

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

حسین وزینی (PhD)*، بهمن رحیمی اسبویی (PhD)، روح اله عابدیان (MSc)، ابوذر قربانی (MSc)، حامد فتحی (MSc)²

- 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 دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

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

خلاصه

سابقه و هدف: ژیا ر دیا زیس، یکی از عفونت های شایع دستگاه گوارش ناشی از تک یاخته ها در جهان است. امروزه از داروهایی چون مترونی دازول، فورازولیدون، تینیدازول و کیناکرین جهت درمان ژیا ر دیا زیس استفاده می شود. این داروها دارای اثرات جانبی مختلفی می باشند، لذا تحقیق برای یافتن دارویی با اثرات جانبی کم، ضروری به نظر می رسد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی رزماری بر روی مرحله کیستی انگل ژیا ر دیا لامبلیا در شرایط آزمایشگاهی می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی تعداد ۲۵ سر موش کوچک آزمایشگاهی (سوری) به ۵ گروه ۵ تایی شامل کنترل منفی، کنترل دارویی با مترونی دازول و ۳ گروه 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.

یافته ها: در این مطالعه وزن موش ها در گروه های تحت درمان با عصاره هیدروالکلی گیاه رزماری (۲۰/۷۸±۲۶/۶۴) نسبت به گروه کنترل (۲۸/۷۰±۱۰/۶۹) که هیچ دارویی مصرف نکرده اند، کمتر بوده است ($P<0/001$). بررسی اثر عصاره گیاهی بر علیه انگل ژیا ر دیا لامبلیا نشان داد که کاهش تعداد کیست در گروه های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب برابر با ۷/۷۰، ۶/۸۰ و ۴/۹۴ درصد بوده است ($P<0/05$).

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که گیاه رزماری در شرایط درون تنی اثرات بسیار خوبی دارد و میتواند بعنوان یکی از گزینه های درمانی برای درمان ژیا ر دیا زیس مورد بررسی قرار گیرد.

واژه های کلیدی: گیاه رزماری، مترونی دازول، ژیا ر دیا لامبلیا.

مقدمه

به انسان رایج تر می باشد؛ کیست ها قادرند در محیط به مدت ۳ ماه زنده بمانند (۱۱ و ۱۰). ابتلا به این انگل در تمام سنین مشاهده می شود، لیکن بروز آن در کودکان بیشتر می باشد (۱۰-۸). ژیا ر دیا قادر به ایجاد عفونت حاد و یا عفونت مزمن به همراه علائم بالینی چون؛ اسهال های حاد آبکی، کرامپ های شکمی، سندرم سوء جذب و کاهش وزن در نوزادان و کودکان می باشد (۱۳ و ۱۲). امروزه جهت درمان ژیا ر دیا زیس از داروهایی چون؛ مترونی دازول، فورازولیدون، تینیدازول و کیناکرین استفاده می شود. اگر چه مصرف این داروها در اکثر مواقع مفید می باشد، اما دارای عوارض جانبی از قبیل ایجاد طعم نامطبوع در دهان، ناراحتی گوارشی، تهوع، سردرد، لکوپنی، نوروتوکسیک، بی قراری، تشنج و سرگیجه شده و در روند درمان، اختلال ایجاد می نمایند. 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 تروفوزوئیت و کیست فعالیت اثر بخشی داشته باشد امری ضروری است. گیاهان جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی هستند؛ تحقیقات متعددی بر روی اثرات گیاهان

ژیا ر دیا لامبلیا که با نام ژیا ر دیا اینتستینالیس هم شناخته می شود، یکی از شایع ترین تک یاخته های بیماریزای دستگاه گوارش است؛ که طیف وسیعی از مهره داران از جمله انسان را آلوده می سازد. عفونت ناشی از این تک یاخته که از شایع ترین عفونت های انگلی در جهان می باشد، ژیا ر دیا زیس Giardiasis نام دارد (۱). این انگل عامل بیماری اسهال چرب (استئاتوره) یا اسهال طولانی مدت در مسافران می باشد و به دو شکل تروفوزوئیت و کیست دیده می شود (۳ و ۲). این انگل یکی از شایع ترین انگل های روده ای در جهان به شمار می رود، هر ساله ۲۸۰ میلیون نفر در دنیا به این انگل مبتلا می شوند (۴). میزان آلودگی این تک یاخته در کشورهای در حال توسعه از ۱۰ تا ۵۰ درصد متفاوت است (۷-۵). ژیا ر دیا انتشار جهانی داشته و در مناطق با آب و هوای معتدل و گرمسیری شایع تر از مناطق سردسیری می باشد؛ این انگل یکی از شایع ترین انگل های روده ای در ایران و به ویژه نواحی شمالی به شمار می رود (۸ و ۹). انسان از طریق مصرف آب و غذای آلوده و تماس مستقیم مدفوعی دهانی به کیست این انگل آلوده می گردد. به علت مقاومت کیست های این انگل نسبت به کلرینه کردن آب، انتشار آن از طریق آب

* مسئول مقاله: دکتر حسین وزینی

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

E-mail: Hossein_vazini@yahoo.com

خارج و به وسیله نرمال سالین ۳ مرتبه شستشو انجام گردید. جهت اندازه گیری درصد کیست های 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 امل 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: MU-۹۴-۲۳۷۴) رعایت گردید. موش ها با 2×10^4 کیست ژیا ردیا لامبلیا به روش گاواژ آلوده شدند. جهت اطمینان از آلودگی موش ها به انگل، مدفوع موش ها به مدت ۱۱ روز متوالی مورد بررسی قرار گرفت. جهت تعیین آلودگی مدفوع موش ها به کیست انگل از روش فرمالین-اثر استفاده شد. سپس، حیوانات به ۵ گروه ۵ تایی؛ کنترل منفی (موش هایی که به کیست ژیا ردیا آلوده شدند و مورد درمان هم قرار نگرفتند)، کنترل دارو (موش هایی که به کیست ژیا ردیا آلوده شدند و با مترونیدازول درمان شدند) و ۳ گروه آزمون شامل؛ آزمون ۱ (موش های آلوده تحت درمان با عصاره رزماری با غلظت ۱۰۰)، آزمون ۲ (موش های آلوده تحت درمان با عصاره رزماری با غلظت ۲۰۰)، آزمون ۳ (موش های آلوده تحت درمان با عصاره رزماری با غلظت ۴۰۰) تقسیم شدند. مقادیر ۱ میلی گرم در لیتر عصاره رزماری با غلظت های (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰) به مدت ۱۰ روز متوالی به موش های گروه های آزمون به ازای یک کیلوگرم وزن بدن به صورت گاواژ خوراکی شده. جهت تعیین تعداد کیست های زنده از رنگ آمیزی ائوزین ۱/۱٪ استفاده شد. به گونه ای که کیست هایی که رنگ را به خود می گرفتند کیست مرده و کیست های فاقد رنگ کیست زنده به حساب آمدند (۳۰).

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS ۲۲ و آزمون-های ANOVA و آزمون تعقیبی توکی، همچنین آزمون T-test انجام شد و $p < 0.05$ معنی دار تلقی گردید.

یافته ها

بررسی آلودگی موش ها به انگل: مشاهدات نشان داد که حداکثر ۱۱ روز پس از تلقیح درون معده ای کیست ها در مدفوع موش ها ظاهر شده و موش ها به انگل آلوده می شوند. در برخی از موش های آلوده علائمی چون؛ گوشه گیری، کسلی و ژولیده شدن موی بدن و شل شدن قوام مدفوع مشاهده شد.

بررسی وزن موش ها قبل و بعد از آلودگی و درمان: قبل از مداخله میانگین وزن موش ها با هم اختلاف نداشت ($p = 0.993$) ولی بعد از مداخله میانگین وزن موش ها در بین گروه های مختلف با هم اختلاف معنی داری داشته اند ($p < 0.001$). و در همه گروه ها 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 (۳۴۳/۰) علی رغم 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 موش های 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 گروه ها اختلاف معنی داری داشت ($p < 0.001$) میانگین وزن گروه درمانی ۳ با کنترل مثبت در بعد از مداخله با هم اختلاف معنی داری نداشت ولی بین هر یک از سه گروه درمانی با هم در بعد از

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 (*Artimisia 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 اکیل کوهی یا رزماری با نام علمی (*Rosmarinus officinalis*) گیاهی از خانواده نعنائیان به صورت درختچه های کوچک همراه برگ های معطر و گل های کوچک آبی رنگ می باشد. پرورش این گیاه در بیشتر نواحی ایران معمول می باشد (۲۴).

مطالعات متعددی بر روی نقش عصاره رزماری در درمان شماری از بیماری ها همچون سردرد و اختلالات گردش خون انجام شده است (۲۵). عصاره این گیاه به علت دارا بودن ترکیبات؛ فلاونوئیدی (دیوسمیتین، دیوسمین، ژنکواتین، لوتولین، هیسپیدولین و آپیژنین)، ترپنوئیدی (تری ترپنوئیدهای اولتانولیک اسیدها و اورسولیک اسیدها و دیتیرن کارنوزول)، فنلی (کافنیک، کلروژنیک، لابیاتیک، نئوکلروژنیک و رزمارینیک اسید) دارای خواص درمانی چون؛ ضد درد، ضد آسم، ضد انگلی، ضد سرطانی، ضد طاسی و ... می باشد (۱۷-۲۵). از این رو، با توجه به ترکیبات متعدد این گیاهان که اثرات آنها در درمان بسیاری از بیماری ها 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 روش ها

عصاره گیری: گیاه رزماری از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی استان مازندران تهیه و جنس و گونه گیاهی توسط متخصص فارماکوتکزی مورد شناسایی قرار گرفت. بعد از شستن گیاه، برگ گیاه در شرایط مناسب خشک گردید. در این مطالعه از عصاره گیری به روش پراکولاسیون استفاده گردید. مقدار ۷۵۰ میلی گرم پودر گیاه تهیه گردید. عصاره گیری 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) غلظت های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۱۰۰ (میکروگرم بر میلی لیتر) از عصاره گیاه تهیه گردید، سپس عصاره بدست آمده در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد (۲۸).

جمع آوری و استخراج کیست ژیا ردیا لامبلیا: کیست ژیا ردیا لامبلیا، از نمونه های مدفوع آلوده بیماران مبتلا به ژیا ردیازیس مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی استان مازندران جمع آوری شد. کیست ها در نمونه های مدفوع با دو روش میکروسکوپی و فرمالین - اثر مشاهده گردیدند. نمونه ها توسط روش ساکارز ۸۵٪ تغلیظ گردیدند. جهت جداسازی کیست ژیا ردیا، نسبت ۱ به ۱۲ نمونه های مدفوع با آب مقطر، رقیق گردید.

به منظور ایجاد محلول آبکی ۲۰ سی سی 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 میلی لیتر آب اضافه گردید. مقدار ۳ میلی لیتر ساکارز ۸۵٪ مolar به محلول به دست آمده افزوده گردید. سوسپانسیون حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. توسط پیپت پاستور کیست ها

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)	۲۰/۴۰±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	۰/۰۰۲±۰/۰۰۴ ^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 و T-Test کاملاً با هم مشابه بودند ($p < ۰/۰۰۰۱$). 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 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 بترتیب ۷۰/۸، ۸۰/۶ و ۹۴ درصد بوده است. قبل از مداخله بین گروه ها اختلافی نبوده و میج کامل بودند ولی در بعد از مداخله بین گروه ها اختلاف معنی داری وجود داشت ($p < ۰/۰۰۰۱$). 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

بهترین وضعیت در گروه کنترل مثبت بوده است. در گروه های درمانی ۱ و ۲ و ۳ 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 ($p < ۰/۰۰۰۱$).

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 کلروفرمی 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 ژiardیوزیس می باشد، داشته است. درمان دارویی برای کنترل بیماری ژiardیوزیس داروی سنتتیک مترونیدازول می باشد که در مطالعات مختلف اثرات توکسیک این دارو بر روی سلول های انسانی مورد تأیید قرار گرفت (۳۱) و سال های اخیر محققین بدنال 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 ژiardیازیس گزارش کردند.

از این بین، گیاهان *Eugenia*، *Achyrocline satureioides*، *Psidium guajava*، *Foeniculum vulgare*، *uniflora*، سیر، زبان و ... تاثیر قابل قبولی بر روی کیست و تروفوزوئیت ژiardیا لامبلیا داشتند (۳۲-۳۳). Sajadi و همکاران که تاثیر ضد ژiardیایی آلبیوم و سرکه را مورد ارزیابی قرار دادند به این نتیجه رسیدند که عصاره سرکه بعد از ۳ ساعت بیشترین اثر ضد ژiardیایی را نسبت به بقیه موارد داشته است (۳۵). همچنین در مطالعات مختلف Rahimi Esboei و همکاران اثرات ضد ژiardیایی 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 شراسط 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 و لگاریس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *کلیسیلا 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

است (۳۹). 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 می گردد.

بررسی قرار گرفته است و نشان داده شده که گیاه رزماری از پتانسیل ضد انگلی 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

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: 50-6

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):50-6.

* 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. *Spring Sci Bus Med*. 2013;183-403.
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. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14(1):114-28.
4. Cacciò SM, Ryan U. Molecular epidemiology of giardiasis. *Molecul 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. *Vet Parasitol*. 2004;126(1):15-35.
7. Thompson R, Monis P. Variation in *Giardia*: implications for taxonomy and epidemiology. *Adv Parasitol*. 2004;58:69-137.
8. Flanagan P. *Giardia*-diagnosis, clinical course and epidemiology. A review. *Epidemiol Inf*. 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. *Parasitol*. 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. *Trend Parasitol*. 2013;29(2):83-90.
11. Rendtorff Rc. The experimental transmission of human intestinal protozoan parasites. II. *Giardia lamblia* cysts given in capsules. *Am J Hyg*. 1954;59(2):209-20.
12. Hartong WA, Gourley WK, Arvanitakis C. Giardiasis: clinical spectrum and functional-structural abnormalities of the small intestinal mucosa. *Gastroenterol*. 1979;77(1):61-9.
13. Homan WL, Mank TG. Human giardiasis: genotype linked differences in clinical symptomatology. *Int J Parasitol*. 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 J Infec Dis*. 2002;34(12):918-20.
15. Cañete R. Mebendazole in the treatment of *giardia duodenalis*, from clinical trial to daily practice. *Curr Therap Res*. 2016;80:1-2.
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. *J Paras Dis*. 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. *J Paras Dis*. 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*. *Eur J Med Chem*. 2016;120(14):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(1):199.
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. *Afri J Microbiol Res*. 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. *Res Molecul Med*. 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. *Molecul*. 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. *J Essent Oil Bear Plant*. 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. *J Separat Sci*. 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*. *J Separa Sci*. 2016;39(2):324-32.
- 28.Raeisi E, Esboei BR. Insignificant activity of *Allium paradoxium* and *Tanacetum parthenium* on protoscoleces of *echinococcus granulosus*: In vitro study. *J Med Plant Res*. 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. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2016;25(134):52-9.[In Persian].
- 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. *Parasitol Res*. 2016;115(7):1-9.
- 31.O'Donnell K, Barker D. Metronidazole and tinnitus: A potential side effect?. *Brit Dental J*. 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 J Microbiol*. 2016;9(11): 40839.
- 33.Condo Montero C, Salamanca Capusiri E, Ticona Jc, Monzón JI, 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(1):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. *Pharm Biol*. 2005;43(7):594-8.
- 35.Sadjadi S, Rostami J, Azadbakht M. Giardiacidal activity of the express obtaineal from bulbs of three *Alium* species on *Giardia intestinalis* cyst. *South Asian J Trop Med Pub 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 Chem*. 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. *Nat Product Communica*. 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.Badar A, Adnane B, M'hammed A, Jamal T. Benzimidazoles and Pharmacological Activities: A Review. *Res J Pharm Technol*. 2014;7(4):481-8.