

Effects of Hydroalcoholic Extract of Saponaria officinalis Leaf on Growth of Trichomonas vaginalis In Vitro

Hajar Ziaei Hezarjaribi¹,
Zohreh Momeni²,
Mohammad Azadbakht³,
Bahman Rahimi Esboei⁴,
Mahdi Fakhar⁵,
Meshkat Akbarian⁴

¹Assistant Professor, Department of Parasitology, Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

²Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran

³Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴Medical Student, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵Associate Professor, Department of Parasitology, Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received August 15, 2015 ; Accepted January 24, 2016)

Abstract

Background and purpose: *Saponaria officinalis* is a plant from the caryophyllaceae family and there are some contradictory reports about its antimicrobial effects. Metronidazole is commonly used in treatment of trichomoniasis but it has several side effects. On the other hand, finding an alternative drug from natural sources is very important. This study aimed at evaluating the hydroalcoholic extract of *Saponaria officinalis* leaf plant on the growth of *Trichomonas vaginalis* in vitro.

Materials and methods: The plant was approved in herbarium and hydro-alcoholic extracts were prepared. The experiment was done using 24 wells cell culture plate. In each well, 200 microliter of TYM culture medium and 200 microliter of different concentrations of plant extract was added. Also metronidazole was added to positive control well. Then 100 µl TYM were added to all wells containing 500,000 parasites and the plates were incubated at 37 ° C. The experiment was performed as double blind and triplicate. The mean number of the parasites in different concentrations and times and effect of the extract were recorded.

Results: The number of parasites in 50, 100, 200, 400, 800 and 1600 micrograms per ml of the extract, during 24, 48, and 72 hr increased compared to the negative controls, while no growth of parasite was observed in positive controls (containing Metronidazole).

Conclusion: *Saponaria officinalis* leaf extract caused growth stimulation and increased the number of *Trichomonas vaginalis*, therefore, it could be used for mass cultivation of the parasite in vitro. However, further investigations are needed in future.

Keywords: *Saponaria officinalis*, Leaf extract, In vitro, *Trichomonas vaginalis*

بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی برگ گیاه صابونی بر رشد تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی

هاجر ضیایی هزارجریبی^۱

زهره مومنی^۲

محمد آزادبخت^۳

بهمن رحیمی اسبویی^۴

مهدی فخار^۵

مشکات اکبریان^۴

چکیده

سابقه و هدف: گیاه صابونی *Saponaria officinalis* از تیره میخک Caryophyllaceae بوده و گزارشات متناقضی در مورد خواص ضد میکروبی این گیاه ذکر شده است. با توجه به این که مترونیدازول به عنوان داروی انتخابی بیماری تریکومونیاژیس، دارای عوارض جانبی فراوانی می باشد، و از سوی دیگر تلاش برای یافتن داروهای جایگزین با منشا طبیعی از اهمیت خاصی برخوردار است، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر عصاره هیدروالکلی برگ گیاه صابونی بر تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت.

مواد و روش ها: پس از تایید گیاه صابونی در هرباریوم، عصاره هیدروالکلی آن تهیه شد. آزمایش در پلیت های استریل ۲۴ خانه ای کشت سلول انجام شد. به این منظور، ۲۰۰ μl از محیط کشت TYM، ۲۰۰ μl از غلظت های متفاوت عصاره گیاه صابونی به تمام چاهک ها افزوده و در چاهک شاهد مثبت، مترونیدازول اضافه شد. سپس به تمام چاهک ها ۱۰۰ μl محیط کشت حاوی سوش استاندارد تریکوموناس واژینالیس (حاوی ۵۰۰۰۰۰ انگل در میلی لیتر) افزوده و پلیت ها در دمای ۳۷ °C نگهداری شدند. آزمایشات به صورت double blind و سه تایی انجام شد و میانگین تعداد انگل ها به عنوان نتیجه رشد و تاثیر دارو در غلظت ها و زمان های مختلف ثبت شد.

یافته ها: تعداد انگل در غلظت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره گیاه صابونی طی زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در مقایسه با گروه شاهد منفی سیر صعودی داشت، در حالی که در کنترل مثبت حاوی مترونیدازول هیچ انگلی رشد نکرد.

استنتاج: با توجه به این که برگ گیاه صابونی باعث تحریک رشد و افزایش تعداد انگل تریکوموناس شد، لذا به نظر می رسد میتوان از عصاره هیدروالکلی این گیاه به منظور انبوه سازی این انگل در محیط های کشت استفاده نمود. اگر چه انجام تحقیقات بیش تر در این زمینه ضروری است.

واژه های کلیدی: گیاه صابونی، تریکوموناس واژینالیس، عصاره برگ، برون تنی

مقدمه

تریکومونیاژیس یک عفونت منتقل شونده جنسی انگلی است که توسط تک یاخته تریکوموناس واژینالیس ایجاد می شود. این انگل عامل ۱۵-۱۰ درصد ولوواژینیت بوده و یکی از شایع ترین بیماری های مقاربتی پس از

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۱۴۱-۹۲ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

E-mail: mahdif53@yahoo.com

مؤلف مسئول: مهدی فخار - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی

۱. استادیار، گروه انگل شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران

۳. استاد، گروه فارماکونوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. دانشیار، گروه انگل شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۵/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۶/۲ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱۱/۴

عامل باکتریایی کلامیدیا است. با ارائه گزارش سازمان بهداشت جهانی، در حال حاضر ۱۷۰-۱۹۰ میلیون نفر در دنیا به این انگل آلوده‌اند و سالانه ۱۲۰ میلیون مورد تریکومونیاژیس اتفاق می‌افتد که نزدیک به ۲۰ درصد از موارد با علائم واژینیت می‌باشد. این بیماری تقریباً در ۵۰ درصد از زنان ایجاد علائم می‌کند، در مردان عمدتاً بیماری کوتاه مدت بوده اما آن‌ها به عنوان ناقل مهم بیماری به زنان می‌باشند (۲،۱). بر اساس مطالعه سیستماتیک اخیر، میزان شیوع تریکومونیاژیس در ایران ۸ درصد برآورد شده است (۳)، این میزان تا ۳۰ درصد در جمعیت‌های پرخطر افزایش می‌یابد (۴). شیوع بالای تریکوموناس واژینالیس در جهان و تناوب آن در همراهی آن با سایر عفونت‌های مقاربتی، این تک یاخته را تبدیل به یک نگرانی جدی سلامت عمومی کرده است. به خصوص که تحقیقات نشان داده که این عفونت ریسک انتقال HIV را در هر دو جنس مرد و زن افزایش می‌دهد (۵،۱،۶). علائم بالینی در خانم‌ها از عفونت بی‌علامت تا یک عفونت لگنی شدید متغیر است. این عفونت سبب عوارض و مشکلات متعددی از جمله ترشحات، دیزوری، تحریک پذیری ژنیتال، دیسپارونیا، پارگی زودرس کیسه‌ی آب، زایمان پره‌ترم و وزن کم تولد نوزاد می‌شود (۷-۹). در حال حاضر مترونیدازول درمان انتخابی برای بیماری تریکومونیاژیس می‌باشد که به علت کارسینوژن بودن، این دارو در دوران بارداری و شیردهی منع مصرف دارد. از طرفی به علت روند رو به رشد مقاومت به این دارو و عوارض جانبی فراوان آن که شامل تهوع، استفراغ، طعم فلزی در دهان، ناراحتی‌های گوارشی، کهیر، نوروپاتی محیطی و سرگیجه محیطی می‌باشد، مصرف دارو محدود شده است (۱۰-۱۲).

گیاه صابونی *Saponaria officinalis* از تیره میخک Caryophyllaceae می‌باشد. گیاهی است علفی و پایا به ارتفاع ۳۰ تا ۷۰ سانتی‌متر با ریزومی قهوه‌ای مایل به قرمز و منشعب با گل‌های معطر گلی یا سفید رنگ که در انتهای ساقه مجتمع شده‌اند. گیاهان این تیره اغلب

دارای پراکنندگی جهانی هستند. قسمت‌های مورد استفاده این گیاه عمدتاً ریشه و ریزوم و برگ است که دارای ساپونین، ساپوتوکسین، ساپونارین، صمغ و رزین می‌باشد. اصولاً بسیاری از گیاهان تیره میخک حاوی مقادیر زیادی ترکیبات ساپونینی می‌باشند. ریشه گیاه صابونی دارای حدود ۵ درصد ساپونین بوده و به عنوان ماده پاک‌کننده مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۳). در گذشته از گیاه صابونی در درمان بیماری‌های پوستی استفاده می‌شده است (۱۴).

اثرات درمانی پروتئین saporin-s6 در زمینه‌های متعددی به اثبات رسیده است. saporin-s6 متعلق به خانواده مهارکننده ریبوزوم (Ribosome Inactivating protein) می‌باشد. این گروه از پروتئین‌ها به‌طور گسترده در میان گیاهان توزیع شده و باعث آسیب ریبوزومی غیر قابل برگشت، توقف تولید پروتئین و مرگ سلولی می‌شوند (۱۵). مطالعات نشان داده که ساپورین جدا شده از گیاه صابونی با اثر بر روی ژنوم سلولی، باعث القای آپوپتوز و مرگ سلولی می‌شود که البته این اثر وابسته به دوز و زمان است (۱۶). هم‌چنین دارای اثرات ضد سرطانی (۱۷)، خصوصاً ضد سرطان خون (۱۵) و سرطان گلیوبلاستوما انسانی (۱۶)، اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی می‌باشد (۱۸).

مطالعات زیادی در مورد اثرات درمانی گیاهان دارویی بر روی تریکوموناس واژینالیس انجام شده است (۱۹-۲۳). با توجه به رویکرد جهانی یافتن گیاهان و ترکیبات طبیعی دارای خواص ضد انگلی و هم‌چنین ضرورت کشف داروهای جایگزین با عوارض کم و کارایی مناسب و از سوی دیگر وجود گزارشات مبنی بر خواص ضد میکروبی گیاه صابونی (به ویژه به دلیل وجود ساپونین)، لذا تحقیق حاضر، تأثیر گیاه صابونی را بر روی تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، سوش استاندارد تریکوموناس

غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ میکروگرمی بر میلی‌لیتر از عصاره تهیه و مورد ارزیابی قرار گرفت. برای کنترل مثبت، به جای عصاره گیاهی (۵۰ μl) مترونیدازول با غلظت ۵۰۰ μg/ml (میکروگرم بر میلی‌لیتر) به شاهد مثبت اضافه شد (غلظت نهایی مترونیدازول ۵۰ μg/ml شد). جهت شاهد منفی، به چاهک مورد نظر، عصاره گیاهی و داروی مترونیدازول اضافه نشد. رقت‌های عصاره گیاهی و داروی مترونیدازول به کمک PBS استریل با PH= ۶/۴ تهیه و سپس پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷°C قرار داده شدند (۲۵).

برای بررسی میزان رشد انگل طی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، پس از اطمینان از مخلوط شدن محلول داخل چاهک‌ها، ده میکرولیتر از هر چاهک برداشته، تعداد انگل با لام نئوبار شمارش شد. برای این که ضریب خطای آزمایشگاهی و انسانی به حداقل برسد، آزمایشات به صورت دو سوکور (double blind) و سه مرتبه انجام شدند و میانگین شمارش انگل در این سه مرتبه به عنوان نتیجه، گزارش شد. در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، درصد زنده بودن انگل‌ها با رنگ تریپان بلو ۰/۴ درصد (انگل‌های مرده رنگ را جذب کرده و آبی می‌شوند، در حالی که انگل‌های زنده بی رنگ باقی می‌مانند) بررسی گردید (تصویر شماره ۱).

فاکتورهای مورد بررسی شامل زمان تاثیر، غلظت تاثیر، تعداد انگل در هر مرحله، درصد زنده بودن انگل بودند. نتایج شمارش انگل به صورت درصد مهار رشد (GI% percentage of growth inhibition) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$GI\% = \frac{a - b}{a} \times 100$$

در این فرمول a تعداد انگل زنده در چاهک شاهد منفی و b تعداد انگل زنده در چاهک حاوی عصاره می‌باشد. در این مطالعه برای آنالیز داده‌ها از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه (نرم افزار SPSS نسخه ۱۶) برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

واژینالیس در محیط TYM (Trypticase-Yeast-Maltose) اصلاح شده، کشت داده شد (۲۴). سایر مراحل به شرح زیر بودند:

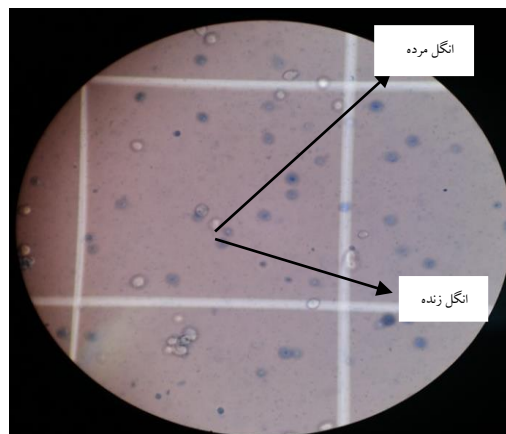
الف: تهیه گیاه و عصاره‌گیری

برگ‌های گیاه صابونی از جنگل‌های اطراف شهر ساری تهیه شد. پس از تایید گیاهان فوق در هرباریوم بخش فارماکولوژی دانشکده داروسازی، عصاره هیدرو الکلی برگ گیاه صابونی تهیه گردید. ۵۰ گرم برگ گیاه فوق به دور از نور خورشید خشک و پودر شد و با یک لیتر الکل ۵۰ درصد، به طوری که حلال تمامی سطح گیاه را فرا بگیرد، مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت دور از نور آفتاب قرار داده شد. سپس برای جدا نمودن تفاله گیاهان، عصاره از کاغذ صافی عبور داده شد و دوباره تفاله‌های باقی مانده با یک لیتر الکل ۵۰ درصد مخلوط گردید و به مدت ۲۴ ساعت دور از نور قرار گرفت. بعد از آن، دوباره عصاره از کاغذ صافی عبور داده شد. عصاره به دست آمده از دفعه اول و دوم با هم مخلوط و در دستگاه روتاری تقطیر، در شرایط خلا در انکوباتور در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا پودر عصاره گیاه به دست آید. آن گاه با اضافه کردن آب مقطر، غلظت‌های مورد نیاز تهیه گردید.

ب: انجام کشت و نحوه ارزیابی عصاره

جهت انجام آزمایش از پلیت‌های استریل ۲۴ خانه‌ای استفاده شد. برای دقت بیشتر، هر کدام از رقت‌های عصاره تهیه شده در ۲ چاهک انجام و آزمایش ۳ بار تکرار شد. به هر یک از ۲۴ خانه، محیط کشت (۲۰۰ μl) TYM اضافه شد. سپس به کمک لام نئوبار، انگل‌ها شمارش و از لوله محیط کشت (حاوی ۵۰۰۰۰۰ انگل در میلی‌لیتر)، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به همه چاهک‌ها اضافه شد. پودر عصاره گیاهی را به کمک بافر نمکی فسفات (PBS) استریل حل و به غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسانده و پس از فیلتر کردن، به هر خانه اضافه شد. برای بررسی اثر ضد تریکومونایی گیاه،

معنی دار داشت ($p < 0/05$). هم چنین نتایج شگفت انگیز مطالعه حاضر نشان داد که با افزایش میزان غلظت عصاره و افزایش زمان مواجهه انگل با آن، روند مهار رشد تریکوموناس واژینالیس کاهش چشمگیری داشته است. به طوری که عصاره گیاه صابونی با دوز ۱۶۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و در طی ۷۲ ساعت سبب بیشترین افزایش میزان رشد انگل شد (جدول شماره ۲).



تصویر شماره ۱: مشاهده انگل زنده و مرده با لام نئوبار پس از رنگ کردن با تریپان بلو یک درصد

جدول شماره ۲: بررسی تأثیر غلظت های مختلف گیاه صابونی بر میزان مهار رشد انگل تریکوموناس واژینالیس در زمان های مختلف

غلظت عصاره های گیاهی (p) و مترونیازول (m)	درصد مهار رشد انگل (درصد)	درصد مهار رشد انگل (درصد)	درصد مهار رشد انگل (درصد)
($\mu\text{g/ml}$)	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت
Negative control	-	-	-
Positive control (m)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
50 ($\mu\text{g/ml}$) (p)	۷۱/۷	۷۲/۲	۷۵
100 ($\mu\text{g/ml}$) (p)	۶۰	۶۶/۷	۷۰/۸
200 ($\mu\text{g/ml}$) (p)	۴۶/۷	۵۰	۵۸/۳
400 ($\mu\text{g/ml}$) (p)	۲۸/۳	۳۸/۹	۵۰
800 ($\mu\text{g/ml}$) (p)	۲۵	۳۷/۸	۴۱/۷
1600 ($\mu\text{g/ml}$) (p)	۱۸/۳	۲۲/۲	۳۳/۳

یافته ها

بررسی میزان رشد و تکثیر تریکوموناس واژینالیس در چاهک های حاوی غلظت های مختلف عصاره گیاه صابونی (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) و زمان های مختلف (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) نشان داد از روز اول تا سوم، میزان رشد انگل در مقایسه با شاهد منفی به تدریج افزایش یافته است. در حالی که در چاهک های حاوی مترونیازول، هیچ انگلی رشد نکرده بود و در گروه شاهد منفی نیز تعداد انگل تا روز سوم سیر صعودی داشت (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: بررسی اثر غلظت های مختلف گیاه صابونی بر روی تعداد انگل تریکوموناس واژینالیس بر اساس زمان های مختلف

غلظت عصاره های گیاهی (p) و مترونیازول (m)	میانگین تعداد انگل (میلی لیتر)	میانگین تعداد انگل (میلی لیتر)	میانگین تعداد انگل (میلی لیتر)
($\mu\text{g/ml}$)	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت
Negative control	۶۰۰۰۰	۳۶۰۰۰	۲۴۰۰۰
Positive control (m)	.	.	.
50 ($\mu\text{g/ml}$)	۱۷۰۰۰۰	۱۰۰۰۰۰	۶۰۰۰۰
100 ($\mu\text{g/ml}$) (p)	۲۴۰۰۰۰	۱۲۰۰۰۰	۷۰۰۰۰
200 ($\mu\text{g/ml}$) (p)	۳۲۰۰۰۰	۱۸۰۰۰۰	۱۰۰۰۰۰
400 ($\mu\text{g/ml}$) (p)	۴۳۰۰۰۰	۲۲۰۰۰۰	۱۲۰۰۰۰
800 ($\mu\text{g/ml}$) (p)	۴۵۰۰۰۰	۲۶۰۰۰۰	۱۴۰۰۰۰
1600 ($\mu\text{g/ml}$) (p)	۴۹۰۰۰۰	۲۸۰۰۰۰	۱۶۰۰۰۰

در بررسی های آماری اختلاف معنی داری از نظر تعداد انگل بین چاهک های حاوی عصاره گیاه صابونی در رقت های مختلف در مقایسه با شاهد منفی مشاهده نشد؛ اما در مقایسه با شاهد مثبت، میزان رشد اختلاف

بحث

تحقیق حاضر سعی نمود تا تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه صابونی به عنوان یک ترکیب طبیعی دارای خواص احتمالی ضد تریکوموناسی را برای اولین بار در محیط کشت مورد ارزیابی قرار دهد. نتایج ما نشان داد که این گیاه نه تنها تأثیری در کاهش میزان رشد و به عبارت دیگر مهار رشد تریکوموناس به عنوان یک ترکیب گیاهی ندارد، بلکه سبب افزایش تعداد تریکوموناس (به صورت وابسته به دوز و زمان) نیز شد. لذا با توجه به این که تریکوموناس انگل حساسی است و به سختی در محیط های کشت مختلف رشد می کند، به نظر می رسد بتوان از این گیاه به عنوان محرک رشد تریکوموناس استفاده نمود. در مجموع با توجه به این که در مطالعه حاضر اثرات عصاره کامل (بدون جدا سازی فراکسیون های آن) بر روی تریکوموناس مورد ارزیابی قرار گرفت، به نظر می رسد علت احتمالی افزایش میزان رشد انگل در محیط کشت، وجود فاکتورهای محرک رشد میتوژنی موجود در گیاه صابونی باشد که نیاز به

رزوراترول (۲۳)، درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد (۲۸) بر روی تریکوموناس واژینالیس انجام شده است که نتایج آن ها به عنوان ترکیب گیاهی ضد تریکوموناس واژینالیس ضد و نقیض بوده است. به طور مثال اثرات نعناع و مریم گلی روی تریکوموناس واژینالیس با مترونیدازول قابل قبول بود، اما گیاه چای کوهی فاقد اثر آنتی تریکوموناسی بود (۲۲-۱۹). هم چنین در مطالعه Mallo، عصاره پلی فنولی رزوراترول طبیعی اثرات برابر با مترونیدازول با مکانیسم مشابه داشته است (۲۳). با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر، گیاه صابونی دارای اثرات آنتی تریکوموناس نیست که تحقیقات بیش تر در این زمینه را توجیه می کند. هم چنین با توجه به افزایش رشد تریکوموناس در محیط کشت حاوی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه صابونی، می توان از برگ این گیاه در محیط های کشت برای تکثیر و کشت انبوه تریکوموناس جهت استفاده در تحقیقات آینده استفاده نمود.

سپاسگزاری

بدین وسیله مراتب تشکر خود را از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران به خاطر حمایت های مالی طرح شماره (۱۴۱-۹۲) قدردانی می شود. این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه دانشجوی پزشکی خانم مشکات اکبریان می باشد.

References

1. Forna F, Gulmezoglu AM. Interventions for treating trichomoniasis in women. Cochrane Database Syst Rev 2003; (2):CD000218.
2. Van Der Pol B. Trichomonas vaginalis infection: the most prevalent nonviral sexually transmitted infection receives the least public health attention. Clin Infect Dis 2007; 44(1): 23-25.
3. Ziaei Hezarjaribi H, Fakhar M, Shokri A, Hosseini Teshnizi S, Sadough A, Taghavi M. Trichomonas vaginalis infection among Iranian general population of women: a systematic review and meta-analysis. Parasitol Res 2015; 114(4): 1291-1300.
4. Ziaei Hezarjaribi H, Dalimi A, Ghasemi M, Ghafari R, Esmaili S, Armat S. Prevalence of Common Sexually Transmitted Diseases among Women Referring for Pap Smear in

مطالعه بیش تری در این زمینه دارد. گرچه تعداد انگل ها بعد از ۲۴ ساعت از تعداد تروفوزوئیت های کنترل منفی کم تر بود، اما این افزایش در تعداد با افزایش غلظت گیاه صابونی و با افزایش زمان مواجهه با گیاه، نمایانگر تاثیر مثبت گیاه صابونی در رشد تریکوموناس واژینالیس می باشد. به طوری که حداکثر افزایش در غلظت $1600 \mu\text{g/ml}$ و در روز سوم بوده است.

در تحقیق Newton و همکارانش، گیاه صابونی فاقد اثر ضد میکروبی بوده است که از نتایج تحقیق ما حمایت می کند (۱۴). در حالی که در تحقیق Sengul، گیاه صابونی حاوی اثر آنتی اکسیدانی بوده و هم چنین اثر ضد میکروبی را نیز نشان داده و عصاره الکلی دارای تاثیر بیش تری نسبت به عصاره آبی بوده است و نیز بر روی باکتری ها بیش از قارچ ها اثر کشندگی داشته و البته تاثیر آن بر روی تک یاخته ها مورد بررسی قرار نگرفته است (۱۸).

در مطالعه Traore و همکارانش، فعالیت ضد پلاسمودیومی (گونه فالسیپاروم) ماده ساپونین استخراج شده از گیاه صابونی اثبات گردیده است (۲۶). در تحقیق Delmas، ساپونین استخراج شده از گیاه *Hodera hedera* دارای اثر ضد لیشمانیایی بوده است (۲۷). تحقیقات گسترده ای در مورد اثرات درمانی گیاهانی مانند مخلصه (۱۹)، چای کوهی (۲۰)، اکالیپتوس (۲۱)، نعناع، مریم گلی (۲۲) و عصاره پلی فنولی

- Sari, Iran. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2013; 22(1): 19-24 (Persian).
5. Wang CC, McClelland RS, Reilly M, Overbaugh J, Emery SR, Mandaliya K, et al. The effect of treatment of vaginal infections on shedding of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 2001; 183(7): 1017-1022.
 6. McClelland RS, Sangaré L, Hassan WM, Lavreys L, Mandaliya K, Kiarie J, et al. Infection with *Trichomonas vaginalis* increases the risk of HIV-1 acquisition. *J Infect Dis* 2007; 195(5): 698-702.
 7. Cotch MF, Joseph G, Pastorek II, Nugent RP, Hillier SL, Gibbs RS, Martin DH, et al. *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. *Sex Transm Dis* 1997; 24(6): 353-360.
 8. Harp DF, Chowdhury I. Trichomoniasis: Evaluation to execution. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 157(1): 3-9.
 9. Minkoff H, Grunebaum AN, Schwarz RH, Feldman J, Cummings M, Crombleholme W, et al. Risk factors for prematurity and premature rupture of membranes: a prospective study of the vaginal flora in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150(8): 965-972.
 10. Lossick JG. Therapy of urogenital trichomoniasis: Trichomonads Parasitic in Humans. New York: Springer, Verlag. 1990. p. 324-341.
 11. Narcisi EM, Secor WE. In vitro effect of tinidazole and furazolidone on metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40(5): 1121-1125.
 12. Schwebke JR, Barrientes FJ. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* isolates with resistance to metronidazole and tinidazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(12): 4209-4210.
 13. Azadbakht M. Medicinal Plant Systematics (according to APG). Arjmand Publication 2013. p. 297 (Persian).
 14. Newton SM, Lau C, Gurcha SS, Besra GS, Wright CW. The evaluation of forty-three plant species for in vitro antimycobacterial activities; isolation of active constituents from *Psoralea corylifolia* and *Sanguinaria canadensis*. *J Ethnopharmacol* 2002; 79(1): 57-67.
 15. Polito L, Battelli MG, Bolognesi A. Potential Therapeutic Application of the Plant Toxin Saporin-S6. *J Clin Exp Pharmacol* 2014; 4(156): 1459-2161.
 16. Giansanti F, Sabatini D, Pennacchio MR, Scotti S, Angelucci F, Dhez A, et al. PDZ Domain in the Engineering and Production of a Saporin Chimeric Toxin as a Tool for targeting Cancer Cells. *J Cell Biochem* 2015; 116(7): 1256-1266.
 17. Weng A, Thakur M, von Mallinckrodt B, Beceren-Braun F, Gilabert-Oriol R, Wiesner B, et al. Saponins modulate the intracellular trafficking of protein toxins. *J Control Release* 2012; 164(1): 74-86.
 18. Sengul M, Ercisli S, Yildiz H, Gungor N, Kavaz A, Çetin B. Antioxidant, antimicrobial activity and total phenolic content within the aerial parts of *Artemisia absinthum*, *Artemisia santonicum* and *Saponaria officinalis*. *Iran J Pharm Res* 2011; 10(1): 49-56.
 19. Arefkhah N, Taghipur S, Yousefi M, Rafeiean M, Daneshpur Sh. In-Vitro Effect of Hydro-Alcoholic Extract of *Tanacetum Parthenium* Extract on *Trichomonas Vaginalis*. *J Isfahan Med School* 2013; 31(236): 623-629 (Persian).
 20. Sereshti M, Darani HY, Zebardast N, Rafeiean M, Manochehri K. Effect of hydro-alcoholic extract of Branches of plant

- hypericum perforatum on *Trichomonas vaginalis* in vitro. *Journal of Medicinal Plants* 2011; 11(41): 159-165 (Persian).
21. Kazemian A, darani HY, Zebardast N, Sereshti M, Banaeian Sh, Safdari F, et al. Evaluation of effect of hydro-alcoholic extract of *Eucalyptus* on *Trichomonas vaginalis*. *J Med Plant* 2012; 2(22)(9): 116-120 (Persian).
22. Yousefi M, Taghipur S, Arefkhan N, Rahimian R, Davoudian A, Rafeiean M. In-Vitro Effect of *Mentha Piperita* and *Salvia Officinalis* Extracts on *Trichomonas Vaginalis*. *J of Isfahan Med School* 2013; 31(240): 811-818 (Persian).
23. Mallo N, Lamas J, Leiro JM. Hydrogenosome metabolism is the key target for antiparasitic activity of resveratrol against *Trichomonas vaginalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57(6): 2476-2484.
24. Garcia LS. *Diagnostic medical parasitology*. 5th ed. Washington DC: ASM Press; 2007: 924.
25. Meri T, Jokiranta TS, Suhonen L, Meri S. Resistance of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole: report of the first three cases from Finland and optimization of in vitro susceptibility testing under various oxygen concentrations. *J Clin Microbiol* 2000; 38(2): 763-767.
26. Traore F, Faure R, Ollivier E, Gasquet M, Azas N, Debrauwer L, et al. Structure and antiprotozoal activity of triterpenoid saponins from *Glinus oppositifolius*. *Planta Med* 2000; 66(4): 368-371.
27. Delmas F, Di Giorgio C, Elias R, Gasquet M, Azas N, Mshvildadze V, et al. Antileishmanial activity of three saponins isolated from ivy, alpha-hederin, beta-hederin and hederacolchiside A1, as compared to their action on mammalian cells cultured in vitro. *Planta Med* 2000; 66(4): 343-347.
28. Ziaei Hezarjaribi H, Azadbakht M, Abdollahi F. Effects of methanol extract of *Artemisia aucheri* Boiss, *Zataria multiflora* Boiss and *Myrtus communis* L. on *Trichomonas vaginalis* in vitro. *J Gorgan Univ Med Sci* 2005; 8(1): 34-38 (Persian).