

اثر ضد کوکسیدیوزی عصاره گرانوله شده درمنه سیبری و آرتیمیزینین خالص: مقایسه تجربی در طیور گوشتی مبتلا

حسینعلی عرب^{۱*} جهانگیر کبوتری کتج^۲ صادق رهبری^۳ صدیقه نبیان^۳ علیرضا سلطان محمدی^۴ خداداد پیرعلی خیرآبادی^۵

- (۱) گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
 (۲) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد - ایران.
 (۳) گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
 (۴) شرکت دارویی شیمی گستر، تهران - ایران.
 (۵) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد - ایران.
 (دریافت مقاله: ۲۶ شهریور ماه ۱۳۹۰، پذیرش نهایی: ۹ آذر ماه ۱۳۹۰)

چکیده

زمینه مطالعه: افزایش مقاومت نسبت به داروهای رایج ضد کوکسیدیوز و عوارض سوء ناشی از باقیمانده آنها، جستجوی ترکیبات جدید را ضروری ساخته است. تحقیقات اولیه، اثرات ضد کوکسیدیوزی گیاه درمنه را تا حدی نشان داده است، اما مطالعات تکمیلی در این خصوص ضروری است. **هدف:** گرانوله کردن عصاره درمنه سیبری و بررسی اثر ضد کوکسیدیوزی آن در مقایسه با آرتیمیزینین خالص. **روش کار:** از گیاه درمنه توسط پترولیوم اتر عصاره گیری انجام شد و سپس، عصاره تولید شده به روش استاندارد و به صورت گرانول مرطوب فرموله گردید. ۷۵ قطعه جوجه در ۵ گروه ۱۵ تایی (هر گروه شامل ۳ تکرار) در سن ۲۱ روزگی از طریق خوراندن ۲۵۰۰۰۰ اووسیسیت آیمریا تنلا به ازای هر جوجه، به کوکسیدیوز آلوده شدند. یک گروه ۱۵ تایی از جوجه ها به عنوان شاهد منقی انتخاب شدند. اثر ضد کوکسیدیوزی گیاه درمنه با تجویز ۱ mg/kg آرتیمیزینین خالص در یک گروه و به میزان ۱، ۲/۵ و ۵ mg/kg عصاره درمنه گرانوله شده در ۳ گروه و به مدت ۵ روز مورد بررسی قرار گرفت. گروه پنجم آلوده شده به عنوان کنترل و گروه شاهد منفی دارویی دریافت نکردند. از روز ۶ تا ۱۱ پس از آلودگی، مدفوع هر گروه جمع آوری شد و میزان اووسیسیت موجود در هر گرم مدفوع (OPG) به عنوان شاخص اثر ضد کوکسیدیوزی تعیین گردید. **نتایج:** عصاره درمنه گرانوله شده در هر ۳ دوز به صورت معنی داری ($p < 0.001$) باعث کاهش دفع اووسیسیت در حالت غیر وابسته به دوز شد. آرتیمیزینین خالص نیز به طور معنی داری باعث کاهش دفع اووسیسیت شد، لیکن تفاوت معنی داری با اثرات ناشی از گرانول درمنه نداشت. **نتیجه گیری نهایی:** این مطالعه نشان داد که گرانول تهیه شده از عصاره درمنه می تواند به عنوان یک داروی جدید ضد کوکسیدیوزی مؤثر و ایمن مطرح شود.

واژه‌های کلیدی: کوکسیدیوز، درمنه سیبری، عصاره گرانوله شده درمنه.

موثرترین دارو در درمان انواع مالاریا از جمله سویه های مقاوم به درمان و مالاریای مغزی استفاده می شود (Allen, ۲۰۰۸, ۶, ۷, ۸, ۹). همکاران در سال ۱۹۹۷ میلادی با تجویز برگ های آرتیمیزین یا آنوا به صورت مکمل غذایی ۰.۵٪ به مدت ۳ هفته و یا ماده فعال عصاره گیاه (آرتیمیزینین) به میزان ۱۷ ppm اثرات محافظتی آن در ضایعات ناشی از آیمریا تنلا را مشاهده نمودند (۱۰). گونه های مختلف گیاه درمنه دارای پراکندگی جغرافیایی وسیعی می باشد و در نقاط مختلف دنیا از جمله در ایران یافت می شود (Kiayi, ۱۳۸۴ و همکاران در سال ۱۳۸۰ و Goudarzi و همکاران در سال های ۱۳۸۲ و ۱۳۸۴ اثرات ضد کوکسیدیوزی گیاه درمنه را مشاهده نمودند (Arab, ۲۰۰۶). همکاران در سال ۲۰۰۶ محتوای آرتیمیزینین را در گونه بومی ایران به نام درمنه سیبری جدا سازی و اندازه گیری نمودند و به اثرات آن در کنترل و درمان عفونت با آیمریا تنلا و آیمریا اسروولینا در طیور گوشتی اشاره کردند (۱۵).

آرتیمیزینین ماده موثره موجود در گیاه درمنه، حلالیت کمی در آب و چربی دارد (Allen, ۲۰۰۸, ۶, ۷, ۸, ۹). لذا برای استفاده از این ماده در سطح تجاری باید به

مقدمه

کوکسیدیوز یکی از مهم ترین بیماری های انگلی طیور در اکثر نقاط دنیا می باشد، عامل بیماری تک یاخته ای از جنس آیمریا است که آسیب و تخریب شدید بافتی در دستگاه گوارش ایجاد می کند. خسارات ناشی از این بیماری در سراسر جهان سالانه به بیش از ۲ میلیارد دلار برآورد شده است (۱، ۲). در صنعت مدرن پرورش طیور، کنترل بیماری به طور عمده وابسته به درمان دارویی پیشگیرانه است، اما افزایش مقاومت اجرام آیمریایی به داروهای رایج، خطر بروز بیماری را به شدت افزایش داده است. همچنین وجود باقیمانده های ترکیبات دارویی ضد کوکسیدیوز در فرآورده های طیور، بهداشت جامعه را تهدید می کند، لذا جستجو برای داروهای مؤثر و روش های جدید کنترل بیماری را ضروری نموده است (۳، ۴، ۵).

درمنه از جمله گیاهان دارویی است که از بیش از ۲۰۰۰ سال قبل در طب سنتی چین برای درمان مالاریا به کار می رفته است، امروزه نیز به عنوان



تا ذرات شبه کروی یا گرانول به دست آید. گرانول‌های به دست آمده در دمای 40°C خشک شد و سپس از توری، سایز ۲۰ عبور داده شد. گرانول‌های خشک به دست آمده در کیسه‌های چند لایه کاملاً تمیز و خشک پلی اتیلن بسته بندی شد و تا زمان استفاده در محل خشک و خنک نگهداری شدند (۱۶).

ایجاد آلودگی تجربی کوکسیدیوز: تعداد ۹۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه هیبرید تجاری نژاد راس تهیه و به محل پرورش منتقل گردیدند. جوجه‌ها در شرایط استاندارد و در قفس‌های ضد عفونی شده و تمیز جای داده شدند. آب و غذا به صورت آزاد در اختیار آنها قرار داده شد. در سن ۲۱ روزگی، جوجه‌ها به صورت تصادفی به ۶ گروه پانزده تایی (هر گروه شامل ۳ تکرار) تقسیم شدند. یک گروه به عنوان کنترل منفی جدا و ۵ گروه باقیمانده از طریق خوراندن ۲۵۰۰۰۰ اووسیست آیمیریا تنلا به ازاء هر جوجه به بیماری کوکسیدیوز آلوده شدند. در ۳ گروه در جوجه‌ها عصاره گرانوله شده درمنه سبیری با دوزهای ۵/۵ و ۲/۵ و ۱/۵ در یک گروه آرتیمیزینین خالص با دوز ۱ mg/kg همراه با دان تجویز گردید. یک گروه آلوده شده نیز به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد که در طول مدت درمان هیچ دارویی دریافت نکردند. یک روز بعد از آلودگی با اووسیست، درمان جوجه‌های آلوده توسط عصاره درمنه گرانوله شده و آرتیمیزینین خالص شروع شد و تا مدت ۵ روز ادامه یافت. از روز ۶ تا ۱۰ پس از القای آلودگی، مدفوع هر گروه جمع آوری و تعداد اووسیست موجود در هر گرم مدفوع (OPG) به روش استاندارد Klayton-Lane به عنوان شاخص فعالیت ضد کوکسیدیوزی تعیین گردید (۱۷).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار ($n=15$) هر کدام با ۳ تکرار انجام گردید. میانگین تعداد اووسیست دفع شده در هر تیمار تعیین گردید و داده‌های به دست آمده با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و $p < 0.05$ ، معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

اندازه و پایداری گرانول تهیه شده در این تحقیق مطلوب بود و به خوبی با دان مصرفی مخلوط و توسط پرندگان مورد آزمایش مصرف شد. نتایج حاصل نشان داد که عصاره گرانوله شده درمنه سبیری میزان دفع اووسیست آیمیریا تنلا را به طور معنی داری کاهش داد. اثر آرتیمیزینین خالص با دوز ۱ mg/kg بر میزان دفع اووسیست آیمیریا در طی ۵ روز دوره درمان در نمودار ۱ نشان داده شده است. همانگونه که این نمودار نشان می‌دهد میزان دفع اووسیست در مقایسه با گروه کنترل در یک روند نزولی به شدت کاهش یافته است. در نمودار ۲ اثر عصاره گرانوله شده درمنه سبیری با دوز ۱ mg/kg نشان داده شده که در مقایسه با گروه کنترل کاهش پیش‌رونده دفع اووسیست در طی ۵ روز دوره درمان را نشان می‌دهد. نمودار ۳ اثر عصاره گرانوله شده درمنه سبیری با دوز ۲/۵ mg/kg را بر میزان

صورتی تهیه گردد که امکان حلالیت آن در آب و استفاده از آن در آب و یا خوراک و نیز تعیین دقیق میزان ماده موثره و دوز دارو فراهم گردد. در تحقیقات قبلی از برگ‌های پودر شده یا عصاره آن استفاده شده است. از آنجایی که میزان ماده موثره گیاه تحت تاثیر شرایط رویش گیاه از جمله گونه، شرایط آب و هوایی و محل رویش گیاه، متغیر می‌باشد، تعیین دقیق دوز تجویز شده امکان پذیر نیست. لذا هدف از این تحقیق تهیه ترکیب جدیدی از عصاره گیاه درمنه سبیری، و بررسی اثرات ضد کوکسیدیوزی آن در کنترل عفونت تجربی ایجاد شده با آیمیریا تنلا و نیز مقایسه آن با اثرات آرتیمیزینین خالص می‌باشد.

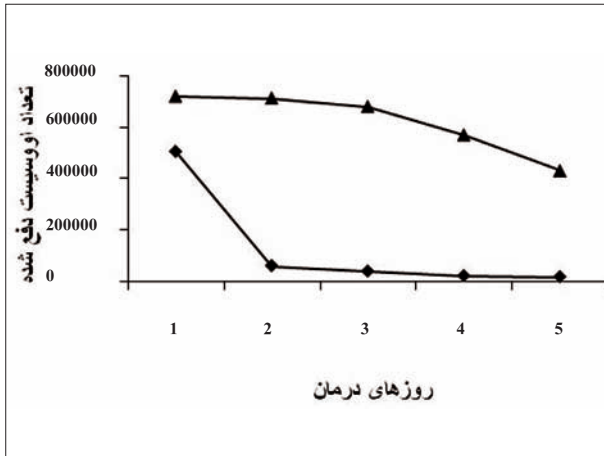
مواد و روش کار

جمع آوری گیاه و عصاره گیری: گیاه درمنه مورد استفاده در فصل تابستان از استان یزد جمع آوری شد. قسمت‌های هوایی گیاه جدا و در دمای 28°C خشک و آسیاب گردید و برای استفاده مراحل بعدی در دمای اتاق نگهداری شد. از محلول پترولیوم اتر برای عصاره گیری از پودر تهیه شده از سرشاخه‌های درمنه سبیری استفاده شد. به همین منظور ۲/۵ g پودر الک شده درمنه در ۲۰۰ mL از پترولیوم اتر (Merck, Germany. Art no: 1.00909) حل و سپس به مدت ۶ ساعت در دمای $30-50^{\circ}\text{C}$ در دستگاه سوکسله حرارت داده شد. عصاره حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و سپس توسط دستگاه تبخیر در خلاء دوار در دمای 40°C خشک گردید. ۴ mL اتانول به عصاره خشک شده اضافه شد. سپس به مدت ۵ دقیقه روی دستگاه همزن قرار داده شد تا عصاره به خوبی در اتانول حل گردد. عصاره اتانولی دوباره از کاغذ صافی عبور داده شد و کاغذ صافی با ۲ mL اتانول دوباره شسته شد تا همه عصاره را در خود حل نماید. مایع به دست آمده به یک بالن حجمی مناسب منتقل گردید و با افزودن اتانول حجم آن به ۱۰ mL رسانده شد (۱۵).

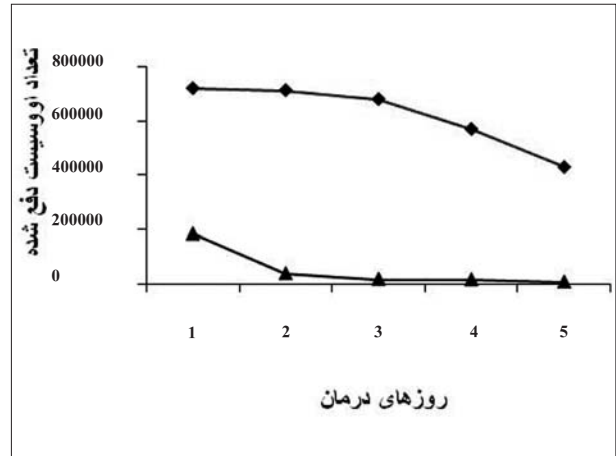
تهیه گرانوله عصاره درمنه سبیری: ساخت گرانول و بسته بندی آن در دمای $30-15^{\circ}\text{C}$ و رطوبت نسبی حداکثر ۴۰٪ انجام گرفت. تمام محصولات در مراحل تولید در ظروف کاملاً تمیز، خشک و در بسته نگهداری شدند.

ابتدا پودرهای دی کلسیم فسفات، ۳۵ g (Cas: 7757-93-9) (GRS, Germany, Netharlands, Cod: 207) ۶۰ g لاکتوز مونوهیدرات (Borculodomo, Lot NO: 10255473) ۳ g و کراس کارملوز (DMV, Netherlands, پس از عبور از الک و پیراتور کاملاً خشک و تمیز، از توری با سایز ۲۰ عبور داده شدند. آنگاه این مجموعه ترکیب به دستگاه مخلوط کن با حجم مناسب از نوع استوانه‌ای کاملاً تمیز و خشک منتقل گردید و به مدت ۵ دقیقه به خوبی با هم مخلوط شدند تا یک مخلوط همگن و فاقد توده (Lump) به دست آید. سپس ۱۱ g پلی‌وینیل پیرولیدون ۳۰ k (Rahavard Tamin, Iran) و ۲ mL عصاره درمنه در ۴۰۰ mL الکل 96° حل گردید و به مخلوط تولید شده افزوده شد، و پس از آن به خوبی مخلوط گردید تا خمیر مرطوبی به دست آید. خمیر از توری، سایز ۱۴ عبور داده شد

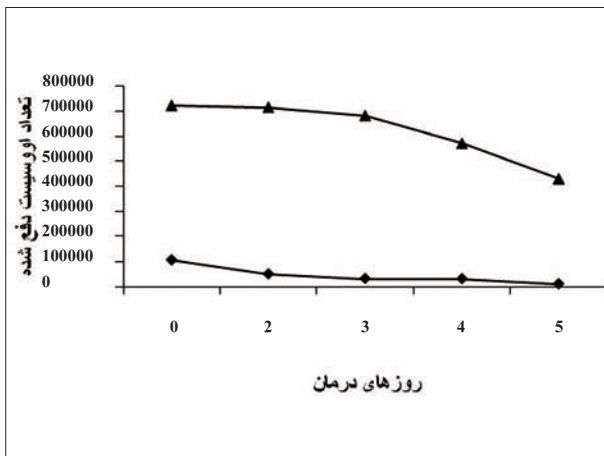




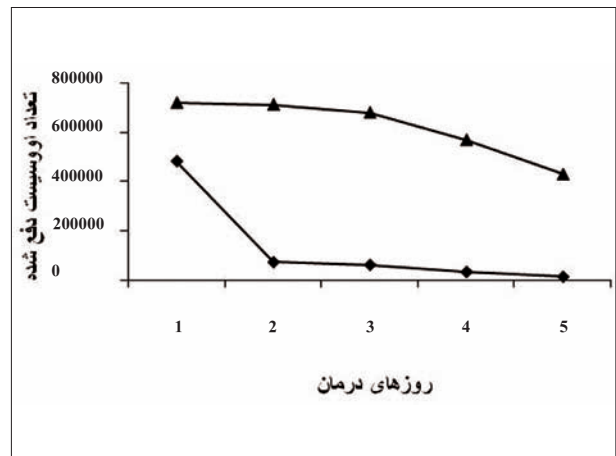
نمودار ۲- اثر عصاره گرانوله شده درمنه ۱ mg/kg بر تعداد دفع اوسپست آیمیریا تنلا در طی دوره درمانی ۵ روزه. ● کنترل مثبت -▲ عصاره گرانوله درمنه ۱ mg/kg.



نمودار ۱- اثر آرتیمیزینین خالص با دوز ۱ mg/kg بر تعداد دفع اوسپست آیمیریا تنلا در طی دوره درمانی ۵ روزه. ● کنترل مثبت -▲ آرتیمیزینین خالص ۱ mg/kg.



نمودار ۴- اثر عصاره گرانوله شده درمنه با دوز ۵ mg/kg بر تعداد دفع اوسپست آیمیریا تنلا در طی دوره درمانی ۵ روزه. ● کنترل مثبت -▲ عصاره گرانوله درمنه ۵ mg/kg.



نمودار ۳- اثر عصاره گرانوله شده درمنه با دوز ۲/۵ mg/kg بر تعداد دفع اوسپست آیمیریا تنلا در طی دوره درمانی ۵ روزه. ● کنترل مثبت -▲ عصاره گرانوله درمنه ۲/۵ mg/kg.

عصاره گرانوله شده درمنه سیبری با دوزهای ۱، ۲/۵ و ۵ mg/kg تفاوت معنی داری در میانگین میزان دفع اوسپست وجود ندارد ($p > 0.05$). از سوی دیگر عدم وجود تفاوت معنی دار ($p > 0.05$) در میانگین میزان دفع اوسپست در سه گروه درمان شده با عصاره گرانوله شده درمنه سیبری با دوزهای ۱، ۲/۵ و ۵ mg/kg بیانگر این است که به احتمال قوی میزان ماده موثره موجود در دوز ۱ mg/kg برای بروز اثر ضد کوکسیدیوزی کافی می باشد، لذا تجویز دوزهای بالاتر مزیت درمانی بهتری را ایجاد نمی کند (نمودار ۵).

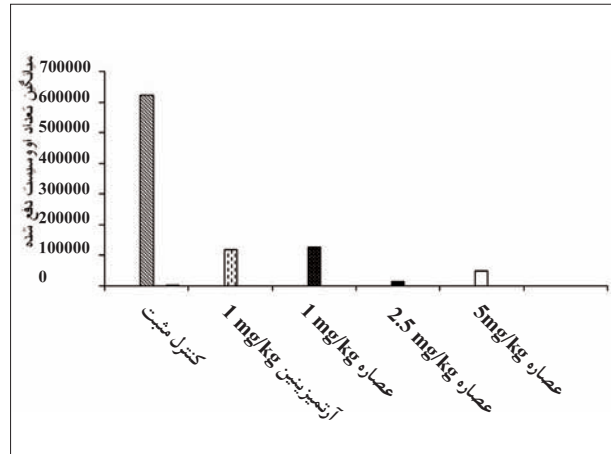
بحث

مطالعه حاضر نشان داد که گرانول تهیه شده از عصاره درمنه سیبری با دوزهای ۱، ۲/۵ و ۵ mg/kg و نیز آرتیمیزینین خالص، به خوبی باعث کاهش دفع اوسپست در طی دوره درمان می شوند که میزان این کاهش نسبت به

دفع اوسپست آیمیریا تنلا نشان می دهد که حاکی از کاهش شدید میزان دفع اوسپست طی ۵ روز دوره درمان، در مقایسه با گروه کنترل می باشد. اثرات عصاره گرانوله شده درمنه سیبری با دوز ۵ mg/kg بر میزان دفع اوسپست آیمیریا تنلا در جوجه های مبتلا به کوکسیدیوز تجربی در نمودار شماره ۴ نشان داده شده که در مقایسه با گروه کنترل میزان دفع اوسپست به شدت کاهش یافته است. در جدول ۱ اثر دوز ۱ mg/kg آرتیمیزینین خالص با اثرات عصاره گرانوله شده درمنه سیبری با دوزهای ۱، ۲/۵ و ۵ mg/kg بر میانگین میزان دفع اوسپست آیمیریا تنلا در طول دوره درمانی ۵ دوره مقایسه گردیده است. این نتایج نشان می دهد بین میانگین میزان دفع اوسپست در گروه کنترل با گروه درمان با آرتیمیزینین خالص با دوز ۱ mg/kg و سه گروه درمان شده با عصاره گرانوله شده درمنه سیبری با دوزهای ۱، ۲/۵ و ۵ mg/kg تفاوت معنی داری وجود دارد ($p < 0.001$). اما بین گروه تحت درمان با آرتیمیزینین خالص و گروه های درمان شده با



کوکسیدیدوزی گردید، در حالیکه این اثر تفاوت معنی داری با آرتیمیزینین خالص نشان نداد. در ضمن عصاره و مکمل آرتیمیزینین به صورت معنی داری باعث کاهش دفع اووسیست و ضایعات روده‌ای آیمریا تنلا شده‌اند، ولی بر سایر گونه‌های آیمریا به جز آیمریا آسروولینا موثر نبود. این امر می‌تواند به دلیل وجود سایر مواد شیمیایی در برگ‌های گیاه و تفاوت در میزان آرتیمیزینین به دلیل تفاوت در آب و هوا؛ خاک و سوبه گیاه باشد (۱۰). از سوی دیگر برای اثرگذاری آرتیمیزینین بر آیمریا آسروولینا شاید طول دوره درمان باید از طول دوره درمان آیمریا تنلا بیشتر باشد (۱۰). با استفاده از عصاره گرانوله شده درمنه و استاندارد کردن میزان آرتیمیزینین موجود در آن می‌توان بر معایب استفاده از پودر تهیه شده از برگ‌های گیاه فائق آمد و با سهولت و اطمینان بیشتری از این ماده در سطح وسیع استفاده کرد. گرانولاسیون مرطوب یکی از روش‌های رایج برای پخش و رقیق کردن مقادیر کم ماده موثر در یک پایه خشک می‌باشد. استفاده از این روش دارای مزایای متعددی است. از جمله این مزایا می‌توان به تولید ذراتی با اندازه یکسان که به آسانی پخش شده و توسط شبکه تغذیه تقسیم می‌گردند، توزیع خوب و یکنواخت مواد موثره، افزایش سرعت انحلال داروهای آب‌گریز، عدم احتمال جدا شدن مواد متشکله فرمولاسیون و نیز خشک شدن آسانتر گرانول‌ها که عمر مفید آنها را افزایش می‌دهد، اشاره نمود (۱۶). لذا با توجه به مزایای گرانولاسیون مرطوب در مطالعه حاضر این روش برای فرمولاسیون آرتیمیزینین در نظر گرفته شد. مطالعات نشان داده است که منابع چربی غنی از اسیدهای چرب ۳-۵ وقتی از یک روزگی به جیره جوجه‌ها افزوده شوند می‌توانند به نحو موثری ضایعات ناشی از آیمریا تنلار کاهش دهند، لیکن بر آیمریا یا ماکسیمائرنارند (۲۳). بر این اساس رژیم‌های غذایی حاوی روغن ماهی و روغن دانه کتان به صورت معنی داری باعث کاهش درجه انگلی شدن و تکامل آیمریا تنلا می‌شوند (۲۰، ۲۱). این ترکیبات به دلیل غنی بودن از پیوندهای دوگانه‌ای که به آسانی اکسید می‌شوند، قادرند سبب القای استرس اکسیداتیو گردند که به ویژه برای تکامل انگل آیمریا تنلا که در محیط به نسبت بی‌هوای ناحیه سکوم تکامل می‌یابد زیان‌بار می‌باشد (۲۰، ۲۱). آرتیمیزینین در ساختمان شیمیایی خود دارای یک گروه اندوپراکسید تری اکسان است که وجود آن برای فعالیت بیولوژیک از جمله فعالیت ضد مالاریایی آن ضروری می‌باشد (۸، ۹). ترکیباتی از قبیل اسیدهای چرب ۳-۵ و آرتیمیزینین که قادر به القای استرس اکسیداتیو هستند بویژه برای تکامل انگل آیمریا تنلا که در محیط به نسبت بی‌هوای ناحیه سکوم تکامل می‌یابد موثر هستند و می‌توانند سبب کاهش درجه انگلی شدن، به تاخیر انداختن روند تکاملی آیمریا تنلا، تغییرات فراساختاری مراحل جنسی و غیر جنسی انگل شوند که با واکنش شدن سیتوپلاسم، تراکم کروماتین در هسته و کاهش فعالیت واکونل‌های غذایی انگل، مشخص می‌گردد (۲۰، ۲۱). بر این اساس به نظر می‌رسد اثر عصاره گرانوله شده درمنه سبب کاهش معنی دار دفع اووسیست آیمریا تنلا در این مطالعه به دلیل وجود



نمودار ۵- مقایسه اثر آرتیمیزینین خالص با اثرات دوزهای مختلف عصاره گرانوله شده درمنه سبیری بر میانگین دفع اووسیست آیمریا تنلا در پایان دوره درمانی ۵ روزه.

گروه کنترل کاملاً معنی دار بود.

آرتیمیزینین ماده موثره موجود در عصاره درمنه، یک سس‌کویی‌ترین لاکتون تری اکسان می‌باشد که بسیاری از اثرات فارماکولوژیک و درمانی گیاه را به آن نسبت می‌دهند. از آن جمله می‌توان به اثر بسیار قوی و سریع بر انواع سوبه‌های مالاریا اشاره کرد (۶، ۷، ۸، ۹). Arab و همکاران در سال ۲۰۰۶ میزان آرتیمیزینین موجود در درمنه سبیری را در تابستان ۲۰/۲٪ و در پاییز ۱۴/۰٪ گزارش کردند که قابل مقایسه با مقدار آرتیمیزینین موجود در درمنه آتوبه میزان ۲۱/۰٪ تا ۰۳/۰۳٪ می‌باشد (۱۵، ۱۸، ۱۹). در مطالعه حاضر برای تهیه گرانول از برگ‌های گیاه درمنه در فصل تابستان استفاده گردید. چرا که در این فصل در منطقه‌ای که گیاهان از آنجا جمع‌آوری شده، در حال گل‌دهی بوده و دارای بالاترین مقدار ماده موثر بودند. در مطالعه Allen و همکاران در سال ۲۰۰۲ تجویز مکمل خوراکی ۵٪ برگ‌های خشک شده درمنه که دارای ۱۷ ppm آرتیمیزینین بود باعث کاهش معنی دار دفع اووسیست‌های آیمریا تنلا شد (۱۰). Kiayi و همکاران در سال ۱۳۸۰ با استفاده از جیره‌های غذایی دارای ۲٪ پودر گیاه درمنه سبیری، اثر ضد کوکسیدیدوزی آنرا بر علیه عفونت تجربی مخلوطی از آیمریاهای رایج در ایران نشان دادند (۱۲). Goudarzi و همکاران در سال‌های ۱۳۸۲ و ۱۳۸۴ نیز با استفاده از عصاره پترولیوم اتری و مقادیر ۸۰ و ۴۰ و پودر ۲/۵٪ برگ درمنه سبیری، کاهش معنی دار دفع اووسیست آیمریا تنلا، کاهش زخم‌های روده‌ای و بهبود روند وزن‌گیری را گزارش کردند (۱۳، ۱۴). در مطالعه Arab و همکاران در سال ۲۰۰۶ که با استفاده از عصاره درمنه سبیری انجام گردید نشان داده شد که دوزهای ۲/۵ mg/kg و ۱ mg/kg آرتیمیزینین موجود در عصاره باعث کاهش معنی دار دفع اووسیست‌های آیمریا تنلا و آیمریا آسروولینا گردید (۱۵). در مطالعه حاضر نیز برای اولین بار اقدام به گرانوله کردن عصاره درمنه سبیری و مقایسه اثر آن بر میزان دفع اووسیست آیمریا تنلا گردید و نشان داده شد که گرانول تولیدی به طور معنی داری سبب کاهش دفع اووسیست آیمریا تنلا به عنوان شاخصی برای فعالیت ضد



References

- Allen, P.C., Lyndon, J., Danforth, H.D., Lavender, J.E. (1996) Diets high in n-3 fatty acids reduce cecal lesions scores in chickens infected with *E.tenella*. *Poult. Sci.* 75:179-185.
- Allen, P.C., Lyndon, J., Danforth, H.D. (1997) Effect of component of *Artemisia annua* on coccidian infection in chickens. *Poult. Sci.* 76: 1156-1163.
- Allen, P.C., Danforth, H.D., Augustine, P.C. (1998) Dietary modulation of avian coccidiosis. *Int. J. Parasitol.* 28: 1131-1140.
- Allen, P.C., Fetter, R.H. (2002) Recent advances in biology and immunology of *Eimeria species* and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. *Clin. Microbiol. Rev.* 15:58-62.
- Arab, H.A., Rahbari, S., Rassouli, A., Moslemi, M.H. Khosravirad, F. (2006) Determination of Artemisinin in *Artemisia sieberi* and anticoccidial effects of the plant extract in broiler chickens. *Trop. Anim. Health. Prod.* 38:497-503.
- Charles, D.J., Cebert, E., Simon, J.E. (1991) Characterization of the essential oil of the *Artemisia annua*. *L. J. Ess. Oil Res.* 3:33-39.
- Esalmi, A. (2006) *Veterinary Helminthology*. (2nd ed.) Tehran University Publication. Tehran, Iran.
- Goudarzi, M., Yeganeh parast, M. (2003) Study the anticoccidian effect of *Artemisia annua* on *Eimeria tenella* in broiler chickens and comparison with Salinomycin and Amprolium. *Paojuhesh and Sazandegi. (In Persian).* 61:70-75.
- Goudarzi, M., Rahbari, S., Hadadzadeh, H., Yeganeh Parsat, M., Shafiyi, A., Pourmaydani, A. (2005) Study the effect of leaf and extract of *Artemisia annua* on coccidiosis in broiler chickens. *J. Vet. Res.* 61: 339-344.
- Golenser, J., Waknine, J.H., Krugliak, M., Hunt, N.H., Grau, G.E. (2006) Current perspective on the mechanisms of action of artemisinins. *Int. J. Parasitol.* 36:1427-1441.
- Kiayi, M., Rahbari, S., Modirsaneyi, M., Rahimi, A., Aref pajouhi, R. (2001) Comparison the effect of different levels of Artemisia plant and a chemical anticoccidian drug in the control of coccidiosis and production output in broiler chickens. *J. Vet.Res.* 56:53-57.
- Kitandu, R., Juranova, R. (2006) Progress control measures for chicken coccidiosis. *Acta Vet. Brno.* 75:565-276.
- Klayman, D.L. (1985) Qinghaosu (Artemisinin): an antimalarial form china. *Science.* 228:1049-1055.
- Liersch, R., Soicke, H., Stehr, C., Tullner, H.V. (1986) Formulation of artemisinin in *Artemisia annua* during one vegetation period. *Planta Medica.* 52: 387-390.
- Mc Dougald, L.R. (2003) Coccidiosis. In: *Diseases of Poultry.* Saif, Y.M. (ed.). (11th ed.) Iowa State University Press. Iowa, USA. p. 974-985.
- Meshnick, S.R. (2002) Artemisinin mechanism of activity, resistance and toxicity. *Int. J. parasitol.* 23: 1655-1660.

آرتمیزینین و توانایی آن در القای استرس اکسیداتیو از طریق گروه اندوپراکسید تری اکسان در محیط نسبتاً بی هوازی سکوم باشد، در حالی که سایر گونه‌های آیمریا که در قسمت‌های بالاتر روده تکامل می‌یابند که در آنجا شرایط بی‌هوازی کمتر می‌باشد، قادر هستند که محصولات اکسیداتیو را خنثی کرده و کمتر تحت تاثیر استرس اکسیداتیو قرار می‌گیرند (۲۰،۲۱).

به طور خلاصه، مطالعه حاضر تاییدی بر یافته‌های اولیه مبنی بر اثرات ضد کوکسیدیوزی آرتمیزینین می‌باشد و نشان می‌دهد که عصاره گرانوله شده درمنه سیبری می‌تواند همانند آرتمیزینین خالص سبب کاهش دفع اووسیست ایمیری یا شود. این مطالعه می‌تواند مقدمه‌ای برای تولید یک داروی ضد کوکسیدیوز با منشاء گیاهی باشد که با توجه به توسعه مقاومت دارویی و موضوع ماندگاری ترکیبات شیمیایی می‌تواند یک راهکار جدیدی را پیش روی صنعت دارویی و پرورش طیور قرار دهد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به سبب تأمین اعتبار انجام این پروژه و از آقای گرامی کارشناس محترم آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی و خانم بهار لوبه خاطر همکاری هایشان در اجرای طرح تقدیر و تشکر نمایند.



17. Rahbari, S., Mehrbani, H., Hesami, A. (1995) Outbreak of resistance against some of the anticoccidial agents in Eimeria species isolated from pullet farms. J. Vet. Res. 50:45-50.
18. Rafiyi, A. (1998) Tablet Production. (1st ed.) Tehran University Publication. Tehran. Iran.
19. Woodrow, J.C., Haynes, R.K., Krishna. S. (2005) Artemisinin. Postgard. Med. J. 81:71-78.
20. Zargari, A. (1966) Medicinal Plants. Amir Kabir Publication. Tehran. Iran.
21. Zhang, Z., Zeng, M. (2005) Research advances of drug resistance in chickens' coccidiosis. Chinese. J. Vet. Parasitol. 13:29-36.



Comparison between anticoccidial effect of granulated *Artemisia siberi* extract and pure Artemisinin in affected broilers

Arab, H.A. ^{*1}, Kaboutari katadj, J. ², Rahbari, S. ³, Nabian, S. ³, Soltan Mohammadi, A.R. ⁴, Pirali -Kheirabadi, Kh. ⁵

¹Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

²Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord- Iran.

³Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran

⁴Shimi Gostar Andisheh Pharmaceutical Co, Tehran- Iran.

⁵Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord- Iran.

(Received 17 September 2011 , Accepted 30 November 2011)

Abstract:

BACKGROUND: Increasing resistance against conventional anticoccidial drugs and the consequence of their residues has paid the attention toward more effective and safe compounds. Artemisia plant is a potential candidate that its anticoccidial effect has been previously discussed. **OBJECTIVES:** This study aimed to produce a granule from the extract of *Artemisia siberi* and evaluate its anticoccidial effects compared to pure Artemisinin. **METHODS:** Artemisinin was extracted from Artemisia by petroleum ether and then formulated into a wet granule. Experimental coccidiosis was induced in chicks (n=75) by oral administration of 250000 oocysts/chick. chicks were divided into 5 groups of three replicates each (n=15) and one uninfected group (n=15). The infected chicks were treated by oral administration (1mg/kg) of pure artemisinin and granule formulation with three different doses (1, 2.5 and 5mg/kg artemisinin) as feed additive. The treatment was conducted for 5 successive days towever. The fifth infected group and uninfected group did not receive any medication. At the end of treatment, fecal samples of each group were collected for 5 days and the OPG (oocyst per gram) was determined as anticoccidial index. **RESULTS:** The granule formulation of Artemisia and pure artemisinin significantly (p<0.001) decreased the OPG values in treated groups (30% in treated groups Vs 8% in control). However, there wasn't significant difference between granule formulation and pure artemisinin on OPG reduction (30.39% and 30.35%, respectively). **CONCLUSIONS:** This study showed that the *Artemisia siberi* granulated extract can be considered as a new effective and safe anticoccidial drug.

Key words: coccidiosis, *Artemisia sieberi*, granulated extract.

Figure Legends and Tabel Captions

Graph 1. The effect of pure artemisinin 1 mg/kg on the output of *Eimeria tenella* oocysts over 5 successive days of treatment.

→ Positive control ← Pure artemisinin (1mg/kg)

Graph 2. The effect of granulated Artemisia extract (1mg/kg artemisinin) on the output of *Eimeria tenella* oocysts over 5 successive days of treatment. → Positive control ← Granulated Artemisia extract (1mg/kg)

Graph 3. The effect of granulated Artemisia extract (2.5 mg/kg artemisinin) on the output of *Eimeria tenella* oocysts over 5 successive days of treatment. → Positive control ← Granulated Artemisia extract (2.5 mg/kg)

Graph 4. The effect of granulated Artemisia extract (5 mg/kg artemisinin) on the output of *Eimeria tenella* oocysts over 5 successive days of treatment. → Positive control ← Granulated Artemisia extract (5 mg/kg)

Graph 5. Comparison between the effects of pure artemisinin and granulated Artemisia extract on the mean output of *Eimeria tenella* oocysts at the end of 5 successive days of treatment.

