

The effect of alcoholic extracts of *Arctium lappa* L. and *Satureja hortensis* L. against *Trichomonas vaginalis* in vitro

Arbabi M^{1*}, Fakhrieh-Kashan Z², Delavari M¹, Taghizadeh M³, Hooshyar H⁴

1- Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

2- Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

3- Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

4- Anatomical Sciences Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received November 3, 2016; Accepted July 4, 2017

Background: *Trichomonas vaginalis* infection is one of the most prevalent type of vaginitis in women. Considering the side effects of metronidazole and therapeutic properties of *Arctium lappa* L. and *Satureja hortensis* L. in traditional medicine, this study aimed to examine the anti-*Trichomonas* effects of *Arctium lappa* and *Satureja hortensis* alcoholic extracts in vitro.

Materials and Methods: This experimental study was conducted on *T. vaginalis* isolated from 1203 persons referred to five health centers in Kashan city. Five *T. vaginalis* isolates were cultured in a TYI-S-33 medium and were used to study the effect of *Arctium lappa* and *Satureja hortensis* extracts. The effects of different concentrations (12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800 and 1000 µg/mL) of plant extracts on the growth of *T. vaginalis* trophozoites were studied 12, 24, and 48 h after the culture. Also, the culture media and metronidazole (0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 µg/mL) were considered as the negative and positive controls, respectively. The effects of the extracts and drug were examined by counting the number of live and dead parasites using the trypan blue staining method.

Results: Results showed that the alcoholic extracts of *Satureja hortensis* and *Arctium lappa* had an inhibitory effect on the growth of *T. vaginalis*. The IC₅₀ values of the alcoholic extracts of *Satureja hortensis*, *Arctium lappa* and metronidazole after 24 h were 190.8, 996.7 and 0.0326 µg/mL, respectively.

Conclusion: The present study shows the in vitro anti-*Trichomonas* effect of *Arctium lappa* and *Satureja hortensis* extracts. The anti-*Trichomonas* effect of *Satureja hortensis* extract was higher than that of the *Arctium lappa* extract. Further studies are recommended to investigate the anti-*Trichomonas* effect of major components of these plants, especially the *Satureja hortensis* extract.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*, Alcoholic extract, *Satureja hortensis* L., *Arctium lappa* L., In vitro

* Corresponding Author.

Email: arbabi4.mohsen@yahoo.com

Tel: 0098 913 361 1303

Fax: 0098 315 554 1112

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, October, 2017; Vol. 21, No 4, Pages 298-304

Please cite this article as: Arbabi M, Fakhrieh-Kashan Z, Delavari M, Taghizadeh M, Hooshyar H. Effect of alcoholic extracts of *Arctium lappa* L. and *Satureja hortensis* L. against *Trichomonas vaginalis* in vitro. *Feyz* 2017; 21(4): 298-304.

(Satureja) به‌شمار می‌رود، اولین بار در ایتالیا اقدام به پرورش این گیاه شده است و پزشکان قرون وسطی برای درمان نفرس از آن استفاده می‌کردند، در قرن ۱۶-۱۵ میلادی آن را به‌عنوان دارویی مقوی، سقط کننده جنین و رفع فلج می‌دانستند [۷،۶]. خیرآبادی و همکاران تاثیر اسانس مرزه را بر پروماستیگوت‌های انگل لیسمانیا بررسی نموده‌اند [۷]. صفرنژاد تمشکل و همکاران نیز اثر ضد کیست ژیاوردیایی عصاره الکلی مرزه را گزارش کرده‌اند [۸]. براساس بررسی محبوبی و همکاران اسانس مرزه به‌دلیل داشتن تیمول و کارواکرول اثر ضد میکروبی بر علیه /شریشیاکلی و سالمونلا تیفی مورم و اثر ضد قارچی بر ضد آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس فلاووس دارد [۹]. باتوجه به شیوع و عوارض واژینیت تریکومونائی و نظرات متفاوتی که در زمینه کاربرد و اثربخشی داروهای گیاهی در درمان واژینیت تریکومونائی وجود دارد، تحقیق حاضر با هدف تعیین اثربخشی عصاره الکلی سرشاخه‌های هوایی مرزه و ریشه باباآدم، بر رشد انگل تریکوموناس واژینالیس در شرایط برون تنی در مقایسه با مترونیدازول به‌عنوان درمان رایج این بیماری انجام گردید.

مواد و روش‌ها

تحقیق با طراحی تجربی و به‌صورت برون تنی روی ایزوله‌های تریکوموناس واژینالیس جدا شده از ۱۲۰۳ فرد مراجعه کننده به ۵ مرکز بهداشتی درمانی کاشان شامل بیمارستان شهید بهشتی، بیمارستان شبیه‌خوانی، درمانگاه فرهنگیان، درمانگاه گلابچی و یک آزمایشگاه خصوصی صورت گرفت. نمونه مورد نیاز از ترشحات واژینال بخش خلفی سرویکس توسط متخصص زنان و هم‌چنین رسوب ادرار تهیه گردید. بلافاصله مقداری از نمونه برداشت شده جهت بررسی میکروسکوپی و بقیه جهت کشت در محیط (Trypticase, Yeast extract, Iron-S-33) TYI-S-33 [۱۰] اختصاص داده شد و توسط متخصص انگل شناس وجود انگل در نمونه مورد تایید قرار گرفت. بعد از کشت انگل با پاساژهای یک‌روز در میان محیط کشت (به‌منظور آگزینیک کردن محیط کشت و حذف سریع تر باکتری و قارچ‌های موجود در نمونه‌های بالینی) و اضافه نمودن آنتی‌بیوتیک و آمفوترپسین B جهت جلوگیری از رشد باکتری و قارچ، محیط کشت حاوی تریکوموناس واژینالیس به‌طور کامل آگزینیک و خالص گردید؛ به گونه‌ای که تعداد ترفوزوئیت‌های انگل در هر میلی‌لیتر محیط کشت TYI-S-33 به 5×10^5 رسیده شود. هنگامی که در ۵ ایزوله کشت داده شده تعداد 5×10^5 ترفوزوئیت انگل در هر میلی‌لیتر محیط کشت TYI-S-33 شمارش گردید، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از

محیط محتوی انگل به هر چاهک پلیت ۴۸ خانه‌ای کشت سلولی اضافه شد. بعد از تهیه سرشاخه‌های هوایی مرزه و ریشه باباآدم از بازار کاشان، تایید اصالت گیاهان توسط کارشناس مرکز تحقیقات کشاورزی شهر کاشان انجام گرفت. گیاه خشک آسیاب شده و طبق استانداردهای British Pharmacology عصاره‌گیری به روش پرکولاتور و با اتانول ۷۰ درصد انجام گردید و ترکیب حلال با پودر گیاه (ترکیب حجمی ۱ به ۱) به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. سپس، عصاره الکلی با استفاده از کاغذ صافی به میزان ۱ به ۱ حجمی تهیه گردید. عصاره به‌دست آمده داخل انکوباتور (Shimaz-co) ۶۰ درجه سانتی‌گراد مجهز به سیستم تهویه قرار داده شد تا غلظت ماده خشک آن افزایش یابد، در این دما تبخیر سریع‌تر صورت می‌گیرد و به‌منظور تعیین میزان ماده خشک، رطوبت نمونه عصاره تعیین گردید [۱۱]. از هر کدام از غلظت‌های عصاره سرشاخه‌های هوایی مرزه و ریشه باباآدم با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و با حجم مساوی از تمام نمونه‌ها به هر چاهک اضافه شده و پس از ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه کردن در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تعداد انگل زنده موجود در هر چاهک پلیت در مجاورت رنگ حیاتی (تریان‌بلو) روی لام نئوبار شمارش شده و تمامی این مراحل ۳ بار تکرار شد. اثر هر دو عصاره به شکل موازی و هم‌زمان روی انگل‌های آگزینیک شده در محیط کشت انجام گردید و انتخاب زمان‌های بررسی اثر دارو بر اساس مطالعات پایه صورت گرفت و از آنجاکه برخی غلظت‌های عصاره‌ها تا ۴۸ ساعت نیز تعداد انگل زنده را به صفر نرسانده بودند، از شمارش در زمان‌های کوتاه خودداری گردید. در هر پلیت دو چاهک، یکی به انگل و محیط کشت به‌عنوان کنترل منفی و چاهک بعدی به داروی مترونیدازول و انگل به‌عنوان گروه‌های کنترل مثبت با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر اختصاص داده شد. بعد از ۲۴ ساعت از مجاور نمودن انگل با غلظت‌های مختلف عصاره، میزان IC_{50} (میزان ۵۰ درصد کشندگی انگلی) با استفاده از نرم‌افزار Graph Pad محاسبه گردید. یافته‌های حاصل با استفاده از آزمون آماری ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

عصاره الکلی سرشاخه‌های هوایی مرزه رشد انگل تریکوموناس واژینالیس را در غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از ۱۲ ساعت به صفر رسانید، در صورتی که میانگین تعداد انگل زنده در گروه کنترل منفی در این زمان $26/1 \pm 1/85$

ساعت و در غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بالاتر تعداد انگل را به صفر می‌رساند. میزان IC₅₀ برای مترونیدازول پس از ۲۴ ساعت ۰/۰۳۲۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای عصاره الکلی سرشاخه‌های هوایی مرزه ۱۹۰/۸ و عصاره ریشه بابا آدم ۹۶۶/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. بعد از ۴۸ ساعت مترونیدازول در تمام غلظت‌ها تعداد انگل را به صفر رسانید. به دلیل اینکه محیط کشت دارای ظرفیت محدودی برای رشد انگل است، با گذشت زمان حتی در کنترل منفی نیز به‌علت کم شدن مواد مغذی مرگ انگل اتفاق می‌افتد.

عدد بود ($P < 0/05$) (جدول شماره ۱ و نمودار شماره ۱)، ولی با این عصاره الکلی بعد از ۴۸ ساعت در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میانگین تعداد انگل زنده برابر $3/3 \pm 1/5$ عدد بود، در حالی که تعداد انگل زنده در این زمان در گروه کنترل منفی $62/06 \pm 1/9$ عدد بود ($P < 0/05$). عصاره الکلی ریشه بابا آدم رشد انگل را در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از ۴۸ ساعت به $25/3 \pm 1/05$ رسانید، در صورتی که تعداد انگل زنده در گروه کنترل منفی $62/06 \pm 1/9$ بود ($P < 0/05$) (جدول شماره ۲ و نمودار شماره ۲). هم‌چنین، نشان داده شد مترونیدازول بعد از ۲۴

جدول شماره ۱- مقایسه تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی سرشاخه‌های هوایی مرزه با کنترل مثبت و منفی بر رشد و بقای تریکوموناس

واژینالیس ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت در شرایط برون‌تنی

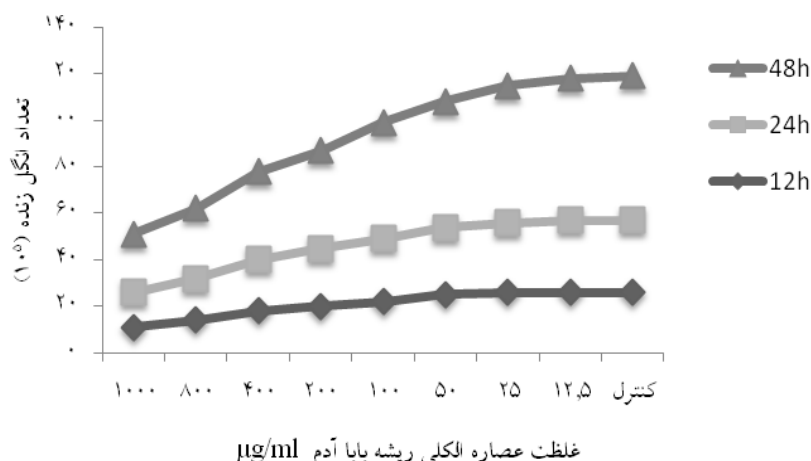
غلظت (µg/ml)	۱۲ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
۱۲/۵	۲۲±۳	۲۴/۰۳±۱/۹۵	۳۱/۰۶±۱/۱
۲۵	۱۹/۹۶±۳/۰۵	۲۲/۵±۱/۳۵	۲۹/۰۳±۰/۹۵
۵۰	۱۷/۰±۱/۸	۲۲±۱	۲۸/۰۶±۱/۹
۱۰۰	۱۴/۹۶±۱/۵۵	۲۰/۹۳±۰/۹	۲۲±۲
۲۰۰	۱۳/۰۳±۱/۸۵	۱۹/۹۳±۱/۱	۶/۱۶±۱/۷۵
۴۰۰	۱۵/۰۶±۰/۹	۱۰/۰۳±۰/۹۵	۳/۳±۱/۵
کنترل مثبت	۸/۰۳±۱/۵	۰	۰
کنترل منفی	۲۶/۱±۱/۸۵	۳۱/۰۳±۱/۹۵	۶۲/۰۶±۱/۹
مقایسه آماری گروه‌ها	$P < 0/05$		

تعداد انگل $\times 10^5$

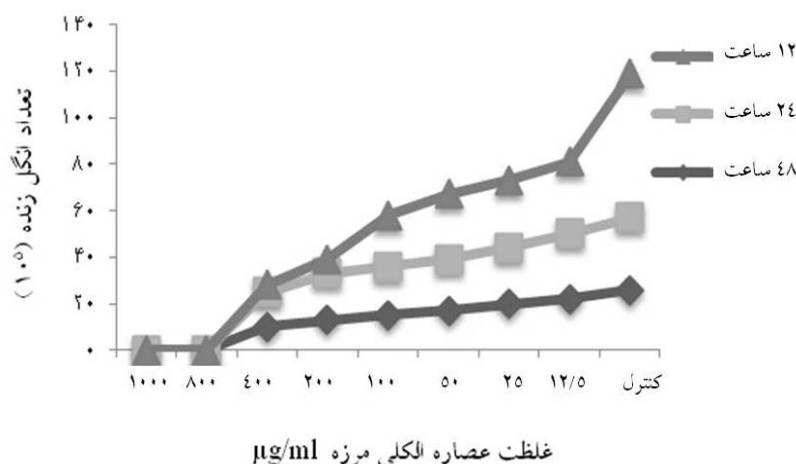
جدول شماره ۲- مقایسه تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی ریشه بابا آدم با کنترل مثبت و منفی بر رشد و بقای تریکوموناس واژینالیس ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت در شرایط برون‌تنی

غلظت (µg/ml)	۱۲ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
۱۲/۵	۲۶/۱۳±۱/۹	۳۱/۱±۲/۳۵	۶۰/۸±۲/۳
۲۵	۲۶/۰۳±۱/۱۵	۲۹/۹±۲/۳۵	۵۹/۰۶±۱/۱
۵۰	۲۴/۹۶±۰/۹۵	۲۹/۰۳±۰/۵۵	۵۴/۰۳±۱/۹۵
۱۰۰	۲۲/۱۳±۱/۸	۲۷/۲۶±۰/۷۳	۵۰/۰۶±۱/۹
۲۰۰	۲۰/۰۳±۱/۵	۲۵/۱±۱/۹۵	۴۲/۰۳±۱/۹۵
۴۰۰	۱۸/۰۳±۱/۴۵	۲۲/۰۳±۱/۹	۳۸/۰۶±۲/۹
۸۰۰	۱۲/۰۳±۲/۰۵	۱۸/۰۶±۱/۸	۳۰/۱±۲/۶۵
۱۰۰۰	۱۱/۰۶±۱/۸	۱۴/۹۳±۱/۳	۲۵/۳±۱/۰۵
کنترل مثبت	۸/۰۳±۱/۵	۰	۰
کنترل منفی	۲۶/۱±۱/۸۵	۳۱/۰۳±۱/۹۵	۶۲/۰۶±۱/۹
مقایسه آماری گروه‌ها	$P < 0/05$		

تعداد انگل $\times 10^5$



نمودار شماره ۱- تعداد انگل زنده پس از ۱۲، ۲۴، ۴۸ ساعت مجاورت با غلظت‌های مختلف عصاره الکی ریشه بابا آدم در شرایط برون‌تنی



نمودار شماره ۲- تعداد انگل زنده پس از ۱۲، ۲۴، ۴۸ ساعت مجاورت با غلظت‌های مختلف عصاره الکی سرشاخه‌های هوایی مرزه در شرایط برون‌تنی

بحث

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد عصاره الکی سرشاخه‌های هوایی مرزه در مقایسه با عصاره الکی ریشه بابا آدم رشد انگل را در زمان کوتاه‌تری به صفر می‌رساند ($P < 0.05$). افزون بر این بررسی‌ها نشان داد مترونیدازول بعد از ۲۴ ساعت در غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بالاتر تعداد انگل را به صفر می‌رساند. میزان IC_{50} برای مترونیدازول پس از ۲۴ ساعت ۰/۰۳۲۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای عصاره الکی سرشاخه‌های هوایی مرزه ۱۹۰/۸ و برای ریشه بابا آدم ۹۶۶/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. میزان اثر متفاوت دو عصاره مورد مطالعه روی انگل *تریکوموناس وائینالیس* ناشی از ترکیب‌های شیمیایی متفاوت آنها و در نتیجه متفاوت بودن خاصیت یک گیاه نسبت به دیگری می‌باشد. فخریه و همکاران اثر عصاره الکی پیاز (*Allium cepa*)، لعل کوهستان (*Oliveria decumbens* vent) و کلاغک یا سنبلک (*Muscari neglectum*) را با IC_{50} به ترتیب ۵۷۲/۳، ۱۰۱/۸،

۳۲۹/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر *تریکوموناس وائینالیس* موثر گزارش کردند که در نتیجه می‌توان گفت این عصاره‌ها در مقایسه با عصاره الکی ریشه بابا آدم اثر ضد *تریکوموناس* قوی‌تری داشته‌اند [۱۲]. در مطالعه مشابهی این محققین اثر عصاره الکی و آبی ژرانیوم (*Pelargonium roseum*) را با IC_{50} : ۲۷/۶۳، ۵۴/۶۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر *تریکوموناس وائینالیس* در شرایط آزمایشگاه موثر گزارش نمودند که در مقایسه با اثر عصاره‌های مورد مطالعه در تحقیق حاضر بسیار موثرتر بودند [۱۳]. Cedillo-Rivera و همکاران اثر Nitazoxanide در مقایسه با مترونیدازول را بررسی نمودند و IC_{50} برای مترونیدازول ۰/۰۳۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید که با میزان IC_{50} محاسبه شده در این مطالعه اختلاف ناچیزی دارد [۱۴]. Calzada و همکاران در مکزیک عصاره الکی خام ۲۲ گیاه دارویی را روی رشد *تریکوموناس وائینالیس* مورد بررسی قرار دادند و انبه (*Cocos nucifera*) و نارگیل (*Carica papaya*) اثر ضد

توقف رشد و تکثیر این انگل نشان دادند [۱۹]. Taran و همکاران به این نتیجه رسیدند که ترکیبات قطبی مانند آلیسین و آجوئین که از گیاه موسیر (*Allium hirtifolium*) استخراج می‌شوند، می‌توانند اثر ضد *تریکوموناس واژینالیس* در مقایسه با مترونیدازول داشته باشند [۲۰] و سرشتی و همکاران با بررسی عصاره آبی- اتانولی سرشاخه‌های هوایی گیاه چای کوهی این عصاره‌ها را بر انگل *تریکوموناس واژینالیس* بی‌تأثیر گزارش نمودند [۲۱].

نتیجه‌گیری

این مطالعه به روشنی نشان داد، عصاره الکلی سرشاخه- های هوایی مرزه در مقایسه با عصاره الکلی ریشه بابا آدم بر مهار رشد و تکثیر تک‌یاخته بیماری‌زای *تریکوموناس واژینالیس* در شرایط برون‌تنی موثرتر می‌باشد. باتوجه به شیوع بالای *تریکومونیاژیس* و عوارض جانبی داروی مترونیدازول به عنوان خط مقدم درمان، تحقیقات بیشتر از جمله مطالعه روی اجزای تشکیل دهنده هریک از عصاره‌ها جهت مطالعات بعدی لازم می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از کلیه کسانی که در انجام این تحقیق همکاری نموده‌اند، به‌خصوص سرکار خانم فاطمه آقاخانی و سرکار خانم دکتر فاطمه سلیمانی، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References:

- [1] Harp DF, Chowdhury I. Trichomoniasis: evaluation to execution. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 157(1): 3-9.
- [2] Schwebke JR, Barrientes FJ. Prevalence of trichomonas vaginalis isolates with resistance to metronidazole and tinidazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(12): 4209-42.
- [3] Sobel JD, Nyirjesy P, Brown W. Tinidazole therapy for Metronidazole Resistant Vaginal Trichomoniasis. *Clin Infect Dis* 2001; 33(8): 1341-6.
- [4] Johnston VJ, Mabey DC. Global epidemiology and control of trichomonas vaginalis. *Curr Opin Infect Dis* 2008; 21(1): 56-64.
- [5] Kim BH, Hong SS, Kwon SW, Lee HY, Sung H, Lee IJ, et al. Diartigenin, a Lignan Constituent from *Arctium lappa*, Down-Regulated Zymosan-Induced Transcription of Inflammatory Genes through Suppression of DNA Binding Ability of Nuclear Factor-kappaB in Macrophages. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 327(2): 393-401.
- [6] Herpburn NC. Management of cutaneous leishmaniasis. *Curr Opin Infect Dis* 2001; 14(2): 151-4.
- [7] Pirali-Kheirabadi KH, Dehghani-Samani A, Adel M, Hoseinpour F. The Effect of Essential Oil

تریکوموناسی با IC₅₀: ۵/۶-۵/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر داشتند که در مقایسه با تحقیق حاضر اثرات ضد انگلی موثرتری بود و اثر مترونیدازول با IC₅₀: ۰/۳۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر با مطالعه حاضر بسیار مشابه گزارش گردید [۱۵]. در دهه‌های اخیر مطالعات بی- شماری برای انتخاب اثر گیاهان بر علیه انگل *تریکومونالیس واژینالیس* با روش‌های متفاوت انجام گرفته است. Sabah Ahmedi و همکاران اثر عصاره‌های سیر و پیاز را بر رشد *تریکوموناس واژینالیس* در محیط کشت بررسی نمودند و اثر ضد *تریکوموناسی* سیر حدود ۳/۷ برابر قوی‌تر از پیاز بود [۱۶]. ضیایی و همکاران در مطالعه‌ای تأثیر گیاهان درمنه کوهی، آویشن شیرازی و مورد را روی *تریکوموناس واژینالیس* در محیط کشت انجام داده و به این نتیجه رسیدند که هر سه گیاه تأثیر قابل توجهی بر انگل داشته و سبب از بین رفتن این تک‌یاخته در محیط کشت می‌شوند [۱۷]. حسنی و همکاران تأثیر عصاره‌های مختلف اکالیپتوس را در شرایط برون‌تنی بر رشد انگل *تریکوموناس واژینالیس* در غلظت- های پایین به‌صورت صد درصد موثر دانستند [۱۸]. Pizzorno و Marry در تحقیقات مشابهی تأثیر ریشه، ریزوم و جوانه سرخارگل (*Echinacea*) و سنبل ختایی (*Angelica*) و برگ و پوسته سرخدار (*Mikania cordifolia*, *Neuyolaena lobata*) و *Scutia buaifolia* را در آزمایشگاه روی *تریکوموناس واژینالیس* مورد بررسی قرار داده و اثرات داروهای ذکر شده را در

- of *Nigella sativa* and *Satureia hortensis* on Promastigot Stage of *Lishmania major*. *Armaghane danesh J* 2013; 18(9): 687-98.
- [8] Safarnejad Tameshkel F, Nasrollahi A, Khatami Nejad MR, Rahdari P, Gholam Hossein Poor F, Kazemi Afarmejani S, et al. The Antimicrobial Effect of Methanol Extracts of *Eucalyptus*, *Satureia Hortensis* and *Heracleum Glabrescens* on *Giardia* Cysts. *J Med Lab* 2012; 16(2): 19-26.
 - [9] Mahboubi M, Feizabadi MM. The Antimicrobial Activity of Thyme, Sweet Marjoram, Savory and *Eucalyptus* oils on *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. *J Medicinal Plants* 2009; 2(30): 137-44.
 - [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. A sensible guide to the use of herbs and related remedies. 4th ed. The Havorth Herbal Press. New York; 1999. P. 98-102.
 - [12] 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.
- [13] Fakhrie-Kashan Z, Arbabi M, Delavari M, Taghi-Zadeh M, Hooshyar H, Solaymani F. The effect of aqueous and alcoholic extracts of *Pelarqonium roseum* on the growth of *Trichomonas vaginalis* in vitro. *Feyz* 2014; 18(4): 369-75. [in Persian]
- [14] Cedillo-Rivera R, Chávez B, González-Robles A, Tapia A, Yépez-Mulia L. In vitro effect of nitazoxanide against *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis* and *Trichomonas vaginalis* trophozoites. *J Eukaryot Microbiol* 2002; 49(3): 201-8.
- [15] Calzada F, Yépez-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.
- [16] Ahmed SA. In vitro effects of aqueous extracts of garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*) on *Trichomonas vaginalis*. *Parasitolog Unit J* 2010; 3: 45-54.
- [17] Ziaiye H, Azadbakht M, Abdollahi F, Shabankhani B. Effect of methanolic extracts of *Artemisia aucheri* Boiss, *Zataria multiflora* Boiss and *Myrtus comunis* L. on *Trichomonas vaginalis* (in vitro). *J Gorgan Med Sci* 2006; 8(1): 34-80.
- [18] Hassani S, Asghari G, Yousefi H, Kazemian A, Rafieiean M, Darani HY, et al. Effects of different extracts of *Eucalyptus camaldulensis* on *Trichomonas vaginalis* parasite in culture medium. *Adv Biomed Res* 2013; 2(2): 47.
- [19] Murray MT, Pizzorno JE. Textbook of natural medicine. Churchill living Stone. London; 1999.
- [20] Taran M, Rezaeian M, Izadoost M, In vitro Antitrichomonas Activity of *Allium Hirtifloium* (Persian shallot) in comparison with Metronidazole. *Iran J Public Health* 2006; 35(1): 92-4.
- [21] Sereshti M, Yousofi Darani H, Zebardast N, Rafiaeeyan M, Manochehri Naeeni K, Yousofi K. Effect of Ethanolic and Watery Extract of Aerial Parts of *Stachys Lavandulifolia* on *Trichomonas*. *J Med Plants* 2012; 41(Supple8): 159-65.