Archive of SID

Arak Medical University Journal (AMUJ)
2017; 20(123): 74-82

Original Article

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

Mohammad Matini[1*], Samira Bakhtiarnejad[2], Dara Dastan [3], Amir Hossein Maghsood[4], Mohammad Fallah[5]

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

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:42 +0330 on Monday September 25th 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* isoleates subjected to extract suscebtibility 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 suscebtibility testing showed that the *T. vaginalis* isoleates were susceptibale 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* hav e 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

www.SID.ir

Archive of SID

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۲۰، شماره ۶ (شماره پیاپی ۱۲۳)، شهریور ۱۳۹۶، ۸۲-۷۴

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:42 +0330 on Monday September 25th 2017

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

محمد متینی[1*]، سمیرا بختیارنژاد[2]، دارا دستان[3]، امیر حسین مقصود [4]، محمد فلاح[5]

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 فارماکوگنوزی ، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و فرآورده های 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: تریکومونیازیس از عفونت‌های جنسی شایع و غیرویروسی در جهان است. هدف از این تحقیق، بررسی میزان تأثیر عصاره‌های بارهنگ سرنیزه‌ای 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 سرنیزه‌ای، غلظت‌هایی از عصاره‌ها تهیه و برروی 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 سرنیزه‌ای دارای اثر ضدتریکومونیایی بوده، به‌طوری‌که بعد از ۴۸ ساعت مجاورت انگل با عصاره‌ها، بیش ترین اثر مهارکنندگی به عصاره اتیل‌استاتی با حداقل غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و میانگین ۱۵۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر مربوط بود. هم چنین کم ترین فعالیت ضدتریکومونیایی به عصارهای هیدروالکی و متانولی با حداقل غلظت و میانگین ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر مربوط بود. نتایج آزمون حداقل غلظت کشندگی برای عصاره‌ها هم مشابه 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 ± ۴/۲ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین گردید.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که ترکیبات موجود در عصاره بارهنگ سرنیزه‌ای دارای توان ضدتریکومونیایی قابل ملاحظه‌ای می‌باشند که نیازمند انجام مطالعات بیشتر و کامل‌تر بر روی اجزای تشکیل دهنده این ترکیبات و مشخص نمودن خصوصیات ضدمیکروبی آن‌ها است.

واژگان کلیدی: بارهنگ سرنیزه‌ای، تریکوموناس واژینالیس، عصاره، مترونیدازول

***نویسنده مسئول:** ایران، همدان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی

Email: matini@umsha.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:42 +0330 on Monday September 25th 2017

مقدمه

تریکومونیازیس یکی از عفونت‌های مقاربتی غیرویروسی 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 تریکومونیازیس در جهان ۲۷۶/۴ میلیون مورد در سال برآورد شده است که این میزان بیشتراز سایر عفونت‌های منتقل‌شونده از راه تماسی جنسی مانند گنوره، سیفلیس و عفونت کلامیدیایی می‌باشد(۲). عفونت با این تک‌یاخته می‌تواند به اشکال بالینی مختلف مشاهده گردد به‌طوری‌که 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 تریکومونیازیس، از مسائل پیش‌روی استفاده از مترونیدازول برای درمان این عفونت می‌باشد.گزارش‌های مربوط به تریکومونیازیس مقاوم به درمان از سال‌های اولیه استفاده از مترونیدازول، منتشر گردیده و این موارد همواره در حال افزایش بوده است به‌طوری‌که مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها در آمریکا (CDC) برآورد نموده است که ۲ تا ۵ درصد ایزوله های بالینی دارای سطحی از مقاومت به مترونیدازول می باشند (۴، ۵).

بنابراین با توجه به محدودیت‌های موجود در رابطه با درمان دارویی تریکومونیازیس، 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 ضدمیکروبی 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، بیماری های‌عفونی، رفع اختلالات دستگاه گوارش، تنفس و گردش خون، و همچنین به‌عنوان تب‌بر استفاده می‌گردد (۱۱). با توجه به وجود ظرفیت ضدمیکروبی بارهنگ سرنیزه‌ای و به‌دلیل این که تاکنون اثرات ضدتریکومونیایی 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 روش ها

این تحقیق که از نوع آزمایشگاهی بوده، بر روی پنج ایزوله انگل تریکوموناس واژینالیس جداشده از افراد آلوده، در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام گردید. روش آزمایش گسترش مرطوب و کشت گزنیک 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

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:42 +0330 on Monday September 25th 2017

روند کشت اگزنیک 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 تائید آن توسط متخصص گیاه‌شناس مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان، شماره هرباریومی MPH-5381 به آن اختصاص داده شد. گیاه پس ازجمع‌آوری 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 قرارگرفت. ابتدا گیاه خشک شده، آسیاب گردید و ۱۰۰ گرم از پودر حاصل با حلال‌های هگزان (H)، اتیل‌استات (E)، متانول (M) و مخلوط آب/متانول (۷۰/۳۰) (حلال هیدرو الکلی) در دمای اتاق به مدت ۷۲ ساعت خیسانده شد (Maceration) وپس از صاف کردن عصاره-های 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 فیلترسرنگی (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 یاMIC در نظر گرفته شد (۱۵). آزمون حداقل غلظت کشندگی یا MLC که به‌منظور تائید اثر عصاره‌های مورد آزمایش بر انگل، مورد استفاده قرار گرفت، بدین صورت انجام شد که پس از قرائت نتایج آزمون MIC (بعداز 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 MLC 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 ($۱۰^{۵} \times ۱$ سلول در هر چاهک آزمون) و در فاز رشد لگاریتمی، جهت آزمون تعیین حساسیت مورد استفاده قرار گرفتند. محلول عصاره‌ها نیز به‌این‌صورت آماده گردید که ابتدا غلظت ۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر در حلال دی‌متیل‌سولفوکساید (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 قرارداده شد و بعد از سپری شدن زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌وسیله میکروسکوپ معکوس از نظر تحرکت 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 $p<۰/۰۵$ به‌منظور مقایسه میانگین‌های MIC عصاره‌های مورد آزمایش، مورد استفاده قرار گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:42 +0330 on Monday September 25th 2017

یافته‌ها

جهت تعیین میزان اثر عصاره‌های هگزانی، اتیل‌استاتی، 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 اتیل‌استاتی (MIC=۱۰۰۰ µg/ml) و کمترین تاثیر مربوط به عصاره متانولی و هیدروالکلی (MIC=۴۰۰۰ µg/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 به‌طوری‌که بعد از ۴۸ ساعت بیشترین تاثیر مربوط به عصاره اتیل‌استاتی (MIC=۵۰۰ µg/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)، به‌دست 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 ۴/۲ 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
اتیل‌استاتی	۱۰۰۰	۴۰۰۰	۳۱۵۰±۱۰۸۹	
هگزانی	۲۰۰۰	۴۰۰۰	۲۷۰۰±۹۷۸	
متانولی	۴۰۰۰	۴۰۰۰	۴۰۰۰±۰	p<۰/۰۰۱
هیدروالکلی	۴۰۰۰	۴۰۰۰	۴۰۰۰±۰	
مترونیدازول	۱۲/۵	۱۲/۵	۱۲/۵±۰	

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
اتیل‌استاتی	۵۰۰	۲۰۰۰	۱۵۲۵±۶۱۷	
هگزانی	۱۰۰۰	۴۰۰۰	۱۸۵۰±۱۰۳۹	
متانولی	۲۰۰۰	۲۰۰۰	۲۰۰۰±۰	p<۰/۰۰۱
هیدروالکلی	۲۰۰۰	۲۰۰۰	۲۰۰۰±۰	
مترونیدازول	۳/۱	۶/۲	۴/۲±۱/۵	

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:42 +0330 on Monday September 25th 2017

بحث

استفاده از مترونیدازول جهت درمان تریکومونیازیس 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 به‌طوری‌که بعضی از محققین میزان تریکومونیازیس مقاوم به درمان را در ایالات متحده تا ۱۰ درصد تخمین زده‌اند (۱۵). مسئله مقاوت دارویی نه تنها در رابطه با درمان تریکومونیازیس مطرح است بلکه در خیلی از بیماری های عفونی دیگر نیز مطرح بوده و مقاومت روبه افزایش عوامل عفونی بیماریزا 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 هم‌چنین 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 ضدتریکومونیایی بارهنگ سرنیزه‌ای است، نتایج حاصل نشان داد که عصاره‌های اتیل‌استاتی، هگزانی، متانولی و هیدروالکلی آن دارای فعالیت ضدتریکومونیایی بوده و این ترکیبات می‌توانند مانع رشد و حرکت تریکوموناس واژینالیس در محیط برون‌تنی 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. به‌طوری‌که بعد از ۷۲ ساعت مجاورت عصاره و انگل، مشاهده شد که همه عصاره‌ها در غلظت‌های کم‌تری 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 این‌که 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 ضدتریکومونیایی عصاره‌های مورد آزمایش داشت، بنابراین در این مطالعه با توجه به روش پیشنهادی CDC، معیار تاثیر ضدتریکومونیایی عصاره‌ها بر اساس MIC بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون آن‌ها بوده و برهمین اساس بیشترین تاثیر ضدتریکومونیایی نیز برای عصاره اتیل‌استاتی با میانگین MIC معادل ۱۵۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر به‌دست آمد. در این مطالعه یکسان بودن نتایج آزمون MLC و MIC نیز نشان از تأثیر صددرصدی 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 ضدمیکروبی بارهنگ سرنیزه‌ای صورت گرفته است که نشان دهنده اثر ضدقارچی، ضدلیشمانیایی و ضدباکتریایی این گیاه می‌باشد. فعالیت ضدمیکروبی این گیاه را می‌توان ناشی از اثرات ترکیبات زیست‌فعالی مانند آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، تری‌ترپونوئیدها، تانن‌ها، کمارین‌ها و آنتراکوینون‌ها 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 ضدمیکروبی 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

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:42 +0330 on Monday September 25th 2017

انکوباسیون، اسانس این دو گونه گیاه می‌تواند باعث مرگ همه انگل‌ها در محیط آزمایشگاهی گردند و این گیاه علاوه بر تاثیرات ضدتریکومونیایی، برعلیه ژیاردیا 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 خربزه درختی (Carica papaya) با IC50=۵/۶ µg/ml و دیگری فیبر پوسته نارگیل (*Cocos nucifera*) با IC50=۵/۸ µg/ml، داشتند(۲۰). در یک مطالعه دیگر که با گونه درخت توت فرنگی (*Arbutus unedo*) بر روی این انگل انجام شده است، عصاره اتیل‌استاتی برگ این گیاه در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر دارای ۱۰۰ درصد اثر ممانعت کنندگی از رشد تریکوموناس واژینالیس درمحیط کشت می باشد (۲۱). در یک مطالعه درون‌تنی 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 سکنیدازول (یکی دیگر از ترکیبات ۵-نیترواِیمیدازول) مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه میزان بهبودی در گروه زنان آلوده درمان شده با سکنیدازول ۹۶/۶ درصد بود و میزان بهبودی در گروه دیگر زنان آلوده‌ای که با عصاره *Mentha crispa* درمان شده بودند، ۹۰ درصد به‌دست آمد که اختلاف معنی‌دار ازلحاظ آماری بین این دو گروه مشاهد 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 برون‌تنی تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر مهار رشد این انگل دارد که به‌ترتیب 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 گونه های جنس *Allium* ناشی از ترکیبات ارگانوسولفوره‌ای مانند آجوئن (ajoene) و آلیسین (*allicin*) است که خواص ضدمیکروبی 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 اتیل‌استاتی گیاه مذکور در غلظت ۱۲/۵ 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 نائمی 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). خان‌محمدی 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 به‌طور کامل و در غلظت ۰/۳۶ میلی گرم بر میلی لیتر به میزان ۵۰ درصد (LD50) بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون در محیط آزمایشگاهی، متوقف نماید (۲۶) .شایان ذکر است که در مطالعات صورت‌گرفته 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 ، IC50، IC90 ، LD50 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

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:42 +0330 on Monday September 25th 2017

میزان حساسیت دارویی تریکوموناس واژینالیس ارائه شده، استفاده شود و برهمین 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 انجام‌شده 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.

نتیجه‌گیری

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

تشکرو قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته انگل‌شناسی بوده که بدین‌وسیله نویسندگان مراتب سپاس گزاری 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 آزمایشگاهای 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.

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. Salehi1 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

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 14:42 +0330 on Monday September 25th 2017

major L. A review. J Ethnopharmacol 2000; 71: 1–21.
12. Matini M, Rezaie S, Mohebali 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, Mohebali 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, Roscetto E et al. Determination of the in vitro and in vivo antimicrobial activity on salivary Streptococci andLactobacilli 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. Invitro 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.

www.SID.ir