



جامعة كربلاء

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

التوصيف الكيميائي والحيوي للزيوت الاساسية لبعض المستخلصات النباتية وتأثيرها على طفيلي *Leishmania donovani* (Ross,1903) خارج الجسم الحي

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة – علم الحيوان

كتبت بواسطة:

مريم صلاح عبد الحسن علي الطائي

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء / 2008

بإشراف:

أ.م. د. حنان زوير مخلف

الإشراف الثاني:

أ.م. د. يعرب مضر القزويني

تشرين الأول/ 2023 م

ربيع الأول/ 1445 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ ءَامَنُوا إِذَا قِيلَ لَكُمْ تَفَسَّحُوا فِي الْمَجَالِسِ فَأَفْسَحُوا يَفْسَحَ اللَّهُ لَكُمْ

وَإِذَا قِيلَ أَنْشُرُوا فَأَنْشُرُوا يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ ءَامَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ

دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ ﴿١١﴾

صدق الله العلي العظيم

الآية (١١) سورة المجادلة

## إقرار المشرفين

أشهد بأن إعداد هذه الرسالة قد جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان .

التوقيع : *Zhanan*

الاسم : حنان زوير مخلف

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان : قسم علوم الحياة /

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

المشرف الأول

التاريخ: 2023 / /

التوقيع : *Muzer*

الاسم: يعرب مضر القزويني

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

العنوان: قسم علوم الحياة /

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

المشرف الثاني

التاريخ: 2023 / /

## إقرار رئيس قسم علوم الحياة

إشارة الى إقرار أعلاه المقدمة من الأساتذة المشرفين أحيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع : *Nasir*

الاسم : د. نصير مرزة حمزة

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان : كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ: 2023 / /

## إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة (التوصيف الكيميائي والحيوي للزيوت الأساسية لبعض المستخلصات النباتية وتأثيرها على طفيلي *Leishmania donovani* (Ross,1903) خارج الجسم الحي) التي قدمتها طالبة الماجستير (مريم صلاح عبد الحسن علي الطائي) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع :

الاسم: مسلم مالك الاسدي

المرتبة العلمية : استاذ

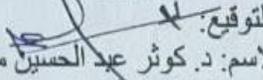
الكلية والجامعة : جامعة كربلاء / كلية العلوم الإسلامية

التاريخ : 16 / 11 / 2023

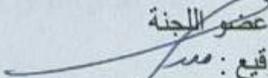
## أقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة أدناه باطلاعنا على الرسالة الموسومة (التوصيف الكيميائي والحيوي للزبوت  
لأماسية لبعض المستخلصات النباتية وتأثيرها على طفيلي *Leishmania donovani* (Ross, 1903) خارج الجسم  
حي) وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وكل ما يتعلق بها ووجدنا انها جديرة بالقبول بتقدير (امتياز) لنيل درجة الماجستير  
في علم الحيوان.

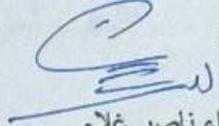
رئيس اللجنة

التوقيع:   
الاسم: د. كوثر عبد الحسين مهدي  
المرتبة العلمية: أستاذ  
العنوان: جامعة كربلاء - كلية التربية للعلوم الصرفة  
التاريخ: 2023 / 12 / 17

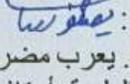
عضو اللجنة

التوقيع:   
الاسم: د. سكيمة جبار مشنت  
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد  
العنوان: جامعة الكوفة - كلية العلوم  
التاريخ: 2023 / 12 / 20

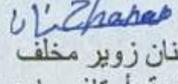
عضو اللجنة

التوقيع:   
الاسم: د. اسراء ناصر غلام  
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد  
العنوان: جامعة كربلاء - كلية التربية للعلوم الصرفة  
التاريخ: 2023 / 12 / 19

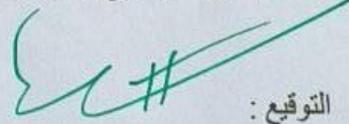
عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع:   
الاسم: د. يعرب مضر القزويني  
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد  
العنوان: جامعة كربلاء - كلية التربية للعلوم الصرفة  
التاريخ: 2023 / 12 / 17

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع:   
الاسم: د. حنان زوير مخلف  
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد  
العنوان: جامعة كربلاء - كلية التربية للعلوم الصرفة  
التاريخ: 2023 / 12 / 17

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة  
أصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع: 

الاسم: د. حميدة عيدان الفتلاوي  
المرتبة العلمية: أستاذ  
العنوان: جامعة كربلاء - كلية التربية للعلوم الصرفة  
التاريخ: 2023 / 12 / 31

إلى من قاد قلوب البشرية وعقولهم إلى مرفأ الأمان معلم البشرية الحبيب المصطفى محمد وآل بيته الاطهار

صل الله عليه واله وسلم .

ابي الغالي . . . . . إلى الغائب الحاضر . . . . . في وجداني إلى من حبه يحاكيه دعائي دائما اسأل الله ألا يحرمك الجنة . . . . . أنك لم تحرمني من شيء رغم غيابك .

إلى الأرواح الغالية التي فارقتنا وتركت ثغرة في حياتنا لا يملئها سواهم . . . . . الدكتور عبد عون الغانمي .

امي الحبيبة . . . . . اقسم بمن أحل القسم أنك أنت كل الحياة في عيني . . . . . أسأل الله أن يحفظك يا أجمل عطايا الرب .

يا من أسعدتني وكنت عوناً لي في مسيرتي إذ كتبت ألف رسالة شكر لم أوفي حقك زوجي الغالي .

إلى نعيم الحياة وطمانينة القلب في أيامي المظلمة . . . . . أختي الغالية .

إلى ثمرة حياتي وأول فرحتي . . . . . وأمل الغدأبني الحبيب . . . . . محمد .

إلى ريحانة قلبي ومهجة روحي . . . . . وهدية الرحمن أنبتي الحبيبة . . . . . فاطمة .

الباحثة

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين حمداً يليق بجلال وجهه وعظيم سلطانه على عونه وتوفيقه لي لإنجاز متطلبات هذه الرسالة ، واشكره على نعمه التي لا تعد ولا تحصى ، والصلاة والسلام على سيدنا محمد وعلى اله الطيبين الطاهرين . أما بعد يسعدني ويشرفني أن أتقدم بوافر الشكر والتقدير إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة ورئاسة قسم علوم الحياة في جامعة كربلاء لأتاحتم الفرصة لإكمال دراستي وشكري موصول إلى جميع أساتذتي الأفاضل الذين رقدوني بالعلم والمعرفة وبأجمل عبارات الشكر والأمتنان وبقلوب فائضة بالمحبة والاحترام اتقدم بها إلى الأساتذة الأجلاء المشرفين على رسالتي الأستاذ المساعد الدكتورة حنان زوير مخلف والأستاذ المساعد دكتور يعرب مضر القزويني .

كما اتوجه بالشكر والتقدير إلى كل من الأستاذ الدكتور نصير مرزة حمزة الذي كان عوناً لنا في هذه المرحلة وخير سند واتقدم بالشكر الى كادر مركز الأبحاث والتقنيات الأحيائية وإلى الأستاذ المساعد محمد الحلبوسي مدير مركز الأبحاث والتقنيات الأحيائية التابع لجامعة النهرين / جامعة بغداد لتزويدي بالعزلات واخص بالشكر الأستاذ المساعد دكتور نيبال المطيري التدريسية في كلية التربية علوم الحياة والاستاذ المساعد دكتور أبراهيم جابر عبد التدريسي / قسم علوم الحياة / جامعة بغداد لابداء المساعدة في تصنيف النباتات والدكتور رزاق الطائي أخصائي الأطفال والأستاذ جهاد عبود مسؤول مختبر الطفيليات في مستشفى الأطفال التخصصي لتقديم المساعدة والعون لي في الجانب العملي من رسالتي وأتقدم بجزيل الشكر والامتنان العظيم والتقدير العميق إلى كادر قسم ترميم المخطوطات ومختبر الدراسات العليا في العتبة الحسينية المقدسة من مسؤولون إلى المنتسبين العاملين ضمن القسم المبارك على الدعم والمساعدة وتوفير الظروف الملائمة والأجهزة اللازمة لإنجاز الجانب العملي من رسالتي .

**الباحثة**

## الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية لطفي الشمانيا الاحشائية بشكل عام والاطفال بشكل خاص وتضمنت هذه الدراسة التعرف على انتشار داء الشمانيا الاحشائية في مستشفى الأطفال التخصصي في محافظة كربلاء و خلال الفترة من تشرين الثاني 2022 ولغاية حزيران 2023 وبعد تشخيص الحالات من قبل أطباء الاختصاص في طب الاطفال والأمراض الباطنية تم التشخيص بناء على فحص نخاع العظم من بين 62 مريض خضع للفحص تم التأكد من إصابة 8 افراد بالشمانيا الإحشائية Visceral leishmaniasis موزعة بين المناطق قيد الدراسة واستعرضت الدراسة الحالية بيانات الفئة العمرية والجنس ومدى الانتشار حسب المنطقة الجغرافية واشهر الإصابة .

أوضحت النتائج أن أعلى نسبة إصابة سجلت في شهر اذار من العدد الكلي للأصابات 50 % وسجلت أعلى إصابة حسب موقع الإقامة والجنس وقد سجلت في مستشفى الأطفال التخصصي التابع لمحافظة كربلاء بقيمة معنوية 0.1778 للمناطق قيد الدراسة كما لوحظ أن أعلى نسبة مئوية للإصابة تبعا لعامل العمر بلغت 60% للذكور وبنسبة 33.3 % للإناث للفئة العمرية ما بين 1- 3 سنوات وكما بينت النتائج تأثر الذكور بالمرض أكثر من الاناث.

تم استخدام اختبار فحص السمية الخلوية 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT assay) للكشف عن تأثير المعاملة للزيوت الأساسية لنباتي سرو البحر المتوسط

*Lavandula angustifolia* (Miller 1768) واللافندر و *Cupressus sempervirens* (Linnaeus 1761) على حياتية الطور الأمامي السوط لطفي الشمانيا الإحشائية promastigotes أولاً ثم استخدام 3 أطيف دوائية لكل نبات والمتمثلة بالزيت العطري لنبات اللافندر والزيت لعطري لنبات للسرو المتوسط والفعل التآزري لزيت اللافندر والسرو المتوسط ثانياً أجريت سلسلة تراكيز لكل طيف دوائي قيد الدراسة بواقع ثلاث مكررات لكل تركيز وكانت التراكيز للزيوت العطرية النباتية كلاتي 1000، 500، 250، 125، 62.5، 31.25 مايكرو ليتر / مليلتر.

أظهرت النتائج فحص السمية الخلوية تحت تأثير المعاملة للزيوت الأساسية للنباتين قيد الدراسة أن التركيزين الأعلى للزيت المتطاير لنبات اللافندر 1000، 500 مايكرو ليتر / مليلتر كان قد اعطيا أعلى نسبة تثبيط للنمو الخلوي بقيمة 85 % ، 88 % فيما سجل الزيت العطري لنبات السرو لمتوسط نتائج خلاف ما جاء بها الزيت العطري لنبات اللافندر إذ أظهرت التراكيز المنخفضة 125، 62.5 مايكرو ليتر/ مليلتر أعلى نسبة تثبيط حيوية على لطفي الشمانيا

أمامي السوط إذ بلغت 84 % 87% أما الفعل التازري لنبات اللافندر ونبات السرو المتوسط إذ كان التركيز 62.5 مايكرو ليتر / مليلتر سجل أعلى نسبة تثبيط مئوية بلغت 82.4% في حين سجل تركيز 250 مايكرو ليتر/ مليلتر ادنى قابلية على القتل الخلوي وبنسبة بلغت 63%.

تناولت الدراسة المحتوى الكيميائي للزيت المتطاير المستخلص من براعم نبات اللافندر والزيوت المتطاير المستخلص من أوراق نبات السرو المتوسط إذ شخصت المركبات كيميائياً بتقنية الكروماتوغرافيا (GC/MS) Gas Chromatography Mass Spectrometry وقد تبين وجود ثلاثة وعشرون مركباً كيميائياً لزيوت المتطاير لنبات اللافندر وثمانية عشر مركباً لنبات السرو المتوسط ناتجة من الأيض الثانوي والتي لها دور فعال في العلاجات الطبية كمضاد للأكسدة و للفايروسات و للطفيليات وكوسيلة دفاعية للنبات وشملت مركبات عديدة تنتمي للتربينات، القلويدات، الستيرويدات، الاسترات والدهون غير المشبعة والزيوت العطرية وتميزت المركبات المصنفة من الزيوت المتطاير لنبات اللافندر بارتفاع الاسترات وسجل مركب بنزيل البنزوات Benzyl benzoate نسبة بلغت 47.57% من مجموع المركبات المعزولة على باقي المركبات أما في الزيت المتطاير لنبات السرو المتوسط أظهرت التربينات أعلى نسبة وتمثلت بمركب الفا بينين Alpha-pinene سجل بتركيز 26.35% ومركب دلتا 3 كارين Delta3-carene نسبة بلغت 15.78% وقد كان للمركبات الكيميائية دوراً فعالاً في التمييز بين النوعين بينما ساهم المركبان Himachalane DELTA.3-Carene بتمييز بين النوعين قيد الدراسة من الناحية الكيميائية إذ ظهر في نبات السرو المتوسط وأندم وجوده في نبات اللافندر كذلك الحال بالنسبة للمركبات Methylbicyclo [3.3.1]nonane Benzene, 1, -[oxybis (methylene)]bis Caryophyllene oxide-, trans beta.-Ocimene , endo-2-ISO-Caryophyllene , في نبات اللافندر وأندم وجودهم في نبات السرو المتوسط ومما تقدم يتضح أهمية المركبات ودورها الفعال في التمييز وعزل الأنواع النباتية وتشخيصها كيميائياً استناداً إلى المركبات المكونة لها .

## قائمة المحتويات

الصفحة	العنوان	التسلسل
I	الخلاصة	
III	المحتويات	
VIII	قائمة الجداول	
IX	قائمة الأشكال والصور	
XI	قائمة المختصرات	
	الفصل الأول: المقدمة	
1	المقدمة	1
	الفصل الثاني: أستعراض المراجع	
4	استعراض المراجع	2
4	نبذة تاريخية عن طفيلي اللشمانيا الأحشائي	1-2
6	شكل الطفيلي	2-2
7	تصنيف الطفيلي	3-2
10	المضيف الناقل	4-2
12	المضيف المستودع	5-2
13	دورة الحياة	6-2
15	وبائية داء اللشمانيا	7-2

19	أمراضية طفيلي اللشمانيا الإحشائية	8-2
21	طرائق تشخيص داء اللشمانيا الحشوي	9-2
21	طرائق التشخيص التقليدية لداء اللشمانيا	1-9-2
21	الفحص المجهري	1-1-9-2
22	زرع الطفيلي	2-1-9-2
23	التشخيص المصلي	3-1-9-2
23	التشخيص الجزيئي	4-1-9-2
24	المعالجة الدوائية لداء اللشمانيا الحشوية	10-2
25	النباتات الطبية	11-2
26	الزيوت الأساسية	12-2
26	نبات اللافندر	1-12-2
26	الوصف الخارجي للنبات وانتشاره لنبات اللافندر	1-1-12-2
27	التصنيف لنبات اللافندر	2-1-12-2
28	المركبات الفعالة الحيوية لنبات اللافندر	3-1-12-2
31	نبات السرو المتوسط	2-12-2
31	الوصف الخارجي للنبات وانتشاره لنبات السرو المتوسط	1-2-12-2
32	التصنيف لنبات السرو المتوسط	2-2-12-2
33	المركبات الفعالة الحيوية لنبات السرو المتوسط	3-2-12-2

	الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل	
36	المواد وطرائق العمل	3
36	الأجهزة المختبرية المستعملة	1-3
37	المواد الكيميائية	2-3
38	تصميم التجربة	3-3
39	جمع العينات	4-3
39	عزل الطفيلي	5-3
40	الأوساط الزرعية والمحاليل المستخدمة	6-3
40	Novy-MacNeal-Nicolle (NNN) media or تحضير الوسط الزرعي biphasic media	1-6-3
40	الطور الصلب	1-1-6-3
40	المكونات الكيميائية للطور الصلب	1-1-1-6-3
41	تحضير الطور الصلب	2-1-1-6-3
42	Locke's solution phase / محلول لوك / الطور السائل	2-1-6-3
42	تحضير محلول لوك	1-2-1-6-3
43	الأوساط الزرعية المستخدمة في اختبار السمية	2-6-3
43	Roswell Park Memorial Institute (RPMI-1640) الوسط الزرعي medium	1-2-6-3
43	مراحل تنمية طفيلي اللشمانيا الأحشائي	3-6-3

44	النباتات المستخدمة في الدراسة	7-3
44	جمع النباتات	1-7-3
44	استخلاص الزيت الأساسي المتطاير لنباتي اللافندر والسرو	2-7-3
45	تخفيف وتحضير التراكيز للزيوت العطرية الخام المستخرجة من نبات اللافندر والسرو المتوسط	3-7-3
46	اختبار السمية الخلوية	8-3
47	طريقة إجراء اختبار قياس السمية الخلوية المضاد للشمانيا	9-3
49	فصل وتشخيص المركبات الكيميائية GC-MS	10-3
51	التحليل الاحصائي	11-3
	الفصل الرابع: النتائج والمناقشة	
52	النتائج والمناقشة	4
52	نسب الإصابة الكلية لداء اللشمانيا الاحشائية ما بين الأطفال في محافظة كربلاء (مناطق الدراسة)	1-4
52	انتشار الإصابة في مناطق قيد الدراسة حسب الفئة العمرية والجنس	2-4
53	توزيع الإصابة بداء اللشمانيا للمناطق قيد الدراسة حسب موقع الإقامة والجنس	3-4
54	نسب توزيع الإصابة بداء اللشمانيا الاحشائية خلال أشهر السنة	4-4
56	اختبار السمية الخلوية المضاد للشمانيا تحت تأثير الزيوت العطرية لنبات اللافندر ونبات السرو المتوسط والتأثير التآزري لزيت اللافندر والسرو المتوسط	5-4
57	تأثير السمية الخلوية لمستخلص زيت نبات اللافندر	1-5-4

59	تأثير السمية الخلوية لمستخلص زيت نبات السرو المتوسط	2-5-4
62	تأثير السمية الخلوية للفعل التأزري لزيت اللافندر والسرو المتوسط	3-5-4
64	الخواص الكيميائية	6-4
64	الكشف عن المركبات الكيميائية الفعالة بتقنية الكروماتوغرافيا	1-6-4
64	الكشف عن المركبات الكيميائية للزيت العطري لنبات اللافندر بتقنية الكروماتوغرافيا	1-1-6-4
70	الكشف عن المركبات الكيميائية للزيت العطري لنبات السرو المتوسط بتقنية الكروماتوغرافيا	2-1-6-4
76	المركبات الكيميائية المشتركة بين النوعين لنبات اللافندر ونبات السرو المتوسط	3-1-6-4
	الاستنتاجات والتوصيات	
77	الاستنتاجات	
78	التوصيات	
	المصادر	
79	المصادر العربية	
80	المصادر الأجنبية	

## قائمة الجداول

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
18	الأنواع الطفيلية المنتشرة في دول العالم مع أنواع النواقل الحيوية الخاصة بها مع المضائف الخازنة	1-2
19	الاختلاف بين العدوى البشرية والحيوانية المنشأ	2-2
36	الأجهزة والمستلزمات التي تم استخدامها في الدراسة	1-3
37	المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة	2-3
40	تحضير لتر واحد من طور أكار الدم الصلب يتطلب المواد التالية	3-3
42	تحضير واحد لتر من محلول لوك يتطلب المواد الكيميائية الموضحة ادناه	4-3
52	نسبة الإصابة الكلية بداء الليشمانيا الإحشائية في محافظة كربلاء قيد الدراسة	1-4
52	نسب الإصابة قيد الدراسة حسب الفئة العمرية والجنس	2-4
53	نسب الإصابة للمناطق قيد الدراسة حسب موقع الإقامة والجنس	3-4
54	نسب توزيع الإصابة بداء الليشمانيا الإحشائية خلال مدة الدراسة أشهر السنة	4-4
58	تأثير السمية الخلوية لمستخلص زيت نبات اللافندر على حيوية أمامي السوط لطفيلي الليشمانيا الإحشائية	5-4
60	النسب المئوية لتنشيط نمو طفيلي الليشمانيا أمامي السوط تحت تأثير التراكيز الستة لزيت الأساسي لنبات السرو المتوسط	6-4
62	النسب المئوية لتنشيط نمو طفيلي الليشمانيا أمامي السوط تحت تأثير التراكيز الستة لزيت للفعل التارزي لزيت اللافندر وزيت السرو المتوسط	7-4
65	المركبات الفعالة لزيت نبات <i>Lavandula angustifolia</i> وزمن الاحتجاز والنسبة المئوية للمساحة في فحص GC/MS	8-4
71	المركبات الفعالة لزيت نبات <i>Cupressus sempervirens</i> وزمن الاحتجاز والنسبة المئوية للمساحة في فحص GC/MS	9-4

## قائمة الاشكال والصور

رقم الصفحة	العنوان	ت
7	A/ الطور الطفيلي أمامي السوط ، B/ الطور الطفيلي عديم السوط	1-2
9	مخطط يوضح الأنواع الطفيلية لجنس اللشمانيا التي تغزو الجسم البشري والأطراف الوبائية المتسببة بها	2-2
10	المظهر الخارجي لأنثى ذبابة الرمل الناقلة لطفيلي اللشمانيا A في العالم الحديث B في العالم القديم	3-2
14	شكل دورة حياة طفيلي اللشمانيا الأحشائية	4-2
22	شكل لطفلة من نخاع العظم تحت المجهر الضوئي تظهر أصابته بالأجسام اللشمانيا عديمة الاسواط	5-2
27	الشكل المظهري الخارجي لنبات اللافندر	6-2
30	شكل يوضح التركيب الكيميائي والهيكل للمركبات الأساسية لنبات اللافندر	7-2
32	الشكل المظهري الخارجي لنبات السرو المتوسط	8-2
34	شكل يوضح التركيب الكيميائي والهيكل للمركبات الفعالة لزيت السرو المتوسط	9-2
38	شكل تصميم الدراسة	1-3
44	الشكل خلايا طفيلي <i>L. donovani</i> بالطور المتوسط promastigotes تحت عدسة المجهر الضوئي بقوة (40x) التي تم تنميتها في وسط RPMI-1640	2-3
45	جهاز استخلاص الزيوت العطرية والزيت المستخلص بكمية 5مل	3-3
46	يوضح تحول صبغة رباعي الترازوليوم MTT الصفراء قابلة للذوبان بالماء إلى صبغة الفورمازان الزرقاء الغير القابلة للذوبان في الماء في الخلايا الحية	4-3
49	شكل صورة جهاز اختبار MTT assay قياس السمية الخلوية للمادة الدوائية المعاملة	5-3
50	شكل يوضح جهاز كروماتوغرافيا الغاز/مطياف الكتلة (GC/MS)	6-3
56	صفيحة المايكروتيتر بعد زراعتها بالمعلق الخلوي مع اضافة تراكيز المادة الدوائية لنبات اللافندر ونبات السرو المتوسط والفعل التازري لنبات اللافندر مع السرو المتوسط مع اضافة الصبغة لأجراء اختبار السمية الخلوية MTT assay	1-4

59	النسبة المئوية لتنشيط نمو أمامية السوط promastigotes لطفيلي <i>L. donovani</i> تحت تأثير التراكيز الستة للزيت العطري المتطاير لنبات اللافندر	2-4
60	النسبة المئوية لتنشيط نمو أمامية السوط promastigotes لطفيلي <i>L. donovani</i> تحت تأثير التراكيز الستة للزيت العطري لنبات السرو المتوسط	3-4
63	النسبة المئوية لتنشيط نمو أمامية السوط promastigotes لطفيلي <i>L. donovani</i> تحت تأثير التراكيز الستة للزيت العطري للفعل التازري لنبات اللافندر ونبات السرو المتوسط	4-4
66	التحليل الكروماتوغرافيا لمركب Benzyl benzoate المستخلص من الزيت العطري لنبات <i>Lavandula angustifolia</i> وزمن احتجازها في جهاز GC/ MS	5-4
66	التحليل الكروماتوغرافيا لمركب Linalool المستخلص من الزيت العطري لنبات <i>Lavandula angustifolia</i> وزمن احتجازها في جهاز GC/ MS	6-4
72	التحليل الكروماتوغرافيا لمركب alpha. -pinene المستخلص من الزيت العطري لنبات <i>Cupressus sempervirens</i> وزمن احتجازها في جهاز GC/ MS	7-4
72	التحليل الكروماتوغرافيا لمركب Delta.3-Carene المستخلص من الزيت العطري لنبات <i>Cupressus sempervirens</i> وزمن احتجازها في جهاز GC/ MS	8-4

## قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح	التسلسل
CEO	Crude essential oil	1
GC/MS	Gas Chromatography Mass Spectrometry	2
CL	Cutaneous leishmaniasis	3
DAT	Direct agglutination test	4
DMSO	Dimethyl sulfoxide	5
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	6
EOS	Essential Oil	7
FBS.	Fetal bovine serum	8
HIV	Human immunodeficiency virus	9
IC50	The half-maximal inhibitory concentration	10
ICTs	immuno-chromatographic tests	11
IFAT	indirect fluorescent antibody test	12
IHA	Indirect hemagglutination	13
LSD	Least significant difference	14
LVA	Visceral Leishmaniasis anthroponotic	15
LVZ	Visceral Leishmaniasis Zoonotic	16
MCL	Mucocutaneous leishmania	17
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide	18
MZ	Magement zone	19
NNN-Media	Novy-McNeal-Nicolle medium and Evans modified Tobie's medium	20

PCR	Polymerase chain reaction	21
RPMI-1640	Roswell Park memorial institute medium -1640	22
SAS	Statistical Analysis System	23
Sb	Pentavalent antimony	24
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences	25
SSG	Sodium Stibogluconate	26
VL	Visceral leishmaniasis	27

## المقدمة

## Introduction

طفيلي اللشمانيا الإحشائية *Leishmania donovani* من الحيوانات الابتدائية Protozoa وحيدة الخلية التي تنتمي إلى عائلة المثقبيات Trypanosomatidae صنف السوطيات الدموية Zoomastigophora رتبة Kinetoplastida اجبارية التطفل تعيش في الداخل الخلوي ويعد من أكثر الأنواع حدة لأنه يتكاثر داخل الخلايا البلعمية ويعمل على اضعاف المناعة الفطرية والخلوية للجسم لذلك يتسبب في ارتفاع معدل الوفيات ويُعرف باسم (الحمى السوداء) (Tadese et al.,2019).

صنفت منظمة الصحة العالمية داء اللشمانيا على أنه مرض خطير وغير خاضع للسيطرة كما تؤكد على ضرورة إيجاد البرامج البحثية لطرائق تشخيص العدوى ولتحسين آليات المستخدمة لمكافحة النواقل فضلا عن تطوير الوسائل العلاجية لاحتواء مزيدا من الإصابات المؤكدة وتقليل معدل الوفيات نتيجة هذا الداء. (Mondiale de la Sante ,2016 ;Murray ,2005 )

داء اللشمانيا الإحشائية او الكالازار مرض جهازى مزمن وخطير والتي تسببه أنواع مختلفة من داء اللشمانيا منها معقد اللشمانيا *L. donovani complex* والمتكون من اللشمانيا *L. donovani*، *L. infantum* او اللشمانيا الشاغاسي *L. chagasi* ويظهر بمدى واسع من الأعراض تتدرج بين إصابات عديمة الاعراض تختفي تلقائيا خلال اسابيع إلى إصابات حادة ومزمنة تمتد إلى سنوات حتى لو كان يبداوا العلاج ناجحا. (Torres- Guerrero et al.,2017)

اعطت منظمة الصحة العالمية أولوية إيجاد لقاح ضد داء اللشمانيا سهل التحضير وبتكلفة منخفضة واهتم العديد من الباحثين والعلماء بدراسة إمكانية إيجاد اللقاح ضد داء اللشمانيا وعلى الرغم من توافر العلاجات الكيميائية ومنها المضاد الحيوي الخماسي التكافؤ وهو الخيار لعلاجي الأكثر استهلاكاً ولكن لهذه الادوية الاثار الجانبية الضارة وبسبب زيادة اعداد الإصابات وارتفاع نسب الوفيات (Milan et al.,2014) .

ركزت الأبحاث الحديثة على العلاجات النباتية الطبية البديلة التي تتميز بالخصوصية و اقل تكلفة من الادوية الكيميائية لذلك تلعب النباتات الطبية دورًا حيويًا في تصنيع أعداد كبيرة من الأدوية لأنها مصدر متاح بسهولة لكونها أكثر أمانا وغير سام ( Welz et al.,2018 ; Hakour et al.,2020 )

تشير التقديرات إلى أن ثلثي سكان العالم لا يزالون يعتمدون على الأدوية المستخرجة من الأعشاب الطبية لقدرته الشفائية (Abdel-Aziz et al.,2016) وأكدت الدراسات أن نبات اللافندر ونبات السرو المتوسط من أهم الفصائل النباتية التي تضم مستويات عالية من مركبات linalyl acetate , linalool ، Alpha pinean وهي مواد نشطة بيولوجيا تتميز بتأثيرها القوي كمضاد للأكسدة نتيجة الارتباط الإيجابي بين الأحماض الفينولية ومستويات مضادات الأكسدة فضلا عن سمية هذه الأدوية ضد الكائنات وحيدة الخلية ( Patel et al,2022; Tsai et al.,2008) .

ونتيجة التطور العلمي والتكنولوجي الحاصل في علم الكيمياء الحياتية وطرائق التحليل العضوي وجد أن النباتات تنتج ضمن أيضا مجموعة متنوعة من المواد الكيميائية والتي تساهم بصورة أساسية في علاج كثير من الأمراض البشرية وكشف علم الكيمياء التحليلي عن مصنع حيوي كبير اسمه النباتات الطبية والعطرية وحتى السامة يمكن الاستفادة منها إلى ابعد الحدود ويستحق ان يفتح مجال واسع للاطلاع على خفايا المركبات واكتشاف المجهول منها ( Jorge et al., 2016) .

تعد المركبات المعقدة المستخرجة من النباتات الطبية هي المركبات الأيضية الثانوية والتي لها فعالية مضادة للميكروبات مثل القلويدات Alkaloids التربينات Terpenoids الفلافونويدات Flavonoids الستيرويدات Steroids و الاسترات Esters فضلا عن الزيوت الأساسية وهي عبارة عن تركيبة كيميائية معقدة معزولة عن النباتات ومستقبلاتها الثانوية التي تتكون من 10-60 تركيب بتركيزات مختلفة لكن المكونات التي تحدد الخصائص الحيوية من (2-3 مكون أساسي) وقد اثبتت العديد من الزيوت ومكوناتها فعاليتها العالية ضد الابدائيات protozoa لذلك استخدمت على نطاق واسع في علم الأدوية بسبب خصائصها الحيوية كعقار مضاد للتشنج ومسكنات و مضاد للالتهابات ومضاد للأوالي ، وأظهر العديد من الزيوت العطرية نشاطا مثبطا للكائنات الحية الابدائية ومنها الطفيليات لاسيما طفيلي الالشمانيا ( Murugaiyan et al .,2022 ; Andrade et al .,2018 ) .

نظرا لانتشار هذا النوع من الطفيليات ولقلة الدراسات والأبحاث في الآونة الأخيرة حول هذا الموضوع قد كان هذا مدعاة للدخول في الدراسة الحالية:

- 1- لمعرفة مدى انتشار الإصابة بين الأطفال لهذا النوع من الطفيليات في محافظة كربلاء.
- 2- تقليل سمية المركبات والعلاجات الكيميائية باستعمال المستخلصات النباتية والزيوت الطيارة من نباتي اللافندر والسرور المتوسط.
- 3- معرفة مدى فعالية التراكيز للزيوت الطيارة لنبات اللافندر ونبات السرور المتوسط والتأثير التازري لزيوت اللافندر والسرور المتوسط في تثبيط نمو وحيوية الطور أمامي السوط لطفيلي الليشمانيا الإحشائية خارج جسم الكائن الحي *in vitro*.
- 4- دراسة الزيوت الأساسية وتحليل منتجاتها الكيميائية بتقنية GC/MS للكشف على المواد المؤثرة على حياتية الطفيلي.

## استعراض المراجع

## Literature review

## 1-2 النبذة التاريخية Brief history

اشار الأطباء الغرب لأول مرة إلى داء الكالازار في عام 1824 في مدينة جيسور بالهند ( بنغلاديش الآن ) إذ كان يُعتقد انه شكل من أشكال داء الملاريا , بعدها اطلقت تسمية الكالازار وأصل هذه التسمية مشتقة من الكالا وتعني الأسود باللغة السنسكريتية, وكلمة آزار وتعني الحمى في اللغة الهندوستانية , وقد سُمي المرض بهذه التسمية لأنه يسبب اسوداد الجلد في منطقة البطن والأطراف واكثر الأنواع ضررا إذ بعد مرور 2\_8 اشهر من الإصابة يسبب اضرار على الكبد ونخاع العظم والطحال (Sasidharan and Saudagar,2021) .

تم وصف داء اللشمانيا في العالم القديم من قبل العالم الاسكتلندي David douglas في عام 1885 عن طريق فحص مقطع بايولوجي لفرد مصاب بأفة جلدية من مدينة دلهي في الهند وصنف على انه أجزاء نووية ضمن التركيب الخلوي من قبل Cunningham 1892 بعدها في عام 1898 قام العالم Piotru fokich بفحص خزعة جلدية مأخوذة من شخص مصاب في تركمنستان ورجح السبب المرضي للإصابة هو وجود جسيمات صغيرة تعود إلى الحيوانات الابتدائية (steverding ,2017) .

ولأول مرة تم عزل مسبب المرض من قبل العالم وليام ليشمان William Leishman عام 1900 عند فحصه لعينة من طحال جندي مصاب بحمى الدوم – دوم متوف كان يعاني من مرض غامض ينتشر في الهند ويدعى محليا fever Dom-Dom وفي عام 1903 وصف الطور الغير مسوط للطفيلي من عينه مأخوذة من طحال شخص يعاني من المرض نفسه واطلق عليها اسم اجسام ليشمان دونفان المرض Leishman Donovan bodies التسمية Dum Dum على حمى دمدم وهي بلدة تقع بالقرب من مدينة كالكوتا الهندية ( paniker,2007) اشتهرت هذه البلدة بسوء الخدمات الصحية واعتقد في حينها أنها أحد أنواع المتقيبات وبعد مرور أسابيع نشر الطبيب Charles Donovan وهو طبيب واستاذ في علم وظائف الأعضاء كلية الطب المدراس الايرلندية ورقة تفيد أنه عثر على أجسام مماثلة لما ظهرت في عينات الطحال المأخوذة من جنود يعانون من الحمى وتضخم الطحال وكان لهذين الطبيبين عملين مستقلين عن بعضهما وقد نشروا استكشافهما في نفس العام تقريبا وبعد ذلك اطلقت التسمية على الطفيلي باسم اجسام ليشمان\_دونفان وتم اعتبارها المسبب الرئيسي لمرض الكالازار في حين اطلق العالم الإنكليزي Ross 1903 تسمية اللشمانيا الإحشائية .

تعد الحفريات وبقايا الكائنات الحية في القرون الماضية واحدة من أفضل أشكال الأدلة التطورية التي تسمح بأجراء مقارنات مع الكائنات الحية الحالية ولها أهمية خاصة في السماح بالحصول على معرفة الحالات الشخصية البدائية والحالات المتخصصة المشتقة plesiomorphic وتوفر الحفريات معلومات حول أصل الذباب. apomorphic الناقل فيما يتعلق بالعوامل المعدية والتطور المشترك للمضيف والمواقع الجغرافية لذلك فإن البحث عن أحافير ذبابة الرمل له أهمية كبيرة في تسليط الضوء على أصل التطور إذ تم العثور على ذبابة الرمل في مجموعة واسعة من المناطق البيئية والتي يمكن أن تكون بسبب تاريخها الطويل مع أصولها في العصور القديمة (Andrade.,2003).

يعد العلماء العرب من الأوائل الذين وصفوا الطيف الجلدي لداء اللشمانيات (CL) Leishmaniasis خلال فترة العصور الوسطى (854\_935) في حين أشار العالم العربي أبو بكر الرازي عام 930 لوجود التقرحات الجلدية في بغداد وزيادة انتشار البثور الشرقية أما عام 980 وكان أول وصف دقيق للقرحة الشرقية من قبل العالم العربي ابن سينا لتشخيصه إصابة جلدية شمال أفغانستان (Edrissian et al.,2016).

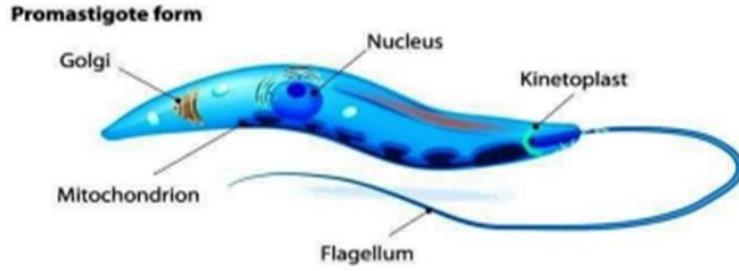
عرف داء اللشمانيا من الأمراض التي ظهرت في زمن الدولة الأكديّة في الألف الثاني قبل الميلاد عن طريق الاثرية القديمة وتم وصف المرض في المملكة الكلدانية والاشورية من خلال نصوص تعود لآفات تذكر فيها عن القرحة الشرقية في مكتبة الملك آشور بانبيال في القرن السابع قبل الميلاد ويعتقد أنها اشتقت من نصوص مدونة سابقة تعود إلى 1500\_2500 قبل الميلاد (Manson \_Bahr,1996).

في حين اثبتت دراسة للطفيليات القديمة ل 42 مومياء من عصر الدول الوسطى في مقبرة فرعونية بطيبة الغربية عام 1650\_2050 قبل الميلاد وجود الحمض النووي لليشمانيا في أربع عينات وكشف تسلسل المباشر لجزء الحمض النووي المتضخم ان المومياء مصابة *L. donovani* مما يشير إلى أن اللشمانيا الإحشائية كان موجوداً بالعصور القديمة وقد ذكر داء اللشمانيات في بردية ايبرس وتعد من أهم الوثائق الطبية المصرية القديمة التي يعود تاريخها إلى 1500 قبل الميلاد (Frías et al.,2013).

## 2-2 شكل الطفيلي Parasite from

يعد اللشمانيا الإحشائية طفيلي احادي الخلية ثنائي المضيف يمتلك طورين في دورة حياته الأول الطور الأمامي السوط (Promastigote) ويعد الطور المعدي والذي يوجد داخل المضيف الناقل أما الطور الثاني عديم السوط Amastigote والذي يتطفل داخل الخلايا البلعمية الكبيرة للإنسان يتواجد الطور الأمامي السوط في الجهاز الهضمي للحشرة الناقلة انثى ذبابة الرمل (Generalísimo et al.,2015) وكذلك يبرز تواجده في الوسط الزرع عند نميته ويحتوي على سوط يمتد إلى نهايته الأمامية يكون الطفيلي مغزلي الشكل و يتراوح طوله بين 15\_20 ميكروميتر وعرضه 1.5\_3.5 ميكروميتر يتحول الطور العديم السوط إلى الطور المسوط في المعى المتوسط للحشرة الناقلة بعد مرور ساعات من لدغة الحشرة أما الطور المسوط يتحول إلى الطور عديم السوط داخل الأنسجة الضامة وتكون النواة مركزية الموقع ويحتوي على مولد الحركة الذي يبرز منه سوط يبلغ طوله 20 ميكروميتر (Bari,2012) يحتوي الغشاء السطحي لهذا الطور على البروتينات السكرية وتكون مواقع لارتباط المستقبلات مع الاجسام المضادة المتواجدة في مصل المضيف الفقري مما يسهل بلعته داخل الخلايا البلعمية (Alvar et al.,2012) أما الطور الثاني يكون غير متحرك ذو شكل دائري أو بيضوي يتراوح طوله 3\_8 ميكروميتر وعرضه 2\_5 ميكروميتر يمتلك نواة مركزية الموقع أما السوط صغير الحجم أو يكاد ان يكون معدوما يبرز من الجيب السوطي الموجود في التركيب الخلوي يحاط به غشاء مزدوج مكون من الياف مجوفة يبلغ عددها 130\_200 ليف ويوجد الطور عديم السوط عندما تبتلع الخلايا البلعمية الطفيلي في فقريرات الأنسجة الضامة التابعة للنظم الشبكية مثل الطحال والكبد ونخاع العظم والعقد اللمفاوية (Bari.,2012; Generalísimo et al.,2015) يتكاثر طوري الطفيلي بالانشطار الثنائي الطولي البسيط Longitudinal fission ويمكن تمييز السيتوبلازم عن النواة بشكل واضح فضلا عن احتوائهما على الميتوكوندريا وفجوات حمراء وحبيبات متعادلة أو قاعدية (Myles et al.,2007) .

A



B



الشكل (1-2) A الطور أمامي السوط promastigote B الطور عديم السوط Amastigote

(Mansuri *et al.*, 2020)

### 3-2 التصنيف Classification

ينتمي طفيلي اللشمانيا إلى الحيوانات الابتدائية protozoa التي تعيش داخل الخلية والتي تنتمي إلى عائلة المتقيبات Trypanosomatidae رتبة Kinetoplastida صنف السوطيات الدموية Hemoflagellates وأتصف طفيلي اللشمانيا بالتنوع والتعقيد لذلك تم استخدام طرائق تصنيف عديدة بين عام 1916\_1987 وكان أبرزها تصنيفات Carl Linnaeus احادية الترتيب واستندت على المراتب الهرمية والعدد القليل من الصفات (Lainson *et al.*, 1992).

لنمو وتطور طفيلي اللشمانيا في المضيف الناقل استخدمت طرائق للتصنيف ذات دقة عالية وكان أهمها تحليل الانزيمات المتماثل وتحليل تسلسل الحامض DNA واستخدام الأجسام المضادة احادية النسيلة (Georgiadou *et al.*, 2015).

التصنيف الكامل لطفيلي اللشمانيا الاحشائي حسب (Berman ,1988)

Kingdom: Protista

Subkingdom: Protozoa

Phylum: Sarcomastigophora

Subphylum: Mastigophora

Class: Zoomastigophora

Order: Kinetoplastida

Suborder: Trypanosomatina

Family: Trypanosomatidae

Genus: *Leishmania*

Specis : *donovani*

أشار (Talmi-Frank *et al.*,2010) إلى اعتماد طرائق ذات أهمية كبيرة منها المتعلقة بكثافة الحامض النووي DNA والانتشار المناعي في الجيلتين في تصنيف الطفيليات وبعد تطور الدراسات والأنظمة التصنيفية تم تقسيم جنس اللشمانيا الموجودة في كل من العالم القديم والحديث ,ومعقد جنس اللشمانيا فاني *L.viannia* في العالم الحديث فقط كما موضح في المخطط (2-2). ولجنس اللشمانيا العديد من المجاميع الطفيلية والتي يطلق عليها بالمعقدات اللشمانيا والتي تصيب العديد من البشر مسببه أطياف وبائية مختلفة وقد ورد ذكرها فيما سبق وتنتقل الاجناس الطفيلية إلى المضيف الفقري عن طريق لسعة انثى ذبابة الرمل

(Bhatia and Goli ,2016).

تم تصنيف طفيلي اللشمانيا الإحشائية والمتسبب بأكثر الاعراض حدة وفتكا للإنسان وهذا المرض يؤدي إلى الوفاة إذا ترك بدون علاج يستوطن هذا الطفيلي في أمريكا الجنوبية ولاسيما المكسيك والأرجنتين ودول شمال شرق اسيا وبعض البلدان الجنوبية لقارة افريقيا وكذلك في بعض دول القارة الهندية (Alvar *et al.*,2012).

### **Leishmania found in humans**

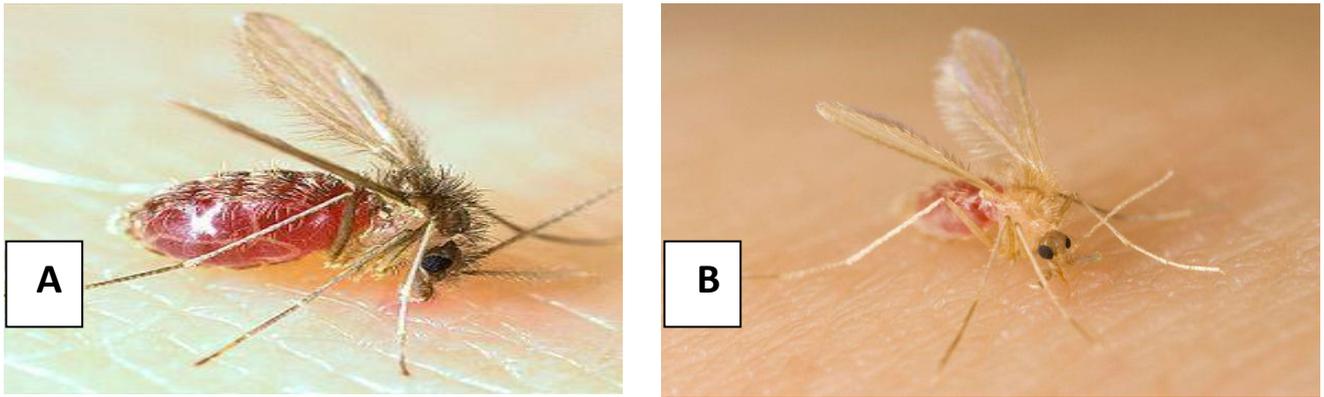
Subgenus	<i>L. (Leishmania)</i>	<i>L. (Leishmania)</i>	<i>L. (Viannia)</i>	<i>L. (Viannia)</i>
Old World	<i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i>	<i>L. major</i> <i>L. tropica</i> <i>L. killicki</i> <sup>a</sup> <i>L. aethiopica</i> <i>L. infantum</i>		
New World	<i>L. infantum</i>	<i>L. infantum</i> <i>L. mexicana</i> <i>L. pifanoi</i> <sup>b</sup> <i>L. venezuelensis</i> <i>L. garnhami</i> <sup>b</sup> <i>L. amazonensis</i>	<i>L. braziliensis</i> <i>L. guyanensis</i> <i>L. panamensis</i> <i>L. shawi</i> <i>L. naiffi</i> <i>L. lainsoni</i> <i>L. lindenbergi</i> <i>L. peruviana</i> <i>L. colombiensi</i> <sup>b</sup>	<i>L. braziliensis</i> <i>L. panamensis</i>
Principal tropism	Viscerotropic	Dermotropic	Dermotropic	Mucotropic

مخطط (2-2) يوضح الأنواع الطفيلية لجنس اللشمانيا التي تغزو الجسم البشري والأطياف الوبانية المتسببة بها (Committee , 2010 ; WHO, 2010).

## 4-2 المضيف الناقل Vector host

تحدث الإصابة بطفيلي اللشمانيا عن طريق لدغة انثى ذبابة الرمل العائدة إلى رتبة Diptera وعائلة Phlebotomidae وجنس *Lutzomyia Sp* ان لهذه العائلة 5 اجناس رئيسية وهي :

*Lutzomyia* و *Sergentomyia* في العالم القديم (اوربا ,افريقيا, اسيا) أما الأجناس *Brumptomyia* , *Warileya* , برزت في العالم الحديث وانتشرت بالدول الواقعة بالنصف الغربي من الكرة الأرضية (Gerald et al .,2006) تمتاز حشرة انثى ذبابة الرمل بصغر حجمها إذ يبلغ طولها حوالي 3 ملم ذات ظهر محدب Hump Backed ويغطي جسمها شعر طويل مما يكسبها مظهر زغبي Fluffy ولها اجنحة متطاولة الشكل وتتميز بلون اسمر يقارب لون الرمل تمتلك عيون بيضوية كبيرة نوعا ما تملئ الراس أما قرون الاستشعار فتكون طويلة تمتلك 16 عقلة مسبحية الشكل والارجل تكون نحيفة وطويلة نسبيا ( Ready .,2013).



شكل (2-3) المظهر الخارجي لأنثى ذبابة الرمل الناقلة لطفيلي اللشمانيا A - ذبابة الرمل في العالم الحديث *Lutzomyia* B - ذبابة الرمل في العالم القديم . *Phlebotomus* (Hassan and Mahmood,2017)

ما يميز حشرة ذبابة الرمل هو الأجنحة الرمحية والتي تكون ضيقة عند القاعدة و مدببة في القمة وتبقى منتصبة عند الراحة بزواوية 45 مع الجسم متخذة شكل حرف v وأن تعرق الجناح يُعد من أهم الصفات المميزة لها إذ يتفرع العرق الطولي الثاني مرتين وأما التفرع الأول يكون قبل منتصف الجناح يقسم الجسم إلى ثلاث مناطق بوضوح الراس والصدر والبطن ويلاحظ أجزاء الفم لذبابة الرمل البالغة بأنها سفلية الموقع Hypognathous قصيرة غير واضحة لكنها متحورة لامتناس الدم مع وجود شفة عليا وزوج من الفكوك المساعدة والفكوك القاضمة (Bates,2008).

ذبابة الرمل تضم ما يقارب 500 نوع تعود إلى جنسي *Phlebotomus* و *Lutzomyia* ويسجل نسبة 10% منها التي تمتلك القدرة على نقل الاصابة بداء اللشمانيا (Alexander,2002) أما انثى ذبابة الرمل تملك تاريخ في العراق اذ تم تشخيص 17 نوعا من ذباب الرمل وأطلق عليها تسمية الحرمس وهو أكثر الأنواع انتشارا وشيوعا في مناطق وسط وجنوب العراق هو *Phlebotomus papatasi* وهو المسؤول عن نقل طفيلي اللشمانيا بنوعها الجلدي والحشوي. تبدأ أعداد الحشرة بالازدياد في نهاية شهر آذار، ولغاية شهر حزيران وبعدها تتناقص ، وتعود بالتزايد في بداية شهر آب وصولا إلى أوائل شهر تشرين الاول ثم تنخفض الاعداد إلى أن تختفي الحشرة في شهر تشرين الثاني(حبيب، 2006).

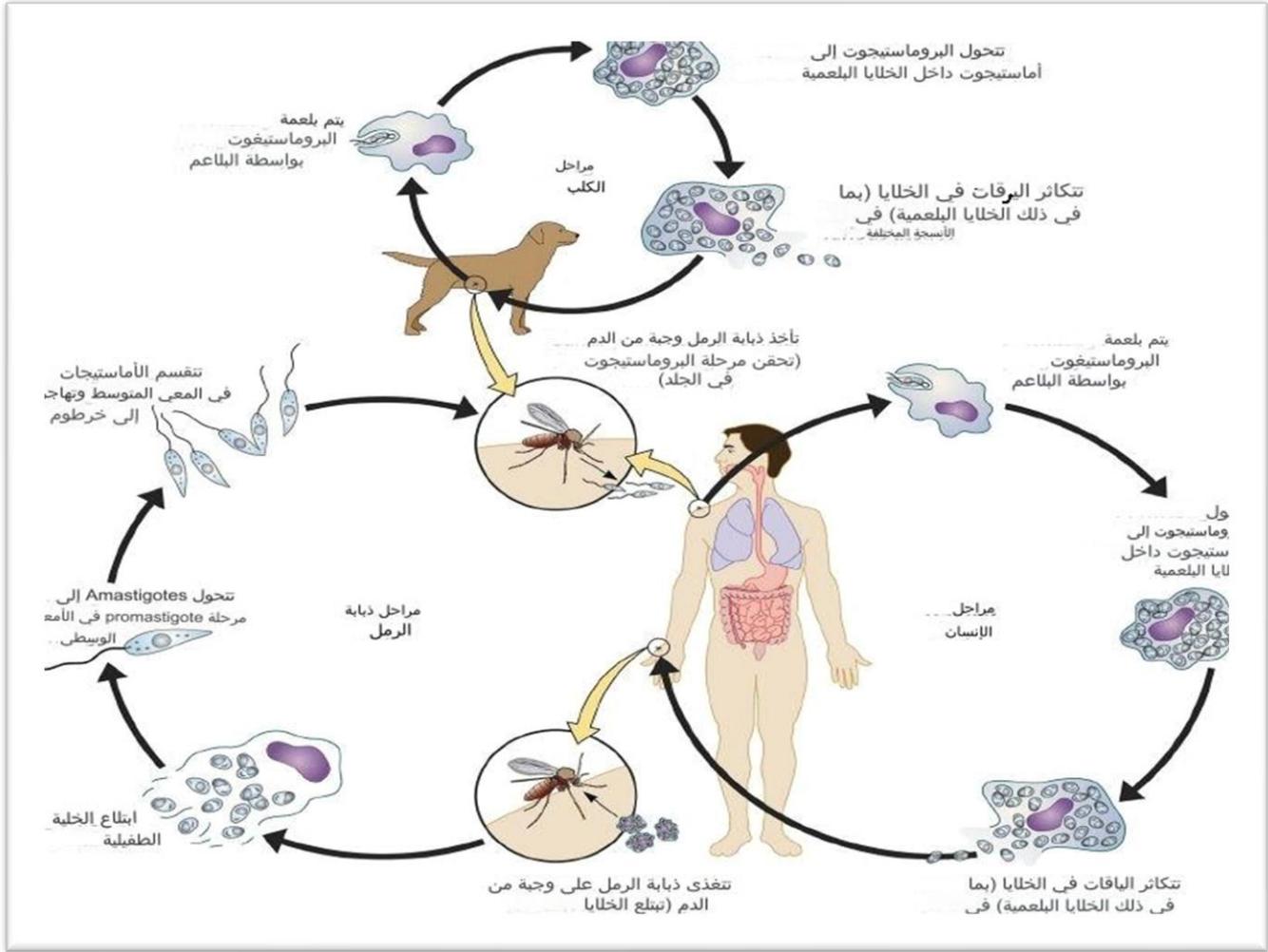
يقل نشاط انثى ذبابة الرمل في النهار ويزداد مستوى نشاطها في المساء بعد غروب الشمس والتي تعتمد بتغذيتها على دم الثدييات مثل الانسان والكلاب والماشية والقوارض والطيور ، يأخذ الطفيلي شكلين داخل ذبابة الرمل هما الشكل اللشمانيا الانقسامي غير المعدي *procyclic promastigote* ويتواجد في الجزء الوسطي من معي ذبابة الرمل والشكل المعدي غير التكاثري *promastigote Metacyclic* ويتواجد في راس ذبابة الرمل وبعد هجرة طفيلي اللشمانيا من الجزء الأمامي من الأمعاء ومضاعفته بواسطة الانشطار الثنائي البسيط ليصل إلى منطقة الفم تأخذ ذبابة الرمل طفيليات اللشمانيا مع دم الحشرة الحاوي والتي تحتوي على طور اللشمانيا الذي يكون دائري وغير متحرك ويتطور عندها الطفيلي، وتصبح الحشرة قادرة على نقل الطفيلي بعد 7-10 أيام (Mascari et al.,2013; Ferro et al.,2011).

## 5-2 المضيف المستودع The reservoir host

تلعب المضائف الخازنة للمرض دوراً مهماً في نقل الإصابة وزيادة انتشارها إذ أن توفر مثل هذه الأنواع من المضائف في المناطق التي يتواجد بها الإنسان يؤدي إلى زيادة تعرض للإصابة (Grandoni, 2005) وعند تفشي هذا الوباء في مكان معين أو نظام بيئي يعد وبشكل دائم مستودعاً خازناً للطفيلي، ويشمل هذا النظام البيئي أنواعاً مختلفة من المضائف الخازنة تختلف من منطقة إلى أخرى (يوسف، 2002) ويكون في الهند الإنسان هو الخازن الرئيس لمرض اللشمانيا الحشوية أو الكالازار الهندي (Zuskerman and Lainson, 1977) أما في قارة أفريقيا وأمريكا الجنوبية ومدن الشرق الأوسط فإن القوارض تعد المستودع والخازن الرئيس للطفيلي، وفي مصر تعد الجرذان هي الخازن للمرض مثل الجرذ النرويجي *Rattus morvogicus* و الجرذ الاسود *Rattus ruttus* وأشار الباحث (Morsy et al., 1995) إلى وجود القوارض من نوع *Arvicanthis niloticus* في السودان والتي تم تشخيصها خازنة للمرض (El-Hassan and Zijlstra, 2001) أما في العراق تعد الكلاب وبنات آوى الخازن الرئيس للمرض وقد أجريت عدة دراسات وكان ابرزها للباحث (El-Adhami, 1976) والتي تمكن فيها من عزل طفيلي اللشمانيا الاحشائية من الجرذ اسود. في بغداد في حين تمكن (Sukkar et al., 1981) من عزل طفيلي اللشمانيا من كلب في منطقة الشامية في حين أشار غياض، (2003) إلى ان 77.6% من المصابين بالمرض كانوا على تماس مباشر مع الكلاب وقد أجريت دراسة حول كيفية انتقال الإصابة من الخلايا المشيمة تجريبياً من الأم الحامل إلى الجنين على احد نساء الحوامل في أفريقيا مصابة بداء اللشمانيا الحشوي إذ ظهرت الأعراض السريرية للمرض بعد ولادة الطفل مباشرة. لكن لم يؤكد على انتقال الإصابة المباشرة من الأم إلى الجنين في الكلاب الحوامل وذكر أن الحالات التي سجلها الباحثين حول إمكانية انتقال المرض خلال المشيمة يمكن أن تكون غير دقيقة أو هناك أسباب أخرى ساهمت لانتقال المرض (Quinnell and Courtenary, 2009).

## 6-2 دورة الحياة Life cycle

تتضمن دورة حياة طفيلي اللشمانيا طورين هما الطور عديم السوط Amastigote والطور الثاني هو الطور المسوط Promastigote (Duque and Descoteaux, 2015) يتواجد الطور الأول داخل الخلايا البلعمية Macrophages للمضيف الفقري والطور الثاني يتواجد في القناة الهضمية للمضيف الناقل ( Sand fly) يدخل الطور العديم السوط للطفيلي عندما تتغذى انثى ذبابة الرمل على المضيف الفقري المصاب وتعد الخطوة الأولى لتحول الطور غير المسوط إلى الطور أمامي السوط وان هذا التحول يحدث عند أخذ وجبة من دم المضيف المصاب . وبعد مرور ثلاثة أيام من تغذية الحشرة يخرج الطور المسوط من الغشاء ويتجه باتجاه المعى المتوسط للحشرة الناقلة ويلاحظ وجود العديد من الأطوار السوطية في المعى الوسطي للحشرة في اليوم الرابع من التغذية، يتحول ويتخذ الشكل المغزلي الرفيع ويكون سريع الحركة بعد انتقاله إلى الغدد اللعابية لذبابة الرمل واستقراره وبعد هذا الطور هو الطور المعدي الذي يسبب الإصابة للمضيف الفقري (Mittra and Andrews, 2013) وعند لدغة الحشرة الناقلة لشخص غير مصاب سليم يدخل هذا الطور إلى الشخص عندها تقوم الخلايا البلعمية للجهاز البطني الشبكي Reticuloendothelial system بابتلاع الاطوار أمامية السوط وتستغرق عملية البلعمة مدة 4-8 ساعة ويتحول الطور المسوط إلى الطور عديم السوط عند دخوله إلى هذه الخلايا يبدا الطور العديم السوط Amastigote بالتكاثر والانتشار في الخلايا البلعمية مسبباً تحطيم الخلايا و ذلك لكثرة وجود الطفيليات داخلها وينتشر الطفيلي بصورة حرة مسبباً إصابة خلايا أخرى وعند تغذية الحشرة غير المصابة على الشخص المصاب بالطفيلي تهضم الخلايا البلعمية وتحرر الطفيليات وتستقر في المعى المتوسط من حشرة ذبابة الرمل وبعدها ينتقل ويستقر في الغدد اللعابية واثناء فترة تغذيته على المضيف الفقري يدخل إلى الخلايا البلعمية وهنا يتحول إلى الطور العديم السوط ويبدا بالتكاثر اللاجنسي (Satoskar et al., 2001)



شكل (2-4) يوضح دورة حياة اللشمانيا (Esch and Petersen, 2013)

ويذكر أن مدة بقاء الطفيلي في القناة الهضمية للحشرة يخضع لعملية نمو معقدة وخاصة منطقة المعى المتوسط إذ يقاوم الطفيلي من أجل البقاء لفترة أطول وتتخذ عدة سلوكيات منها إفراز الانزيمات المحللة والبيبتيدات التي تثبط المناطق العضلية لخلق جو ملائم لها داخل المعى المتوسط للذبابة وهذا السلوك يسبب أضرار كبيرة جدا للتركيب والأجزاء الجسمية لذبابة الرمل (Boulanger *et al.*, 2004).

## 7-2 وبائية داء اللشمانيا Epidemiology of Leishmaniasis

يعد داء اللشمانيا من الأمراض الطفيلية التي لازالت مشكلة صحية عالمية وعبئ أخذ بالازدياد ينجم من أنواع اللشمانيا المختلفة ويظهر بإعراض سريرية متنوعة في حال وجود الإصابة ( McCall *et al.*,2013) واعتمادا على صفات الناقل التي يحددها النوع والسلالة وعلى عدم كفاءة المضيف المناعية (Hassan and Mahmood, 2017).

ينقسم المرض في العالم القديم في قارة آسيا وأفريقيا والشرق الأوسط والبحر المتوسط بنوعيه الحشوي والجلدي وارتبطت زيادة الإصابة بداء اللشمانيا بالتغيرات البيئية وتدمير الغابات والتنمية الحضرية فضلا عن الظروف الاقتصادية وهجرة الناس إلى المناطق الموبوءة التي يتوطن فيها المرض فضلا عن الحروب التي ساهمت بانتشار المرض عن طريق التهجير (Rezvan and Hamoon Navard,2017) وبرز داء اللشمانيا الاحشائي في العالم الحديث عن *L.Chagasi* والذي يكون واسع الانتشار في جنوب ووسط أمريكا والمكسيك وقد يسبب بطيف وبائي جلدي بغياب اللشمانيا الإحشائية ولكن حصوله هذا الاستثناء نادر (Kevric *et al.*.,2015).

تعد اللشمانيا مرض متوطن في 88 بلد إذ يوجد أكثر من 350 مليون شخص معرضين لخطر الإصابة. تقدر احصائيات منظمة الصحة العالمية حدوث مليوني حالة إصابة كل عام، وحوالي 0.5 مليون إصابة بداء اللشمانيا الحشوي و1.5 مليون أصابه بداء اللشمانيا الجلدي وفي الحقيقة يصنف داء اللشمانيات في المرتبة التاسعة عالميا بين الأمراض المعدية (WHO, 2016) في حين سجلت 90% من حالات الإصابة بداء اللشمانيا الجلدية في البرازيل وافغانستان والجزائر وإيران والعراق والسعودية وبيرو، في حين تركزت حالات الإصابة بداء اللشمانيا الحشوية في الهند وبنغلادش والسودان والنيبال والبرازيل (Alavinia *et al.*,2009).

سجلت نسب الإصابة ارتفاعا في مناطق البحر المتوسط والتي تتصف بشتاء معتدل مع ارتفاع درجات الحرارة بشكل ملحوظ في فصل الصيف بينما ينعدم وجود المرض في المناطق ذات المناخ الأوربي والتي تتميز بالتغيير الكبير في درجات الحرارة بين الصيف والشتاء ويعد شمال إيطاليا من الدول التي زادت فيها معدلات الإصابة بالمرض بين المدة الممتدة من منتصف شهر أيار إلى نهاية شهر تشرين الأول بسبب زياده انتشار ذبابه الرمل خلال هذه الفترة (Ferroglia *et al.*,2005).

داء اللشمانيا الحشوي من الأمراض المتوطنة في الهند إذ تسجل 200 ألف إصابة سنويا وهو ما يقارب نصف الإصابات المسجلة عالميا وتسجل ولاية بيهار 90% من الإصابات في دولة الهند في حين ساهمت الظروف المناخية كارتفاع درجات الحرارة ووفرة الغطاء النباتي والأمطار الغزيرة وزيادة معدل الرطوبة والتي تسجل 60% في بعض الأحيان إلى زيادة نمو وتطور النواقل الحيوية ومنها طفيلي اللشمانيا الإحشائية المسبب لداء الكالازار (Prakash Singh et al., 2016) في حين بلغ عدد الإصابات حسب ما اشيرت لها الدراسات ان البرازيل تسجل 4000 حالة سنويا وبمعدل 70% من الإصابات التي تسجلها أمريكا اللاتينية اذا اقتصر في البداية على المناطق الريفية أي في المناطق الشمالية الشرقية أما عام 1999 في حين شهدت المدن البرازيلية تفشيا للوباء وتصدرت مدينة ساو باولو بتسجيل الإصابات وتقع في الجزء الجنوبي من البرازيل وتمتاز هذه المدينة بانها اكثر المدن اكتظاظا للسكان نتيجة التطور الاقتصادي الذي يميزها من بين 26 ولاية في البرازيل (Cavalcante and Vale, 2014; Albuquerque et al., 2009).

كشفت Guan et al. (2021) إن داء اللشمانيا كان مستوطن في مناطق شاسعة من الصين وكان من اهم مشاكل الصحة العامة ويعود تاريخ ظهور أول حالة لداء اللشمانيا الحشوية عام 1904 وانتشر في مناطق شرق ووسط الصين بسبب افتقار تدابير السيطرة الفعالة وعدم توفير الكمية الكافية من العلاج انتشر في 16 مقاطعة وخاصة الممتدة شمال نهر ليانغتسي وأصبح أحد أخطر الأمراض الطفيلية في الصين حتى عام 1950.

لاحظ الباحث Miao et al. (2017) نتيجة التطور الاقتصادي ونتيجة الهجرة غير منتظمة شهد المرض انتشار في غرب ووسط الصين مما ادى إلى تفشي الوباء في 43 مقاطعة من أصل ست مقاطعات في مطلع التسعينات ومنذ العقد الأول من القرن الحادي والعشرين توسع الانتشار إلى ثمانين مقاطعة من أصل ثمان مقاطعات وشهدت هذه الفترة التاريخية النوع اللشمانيا البشري المنشأ وتكون دورة انتقاله من الإنسان إلى إنسان آخر.

ظهرت بؤر مستوطنة جديدة للمرض *L.donovani* *L.tropica* وسجلت الإصابات ارتفاع ملحوظ في المناطق الموبوءة المعروفة بالفعل مثل المغرب وحلب في سوريا ومخيم الأفغان في باكستان والمملكة العربية السعودية وإيران والعراق وتم الإبلاغ عن تواجد داء اللشمانيا الحشوي بمناطق ناشئة للمرض في تونس والأردن في حين برزت اصابات جديدة للمرض في أجزاء كبيرة من ليبيا (Hassan and Mahmood, 2017) ويصعب الوصول إلى النسب والتقديرات الحقيقية لداء اللشمانيا بسبب عدم وجود مراقبة صحية مستمرة للبؤر التي ظهر وانتشر فيها المرض والتي قد تصل من مئات إلى الالاف الإصابات (Barry et al., 2014).

نجحت السلطات الصحية في المملكة العربية السعودية في خفض عدد الحالات المؤكدة للإصابة بداء اللشمانيا الحشوي من المئات في الثمانينيات والتسعينيات إلى الصفر في عام 2019. يقتصر انتشار المرض وانتشاره بشكل أساسي على الجزء الجنوبي الغربي من المملكة، لاسيما منطقتي جيزان وعسير. ويصيب المرض بشكل رئيس الأطفال إذ تظهر عليهم أعراض سريرية (Abuzaid et al., 2020).

أظهر (Muhjazi *et al.*, 2019). عن طريق دراسة اجراها في الجمهورية العربية السورية إن هنالك علاقة كبيرة بين الحروب و ظهور الأمراض المعدية بما في ذلك داء اللشمانيا على مدى تاريخ الطب وكانت موضوعا لبحوث موسعة ويعزى أسبابها إلى نزوح السكان والتوطين غير المستقر والظروف البيئية وانهيار تدابير مكافحة او انهيار النظام الصحي وبين عام 2007\_2010 لوحظ الزيادة التدريجية للإصابات منذ بداية الحرب أما عام 2010\_2016 شهدت الاعداد بالتضاعف في مدينة حلب و أدلب وفق نمط المعيشة التي يشهدها السكان والظروف الاقتصادية الصعبة وكذلك اندلاع الحرب في مدينة حسكة واللاذقية اما في فترة 2017\_2018 بالمبيدات الحشرية وتوزيع الناموسيات وتوفير الادوية أدى إلى انخفاض معدل الإصابات.

يعد في العراق من الأمراض المتوطنة التي تم الإبلاغ عن النوعين اللشمانيا الجلدية و الحشوية للمرض (Al-Warid *et al.*, 2017) تعد اللشمانيا الإحشائية من مشاكل الصحة العامة الخطيرة لدى الأطفال لاسيما الأطفال الذين تقل أعمارهم عن الخمس سنوات وتعد من البؤر رئيسة للمرض هي مدينة بغداد والمناطق الريفية المحيطة بها خلال السنوات العشر الماضية وكان هنالك زيادة ملحوظة في حدوث اللشمانيا الإحشائية في المحافظات الجنوبية مثل القادسية وذي قار وميسان (Tarish *et al.*, 2009) وان الاعداد السنوية للحالات داء اللشمانيا الحشوي المبلغ عنها في العراق وفقا لهيئة مكافحة الأمراض المعدية في بغداد 1167 حالة عام 2011 و1045 حالة عام 2012 ولكن في عام 2013 تم الإبلاغ عن انخفاض ملحوظ في عدد الحالات اذ سجل 575 حالة وكان حوالي 25% منهم من بغداد وواسط (مركز مكافحة الأمراض المعدية 2013:2012:2011) في حين شهد داء اللشمانيا انخفاض واضح بسبب اتخاذ الإجراءات لمكافحة الملاريا، وتطهير ورش المنازل بمبيد ال- DDT، في منتصف الستينيات من القرن الماضي توقفت المعالجة بالمبيدات ، فعادت الإصابة بالارتفاع بداء اللشمانيا الجلدية في العراق بداية عام 1980 والذي تزامن مع نشوء الحرب العراقية الايرانية، فانتشر داء اللشمانيا بشكل وباء وبسبب ظروف الحرب بدأت الكثير من العوائل النزوح من المناطق الخطرة الساخنة إلى المناطق الامنة والحالة العمرانية للمنازل وفرت أماكن عديدة أكثر ملائمة لتكدس واستيطان الحشرات الناقلة (Sharquie *et al.*, 1988).

جدول (1-2) الأنواع الطفيلية المنتشرة في دول العالم مع أنواع النواقل الحيوية الخاصة بها مع المضائف الخازنة حسب (Kumar, 2013; WHO 2010).

البلد	نوع الطفيلي	الشكل السريري للمرض	الناقل الحيوي	المضيف الخازن
-------	-------------	---------------------	---------------	---------------

الكلاب الثعالب ابن آوى	<i>P. chinensis</i> , <i>P. alexandri</i> , <i>P. wui</i> <i>P. longiductus</i>	VL VL, PKDL	<i>L. infantum</i> <i>L. donovani</i>	الصين
البشر الحيوان الكربوع	<i>P. argentipes</i> <i>P. salehi</i> , <i>P. papatasi</i>	VL CL CL	<i>L. donovani</i> <i>L. major</i> <i>L. tropica</i>	الهند
البشر الكلاب غير معروف البشر	<i>P. sergenti</i> <i>P. sergenti</i> <i>P. bergeroti</i> <i>P. duboscqi</i>	VL VL CL CL	<i>L. infantum</i> <i>L. donovani</i> <i>L. tropica</i> <i>L. major</i>	اليمن
العائلة الكلبية الكلاب	<i>P. papatasi</i> <i>P. sergenti</i> <i>P. papatasi</i>	CL CL VL	<i>L. tropica</i> <i>L. major</i> <i>L. infantum</i>	سوريا
البشر القوارض	<i>P. orientalis</i> , Unknown <i>P. papatasi</i> ,	VL, PKDL, McL VL	<i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i> <i>L. major</i>	السودان
القوارض البرية البشر الكلاب	<i>P. duboscqi</i> <i>P. papatasi</i> <i>P. sergenti</i>	CL, McL CL VL	<i>L. major</i> <i>L. tropica</i> <i>L. infantum</i>	ايران
البشر الكلاب	<i>P. kandelakii</i> <i>P. sergenti</i> <i>P. papatasi</i> Unknown	VL CL CL VL	<i>donovani</i> <i>L. tropica</i> <i>L. major</i> <i>L. infantum</i>	العراق

## Pathogenicity of the Visceral leishmaniasis parasite

كشفت الدراسات بأن الأعراض السريرية التي أجريت على الإنسان والحيوان أن داء اللشمانيا الحشوي الناتج من طفيلي اللشمانيا والمتسبب بالمرض البشري المنشأ يعد هو مصدر الإصابة ويمكن أن تنتقل الإصابة إلى الحيوانات الأليفة القريبة منه بالإصابة الطفيلية (Ready,2013) وعادة هذه الحيوانات لا تشكل مصدراً للإصابة بداء اللشمانيا على خلاف ما يحدث في حالة اللشمانيا الإحشائية المتسببة بواسطة طفيلي اللشمانيا الطفيلية *L. infantum*. يعد حيواني المنشأ (Ready,2010) بحيث تكون الحيوانات الخازنة هي مصدر الإصابة والآنسان يُصاب بالمرض ولا ينقل الإصابة للحشرة الناقلة فقد تم اكتشاف طفيليات أو أجسام مضادة حاملة للعدوى في أجسام الحيوانات الأليفة في شبه القارة الهندية (Alam et al.,2011) كذلك في حيوان النموس وغيرها من الثدييات البرية في شرق افريقيا (Hassan et al.,2009) .

لم يتم اثبات أن الجرذان والكلاب على أنها مستودعات خازنة للداء البشري المنشأ والعديد من الآراء تدور حول هذه الجزئية المتناقضة كما في الجدول التصنيفي المبسط ادناه (Mosala,2019 ; Bay et al.,2018)

### جدول (2-2) يوضح الاختلاف بين الإصابة البشرية والحيوانية المنشأ

داء اللشمانيا الحشوية VL حيواني المنشأ Zoonotic (LVZ)	داء اللشمانيا الحشوية VL البشري المنشأ anthroponotic (LVA)
النوع المتسبب: <i>L. infantum</i> المضيف الخازن للمرض: الكلاب أماكن الانتشار: أمريكا اللاتينية (البرازيل)، الصين، ودول المطلة على البحر المتوسط	النوع المتسبب: <i>L. donovani</i> المضيف الخازن للمرض: الإنسان أماكن الانتشار: الهند، السودان، اثيوبيا، النيبال، بنغلادش

أشار Scarpini et al.(2022) أن جميع الأطياف لداء اللشمانيا التي رافقت الأعراض السريرية عند الإصابة تظهر بخاصية مشتركة وهي سمة التراكم المبكر للخلايا البلعمية في الأنسجة التي تغزوها هذه الطفيليات مما يؤدي إلى تضخم الخلايا البطانية الشبكية للأعضاء اذ يؤثر هذا التضخم الذي يعقب الإصابة بطفيلي اللشمانيا الإحشائية على الطحال والكبد ونخاع العظم والغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة والغدد اللمفاوية اذا رافق تضخم الأعضاء خلل في الامعاء مع حدوث اسهال وفقدان الشهية وتقئى في بعض الحالات وعدم الراحة وتضخم الطحال نقص في اعداد كريات الدم وشحوب في الأغشية المخاطية واعتلال حاد في العقد اللمفاوية في الحالات المتقدمة وغالبا ما تكون أسباب الوفاة حدوث الالتهاب الرئوي والسل وبالتالي فإن تشخيص الطفيلي ضروري عن طريق

المصل (Baneth *et al.*,2021; Generalísimo *et al.*,2015) والتهاب الدماغ بسبب وجود الطور غير المسوط في السائل الشوكي وبرز الأعراض التي تصاحب الألتهاب اصفرار في البشرة وشحوب في الاغشية المخاطية (Cardoso *et al.*,2004) وعندما يقل تركيز الخضاب بالدم نتيجة تكسرها في الطحال يحدث فقر دم حاد(وايضا انخفاض بخلايا الدم البيض والصفائح الدموية ويرافقه انخفاض البومين في مصل الدم (Goto,2010) . (and Lindoso

تعد الحالات المزمنة يحصل انتفاخ في المنطقة البطنية ناتج من تضخم الأجزاء الداخلية كالكبد والطحال و أصابات ثانوية بسبب ارتشاح الطفيلي إلى القناة الهضمية وحدوث الاسهال و التقيؤ للأشخاص المصابين (Mohebali,2013) مع ارتفاع درجة حرارة المصاب إلى ما فوق 40 م وتورم في الوجه و صعوبة في التنفس ونزف حاد في الأغشية المخاطية (Ribeiro *et al.*,2018).

ذكر (Herwaldt and Magill (2013) أن داء اللشمانيات ينجم عن معقد انواع اللشمانيا الإحشائية والتي تضم *L.donovani* , *L.infantum* والتي تسبب الإصابة بالمرض في العالم القديم , والنوع *L.chagasi* في العالم الحديث ويعد هذا النوع من الطفيلي المتسبب بداء الكالازار. أما الأنواع الطفيلية الأخرى تسبب الطيف الجلدي من المرض، ويسجل ما يقارب 58000 حالة في جميع انحاء العالم سنويا ويقدر ان 90% من حالات الإصابة المقدره عالميا في دول القارة الهندية والتي تظم بنغلادش وشمال شرق الهند النيبال فضلا عن السودان (دول العالم القديم) وكذلك مناطق شمال شرق البرازيل (العالم الحديث) .

تتراوح فترة الحضانة للطفيلي ما بين 10 ايام إلى سنة، وقد تكون الإصابة بدون اعراض أو قد تظهر الأعراض بشكل بليغ وتتطور حالة المصاب حتى تصل إلى المرحلة القاتلة في غضون 2-3 سنوات، ففي بعض المرضى يأخذ المرض مساراً أكثر حدة، وغالباً ما يكون سبب الوفاة هو الإصابة بعدوى ثانوية وكشفت الدراسات في الهند ان نسبة 5-10% من المرضى يسجلون إصابة بداء اللشمانيا الجلدي التالي للكالازار (PKDL) وهو متلازمة ناتجة عن عدم كفاية العلاج على الرغم من شفاء بعض الحالات من تلقاء نفسهم (Zijlstra,2016) .

أشار (Kaye *et al.* (2004) بأن المنطقة الحافية (MZ) Margement zone من الطحال موقعاً مهماً لالتقاط مسببات الأمراض المنقولة بالدم وبوابة للخلايا للمفاوية المصابة التي تدخل منطقة اللب الأبيض من الطحال, اذ تحدث خسارة انتقائية ملحوظة لخلايا منطقة (MZ) عند الإصابة بعدوى الطفيلي *L.donovani* .

## 9-2 طرائق تشخيص داء اللشمانيا الحشوي Diagnostic modalities for visceral

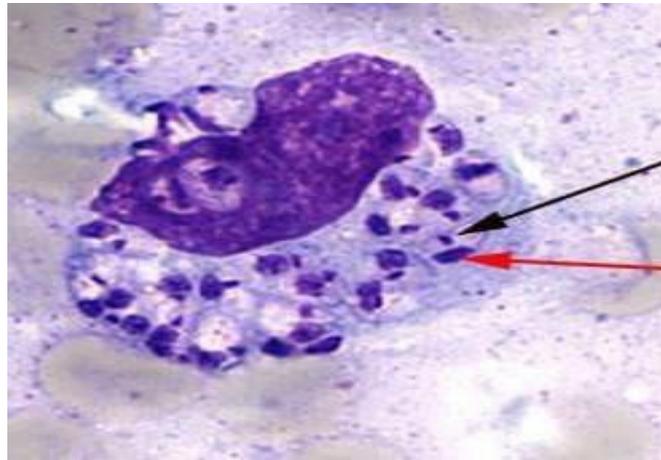
## 2-9-1 طرائق التشخيص التقليدية لداء اللشمانيا

## Conventional diagnostic methods for leishmaniasis

تنوعت الأساليب المستخدمة لتشخيص داء اللشمانيا الأحشائية , وتبعا للبحوث والدراسات المستمرة المتطورة شخص الداء مبدئيا بالاعتماد على الاعراض السريرية الظاهرة كالحمى غير المنتظمة وفقدان الوزن وتضخم الكبد والطحال فضلا عن فقر الدم ( Haidar *et al.* , 2001 ) لكن في اغلب الأحيان تكون صعوبة في تحديد نوع الداء لأنها قد تشترك في علامتها أو أعراضها السريرية مع العديد من الأمراض مثل التدرن الرئوي والملاريا والتيفوئيد فضلا عن تواجد وانتشار أمراض أخرى في المناطق الموبوءة , ويعد افضل الطرائق وأسرعها للكشف عن الطفيلي في الشخص المصاب بأخذ خزعة من نخاع العظم أو الطحال أو الكبد أو الغدد اللمفاوية .  
(Sundar and Rai.,2002)

## 2-9-1-1 الفحص المجهرى Microscope examination

يعتمد الكشف عن الاطوار عديمة السوط بالطرائق المجهرية بشكل أساس بعد الحصول على خزعة من الطحال أو الكبد أو نخاع العظم يؤخذ منها مسحة على شريحة زجاجية ليتم صبغها بصبغة Giemsa stain وتفحص تحت المجهر الضوئي لكي يتم الكشف عن الطور عديم السوط أو أجسام دونوفان Donovan bodies وقد تتعرض للتلف نتيجة لتحطم الخلايا الملتهمة Macrophage في بعض الأحيان اثناء تحضير المسحة . ويعد هذا التشخيص هو الأفضل وبمعدل 80\_90% من حالات الإصابة فضلا عن الرؤية الواضحة للطفيلي في العصارة المعزولة من الطحال أو نخاع العظم وللمخاطر التي تسببها هذه الطريقة وصعوبة سحب الخزعة من المصاب تم العمل بالطريقة المصلية ( Lévêque *et al.*,2020 ) .



شكل (2-5) المسحة تحت المجهر الضوئي مأخوذة من نخاع العظم تظهر فيها الطور عديم السوط (Amastigote).

### 2-1-9-2 زرع الطفيلي Parasite culture

يمكن الكشف عن طفيلي اللشمانيا بواسطة زرع العينات Culturing وذلك باستخدام أوساط زراعية ثنائية الطور سائلة او وسط شنايدر (Schneider's insect medium, M199, or Grae's medium) أو أطوار صلبة أحادية الطور (Novy-McNeal-Nicolle medium and Evans modified Tobie's medium) ويدعى (NNN) والذي تم اكتشافه ووصفه عام 1908 من قبل العالمين Novy, Macheal وتم التعديل عليه من قبل العالم Nicole (Sundar et al., 2010 ; Desjeux., 2001) وان نجاح عملية الزرع تعتمد على عدة عوامل منها نوع الطفيلي ففي حالة طفيلي *L. donovani* يكون نمو الطور امامي السوط بطيئا ويظهر عن طريق مجاميع متشابكة في الوسط مقارنة مع طفيلي *L. tropica* إذ تنمو الأطوار المسوطة بشكل اسرع ويكون مجاميع بشكل وردة صغيرة (Sharma et al., 2005; Rosettes From).

(Boggild et al. (2007) على الرغم من كون طريقة زرع العينات هي الطريقة الأفضل والاسرع في تشخيص طفيلي اللشمانيا, إلا إنها تفنقر إلى الحساسية والدقة العالية والتي يمكن رفع مستوى التشخيص عن طريق إجراء الزراعة لمرات عديدة لنفس العينة المأخوذة مع التأكد من وجود اعداداً كبيرة للطفيلي, إذ تنتوع الأوساط الزرعية حسب الأنواع الطفيلية, إذ يكون صعب النمو كما في اللشمانيا البرازيلية وبالتالي يحتاج إلى أوساطاً اغنى ويتطلب لنمو العزلات الطفيلية درجة حرارة تتراوح ما بين 22-28 سيليزية (Sundar and Rai, 2002).

يمر نمو طفيلي اللشمانيا بعدة مراحل تبدأ بمرحلة السكون والذي يستمر من يومين إلى ثلاث من الزرع بعدها يظهر الطور اللوغاريتمي والذي يبدأ بالظهور بعد ثلاث أيام يتبع ذلك طور الاستتباب والذي يبدأ ما بين ست إلى ثمان أيام من الزرع في حينها يصل عدد الطفيليات إلى الحد الأعظم من اعداد الخلايا الطفيلية بينما اليوم التاسع يبدأ بمرحلة التفكك والانحلال وتستمر حتى نهاية الزرع (Ambit et al. , 2008).

### 3-1-9-2 التشخيص المصلي Serological diagnosis

يستند التشخيص المصلي على وجود الاستجابة الخلطية وهناك مجموعة واسعة من الطرائق المصلية ذات حساسية وخصوصية تعتمد على نقاوة المستضد وعلى مصدره ونوعه (Salotra and Singh. , 2006) وقد

تظهر نتائج موجبة كاذبة نتيجة التشابه الكبير بين الاحياء المجهرية والمحددات المستضدية لطيفلي اللشمانيا واختلاف معدل النجاح في هذه الاختبارات بنسبة 74-100% (Kar, 1995).

ظهرت عدة طرائق لتشخيص وتصنيف اللشمانيا الإحشائية، ومن اهم الاختبارات التي عمل بها هو الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم، ELISA واختبار التلازن الدموي المباشر DAT واختبار الأرتشاف المناعي الملون بواسطة استعمال شريط التحري السريع (Rapid immuno Chromatographic stripet) واختبار الكروماتوغرافيا المناعية ICTs واختبار التآلق المناعي الغير مباشر IFTA (Sundar and Rai, 2002) ;  
(Oliveira *et al.*, 2008) تعد هذه الأختبارات أكثر فعالية وأمان ولا تحتاج إلى أجهزة معقدة وتعطي نتائج خلال فترة زمنية قليلة (William, 1995) وبدأت تقنية التشخيص المصلي تحل محل التقنيات الأخرى إذ ان خزعة الطحال تؤدي إلى آثار مؤلمة وخطيرة كما أن خزعة نخاع العظام عملية معقدة ومؤلمة وبطيئة (2001).  
(Kumar *et al* .

#### 4-1-9-2 التشخيص الجزيئي Molecular diagnosis

تعد الاختبارات الجزيئية هي أفضل طرائق الكشف عن المرض وأكثرها حساسية ودقة لتشخيص داء اللشمانيا من الفحص المجهرى البسيط وزراعة الطفيليات (Elmahallawy *et al.*, 2014) لم تبرز طرائق تقنية قياسية محددة لاكتشاف وتشخيص الإصابة ولكن يمكن لتسلسل الجينوم الكامل للشمانيا الكشف عن المؤشرات الحيوية التشخيصية الدقيقة والكشف عن نواقل جديدة في المستقبل (Quaresma *et al.*, 2009). أن تحديد الأنواع بالاعتماد على الشكل المظهري Morphology للشمانيا أمر في غاية الصعوبة لأن جميع الأنواع تكون متشابهة، بمعنى أنه لا يمكن للفحص المباشر أن يفرق بين أنواع اللشمانيا كما أن حساسيته تكون منخفضة بينما تكون الاختبارات الجزيئية أكثر دقة بواسطة استخدام البرايمرات محددة فهي ذو دقة عالية جداً.

Al-Qurashi, (2018) أسهم تفاعل البلمرة المتسلسل polymerase chain reaction (PCR) إلى حد كبير في طرائق التشخيص المختبرية لداء اللشمانيا ولا يزال أحد الأهداف التي ساعدت لتصميم البرايمرات (Elshakh *et al.*, 2016). في حين أشار Fukutani *et al.*, (2014) إلى نجاح تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل والتي تستخدم للكشف عن الإصابة بداء اللشمانيا للأشخاص الذين لا تصاحبهم اعراض المرض فضلاً عن التشخيص والمتابعة للمرضى ممن لديهم الإصابة مؤكدة لداء اللشمانيا ، إذ أن العاملون بهذه الطريقة يكونون قادرين على تحديد الانتكاسات والعدوى في المصابين خلال فترة العلاج (Cota *et al.*, 2013).

يستخدم فحص تفاعل البلمرة المتسلسل على الطحال ونخاع العظم فضلاً عن العقد اللمفاوية والدم المحيطي فضلاً عن عينات الأمصال، إذ تعد هذه التقنية ذات خصوصية وحساسية عالية على عزلات العينات المأخوذة من الدم ونخاع العظم (Bonzheim ., 2015).

## 10-2 المعالجة الدوائية لداء اللشمانيا الحشوية

## pharmacological treatment of visceral leishmaniasis

تعتمد فعالية العلاج لداء اللشمانيا الإحشائية على نوع وشدة الإصابة ويتم استخدام العقاقير الطبية المضادة للطفيليات ومنها عقار الأنثيمون الخماسي التكافؤ وعقار البنتاميدين والأمفوتريسين فضلا عن استخدام التغذية الصحية الجيدة والغنية بالفيتامينات والبروتينات وشرب السوائل بكميات كافية كما يتطلب من المريض الراحة السريرية والانتظام بفترة تناول العلاج وفي بعض الحالات يتطلب نقل البلازما أو الدم حسب نسبة خضاب الدم عند المريض ومعالجة الاصابات التنفسية باستعمال المضادات الحيوية التي تتضمن استخدام مركب صوديوم ستيو غلوكونات ويعطى بجرعة 20 ملغم / كغم كل 24 ساعة في الوريد أو العضلة لمدة 20 أو 28 يوم وتكرر بحسب حالة المريض إذ أن بعض الحالات لا تستجيب للعلاج بمركبات الأنثيمون الخماسية إذ تتم المعالجة باستخدام العلاجات الحديثة مثل الأمفوتريسين B أو مشتقاته الليبيدية الأفضل منه (McGwire ; Prajapati *et al.*,2012) (and Satoskar,2014).

تأثيرات مركبات الأنثيمون خماسي التكافؤ اختلفت تبعا للحالة السريرية وفي بعض الحالات يكون شفاء الآفة كليا أو جزئيا عند الإصابة بداء اللشمانيا الجلدية ، أو قد تكون فترة العلاج طويلة عند ظهور الأعراض الشديدة مثل قلة الشهية للطعام والارهاق وتصلب الشرايين والتهاب البنكرياس و حدوث التسمم الكبدي وفي بعض الحالات يصل تأثيره الى الأعضاء الداخلية مثل الكلية والكبد والقلب ويعد مركب الانثيمون من الادوية التي أصبحت مقاومتها واسعة الانتشار كما إن اثارها الجانبية مصدر قلق كسبب الأعراض الجانبية والتي ابرزها فقدان الشهية والغثيان و الم عضلي وصداع وغثيان والتهاب الأعصاب والخمول ونادرا ما يحدث الفشل الكلوي ويحتوي علاج ستيو غلوكونات الصوديوم على 10 لمن مركب الأنثيمون الخماسي التكافؤ ويعطى عن طريق الحقن (Generalísimo *et al.*,2015). يتطلب الشفاء الكامل فترة زمنية طويلة لذلك يجب الاهتمام بشرب السوائل بكميات كبيرة والتغذية الصحية والجيدة والراحة السريرية وتناول خافضات الحمى والالتزام بالعلاج (Guerin *et al.*,2002) ويهدف العلاج الكيميائي لمرض اللشمانيا تقليل معدلات الوفيات المرتبطة بهذا المرض وتعد العلاجات التي تدخل فيها مركبات الأنثيمون خط الصد الأول ولكن قد تفتقر هذه العلاجات إلى الفعالية العالية للعلاج لذا تستعمل أدوية الخط الثاني الأخرى الأكثر شيوعًا لداء اللشمانيا وهي أنتيمات الميغلومين وستيو غلوكونات الصوديوم وغيرها من العقاقير ولتأثير الأدوية السلبية على القلب والأعضاء الداخلية استخدمت في الأونة الأخيرة علاج أمفوتريسين B وباروموميسين (Blum *et al.*,2004).

## 11-2 النباتات الطبية The Medicinal plants

يمكن تعريف النباتات الطبية على أنها تلك النباتات التي تمتلك كل أجزائها أو جزء منها خصائص علاجية لعلاج العديد من الأمراض أو تقليل من اعراضها ويعد لها تأثير فسيولوجي على جسم الإنسان وعلى الأداء الوظيفي للأعضاء سواء كان تأثيرها منشط أو مثبط في حين برز دورها على الكائنات الحية التي تتطفل على جسم الحيوان والانسان خارجيا أو داخليا من حيث القتل او التثبيط أو الطرد (Srivastava.,2018).

تلعب النباتات الطبية دورًا حيويًا في تصنيع أعداد كبيرة من الأدوية الجديدة. لأنها مصدر متاح بسهولة والأدوية العشبية آمنة للغاية وغير سامة إذ أظهرت العديد من النباتات نشاطًا مضادًا للسمية ضد الطفيليات والكائنات المجهرية الدقيقة والفطريات (Raof et al.,2020 ; Le et al.,2018). ويتم إنتاج تركيبة كيميائية معقدة ضخمة من النباتات الطبية بما في ذلك مركبات الفلافونويد والقلويدات والفينولات والستيرويدات والتربينات والكحول الأسترات، فضلا عن الزيوت الأساسية (EOS) التي تعد مستخلصات زيتية سهلة التبخر والتطاير يحصل عليها من النباتات او اجزائها وتتميز بأنها ضعيفة الذوبان في الماء وتطفو على سطحه لأنها ذات انحلالية ضعيفة وكثافة قليلة وتعد المكونات الأساسية للزيت هي المسؤولة عن الرائحة المميزة للنبات (Singh.,2018) . (Sundar and

## 12-2 الزيوت الأساسية Essential Oils

تقود المقاومة المتزايدة للكائنات الدقيقة تجاه المواد الكيميائية والعقاقير التقليدية إلى التوجه نحو إيجاد بدائل علاجية لتحديد مركبات حيوية جديدة ذات نشاط واسع من النباتات ومشتقاتها من الزيوت الأساسية اذ عرفت في الطب منذ القدم كأحدى المصادر الأساسية لسد احتياجات الإنسان في العديد من المجالات منها التعطير والتجميل والصناعة وحفظ الطعام وسعى الإنسان لإيجاد وسائل لفصل العناصر الزيتية عن المنتجات العطرية ، وقد نجحوا بإخضاع المادة لتأثير الحرارة المواد العطرية إلى بخار لغرض تكثيفها وتبريدها للحصول عليها بالصورة السائلة إن عملية التقطير معروفة لدى الصينيين والهنود منذ 20 قرنا قبل الميلاد واستخدم المصريون والعرب الخصائص الطبية والعطرية للنباتات مثل الحفاظ على المومياءات، تطهير الجروح بالمراهم والعطور وصناعة المشروبات العطرية، في ذروة فتوحاتهم في اسبانيا وشمال إفريقيا والذين بدورهم قاموا بنشرها في أوروبا (Sharmeen et al.,2021).

1-12-2 نبات اللافندر *Lavandula angustifolia*

## 1-1-12-2 الوصف الخارجي للنبات اللافندر وانتشاره

**External description of the plant and its spread**

ينتمي اللافندر أو ما يعرف باسم الخزامي إلى عائلة Lamiaceae ، وهو جنس يتكون من حوالي 39 نوع من النباتات الزهرية ومنها الهجينة موطنها الأصلي منطقة البحر الأبيض المتوسط ويعد من النباتات العالمية الانتشار اذ ينتشر من مناطق جنوب أفريقيا الاستوائية وصولاً إلى المناطق الجنوبية الشرقية من الهند ولأهميته التجارية اصبح يزرع في جنوب أوروبا وروسيا وبلغاريا والولايات المتحدة وهي شجيرة قصيرة معمرة دائمة الخضرة يتراوح ارتفاعها بين 20\_80 سم كثيفة التفرع والأوراق عميقة التفصيص رمحية او مستطيلة ضيقة متطاولة كاملة منبسطة في البداية ذات حواف ملتفة للخارج لونها اخضر ذو رائحة فواحة وتتميز بأزهار بوقية الشكل بنفسجية اللون تحمل على أفرع غير مورقة تنتهي بأزهار سنبلية الشكل يتراوح طولها بين 2\_8 سم لها زيوت عطرية وتحمل المكونات رئيسة للزيوت Linalool , Linalyl acetate ذات قيمة طبية واقتصادية عالية مما جعلها محط اهتمام الكثير من الدراسات للعلماء والباحثين ( Jianu ) (Erland and Mahmoud.,2016 ; et al.,2013).

يحظى زيت اللافندر الأساسي بشعبية كدواء تكميلي إذ يعد زيت متعدد الاستخدامات له خصائص مضادة عديدة للالتهابات للميكروبات (Rashed et al.,2021 ; Valkova et al.,2021) ومضاد للأكسدة ، ومحسن للنوم ومطهر فضلاً عن التأثيرات المضادة للتشنجات، ومسكن للألام ، ومزيل للسموم ، وخافض للحرارة ، وهناك أدلة متزايدة تشير إلى ان زيت اللافندر قد يكون دواء فعال في علاج العديد من الاضطرابات العصبية ويستخدم في علاج الجهاز الهضمي والقلب والاعوية الدموية والجهاز التنفسي كما يستخدم زيت اللافندر في مكافحة الآفات نظراً لاحتوائه على فعالية عالية ضد الحشرات (Behmanesh et al.,2015 ; Aprotosoie et al.,2017).



شكل (2-6) المظهر الخارجي لنبات اللافندر (Batiha et al.,2023)

## 2-1-12-2 التصنيف لنبات اللافندر *Lavandula angustifolia*

يعد اللافندر أو الخزامى (Lavender) وهو نبات عطري يعرف باسم الخزامي نسبة إلى التسمية اليونانية (اسطو خودس) يتميز بخصائص وفوائد صحيه متنوعه يستخدم في عدة مجالات منها مواد التجميل والتنظيف وطرائق العلاج التقليدية كما استخدم كمنكهات غذائية لرائحته الزكية، له عدة أصناف لآكن أكثرها شيوعا وزراعة هو *Lavandula angustifolia* ويمكن العثور على مجموعة واسعة من الأصناف لأغراض الزينة مثل *L. stoechas* و *L.mulifida* والتي تنتشر على نطاق واسع في العالم (Blue,2006) .

التصنيف الكامل لنبات اللافندر حسب (pokajewicz et al.,(2023)

Kingdom: Plantae

Subkingdom Tracheophytes

Phylum: Angiosperms

Subphylum: Eudicots

Order: Asterids

Suborder: Lamiales

Family: Lamiaceae

Sub Family: Nepetoideae

Genus: *Lavandula*

Species: *angustifolia*

## 2-12-1-3 المركبات الفعالة الحيوية لنبات اللافندر

### Biologically active compounds of lavender

تعد النباتات مخزنًا ضخمًا للمنتجات الطبيعية التي تصنف إلى منتجات أيض أولية وهي أساسية للتغذية كالكربوهيدرات والبروتينات ومنتجات أيض ثانوية وهي المكونات الفعالة في النباتات وتنتج من منتجات الأيض الأولية ويستخدمها النبات كموادٍ دفاعية أو لحماية نفسه من الأضرار الخارجية كما تمكنه من التكيف مع بيئته أما منتجات الأيض الثانوية تلعب دورا في تعزيز صحة الإنسان عن طريق استخدام هذه المنتجات كمضادات للجراثيم أو للأكسدة، وكذلك رفع كفاءة الجهاز المناعي تجاه معظم الفيروسات أو البكتيريا أو الطفيليات التي يتعرض لها الجسم وعلاج العديد من الأمراض التي قد تصيب الإنسان

(Moon *et al.*,2004 ; Darshan and Doreswamy ,2004) .

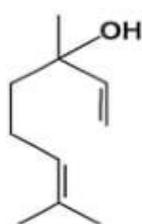
يحظى زيت اللافندر بوجود العديد من منتجات الأيض الثانوية التي تتمتع بتراكيب ومجاميع كيميائية مختلفة، منها الفينولات التي ثبتت تأثيراتها الحيوية الواسعة، وتصنف إلى عدة أنواع منها الفلافونيدات والقلويدات والجليكوسيدات، والتانينات، والستيرويدات والتربينات (Zhou,2011).

يشتهر نبات اللافندر بشكل خاص بزيتته العطري والمركبات الفعالة المتواجدة في جميع أجزاء النبات المتمثلة بالجذور والسيقان والأوراق والازهار وان كل مادة مستخلصة تدخل في مجال معين لأغراض العلاج إذ برزت أهمية المركبات الفعالة مثل Linalool, Linalyl acetate, borneol , cineole\_1,8 والتي تفرز من الغدد الزيتية الموجودة على سطح الكاس في الاخاديد بين الشعيرات الدقيقة وتشكل نسبه 3% من مكوناته

أما التركيب النوعي والكمي للزيت فإنه يعتمد على النمط الجيني وموقع النمو والظروف المناخية (Park *et al.*, 2014 ; Danh *et al.*,2012).

يظهر الشكل ( 2-7) التركيب الهيكلي والكيميائي للمركبات الرئيسية من التربينات والفينولات والكحول والأسترات المعزولة من الزيت العطري لنبات اللافندر (Aprotosoie *et al.* ,2017) .

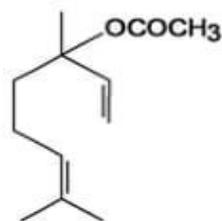
## (a) Oxygenated monoterpenes

**Linalool**

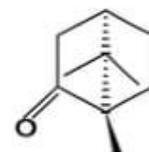
(*L. angustifolia*,  
*L. xintermedia*,  
*L. latifolia*, *L. dentata*,  
*L. lanata*, *L. multifida*,  
*L. coronopifolia*,  
*L. viridis*,  
*L. luisieri*)

**1,8-Cineole**

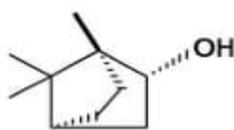
(*L. angustifolia*,  
*L. xintermedia*,  
*L. latifolia*,  
*L. stoechas*, *L. dentata*,  
*L. xheterophylla*,  
*L. lanata*, *L. luisieri*,  
*L. coronopifolia*,  
*L. pedunculata*, *L. viridis*)

**Linalyl acetate**

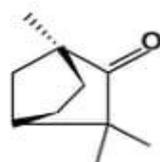
(*L. angustifolia*,  
*L. xintermedia*,  
*L. dentata*,  
*L. multifida*)

**Camphor**

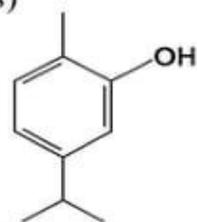
(*L. xintermedia*,  
*L. angustifolia*,  
*L. stoechas*,  
*L. bipinnata*,  
*L. dentata*,  
*L. xheterophylla*)

**Borneol**

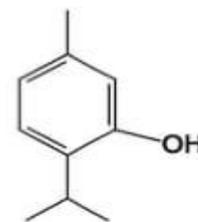
(*L. angustifolia*,  
*L. xintermedia*,  
*L. dentata*)

**Fenchone**

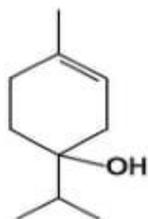
(*L. stoechas*,  
*L. luisieri*,  
*L. pedunculata*)

**Carvacrol**

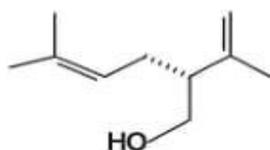
(*L. multifida*, *L. pubescens*,  
*L. canariensis*,  
*L. coronopifolia*, *L. pinnata*)

**Thymol**

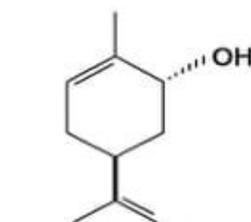
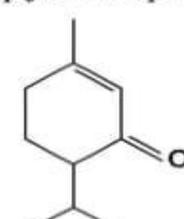
(*L. gibsonii*,  
*L. pinnata*)

**Terpinen-4-ol**

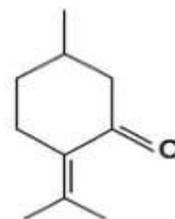
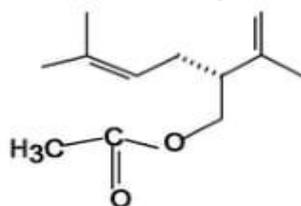
(*L. angustifolia*,  
*L. xintermedia*)

**Lavandulol**

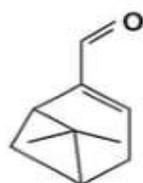
(*L. lanata*)

**trans-Carveol****Piperitone**

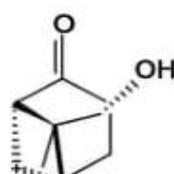
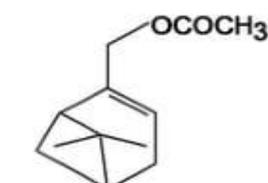
(*L. bipinnata*)

**Pulegone****Lavandulyl acetate**

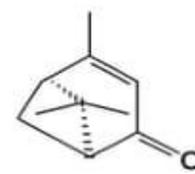
(*L. angustifolia*)

**Myrtenal**

(*L. dentata*)

**trans-Pinocarveol****Myrtenyl acetate**

(*L. stoechas*)

**Verbenone**

(*L. viridis*)

شكل (7-2) التركيب الكيميائي والهيكلي للمركبات الرئيسية لنبات اللافندر (Aprotosoae et al., 2017)

يحدد التركيز العطري لنبات اللافندر بناء على وجود الكحول و الاسترات في حين ينتج نبات اللافندر ما يقارب 12000 من القلويدات المختلفة ذات الأوزان الجزيئية المنخفضة والتي تظهر فاعلية حيوية كمضادات للأكسدة و للبكتريا في حين تمتلك الكومارينات أوزان جزيئية عالية يستخدمها الإنسان كمضادات للأحياء المجهرية الدقيقة ومضادات للأمراض السرطانية و للفطريات فضلا عن الزيوت التي تعد المادة الأكثر قيمة واهمية وبعد نبات اللافندر الخزامي من مصادر الزيوت العطرية النباتية والتي تحتوي على المركبات المتطايرة ذات الأهمية العلاجية الطبية لذلك تعد من المنتجات الطبيعية ومصادر محتملة ورئيسة للعلاجات المبتكرة لمختلف الأمراض . (Ghoreishi *et al.*,2012)

كشفت العديد من الدراسات أن معظم المواد الكيميائية المستخلصة التي تم عزلها من نبات اللافندر لم تكن من الزيت العطري والمستخلص الكحولي و المستخلص المائي غنية بالمواد النشطة وعند تحليل مكوناتها وجد أن أكثر من 120 مركب أساسي يستخلص من الزيت النباتي الموجود في الأجزاء الهوائية للنبات ذاته إذ تميزت المكونات الرئيسية للزيت على البورنيول Borneol , الكافور Camphor , كاريوفيلين Caryophyllene , سينول Cineole , هومولين Humulene , أليمين Elemene , اللين Ledene , ثوجون Thujone , بينين Pinene (Degenhardt *et al.*,2009) بينما مكونات المستخلص المائي لنبات اللافندر غنية بالفلافونويد ويعد حمض الأيلاجيك Ellagic acid ومركب luteolin-7-glucosid وحمض الروزمارينيك Rosmarinic acid أكثر مركبات الفلافونويد وفرة في المستخلص المائي يليه حمض الروتين Rutin إضافة إلى حمض كلاروجينيك Chlorogenic acid, Quercetin (Turgut *et al.*,2017).

## 2-12-2 نبات السرو المتوسط *Cupressus sempervirens*

### 1-2-12-2 الوصف الخارجي لنبات السرو المتوسط

#### External description of the medium cypress plant

يعد نبات السرو المتوسط شجرة زينة هرمية الشكل ينتمي إلى الفصيلة السروية Cupressaceae واحدة من أكبر الأشجار التي تنمو تلقائيا في مناطق البحر الأبيض المتوسط وعلى السواحل الجنوبية لبحر قزوين في إيران، سوريا، تركيا، قبرص لبنان وفلسطين وبعض الجزر اليونانية (كريت و رودس وساموس وسيمي) وينتشر من جبال الهيمالايا وصولا إلى الصين.

تعد شجرة السرو من الأشجار المعمرة دائمة الخضرة يمكن أن يتراوح ارتفاع سرو البحر الأبيض المتوسط من 20-30 مترًا وتعد شجرة ضخمة يمكن ان يصل قطر جذعها حوالي 1 متر وهي هرمية الشكل بالأخص عندما تكون صغيرة تمتلك أوراق كثيفة تشبه الحراشف في شكلها محدبة مثل الابر تكون متقابلة ومرصوفة على اربع صفوف يمتلك نبات السرو أزهار أحادية الجنس والمسكن الهيكل الذكري يمتلك مخاريط صغيرة كروية تشبه ثمرة الجوز عددها ما بين 6\_14 تتواجد في نهاية الاغصان أما الانثوية تمتلك مخاريط متجمعة بشكل كروي يصل قطرها 2\_3 سم ولها نتوء على سطحها الخارجي تحمل قشورها الخصبية من 6\_100 بذرة تنضج بعد الأخصاب وتعداهم خاصية تميز شجر البحر الأبيض المتوسط عن الأنواع الأخرى هي الغدد الزيتية الموجودة داخل تجاويف طويلة على ظهور أوراقها ذات اللون الأخضر الداكن ، ويعزى بعض الباحثين التوزيع الأصلي للأنواع إلى اليونان (بعض جزر بحر إيجه)، وتركيا، وشمال إيران. لبنان وسوريا و قبرص ( Romani *et al.*,2002 ; Tognolini *et al.*,2006 ).



شكل (2-8) المظهر الخارجي لنبات السرو المتوسط (plugatar *et al.*,2015)

## 2-2-12-2 التصنيف لنبات السرو المتوسط

### Scientific classification of *Cupressus sempervirens*

يعرف النوع *Cupressus sempervirens* باسم السرو المتوسط او السرو دائم الخضرة ويعد أحد أكثر النباتات أهمية وانتشارا في العالم وعرف في العصور ما قبل التاريخ من قبل المصريين الفراعنة وأطلقت عليه تسمية في العصور السومرية باسم (شور \_ مان) يتميز بالنمو السريع والتفاني بالصورة الافقية وبالتالي تم منحها تصنيفات فرعية وعلى الرغم من وجود العديد من الأنواع الفرعية والأصناف المختلفة من هذه الأنواع إلا أن

الأصناف الأوسع نطاقا وانتشارا هو جنس السرو المتفرع (*Cupressus sempervirens var*)  
 (*Cupressus sempervirens var horizontalis* (Mill , Cord) والسرور الهرمي (*Cupressus sempervirens var*)  
 . (pyramidal ) (Ehrami) Orhan and Tumen ,2015)  
 التصنيف الكامل لنبات السرو المتوسط حسب (Batiha et al.,2023)

Kingdom: Plantae

Subkingdom Tracheophytes

Phylum: Gymnosperms

Subphylum: Pinophyta

Order: Pinopsida

Suborder: Cupressales

Family: Cupressaceae

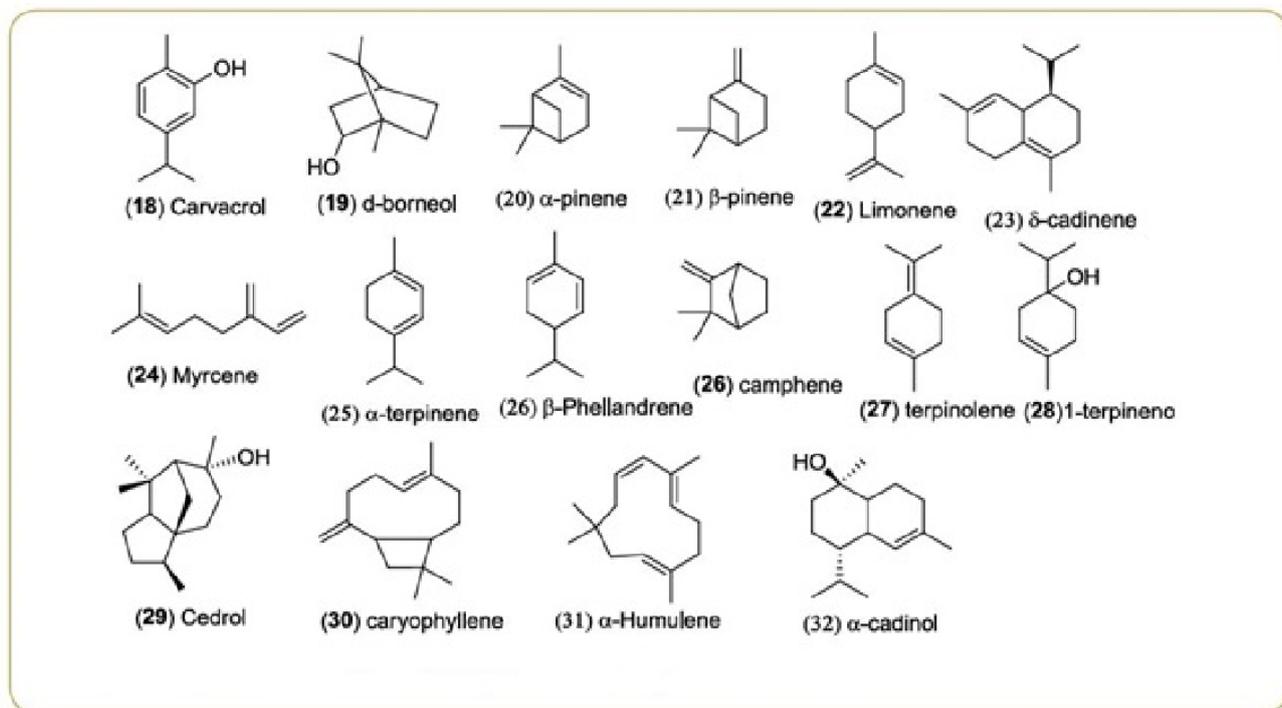
Genus: *Cupressus*

Species: *sempervirens*

## 3-2-12-2 المركبات الفعالة الحيوية لنبات السرو المتوسط **Biologically active compounds of the Mediterranean Cypress plant**

يتميز نبات السرو المتوسط بأنه مصدر طبيعي للعديد من المركبات الكيميائية الفعالة والموجودة في جميع أجزاء النبات. المتمثلة بالأوراق والسيقان والمخاريط الانثوية وتشتمل هذه التراكيب على مجموعة واسعة من تريبولين Tribuline ، الفلافونويد Flavonoids ، وروتين Routine ، كيرسيتين Christine ، ميريسترين Myristine ، صابونين كافور فضلا عن وجود الحوامض التي تتمتع بخصائص عالية كمضادات للفطريات و للبكتريا و الاحياء المجهرية (Chaudhary et al.,2012) والمتمثلة حمض نوناكوسيليك Nonacosanoic acid ، حمض إيزوكوبريسيك Isocupric acid ، حمض إيمبريكاتوليك Empric acid والاحماض الفينولية مثل حامض الكافيك Caffeic acid وحامض الكوماريك Comaric acid والزيوت الأساسية ذات القيمة النشطة حيويًا واتضح ان فعالية الزيت تختلف تبعا إلى مناطق نمو النبات والمناخ والبيئة المحيطة (Nejia et al.,2013 ; Emami et al.,2005)

يوضح الشكل (2-9) التركيب الهيكلي للمركبات الفعالة الرئيسية التي تنتمي إلى القلويدات والتربينات والسترويدات والزيوت العطرية المعزولة من الزيت العطري لنبات السرو المتوسط



الشكل (2-9) التركيب الكيميائي والهيكلي للمركبات الفعالة لزيت السرو المتوسط (Khan *et al.*, 2017).

يتكون الزيت الأساسي لنبات السرو المتوسط من مركبات مختلفة يتباين عددها تبعاً لخصائصها وإن الغالبية

العظمى من المركبات الفعالة تنتمي إلى عائلة التربين والمتمثلة بمركب بيتا بينين (31,1%) Beta inene

ولينول Linalool (30,3%) وسايمين Cymen (36,0%) فربين Verbenone (03,0%) ترابينول Terpineol

(24,0%) بينما يعد المركبان الفا بينين (35,26%) Alpha\_ pinene كامفاين (15,1%) camphene هما

المكونان الرئيسان في الزيت العطري لنبات السرو المتوسط (Ismail *et al.*, 2013).

أكد Rawat *et al.* (2010) على استخدام أوراق ومخاريط السرو المتوسط علاجات شعبية في أجزاء

مختلفة من العالم لأغراض مطهرة ومضادة للحرارة وللديدان وللروماتيزم وللربو وللإسهال ومضيق

وقابض للأوعية الدموية ومعالجة الأمراض التي تصيب الجهاز التنفسي من فرط التحسس والربو والتهاب المفاصل

والتهاب الكبد C والملاريا الأمراض التي تصيب الأوعية الدموية وأمراض القلب التاجي.

أظهر (Al-Mijalli et al., 2023) أن مستخلص الزيت العطري لنبات السرو المتوسط يمتلك نشاطاً مضاداً للميكروبات في نطاقات متفاوتة على مجموعة واسعة من البكتريا (*Bacillus subtilis*، *Aeruginosa Pseudomonas*)، لكنها كانت أكثر فاعلية ضد بكتيريا *S. Aureus*. وفي دراسة مماثلة تم اختبار الزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها من اوراق وأغصان السرو المتوسط ضد ثلاث أنواع من بكتريا (*E. coli* و *Micrococcus luteus* و *Bifidobacterium lactis*) تأثيراً عالياً في التثبيط الحيوي ضد هذه السلالات (Xavier et al. , 2021).

كشفت الدراسات المبكرة أن السرو المتوسط له نشاط قوي مضاد للأحياء المجهرية والفايروسات وعلى سبيل المثال ، وجد أن نبات السرو المتوسط غني بمركب البروانثوسيانيدين proanthocyanidins مما جعل له نشاط مضاد للفيروسات في المختبر ضد اثنين من الفيروسات منها فيروس كورونا المتلازمة التنفسية الحادة الوخيمة (SARS-CoV) وفيروس الهربس البسيط من النوع 1 (HSV-1) ، وكان للزيت تأثير خفيف ضد SARS-CoV في حين تم التعرف على زيت السرو المتوسط الاساسي بنشاط عالي مضاد فايروس الهربس وسجل التثبيط الحيوي للفيروسات بنسبة 68.0% و 53.2% بتركيزات 1:32 و 11:64 (Ibrahim et al., 2009 ; Loizzo et al., 2008).

أوضح (Hashemi and Kord, 2011) أن أهمية الزيوت الأساسية لم تقتصر في علاج الالتهابات الميكروبية وإنما دخلت في مجالات واسعة منها الصناعة إذ استخدمت على نطاق واسع كمواد حافظة للأغذية لمنع نمو الكائنات الحية الدقيقة ونتيجة للاستخدام المفرط وغير المنتظم للمضادات الحيوية، فقد كونت الاحياء المجهرية مقاومة عالية سببت اضرار صحية للإنسان لذا استخدمت الزيوت الأساسية لما لها آثار جانبية اقل وسمية منخفضة (Toroglu, 2007). وبسبب الضغط الكبير من المستهلكين للمواد الغذائية وجه الاهتمام المتزايد من المجتمع العلمي و أدخلال الزيوت الأساسية للتقليل من المخاطر الصحية للمضافات الاصطناعية المستخدمة كمواد كيميائية حافظة في صناعة الأغذية لمنع نمو الكائنات الدقيقة و أفساده Mazari et al., 2010).

## Materials and Methods مواد وطرائق العمل

## 1-3 الأجهزة المختبرية المستعملة:

استعملت عدداً من الأجهزة والمستلزمات المختبرية في الدراسة، كما موضحة في الجدول (1-3).

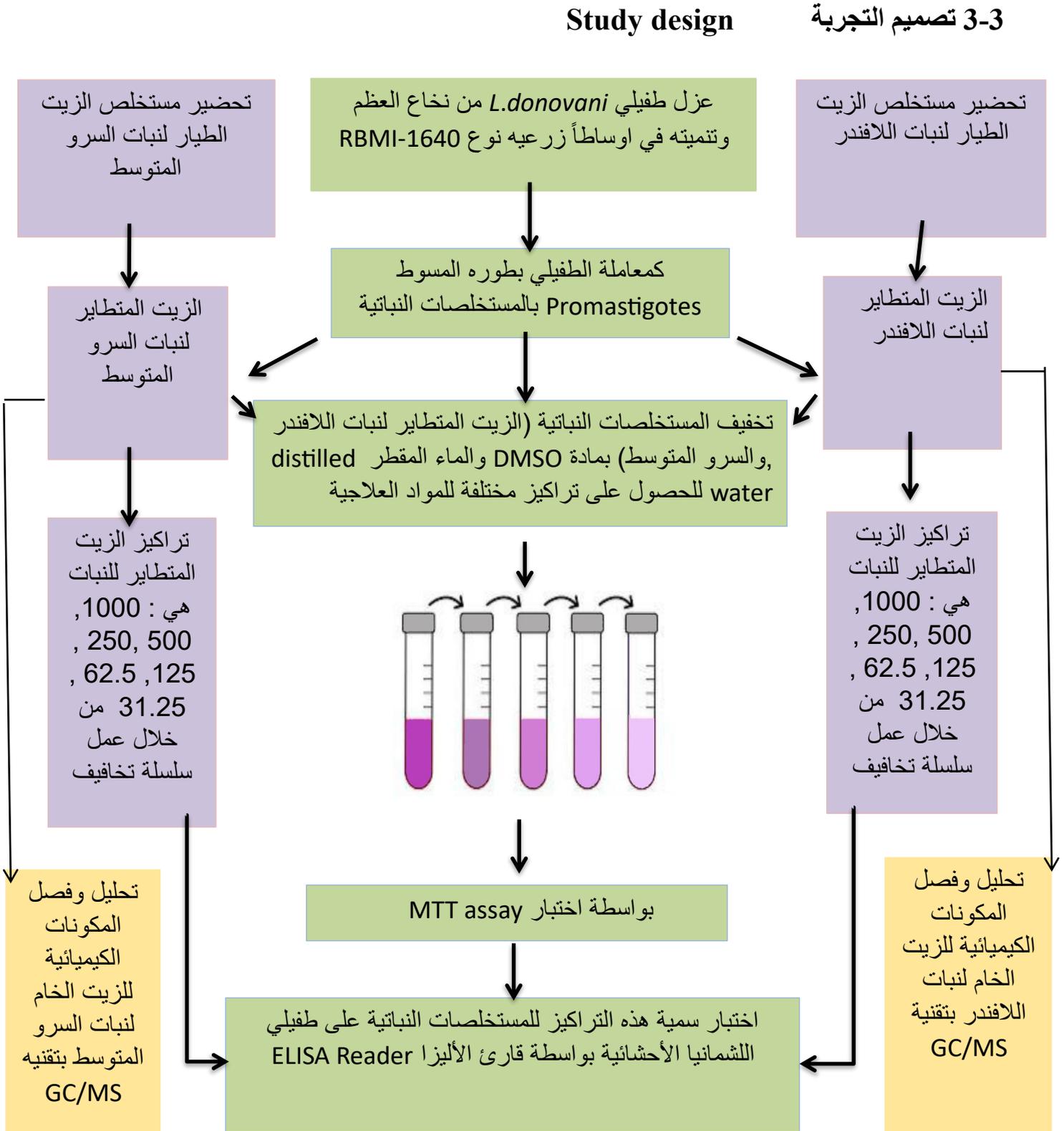
## جدول (1-3) الأجهزة والمستلزمات التي تم استخدامها في الدراسة

الشركة المصنعة والمنشأ	الأجهزة والمستلزمات		ت
China	Eppendorf's tubes	انابيب ايندروف	1
China	Universal tube	انابيب زجاجية	2
China	Filter papers	اوراق ترشيح	3
TEKA , Spain	Refrigerator	ثلاجة	4
Germany	Clevenger	جهاز استخلاص الزيت الطيار	5
Labtech (Korea)	Autoclave	جهاز التعقيم الكهربائي	6
Thermoala (Germany)	Centrifuge	جهاز الطرد المركزي	7
Shimadzu company / Japan	Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)	جهاز الكروماتوغرافيا	8
Jessi (Korea)	Shaker incubator	حاضنة الهزارة	9
HYSC/KOREA	Cooling Incubator	حاضنة مبردة 26c	10
SCIENTZ/China	Water bath	حمام ماء	11
China	Pipets tips	خراطيش	12
Volac (England)	Pyrex	زجاجيات مختلفة	13
(England)	Slide counter	سلايد عد	14
England	Slides	سلايدات اعتيادية	15
Elphor- Germany	Para-Film	شريط شمعي	16
Falcon/USA	Microtiter plate 96 well	صفيحة ذات 96 حفرة	17
Germany	Oven	فرن كهربائي	18
Avusturya/Germany	ELISA reader	قارئ الأليزا	19
Jeiotech (Korea)	Hood with U.V light	كابينة معقمة	20
Bio Basic (Canada)	Micropipettes	ماصات مجهرية	21
Japan	Olympus	مجهر ضوئي	22
Jordan	Medical Syringe	محاقن طبية	23
Sartorius(Germany)	Electrical sensitive balance	ميزان الكتروني حساس	24

## 2-3 المواد الكيميائية Chemical materials

جدول (2-3) المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة

الشركة المصنعة والمنشأ	اسم المادة الكيميائية		ت
Heiltrpfen (Germany)	Dimethyl sulfoxide (DMSO)	ثنائي ميثيل السلفوكسيد	1
University of Baghdad	Cupressus sempervirens volatile oil	زيت طيار لنبات السرو المتوسط	2
University of Baghdad	lavender volatile oil	زيت طيار لنبات اللافندر	3
Gibco (USA)	Fetal bovine serum	مصل الجنين البقري FBS	4
INTROT/ BIOTECHNOLOGY/ KOREA	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)- 2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)	صبغة التترازوليوم	5
Vital Aire/Saudi Arabia	Distilled water	ماء مقطر	6
Capricorn scientific GmbH/(Germany)	Dimethylsulphoxide	مذيب مادة DMSO	7
Capricorn scientific GmbH/(Germany)	Antibiotic-penicillin streptomycin	مضاد حيوي بنسيلين	8
ROMIL pure chemistry, UK	Isopropanol, 70% Ethanol	مطهر عام	9
American Bio innovation(USA)	Roswell Park Memorial institute Medium	وسط زرع RBMI-- 1640	10



### 4-3 جمع العينات Sample collection

تضمنت الدراسة 62 شخصاً اشتبه بإصابته بداء اللشمانيا الحشوي بعد تشخيص الحالات من قبل الأطباء الاختصاص في أمراض الأطفال والباطنية في مستشفى الأطفال محافظة كربلاء و المدة من تشرين الثاني 2022 إلى حزيران سنة 2023 , اذ تم تأكيد إصابة 8 أفراد من الأطفال بداء اللشمانيا ثم وضعت العينات المستخلصة من نخاع العظم للمرضى المصابين في أنبوبات محتوية على الأوساط الزرعية المحضرة وحضنت في مختبر الدراسات التابع للعتبة الحسينية المقدسة وبدرجة حرارة 26 م° وهي الدرجة الملائمة لنمو الطور المسوط للطفيلي لحين اجراء معاملتها بالمستخلصات النباتية العلاجية , مع تدوين المعلومات الكاملة للمرضى الذين ثبتت اصابتهم .

### 3-5 عزل الطفيلي Parasite isolate

تقليدياً يتم عزل طفيلي اللشمانيا الإحشائية من نخاع العظم للمرضى , بعد تشخيصها من قبل اطباء الأطفال الاختصاص وحسب طريقة (Al-Hussaini *et al.*,2017) إذ تمت هذه العملية بمساعدة طبيب الأطفال المختص إذ جرى مسح منطقة أخذ العينة والتي تتمثل بعظمة الحوض أسفل الظهر بالكحول الأيثيلي بتركيز %70 ثم تُركت لتجف قليلاً بعد ذلك جرى وضع القليل من المخدر الموضعي على منطقة سحب العينة , ومن ثم يرسل المريض إلى طبيب التخدير لغرض حقن المريض بالمخدر الوريدي البسيط , بعدها يتم ادخال انبوبة سحب النخاع العظمي إذ تكون بشكل انبوب رفيع (مجوفة) يتم ادخلها في عظمة الحوض لسحب عينة من سائل نخاع العظم واخرى من نسيج النخاع العظمي (Noyes *et al.*,1998 ; Hatam *et al.*,1997). بواسطة تقنية PCR تم الحصول ايضاً على عزلات محضرة لطفيلي اللشمانيا الإحشائية (Yaseen and Ali,2016) من مركز الأبحاث والتقنيات الأحيائية التابع لجامعة النهرين – بغداد إذ مثلت هذه العزلات عناصر السيطرة السالبة , أما العينات المأخوذة من المرضى فقد مثلت عناصر السيطرة الموجبة.

### 6-3 الأوساط الزرعية والمحاليل المستخدمة Culture media and solutions used

#### 1-6-3 تحضير الوسط الزرعى

### Novy-MacNeal-Nicolle (NNN) media or Biphasic media

يتكون هذا الوسط الزرعى من طورين , الطور الصلب والطور السائل , يستخدم للتنشيط , تنمية وزراعة طفيلي اللشمانيا وقد تم اعداد الطورين حسب (WHO 1984).

#### 1-1-6-3 الطور الصلب Solid phase

#### 1-1-1-6-3 المكونات الكيميائية للطور الصلب

### The chemical ingredient of solid phase

جدول (3-3) تحضير لتر واحد من طور أكار الدم الصلب يتطلب المواد التالية:

الوزن المطلوب	المادة الكيميائية	ت
16.00 g	Blood agar	1
33.30 g	Brain heart infusion	2
8.00 g	Glucose	3
100 ml	Defibrinated rabbit blood	4
1000 µg/ml	Antibiotic (penicillin and streptomycin)	5
900 ml	Distilled water	6

**2-1-1-6-3 Solid-phase preparation تحضير الطور الصلب**

- 1- يتم اضافة المواد المذكورة انفاً في الفقرة أعلاه تُذاب هذه المواد في الماء المقطر بعد ضبط درجة الأس الهيدروجيني على 7.4 pH بعد ذلك يوضع المزيج في جهاز التعقيم البخاري لمدة 20 دقيقة بدرجة حرارة 121°C.
- 2- يبرد السائل ثم يُضاف له دم ارنب فضلا عن المضاد الحيوي البنسيليوم (penicillin, streptomycin) ومن ثم يخلط جيداً .
- 3- تم اخذ 20 ml من المزيج تحت ظروف تعقيم عالية ونقلت إلى أنابيب زجاجية معقمة بسعة 20 ml , ووضعت بشكل مائل وذلك للحصول على اكبر مساحة سطحية للنمو.
- 4- تُحفظ الأنابيب الزجاجية الحاوية على الوسط الزرع المحضر في درجة حرارة الغرفة ولمدة 24 ساعة للتأكد من خلوها من التلوث.

**Locke's solution phase / محلول لوك / 2-1-6-3**

جدول (4-3) تحضير واحد لتر من محلول لوك يتطلب المواد الكيميائية الموضحة ادناه:

الوزن المستخدم	المادة الكيميائية	ت
9.00 g	NaCl	1
0.32 g	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	2
0.42 g	KCl	3
0.2 g	NaHCO <sub>3</sub>	4
200 g	Sulfate	5
2 g	D-glucose	6
1000 µg/ml	Antibiotic	7
1000 ml	Distilled water	8

**Method of preparation of Locks solution / تحضير محلول لوك / 1-2-1-6-3**

1- بعد اذابة المواد الكيميائية اعلاه في ورق زجاجي بغطاء بسعة 1000 ml بالماء المقطر مع ضبط الحموضة بدرجة pH 7.0، بعدها يتم وضع المزيج في جهاز التعقيم البخاري بدرجة حرارة 121 c ولمدة 15 دقيقة.

2- يُبرد المزيج ثم يتم اضافة المضاد الحيوي اليه ليصبح جاهزاً.

### 2-6-3 الأوساط الزرعية المستخدمة في اختبار السمية Media for cytotoxicity assay

#### 1-2-6-3 الوسط الزراعي

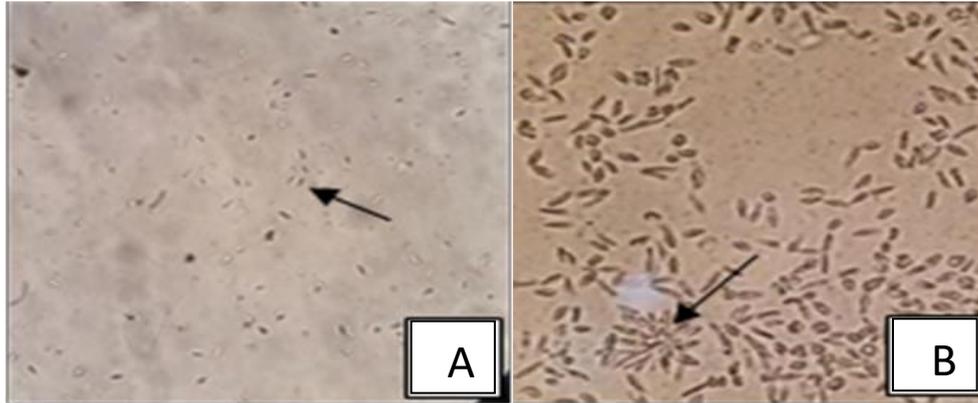
#### Roswell Park Memorial Institute (RPMI-1640) medium

يُعد وسط RPMI-1640 من أهم الأوساط الزرعية التي طورها الباحث (Minowada *et al.*, 1972) أستخدم لزراعة الخلايا البشرية الطبيعية والسرطانية , مع اضافة مصل الجنين البقري fetal bovine serum (FBS) بمقدار 5-20% (Paiva and Careta, 2019).

يتم تحضير وسط RPMI-1640 بإضافة 9ml في انبوبة زجاجية معقمة مع اضافة 1 ml ما يقارب 10% من مصل الجنين البقري (gibco®) , وكذلك يتم اضافة 100µg من المضاد الحيوي البنسيلين (penicillin and streptomycin) إلى الوسط الزراعي.

### 3-6-3 مراحل تنمية طفيلي اللشمانيا الأحشائية *Leishmania donovani* culture

تمت تنمية وتنشيط طفيلي اللشمانيا الإحشائية بطوره الأمامي السوط في وسط (NNN) Novy- MacNeal-Nicolle بعد ذلك تم نقله إلى وسط (RPMI-1640) مع اضافة 10% مصل الجنين البقري و1% من المضاد الحيوي (penicillin and streptomycin) في ظروف معقمة جداً , ثم وضع في حاضنة مبردة بدرجة حرارة 26 م° وهي الدرجة الملائمة لنمو طور الطفيلي المسوط اذ تمت هذه العملية في مختبر الدراسات التابع للعتبة الحسينية المقدسة وبعد مرور 72 ساعة تم فحص الأوساط الزرعية المُحضنة مسبقاً للتأكد من نمو الطور المسوط للطفيلي عن طريق أخذ قطرة من الوسط وفرشها على شريحة زجاجية ومن ثم اجراء الفحص المجهرى للشريحة المحضرة تحت عدسة بقوة 40x عند التأكد من ظهور الطور المسوط للطفيلي تم نقل 0.5 ml من العزلة الأساسية إلى أنبوبة أخرى حاوية على الوسط الزراعي ذاته وبنفس الحجم وذلك لعمل مزارع ثانوية Sub culture للعزلة الطفيلية بهدف اكنار الخلايا وتنقيتها من التلوث بعد ذلك تبدأ مرحلة الطور اللوغارتمي للطفيلي عندها سنلاحظ ظاهرة التورد لخلايا طفيلية متجمعة كما موضح في الشكل (2-3) ادناه :



الشكل (2-3) طفيلي الشمانيا الاحشائي بالطور المسوط تحت عدسة المجهر الضوئي بقوة (40x) التي تم تنميتها في الوسط RPMI-1640 وحضنت في الحاضنة المبردة تحت 26 °C /A طفيلي الشمانيا الأحادية /B يمثل ظاهرة التورد للطفيلي

### 7-3 النباتات المستخدمة في الدراسة The plants

#### 1-7-3 جمع النباتات Plants collection

تم الحصول على النباتات (اللافندر والسرو المتوسط) بحالتها المجففة والمنقاة من التربة ومن المحلات العطارة المتواجدة في الأسواق بمحافظة بغداد بعد تشخيصها من قبل الأستاذ المساعد إبراهيم جابر عبد ومن ثم جرى غربلتها لتخليصها من بقايا التربة وعزل أوراقها ومن ثم طحنها وذلك لتهيئتها لعمل المستخلصات التالية

#### 2-7-3 استخراج الزيت الأساسي المتطاير لنباتي اللافندر والسرو المتوسط

### Essential oils extraction for *Lavandula angustifolia officinalis* and *Cupressus sempervirens*

تمت عملية استخراج الزيت العطري المتطاير للنباتين (اللافندر والسرو المتوسط) كلاً على حدا وذلك وفقاً للطريقة المعمول بها في دستور الأدوية الأوربي (Europe, 1997) اذ تمت عملية الاستخلاص في مختبرات جامعة بغداد /كلية علوم / قسم علوم الحياة وتعتمد هذه العملية على تقطير الماء لمدة 3 ساعات في جهاز استخلاص الزيت العطري والخطوات التالية توضح عملية استخلاص 1ml من الزيت العطري علماً ان تم مضاعفة كمية المكونات للحصول على 5 ml من الزيت العطري كما يلي:

1- غربلة النباتات لغرض تخليصها من الغبار والأتربة واخذت الأوراق لغرض طحنها بجهاز الطاحونة الكهربائية ثم تم وزن 100g ووضعها في دورق زجاجي خاص بجهاز التقطير Clevenger مع اضافة 500ml من الماء المقطر إلى الدورق ثم يخلط جيداً.

2- تم تسخين جهاز التقطير بواسطة مصدر حراري عند درجة حرارة 60 م° لمدة ثلاث ساعات من اجل تبخير الماء الذي يحتوي على الزيت العطري المتطاير وعند طرف الجهاز تم تبريد البخار المحتوي على الزيت المتطاير volatile oil ليتم تكثيفه وتجميعه مع الماء بحجم 100ml عن طريق الصنبور المكثف.

3- بعد جمع الزيوت العطرية الخام للنباتين، احتفظ بها بعيداً عن اضاءة الغرفة وبدرجة حرارة منخفضة (في الثلاجة) (Abed et al., 2021; Ali et al., 2020).



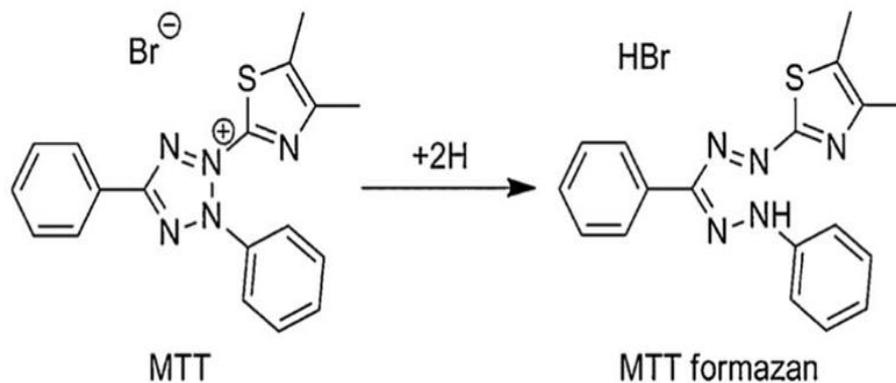
شكل (3-3) جهاز استخلاص الزيوت العطرية والزيت المستخلص بكمية 5مل لكل نوع

### 3-7-3 تخفيف وتحضير التراكيز للزيوت العطرية الخام المستخرجة من نبات اللافندر ونبات السرو المتوسط .

تم استخلاص الزيوت الخام للنباتين بواسطة جهاز التقطير Clevenger كلاً على حدا و تحضير المحلول القياسي (Stock) من الزيت العطري وذلك بأخذ تركيز  $1000 \mu\text{l/ml}$  من الزيت الطيار ثم اذابتها في مزيج متكون من 4 ml من مادة ثنائي مثيل السلفوكسايد (DMSO) Dimethylsulfaxide مع 5 ml من الماء المقطر ثم عمل من المحلول القياسي هذا التراكيز الستة المطلوبة في الدراسة الحالية وهي كما يلي :  $1000 - 500 - 250 - 125 - 62.5 - 31.25 \mu\text{l/ml}$  بعد ذلك تم تخزينها في درجة حرارة الغرفة بعيداً عن الضوء . (Abdullah and Alqaisi, 2022).

### 8-3 اختبار السمية الخلوية (MTT assay) Antileishmanial assay

أحدى التقنيات المستخدمة لقياس الحيوية الخلوية أو إمكانات السمية الخلوية للأدوية هي مقايسة أو اختبار MTT (الاختبار اللوني) , إذ تعتمد آلية هذا الاختبار على تحويل رباعي الترازوليوم الأصفر القابل للذوبان في الماء MTT [3-(4, 5- dimethyl-thiazolyl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide] تؤخذ من قبل الخلايا الحية إلى صبغة فورمازان الزرقاء الغير قابلة للذوبان في الماء , إذ تتشكل هذه الصبغة نتيجة انزيم الميتوكوندريا succinate-dehydrogenase داخل اجسام الخلايا الحية , إذ تتناسب كمية الصبغة المشكلة (الفورمازان الأزرق غير القابل للذوبان في الماء ) بشكل مباشر مع عدد الخلايا الحية (Grela *et al.*, 2018).



الشكل (3-4) يوضح تحول صبغة رباعي الترازوليوم MTT الصفراء قابلة للذوبان بالماء إلى صبغة الفورمازان الزرقاء غير القابلة للذوبان في الماء في الخلايا الحية (Grela *et al.*, 2018) .

أن صبغة MTT تذوب في ثنائي مثيل السلفوكسيد DMSO ليعطي لوناً أرجوانياً , عند طول موجي بمقدار 620 نانومتر , شدة اللون الأرجواني تتناسب طردياً مع عدد الخلايا القابلة للحياة , تم حساب النسبة المئوية لسمية المادة الدوائية المعاملة بالخلايا الطفيلية عن طريق هذه المعادلة (Sylvester, 2011).

$$\text{Inhibition percentage} = \frac{\text{Control N} - \text{Control}}{\text{Control}} \times 100\%$$

Inhibition percentage: تمثل النسبة المئوية الحيوية للخلية.

N\_control: تمثل مجموعة قيم الحفر المجموعة السالبة.

Samples: تمثل مجموع قيم المكررات الثلاث لكل تركيز تمت المعاملة به.

### 9-3 طريقة اجراء اختبار قياس السمية الخلوية المضاد لليشمانيا

#### Conducting an anti-leishmaniasis cytotoxicity test by MTT assay

1- في طبق المعايرة الدقيقة Microtiter plate ذات 96(حفرة), تمت اضافة 100µl من الوسط الزرعي RBMI-1640 الحاوي على خلايا الليشمانيا بطورها الأمامي السوط Promastigote بحالة نشطة لحفر طبق المعايرة الدقيقة ذات التسلسل من (A-H) باستثناء بعض الحفر تُركت فارغة .

2- تمت اضافة مائة مايكرو ليتر من التركيز الأول لزيت العطري لنبات اللافندر في الحفر الثلاث الأولى، ومائة مايكرو ليتر من التركيز الأول لزيت العطري لنبات السرو المتوسط في حفر الثلاثة التي تلي الحفر الاولى بعدها تمت إضافة التأثير التازري لزيت اللافندر وزيت السرو المتوسط في الحفر التي تليها ومنه تم عمل سلسلة من التراكيز الباقية.

3- تمت اضافة 100µl/ml من التركيز الأول الذي كان 1000µl/ml للزيت العطري الخام لنبات اللافندر في الحفر ذات التسلسل A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup>, A<sup>3</sup>, أما في الحفر التي تلي تسلسل A<sup>3</sup> ذات التسلسل A<sup>4</sup>, A<sup>5</sup>, A<sup>6</sup> تمت إضافة

الزيت الخام لنبات السرو المتوسط بعدها تم إضافة 100 µl/ml من الفعل التآزري لزيت اللافندر وزيت السرو المتوسط بتركيز 1000µl/ml في الحفر الثلاث ما قبل الأخير من الصفيحة وكانت بتسلسل A<sup>7</sup>, A<sup>8</sup>, A<sup>9</sup> وهكذا تمت الإضافة لبقية التراكيز بواقع 3 مكررات ( 3حفر لكل تركيز )

4- بعدها تمت إضافة 100µl/ml من التركيز الثاني لزيت اللافندر الخام والذي يمثل محلول بتركيز 500µl/ml في الحفر الصفيحة ذات التسلسل B<sup>1</sup>, B<sup>2</sup>, B<sup>3</sup>, وتمت إضافة التركيز الثاني المعمول به من الزيت العطري لنبات السرو المتوسط في حفر الصفيحة ذات التسلسل B<sup>4</sup>, B<sup>5</sup>, B<sup>6</sup> وتمت إضافة محلول الزيت العطري للفعل التآزري لزيت اللافندر زيت السرو المتوسط وبنفس التركيز السابق ولكن في الحفر ذات التسلسل B<sup>7</sup>, B<sup>8</sup>, B<sup>9</sup> حسب التسلسل الموجود في الصفيحة .

5 - بعدها يتم إضافة 100 µl/ml من التركيز الثالث لزيت الأساسي الطيار لنبات اللافندر والذي يمثل تركيز 250µl/ml في حفر الصفيحة التي مثلت التسلسل C<sup>1</sup>, C<sup>2</sup>, C<sup>3</sup> وتمت إضافة التركيز المعمول لزيت السرو المتوسط في الحفر الثلاث ذات التسلسل C<sup>4</sup>, C<sup>5</sup>, C<sup>6</sup> وأما الحفر الثلاث التي تلي تسلسل C<sup>6</sup> تم إضافة التأثير التآزري لزيت اللافندر وزيت السرو المتوسط وكان بالتركيز الذي ورد ذكره سابقا في حفر ذات التسلسل C<sup>7</sup>, C<sup>8</sup>, C<sup>9</sup> وهكذا تمت إضافة بقية التراكيز لكل الصفيحة حسب التسلسل الخاص بيها للنباتين وبواقع ثلاث حفر لكل تركيز .

من ثم تم حضن الصفيحة المزروعة والمعاملة بالتراكيز النباتية في الحاضنة المبردة بدرجة حرارة 26 م° ولمدة 24 ساعة بعدها تم اخراج الصفيحة من الحاضنة , وإضافة 15µl من صبغة ال MTT لكل حفرة معاملة بالمادة الدوائية , فضلا عن حفر السيطرة السالبة المزروع فيها المعلق الخلوي بدون إضافة أي مستخلص نباتي لها وكذلك حفر السيطرة الموجبة التي مثلت الحفر الأربع من التسلسل H للصفيحة وحفر السيطرة السالبة المعاملة بعقار البنسلين أيضاً تمت إضافة الصبغة اليها مقدار 15µl , بعدها تم حضن الصفيحة لمدة 4 ساعات في الحاضنة المبردة بدرجة حرارة 26 سيليزية ومن ثم تم اخراجها بعد انقضاء المدة وإضافة 40µl من مادة ال DMSO لكل حفرة بما فيها حفر السيطرة الموجبة والسالبة ومن الجدير بالذكر أن هذه العملية تمت بظروف معقمة جداً بداخل Hood, وبعد انقضاء مدة ثلاث دقائق من إضافة مادة ال DMSO تم ادخال الصفيحة مباشرة إلى جهاز قارئ الأليزا ELISA reader لأظهار النتائج ونسب التنشيط للمواد الدوائية المعاملة بها .



شكل (5-3) صورة جهاز اختبار MTT assay قياس السمية الخلوية للمادة الدوائية المعاملة.

### 10-3 فصل وتشخيص المركبات الكيميائية بتقنية الكروماتوغرافيا GC-MS

يستخدم جهاز GC/MS على نطاق واسع في عزل المكونات المعقدة وتوصيفها نظرا للدقة والحساسية العالية التي يمتلكها لقياس الطيف الكتلي وتعد أداة فعالة للكشف عن هوية المركبات والتقدير الكمي للمستحضرات الصيدلانية ومستقلب العينات البيولوجية. علما أن تم إجراء الاختبار في وزارة العلوم والتكنولوجيا / دائرة ابن البيطار مختبرات وحدة GC/MS

اذ تم تحليل المركبات الكيميائية باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغاز مطياف الكتلة Gas Spectrometry (GC-MS) Chromatography Mass لفصل وتشخيص المركبات الفعالة لكل من الزيت الأساسي لنبات اللافندر الخام والزيت الأساسي لنبات السرو المتوسط الخام. إذ تم حقن الزيت العطري الخام بمقدار 1 مايكرو ليتر بجهاز GC-MS نوع GC (7820A) Mass Agelint Spectrometer ياباني الصنع المرافق لنظام Clarus 500 Perkin Elmer الذي يضم وحدة التحديد التلقائي للمركبات من النوع AC-2011 ويرتبط بجهاز كروماتوغرافيا الغاز GC بجهاز الطيف الكتلي MS ووفقا للظروف الأتية: من Dimethyl Polydioxanone 100 والذي يعمل ككاشف لقنص الإلكترون.

- 1- عمود الفصل الشعري. capillary column نوع Eliter-1 fused silica والذي سجل ابعاده (30 m length X 250Mm inner diameter X 0.25Mm film thickness) والمكون.
- 2- استعمل غاز الهيليوم (99.99% كغاز ناقل بسرعة جريان ثابتة 1 مل/ دقيقة).
- 3- حقن الجهاز بما يقارب 1 مايكرو ليتر من مستخلص الزيت العطري الخام وبنسبة انقسام (1:10).
- 4- برمجة الحاقن بدرجة حرارة 250م° و300 م° للمصدر الأيوني.
- 5- تم برمجة درجة حرارة الفرن على 60م° لمدة 3 دقائق، وبزيادة تصل إلى 7 م لكل دقيقة إلى أن تصل إلى 180م°، بعدها 8م لكل دقيقة حتى تصل إلى 280م° لمدة 3 دقائق لحين النهاية.
- 6- نفذ طيف الكتلة بفولتية 70 بفاصل زمني للفحص مقداره 0.5 ثانية وبمعدل انشطار من 40 إلى 450 دالتون.
- 7- الضغط داخل الجهاز 11.933 psi .
- 8- الوقت المحتسب من بدء التشغيل الجهاز وانتهاء العينة هي 36 دقيقة.
- 9- استعمال برنامج TurboMass بنسخته 5.2.0 المثبت على الجهاز لحساب ناتج الطيف الكتلي لكل مركب كمقدار نسبي لمتوسط مساحة قمته Peak Area على أجمالي المساحات Total area وكل هذه المعلومات تبرمج بشكل مباشر على الجهاز للعينة النباتية قيد الدراسة.



شكل (3-6) صورة لجهاز الكروماتوغرافيا الغاز - مطياف الكتلة (GC/MS) Gas

### Chromatography -Mass Spectrometer

### 12-3 التحليل الإحصائي Statistical analysis

تم استخدام برنامج التحليل الإحصائي SAS 2012. Statistical Analysis System للكشف عن تأثير عوامل الاختلاف في معاملات الدراسة كذلك تم استخدام اختبار Analysis of LSD Variation-ANOVA قيمة أقل فرق معنوي للمقارنة المهمة بين الوسائل المستخدمة تم حساب النتائج بواسطة جهاز قارئ الأليزا ELISA reader لصفيحتي المايكروتيتير المستخدمة قيد الدراسة إذ تم التعبير على البيانات على اساس معادلة متمثلة بالمتوسط + الانحراف القياسي (SD) على مستوى احتمالية 0.05 بالإضافة إلى ذلك تم استخدام برنامج التحليل الإحصائي Statistical Package for the Social Sciences وبرنامج الأكسل Excel 2010 وذلك لحساب قيمة التركيز الذي يثبط %50 من نمو الخلايا الطفيلية والذي يُدعى IC50 تم تقديره لكل اختبار سمية خلوية إذ تم حساب قيمة IC50 لكل مادة دوائية لقياس نسبة تثبيط أمامية السوط الطفيلية إذ يمثل المحور السيني X لوغاريتم التركيز بينما يمثل المحور الصادي Y نسب التثبيط (Abe *et al.*, 2012) Inhibition percentage.

## 4- النتائج والمناقشة Results and Discussion

## 4-1 نسب الإصابة الكلية بداء الليشمانيات الإحشائية للأطفال في محافظة كربلاء

أشارت النتائج الواردة في الجدول (4-1) إلى أن نسبة الإصابة الكلية للأطفال المصابين في مستشفى الأطفال بلغت 12.9% من مجموع عدد المفحوصين والبالغ عددهم 62 طفلاً وكان عدد المصابين 8 أطفال فقط إذ شملت هذه النسبة على إصابة للذكور والإناث معاً.

## جدول (4-1) نسبة الإصابة الكلية بداء الليشمانيات الإحشائية في محافظة كربلاء قيد الدراسة

عدد الفحوصات الكلية	عدد الإصابة	نسبة الإصابة (%)
62	8	12.9

## 4-2 انتشار الإصابة في مناطق قيد الدراسة حسب الفئة العمرية والجنس

أوضحت النتائج الواردة في الجدول (4-2) التوزيع العمري والجنس بالنسبة للإصابة بطفيلي الليشمانيات الحشوية وتبين من خلال الجدول الاختلاف في عدد الإصابات بين الجنسين تبعاً للمرحلة العمرية قيد الدراسة

## جدول (4-2) نسب الإصابة قيد الدراسة حسب الفئة العمرية والجنس

الفئات العمرية	ذكور (%)	إناث (%)	الإصابة الكلي	$\chi^2$ المحسوبة
أقل من سنة	1 (20)	1 (33.33)	2	0.5333
3-1	3 (60)	1 (33.33)	4	
5-4	1 (20)	1 (33.33)	2	
الكلي	5 (100)	3 (100)	8	

قيمة  $\chi^2$  الجدولية 5.99 عند مستوى احتمالية  $p \leq 0.05$

إذ لوحظ أن أعلى نسبة مئوية للإصابة بلغت 60% في المرحلة العمرية (3-1) سنوات بالنسبة إلى الذكور مقارنة بالإناث التي بلغت نسبة الإصابة وبنفس المرحلة العمرية 33.3%. أما بقية المراحل العمرية فكانت نسب الإصابة في الذكور 20% للمرحلتين العمريتين الأقل من سنة و (3-5) سنوات مقارنة بالإناث إذ بلغت 33.3% لكلا المرحلتين العمريتين. كما أظهر تحليل مربع كاي وجود فرق معنوي بين الفئة العمرية لمعدلات الإصابة بمرض الليشمانيات الحشوية والجنس في عينة الدراسة إذ جاءت قيمة المعنوية (0.533) وهي أكبر من مستوى الدلالة (p  $\leq 0.05$ ). وكانت النتائج مشابهة للدراسة (Al-Sayyad, 2011) في محافظة الديوانية والتي أشارت إلى أن داء الليشمانيات الحشوية يصيب الأطفال من الفئة العمرية (2-3 سنوات) بنسبة 41.48%. متقاربه مع ما ذكره Suzan

(2009, *et al.*) الذي أشارت إلى أن أعلى نسبة حدوث الليشمانيات الحشوي سُجلت في الفئات العمرية (1-2 سنة) بمعدل 36.4%. كما تتشابه مع ما ذكره (Mniouil *et al.*, 2017) والذي أشار إلى أن أعلى الإصابات سُجلت في الأطفال الذين تتراوح أعمارهم بين (1-4 سنوات) بنسبة 74% من عدد الحالات الكلية. وجدت دراسة آخر (Kassar, 2005) أيضاً أن معدل الإصابة يزداد لدى الأطفال دون سن الخامسة.

وأشارت دراسة إيرانية إلى أن معدلات الإصابة تزداد بين الأطفال الذين تقل أعمارهم عن الخمس سنوات وخاصة في الفئات العمرية بين (1-3) (Moheballi *et al.*, 2006). ويعزى ذلك إلى زيادة حركة ونشاط الأطفال في هذا العمر مما يزيد من اتصالهم بالعالم الخارجي ويعرضهم للدغات الذباب الناقل للطفيلي، فضلاً عن عدم اكتمال نمو وتطور جهاز المناعة لديهم (Alkaiasi *et al.*, 2015; Qasim, 2008). تظهر النتائج التي توصلنا إليها أيضاً أن الذكور أكثر عرضة للإصابة من الإناث، وقد يكون ذلك بسبب العادات والتقاليد الاجتماعية، إذ يكون الذكور أكثر عرضة لذباب الرمل بسبب المساحة المعرضة من الجسم عند الذكور أكبر من تلك الخاصة بالإناث، وهذا مرتبط بطبيعة الملابس التي يرتديها الذكور والإناث.

#### 3-4 توزيع الإصابة بداء الليشمانيات للمناطق قيد الدراسة حسب موقع الإقامة والجنس

بالنسبة لتأثير محل الإقامة على عدد الإصابات، فإن النتائج المعروضة في الجدول (3-4) تشير إلى أن عدد الإصابات في المناطق الحضرية والريفية متساوٍ بالنسبة للعدد الإجمالي. إذ بلغت نسبة الإصابة في المناطق الحضرية 75% مقارنة بالإناث التي بلغت 25% بينما سجلت 50% لكلا الجنسين في المناطق الريفية.

#### الجدول (3-4) نسب الإصابة للمناطق قيد الدراسة حسب موقع الإقامة والجنس

المناطق الريفية		المناطق الحضرية		الفئات العمرية
الاناث (%)	الذكور (%)	الاناث (%)	الذكور (%)	
1 (25)	0	0	1 (25)	أقل من سنة
1 (25)	1 (25)	0	2 (50)	3-1
0	1 (25)	1 (25)	0	5-4
4 (100)		4 (100)		الكلية
$\chi^2 = 0.1778$				

قيمة  $\chi^2$  الجدولية 5.86 عند مستوى احتمالية  $p \leq 0.05$

أظهر تحليل مربع كاي وجود فرق معنوي بين مكان الإقامة والجنس لعدوى الليشمانيا الحشوي في عينة الدراسة إذ جاءت قيمة المعنوية (0.1778) وهي أكبر من مستوى المعنوية ( $p \leq 0.05$ ) كان النتائج مشابهة مع دراسة (Al-Sayyad, 2011) إذ أشار إلى وجود فرق معنوي بين مكان الإقامة والجنس بالنسبة للإصابة بالليشمانيا الحشوي بينما تختلف نتائجنا مع دراسة كل من (Jarallah and Haidar, 2013; El-Edan, 2001) (Alzawbaey and Hussain, 2017) التي وجدت أن الإصابة تزداد في المناطق الريفية، إذ أشار كلاهما إلى أن السبب في ذلك هو أن نواقل طفيلي ذباب الرمل وفيرة في المناطق الريفية والخضراء كما أن معدل الحماية في هذه المناطق أقل مما هو عليه في المناطق الحضرية، مما يتسبب في زيادة الحالات هناك.

اختلفت النتائج أيضاً مع (Abul-Doanej, 2014 ; Harhay et al., 2011) اللذان أشارا إلى أن الإصابة بداء الليشمانيات الحشوي في المناطق الحضرية كان أعلى منه في المناطق الريفية، والسبب في ذلك يرجع إلى هجرة السكان والتوسع الحضري نحو المناطق الزراعية، فضلاً عن التغيرات البيئية التي تزيد من نسبة الإصابة بالمرض.

#### 4-4 نسب توزيع الإصابة بداء الليشمانيا الإحشائية خلال مدة الدراسة (أشهر السنة)

أوضحت النتائج المبينة في الجدول (4-4) إلى اختلاف في توزيع الإصابات حسب أشهر السنة فقد تركزت معظم الإصابات بشكل عام في الأشهر كانون الثاني، شباط، آذار، نيسان وسجلت أعلى نسب الإصابة خلال شهر آذار إذ بلغت النسب 50% بينما شهر شباط 25% كانون الثاني 12.5% ونيسان 12.5% على التوالي ولم تسجل إصابات في أشهر، أيار، حزيران، تشرين ثاني، كانون الأول.

#### الجدول (4-4) نسب توزيع الإصابة بداء الليشمانيا الإحشائية خلال مدة الدراسة أشهر السنة

الشهر	عدد الإصابات	(%)
تشرين ثاني 2022	0	0
كانون أول	0	0
كانون ثاني 2023	1	12.5
شباط	2	25
آذار	4	50
نيسان	1	12.5
أيار	0	0
حزيران	0	0
المجموع	8	0

$$23.00 = \chi^2$$

قيمة  $\chi^2$  الجدولية 14.06 عند مستوى احتمالية  $p \leq 0.05$

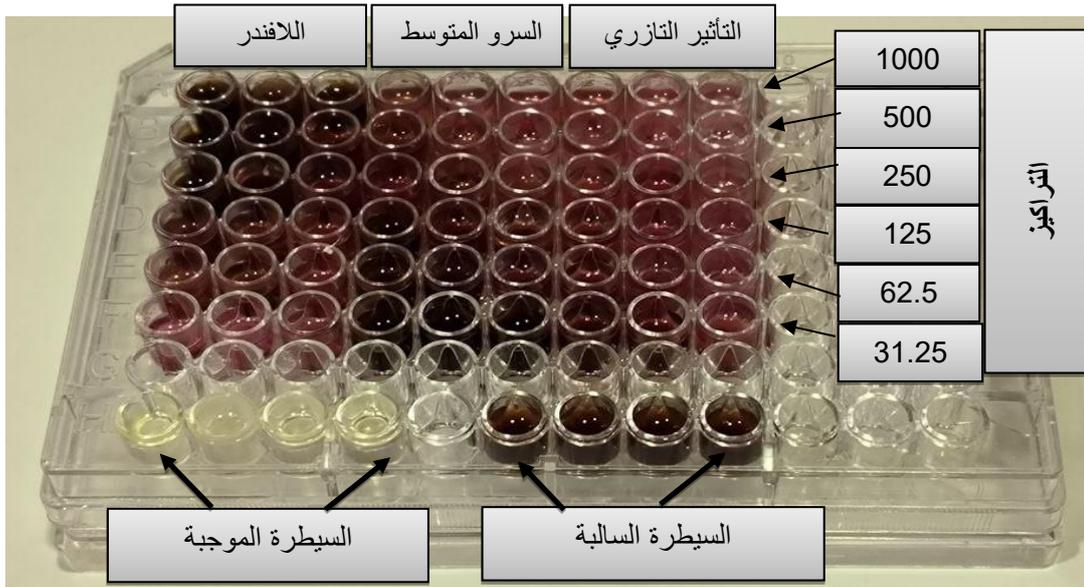
أظهر تحليل مربع كاي وجود فرق معنوي بين نسب الاصابات وأشهر السنة في عينة الدراسة إذ جاءت قيمة المعنوية (3.00) وهي أكبر من مستوى الدلالة ( $P \leq 0.05$ ). وجاءت هذه النتائج متشابهة مع دراسة (Taher,2016 ; Souhaila *et al.*,2010) اللذان ذكرا ان أعلى اصابة سجلت في شهر كانون الثاني وشباط وآذار في مختلف محافظات العراق كما اشارا إلى وجود فروق ذات دلالة إحصائية عالية بين الإصابات والأشهر المختلفة ( $P \leq 0.05$ ). كذلك تقاربت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه (Dhahir, 2017) بأن عدد الإصابات بداء الليشمانيا الحشوي سجلت ذروتها في كانون ثاني وبدأت في الانخفاض في الأشهر التي بعدها، مع الأخذ في الاعتبار مدة حضانة المرض التي عادة ما تكون (2-4) أشهر والتأخير في تشخيص الكشف عن المرض. وفي دراسة لمحافظة ميسان (Abul Doanej, 2014) وجد أن أعلى اصابات سجلت في الاشهر (كانون الاول وكانون الثاني وشباط وآذار) وعل ذلك أن العدوى بداء الليشمانيا الحشوية ترتبط بكثافة ذبابة الرمل والمضاييف الخازنة التي تتأثر بالبيئة والأحوال الجوية الموسمية إذ ترتفع نسبة الاصابة بصورة تدريجية خلال فصل الخريف وتصل ذروتها خلال فصل الشتاء وتقل تدريجيا خلال فصل الربيع وتنخفض في فصل الصيف وهذا يتزامن مع الزيادة التدريجية لأعداد الحشرة في اشهر الصيف وبعد فترة حضانة تمتد بين 2 – 4 أشهر وأن الحشرة تبدأ بالظهور اعتبارا من شهر نيسان وتصل ذروتها في شهر ايلول ولهذا تظهر العلامات السريرية على المرضى في اشهر كانون الاول وكانون الثاني وشباط وآذار. كما تتفق نتائجنا مع دراسة كل من (Kidvar and moslehi, 2007) اللذان ذكرا أن النسبة الأكبر للإصابة تحدث نهاية الشتاء (آذار ونيسان) يليه الأشهر الأخرى. وأتفقت الدراسة الحالية مع ما توصل اليه (Abbass, 2014) إذ ذكر أن معدل أعلى الإصابة بداء الليشمانيا الحشوية سجل أعلى نسبة في آذار 35% ثم شباط 27.27% ثم كانون الثاني 26.66% كما اثبت وجود فرق ذو دلالة إحصائية بين الاصابات وأشهر السنة للفئات العمرية اقل من السنة وأن سبب الارتقاع الاصابات في هذه الاشهر تعزى إلى الظروف البيئية مثل الرطوبة وسقوط الامطار التي تساعد على تكون المواد العضوية التي يعتمد عليها ذباب الرمل في التغذية مما يؤدي ذلك إلى انتشار ذبابة الرمل وبالتالي زيادة الاصابة (Murray,2000).

## 5-4 اختبار السمية الخلوية المضاد لليشمانيا تحت تأثير الزيوت العطرية لنبات اللافندر ونبات

## السرو المتوسط والتأثير التآزري لزيت اللافندر والسرو المتوسط

## Anti-leishmania cytotoxicity test under the influence of essential oils

أظهرت النتائج أن هناك تأثيرات مثبطة لزيت اللافندر وزيت السرو المتوسط على نمو طفيلي الليشمانيا الحشوي بطورها الأمامي السوط. إذ أظهر اختبار السمية الخلوية، الذي تم إجراؤه بواسطة MTT على لوحة microtiter plate، اختلافًا في الامتصاص اللوني الذي تم إجراؤه على أساس التراكيز الستة التي تمت المعاملة بها والتي أظهرت نتائج مختلفة وفقًا لنوع المادة الدوائية وكانت تراكيز المادة العطرية 1000، 500، 250، 125، 62.5، 31.25 (مايكرو ليتر/مليتر)، والشكل التالي يوضح الصفيحة بعد زرعها بالمعلق الخلوي واحتضانها لمدة 24 ساعة، بعد ما تمت معاملتها بالمادة الدوائية بأطيافه الثلاثة. وحسب التراكيز المذكورة أعلاه لكل مادة، وبعد مرور أربع ساعات من الحضانة عند 26 درجة مئوية، تمت إضافة صبغة MTT بنسبة 40 مايكرو ليتر/مليتر مع مادة DMSO .



شكل (1-4) صفيحة المايكروتايتير بعد زراعتها بالمعلق الخلوي بعد إضافة تراكيز المادة الدوائية لنبات اللافندر والسرو المتوسط والتأثير التآزري مع إضافة الصبغة الاجراء اختبار السمية الخلوية MTT assay

أظهرت نتائج اختبار السمية الخلوية لصفحة الزيوت الطيارة لنبات اللافندر والسرو المتوسط والتأثير التارزي لنبات اللافندر والسرو المتوسط الموضحة في الشكل (4-1) وجود فروق بين الحفر مما يجدر الإشارة إليه أن حفر السيطرة السالبة تألفت من (معلق خلوي *Donovan promastigotes + media + L.*) فقط ومجاميع الحفر المتبقية قد احتوت على معلق خلوي ووسط زرع مضاف إليها 100 مايكرو ليتر /مليتر من تراكيز المادة الدوائية الثلاث المتمثلة (بزيوت اللافندر, زيت السرو المتوسط , التأثير التارزي لزيت اللافندر والسرو المتوسط) وكل مادة تختلف بتراكيزها المختلفة في الاختبار اللوني MTT assay ولحساب النسبة المئوية لصلاحية الخلايا تحت تأثير التركيز المعين للنوع الدوائي المعين وقياس تأثيرات التراكيز المختلفة لزيت اللافندر وزيت السرو المتوسط والتأثير التارزي لزيت للافندر والسرو المتوسط في تثبيط نمو الخلايا وتم استعمال معادلة نسبة التثبيط (Meerloo et al.,2011).

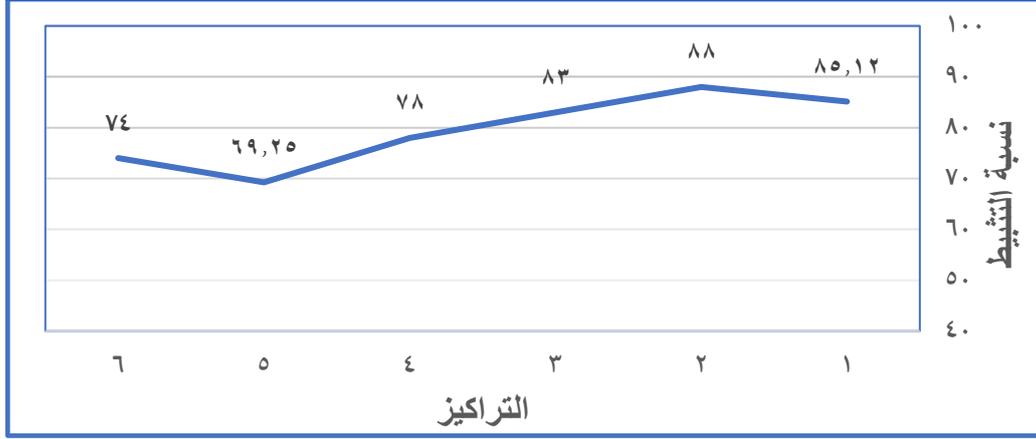
#### 4-5-1 تأثير السمية الخلوية لمستخلص زيت نبات اللافندر

أشارت النتائج الموضحة في الجدول (4-5) أن تركيز الزيت العطري 500 (مايكرو ليتر /مليتر) قد أعطى معدل تثبيط للنمو الخلوي بقيمة مئوية بلغت 88% وهو أعلى معدل تثبيط للنمو الحيوي ضد طفيلي الليشمانيا الإحشائية. بينما احتل التركيز الأول والذي كان 1000 (مايكرو ليتر /مليتر) المرتبة الثانية بنسبة مئوية تثبيطيه بلغت 85.1%. أما بالنسبة للتركيز 250 (مايكرو ليتر /مليتر) فقد بلغت النسبة المئوية 83% وهي ثالث أعلى نسبة قتل لخلايا طفيلي الليشمانيا وعند مستوى الاحتمال  $p \leq 0.01$ ، قيمة الفرق الأقل دلالة LSD عند مستوى الاحتمال  $p \leq 0.05$  أما بالنسبة للتركيز الرابع 125 (مايكرو ليتر /مليتر) فقد اظهر قابلية أقل لتثبيط النمو الحيوي أمامي السوط وبلغت 78% بينما أعطى التركيز 62.5 و 32.25 (مايكرو ليتر /مليتر) 69.2% و 74% علما بأن نتائج التثبيط تمت مقارنتها بنسب التثبيط للمجموعة الضابطة السالبة Control -N كما مبين في الشكل (4-2).

جدول (4-5) تأثير السمية الخلوية لمستخلص زيت نبات اللافندر على حيوية أمامي السوط لطفيلي الليشمانيا الإحشائية

النسبة المئوية للتثبيط (%)	Mean $\pm$ SD	تراكيز الزيت الأساسي لنبات اللافندر $\mu$ l/ml
85.12	0.011 $\pm$ 0.095 CD	1000
88	0.005 $\pm$ 0.076 D	500
83	0.009 $\pm$ 0.106 C D	250
78	0.004 $\pm$ 0.140 BCD	125
69.25	0.018 $\pm$ 0.196 B	62.5
74	0.005 $\pm$ 0.160 BCE	32.25
%	0.106 $\pm$ 0.638 A	كونترول
$(x^2) = 3.24 **$	0.0722*	LSD value
اذ *تمثل نسبة الاحتمالية ( $P \leq 0.05$ ), بينما تمثل ** مستوى الاحتمالية ( $P \leq 0.01$ )		

ويتبين مما ورد من نتائج ونسب مئوية لتثبيط الخلايا الطفيلية تحت تأثير الزيت المتطاير لنبات اللافندر بأن الزيت المتطاير اظهر نشاطا متفاوتا لتثبيط نمو الخلايا الطفيلي (Kozowska *et al.*, 2010) ووجد أن سبب التثبيط الحيوي للتركيز 500 أعلى من التركيز 1000 نسبة لوجود نسب المذيب (Salvente) في التركيز 500 تكون أعلى من كمية المذيب (Salvente) في تركيز 1000 اذ الاستحلاب يكون اقل في التركيز 1000 وبالتالي تكون نسبة الانتشار للزيت الطيار في الوسط الداخل للخلايا اقل مما يؤدي إلى نسبة تثبيط أقل. وبذلك ثبت أن الزيت العطري لنبات اللافندر له فاعلية عالية في تثبيط خلايا الطفيلي أمامي السوط بتركيزات عالية، وهذا يتفق مع دراسة مقارنة أكد فيها على إمكانية التثبيط العالية. (Silva *et al.*, 2017) إلى أن نشاط الزيت العطري ضد الخلايا الطفيلية فعالية الزيت ترجع إلى البنية الأساسية المقاومة الكارهة للماء التي تمكنه من الانقسام داخل الطبقة الدهنية لأغشية الخلايا الطفيلية. مما يزيد من نفاذه واختراقه للخلية وبالحدوث عن أعلى النسب المئوية لتثبيط النمو الخلوي وجد أن كلما زاد التركيز زادت نفاذية غشاء الخلية وعمل الأنزيمات فتشل حركة الطفيلي وتثبطه ويبرز التأثير بصورة أكبر على جدران الكائنات وحيدة الخلية فضلا عن محتوى الزيت من المركبات النشطة وهي اللينالول وولات الليناليل والتربينات والاسترات والمركبات العطرية والاحماض الفينولية (Afonso *et al.*, 2019) اذ تعمل هذه المركبات النشطة كمضادات للأكسدة ومضادات للطفيليات وهذا يتفق مع الدراسة. (Bonyadian *et al.*, 2015).



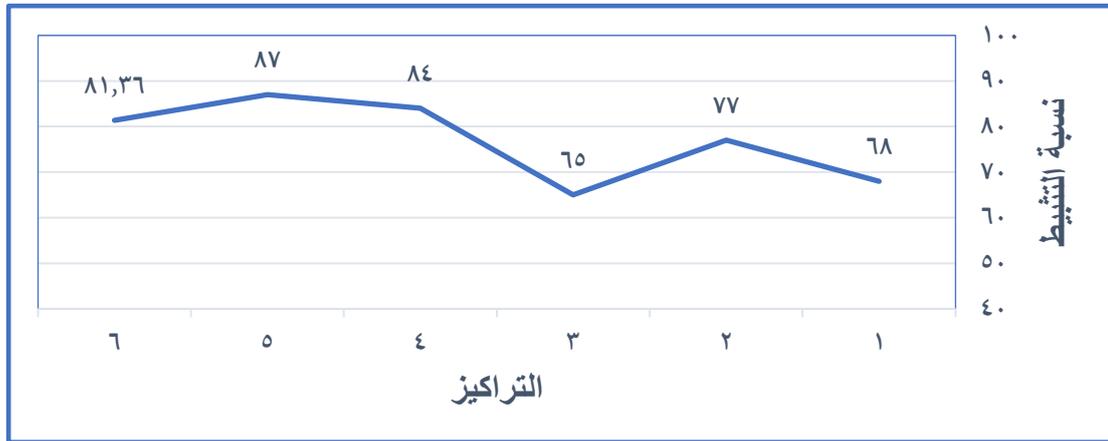
الشكل (2-4) النسبة المئوية لقابلية التثبيط تحت تأثير التركيزات الستة للزيت الاساسي لنبات اللافندر

#### 2-5-4 تأثير السمية الخلوية لمستخلص زيت نبات السرو المتوسط

أوضحت تجارب المعاملة الموضحة في الجدول (4-6) بالتركيزات الستة للزيت الاساسي لنبات السرو المتوسط نتائج مغايرة لما هو عليه في الزيت المتطاير لنبات اللافندر والذي اثبت أن لها القدرة عالية على تثبيط نمو الطور أمامي السوط لطيفلي الليشمانيا عند التركيزات الواطنة وهذا مخالف لما أظهرته نتائج اختبار السمية الخلوية (MTT) لتثبيط تأثير التركيزات العالية من اللافندر. كما موضح في الشكل (3-4).

جدول (4-6) النسب المئوية لتنشيط نمو طفيلي الليشمانيا أمامي السوط تحت تأثير التراكيز الستة لزيت الأساسي لنبات السرو المتوسط

النسبة المئوية الحيوية (%)	Mean $\pm$ SD	تراكيز الزيت الأساسي لنبات السرو المتوسط $\mu$ l/ml
68	BCE0.019 $\pm$ 0.204	1000
77	CD0.011 $\pm$ 0.146	500
65	0.007 $\pm$ 0.222 B	250
84	0.009 $\pm$ 0.101 D	125
87	0.006 $\pm$ 0.082 D	62.5
81.36	0.012 $\pm$ 0.119 D	32.25
%	0.106 $\pm$ 0.638 A	كوتترول
( $\chi^2$ ) = 5.07 **	0.0728*	LSD value
اذ * تمثل نسبة الاحتمالية (P $\leq$ 0.05) , بينما تمثل ** مستوى الاحتمالية (P $\leq$ 0.01)		



الشكل (4-3) النسبة المئوية لتنشيط نمو أمامية السوط للطفيلي الاحشائي تحت تأثير التراكيز الستة للزيت العطري المتطاير لنبات السرو المتوسط

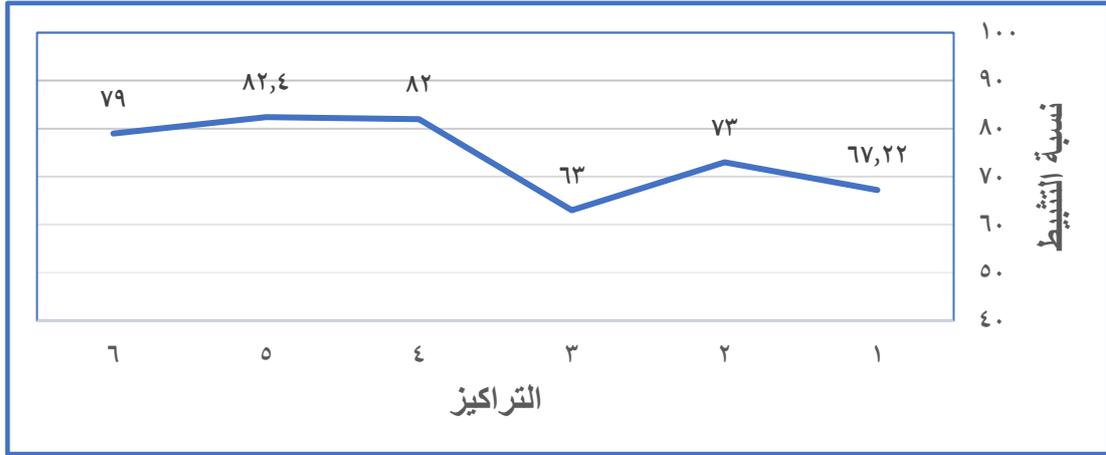
وأشارت النتائج التي ورد ذكرها أعلاه بأن التركيزات الواطنة أن لها القدرة عالية على تثبيط نمو الطور أمامي السوط لطيفلي الليشمانيا وهذا خلاف لما أظهرته نتائج اختبار السمية الخلوية (MTT) لأمامية السوط الطفيلية تحت تأثير التراكيز العليا للزيت العطري المتطاير من نبات اللافندر إذ أظهر التركيز الخامس 62.25 (مايكرو ليتر /مليتر) أعلى معدل موت للخلايا بنسبة 87.%. وجاء التركيز الرابع 125 (مايكرو ليتر /مليتر) في المرتبة الثانية من حيث قدرته على التثبيط وبنسبة 84.%. واحتل التركيز السادس 31.25 (مايكرو ليتر /مليتر) المرتبة الثالثة وأظهر معدل تثبيط 81.3.%. وعند مستوى الاحتمال  $p \leq 0.01$  ، قيمة الفرق الأقل دلالة LSD عند مستوى الاحتمال  $p \leq 0.05$ . إذ أظهر التركيز الخامس 62.25 (مايكرو ليتر /مليتر) أعلى معدل موت للخلايا بنسبة 87.%. وجاء التركيز الرابع 125 (مايكرو ليتر /مليتر) في المرتبة الثانية من حيث قدرته على التثبيط وبنسبة 84.%. واحتل التركيز السادس 31.25 (مايكرو ليتر /مليتر) المرتبة الثالثة وأظهر معدل تثبيط 81.3.%. ومن الجدير بالذكر أن تراكيز الزيت العطري للنبات قيد الدراسة كانت كما يلي 1000- 500- 250- 125- 62.5 - 31.25 مايكرو ليتر/مليتر واعطت التراكيز المتبقية تدرج بنسب متفاوتة 68% و77% و65% لتركيزات 1000 و500 و250 (مايكرو ليتر /مليتر)، على التوالي. أن تأثير المركبات المكونة للزيت الطيار يختلف باختلاف تراكيز الزيت إذ أن عمل وآلية تأثير هذه المركبات تكون متباينة حسب فعالية كل مركب على حدة مقارنة مع تأثيرهما مجتمعة وأثبت أن الزيت العطري لنبات السرو المتوسط فعال في تثبيط نمو الخلايا الطفيلية، وخاصة عند التركيزات المنخفضة وقد يعزى هذا السبب للفعالية النشطة للمكونات وهو مركب Alpha.-Pinene , Alpha.-Limonene , terpinolene, والبروتينات التي يحتويها غشاء الخلية التي تسهل عملية تحلل الخلايا وتوافقت الدراسة إذ سجلت التركيزات العالية نسب تثبيط منخفضة نتيجة فعالية مركبات التربينية الأحادية مثل مركب Borneole , (Politi et al., 2022) Alpha.-Pinene , camphor 125 , 250 نتيجة اختلاف خصائص الزيوت العطرية وظهور مضادات الأكسدة المتمثلة بمركب cineole (Martinez et al.,2015) .

## 4-5-3 تأثير السمية الخلوية للفعل التآزري لزيت اللافندر والسرو المتوسط

أوضحت النتائج الواردة في الجدول (4-7) الخاصة باختبار السمية وجود اختلافات نسبية في قابلية القتل الخلوي تحت تأثير التثبيط الخلوي للفعل التآزري لزيت اللافندر مع السرو المتوسط إذ أظهر التركيز الخامس 62.5 مايكرو ليتر /مليتر أعلى معدل تثبيط للنمو بلغ 82.4%. ومن ثم جاء التركيز الرابع 125 مايكرو ليتر/مليتر بالمرتبة الثانية من حيث قابليته على القتل الخلوي وبنسبة بلغت 82% وكانت النسب متقاربة مع وجود فرق اعشار بين نسب التركيزين أما المرتبة الثالثة احتلها التركيز 31.25 مايكرو ليتر /مليتر جاء وسجل نسبة تثبيط حيوي بلغت 79% وبينما التركيز الثاني 500 مايكرو ليتر /مليتر اعطى نسبة مئوية بمقدار 73% وجرت المقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة Control – N كما أشار إليها في الشكل ادناه (4-4).

الجدول (4-7) النسب المئوية لتثبيط نمو طفيلي الليشمانيا أمامي السوط تحت تأثير التراكيز الستة لزيت للفعل التآزري لزيت اللافندر وزيت السرو المتوسط

النسبة المئوية الحيوية (%)	Mean ± SD	تراكيز الزيت الأساسي للتأثير التآزري لنبات اللافندر والسرو المتوسط (µl/ml)
67.22	0.010 ± 0.209 B	1000
73	0.006 ± 0.173 BCE	500
63	0.018 ± 0.235 B	250
82	0.003 ± 0.115 C	125
82.4	0.007 ± 0.112 C	62.5
79	0.023 ± 0.133 C	32.25
%	0.106 ± 0.638 A	كونترول
(x <sup>2</sup> ) = 4.35 **	0.0736*	LSD value
اذ *تمثل نسبة الاحتمالية (P≤0.05), بينما تمثل ** مستوى الاحتمالية (P≤0.01)		



الشكل (4-4) النسبة المئوية لتثبيط نمو أمامية السوط للطفيلي الاحشائي تحت تأثير التركيزات الستة للتأثير التآزري لزيت اللافندر وزيت السرو المتوسط

في حين أحتل التركيز 1000 مايكرو ليتر /ملليتر المرتبة السادسة من حيث التثبيط الحيوي لطور أممي السوط وبلغت 67.2% عند قيمه اقل فرق معنوي لـ LSD عند مستوى ( $p \leq 0.05$ ) وقيمة  $x2$  عند مستوى الاحتمال ( $p \leq 0.01$ ). وجرت نتائج نسب التثبيط بالمقارنة مع نسبة التثبيط مجموعة السيطرة Control \_ N وتعزى سبب عدم فعالية التركيزات العالية للزيت الطيار هو وجود ردة فعل حال دون اختراق غشاء الخلية ورجح السبب إلى المركبات النشطة الموجودة في الزيت الطيار التي تتفاعل بشكل مختلف مع المايكروكندريا لتوليد جذور حرة والتي بدورها تعمل على اكسدة الجزيئات الكبيرة للطفيلي وبالتالي الموت المبرمج للخلايا الحية، وقد تم الاتفاق على ذلك من خلال الدراسة (Bouabdallah *et al.*, 2022).

## 6-4 الخواص الكيميائية

## 1-6-4 الكشف عن المركبات الكيميائية الفعالة بتقنية الكروماتوغرافيا

استخدمت تقنية الكروماتوغرافيا الغاز المزود بمطيافية الكتلة GC /MS لفصل وتحليل المكونات الكيميائية لكل من الزيوت النباتية الطيارة الآتية:

1 الزيت الطيار لنبات اللافندر *Lavandula angustifolia*

2 الزيت الطيار لنبات السرو المتوسط *Cupressus supervenens*

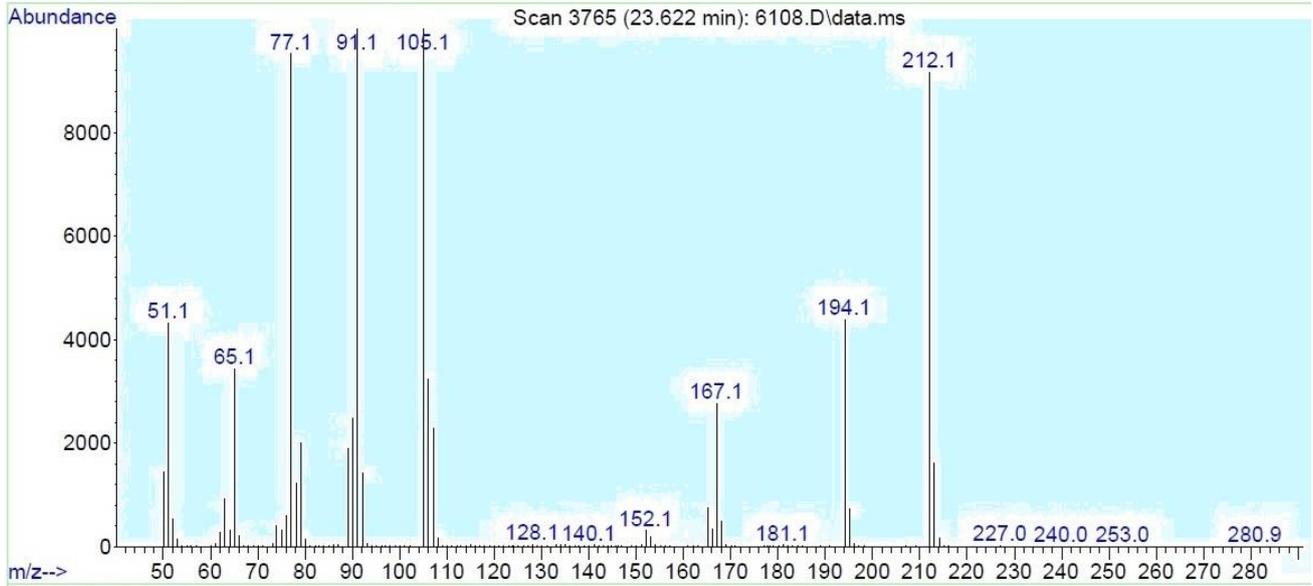
تعد المركبات الكيميائية دليلاً للعلاقات بين المراتب التصنيفية المختلفة إضافة إلى أهميتها من الناحية الحيوية، وقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود تغيرات واضحة من حيث أنواع واعداد المركبات الكيميائية في كل مستخلص من المستخلصات المذكورة أعلاه بعد التأكد منها من خلال المقارنة مع المكتبة الإلكترونية الكيميائية من حيث زمن الاحتجاز Retention time الكتلة الدقيقة لكل مركب Exact mass التركيب الكيميائي Chemical.

## 1-1-6-4 الكشف عن المركبات الكيميائية للزيت العطري لنبات اللافندر بتقنية الكروماتوغرافيا

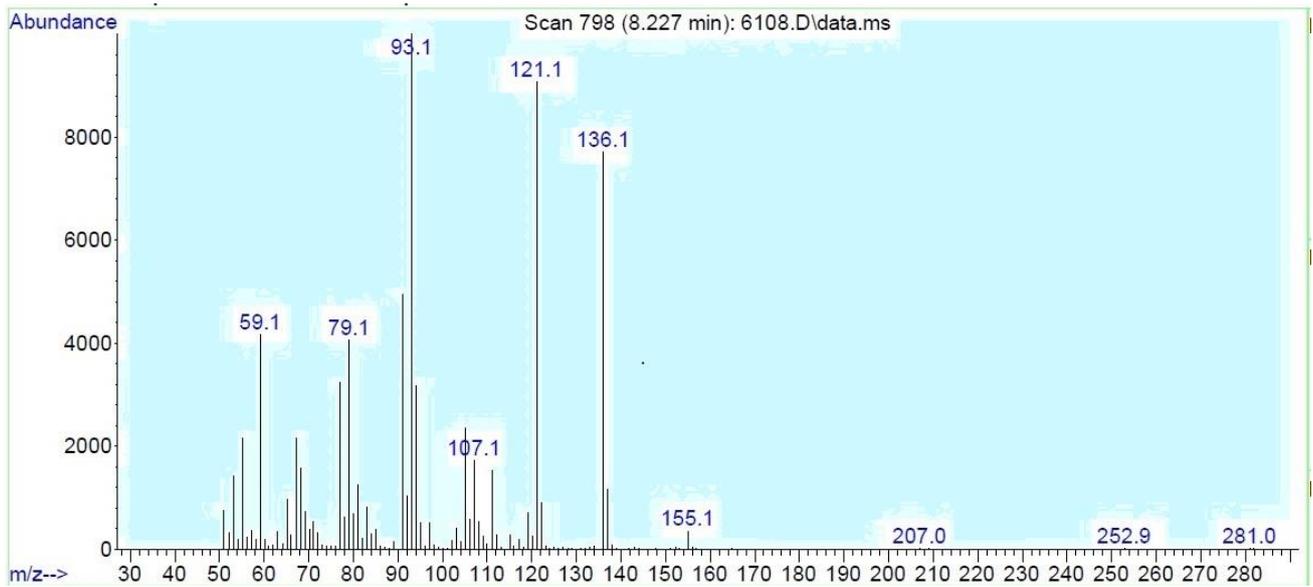
يوضح الجدول (4-8) المركبات الكيميائية للزيت العطري المعزولة من براعم ازهار نبات اللافندر *Lavandula angustifolia* التي تم الكشف عنها بتقنية الكروماتوغرافيا الغاز المزود بمطيافية الكتلة GC /MS إذ أظهرت النتائج وجود 23 نوع من المركبات الكيميائية لزيوت اللافندر وتم الكشف عن وجود 15 مركب بتركيز أعلى من 100 ملي غرام وأن أعلى زمن احتجاز لزيوت اللافندر كانت في الدقيقة 23.783 لمركب Benzyl benzoate بينما سجل ادنى زمن احتجاز في 4.798 دقيقة للمركب alpha.-Pinene. وتفاوتت المركبات في زمن الاحتجاز، كما بينت النتائج احتواء النموذج على أعلى تركيز للمركبين الفعالين Linalool و Benzyl benzoate بنسبة تركيز 47.57 , 13.22 كما موضح في الشكل ادناه (4-5)(4-6).

جدول رقم (4-8) المركبات الفعالة لزيت نبات اللافندر *Lavandula angustifolia* وزمن الاحتجاز والنسبة المئوية للمساحة في فحص GC/MS

وقت الاحتجاز	المساحة %	Name	تسلسل
23.783	47.57	Benzyl benzoate	1
9.083	13.22	Linalool	2
12.529	9.94	Linalyl acetate	3
10.547	5.29	1,1,3,3-Tetramethylcyclopentane	4
15.948	4.79	Indan-1,3-diol monoacetate	5
6.925	2.42	dl-Limonene	6
9.779	1.71	Camphor	7
6.032	1.51	beta. -Myrcene	8
13.042	1.37	Isobornyl acetate	9
14.303	1.28	Camphene	10
10.863	1.22	alpha. terpineol	11
10.157	1.16	Isoborneol	12
4.798	1.05	alpha.-pinene	13
15.071	1.04	Geranyl acetate	14
7.309	1.00	trans-beta. -Ocimene	15
17.022	0.01	Germacrene-D	16
17.302	0.01	2H-1-Benzopyran-2-one	17
17.515	0.01	E,E-.alpha.-farnesene	18
17.842	0.11	1S,CIS-Calamenene	19
18.423	0.04	ISO-Caryophyllene	20
19.046	0.28	Caryophyllene oxide	21
19.528	0.01	endo-2-Methylbicyclo[3.3.1]nonane	22
20.488	0.01	Benzene, 1,1'-[oxybis(methylene)]bis-	23



الشكل (4-5) التحليل الكروماتوغرافيا لمركب Benzyl benzoate المستخلص من الزيت العطري لنبات اللافندر *Lavandula angustifolia* وزمن احتجازها في جهاز GC/ MS



الشكل (4-6) التحليل الكروماتوغرافيا لمركب Linalool المستخلص من الزيت العطري لنبات اللافندر *Lavandula angustifolia* وزمن احتجازها في جهاز GC/ MS

صنفت المركبات الكيميائية المستخلصة من الزيت العطري من براعم نبات اللافندر ضمن مجموعة من القلويدات، التربينات، الفينولات، فلافونيدات، السترويدات، الأسترات، الكحول، الزيوت العطرية والمركبات التي تحتوي على بنية كاربون حلقي غير مشبعة باستثناء مركب Linalool الذي سجل تركيز عالي بنسبة بلغت 13.22% في حين سجلت مركبات الكاربون الحلقي غير مشبعة dl-Limonene، Indan-1,3-diol monoacetate، -1,1,3,3 Tetramethyl cyclopentane، Isobornyl acetate، .beta.-Myrcene، Camphor، وبتراكيز بلغت 1.51، 1.71، 2.42، 4.79، 5.29، 1.37% على التوالي أما مركب Alpha Terpineol، Camphene فكانت النسب المسجلة قيد الدراسة الحالية بتراكيز متقاربة 1.28%، 1.22% في حين سجل نسب منخفضة أو تكاد أن تكون معدومة من مركب endo-2، 2H-1-Benzopyran-2-one، -.alpha.-farnesen، Methylbicyclo [3.3.1]nona، Benzene، 1,1'-[oxybis(methylene)]bis Caryophyllene oxide، واثبتت أن جميع المركبات تحتوي على خواص كيميائية مضادة للأكسدة و للالتهابات و للفايروسات و للطفيليات و للفطريات (Tariq *et al.*, 2019 ; Adaszyńska *et al.*, 2013).

توافقت نتائج الدراسة مع ما توصل اليه الباحث (Ciocarlan *et al.* (2021) من حيث أن المركبات المعزولة من نبات اللافندر قيد الدراسة قد تم عزلها سابقا ومن الأجزاء الهوائية لنبات اللافندر بتقنية GC/MS وسجل مركبات فعالة حيويًا كان أهمها مركب Linalool بتركيز 23.4% وسجل Linalyl acetate نسبة 20.3% في حين سجل مركب Geranyl acetate نسبة بلغت 0.8% في حين بلغت نسبة .beta.-Myrcene، Limonene، 0.5، 0.1% على التوالي واتفقت مع نتائج الدراسة الحالية في حين اختلفت التراكيز مثل Camphor 6.4%، Alpha. terpineol 8.1% بنسبة أعلى مما تم إشارة اليها الجدول (4-8) ويعزى اختلاف نسب المكونات المستخلصة التي العامل البيئي والمناخ اللذان لهما دور كبير في استقلاب النباتي وكان الهدف من اجراء تجربة معرفة السمية الخلوية لنبات اللافندر باستخدام اختبار MTT لتقييم أنشطة مضادات الأكسدة.

أوضحت الدراسة الحالية تشابه لما أشار لها الباحثان (Montante and Castano (2008) من رصد العديد من المركبات المتباينة من حيث الكمية والنوعية بتقنية GC/MS وسجل المركب Benzyl benzoate نسبة بلغت 61.7% وأظهر نشاط فعال ضد الطفيليات مثل القراد والعت و نظرا للسمية التي يمتلكها المركب فإنه يدخل في مجال صناعة المبيدات ذات الأصل نباتي لسهولة اختراق فتحات الجهاز التنفسي وبذلك تؤثر على الجهاز العصبي والهضمي مما يؤدي إلى خلل في وظائف الأعضاء وبالنهاية تؤدي إلى موت الطفيلي في حين توصل

الباحثان (2020), Setyawan and Oktavianto الى أن استنشاق الزيت العطري لنبات اللافندر يعمل على تحسين نقل الايعازات العصبية مثل هرمون السيروتونين والدوبامين وتعزى فعالية نبات اللافندر الى وجود مركب Benzyl benzoate الذي سجل نسبة 20.21 % وهي أقل مما توصلت اليه نتائج الدراسة الحالية في حين سجل مركب Linalool % 26.12 Linalyl acetate % 32.26 Genral acetate % 2.14 Limonene % 1.06 وبلغت مجموع هذه المركبات 50 - 60% من مكونات الزيت الكلية وجاءت هذه النتائج مقارنة لنتائج التي ظهرت في دراسة وأثبت الباحثان عن طريق النتائج التي توصلوا إليها أن لهذه المركبات خصائص علاجية ضد الفطريات الجلدية والالتهابات التي تصيب البشرة نتيجة حروق اشعة الشمس.

لوحظ في الدراسة توافق لما جاء به (2022) Bouabdallah *et al.* من حيث أهمية إيجاد علاجات بديلة نتيجة ظهور مقاومة للعلاج الكيميائي اتجاه الطفيليات وكشفت تقنية GC/MS المركبات العطرية لنباتات الحمضيات وأشار إلى وجود العديد من المركبات المشابهة لما ظهرت في الدراسة الحالية لنبات اللافندر وهو Linalool , Linalyl acetate , وبنسبة بلغت 44.21 , 27.6 على التوالي وباستخدام اختبار MTT بينت نتائج الدراسة خصائص المركبات المضادة لداء الليشمانيات الإحشائية ويعزى التثبيط للنمو الحيوي للطفيلي لوجود المركبات النشطة وهي Linalool , Linalyl acetate , Limonene .

تقاربت الدراسة الحالية مع ما توصل اليه (2021) Arena *et al.* إذ أن مركب الليمونين Limonene المعزول من قشور النباتات الحمضية له تقييم وتأثير فعالين نشط كمضاد للالتهابات والفايروسات بسبب الخصائص العلاجية التي يمتلكها التي دخلت في تركيب علاج الالتهاب الرئوي الحاد الناجم عن الإصابة الفايروسية التي تصيب الجهاز التنفسي أستخدم لعلاج فايروس كارونا المرتبط بالمتلازمة التنفسية الحادة.

يبين الجدول (4-8) أن المركب Tetramethyl cyclopentan - 1,3 الذي تم تصنيفه بتقنية كروماتوغرافيا وبتركيز 5.29% يعد من المركبات الذي يصعب فصله بالطرق التقليدية بصورته النقية لذى وجدت تقنية الكروماتوغرافيا GC/MS حلا كاملا لتوصيف المخاليط المعقدة وللكشف عن تركيبها الكيميائي وتقاربت النتائج مع ما توصل اليه (2007) Jefford, إذ اثبت أن مركب Tetramethyl cyclopentan - 1,3 من اهم المركبات العضوية المتطايرة في النبات التي تدخل في العلاجات ضد داء الملاريا بعد مقاومة طفيلي الملاريا للعلاجات التقليدية التي يدخل في تركيبها الكلوركين و الميفلوكين .

أثبتت الدراسة الحالية نتائج مشابهة لدراسات عديدة إذ أظهرت نتائج نبات اللافندر قيد الدراسة (Gao *et al.*, 2020) وجود مركب Indan-1,3-diol monoacetate والذي تم الكشف عنه في نباتات أخرى إذ أشار الباحث إلى وجود هذا المركب في نبات عشبة الليمون العطري والذي تم تقييم فعاليته التضادية ضد المكورات العنقودية الذهبية في حين (Daliborca *et al.*, 2015) كشفت تحاليل تقنية GC/MS لمستخلص براعم نبات القرع المر أو الكريهة *Momordic charantia* وجود العديد من المركبات وكان أبرزها مركب Indan-1,3-diol monoacetate و بين من خلال دراسته امتلاك المركب خصائص كيميائية مضادة للأوكسدة ولوحظ في دراسة أخرى (Wells *et al.*, 2018) وجود كل من مركب beta.-Myrcene, Limonene ,Camphor في ازهار نبات اللافندر وأثبتت الدراسة امتلاكها نشاط ضد بعض الممرضات البكتيرية والفطرية مثل بكتريا *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* والفطريات الخيطية *Pseudomonas aeruginosa* , *Aspergillus niger* , *Penicillium expansum* إذ تعمل على إيقاف نموها وتكاثرها عند تركيز 0.4 مايكرو ليتر/مليتر إلى 4,5 مايكرو ليتر/مليتر قدرته على تمزيق جدار الخلية وتعطيل استهلاك الاوكسجين الخلوي وبالتالي الموت المبرمج للخلايا .

لوحظ في نتائج الدراسة الحالية تقارب لما توصل اليه الباحث (Sangsuwan *et al.*, 2016) حول تقييم وتصنيف المركبات الفعالة المتمثلة *Alpha. Terpineol* , *Isoborncol* , *Alpha.-Pinene* , وأشار إلى التأثير المباشر ضد الفطريات الممرضة من نوع *Botrytis cinerea* والتي تسبب مرض العفن الرمادي للفراولة بعد حصادها في حين أظهر سمية ضعيفة ونشاط غير مباشر ضد *Penicillium expansum* الفطر الممرض لفاكهة التفاح والمسببة بمرض البياض الدقيقي والتي تستعمر الفاكهة بعد الحصاد وتعزى السمية العالية لزيت اللافندر لقابليته العالية للنفاذية عبر الخلية وتعطيل النمو الفطري أو البكتيري بسهولة اكبر.

أبدت الدراسة الحالية اختلاف عن مما أشار اليه (Todorova *et al.*, 2022) إذ تم الكشف وعزل العديد من المركبات من نبات اللافندر بتقنية كروماتوغرافيا وجاءت النتائج بتصنيف وعزل مركب Borneol , *Cryptone* , الذي لم يظهر في الدراسة الحالية في حين ظهرت المركبات *trans-. beta. - , Camphor* , *Ocimene* , *Caryophyllene oxid* بتراكيز أعلى مما تم الكشف عنها في الجدول (4-8) وبلغت النسبة 9.308 , 6.807 , 10.41 على التوالي ويعود سبب اختلاف نتائج الدراسة الحالية هي طرائق استخلاص النبات والجزء المستخدم من النبات ووقت جمع النبات كل هذه الأسباب تصنع اختلافات في المركبات الكيميائية.

جاءت النتائج الحالية مقارنة لما توصل اليه (Joshi *et al.* (2022) عن أهمية الزيوت العضوية كمضادات للطفيليات إذ تباينت القدرة على التثبيط الحيوي واختراق الخلية تبعاً لتراكيز الزيت العطري ونوع الطفيلي وأوضح الباحث أن مركب 1-Benzopyran-2-one - يمتلك قدرة على تثبيط طفيلي الفيلاريا عند معاملته بالتراكيز العالية المتمثلة ب 1000, 500 مايكرو ليتر / مليلتر.

يبين الجدول (4-8) في الدراسة الحالية وجود مركبات ذات تراكيز منخفضة جداً أو قد تكون معدومة وتم الكشف عنها في دراسات سابقة أبرزها مركب ISO-Caryophyllene والذي تم الإشارة إليه من قبل (Fidyt *et al.* (2016) ويعد من أهم مركبات السيسكويتربينات الثنائية الحلقات الذي يتواجد بصورة نقية في الطبيعية واثبت أهميته كمضاد لسرطان الرئة والقولون أو مسكن للأورام في حين أبدت الدراسة التي أشار إليها الباحثان Zielińska and Feder, (2020) أهميه مركب endo-2-Methylbicyclo[3.3.1]nonane الذي ينتمي إلى التربينات ويظهر له نشاط حيوي في الكيمياء الطبية لذا كانت التربينات محط اهتمام الباحثين وكشف (AL Rubaye *et al.*, (2017) من خلال دراسته إلى تشخيص مركب 1,1'-Benzene, GC/MS بتقنية *Cuminum cyminum* من بذور نبات الكمون [oxybis(methylene)]bis- واثبت أهميته الفعالة كمضاد للأحياء المجهرية .

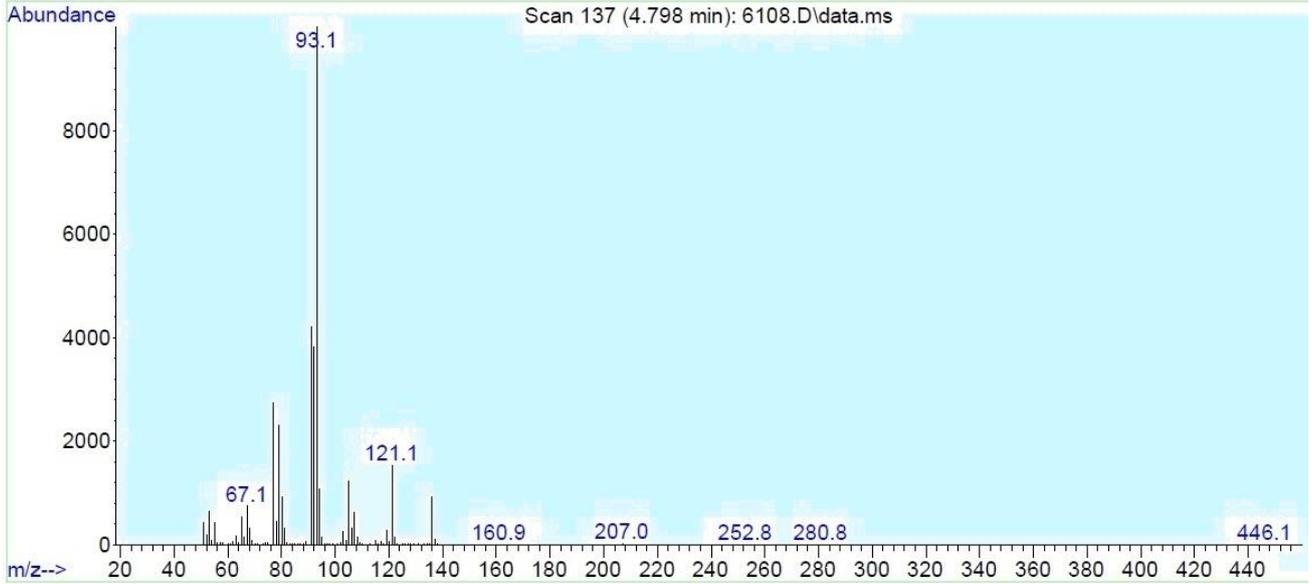
#### 2-1-6-4 الكشف عن المركبات الكيميائية للزيت العطري لنبات السرو المتوسط بتقنية

##### الكروماتوغرافيا

أوضح الجدول (4-9) المركبات الكيميائية للزيت العطري الخام المعزول من أوراق نبات السرو المتوسط *Cupressus sempervirens* التي تم الكشف عنها بتقنية الكروماتوغرافيا الغاز المزود بمطيافية الكتلة إذ أظهرت النتائج 18 نوع من المركبات الكيميائية لزيوت السرو المتوسط وتم الكشف عن وجود 15 مركب بتركيز أعلى من 100 ملي غرام وأن أعلى زمن احتجاز للزيت كانت في الدقيقة 22.6 لمركب 1-Methyladamantane بينما سجل أدنى زمن احتجاز في 5.306 دقيقة للمركب alpha. -pinene وتفاوتت المركبات في زمن الاحتجاز. كما بينت النتائج احتواء النموذج على أعلى تركيز للمركبين الفعالين Delta.3-Carene, alpha. -pinene بنسب تركيز 26.35, 15.78 على التوالي. وتم الإشارة إليهما في الشكل (7-4) (8-4).

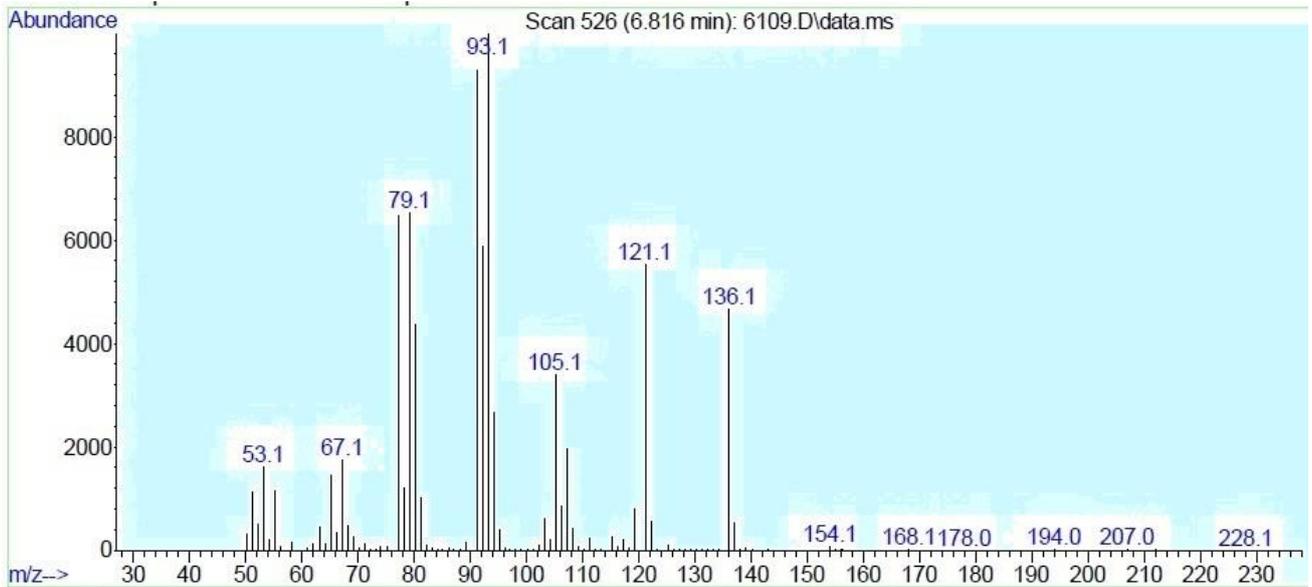
جدول رقم (4-9) المركبات الفعالة لزيت نبات السرو المتوسط *Cupressus sempervirens* وزمن الاحتجاز والنسبة المئوية للمساحة في فحص GC/MS

وقت الاحتجاز	المساحة (%)	اسم المركب الفعال	تسلسل
5.306	26.35	.alpha.-pinene	1
6.826	15.78	Delta.3-Carene	2
7.179	7.41	dl-Limonene	3
14.464	7.09	alpha. -terpinenyl acetate	4
17.686	6.95	$\beta$ -Himachalene	5
10.962	6.50	p-Menth-1-en-8-ol	6
8.399	4.52	alpha. -terpinolene	7
16.514	3.45	alpha. -Himachalene	8
8.741	3.30	Linalool	9
5.815	2.50	Sabinene	10
22.673	2.20	1-Methyladamantane	11
17.09	2.14	gamma. -himachalene	12
5.882	1.31	2-. Beta. -pinene	13
5.42	1.15	Camphene	14
11.117	0.05	proanthocyanidin -	15
11.201	0.03	Verbenone	16
11.351	0.01	3-Nonen-5-yne, 4-ethyl-	17
11.444	0.04	6,6-Dimethylcycloocta-2,4-dienone	18



الشكل (4-7) التحليل الكروماتوغرافيا لمركب **alpha. -pinene** المستخلص من الزيت العطري لنبات

السرو المتوسط وزمن احتجازها في جهاز GC/ MS



الشكل (4-8) التحليل الكروماتوغرافيا لمركب **Delta.3-Carene** المستخلص من الزيت العطري لنبات

السرو المتوسط وزمن احتجازها في جهاز GC/ MS

تم تصنيف المركبات المشخصة كيميائيا من الزيت العطري المعزول من أوراق نبات السرو المتوسط *Cupressus sempervirens* وقد تبين أنها تنتمي إلى القلويدات، التربينات، الفينولات، الستيرويدات، الاسترات، الكحول، والزيوت العطرية والدهون غير المشبعة وكانت جميع المكونات تحتوي على بنية كاربون حلقي غير مشبعة باستثناء مركب اللينالول Linalool والذي سجل تركيز بنسبة 3.30 مايكرو ليتر/مليتر في حين سجلت

المركبات التربينية الأحادية  $\alpha$ -terpinenyl, dl-Limonene, Delta.3-Carene,  $\alpha$ -pinene, 1-Methyladamantane, Sabinene, p-Menth-1-en-8-ol, acetate, 26.35, 3.45, 4.52, 6.50, 6.95, 7.09, 7.41, 15.78, % على التوالي وكانت المركبات المصنفة من الهيماشالين  $\gamma$ -himachalen,  $\beta$ -Himachalene,  $\alpha$ -Himachalene بتراكيز بلغت 6.95, 3.45, 2.14% أما مركب Camphene فكان بنسبة 1.15% نسبة مقارنة من Sabinen بنسبة 2.5% في حين سجلت نسب منخفضة التراكيز أو تكاد أن تكون معدومة من مركب 2-Beta.-Pinene و تتضح الفعالية العالية لنبات سرو البحر المتوسط كمضادات للأكسدة ذات الاصل النباتي ومضادات ذات كفاءة دوائية عالية ضد الأحياء المجهرية لاسيما المركبات التربينية والمركبات الليفانية المشبعة و أيزو مرات مركب هيماشالين ، وهي ألفا وبيتا وجاما التي كانت بنسب عالية كما موضح في الجدول (4-9) .

أظهرت الدراسة تشابه مع نتائج Rguez et al . (2023) حول تقييم المركبات الكيميائية المصنفة لنوعين من النبات والمعزولة من الأجزاء الهوائية لنبات السندرک *Tetraclinis articulata* ونبات سرو البحر المتوسط وكان الهدف من التجربة قياس تأثير السمية الخلوية باختبار MTT ضد الليشمانيا *leishmaniasis visceral* , *infatiam* , وأوضحت النتائج امتلاك النبات *Tetraclinis articulata* نشاطا منخفضا في حين اظهر النبات *Cupressus sempervirens* نتائج تثبيط عالية ضد الليشمانيا وتعزى فعالية السرو المتوسط نسبة إلى المكونات الناتجة مثل مركب Linalool Alpha.-Pinene واللدان ظهرا بتراكيز مقارنة لما جاءت به نتائج الدراسة الحالية و سجلا نسبة قتل جيدة اذ ما تم مقارنتها مع الأدوية القياسية المضادة لليشمانيا المتمثلة بالبنتاميدين .

أوضحت دراسة Chowdhury and Kumar. (2020) أن مركبات التربينات المتمثلة -Alpha. Terpinenyl Acetate, Alpha.-terpinolene هي مركبات ناتجة عن التحلل الكيميائي لزيت العطري لنبات السرو المتوسط بتقنية الكروماتوغرافيا التي ظهرت بتراكيز اقل مما توصلت اليها الدراسة الحالية الموضحة في الجدول (4-9) واثبت الباحثان اهمية التربينات الأحادية في علاج اضطرابات الجهاز الهضمي والجهاز التنفسي وأشار الباحث (2020) Lam et al ., ان مركب Terpinenyl Acetate من المركبات التربينية نادر الوجود وتم الاستخدام بنطاق واسع في علاج الالتهابات الطفيلية الناجمة من المثقيبات *Trichomonas vaginalis* والتهابات التي تسببها طفيليات الديدان الخيطية *Haemonchus contortus* والديدان الشريطية *Gasterosteus aculeatus*.

أبدت دراسة أخرى (Kuiate *et al.*, 2006) المكونات الطبيعية مثل التربينات و الديتربينات المستخلصة من أوراق وازهار السرو المتوسط تمتلك فعالية في الاختبارات الحيوية ويعد نبات *Cupressus sempervirens* من النباتات الغنية بالمركبات النشطة مثل مركب  $\Delta^3$ -Carene, Sabinene, Limonene والتي تكرر ظهورها في نتائج الدراسة الحالية والموضحة في الجدول (4-9) وتم معاملة هذه المركبات بتراكيز بين  $\mu\text{l/ml}$  500-1000 ضد الفطريات الجلدية وكشفت التراكيز المنخفضة التثبيط الحيوي ضد الفطريات ويعزى السبب إلى المكون الذي يدخل في تركيب النبات .

أشارت الدراسة الحالية تقارب مع ما أشار اليه (Hassanzadeh *et al.*, 2005) إذ أن مستخلص الميثانول والايثانول وخلات الايثيل المعزول من الأجزاء الهوائية لنبات السرو المتوسط يمتلك نشاط حيوي ضد البكتريا والايثانول وبتراكيز بين  $\mu\text{l/ml}$  2000-10000 اثبتت التثبيط الحيوي للبكتريا عند التراكيز العالية أما الفطريات فكانت معاملة بتركيز بين  $\mu\text{l/ml}$  500 -1000 كشفت النتائج أن التركيزات المنخفضة لها تثبيط عالي ضد الفطريات على خلاف معاملة البكتريا ضد نوعين من الفطريات *Candida albicans*, *Aspergillus Niger* في حين بينت الدراسة (Arguie *et al.*, 2021) احتواء ازهار نبات السرو المتوسط على مركب 2,3,5-Phenol, trimethyl- والذي تم رصده في الدراسة الحالية واثبت الباحث أن للمركب الناتج خصائص كيميائية ضد بكتريا الاشريكية القولونية *Escherichia coli* .

تتوافق الدراسة الحالية مع الباحث (Shi *et al.*, 2012) من خلال عزل 37 مكون كيميائي من نبات السرو البحر المتوسط *Cupressus sempervirens* وكان من اهم المركبات العضوية المتطايرة في النبات p-Menth-1-en-8-ol والذي اثبت دورا فعال ضد الآفات الحشرية والذي تم تصنيفه في نتائج الدراسة الحالية وبنسبة تركيز عالية بلغت 6.50 % وأشار (Daaboul *et al.*, 2017) أن مركبات الهيم شالين  $\alpha$ -Himachalane,  $\beta$ -Himachalane,  $\gamma$ -Himachalane دخلت كعوامل مضادة لتحطيم الغشاء الحيوي وأثبتت فعاليتها ضد ثلاث خطوط من الخلايا السرطانية البشرية سرطان القولون وسرطان المستقيم وسرطان الغدد الليمفاوية إذ تعمل على تثبيط نمو الورم مع أعلى نشاط سام للخلايا السرطانية وبرزت أهميتها في الدراسة الحالية بتراكيز 2.14, 3.45, 6.95% والمشار إليها في الجدول (4-9).

خلال دراسة اجراها الباحث (Huang *et al.*, 2021) حول فعالية مستخلصات نبات السرو المتوسط ضد داء المقوسات الكوندية وكان الهدف منها هو إيجاد بدائل علاجية بسبب محدودية الادوية المتاحة و أضراره الجانبية وأثبتت الدراسة بعد استخلاص زيت السرو المتوسط بتقنية GC/MS ومعاملة طفيلي المقوسات الكوندية بالتراكيز 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25 مايكرو ليتر /مليتر ثم اجراء فحص السمية الخلوية باختبار MTT اثبتت أن التراكيز المنخفضة لها فعالية في التثبيط الحيوي مما يدل على فعالية المكونات النشطة والتي تم تكرار ظهورها في نتائج دراسة الحالية في الزيت العطري التي تتفاعل بشكل مختلف مع الميتوكوندريا من خلال تحطيم الجذور الحرة لتقليل من الاجهاد التأكسدي .

أبدت الدراسة (Meng *et al.*, 2023) أن المستخلصات الناتجة من الزيت العطري نبات السرو المتوسط تكتسب مكونات وظيفية ساعدتها للدخول في الصناعات الكيميائية وحفظ الأغذية من الاكسدة والتلف ضد الاحياء المجهرية ومنها مركب Camphor, dl-Limonene I ويعد من المركبات العطرية التي تشبه رائحة الصنوبر ويمتلك خصائص كيميائية من خلال تحسين قدرة العنصر على التبرع بالبروتونات مما يجعل لها خصائص تدخل في صناعات الكيميائية.

لاحظ الباحث (Rawat *et al.*, 2010) أن جميع أجزاء نبات سرو البحر المتوسط تمتلك خصائص طبية كون هذا النبات يحتوي على مضادات للفايروسات و للطفيليات ومن اهم المركبات الكيميائية المعزولة من أوراق وثمار السرو المتوسط ويمتلك خصائص علاجية لتثبيط فيروس نقص المناعة البشرية دون هلاكه لامتلاكها مركب ذو فعالية تثبيطية يعرف proanthocyanidin ويعمل هذا المركب على تثبيط تضاعف الفايروس. وأثبتت الدراسة الحالية وجود المركبات التي تم الإشارة إليها من قبل (Sedaghat *et al.*, 2011) باستخدام التحليل اللوني للغاز مطياف الكتلة GC/MS وصنف وجود العديد من المركبات منها Methylaadamantane1 الذي اثبتت فعاليته ضد البعوض الناقل لمرض الملاريا وإبادة للحشرات ويتم إيلاء الكثير من الاهتمام للمنتجات الطبيعية في مكافحة ناقلات الأمراض بسبب الآثار الجانبية للمركبات العضوية والصناعية في التلوث البيئي.

في حين أشار الباحثان (Özkan and Zora, 2003) لوجود مركبات بتراكيز منخفضة جدا أو تكاد أن تكون معدومة مشابه لما جاءت بها الدراسة الحالية والموضحة في الجدول (4-9) مثل مركب 6,6-Dimethylcycloocta-2,4-dienone , Verbenone , 3-Nonen-5-yne, 4-ethyl والتي اثبتت أهميتها في الصناعات الكيميائية الحياتية .

## 3-1-6-4 المركبات الكيميائية المشتركة بين النوعين نباتي اللافندر

*Cupressus sempervirens*, والسرو المتوسط, و *Lavandula angustifolia*

أظهرت نتائج الدراسة الكيميائية بين مستخلص زيت اللافندر وزيت السرو المتوسط وجود مركبات مشتركة بين النوعين إذ أظهر مركب Linalool Alpha terpineol Limonene Alpha.-pinene في كلا النباتين في حين اقتصر وجود المركبات Indan-1,3-diol 1,1,3,3-Tetramethylcyclopentane monoacetate في نبات اللافندر بينما ساهم المركبان DELTA.3-Carene Himachalane بتمييز بين النوعين قيد الدراسة من الناحية الكيميائية إذ ظهر في نبات السرو المتوسط وأندم وجوده في نبات اللافندر كذلك الحال بالنسبة للمركبات ISO-Caryophyllene , endo-2- Methylbicyclo[3.3.1]nonane Benzene, 1, -[oxybis(methylene)]bis ,trans -.beta.-Ocimene , Caryophyllene oxide في نبات اللافندر وأندم وجودهم في نبات السرو المتوسط ومما تقدم يتضح أهمية المركبات ودورها الفعال في التمييز وعزل الأنواع النباتية وتشخيصها كيميائيا استناد إلى المركبات المكونة لها .

## Conclusions

## الاستنتاجات

- 1- بينت الدراسة الحالية إمكانية استخدام المستخلصات النباتية للنباتين *Cupressus sempervirens* و *Lavandula angustifolia* لاسيما الزيوت الطيارة كعلاج بديل لمضادات الحيوية.
- 2- من خلال فحص السمية الخلوية للطور أمامي السوط تحت تأثير المعاملة للزيوت الأساسية لنبات اللافندر والسرو المتوسط تبين أن النباتين يمتلكان الفعالية التثبيطية المضادة لنمو الخلايا الطفيلية وبنسب متفاوتة
- 3- يمتلك نبات اللافندر بشكل عام القدرة الأعلى للتثبيط الخلوي خارج جسم الكائن الحي. *In vitro*
- 4- للدراسة الكيميائية دور مميز لتزويد الباحثين بطبيعة المواد الايضية الكيميائية التي تساهم في العديد من الأنشطة الحيوية المهمة ومنها المركبات الاسترات القلويدات التربينات الدهون المشبعة السترويدات والزيوت الطيارة والتي ظهرت بنسب عالية ضمن النوعين المدروسين.
- 5- عكست دراسة الفعالية التثبيطية أهمية المحتوى الكيميائي من مركبات الايض الثانوي التي لها أهمية في تثبيط الطفيليات.

## Recommendations

## التوصيات

- 1- استخدام المكونات النشطة حيويًا لنبات اللافندر والسرو المتوسط لمكافحة نمو خلايا الطفيلي بطورها أمامي السوط.
- 2- دراسة تأثير المستخلصات النباتية لنبات اللافندر على غشاء الخلية الطفيلية لمعرفة العوامل المؤدية لموت الطفيلي ان يكون هذا المسار وسيلة جيدة لا نتاج علاج فعال ضد طفيلي الليشمانيا الحشوية في المستقبل.
- 3- اختبار تأثير الزيوت العطرية للنباتين قيد الدراسة الحالية على الأنواع الأخرى للطفيلي على سبيل المثال اللشمانيا المدارية *L.tropica* أو الليشمانيا الكبرى *L.major*.
- 4- دراسة تأثير المركبات الكيميائية المستخلصة للنباتين على كائنات حية مختلفة كالبكتريا والفطريات والحشرات وغيرها للتعرف على درجة حساسيتها وتأثيرها المثبط وتقدير كمية مضادات الاكسدة المتكونة.
- 5- التفصي بشكل شامل عن نواتج الايض الثانوية الموجودة في النوعين قيد الدراسة وتحديد أنشطتها الحيوية ومدى الاستفادة منها في مجالات الطبية للأدوية المستقبلية .
- 6- تثقيف وتوعية المواطنين صحيا حول خطورة المرض وطرائق انتقاله وهو من السبل الكفيلة للوقاية من داء بنوعيه اللشمانيا الجلدي والاحشائي واستخدام المبيدات الحشرية الفعالة ضد الحشرات وتوخي الحذر من المناطق الموبوءة ولاسيما وقت نشاط ذبابة الرمل.

## المصادر العربية

حبيب ، مفيد عبد اللطيف . ( 2006). تصنيف وبيئة حشرة ذبابة الرمل الفاصد : sand fly (Diptera : Psycholidae "Phlebotomiae" في محافظة البصرة / جنوب العراق . اطروحة دكتوراه,كلية العلوم ,جامعة البصرة , ص 183.

غياض، حميدة محمد حسن (2003) . دراسة وبائية مصلية لمرض الحمى السوداء باستعمال فحوصات مختبريه مختلفة في محافظة واسط، رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري /جامعة بغداد. 95 صفحة.

يوسف، ناصر غالي (2002) . مرض الحمى السوداء/ نشرة علمية/ دائرة صحة النجف/ قسم الرعاية الأولية / وزارة الصحة / العراق.

- Abbass, Z. A. A. (2014). Detection of kala-azar among children in Al Muthann province. *Al-Qadisiyah Journal of Pure Science*, 19(4), 28-33.
- Abdel-Aziz, S. M., Aeron, A., & Kahil, T. A. (2016). Health benefits and possible risks of herbal medicine. *Microbes in food and health*, 97-116.
- Abdullah, M. S., & Alqaisi, A. Q. I. (2022). Evaluating the in vitro anti-Leishmanial activity of essential oil extracted from *Cymbopogon Citratus* against *Leishmania donovani*. *Iraqi Journal of Science*, 1453–1463.
- Abe, Y., Sasaki, H., Osaki, T., Kamiya, K., Kawano, R., Miki, N., & Takeuchi, S. (2012). Rapid and accurate IC50 determination using logarithmic concentration generator. *16th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, MicroTAS 2012*, 956–958.
- Abed, I. J.; Ahmed S. M. and AL-Shimmary, H. (2021). Rosemary volatile oil as a preservative agent in some canned meat foods, *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 52(1):155-162.
- Abul-Doanej, Hasan., A, I.(2014). Study of Epidemiological aspects for Leishmaniasis and diagnosis of the Parasite by using Nested - Kinetoplast Minicircle DNA-PCR technique In the Province of Maysan – Iraq. M. Sc.Thesis. College of Education for pure Science. University of Basrah.
- Abuzaid, A. A., Aldahan, M. A., Al Helal, M. A., Assiri, A. M., & Alzahrani, M. H. (2020). Visceral leishmaniasis in Saudi Arabia: From hundreds of cases to zero. *Acta Tropica*, 212, 105707.
- Adaszyńska, M., Swarczewicz, M., Dziecioł, M., & Dobrowolska, A. (2013). Comparison of chemical composition and antibacterial activity of lavender varieties from Poland. *Natural product research*, 27(16): 1497-1501.

- Afonso, Andrea F, et al. Phytochemical composition and bioactive effects of extracts of *Salvia africana*, *Salvia officinalis* ectrina and aquatic *Salvia mexicana*. *Molecules* 24.23 (2019): 4327.
- Alam, M. S., Ghosh, D., Khan, M. G. M., Islam, M. F., Mondal, D., Itoh, M., Islam, M. N., & Haque, R. (2011). Survey of domestic cattle for anti-*Leishmania* antibodies and *Leishmania* DNA in a visceral leishmaniasis endemic area of Bangladesh. *BMC Veterinary Research*, 7(1), 1–7.
- Alavinia, S.;Arzamani, K.;Reihani, M. and Jafari, J.(2009).Some epidemiological aspects of cutaneous leishmaniasis in Northern Khorasan Province, Iran. *Iranian* .
- Albuquerque, P. L. M. M., Silva Júnior, G. B. D., Freire, C. C. F., Oliveira, S. B. D. C., Almeida, D. M., Silva, H. F. D., ... & Sousa, A. D. Q. (2009). Urbanization of visceral leishmaniasis (kala-azar) in Fortaleza, Ceará, Brazil. *Revista panamericana de salud pública*, 26(4), 330-333.
- Alexander, J ;Denise, H., McNeil, K., and Brooks, D. R., (2002). An essential role for IL-13 in maintaining a non-healing response following *Leishmania mexicana* infection. *Eur J Immunol* 32:2923– 2933.
- Al-Hussaini, R. M. A., Al-Tufaili, R. N., & Hussein, R. A. (2017). Molecular Study of Pediatric Visceral Leishmaniasis in Mid-Euphrates Area, Iraq. *Inter. J. Sci. Engineer. Res*, 8(8), 148–152.
- Ali, H. B.; Abed, I. J.; Augul, R. S and Fadhil, H. Y.(2020). insecticidal activity of eucalyptus sp. volatile oil against backswimmer insect anisops sardea, Iraqi *Journal of Agricultural Sciences*, 51(1):470-482.

- Al-Kassar, Nathaila Rashid Hamid (2005) .Epidemiology of visceral leishmaniasis among children in Thi-Qar governorate. Master Thesis. College of Veterinary Medicine. Baghdad University.
- Alkaisi, Sanaa Jafar Hamodi, et al. "Validity of Dipstick Rapid Test in the Diagnosis of Visceral Leishmaniasis in Two Hospitals in Baghdad City during two years (0-0)." Middle East Journal of Family Medicine 7.10 , 2015, p4.
- Al-Mijalli, S. H., El Hachlafi, N., Jeddi, M., Abdallah, E. M., Assaggaf, H., Qasem, A., ... & Mrabti, H. N. (2023). Unveiling the volatile compounds and antibacterial mechanisms of action of Cupressus sempervirens L., against *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 167, 115609.
- Al-Qurashi, S. (2018). Molecular Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis in Wasit Province – Iraq .M. Sc. Thesis. College of Science, University of Wasit, Iraq.
- Al-Sayyad, Sarah F., F. (2011). study of epidemiological study in Iraq. J Univ Anbar Pure Sci, 2010,4, 10.
- Alvar, J., Vélez, I. D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., ... & WHO Leishmaniasis Control Team. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PloS one, 7(5), e35671.
- Al-Warid, H. S.;Al-Saqr, I. M.;Al-Tuwaijari, S. B. and Zadawi, K. A. A. (2017). The distribution of cutaneous leishmaniasis in Iraq: demographic and climate aspects. Asian Biomedicine. 11(3): 255-260.
- Alzawbaey, R. S., & Hussain, H. J. (2017). Some epidemiological aspects of visceral leishmaniasis (kala-azar) in children of Al dejail district. The Medical Journal of Tikrit University, 22(1).

- 
- Ambit, A., Fasel, N., Coombs, G. H., & Mottram, J. C. (2008). An essential role for the *Leishmania major metacaspase* in cell cycle progression. *Cell Death & Differentiation*, 15(1): 113-122.
- Andrade Filho JD, Brazil RP. Relationships of new word Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) based on fossil evidence. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003; 98: 145–149.
- Andrade Neto, V. V., Cunha Junior, E. F., Faioes, V. D. S., Martins, T. P., Silva, R. L., Leon, L. L., & Santos, E. C. T. (2018). Leishmaniasis treatment: update of possibilities for drug repurposing.
- Aprotosoiaie, A. C., Gille, E., Trifan, A., Luca, V. S., & Miron, A. (2017). Essential oils of *Lavandula* genus: a systematic review of their chemistry. *Phytochemistry Reviews*, 16, 761-799.
- Arena, M. E., Alberto, M. R., & Cartagena, E. (2021). Potential use of Citrus essential oils against acute respiratory syndrome caused by coronavirus. *Journal of Essential Oil Research*, 33(4), 330-341.
- Argui, H., Suner, S. C., Periz, Ç. D., Ulusoy, S., Türker, G., Ben-Attia, M., ... & Said, H. (2021). Preparation of cypress (*Cupressus sempervirens* L.) essential oil loaded poly (lactic acid) nanofibers. *Open Chemistry*, 19(1), 796-805.
- Baneth, G., Petersen, C., Solano-Gallego, L., & Sykes, J. E. (2021). Leishmaniosis. *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 1179-1202.
- Bari, A.U. (2012). Clinical spectrum of cutaneous leishmaniasis: an overview from Pakistan. *Dermatology online journal*, 18(2): 4–4.

- Barry, M. A.;Koshelev, M. V.;Sun, G. S.;Grekin, S. J.;Stager, C. E.;Diwan, A. H.;Wasko, C. A.;Murray, K. O. & Woc-Colburn, L. (2014). Cutaneous leishmaniasis in Cuban immigrants to Texas who traveled through the Darién Jungle, Panama. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 91(2): 345-347.
- Bates, P. A. (2008). Leishmania sand fly interaction: progress and challenges. *Current opinion in microbiology*, 11(4): 340-344.
- Batiha, G. E. S., Teibo, J. O., Shaheen, H. M., Akinfe, O. A., Awad, A. A., Teibo, T. K. A., ... & Papadakis, M. (2023). Bioactive compounds, pharmacological actions and pharmacokinetics of Cupressus sempervirens. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 396(3):389-403.
- Bay, A., Aktekin, E. H., Ekşi, F., & Özcan, M. (2018). Kala-Azar ve lösemi: Nadir birliktelik. *Türk Pediatri Arşivi*, 53(1), 45–47.
- Behmanesh, F., Pasha, H., Sefidgar, A. A., Taghizadeh, M., Moghadamnia, A. A., Adib Rad, H., & Shirkhani, L. (2015). Antifungal effect of lavender essential oil (*Lavandula angustifolia*) and clotrimazole on *Candida albicans*: an in vitro study. *Scientifica*, 2015.
- Berman, J.D. (1988). Chemotherapy for Leishmaniasis : Biochemical mechanisms, clinical efficacy and future View. *Infect. Dis.*, 10 (3): 560 – 581. |
- Bhatia, S., & Goli, D. (2016). *Leishmaniasis: Biology, Control and New Approaches for Its Treatment*. Apple Academic Press.
- Blue Abdel-Alim Hassan (2006) The medicinal uses of the most important plants belonging to the compound and labial family between the Arab scientific heritage and modern science, PhD thesis, College of Science, University of.

- Blum, J.; Desjeux, P.; Schwartz, E.; Beck, B. and Hatz, C. (2004). Treatment of cutaneous leishmaniasis among travellers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(2): 158-166 .
- Boggild, A. K., Miranda-Verastegui, C., Espinosa, D., Arevalo, J., Adai, V., Tulliano, G., ... & Low, D. E. (2007). Evaluation of a microculture method for isolation of *Leishmania* parasites from cutaneous lesions of patients in Peru. *Journal of clinical microbiology*, 45(11), 3680-3684.
- Bonyadian, M., Hejazi, H., Azizi, H. R., Habibian, S., & Sayahi, A. (2015). Antileishmania activity of *Levandula officinalis* essence against *Leishmania major* in vitro media. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 17(3).
- Bonzheim, I., Giese, S., Deuter, C., Süsskind, D., Zierhut, M., Waizel, M., ... & Fend, F. (2015). High frequency of MYD88 mutations in vitreoretinal B-cell lymphoma: a valuable tool to improve diagnostic yield of vitreous aspirates. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 126(1): 76-79.
- Bouabdallah, S., Cianfaglione, K., Azzouz, M., Batiha, G. E. S., Alkhuriji, A. F., Al-Megrin, W. A. I., ... & Eldahshan, O. A. (2022). Sustainable extraction, chemical profile, cytotoxic and antileishmanial activities in-vitro of some Citrus species leaves essential oils. *Pharmaceuticals*, 15(9): 1163.
- Boulanger, N., Lowenberger, C., Volf, P., Ursic, R., Sigutova, L., Sabatier, L., ... & Bulet, P. (2004). Characterization of a defensin from the sand fly *Phlebotomus duboscqi* induced by challenge with bacteria or the protozoan parasite *Leishmania major*. *Infection and immunity*, 72(12): 7140-7146.

- Cardoso, L., Rodrigues, M., Santos, H., Schoone, G. J., Carreta, P., Varejão, E., ... & Schallig, H. D. (2004). Sero-epidemiological study of canine *Leishmania spp.* infection in the municipality of Alijó (Alto Douro, Portugal). *Veterinary parasitology*, 121(1-2): 21-32.
- Cavalcante, Í. J. M., & Vale, M. R. (2014). Epidemiological aspects of visceral leishmaniasis (kala-azar) in Ceará in the period 2007 to 2011. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 17, 911–924.
- Chaudhary, H. J., Shahid, W., Bano, A., Ullah, F., Munis, F., Fahad, S., & Ahmad, I. (2012). In vitro analysis of *Cupressus sempervirens* L. plant extracts antibacterial activity. *Journal of medicinal plants research*, 6(2), 273-276.
- Chowdhury, S., & Kumar, S. (2020). Alpha-terpinyl acetate: A natural monoterpenoid from *Elettaria cardamomum* as multi-target directed ligand in Alzheimer's disease. *Journal of Functional Foods*, 68, 103892.
- Ciocarlan, A., Lupascu, L., Aricu, A., Dragalin, I., Popescu, V., Geana, E. I., ... & Zinicovscaia, I. (2021). Chemical composition and assessment of antimicrobial activity of lavender essential oil and some by-products. *Plants*, 10 (9).
- Committee, E. (2010). *Control of the Leishmaniases. WHO Technical Report Series 949*. World Health Organization Geneva, Switzerland.
- Cota, G. F., de Sousa, M. R., Fereguetti, T. O., & Rabello, A. (2013). Efficacy of anti-leishmania therapy in visceral leishmaniasis among HIV infected patients: a systematic review with indirect comparison. *PLoS neglected tropical diseases*, 7(5), e2195.

- Daaboul, H. E., Daher, C. F., Bodman-Smith, K., Taleb, R. I., Shebaby, W. N., Boulos, J., ... & El-Sibai, M. (2017). Antitumor activity of  $\beta$ -2-himachalen-6-ol in colon cancer is mediated through its inhibition of the PI3K and MAPK pathways. *Chemico-Biological Interactions*, 275, 162-170.
- Daliborca, V. C., Dumitrascu, V., Popescu, R., Cimporescu, A., Vlad, C. S., Flangea, C., ... & Horhat, F. (2015). Gas Chromatography–mass Spectrometry Evidences for New Chemical Insights of *Momordica charantia*. *tandem*, 1(2), 17.
- Danh, L. T., Triet, N. D. A., Zhao, J., Mammucari, R., & Foster, N. (2012). Antioxidant activity, yield and chemical composition of lavender essential oil extracted by supercritical CO<sub>2</sub>. *The Journal of Supercritical Fluids*, 70, 27-34.
- Darshan S, Doreswamy R. (2004) Patented antiinflammatory plant drug development from traditional medicine. *Phytotherapy Research*, 18, 343– 57.
- Degenhardt J, Köllner TG, Gershenzon J. (2009) Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, 70, 1621-1637.
- Desjeux, P. (2001) . The increase in risk factors for leishmaniasis Worldwide. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 95: 239-243.
- Dhahir, N. K. Epidemiological study of Visceral Leishmaniasis in Diyala Province, Iraq. *Diyala Journal For Pure Science*, 2017, 13(2-part 2).
- Duque, G. A. and Descoteaux, A. (2015). *Leishmania* survival in the macrophage: where the ends justify the means. *Current opinion in microbiology*. 26: 32-40.
- Edrissian, G. H., Rokni, M. B., Mohebali, M., Nateghpour, M., Mowlavi, G., & Bahadori, M. (2016). History of medical parasitology and parasitic infections in Iran.

- El-Adhami, B. (1976). Isolation of *Leishmania* from a Black Rat in Baghdad area. *Am. J. Trop. Med.* 25: 759-761.
- El-Edan, M. (2001). Kala-azar Fuhood subdistrict; Sero- immune epidemiological study. M. Sc.Thesis, College of medicine, University of Basrah.
- El-Hassan, A.M. and Zijlstra, E.E. (2001). Leishmaniasis in Sudan (Cutaneous Leishmaniasis). *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 95 (1): 1-17.
- Elmahallawy, E. K., Martínez, A. S., Rodriguez-Granger, J., Hoyos-Mallecot, Y., Agil, A., Mari, J. M. N., & Fernández, J. G. (2014). Diagnosis of leishmaniasis. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 8(08), 961–972.
- Elshakh, A. S., Anjum, S. I., Qiu, W., Almoneafy, A. A., Li, W., Yang, Z., ... & Xie, G. L. (2016). Controlling and defence-related mechanisms of *Bacillus* strains against bacterial leaf blight of rice. *Journal of Phytopathology*, 164(7-8), 534-546.
- Emami SA, Khayyat MH, Rahimizadeh M, Fazly-Bazzazb S and Assili J. (2005). Chemical constituents of *Cupressus sempervirens* L. cv. *cereiformis* Rehd essential oils. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*; 1(1): 39-42.
- Erland, L. A., & Mahmoud, S. S. (2016). Lavender (*Lavandula angustifolia*) oils. *Essential oils in food preservation, flavor and safety*, 501-508].
- Esch, K. J., & Petersen, C. A. (2013). Transmission and epidemiology of zoonotic protozoal diseases of companion animals. *Clinical microbiology reviews*, 26(1), 58-85.
- Europe, C. of. (1997). Methods of pharmacognosy. *European Pharmacopoeia*, 3, 121–122.

- Ferro, C., Marín, D., Góngora, R., Carrasquilla, M. C., Trujillo, J. E., Rueda, N. K., ... & Ocampo, C. B. (2011). Phlebotomine vector ecology in the domestic transmission of American cutaneous leishmaniasis in Chaparral, Colombia. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 85(5), 847.
- Ferroglio, E., Maroli, M., Gastaldo, S., Mignone, W., & Rossi, L. (2005). Canine leishmaniasis, Italy. *Emerging infectious diseases*, 11(10), 1618.
- Fidy, K., Fiedorowicz, A., Strzdała, L., & Szumny, A. (2016).  $\beta$ -caryophyllene and  $\beta$ -caryophyllene oxide—natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer medicine*, 5(10), 3007-3017.
- Frías L, Leles D, Araújo A. (2013). Studies on protozoa in ancient remains - a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.*;108:1–12.
- Fukutani, K. F., Figueiredo, V., Celes, F. S., Cristal, J. R., Barral, A., Barral-Netto, M., & de Oliveira, C. I. (2014). Serological survey of *Leishmania* infection in blood donors in Salvador, Northeastern Brazil. *BMC infectious diseases*, 14(1), 1-8.
- Gao, S., Liu, G., Li, J., Chen, J., Li, L., Li, Z., ... & Zhang, S. (2020). Antimicrobial activity of lemongrass essential oil (*Cymbopogon flexuosus*) and its active component citral against dual-species biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Candida* species. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 603858.
- Generalísimo, A., María, J., y Pavón, M. (2015). Manual para el Diagnóstico, tratamiento y Control De Las Leishmaniasis :1–38.
- Georgiadou, S. P., Makaritsis, K. P., & Dalekos, G. N. (2015). Leishmaniasis revisited: current aspects on epidemiology, diagnosis and treatment. *Journal of Translational Internal Medicine*, 3(2), 43–50.

- 
- Gerald, D.; Schmidt, S.; Roberts. and Larry. (2006). Foundations of Parasitology, Text book, seventh Edition, McGraw Hill com. p.76-85.
- Ghoreishi SM, Kamali H, Ghaziaskar HS, Dadkhah AA. (2012) Optimization of Supercritical extraction of linalyl acetate from lavender via boxbehnken design. Chemical Engineering & Technology, 35, 1641-1648.
- Goto, H. and Lindoso, J. A. L. (2010). Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. Expert review of anti-infective therapy, 8(4): 419-433.
- Grandoni , G . M. (2005). The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. Int. J. Parasitol . , 35 :1169 – 1180 .
- Grela, E., Kozłowska, J., & Grabowiecka, A. (2018). Current methodology of MTT assay in bacteria—A review. *Acta Histochemica*, 120(4), 303–311.
- Guan, Z., Chen, C., Huang, C. et al. (2021). Epidemiological features and spatial–temporal distribution of visceral leishmaniasis in mainland China: a population-based surveillance study from 2004 to 2019. *Parasites Vectors* 14, 517 .
- Guerin, P. J., Olliaro, P., Sundar, S., Boelaert, M., Croft, S. L., Desjeux, P., ... & Bryceson, A. D. (2002). Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. *The Lancet infectious diseases*, 2(8), 494-501.
- Haidar, N. A., Diab, A. B., & El-Sheik, A. M. (2001). Visceral Leishmaniasis in children in the Yemen. *Saudi medical journal*, 22(6), 516-519.

- 
- Hakour , (2020). "Risk factors associated with leishmaniasis in areas most affected by infantile leishmaniasis in Morocco." *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*.
- Harhay, M. O., Olliaro, P. L., Costa, D. L., & Costa, C. H. N. Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. *Trends in parasitology*, 2011, 27.9: 403-409.
- Hashemi, H., and Kord, B. (2011). "Variation of within-stem biometrical and physical property indices of wood from *Cupressus sempervirens* L.," *BioResources* 6(2), 1843-1857.
- Hassan, H. H. and Mahmood, I. M. (2017). *Leishmania* - Baghdad boil & Black fever. Vol. 1st edit.: Fadholi press, Iraq.
- Hassan, M. A. M., Osman, O. F., El-Raba'a, F. M., Schallig, H. D., & Elnaiem, D. E. A. (2009). Role of the domestic dog as a reservoir host of *Leishmania donovani* in eastern Sudan. *Parasites & vectors*, 2, 1-7.
- Hassanzadeh Khayyat, M., Emami, S. A., Rahimizadeh, M., Fazly-Bazzaz, B. S., & Assili, J. (2005). Chemical constituents of *Cupressus sempervirens* L. cv. *Cereiformis* Rehd. essential oils. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 39-42.
- Hatam, G. R., Hosseini, S. M. H., & Ardehali, S. (1997). Dermotropic isolates of *Leishmania infantum* in Iran. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 91(4), 440-440.
- Herwaldt, B. L., & Magill, A. J. (2013). Leishmaniasis, visceral. *CDC Health Information for International Travel 2014: The Yellow Book*, 224.

- Huang, S. Y., Yao, N., He, J. K., Pan, M., Hou, Z. F., Fan, Y. M., ... & Tao, J. P. (2021). In vitro anti-parasitic activity of Pelargonium X. asperum essential oil against *Toxoplasma gondii*. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 616340.
- Ibrahim NA, El-Seedi HR, Mohammed MMD. (2009). Constituents and biological activity of the chloroform extract and essential oil of *Cupressus sempervirens*. *Chem Nat Comp* ;45:309–13.
- Ismail A, Lamia H, Mohsen H, Samia G and Bassem J. (2013) Chemical composition, bio-herbicidal and antifungal activities of essential oils isolated from Tunisian common cypress (*Cupressus sempervirens* L). *Journal of Medicinal Plants Research* ; 7(16): 1070-1080.
- Jarallah, Hind, and Haidar Hantosh. ,( 2013) "Visceral leishmaniasis in Thi-Qar Province (Iraq) for 10 years (2003-2012)." *Suez Canal Veterinary Medical Journal*. SCVMJ 18.1: pp27-35.
- Jefford, C. W. (2007). New developments in synthetic peroxidic drugs as artemisinin mimics. *Drug discovery today*, 12(11-12), 487-495.
- Jianu, C., Pop, G., Gruia, A. T., & Horhat, F. G. (2013). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula x intermedia*) grown in Western Romania. *Int. J. Agric. Biol*, 15(4), 772-776.
- Jorge, T. F., Rodrigues, J. A., Caldana, C., Schmidt, R., van Dongen, J. T., Thomas-Oates, J., & António, C. (2016). Mass spectrometry-based plant metabolomics: Metabolite responses to abiotic stress. *Mass spectrometry reviews*, 35(5), 620-649.

- Joshi, N., Hada, R., Gupta, S., Khan, J., Dobrowolski, J., Dhar, P. K., ... & Singh, S. (2022). Highly potent anti-malarial activity of benzopyrano (4, 3-b) benzopyran derivatives and in silico interaction analysis with putative target *Plasmodium falciparum* lactate dehydrogenase. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(11), 5159-5174.
- Kar, K.(1995). Serodiagnosis of Leishmaniasis. *Critical reviews in microbiology*, 21(2): 123–152.
- Kaye, P. M., Svensson, M., Ato, M., Maroof, A., Polley, R., Stager, S., Zubairi, S., & Engwerda, C. R. (2004). The immunopathology of experimental visceral leishmaniasis. *Immunological Reviews*, 201(1), 239–253.
- Kevric, I., Cappel, M. A., & Keeling, J. H. (2015). New world and old world Leishmania infections: a practical review. *Dermatologic clinics*, 33(3), 579-593.
- Kidvar Mohamed Rahim & Moslehi Mohamed Ashcan.( 2007), Epidemiological, clinical and therapeutic features of pediatric kala-azar.pediatric kala-azar in iran, vol 38.No.4. 8-11.
- Khan, M. F., Ahamad, T., & Rawat, P. (2017). Biomedicinal and chemical profile of *Cupressus sempervirens*: a mini review. *Insight Biomed*, 2, 1-5.
- Kozowska, Mariola, et al. (2010). Antimicrobial and antiprotozoal effect of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Polonorum Hortorum Cultus* 9.4 : 133-141.
- Kuiate, J. R., Bessière, J. M., Vilarem, G., & Zollo, P. A. (2006). Chemical composition and antidermatophytic properties of the essential oils from leaves, flowers and fruits of *Cupressus lusitanica* Mill. from Cameroon. *Flavour and fragrance journal*, 21(4), 693-697.

- Kumar, S., Tamura, K., Jakobsen, I. B., & Nei, M. (2001). MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software. *Bioinformatics*, 17(12), 1244-1245.
- Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C. (2013). Robbins basic pathology. Elsevier Health Sciences : 52, 612.
- Lainson, R., Shaw, J. J., Souza, A. A. A., Silveira, F. T., & Falqueto, A. (1992). Further observations on *Lutzomyia ubiquitalis* (Psychodidae: Phlebotominae), the sandfly vector of *Leishmania* (Viannia) *lainsoni*. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 87(3), 437–439.
- Lam, N. S., Long, X., Su, X. Z., & Lu, F. (2020). Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and its monoterpene constituents in treating protozoan and helminthic infections. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 110624.
- Le, T. B., Beaufay, C., Bonneau, N., Mingeot-Leclercq, M. P., & QuetinLeclercq, J. (2018). Anti-protozoal activity of essential oils and their constituents against *Leishmania*, *Plasmodium* and *Trypanosoma*. *Phytochimie*, 1, 1-33.
- Lévêque, M. F., Lachaud, L., Simon, L., Battery, E., Marty, P., & Pomares, C. (2020). Place of serology in the diagnosis of zoonotic leishmaniasis with a focus on visceral leishmaniasis due to *Leishmania infantum*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 67.
- Loizzo MR, Saab AM, Tundis R, Statti GA, Menichini F, Lampronti I, et al. (2008) Phytochemical analysis and in vitro antiviral activities of the essential oils of seven Lebanon species. *Chem Biodivers* ;5:461–70.
- Manson-Bahr, P. E. C. (1996). Old World leishmaniasis. The Wellcome Trust illustrated history of tropical diseases., 206-217.

- Mansuri, R., Singh, J., & Diwan, A. (2020). An insight into the current perspective and potential drug targets for visceral leishmaniasis (VL). *Current Drug Targets*, 21(11), 1105-1129.
- Martinez, R. (2015). Epidemiology of paracoccidioidomycosis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 57, 11-20.
- Mascari, T. M., Stout, R. W., Clark, J. W., Gordon, S. W., Bast, J. D., & Foil, L. D. (2013). Insecticide-treated rodent baits for sand fly control. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 106(3), 113-117.
- Mazari, K., Bendimerad, N., Bekhechi, C., and Fernandez, X. (2010). "Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L.," *J. Med. Plants Res.* 4, 959- 964. M.
- McCall, L.-I.;Zhang, W.-W. and Matlashewski, G. (2013). Determinants for the development of visceral leishmaniasis disease. *PLoS pathogens*. 9(1): e1003053.
- McGwire, B. S., & Satoskar, A. R. (2014). Leishmaniasis: clinical syndromes and treatment. *QJM: An International Journal of Medicine*, 107(1), 7-14.
- Meng, Z. L., Qin, R. X., Wen, R. S., Li, G. Q., Liang, Z. Y., Xie, J. K., ... & Yang, Z. Q. (2023). Study on Synthesizing Isobornyl Acetate/Isoborneol from Camphene Using  $\alpha$ -Hydroxyl Carboxylic Acid Composite Catalyst. *Molecules*, 28(4), 1875.
- Miao, R., Wang, Z., Guo, Q., Wen, Y., Liao, Q., Zhu, Y., Shu, M., & Wan, C. (2017). Clinical and Epidemiologic Features of Visceral Leishmaniasis in Children in Southwestern China. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 36(1), 9–12.

- Milan, Javier, Ezio Ferroglia and Laia Solano Gallego. (2014): The role of wildlife in the epidemiology of *infantile Leishmania* infection in Europe. *Parasitology Research* 113 :20052014.
- Minowada, J., Ohnuma, T., & Moore, G. E. (1972). Rosette-forming human lymphoid cell lines. I. Establishment and evidence for origin of thymus-derived lymphocytes. *Journal of the National Cancer Institute*, 49(3), 891–895.
- Mitra, B. and Andrews, N. W. (2013). Irony of Fate: role of iron-mediated ROS in *Leishmania* differentiation. *Trends in parasitology*. 29(10): 489-496.
- Mniouil, Meryem, et al. "Epidemiological characteristics of visceral leishmaniasis in Morocco (1990–2014): an update." *Acta tropica* 170, 2017, pp169-177.
- Mohebali, M. (2013). Visceral leishmaniasis in Iran: review of the epidemiological and clinical features. *Iranian Journal of Parasitology*, 8(3), 348.
- Mohebali, M., et al. (2006) ."Application of direct agglutination test (DAT) for the diagnosis and seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis in Iran.", pp15-25.
- Mondiale de la Santé, O., & World Health Organization. (2016). Leishmaniasis in high-burden countries: an epidemiological update based on data reported in 2014. *Weekly Epidemiological Record= Relevé épidémiologique hebdomadaire*, 91(22), 286-296.
- Montante, M., & Castano, V. (2008). Chromatography-mass spectrometry characterization of Peru Balsam. *Nat Prod An Indian J*, 4, 243-247.
- Moon T, Chan YF, Wilkinson JM & Cavanagh HMA. Antifungal activity of Lava~zdula essential oil and oil volatiles. AICA National Conference, 2004; abstracts p4 Antioxidant activity, yield and chemical composition of lavender

essential oil extracted by supercritical CO<sub>2</sub>. *The Journal of Supercritical Fluids*, 70, 27–34.

- Morsy, T.A.; Naser, A.M.; El-Gibali, M.R.; Anwar, A.M. and El- Said, A.M. (1995). Studies on zoonotic Leishmaniasis among a group Cutaneous of temporary warkers in North Sinai Governorate, Egypt. *J. Egypt. Soc. Parasitol.*, 25(1): 99 - 106.
- Mosala, F. (2019). Étude prospective sur les parasites gastro-intestinaux des ovins et la santé publique à Abuzi. *Revue Marocaine Des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 7(2).
- Muhjazi, G., Gabrielli, A. F., Ruiz-Postigo, J. A., Atta, H., Osman, M., Bashour, H., ... & Allan, R. (2019). Cutaneous leishmaniasis in Syria: A review of available data during the war years: 2011–2018. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(12), e0007827.
- Murray, H. W., Berman, J. D., Davies, C. R., & Saravia, N. G. (2005). Advances in leishmaniasis. *The Lancet*, 366(9496), 1561-1577.
- Murray, Henry W. "Treatment of visceral leishmaniasis (kala-azar): a decade of progress and future approaches." *International Journal of Infectious Diseases* 4.3 (2000): 158-177.
- Murugaiyan, J., Kumar, P. A., Rao, G. S., Iskandar, K., Hawser, S., Hays, J. P., ... & van Dongen, M. B. (2022). Progress in alternative strategies to combat antimicrobial resistance: Focus on antibiotics. *Antibiotics*, 11(2), 200.
- Myles, O., Wortmann, G. W., Cummings, J. F., Barthel, R. V., Patel, S., Crum-Cianflone, N. F., ... & Gasser, R. A. (2007). Visceral leishmaniasis: clinical observations in 4 US army soldiers deployed to Afghanistan or Iraq, 2002-2004. *Archives of internal medicine*, 167(17), 1899-1901.

- Nejia H, Se ´verine C, Jalloul B, Mehrez R, Ste ´phane CJ.( 2013). Extraction of essential oil from *Cupressus sempervirens*: Comparison of global yields, chemical composition and antioxidant activity obtained by hydrodistillation and supercritical extraction. *Nat Prod Res* ;27:1795–9.
- Noyes, H. A., Reyburn, H., Bailey, J. W., & Smith, D. (1998). A nested-PCR-based schizodeme method for identifying *Leishmania* kinetoplast minicircle classes directly from clinical samples and its application to the study of the epidemiology of *Leishmania tropica* in Pakistan. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(10), 2877–2881.
- Oliveira, T. M. F., Furuta, P. I., Carvalho, D. D., & Machado, R. Z. (2008). Study of cross-reactivity in serum samples from dogs positive for *Leishmania sp.*, *Babesia canis* and *Ehrlichia canis* in enzyme-linked immunosorbent assay and indirect fluorescent antibody test. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17, 7-11.
- Organization, W. H. (1984). *The leishmaniasis: report of a WHO expert committee [meeting held in Geneva from 10 to 16 November 1982]*. World Health Organization.
- Orhan, I. E., & Tumen, I. (2015). Potential of *Cupressus sempervirens* (Mediterranean cypress) in health. In *The Mediterranean Diet* (pp. 639-647). Academic Press.
- Özkan, İ., & Zora, M. (2003). Transition structures, energetics, and secondary kinetic isotope effects for cope rearrangements of cis-1, 2-divinylcyclobutane and cis-1, 2-divinylcyclopropane: A DFT Study. *The Journal of Organic Chemistry*, 68(25), 9635-9642.

- 
- Paiva, V. C. F., & Careta, F. P. (2019). Comparison of the growth of promastigotes cellular lineages of *Leishmania amazonensis* by the sequential adaptation of Schneider's insect for RPMI 1640 medium culture. *Scientific Electronic Archives*, 12(6), 62–68.
- Paniker, C. K. J. (2007). *Textbook of medical parasitology*. (Issue Ed. 6). Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd.
- Plugatar, Y., Koba, V., & Mitrofanova, I. (2015). Inventory and Bioecological Assessment of Dendrologic Collection of Nikita Botanical Gardens. *Poljoprivreda i Sumarstvo*, 61(4), 277.
- Pokajewicz, K., Czarniecka-Wiera, M., Krajewska, A., Maciejczyk, E., & Wieczorek, P. P. (2023). *Lavandula x intermedia*—A Bastard Lavender or a Plant of Many Values? Part II. Biological Activities and Applications of Lavandin. *Molecules*, 28(7), 2986.
- Park M, Cho H, Jung H, Lee H, Hwang KT. (2014) .Antioxidant and anti-inflammatory activities of tannin fraction of the extract from black raspberry seeds compared to grape seeds. *Journal of Food Biochemistry*. ;38:259–270.
- Patel, Chirag N. , and others. (2022) ."Prospecting for Phytochemicals from Plants Possessing Antiviral Activities to Identify SARS-CoV-2 Hemagglutinin Esterase Inhibitors Through a Diligent Computational Workflow." *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* : 1–16.
- Poinar Jr, G., & Poinar, R. (2004). *Paleoleishmania proterus* n. gen., n. sp.,(Trypanosomatidae: Kinetoplastida) from Cretaceous Burmese amber. *Protist*, 155(3), 305–310.

- Politi, M., Ferrante, C., Menghini, L., Angelini, P., Flores, G. A., Muscatello, B., ... & De Leo, M. (2022). Hydrosols from *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, and *Cupressus sempervirens*: Phytochemical analysis and bioactivity evaluation. *Plants*, 11(3), 349.
- Prajapati, V. K., Awasthi, K., Yadav, T. P., Rai, M., Srivastava, O. N., & Sundar, S. (2012). An oral formulation of amphotericin B attached to functionalized carbon nanotubes is an effective treatment for experimental visceral leishmaniasis. *Journal of Infectious Diseases*, 205(2), 333-336.
- Prakash Singh, O., Singh, B., Chakravarty, J., & Sundar, S. (2016). Current challenges in treatment options for visceral leishmaniasis in India: a public health perspective. *Infectious Diseases of Poverty*, 5(02), 1–15.
- Qasim Dawood AL-Tammemi,( 2008) .Clinical and Epidemiological Aspects of Visceral Leishmaniasis in Wasit Governorate .
- Quinnell, R. J., & Courtenay, O. (2009). Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology*, 136(14), 1915-1934.
- Quaresma, P. F., Murta, S. M. F., de Castro Ferreira, E., da Rocha, A. C. V. M., Xavier, A. A. P., & Gontijo, C. M. F. (2009). Molecular diagnosis of canine visceral leishmaniasis: identification of *Leishmania species* by PCR-RFLP and quantification of parasite DNA by real-time PCR. *Acta tropica*, 111(3), 289-294.
- Raouf, G. F. A., & Mohamed, A. W. L. (2020). Exploring the antiparasitic activity of medicinal plants. *Pharmaceutical Research*, 5(4), 67-71. (S) Saada, E. A., Kabututu, Z. P., Lopez, M., Shimogawa, M. M., Langousis,.

- Rashed, A., Rathi, D., Nasir, N., Rahman, A. (2021) Antifungal Properties of Essential Oils and Their Compounds for Application in Skin Fungal Infections: Conventional and Nonconventional Approaches, *Molecules*, 26, 1093, 1-42.
- Rawat, P., Khan, M. F., Kumar, M., Tamarkar, A. K., Srivastava, A. K., Arya, K. R., & Maurya, R. (2010). Constituents from fruits of *Cupressus sempervirens*. *Fitoterapia*, 81(3), 162-166.
- Ready, P. D. (2010). Leishmaniasis emergence in Europe. *Eurosurveillance*, 15(10), 19505.
- Ready, P. D. (2013). Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. *Annual Review of Entomology*, 58, 227–250.
- Rezvan, H. and Hamoon Navard, S. (2017). An Overview on *Leishmania* Diagnosis. *Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases*, 5(1): 1-11.
- Rguez, S., Essid, R., Bettaieb, I., Bourgou, S., Hammami, M., & Hamrouni Sellami, I. (2023). Antileishmanial Activity of the Essential Oils from Three Trees Obtained in Different Phenological Stages. *Acta Parasitologica*, 1-11.
- Ribeiro, R. R., Michalick, M. S. M., da Silva, M. E., Dos Santos, C. C. P., Frézard, F. J. G., & da Silva, S. M. (2018). Canine leishmaniasis: an overview of the current status and strategies for control. *BioMed research international*, 20.
- Romani A, Galardi C, Pinelli P, Mulinacci N, Heimler D. (2002) HPLC quantification of flavonoids and biflavonoids in Cupressaceae leaves. *Chromatographia*;56:469–74.
- Salotra, P. and Singh, R. (2006). Challenges in the diagnosis of post kala-azar dermal leishmaniasis. *Indian Journal of Medical Research*, 123(3): 295.

- Sangsuwan, J., Pongsapakworawat, T., Bangmo, P., & Sutthasupa, S. (2016). Effect of chitosan beads incorporated with lavender or red thyme essential oils in inhibiting *Botrytis cinerea* and their application in strawberry packaging system. *LWT*, 74, 14-20.
- Sasidharan, S., & Saudagar, P. (2021). Leishmaniasis: where are we and where are we heading?. *Parasitology research*, 120, 1541-1554.
- Satoskar, A. R., Bozza, M., Rodriguez Sosa, M., Lin, G., & David, J. R. (2001). Migration-inhibitory factor gene-deficient mice are susceptible to cutaneous *Leishmania major* infection. *Infection and immunity*, 69(2), 906-911.
- Scarpini, S., Dondi, A., Totaro, C., Biagi, C., Melchionda, F., Zama, D., ... & Lanari, M. (2022). Visceral leishmaniasis: epidemiology, diagnosis, and treatment regimens in different geographical areas with a focus on pediatrics. *Microorganisms*, 10(10), 1887.
- Sedaghat, M. M., Dehkordi, A. S., Khanavi, M., Abai, M. R., Mohtarami, F., & Vatandoost, H. (2011). Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Cupressus arizonica* EL Greene against malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Pharmacognosy research*, 3(2), 135.
- Setyawan, A., & Oktavianto, E. (2020). Efektifitas aromaterapi lavender terhadap tingkat kecemasan menghadapi OSCE pada mahasiswa keperawatan. *Jurnal Berkala Kesehatan*, 6(1), 9.
- Sharma, N. L., Mahajan, V. K., Kanga, A., Sood, A., Katoch, V. M., Mauricio, I., ... & Sharma, R. C. (2005). Localized cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania donovani* and *Leishmania tropica*: preliminary findings of the study of 161

- new cases from a new endemic focus in himachal pradesh, India. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 72(6), 819-824.
- Sharmeen, J. B., Mahomoodally, F. M., Zengin, G., & Maggi, F. (2021). Essential oils as natural sources of fragrance compounds for cosmetics and cosmeceuticals. *Molecules*, 26(3), 666.
- Sharquie, K.; AlĜ Talib, K. and Chu, A .(1988) .Intralesional therapy of cutaneous leishmaniasis with sodium stibogluconate antimony. *British Journal of Dermatology*.
- Shi, S., Hu, Y., Liu, J., Lei, J., Li, L., & Wu, J. (2012). Influences of *Chinolyda flagellicornis* on volatile organic compounds of *Cupressus funebris* in natural conditions. *Bulletin of Botanical Research*, 32(2), 248-252.
- Silva, Philomena, and Fernanda C. Dominguez. (2017): "Antimicrobial activity of coriander oil and its efficacy as a food preservative". *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57.1 (2017): 3547.
- Souhaila, M. A., Khawla, H. Z., & Khitam, Y. A. D.( 2010). Indirect fluorescent antibody test for serodiagnosis of visceral leishmaniasis: an epidemiological study in Iraq. *J Univ Anbar Pure Sci* ,4, 10.
- Srivastava ,Akhileshwar Kumar. (2018). "Significance of Medicinal Plants in Human Life." Pp. 1–24 in *Synthesis of Medicinal Agents from Plants*. Elsevier.
- Steverding, D. (2017). The history of leishmaniasis. *Parasites & Vectors*, 10(1), 1–10.
- Sukkar, F., Al-Mahdawi, S. K., Al-Doori, N. A., & Kadhum, J. A. (1981). Isolation of *Leishmania* from the spleen of a dog in Iraq. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 75(6), 859-860.

- Sundar S, & Rai, M.(2002). Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. *Clinical and diagnostic laboratory immunology* ,9 (5): 951–8. Sundar, S., Jha, T. K., Thakur, C. P., Sinha, P. K. & Bhattach.
- Sundar, S., & Singh, B. (2018). Emerging therapeutic targets for treatment of leishmaniasis. *Expert opinion on therapeutic targets*, 22(6), 467-486 .
- Sundar, S., Arora, R., Singh, S. P., Boelaert, M., & Varghese, B. (2010). Household cost-of-illness of visceral leishmaniasis in Bihar, India. *Tropical Medicine & International Health*, 15, 50-54.
- Suzan Abdel-Jabbar Abdel-Aziz, Rafid Abdel-Wahed Abdel-Nabi, & a. Dr.. Sabih Hilil Mayah. (2009 )" An epidemiological study of visceral leishmaniasis at children in Baghdad and suburbs. *Al-Kufa University Journal for Biology*, 1 (2).
- Sylvester, P. W. (2011). Optimization of the tetrazolium dye (MTT) colorimetric assay for cellular growth and viability. In *Drug Design and Discovery* (pp. 157–168). Springer.
- Tadese, Desalegn, et al.(2019 )"An epidemiological study of visceral Infectious Disease Clinics 33.1, pp 79-99.
- Taher, J. H. (2016)Some Epidemiological Aspects of Visceral Leishmaniasis in Iraq. *Al-Kufa University Journal for Biology*, 8(3); 2311-6544.
- Talmi-Frank, D., Nasereddin, A., Schnur, L. F., Schönian, G., Töz, S. Ö., Jaffe, C. L., & Baneth, G. (2010). Detection and identification of old world *Leishmania* by high resolution melt analysis. *PLoS neglected tropical diseases*, 4(1), e581.

- Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A., ... & Rather, M. A. (2019). A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial pathogenesis*, 134, 103580.
- Tarish, H. R., Jawad, F. M., & Abdala, K. D. (2009). Sero-Diagnosis of visceral leishmaniasis in pediatric patients in Mid-Euphrates area. *Journal of Kerbala University*, 7(3).
- Todorova, D., Yavorov, N., Lasheva, V., Damyanova, S., & Kostova, I. (2022). Lavender Essential Oil as Antibacterial Treatment for Packaging Paper. *Coatings*, 13(1), 32.
- Tognolini, M., Barocelli, E., Ballabeni, V., Bruni, R., Bianchi, A., Chiavarini, M., and Impicciatore, M. (2006). "Comparative screening of plant essential oils: Phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity," *Life sciences* 78(13), 1432-1419.
- Toroglu, S. (2007). "In vitro antimicrobial activity and antagonistic effect of essential oils from plant species," *J. Environ. Biol.* 28(3), 551-559.
- Torres-Guerrero, E., Quintanilla-Cedillo, M. R., Ruiz-Esmenjaud, J., & Arenas, R. (2017). Leishmaniasis: a review. *F1000Research*, 6.
- Tsai, Tzung Hsun, et al. (2008) "In vitro antimicrobial activities against carcinogenic streptococcus aureus and their antioxidant capacities: a comparative study of green tea and different herbs." *Food Chemistry* 110.4 :859-864.
- Turgut, A. C., Emen, F. M., Canbay, H. S., Demirdöğen, R. E., Cam, N., Kılıç, D., & Yeşilkaynak, T. (2017). Chemical characterization of *Lavandula angustifolia* Mill. which is a phytocosmetic species and investigation of its antimicrobial

- effect in cosmetic products. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 4(1), 283-298.
- Valkova, V. Duranova, H. Galovicova, L. Lvanisova, E. (2021) Lavender Essential Oil: Its Chemical Composition, And Antimicrobial And Antioxidant Properties, *Veda mladych*, 54-66. DOI: 10.15414/2021.978805522338.
- Wells, R., Truong, F., Adal, A. M., Sarker, L. S., & Mahmoud, S. S. (2018). *Lavandula* essential oils: a current review of applications in medicinal, food, and cosmetic industries of lavender. *Natural Product Communications*, 13(10), 1934578X1801301038.
- William, J.E. (1995). *Leishmania* and *Trypanosoma*. In *medical Parasitology Apractical. approach* . Gillespie , S .H . , Hawkey .P. M . Eds . Oxford University press, (46): 572–579.
- Welz, A. N., Emberger-Klein, A., & Menrad, K. (2018). Why people use herbal medicine: insights from a focus-group study in Germany. *BMC complementary and alternative medicine*, 18, 1-9.
- World Health Organization. (2010) .Control of the leishmaniases: report of a meeting of the WHO Expert Commitee on the Control of Leishmaniases, Geneva, 22-26 March 2010.
- Xavier, V., Finimundy, T. C., Heleno, S. A., Amaral, J. S., Calhelha, R. C., Vaz, J., ... & Barros, L. (2021). Chemical and bioactive characterization of the essential oils obtained from three Mediterranean plants. *Molecules*, 26(24), 7472.
- Yaseen, F. T., & Ali, H. Z. (2016). Using of Species-Specific Primers for Molecular Diagnosis of in Vitro Promastigotes of *Leishmania donovani*. *Iraqi Journal of Science*, 57(2A), 824–829.

- 
- Zhou, Z., Tan, J., Liu, J. (2011). Two new polyols and a new phenylpropanoid glycoside from the basidiomycete *Lactarius deliciosus*, *Fitoterapia* 82 ., , PP 1309–1312.
- Zielińska-Błajet, M., & Feder-Kubis, J. (2020). Monoterpenes and their derivatives—Recent development in biological and medical applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 7078.
- Zijlstra, E. E. (2016). The immunology of post-kala-azar dermal leishmaniasis (PKDL). *Parasites & vectors*, 9(1), 1-9.
- Zink, A. R., Spigelman, M., Schraut, B., Greenblatt, C. L., Nerlich, A. G., & Donoghue, H. D. (2006). Leishmaniasis in ancient Egypt and Upper nubia. *Emerging Infectious Diseases*, 12(10), 1616.
- Zuskerman, A. and Lainson, R. (1977). Parasitic Protozoa, *Lieshmania*. Academic Press, N.Y., PP:5.

## Summary

The current study was conducted on the visceral leishmaniasis parasite in general and children in particular. This study included identifying the spread of visceral leishmaniasis in the Children's Specialized Hospital in Karbala Governorate during the period from November 2022 to June 2023 and after the cases were diagnosed by doctors specializing in pediatrics and internal medicine. The diagnosis was made based on bone marrow examination. Among 62 patients who underwent examination, 8 individuals were confirmed to be infected with visceral leishmaniasis, distributed among the regions under study. The current study reviewed data on age group, sex, and the extent of prevalence by geographic region and month of infection.

The results showed that the highest infection rate was recorded in the month of March out of the total number of infections, 50%. The highest infection rate according to location of residence and gender was recorded in the Specialized Children's Hospital of Karbala Governorate, with a significance value of 0.1778 for the areas under study. It was also noted that the highest percentage of infection according to age factor was 60. % for males and 33.3% for females for the age group between 1-3 years. As the results showed, males are more affected by the disease than females.

The 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide cytotoxicity assay (MTT assay) was used to detect the effect of treatment with the volatile oils of the Mediterranean cypress and lavender plants on the viability of the anterior flagellar stage of the parasite *Leishmania visceralis* promastigotes. Then, 3 drug spectra were used for each plant, represented by the essential oil of the lavender plant

and the essential oil of the medium cypress plant, and the synergistic effect of the lavender and medium cypress oils. Secondly, a series of concentrations was conducted for each drug spectrum under study, with three replicates for each concentration. The concentrations for the plant essential oils were 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25 microliters/ml.

The results of the cytotoxicity test under the influence of the treatment of the essential oils of the two plants under study showed that the two highest concentrations of the volatile oil of the lavender plant, 1000 and 500 microliters/ml, gave the highest percentage of inhibition of cellular growth at a value of 85% and 88%, while the essential oil of the cypress plant recorded average results other than. The essential oil of the lavender plant showed that the low concentrations of 125 and 62.5 microliters/ml showed the highest percentage of biological inhibition on the *Leishmania anterior flagellum* parasite, reaching 84% and 87%. As for the synergistic action of the lavender plant and the medium cypress plant, as the concentration was 62.5 microliters/ml, it was recorded. The highest percentage of inhibition was 82.4%, while the concentration of 250 microlitres/ml recorded the lowest ability to kill cells, at a rate of 63%.

The study examined the chemical content of the volatile oil extracted from the buds of the lavender plant and the volatile oil extracted from the leaves of the Mediterranean cypress plant. The compounds were identified using the (GC/MS) technique.

Gas Chromatography Mass Spectrometry It has been shown that there are twenty-three chemical compounds in the volatile oil of the lavender plant and eighteen compounds in the medium cypress plant resulting from secondary metabolism, which have an effective role in medical treatments as an antioxidant, anti-viral, anti-parasitic, and as a means of defense for the plant. It included many compounds

belonging to terpenes, alkaloids, Steroids, esters, unsaturated fats, and essential oils. The compounds classified from the volatile oil of the lavender plant were characterized by high esters, and the benzyl benzoate compound recorded a percentage of 47.57% of the total compounds isolated over the rest of the compounds. As for the volatile oil of the medium cypress plant, the terpenes showed the highest percentage and were represented by the alpha-pinene compound. -pinene was recorded at a concentration of 26.35%, and Delta3-carene was at a concentration of 15.78%. Chemical compounds played an effective role in distinguishing between the two types, while the two compounds DELTA.3-Carene Himachalene contributed to distinguishing between the two types under study from a chemical standpoint, as it appeared in the medium cypress plant. It is absent in the lavender plant, as is the case for the compounds Methylbicyclo [3.3.1]nonane endo-2- , Caryophyllene oxide-, trans beta.-Ocimene -[oxybis (methylene)]bis Benzene, 1, , ISO-Caryophyllene in the lavender plant and is absent. Their presence in the Mediterranean cypress plant. From the above, the importance of the compounds and their effective role in distinguishing and isolating plant species and diagnosing them chemically based on their constituent compounds is clear.



**University of Karbala**

**College of Education for Pure Science**

**Department of Biology**

**Chemical and biological characterization of the essential oils  
of some plant extracts and their effect on the parasite  
*Leishmania donovani* (Ross, 1903) ex vivo.**

**A Thesis submitted to the Council of the College of Education for  
Pure Science / University of Karbala in partial fulfillment of  
requirement for the degree of Master of Biology - Zoology**

written by

**Maryam Salah Abdul Hassan Ali Al-Taie**

(Bachelor's degree from the College of Education for Pure Sciences/ Biology /  
University of Karbala - 2008)

Supervised by

**Asst. Prof. Dr. Hanan Zwair Mukhlif**

Second supervision

**Asst. Prof. Dr. Yaroub Mudar AL-Qazwini**

**2023 A.D.**

**1445 A.H.**