Journal of
Arak University of Medical Sciences

August & September 2022, Vol 25, Issue 3

Research Paper

The Antiamoebic Effect of Oliveria Decumbens and Peganum Harmala Extract on Acanthamoeba

Gholamreza Shookohi[1], Naser Hatami[1], Omid Mojarad[1], *Ahmad Abolghazi[1,2]

1. Department of Medical Parasitology and Mycology, Faculty of Medical, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran.
2. Department of Medical Parasitology and Mycology, Faculty of Medical, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Shookohi Gh, Hatami N, Mojarad O, Abolghazi A. [The Antiamoebic Effect of Oliveria Decumbens and Peganum Harmala Extract on Acanthamoeba (Persian)]. Journal of Arak University of Medical Sciences(JAMS). 2022; 25(3):372-381. https://doi.org/10.32598/JAMS.25.3.5540.1

https://doi.org/10.32598/JAMS.25.3.5540.1

CC BY NC

Article Info:

Received: 18 Feb 2022

Accepted: 21 Jun 2022

Available Online: 01 Aug 2022

Keywords:
Amoeba, Oliveria Decumbens, Peganum Harmala, Acanthamoeba

ABSTRACT

Background and Aim Acanthamoeba is one of free-living amoebas, which are very abundant in nature. As a free-living amoeba, this parasite has a very high lethality, especially in people with underlying diseases, so researchers are always looking for a way to combat it. Drug plants are a good way to fight Acanthamoeba species. In this study, we aimed to investigate the lethal effect of the extract of Oliveria decumbens vent and Peganum harmala alcoholic extract on Acanthamoeba.

Methods & Materials In this study using the extract from an extract of Oliveria decumbens vent and Peganum harmala with concentrations of 1.25, 2.5, 5, 10, and 20 mg/ml to investigate the lethal effect of this extract. The plant was treated with Acanthamoeba amoebae after three times (24, 48, and 72) hours.

Ethical Considerations This study was approved by the Ethics Committee of the Jahrom University of Medical Sciences (Code: IR.JUMS.REC.1398.029).

Results The present research showed that using different concentrations at three times (24, 48, and 72) hours the effect of the extract on trophozoites and cysts of Acanthamoeba was shown. The highest lethality is related to the concentration of 20 mg/ml using a combination of both extracts at the time 72 hours and the lowest lethality is related to the concentration of 1.25 mg/ml of Oliveria decumbens vent at the time 24 hours.

Conclusion Observations indicate that the alcoholic extract of Oliveria decumbens vent and Peganum harmala had a perfect effect both separately and in a combination of both extracts. These two extracts had a synergistic effect on the lethal effect of Acanthamoeba amoeba.

* *Corresponding Author:*
Ahmad Abolghazi, PhD.
Address: Department of Medical Parasitology and Mycology, Faculty of Medical, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran.
Tel: +98 (910) 4968651
E-mail: ahmadabolghazi@gmail.com

Journal of
Arak University of Medical Sciences

Extended Abstract

Introduction

Free-living amoebas are protozoans that are abundant in nature. [1]. Some species of these amoebas cause serious and sometimes fatal diseases in humans and animals. [2, 3]. The high lethality of this disease has caused researchers to always look for a way to fight free-living amoebas [4]. Various plants have been researched to fight free-living amoebae, each of which has a different range of lethal effects on these protozoa according to the type of plant [5-7]. Peganum harmala is an herbaceous plant and a bush whose height reaches up to 50 cm. Peganum harmala is found in most places [8]. Recently, there has been an increase in research on plants, such as Oliveria decumbens and Peganum harmala, whose germicidal effect has been proven; thus, we decided to study the anti-Acanthamoeba effects of the alcoholic extract of Oliveria decumbens and Peganum harmala.

Materials and Methods

Oliveria decumbens and Peganum harmala were collected from the southern regions of the country and dried in suitable conditions away from the sun. Then, the extracts were obtained using a percolation device and dried. In the next step, the desired amounts of each of the dried extracts were dissolved in distilled water to obtain different concentrations [9]. Acanthamoeba was cultured on non-nutrient agar plates. After almost three weeks, the amoebae were washed, then trophozoites and cysts were counted using trypan blue dye and Nicobar slide. To evaluate the anti-amoebic activity of the extracts in their different concentrations, which were prepared as 1.25, 2.5, 5, 10, and 20 mg/ml, were added separately to the microtubes containing Acanthamoeba [10]. The effect of the extracts in different dilutions was investigated at 24, 48 and 72 hours [9]. The collected data were measured using SPSS 21 software.

Results

The highest lethality was related to the concentration of 20 mg/ml using a combination of both extracts at 72 hours and the lowest lethality was related to the concentration of 1.25 mg/ml of Oliveria decumbens at 24 hours. As seen, the results showed the lethal effect of Oliveria decumbens and Peganum harmala extracts on trophozoites and cysts of Acanthamoeba, and the lethal effect of the extracts had a direct relationship with the concentration and duration of the effect, so that as the amount and time increased, the amount of amoebae decreased and showed a significant difference ($P<0.05$). Also, the results indicated the greater effect of Oliveria decumbens extract and the synergistic effect of these two extracts on each other.

Discussion

Many studies have been done worldwide to find a suitable method to prevent Acanthamoeba infection, and medicinal plants are always considered a suitable method to prevent and treat diseases [5, 11]. Nayeri et al. investigated the effect of artemisinin and alcoholic and aqueous extracts of Gondwash (Artemisia annua) on Acanthamoeba T4 genotype in vitro. They showed that different concentrations of Artemisia annua extract have anti-Acanthamoeba activity and in the presence of 10 mg per ml of alcoholic extract in the culture medium after 72 hours, 30.51% of trophozoites were alive. Also, in the presence of 10 mg/ml aqueous extract of Artemisia annua in the culture medium, after 72 hours, 58.25% of trophozoites were alive, which was consistent with the results of this study and the lethal effect of Peganum harmala alcoholic extract. Also, considering the percentage of lethality related to Peganum harmala, it can be said that the lethal effect of the Peganum harmala alcoholic extract was greater than that of Artemisia annua extract [9]. Nayeri et al investigated the aqueous extract of Peganum harmala and reported that the aqueous extract of Peganum harmala has a dose- and time-dependent anti-amoebic activity on trophozoites and cysts, and in the presence of 10 mg/ml of aqueous extract of Peganum harmala in the culture medium after 72 hours, 47.32% of trophozoites and 15.50% of cysts were alive [9, 12]. Despite the obtained results, it can be said that the alcoholic extract of Oliveria decumbens has a greater amoebic effect than the extract of the Peganum harmala and also these two plants had a synergistic effect on each other.

Therefore, it can be said that Oliveria decumbens and Peganum harmala have a good killing effect on Acanthamoeba amoeba. If they are used together, they increase each other's killing impact.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Ethics Committee of the Jahrom University of Medical Sciences (Code: IR.JUMS.REC.1398.029).

Funding

This research was supported by the research project (No.1398-029), Funded by the Jahrom University of Medical Sciences.

Authors' contributions

All authors equally contributed to preparing this article.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

پژوهشی اصیل

بررسی اثر ضدآمیبی عصاره گیاه لعل کوهستان و اسپند کوهستان بر آمیب آزادزی آکانتامبا

غلامرضا شکوهی[۱]، ناصر حاتمی[۱]، امید مجرد[۱]، *احمد ابوالقاضی[۱،۲]

۱. گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم‌پزشکی جهرم، فارس، ایران.
۲. گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم‌پزشکی همدان، همدان، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation Shookohi Gh, Hatami N, Mojarad O, Abolghazi A. [The Antiamoebic Effect of Oliveria Decumbens and Peganum Harmala Extract on Acanthamoeba (Persian)]. Journal of Arak University of Medical Sciences(JAMS). 2022; 25(3):370-381. https://doi.org/10.32598/JAMS.25.3.5540.1

https://doi.org/10.32598/JAMS.25.3.5540.1

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۲۹ بهمن ۱۴۰۰
تاریخ پذیرش: ۳۱ خرداد ۱۴۰۱
تاریخ انتشار: ۱۰ مرداد ۱۴۰۱

چکیده

زمینه و هدف آکانتامبا یکی از آمیب‌های آزادزی است که در طبیعت بسیار زیاد وجود دارد. این انگل به عنوان یک آمیب آزادزی دارای کشندگی بسیار بالا، به خصوص در افراد دچار بیماری‌های زمینه‌ای است؛ بنابراین محققان همواره به دنبال راهی برای مبارزه با آن هستند. گیاهان دارویی روش مناسبی برای مبارزه با آکانتامباست. ما در این تحقیق بر آن شدیم تأثیر کشندگی عصاره لعل کوهستان و اسپند کوهستان را روی آکانتامبا بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها در این مطالعه با استفاده از عصاره گیاهان لعل کوهستان و اسپند کوهستان که با غلظت‌های ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شده بود، اثر کشندگی عصاره این گیاهان روی آمیب آکانتامبا بعد از ۳ زمان (۲۴، ۴۸ و ۷۲) ساعت بررسی شد.

ملاحظات اخلاقی کمیته اخلاق دانشگاه علوم‌پزشکی جهرم این مطالعه را با شماره (IR.JUMS.REC.1398.029) تأیید کرد.

یافته‌ها تحقیق حاضر نشان داد با استفاده از غلظت‌های مختلف در ۳ زمان (۲۴، ۴۸ و ۷۲) ساعت از تأثیر عصاره‌ها بر تروفوزوئیت‌ها و کیست‌های آکانتامبا، بیشترین کشندگی مربوط به غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و زمان ۷۲ ساعت با استفاده از ترکیب هر ۲ عصاره است و کمترین کشندگی مربوط به غلظت ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و زمان ۲۴ ساعت با استفاده از عصاره لعل کوهستان بود.

نتیجه‌گیری مشاهدات حاکی از تأثیر بسیار خوب عصاره الکلی گیاهان لعل کوهستان و اسپند کوهستان به صورت مجزا و به صورت ترکیبی از هر ۲ عصاره است. این ۲ عصاره اثر هم‌افزایی برای تأثیر کشندگی روی آمیب آکانتامبا داشت.

کلیدواژه‌ها:
آمیب، لعل کوهستان، اسپند کوهستان، آکانتامبا

* **نویسنده مسئول:**
دکتر احمد ابوالقاضی
نشانی: فارس، دانشگاه علوم‌پزشکی جهرم، دانشکده پزشکی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی.
تلفن: ۴۹۶۸۶۵۱ (۹۱۰) ۹۸+
رایانامه: ahmadabolghazi@gmail.com

مقدمه

آمیب‌های آزادزی تک‌یاخته‌هایی هستند که در طبیعت بسیار زیاد وجود دارند. رده‌ها و راسته‌های زیادی از آمیب‌ها با زندگی آزاد وجود دارد که جنس‌ها و گونه‌های فراوانی دارند. محل زندگی این آمیب‌ها در آب‌های شیرین، آب‌های شور، خاک و گیاهان در حال فساد است [۱]. وفور و پراکندگی آمیب‌های آزادزی در طبیعت اهمیت زیادی دارد، زیرا بعضی از گونه‌های این آمیب‌ها بیماری‌های وخیم و گاه بسیار کشنده در انسان و حیوانات ایجاد می‌کنند. بین جنس‌های متنوع آمیب‌های آزادزی که در طبیعت وجود دارند، اعضای ۴ جنس (نگلریا، آکانتامبا، بالاموثیا و ساپینیا) با بیماری‌های انسانی در ارتباط هستند. این جنس‌ها عامل ایجادکننده بیماری‌هایی نظیر انسفالیت و کراتیت هستند [۳،۲]. کشندگی بالای این بیماری سبب شده که محققان همواره به دنبال راهی برای مبارزه با آمیب‌های آزادزی باشند. از گذشته تا به امروز از گیاهان و ترکیبات مختلف گیاهی به عنوان یکی از روش‌های مبارزه با انواع تک‌یاخته‌ها استفاده می‌شده است [۴].

گیاهان متنوعی برای مبارزه با آمیب‌های آزادزی مورد تحقیق قرار گرفته که هرکدام با توجه به نوع گیاه، طیف متفاوتی از تأثیر کشندگی بر این تک‌یاخته‌ها داشته است [۵-۷]. از گیاهانی که تأثیرات تک‌یاخته‌کشی و میکروب‌کشی آن هم به اثبات رسیده، گیاهان لعل کوهستان و اسپند کوهستان هستند. گیاه لعل کوهستان گیاهی بوته‌ای است که معمولاً در مناطق جنوبی ایران یافت می‌شود [۸، ۹]. این گیاه از ترکیباتی شامل تیمول، کارواکرول، پاراسیمن و گاما-ترپینن بود. اسپند گیاهی علفی، پایا و بوته‌ای است که ارتفاع آن تا ۵۰ سانتی‌متر می‌رسد. گیاه اسپند در بیشتر نقاط یافت می‌شود [۸].

دانه‌های خشک اسپند حاوی پروتئین، روغن و آلکالوئیدهایی مانند هارمالین، هارمین، هارمان، هارمالول، پگانین، ایزوپگانین، دیپگانین، وازیسینن و داوکسی وازینون است. تحقیقات مختلف نشان داد اسپند اثرات مختلفی، ازجمله سقط‌کننده، آمیب‌کش، تقویت‌کننده قوای جنسی، ادرارآور، تهوع‌آور و کرم‌کش دارد [۱۰، ۱۱]. کشندگی بالای این انگل سبب شده که محققان سراسر دنیا به دنبال روش مناسبی برای کشتن و مبارزه با این انگل باشند. اخیراً تحقیق روی گیاهانی مانند لعل کوهستان و اسپند کوهستان که اثر میکروب‌کشی آن‌ها اثبات شده، افزایش یافته است؛ بنابراین بر آن شدیم با طراحی مطالعه اثرات ضدآکانتامبای عصاره الکلی گیاه اسپند کوهستان را بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

آماده کردن عصاره‌ها

ابتدا گیاهان لعل و اسپند کوهستان از مناطق جنوبی کشور جمع‌آوری و در شرایط مناسب و دور از آفتاب خشک شد. سپس با استفاده از آسیاب برقی، گل‌های گیاهان را به صورت پودر درآمد و برای تهیه عصاره از روش پرکولاسیون استفاده شد. در این روش، ۵۰ گرم از پودر گیاهان حاصل درون ظرف دستگاه پرکولاسیون ریخته می‌شد. سپس به پودر موجود هیدروالکل ۷۰ درصد اضافه و به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری می‌شد. بعد از گذشت ۷۲ ساعت، شیر دستگاه پرکولاتور را باز کرده و قطره قطره عصاره‌های مورد نظر جمع‌آوری شد. آن‌گاه عصاره‌های به‌دست‌آمده را با دستگاه روتاری یا بن‌ماری در حرارت ۴۰ تا ۵۰ درجه سلسیوس تغلیظ کرده، در ادامه برای آنکه عصاره‌ها کاملاً خشک شود، به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه دسیکاتور قرار داده می‌شد. در مرحله بعد، مقادیر مورد نظر از هرکدام از عصاره‌های خشک‌شده در آب مقطر حل می‌شد تا غلظت‌های مختلف به دست آید [۱۲].

آماده کردن تروفوزوئیت‌ها و کیست‌ها

آمیب‌های آزادزی آکانتامبا روی پلیت‌های آگار غیرمغذی در ۲۶ درجه سانتی‌گراد همراه با اشرشیا کلی کشت داده شد. بعد از تقریباً ۳ هفته آمیب‌ها با محلول نرمال سالین استریل ۲ بار شست‌وشو داده شد. سپس با کمک سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰، ۲ بار سانتریفیوژ انجام شد. با استفاده از رنگ تریپان‌بلو و لام‌نئوبار تروفوزوئیت‌ها و کیست‌ها شمارش شد و با غلظت نهایی $10^4 \times 15$ کیست در میلی‌لیتر آزمایش انجام شد.

تعیین فعالیت ضدآمیبی

به منظور ارزیابی فعالیت ضدآمیبی عصاره الکلی اسپند بر انگل آکانتامبا در شرایط کاملاً استریل و زیر هود با استفاده از سمپلر، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون انگل، درون میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد. سپس ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از هر عصاره به صورت مجزا و سپس به صورت ترکیبی از هر ۲ گیاه تهیه شده و در غلظت‌های مختلف عصاره‌ها که به صورت ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شده بود و به صورت مجزا به میکروتیوپ‌های حاوی تک‌یاخته اضافه می‌شد [۱۳]. درنهایت، در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرارداد می‌شد. تأثیر عصاره‌ها در رقت‌های مختلف در ۳ زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از لام‌نئوبار بررسی شد و با استفاده از فرمول چگنی و همکاران درصد حیات تک‌یاخته‌ها مشخص می‌شد [۱۲]. در این مطالعه از آب مقطر به عنوان گروه کنترل در تمام مراحل استفاده شد.

$$\text{درصد حیات} = \frac{\text{تعداد انگل زنده}}{\text{تعداد انگل مرده+تعداد انگل زنده}} \times ۱۰۰$$

داده‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از نسخه ۲۱ نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری توصیفی (تعیین درصد) و کای‌دو، با سطح اطمینان $P<0/05$ سنجیده شد.

یافته‌ها

برای بررسی اثربخشی عصاره الکلی گیاهان لعل و اسپند کوهستان بر تروفوزوئیت‌ها و کیست‌های آکانتامبا، غلظت‌های ۱/۲۵، ۲/۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌ها تهیه شد و بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از تأثیر عصاره‌ها بر تروفوزوئیت‌ها و کیست‌های آکانتامبا و با استفاده از رنگ تریپان بلو، تعداد تروفوزوئیت‌ها (جدول شماره ۱) و کیست‌های زنده (جدول شماره ۲) شمارش شد.

همان‌طور که مشاهده شد نتایج بیانگر تأثیر کشندگی عصاره‌های لعل و اسپند کوهستان بر تروفوزوئیت‌ها و کیست‌های آکانتامبا دارد و اثر کشندگی عصاره‌ها با غلظت و مدت‌زمان تأثیر رابطه مستقیم دارد، به نحوی که هرچه غلظت و زمان افزایش یافت، میزان آمیب‌ها کمتر شد و تفاوت معنادار داشت ($P<0/05$). همچنین نتایج حاکی از تأثیر بیشتر عصاره لعل کوهستان و اثر هم‌افزایی این ۲ عصاره بر یکدیگر داشت.

بحث

کشندگی بالای آمیب‌های آزادزی، به خصوص آکانتامبا سبب اهمیت ویژه این آمیب شده و همواره یکی از دغدغه‌های محققان این بوده که به دنبال روش یا داروی مناسب برای درمان و جلوگیری از کشندگی بیماری‌های ناشی از آکانتامبا باشند [۱۴]. تحقیقات

جدول ۱. میانگین تعداد کیست‌ها و تروفوزئیت‌های زنده شمارش‌شده در ۳ زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در دُزهای متفاوت فقط با استفاده از عصاره لعل کوهستان

دُز	میانگین±انحراف‌معیار					
	درصد حیات					
	۲۴ ساعت		۴۸ ساعت		۷۲ ساعت	
	کیست	تروفوزئیت	کیست	تروفوزئیت	کیست	تروفوزئیت
۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۳۰/۴۰±۴/۵	۲۰/۵۵±۳/۷۵	۱۰/۰۰±۲/۵	۰۵±۰۵	۰۰	۰۰
۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۴۵/۱۵±۵/۰۵	۳۲/۳۵±۴/۲۵	۳۰/۱۵±۵/۰۰	۲۰/۳۵±۴/۵۰	۱۸/۱۰±۲/۵	۱۰/۰۵±۳
۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۵۵/۰۰±۴/۳۵	۴۸/۱۵±۳/۱۵	۴۸/۱۰±۴/۵۰	۴۵/۲۰±۳/۷۰	۴۰/۱۰±۳/۵	۳۰/۱۵±۸/۵
۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۷۲/۱۵±۴/۷۵	۵۶/۱۲ ±۴/۳۵	۶۱/۲۵±۵/۱۵	۵۱/۴۵±۶/۲۵	۵۵/۲۰±۳/۵۵	۴۰/۱۵±۸/۵
۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۹۰/۰۵±۳/۲۵	۷۴/۵ ±۴/۰۰	۸۱/۲۵±۴/۲۵	۷۰/۲±۳/۵	۷۰/۵۰±۴/۵۰	۶۶/۵±۳/۳۰
گروه کنترل	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

جدول ۲. میانگین تعداد کیست‌ها و تروفوزئیت‌های زنده شمارش‌شده در ۳ زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در دُزهای متفاوت فقط با استفاده از عصاره اسپند کوهستان

دوز	میانگین±انحراف‌معیار					
	درصد حیات					
	۲۴ ساعت		۴۸ ساعت		۷۲ ساعت	
	کیست	تروفوزئیت	کیست	تروفوزئیت	کیست	تروفوزئیت
۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۴۰/۱۰±۴/۱۰	۳۳/۵۵±۲/۷۵	۲۵/۰۰±۲/۵	۳۰±۰۴	۲۰±۰۳	۱۰±۰۵
۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۵۲/۱۰±۵/۰۵	۴۲/۳۵±۴/۲۵	۴۰/۱۵±۵/۰۰	۴۰/۳۵±۴/۵۰	۲۵/۱۰±۲/۵	۱۵/۰۵±۳
۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۶۵/۰۰±۴/۱۵	۵۸/۱۵±۳/۱۵	۴۵/۱۰± ۴/۲۰	۵۶/۲۰±۳/۶۰	۴۱/۱۰±۳/۵	۲۰/۱۵±۸/۵
۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۷۵/۱۵±۴/۲۵	۶۶/۱۲±۴/۳۵	۵۵/۲۵±۵/۰۵	۷۰/۴۵±۳/۲۵	۵۳/۲۰±۳/۵۵	۴۵/۱۵±۸/۵
۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۹۲/۰۵±۳/۱۵	۸۴/۵±۳/۰۰	۸۲/۰۰±۴/۰۵	۷۵/۲±۳/۵	۷۵/۵۰±۴/۵۰	۷۱/۵ ±۳/۳۰
گروه کنترل	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

جدول ۳. میانگین تعداد کیست‌ها و تروفوزئیت‌های زنده شمارش‌شده در ۳ زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در دُزهای متفاوت با استفاده از ترکیب عصاره هر ۲ گیاه لعل و اسپند کوهستان

دُز	میانگین±انحراف‌معیار درصد حیات					
	۲۴ ساعت		۴۸ ساعت		۷۲ ساعت	
	کیست	تروفوزئیت	کیست	تروفوزئیت	کیست	تروفوزئیت
۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۱۵/۱۰±۴/۱۰	۱۰/۵۵±۲/۷۵	۰۵/۰۰±۲/۵	۰۰	۰۰	۰۰
۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۴۰/۱۰±۵/۰۵	۴۰/۳۵±۴/۲۵	۳۵/۱۵±۵/۰۰	۲۰/۳۵±۴/۵۰	۲۰/۱۰±۲/۵	۰۵/۰۵±۳
۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۵۵/۰۰±۴/۱۵	۵۰/۱۵±۳/۱۵	۴۰/۱۰±۴/۲۰	۳۵/۲۰±۳/۶۰	۳۰/۱۰±۳/۵	۱۵/۱۵±۸/۵
۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۷۰/۱۵±۴/۲۵	۶۵/۱۲±۴/۳۵	۶۵/۲۵±۵/۰۵	۵۴/۴۵±۳/۲۵	۵۰/۲۰±۳/۵۵	۴۰/۱۵±۸/۵
۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	۸۵/۰۵±۳/۱۰	۸۰/۵±۳/۵۰	۸۰/۰۰±۴/۱۰	۷۰/۲±۳/۰۵	۷۰/۵۰±۴/۱۰	۶۵/۵±۳/۱۰
گروه کنترل	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

زیادی در سراسر جهان برای یافتن روش مناسبی برای پیشگیری از این بیماری انجام شده وگیاهان دارویی همواره روش مناسبی برای پیشگیری و درمان بیماری‌ها محسوب می‌شوند [۵، ۱۵].

مطالعات اخیر نشان داد ترکیبات طبیعی خواص ضدانگلی بالا و سمیّت خیلی کمی دارند. محققان از انواع گیاهان دارویی مانند نعناع، پونه، اسپند و گندواش برای درمان بیماری‌های ناشی از آمیب آکانتامبا استفاده کرده‌اند و نتایج حاصل نیز مؤثر گزارش شده است [۱۶، ۱۷]. در بررسی اثر اسانس گیاهان آویشن، نعناع، پونه و عصاره هیدروالکلی گل راعی روی کیست انگل آکانتامبا در شرایط آزمایشگاهی که توسط شبستری و همکاران انجام شد، مقایسه میزان مرگ‌ومیر انگل بین گروه کنترل و تست نشان داد مرگ‌ومیر کیست‌های آکانتامبا در گروه تست که در معرض فرآورده گیاهی بودند، بیشتر بود. اسانس آویشن و نعناع در غلظت یکسان ۱۰ درصد و زمان ۲۴ ساعت، به ترتیب بیشترین (۲۲ درصد) و کمترین (۴ درصد) مرگ‌ومیر را ایجاد کردند. نتایج نشان داد میزان مرگ‌ومیر آکانتامبا وابسته به زمان بوده است. این مسئله بیانگر مؤثر بودن این گیاهان در کشندگی آمیب آکانتامبا است که با نتایج این مطالعه و تأثیر کشندگی عصاره الکلی گیاه لعل کوهستان و اسپند هم‌خوانی داشت [۱۸].

در مطالعه دیگر، نیری و همکاران به بررسی تأثیر آرتمیزینین و عصاره الکلی و آبی گندواش[1] روی ژنوتایپ T4 آکانتامبا در شرایط برون‌تنی پرداختند. آن‌ها نشان دادند غلظت‌های مختلف عصاره آرتمیزیا آنووا فعالیت ضدآکانتامبایی دارد و در حضور ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره الکلی در محیط کشت پس از ۷۲ ساعت، ۰/۳۰/۵۱ تروفوزوئیت‌ها زنده بودند.

همچنین در حضور ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی گندواش در محیط کشت، پس از ۷۲ ساعت ۰/۵۸/۲۵ از تروفوزوئیت‌ها زنده بودند که با نتایج این مطالعه و تأثیر کشندگی عصاره الکلی اسپند هم‌خوانی داشت. با توجه به اینکه درصد کشندگی با گیاه اسپند بیشتر بوده، می‌توان گفت که تأثیر کشندگی عصاره الکلی گیاه اسپند از عصاره گنداوش بیشتر بوده است [۱۲].

در ادامه این مطالعه، نیری و همکاران به بررسی عصاره آبی اسپند پرداختند. آن‌ها گزارش کردند که عصاره آبی اسپند دارای فعالیت ضدآمیبی وابسته به دُز و زمان روی تروفوزوئیت‌ها و کیست‌هاست و در حضور ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی اسپند در محیط کشت پس از ۷۲ ساعت، ۰/۳۲/۴۷ از تروفوزوئیت‌ها و ۰/۱۵/۵۰ از کیست‌ها زنده بود [۱۲، ۱۹] که با نتایج این مطالعه کاملاً هم‌خوانی داشت. نکته لازم به ذکر در این مطالعه، فعالیت ضدآمیبی عصاره الکلی اسپند وابسته به زمان و دُز بود و با افزایش دُز و زمان، اثر عصاره بیشتر می‌شد. با وجود نتایج به‌دست‌آمده می‌توان گفت که عصاره الکلی گیاه لعل کوهستان اثر آمیب‌کشی بیشتر از عصاره گیاه اسپند کوهستان دارد. همچنین این ۲ گیاه اثر هم‌افزایی بر یکدیگر داشتند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان گفت گیاه لعل کوهستان و گیاه اسپند تأثیر کشندگی خوبی بر آمیب آکانتامبا دارند و اگر با هم استفاده شوند، اثر کشندگی یکدیگر را افزایش می‌دهند.

1. Artemisia Annua

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

کمیته اخلاق دانشگاه علوم‌پزشکی جهرم این مطالعه را با شماره (IR.JUMS.REC.1398.029) تأیید کرده است.

حامی مالی

دانشگاه علوم پزشکی جهرم، حامی مالی این پروژه است.

مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در پژوهش و آماده‌سازی این مقاله مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

از همکاران عزیز در دانشگاه علوم‌پزشکی جهرم و معاونت پژوهشی برای حمایت مادی و معنوی از این طرح، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

References

[1] Trabelsi H, Dendana F, Sellami A, Sellami H, Cheikhrouhou F, Neji S, et al. Pathogenic free-living amoebae: Epidemiology and clinical review. Pathol Biol. 2012; 60(6):399-405. [DOI:10.1016/j.patbio.2012.03.002] [PMID]

[2] Visvesvara GS, Moura H, Schuster FL. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: Acanthamoeba spp., Balamuthia mandrillaris, Naegleria fowleri, and Sappinia diploidea. FEMS Immunol Med Microbiol. 2007; 50(1):1-26. [DOI:10.1111/j.1574-695X.2007.00232.x] [PMID]

[3] John DT, Petri Jr W. Markell and Voge's medical parasitology. Amsterdam: Elsevier Health Sciences; 2006. [Link]

[4] Schmidt TJ, Khalid SA, Romanha AJ, Alves TM, Biavatti MW, Brun R, et al. The potential of secondary metabolites from plants as drugs or leads against protozoan neglected diseases-part II. Curr Med Chem. 2012; 19(14):2176-228. [DOI:10.2174/092986712800229023]

[5] Chu DM, Miles H, Toney D, Ngyuen C, Marciano-Cabral F. Amebicidal activity of plant extracts from Southeast Asia on Acanthamoeba spp. Parasitol Res. 1998; 84(9):746-52. [DOI:10.1007/s004360050480] [PMID]

[6] Hajihossein R, Eslamirad Z, Rafiei F, Naderi G, Assadi M. Anti-Acanthamoeba effect of Camellia sinensis extract (black and green tea) in vitro. J Med Plants. 2020; 19(73):163-9. [DOI:10.29252/jmp.1.73.163]

[7] Shafizadeh Gerdkohi H, Ramezani V, Eslahi E, Emami A, Ranjbar AM, Tavakoli F. [Effect of hydroalcoholic extract of oliveria decumbens vent on diarrhea and symptoms of morphine withdrawal syndrome in mice (Persian)]. Sci J Kurdistan Univ Med Sci. 2021; 26(3):1-12. [DOI:10.52547/sjku.26.3.1]

[8] Mahboubi M, Feyzabadi Mm, Haghi G, Hosseini H. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil from oliveria decumbens vent. Iran J Med Aromat Plants. 2008; 24(1):56-65. [Link]

[9] Jadidi A, Golitaleb M, Sadrkia G. [The comparision of the antimicrobial effect of P. harmala smoke and hydrogen peroxide on hospital germs (Persian)]. Complement Med J. 2017; 7(2):1897-905. [Link]

[10] Moloudizargari M, Mikaili P, Aghajanshakeri S, Asghari MH, Shayegh J. Pharmacological and therapeutic effects of Peganum harmala and its main alkaloids. Pharmacogn Rev. 2013; 7(14):199-212. [DOI:10.4103/0973-7847.120524] [PMID] [PMCID]

[11] Lansky EP, Lansky ES, Lansky S, Paavilainen HM. Harmal: The genus peganum. Florida: CRC Press; 2017. [DOI:10.1201/9781315118758]

[12] Nayeri Chegeni T, Ghafarifar F, Khoshzaban F, Dalimi Asl A. [The effects of artemisinin and aqueous and alcoholic extracts of Artemisia annua on Acanthamoeb genotype T4 in vitro (Persian)]. Pathobiol Res. 2016; 19(2):75-87. [Link]

[13] Badria F, Hetta M, Sarhan RM, El-Din ME. Lethal effects of Helianthemum lippii (L.) on Acanthamoeba castellanii cysts in vitro. Korean J Parasitol. 2014; 52(3):243-9. [DOI:10.3347/kjp.2014.52.3.243] [PMID] [PMCID]

[14] Marciano-Cabral F, Cabral G. Acanthamoeba spp. as agents of disease in humans. Clin Microbiol Rev. 2003; 16(2):273-307. [DOI:10.1128/CMR.16.2.273-307.2003] [PMID] [PMCID]

[15] Niyyati M, Dodangeh S, Lorenzo-Morales J. A review of the current research trends in the application of medicinal plants as a source for novel therapeutic agents against Acanthamoeba infections. Iran J Pharm Res. 2016; 15(4):893-900. [PMID]

[16] Wink M. Medicinal plants: A source of anti-parasitic secondary metabolites. Molecules. 2012; 17(11):12771-91. [DOI:10.3390/molecules171112771] [PMID] [PMCID]

[17] Chegeni TN, Fakhar M, Ghaffarifar F, Saberi R. Medicinal plants with anti-Acanthamoeba activity: A systematic review. Infect Disord Drug Targets. 2020; 20(5):620-50. [DOI:10.2174/1871526519666190716095849] [PMID]

[18] Arjmand Shabestary A, Khaloei M, Arjomandzadegan M, Eslamirad Z, Ghasemikhah R. [Effects of Zataria, Mentha Pulegium, Oregano spp essential oil and hydroalcholic extract of hypericum perforatum on Cyst of Acanthamoeba spp In Vitro (Persian)]. J Arak Uni Med Sci. 2017; 20(8):1-8. [Link]

[19] Nayeri Chegen T, Ghaffarifar F, Khoshzaban F, Dalimi Asl A. [Effect of aqueous extract of peganum harmala on acanthamoeba in vitro (Persian)]. Qom Univ Med Sci J. 2018; 12(6):20-8. [DOI:10.29252/qums.12.6.20]

This Page Intentionally Left Blank