

بررسی اثر سینامالدهید بر تک یاخته تریکوموناس گالینه (*Trichomonas gallinae*) در شرایط آزمایشگاه

کمیل رضانی^۱، محمدرضا یوسفی^{۲*} و محدثه ابو حسینی طبری^۳

^۱ مربی باشگاه پژوهشگران و نخبگان، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

^۲ دانشیار گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

^۳ دانشیار گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری نوین آمل، ایران

پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۲۲

دریافت: ۱۳۹۸/۹/۲۳

چکیده

تریکومونیازیس از بیماری‌های شایع در کیوتران بوده که عامل آن تک‌یاخته تریکوموناس گالینه می‌باشد. مترونیدازول داروی انتخابی در درمان تریکومونیازیس است، ولی موارد متعدد از بروز مقاومت نسبت به این دارو گزارش شده است. با در نظر گرفتن اثرات ضدباکتری و ضد قارچی سینامالدهید به عنوان ماده مؤثره گیاه دارچین، مطالعه‌ی حاضر به بررسی اثر آن بر تک‌یاخته تریکوموناس گالینه در شرایط آزمایشگاه پرداخته است. پس از جداسازی انگل از محوطه‌ی دهانی پرندگان آلوده و کشت آن، نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند تا در فاز لگاریتمی رشد قرار بگیرند. برای بررسی اثر سینامالدهید بر این تک‌یاخته از میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی استفاده شد. به هر کدام از چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی 1×10^4 انگل اضافه شد. سپس مقادیر سینامالدهید و مترونیدازول تا رسیدن به غلظت‌های نهایی ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اضافه شدند. تیمارها با ده تکرار انجام شده و پس از ۲۴ ساعت میزان مرگ و میر انگل‌ها از طریق مشاهده مستقیم زیر میکروسکوپ نوری و شمارش توسط لام هموسیتمتر ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که میزان کشندگی سینامالدهید با غلظت $100 \mu\text{g/mL}$ ، ۱۰۰ درصد بوده که در مقایسه با داروی مترونیدازول تفاوت معنی‌دار نداشت. همچنین میان درصد مهار رشد در تیمار با غلظت‌های ۱۰۰ و $50 \mu\text{g/mL}$ از سینامالدهید و مترونیدازول اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. این تحقیق نشان‌دهنده اثرات قابل قبول سینامالدهید بر تک‌یاخته تریکوموناس گالینه است. می‌توان با بررسی بیشتر و مطالعه‌ی اجزای مؤثر گیاه دارچین از ترکیبات آن برای ساخت داروهای جدید آنتی‌تریکومونیایی استفاده کرد.

کلمات کلیدی: سینامالدهید، تریکوموناس گالینه، دارچین، کیوتران، داروهای سبز

مقدمه

تریکوموناس گالینه در ماکیان و کیوتران یافت می‌شود، ولی آلودگی در کیوتران فراوان‌تر است، به طوری که در ۹۰ درصد کیوتران بالغ، چینه‌دان به این انگل آلوده است. راه آلودگی کیوتران، عمدتاً از طریق دهان به دهان است و جوجه‌های کیوتران نسبت به کیوتران مسن، حساس‌ترند. جوجه‌های کیوتران از طریق تغذیه از شیرهای چینه‌دان

*نویسنده مسئول: محمدرضا یوسفی، دانشیار گروه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

E-mail: Youssefi@baboliau.ac.ir



و موسیلاژی متفاوت و مقدار کمی کومارین نیز اشاره نمود (Modaresi et al, 2010). مطالعات متعدد اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد موتاژنی جزء سینامالدهید دارچین را نشان داده‌اند (Britain and Pattison, 2002; Didry and Dubreuil, 1994; Domadia et al, 2007).

امروزه مترونیدازول به عنوان داروی انتخابی در درمان تریکومونیاژیس به کار می‌رود. مقاومت روزافزون تریکوموناس گالینه به این دارو و همچنین عوارض جانبی داروی مترونیدازول که شامل سردرد، التهاب زبان، خارش، سوزش، سرگیجه، تهوع و استفراغ، دهان خشک، کاهش ائوزینوفیل و لکوسیت‌ها، گیجی و اثرات سوء بر دستگاه عصبی مرکزی می‌باشد (Seddiek et al, 2014) باعث شده است که به منظور کاهش عوارض جانبی، گیاهان دارویی به عنوان یک منبع جدید ضد تک‌یاخته‌ای با کارایی بالا و سمیت و هزینه کم مورد توجه قرار گیرند. به همین منظور مطالعه‌ی حاضر با توجه به اثرات مثبت درمانی و همچنین اثرات ضد میکروبی سینامالدهید، به بررسی اثرات ضد تریکوموناسی آن در محیط آزمایشگاه پرداخته‌است.

مواد و روش کار

سینامالدهید که ماده اصلی تشکیل دهنده دارچین است به صورت پودر (۹۸ درصد) از شرکت Sigma-Aldrich تهیه گردید. مترونیدازول (۹۸ درصد، Sigma-Aldrich) به عنوان تیمار کنترل مثبت در این تحقیق استفاده شد. محیط کشت دیاموند اصلاح شده (QUELAB, Canada) به عنوان محیط کشت برای تک یاخته تریکومونای گالینه استفاده شد. سایر مواد مورد استفاده در این تحقیق با درجه آنالیتیکال بوده و به صورت تجاری در دسترس می‌باشند.

از ۲۰ کیبوتر مشکوک به تریکومونیاژیس پرورش یافته توسط پرورش دهندگان محلی در سطح شهرستان بابل که ضایعات دهانی را نشان می‌دادند، با استفاده از سوپ میکروبیولوژی استریل نمونه‌برداری گردید. در بررسی میکروسکوپی نمونه‌ها حضور تریکوموناس گالینه در ۱۲ نمونه تأیید شد. سپس از نواحی دهانی-حلقی پرندگان

مادران آلوده می‌شوند (Britain and Pattison, 2002). پرندگان شکاری و گوشتخوار با مصرف پرندگان آلوده به این بیماری مبتلا می‌شوند. آلودگی به تریکومونیاژیس علاوه بر کیبوتران اهلی و وحشی، در قمری، جغد، بوقلمون، قرقاول، قناری، اردک، شتر مرغ، مرغ عشق و بلدرچین وجود دارد و به ندرت در پرندگان آبی و پرندگان شکاری (باز، عقاب) هم گزارش شده است (Cover and Harmon, 1994). زخم‌های ناشی از آلودگی با این تک‌یاخته از دهان و مری آغاز می‌گردد و مانع تغذیه کافی پرنده آلوده می‌شود. در نتیجه سبب کاهش وزن، ضعف و بی‌حالی می‌گردد. جوجه کیبوترها افسرده بوده و با بال‌های افتاده و بی‌اعتنا به غذا در یک گوشه سالن تجمع می‌یابند. یکی از مشکلات بالینی که در کیبوتران مبتلا مشاهده می‌شود، حالت چینه‌دان پاندولی است که به علت کاهش تونوسیت‌های عضلات چینه‌دان، این ناحیه به صورت آویزان، جلب نظر می‌کند. اشکال بالینی بیماری اگر درمان نشود، معمولاً به مرگ کیبوتر منجر می‌شود. تشخیص این بیماری، معمولاً از طریق برداشت از جراحات دهان و چینه‌دان و مشاهده‌ی حرکت انگل در زیر میکروسکوپ انجام‌پذیر است. برای این منظور، نمونه‌ی مورد آزمایش باید تازه باشد، تا بتوان حرکت انگل را مشاهده کرد (Britain and Pattison, 2002).

داروی مترونیدازول ترکیبی است که به عنوان سردسته نیتروایمیدازول‌ها در مورد آن بحث می‌شود. این دارو سال‌هاست که در درمان تریکومونازیس، ژیاودیوزیس و آمیبیازیس استفاده شده است. مترونیدازول مؤثرترین دارو در درمان عفونت تریکومونیاژی می‌باشد ولی به دلیل گزارشات متعدد از بروز مقاومت دارویی این انگل تحقیق در مورد یافتن داروی جایگزین اهمیت دارد (Galask, 1990). دارچین گیاهی با نام علمی *Cinnamomum zeylanicum* یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی است که در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده پوست دارچین می‌توان به سینامون آلدهید (سینمالدهید)، سافرول، سینامیک اسید، کادینن، کاریوفیلن، تانن‌ها، فنل‌ها، دیترپن‌ها، ترکیبات کربوهیدراتی

قرار گرفت (نرم افزار SPSS نسخه ۱۸). تمام مقادیر به صورت میانگین \pm خطای استاندارد نشان داده شده اند (د تکرار برای هر تیمار). مقادیر $P \leq 0.05$ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

تعداد انگل‌های شمارش شده در گروه‌های تیمار با غلظت‌های مختلف مترونیدازول و سینامالدهید پس از ۲۴ ساعت در Figure 1 نشان داده شده است. تعداد انگل‌ها در تمام گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی دار را نشان می‌دهند ($P < 0.05$). تعداد انگل در گروه‌های تیمار مترونیدازول با غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر پس از ۲۴ ساعت به صفر رسید که در مقایسه با گروه کنترل ($2/23 \times 10^4$) معنی دار می‌باشند ($P < 0.01$). تعداد انگل در غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از سینامالدهید پس از ۲۴ ساعت به $0/74 \times 10^4$ رسید که در مقایسه با غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ($0/228 \times 10^4$) معنی دار نیست ($P > 0.05$) ولی در مقایسه با غلظت ۱۰۰ معنی دار است ($P < 0.05$). اختلاف میان غلظت ۵۰ سینامالدهید با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیز معنی دار نمی‌باشد ($P > 0.05$). درصد مهار رشد در تیمارهای مختلف در Figure 2 نشان داده شده است. درصد مهار رشد با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید: (میانگین تعداد تروفوزوایت‌ها در گروه کنترل - میانگین تعداد تروفوزوایت‌ها در گروه تیمار) / میانگین تعداد تروفوزوایت‌ها در گروه کنترل میان درصد مهار رشد در غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر از مترونیدازول در بازه‌ی زمانی ۲۴ ساعت اختلاف معنی دار مشاهده نشد ($P > 0.05$). اختلاف میان غلظت ۲۵ و ۵۰ و همچنین ۵۰ و ۱۰۰ سینامالدهید معنی دار نبود ($P > 0.05$).

آلوده با استفاده از نیدل گاوآژ نمونه‌گیری شد، و انگل‌ها به محیط کشت دیاموند منتقل شدند تا در فاز لگاریتمی رشد قرار گیرند. به محیط کشت دیاموند ۱۰ درصد سرم جنین گاو، ۱ درصد پنی‌سیلین / استرپتومایسین به منظور جلوگیری از رشد باکتریایی اضافه شد. قبل از انتقال، محیط کشت و کلیه وسایل اتوکلاو و استریل شدند و انتقال در مجاورت شعله صورت گرفت. انگل‌ها داخل انکوباتور در دمای $37 \pm 0/5$ درجه‌ی سانتی‌گراد تکثیر داده شدند. مدت زمان کشت در این محیط ۴۸ ساعت بوده و جهت داشتن نمونه انگلی جوان هر بار در محیط کشت جدید عملیات کشت مجدد انگل‌ها صورت گرفت.

در این آزمایش از میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی استفاده شد که ظرفیت هر یک از چاهک‌ها ۳۰۰ میکرولیتر بوده است. به هر کدام از چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت حاوی حداقل 1×10^4 انگل اضافه شد. سپس سینامالدهید و مترونیدازول از غلظت‌های استوک از پیش تهیه شده در ۱۰۰ میکرولیتر محیط دیاموند حل شدند تا غلظت‌های نهایی در چاهک‌ها به ۲۵، ۵۰، و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برسند. در چاهک کنترل منفی ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت بدون افزودن هیچ ماده‌ای ریخته شد. حجم نهایی در تمام چاهک‌ها به ۲۰۰ میکرولیتر رسید. هر کدام از تیمارها با ده تکرار انجام شد. سپس میکروپلیت‌ها به انکوباتور ۳۷-۳۹ درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل شد و در بازه‌ی زمانی ۲۴ ساعت تراکم و میزان مرگ و میر انگل‌ها از طریق مشاهده مستقیم زیر میکروسکوپ نوری و شمارش توسط لام هموسیتومتر ارزیابی گردید.

به منظور تفکیک انگل‌های زنده و مرده از یکدیگر، از رنگ تریپان‌بلو استفاده شد. در صورت مرده بودن انگل، تریپان‌بلو وارد آن شده و رنگ انگل را آبی می‌نماید. در صورت زنده بودن انگل رنگ توان ورود به داخل انگل را نداشته، پس انگل به شکل طبیعی دیده می‌شود.

در این مطالعه اختلاف میان تیمارها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی Tukey مورد بررسی

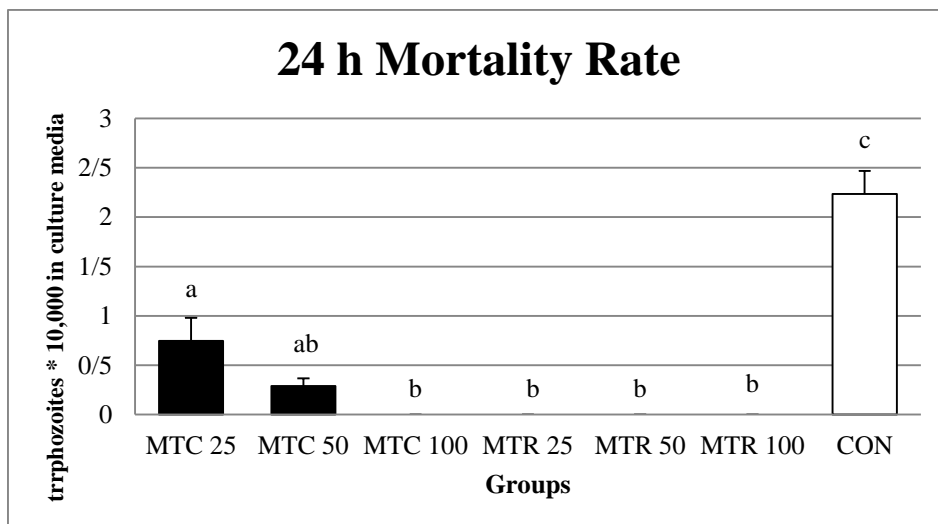


Figure 1. Specifications of trophozoites in subsequent treatments after 24 h
MTC: Cinnamaldehyde MTR: Metronidazole CON: Control

Data are shown as average \pm standard error. Averages have significant differences with non-identical letters.

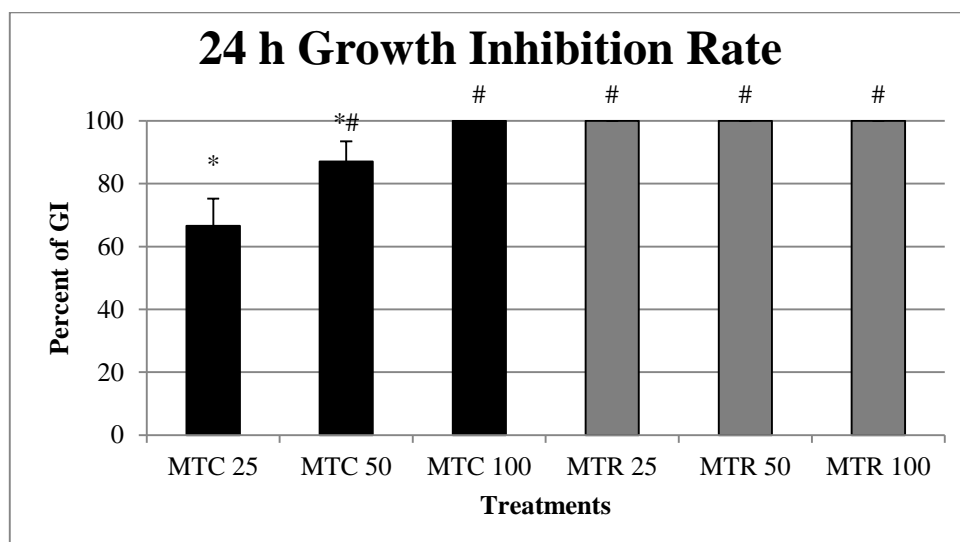


Figure 2. Comparison of growth inhibition percentage in different treatments after 24 h
MTC: Cinnamaldehyde MTR: Metronidazole CON: Control

Data are shown as average \pm standard error. Averages have significant differences with non-identical letters.

بحث

نمودند. آنالیز عصاره نشان داد که سینامالدهید از اجزای اصلی عصاره دارچین می‌باشد و بخش عمده از قدرت ضدکرمی عصاره به علت جزئی سینامالدهید آن است. Mahmoud و همکاران ۲۰۱۴، اثرات درمانی عصاره دارچین را در موش‌های مبتلا به ژیاودیوز گزارش کرده‌اند. آن‌ها نشان دادند که تجویز عصاره دارچین به مدت ۷ روز

گیاهان و ترکیبات مشتق شده از آن‌ها برای قرن‌ها به عنوان منبعی مهم تأمین کننده ترکیبات جدید درمانی هستند. مطالعات متعدد بر روی گیاه دارچین و اجزای تشکیل دهنده‌ی آن برای یافتن ترکیبات درمانی بالقوه انجام شده است. Williams و همکاران در سال ۲۰۱۵ اثرات ضد کرمی عصاره دارچین را علیه *Ascaris suum* گزارش

۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از سینامالدهید و غلظت- های مشابه از مترونیدازول مشاهده شده است که بیانگر سمیت قابل قبول سینامالدهید علیه انگل تریکوموناس گالینه است. در مطالعه‌ی Zenner و همکاران در سال ۲۰۰۳ تأثیر اسانس لیمو، سیر و دارچین روی دو انگل تریکوموناس گالینه و هیستوموناس مله آگریدیس در طیور در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه ایشان، حداقل غلظت کشندگی (MLC) اسانس دارچین طی ۲۴ ساعت در تریکوموناس گالینه ۰/۲۵ میکرولیتر بر میلی لیتر و اسانس سیر و لیمو ۰/۱۲۵ میکرولیتر بر میلی لیتر بوده است. ترکیبات اصلی اسانس‌ها بر اساس کروماتوگرافی ستونی مشخص شدند که در دارچین سینامالدهید ۷۹ درصد، در لیمو لیمونن ۷۱ درصد و در سیر دیلیل تری و دی سولفید ۷۹ درصد از کل ترکیب اسانس را شامل می‌شدند. در مقایسه با نتایج مطالعه‌ی حاضر، به نظر می‌رسد اسانس دارچین فعالیت ضد تریکومونیایی بالاتری نسبت به سینامالدهید دارد. با توجه به این که بخش عمده اسانس دارچین را ترکیب سینامالدهید تشکیل می‌دهد، احتمالاً سایر اجزای موجود در اسانس دارچین موجب افزایش اثربخشی این اسانس می‌شوند. این مورد اهمیت وجود اثرات هم افزایی را میان اجزای تشکیل دهنده اسانس‌ها روشن می‌سازد. وجود اثرات هم افزایی میان اجزای تشکیل دهنده اسانس‌های گیاهان در مطالعات پیشین نیز نشان داده شده است (Tabari et al, 2019). نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان‌دهنده‌ی اثرات قابل قبول سینامالدهید بر تک یاخته تریکوموناس گالینه است که می‌توان با بررسی بیشتر و مطالعه سایر اجزای مؤثر گیاه دارچین از ترکیبات آن در تحقیق و توسعه برای ساخت داروهای جدید آنتی- تریکومونیایی استفاده کرد. با توجه به این که ترکیبات گیاهی از جمله گیاه دارچین منابعی ارزان، در دسترس و جایگزین شونده می‌باشند تحقیق برای یافتن اثرات این گیاه و اجزای آن بر سایر انگل‌ها و تکیاخته‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

منجر به کاهش تعداد تروفوزوایت‌ها و کیست‌های مدفوع گردید. همچنین اثرات مخرب انگل بر موکوس روده‌ای را کاهش داده بود. Sharma و همکاران ۲۰۱۷ نشان دادند که سینامالدهید دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد لیشمانیایی است. مقدار غلظت مهار کننده ۵۰ برابر با ۱/۴۲g/ml برای اثر ضد لیشمانیایی این ماده گزارش شده است. Williams و همکاران در سال ۲۰۱۷ اثرات مثبت افزودن سینامالدهید را به خوراک دام برای بهبود سلامت دستگاه گوارش آن‌ها نشان دادند. همسو با مطالعات پیشین نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نیز اثرات مفید درمانی سینامالدهید را علیه تریکومونیاژیس نشان داد.

در مطالعه‌ی حاضر، مواجهه انگل با سینامالدهید در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر منجر به مرگ صد درصدی انگل‌ها پس از ۲۴ ساعت گردید. در حالی که مترونیدازول با دوز ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر منجر به صد درصد مرگ و میر شد. در مطالعه‌ی Tabari و همکاران در سال ۲۰۱۷، حداقل غلظت مهارکنندگی برای مترونیدازول ۵۰ µg/ml گزارش شده است که تفاوت آن با مطالعه‌ی حاضر احتمالاً به علت تفاوت در حساسیت سویه انگل‌های جدا شده می‌باشد. Youssefi و همکاران در سال ۲۰۱۷ کارایی درمانی اسانس درمنه دشتی *Artemisia sieberi* را علیه انگل تریکوموناس گالینه در شرایط برون تنی و درون تنی نشان دادند. این محققین نشان دادند که درمان کبوتران آلوده با اسانس درمنه دشتی در مقایسه با مترونیدازول منجر به بهبود سریعتر کبوتران مبتلا گردید. Tabari و Youssefi در سال ۲۰۱۸، اثرات ضد تریکومونیایی اسانس شمعدانی عطری را علیه تریکوموناس گالینه گزارش نمودند هرچند مترونیدازول در مقایسه با این اسانس در درمان کبوتران مبتلا سریع‌تر عمل کرده بود.

در مطالعه‌ی حاضر به جز در غلظت ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر میان سایر غلظت‌های سینامالدهید و مترونیدازول به عنوان داروی استاندارد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میان درصد مهار رشد نیز اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مهندس نورالدین سلیمانی کارشناس آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی واحد بابل کمال تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

منابع مالی

این مقاله ماحصل پایان نامه دوره دکتری حرفه‌ای دامپزشکی در دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد واحد بابل می‌باشد.

منابع

- Bang, K. H., Lee, D. W., Park, H. M., & Rhee, Y. H. (2000). Inhibition of fungal cell wall synthesizing enzymes by trans-cinnamaldehyde. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64(5), 1061-1063.
- Britain, G.; Pattison, M. and Jordan, F. T. W. (2002). Poultry diseases. WB Saunders. 6th ed. Saunders, Ltd, pp: 563-568.
- Cover, A. J., Harmon, W. M., & Thomas, M. W. (1994). A new method for the diagnosis of Trichomonas gallinae infection by culture. *Journal of Wildlife Diseases*, 30(3), 457-459.
- Didry, N., Dubreuil, L., & Pinkas, M. (1994). Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. *Pharmaceutica Acta Helveticae*, 69(1), 25-28.
- Domadia, P., Swarup, S., Bhunia, A., Sivaraman, J., & Dasgupta, D. (2007). Inhibition of bacterial cell division protein FtsZ by cinnamaldehyde. *Biochemical Pharmacology*, 74(6), 831-840.
- Grossman 3rd, J. H., & Galask, R. P. (1990). Persistent vaginitis caused by metronidazole-resistant trichomonas. *Obstetrics and Gynecology*, 76(3 Pt 2), 521-522.
- Mahmoud, A., Attia, R., Safaa, S. A. I. D., & Ibraheim, Z. (2014). Ginger and cinnamon: can this household remedy treat giardiasis? Parasitological and histopathological studies. *Iranian Journal of Parasitology*, 9(4), 530.
- Modaresi, M. E. H. R. D. A. D., Messripour, M., Toghyani, M., & Rajaii, R. A. (2010). Effect of hydroalcoholic extract of Cinnamon zeylanicum (Bark) on mice pituitary-testis axis. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*, 12(1), 15-19.
- Seddiek, S. A., El-Shorbagy, M. M., Khater, H. F., & Ali, A. M. (2014). The antitrichomonal efficacy of garlic and metronidazole against Trichomonas gallinae infecting domestic pigeons. *Parasitology Research*, 113(4), 1319-1329.
- Sharma, U. K., Sharma, A. K., Gupta, A., Kumar, R., Pandey, A., & Pandey, A. K. (2017). Pharmacological activities of cinnamaldehyde and eugenol: antioxidant, cytotoxic and anti-leishmanial studies. *Cellular and Molecular Biology*, 63(6), 73-78.
- Tabari, M. A., & Youssefi, M. R. (2018). In vitro and in vivo evaluations of Pelargonium roseum essential oil activity against Trichomonas gallinae. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 8(2), 136.
- Tabari, M. A., Youssefi, M. R., & Moghadamnia, A. A. (2017). Antitrichomonal activity of Peganum harmala alkaloid extract against trichomoniasis in pigeon (Columba livia domestica). *British Poultry Science*, 58(3), 236-241.
- Tabari, M. A., Youssefi, M. R., Nasiri, M., Hamidi, M., Kiani, K., Samakkhah, S. A., & Maggi, F. (2019). Towards green drugs against cestodes: Effectiveness of Pelargonium roseum and Ferula gummosa essential oils and their main component on Echinococcus granulosus protoscoleces. *Veterinary Parasitology*, 266, 84-87.
- Williams, A. R., Hansen, T. V., Krych, L., Ahmad, H. F. B., Nielsen, D. S., Skovgaard, K., & Thamsborg, S. M. (2017). Dietary cinnamaldehyde enhances acquisition of specific antibodies following helminth infection in pigs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 189, 43-52.

Williams, A. R., Ramsay, A., Hansen, T. V., Ropiak, H. M., Mejer, H., Nejsun, P., & Thamsborg, S. M. (2015). Anthelmintic activity of trans-cinnamaldehyde and A-and B-type proanthocyanidins derived from cinnamon (*Cinnamomum verum*). *Scientific Reports*, 5(1), 1-12.

Youssefi, M. R., Tabari, M. A., & Moghadamnia, A. A. (2017). In vitro and in vivo activity of *Artemisia sieberi* against *Trichomonas gallinae*. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 18(1), 25.

Zenner, L., Callait, M. P., Granier, C., & Chauve, C. (2003). In vitro effect of essential oils from *Cinnamomum aromaticum*, *Citrus limon* and *Allium sativum* on two intestinal flagellates of poultry, *Tetratrichomonas gallinarum* and *Histomonas meleagridis*. *Parasite*, 10(2), 153-157.

Received:14.12.2019

Accepted:11.06.2020

Evaluation of Cinnamaldehyde Effect on *Trichomonas gallinae* under *In vitro* Conditions

Komeil Ramezani¹, Mohammad Reza Youssefi^{2*} and Mohaddeseh Abouhosseini Tabari³

¹ Tutor Young Researchers and Elite Club, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran

² Associate Professor, Department of Veterinary Parasitology, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran

³ Associate Professor, Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

Received: 14.12.2019

Accepted: 11.06.2020

Abstract

Trichomoniasis is a common disease in local chickens and pigeons whose causative agent is *Trichomonas gallinae* protozoan. Metronidazole is the drug of choice in trichomoniasis treatment, but several cases of resistance to this drug have been reported. Considering antibacterial and antifungal effects of cinnamaldehyde as the main component of cinnamon, the present study investigated its effect on *Trichomonas gallinae* protozoan *in vitro* conditions. After isolation of parasite from buccal cavity of infected pigeons and culturing in Diamond medium, samples were kept at 37°C to reach logarithmic growth phase. For evaluation of toxic effect of cinnamaldehyde on this protozoa, 96 well microplates were used. To each well 100 µL of culture medium containing at least 1×10^4 parasites was added. Then amounts of cinnamaldehyde and metronidazole to reach final concentrations of 25, 50, and 100 µg/mL were added. Treatments were done with 10 replicates, and after 24 h mortality rate of parasites were evaluated by direct observation under light microscope and counting by haemocytometer slide. Results showed that mortality rate of cinnamaldehyde at 100 µg/mL was 100% which did not differ significantly in comparison to metronidazole. In addition, in growth inhibition rate at 50 and 100 µg/mL of cinnamaldehyde and metronidazole, significant difference was not observed. This study demonstrated promising effects of cinnamaldehyde on *T. gallinae* protozoa. By further research and study on effective components of cinnamon, they can be used for making novel antitrichomonal drugs.

Key words: Cinnamaldehyde, *Trichomonas gallinae*, Cinnamon, Pigeon, Green drugs

* **Corresponding Author:** Mohammad Reza Youssefi, Associate Professor Department of Veterinary Parasitology, Babol-Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran
E-mail: Youssefi@baboliau.ac.ir



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).