

## تحقیقی

### اثر عصاره سیر و آنغوزه بر رشد و تکثیر انگل تریکوموناس واژینالیس

دکتر بهادر سرکاری\*<sup>۱</sup>، دکتر حدیثا تدین<sup>۲</sup>، شهربانو عسکریان<sup>۳</sup>، الهام فرنی<sup>۴</sup>، مهرانگیز عسکریان<sup>۵</sup>

۱- دانشیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ۲- پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، ۳- کارشناس میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی یاسوج، ۴- کارشناس آزمایشگاه، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۵- کارشناس ارشد مامایی، دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج.

#### چکیده

**زمینه و هدف:** تریکومونیاژیس بیماری است که توسط انگل تریکوموناس واژینالیس ایجاد می‌شود و پس از عفونت‌های ویروسی، شایع‌ترین بیماری منتقله از راه جنسی می‌باشد. درمان عفونت‌های تریکومونیاژی از طریق تجویز خوراکی مترونیدازول به فرد مبتلا و شریک جنسی او صورت می‌گیرد. با توجه به موارد مقاومت دارویی نسبت به داروی مترونیدازول و تراتوژن بودن احتمالی این دارو، مطالعه و بررسی در خصوص یافتن داروی جایگزین برای درمان تریکومونیاژیس ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه تأثیر عصاره دو گیاه سیر و آنغوزه بر رشد و تکثیر تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی (*In Vitro*) مورد بررسی قرار گرفت.

**روش بررسی:** این مطالعه آزمایشگاهی (*In Vitro*) در دانشکده پزشکی یاسوج طی سال ۱۳۸۶ انجام شد. انگل تریکوموناس واژینالیس در محیط کشت TYI-S-33 رشد داده شد. سپس تأثیر عصاره سیر در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۰۲۵ و ۰/۰۱۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و عصاره آنغوزه در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در فواصل زمانی معین بر رشد انگل مورد بررسی قرار گرفت. تأثیر عصاره بر رشد انگل به وسیله شمارش انگل‌های زنده ۱، ۲ و ۲۴ ساعت پس از تماس صورت گرفت.

**یافته‌ها:** عصاره آنغوزه در غلظت ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به مدت یک ساعت پس از مجاورت با انگل تریکوموناس موجب از بین رفتن ۹۰ درصد از انگل‌ها گردید و عصاره سیر در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دو ساعت پس از مجاورت با انگل‌ها موجب از بین رفتن ۹۵ درصد آنها شد. همچنین عصاره سیر در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۰۲۵ و ۰/۰۱۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر پس از گذشت ۲۴ ساعت حتی در غلظت‌های پایین نیز سبب از بین رفتن ۹۰ درصد انگل‌ها گردید.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد که سیر و آنغوزه دارای اثرات ضد تریکومونیاژی مناسبی در شرایط آزمایشگاهی می‌باشند.

**کلید واژه‌ها:** تریکوموناس واژینالیس، سیر، آنغوزه، تریکومونیاژیس

\* نویسنده مسئول: دکتر بهادر سرکاری، پست الکترونیکی: sarkarib@sums.ac.ir

نشانی: شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پزشکی، گروه انگل‌شناسی، تلفن و نمابر: ۲۳۰۵۲۹۱ (۰۷۱۱)

وصول مقاله: ۸۷/۶/۹، اصلاح نهایی: ۸۸/۵/۱۲، پذیرش مقاله: ۸۸/۵/۱۴

## مقدمه

تریکوموناس واژینالیس تک‌یاخته‌ای متحرک با چهار تاژک و یک هسته قدامی است که تنها به شکل ترفوزوئیت دیده می‌شود. انسان تنها مخزن شناخته شده این تک‌یاخته می‌باشد. در کشورهای توسعه‌یافته بیش از ۵۰ درصد از بیماران مراجعه‌کننده به کلینیک بیماری‌های مقاربتی، به تریکومونیاژیس مبتلا هستند (۱).

واژینیت تریکومونیایی یکی از شایع‌ترین واژینیت‌ها در زنان است. داروی انتخابی برای درمان این بیماری مترونیدازول می‌باشد. اما در سال‌های اخیر گزارشاتی مبنی بر کارسینوژن بودن این دارو و همچنین موارد مقاومت دارویی نسبت به مترونیدازول منتشر گردیده است (۲-۴). این‌گونه موارد ضرورت یافتن داروی جایگزین را برای درمان تریکومونیاژیس که یکی از شایع‌ترین عفونت‌های مقاربتی است؛ مشخص می‌نماید. در این میان گیاهان دارویی به خصوص مواردی که خاصیت ضدانگلی آنها در مطالعات دیگر مشخص گردیده؛ توجه محققین را به خود جلب نموده است.

تاکنون اثرات ضد تریکومونیایی چندگونه گیاهی در سال‌های اخیر گزارش شده است (۵-۹). سیر و آنغوزه از گیاهانی هستند که در طب سنتی به عنوان داروی گیاهی ضدانگل از آنها نام برده می‌شود. عصاره تهیه شده از این دو گیاه در محیط آزمایشگاهی مانع رشد و یا باعث از بین رفتن میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله ژیاودیبا، لیثمانیا و یا کاندیدا شده است (۱۰-۱۲).

آنغوزه (*Freula assafoetida*) گیاهی علفی، دارای ریشه راست و نسبتاً ضخیم است که دارای ساقه‌ای قوی، خشن و فیبری می‌باشد. قسمت مورد استفاده این گیاه رزینی است که از آن به دست می‌آید و تحت نام آنغوزه مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۳). در استان‌های خراسان، سیستان و بلوچستان، کرمان و شهرستان لارستان در استان فارس این گیاه می‌روید.

سیر (*Allium sativum*) گیاهی علفی چندساله از تیره آلاله با ساقه راست، برگ‌هایی باریک و کشیده و گل‌هایی به رنگ سفید مایل می‌باشد. غده‌های زیرزمینی سیر معمولاً دارای چهار تا هشت قطعه لوب متورم است (۱۳). سیر در طب سنتی

به عنوان اشتها آور، کمک‌کننده عمل هضم، پایین آورنده کلسترول خون، پایین آورنده فشارخون و ضدانگل مصرف می‌شود (۱۳). این مطالعه با هدف بررسی تأثیر عصاره دو گیاه سیر و آنغوزه بر رشد و تکثیر تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت.

## روش بررسی

این مطالعه آزمایشگاهی (In Vitro) در دانشگاه علوم پزشکی یاسوج طی سال ۱۳۸۶ انجام شد.

**تهیه عصاره هیدروالکلی سیر:** مقدار یک کیلوگرم سیر تازه محصول کوه دنا (در شهرستان دنا واقع در استان کهگیلویه و بویراحمد) تهیه و به صورت طولی ورقه ورقه شد (شماره هرباریوم ۷۵۰۲ مورد تایید مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کهگیلویه و بویر احمد) و در سایه و هوای خنک به مدت یک هفته خشک گردید. سیرهای خشک شده توسط آسیاب برقی پودر شدند و در نهایت ۱۰۰ گرم پودر سیر به دست آمد. برای تهیه عصاره از روش حق‌پناه استفاده گردید (۷). ابتدا ۵۰ گرم پودر سیر با ۵۰۰ میلی‌لیتر الکل ۷۰ درجه مخلوط و سپس داخل ارلن ۱۰۰۰ سی‌سی ریخته و دهانه آن با پارافیلیم بسته شد و به مدت چهار روز در جای خنک نگهداری گردید. ترکیب حاصل به کمک شش لایه گاز استریل پالایش داده شد و بقایای سیر مجدداً با ۳۰۰ سی‌سی الکل ۷۰ درجه مخلوط گردید و مجدداً به مدت چهار روز در محیط مناسب نگهداری گردید. برای تهیه عصاره از دستگاه عصاره‌گیری Rotary استفاده شد و عصاره نهایی با غلظت ۱ گرم در میلی‌لیتر تهیه گردید. عصاره تهیه شده تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

**تهیه عصاره آنغوزه:** مقدار ۲۵ میلی‌گرم از پودر آنغوزه به ۲۵ سی‌سی آب مقطر اضافه گردید تا غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از آنغوزه (شماره هرباریوم ۴۴۳۵ مورد تایید مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کهگیلویه و بویر احمد) تهیه گردد. برای تهیه عصاره آبی آنغوزه، مخلوط حاصل را در ارلن ۱۰۰ سی‌سی ریختیم و در ظرف را با فویل آلومینیمی بستیم و آن را در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم. پس از مدت ۲۴ ساعت محلول سفیدرنگ را از کاغذ صافی عبور داده و عصاره تهیه شده

کشندگی ۸۰ درصد بوده است (جدول ۱). در مورد عصاره سیر، پس از گذشت یک ساعت تنها در غلظت ۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر ۵۰ درصد انگل ها از بین رفتند و در سایر غلظت ها میزان تحرک انگل ها با گروه کنترل تفاوت خاصی نداشت (جدول ۱). در غلظت ۱/۶ میلی گرم در میلی لیتر مترونیدازول، ۸۰ درصد از انگل ها در ساعت اول از بین رفته بودند. پس از گذشت دو ساعت نمونه های حاوی انگل و عصاره مجدداً شمارش و مشاهده شد که در غلظت ۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر عصاره سیر ۹۵ درصد از انگل ها از بین رفته اند. در حالی که در غلظت های ۰/۰۵، ۰/۰۲۵ و ۰/۰۱۲۵ میلی گرم در میلی لیتر به ترتیب ۹۰ درصد، ۸۰ درصد و ۷۵ درصد انگل ها از بین رفته بودند (جدول ۱).

جدول ۱: درصد میزان کشندگی عصاره آنغوزه و سیر بر انگل تریکوموناس واژینالیس بر حسب زمان

درصد میزان کشندگی بر حسب ساعت	غلظت عصاره (میلی گرم بر میلی لیتر)			
	۱	۲	۲۴	
	۹۰	۹۰	۹۵	آنغوزه
	۸۰	۸۵	۹۰	
	۶۰	۷۰	۸۵	
	۵۰	۹۵	۱۰۰	سیر
	۵	۹۰	۹۸	
	۵	۸۰	۹۸	
	۵	۷۵	۹۰	

۹۰ درصد انگل ها پس از مدت زمان ۲ ساعت در مجاورت عصاره آنغوزه با غلظت ۲ میلی گرم در میلی لیتر از بین رفته بودند و پیشرفتی در میزان کشندگی آن نسبت به ساعت اول ایجاد نشده بود. در لوله های حاوی مترونیدازول با غلظت های ۱ و ۱/۶ میلی گرم در میلی لیتر پس از گذشت دو ساعت به ترتیب ۹۵ درصد و ۹۹ درصد انگل ها از بین رفته بودند. پس از گذشت ۲۴ ساعت و بررسی مجدد نمونه ها؛ ۱۰۰ درصد انگل ها در غلظت ۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر از عصاره سیر از بین رفتند. در حالی که در غلظت های ۰/۰۵، ۰/۰۲۵ و ۰/۰۱۲۵ میلی گرم در میلی لیتر به ترتیب ۹۸ درصد، ۹۰ درصد و ۹۸ درصد انگل ها از بین رفته بودند. در مورد عصاره آنغوزه نیز به ترتیب در غلظت های ۲، ۱ و ۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر ۹۵ درصد، ۹۰ درصد و ۸۵ درصد انگل ها از بین رفته بودند.

برای مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

### روش تهیه محیط TYI-S-33: برای تهیه محیط TYI-S-33

از روش Lawring و همکاران استفاده گردید (۱۴).

### مجاورت انگل و عصاره: انگل تریکوموناس واژینالیس (تهیه

شده از دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران) در محیط TYI-S-33 در بخش انگل شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج کشت داده شد. میزان زنده بودن انگل ها به طور مرتب با استفاده از تحرک انگل و رنگ آمیزی حیاتی اتوزین بررسی گردید. عصاره سیر با غلظت های ۰/۰۱۲۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱ میلی گرم و عصاره آبی آنغوزه با غلظت نهایی ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم و داروی مترونیدازول با غلظت ۱/۶ و ۱ میلی گرم در میلی لیتر به طور جداگانه به لوله های کشت حاوی انگل اضافه گردیدند. از سه لوله کشت حاوی انگل و مواد پایه تهیه شده برای عصاره (آب مقطر در مورد عصاره آنغوزه و محلول ۵ درصد هیدروالکل در مورد عصاره سیر) نیز به عنوان کنترل استفاده گردید. لوله های کشت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و پس از مدت زمان ۲، ۱ و ۲۴ ساعت با تهیه لام های جداگانه از هر کدام از نمونه ها، تعداد انگل های زنده متحرک شمارش گردید. از رنگ آمیزی اتوزین برای شمارش انگل های زنده استفاده شد. به منظور اطمینان یافتن از شمارش انگل ها، در مورد هر نمونه سه لام جداگانه تهیه و میانگین تعداد انگل های شمارش شده ملاک محاسبه قرار گرفت. به منظور یکسان سازی محیط های کشت، تمامی نمونه ها انگل از جمله نمونه کنترل منفی (فاقد عصاره و یا دارو و دارای مواد پایه ای استفاده شده برای عصاره) با غلظت ثابتی از انگل ( $1 \times 10^4$ ) انگل در میلی لیتر) کشت داده شدند. از آزمون اختلاف میانگین ها (One way ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS-13 برای تجزیه و تحلیل نتایج استفاده گردید. ضریب اطمینان مطالعه ۹۵ درصد ( $\alpha=0/05$ ) تعیین شد.

### یافته ها

نتایج حاصل از این مطالعه مشخص نمود که یک ساعت بعد از افزودن عصاره آنغوزه، بیشترین اثر کشندگی (۹۰ درصد) مربوط به عصاره در غلظت های ۲ میلی گرم در میلی لیتر و پس از آن غلظت ۱ میلی گرم در میلی لیتر با میزان

مطالعات مختلف گزارش گردیده است (۱۰ و ۱۱). در تحقیق غضنفری اثر عصاره سیر و اجزای جدا شده از آن بر منحنی رشد انگل لیشمانیا نشان داد که عصاره سیر حاوی ترکیباتی است که قادر به مهار رشد انگل لیشمانیا مازور می‌باشد (۱۱).

نتایج حاصل از مطالعه آزادبخت در خصوص اثرات عصاره مایع حاصل از افشردن پیاز سه گونه گیاهی از جنس سیر روی کیست‌های ژیا ردیا مشخص نمود که عصاره این گیاهان در غلظت‌های مختلف دارای اثر کشندگی از ۳۰ تا ۹۰ درصد می‌باشند (۱۰). نتایج حاصل از مطالعه اخیر با مطالعات ذکر شده در این مورد مطابقت داشته و نشان‌دهنده آن است که سیر روی پاتوژن‌های متفاوتی از جمله تریکوموناس دارای اثر کشندگی می‌باشد. انگل لیشمانیا و تریکوموناس از جهات متعددی از جمله درمان دارویی با هم متفاوتند؛ اما ذکر این نکته حائز اهمیت است که عصاره سیر روی هر دو نوع انگل خاصیت کشندگی یا ممانعت از رشد را داراست و این نشان‌دهنده اثر کشندگی وسیع عصاره سیر می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه مشخص نمود که عصاره سیر و آنغوزه دارای اثرات ضد تریکوموناس در شرایط آزمایشگاهی بوده و شناسایی و جداسازی ماده موثره سیر و آنغوزه ضروری به نظر می‌رسد. اجزای حاوی ماده موثره ضد تریکوموناس می‌توانند؛ جایگزین مناسبی برای داروی مترونیدازول باشد. البته انجام مطالعات تکمیلی ضروری می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه برای اخذ دکترای عمومی خانم دکتر حدیثا تدین بود.

آزمون اختلاف میانگین‌ها تفاوت معنی‌داری را در میزان کشندگی غلظت‌های مختلف سیر و آنغوزه نشان داد ( $P < 0.05$  و  $P < 0.01$ ).

### بحث

نتایج حاصل از مطالعه حاضر مشخص نمود که عصاره سیر و آنغوزه روی انگل تریکوموناس واژینالیس خاصیت کشندگی دارند که با یافته Ramadan در زمینه اثر ضدانگلی سیر و آنغوزه مطابقت دارد (۶). مطالعه مراغی نیز اثر ضدانگلی عصاره آنغوزه روی انگل هیمنولپیس نانا را گزارش کرده است. نتایج مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکلی آنغوزه در مقایسه با داروی نیکولوزامید روی هیمنولپیس نانا اثر کشندگی دارد (۱۵). در مطالعه Taran اثر ضد تریکومونیایی *Allium hirtifloium* (موسیر) با مترونیدازول مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که عصاره این گیاه در غلظت‌های پایین و در مدت زمان کوتاه رشد تریکوموناس را متوقف می‌نماید (۷). در مطالعه آزادبخت تأثیر اسانس گیاه درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد، بر رشد تریکوموناس واژینالیس نشان داد که عصاره این گیاهان ۴-۱ ساعت پس از افزودنشان به محیط کشت، اثر ضد تریکومونیایی داشتند (۸ و ۹).

در مطالعه حاضر عصاره آبی آنغوزه در غلظت‌های ۰/۵ و ۱/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در مدت زمان یک ساعت باعث مرگ بیش از ۸۰ درصد انگل‌ها گردید و نسبت به عصاره سیر دارای اثر کشندگی بیشتری بوده است. میزان کشندگی عصاره سیر پس از گذشت یک ساعت ۵۰ درصد به دست آمد.

اثرات ضدانگلی عصاره سیر و اجزای تهیه شده از آن در

### References

- 1) Johnston VJ, Mabey DC. Global epidemiology and control of *Trichomonas vaginalis*. *Curr Opin Infect Dis*. 2008; 21(1):56-64.
- 2) Sobel JD, Nagappan V, Nyirjesy P. Metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis--an emerging problem. *N Engl J Med*. 1999 Jul 22;341(4):292-293.
- 3) 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 Jun;46(6):545-549.
- 4) Falagas ME, Walker AM, Jick H, Ruthazer R, Griffith J, Snyderman DR. Late incidence of cancer after metronidazole use: a

matched metronidazole user/nonuser study. *Clin Infect Dis*. 1998 Feb;26(2):384-388.

- 5) Muelas-Serrano S, Nogal JJ, Martínez-Díaz RA, Escario JA, Martínez-Fernández AR, Gómez-Barrio A. In vitro screening of american plant extracts on *Trypanosoma cruzi* and *trichomonas vaginalis*. *J Ethnopharmacol*. 2000 Jul;71(1-2):101-107.

- 6) Ramadan NI, Al Khadrawy FM. The in vitro effect of *Assafoetida* on *Trichomonas vaginalis*. *J Egypt Soc Parasitol*. 2003 Aug;33(2):615-630.

- 7) Taran M, Rezaeian M, Izaddoost M. In vitro anti-*Trichomonas*

- activity of *Allium hirtifolium* (persian shallot) in comparison with metronidazole. Iranian Journal of Public Health. 2006;1(35):92-94.
- 8) Azadbakht M, Ziai H, Abdollahi F, Shabankhani B. [Effect of essential oils of *Artemisia Aucheri* Bioss, *Zataria Multiflora* Boiss and *Myrtus Communis* L on *Trichomonas Vaginalis*] Journal of Medicinal Plants. 2003;8(2):35-40. [Article in Persian]
- 9) Azadbakht M, Ziaiye H, Abdollahi F, Shabankhani B. [Effect of Methanolic essence and extract of *Myrtus Communis* on *Trichomonas Vaginalis*] Journal of Medical Faculty Guilan University of Medical Sciences. 2003; 48(12):8-13. [Article in Persian]
- 10) Azadbakht M, Sadjjadi SM, Rostami J. [Giardiacidal activity of the express obtained from bulbs of three *Allium* species on *Giardia intestinalis* cysts] Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2003;3(6):184-188. [Article in Persian]
- 11) Ghazanfari T, Hassan ZM, Yaraei R. [The in vitro effect of aqueous Garlic extract and Garlic fractions on the growth of *Leishmania major*] Kowsar Medical Journal. 2000;2(5):117-122. [Article in Persian]
- 12) Lemar KM, Turner MP, Lloyd D. Garlic (*Allium sativum*) as an anti-Candida agent: a comparison of the efficacy of fresh garlic and freeze-dried extracts. J Appl Microbiol. 2002;93(3):398-405.
- 13) Zargari A. [Medicinal Plants] 6<sup>th</sup>. Tehran: Tehran University Press. 1996;pp:592-602. [Persian]
- 14) Lawring LF, Hedges SR, Schwebke JR. Detection of trichomoniasis in vaginal and urine specimens from women by culture and PCR. J Clin Microbiol. 2000;38:3585-3588.
- 15) Maraghi S, Sayahi S, Agheli H. [In vitro effect of Dexpropranolol HCL on *Trichomonas Vaginalis*] Scientific Medical Journal of Ahwaz University of Medical Sciences. 1995;19:26-34. [Article in Persian]