مقایسه بین اثر عصاره اتانولی سیر (*Allium sativum*) ومترونیدازول بر *تریکوموناس گالینه*

طایفی نصر آبادی، ن.[۱*]، بایگان، ع.[۲]، یوسفی، م.ر.[۳].

دریافت: ۱۳۹۳/۰۶/۰۹ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۰۸

خلاصه

تریکومونیازیس یکی از بیماری های انگلی شایع پرندگان و ماکیان است که به وسیله تک یاخته تاژکداری به نام *تریکوموناس* ایجاد می شود. امروزه بیشتر از داروهای صنعتی مانند مترونیدازول جهت درمان تریکومونیازیس استفاده می شود که دارای عوارض جانبی و مقاومت دارویی هستند، اما در گذشته استفاده از گیاهان دارویی مانند شنبلیله، نعناع و سیر بیشتر متداول بوده است. در این تحقیق به بررسی اثر ضد انگلی عصاره اتانولی سیر (*Allium sativum*) برروی تک یاخته *تریکوموناس گالینه* و مقایسه آن با اثر داروی شیمیایی مترونیدازول پرداخته شده است. در این مطالعه تجربی بعد از خشک کردن سیر و تهیه عصاره اتانولی و ارزیابی نمونه ها به روش HPLC، عصاره آن در محیط کشت دیاموند که حاوی 10^6 تک یاخته *تریکوموناس* در هر میلی لیتر بود اضافه شد. به این صورت که ۳ گروه شامل ۵ لوله حاوی محیط کشت حاوی ۰/۱ میلی لیتر مترونیدازول و *تریکوموناس گالینه*، ۵ لوله حاوی ۰/۱ میلی لیتر سرم فیزیولوژی و *تریکوموناس* به عنوان کنترل و ۳ دسته ۵ تایی لوله حاوی غلظت های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میلی لیتر عصاره سیر در آب مقطر نانوپیور و *تریکوموناس گالینه* تهیه شد. تمامی لوله ها در ساعت صفر حاوی 10^6تروفوزئیت زنده و متحرک در هر میلی لیتر بودند و به فواصل ۱۵ دقیقه ای تا ۲ ساعت و سپس در ساعت های۳، ۴، ۵، ۶، ۱۲ و۲۴ تعداد تروفوزئیت های زنده شمارش شدند. بررسی نتایج به دست آمده نشان داد که هر سه غلظت عصاره سیر، اثر ضد انگلی داشته ولی غلظت ۰/۰۱ درصد عصاره سیر بیشتر از سایر غلظت ها موثر بوده و اثری مشابه داروی مترونیدازول داشت به طوریکه در دقیقه ۲۶۰ تمامی *تریکوموناس* های زنده از بین رفته بودند. با بررسی و مقایسه نتایج حاصل از این تحقیق و تحقیقات دیگر مشخص می شود که عصاره سیر بر برخی انگل ها موثر است و می تواند به عنوان داروی ضد انگلی در درمان برخی بیماری ها استفاده شود.

واژه های کلیدی: عصاره سیر، *تریکوموناس گالینه*، مترونیدازول.

۱. گروه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران.

۲. گروه پژوهشی بیوتکنولوژی صنعتی، پژوهشکده توسعه صنایع شیمیایی ایران، مجتمع تحقیقاتی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران.

۳. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران.

*نویسنده مسؤول: **iranianresearch@gmail.com**

مقدمه

تریکوموناس یکی از شایع ترین تک یاخته های دستگاه گوارش پرندگان از جمله: کبوتر، بوقلمون و پرندگان زینتی می باشد. دو گونه مهم این انگل در پرندگان عبارتند از: *Trichomonas gallinae* و *Trichomonas gallinarum* . این تک یاخته تاژکدار در دستگاه گوارش فوقانی مانند دهان، حلق، مری، چینه دان و پیش معده ایجاد جراحات پنیری می کند (حسینی و همکاران، ۱۳۸۲ ; Amin و همکاران، ۲۰۱۱).

این انگل با داشتن تاژک های متعدد قدامی و خلفی به سطح مخاطات متصل شده و با تاژک خلفی مواد غذایی را از بین غشای سلول های میزبان به دست می آورد. هر چه تجمع انگل بیشتر باشد میزان شکنندگی سلول های محل استقرار انگل بیشتر و زخم هایی توام با نکروز پنیری ایجاد خواهد شد (حسینی و همکاران، ۱۳۸۲). بیماری در جوجه ها عبارت است از: عدم تغذیه، لاغری، افتادن بال ها و تجمع مایعات زرد و سبزرنگ در دهان که گاهی از کناره منقار خارج می شود و بوی بسیار زننده ای دارد. گاهی به علت نفوذ به چینه دان و کبد، چینه دان پاندولی، تجمع ندول های نکروتیک در ناحیه پورتال کبد همراه با فیبروز شدید دیده می شود (حسینی و همکاران، ۱۳۸۲ ; Abd-El-Motelib و همکاران،۱۹۹۴ ; Stabler و Engley، ۱۹۴۶).

در حال حاضر داروهای زیادی مانند مترونیدازول (۶۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، ایمپرونیدازول (۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن)، کلوتریمازول، نیترومیدازول، نیکونازول و نیستاتین بر علیه این بیماری به کار می روند که به دلیل مصرف مکرر و بیش از حد این داروها و ایجاد مقاومت دارویی، گرایش عمومی به استفاده از داروهای گیاهی و گیاهان دارویی، روز به روز رو به افزایش است (حسینی و همکاران، ۱۳۸۲ ; Stabler و Engley، ۱۹۴۶).

یکی از گیاهان دارویی مهم سیر است. این گیاه متعلق به تیره Amaryllidaceae ، چند ساله و علفی به ارتفاع ۵۰ سانتی متر، با برگ های باریک که به صورت غلافی قسمتی از ساقه را می پوشاند، می باشد. قسمت مورد استفاده آن بیشتر بولب (پیاز) زیرزمینی است که شامل ۱۰-۵ قطعه یا حبه سیر متورم می باشد. این قطعات در پوشش نازک مایل به سفید قرار گرفته و مجموعه آنها در غلافی یک پارچه بولب سیر را تشکیل می دهند.

گزارش های متعددی در خصوص اثرات ضد تک یاخته ای عصاره سیر بر روی تک یاخته هایی از جمله *لیشمانیا* و *انتاموباهیستولیتیکا* وجود دارد (Behnia و همکاران، ۲۰۰۸ ; Ghazanfari و همکاران، ۲۰۰۶).

هدف از این تحقیق، بررسی اثر ضد تریکومونادی عصاره سیر در مقایسه با مترونیدازول در محیط کشت بوده است.

مواد و روش کار

تهیه عصاره سیر

در این مطالعه تجربی پس از جمع آوری سیر و خشک کردن آن، عصاره اتانولی ۷۰ درصدی سیر با کمک دستگاه روتاری تهیه شد.

تهیه تک یاخته *تریکوموناس*

پس از شناسایی کبوترهای مشکوک با علایم بالینی مانند چرک پنیری در دهان، بی اشتهایی، بال های افتاده، لاغری و بوی بد دهان و انتقال به آزمایشگاه، از ترشحات ابتدای دستگاه گوارش کبوتر با کمک سواپ گسترش مستقیم تهیه و زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی x۴۰۰ برای مشاهده تروفوزئیت های زنده و متحرک *تریکوموناس* بررسی شدند. پس از تایید وجود انگل *تریکوموناس گالینه* حدود ۲۰ سی سی PBS (Phosphate buffered saline) استریل به وسیله پیپت در حلق کبوتر ریخته شد و سپس با کمک پیپت پوار دار مایع خورانده شده از چینه دان خارج و با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد. مایع بالایی که حاوی باکتری های دستگاه گوارش بود سیفوناژ و دور ریخته شد، همچنین تروفوزئیت های زنده انگل از مایع رسوب به محیط کشت دیاموند منتقل شد. روش ساخت محیط کشت دیاموند مطابق با دستور شرکت سازنده (مرک آلمان) به این صورت بود که ۳/۸۳ گرم محیط کشت در ۹۰ میلی لیتر آب مقطر فیلتر شده حل شده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد استریل شد. سرم استریل اسب به مقدار ۱۰ میلی لیتر همراه آنتی بیوتیک (ونکومایسین، جنتامایسین، آمفوتریسینB) تحت شرایط استریل اضافه و در لوله ها توزیع شد. سپس محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد.

بعد از ۲۴ ساعت تروفوزئیت های موجود در محیط کشت به وسیله لام نئوبار شمارش و برای تعیین فاز لگاریتمی رشد انگل در زمان های ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت تعداد تریکومونادهای زنده با بزرگنمایی x۱۰۰ و x۴۰۰ میکروسکوپ نیکون شمارش و بهترین زمان برای رشد تک یاخته انتخاب شد. بیشترین میزان رشد ۴۸ ساعت پس از تلقیح انگل به محیط کشت به دست آمد (جدول ۱). سپس از محیط کشت سری اول به میزان ۱ میلی لیتر به محیط کشت های بعدی منتقل شد و به این ترتیب چندین بار پاساژ داده شد تا تعداد انگل به $۱۰^{۶}$ عدد تروفوزئیت زنده در هر میلی لیتر محیط کشت برسد.

گروه A : لوله حاوی ۰/۱ میلی لیتر دی متیل سولفاکساید (شرکت

زمان (ساعت)	میانگین تعداد تریکوموناد ($\times 10^4$)	لگاریتم میانگین تریکوموناد
۲۴	۱۵	۵/۱۷
۴۸	۱۰۲	۶/۰۰
۷۲	۹۷	۵/۹۸

جدول ۱. لگاریتم بیشترین زمان رشد انگل در محیط کشت در زمان های مختلف

مرک آلمان) و *تریکوموناس گالینه* و سرم فیزیولوژی به عنوان کنترل.

گروه B: لوله های ۵ تایی محیط کشت حاوی ۰/۱ میلی لیتر مترونیدازول (شرکت داروسازی فارابی) و *تریکوموناس گالینه* و دی متیل سولفاکساید (شرکت مرک آلمان).

دی متیل سولفاکساید یک حلال قوی است و برای حل کردن بسیاری از ترکیبات قطبی و غیر قطبی با قابلیت اختلاط با آب و مایعات فیزیولوژیک کاربرد داشته و در این مطالعه به منظورحل شدن یکنواخت مترونیدازول به محیط اضافه شد.

گروه C: حاوی ۰/۱ میلی لیتر از هر یک از غلظت های ۰/۱ و ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ درصد عصاره اتانولی سیر در حلال آب مقطر نانو پیور و *تریکوموناس گالینه* به عنوان لوله های آزمایش در انکوباتور با دمای۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. تمامی لوله های کشت در ساعت صفر حاوی 10^6 عدد تروفوزئیت زنده و متحرک در هر میلی لیتر بودند و سپس هر ۱۵ دقیقه تا زمان ۲ ساعت و در ساعت های ۳ ، ۴ ، ۵ ، ۶ ، ۱۲و۲۴ به صورت کاملا ناآگاهانه از نظر زنده ماندن *تریکوموناس* ها بررسی شدند. روش شمارش تعداد انگل ها با استفاده از لام نئوبار بود.

روش تعیین مقدار ماده موثره عصاره با High HPLC (performance liquid chromatograph)

برای جداسازی ماده موثره آلیسین از روش HPLC preparative استفاده شد و پس از جداسازی، با استفاده از دستگاه HPLC معمولی اقدام به تعیین ماده موثره شد. آنالیزها با دستگاه کروماتوگرافی جاسکو ژاپن مدل hss1500 با پمپ Pu-1580 و مدل دتکتور جذبی uv-1575 - uv/vis و انجکتور مدل جاسکو بروین انجام شد. ستون مورد استفاده ods C18 100 با اندازه ۴/۶ میلی متر در ۱۵۰ میلی متر با لوپ ۲۰ بود و آنالیز داده ها به وسیله نرم افزار JMBS فرانسه انجام گرفت. فاز متحرک آنالیز در این دستگاه آب و متانول ۵۰ : ۵۰ بوده و آلیسین در فرکانس۲۲۰ نانومتر شناسایی شد.

آنالیز آماری

ازآنجا که توزیع متغیرها نرمال بوده است و چندین صفت (غلظت های مختلف) در زمان های مختلف بررسی شده است، لذا در این تحقیق از آزمون Genereal Linear Model (GLM) و reapeted measure ANOVA در نرم افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

از مقایسه نتایج حاصل از گروه های A، B و C (جداول ۲ الی ۶) و اثر غلظت های متفاوت عصاره سیر بر بقای *تریکوموناس گالینه* مشخص می شود که: به جز گروه کنترل (A) در زمان های مختلف مطالعه در درصد بقای انگل در گروه های دیگر (B و C) تفاوت وجود داشت که با بررسی گراف ساده (شکل ۱) می توان به این نتیجه رسید که در چه زمان هایی تفاوت بارزتر بوده است. عصاره سیر با غلظتهای ۰/۱ و ۰/۰۰۱ درصد اثرات مشابه و تقریبا اثر کم تری از غلظت ۰/۰۱ درصد داشتند و از زمان ۲۶۰ دقیقه به بعد، هم مترونیدازول و هم عصاره ۰/۰۱ درصد سیر، باعث ایجاد مرگ کامل انگل ها شده بود که در بحث بیشتر به آن پرداخته می شود ($P<0/05$).

بحث

امروزه حدود ۲۰/۰۰۰ گونه از گیاهان دارویی در دنیا به مصارف پزشکی می رسد و با توجه به عوارض، هزینه کم تر وسازگاری بیشتر بیماران با این داروها گرایش عمده ای به استفاده از آنها وجود دارد (آزادبخت و همکاران، ۱۳۸۲). در این تحقیق نیز سعی بر بررسی اثر ضد تریکومونادی عصاره سیر بوده است.

نتایج به دست آمده از آنالیز آماری نشان می د هد که هر سه غلظت عصاره سیر و مترونیدازول اثر ضد تریکومونادی معنی داری در مقایسه با گروه کنترل داشته اند ($P<0/05$).

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می شود، نمودار غلظت ۰/۱ درصد و ۰/۰۰۱ درصد عصاره سیر بر هم منطبق می باشد یعنی اثرات این دو غلظت عصاره سیر تقریبا با هم مشابه است و در زمان های مشابه درصد بقای بیشتری نسبت به غلظت ۰/۰۱ درصد سیر دارد.

درصد بقای انگل میانگین ۵ لوله	زمان (دقیقه)
۱۰۰	۰
۹۴	۱۵
۸۳	۳۰
۶۴	۴۵
۶۲	۶۰
۵۰	۷۵
۳۶	۹۰
۲۰	۱۰۵
۱۰	۱۲۰
۵	۱۸۰
۰	۲۴۰
۰	۳۰۰
۰	۳۶۰

جدول ۲. اثر داروی مترونیدازول بر *تریکوموناس گالینه* در زمان های مختلف مطالعه

درصد بقای انگل میانگین ۵ لوله	زمان (دقیقه)
۱۰۰	۰
۹۴	۱۵
۸۵	۳۰
۸۰	۴۵
۷۶	۶۰
۵۰	۷۵
۳۵	۹۰
۱۵	۱۰۵
۱۰	۱۲۰
۴	۱۸۰
۲	۲۴۰
۰	۳۰۰
۰	۳۶۰

جدول ۳. اثر غلظت ۰/۱ درصد عصاره سیر بر *تریکوموناس گالینه* در زمان های مختلف مطالعه

درصد بقای انگل میانگین ۵ لوله	زمان (دقیقه)
۱۰۰	۰
۹۷	۱۵
۸۳	۳۰
۸۰	۴۵
۷۵	۶۰
۶۰	۷۵
۵۴	۹۰
۳۴	۱۰۵
۲۰	۱۲۰
۸	۱۸۰
۰	۲۴۰
۰	۳۰۰
۰	۳۶۰

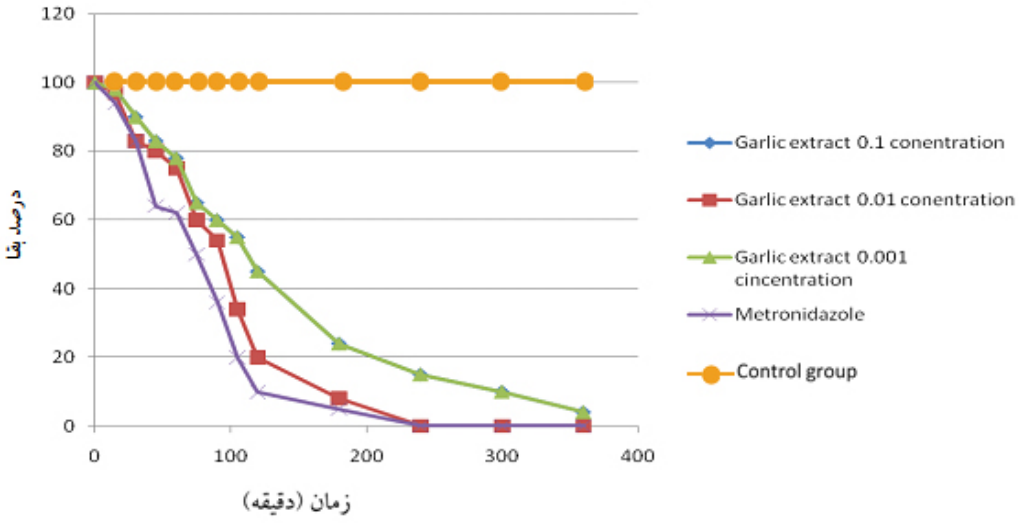
جدول ۴. اثر غلظت ۰/۰۱ درصد عصاره سیر بر *تریکوموناس گالینه* در زمان های مختلف مطالعه

درصد بقای انگل میانگین ۵ لوله	زمان (دقیقه)
۱۰۰	۰
۹۸	۱۵
۹۰	۳۰
۸۳	۴۵
۷۸	۶۰
۶۵	۷۵
۶۰	۹۰
۵۵	۱۰۵
۴۵	۱۲۰
۲۴	۱۸۰
۱۵	۲۴۰
۱۰	۳۰۰
۴	۳۶۰

جدول ۵. اثر غلظت ۰/۰۰۱ درصد عصاره سیر بر *تریکوموناس گالینه* در زمان های مختلف مطالعه

درصد بقای انگل	زمان (دقیقه)
۱۰۰	۰
۱۰۰	۱۵
۱۰۰	۳۰
۱۰۰	۴۵
۱۰۰	۶۰
۱۰۰	۷۵
۱۰۰	۹۰
۱۰۰	۱۰۵
۱۰۰	۱۲۰
۱۰۰	۱۸۰
۱۰۰	۲۴۰
۱۰۰	۳۰۰
۱۰۰	۳۶۰

جدول ۶. درصد بقای انگل در لوله های سرم فیزیولوژی
در زمان های مختلف مطالعه



شکل ۱. نمودار میانگین اثر غلظت های ۰/۱ و ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ درصد عصاره سیر و مترونیدازول در مقایسه با گروه کنترل بر بقاء تریکوموناس گالینه در زمان های مختلف مطالعه.

ازطرفی نمودار نشان می دهد که اثر غلظت ۰/۰۱ درصد عصاره سیر مشابه با مترونیدازول می باشد و در هر دو از زمان ۲۶۰ دقیقه به بعد، درصد بقای انگل به صفر می رسد، درصورتیکه در غلظت های ۰/۱ و ۰/۰۰۱ فقط در زمان ۴۰۰ دقیقه درصد بقا به صفر می رسد. شاید به دلیل غلیظ بودن عصاره، غلظت ۰/۱ درصد اثر کم تری نسبت به غلظت ۰/۰۱ درصد داشته است و مواد موثره در آن امکان اثر نداشته اند. در ذیل به مقایسه نتایج برخی مطالعات ضد تک یاخته ای عصاره سیر پرداخته شده است:

در بررسی اثر سیر روی تک یاخته *Spironucleus* مشخص شد این تک یاخته دسته بزرگی از مهره داران را آلوده می کند و عصاره

سیر روی متابولیسم و رشد تک یاخته *اسپیرونوکلئوس* اثر منفی داشته است (Millet و همکاران، ۲۰۰۱).

در این بررسی اثرات پیش گیری کننده و درمانی عصاره سیر بر روی ۴۸ موش تضعیف سیستم ایمنی شده که به طور تجربی با *کریپتوسپوردیوم* آلوده شده بودند، مشخص گردید که عصاره سیر باعث از بین رفتن *کریپتوسپوردیوم* و ضایعات ناشی از آن می شود (Gaafar، ۲۰۱۲).

در تحقیقی مبنی بر بررسی اثرات ضد کوکسیدیایی عصاره سیر در موش های آلوده با *ایمریا پاپیلاتا* نشان داده شد که درمان در روز چهارم آلودگی باعث کاهش دفع اووسیست، کاهش التهاب روده و کبد و کاهش میزان آنزیم ها و فاکتورهای کبدی مانند آلکالین، فسفاتاز، گلوتامیل و ... گردید (Dkhil و همکاران، ۲۰۱۱).

در مطالعه ای دیگر اثر عصاره سیر بر فاگوسیتوز *لیشمانیا* توسط ماکروفاژها مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که تعداد اماستیگوت های *لیشمانیا* در ماکروفاژ گروه درمانی با عصاره سیر کاهش یافته است (Ghazanfari و همکاران، ۲۰۰۶).

در تحقیق دیگری اثر آپاپتوز عصاره سیر روی پروماستیگوت *لیشمانیا* در محیط RPMI بررسی و درصد زنده ماندن تک یاخته به روش کالرومتریک MTT اندازه گیری شد. در این تحقیق به کمک روش رنگ آمیزی V-Flous و ژن *Parp* جزییات روند آپاپتوز در *لیشمانیا*های درمان شده بررسی شد. پس از انجام آزمایش MTT با الایزا ریدر در طول موج ۵۴۰ نانومتر، میزان جذب نور در پلیت های درمان شده با غیر درمان شده مقایسه و اثر ضد *لیشمانیایی* عصاره سیر تایید شد (Khademvatan و همکاران، ۲۰۱۱).

در تحقیق دیگری اثر عصاره سیر روی بیان INFγ و ژن *Inos* در ماکروفاژهای آلوده به *لیشمانیا* ماژور به روش RT-PCR بررسی و با روش کالرومتریک MTT غلظت IC50 عصاره سیر ۳۷ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد. نتایج RT-PCR نشان داد که عصاره سیر اثر سیتوتوکسیک داشته و باعث افزایش INFα و ژن *Inos* در سلول های آلوده می شود (Gharavi و همکاران، ۲۰۱۱).

در مطالعه ای اثر عصاره سیر روی تروفوزوئیت و کیست *آکانتوموبا کاستلانی* بررسی شد و غلظت ۶۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره بعد از یک ساعت تعداد تروفوزوئیت ها را کاهش داد (Polat و همکاران، ۲۰۰۸). در مطالعه دیگری عصاره سیر با غلظت ۰/۳ میلی گرم تا ۵۰ درصد اثر مهار کنندگی روی رشد ژیاردیا بعد از ۲۴ ساعت داشته است (Harries و همکاران، ۲۰۰۰).

در تحقیقی دیگر اثر ضد آمیبی عصاره سیر روی *آنتاموبا هیستولیتیکا* (عامل اسهال خونی آمیبی) در محیط کشت TyI-S-۳۳ بررسی شد و نتایج نشان داد که اثری همانند داروی مترونیدازول دارد (Behnia و همکاران، ۲۰۰۸).

عصاره آبی سیر بر *تریکوموناس واژینالیس* در محیط کشت TYM بررسی شد و نتایج نشان داد که MLC (حداقل غلظت کشنده) عصاره آبی سیر ۳۷/۵، ۵۰، ۶۲/۵، ۷۵ میلی گرم بر میلی لیتر بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ ساعت می باشد و کم ترین غلظت ۲۵ میلی گرم در میلی لیتر بود. رشد تک یاخته در غلظت های ۸۷/۲ و ۷۷/۱ درصد در همه زمان های انکوباسیون کاهش می یافت (Ahmed، ۲۰۱۰).

در این مطالعه همانند سایر تحقیقات مشابه مشخص گردید که عصاره سیر می تواند اثرات ضد تک یاخته ای داشته باشد. تمامی این محققین مکانیسم اثر ضد تریکومونادی عصاره سیر را مربوط به ترکیبات سولفوری به خصوص آلیسین می دانند که خاصیت ضد میکروبی دارد. آلیسین با گروه تیول در آنزیم های مختلف مانند الکل دهیدروژناز، تیرو دوکیسین رودوکتاز، RNA پلی مراز که در مکانیسم سیستین پروتئیناز در انگل اثر می کند، واکنش می دهد (Ankri و Mirelman، ۱۹۹۹). همچنین آلیسین با ترکیبات آزاد سولفیدریل در سیستین پروتئاز ترکیب می شود (Robinkov و همکاران، ۱۹۹۸). سیستین پروتئاز در بسیاری از تک یاخته های انگلی از جمله *تریکوموناس* وجود دارد (Gradoni و Ascenzi، ۲۰۰۴). محصولات حاصل از شکست آلیسین با دیواره سلولی و مولکول های سولفور در اسید آمینه و پروتئین ترکیب می شود، لذا در متابولیسم سلولی تداخل ایجاد می کند، به علت دارا بودن گلوتاتیون در سلول های انسانی، آلیسین اثری روی آنها ندارد (Davis، ۲۰۰۵).

Journal of Veterinary Laboratory Research 6 (2014) 117-125

Comparison of the effect of garlic (*Allium sativum*) ethanol extract with metronidazole on *Trichomonas gallinae*

Taiefi Nasrabadi , N.*[1], Baygan, A.[2], Yousefi, M.R.[3].

Received: 31.08.2014 Accepted: 29.12.2014

Abstract

Trichomoniasis is one of the common diseases in birds and poultries which is caused by flagellate protozoa called *Trichomonas*. Today, some synthetic drugs are used such as Metronidazole which has some side effects and drug resistance but in past years some medical herbs such as fenugreek, mint, garlic and etc. were commonly used. In this research, the antiparasitic effect of garlic extract (*Allium sativum*) on *Trichomonas gallinae* in comparison with Metronidazole has been studied. In this experimental study, the plants were collected, dried. The ethanol extract was prepared and samples were assessed by HPLC. 106 liquid *Trichomonas* trophozoite/ml was added to the diamond medium. The three groups were culture tube containing 0.1 mL Metronidazole and *Trichomonas gallinae*, *Trichomonas gallinae* plus 0.1 mL saline as a control group and tubes containing concentrations of 0.1, 0.01 and 0.001% ethanol extract of garlic in a solvent of nanopure distilled water and *Trichomonas gallinae* (5 tubes for each concentration). All tubes at zero time, containing 106 live trophozoites alive and were counted with 15 minutes interval in the first two hours and then at hour 3, 4, 5, 6, 12 and 24. The results revealed that all concentrations of garlic extract werean antiparasitic effect on *Trichomonas* but 0.01% concentration was the most effective as similar as metronidazole. In these two tubes, all *Trichomonas* protozoa were not alive 260 minutes after the onset of the study. The according to results and other researches show that garlic extract can be effective on some parasites and can be used to treat some parasitic diseases.

Key words: Garlic extract, *Trichomonas gallinae*, Metronidazole.

1. Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University of Karaj, Karaj, Iran.

2. Industrial Biotechnology Research Group, Iranian Institute of R&D in Chemical Industries, ACECR, Karaj, Iran.

2. Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University of Babol, Babol, Iran.

*Corresponding author: **iranianresearch@gmail.com**

منابع

آزادبخت، م.؛ هزارجریبی، ه.، عبداللهی، ف.، شعبانخانی، ب. ۱۳۸۲. بررسی تاثیر اسانس گیاه درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد بر *تریکوموناس* واژینالیس. فصلنامه گیاهان دارویی. **٤** ، ۳۵-۴۰.

حسینی، س.ح.؛ حدادزاده، ح.؛ مشکی، ب.؛ نبیبان، ص. ۱۳۸۲. عفونت های انگلی دام های اهلی. چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران. ۸۳-۸۴.

Abd-El-Motelib, T.Y., Galal, B.El-G. 1994. Some studies on *Trichomonas gallinae* infection in pigeons. Assiut Veterinary Medical Journal, **30**, 277-288.

Ahmed, S.A. 2010. *In vitro* effects of aqueous extracts of garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*) on *trichomonas Vaginalis*. Parasitologists United Journal, **3**, 45-54.

Amin, A., Liebhart, D., Weissenb, H., Hess, M. 2011. Experimental infection of turkeys and chiken with clonal strain of *Tetratrichomonas gallinarum* induces a latent infection in the absence of clinical signs and lesions. Journal of Comparative Pathology, **144**, 55-62. https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2010.06.002

Ankri, S., Mirelman, D. 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes and Infection, **1**, 125-129. PMID:10594976

Behnia, M., Haghighi, A., Komeilizadeh, H., Seyyed Tabaei, S. J., Abadi, A. 2008. *In vitro* antiamoebic activity of Iranian *Allium sativum* in comparison with metrounicdazole against *Entamoeba histolytica*. Iranian Journal of Parastitology, **3**, 32-38.

Davis, S.R. 2005. An overview of the antifungal properties of allicin and its break down products- The possibility of a safe and effective antifungal prophylactic. Mycoses, **48**, 95-100. https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2004.01076.x

Dkhil, M.A, Abdel-Baki, A.S, Wunderlich, F., Sies, H., Al-Quraishy, S. 2011. Anticoccidial and antiiflammatory activity of garlic in murine *Eimeria papillata* infections. Veterinary Parasitology, **175**, 66-72. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.09.009

Gaafar, M.R. 2012. Efficacy of *Allium sativum* (garlic) against experimental cryptosporidiosis. Alexandria Journal of Medicine, **48**, 59-66. https://doi.org/10.1016/j.ajme.2011.12.003

Gharavi, M.J., Nobakht, M., Khadem Vatan, S. H., Badani, E., Bakhshayesh, M., Roozbehani, M. 2011. The effect of garlic extract on expression of Inf γ and Inos genes in macrophages infected with *Leishmania major*. Iranian Journal of Parasitology, **6**, 74-81. PMID: 22347300

Ghazanfari, T., Hassan, ZM., Khamesipour, A. 2006. Enhancement of peritioneal mecrophage phagocytic activity against *Leishmania major* by garlic (*Allium sativum*) treatment. Journal of Ethnopharmacology, **103**, 333-337. https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.08.026

Gradoni, L., Ascenzi, P. 2004. Nitric oxide and anti protozoan chemotherapy, Parasitologia, **46**, 101-103. [Article in Italian]. PMID:15305696

Harris, J.C., Plummer, S., Turner, M.P., Lloyd, D. 2000. The microarophilic flagellate *Giardia intestinalis*: *Alium sativum* (garlic) in an effective antigiardial. Microbiology, **146**, 3119-3127. https://doi.org/10.1099/00221287-146-12-3119

Khademvatan, S., Saki, J., Gharavi, M.J., Rahim, F. 2011. *Allium sativum* extract induces apaptosis in *Leishmania major* promastigote. Journal of Medicinal Plants Research, **5**, 3725-3732.

Millet, C.O.M., Lloyd, D., Williams, C., Williams, D. Evans, G., Saunders, R. A., Cable, J. 2001. Effect of garlic and *Allium* derived products on the growth and metabolism of *spironucleus vortens*. Experimental Parasitology, **127**, 490-499. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.10.001

Polat, Z.A., Vural, A., Ozan, F., Tepe, B., Ozcelik, S., Cetin, A. 2008. *In vitro* evaluation of the amoebicidal activity of gar;ic extract on *Acanthamoeba castellani* and its cytotoxic potential on corneal cells. Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics. **24**, 8-11. https://doi.org/10.1089/jop.2007.0035

Robinkov, A., Miron, T., Konstantinovski, L., Wilchek, M., Mirelman, D., Wiener, L. 1998. The mode of action of allicin: Trapping of radicals and interaction with thiol containing proteins. Biochimica et Biophysica Acta, **1379**, 233-244. PMID:9528659

Stabler, R. M., Engley, F. B. 1946. Studies on *Trichomonas gallinae* infections in pigeon squabs. The Journal of Parasitology,**32**, 225-232. https://doi.org/10.2307/3272673