نشریه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی البرز، دوره ۵، شماره ۴، پاییز ۱۳۹۵، صفحات ۲۴۱-۲۳۶

بررسی آزمایشگاهی اثر محلول آبی گیاه *افدرا ماژور* در از بین بردن پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید

افشین روشن[۱]، حسن نایب زاده[۱]، محمد زیبائی[۴*]، حمیدرضا شکرانی[۱]، محمدجواد طراحی[۳]

[۱] گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
[۲] گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
[۳] گروه اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

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، ازاین‌رو یافتن یک پروتواسکولکس کش جدید با تأثیر بیشتر و عوارض کمتر را از اهمیت ویژه ای برخوردار است. *افدرا ماژور* گیاهی است که در مناطق مختلف ایران رویده و از دیرباز جهت درمان برخی بیماری هامورداستفاده قرار گرفته و اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی آن به اثبات رسیده است. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات ضدپروتواسکولکسی رقت‌های مختلف عصاره آبی ساقه گیاه *افدرا ماژور* 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 موردبررسی قرار گرفت. سرم فیزیولوژی و آب‌نمک اشباع به‌عنوان کنترل منفی و مثبت مورداستفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها: بیشترین درصد کشندگی پروتواسکولکس مربوط به رقت ۰/۱ به میزان ۱۳/۵۸درصد (P=۰/۰۰۱) 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 ماژور* چشمگیر نبوده است. ازاین‌رو این ماده نمی‌تواند به‌عنوان یک پروتواسکولکس کش قوی و مناسب در هنگام جراحی مورداستفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: *اکینوکوکوس گرانولوزوس*، کیست هیداتیک، *افدرا ماژور*

[*] **نویسنده مسئول:**
گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

+۲۶-۳۲۵۶۳۳۲۹
E-mail: zibaeim@sums.ac.ir

مقدمه

هیداتیدوزیس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مشترکی است که توسط مرحله لاروی کرم‌های نواری جنس *اکینوکوکوس* ایجاد می‌شود. انگل در روده سگ به‌صورت کرم بالغ و در انسان و حیوانات دیگر (در ارگان‌هایی غیر از روده) به‌صورت کیست هیداتید تک حبابچه‌ای بروز می‌کند.[۱و۲] بیماری هیداتیدوز در اثر ابتلای انسان و حیوانات علفخوار به مرحله لاروی *اکینوکوکوس گرانولوزوس (Echinococcus granulosus)* به وجود می‌آید 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 سگ‌ها در استان‌های مازندران، آذربایجان غربی، اصفهان و ایلام ۴۵ تا ۶۳ درصد و در سایر نواحی به‌طور متوسط ۲۰ درصد گزارش‌شده است.[۳] تماس مستقیم با حیوانات و فرآورده‌های دامی و شرایط مناسب زندگی حیوانات سبب افزایش زیاد بیماری‌های مشترک انسان و دام شده است. در این بیماری انگل هیداتید به سبب برقراری تماس دائم بین سگ (میزبان اصلی) دام‌ها و انسان (میزبان واسط) که با دام‌پروری انجام می‌پذیرد، حائز اهمیت زیادی می‌باشد. ضررهای اقتصادی ناشی از مرگ دام‌ها و از دست رفتن فرآورده‌های لبنی و دامی باعث ایجاد کمبود مواد غذایی و هم خسارات می‌گردد.[۴] از سوی دیگر ابتلای انسان به این انگل سال‌ها پس از آلودگی تشخیص داده می‌شود و درمان نیز که به‌صورت جراحی است همواره با مشکلاتی همراه بوده است. در طول جراحی، زمانی که کیست را سوراخ می‌نمایند، احتمال نشت مایع کیست هیداتیک که محتوی پروتواسکولکس‌های زنده بوده به بافت‌های مجاور و در نتیجه آن عود مجدد بیماری وجود دارد. بدین دلیل عوامل کشنده اسکولکس جهت کشتن پروتواسکولکس‌های درون کیست در طول عمل جراحی مورداستفاده قرار می‌گیرند.[۵-۱۱] با توجه به اینکه احتمال وقوع کیست هیداتید ثانویه ناشی از پارگی کیست هیداتید طی اعمال جراحی ۱۰ تا ۳۰ درصد گزارش‌شده،[۷] ازاین‌رو نیاز به یافتن ترکیب پروتواسکولکس کش جدید با تأثیر بیشتر و عوارض کمتر را ضروری می‌باشد.[۷-۱۱] در سال‌های‌اخیر، 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 می‌آید، گیاه دارویی با خواست گاه کشور چین که به‌طور سنتی در طب سنتی مورداستفاده قرار می‌گیرد. نام چینی آن ماهوآنگ (Ma Huang) بوده و ماده موثر موجود در این گیاه نیز افدرین (Ephedrine) می‌باشد. گیاه افدرا از مواد شیمیایی متعددی تشکیل شده است که از آن جمله می‌توان سودو افدرین (Pseudoephedrine)، نورسودوافدرین (Neuro-pseudoephedrine)، نورافدرین (Neuroephedrine)، متیل افدرین (Methyl ephedrine)، تانن (Tannin)، هیدروکسی کینورنیک اسید (Hydroxyl Kynurenic acid)، کوئینولین (Quinoline) و ... را می‌توان نام برد. گیاه افدرا برای مدت بیش از ۲ هزار سال در سرزمین‌های شرقی آسیا برای درمان بسیاری از بیماری‌ها استفاده شده است. این گیاه دارای اثرات ضد التهابی و ضد آرتریت می‌باشد و برای درمان برونشیت، آسم، سرماخوردگی، آنفلوانزا، سر درد، سرفه، تب بالا، ادم، بیماری های‌مفصلی و استخوانی و ... به فراوانی مورداستفاده قرار می‌گیرد.[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 پروتواسکولکس‌های جدا شده از کیست هیداتید در شرایط با در نظر گرفتن زمان‌های مختلف تأثیر و غلظت های‌گوناگون پرداخته است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه

برگ‌های گیاه افدرا ماژور در فصل بهار ۹۴ از استان لرستان جمع‌آوری و جهت آماده‌سازی به دانشگاه علوم پزشکی البرز انتقال پیدا کرد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در شرایط آزاد (هوازی) و در سایه به‌طور 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

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 سوراخ هایی‌با 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،۱۳و۱۴]

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 سی سی، پروتواسکولکس‌ها به روش استریل (Aseptic technique) برداشت و مایع کیست، در لوله فالکون جمع‌آوری شد و با استفاده از لام هموسیتومتر و محلول ۰/۹ درصد کلرید سدیم رقت محلول حاوی پروتواسکولکس را طوری تنظیم نموده که به ازاء هر میلی‌لیتر از محلول ۵×۱۰^{۳} پروتواسکولکس با توانایی بیش از ۹۰ درصد زنده‌بودن داشته باشند.

ارزیابی زنده‌بودن

پس از افزودن ۱۰ میکرولیتر از محلول رنگی ائوزین(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 ائوزین را به خود جذب نموده و به رنگ قرمز و به‌صورت فشرده دیده شده به‌عنوان مرده و پروتواسکولکس‌های بی‌رنگ و شفاف بصورت زنده گزارش شدند. روش دیگر تشخیص سلول‌های زنده 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 بزرگ نمایی 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 غلظت های۰/۱، ۰/۰ ۱ و ۰/۰۰ 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 شاهد های‌منفی و مثبت مورداستفاده قرار گرفتند. بر اساس قضیه حد مرکزی و استفاده از تست های‌پارامتریک، حجم نمونه برای این مطالعه تعداد ۳۰ کیست بوده که با توجه به تأثیر سه نوع رقت عصاره افدرین بر روی پروتواسکولکس هابه همراه دو نمونه شامل کنترل های‌مثبت و منفی در چهار زمان مختلف۱۰، 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 گزارش‌شده و معنی‌دار بودن داده‌ها به‌صورت کمتر از ۰/۰۵ ($P < ۰/۰۵$) موردبررسی قرار گرفتند.

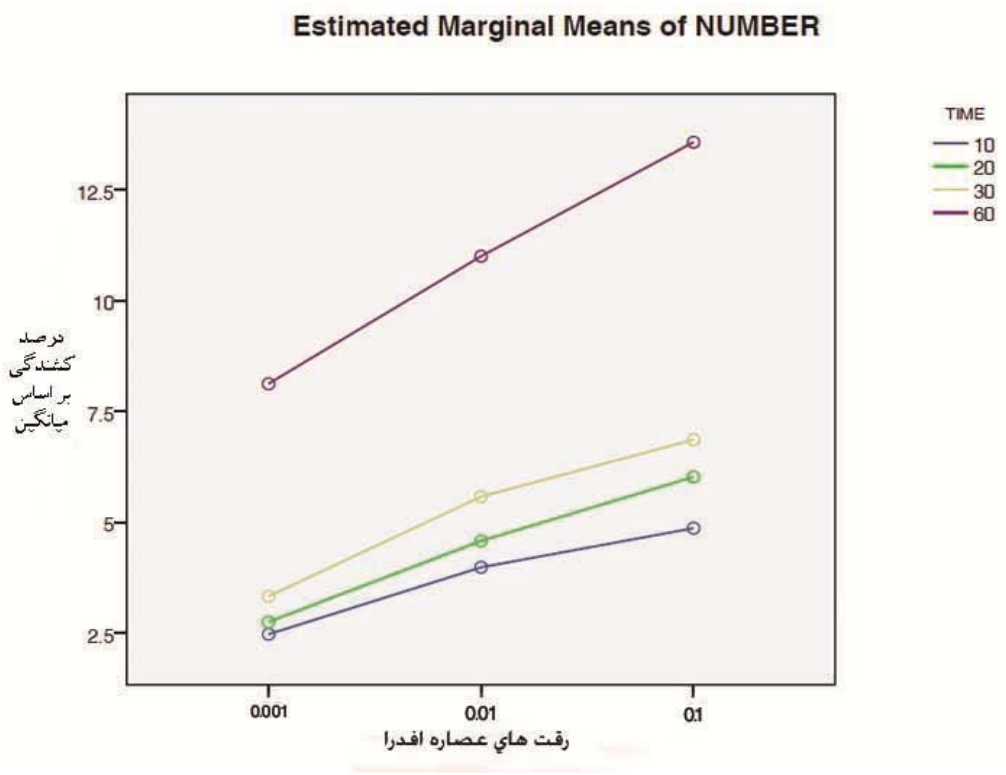
یافته‌ها

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

و نیز کمترین درصد کشندگی پروتواسکولکس‌ها مربوط به رقت ۰/۰۰۱ عصاره در زمان ۱۰ دقیقه می‌باشد. نمودار ۱، اثرات پروتواسکولکس کشی عصاره آبی گیاه *افدرا ماژور* در طول زمان‌های گوناگون، نشان‌دهنده افزایش درصد پروتواسکولکس کشی این عصاره است یعنی خاصیت پروتواسکولکس کشی در طول زمان بر اساس آزمون ANOVA معنادار (P <۰/۰۵) می‌باشد.

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

غلظت (درصد)	میزان کشندگی (انحراف معیار ± میانگین)			
	۱۰ (دقیقه)	۲۰ (دقیقه)	۳۰ (دقیقه)	۶۰ (دقیقه)
۰/۰۰۱	۲/۴۷ ± ۲/۷۳	۲/۷۵ ± ۲/۷۶۶	۳/۳۳ ± ۳/۷۹	۸/۱۳ ± ۵/۱۰
۰/۰۱	۳/۹۹ ± ۳/۹۹	۴/۵۸ ± ۴/۲۴	۵/۵۸ ± ۴/۴۳	۱۱/۰۱ ± ۴/۶۹
۰/۱	۴/۸۷ ± ۳/۹۸	۶/۰۳ ± ۴/۲۷	۶/۸۷ ± ۳/۹۱	۱۳/۵۸ ± ۴/۶۰
کنترل مثبت	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
کنترل منفی	۱/۶۸	۱/۶۸	۱/۶۸	۱/۶۸



شکل ۱: روند پیشرفت کشته شدن پروتواسکولکس‌های 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 هایپرتونیک، نیترات نقره، ستریمیدین و فرمالین از متداول‌ترین مواد پروتواسکولکس کش می‌باشند که هر کدام عوارض خطرناکی نظیر فیبروز مجاری صفراوی و نکروز کبد را سبب می‌شوند. کلانژیت اسکلروزان 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 مورداستفاده 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 مورداستفاده قراربگیرند.[۱۸] تراب زاده خراسانی و همکاران[۱۹] اثرات ضدباکتریایی عصاره های‌آبی، الکلی و استنی گیاه *افدرا ماژور* را بررسی و نشان دادند که *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *استافیلوکوک اورئوس* به کلیه عصاره هاحساس می‌باشند.

در مطالعه حاضر اثرات پروتواسکولکس کشی عصاره برگ گیاه *افدرا ماژور* در رقت‌ها و زمان‌های مختلف موردبررسی 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] اثرپروتواسکولکس 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 پروتواسکولکس های‌کیست هیداتید در شرایط برون تنی (In vitro) را بررسی و نشان دادند که عصاره های‌برگ زیتون در غلظت های۰/۱ و ۰/۰۱ اثرات پروتواسکولکس کشی قوی در ۱۲۰ دقیقه و مرزه خوزستانی اثرات پروتواسکولکس کشی بسیار قوی تر در زمان‌های۳۰، 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 عصاره های گیاهی روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید آزمون شده است، در مقایسه با مطالعه حاضر غلظت ۰/۱ عصاره های الکلی ریشه درخت انار در مدت ۶ ساعت بیشترین اثر ضدپروتواسکولکسی 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 غلظت هاو مدت

زمان‌های مختلف دارای اثرات ضد پروتو اسکولکسی 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.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از تلاش هاو 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.

منابع

1. Rokni MB. Echinococcosis/hydatidosis in Iran. Iran J Parasitol 2009;4(2):1-16.

2. 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].

3. 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].

4. 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].

5. Saidi F. Surgery of hydatid disease. Last edition. WB Saunders, 1976.

6. 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.

7. Mahdavi M, Masood J. Scolicidal effect of alcoholic, aqueous and total alkaloids of Peganum harmala L. (Syrian Rue) against hydatid cycts protoscolices. Tehran Univ Med J 2002;60(3):215-226 [In Persian].

8. 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.

9. Mohseni A, Punica granatum/ production Guide. Last edition. Tehran University Press, 2010 [In Persian].

10. Pawlowski ZS. Echinococcosis in human and clinical aspects, diagnosis and treatment in day In: Eckert J, Gemmell ML, Mesline FX, Pawlowski ZS. Manual on echinoccosis in human and animal, a public health problem of global concern. WHO/OIE. Paris, France, 2001:20-71.

11. 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.

12. Ibragic S, Sofić E. Chemical composition of various Ephedra species. Bosn J Basic Med Sci 2015;15(3):21-27.

13. Samsam Shariat H. Analysis and identification of herbal medicinal products. Last edition. Mani Press, 2006 [In Persian].

14. 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].

15. Eckert J, Delplazes P. Biological, Epidemiological and clinical aspect of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clin Microbiol Rev 2004;17(1):107-135.

16. 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].

17. Chen KK. A pharmacognostic and chemical study of ma huang (Ephedra vulgaris var. helvetica). 1925. J Am Pharm Assoc 2012;52(3):406-412.

18. 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.

19. 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].

20. 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.