

اثر کشندگی عصاره خرنوب (*Ceratonia siliqua*) بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط آزمایشگاهی

فرناز ملکی فرد^{*}، فاطمه کرامتی

گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۶/۸/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۱۷

چکیده:

زمینه و هدف: استفاده از داروهای شیمیایی جهت درمان کیست هیداتید به علت اثرات جانبی متفاوت آنها مشکل می‌باشد. بنابراین امروزه استفاده از ترکیبات غیرشیمیایی مانند گیاهان دارویی به عنوان یک روش درمانی بر علیه کیست هیداتید مورد توجه می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر اسکولکس کشی عصاره خرنوب در شرایط آزمایشگاهی بوده است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی غلظت‌های مختلف عصاره خرنوب در زمان‌های مختلف مواجه در شرایط آزمایشگاهی برای بررسی اثرات آن در کیست هیداتید مورد بررسی قرار گرفت. پروتواسکولکس‌ها به صورت کاملاً استریل از کبد گوسفند آلوده به کیست هیداتید جمع‌آوری شد و در مواجهه با ۳ غلظت از عصاره خرنوب (۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) برای مدت زمان ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه قرار گرفت. زنده ماندن پروتواسکولکس‌ها با رنگ‌آمیزی اتوزین ۰/۱ درصد تعیین شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون آماری تی تست تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد که عصاره خرنوب در تمام غلظت‌های مورد استفاده دارای اثرات اسکولکس کشی معنی‌داری نسبت به گروه کنترل می‌باشد ($P < 0/05$). عصاره خرنوب در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بعد از گذشت ۳۰ دقیقه موجب از بین رفتن تمام پروتواسکولکس‌ها شد.

نتیجه‌گیری: عصاره خرنوب دارای فعالیت اسکولکس کشی قوی می‌باشد. اگرچه تأثیر درون‌تنی این گیاه دارویی جهت بررسی درمان کیست هیداتید در انسان و حیوانات گیاه خوار بایستی مورد مطالعه قرار بگیرد.

واژه‌های کلیدی: خرنوب، کیست هیداتیک، پروتواسکولکس، شرایط آزمایشگاهی

^{*}نویسنده مسئول: فرناز ملکی فرد، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی

Email: f.malekifard@urmia.ac.ir

مقدمه

صورت خودرو وجود دارد (۱۱ و ۱۰). از گیاه خرنوب به عنوان شیرین کننده در تولید بیسکویت، شیرینی و نوشیدنی‌ها به علت قند زیاد و هزینه کم آن استفاده می‌شود (۱۲). از اثرات ضدانگلی این گیاه می‌توان به اثرات مهاری بر رشد انگل اشاره کرد که به منظور تولید داروهای ضد مالاریا استفاده شده است (۱۳). همچنین از این گیاه به علت دارا بودن ترکیب‌های فیبر، پلی‌فنول‌ها، توکوفول، آنتی‌اکسیدان‌ها و استرول‌های گیاهی، به عنوان داروهای ضد سرطان و ضد دیابت استفاده شده است (۱۴ و ۱۳). آریولوپز و همکاران اثرات ضد انگلی عصاره این گیاه را بر کرم‌های *همانکوس کونترتوس* و *تریکواسسترونژیلیوس* کولبریفورمیس را نشان دادند (۱۵).

با توجه به بررسی مطالعه‌های قبلی، اثر عصاره گیاه خرنوب روی بر کیست هیداتید تا به امروز ناشناخته می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات عصاره گیاه خرنوب بر کیست هیداتید در محیط آزمایشگاه بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، کبد حاوی کیست‌های هیداتید از کشتارگاه ارومیه تهیه و به بخش انگل‌شناسی منتقل و با رعایت شرایط استریل محتویات کیست‌ها آسپیره و در لوله‌های استریل به صورت مجزا ریخته شد. کیست‌های کلسیفیه و چرکی شده از بررسی، خارج شدند.

کیستیک اکینوкокوزیس یا کیست هیداتید یک بیماری مشترک مهم ناشی از مرحله لاروی کرم *اکینوкокوز گرانولوسوس* می‌باشد (۱). کیستیک اکینوкокوزیس در بسیاری از مناطق جغرافیایی از جمله استرالیا، آمریکای جنوبی، خاورمیانه، شرق آفریقا، شرق اروپا و منطقه مدیترانه شایع می‌باشد (۲). جراحی، آسپیراسیون و درمان دارویی سه روش درمانی برای درمان کیست هیداتید استفاده می‌شود. درمان دارویی با بنزی میدازول‌ها مانند آلبندازول و مبندازول، علاوه بر روش جراحی انجام می‌گیرد و به ویژه در بیمارانی که قابل جراحی نیستند استفاده می‌شود (۳). اگرچه اثرات سوئی از جمله لکوپنی شدید، ترومبوسیتوپنی از عوارض استفاده از این داروها می‌باشد (۴). بنابراین امروزه محققان در پی یافتن عوامل اسکولیسیدال اسکولکس با اثرات جانبی کمتر و تأثیرگذاری بیشتر در درمان این بیماری می‌باشند (۵).

گیاهان دارویی سال‌های زیادی است که در سراسر جهان برای درمان و پیشگیری از بعضی بیماری‌ها استفاده می‌شوند. مطالعه‌های زیادی بر روی اثرات اسکولیسیدال گیاهان مختلف مانند؛ سیر، زنجبیل، درمنه و آویشن شیرازی صورت گرفته است (۶-۹).

گیاه خرنوب متعلق به خانواده حبوبات، درختی به ارتفاع ۷ تا ۱۲ متر است. این گیاه، بومی مناطق مدیترانه است و در ایران در کازرون به

کیست‌ها به کمک میکروسکوپ نوری از نظر باروری مورد بررسی قرار گرفتند. در صورت باروری کیست‌ها، زنده بودن پروتواسکولکس‌ها به وسیله رنگ‌آمیزی با ائوزین ۰/۱ درصد و از روی حرکت سلول‌های شعله شمعی مورد ارزیابی قرار گرفت (۶).

گیاه خرنوب از استان فارس، شهرستان کازرون خریداری شده و پس از خشک‌کردن در سایه به دانشگاه ارومیه منتقل شد. گیاه موردنظر بعد از خشک شدن در سایه، با آسیاب برقی به‌خوبی آسیاب شد. جهت تهیه عصاره متانولی از روش هضمی استفاده شد. بدین صورت که گیاه پس از آسیاب شدن با حلال (متانول سه به یک) مخلوط شد و پس از مدتی مخلوط شدن بر روی دستگاه شیکر به‌منظور تکمیل فرآیند عصاره‌گیری، به وسیله صافی و قیف صاف شده تا عصاره اولیه به دست آمد. عصاره اولیه مورد فرآیند حذف حلال (با قرار دادن در روتاری) قرار گرفت تا عصاره تغلیظ شده به دست آید.

بررسی اثر پروتواسکولکسیدال عصاره یا عصاره گیاهان در این مطالعه ۳ غلظت از عصاره هر کدام از گیاهان مورد آزمایش (۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در مدت زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه با پروتواسکولکس‌های جمع‌آوری شده مجاور شد.

برای تهیه غلظت‌های مذکور ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم از عصاره گیاه‌های خشک شده مورد نظر با حدود ۱۰ میلی‌لیتر نرمال سالین در لوله‌های جداگانه مخلوط و لوله‌ها با مگنت بهم زده شد (۷).

در هر لوله آزمایش ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول ریخته شده و روی آن ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌ها که حاوی حدود ۱۰۰۰ پروتواسکولکس بود اضافه شد. محتویات لوله‌ها در مدت زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد تا تمامی پروتواسکولکس‌ها رسوب کنند و بعد از مدت زمان‌های مذکور، قسمت روئی لوله‌ها بوسیله پاستور حذف گردید تا پروتواسکولکس‌های رسوب کرده مورد بررسی قرار بگیرند. برای اطمینان از صحت آزمایشات، از گروه کنترل (نرمال سالین) استفاده شد. آزمایشات ۳ بار تکرار گردید (۶).

برای محاسبه میزان زنده ماندن پروتواسکولکس‌ها، محلول ائوزین ۰/۱ درصد (۱ گرم ائوزین در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) استفاده شد. بعد از رنگ‌آمیزی، پروتواسکولکس‌های مرده رنگ ائوزین را جذب کرده و به رنگ قرمز در آمدند، اما پروتواسکولکس‌های زنده بدون رنگ مانده و ارتعاشات سلول‌های شعله‌ای و انقباضات بدن در آنها دیده شد. میزان مرگ و میر پروتواسکولکس‌ها از درصد پروتواسکولکس‌های مرده به کل پروتواسکولکس‌ها به دست آمد (۷).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری تی تست تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در این مطالعه اثر عصاره گیاه خرنوب با غلظت‌های ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در مدت زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بر روی پروتواسکولکس‌ها مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد که میانگین اثر پروتواسکولیسیدال گیاه مذکور در غلظت‌ها و مدت زمان‌های مختلف در جداول شماره ۱ تا ۳ خلاصه شده است.

عصاره خرنوب در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بعد از ۳۰ دقیقه مواجهه باعث مرگ ۱۰۰ درصد از پروتواسکولکس‌ها شد. بررسی میزان کشندگی عصاره خرنوب در غلظت‌های ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برحسب زمان در مقایسه با گروه کنترل نشان داد عصاره خرنوب در تمام غلظت‌های مورد استفاده، دارای اثرات اسکولکس‌کشی معنی‌داری ($p < 0.05$) نسبت به گروه کنترل می‌باشد (نمودار ۱). به طوری که میزان مرگ و میر پروتواسکولکس‌ها پس از ۶۰ دقیقه مجاورت با عصاره خرنوب در غلظت‌های ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ترتیب برابر با ۷۶/۶۶، ۸۸/۹۰ و ۱۰۰ درصد بود، در حالی که میزان مرگ و میر در گروه کنترل ۱۱/۷ درصد بود.

همچنین نتایج این مطالعه، بیانگر افزایش تأثیر کشندگی عصاره خرنوب با افزایش غلظت و زمان مجاورت بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید

می‌باشد، که این تفاوت در میزان تأثیر از لحاظ آماری معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشد.

بنابراین نتایج به دست آمده نشان دهنده خاصیت اسکولکس‌کشی عصاره خرنوب در محیط آزمایشگاه می‌باشد (شکل ۱).

بحث

هیداتیدوزیس یک بیماری انگلی می‌باشد که به علت مشکل بودن درمان آن، به عنوان یک عامل تهدید کننده سلامت عمومی جامعه در بسیاری از کشورها شناخته شده است (۱۶). تا به امروز مطالعه‌های مختلفی در مورد اثرات اسکولیسیدال نیترا ت نقره، سالین هیپرتونیک، ستریماید، اتیل الکل ۹۵ درصد، پراکسید هیدروژن، مانیتول، آلبندازول، کلرگزیدین گلوکونات صورت گرفته است (۲۴-۱۷)، اما استفاده از این عوامل در درمان کیستیک اکینوکوکوزیس به سبب ایجاد عوارض ناخواسته‌ای مانند؛ نکروز کبد، فیروز صفراوی و مت هموگلوبینمی محدود می‌شود (۲۵).

یک عامل کشنده اسکولکس خوب و ایمن بایستی دارای بعضی خصوصیت‌های لازم از جمله بیشترین و بهترین اثر در غلظت کم، کم هزینه بودن، فاقد اثرات جانبی موضعی یا سیستمیک، تأثیر در مدت کم و غیر سمی بودن آن است. اخیراً توجه ویژه‌ای به استفاده از مشتقات گیاهی و عصاره گیاهان در طب سنتی در کشورهای در حال توسعه شده است که به علت داشتن اثرات جانبی کم، کم هزینه بودن و دسترسی بالا به گیاهان می‌باشد (۲۶).

جدول ۱: اثر اسکولیسیدال غلظت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر عصاره گیاه خرنوب در مدت زمان های مختلف مواجهه

زمان	آزمایش ها			جمع کل
	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم	
۱۰ دقیقه	پروتواسکولکس	۴۰۲	۴۱۷	۴۸۵
	مرده	۹۰	۹۴	۹۲
	کشندگی (درصد)	۲۲/۳۸	۲۲/۵۴	۱۸/۹۶
۲۰ دقیقه	پروتواسکولکس	۴۱۳	۴۷۲	۴۸۳
	مرده	۱۴۱	۱۵۲	۱۵۰
	کشندگی (درصد)	۳۴/۱۴	۳۲/۲	۳۱/۰۵
۳۰ دقیقه	پروتواسکولکس	۴۸۰	۴۲۱	۵۶۸
	مرده	۲۹۴	۲۹۵	۳۲۲
	کشندگی (درصد)	۶۱/۲۵	۶۸/۸۸	۵۶/۶۹
۶۰ دقیقه	پروتواسکولکس	۴۲۲	۴۵۹	۵۱۶
	مرده	۳۶۱	۳۴۱	۳۶۹
	کشندگی (درصد)	۸۵/۵۴	۷۴/۲۹	۷۱/۵۲
کنترل	پروتواسکولکس	۴۸۵	۵۰۲	۵۳۴
	مرده	۵۵	۶۲	۸۵
	کشندگی (درصد)	۱۱/۳۴	۱۲/۳۵	۱۵/۹۱

جدول ۲: اثر اسکولیسیدال غلظت ۲۵ میلی گرم در میلی لیتر عصاره گیاه خرنوب در مدت زمان های مختلف مواجهه

زمان	آزمایش ها			جمع کل
	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم	
۱۰ دقیقه	پروتواسکولکس	۴۱۲	۴۵۲	۴۷۸
	مرده	۱۸۵	۱۷۹	۱۸۳
	کشندگی (درصد)	۴۴/۹	۳۹/۶	۳۸/۲۸
۲۰ دقیقه	پروتواسکولکس	۴۰۷	۴۲۱	۴۲۷
	مرده	۲۱۷	۲۲۲	۲۳۱
	کشندگی (درصد)	۵۳/۳۱	۵۲/۷۳	۵۴/۰۹
۳۰ دقیقه	پروتواسکولکس	۴۱۵	۴۲۷	۴۵۷
	مرده	۳۱۹	۳۳۷	۳۱۳
	کشندگی (درصد)	۷۶/۸۶	۷۸/۹۲	۶۸/۴۹
۶۰ دقیقه	پروتواسکولکس	۴۴۹	۴۲۱	۴۹۷
	مرده	۳۹۹	۴۰۲	۴۲۸
	کشندگی (درصد)	۸۸/۸۶	۹۵/۴۸	۸۶/۱۱
کنترل	پروتواسکولکس	۴۸۵	۵۰۲	۵۳۴
	مرده	۵۵	۶۲	۸۵
	کشندگی (درصد)	۱۱/۳۴	۱۲/۳۵	۱۵/۹۱

جدول ۳: اثر اسکولیسیدال غلظت ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر عصاره گیاه خرنوب در مدت زمان های مختلف مواجهه

زمان	آزمایش ها			جمع کل
	تکرار اول	تکرار دوم	تکرار سوم	
۱۰ دقیقه	پروتواسکولکس	۴۲۱	۴۵۹	۴۷۷
	مرده	۳۵۹	۳۶۱	۳۸۵
	کشندگی (درصد)	۸۵/۲۷	۷۸/۶۴	۸۰/۷۱
۲۰ دقیقه	پروتواسکولکس	۳۹۰	۴۱۱	۴۲۸
	مرده	۳۸۵	۳۸۴	۳۷۹
	کشندگی (درصد)	۹۸/۷۱	۹۳/۴۳	۸۸/۵۵
۳۰ دقیقه	پروتواسکولکس	۴۱۸	۴۳۲	۴۷۳
	مرده	۴۱۸	۴۳۲	۴۷۳
	کشندگی (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۶۰ دقیقه	پروتواسکولکس	۳۸۹	۴۰۲	۳۹۵
	مرده	۳۸۹	۴۰۲	۳۹۵
	کشندگی (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
کنترل	پروتواسکولکس	۴۸۵	۵۰۲	۵۳۴
	مرده	۵۵	۶۲	۸۵
	کشندگی (درصد)	۱۱/۳۴	۱۲/۳۵	۱۵/۹۱



شکل ۱: پروتواسکولکس های رنگ آمیزی شده با اتوزین ۰/۱ درصد؛ پروتواسکولکس بیرنگ (زنده)، پروتواسکولکس رنگ گرفته (مرده)

خرنوب در طب سنتی به علت خاصیت
ضد دیابت (۱۴) شناخته شده است.
آنتی اکسیدانی به عنوان داروی ضد سرطان (۱۳) و
خرنوب دارای ترکیباتی مانند توکوفرول، پلی

فنول‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و اسیدهای گیاهی می‌باشد (۱۴). تانن مهم‌ترین مواد مؤثره این گیاه با اثرات قابض و ضد عفونی کننده است که این امر به علت جذب آب و رسوب پروتئین‌ها صورت می‌گیرد (۲۹).

مطالعه‌های مختلف تأثیر مثبت عصاره خرنوب بر روی میکروارگانیسم‌ها را نشان داده‌اند. اثرات ضد قارچی، ضد باکتریایی و سیتوتوکسیسیته گیاه خرنوب در مطالعه‌ای به وسیله حسونا و همکاران نشان داده شده است. بر اساس نتایج مطالعه آنها، می‌توان از گیاه خرنوب به عنوان ماده محافظ در صنایع غذایی و دارویی استفاده کرد (۳۰). همچنین اثرات ضدپلاسمودیوم آن نیز به اثبات رسیده است (۱۳). در مطالعه‌ای آریو لویز و همکاران اثرات گیاه خرنوب بر کرم‌ها را بررسی کردند. آن‌ها نشان دادند که خرنوب به علت دارا بودن تانن و ترکیب‌های پلی فنول می‌تواند باعث از بین رفتن کرم همانکوس کوئترتوس و تریکواسپرونژیوس کولیریفورمیس شود (۱۵).

تاکنون مطالعه‌ای در مورد اثرات عصاره خرنوب بر روی کیست هیداتید صورت نگرفته است. در این مطالعه تأثیر غلظت‌های متفاوت عصاره خرنوب در محیط آزمایشگاهی بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعه حاضر حاکی از تأثیر بالای اسکولس کشی عصاره خرنوب بر روی

پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک بود. می‌توان گفت این اثر اسکولکس کشی عصاره خرنوب می‌تواند به علت تانن و ترکیب‌های پلی فنلی باشد که این ترکیب‌های بر دیواره سلولی اثر کرده و باعث از بین رفتن سلول‌ها می‌شوند (۳۱).

در مطالعه حاضر بررسی تأثیر کشندگی عصاره خرنوب در غلظت‌های ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و طی زمان‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد که عصاره خرنوب در تمام غلظت‌های مورد استفاده دارای اثرات اسکولکس کشی معنی‌داری نسبت به گروه کنترل می‌باشد. همچنین با افزایش زمان مجاورت پروتواسکولکس‌ها با عصاره خرنوب میانگین درصد کشندگی افزایش می‌یابد.

بر اساس نتایج این مطالعه اثرات ضد اسکولکسی در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در مدت ۳۰ دقیقه، ۴ در مقایسه با اثرات سایر عوامل اسکولسیدال مانند اتیل الکل ۹۵ درصد (در مدت ۱۵ دقیقه) (۱۸)، ستریماید ۱-۵ درصد (در مدت ۱۰ دقیقه) (۱۸)، پراکسید هیدروژن ۳ درصد (در مدت ۱۵ دقیقه) (۱۷) و سالین هیپرتونیک (به مدت ۱۵ دقیقه) (۱۹) مشابه می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه، عصاره خرنوب در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بعد از گذشت ۳۰ دقیقه می‌تواند باعث کشته شدن ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید شود. بر طبق نتایج

حاصل از این مطالعه عصاره خرنوب می‌تواند به عنوان ماده اسکولیسیدال طبیعی مؤثر در نظر گرفته شود، همچنین با توجه به این که مطالعه حاضر بر پروتواسکولکس‌های کیست‌های کبد گوسفندی در شرایط آزمایشگاهی بوده است، از این رو ضروری است که جهت تعیین دقیق غلظت مؤثر آن و عوارض مضر احتمالی آن بر روی ارگان‌های داخلی بدن، مطالعه‌های دیگری در شرایط درون تنی و به صورت تجربی بر روی حیوانات صورت گیرد تا نتایج به دست آمده کاربردی گردد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ارومیه که با تصویب و حمایت مالی امکان انجام مطالعه را فراهم آوردند تشکر به عمل می‌آید.

REFERENCES

1. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clinical Microbiology Reviews* 2004; 17: 107-135.
2. Zulfikaroglu B, Ozalp N, Keskek M, Koc M. Primary echinococcal cyst of the thyroid: report of a case. *Surgery today* 2008; 38: 833-5.
3. Blanton RE, Wachira TM, Zeyhle EE, Njoroge EM, Magambo JK, Schantz PM. Oxfendazole treatment for cystic hydatid disease in naturally infected animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1998; (42): 601-5.
4. Junghanss T, da Silva AM, Horton J, Chiodini PL, Brunetti E. Clinical management of cystic echinococcosis: state of the art, problems, and perspectives. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2008; 79(3): 301-11.
5. Adas G, Arıkan S, Kemik O, Oner A, Sahip N, Karatepe O. Use of albendazole sulfoxide, albendazole sulfone and combined solutions as scolical agents on hydatid cysts (*in vitro* study). *World Journal of Gastroenterology* 2009; 15: 112-6.
6. Moazeni M, Nazer A. *In vitro* effectiveness of Garlic (*Allium sativum*) extract on scolices of hydatid Cyst. *World journal of surgery* 2010; 34(11): 2677-81.
7. Moazeni M, Roozitalab A. High scolical effect of *Zataria multiflora* on protoscoleces of hydatid cyst: an *in vitro* study. *Comparative Clinical Pathology* 2012; 580: 1068-73.
8. Rahimi-Esboei B, Ebrahimzadeh MA, Fathi H, Anzahaei, FR. Scolical effect of *allium sativum* flowers on hydatid cyst protoscolices. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2016; 20(1): 129-32.
9. Feizi F, Moradkhani S, Matini M, Parandin F, Roushan A, Fallah M. To study the solicial effects of the extracts of Ginger (*Zingiber officinale*) and Artemisia (*Artemisia aucheri*) on protoscoleces of Hydatid Cyst *in vitro*. *Arak Medical University Journal* 2015; 18(101): 45-52.
10. Mirhaydar H. Plant information: Plant usage in disease treatment. Tehran: Farhang Islami, press; 1994.
11. Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant names: Latin, English, Persian. Farhang Mo'aser; 1996.
12. Khair M, El-Shatnawi J, Ereifej KI. Chemical composition and livestock ingestion of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seeds. *Journal of Range Management* 2001; 54: 669-73.
13. Custodio L, Fernandes E, Escapa AL, López-Avilés S, Fajardo A, Aligue R, et al. Antiproliferative and apoptotic activities of extracts from carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Planta Medica* 2008; 74(09): 48.
14. Mokhtary M, Sharifi E, Shahamir-Tabatabaee M. The effect of carob extract on liver function test in diabetic male rat. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences* 2013; 15(3): 40-7.
15. Arroyo-Lopez C, Manolaraki F, Saratsis A, Saratsi K, Stefanakis A, Skampardonis V, et al. Anthelmintic effect of carob pods and sainfoin hay when fed to lambs after experimental trickle infections with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. *Parasite* 2014; 21.
16. Mahmoudvand H, Fasihi Harandi M, Shakibaie M, Aflatoonian MR, ZiaAli N, Makki MS. Scolical effects of biogenic selenium nanoparticles against protoscolices of hydatid cysts. *International Journal of Surgery* 2014; 12: 399-403.
17. Besim HK, Karayalcin K, Hamamci O, Güngör C, Korkmaz A. Scolical agents in hydatid cyst surgery. *HPB Surgery* 1998; 10(6): 347-51.
18. Caglar R, Yuzbasioglu MF, Bulbuloglu E, Gul M, Ezberci F, Kale IT. In vitro effectiveness of different chemical agents on scolices of hydatid cyst. *Journal of Investigative Surgery* 2008; 21(2): 71-5.
19. Kayaalp C, Balkan M, Aydin C, Ozgurtas T, Tanyuksel M, Kirimlioglu V, et al. Hypertonic saline in hydatid disease. *World Journal of Surgery* 2001; 25(8): 975-9.
20. Erzurumlu K, Hokelek M, Baris S, Sahin M, Birinci A, Amanvermez R, et al. Effect of albendazole sulfoxide solution on the scolices and the hepatobiliary system. *European Surgical Research* 1998; 30(6): 433-8.
21. Puryan K, Karadayi K, Topcu O, Canbay E, Sumer Z, Turan M, et al. Chlorhexidine gluconate: an ideal scolical agent in the treatment of intraperitoneal hydatidosis?. *World Journal of Surgery* 2005; 29(2): 227-30.
22. García JL, Alonso E, Gonzalez-Uriarte J, Romano DR. Evaluation of scolical agents in an experimental hydatid disease model. *European Surgical Research* 1997; 29(3): 202-8.

- 23.Kilicoglu B, Kismet K, Koru O, Tanyuksel M, Oruc MT, Sorkun K, Akkus MA. The scolical effects of honey. *Advances in Therapy* 2006; 23(6):1077-83.
- 24.Paksoy Y, Odev K, Sahin M, Arslan A, Koç O. Percutaneous treatment of hydatid cysts: comparison of direct injection of albendazole and hypertonic saline solution. *American Journal of Roentgenology* 2005; 185(3): 727-34.
- 25.Topcu O, Sumer Z, Tuncer E, Aydin C, Koyuncu A. Efficacy of chlorhexidine gluconate during surgery for hydatid cyst. *World Journal of Surgery* 2009; 33(6):1274-80.
- 26.Hosseini SV, Ghanbarzadeh K, Barzin Z, Sadjjadi SM, Tanideh N, Mehrabani D. In vitro protoscolical effects of hypertonic glucose on protoscolices of hydatid cyst. *The Korean Journal of Parasitology* 2006; 44(3): 239.
- 27.Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. *International Journal of Infectious Diseases* 2009; 13 (2): 125–33.
- 28.Iminjan M, Amat N, Li XH, Upur H, Ahmat D, He B. Investigation into the Toxicity of traditional Uyghur medicine *Quercus infectoria* galls water extract. *PLoS One* 2014; 9(3): e90756
- 29.Khosravi AD, Behzadi A. Evaluation of The antibacterial aactivity of the seed hull of *quercus brantii* on some gram negative bacteria. *Pakistan Journal of Medical Sciences* 2006; 22(4): 429-32.
- 30.Hsouna AB, Trigui M, Mansour RB, Jarraya RM, Damak M, Jaoua S. Chemical composition, cytotoxicity effect and antimicrobial activity of *Ceratonia siliqua* essential oil with preservative effects against *Listeria* inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology* 2011;148(1): 66-72.
- 31.Henis Y, Tagari H, Volcani R. Effect of water extracts of carob pods, tannic acid, and their derivatives on the morphology and growth of microorganisms. *Applied Microbiology* 1964;12(3): 204-9.

Investigation of the effects of *Ceratonia Silique* Extract on Protoscolexes of Hydatid Cyst *in Vitro*

Malekifard F*, Keramati F

Department of Pathobiology, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 20 Nov 2017

Accepted: 27 Jan 2017

Abstract:

Background and Aim: It is difficult to use chemical drugs to treat of hydatid cyst due to their different side effects. Therefore, today, the use of non-chemical compounds such as medicinal plants is considered as a method of treatment against hydatid cyst. The aim of the present study was to investigate the effect of scoliosis of clove extract in invitro.

Methods: In this experimental study, different concentrations of clove extract at various times in experimental conditions were investigated to evaluate its effects on hydatid cyst. Protoscolexes were completely sterilized from hydatid cyst infected sheep liver and exposed to 3 concentrations of clove extract (10, 25 and 50 mg / ml) for 10, 20, 30 and 60 minute. The survival of protoscolexes was determined with 0.1% eosin staining. The collected data were analyzed by statistical tests.

Results: Based on our results, the scolical effects of this plant on Hydatid Cysts in all concentrations was significant compared to the control groups ($p < 0.05$). Carob extract at concentration of 50 mg/ml destroyed all protoscolices in 30 min.

Conclusion: The results also showed that the extract of this plant produce high scolical activity; However, *in vivo* efficacy of this medicinal plant remains to be studied for treatment of hydatid cysts in humans and herbivorous animals.

Keywords: Carob, Hydatid cyst, in vitro, Mortality, Protoscolex

*Corresponding Author: Malekifard F, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Email: f.malekifard@urmia.ac.ir

Please cite this article as follows:

Malekifard F, Keramati F. Investigation of the effects of *Ceratonia Silique* Extract on Protoscolexes of Hydatid Cyst in Vitro. Armaghane-danesh 2018; 23 (1): 69-79.