

**Effectiveness of Some Drugs on the  
Viability of *Entamoeba histolytica*  
*in Vivo* and *in Vitro***

**A Thesis**

**Submitted to the Council of the College of Medicine**

**University of Mosul**

**In Partial Fulfillment of the Requirements for the**

**Degree of Doctor of Philosophy**

**In**

**Microbiology (Parasitology)**

**by**

**Waleed Jamil Omar Barwari**

**Supervised by**

**Assistant Professor**

**Dr. AbdulSalam Muhammed Al-Mukhtar**

**September/ 2006 AC**

**1427 AH**

groups. All the animals were orally infected with *E. histolytica*, then after 7 days they were given drugs daily according to body weight prepared in advance for 5 days duration (metronidazole, albendazole, roxithromycin, azithromycin, and ciprofloxacin) and their combinations with metronidazole, in addition to the control without drug. The stool of each group was examined for viable trophozoites and counted, as compared to untreated and treated groups.

The results showed that all mice were not infected, but the infected rabbits showed significant differences at level ( $p < 0.01$ ), *E. histolytica* was highly sensitive to metronidazole at a dose of 250 mg/kg/day (22.7% viability); followed by roxithromycin, albendazole, azithromycin, and ciprofloxacin, with viability 50%, 55.6%, 62.5%, and 75% respectively, in relation to control 500% viability. While the better combination was metronidazole plus albendazole with a viability of 25%; followed by metronidazole plus roxithromycin; metronidazole plus azithromycin; metronidazole ciprofloxacin with a viability of 27.8%; 34.1%, 41.7% respectively.

In conclusions, the present study showed that metronidazole is the most effective anti-amebic drug, and the two newly used drugs (roxithromycin and albendazole) were less effective against *E. histolytica* in comparison to metronidazole.

## Contents

Title	Page
Abstract	<b>A</b>
Contents	<b>C</b>
List of tables	<b>E</b>
List of figures	<b>G</b>
List of abbreviations	<b>I</b>
Chapter one	
1. Introduction	<b>1</b>
Chapter two	
2. Literature review	<b>4</b>
2.1. Intestinal amebiasis	<b>4</b>
2.2. Morphology	<b>4</b>
2.3. Life cycle	<b>5</b>
2.4. Epidemiology	<b>10</b>
2.5. Clinical manifestations	<b>11</b>
2.6. Diagnosis	<b>12</b>
2.6.1. Stool examination	<b>12</b>
2.6.2. Antigen testing	<b>13</b>
2.6.3. Serology	<b>14</b>
2.6.4. Other methods	<b>14</b>
2.6.5. Visual inspection of the colon	<b>15</b>
2.7. Cultivation	<b>15</b>
2.8. Isolation	<b>18</b>
2.9. Susceptibility of <i>E. histolytica</i> to drugs <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i>	<b>19</b>
2.10. Treatment	<b>21</b>
2.10.1. Metronidazole	<b>21</b>
2.10.2. Alternative drugs	<b>22</b>
2.10.3. Drugs for eliminating luminal cysts	<b>22</b>
2.10.4. Treatment of associated peritonitis	<b>23</b>
2.11. Extra-intestinal amebiasis	<b>23</b>
2.11.1. Epidemiology	<b>23</b>
2.11.2. Clinical manifestations	<b>24</b>
2.11.3. Diagnosis	<b>25</b>
2.11.3.1. Imaging	<b>25</b>
2.11.3.2. Aspiration	<b>26</b>
2.11.3.3. Serological testing	<b>26</b>
2.11.4. Treatment	<b>27</b>
2.11.5. Prognosis	<b>28</b>
2.12. Other extra-intestinal sites	<b>29</b>
2.13. Prevention	<b>29</b>

# تأثير بعض المضادات الجرثومية على حيوية الحالة للنسيج في الكائن الحي وفي الزجاج

أطروحة مقدمة

الى مجلس كلية الطب في جامعة الموصل  
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة دكتوراه فلسفة  
في الأحياء المجهرية (الطفيليات)

من قبل

وليد جميل عمر برواري

بإشراف

الأستاذ المساعد

د. عبد السلام محمد المختار

أيلول / ٢٠٠٦

شهر شعبان / ١٤٢٧ هجري

ميلادي

## الخلاصة

داء المتحولات المعوية (إنتاميبيا هستوليتكا) لاتزال مشكلة صحية مهمة في المناطق النامية في العالم. ومن أجل البحث عن أدوية جديدة ضد المتحولات, انجزت هذه الدراسة حول تأثير بعض الادوية ضد المتحولة المعوية الحالة للنسيج على الفئران والارانب المختبرية وفي الزجاج. تم تحضير نظام الزرع في الزجاج باستعمال وسط (Locke's egg), ثم وضعت في نظام (microplate 96-well) التي كانت تحوي تراكيز مختلفة من الدواء (١, ١٠, ٢٥, ٥٠, و ١٠٠ µg/ml) لكل من الادوية (ميترونيديازول, روكزيثرومايسين, أزيثرومايسين, كلاريثرومايسين, ألبنديازول, سيبروفلوكزاسين) وكذلك اختلاطهم مع ميترونيديازول, والتي نظمت مقدماً إضافة الى الضابطة (control) بلا دواء. وبعد ذلك تم حضانتها مدة ٤٨ ساعة في ٣٧ درجة مئوية تحت ظروف خاصة (microaerophilic).

تم تقدير النتائج بواسطة حساب الاتاريف (trophozoites) في (haemocytometer chamber), الفروق كانت معنوية عند مستوى ( $p < 0.01$ ).

ظهرت النسبة المئوية في الميترونيديازول و ألبنديازول لتثبيط النمو ١٠٠٪ أي (٠٪ وجود النمو), و ( $IC_{50}$ ) عند تركيز ١٠ µg/ml, وتلتها روكزيثرومايسين اذ كانت نسبة النمو ٦٤٪ عند تركيز ١٠ µg/ml, ثم أزيثرومايسين و سيبروفلوكزاسين كل منهما ٦٥٪, ثم كلاريثرومايسين ٦٧٪, مقارنة بالضابطة ٣٠٠٪ نسبة النمو.

لكن الاختلاط الاحسن كانت ميترونيديازول + روكزيثرومايسين نسبة النمو ٤٣٪ و ( $IC_{50}$ ) عند ١٠ µg/ml, تلتها ميترونيديازول + ألبنديازول, ميترونيديازول + أزيثرومايسين نسبة النمو عند تركيز ١٠ µg/ml كانت ٤٤٪, ٥٠٪ على التوالي, ثم ميترونيديازول + كلاريثرومايسين, ميترونيديازول + سيبروفلوكزاسين نسبة النمو عند تركيز ٢٥ µg/ml كانت ٣٠٪, ٣٣٪ على التوالي.

كما تم استخدام انماط من الحيوانات المختبرية لتأكيد نتائج النظام الزرع في الزجاج, حوالي ٦٠ فأر و ٦٠ أرنب قسمت الى عشرة مجاميع لكل منها ستة فئران وستة أرانب.

أخذت العدوى بالمتحولة الحالة للنسيج (*E. histolytica*) عن طريق الفم, وبعد خمسة أيام أعطيت للارانب ولفئران عن طريق الفم الادوية (ميترونيديازول, روكزيثرومايسين, أزيثرومايسين, ألبنديازول, سيبروفلوكزاسين) وكذلك اختلاطهم مع ميترونيديازول, والتي نظمت مقدماً إضافة الى الضابطة (control) بلا دواء, حسب ملغم/كغم وزن الجسم/اليوم ولمدة خمسة

أيام. وتم فحص برزخ كل مجموعة للعثور على الاتاريف وحسابها مع مقارنة الضابطة و ميترونيذازول (كدواء قياسي).

وأظهرت النتائج ان جميع الفئران لم يحصل لهم اصابات ولكن الأرانب المصابة أظهرت فروق معنوية عند المستوى ( $p < 0.01$ ), المتحولة الحالة للنسيج كانت حساسة جداً للميترونيذازول عند جرعة ٢٥٠ ملغم/كغم/يوم نسبة النمو ٢٢,٧%, تلتها روكزيثرومايسين, ألبندازول, أزيثرومايسين, سيبروفلوكزاسين حيث نسبة النمو ٥٠%, ٥٥,٦%, ٦٢,٥%, ٧٥% على التوالي, مقارنة بالضابطة حيث نسبة النمو ٥٠%.

ان أفضل خلط كان لميترونيذازول + ألبندازول بنسبة نمو ٢٥%, تلتها ميترونيذازول + روكزيثرومايسين, ميترونيذازول + أزيثرومايسين, ميترونيذازول + سيبروفلوكزاسين حيث نسبة النمو ٢٥%, ٢٧,٨%, ٣٤,١%, ٤١,٧% على التوالي.

أظهرت الدراسة الحالية كاستنتاج ان ميترونيذازول هو أفضل دواء فعال ضد المتحولات, وكذلك الدوائين الجديدي الاستعمال (روكزيثرومايسين و ألبندازول) كانتا فعالين ضد المتحولة الحالة للنسيج ولكن بدرجة أقل من الميترونيذازول.