

Scolicidal Effects of Mixture of Artemisia, Eucalyptus and Ginger Extracts on Hydatid Cyst Protoscolices

Fariba Faizi¹,
Fatemeh Parandin²,
Shirin Moradkhani³,
Nasrin Rezaee⁴,
Mohammad sardar⁵,

Arastoo Roushan⁶, Mohammad Fallah⁷

¹ MSc in Medical Parasitology, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

² Instructor, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

³ Assistant Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

⁴ MSc in Medical Parasitology, Faculty of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran

⁵ MSc in Medical Parasitology, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

⁶ Hamadan Abattoir, Hamadan, Iran

⁷ Professor, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

(Received March 14, 2017 Accepted September 11, 2017)

Abstract

Background and purpose: Hydatidosis is highly prevalent worldwide which mainly involves liver and lung. There are some drugs sensitive to the hydatid disease but surgery is still the most common form of treatment. Different chemical agents are used for inactivation of protoscolices during surgery but most leave serious side effects. Therefore, herbal extracts have received more attention as replacing agents that have acceptable scolicidal effects and no adverse effects. The aim of this study was to investigate the scolicidal effects of mixture of *Artemisia*, *Eucalyptus* and ginger extracts on hydatid cyst protoscolices in vitro.

Materials and methods: Hydatid liver cysts isolated from sheep were collected from a slaughterhouse in Hamedan, Iran. The cysts fluid containing live protoscolices were aspirated aseptically. The effect of two concentrations of the methanolic extracts of the mixture (50 and 100 mg/ml) was investigated at 15 and 30 min. Viability of protoscolices was confirmed by 0.1% eosin staining. Data analysis was done applying Chi-square test.

Results: The mixture of eucalyptus and ginger extracts showed acceptable scolicidal effects in which after 15 and 30 min exposure at 50 and 100 mg/ml concentrations it killed 97.24% and 100% of protoscolices, respectively.

Conclusion: This study showed that mixture of *Eucalyptus* and ginger had high scolicidal activity in vitro condition. Therefore, it could be used in surgical treatment of hydatid cyst after complementary researches.

Keywords: hydatid cyst, *Artemisia*, *Zingiber*, *Eucalyptus*, scolicidal

اثر کشندگی مخلوط عصاره های متانولی اکالیپتوس، درمنه و زنجبیل بر پروتواسکولکس های کیست هیداتید

فریبا فیضی^۱
فاطمه پرندین^۲
شیرین مرادخانی^۳
نسرین رضایی^۴
محمد سرداری^۵
ارسطو روشن^۶
محمد فلاح^۷

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به انتشار جهانی هیداتیدوز و آلودگی آن در دو عضو حساس بدن (کبد و ریه)، و با وجود داروهایی که تا حدودی بر روی بیماری موثر هستند، هنوز هم جراحی روش معمول درمان این بیماری می باشد. مواد شیمیایی مختلفی برای از بین بردن پروتواسکولکس ها در حین جراحی استفاده می شود که اغلب آن ها دارای عوارض سوء جانبی برای بیماران هستند. در نتیجه استفاده از عصاره های گیاهی به عنوان منابع جایگزین، ضمن اثر پروتواسکولکس کشی قابل قبول، که عوارض سوء جانبی را نداشته باشند مورد توجه قرار گرفته است. این مطالعه با هدف بررسی اثر پروتواسکولکس کشی مخلوط عصاره های متانولی اکالیپتوس، درمنه و زنجبیل در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، کبدهای گوسفندان آلوده به کیست های هیداتیک از کشتارگاه همدان جمع آوری گردید، و سپس مایع کیست های حاوی پروتواسکولکس های زنده، تحت شرایط استریل اسپیره شد. در این مطالعه اثر دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر از هر یک از مخلوط عصاره های اکالیپتوس، درمنه و زنجبیل در زمان های ۱۵ و ۳۰ دقیقه بررسی شد. درصد پروتواسکولکس های زنده با رنگ آمیزی حیاتی ائوزین تایید گردید. و نتایج حاصل با آزمون آماری مربع کای (chi-square (X2) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: در بررسی تاثیر مخلوط عصاره های زنجبیل و اکالیپتوس مشخص شد که ترکیب این دو عصاره، تاثیر قابل توجهی در از بین رفتن پروتواسکولکس ها دارد. به طوری که در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر بعد از ۱۵ و ۳۰ دقیقه مواجهه، به ترتیب ۹۷/۲۴ و ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس ها از بین رفتند.

استنتاج: نتایج مطالعه نشان داد که ترکیب عصاره دو گیاه اکالیپتوس و زنجبیل دارای فعالیت بالای ضد پروتواسکولکس در شرایط آزمایشگاهی است، بنابراین پس از انجام آزمایشات تکمیلی، می توان اثر کشندگی را برای موارد درمانی بررسی کرد.

واژه های کلیدی: کیست هیداتید، اکالیپتوس، درمنه، زنجبیل، پروتواسکولکس کشی

مقدمه

اهلی و وحشی و عمدتاً سگ ها میزبان نهایی، و علف خواران و انسان میزبان واسط این انگل محسوب می شوند (۱). در حالی که عفونت گوشتخواران با مرحله بالغ اکتینوکوکوس، نمی تواند باعث مرگ و میر شود،

اکتینوکوکوس یکی از مهم ترین بیماری های زئونوز در جهان است که به وسیله ی مرحله لاروی، از سستودهای تنیده از جنس اکتینوکوکوس ایجاد می گردد (۱). در چرخه تکاملی این انگل، گوشتخواران

Email: fallah@umsha.ac.ir

مؤلف مسئول: محمد فلاح - همدان، مقابل پارک مردم، دانشگاه علوم پزشکی همدان

۱. کارشناس ارشد انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
 ۲. مربی، گروه انگل شناسی و فارم شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
 ۳. استادیار، گروه فارماکوکینوزی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
 ۴. کارشناس ارشد انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران
 ۵. کارشناس ارشد انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
 ۶. کارشناس بازرسی گوشت، کشتارگاه همدان، همدان، ایران
 ۷. استاد، گروه انگل شناسی و فارم شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان
- تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۶/۳/۱۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۶/۲۰

درمنه (*Artemisia aucheri*) گیاهی از تیره کاسنی است (۱۲). ترکیبات اصلی آن شامل انواع فلاونوئیدها مانند کوئرستین و رتینوئید با خاصیت آنتی اکسیدانی و قدرت پاک کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ترکیبات سانتونینی و کومارینی می‌باشند (۱۳). اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) گیاهی از خانواده Myrtaceae، که دارای اثرات ضد نفخ، تب بر، ضد عفونی کننده، ضد مالاریا، و ضد کرمی می‌باشد. روغن آن دارای خواص ضد عفونی کننده، اسانس آن موثر در درمان عفونت‌های ریوی و مونوترپن استخراج شده از اکالیپتوس دارای فعالیت‌های ضد باکتریایی است (۱۴). با توجه به این که خواص ضد انگلی برخی از عصاره‌های گیاهی به خوبی اثبات شده است (۹) و هم‌چنین اسکولکس کش‌های شیمیایی دارای عوارض جانبی و اثرات سمی هستند. از این رو این مطالعه با هدف تاثیر مخلوط عصاره‌های درمنه، زنجبیل و اکالیپتوس بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید، در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی (Experimental) که در سال ۱۳۹۴ انجام گرفت، کبدهای گوسفندان آلوده به کیست‌های هیداتیک از کشتارگاه صنعتی همدان جمع آوری و سپس به آزمایشگاه تحقیقاتی گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده پزشکی انتقال داده شد. در شرایط استریل، تمام محتویات کیست با کمک سرنگ استریل، به درون لوله‌های فالتون منتقل گردید. در صورت کدر بودن مایع آسپیره شده، وجود باکتری و گلبول سفید در مشاهده میکروسکوپی آن، مایع کیست مذکور دور ریخته شد. مایع کیست در زیر میکروسکوپ از نظر بارور بودن (وجود پروتواسکولکس) مورد بررسی قرار گرفت. بدین ترتیب که بر روی یک لام شیشه‌ای، یک قطره از مایع حاوی پروتواسکولکس با یک قطره رنگ انوزین

استقرار لارو در ارگان‌های گوناگون میزبان واسط (خصوصاً کبد و ریه)، می‌تواند باعث بیماری شدید و حتی کشنده شود (۳). این بیماری به عنوان نگرانی بهداشت عمومی و اجتماعی-اقتصادی، با توجه به میزان مرگ و میر قابل توجه، که باعث ضرر و زیان اقتصادی بالا در هر دو بخش بهداشت عمومی و صنعت دام شده است، محسوب می‌گردد. و به عنوان بیماری نوپدید یا باز پدید در نظر گرفته می‌شود (۴). برای درمان هیداتیدوز، هنوز هم، جراحی روش ارجح در درمان و خط اول درمان در بیماران علامت دار می‌باشد (۵، ۶). جراحی معمولاً به وسیله داروهای ضد انگلی، تکمیل می‌گردد و در موارد غیر قابل عمل جراحی، دارو درمانی تنها روش انتخابی می‌باشد (۷). یکی از تمهیدات بی خطر نمودن جراحی کیست، استفاده از مواد اسکولکس کش مناسب است. مواد و روش‌های زیادی تاکنون در این زمینه استفاده شده است که اغلب دارای عوارض جانبی می‌باشند. مانند تزریق نمک هیپرتونیک (hypertonic saline)، فرمالین (Formalin)، نترات نقره (silver nitrate)، ستریماید (cetrimide) به داخل کیست، که متأسفانه تزریق اغلب مواد به درون کیست دارای عوارض جانبی، از جمله نشت آن‌ها به بیرون کیست و ایجاد نکروز در بافت‌های سالم می‌باشد (۸). با توجه به مطالعه‌ای که به تازگی در مورد تاثیر عصاره‌های متانولی زنجبیل و اکالیپتوس بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید، انجام شده است (۹). بر آن شدیم که در این مطالعه، به بررسی اثر مخلوط این عصاره‌ها بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید پردازیم. تا در صورت مشاهده اثرات قابل قبول، در حین جراحی از آن‌ها استفاده شود.

زنجبیل (*Zingiber officinale*) از خانواده Zingiberaceae بوده و معمولاً *Ginger* نامیده می‌شود. بر اساس گزارش‌های علمی دارای فعالیت‌های ضد نفخ، تب بر، ضد سرطان، ضد دیابت، آنتی اکسیدان و آنتی هیپوتوتوکسیک می‌باشد (۱۰، ۱۱).

حجم نمونه ۹۶ محاسبه گردید. تست اسکولکس کشی بر اساس مطالعه موذنی و نظر در سال ۲۰۱۰، انجام گردید (۱۶). جهت تهیه غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر، ۵/۰ و یک گرم از هر کدام از عصاره های خشک را در ۱۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی، حل گردید و برای آماده کردن محلول مخلوط دو و سه گیاه، از هر کدام از غلظت عصاره ها، به نسبت مساوی (۱ به ۱) با هم مخلوط، و ترکیب مورد نیاز از آن ها تهیه گردید. سپس دو میلی لیتر از ترکیب غلظت عصاره ها، به همراه یک قطره محلول سوسپانسیون انگلی حاوی پروتواسکولکس زنده، در لوله های جداگانه ریخته شد و در داخل انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد و در زمان های ۱۵ و ۳۰ دقیقه پس از مجاورت با عصاره، مورد بررسی قرار گرفت. بعد از اتمام زمان مواجهه در نظر گرفته شده برای هر لوله، قسمت رویی محلول توسط پیپت پاستور برداشته شد و به پروتواسکولکس های رسوب کرده باقی مانده، دو میلی لیتر از رنگ انوزین ۰/۱ درصد اضافه، و به آرامی مخلوط گردید، قسمت رویی محلول پس از ۱۵ دقیقه دور ریخته شد و درصد لاروهای مرده با عدسی شیئی ۱۰ بر حسب درصد تعیین گردید. به منظور ارزیابی عوامل احتمالی موثر بر حیات پروتواسکولکس ها از جمله گذشت زمان، به طور همزمان پروتواسکولکس ها را در لوله آزمایش دیگری (لوله شاهد) با سرم فیزیولوژی مجاورت داده و نتایج حاصل، به عنوان لوله شاهد ثبت گردید. هم چنین جهت اطمینان از دقت و صحت کار، آزمایش با هر عصاره، سه بار تکرار گردید. داده های به دست آمده پس از ثبت با نرم افزار spss نسخه ۲۰ و آزمون آماری مربع کای chi-square

مخلوط، و در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. پروتواسکولکس های مرده با توجه به از دست دادن خاصیت نفوذپذیری انتخابی غشاء به رنگ قرمز، و پروتواسکولکس های زنده بی رنگ دیده شدند. مایع کیست هایی که دارای بالاترین میزان پروتواسکولکس زنده بودند، برای مطالعه انتخاب گردید. پس از بی حرکت شدن و رسوب پروتواسکولکس ها، مایع رویی را برداشته و پروتواسکولکس های به دست آمده سه بار با نرمال سالین (Normal saline) شستشو داده شد و درصد زنده بودن پروتواسکولکس ها با مشاهده حرکت آن ها (ارتعاشات سلول های شعله ای) و با استفاده از رنگ آمیزی حیاتی انوزین (Test Eosin Exclusive) ۰/۱ درصد در زیر میکروسکوپ تایید گردید.

به منظور تهیه و تخلیص عصاره های گیاهی، در ابتدا برگ اکالیپتوس، میوه درمنه و ریزوم زنجبیل، از بازار گیاهان دارویی همدان تهیه گردید و گونه آن توسط خانم دکتر مراد خانی از دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی همدان شناسایی و تایید شد. پس از تمیز و خشک کردن گیاهان، پودر به دست آمده از هر گیاه (۱۰۰ گرم) به همراه متانول خالص (به نسبت ۱ به ۳) به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. سپس محلول حاصله صاف، و جهت حذف حلال به دستگاه تقطیر در خلاء (Rotary evaporator) منتقل گردید. برای برآورد حجم نمونه، از مطالعه تقریباً مشابهی ای که به بررسی اثر اسکولکس کشی عصاره های سیر و پیاز و شیرین بیان بر روی کیست هیداتید پرداخته بود، استفاده گردید (۱۵). برای هر غلظت و هر زمان برنامه ریزی شده و آزمایش ها سه بار تکرار گردید. بنابراین با توجه به آزمایش چهار ترکیب مختلف عصاره های متانولی، در دو غلظت مختلف و دو زمان در نظر گرفته شده و سه بار تکرار و گروه کنترل، جمعاً

(X2) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. سطح معنی داری کم تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

زمان‌های مورد مطالعه، رابطه معنی داری وجود دارد ($p > 0/001$) (جدول شماره ۱).

در بررسی اثر مخلوط عصاره‌های زنجبیل و درمنه، غلظت ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر باعث از بین رفتن بسیار کم انگل‌ها می‌شود. و پس از ۳۰ دقیقه مواجهه، ۴/۹۸ درصد از پروتواسکولکس‌ها کشته می‌شوند ($p = 0/024$). در صورتی که در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر، ۱۳/۴۶ درصد از انگل‌ها از بین رفته است ($p > 0/001$) (جدول شماره ۲).

همان‌طور که در جدول شماره ۳ مشخص شده است ترکیب دو عصاره درمنه و اکالیپتوس در هر دو غلظت مورد مطالعه، اثر نا چیز بر روی انگل داشته است به طوری که در پایان ۳۰ دقیقه مواجهه در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر، باعث از بین رفتن ۱۳/۸۷ درصد پروتواسکولکس شده است. در حالی که در گروه کنترل ۲ درصد از پروتواسکولکس‌ها از بین رفته‌اند.

یافته‌ها

میانگین و انحراف استاندارد فعالیت پروتواسکولکس کشتی ترکیب عصاره‌های مورد مطالعه بر حسب زمان و غلظت‌های مختلف در جدول شماره ۱ تا جدول شماره ۴ ارائه شده است.

بررسی حاضر نشان می‌دهد که غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر از مخلوط دو عصاره متانولی زنجبیل و اکالیپتوس، ظرف مدت ۳۰ دقیقه تمامی پروتواسکولکس‌ها را از بین می‌برد. هم‌چنین آزمون آماری نشان می‌دهد که بین اثر پروتواسکولکس کشتی مخلوط عصاره اکالیپتوس و زنجبیل در غلظت‌ها و

جدول شماره ۱: تعیین اثر پروتواسکولکس کشتی مخلوط عصاره متانولی زنجبیل و اکالیپتوس در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف

| غلظت (mg/ml) | ۱۵ | | ۳۰ | | میان مرگ و میر گروه مورد (درصد) |
|--------------|------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | تعداد کل پروتواسکولکس‌ها (Mean±SD) | پروتواسکولکس‌های مرده (Mean±SD) | تعداد کل پروتواسکولکس‌ها (Mean±SD) | پروتواسکولکس‌های مرده (Mean±SD) | |
| ۵۰ | ۳۴۷/۴۲±۲۵/۷۲ | ۳۴۹/۴۶±۳۳/۶۸ | ۳۳۷/۱۹±۳۳/۱۳ | ۳۳۷/۱۹±۳۳/۱۳ | ۹۳/۷۸ |
| ۱۰۰ | ۴۰۰/۸۸±۵۳/۱۷ | ۳۹۹/۹۱±۵۳/۱۶ | ۳۷۵/۹۵±۶۱/۸۳ | ۳۷۵/۹۵±۶۱/۸۳ | ۹۹/۷۳ |
| کنترل | ۳۰۰ | ۲۷ | ۳۰۰ | ۲۷ | ۹ |

جدول شماره ۲: تعیین اثر پروتواسکولکس کشتی مخلوط عصاره متانولی زنجبیل و درمنه در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف

| غلظت (mg/ml) | ۱۵ | | ۳۰ | | میان مرگ و میر گروه مورد (درصد) |
|--------------|------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | تعداد کل پروتواسکولکس‌ها (Mean±SD) | پروتواسکولکس‌های مرده (Mean±SD) | تعداد کل پروتواسکولکس‌ها (Mean±SD) | پروتواسکولکس‌های مرده (Mean±SD) | |
| ۵۰ | ۳۷۹/۱۵±۴۸/۱۲ | ۳۷۹/۱۵±۴۸/۱۲ | ۳۸۵/۵۸±۴۰/۲۰ | ۳۸۵/۵۸±۴۰/۲۰ | ۳/۶۶ |
| ۱۰۰ | ۴۱۳/۲۲±۵۱/۲۳ | ۴۱۳/۲۲±۵۱/۲۳ | ۴۱۴/۵۵±۵۰/۶۳ | ۴۱۴/۵۵±۵۰/۶۳ | ۱۰ |
| کنترل | ۳۰۰ | ۶ | ۳۰۰ | ۶ | ۲ |

جدول شماره ۳: تعیین اثر پروتواسکولکس کشتی مخلوط عصاره متانولی اکالیپتوس و درمنه در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف

| غلظت (mg/ml) | ۱۵ | | ۳۰ | | میان مرگ و میر گروه مورد (درصد) |
|--------------|------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | تعداد کل پروتواسکولکس‌ها (Mean±SD) | پروتواسکولکس‌های مرده (Mean±SD) | تعداد کل پروتواسکولکس‌ها (Mean±SD) | پروتواسکولکس‌های مرده (Mean±SD) | |
| ۵۰ | ۳۴۱/۸۵±۴۷/۳۰ | ۳۴۱/۸۵±۴۷/۳۰ | ۳۴۴/۵۰±۴۶/۱۶ | ۳۴۴/۵۰±۴۶/۱۶ | ۷/۶۳ |
| ۱۰۰ | ۳۸۴/۵۱±۴۴/۵۸ | ۳۸۴/۵۱±۴۴/۵۸ | ۳۷۰/۸۵±۵۱/۱۰ | ۳۷۰/۸۵±۵۱/۱۰ | ۱۱/۴۲ |
| کنترل | ۵۰۰ | ۱۰ | ۵۰۰ | ۱۰ | ۲ |

جدول شماره ۴: تعیین اثر پروتواسکولکس کشتی مخلوط سه عصاره متانولی اکالیپتوس، درمنه و زنجبیل در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف

| غلظت (mg/ml) | ۱۵ | | ۳۰ | | میان مرگ و میر گروه مورد (درصد) |
|--------------|------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | تعداد کل پروتواسکولکس‌ها (Mean±SD) | پروتواسکولکس‌های مرده (Mean±SD) | تعداد کل پروتواسکولکس‌ها (Mean±SD) | پروتواسکولکس‌های مرده (Mean±SD) | |
| ۵۰ | ۳۳۷/۹۰±۴۹/۱۷ | ۳۳۷/۹۰±۴۹/۱۷ | ۳۴۸/۹۷±۴۹/۶۵ | ۳۴۸/۹۷±۴۹/۶۵ | ۱۹/۴۵ |
| ۱۰۰ | ۳۳۶/۷۶±۴۶/۵۰ | ۳۳۶/۷۶±۴۶/۵۰ | ۳۷۹/۲۰±۴۱/۶۴ | ۳۷۹/۲۰±۴۱/۶۴ | ۳۴/۶۵ |
| کنترل | ۵۰۴ | ۲۲ | ۵۰۴ | ۲۲ | ۸/۳۳ |

نتایج حاصل از ترکیب سه عصاره مختلف حاکی از آن است که میزان مرگ پروتواسکولکس ها پس از ۳۰ دقیقه مواجهه، در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر ۴۲/۸۲ درصد می باشد، در حالی که میزان مرگ و میر در گروه کنترل، ۸/۳ درصد است. آزمون آماری، ارتباط معنی داری بین اثر پروتواسکولکس کشی مخلوط هر سه عصاره را در غلظت ها و زمان های مورد مطالعه نشان می دهد ($p > 0.001$).

بحث

مطالعه حاضر فعالیت بالای اسکولکس کشی مخلوط عصاره های متانولی اکالیپتوس و زنجبیل را نشان می دهد. با توجه به این که در درمان جراحی، در صورت در نظر نگرفتن تمهیدات لازم، خطر نشت پروتواسکولکس ها و انتشار آن در احشاء و بافت ها در حین عمل وجود خواهد داشت که یکی از دلایل اصلی عود و تشکیل کیست های هیداتید ثانویه می باشد (۱۷).

اکالیپتوس از شناخته ترین گیاهان دارویی است. عصاره برگ اکالیپتوس حاوی ترکیبات اکالیپتول (۸- سینئول)، سیترونلول، سیترونلال، لیمونن، بتا پینن و ... می باشد که اکالیپتول به عنوان ترکیب اصلی برگ اکالیپتوس دارای خواص ضد انگلی و ضد قارچی است (۱۸). نتایج مطالعه صفر نژاد تمشکل در سال ۲۰۱۲، نشان داد که میزان کشندگی عصاره متانولی اکالیپتوس بر روی کیست ژیا ردیا لامبلیا پس از ۶۰ دقیقه مواجهه با غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر، ۶۳/۳ درصد است (۱۹). در مطالعه عبدالله زاده در سال ۲۰۱۱، نتایج بررسی های شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی نشان داد که عصاره های استونی و اتانولی اکالیپتوس در مقایسه با عصاره آبی بیشترین فعالیت ضد میکروبی مؤثر بر روی بروسلا دارند و می توانند در درمان بروسلاز انسانی و حیوانی مفید باشند (۲۰).

در مطالعه قبلی، اکالیپتوس اثر اسکولکس کشی ۱۰۰ درصد نشان داد که احتمالاً علت تاثیر زیاد عصاره این گیاه بر روی پروتواسکولکس ها، به خاطر وجود اکالیپتول می باشد که دارای اثر ضد انگلی است (۹). زنجبیل یکی از گیاهان سنتی است که اثر ضد انگلی آن بر روی انگل های مختلف مانند توکسوپلازما گوندی، دیروفیلاریا ایمیتیس و کیست هیداتید ثابت شده است (۲۱ و ۲۲ و ۲۳). تاکنون مطالعه ای درباره اثر مخلوط عصاره های گیاهی بر روی پروتواسکولکس های کیست هیداتید انجام نشده است. و بیش تر مطالعات بر روی سایر ارگانسیم ها و برخی انگل ها، مانند مطالعه ی رزاق پرست در سال ۲۰۰۸، با عنوان بررسی اثرات ضد قارچی پیاز و برخی از داروهای آزولی به صورت منفرد و در ترکیب با یکدیگر بر روی مخمرهای بیماری زا و مطالعه یکتائیان در سال ۲۰۱۲، با عنوان بررسی اثرات سینرژیستی مخلوط سه عصاره گیاهی بومادران، افسنتین و برگ گردو بر انگل لیثمانیا ماژور (MRHO/IR/75/ER) در شرایط آزمایشگاهی بوده است (۲۴، ۲۵).

در مطالعه رئیسی و همکاران در سال ۲۰۱۶، با عنوان فعالیت ناچیز *Allium paradoxium and Tanacetum parthenium* بر روی پروتواسکولکس های کیست هیداتید صورت پذیرفت، عصاره های هیدرو الکلی و کلروفرمی در غلظت ها و زمان های مواجهه در مقایسه با گروه کنترل، به طور قابل توجه ای مؤثر نبوده است (۲۶).

نتایج مطالعه غلامی و همکاران در سال ۲۰۱۳، بر روی عصاره متانولی *Sambucus ebulus*، حاکی از این بود که در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر و زمان ۶۰ دقیقه، میزان مرگ و میر پروتواسکولکس ها ۹۸/۶ درصد بوده است (۲۷).

در مطالعه رحیمی و اسبویی در سال ۲۰۱۶، که بر روی عصاره اولتراسونیک سیر انجام گردید، نشان از وجود اثر اسکولکس کشی بالای این عصاره، داشته

آنجا که مطالعه حاضر دومین مطالعه‌ای می‌باشد که مشخص می‌کند عصاره زنجبیل بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط برون تنی اثر کشندگی دارد (۹). لذا پیشنهاد می‌گردد تحقیق فوق در شرایط درون تنی و به صورت تجربی بر روی حیوانات صورت گیرد تا ضمن مشخص کردن دقیق غلظت موثر آن، عوارض جانبی مضر احتمالی آن بر روی ارگان‌های داخلی بدن نیز مورد بررسی قرار گیرد تا نتایج به دست آمده کاربردی گردد.

سپاسگزاری

این مقاله بر گرفته از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی همدان است بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه جهت تامین هزینه‌های این مطالعه، صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Abunna F, Fentaye S, Megersa B, Regassa A. Prevalence of bovine hydatidosis in Kombolcha ELFORA abattoir, North Eastern Ethiopia. *Open J Anim Sci*. 2012;2(4):281-286.
2. Dakkak A. Echinococcosis/hydatidosis: a severe threat in Mediterranean countries. *Vet Parasitol*. 2010;174(1):2-11.
3. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17(1):107-135.
4. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. *Int J Infect Dis*. 2009;13(2):125-133.
5. Topcu O, Aydin C, Arici S, Duman M, Koyuncu A, Sen M. The effects of various scolicedal agents on the hepatopancreatic biliary system. *Visceral Medicine* 2006;22(3):185-190.
6. Ormeci N. PAIR vs Ormeci technique for the treatment of hydatid cyst. *Turk J Gastroenterol*. 2014; 25(4):358-364.
7. Pensel PE, Castro S, Allemandi D, Bruni SS, Palma SD, Elissondo MC. Enhanced chemoprophylactic and clinical efficacy of albendazole formulated as solid dispersions in experimental cystic echinococcosis. *Vet Parasitol*. 2014;203(1):80-86.
8. Rajabi MA. Fatal reactions and methaemoglobinaemia after silvernitrate irrigation of hydatid cyst. *Surgical Practice*. 2009;13(1): 2-7

9. Rahuman AA, Gopalakrishnan G, Venkatesan P, Geetha K, Bagavan A. Mosquito larvicidal activity of isolated compounds from the rhizome of *Zingiber officinale*. *Phytotherapy Research*. 2008;22(8):1035-1039.
10. Lakshmi B, Sudhakar M. Attenuation of acute and chronic restraint stress-induced perturbations in experimental animals by *Zingiber officinale* Roscoe. *Food and Chemical Toxicology*. 2010;48(2):530-535.
11. Rao C, Vijayakumar M, Sairam K, Kumar V. Antidiarrhoeal activity of the standardised extract of *Cinnamomum tamala* in experimental rats. *J Nat Med*. 2008;62(4):396-402.
12. Hakimi-Maybody MH, Afkham-Aghdai M, Mirjalali F. An investigation into biological activities of a persica's essential oil. *Pajouhesh va Sazandegi*. 2004;16(4): 2-5.
13. Taur D, Kulkarni V, Patil R. Chromatographic evaluation and anthelmintic activity of *Eucalyptus globulus* oil. *Pharmacognosy Res*. 2010;2(3):125-127.
14. Feizi F, Moradkhani S, Matini M, Parandin F, Roushan A, Fallah M. To Study the Solicidal Effects of the Extracts of Ginger (*Zingiber officinale*) and *Artemisia (Artemisia aucheri)* on Protoscoleces of Hydratid Cyst in vitro. *Arak Med Univ J*. 2015; 18(101): 45-52(persian)
15. Yazdani Y. scolicial effect of garlic, onion, licorice and some other chemicals on protoscolices of hydatid cyst in vitro [MSc Thesis]. Hamadan: Hamedan University of Medical Sciences; 2007. (Persian)
16. Moazeni M, Nazer A. In vitro effectiveness of garlic (*Allium sativum*) extract on scolices of hydatid cyst. *World J Surg*. 2010;34(11):2677-2681.
17. Topcu O, Sumer Z, Tuncer E, Aydin C, Koyuncu A. Efficacy of chlorhexidine gluconate during surgery for hydatid cyst. *World J Surg*. 2009;33(6):1274-1280.
18. Samsam shariat H, Moattar F. *Plants and natural medicines*. 2th. Isfahan. Mashal Pub. 1981. (Persian)
19. Safarnejad Tameshkel F, Khatami Nejad M, Nasrollahi A, Rahdari P, Gholam Hossein Poor F, Rahnavard A. The antimicrobial effect of methanol extracts of *Eucalyptus*, *Satureia Hortensis* and *Heracleum Glabrescens* on *Giardia Cysts*. *mljgoums*. 2012;6(2):21-27.
20. Abdolazade P, Shapouri R, Nasiri Semnani S. Antibacterial Effects of *Eucalyptus globulus* Extracts on *Brucella melitensis* M16 and *Brucella abortus* S99 In Vitro and In Vivo. *J Ardabil Univ Med Sci*. 2011;11(3):218-27. (persian)
21. Choi K-M, Gang J, Yun J. Anti-Toxoplasma gondii RH strain activity of herbal extracts used in traditional medicine. *Int J Antimicrob Agents*. 2008;32(4):360-362.
22. Merawin LT, Arifah A, Sani R, Somchit MN, Zuraini A, Ganabadi S, et al. Screening of microfilaricidal effects of plant extracts against

- Dirofilaria immitis*. Res Vet Sci. 2010;88(1):142-147.
23. Baqer NN, Khuder MH, Amer N. Antiprotoscolices effects of ethanolic extract of *Zingiber officinale* against *Echinococcus granulosus* invitro and invivo. Int J Adv Res. 2014;2(10):59-68.
24. Razagh Parast A, Shams Ghahfarokhi M, Yadegari MH, Razaghi Abyane M. Study antifungal effects of onion and some azole drugs individually and in combination with each other pathogenic yeasts. Kowsar Med. 2008;13(2):103-113. (Persian)
25. Yektaeyan N, Rafieian M, Khalily Dehkordi B, Hejazi SH, Shirani Bidabadi L, Hossaini SA. Effect of combination of *Achillea millefolium*, *Artemisia absinthium* & *Juglans regia* leaves extracts on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER), in vitro. J Med Plants. 2012;9(2):197-204. (Persian).
26. Raeisi E, Esboei B. Insignificant activity of *Allium paradoxium* and *Tanacetum parthenium* on protoscoleces of *Echinococcus granulosus*: In vitro study. J Med Plant Res. 2016; 10(42):771-774 .
27. Gholami SH, Rahimi-Esboei B, Ebrahimzadeh MA, Pourhajibagher M. In vitro effect of *Sambucus ebulus* on scolices of Hydatid cysts. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2013; 17(13):1760-1765.
28. Rahimi-Esboei B, Ebrahimzadeh MA, Fathi H, Anzaehaei FR. Scolicidal effect of *Allium sativum* flowers on hydatid cyst protoscolices. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2016; 20(1):129-132.