خلطة اعشاب طبيعية ذات فعالية عالية الكفاءة في تعديل نسبة السكر للأشخاص المصابين بداء السكر المزمن

أ. عصام شاكر حمزة د. عزيز لطيف جارالله د. طارق ياسين محمود

قسم تقنيات المختبرات الطبية، كلية الاسراء الجامعة
بغداد \ العراق

A Highly Effective Natural Herbal Mixture that Helps to Normalize the Sugar Level for People with Chronic Diabetes

Isam Shaker Hamza, Aziz Latif Jarallah, Tariq Yaseen Mahmoud
Dept. of Medical Lab. Techniques, Al- Esraa University College - Baghdad / Iraq
E_mail: isam.shaker@esraa.edu.iq

المستخلص

درس تأثير خلطة اعشاب مكونه من (بذور الرجلة او ما يسمى البربين، الكركم، بذور الرشاد، الحلبة) علاجا لارتفاع السكر, حيث استخدمت ثلاث مجاميع من الفئران كل واحدة منها مكونة من عشرين فأر. تضمن الجزء الاول من البحث دراسة الخصائص الكيميائية للأعشاب المشار اليها وتبين وجود المواد الكيمياوية Saponins, Alkaloids, Flavonoids, Glycosides,Tannins بنسب مختلفة في فيها. اما الجزء الثاني من البحث فتضمن تهيئة ثلاث مجاميع من الفئران واصابتها بارتفاع السكر واعطائهم العلاج المقترح حيث صممت التجربة كالاتي:

المجموعة الاولى ضمت 20 فأر اعطيت مادة الالوكسان من اجل رفع نسبة السكر فيها واعتبرت مجموعة سيطرة موجبة, المجموعة الثانية ضمت 20 فأر ايضا واعطيت مادة الالوكسان من اجل رفع نسبة السكر فيها وايضا اعطيت خلطة الاعشاب , أما المجموعة الثالثة فضمت 20 فأر فلم تعط لها أي شيء واعتبرت مجموعة سيطرة سالبة.

أشارت نتائج هذه الدراسة من ان المجموعة الاولى ارتفع بها نسبة الكلوكوز295mg/dl والسكر التراكمي الى9.2% والمجموعة الثانية لوحظ انخفاض نسبة الكلوكوز والسكر التراكمي فيها بعد اعطائها العلاج الى 110.20mg/dl و5.2% على التوالي اما المجموعة الثالثة فبقيت نسبة الكلوكوز والسكر التراكمي فيها ضمن الحدود الطبيعية.

الكلمات المفتاحية: الرجلة، الكركم، الحلبة، البربين، مرض السكري

Abstract

The effect of a herbal mixture consisting of (Portulaca oleracea seeds or the so-called berberine, Curcuma, *Lepidium sativum* seeds and *Trigonella*) was investigated as a treatment for high blood sugar. Three groups of twenty mice were used in each of these groups. The first part of this investigation was to study the chemical properties of these herbs mixture and appeared to us that this herbal mixture contain the following chemicals Saponins, Alkaloids, Flavonoids, Glycosides, Tannins in different proportions. The second part of the investigation concentrated on preparing three groups of mice each with 20 mouse.

The first group of mice that were given alloxan in order to raise the sugar level in them and it was considered a positive control group. The second group, included 20 mice too, they were given alloxan in order to raise the sugar content in them and then they were given a herbal mixture. While the third group, included 20 mice too, they left without any treatment and was considered as negative control group.

It was observed from this study that the first group had an increase in the percentage of glucose and HbA1c, while the second group showed that the percentage of glucose and HbA1c decreased as a result of giving the treatment. While, for the third group, the percentage of glucose and HbA1c remained normal because neither alloxan nor herbal mixture were given (negative control).

Keywords: Purslane; Turmeric; Fenugreek; Berberine and Diabetus mellitus.

المقدمة

يشمل مصطلح مرض السكري (Diabetes) عددا من الاضطرابات في عملية هدم وبناء – الأيض – الكربوهيدرات.

عملية الأيض الطبيعية

الكربوهيدرات التي يحصل عليها الجسم من تناول الخبز، البطاطا، الأرز، الكعك وغيرها من المواد الغذائية، تتفكك وتتحلل بشكل تدريجي. تبدأ عملية التفكك والتحلل هذه في المعدة، ثم تستمر في الاثني عشر (Duodenum) وفي الأمعاء الدقيقة. تنتج عن عملية التفكك والتحلل لهذه مجموعة السكريات (كربوهيدرات (Carbohydrate– يتم امتصاصها في الدورة الدموية. خلايا الإفراز الداخلي (Internal secretion) الموجودة في البنكرياس، والتي تسمى خلايا بيتا (Beta cells)، حساسة جدا لارتفاع مستوى السكر في الدم وتقوم بإفراز هرمون الأنسولين (Insulin). الأنسولين هو جسر أساسي لدخول جزيئات السكر، الجلوكوز، إلى داخل العضلات حيث يتم استعماله كمصدر للطاقة، وإلى أنسجة الدهن والكبد حيث يتم تخزينه. كما يصل الجلوكوز إلى الدماغ، أيضا، ولكن بدون مساعدة الأنسولين. في البنكرياس نوع آخر من الخلايا هي خلايا ألفا (Alpha cells)، التي تُفرز هُرمونا إضافيا آخر يدعى الجلوكاجون (Glucagon). هذا الهرمون يسبب إخراج السكر من الكبد وينشّط عمل هُرمونات أخرى تعيق عمل الأنسولين. الموازنة بين هذين الهرمونين (الأنسولين والجلوكاجون) تحافظ على ثبات مستوى الجلوكوز في الدم وتجنبه التغيرات الحادة. أصحاب الوزن السليم الذين يُكثرون من النشاط البدني يحتاجون إلى كمية قليلة من الأنسولين لموازنة عمل الجلوكوز الواصل إلى الدم. وكلما كان الشخص أكثر سُمنة وأقلّ لياقة بدنية أصبح بحاجة إلى كمية أكبر من الأنسولين لمعالجة كمية مماثلة من الجلوكوز في الدم. هذه الحالة تدعى "مقاومة الأنسولين" (Insulin resistance).

الإصابة بالسكري

عندما تصاب خلايا بيتا الموجودة في البنكرياس بالضرر، تقل كمية الأنسولين المفرزة بشكل تدريجي، وتستمر هذه العملية سنوات عديدة. إذا ما ترافقت هذه الحالة مع وجود "مقاومة الأنسولين"، فإن هذا المزيج من كمية أنسولين قليلة ومستوى فاعلية منخفض، يؤدي إلى انحراف عن المستوى السليم للجلوكوز (السكر) في الدم، وفي هذه الحالة يتم تعريف الشخص بأنه مصاب بمرض السكري (Diabetes) المعروف إن المستوى السليم للسكر في الدم بعد صوم ثماني ساعات يجب أن يكون أقلّ من 108 ملغم/ دل، بينما المستوى الحدودي هو 126 ملغم/ دل.

أما إذا كان مستوى الجلوكوز في الدم لدى شخص ما 126 ملغم/ دل وما فوق، في فحصين أو أكثر، فعندئذ يتم تشخيص إصابة هذا الشخص بمرض السكري.

يمكن أن تساعد الأعشاب والمكملات الغذائية في السيطرة على مرض السكري؛ إذ إنّها تساهم في تقليل خطر حدوث المضاعفات ولكن لن تعالج المرض (Jon, 2019). تساعد على تنظيم مستويات سكر الدم، وذلك عند استخدامها إلى جانب اتباع الخطة العلاجية والتغذوية لمريض السكري، ولكنّ معظم هذه الدراسات أُجريت على الحيوانات، ومن غير المؤكد بعد تأثيرها في البشر(George, 2016).

هناك العديد من الأعشاب التي تساهم في تقليل مستويات السكر في الدم عند الأشخاص الذين يعانون من مرض السكري, حيث تعمل هذه الأعشاب على خفض السكر بسرعة في الدم، وبالتالي قد تساعد الأشخاص المصابين بداء السكري من النوع الثاني في الحفاظ على مستوياته، ومنها التالي:

1. الصبار

أستخدم نبات الصبار لألاف السنين لما يملكه من خصائص علاجية في علاج السكري من النوع الثاني، وتشير بعض الدراسات إلى أن عصير نبات الصبار يمكن أن يساعد في تخفيض مستوى السكر في الدم لدى الأشخاص المصابين بالسكري من النوع

الثاني، وقد جرت العادة على استخدام عصارته المجففة في شبه الجزيرة العربية لعلاج مرض السكري تقليديًا (Jon, 2019).

2. القرفة

يمكن أن يؤدي تناول حوالي نصف ملعقة صغيرة من القرفة يوميًا إلى تقليل مستويات السكر في الدم والكوليسترول والدهون الثلاثية بشكل كبير عند الأشخاص المصابين بداء السكري من النوع الثاني (Robert *et al.,* 2013).

3. الحلبة

يستخدم نبات الحلبة كدواء وتوابل لألاف السنين في الشرق الأوسط، وتم إثبات فوائد الحلبة لمرض السكري في كل من الأبحاث التي أجريت على الحيوانات والإنسان، وإحدى الدراسات أظهرت أن الحلبة لها القدرة على التحكم في مستويات السكر في الدم بشكل كبير(Arpana *et al.,* 2015).

4. الزنجبيل

إن الزنجبيل هو أحد الأعشاب التي استخدمت في الطب التقليدي، وغالبًا ما كان يتم استخدامه للمساعدة في علاج مشاكل الجهاز الهضمي. وأظهرت نتائج حديثة أن الزنجبيل قد يقلل من مستويات السكر في الدم، بدون تقليل مستوى الأنسولين، مما يعني أن الزنجبيل قد يقلل من مقاومة الأنسولين في الجسم عند مرضى السكري من النوع الثاني، ولكن هناك حاجة لمزيد من الأبحاث (Nafiseh *et al.,*2015).

5. الجيمنيما: (Gymnema)؛

وهي عشبةٌ يعود أصلها إلى غابات الهند، وأفريقيا، وأستراليا، وقد أشارت دراسةٌ نُشرت في مجلة Diabetes Control News عام 2001 إلى أنّ الأشخاص الذين استهلكوا مكملات عشبة الجيمنيما انخفض لديهم معدّل تركيز الجلوكوز في الدم قبل الأكل بنسبة 11%، كما انخفض معدل الجلوكوز في الدم بعد الأكل بنسبة 13%،

بالإضافة إلى أنّه قلل معدل السكر التراكمي بنسبةٍ تتراوح بين 8.8% إلى 8.2% (Joffe and Freed, 2011).

6. الكركم

لقد تم إثبات أن مركب الكركمين الموجود في الكركم يدعم السيطرة على نسبة السكر في الدم ويساعد على منع الإصابة بمرض السكري(David, 2017).

7. الخرفيش :

أو ما يُعرف بالسلبين المريميّ (Milk thistle) وقد أشارت مراجعةٌ وتحليلٌ إحصائيّ شملت دراساتٍ و270 مريضاً، ونُشرت في Journal of Diabetes Research عام 2016 إلى أنّ مادةً مستخلصةً من الخرفيش تُعرَف بالسيليمارين وقد قللت مستويات السكر الصيامي، والسكر التراكمي في الدم بشكلٍ ملحوظ، ولكنّه لم يؤثر في مستويات الدهون، ولكن بعض الباحثين أشاروا إلى أنّ هذه الدراسات لم تكن كافيةً لتأكيد تأثير الخرفيش في السكري (Luminita *et al.,* 2016).

المواد وطرائق العمل

اولا: جمعت الاعشاب تحت الدراسة بحالة جافة من السوق المحلية (شكل 1) وطحنت لتحويلها الى مسحوق (شكل 2) والاعشاب هي (بذور الرجلة او ما يسمى البربين والكركم وبذور الرشاد والحلبة).

ثانيا: استخدمت عينة من الخلاصة الخام من المواد المشار اليها اعلاه للكشف عن بعض المكونات الكيميائية الاساسية التي يحتمل وجودها بهذه النباتات. استخدمت وسائل الكشف اللونية المعتمدة للمركبات الكيميائية المذكورة في الجدول (1) كما يأتي: الكشف عن Saponin يرج المستخلص المائي في انبوبة اختبار وظهور رغوة كثيفة دليل على وجود السابونين. الكشف عن Alkaloid استخدم كاشف دراجندورف الذي يعطي لونا برتقاليا عند تفاعله مع القلويدات الموجودة في المستخلص. أما الكشف عن Tannin فتم باضافة خلات الرصاص 1%

الى الرائق من المستخلص المائي وهذا ادى الى ظهور راسب هلامي دليل على وجود التانين. بينما الكشف عن Flavonoids فتم بخلط 10 مل من الكحول الإيثيلي 50 ٪ في 10 مل من 50 ٪ محلول هيدروكسيد البوتاسيوم ومن ثم تمت إضافتها إلى حجم متساوٍ من خليط المستخلص النباتي ويشير ظهور اللون الأصفر إلى وجود Flavonoids. أما الكشف عن Terpenes and Steroid فتمت بإذابة غرام واحد من المستخلص النباتي في 2 مل من الكلوروفورم ومن ثم اضافة قطرة من أنهيدريد الخل وقطرة من حمض الكبريتيك يمثل ظهور اللون البني وجود Terpenes. بعد بعض الوقت، إذا ظهر لون أزرق داكن يدل على وجود الستيرويد (Richird, 2000).

ثالثا: الدراسة السريرية تمت باختيار ستون فأر مختبري ابيض بوزن تراوح بين (22-29) غرام قسمت الى ثلاثة مجاميع, المجموعة الاولى (20 فأرا) تم حقنها بمادة الالوكسان الذي يؤثر على جزر لانكر هانز ويؤدي الى ارتفاع في نسبة السكر لديها وتعتبر مجموعة سيطرة موجبة اما المجموعة الثانية (20 فأرا) فتم حقنها بمادة الالوكسان وعند ملاحظة حدوث ارتفاع بنسبة السكر لديها عولجت بخلطة الاعشاب المقترحة بهذه الدراسة، اما المجموعة الثالثة (20 فأرا) فلم تعامل بأي مادة واعتبرت مجموعة سيطرة سالبة.

وعملية علاج المجموعة الثانية من الفئران تمت بإعطائها خلطة الاعشاب المكونة من (بذورالرجلة او البربين والكركم وبذور الرشاد والحلبة) بنسب متساوية بعد ان عملت منها عجينة (شكل 3) واعطيت الى فئران عن طريق الفم ولمدة عشرة ايام وخلال مدة العلاج كان يؤخذ عينة من دم كل فرد من افراد الفئران العشرين ويتم قياس نسبة الكلوكوز والسكر التراكمي في دمها.

رابعا: استخدم هذا العلاج على اشخاص متطوعين مصابين بمرض السكري المزمن بأخذ عجينة خلطة الاعشاب مرة واحدة في اليوم لمدة عشرة ايام وخلالها تقاس نسبة الكلوكوز والسكر التراكمي في دمهم.

النتائج

نلاحظ في الجدول (1) الخصائص الكيميائية التي تم الكشف عنها ببعض الطرق الكيمياوية الخاصة.

جدول (1) الكشف عن بعض المركبات الكيميائية في الاعشاب قيد الدراسة

Test	Sample no.	Result 1	Result 2	Result 3	Result 4	Comments
Detection of Tannins		++	+	++	++	White p.p.t.
Detection of glycosides		+	+	+	+	Orange-Red p.p.t.
Detection of alkaloids		+	+	-	+	brown p.p.t.
Detection of the saponines		+	+	+	+	Foam formation
Detection of Flavonoids		trace	+++	++	+++	Bright yellow
Detection of Polyphenolic compounds		+	+	+	++	Brown p.p.t

+دليل على وجود المركب الكيميائي، ++ دليل على وجود المركب بكميات كبيرة، +++ دليل على وجود المركب بكميات كبيرة جدا، دليل على عدم وجود المركب الكيميائي.

1 = بذور الرجلة (البربين), 2= الكركم, 3= بذور الرشاد و4=بذور الحلبة

حقنت الفئران بمادة الالوكسان من اجل رفع نسبة الكلوكوز في دمها ويعود سبب ارتفاع نسبة الكلوكوز بعد الحقن بالالوكسان الى قدرة الالوكسان على تعطيل افراز هرمون الانسولين عن طريق مهاجمة خلايا بيتا البنكرياسية المفرزة له وتحطيمها بواسطة تراكم الجذر الحرة في خلايا بيتا (Benrcbai *et al.,* 2007)، ينقل الالوكسان الى الخلايا بواسطة نواقل الكلوكوز للتشابه بينه وبين الكلوكوز مؤديا الى تحطيم خلايا بيتا البنكرياسية (Eteng *et al,* 2008) وبذلك عمل الالوكسان على استحداث داء السكري في الفئران كما في جدول (2).

جدول (2): التغيرات في كلوكوز والسكر التراكمي قبل وبعد الحقن بالالوكسان للمجاميع قيد الدراسة.

ت	قبل الحقن بالالوكسان		بعد الحقن بالالوكسان		P – Value
	الكلوكوز	السكر التراكمي	الكلوكوز	السكر التراكمي	
المجموعة الاولى (سيطرة موجبة)	5.5±115.82	4.3	35.6±295	9.2	⁎0.001
المجموعة الثانية	5.5±115.82	4.3	35.6±295	9.2	⁎0.001
المجموعة الثالثة (سيطرة سالبة)	5.5±115.82	4.3	-	-	-

⁎معنوي

وعند اعطاء خلطة الاعشاب نلاحظ انخفاضا في نسبة الكلوكوز والسكر التراكمي كما موضح في جدول (3).

جدول (3): التغيرات في الكلوكوز والسكر التراكمي بعد الحقن بالالوكسان وبعد المعالجة بخلطة الاعشاب.

ت	بعد الحقن بالالوكسان		بعد المعالجة بخلطة الاعشاب		P – Value
	الكلوكوز	السكر التراكمي	الكلوكوز	السكر التراكمي	
المجموعة الاولى (سيطرة موجبة)	35.6±295	9.2	-	-	⁎0.001
المجموعة الثانية	35.6±295	9.2	10.2±110.20	5.2	⁎0.001

⁎معنوي

أما بعد اخذ اشخاص متبرعين مصابين بداء السكري المزمن وتوثيق موافقتهم حسب استمارة وزارة الصحة الخاصة بموافقة المرضى خلطة الاعشاب نلاحظ انخفاض في نسبة الكلوكوز والسكر التراكمي لديهم كما تشير النتائج في جدول (4).

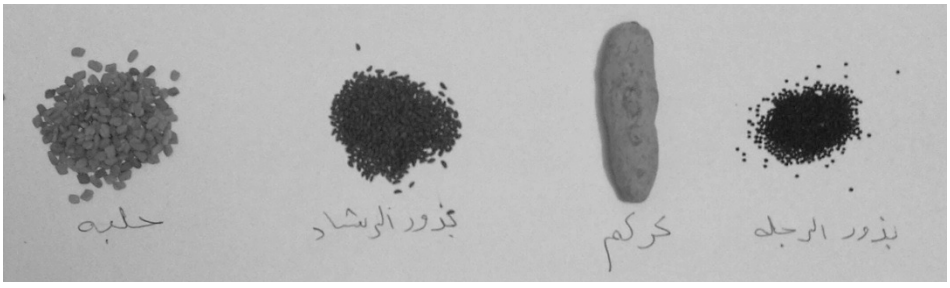
جدول (4) التغييرات بمستوى السكر والسكر التراكمي في الافراد المتطوعين

مرضى داء السكري المزمن بدون علاج		مرضى داء السكري المزمن بعد المعالجة بخلطة الاعشاب		P – Value
الكلوكوز	السكر التراكمي	الكلوكوز	السكر التراكمي	
±10.12 344	8.1	8.11±115	4.5	★0.001

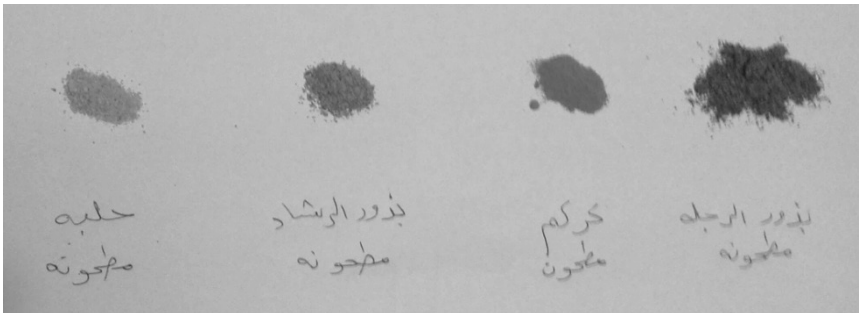
⁎معنوي

المناقشة

ان خلطات الاعشاب المنتشرة في دول العالم اغلبها تحتوي على الخصائص الكيميائية Saponins, Flavonoids, Alkaloids, and Tannins (David, 2017).. وعند ملاحظة الخصائص الكيمياوية التي ظهرت لنا في خلطة الاعشاب قيد الدراسة نلاحظ وجود نفس المواد الكيمياوية اعلاه Saponins, Alkaloids, Flavonoids, Glycosides, Tannins وبنسب مختلفة. في الدراسات السابقة يستخدم كل نبات من هذه النباتات على حدة في علاج بعض الامراض وايضا مضادات اكسدة، لكن دراستنا جاءت بخلط هذه الاعشاب بنسب متساوية والتي عملت على تقليل مقاومة الخلايا للأنسولين وهذا ما ثبت من خلال انخفاض نسبة السكر التراكمي لدى الفئران وايضا لدى الاشخاص المصابين بداء السكري (Chan, *et al.*,2009).



شكل (1) يبين الاعشاب المستخدمة قيد الدراسة مثلما تم شراءها من الاسواق المحلية



شكل (2) يبين الاعشاب المستخدمة قيد الدراسة بعد طحنها.

شكل (3) عجينة خلطة الاعشاب قيد الدراسة

References

- Arpana Gaddam, Chandrakala Galla, Sreenivas Thummisetti, and others (2015), "Role of Fenugreek in the prevention of type 2 diabetes mellitus in prediabetes", Journal of Diabetes and Metabolic Disorders, Issue 1, Folder 14, Page 74.
- Benrebal, M.; Abidli, N. ; Benlatreche, C. Lipids and oxidative stress in blood serum of alloxan-induced diabetic rats: p0ossible effects on liver and kidney tissues. Egyptian J. Hospital Med. 27,2007, 245- 254..
- Chan, E.W.C.; Lim, Y.Y.; Wong, S.K.; Lim, K.K.; Tan, S.P.; Lianto, F.S.; Yong, M.Y.; et al. (2009). "Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species". Food Chemistry. 113 (1): 166-172
- David Spero (2017), "Herbs for Diabetes"، www.diabetesselfmanagement.com. Richird, I. Natural products Isolation. (2000); New York.
- Eteng,M.U.; Bassey, B.J.; Atangwho, I.J.; Egbung, G.E.; Eyong. E.U.; Ebong,P.E.and Abolaji,A.O. Biochemical indices of Macrovascular complication in diabetic rat model: compared effects of Vernoia amygdalina, Catharantus roseus and chlorpro pamide. Asian J. Biochemistry. 3, 2008,228- 234.
- Joffe, D. J., and S. H. Freed (2011), "Effect of Extended Release Gymnema Sylvestre Leaf Extract (Beta Fast GXR)", Diabetes Control News, Issue 1, Folder 76, Page 1-4.
- Jon Johnson (2019), "Seven herbs and supplements for type 2 diabetes", www.medicalnewstoday.com

- George Krucik (2016), "Herbs and Supplements for Diabetes"، www.healthline.com.
- Luminita Voroneanu, Ionut Nistor, Raluca Dumea, and others (2016), "Silymarin in Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials", Journal of Diabetes Research, Page 5147468.
- Nafiseh Khandouzi, Farzad Shidfar, Asadollah Rajab, and others (2015), "The Effects of Ginger on Fasting Blood Sugar, Hemoglobin A1c, Apolipoprotein B, Apolipoprotein A-I and Malondialdehyde in Type 2 Diabetic Patients", Iranian Journal of Pharmaceutical Research, Issue 1, Folder 14, Page 131-140.
- Robert W. Allen, Emmanuelle Schwartzman, William L. Baker, and others (2013), "Cinnamon Use in Type 2 Diabetes: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis", The Annals of Family Medicine, Issue 5, Folder 11, Page 452-459.

- Naguib, D., El-Gohary, A. H., Mohamed, A.A. and Al-Araby, M. A. (2014). Study on role of cattle in transmission of Cryptosporidium parvum and Entamoeba species to man with special reference to its molecular characterization. In Science. Conf. Mansoura, Egypt., (pp. 297-314).
- Nasser, N.I.(2014). Frequency of parasitic, bacterial and fungal enteropathogens among children and adults patients with diarrhea and association affecting factors. Kufa J. Nurs. Sci., 4: 169–175.
- Nayyef, H.J., Majeed, L.J.and Abdul Al-Wahab, E.(2011). A study of epidemiology of intestinal protozoa in human in Baghdad city. J Al-Nahrain Univ. - Sci.;14: 57–63.
- Obaid, H. M. (2013).The effect of *Entamoeba histolytica* and Giardia lamblia infection on some human hematological parameters, J. Nat. Sci. Res., 4. 44e48
- Pestehchian, N., Nazary, M., Haghighi, A., Salehi, M. and Yosefi, H. (2011). Frequency of *Entamoeba histolytica* and Entamoeba dispar prevalence among patients with gastrointestinal complaints in Chelgerd city, southwest of Iran(*). Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences., 16: 1436-1440.
- Salah, T.A., Shallal,S. and Mohammed,S.A.(2017).Prevalence of *Entamoeba histolytica* infection in Al-Rutba region / AlAnbar governorate and study of effect extract of Frankenia pulverulenta on parasite. Iraqi J. Desert. Study., 7(1):64-77.
- Salman, Y.J. and Salih, L.A.(2013).Detection of some microbial infectious agents among children aging below two years in Kirkuk city. J Kirkuk Med Coll., 1: 53–61.
- Samie, A., ElBakri, A. and AbuOdeh, R. E. (2012). Amoebiasis in the tropics: epidemiology and pathogenesis. In Current Topics in Tropical Medicine., 201-226.
- SAS. (2012). Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.
- Watanabe, K and Petri, W.A. (2015).Molecular biology research to benefit patients with *Entamoeba histolytica* infection.J. Mol. Microbiol., 98(2):208-217.
- Zuk, M. and McKean, K.A. (2000). Sex differences in parasite infections: Patterns and processes. Neurosci. Biobehav. Rev., 24: 627-638.

- Dimiceli, L. (2004). Distinguishing between pathogenic and nonpathogenic species of Entamoeba. Lab. Med., 35(10):613–615.
- Ejaz, M., Murtaza, G., Ahmad, M., Khan, S. A., Hussain,I., Ul-Saqib, Q.N., Bin Asad, M.H.H., Wasim, A. and Farzana, K. (2011). Determination of the prevalence of *Entamoeba histolytica* in human at a private fertilizer company hospital in Pakistan using microscopic technique. Afr. J. of Microbiology. Res., 5(2): 149-152.
- Garg, P.K.; Perry, S.; Dorn, M.; Hardcastle, L. and Parsonnet, J. (2005). Risk of intestinal helminth and protozoan infection in a refugee population, Am. J. Trop. Med. Hyg. 73. 386e391.
- Gunduz,T.; Demirel, M.M.; Inceboz, T. ; Tosun, S. and Yerel, K.(2005). Prevalence of intestinal parasitosis in children with gastrointestinal symptoms associated with socio-economic conditions in manias region. T. Parazitol. Derg., 29: 264-269.
- Hamad, N.R. and Ramzy, I.A. (2012). Epidemiology of *Entamoeba histolytica* among children in Erbil province, Kurdistan region-Iraq. Journal of Research in Biology., 1: 057-062.
- Ibrahim, M. A., Hussein, R. A. and Al-Mayah, Q. S. (2019). molecular identification and genetic Diversity of Entamoeba species from diarrheic patients In Baqubah / Iraq. Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences., 10(1): 951-960.
- Kadir, N. A. and Naki, H. Z. (2000). A study of intestinal amoebiasis and its effect on nutritional status of primary school children in Tooz city, Salahahdin Province. J. Communication Med., 13:97 – 99.
- Kawano, T., Imada, M., Chamavit, P., Kobayashi, S., Hashimoto, T. and Nozaki, T.(2017). Genetic diversity of Entamoeba: Novel ribosomal lineages from cockroaches. Plos One. 12, 9, e0185233.
- Matsubayashi, M., Matsuura, Y., Nukata, S., Daizi, Y., Shibahara, T., Teramoto, I., Matsuo, T., Uni, S., Hatta, T., Kaneko, A., Tsuji, N. and Sasai, K.(2018). First detection and molecular identification of Entamoeba bovis from Japanese cattle. Parasitol. Res., 117, 339-342
- Matsubayashi, M., Murakoshi, N., Komatsu, T., Tokoro, M., Haritani, M. and Shibahara, T.(2015). Genetic identification of Entamoeba polecki subtype 3 from pigs in Japan and characterisation of its pathogenic role in ulcerative colitis. Infect. Genet. Evol., 36, 814.

References

- Ahmed, B., Hamed, S. and Sheirf, Z. (2010).Epidemiological studies on some zoonotic enteric protozoa in different areas of Nile Delta. JASMR., 5(2): 199-207.
- Ahmed, K., Shezana, Jan, M., Imran, R., Shuja, N. and Shah, G. (2012). Prevalence of intestinal parasitic pathogens among gastroenteritis patients in District Gilgit. Pakistan J. Zool., 44(4): Pp. 1059-1063.
- Al-Ammash, M.S.J.(2015). Study on prevalence of Entameoba histolytica & Giardia lamblia in Samarra city. Kufa J. Vet. Med. Sci., 6: 194–204.
- Alardi, M. H., & Jasim, G. A. (2016). Molecular study to detection and genotyping of Entamoeba spp. in cattle and sheep. Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences, 15(1), 145-151.
- Al-Areeqi, M.A., Sady, H., Al-Mekhlafi, H.M., *et al.,* (2017). First molecular epidemiology of *Entamoeba histolytica*, E. dispar and E. moshkovskii infections in Yemen: different species-specific associated risk factors. Trop. Med. Int. Health., 22:493-504.
- Al-Areeqi, M.A., Sady, H., Al-Mekhlafi, H.M., *et al.,* (2017). First molecular epidemiology of *Entamoeba histolytica*, E. dispar and E. moshkovskii infections in Yemen: different species-specific associated risk factors. Trop. Med. Int. Health., 22: 493-504.
- Al-Azawi, A. K. A.(2009). Incidence of entamoebiasis among children in Abu-Ghraib area Baghdad. Iraqi Journal of Veterinary Medicine., 33: 155–160.
- Ali, I.K. (2015). Intestinal amebae. Clinical Lab. Med., 35(2):393–422.
- Al-Kaeebi, S.R.A. and Al-Difaie, R.S.S.(2016). Use PCR conventional for detecting AP and PLA virulence factors of *Entamoeba histolytica* in patients stool samples in Al-Qadisiyah Province. Wasit. J. Science and Medicine., 8(4):102-110.
- Al-Mosawi, R.(2016). Detection of intestinal parasitic among people infection with diarrhea in Al-Fhood district in Thi-Qar province., Iraq. Int. J. Sci. Basic Appl. Res.;28: 180–185.
- Bahrami, F., Haghighi,A., Zamini,G. and Khademerfan,M.(2019). Differential detection of *Entamoeba histolytica*, Entamoeba dispar and Entamoeba moshkovskii in faecal samples using nested multiplex PCR in west of Iran. J. Epidemiology Infect., 147(96):1-12.
- Debnath, A., Rodriguez, M. A.and Ankri, S. (2019). Recent progresses in amebiasis. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology., 9(247):1-4.

hyper endemic regions the disease was seen in young children while with mild or asymptomatic infection in older children (Gunduz *et al.,* 2005). Nasser (2014) in Basra city recorded low infection rate of 15% in group of 0-10 months and high infection rate of 55% in the age group of 30-40 years.

This study revealed the presence of *Entamoeba histolytica* infection in different areas in Baghdad city; these areas are; Abu Ghraib hospital, medical city hospital, central child hospital, Al Rusafa and Al Karkh laboratories. The highest infection rate was 39.3% (13/33) and recorded in Abu Ghraib hospital, while the lowest was 20% (2/10) and recorded in Al Karkh laboratories, with significant differences (P≤ 0.05),Table (4).

Table 4. The infection rate *Entamoeba histolytica* in patients according to areas by using microscopic examination.

Areas	No. of Examined patients	No. of infected patients	(%)	P value
Abu Ghraib hospital	33	13	13	0.00747 **
Medical city hospital	20	6	6	
Central child hospital	27	9	9	
Laboratories/Al Rusafa	10	3	3	
Laboratories/ Al Karkh	10	2	2	
Total	100	33	33	
** (P≤0.01).				

The differences in prevalence of these intestinal parasites from one study to another may due to different factors such as: environmental, nutritional, socio-economic, geographical conditions, demographic and health-related behaviors as well as number of patients enrolled in the screening study and the diagnostic method used (Prado *et al.,* 2003; Garg *et al.,* 2005; Obaid, 2013).

Table 3. The infection rate of *Entamoeba histolytica* according to the age groups by microscopic examination.

Age/Years	No. of Examined samples	No. of infection	Percentage (%)	P values
1<6	14	3	3	00065 **
>6-10	27	12	12	
>10-15	21	8	8	
>15-20	18	6	6	
≥20	20	4	4	
Total	100	33	33	
** (P≤0.01).				

The results of the present study agreed with many previous studies such as Alreequi *et al.,*(2017) in Yemen, in which they recorded high prevalence of infection (45.3%) in age of less than ten years compared to lower rate (6.1%) in ages over 41 years. They also reported that children at age 1-10 years were more susceptible to infection with *Entamoeba histolytica* than other ages. *Entamoeba histolytica* infection is more prevalent in younger age groups, this could be explained on the basis of that the children have lower resistance as compared to adults and because many of the crucial defense systems that help to protect adults from diseases are not fully developed in children. They are much more sensitive to parasites than adults, other reasons could be that the children are more exposed to overcrowded conditions (schools, nurseries, playgrounds etc.) (Al-Kaeebi and Al-Difaie,2016). Parasitic infection among school children may be due to poor conditions in schools, they do not take care of their personal hygiene, such as playing in contaminated outdoor environments, in and around disposal sites (which can certainly cause serious health problems), lack of fecal hygiene and lack of washing hands before meals.(Kadir and Naki, 2000).

Entamoeba histolytica was more frequently encountered during childhood since hygienic habits have not been fully developed yet and in

the infection in the male was (63.64%) and in the female was (36.36%).While Nayyef et al. (2011) study showed that there were non-significant difference (P > 0.05) in the infection rate with *Entamoeba histolytica* prevalence between males 51.42% and females 48.58%. While the study of Ejaz et al. (2011) showed that the infection with Entamoeba spp was more prevalent in females(31.5%) as compared to the males(19.6%).The high prevalence of *Entamoeba histolytica* in males may be due to hormonal in origin, or due to ecological factors such as differential exposure to the pathogens because of the sex-specific behavior, this agrees with Salah *et al.,*(2017) who found that E. histolytica is more common in men than in women, the reason for this, is thought to be hormonal. Zuk and Mckean (2000) thought that sexually mature males are often more susceptible to infection than females because sex steroids specifically androgens in males and estrogens in females modulate several aspects of host immunity.

The results of the current study also showed that the highest infection rate with *Entamoeba histolytica* found in age group (>6-10) years with the percentage of (44.4%), while the lowest occurred in the age group (≥20) years with the percentage (20%). However the statistical analysis showed significant difference (P≤ 0.01) between the percentage of infection between age groups, as represented in Table (3).

proved that Intestinal parasitic infections are widely prevalent in developing countries due to poor sanitation, and inadequate personal hygiene. The incidence is also closely related to climate and environmental conditions. Additionally the prevalence of Entamoeba spp is high among families who eat together from the same plate, among those who eat with their hands, among those who eat away from home and sanitary workers (Karaman *et al.,*2006).

Table 1. Total rate of infection with *Entamoeba histolytica* among patients by microscopic examination.

Species	No. Exam.	Positive cases	
		No.	%
Human	100	33	33

The results showed that the rate of infection with *Entamoeba histolytica* was higher 21(48.83%) in males than females12 (21.05%), with statistical significant differences (P≤ 0.01) as presented in Table (2).

Table 2. Infection rate of *Entamoeba histolytica* according to the gender by using microscopic examination

Gender	No. of examined patients	No. of infected patients	(%)	P values
Males	43	21	21	0.0027 **
Females	57	12	12	
Total	100	33	33	---
** (P≤0.01)				

The result agreed with Nasser (2014) in Al-Sweara city who recorded infection in the males (44.68%) which was higher than that in the females (15.66%).Ahmed (2010) who recorded the infection in males (20%) and in the females (4%) and Al-Ammash(2015) in Saladin city who recorded that

capped stool containers and transported in cold bag to the Parasitology Laboratory, College of Veterinary Medicine,University of Baghdad. In addition, questionnaire formula including (gander, age and areas) was distributed.

Microscopic examination

About 1-2 gm from each stool sample was used and examined by direct smear preparation, using iodine stain and concentration method, for the detection and identification of parasite cyst, as described by (Bahrami *et al.,*2019). Examination of smears was made by light microscope (Olympus) under low power 10X then higher power magnification 40X.

Statistical Analysis

To determine the influence of several factors on study percentage, the Statistical Analysis System- (SAS,2012) application was utilized. Moreover, the Chi-square test was employed to compare percentages (0.05 and 0.01 likelihood).

Results and Discussion

Microscopic examination

The results of microscopic examination by direct wet mount method with normal saline and logus iodine at high power (40x) for detection the trophozoite and cyst stage of *Entamoeba histolytica* spp were illustrated in (Fig. 1).

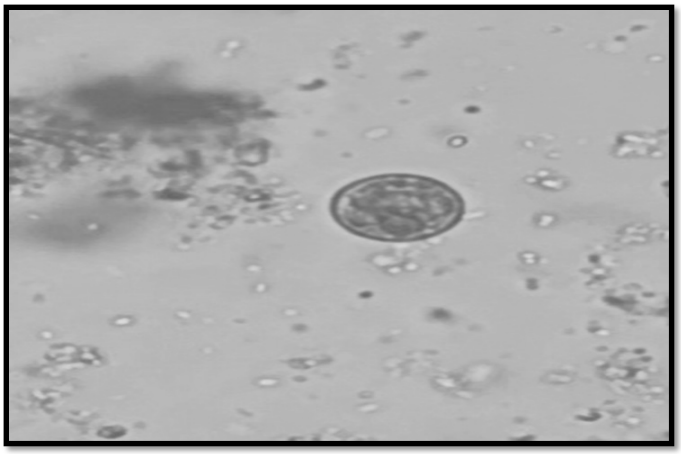


Figure (1): The cysts of *Entamoeba histolytica* by logus iodine at (40X)

The microscopic examination showed that 33(33%) patients out of 100 were infected with Entamoeba spp. as represented in Table (1) and the result of this study agreed with (Nasser,2014) who recorded 32% in Basra province, and Al-Azawi (2009) who reported 32.5% in abu-Gharab/ Baghdad. But, it was lowest than the results recorded by Ibrahim *et al.,* (2019) in Baqubah province and Alardi and Jasim (2016) in Al-Diwaniya province who reported 57.33% and 44.8% respectively. Furthermore, the current study findings were higher than the rate of infection in the studies of Salman (2013) in Kirkuk and AL-Mosawi (2016) in Thi-Quar who found 1.68% and 17.5% respectively. In Arabian countries, the prevalence of amoebiasis was 37.24% in Egypt (Naguib *et al.,*2014) and 19.2% in United Arab Emirates by Samie *et al.,* (2012).The prevalence of amoebiasis depends on many risk factors such as, the ignorance, overcrowding, inadequate and contaminated water supplies (quality of water consumed), poor sanitation, toilet habit, low socio-economic status, absence of adequate urban services, place of residence, age, ingestion of raw vegetables (Hamad and Ramzy,2012; Ahmed *et al.,* 2012)

Introduction

Entamoeba spp. is a free-living protozoan or parasitic species that can infect a variety of vertebrate and invertebrate hosts (Matsubayashi *et al.,* 2015; Kawano *et al.,*2017; Matsubayashi *et al.,* 2018). There are up to 24 species of Entamoeba described worldwide, but only species such as *Entamoeba histolytica, E. coli, E. dispar, E. moshkovskii, E. hartmanni and E. polecki* reside in the lumen of human intestine (Ali, 2015). After malaria and schistosomiasis, *Entamoeba histolytica* infection is the third parasite in the world to cause mortality, it affects about 180 million persons, with 40,000 to 110,000 individuals dying per year (Pestehchian *et al.,* 2011; Al-Areeqi *et al.,* 2017).

Entamoeba histolytica infection is worldwide, more common in the tropics and subtropics. Contaminated food and water with feces contain cysts is a common source of infection. Most cases arise from human carriers, mature cyst passers, which pass in formed or semi formed stools (Debnath *et al.,* 2019). Monkeys, dogs, and probably pigs are naturally infected with *E. histolytica*, although these animals are only a small source for human exposure when compared to man himself (Watanabe and Petri,2015). The goal of this study is to record the infection with *Entamoeba histolytica* in Baghdad City hospitals.

Materials and Methods

Samples collection

One hundred stool samples were collected from patients attended the Al-Rusafa laboratories, Al-Karkh laboratories Medical Hospital and Abu-Ghraib hospital in Baghdad City. Stool samples were collected in screw-

المستخلص

اظهرت نتيجة الفحص المجهري لمائة عينة براز الانسان أن 33% من العينات مصابة بطفيلي الاميبا, وان معدل الاصابة في الذكور هي 48.83% وفي الاناث هي 21.05% مع وجود فروقات معنوية بينهم عند مستوى الاحتمال 0.01

اعلى نسبة اصابة كانت 12% لدى الاعمار بين 6-10 سنوات واقلها 4% عند الاعمار اكثر من 20 سنة. فضلا عن ذلك لوحظ ان اعلى معدل الإصابة والذي هو 54.54% قد سجل بشهر تموز \2021و اقلها سجلت في شهري كانون ثاني وشباط من العام نفسه وهي 18.18% وبفروق معنوية عند مستوى الاحتمال 0.01. الدراسة اوضحت ايضا تسجيل الاصابة بطفيلي الاميبا بعدة مناطق من مدينة بغداد واعلى نسبة كانت 13% في مستشفى ابو غريب تبعتها مستشفى الطفل المركزي ومدينة الطب ومن ثم مختبرات الرصافة وبنسب 6%, 9% و3% على التوالي بينما اقل نسبة اصابة كانت قد سجلت في مختبرات الكرخ وهي 2% وبفروق معنوية عند مستوى الاحتمال 0.01عن باقي المناطق.

الكلمات المفتاحية: طفيليات الاميبا، الاسهال، الكيس الناضج و *Entamoeba histolytica*

Abstract

The result of microscopic examination of 100 human stool samples showed that 33% of them were infected with *Entamoeba histolytica*. The rate of infection with *Entamoeba histolytica* in the males was 21% while in the females was 12% with a significant differences at (P<0.01).The highest infection rate 12% was found at age >6-10 years, while the lowest rate 4% was found at age group ≥20 years. The highest infection rate 54.54% occurred in July/2021, while, the lowest 18.18% was reported in January and February/2021 with significant differences at (P<0.01).The study revealed that the presence of infections with *Entamoeba histolytica* in different locations of Baghdad City. The highest rate of infection13% was recorded in Abu Gharab hospital followed by Central Child Hospital, Medical city hospital and Al Rusafa Laboratories, with rates of 6%, 9%, and 3% respectively, The lowest rate 2% was recorded in Al_Karkh laboratories with significant differences (P<0.01).

Keywords: Entamoeba spp, *Entamoeba histolytica*, diarrhea, mature cyst