بررسی اثر ضد تریکومونایی عصاره‌های گیاهان ریواس و رازیانه بر روی تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی

مریم نیتی[الف*]، زینب جنیدی[ب]، محمد کمالی نژاد[ج]، علی حقیقی[د]، ناصر ولایی[هـ]، علیرضا ابدی[و]، سودابه حیدری[ز]

[الف] دانشیار و عضو هیئت علمی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

[ب] دانشجوی دکتری پزشکی ملکولی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

[ج] پژوهشگر و محقق دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

[د] استاد و عضو هیئت علمی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

[هـ] پژوهشگر و محقق دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

[و] دانشیار و عضو هیئت علمی، گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

[ز] دانشجوی دکتری انگل‌شناسی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: تریکومونیازیس یکی از بیماری‌های شایع غیر ویروسی دستگاه ادراری – تناسلی است که توسط تاژکدار تریکوموناس واژینالیس ایجاد می‌شود. مترونیدازول و تینیدازول دو داروی انتخابی در درمان تریکومونیازیس هستند، اما سرطان‌زایی بالقوه، اثرات تراتوژنیک بر جنین و مقاومت این ارگانیسم به مترونیدازول گزارش شده است. باتوجه به اثرات سایتوتوکسیک گیاهان دارویی از جمله ریواس و رازیانه بر ارگانیسم‌های میکروبی و به منظور تعیین تأثیر دو گیاه مذکور بر روی تریکوموناس واژینالیس، در این مطالعه امید است با استفاده از گیاهان فوق بتوان ترکیب دارویی گیاهی مؤثری معرفی شود.

مواد و روش‌ها: تحقیق به طریق تجربی انجام گرفت. از عصاره آبی الکلی گل ریواس غلظت‌های ۳۰۰–۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و از عصاره آبی دانه رازیانه غلظت‌های ۸۰۰–۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر تهیه شد. جهت کشت انگل تریکوموناس واژینالیس محیط TYI-S-33 ساخته شد. پس از رسیدن به میزان مورد نظر۱۰٦ در میلی لیتر، انگل با غلظت‌های مختلف عصاره‌ها مجاور شد. سپس اثرات بازدارندگی عصاره‌ها در کنار گروه‌های کنترل مثبت مترونیدازول و کنترل منفی بررسی شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل اندازه‌های تکراری (Repeated measures) با کمک نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

یافته‌ها: اثر بازدارندگی تأثیر عصاره آبی الکلی گیاه ریواس ۲٤ و ٤۸ ساعت پس از مجاورت با تک‌یاخته تریکوموناس واژینالیس در غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب، ۹۷/۸ درصد و ۱۰۰ درصد بود. درصد ممانعت از رشد انگل تحت تأثیر غلظت‌های مختلف دانه گیاه رازیانه نیز بررسی شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، ۷٦ درصد اثر بازدارندگی از رشد انگل در زمان ۲٤ ساعت ردیابی شد و در زمان ٤۸ ساعت، ۷۹/٤ درصد قدرت بازدارندگی مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که اثر ضد تریکومونایی گیاه عصاره آبی الکلی گل ریواس، بیش از عصاره آبی گیاه رازیانه است. مطالعات بعدی در خصوص جداسازی مواد مؤثرهٔ ریواس بر انگل مذکور و تحقیقات in vivo در انسان جهت استفاده آنها ضروری است..

کلید واژه‌ها: تریکوموناس واژینالیس، ریواس (Rheum ribes)، رازیانه (Foeniculum vulgare) ، شرایط آزمایشگاهی.

تاریخ دریافت: خرداد ۹۴
تاریخ پذیرش: مهر ۹۴

مقدمه:

تریکومونیازیس شایع‌ترین بیماری غیر ویروسی قابل انتقال از راه تماس جنسی است. این بیماری توسط تک‌یاخته بیماری‌زای تریکوموناس واژینالیس به‌وجود می‌آید. تظاهرات بالینی تریکومونیازیس در زنان شامل طیف گسترده‌ای از علائم شامل التهابات شدید، خارش، ترشحات فراوان کف‌آلود،

* فرد مسئول مکاتبات: maryamniyati@yahoo.com

[Downloaded from jiitm.ir on 2026-11-25]

ترشحات موکوسی بد بو و سوزش ادرار است. تظاهرات بالینی در مردان شامل سوزش هنگام دفع ادرار، داشتن ترشحات شفاف یا موکوسی، سوزش و خارش شدید بعد از خروج ادرار است. البته اغلب در هر دو جنس (خصوصاً در مردان) حتی در آلودگی‌های زیاد هم علامتی دیده نمی‌شود. (۱) عوارض مرتبط با تریکومونیازیس در زنان شامل زایمان زودرس، تولد نوزادان کم‌وزن، سقط جنین، پارگی زودرس کیسه آب، حاملگی خارج رحم، اندومتریت پس از زایمان، سالپنژیت، سرویسیت مزمن، سرطان سرویکس و نازایی برگشت‌پذیر است و در مردان شامل پروستاتیت، التهاب اپیدیدیم، اورتریت، بیماری‌های اوترال و حتی ناباروری است. (۲ و۳) این تاژکدار نقش بالقوه‌ای در ابتلاء به عفونت‌های ثانویه مانند ویروس پاپیلومای انسانی دارد و بروز سرطان گردن رحم و بیماری التهاب لگن نیز در اثر تریکومونـاس واژینالیس ممکن است. (٤) میزان شیوع در زنان در بین جمعیت‌های مختلف بین ۵ تا ۷٤ درصد گزارش شده است. (۵) شیوع این انگل در کشور ایران بین ۱۵/۷ – ۲/۱ درصد برآورد شده است. (٦) داروی انتخابی برای درمان بیماری تریکومونیازیس مترونیدازول و تینیدازول است، اما در سال‌های اخیر گزارش هایی مبنی بر کارسینوژن بودن این داروها و همچنین موارد مقاومت دارویی نسبت به مترونیدازول گزارش شده است. (۷) اینگونه موارد ضرورت یافتن داروی جایگزین را برای درمان تریکومونیازیس مشخص می‌کند. شواهد به جای مانده از دوران قدیم نشان می‌دهد که گذشتگان از گیاهان به عنوان دارو در درمان بیماری‌ها استفاده می‌کردند. با گسترش شاخه‌های مختلف علوم، استفاده از مواد شیمیایی در تولید داروها، توجه محققان را به خود معطوف کرد، اما طی مدت زمان کوتاهی عوارض آنها شناخته شد، لذا پژوهشگران مجدداً مجبور به استفاده از ترکیبات گیاهی در درمان بیماری‌ها شدند. (۸) از طرفی استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به افزایش مقاومت‌های دارویی علیه این داروها شده است. همین موضوع یکی از دلایل استفاده رو به رشد از گیاهان به عنوان مواد طبیعی کم‌خطر، در دسترس و ارزان‌قیمت، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک، در درمان عفونت‌های میکروبی بوده است. همچنین داروهای گیاهی نزد مردم دارای مقبولیت بیشتری در هنگام مصرف است. (۹) این دلایل علت افزایش موج جدید مطالعات گسترده و معرفی اثرات ضد میکروبی گیاهان مختلف در سال‌های اخیر بوده است. در این میان گیاهان دارویی به‌خصوص مواردی که خاصیت ضد میکروبی آنها در مطالعات دیگر مشخص شده، توجه محققان را به خود جلب کرده است. تاکنون اثرات ضد تریکومونیایی چند گونه گیاهی از جمله موسیر، بومادران، برگ گردو، افسنطین در سال‌های اخیر گزارش شده است (۱۰-۱۲). رازیانه با نام علمی Foeniculum vulgare و ریواس با نام علمی Rheum ribes گیاهانی هستند که در طب سنتی به عنوان داروی گیاهی ضد میکروب از آنها نام برده می‌شود. عصاره تهیه شده از این دو گیاه و یا گیاهان هم‌خانواده این چهار گونه مانند زنیان و زیره در محیط آزمایشگاهی مانع رشد و یا باعث از بین رفتن میکروارگانیسم‌ها شده است. به عنوان مثال بررسی اثر ضد میکروبی رازیانه بر روی اشرشیا کولای، باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*)، استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سرئوس (۱۵،۱٤،۱۳) بیانگر مؤثر بودن احتمالی این گیاهان برروی میکروارگانیسم‌های دیگر از جمله تریکومونـاس واژینالیس است.

هدف این تحقیق باتوجه به عوارض جانبی مترونیدازول و مقاومت‌های گزارش شده انگل تریکوموناس واژینالیس نسبت به این دارو این است که با بهره‌گیری از گیاهان ذکر شده بتواند ترکیب مؤثر ضد تریکومونیازیس معرفی کند.

مواد و روش‌ها:

۱- تهیه گیاهان

این تحقیق به روش تجربی انجام گرفت. در این بررسی گیاهان رازیانه با نام علمی Foeniculum vulgare و گل ریواس با نام علمی Rheum ribes زیر نظر مهندس محمد کمالی‌نژاد، پژوهشگر دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، از مرکز معتبر فروش گیاهان دارویی خریداری شد. شناسایی و تأیید گیاهان توسط خود ایشان صورت گرفت.

[Downloaded from jiitm.ir on 2026-11-25]

۲- تهیه عصاره هیدروالکلی از گل گیاه ریواس (Rheum ribes) و آبی رازیانه (Foeniculum vulgare)

عصاره‌گیری به روش ماسراسیون طبق تحقیقات گذشته انجام شد. (۱۶) به این منظور ۱۰۰ گرم از گل گیاه ریواس خشک شده را پس از آسیاب کردن، در یک ظرف ریخته و مقدار ۱۰۰۰ میلی لیتر الکل اتیلیک و ۱۰۰۰ میلی لیتر آب به آن اضافه شد. پس از گذشت ٤ ساعت محتویات ظرف را به کمک کاغذ صافی در محیط آزمایشگاه صاف و سپس ظرف حاصل روی بن ماری قرار داده شد. پس از تبخیر حلال، عصاره خشک حاصل شد، که به ازای هر ۱۰۰ گرم ریواس ۸ گرم عصاره به‌دست آمد. در خصوص گیاه رازیانه ۱۰۰ گرم از پودر دانه گیاهان رازیانه را پس از آسیاب کردن، به یک لیتر آب مقطری که جوش آمده اضافه شد، و سریع ظرف از روی حرارت برداشته شد، پس از گذشت ٤ ساعت محتویات ظرف، به کمک کاغذ صافی در محیط آزمایشگاه صاف شد، سپس ظرف حاصل روی بن ماری قرار داده شد، پس از تبخیر حلال، عصاره خشک حاصل شد، که به ازای هر ۱۰۰ گرم رازیانه، ١٤ گرم عصاره به‌دست آمد. مقادیر مورد نیاز از عصاره، به کمک ترازوی حساس ۰/۰۰۱ میلی گرمی توزین و در مقدار معینی از محیط کشت حل شد تا عصاره با غلظت مورد نیاز به دست آید.

۳- تهیه غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی گل ریواس و عصاره آبی دانه رازیانه

از عصاره آبی گل ریواس غلظت‌های ۱۰۰،۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و از عصاره آبی رازیانه غلظت‌های ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ٦۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تهیه شد. عصاره‌های رقیق‌شده به وسیله فیلتر سر سرنگی ۰/۲۲ میکرون با قطر ۲۵ میلی متر ساخت سارتریوس آلمان استریل شد.

٤- کشت انگل تریکوموناس واژینالیس مورد مطالعه

انگل تروفوزوئیت تریکوموناس واژینالیس طی مطالعه حیدری و همکاران از ترشحات واژن زن مبتلا به تریکومونیازیس تهیه و در محیط TYIS33 کشت داده شد. (۱۷) در همین راستا، لوله‌های حاوی محیط کشت تازه را از یخچال خارج شد تا دمای آن به دمای اتاق برسد، سپس مشخصات نمونه روی لوله‌ها ثبت شد. در مرحله بعد، لوله‌های حاوی انگل را در انکوباتور $37^{\circ}C$ قرار داده شدند و هر روز توسط میکروسکوب معکوس از نظر رشد انگل بررسی شدند، برای بررسی دقیق رشد انگل، در شرایط کاملاً استریل در کنار شعله از محیط کشت به وسیله سمپلر حاوی نوک سمپلر استریل، ۵۰ میکرولیتر از لوله حاوی انگل روی لام قرار داده شد و زیر میکروسکوپ با عدسی ×٤۰ بررسی شد. به‌منظور شمارش انگل، لوله محیط کشت TYI-S-33 حاوی انگل بعد از فاز لوگاریتمی (۷۲-٤۸ ساعت بعد از پاساژ) انتخاب و در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در شرایط استریل محلول رویی با استفاده از پیپت پاستور استریل دور ریخته شد و سلول‌های رسوبی با استفاده از لام نئوبار شمارش شد. در این تحقیق نیاز به ۱۰٦ انگل در هر میلی لیتر محیط کشت بود. به‌منظور محاسبه تعداد انگل در هر میلی لیتر از محیط کشت از فرمول زیر استفاده شد:

ml =X.Y.104 /تعدادتروفوزوئیت زنده

X : میانگین تعداد انگل درمربع‌های ١٦ خانه‌ای

Y : عکس فاکتور رقت

۱۰٤: تبدیل حجم mm^3 ۱/۰، به cm^3 مربوط به هر مربع ١٦ خانه‌ای

۵- بررسی تأثیر عصاره‌ها بر روی تروفوزوئیت تریکوموناس واژینالیس

بررسی تأثیر عصاره‌ها بر روی تروفوزوئیت تریکوموناس واژینالیس بر اساس حداقل غلظت بازدارندگی MIC (Minimum Inhibitory Concentratin) صورت می‌گیرد. زمانی که تعداد 10^6 ترفوزوئیت تریکوموناس واژینالیس در هر میلی‌لیتر از محیط کشت TYI-S-33 شمارش شد، در کنار شعله به مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر از محیط به لوله بروسیلیکات استریل اضافه شد. سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر از هر کدام از غلظت‌های عصاره مورد مطالعه به همان لوله بروسیلیکات استریل اضافه شد، سپس از لوله فوق ۱۰۰۰

[Downloaded from jiitm.ir on 2026-11-25]

میکرولیتر برداشته شد و به میکروتیوب استریل ریخته و میکروتیوب‌ها در انکوباتور ۳۷°C نگهداری شد، و بعد از ۲٤ و ٤۸ ساعت تعداد انگل زنده موجود در هر میکروتیوب به کمک لام نئوبار شمارش شد و تمامی این مراحل ۳ بار تکرار شد. همچنین در هر بار آزمایش یک میکروتیوپ حاوی انگل و محیط کشت به عنوان کنترل منفی و یک میکروتیوپ حاوی انگل و محیط کشت که مترونیدازول به آنها اضافه شده بود، به عنوان کنترل مثبت اختصاص داده شد. لازم به ذکر است از مترونیدازول (Metronidazole 250-ABID) غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد و به عنوان کنترل مثبت در هر سری آزمایش استفاده شد. بررسی لوله حاوی محیط پایه و انگل به عنوان کنترل منفی در هر سری تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ها، منظور می‌شد.

٦- شمارش انگل در لوله‌های میکروتیوب حاوی عصاره‌های گیاهان، لوله‌های کنترل مثبت و کنترل منفی پس از ۲٤ و ٤۸ ساعت

برای شمارش انگل، ۲۰ میکرولیتر محیط کشت با ۲۰ میکرولیتر رنگ حیاتی ائوزین ۰/۱ مخلوط شد تا در مشاهدهٔ میکروسکوپی، انگل زنده و مرده از یکدیگر تفکیک شود. در انگل‌های مرده رنگ به یاخته نفوذ کرده و بدین ترتیب انگل‌ها صورتی‌رنگ مشاهده می‌شد. در حالی که انگل‌های فعال، زنده و متحرک رنگ ائوزین را به خود جذب نمی‌کنند. برای کاهش خطا، شمارش انگل در هر میکروتیوب ۵ بار و هر آزمایش نیز ۳ بار تکرار شد.

۷- محاسبه درصد ممانعت از رشد انگل (MIC)

بررسی تأثیر عصاره‌ها بر روی تروفوزوئیت تریکوموناس واژینالیس بر اساس MIC (Minimum Inhibitory Concentratin) صورت گرفت.

بدین منظور از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{درصد عدم رشد انگل} = \frac{(\text{میانگین تعداد انگل زنده در گروه مورد} - \text{میانگین تعداد انگل زنده در گروه شاهد})}{\text{میانگین تعداد انگل زنده در گروه شاهد}} \times ۱۰۰$$

گروه شاهد (کنترل منفی) شامل محیط کشت و انگل تریکوموناس واژینالیس است.

یافته ها:

تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی گیاه ریواس (۱۰۰،۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) ۲٤ و ٤۸ ساعت پس از مجاورت با تک‌یاخته تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرارگرفت.

۱- مقایسه تعداد انگل زندهٔ شمارش‌شده در یک میلی لیتر با گروه شاهد، ۲٤ ساعت بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی ریواس:

تأثیر عصاره آبی الکلی گیاه ریواس در شرایط آزمایشگاهی بعد از ۲٤ ساعت از مجاورت غلظت‌های موجود در جدول (1) نشان داد که در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تعداد انگل زنده در یک میلی لیتر۱۰٤× ۵۲ بوده است. با افزایش غلظت، اثر بازدارندگی عصارهٔ آبی الکلی گیاه ریواس نیز افزایش یافت، به طوری که در غلظت ۲۰۰و۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب میانگین تعداد انگل زنده در یک میلی لیتر۱۰٤× ۳۹ و۱۰٤× ۱۲ گزارش شد و در غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی میلی لیتر هیچ انگلی زنده نماند.

۲-مقایسه تعداد انگل زنده شمارش‌شده در یک میلی لیتر با گروه شاهد، ٤۸ ساعت بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی ریواس:

تأثیر عصاره آبی الکلی گیاه ریواس در شرایط آزمایشگاهی بعد از ٤۸ ساعت از مجاورت غلظت‌های موجود در مقایسه با گروه شاهد در جدول نشان داد که در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تعداد انگل زنده در یک میلی لیتر، ۱۰٤×۱۲/۱ بوده است و با افزایش غلظت اثر کشندگی عصارهٔ آبی الکلی گیاه ریواس نیز افزایش یافته است، به طوری که در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر میانگین تعداد انگل زنده در یک میلی لیتر۱۰٤× ۷ مشاهده شد و در غلظت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر هیچ انگلی زنده نماند. (جدول 1)

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که در هر ٤ غلظت، عصاره آبی الکلی گیاه ریواس، مقایسه میانگین تعداد انگل زنده با گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) بود.

[Downloaded from jiitm.ir on 2026-11-25]

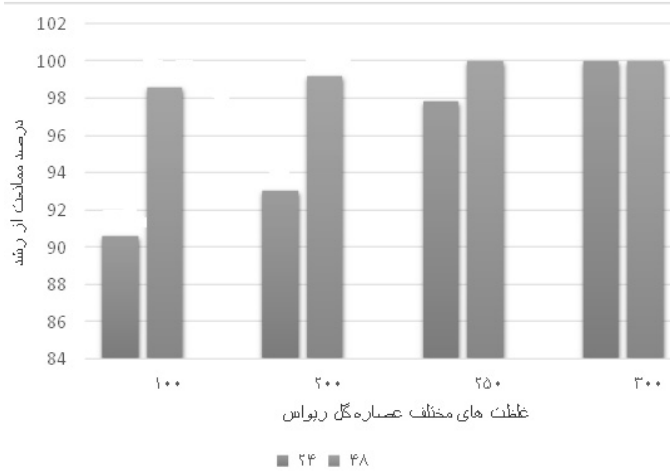
جدول شماره ۱: مقایسه تعداد انگل زنده شمارش‌شده در یک میلی لیتر با گروه شاهد، ۲٤ و ٤۸ ساعت بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی ریواس

غلظت عصاره آبی الکلی ریواس µg/ml	۲٤		٤۸		Pvalue	
	تعداد انگل زنده در ۱ml *	درصد کاهش تعداد انگل زنده	تعداد انگل زنده در ۱ml *	درصد کاهش تعداد انگل زنده	اثر غلظت	اثر متقابل زمان و غلظت
۱۰۰	۲ ±۵۲		۱۲/±۱		۰۰۱ <۰/۱	۰۰۱ <۰/۱
۲۰۰	±۳۹٤	۲۵	۷±۱	٤٤	۰۰۱ <۰/۲	۰۰۱ <۰/۲
۲۵۰	۱۲±۲	٦۹	۰	۱۰۰	۰۰۱ <۰/۳	۰۰۱ <۰/۳
۳۰۰	۰	۰	۰	۰		
شاهد منفی	۵۵۲±۳۲		۸۷۲±٦٦			
اثر متقابل زمان و غلظت					<۰/۰۰۱	

۱: مقایسه غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰µg/ml از طریق تحلیل اندازه‌های تکراری
۲: مقایسه غلظت ۲۰۰ و ۲۵۰µg/ml از طریق تحلیل اندازه‌های تکراری
۳: مقایسه غلظت ۲۵۰ و ۳۰۰ µg/ml از طریق تحلیل اندازه‌های تکراری
* داده‌ها ×۱۰٤ است.

۳-در صد ممانعت از رشد انگل

درصد ممانعت از رشد انگل تحت تأثیرغلظت‌های مختلف عصاره آبی الکلی گیاه ریواس در نمودار (۱) نشان داده شده است. داده‌های این جدول نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکلی ریواس در غلظت ۳۰۰ میلی گرم در میلی لیتر پس از ۲٤ ساعت و در غلظت ۲۵۰ میکروگرم در میلی لیتر پس از ٤۸ ساعت ۱۰۰ درصد مانع از رشد تروفوزوئیت انگل می‌شود.



نمودار ۱: درصد ممانعت از رشد انگل ۲٤ و ٤۸ ساعت پس از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی گل ریواس

٤-عصاره آبی دانه گیاه رازیانه

تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه رازیانه (۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ٦۰۰، ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) ۲٤ و ٤۸ ساعت پس از مجاورت با تک‌یاخته تریکومونـاس واژینـالیس در شـرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرارگرفت.

۵- مقایسه تعداد انگل زنده شمارش‌شده در یک میلی لیتـر با گروه شاهد، ۲٤ سـاعت بعـد از اضـافه کـردن غلظـت‌هـای مختلف عصاره آبی دانه رازیانه:

تأثیر عصاره آبی گیاه رازیانه در شرایط آزمایشگاهی بعد از ۲٤ ساعت پس از مجاورت غلظت ۷۵ میکروگرم بر میلی لیتـر نشان داد که در غلظت مذکور میانگین تعداد انگل زنـده ×۱۰٤ ٤٦۱ است. در غلظت ۸۰۰ میکروگرم بـر میلـی لیتـر، میـانگین تعداد انگل زنده×۱۰٤ ۱۳۲ گزارش شد. (جدول 2)

٦- مقایسه تعداد انگل زنده شمارش‌شده در یک میلی لیتـر با گروه شاهد، ٤۸ سـاعت بعـد از اضـافه کـردن غلظـت‌هـای مختلف عصاره آبی دانه رازیانه:

تأثیر عصاره آبی گیاه رازیانه در شرایط آزمایشگاهی بعد از ٤۸ ساعت نشان داد که در غلظت ۷۵ میکروگرم بـر میلـی‌لیتـر میانگین تعداد انگل زنـده ×۱۰٤ ۲۱۵ اسـت و در غلظـت‌هـای بالاتر نیز میانگین تعداد انگل زنده کاهش یافت، به طـوری کـه

[Downloaded from jiitm.ir on 2026-11-25]

در غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، میانگین تعداد انگل زنده ۱۰٤× ۱۷۹ گزارش شد.

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که در هر ۵ غلظت عصاره آبی گیاه رازیانه مقایسه میانگین تعداد انگل زنده با گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۰۱) بود. جالب آنکه در غلظت ۳۰۰ تا ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر، میانگین تعداد انگل در یک میلی لیتر پس از ٤۸ ساعت بیشتر از میانگین انگل زنده در یک میلی لیتر پس از ۲٤ ساعت بود. که به نظر می‌آید تأثیر عصاره در طی زمان بر روی انگل کاهش یافته است. باتوجه به داده‌های جدول (۲) اختلاف معناداری در بین میانگین تعداد انگل زنده وجود دارد، ولی درصد کاهش تعداد انگل زنده از غلظت ۳۰۰ تا ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر چشمگیر نبوده است. بنابراین از تأثیر غلظت‌های بالاتر از ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر صرفه نظر شد.

جدول ۲: مقایسه تعداد انگل زنده شمارش‌شده در یک میلی لیتر با گروه شاهد، ۲٤ و ٤۸ ساعت بعد از اضافه کردن غلظت‌های مختلف عصاره آبی دانه گیاه رازیانه

غلظت عصاره آبی گیاه رازیانه µg/ml	۲٤		٤۸		P-Value	
	تعداد انگل زنده در ۱ml *	درصد کاهش تعداد انگل زنده	تعداد انگل زنده در ۱ml *	درصد کاهش تعداد انگل زنده	اثر غلظت	اثر متقابل زمان و غلظت
۷۵	٤٦۱±۱۸		۲۱۵±۱۲		<۰/۰۰۱۱	<۰/۰۰۱۱
۱۵۰	۲٦۱±۱۹	٤۳	۱۹٦±۱۲	۸/۸	<۰/۰۰۱۲	<۰/۰۰۱۲
۳۰۰	۱۵۱±۵	٤۲	۱۸۹±٦	۳	<۰/۰۰۱۳	<۰/۰۰۱۳
٦۰۰	۱٤۲±۱۱	٦	۱۸۵±۱۱	۲	<۰/۰۰۱٤	<۰/۰۰۱٤
۸۰۰	۱۳۲±۳٦	۷	۱۷۹±۷	۳		
شاهد	۵۵۲±۳۲		۸۷۲±٦٦			
اثر متقابل زمان و غلظت					<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱

۱: مقایسه غلظت ۷۵ و ۱۵۰µg/ml از طریق تحلیل اندازه‌های تکراری

۲ : مقایسه غلظت ۱۵۰ و ۳۰۰µg/ml از طریق تحلیل اندازه‌های تکراری

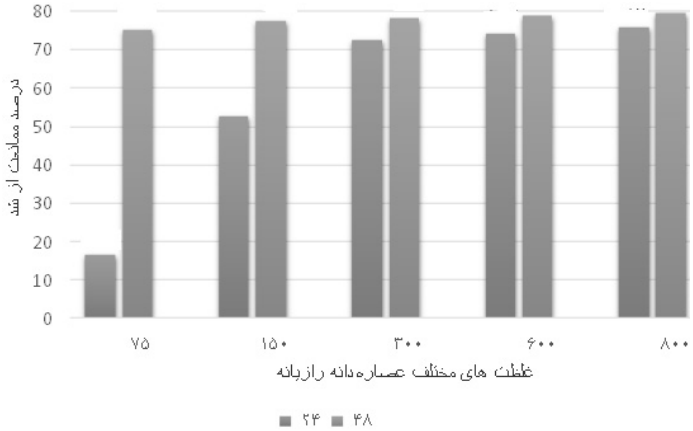
۳ : مقایسه غلظت ۳۰۰ و ٦۰۰µg/ml از طریق تحلیل اندازه‌های تکراری

٤ : مقایسه غلظت ٦۰۰ و ۸۰۰µg/ml از طریق تحلیل اندازه‌های تکراری

* داده‌ها ×۱۰٤ است.

۷- درصد ممانعت از رشد انگل

درصد ممانعت از رشد انگل تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی رازیانه در نمودار (2) نشان داده شده است. داده‌های این جدول نشان می‌دهد که عصاره آبی رازیانه در غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر پس از ۲٤ ساعت ۷٦ درصد و پس از ٤۸ ساعت ۷۹/٤ درصد مانع از رشد تروفوزوئیت انگل می‌شود.



نمودار ۲: درصد ممانعت از رشد انگل ۲٤ و ٤۸ ساعت پس از تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی دانه رازیانه

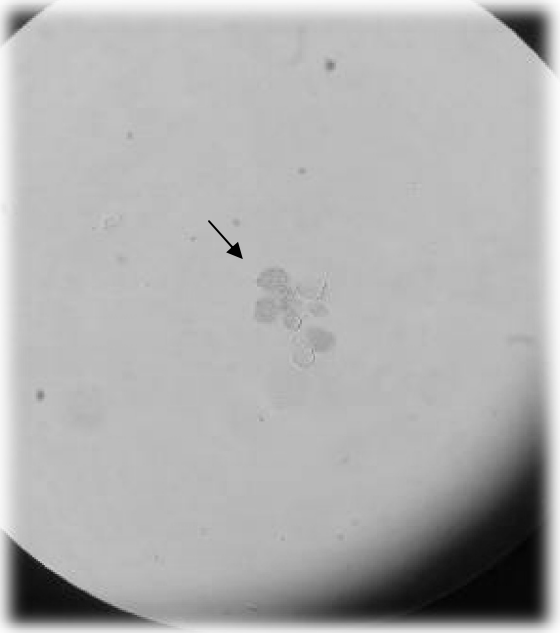
۸-مقایسه در صد ممانعت از رشد عصاره‌ها

در جدول (۳) مقایسه درصد بازدارندگی رشد عصاره آبی الکلی گل ریواس و آبی دانه رازیانه بر روی تریکوموناس واژینالیس نمایش داده شده است.

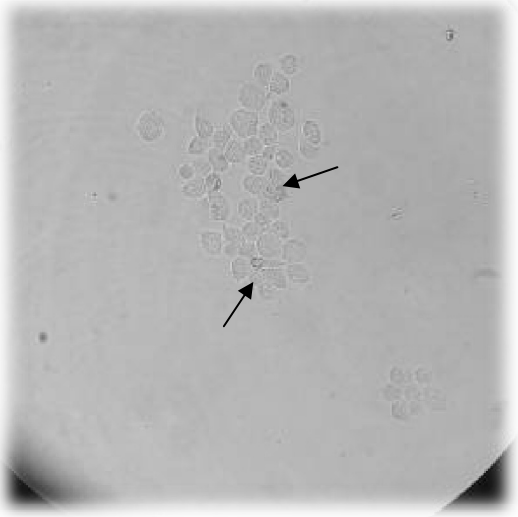
جدول ۳ : مقایسه درصد بازدارندگی رشد عصاره‌های ریواس و رازیانه پس از ۲٤ و ٤۸ ساعت

عصاره گیاهان	غلظت‌ها	ممانعت از رشد ٪	
		۲٤ ساعت	٤۸ ساعت
عصاره آبی الکلی گل ریواس µg/ml	۱۰۰	۹۱	۹۹
	۲۰۰	۹۳	۹۹
	۲۵۰	۹۸	۱۰۰
	۳۰۰	۱۰۰	۱۰۰
عصاره آبی دانه رازیانه µg/ml	۷۵	۱٦	۷۵/
	۱۵۰	۵۳	۷۷
	۳۰۰	۷۳	۷۸
	٦۰۰	۷٤	۷۹
	۸۰۰	۷٦	۷۹

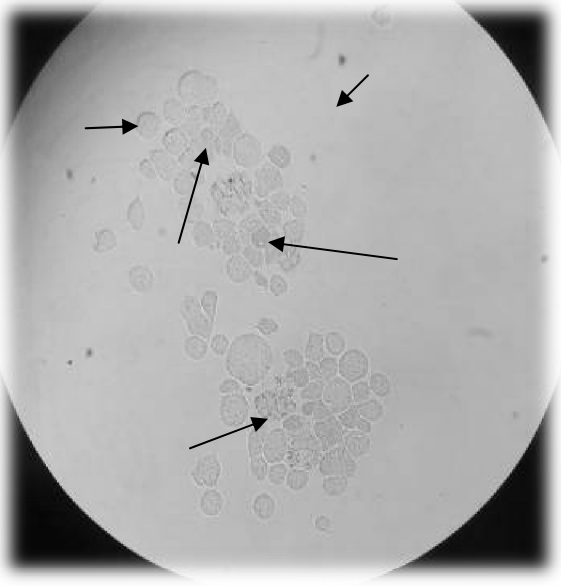
[Downloaded from jiitm.ir on 2026-11-25]



تصویر ۱: تروفوزویت تریکوموناس واژینالیس مرده پس از تأثیر عصاره، رنگ شده با ائوزین



تصویر۲: تروفوزویت تریکوموناس واژینالیس مرده پس از تأثیر عصاره، رنگ شده با ائوزین



تصویر۳ : تروفوزویت تریکوموناس واژینالیس مرده پس از تاثیر عصاره، رنگ شده با ائوزین

بحث و نتیجه گیری:

یافته‌های این تحقیق نشان داد که عصاره هیدروالکلی گیاه ریواس به طور معنی‌داری سبب کاهش میانگین تعداد انگل زنده برحسب زمان و غلظت شد. اثر بازدارندگی عصاره آبی الکلی گیاه ریواس ٢٤ و ٤٨ ساعت پس از مجاورت با تک‌یاخته تریکوموناس واژینالیس در غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب، ۹۷/۸ درصد و ۱۰۰ درصد بود. درصد ممانعت از رشد انگل تحت تأثیر غلظت‌های مختلف دانه گیاه رازیانه نیز بررسی شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، ٧٦ درصد اثر بازدارندگی از رشد انگل در زمان ٢٤ ساعت ردیابی شد و در زمان ٤٨ ساعت، ٧٩/٤ درصد قدرت بازدارندگی گزارش شد.

تریکومونیازیس شایع ترین بیماری غیر ویروسی قابل انتقال از راه تماس جنسی است. این بیماری که توسط تک‌یاخته بیماری‌زای تریکوموناس واژینالیس به‌وجود می‌آید باعث صدمات و عوارضی از قبیل: زایمان زودرس، تولد نوزادان کم‌وزن و سقط جنین می‌شود. درمان رایج این بیماری مترونیدازول است که دارای عوارض جانبی از جمله سردرد، ضعف، بی‌خوابی، التهاب معده، سرگیجه، تهوع، استفراغ، خشکی دهان، طعم فلزی در دهان، وزوزکردن گوش،

[Downloaded from jiitm.ir on 2026-11-25]

مورمورشـدن بـدن، راش پوسـتی، ادرار تیـره و سـوزش ادرار اسـت. (۳) داروی مترونیـدازول در بـاکتری‌هـا جهـش‌زا و در حیوانات آزمایشگاهی کارسینوژن بـوده و نیـز سـبب تضـعیف سیستم ایمنی هومورال و سلولار می‌شود. همچنین گزارش‌هـای زیـادی از بسـیاری از کشـورها مبنـی بـر شـیوع مقاومـت بـه مترونیدازول و عوارض کارسینوژنیک آن، پژوهشگران را بر آن داشته تا به جستجوی داروهای جایگزین بپردازند. (۷) گیاهـان دارویی از گذشته به صورت گسترده در درمان بیماری‌ها مـورد استفاده قرار می‌گرفتند. این استفاده گسترده می‌تواند بـه دلایـل مختلفی چون مزیت کمتر بودن عوارض جانبی، پـذیرش بهتـر بیمار به علت توصیه طب سنتی و استفاده نسل‌های گذشته و یا قیمت کمتر گیاهان دارویی باشد. اثرات درمانی گیاهان دارویی بیشتر با عملکرد فیزیولوژیـک طبیعـی بـدن انسـان سـازگاری بیشتری دارد. به همین جهـت، اسـتفاده از داروهـای گیـاهی از اهمیت بالایی برخوردار است، چرا که نکته مهـم در مطالعـات دارویی، میزان توکسیک بودن دارو بر سلول‌های بـدن اسـت و مترونیدازول دارای اثرات توکسیک بر سلول‌های سـالم عـلاوه بر انگل است (۱۸و ۱۹و ۲۰)، در حـالی کـه گیاهـان دارویـی نه‌تنها دارای حداقل اثرات جانبی هسـتند، بلکـه مـی‌تواننـد در تقویت سیستم‌های دیگر بدن نقش داشته باشند. گـزارش‌هـای متعددی مبنی بر اثر ضد میکروبی عصاره برخی گیاهان وجـود دارد. از آن جایی که احتمال دارد این گیاهان نقـش مـؤثری در کنترل بیماری‌ها داشته باشـند، ارزیـابی دقیـق گیاهـان دارویـی ضروری به نظر می‌رسد. بسیاری از داروهـای شـناخته شـده و معروف دارای منشأ گیاهی هسـتند. بـرای مثـال، کینـین کـه از پوست درخت گنه تهیه می‌شـود و در درمـان مالاریـا بـه کـار مـی‌رود دارای مشـتقات سـنتتیک زیـادی همچـون کلـروکین، آمودیاکین و پریماکین است. در نهایـت افـزایش تقاضـا بـرای داروهای طبیعی ممکن است بـه یـافتن داروهـای ضـد انگلـی جدیدی منجر شـود کـه دارای حـداقل اثـرات جـانبی باشـند. مکانیسم اثر مترونیدازول کـه بـه عنـوان داروی سـنتتیک ضـد آمیـــب، ژیاردیا و تریکوموناس واژینـالیس بـه کـار مـی‌رود شکستن زنجیره‌های DNA است که گـاه باعـث اثـــرات جانبی خطرناکی بر روی میـــزبان نیز می‌شود. (۲۱)

از گیاهان مؤثر علیـه تریکومونـاس واژینـالیس در تحقیـق حاضـر عصـاره هیـدروالکلی ریـواس بـود. حـداقل غلظـت بازدارنـدگی گـل ریـواس بعـد از گذشـت ۲٤ سـاعت ۳۰۰ میکروگـرم بـر میلـی لیتـر و بعـد از گذشـت ٤۸ سـاعت ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شد. ریواس در طب سنتی برای تقویت معده و کبد، کاهش تـب، رفـع بـی‌اشـتهایی و درمـان یرقان مطرح است و همچنین بـه عنـوان فعـال‌کننـده عملکـرد دستگاه گوارش، ناقل نمک های صفراوی و محرک ترشح کبـد شناخته شده است. نخستین کارکرد آن در دهان این اسـت کـه با تحریک اعصاب دهان به واسطهٔ مزهٔ تلـخ کـه دارد، موجـب پاک شدن حفرهٔ دهـان از میکـروب‌هـا مـی‌شـود و نیـز دارای اثرات ضد انگلی نیز هست. (۲۲و ۲۳) ترکیبـات گیـاه ریـواس عبارت‌انـد از: هیـدروکربن‌هـایی بـا زنجیـره بلنـد (٪۸۰/۸۱)، تریکـوزان (٪ ۲٦/۲۹)، hrneicosane (٪ ۲٦/۰۷)، پنتـاکوزان (٪۱۰/٦۳)، هپتاکوزان (٪۱۰/۳۷)، اسد پالمتیک (٪ ۳/٦٤)، تـان نوئیـــدهایی (Tannoides)، گلوکزیـــدها، گلوکوگالوزیـــد Glucogalloside، تتـــرارین Tetrarine یـــا تتراروزیـــد Tetraroside اسـید گالیـک آزاد، اسـید کریزوفانیـک (Ac. Chrysophanique) و امـــودین Emodin یـــا امـــودول (Emodol) است. به نظر می‌آید که این ترکیبـات اثـرات ضـد میکروبی دارند. در مطالعه‌ای که توسط فضلی بزاز و همکـاران در سـال ۱۳۸٤ در مشـــهد انجـام شـد، نشـان داد عصـاره هیدروالکلی ریشه ریواس در غلظت ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر دارای۱۰۰ درصد بازدارندگی بر تریکوموناس واژینالیس است. (۲٤) در مطالعه حاضر غلظـت ۳۰۰ میکروگـرم بـر میلـی لیتـر سبب از بین رفتن ۱۰۰ درصد انگل بعد از ۲٤ ساعت شد. لازم به توضیح است که فضلی و همکاران از ریشه ریـواس جهـت انجام تحقیق استفاده کرند، در حالی کـه در مطالعـه حاضـر از گل ریواس جهت تهیه عصاره استفاده شد. تفاوت غلظت مؤثر در از بین بردن انگل شاید به ترکیبات مختلف در قسمت‌هـای متفاوت گیاه مربوط باشد. آنالیز آماری نیز روند کاهش معنی‌دار انگل را در طی زمـان و غلظـت مجـاورت تأییـد کـرد. آنـالیز واریانس داده‌ها نشان داد که در هر ٤ غلظت عصاره آبی الکلی گیاه ریواس مقایسه میانگین تعداد انگل زنـده بـا گـروه شـاهد

[Downloaded from jiitm.ir on 2026-11-25]

دارای اختلاف معنی‌دار P<۰/۰۰۱ بود. در این تحقیق از دیگر عصاره‌های مورد استفاده عصاره آبی دانه گیاه رازیانه بود. اجزای مختلف گیاه رازیانه خواص متعددی دارد از جمله ریشه رازیانه، اثر مدر قوی دارد. برگ قاعده‌آور است. میوه رازیانه، اثر نیرودهنده، مقوی معده، اشتهاآور، آرام‌کننده، قاعده‌آور، زیادکننده ترشحات شیر و بادشکن دارد. ریشه رازیانه به علت مدر بودن، در موارد دفع ادرار، دفع سنگ کلیه، نفریت و بیماری‌های نظیر آن مصرف می‌شود. میوه رازیانه دارای ۱۲ درصد روغن است. به علاوه شامل ماده قندی، موسیلاژ و اسانس به مقدار ٤ تا ٦ درصد است. اسانس رازیانه شامل: آنتول Anethol به مقدار ۵۰ تا ۷۰ درصد، استراگول Estagol، متیل اوژنول Methyleugenol، الدئیدواستن آنیزیک Ald Anisique، فنون راست Fenone به مقدار ۱۰ تا ۲۰ درصد، کامفن Camphene، دیپانتن Dipenthene، آلفا فلاندرن Phellandrene α و غیره است. (۲۵) نتایج به‌دست آمده نشان داد که در غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر ۷٦ درصد اثر بازدارندگی از رشد انگل در زمان ۲٤ ساعت و در زمان ٤۸ ساعت ۷۹/٤ درصد قدرت بازدارندگی گزارش شده است. نتایج نشان دادند اختلاف معناداری در بین میانگین تعداد انگل زنده وجود دارد، ولی درصد کاهش تعداد انگل زنده از غلظت ۳۰۰ تا ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر چشمگیر نبود. نائینی و همکاران به بررسی اثرات ضدکاندیدایی وایمونومدولاتوری اسانس و عصاره‌های گیاه رازیانه (Foeniculum Vulgare Mill) در شرایط آزمایشگاهی پرداختند و به این نتیجه رسیدند که گیاهان رازیانه خاصیت بازداردگی متوسطی بر روی کاندیدا آلبیکانس دارند. (۲٦) این نتایج حکایت از تأثیر منطقه رویش گیاه، به ویژه نوع عصاره مورد استفاده دارد، که به دنبال آن تفاوت در مواد موجود در عصاره را سبب می‌شود. لازم به توضیح است که در عصاره گیاه رازیانه آنتول Anethol به مقدار ۵۰ تا ۷۰ درصد مشاهده می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که این ترکیب در اثر حرارت از عصاره‌ها خارج می‌شود. بنابراین شاید تأثیر اندک عصاره آبی دانه رازیانه بر تریکوموناس واژینالیس به دلیل حضور کم ترکیب آنتول باشد. باتوجه به نتایج به‌دست آمده در بین دو گیاه مورد مطالعه (ریواس، رازیانه) بهترین اثر ممانعت از رشد انگل تریکوموناس واژینالیس در مدت زمان ۲٤ ساعت در گل ریواس مشاهده شد. این پژوهش به روشنی نشان داد، اثر ضد انگلی عصاره آبی الکلی گیاه ریواس، از عصاره آبی گیاه رازیانه بیشتر است. مطالعات بعدی در خصوص جداسازی مواد مؤثره ریواس بر انگل مذکور و تحقیقات in vivo در انسان جهت استفاده آنها ضروری است.

تقدیر و تشکر:

از سرکار خانم خانم دکتر زبردست و دکتر نیلوفر تقی‌پور و سرکار خانم دکتر معماری و آقای بهروان به دلیل نظرات ارزشمندشان تشکر و قدردانی می‌شود. از حمایت مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (با شماره ۱۷٦ / ٤۲۲) قدردانی می‌شود.

[Downloaded from jiitm.ir on 2026-11-25]

References:

1. Wolner-Hanssen P, Krieger JN, Stevens CE, Kiviat NB, Koutsky L, DeRouen T et al. Clinical manifestations of vaginal trichomoniasis. JAMA 1989 ; 261: 571–76.

2. Van Schalkwyk J, Yudin MH, Yudin MH, Allen V, Bouchard C, Boucher M et al. Vulvovaginitis: screening for and management of trichomoniasis, vulvovaginal candidiasis, and bacterial vaginosis.; J Obstet Gynaecol Can 2015; 37(3):266-74

3. 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.

4. Šoba B, Skvarč M, Matičič M. Trichomoniasis: a brief review of diagnostic methods and our experience with real-time PCR for detecting infection. Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat 2015;24(1):7-10

5. Swygard H, Miller WC, Kaydos-Daniels SC, Cohen MS, Leone PA, Hobbs MM, Sena AC. Targeted screening for Trichomonas vaginalis with culture using a two-step method in women presenting for STD evaluation. Sex Transm dis 2004; 31(11): 659 – 66.

6. Rasti S, Taghriri A, Behrashi M. Trichomoniasis in women referring to shabihkhani hospital in Kashan. Feyz J 2002; 7(26): 21-5.

7. Sobel JD, Nagappan V, Nyirjesy P. Metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis-an emerging problem. N Engl J Med 1999;341(4):292-93.

8. Marjorie MC. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin Microb Rev 1999;12:564-82.

9. Mosaddegh M, Naghibi FI. Traditional Medicine: Past & Present. Traditional Medicine & Materia medica. Vol. 1. Tehran, Iran; Published TMRC 2002; p: 2-20.

10. 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; 71(1-2): 101-7.

11. Taran M, Rezaeian M, Izaddost M. In vitro antitrochomonas activity of Allium hirtifolium (Persian shallot) in comparison with metronidazole. Iranian J Pub Health 2006; 35: 92-94.

12. Khalilidehkordi B, Rafieyan M, Hejazi SH, Yusefi HA,Yektaeeian N, Shiranibidabadi L. In vitro antitrochomonas activity of extracts of Artemisia absinthium and Achillea millefolium and Juglans regia. J Shahrekord Univ Med Sci 1389;12(4):62-9.

13. Saeedi M, Ebrahimzadeh MA, Morteza-Semnani K, Akha A, Rabiei KH. Evaluation of Antibacterial Effect of Ethanolic Extract of Foeniculum Vulgare Mill. J Mazand Univ Med Sci 2010; 20(77): 88-91.

14. Abu-Darwish MS, Al-Ramamneh EA, Kyslychenko VS, Karpiuk UV. The antimicrobial activity of essential oils and extracts of some medicinal plants grown in Ash-shoubak region - South of Jordan. Pak J Pharm Sci 2012; 25(1):239-46.

15. Clark AM. Natural products as a resource for new drugs. Pharm Res. 1996 Aug; 13(8): 1133-44.

16. Samsum shariat H. Extraction of effective substance from drug plants. 2nd ed. Esfehan: Manni; 1386, 12-20.

17. Heidari S, Bandehpour M, Seyyed-Tabaei SJ, Valadkhani Z, Haghighi A, Abadi A, Kazemi B Ferredoxin Gene Mutation in Iranian Trichomonas vaginalis Isolates. Iran J Parasitol. 2013 8(3):402-7.

[Downloaded from jiitm.ir on 2026-11-25]

18. Dashtpema A, Moshfea AA, Manzoori L, Arefkhah N, Shahriyari S, Mohseni M, Abasi M, Noshadian . Effect of babooneh on recovery from cutaneous leishmaniasis due to L.majour in balbc mice. Armaghan danesh. 20.2 (97)

19. Gehring S, Efferth T. Development of Drug Resistance in Trichomonas vaginalis and its Overcoming with Natural Products. The Open Bioactive Compounds Journal 2009; 2:21-8

20. Marjorie MC. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin Microb Rev 1999; 12:564-82.

21. Mahmoudi R, Ehsani A, Tajik H, Akhonzade Bastiand A, Khosrowshahi A Antimicrobial effects of Mentha Longifolia L . Essential oil and Lactobacillus casei against Staphylococcus aur eus in Iranian White Cheese. J of nut sci 2010; 1(20): 148-61.

22. Gehring S, Efferth T. Development of Drug Resistance in Trichomonas vaginalis and its Overcoming with Natural Products. The Open Bioactive Compounds Journal 2009; 2:21-8

23. Zargari A. Medicinal Plants, Vol.2, 5th ed. Tehran: Tehran University publication, 1991. (Text in Persian).

24. Fazli B. In vitro survey of Rheum nobile on Trichomonas vaginalis. Mashhad University.1384. (Text in Persian).

25. Marjorie MC. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin Microb Rev 1999; 12:564-82.

26. Naeeini AR, Khosravi AR, Tajbkhsh H, Ghazanfari T, Yaray R. Invitro survey of anticandida and immunomedulatory effect of esanse and extract of Foeniculum Vulgare Mill. J Shaheed Univ Med Sci 1388;16(82).

[Downloaded from jiitm.ir on 2026-11-25]