ORIGINAL ARTICLE

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

Fariba Faizi[1],
Fatemeh Parandin[2],
Shirin Moradkhani[3],
Nasrin Rezaee[4],
Mohammad sardar[5],
Arastoo Roushan[6], Mohammad Fallah[7]

[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

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 27 (157): 83 - 91 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هفتم شماره ۱۵۷ بهمن سال ۱۳۹۶ (۹۱ - ۸۳)

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 می‌باشد. مواد شیمیایی مختلفی برای از بین بردن پروتواسکولکس‌ها در حین جراحی استفاده می‌شود که اغلب آن‌ها دارای عوارض سوء جانبی برای بیماران هستند. در نتیجه استفاده از عصاره‌های 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 عصاره‌های متانولی اکالیپتوس، درمنه و زنجبیل در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، کبدهای گوسفندان آلوده به کیست‌های هیداتیک از کشتارگاه همدان جمع‌آوری گردید، و سپس مایع کیست‌های حاوی پروتواسکولکس‌های زنده، تحت شرایط استریل آسپیره شد. در این مطالعه اثر دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از هر یک از مخلوط عصاره‌های اکالیپتوس، درمنه و زنجبیل در زمان‌های ۱۵ و ۳۰ دقیقه بررسی شد. درصد پروتواسکولکس‌های زنده با رنگ‌آمیزی حیاتی ائوزین تایید گردید. و نتایج حاصل با آزمون آماری مربع کای chi-square (X2) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: در بررسی تاثیر مخلوط عصاره‌های زنجبیل و اکالیپتوس مشخص شد که ترکیب این دو عصاره، تاثیر قابل توجه‌ای در از بین رفتن پروتواسکولکس‌ها دارد. به طوری که در غلظت ۵۰ و ۱۰۰میلی‌گرم در میلی‌لیتر بعد از ۱۵ و ۳۰ دقیقه مواجهه، به ترتیب ۹۷/۲۴ و ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس‌ها 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، می‌توان اثر کشندگی را برای موارد درمانی بررسی کرد.

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

مقدمه

اکینوکوکوزیس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های زئونوز در جهان است که به وسیله‌ی مرحله لاروی، از سستودهای تنیده از جنس اکینوکوکوس ایجاد می‌گردد(۱). در چرخه تکاملی این انگل، گوشتخواران اهلی و وحشی و عمدتا سگ‌ها میزبان نهایی، و علف خواران و انسان میزبان واسط این انگل محسوب می‌شوند(۲). در حالی که عفونت گوشتخواران با مرحله بالغ اکینوکوکوس، نمی‌تواند باعث مرگ و میر شود،

مولف مسئول: محمد فلاح– همدان، مقابل پارک مردم، دانشگاه علوم پزشکی همدان Email: fallah@umsha.ac.ir
۱. کارشناس ارشد انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۲. مربی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۳. استادیار، گروه فارماکوگنوزی، 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 بازرس گوشت، کشتار گاه همدان، همدان، ایران
۷. استاد، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان
تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۱۲/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۶/۳/۱۹ تاریخ تصویب : ۱۳۹۶/۶/۲۰

استقرار لارو در ارگان‌های گوناگون میزبان واسط (خصوصا 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 نو پدید 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(۶،۵). جراحی معمولا 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 اسکولکس‌کش 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) ، نیترات نقره(silver nitrate) ، ستریماید (cetrimide) به داخل کیست ،که متاسفانه 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 پروتواسکولکس های کیست هیداتید بپردازیم. تا در صورت مشاهده اثرات قابل قبول، در حین جراحی از آن‌ها استفاده شود.

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

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 می‌باشد(۱۳). اکالیپتوس(Eucalyptus globulus) گیاهی از خانواده Myrtacea، که دارای اثرات ضد نفخ، تب بر، ضد عفونی کننده، ضد مالاریا، و ضد کرمی می باشد .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 اسکولکس‌کش‌های 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 روش ها

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 فالکون منتقل گردید. در صورت کدر بودن مایع آسپیره شده، وجود باکتری و گلبول سفید در مشاهده میکروسکوپیک آن، مایع کیست مذکور دور ریخته شد. مایع کیست در زیر میکرسکوپ 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 ائوزین

مخلـوط، و در زیرمیکروسـکوپ مـورد بررسـی قـرار گرفت. پروتواسکولکس‌های مرده با توجه بـه از دسـت دادن خاصیت نفوذپذیری انتخابی غشاء به رنگ قرمز، و پروتواسکولکس‌های زنده بی رنـگ دیـده شـدند. مـایع کیست‌هایی که دارای بالاترین میـزان پروتواسـکولکس زنده بودنـد، بـرای مطالعـه انتخـاب گردیـد. پـس از بـی حرکت شدن و رسوب پروتواسکولکس‌ها، مـایع رویـی را برداشته و پروتواسکولکس‌های به دست آمده سه بـار بـا نرمـال سـالین (Normal saline) شستشـو داده شـد و درصد زنده بودن پروتواسکولکس‌ها با مشاهده حرکـت آن‌هـا (ارتعاشـات سـلول‌هـای شـعله‌ای) و بـا اسـتفاده از رنگ‌آمیزی حیاتی ائـوزین (Test Eosin Exclusive) ۰/۱ درصد در زیر میکروسکوپ تایید گردید.

به منظور تهیـه و تخلـیص عصـاره‌هـای گیـاهی، در ابتدا برگ اکالیپتوس، میـوه درمنـه و ریـزوم زنجبیـل، از بازار گیاهـان دارویـی همـدان تهیـه گردیـد و گونـه آن توسط خـانم دکتـر مـراد خـانی از دانشـکده داروسـازی دانشگاه علوم پزشکی همدان شناسایی و تایید شـد. پـس از تمیز و خشک کردن گیاهان، پودر به دسـت آمـده از هرگیاه (۱۰۰ گرم) به همراه متانول خالص (بـه نسـبت ۱ به ۳) به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه قـرار داده شد. سپس محلول حاصله صاف، و جهت حـذف حـلال به دستگاه تقطیر در خلاء (Rotary evaporator) منتقـل گردید. برای برآورد حجم نمونه، از مطالعه تقریبا مشـابه ای که به بررسی اثر اسکولکس کشی عصاره هـای سـیر و پیاز و شیرین بیان بر روی کیست هیداتید پرداخته بود، اسـتفاده گردیـد(۱۵). بـرای هـر غلظـت و هـر زمـان برنامه‌ریزی شده و آزمـایش هـا سـه بـار تکـرار گردیـد. بنـابراین بـا توجـه بـه آزمـایش چهـار ترکیـب مختلـف عصاره‌های متانولی، در دو غلظت مختلف و دو زمان در نظر گرفته شده و سه بـار تکـرار و گـروه کنتـرل، جمعـا حجم نمونه ۹۶ محاسبه گردید. تست اسکولکس کشـی بـر اسـاس مطالعـه مـوذنی و نظـر در سـال ۲۰۱۰، انجـام گردید(۱۶). جهت تهیه غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گـرم در میلی‌لیتر، ۰/۵ و یک گرم از هر کدام از عصـاره‌هـای خشک را در ۱۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی، حـل گردیـد و برای آماده کردن محلول مخلوط دو و سه گیاه، از هـر کدام از غلظت عصاره‌ها، به نسبت مسـاوی (۱ بـه ۱) بـا هم مخلوط، و ترکیب مورد نیاز از آن هـا تهیـه گردیـد. سپس دو میلی‌لیتر از ترکیب غلظت عصاره‌ها، بـه همـراه یـک قطـره محلـول سوسپانسـیون انگلـی حـاوی پروتواسکولکس زنده، در لوله‌های جداگانه ریختـه شـد و در داخـل انکوبـاتور ۳۷ درجـه قـرار داده شـد و در زمان‌هـای ۱۵ و ۳۰ دقیقـه پـس از مجـاورت بـا عصـاره، مورد بررسی قرار گرفت. بعد از اتمام زمـان مواجهـه در نظر گرفته شـده بـرای هـر لولـه، قسـمت رویـی محلـول توسـط پیپـت پاسـتور برداشـته شـد و بـه پروتواسـکولکس‌هـای رسـوب کـرده بـاقی مانـده، دو میلی‌لیتر از رنگ ائوزین ۰/۱ درصد اضافه، و بـه آرامـی مخلوط گردید، قسمت رویی محلـول پـس از ۱۵ دقیقـه دور ریخته شد و درصد لاروهای مرده بـا عدسـی شـیئی ۱۰ بر حسب درصـد تعیـین گردیـد. بـه منظـور ارزیـابی عوامل احتمالی مـوثر بـر حیـات پروتواسـکولکس‌هـا از جمله گذشت زمان، به طور همزمان پروتواسکولکس‌هـا را در لولـه آزمـایش دیگـری (لولـه شـاهد) بـا سـرم فیزیولوژی مجاورت داده و نتایج حاصل، به عنـوان لولـه شاهد ثبت گردید. هـم‌چنـین جهـت اطمینـان از دقـت و صـحت کـار، آزمـایش بـا هـر عصـاره، سـه بـار تکـرار گردید.داده‌های به دست آمده پس از ثبت بـا نـرم افـزار spss نسخه ۲۰ و آزمون آماری مربع کـای chi-square

(X2) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرارگرفت. سطح معنی‌داری کم‌تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

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

بررسی حاضر نشان می‌دهد که غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر 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 کشی مخلوط عصاره اکالیپتوس و زنجبیل در غلظت‌ها و زمان‌های موردمطالعه، رابطه معنی‌داری وجود دارد (p>۰/۰۰۱) (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=۰/۰۲۴). در صورتی که در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی‌لیتر، ۱۳/۴۶ درصد از انگل‌ها از بین رفته است (p>۰/۰۰۱) (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 چیزی بر روی انگل داشته است به طوری‌که در پایان ۳۰ دقیقه مواجهه در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی‌لیتر، باعث از بین رفتن ۱۳/۸۷ درصد پروتواسکولکس شده است. در حالی‌که در گروه کنترل ۲ درصد از پروتواسکولکس‌ها از بین رفته‌اند.

جدول شماره ۱: تعیین اثر پروتواسکولکس کشی مخلوط عصاره متانولی زنجبیل و اکالیپتوس در غلظت ها و زمان های مختلف

	زمان های مواجهه (دقیقه)					
	۱۵			۳۰		
غلظت (mg/ml)	تعداد کل پروتواسکولکس ها (Mean±SD)	پروتواسکولکس های مرده (Mean±SD)	میزان مرگ و میر گروه مورد (درصد)	تعداد کل پروتواسکولکس ها (Mean±SD)	تعداد کل پروتواسکولکس های مرده (Mean±SD)	میزان مرگ و میر گروه مورد (درصد)
۵۰	۳۶۷/۴۳±۲۵/۷۲	۳۴۴/۹۶±۲۳/۶۸	۹۳/۷۸	۳۳۲/۱۹۶±۳۱/۴۳	۳۲۳/۲۷±۳۱/۴۵	۹۷/۲۴
۱۰۰	۴۰۰/۸۹±۵۳/۱۷	۳۹۹/۹۱±۵۳/۱۶	۹۹/۷۳	۳۷۵/۹۴±۶۱/۸۳	۳۷۵/۹۴±۶۱/۸۳	۱۰۰
کنترل	۳۰۰	۲۷	۹	۳۰۰	۲۷	۹

جدول شماره ۲: تعیین اثر پروتواسکولکس کشی مخلوط عصاره متانولی زنجبیل و درمنه در غلظت ها و زمان های مختلف

	زمان های مواجهه (دقیقه)					
	۱۵			۳۰		
غلظت (mg/ml)	تعداد کل پروتواسکولکس ها (Mean±SD)	پروتواسکولکس های مرده (Mean±SD)	میزان مرگ و میر گروه مورد (درصد)	تعداد کل پروتواسکولکس ها (Mean±SD)	پروتواسکولکس های مرده (Mean±SD)	میزان مرگ و میر گروه مورد (درصد)
۵۰	۳۷۹/۰۱±۴۸/۱۲	۱۳/۹۲±۱/۷۹	۳/۶۶	۳۸۵/۵۸±۴۰/۲۰	۱۹/۲۴±۲/۰۸	۴/۹۸
۱۰۰	۴۱۳/۲۲±۸۱/۲۳	۴۱/۳۵±۸/۱۴	۱۰	۴۱۴/۵۵±۵۰/۶۳	۵۵/۸۸±۷/۰۳	۱۳/۴۶
کنترل	۳۰۰	۶	۲	۳۰۰	۶	۲

جدول شماره ۳: تعیین اثر پروتواسکولکس کشی مخلوط عصاره متانولی اکالیپتوس و درمنه در غلظت ها و زمان های مختلف

	زمان های مواجهه (دقیقه)					
	۱۵			۳۰		
غلظت (mg/ml)	تعداد کل پروتواسکولکس ها (Mean±SD)	پروتواسکولکس های مرده (Mean±SD)	میزان مرگ و میر گروه مورد (درصد)	تعداد کل پروتواسکولکس ها (Mean±SD)	پروتواسکولکس های مرده (Mean±SD)	میزان مرگ و میر گروه مورد (درصد)
۵۰	۳۴۱/۸۵±۴۷/۳۰	۲۶/۲۲±۳/۹۴	۷/۶۳	۳۶۴/۵۰±۳۶/۱۶	۳۱/۹۶±۳۱/۹۰	۸/۷۳
۱۰۰	۳۸۴/۵۱±۴۳/۵۸	۴۳/۹۶±۵/۰۲	۱۱/۴۲	۳۷۰/۸۵±۲۱/۱۰	۵۱/۴۹±۲/۸۸	۱۳/۸۷
کنترل	۵۰۰	۱۰	۲	۵۰۰	۱۰	۲

جدول شماره ٤: تعیین اثر پروتواسکولکس کشی مخلوط سه عصاره متانولی اکالیپتوس، درمنه و زنجبیل در غلظت ها و زمان های مختلف

	زمان های مواجهه (دقیقه)					
	۱۵			۳۰		
غلظت (mg/ml)	تعداد کل پروتواسکولکس ها (Mean±SD)	پروتواسکولکس های مرده (Mean±SD)	میزان مرگ و میر گروه مورد (درصد)	تعداد کل پروتواسکولکس ها (Mean±SD)	پروتواسکولکس های مرده (Mean±SD)	میزان مرگ و میر گروه مورد (درصد)
۵۰	۴۳۷/۹۰±۴۹/۱۷	۸۵/۲۸±۹/۲۵	۱۹/۴۹	۴۳۸/۹۷±۹۴/۶۵	۹۷/۵۳±۲۰/۸۲	۲۲/۲۴
۱۰۰	۳۳۶/۷۶±۶۴/۵۰	۱۳۲/۷۳±۲۵/۲۹	۳۹/۴۵	۳۷۹/۲۰±۳۱/۶۴	۱۶۲/۴۲±۱۳/۶۲	۴۲/۸۲
کنترل	۵۰۴	۴۲	۸/۳۳	۵۰۴	۴۲	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 حالی‌که میزان مرگ و میر در گروه کنترل، ۸/۳ درصد است. آزمون آماری، ارتباط معنی‌داری بین اثر پروتواسکولکس‌کشی مخلوط هر سه عصاره را در غلظت‌ها و زمان‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد ($p>۰/۰۰۱$).

بحث

مطالعه حاضر فعالیت بالای اسکولکس کشی مخلوط عصاره‌های متانولی اکالیپتوس و زنجبیل را نشان می‌دهد. با توجه به این که در درمان جراحی، در صورت در نظر نگرفتن تمهیدات لازم، خطر نشت پروتواسکولکس‌ها و انتشار آن در احشاء و بافت‌ها در حین عمل وجود خواهد داشت که یکی از دلایل اصلی عود و تشکیل کیست‌های هیداتید ثانویه می‌باشد(۱۷).

اکالیپتوس از شناخته‌ترین گیاهان دارویی است. عصاره برگ اکالیپتوس حاوی ترکیبات اکالیپتول (۱و ۸-سینئول)، سیترونلول، سیترونلال، لیمونن، بتا پینن و ... می‌باشد 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 ژیاردیا لامبلیا پس از ۶۰ دقیقه مواجهه با غلظت ۲۰۰میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۶۳/۳ درصد است(۱۹). در مطالعه عبداله زاده در سال ۲۰۱۱، نتایج بررسی‌های شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی نشان داد که عصاره‌های استونی و اتانولی اوکالیپتوس در مقایسه با عصاره آبی بیشترین فعالیت ضد میکروبی مؤثر بر روی بروسلا دارند و می‌توانند در درمان بروسلوز انسانی و حیوانی مفید باشند(۲۰).

در مطالعه قبلی، اکالیپتوس اثر اسکولکس کشی ۱۰۰ درصد نشان داد که احتمالا علت تاثیر زیاد عصاره این گیاه بر روی پروتواسکولکس‌ها، به خاطر وجود اکالیپتول می‌باشد که دارای اثر ضد انگلی است(۹). زنجبیل یکی از گیاهان سنتی است که اثر ضد انگلی آن بر روی انگل‌های مختلف مانند توکسوپلاسما گوندی، دیروفیلاریا ایمیتیس و کیست هیداتید ثابت شده است(۲۱و۲۲و۲۳). تاکنون مطالعه‌ای درباره اثر مخلوط عصاره‌های گیاهی بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید انجام نشده است. و بیش‌تر مطالعات بر روی سایر ارگانیسم‌ها و برخی انگل‌ها، مانند مطالعه‌ی 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 بیماری‌زا و مطالعه یکتائیان در سال ۲۰۱۲، با عنوان بررسی اثرات سینرژیستی مخلوط سه عصاره گیاهی بومادران، افسنطین و برگ گردو بر انگل لیشمانیا 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 پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید صورت پذیرفت، عصاره های هیدرو الکلی و کلروفرمی در غلظت‌ها و زمان‌های مواجهه در مقایسه با گروه کنترل، به طور قابل توجه‌ای موثر نبوده است(۲۶).

نتایج مطالعه غلامی و همکاران در سال ۲۰۱۳، بر روی عصاره متانولیSambucus ebulus، حاکی از این بود که در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و زمان ۶۰ دقیقه، میزان مرگ و میر پروتواسکولکس‌ها ۹۸/۶ درصد بوده است(۲۷).

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

است. به طوری‌که در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر پس از ۱۸۰ دقیقه از زمان مواجهه، به ترتیب ۸۶ درصد و ۹۸ درصد پروتواسکولکس‌ها از بین رفتند(۲۸).

نتایج حاصل از ارزیابی اثر اسکولکس کشی مخلوط عصاره متانولی زنجبیل و اکالیپتوس در این مطالعه نشان داد که ترکیب این عصاره‌ها با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر موجب از بین رفتن تمامی (۱۰۰ درصد) پروتواسکولکس‌ها در دقیقه سی‌ام می‌شود، که با توجه به اثر کشندگی زیاد ترکیب عصاره اکالیپتوس و زنجبیل، می‌توان گفت که ترکیب عصاره‌های فوق، دارای اثر هم افزایی بر روی پروتواسکولکس‌ها می‌باشد. با توجه به یافته‌های این پژوهش که مخلوط عصاره‌های متانولی اکالیپتوس و زنجبیل فعالیت بالای اسکولیسیدال را در غلظت ۱۰۰میلی‌گرم در میلی‌لیتر و زمان ۳۰ دقیقه از خود نشان دادند می‌توان پیشنهاد کرد، که عناصر تشکیل دهنده عصاره‌ها به طور دقیق شناسایی، و اثر هر یک از این اجزاء به طور جداگانه بررسی کرده و مکانیسم اثرآن‌ها نیز روشن گردد. از 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 scolicidal 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 offivinale) and Artemisia (Artemisia aucheri) on Protoscoleces of Hydratid Cyst in vitro. Arak Med Univ J. 2015; 18(101): 45-52(persian)
15. Yazdani Y. scolicidal 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. Abdolahzade 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 سPlants. 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, Anzahaei FR. Scolicidal effect of Allium sativum flowers on hydatid cyst protoscolices. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2016; 20(1):129-132.