ارزیابی اثرات اسکولکس‌کشی نانوپارتیکل عصاره‌های گال قلقاف (Quercus infectoria) و اکسید نقره بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط آزمایشگاهی

فاطمه مروج[۱]، محمد زیبایی[۲و۳*]، مجتبی احمدی نژاد[۴]، فرزانه فیروزه[۳و۵]، علی برادران باقری[۶]، حمید حسینی[۷]، فاطمه بخشی پور[۷]

[۱] پزشک عمومی، شبکه بهداشت و درمان شهرستان فردیس، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
[۲] استاد، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
[۳] مرکز تحقیقات گیاه درمانی و طب مکمل مبتنی بر شواهد، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
[۴] دانشیار، گروه جراحی، دانشکده پزشکی، مرکز آموزشی درمانی شهید مدنی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
[۵] دانشیارگروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
[۶] استادیار، گروه جراحی مغز و اعصاب، دانشکده پزشکی، مرکز آموزشی درمانی شهید مدنی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
[۷] کارشناس ارشد، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

تاریخ دریافت مقاله:۱۴۰۰/۵/۲۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۵

چکیده

زمینه و هدف : بیماری کیست هیداتید (اکاینوکوکوزیس) توسط گونه‌های مختلفی از انگل جنس *اکاینوکوکوس* ایجاد می‌گردد. این بیماری در بسیاری از کشورهایی که دامداری در آنجا رواج دارد، شایع می‌باشد. درمان اصلی بیماری بر اساس جراحی بوده که به همراه یک درمان دارویی کمکی انجام می‌شود. استفاده از عوامل موثر کشنده پروتواسکولکس‌های (Protoscolicidal) انگل در حین عمل به منظور کاهش میزان عود بیماری ضرورت دارد. هدف از انجام مطالعه حاضر ارزیابی اثرات پروتواسکولکس‌کشی نانوپارتیکل اکسیدنقره، عصاره‌های متانولی و استنی گیاه گال قلقاف با توجه به اثرات ضد میکروبی متنوع گیاه در شرایط برون‌تنی (In vitro)، بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید می‌باشد.

مواد و روش‌ها : پروتواسکولکس‌های *اکاینوکوکوس گرانولوزوس* از ۶۰ عدد کبد گوسفندان آلوده به کیست هیداتید جمع‌آوری شد. مایع موجود درون کیست با استفاده از سرنگ تخلیه و پس از سانتریفیوژ تغلیظ گردید. تاثیر کشندگی گروه نرمال سالین ۰/۹ درصد و گروه‌های اول، دوم و سوم به ترتیب با رقت‌های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ درصد نانوپارتیکل‌های اکسید نقره و عصاره‌های متانولی و استونی گال قلقاف و ادغام آن‌ها بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در زمان‌های مواجهه ۱، ۵، ۱۰، و ۲۰ دقیقه تعیین شد. پس از جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم-افزار SPSS انجام گردید.

نتایج: در میان عصاره‌های آزمون شده، به ترتیب رقت ۰/۱ درصد نانوپارتیکل اکسید نقره در ۲۰ دقیقه و ادغام نانوپارتیکل اکسیدنقره و عصاره متانولی گال قلقاف در مدت زمان ۲۰ دقیقه بیشترین اثر کشندگی را بر پروتواسکولکس‌ها داشت. هم چنین کمترین اثر کشندگی در رقت ۰/۰۰۱ نانوپارتیکل عصاره استنی گال قلقاف در زمان ۱ دقیقه بدست آمد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های بررسی حاضر نشان می‌دهد عصاره‌های متانولی و استنی گال قلقاف پس از ادغام با نانوپارتیکل اکسیدنقره به خصوص عصاره متانولی می‌توانند به عنوان یک عامل کشنده پروتواسکولکس مناسب در زمان جراحی کیست هیداتید به کمک روش جراحی پایر (PAIR; Puncture, Aspiration, Injection, and Re-aspiration of protoscolices) مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: عصاره گیاهی، گال قلقاف، نانوپارتیکل‌ها، اکسید نقره، پروتواسکولکس‌کش، اکاینوکوکوس گرانولوزوس

نویسنده مسئول:
استادگروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
۰۲۶۳۲۵۶۳۳۱۶
Email: zibaeim@sums.ac.ir

مقدمه

بیماری هیداتیدوزیس قرن‌ها پیش توسط بقراط و جالینوس شناسایی اما طبیعت انگلی آن در قرن هفدهم و درمان‌های مدرن در قرن بیستم مورد شناخت قرار گرفته است. انگل در روده سگ‌سانان به‌صورت کرم کامل و در انسان و حیوانات نشخوارکننده (در اندام‌هایی غیر از روده) به‌صورت کیست هیداتید نمایان می‌گردد. در انسان دو نوع گونه انگل شایع و ایجاد بیماری می‌کند: الف) *اکاینوکوکوس گرانولوزوس* (Echinococcus granulosus) و ب) *اکاینوکوکوس مولتی‌لوکاریس* (Echinococcus multilocularis).[۱] این بیماری در بسیاری از مناطق دنیا از جمله خاورمیانه اندمیک بوده و به عنوان یک مشکل بهداشتی جهانی در نظر گرفته می‌شود.[۲] شیوع آلودگی بیماری در بین جمعیت‌های انسانی حدود ۱۰ درصد گزارش شده است. بر اساس مدارک موجود در کشور ایران آلودگی از شیوع بالایی برخوردار است به گونه‌ای که در برخی از نواحی غرب کشور آلودگی به اندازه‌ای است که از طرف سازمان جهانی بهداشت به عنوان مناطق هیپراندمیک اعلام شده است.[۳] در یک مطالعه مروری که به بررسی میزان شیوع این بیماری در نواحی مختلف ایران پرداخته است، میزان شیوع انسانی بیماری در مورد کیستیک اکاینوکوکوزیس (CE, Cystic echinococcosis) ۵-۳۵ درصد و در خصوص نوع آلوئولار اکاینوکوکوزیس (AE, Alveolar echinococcosis) به میزان ٦-۳ درصد متغیر گزارش شده است. بررسی‌های انجام گرفته بر روی موارد جراحی شده کیست هیداتیک در کل کشور نشان داده است که به ازای هر ۱۰۰ هزار نفر جمعیت ۱/۱۲ نفر مبتلا به کیست هیداتیک می‌باشند.[٤]

توزیع این بیماری در مناطق مختلف دنیا به عواملی چون وضعیت بهداشتی، فرهنگی، اقتصادی و اجتماعی بستگی دارد.[٥] کرم بالغ اکاینوکوکوس گرانولوزوس در روده سگ و سگ‌سانان زندگی می‌کند. عفونت در میزبانان واسطه نظیر انسان پس از مصرف آب و مواد غذایی همانند سبزیجات آلوده به تخم انگل رخ می‌دهد که طی آن جنین‌های آزاد شده به دیواره روده نفوذ و در بافت‌های مختلفی از جمله کبد، ریه، مغز ،کلیه، طحال و استخوان تشکیل کیست می‌دهند.[٦] درمان کیست با توجه به اندازه و محل استقرار آن انجام می‌شود. به‌طوریکه در کیست‌هایی با اندازه کوچک، استفاده از داروهای خانواده بنزیمیدازول نظیر آلبندازول و مبندازول و در کیست‌های با ابعاد بزرگتر، جراحی راه حل درمانی می‌باشد.[۷]

یکی از نکات مهم که امروزه حائز اهمیت می‌باشد، پاره شدن کیست و یا نشت محتویات آن در طی عمل جراحی بوده که متعاقب آن امکان ایجاد کیست‌های ثانویه می‌باشد. لذا پزشکان جراح جهت جلوگیری از پدیده با استفاده از ترکیبات اسکولکس‌کش همانند آب نمک هایپرتونیک ۲۰ درصد، نیترات نقره و فرمالین بدنبال کاهش خطر احتمالی نشت و عود مجدد بیماری هستند.[۸] مطالعات مختلف صورت گرفته حاکی از آن است که استفاده از ترکیبات اشاره شده می‌تواند عامل ایجاد عوارضی مانند فیبروز مجاری صفراوی، نکروز و سیروز کبدی گردد. از این‌رو، محققان در تلاش یافتن یک ترکیب پروتواسکولکس‌کش با عوارض کمتر می‌باشند.[۹]

درخت دارمازو از جنس *کوئرکوس* (Quercus)، تیره فاگاسه (Fagaceae) و راسته فاگالس (Fagales) می‌باشد. گال قلقاف در اثر فعالیت غیرجنسی زنبور *اندریکوس کئوروستوزاء* (Andricus querustozae) از خانواده‌ی سینی‌پیده (Cynipidae) بر روی جوانه های جانبی یا انتهایی درخت بلوط دارمازو تشکیل می‌شوند.[۱۰] این گال به دلیل داشتن تانن زیاد در طب سنتی کاربردهای فراوان دارد و در مناطق مختلف ایران به طور گسترده‌ای یافت می‌شود. طی مطالعاتی اثرات ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد انگلی این گیاه بررسی شده است.[۱۰]

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات پرتواسکولکس‌کشی (Protoscolicidal effects) نانوپارتیکل‌های عصاره‌های متانولی و استنی گال قلقاف (*Quercus infectoria*) و ادغام آن با اکسیدنقره بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط آزمایشگاهی یا برون تنی (In vitro) انجام پذیرفته است.

مواد و روش ها

تهیه عصاره گال قلقاف

جمع‌آوری گال‌ها از درختان دارمازو در استان لرستان انجام گرفت. جهت تهیه عصاره آبی، گال‌ها با محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد شست‌وشو داده شده و پس از خشک شدن، با استفاده از

دستگاه آسیاب برقی پودر تهیه گردید. جهت تهیه عصاره آبی ابتدا ۵۰ گرم پودر گال در مقابل اشعه ماورابنفش قرار گرفت تا استریل شود، سپس پودر استریل شده در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل ریخته شده و به مدت ۵-۳ روز در دمای اتاق (۳۷ درجه سانتی‌گراد) روی روتاتور قرار داده شد و در نهایت عمل فیلتراسیون توسط کاغذ صافی واتمن انجام شد. پس از آن، عصاره به مدت ۲ ساعت در دستگاه روتاری تحت دمای ۸۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا عصاره آبی به‌صورت پودر به‌دست آید. جهت تهیه عصاره‌های الکلی، الکل متانول ۹۶ درصد و استون خالص (۱۰۰ درصد) جهت عصاره گیری به روش سوکسله مورد استفاده قرار گرفتند. در ادامه عصاره‌ها توسط کاغذ صافی واتمن فیلتر گردیده و با استفاده از دستگاه روتاری در دمای ۵۵-۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده و به‌صورت پودر در آمدند. عصاره‌های به دست آمده تا زمان انجام آزمایشات در ظروف تیره درب بسته در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند.

سنتز نانوپارتیکل اکسیدنقره به روش سنتز سبز

ابتدا ۳۰۰ میلی لیتر محلول ۰۵/ ۰ مولار نقره نیترات همراه با سورفکتانت توئین ۸۰ با نسبت ۱:۱ تهیه شده، سپس محلول به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط می‌شود. در مرحله دوم ٦۰۰ میلی لیتر محلول پتاسیم پرسولفات ۰۵/ ۰ مولار با ۱۰۰ میلی لیتر محلول سدیم هیدرواکسید ۱/۵ مولار مخلوط می‌گردد. در مرحله آخر محلول ابتدایی را به صورت قطره قطره به محلول حاصل مرحله دوم اضافه نموده سپس رسوب حاصل پس از سه بار شستشو توسط آب دوبار تقطیر شده در دمای محیط خشک می‌شود.[11]

سنتز نانوپارتیکل عصاره قلقاف به روش سنتز سبز

محلولی از آب و اکسید نقره (AgO) به مدت ۱۰ دقیقه تحت تاثیر امواج اولتراسونیک قرار می‌گیرد. در مرحله بعد عصاره مورد نظر به محلول اکسید نقره افزوده شده و به مدت ۵ دقیقه تحت اولتراسونیک قرار می‌گیرند. در انتها محلول در دمای محیط قرار داده شده تا خشک گردد.[12]

جمع آوری پروتواسکولکس‌ها

تعداد ٦۰ عدد کیست هیداتید از کبدهای آلوده گوسفندان ذبح شده در کشتارگاه شهر کرج شناسایی و به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی البرز منتقل گردید. با استفاده از سرنگ استریل مایع کیست هیداتید که حاوی پروتواسکولکس‌ها خارج و سه مرتبه با محلول فسفات بافر با pH:7.2 شستشو داده شد. با استفاده از لام هموسیتومتر (نئوبار) و محلول ۰/۹ درصد کلرید سدیم، رقت محلول حاوی پروتواسکولکس طوری تنظیم می‌گردد که به ازای هر میلی لیتر از محلول تعداد ۵۰۰۰ عدد پروتواسکولکس با توانایی بیش از ۹۰ درصد زنده بودن داشته باشند.

ائوزین ۰/۱ درصد

یک دهم گرم از پودر ائوزین (Eosin) ساخت شرکت تجاری مرک (Merck, Germany) که از بازار تهیه شده در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل و محلول رنگی با رقت ۰/۱ درصد وزنی/حجمی (W/V) درست گردید.

ارزیابی زنده بودن (Viability)

پس از افزودن ۱۰ میکرولیتر از محلول رنگی ائوزین تهیه شده به ۱۰ میلی‌لیتر مایع کیست هیداتید حاوی پروتواسکولکس، پس از گذشت ۱۵ دقیقه بطور میکروسکوپی زنده بودن پروتواسکولکس‌ها ارزیابی می‌گردد. پروتواسکولکس‌هایی که رنگ ائوزین را به خود جذب نموده و رنگی دیده می‌شوند به عنوان مرده (Died) و پروتواسکولکس‌ها بی‌رنگ بصورت زنده (Alive) گزارش می‌شوند (شکل ۱).

مواجهه عصاره‌های متانولی و استنی و اکسیدنقره پروتواسکولکس‌ها

از هر یک از نانوپارتیکل‌های عصاره‌های (متانولی و استنی) گال قلقاف و اکسیدنقره تهیه شده (رقت‌های ۰/۱ ، ۰/۰۱، و ۰/۰۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر درصد عصاره) به پلیت‌های ۱۲ خانه محتوی پروتواسکولکس‌ها اضافه و پس از زمان‌های مشخص (۱، ۵، ۱۰، و

۲۰ دقیقه) زیر میکروسکوپ بررسی می‌شوند. تعداد پروتواسکولکس‌های زنده و مرده درگروه‌های ۱ الی ۳ تیماری تعیین و محاسبه می‌گردند. در هر مورد آزمون، از هر یک از عصاره های تهیه شده گال قلقاف و گروه ٤ شاهد نرمال سالین ۰/۹ درصد به عنوان کنترل یا شاهد استفاده می‌شود.

یافته ها

در مطالعه حاضر تاثیر کشندگی رقت‌های ۰/۱، ۰/۰۱، و ۰/۰۰۱ درصد نانوپارتیکل‌های عصاره‌های متانولی و استنی گال قلقاف و اکسیدنقره و ترکیب آن بر تعداد پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط برون‌تنی یا آزمایشگاهی بررسی شده است. میزان کشندگی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید پس از مواجهه با رقت‌های مختلف سه نوع عصاره تهیه شده در مدت زمان‌های مختلف ۱ ، ۵ ، ۱۰، و ۲۰ دقیقه اندازه گیری و محاسبه شده است (جدول ۱ لغایت جدول ۵). با توجه به نتایج حاصل بیشترین درصد کشندگی در گروه نانوپارتیکل اکسید نقره با رقت ۰/۱ درصد بود. سپس بیشترین میزان کشندگی در گروه عصاره متانولی در ادغام با اکسیدنقره با رقت ۰/۱ درصد گال قلقاف مشاهده گردیده است. بدین معنی که این دو گروه درصد کشندگی بالاتری نسبت به سایر گروه های آزمایش شونده داشته و اثر کشندگی پروتواسکولکس‌های این دو گروه معنادار بوده در حالی‌که زمان بر روی اثرکشندگی گروه های اشاره شده تاثیر چندانی نداشته است ($P < 0/05$).

بحث

امروزه با توجه به شیوع فراوان بیماری مطالعات گسترده‌ای در خصوص درمان کیست‌های هیداتید انجام شده است. علی‌رغم تحقیقات گسترده صورت گرفته انجام جراحی هنوز به عنوان موثرترین روش درمان به کار می‌رود به نحوی که که به طور موفقیت‌آمیزی در بسیاری از بیماران انجام می‌گردد، مشروط بر این که کیست در منطقه آناتومیکی خطرناکی لوکالیزه نشده باشد و نیز بیماری در مراحل پیشرفته قرار نداشته باشد.

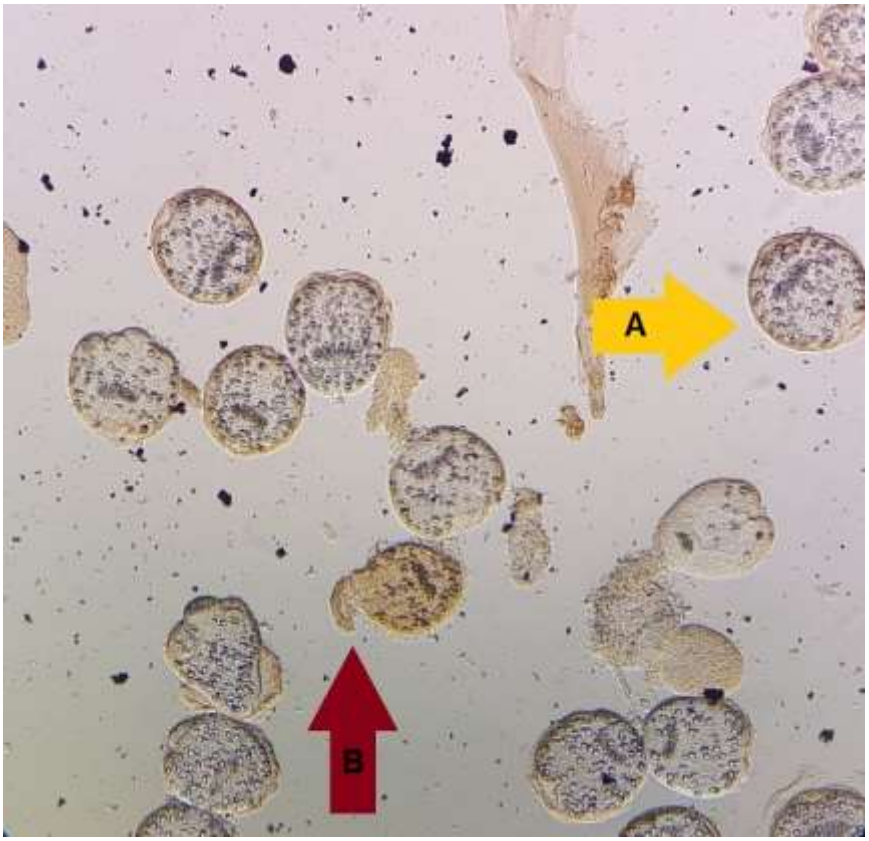
تزریق ترکیبات اسکولکس‌کش (اسکولیسیدال) به درون کیست قبل از انجام عمل جراحی در گذشته انجام شده است. در حال حاضر به علت عدم وجود شواهد بالینی کافی مبنی بر تاثیر این روش درمانی و هم‌چنین به علت احتمال وجود عوارض جانبی نظیر مسمومیت با استفاده ترکیبات کشنده پروتواسکولکس‌ها، این روش به عنوان تنها راه درمان جهت ریشه‌کنی کیست‌های حاصل از اکاینوکوکوزیس بدن کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد.[۱۳و۱٤]

در سال‌های اخیر با توجه به مطالعات انجام شده، شواهدی مبنی بر وجود مواد طبیعی ضد اسکولکس در برخی گیاهان طبیعی به دست آمده است. در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۲ توسط زیبایی و همکاران بر روی عصاره‌های گیاه مرزه خوزستانی و برگ زیتون بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط آزمایشگاهی انجام شد، نشان داده شد که عصاره‌های برگ زیتون در رقت‌های ۰/۱ درصد و ۰/۰۱ درصد اثرات کشنده پروتواسکولکسی خوبی در زمان ۱۲۰ دقیقه و مرزه خوزستانی با رقت ۰/۱ درصد اثرات کشنده پروتواسکولکسی مناسبی در زمان‌های ۳۰، ٦۰، و ۱۲۰ دقیقه داشته‌اند.[۱۵] در مطالعه انجام شده توسط محمودوند و همکاران در سال ۲۰۱٤، نتایج نشان داد رقت ۱ میلی لیتر بر گرم رازیانه دارای اثر ۱۰۰ درصد اسکولکس‌کشی می‌باشند.[۱٦] در تحقیق دیگری که توسط محمودوند و همکاران در سال ۲۰۱٤ در زمینه تاثیر اسکولکش‌کشی عصاره متانولی ریشه گیاه زرشک (*Berberis vulgaris*) انجام گرفت، محققان به این نتیجه رسیدند که رقت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم در میلی‌لیتر این ترکیب گیاهی دارای اثر پروتواسکولیسیدال قوی می‌باشند.[۱۷] نتایج حاصل از یک تحقیق انجام گرفته توسط زیبایی و همکاران در سال ۲۰۱٦ نشان داد عصاره متانولی اجزای مختلف پسته کوهی (بنه) در زمان‌های گوناگون دارای قدرت اسکولکسی کشی مختلفی می‌باشند.[۱۸]

تاکنون مطالعات گوناگونی که توسط محققان مختلف بر روی عصاره‌های گال مازوج انجام و اثر ضد باکتریایی آن به اثبات رسیده است. خاصیت آنتی‌باکتریال عصاره‌های حاصل را به وجود ترکیبات تانن در این مواد نسبت داده‌اند. با توجه به اینکه تانن یک ترکیب فنولی است، تانن‌ها دارای خواص مختلف از آن جمله می‌توان به ضد باکتری بودن آن‌ها اشاره کرد.[۱۹و۲۰]

در مطالعه حاضر تاثیر کشندگی پروتواسکولکس‌های کیست

هیداتید توسط نانوپارتیکل عصاره‌های متانولی و استنی و اکسید نقره و ترکیب آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان داد که بیشترین درصد کشندگی در گروه نانوپارتیکل اکسید نقره و نانوپارتیکل عصاره متانولی ادغام شده با اکسید نقره با اختلاف ۲/۲۹ در میانگین رقت ۰/۱ درصد مشاهده می‌گردد. این بدین معنی است که این دو گروه درصد کشندگی بالاتری نسبت به سایر گروه های دیگرآزمایش شونده داشته و اثرکشندگی این دو معنادار بوده است در حالی‌که زمان بر روی اثرکشندگی این دو گروه تاثیر چندانی ندارد.



شکل ۱: (A) پروتواسکولکس های زنده بدون جذب رنگ (B)، پروتواسکولکس‌های مرده جذب‌کننده رنگ (مواجهه رنگ ائوزین رقت ۰/۱ درصد با عصاره‌های مورد نظر، بزرگ‌نمایی ٤۰۰×).

جدول ۱ : توصیف اثرات کشندگی عصاره استنی گال قلقاف به تفکیک رقت‌های گروه‌های آزمایشی در زمان‌های مختلف

نوع گروه آزمایشی	زمان (دقیقه)	فراوانی انجام آزمون (تعداد)	میانگین (درصد)	انحراف معیار
نرمال سالین	۱	۳	٦/۷۹	۱/۸۰
	۵	۳	۷/۸۹	۱/۵۳
	۱۰	۳	۷/۷۳	۳/۰۲
	۲۰	۳	۹/٤۷	۱/۰٦
	مجموع	۱۲	۷/۹۷	۱/۸۵
عصاره استنی گال قلقاف (رقت ۰/۱)	۱	۳	٤۹/۲۰	۳٤/۲۵
	۵	۳	٦۲/۱۹	۳۳/٦۱
	۱۰	۳	٦۳/۹۰	۲۸/۵۰
	۲۰	۳	۸۳/٤۳	۱۹/۳٤
	مجموع	۱۲	٦٤/٦۸	۲۸/۹۳
عصاره استنی گال قلقاف (رقت ۰/۰۱)	۱	۳	٦/۹۳	۷/٤۵
	۵	۳	۱۰/۲۷	۷/۰۳
	۱۰	۳	۱۲/٦۵	۱۱/٤۱
	۲۰	۳	۱۹/۹٤	۱٤/۱۵
	مجموع	۱۲	۱۲/٤۵	۱۰/۰۱
عصاره استنی گال قلقاف (رقت ۰/۰۰۱)	۱	۳	٦/۱۳	۷/۳۸
	۵	۳	۸/۹۱	۷/٤۲
	۱۰	۳	۹/٤۰	۷/۳۹
	۲۰	۳	۹/۵۸	٦/٦۷
	مجموع	۱۲	۸/۵۱	۷/۲۲

جدول ۲: توصیف اثرات کشندگی عصاره متانولی گال قلقاف به تفکیک رقت‌های گروه‌های آزمایشی در زمان‌های مختلف

نوع گروه آزمایشی	زمان (دقیقه)	فراوانی انجام آزمون (تعداد)	میانگین (درصد)	انحراف معیار
نرمال سالین	۱	۳	۶/۷۹	۱/۸۰
	۵	۳	۷/۸۹	۱/۵۳
	۱۰	۳	۷/۷۳	۳/۰۲
	۲۰	۳	۹/۴۷	۱/۰۶
	مجموع	۱۲	۷/۹۷	۱/۸۵
عصاره متانولی گال قلقاف (رقت ۰/۱)	۱	۳	۹۴/۲۷	۷/۱۹
	۵	۳	۷۹/۵۶	۳۵/۹۴
	۱۰	۳	۸۳/۸۰	۲۱/۲۷
	۲۰	۳	۹۶/۱۰	۵/۹۶
	مجموع	۱۲	۸۸/۴۳	۱۷/۵۹
عصاره متانولی گال قلقاف (رقت ۰/۰۱)	۱	۳	۶۳/۹۳	۳۴/۱۶
	۵	۳	۵۰/۱۴	۳۱/۶۳
	۱۰	۳	۷۲/۲۱	۲۷/۸۳
	۲۰	۳	۶۹/۲۸	۳۱/۶۸
	مجموع	۱۲	۶۳/۸۹	۳۱/۳۳
عصاره متانولی گال قلقاف (رقت ۰/۰۰۱)	۱	۳	۲۲/۶۴	۱۳/۷۷
	۵	۳	۱۶/۷۲	۱۳/۶۱
	۱۰	۳	۲۰/۰۹	۹/۹۷
	۲۰	۳	۴۲/۳۳	۳۶/۹۲
	مجموع	۱۲	۲۵/۴۵	۱۸/۵۷

جدول ۳: توصیف تاثیر کشندگی نانوپارتیکل اکسید نقره به تفکیک رقت‌های گروه‌های آزمایشی در زمان‌های مختلف

نوع گروه آزمایشی	زمان (دقیقه)	فراوانی انجام آزمون (تعداد)	میانگین (درصد)	انحراف معیار
نرمال سالین	۱	۳	٦/٦۳	۱/۰۷
	۵	۳	۷/۰۲	۱/۱٤
	۱۰	۳	۷/۷۸	۲/۱۵
	۲۰	۳	۹/۵۷	۰/۸٦
	مجموع	۱۲	۷/۹۹	۱/۳۱
نانوپارتیکل اکسید نقره (AgO) (رقت ۰/۱)	۱	۳	۹۸/۵۵	۰/۲۷
	۵	۳	۹۹/۷۱	۰/٤۵
	۱۰	۳	۹۷/۹۲	۲/٤۲
	۲۰	۳	۹۹/۳۹	۰/٦۹
	مجموع	۱۲	۹۸/۸۹	۰/۹٦
نانوپارتیکل اکسید نقره (AgO) (رقت ۰/۰۱)	۱	۳	۹٤/۲۷	۷/۱۹
	۵	۳	۷۹/۵٦	۳۵/۹٤
	۱۰	۳	۸۳/۸۰	۲۱/۲۷
	۲۰	۳	۹٦/۱۰	۵/۹٦
	مجموع	۱۲	۸۸/٤۳	۱۷/۵۹
نانوپارتیکل اکسید نقره (AgO) (رقت ۰/۰۰۱)	۱	۳	۸۳/٤۳	۱۹/۳٤
	۵	۳	٦۲/۱۹	۳۳/٦۱
	۱۰	۳	٦۳/۹۰	۲۸/۵۰
	۲۰	۳	٤۹/۲۰	۳٤/۲۵
	مجموع	۱۲	٦٤/٦۸	۲۸/۹۳

جدول٤: توصیف اثرکشندگی ادغام نانوپارتیکل اکسید نقره و عصاره استنی گال قلقاف به تفکیک رقت‌های گروه‌های آزمایشی در زمان‌های مختلف

نوع گروه آزمایشی	زمان (دقیقه)	فراوانی انجام آزمون (تعداد)	میانگین (درصد)	انحراف معیار
نرمال سالین	۱	۳	٦/٦۳	۱/۰۷
	۵	۳	۷/۰۲	۱/۱٤
	۱۰	۳	۷/۷۸	۲/۱۵
	۲۰	۳	۹/۵۷	۰/۸٦
	مجموع	۱۲	۷/۹۹	۱/۳۱
نانوپارتیکل عصاره استنی گال قلقاف (رقت ۰/۱)	۱	۳	۷٤/۲۰	٦/۰۳
	۵	۳	۷۵/۱۷	۲/۲۵
	۱۰	۳	۵۸/۰٤	۳/۱۵
	۲۰	۳	۷۸/۱٦	۱/٤۷
	مجموع	۱۲	۷۱/۳۹	۳/۲۳
نانوپارتیکل عصاره استنی گال قلقاف (رقت ۰/۰۱)	۱	۳	۱۹/۷۰	۱۹/۲۸
	۵	۳	۳۷/٤۱	۷/۵۰
	۱۰	۳	٦۳/۳۵	۸/۳۹
	۲۰	۳	۵۷/۱۸	۱۲/٤۳
	مجموع	۱۲	٤٤/٤۱	۱۱/۹۰
نانوپارتیکل عصاره استنی گال قلقاف (رقت ۰/۰۱)	۱	۳	٤۷/۰۳	۱۲/۳۱
	۵	۳	۵۹/٤۲	۹/۱۷
	۱۰	۳	٤٤/۱۳	۱۸/۷٤
	۲۰	۳	٦۰/۱٤	٦/۰٦
	مجموع	۱۲	۵۲/٦۸	۱۱/۵۷

جدول ٥-٤: توصیف اثر کشندگی ادغام نانوپارتیکل اکسید نقره و عصاره متانولی گال قلقاف به تفکیک رقت‌های گروه‌های آزمایشی در زمان‌های مختلف

نوع گروه آزمایشی	زمان (دقیقه)	فراوانی انجام آزمون (تعداد)	میانگین (درصد)	انحراف معیار
نرمال سالین	۱	۳	٦/٦۳	۱/۰۷
	۵	۳	۷/۰۲	۱/۱٤
	۱۰	۳	۷/۷۸	۲/۱۵
	۲۰	۳	۹/۵۷	۰/۸٦
	مجموع	۱۲	۷/۹۹	۱/۳۱
نانوپارتیکل عصاره متانولی گال قلقاف (رقت ۰/۱)	۱	۳	۸۰/۵٦	۳٦/۹٤
	۵	۳	۸٤/۸۰	۲۲/۷۰
	۱۰	۳	۹۷/۱۰	٦/۹٦
	۲۰	۳	۹۳/۵۰	۷/٦۰
	مجموع	۱۲	۸۸/۹۹	۱۸/۵۵
نانوپارتیکل عصاره متانولی گال قلقاف (رقت ۰/۰۱)	۱	۳	۵۱/۱٤	۲۳/۳٤
	۵	۳	۷۳/۲۱	۱۸/۸۲
	۱۰	۳	۷۰/۲۸	۲۳/۸۵
	۲۰	۳	۸۳/۰۹	۱۷/۳۲
	مجموع	۱۲	٦۹/٤۳	۲۰/۸۳
نانوپارتیکل عصاره متانولی گال قلقاف (رقت ۰/۰۱)	۱	۳	۱۷/٤۲	۸/۱۷
	۵	۳	۲۱/۰۹	۹/٤۲
	۱۰	۳	۳۳/٤۷	۱۱/۰۳
	۲۰	۳	٤۸/۱۱	۱۰/۱٦
	مجموع	۱۲	۳۰/۰۲	۹/۷۰

نتیجه گیری

با توجه به یافته‌های بدست آمده در مطالعه حاضر و مقایسه آن با سایر مطالعات، عصاره‌های متانولی نانوپارتیکل گال قلقاف در شرایط آزمایشگاهی یا برون تنی دارای فعالیت ضد انگلی مناسبی می‌باشند. نتایج بررسی حاضر نشان داد در میان عصاره‌های با رقت ۰/۱ درصد نانوپارتیکل اکسید نقره در زمان ۲۰ دقیقه و هم‌چنین ادغام نانوپارتیکل اکسیدنقره و عصاره متانولی گال قلقاف در مدت زمان ۲۰ دقیقه بیشترین اثر کشندگی را بر پروتواسکولکس‌ها دارند. لذا جهت دست‌یابی به اطلاعات بیشتر، انجام مطالعه به روش درون تنی (In vivo) بر روی این عصاره‌ها ضروری می‌باشد تا بتواند به عنوان یک ترکیب اسکولکس‌کش و جایگزینی مناسب که دارای عوارض جانبی کمی بوده در روش PAIR مورد استفاده قرار گیرد. هم‌چنین لازم است مطالعات گسترده‌تری بر روی سایر عصاره‌های گال قلقاف از نظر رقت و زمان‌های مواجهه جهت دستیابی به بیشترین درصد کشندگی صورت پذیرد و نیز اثرات توکسیک میزان مورد استفاده و عوارض احتمالی عصاره‌های تهیه شده در شرایط درون تنی مورد آزمون قرار گیرد.

References

1. Sedeghat F, Zibaei M. Seroepidemiology of hydatic cyst in the word. Medicine 2007;35(6):247-52.
2. Sadjjadi SM. Present situation of echinococcosis in the Middle East and Arabic North Africa. Parasitol Int. 2006;55(Suppl):8197-202.
3. Borhani M, Fathi S, Lahmar S, Ahmed H, Abdulhameed MF, Fasihi Harandi M. Cystic echinococcosis in the Eastern Mediterranean region: Neglected and prevailing! PLoS Negl Trop Dis. 2020;14(5):e0008114.
4. Mahmoudi S, Mamishi S, Banar M, Pourakbari B, Keshavarz H. Epidemiology of echinococcosis in Iran: a systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis. 2019;19(1):929.
5. Vaisi-Raygani A, Mohammadi M, Jalali R, Salari N, Hosseinian-Far M. Prevalence of cystic echinococcosis in slaughtered livestock in Iran: a systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis. 2021;21(1):429.
6. Ghatee MA, Nikaein K, Taylor WR, et al. Environmental, climatic and host population risk factors of human cystic echinococcosis in southwest of Iran. BMC Public Health 2020;20(1):1611.
7. Chai JY, Jung BK, Hong SJ. Albendazole and mebendazole as anti-parasitic and anti-cancer agents: an update. Korean J Parasitol. 2021;59(3):189-225.
8. Fabbri J, Maggiore MA, Pensel PE, Denegri GM, Gende LB, Elissondo MC. In vitro and in vivo efficacy of carvacrol against *Echinococcus granulosus*. Acta Trop. 2016;164:272-9.
9. Belghiti J, Benhamou JP, Houry S, Grenier P, Huguier M, Fékété F. Caustic sclerosing cholangitis: a complication of the surgical treatment of hydatid disease of the liver. Arch Surg. 1986;121(10):1162-5.
10. Zin NNINM, Rahimi WNAWM, Bakar NA. A Review of *Quercus infectoria* (Olivier) galls as a resource for anti-parasitic agents: in vitro and in vivo studies. Malays J Med Sci. 2019;26(6):19-34.
11. Bo L, Yang W, Chen M, Gao J, Xue Q. A simple and 'green' synthesis of polymer-based silver colloids and their antibacterial properties. Chem Biodivers. 2009;6(1):111-16.
12. Khattak A, Ahmad B, Rauf A, et al. Green synthesis, characterisation and biological evaluation of plant-based silver nanoparticles using *Quercus semecarpifolia* smith aqueous leaf extract. IET Nanobiotechnol. 2019;13(1):36-41.
13. Bakdik S, Arslan S, Oncu F, Tolu I, Eryilmaz MA. Percutaneous treatment of hepatic cystic echinococcosis: the success of alcohol as a single endocavitary agent in PAIR, catheterization, and modified catheterization techniques. Radiol Med. 2018;123(2):153-160.
14. Prasad J, Bellamy PR, Stubbs RS. Instillation of scolicidal agents into hepatic hydatid cysts: can it any longer be justified? N Z Med J. 1991;104(917):336-7.
15. 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):53-6.
16. Mahmoudvand H, Jahanbakhsh S, Nadri S, Mahmoudvand H. Inhibitory activity of Fennel methanolic extract against hydatid cyst protoscoleces. J Chem Pharm Sci. 2016;9(4):2500-3.
17. Mahmoudvand H, Saedi Dezaki E, Sharififar F, Ezatpour B, Jahanbakhsh S, Fasihi Harandi M. Protoscolecidal effect of *Berberis vulgaris* root extract and its main compound, berberine in cystic echinococcosis. Iran J Parasitol. 2014;9(4):503-10.
18. Zibaei M, Rostamipour R, Nayebzadeh H. Effect of *Pistacia atlantica* fruit and leaf extracts on hydatid cyst protoscolices. Recent Pat Antiinfect Drug Discov. 2016;11(1):53-8.
19. Zhou D, Liu ZH, Wang DM, Li DW, Yang LN, Wang W. Chemical composition, antibacterial activity and related mechanism of valonia and shell from *Quercus variabilis* Blume (Fagaceae) against *Salmonella paratyphi* a and *Staphylococcus aureus*. BMC Complement Altern Med. 2019;19(1):271.
20. Nair A, Balasaravanan T, Jadhav S, Mohan V, Kumar C. Harnessing the antibacterial activity of *Quercus infectoria* and *Phyllanthus emblica* against antibiotic-resistant *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Enteritidis of poultry origin. Vet World. 2020;13(7):1388-96.

AUMJ Alborz University of Medical Sciences Journal

Alborz University of Medical Sciences Journal, April 2021, Vol. 11, No. 2: 229-240 *Original Article*

***Fatemeh Moravej*[1], *Mohammad Zibaei*[2,3]*, *Mojtaba Ahmadinejad*[4], *Farzaneh Firoozeh*[3,5], *Ali Baradaran Bagheri*[6], *Hamid Hosseini*[7], *Fatemeh Bakhshipour*[7]**

[1] General Practitioner, Fardis Health and Treatment Network, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran
[2] Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran
[3] Evidence-based Phytotherapy and Complementary Medicine Research Center, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran
[4] Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Madani Hospital, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran
[5] Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran
[6] Assistant Professor, Department of Neurosurgery, School of Medicine, Shahid Madani Hospital, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran
[7] Master of Sciences, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

***Corresponding Author:**
Professor of Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

Tel: 02632563316
E-mail: zibaeim@sums.ac.ir

Evaluation of Scolicidal Effects the Nanoparticles of Ghalghaf Gall (*Quercus infectoria*) Extracts and Silver Oxide on Protoscolices of Hydatid Cyst In Vitro

Received: 15 Aug 2021 ; Accepted: 16 Mar 2022

Abstract

Background: Hydatid cyst disease (Echinococcosis) is caused by species of the parasite genus *Echinococcus*. The infection is present in many countries where animal husbandry is common. The treatment of the disease was based on surgery, which was accompanied by an adjunctive drug treatment. It is harmful to use the protoscolicidal effect of parasites during surgery to reduce the recurrence of the disease. The aim of this study was to confirm the protoscolicidal effect of nanoparticles of silver oxide, methanolic and acetonic extracts of Gal Ghalghaf due to the antimicrobial effects of plant in vitro on hydatid cyst protoscolices.

Methods: *Echinococcus granulosus* protoscolices were collected from 60 liver of sheep infected with hydatid cyst. The hydatid cyst fluid was drained using a syringe and concentrated after centrifugation. The lethal effect of normal saline group of 0.9% and the first, second and third groups with concentrations of 0.1, 0.01 and 0.001% of silver oxide nanoparticles and methanolic and acetone Gal Ghalghaf extracts and their integration on protoscolices, respectively. Hydatid cysts are determined at exposure times of 1, 5, 10, and 20 minutes. After data collection, the obtained data were analyzed using SPSS software.

Results: Among the examined extracts, the concentration of 0.1% nanoparticles of silver oxide in 20 minutes and the combination of nanoparticles of silver oxide and methanolic extract of Gal Ghalghaf in 20 minutes had the most protoscolicidal effects, respectively. Also, the lowest lethal effect was obtained at a concentration of 0.001 nanoparticles of acetonic extracts of Gal Ghalghaf at 1 minute.

Conclusion: The findings of the present study showed that methanolic and acetonic extracts of Gal Ghalghaf after combining with silver oxide nanoparticles, especially methanolic extract, can be used as a suitable protoscolicidal agent during hydatid cyst surgery using PAIR (Puncture, Aspiration, Injection, and Re-aspiration of protoscolices).

Keywords: Herbal extract, Ghalghaf Gall, Nanoparticles, Silver Oxide, Protoscolicidal, Echinococcus granulosus