

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده دامپزشکی

بخش پاتوبیولوژی

پایان نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد انگل شناسی دامپزشکی

مطالعه اثر ضد انگلی عصاره گیاه آرتمیزییا سانتولینا بر روی انگل
همونکوس کونتورتوس در شرایط آزمایشگاهی

مؤلف:

نسیم کوثری

استاد راهنما:

دکتر سعید رضا نور الهی فرد

استاد مشاور:

دکتر حمید شریفی

شهریور

۱۳۹۲



این پایان نامه به عنوان یکی از شرایط اخذ درجه کارشناسی ارشد به

گروه انگل شناسی

دانشکده دامپزشکی

دانشگاه شهید باهنر کرمان

تسلیم شده است و هیچ گونه مدرکی به عنوان فراغت از تحصیل دوره مزبور شناخته نمی شود.

دانشجو: نسیم کوثری

استاد راهنما: دکتر سعید رضا نور الهی فرد

استاد مشاور: دکتر حمید شریفی

داور ۱: دکتر محمد میرزایی

داور ۲: دکتر احسان سخائی

نماینده تحصیلات تکمیلی دانشکده در جلسه دفاع: دکتر خلیلی

معاون پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده: جناب آقای دکتر رضا قنبر پور

حق چاپ محفوظ و مخصوص به دانشگاه شهید باهنر

تقدیم به

تندیس صلابت پدرم:

او که شانه هایش تکیه گاه من است برای اوج بالندگی هایم ، او که تعبیر عظیم کلمه ایثار و از خودگذشتگی است

به کیمیای محبت مادرم:

او که دلش به زیبایی آسمان است و به سخاوت باران ، او که قلب بزرگش فریادرس است و سرگردانی و ترس در پناهِش به شجاعت می گراید

و تجلی عشق همسرم دکتر میثم لاری:

او که وجودش نشاط و عشقش آرام بخش زندگی من است ، او که با عشق و دلسوزی و همراهی پیمودن این رده دشوار را برایم آسان کرد

تشکر و قدردانی

این رساله پیشکش به محضر استاد عزیز و گران‌قدرم جناب آقای **دکتر سعید رضا نور الهی** فرد که الگوی فروتنی و مهربانی توأم با دانش و آگاهی بوده و هرگز مرا از خوان بی‌دریغ اندوخته‌های خویش محروم نگذاشته و توصیه‌ها و راهنمایی‌های ارزشمندشان همواره راهگشای زندگی‌ام بوده و خواهد بود. بر خود لازم می‌دانم که نهایت تشکر و قدردانی را از ایشان به جا آورم.

جناب آقای **دکتر حمید شریفی** استاد مشاور عزیزم که در طول این دوره تحصیل همواره از راهنمایی‌های مفیدشان چه در زمینه تحصیلی و چه غیر تحصیلی بهره‌مند شدم، سلامتی و موفقیت روزافزون ایشان و خانواده محترمشان آرزویم است.

سپاس بی‌پایان از دو استاد بزرگوار جناب آقای **دکتر محمد میرزایی** و جناب آقای **دکتر احسان سخائی** که مسئولیت داوری این رساله را بر عهده گرفتند و در تصحیح آن دقت فراوان مبذول داشتند.

سپاس فراوان از جناب آقای **امین زاده** مسئول محترم آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی، که در انجام مراحل عملی این پایان‌نامه و در طول این دوره تحصیلی از تجارب سودمند و همراهی ایشان بهره بردم.

در پایان از تمامی دوستانم که در تمام سال‌های بودنم با من بودند تشکر دارم و یادشان را که ره آورد گذر فصل‌های زندگی‌ام بوده است را از نشستن غبار روزگاران بر دفتر خاطراتم مصون خواهم داشت. نام‌های زیر مجموعه‌ای قلم‌نوشته است که هیچ ترتیبی بر آن نمی‌توان نهاد، اگر نامی در آن نیست حکایت از نبودن یاد است و خورده بر قلم می‌رود نه بر کاتب.

و دوستانم: دکتر نرگس ریاحی، سنیه جعفری و دکتر آرمان شهابی

و با سپاس از: آقای حمیدرضا فرودی

و با تشکر از

کارکنان خوب و مهربان دانشکده که همواره بنده را مورد لطف و محبت خویش قرار دادند.

چکیده

همونکوس کونترتوس یکی از مهمترین نماتودهای انگلی در میان گوسفندان و بزها است. همونکوزیس می تواند سبب ایجاد کم خونی نورموسیتیک- هیپوکرومیک و کاهش وزن شود. تعدادی از داروهای شیمیایی از قبیل لوامیزول جهت درمان آلودگی به این انگل مورد استفاده قرار می گیرند. گیاه آرتیمیزیا سانتولینا دارای مواد سانتولین است که خاصیت ضد انگلی دارد. در این مطالعه، ما خواص ضد کرمی عصاره های آبی و الکلی گیاه آرتیمیزیا را بر روی انگل همونکوس کونترتوس در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار داده ایم.

جهت این بررسی، ۳ رقت ۵۰، ۲۵، ۷۵ و از عصاره های آبی و الکلی گیاه آرتیمیزیا تهیه گردید. سپس کرم های جدا شده از شیردان به مدت ۱۰ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در مجاورت با عصاره قرار گرفتند. در این مطالعه، از بافر PBS به عنوان کنترل منفی و از داروی لوامیزول با رقت ۵۰ mg/ml نیز به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. در هر گروه، تعداد ۵۰ کرم مورد آزمایش قرار گرفت. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از تحلیل بقاء و مدل مخاطرات کاکس استفاده گردید.

نتایج نشان می دهد که در مقایسه با گروه لوامیزول با رقت ۵۰ mg/ml، رقت ۷۵ mg/ml عصاره آبی دارای اثر ضد کرمی کمی می باشد و اختلاف آماری معنی داری در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نمی گردد ($p > 0.05$). اما دیگر رقت های عصاره آبی و تمامی رقت های عصاره الکلی آرتیمیزیا دارای اثر ضد کرمی زیادی بوده و سبب مرگ همه کرم ها می گردد که اختلاف آماری معنی داری در مقایسه با گروه شاهد، مشاهده می گردد ($p < 0.05$).

با توجه به نتایج بالا، به خوبی نشان داده می شود که برگ های گیاه آرتیمیزیا دارای خواص ضد کرمی قابل قبولی است. بنابراین، پیشنهاد می گردد که تاثیر عصاره درمنه بر روی حیوان آلوده نیز بررسی شود.

کلمات کلیدی: آرتیمیزیا سانتولینا، همونکوس کونترتوس، شرایط آزمایشگاهی، لوامیزول

فصل اول مقدمه و هدف

۱-۱- مقدمه و هدف ۲

فصل دوم کلیات و مروری بر منابع موجود

۲-۱- تاریخچه درمنه ۵

۲-۲- طبقه بندی علمی ۵

۲-۳- اختصاصات گیاه شناسی و اکولوژیک گونه های گیاهی مورد مطالعه ۶

۲-۳-۱- ویژگیهای جنس درمنه (آرتمیزیا) ۶

۲-۳-۱-۲- گونه آرتمیزیا سانتولینا ۷

۲-۴- کاربرد گیاه درمنه در طب سنتی ۸

۲-۵- تحقیقات انجام گرفته روی برخی از گونه های جنس آرتمیزیا ۹

۲-۵-۱- اثرات ضد انگلی گونه های مختلف درمنه ۹

۲-۵-۲- اثر ضد میکروبی درمنه ۱۱

۲-۵-۳- اثرات ضد قارچی درمنه ۱۱

۲-۵-۴- سایر اثرات گونه ها مختلف درمنه ۱۲

۲-۶- طبقه بندی انگل همونکوس کونتورتوس ۱۳

۲-۷- راسته استروئزولیدها ۱۴

۲-۷-۱- فوق خانواده: تریکوستروئزولوئیده آ ۱۴

۲-۷-۲- خانواده: تریکوستروئزولیده ۱۴

- ۱۵..... ۲-۷-۳- مشخصات جنس همونکوس
- ۱۶..... ۲-۷-۳-۱- جنس نر
- ۱۶..... ۲-۷-۳-۲- جنس ماده
- ۱۶..... ۲-۷-۳-۳- محل، میزبانها و پراکندگی جغرافیایی انگل
- ۱۶..... ۲-۷-۳-۴- سیر تکاملی
- ۱۸..... ۲-۷-۳-۵- بیماریزایی
- ۱۹..... ۲-۷-۳-۶- وضع آلودگی در ایران
- ۱۹..... ۲-۷-۳-۷- همه گیری شناسی انگل در سایر نقاط دنیا
- ۲۱..... ۲-۸- لوامیزول
- ۲۱..... ۲-۸-۱- فرمول شیمیایی و مشخصات لوامیزول
- ۲۲..... ۲-۸-۱- موارد کاربرد
- ۲۳..... ۲-۸-۲- فارماکو کینتیک
- ۲۳..... ۲-۸-۳- فارماکو دینامیک
- ۲۳..... ۲-۸-۴- عوارض جانبی
- ۲۴..... ۲-۸-۵- مسمومیت دارویی
- ۲۴..... ۲-۸-۶- تداخل دارویی
- ۲۴..... ۲-۸-۷- احتیاطات لازم
- ۲۴..... ۲-۸-۸- میزان درمانی دارو

فصل سوم مواد و روش کار

- ۳- مواد و روش کار ۲۶
- ۳-۱- مواد مورد استفاده ۲۶
- ۳-۱-۱- وسایل و دستگاههای مورد استفاده ۲۶
- ۳-۱-۲- مواد شیمیایی مورد استفاده ۲۷
- ۳-۲- روش کار ۲۷
- ۳-۲-۱- تهیه عصاره ۲۷
- ۳-۲-۱-۱- انتخاب گیاهان مورد استفاده ۲۷
- ۳-۲-۱-۲- خشک کردن ۲۷
- ۳-۲-۱-۳- آسیاب کردن و آماده سازی گیاه برای عصاره گیری ۲۷
- ۳-۲-۱-۴- تهیه عصاره ی گیاهی ۲۸
- ۳-۲-۱-۵- آماده سازی عصاره های گیاهی با غلظتهای مختلف ۲۸
- ۳-۲-۱-۵-۱- تهیه عصاره های آبی ۲۸
- ۳-۲-۱-۵-۲- تهیه عصاره اتانولی ۲۸
- ۳-۲-۱-۵-۳- تهیه لوامیزول ۲۹
- ۳-۲-۲- تهیه انگل ها ۲۹
- ۳-۲-۲-۱- تهیه شیردان جهت جداسازی انگل ها ۲۹
- ۳-۲-۲-۲- جداسازی انگل ها ۲۹
- ۳-۲-۳- انجام آزمایشات ۳۰

۳-۳- روش آماری..... ۳۱

فصل چهارم نتایج

۴- نتایج..... ۳۳

۴-۱- نتایج حاصل از عصاره آبی درمنه..... ۳۳

۴-۲- نتایج حاصل از عصاره الکلی درمنه..... ۳۷

فصل پنجم بحث و نتیجه گیری

۵- بحث و نتیجه گیری..... ۴۳

منابع..... ۴۹

فهرست تصاویر

صفحه

- تصویر ۱-۲ گیاه درمنه ۵
- تصویر ۲-۲ گیاه آرتمیزیا سانتولینا ۱۳
- تصویر ۳-۲ انگل همونکوس کونتورتوس ۱۵
- تصویر ۴-۲ سیر تکاملی انگل همونکوس کونتورتوس ۱۷
- تصویر ۵-۲ (A) انتهای خلفی انگل همونکوس کونتورتوس، (B) انگل همونکوس کونتورتوس ماده ۲۱
- تصویر ۱-۳ انگل همونکوس در شیردان ۲۹
- تصویر ۲-۳ انگل های جدا شده از شیردان در عصاره آبی ۳۰
- تصویر ۳-۳ انگل های جدا شده از شیردان در عصاره الکلی ۳۰

فهرست جداول

صفحه

جدول ۴-۱ بررسی عصاره های آبی درمنه از لحاظ نسبت خطر..... ۳۴

جدول ۴-۲ بررسی عصاره های آبی درمنه از لحاظ میزان سرعت مرگ..... ۳۵

جدول ۴-۳ بررسی عصاره های الکلی درمنه از لحاظ نسبت خطر..... ۳۸

جدول ۴-۴ بررسی عصاره های الکلی درمنه از لحاظ میزان سرعت مرگ..... ۳۹

فهرست نمودار

صفحه

نمودار ۱-۴ آنالیز زمان مرگ کرم ها در طی ۱۰ ساعت در عصاره آبی..... ۳۶

نمودار ۲-۴ آنالیز زمان مرگ کرم ها در طی ۱۰ ساعت در عصاره الکلی..... ۴۰

فصل اول

مقدمه و هدف

۱-۱- مقدمه و هدف

گیاهان دارویی گیاهانی هستند که یک یا برخی از اندام های آنها حاوی ماده موثره است. این ماده که کمتر از ۱٪ وزن خشک گیاه را تشکیل می دهد، دارای خواص دارویی موثر بر موجودات زنده است. همچنین کاشت، داشت و برداشت این گیاهان به منظور استفاده از ماده موثره آنها انجام می گیرد.

استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان با تاریخ زندگی انسان هم زمان بوده است؛ و انسان در تمام دوران تاریخی چاره ای جز توسل به گیاهان نداشت اگرچه در نیم قرن گذشته استفاده از داروهای شیمیایی و سنتزی به شدت رواج یافت ولی به سرعت آثار زیان بار آنها بر زندگی آنها سبب گرایش مجدد به گیاهان دارویی گردید و این نکته که توسل به گیاهان دارویی همواره در طول تاریخ یکی از روشهای موثر درمان بوده است، به خوبی روشن است. تاریخ طب در کشور ما مربوط به دوره آریایی می باشد و اوستا (۶۵۰۰ ق.م) اولین کتابی است که از گیاهان دارویی سخن گفته است.

در ایران که یکی از هفت کشور آسیایی است، که بیشترین گیاهان دارویی را دارند این گرایش وجود داشته است و در سه دهه گذشته شاهد روند رو به رشد مردم در زمینه استفاده از این داروهای گیاهی و احیای طب سنتی هستیم. در کشور ما سطح وسیعی از دشتهای و مراتع، پوشیده از گیاهانی است که خواص مختلف دارویی دارند. گونه های مختلف گیاه جنس درمنه از لحاظ داشتن خواص مختلف و موارد استفاده در مقایسه با بسیاری از گیاهان دیگر شاخص بوده و ارزشهای چند جانبه دارد.

گیاه درمنه متعلق به راسته آسترال است و مهم ترین خانواده کاسنی است که در دنیا حدود ۴۰۰ گونه دارد.

درمنه که آنرا در کتابهای مختلف با نام های شیخ، تلخه و یوشان هم نام برده اند، این گیاه حاوی ماده عامله سانتونین می باشند به عنوان داروی ضد انگل استفاده می شوند.

این جنس در صنعت و درمان مورد استفاده قرار می گیرند. این گیاهان تقریباً همگی معطر و گاهی دارای بوی تند هستند. از این رو تصمیم گرفته شد تا در این طرح اثرات عصاره آرتیمیزیا سانتولینا (درمنه) که گیاهی است با خاصیت ضد انگلی بر روی این انگل در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گیرد. از این طرق می توان در جلوگیری از خسارات سنگین ناشی از بیماری همونکوزیس در صنعت پرورش گوسفند، گاو و بز و تولید محصولات دامی گامی موثر برداشت.

گرایش عمومی به استفاده از داروهای گیاهی و به طور کلی فرآورده های طبیعی در جهان به ویژه در سال های اخیر رو به افزایش بوده است. مهمترین علل این گرایش را می توان اثرات داروهای شیمیایی از یک طرف و ایجاد آلودگی های زیست محیطی از سوی دیگر دانست و روشن شده است که کمتر ماده خالصی وجود دارد که فاقد اثرات سوء باشد و این آثار سوء هم از طریق درمان مستقیم اعمال می شود و هم از طریق نفوذ برخی از این داروها در خاک و جذبشان توسط گیاهان مورد استفاده انسانها و حیوانات، اعمال اثر می کنند و البته از جمله آنها، می توان لوامیزول را نام برد (۳۵).

با توجه به بررسی های انجام شده انگل همونکوس کونتورتوس از جمله انگل هایی است که موجب کاهش فراورده های دامی می شود از این رو باید مورد توجه بیشتری قرار بگیرد. جهت کنترل این انگل یک سری داروهای شیمیایی استفاده می گردد که می توان لوامیزول را نام برد (۳۵).

این دارو از عوارض جانبی برخوردار است با توجه به اینکه داروهای گیاهی از عوارض جانبی کمتری نسبت به داروهای شیمیایی برخوردار است و استفاده روز افزون از این داروها می توان با کار بر روی گیاهان با خاصیت دارویی ضد انگل یک داروی جدید با عوارض جانبی کمتر و مقاومت دارویی کمتر را علیه این انگل تولید کرد که نتیجه آن افزایش سطح ارتقاء سلامت و بهداشت جامعه انسانی و دامی است.

مجموعه این عوامل ما را به سمت بررسی علمی و آزمایشگاهی اثر ضد انگلی، گونه درمنه سوق داد. با توجه به این دلایل بر آن شدیم تا در پی بررسی اثر ضد انگلی گیاه درمنه بر روی انگل همونکوس کونتورتوس باشیم.

فصل دوم

کلیات و مروری بر

منابع موجود

۱-۲- تاریخچه درمنه:

گیاه درمنه متعلق به راسته آسترال است و مهم ترین خانواده کاسنی است. درمنه جنسی از گیاهان شامل ۲۰۰ یا ۴۰۰ گونه گیاه از تیره گل ستاره ای^۱ها هستند که کپه های خوشه ای و گل هایی معمولا تلخ دارند. رنگ گل های آن معلوم نیست. درمنه که آنرا در کتابهای مختلف با نامهای شیخ، تلخه و یوشان هم نام برده اند. این گیاه حاوی ماده عامله سانتونین می باشد به عنوان داروی ضد انگل استفاده می شوند. این جنس در صنعت و درمان مورد استفاده قرار می گیرند. این گیاهان تقریبا همگی معطر و گاهی دارای بوی تند هستند (۶).

۲-۲- طبقه بندی علمی:

فرمانرو:	گیاهان
دسته:	گیاهان گلدار
رده:	دو لپه ای ها
راسته:	گل مینا
تیره:	گل ستاره ای ها
سرده:	آرتمیزیا



تصویر ۱-۲ گیاه درمنه

^۱-Asteraceae

۳-۲- اختصاصات گیاه شناسی و اکولوژیک گونه های گیاهی مورد مطالعه

۳-۲-۱- ویژگیهای جنس درمنه (آرتمیزیان):

گیاهان یکساله یا دو ساله و یا چند ساله اند، علفی و یا نیمه چوبی، دارای کرک و یا بدون کرک اند. پوشش کرکی (اگر وجود داشته باشد) شامل کرکهای متنوع، دو شاخه ای، بندرت ستاره ای است. برگها متناوب، دارای تقسیمات شانه ای، یا بخش شانه ای عمیق و یا ۲ تا ۴ بار تقسیمات بخش شانه ای عمیق، بندرت دارای پهنای کامل و یا در انتها بریده اند، برگهای بن رست یا قاعده ای دمبرگ دار و برگهای ساقه ای تقریباً اغلب بدون دمبرگ هستند.

گل آذین خوشه گرز، دمبرگ دار و برگهای ساقه ای تقریباً اغلب بدون دمبرگ هستند. گل آذین خوشه گرز یا خوشه سنبه ای شکل است. برگهای گریبان غالباً، هم قد، بطور مشخص همپوش و ردیف های درونی آنها غالباً دارا حاشیه غشایی هستند.

نهج تخت و یا محدب، بدون کرک و یا کرکپوش است.

گلها همگی لوله ای یا در کپه های هم جنس نر ماده اند و لوله آنها در انتها دارای ۵ دندانه است. در کپه های ناهم جنس، جنس گلهای حاشیه ای ماده، دارای لوله نازک و نخی، بندرت مورب و واجد ۲ دندانه اند. خامه این گلها غالباً دراز و خارج شده از جام است گلهای مرکزی نر ماده و زایا هستند و یا تخمدان آنها تحلیل رفته و سترون و لوله جام دارای ۵ دندانه است.

فندقه ها بدون کرک، قرصی شکل، بدون پهلو و فشرده و غالباً صاف اند.

این جنس در ایران دارای ۳۱ گونه است که در بسیاری از نقاط می رویند. گونه های فراوان این جنس در صنعت و درمان مورد استفاده قرار می گیرند. این گیاهان تقریباً همگی معطر و گاهی دارای بوی تند هستند.

گرده افشانی به وسیله باد و حشرات صورت می گیرد که با حداکثر تکامل گل آذین، امری بسیار سازش یافته است. خود گشنی تقریباً بسیار نادر است؛ زیرا رسیدن دانه گرده قبل از آمادگی کلاله برای پذیرش گرده صورت می گیرد.

شهرت این جنس به دلیل تولید ترینوئیدهایی در همه قسمت های گیاه است و از دیرباز به عنوان منبع روغن های اسانسی شناخته شده است (۱۶، ۱۸، ۱۹، ۲۲).

۲-۱-۳-۲- گونه آرتمیسیا سانتولینا

این گونه اسامی مترادفی دارد که از این قرار می باشند:

سانتولینا شرنک^۱، آرتمیسیا لوبولیفولیا بویس^۲

نام فارسی این گونه درمنه سفید می باشد (۲۲).

آرتمیسیا سانتولینا گیاهی با چوبی شدگی کم، ساقه زیرزمینی راست، ضخیم و چوبی است، در راس منشعب است.

ساقه:

ساقه گیاه متعدد است، راست و اغلب پیچ در پیچ است، ۲۵-۳۵ سانتی متر طول دارد، کرکهای سفید دارد یا در برخی موارد تقریباً صاف و درون کرک است، اغلب در پایه بسیار منشعب است (۴۶).

برگ:

برگها دارای کرکهای خاکستری یا در برخی موارد تقریباً صاف و بدون کرک هستند برگها ضخیم هستند، برگهای شاخه جوان و برگهای انشعاب پایینی ساقه مستطیلی-خطی و دم برگ دار هستند (۵۰-) ۱۰-۳۰ طول دارد، در بخش کوچکی سرگوش - تخم مرغی هستند. از طرفی دیگر برگهای ساقه اصلی پهن و در برخی موارد تقریباً بالدار، نوک کند، کامل یا در راس ۲-۳ دندانه نوک کند پنج قسمتی هستند، برگهای بالایی ساقه کمی تقسیم شده و عمیق هستند و تقریباً پایه داراند، برگهای بالایی تقریباً کامل یا کامل هستند (۴۶).

گل:

گلها در گل آذین پانیکول قرار دارد، شاخه اولیه طویل، افقی، بسیار گسترده و کم و بیش پیچ در پیچ است.

کاپیتول تقریباً پایه دار یا دمگل دار است، راست و تخم مرغی است ۴-۵ میلی متر طول دارد، گسترده تا مخروطی است برگک گریبان پوش است، در ابتدا دارای کرکهای انبوه است که به تدریج تقریباً صاف و بدون کرک می شود، انواع خارجی بی نهایت کوتاه و اغلب گرد هستند، انواع داخلی مستطیلی هستند گلچه ها ۴-۶ عدد هستند (۴۶).

از لحاظ پراکندگی جهانی، این گونه در ایران و آسیای مرکزی یافت می شود (۴۶).

از لحاظ پراکندگی در ایران، این گونه در کرمان، پاریز، بلوچستان، جنوب شرقی فارس، جنوب شرق زاهدان، خاش - ایرانشهر، خراسان و بین هرات و طبرس یافت می شود (۴۶).

¹- *Artemisia santolinaschrenk*

²- *Artemisia lobulifolia boiss*