

مقایسه تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه رزماری با مترونیدازول در درمان عفونت ناشی از ژیا ریدیا لامبلیا در شرایط درون تنی در موش سوری

حسین وزینی (PhD)*، بهمن رحیمی اسبویی (PhD)†، روح اله عابدیان (MSc)‡، ابودر قربانی (MSc)‡، حامد فتحی (MSc)‡

۱- گروه پرستاری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان
۲- گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳- گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۴- مرکز تحقیقات علوم داروئی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

دریافت: ۹۵/۱۰/۲۱، اصلاح: ۹۵/۱۲/۴، پذیرش: ۹۶/۲/۱۰

خلاصه

سابقه و هدف: ژیا ریدیاژیسی، یکی از عفونت‌های شایع دستگاه گوارش ناشی از تک یاخته‌ها در جهان است. امروزه از داروهایی چون مترونیدازول، فورازولیدون، تینیدازول و کیناکرین جهت درمان ژیا ریدیاژیسی استفاده می‌شود. این داروها دارای اثرات جانبی مختلفی می‌باشند، لذا تحقیق برای یافتن دارویی با اثرات جانبی کم، ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی رزماری بر روی مرحله کیستی انگل ژیا ریدیا لامبلیا در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی تعداد ۲۵ سر موش کوچک آزمایشگاهی (سوری) به ۵ گروه ۵ تایی شامل کنترل منفی، کنترل دارویی با مترونیدازول و ۳ گروه آزمون آلوده تحت درمان با عصاره رزماری با دوزهای (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میلی گرم در میلی لیتر) تقسیم شدند. سپس میزان تاثیر عصاره هیدروالکلی رزماری تا روز دهم مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌ها: در این مطالعه وزن موش‌ها در گروه‌های تحت درمان با عصاره هیدروالکلی گیاه رزماری (۲۰/۷۸±۲۶/۶۴) نسبت به گروه کنترل (۲۸/۷۰±۰/۶۹) که هیچ دارویی مصرف نکرده اند، کمتر بوده است ($P < 0/001$). بررسی اثر عصاره گیاهی بر علیه انگل ژیا ریدیا لامبلیا نشان داد که کاهش تعداد کیست در گروه‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب برابر با ۷/۰، ۶/۸ و ۴/۹ درصد بوده است ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که گیاه رزماری در شرایط درون تنی اثرات بسیار خوبی دراد و میتواند بعنوان یکی از گزینه‌های درمانی برای درمان ژیا ریدیاژیسی مورد بررسی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: گیاه رزماری، مترونیدازول، ژیا ریدیا لامبلیا.

مقدمه

ژیا ریدیا لامبلیا که با نام ژیا ریدیا اینتستینالیس هم شناخته می‌شود، یکی از شایعترین تک‌یاخته‌های بیماری‌زای دستگاه گوارش است؛ که طیف وسیعی از مهره‌داران از جمله انسان را آلوده می‌سازد. عفونت ناشی از این تک‌یاخته که از شایعترین عفونت‌های انگلی در جهان می‌باشد، ژیا ریدیاژیسی *Giardiasis* نام دارد (۱). این انگل عامل بیماری اسهال چرب (استئاتوره) یا اسهال طولانی مدت در مسافران می‌باشد و به دو شکل تروفوزوییت و کیست دیده می‌شود (۲ و ۳). این انگل یکی از شایعترین انگل‌های روده‌ای در جهان به شمار می‌رود، هر ساله ۲۸۰ میلیون نفر در دنیا به این انگل مبتلا می‌شوند (۴). میزان آلودگی این تک‌یاخته در کشورهای در حال توسعه از ۱۰ تا ۵۰ درصد متفاوت است (۷-۵). ژیا ریدیا انتشار جهانی داشته و در مناطق با آب و هوای معتدل و گرمسیری شایعتر از مناطق سردسیری می‌باشد؛ این انگل یکی از شایعترین انگل‌های روده‌ای در ایران و به ویژه نواحی شمالی به شمار می‌رود (۸ و ۹). انسان از طریق مصرف آب و غذای آلوده و تماس مستقیم مدفوعی دهانی به کیست این انگل آلوده می‌گردد. به علت مقاومت کیست‌های این انگل نسبت به کلرینه کردن آب، انتشار آن از طریق آب

به انسان رایج‌تر می‌باشد؛ کیست‌ها قادرند در محیط به مدت ۳ ماه زنده بمانند (۱۰ و ۱۱). ابتلا به این انگل در تمام سنین مشاهده می‌شود، لیکن بروز آن در کودکان بیشتر می‌باشد (۱۰-۸). ژیا ریدیا قادر به ایجاد عفونت حاد و یا عفونت مزمن به همراه علائم بالینی چون؛ اسهال‌های حاد آبکی، کرامپ‌های شکمی، سندرم سوء جذب و کاهش وزن در نوزادان و کودکان می‌باشد (۱۳ و ۱۲). امروزه جهت درمان ژیا ریدیاژیسی از داروهایی چون؛ مترونیدازول، فورازولیدون، تینیدازول و کیناکرین استفاده می‌شود. اگر چه مصرف این داروها در اکثر مواقع مفید می‌باشد، اما دارای عوارض جانبی از قبیل ایجاد طعم نامطبوع در دهان، ناراحتی گوارشی، تهوع، سردرد، لکوپنی، نوروتوکسیک، بی‌قراری، تشنج و سرگیجه شده و در روند درمان، اختلال ایجاد می‌نمایند. از طرفی اثرات سوء و کارسینوژنیک و موتاژنیک برخی از داروهای فوق در حیوانات آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (۱۷-۱۴). از این رو، یافتن دارویی که عوارض کمی داشته باشد و بتواند علیه تروفوزوییت و کیست فعالیت اثر بخشی داشته باشد امری ضروری است. گیاهان جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی هستند؛ تحقیقات متعددی بر روی اثرات گیاهان

*مسئول مقاله؛ دکتر حسین وزینی

آدرس: همدان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، دانشکده علوم پایه، گروه پرستاری. تلفن: ۰۸۱-۳۴۴۹۴۰۰۱

کیست‌ها خارج و به وسیله نرمال‌سالیین ۳ مرتبه شستشو انجام گردید. جهت اندازه‌گیری درصد کیست‌های زنده از رنگ آمیزی ائوزین ۱/۱٪ استفاده شد (۲۹).
حیوانات و شرایط آزمایشگاهی: تعداد ۲۵ سر موش سفید آزمایشگاهی با سن حدود دو هفته ای و به وزن تقریبی 20 ± 3 گرم از انستیتو پاستور شهرستان آمل خریداری گردید. کلیه اصول اخلاقی کار بر اساس پروتکل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی مازندران (کد اخلاقی: ۲۳۷۴-۹۴-MU) رعایت گردید. موش‌ها با 2×10^4 کیست ژیا ردیا لامبلیا به روش گاواژ آلوده شدند. جهت اطمینان از آلودگی موش‌ها به انگل، مدفوع موش‌ها به مدت ۱۱ روز متوالی مورد بررسی قرار گرفت. جهت تعیین آلودگی مدفوع موش‌ها به کیست انگل از روش فرمالین-اثر استفاده شد. سپس، حیوانات به ۵ گروه ۵ تایی؛ کنترل منفی (موش‌هایی که به کیست ژیا ردیا آلوده شدند و مورد درمان هم قرار نگرفتند)، کنترل دارو (موش‌هایی که به کیست ژیا ردیا آلوده شدند و با مترونیدازول درمان شدند) و ۳ گروه آزمون شامل؛ آزمون ۱ (موش‌های آلوده تحت درمان با عصاره رزماری با غلظت ۱۰۰)، آزمون ۲ (موش‌های آلوده تحت درمان با عصاره رزماری با غلظت ۲۰۰)، آزمون ۳ (موش‌های آلوده تحت درمان با عصاره رزماری با غلظت ۴۰۰) تقسیم شدند. مقادیر ۱ میلی‌گرم در لیتر عصاره رزماری با غلظت‌های (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰) به مدت ۱۰ روز متوالی به موش‌های گروه‌های آزمون به ازای یک کیلوگرم وزن بدن به صورت گاواژ خورانیده شد. جهت تعیین تعداد کیست‌های زنده از رنگ‌آمیزی ائوزین ۱/۱٪ استفاده شد. به گونه‌ای که کیست‌هایی که رنگ را به خود می‌گرفتند کیست مرده و کیست‌های فاقد رنگ کیست زنده به حساب آمدند (۳۰).
آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS ۲۲ و آزمون‌های ANOVA و آزمون تعقیبی توکی، همچنین آزمون T-test انجام شد و $p < 0.05$ معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

بررسی آلودگی موش‌ها به انگل: مشاهدات نشان داد که حداکثر ۱۱ روز پس از تلقیح درون معده‌ای کیست‌ها در مدفوع موش‌ها ظاهر شده و موش‌ها به انگل آلوده می‌شوند. در برخی از موش‌های آلوده علائمی چون؛ گوشه‌گیری، کسلی و ژولیده شدن موی بدن و شل شدن قوام مدفوع مشاهده شد.
بررسی وزن موش‌ها قبل و بعد از آلودگی و درمان: قبل از مداخله میانگین وزن موش‌ها با هم اختلاف نداشت ($p = 0.993$) ولی بعد از مداخله میانگین وزن موش‌ها در بین گروه‌های مختلف با هم اختلاف معنی داری داشته اند ($p < 0.001$). و در همه گروه‌ها وزن افزایش داشته که این افزایش وزن نسبت به ابتدای درمان در گروه کنترل منفی، گروه یک و دو معنی دار بوده ولی در دو گروه کنترل مثبت (۱۸۴/۰) و گروه سه ($p = 0.343$) علی‌رغم افزایش جزئی وزن اختلاف آماری معنی داری در میانگین وزن قبل و بعد از مداخله مشاهده نشد (جدول ۱). در بعد از مداخله درمانی بیشترین میانگین وزن در بین موش‌های گروه کنترل منفی بوده و کمترین میانگین در گروه کنترل مثبت و نیز گروه درمانی ۳ (آلوده به انگل و درمان شده با دوز ۴۰۰ رزماری) بوده است. بعد از مداخله میانگین وزن گروه کنترل منفی با کنترل مثبت و سایر گروه‌ها اختلاف معنی داری داشت ($p < 0.001$) میانگین وزن گروه درمانی ۳ با کنترل مثبت در بعد از مداخله با هم

مختلف بر روی ژیا ردیا لامبلیا انجام گردیده است (۱۸ و ۱۹). Rahimi Esboei و همکاران در طی چند مطالعه گیاهان آقطی (*Sambucus ebulus*)، گندنا (*Artemisia annua*) و سیر کوهی (*Allium paradoxium*) را بر روی انگل ژیا ردیا مورد بررسی قرار دادند که اثرات قابل قبولی داشته است و گیاه آقطی دارای اثرات بهتری نسبت به بقیه گیاهان داشته است (۲۲-۲۰). در مطالعه مشابه، Gholami و همکاران گیاه بابونه را بر روی انگل ژیا ردیا لامبلیا مورد بررسی قرار دادند که نسبت به مطالعه اخیر اثرات ضد ژیا ردیایی پایین تری داشته است (۲۳). رومارن یا اکلیل کوهی یا رزماری با نام علمی (*Rosmarinus officinalis*) گیاهی از خانواده نعناعیان به صورت درختچه‌های کوچک همراه برگ‌های معطر و گل‌های کوچک آبی رنگ می‌باشد. پرورش این گیاه در بیشتر نواحی ایران معمول می‌باشد (۲۴).

مطالعات متعددی بر روی نقش عصاره رزماری در درمان شماری از بیماری‌ها همچون سردرد و اختلالات گردش خون انجام شده است (۲۵). عصاره این گیاه به علت دارا بودن ترکیبات؛ فلاونوئیدی (دیوسمیتین، دیوسمین، ژنکوآنین، لوتولین، هیسپیدولین و آپیژنین)، ترپنوییدی (تری ترپنویدهای اولتانولیک اسیدها و اورسولیک اسیدها و دیتیرین کارنوزول)، فنلی (کافتیک، کلروژنیک، لابیاتیک، نئوکلروژنیک و رزماریتیک اسید) دارای خواص درمانی چون؛ ضد درد، ضد آسم، ضد انگلی، ضد سرطانی، ضد طاسی و ... می‌باشد (۱۷-۲۵). از این رو، با توجه به ترکیبات متعدد این گیاهان که اثرات آنها در درمان بسیاری از بیماری‌ها کار آمد بوده است. در این تحقیق تاثیر عصاره هیدروالکلی رزماری بر روی انگل ژیا ردیا لامبلیا در موش سوری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

عصاره‌گیری: گیاه رزماری از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی استان مازندران تهیه و جنس و گونه گیاهی توسط متخصص فارماکوتوزی مورد شناسایی قرار گرفت. بعد از شستن گیاه، برگ گیاه در شرایط مناسب خشک گردید. در این مطالعه از عصاره‌گیری به روش پراکولاسیون استفاده گردید. مقدار ۷۵۰ میلی‌گرم پودر گیاه تهیه گردید. عصاره‌گیری به روش پراکولاسیون و با استفاده از حلال کلروفرم تهیه گردید. در نهایت مقدار ۵/۵ گرم عصاره تهیه شد و با استفاده از دی متیل سولفوکساید (DMSO) غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۱۰۰ (میکروگرم بر میلی‌لیتر) از عصاره گیاه تهیه گردید، سپس عصاره بدست آمده در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد (۲۸).

جمع‌آوری و استخراج کیست ژیا ردیا لامبلیا: کیست ژیا ردیا لامبلیا، از نمونه‌های مدفوع آلوده بیماران مبتلا به ژیا ردیازیس مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی استان مازندران جمع‌آوری شد. کیست‌ها در نمونه‌های مدفوع با دو روش میکروسکوپی و فرمالین - اثر مشاهده گردیدند. نمونه‌ها توسط روش ساکارز ۸۵٪ تغلیظ گردیدند. جهت جداسازی کیست ژیا ردیا، نسبت ۱:۱۲ نمونه‌های مدفوع با آب مقطر، رقیق گردید. به منظور ایجاد محلول آبکی ۲۰ سی‌سی از نمونه رقیق شده را در ظرف حاوی پرل ریخته و به مدت ۵ دقیقه تکان داده شد. سوسپانسیون فوق را صاف نموده و به رسوب حاصل مقدار ۵ میلی‌لیتر آب اضافه گردید. مقدار ۳ میلی‌لیتر ساکارز ۸۵٪ مولا به محلول به دست آمده افزوده گردید. سوسپانسیون حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. توسط پیپت پاستور

بهترین وضعیت در گروه کنترل مثبت بوده است. در گروه های درمانی ۱ و ۳ و نیز با افزایش در دارویی میزان مهار کنندگی انگل در آنها افزایش داشته بطوری که گروه ۳ نزدیک ترین نتیجه مشابه را با گروه کنترل مثبت نشان داده است. همه گروه ها بجز گروه کنترل منفی در تعداد انگل های زنده، از قبل از مداخله به بعد از مداخله روند کاهش معنی دار داشته اند و این کاهش در گروه های نامبرده معنی دار بوده است ($P < 0.001$).

بنابراین با توجه به اینکه میانگین وزنی دو گروه درمانی کنترل مثبت و گروه درمانی رزماری ۴۰۰ میلی گرم، در بعد از مداخله با هم اختلاف نداشته و تغییرات وزنی نیز معنی دار نبوده و همچنین در بررسی میزان انگل زنده، کمترین تعداد انگل زنده نسبت به گروه کنترل مثبت، در این گروه (دریافت رزماری ۴۰۰ میلی گرم) مشاهده گردید می توان بر تاثیر قابل قبول گیاه رزماری اشاره داشت.

بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق که عصاره کلروفومی گیاه رزماری در غلظت های مختلف در مقایسه با داروی مترونیدازول بررسی شد. اثرات قابل قبولی در مقایسه با داروی مترونیدازول که استاندارد طلایی برای درمان ژیاودیوزیس می باشد، داشته است. درمان دارویی برای کنترل بیماری ژیاودیوزیس داروی سنتتیک مترونیدازول می باشد که در مطالعات مختلف اثرات توکسیک این دارو بر روی سلول های انسانی مورد تایید قرار گرفت (۳۱) و سال های اخیر محققین بدنبال داروی جایگزین برای آن می باشند. تا کنون مطالعات زیادی در زمینه استفاده از گیاهان دارویی در درمان عفونتهای مختلف در کشور ما و سایر نقاط جهان انجام شده است و محققین گیاهان زیادی را جهت درمان ژیاودیوزیس گزارش کردند.

از این بین، گیاهان *Eugenia Achyrocline satureioides*، *Psidium guajava*، *Foeniculum vulgare aniflora*، سیر، زبان و ... تاثیر قابل قبولی بر روی کیست و تروفوزوئیت ژیاودیلا میلیا داشتند (۳۲-۳۳). Sajadi و همکاران که تاثیر ضد ژیاودیایی آلبیمو و سرکه را مورد ارزیابی قرار دادند به این نتیجه رسیدند که عصاره سرکه بعد از ۳ ساعت بیشترین اثر ضد ژیاودیایی را نسبت به بقیه موارد داشته است (۳۵). همچنین در مطالعات مختلف Rahimi Esboei و همکاران اثرات ضد ژیاودیایی گیاهان بابونه، الزی، پلم و گندنا رو مورد بررسی قرار دادند و اثرات تقریباً قابل قبولی گزارش کردند (۲۲-۲۰). با توجه به مطالعات انجام شده، هنوز مطالعات تکمیلی صورت نگرفته است و اثرات این داروها در شرایط درون تنی در پاره ایی از ابهام قرار دارد و نیاز به مطالعات تکمیلی دارد. مطالعات اخیر حاکی از آن است که گیاه رزماری بواسطه داشتن ترکیبات موثره، می تواند در از بین بردن عوامل عفونی از قبیل باکتری، قارچ و انگل مفید باشد (۲۶).

Celiktas و همکاران اثر ضد باکتریایی گیاه رزماری را بر روی باکتریهای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *پروتئوس ولگاریس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *کلپسیلا پنمونیه*، *اتروکوکوس فیکالیس*، *اشرشیا کولی* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که گیاه رزماری اثرات مطلوبی بر روی باکتری های مورد آزمایش داشته است (۳۶). نتایج مطالعه Pintore و همکاران نیز نشان داد که باکتری های گرم مثبت حساس تر از باکتری های گرم منفی می باشند (۳۷). همچنین در مطالعات مختلف اثرات ضد انگلی گیاه رزماری نیز مورد بررسی قرار گرفته است و نشان داده شده که گیاه رزماری از پتانسیل ضد انگلی

اختلاف معنی داری نداشت ولی بین هر یک از سه گروه درمانی با هم در بعد از مداخله اختلاف معنی دار مشاهده شد. از نظر میانگین وزن گروه سه و دارویی با هم شباهت عملکردی داشته اند.

جدول ۱. میانگین وزن موش های مورد بررسی در گروه های مختلف درمانی در مقایسه با گروه های کنترل مثبت و منفی

گروه	قبل از مداخله Mean±SD	بعد از مداخله Mean±SD	P-value**
کنترل منفی	۲۰/۲۸±۱/۷۱ ^A	۲۸/۷۰±۰/۶۹ ^A	۰/۰۰۱
کنترل دارو (مترونیدازول)	۲۰/۱۶±۰/۶۵ ^A	۲۰/۸۶±۱/۶۱ ^D	۰/۱۸۴
رزماری ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر (گروه ۱)	۲۰/۱۲±۰/۷۶ ^A	۲۶/۶۴±۱/۰۱ ^B	۰/۰۰۰
رزماری ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر (گروه ۲)	۲۰/۰۴±۰/۸۹ ^A	۲۴/۷۶±۱/۳۹ ^C	۰/۰۰۰
رزماری ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر (گروه ۳)	۲۰/۱۰±۱/۳۴ ^A	۲۰/۷۸±۱/۰۵ ^D	۰/۳۴۳
P-value*	۰/۹۹۳	<۰/۰۰۰۱	

Anova ** T-test * حروف مشابه در هر ستون عدم اختلاف با هم را نشان می دهد

جدول ۲. بررسی میانگین درصد زنده بودن کیست های دفع شده در گروه های مختلف درمانی در مقایسه با گروه های کنترل مثبت و منفی قبل و بعد از درمان

گروه	قبل از درمان Mean±SD	بعد از درمان Mean±SD
کنترل منفی	۱۰۰±۰/۰۰ ^A	۱۰۰±۰/۰۰ ^A
کنترل دارو	۱۰۰±۰/۰۰ ^A	۱۰۰±۰/۰۰ ^E
رزماری ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر (گروه ۱)	۱۰۰±۰/۰۰ ^A	۲۹/۱۷±۴/۷۱ ^B
رزماری ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر (گروه ۲)	۱۰۰±۰/۰۰ ^A	۱۹/۴۰±۳/۲۰ ^C
رزماری ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر (گروه ۳)	۱۰۰±۰/۰۰ ^A	۶/۰۰±۲/۶۴ ^D

Anova T-Test و Anova کاملاً با هم مشابه بودند ($P < 0.001$). حروف مشابه در هر ستون عدم اختلاف با هم را نشان می دهد

قبل از مداخله در همه گروه ها از نظر میزان آلودگی به انگل وضعیت مشابه بود بطوری که در تمامی گروه ها میانگین ۱۰۰ درصدی از کیست زنده گزارش شده است. بعد از مداخله درصد کیست های زنده در گروه کنترل منفی همچنان صد درصد بوده است و در گروه کنترل مثبت تقریباً تمامی کیست ها مرده بودند که میانگین کیست زنده صفر گزارش شده است. به عبارتی دیگر در این گروه ۱۰۰ درصد از انگل ها مرده اند. در بررسی گروه های درمانی ملاحظه شد میانگین درصد کیست زنده در گروه ۱ برابر با ۲۹/۱۷، در گروه دو ۱۹/۴۰ و در گروه سه ۶/۰ درصد گزارش گردید. که به عبارتی دیگر می توان بیان کرد که میانگین درصد کیست های مرده در غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب ۷۰/۸، ۸۰/۶ و ۹۴ درصد بوده است. قبل از مداخله بین گروه ها اختلافی نبوده و مچ کامل بودند ولی در بعد از مداخله بین گروه ها اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < 0.001$). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که همه گروه ها با هم اختلاف معنی دار داشته اند بطوری که بدترین وضعیت در گروه کنترل منفی و

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، مشخص شد که گیاه رزماری دارای اثرات ضد ژیاوردیایی مناسبی می باشد و همچنین با توجه به سابقه درمانی و ترکیبات گیاهی، این نیاز وجود دارد که در مطالعات آینده از اثرات این دارو بر روی سلولهای انسانی مورد بررسی قرار گیرد و اثرات توکسیک این دارو مورد بررسی قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از آقای عبدالستار پقه کارشناس مرکز تحقیقات انگل شناسی و تمامی پرسنل بخش انگل شناسی و قارچ شناسی دانشگاه علوم پزشکی مازندران تشکر و قدردانی می‌گردد.

نیز برخوردار است. Awad و همکاران در کشور مالزی اثرات ضد تریپانوزومیایی گیاه رزماری را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه که بصورت *In vivo* صورت گرفته است، اثر گیاه رزماری بر علیه تریپانوزوما اوانسی در خرگوش مورد بررسی قرار گرفته است و نشان داده شده است که این گیاه در غلظت ۳/۵ کیلو گرم بر وزن بدن می تواند موجب کاهش علائم بالینی در حیوان گردد. همچنین مشخص شده است که این گیاه مانع از افزایش آنزیم های کبدی در میزبان نسبت به گروه کنترل می شود (۳۸).

در مطالعه مشابه Badr و همکاران اثر عصاره های اتری، اتیل استاتی، متانولی و آبی را بر روی انگل ژیاوردیا لامبلیا مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه عصاره های اتری، اتیل استاتی و متانولی تاثیر بسیار خوبی بر روی آن داشته اند ولی عصاره آبی اثر قابل قبولی بر روی ژیاوردیا لامبلیا داشته است (۳۹).

Comparing the Effect of Hydroalcoholic Extract of Rosemary and Metronidazole in Treating Infection Caused by *Giardia lamblia* in Mice under In vivo Conditions

H. Vazini (PhD)^{1*}, B. Rahimi Esboei (PhD)², R. Abedian(MSc)³, A. Ghorbani (MSc)³, H. Fathi (MSc)³

1.Department of Nursing, Basic Sciences Faculty, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, I.R.Iran

2.Department of Parasitology and Mycology, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

3.Department of Parasitology and Mycology, Faculty of Public Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R.Iran

4.Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmacology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 19(6); Jun 2017; PP: 7-13

Received: Jan 10th 2017, Revised: Feb 22th 2017, Accepted: Apr 30th 2017.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Giardiasis is one of the most common infections of the gastric tract in the world, which is caused by protozoa. Today, metronidazole, furazolidun, tinidazole and quinacrine are commonly used to treat this disease. These medications are associated with several adverse side effects and finding an alternative solution with fewer side effects seems necessary. The present study aims to analyze the effect of hydroalcoholic extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on the cysts of *Giardia lamblia* parasite under in vitro conditions.

METHODS: In this experimental study, 25 mice were categorized into 5 groups (n=5) including negative control group, positive control group (treated with metronidazole) and other three treatment groups (treated with 100, 200 and 400 mg/ml rosemary extract). Then, the effect of hydroalcoholic extract of rosemary was analyzed until the tenth day.

FINDINGS: According to the results of this study, the body weight of the mice in the groups treated with hydroalcoholic extract of rosemary (20.78 - 26.64) was less than control group (28.70 ± 0.69), which received no medication (p<0.0001). Investigating the effect of rosemary extract on *Giardia lamblia* parasite demonstrated that decline in the number of cysts in 100, 200 and 400 mg/ml groups were 70.7, 80.6 and 94%, respectively (p<0.05).

CONCLUSION: Results of the present study demonstrated that rosemary has proper in vivo effects and can be considered as a suitable alternative for treatment of Giardiasis.

KEY WORDS: *Rosemary, Metronidazole, Giardia lamblia.*

Please cite this article as follows:

Vazini H, Rahimi Esboei B, Abedian R, Ghorbani A, Fathi H. Comparing the Effect of Hydroalcoholic Extract of Rosemary and Metronidazole in Treating Infection Caused by *Giardia lamblia* in Mice under In vivo Conditions. J Babol Univ Med Sci. 2017;19(6):7-13.

* Corresponding author: H. Vazini (PhD)

Address: Nursing Department, Faculty of Basic Sciences, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, I.R.Iran

Tel: +98 38 32324419

E-mail: Hossein_vazini@yahoo.com

References

1. Erlandsen SL, Meyer EA. *Giardia and giardiasis: biology, pathogenesis, and epidemiology*: Springer Science & Business Media; 2013.
2. Thompson RA. Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. *Int J Parasitol*. 2000; 30(12):1259-67.
3. Gardner TB, Hill DR. Treatment of giardiasis. *Clinical microbiology reviews*. 2001;14(1):114-28.
4. Cacciò SM, Ryan U. Molecular epidemiology of giardiasis. *Mol Biochem Parasitol*. 2008;160(2):75-80.
5. Feng Y, Xiao L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24(1):110-40.
6. Thompson RA. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Veterinary parasitology*. 2004;126(1):15-35.
7. Thompson R, Monis P. Variation in *Giardia*: implications for taxonomy and epidemiology. *Advances in parasitology*. 2004;58:69-137.
8. Flanagan P. *Giardia*--diagnosis, clinical course and epidemiology. A review. *Epidemiology and Infection*. 1992;109(1):1.
9. Traub R, Monis P, Robertson I, Irwin P, Mencke N, Thompson R. Epidemiological and molecular evidence supports the zoonotic transmission of *Giardia* among humans and dogs living in the same community. *Parasitology*. 2004;128(03):253-62.
10. Lal A, Baker MG, Hales S, French NP. Potential effects of global environmental changes on cryptosporidiosis and giardiasis transmission. *Trends in parasitology*. 2013;29(2):83-90.
11. RENDTORFF RC. The experimental transmission of human intestinal protozoan parasites. II. *Giardia lamblia* cysts given in capsules. *American Journal of Hygiene*. 1954;59(2):209-20.
12. Hartong WA, Gourley WK, Arvanitakis C. Giardiasis: clinical spectrum and functional-structural abnormalities of the small intestinal mucosa. *Gastroenterology*. 1979;77(1):61-9.
13. Homan WL, Mank TG. Human giardiasis: genotype linked differences in clinical symptomatology. *International journal for parasitology*. 2001;31(8):822-6.
14. Özbilgin A, Ertan P, Yereli K, Tamay AT, Kurt Ö, Degerli K, et al. Giardiasis treatment in Turkish children with a single dose of ornidazole. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 2002;34(12):918-20.
15. Cañete R. Mebendazole in the Treatment of *Giardia Duodenalis*, from Clinical Trial to Daily Practice. *Current Therapeutic Research*. 2016.
16. Golami S, Rahimi-Esboei B, Mousavi P, Marhaba Z, Youssefi MR, Rahimi MT. Survey on efficacy of chloroformic extract of *Artemisia annua* against *Giardia lamblia* trophozoite and cyst in vitro. *Journal of Parasitic Diseases*. 2016;40(1):88-92.
17. Yarahmadi M, Fakhar M, Ebrahimzadeh MA, Chabra A, Rahimi-esboei B. The anti-giardial effectiveness of fungal and commercial chitosan against *Giardia intestinalis* cysts in vitro. *Journal of Parasitic Diseases*. 2016;40(1):75-80.
18. Jarrad A, Debnath A, Miyamoto Y, Hansford K, Pelingon R, Butler M, et al. Nitroimidazole carboxamides as antiparasitic agents targeting *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* and *Trichomonas vaginalis*. *European journal of medicinal chemistry*. 2016;120:353-62.
19. Kyere-Davies G, Agyare C, Debnath A, Caffrey C, Mckerrow J. Antigiardial activity of some plant extracts and fractions from Ghana. *Planta Medica*. 2016;81(S 01):P199.
20. Rahimi-Esboei B, Ebrahimzadeh M, Gholami S, Falah-Omrani V. Anti-giardial activity of *Sambucus ebulus*. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013;17(15):2047-50.
21. Rahimi-Esboei B, Gholami S, Azadbakht M, 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.
22. Rahimi-Esboei B, Ghorbani A, Gholami S, Azadbakht M, Ziaei H, Taghavi M. Antiparasitic effects of *Allium paradoxum* as a conventional consumed vegetable. *African Journal of Microbiology Research*. 2014;8(31):2979-83.

23. Gholami S, Azadbakht M, Ziaei Hezarjaribi H, Rahimi-Esboei B. Anti-Giardial Activity of Chloroformic Extract of *Tanacetum parthenium* and *Artemisia annua* in vitro. *Research in Molecular Medicine*. 2014;2(1):46-51.
24. Mena P, Cirlini M, Tassotti M, Herrlinger KA, Dall'Asta C, Del Rio D. Phytochemical Profiling of Flavonoids, Phenolic Acids, Terpenoids, and Volatile Fraction of a Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract. *Molecules*. 2016;21(11):1576.
25. Raeisi M, Tajik H, Aminzare M, Sangin Abadi S, Yarahmadi A, Yarahmadi E, et al. The Role of Nisin, Monolaurin, and EDTA in Antibacterial Effect of *Rosmarinus Officinalis* L. and *Cinnamomum Zeylanicum* Blume Essential Oils on Foodborne Pathogens. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2016;19(7):1709-20.
26. Moldoveanu SC, Scott WA. Analysis of four pentacyclic triterpenoid acids in several bioactive botanicals with gas and liquid chromatography and mass spectrometry detection. *Journal of separation science*. 2016;39(2):324-32.
27. Belkhodja H, Meddah B, Touil AT, Şekeroğlu N, Sonnet P. CHEMICAL COMPOSITION AND PROPERTIES OF ESSENTIAL OIL OF *ROSMARINUS OFFICINALIS* AND *POPULUS ALBA*. 2016.
28. Raeisi E, Esboei BR. Insignificant activity of *Allium paradoxium* and *Tanacetum parthenium* on protoscoleces of *Echinococcus granulosus*: In vitro study. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2016;10(42):771-4.
29. Ziaei Hezarjaribi H, Momeni Z, Azadbakht M, Rahimi Esboei B, Fakhar M, Akbarian M. Effects of Hydroalcoholic Extract of *Saponaria officinalis* Leaf on Growth of *Trichomonas vaginalis* In Vitro. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2016;25(134):52-9.
30. Dyab AK, Yones DA, Ibraheim ZZ, Hassan TM. Anti-giardial therapeutic potential of dichloromethane extracts of *Zingiber officinale* and *Curcuma longa* in vitro and in vivo. *Parasitology research*. 2016:1-9.
31. O'Donnell K, Barker D. Metronidazole and tinnitus: A potential side effect? *British dental journal*. 2016;220(6):289-91.
32. Boland-Nazar NS, Eslamirad Z, Sarmadian H, Ghasemikhah R. An In Vitro Evaluation of Ozonized Organic Extra-Virgin Olive Oil on *Giardia Lamblia* Cysts. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2016;9(11).
33. CONDO MONTERO C, SALAMANCA CAPUSIRI E, TICONA JC, MONZÓN JL, FLORES N, UDAETA E, et al. Evaluación de la susceptibilidad in vitro sobre trofozoitos de *Giardia lamblia* frente a extractos de plantas de la Medicina Tradicional Tacana. *Revista CON-CIENCIA*. 2016;4:105.
34. Peraza-Sánchez SR, Poot-Kantún S, Toores-Tapia LW, May-Pat F, Simá-Polanco P, Cedillo-Rivera R. Screening of Native Plants from Yucatan for Anti-Giardia lamblia. Activity. *Pharmaceutical biology*. 2005;43(7):594-8.
35. Sadjadi S, Rostami J, Azadbakht M. Giardiacidal activity of the express obtaineal from bulbs of three *Allium* species on *Giardia intestinalis* cyst. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2006;37(3):24-7.
36. Celiktas OY, Kocabas EH, Bedir E, Sukan FV, Ozek T, Baser K. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*. 2007;100(2):553-9.
37. Pintore G, Marchetti M, Chessa M, Sechi B, Scanu N, Mangano G, et al. *Rosmarinus officinalis* L.: chemical modifications of the essential oil and evaluation of antioxidant and antimicrobial activity. *Natural product communications*. 2009;4(12):1685-90.
38. Awad FMA, Mohamed MA, Osman AY, Abu-Hassan ZA, Ibrahim N. In vivo assesment of anti-trypanosomal effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in rabbits. *IOSR J Agric Vet Sci*. 2014;7:45-54.
39. Badr A, Adnane B, M'hammed A, Jamal T. Benzimidazoles and Pharmacological Activities: A Review. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2014;7(4):481-8.