

بررسی آزمایشگاهی اثر محلول آبی گیاه *افدرا* مائور در از بین بردن پروتواسکولکس های کیست هیداتید

تاریخ دریافت مقاله: ۹۵/۲/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: درمان بیماری هیداتیدوز در انسان، عمدتاً جراحی به همراه استفاده از داروهای ترکیبی می‌باشد. در طول جراحی احتمال نشت مایع کیست هیداتیک که محتوی پروتواسکولکس های زنده بوده به بافت‌های مجاور و در نتیجه آن عود مجدد بیماری وجود دارد، از این رو یافتن یک پروتواسکولکس کش جدید با تأثیر بیشتر و عوارض کمتر را از اهمیت ویژه ای برخوردار است. *افدرا* مائور گیاهی است که در مناطق مختلف ایران رویده و از دیرباز جهت درمان برخی بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفته و اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی آن به اثبات رسیده است. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات ضد پروتواسکولکسی رقت‌های مختلف عصاره آبی ساقه گیاه *افدرا* مائور در زمان‌های مختلف در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه کبدهای آلوده به کیست هیداتید از کشتارگاه جمع‌آوری شد. درصد زنده‌بودن پروتواسکولکس‌ها توسط رنگ‌آمیزی حیاتی ائوزین ۰/۱ درصد بررسی شد. فعالیت پروتواسکولکس کشی عصاره آبی در رقت‌های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در زمان‌های به ترتیب ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. سرم فیزیولوژی و آب‌نمک اشباع به‌عنوان کنترل منفی و مثبت مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها: بیشترین درصد کشندگی پروتواسکولکس مربوط به رقت ۰/۱ به میزان ۱۳/۵۸ درصد ($P=0/001$) و همچنین کمترین میزان تأثیر کشندگی پروتواسکولکس مربوط به رقت ۰/۰۰۱ (۲/۴۷ درصد) مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری: اثر پروتواسکولکس کشی عصاره آبی گیاه *افدرا* مائور چشمگیر نبوده است. از این رو این ماده نمی‌تواند به‌عنوان یک پروتواسکولکس کش قوی و مناسب در هنگام جراحی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: اکتینوکوکوس گرانولوزوس، کیست هیداتیک، *افدرا* مائور

* نویسنده مسئول:

گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

+۲۶-۲۲۵۶۳۳۲۹
E-mail: zibaeim@sums.ac.ir

مقدمه

هیداتیدوزیس یکی از مهم ترین بیماری های مشترکی است که توسط مرحله لاروی کرم های نواری جنس *اکینوکوکوس* ایجاد می شود. انگل در روده سگ به صورت کرم بالغ و در انسان و حیوانات دیگر (در ارگان هایی غیر از روده) به صورت کیست هیداتید تک جابجه ای بروز می کند.^۱ بیماری هیداتیدوز در اثر ابتلای انسان و حیوانات علفخوار به مرحله لاروی *اکینوکوکوس گرانولوزوس* (*Echinococcus granulosus*) به وجود می آید و اهمیت آن به خاطر درگیر کردن اعضای حساس بدن نظیر کبد و ریه است. بر اساس مطالعات صورت گرفته بر روی بیماران در بیمارستان، از هر ۱۰۰ هزار نفر ۱/۲-۱ نفر به کیست هیداتیک آلوده هستند. میزان آلودگی سگ ها در استان های مازندران، آذربایجان غربی، اصفهان و ایلام ۴۵ تا ۶۳ درصد و در سایر نواحی به طور متوسط ۲۰ درصد گزارش شده است.^۲ تماس مستقیم با حیوانات فرآورده های دامی و شرایط مناسب زندگی حیوانات سبب افزایش زیاد بیماری های مشترک انسان و دام شده است. در این بیماری انگل هیداتید به سبب برقراری تماس دائم بین سگ (میزبان اصلی) دام ها و انسان (میزبان واسط) که با دام پروری انجام می پذیرد، حائز اهمیت زیادی می باشد. ضررهای اقتصادی ناشی از مرگ دام ها و از دست رفتن فرآورده های لبنی و دامی باعث ایجاد کمبود مواد غذایی و هم خسارات می گردد.^۳ از سوی دیگر ابتلای انسان به این انگل سال ها پس از آلودگی تشخیص داده می شود و درمان نیز که به صورت جراحی است همواره با مشکلاتی همراه بوده است. در طول جراحی، زمانی که کیست را سوراخ می نمایند، احتمال نشت مایع کیست هیداتیک که محتوی پروتواسکولکس های زنده بوده به بافت های مجاور و در نتیجه آن عود مجدد بیماری وجود دارد. بدین دلیل عوامل کشنده اسکولکس جهت کشتن پروتواسکولکس های درون کیست در طول عمل جراحی مورد استفاده قرار می گیرند.^{۴-۱۱} با توجه به اینکه احتمال وقوع کیست هیداتید ثانویه ناشی از پارگی کیست هیداتید طی اعمال جراحی ۱۰ تا ۳۰ درصد گزارش شده،^۷ از این رو نیاز به یافتن ترکیب پروتواسکولکس کش جدید با تأثیر بیشتر و عوارض کمتر را ضروری می باشد.^{۷-۱۱} در سال های اخیر، شواهدی مبنی بر وجود مواد

ضد میکروبی در برخی گیاهان به دست آمده است. افدرین ماده ای است که از گیاهی با نام *افدرا ماژور* (*Ephedra major*) بدست می آید، گیاه دارویی با خواست گاه کشور چین که به طور سنتی در طب سنتی مورد استفاده قرار می گیرد. نام چینی آن ماهوانگ (Ma Huang) بوده و ماده موثر موجود در این گیاه نیز افدرین (*Ephedrine*) می باشد. گیاه افدرا از مواد شیمیایی متعددی تشکیل شده است که از آن جمله می توان سودو افدرین (*Pseudoephedrine*)، نورسودوافدرین (*Neuro-pseudoephedrine*)، نورافدرین (*Neuroephedrine*)، متیل افدرین (*Methyl ephedrine*)، تانن (*Tannin*)، هیدروکسی کینورنیک اسید (*Hydroxyl Kynurenic acid*)، کوئینولین (*Quinoline*) و ... را می توان نام برد. گیاه افدرا برای مدت بیش از ۲ هزار سال در سرزمین های شرقی آسیا برای درمان بسیاری از بیماری ها استفاده شده است. این گیاه دارای اثرات ضد التهابی و ضد آرتريت می باشد و برای درمان برونشیت، آسم، سرماخوردگی، آنفلوآنزا، سردرد، سرفه، تب بالا، ادم، بیماری های مفصلی و استخوانی و ... به فراوانی مورد استفاده قرار می گیرد.^{۱۲} با توجه به توضیحات فوق، با توجه به اینکه افدرین یک ترکیب آلکالوئیدی بوده و خواص ضد انگلی ترکیبات آلکالوئیدی در مطالعات گذشته به اثبات رسیده است، این مطالعه به بررسی تأثیر عصاره افدرین بر روی پروتواسکولکس های جدا شده از کیست هیداتید در شرایط با در نظر گرفتن زمان های مختلف تأثیر و غلظت های گوناگون پرداخته است.

مواد و روش ها

جمع آوری گیاه

برگ های گیاه افدرا ماژور در فصل بهار ۹۴ از استان لرستان جمع آوری و جهت آماده سازی به دانشگاه علوم پزشکی البرز انتقال پیدا کرد. نمونه های جمع آوری شده در شرایط آزاد (هوایی) و در سایه به طور کامل خشک شده سپس توسط دستگاه آسیاب برقی پودر شدند تا سطح تماس بیشتری با حلال مربوطه داشته باشند. اندازه ذرات گیاهی حاصل نباید زیاد ریز باشد چون ممکن بود حلال به خوبی در آن نفوذ نکند و هم چنین نباید بزرگتر از ۰/۱۳ اینچ باشد، بنابراین جهت انجام این قسمت از آزمایش، از

و مرده حرکت سلول‌های شعله در نمونه پروتواسکولکس‌های موجود کیست هیداتیک می‌باشد.

مطالعه اثر عصاره آبی بر پروتواسکولکس‌ها

عصاره‌ها به پلیت‌های ۶ خانه محتوی پروتواسکولکس‌ها اضافه و پس از زمان‌های مورد نظر، زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ابتدا ۱۰× و سپس ۴۰× بررسی شدند.

محاسبه تعداد پروتواسکولکس‌ها در گروه‌های مورد آزمون

گروه‌های مورد آزمون یک، دو و نیز سه به ترتیب عبارتند از غلظت‌های ۰/۱، ۰/۱ و ۰/۱ درصد عصاره آبی (برگ خشک گیاه *افدرا ماژور*) و گروه چهار و پنج شامل نرمال سالین ۰/۹ درصد و نمک اشباع به ترتیب به‌عنوان شاهد‌های منفی و مثبت مورد استفاده قرار گرفتند. بر اساس قضیه حد مرکزی و استفاده از تست‌های پارامتریک، حجم نمونه برای این مطالعه تعداد ۳۰ کیست بوده که با توجه به تأثیر سه نوع رقت عصاره افدرین بر روی پروتواسکولکس‌ها به همراه دو نمونه شامل کنترل‌های مثبت و منفی در چهار زمان مختلف ۱۰، ۲۰، ۳۰ و نیز ۶۰ دقیقه، آزمون به تعداد ۶۰۰ انجام و تکرار گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

پس از جمع‌آوری اطلاعات و وارد کردن در نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۵)، پس از انجام آزمون آماری Tukey و آزمون Two way ANOVA، نتایج در قالب جداول و نمودارهای آماری مناسب گزارش شده و معنی‌دار بودن داده‌ها به‌صورت کمتر از ۰/۰۵ ($P < 0/05$) مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها

فعالیت پروتواسکولکس‌های کشتی (میانگین و انحراف) عصاره آبی گیاه *افدرا ماژور* و کنترل مثبت و منفی بر حسب زمان و رقت‌های مورد نظر در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که در جدول مشاهده می‌شود، بیشترین درصد کشتندگی پروتواسکولکس‌ها مربوط به رقت ۰/۱ عصاره آبی و زمان ۶۰ دقیقه

صافی‌های با شماره ۳/۲ میلی‌متری استفاده شده است.

آماده‌سازی عصاره آبی گیاه *افدرا ماژور*

در حدود ۱۰ گرم از پودر خشک برگ گیاه *افدرا ماژور* که به‌صورت خشک در آمده بود، توزین شده و به حدود ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده و یک غلظت ۱۰ درصد وزنی- حجمی (w/v) درست شده و روی بن ماری شیکردار به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. پس از این مدت زمان، با استفاده از پارچه تنظیف آن‌را صاف نموده، ذرات بزرگ‌تر را جدا و با استفاده از دستگاه فیلتراسیون میلی پور از فیلتر با سوراخ‌هایی با قطر ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد. محصول حاصل از خالص‌سازی با استفاده از آب مقطر عصاره‌گیری شده، در شرایط درجه حرارت اتاق فرآوری و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری گردید.^{۹،۱۳،۱۴}

جمع‌آوری پروتواسکولکس‌ها

تعداد ۳۰ عدد کیست هیداتید از کبدهای آلوده گوسفندان ذبح شده در کشتارگاه شهر خرم آباد شناسایی جدا و به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی لرستان منتقل گردید. کیست سه مرتبه با محلول فسفات بافرسالین (PBS) با pH: 7.2 شستشو داده شد. سطح کیست هیداتید به وسیله اسکالپل داغ شده استریل شد و به وسیله یک سرنگ ۱۰ سی‌سی، پروتواسکولکس‌ها به روش استریل (Aseptic technique) برداشت و مایع کیست، در لوله فالكون جمع‌آوری شد و با استفاده از لام هموسیتمتر و محلول ۰/۹ درصد کلرید سدیم رقت محلول حاوی پروتواسکولکس را طوری تنظیم نموده که به ازاء هر میلی‌لیتر از محلول 5×10^3 پروتواسکولکس با توانایی بیش از ۹۰ درصد زنده‌بودن داشته باشند.

ارزیابی زنده‌بودن

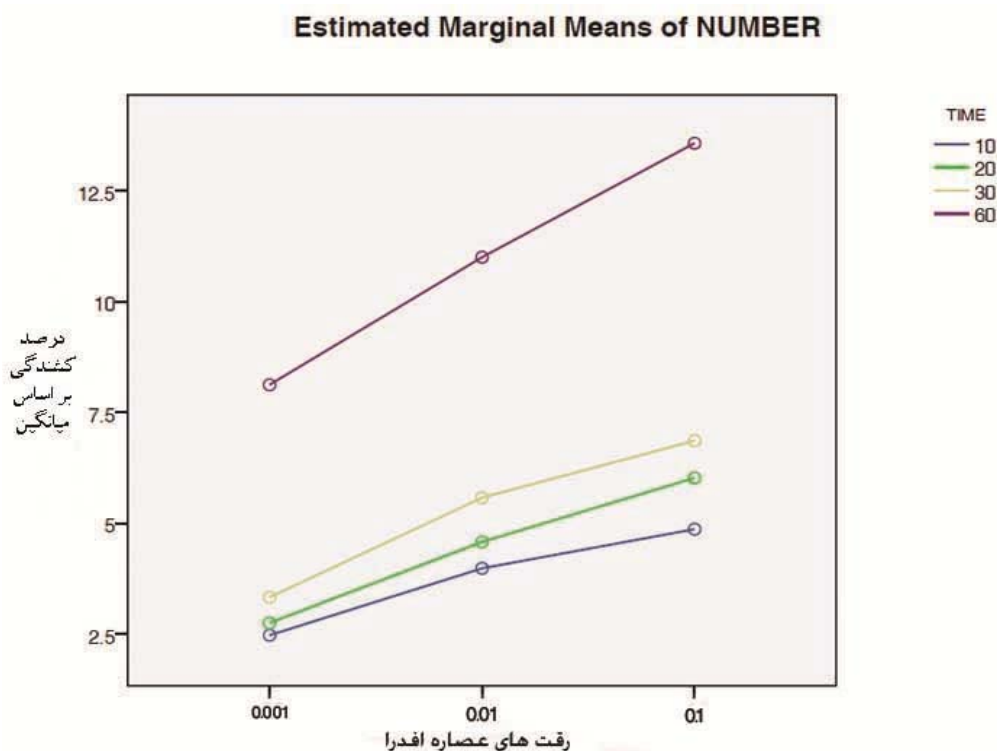
پس از افزودن ۱۰ میکرولیتر از محلول رنگی اتوزین (۰/۱ درصد) به ۱۰ میلی‌لیتر مایع کیست هیداتید حاوی پروتواسکولکس، پس از گذشت ۱۵ دقیقه بطور میکروسکوپی زنده‌بودن (Viability) پروتواسکولکس‌ها ارزیابی گردید. پروتواسکولکس‌هایی که رنگ اتوزین را به خود جذب نموده و به رنگ قرمز و به‌صورت فشرده دیده شده به‌عنوان مرده و پروتواسکولکس‌های بی‌رنگ و شفاف به‌صورت زنده گزارش شدند. روش دیگر تشخیص سلول‌های زنده

زمان های گوناگون، نشان دهنده افزایش درصد پروتواسکولکس کشی این عصاره است یعنی خاصیت پروتواسکولکس کشی در طول زمان بر اساس آزمون ANOVA معنادار ($P < 0/05$) می باشد.

و نیز کمترین درصد کشندگی پروتواسکولکس ها مربوط به رقت ۰/۰۰۱ عصاره در زمان ۱۰ دقیقه می باشد. نمودار ۱، اثرات پروتواسکولکس کشی عصاره آبی گیاه افدرا ماژور در طول

جدول ۱: فعالیت پروتواسکولکس کشی غلظت های مختلفی از برگ گیاه افدرا ماژور در زمان های مواجهه ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه

غلظت (درصد)	میزان کشندگی (انحراف معیار \pm میانگین)		
	۱۰ (دقیقه)	۲۰ (دقیقه)	۳۰ (دقیقه)
۰/۰۰۱	$2/73 \pm 2/47$	$2/766 \pm 2/75$	$3/79 \pm 3/33$
۰/۰۱	$3/99 \pm 3/99$	$4/24 \pm 4/58$	$4/43 \pm 5/58$
۰/۱	$3/98 \pm 4/87$	$4/27 \pm 6/03$	$3/91 \pm 6/87$
کنترل مثبت	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
کنترل منفی	۱/۶۸	۱/۶۸	۱/۶۸



شکل ۱: روند پیشرفت کشته شدن پروتواسکولکس های کیست هیداتید بر اساس غلظت عصاره آبی گیاه افدرا ماژور.

بحث

از سال‌ها پیش مطالعات وسیعی در زمینه‌های روش‌های درمانی کیست هیداتید انجام گردیده است. جراحی به منظور درمان کیست‌های اکینوکوکوس گرانولوزوس هنوز هم موثرترین روش به شمار می‌رود که به‌طور موفقیت‌آمیزی در بسیاری از بیماران انجام می‌گیرد، مشروط بر این که کیست در مناطق مخاطره آمیز وجود نداشته باشد.^{۱۵} تزریق داخل ضایعه ترکیبات اسکولکس کش قبل از انجام عمل جراحی از سالیان گذشته انجام شده است. در حال حاضر به علت عدم وجود شواهد بالینی نشان دهنده تأثیر این روش درمانی و همچنین به علت احتمال مسمومیت با این مواد ضد اسکولکس، این روش در درمان کیست‌های هیداتید به کار گرفته نمی‌شود.^۸ محلول نمک هایپر تونیک، نیترات نقره، ستریمیدین و فرمالین از متداول‌ترین مواد پروتواسکولکس کش می‌باشند که هر کدام عوارض خطرناکی نظیر فیروز مجاری صفراوی و نکروز کبد را سبب می‌شوند. کلانژیست اسکروزان ناشی از این مواد، عارضه خطرناکی است که ممکن است پس از جراحی و عبور محلول‌های پروتواسکولکس کش از مجاری صفراوی ایجاد گردد.^{۱۶}

افدرا یک گیاه دارویی می‌باشد که خواص درمانی آن در مطالعات مختلف بررسی شده است. این گیاه با قدمت کشف پنج هزار ساله در درمان آسم، گرفتگی بینی، اختلالات سیستم اعصاب مرکزی و غیره مورد استفاده قرار گرفته است. افدراها در مناطق وسیعی از جهان پراکنده‌اند و ترکیبات شیمیایی آن بستگی به گونه، اندام گیاه، زمان برداشت، منطقه جغرافیایی و تکنیک مورد استفاده در استخراج دارد. بنابراین خواص فارماکولوژیکی گونه‌های گوناگون افدراهای ممکن است متفاوت باشد.^{۱۷} در سال‌های اخیر، شواهدی مبنی بر وجود مواد طبیعی ضد باکتری و ضد قارچی در این گیاهان به دست آمده است. این گیاهان با طیف وسیع دارای اثرات ضدباکتریایی قوی داشته و ممکن است بتوانند به جای مواد صناعی دارویی در درمان بیماری‌های عفونی مورد استفاده قرار بگیرند.^{۱۸} تراب زاده خراسانی و همکاران^{۱۹} اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های آبی، الکلی و استنی گیاه *افدرا ماژور* را بررسی و نشان دادند که *استرپتوکوکوس پیورنز* و *استافیلوکوک اورئوس* به کلیه عصاره‌ها حساس می‌باشند.

در مطالعه حاضر اثرات پروتواسکولکس کشی عصاره برگ گیاه *افدرا ماژور* در رقت‌ها و زمان‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد در زمان ۱۰ دقیقه مواجهه کمترین میزان کشندگی در رقت ۰/۰۰۱ و بیشترین تأثیر در از بین بردن پروتواسکولکس‌ها در زمان ۶۰ دقیقه و در رقت ۰/۱ اتفاق افتاده است.

در یک مطالعه مهدوی و همکاران^۷ اثر پروتواسکولکس کشی عصاره آبی، استونی، الکلی و آلکالوئیدهای تام دانه اسپند را بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید بررسی کرده و نشان دادند که عصاره آبی نسبت به عصاره الکلی تأثیر بسیار ناچیزی بر روی پروتواسکولکس‌ها داشته است. هم چنین توان پروتواسکولکس کشی ترکیبات آلکالوئید تام دانه اسپند به مراتب بیش‌تر از خاصیت پروتواسکولکس کشی عصاره الکلی آن بوده است. در تحقیق حاضر نتایج نشان داد اثر پروتواسکولکس کشی عصاره آبی گیاه *افدرا ماژور* به میزان مختصر بیشتر از عصاره آبی گیاه اسپند بوده است. زیبایی و همکاران^{۲۰} تأثیر عصاره‌های گیاه مرزه خوزستانی و روغن زیتون بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط برون تنی (In vitro) را بررسی و نشان دادند که عصاره‌های برگ زیتون در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۰۱ اثرات پروتواسکولکس کشی قوی در ۱۲۰ دقیقه و مرزه خوزستانی اثرات پروتواسکولکس کشی بسیار قوی‌تر در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه داشتند. نتایج این تحقیق نشان داد در مقایسه اثرات پروتواسکولکس کشی مرزه خوزستانی بیشتر از زیتون می‌باشد. در مطالعات دیگری که تأثیر عصاره‌های گیاهی روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید آزمون شده است، در مقایسه با مطالعه حاضر غلظت ۰/۱ عصاره‌های الکلی ریشه درخت انار در مدت ۶ ساعت بیشترین اثر ضد پروتواسکولکسی را به خود اختصاص داده بودند.^۳

نتیجه‌گیری

تاکنون مطالعه‌ای در خصوص اثرات ضد انگلی گیاه *افدرا* گزارش نشده است و تحقیق حاضر اولین بررسی در این زمینه می‌باشد. تحقیق انجام شده نشان داد عصاره آبی گیاه *افدرا ماژور* که به‌صورت طبیعی در ایران رویش می‌کند در غلظت‌ها و مدت

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از تلاش ها و زحمات معاونت محترم پژوهشی دانشگاه لرستان که ما را در تصویب و اجرای پایان نامه دوره کارشناسی ارشد آقای افشین روشن یاری نمودند، صمیمانه قدردانی و تشکر می‌گردد.

زمان‌های مختلف دارای اثرات ضد پروتواسکولکسی متفاوت می‌باشد. با توجه تأثیر کم ضد انگلی عصاره آبی گیاه فوق پیشنهاد می‌شود تحقیقات بیشتری با سایر عصاره‌های الکلی و استونی به جهت دستیابی به یک ترکیب کشنده پروتواسکولکس بدون عوارض جانبی به منظور استفاده جراحان انجام گیرد.

منابع

- Rokni MB. Echinococcosis/hydatidosis in Iran. *Iran J Parasitol* 2009;4(2):1-16.
- Salehi N, Rouhani S, Kamalinejad M, Zayeri F, Motaghifar A. Scolicidal effects of *Berberis vulgaris* fruit extract on hydatid cyst protoscolices. *Tehran Univ Med J* 2014;72(2):121-128 [In Persian].
- Zibaei M, Sajedi B, Jafari Z. Scolicidal effects of different concentrations hydroalcoholic extract of *Punica granatum* root on hydatid cyst protoscolices. *Alborz Univ Med J* 2015;3(4):205-210 [In Persian].
- Mosayebi M, Vakil N, Sadat-Tahaii E, Valizadeh S. Clinical, diagnostic and therapeutic survey on hydatid disease. *Proceeding of the First Iranian Congress of Clinical Microbiology*, 8-10 May 2007; Shiraz, Iran [In Persian].
- Saidi F. *Surgery of hydatid disease*. Last edition. WB Saunders, 1976.
- Hosseini SV, Ghanbarzadeh K, Barzin Z, Sadjjadi SM, Tanideh N, Mehrabani D. In vitro protoscolicidal effects of hypertonic glucose on protoscolices of hydatid cyst. *Korean J Parasitol* 2006; 44(3):239-342.
- Mahdavi M, Masood J. Scolicidal effect of alcoholic, aqueous and total alkaloids of *Peganum harmala* L. (Syrian Rue) against hydatid cysts protoscolices. *Tehran Univ Med J* 2002;60(3):215-226 [In Persian].
- 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.
- Mohseni A. *Punica granatum/ production Guide*. Last edition. Tehran University Press, 2010 [In Persian].
- Pawlowski ZS. Echinococcosis in human and clinical aspects, diagnosis and treatment in day In: Eckert J, Gemmell ML, Mesline FX, Pawlowski ZS. *Manual on echinococcosis in human and animal, a public health problem of global concern*. WHO/OIE. Paris, France, 2001:20-71.
- Sadjjadi SM, Zoharizadeh MR, Panjeshahin MR. In vitro screening of different *alum sativum* extracts on hydatid cysts protoscoleces. *J Invest Surg* 2008;21(6):318-322.
- Ibragic S, Sofić E. Chemical composition of various *Ephedra* species. *Bosn J Basic Med Sci* 2015;15(3):21-27.
- Samsam Shariat H. *Analysis and identification of herbal medicinal products*. Last edition. Mani Press, 2006 [In Persian].
- Najafi F, Ebadi MT, Abbasian J. *The processes of harvesting, drying and processing of medicinal and aromatic plants*. Shahi Beheshti University Press, 2011 [In Persian].
- Eckert J, Delplazes P. Biological, Epidemiological and clinical aspect of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin Microbiol Rev* 2004;17(1):107-135.
- Hazraty-Tapeh K, Mousavi SJ, Barazesh A, Asadi A. In vitro study of scolicidal effect of methylene blue in hydatid cyst. *ISMJ* 2010;13(2):123-128 [In Persian].
- Chen KK. A pharmacognostic and chemical study of *ma huang* (*Ephedra vulgaris* var. *helvetica*). 1925. *J Am Pharm Assoc* 2012;52(3):406-412.
- Parsaeimehr A, Sargsyan E, Javidnia K. A comparative study of the antibacterial, antifungal and antioxidant activity and total content of phenolic compounds of cell cultures and wild plants of three endemic species of *Ephedra*. *Molecules* 2010;15(3):1668-1678.
- Torabzadeh-Khorasani P, Panahi P, Sabokbar A, Mokhtari A. The antibacterial effects of extracts of alcohol and acetone plant goat's beard (*Ephedra major* Host) on standard strain of species *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *Comp Pathobiol J* 2010;6:91-98 [In Persian].
- Zibaei M, Sarlak A, Delfan B, Ezatpour B, Azargoon A.. Scolicidal effects of *Olea europaea* and *Satureja khuzestanica* extracts on protoscolices of hydatid cysts. *Korean J Parasitol* 2012;50(1):53-56.