Comparison of the efficacy of *Inula viscose* leaves extract with metronidazole against *Giardia lamblia* cysts: an experimental study

Dr. Amal Dayoub [*]
Dr. Rim Salame [**]
Samoual AL- Hakeem [***]

(Received 13 / 10 / 2021. Accepted 9 / 2 /2022)

□ ABSTRACT □

This study aimed to determine the effectiveness of *Inula viscosa* (*L.*) in comparison with metronidazole to eliminate the cysts of *Giardia lamblia*, as it is one of the most common plants in our local environment.

Infection due to the protozoa giardia is one of the most common parasitic infections in the world. Millions of people across the world acquire this infection each year. The most common clinical symptoms of giardiasis include abdominal pain, bloating diarrhea, indigestion, epigastric pain, nausea, vomiting and fatty foul-smelling stools.

Using known Drugs to treat giardiasis causes certain side effects, such as unpleasant taste in the mouth, gastrointestinal discomfort, nausea, headache and leukopenia. Considering the widespread nature of giardiasis infection, it is essential to identify anti-parasitic herbal drugs to eliminate cystic and trophozoite types of this disease.

The results of the laboratory study showed that the ethanolic extract of *Inula viscose leaves* is highly effective in eliminating giardia cysts. The percentage of dead cysts was rated 58%, for 3 hours of incubation, while this percentage of metronidazole was 38% Thus, *Inula viscose* has nearly twice the efficacy of the selective drug metronidazole at tested concentration.

Keywords: *Inula viscosa* (*L.*) leave extract,Metronidazole, biological effectiveness, *Giardia lamblia* cysts

[*] **Professor in The Environmental Prevention, Tishreen University,Syria, aamaldd@yahoo.com**
[**] **PHD in Phytochemistry, Pharmacy, Tishreen University,Syria , reemsalame20@gmail.com**
[***] **Master student in The Environmental Prevention Department, Higher Institute for Environmental Research, Tishreen University ,Syria. samoalalhakeem@gmail.com.**

مقارنة فعالية مستخلص أوراق نبات الطيون (*Inula viscosa*) مع الميترونيدازول تجاه أكياس طفيلي الجيارديا اللمبلية(*Giardia lamblia*): دراسة مخبرية

د. أمل ديوب*

د. ريم سلامة**

السموءل الحكيم***

(تاريخ الإيداع 13 /10 / 2021. قبل للنشر في 9 / 2 / 2022)

□ ملخّص □

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد فعالية مستخلص أوراق نبات الطيون الدبق (*Inula viscosa*) بالمقارنة مع الميترونيدازل في القضاء على أكياس طفيلي الجيارديا اللمبلية، باعتباره من النباتات المنتشرة بشكل كبير في بيئتنا المحلية.

يعد مرض الجيارديات (*Giardiasis*) الناجم عن الأولي الحيواني (*Giardia lamblia*) واحداً من الأمراض الأكثر شيوعاً في العالم. وتشمل قائمة الأعراض المرضية للإصابة كلاً من الألم البطني والنفخة والإسهال وعسر الهضم والغثيان والتقيؤ والبراز الدهني ذو الرائحة الكريهة.

ويؤدي استخدام الأدوية التقليدية في علاج الإصابة بالجيارديات لحدوث تأثيرات جانبية مثل الطعم غير المستحب في الفم والاضطرابات المعوية والغثيان والصداع ونقص كريات الدم البيضاء. ونظراً للانتشار الكبير للمرض، بات من الضروري البحث عن طرق علاجية بديلة يمكن أن تقضي وتحد من المرض ويكون لها أعراض جانبية أقل.

وبينت نتائج الدراسة المخبرية الفعالية الكبيرة للمستخلص الإيتانولي لأوراق نبات الطيون في القضاء على أكياس الجيارديا حيث بلغت نسبة الأكياس الميتة 44%، 58% عند استعمال التركيزين 85 ، 210 مكرولتر/مل على التوالي من الخلاصة المركزة لمدة 3 ساعات حضن ، بينما كانت هذه النسبة 38% للميترونيدازل عند التركيزين 250، 500 ملغ/مل على التوالي، وبالتالي، يمتلك مستخلص أوراق نبات الطيون ضعفي تأثير العقار الكيميائي الانتقائي للجيارديا تقريبا .

الكلمات المفتاحية: مستخلص أوراق الطيون، الميترونيدازول، الفعالية الحيوية، طفيلي الجيارديا اللمبلية.

*أستاذ – قسم الوقاية البيئية – المعهد العالي لبحوث البيئة– جامعة تشرين – سوريةaamaldd@yahoo.com

**مدرسة – قسم العقاقير – كلية الصيدلة– جامعة تشرين – سوريةreemsalame20@gmail.com

***طالب ماجستير – قسم الوقاية البيئية – المعهد العالي لبحوث البيئة– جامعة تشرين –سورية
samoalalhakeem@gmail.com

مقدمة:

يعد مرض الـ Giardiasis من الأمراض الطفيلية المعوية، سببه طفيلي من الأوالي الحيوانية السوطية يدعى *Giardia lamblia* (الأسماء المرادفة الأخرى: *Giardia intestinalis*، *Giardia duodenalis*) وهو السبب الثاني الأكثر شيوعاً بالعالم لمرض الإسهال بعد الإسهال الفيروسي (Gardner, 2001; Plutzer *et al*., 2010; Paintong *et al*., 2020)، ووفقاً لمنظمة الصحة العالمية (WHO) طفيلي الـ *G.lamblia* أحد أكثر الطفيليات المعوية شيوعاً التي تؤثر على الأطفال في شرق البحر المتوسط وإفريقيا، وقد ضمن حالياً في مبادرة منظمة الصحة العالمية (Rezanazer *et al*., 2019; EL-kady *et al*., 2021)، وهو يسبب حوالي (2.5) مليون حالة إسهال عند الأطفال في الدول النامية (Lane and Lioyd, 2002; Thompson, 2004).

سجل مرض الـGiardiasis في كل أنحاء العالم بما فيها مناطق مختلفة من سورية (Ismail,1989; Ebrahim,2004; Almerie *et al*., 2008; Al-kofary and Harba, 2009; Ismail *et al*., 2010; Ismail,2011; Al-habal,2014; Dayoub,2018)، وهو واحد من أكثر الأمراض الطفيلية شيوعاً في العالم، حيث يصيب هذا الطفيلي (*G .lamblia*) ملايين الأشخاص في العالم سنوياً (Ankarklev *et al*., 2012).

تحدث العدوى بهذا الطفيلي عبر الطريق الفموي – البرازي وبشكل خاص عن طريق تناول الطعام والماء الملوث بأكياس الطفيلي، والطريق الأكثر أهمية للعدوى هو مياه الشرب الملوثة (Karaby and Tamer, 2004; Rezanazer *et al*., 2019). سجلت أكثر حالات العدوى بهذا الطفيلي عند الأطفال أكثر من غيرهم من الفئات العمرية الأخرى.

انتشار مرض الـ Giardiasis كغيره من الأمراض المعوية يتغير بالاعتماد على الوضع الصحي وهو أكثر شيوعاً في المناطق الاستوائية والمعتدلة عنها في المناطق الباردة (Edrisian *et al*., 2008).

تتضمن الأعراض السريرية الأكثر شيوعاً للإصابة بداء الجيارديا Giardiasis ألم بطني ونفخة وإسهال، وهنالك أعراض أخرى تتضمن عسر هضم وغثيان وإقياء، وبراز دهني مع رائحة كريهة (Taherkhani *et al*., 2009; Escobedo *et al*., 2010).

من الأدوية الشائعة لمعالجة هذا المرض مشتقات الـ Nitroimidazole ومشتقات الـ Benzimidazole وغيرها من العقاقير الأخرى مثل الـ Quinacrine، Furazolidone و Paromomyein والعقار الانتقائي لمرض الـ Giardiasis هو Metronidazole وهو من مشتقات الـ Nitroimidazole (Rezanazer *et al*., 2019).

لهذه الأدوية تأثيرات جانبية غير مرغوبة مثل: طعم غير مستحب في الفم، وإزعاجات معوية، وغثيان، وصداع، وانخفاض بعدد الكريات البيضاء Leukopenia، ومن جهة أخرى ونتيجةً للاستخدام غير المنضبط للصادات الحيوية فقد أنتجت الأحياء الدقيقة الممرضة بما فيها الجراثيم والفطريات والطفيليات آليات عديدة لتجنب العوامل المضادة للميكروبات الجديدة والقديمة (Pareke and Chanda, 2007)، وفي السعي نحو علاج جديد كانت النباتات ومازالت تعد أحد المصادر الرئيسة للمواد الفعالة حيوياً، حيث يقدر أن حوالي 50% من المنتجات الموصفة لعلاج السرطانات في أوروبا وأمريكا منشأها النباتات الطبيعية ومشتقاتها الصناعية وشبه الصناعية (Newman *et al*., 2003; Amaral *et al*., 2006).

عندما لم تكن الأدوية الكيميائية متوفرة استخدم الإنسان النباتات الطبية والمنتجات النباتية السهلة الوصول لمعالجة الألم والأمراض منذ زمن بعيد (Tajallaie-Asl *et al*., 2017; Abbaszadeh and Nosratiandevari, 2018) ومازال يستخدمها حتى يومنا هذا(Jamshidi-Kia *et al*., 2018; Rezanazer *et al*., 2019).

أظهرت الدراسات المرجعية الأهمية العلاجية ضد طفيلي الجيارديا للعديد من المستخلصات النباتية العشبية ومنها الشيح الجبلي أو ما يسمى الضرم المكور *Lavandula stoechas L.* ونبات الحلتيت *Ferulaassa-foetida* ونبات الأقحوان *Tanacetum parthenium* والثوم (البصل البري) *Allium paradoxum* ونبات الأثينة العنقودية *Chenopodium botrys L* ونبات الأسقف (الشمرا) *Carum copticum* ونبات الثوم *Allium sativum* (*Garlic*) (Rezanazer *et al*., 2019).

يسمى النبات *Inula viscosa* (L.). Aiton بالاسم المحلي الطيون (Taioon) وهو من النباتات الدائمة الخضرة والمنتشر في مناطق مختلفة من حوض البحر المتوسط (Celik *et al*.,2010). يمتلك الطيون استعمالات هامة عديدة في الطب التقليدي تتضمن: مضاد للالتهاب، طارد للديدان، والاعتلالات الرئوية، خافض للحرارة، مطهر، بالإضافة لمعالجة الاضطرابات المعوية (Al-Qura'n, 2009; Talib *et al*., 2012).

ينتمي نبات الطيون *Inula viscosa* (L.). Aiton إلى جنس *Inula* والفصيلة النجمية Asteraceae، ويعد نبات الطيون شجيري معمر، ذو جذور وتدية متفرعة، وريزومات، ساقه قائمة متخشبة طولها بين (50- 100 سم)، عليها أوبار (أشعار) غدية، الأوراق لاطئة شريطية رمحية مسننة ومتبادلة وكذلك ملمسها دبق ولزج بسبب الأشعار الغدية، له رائحة قوية (يسميها البعض كافورية)، الأزهار خارجية (المحيطية) لسينية مذكرة صفراء اللون، أما الداخلية (المركزية) فهي خنثى أنبوبية صفراء، الثمرة إكينية، ويحمل النبات أوباراً لامسة وغدية الأخيرة كثيرة العدد. ينمو في الترب الطينية والرملية والأماكن المشمسة، جوانب الطرقات، الأراضي البور (Mouterde, 1983).

أكدت العديد من الدراسات الفعالية الكبيرة للمستخلصات الخام لأجزاء مختلفة من النبات كمضاد للجراثيم والفطريات (Talib and Mahasneh, 2010) ومضاد للتقرحات (Newman, 2003) ومضاد أكسدة (Cordell, 2002)، وفي القتل المبرمج للخلايا السرطانية (Talib *et al.,* 2012)، وفي سورية أكدت دراسة (Zinab and Issa, 2015) على فعالية المستخلصات المائية والعضوية لأوراق نبات الطيون تجاه بعض أنواع الجراثيم الممرضة المعزولة من مختبر مستشفى الأسد الجامعي في اللاذقية. ونظراً لقلة الدراسات العالمية حول أهمية استخدام مستخلصات النبات كمضاد للطفيليات المعوية وخاصةً مرض الـ Giardiasis (Benayache *et al.,*1991 Chebouti-meziou, 2016; Ounoughi *et al.,* 2020)، ونظراً لأهمية مرض الـ Giardiasis محلياً فمن الضروري دراسة العاقير العشبية المضادة للطفيلي والمنتشرة في بيئتنا المحلية.

وبما أن العدوى بمرض الـ Giardiasis تحدث عن طريق الأكياس، فقد أوصت العديد من الدراسات باتباع طرائق مختلفة للتخلص من الأكياس ومن هذه الطرائق استخدام النباتات والمغذيات الطبيعية.

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث من خلال التوجه عالميا إلى الطب البديل عن طريق استخدام النباتات الطبية والبحث الحالي سيركز على استخدام المستخلصات الكحولية لأوراق نبات الطيون المنتشر في بيئتنا الساحلية ومقارنة كفاءته مخبرياً في التخلص من طفيلي الجيارديا اللمبلية *G.lamblia* مع أشكال صيدلانية مصنعة محلياً **<u>ويهدف البحث إلى</u>:**

1- دراسة تأثير المستخلصات الكحولية لأوراق نبات الطيون على طفيلي الجيارديا اللمبلية مخبرياً

2- مقارنة تأثير المستخلصات النباتية المستخدمة مع الميترونيدازول على طفيلي الجيارديا.

طرائق البحث و مواده:

1- جمع العينة النباتية:نبات الطيون الدبق:(*Inula viscose (L.)*

الجزء المستخدم: الأوراق
جمعت أوراق النبات من منطقة القرداحة في فصل الصيف من العام 2019

الشكل (1): صورة لنبات الطيون(*Inula viscose*).

2 -تحضير المستخلصات النباتية:

حضرت المستخلصات الكحولية المائية لأوراق نبات الطيون اعتماداً على الطرائق المرجعية للعديد من الباحثين(Chebouti-meziou, 2016; Pintong *et al.*, 2020)، فبعد جمع أوراق نبات الطيون الدبق في فصل الصيف، جففت في الهواء الطلق بعيداً عن أشعة الشمس لمدة أسبوعين، ثم طحنت الأوراق بواسطة طاحونة كهربائية، حفظت البودرة أو المسحوق المستخلص في أوعية زجاجية محكمة الإغلاق بعيداً عن الرطوبة.

أخذ 20 gr من المسحوق وحل بـ 100 ml كحول ايتيلي 70 % وترك بدرجة حرارة الغرفة مع التحريك لمدة 72 ساعة. رُشح المستخلص بواسطة شاش طبي أولا، ثم أعيد الترشيح بواسطة أوراق الترشيح نوع "Whatman No.1"، نقل المستخلص للتخلص من الإيتانول باستخدام المبخر الدوار. استمر التبخير عند درجة حرارة 50 C° لغاية الحصول على مستخلص مائي بحجم 25 ml، وضع المستخلص المركز الناتج في أمبولات جاهزة للاستخدام وحفظفي البراد بدرجة حرارة 4 C° لحين الاستخدام. اختير العمل على المستخلص المائي من أجل الحفاظ قدر الإمكان على المركبات الكيميائية الموجودة فيه والتي تضم مركبات طيارة والتي كان من الممكن أن تتخرب أو تتطاير في حال تم تبخير كامل كمية الماء من أجل الحصول على المستخلص الجاف، بالإضافة إلى سهولة حل المستخلص السائل المائي في الوسط الزرعي المائي.

تم الحصول على مستخلص مائي بشكل معلّق بحجم 25 ml لونه أحضر مائل للزيتي

3- جمع أكياس الجيارديا اللمبلية:

تم الحصول على أكياس الجيارديا اللمبلية *G.lamblia* من عينات البراز للمرضى الزائرين لمخبر الأحياء الدقيقة في مشفى تشرين الجامعي والذين يشكون من إسهال حاد لإجراء تحليل براز.

عولجت العينات الإيجابية المصابة بالجيارديا حيث مزجت بمحلول ملحي، وثفلت، تم تعداد الأكياس في محلول ملحي متعادل الفوسفات، لكن نتيجة العدد القليل للأكياس الموجودة في العينات، والعدد القليل لعينات البراز الإيجابية الواردة للمشفى خلال فترة الدراسة المخبرية، مما اضطرنا لتنمية واستزراع الجيارديا مخبرياً باستخدام الوسط الزرعي الانتقائي (RPMI 1640)(Guy *et al.*,1991) بعد عزل أكياس الجيارديا من عينة البراز الإيجابية بطريقة التكثيف بالترسيب

والكشف عن أكياس الجياردیا في الرسابة مجهرياً على التكبير 40x نقلت إلى أنابيب تحتوي الوسط الزرعي الانتقائي (RPMI 1640)، ثم حضنت بدرجة حرارة C° 37.

إن وسط "RPMI 1640" هو وسط زرعي يستخدم في زراعة الخلايا. تم تطويره من قبل جورج إي مور، روبرت إي. جيرنر، وأديسون فرانكلين في عام 1966 في مركز روزويل بارك الشامل للسرطان (المعروف سابقاً باسم معهد روزويل بارك التذكاري) تم تركيبه بالأصل لدعم الخلايا اللمفاوية في مزارع معلقة، ولكن يمكنه أيضًا دعم مجموعة متنوعة من الخلايا بما فيها الطفيليات.

تم وضع المعلق الحاوي على أكياس الجياردیا في أنابيب ووضع في كل معلق حجمه 1 ml 100 كيس من الجياردیا بانتظار تطبيق المستخلص والشاهد عليها .

4 –تقييم الفعالية الحيوية للمستخلص الإيتانولي المائي لأوراق نبات الطيون على أكياس الجياردیا ومقارنتها مع العقار الكيميائي الدوائي الأكثر استخداماً كمضاد لطفيلي الجياردیا وهو الميترونيدازول مخبرياً:

استعمل المستخلص المركز(المعلق) الذي تم الحصول عليه بعد تبخير الإيتانول بتركيزين يحاكيان التراكيز المستعملة من المستخلصات الجافة في الدراسات المرجعية والتي تقع بين 2 و 7 ml/mg : حضر التركيز الأول بحل 85 µl من المستخلص في 1 ml من معلق أكياس الجياردیا والذي يحتوي 100 كيس ، وحضر التركيز الثاني بحل 210 µlفي 1 ml من معلق أكياس الجياردیا الذي يحوي 100 كيس ، استعملت لهذه الغاية أنابيب اختبار معقمة، كما استخدمنا الميترونيدازول بتركيزين 250 ml/mg، و500 ml/mg كشاهد إيجابي لكل 1 ml من معلق أكياس الجياردیا والذي يحتوي 100 كيس ، مزجت الأنابيب كلها بهدوء، ثم حضنت بشكل عمودي بدرجة حرارة C° 37 لمدة 1، 2، 3 ساعة، وبنهاية كل فاصل زمني، كانت تقيم حيوية أكياس الجياردیا باستخدام الملون الحيوي الإيوزين 0.1% وعدادة كريات الدم على التكبير 40x ونسبة الأكياس الميتة في الحقل المجهرية الكلي كانت تحسب وفقاً لـ (Al-Kaissi 2010).

5– التحليل الاحصائي:

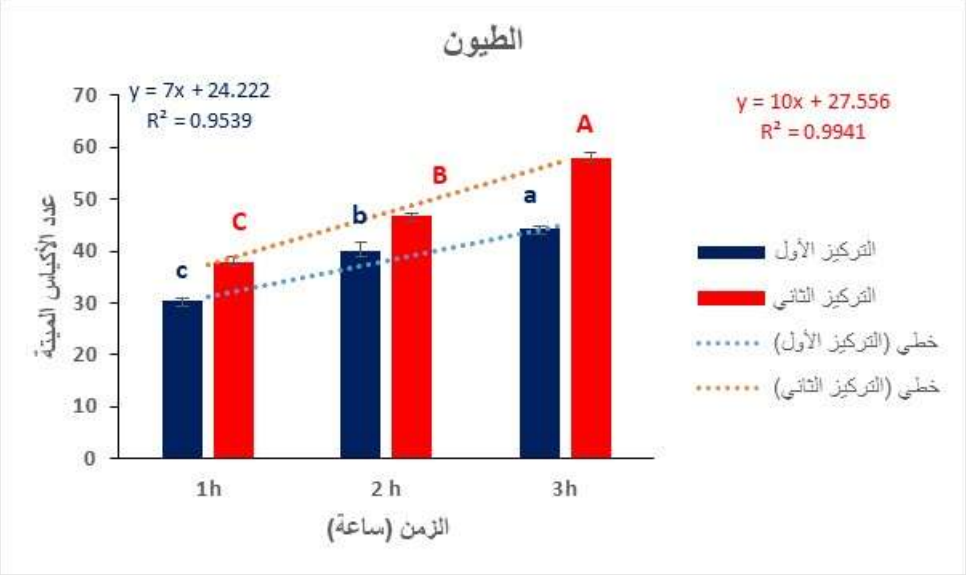
حسب المتوسط الحسابي Mean /3 مكررات/ مع الانحراف المعياري Standard deviation لعدد أكياس الجياردیا الميتة. وأجري اختبار فرق التباين (Anova– one–way analysis of variance) بطريقة فيشر LSD (Protected least significant difference) لمعرفة الفروقات المعنوية بين متوسط عدد الأكياس الميتة مع تغير الزمن عند التركيز المختار للمعاملات المستخدمة. واختبار (t–test) لتحديد معنوية الفروقات بين المتوسطات في عدد الأكياس الميتة (عند الزمن 3 ساعة) للمادتين المستخدمتين (مستخلص أوراق الطيون ومركب الميترونيدازل) وحسب أيضاً المنحى العام لفعالية المستخلص مع تغير الزمن من خلال حساب معادلة الانحدار regression مع معامل التحديد (R^2)، كل التحاليل الإحصائية تمت عند مستوى معنوية $p<0.05$. تم الاستعانة بالبرنامج الإحصائي Minitab 16.

النتائج والمناقشة :

أظهرت نتائج الدراسة المخبرية لتأثير الخلاصة الإيثانولية المائية لأوراق نبات الطيون على حيوية أكياس الجياردیا عند استخدام تركيزين من المستخلص النباتي الخام (85 و210 ml/µl) أنه عند استخدام التركيز الأول 85 ml/µl كان متوسط عدد الأكياس الميتة خلال 1 ساعة 30.33 مع انحراف معياري (0.577) وعند 2 ساعة 40 مع انحراف معياري (1.732) وعند 3 ساعة 44.33 مع انحراف معياري (0.577) وعند مقارنة المتوسطات حسب اختبار تحليل

التباين Anova باتجاه واحد نجد أن هناك فروق معنوية بينها بمستوى معنوية (p= 0.000) موضحة بأحرف مختلفة وأن قيمة أقل فرق معنوي بينها $LSD_{0.05}$ (1.408). كما وضعت معادلة خط الانحدار مع معامل التحديد (R^2= 0.9941) بهدف تحديد المنحى العام لفعالية المستخلص في التخلص من أكياس الجيارديا مع زيادة الزمن وإمكانية التنبؤ المستقبلي (الشكل 2).

أما عند التركيز الثاني 210 ml/µl كان متوسط عدد الأكياس الميتة لمدة 1 ساعة 38 مع انحراف معياري (1) وعند 2 ساعة 46.67 مع انحراف معياري (0.577) وعند 3 ساعة 58 مع انحراف معياري (1) وعند مقارنة المتوسطات حسب اختبار تحليل التباين Anova نجد أن هناك فروق معنوية بينها بمستوى معنوية (p= 0.000) موضحة بأحرف مختلفة (الشكل 2) وأن قيمة أقل فرق معنوي بينها $LSD_{0.05}$ (1.761). كما وضعت معادلة خط الانحدار وكان معامل التحديد (R^2= 0.9539)نستنتج أن التركيز 210 ml/µl قد أعطى أعلى فعالية قتل لأكياس الجيارديا بعد 3 ساعات حضن الشكل(2).

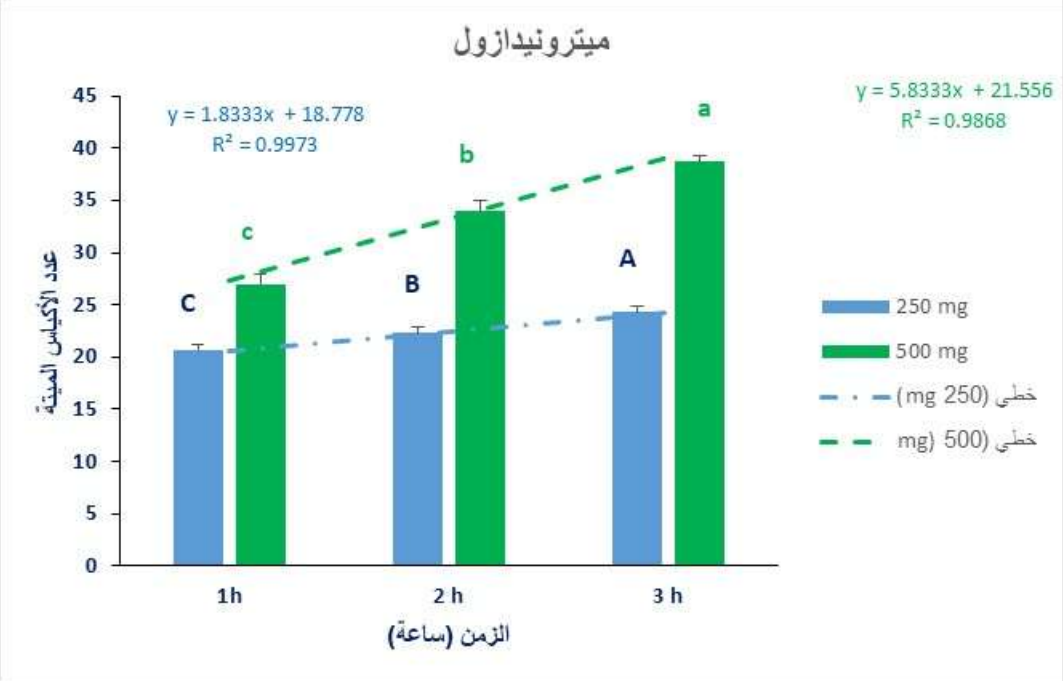


الشكل (2): متوسط عدد الأكياس الميتة مع الانحراف المعياري لتأثير الخلاصة الإيتانولية لأوراق نبات الطيون (تركيز أولوتركيز ثاني) على حيوية أكياس الجيارديا. الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي حسب اختبار Anova باتجاه واحد عند مستوى معنوية p<0.05.

ونفس النتائج سجلت عند استخدام تركيزين من المستحضر الدوائي الميترونيدازول 250 mg، 500 mg الذي يعد الخيار العلاجي الأول على الأشكال الناشطة والأكياس لطفيلي الجيارديا، أنه عند استخدام التركيز 250 mg كان متوسط عدد الأكياس الميتة لمدة 1 ساعة 20.67 مع انحراف معياري (0.577) وعند 2 ساعة 22.33 كيس مع انحراف معياري (0.577) وعند 3 ساعة 34.33 كيس مع انحراف معياري (0.577) و عند مقارنة المتوسطات حسب اختبار تحليل التباين Anova باتجاه واحد نجد أن هناك فروق معنوية بينها بمستوى معنوية (p= 0.000) موضحة بأحرف مختلفة الشكل(3) وأن قيمة أقل فرق معنوي بينها $LSD_{0.05}$ (1.153) كما وضعت معادلة الانحدار مع معامل التحديد (R^2= 0.9973).

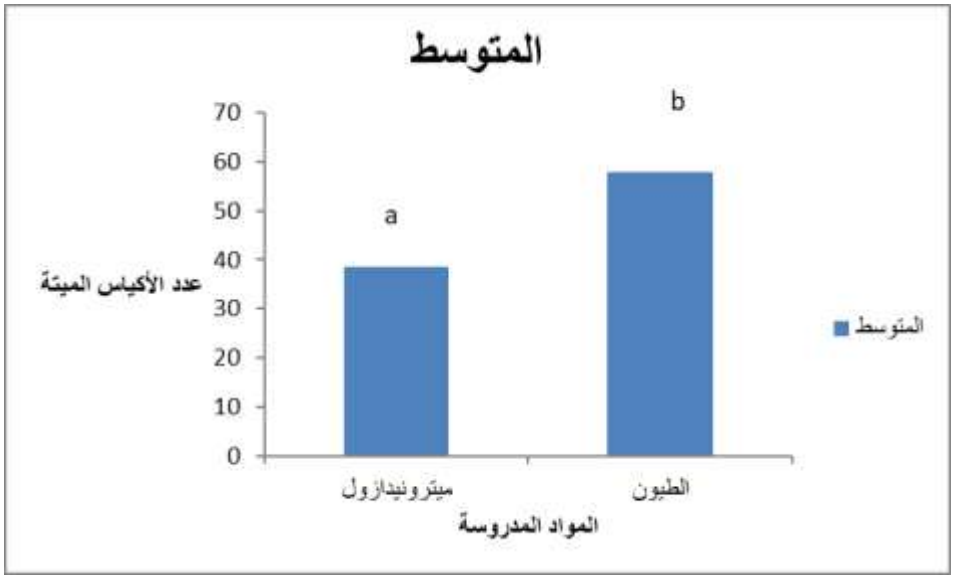
أما عند التركيز 500 mg كان متوسط عدد الأكياس الميتة لمدة 1 ساعة 27 مع انحراف معياري (1) وعند 2 ساعة 34 مع انحراف معياري (1) وعند 3 ساعة 38.67 مع انحراف معياري (0.577) وعند مقارنة المتوسطات حسب اختبار تحليل التباين Anova نجد أن هناك فروق معنوية بينها بمستوى معنوية (p= 0.000) موضحة بأحرف

مختلفة الشكل(3) وأن قيمة أقل فرق معنوي بينها $LSD_{0.05}$ (1.761). كما وضعت معادلة الانحدار مع معامل التحديد(R^2= 0.9868).نستنتج أن التركيز 500mg قد أعطى أعلى فعالية قتل لأكياس الجياردیا بعد 3 ساعات حضن الشكل(3).



الشكل (3): متوسط عدد الأكياس الميتة مع الانحراف المعياري لتأثير العقار الدوائي الميترونيدازول على حيوية أكياس الجياردیا.
الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي حسب اختبار Anova باتجاه واحد عند مستوي معنوية $p<0.05$.

وللمقارنة بين تأثير الخلاصة الإيتانولية المائية للطيون والميترونيدازول كمضاد لأكياس الجياردیا عند أعلى تركيز مستخدم لكل منهما وبعد 3 ساعات حضن، وبحسب اختبار t–test تبين أن المستخلص الايتانولي الكحولي لأوراق الطيون قد تفوق على الميترونيدازل في القضاء على أكياس الجياردیا (وكانت قيمة t المحسوبة = 29 عند مستوى معنوية p–value=0.000، ودرجة حرية DF=4) الشكل (4).



الشكل (4): مقارنة بين متوسط عدد الأكياس الميتة لتأثير أوراق الطيون والميترونيدازول على حيوية أكياس طفيلي الجيارديا.
الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي حسب اختبار t-test عند مستوي معنوية $p<0.05$.

توافقت نتائج الدراسة مع العديد من الدراسات التي أكدت على الفعالية العالية للمستخلصات المختلفة لأوراق نبات الطيون على الأحياء الدقيقة الممرضة لأنواع مختلفة من الجراثيم والأشكال الناشطة والمتكيسة لطفيلي الجيارديا (Chebouti-meziou 2016; Ounoughi*et al.,* 2020)، وقد أظهرت دراسة التحليل الكيميائي لنبات الطيون أنه غني بالعيد من المركبات الفعالة حيوياً والتي تتضمن الفلافونيدات Flavonides، والفينولات Polyphenols والتربينات Terpenoidse، وغيرها من المركبات الأخرى (Talib *et al.,* 2012; Gökbulu, 2013; Gharred *et al.,* 2019) بينت الدراسات المرجعية التي أجريت حول فعالية العديد من المركبات النقية المعزولة من أوراق الطيون كل على حدى (المحتوى الكلي من الفينولات ومشتقات فلافونيدية مثل مجموعة ال Quercetin التي تعد واحدة من اكثر الفلافونيدات المنتشرة في الفواكه والخضراوات والتي تمتلك الكثير من التأثيرات كمضاد للجراثيم والفطريات ومضادات الأكسدة، و ضد مسببات مرضية جرثومية مختلفة، وعلى الشكل الناشط لطفيلي الجيارديا متوفرة بشكل كبير في نبات الطيون و أن المنتجات النباتية أو المشتقة من النبات تثبط أو تعدل من نمو الجراثيم والأشكال الناشطة للجيارديا بآليات مختلفة تتضمن: ربما تؤثر على التصاق العامل الممرض إلى خلية العائل (Castillo *et al.,* 2011)، أو ضعف في التنظيم الأسموزي للميكروب واتجاه النقل الغشائي الكيميائي الالكتروني كما تعمل على زيادة انتاج أول أوكسيد الأزوت الذي يعمل كفعل قاتل للأحياء الدقيقة الممرضة وتثبط اصطناع الجدار الخلوي، تركيب البروتين والأحماض النووية للعامل المسبب للمرض (Harris *et al.,* 2000; Gökbuluta *et al.,* 2013; Ullah *et al.,* 2020).
تمتلك المستخلصات النباتية الخام أهمية كبيرة كمصدر للجزيئات الطبيعية الفعالة حيوياً، وقد أصبح موضوع دراسة في العديد من الأبحاث والدراسات العلمية لإمكانية استخدامها المحتمل كبديل في معالجة الأمراض المعدية وكمضادات أكسدة للأغذية.

الاستنتاجات والتوصيات:

تزداد فعالية المستخلصات الإيتانولية المائية لأوراق نبات الطيون في التخلص من أكياس الجيارديا مخبرياً بزيادة التركيز حيث وصلت نسبة القتل إلى (58 من أصل 100 كيس) من أكياس الطفيلي بعد 3 ساعات حضن، كما تفوق مستخلص أوراق الطيون على الميترونيدازول ضمن التراكيز المدروسة بتأثيره القاتل لأكياس الجيارديا، وبالتالي

يمكن أن نوصي باستخدام أوراق نبات الطيون والذي يعد من النباتات الهامة طبياً في المعالجة البديلة لإنتاج عقاقير طبيعية، واستخلاص جزيئات نقية فعالة حيوياً وإدخالها في الصناعات الدوائية والأشكال الصيدلانية المستخدمة ضد الإصابة بالجيارديا.

References:

ABBASZADEH, S., NOSRATI ANDEVARI, A. *Folklore medicinal plants used in liver disease A review*. International Journal of Green Pharmacy. 2018; 12: 3.

Al-HABAL, A., Study of the prevalence of intestinal parasites in the Syrian Qalamon region, Journal of Albaas university, Vol. 36, N. 3, 2014.

Al-KOFARY,A., and HARBA, A.A. L. Intestinal parasites among children of essential education in Idlib governorate and its countryside, Journal of laboratory Diagnostic, 5:2, 2009:37-46.

AMARAL, F.M.M.; RIBEIRO, M.N.S; BARBOSA-FILHO, J.M.;ARAMYS, S; REISE, A,S.;FLAVIAl, R.F.; NASCIMENTO, F.R.F.; MACEDO,R. Plants and chemical constituents with giardicidal activity. Brazilian Journal of Pharmacognosy 16(Supl.): 696-720, Dez. 2006.

ANKARKLEV,J., Hestvik E, Lebbad M, et al. Common coinfections of Giardia intestinalis and Helicobacter pylori in non-symptomatic Ugandan children. PLoSNegl Trop Dis. 2012; 6(8): 1780.

AL-KAISSI,I.N., The effect of Aqueous some plants extract on Giardia lamblia in vitro. Al-Anbar J.vet.sci.,3,1-58.2010.

AL-QURA'N, S. Ethnopharmacological survey of wild medicinal plants in Showbak, Jordan. J. Ethnopharmacol. 2009, 123, 45–50.

BENAYACHE, F; BENAYACHE, I; DENDOUGH, H;and JAY,M. Les Flavonoïdes de Inulaviscosa L. Plantesmédicinalesetphytotherapie, Tome 25, n 4. Pp. 170-176. 1991.

CASTILLO, S.L; HEREDIA, N; CONTRERAS, J.F; GARCIA, S. Extracts of edible and medicinal plants in inhibition of growth, adherence, and cytotoxin production of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli. J.FoodSci. 2011, 76, M421–M426.

CELIK, T.; ASLANTURK, O. Evaluation of Cytotoxicity and Genotoxicity of Inulaviscosa Leaf Extracts with Allium Test. J. Biomed. Biotechnol. 2010, doi:10.1155/2010/189252.

CHEBOUTI-MEZIOU, N. Contributions to Study of the Antimicrobial Activity of InulaViscosa Harvested in Boumerdes (Algeria), Int'l Journal of Advances in Chemical Engg., & Biological Sciences (IJACEBS) .2016, 3(1) (2016) 2349-1507 2349-1515.

CORDELL, G. Natural products in drug discovery—Creating a new vision. Phytochem. Rev. 2002, 1, 261–273.

DAYPUB,A. Prevalence Of Intestinal Parasitic Protozoan Infection In Patients Visiting To The Microbiology Laboratory In Tishreen University Hospital, Lattakia, Syria, Journal of Tishreen university,2018.

EBRAHIM,G. Iron and Zinc Deficiency in the serum of children infected with Giardia lamblia in Homs-Syria, Ph.D. Thesis, faculty of medicine, Damascus University,2004.

EDRISIAN, G., REZAEEN,M.; GHORBANI,M., KESHAVARZ, M., MOHRBALI,M. Medical protozoalogy. 1st. Tehran: Tehran University of Sciences Publication; 2008. 175-6.

ESCOBEDO, A.A, ALMIRALL, P, ROBERTSON,L.J. Giardiasis: the ever-present threat of a neglected disease. Infect Disord Drug Targets. 2010;10(5):329-48.

ELKADY.A; ABD EL AZEEM,I; EZZELDEEN,SH; RABIE,A and ABDELLAH,O. Evaluation of immunochromatographic assay in diagnosis of giardia lamblia infection in comparison to Microscopy.Egyption journals,2021 (57).

GARDNER, T.B.Hill, D.R. Treatment of giardiasis Clin, Microbiol. Rev, 2001, 14, 114–128.

GOKBULUTA, A.L.; OZHANA, O; SATIMISB, B; BATCIOGLUB, K; GUNLAC,S and SARERA, E. Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Phenolic Compounds of Selected Inula species from Turkey, Natural Product Communications. 8 (4) 2013.

GUY,R. A.; BERTRAND,S; and FAUBERT,G.M.Modification of RPMI 1640 for use in vitro immunological studies of host-parasite interactions in giardiasis.Amircansocity for microbiology journals. 1991,29(3) .627-629.

HARRIS, J. C.; PLUMMER, S; TURNER, M.P; LLOYD, D. The microaerophilic flagellate Giardia intestinalis: Allium sativum (garlic) is an effective antigiardial. Microbiology. 2000, 146, 3119–3127.

ISMAIL,T., Species of intestinal parasites and their prevalence in humans in the Syrian Arab Repuplic, Journal of laboratory Diagnostic, 1,5,1989;46-54.

ISMAIL, M.T., MOSELY,M; AL-ZEEB,S;AL-HALAK,N; BEBERS,B; AL-MALEH,M. Prevalence of intestinal parasites among children of essential education in daraa, Syria, 2010.

ISMAIL,T., The species of intestinal parasites and their prevalence in elementary school children of Hama city,Syria,Laboratory diagnosis J.2011.5(10):55-64.

JAMSHID-KIA, F., LORIGOOINI, Z., AMINI-KHOEI,H. Medicinal plants: past history and future perspective. J.HerbmedPharmacol. 2018;7(1):1-7.

KARABY, O., TAMER, A. Treatment of Gardiasis. World J.Gastroenterol. 2004;15(8):1215-17.

LANE, S., and LLOYD, D. Current trends in research into the waterborne parasite Giardia, Crit. Rev, Microbiol. 2002, 28, 123–147.

MOUTERDE,P., Nouvelle flone du libanet de la Syrie, Tom II, Beyrouthdar et Machreg,P. 563,1983,pp. 1-725.

NEWMAN, D.,CRAGG, G., SNADER, K. Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002. J. Nat. Prod. 2003, 66, 1022–1037.

OUNOUGHI, A., RAMDANI, M., LOGRADA, T., PIERRE CHALARD, P., GILLES FIGUEREDO, G. Chemotypes and antibacterial activities of Inulaviscosa essential oils from Algeria, Biodiversitas, 21, 4, 2020; 1504-1517.

PAREKE, J., CHANDA, S. In vitro screening of antibacterial activity of aqueous and alcoholic extracts of various Indian plant species against selected pathogens from Enterobacteriaceae. Afr. J. Microbiol. Res. 2007, 1, 92–99.

PINTONG, A., RUANGSTTICHA, J; AMPAWONG, S; THIM, K; SRIWICHAI, P; KOMALAMISRA, N; and POPRUK, S. Efficacy of Ageratum conyzoides extracts against Giardia duodenalistrophozoites: an experimental study. BMC Complementary Medicine and Therapies, (2020). 20:63.

PLUTZER,J., ONGERTH, J., KARANIS, P. Giardia taxonomy, phylogeny and epidemiology, Facts and open questions. Int. J.Hyg. Environ. Health. 2010; 213(5): 321-33.

REZANAZER,M., ABBASZDEH, S; ANBARI, Kh; MORTEZAShAMS,M. A review of the most important medicinal herbs affecting giardiasis. Journal of Herbmed Pharmacology, Vol. 8, N. 2, April 2019.

TAHERKHANI, H., SHARI, S., ABDOLAHI, N., ROSHANDEL, G.H. Clinical manifestations of giardiasis in Iran. J.Clin. Drug. Res. 2009;3:1416-18 .

TAJALLAIE-ASL, F., MARDANI, M., SHAHSAVARI, S., ABBASZADEH, S. Menstruation phytotherapy according to Iran ethnobotanical sources. J. Pharm. Sci. Res. 2017;9(6):986990.

TALIB, W., ABU ZARGA, M.H., MAHASNEH, A. Antiproliferative, Antimicrobial and Apoptosis Inducing Effects of Compounds Isolated from Inulaviscosa, Molecules 2012, 17, 3291-3303. doi:10.3390/molecules17033291.

TALIB, W., MAHASNEH, A. Antimicrobial, Cytotoxicity and Phytochemical Screening of Jordanian Plants Used in Traditional Medicine. Molecules. 2010, 15, 1811–1824.

THOMPSON, R.A., The zoonotic significance and molecular epidemiology of Giardia and giardiasis, Vet. Parasitol. 2004, 126, 15–35.

ULLAH,F;AYAZ,M;SADIQ,A;HUSSAIN,I;SHAHID,M; YESSIMBEKOV,Z ;ADHIKARI-DEVKOTA,A., and DEVKOTA,H. Potential Role of Plant Extracts and Phytochemicals Against Foodborne Pathogens. MDPI,2020, 10(13), 4597

ZINAB,A., and ISSA, A. The antibacterial activity of Inulaviscosa L. extracts against some type of pathogenic bacteria, TishreenUniversity Journal for research and Scientific Studies- Biological Sciences, Vol. 37 No. (2). 2015.