



مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه سهندی و مرزنجوش با مترونیدازول بر کیست ژیا ردیا لامبلیا (*Giardia lamblia*) در شرایط آزمایشگاهی

فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی

جلد ۱۷، شماره ۳، صفحات ۲۷-۴۲

(پاییز ۱۴۰۰)

✉ جابر داوودی

استادیار، گروه دامپزشکی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران.

(نویسنده مسئول): ✉ jaber_davoudi@yahoo.com

شناسه مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۱۵

چکیده

ژیا ردیازیس، عفونتی روده‌ای بوده که توسط پروتوزوای ژیا ردیا لامبلیا (یا همان ژیا ردیا ایتستینالیس یا ژیا ردیا دثودنالیس) ایجاد می‌شود. مشخصه این بیماری شامل توزیع جهانی، شیوع بالا و واگیری قابل توجه آن است. مطالعات مختلف نشان داده که تیمول موجود در برخی گیاهان دارویی، از خاصیت ضد ژیا ردیازیزی برخوردار است. از این رو با توجه به وجود مقدار کافی تیمول در هر دو گیاه مرزه سهندی و مرزنجوش، هدف این پژوهش، مقایسه اثر عصاره مرزه سهندی و مرزنجوش با مترونیدازول بر کیست ژیا ردیا لامبلیا در شرایط آزمایشگاهی بوده است. در این پژوهش، به ترتیب ۵۰۰ میکرو لیتر از غلظت‌های ۱۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره‌های مرزه سهندی و مرزنجوش و ۱۲۵ میلی گرم در لیتر مترونیدازول به ۵۰۰ میکرو لیتر غلظت خالص کیست‌های ژیا ردیا در سه تکرار اضافه گردید. در تیمار شاهد (کنترل)، از نرمال سالین استفاده شد. اثرات ضد ژیا ردیازیزی عصاره‌ها در ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ آزمایش بعد مواجهه نمونه‌ها در برابر رنگ ائوزین (۱ درصد) و بررسی میکروسکوپی، اندازه‌گیری شد. خصوصیتی نظیر حداقل درصد کشندگی، حداکثر درصد کشندگی و میانگین درصد کشندگی تیمارها محاسبه گردید. نتایج نشان داد که با افزایش زمان و غلظت، درصد کشندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌ها افزایش یافت. بر اساس نتایج این پژوهش، چنین به نظر می‌رسد که احتمالاً تیمول موجود در مرزه سهندی و مرزنجوش، مسئول اثرات ضد ژیا ردیازیزی آنها بوده ولی با این حال، جهت تعیین سازوکار دقیق آنها نیاز به مطالعات بیشتری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

- ✦ تیمول
- ✦ ژیا ردیا لامبلیا
- ✦ شرایط آزمایشگاهی
- ✦ عصاره هیدروالکلی
- ✦ مرزنجوش
- ✦ مرزه سهندی



این مقاله با دسترسی آزاد تحت شرایط و قوانین The Creative Commons of BY-NC-ND انتشار یافته است.



10.22034/AEJ.2021.708293

مقدمه

ژیاردیازیس، عفونت انگلی روده کوچک با شیوع جهانی است. این عفونت، توسط تک یاخته تاژکداری تحت عنوان ژیاردیا لامبلیا^۱ و در انسان ایجاد می‌شود. ژیاردیازیس در بین افرادی که از بهداشت کمتری برخوردار بوده و یا پرجمعیت هستند، بیشتر شایع است. آلودگی به ژیاردیازیس بین ۱ الی ۲۵ درصد در نقاط مختلف جهان گزارش شده است (Saebi, 1992; Mahbubani *et al.*, 2015). این آلودگی در تمام نقاط دنیا، حتی ایران هم دیده می‌شود (Azadbakht *et al.*, 2003). آلودگی به ژیاردیازیس توسط آب و غذای آلوده و یا از شخص آلوده به سایر افراد، دیده می‌شود (Lujan *et al.*, 1998).

ژیاردیا لامبلیا یک تک یاخته تاژکدار است که تروفوزوایت پهن و گلابی شکل آن بین ۹/۵ تا ۲۰ میکرون طول و ۵ تا ۱۵ میکرون عرض دارد. دارای دو هسته و چهار زوج تاژک است. کیست بیضوی آن، ۱۰ میکرون طول، ۸ میکرون عرض (به‌طور متوسط) و دو یا چهار هسته دارد. وجود صفحه مکنده در سطح شکمی ژیاردیا، چسبیدن آن را به مخاط روده تسهیل می‌نماید. pH مطلوب برای تروفوزوایت، ۶ تا ۷ بوده که در اثر شرایط نامساعد (اسید معده)، به سرعت نابود گردیده و به نظر نمی‌رسد که در انتشار عفونت، نقشی داشته باشد. مدفوع، معمولاً تنها حاوی کیست است اما در زمان بروز اسهال، تروفوزوایت نیز ممکن است مشاهده شود. کیست در قسمت انتهایی ایلئوم، تشکیل شده و قادر است به مدت ۳ ماه در آب زنده بماند. غلظت‌های معمول کلر که برای تصفیه آب آشامیدنی بکار می‌رود، کیست را از بین نمی‌برد. هر کیست پس از رسیدن به ژرونوم، چهار تروفوزوایت آزاد می‌کند. انواع مختلف جداشده ژیاردیا، هتروژن و به‌علاوه از نظر ساختمان آنتی‌ژنیک (به‌خصوص غشاء سطحی)، متفاوت هستند. آنتی‌ژن‌های سطحی ممکن است در طی دوره عفونت، تغییر کنند. با استفاده از زایموم، می‌توان بسیاری از انگل‌ها را تشخیص داده و یا طبقه‌بندی کرد و این روش جهت انواع جداشده ژیاردیا نیز بکار گرفته شده است. تجزیه ایزوآنزیم‌ها در تشخیص اختلاف فعالیت بیولوژیک یا اثبات غیر همسانی ژنتیک ژیاردیاهای کمک‌کننده نبوده است (Arash-Rad and Asmar, 2008; Saebi, 2015).

بر اساس مطالعات انجام‌شده، نوعی پروتئین غنی از سیستئین (CRP₁₃₆) در ژیاردیا یافت شده است که شباهت زیادی به نوعی سم مار دارد و اولین شواهد از وجود یک سم (توکسین) قدرتمند در ژیاردیا می‌باشد. بروز اختلال در حرکات روده‌ای نیز می‌تواند نقشی در بیماریزایی انگل داشته باشد. مطالعات نشان داده در بیمارانی که سوء جذب شدید داشته‌اند، در ترانزیت روده باریک تأخیر وجود داشته که می‌تواند در عمل دفع مکانیکی ژیاردیا، اختلال ایجاد کند. بیوپسی ژرونوم بیمارانی که نشانه‌های بالینی ژیاردیا را دارند، ممکن است انفیلتراسیون لنفوسیت‌ها را در جدار روده (در فاصله سلول‌های اپی‌تلیال) و در مجاورت ژیاردیا نشان دهد که پس از درمان، به حالت طبیعی بازگشت می‌کند. این واکنش به نظر می‌رسد که در ایجاد ضایعات مخاط روده، نقشی داشته باشد و سبب تغییر مکان سریع تر سلول‌های اپی‌تلیال در انتهای ویلوس و در نتیجه پرولیفراسیون سلول‌های استوانه‌ای در داخل کریپت‌ها گردد. مهاجرت چنین سلول‌های استوانه‌ای نابالغ به سطح خمل می‌تواند توجیه‌کننده کاهش آنزیم‌های Brush border در ژیاردیاز باشد که در امر جذب چربی، دی‌گزیلوز و ویتامین B₁₂ در انواع مزمن بیماری اختلال ایجاد می‌کند (Arash-Rad and Asmar, 2008; Saebi, 2015).

ژیاردیا را می‌توان در آزمایش نمونه مدفوع، محتویات دوازدهه و یا بیوپسی از نسج روده یافت. در موارد بروز اسهال یا سندروم سوء جذب، ممکن است تعدادی تروفزایت در مدفوع دیده شود و در ۵۰ درصد بیماران، زیاردیای متحرک در محتویات آسپیره شده دوازده (نمونه تازه) و یا پس از رنگ آمیزی با گیمسا، مشاهده شود. شکل ظاهری انگل ممکن است تغییر کرده و یافتن آن را مشکل‌تر نماید. برای رد عفونت زیاردیائی بایستی تروفوزوایت آزمایش شود (Arash-Rad and Asmar, 2008; Saebi, 2006).

آلودگی به زیاردیا ممکن است برای سال‌ها باقی بماند و در کشورهای پیشرفته، به‌طور معمول درمان حاملان کیست، توصیه می‌گردد و تمام کودکان مبتلا به زیاردیاز (با نشانه بالینی یا بدون علامت) در این کشورها، درمان می‌شوند. در پژوهشی، آزمایش مدفوع ۵۹۰ کودک دبستانی با روش گسترش مستقیم و تغلیظ با روش فرمل-اثر، نشان داد که ۱۵۸ مورد (۲۶/۷ درصد) کیست زیاردیا داشته و ۱۵۱ نفر آنها بدون نشانه بالینی بودند. ۵۲ درصد کودکان، ۶ ماه پس از درمان کامل با مترونیدازول، مجدداً از نظر کیست زیاردیا، مثبت بودند. بررسی‌ها نشان داد که ۹۷/۶ درصد از کودکان در مدت یکسال از درمان موفقیت آمیز، مجدداً آلوده شده‌اند. به این ترتیب، به نظر نمی‌رسد که درمان کودکان آلوده و بدون نشانه بالینی، در مناطق هیپراندمیک، مفید و ضروری باشد (Arash-Rad and Asmar, 2008; Saebi, 2006).

امروزه از داروهای شیمیایی مختلفی چون مترونیدازول، کیناکرین و فورازولیدن، جهت درمان زیاردیازیس استفاده می‌شود که هر یک دارای عوارض جانبی ویژه در زنان و کودکان می‌باشند. امروزه استفاده از داروهای کم عارضه و حتی داروهای گیاهی، از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد مطالعات نشان داده‌اند که تیمول از اثر ضد عفونی‌کنندگی خوبی در موارد بیماری‌های روده و یا مسمویت‌های خودبخودی داشته و از آن به علت دارا بودن اثر ضد انگل، برای دفع تریکوسفال، کرم کدو، کرمک و آنکی لوستوم استفاده می‌شود (Abdi et al., 1995; Craun, 1996).

مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm.)، گیاهی چند ساله از خانواده نعناع^۱ و از گیاهان داروئی بومی^۲ ایران می‌باشد. ترکیبات معطر این گیاه در صنایع آرایشی، غذایی، بهداشتی و داروئی کاربرد زیادی دارد. مطالعات نشان داده‌اند که گیاه مرزه سهندی، در اسانس خود دارای ترکیباتی چون تیمول، گاما-ترپینن، پارا-سیمن و کارواکرول (در حد ناچیزی) می‌باشد. بررسی‌ها، اثرات ضد دردی، ضدالتهابی و ضد عفونی‌کنندگی را در گیاه داروئی مرزه سهندی، نشان داده‌اند (Mombeini et al., 2008).

ساقه‌ی مرزه دارای گره‌هایی است که از همین گره‌ها، ساقه‌های دیگر منشعب می‌شوند و این ساقه‌ها نیز به نوبه‌ی خود دارای انشعابات جدید می‌گردند. به همین دلیل، بوته‌ی گیاه به صورت پرشاخه و پرپشت، به نظر می‌رسد. برگ‌های گیاه باریک، دراز، نوک تیز، نرم و پوشیده از تارهای کوتاه است که مات و کدر به نظر می‌رسند. همچنین، برگ‌های مرزه دارای یک رگبرگ و غده‌های حاوی اسانس است. گل‌های آن نیز کوچک و به رنگ سفید، سفید مایل به گلی یا گلی رنگ است که در فصل تابستان ظاهر می‌شوند این گل‌ها به صورت ضخیم و در طول ساقه قرار گرفته‌اند. مرزه به دو صورت خودرو و کشت شده، وجود دارد. انتشار آن در اروپا به ویژه فرانسه، سبیری، جنوب و غرب آسیا و از جمله ایران است (Salehi-Sormaghi, 2015).

1- Lamiaceae

2- Endemic

مرزه به علت داشتن ترکیبات فنلی در اسانس و ترکیبات تاننی در برگ، دارای خاصیت ضدقارچی، ضد میکروبی، ضد اسپاسم و ضد اسهال می‌باشد. همچنین، مرزه دارای خاصیت ضد ادرار آوری بوده و در اروپا از قدیم به عنوان ضد تشنگی زیاد بخصوص در افراد مبتلا به مرض قند، مورد استفاده بوده است. این اثر را به دلیل وجود کارواکروول در اسانس آن می‌دانند (Salehi-Sormaghi, 2015).

مرزنجوش یا مرزنگوش (*Origanum vulgare*)، گیاهی یکساله و علفی به ارتفاع ۱۰۰-۵۰ سانتی‌متر و با ساقه‌های چوبی می‌باشد. منشاء این گیاه، نواحی مدیترانه‌ای بوده و در کشورهای دارای آب و هوای مدیترانه‌ای، کشت می‌شود. مرزنجوش به عنوان ضد نفخ، خلط آور، مسکن، مدر، موثر در درمان ناراحتی‌های تنفسی (آسم) بوده و به عنوان اشتها آور، مصرف شده، التیام‌دهنده و ضد عفونی کننده نیز می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که تیمول و کارواکروول، از اجزاء اصلی مواد موثره (اسانس) گیاه دارویی مرزنجوش می‌باشند (Akbarinia and Sefidkon, 2009).

مهم‌ترین مواد موثره مرزنجوش، اسانس آن است که حاوی ترکیبات بسیار خوشبو از جمله بورنتول، پینن و کامفر می‌باشد. مقدار زیادی از محصول مرزنجوش جهت تهیه اسانس از برگ‌های آن استفاده می‌شود. اسانس را می‌توان هم از برگ‌های تازه و هم خشک بدست آورد. سرشاخه‌های گلدار را پس از چیدن، در سایه به آهستگی خشک نموده تا اسانس آنها، هدر نرود. اصولاً برای استخراج اسانس مرزنجوش از روش تقطیر با بخار^۱ استفاده می‌شود. اسانس بدست آمده در این روش، زردرنگ است اما اسانس‌های کهنه ممکن است به رنگ زرد تیره یا قهوه‌ای باشند. مناطق اصلی رویش این گیاه در ایران، مناطق شمالی بخصوص استان‌های خراسان، مازندران، گیلان و آذربایجان است. یکی از مشخصات گیاه، بوی معطر و قوی آن می‌باشد (Salehi-Sormaghi, 2010).

تاکنون پژوهشی درباره اثرات عصاره مرزه سهندی و مرزنجوش بر ژیاوردیا لامبلیا و مقایسه آنها با مترونیدازول، صورت نگرفته است. از طرف دیگر، با توجه به خواص ضدانگلی تیمول (از اجزاء مواد موثره هر دو گیاه دارویی)، هدف از انجام این پژوهش، بررسی خواص ضد ژیاوردیایی عصاره این دو گیاه دارویی و مقایسه اثرات آنها با داروی معمول مترونیدازول، در شرایط آزمایشگاهی بوده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش، یک مطالعه تجربی-آزمایشگاهی بوده که با استفاده از کیست‌های ژیاوردیا از منبع انسانی (لامبلیا)، با مراجعه روزانه به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی در شهرستان ابهر و جمع آوری نمونه‌های مثبت، انجام شده است. بعد از انتخاب مدفوع آلوده به تعداد فراوان کیست ژیاوردیا لامبلیا، ابتدا مقدار ۵ گرم از نمونه‌های مدفوع در سانتریفیوژ ریخته شده و سپس با ۱۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک مخلوط و پس از نیم ساعت با یک فیلتر چهار لایه گاز غیر استریل، صاف شده و به مدت ۳ دقیقه در سانتریفیوژ (۱۵۰۰ دور در دقیقه)، قرار داده شدند. سپس محلول رویی، دور ریخته شده و به رسوب حاوی کیست، ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۲ مولار ساکاروز، اضافه گردید. مجدداً این محلول به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (۱۵۰۰ تا ۲۰۰۰ دور در دقیقه) گردید. سپس، محلول رویی که حاوی کیست بوده، جدا شده و ۱۰ میلی‌لیتر نرمال سالین (۰/۹ درصد) به آن اضافه گردیده و پس از ۵ دقیقه سانتریفیوژ (۱۰۰۰ دور در دقیقه) گردید. در نهایت، به میزان ۲ میلی‌لیتر از انتهای لوله آزمایش که حاوی کیست بوده تا زمان بررسی، برداشته و در دمای ۴ درجه سلسیوس، نگهداری شد (Safarnejad-Tameshkel et al., 2012).

در این پژوهش، از داروی شیمیایی مترونیدازول (ساخت شرکت داروسازی البرز دارو، تهران، ایران)، استفاده گردید. عصاره گیاهان دارویی مرزه سهندی و مرزنجوش نیز به شکل آماده از شرکت داروسازی باریج اسانس کاشان، تهیه گردیدند.

داده‌ها با استفاده از افزار آماری SPSS- 27.0.1 تجزیه شده و مقایسات میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد، انجام شد. برای رسم نمودار از نرم افزار Excell استفاده شد.

نتایج و بحث

مقایسه اثر کشندگی غلظت‌های مختلف عصاره مرزه سهندی

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت عصاره‌ها، حداقل دوز کشندگی، حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی در طی ۳۰ دقیقه آزمایش، افزایش یافته است. همچنین، در صفات حداقل دوز کشندگی، حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی، بین غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره مرزه سهندی و مترونیدازول (۱۲۵ میلی گرم در لیتر) در مقایسه با تیمار شاهد، در سطح ۵ درصد، اثر معنی داری وجود داشته ولی بین صفات حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره مرزه سهندی، اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد، مشاهده نشد (جدول ۱).

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره‌ها، حداقل دوز کشندگی، حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی در طی ۶۰ دقیقه آزمایش، افزایش یافت. همچنین، در صفات حداقل دوز کشندگی، حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی، بین غلظت‌های مختلف عصاره مرزه سهندی با مترونیدازول (۱۲۵ میلی گرم در لیتر) و تیمار شاهد، تفاوت معنی داری وجود داشته ولی بین غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره مرزه سهندی، اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲).

نتایج حاصله، نشان دهنده این است که با افزایش غلظت عصاره‌ها، حداقل دوز کشندگی، حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی در طی ۱۲۰ دقیقه آزمایش، افزایش یافت. در پارامترهای حداقل دوز کشندگی، حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی، بین همه غلظت‌های عصاره مرزه سهندی با مترونیدازول و تیمار شاهد (به استثناء غلظت بالای مرزه با مترونیدازول)، تفاوت معنی داری وجود داشته است (جدول ۳).

مقایسه اثر کشندگی غلظت‌های مختلف عصاره مرزنجوش

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داده که با افزایش غلظت عصاره‌ها، حداقل دوز کشندگی، حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی در طی ۳۰ دقیقه آزمایش، افزایش یافت. در پارامترهای مذکور، بین غلظت‌های مختلف عصاره مرزنجوش با مترونیدازول (بجز غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره و مترونیدازول) و تیمار شاهد، تفاوت معنی داری وجود داشت. بیشترین اثر کشندگی به ترتیب مربوط به تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره مرزنجوش (۸۴/۳۶) و مترونیدازول (۸۳/۷۸) بوده است (جدول ۴).

با افزایش غلظت عصاره‌های مختلف مرزه سهندی، حداقل دوز کشندگی، حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی در طی ۶۰ دقیقه آزمایش، افزایش یافت. نتایج نشان داد که در پارامترهای مذکور، بین غلظت‌های مختلف عصاره مرزنجوش با مترونیدازول

(بجز دوز بالای عصاره و مترونیدازول) و تیمار شاهد، تفاوت معنی‌داری وجود داشته است. بیشترین اثر کشندگی در دقیقه ۶۰ آزمایش، به ترتیب مربوط به تیمار مترونیدازول (۹۷/۷۳) و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره مرزنجوش (۹۳/۸۰) بوده است (جدول ۵).

نتایج این پژوهش نشان داد که اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات حداقل دوز کشندگی، حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی، در سطح ۵ درصد، معنی‌دار بوده است. همراه با افزایش غلظت عصاره‌ها، اثر حداقل دوز کشندگی، حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی عصاره هیدروالکلی مرزنجوش در طی ۱۲۰ دقیقه آزمایش، افزایش یافت. همچنین، بین تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره مرزنجوش و تیمار مترونیدازول، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین تأثیر کشندگی در دقیقه ۱۲۰ آزمایش، به ترتیب مربوط به تیمارهای مترونیدازول (۹۸/۶۶) و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره مرزنجوش (۹۶/۸۳) بوده است (جدول ۶).

مقایسه اثر کشندگی غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه سهندی و مرزنجوش

نتایج نشان داد که در ۳۰ دقیقه اول آزمایش، تمام غلظت‌های عصاره‌های مرزه سهندی و مرزنجوش همراه با تیمارهای مترونیدازول و شاهد، اثر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر صفات حداقل دوز کشندگی، حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی داشته‌اند. بیشترین اثر کشندگی در دقیقه ۳۰، به ترتیب مربوط به تیمارهای مترونیدازول (۸۹/۷۶) و عصاره ۲۰۰ میلی گرم در لیتر مرزنجوش (۸۶/۹۳) بوده است. همچنین، بین عصاره ۲۰۰ میلی گرم در لیتر مرزنجوش و مترونیدازول، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۷).

نتایج پژوهش نشان داد که در مدت زمان ۶۰ دقیقه، تمام غلظت‌های عصاره‌های مرزه سهندی و مرزنجوش با تیمار مترونیدازول و شاهد، اثر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر صفات حداقل دوز کشندگی، حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی داشته‌اند. بیشترین اثر کشندگی در دقیقه ۶۰، به ترتیب مربوط به تیمارهای مترونیدازول (۹۷/۷۳) و عصاره ۲۰۰ میلی گرم در لیتر مرزنجوش (۹۳/۸۰) بوده است. همچنین، بین عصاره ۲۰۰ میلی گرم در لیتر مرزنجوش و مترونیدازول، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۸).

نتایج نشان داد که در زمان ۱۲۰ دقیقه، تمام غلظت‌های عصاره‌های مرزه سهندی و مرزنجوش با تیمار مترونیدازول و شاهد، اثر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر صفات حداقل دوز کشندگی، حداکثر دوز کشندگی و میانگین دوز کشندگی داشته‌اند. بیشترین اثر کشندگی در دقیقه ۱۲۰، به ترتیب مربوط به تیمارهای مترونیدازول (۹۸/۶۶) و عصاره ۲۰۰ میلی گرم در لیتر مرزنجوش (۹۶/۸۳) بوده است (جدول ۹).

مقایسه اثر کشندگی تیمارهای آزمایشی در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه

مقایسه حداقل دوز کشندگی بین تیمارهای آزمایشی در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه، نشان داد که بیشترین اثر در بین تیمارهای آزمایشی به ترتیب مربوط به تیمار مترونیدازول در دقیقه ۳۰ (۷۷/۷۷)، دقیقه ۶۰ (۹۴/۰۶) و دقیقه ۱۲۰ (۹۶/۰۰) و نیز عصاره ۲۰۰ میلی گرم در لیتر مرزنجوش در دقیقه ۳۰ (۸۱/۸۰)، دقیقه ۶۰ (۸۹/۱۰) و دقیقه ۱۲۰ (۹۱/۸۰) بوده است. همچنین، در دقیقه ۳۰ آزمایش، اثر عصاره مرزنجوش (۲۰۰ میلی گرم در لیتر) بیشتر از مترونیدازول بوده است (جدول ۱۰).

مقایسه حداکثر دوز کشندگی بین تیمارهای آزمایشی در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه، نشان داد که بیشترین اثر در بین تیمارهای آزمایشی به ترتیب مربوط به تیمار مترونیدازول در دقیقه ۳۰ (۸۹/۷۶)، دقیقه ۶۰ (۹۷/۷۳) و دقیقه ۱۲۰ (۹۸/۶۶) و نیز عصاره ۲۰۰ میلی گرم در لیتر مرزنجوش در دقیقه ۳۰ (۸۶/۹۳)، دقیقه ۶۰ (۹۳/۸) و دقیقه ۱۲۰ (۹۶/۸۳)، بوده است (جدول ۱۱).

مقایسه میانگین دوز کشندگی بین تیمارهای آزمایشی در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه، نشان داد که بیشترین اثر در بین تیمارهای آزمایشی به ترتیب مربوط به تیمار مترونیدازول در دقیقه ۳۰ (۸۳/۷۸)، دقیقه ۶۰ (۹۶/۲) و دقیقه ۱۲۰ (۹۷/۳۳) و نیز عصاره ۲۰۰ میلی گرم در لیتر مرزنجوش در دقیقه ۳۰ (۸۴/۳۶)، دقیقه ۶۰ (۹۱/۴۵) و دقیقه ۱۲۰ (۹۴/۳۱)، بوده است. همچنین، در دقیقه ۳۰ آزمایش، اثر عصاره مرزنجوش (۲۰۰ میلی گرم در لیتر) بیشتر از مترونیدازول بوده است (جدول ۱۲).

ژياردیازيس، يک عفونت انگلی فرصت طلب در روده کوچک انسان، با انتشار جهانی است. در حال حاضر این تک یاخته، شایع ترین تک یاخته انگلی در بسیاری از کشورها از جمله ایران است. با توجه به مشکلات داروهای شیمیایی از لحاظ عدم کارایی لازم، داشتن اثرات سوء و بروز مقاومت، برخی از پژوهشگران مصرف گیاهان دارویی را برای درمان ژياردیازيس، پیشنهاد نموده‌اند. از طرفی، بدلیل تراژوژن بودن و سایر عوارض جانبی داروی شیمیایی، مترونیدازول و سایر داروهایی که جهت درمان ژياردیازيس مصرف می‌شوند، اهمیت استفاده از گیاهان دارویی بیش از پیش مشخص می‌گردد. در همین راستا، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که عصاره سیر بر کیست ژياردیا کاملاً مؤثر بوده است. همچنین، کیست‌های گونه لامبلیا نسبت به عصاره سیر، به مراتب حساس تر از گونه موریس بوده است. هر چند، درمان موش‌های آلوده در طی سه روز با دوزهای ۲۰ و ۴۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن از عصاره سیر، باعث بهبودی کامل تمامی موش‌های گروه آزمون نشد ولی دوز ۸۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن در طی سه روز، باعث بهبودی کامل آنها گردید (Safar-Harandi et al., 2006).

در پژوهشی، حجت فرسنگی و همکاران (۲۰۰۱)، اثرات کشندگی گیاه دارویی آویشن بر کیست ژياردیا را در شرایط آزمایشگاهی، نشان دادند. آنها گزارش نمودند که در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد از قرارگیری کیست در برابر رقت‌های مختلف عصاره و دارو، غلظت کامل اسانس آویشن با میانگین ۹۱/۱ درصد، حتی بهتر از داروی مترونیدازول با میانگین ۸۹/۴ درصد، سبب از بین رفتن کیست شده است (Hojjat-Farsangi et al., 2001).

شهابی و همکاران (۲۰۰۸)، نیز در مطالعه خود، تاثیر عصاره و اسانس گیاه زنیان بر کیست ژياردیا لامبلیا در شرایط آزمایشگاهی را نشان داده‌اند. آنها گزارش نمودند که اسانس بهتر از عصاره، سبب از بین بردن کیست‌های ژياردیا شده، بطوریکه پس از گذشت ۶۰ دقیقه، حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی^۱ عصاره هیدورالکلی و اسانس به ترتیب ۱۰۰ و ۸ میلی گرم در میلی لیتر، بعد از ۱۲۰ دقیقه به ترتیب ۷۵ و ۶ میلی گرم در میلی لیتر و بعد از ۱۸۰ دقیقه به ترتیب ۷۵ و ۴ میلی گرم در میلی لیتر بوده است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که ترکیبات متعددی همچون تیمول و دلتا-سیمین از ترکیبات اصلی اسانس زنیان می‌باشند (Shahabi et al., 2008). در پژوهش مشابهی نیز گزارش شده است که گیاه دارویی آویشن، از اثر ضد ژياردیازيسی برخوردار بوده و همچون زنیان، مهم ترین ترکیب اسانس آن تیمول است و تیمول، مهم ترین ترکیب موثر ضد ژياردیازيسی در این دو گیاه دارویی است. در تایید این فرضیه، مطالعات انجام شده،

1- Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

خواص ضدژیاوردیازیزی تیمول را نشان داده‌اند. علاوه بر این، ترکیب کارواکرول نیز از خاصیت ضدژیاوردیازیزی بر خوردار می‌باشد (Perez et al., 2010).

مهم‌ترین مواد موثره موجود در مرزه سهندی، اسانس (یک درصد) می‌باشد که شامل ترکیبات کارواکرول، تیمول، بتا-پینن، پارا-سیمن، لیمونن و کامفن است. ترکیبات دیگر آن شامل ویتامین‌ها و مواد معدنی مختلف است. اکبری نیا و سفیدکن (۲۰۰۹)، در بررسی خود، ۱۳ ترکیب را در عصاره گیاه دارویی مرزه سهندی شناسایی کردند. آنها گزارش نمودند که ترکیباتی همچون تیمول (۳۸/۳ درصد)، گاما-ترپینن (۳۰/۹ درصد) و پاراسیمن (۲۱/۳ درصد)، از ترکیبات اصلی و عمده اسانس مرزه سهندی می‌باشند (Akbarinia and Sefidkon, 2009). البته ترپینن موجود در عصاره مرزه نیز می‌تواند در خاصیت ضدژیاوردیازیزی مرزه نقش داشته باشد. در همین راستا لوی السیر و همکاران (۲۰۱۱)، در مطالعات خود نشان داده‌اند که خاصیت ضدژیاوردیازیزی *Citrullus lanatus* مربوط به وجود تری‌ترپینن موجود در آن می‌باشد (Loiy Elsir et al., 2011). با این وجود، تیمول، مهم‌ترین و بیشترین ترکیب موجود در مواد موثره گیاه دارویی مرزه می‌باشد.

در طب سنتی، از مرزه جهت درمان ضعف و حالت چنگ‌زدگی معده، زردی، تخمیر روده و نفخ، سوء هاضمه و غیره استفاده می‌شود. مرزه به علت داشتن ترکیبات فنولی در اسانس و ترکیبات تاننی در برگ، دارای خواص ضدقارچی، ضد میکروبی، ضداسپاسم و ضداسهال می‌باشد. مطالعات قبلی اثرات ضد ویروسی، ضد کرم، ضد عفونی‌کنندگی، ضد درد، ضد سرطان، آنتی‌اکسیدانی و غیره مرزه را نشان داده‌اند (Salehi-Sormaghi, 2015). ترکیبات فنولی موجود در مرزه (مثل تیمول)، احتمالاً مسئول اثر ضدژیاوردیازیزی آن می‌باشند. نتایج نشان داد که با گذشت زمان (از دقیقه ۳۰ تا ۱۲۰) و غلظت (از غلظت ۱۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) درصد کشندگی کیست‌های ژیاوردیازیس، افزایش یافته است که این یافته با نتایج مطالعات دیگران، کاملاً هم‌خوانی دارد (Perez et al., 2010).

مهم‌ترین اجزاء مواد موثره مرزنجوش، اسانس آن است که حاوی ترکیبات بسیار خوشبو از جمله بورنتول، بتا-پینن و کامفر می‌باشد. مقدار زیادی از محصول گیاه مرزنجوش جهت تهیه اسانس از برگ‌های آن، مورد استفاده قرار می‌گیرد. مهم‌ترین خواص دارویی مرزنجوش شامل ادرار آور، قاعده آور، نیرودهنده، معرق، ضدنفخ و آرام‌بخشی بوده و به دلایل تلخ بودن، مقوی معده می‌باشد. همچون مرزه، نتایج نشان داد که با گذشت زمان و غلظت، درصد کشندگی غلظت‌های مختلف مرزنجوش افزایش یافت. البته مرزنجوش از اثر ضدژیاوردیازیزی بهتری نسبت به مرزه سهندی، برخوردار بوده است. در ساختمان مرزنجوش، ترپینن‌ها نیز وجود داشته که می‌توانند مسئول اثر ضدژیاوردیازیزی مرزنجوش باشند (Loiy Elsir et al., 2011; Skoula and Harborne, 2002).

نتیجه‌گیری کلی

در نهایت، این پژوهش نشان داد که عصاره هیدروالکلی مرزه سهندی و مرزنجوش، از خاصیت ضدژیاوردیازیزی قابل توجهی برخوردار بوده و اثرات آنها با گذشت زمان و افزایش غلظت، افزایش می‌یابد. همچنین، در دوزهای بالا اثرات هر دو عصاره قابل مقایسه با داروی استاندارد مترونیدازول بوده است. بیشترین اثر کشندگی در بین تمام عصاره‌های گیاهی و نیز تمام زمان‌ها، مربوط به تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره مرزنجوش بوده است. احتمالاً تیمول موجود در مواد موثره (مهم‌ترین جزء اسانس)، مسئول اثر ضد ژیاوردیازیزی عصاره گیاهان دارویی مرزه سهندی و مرزنجوش بوده ولی با اینحال، جهت تعیین سازوکار دقیق آن، نیاز به مطالعات گسترده‌تری می‌باشد.

References

- Abdi Y.A, Gustafson L.L, Ericsson O, Hellgren U. Handbook of drugs for tropical parasitic infections. *United Kingdom, London: Taylor & Francis Ltd.* **1995**, P 12-16.
- Akbarinia A, Sefidkon F. Identification of essential oil components of *Satureja sahendica* Bornm. in cultivated condition in Qazvin. *Scientific Journal of Qazvin University of Medical Sciences.* **2009**, 13(2):60-63.
- Arash-Rad F, Asmar M. Atlas of medical parasitology (First Volume: protozoology). *Ketab Mir Publications.* **2008**, P 26-33.
- Azadbakht M, Sajjadi S.M, Rostami J. Giardicidal activity of three *Allium* species on *Giardia intestinalis* cysts. *Iranian.J.Basic.Med .Sci.* **2003**, 3:184-188.
- Craun G.F. Wasterborne outbreaks of giardiasis: current status. In Erlandsen S.L, Meyer E.A. (ed.). *Giardia and giardiasis: biology, pathogenesis, and epidemiology.* *Plenum Press, New York.* **1996**, P 243-261.
- Hojjat-Farsangi M, Sahebani N, Movahed A, Tahmasebi R, Rayani M. Lethal effect of *Thymus vulgaris* on giardia cyst: *in vitro*. *Iranian South Medical Journal.* **2001**, 4(2): 80-95.
- Loiy Elsir A.H, Waleed S.K, El-Badri E.O, Mahmoud M.D, Hasnah M.S. *In vitro* anti-giardial activity of *Citrullus lanatus* var. *citroides* extracts and cucurbitacins isolated compounds. *Journal of Medicinal Plants Research.* **2011**, 5(15): 3338-3346.
- Lujan H.D, Mowatt M.R, Nash T.E. The molecular mechanisms of *Giardia* encystation. *Parasitol Today.* **1998**, 14:446-50.
- Mahbubani M.H, Bej A.K, Perlin M.H, Schaefer F.W, Jakubowski W, Atlas R.M. Differentiation of *Giardia duodenalis* from other *Giardia spp.* by using polymerase chain reaction a gene probes. *J.Clinical. Microbiol.* **1992**, 30(1):74-78.
- Mombeini T, Mombeini M, Aghaei M. Investigation of pharmacological effects of marjoram. *Journal of Medicinal Plants.* **2008**, 8 (1): 1-18.
- Perez G.S, Ramos-Lopez M.A, Sanchez-Miranda E, Fresan-Orozco M.C, Perez-Ramos J. Antiprotozoa activity of some essential oils. *Journal of Medicinal Plants Research.* **2010**, 6(15) 2901-2908.
- Saebi E. Parasitic diseases in Iran (First Volume: Protozoa). 6th ed. *Aizh Publications.* **2015**, 688p.
- Safar-Harandi M.M, Dalimi-Asl A, Ghaffarifar F. *In vitro* and *in vivo* effects of garlic (*Allium sativum*) extract on *Giardia lamblia* and *Giardia muris*. *Hakim Research Journal.* **2006**, 9 (3): 58-64.
- Salehi-Sormaghi M.H. Medicinal plants and phytotherapy. Vol. 1. 4th ed. *Dunyay-Taghzieh Publications.* **2015**, P 352-354.
- Salehi-Sormaghi M.H. Medicinal plants and phytotherapy. Vol. 3. 4th ed. *Dunyay-Taghzieh Publications.* **2010**, P 368-370.
- Safarnejad-Tameshkel F, Khatami Nejad M.R, Nasrollahi A, Rahdari P, Gholam Hossein Poor F, Kazemi-Afarmejani S, Rahnnavard A. The antimicrobial effect of methanol extracts of *Eucalyptus*, *Satureja hortensis* and *Heracleum glabrescens* on *Giardia* cysts. *Medical Laboratory Journal.* **2012**, 6 (2):20-26.
- Shahabi S, Ayazi-Roozbahani F, Kamalinejad M, Abadi A. Anti-Giardia activity of *Carum copticum* on *Giardia lamblia* cysts *in vitro*. *Research in Medicine.* **2008**, 32 (4): 303-307.
- Skoula M, Harborne J.B. Taxonomy and chemistry. In: Kintzios S.E. (Ed.). *Oregano: The genera Origanum and Lippia.* Medicinal and Aromatic Plants Industrial Profiles. *Taylor & Francis/CRC Press. USA.* 2002, P 67-108.

Comparison of the effect of different concentrations of hydroalcoholic extracts of Sahendian savory (*Satureja sahandica* Bornm.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) with metronidazole on giardia (*Giardia lamblia*) cysts *in vitro*



Agroecology
Journal

Vol. 17, No. 3 (27-42)
(Autumn 2021)

Jaber Davoudi

Assistant Professor, Department of Veterinary Medicine, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran.

✉ jaber_davoudi@yahoo.com (Corresponding author)

Received date: 29.01.2021

Accepted date: 06.09.2021

Abstract

Giardiasis is an intestinal infection caused by the flagellate protozoan *Giardia lamblia* (synonyms: *Giardia intestinalis* and *Giardia duodenalis*). The characteristic of this disease are including worldwide distribution, high prevalence, and significant morbidity. Different studies relieved that the thymol content available in some medicinal plants has anti-giardiasis effect. Hence, based on adequate thymol in contents of both, *Satureja sahandica* and *Origanum vulgare* extracts, the aim of present research was comparison the effect of *Satureja sahandica* and *Origanum vulgare* Extracts with metronidazole on *Giardia lamblia in vitro* condition. In this experimental-laboratory study, 500 µl of each of 10, 100 and 200 mg/L concentrations of extracts and 125 mg/L of metronidazole was added to 500 µl of purified giardia cysts, respectively. In control groups normal saline used whereas these agents. The giardicidal activity of the extracts was measured 30, 60 and 120 min (s) after exposure through 0.1% eosin dye staining and microscopic enumeration method. Minimum, maximum and means lethal concentrations of treatments were calculated after three times in each group. Results relieved that anti-giardicidal effects of both extracts significantly increased due to rising the concentration and time. Based on present study findings and in accordance with others, it seems thymol content of SS and OV extracts were responsible for their anti-giardial activity .Meanwhile, further studies needed for clarify their exact mechanism of actions.

Keywords

- ❖ *Giardia lamblia*
- ❖ Hydroalcoholic extract
- ❖ Laboratory conditions
- ❖ *Origanum vulgare*
- ❖ *Satureja sahandica*
- ❖ Thymol

This open-access article is distributed under the terms of the Creative Commons-BY-NC-ND which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



10.22034/AEJ.2021.708293



جدول ۱- مقایسه درصد کشندگی کیست‌های ژیا ردیا لامبایلا بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه سهندی با تیمار شاهد و مترونیدازول در دقیقه ۳۰ آزمایش، به روش درون شیشه‌ای (*in Vitro*).

Table 1- Comparison of lethality percentage of giardia cysts after adding different concentration of the hydroalcoholic extract of Sahendian savory with control treatment and metronidazole in 30 minutes of the test using the *in vitro* method.

Lethal Dose Group	Minimum Lethal Dose	Maximum Lethal Dose	Mean Lethal Dose
Control (Normal saline)	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a
10 mg/L (Sahendian savory) Extract	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a
100 mg/L (Sahendian savory) Extract	35.06 ± 3.16 b	72.0 ± 3.25 b	53.53 ± 3.20 b
200 mg/L (Sahendian savory) Extract	46.43 ± 3.29 c	78.43 ± 4.4 b	62.43 ± 3.84 b
Metronidazole (125 mg/L)	77.77 ± 4.07 d	89.76 ± 0.77 c	83.78 ± 2.39 c
Sig.	p.value = 0.001	p.value = 0.001	p.value = 0.001

Lethal Dose (Mean ± SEM) in Sahendian savory distillate in 30 min.

**حروف نامشابه در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد در زمان‌های مختلف در آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی Tukey B می‌باشد. (p<0.05)
Dissimilar letters in each column indicate a significant difference at 95% level at different times in one-way variance test and Tukey's test.

جدول ۲- مقایسه درصد کشندگی کیست‌های ژیا ردیا لامبایلا بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه سهندی با تیمار شاهد و مترونیدازول در دقیقه ۶۰ آزمایش، به روش درون شیشه‌ای (*in Vitro*).

Table 1- Comparison of lethality percentage of giardia cysts after adding different concentration of the hydroalcoholic extract of Sahendian savory with control treatment and metronidazole in 60 minutes of the test using the *in vitro* method.

Lethal Dose Group	Minimum Lethal Dose	Maximum Lethal Dose	Mean Lethal Dose
Control (Normal saline)	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a
10 mg/L (Sahendian savory) Extract	16.10 ± 8.13 a	23.47 ± 12.09 b	19.95 ± 10.21 a
100 mg/L (Sahendian savory) Extract	40.46 ± 3.06 b	76.43 ± 3.42 c	58.45 ± 3.19 b
200 mg/L (Sahendian savory) Extract	56.20 ± 5.21 b	86.6 ± 2.94 c	71.43 ± 4.05 b
Metronidazole (125 mg/L)	94.06 ± 5.33 c	97.73 ± 2.26 c	96.2 ± 3.80 c
Sig.	p.value = 0.001	p.value = 0.001	p.value = 0.001

Lethal Dose (Mean ± SEM) in Sahendian savory distillate in 60 min.

**حروف نامشابه در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد در زمان‌های مختلف در آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی Tukey B می‌باشد. (p<0.05)
Dissimilar letters in each column indicate a significant difference at 95% level at different times in one-way variance test and Tukey's test.

جدول ۳- مقایسه درصد کشندگی کیست‌های ژیا ردیا لامبیلیا بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه سهندی با تیمار شاهد و مترونیدازول در دقیقه ۱۲۰ آزمایش، به روش درون شیشه‌ای (*in Vitro*).

Table 3- Comparison of lethality percentage of giardia cysts after adding different concentration of the hydroalcoholic extract of Sahendian savory with control treatment and metronidazole in 120 minutes of the test using the *in vitro* method.

Lethal Dose Group	Minimum Lethal Dose	Maximum Lethal Dose	Mean Lethal Dose
Control (Normal saline)	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a
10 mg/L (Sahendian savory) Extract	31.0 ± 4.58 b	41.2 ± 4.99 b	36.10 ± 4.78 b
100 mg/L (Sahendian savory) Extract	51.16 ± 4.36 c	82.56 ± 3.11 c	66.86 ± 3.70 c
200 mg/L (Sahendian savory) Extract	78.2 ± 8.68 d	93.2 ± 1.7 cd	85.7 ± 5.08 d
Metronidazole (125 mg/L)	96.00 ± 4.0 d	98.66 ± 1.33 c	97.33 ± 2.66 d
Sig.	p.value = 0.001	p.value = 0.001	p.value = 0.001

Lethal Dose (Mean ± SEM) in Sahendian savory distillate in 120 min.

**حروف نامشابه در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد در زمان‌های مختلف در آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی Tukey B می‌باشد. (p<0.05)
Dissimilar letters in each column indicate a significant difference at 95% level at different times in one-way variance test and Tukey's test.

جدول ۴- مقایسه درصد کشندگی کیست‌های ژیا ردیا لامبیلیا بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزنجوش با تیمار شاهد و مترونیدازول در دقیقه ۳۰ آزمایش، به روش درون شیشه‌ای (*in Vitro*).

Table 4- Comparison of lethality percentage of giardia cysts after adding different concentration of the hydroalcoholic extract of marjoram with control treatment and metronidazole in 30 minutes of the test using the *in vitro* method

Lethal Dose Group	Minimum Lethal Dose	Maximum Lethal Dose	Mean Lethal Dose
Control (Normal saline)	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a
10 mg/L (marjoram) Extract	34.2 ± 3.36 b	52.4 ± 4.14 b	43.3 ± 3.69 b
100 mg/L (marjoram) Extract	57.8 ± 4.17 c	77.33 ± 5.29 c	67.56 ± 4.73 c
200 mg/L (marjoram) Extract	81.80 ± 3.93 d	86.93 ± 3.47 c	84.36 ± 3.57 d
Metronidazole (125 mg/L)	77.77 ± 4.07 d	89.76 ± 0.77 c	83.78 ± 2.39 d
Sig.	p.value = 0.001	p.value = 0.001	p.value = 0.001

Lethal Dose (Mean ± SEM) in marjoram distillate in 30 min.

**حروف نامشابه در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد در زمان‌های مختلف در آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی Tukey B می‌باشد. (p<0.05)
Dissimilar letters in each column indicate a significant difference at 95% level at different times in one-way variance test and Tukey's test.

جدول ۵- مقایسه درصد کشندگی کیست‌های ژیا ردیا لامبایلا بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه سهندی با تیمار شاهد و مترونیدازول در دقیقه ۶۰ آزمایش، به روش درون

شیشه‌ای (*in Vitro*)

Table 2- Comparison of lethality percentage of giardia cysts after adding different concentration of the Hydroalcoholic extract of marjoram with control treatment and metronidazole in 60 minutes of the test using the *in vitro* method

Lethal Dose Group	Minimum Lethal Dose	Maximum Lethal Dose	Mean Lethal Dose
Control (Normal saline)	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a
10 mg/L (marjoram) Extract	46.03 ± 4.28 b	60.06 ± 5.65 b	53.05 ± 4.96 b
100 mg/L (marjoram) Extract	69.40 ± 5.08 c	82.83 ± 4.07 c	76.11 ± 4.55 c
200 mg/L (marjoram) Extract	89.10 ± 3.03 d	93.8 ± 2.05 cd	91.45 ± 2.54 d
Metronidazole (125 mg/L)	94.06 ± 5.33 d	97.73 ± 2.26 d	96.2 ± 3.80 d
Sig.	p.value = 0.001	p.value = 0.001	p.value = 0.001

Lethal Dose (Mean ± SEM) in marjoram distilled in 60 min.

**حروف نامشابه در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد در زمان‌های مختلف در آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی Tukey B می‌باشد. (p<0.05)

Dissimilar letters in each column indicate a significant difference at 95% level at different times in one-way variance test and Tukey's test.

جدول ۶- مقایسه درصد کشندگی کیست‌های ژیا ردیا لامبایلا بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزنجوش با مترونیدازول در دقیقه ۱۲۰ آزمایش، به روش درون شیشه‌ای (*in*

Vitro)

Table 6- Comparison of lethality percentage of giardia cysts after adding different concentration of the hydroalcoholic extract of marjoram with metronidazole in 120 minutes of the test using the *in vitro* method.

Lethal Dose Group	Minimum Lethal Dose	Maximum Lethal Dose	Mean Lethal Dose
Control (Normal saline)	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a
10 mg/L (marjoram) Extract	55.23 ± 5.54 b	74.06 ± 3.35 b	64.65 ± 4.31 b
100 mg/L (marjoram) Extract	71.56 ± 3.52 c	85.33 ± 2.82 c	78.45 ± 3.16 c
200 mg/L (marjoram) Extract	91.8 ± 4.34 d	96.83 ± 1.67 d	94.31 ± 3.01 d
Metronidazole (125 mg/L)	96.00 ± 4.0 d	98.66 ± 1.33 d	97.33 ± 2.66 d
Sig.	p.value = 0.001	p.value = 0.001	p.value = 0.001

Lethal Dose (Mean ± SEM) in marjoram distilled in 120 min.

**حروف نامشابه در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد در زمان‌های مختلف در آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی Tukey B می‌باشد. (p<0.05)

Dissimilar letters in each column indicate a significant difference at 95% level at different times in one-way variance test and Tukey's test.

جدول ۷- مقایسه درصد کشندگی کیست‌های ژیا ردیا لامبلیا بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه سهندی و مرزنجوش با تیمار شاهد و مترونیدازول در دقیقه ۳۰ آزمایش، به

روش درون شیشه‌ای (*in Vitro*)

Table 7- Comparison of lethality percentage of giardia cysts after adding different concentration of the hydroalcoholic extract of Sahendian savory and marjoram with control treatment and metronidazole in 30 minutes of the test using the *in vitro* method.

Lethal Dose Group	Maximum Lethal Dose	Minimum Lethal Dose	Mean Lethal Dose
Control (Normal saline)	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a
10 mg/L (Sahendian savory) Extract	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a
100 mg/L (Sahendian savory) Extract	35.06 ± 3.16 b	72.0 ± 3.25 c	53.53 ± 3.20 bc
200 mg/L (Sahendian savory) Extract	46.43 ± 3.29 bc	78.43 ± 4.4 cd	62.43 ± 3.84 cd
10 mg/L (marjoram) Extract	34.2 ± 3.36 b	52.4 ± 4.14 b	43.3 ± 3.69 b
100 mg/L (marjoram) Extract	57.8 ± 4.17 c	77.33 ± 5.29 cd	67.56 ± 4.73 d
200 mg/L (marjoram) Extract	81.80 ± 3.93 d	86.93 ± 3.47 d	84.36 ± 3.57 e
Metronidazole (125 mg/L)	77.77 ± 4.07 d	89.76 ± 0.77 d	83.78 ± 2.39 e
Sig.	p.value = 0.001	p.value = 0.001	p.value = 0.001

Lethal Dose (Mean ± SEM) in Sahendian savory and marjoram distilled in 30 min.

**حروف نامشابه در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد در زمان‌های مختلف در آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی Tukey B می‌باشد. (p<0.05)

Dissimilar letters in each column indicate a significant difference at 95% level at different times in one-way variance test and Tukey's test.

جدول ۸- مقایسه درصد کشندگی کیست‌های ژیا ردیا لامبلیا بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه سهندی و مرزنجوش با تیمار شاهد و مترونیدازول در دقیقه ۶۰ آزمایش، به

روش درون شیشه‌ای (*in Vitro*)

Table 8- Comparison of lethality percentage of giardia cysts after adding different concentration of the hydroalcoholic extract of Sahendian savory and marjoram with control treatment and metronidazole in 60 minutes of the test using the *in vitro* method.

Lethal Dose Group	Maximum Lethal Dose	Minimum Lethal Dose	Mean Lethal Dose
Control (Normal saline)	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a
10 mg/L (Sahendian savory) Extract	16.10 ± 8.13 a	23.47 ± 12.09 b	19.95 ± 10.21 b
100 mg/L (Sahendian savory) Extract	40.46 ± 3.06 b	76.43 ± 3.42 cd	58.45 ± 3.19cd
200 mg/L (Sahendian savory) Extract	56.20 ± 5.21 bc	86.6 ± 2.94 d	71.43 ± 4.05 cde
10 mg/L (marjoram) Extract	46.03 ± 4.28 b	60.06 ± 5.65 c	53.05 ± 4.96 c
100 mg/L (marjoram) Extract	69.40 ± 5.08 c	82.83 ± 4.07 d	76.11 ± 4.55 def
200 mg/L (marjoram) Extract	89.10 ± 3.03 d	93.8 ± 2.05 d	91.45 ± 2.54 ef
Metronidazole (125 mg/L)	94.066 ± 5.33 d	97.73 ± 2.26 d	96.2 ± 3.80 f
Sig.	p.value = 0.001	p.value = 0.001	p.value = 0.001

Lethal Dose (Mean ± SEM) in Sahendian savory and marjoram distilled in 60 min.

**حروف نامشابه در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد در زمان‌های مختلف در آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی Tukey B می‌باشد. (p<0.05)

Dissimilar letters in each column indicate a significant difference at 95% level at different times in one-way variance test and Tukey's test.

جدول ۹- مقایسه درصد کشندگی کیست‌های ژیا ردیا لامبلیا بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه سهندی و مرزنجوش با تیمار شاهد و مترونیدازول در دقیقه ۱۲۰ آزمایش، به

روش درون شیشه‌ای (*in Vitro*)

Table 9- Comparison of lethality percentage of giardia cysts after adding different concentration of the hydroalcoholic extract of Sahendian savory and marjoram with control treatment and metronidazole in 120 minutes of the test using the *in vitro* method.

Lethal Dose Group	Maximum Lethal Dose	Minimum Lethal Dose	Mean Lethal Dose
Control (Normal saline)	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a
10 mg/L (Sahendian savory) Extract	31.0 ± 4.58 b	41.2 ± 4.99 b	36.10 ± 4.78 b
100 mg/L (Sahendian savory) Extract	51.16 ± 4.36 c	82.56 ± 3.11 cd	66.86 ± 3.70 c
200 mg/L (Sahendian savory) Extract	78.2 ± 8.68 de	93.2 ± 1.7 def	85.7 ± 5.08 de
10 mg/L (Marjoram) Extract	55.23 ± 5.54 c	74.06 ± 3.35 c	64.65 ± 4.31c
100 mg/L (Marjoram) Extract	71.56 ± 3.52 cd	85.33 ± 2.82 cde	78.45 ± 3.16 cd
200 mg/L (Marjoram) Extract	91.8 ± 4.34 de	96.83 ± 1.67 ef	94.31 ± 3.01e
Metronidazole (125 mg/L)	96.00 ± 4.0 e	98.66 ± 1.33 f	97.33 ± 2.66 e
Sig.	p.value = 0.001	p.value = 0.001	p.value = 0.001

Lethal Dose (Mean ± SEM) in Sahendian savory and marjoram distilled in 120 min.

**حروف نامشابه در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد در زمان‌های مختلف در آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی Tukey B می‌باشد. (p<0.05)

Dissimilar letters in each column indicate a significant difference at 95% level at different times in one-way variance test and Tukey's test.

جدول ۱۰- مقایسه حداقل دوز کشندگی کیست‌های ژیا ردیا لامبلیا بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه سهندی و مرزنجوش با تیمار شاهد و مترونیدازول در زمان‌های مختلف،

به روش درون شیشه‌ای (*in Vitro*).

Table 10- Comparison of minimum lethality dose of *Giardia lamblia* cysts after adding different concentration of the hydroalcoholic extract of Sahendian savory and marjoram with control treatment and metronidazole in different times using the *in vitro* method.

Group/Time	Control	Savory (10 mg/L)	Savory (100 mg/L)	Savory (200 mg/L)	Marjoram (10 mg/L)	Marjoram (100 mg/L)	Marjoram (200 mg/L)	Metronidazole (125 mg/L)
30 Min.	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	35.06 ± 3.16 a	46.43 ± 3.29 a	34.2 ± 3.36 a	57.8 ± 4.17 a	81.80 ± 3.93 a	77.77 ± 4.07 a
60 Min.	0 ± 0.0 a	16.10 ± 8.13 ab	40.46 ± 3.06 ab	56.20 ± 5.21 ab	46.03 ± 4.28 ab	69.40 ± 5.08 a	89.10 ± 3.03 a	94.06 ± 5.33 a
120 Min.	0 ± 0.0 a	31.0 ± 4.58 b	51.16 ± 4.36 b	78.2 ± 8.68 b	55.23 ± 5.54 b	71.56 ± 3.52 a	91.8 ± 4.34 a	96.00 ± 4.0 a
Sig.	p.value = 1.00	p.value = 0.019	p.value = 0.048	p.value = 0.027	p.value = 0.044	p.value = 0.128	p.value = 0.23	p.value = 0.051

Min. LD (Mean ± SEM) in group by time.

**حروف نامشابه در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد در زمان‌های مختلف در آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی Tukey B می‌باشد. (p<0.05)

Dissimilar letters in each column indicate a significant difference at 95% level at different times in one-way variance test and Tukey's test.

جدول ۱۱- مقایسه حداکثر دوز کشندگی کیست‌های ژیا ردیا لامبلیا بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه سهندی و مرزنجوش با تیمار شاهد و مترونیدازول در زمان‌های مختلف، به روش درون شیشه‌ای (*in Vitro*).

Table 11- Comparison of maximum lethality dose of *Giardia lamblia* cysts after adding different concentration of the hydroalcoholic extract of Sahendian savory and marjoram with control treatment and metronidazole in different times using the *in vitro* method.

Group/Time	Control	Savory (10 mg/L)	Savory (100 mg/L)	Savory (200 mg/L)	Marjoram (10 mg/L)	Marjoram (100 mg/L)	Marjoram (200 mg/L)	Metronidazole (125 mg/L)
30 Min.	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	72.0 ± 3.25 a	78.43 ± 4.4 a	52.4 ± 4.14 a	77.33 ± 5.29 a	86.93 ± 3.47 a	89.76 ± 0.77 a
60 Min.	0 ± 0.0 a	23.47 ± 12.09 ab	76.43 ± 3.42 a	86.6 ± 2.94 ab	60.06 ± 5.65 ab	82.83 ± 4.07 a	93.8 ± 2.05 a	97.73 ± 2.26 b
120 Min.	0 ± 0.0 a	41.2 ± 4.99 b	82.56 ± 3.11 a	93.2 ± 1.7 b	74.06 ± 3.35 b	85.33 ± 2.82 a	96.83 ± 1.67 a	98.66 ± 1.33 b
Sig.	p.value = 1.00	p.value = 0.023	p.value = 0.151	p.value = 0.047	p.value = 0.037	p.value = 0.437	p.value = 0.077	p.value = 0.014

Max. LD (Mean ± SEM) in group by time.

**حروف نامشابه در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد در زمان‌های مختلف در آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی Tukey B می‌باشد. (p<0.05)
Dissimilar letters in each column indicate a significant difference at 95% level at different times in one-way variance test and Tukey's test.

جدول ۱۲- مقایسه میانگین دوز کشندگی کیست‌های ژیا ردیا لامبلیا بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی مرزه سهندی و مرزنجوش با تیمار شاهد و مترونیدازول در زمان‌های مختلف، به روش درون شیشه‌ای (*in Vitro*).

Table 12- Comparison of mean lethality dose of *Giardia lamblia* cysts after adding different concentration of the hydroalcoholic extract of Sahendian savory and marjoram with control treatment and metronidazole in different times using the *in vitro* method.

Group/ Time	Control	Savory (10 mg/L)	Savory (100 mg/L)	Savory (200 mg/L)	Marjoram (10 mg/L)	Marjoram (100 mg/L)	Marjoram (200 mg/L)	Metronidazole (125 mg/L)
30 Min.	0 ± 0.0 a	0 ± 0.0 a	53.53 ± 3.20 a	62.43 ± 3.84 a	43.3 ± 3.69 a	67.56 ± 4.73 a	84.36 ± 3.57 a	83.78 ± 2.39 a
60 Min.	0 ± 0.0 a	19.95 ± 10.21 ab	58.45 ± 3.19 a	71.43 ± 4.05 ab	53.05 ± 4.96 ab	76.11 ± 4.55 a	91.45 ± 2.54 a	96.2 ± 3.80 b
120 Min.	0 ± 0.0 a	36.10 ± 4.78 b	66.86 ± 3.70 a	85.7 ± 5.08 b	64.65 ± 4.31 b	78.45 ± 3.16 a	94.31 ± 3.01 a	97.33 ± 2.66 b
Sig.	p.value = 1.00	p.value = 0.022	p.value = 0.079	p.value = 0.025	p.value = 0.037	p.value = 0.236	p.value = 0.140	p.value = 0.034

Mean. LD (Mean ± SEM) in group by time.

**حروف نامشابه در هر ستون، نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد در زمان‌های مختلف در آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی Tukey B می‌باشد. (p<0.05)
Dissimilar letters in each column indicate a significant difference at 95% level at different times in one-way variance test and Tukey's test.