Original Article

The effect of lavender essential oil and nanoemulsion on *Trichomonas vaginalis* in vitro

Ziaei Hezarjaribi H[1], Nadeali N[2], Saeedi M[3], Soosaraei M[2], Jorjani O[4], Momeni Z[5], Fakhar M[1*]

1- Molecular and Cell Biology Research Center, Department of Parasitolgy, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I. R. Iran.
2- Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I. R. Iran.
3- Pharmaceutical Sciences Research Center, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I. R. Iran.
4- Laboratory Sciences Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, I. R. Iran.
5- Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, I. R. Iran.

Received October 31, 2016; Accepted July 4, 2017

Abstract:

Background: *Trichomonas vaginalis* is the cause of trichomoniasis. Due to increased resistance and side effects of the drugs, the aim of this study was to assess an anti-trichomonias effect of lavender (*Lavandula officinalis*) essential oil and nanoemulsion on *T. vaginalis* in vitro.

Materials and Methods: Lavender essential oil components were characterized by gas chromatography. To determine the cytotoxicity effects, the macrophage cell line J774.A.1 was used. *Trichomonas vaginalis* was isolated from vaginal secretions of the infected women and then cultured in the TYM complete medium and passaged for 10 days. The effect of essential oil and 1% lavender nanoemulsion in concentrations 10, 25, 50 and 100 µg/mL in the 24-well plate were examined at 1, 2 and 3 hours as triplicate. Positive control was metronidazole (50 µg/mL). The number of live and dead parasites was counted by trypan blue stain with a Neubauer slide.

Results: The viability of the macrophages for lavender essential oil was 93.70% and for nanoemulsion was 90.90%. Essential oil and nanoemulsion of lavender in concentration of 100 µg/mL and during 3 hours showed 81.7% and 81.9% growth inhibitory, respectively. This difference was not statistically significant.

Conclusion: Lavender essential oil and nanoemulsion has a desirable inhibitory effect on growth of *T.vaginalis* and can be a good choice for conducting therapeutic investigations regarding trichomonial infections.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*, *Lavandula officinalis*, Essential oil, Nanoemulsion, TYM complete

* **Corresponding Author.**
Email: mahdif53@yahoo.com
Tel: 0098 912 252 2782
Fax: 0098 11 335 43248

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, October, 2017; Vol. 21, No 4, Pages 326-334

Please cite this article as: Ziaei Hezar Jaribi H, Nadeali N, Saeedi M, Soosaraei M, Jorjani O, Momeni Z , et al. The effect of lavender essential oil and nanoemulsion on *Trichomonas vaginalis* in vitro. ***Feyz*** 2017; 21(4): 326-34.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]

بررسی تاثیر اسانس و نانوامولسیون اسطوخودوس بر *تریکوموناس واژینالیس* در شرایط برون‌تنی

هاجر ضیایی هزارجریبی [۱]، نجمه نادعلی [۲]، مجید سعیدی [۳]، مسعود سوسرایی [۴]، اوغل نیاز جرجانی [۵]، زهره مومنی [۶]، مهدی فخار [۱*]

خلاصه:

سابقه و هدف: *تریکوموناس واژینالیس (ت. واژینالیس)* عامل تریکومونیازیس است. با توجه به افزایش مقاومت و وجود عوارض جانبی داروها، بررسی اثر ضد تریکومونایی اسانس و نانوامولسیون اسطوخودوس (*Lavandula officinalis*) بر *تریکوموناس واژینالیس* در شرایط برون‌تنی هدف این تحقیق است.

مواد و روش‌ها: اجزای اسانس اسطوخودوس با گاز کروماتوگرافی مشخص شد. برای تعیین اثرات سمیت سلولی، از سلول‌های ماکروفاژ رده J774.A.1 استفاده شد. *ت. واژینالیس از* ترشحات زنان مبتلا، جداسازی و سپس در محیط TYM Complete کشت و به‌مدت ۱۰ روز پاساژ داده شد. تأثیر اسانس و نانوامولسیون ۱ درصد اسطوخودوس در غلظت‌های ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ ساعت به‌صورت سه تایی در پلیت ۲۴ خانه‌ای انجام شد. کنترل مثبت، مترونیدازول ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. تعداد انگل زنده و مرده به‌وسیله تریپان بلو با لام نئوبار شمارش شد.

نتایج: زنده‌مانی ماکروفاژها برای اسانس و نانو به‌ترتیب ۹۳/۷۰ و ۹۰/۹۰ درصد بود. اسانس و نانوامولسیون اسطوخودوس در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر در مدت زمان ۳ ساعت به‌ترتیب ۸۱/۷ و ۸۱/۹ درصد مهار رشد را نشان دادند. این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: اسطوخودوس در اشکال اسانس و نانوامولسیون دارای خاصیت مهار رشد مطلوبی است و می‌تواند انتخاب مناسبی برای انجام تحقیقات درمانی عفونت‌های تریکومونایی باشد.

واژگان کلیدی: *تریکوموناس واژینالیس*، اسطوخودوس، اسانس، نانوامولسیون، TYM Complete

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره بیست و یکم، شماره ۴ مهر و آبان ۱۳۹۶، صفحات ۳۳۴-۳۲۶

مقدمه

تریکوموناس واژینالیس تک‌یاخته تاژک‌دار دستگاه ادراری تناسلی انسان می‌باشد که عامل تریکومونیازیس است [۱]. این انگل دارای انتشار جهانی است و در تمام گروهای نژادی، اجتماعی و اقتصادی وجود دارد [۲]. طبق تخمین سازمان بهداشت جهانی سالانه ۱۸۰ میلیون زن در سراسر جهان آلوده به *تریکوموناس واژینالیس* می‌شوند [۳].

در ایران شیوع کلی عفونت *تریکوموناس واژینالیس* ۸ درصد و در نواحی مختلف بین ۰/۵ تا ۳۰ درصد گزارش شده است [۵،۴]. این عفونت سبب ایجاد عوارض فراوانی در زنان و مردان مبتلا می‌شود [۹-۶]. تشخیص قطعی بیماری با انجام روش‌های آزمایشگاهی امکان‌پذیر می‌باشد [۱۰]. داروی رایج در درمان این عفونت مترونیدازول می‌باشد که عوارض مختلفی داشته و با محدودیت به‌ویژه در دوران بارداری مصرف می‌شود. با توجه به اینکه گزارشات متعددی از کشورهای مختلف مبنی بر مقاومت دارویی وجود دارد، محققان را برآن داشته تا به جستجوی داروهای جایگزین با عوارض جانبی کمتر بپردازند [۱۱]. گیاه اسطوخودوس با نام علمی *Lavandula officinalis* و از خانواده نعنائیان (Labiatae) است که در نواحی مختلف مانند مدیترانه، جنوب غربی آسیا، شمال آفریقا و اروپا رویش دارد. اسانس اسطوخودوس حاوی بیش از ۴۲ ترکیب شامل استات لینالیل (۶۰-۳۰ درصد)، سینوئل (۱۰ درصد)، لینالول، نرول، برنئول، فلاونوئیدها، تانن‌ها و کومارین‌ها می‌باشد [۱۲]. تاکنون بیشتر تحقیقات روی فعالیت‌های ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس اسطوخودوس متمرکز بوده است و ویژگی‌های ضد تک‌یاخته‌ایِ آن کمتر مورد توجه قرار گرفته است. از سوی دیگر، نتایج مطالعات

[۱] دانشیار، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، گروه انگل شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

[۲] دانشجوی کارشناسی ارشد انگل شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

[۳] استاد، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

[۴] دانشجوی دکتری انگل شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

[۵] استادیار، مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

[۶] استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

* **نشانی نویسنده مسئول:**
ساری کیلومتر ۱۸جاده فرح آباد، مجتمع پیامبر اعظم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده پزشکی

تلفن: ۰۹۱۲۲۵۲۲۷۸۲ **دورنویس:** ۰۱۱۳۳۵۴۳۲۴۸

پست الکترونیک: mahdif53@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۱۰ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۶/۴/۱۳

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]

نشان می‌دهد که این اسانس روغنی دارای قدرت ضد تک‌یاخته‌ای بالایی است؛ اگرچه نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه است [۱۵-۱۳]. در یک مطالعه تاثیر اسانس دوگونه از اسطوخودوس (*L. intermedia* و *L. anagustifula*) روی *تریکوموناس واژینالیس* بررسی شده و خواص ضد تریکومونایی هردوگونه آن به اثبات رسیده است [۱۳]. باتوجه به قطعی نبودن اثر درمانی داروهای ضد انگلی و عوارض جانبی آن‌ها، طی سال‌های اخیر به استفاده از نانوذرات در درمان بیماری‌ها از جمله بیماری‌های انگلی توجه ویژه‌ای شده است. یافته‌ها نشان می‌دهد که نانوذرات نقره، طلا، کیتوزان و اکسید فلزات روی انگل‌های مختلف از جمله ژیاردیا، لیشمانیا، مالاریا و توکسوپلاسما اثر کشندگی یا مهار-کنندگی رشد دارند. از سوی دیگر، نانوامولسیون‌ها که امولسیون-های حقیقی با قطراتی با اندازه بی‌نهایت کوچک هستند، یک سیستم با پایداری ترمودینامیکی و سینتیکی می‌باشند. خصوصیات نانوامولسیون‌ها کاربرد آنها را جهت مطالعات بنیادی و کاربردی (شیمیایی، دارویی، بهداشتی و دیگر حوزه‌ها) مناسب نموده است [۱۸-۱۶]. تاکنون مطالعه‌ای روی فعالیت ضد تریکومونایی اسطوخودوس در اشکال نانوامولسیون صورت نگرفته است. لذا باتوجه به مطالب پیش‌گفته و نیز افزایش روبه رشد مصرف گیاهان دارویی در جهان، این تحقیق با هدف ارزیابی تاثیر ضد تریکومو-نایی اسانس و نانوامولسیون گیاه اسطوخودوس در شرایط برون‌تنی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس

اسانس گیاه اسطوخودوس از شرکت داروسازی باریج اسانس تهیه شده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

آماده سازی نانوامولسیون

از اسانس گیاه اسطوخودوس با استفاده از بافر فسفات ۱۰ درصد با pH=۶/۴ رقت‌های ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. برای تهیه محلول نانو اسطوخودوس، امولیسیون آب و روغن از اسانس اسطوخودوس با توئین ۸۰ و span60 به-مدت ۵ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. محلول حاصل با استفاده از دستگاه سونیکاتور به‌مدت ۴۰ دقیقه سونیکه شد و بعد از سونیکاسیون، محلول آبی-روغنی اسانس اسطوخودوس به‌وسیله کیسه‌های یخی سرد شد. در نهایت مشخصات فیزیکوشیمیایی محلول حاصل با استفاده از Zeta sizer (Nano ZS Malvern Instruments, UK) مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۹].

فرمولاسیون

فرمولاسیون نانوامولسیون اسانس از گروه داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران دریافت شد. برای تهیه نانوذرات از دستگاه پروب شرکت امواج فراصوت با ژنراتور مدل MTI سوئیس، ۴۰۰ وات، ۲۲۰ ولت، فرکانس ۲۰/۵ کیلو هرتز، دامنه ۳۰ درصد و قطر پروب ۱۹ سانتی‌متر استفاده شد و نانوامولسیون حاوی ۱۰ درصد اسانس تهیه گردید. برای تهیه نانوامولسیون از پلی‌وینیل الکل توین ۸۰ و لسیتین استفاده شد. در انتها، ظروف حاوی نانوامولسیون به‌خوبی پوشانده شده و در دمای یخچال دور از نور نگهداری شدند [۱۹].

تعیین اندازه ذرات نانوامولسیون

اندازه ذرات تهیه شده به‌وسیله دستگاه DLS (Dynamic light scattering) تعیین گردید. اندازه ذرات اسانس و نانوامولسیون گیاه اسطوخودوس و رزماری به‌ترتیب ۵/۳±۱۰۴/۲ و ۶/۴±۹۸/۷ نانومتر بود. هم‌چنین، محدوده توزیع ذرات به کمک دستگاه به‌دست آمد.

کروماتوگرافی گازی

کروماتوگرافی گازی مس اسپکتروسکوپی (GC-MS) با استفاده از دستگاه Hewlett Packard 6890 series و ستون-های مویینه DB-5 (30 m×0.25 mm, film thickness 0.25 μm) انجام شد که برنامه آن به شرح زیر تنظیم گردیده بود: ابتدا ۵ دقیقه در دمای ۶۰ °C و سپس افزایش دما تا ۲۲۰ °C انجام شد (۴ درجه در هر دقیقه). از گاز هلیوم به‌عنوان حامل با سرعت ۲ mL/min استفاده گردید. مقدار جدا سازی ۱:۴۰، انرژی یونیزه کننده ۷۰ eV، زمان اسکن ۱ ثانیه و acquisition mass range, 40-400 *m/z* [۲۱،۲۰].

برآورد سمیت سلولی اسانس و نانوامولسیون رزماری بر ماکروفاژها

بدین‌منظور از ماکروفازهای رده سلولی J774.A.1 استفاده گردید و پس از افزودن سلول‌ها به تعداد ۲×۱۰^{۵} در هر خانه از پلیت‌های ۹۶ خانه و اتصال سلول‌ها به پلیت، غلظت IC_{50} از اسانس و نانوامولسیون رزماری به آن‌ها افزوده شد و به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد از گاز CO_2 قرار داده شد. پس از آن با روش رنگ‌سنجی MTT و مقایسه جذب نوری با کنترل بدون دارو میزان زنده بودن سلول‌ها و سمیت دارو

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]

محاسبه گردید. درصد زنده بودن سلول‌ها با فرمول زیر محاسبه گردید [۲۲]:

۱۰۰×(جذب نوری در چاهک کنترل بدون دارو/جذب نوری در چاهک دارو زده) =درصدزنده بودن سلول‌ها

روش نمونه‌گیری

در این مطالعه تجربی از قسمت فورنیکس خلفی واژن زنان دارای علائم واژینیت و بدون سابقه مصرف داروی مترونیدازول که به مراکز درمانی مراجعه کرده بودند، تحت نظر پزشک متخصص زنان و با استفاده از یک سوآپ استریل ترشحات جمع‌آوری شده و سوآپ نمونه در ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل قرار داده شد. تریکوموناس به‌روش مستقیم مشاهده شد و تروفوزوئیت زنده و متحرک آن‌ها تائید گردید [۲۳].

کشت *تریکوموناس واژینالیس*

تروفوزوئیت‌های تائید شده *تریکوموناس واژینالیس* در محیط کشت (TYM complete) در دمای ۳۷ درجه کشت داده شد. این محیط کشت حاوی سرم گوساله و آنتی‌بیوتیک‌هایی از جمله سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین مایع و آمفوتریسین B می‌باشد. روش کار بدین صورت بود: در داخل لوله‌های فالکون و در کنار شعله و شرایط کاملا استریل زیرهود لوله حاوی محیط کشت TYM و انگل از انکوباتور ۳۷ درجه خارج شده و در کنار شعله بدون تکان دادن لوله محلول رویی تخلیه شده و رسوب انتهایی باقی ماند. سپس، CC ۱۰ محیط کشت تازه TYM که از قبل تهیه و در یخچال نگهداری شده بود، بعد از قرار گرفتن در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه به رسوب انتهایی حاوی انگل تریکوموناس اضافه گردید و مجددا به انکوباتور منتقل شد. این عمل هر ۴۸ ساعت یک‌بار انجام گرفت و با عمل پاساژ دادن تعداد انگل را افزایش داده تا زمانی که میزان آن به ۵۰۰۰۰۰ در هر میلی‌لیتر رسید.

تاثیر اسانس و نانوامولسیون گیاه اسطوخودوس روی انگل *تریکو-موناس واژینالیس*

تروفوزوئیت‌های تائید شده *تریکوموناس واژینالیس* در محیط کشت (TYM complete) در دمای ۳۷ درجه کشت داده شد. تعداد تک‌یاخته در هر میلی‌لیتر از محیط کشت به‌وسیله لام نئوبار شمارش شد. از گیاه رزماری رقت‌های سریالی ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در حالت اسانس و نانو تهیه شد. سپس، از پلیت‌های ۲۴ خانه همراه با کنترل مثبت و منفی (کنترل مثبت محیط‌های کشت حاوی تریکوموناس و مترونیدازول و کنترل منفی محیط کشت حاوی تریکوموناس بود) استفاده شد. در نهایت به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه به‌ترتیب ۲۰۰ لاندا محیط کشت TYM، ۱۰۰ لاندا محیط کشت که تعداد انگل در هر میلی‌لیتر آن ۵۰۰۰۰۰ بود، و ۲۰۰ لاندا دارو که با بافر فسفات در غلظت‌های مختلف تهیه شده بود. پلیت‌ها داخل انکوباتور قرار داده شده و در فواصل زمانی ۱، ۲ و ۳ ساعت انگل از نظرتحرک و زنده ماندن با رنگ تریپان‌بلو (انگل‌های مرده رنگ را جذب کرده و انگل‌های زنده بی‌رنگ باقی می‌مانند) و شمارش تعداد انگل با لام نئوبار و میکروسکوپ (عدسی ۴۰) بررسی شد. فاکتورهای بررسی عبارت بودند از: زمان تاثیر، غلظت تاثیر، تعداد انگل در هر مرحله، زنده بودن و تحرک [۲۲].

شمارش سلولی

برای تعیین تعداد کل سلول و درصد سلول‌های زنده از لام نئوبار و تکنیک رنگ‌آمیزی با محلول تریپان‌بلو استفاده شد. این لام دارای یک مربع مرکزی است که به ۲۵ مربع تقسیم شده و ۴ مربع جانبی که هرکدام به ۱۶ مربع تقسیم شده‌اند. جهت شمارش از مربع‌های ۱۶ خانه‌ای استفاده می‌کنیم. طول و عرض هرکدام از این مربع‌ها ۰/۱ میلی‌متر است که پس از گذاردن لامل روی آن ارتفاع لام و لامل ۱ میلی‌لیتر شده و در مجموع حجم ۰/۱ میلی‌لیتر مکعب می‌شود. پس از افزودن سوسپانسیون سلولی به فضای بین لام و لامل تعداد کل سلول‌ها در مربع ۱۶ خانه‌ای برابر است با تعداد سلول یا انگل در هر ۱۰ به توان منهای ۴ میلی‌لیتر از سوسپانسیون سلولی مورد آزمایش. تعداد سلول‌ها و انگل‌ها در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون مطابق فرمول زیر به‌دست می‌آید: تعداد سلول‌ها در هر میلی‌لیتر= ۰،۰۰۰ ۱×تعداد کل سلول‌ها در هر مربع ۱۶ خانه‌ای. سلول‌های شمارش شده به‌نحوی توسط محیط کشت TYM Complet رقیق می‌شوند که تعداد انگل در هر میلی‌لیتر آن ۰۰/۰۰۰ ۵ سلول باشد [۲۲].

آنالیز آماری

در این تحقیق اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ آنالیز شدند. جهت مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA test) و آزمون تعقیبی حداقل تفاوت معنی‌دار فیشر (LSD) استفاده شد. همچنین، معنی-داری تغییرات مهار رشد در طی زمان در هر یک از محیط‌های کشت با استفاده از آزمون آنالیز واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر ارزیابی شد و جهت مقایسه زمان‌ها نیز از آزمون LSD استفاده

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]

گردید. $P<۰/۰۵$ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج مربوط به GC-Mass و سمیت سلولی

در نتایج حاصل از طیف GC-MASS در این پژوهش از ۱۰۱ ترکیب موجود در اسانس گرفته شده از سرشاخه‌های گل-دار اسطوخودوس ۸ ترکیب عمده با مقدار بیشتر از ۴ درصد بودند که همگی جزء مونوترپن‌ها می‌باشند (جدول شماره ۱). این ۸ ماده به‌ترتیب فراوانی عبارت بودند از: ۱ و ۸ سینئول (۲۲/۲۹ درصد)، لینالول (۱۱/۲۲ درصد)، بتا-پینن (۵/۷۸ درصد)، آلفا-تریپینئول (۴/۸۵ درصد)، آلفاپینن (۴/۵۶ درصد)، ترپینن-۴-ال (۴/۱۹ درصد)، و بورنئول (۴/۰۳ درصد).

جدول شماره ۱- اجزای عمده تشکیل‌دهنده اسانس اسطوخودوس با استفاده از تکنیک گاز کروماتوگرافی

AL	اجزای عمده تشکیل‌دهنده اسانس	شماره پیک	زمان بازداری (min)	سطح زیر منحنی (درصد)
۹۳۲	Alfa-pinene	۶	۷/۷۴	۴/۵۶
۹۷۴	Bta- pinene	۸	۹/۰۴	۵/۷۸
۱۰۲۶	1, 8- Cineole	۱۲	۱۰/۸۱	۲۲/۲۹
۱۰۹۵	Linalool	۲۱	۱۳/۲۱	۱۱/۲۲
۱۱۴۱	Campher	۲۴	۱۴/۶۵	۷/۸۸
۱۱۶۵	Borneol	۲۶	۱۵/۴۱	۴/۰۳
۱۱۷۴	Terpinen-4-ol	۲۷	۱۴/۰۴	۴/۱۹
۱۱۸۶	Alfa-terpineol	۲۹	۱۶/۶۲	۴/۸۵

به‌منظور بررسی سمیت سلولی، سلول‌های ماکروفاژهای رده سلولی J774.A.1 در برابر رقت‌های سریالی از اسانس‌ها و نانوامولسیون گیاه اسطوخودوس قرار داده شده و پس از انجام تست MTT درصد زنده بودن ماکروفاژها با استفاده از فرمول زیر به‌دست آمد؛ بدیهی است که سمیت از کسر عدد به‌دست آمده از ۱۰۰ به‌دست می‌آید:

Cell viability (%)=(Optical density in sample well/ Optical density in control well)×100

در نهایت برای برآورد اینکه دارو و ترکیبات تنها بر انگل مؤثر بوده و روی ماکروفاژها تاثیر سمی نداشته است، پس از محاسبه مقدار IC50 *تریکوموناس واژینالیس*، ماکروفاژهای فاقد انگل در معرض غلظت IC50 قرار داده شده و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، آزمایش رنگ‌سنجی MTT انجام گردید و جذب نوری با کنترل بدون دارو مقایسه شد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲- برآورد سمیت سلولی اسانس‌ها و نانوامولسیون اسطوخودوس بر ماکروفازها

ترکیب	درصد زنده‌مانی	درصد سمیت
Lavandula	۹۳/۷۰	۶/۳۰
Nano-lavandula	۹۰/۹۰	۹/۰۹

نتایج مربوط به اثر اسانس و نانوامولسیون اسطوخودوس روی انگل *تریکوموناس واژینالیس*

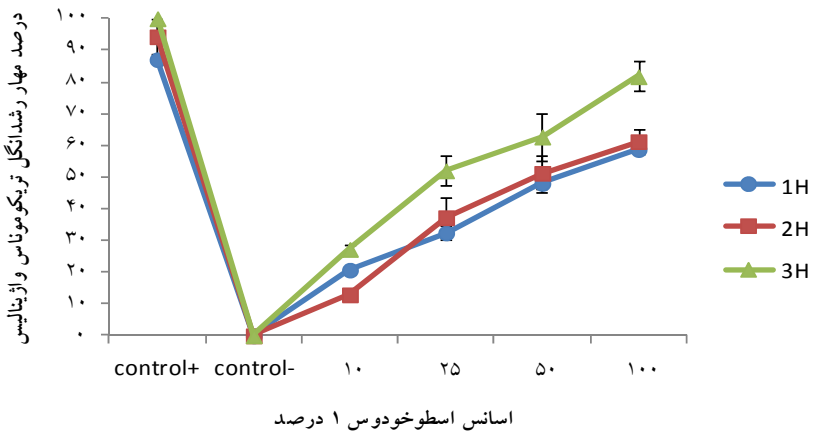
اثر غلظت‌های مختلف گیاه در حالت اسانس و نانو طی سه زمان با شمارش تعداد انگل *تریکوموناس واژینالیس* به کمک لام نئوبار و رنگ تریپان‌بلو انجام شد و درصد زنده بودن و مهار رشد انگل نیز محاسبه گردید (جدول شماره ۳ و نمودار شماره ۱). اثر رقت‌های مختلف نانوامولسیون و اسانس گیاه اسطوخودوس در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ ساعت روی انگل در مجاورت کنترل مثبت مترونیدازول ۵۰ µg/ml و کنترل منفی به‌صورت زیر است: مهار رشد انگل در تمامی رقت‌های اسانس و نانوامولسیون دیده شد، اما بهترین اثر، غلظت ۱۰۰ µg/ml بعد از ۳ ساعت بود (جدول شماره ۳ و نمودار شماره ۱).

جدول شماره ۳- بررسی درصد انگل زنده و مقایسه مهار رشد انگل در رقت‌های مختلف اسانس اسطوخودوس با کنترل مثبت و منفی

	۱ ساعت IC50: (۳۱/۵۱)			۲ ساعت IC50: (۱۲/۱۲)			۳ ساعت IC50: (۷/۰۷)			*P*
	کلاس	GI±Std	L%	کلاس	GI±Std	L%	کلاس	GI±Std	L%	
کنترل مثبت	aB	۸۷/۱±۱/۲	۱۱/۳	aAB	۹۴/۳±۵/۴	۳/۹	aA	۱۰۰±/۰	/۰	۰/۰۲۶
کنترل منفی	fA	/۰±۰/۵	۸۷/۸	fA	/۰±/۰	۶۸/۳	fA	/۰±/۰	۵۵	۰/۳۶۸
۱۰	eC	۲۰/۷±۱/۲	۶۹/۶	eB	۱۲/۹±۰/۵	۵۹/۶	eA	۲۷/۲±۱/۷	۴۰	*P*<۰/۰۰۰۱
۲۵	dB	۳۲/۴±۲/۲	۵۹/۳	dAB	۳۷/۳±۶/۱	۴۲/۸	dA	۵۲±۴/۶	۲۶/۳	۰/۰۱۱
۵۰	cB	۴۸/۱±۱/۶	۴۵/۶	cAB	۵۱/۳±۵/۸	۳۳/۲	cA	۶۲/۷±۷/۳	۲۰/۴	۰/۰۴۱
۱۰۰	bB	۵۸/۷±۱/۴	۳۶/۳	bB	۶۱/۳±۳/۶	۲۶/۴	bA	۸۱/۷±۴/۷	۱۰	*P*<۰/۰۰۰۱
P	*P*<۰/۰۰۰۱			*P*<۰/۰۰۰۱			*P*<۰/۰۰۰۱			

حروف انگلیسی کوچک مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف بین محیط‌های کشت و حروف انگلیسی بزرگ مشابه هر ستون بیانگر عدم اختلاف بین زمان‌ها در هر محیط کشت می‌باشد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]



نمودار شماره ۱- درصد مهار رشد انگل *تریکوموناس واژینالیس* در مجاورت اسانس اسطوخودوس طی زمان

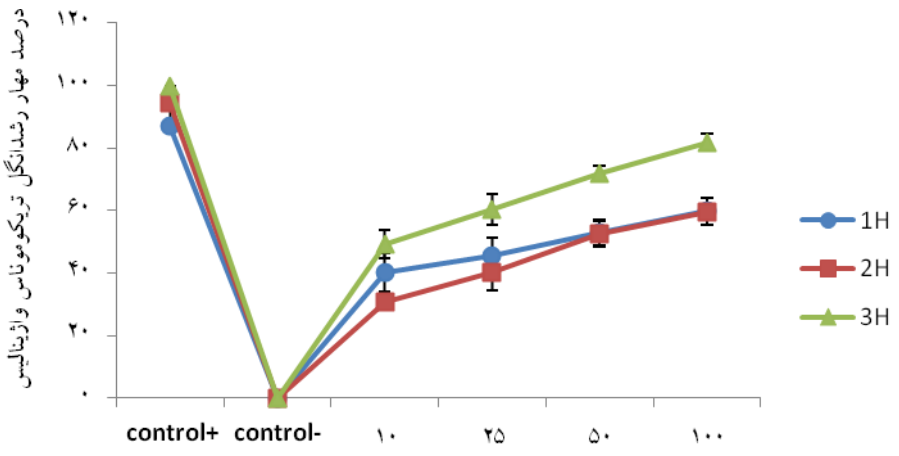
بررسی یافته‌ها نشان می‌دهد در گروه کنترل منفی در طی زمان کمترین مهار رشد و بیشترین تعداد انگل زنده مشاهده شده و در گروه کنترل مثبت بهترین مهار رشد صورت گرفته است و در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ ساعت تمامی رقت‌های اسانس اسطوخودوس با گروه کنترل مثبت و منفی باهم اختلاف معنی‌دار داشتند. در طی زمان مهار رشد اتفاق افتاده و همچنین با افزایش رقت اسانس اسطوخودوس مهار رشد رو به افزایش بوده است. در نهایت رقت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس اسطوخودوس در مقایسه با کنترل مثبت بهترین عملکرد را در طی زمان بر مهار رشد انگل داشته است (جدول شماره ۳، نمودار شماره ۱).

جدول شماره ۴- بررسی درصد انگل زنده و مقایسه مهار رشد انگل در رقت‌های مختلف نانوامولسیون اسانس اسطوخودوس با کنترل مثبت و منفی

	۱ ساعت IC50: (۱۵/۶۱)			۲ ساعت IC50: (۵/۱۳)			۳ ساعت IC50: (۰/۹۶)			*P*
	کلاس	GI±Std	L%	کلاس	GI±Std	L%	کلاس	GI±Std	L%	
کنترل مثبت	aB	۸۷/۱±۱/۲	۱۱/۳	aAB	۹۴/۳±۵/۴	۳/۹	aA	۱۰۰±/۰	/۰	۰/۰۲۶
کنترل منفی	eA	/۰±/۰	۸۷/۸	fA	/۰±/۰	۶۸/۳	fA	/۰±/۰	۵۵	۰/۳۶۸
۱۰	dB	۴۰/۱±۶/۱	۵۲/۵	eB	۳۰/۹±۱/۴	۴۷/۲	eA	۴۹/۴±۴/۵	۲۷/۹	۰/۰۰۲
۲۵	cdB	۴۵/۷±۵/۴	۴۷/۶	dAB	۴۰/۲±۵/۷	۴۰/۸	dA	۶۰/۳±۵/۱	۲۱/۹	۰/۰۳۸
۵۰	bcB	۵۳±۴/۲	۴۱/۲	cB	۵۲/۷±۴/۱	۳۲/۳	cA	۷۱/۹±۲/۵	۱۵/۵	۰/۰۱۰
۱۰۰	bB	۵۹/۸±۴/۴	۳۵/۲	bB	۵۹/۴±۰/۸	۲۷/۷	bA	۸۱/۹±۲/۸	۱۰	*P*<۰/۰۰۰۱
P		*P*<۰/۰۰۰۱			*P*<۰/۰۰۰۱			*P*<۰/۰۰۰۱		

حروف انگلیسی کوچک مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف بین غلظت‌ها و حروف انگلیسی بزرگ مشابه در هر سطر بیانگر عدم اختلاف بین زمان‌ها می‌باشد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]



نمودار شماره ۲- درصد مهار رشد انگل *تریکوموناس واژینالیس* در مجاورت نانوامولسیون اسطوخودوس طی زمان

همچنین، بررسی یافته‌ها نشان می‌دهد در محیط کنترل منفی در طی زمان کمترین مهار رشد انگل مشاهده شده و در کنترل مثبت بهترین مهار رشد صورت گرفته است و در طی زمان تمامی رقت‌های نانوامولسیون اسطوخودوس با گروه کنترل مثبت و منفی دارای اختلاف معنی‌دار بودند. در طی زمان با افزایش رقت مهار رشد رو به بالا بوده و در رقت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانوامولسیون اسطوخودوس علی‌رغم اینکه مهار کامل در آن اتفاق نیفتاده، ولی نزدیک‌ترین عملکرد را در طی زمان در مقایسه با سایر رقت‌ها بر مهار رشد انگل نسبت به گروه کنترل مثبت داشته است. موثرترین غلظت‌های اسانس و نانوامولسیون اسطوخودوس که ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود، باهم مقایسه شدند و نتایج نشان دادند که نانوامولسیون مشابه با اسانس عمل کرده و اختلاف آماری معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد (جدول شماره ۴ و نمودار شماره ۲).

جدول شماره ۵- بررسی درصد انگل زنده و مقایسه مهار رشد انگل در رقت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس و نانوامولسیون اسطوخودوس با کنترل مثبت و منفی

	۱ ساعت			۲ ساعت			۳ ساعت			*P*
	کلاس	GI±Std	L%	کلاس	GI±Std	L%	کلاس	GI±Std	L%	
کنترل مثبت	aB	۸۷/۱±۱/۲	۱۱/۳	aAB	۹۴/۳±۵/۴	۳/۹	aA	۱۰۰±/۰	/۰	۰/۰۲۶
کنترل منفی	cA	/۰±/۰	۸۷/۸	cA	/۰±/۰	۶۸/۳	dA	/۰±/۰	۵۵	۰/۳۶۸
اسانس	bB	۵۸/۷±۱/۴	۳۶/۳	bB	۶۱/۳±۳/۶	۲۶/۴	cA	۸۱/۷±۴/۷	۱۰	*P*<۰/۰۰۰۱
نانوامولسیون	bB	۵۹/۸±۴/۴	۳۵/۲	bB	۵۹/۴±۰/۸	۲۷/۷	cA	۸۱/۹±۲/۸	۱۰	*P*<۰/۰۰۰۱
P	*P*<۰/۰۰۰۱			*P*<۰/۰۰۰۱			*P*<۰/۰۰۰۱			

حروف انگلیسی کوچک مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف بین غلظت‌ها و حروف انگلیسی بزرگ مشابه در هر سطر بیانگر عدم اختلاف بین زمان‌ها می‌باشد.

باتوجه به نتایج جدول شماره ۵، در گروه کنترل منفی در طی زمان کمترین مهار رشد انگل مشاهده شده و در گروه کنترل مثبت بهترین مهار رشد صورت گرفته است. طی زمان موثرترین رقت‌های اسانس و نانوامولسیون اسطوخودوس با گروه کنترل منفی اختلاف معنی‌دار داشتند. به‌علاوهف در طی زمان با افزایش رقت، مهار رشد انگل قابل توجه بوده است. موثرترین غلظت اسانس و نانوامولسیون اسطوخودوس ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در طی زمان تاثیری مشابه هم در مهار رشد انگل داشته‌اند.

بحث

در این مطالعه قدرت مهار رشد انگل طی زمان و در مجاورت کلیه غلظت‌های سریالی اسانس و نانوامولسیون گیاه اسطوخودوس بررسی شده و مشاهده گردید که غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس و نانوامولسیون اسطوخودوس در طول ۳ ساعت به‌ترتیب ۸۱/۷ و ۸۱/۹ درصد مهار رشد نشان می‌دهند، درصورتی‌که مترونیدازول طی ۱، ۲ و ۳ ساعت به‌ترتیب ۸۷، ۹۴ و ۱۰۰ درصد مهار رشد را نشان داد. اثر مهاری نانوامولسیون

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]

اسطوخودوس در تمامی غلظت‌ها و ساعات تأثیری مشابه با اسانس این گیاه داشت. در این مطالعه اثر زمان اهمیت داشت و با افزایش زمان مجاورت میزان کشندگی مشابه با کنترل مثبت بود. مطالعه‌ای که توسط عزت‌پور و همکاران روی اسانس گیاه اسطوخودوس در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ درصد در مقایسه با داروی مترونیدازول انجام شد، نشان داد که در غلظت ۰/۱ درصد اسانس اسطوخودوس در مدت ۹۰ دقیقه تمامی انگل‌ها از بین رفته و برای غلظت ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ درصد حذف تمامی انگل‌ها به‌ترتیب ۱۲۰ و ۶ ساعت به طول انجامید [۲۳]. از علل تفاوت این مطالعه با طرح ما، کاربرد دو محیط کشت مختلف می‌باشد. در طرح ما از محیط کشت TYM complete استفاده شد که این محیط با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف از جمله آمفوتریسین B، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین مایع، پنی‌سیلین و استرپتومایسین اگزنیک شده و شانس بقای انگل در این محیط کشت افزایش می‌یابد، درصورتی‌که در مطالعه مذکور از محیط کشت CPLM که حاوی یک آنتی‌بیوتیک است استفاده شده و این خود سبب گزنیک شدن و تغییر pH محیط کشت شده و بقای انگل را کاهش می‌دهد. هم‌چنین، اسطوخودوس دارای گونه‌های مختلفی است که هرکدام از لحاظ ژنومی، ترکیبات و خواص متفاوت هستند. بنابراین، میزان اثر آن‌ها روی *تریکوموناس واژینالیس* متفاوت خواهد بود. از طرفی استفاده از قسمت‌های مختلف گیاه مثل برگ، ساقه و گل تاثیرات خاص خود را در مهار رشد انگل و اجرام دارد که احتمالا یکی از علت‌های تفاوت نتایج این تحقیق با دیگر مطالعات می‌باشد. در مطالعه Crouch و Alderete تأثیر اسانس اسطوخودوس روی *تریکوموناس واژینالیس* بررسی شده و اثر گیاه روی انگل بعد از هر ۱۵ دقیقه تا ۲ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفته و بعد از آن در زمان‌های ۳، ۴، ۵، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بررسی می‌شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داده است که در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ درصد اسانس اسطوخودوس تاثیر قابل ملاحظه‌ای روی انگل *تریکوموناس واژینالیس* داشته است [۲۴]. نتایج حاصل از این مطالعه در مقایسه با مطالعه عزت پور و همکاران با اثر زمان کمتر مشابه بوده است. در یک مطالعه مشابه Moon و همکاران تاثیر سه غلظت ۰/۱، ۰/۵ و ۱ درصد اسانس دو گونه اسطوخودوس (*lavandula angustifolia* و *lavandula intermedia*) را روی *تریکوموناس واژینالیس* بررسی کردند و دریافتند که غلظت ۰/۱ درصد اسانس اسطوخودوس در مدت ۵۵ دقیقه تمامی انگل‌ها را از بین می‌برد [۲۵]. Bouzouita و همکاران روغن گرفته شده از برگ‌های خشک شده اسطوخودوس را توسط کروماتوگرافی گازی آنالیز نمودند. فنکون و کمفور ترکیبات اصلی در میان ۲۸ مولکول شناخته شده بودند. آن‌ها نشان دادند این روغن بر علیه باکتری‌های مختلف و دو گونه *آسپرژیلوس* تاثیر قابل قبولی داشته و حساس‌ترین باکتری در مقابل روغن گرفته شده از برگ این گیاه، *استافیلوکوکوس اورئوس* است [۲۶]. یکی دیگراز ویژگی‌های تحقیق حاضر بررسی تاثیر فرم نانوامولسیون این گیاه برای اولین بار روی *تریکوموناس واژینالیس* است که تاثیری مشابه با اسانس آن داشت. ترکیبات دارویی نانویی می‌توانند به‌تنهایی نقش داشته باشند و یا اینکه در انتقال دارو به داخل سلول نقش داشته باشند. این مواد می‌توانند سلولی خاص و یا اندام داخل سلولی را مورد هدف قرار دهند و از این قابلیت در علوم دارویی و درمان استفاده‌های زیادی می‌شود. باتوجه به این نقش ترکیبات نانو، داروی مورد نظر می‌تواند به هدف خود در داخل یا سطح سلول بچسبد و عملکرد مناسبی داشته باشد و مانع از اتصال غیر اختصاصی دارو و هم‌چنین موجب کاهش عوارض جانبی شود. از آنجایی‌که اسانس اسطوخودوس براساس مطالعات آنتی‌موتاژنیک می‌باشد، و نیز بدین دلیل که تریکوموناس در دیواره سرویکس و واژن التهاب ایجاد می‌کند، شاید بوان از این گیاه نه‌تنها در نابودی تریکوموناس بهره گرفت که از اثرات مخرب انگل در دیواره نسوج نیز جلوگیری کرد که مطلب این نیاز به مطالعات تکمیلی دارد.

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت اسطوخودوس در اشکال اسانس و نانوامولسیون به‌عنوان مهار کننده رشد تریکوموناس واژینالیس مطلوب است و می‌تواند انتخاب مناسبی برای انجام تحقیقات درمانی تریکوموناس باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی شماره ۱۵۴۳ مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران است. بدین‌وسیله از آن معاونت به‌خاطر حمایت‌های مالی و معنوی قدردانی می‌شود.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]

References:

[1] Kissinger P. Trichomonas vaginalis: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. ***BMC Infect Dis*** 2015; 15(1): 307.

[2] Bolbol-Haghigh N, Ebrahimi H, Norouzi P, Delvarianzadeh M. Evaluation and comparison of clinical and paraclinical diagnosis of Trichomonas vaginitis in women refered to Shahroud City Health Care Centers. ***J Shahrod Uni Med Sci Health Ser*** 2008; 3(1):33-38. [in Persian]

[3] World Health Organization. 1995. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted diseases: overview and estimates. WHO, Geneva, Switzerland.

[4] Jamali R, Zareikar B , Usofi S, Ghazghanchi A. Comparison of the sensitivity of wet smear and culture for diagnosis of Trichomonas vaginalis. ***J Lorestan Univ Med Sci*** 2006; 8: 80-5. [in Persian]

[5] Hezarjaribi HZ, Fakhar M, Shokri A, Teshnizi SH, Sadough A, Taghavi M. Trichomonas vaginalis infection among Iranian general population of women: a systematic review and meta-analysis. ***Parasitol Res*** 2015; 114(4): 1291-300.

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

[7] Xiao JC, Xie LF, Fang SL, et al. Symbiosis of Mycoplasma hominis in Trichomonas vaginalis may link metronidazole resistance in vitro. ***Parasitol Res*** 2006; 100(1): 123-30.

[8] Sorvillo F, Smith L, Kerndt P, Ash L. Trichomonas vaginalis, HIV, and African-Americans. ***Emerg Infect Dis*** 2001; 7(6): 927-32.

[9] Ali V, Nozaki T. Current therapeutics, their problems, and sulfur-containing-amino-acid metabolism as a novel target against infections by "amitochondriate" protozoan parasites. ***Clin Microbiol Rev*** 2007; 20(1): 164-87.

[10] Wright JM, Dunn LA, Kazimierczuk Z, Burgess AG, Krauer KG, Upcroft P, et al. Susceptibility in vitro of clinically metronidazole-resistant Trichomonas vaginalis to nitazoxanide, toyocamycin, and 2- fluoro-2'-deoxyadenosine. ***Parasitol Res*** 2010; 107(4): 847-53.

[11] Aazami M, Valizadeh M, Ezatpur B. Effectiveness of Dex Properanolol Hydrochloride on Trichomonas vaginalis growth under In-vitro condition. ***Submedical J Shahid Beheshti Uni Med Sci*** 2004; 6: 319. [in Persian]

[12] Upson T, Andrews S. The genus Lavandula. Royal Botanic Gardens, Kew. 2004.

[13] Moon T, Wilkinson JM, Cavanagh HM. Antiparasitic activity of two Lavandula essential oils against Giardia duodenalis, Trichomonas vaginalis and Hexamita inflata. ***Parasitol Res*** 2006; 99(6): 722-8.

[14] Maria do Socorro SR, Mendonça-Filho RR, Bizzo HR, de Almeida Rodrigues I, Soares RM, Souto-Padrón T, Alviano CS, Lopes AH. Antileishmanial activity of a linalool-rich essential oil from Croton cajucara. ***Antimicrob Agents Chemother*** 2003; 47(6): 1895-901.

[15] Machado M, Santoro G, Sousa M, Salgueiro L, Cavaleiro C. Activity of essential oils on the growth of Leishmania infantum promastigotes. ***Flavour Fragr J*** 2010; 25(3): 156-60.

[16] Mir Majidi AS, Abbasi S. Optimization of ultrasonic emulsification conditions for the production of orange peel essential oil nanoemulsions. ***Monthly Nanotechnol*** 2015; 52(5): 2679–89.

[17] Iravani S, Korbekandi H, Mirmohammadi SV, Zolfaghari B. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. ***Res Pharm Sci*** 2014; 9(6): 385–406.

[18] Elmi T, Gholami S, Fakhar M, Azizi F. A Review on the Use of Nanoparticles in the Treatment of Parasitic Infections. ***J Mazand Univ Med Sci*** 2013; 23(102): 127-34. [in Persian]

[19] Hashtjin AM, Abbasi S. Nano-emulsification of orange peel essential oil using sonication and native gums. ***Food Hydrocoll*** 2015; 44: 40-8.

[20] Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. ***J Am Soc Mass Spectrom*** 1997; 6(8): 671-2.

[21] Davies NW. Gas chromatographic retention indices of monoterpenesand sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20M phases. ***J Chromato*** 1990; 503(42): 1-24.

[22] Mahmoodi M, Nosratabadi J, Fekri A, Haghparast A, Sharifi I. Evaluation of meglumine antimonate therapy in cutaneous leishmaniasis: Comparison of in vitro sensitivity of Leishmania tropica isolates from patients treated with drug with clinical response . ***Koomesh*** 2003; 4(3): 39-46.

[23] Ezatpur B, Badparva E, Ahmadi Sh, Rashidipur M, Ziaiye H. Investigation of Anti Trichomonas Vaginalis Activity of Lavandula angyustifolia Essential Oil in Invitro Media. ***Sci J Ilam Med Univ*** 2009; 16(4): 31-7. [in Persian]

[24] Crouch ML, Alderete JF. Trichomonas vaginalis interactions with fibronectin and laminin. ***Microbiol*** 1999; 145(Pt 10): 2835-43.

[25] Moon T, Wilkinson JM, Cavanagh HM. Antiparasitic activity of two Lavandula essential oils against Giardia duodenalis, Trichomonas vaginalis and Hexamita inflata. ***Parasitol Res*** 2006; 99(6): 722-8.

[26] Bouzouita N, Kachouri F, Hamdi M, Chaabouni MM, Aissa RB, Zgoulli S, et al. Volatile constituents and antimicrobial activity of Lavandula stoechas L. oil from Tunisia. ***J Essential Oil Res*** 2005; 17(5): 584-6.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-03]