

تأثیر عصاره‌ی الکلی پیاز (*Allium cepa*)، لعل کوهستان*(Oliveria decumbens Vent)* و سنبلک (*Muscari neglectum*) بر رشد تریکوموناسواژینالیس در شرایط *In vitro*

زهرة فخریه کاشان^۱، دکتر محسن اربابی^۲، دکتر مهدی دلاوری^۳، دکتر حسین هوشیار^۴، دکتر محسن تقی‌زاده^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: تریکوموناس واژینالیس تک یاخته‌ی تاژک‌دار بیماری‌زای دستگاه ادراری- تناسلی انسان است. هر ساله بیش از ۱۷۰ میلیون نفر در دنیا به این بیماری انگلی مبتلا می‌گردند. با توجه به عوارض جانبی مترونیدازول به عنوان داروی رایج این بیماری، در این مطالعه اثر عصاره‌ی الکلی پیاز (*Allium cepa*)، لعل کوهستان (*Oliveria decumbens Vent*) و کلاغک یا سنبلک (*Muscari neglectum*) بر رشد انگل تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی در سال ۱۳۹۲ بررسی گردید.

روش‌ها: این تحقیق با طراحی تجربی به صورت برون‌تنی روی ایزوله‌های تریکوموناس واژینالیس جدا شده از بیماران مراجعه کننده به ۵ مرکز بهداشتی- درمانی کاشان در سال ۱۳۹۲ صورت گرفت. تأثیر غلظت‌های مختلف از عصاره‌های الکلی پیاز، لعل کوهستان، کلاغک یا سنبلک با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر رشد تروفوزوئیت‌های تریکوموناس واژینالیس در ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از کشت سنجیده شد. همچنین تأثیر مترونیدازول به عنوان شاهد مثبت در غلظت‌های ۰/۰۲۵، ۰/۰۵۰، ۰/۱۰۰، ۰/۲۰۰ و ۰/۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر انگل مورد بررسی قرار گرفت. در همه‌ی موارد، تأثیر عصاره‌ها و دارو با شمارش و مقایسه‌ی تعداد انگل زنده و مرده با استفاده از رنگ‌آمیزی تریپان بلو محاسبه گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز آماری ANOVA (Analysis of variance) تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: عصاره‌های الکلی پیاز، لعل کوهستان، کلاغک یا سنبلک بر رشد تروفوزوئیت‌های تریکوموناس واژینالیس اثر ممانعت‌کنندگی دارد. IC_{۵۰} (Half maximal inhibitory concentration) عصاره‌های الکلی گیاهان مورد بررسی و مترونیدازول ۲۴ ساعت پس از کشت به ترتیب برای عصاره‌ی الکلی لعل کوهستان ۱۰۱/۸، عصاره‌ی الکلی پیاز ۵۷۲/۳، عصاره‌ی الکلی سنبلک ۳۲۹/۴ و برای مترونیدازول ۰/۰۳۲۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید.

نتیجه‌گیری: عصاره‌های الکلی پیاز، لعل کوهستان و کلاغک یا سنبلک اثر ضد تریکوموناسی دارند. خصوصیات ضد تریکوموناسی عصاره‌ی الکلی لعل کوهستان، به مراتب بیشتر از عصاره‌ی الکلی پیاز و سنبلک می‌باشد. تحقیقات بیشتر بر روی اجزای تشکیل دهنده‌ی هر یک از عصاره‌ها جهت مطالعات بعدی لازم می‌باشد.

واژگان کلیدی: تریکوموناس واژینالیس، عصاره‌ی الکلی، لعل کوهستان، پیاز، سنبلک

ارجاع: فخریه کاشان زهره، اربابی محسن، دلاوری مهدی، هوشیار حسین، محسن تقی‌زاده. تأثیر عصاره‌ی الکلی پیاز (*Allium cepa*)، لعل کوهستان (*Oliveria decumbens Vent*) و سنبلک (*Muscari neglectum*) بر رشد تریکوموناس واژینالیس در شرایط

In vitro. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۳۱۰): ۱۹۹۲-۱۹۸۵

۱- کارشناس ارشد، گروه انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲- استادیار، گروه انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۳- استاد، گروه انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۴- استادیار، گروه تغذیه، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

مقدمه

Trichomonas vaginalis تک یاخته‌ی تاژک‌دار بیماری‌زای دستگاه ادراری - تناسلی انسان می‌باشد که در زنان باعث واژینیت و در مردان اورتریت و پروستاتیت می‌گردد. تریکومونیاژیس بیماری مقاربتی (Sex transmitted disease) دستگاه ادراری - تناسلی است و هر ساله بیش از ۱۷۰ میلیون نفر در دنیا به این بیماری انگلی مبتلا می‌گردند (۱). در نقاط مختلف جهان، میزان آلودگی بسیار متغیر است و در ایران درصد آلودگی بین ۱۵/۷-۲/۱ درصد تعیین شده است (۲). این عفونت، سبب عوارض متعددی از جمله ایجاد ترشحات فراوان، ادرار کردن دردناک، درد پس از مقاربت، پارگی زودرس کیسه‌ی آب، زایمان زودرس و وزن کم جنین در هنگام تولد می‌گردد و احتمال آلودگی به ایدز را افزایش می‌دهد (۳). داروی رایج جهت درمان این بیماری، مترونیدازول است که مقاومت دارویی نسبت به آن از کشورهای مختلف گزارش گردیده است (۴).

مترونیدازول دارای عوارض جانبی شناخته شده‌ای از قبیل سردرد، لکوپنی، تهوع، خشکی زبان و احساس طعم فلزی در دهان می‌باشد (۵).

پیاز (*Allium cepa*) از قدیمی‌ترین سبزی‌های شناخته شده در جهان و ایران و از خانواده‌ی آلیاسه (*Alliaceae*) می‌باشد و به دلیل داشتن آنتی‌بیوتیک، از جنبه‌های دارویی دارای اهمیت است. این گیاه، در درمان بیماری‌های کلیه، مثانه و پروستات در طب سنتی استفاده می‌گردد (۶). لعل کوهستان (*Oliveria decumbens Vent*) گیاهی بوته‌ای و از خانواده‌ی Umbelliferae است که در مناطق جنوبی ایران می‌روید و در درمان بیماری‌های عفونی در طب

سنتی به کار می‌رود. خاصیت ضد باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت و ضد قارچی آن شناسایی شده است. این گیاه، حاوی ترکیباتی مانند تیمول، پاراسیمین، گاما-ترپنین، کارواکرول می‌باشد (۷-۸). کلاغک یا سنبلک (*Muscari neglectum*) از گیاهان بومی مدیترانه می‌باشد. از بافت‌های این گیاه، ماده‌ای به نام موسکارین استخراج می‌گردد (۹).

با توجه به شیوع و عوارض واژینیت تریکومونایی و نظرات متفاوتی که در زمینه‌ی کاربرد و اثربخشی داروهای گیاهی در درمان این بیماری وجود دارد، تحقیق حاضر با هدف تعیین اثربخشی عصاره‌های الکی گیاهان پیاز، لعل کوهستان، کلاغک یا سنبلک، بر رشد انگل تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاه در مقایسه با مترونیدازول به عنوان داروی رایج این بیماری با مقاومت دارویی شناخته شده انجام گردید.

روش‌ها

تحقیق با طراحی تجربی و به صورت برون‌تنی روی ایزوله‌های تریکوموناس واژینالیس جدا شده از بیماران مراجعه کننده به ۵ مرکز بهداشتی - درمانی کاشان شامل بیمارستان شهید بهشتی، بیمارستان شبیه‌خوانی، درمانگاه فرهنگیان، درمانگاه گلابچی و یک آزمایشگاه خصوصی در سال ۱۳۹۲ صورت گرفت. نمونه‌ی مورد نیاز از ترشحات واژینال بخش خلفی سرویکس، توسط متخصص زنان و همچنین رسوب ادرار تهیه گردید. بلافاصله مقداری از نمونه‌ی برداشت شده جهت بررسی میکروسکوپی و بقیه جهت کشت در محیط TYI-S-۳۳ (Trypticase, Yeast extract, Iron-S-۳۳) (۱۰)

و با حجم مساوی از تمام نمونه‌ها به هر چاهک اضافه شد و پس از ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه در انکوباتور با دمای 37°C تعداد انگل زنده‌ی موجود در هر چاهک پلیت در مجاورت رنگ حیاتی (تریپان بلو) روی لام نئوبار شمارش و تمامی این مراحل ۳ بار تکرار شد.

انتخاب زمان‌های بررسی اثر دارو بر اساس مطالعات پایه صورت گرفت و از آن جا که برخی غلظت‌های عصاره‌ها تا ۴۸ ساعت نیز تعداد انگل زنده را به صفر نرسانده بودند، از انجام شمارش در زمان‌های کوتاه خوداری گردید. در هر پلیت ۳ چاهک به انگل و محیط کشت به عنوان شاهد منفی و چاهک بعدی به داروی مترونیدازول و انگل به عنوان گروه‌های شاهد مثبت با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر اختصاص داده شد. پس از مدت زمان‌های مورد نظر، تعداد تروفوزوئیت‌ها در محیط کشت با استفاده از لام نئوبار شمارش شد.

بعد از ۲۴ ساعت از مجاورت انگل با غلظت‌های مختلف عصاره، میزان IC_{50} با استفاده از نرم‌افزار Graph Pad محاسبه گردید. یافته‌های حاصل با استفاده از آزمون آنالیز آماری ANOVA (Analysis of variance) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

عصاره‌ی الکلی لعل کوهستان، رشد انگل را در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از ۱۲ ساعت به صفر رسانید. در صورتی که میانگین تعداد انگل زنده در گروه شاهد منفی $26/1 \pm 1/85$

اختصاص داده شد و توسط متخصص انگل‌شناس، وجود انگل در نمونه مورد تأیید قرار گرفت.

بعد از کشت انگل با پاساژهای مکرر محیط کشت، یک روز در میان (به منظور آگزنیک کردن محیط کشت و حذف سریع‌تر باکتری و قارچ‌های موجود در نمونه‌های بالینی) و اضافه نمودن آنتی‌بیوتیک و آمفوتریپسین B جهت جلوگیری از رشد باکتری و قارچ، محیط کشت حاوی ترکیب‌های واژینالیس به طور کامل آگزنیک و خالص گردید؛ به گونه‌ای که تعداد تروفوزوئیت‌های انگل در هر میلی‌لیتر محیط کشت TYI-S-۳۳ به $10^5 \times 5$ رسیده شود. تعداد $10^5 \times 5$ تروفوزوئیت انگل در هر میلی‌لیتر محیط کشت TYI-S-۳۳ شمارش و مقدار $100 \mu\text{l}$ از محیط محتوی انگل به هر چاهک پلیت ۴۸ خانه‌ای کشت سلولی اضافه گردید.

پس از تأیید اصالت گیاهان توسط کارشناس مرکز تحقیقات کشاورزی، گیاه خشک آسیاب شد و طبق استانداردهای British Pharmacology عصاره‌گیری به روش پرکولاتور و با الکل اتانول ۷۰ درصد انجام گردید. ترکیب حلال با پودر گیاه به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد و سپس عصاره‌ی الکلی با استفاده از کاغذ صافی به میزان ۱ به ۱ حجمی تهیه گردید. عصاره‌ی به دست آمده داخل اتو 60°C مجهز به سیستم تهویه قرار داده شد تا غلظت ماده‌ی خشک آن افزایش یابد. در این دما، تبخیر سریع‌تر صورت می‌گیرد. به منظور تعیین میزان ماده‌ی خشک، رطوبت نمونه‌ی عصاره تعیین گردید (۱۱).

از هر کدام از غلظت‌های عصاره‌ی الکلی پیاز، لعل کوهستان و سنبلک، با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

همچنین، نشان داده شد که مترونیدازول بعد از ۲۴ ساعت و در غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بالاتر، تعداد انگل را به صفر می‌رساند. بر اساس تعداد انگل زنده، پس از ۲۴ ساعت مجاورت با غلظت‌های مختلف عصاره‌ای الکی لعل کوهستان، پیاز، سنبلک میزان IC₅₀ برای مترونیدازول پس از ۲۴ ساعت، ۰/۰۳۲۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای عصاره‌ی الکی لعل کوهستان ۱۰۱/۸ و عصاره‌ی الکی پیاز ۵۷۲/۳ و عصاره‌ی الکی سنبلک ۳۲۹/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. بعد از ۴۸ ساعت مترونیدازول در تمام غلظت‌ها تعداد انگل را صفر کرده بود.

بود ($P < 0/050$)؛ اما این عصاره‌ی الکی بعد از ۴۸ ساعت در غلظت‌های ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به بالا تعداد انگل را به صفر رسانید ($P < 0/050$). عصاره‌ی الکی پیاز، رشد انگل را در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از ۴۸ ساعت به $1/05 \pm 10/20$ رسانید، در صورتی که تعداد انگل زنده در گروه شاهد منفی، $1/90 \pm 62/06$ بود ($P < 0/050$). عصاره‌ی الکی سنبلک بعد از ۴۸ ساعت در غلظت‌های ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به $1/33 \pm 0/57$ رسید؛ هم‌زمان، در گروه شاهد منفی، تعداد انگل زنده $1/90 \pm 62/06$ بود ($P < 0/050$).

جدول ۱. مقایسه‌ی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی الکی لعل بر رشد و بقای تریکوموناس واژینالیس ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت در *In vitro*

غلظت (µg/ml)	تعداد تروفوزیوت $\times 10^4$		
	۱۲ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
۱۲/۵	$21/70 \pm 1/57$	$27/06 \pm 1/90$	$43/43 \pm 3/90$
۲۵	$18/03 \pm 1/95$	$25/06 \pm 1/90$	$42/36 \pm 4/21$
۵۰	$14/96 \pm 1/85$	$24/03 \pm 1/95$	$30/10 \pm 2/85$
۱۰۰	$9/03 \pm 1/95$	$15/10 \pm 2/05$	$21/90 \pm 30/10$
۲۰۰	$6/00 \pm 1/90$	$10/03 \pm 1/95$	$4/03 \pm 1/95$
۴۰۰	$5/60 \pm 1/21$	$7/00 \pm 2/00$	۰
شاهد منفی	$26/10 \pm 1/85$	$31/03 \pm 1/95$	$62/06 \pm 1/90$
مقایسه‌ی آماری گروه‌ها	$P < 0/050$		

جدول ۲. مقایسه‌ی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی الکی پیاز بر رشد و بقای تریکوموناس واژینالیس ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت در *In vitro*

غلظت (µg/ml)	تعداد تروفوزیوت $\times 10^4$		
	۱۲ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
۱۲/۵	$26/13 \pm 1/65$	$31/26 \pm 1/22$	$61/00 \pm 1/53$
۲۵	$25/00 \pm 1/00$	$29/26 \pm 1/40$	$58/03 \pm 1/95$
۵۰	$24/33 \pm 3/20$	$26/23 \pm 1/70$	$53/00 \pm 1/00$
۱۰۰	$20/16 \pm 0/76$	$24/40 \pm 1/86$	$50/3 \pm 4/17$
۲۰۰	$17/06 \pm 1/90$	$20/33 \pm 2/80$	$35/06 \pm 1/33$
۴۰۰	$13/90 \pm 1/95$	$18/23 \pm 1/90$	$25/30 \pm 1/75$
۸۰۰	$12/03 \pm 2/05$	$15/30 \pm 1/90$	$16/10 \pm 1/85$
۱۰۰۰	$8/93 \pm 1/90$	$14/00 \pm 1/80$	$10/2 \pm 1/05$
شاهد منفی	$26/10 \pm 1/85$	$10/3 \pm 1/95$	$62/06 \pm 1/90$
مقایسه‌ی آماری گروه‌ها	$P < 0/050$		

جدول ۳. مقایسه‌ی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی الکی سنبلک بر رشد و بقای تریکوموناس واژینالیس ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت در *In vitro*

غلظت (µg/ml)	تعداد تروفوزئیت $\times 10^4$		
	۱۲ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
۱۲/۵	$26/03 \pm 1/85$	$30/06 \pm 2/90$	$59/10 \pm 2/05$
۲۵	$25/1 \pm 0/85$	$30/06 \pm 0/90$	$49/06 \pm 2/10$
۵۰	$24/93 \pm 1/9$	$27/00 \pm 1/90$	$29/30 \pm 2/60$
۱۰۰	$20/03 \pm 1/95$	$22/00 \pm 1/37$	$29/06 \pm 1/90$
۲۰۰	$16/90 \pm 1/95$	$19/10 \pm 1/95$	$20/03 \pm 1/95$
۴۰۰	$10/06 \pm 1/70$	$14/00 \pm 1/90$	$6/90 \pm 1/85$
۸۰۰	$8/06 \pm 1/90$	$10/20 \pm 1/90$	$1/96 \pm 0/95$
۱۰۰۰	$6/06 \pm 1/90$	$8/06 \pm 1/90$	$1/33 \pm 0/57$
شاهد منفی	$26/1 \pm 1/85$	$31/03 \pm 1/95$	$62/06 \pm 1/90$
مقایسه‌ی آماری گروه‌ها	$P < 0/050$		

بحث

بر اساس مطالعه‌ی حاضر، عصاره‌ی الکی لعل کوهستان در غلظت‌های ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعداد انگل را به صفر رسانید و IC_{50} بعد از ۲۴ ساعت، $10/1/8$ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. در مورد عصاره‌ی الکی سنبلک، با گذشت ۴۸ ساعت در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تعداد $1/33 \pm 0/57$ انگل زنده یافت شد و میزان IC_{50} بعد از ۲۴ ساعت، $329/4$ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد. در مورد عصاره‌ی الکی پیاز، بعد از ۴۸ ساعت در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تعداد $10/2 \pm 1/05$ انگل زنده یافت گردید و میزان IC_{50} بعد از ۲۴ ساعت، $572/3$ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. میزان IC_{50} بعد از ۲۴ ساعت برای داروی مترونیدازول، $0/0326$ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. میزان اثر سه عصاره بر روی انگل تریکوموناس واژینالیس متفاوت از یکدیگر بود که نشان دهنده‌ی ترکیبات شیمیایی متفاوت و خاص هر یک از این گیاهان نسبت به یکدیگر می‌باشد.

Calzada و همکاران در مکزیك عصاره‌ی الکی خام ۲۲ گیاه دارویی را روی رشد تریکوموناس واژینالیس مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج این تحقیق، *Carica papaya* و *Cocos nucifera* بیشترین فعالیت ضد تریکوموناسی را با $5/6-5/8 \mu\text{g/ml}$: IC_{50} نشان دادند که در مقایسه با تحقیق حاضر، اثرات ضد انگلی مؤثرتری داشتند. مطالعه‌ی Calzada و همکاران، IC_{50} مترونیدازول را $0/037 \mu\text{g/ml}$ نشان داد (۱۲).

Ahmed در دانشگاه Ain shams قاهره اثر عصاره‌ی سیر و پیاز بر رشد تریکوموناس واژینالیس را در شرایط آزمایشگاهی بررسی و مشاهده نمود که سیر، حدود $3/7$ برابر قوی‌تر از پیاز اثر ضد تریکوموناس واژینالیس دارد (۱۳). بر اساس بررسی مؤمنی و زمان‌زاد، عصاره‌ی پیاز بر روی باکتری‌های اشرشیاکلی، اورئوس و پسودوموناس آئروژنیوزا و قارچ کاندیدا آلبیکنس جدا شده از نمونه‌های ادراری افراد مبتلا به عفونت ادراری-تناسلی مؤثر گزارش گردید (۱۴).

بر اساس پژوهش محبوبی و همکاران اسانس گیاه

همکاران در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که ترکیبات پیاز مانند آلیسین و آجوئین که از گیاه *Allium hirtifolium* استخراج می‌شوند، می‌توانند اثر ضد تریکوموناس واژینالیس در مقایسه با مترونیدازول داشته باشند (۱۹). سرشتی و همکاران با بررسی تأثیر عصاره‌ی آبی و اتانولی سرشاخه‌های هوایی گیاه چای کوهی بر تریکوموناس واژینالیس، این عصاره‌ها را بر انگل تریکوموناس بی‌تأثیر گزارش نمودند (۲۰).

این مطالعه به روشنی نشان داد که عصاره‌ی الکلی لعل کوهستان در مقایسه با عصاره‌ی الکلی پیاز و عصاره‌ی الکلی سنبلک بر مهار رشد و تکثیر تک یاخته‌ی بیماری‌زای تریکوموناس واژینالیس مؤثرتر می‌باشد. با توجه به شیوع بالای تریکومونیاژیس و عوارض جانبی داروی مترونیدازول به عنوان خط مقدم درمان، تحقیقات بیشتر از جمله مطالعه بر روی اجزای تشکیل دهنده‌ی هر یک از عصاره‌ها جهت مطالعات بعدی لازم می‌باشد.

تشکر و قدردانی

ضمن قدردانی از کلیه‌ی کسانی که در انجام این تحقیق همکاری نموده‌اند، از سرکار خانم زینب جونیدی و سرکار خانم دکتر فاطمه سلیمانی به طور ویژه سپاسگزاری می‌گردد.

لعل کوهستان بر گروهی وسیعی از میکروارگانسیم‌ها شامل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و مخمر مؤثر می‌باشد (۱۵). در دهه‌های اخیر، مطالعات بی‌شماری برای انتخاب اثر گیاهان علیه انگل تریکومونالیس واژینالیس انجام گرفته است. ضیایی و همکاران در مطالعه‌ای، تأثیر گیاهان درمنه‌ی کوهی، آویشن شیرازی و مورد را روی تریکوموناس واژینالیس در محیط کشت بررسی نمودند و به این نتیجه رسیدند که هر سه گیاه، تأثیر قابل توجهی بر انگل دارند و سبب از بین رفتن انگل در محیط کشت می‌شوند (۱۶). حسنی و همکاران تأثیر عصاره‌های مختلف اکالیپتوس را روی رشد انگل تریکوموناس بررسی نمودند و نشان دادند که این گیاه، در غلظت پایین به صورت صد درصد سبب ممانعت از رشد انگل می‌گردد (۱۷).

Murray در تحقیقات مشابهی تأثیر ریشه، ریزوم و جوانه‌ی *Echinacea* (سرخارگل) و *Angelica* (سنبل ختایی) و برگ و پوسته‌ی *Neurolaena lobata* (گیاه سرخدار)، *Mikania cordifolia* و *Scutia buxifolia* را به صورت *In vitro* مورد بررسی قرار دادند و اثرات داروهای ذکر شده را در توقف رشد و تکثیر تریکوموناس واژینالیس نشان دادند (۱۸). تاران و

References

- Harp DF, Chowdhury I. Trichomoniasis: evaluation to execution. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 157(1): 3-9.
- Rasti S, Taghriri A, Behrashi M. Trichomoniasis in parturients referring to Shabihkhani hospital in Kashan, 2001-02. *Feyz* 2003; 7(2): 21-5. [In Persian].
- Johnston VJ, Mabey DC. Global epidemiology and control of *Trichomonas vaginalis*. *Curr Opin Infect Dis* 2008; 21(1): 56-64.
- Sobel JD, Nyirjesy P, Brown W. Tinidazole therapy for metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis. *Clin Infect Dis* 2001; 33(8): 1341-6.
- Schwebke JR, Barrientes FJ. Prevalence of

- Trichomonas vaginalis isolates with resistance to metronidazole and tinidazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(12): 4209-10.
6. Germplasm Resources Information Network. "Allium cepa information from NPGS/GRIN". USDA, ARS, National Genetic Resources Program [Online]. [cited 2007 Jan 23]; Available from: URL: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?2244>
 7. Amin G, Salehi Sourmaghi MH, Zahedi M, Khanavi M, Samadi N. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Oliveria decumbens*. *Fitoterapia* 2005; 76(7-8): 704-7.
 8. Motamedi H, Darabpour E, Gholipour M, Nezhad SM. Antibacterial effect of ethanolic and methanolic extracts of *plantago ovata* and *oliveria decumbens* endemic in iran against some pathogenic bacteria. *International Journal of Pharmacology* 2010; 6(2): 117-22. [In Persian].
 9. Grey-Wilson C, Mathew B, Blamey M. *Bulbs: the bulbous plants of Europe and their allies*. London, UK: Collins; 1981. p. 115.
 10. Diamond LS, Harlow DR, Cunnick CC. A new medium for the axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other *Entamoeba*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1978; 72(4): 431-2.
 11. Foster S, Tyler VE. *Tyler's honest herbal: A sensible guide to the use of herbs and related remedies*. Hove, UK: Psychology Press; 1999.
 12. 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): 248-51.
 13. Ahmed SA. In vitro effects of aqueous extracts of garlic (*Allium sativum*) and onion (*allium cepa*) on *trichomonas vaginalis*. *Parasitologists United Journal* 2010; 3(1-2): 45-54.
 14. Momeni L, Zamanzad B. The antibacterial properties of *Allium cepa* (onion) and *Zingiber officinale* (ginger) extracts on *Staphylococcus aureus* *Pseudomonas aeruginosa* *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolated from vaginal specimens. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2010; 11(4): 81-7. [In Persian].
 15. Mahboubi M, Feizabadi MM, Haghi G, Hosseini H. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil from *Oliveria decumbens* Vent. *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants* 2008; 24(1): 56-65. [In Persian].
 16. Ziaiye H, Azadbakht M, Abdollahi F, Shabankhani B. Effect of methanolic extracts of *Artemisia aucheri* Boiss, *Zataria multiflora* Boiss and *Myrtus communis* L. on *Trichomonas vaginalis* (In Vitro). *J Gorgan Uni Med Sci* 2006; 8(1): 34-8. [In Persian].
 17. Hassani S, Asghari G, Yousefi H, Kazemian A, Rafieiean M, Darani HY. Effects of different extracts of *Eucalyptus camaldulensis* on *Trichomonas vaginalis* parasite in culture medium. *Adv Biomed Res* 2013; 2: 47.
 18. Murray MT. *Textbook of natural medicine*. London, UK: Churchill Livingstone; 2000.
 19. Taran M, Rezaeian M, Izaddoost M. In vitro Antitrichomonas Activity of *Allium Hirtifloium* (Persian Shallot) in Comparison with Metronidazole. *Iran J Public Health* 2006; 35(1): 92-4.
 20. Sereshti M, Yousofi Darani H, Zebardast N, Rafean M, Manochehre Naeini K, Yousofi H. Effect of Ethanolic and Watery Extract of Aerial Parts of *Stachys Lavandulifolia* on *Trichomonas vaginalis*, In vitro. *J Med Plants* 2012; 11(S8): 159-65. [In Persian].

In-vitro Therapeutic Effect of *Allium Cepa*, *Oliveria Decumbens* Vent and *Muscari Neglectum* against *Trichomonas Vaginalis*

Zohreh Fakhrieh-Kashan MSc¹, Mohsen Arbabi PhD², Mahdi Delavari PhD²,
Hossein Hooshyar PhD³, Mohsen Taghizadeh PhD⁴

Original Article

Abstract

Background: *Trichomonas vaginalis* is a flagellate pathogenic protozoon of human urogenital tract that infect 170 million new cases through the world annually. Considering the side effects of metronidazole, as common drug to treatment of this disease, this study was conducted to evaluate the in-vitro activity of extracts of *Allium cepa*, *Oliveria decumbens* Vent and *Muscari neglectum* against *Trichomonas vaginalis*.

Methods: This experimental study was carried out on *Trichomonas vaginalis* isolated from patients referred to five health centers in Kashan, Iran, in 2013. The effect of alcoholic extract of *Allium cepa*, *Oliveria decumbens* Vent and *Muscari neglectum* on growth of *Trichomonas vaginalis* in concentrations of 12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800 and 1000 µg/ml was evaluated in TYI-s-33 medium after 12, 24 and 48 hours. The results were compared with metronidazole effect in concentrations of 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 µg/ml, as positive control. The number of alive and dead throphozoite measured and compared using trypan blue staining. The half maximal inhibitory concentration (IC50) was determined using GraphPad prism5.

Findings: The alcoholic extracts of *Allium cepa*, *Oliveria decumbens* Vent and *Muscari neglectum* had inhibitory effect on in-vitro growth of *Trichomonas vaginalis*. The IC50 rate was calculated 101.8 for *Oliveria dacumbens* Vent, 572.3 for *Allium cepa* and 329.4 for *Muscari neglectum* after 24 hours. The IC50 rate of mrtonidazole was calculated 0.0326 at the same time.

Conclusion: Alcoholic extracts of *Allium cepa*, *Oliveria dacumbens* Vent and *Muscari neglectum* have antitrichomonal effects; the effect of *Oliveria decumbens* Vent was higher than others. We recommend further studies using major components of these plants, especially *Oliveria dacumbens*, to investigate the antitrichomoniasis effect of it.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*, *Allium cepa*, *Oliveria decumbens* Vent, *Muscari neglectum*, alcoholic extract

Citation: Fakhrieh-Kashan Z, Arbabi M, Delavari M, Hooshyar H, Taghizadeh M. **In-vitro Therapeutic Effect of *Allium Cepa*, *Oliveria Decumbens* Vent and *Muscari Neglectum* against *Trichomonas Vaginalis*.** J Isfahan Med Sch 2015; 32(310): 1985-92

1- Department of Parasitology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Parasitology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

3- Professor, Department of Parasitology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

4- Assistant Professor, Department of Nutrition, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Corresponding Author: Mohsen Arbabi PhD, Email: arbabi4.mohsen@yahoo.com