

In-Vitro Efficacy of *Plantago lanceolata* L. Extracts on *Trichomonas Vaginalis*

Mohammad Matini^{1*}, Samira Bakhtiarnjad², Dara Dastan³, Amir Hossein Maghsood⁴, Mohammad Fallah⁵

1. Assistant Professor, PhD in Parasitology, Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

2. MSc in Parasitology, Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

3. Assistant Professor, PhD in Pharmacognosy, Medicinal Plants and Natural Products Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

4. Associate Professor, PhD in parasitology, Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

5. Professor, PhD in Parasitology, Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Received: 2 May 2017, Accepted: 2 Aug 2017

Abstract

Background: *Trichomoniasis* is one of the most common non viral sexually transmitted diseases worldwide. The aim of this study was to investigate the effect of *Plantago lanceolata* extracts on *Trichomonas vaginalis*.

Materials and Methods: In this study, after collection and drying of *P. lanceolata*, n-hexanic, ethyl acetate, methanol and hydroalcoholic extracts, they were prepared by maceration. Five clinical *T. vaginalis* isolates subjected to extract susceptibility testing, in comparison of metronidazole. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum lethal concentration (MLC) tests were carried out in duplicate and repeated two times for each *T. vaginalis* isolate.

Results: The results showed that the extracts of *P. lanceolata* had potent antitrichomonal activity. The most antitrichomonal activity was related to ethyl acetate extract with the least MIC of 500 µg/ml and mean of 1525 µg/ml, after 48 hrs incubation. And also, the lowest antitrichomonal activity was related to hydroalcoholic and methanolic extract with the least and mean MIC of 2000 µg/ml. The results of MLC and MIC tests were identical and this finding confirmed the trichomonacidal activity of the extracts. The drug susceptibility testing showed that the *T. vaginalis* isolates were susceptible to metronidazole ranging from 3.1 to 6.2 µg/ml with a mean and standard deviation of 4.2 ± 1.5 µg/ml.

Conclusion: This study showed that the extracts of *P. lanceolata* have a considerable activity on *T. vaginalis* parasite. Hence, further studies are needed to clear more details of antimicrobial properties of *P. lanceolata* compounds.

Keywords: Extract, Metronidazole, *Plantago lanceolata*, *Trichomonas vaginalis*

*Corresponding Author:

Address: Department of Medical Parasitology and Mycology, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.

Email: matini@umsha.ac.ir

بررسی اثر چند نوع عصاره بارهنگ سر نیزه‌ای (*Plantago lanceolata L.*) بر تریکوموناس واژینالیس در محیط آزمایشگاهی

محمد متینی^{۱*}، سمیرا بختیارنژاد^۲، آارا دستان^۳، امیر حسین مقصود^۴، محمد فلاح^۵

۱. استادیار، دکتری تخصصی انگل‌شناسی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۲. کارشناس ارشد انگل‌شناسی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۳. استادیار، دکتری فارماکوتکونوزی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و فرآورده‌های طبیعی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۴. دانشیار، دکتری تخصصی انگل‌شناسی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۵. استاد، دکتری تخصصی انگل‌شناسی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۱۲، تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: تریکومونیاژیس از عفونت‌های جنسی شایع و غیرویروسی در جهان است. هدف از این تحقیق، بررسی میزان تأثیر عصاره‌های بارهنگ سر نیزه‌ای بر تریکوموناس واژینالیس بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی پس از طی فرآیند جمع‌آوری، خشک کردن و تهیه عصاره‌های هگزانی، اتیل‌استاتی، متانولی و هیدروالکلی بارهنگ سر نیزه‌ای، غلظت‌هایی از عصاره‌ها تهیه و بر روی پنج ایزوله تریکوموناس واژینالیس در برابر مترونیدازول آزمایش گردید. آزمون‌های حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی برای هر غلظت و هر ایزوله انگل به صورت دوتایی و دومرتبه انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره‌های بارهنگ سر نیزه‌ای دارای اثر ضدتریکومونیاژی بوده، به طوری که بعد از ۴۸ ساعت مجاورت انگل با عصاره‌ها، بیش‌ترین اثر مهارکنندگی به عصاره اتیل‌استاتی با حداقل غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و میانگین ۱۵۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر مربوط بود. هم‌چنین کم‌ترین فعالیت ضدتریکومونیاژی به عصاره‌های هیدروالکلی و متانولی با حداقل غلظت و میانگین ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مربوط بود. نتایج آزمون حداقل غلظت کشندگی برای عصاره‌ها هم‌مشابه نتایج آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی بود که تاییدکننده اثر کشندگی عصاره‌های مورد آزمایش بر انگل است. نتایج آزمایش حساسیت دارویی مترونیدازول نیز حاکی از حساس بودن ایزوله‌های تریکوموناس واژینالیس به مترونیدازول بود و غلظت آن از طیف ۳/۱ تا ۶/۲ با میانگین و انحراف معیار $۱/۵ \pm ۴/۲$ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که ترکیبات موجود در عصاره بارهنگ سر نیزه‌ای دارای توان ضدتریکومونیاژی قابل ملاحظه‌ای می‌باشند که نیازمند انجام مطالعات بیشتر و کامل‌تر بر روی اجزای تشکیل‌دهنده این ترکیبات و مشخص نمودن خصوصیات ضد میکروبی آن‌ها است.

واژگان کلیدی: بارهنگ سر نیزه‌ای، تریکوموناس واژینالیس، عصاره، مترونیدازول
*نویسنده مسئول: ایران، همدان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی

Email: matini@umsha.ac.ir

مقدمه

تریکومونیا زیس یکی از عفونت‌های مقاربتی غیروروسی و شایع در سراسر جهان است که توسط تک‌یاخته‌ای تاژک‌دار به نام تریکوموناس واژینالیس در انسان ایجاد می‌گردد (۱). طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی میزان شیوع تریکومونیا زیس در جهان ۲۷۶/۴ میلیون مورد در سال برآورد شده است که این میزان بیشتر از سایر عفونت‌های منتقل‌شونده از راه تماسی جنسی مانند گنوره، سیفلیس و عفونت کلامیدایی می‌باشد (۲). عفونت با این تک‌یاخته می‌تواند به اشکال بالینی مختلف مشاهده گردد به طوری که از طیف عفونت بدون علامت تا عفونت حاد با ترشح فراوان و متعفن همراه با علائمی مانند سوزش و خارش، تظاهر نماید. ابتلا به این عفونت می‌تواند عوارضی مانند زایمان زودرس و تولد نوزادان نارس، عقیمی موقت در مردان، افزایش احتمال ابتلا به سرطان دهان رحم و همچنین افزایش خطر انتقال و ابتلا به ویروس نقص سیستم ایمنی انسان (HIV) را به دنبال داشته باشد (۱، ۳). مترونیدازول، از ترکیبات گروه ۵- نیتروایمیدازول‌ها، در اغلب کشورها تنها داروی مورد تایید برای درمان عفونت ناشی از تریکوموناس واژینالیس می‌باشد. عوارض جانبی و تحمل پایین افراد و همچنین شکست درمانی تریکومونیا زیس، از مسائل پیش‌روی استفاده از مترونیدازول برای درمان این عفونت می‌باشد. گزارش‌های مربوط به تریکومونیا زیس مقاوم به درمان از سال‌های اولیه استفاده از مترونیدازول، منتشر گردیده و این موارد همواره در حال افزایش بوده است به طوری که مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها در آمریکا (CDC) برآورد نموده است که ۲ تا ۵ درصد ایزوله‌های بالینی دارای سطحی از مقاومت به مترونیدازول می‌باشند (۴، ۵).

بنابراین با توجه به محدودیت‌های موجود در رابطه با درمان دارویی تریکومونیا زیس، تحقیق و بررسی در این زمینه از ضروریات مسائل بهداشتی است. استفاده از گیاهان دارویی در طب سنتی جهت درمان بیماری‌ها در تاریخ بشر

قدمت طولانی داشته و این منابع طبیعی همواره مورد توجه ویژه قرار داشته‌اند. تاکنون مطالعات قابل توجه‌ای در زمینه تاثیر ضد میکروبی گیاهان و همچنین ترکیبات و مواد موثره آن‌ها مانند فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، کومارین‌ها، ترکیبات فنلی و غیره صورت گرفته است (۹-۶). از جمله گیاهانی که تاثیر آن‌ها بر تریکوموناس واژینالیس مورد ارزیابی قرار گرفته است می‌توان به گیاهانی مانند نعناع، مخلصه، مریم‌گلی، بنفشه معطر، اسطوخودوس و غیره اشاره نمود (۱۰). بارهنگ سرنیزه‌ای با نام علمی *Plantago lanceolata L.* از تیره Plantaginaceae یک گیاه چند ساله است که در مناطق معتدل در سراسر جهان گسترش دارد. استفاده از گیاه بارهنگ در طب سنتی قدمت طولانی داشته و از آن جهت درمان زخم‌های پوستی و اختلالات جلدی، بیماری‌های عفونی، رفع اختلالات دستگاه گوارش، تنفس و گردش خون، و همچنین به عنوان تب‌بر استفاده می‌گردد (۱۱). با توجه به وجود ظرفیت ضد میکروبی بارهنگ سرنیزه‌ای و به دلیل این که تاکنون اثرات ضد تریکومونیا زیس آن مورد بررسی قرار نگرفته است، در این مطالعه اثر این گیاه بر روی تریکوموناس واژینالیس در شرایط برون‌تنی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق که از نوع آزمایشگاهی بوده، بر روی پنج ایزوله انگل تریکوموناس واژینالیس جدا شده از افراد آلوده، در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه انگل‌شناسی و فارچ‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام گردید. روش آزمایش گسترش مرطوب و کشت گزینک در محیط دورسه (*Dorset medium*) جهت تشخیص و جداسازی تریکوموناس واژینالیس از افراد آلوده مورد استفاده قرار گرفت (۱۲). پس از تشخیص انگل، به منظور خالص‌سازی ایزوله‌ها برای استفاده در آزمون تعیین حساسیت به عصاره‌های گیاهی، نمونه‌های مثبت به محیط کشت دیاموند منتقل و طی

روند کشت آگزینیک ظرف مدت چند روز، کشت خالص انگل آماده گردید (۱۳).

بارهنگ سرنیزه‌ای (*Plantago lanceolata L.*) از رویشگاه طبیعی آن در استان کردستان جمع‌آوری شد و پس از شناسایی و تأیید آن توسط متخصص گیاه‌شناس مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان، شماره هرباریومی MPH-5381 به آن اختصاص داده شد. گیاه پس از جمع‌آوری در سایه و در دمای محیط خشک گردید و در ادامه در آزمایشگاه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی همدان به‌منظور استخراج عصاره، مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا گیاه خشک شده، آسیاب گردید و ۱۰۰ گرم از پودر حاصل با حلال‌های هگزان (H)، اتیل استات (E)، متانول (M) و مخلوط آب/متانول (۷۰/۳۰) (حلال هیدرو الکلی) در دمای اتاق به مدت ۷۲ ساعت خیسانده شد (Maceration) و پس از صاف کردن عصاره‌های مختلف، در ادامه توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد عصاره‌ها تغلیظ شدند و تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری شدند (۱۴).

جهت آماده‌سازی محلول مترونیدازول، ابتدا پودر دارو (Sigma Chemical Co. St Louis) با غلظت مشخص در آب مقطر حل گردید و بعد از سترون نمودن آن به کمک فیلترسنگی (۰/۲۲ میکرون)، غلظت‌های ۰/۱ تا ۴۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر مترونیدازول در محیط کشت دیاموند، با روش رقیق‌سازی متوالی در میکروپلیت‌های سترون آماده گردید. حداقل غلظتی از عصاره و مترونیدازول که بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون بتواند باعث بی‌حرکت شدن انگل در محیط کشت گردد به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی یا MIC در نظر گرفته شد (۱۵). آزمون حداقل غلظت کشندگی یا MIC که به‌منظور تأیید اثر عصاره‌های مورد آزمایش بر انگل، مورد استفاده قرار گرفت، بدین صورت انجام شد که پس از قرائت نتایج آزمون MIC (بعد از ۴۸ ساعت)، از کف هر چاهک آزمون به میزان ۱۰۰ میکرولیتر

برداشته و به لوله‌های محیط کشت تازه دیاموند که فاقد عصاره و دارو بود، منتقل و در گرمخانه با دمای ۳۵/۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و تا ۱۰ روز لوله‌های کشت مذکور با میکروسکوپ معکوس مورد بررسی قرار گرفت. کمترین غلظتی از عصاره و دارو (مربوط به آزمون MIC) که در لوله کشت آن رشد انگل مشاهده نگردید، به‌عنوان MIC محسوب شد. در این مطالعه آزمون تعیین میزان حساسیت انگل به عصاره و دارو، براساس روش پیشنهادی CDC انجام شد (۱۵). ایزوله‌های انگل بعد از جداسازی و تهیه کشت خالص آن‌ها در محیط کشت دیاموند، به تعداد معین (۱ × ۱۰^۵) سلول در هر چاهک آزمون) و در فاز رشد لگاریتمی، جهت آزمون تعیین حساسیت مورد استفاده قرار گرفتند. محلول عصاره‌ها نیز به‌این صورت آماده گردید که ابتدا غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر در حلال دی‌متیل سولفو کساید (DMSO, D2650 SIGMA, BioReagent) از آن‌ها تهیه و در ادامه غلظت‌هایی از عصاره در محیط کشت دیاموند با کمک روش رقیق‌سازی متوالی دو برابر، در میکروپلیت‌های سترون، تهیه شد تا در پایان کار و بعد از اضافه نمودن محیط کشت حاوی انگل، غلظت‌های نهایی ۴۰۰۰، ۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر حاصل گردد. سپس میکروپلیت‌های آزمون در شرایط هوازی و در گرمخانه با دمای ۳۵/۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد از سپری شدن زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌وسیله میکروسکوپ معکوس از نظر حرکت و میزان رشد انگل، مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش برای هر عصاره و دارو و همچنین برای هر ایزوله انگل، به‌صورت دوتایی و دو مرتبه تکرار گردید. همه مراحل آزمون تعیین حساسیت در شرایط سترون و در مقابل آزمایش شاهد (شاهد مثبت حاوی مترونیدازول، شاهد منفی فاقد عصاره و مترونیدازول، شاهد حلال حاوی DMSO) انجام شد. نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون ناپارامتریک فریدمن در سطح معنی‌داری $p < 0/05$ به‌منظور مقایسه میانگین‌های MIC عصاره‌های مورد آزمایش، مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها

جهت تعیین میزان اثر عصاره‌های هگزانی، اتیل استاتی، متانولی و هیدروالکلی بارهنگ سرنیزه‌ای بر روی پنج ایزوله انگل تریکوموناس واژینالیس در مقایسه با مترونیدازول، در مجموع برای هر عصاره و مترونیدازول ۲۰ سری آزمایش انجام شد. نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان داد که همه انواع عصاره‌های بارهنگ سرنیزه‌ای دارای خاصیت ضدتریکومونیایی بوده و در غلظت‌های مشخصی بر روی انگل تاثیر گذاشته و باعث مرگ آن‌ها می‌گردند. میانگین نتایج آزمایش‌های تعیین حداقل غلظت‌های مهارکنندگی (MICs) برای هر عصاره در جداول ۱ و ۲ آورده شده است. جدول ۱ تأثیر انواع عصاره‌های مورد بررسی بر روی ایزوله‌های مختلف تریکوموناس واژینالیس بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون و تماس با عصاره‌ها را در مقایسه با مترونیدازول نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌گردد، بیشترین تأثیر مربوط به عصاره اتیل استاتی ($MIC=1000 \mu g/ml$) و کمترین تأثیر مربوط به عصاره متانولی و هیدروالکلی ($MIC=4000 \mu g/ml$) می‌باشد. جدول شماره ۲ تاثیر انواع

عصاره‌ها بر روی ایزوله‌های مختلف انگل بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌گردد با افزایش زمان مجاورت عصاره‌ها با انگل، اثر آن‌ها بر روی انگل نیز افزایش یافته به طوری که بعد از ۴۸ ساعت بیشترین تاثیر مربوط به عصاره اتیل استاتی ($MIC=500 \mu g/ml$) می‌باشد. نتایج آزمون حداقل غلظت کشندگی یا MLC برای انواع عصاره‌ها مشابه نتایج آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی یا MIC (بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون)، به دست آمد. مطابقت نتایج این دو نوع آزمون نشان‌دهنده تاثیر قطعی عصاره‌ها بر روی انگل و کشته شدن انگل‌ها در حداقل غلظت‌های مهارکنندگی (MICs) می‌باشد. نتایج آزمایش تعیین حساسیت دارویی ایزوله‌های تریکوموناس واژینالیس مورد استفاده در این تحقیق نسبت به مترونیدازول، نشان داد که همه ایزوله‌ها به دارو حساس بودند و میانگین MIC (بعد از ۴۸ ساعت) آن‌ها برابر $4/2$ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین گردید.

جدول ۱. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره‌های بارهنگ سرنیزه‌ای بر روی تریکوموناس واژینالیس بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون

نوع عصاره و دارو	حداقل میزان MIC (میکروگرم بر میلی لیتر)	حداکثر میزان MIC (میکروگرم بر میلی لیتر)	میانگین و انحراف معیار (میکروگرم بر میلی لیتر)	p
اتیل استاتی	۱۰۰۰	۴۰۰۰	3150 ± 1089	$p < 0.001$
هگزانی	۲۰۰۰	۴۰۰۰	2700 ± 978	
متانولی	۴۰۰۰	۴۰۰۰	4000 ± 0	
هیدروالکلی	۴۰۰۰	۴۰۰۰	4000 ± 0	
مترونیدازول	۱۲/۵	۱۲/۵	$12/5 \pm 0$	

جدول ۲. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره‌های بارهنگ سرنیزه‌ای بر روی تریکوموناس واژینالیس بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون

نوع عصاره و دارو	حداقل میزان MIC (میکروگرم بر میلی لیتر)	حداکثر میزان MIC (میکروگرم بر میلی لیتر)	میانگین و انحراف معیار (میکروگرم بر میلی لیتر)	p
اتیل استاتی	۵۰۰	۲۰۰۰	1525 ± 617	$p < 0.001$
هگزانی	۱۰۰۰	۴۰۰۰	1850 ± 1039	
متانولی	۲۰۰۰	۲۰۰۰	2000 ± 0	
هیدروالکلی	۲۰۰۰	۲۰۰۰	2000 ± 0	
مترونیدازول	۳/۱	۶/۲	$4/2 \pm 1/5$	

بحث

استفاده از مترونیدازول جهت درمان تریکومونیاژیس از سال ۱۹۶۱ که این دارو معرفی گردید، آغاز شد اما خیلی زود در سال ۱۹۶۲ موارد تریکوموناس واژینالیس مقاوم به آن گزارش گردید و گزارش‌های موارد شکست درمانی این عفونت با مترونیدازول روبه افزایش نهاد به طوری که بعضی از محققین میزان تریکومونیاژیس مقاوم به درمان را در ایالات متحده تا ۱۰ درصد تخمین زده‌اند (۱۵). مسئله مقاومت دارویی نه تنها در رابطه با درمان تریکومونیاژیس مطرح است بلکه در خیلی از بیماری‌های عفونی دیگر نیز مطرح بوده و مقاومت روبه افزایش عوامل عفونی بیمارزایا یک مسئله نگران کننده در جوامع می‌باشد و تحقیقات در این زمینه یکی از نیازهای حوزه بهداشت و سلامت است. گیاهان به عنوان منبع اصلی ترکیبات دارویی از گذشته‌های دور در اختیار انسان بوده و استفاده از آن‌ها و هم چنین تحقیقات بر روی آن‌ها پیوسته ادامه داشته است. گیاه بارهنگ نیز یکی از گیاهان دارویی شناخته شده است که در طب سنتی جوامع مختلف از آن برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌گردد و خواص مختلفی برای آن بیان شده است (۱۱).

در مطالعه حاضر که تحقیق روی خاصیت ضد تریکومونیاژی بارهنگ سرنیزه‌ای است، نتایج حاصل نشان داد که عصاره‌های اتیل استاتی، هگزانی، متانولی و هیدروالکلی آن دارای فعالیت ضد تریکومونیاژی بوده و این ترکیبات می‌توانند مانع رشد و حرکت تریکوموناس واژینالیس در محیط برون تنی گردند و قادرند در غلظت‌های معینی باعث مرگ انگل گردند. همچنین این تحقیق نشان داد که تاثیر عصاره‌های مذکور بر انگل وابسته به دز و زمان مجاورت با عصاره می‌باشد. به طوری که بعد از ۷۲ ساعت مجاورت عصاره و انگل، مشاهده شد که همه عصاره‌ها در غلظت‌های کم تری در مقایسه با زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون، قادرند مانع رشد و حرکت انگل در میکروپلیت‌های آزمون گردند (اطلاعات نشان داده نشده است). اما با توجه به این که رشد انگل‌ها در محیط کشت بعد

از ۷۲ ساعت انکوباسیون به دلیل نامساعدتر شدن شرایط زیستی، از فاز رشد لگاریتمی خارج می‌گردد، نمی‌توان قضاوت صحیحی از میزان فعالیت ضد تریکومونیاژی عصاره‌های مورد آزمایش داشت، بنابراین در این مطالعه با توجه به روش پیشنهادی CDC، معیار تاثیر ضد تریکومونیاژی عصاره‌ها بر اساس MIC بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون آن‌ها بوده و بر همین اساس بیشترین تاثیر ضد تریکومونیاژی عصاره اتیل استاتی با میانگین MIC معادل ۱۵۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد. در این مطالعه یکسان بودن نتایج آزمون MLC و MIC نیز نشان از تاثیر صد درصدی عصاره‌ها بر انگل و مرگ همه انگل‌های موجود در محیط آزمایش دارد. هم چنین میانگین MIC آزمون حساسیت دارویی مترونیدازول برابر ۴/۲ میکروگرم بر میلی لیتر، نشان دهنده حساس بودن ایزوله‌های تریکوموناس واژینالیس مورد آزمایش در این مطالعه است. با توجه به اطلاعات ما تاکنون تحقیقی در رابطه با تاثیر بارهنگ سرنیزه‌ای بر روی تریکوموناس واژینالیس صورت نگرفته است اما مطالعاتی دیگری در زمینه فعالیت ضد میکروبی بارهنگ سرنیزه‌ای صورت گرفته است که نشان دهنده اثر ضد قارچی، ضد لیشمانیاژی و ضد باکتریایی این گیاه می‌باشد. فعالیت ضد میکروبی این گیاه را می‌توان ناشی از اثرات ترکیبات زیست فعالی مانند آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، تری‌تروپونوئیدها، تانن‌ها، کمارین‌ها و آنتراکونین‌ها دانست (۱۸-۱۶). تاکنون تحقیقات قابل توجه‌ای در رابطه با تاثیر گیاهان دارویی بر روی تریکوموناس واژینالیس انجام شده است. که در ادامه به بعضی از این مطالعات اشاره می‌گردد. یکی از گیاهانی که دارای خاصیت ضد میکروبی است اسطوخدوس می‌باشد که در مناطق خشک و نیمه خشک جنوب اروپا رشد می‌نماید. در مطالعه‌ای که توسط Moon و همکاران انجام شد تاثیر دو گونه اسطوخدوس (*Lavandula angustifolia*, L. × *intermedia*) بر تریکوموناس واژینالیس مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد که در غلظت ۱٪ و بعد از ۲۴

انکوباسیون، اسانس این دو گونه گیاه می‌تواند باعث مرگ همه انگل‌ها در محیط آزمایشگاهی گردند و این گیاه علاوه بر تاثیرات ضدتریکومونیایی، بر علیه ژیا ردیا لامبلیا و هگزامیتا اینفلاتا هم موثر است (۱۹). در مطالعه‌ی دیگری که توسط Calzada در مکزیک با استفاده از ۲۲ گونه از گیاهان رایج در طب سنتی این منطقه انجام شد، بیشترین تاثیر بر روی تریکوموناس واژینالیس را عصاره دو گونه از گیاهان یکی دانه خریزه درختی (*Carica papaya*) با $IC_{50}=5/6 \mu g/ml$ و دیگری فیبر پوسته نارگیل (*Cocos nucifera*) با $IC_{50}=5/8 \mu g/ml$ داشتند (۲۰). در یک مطالعه دیگر که با گونه درخت توت فرنگی (*Arbutus unedo*) بر روی این انگل انجام شده است، عصاره اتیل استاتی برگ این گیاه در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر دارای ۱۰۰ درصد اثر ممانعت کنندگی از رشد تریکوموناس واژینالیس در محیط کشت می باشد (۲۱). در یک مطالعه درون تنی از نوع کارآزمایی بالینی کنترل شده که در برزیل در دو گروه از زنان مبتلا به تریکومونیازیس انجام شد، تاثیر گیاه *Mentha crispa* از خانواده Lamiaceae در مقایسه با داروی سکیندازول (یکی دیگر از ترکیبات ۵-نیتروایمیدازول) مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه میزان بهبودی در گروه زنان آلوده درمان شده با سکیندازول ۹۶/۶ درصد بود و میزان بهبودی در گروه دیگر زنان آلوده‌ای که با عصاره *Mentha crispa* درمان شده بودند، ۹۰ درصد به دست آمد که اختلاف معنی دار از لحاظ آماری بین این دو گروه مشاهده نشد (۲۲). از سایر مطالعات می‌توان به تحقیقات انجام شده در ایران اشاره نمود. در مطالعه بررسی تاثیر موسیر (*Allium hirtifolium*) بر تریکوموناس واژینالیس که توسط تاران و همکاران انجام شده، نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی و دی کلرومتانی موسیر ایرانی (*Persian shallot*) در محیط بیرون تنی تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر مهار رشد این انگل دارد که به ترتیب میزان MIC بعد از ۴۸ ساعت این دو عصاره عبارت بود از ۱۰ و ۵ میکروگرم بر میلی لیتر، در مقابل داروی

مترونیدازول با MIC معادل ۲ میکروگرم بر میلی لیتر (۲۳). خواص ضدتریکومونیایی سیر و سایر گونه‌های جنس *Allium* ناشی از ترکیبات ارگانوسولفورهای مانند آجوئن (*ajoene*) و آلیسین (*allicin*) است که خواص ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای به این گروه از گیاهان داده است (۲۳). اکالیپتوس یکی دیگر از گیاهانی است که تاثیر آن روی این انگل مورد مطالعه قرار گرفته است. در مطالعه انجام شده توسط حسنی و همکاران تاثیر *Eucalyptus camaldulensis* بر تریکوموناس واژینالیس مور بررسی قرار گرفت. در این مطالعه عصاره اتیل استاتی گیاه مذکور در غلظت $12/5 mg/ml$ بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون قادر بود ۱۰۰ درصد از رشد انگل ممانعت نماید (۲۴). در بررسی تاثیر گیاه ریواس (*Rheum ribes L.*) روی این انگل نیز که توسط نائی و همکاران اجرا شد، عصاره‌های گل، برگ و ساقه این گیاه در غلظتهای ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر قادر بودند، ۱۰۰ درصد مانع از رشد تریکوموناس واژینالیس در محیط آزمایشگاهی گردند (۲۵). خان محمدی و همکاران نیز اثر گیاه کمای بیابانی (*Ferula szowitsiana*)، متعلق به خانواده چتریان، را روی این انگل مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره متانولی کمای بیابانی قادر است رشد انگل را به طور کامل و در غلظت ۰/۳۶ میلی گرم بر میلی لیتر به میزان ۵۰ درصد (LD_{50}) بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون در محیط آزمایشگاهی، متوقف نماید (۲۶). شایان ذکر است که در مطالعات صورت گرفته روی تریکوموناس واژینالیس، از روش و از زمان‌های انکوباسیون متفاوتی استفاده شده است و به پیروی از آن نتایج مطالعات نیز متفاوت و به صورت درصد ممانعت از رشد یا Growth inhibitory percent، IC_{50} ، IC_{90} ، LD_{50} و MIC منتشر شده است. این موضوع مقایسه میزان توان ضدتریکومونیایی گیاهان مورد مطالعه را تا حدودی دشوار کرده است. در مطالعه حاضر سعی شد از روش استاندارد و پیشنهادی CDC که جهت تعیین

2. World Health Organization (WHO) 2012. Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections—2008. Geneva 2012; Available from: <http://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/stisestimates/en/index.html>.
3. Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11(2): 300-17.
4. Schmid G, Narcisi E, Mosure D, Secor WE, Higgins J, Moreno H. Prevalence of metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis* in a gynecology clinic. *J Reprod Med* 2001; 46(6): 545-9.
5. Workowski KA, Berman SM. Centers for Disease Control and Prevention sexually transmitted disease treatment guidelines. *Clin Infect Dis* 2011; 53(suppl 3): S59-S63
6. Dastan D, Salehi P, Aliahmadi A, Gohari AR, Maroofi H, Ardalan A. New coumarin derivatives from *Ferula pseudalliacea* with antibacterial activity. *Nat Prod Res* 2016; 30(24): 2747-53.
7. Majdi M, Dastan D, Maroofi H. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Ballota nigra* Subsp. *kurdica* From Iran. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2016; (In Press): e36314.
8. Abdali E, Javadi S, Akhgari M, Hosseini S, Dastan D. Chemical composition and biological properties of *Satureja avromanica* Maroofi. *J Food Sci Technol* 2017; 54(3): 727-34.
9. Dastan D, Salehi P, Maroofi H. Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities on *Laserpitium carduchorum* Hedge & Lamond Essential Oil and Extracts During Various Growing Stages. *Chem Biodivers*. 2016; 13(10): 1397-403.
10. Salehi L, Asghari G, Yousofi H, Yousofi-Darani H. [The Effects of Different Extracts of *Viola Odorata* on *Trichomonas Vaginalis* in Culture Medium]. *J Isfahan Med Sch* 2014; 31(266): 2139-2148.
11. Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago*

میزان حساسیت دارویی تریکوموناس واژینالیس ارائه شده، استفاده شود و بر همین اساس در این مطالعه تاکید بر MIC بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون بود تا نتایج حاصل استانداردتر و قابل مقایسه با نتایج آزمون تعیین حساسیت داروی مترونیدازول باشد. از دیگر چالش‌های مطالعات انجام شده عدم استفاده از ایزوله‌های استاندارد و مقاوم به مترونیدازول می‌باشد که در مطالعه حاضر سعی گردید به جای استفاده از یک ایزوله تریکوموناس واژینالیس، از پنج ایزوله انگل استفاده گردد که این امر محدودیت مطالعات قبلی را تا حدی جبران می‌نماید.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که بارهنگ سرنیزه‌ای دارای فعالیت ضد تریکومونایی قابل ملاحظه‌ای بوده و این گیاه توان لازم برای تحقیقات بیشتر در این زمینه و بررسی فعالیت ضد میکروبی و هم چنین استخراج و خالص سازی جزء یا اجزاء موثر آن و انجام مطالعات تکمیلی بر روی آن‌ها را دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته انگل‌شناسی بوده که بدین وسیله نویسندگان مراتب سپاس‌گزاری خود را از معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی همدان به دلیل حمایت مالی (شماره طرح ۹۵۰۷۱۳۴۱۳۱) و معنوی از این طرح تحقیقاتی، اعلام می‌دارند. در ضمن از کلیه همکاران آزمایشگاه‌های دانشکده پزشکی و دارو سازی دانشگاه علوم پزشکی همدان که در انجام این تحقیق ما را یاری نموده‌اند، نهایت سپاس‌گزاری و قدردانی را داریم.

منابع

1. Schwebke JR, Burgess D. Trichomoniasis. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17(4): 794-803.

- major L. A review. *J Ethnopharmacol* 2000; 71: 1-21.
12. Matini M, Rezaie S, Mohebbali M, Maghsood AH, Rabiee S, Fallah M, et al. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* Infection in Hamadan City, Western Iran. *Iranian J Parasitol* 2012; 7(2): 67-72.
13. Matini M, Maghsood AH, Mohebbali M, Rabiee S, Fallah M, Rezaie S, et al. In Vitro Susceptibility of Iranian Isolates of *Trichomonas vaginalis* to Metronidazole. *Iran J Parasitol* 2016; 11(1): 46-51.
14. Ghahremani-majd H, Dashti F, Dastan D, Mumivand H, Hadian J, Esna-Ashari M. Antioxidant and antimicrobial activities of Iranian mooseer (*Allium hirtifolium* Boiss) populations. *Hortic Environ Biotechnol* 2012; 53(2): 116-22.
15. Dunne RL, Dunn LA, Upcroft P, O'Donoghue PJ, Upcroft JA. Drug resistance in the sexually transmitted protozoan *Trichomonas vaginalis*. *Cell Res* 2003; 13(4): 239-249.
16. Braga FG, Bouzada ML, Fabri RL, de O Matos M, Moreira FO, Scio E et al. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *J Ethnopharmacol* 2007; 4;111(2): 396-402.
17. Bahraminejad S, Amiri R, Ghasemi S, Fathi N. Inhibitory effect of some Iranian plant species against three plant pathogenic fungi. *Intl J Agri Crop Sci* 2013; 5(9): 002-1008.
18. Ferrazzano GF, Cantile T, Roberto L, Ingenito A, Catania MR, Roschetto E et al. Determination of the in vitro and in vivo antimicrobial activity on salivary Streptococci and Lactobacilli and chemical characterisation of the phenolic content of a *Plantago lanceolata* infusion. *Biomed Res Int* 2015; 2015.
19. Moon T, Wilkinson JM, Cavanagh HMA. Antiparasitic activity of two *Lavandula* essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis* and *Hexamita inflata*. *Parasitol Res* 2006; 99(6): 722-728.
20. Calzada F, Yepez-Mulia L, Tapia-Contreras A. Effect of Mexican medicinal plant used to treat trichomoniasis on *Trichomonas vaginalis* trophozoites. *J Ethnopharmacol* 2007; 113(2): 248-251.
21. Ertabaklar H, Kivcak B, Mert T, Ozensoy S. In vitro Activity of *Arbutus unedo* Leaf Extracts against *Trichomonas vaginalis* Trophozoites. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2009; 33(4): 263-265.
22. Moraes MEA, Cunha GH, Bezerra MM, Fechine RV, Pontes AV, Andrade WS, et al. Efficacy of the *Mentha crispa* in the treatment of women with *Trichomonas vaginalis* infection. *Arch Gynecol Obstet* 2012; 286(1): 125-130.
23. Taran M, Rezaeian M, Izaddoost M. In vitro Antitrichomonas Activity of *Allium hirtifolium* (Persian Shallot) in Comparison with Metronidazole. *Iranian J Publ Health* 2006; 35(1): 92-94.
24. Hassani S, Asghari G, Yousefi H, Kazemian A, Rafieiean M, Yousofi Darani H. Effects of different extracts of *Eucalyptus camaldulensis* on *Trichomonas vaginalis* parasite in culture medium. *Adv Biomed Res* 2013; 2: 47.
25. Naemi F, Asghari G, Yousofi H, Yousefi HA. Chemical composition of essential oil and anti trichomonas activity of leaf, stem, and flower of *Rheum ribes* L. extracts. *Avicenna J Phytomed* 2014; 4(3): 191-199.
26. Khanmohammadi M, Ganji S, Reyhani-Rad S. Anti-protozoan Effects of Methanol Extracts of the *Ferula szowitsiana* on the *Trichomonas Vaginalis* Trophozoites in vitro. *IJWHRS*. 2014; 2(5): 301-306.