تقييم فعالية المستخلصات الكحولية للشمرة والزنجبيل والرمان على الجيارديا اللمبلية *Giardia lamblia* ومقارنتها مع الميترونيدازول في الزجاج

محمد نور الكردي*، غسان العبد الرحمن، يحيى عساني*****

* طالب دراسات عليا (دكتوراه)، قسم علم الحياة الحيوانية، كلية العلوم، جامعة حلب

**أستاذ، قسم علم الحياة الحيوانية، كلية العلوم، جامعة حلب.

*** أستاذ مساعد، قسم علم الحياة الحيوانية، كلية العلوم، جامعة حلب.

الملخص

تعد الجيارديا اللمبلية *Giardia lamblia* من أكثر الطفيليات المعوية انتشاراً، حيث يقدر عدد المصابين بها نحو 200 مليون مصاب حول العالم.

تم في هذه الدراسة تقييم فعالية تراكيز متزايدة (2-5-10ملغ/مل) للمستخلصات الكحولية من ثلاث نباتات هي الرمان والشمرة والزنجبيل على حيوية كيسات الجيارديا اللمبلية في الزجاج، ومقارنتها مع مركب الميترونيدازول بتراكيز (10-25-50 ميكروغرام/مل).

أبدت المستخلصات الكحولية بتركيز 10ملغ/مل لكل من جذور الزنجبيل وبذور الشمرة وقشور الرمان فعالية عالية على كيسات الجيارديا اللمبلية، حيث بلغت نسبة موت الكيسات 92%، 90%،83% على التوالي مقارنة مع المترونيدازول بتركيز 50 ميكروغرام/ مل بنسبة فعالية بلغت 92.1%.

الكلمات المفتاحية: الجيارديا اللمبلية، الشمرة، الرمان، الزنجبيل، الميترونيدازول، سورية

ورد البحث للمجلة بتاريخ 2023/5/30

قبل للنشر بتاريخ 2023/8/8

1-المقدمة:

تعد الجيارديـة اللمبليـة أكثـر وحيـدات الخليـة الطفيليـة اللاهوائيـة انتشـاراً عنـد البشـر، وحسـب إحصـائيات منظمـة الصـحة العالميـة عـام 2003 فـإن عـدد المصـابين حـول العـالم يقـدر بحـوالي 200 مليـون شـخص، ويسـجل 500 آلـف إصـابة جديـدة سنوياً، [1].

يسـتعمل المترونيـدازول عالميـاً لعـلاج الأوالـي الطفيليـات المعويـة ولاسـيما الجيارديـة اللمبليـة، ولكـن قـد يسـبب بعـض التأثيرات الجانبيـة كالحساسـية الجلديـة وبعـض الآلام العصـبية [2]. كمـا أن الاسـتعمال لفتـرات طويلـة أدى لنقصـان الفاعليـة ضـد الأوالي إضـافة لحـدوث بعـض الطفرات فـي الجراثيم، ضـمن النبيت الجرثومي الطبيعي للأمعاء، كما اعتبر أنه عامل مسرطن عند الفئران البيض والجرذان [3].

ونتيجة الاستخدام العشوائي للميترونيدازول تطورت بعض السلالات المقاومة من الطفيليات، فقد أكدت الدراسات العلمية حول فعالية المترونيدازول وجود عزلات من الجيارديـة اللمبليـة وجـود عـزلات حساسـة للمترونيـدازول، وعـزلات أخـرى لـم ينجـح فيها العلاج، مما يؤكد أنها مقاومة لهذا الدواء[4،5]. ومن هنا كان التوجه نحو الطب البديل من مبدأ العودة للطبيعة

لطالما استعملت النباتات الطبية بشكلٍ شائع عند أغلب شعوب الأرض، وقد ورد ذكرهـا فـي الحضـارات القديمـة كالحضـارة الصـينية والفرعونيـة والإغريقيـة، فقـد اسـتخدمت أوراق وجـذور وثمـار النباتـات فـي عـلاج الكثيـر مـن الشـكايات المعويـة وأهمها الاسهال.

يحتوي الرمان نسبة عالية من مضادات الأكسدة كالعفصيات والحموض التي تدخل كأحد مركبات العفصيات، ومن هنا فقد أُستعمل الرمان منذ القدم في الطب البـديل لعـلاج العديـد مـن الامـراض، حيـث اسـتخدم كمضـاد التهـاب، ومضـاد أكسـدة إضافة لكونه طارد للديدان الشريطية بشكل خاص، وكضاد حيوي ضد بعض الجراثيم وكمضاد فطري [3، 6].

أما الزنجبيل فيعد من أكثر منكهات الطعام انتشاراً حول العالم ويتميز بكونه

يحتوي على نسب مرتفعة من مضادات الاكسدة مما يرفع مناعة الجسم ومقاومته للأمراض[7]. وقد استخدمت جذور الزنجبيل في علاج العديد من العوامل الممرضة مثل المقوسة القندية والجياردية اللمبلية [8،7].

تستخدم بذور الشمرة بكثرة في المطبخ العربي كإضافات منكهة للطعام، إضافة لاستخداماتها الطبية المنزلية كمضاد للغازات والتهاب الكولون ومضاد للتشنجات المعوية. وكذلك الأمر فقد بينت بعض الدراسات استعمال الشمرة في أمراض الكلية كمفتت لحصيات الكلية وضبط سكر الدم وعلاج السعال المزمن، كما استعملت كمضاد أوالي وخاصة الليشمانيا [9 ،10]

2 –أهمية وأهداف البحث:

نظراً للآثار الجانبية التي تسببها الأدوية الكيميائية، إضافة لظهور سلالات من الأوالي مقاومة لهذه الأدوية بسبب الاستعمال العشوائي، كان لا بد من البحث عن حلول بديلة، وكان الخيار بالعودة للطبيعة واستعمال النباتات الطبية المستعملة بكثرة سواء كنباتات دوائية أو كمحسنات غذائية وتوابل.

تم دراسة ثلاثة نباتات تستخدم بشكل واسع في المطبخ السوري كمحسنات غذائية وتوابل هي: الرمان والزنجبيل والشمرة. وقد هدف البحث الى:

1- تقييم فعالية الخلاصة الإيثانولية لكلٍ من قشور ثمار الرمان وبذور الشمرة وجذور الزنجبيل بتراكيز متزايدة على كيسات الجياردية اللمبلية ومقارنتها مع الميترونيدازول.

3 –مواد البحث وطرائقه

3 – 1 –مواد البحث

- **طفيلي الجياردية اللمبلية *Giardia lamblia***

جُمِعت عينات البراز من مرضى مراجعين لمشفى الجامعة، وتم التأكد من إيجابية الإصابة بالجياردية من خلال الكشف عن الكيسات بالفحص المباشر. ثم عُزلت ونُقيت الكيسات من البراز، وذلك بتمديد عينات البراز بالماء المقطر بنسبة 1:10، ثم رشحت عبر طبقة شاش للتخلص من البقايا البرازية، ثم أضيف للرشاحة

محلول Nacl 0.85%، ومن ثم تم التثفيل بسرعة 4000 د/د لمدة 5 دقائق. تم التخلص من السائل الطافي وتكرار العملية السابقة ثلاث مرات للحصول على الكيسات بشكل نقي وتم حفظها ب Nacl 0.85% لحين الاستخدام.

وللتأكد من حيوية كيسات الجياردية المُنقاة، تم تطبيق صبغة أزرق التريبان، وبعد ذلك ضُبِط عدد الكيسات في 1 مل، بحيث يكون العدد 9×10^3 كيسة /مل، لحين الاستخدام [11].

- **المادة النباتية**

تم استخدام قشور نبات الرمان *punica gratanum* الجافة، وبذور الشمرة *Foeniculum vulgare* و جذور الزنجبيل *Zingiber officinale* التي تم تجفيفها ثم طحنها للحصول على بودرة، تم الحصول على جميع النباتات من السوق المحلي.

- **مركب الميترونيدازول**

تم استخدام مادة الميترونيدازول على شكل مسحوق أبيض اللون، مصدر صيني وبنسبة نقاوة بلغت 99,8% حسب شهادة المنشأ المرفقة بالمركب الدوائي الخام وتم الحصول على المادة الدوائية الخام من شركة الرازي للصناعات الدوائية.

- **تحضير الخلاصات النباتية:**

تم تحضير الخلاصة الإيثانولية للنباتات الثلاث وفق الخطوات التالية [12]:

- تم وزن 50 غرام من المادة النباتية المطحونة باستخدام الميزان الدقيق.
- نقعت المادة النباتية ضمن وعاء زجاجي بـ 250 مل من الكحول الإيتيلي 70%، ثم أغلق الوعاء وترك لمدة 7 أيام ضمن درجة حرارة الغرفة مع التحريك بين الفينة والأخرى.
- بعد ذلك رشحت الخلاصة النباتية للتخلص من بقايا المادة النباتية باستخدام ورق ترشيح مخبري.
- نقلت الخلاصة النباتية للمبخر الدوار وذلك للتخلص من المُحل وتم العمل بسرعة 90 دورة / دقيقة عند درجة حرارة 45 مْ
- بعد التخلص من كامل المحل والماء، تم الحصول على مادة هلامية شديدة

الكثافة، حفظت في المجمدة (−12°م) لحين الاستخدام.

- تم تحضير ثلاثة تراكيز من الخلاصات النباتية: 2 – 5 – 10 ملغ/مل.
- **تحضير مركب الميترونيدازول "MTZ" Metronidazole:**

تم تحضير Stock solution من MTZ بتركيز 1 ملغ/مل وذلك بإذابة 100 مليغرام من بودرة المركب الدوائي في 100 مل ماء مقطر، ثم تم تحضير تراكيز مختلفة (10، 25، 50) ميكروغرام/مل تم تحضير هذه المادة قبل البدء بالتجربة بشكل مباشر.

3-2- طرائق البحث:

3-2-1-تعداد كيسات الجيارديا اللمبلية:

تم استخدام عدادة نيوباور المستخدمة في تعداد خلايا الدم، حيث تم تمديد الراسب بنسبة 1:10، وقد تم تعداد المربعات الأربعة في الزوايا الأربعة وحساب عدد الكيسات وفق المعادلة التالية:[13].

$$\text{عدد الخلايا/مل} = \frac{\text{عدد الخلايا} \times 10000}{\text{عدد المربعات} \times \text{معامل التمديد}}$$

3-2-2-تأثير الخلاصات النباتية في الزجاج:

تم إضافة 1 مل من كل تركيز (لكل خلاصة نباتية) إلى 1 مل من معلق كيسات الجيارديا اللمبلية، بحيث **يكون التركيز النهائي** لكل خلاصة نباتية 2،5،10 ملغ /مل، وذلك على ثلاثة مكررات لكل تركيز ولكل نوع نباتي أي تسعة أنابيب، والانبوب العاشر شاهد سلبي يحوي فقط كيسات الجيارديا دون معالجة.

تم فحص العينات بعد ساعة من تطبيق المستخلص ودراسة حيويتها بصبغة أزرق التريبان وتم حساب عدد الخلايا الميتة لحساب الفعالية باستعمال المعادلة السابقة.

3-2-3-دراسة فعالية MTZ على كيسات الجيارديا اللمبلية في الزجاج *in vitro*:

تم إضافة 1 مل محلول دواء الميترونيدازول MTZ إلى 1مل من معلق الكيسات على ثلاث مكررات لكل تركيز، بحيث يكون التركيز النهائي 10-25-50

ميكروغرام/مل. وفحصت العينات بعد ساعة من التطبيق بعد تلوينها بأزرق التريبان وتم تعداد الكيسات الملونة (الميتة) وحساب نسبة الفعالية. مثل ما ذكر سابقاً. وتم اعتبار المعلق غير المعالج كشاهد سلبي للتجربة.

4-النتائج والمناقشة Results and discussion:

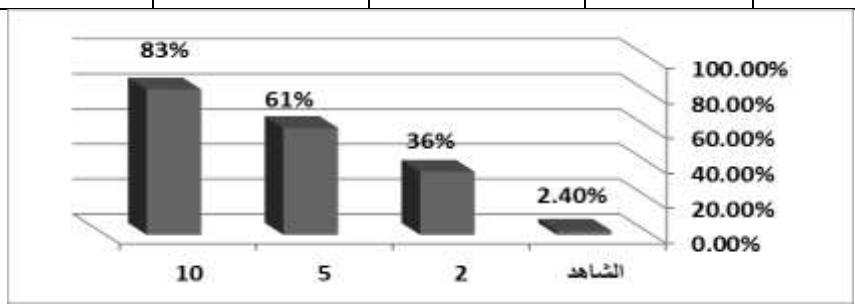
بعد ساعة من تطبيق الخلاصات النباتية ودواء الميترونيدازول، تم تلوين العينات بأزرق التريبان، وتعداد الكيسات الميتة، باستخدام عدادة نيوبار.

4-1-فعالية الخلاصة الإيثانولية لقشور نبات الرمان:

أظهرت النتائج أن تطبيق خلاصة قشور الرمان أدت إلى موت كيسات الجياردية اللمبلية وكان التركيز الأمثل هو 10 ملغ/مل حيث وصلت نسبة موت الكيسات إلى 83%. والنتائج موضحة في الجدول رقم (1) والمخطط البياني رقم (1).

الجدول رقم (1): فعالية خلاصة قشور الرمان في حيوية كيسات الجياردية اللمبلية في الزجاج *In vitro*

التركيز (ملغ/مل)	متوسط عدد الكيسات الحية قبل بدء التجربة	متوسط عدد الكيسات الحية بعد ساعة من تطبيق الخلاصة	متوسط عدد الكيسات الميتة بعد ساعة من تطبيق الخلاصة	متوسط النسبة المئوية والانحراف المعياري
2	9375	6095	3280	35%±0.007
5	9375	3653	5722	61%±0.03
10	9375	1563	7812	83%±0.02
الشاهد	9375	9145	230	2.4±0.008



المخطط البياني رقم (1): تأثير خلاصة قشور الرمان في حيوية كيسات الجياردية اللمبلية *In vitro*

نلاحظ من الجدول (1) والمخطط البياني رقم (1) تزايد فعالية خلاصة قشور الرمان في إنقاص حيوية كيسات الجياردية اللمبلية مع زيادة تركيز الخلاصة ووصلت حداً أعظيماً بلغ 83% عند تطبيق تركيز 10 ملغ/مل.

وقد أكدت مريم وزملائها فعالية ثمار وقشور الرمان كمضاد للأوالي المعوية وكمضاد إسهال وتحسين الامتصاص المعوي للشوارد والماء، إضافة إلى فعاليته المحسنة للجهاز التنفسي [14].

وقد استعملت عدة نباتات طبية أخرى لعلاج الجيارديا اللمبلية، مثل النعناع والشيح. ففي دراسة أُجريت في مصر على تأثير خلاصات نبات النعناع *Mentha longifolia*، بلغت نسبة تثبيط نمو الجيارديا اللمبلية 68% في الوسط الصنعي [15]. وأيضاً دراسة أجريت في إيران حول فعالية نبات الشيح ***Artemisia annua*** على حيوية كيسات الجيارديا، حيث كانت نسبة موت الكيسات 79% بعد ساعة و 96% بعد ثلاث ساعات باستخدام تركيز 10 ملغ/مل من الخلاصة [16].

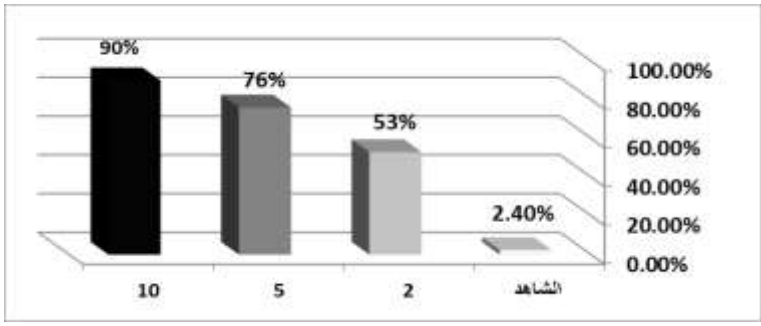
توافقت نتيجة هذا البحث مع الدراسة المصرية عام 2021 على الخلاصة الإيثانولية لقشور الرمان حيث بلغت نسبة كيسات الجيارديا الميتة 88% بتركيز 10 ملغ/مل[3].

4-2-فعالية الخلاصة الإيثانولية لبذور الشمرة *Foeniculum vulgare*:

بينت النتائج أن تطبيق الخلاصة الإيثانولية لبذور الشمرة بتراكيز (2-5-10 ملغ/مل) كان له فعالية كبيرة في موت كيسات الجيارديا اللمبلية بعد ساعة واحدة فقط من تطبيق الخلاصات النباتية، حيث بلغت نسبة الكيسات الميتة عند تطبيق تركيز 2ملغ/مل 53%، وتركيز 5ملغ/مل 76%، وبتطبيق تركيز 10 ملغ/مل بلغت النسبة 90% كما هو موضح بالجدول رقم(2) والمخطط البياني رقم (2):

الجدول رقم (2): تأثير الخلاصة الإيثانولية لبذور الشمرة في حيوية كيسات الجيارديا

التركيز (ملغ/مل)	متوسط عدد الكيسات الحية قبل بدء التجربة	متوسط عدد الكيسات الحية بعد ساعة من تطبيق الخلاصة	متوسط عدد الكيسات الميتة بعد ساعة من تطبيق الخلاصة	متوسط النسبة المئوية والانحراف المعياري
2	9375	4376	4999	53%±0.04
5	9375	2240	7135	76%±0.08
10	9375	990	8385	90±0.03
الشاهد	9375	9145	230	2.4±0.008



المخطط رقم (2): تأثير الخلاصة الإيثانولية لبذور الشمرة في حيوية كيسات الجيارديا

نلاحظ من الجدول رقم (2) والمخطط البياني رقم (2) أن التركيز 10 ملغ/مل هو التركيز الأكثر فاعلية في موت كيسات الجيارديا اللمبلية حيث بلغت نسبة الكيسات الميتة في هذا التركيز 90%. توافقت نتيجة هذه الدراسة مع دراسة أجريت في المكسيك عام 2022 التي أكدت تثبيط نمو الجيارديا بالوسط الصنعي بنسبة وصلت 94% عند تطبيق خلاصة بذور الشمرة بالهكسان [17]. أما الخلاصة الإيثانولية لبذور الشمرة فقد ورد ذكرها في دراسات عدة، حيث استعملت كصاد حيوي مضادة للجراثيم، وكانت ذات فعالية عالية على كل من الإيشريكية القولونية *E. coli* والمكورات العنقودية الذهبية *S.aureus* والسالمونيلا التيفية *S.typhi* ، ويُعزى ذلك إلى وجود نسب عالية من الزيوت العطرية والفينولات ومضادات الأكسدة مثل الفلافونيدات والتربينات في بذور الشمرة [18].

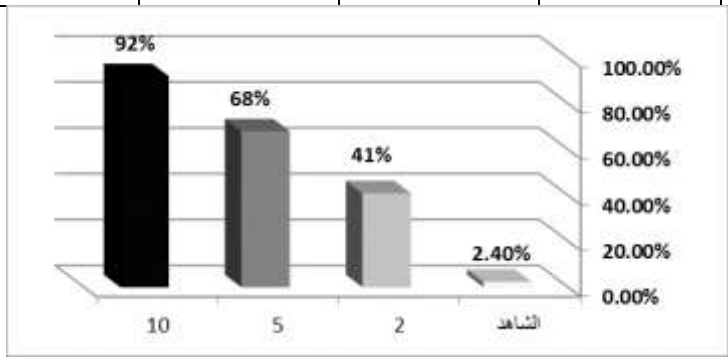
4-3-فعالية الخلاصة الإيثانولية لجذور الزنجبيل *Zingiber officinale*:

أظهرت نتائج تطبيق خلاصة الزنجبيل بتراكيز متزايدة (2-5-10) ملغ/مل فعالية عالية على حيوية كيسات الجيارديا اللامبيلية وبنسب أعلى من باقي الخلاصات الأخرى، وكان أعلاها التركيز 10 ملغ/مل الذي أدى إلى موت كيسات الجيارديا اللمبلية بنسبة 92%، ويوضح الجدول التالي نتائج هذه التجربة:

الجدول رقم (3): تأثير الخلاصة الإيثانولية لجذور الزنجبيل في حيوية كيسات الجيارديا

التركيز (ملغ/مل)	متوسط عدد الكيسات الحية قبل بدء التجربة	متوسط عدد الكيسات الحية بعد ساعة من تطبيق الخلاصة	متوسط عدد الكيسات الميتة بعد ساعة من تطبيق الخلاصة	متوسط النسبة المئوية والانحراف المعياري
2	9375	5574	3801	41%±0.06
5	9375	2993	6382	68%±0.05

10	**9375**	**746**	**8629**	**92%±0.04**
الشاهد	**9375**	**9145**	**230**	**2.4%±0.008**



المخطط رقم (3): تأثير الخلاصة الإيثانولية لجذور الزنجبيل في حيوية كيسات الجيارديا

نلاحظ من المخطط رقم (3) والجدول رقم (3) أن كلما زاد تركيز الخلاصة المطبق زادت فعاليته القاتلة لكيسات الجيارديا خلال ساعة واحدة فقط، فبينما كانت نسبة موت الكيسات عند استعمال التركيز 2 ملغ/مل 41%، ارتفعت إلى 68% عند استعمال التركيز 5 ملغ/مل، وبلغت حداً أعظيماً عند استعمال تركيز 10 ملغ/مل بنسبة فعالية وصلت إلى 92%. توافقت نتيجة هذه الدراسة مع الدراسة المصرية عام 2016 كانت نسبة تثبيط نمو أتاريف الجيارديا اللمبلية باستعمال الخلاصة الكحولية للزنجبيل في الوسط الزرعي 94% [7].

وقد استعملت خلاصة الزنجبيل في علاج الديدان الخيطية عند الخنازير مثل *Strongyloides ransomi* و*Hyostrongylus rubidus* و*Trichostrongylus axei* و*Globocephalus urosubulatus* وأعطت نتائج ممتازة في انقاص عدد البيوض المطروحة مع البراز وصلت إلى 92.6% [19]، كما بينت دراسات أخرى فعالية خلاصات الزنجبيل في علاج خافية الابواغ *Cryptosporidum* عند الفئران حيث أدى العلاج إلى انقاص عدد الكيسات البيضية في البراز بنسبة معنوية [20].

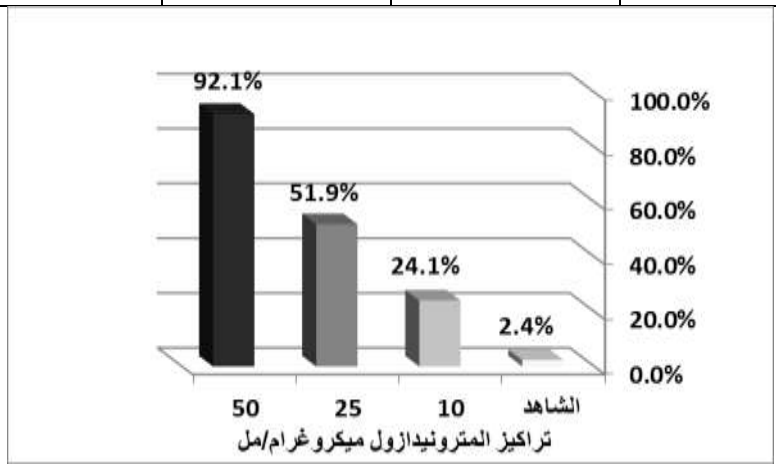
4-4-فعالية مركب المترونيدازل MTZ:

بينت نتائج تطبيق مركب المترونيدازول بتراكيز متزايدة فعالية كبيرة في موت كيسات الجيارديا اللمبلية وصلت حتى 92.1% عند استعمال تركيز 50

ميكروغرام/مل خلال ساعة، ويوضح الجدول رقم (4) والمخطط البياني رقم (4) نتائج المترونيدازل:

الجدول رقم (4): تأثير مركب MTZ في حيوية كيسات الجيارديا

التركيز (مكغ/مل)	متوسط عدد الكيسات الحية قبل بدء التجربة	متوسط عدد الكيسات الحية بعد ساعة من تطبيق الخلاصة	متوسط عدد الكيسات الميتة بعد ساعة من تطبيق الخلاصة	متوسط النسبة المئوية والانحراف المعياري
10	9375	7093	2282	24.1%±0.02
25	9375	4504	4871	51.9%±0.03
50	9375	718	8657	92.1%±0.05
الشاهد	9375	9145	230	2.4%±0.008



المخطط رقم(4): تأثير مركب MTZ في حيوية كيسات الجيارديا

نلاحظ من الجدول (4) والمخطط رقم (4) أن نسبة موت كيسات الجيارديا اللمبلية تزداد بل تتضاعف مع زيادة التركيز المستخدم، فبينما كانت نسبة موت الكيسات 24.1% باستخدام التركيز 10 ميكروغرام/مل، تضاعف ووصل إلى 51.9% باستخدام التركيز 25 مكغ/مل، وتضاعف مرة أخرى بمضاعفة التركيز إلى 50 مكغ/مل لتصل نسبة موت الكيسات إلى 92.1%. وقد توافقت نتيجة هذا البحث مع نتيجة الدراسة المصرية عام 2021 حول فعالية الميترونيدازول في موت كيسات الجيارديا اللمبلية، حيث وصلت نسبة موت الكيسات إلى 91% [6]. ومما سبق يمكن الاستنتاج بوجود سلالات مقاومة للدواء، كون فعالية المترونيدازول لم تصل إلى النسبة المطلقة [21].

5-الاستنتاجات Conclusions:

- تزداد فعالية الخلاصة النباتية في إنقاص حيوية كيسات الجياردية اللمبلية مع ازدياد تركيز الخلاصة المطبق.
- أبدت الخلاصة الكحولية لنبات الزنجبيل بتركيز 10 ملغ/مل الفعالية الأكبر في موت كيسات الجياردية اللمبلية.
- أبدى مركب الميترونيدازول أعلى فعالية ضد كيسات الجياردية اللمبلية متساوياً مع مستخلص الزنجبيل بتركيز 10 ملغ/مل.
- قد يؤدي الاستعمال العشوائي للمترونيدازول في علاج الشكايات المعوية إلى ظهور بعض سلالات الجياردية اللمبلية مقاومة للمترونيدازول في مدينة حلب وقد يعود ذلك للاستخدام العشوائي للدواء.

6-التوصيات Recommendations:

1. إجراء دراسة على المستوى الجزيئي لتحديد تحت السلالات المقاومة من الجياردية اللمبلية للمترونيدازول وتحديد سبب مقاومتها للدواء.
2. تحديد حساسية السلالات الطفيليات المعوية اتجاه المركبات الدوائية المستخدمة في المعالجة.
3. تحديد المواد الكيميائية الفعالة طفيلياً في المستخلصات النباتية ومحاولة عزلها تمهيداً لاستخدامها في الصناعة الدوائية

7-المراجع:

1. WHO: **Diarrhoeal disease**. 2013.

2. MOHAMMED, S. E. A.; KABBASHI, A. S., KOKO, W. S., ANSARI, M. J., ADGABA, N., & AL-GHAMDI, A. (2019). **In vitro activity of some natural honeys against Entamoeba histolytica and GiardiZa lamblia trophozoites.** *Saudi journal of biological* SCIENCES, 26(2), 238-243.

3. EL-KADY, A. M.; ABDEL-RAHMAN, I. A.; FOUAD, S. S.; ALLEMAILEM, K. S.; ISTIVAN, T., AHMED, S. F.; ... & ELSHABRAWY, H. A. (2021). **Pomegranate peel extract is a potential alternative therapeutic for giardiasis.** *Antibiotics*, 10(**6**), 705.

4. KARAMI, F.; DASTAN, D.; FALLAH, M.; & MATINI, M. (2019). **In vitro activity of foeniculum vulgare and its main essential oil component trans-anethole on *Trichomonas vaginalis*.** *Iranian Journal of Parasitology*, 14**(4)**, 631-638.

5. الخلف إياد، العبد الرحمن غسان، عساني يحيى،2023- **تقييم فعالية الخلاصة الكحولية للريحان على المتكيسة الاريمية البشرية *Blastocystis homminis* ومقارنتها مع الميترونيدازول في الوسطين الصنعي والحي**. مجلة بحوث جامعة حلب (23) العدد 164.

6. REDDY, M. K., GUPTA, S. K., JACOB, M. R., KHAN, S. I., & FERREIRA, D. (2007**). Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from Punica granatum L.** *Planta medica*, 53**(05)**, 461-467.

7. ABDEL-HAFEEZ, E. H., AHMAD, A. K., KAMAL, A. M., BELAL, U. S., & MOWAFY, N. M. E. S. (2016). **Anti-Giardia lamblia activity of ginger (Zingiber officinale) extract in an improved modified axenic culture.** *Parasitologists United Journal*, *9***(1)**, 7-12.

8. EL-KADY, A. M., AL-MEGRIN, W. A. I., ABDEL-RAHMAN, I. A., SAYED, E., ALSHEHRI, E. A., WAKID, M. H., ... & YOUNIS, S. S. (2022). **Ginger is a potential therapeutic for chronic toxoplasmosis.** *Pathogens*, *11*(7), 798

9. ANGELOV, G., & BOYADZHIEVA, S. (2016). **Extraction of fennel (Foeniculum vulgare) seeds: process optimization and antioxidant capacity of the extracts.** *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 30**(2)**, 245-253.

10. MOSTAFA, G., NAHID, J., ALIREZA, D., & EBRAHIM, S. S. (2021). **Effect of Foeniculum Vulgare Aqueous and Alcoholic Seed Extract against Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis**. *Ethiopian Journal of Health Sciences*, *31*(2).

11. AL-KAISSI, I. N. (2010). **The effect of Aqueous some plants Extract on *Giardia lamblia* in vitro.** *Al-Anbar J Vet Sci*, *3***(2)**, 1999-6527.

12. ABDEL MONEIM, A. E. (2012). **Evaluating the potential role of pomegranate peel in aluminum-induced oxidative stress and histopathological alterations in brain of female rats**. *Biological trace element research*, 150, 328-336.

13. OSCAR BASTIDAS – **Technical note, Neubauer Chamber Cell Counting**. www.celeromics.com

14. ALKHATIB, M., FAYAD, C., BADRAN, A., HAMADE, K., DAOU, A., BAYDOUN, E., & HIJAZI, A. (2022). **Preventive and Therapeutic Effects of Punica granatum (Pomegranate) in Respiratory and Digestive Diseases: A Review.** ***Applied Sciences,*** 12**(23)**, 12326.

15. EL-BADRY, A. A., AL-ALI, K. H., & EL-BADRY, Y. A. (2010). **Activity of Mentha longifolia and Ocimum basilicum against Entamoeba histolytica and Giardia duodenalis**. *Sci Parasitol*, 11**(3)**, 109-117.

16. GOLAMI, S., RAHIMI-ESBOEI, B., MOUSAVI, P., MARHABA, Z., YOUSSEFI, M. R., & RAHIMI, M. T. (2016). **Survey on efficacy of chloroformic extract of Artemisia annua against *Giardia lamblia* trophozoite and cyst in vitro.** *Journal of parasitic diseases*, 40, 88-92.

17. DOMÍNGUEZ-VIGIL, I. G., MATA-CÁRDENAS, B. D., ESQUIVEL-FERRIÑO, P. C., AVALOS-ALANÍS, F. G., VARGAS-VILLARREAL, J., & CAMACHO-CORONA, M. D. R. (2022). **Antigiardial Activity of Foeniculum vulgare Hexane Extract and Some of Its Constituents**. *Plants*, 11**(17)**, 2212.

18. ROBY, M. H. H., SARHAN, M. A., SELIM, K. A. H., & KHALEL, K. I. (2013). **Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (Foeniculum vulgare L.) and chamomile (Matricaria chamomilla L.)**. *Industrial crops and products*, 44, 437-445.

19. KIAMBOM, T., KOUAM, M. K., NGANGOUM, C. D., KATE, B., & TEGUIA, A. (2021). I**n vivo anthelmintic effect of ginger (zingiber officinale) powder against gastointestinal nematodes of artificially infected pigs**. *Archives of Veterinary Science and Medicine*, *4***(1)**, 1-12.

20. ABOUELSOUED, D. M., SHAAPAN, R. M., ELKHATEEB, R. M. M., ELNATTAT, W. S., HAMMAM, A. M. M. M., & HAMMAM, A. M. (2020). **Therapeutic efficacy of ginger (Zingiber officinale), ginseng (Panax ginseng) and sage (Salvia officinalis) against *Cryptosporidium parvum* in experimentally infected mice.** *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, *51***(2)**, 241-251.

21. UPCROFT, J. A., CAMPBELL, R. W., BENAKLI, K., UPCROFT, P., & VANELLE, P. (1999). **Efficacy of new 5-nitroimidazoles against metronidazole-susceptible and-resistant *Giardia, Trichomonas,* and *Entamoeba* spp**. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 43 **(1),** 73-76.