

بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی برگ و پیاز گیاه الزی بر روی انگل ژیا ردیا لامبلیا در موش

طاهر علمی^{۱*}، شبیرزاد غلامی^۲، محمد آزاد بخت^۳، بهمن رحیمی اسبویی^۴، زهرا گرایلی^۵
 گروه انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران؛ مرکز تحقیقات توکسوپلاسموزیس، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران؛
 گروه فارماکونوزی و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران؛ گروه انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛
 گروه آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
 تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۶ تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۵

چکیده:

زمینه و هدف: ژیا ردیا یکی از شایعترین انگل های تک یاخته ای روده ای در انسان و پستانداران مختلف می باشد. با توجه به اینکه داروهای شیمیایی جهت درمان این بیماری دارای اثرات جانبی متعددی بوده و تأثیر آن ها قطعی نمی باشد؛ لذا یافتن دارویی با اثرات جانبی کمتر امری ضروری در درمان این بیماری انگلی به نظر می رسد. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی برگ و پیاز گیاه الزی (*Allium paradoxum*) بر روی انگل ژیا ردیا لامبلیا در موش *Balb/c* انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش *Balb/c* به ۱۰ گروه تقسیم و تعداد 2×10^5 کیست به همه گروه ها به جز کنترل منفی خورانده شد. پس از تأیید آلودگی، گروه های مورد آزمون به مدت ۳ روز با عصاره هیدروالکلی برگ و پیاز گیاه الزی (غلظت های ۲۰،۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) و داروی مترونیدازول به عنوان کنترل دارو مورد درمان قرار گرفتند.

یافته ها: عصاره هیدروالکلی پیاز الزی در دوز 100 mg/ml قادر به از بین بردن کیست ژیا ردیا لامبلیا می باشد که این تأثیر نسبت به گروه کنترل مثبت و کنترل منفی معنی دار بود ($P < 0/05$). همچنین مشخص شد برگ الزی تأثیر زیادی بر روی انگل ژیا ردیا لامبلیا ندارد؛ ولی می تواند موجب افزایش تأثیر پیاز الزی شود، به عبارت دیگر اثر هم افزایی دارد.

نتیجه گیری: با توجه به تأثیر مناسب گیاه الزی در شرایط *In vivo* بر روی انگل ژیا ردیا لامبلیا و عوارض زیادی که از داروهای شیمیایی گزارش شده است، می توان گیاه الزی را به عنوان یک ترکیب طبیعی ضد ژیا ردیایی معرفی کرد.

واژه های کلیدی: ژیا ردیا لامبلیا، عصاره هیدرو الکلی، گیاه الزی.

مقدمه:

متفاوت است (۳-۵). این تک یاخته بیشتر در آب و هوای معتدل و گرمسیری یافت می شود و می تواند باعث بیماری اسهال به خصوص در کودکان، سوء جذب روده ای و از دست دادن وزن شود (۱،۷،۶). در کشورهای در حال توسعه که بهداشت ضعیفی دارند شیوع آن ۴۰٪ گزارش شده است (۸). ژیا ردی لامبلیا دارای ۲ شکل تروفوزوئیت و کیست است. کیست،

ژیا ردیا یکی از انگل های تک یاخته ای روده ای در انسان و پستانداران مختلف می باشد. انتقال این انگل از طریق مدفوعی-دهانی صورت می گیرد. این انگل با ۲۸۰ میلیون مورد در سال از شایعترین انگل های روده ای در کشور ما به خصوص نواحی شمال کشور می باشد که از تمام نقاط دنیا نیز گزارش شده است (۱-۳). میزان آلودگی آن در مناطق مختلف جهان از ۱ تا ۲۵ درصد

*نویسنده مسئول: ساری- دانشگاه علوم پزشکی مازندران- گروه انگل شناسی- تلفن: ۰۹۳۶۱۱۱۷۶۱۰. E-mail: elmi1364@yahoo.com

حیوانات آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (۱۳-۱۱). احتمال اثرات تراتوژنیک و سایر عوارض جانبی مترونیدازول و سایر داروهایی که در درمان ژیا ردیا زیس استفاده می شود، ایجاب می کند برای درمان جایگزین مطالعات بیشتری انجام شود، به همین دلیل به دست آوردن ترکیبات ضد انگلی از سایر منابع مانند گیاهان دارویی ضروری به نظر می رسد (۱۴).

در زمینه استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان ژیا ردیا زیس، تحقیقات زیادی در نقاط مختلف دنیا انجام شده است. در سال های ۲۰۰۸ و ۲۰۰۵ اثر گیاهان دارویی *Alpinia galenga* و *Achyrocline satureioides* بر روی تک یاخته ژیا ردیا لامبلیا مورد مطالعه قرار گرفت و اثر کشندگی عصاره گیاهان فوق بر روی انگل ژیا ردیا مثبت ارزیابی شد (۱۵،۱۶). در کشور ما نیز طی تحقیقات انجام شده، اثر عصاره گیاهان سیر (*Allium sativum*) و آویشن *Zataria multiflora*، در شرایط آزمایشگاهی بر روی کیست های انگل ژیا ردیا مورد بررسی قرار گرفت و عصاره گیاهان فوق به عنوان ترکیبات گیاهی موثر جهت نابودی کیست تک یاخته ژیا ردیا معرفی شدند (۱۷،۱۸). همچنین در سال ۲۰۱۳ طی مطالعه ای که توسط محقق و همکاران در شرایط *in vivo* جهت بررسی اثر عصاره کلروفرمی گیاه بابونه (*Tanacetum parthenium*) بر روی انگل ژیا ردیا انجام شد، نتایج نشان داد که عصاره فوق باعث بهبودی موش های آلوده به کیست ژیا ردیا لامبلیا شد (۱۹).

گیاهان خانواده آلیوم (*Allium*) واجد ترکیبات شیمیایی متعددی می باشد و هیچگونه اثرات سمی یا سوء در غلظت های متعارف برای آن ها گزارش نشده است. گیاه الزی (*Allium paradoxum*)، یکی از گونه های خانواده آلیوم می باشد که از جمله گیاهان بومی استان مازندران به شمار می رود. در زمینه اثرات درمانی خانواده آلیوم تحقیقات متعددی انجام گرفته است و اثر ضد باکتریایی و اثر ضد تریکومونایی (۲۰،۲۱)، ضد کریپتوسپوریدیوم (۲۲)، ضد کرمی (۲۳) و همچنین تأثیر ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی گیاهان

شکل آلوده کننده انگل بوده و برای انسان بسیار عفونی می باشد. کیست ها قادرند در محیط تا ۳ ماه زنده بمانند (۹). به علت مقاومت کیست ها نسبت به کلرینه کردن آب، انتشار از طریق آب آسان تر بوده و این بیماری عمدتاً از طریق مصرف آب آلوده به انسان منتقل می شود. انتقال فرد به فرد از طریق تماس مستقیم مدفوعی- دهانی به خصوص در اجتماعات متراکم مانند مهد کودک ها و در بین اعضای خانواده انتقال از طریق غذای آلوده و در کشورهای توسعه یافته انتقال در میان همجنسبازان، راه های دیگر انتقال بیماری می باشند؛ همچنین ژیا ردیا لامبلیا به عنوان عامل اسهال طولانی مدت در مسافران نیز شناخته می شود (۳).

اکثر افراد مبتلا بدون علامت می باشند؛ لذا از لحاظ انتقال انگل دارای اهمیت هستند. از علایم ژیا ردیا زیس می توان به بی اشتها، استتاتوره، سوء جذب کاهش پروتئین، گاماگلوبولین و آویتامینوز اشاره کرد. در فرم مزمن که به سندرم سوء جذب معروف است. ژیا ردیا با نفوذ به مجاری صفاوی و کیسه صفا باعث کوله سیستیت و یرقان می شود که به هپاتیت راکتیو غیر اختصاصی معروف است. البته التهاب عنبیه ورم ملتحمه آلرژیک ژیا ردیا زیس تنفسی و ژیا ردیا زیس پانکراس از عوارض ژیا ردیا زیس به شمار می رود (۹،۱۰).

داروهای رایج برای درمان این بیماری عبارتند از: ترکیبات نیتروایمیدازول شامل: مترونیدازول، تینیدازول، ارنیدازول و ترکیبات بنزیمیدازول از قبیل میندازول و آلبندازول و سایر داروها مانند کیناکرین، فورازولیدون و پاروموایسین که در بین این داروها مترونیدازول داروی انتخابی درمان ژیا ردیا زیس می باشد. این داروها دارای اثرات جانبی ناخوشایندی از قبیل ایجاد طعم نامطبوع در دهان، ناراحتی گوارشی، تهوع، سردرد و لکوپنی می باشند؛ همچنین برخی از این داروها می توانند منجر به اثرات نورو توکسیک، بی قراری، تشنج و سرگیجه شده و در روند درمان، اختلال ایجاد نمایند. به علاوه اثرات جهش زایی، سرطان زایی و اثر سوء برخی از آن ها بر جنین، در

این خانواده مورد بررسی قرار گرفته و اثر بخشی آن مشخص شده است (۱۶،۲۴).

با توجه به اهمیت این بیماری انگلی و لزوم مطالعه اثر داروهای ضد انگلی جهت کنترل آن، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی برگ و پیاز گیاه الزی (*Allium paradoxum*) بر روی انگل ژیا ردیا لامبلیا در شرایط درون تنی طراحی و مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی، گیاه مورد مطالعه از مناطق مختلف استان مازندران (در ارتفاع ۲۰۰ تا ۸۰۰)، در فصل بهار جمع آوری گردید. به منظور نگهداری مناسب گیاه، پیاز و قسمت های هوایی گیاه را جدا نموده و در جریان هوا و حرارت معمولی، به دور از نور مستقیم خورشید خشک و خرد گردید، سپس در دانشکده داروسازی بخش توزین شده ایی از قسمت های مختلف گیاه به روش پرکولاسیون توسط محلول هیدروالکلی به نسبت ۴ به ۱ استخراج انجام شد. محلول حاصل را توسط دستگاه روتاری اواپوراتور تبخیر و سپس خشک کرده و در نهایت پودر آن تهیه گردید (۲۵). از پودر حاصل از عصاره هیدروالکلی در نسبت مناسبی از نرمال سالین و دی متیل سولفوکساید (DMSO) محلول استوک استاندارد تهیه شد. از هر یک از محلول استوک استاندارد غلظت های ۲۰،۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم/میلی لیتر تهیه گردید.

کیست ژیا ردیا لامبلیا، از نمونه های مدفوع آلوده بیماران مبتلا به ژیا ردیازیس که به بیمارستان های شهرهای استان مازندران مراجعه کرده بودند، جمع آوری شد. بدون در نظر داشتن مثبت بودن جواب آزمایش، نمونه های مدفوع با دو روش مستقیم و فرمالین - اتر در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه انگل شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مازندران مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس با استفاده از روش ساکارز ۰/۸۵ مولار تغلیظ گردیدند (۱۰،۱۷،۲۶). نمونه مدفوع را به

نسبت ۱ به ۱۲ (۱:۱۲) با آب مقطر رقیق کرده و ۲۰ سی سی از مدفوع رقیق شده را در ظروفی حاوی پرل شیشه ای ریخته و به مدت ۵ دقیقه تکان داده می شود تا یک محلول آبکی ایجاد شود. سپس سوسپانسیون را از صافی عبور دادیم. به رسوب حاصل ۵ میلی لیتر آب اضافه و محلول فوق به آرامی به ۳ میلی لیتر محلول ساکارز ۰/۸۵ مولار اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۶۰۰ سانتریفوژ و با پیپت پاستور به آرامی کیست هایی که در لایه میانی جمع شده بود، به لوله دیگر انتقال و سپس کیست ها سه بار با نرمال سالین شستشو داده شدند. برای تعیین درصد زنده بودن کیست ها از روش استاندارد رنگ آمیزی حیاتی کیست ها با اتوزین ۰/۱٪ استفاده شد (۲۷).

در این مطالعه تجربی، تعداد ۵۰ سر موش Balb/c نر با وزن 20 ± 2 گرم انتخاب و به ۱۰ گروه پنج تایی تقسیم شدند. ۳ گروه به عنوان گروه های کنترل و ۷ گروه به عنوان گروه های آزمون در نظر گرفته شدند. گروه های کنترل شامل: کنترل مثبت (به کیست ژیا ردیا آلوده شده بودند؛ ولی درمان نشدند)، کنترل منفی (به انگل ژیا ردیا آلوده نشدند و مورد درمان هم قرار نگرفتند) و کنترل دارو (موش هایی که به کیست ژیا ردیا آلوده شدند و با مترونیدازول درمان شدند) و گروه های آزمون شامل: آزمون عصاره هیدرو الکل پیاز گیاه الزی (غلظت های ۲۰،۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر)، آزمون عصاره هیدروالکلی برگ گیاه الزی (غلظت های ۲۰،۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر)، و آزمون ترکیبی پیاز و برگ گیاه الزی (۱۰۰ میلی گرم عصاره برگ و ۱۰۰ میلی گرم عصاره پیاز الزی را هم زمان دریافت می کردند) بودند. به غیر از گروه کنترل منفی، بقیه موش ها با تلقیح درون معدی 2×10^5 کیست ژیا ردیا لامبلیا، به ژیا ردیازیس آلوده شدند. برای تأیید آلودگی، به مدت ۱۱ روز متوالی مدفوع موش ها مورد آزمایش قرار گرفتند. پس از تأیید آلودگی، موش های گروه های آزمون را به مدت ۳ روز متوالی با تلقیح درون معدی ۰/۱ میلی لیتر از عصاره های گیاه

می توان به شل شدن قوام مدفوع، گوشه گیری، کسلی و ژولیده شدن موی بدن اشاره کرد.

بررسی وزن موش ها بعد از دوره درمانی، نشان داد که موش های کنترل منفی (به انگل زیاردیا آلوده نشدند و مورد درمان هم قرار نگرفتند)، وزن بیشتری نسبت به موش های کنترل مثبت (به کیست زیاردیا آلوده شده بودند؛ ولی درمان نشدند) داشتند ($P < 0/05$). همچنین بررسی وزن موش ها در گروه های مورد آزمایش نشان داد گروهی که با عصاره ترکیبی پیاز توام با برگ الزی درمان شدند، از لحاظ آماری نسبت به گروه های درمان شده با برگ الزی ۲۰،۵۰ میلی گرم/ میلی لیتر و پیاز الزی ۲۰ میلی گرم/ میلی لیتر، افزایش وزن معنی داری داشتند ($P < 0/05$). وزن موش های کنترل منفی نسبت به سایر موش هایی که با کیست زیاردیا آلوده شدند، از میانگین بیشتری برخوردار بودند؛ این اختلاف نشان می دهد که زیاردیازیس موجب کاهش رشد در موش ها شده است (جدول شماره ۱).

الزی درمان نمودیم. سپس مدفوع موش ها به روش فرمل- اتر جهت تعیین آلودگی مورد آزمایش قرار گرفتند. برای تعیین تعداد کیست های زنده، از رنگ آمیزی ائوزین استفاده شد. کیست هایی که رنگ ائوزین را به خود می گرفتند، به عنوان کیست مرده و کیست هایی که رنگ نمی گرفتند، به عنوان کیست زنده به حساب آمدند. اطلاعات حاصل از مطالعه با آزمون ناپارامتری ویلکاکسون و به کمک نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها:

بررسی موش های آلوده به کیست زیاردیا لامبلیا نشان داد که حداکثر ۱۱ روز بعد از خوردن کیست زیاردیا لامبلیا به موش ها از طریق تلقیح درون معده ای، کیست انگل در مدفوع موش ها ظاهر می شود. برخی از موش های آلوده علائم بالینی از خود نشان دادند. از علائم ظاهر شده در موش های آلوده

جدول شماره ۱: مقایسه میانگین وزن موش ها قبل و بعد از اتمام دوره درمانی در گروه های مورد بررسی

P [†]	میانگین وزن موش ها (گرم) بعد از درمان	گروه ها
$P < 0/05$	$29/3 \pm 2/8$	کنترل منفی *
$P > 0/05$	$23/2 \pm 1/4$	کنترل مثبت **
$P < 0/05$	$25/6 \pm 1/7$	کنترل دارو ***
$P > 0/05$	$23/9 \pm 0/9$	پیاز الزی ۲۰ mg/ml
$P < 0/05$	$24/4 \pm 1/5$	پیاز الزی ۵۰ mg/ml
$P < 0/05$	$25/0 \pm 1/3$	پیاز الزی ۱۰۰ mg/ml
$P > 0/05$	$23/4 \pm 0/8$	برگ الزی ۲۰ mg/ml
$P > 0/05$	$23/9 \pm 2/2$	برگ الزی ۵۰ mg/ml
$P < 0/05$	$24/1 \pm 2/4$	برگ الزی ۱۰۰ mg/ml
$P < 0/05$	$25/8 \pm 2/1$	پیاز الزی + برگ الزی ۱۰۰ mg/ml
	قبل از درمان [‡]	

موش های گروه های آزمون و کنترل، به کیست زیاردیا آلوده شدند و به مدت ۳ روز متوالی با تلقیح درون معده ۰/۱ میلی لیتر از عصاره های گیاه الزی و یا مترونیدازول درمان شدند. $n = 5$ در هر گروه؛ داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار می باشد. [†]مقایسه قبل و بعد از درمان در هر گروه؛ *موش هایی که به کیست زیاردیا آلوده نشدند، مورد درمان نیز قرار نگرفتند؛ **موش هایی که به کیست زیاردیا آلوده شدند، اما مورد درمان قرار نگرفتند؛ ***موش هایی که به کیست زیاردیا آلوده شدند و با مترونیدازول درمان شدند. [‡]میانگین وزن موش های مورد مطالعه قبل از درمان $20/0 \pm 2/0$ بوده است.

منفی)، تا پایان دوره درمان بدون آلودگی باقی ماندند؛ اما موش های آلوده ای که آب مقطر دریافت کرده

بررسی مدفوع موش ها در گروه های مورد بررسی نشان داد، موش هایی که آلوده نشدند (کنترل

غلظت ۲۰ میلی گرم/ میلی لیتر هیچ تأثیری بر روی انگل ژیا ردیا لامبلیا نداشت؛ اما عصاره برگ الزی در غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر در موش های آلوده باعث کاهش به ترتیب ۶٪ و ۷٪ کیست های دفعی شد (جدول شماره ۲).

تأثیر درمان ترکیبی عصاره هیدرو الکلی پیاز و برگ گیاه در موش هایی که دوز ۱۰۰ میلی گرم از عصاره ترکیبی گیاه را به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت کرده بودند، ۷۱٪ بود (جدول شماره ۲) که این اثر درمانی در مقایسه با عصاره های هیدرو الکلی برگ الزی ۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر به صورت جداگانه، از لحاظ آماری تفاوت معنی داری را نشان داد ($P < 0/05$).

بودند (کنترل مثبت) تا پایان دوره درمانی، آلوده باقی ماندند و هیچ نشانی از بهبودی در آن ها مشاهده نشد. موش های آلوده ای که مترونیدازول ۱۰ میلی گرم/ میلی لیتر دریافت کرده بودند (گروه کنترل دارو) به طور ۱۰۰٪ از بیماری بهبود یافتند (جدول شماره ۲).

عصاره پیاز الزی در غلظت ۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر با کاهش ۶۶٪ کیست های دفع شده در مدت ۳ روز درمان، بیشترین تأثیر را نسبت به غلظت های ۲۰ و ۵۰ میلی گرم/ میلی لیتر پیاز الزی (با کاهش ۵٪ و ۴۰٪ کیست های دفع شده) داشت که این اختلاف اثر درمانی بین عصاره پیاز الزی ۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر در مقایسه با پیاز الزی ۲۰ و ۵۰ میلی گرم/ میلی لیتر از لحاظ آماری معنی دار بود ($P < 0/05$). برگ گیاه الزی در

جدول شماره ۲: مقایسه میانگین کیست های دفع شده از موش ها، قبل و بعد از درمان و درصد تأثیر دارو در گروه های مورد بررسی

P*	درصد کاهش (تأثیر دارو)	میانگین کیست دفع شده		گروه های آزمون
		بعد از درمان	قبل از درمان	
$P < 0/05$	۱۰۰	۰	$43/5 \pm 14/4$	کنترل دارو**
$P > 0/05$	۵	$42/6 \pm 14/4$	$45/0 \pm 15/0$	پیاز الزی ۲۰ mg/ml
$P < 0/05$	۴۰	$27/0 \pm 12/3$	$45/6 \pm 14/4$	پیاز الزی ۵۰ mg/ml
$P < 0/05$	۶۶	$16/5 \pm 11/3$	$48/0 \pm 15/5$	پیاز الزی ۱۰۰ mg/ml
$P > 0/05$	۰	$57/0 \pm 15/5$	$57/0 \pm 16/2$	برگ الزی ۲۰ mg/ml
$P > 0/05$	۶	$45/0 \pm 15/0$	$48/0 \pm 15/5$	برگ الزی ۵۰ mg/ml
$P > 0/05$	۷	$37/5 \pm 15/0$	$40/5 \pm 15/5$	برگ الزی ۱۰۰ mg/ml
$P < 0/05$	۷۱	$12/0 \pm 8/5$	$42/0 \pm 12/3$	پیاز الزی + برگ الزی ۱۰۰ mg/ml

موش های گروه های آزمون و کنترل، به کیست ژیا ردیا آلوده شدند و به مدت ۳ روز متوالی با تلقیح درون معدی ۰/۱ میلی لیتر از عصاره های گیاه الزی و یا مترونیدازول درمان شدند. $n = 5$ در هر گروه؛ داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار می باشد. *مقایسه قبل و بعد از درمان در هر گروه؛ **موش هایی که با مترونیدازول ۱۰ میلی گرم/ میلی لیتر درمان شدند.

آماري معنی دار بود ($P < 0/05$). کمترین درصد کاهش کیست زنده مربوط به عصاره برگ الزی در غلظت ۲۰ میلی گرم/ میلی لیتر بود؛ این غلظت هیچ تأثیری در کاهش تعداد کیست های زنده دفع شده نداشت و تعداد کیست های زنده در این گروه، بعد از درمان نسبت به قبل از درمان، از لحاظ آماری تفاوت معنی داری را نشان نداد ($P > 0/05$) (جدول شماره ۳).

بررسی حیات کیست ها قبل از درمان و بعد از درمان در موش های آلوده نشان داد که بیشترین درصد کاهش کیست های زنده مربوط به درمان ترکیبی غلظت ۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر عصاره پیاز توام با برگ الزی بود. در این گروه میانگین کیست های زنده ۸۵٪ کاهش پیدا کرد که این کاهش تعداد کیست های زنده در این گروه، بعد از درمان نسبت به قبل از درمان، از لحاظ

بررسی میزان حیات کیست ها در گروه آزمون عصاره هیدروالکلی پیاز گیاه الزی نشان داد که بیشترین قدرت کشندگی کیست در این گروه مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر بود که تعداد کیست های زنده نسبت به قبل از درمان ۷۲٪ کاهش یافت ($P > 0.05$) (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳: مقایسه میانگین کیست های زنده دفع شده از موش ها، قبل و بعد از درمان و درصد کشندگی دارو در گروه های مورد بررسی

P*	درصد کاهش (کشندگی دارو)	میانگین کیست زنده دفع شده		گروه های آزمون
		بعد از درمان	قبل از درمان	
P<0.05	۱۰۰	۰	۴۳/۵ ± ۱۵/۰	کنترل دارو**
P>0.05	۱۰	۴۰/۵ ± ۱۴/۴	۴۵/۰ ± ۱۵/۵	پیاز الزی ۲۰mg/ml
P<0.05	۵۰	۲۲/۵ ± ۱۳/۶	۴۵/۰ ± ۱۵/۳	پیاز الزی ۵۰mg/ml
P<0.05	۷۲	۱۲/۰ ± ۹/۱	۴۳/۵ ± ۱۵/۰	پیاز الزی ۱۰۰mg/ml
P>0.05	۰	۳۶/۰ ± ۱۵/۰	۳۶/۰ ± ۱۵/۵	برگ الزی ۲۰mg/ml
P>0.05	۸	۳۷/۵ ± ۱۴/۴	۴۰/۵ ± ۱۳/۶	برگ الزی ۵۰mg/ml
P>0.05	۱۰	۳۱/۱ ± ۱۲/۳	۳۴/۵ ± ۱۳/۶	برگ الزی ۱۰۰mg/ml
P<0.05	۸۵	۶/۰ ± ۴/۱	۴۰/۵ ± ۱۵/۰	پیاز الزی + برگ الزی ۱۰۰mg/ml

موش های گروه های آزمون و کنترل، به کیست ژیا ردیا آلوده شدند و به مدت ۳ روز متوالی با تلقیح درون معدی ۰/۱ میلی لیتر از عصاره های گیاه الزی و یا مترونیدازول درمان شدند. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می باشد. *مقایسه قبل و بعد از درمان در هر گروه؛ **موش هایی که با مترونیدازول ۱۰ میلی گرم/ میلی لیتر درمان شدند.

بحث:

که در سال ۲۰۰۸ انجام شد، تأثیر عصاره گیاه *Eugenia uniflora*، *Achyrocline satureioides* روی *Psidium guajava* و *Foeniculum vulgare* انگل ژیا ردیا لامبلیا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که از بین چهار گیاه مورد استفاده، گیاه *Achyrocline satureioides* در غلظت ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بیشترین اثر سایتوتوکسیستی را روی ژیا ردیا دارد (۱۶،۱۷). با توجه به نتایج بالا می توان گفت که گیاهان مختلف در دوزهای درمانی متفاوت، موثرند و نمی توان گیاهان خانواده های مختلف را در یک دوز درمانی استفاده کرد.

از دلایل وجود تفاوت بین نتایج و دوزهای موثر عصاره های گیاهی مختلف بر روی انگل ژیا ردیا می توان به تفاوت در جنس و خانواده گیاهان مختلف (هر خانواده خصوصیات متفاوتی دارد)، روش های مختلف عصاره گیری، نوع عصاره استخراج شده (عصاره آبی، هیدروالکلی یا کلروفرمی) و همچنین

مطالعه حاضر نیز نشان داد که عصاره هیدروالکلی پیاز گیاه الزی (*Allium paradoxum*) در غلظت ۱۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر تأثیر قابل قبولی در کاهش کیست های انگل ژیا ردیا در موش ها داشت. 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 ترکیبات گیاهی زیادی، جهت درمان ژیا ردیازیس مورد بررسی قرار گرفته است. بعضی از این گیاهان مانند سیر (*Allium sativum*)، زنیان (*Carum copticum*)، بابونه (*Tanacetum parthenium*) تأثیر قابل قبولی بر روی کیست و تروفوزوئیت ژیا ردیا (با میزان تأثیر متفاوت) داشتند.

در سال ۲۰۰۶ محققین کشور ما گیاه سیر (*Allium sativum*) را در غلظت ۸ میلی گرم/ میلی لیتر به عنوان یک ترکیب کاملاً موثر بر روی کیست ژیا ردیا لامبلیا معرفی کردند؛ همچنین در مطالعه ای

محیط آزمایش (*In vivo* و *In vitro*) اشاره نمود. به عنوان مثال شهابی و همکاران، عصاره گیاه زنیان (*Carum copticum*)، را یک بار به صورت هیدروالکلی و یک بار به صورت آبی تهیه نمود و بر روی کیست ژیاوردیا لامبلیا مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد درصد کشندگی عصاره هیدروالکلی گیاه زنیان در غلظت ۲۵ میلی گرم/ میلی لیتر ۷۵٪ و درصد کشندگی عصاره آبی گیاه زنیان در غلظت ۷۰۰ میلی گرم/ میلی لیتر ۱۰٪ بود (۲۸)؛ همچنین در مطالعه ای که آزاد بخت و همکاران بر روی پیاز سه گونه گیاهی از جنس آلیوم در از بین بردن کیست ژیاوردیا در محیط *in vitro* به روش بینگهام انجام دادند، نتایج نشان داد علیرغم اینکه هر سه گیاه از یک جنس بودند، عصاره سیر (*Allium sativum*) بیشترین اثر را در نابودی کیست ژیاوردیا داشت (۲۹).

در مطالعه حاضر با اینکه یک نوع گیاه (*Allium paradoxum*) مورد آزمایش قرار گرفت و هر دو عصاره نیز هیدروالکلی بودند؛ عصاره هیدروالکلی پیاز الزی تأثیر بیشتری در نابودی کیست های انگل ژیاوردیا نسبت به عصاره هیدروالکلی برگ گیاه الزی داشته است. در هنگام تهیه عصاره گیاه محققین باید اطلاعات کافی را نسبت به گیاه فوق داشته باشند؛ زیرا نه تنها خانواده های گیاهی مختلف خصوصیات متفاوتی دارند، بلکه اندام های مختلف یک نوع گیاه نیز ممکن است خصوصیات متفاوتی داشته باشند.

از راهکارهای پیشنهادی دیگر در درمان عفونت ژیاوردیازیس، می توان به استفاده از نانو ذرات اشاره کرد (۱۲). در سال ۲۰۱۲ Said و همکاران تحقیقاتی را روی ۲۰۰ رات، جهت تعیین اثر نانو ذرات نقره، کیتوزان و کرکیومین روی انگل ژیاوردیا، انجام دادند. نانو ذرات نقره، کیتوزان و کرکیومین به ترتیب باعث کاهش ۷/۷۲٪، ۲/۶۸٪ و ۶/۵۴٪ تعداد کیست های دفع شده از رات های مورد آزمایش شدند. همچنین از ترکیب سه نانو ذره فوق نیز برای درمان ژیاوردیازیس در رات ها استفاده شد که اثر درمانی ۱۰۰٪ داشته است (۳۰). مطالعه حاضر نیز نشان داد

که عصاره ترکیبی برگ و پیاز الزی اثر بهتری نسبت به عصاره های برگ و پیاز به صورت جداگانه بر روی انگل ژیاوردیا لامبلیا داشته است و این بدین مفهوم است که ترکیبات فوق اثر سینرژیک یا هم افزایی دارند. در این مطالعه برگ و پیاز گیاه الزی در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر دارای تأثیر درمانی به ترتیب ۷ و ۶۶ درصدی بودند و عصاره ترکیبی تأثیر ۷۱ درصدی داشته است.

داروهایی از جمله مترونیدازول و آلبندازول برای درمان بیماری ژیاوردیازیس استفاده می شود. مترونیدازول درمان انتخابی ژیاوردیازیس به شمار می رود؛ اما در موارد مقاوم به درمان، آلبندازول موثر دانسته شده است. مطالعات مختلف نشان می دهد، آلبندازول داروی موثر و بی خطری در درمان ژیاوردیازیس می باشد که به آسانی قابل استفاده است و بر اساس یافته های حاصل داروهای مورد بررسی در درمان ژیاوردیازیس موثر هستند؛ اما به علت کمتر بودن عوارض جانبی و اثر بخشی آلبندازول این دارو به عنوان درمان انتخابی پیشنهاد می شود (۳۱، ۳۲).

این بررسی ها نشان دهنده اهمیت یافتن دارویی جایگزین برای مترونیدازول است. در مطالعه حاضر نیز جهت یافتن داروی جایگزین مترونیدازول از گیاهی که فلور طبیعی ایران خصوصاً مناطق شمالی کشور است استفاده شد که در این بین عصاره برگ گیاه الزی توام با عصاره پیاز گیاه الزی، اثر درمانی ۷۱٪ درصدی داشته اند که در مقایسه با گروه کنترل دارو که مترونیدازول ۱۰ میلی گرم/ میلی لیتر را دریافت کرده بودند، کاهش ۲۹٪ اثر درمانی مشاهده شد؛ اما چون انتظار می رود اثر سمی داروهای گیاهی از داروهای شیمیایی کمتر باشد. می توان گیاه فوق را با بررسی های تکمیلی تر جایگزین مناسبی برای داروی شیمیایی مترونیدازول دانست.

نتیجه گیری:

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، عصاره هیدروالکلی گیاه الزی (*Allium paradoxum*) تأثیر قابل قبولی را بر روی انگل ژیاوردیا در شرایط درون تنی داشته

است؛ لذا می توان عصاره هیدروالکلی گیاه الزی را به عنوان یک ترکیب مؤثر جهت از بین بردن کیست های تک یاخته ژیا ردیا لامبلیا معرفی کرد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از مسئولین گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، کمیته

تحقیقات دانشجویی، موسسه تحقیقات حیوانات آزمایشگاهی و معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران که با تصویب و حمایت مالی امکان انجام مطالعه را فراهم نمودند و همچنین معاونت محترم تحقیقات و گروه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد بابت بررسی تحقیق فوق کمال قدردانی به عمل می آید.

منابع:

1. Robertson LJ, Hanevik K, Escobedo AA, Morch K, Langeland N. Giardiasis--why do the symptoms sometimes never stop? Trends Parasitol. 2010; 26(2): 75-82.
2. Jonathan S, Julia W, Ryan M, Michael J. Giardiasis Surveillance- United States, 2009–2010. Surveillance Summaries. 2012; 61(5): 13-23.
3. Saebi E. protozoal disorder in Iran. 4th Ed. Tehran: Aeej pub; 2010.
4. Cantey PT, Roy S, Lee B, Cronquist A, Smith K, Liang J, et al. Study of nonoutbreak giardiasis: novel findings and implications for research. Am J Med. 2011; 124(12): 1175 e1-8.
5. Rahimi-esboei B, Gholami SH, Gorbani A, Pourhajibagher M, Hassannia H, Shaban R, et al. The prevalence of intestinal parasite among patients referring to health center in central areas of Mazandaran province, Iran. Lab Sci. 2012; 6(2): 19-25.
6. Feng Y, Xiao L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of Giardia species and giardiasis. Clin Microbiol Rev. 2011; 24(1): 110-40.
7. Wensaas KA, Langeland N, Hanevik K, Morch K, Eide GE, Rortveit G. Irritable bowel syndrome and chronic fatigue 3 years after acute giardiasis: historic cohort study. Gut. 2012; 61(2): 214-9.
8. Edrisian G, Rezaeean M, Ghorbani M, Keshavarz M, Mohebbali M. Medical protozoology. 1st Ed. Tehran: Tehran University of sciences Pub; 2008.
9. John David T, Petri William A. Markell and Voges Medical parasitology, 9th Ed. Philadelphia: st. Louis; 2006.
10. Rahimi-Esboei B, Gholami Sh, Azadbakht A, Ziaei H. Effect of hydroalcoholic extract of Artemisia annua on cysts of Giardia lamblia in Invitro. J Mazand Univ Med Sci. 2012; 22(90): 72-80.
11. Safarnejad Tameshkel F, Khatami Nejad MR, Nasrollahi A, Rahdari P, Gholam Hossein Poor F, Rahnavaard A. The antimicrobial effect of methanol extracts of Eucalyptus, Satureia Hortensis and Heracleum Glabrescens on Giardia Cysts. Med Lab. 2012; 6(2): 21-27.
12. Elmi T, Gholami Sh, Fakhar M, Azizi F. A Review on the use of nanoparticles in the treatment of parasitic infections. J Mazand Univ Med Sci. 2013; 23(102): 127-134.
13. Smith PD, Gillin FD, Spira WM, Nash TE. Chronic giardiasis: studies on drug sensitivity, toxin production, and host immune response. Gastroenterology. 1982; 83(4): 797-803.
14. Hadačová V, Vacková K, Klozová E, Kutáček M, Pitterová K. Cholinesterase activity in some species of the Allium genus. Biol. Plantarum. 1983; 25(3): 209-215.
15. Sawangjaroen N, Subhadhirasakul S, Phongpaichit S, Siripanth C, Jamjaroen K, Sawangjaroen K. The in vitro anti-giardial activity of extracts from plants that are used for self-medication by AIDS patients in southern Thailand. Parasitol Res. 2005; 95(1): 17-21.
16. 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): 1345-9.

17. Harandi S, DalimiAsl A, Ghaffarifar F. In vitro and in vivo effects of garlic (*Allium sativum*) extract on *Giardia lamblia* and *Giardia muris*. Hakim Res J. 2006; 9(3): 58-64.
18. Farsangi M. Killing effect of *Zataria multiflora* on cysts of *Giardia lamblia* in vitro. J Clin Microbiol, 2001; 4(1): 88- 95.
19. Elmi T, Gholami Sh, Azadbakht M, Ziaie H. Effect of chloroformic extract of *Tanacetum parthenium* in the treatment of *Giardia lamblia* infection in Balb/c Mice. J Mazand Univ Med Sci 2014; 24(1): 157-65.
20. PackiaLekshmi NCJ, BenarcinSumi S, Viveka S, Jeeva S, Raja Brindha J. Antibacterial activity of nanoparticles from *Allium sp.* J. Microbiol. Biotech. Res. 2012, 2 (1): 115-119.
21. Sarkari B, Nadin H, Asgarian S, Farnia A, Asgarian M. the effect of garlic on the growth of trichomonas vaginalis. J Gorgan Univ Med Sci. 2009; 11(3): 13-17.
22. Mehrabi M, Sadraei J, Ghafarifar F. the effects of garlic on the oocyst of cryptosporidium parvum in HANK medium. J Kordestan Univ Med Sci. 2011; 17(1): 53-60.
23. Radwan A, Khalil I, Wahdan E. In vitro evaluation of antihelmintic activity of *Allium sativum* against adult *Cotylophoron cotylophorum* (Paramphistomidae). J Egypt Parasitol United. 2012; 5(2): 135-46.
24. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM, Eslami B. Antihemoltic and antioxidant activities of *Allium pararadoxum*. Centr Eur J Biol. 2010; 5(3): 338-45.
25. 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. 2012:
26. Boreham PFL, Phillips RE, Shepherd RW. A comparison of the in-vitro activity of some 5-nitroimidazoles and other compounds against *Giardia intestinalis*. J Antimicrob Chemother. 1985; 16(5): 589-95.
27. Bingham AK, Jarrell EL, Meyer EA, Raduleseu S. Induction of *Giardia* excystation and the effect of temperature on cyst viability as compared by eosin-exclusion and in vitro excystation. Waterborne transmission of giardiasis, report no. EPA-600/9-79-001. Ohio: US Environmental Protection Agency, Cincinnati; 1979.
28. Shahabi S, Ayazi F, Kamalinejad M, Abadi A. The effect of *Carumcopticum* on *Giardia lamblia* in vivo. J Res Med. 2008; 22(4): 303- 307.
29. Azadbakht M, Sajjadi SM, Rostami J. Giardiocidal activity of three *Allium species* on *Giardia intestinalis* cysts. Iran J Basic Med sci. 2003; 3: 184-88.
30. Said D, Elsamad M, Gohar Y. Validity of silver, chitosan, and curcumin nanoparticles as anti-*Giardia* agents. Parasitol Res. 2012; 111: 545-54.
31. Lemee V, Zaharia G, Nevez M, Rabodonirina P, Bresseur J, Favennec L. Metronidazole and Albendazole susceptibility of 11 clinical isolates of *Giardia duodenalis* from France. J Antimicrob Chemother. 2000; 46: 819-21.
32. Sadjjadi S, Alborzi A, Mostovfi H. Comparative clinical trial of mebendazole and metronidazole in giardiasis of children. J Trop Pediatr. 2001; 47(3): 176-8.

The effects of hydroalcoholic extract of leaves and onion of *Allium paradoxum* on *Giardia lamblia* in mice

Taher Elmi^{1*}, Shirzad Gholami², Mohamad Azadbakht³, Bahman Rahimi-Esboei⁴,
Zahra Geraili⁵

¹Parasitology Dept., Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R. Iran; ²Toxoplasmosis Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R. Iran; ³Pharmacognosy Dept., Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R. Iran; ⁴Parasitology Dept., Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran; ⁵Biostatistics Dept., Shahid Behashti University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran.

Received: 28/Oct/2013 Accepted: 27/Sep/2014

Background and aims: *Giardia* is an intestinal protozoan parasite in humans and various mammals. Chemical drugs that are prescribed to treat this disease currently have adverse effects and no proven efficacy. So it seems necessary to find a drug with fewer side effects to treat this parasitic disease. Therefore, the aim of present study was to investigate the effects of hydroalcoholic extract of leaves and onion of *Allium paradoxum* on *Giardia lamblia* in Balb/ c mice.

Methods: In this experimental study, 2×10^5 cysts were fed to 50 Balb/ c mice in 10 groups except negative control group. After confirming contamination, they were treated for 3 days with hydroalcoholic extract of leaves and onion of *A. paradoxum* (doses of 20, 50, 100 mg/ml) and Metronidazole as a controlling drug.

Results: According to the results of this study, onion extract at a dose of 100 mg/ml is capable of removing *G. lamblia* cysts. This effect is significant compared to the control group ($P < 0.05$). It also became clear that leaves of *A. paradoxum* have no significant effect on *G. lamblia* parasite, but it may increase the effect of onion of *A. paradoxum*. In other words, it has a synergistic effect.

Conclusion: Due to suitable effect of *A. paradoxum* in in vivo conditions on the parasite *G. lamblia* and many side effects of drugs which have been reported, it can be introduced as a natural compound against Giardiasis.

Keywords: *Giardia lamblia*, Hydroalcoholic extracts, *Allium paradoxum*.

Cite this article as: Elmi T, Gholami SH, Azadbakht M, Rahimi-Esboei B, Geraili Z. The effects of hydroalcoholic extract of leaves and onion of *Allium paradoxum* on *Giardia lamblia* in mice. J Shahrekord Univ Med Sci. 2014; 16(5): 13-22.

***Corresponding author:**

Parasitology Dept., Mazandaran University of Medical Sciences, Mazandaran, Iran.
Tel: 00989361117610, E-mail: elmi1364@yahoo.com