

بررسی اثرات عصاره مایع حاصل از افشردن پیاز سه گونه گیاهی از جنس آلیوم بر روی کیستهای ژیا ردیا

*دکتر محمد آزادبخت، **دکتر سید محمود سجادی، دکتر جمشید رستمی
*گروه فارماکونوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
**گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز

خلاصه

ژیا ردیازیس یک عفونت پروتوزوایی روده باریک است که توسط ژیا ردیا لامبلیا ایجاد می شود و اغلب بدون نشانه بالینی می باشد. ژیا ردیا در سراسر دنیا با شیوع ۲ تا ۲۰ درصد پراکندگی دارد و ایران هم یکی از مناطق اپیدمیولوژیک این بیماری می باشد و در بسیاری از مناطق ایران این بیماری شایع است. انسان میزبان طبیعی ژیا ردیا لامبلیا می باشد و عفونت ژیا ردیازیس در کودکان به ویژه گروه سنی ۶ تا ۱۰ سال شایع تر از بالغین است. انتقال کیست انگل از طریق آلودگی غذا، آب یا از شخصی به شخص دیگر صورت می گیرد. درمان دارویی و پیشگیری از انتقال کیست از روشهای کنترل این بیماری می باشد. داروهای شیمیایی مورد استفاده دارای طیف وسیعی از عوارض جانبی می باشند و در کودکان تحمل دارویی بسیار کم می باشد. در این مطالعه اثرات عصاره مایع حاصل از افشردن پیاز سه گونه گیاهی از جنس آلیوم (سیر، پیاز و موسیر) که به عنوان مواد خوراکی استفاده می شوند، در از بین بردن کیست ژیا ردیا در محیط *in vitro* به روش بینگام انجام شد و اثرات این مواد در از بین بردن کیست ژیا ردیا در دمای ۴°C و ۲۴°C و زمانهای ۳۰ دقیقه، ۱، ۲ و ۳ ساعت آزمایش شده و نتایج حاصله با استفاده از برنامه کامپیوتری SPSS/PC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از نمونه ها، ۲۵۰ کیست شمارش شده و نتایج میزان کشندگی هر ماده به صورت زیر ثبت شده است:

۱- سیر دارای میانگین کشندگی $34/1 \pm 107/5$ و مقدار آن $43/2$ درصد می باشد، ۲- پیاز دارای میانگین کشندگی $9/88 \pm 102/83$ و مقدار آن $40/8$ درصد می باشد، ۳- موسیر دارای میانگین کشندگی $4/80 \pm 84/66$ و مقدار آن $33/6$ درصد می باشد، ۴- کنترل دارای میانگین کشندگی $9/45 \pm 26/72$ و مقدار آن $9/0$ درصد می باشد.
در تمام موارد مقدار P کمتر از $0/05$ می باشد ($P < 0/05$). همچنین بیشترین اثر کشندگی در زمان ۳ ساعت و دمای ۲۴°C به دست آمد. نتیجه کلی این پژوهش نشان می دهد که این مواد خوراکی طبیعی دارای اثرات کشندگی بر روی کیستهای ژیا ردیا می باشند.
کلمات کلیدی: آلیوم، پیاز، ژیا ردیا لامبلیا، سیر، کیست، عصاره گیاه، موسیر.

مقدمه

قطر و جداره کاملاً صاف و محتوی ۲ تا ۴ هسته و بسیاری از ساختمانهای موجود در تروفوزوئیت است (۵). کیست ژیا ردیا در روده باریک و در قسمت دوازدهه و یا محیط کشت مناسب از فرم کیستی خارج شده و به صورت تروفوزوئیت در می آید. تک یاخته مواد غذایی مورد احتیاج خود را از مواد موجود در روده و سلولهای اپیتلیال و از طریق صفحات مکنده جذب کرده و موجب ناراحتی گوارشی به ویژه اسهال و سوء جذب می شود. ۱۰ تا ۲۵ کیست یا بیشتر منجر به عفونت می شود ولی یک کیست به تنهایی قادر به ایجاد عفونت

ژیا ردیا لامبلیا در سطح دنیا گسترش فراوانی دارد و ایران یکی از نقاط اندمیک ژیا ردیازیس است (۲) و انسان می تواند با خوردن غذا و آبهای آلوده به کیست ژیا ردیا به صورت مستقیم آلوده شود. ژیا ردیازیس یک عفونت حاد پروتوزوایی روده باریک است و اغلب بدون نشانه بالینی می باشد و ممکن است به صورت اسهال حاد و مزمن تظاهر نماید. این انگل دارای دو شکل، تروفوزوئیت شکل فعال زنده و فرم کیست مقاوم است (۴). کیست بیضی شکل، دارای ۹ تا ۱۲ میکرون

بج در حدود
 10^4 * ۳ کیست داشت و در پایان بچها در دمای 4°C نگهداری شد.
تست قابلیت زیست کیست‌ها: روش تست رنگ آمیزی با ائوزین جهت تعیین قابلیت زیست کیست‌ها انجام شد که کیست‌های مرده رنگ قرمز ائوزین به خودشان گرفته و کیست‌های زنده بی‌رنگ و شفاف می‌مانند. سپس درصد زنده بودن تعیین شد (۳).

آزمایشات قابلیت زیست کیست‌ها با عصاره گیاهان: جهت آزمایش از بچ‌های شمارش شده که در یخچال نگهداری می‌گردید و درصد زنده بودن آنها محاسبه شده بود، استفاده شد و به این ترتیب دو سری لوله‌های ۲ میلی لیتری آماده شد که یکسری جهت آزمایش در دمای 24°C و دیگری در 4°C مورد استفاده قرار گرفت. سپس در هر کدام از لوله‌ها با سمپلر مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از مواد مورد آزمایش ریخته شد و بعد ۱۰۰ میکرولیتر نیز از سوسپانسیون حاوی کیست به آن اضافه و پس از تکان دادن، نمونه‌ها را در دمای خودش گذاشته و در زمانهای ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ ساعت از هر کدام نمونه برداری نموده و روی لام قرار گرفت و به آن رنگ ائوزین اضافه کرده و در زیر میکروسکوپ در هر مرحله ۲۵۰ عدد کیست شمارش می‌شد. پس از مقایسه با کنترل، درصد موثر بودن مواد محاسبه شد.

روش عصاره‌گیری: عصاره مایع پیاز سه گیاه از طریق پرس کردن به دست آمد. این عصاره به صورت تازه تهیه می‌شد.
تجزیه و تحلیل آماری: کلیه نتایج توسط نرم افزار کامپیوتری SPSS/PC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای مقایسه میانگین پارامترهای قبل و بعد از استفاده از عصاره گیاهان در هر گروه، از آزمون paired t-test استفاده شد. برای مقایسه میانگین اثرات عصاره گیاهان در زمان‌های مختلف نسبت به یکدیگر و در مقایسه با هم از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. در تمام آزمون‌ها حداقل مقدار قابل قبول آماری کمتر از ۰/۰۵ ($P < 0/05$) می‌باشد.

نیست. دوره نهفته بیماری از ۶ تا ۱۵ روز متغیر است و عفونت معمولاً تا ۴۱ روز و گاهی تا ۴ ماه ادامه دارد (۱).

جنس *Allium* از خانواده لاله (Liliaceae) دارای ۴۵۰ گونه می‌باشد که از مهمترین آنها که خوراکی نیز بوده، سیر (*Allium sativum L.*)، پیاز (*Allium cepa L.*)، و موسیر (*Allium ascalonicum L.*) می‌باشند. پیاز این سه گیاه دارای ترکیبات متعدد است. مهمترین ترکیب سولفور پیاز گیاه سیر، آلی‌سین (دی‌آلیل دی‌سولفید) بوده که اثر ضد عفونی کننده آن روی باکتریهای همچون *Listeria monocytogenesis*، *Staphylococcus aureus* و قارچ‌هایی همچون *Candida albicans* ثابت شده است (۹).

عفونت ژیا ردیایی به وسیله کیست منتقل و شیوع پیدا می‌کند. برای از بین بردن کیست ژیا ردیا روشهای مختلفی پیشنهاد می‌شود که یکی از راههای پیشنهادی توسط WHO کاربرد مواد خوراکی طبیعی در از بین بردن کیست انگل می‌باشند (۱۰). لذا در این تحقیق اثر مواد خوراکی طبیعی از جمله سیر، پیاز و موسیر روی کیستهای ژیا ردیا در *in vitro* مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

انتخاب نمونه: نمونه‌ها از طریق آزمایشگاههای انگل شناسی بیمارستانهای نمازی، فقیهی، درمانگاه مطهری شیراز که نتیجه آزمایش ژیا ردیایی مثبت و شدت عفونت بالایی داشته و تعداد کیست بیشتری در نمونه‌های آنها دیده شده بود، انتخاب گردید.

جمع‌آوری و نگهداری کیست‌ها: همه کیست‌های ژیا ردیایی در این مطالعه از نمونه‌های تازه مدفوع بیماران به دست آمده است. روش به کار گرفته شده در این مطالعات روش تغییر یافته بینگهام و روبرت می‌باشد (۳، ۱۰). به این صورت که ۵ گرم از نمونه‌ها مدفوع را در یک لیوان یکبار مصرف با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط کرده و از یک فیلتر ۴ لایه‌ای از گاز غیراستریل عبور داده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰-۶۰۰ سانتریفوژ شد. رسوب حاوی کیست جمع‌آوری و پس از انجام مراحل خالص سازی کیست، با لام شمارش کننده نئوپار، کیست‌ها شمارش شدند که هر

نتایج

نتایج مربوط به اثرات کشندگی عصاره مایع حاصل از
افشردن پیاز سه گونه گیاهی از جنس آلوم بر روی
کیست های ژیا ردیا در جداول ۱ و ۲ آورده شده است .

Archive of SID

بررسی اثرات سه گونه آلیوم بر کیست ژیا ردیا

جدول ۱: مقایسه اثر کشندگی عصاره مایع حاصل از افشردن پیاز سه گونه از جنس آلیوم بر روی کیستهای ژیا ردیا در دمای ۴ °C و در زمانهای مختلف.

زمان	عصاره پیاز گیاهان	تعداد تست	میانگین کشندگی %	انحراف معیار	کمترین میزان کشندگی %	بیشترین میزان کشندگی %	LDS*	درصد میانگین کشندگی
۰/۵ ساعت	کنترل	۲۲	۱۵/۴۰	۶/۳۸	۶/۰۰	۲۵/۰۰	۷.۶.۵.۴.۲	۶/۱۶
	سیر	۶	۳۶/۱۶	۱۱/۵۸	۲۴/۰۰	۵۶/۰۰	۳.۲.۱	۱۴/۴۶
	موسیر	۶	۳۳/۳۳	۴/۹۲	۲۶/۰۰	۳۹/۰۰	۳.۲.۱	۱۳/۳۳
	پیاز	۶	۳۳/۵۰	۱۲/۷۸	۲۰/۰۰	۵۲/۰۰	۳.۲.۱	۱۳/۴۰
۱ ساعت	کنترل	۲۲	۱۶/۵۹	۶/۶۷	۵/۰۰	۲۵/۰۰	۷.۶.۵.۴.۲	۶/۶۴
	سیر	۶	۵۷/۰۰	۱۹/۲۵	۳۹/۰۰	۸۶/۰۰	۷.۴.۳.۲.۱	۲۲/۸
	موسیر	۶	۴۲/۰۰	۸/۲۴	۳۰/۰۰	۵۱/۰۰	۳.۲.۱	۱۶/۸
	پیاز	۶	۴۸/۰۰	۱۲/۰۷	۳۲/۰۰	۶۲/۰۰	۳.۲.۱	۱۹/۲
۲ ساعت	کنترل	۲۲	۱۸/۴۵	۷/۸۷	۵/۰۰	۲۸/۰۰	۴.۳.۵.۷.۶	۷/۴۰
	سیر	۶	۷۳/۵۰	۲۵/۰۸	۵۴/۰۰	۱۰۸/۰۰	۴.۳.۲.۱	۲۹/۴۰
	موسیر	۶	۵۷/۸۳	۳/۳۷	۵۴/۰۰	۶۲/۰۰	۳.۲.۱	۲۳/۱۳
	پیاز	۶	۶۹/۳۳	۹/۰۲	۶۱/۰۰	۸۶/۰۰	۳.۲.۱	۲۷/۷۳
۳ ساعت	کنترل	۲۲	۲۰/۶۳	۸/۰۲	۶/۰۰	۳۱/۰۰	۷.۶.۵.۴.۲	۸/۲۵
	سیر	۶	۹۰/۰۰	۲۵/۲۹	۷۳/۰۰	۱۲۶/۰۰	۴.۳.۲.۱	۳۶/۰۰
	موسیر	۶	۷۱/۱۶	۲/۸۵	۶۹/۰۰	۷۶/۰۰	۳.۲.۱	۲۸/۴۶
	پیاز	۶	۸۳/۱۶	۷/۳۰	۷۲/۰۰	۹۲/۰۰	۳.۲.۱	۳۳/۲۶

* LSD: Least Significant Difference

در تمام گروهها $P < ۰/۰۵$ می باشد.

جدول ۲: مقایسه اثر کشندگی عصاره مایع حاصل از افشردن پیاز سه نوع گونه گیاهی از جنس آلیوم بر روی کیست های ژیا ردیا در دمای ۲۴ °C در زمانهای مختلف.

زمان	عصاره پیاز گیاهان	تعداد تست	میانگین کشندگی %	انحراف معیار	کمترین میزان کشندگی %	بیشترین میزان کشندگی %	LDS*	درصد میانگین کشندگی
۰/۵ ساعت	کنترل	۲۲	۱۵/۶۳	۶/۵۷	۶/۰۰	۲۵/۰۰	۷.۶.۵.۴.۲	۶/۱۶
	سیر	۶	۴۳/۵۰	۱۴/۲۰	۳۱/۰۰	۵۶/۰۰	۳.۲.۱	۱۴/۴۶
	موسیر	۶	۴۴/۶۶	۴/۷۶	۴۰/۰۰	۵۲/۰۰	۳.۲.۱	۱۳/۳۳
	پیاز	۶	۳۶/۰۰	۵/۹۳	۳۱/۰۰	۴۵/۰۰	۳.۲.۱	۱۳/۴۰
۱ ساعت	کنترل	۲۲	۱۷/۶۳	۷/۴۱	۵/۰۰	۲۸/۰۰	۷.۶.۵.۴.۲	۷/۶۰
	سیر	۶	۷۳/۸۳	۳۲/۴۹	۴۳/۰۰	۱۱۷/۰۰	۷.۴.۳.۲.۱	۲۹/۵۳
	موسیر	۶	۵۹/۸۳	۱۱/۲۵	۵۲/۰۰	۷۹/۰۰	۳.۲.۱	۲۳/۹۳
	پیاز	۶	۵۳/۱۶	۵/۹۸	۴۵/۰۰	۵۹/۰۰	۳.۲.۱	۲۱/۲۶
۲ ساعت	کنترل	۲۲	۲۰/۷۲	۸/۳۲	۶/۰۰	۳۱/۰۰	۴.۳.۵.۷.۶	۸/۳۰
	سیر	۶	۸۴/۰۰	۳۱/۳۷	۶۰/۰۰	۱۲۷/۰۰	۳.۲.۱	۳۳/۶۰
	موسیر	۶	۷۵/۰۰	۱۰/۲۰	۶۰/۰۰	۸۶/۰۰	۳.۲.۱	۳۰/۰۰
	پیاز	۶	۸۱/۰۰	۸/۰۰	۷۳/۰۰	۹۶/۰۰	۳.۲.۱	۳۲/۴۰
۳ ساعت	کنترل	۲۲	۲۴/۷۲	۹/۴۵	۱۰/۰۰	۴۳/۰۰	۷.۶.۵.۴.۳.۲	۹/۸۹
	سیر	۶	۱۰۷/۵۰	۳۳/۹۰	۸۰/۰۰	۱۵۴/۰۰	۳.۲.۱	۴۳
	موسیر	۶	۸۴/۶۶	۴/۸۰	۷۹/۰۰	۹۰/۰۰	۳.۲.۱	۳۳/۸۶
	پیاز	۶	۱۰۲/۸۳	۹/۸۸	۹۳/۰۰	۱۲۰/۰۰	۳.۲.۱	۴۱/۱۳

* LSD: Least Significant Difference

در تمام گروهها $P < ۰/۰۵$ می باشد.

کنند(۷). سازمان بهداشت جهانی (WHO) پیشنهاد کرده است که جهت کنترل عفونت تحقیقات روی منابع خوراکی طبیعی در کشورهای در حال توسعه انجام شود(۱۰). لذا این تحقیق بر اساس این پیشنهاد انجام شده است.

در یک مطالعه سه عصاره گیاهی شامل *Justica spicigera* با میانگین کشندگی $91/0 \pm 0/5$ و *Lippia berlandieri* با میانگین کشندگی $90 \pm 0/6$ و *Psidium gujava* با میانگین کشندگی $78/0 \pm 1/0$ بیشترین اثر را روی فرم تروفوزیوت داشته‌اند. عصاره های دیگر شامل *Punica granatum* (میانگین $78/0 \pm 1/3$)، *Mangifera indica* (میانگین $77/0 \pm 1/0$)، *Cupressus sempervirens* (میانگین $73/0 \pm 1/2$)، *Castella tomentosa* (میانگین $70/0 \pm 0/7$)، *Oriza sativa* (میانگین 5 درصد) و *Rizophora mangle* (با میانگین صفر) بر روی تروفوزیوت استفاده شده است(۸).

در این مطالعه عصاره مایع حاصل از افشردن پیاز سه گیاه سیر، موسیر و پیاز که در ایران به فراوانی استفاده می شود، بر روی کیستها که عامل اصلی انتقال ژیاوردیازیس است، استفاده شده‌اند و مشخص گردید که حداکثر میانگین اثر عصاره ها در دمای $24^{\circ}C$ و زمان ۳ ساعت و به ترتیب مربوط به سیر (با میانگین $107/50 \pm 33/90$) و پیاز ($102/83 \pm 9/88$) و موسیر ($84 \pm 4/80$) می‌باشند.

منابع

۱. اورکزى، هرمز، انگل شناسى پزشکى : تک یاخته شناسى، چاپ جهاد دانشگاهى، جلد اول، ۱۳۶۳، ۱۰۶ - ۱۰۰.
۲. صاحبى، اسماعیل، بیماریهای انگلی تک یاخته‌ای، موسسه نشر فرهنگى و تحقیقاتى پیام نینوا، جلد اول، چاپ پنجم، ۱۳۶۹، ۹۱ - ۱۰۷.
3. Bingham K. A., Jarrol L. F., Meyer A. E., 1979, Physical factors of excystation In vitro and excystation vs eosin excretion as determination of viability, Experimental Parasitology (47), 241 - 291.

جداول ۲ و ۱ بیانگر تعداد آزمایشهای صورت گرفته ، میانگین اثر کشندگی مواد ، انحراف معیار ، کمترین میزان و بیشترین میزان کشندگی و کمترین اختلاف معنی دار (LSD) و درصد کشندگی مواد می باشد. جدول ۱ مربوط به دمای $4^{\circ}C$ و زمانهای ۳۰ دقیقه ، ۱ ، ۲ ، ۳ ساعت و جدول ۲ مربوط به دمای $24^{\circ}C$ و زمانهای ۳۰ دقیقه ، ۱ ، ۲ ، ۳ ساعت می باشد.

بررسی جداول مربوط به اثرات کشندگی عصاره مایع حاصل از افشردن پیاز سه گونه گیاهی از جنس آلیوم بر روی کیستهای ژیاوردیا نشان می‌دهد که افشره پیاز گونه آلیوم ساتیوم (سیر) در دمای $24^{\circ}C$ با میانگین کشندگی $107/50 \pm 33/09$ بیشترین اثر را دارد.

برای به دست آوردن میانگین پارامترهای عصاره مایع حاصل از افشردن پیاز گیاهان در زمان های مختلف نسبت به یکدیگر و در مقایسه با هم از آنالیز واریانس یکطرفه استفاده شد . در تمام آزمون ها حداقل مقدار قابل قبول آماری کمتر از $0/05 (P < 0/05)$ می باشد .

بحث و نتیجه گیری

انسان میزبان طبیعی ژیاوردیا لامبلیا می باشد و عفونت ژیاوردیازیس در کودکان به ویژه گروه سنی ۶ تا ۱۰ سال شایع تر از بالغین است و بروز ژیاوردیازیس در مهد کودک ها فراوان دیده می شود . کیست ژیاوردیا در محیط مرطوب ماهها باقی می ماند و به محض تماس با روده عفونت ایجاد می‌کند(۵). در یک تحقیق از ضد عفونی کننده های شیمیایی مثل هالوژن ها بر روی منابع تجمع کیستها در آب ها استفاده کرده اند که در زمان ۳۰ دقیقه هیچکدام از آن ها قادر نبوده است که تمام کیست ها را از بین ببرد. از طرفی کلر که به عنوان ضد عفونی کننده آنها می باشد، در مدت تماس ۸ ساعت نیز قادر به از بین بردن همه کیستها نشده است(۶) . توانایی مقاومت کیست ها وابسته به درجه حرارت می باشد. در دمای پایین در آنها مواد شیمیایی بر روی آنها کمتر اثر می

8. Ponce M. H., Navarro A. , Martines G. M. , Alvarez C. R. (1994): In vitro effect of 14 plant extracts against *Giardia lamblia* , Rev. Invest. Clin., 44(5), 343 – 347.
9. Sharma V. D., *et al.*, 1980, Antibacterial property of *Allium sativum* in vivo and in vitro studies , Indian Journal of Experimental Biology , 15, 466 – 469.
10. WHO 1992, WHO / PAHO informal consultation on intestinal protozoal infections, WHO / CDS / IPI / 92.2.
4. Merg C.T., Hetsko L. M., Gillin D.F., 1996, Inhibition of *Giardia lamblia* excystation by antibodies agent cyst walls and by wheat germ agglutining, Inf. Immun., 2151– 2157
5. Neva F. A., Brown H. W., 1994, Basic clinical parasitology , 7th. Ed. , 90 – 101.
6. Ongerth E. J. , Macdonald C. S. J. , Stibbs H., 1989, Backcountry water treatment to prevent giardiasis , Am. J. Public Health, 79, 1633 – 1637.
7. Paget T. A., 1993, Oxygen uptake in cysts and trophozoits of *Giardia lamblia*, J. Eukaryot. Microbio., 40(3) , P: 246 – 250.

Archive of SID