8

تقييم الكفاءة العلاجية للمستخلص المائي من نبات العفص (قبل وبعد اجراء التحلل الحامضي) في الفئران المختبرية المخمجة تجريبياً بأكياس بيض الطفيل *Cryptosporidium parvum*

لمى عبد اللطيف سلوم ناصر

فراس محمد بشير عبد الكريم الخشاب

lumaas693@gmail.com

firasalkhashab@uomosul.edu.iq

قسم علوم الحياة

كلية التربية للبنات

جامعة الموصل

الخلاصة

تعد النباتات الطبية مصـــدر غني بالمركبات المســـتخدمة في مجال تطوير إنتاج الادوية وتهدف الدراسـة الحالية الى إيجاد علاج فعال وامن من مصادر طبيعية متوفرة محلية اذ تم قياس كفاءة المســـتخلص المائي لجوزة نبات العفص قبل وبعد اجراء التحلل الحامضـــي في معالجة الفئران المخمجة بأكياس بيض الطفيل *Cryptosporidium parvum* باسـتعمال 66 فأر من نوع الفئران البيض السـويسـرية سـلالة Balb-Cبالتجريع الفموي للمسـتخلص و باسـتعمال 3 تراكيز مختلفة (1, 1.3 ,2) ملغم /مل وقد اثبت المســـتخلص المائي بعد اجراء التحلل الحامضـــي بتركيز 1 ملغم /مل كفاءته في معالجة داء الابواغ الخبيئة من خلال توقف طرح أكياس بيض الطفيل منذ اليوم الخامس من المعالجة في اكثر من نصـف عدد المكررات بالمقارنة مع كفاءة المسـتخلص المائي قبل اجراء التحلل الحامضـــي الذي توقف طرح أكياس بيض الطفيل في اليوم الحادي عشـــر من المعالجة بتركيز 2 ملغم /مل و 1.3 ملغم /مل كما بينت المقاطع النسـجية حالة التحســـن التي ظهرت في الأمعاء بعد المعالجة بالمستخلص المائي بتركيز 1 ملغم /مل بعد اجراء التحلل الحامضي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة والمجموعة المعالجة بالمستخلص المائي قبل اجراء التحلل الحامضي.

الكلمات المفتاحية

داء الابواغ الخبيئة، نبات العفص، المستخلص المائي، المركبات الفينولية، التحلل الحامضي.

المقدمة

يعـد طفيـل الابواغ الخبيئـة *Cryptosporidium parvum*من الطفيليـات الابتـدائيـة Parasitic Protozoaوهي من الاحيـاء المجهريـة حقيقيـة النواة أحـاديـة الخليـة التي لهـا تـأثيرات صـحـيـة واقتصـادية اذ تعد من المسـببات المرضـية للإنسـان والحيوان Zoonosisومنتشـرة بشـكل واسـع في العالم، وتختلف في شدة تأثيرها على المضيف حسب النوع والسلالة وموقع الإصابة (Florin-Christensen *et al.* 2021; Ulusan Bagci & Caner 2022)

يحدث انتقال العدوى من خلال تناول الطعام او الشراب الملوث بأكياس بيض الطفيل عن طريق التعامل المباشر او غير المباشر مع براز الحيوانات او غائط الأشخاص المصابين بالمرض -ما يسمى بالبراز الفموي- (Innes *et al.* 2020) وتمتلك أكياس بيض الطفيل قدرة على احداث الإصـــابة عند التعرض لعدد قليل من الاكياس اذ تتمكن 10 أكياس من إحداث الاصابة بالمرض (Guy *et al.* 2021)

تختلف تأثيرات العدوى باختلاف أنواع الابواغ الخبيئة كما يختلف الطفيل من حيث التخصص للمضـــيف فقد يصـــيب أنواع مختلفة ومنها ما يقتصـــر على مجاميع معينة مثل القوارض او المجترات وتصيب أنواع منها المعدة بشكل أساسي بينما يصيب بعضها الاخر الأمعاء، كما تختلف

في ظهور الاعراض فقد تكون لها اعراض مرضية في حين وجد أنواع أخرى لم يثبت لها أي اعراض(Cunha *et al.* 2019; Holubová *et al.* 2020)

لقد مر أكثر من 100 عام منذ أن وصف Tyzzer لأول مرة طفيليات الأبواغ الخبيئة فضلاً عن الاكتشاف الاولي اذ برز حدثان كان لهما أثرهما الكبير على وعينا بهذه الطفيليات والامراض التي تسببها فكان فيروس نقص المناعة البشرية AIDS وظهور داء الابواغ الخبيئة كعدوى انتهازية Opportunistic infection محتملة في الاشخاص المتعايشين مع الايدز امر مهم، ليس بسبب اثارها السريرية التي تسببها فقط لكن كان حافز للجهود البحثية واثارة الفضول لفهم أفضل لهذا النوع من الطفيليات وخصوصا بعد التفشي الهائل للمرض في ميلووكي-ويسكونسن 1993 الذي انتقل فيه المسبب المرضي عبر المياه اذ اصيب ما يقارب 403000 شخص بالطفيل (Robertson 2013) بينت هذه الحادثة قدرة وقابلية *C.parvum* على الانتقال عبر مياه الشرب ومقاومته للمعالجات المائية (Yang *et al.* 2012) ومع تقدم الأبحاث التي أنتجت كمية من المعلومات حول حيوية الأبواغ الخبيئة الا إنه لم يكن لها تأثير قطعي حول إنتاج علاج او لقاح فعال ضد الطفيل، ولهذا ضل داء الأبواغ الخبيئة مرض خطير ليس للمرضى الذين يعانون من نقص المناعة فقط وإنما للأطفال الذين يعيشون في البلدان الفقيرة(Zhu *et al.* 2021), ونظرا لارتباط المرض بالفقر أدرجته منظمة الصحة العالميةWorld health Organization (WHO)في سنة 2004ضمن الامراض المدارية المهملة(Ortega-Pierres *et al.*2009)

النباتات الطبية

عرفت منظمة الصحة العالمية النباتات الطبية التقليدية بأنها مواد نباتية طبيعية تستخدم في معالجة الامراض محليا وإقليميا تم استخدام طب الأعشاب التقليدي منذ الاف السنين في البلدان النامية والمتقدمة نظرا لمصادره الطبيعية وقلة المضاعفات التي يسببها نسبيا وما هو علية العلم التقليدي للطب والصيدلة يعتبر نتاج تكامل المعتقدات والتقاليد لسكان القدامى لبلاد ما بين النهرين ثم البابليين والاشوريين والحضارات القديمة الأخرى (Jamshidi-Kia *et al.* 2018; Schippmann *et al.* 2007)

اشارت الدراسات المتعلقة بالنباتات الطبية إلى 110000 بحث علمي من عام 1960 -2019 اذ بينت الدراسات المفهرسة ضمن قاعدة البيانات Scopusمعظم ما تم تنفيذه ضمن فئة علم الادوية والصيدلة والسموم وأن خلال العشرين عام الماضية كان البحث في حالة تطور سريع بلغ ذروته في عام 2010 بين البلدان الصناعية المتقدمة والبلدان ذات الاستخدام التقليدي لهذه النباتات من افريقيا واسيا وامريكا اللاتينية وكل هذا يصب إلى اكتشاف ادوية جديدة مختبرة علميا من حيث السلامة والفعالية(Salmerón-Manzano *et al.* 2020)

المركبات الفعالة في نبات العفص

كشـفت التحليلات الكيميائية عن المكونات الأولية للنبات اذ يحتوي على مكونات رئيسـة تتمثل بـالصـابونين 1.9% والتـانينـات 0.31% والفلافونويـدات0.22% والقلويـدات 0.7% والمركبـات الفينولية 0.067% فضلاً عن الزيوت العطرية (Patgar *et al.* 2021)

المركبات الفينولية Phenolic Compound

تنتج النباتات مجموعة متنوعة من المركبات منها ما هو ضـروري لنمو النبات وتطوره وتكاثره وتكون ذات تركيب معقد تعرف بالمسـتقلبات الأولية Primary Metabolites ومجموعة أخرى تعرف بالمستقلبات الثانوية Secondary Metabolites ليست ضرورية لنمو النبات لكنها تشكل دفاعات كيميائية مفيدة للنبات ضد المسببات المرضية والحيوانات المحيطة بها وتعمل على تعزيز النمو في الظروف غير الطبيعية للنبات (Adamczyk *et al.* 2017)

تتعدد المكونات الفعالة التي تحتويها الأجزاء النباتية ذات التأثير الطبي والخصـائص الدوائية المطلوبة لتتمثل أحدها بالمركبات الفينولية التي تتواجد بشـكل واسـع في الأجزاء النباتية وتمثل احد نواتج الايض الثانوي الرئيسة, منذ مده قليلة مضت زاد التركيز في مجال الدراسات البحثية على النباتات الطبية التي تحتوي على المركبات الفينولية خصـوصـا بشـكل كبير لما لها من فوائد متعددة على صحة الانسان(Tungmunnithum *et al.* 2018)

تعرف المركبات الفينولية بأنها مواد تمتلك في تركيبها الكيميائي حلقة اروماتية تحمل مجموعة هيدروكسـيل (OH)واحدة او أكثر، تم التعرف على المركبات الفينولية باعتبارها المسـؤولة الرئيسـة عن النشـاطات المضـادة للأكسـدة المرتبطة بقدرتها على إزالة الجذور الحرة وتكوين جزيئات اقل سـمية وأكثر اسـتقرار من خلال تثبيط الجذور الحرة بإعطاء الكترون إلى الجذر الحر مما يؤدي إلى فقدانه لقدرته على اتلاف الخلايا والجزيئات الحيوية مثل الاحماض النووية Deoxy Nucleic Acid (DNA) Ribo Nucleic Acid (RNA) والبروتينات والدهون ويرتبط نشاطها بعدد مجموعات الهيدروكسيل في المركب(Cianciosi *et al.* 2018)

يعد الفصـل اللوني كروماتوغرافيا السـائل عالي الاداء High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) من الأجهزة الحديثة للكشـف عن المركبات الفينولية وتركيزها في المسـتخلصـات النباتية وقد اسـتخدمت هذه التقنية في الدراسـة الحالية ,حيث أن اكتشـاف المركبات الفينولية وتوصـيفها وتحديثها باسـتخدام تقنيات تحليلية متطورة سـيؤدي إلى توافر المعلومات المعززة للأبحاث العلاجية والشـركات المصـنعة للأدوية والمغذيات (Suleria *et al.* 2020) وتتكون من :

أولا:الاحماض الفينولية

1- Ghlorogenic Acid (CGA) حمض الكلوروجينك

أحد أنواع المركبات الفينولية المنتشـرة بشـكل واسـع في النباتات المختلفة مثل الخضـراوات (البطاطس والباذنجان والطماطم والجزر) والفاكهة (التفاح والعنب) وخضـار الكرنب والهندباء

وأوراق الغار والخردل فضلاً عن حبوب البن والشاي, من بين الأنشطة البيولوجية التي تم التوصل اليها مؤخرا أن (CGAs) له نشاط مضاد للطفيليات كما ثبت لها تأثيرات علاجية في الوقاية من أمراض القلب والاوعية الدموية، ويعزز من التئام الجروح (Rojas-gonz *et al.* 2022).

2- P-Hydroxy benzoic acid (P-HBA) حمض الهيدروكسي بنزويك

من المركبات الفينولية تتكون من (4-هيدروكسي حمض الكربوكسيل بنزين) وهي مادة ذات تراكم حيوي في النباتات اقل من سابقاتها قابلة للتحلل تتواجد في الجزر، العنب، خشب الصندل(Manuja *et al.* 2013) اللحاء ،القش، اوراق أشجار الفاكهة (Moreau *et al.* 2015) يعرف بالبارابين Parabens أيضا او المادة الحافظة الحمضية Acid preservatives ويعتبر من المركبات النشطة بيولوجيا فقد بينت العديد من الدراسات الخصائص البيولوجية التي يمتلكها (P-HBA) والتي تتمثل بكونه مضاد للفيروسات ومضاد للطفيليات (Zhu *et al.* 2018)

3- Gallic acid (GA) حمض الكاليك

مركب فينولي تركيبة الكيميائي 3-4-5 ثلاثي هيدروكسي حمض البنزويك 3,4,5-trihydroxy benzoic acid، يتواجد في المملكة النباتية وهو من نواتج الايض الثانوي للنبات يتواجد في الموز والعنب الأسود والشاي الأخضر(Sachithanandam *et al.* 2020) يمتاز بنشاطاته البيولوجية المهمة لصحة الانسان وله دوره البارز في القوة العلاجية للأدوية المصنعة من النباتات الطبية، اكتسب أهميته في كونه مضاد للأكسدة وهو ما يتم العمل علية في اغلب الدراسات الحديثة من خلال البحث عن المصادر الطبيعية التي توفر مضادات الاكسدة الضرورية للصحة العامة هذا ما يوفر ادلة لتطوير علاجات جديدة او مكملات غذائية للوقاية من خطر الامراض المزمنة(Sherin *et al.* 2018) كما بينت الدراسات أن (GA) يمتلك فعالية قوية مضادة للميكروبات (Sun *et al.* 2014)

4-Ferulic Acid (FA) حمض الفيروليك

هو احد مشتقات حمض السيناميك -4-hydroxycinnamic acid يتواجد بوفرة في النباتات في جدران الخلايا من الاخشاب والاعشاب ونخالة الأرز وقشور الذرة والقمح ويعد المكون الرئيسي لمستخلص دخن الثعلب كما يوجد في نبات الكركم ولب البنجر السكري وفي الطحالب البحرية البنية وبذور لسان الثور وهو احد مكونات القهوة الخضراء والفاكهة بينت العديد من الدراسات النشاطات البيولوجية التي يمتلكها (FA) اذ له تأثير إيجابي على Microbiota الأمعاء (Stompor-Gorący & Machaczka 2021)

ثانياً: التانينات

Tannic Acid(TA)حمض التانيك

مركب عضـــوي طبيعي ناتج عن تحلل الكتلة الحيوية للنبات ،من المركبات المتعددة الفينول الحامضـــية، وهو العلامة التجارية للتانين Tanninas, يتكون من وحدة كلوكوز مركزية محاطة بعشـــرة جزيئات من حمض الكاليك (Ebrahimi *et al.* 2017; Kaczmarek 2020; Tangarfa & Semlali Aouragh Hassani 2021), ويمثل (TA) مركب له مستقبل دوائي مشرق لما له من أهمية بيولوجية من الناحية العلاجية فقد تم تأكيد نشـــاطه المضـــاد للطفيليات والمضـــاد للأكســـدة (Hendiger *et al.* 2020)

طريقة العمل

تم احداث الإصـــابة التجريبية من خلال تجريع معلق أكياس بيض الطفيل التي تم عزلها من عينات غائط الأطفال المصـــابين بالإســـهال المســـتمر بعمر ما دون ســـن الخمس ســـنوات من مستشفى السلام ومستشفى ابن الاثير ومستشفى الموصل العام في محافظة نينوى وأجريت عليها عمليات الفحص والتشخيص باستخدام صبغة الزيل نيلسن المحورة MZN وعزل أكياس بيض الطفيل باســـتخدام طريقة العزل بمحلول شـــذر الســـكري وتم إضـــافة المضـــادات الحيوية من Stryptomycin sulphate 1 غم و Nystatine 500000 IU الى المعلق للتأكد من خلو المعلق من الإصابات البكتيرية والاصابات الفطرية عند احداث الإصابة .

عزل أكيـاس بيض الطفيـل بطريقـة التطويف بـالمحلول الســـكري المشـــبع Sheather Sugar Flotation

حُضرت الجرعات الخمجة المعزولة من غائط الأطفال المصابين بداء خفية الابواغ بالاعتماد على طريقة(Freir-Santos *et al*,1999) تم إجراء التالي:

1- مزج 1 مل من الغائط مع 9 مل ماء مقطر ورشح خلال 4 طبقات من الشاش الطبي.
2- وضـع الراشـح في أنبوبة اختبار Test Tubeووضـعت في جهاز الطرد المركزي 1000 دورة /10 دقيقة.
3- أهمل20% من الجزء الطافي واضـيف 10 مل محلول شـذر السـكري إلى الراسـب ومزج جيدا.
4- وضع أنبوب الاختبار في جهاز الطرد المركزي 500دورة /15 دقيقة.
5- جمع 20% من الجزء الطافي من العينة ووضع في أنبوبة اختبار جديدة واضيف الية 1مل من محلول PBS لكل 1 مل من العينة لترسـيب أكياس بيض الطفيل والتخلص من المحلول السـكري لمنع تأثير السـكر على أكياس البيض وهذا ما يعرف بالترسـيب Sedimentation.
6- وضع أنبوبة الاختبار في جهاز الطرد المركزي 700 دورة/15 دقيقة.
7- تم اهمال 30% من الجزء الطافي والاحتفاظ بالجزء المترسب.

8- قصـــرت العينة Bleechingبإضـــافة هايبوكلورات الصـــوديوم1% (1 مل لكل 1 مل من العينة) للتخلص من البكتريا والخمائر والشوائب وتنقية العينة.

9- وضع الأنبوبة في جهاز الطرد المركزي 700 دورة/دقيقه لمدة 10 دقائق.

10-اهمل30% من الجزء الطافي واضيف 1مل محلول دارئ الفوسفات PBS لكل 1 مل من العينة المتمثلة بالجزء المترســـب للتخلص من الكلور700 دورة /دقيقة لمدة 10 دقائق وهذا ما يعرف بالغسل والترسيبWashing and Sedimentation.

11- اخذ جزء من الراســـب بوســـاطة الســـلك المعدني loop ووضـــعت على شـــريحة زجاجية واستعملت MZN للتأكد من وجود أكياس بيض الطفيل وفحصت تحت المجهر.

12- حفظت اكياس بيض الطفيل النقية في أنابيب اختبار في الثلاجة بدرجة حرارة 4 درجة مئوية إلى حين استعمالها في التجريع.

تحضير المستخلص المائي

- اخذ المتبقي من نبات العفص بعد اجراء الاســـتخلاص بالايثر البترولي والاســـتخلاص الايثانولي ووضع في بيكر واضيف اليه 500 مل من الماء المقطر.
- وضع البيكر بما يحتوية على جهاز المحرك المغناطيسي Magnetic stirrer لمدة 72 ساعة مع وضـــع Paramagneticداخل البيكر وباســـتعمال المنظم الحراري ثبتت درجة الحرارة على الدرجة الرابعة حسب نظام الجهاز المستعمل.المرحلة الأولى الشكل (1)
- يرشح الناتج خلال ورق الترشيح ويجمع الناتج بعلب نظيفة. المرحلة الثانية الشكل (1)
- اخذ 50 مل من الناتج المرحلة الثالثة الشـــكل (1)و وضـــع في جهاز Lypholyzerجهاز التجفيد المرحلة الرابعة الشكل (1)لتركيز المستخلص وتحويله إلى Powderيعمل الجهاز بنظام التجفيف بالتجميد، وله أهمية في الحقل الصـــيدلاني اذ يوفر مواد ذات جودة عالية مقارنة بالتجفيف بالطرق التقليدية. (Jose *et al.* 2015)
- توضـــع المادة مجمدة داخل حوض الجهاز، تم تشـــغيل التبريد والضـــغط معاً، يبدأ الضـــغط بالهبوط من 999 وصـــولا إلى 11 (جول) وكذلك درجة الحرارة تصـــل إلى ما دون 50 درجة تحت الصفر المئوي، استمر عمل الجهاز ما يقارب 48 ساعة مستمرة.

تصميم التجربة

السيطرة الموجبة	• 1 مل معلق اكياس بيض *C.parvum*
السيطرة السالبة	• 1 مل ماء مقطر
مستخلص مائي	• جرعة بحجم 0.50 مل - تركيز 2 ملغم /مل • جرعة بحجم 0.75 مل - تركيز 1.3 ملغم/مل • جرعة بحجم 1 مل - تركيز 1 ملغم/مل

التحليل الاحصائي

تم استعمال برنامج SPSSمن خلال اختبار تحليل التباين One way analysis of (ANOVA) Variation لتحليل المتغيرات من جهة واحدة المتمثلة بحساب معدل عدد أكياس بيض الطفيل *C.parvum* وكمية البراز المطروح ووزن الجسم للفئران المختبرية وكما تم استعمال اختبار Duncun لمعرفة الفروقات ما بين التراكيز المستعملة تحت مستوى معنوية ($P<0.05$) (الراوي وخلف الله,2000)

النتائج والمناقشة

تحديد الجرعة المميتة من المستخلص النباتي

تم استعمال 26 فأر من الذكور والأناث بعمر1- 2 شهر تراوحت اوزانها بين 25-30 غم، اخذت الجرعة الأولى بمقدار 1500 ملغم/كغم,تم إعطاء الجرعة فموياً بوساطة ابرة التجريع الفموي المعقوفة وكان تركيز الجرعة متزايد بشكل ثابت 500 ملغم /كغم صعودا عن الجرعة الأولى وصولا 7000 ملغم/كغم للمستخلص المائي، بعدها تم الحصول على النتيجة النهائية بعد 24 ساعة من إعطاء الجرعة الأولى والتي سجلت 7774.5 ملغم/كغم واعتماداً على الجدول الذي ذكره (Dixon ,1980) في قياس مقدار الجرعة المميتة الوسطية من خلال المعادلة التالية: (الزبيدي, 2012)

LD50 =XF + Kd

LD50 - الجرعة المميتة الوسطية

XF - اخر جرعة تم استعمالها في التجريع

K - القيمة الجدولية

d - مقدار الزيادة في الجرعة

احداث الإصابة التجريبية في الفئران المختبرية

بينت نتائج الدراسة التجريبية على الفئران المختبرية من نوع (Swiss albino,Balb-C) المجرعة فموياً بمعلق أكياس بيض الطفيل *C.parvum* بجرعة مقدارها ($100x10^3$)كيس بيض، حدوث

إصابة بنسبة 100% مصاحبة بظهور علاما ت سريرية تمثلت بالبراز المائي والضعف العام وعلاما ت مظهرية تمثلت بتساقط الفراء كما سجلت المدة ما بين احداث الإصابة إلى ظهور الاكياس خلال 4 أيام تم فيها فحص البراز للفئران المصابة والتأكد من حصول المرض وهذا ما تم التوصل اليه نتيجة الدراسات التي قامت بها كل من الجرجري (2006) التي اكدت على ظهور أكياس بيض الطفيل في براز الفئران المختبرية المصابة بطفيل *C.parvum* بعد اليوم الثالث من التجريع كما بينت نتائج Khudhair & Al-Niaeemi (2020) أن الفئران المجرعة بدأت بطرح أكياس بيض الطفيل الموضحة في الشكل(2) اعتبارا من اليوم الرابع بعد احداث الإصابة.

تشخيص المواد الفعالة في نبات العفص

بينت نتائج التحليل الكيميائي للمستخلص المائي من نبات العفص قبل وبعد إجراء التحلل الحامضي باستخدام تقنية الفصل الكروماتوغرافي عالي الأداءHPLC احتواء النبات على 5 مركبات من المواد الفعالة التي تعد من المركبات الفينولية (Patgar *et al.* 2021) وهي Gallic acid, Tannic acid, Ferulic acid, Hydrobenzoic acid, Chlorogenic acid في المستخلص المائي مع اختلاف في تركيز المواد الفعالة التي تم حسابها حسب معادلة بهبهاني (Behbahani *et al.* 2011) اذ كان حمض التانيك الأعلى تركيز ما بين المواد الفعالة قبل وبعد اجراء التحلل الحامضي وكما موضحة في الجدول(1) والجدول (2).

جدول(1) تركيز المواد الفعالة في المستخلص المائي من نبات العفص قبل التحلل الحامضي

ت	اسم المركب الفعال	زمن الاحتجاز(دقيقة)	التركيز(ملغم/غم)
.1	P-Hydroxybinzoic Acid	4.00	0.0082
.2	Tannic Acid	5.89	0.542
.3	Gallic Acid	7.25	0.0155
.4	Ferulic Acid	8.99	0.0568
.5	Chlorogenic Acid	10.21	0.0398

جدول (2) تركيز المواد الفعالة في المستخلص المائي من نبات العفص بعد التحلل الحامضي

ت	اسم المركب الفعال	زمن الاحتجاز(دقيقة)	التركيز(ملغم/غم)
.1	P-Hydroxybenzoic Acid	4.10	0.0165

.2	Tannic Acid	5.92	80.703
.3	Gallic Acid	7.30	0.0210
.4	Ferulic Acid	8.99	0.0931
.5	Chlorogenic Acid	10.30	0.0579

بينت نتائج الدراسة عن انخفاض معدل عدد أكياس بيض الطفيل*C.parvum* خلال أيام المعالجة بالمستخلص المائي من نبات العفص اذ توقف طرح أكياس البيض اثناء المعالجة بالمستخلص المائي قبل اجراء التحلل الحامضي في اكثر من نصف عدد المكررات في اليوم الحادي عشر من المعالجة بتركيز 2 ملغم /مل و بتركيز 1.3 ملغم /مل حتى اليوم الثالث عشر توقف طرح الاكياس بشكل نهائي اما تركيز 1 ملغم /مل فاستمر طرح الاكياس الى ما بعد اليوم 15 من المعالجة.

بينما ظهرت نتائج المستخلص المائي بعد اجراء التحلل الحامضي أكثر تحسن من ناحية قصر الفترة الزمنية في إيقاف طرح أكياس بيض الطفيل اذ سجلت في اليوم الخامس من المعالجة توقف طرح أكياس بيض الطفيل في أكثر من نصف عدد المكررات وبتركيز 1 ملغم / مل حتى توقف طرح الاكياس بشكل نهائي في اليوم التاسع من المعالجة، بينما توقف طرح الاكياس في أكثر من نصف عدد المكررات في اليوم الحادي عشر اثناء المعالجة بالمستخلص المائي بتركيز 2 ملغم /مل و 1.3 ملغم /مل ليتوقف طرح الاكياس في اليوم الثالث عشر بشكل نهائي.

جدول (3) معدل عدد أكياس بيض الطفيل *C.parvum* خلال أيام المعالجة بالمستخلص المائي من نبات العفص قبل إجراء التحلل الحامضي

نوع الجرعة	تركيزالجرعة (ملغم/مل)	عدد الاكياس في اليوم 1 ($X10^3$)	عدد الاكياس في اليوم 5 ($X10^3$)	عدد الاكياس في اليوم 9 ($X10^3$)	عدد الاكياس في اليوم11 ($X10^3$)	عدد الاكياس في اليوم13 ($X10^3$)
السيطرة السالبة	1مل ماء مقطر	0.000 ± 0.000 a	0.000 ± 0.000 a	0.000 ± 0.000 a	0.000 ± 0.000 a	0.000 ± 0.000 a

السيطرة الموجبة	1مل معلق *C.parvum*	101 ± 2.58 f	108.66 ± 3.29 h	110 ± 1.66 h	113 ± 2.39 e	93.50 ± 2.75 c
المستخلص المائي	2	67.66 ± 1.38 bc	40 ± 5.26 b	18.66 ± 5.18 cd	2.66 ± 1.68 ab	0.00 ± 0.00 a
	1.3	82 ± 12.79cde	52 ± 7.15 c	34 ± 3.75 f	10.50 ± 2.45 bc	0.00 ± 0.00 a
	1	90.33 ± 1.05 ef	70.66 ± 1.52 defg	48.66 ± 1.11 g	26.66 ± 5.46 d	10.66 ± 1.83 b

جدول (4) معدل عدد أكياس بيض الطفيل *C.parvum* خلال أيام المعالجة بالمستخلص المائي من نبات العفص بعد اجراء التحلل الحامضي

نوع الجرعة	تركيز الجرعة (ملغم/ مل)	عدد الاكياس في اليوم 1 ($X10^3$)	عدد الاكياس في اليوم 5 ($X10^3$)	عدد الاكياس في اليوم 9 ($X10^3$)	عدد الاكياس في اليوم 11 ($X10^3$)	عدد الاكياس في اليوم 13 ($X10^3$)
السيطرة السالبة	1 مل ماء مقطر	0.000 ± 0.000 a	0.000 ± 0.000 a	0.000 ± 0.000 a	0.000 ± 0.000 a	0.000 ± 0.000 a
السيطرة الموجبة	1مل معلق *C.parvum*	102.33 ± 2.95 g	102.33 ± 2.04 f	111.16 ± 3.91e	116 ± 8.64 c	106.83 ± 3.85 b
المستخلص المائي	2	96.66 ± 1.83 fg	58 ± 4.56 d	20 ± 8.88 bc	2 ± 1.26 a	0.000 ± 0.000 a
	1.3	90 ± 2.63 ef	56.33 ± 6.57 d	14.66 ± 3.29 b	4.66 ± 1.11 a	0.000 ± 0.000 a

	1	62 ± 1.46 b	2.66 ± 1.68 b	0.000 ± 0.000 a	0.000 ± 0.000 a	0.000 ± 0.000 a

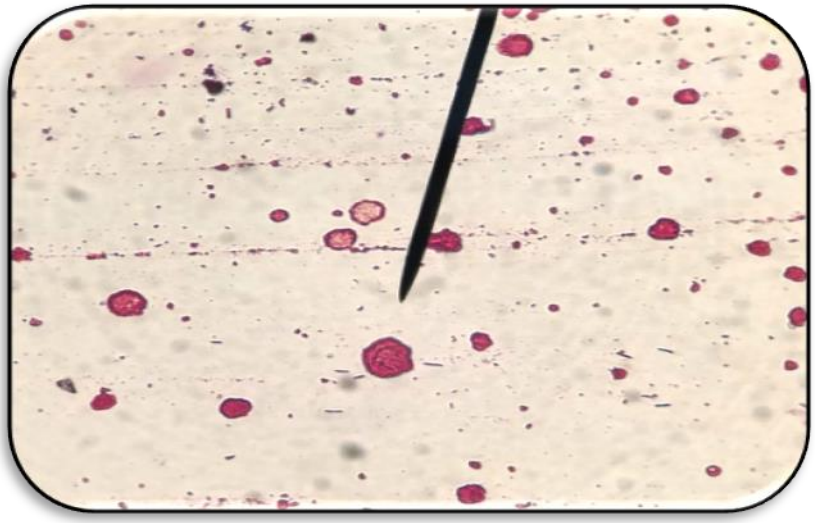
المرحلة الأولى

المرحلة الثانية

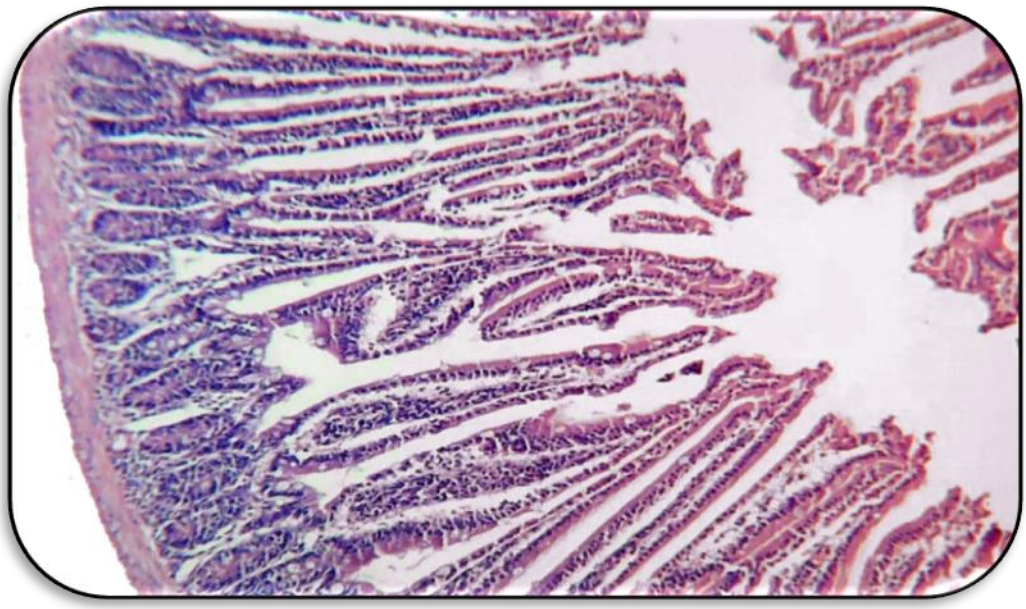
المرحلة الثالثة

المرحلة الرابعة

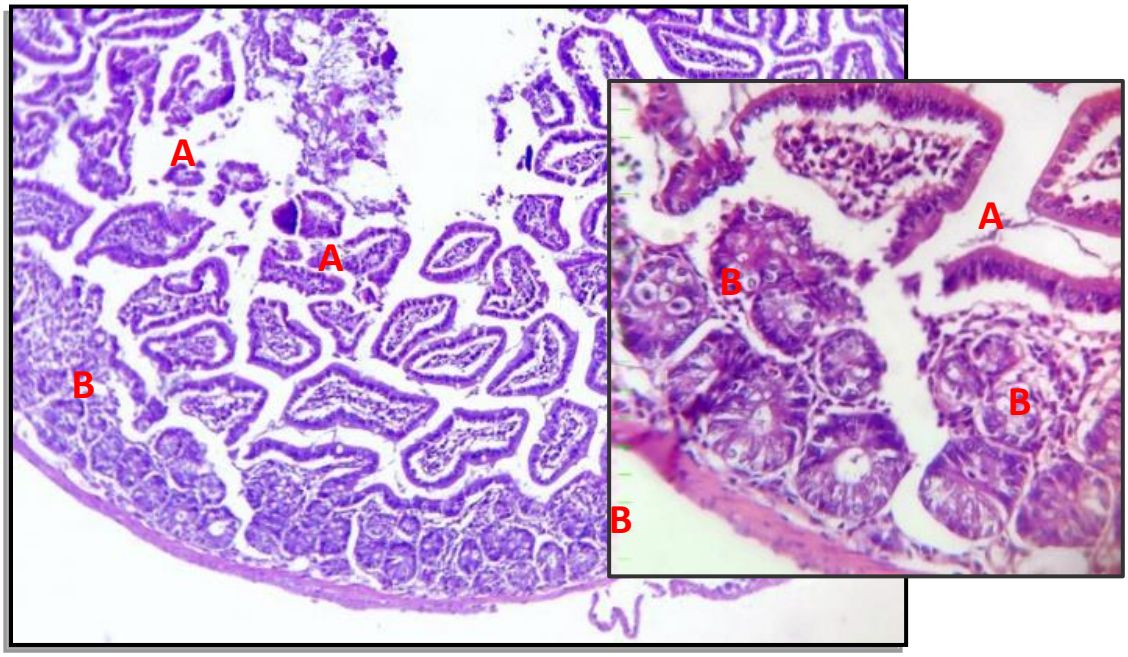
الشكل (1) مراحل تحضير المستخلص المائي



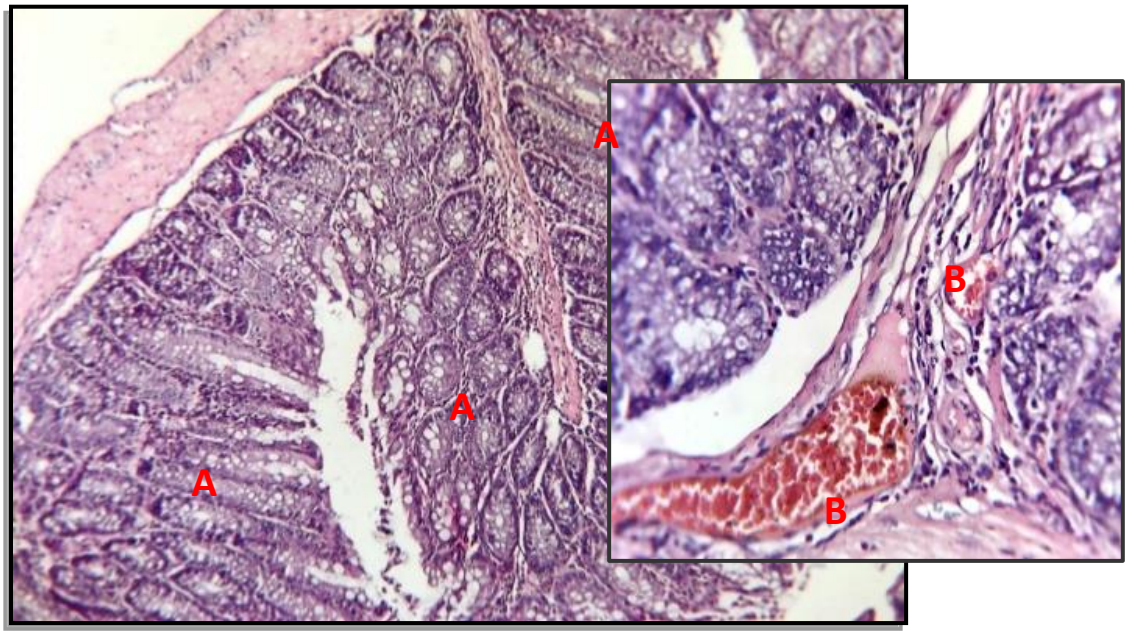
الشكل(2) أكياس بيض الطفيل *Cryptosporidium parvum*



الشكل(3) مقطع عرضي في أمعاء فأر من مجموعة السيطرة السالبة يلاحظ فيه التركيب السوي لنسيج الأمعاء متمثل بالزغابات و الغدد المعوية والنسيج الطلائي المبطن للأمعاء . (صبغة الهيماتوكسلين والايوسين تحت العدسة x40)

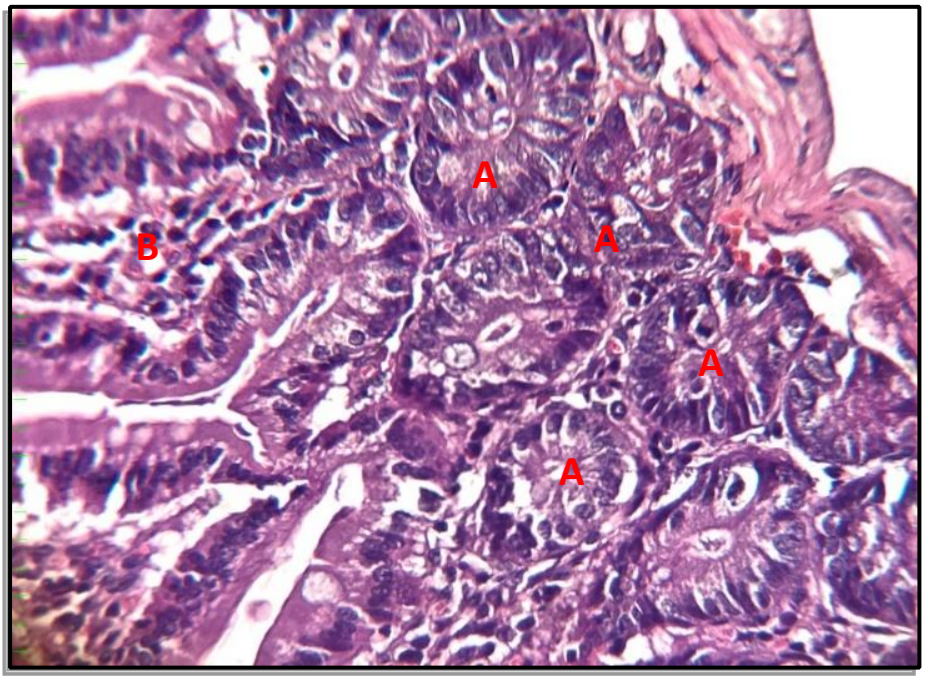


الشـكل (4) مقطع عرضـي في أمعاء فأر من مجموعة السـيطرة الموجبة المخمجة بأكياس بيض الطفيل *C.parvum* ، يلاحظ تنخر وتوسـف شـديد لقمم الزغابات المعوية (A) وارتشـاح كثيف للخلايا الالتهابية وتواجد أكياس بيض الطفيل داخل الزغابات والغدد المعوية (B). (صـبغة الهيماتوكسلين والايوسين تحت العدسة x40)



الشـكل(5) مقطع عرضـي في أمعاء فأر من المجموعة المخمجة بأكياس بيض الطفيل *C.parvum* والمعالجة بالمسـتخلص المائي لنبات العفص قبل التحلل الحامضـي بجرعة تركيزها 2 ملغم/مل، يلاحظ فرط تنسـج للخلايا الظهارية المبطنة للزغابات والغدد المعوية (A) مع ارتشـاح للخلايا

الالتهابية واحتقأن في الاوعية الدمية (B). (صبغة الهيماتوكسلين والايوسين تحت العدسة 10 x و 40 x)



الشكل (6)مقطع عرضي في أمعاء فأر من المجموعة المخمجة بأكياس بيض الطفيل*C.parvum* المعالجة بالمستخلص المائي لنبات العفص بعد التحلل الحامضي بجرعة تركيزها 2 ملغم/مل، يلاحظ فرط تنسج للخلايا الظهارية المبطنة للزغابات والغدد المعوية (A)، وارتشاح للخلايا الالتهابية في الزغابات والغدد المعوية (B). (صبغة الهيماتوكسلين والايوسين تحت العدسة40x)

المصادر

الجرجري، سيناء عبد الله (2006) محاولات في علاج داء البويغات الخبيئة في الفئران البيض سلالة .BALB/cأطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

الزبيدي، منى حازم إبراهيم(2012) احداث وتوصيف السمية العصبية لكلوريد المنغنيز في نموذج افراخ الدجاج. أطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، العراق.

Adamczyk, B., Simon, J., Kitunen, V., Adamczyk, S., & Smolander, A. (2017). Tannins and Their Complex Interaction with Different Organic Nitrogen Compounds and Enzymes: Old Paradigms versus Recent Advances. *ChemistryOpen*, 6(5), 610–614.

Behbahani, M., Shanehsazzadeh, M., & Hessami, M. J. (2011). Optimization of callus and cell suspension cultures of Barringtonia racemosa (Lecythidaceae family) for lycopene production. *Scientia Agricola*, 68(1), 69–76.

Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T. Y., Afrin, S., ... Battino, M. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, 23(9), 1–20.

Cunha, F. S., Peralta, J. M., & Peralta, R. H. S. (2019). New insights into the detection and molecular characterization of Cryptosporidium with emphasis in Brazilian studies: A review. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 61(April), 1–12.

Dixon, W.J.(1980). Efficient analysis of experimental observation .Annual Review of Pharmacol and Toxicol ;20:491-462.

Ebrahimi, M., Shirazi, A. S., Abdolhoseinpour, F., & Abdollahi, M. (2017). Effect of tannic acid on bond strength of etch and rinse and self-etch adhesive systems in dentin of primary teeth. *Journal of Contemporary Dental Practice*, 18(1), 34–38.

Feire-Santos F, Oteiza-Lopes AM, Vergara-Castiblanco CA, Area-Mazas ME.(1999) Effect of salinity, temperature and storage time on mouse experimental infection by *Cryptosporidium parvum*. Vet. Parasitol. 87: 1-7)

Florin-Christensen, M., Schnittger, L., Bastos, R. G., ... Suarez, C. E. (2021). Pursuing effective vaccines against cattle diseases caused by apicomplexan protozoa. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 16(24). doi:10.1079/PAVSNNR202116024

Guy, R. A., Yanta, C. A., Muchaal, P. K., ... Boggild, A. K. (2021). Molecular characterization of Cryptosporidium isolates from humans in Ontario, Canada. *Parasites and Vectors*, 14(1), 1–14

Hendiger, E. B., Padzik, M., Żochowska, A., ... Lorenzo-Morales, J. (2020). Tannic acid-modified silver nanoparticles enhance the anti-Acanthamoeba activity of three multipurpose contact lens solutions without increasing their cytotoxicity. *Parasites and Vectors*, 13(1). doi:10.1186/s13071-020-04453-z

Jamshidi-Kia, F., Lorigooini, Z., & Amini-Khoei, H. (2018). Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 7(1), 1–7.

Jason Evans, Donald Levesque, Kim Knowles, Randy Longshore, and S. P. (2003). Diazepam as a treatment for metronidazole toxicosis in dogs: A retrospective study of 21 cases. *Advances in Small Animal Medicine and Surgery*, 17(5), 1–2

Kaczmarek, B. (2020). Tannic acid with antiviral and antibacterial activity as a promising component of biomaterials-A minireview. *Materials*, 13(14). doi:10.3390/ma13143224

Khudhair, M., & Al-Niaeemi, N. (2020). Experimental study of heat-killed oocysts of Cryptosporidium Parvum in Balb/ c Mice. *Journal of Education and Science*, 29(2), 158–173.

Moreau, P., Colette-Maatouk, S., Vitorge, P., Gareil, P., & Reiller, P. E. (2015). Complexation of europium(III) by hydroxybenzoic acids: A time-resolved luminescence spectroscopy study. *Inorganica Chimica Acta*, 432(Iii), 81–88.

olubová, N., Tůmová, L., Sak, B., ... Kváč, M. (2020). Description of Cryptosporidium ornithophilus n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in farmed ostriches. *Parasites and Vectors*, 13(1), 1–17.

Ortega-Pierres, Guadalupe; Cacciò, Simone M; Fayer, Ronald; Mank, Theo G; Smith, Huw V; Andrew Thompson, R.C.(2009). GIARDIA AND CRYPTOSPORIDIUM From Molecules to Disease. AMA Dataset, Preston, UK.P:12-30

Patgar, B. G., Satish, S., & Shabaraya, A. R. (2021). Essential Oil of Cupressus Sempervirens: A Brief Review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10(4), 864–872.

Patgar, B. G., Satish, S., & Shabaraya, A. R. (2021). Essential Oil of Cupressus Sempervirens: A Brief Review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10(4), 864–872.

Robertson, L. J. (2013). *Giardia as a foodborne pathogen*. *Giardia as a Foodborne Pathogen*. doi:10.1007/978-1-4614-7756-3

Rojas-gonz, A., Yuritzi, C., & Gonz, O. (2022). Coffee Chlorogenic Acids Incorporation for Bioactivity Enhancement of Foods : Coffee Chlorogenic Acids Incorporation for Bioactivity Enhancement of Foods : A Review, (May). doi:10.3390/molecules27113400

Sachithanandam, V., Parthiban, A., Lalitha, P., ... Ramesh, R. (2020). Biological evaluation of gallic acid and quercetin derived from Ceriops tagal : insights from extensive in vitro and in silico studies. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 0(0), 1–13.

Sachithanandam, V., Parthiban, A., Lalitha, P., ... Ramesh, R. (2020). Biological evaluation of gallic acid and quercetin derived from Ceriops tagal : insights from extensive in vitro and in silico studies. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 0(0), 1–13.

Salmerón-Manzano, E., Garrido-Cardenas, J. A., & Manzano-Agugliaro, F. (2020). Worldwide research trends on medicinal plants. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(10). doi:10.3390/ijerph17103376

Sherin, L., Shujaat, S., Sohail, A., & Arif, F. (2018). Synthesis and biological evaluation of novel gallic acid analogues as potential antimicrobial and antioxidant agents. *Croatica Chemica Acta*, 91(4), 551–565.

Stompor-Gorący, M., & Machaczka, M. (2021). Recent advances in biological activity, new formulations and prodrugs of ferulic acid. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 1–18.

Suleria, H. A. R., Barrow, C. J., & Dunshea, F. R. (2020). Screening and characterization of phenolic compounds and their antioxidant capacity in different fruit peels. *Foods*, 9(9). doi:10.3390/foods9091206

Sun, X., Wang, Z., Kadouh, H., & Zhou, K. (2014). The antimicrobial, mechanical, physical and structural properties of chitosan-gallic acid films. *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), 83–89.

Tangarfa, M., & Semlali Aouragh Hassani, N. S. A. H. (2021). The behaviour of tannic acid adsorption on fluorite surface: Isotherm, kinetic and thermodynamic studies. *Physicochemical Problems of Mineral Processing*, 58(1), 77–87.

Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., & Yangsabai, A. (2018). Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. *Medicines*, 5(3), 93.

Ulusan Bagci, O., & Caner, A. (2022). The interaction of gut microbiota with parasitic protozoa. *Journal of Parasitic Diseases*, 46(1), 8–11.

Yang, K., LeJeune, J., Alsdorf, D., Lu, B., Shum, C. K., & Liang, S. (2012). Global distribution of outbreaks of water-associated infectious diseases. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(2). doi:10.1371/journal.pntd.0001483

Zhu, X., Yu, L., Zhang, M., ... Li, J. (2018). Design, synthesis and biological activity of hydroxybenzoic acid ester conjugates of phenazine-1-carboxylic acid. *Chemistry Central Journal*, 12(1), 1–11