

Effect of Chloroformic Extract of *Tanacetum parthenium* in the treatment of *Giardia lamblia* infection in Balb/c Mice

Taher Elmi¹,
Shirzad Gholami²,
Mohammad Azadbakht³,
Hajar Ziaei⁴

¹ Student in Msc Parasitology, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Molecular and Cell Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Toxoplasmosis Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 9, 2013 ; Accepted January 29 , 2013)

Abstract

Background and purpose: *Giardia lamblia* is the most common intestinal parasites in Iran. Metronidazole is used to treat the infection by prescribing medication; this drug has many side effects. There are numerous reports of parasite resistance to the drug. Thus, according to the importance of Giardiasis, the present study was aimed to investigate the effects of chloroformic extract of *Tanacetum parthenium* in the treatment of *Giardia lamblia* infection in the cyst stage in Balb/c mice.

Material and Methods: In this experimental study, chloroformic extracts of *T. parthenium* were prepared in 20, 50 and 100 mg/ml concentrations. Cysts of *Giardia* were isolated from positive stool samples 0.85M sucrose solution and Balb/c mice were infected with cysts in five groups. Then, the chloroformic extracts of plant after diluting them were affected once a day for three days in infected mice and the effectiveness its was evaluated until the eight days. The results of study were recorded and compared with the control groups.

Results: The results of the present study had shown that the chloroformic extract of *T. parthenium*, at concentrations of 50 and 100 mg/ml /per/ kg of body weight in mice could not only decrease the number of viable cysts from the feces of infected mice , but also the viability of cysts. The greatest effect of chloroformic extracts of *T. parthenium* on *Giardia* was observed at a concentration of 100 mg/ ml in the infected mice, of which 90% concentrations were treated ($P < 0.05$).

Conclusion: According to results of this study, the chloroformic extract of *T. parthenium* at a concentration of 100mg/ml after seven days has the highest effect in the treatment of *G. lamblia* infection in mice Balb/c. Therefore, in future studies, the effect of *T. parthenium* in animal models, with increasing concentration and number of treatment, the plant in the various fractions can be evaluated.

Keywords: *Giardia lamblia*, *Tanacetum parthenium*, Chloroformic extract, In vivo, BALB/c mice

بررسی تأثیر عصاره کلروفومی گیاه بابونه در درمان عفونت ژیاردیا لامبلیا در موش BALB/c

طاهر علمی^۱
شیرزاد غلامی^۲
محمد آزاد بخت^۳
هاجر ضیائی^۴

چکیده

سابقه و هدف: ژيارديا لامبليا از شایع ترین انگل های روده ای در مناطق مختلف ایران است. درمان اصلی این بیماری تجویز داروی مترونیدازول است این دارو اثرات جانبی متعددی دارد و گزارشاتی مبنی بر بروز مقاومت انگل نسبت به داروی فوق وجود دارد. بنابراین با توجه به اهمیت بیماری ژياردیازیس، مطالعه حاضر جهت بررسی تأثیر عصاره کلروفومی گیاه بابونه (Tanacetum parthenium) در درمان عفونت ژياردیا لامبلیا در مرحله کیستی در موش BALB/c انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه که به روش تجربی انجام شد، عصاره کلروفومی گیاه بابونه در غلظت های ۵۰، ۲۰ و ۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر تهیه شد. کیست های ژياردیا با استفاده از محلول ساکارز ۰/۸۵ مولار از نمونه های مثبت تازه جمع آوری شد و موش های BALB/c در پنج گروه با آن ها آلوده شدند. سپس عصاره کلروفومی گیاه در سه غلظت در موش های آلوده یک بار در روز، به مدت سه روز تأثیر داده شد و میزان تأثیر آن تا روز هشتم مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از مطالعه ثبت و با گروه کنترل مقایسه شد.

یافته ها: نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد عصاره کلروفومی گیاه بابونه، در غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، نه تنها باعث کاهش تعداد کیست های زنده از مدفوع موش های آلوده می شود بلکه موجب کاهش درصد زنده بودن کیست ها نیز می شود. در این بررسی بیشترین تأثیر عصاره کلروفومی گیاه بابونه بر کیست های ژياردیا در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر در موش های آلوده مشاهده شد در این غلظت ۹۰ درصد موش های آلوده درمان شدند ($p < 0.05$).

استنتاج: براساس نتایج حاصل از این تحقیق، عصاره کلروفومی گیاه بابونه، در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر، در درمان عفونت ژياردیا لامبلیا مؤثر می باشد. بنابراین در مطالعات تکمیلی آینده در حیوانات آزمایشگاهی می توان با افزایش غلظت گیاه بابونه و تعداد دفعات درمان اثر دارویی این گیاه را در فراکسیون های مختلف بررسی نمود.

واژه های کلیدی: ژياردیا لامبلیا، عصاره کلروفومی گیاه بابونه، محیط درون تنی، موش BALB/c

مقدمه

ژیاردیا لامبلیا (Giardia lamblia) تک یاخته تازکدار روده ای است که به دو شکل تروفوزوئیت و کیست دیده می شود. عفونت ناشی از این انگل از تمام نقاط دنیا، از جمله مناطق مختلف ایران گزارش شده

E-mail: sgholami200@gmail.com

مؤلف مسئول: شیرزاد غلامی - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده جزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی

۱. دانشجوی کارشناس ارشد انگل شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. گروه فارماکونوزی و بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. مرکز تحقیقات توکسوپلاسموزیس، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۳/۱۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۲/۷/۱۴ تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۱۱/۱۹

است. میزان شیوع آن در مناطق مختلف جهان از یک تا ۲۵ درصد متغیر است (۲،۱). انتقال بیماری به روش مدفوعی- دهانی به خصوص از طریق مصرف غذا و آب آلوده (fecal-oral) صورت می گیرد، که مهم ترین راه انتقال آن از طریق آب آشامیدنی است (۳). این انگل در سراسر جهان و در آب و هوای معتدل و گرمسیری یافت می شود و می تواند سبب بیماری اسهال چرب و سوء جذب روده ای و از دست دادن وزن به خصوص در کودکان شود (۴-۶). درمان اصلی این بیماری تجویز یکی از داروهای مترونیدازول، فورازولیدون، تینیدازول و کیناکرین است این داروها اثرات جانبی متعددی مانند: تهوع، استفراغ، طعم بد دهان، زبری زبان، اختلالات گوارشی، بشورات جلدی، کهیر، سردرد، سرگیجه، آتاکسی، تیره شدن ادرار، خارش، درد هنگام آمیزش و ترشحات غلیظ سفیدرنگ دارند (۷،۸) و تأثیر آن ها قطعی نیست (۹،۱۰). از طرفی گزارشاتی مبنی بر بروز مقاومت انگل نسبت به داروهای فوق وجود دارد (۱۱-۱۲) و برخی از این داروها، در دوران بارداری منع مصرف دارند (۱۳). بنابراین مصرف این داروها به دلیل عوارض و مقاومت انگل قابل بحث است. با توجه به این که عفونت ژiardیازیس به وسیله کیست منتقل و انتشار پیدا می کند، لذا برای از بین بردن کیست روش های مختلفی پیشنهاد می شود که یکی از روش ها، کاربرد گیاهان و مواد خوراکی طبیعی به منظور از بین بردن کیست انگل می باشد (۱۴،۱۵). بنابراین با توجه به اهمیت بیماری ژiardیازیس لازم است اثر داروهای گیاهی ضد انگلی در از بین بردن اشکال کیستی و تروفوزویتی عامل این بیماری مطالعه شود از طرفی بررسی مصرف داروهای ضد انگلی میزان مصرف و مقاومت دارویی ناشی از آن امری ضروری به شمار می آید. تحقیقات سال های اخیر روی کیست انگل ژiardیا لامبلیا در شرایط آزمایشگاهی (In vitro)، نشان داده است که عصاره کلروفرمی گیاه الزی و عصاره هیدروالکلی گیاه گندنا به عنوان گیاهان بومی نواحی

شمالی ایران، توانایی از بین بردن کیست های ژiardیا لامبلیا را در شرایط برون تنی دارند (۱۶،۱۷). بنابراین ترکیبات این دو گیاه می تواند جهت از بین بردن کیست های انگل ژiardیا مورد استفاده قرار گیرد (۱۸-۱۶). برخی از محققین تأثیر عصاره گیاهان مختلف منجمله سیر، آویشن، موره، آنغوزه و غیره را روی کیست ژiardیا در محیط برون تنی و درون تنی را مورد مطالعه قرار دادند (۱۸-۱۴) از جمله این گیاهان دارویی می توان به گیاهانی مانند الیزی (*Allium paradoxum*) گندنا (*Artemisia annua*) و بابونه گاوی (*Tanacetum parthenium*) اشاره کرد. در سال های اخیر تأثیر ضد تک یاخته ای این گیاهان مانند تأثیر ضد لیشتمانیایی گیاه بابونه و تأثیر ضد مالاریایی گیاه گندنا به اثبات رسیده است (۱۴،۱۹،۲۰). هم چنین مطالعات متعددی در مورد گونه های مختلف از جنس آلیوم (*Allium*) مانند سیر خوراکی و پیاز انجام شده است (۱۵،۲۱).

گیاه بابونه گاوی جزء گیاهان بومی ایران به خصوص در مازندران می باشد و تاکنون تأثیر عصاره هیدروالکلی و فراکسیون کلروفرمی گیاه بابونه گاوی روی ژiardیا لامبلیا در شرایط درون تنی (in vivo) مورد بررسی قرار نگرفته است از سوی دیگر با توجه به نظر متخصصین رشته فارماکوکونی و مشکلات داروهای شیمیایی از لحاظ عدم کارایی لازم و داشتن اثرات سوء و بروز مقاومت که این مقاومت، در کشور ما نیز قابل انتظار است، گیاه بابونه جهت درمان عفونت ژiardیا لامبلیا در مرحله کیستی و مقایسه آن با داروی مترونیدازول انتخاب شد.

با توجه به اهمیت درمان ژiardیازیس و شیوع بالای (میانگین شیوع ۱۵-۱۲ درصد) این انگل در استان مازندران (۲۴-۲۲)، مطالعه حاضر جهت بررسی تأثیر عصاره کلروفرمی گیاه بابونه در درمان عفونت ژiardیا لامبلیا در مرحله کیستی در موش BALB/c و مقایسه آن با داروی مترونیدازول انجام شد. نتایج این

مطالعه می‌تواند جهت یافتن ترکیبی جایگزین در درمان ژیا ردیا مورد استفاده قرار گیرد که فاقد معایب داروهای رایج مورد استفاده در درمان به‌ویژه داروهای شیمیایی مانند مترونیدازول باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه

در این مطالعه که به روش تجربی انجام شد، گیاه مورد مطالعه از مناطق مختلف استان مازندران در فصل بهار جمع‌آوری گردید. به منظور نگهداری مناسب گیاه، قسمت‌های هوایی گیاه شامل گل را جدا نموده و در جریان هوا و حرارت معمولی، به دور از نور مستقیم خشک و خرد شد، سپس بخش توزین شده‌ای گل بابونه چشم گاوی به روش پرکولاسیون توسط محلول هیدروالکلی به نسبت چهار به یک در دانشکده داروسازی استخراج شد. محلول استخراج شده را در یک دکاناتور ریخته و با کلروفرم دکانته گردید (هر عصاره هیدروالکلی سه بار با کلروفرم شست و شو شد) و فاز کلروفرمی جدا شد. محلول حاصل توسط دستگاه روتاری اواپوراتور تبخیر و سپس خشک کرده و در نهایت پودر آن تهیه شد (۲۶،۲۵،۱۷).

تهیه غلظت استوک

از پودر حاصل از عصاره کلروفرمی در نسبت نه به یک از نرمال سالین و دی متیل سولفو کساید (DMSO) محلول استوک استاندارد تهیه شد. از محلول استوک استاندارد، غلظت‌های ۲۰ و ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر تهیه شد. در این مطالعه نتایج حاصل از تأثیر گیاهان با گروه کنترل (مترونیدازول) مقایسه شد غلظت‌های فوق با توجه به مطالعات رحیمی و همکاران (۲۰۱۲) و آزادبخت و همکاران (۲۰۰۳) تعیین شد (۲۷،۱۸،۱۷).

جمع‌آوری و جدا سازی کیست ژیا ردیا

جهت تهیه کیست ژیا ردیا، نمونه‌های مدفوع آلوده به کسیت از مدفوع تازه بیماران مراجعه کننده به

بیمارستان‌های دانشگاهی شهرهای ساری و قائم شهر جمع‌آوری شد برای تأیید آلودگی به ژیا ردیا لامبلیا نمونه‌ها با روش‌های مستقیم و آزمایش فرمالین-اتر با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. سپس کیست‌ها از باقی مانده مدفوع تازه با روش ساکارز تخلیص شدند (۲۴،۱۷) مراحل تخلیص کیست به این ترتیب بود که ابتدا نمونه مدفوع حاوی کیست در یک ظرف استریل با ۱۰ برابر حجم آن، با آب مخلوط شد و مخلوط حاصل صاف گردید، سپس نمونه در دور ۴۰۰ (rpm) به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد، به رسوب حاصل پنج میلی لیتر آب اضافه شد و محلول فوق به آرامی به سه میلی لیتر محلول ساکارز ۰/۸۵ مولار اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۶۰۰ rpm سانتریفوژ شد و با پیت پاستور به آرامی کیست‌هایی که در لایه میانی جمع شده بودند به لوله دیگر منتقل شد و سپس کیست‌ها سه بار با آب مقطر شست و شو داده شدند. برای تعیین حیات کیست‌ها (درصد زنده بودن) از روش استاندارد رنگ آمیزی حیاتی کیست‌ها (viability test) با ائوزین ۰/۱ درصد استفاده شد (۲۸،۲۷،۱۸،۱۷).

ارزیابی اثر دارو در شرایط درون تنی در موش BALB/c

۱- به منظور ارزیابی اثر دارو در شرایط درون تنی، تعداد ۲۵ سر موش BALB/c نر با وزن 20 ± 2 گرم که فاقد آلودگی بودند انتخاب شدند. سپس آن‌ها در پنج گروه پنج‌تایی تقسیم شدند. دو گروه به عنوان کنترل مثبت و منفی، سه گروه نیز به عنوان گروه آزمون در نظر گرفته شدند. به غیر از گروه کنترل منفی (موش‌های سالم فاقد آلودگی)، بقیه موش‌ها با تلقیح دهانی با سمپلر به تعداد 2×10^5 کیست زنده آلوده شدند برای تأیید آلودگی به مدت ۸ روز متوالی مدفوع موش‌ها مورد آزمایش قرار گرفت. پس از تأیید آلودگی، موش‌های گروه آزمون را به مدت سه روز متوالی با تلقیح دهانی با سمپلر ۰/۱ میلی لیتر با عصاره‌های گیاه بابونه درمان

شدند (۲۷). این عصاره‌ها به نحوی تهیه شده بود که با تلقیح ۰/۱ میلی لیتر از عصاره کلرفرمی بابونه گروه اول ۲۰، گروه دوم ۵۰ و گروه سوم ۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر دارو به ازای هر کیلوگرم وزن بدن خود دریافت می‌کردند. بعد از سه روز درمان با عصاره گیاهی و مترونیدازول، مدفوع موش‌ها به روش فرمالین- اتر جهت تعیین آلودگی تا هشت روز مورد آزمایش قرار گرفتند. در این تحقیق ۰/۱ میلی لیتر داروی مترونیدازول به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش با تلقیح دهانی با سمپلر استفاده شد. در مرحله بعد، پس از کشتن موش‌ها، محتویات روده آن‌ها از نظر وجود انگل ژیا ردیا مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های حاصل از مطالعه به صورت درصد کیست‌های زنده قبل و بعد از درمان در هر مرحله در شرایط درون تنی محاسبه و ثبت شد (۲۶)، (۲۹) و با نرم‌افزار SPSS و آزمون Paired T-test مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته ها

نتایج حاصل از مطالعه تأثیر عصاره کلرفرمی گیاه بابونه در غلظت‌های ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر روی تک یاخته ژیا ردیا لامبلیا در ۲۵ سر موش BALB/c در گروه آزمون (موش‌های آلوده تحت درمان) در محیط درون تنی در یک دوره درمانی به مدت سه روز در مقایسه با گروه کنترل مثبت (موش‌های الوده بدون درمان) نشان می‌دهد:

۱- نتایج بررسی آلودگی موش‌ها به کیست ژیا ردیا بعد از آلودگی با کیست‌های تک یاخته نشان می‌دهد حداقل هفت تا نه روز بعد از آلودگی، کیست انگل در مدفوع موش‌ها ظاهر شد. در برخی از موش‌های آلوده علائم ظاهری نظیر کسلی، گوشه گیری، ژولیده شدن موی بدن، تغییر قوام مدفوع نیز مشاهده شد. بررسی‌های روده موش‌های آلوده به انگل (کنترل مثبت) بهبود نیافته از بیماری پس از کشته شدن آن‌ها و پس از طی مراحل درمانی (هشت روز)

بیان گر تداوم آلودگی در آن‌ها بود.

۲- نتایج حاصل از تأثیر عصاره کلرفرمی گیاه بابونه در غلظت‌های ۲۰ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر روی تک یاخته ژیا ردیا لامبلیا در موش‌های BALB/c نشان می‌دهد که تأثیر درمانی (میزان بهبودی) عصاره کلرفرمی گیاه در موش‌هایی که دوز ۲۰ میلی گرم از عصاره گیاه را به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کرده بودند از پنج سر موش یک سر (۲۰ درصد) بوده است اگر چه در روز آخر میانگین کیست‌های زنده آن‌ها نسبت به قبل از درمان کاهش معنی‌دار، از لحاظ آماری پیدا کرده بود ($p < 0/05$) اما هیچ کدام از چهار سر موش این گروه از بیماری بهبود پیدا نکردند. اما در موش‌هایی که دوز ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر از دارو را به ازای هر کیلوگرم وزن بدن خود دریافت کرده بودند، اثر کشندگی عصاره کلرفرمی گیاه ۸۰ درصد (۴ سر موش) بوده است به نحوی که کاهش قابل توجهی در تعداد کیست‌های زنده مشاهده شد ($p < 0/05$). در این گروه تأثیر درمانی عصاره گیاهی در ۲۰ درصد موش‌ها (۱۰۰ درصد) بوده است (جدول شماره ۱).

۳- نتایج حاصل از تأثیر عصاره کلرفرمی گیاه بابونه در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر در هفت روز در موش‌هایی که این دوز را به ازای هر کیلوگرم وزن خود دریافت کرده بودند، نشان می‌دهد که در ۶۰ درصد موش‌ها (۳ سر) تأثیر درمانی عصاره گیاه ۱۰۰ درصد، در دو سر موش دیگر ۸۰ درصد و در مجموع با میانگین ۹۲ درصد در کل موش‌های آلوده بوده است. تأثیر عصاره کلرفرمی گیاه در این مرحله به نحوی بوده است که تعداد کیست‌های زنده کاهش پیدا کرد و موجب بهبودی موش‌ها این گروه گردیده است. به عبارتی ۶۰ درصد موش‌های این گروه (۳ سر) از بیماری به طور کامل بهبود یافتند ($p < 0/05$) (جدول شماره ۱).

۴- مقایسه تأثیر عصاره کلرفرمی گیاه بابونه در غلظت‌های ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر با تأثیر درمانی مترونیدازول به عنوان داروی انتخابی برای

درمان تک یاخته ژيارديا لامبليا در موش های BALB/c نشان می دهد که میزان تأثیر عصاره کلر فرمی گیاه بابونه در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر در ۸ روز در موش های آلوده بهتر از غلظت های ۲۰ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بوده است هر چند در این غلظت (۱۰۰ میلی گرم / میلی لیتر) در مقایسه با مترونیدازول کاهش میزان تأثیر ۱۰ درصد اثر عصاره گیاهی مشاهده شد ولی این میزان اختلاف از لحاظ آماری معنی دار نیست ($p > 0.05$). اما در مقایسه با تأثیر عصاره کلر فرمی گیاه بابونه در غلظت های ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر این اختلاف معنی دار می باشد ($p < 0.05$).

جدول شماره ۱: درصد تأثیر عصاره کلر فرمی گیاه بابونه در غلظت های مختلف، قبل و بعد از درمان روی کیست های ژيارديا لامبليا در موش های BALB/c (گروه آزمون و کنترل*)

میانگین درصد کیست های زنده		درصد تأثیر عصاره	
قبل از درمان	بعد از درمان	کلر فرمی بابونه بر	زنده بودن کیست ها
گروه های مورد بررسی (تحت درمان)			
گروه آزمون: درمان غلظت ۲۰ میلی گرم / میلی لیتر	۱۰۰ درصد	۸۰ درصد	۲۰ درصد
گروه آزمون: درمان غلظت ۵۰ میلی گرم / میلی لیتر	۱۰۰ درصد	۲۰ درصد	۸۰ درصد
گروه آزمون: درمان غلظت ۱۰۰ میلی گرم / میلی لیتر	۱۰۰ درصد	۸ درصد	۹۲ درصد
گروه کنترل مثبت (درمان با آب مقطر)	۱۰۰ درصد	۱۰۰ درصد	۰ درصد
گروه کنترل مثبت (درمان با مترونیدازول)	۱۰۰ درصد	۰ درصد	۱۰۰ درصد

* میانگین درصد کیست های زنده در هر گرم مدفوع بر اساس تفاوت میانگین درصد کیست های زنده قبل و بعد از درمان محاسبه شده است.

بحث

ژيارديا لامبليا، عامل ژياردیازیس، از تک یاخته های شایع می باشد آلودگی به این انگل از تمام نقاط دنیا با میزان آلودگی متفاوت گزارش شده است. این انگل در مناطق گرمسیر و نقاطی که تراکم جمعیت زیاد و امکانات بهداشتی کم است، شیوع بیشتری دارد (۱-۴). با توجه به این که عدم موفقیت در درمان ژياردیازیس انسانی پدیده رو به افزایشی است (۲۸، ۳۰) و یکی از راه های پیشنهادی سازمان جهانی بهداشت (WHO) در زمینه درمان، استفاده از فرآورده های مختلف طبیعی می باشد (۲۶، ۳۱) نیز با توجه به بومی بودن گیاه بابونه در استان مازندران می باشد، تأثیر عصاره کلر فرمی آن برای اولین بار در محیط درون تنی

در موش های آلوده به تک یاخته ژيارديا لامبليا در مطالعه حاضر بررسی شد. در این مطالعه تأثیر درمانی عصاره کلر فرمی در غلظت های ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر در مقایسه با تأثیر درمانی مترونیدازول در درمان تک یاخته ژيارديا لامبليا در موش های BALB/c مورد بررسی قرار گرفت نتایج نشان داد که تأثیر درمانی عصاره کلر فرمی گیاه بابونه در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر در موش های آلوده بهتر از غلظت های ۲۰ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بوده است. هر چند در این غلظت (۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) در مقایسه با مترونیدازول کاهش ۸ درصدی اثر درمانی مشاهده شد. بنابراین، طبق نتایج حاصل از این مطالعه می توان از عصاره کلر فرمی گیاه بابونه در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به مدت سه روز به عنوان یک ترکیب مؤثر جهت از بین بردن کیست های انگل ژيارديا استفاده کرده هم چنین به دلیل عدم عوارض جانبی آن می توان از به عنوان جایگزین داورهای شیمیایی رایج استفاده کرد. تاکنون مطالعات زیادی در زمینه استفاده از گیاهان دارویی در درمان عفونت های مختلف در کشور ما و سایر نقاط جهان انجام شده است و محققین گیاهان زیادی را جهت درمان ژياردیازیس پیشنهاد کردند. تأثیر بعضی از این گیاهان مانند سیر، زیان روی کیست و تروفوزوئیت ژيارديا متفاوت بوده است (۲۷، ۲۸، ۳۲، ۳۳). تحقیقات انجام شده در مورد ارزیابی اثرات ضد انگلی گیاه بابونه نشان دهنده تأثیر ضد انگلی این گیاه می باشد. ایزومی اریکا و همکاران فعالیت ضد تک یاخته ای گیاه بابونه را مورد ارزیابی قرار دادند. آن ها عصاره خام گیاه را روی اپی ماستیگوت تریپانوزوما کروزنی تأثیر دادند، نتایج مطالعه نشان داد که عصاره خام این گیاه سبب مهار رشد انگل در ۹۰ درصد موارد می شود و هم چنین باعث مرگ ۵۰ درصد از سلول های انگلی می شود (۱۹). هم چنین تیومن و همکاران در سال ۲۰۰۵ تأثیر گیاه بابونه را روی انگل لیثمانیا بررسی کردند. این دانشمندان در این تحقیق عصاره های

هگزانی، دی کلرومتانی، اتیل استاتی، متانولی و آبی این گیاه را جدا کردند و عصاره‌ها را به طور جداگانه روی لیشمانیا آمازوننسیس تأثیر دادند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که در بین عصاره‌ها، عصاره دی کلرو متانی این گیاه بیش‌ترین تأثیر را داشته است (۲۰).

در مطالعه تجربی حاضر، نتایج حاصل از تأثیر عصاره کلرفرمی گیاه بابونه در غلظت‌های ۲۰ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر روی تک یاخته زیاردیا لامبلیا در موش‌های BALB/c نشان می‌دهد که تأثیر درمانی عصاره کلرفرمی گیاه در غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر در موش‌هایی که این دوز از دارو را به ازای هر کیلوگرم وزن بدن خود دریافت کرده بودند ۸۰ درصد بوده است. به نحوی که کاهش قابل توجهی در تعداد کیست‌های زنده مشاهده شد، در این گروه ۲۰ درصد موش‌ها به طور کامل درمان شدند. به دلیل عوارض جانبی داروهای شیمیایی برخی از محققین مصرف گیاهان دارویی مانند سیر، پیاز، سرکه، بابونه و آلزی را برای درمان زیاردیازیس پیشنهاد نموده‌اند (۳۵، ۳۴، ۱۸). این گیاهان واجد ترکیبات شیمیایی متعددی می‌باشند و هیچ‌گونه اثرات سمی یا سوء در غلظت‌های متعارف برای آن گزارش نشده است. سجادی و همکاران (۲۰۰۶) نیز تأثیر ضد زیاردیایی آبلیمو و سرکه را مورد ارزیابی قرار دادند. نتیجه این تحقیق نشان داد که عصاره سرکه بعد از سه ساعت بیش‌ترین اثر ضد زیاردیایی را نسبت به بقیه موارد داشته است (۳۴). هم‌چنین آزادبخت و همکاران در سال ۱۳۸۲ اثرات عصاره مایع حاصل از افشردن پیاز سه گونه گیاهی از جنس آلیوم (سیر، پیاز و موسیر) که به عنوان مواد خوراکی استفاده می‌شوند را در از بین بردن کیست زیاردیا در محیط آزمایشگاهی به روش بینگهام مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه اثرات این مواد در از بین بردن کیست زیاردیا در دماهای ۴ و ۲۴ درجه سانتی گراد و زمان‌های ۳۰ دقیقه، یک، دو و سه ساعت مورد آزمایش قرار گرفت. در نهایت میانگین کشندگی

سیر، ۴۳/۱ درصد، پیاز ۴۰/۸ درصد و موسیر ۳۳/۶ درصد گزارش شد. نتایج این تحقیق نشان داد که این مواد خوراکی طبیعی دارای اثرات کشندگی روی کیست‌های زیاردیا می‌باشد. در نهایت گزارش کردند که افشره پیاز گونه آلیوم ساتیوم (سیر) در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد بیش‌ترین اثر کشندگی را دارد (۲۷).

رحیمی اسبویی و همکاران در سال ۱۳۹۱ مطالعه ای جهت بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه گندنا (*Artemisia annua*) روی مرحله کیستی انگل زیاردیا لامبلیا در شرایط آزمایشگاهی انجام دادند. در این مطالعه که به روش تجربی انجام شد، عصاره هیدروالکلی گیاه گندنا در غلظت‌های ۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر استخراج و روی کیست زیاردیا که با استفاده از محلول ساکارز ۰/۸۵ مولار از نمونه‌های مثبت تهیه شده بود، پس از رقیق کردن تأثیر داده شد. نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه گندنا در زمان‌های مختلف نشان می‌دهد که غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر پس از سه و ۲۴ ساعت بیش‌ترین تأثیر کشندگی را روی کیست زیاردیا در شرایط آزمایشگاهی داشته است. بر طبق نتایج حاصل از این مطالعه عصاره هیدروالکلی گیاه گندنا در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر در مدت ۲۴ ساعت به عنوان یک ترکیب مؤثر جهت از بین بردن کیست‌های انگل زیاردیا مورد استفاده قرار می‌گیرد. مطالعات دیگر بر روی حیوانات آزمایشگاهی جهت تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه گندنا پیشنهاد شد (۱۸).

در نتیجه با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعات انجام شده و اثبات اثر ضد انگلی گیاه بابونه در محیط برون تنی، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر ضد انگلی عصاره کلرفرمی گیاه بابونه در موش‌های آلوده به زیاردیا لامبلیا در محیط درون تنی انجام شد. از مزایای به کار بردن مدل‌های حیوانی در این گونه تحقیقات، امکان اثبات وجود یا عدم وجود عناصر

بار در روز اثر دارویی این گیاه را در فراکسیون‌های مختلف حیوانات آزمایشگاهی بررسی نمود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مسئولین و همکاران در مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات دانشجویی، موسسه تحقیقات حیوانات آزمایشگاهی که با حمایت خود امکان انجام مطالعه را فراهم نمودند قدردانی به عمل می‌آید. مقاله حاضر حاصل پایان نامه دانشجویی مصوب مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی است که با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران اجرا شد.

References

1. Saebi E. Text Book of Clinical Parasitology, protozoal diseases in Iran. 5th ed. Tehran: Aeij; 2011. p. 97-117.
2. Frthing MJG. Giardia as a disease. Giardia: from molecules to disease. In: Thompson RCA, Reynoldson JA, Lymbery AJ. Wallingford, Oxon, UK: CAB; 1994. p. 15-37.
3. Karaby O, Tamer A. Treatment of Gardiasis. World J Gastroenterol 2004; 15(8): 1215-1217.
4. Farthig MJG, Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JJ, Greenberg HB, Guerrant RL. Infections of the Giardia lamblia in Gastrointestinal Tract. New York: Raven Press; 1995.
5. Farthing MJG, Gilles HM. Giardiasis in Protozoal diseases. New York, NY: Arnold Publications; 1999.
6. Lindo JF, Levy VA, Baum MK, Palmer CJ. Epidemiology of giardiasis and cryptosporidiosis in Jamaica. Am J Trop Med Hyg 1998; 59: 717-721.
7. Saffar M, Ghaffari J, Salimi Sh, Kosariyan M, Khalilian A, Gholami Sh. Recurrent giardial infection in children with non symptomatic giardiasis after treatment with metronidazole. J Mazandaran Univ Med Sci 2002; 12(35): 60-66 (Persian).
8. Faridian F. Epidemiology of Giardiosis in Iran. Drug and Treatment Journal 1994; 5(6): 98-111.
9. Brown H, Nova F. Basic clinical parasitology 5th ed. London Appelton century crofts (ACC): Prentice HALL international. Inc; 1983.
10. Abdi YA, Gustafsson IL, Ericsson O, et al. Hand book of drugs for tropical parasitic infections. 2nd ed. London: Taylor & Francis LTd; 1995.
11. Smith PD, Gillin FD, Spira WM, Nash TE. Chronic Giardiasis studies on drug sensitivity, toxin productin and host immune response. Gastroenterol 1982; 83(1): 797-803.
12. Stibbs HL. Monoclonal antibody based enzyme immunoassay for Giardia lamblia antigen in human stool. J Clin Microbial 1989; 27(1): 2582-2588.

13. Falagas ME, Walker AM, Jick H, Ruthazer R, Griffith J, Snyderman DR. Late incidence of cancer after metronidazole use: a matched metronidazole user/ non user study. Clin Infect Dis 1998; 26(2): 384-388.
14. Blanke CH, Naisabha GB, Balema MB, Mbaruku GM, Heide L, Muller MS. Herba Artemisia annua tea preparation compared to sulfadoxine-pyrimethamine in the treatment of uncomplicated falciparum malaria in adults: a randomized double-blind clinical trial. Trop Doct 2008; 38(2): 113-116.
15. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM, Eslami B. Antihelmintic and antioxidant activities of Allium paradoxum. Cent Eur J Biol 2010; 5(3): 338-345.
16. Gholami Sh, Rahimi-esboei B, Azadbakht M, Ziaee H. In Vitro effectiveness of Hydroalcoholic and Chloroformic extracts from leaves of Allium paradoxum against Cysts of Giardia lamblia. 1st International & 8th national congress of parasitology & parasitic Diseases in Iran, Oct.16-18, 2012, Karman, Abstracts book, p: 96.
17. Rahimi-Esboei B, Gholami Sh, Azadbakht M, Ziaei H. Effect of Hydroalcoholic extract of Artemisia annua on cysts of Giardia lamblia in Invitro. J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 22(90): 72-80 (Persian).
18. Rahimi-Esboei B. The Invitro Effectiveness of Chloroformic and Hydroalcoholic Extracts of Artemisia annua, Allium paradoxum and Tanacetum parthenium on Giardia lamblia Cysts and Trophozoites. Thesis, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences Sari, Iran, 2012; N: 1438.
19. Izumi E, Morello LG, Ueda-Nakamura T, Yamada-Ogata SF, Filho BP, Cortez DA, et al. Trypanosoma cruzi: Antiprotozoal activity of parthenolide obtained from Tanacetum parthenium (L.) Schultz Bip. (Asteraceae, Compositae) against epimastigote and amastigote forms. Experimental Parasitology 2008; 118(3): 324-330.
20. Tiuman TS, Ueda-Nakamura T, Garcia Cortez DA, Dias Filho BP, Morgado-Díaz JA, de Souza W, et al. Anti leishmanial activity of parthenolide, a sesquiterpene lactone isolated from Tanacetum parthenium. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49(1): 176-182.
21. Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic (Allium sativum L.) in normal and Streptozotocin-induced diabetic rats. Phytomedicine 2006; 13(4): 624-629.
22. Rahimi-Esboei B, Gholami Sh, Ghorbani Pasha Kolaei A, Pour Haji Baqer M, Hasannia H, Shaban R, et al. The Prevalence of Intestinal Parasitic Infections among the People Living in the Central Areas of Mazandaran Province (2009-2010). Medical Laboratory Journal 2013; 7(2): 43-48 (Persian).
23. Ranjbar Bahadori SH, Dastorian AR, Heydari B. Prevalence of intestinal parasites in Ghaemshahr in 2004. Medical Sciences Journal of Islamic Azad University 2005; 15(3): 151-155 (Persian).
24. Gholami SH, Mohammadpour RA, Sharif M, Ziaei H, Kianian H, Yousefi MR, et al. Intestinal parasite infections in cattle Breeders in Rural Regions of Babol Town during 2003. J Babol Univ Med Sci 2005; 7(4): 83-87 (Persian).
25. Soffar SA, Mokhtar GM. Evaluation of antiparasitic effects of aqueous garlic extract in hymenolepiasis and giardiasis. J Egypt Soc Parasito 1991; 21(2): 497-502.
26. Safar Harandi M, Dalimi A, Ghafari F. The effect of Allium Sativum on Giardia lamblia and Giardia muris Invivo and Invitro. Hakim

- Res J 2007; 9(3): 58-64.
27. Azadbakht M, Sajjadi SM, Rostami J. Giardiacidal activity of three *Allium* species on *Giardia intestinalis* cysts. Iran J Basic Med Sci 2003; 6(3): 184-188.
 28. Sawangjaroen N, Sawangjaroen K. The effects of extracts from anti-diarrheic Thai medicinal plants on the in vitro growth of the intestinal protozoa parasite: *Blastocystis hominis*. Journal of Ethnopharmacology 2005; 98(1-2): 67-72.
 29. Hil DR, Poh LR, Pearson RD. *Giardia lamblia*: a culture method for determining parasite viability. Am J Trop Med Hyg 1986; 35: 1129-1133.
 30. Shahabi S, Ayazi Roozbehani F, Kamalinejad M, Abadi A. Anti-*Giardia* Activity of *Carum copticum* on *Giardia lamblia* Cysts in Vitro. Pejouhesh 2008; 32(4): 303-307 (Persian).
 31. WHO. WHO monographs on selected medical plants, 1999. Compounds 2008; 44(4): 545-547.
 32. Brandelli CL, Giordani RB, De Carli GA, Tasca T. Indigenous traditional medicine: in vitro anti-giardial activity of plants used in the treatment of diarrhea. Parasitol Res 2009; 104(6): 1345-1349.
 33. Harris JC, Plummer S, Turner MR, Liody D. The microaerophilic flagellated *Giardia intestinalis*: *Allium sativum* (Garlic) is an effective anti-giardia. J Microbiol 2000; 146(Pt 12): 3119-3127.
 34. Sadjjadi SM, Rostami J, Azadbakht M. Giardiacidal Activity of Lemon Juice, Vinifer and Vinegar on *Giardia intestinalis* Cysts. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2006; 37(3): 24-27.
 35. Lun ZR, Burri C, Menzinger M. Antiparasitic effects of diallyl trisulphaide (dasuansu) on human and animals pathogenic protozoa (*Trypanosoma* sp. *E. histolytica* & *G. lamblia*) in vitro. Ann Soc Belge Med Trop 1994; 74: 51-59.