and Gomez, 1983). نفذت التحاليل الإحصائية جميعها باعتماد البرنامج الإحصائي الجاهز (SAS) Statistical Analysis System V.9.

### النتائج والمناقشة

#### Total count of leukocytes الكلي لخلايا الدم البيض

ويظهر (الجدول 1) التعداد الكلي لخلايا الدم البيض في مجموعة حيوانات السيطرة والمجاميع المعاملة بالموجات فوق الصوتية لفترات زمنية مختلفة، وقد لوحظ ارتفاع عدد خلايا الدم البيض في الجرذان المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ سجلت فترة التعريض (210 ثانية/ 20000 ذئبة/ ثانية) أعلى عدد لخلايا الدم البيض إذ بلغ (10600 خلية/سم<sup>3</sup>) في الأسبوع الأول من الإصابة، تلتها الجرذان المجرعة بأكياس معرضة لفترة 150 ثانية، مسجلة (10163 خلية/سم<sup>3</sup>) في الأسبوع الثالث من الإصابة ثم الجرذان المجرعة بأكياس معرضة لفترة 240 ثانية مسجلة (10000 خلية/سم<sup>3</sup>) عند مستوى احتمالية (P≤0.01) في الأسبوع الرابع، وقد لوحظ ارتفاع خلايا الدم البيض في المعاملات مقارنة بمجموعة السيطرة التي عانت انخفاضاً في الأسبوع الثالث والرابع أيضاً أثناء الإصابة. وقد كانت جميع الفروقات في التعداد الكلي لخلايا الدم البيض معنوية بين مجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة عند مستوى احتمالية (p≤0.01).

الجدول 1: يبين التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد الكلي لخلايا الدم البيض في الجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة

فترة التعريض ( ثانية )				السيطرة	الاسابيع
240	210	150	60		
*المعدل ± الانحراف القياسي					
8400±2033.0 a-c	10600±3813.1 a	8050±1369.9 a-c	8000±1689.18 a-c	4250±491.596 d	الأول
9400±1883.2 a-c	9175±3284.68 a-c	8100±2171.02 a-c	8575±1456.88 a-c	8013±3766.60 a-c	الثاني
9750±1112.0 a-c	8125±2473.02 a-c	10163±1898.8 a	7063±1931.05 a-d	6200±730.296 b-d	الثالث
10000±2127.9 a	6250±191.48 a-c	7650±2259.05 a-d	7525±2418.85 a-d	5713±647.269 c-d	الرابع

\*يمثل المعدل لاربع مكررات ± الانحراف القياسي. الحروف الإنكليزية المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية اما الحروف الإنكليزية المتشابهة والمشاركة فتدل على عدم وجود فروقات معنوية بحسب اختبار دنكن عند مستوى احتمالية (P≤0.01).

ويمكن أن تعزى الزيادة في التعداد الكلي لخلايا الدم البيض إلى كون الموجات فوق الصوتية تعمل كمنشط غير نوعي أو عام للخلايا المسهمة في المناعة، إذ إنه يحفز انقسام الخلايا داخل الجسم وخارجه، ولاسيما هجرة البلاعم والخلايا المتعادلة وانقسامها.

وقد اتفقت النتائج الحالية مع ما توصل إليه كل من Al-Dabbag and Rahemo (2010) إذ لاحظنا زيادة في التعداد الكلي لخلايا الدم البيض نتيجة إحداث الإصابة في الجرذان النرويجية بأكياس الجيارديا المشععة بأشعة كاما لمدة ساعتين و 24 ساعة، مقارنة بمجموعة السيطرة المجرعة بالأكياس غير المشععة. كما اتفقت مع نتائج Ahmad (2013) في دراستها عن تأثير التيار الكهربائي المباشر في الاستجابة المناعية للجرذان النرويجية المجرعة بأكياس الجيارديا مقارنة بمجاميع حيوانات السيطرة والسالبة. وأظهرت نتائج البحث التي أجريت على الجرذان المجرعة بأكياس الجيارديا غير المعرضة للموجات فوق الصوتية (السيطرة) انخفاضاً في التعداد الكلي لكريات الدم البيض مقارنة بالجرذان المعاملة وذلك لارتشاح خلايا الدم البيض وهجرتها من الدم ووصولها الى مواقع الطفيلي (Cotton et al., 2014)، وقد بين الباحثون أن الارتشاح المتزايد للخلايا للمفاوية داخل البريتون مرتبط بداء الجيارديا (Faubert, 2000). وأوضحت دراسة Vinayak et al. (1991) أن الطور الحاد للإصابة بطفيلي *G. duodenalis* في الفئران يصحبه زيادة الخلايا للمفاوية التي تعود الى مجاميع CD8<sup>+</sup> Cytotoxic T cell داخل الطبقة الطلانية والصفيحة الأصلية. ومما تجدر الإشارة إليه أن هذه الزيادة في الارتشاح قد سجلت في الحيوانات الكفوءة مناعياً، وكذلك في الحيوانات عديمة الصعترية المصابة بالجيارديا أيضاً (Scott et al., 2004).

#### التعداد التفاضلي لخلايا الدم البيض Differential count of leukocytes

يتضح من (الجدول 2) التعداد التفاضلي لخلايا الدم البيض، إذ لوحظ انخفاض أعداد الخلايا العدلة neutrophils في مجاميع الحيوانات المعاملة في الأسبوعين الأول والثاني، إذ بلغ أدناها 16.5% في المجاميع المعاملة للفترة 240 ثانية، في الأسبوع الأول مقارنة بمجموعة السيطرة 37.5%، أما في الأسبوع الثالث والرابع فقد استمر الانخفاض في مجموعتي الحيوانات المعاملة للفترة 210 ثانية و 240 ثانية إذ بلغ أدناها 10% في المجموعة المعاملة للفترة 210 ثانية في الأسبوع الثالث مقارنة بمجموعة السيطرة 27.75%. أما المجموعة المعاملة للفترة 60 ثانية فقد سجلت ارتفاعاً في الخلايا العدلة في الأسبوعين الثالث والرابع مقارنة بمجموعة السيطرة. وقد كانت الفروق معنوية بين مجموعة الحيوانات المعاملة ومجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.01$ ).

ويعزى انخفاض الخلايا العدلة في الحيوانات المعاملة الى تأثير الموجات فوق الصوتية في تحفيز انقسام الخلايا البلعمية والخلايا المتعادلة وهجرتها إلى مواقع الإصابة، وهذه النتيجة مماثلة لدراسات أخرى استعمل الباحثون فيها التيار الكهربائي كمؤثر في الاستجابة المناعية (Song et al., 2007; Cinar et al., 2009).

كما يبين (الجدول 2) أعداد خلايا الدم البيض الحمضية في مجاميع الجرذان المعاملة بالموجات فوق الصوتية مقارنة بمجموعة السيطرة، إذ لوحظ أن الخلايا الحمضية ظهرت في المجاميع المعاملة بالفترة 60 ثانية في الأسبوع الثاني وبلغت 0.25% خلية، في حين بلغت في المجموعة المعاملة بالفترة 210 ثانية في الأسبوع الرابع 0.5% خلية، وانعدمت هذه الخلايا في مجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة الأخرى وكانت الفروق غير معنوية بين المجاميع المعاملة ومجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.05$ ). وتعد الخلايا الحمضية من الخلايا البلعمية التي تعود الى الجهاز البلعبي النخاعي Myeloid Phagocytic التي تلي الخلايا المتعادلة في عملية البلعمة، لذا يعزى اختفاؤها إلى آلية الموجات فوق الصوتية وتحفيز ارتشاحها إلى أماكن الإصابة (Male et al., 2007). كما يبين (الجدول 2) أعداد الخلايا القعدة في مجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة بالموجات فوق الصوتية، إذ لوحظ انعدام هذه الخلايا في كل المجاميع المعاملة ومجموعة السيطرة .

ويبين (الجدول 3) اعداد الخلايا للمفاوية، إذ لوحظ ارتفاع أعداد الخلايا للمفاوية في المجاميع المعاملة في الأسبوع الأول مقارنة بمجموعة السيطرة، وكانت أعلى زيادة حصلت للخلايا للمفاوية في الأسبوع الثالث للمجموعة المعاملة بالفترة 240 ثانية، إذ بلغت 87.25% خلية، والمجموعة المعاملة بالفترة 210 ثانية إذ بلغت 87.0% خلية عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.01$ ). ثم انخفضت أعداد الخلايا للمفاوية في المجاميع المعاملة في الأسبوع الثاني والثالث ولكن بقيت أعلى مما في السيطرة التي

انخفضت فيها أعداد الخلايا للمفاوية عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.01$ )، ويلحظ من الجدول أن أعداد الخلايا للمفاوية بقيت مرتفعة في المجاميع المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة طيلة فترة الاسابيع الاربعة وكانت الفروق معنوية بين المجاميع المعاملة عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.01$ ) ومجموعة السيطرة.

الجدول 2: يبين التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد التفاضلي لخلايا الدم البيض الحبيبية (العدلة والحمضية والقعدة) في الجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة

فترة التعريض ( ثانية )				السيطرة	الاسابيع	نوع الخلية
240	210	150	60			
*المعدل $\pm$ الانحراف القياسي						
16.5 $\pm$ 9.25 e-d	23.75 $\pm$ 4.32 b-e	21.25 $\pm$ 7.417 b-e	21.25 $\pm$ 2.5 b-e	37.5 $\pm$ 16.583 a-c	الأول	Neutrophil
13.4 <b>19.25</b> $\pm$ e-d	25.0 $\pm$ 9.38 b-e	28.25 $\pm$ 18.09 b-e	27.25 $\pm$ 14.15 b-e	33.5 $\pm$ 13.17 a-d	الثاني	
12.0 $\pm$ 1.414 e	10.0 $\pm$ 5.477 e	38.5 $\pm$ 10.954 a-c	32.5 $\pm$ 9.255 a-d	27.75 $\pm$ 8.693 b-e	الثالث	
18.5 $\pm$ 5.259 e-d	16.25 $\pm$ 8.539 e-d	20.25 $\pm$ 7.13 c-e	45.5 $\pm$ 11.618 a	38.75 $\pm$ 17.61 a-b	الرابع	
0.00 $\pm$ 0 B	0 <b>0.00</b> $\pm$ b	0.00 $\pm$ 0 b	0.00 $\pm$ 0 B	0.00 $\pm$ 0 B	الأول	Eosinophil
0.00 $\pm$ 0 B	0.00 $\pm$ 0 b	0.00 $\pm$ 0 b	0.25 $\pm$ 0.5 a-b	0.00 $\pm$ 0 B	الثاني	
0.00 $\pm$ 0 B	الثالث					
0.00 $\pm$ 0 B	0.5 $\pm$ 1 a	0.00 $\pm$ 0 b	0.00 $\pm$ 0 B	0.00 $\pm$ 0 b	الرابع	
0.00 $\pm$ 0 A	الأول	Basophil				
0.00 $\pm$ 0 A	الثاني					
0.00 $\pm$ 0 A	الثالث					
0.00 $\pm$ 0 A	الرابع					

\*يمثل المعدل لأربع مكررات  $\pm$  الانحراف القياسي. الحروف الإنكليزية المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية، أما الحروف الإنكليزية المتشابهة والمشاركة فتدل على عدم وجود فروقات معنوية بحسب اختبار دنكن عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.01$ ) ويمكن أن تفسر زيادة أعداد الخلايا للمفاوية بتأثير الموجات فوق الصوتية، بما يماثل ما ذكره باحثون آخرون عن تأثير التيار الكهربائي في انقسام الخلايا للمفاوية كونه يعمل على تحفيز وتوجيه انقسام الخلايا (Song et al., 2007; Cinar et al., 2009)، وقد جاءت هذه النتيجة مطابقة أيضاً مع دراسات أخرى تناولت تأثير التيار الكهربائي على أعداد الخلايا للمفاوية، في الجرذان المصابة بأكياس الجيارديا المعرضة لأشعة كاما والتيار الكهربائي (Ahmad et al., 2010; Al-Dabbag and Rahemo 2013). أما انخفاض أعداد الخلايا للمفاوية في مجاميع السيطرة فيمكن أن يفسر بهجرة الخلايا للمفاوية وانتقالها إلى مواقع الإصابة (Buret, 2008; Cotton et al., 2014)، لتستقر في الطبقة الطلائية للأمعاء، ولتكون مجهزة مناعياً لمنع دخول أي مستضد من الطفيلي إلى داخل الطبقة الطلائية، أو تكون جاهزة للتمايز إلى خلايا آخر تسهم في إفراز الكلوبولينات المناعية، كما وجد Heyworth et al. (1985) أن معظم الخلايا المحصورة من التجويف المعوي للفئران المصابة بطفيلي *G. muris* كانت خلايا لمفاوية مع عدد ضئيل من البلاعم الكبيرة. وعندما شخّصت الخلايا بواسطة صبغة التآلق المناعي Immune Fluorescent Staining ظهر أن 50% تقريباً من الخلايا البيض داخل التجويف كانت خلايا لمفاوية من نوع T، وتوصل Carlson et al. (1986) إلى أن أعداد الخلايا البيض للمفاوية T و B تتضاعف عند الإصابة بطفيلي *G. muris* في الفئران BALB/c، لكن تلك الأعداد عادت إلى مستوياتها الطبيعية عندما أزيلت الإصابة من الأمعاء. ويعود هذا التفاوت إلى ارتباط أعداد الخلايا للمفاوية بمدّة الإصابة في الجرذان.

ويظهر (الجدول 3)، انخفاضاً في أعداد الخلايا الوحيدة في الحيوانات المعاملة، إذ بلغ أدناه 0.75% في فترة الأسبوع الثالث عند التعريض لـ 240 ثانية، أعقبها الفترة 60 ثانية و 150 ثانية مسجلةً 1.0% لكل منهما، وارتفعت أعداد الخلايا الوحيدة أيضاً في الفترة 210 ثانية خلال الأسابيع الثانية والثالثة والرابعة، وكذلك في الفترة 150 ثانية في الأسبوع الثاني فحسب وكانت الفروق غير معنوية بين مجاميع الحيوانات المعاملة ومجموعة السيطرة عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.05$ ). ويعزى ذلك إلى تأثير الموجات فوق الصوتية في تحفيز هجرة الخلايا الوحيدة إلى مواقع الإصابة بالطفيلي كونها من الخلايا البلعمية التي تعود إلى الجهاز البلعومي أحادي النواة (Male et al., 2007) فضلاً عن أن الموجات فوق الصوتية تحفز توجيه انقسام وتطور الخلايا المناعية، لاسيما خلايا البلاعم الكبيرة والخلايا العدلة داخل الجسم، وهذه النتيجة مماثلة لدراسات سابقة أجريت باستعمال التيار الكهربائي المباشر (Song et al., 2007; Cinar et al., 2009).

#### اختبار فرط الحساسية المتأخر (DHT) Delayed-type Hypersensitivity test

يوضح (الجدول 4) التغيرات الحاصلة في معدل سمك وسادة القدم في الجرذان المعاملة بالموجات فوق الصوتية والجرذان غير المعاملة (السيطرة)، إذ ارتفعت معدلات سمك وسادة القدم بعد 3 ساعات في المجاميع المعاملة وانخفضت في مجموعة السيطرة بفروقات معنوية عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.01$ ) وقد سجلت الفترة 240 ثانية أعلى معدل لسمك وسادة القدم بلغ 1.75 ملم، ثم تلتها الفترة 150 ثانية مسجلة سمكا قدره 1.325 ملم. وقد انخفضت تلك المعدلات بعد 24 ساعة من الحقن في المجاميع المعاملة ولكن بقيت أعلى مما في مجموعة السيطرة وفروقات معنوية عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.01$ )، واستمرت في الانخفاض بعد 48 ساعة في المجاميع المعاملة مقارنة مع فترة 3 ساعات.

الجدول رقم 3 : التغيرات الحاصلة في معدلات التعداد التفاضلي لخلايا الدم البيض غير الحبيبية (اللمفاوية ووحيدة النواة) في الجرذان المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة

فترة التعريض ( ثانية )				السيطرة	الأسابيع	نوع الخلية
240	210	150	60			
*المعدل ± الانحراف القياسي	*المعدل ± الانحراف	*المعدل ± الانحراف القياسي	*المعدل ± الانحراف القياسي	*المعدل ± الانحراف القياسي		
81.25±10.436 a-b	74.25±3.40 a-c	76.0±3.651 a-c	75.25±5.56 a-c	60.0±18.293 c-d	الأول	Lymphocyte
79.25±13.257 a-b	70.75±7.67 a-d	65.75±22.58 b-d	67.25±10.9 b-d	64.5±12.87 b-d	الثاني	
87.25±2.061 a	87.0±6.976 a	60.25 ±9.53 c-d	67.0±9.831 b-d	69.5±7.505 a-d	الثالث	
80.0±6.976 a-b	80.5±5.802 a-b	78.75±7.135 a-b	53.5±11.618 d	59.5±17.82 c-d	الرابع	
2.25±2.217 a-b	2.0±1.825 a-b	2.75±4.193 a-b	3.5±3.109 a- b	2.5±1.732 a-b	الأول	Monocyte
1.5±1.732 b	4.25±4.349 a-b	6.0±4.69 a	2.5±1.914 a-b	2.5±2.061 a-b	الثاني	
0.75±1.5 b	3.0±2.309 a-b	1.75±2.061 a-b	1.0±0.577 b	2.75±3.095 a-b	الثالث	
1.5±2.38 b	2.75±3.403 a-b	1.0±0.0 b	1.0±0.816 b	1.75±2.217 a-b	الرابع	

\*يمثل المعدل لاربع مكررات ± الانحراف القياسي. الحروف الإنكليزية المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية اما الحروف الإنكليزية المتشابهة والمشاركة فتدل على عدم وجود فروقات معنوية بحسب اختبار دنكن عند مستوى احتمالية (P≤0.01).

وتعزى هذه الزيادة إلى قدرة الموجات فوق الصوتية على حث المناعة الخلوية المتمثلة بالانتفاخ في وسادة القدم والذي استمر حتى بعد 24 ساعة من حقن المستضد. ويمكن أن يكون سبب الزيادة في سمك وسادة القدم هو تأثير الموجات فوق الصوتية على الخلايا البلعمية وتفعيلها الذي أدى بدوره إلى زيادة أعداد الخلايا اللمفاوية (Weiser et al., 1990)، وبالتالي حصول تنسيق بينهما وتنظيم حجم الاستجابة المناعية الخلوية، ويزيد من إفراز مركبات اللمف المنظمة للاستجابة المناعية (Male et al., 2007)، فضلا عن أن التحفيز بالموجات فوق الصوتية يعد معززا لهجرة الخلية (Faurie et al., 2005).

وجاءت هذه النتائج متطابقة مع دراسة باحثين آخرين لجأوا إلى استعمال التيار الكهربائي. فقد ذكروا أن الحقول الكهربائية تحفز هجرة البلاعم الكبيرة والخلايا العدلة وخلايا القرنية الطلائية والخلايا المولدة للألياف ( Cho *et al.*, 2000; Gunja *et al.*, 2011). وقد تطابقت هذه النتائج مع دراسة Ahmad (2013) التي استعملت التيار الكهربائي المباشر ودرست تأثيره في المناعة الخلوية في الجرذان النرويجية المجرعة بأكياس الجيارديا المعرضة للتيار الكهربائي.

الجدول 4 : يبين التغيرات الحاصلة في معدلات سمك وسادة القدم (ملم) في الجرذان المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة

فترة التعريض ( ثانية )				السيطرة	فترات القياس
240	210	150	60		
*المعدل $\pm$ الانحراف القياسي					
1.75 $\pm$ 0.15 a	1.025 $\pm$ 0.129 a-d	1.325 $\pm$ 0.282 a	1.20 $\pm$ 0. a-c	0.225 $\pm$ 0.05 G	بعد 3 ساعات
0.725 $\pm$ 0.35 c-f	0.80 $\pm$ 0.0 b-f	0.825 $\pm$ 0.208 b-f	0.80 $\pm$ 0.173 c-f	0.40 $\pm$ 0.216 f-g	بعد 24 ساعة
0.725 $\pm$ 0.12 c-f	0.575 $\pm$ 0.05 e-g	0,475 $\pm$ 0.206 e-g	0.50 $\pm$ 0.17 e-g	0.375 $\pm$ 0.408 f-g	بعد 48 ساعة

\*يمثل المعدل لاربع مكررات  $\pm$  الانحراف القياسي. الحروف الإنكليزية المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية اما الحروف الإنكليزية المتشابهة والمشاركة فتدل على عدم وجود فروقات معنوية بحسب اختبار دنكن عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.01$ ).

إن الصفة المميزة لتفاعلات فرط الحساسية هي تراكم الخلايا الحمضية في الأنسجة الذي يسبقه عملية تراكم الخلايا للمفاوية المساعدة  $TH_2$  helper cells T، حيث تم استعمال لقاح Bacillus Calmette Guerin (BCG) مع مساعد فروند الكامل Complete Freund's Adjuvant أو مع بيوض المنشقات المانسونية *Schistosoma mansoni* في اختبار فرط الحساسية المتأخر في وسادة قدم الفئران، واتضح أن تفاعلات فرط الحساسية المتأخر تحفز إنتاج مواد كيميائية جاذبة وجزيئات الارتباط بالخلايا الأندوثيلية الضرورية لهجرة الخلايا الحمضية، وتم تثبيط عملية هجرة الخلايا الحمضية باستنزاف خلايا  $TH_2$  أو باستعمال أضداد الأنترفيرون كما (anti-IFN- $\gamma$ ) anti-interferon-Gamma، مما يدل على الدور الحيوي الذي تؤديه خلايا  $TH_2$  و IFN- $\gamma$  في تفاعلات فرط الحساسية المتأخر (Teixeira *et al.*, 2001)، وقد تعزى الزيادة الحاصلة في سمك وسادة القدم أيضاً إلى تحفيز الموجات فوق الصوتية لإفراز IFN- $\gamma$  و Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )، إذ أشار Willy *et al.* (2008) إلى أن interleukin-2 (IL-2) و IFN- $\gamma$  أو IFN- $\alpha$ ، الذي تفرزه الخلايا للمفاوية المساعدة (Th1) T- helper cells، هو المسؤول عن تفاعلات فرط الحساسية المتأخر. إن حث فرط الحساسية المتأخر يعد دليلاً على المناعة الخلوية، وأن الورم يعود إلى ارتشاح العدلات والبلاعم الكبيرة والخلايا الوحيدة والخلايا للمفاوية عند الفحص النسجي لوسادة القدم (Ryu and Kim, 2000).

#### المصادر

Ahmad, S.S. (2013). Effect of direct electric current in immun response of Norvegicus rat *Rattus norvigicus* against infection with giardiasis. M.Sc. Thesis, Education College For Pure Sciences, University of Mosul, IRAQ . (In arabic).

- Al-Bataineh, O.; Jenne, J.; Huber, P. (2012). Clinical and future applications of high intensity focused ultrasound in Cancer. *Treat Rev.*, **38**(5), 346-353.
- Ali Khan, Z. (1978). *Echinococcus multilocularis*: Cell mediated immune response in early and chronic alveolar murine hydatidosis. *Exp. Parasitol.*, **46**,157-165.
- Al-Dabbag, F.A.; Rahemo, Z.F. (2010). Effect of gamma radiation on expermental infection with giardia in white Norwegian rats. *J.Edu.Sci.*, **23**(2), 42-57. (In Arabic)
- Ali Khan, Z. (1978). *Echinococcus multilocularis*: Cell mediated immune response in early and chronic alveolar murine hydatidosis. *Exp. Parasitol.*, **46**, 157-165.
- Al-Sabi, M.N.S., Gad, J., Klinting, M., Mogensen, C., Kurtzhals, J.; Enemark, H.L.(2011). Effects of Ultrasound on the survival and characteristics of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in GM Bulman (ed.), Proceedings 32rd WAAVP 2011.
- Aycan Kaya, M.A.; Atambay, M.; Yula, E.; Ozyalin, F.; Koksaldi, M.V.; Motor, S.; Celik, M.; Daldal, M. (2012). Assessment of the levels of nitric oxide (NO) in chronic diarrhea patients infected with *Giardia intestinalis*. *African J. Microbiol. Res.*, **6**(14), 3550-3553.
- Beatty, J.; Bhargava, A.; Motta, J.; Feener, T.; McKnight, G.; Wallace, J.; Akierman, S.; Rioux, K.; Buret, A. (2014). *Giardia duodenalis* cysteine proteases modify human microbiota biofilms: a role in post-infectious epithelial dysfunction?. CDDW and the Annual CASL Winter Meeting. February 8-11, Tornto, Ontario .
- Bingham, A.K.; Jarroll, E.I.; Meyer, E.A. (1979). *Giardia Sp.*: Physical factors of excystation *in vitro* and excystation vs eosin exclusion as determinants of viability. *Exp. Parasitol.*, **47**, 284-291.
- Bhargava, A.; Ctton, J.; Amat, C.; Yates, R.; Buret, A. (2014). *Giardia duodenalis* Cathepsin-Like cysteine proteases disrupt human intestinalis villin, and MUC2 proteins. CDDW and the Annual CASL Winter Meeting. February 8-11, Tornto, Ontario
- Buret, A.G. (2008). Pathophysiology of enteric infections with *Giardia duodenalis*. *Parasitolgy*, **15**(3), 261–265.
- Cacciò, S.M.; Ryan, U. (2008). Molecular epidemiology of giardiasis. *Mol. Biochem. Parasitolo.*, **160**,75-80.
- Cai, H.; Chen, L.; Ye, B.; Liu, A.; Zhang, J.; Zhao, Y. (2013). The destructive effects of high intensity focused ultrasound on hydatid cysts enhanced by ultrasound contrast agent and superabsorbent polymer alone or in combination. *Parasitol. Res.*, **112**,707-717.
- Carlson, J.R.; Heyworth, M.H.; Owen, R.L. (1986). Response of Peyer's patch lymphocyte subsets to *Giardia muris* infection in BALB/c mice. I. T-Cell subset. *Cell Immunol.*, **97**, 44-50.
- Carmena, D. (2010). Waterborne transmission of *Cryptosporidium* and *Giardia*: detection, surveillance and implications for public health. Tehenology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology A. Mendz-vilas(Ed.) ©Formatex.3-14.
- Cheung, T.T.; Chu, F.S.; Jenkins, C.R.; Tsang, D.S.; Chok, K.S.; Chan, A.C.; Yau, T.C.; Chan, S.C.; Poon, R.T.P.; Lo, C.M.; Fan, S.T. (2012). Tolerance of high intensity focused ultrasound ablation in patients with hepatocellular carcinoma. *World J. Surg.*, **36**(10), 2420-2427.
- Cho, M.R.; Thatte, H.S.; Lee, R.C.; Golon, D.E. (2000). Integrin-dependent human macrophage migration induced by oscillatory electrical stimulation. *Ann. Biomed. Eng.*, **28**, 234–243.
- Cinar, K.; Comlekci, S.; Senol, N. (2009). Effects of a specially effects of a specially pulsed electric field on an animal model of wound healing. *Lasers Med. Sci.*, **24**,735–740.
- Cotton, J.; Bhargava, A.; Ferraz, J.; Beck, P.; Buret, A. (2014). An assemblage a *Giardia* cathepsin b protease degrades interleukin-8 and attenuates neutrophil chemotaxis. CDDW and the Annual CASL Winter Meeting. February 8-11, Tornto, Ontario.
- Craft, J.C.; Nelson, J.D. (1982). Diagnosis of giardiasis by counter-immunoelectrophoresis of feces. *J. Infect. Dis.*, **145**(4), 499-504.

- Faubert, G. (2000). Immune response to *Giardia duodenalis*. *Clin. Microbiol Rev*; 13: 35-54.
- Faurie, C.; Golzio, E.P.; Teissie, J.; Rols, M.P. (2005). Electric field- induced cell membrane permeabilization and gene transfer: theory and experiments. *Eng. Life Sci.*, 5:179–186.
- Gerbaba, T.; Gupta, P.; Wang, X.; Rioux, K.; Hansen, D.; Buret, A.(2014). *Giardia*-induced alteration of microbiota and gut interactions: *Caenorhabditis elegans* as a model system. CDDW and the Annual CASL Winter Meeting. February 8-11, Toronto, Ontario.
- Gomez, K.A.; Gomez, A.A. (1983). "Statistical Procedures for Agricultural Research". 2<sup>nd</sup> ed., John Wiley and sons, New York.
- Gunja, N.J.; Dujari, D.; Chen, A.; Luengo, A.; Fong, J.V.; Hung, C.T. (2011). Migration responses of outer and inner meniscus cells to applied direct current electric fields. *J. Orthopaedic.*, **30**, 103–111.
- Heyworth, M.F.; Owen, R.L.; Seaman, W.E.; Schaefer, F.; Jones, A.L. (1985). Harvesting of leukocytes from intestinal lumen in murine giardiasis and preliminary characterization of these cells. *Dig. Dis. Sci.*, **30**, 149-153.
- Inabo, H., Aminu, M., Muktar, H.; Adenran, Sh. (2012). Profile of intestinal parasitic infections associated with diarrhoea in HIV/AIDS patients in a Tertiary Hospital in Zaria, Nigeria. *World J. Life Sci. Med. Res.*, **2**(2),43.
- Kamda J.D.; Nash Th.E.; Singer S.M.(2012). *Giardia duodenalis*: Dendritic cell defects in IL-6 deficient mice contribute to susceptibility to intestinal infection. *Exp. Parasitol.*, **130**, 288-291.
- Liu, A.; Cai, H.; Ye, B.; Chen, L.; Wang, M.; Zhang, J.; Zhao, Y.(2013). The damages of high intensity focused ultrasound to transplanted hydatid cysts in abdominal cavities of rabbits with aid of ultrasound contrast agent and superabsorbent polymer. *Parasitol. Res.*, **112**, 1865-1875.
- Male, D., Brostoff, J., Roth, D.; Roitt, I. (2007). "Immunology". 7<sup>th</sup> ed. Inter. Edith Mosby Elsevier Ltd. U.K.
- Monis, P.T.; Cacciò, S.M.; Thompson, R.C. (2009). Variation in *Giardia*: Towards a taxonomic revision of the genus. *Trends in Parasitology*. **25**, 93-100.
- National Institute For Health and Clinical Excellence Interventional Procedure Guidance 424(NICE) (2012). Focal therapy using high-intensity focused ultrasound for localised prostate cancer. Nice .Org. UK. Guidance. IPG 424.
- Omarova, A.; Tussupova, K.; Berndtsson, R.; Kalishev, M.; Sharapatova, K.(2018). Protozoan parasites in drinking water: A system approach for improved water, sanitation and hygiene in developing countries. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **15**,495.
- Poorsaadat, L.; Jamshidifard, A.R.; Davami, M.H. (2004). Effect of direct electric current on water infected with *Giardia lamblia*. *J. med. Res. (JMR)*., **3**(1),65-70.
- Ringqvista, E.; Avesson, L.; Söderbom, F.; Svard, S.G. (2011). Transcriptional changes in *Giardia* during host–parasite. Interactions. *Int. J. Parasitol.*, **41**, 277–285.
- Roberts-Thomson, I.C.; Stevens, D.P.; Mahmoud, A.A.F.; Warren, K.S. (1976). Giardiasis in the mouse: an animal model. *Gastroenterology*, **71**, 57-61.
- Ryu, H.; Kim, C. (2000). Immunologic reactivity of a lipopolysaccharide-protein complex of type A *Pasteurella multocida* in mice. *J. Vet. Sci.*, **1** (2), 87-95.
- Samn, K.A.M.; Samn, A.A.M.; Abou El-Nour, M.F. (2012). A survey of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in rural and urban community in North Delta, Egypt. *New York Science J.*, **5**(3),49-54.
- Scott, K.G.; Yu, C.H.; Buret, A.G. (2004). Role of CD8+ and CD4+ T lymphocytes in jejunal mucosal injury during murine giardiasis. *Infect. Immun.*, **72**, 3536-3542.
- Schacterle, G.R.; Pollack, R.L. (1973). A simplified method for the quantitative assay of small amount of protein in biologic materials. *Anal. Biochem.*, **51**, 654-655.

- Shnawa, B.H. (1995). Biological and immunological studies on *Giardia lamblia*. Ph.D. Thesis, Univ. Basrah. (In Arabic)
- Shukla, G.; Sharma, G.; Goyal, N. (2010). Probiotic characterization of *Lactobacilli* and yeast strains isolated from whey beverage and therapeutic potential of *Lactobacillus* yoghurt in murine giardiasis. *Am. J. Biomed. Sci.*, **2**, 248–261.
- Simpson, K.W.; Rishniw, M.; Bellosa, M.; Liotta, J.; Lucio, A.; Baumgart, M.; Czarnecki-Maulden, G.; Benyacoub, J.; Bowman, D. (2009). Influence of *Enterococcus faecium* SF68 probiotic on giardiasis in dogs. *J. Vet. Inter. Med.***10**, 1-6.
- Song, B.; Gu, Y.; Pu, J.; Reid, B.; Zhao, Z.; Zhao, M. (2007). Application of direct current electric fields to cells and tissues *in vitro* and modulation of wound electric field *in vivo*. *Nature protocols*. **2**(6),1479-1489.
- Teixeira, M.M.; Talvani, A.; Tafuri, W.L.; Lukacs, N.W.; Hellewell, P.G. (2001). Eosinophil recruitment into sites of delayed-type hypersensitivity reactions in mice . *J. Leukoc. Biol.*, **69** , 353-360.
- Turki, N.M.; Mallah, M.O.; Kremsh, Y.D.( 2015). Iraqi genotyping of *Giardia lamblia* ( A, B, E, F) in human stool in Al- Muthanna Province. *Int. J. Adv. Res.*,**3**(10), 757-771.
- Vinayak, V.K.; Khanna, R.; Kum, K. (1991). Kinetics of intraepithelium and lamina propria lymphocyte responses during *Giardia lamblia* infection in mice. *Microb. Pathog.*, **10**, 343-350.
- Wang, W.; Wang, Y.; Wang, T.; Wang, J.; Wang, L.; Tang, J.(2012). Safety and efficacy of us-guided high intensity focused ultrasound for treatment of submucosal fibroids. *Eur. Radiol.*, **22**(11), 2553-2558.
- Waynforth, H.B. (1980). "Experimental and Surgical Technique in the Rat ". Academic Press Inc., (London) LTD , NWI , 29p.
- Weiser, W.Y., Pozzi, L.A.; David, J.R. (1990). Human recombinant migration inhibition factor activates human macrophages to kill *Leishmania donovani*. *J. Immunol.*,**174**, 2006-2011.
- Willey, J.M.; Sherwood, L.M.; Woolverton, C.J. (2008). "Prescott, Harley and Klein's Microbiology". 7<sup>th</sup> ed., McGraw-Hill Companies, Inc., USA, pp.782-788.
- Yousaf, M.; Jan, S.; Shafee, M.; Samad, A.; Barkhurdar, M.; Bugti, F.S.; Tariq, T.; Roomeela, S.; Saifullah, S.; Akhtar, W.; Ahmed, S.(2018). Prevalence of *Giardia lamblia* in stool samples of diarrhea patients in Quetta, Pakistan.
- Zhang, J.; Ye, B.; Kong, J.; Cai, H.; Zhao, Y.; Han, X.; Li, F. (2013). *In vitro* protoscolicidal effects of high intensity focused ultrasound enhanced by superabsorbent polymer. *Parasitol. Res.*, **112**,385-391.
- Zhang, Q.; Xiang, T.J.G.; Wo Chan, W.P.(2016). A patient with Typhoid fever, *Giardia lamblia* gastroenteritis and hepatitis E. *Proceedings of Singapore Healthcare*, **25**(1), 61-63.