Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

تخميج الفئران البيضاء Albino نوع *Mus musculus* تجريبياً بطفيلي *Cryptosporidium parvum* وعلاجها بالكلوبيولين المناعي النوعي IgG بعد استخلاصه وتنقيته وتقدير وزنه الجزيئي

ثائر عبد القادر صالح الالوسي[١] ، عمر محمد حسن[٢] ، عبد الخالق علوان محيميد[٣]
[١،٢]كلية العلوم / جامعة الانبار
Thaerparasit@yahoo.com[1] , anbirq@gmail.com[2]
[٣]كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة تكريت
Raheem_aljuboori@yahoo.com[3]

تاريخ استلام البحث: ٢٨ / ١ / ٢٠١٥ تاريخ قبول البحث: ٢ / ٦ / ٢٠١٥

الملخص

شملت الدراسة فحص ٣٢٠٠ عينة غائط مأخوذة بصورة عشوائية من المرضى الوافدين إلى مستشفى النسائية والتوليد في الرمادي للمدة من ١-٦-٢٠١١ إلى ٣٠-٦-٢٠١٢ ، تم الكشف عن طفيلي *C. parvum* بطريقتين ، الفحص المباشر باستعمال صبغة زيل نيلسون المحورة وطريقة الاليزا إذ تبين أن طريقة الفحص بالاليزا كانت أدق من الفحص بالطريقة المباشرة باستخدام صبغة زيل نيلسون المحورة . وتمت تنقية الطفيلي وتكسيره وحقنه في الأرانب لاستخلاص الأجسام المضادة (IgG) واستعمالها في علاج الإصابة بالطفيلي بعد خمج مجموعة من الفئران البيضاء تجريبياً ومقارنة العلاج بالأجسام المضادة مع العلاجات الكيميائية ومعرفة عدد أكياس البيض المطروحة مع البراز بعد فحص بعض المؤشرات الدمية وفحص C_4 , C_3 , IgA , IgM , IgG في الدم كمؤشرات على حصول التهاب وبقاء الإصابة أو زوالها ، أظهرت نتيجة الدراسة ازدياد واضح في عدد أكياس البيض المطروحة مع البراز في معاملة السيطرة الموجبة على خلاف بقية معاملات العلاج الذي أظهرت انخفاض معنوي في عدد الأكياس المطروحة . وقد كانت أفضل المعاملات من ناحية المؤشرات الدمية وعدد أكياس البيض المطروحة مع البراز ومؤشرات الأجسام المناعية والمتممات هي معاملة إعطاء علاج الخلط الدوائي للـ Azithromycin + Spiramycin بتركيز ٦ ملغم يليه معاملة العلاج بالجسم المضاد IgG عند إعطاءه عن طريق الفم .

الكلمات الدالة: *Cryptosporidium* ،الأليزا ، علاج مناعي وكيميائي .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

Mus musculus infection by Cryptosporidium parvum and treatment by Specific Immunoglobulin IgG after Extraction , purification and molecular weight determination

Thaer abdulqader salih alaloosi[1] , Omer M. Hassen[2] , Abdulkhaliq A. Mohaemeed[3]

[1,2]College of science / University of Anbar

Thaerparasit@yahoo.com[1] , anbirq@gmail.com[2]

[3]College of Education /University of Tikrit

Raheem_aljuboori@yahoo.com[3]

Received date: 28 / 1 / 2015 **Accepted date: 2 / 6 / 2015**

ABSTRACT

The study included examination of 3200 stool sample selected randomly for taken from patients attending gynecological and obstetrics hospital in alramadi city , for period 1-6-2001 to 30-6-2012 , C. parvum parasite discovered by two ways : Direct test using Zehil-Neelsen and ELISA . we showed that ELISA test was best from direct method by using Zehil-Neelsen modified stain . parasite purification and crashing and injection in rabbits for extraction IgG antibodies and using for infection parasite treatment after mice group infection and compared antibodies treated with chemical treatment and noticed Oocyst ejected with feces after examination some blood analysis and Examination IgG , IgM , IgA , C_3 , C_4 in blood f as a sign to inflammation get and infection remaining or finishing , show the study result clear increase in outside Oocyst number Known in positive control treatment , Wrong treatment rest others , was showing low significant in outside Oocyst number Known . Was treatments best for blood signs and outside Oocyst number Known and antibodies and complements it Spiramycin + Azithromycin treatment (6µm) following IgG treatment for giving in oral method .

keywords: *Cryptosporidium , ELISA , immunotherapy and chemotherapy.*

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

١. المقدمة (Introduction)

تصنف أنواع الجنس *Cryptosporidium* ضمن الأوالي الطفيلية للأكريات Coccidia والعائدة لشعبة Apicomplexa . ومن أهم الأنواع التي تصيب الإنسان والمواشي والضأن والقوارض هو النوع *C. parvum* [1] . يعد داء الابواغ الخبيئة Cryptosporidiosis من الأمراض الطفيلية المسببة لالتهاب الأمعاء الحاد في الإنسان وأنواع كثيرة من الحيوانات [2] . وتكمن خطورة الطفيلي في تعدد طرائق انتقاله من خلال تلوث المياه والغذاء ومقاومته للعديد من المعقمات والأدوية المستخدمة ضده [3]. كما يتصف الطفيلي بقدرته على إحداث الخمج الذاتي في المضائف المختلفة [4]. وان ظاهرة الخمج الذاتي التي تحصل في نفس المضيف تؤدي إلى طرح أعداد كبيرة من أكياس البيض إلى المحيط و التي تكون مخمجة لحظة خروجها من المضيف ، وللمضائف الخازنة دور مهم في نقل الإصابة عن طريق تلوث الأطعمة بفضلات تلك النواقل [5] .

تكمن الأهمية المرضية لداء الابواغ الخبيئة Cryptosporidiosis بحدوث الإسهال المائي في حالات الخمج الشديد ، إذ إن الطفيلي لا يصيب الطبقة تحت المخاطية بل تقتصر إصابته على الطبقة المخاطية وبذلك يكون الإسهال ذا لون اصفر أو مخضر مع احتوائه على الدم أو القيح في حالة الإصابات الثانوية (البكتيرية ، الفيروسية) [6] .

يقاوم الطفيلي في داخل جسم المضيف معظم الأدوية العلاجية المعروفة [7] . لذلك بات من الضروري اللجوء إلى إيجاد بدائل علاجية أكثر كفاءة من العلاجات الكيميائية المستخدمة حالياً كونها تؤثر بشكل تراكمي في جسم الإنسان أو حيواناته الداجنة عند استخدامها [8] ، إذ لجأ كثير من الباحثين إلى العلاجات النباتية والعلاجات الوراثية والعلاجات المناعية باستعمال الكلوبيولينات (المناعة المنفعلة) كونها لا تؤثر سلباً في جسم الكائن الحي ، وكذلك لم يظهر على الطفيلي صفة المقاومة لهذه العلاجات [9] . يعتمد الأساس النظري لهذه التجربة على إن الأجسام المضادة والمتخصصة الموجودة في مصل الدم إذا احتفظت بفعاليتها عند إعطائها بشكل مناعة منفعلة فإنها سوف تعادل في مفعولها كمية الطفيلي الداخلة إلى الجسم وبالتالي تمنع حدوث الخمج وكذلك التغلب عليه .

لذلك هدفت الدراسة إلى استخلاص وتنقية وتقدير الوزن الجزيئي للكلوبيولين المناعي IgG من دم الأرانب المُخَّمجة تجريبياً بالطفيلي *C . parvum* وتمنيع الفئران المخمجة تجريبياً بالطفيلي ومعرفة أفضل طريقة لإيصال العلاج من خلال إجراء بعض القياسات الدمية والمصلية والمناعية.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

٢. طرق العمل (Methods)

جمعت ٣٢٠٠ عينة غائط Faces وبشكل عشوائي من الأطفال الوافدين إلى مستشفى النسائية والتوليد في الرمادي (دون سن الخامسة من كلا الجنسين ومن مناطق مختلفة من محافظة الانبار) للفترة من ١-٦-٢٠١١ إلى ٣٠-٦-٢٠١٢ . وضعت قطرة من العينة على شريحة زجاجية ونشرت وتركت لحين الجفاف بعد تطويفها بمحلول شيذر السكري ، ثم ثبتت بالكحول الاثيلي ، بعدها لونت بالصبغة الصامدة للحامض زيل نيلسون المحورة وتم الكشف عن العينة وتصويرها بعد وضع قطرة من مادة DPX عليها وتغطيتها بغطاء الشريحة وفحصت على القوة x٤٠ . حفظت العينات بمحلول دايكرومات البوتاسيوم ٥% .

تم استخدام المقياس العيني Ocular micrometer في قياس أقطار أكياس بيض الطفيلي *C. parvum* oocysts .

اختبار ارتباط الخميرة للامتزاز المناعي للكشف عن أكياس بيض الطفيلي (الاليزا) ELISA

استعملت عدة تجارية متخصصة لتحديد كمية مستضد طفيلي الابواغ الخبيئة في غائط الإنسان وهي مجهزة من شركة Carisbad EIA3467 crypto. Ag stool DRG (CA.2011) . [10] .

تحديد جرعة الطفيلي المحقونة في الأرانب لإنتاج الأجسام المضادة النوعية

أُخذ ١٠ مل من عالق أكياس بيض الطفيلي المنقاة بالتطويف بمحلول شيذر السكري ووضعت في أنابيب اختبار جهاز الطرد المركزي ، غسلت عدة مرات بالماء المقطر ورسبت بسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة للتخلص من دايكرومات البوتاسيوم ٥% ، وباستعمال شريحة العد Haemocytometer استخرج العدد الكلي لأكياس البيض في الملليتر الواحد .

تحضير وتكسير أكياس بيض الطفيلي Oocysts

أخذ ٥٠٠٠ كيس بيض مبوغ (٣.٦٠ ملليتر) في كمية مساوية من محلول PBS ذات pH=7.2 ، وعرضت للتجميد لمدة ساعتين بعدها أذيب النموذج بالحمام المائي بدرجة ٢٠م° ثم وضعت في أنبوبة اختبار ، كررت العملية ٥ مرات [11] . كسرت أكياس بيض الطفيلي بالتجميد والتذويب بوساطة جهاز الموجات فوق الذبذبة الصوتية (Ultra Sonicator) [12]مع تكرار العملية ٥ مرات ، بعدها فحص المحلول للتأكد من خروج البويغات Sporoziote وتحررها إلى خارج كيس البيض بعد تحطمه ، [13] .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

دُيلز المحلول الناتج بواسطة محلول دارئ فوسفاتي PBS=7.2 بعد تكسير الطفيلي للتخلص من بعض المحتويات الداخلية لأكياس البيض المتكسرة .

وأُضيفت المضادات الحيوية penicillin and streptomycin لتعقيم المحلول من الأحياء المجهرية . تم زرع جزء من المستخلص لغرض الكشف عن التلوث المايكروبي ، وبذلك تم الحصول على المستخلص النهائي المعقم لغرض الحقن .

تمنيع الأرانب لغرض الحصول على الأجسام المضادة

أُجريت الدراسة في إحدى قاعات البيت الحيواني في كلية العلوم / جامعة الانبار بدءاً من ٢٠١٢/٧/٢٥ لغاية ٢٠١٢/١١/٢٠ (٨٧ يوماً) ، حيث تركت الأرانب نوع Albino (عدد ١٠) حُرة في قاعة التربية ، وقدم لها الماء والغذاء وبعض الفيتامينات والمواد المعدنية بصورة حرة . وبفترات إضاءة متفاوتة في اليوم الواحد .

مزج المحلول المركز للطفيلي مع كمية مساوية من محلول فرويند الناقص Freund's Incomplete Oil Adjuvant الذي جهزته شركة Schuchardt Munchen الألمانية ، إذ سحب حجم ٣ مل من المحلول المركز للطفيلي بمحقنة طبية معقمة وسحب حجم مماثل من محلول فرويند الناقص ، تم توصيل المحقنتين بعضهما ببعض بخرطوم بلاستك ضيق ذو طرفين مفتوحين وبإجراء ضغط على كل مكبس بشكل متناوب دُفع احد السائلين إلى المحقنة الثانية وبالعكس مرات عديدة لكي يتم استحلاب السائل . وتم حقنها بجرعة الطفيلي الممزوج بمحلول فروند الناقص بجرعات متتابعة ومتناقصة ، وزعت الجرعات تحت الجلد وفي عضلة الفخذ ، وكانت الجرعة الأولى بمقدار ٢ مل من المزيج (١ مل طفيلي لكل ١ مل محلول فروند الناقص) ، وبعد أسبوعين أعطيت الجرعة الثانية بمقدار ١.٥ مل من المزيج ، أما الجرعة الثالثة فقد أعطيت بعد أسبوعين أيضاً وبمقدار ١ مل من المزيج ، والجرعة الرابعة بعد ٢٠ يوم بمقدار ١ مل من المزيج ، لغرض الحصول على الأجسام المضادة Igs لهذا الطفيلي [14] .

ترسيب الكلوبيولينات المناعية المستخلصة من مصل دم الأرانب

رسبت الكلوبيولينات المناعية IgG و IgM (المستخلصة من مصل دم الأرانب) بإتباع الطريقة الموصوفة من قبل [15] و وضع المحلول النهائي من الخطوات السابقة (الرواسب الثلاثة) في أكياس الديلزة وتمت ديلزته ضد الماء المقطر

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

لمدة ٤٨ ساعة بدرجة حرارة ٤ م° (بداخل الثلاجة) وتم تغيير الماء خلالها عدة مرات . حفظت النماذج بدرجة حرارة −٢٠ م لحين إجراء التجارب اللاحقة عليها [12] [16] .

فصل وتنقية الكلوبيولين المناعي IgG من المصل بطريقة كروماتوغرافيا التبادل الأيوني

تم فصل وتنقية الكلوبيولين المناعي IgG من المصل بطريقة كروماتوغرافيا التبادل الأيوني حسب الطريقة الموصوفة من قبل [15] .

الترحيل الكهربائي لكلوبيولينات المناعة بهلام متعدد الاكريلامايد بعد التنقية

استخدمت طريقة الهلام متعدد الاكرلمايد (PAGE− SDS) PolyAcrylamide Gel Electrophoresis 24% كما أوردها [17] المحورة باستخدام جهاز الهجرة الكهربائية العمودي الذي جهزته شركة Pharmacia السويدية ، لترحيل كلوبيولينات المناعة ومتابعة تنقيتها ، وتم تلوينها بصبغة Coomassei Brilliant Blue R−250 مع إضافة مادة Sodium Dodecyl Sulphate (SDS). ورحلت معها عينة قياسية للـ IgG .

تجفيد العينة lypholized

جُفدت العينة باستخدام جهاز Lypholizer حسب طريقة [18] .

الحيوانات المختبرية Laboratory animals

استخدمت ٢٧٠ فار مختبري من الفئران السويسرية البيضاء Seviss Albino Mice سلالة Balb/C نوع *Mus musculus* ، والتي تم الحصول عليها من البيت الحيواني في كلية العلوم – جامعة الانبار، رُبيت الفئران في أقفاص خاصة تحت ظروف ملائمة من حرارة وضوء وغذاء المكون من عليقه من الحبوب وفول الصويا وبروتين . وبمعدل ١٥ معاملة ، لكل معاملة ٣ مكررات ، لكل مكرر ٦ فئران/قفص تحت ظروف مسيطر عليها قبل إجراء التجارب . وفحصت عينات من براز الفئران يومياً لمدة أسبوع قبل استخدامها في التجارب للتأكد من خلوها من الإصابة بأي طفيلي ومن ضمنها *C. parvum*.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

تحديد جرعة الخمج في الفئران

أخذ حوالي ٢٠ مل من عالق أكياس البيض النقية وغسلت عدة مرات بالماء المقطر وجرعت ٢١ فأرة بعالق من أكياس البيض (١٠ ، ٢٠ ، ٣٠ ، ٥٠، ١٠٠ ، ١٠٠٠ ، ١٠٠٠٠كيس بيض / فأرة) باستعمال شريحة العد Haemocytometer وحسبت أعلى واقل جرعة من أكياس البيض لإحداث الخمج دون وقوع هلاكات للفئران .

تخميج الحيوانات المختبرية والعلاج

جرعت الفئران المستخدمة في الدراسة للمدة ٢٠-٢-٢٠١٣ إلى ١٠-٣-٢٠١٣ وبعمر ٤ أسابيع (بوزن ٢٤-٢٦ غم بعد تربيتها مختبرياً بعمر اليوم الأول والتأكد من خلوها من الأمراض) عن طريق الفم باستخدام الأنبوب المعدي Stomach tube بجرعة تحتوي على ٧٧٣ كيس بيض لكل فأرة (٠.٥ مل) [19] [20] . فحص براز الفئران يومياً للتأكد من حدوث الإصابة باستخدام طريقة الفحص المباشر للبراز [21] [22] ، وبعد التأكد من حدوث الإصابة (بعد ٤ أيام من إعطاء الطفيلي حدثت الإصابة) عوملت الفئران المخمجة تجريبياً بالعقاقير والعلاج المناعي IgG (بتركيز ٥ملغم/مل) أعطيت لكل فأرة جرعة في كل يوم (٣ جرعات في ٣ أيام) . استمرت التجربة لمدة أسبوعين بعد إعطاء جرعة الطفيلي وحدوث الإصابة .

إجراء المعاملات

١- **المعاملة الأولى** : ماء مقطر (سيطرة سالبة) .

٢- **المعاملة الثانية** : العترة الضارية من الطفيلي فقط (سيطرة موجبة) .

٣- **المعاملة الثالثة** : إعطاء محلول الكلوبيولين المناعي IgG عن طريق الحقن بالغشاء البريتوني [23] .

٤- **المعاملة الرابعة** : إعطاء محلول الكلوبيولين المناعي IgG عن طريق الحقن بعضلة الفخذ [24] .

٥- **المعاملة الخامسة** : إعطاء محلول الكلوبيولين المناعي IgG تحت الجلد بالقرب من عضلة الفخذ [25] .

٦- **المعاملة السادسة** : إعطاء محلول الكلوبيولين المناعي IgG عن طريق الفم (التجريع) [24] .

٧- **المعاملة السابعة** : إعطاء العقار الكيميائي Azithromycin بتركيز ٢ملغم/ ٢٠ غم من وزن الجسم ، إذ استخدم هذا العقار النقي مذاباً بالماء المقطر [21] .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

٨- **المعاملة الثامنة** : إعطاء العقار الكيميائي Azithromycin بتركيز ٤ملغم/ ٢٠ غم من وزن الجسم [21] .

٩- **المعاملة التاسعة**: إعطاء العقار الكيميائي Azithromycin بتركيز ٦ملغم/ ٢٠ غم من وزن الجسم [21] .

١٠- **المعاملة العاشرة** : إعطاء العقار الكيميائي Spiramycin (Rovacin) بتركيز ٢ملغم/ ٢٠ غم من وزن الجسم ، إذ استخدم هذا العقار النقي مذاباً بالماء المقطر [22] .

١١- **المعاملة الحادية عشر** : إعطاء العقار الكيميائي Spiramycin بتركيز ٤ملغم/ ٢٠ غم من وزن الجسم[21]

١٢- **المعاملة الثانية عشر**: إعطاء العقار الكيميائي Spiramycin بتركيز ٦ملغم/ ٢٠ غم من وزن الجسم [21].

١٣- **المعاملة الثالثة عشر** : إعطاء العقار الكيميائي المختلط Spiramycin + Azithromycin إذ استخدم هذا الخليط من العقارين مذاباً بالماء المقطر بتركيز ٢ملغم/ ٢٠ غم من وزن الجسم [21] [22] .

١٤- **المعاملة الرابعة عشر** : إعطاء العقار الكيميائي المختلط Spiramycin + Azithromycin بتركيز ٤ملغم/ ٢٠ غم من وزن الجسم [21] [22] .

١٥- **المعاملة الخامسة عشر** : إعطاء العقار الكيميائي المختلط Spiramycin + Azithromycin بتركيز ٦ملغم/ ٢٠ غم من وزن الجسم [21] [22] .

معدل عدد الأكياس

فحص البراز يومياً ، بعد إعطاء العلاجات المذكورة سابقاً ، لتقدير عدد الأكياس في البراز في عشرة حقول مجهرية عشوائية وإيجاد المعدل وتحديد الفترة التي ينتهي فيها ظهور الأكياس إلى أن يصبح عددها صفراً ، ومقارنتها بالسيطرة الموجبة والسالبة .

فحوصات الدم Hematological Tests

جمع الدم في الأنابيب الحاوية على مانع التخثر EDTA بواقع ١.٢٥ مل من كل فأرة ، أخذت إلى المختبر لإجراء فحوصات الدم (R.B.C. , W.B.C. , Hb% , P.C.V.) وحسب طريقة [26] ، وتم تشريح الفئران بعد فترة زمنية من إعطاء العلاجات والعقار (١٤ يوماً).

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

فحص الكلوبيولينات المناعية صنف IgG و IgM و IgA وفحص المتممات C4 , C3 بطريقة الانتشار المناعي الشعاعي المفرد في دم الفئران المعاملة

استخدمت عدة الفحص Radial Immunodiffusion Plates المجهزة من قبل شركة LTA الايطالية للكشف عن تأثر كمية وجود الكلوبيولينات المناعية IgG و IgM و IgA وكذلك المتممات C4 , C3 في المصل والمجهزة من قبل شركة LTA الايطالية . إذ وضع 5 مايكروليتر من النماذج في الحفر الخاصة بطبق فحص IgG و IgA والمتممات C4 , C3 وحضن الطبق بدرجة حرارة ٣٧م لمدة ٤٨ ساعة . كررت العملية نفسها بالنسبة لطبق فحص الكلوبيولين المناعي صنف IgM وحضن الطبق بدرجة حرارة ٣٧م لمدة ٧٢ ساعة . لوحظ بعد انتهاء فترة الحضن وجود هالة حول الحفر التي أجري الفحص فيها دلالة على حدوث ترسب للمعقد المناعي.

التحليل الإحصائي Statistical Analysis :

تم تصميم التجربة باعتبارها تجربة بسيطة تعتمد على عامل واحد [27] . وجرى تحليل النتائج التي حصلنا عليها من دراستنا الحالية باستخدام برنامج SPSS الإحصائي Ver.21 إذ تم استخدام التصميم العشوائي الكامل (RCBD) Randemize Complet Block Design [28] . واختبرت معنوية المتوسطات عند مستوى احتمال ($P < 0.05$) وأجريت المقارنة بين متوسطات المعاملات باستعمال اختبار اقل فرق معنوي Least Significant Difference (LSD) بإختبار دنكن Duncun [27] .

٢. النتائج والمناقشة (Results and Dissection)

الكشف عن الطفيلي وتنقيته وتحضيره كمستضد

اختيرت الفئة العمرية من ١–٥ سنة عند جمع العينات من الأطفال الوافدين إلى المستشفى لأن هذه الفئة أكثر عرضة للإصابة بهذا الطفيلي نتيجة استعمال بعضهم الرضاعة الصناعية بدل الطبيعية وعدم اتباع شروط النظافة الصحية [29] . [30]

كان حجم الطفيلي كان ٥ x ٥.٢ مايكرون عند فحصه بواسطة العدسة العينية المدرجة وهذا مطابق لما ذكره [31] ، كما وجدت ٧٢٣ عينة موجبة (مصابة) أثناء فحص الاليزا بينما كانت عدد العينات الموجبة في التلوين بصبغة زيل

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

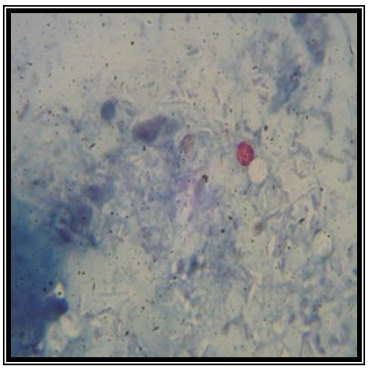
نيلسون المحورة ٦٨٤ عينة ، وهذا يدل على إن فحص الاليزا أكثر دقة من الفحص ألمجهري للعينات المصبوغة . ولقد اتفقت هذه النتيجة مع ما أشار إليه [32] في أن طريقة الاليزا ذات كفاءة عالية ، وتمتاز بسهولتها وحساسيتها للكشف عن (١٠) كيس بيض أو يكون تركيز بروتين المستضد Ag (٥٠ نانوغرام) ، بينما اختلفت النتيجة مع ما أشار إليه [33] في أن كفاءة التشخيص بصبغة الزيل نلسن هي (١٠٠%). يمكن تفسير الفرق في نتائج الفحص بين طريقة الأليزا والفحص المباشر بصبغة زيل نلسن على أساس أن الفحص ألمجهري يحدد فقط الأكياس السليمة والقابلة للمشاهدة في المجهر الضوئي لأنها تأخذ الصبغة فتتلون وبالتالي يمكن مشاهدتها ، وفي حالة تحطم الأكياس في مثل هذه النماذج فإن نتيجة الفحص ستكون سالبة لعدم إمكانية مشاهدة الأكياس بسبب عدم أخذها للصبغة . على عكس ذلك فإن الفحص بطريقة الاليزا تكشف عن وجود مستضدات الطفيلي Antigens في المحلول ومنها المستضدات الموجودة في أكياس البيض السليمة والمحطمة . ولذلك يمكن اعتبار الفحص بطريقة الاليزا أكفأ وأسرع للنماذج الكثيرة . الجدول (١) والشكل (١) .

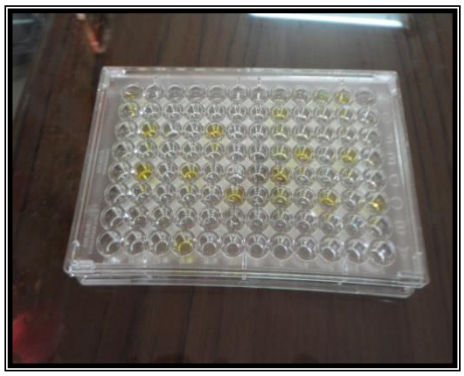
جدول (١): النسب المئوية للخمج بطفيلي *Cryptosporidium parvum* للاطفال المراجعين لمستشفى النسائية والتوليد في الرمادي

عدد العينات المفحوصة	طريقة الفحص	عدد عينات الفحص الموجب	عدد عينات الفحص السالب	النسبة المئوية للخمج
٣٢٠٠ عينة غائط من الأطفال حديثي الولادة	الاليزا *	٧٢٣ عينة غائط مصابة	٢٤٧٧ عينة غائط غير مصابة	% ٢٩.١٨
	صبغة زيل نيلسون المحورة	٦٨٤ عينة غائط مصابة	٢٥٨٦ عينة غائط غير مصابة	% ٢١.٣٧

* وجود فرق معنوي بمستوى (P<0.05)

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849





الشكل (١): (أ) شكل طفيلي *C. parvum* (ب) اختبار الاليزا للـ IgG يمثل العينات الموجبة (اللون الأصفر)

أُستخرج العدد الكلي لأكياس بيض الطفيلي Oocysts بعد أخذ ١٠ شرائح محضرة واستخرج المعدل الكلي لأكياس البيض في المليلتر الواحد إذ بلغت ١٥٤٧ كيس بيض بنسبة حيوية ٩٦% . الجدول (٢) .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

الجدول (٢): يوضح العدد الكلي لأكياس البيض في الشرائح المحضرة

الشرائح المحضرة	عدد أكياس البيض الكلي في الشريحة (١٠٠ مايكروليتر)	عدد أكياس البيض المصبوغة في الشريحة (١٠٠ مايكروليتر)	عدد أكياس البيض غير المصبوغة في الشريحة (١٠٠مايكروليتر)	النسبة المئوية لأكياس البيض المصبوغة %	عدد أكياس البيض المصبوغة الكلي في ١ مل
الشريحة الأولى	١٧٣	١٧٠	٣	٩٨.٣	١٧٠٠
الشريحة الثانية	١٨٥	١٨١	٤	٩٧.٨	١٨١٠
الشريحة الثالثة	١٧١	١٦٦	٥	٩٧.٠	١٦٦٠
الشريحة الرابعة	١٣٣	١٢٨	٥	٩٦.٢	١٢٨٠
الشريحة الخامسة	٢٠٤	١٩٩	٥	٩٧.٥	١٩٩٠
الشريحة السادسة	١٥٧	١٥٢	٥	٩٦.٨	١٥٢٠
الشريحة السابعة	١٢٦	١٢٥	١	٩٩.٢	١٢٥٠
الشريحة الثامنة	١٦١	١٥٦	٥	٩٦.٨	١٥٦٠
الشريحة التاسعة	١٣٣	١٢٩	٤	٩٦.٩	١٢٩٠
الشريحة العاشرة	١٤٤	١٤١	٣	٩٧.٩	١٤١٠
المعدل العام	١٥٨.٧	١٥٤.٧	٤	٩٧.٤٤	١٥٤٧
النسبة المئوية	%١٠٠	% ٩٦	% ٤		% ٩٦

استخرجت الحيوانات البويغية Sporozoites من الأكياس البوغية Sporocystes بعد تحطيم أكياس البيض Oocyst بواسطة جهاز الموجات فوق الصوتية Ultrasonicator . خلال تحضير أكياس بيض الطفيلي لم تصل درجة المحلول إلى ٢٠م° عند وضع قطب جهاز Ultrasonicator ، فقد ذكر [11] إن وصول حرارة المحلول (محلول

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

المستضد) إلى أكثر من ٢٠م° ربما قد يؤدي إلى مسخ وتغيير في طبيعة البروتينات من الناحية الكيميائية . لذلك وضعت العينة في الثلج أثناء العمل [13]. كما اجري تصبيغ للعينة بصبغة زيل نيلسون المحورة فتلونت Sporozoites بهذه الصبغة . وقد اتفقت نتيجة الدراسة الحالية مع ما ذكرته [34] [35] بان Zehil –Neelsen Modified Stain تلون سبورات طفيلي *Cryptosporidium* . الشكل (٢). كما زُرع جزء من راسب المستخلص بعد تعقيمه لغرض الكشف عن التلوث المايكروبي ، وقد تبين عدم وجود تلوث مايكروبي في العينة . إذ اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما ذكره [36] من أن إضافة البنسلين penicillin يعقم المحلول ويخلصه جزئياً من التلوث المايكروبي ، وان زرع جزء من المستخلص يساعد في الكشف عن التلوث المايكروبي [37] .

الشكل (٢): يوضح Sporozoite بعد تلوينه بصبغة زيل–نيلسون المحورة (100x)

استخلاص وتنقية IgG من دم الأرانب

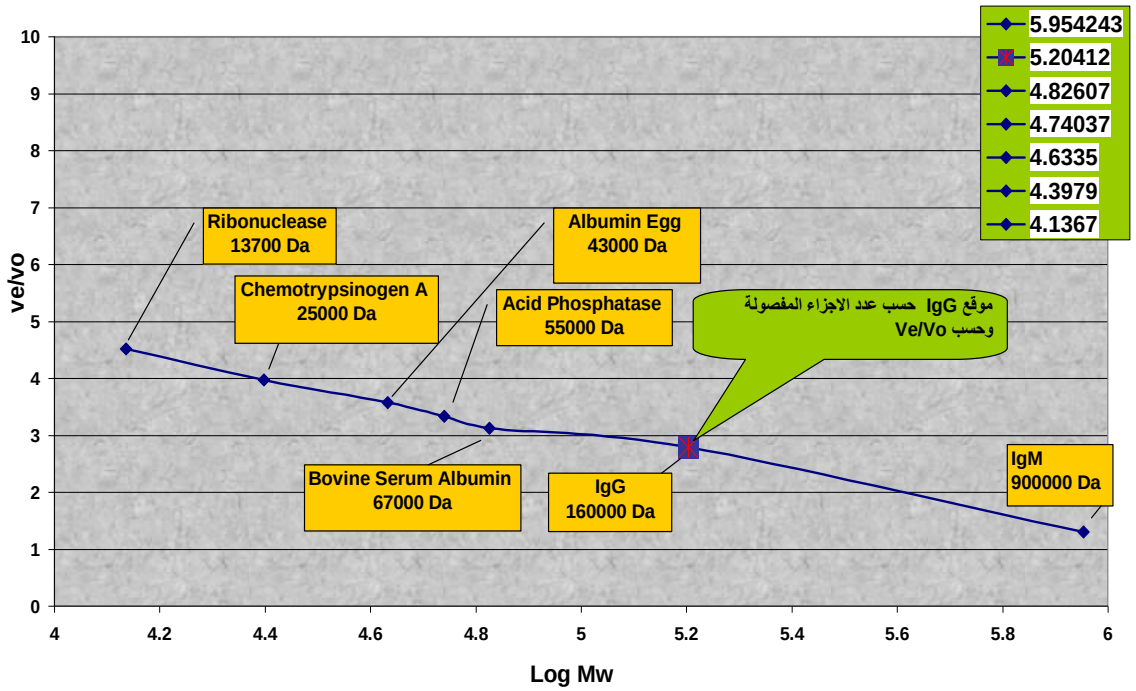
أن حقن الأرانب بمحلول مستضد اكياس البيض لطفيل Cryptosporidium parvum بعد مزجه مع محلول فروند الناقص (بشكل مستحلب) وبجرعات متناقصة من المستضد وترك فواصل زمنية طويلة نسبياً سيعطي الفرصة للحصول على أضداد ذات ألفة مرتفعة لان محلول فروند الناقص يُمتص بصورة تدريجية من قبل الجسم ، وعند مزجة مع مستضد الطفيل يعمل على حصول استجابة مناعية تؤدي الى ارتفاع في عيارية الأضداد من نوع IgG , IgM في الدم ضد هذه العترة [38] . قُدر الوزن الجزيئي لـ IgG المعزول بعد تنقيته بوساطة عمود المبادل ألايوني الجاف وقياس الامتصاصية الضوئية على طول موجي ٢٨٠ نانوميتر ، وقد كان الوزن الجزيئي ١٦٠ كيلو دالتون . الجدول (٣) والشكل (٣) .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

الجدول (٣): تقدير الوزن الجزيئي للعينة IgG .

العينة Sample	الوزن الجزيئي مقدرة بالدالتون	لوغاريتم الوزن الجزيئي للعينات القياسية	أعلى امتصاصية في الجزء المفصول	مضروب في حجم العينة ٣ مل	تطبيق المعادلة Ve/Vo
Blue Dextran 2000	٢٠٠٠٠٠٠	٦.٣٠١٠٢٩	٣٣	٩٩ مل	Ve / Vo (99)
IgM	٩٠٠٠٠٠	5.954243	٣٩	١١٧ مل	1.1818182
IgG المفصول	القيمة التقديرية للIgG من ١٥٩٠٠٠- ١٦٠٠٠٠	5.20412	٩٢	٢٧٦ مل	2.787879
IgG	١٦٠٠٠٠	5.20412	٩٢	٢٧٦ مل	2.787879
Bovine Serum Albumin	٦٧٠٠٠	4.82607	١٠٣	٣٠٩ مل	3.1212125
Acid Phosphatase	٥٥٠٠٠	4.74037	١١٠	٣٣٠ مل	3.3333334
Albumin Egg	٤٣٠٠٠	4.6335	١١٨	٣٥٤ مل	3.575758
Chemotrypsinogen A	٢٥٠٠٠	4.3979	١٣١	٣٩٣ مل	3.969697
Ribonuclease	١٣٧٠٠	4.1367	١٤٩	٤٤٧ مل	4.515152

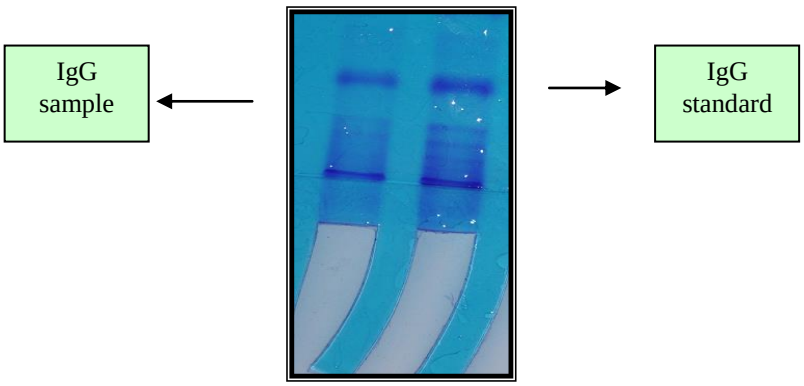
Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849



شكل (٣) يوضح المنحنى القياسي لتقدير الوزن الجزيئي للـ IgG المفصول بتقنية المبادل الايوني

تمت متابعة تنقية عينة IgG من مصل دم الأرانب إذ رُحلت العينة كهربائياً مع عينة IgG قياسية الشكل (4) وقد تطابقت العينتين (عينة IgG المنقاة والقياسية) وهذا مطابق لما ذكره [39] من أن الوزن الجزيئي للـ IgG يبلغ ١٥٠-١٦٠ كيلو دالتون ، بعدها جُفدت العينة للحفاظ عليها بشكل أفضل لحين العمل بها .

تم قياس تركيز البروتين الكلي في دم الأرانب على طول موجي ٦٠٠ نانوميتر حسب طريقة بايوريت وقد بلغ ١٩ ملغم / مل ، وبعدها تم قياس تركيز IgG بعد تنقيته بالعمود على طول موجي ٢٨٠ نانوميتر وقد بلغ ٥ ملغم / مل ، وقد أشار[40] بان كمية البروتين في دم الأرانب تبلغ تقريباً ٢٥ملغم/مل بعد تنقيتها بواسطة HPLC .



الشكل (٤): عينة IgG المعزولة والمنقاة بعد الترحيل الكهربائي

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

تحديد جرعة الخمج في الفئران

لإيجاد الحد الأدنى من أكياس بيض الطفيلي اللازمة لأحداث الخمج ، فقد استعملت في هذه الدراسة الفئران المختبرية نموذجا دراسيا وتجريبيا بدلاً من الإنسان ، وذلك لأنها تُعَد أنسب الحيوانات المختبرية لإجراء الدراسات التجريبية [41] .

وقد استعملت أكياس بيض معزولة من الإنسان لأحداث الخمج ، إذ وجد [42] أن الفئران المجرعة بأكياس بيض مصدرها من الإنسان قد أظهرت طرحاً لأكياس البيض في الفئران عند تخميجها .

لقد أظهرت نتائج هذه الدراسة أن الحد الأدنى من أكياس بيض الطفيلي الكافية لأحداث خمج في الفئران المختبرية وبدون هلاكات كانت ١٠٠ كيس بيض بينما الحد الأعلى كان ١٠٠٠ كيس بيض ، واتفقت هذه النتيجة مع ما بينه [41] بأن أعلى جرعة أكياس بيض مناسبة للخمج التجريبي في الفئران هي ١٠٠٠ كيس بيض واقلها ١٠٠ لكل فأر مختبري .

معايير العلاج الكيميائي المناعي

فحص براز الفئران في المعاملة الواحدة بشكل يومي عند المباشرة بإجراء المعاملات العلاجية بعد تجريع الفئران بأكياس بيض الطفيلي ، وقد تبين بان أفضل معاملات العلاج الكيميائي معنوياً في تقليل عدد أكياس البيض المطروحة مع البراز كانت معاملة العلاج المختلط (Spiramycin + Azithromycin) بتركيز ٦ملغم/مل إذ بلغت ٥٤.٨٥ كيس بيض، يليها معاملة العلاج بـ Spiramycin بتركيز ٦ملغم/مل إذ بلغت ٦٨ كيس بيض ، وأخيراً معاملة العلاج بـ Azithromycin إذ بلغت ٧١.٥ كيس بيض وبنفس التركيز في نهاية التجربة مقارنة مع معاملة السيطرة الموجبة والسالبة.
أما بالنسبة للعلاج بواسطة الكلوبيولين النوعي IgG فقد كانت معاملة إعطاء العلاج عن طريق الفم أفضل المعاملات معنوياً من ناحية تقليل عدد أكياس البيض المطروحة مع البراز ، واقلها تأثيراً كانت معاملة حقن IgG بالعضلة مقارنة مع معاملة السيطرة الموجبة والسالبة . الجدول (٤).

ونتيجة لحصول تأثيرات جانبية في العلاجات الكيميائية فقد لجأنا إلى استعمال علاج بديل أكثر أماناً في هذه الدراسة ، إذ أوضح [43] بان العلاج بالكلوبيولينات المناعية لم يُظهر تأثيرات جانبية أثناء العلاج .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

الجدول (4): يوضح عدد أكياس بيض الطفيلي المطروحة لكل غم/مل في المكرر الواحد منذ إعطاء جرعة الطفيلي عن طريق الفم ولغاية انتهاء التجربة

المعاملات	عدد أيام التجربة بعد إعطاء جرعة التحدي وإعطاء العلاجات														المتوسط العام
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
سيطرة سالبة	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	0
سيطرة موجبة	A 0	A 0	A 0	A 0	B512	C 1219	C 4563	C10357	C14592	B 21288	B 33987	B 65701	B 98123	B145234	28257.57
IgG حقن بقشاء البريزن	A 0	A 0	A 0	A 0	B488	B 414	B 284	B 167	B 56	A12	A 0	A 0	A 0	A 0	101.5
IgG حقن بعضلة الفخذ	A 0	A 0	A 0	A 0	B 501	B 526	B 413	B 201	B 94	A24	A 0	A 0	A 0	A 0	125.64
IgG حت الجلد	A 0	A 0	A 0	A 0	B 426	B 431	B 325	B 198	B 66	A24	A 0	A 0	A 0	A 0	105
IgG تجريع بالفم	A 0	A 0	A 0	A 0	B439	B 399	B 200	B 96	A11	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	81.78
Azithromycin تركيز 2ملغم	A 0	A 0	A 0	A 0	B 512	B 401	B 225	B 49	A14	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	85.78
Azithromycin تركيز 4ملغم	A 0	A 0	A 0	A 0	B 500	B 387	B 199	B 93	A14	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	85.21
Azithromycin تركيز 6ملغم	A 0	A 0	A 0	A 0	B 450	B 320	B 176	B 55	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	71.5
Spiramycin تركيز 2ملغم	A 0	A 0	A 0	A 0	B 455	B 400	B 225	B 96	A14	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	85
Spiramycin تركيز 4ملغم	A 0	A 0	A 0	A 0	B 502	B 336	B 198	B 88	A14	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	81.28
Spiramycin تركيز 6ملغم	A 0	A 0	A 0	A 0	B 421	B 305	B 171	B 55	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	68
المخلط بتركيز 2ملغم	A 0	A 0	A 0	A 0	B 433	B 301	B 213	B 78	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	73.21
المخلط بتركيز 4ملغم	A 0	A 0	A 0	A 0	B 467	B 268	B 186	A24	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	67.5
المخلط بتركيز 6ملغم	A 0	A 0	A 0	A 0	B 416	B 251	B 101	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	A 0	54.85

* الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية بين المعاملات بمستوى معنوية0.05 و 0.01 . المربع الواحد يحمل رقم يمثل المتوسط العام لثلاث مكررات (18 فأرة)

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

وأشار[44] بان حقن الفئران الكلوبيولينات النوعية ضد *Cryptosporidium parvum* P23 protein قد أعطى حماية كاملة لها ومنع عنها الإصابة بالطفيلي .

كما تميزت الفئران المخمجة تجريبياً بالإسهال المصحوب بالمخاط ورائحة كريهة مع الخمول في نشاطها ، وقد اتفقت النتيجة مع ما بينه [5] من إن الطفيلي يفرز نوعاً من السموم المشابهة للسم المفرز من *Escherichia coli* وسموماً أخرى خلوية Cytotoxic ومحللة للبروتين Proteolytic تؤدي إلى احداث ضرر في الطبقة المخاطية مؤديه الى الإسهال. كما تؤثر هذه السموم على العضلات الملساء للأمعاء مؤدية إلى زيادة لزوجة الدم وقد تنتقل الإصابة في الأشخاص ذوي العوز المناعي إلى أعضاء أخرى كالبنكرياس والقنوات الصفراوية مسبباً التهابات حادة تؤدي إلى الموت في بعض الحالات [45] . وكذلك ما أشار إليه[46] في أن الفئران المخمجة بالطفيلي تبدو ضعيفة وخاملة وبطيئة النمو وهذا قد يرجع إلى الاختلاف في عترة الطفيلي . وقد يكون السبب الرئيس لحصول الإسهال هو التأثيرات الفسلجية والنسيجية التي يسببها الطفيلي في الأمعاء ، وحصول سوء بالامتصاص (Malabsorption) وخاصة للفيتامين B_{12} و D–Xylose مع حصول إسهال دهني غير طبيعي لمدة (٧٢) ساعة [47] ، وإنتاج سموم معوية (Entrotoxin) ناتجة من الطفيلي نفسه ، وان ظهور الأعراض وشدة المرض قد تعتمد على مناعة الجسم ، إذ من الممكن أن يحصل شفاء ذاتي في المرضى ذوي المناعة الطبيعية (Immuncompetent)، بينما يكون خطيراً ويهدد الحياة في المرضى ذوي المناعة المثبطة (Immunosuppressed) وخاصة في مرضى الايدز AIDS [48] . وهذا يشير إلى أن داء الابواغ الخبيئة هو من الأمراض الانتهازية. واختلفت نتيجة البحث الحالي مع ما ذكرته[33] [49] من انه لم يتم تسجيل أي علامات سريريه واضحة على الفئران المخمجة سوى ملاحظة ظهور مادة مخاطية في البراز .

أشار [50] أن العلاج بالكلوبيولينات المناعية باستطاعتها التقليل من شدة المرض ولحصول المناعة للحيوان المخمج بسبب العمل ألتآزري بين المناعة المتحررة في الجسم مع المناعة المنفعلة المعطاة عن طريق العلاج ، مما يساهم في تحسن حالة الجسم . وهذا ربما يكون السبب في ما حصل في معاملة إعطاء IgG عن طريق الفم .

أما[43] فقد أوضح بان الكلوبيولينات النوعية عند دخولها إلى الجسم بالمناعة السالبة (فموياً) فإنها تقوم بمعادلة المستضدات النوعية وتمنع الإصابة بالمرض لأنها تبقى محتفظة بفعاليتها (من ٣٩–٤١%) لمدة ٨ ساعات داخل الجسم حتى عند هضمها بواسطة إنزيم Pepsin , trypsin and chymotrpsin وبذلك سوف يبقى الجسم في حالته الطبيعية

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

مع زيادة بسيطة في نسبة خلايا الدم البيضاء ، وان أفضل رقم هيدروجيني هو ٥ لكي تعمل الكلوبيولينات المناعية بشكل كامل داخل الجسم وترتبط بالمستضد النوعي . وان الكلوبيولينات المناعية تنخفض فعاليتها من ٩١% إلى ٦٣% خلال الساعة الأولى من دخولها إلى الجسم وبعد هضمها بإنزيم Pepsin وتحللها مائياً Hydrolysis .

حصلت أيضاً بعض الهلاكات في جميع المعاملات بفوارق بسيطة بين المعاملات ، كما دُرست بعض المعايير الدمية (PCV , Hb , WBC , RBC) ، وقد بينت الدراسة بان أفضل المعاملات الكيميائية العلاجية هي معاملة الخلط بتركيز ٦ ملغم ، بينما أفضل معاملات العلاج بـ IgG كانت معاملة إعطاءه عن طريق الفم ، يتضح من نتائج البحث بان علاج IgG قد نجح بالعلاج مقارنة مع معاملة السيطرة السالبة والموجبة وقد ينجح مقارنة مع العلاجات الكيميائية المستخدمة ضد الطفيلي تجارياً . الجدول (٥) .

جدول (٥): يوضح بعض التغيرات الدمية في الفئران المعاملة

المعاملات	R.B.C. cell/mm^3	W.B.C. cell/mm^3	Hb%	P.C.V.
سيطرة سالبة	٣١٠*٩	١٠٣٠٠	٨.٥	٢٧.٢
سيطرة موجبة	٣١٠*٥.٦	١٧٦٠٠	٥.٥	١٧.٦
IgG حقن بغشاء البريتون	٣١٠*٧.٤	١١٥٠٠	٧.٩	٢٥.٢٨
IgG حقن بعضلة الفخذ	٣١٠*٧	١٢٠٤٠	٧.٥	٢٤
IgG تحت الجلد	٣١٠*٧.٦	١١٧٠٠	٧.٧	٢٤.٦٤
IgG تجريع بالفم	٣١٠*٨,٨	١٠٨٠٠	٨.٣	٢٦.٥٦
Azithromycin بتركيز ٢ملغم	٣١٠*٨.٤	١١١٠٠	٨.٠	٢٥.٦
Azithromycin بتركيز ٤ملغم	٣١٠*٨.٣	١١٢٠٠	٨.٠	٢٥.٦
Azithromycin بتركيز ٦ملغم	٣١٠*٨.٩	١٠٥٠٠	٨.٥	٢٧.٢
Spiramycin بتركيز ٢ملغم	٣١٠*٨.٤	١١١٠٠	٨.٠	٢٥.٦
Spiramycin بتركيز ٤ملغم	٣١٠*٨,٨	١٠٨٠٠	٨.٣	٢٦.٥٦
Spiramycin بتركيز ٦ملغم	٣١٠*٨.٩	١٠٤٠٠	٨.٥	٢٧.٢
المختلط بتركيز ٢ملغم	٣١٠*٨.٩	١٠٥٠٠	٨.٥	٢٧.٢
المختلط بتركيز ٤ملغم	٣١٠*٨.٩	١٠٣٠٠	٨.٥	٢٧.٢
المختلط بتركيز ٦ملغم	٣١٠*٩	١٠٣٠٠	٨.٥	٢٧.٢

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

وهذا يتفق مع ما ذكره [51] من أن العلاج بالكلوبيوليناات النوعية ضد طفيلي *C. parvum* سوف يقلل من عدد أكياس البيض المطروحة مع البراز وسوف يعيد المعايير الدمية إلى حالتها الطبيعية بسبب التخلص من الطفيلي أثناء العلاج [52] .

نظراً لفشل العديد من المضادات الحيوية المستخدمة لعلاج داء البويغيات الخبيئة بسبب المعرفة غير التامة بميكانيكية عمل هذا الطفيلي [53] . لذلك فان كلا العقارين Azithromycin و Spiramycin بتراكيز مختلفة عن التراكيز المستخدمة سابقاً مستخدمين العقارين كلاً على حدة وممزوجين معاً كمحاولة للحصول على نتائج أفضل في مجال المعالجة ، بسبب امتلاك البويغات غشاء يمنع دخول الأدوية إليها [54] .

في الدراسة الحالية ، حدث انخفاض في عدد الأكياس عند استخدام العقار Azithromycin مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة . ومن الجدير بالذكر هنا ملاحظة نتائج [55] [56] الذين أشاروا بان العقار Azithromycin هو علاج مثبط لداء البويغيات الخبيئة في القوارض المثبطة مناعياً، فضلاً عن نتائج [20] [57] الذين بينوا أن إعطاء العقار Azithromycin لـ ١٥١ مريضاً مصاباً بداء البويغيات الخبيئة بجرعة ٦٠٠ ملغم/يوم ولمدة ١٤ أو ٢٨ يوماً ، أدى إلى الانخفاض في عدد الأكياس بنسبة ١٤% .

وعند استخدام العقار Spiramycin في دراستنا، انخفض عدد الأكياس عند إعطائه بتراكيز مختلفة مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة ، وهذا يتفق مع نتائج [58] الذين وجدوا إن استخدام العقار اعلاه بتركيز ١٠٠ ملغم/كغم يومياً مدة ١٤ يوماً يقلل من عدد اكياس البيض المطروحة. وأشار [59] انه على الرغم من عدم وجود علاج فعال لطفيلي البويغيات الخبيئة، فان العقار Spiramycin وتناول اللبن الرائب يساعدان المريض على التخفيف من شدة المرض والتقليل من عدد الاكياس المطروحة والتقليل من الاسهال .

وقد اظهر استخدام العقارين Azithromycin و Spiramycin نتائج جيدة في العلاج عند اذابته بالماء المقطر. وقد يعزى سبب ذلك إلى إن استعمال الماء المقطر قد يعمل على زيادة الذوبان لهذه العقاقير مما يؤثر بالتالي في امتصاصها من قبل الأمعاء . وتتفق نتائج دراستنا هذه مع ما لاحظه [53] من ان استخدام العديد من المذيبات مع المركبات المستخدمة للعلاج قد يثبط خروج البويغيات من الاكياس وان المركبات التي لا تذوب في الماء بشكل جيد ربما تؤدي إلى قلة فعالية العديد من المركبات المستخدمة بسبب قلة الذوبانية لتلك المركبات مما يؤثر في امتصاصها من قبل الأمعاء .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

أوضحت نتائج الدراسة الحالية إن المزج بين العقارين Azithromycin و Spiramycin سجل نتائج أفضل من استخدام كل عقار لوحده . ويبدو من هذه النتيجة إن مزج العقارين أفضل من استخدام كل عقار لوحده . هذا يدعم ما لاحظه [60] من إن المزج بين العقارين Azithromycin و Paramomycin علاجاً لداء البويغيات الخبيئة أدى إلى تحسن العلامات السريرية ونقصان واضح في عدد الأكياس المطروحة مقارنة مع استخدام العقارين كل على حدة . وأكد [61] ان المزج بين الأدوية المضادة للفايروسات أدى إلى التخفيف من تأثير المرض للذين يعانون من داء البويغيات الخبيئة مع الإصابة بفايروس العوز المناعي .

من ناحية أخرى ، فان نتائج دراستنا لا تتفق مع نتائج [62] الذين لاحظوا ان المزج بين العقارين Nitazoxanide و Paromomycin لم يظهر تأثيرا أكثر مما أظهره العقار Nitazoxanide لوحده . ويمكن أن يفسر هذا الاختلاف باختلاف أنواع الأدوية الممزوجة إذ أن احد النوعين يمكن أن يثبط عمل الآخر، وهذا يعني حدوث تضاد Antagonism بين الدواءين في الوقت الذي يمكن أن يعمل فيه مزج نوعين آخرين على حدوث تناغم Synergism بين الدواءين، وهذه الملاحظة معروفة جيداً لدى الباحثين وخاصة في مجال المعالجة.

فحص IgG, IgM , IgA , C3 , C4

بينت نتائج البحث بان أفضل المعاملات التي أبدت تحسناً في الحالة الصحية للفئران المعاملة كانت معاملة الخلط بتركيز ٦ ملغم ، يليها معاملة إعطاء IgG عن طريق الفم مقارنة مع معاملة السيطرة السالبة ومعاملة السيطرة الموجبة . لقد ذكر[63] بان حقن مستضد *C. parvum* Oocysts بأشكال مختلفة سوف يحفز مناعة الجسم ويساعد في إطلاق كميات كبيرة من الأجسام المضادة IgG , IgM , IgA في دم الفئران المحقونة بالمستضد وان إعطاء العلاج المناسب ضد الطفيلي سوف يقلل من هذه الكمية بسبب ميل الفئران للشفاء بعد إعطاء العلاج . كما ذكر[64] بان المستضدات الموجودة على سطح البويغات Sporozoites لطفيلي *C. parvum* لها قابلية كبيرة على استحثاث الجهاز المناعي للمضيف لإنتاج أجسام مناعية بصورة مستمرة وبكميات كبيره وان استخلاصها وتنقيتها لاستخدامها في العلاج هي طريقة ناجحة . وقد بين [16] بان تنقية IgG , IgA , IgM من دم الإنسان المصاب بطفيلي *C. parvum* وإعطاءها كعلاج بالمناعة المنفعلة للحيوانات المصابة تعطي نتيجة جيدة وتعتبر طريقة ناجحة في العلاج . والجدول (٦) .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

جدول (6): قياس قطر مناطق التفاعل Zones وتراكيزها في مصل الدم عند استعمال اختبار الإشعاعي المناعي المفرد بعد قياسها بواسطة المسطرة المدرجة Scale Loupe 10x Peak .

Treatment	IgG		IgM		IgA		C3		C4	
	Diameter mm	mg/dl	Diameter mm	mg/dl	Diameter mm	mg/dl	Diameter mm	mg/dl	Diameter mm	mg/dl
سيطرة سالبة	4	153.9 A	6.3	120.1 A	5	129.9 A	7.5	139.2 A	5.8	24.0 A
سيطرة موجبة	9.1	2046.5 B	10.0	372.0 B	6.7	313.6 B	9.5	241.9 B	7.4	45.6 B
IgG حقن بقشاء البريتون	7.2	1169.2 C	8.1	228.4 AB	6.7	313.6 B	8.5	187.5 C	6.4	31.4 A
IgG حقن بعضلة الفخذ	8.5	1747.4 BC	8.5	256.1 AB	6.2	254.0 B	8.0	162.6 AC	7.0	39.7 B
IgG تحت الجلد	7.2	1169.2 C	8.0	221.7 A	6.4	277.3 B	8.7	197.9 BC	6.6	34.1 AB
IgG تجريع بالفم	7.0	1088.8AC	6.6	136.3 A	5.4	168.3 A	7.5	139.2 A	5.9	25.2 A
Azithromycin بتركيز 2ملغم	8.9	1944.6 B	9.0	292.7 B	6.0	231.5 B	8.2	172.4 C	7.0	39.7 B
Azithromycin بتركيز 4ملغم	8.3	1652.2 BC	8.6	263.3 AB	5.8	209.7 A	8.0	162.6 AC	6.0	26.4 A
Azithromycin بتركيز 6ملغم	7.2	1169.2 C	8.5	256.1 AB	5.7	199.0 A	7.8	153.1 A	5.9	25.2 A
Spiramycin بتركيز 2ملغم	8.6	1795.8 BC	9.2	307.9 B	6.5	289.2 B	8.5	187.5 C	6.8	36.8 B
Spiramycin بتركيز 4ملغم	7.9	1468.6 BC	8.3	242.1 AB	5.8	209.7 A	8.0	162.6 AC	6.7	35.5 B
Spiramycin بتركيز 6ملغم	7.3	1210.3 AC	7.0	159.0 A	5.7	199.0 A	7.7	148.4 A	6.4	31.4 A
المخلط بتركيز 2ملغم	7.9	1468.6 BC	7.7	202.0 AB	6.0	231.5 B	8.5	187.5 C	6.3	30.1 A
المخلط بتركيز 4ملغم	6.8	1010.6 AC	7.4	183.1 A	5.5	178.3 A	7.8	153.1 A	6.0	26.4 A
المخلط بتركيز 6ملغم	6.5	897.5 A	7.1	164.9 A	5.7	199.0 A	7.5	139.2 A	5.9	25.2 A

* الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية بين المعاملات بمستوى معنوية 0.05 و 0.01 * نتيجة كل معاملة تعني نتيجة ثلاث مكررات مأخوذة المعدل العام لها .

المصادر (References)

[1] D.P. Casemore, ***Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis***. Epidemiol. Infec., 104:1−28. (1990).

[2] A. Tamburrini, ***Pozio ELong – term survival of Cryptosporidium parvum oocyst in sea water and in experimentally infected mussels (Mytilus galloprovincialis , Mytilus galloprovincialis).*** Int J Parasitol.;29:711−715. . (1999) .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

[3] F. A. Shaltout, ***Protozoal food borne pathogens in some meat products***. Assiut. Vet. Med. J., 42 (84) : 54 – 59. (2000).

[4] W.L. Current , ***Cryptosporidiosis*** . JAMA, 187: 1334-1338. (1985).

[5] D. P. Casemore, ***Human cryptosporidiosis***. Recent Adv. Infec., 3 : 209 – 236. (1989).

[6] S. Brockmann; V. Jakobi; C. Dreweck, ; C. Wagner-Wiening; M. Hagen, ; P. Kimmig,. and A. Petry, ***Serological and Epidemiological Analysis of an Outbreak of Gastroenteritis Among Military Recruits in Germany Caused by Cryptosporidium parvum*** . 36 . 5 . 450-457 .(2008) .

[7] J. Castro-hermida; F. Santos, ; A. Lopez , ; C. Castiblanco, and M. Ares-Mazas, ***In vitro and in vivo efficacy of lasalocid for treatment of experimental cryptosporidiosis***. Vet. Parasitol., 90 : 265 – 270. (2000).

[8] X. Feng, ; S. Rich, ; S. Tzipori, and G. Widmer, ***Experimental evidence for genetic recombination in the opportunistic pathogen Cryptosporidium parvum***, Mol. Biochem. Parasitol. 119 . 55–62. (2002) .

[9] D.P. Casemore, The antibody response to *Cryptosporidium*: ***development of a serological test and its use in a study of immunologically normal persons***. *J. Infect.*, 14: 125-34. (1987).

[10] Carisbad EIA3467 crypto. Ag stool DRG (CA.2011) .

[11] Garcia, L.S.; Brewer, T.C.; Bruckner, D.A.Fuorescence ***detection of Cryptosporidium oocysts in human fecal specimens by using monoclonal antibodies***. *J. Clin. Microbiol.*, **25**: 119-21, (1987) .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

[12]- B. L. P. Ungar, , R. Soave, R. Fayer, and T. E. Nash. ***Detection of immunoglobulin M and G antibodies to Cryptosporidium in immunocompetent and immunocompromised persons***. J. Infect. Dis. 153:570-578. (1986).

[13] P.N. Campbell, and W.L. Current, ***Demonstration of serum antibodies to Cryptosporidium sp. in normal and immunodeficient humans with confirmed infections***. *J. Clin. Microbiol.*, 18: 165-9, (1983).

[14] B.L.P. Ungar,; R .Soave,; R. Fayer,; T.E. Nash, ***Enzyme immunoassay detection of immunoglobulin M and G antibodies to Cryptosporidium in immunocompetent and immunocompromised persons***. *J. Infect. Dis.*, 153: 570-8 . (1986).

[15] L. Hudson, and F. Hay, ***Practical Immunology*** . Blackwell scientific Publication . (2^{nd} ed.). Oxford. London. UK . 94-97 p . .(1989).

[16] I.V. Nikolayenko, ; O.Yu. Galkin ,; N.I. Grabchenko , and M.Ya. Spivak , ***Preparation of highly purified human IgG, IgM, and IgA for immunization and immunoanalysis*** . Ukrainica Bioorganica Acta . (2) , 3-11 . (2005).

[17] U.K. Laemmli , ***Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4*** . Nature ; 227 (15) , 680 – 685 . (1970) .

[18] S-X. Zu,; G-D. Fang,; R. Fayer,; R.L. Guerrant, ***Cryptosporidiosis: Pathogenesis and immunology***. *Parasitol. Today*, 8: 24-7. (1992).

[19] D. S. Lindsay, K. M. Woods, S. J. Upton, and B. L. Blagburn, ***Activity of decoquinate against Cryptosporidium parvum in cell culture and neonatal mice***. Vet. Parasitol., 89 : 307 – 311. (2000).

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

[20] K. M. Woods, M. N. Nesterenko, and S. J. Upton, ***Efficacy of 101 antimicrobials and other agents on the development of Cryptosporidium parvum in vitro. Ann***. Trop. Med. Parasitol. , 90 (6) : 603 – 615. (1996).

[21] M. Viu, J. Quilez, C. Sanchez-Acedo, E. Delcacho, and F. Lopez-Ber-nad, ***Field trial on the therapeutic efficacy of paromomycin on natural Cryptosporidium parvum infections in lambs***. Vet. Parasitol., 90 : 163 – 170. (2000).

[22] A. M. Khalifa, I. R. Ibrahim, and E. D. EL-Kerdany, Coccidial infection in immunosuppressed mice : ***prophylaxis and treatment with dehydroepiandrosterone***. East. Medit. Helth. J., 6 (5) : 908 – 918.(2000).

[23] T.L. Kuhls; D.A. Mosier; D.L. Crawford, and J. Griffis, ***Seroprevalence of cryptosporidial antibodies during infancy***, childhood and adolescence. *Clin. Infect Dis.*, 18: 731-5. (1994).

[24] E.D. Mann; L.H. Sekla, and G. Eibisch, ***Cryptosporidium antibodies in Manitoba cattle: a pilot study using an indirect fluorescent antibody procedure***. *Can. Vet. J.*, 28: 126-8 .(1987).

[25] K. Sloper; R. Dourmashkin; R. Bird ; G. Slavin, and A. Webster, ***Chronic malabsorption due to cryptosporidiosis in a child with immunoglobulin deficiency***. *Gut*, 23: 80-2, (1982).

[26] V. H. Talib, and C. Director, ***A hand book of medical laboratory technology***. Tara printers. Noida., pp : 9 – 14. (1988).

[27] خاشع محمود الرواي وخلف الله عبد العزيز محمد. ***تصميم وتحليل التجارب الزراعية***، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق. (١٩٨٠).

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

[28] R.F. Woolson, ***Statistical methods for the analysis of biomedical data.*** New York, John Wiley & Sons . (1987).

[29] C. Gerba,; J.B. Rose, and C.N. Hass, ***Sensitive populations: Who is greatest risk. Int.*** J. Food.Microbiol., 30 (1-2): 113-123. (1996).

[30] S.T. Goldstein; D.D. Turanek; O. Ravenholt; A.W. Hightower and B.L. Herwaldt, Cryptosporidiosis: ***An outbreak associated with drinking water treatment***. Annals .Internial Medicine., 124: 459-468. (1996).

[31] W. Simon, . ***The impact of human encroachment into natural ecosystems upon Cryptosporidium sp. and Giardia sp. infections in western lowland gorillas (Gorilla gorilla gorilla) in Lope National Park, Gabon*** . Master of Science and the Diploma of Imperial College London . 73 pp . (2010).

[32] L. M. Valdez; H. Dang; P.C. Okhuysen, and C.L. Chapell, ***Flow cytometric detection of Cryptosporidium oocysts in human stool samples***. J. Clinic. Microbiol., 35(8): (1997): 2013-2017.

[33] مي العزاوي . ***دراسة وبائية الإصابة بطفيلي الأبواغ الخبئية واستخدام مستضده في التشخيص وتجريب فعالية زيوت بعض النباتات الطبية في العلاج*** ، رسالة دكتوراه – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد. (٢٠٠٣) .

[34] عالية يوسف يعقوب و ذرى عواد كاظم . ***دراسة وبائية لداء الابواغ الخبيئة Cryptosporidiosis في أغنام محافظة بغداد*** . المجلة الطبية البيطرية العراقية , المجلد ٣٣ ، العدد 2 . (٢٠٠٩) .

[35] H. S. J. AL-Warid, ***Study in Epidemiology and PCR Detection of Cryptosporidiosis in North of Baghdad*** .ph.D. thesis Parasitology . University of Baghdad . 195p . (2010).

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

[36] K. Akhtar; N. Noor ; S. Abdus , and Q. A. Abbas , ***Incidence and antibiogram patterns of Escherichia coli isolated from various clinical samples from patients at N.I.H. Islamabad.*** Pak. J. Biol. Sci., 5: 111-113. (2002) .

[37] K.L. Koch; D.J. Phillips; R.C. Aber, and W.L. Current, Cryptosporidiosis in hospital personnel. ***Evidence for person-to-person transmission***. *Ann. Intern. Med.*, 102:593-6 . (1985) .

[38] M.A. Laxer; A.K. Alcantara; M. Javato-Laxer; D.M. Menorca; M.T. Fernando, and C.P. Ranoa, ***Immune response to cryptosporidiosis in Philippine children***. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 42: 131-9, (1990) .

[39] M. Lúcia ; V. Braz, ; I. Clara ; M. Ferrar ; V. Palhares, ;Amato, M. ; Santos, H. ;Marques, M. ;Vallada, L. ; Nakanishie, H. and Andrade,J. Human cryptosporidiosis: ***detection of specific antibodies in the serum by an indirect immunofluorescence*** . Rev. Saúde Pública, 30 (5): 395-402 . (1996) .

[40] J. Stec ; B. Leokadia , and K. Jacek , ***Isolation and Purification of polyclonal IgG Antibodies from Bovine Serum by High Performance Liquid Chromatography*** . Bull Vet Inst Pulawy 48, 321-327 . (2004) .

[41] F. Freire-Santos; A.M. Otezia- Lopez; C.A. Vergaracastiblance, and M.E. Ares-Mazas, ***Effect of Salinity, temperature and storage time on mouse***. experimental infection by *Cryptosporidium parvum*. Vet. Parasitol., 87: 1-7. (1999):

[42] حارث مؤيد البياتي. ***انتشار داء الأبواغ الخبيئة في حقول ومجازر الدواجن وعلاقته بالعاملين***. رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد. (٢٠٠٢).

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

[43] G. Vesey ; D. Deere ; C. Weir ; N. Ashbolt ; K. Williams, and D. A. Veal. ***A simple method for evaluating Cryptosporidium-specific antibodies for monitoring environmental water samples***. Lett. Appl. Microbiol. 25:316–320. (1997).

[44] P. Shahbazi ; E. Shayan; S. Ebrahimzadeh , and Rahbari . ***Specific Egg Yolk Antibody against Recombinant Cryptosporidium parvum P23 Protein*** . Iranian J Parasitol: 4.(3).15-24. (2009).

[45] B. S. Udaya, and M. D. Prakash, ***Cryptosporidiosis and coccidial infection***. Mayo Int. Med. Board. Rev., 968 – 969. (1997).

[46] W. L. Current, and N. C. Reese, ***A comparison of endogenous development of three isolates of Cryptosporidium in Suckling mice***. J. protozoal., 33: 98 – 103. (1986).

[47] R. W. Goodgame, ***Understanding intestinal spore-forming protozoa***: *Cryptosporidia Microsporidia, Isospora*, and cyclospora. Ann. Intern. Med. 124: 429-441. (1996).

[48] C.L. Sears,; Guerrant, R.L. ***Cryptosporidiosis: the comlexity of intestinal pathophysiology***. J. Gastroenterol., 106: 252-254. (1994).

[49] سبأ طاهر محمد الجنابي. ***دراسة مناعية وأمراضية للخمج بطفيلي Cryptosporidium parvum وتأثير بعض العوامل البايولوجية على عملية الخمج*** . أطروحة دكتوراه – الجامعة المستنصرية . ١٧٧ صفحة . (٢٠٠٥) .

[50] N. Tilley, , R. Fayer, A. Guidry, S. J. Upton, and B. L. Blagburn. ***Cryptosporidium parvum (Apicomplexa: Cryptosporidiae) oocysts and sporozoite antigens recognized by bovine colostral antibodies***. Infect. Immun. 58:2966–2971. (1990) .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

[51] C. Kobayashi; H. Yokoyama; S. Neguyen; Y. Kodama; T. Kimata , and M. Izeki ***Effect of egg yolk antibody on experimental cryptosporidium parvum infection in Scid mice***. Vaccine ; (23) :232-5. (2004) .

[52] T. Dinh ; T. Tran; V. Le Quoc; V. Phan ; T. Hoang; H. Nguyen , and T. Phung, ***Cloning and expression of gene encoding P23 protein from Cryptosporidium parvum*** . *J. BioSci. Biotech.*, 3(3): 189-193. (2014).

[53] V. Hommer , J. Eichholz, and F. Petry, ***Effect of antiretroviral protease inhibitors alone and in combination with paromomycin***, on the excystation, invasion and *in vitro* development of *Cryptosporidium parvum*. J. Antimicrob. Chemoth., 52 : 359 – 364. (2003).

[54] R. Soave, ***Treatment strategies for cryptosporidiosis***. Ann. NY. Acad. Sci., 616 : 442 – 451. (1990).

[55] I. Kimata,; Uni, S. and Iseki, M. ***Chemotherapeutic effect of azithromycin and lasalocid on Cryptosporidium parvum infection in mice***. J. Protozool., 38 : 232 – 233. (1991).

[56] J. E. Rehg, Activity of azithromycin against *Cryptosporidia* in immunosuppressed rats. J. Infect. Dis., 163 : 1293 – 1296. (1991).

[57] Dunne, M. W. Open label azithromycin in the treatment of Cryptosporidiosis. Ninth Inter. Conf. AIDS., Berlin, abstract PO-B10-1500. (1993).

[58] P. M. Mantovani , D. L. Martino , G. Dettori , P. Vajro, , S. Scotti, , M. T. Ditullio, and S. Guandalini, ***Asymptomatic carriage of intestinal Cryptosporidium in immunocompenent and immunodeficient children***. Pediatr. Infect. Dis. J., 14 (12) : 1042 – 1027. (1995).

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 11, Issue 2, June 2016 , p.p(197-226)
ISSN 1992 - 0849

[59] نمر النتشة. الكربتوسبوريديم (الكربتوسبوريديسس) ، مجلة الدواء العربي، العدد ٢، ص ٩٦ – ١٠١. (١٩٩٣) .

[60] D. P. Clark, ***New insights into human cryptosporidiosis***. Clin. Microbiol. Rev., 2 (4) : 554 – 563. (1999).

[61] P. Maggi, , A. Larocca, , M. Quarto, G. Serio, , O. Brandonisio, , G. Angarano, and pastore, G. ***Effect of antiretroviral therapy on cryptosporidiosis and microsporidiosis in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. Europ***. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 19 : 213 – 217. (2000).

[62] C. M. Theodos, J. K. Griffiths, J. Donfro, A. Fairfield, and S. Tzipori, ***Efficacy of nitazoxanide against Cryptosporidium parvum in cell culture and in animal models***. Antimicrob. Agen. Chemother., 42 (8) : (1998). 1959 – 1965.

[63] C. Weir ; G. Vesey ; M. Slade ; B. Ferrari ; D. Veal, and A. Williams , ***An Immunoglobulin G1 Monoclonal Antibody Highly Specific to the Wall of Cryptosporidium Oocysts*** . Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology . Vol. 7, No. 5 . p. 745–750 . .(2000) .

[64] I. Jeanine ; H. Boulter-Bitzer ; J. Lee, and T. Trevors , ***Molecular targets for detection and immunotherapy in Cryptosporidium parvum*** . Biotechnology Advances . 25 . 13–44 . (2007).

المؤلف

ثائر عبد القادر صالح حاجم الالوسي: حاصل على شهادة الدكتوراه في علم الحيوان (الطفيليات) من كلية التربية – جامعة تكريت – العراق عام ٢٠١٤. يعمل تدريسي في كلية العلوم جامعة الانبار. لدية ١٥ خمسة عشر بحث في مجال اختصاصه نشرها في مجلات محلية وعالمية.