دراسة منحنى النمو والتغايرات الشكلية لطفيلي المشعرات المهبلية في وسطيين زرعين مختلفيين

*أخلاص مشرف عيدان** *آمنة نصيف جاسم** *علي حسين آدحية***

استلام البحث 20، كانون الاول، 2012
قبول النشر 3، اذار، 2014

الخلاصة:

هدفت الدراسة الحالية الى تسليط الضوء لاستنبات وإدامة ونمو طفيلي المشعرات المهبلية المعزول بوساطة المسحات المهبلية من نساء مصابات بالتهاب مهبلي يعانين من افرازات مهبلية في وسطيين زرعين مختلفيين هما وسط *Trichomonas* Agar Base (TAB) والآخر *Trichomonas* modified (CPLM) لغرض التعرف على منحنى النمو والتغايرات الشكلية والحيوية، فضلاًعن تأثير مصلي الخروف والبقر في نمو الطفيلي . أشارت نتائج الاستنبات الى تباين منحنى النمو في الوسطيين حيث بلغت أعلى ذروة لتضاعف الطفيلي في الوسط الزرعي TAB بعد 72 ساعة حضانة وعند أستخدام مصل البقر، في حين بلغت هذه الذروة بعد 144 ساعة حضانة عند أستخدام مصل الخروف. اما عند أستخدام الوسط الزرعي CPLM فأن أعلى ذروة لتضاعف الطفيلي كانت بعد 120 ساعة حضانة عند أستخدام مصل الخروف، و168 ساعة حضانة عند أستخدام مصل البقر. فضلاً عن ذلك فقد كان معدل تضاعف الطفيلي سريعاً (بعد أقل من 24 ساعة حضانة) في الوسط الزرعي TAB الا ان ذلك قد تصاحب مع سرعة هلاكه، خلاف مالوحظ في الوسط الزرعي CPLM. كذلك أوضحت النتائج بان الطفيلي أظهر تغايرات شكلية عكست مراحل نمو الطفيلي، إذ تباين شكله مابين الشكل الكروي العديم الحركة (فترة السكون) الى الشكل الكمثري الحاوي على نواة واسواط ثم الى الشكل الكروي الحاوي على نواتين واسواط فالشكل الكروي الكبير الحجم والبطيء الحركة واخيراً الشكل الكروي عديم الاسواط (طوركيسي كاذب).

الكلمات المفتاحية :-طفيلي المشعرات المهبلية ،طور الكيس الكاذب ،الوسط الزرعي TABوCPLM ، منحنى النمو ، التغايرات الشكلية

المقدمة:

يعد طفيلي المشعرات المهبلية *Trichomonas vaginalis* واحداً من اهم المسببات المرضية للامراض المنتقلة جنسياً وحوالي اكثر من 180 مليون شخص مصاب بهذا الطفيلي [1]. أرتبط التشخيص السريري للإصابة بطفيلي المشعرات بالأعراض التقليدية والتي تتضمن أطلاق أفرازات ذات رغوة تميل الى اللون الاخضر المصفر Yellowish-green forthy discharge وتقيح Pruritus وعسر البول Dysuria وعسر في الجماع Dyspareunia وظهور البقع النزفية المسماة Strawberry في عنق الرحم، الا أن التشخيص بالأعتماد على الاعراض السريرية لايمكن الوثوق به وذلك لأن هذه الأعراض يمكن ان تكون مماثلة لكثير من الأعراض السريرية لأصابات جنسية أخرى [4,3,2] وعلى هذا الاساس فقد أشار الباحثون الى أن هذه العلامات السريرية ليست معايير تشخيصية موثوقة، وان الفحص المختبري الدقيق يعد معياراً ضرورياً لتشخيص الطفيلي لغرض أعطاء العلاج الملائم وبالنتيجة سيسهل من السيطرة على أنتشار الإصابة بطفيلي المشعرات المهبلية. ومن هذه الطرائق طريقة الفحص الرطب التي تعد واحدة من أكثر الطرائق أستخداماً في تشخيص الإصابة بهذا الطفيلي ، ويعد الفحص موجباً في حالة الكشف عن وجود الطفيلي الذي يمكن تمييزه من خلال حركته الارتجاجية Jerky movement.وتتباين حساسية هذا الاختبار بتباين المختبرات والفاحصين الا انها تقع ضمن مدى 35-80% [5]. اما طريقة الزرع Culture method فقد قيمت من قبل العديد من الباحثين بوصفها مقياساً ذهبياً Gold standard في تشخيص الإصابة بطفيلي المشعرات المهبلية [6]. وقد أستخدم العديد من الاوساط الزرعية الخاصة بنمو الطفيلي لاحتواء هذه الاوساط الزراعية على المغذيات الملائمة للنمو وتكاثر الطفيلي ومنها وسط دايموند Diamond trichomonad medium ،وسط كفربيرغ Kupferberg medium ،وسط دايموند المحور Diamond modified media ،وسط Beef extract glucose peptone serum ،وسط Clausen ،وسط Oxide's

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

Trichomonas ووسط Trichosel [9,8,7].
واكد العديد من الباحثين ا أن هناك تبايناً في حساسية هذه الطريقة فقد ذكر [10] أن حساسيتها تبلغ 95%، في حين أكد [5] أن حساسية هذا الاختبار تكون 74%.
وقد يعاني الفاحص من عدم القدرة على تشخيص الطفيلي بسبب قدرته بان يتخذ اشكالا واحجام متباينة مابين الشكل الكمثري الى المستدير وقد اشار العديد من الباحثين الى وجود طور كيسي كاذب pseudocyst بسبب استدارة الطفيلي وعدم قدرته على الحركة [11,10,6]، لذا فقد هدفت الدراسة الحالية الى دراسة منحنى النمو لطفيلي المشعرات المهبلية في وسطين زرعين مختلفيين لغرض مقارنة مدى كفاءتهما في نمو وتكاثر الطفيلي فضلاً عن دراسة تاثير بعض عوامل النمو التي تتضمن مصل البقر والخروف وتاثيرها في التغايرات الشكلية للطفيلي.

المواد وطرائق العمل:

1-جمع المسحات المهبلية Collection of Vaginal Swabs

*جمعت المسحات المهبلية Vaginal Swabs وبواقع ثلاث مسحات لكل مريضة مصابة بالتهاب المهبل ، بمنظار مهبلي ثنائي الفتحات معقم Sterile Speculum بعد ادخاله مباشرة داخل المهبل.
أخذت العينات من عنق الرحم Posterior Fornex والجدران الجانبية للمهبل وذلك عن طريق تدوير المسحة على جوانب المهبل لحين ترطيب المسحة بالكامل مع أخذ جزء من الأفرازات ثم نقلت العينات (المسحات المهبلية) الى المركز الوطني لأمراض السكري التابع للجامعة المستنصرية ، خلال مدة لا تتجاوز الساعتين من وقت آخذ العينة .

1- الأمصال seram

*مصل الخروف Sheep Serum : سحب الدم من الوريد الوداجي Jugular Vein للخروف بمحقنه نابذة وبظروف معقمة ، ثم وضع الدم في أنابيب زجاجية وترك ليتجلط بدرجة حرارة الغرفة ليتم نبذه بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 10 دقائق لفصل المصل ، ثم أجريت له عملية تثبيط المتمم (Complement Inactivation) وذلك بوضع المصل في حمام مائي بحرارة 56°م ولمدة 30 دقيقة وضع المصل في انبوبة 10 مل وحفظ في المجمدة بحرارة -20°م لحين الاستعمال.
*مصل البقر Bovine Serum: بعد ذبح الحيوان، جمع الدم بقناني زجاجية معقمة ثم وزع في أنابيب زجاجية وعزل المصل بحسب الطريقة السابقة لعزل مصل الاغنام .

1.التشخيص Diagnosis

1.الفحص المباشر Direct Examination

فحصت عينات المسحات المهبلية وذلك من خلال تحضير مسحة Smear وذلك بدحرجة المسحة المهبلية على شريحة زجاجية نظيفة و تركت لتجف بدرجة حرارة الغرفة ثم لونت بصبغة لشمان Leishman stain للكشف عن وجود طفيلي المشعرات المهبلية . بعد ذلك اضيف 0.5 مل من المحلول الفسلجي المعقم الى انبوبة المسحة مع رج الأنبوبة بصورة جيدة ، ثم تركت لمدة دقيقتين وآخذت بعد ذلك قطرة من نقيع المسحة بالمحلول الفسلجي على شريحة زجاجية نظيفة ليتم فحصها تحت المجهر الضوئي بقوة X10 ثم X40 [12] ثم وضع غطاء الشريحة عليها لملاحظة الحركة التموجية لطفيلي المشعرات المهبلية والخلايا القيحية Pus cells، وفحص على الاقل 20 حقلاً مجهرياً لدقة التشخيص ، وقد عد الفحص موجباً في حالة رؤية الطفيلي وملاحظة شكله وحركته [13] في حين عد الفحص سالباً عند عدم رؤية الطفيلي خلال مدة تتراوح من 3-5 دقائق من الفحص المتواصل للحقول المجهرية [14].

1.الزرع المختبري Laboratory Cultivation

زرعت المسحتين المهلبية الباقية لكل عينة داخل القناني الخاصة بالزرع والحاوية على الوسط الزرعي المتمثل بالأوساط *Trichomonas* modified CPLM المحورو المؤلف من عدة مكونات بحسب الجدول (1) وTAB *Trichomonas* Agar Base المحوروالمؤلف من عدة مكونات بحسب الجدول(1) التي تم تجهيزه من شركة himedia كلاً على حدة، ثم حضنت هذه الأنابيب بعد تعليمها برقم المسحة وتاريخ الحصول عليها بحرارة 37° م هوائياً. فحصت هذه العينات يومياً وعلى مدار 7 ايام لاعطاء النتيجة النهائية .

جدول 1: مكونات الوسط الزرعي TABو الوسط CPLM

مكونات الوسطTAB	الوزن (غم / لتر)
Liver digest	25
Sodium chloride	6.5
Dextrose	5
Agar	1
المكونات الوسط CPLM	الوزن (غم / لتر)
Peptic digest of animal tissue	32
Liver digest	20
Maltose	1.6
L- cysteine hydrochloride	2.4
Ringers solution 1/4 th strength	qs

1.أدامة طفيلي المشعرات المهبلية وجمعه من الوسط الزرعي

*إدامة طفيلي المشعرات المهبلية

بعد الحصول على نمو طفيلي المشعرات المهبلية تمت عملية إدامة المستنبت الخاص بالطفيلي من الوسط الحاوي عليه الى الوسط الزرعي الجديد وذلك بأخذ 200 مايكرولتر من قعر الأنبوبة الحاوية على المزروع الطفيلي الى الوسط الزرعي الجديد ، ثم حضن المستنبت الجديد هوائياً بالحاضنة بحرارة 37ºم . تمت هذه العملية بعد التأكد من حيوية الطفيلي وخلو المستنبت من التلوث.

*متابعة منحنى نمو الطفيلي

تمت متابعة منحنى نمو للطفيلي وذلك بتلقيح 1×10^{6} خلية / مل الى الوسطين الزرعيين ليتم حضنهما بحرارة 37ºم إذ تمت متابعة النمو بعد 24 ساعة من الحضانة، وكان ذلك بأخذ قطرة من المستنبت بعد ان تم انقلاب Invert قناني بيجو وبشكل عمودي وبرفق ليصبح الوسط عالقاً ليتم حساب أعداد الطفيلي الموجود في العالق على وفق المعادلة الأتية:

العدد الكلي للطفيلي / مل= س × ص × 10^{4}

س: مجموع أعداد الطفيلي في 16 مربعاً صغيراً

ص: عامل التخفيف

10^{4}: عامل تصحيح الحجم

ثم اعادة الحضن ليوم آخر وهكذا أستمرت العملية.لمدة اسبوعيين حضانة

النتائج والمناقشة :

تنمية طفيلي المشعرات المهبلية في الزجاج (*in vitro*) وإدامته:-

أستخدم الوسطان الزرعيان (TAB وCPLM والمحور من قبل شركة Himedia الهندية في تنمية طفيلي المشعرات المهبلية. يمتاز هذان الوسطان عن بعضهما البعض في طبيعة المواد الكيميائية الداخلة في تركيبهما.

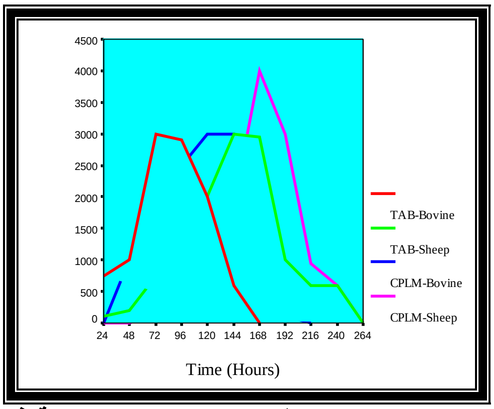
اظهر هذان الوسطان الزرعيان كفاءة عالية في التشخيص فضلاً عن قدرتهما العالية في أستنبات وتنمية طفيلي المشعرات المهبلية، وبصورة عامة لوحظ أن معدل التضاعف أو النمو للطفيلي يبدأ بعد مرور 24 ساعة من الحضانة ثم يتفاقم هذا التضاعف بعد مرور 48 ساعة ليبلغ ذروته بعد الساعة 144 وهذا ماجاء متفقاً مع ما ذكره [15] .

أوضحت نتائج تنمية طفيلي المشعرات المهبلية في الزجاج أن معدل تضاعف الطفيلي يتباين تبعاً لنوعية الوسط الزرعي (TAB , CPLM) المستخدم في تنمية الطفيلي وكذلك أعتماداً على نوع المصل (مصل الخروف أو مصل البقر) والمضاف الى هذين الوسطين الزرعيين وتمت متابعة منحنى نمو للطفيلي وذلك بتلقيح 1×10^{6} خلية / مل الى الوسطين الزرعيين ليتم حضنهما بحرارة 37ºم ثم فحص النمو بعد 24 ساعة من الحضانة، وكان ذلك بأخذ قطرة من المستنبت وعدها، ثم اعادة الحضن ليوم آخر وهكذا أستمرت العملية.

لقد أظهرت النتائج وجود أختلاف في معدل التضاعف لطفيلي المشعرات المهبلية وفي كلا الوسطين الزرعيين طيلة مدة المتابعة، وبصورة عامة لوحظ أنخفاض في معدل النمو في البداية ثم يبدأ الطفيلي بالتضاعف بعد مرور24 ساعة (اليوم الاول) حضانةمن التلقيح، ففي حالة الوسط الزرعي TAB كان معدل التضاعف سريعآ ليصل ذروتة بعد 72 ساعة (اليوم الثالث) عند أستخدام مصل البقر، أما في حالة أستخدام مصل الخروف فكانت ذروة منحى التضاعف بعد 144 ساعة (اليوم السادس)، ليمر بعدها بوقت أستقرار ثم عانى الطفيلي من تدهور في نموه ليختفي نهائيآ بعد الساعة 168 (اليوم السابع) عند أستخدام مصل البقر، وفي حالة أستخدام مصل الخروف أختفى الطفيلي نهائيآ بعد الساعة 264 (اليوم الحادي عشر) (الشكل 1)..

أما عند أستخدام الوسط الزرعي CPLM فأن منحنى النمو أخذ شكلآ متغايرآ لما هو عليه في الوسط الزرعي TAB فقد كان معدل التضاعف بطيئآ موازنة بالوسط الزرعي TAB، حيث بدأ التضاعف بعد مرور 24 ساعة حضانه ليبلغ أعلى ذروة له بعد مرور 120 ساعة حضانة (اليوم الخامس) عند أستخدام مصل البقر، و168 ساعة (اليوم السابع) في حالة أستخدام مصل الخروف. كما كان معدل الهلاك وتدهور النمو للطفيلي بطيئآ ايضآليختفي نموه نهائيآ بعد مرور 240 ساعة (اليوم العاشر) عند أستخدام مصل البقر و288 ساعة (اليوم الثاني عشر) عند أستخدام مصل الخروف (الشكل 1).

تشير هذه النتائج الى تباين معدل التضاعف وديمومة الطفيلي وبحسب نوعية الوسط الزرعي ونوعية المصل المستخدم، فقد فاق الوسط الزرعي CPLM على الوسط الزرعي TAB في معدل تضاعف الطفيلي وأن أستخدام مصل الخروف يزيد من ديمومة طفيلي المشعرات المهبلية في الزجاج. يمكن تفسير ذلك في ضوء أختلاف طبيعة المواد الكيميائية والمغذيات الداخلة في تركيب هذه الأوساط الزرعية التي تعد عاملاً مؤثرآ في منحى النمو، كما أن أستخدام مصل البقر زاد من سرعة معدل التضاعف ولكن في الوقت نفسه عجل بهلاك الطفيلي ولربما يعود ذلك وبشكل أساسي الى تركيز البروتينات فيه الذي يكون عالياً مضافاً الى ذلك فأن مصل

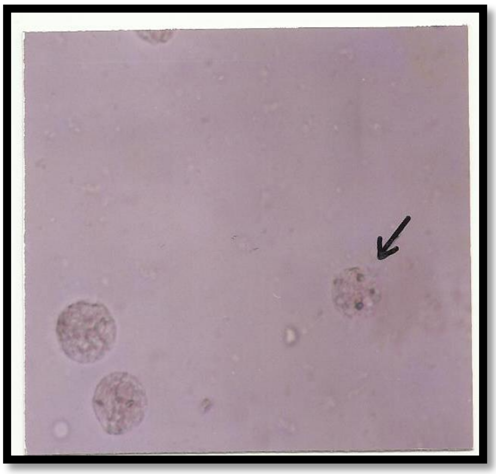


شكل1: منحنى نمو طفيلي المشعرات المهبلية في الوسطين الزرعيين TAB و CPLM وبأستخدام مصلي البقر و الخروف ولمدة 264 ساعة

البقر كان حاوياً على كريات الدم الحمر مقارنة بمصل الخروف الذي كان خالياً من كريات الدم الحمر وهذا مايؤكد أهمية الدم في آدامة نمو الطفيلي بوصفه عنصراً للحديد، أذ أن للطفيلي القدرة على تحليل كريات الدم الحمر(Hemolysis) ومن هنا نجد أن تنمية طفيلي المشعرات المهبلية في الزجاج تتطلب وجود الحديد بجانب الأحماض الأمينية التي يستمدها من المصل [18,17,16]. فضلاً عن التباين في منحنى النمو فقد لوحظ تباين في حجم الطفيلي ونشاطه فعند تنمية طفيلي المشعرات المهبلية في الوسط الزرعي TAB فأن الطفيلي أمتاز بشكله الكمثري المتعارف عليه ذي الحجم الطبيعي وكذلك أمتاز بحركته النشطة موازنة بالوسط الزرعي CPLM الذي كان الطفيلي فيه بأشكال واحجام متباينة، حيث ان الطفيلي بعد أستنباته بعدة ساعات أخذ الشكل الكروي العديم الحركة وكأنه في هذه الحالة كان يمر بفترة سكون الأ أنه وبعد 24 ساعة حضانة أظهر الشكل الكمثري الحاوي على نواة واسواط وهو بالتالي ذو فعالية نشطة، ومن ثم الشكل الحاوي على نواتين نتيجة الانقسام ، فالشكل الكروي الحاوي على أسواط يستمر هذا الشكل الأ انه أحياناً يأخذ الشكل الكروي الكبير الحجم والبطيء الحركة او فاقداً اليها، ليستمر ظهور هذه الأشكال المتباينة حتى وصول دور الهلاك حيث يعاني الطفيلي من أختفاء للأسواط نهائياً ويبدأ بالتكور بحيث يوحي وكأنه طور تكيس Cyst stage الأ انه في الحقيقة طور كاذب وهذا ما اوكد من قبل [21,20,19] بدليل عندما يؤخذ هذا الشكل بعد مشاهدته وينقل الى وسط زرعي جديد مباشرة فأنه يستمر بالنمو، ولكن عند أطالة تركه بهذا الشكل لمدة 24 ساعة فأنه لايستمر بالنمو ومن هنا نجد أن هذه الأشكال المتباينة ماهي الأ تعبير عن المراحل التطويرية لنمو الطفيلي وتدهوره وكما موضح في الشكل(2).

أ-الشكل الكروي للطفيلي غير حاو على الاسواط (طور السكون)

ب- الشكل المثالي (الكمثري) للطفيلي



ت- الشكل الكروي الحاوي على نواتين

ث-الشكل الكروي للطفيلي حاو على الاسواط

ح-الشكل الكروي عديم الاسواط والحركة (طور كيسي كاذب)

ج-الشكل الكروي عديم الاسواط بطيء الحركة

الشكل(2): يوضح التغيرات الشكلية لطفيلي المشعرات المهبلية في الوسط الزرعي CPLM بملون الايوسين (×40)

المصادر:

1.Lyons, E.J. and Carlton, J.M.(2004): Mind the gap: Bridging the divide between clinical and molecular studies of the trichomonads. *Trends Parasitol. 20(5): 204-7.*

2.Wang, J.(2000): Trichomoniasis. Prim Care Update *Ob/ Gyns, 7(4): 148-53.*

3.Swygard, H.; Seña, A.C.; Hobbs, M.M.and Cohen, M.S: Trichomoniasis(2004) : clinical manifestations, diagnosis and management. *Sex. Transm. Infect. 80: 91-5*

4.Schwebke, J.R. and Burgess, D.(2004): Trichomoniasis. Clin. Microbiol. Rev, 17(4): 794-803.

5.Lawing, L. F. Hedges, S. R. and Schwebke, J. R. (2000). Detection of trichomoniasis in vaginal and urine specimens from women by culture and PCR. *J. Clin. Micobiol., 38:3585-308.*

6.Pillay, A.; Lewis, J.and Ballard ,R.D.(2004): Evaluation of Xenostrip-TV, a rapid diagnostic test for *Trichomonas vaginalis* infection. *J. Clin. Microbiol, 42(8): 3853-56.*

7.Ribeiro, L. M. M. (1990). An efficient medium for isolation of *Trichomonas foetus*. Ondersteport *J. Vet. Res., 57:209-210* .

8.Thomason, J.L. and Gelbart, S.M. (1989).*Trichomonas vaginalis. Obstet. Gynecol., 74:536-541.*

9.Gelbart, S. M. , Thomason, J. L, Osypowski, P. Kellett, A. V. , James, J. A. and Broekhuizen, F. F . (1990). Growth of *Trichomonas vaginalis* in commercial culture media . *J. Clin. Micobioliol., 28:962-964.*

10. Patel,S.R.;.Wise,W.;Patel,S.C.;Ohl, C;.Byrd,J.C.;andEstada,C.A . (2000). Systematic review of diagnostic tests for vaginal Trichomoniasis. *Infect. Dis.Obstet.Gynecol., 8:248-257.*

11. Clark, C.G. and Diamond, L.S.(2002): Methods for cultivation of

luminal parasitic protists of clinical importance. *Clin. Microbiol. Rev. 15(3): 329-41.*

12. Fouts, A.C. and Kraus, S.J. (1980) *Trichomonas vaginalis*: reevaluation of its Clinical presentation and laboratory diagnosis *J.Infect. Dis.41:137-143.*

13. Thomason, J.L. and Gelbart, S.M. (1989).*Trichomonas vaginalis. Obstet. Gynecol., 74:536-541*

14. Krieger, J.N. and Alderete, J.F.(1999). *Trichomonas vaginalis* and trichomoniasis in Holmes, K.H., Sparling, P. F., Mardh, P. , Lemon, S. M. , Stamm, W. E. , Piot, P. and Wasserheit, J. (1999). Sexually transmitted diseases. 3th ed McGraw – Hill companies. U.S.A.PP.587-604.

15. Lehker, M. W. and Alderete, J.F (1990).Properties of *Trichomonas vaginalis* grown under chemostat controlled growth condition *Genitourin .Med. 66:193-199.*

16.Gorrell, T. E. (1985) . Effects of culture medium iron content the biochemical composition and metabolism of *Trichomonas vaginalis. J. Bacterol.* 161: 1228 - 1230.

17.Mundodi, V. Kunknoor, A. S. Chng, T.H. and Alderete , J. F. (2006).A novel surface protein of *Trichomonas vaginalis* is regulated independently by low iron and contact with vaginal epithelial cells.*BMC Microbiol., 6*:

18.Ong, S-J., Hsu, H-M. , Liu, H-W.,Chu, C-H., and Tai,J-H. (2006). Multifrarious transcriptional regulation of adhesion protein gene ap65 by a novel protein in the protozoan parasite *Trichomonas vaginalis . Euk.Cell., 5:391-399.*

19.Hussein, E.M.and Atwa, M.M. (2008): Infectivity of Trichomonas vaginalis pseudocysts inoculated intra-vaginally in mice.*J. Egypt. Soc .Parasitol. 38(3):749-62.*

20.Pereira-Neves, A. Ribeiro, K.C. and Benchimol, M. (2003). Pseudocysts in trichomonads--new insights. *Protist. 154(3-4):313-29.*

21.Afzan, M.Y. and Suresh, K.(2012) Pseudocyst forms of Trichomonas vaginalis from cervical neoplasia. *Parasitol. Res., 2012 (1):371-81.*

Study of growth curve and morphological change for *Trichomonas vaginalis* parasite in the tow culture media

Ekhlas M. Edan*   Amna N. Jassim*   Ali H. Ad,hiah**

* College of Science for Women/ Baghdad University
** Tropical – Biological Research Unit,College of science,Univ. of Baghdad

Abstract:

The objective of this study was shed light for cultivation and maintenance of *Trichomonas vaginalis* parasite growth after isolated it by vaginal swaps from females suffering vaginitis and abnormal vaginal discharges in these media CPLM and TAB media to detect growth curve, morphological changes and viability of parasite in the two culture media, together with effect of sheep and bovine serum on the growth of it. The results of this studies were showed there was abtaine differences between the two types of media , The maximum growth of parasite was in TAB medium after 72 hours incubation with use of bovine serum, while such growth was maximized after 144 hours incubation with the use of sheep serum. In CPLM medium, a maximum growth was reached after 120 hours incubation in the case of sheep serum, and 168 hours incubation in the case of bovine serum. After less than 24 hours incubation, the parasite grew exponentially in TAB medium, but such growth was associated with an increased rate of death in contrast, the reverse picture was observed in CPLM medium. Through the stages of growth, the parasite manifested different morphological changes, which were ranged from a non-motile spherical shape, nucleated and flagellated pear shape, binucleated and flagellated spherical shape, slow-moving large spherical shape and finally the a flagellated spherical shape (pseudocyst).