

## بررسی مقایسه ای تاثیر قرص سیر و عصاره الکلی ذغال اخته بر روی اووسیت

### کریپتوسپوریدیوم پارووم در محیط HANK

میترا محرابی<sup>۱</sup>، جاوید صدراپی<sup>۲</sup>، فاطمه غفاری فر<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی فوق لیسانس گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲. دانشیار گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. تلفن: ۰۲۱-۸۲۸۴۵۵۵-۲۱ Sadraei@modares.ac.ir

۳. دانشیار گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

#### چکیده

**هدف:** کریپتوسپوریدیوم یکی از عوامل رایج اسهال در انسان و حیوانات می باشد که از انتشار جهانی برخوردار است، که در افراد HIV مثبت و نوزادان بیماری شدید و مزمن ایجاد می کند. تا کنون درمان قطعی و موثر برای آن یافت نشده است. هدف ما از این مطالعه بررسی اثر دارویی ذغال اخته، سیر و ترکیبی از هر دو بر روی اووسیت های این انگل در محیط هنکس بود.

**روش بررسی:** در روش کار از ذغال اخته و قرص سیر و ترکیبی از هر دو آنها عصاره هایی با رقت ۱/۲۵، ۱/۵۰، ۱/۱۰۰ تهیه و توسط فیلتر ۰/۲۲ استریل گردیدند. اووسیت های انگل از مدفوع گوساله های جوان و اسهالی جدا شده و با روش سوکروز، شیتز تغلیظ شدند و مقدار ۱۰۰ از آن حاوی  $2 \times 10^6$  اووسیت و  $10^7$  از رقت های دارویی تهیه شده را در لوله های اپندروف ریخته و به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه نگهداری کردیم (تست ها به صورت سه بار انجام شدند).

**یافته ها:** نتایج بدست آمده نشان داد که تمامی رقت ها بر روی اووسیت های کریپتوسپوریدیوم پارووم اثر داشت، اما غلظت ۱/۱۰۰ سیر در مقایسه همان غلظت از ذغال اخته بیشترین اثر را نشان داد ( $P < 0/001$ ). ترکیب عصاره دو گیاه بیشترین تاثیر را بر روی کاهش اووسیت انگل در مقایسه با تاثیر انفرادی آنها دارد ( $P < 0/001$ ). این تحقیق نشان می دهد که گیاه ذغال اخته، سیر و ترکیب هر دو آنها می توانند بر روی کریپتوسپوریدیوم موثر باشند.

**نتیجه گیری:** با توجه به اینکه داروهای شیمیایی عمدتاً دارای عوارض جانبی می باشند و عصاره این داروها در کمترین مقدار هم احتمالاً به دلیل وجود ماده فنی بنام پلی فنلیک در ذغال اخته و ماده آلیسین در سیر بر روی این انگل موثر می باشد بنابراین در کودکان، سالمندان و کسانی که دارای نقص سیستم ایمنی هستند می توان از این عصاره ها استفاده نمود.

**کلید واژه ها:** ذغال اخته، سیر، کریپتوسپوریدیوم پارووم

وصول مقاله: ۹۰/۴/۱۴ اصلاحیه نهایی: ۹۰/۱۱/۱۸ پذیرش: ۹۱/۱/۲۲

#### مقدمه

نیز در میزبانان مبتلا به نقص دستگاه ایمنی شایع است. عفونت ناشی از کریپتوسپوریدیوم، یکی از عفونت های انگلی انسان و دیگر حیوانات خونگرم و خونسرد است و بنابراین یک بیماری به تمام معنا زئونوز<sup>۱</sup> فرصت طلب،

کریپتوسپوریدیوم، انگل داخل سلولی و خارج سیتوپلاسمی است که با آلوده کردن سلول های اپیتلیوم روده ای، باعث ایجاد بیماری عفونی کریپتوسپوریدیوزیس، در دستگاه گوارش می شود (۱-۳) البته، عفونت های خارج روده ای،

<sup>۱</sup> zoonosis

محسوب می‌شود (۳۰۴). انتشار این بیماری با مرزهای جغرافیایی محدود نگردیده و در سراسر جهان با پراگندگی وسیع، دیده می‌شود. از جنبه پزشکی این انگل‌های بالینی در افراد سالم (دارای صلاحیت ایمنی) ایجاد می‌کند، ولی این علائم خود محدود شونده هستند و بعد از یک اسهال آبکی، تهوع، استفراغ، کاهش وزن بدن و دهیدراتاسیون و ... محدود می‌شود؛ ولی در افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی مثل افراد مبتلا به AIDS، افراد تحت درمان با کورتیکواستروئیدها، گیرندگان پیوند، کمبود IGA، سوء تغذیه و عفونت‌های همزمان ویروسی به صورت مهلک و کشنده بروز می‌کند (۳). آلودگی انسان در اثر مواجهه با آب یا مواد غذایی آلوده، تماس مستقیم با دام‌ها یا انسان‌های آلوده صورت می‌پذیرد. با توجه به عوارض و ضایعات خارج روده‌ای و جبران ناپذیر در افراد ایمنوساپرس، جهت جلوگیری از خسارات کریپتوسپورییدیوزیس و نیز جلوگیری از مرگ و میر افراد ایدزی، شناخت و مطالعه ایمنی هومورال از اهمیت خاصی برخوردار است (۲۰۳و۲). پس از شناسایی این انگل برای اولین بار در ایران، مطالعات مختلفی بر روی شیوع این انگل در انسان، مبتلایان به ایدز، گاو و گوساله، گوسفند، بز، اسب و ماکیان در مناطق مختلف صورت گرفته است (۶). میزان آلودگی در کودکان مبتلا به اسهال در تهران از ۲/۹ تا ۷ درصد، قزوین ۴/۷۵ درصد، خرم‌آباد از ۱/۲۳ تا ۵/۶ درصد، اهواز ۲/۲۳ درصد، ارومیه از ۱/۷ تا ۱۰ درصد، زاهدان ۴/۷ (۷ و ۸) رودهن و جاجرود ۲۷/۲ درصد، یاسوج از ۸ تا ۱۰/۵ درصد، کرمان ۱/۴ درصد، یزد ۲/۵۷ درصد، سنندج ۳/۲۵ درصد، اراک از ۶ تا ۷/۵ درصد، زنجان ۲/۶ درصد گزارش شده است (۸). آلودگی نزد مبتلایان به ایدز در تهران ۷/۸ درصد و در کرمانشاه ۲۶/۷ درصد گزارش شده است (۹). ذغال‌اخته به علت داشتن ماده‌ای بنام پلی‌فنلیک باعث نابودی یکسری از انگل‌ها می‌شود ولی اطلاعات کامل علمی منتشر شده از اثرات ضد تک‌یاخته

ای ذغال‌اخته و ترکیبات پلی‌فنل آنها در دسترس نمی‌باشد. گیاهان و فرآورده‌های آنها بدلیل نداشتن عوارض و یا کم بودن عوارض بعنوان درمان سنتی رایج بوده است. از این دسته گیاهان ذغال‌اخته دارای شواهد تاریخی می‌باشد. سربازان انگلیس در سال ۱۷۴۶ از این گیاه برای درمان اسهال که احتمالاً بدلیل آلودگی انگلی مثل ژیاوردیا بوده، استفاده می‌کردند (۱۰ و ۱۱). از ذغال‌اخته در درمان اسهال‌های با منشأ آلودگی کرمی استفاده می‌شود (۱۲). خواص ضد میکروبی برای سالهای متعدد به رسمیت شناخته شده و به تازگی ثابت شده است در انواع توت‌ها و ذغال‌اخته‌ها ترکیباتی مانند آنتوسیانین و پلی‌فنل باعث مهار رشد باکتریهای انتروپاتوژن مثل سالمونلا، اشریشیا، اورئوس، هلیکوباکتر، باسیلوس، کلسترییدیوم و گونه‌های کمپیلوباکتر و سویه‌های استافیلوکوک اورئوس می‌شود (۱۳). سیر فعالیت ضد میکروبی وسیعی بر علیه باکتری‌های گرم منفی و باکتری‌های گرم مثبت حتی در غلظت‌های بسیار پایین از خود نشان داده است. بررسی‌های زیادی در ارتباط با اثر ضد میکروبی سیر صورت گرفته است. عصاره سیر بر روی اشریشیاکلی، سودوموناس، سالمونلا، کاندیدا، کلبسیلا، میکروکوکوس، سالمونلاتیفی موربوم، باسیلوس سوبتیلیس، هلیکوباکتریلوری، استافیلوکوکوس اورئوس، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و مایکوباکتریوم آویوم مؤثر بوده (۱۴ و ۱۵). آلیسین و عصاره سیر اثر ضد قارچی (۱۶ و ۱۷) و اثر ضد ویروسی (۱۷) و اثر ضد انگلی (۱۸ و ۱۹) نیز از خود نشان می‌دهد. از جمله گزارش‌هایی در مورد تأثیر درمانی عصاره آبی سیر بر هیمنولیسی نانا و ژیاوردیازیس (۱۸) و گزارشی در مورد تأثیر درمانی آلیسین بر آنتاموبا هیستولیتیکا ارائه شده است (۱۹). در سال ۲۰۰۷ آنتونی و همکاران تأثیر ذغال‌اخته را بر روی ژیاوردیا و کریپتوسپورییدیوم در محیط کشت بررسی کردند و نتیجه گرفتند که عصاره این گیاه می‌تواند بر روی این دو انگل

در داروخانه که حاوی آلیسین هستند عصاره گیری سیر انجام نشد و از قرصهای تجارتي استفاده شد.

### تهیه غلظت داروهای گیاهی

غلظت های مورد نیاز داروها با توجه به مطالعات متعدد گذشته بر گیاهان دارویی به نسبت ۱۲/۵٪، ۲۵/۵٪ و ۱۰۰٪ تهیه و در محلول هنکس (Hanks balanced salt solution) حل، سپس در زیر هود با فیلتر ۰/۲۲ استریل و به لوله های استریل در پیچ دار منتقل گردیدند (۲۰-۱۷).

### رقت های ذغال اخته

ابتدا ۰/۰۲ گرم از عصاره الکلی خام ذغال اخته را در ۸<sup>cc</sup> محلول ذخیره هنکس حل کردیم. سپس با سود ۰/۱ مولار pH محلول را به ۷/۲ می رسانیم تا تغییرات اسیدی باعث مرگ انگل ها نشود. در مرحله بعد حجم محلول را با هنکس به ۱۰ سی سی رساندیم. از این محلول بعنوان غلظت ۱۰۰ درصد استفاده کرده و از آن رقت های بعدی را تهیه کردیم.

### رقت های سیر

با یک هاون چینی دو قرص را کاملاً خرد کرده و سائیدیم. پودر قرص ها که حاوی آلیسین هستند را در ۱۰<sup>cc</sup> محلول هنکس حل نمودیم. سپس PH محلول را با سود ۰/۱ مولار به ۷/۲ رسانده و حجم محلول را به ۱۲<sup>cc</sup> رساندیم (هر ۱<sup>cc</sup> حاوی ۲۰۰ میکروگرم آلیسین بود). محلول فوق را در سانتریفوژ یخچال دار با دور ۵۰۰۰rpm به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ کردیم. از قسمت فوقانی محلول برداشت نموده و از این محلول بعنوان غلظت ۱۰۰ درصد استفاده کردیم و از آن رقت های دیگر را تهیه نمودیم.

### اثر دادن داروهای گیاهی بر روی اووسیست های

#### انگل

#### ذغال اخته و سیر

ابتدا در ۵ لوله اپندرف ۱/۵<sup>cc</sup> مقدار ۱۰۰ (۱۰<sup>۴</sup>×۲۳۶) از سوسپانسیون ذخیره ای انگل اضافه کردیم و سپس ۹۰۰ لاندا از ۴ رقت مختلف ذغال اخته به آنها اضافه نمودیم و به لوله آخر بعنوان کنترل محلول هنکس بدون دارو اضافه

کاملاً موثر باشد این گیاه احتمالاً بدلیل داشتن فنل باعث پاره شدن دیواره اووسیست می شود (۲۰).

### روش بررسی

هدف ما از این مطالعه تجربی بررسی مداخله ای اثر دارویی ذغال اخته، سیر و ترکیبی از هر دو بر روی اووسیستهای این انگل در محیط هنکس بود. برای تهیه انگل کریپتوسپوریديوم از مدفوع گوساله های جوان و اسهالی گاوداری های شهرستان شهریار نمونه تهیه شده و از نمونه گسترش تهیه گردید که پس از رنگ آمیزی با روش اسید فسف استیون اصلاح شده، لامها بررسی شد و نمونه های مثبت جدا شدند. برای تخلیص اووسیست انگل از روش شیتز با گرادیان سوکروز استفاده شد. برای تهیه ذخیره اووسیست های تجمع یافته رسوب انگلی که از محلول شیتز بدست آمده را دو بار با محلول هنکس شسته و رسوب بار سوم را در لوله فالكون ریختیم و به ازای هریک میلی لیتر از محلول صد لاندا استرپتومايسين و صد لاندا پنی سیلین اضافه کردیم.

### روش عصاره گیری ذغال اخته

ابتد ۱۰۰ GI ذغال اخته خشک را شسته و خشک نمودیم و به یک بشر منتقل کرده و به مقدار ۵۰۰<sup>cc</sup> اتانول خالص (مطلق) اضافه کردیم و بشر را در حالیکه در آنرا توسط پارا فیلم کاملاً پوشانیدیم همراه با یک مگنت به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق روی شیکر قرار دادیم تا به آرامی مواد ذغال اخته در الکل وارد شود. سپس تمامی محلول را توسط گاز استریل صاف کردیم. محلول صاف شده را توسط سانتریفوژ یخچال دار با دور ۵۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ کردیم (۲۰). پس از سانتریفوژ محلول روی لوله ها را به یک بشر دیگری منتقل کرده و سریعاً در دستگاه تقطیر گذاشته تا الکل اضافی از محلول خارج شود و عصاره باقیمانده در لوله های اپندورف ۱/۵ سی سی در فریزر نگهداری شدند (۲۰). به علت وجود قرص های سیر موجود

بررسی قرار دادیم. هر دارو و ترکیب آنها در چهار رقت متفاوت در سه مرحله با انگل مجاورت داده شدند و نتایج بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت ثبت گردید و میانگین نتایج سه مرحله در جداول ذکر شد. از آزمون ANOVA برای نشان دادن تفاوت آماری بین ۴ رقت دارویی و همچنین در مقایسه بین دو به دو رقت های دارویی از آزمون LSD استفاده گردید.

### نتایج

نتایج نشان داد که تفاوت معنی داری بین ۴ رقت دارویی ذغال اخته در کاهش انگل به مدت ۲۴ ساعت وجود دارد ( $P < 0/001$ ) و همچنین در مقایسه بین دو به دو رقت های دارویی تفاوت معنی دار بود ( $P < 0/001$ ). با توجه به داده های جدول ۱ می توان نتیجه گرفت که در رقت ۱۰۰٪ کاهش انگلی بیشتری نسبت به بقیه رقت ها وجود دارد. با توجه به نتایج در شمارش ۴۸ ساعت نسبت به شمارش ۲۴ ساعت ذغال اخته در تمامی رقت ها کاهش انگلی معنی داری را سبب شده است ( $P < 0/001$ ). با توجه به نتایج بدست آمده حتی کمترین رقت ذغال اخته در ۴۸ ساعت بر شمارش انگلی در مقایسه با کنترل کاهش معنی داری دارد ( $P < 0/001$ ).

کردیم و آنها را بخوبی تکان داده به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار دادیم. تمامی مراحل فوق برای عصاره سیرهم انجام شد.

### ترکیب دو داروی گیاهی ذغال اخته و سیر

برای تهیه داروی ترکیبی به نسبت مساوی از هر دارو استفاده و سپس رقت های مختلف تهیه شد و به روش فوق عمل گردید. قابل ذکر است تمامی آزمایشات برای بدست آوردن اطمینان بیشتر سه بار تکرار و معدل آنها مدنظر قرار گرفت

### شمارش انگل ها

پس از زمان انکوباسیون هر یک از لوله های اپندروف را جداگانه با میکروسانتریفوژ به مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ کرده و به آرامی ۵ لاند از رسوب نمونه روی لام نئوبار گذاشته و بدلیل اینکه اندازه اووسیست کمتر از ۶ میکرون می باشد با بزرگنمایی ۱۰۰۰ میکروسکوپ به شمارش تعداد اووسیست های با دیواره سالم پرداختیم و تعداد اووسیست لوله های کنترل را هم شمارش کردیم. برای اطمینان بیشتر از رسوب هر یک از رقت های دارویی به همراه انگل و کنترل گسترشی تهیه کردیم و با روش ذیل نلسون اصلاح شده رنگ آمیزی کردیم و از نظر وجود و تعداد انگل مورد

جدول ۱. اثر ذغال اخته با رقت های مختلف بر روی اووسیست های کریپتوسپوریديوم پارووم در محلول هنکس در طی ۲۴ و ۴۸ ساعت

| رقت دارو(%) | نتایج بعد از ۲۴ ساعت               |                                 | نتایج بعد از ۴۸ ساعت               |                                 |
|-------------|------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
|             | میانگین تعداد اووسیستهای باقیمانده | درصد تعداد اووسیستهای باقیمانده | میانگین تعداد اووسیستهای باقیمانده | درصد تعداد اووسیستهای باقیمانده |
| ۱۰۰         | ۱۵۵±۴/۷۲                           | ۶۵/۷۸±۲                         | ۱۲۸±۷/۲۳                           | ۵۴/۲±۳                          |
| ۵۰          | ۱۷۶±۳/۵۱                           | ۷۴/۶±۱/۵                        | ۱۵۳±۳/۵۱                           | ۶۴/۸±۱/۵                        |
| ۲۵          | ۱۹۳±۴/۰۰                           | ۸۱/۸±۱/۷                        | ۱۶۹±۳/۵۱                           | ۷۱/۶±۱/۵                        |
| ۱۲/۵        | ۲۱۵±۱/۵۲                           | ۹۱/۱±۰/۶۵                       | ۱۸۹±۲/۰۸                           | ۸۰/۱±۰/۹                        |
| کنترل       | ۲۳۵±۱/۰۰                           | ۹۹/۶±۰/۴                        | ۲۳۵±۱/۰۰                           | ۹۹/۶±۰/۴                        |

\* اعداد فوق نشانگر تعداد اووسیستهای باقی مانده سالم بر مبنای میانگین ۳ تست به همراه ( $M \pm SD$ ) می باشند. در هر لوله ۲۳۶ اووسیست سالم استفاده شده است

بر شمارش انگل در مقایسه با کنترل کاهش معنی داری دارد. با توجه به نمودارها و نتایج معلوم می شود که سیر در مقایسه با ذغال اخته در کاهش اوویست انگل بسیار موثر تر عمل می کند و تفاوت معنی دار است ( $P < 0/001$ ).

با توجه به جدول ۲ مشاهده شد که رقت ۱۰۰٪ سیر بیشترین تأثیر را در کاهش انگل در ۴۸ و ۲۴ ساعت دارد ( $P < 0/001$ ). و با توجه به مدت تأثیر دارو، در زمان ۴۸ ساعت نسبت به ۲۴ ساعت بیشتر باعث سرکوب انگل ها می شود ( $P < 0/001$ ). همچنین کمترین رقت سیر هم

جدول ۲. اثر سیر با رقت های مختلف بر روی اوویست های کریپتوسپوریدیوم پارووم در محلول هنکس در طی ۲۴ و ۴۸ ساعت

| رقت دارو(%) | نتایج بعد از ۲۴ ساعت              |                                | نتایج بعد از ۴۸ ساعت              |                                |
|-------------|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
|             | میانگین تعداد اوویستهای باقیمانده | درصد تعداد اوویستهای باقیمانده | میانگین تعداد اوویستهای باقیمانده | درصد تعداد اوویستهای باقیمانده |
| ۱۰۰         | ۱۲۸ ± ۲/۰۰                        | ۵۴/۲ ± ۰/۹                     | ۱۱۱ ± ۲/۰۸                        | ۴۷ ± ۰/۹                       |
| ۵۰          | ۱۴۷ ± ۴/۵۸                        | ۶۲/۳ ± ۱/۹                     | ۱۲۶ ± ۵/۰۳                        | ۵۳/۴ ± ۲/۱                     |
| ۲۵          | ۱۶۴ ± ۳/۰۵                        | ۶۹/۵ ± ۱/۳                     | ۱۴۲ ± ۳/۲۱                        | ۶۰/۲ ± ۱/۴                     |
| ۱۲/۵        | ۱۷۴ ± ۴/۰۴                        | ۷۳/۷ ± ۱/۷                     | ۱۵۴ ± ۴/۰۰                        | ۶۵/۳ ± ۱/۷                     |
| کنترل       | ۲۳۵ ± ۱/۰۰                        | ۹۹/۶ ± ۰/۴                     | ۲۳۵ ± ۱/۰۰                        | ۹۹/۶ ± ۰/۴                     |

\* اعداد فوق نشانگر تعداد اوویستهای باقی مانده سالم بر مبنای میانگین ۳ تست به همراه ( $M \pm SD$ ) می باشند. در هر لوله ۲۳۶ اوویست سالم استفاده شده است.

اخته و سیر به تنهایی تأثیر بیشتری بر اوویست های انگل داشتند. با توجه به زمان در ۴۸ ساعت نسبت به ۲۴ ساعت ترکیب دو دارو در تمامی رقت ها در کاهش انگل بسیار موثرتر عمل کرد و تفاوت معنی دار می باشد ( $P < 0/001$ ).

با توجه به اطلاعات جدول ۳ اثر داروی ترکیبی با رقت های مختلف را بر روی اوویست های کریپتوسپوریدیوم پارووم در ۲۴ ساعت اولیه با یکدیگر مقایسه می نماید. همانطور که مشاهده می شود در ۲۴ ساعت اولیه مخلوط دو داروی ذغال اخته و سیر در تمامی رقت ها نسبت به ذغال

جدول ۳. اثر ترکیب ذغال اخته و سیر با رقت های مختلف بر روی اوویست های کریپتوسپوریدیوم پارووم در محلول هنکس در طی ۲۴ و ۴۸ ساعت

| رقت دارو(%) | نتایج بعد از ۲۴ ساعت              |                                | نتایج بعد از ۴۸ ساعت              |                                |
|-------------|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
|             | میانگین تعداد اوویستهای باقیمانده | درصد تعداد اوویستهای باقیمانده | میانگین تعداد اوویستهای باقیمانده | درصد تعداد اوویستهای باقیمانده |
| ۱۰۰         | ۹۴ ± ۴/۵۸                         | ۳۹/۸ ± ۱/۹                     | ۸۲ ± ۴/۰۴                         | ۳۴/۷ ± ۱/۸                     |
| ۵۰          | ۱۲۰ ± ۱/۰۰                        | ۵۰/۸ ± ۰/۴                     | ۱۰۵ ± ۱/۷۳                        | ۴۴/۵ ± ۰/۷                     |
| ۲۵          | ۱۲۳ ± ۲/۶۴                        | ۵۲/۱ ± ۱/۱                     | ۱۱۰ ± ۳/۴۶                        | ۴۶/۶ ± ۱/۵                     |
| ۱۲/۵        | ۱۲۵ ± ۲/۵۱                        | ۵۲/۹ ± ۱                       | ۱۲۳ ± ۲/۰۸                        | ۵۲/۱ ± ۰/۹                     |
| کنترل       | ۲۳۵ ± ۱/۰۰                        | ۹۹/۶ ± ۰/۴                     | ۲۳۵ ± ۱/۰۰                        | ۹۹/۶ ± ۰/۴                     |

\* اعداد فوق نشانگر تعداد اوویست های باقی مانده سالم بر مبنای میانگین ۳ تست به همراه ( $M \pm SD$ ) می باشند. در هر لوله ۲۳۶ اوویست سالم استفاده شده است.

## بحث

مطالعه حاضر شاید اولین مطالعه تجربی در این زمینه است که نتیجه مطلوبی از آن حاصل گردید. سیر و ذغال اخته و مخلوط این دو گیاه با توجه به نتایج با افزایش غلظت و مدت اثر آنها، کاهش قابل ملاحظه ای در تعداد انگلها نشان دادند که همه اختلاف ها از لحاظ آماری معنی دار بوده است. طبق نتایج بدست آمده عصاره سیر در مجموع در مقایسه با عصاره ذغال اخته احتمالاً به علت داشتن آلیسین بسیار مؤثرتر عمل کرد. ذغال اخته حاوی ماده فنلیک است. ماده فنلی آن می تواند باعث نابودی بسیاری از انگلها از جمله کریپتوسپوریدیوم پارووم می شود (۲۰). لذا با توجه به نتایج بدست آمده احتمالاً بتوان عصاره دو گیاه سیر و ذغال اخته را بعنوان یک ماده ضد کریپتوسپوریدیوم پارووم پیشنهاد کرد. ولی مطالعات دقیقتری برای یافتن ماده مؤثر و نحوه سنتز و تولید آن باید انجام داد. این تحقیق برای اولین بار تاثیر این گیاهان را بر روی اووسیست های انگل کریپتوسپوریدیوم پارووم نشان داده و سوابق مطالعاتی مشابهی یافت نشد ولی تاثیر آنها بر روی سایر میکروارگانیسمها ثابت شده است. مطالعات متعددی بر روی سیر در انگلها انجام شده است. عصاره سیر باعث کاهش کیست ها نسجی توکسوپلازما در مغز موش میشود (۱۶).

در سال ۲۰۰۶ فرناندو کالزاد و همکاران روی ۲۶ گیاه متفاوت از جمله سیر در مکزیک در درمان اسهال گاستروانتریت انگل های آنتاموبا هیستولیتیکا و ژیا ردیا لامبلیا مطالعه کردند. نتایج بررسی نشان داد که غلظت های متفاوتی از عصاره سیر بر روی این انگل ها می تواند موثر واقع گردد (۲۱). در سال ۱۹۹۷ سرچی آلکری و همکاران اثر باز دارندگی آلیسین سیر را بر روی تروفوزیست آنتوموبا هیستولیتیکا بررسی کردند. در این مطالعه آلیسین اثر مهارکنندگی روی آنزیم سیستمین پروتئیناز آمیب داشت (۲۲). در سال ۲۰۰۰ جاتین - هریس و همکاران اثر بازدارندگی سیر را بر روی ژیا ردیا لامبلیا بررسی کردند.

انکوباسیون سیر با انگل سبب کاهش پتانسیل ممبران الکتروشیمیایی سطحی شده و در نتیجه بر روی عملکرد انگل تاثیر می گذارد (۲۳). تاثیر سیر بر روی انگلهایی مانند پلاسمودیوم برگئی و هیستوموناس ملی اگریدیس تایید شده است (۲۵ و ۲۴). اگر چه مطالعات ذکر شده تاثیر سیر بر روی کریپتوسپوریدیوم گزارش نشده ولی با توجه به اثر بر روی تک یاخته های روده ای مانند ژیا ردیا و آنتاموبا هیستولیتیکا که مثل کریپتوسپوریدیوم باعث اسهال می شوند، می توان انتظار داشت که سیر بتواند بر روی این انگل هم تاثیر گذار باشد. نتایج تحقیق حاضر موید تاثیر سیر بر روی کریپتوسپوریدیوم می باشد و باعث از بین رفتن بیش از نیمی از انگلها شده است و با افزایش زمان این تاثیر می توانست بیشتر شود و این تاثیر تایید نظر کالزاد، سرچی آلکر و جاتین هریس می باشد که معتقدند سیر بر روی گاستروانتریت های انگلی موثر می باشد. متأسفانه مقاله ای مستقل در مورد تاثیر سیر بر این انگل در دسترس نبود و همانگونه که اشاره شد در این تحقیق برای اولین بار تاثیر این گیاه بر روی اووسیست های انگل کریپتوسپوریدیوم پارووم انجام شده و امیدواریم در ادامه این تحقیق، سیر برای درمان آلودگی به کریپتوسپوریدیوم در مراکز تحقیقاتی مد نظر قرار گیرد.

در مورد تاثیر ذغال اخته بر روی انگلها، مطالعه اندکی در دسترس می باشد. در سال ۲۰۰۷ آنتونی و همکاران تاثیر ذغال اخته را بر روی ژیا ردیا و کریپتوسپوریدیوم در محیط کشت بررسی کردند و نتیجه گرفتند که عصاره این گیاه می تواند بر روی این دو انگل کاملاً موثر باشد (۲۰). با توجه به تحقیق حاضر ذغال اخته بیش از ۴۵٪ انگلها را از بین برده است و در مقایسه با سیر مقداری کمتر اثر داشته ولی تاثیر آن هم قابل ملاحظه می باشد و این تاثیر نظر آنتونی را تایید می کند و لازم است تحقیقات بیشتری در مورد این گیاه صورت گیرد.

با توجه به نتایج جدول ۳ و تاثیر ترکیب سیر و ذغال اخته بر روی این انگل و از بین بردن ۶۵٪ انگل می توان به این نتیجه

حساسیت دارویی نسبت به مصرف مواد شیمیایی دارند می تواند قابل توصیه باشد.

رسید که استفاده از ترکیب این دو گیاه بسیار موثرتر است. و در تحقیقات آینده می تواند مد نظر قرار گیرد.

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به جهت حمایت های بی دریغ از این پایان نامه و مقاله تشکر و قدردانی می شود.

### نتیجه گیری

با توجه به مطالعات گذشته در مورد سیر و ذغال اخته و شواهد تاریخی که از این دو گیاه در درمان اسهال های انگلی ذکر شد مطالعه حاضر انجام گردید و امیدواریم این تحقیق راهی برای شناساندن داروهای گیاهی در کاهش اووسیت های کریپتوسپوریدیوم پارووم باشد. مصرف آن با توجه به منشاء گیاهی به خصوص در بیمارانی که

### Reference

1. Meisel JL, Perera DR, Meligro C, Rubin CE. Overwhelming watery diarrhea associated with a Cryptosporidium in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology* 1976;70:1156-60.
2. Clark DP, Sears CL. The pathogenesis of cryptosporidiosis. *Parasitol* 1996;12:221-5.
3. Sears CL. Cryptosporidium parvum: minuscule but mighty. In Scheld WM, Craig WA, Hughes JM (eds), *Emerg Infect*, 4th ed. ASM Press: Washington 2000. p.149-64.
4. Fayer R, Ungar BLP. Cryptosporidium spp. and Cryptosporidiosis. *Microbial Re* 1986; 50:458-483.
5. Morgan UM, Constantine CC, Donoghue O. Molecular characterization of Cryptosporidium isolates from human and other animals using random amplified polymorphic DNA analysis. *Am J Top Med Hyg* 1995;52:559-64.
6. Khalili B, Shahabi G, Khalili M, Kvass L, Hart A. Cryptosporidium outbreak in hospitalized and outpatient children under 5 years in Shahrekord. *Proceedings of the Fifth Iranian Congress of Parasitic Diseases*, 2003.
7. Tehranyha M. Cryptosporidium prevalence in children with diarrhea in Qazvin. *Journal of Research and Construction* 1998;11:38-43.
8. Pirestani M, Sadraei J, Dalimi A. Prevalence of Cryptosporidium infection in farms city in Shahriar, Tehran province and its importance in human health. *Journal of Research and Construction* 2009;85;44-53.
9. Taherkhani H, Falah M, Jadidian K, Vazerei S. Cryptosporidium prevalence study in patients with HIV disease counseling center in Kermanshah Province. *Proceedings of the Fifth Iranian Congress of Parasitic Diseases*, 2003.
10. Haycock DB. Exterminated by the blood flux. *Journal for Maritime Research* 2002;4:15-18.
11. Cox FEG. History of human parasitology. *Clinical Microbiology Reviews* 2002;15:595-612.
12. Webber T, Watson AG (Eds.). *The libraries of the Augustinian Canons, corpus of British medieval library catalogues*, vol. 6, British library in association with the British academy, London, UK, 1998.
13. Puupponen-Pimia R, Nohynek L, Alakomi HL, Oksman- Caldentey KM. The action of berry phenolics against human intestinal pathogens. *Bio Factors* 2005;23:243-251.

14. Block E. The oranosulfur chemistry of the genus *Allium* implication for the organic chemistry of sulfur. *Angew Chem Internat Edit* 1992;31:1101-1264.
15. Reuter HD, Koch HP, Lawson LD. Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations. In *garlic: The science and therapeutic application of Allium sativum L and related species*. Edited by Koch HP and Baltimore Williams and Wilkins 1996.p. 162-172.
16. Ghasemi Niko S, Dalimi A. Effect of aqueous and cloroform extract of garlic on cysts caused by toxoplasmosis in the mouse model. University research project final report, 2001.
17. Weber ND, Anderson DO, North JA. In vitro virucidal effects of *Allium sativum*( Garlic) extract and compounds. *Planta Med* 1992; 21:417-423.
18. Soffer SA, Mokhtar GM. Evaluation of the antiparasitic effect of agueous garlic extract in *Hymonolepisis* and *Giardiasis*. *Parasitol* 1991;21:497-502.
19. Mirelman D, Monheit D, Varon S. Inhibition of growth of *Entamoeba histolytica* by allicin. The active principle of garlic extracts (*Allium sativum*). *J Infect Dis* 1987;156:243-244.
20. Anthony Jp, Fyfe L, Stewart D, McDaugall Gy, Smith HV. The effect of bluebery extracts on *Giardia duodenalis* to viability and spontaneous excystation of *Cryptosporidium* oocysts ,in vitro. *Methods* 2007;42:339-348.
21. Fernando Calzada A, Lilian Y'opez-Mulia A, Abiga'íl Aguilar. In vitro susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 2006;108:367-370.
22. Serge A, Talia M, Aharon R, Meir W, Mirelman D. Allicin from garlic strongly inhibits cysteine proteinases and cytopathic effects of *Entamoeba histolytica*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1997;41:2286-2288.
23. Harris JC, Plummer S, Turner MP, Lloyd D. The microaerophilic flagellate *Giardia intestinalis*: *Allium sativum* (garlic) is an effective anti giardial. *Microbiology* 2000;146 :3119-27.
24. Zenner L, M P Callait, C Granier and C Chauve. In vitro effect of essential oils from *cinnamomum aromaticum*, *citrus limon* and *allium sativum* on two intestinal flagellates of poultry, *Tetratrichomonas gallinarum* and *Histomonas meleagridis*. *Parasite* 2003;10:153-7.
25. Hilda A Perez, Mercedes Dela Rosa, Rafael Apitz. In vivo activity of Ajoene against rodent malaria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1994;38:337-339.