



تأثير بعض الادوية المختارة (بايريميثامين, كلايثرومايسين, سبايراميسين والايفرمكتين) على Toxoplasmosis المستحدث تجريبيا في الفئران

حسين ساهر اسود**

عبير عباس علي**

شهاب احمد محمد*

* جامعة تكريت- كلية التربية

** هيئة التعليم التقني -المعهد التقني كركوك

*** جامعة تكريت- كلية الطب

الخلاصة:

تم إجراء عزل المقوس الكوندي *Toxoplasma gondii* وتشخيصه من المشيمة البشرية كمحاولة أولية ثم تنشئة الإصابة في الفئران المختبرية كخطوة أساسية لتنمية الطفيلي لمتابعة الخطوة التالية لدراسة تأثير عدد من العقاقير المختارة في العلاج التجريبي لداء المقوسات المستحدث في الفئران، وهذه العقاقير هي البايريميثامين، كلايثرومايسين، سبايراميسين، ايفرمكتين. أظهرت نتائج هذه الدراسة تأثيرات على أعداد أكياس النسيج tissue cysts المتكونة في الدماغ والرئة، إذ بلغت أعداد أكياس النسيج المتكونة في الدماغ بعد تجريع الفأرة المصابة بالبايريميثامين 12.5 ملغم/كغم وبعد مرور 28 يوم 14.8 ± 1.067 وبمقارنتها مع مجموعة السيطرة 27.4 ± 1.029 ظهر وجود فروق معنوية بينما بلغت أعداد أكياس النسيج المتكونة في نسيج الرئة للعقار نفسه بعد مرور الفترة الزمنية نفسها 6.2 ± 0.583 وبمقارنتها مع مجموعة السيطرة 10.2 ± 0.583 ظهر وجود فروق معنوية. ولم يظهر المضاد الحيوي كلايثرومايسين والذي تم استخدامه بجرعة مقدارها 250 ملغم/كغم فروقا معنوية ($p=0.393$) في أعداد أكياس النسيج المتكونة في الدماغ و بعد مرور 28 يوم 23.8 ± 0.86 مقارنة مع مجموعة السيطرة 28.6 ± 1.029 وكذلك الحال في نسيج الرئة إذ بلغت أعداد أكياس النسيج فيها 23.8 ± 0.86 مقارنة مع مجموعة السيطرة 28.4 ± 1.805 أما بالنسبة للمضاد الحيوي سبايراميسين والذي تم استخدامه بجرعة وحدة دولية فقد أظهرت النتائج فعالية هذا المضاد في تقليل أعداد الأكياس النسيجية المتكونة في الدماغ وبفروق معنوية ($p<0.05$) إذ بلغ معدل الأكياس 9.6 ± 0.6 مقارنة مع مجموعة السيطرة 22.8 ± 1.067 وظهر التأثير نفسه على نسيج الرئة إذ بلغ معدل أكياس النسيج فيها بعد مرور 28 يوم على العلاج 4.6 ± 0.509 وبمقارنتها مع مجموعة السيطرة 17 ± 1.14 نلاحظ وجود فروق معنوية ($p=0.000$). واطهر الايفرمكتين الذي تم حقن الفئران به بجرعة مفردة تحت الجلد مقدارها 1 سم³ /50 كغم فعالية فائقة في اختزال أعداد أكياس النسيج المتكونة في الدماغ والرئة إذ بلغ أعداد أكياس النسيج المتكونة بعد 28 يوم 3.2 ± 0.374 و 1 ± 0.316 على التوالي وبمقارنتها مع مجاميع السيطرة 22 ± 1.843 و 19.4 ± 1.435 نلاحظ وجود فروق معنوية. هذا وإن استعمال العقار ايفرمكتين يعد من الدراسات الرائدة والمثمرة إذ لم يسبق ان استعمل سابقا في علاج داء المقوسات.

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: 2010/5/12

تاريخ القبول: 2011/6/3

تاريخ النشر: 2012 / 6 / 14

DOI: 10.37652/juaps.2011.44272

الكلمات المفتاحية:

ادوية ،
بايريميثامين،
كلايثرومايسين،
سبايراميسين والايفرمكتين،
Toxoplasmosis ،
الفئران.

المقدمة

داء المقوسات Toxoplasmosis من الأمراض الطفيلية التي يسببها الطفيلي *Toxoplasma gondii*, وهو جنس من الالوي الطفيلية داخل خلوية إجباريا Obligate intracellular والتي تعود إلى شعبة ال: Apicomplexa Phylum (1) يصيب الطفيلي معظم الحيوانات ذوات الدم الحار warm-blooded animals ومن ضمنها الإنسان, وتعد القطط مضائف نهائية لهذا الطفيلي وتعد في الوقت نفسه مضائف خازنة لها reservoir .

تصاب الحيوانات بهذا الطفيلي عن طريق تناول لحوم مصابة او التماس مع براز القطط أو بالانتقال من الأم إلى الجنين.(2) ويعد التماس مع اللحوم النيئة من أهم مسببات المرض في الإنسان (3) وتنتقل الاصابة بالطفيلي بطرائق عدة منها شرب المياه وتناول الخضراوات والفواكه الملوثة بأكياس بيض الطفيلي، فضلاً عن التعامل مع التربة الملوثة ببراز القطط المصابة، كما يمكن ان تحصل الاصابة عند تناول أو ملامسة الأكياس النسيجية الموجودة في لحوم وأنسجة المضائف الوسطية الطرية او غير المطهية جيداً وقد تحدث الاصابة نتيجة لشرب الحليب غير المبستر والملوث بالحيوانات السريعة tachyziotes، ومن الطرائق المهمة ايضا للانتقال هو حدوث الاصابة عبر المشيمة (6,5,4)transplacental infection. وأخيراً تنتقل الاصابة بالطفيلي عن طريق الجهاز التنفسي باستنشاق أكياس البيض المتبوغ(7).

إن الغاية الأساس في علاج داء المقوسات الحاد هي تثبيط تكاثر أو تضاعف الحويين السريع لتقليل أو لاختزال الامراضية وفي بعض الأحيان يعطى دواء الكورتيزون corticosteroids لتقليل الاستجابة الالتهابية . في داء المقوسات الولادية , العلاج يجب أن يختزل أعداد أكياس النسيج ويقلل من خطر إعادة التنشيط على مر الوقت استنادا إلى نظرية أن أكياس النسيج تنفجر تلقائيا على مر الوقت. (8).

وبسبب أهمية هذا الطفيلي وما يسببه من مشاكل في حقل الصحة العامة أصبح من الواضح أن هناك حاجة ملحة للبحوثدراسة تأثير بعض الأدوية على أعداد الأكياس النسيجية في الدماغ والرئة في الفئران المختبرية في سبيل تثبيط أو إبادة الطفيلي في الفئران المصابة.

المواد وطرائق العمل

جمعت 10 عينات من مشيمات النساء المجهضات والمراجعات لمستشفى كركوك العام ، فقد تم حفظ العينات في قناني بلاستيكية نظيفة ومعقمة وحماية على المحلول الملحي الوظيفي المعقم وجلبت الى المختبر، واستعملت طريقة Sharma وجماعته مع اجراء بعض التحويرات عليها وحسب طريقة الحيايى (2002) وذلك باستعمال محلول داريء الفوسفات المنظم المعقم عوضاً عن محلول البيسين الحامضي، وبعد انتهاء عملية العزل حقن العالق في التحويف البريتوني لخمس فئران تراوحت اعمارها بين 4-6 اسابيع بهدف عزل الطفيلي بصورة نقية لاجراء الدراسة التجريبية اللاحقة.

وتتمت باتتباع الخطوات الاتية:

1- من كل مشيمة اختيرت في كل مرة عينة نسيجية يقرب وزنها من 30-50 غم.

2- قطعت هذه العينة النسيجية الى قطع متناهية في الصغر قدر الامكان باستعمال مقص حاد ومشروط جراحي معقمين

3 تمت مجانسة هذه العينة النسيجية بعد هرسها بوساطة الهاون والمدق الزجاجي pestle and mortar او باستعمال الخلاط الكهربائي وازافة كمية مساوية لها في كل مرة من محلول الملح الفسيولوجي حتى تتم مجانسة المحلول تماما.

4- رشح الخليط بعد ذلك بتمريره خلال عدة طبقات من الشاش الطبي المعقم بهدف التخلص من القطع الكبيرة.

5 - نبذ الراشح filtrate في جهاز المنبذة centerfuge وبسرعة 2000دورة/دقيقة لمدة عشر

دقائق ولعدة مرات بعد سكب الرائق وازافة محلول داريء فوسفات الصوديوم phosphate buffer saline (PBS) الى الراسب.

6- سكب الرائق وعلق الراسب في محلول الملح الفسيولوجي لازالة اثار المحلول الداريء.

7- نبذ الخليط مرة اخرى كما في السابق واعيد تعليق الراسب في 4-5 سم3 من محلول الملح الفسيولوجي المضاف اليه 1000 وحدة دولية من البنسلين و 100 ملغم منالستربتومايسينsterptomycin للوقاية من التلوث الجرثومي.

8 - تم تحضير جرعة مقدارها 0.5 - 1.0 سم3 من المحلول المعلق الذي سبق تحضيره من المشيمات لغرض حقنها في الفئران في التحويف البريتوني intrapritonealy (ip). عند الانتهاء من تحضير المعلق

* Corresponding author at: Tikrit University - College of Education, Iraq;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5859-6212> .Mobil:777777
E-mail address:

مليون وحدة دولية (كل 3200 وحدة دولية تعادل 1 ملغم) لمدة 10 أيام عن طريق الفم باستعمال أنبوب التغذية.
5- المجموعة الخامسة: تم حقنها بـ Ivermectin وبجرعة مفردة single dose مقدارها 1سم³/50 كغم تحت الجلد subcutaneous.
تم تشريح 5 فئران من كل مجموعة في الأيام 7, 14, 21, 28 بعد التوقف عن اعطاء العلاج لغرض تتبع التغييرات النسيجية في كل من الدماغ والرئة, إذ تم نزع هذه الاعضاء وجرى تثبيتها بـ 10% فورمالين وبعد الغسل والتكيز dehydration طمرت في شمع البرافين وقطعت الى مقاطع باستعمال جهاز المشرح microtome بسمك 7-10 مايكرون وصبغت المقاطع النسيجية بصبغة الهيماتوكسلين-ايوسين Hematoxlyn-Eosin وفحصت تحت المجهر (13).

تم حساب اعداد الاكياس النسيجية في كل من الدماغ والرئة على حدة على مدى 4 اسابيع لكل من السيطرة والمعاملات الاربعة. حسب (14,15,16) وذلك بحساب اعداد الاكياس في الحقل المجهرى الواحد (قوة التكبير x100) وتم حساب 5 حقول مجهرية لكل شريحة واستخرج معدل الاكياس منها. لحساب مجموع الاكياس الكلي في الدماغ والرئة يتم ضرب مجموع اعداد الاكياس المحسوبة في 20. لمقارنة تأثير الادوية على اعداد الاكياس في كل من الدماغ والرئة تم اخضاع النتائج للتحليل الاحصائي باجراء اختبار t والتحليل ذي الاتجاه الواحد للمتغيرات.

النتائج

تم دراسة تأثير بعض الأدوية على أعداد الأكياس النسيجية بعد عزل الاكياس النسيجية من كل من نسيج الدماغ ونسيج الرئة للفئران المصابة, إذ تم استعمال الـ Pyrimethamin و Clarithromycin و Spiramycin و Ivermectin .

1 - تأثير البايريميثامين Pyrimethamin:

الشكل (1) يوضح تأثير البايريميثامين على اعداد اكياس النسيج في دماغ الفئران للايام 7,14,21,28 ومجموعة السيطرة, إذ بلغ معدل اعداد الاكياس في اليوم السابع 21.22 ± 922 , بينما بلغ في اليوم الرابع عشر 20.2 ± 1.067 وفي اليوم الحادي والعشرين 18.4 ± 1.363 وفي اليوم الثامن والعشرين 12.2 ± 1.067 مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ بلغ معدل عدد الاكياس 27.4 ± 1.029 . وظهر التحليل الاحصائي فروقات معنوية بين المجاميع $p > 0.001$. وبمقارنة تأثيرها بين مجموعة السيطرة وتأثيرها في الايام 7, 14, 21, 28 بطريقة المقارنة المتعددة

النسيجي وقبل حقن الفئران روعي اخذ قطرة او قطرتين من هذا المعلق وتحضيرها على شريحة زجاجية وصبغها بصبغة كيمزا Giemsa لغرض التحري عن الطفيلي وتشخيص اطواره المحتمل وجودها .
حقنت اناث الفئران بعد التأكد من خلوها من داء المقوسات باجراء اختبار اللاتكس (LAT) Latex Agglutination Test بـ 1.0 - 0.5 سم³ من عالق المشيمة الذي سبق تحضيره في التجويف البريتوني .ثم جرى فحص الراشح البريتوني لهذه الفئران يوميا وحتى اليوم السابع بعد الحقن بعالق المشيمة المتجانس لغرض التأكد من اكتساب الفئران الاصابة بالطفيلي بالتحري عن وجود التاكيزويتات Tachyzoites ولأجل هذا حقن في التجويف البريتوني لهذه الفئران 2-5 سم³ من فوسفات الصوديوم PBS ثم سحب بعد فترة وجيزة الراشح البريتوني pretoneal exudate ليخضع للفحص بالطريقة المباشرة إذ يتم فحص مجهرى لمسحة من الراشح البريتوني المصبوغ بصبغة كيمزا (11,12)

دراسة تأثير الادوية

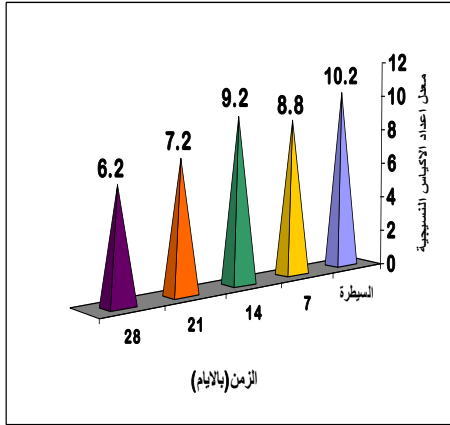
تم دراسة تأثير بعض الأدوية المضادة للتوكسوبلازما كوندي في الجسم الحي vivoIn باستعمال اناث فئران female albino mice تراوحت أوزانها بين 18-20 غم وبعمر 4-6 اسابيع وتم حقنها بالتاكيزويتات المعزولة من الفئران بعد اصابتها باسبوعين في تجويف البريتون بـ 1.0 سم³ من اللقاح المأخوذ من الراشح البريتوني لفأر مصاب بالمقوسات الكوندية تحتوي قرابة (100 من التاكيزويتات). وتم حساب اعداد التاكيزويتات بواسطة الشريحة الخاصة لعد كريات الدم Haemocytometer (كما في حساب كريات الدم البيض والحمرة) وتم تقسيم الفئران إلى خمس مجاميع:-

1- المجموعة الأولى: مجموعة السيطرة control.

2- المجموعة الثانية: تم تجريعها بـ klarimix (Clarithromycin, Sigma) وبجرعة 250غم/كغم لمدة 10ايامعن طريق الفم باستعمال أنبوب التغذية feeding tube.

3- المجموعة الثالثة: تم تجريعها بـ Pyrimethamin (Daraprim) GlaxoSmithKline) وبجرعة 12.5غم/كغم لمدة 10 ايام عن طريق الفم باستعمال أنبوب التغذية feeding tube .

4- المجموعة الرابعة: تم تجريعها بـ Spiramycin (مختبرات اسيا للصناعات الدوائية/سوريا) وبجرعة 1.5



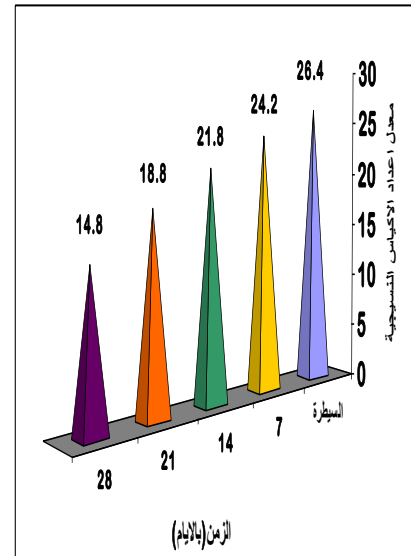
شكل (2): تأثير البايريميثامين Pyrimethamin على اعداد الاكياس النسيجية في رئة الفئران المصابة

2 - تأثير الكلاريثروميسين Clarithromycin:

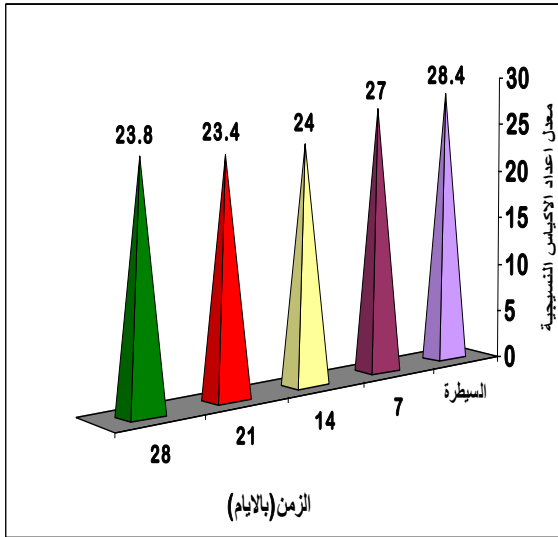
يوضح الشكل (3) تأثير الكلاريثروميسين على اعداد الاكياس النسيجية في دماغ الفئران المصابة للايام 7, 14, 21, 28 ومجموعة السيطرة, إذ بلغ معدل اعداد الاكياس في اليوم السابع 3.08 ± 27 , بينما بلغ في اليوم الرابع العشر $243.316 \pm$ وفي اليوم الحادي والعشرين 23.4 ± 1.326 وفي اليوم الثامن والعشرين 23.8 ± 0.86 مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ بلغ معدل عدد الاكياس 1.029 ± 28.6 . ولم تلاحظ فروقا معنوية بين المجاميع $p=0.393$.

وبإجراء التحليل المقارن المتعدد, وجد أن متوسط الفرق بين مجموعة السيطرة والمجموعة الأولى 1.6 ± 3.140 وبفرق غير معنوي $p=0.616$ وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الثانية 4.6 ± 3.140 وبفرق غير معنوي $p=0.159$, وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الثالثة 3.140 ± 5.2 وبفرق غير معنوي $p = 0.113$ وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الرابعة 3.140 ± 4.8 وبفرق غير معنوي $p = 0.142$.

multiple comparison mean وجد أن متوسط الفرق differences بين مجموعة السيطرة والمجموعة الأولى 6.2 ± 2.344 وبفرق معنوي $p= 0.016$ وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الثانية 6.6 ± 2.344 وبفرق معنوي $p= 0.011$ وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الثالثة 9.0 ± 2.344 وبفرق معنوي $p=0.001$ وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الرابعة 3.44 ± 15.2 وبفرق معنوي $p=0.000$. يوضح الشكل (2) تأثير البايريميثامين على اعداد اكياس النسيج في رئة الفئران المصابة للايام 7, 14, 21, 28 ومجموعة السيطرة, إذ بلغ معدل اعداد الاكياس النسيجية في مجموعة السيطرة 10.2 ± 0.583 , وبلغ معدل عدد الأكياس النسيجية 7.2 ± 0.374 , 9.2 ± 0.583 , 8.8 ± 0.663 و 6.2 ± 0.583 للأيام 7, 14, 21, 28 على التوالي. و أظهر التحليل الإحصائي فروقا معنوية بين المجاميع $p = 0.000$. وإجراء التحليل المقارن المتعدد, وجد أن متوسط الفرق بين مجموعة السيطرة والمجموعة الأولى 0.8 ± 1.4 وفرق غير معنوي $p=0.095$, وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الثانية 0.8 ± 1.0 وفرق غير معنوي $p=0.226$, وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الثالثة 3.00 ± 8 وبفرق معنوي $p < 0.001$ وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الرابعة 4.0 ± 0.8 وبفرق معنوي $p= 0.000$.



شكل (1): تأثير البايريميثامين Pyrimethamin على اعداد الاكياس النسيجية في دماغ الفئران المصابة

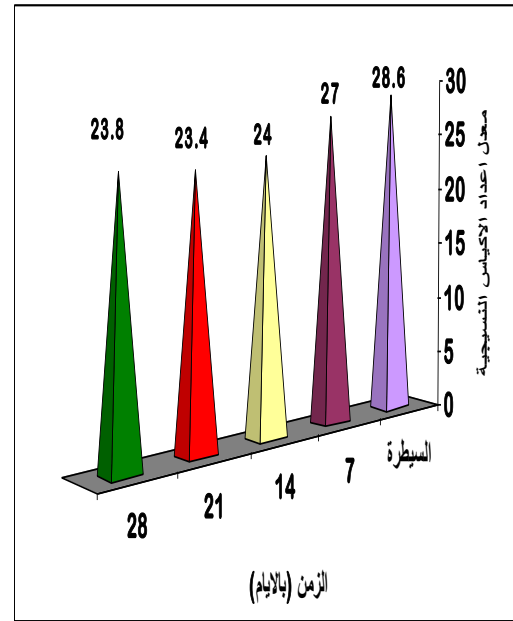


شكل(4): تأثير الكلاريثرومايسين Clarithromycin على اعداد الاكياس النسيجية في رئة الفئران المصابة

3- تأثير السبايراماميسين Spiramycin

يوضح الشكل (5) تأثير السبايراماميسين على اعداد اكياس النسيج في دماغ الفئران المصابة للأيام 7, 14, 21, 28, ومجموعة السيطرة , إذ بلغ معدل اعداد الاكياس في اليوم السابع 1.029 ± 18.4 , بينما بلغ في اليوم الرابع عشر 0.812 ± 19.6 وفي اليوم الحادي والعشرين 11.6 ± 0.748 وفي اليوم الثامن والعشرين 9.6 ± 0.6 مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ بلغت معدل عدد الاكياس 22.8 ± 1.067 . وظهر التحليل الاحصائي فروقا "معنوية بين المجاميع $p < 0.05$. وبمقارنة تأثيرها بين مجموعة السيطرة وتأثيرها في الأيام 7, 14, 21, 28 بطريقة multiple comparison وجد أن متوسط الفروق mean differences بين مجموعة السيطرة والمجموعة الاولى 1.22 ± 4.4 وبفرق معنوي $p = 0.002$ وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الثانية 3.2 ± 1.22 وبفرق معنوي $p = 0.017$ وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الثالثة 11.2 ± 1.22 وبفرق معنوي $p = 0.000$ وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الرابعة 13.2 ± 1.22 وبفرق معنوي $p = 0.000$.

يوضح الشكل (6) تأثير السبايراماميسين على اعداد اكياس النسيج في رئة الفئران المصابة للأيام 7, 14, 21, 28, ومجموعة السيطرة , إذ بلغ معدل اعداد الاكياس النسيجية في مجموعة السيطرة 17 ± 1.14 , وبلغ عدد الأكياس النسيجية 5 ± 0.583 , 4.8 ± 0.583 , 5.8 ± 4.6 , 0.509 ± 0.583 للأيام 7, 14, 21, 28 على التوالي. ولوحظ وجود فروق معنوية بين المجاميع $p = 0.000$.

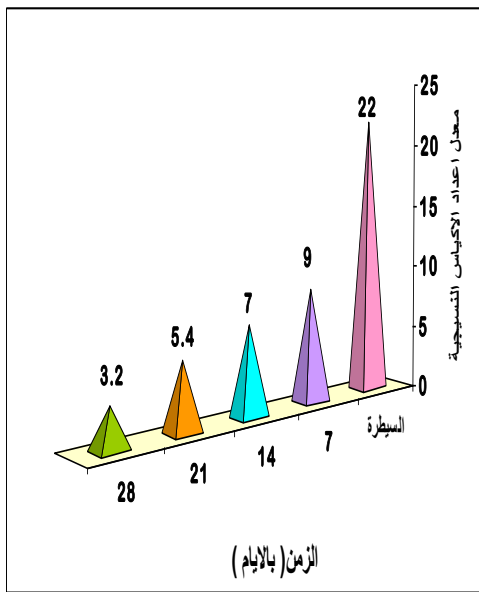


شكل(3): تأثير الكلاريثرومايسين Clarithromycin على اعداد الاكياس النسيجية في دماغ الفئران المصابة

يوضح الشكل (4) تأثير الكلاريثرومايسين Clarithromycin على اعداد اكياس النسيج في رئة الفئران المصابة للأيام 7, 14, 21, 28, ومجموعة السيطرة , إذ بلغ معدل اعداد الاكياس النسيجية في مجموعة السيطرة 1.805 ± 28.4 , وبلغ عدد الأكياس النسيجية 3.082 ± 0.86 للأيام 7, 14, 21, 28, 1.326 ± 23.4 , 3.316 ± 24 , 3.316 ± 24 , 0.86 على التوالي. ولم يلاحظ أي فروق معنوية بين المجاميع $p = 0.454$.

وبمقارنة تأثيرها بين مجموعة السيطرة وتأثيرها في الأيام 7, 14, 21, 28, وجد أن متوسط الفرق بين مجموعة السيطرة والمجموعة الأولى 3.24 ± 1.4 وفرق غير معنوي $p = 0.67$, وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الثانية 4.4 ± 3.24 وفرق غير معنوي $p = 0.19$, وبلغت بين مجموعة السيطرة والمجموعة الثالثة 5.0 ± 243 وبفرق غير معنوي $p = 0.139$ وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الرابعة 4.6 ± 3.24 وبفرق غير معنوي $p = 0.171$.

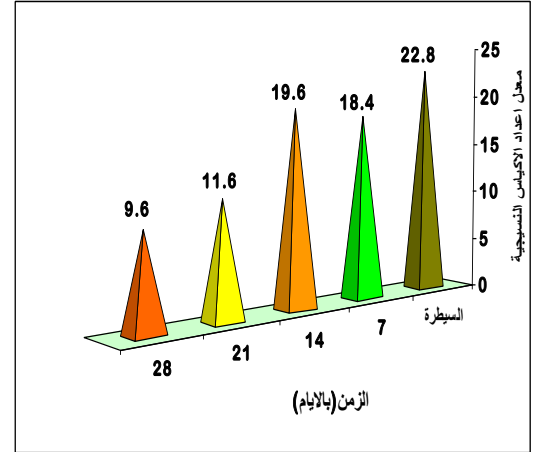
الثامن والعشرين 0.374 ± 3.2 مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث بلغ معدل عدد الاكياس 1.843 ± 22 . ولوحظ وجود فروق معنوية بين المجاميع $p=0.000$.
وبإجراء التحليل المقارن المتعدد, وجد أن متوسط الفرق بين مجموعة السيطرة والمجموعة الأولى 1.326 ± 13 وبفرق معنوي $p=0.000$, وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الثانية 1.326 ± 15 وبفرق معنوي $p=0.000$, و بين مجموعة السيطرة والمجموعة الثالثة 1.326 ± 16.6 وبفرق معنوي $p = 0.000$ وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الرابعة 1.326 ± 18.8 وبفرق معنوي $p = 0.000$.



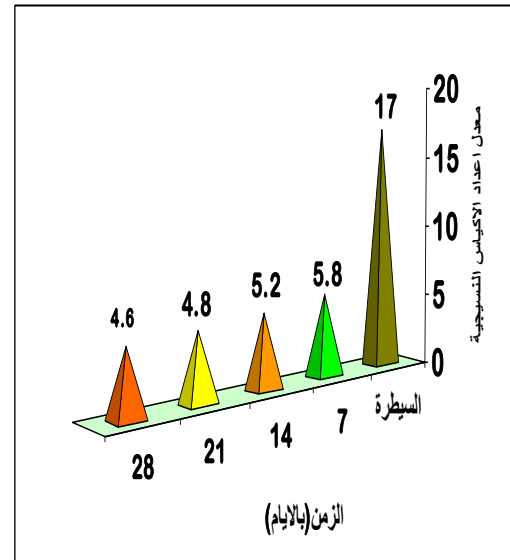
شكل (7): تأثير اليفرمكتين Ivermectin على أعداد الأكياس النسيجية في دماغ الفئران المصابة

يوضح الشكل (8) تأثير اليفرمكتين Ivermectin على أعداد أكياس النسيج في رئة الفئران المصابة للأيام 7, 14, 21, 28 ومجموعة السيطرة , إذ بلغ معدل أعداد الأكياس النسيجية في مجموعة السيطرة 1.435 ± 19.4 , و بلغ عدد الأكياس النسيجية 0.860 ± 4.8 , 0.678 ± 2.6 , 0.316 ± 1.2 , 0.583 ± 1.2 , للأيام 7, 14, 21, 28 على التوالي. ولوحظ وجود فروق معنوية بين المجاميع $p = 0.000$. وبمقارنة تأثيرها بين مجموعة السيطرة وتأثيرها في الأيام 7, 14, 21, وجد أن متوسط الفرق بين مجموعة السيطرة والمجموعة الأولى 1.216 ± 15.2 وبفرق معنوي $p=0.000$, وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الثانية 1.216 ± 16.8 وبفرق معنوي $p=0.000$, وبلغت بين مجموعة السيطرة والمجموعة الثالثة 1.216 ± 18.2 وبفرق معنوي

وبمقارنة تأثيرها بين مجموعة السيطرة وتأثيرها في الأيام 14, 21, 28, 7 , وجد أن متوسط الفرق بين مجموعة السيطرة والمجموعة الأولى 1.015 ± 11.2 وبفرق معنوي $p=0.000$, وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الثانية 1.015 ± 11.8 وبفرق معنوي $p=0.000$, وبلغت بين مجموعة السيطرة والمجموعة الثالثة 1.015 ± 21.2 وبفرق معنوي $p=0.000$ وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الرابعة 1.015 ± 12.4 وبفرق معنوي $p=0.000$.



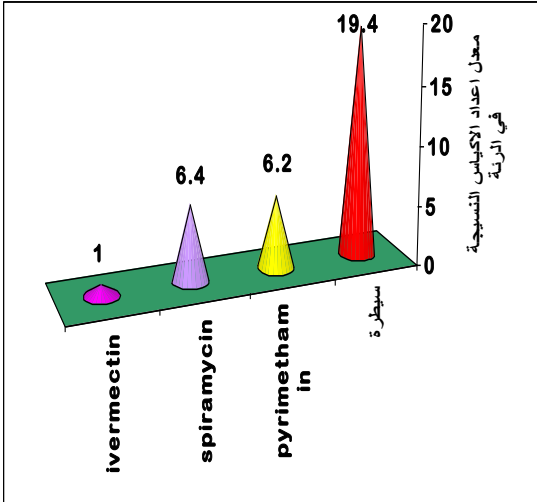
شكل (-5 -): تأثير السبايراميسين Spiramycin على أعداد الأكياس النسيجية في دماغ الفئران المصابة



شكل (-6 -): تأثير السبايراميسين Spiramycin على أعداد الأكياس النسيجية في رئة الفئران المصابة

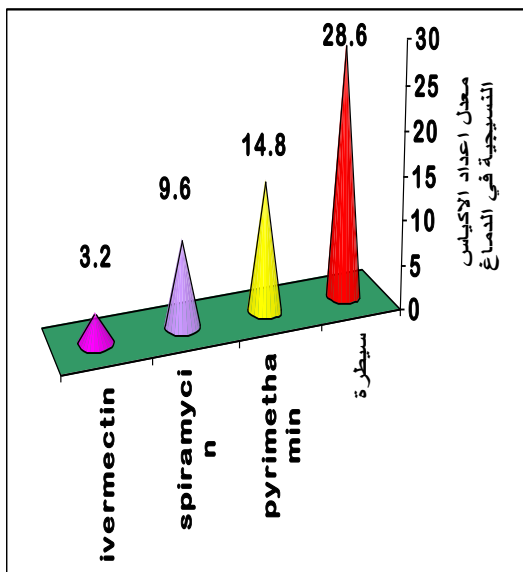
4- تأثير اليفرمكتين Ivermectin

يوضح الشكل (7) تأثير اليفرمكتين على أعداد أكياس النسيج في الدماغ للأيام 7, 14, 21, 28 ومجموعة السيطرة , إذ بلغ معدل أعداد الأكياس في اليوم السابع 9 ± 0.447 , بينما بلغ في اليوم الرابع عشر 7 ± 0.632 وفي اليوم الحادي والعشرين 5 ± 0.509 وفي اليوم



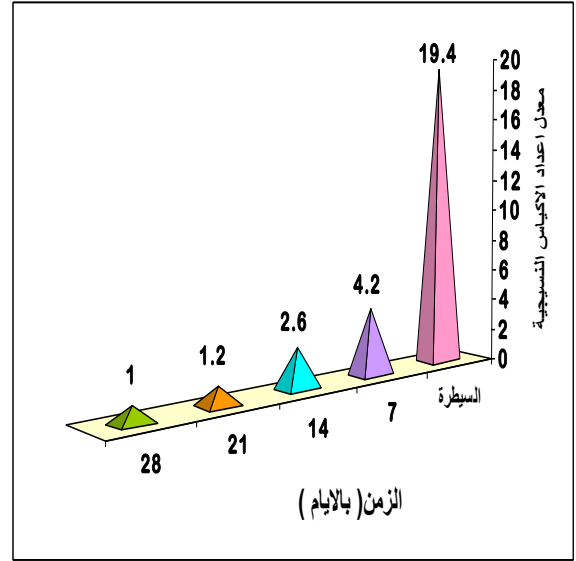
شكل (9) :تأثير الادوية على اعداد الاكياس النسيجية في دماغ الفئران المصابة

اما معدل الاكياس في الرئة بلغ 6.2 ± 0.583 , 1.0 ± 0.509 , 4.6 ± 0.509 لكل من الـ Ivermectin و Spiramycin و Pyrimethamin على التوالي. ولوحظ وجود فروق معنوية بين المجاميع $p=0.000$. شكل (10). اما متوسط الفرق بين الـ Pyrimethamin و Spiramycin بلغ 1.6 ± 0.683 ويفرق معنوي $p=0.037$ وبين الـ Ivermectin و Pyrimethamin بلغ متوسط الفرق 5.2 ± 0.683 ويفرق معنوي $p=0.000$ وبين الـ Spiramycin و Ivermectin بلغ متوسط الفرق 3.6 ± 0.683 ويفرق معنوي $p=0.000$.



شكل (10) :تأثير الادوية على اعداد الاكياس النسيجية في رئة الفئران المصابة

وبين مجموعة السيطرة والمجموعة الرابعة $p=0.000$ 18.4 ± 1.216 ويفرق معنوي $p=0.000$.



شكل (8) :تأثير الايفرمكتين Ivermectin على اعداد الاكياس النسيجية في رئة الفئران المصابة

ولمعرفة التأثير الافضل للادوية المستعملة تم اجراء اختبار one-way analysis of variance (ANOVA) و Spiramycin و Ivermectin في الاسبوع الرابع لكل من الدماغ والرئة في الفئران المصابة, إذ تم استبعاد الـ Clarithromycin لعدم وجود فروق معنوية فيها. وظهرت النتائج أن معدل الاكياس النسيجية في الدماغ في الـ Pyrimethamin بلغت 1.067 ± 12 و 9.6 ± 0.6 و Spiramycin و Ivermectin 3.2 ± 0.371 ولوحظ وجود فروق معنوية بين المجاميع $P=0.000$. شكل (9). وباجراء التحليل المقارن المتعدد وجد أن متوسط الفرق بين الـ Pyrimethamin و Spiramycin 2.6 ± 1.04 ويفرق معنوي $p=0.029$ و بلغ متوسط الفرق بين الـ Pyrimethamin و Ivermectin 9.0 ± 1.04 ويفرق معنوي $p=0.000$, بينما بلغ متوسط الفرق بين الـ Spiramycin و Ivermectin 6.4 ± 1.04 ويفرق معنوي $p=0.000$, ولهذا يعتبر الـ Ivermectin الاكثر كفاءة بين الادوية المستعملة للقضاء على الاكياس النسيجية في الدماغ.

المناقشة

1- البايريميثامين Pyrimethamin

يعد هذا العقار من العقاقير المؤثرة في ايض النيوكليوتيد وهي من العقاقير القياسية في علاج داء المقوسات الحاد . اظهرت نتائج هذه الدراسة وجود فروق معنوية في اعداد الاكياس النسيجية في كل من نسيج الدماغ والرئة ($p < 0.005$) وكان لهذا العقار تأثير واضح في اختزال اعداد الاكياس النسيجية 14.8 ± 1.067 و 6.2 ± 0.583 في كل من نسيج الدماغ والرئة على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة 27.4 ± 1.029 و 10.2 ± 0.583 . وجاءت نتائج هذه الدراسة متطابقة مع تلك التي توصل اليها (14) الذي اثبت قابلية البايريميثامين على اختزال اعداد الاكياس النسيجية الدماغية في الفئران المصابة بنسبة 80 % . ودراسات اخرى اثبتت نشاط وفعالية هذا العقار ضد المقوسات في الزجاج *invitro* وفي الكائن الحي *in vivo* إذ وجد كل من (18) و (17) في دراسة التأثيرات الدوائية لعقاقير مضادة للمقوسات ومن ضمنها البايريميثامين وجدوا ان لهذا العقار تأثيرا "فعالاً" في نسبة البقاء على قيد الحياة بين الفئران المصابة بالمقوسات والتي تم علاجها بهذا العقار إذ بلغت النسبة 77 % وعلى الرغم من فاعليته في تثبيط تكاثر الطفيلي الا انه وكما في بقية العلاجات المستعملة من النادر الحصول على اعادة كاملة للاصابة بداء المقوسات الناشئة في الفئران. ولاحظ (19) ان هناك تأثيرا "تأزريا" واضحا" نتج عن اقتران هذا العقار مع عقار Atovaquone اذ اظهر اقتران هذين العقارين نشاطا فعالا واضحا على داء المقوسات في الفئران وكذلك في الزجاج بالمقارنة مع التأثير الحاصل نتيجة العلاج بكل عقار لوحده وفي اشارة الى اهمية العلاج المقترن في احداث تأثير تازري فعال في علاج داء المقوسات في الفئران .

2 - كلارثرومايسين Clarithromycin

المضاد الحيوي كلارثرومايسين هو من مجموعة الماكروليدات التي جلبت الانتباه في علاج عدد من الامراض الطفيلية (20) وبخصائصها المعروفة في اطالة تثبيط الانقسام داخل الخلية لاطوار الطفيلي (21) وفعاليتها ضد الاطوار المتكيسة في الزجاج (22) وفعاليتها في علاج داء المقوسات التجريبي في الفئران (23) اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية في اعداد الاكياس النسيجية بين مجموعة السيطرة ومجاميع العلاج في كل من نسيج الدماغ والرئة ($p = 0.393$) أي أنه لم ينتج عنه اختزال في

اعداد الاكياس النسيجية في ادمغة ورئة الفئران المعالجة بها وربما يرجع السبب في ذلك الى أن تكون سلالة الطفيلي المعزول ذو مقاومة لهذا المضاد الحيوي او أن الجرعة المستعملة واطئة وغير كافية لاختزال اعداد الاكياس النسيجية. ولم تتفق نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة التي اثبتت أن للمضاد كلارثرومايسين تأثيرا "وقائيا" مباشرا" على تثبيط تكون الاكياس النسيجية في الدماغ وتثبيط الالتهابات الدماغية (23)، وفي دراسة (10) ظهر فرق معنوي في المعدل العددي للاكياس النسيجية في دماغ الفئران بين مجموعتي السيطرة والعلاج بالكلارثرومايسين ($p < 0.005$) وان استعمال المضاد المذكور نتج عنه اختزال في عدد الاكياس النسيجية في ادمغة الفئران المعالجة به .

3- سبايراماميسين Spiramycin

بوشر بالعلاج بالمضاد بعد 24 ساعة من تحقيق الاصابة واطهر التحليل الاحصائي وجود فرق معنوي بين مجموعة السيطرة ومجموعة العلاج ($p = 0.000$) وباستعمال اختبار *t* وباجراء التحليل المقارن المتعدد ظهر ايضا وجود فرق معنوي وكان لاستعمال المضاد الحيوي في هذه التجربة تأثير واضح في اختزال اعداد الاكياس النسيجية في ادمغة ورئة الفئران المعالجة به وان هناك مؤشرات واضحة على كفاءة المضاد الحيوي سبايراماميسين من خلال استعماله بوصفه علاجاً تجريبياً في الفئران المصابة بداء المقوسات المستحدث بهذه السلالة من الطفيلي . وظهر من خلال دراسة (24) أن السبايراماميسين يعمل على الحد من التكاثر المبكر للطفيلي وانتشاره ولكن لا يمنع نشوء الاكياس النسيجية وديمومة الاصابات الساكنة.

عرف السبايراماميسين واحدا من الماكروليدات التي تمتلك طيفا واسعا ضد الجراثيم يقارن بطيف الايرثرومايسين erythromycin ويمتلك نشاطا ضد المقوسات الكوندية كما شوهد من التجارب في الفئران وفي الزجاج ولو أن التركيز الحقيقي الضروري لتثبيط نمو وقتل الكائنات غير معروف . ولقد وصف هذا المضاد بان له ديمومة عالية في الانسجة اذا ما قورن بالايروثرومايسين وان المستويات العالية لهذا المضاد في الانسجة كانت السبب لعدله من المضادات الاكثر فاعلية ونشاطا ضد الجراثيم المتحسسة في الكائن الحي *in vivo* ويعد السبايراماميسين من الادوية المختارة والشائعة التداول في علاج داء المقوسات خلال فترة الحمل . كما عرف أن السبايراماميسين يختزل بنسبة 60 % من انتقال المقوس الى الجنين . ويبلغ تركيزه في المشيمة 3 - 5 مرات اعلى من تركيزه في الدم والانسجة الاخرى في الام (25).

- 8- Petersen ,E. and Schmidt D.R. (2003). Sulfadiazine and pyrimethamine in the postnatal treatment of congenital toxoplasmosis :what are the optins? *Expert. Rev, Anti. Infect. Ther.*, 1(1):175-82.
- 9- Sharma, S.P., and Dubey, J.P. (1981). Quantitative survival of *Toxoplasma gondii* tachyzoites and bradyzoites in pepsin and in trypsin solutions. *Am. J. Vet. Res.*, 42 : 128 – 130.
- 10- الحيايلى، صباح سعيد محمود احمد (2002) دراسة تجريبية على عزلات المقوسات الكوندية من المشيمات البشرية وتقييم كفاءة عدد من المضادات الحيوية في علاجها المستحدث في الفئران/ محافظة نينوى، اطروحة دكتوراه/فلسفة، كلية العلوم قسم علوم الحياة/ احياء مجهرية، جامعة الموصل، العراق.
- 11- Dubey, J.P. (1997). Survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in 0. 85 - 6% NaCl solution at 4 – 20° C. *J. Parasitol.*, 83:946 -949.
- 12- Dubey, J.P. (1998). Re-examination of resistance of *Toxoplasma gondii* tachyzoites and bradyzoites to pepsin and trypsin digestion. *Parasitology*, 116:43-50.
- 13- Luna, L.G. (1968). *Manual of histological staining methods*. 3rd ed., McGraw-Hill Book Company, New York, p. 258.
- 14- Gormley P.D., Pavesio, C.E., Minnasian, D., and Lightman, S. (1998). Effects of drug therapy on *Toxoplasma* cysts in an animal model of acute and chronic disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 39(7):1171-5.
- 15- Olgica, D. D., and Vladimir, M. (2001). Murine model of drug-induced reactivation of *Toxoplasma gondii*. *Acta Protozoologica*, 40, 99–106.
- 16- Olgica, D. D., Vladimir M ., Aleksandra, N., Branko, B. and Jelica ,G. (2002). Efficacy of atovaquone combined with clindamycin against murine infection with a cystogenic (Me49) strain of *Toxoplasma gondii* . *J. Antimicrob. Chemothe.*, 50: 981-987.
- 17- Derouin, F., Almadany, R., Chau, F., Rouveix, B., and Pocidalo, J.J. (1992). Synergistic activity of Azithromycin and pyrimethamine or sulfadiazine in acute experimental Toxoplasmosis. *Antimicrob. Agents. Chemothe.*, 997-1001.
- 18- Derouin, F. and Hayat, M.S .(2000). Anti-Toxoplasma activities of antiretroviral drugs and interactions with pyrimethamin and sulfadiazine in vitro. *Antimicrob. Agents & Chemothe.* 2575-77.
- 19- Romand, S., Pudney, M., and Derouin, F. (1993). In vitro and in vivo activities of the

4 - الأيفرمكتين Ivermectin

أختير هذا المضاد الحيوي من مجموعة macrocycliclactine لبعض خصائصه المفيدة فهو مضاد للطفيليات anti-parasitic ويمتلك فعالية فريدة للقضاء على بعض الطفيليات. أظهرت نتائج هذه الدراسة فروقا معنوية بين مجموعة السيطرة ومجموعة العلاج إذ ظهر اختزال واضح في عدد الاكياس النسيجية في كل من نسيج دماغ ورتة الفئران المصابة . وحسب المعلومات المتوافرة من الابحاث المنشورة فأن هذه التجربة هي المحاولة الاولى التي تقيم فيها تأثيرات هذا المضاد الحيوي في التجارب العلاجية على الفئران المصابة بداء المقوسات التجريبي , ولعدم العثور على مصدر يوثق استعمال هذا المضاد الحيوي في مثل هذه التجارب لذا عدت هذه التجربة رائدة في هذا المجال. وقد توفر هذه التجربة معطيات جديدة مضافة قد تمكن الاستفادة منها مستقبلا في مجال العلاج التجريبي لداء المقوسات ولاسيما من سلالة هذا الطفيلي التي عزلت من اصول محلية وتفتح بذلك افاقا جديدة في علاج داء المقوسات.

المصادر

- 1-- Ryan, K.J. and Ray, C.G. (editors) (2004). *Sherris Medical Microbiology*, 4th ed., McGraw Hill, pp. 723–7.
- 2- Torda, A. (2001). Toxoplasmosis. Are cats really the source?" *AustFamPhysician* ,30 (8): 743–7.
- 3- Montoya, J., and Liesenfeld, O. (2004). *Toxoplasmosis*. *Lancet*, 363 (9425): 1965–76.
- 4- Brito, A.F., Souza, L.C., Silva, A.V., and Langoni, H. (2002). Epidemiological and serological aspects in canine toxoplasmosis in animals with nervous symptoms. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 97(1): 31-35.
- 5- Figueired, J., Silva, D.A., Cabral, D., and Mineo, J. (2001). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in goat indirect hemagglutination, Immunofluorescence and immunoenzymatic tests in the region of unberlandia, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz*, 96 (5) : 687 – 692.
- 6- Hiramoto, R.M., Borges, M.M., Galisteo, A.S., Meireles, L.R., Macre, M.S., Radem, H.F. (2001). Infectivity of cysts of the ME-49 *Toxoplasma gondii* strain in bovine milk and homemade chess. *Rev. Saude. Publica.*, 35 (2) : 113 – 118.
- 7- Bagley, C.V. (2001). Infectious reproductive diseases of small ruminants. *J. Infect. Dis.* 31: 162 – 171.

- cyst form of *Toxoplasma gondii*. *J. Infect. Dis.*, 164:170 -171.
- 23- Derouin, F., Piketty, C., Chastang, C., Chau, F., Rouveix, B. and Pocidallo, J.J. (1991). Anti-Toxoplasma effects of dapsone and combination with pyrimethamin. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 35:252-255.
- 24- Araujo, F.G. Slifer, T. and Remington, J. S. (1994). Rifabutin is active in murine models of toxoplasmosis. *Antimicrob. Agents & Chemother.*, 38:570-575.
- 25- Stray, P.B (1999). Treatment of toxoplasmosis in pregnant mother and newborn child. *Scand. J. Infect. Dis.*, 84:23-31.
- hydroxynaphthoquinone, sulfadiazine, clarithromycin or minocycline against *Toxoplasma gondii*. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, p.2371-78.
- 20- McFadden, D.C., Camps, M. and Boothroyd, C. (2001). Resistance as a tool in the study of old and new drug targets in *Toxoplasma*. *Drug Resistance Updates*, 4:79-84.
- 21- Chamberland, S., Kirst, H.A. and Current, L. (1991). Comparative activity of macrolides against *Toxoplasma gondii* demonstrating utility of an in vitro microassay .
- 22- Huskinson, M. J., Araujo, E. G. and Remington, J. S. (1991). Evaluation of the effect of drugs on the

EFFECT OF SOME SELECTED DRUGS (PYREMETHAMIN, CLARITHROMYCIN, SPIRAMYCIN AND IVERMECTIN) ON EXPERIMENTAL TREATMENT OF TOXOPLASMOSIS CREATED IN MICE

ABEER A.ALI

SHEHAB A.MOHHAMED

HUSSAIN S. ASWED

ABSTRACT:

In the present study, *Toxoplasma gondii* was isolated and diagnosed from human as first attempt, and then the infection was created in laboratory mice as an essential step for growing the parasite. The second step was studying the effect of some selected drugs on the experimental treatment for disease of toxoplasmosis created in the mice. The drugs are: Pyrimethamin, Clarithromycin, Spiramycin, Ivermectin. The results of the study showed the effects of these drugs on the tissue cyst formed in the brain and lungs. The number of tissue cysts in the brain of the mouse treated with pyrimethamin was 14.8 ± 1.067 after 28 days. Significant differences appeared when this result compared with the control group in which it was 27.4 ± 1.029 . The number of tissue cysts formed in lung, tissue in the mouse treated with the same drug after the same period of the time was 6.2 ± 0.583 . This showed a significant differences as compared with the control group in which it was 10.2 ± 0.583 . No significant differences appeared between both groups as for the treatment by Clarithromycin antibiotic as far as the number of the tissue cysts formed in the brain after 28 days is concerned. The number was 23.8 ± 0.86 as compared with the control group 38.6 ± 1.029 . The same compared is true of the lungs, tissue. The number of the tissue cysts was 23.8 ± 0.86 as compared with the control group 28.4 ± 1.805 . Concerning the antibiotic Spiramycin, the results showed the effectiveness of it in decreasing the tissue cysts formed in the brain. The significant differences were ($p < 0.05$), the rate of the cysts was 9.6 ± 0.6 as compared with the control group in which it was 22.8 ± 1.067 . The same effectiveness appeared on the lungs, tissue as the rate of tissue cysts after 28 days of treatment was 4.6 ± 0.509 as compared with the control group in which was 17 ± 1.14 and the significant differences were ($p = 0.000$). The Ivermectin drug showed a great effectiveness in minimizing the number of the tissue cysts formed in the brain and the lungs. The numbers of the tissue cysts formed after 28 days were 3.2 ± 0.374 and 1 ± 0.316 respectively; significant differences are observed when these numbers are compared with the numbers of the control group which were 22 ± 1.843 and 19.4 ± 1.435 . Thus, the use of Ivermectin drug is considered as a pioneer and fruitful study since this drug has not been used for the treatment of Toxoplasmosis.