

## بررسی اثر اسکولکس کشی منتول و نانو منتول در مقایسه با داروی آلبندازول بر پرتو اسکولکس های اکینو کوکوس گرانولوزوس در شرایط آزمایشگاه

مهدیه گوران<sup>۱</sup>، محمد رضا یوسفی<sup>۲\*</sup>، محدثه ابو حسینی طبری<sup>۴</sup>

۱- دامپزشک عمومی عضو باشگاه پژوهشگران و نخبگان جوان دانشگاه آزاد اسلامی بابل

۲- دانشیار گروه انگل شناسی دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران.

۳- دانشیار مرکز تحقیقات جامع سلامت، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران.

۴- دانشیار گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۵

### چکیده

جراحی متداول ترین درمان هیداتیدوز، از مهم ترین بیماری های انگلی مشترک، می باشد. عوامل اسکولکس کش در جهت کاهش خطر نشت محتوای کیست و ابتلای مجدد استفاده می شوند. با توجه به عوارض جانبی اسکولکس کش های موجود، مطالعه حاضر به هدف بررسی کارایی منتول و نانو امولسیون منتول بر پرتواسکولکس های کیست هیداتیک صورت گرفته است. نانو امولسیون منتول به روش سیستم انرژی پایین تهیه گردید. جهت بررسی اثر پرتواسکولکس کشی منتول و نانو منتول غلظت های سریالی از این ترکیبات با سوسپانسیون از پرتواسکولکس ها ترکیب گردیدند و نتایج مرگ و میر در زمان های ۱۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت. از داروی آلبندازول به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. منتول و نانو منتول در زمان ده دقیقه و غلظت ۲۵ μg/mL و ۰/۵ در مقایسه با آلبندازول تفاوت معنی دار را در میزان مرگ و میر نشان ندادند ( $P > 0.05$ ). در زمان ده دقیقه مرگ و میر در غلظت ۰/۵ μg/mL نانو منتول ۶۳/۳۳٪ بوده است که غلظت مشابه از منتول موجب ۲۲/۶۶٪ مرگ در پرتواسکولکس ها شد. در زمان ۶۰ دقیقه تمامی غلظت های منتول و نانو منتول موجب اثر کشندگی معنی دار در مقایسه با آلبندازول شدند. با در نظر گرفتن منشأ طبیعی منتول و سمیت اندک آن و با توجه به خواص اسکولکس کشی بسیار مناسب از منتول و نانو منتول در مطالعه حاضر، مطالعات بیشتر به منظور تحقیق و توسعه ی این ترکیب به عنوان یک اسکولکس کش جدید ضروری به نظر میرسد.

**کلمات کلیدی:** پرتواسکولکس، کیست هیداتیک، منتول، نانو منتول، آلبندازول

\* نویسنده مسئول: محمد رضا یوسفی

آدرس: دانشکده دامپزشکی - دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل.

تلفن: ۰۱۱-۳۲۴۱۵۰۳۰

پست الکترونیک: [youssefi929@hotmail.com](mailto:youssefi929@hotmail.com)

## مقدمه

هیداتیدوز یکی از بیماریهای انگلی مشترک بین انسان و دام است که ناشی از کرم های نواری از جنس اکینوکوکوس است. این بیماری با خوردن آب یا مواد غذایی که حاوی تخم های این انگل باشد و یا از طریق تماس با حیوان آلوده به این انگل، منتقل می گردد. تخم های این انگل در مدفوع حیوانات گوشتخواری که به این انگل آلوده اند یافت میشود. میزان اصلی این انگل سگ سانان می باشد که انگل بالغ در قسمت فوقانی روده باریک این میزبان ها زندگی می کند. تخم های انگل از طریق مدفوع وارد محیط شده و باعث آلودگی محیط می گردند. چنانچه این تخم ها توسط یک میزبان واسط یا میزبان تصادفی بلعیده شوند انکوسفر در روده آزاد شده و در بافت مخاطی روده نفوذ می کنند و وارد جریان خون ورید باب می شود. بسیاری از انکوسفرها بعلت تمایل جریان خون ورید باب در لب سمت راست کبد جایگزین شده و در این محل یا از بین می روند یا کیست هیداتید کبدی را ایجاد می کنند یا این که از این فیلتر نیز عبور کرده و در ریه لانه گزینی می کنند و تبدیل به کیست می شوند. در صد کمی از انکوسفرها توسط گردش خون خود را به سایر بافتها مانند مغز، کلیه، استخوان ها و غیره می رسانند و تبدیل به کیست می شوند (10). این بیماری در ۶۵٪ افراد فاقد علائم بالینی است و به صورت تصادفی هنگام معاینه برای سایر بیماریها تشخیص داده می شود. علائم بالینی بسیار متغیر است و به ارگان درگیر (ریه، کبد، مغز استخوان)، تعداد کیست ها، محل قرار گیری آنها، واکنش متقابل بین کیست و ارگان مجاور، پارگی کیست و واکنش های ایمنولوژیک نظیر آسم و آنافیلاکسی بستگی دارد (۱).

تشخیص کیست هیداتید در بیماران بر اساس تشخیص ساختار کیست با تکنیک عکس برداری خصوصا اولتراسونوگرافی و در نهایت با شناسایی آنتی بادی های اختصاصی در سرم با روش های ایمنولوژی قطعی می شود. روش های درمان کیست هیداتید عبارتند از: جراحی کردن، روش PAIR که عبارت است از سوراخ کردن، کشیدن مایع کیست، تزریق ماده کشنده پروتواسکولکس داخل کیست و کشیدن مجدد مایع کیست و درمان دارویی. برای افراد فاقد علائم بالینی روش عدم درمان و تحت نظر داشتن بیمار به منظور پیگیری روند بیماری کاربرد دارد (۳و۹).

درمان انتخابی بیماری، جراحی است و در ۹۰٪ بیماران انجام می گیرد. امکان برداشت کامل کیست و درمان آن در درصد بالایی از بیماران وجود دارد ولی جراحی در بیمارانی که کیست های متعدد در ارگان های مختلف دارند و بیماران با ریسک بالا صورت نمی گیرد. احتمال بازگشت بیماری با وجود جراحی بین ۲ تا ۲۲ درصد متغیر است. مشکلات پس از جراحی مانند فیستول در مجاری صفراوی، سیروز، انسداد، تشکیل آبسه و مشکلات ریوی در ۲۵-۱۰٪ موارد دیده می شود (۱). برای پیشگیری از نشت احتمالی محتویات کیست در حین عمل و عود مجدد هیداتیدوز استفاده از عوامل اسکولکس کش هنگام عمل جراحی و تزریق آن ها به داخل کیست توصیه می شود. بیشتر اسکولکس کش های شیمیایی دارای عوارض جانبی و اثرات نکروز دهنده بر بافت های سالم مجاور کیست می باشند (۱۹). آلپندازول از شناخته شده ترین داروها در زمینه ی درمان هیداتیدوز است که کاربرد گسترده ای در درمان بسیاری از بیماری های انگلی دارد. اما این دارو دارای عوارضی است که از جمله آن میتوان به جذب ضعیف از دستگاه گوارش، پایین بودن غلظت

### ۳. بررسی اثر اسکولکس کشی منتول و نانو منتول در مقایسه با داروی آلبندازول بر ... ۳۰

دارو در کبد، عود مجدد کیست پس از استفاده ی دارو و عوارض جانبی مهم دیگری مانند مسمومیت کبدی اشاره کرد (۲۰). از این رو یافتن داروهای جایگزین که هم بتواند اثر مناسبی داشته و هم عوارض جانبی کمی داشته باشد از درجه ی اهمیت بالایی برخوردار است. خواص ضد انگلی گیاهان معطر بر روی انگل های مختلف مورد توجه قرار گرفته و تا حدودی به اثبات رسیده است. مطالعات متعدد اثرات سمی ترکیبات طبیعی مشتق شده از گیاهان معطر را بر پروتواسکولکس ها گزارش نموده اند. اثرات اسکولکس کشی چندین اسانس گیاهی، و اجزای موثر تشکیل دهنده آن ها در شرایط آزمایشگاهی به خوبی نشان داده شده است (۲۱ و ۲۸).

منتول، یک مونوترپن حلقوی است که از اجزای اصلی اسانس گیاهان خانواده نعنا محسوب می شود. مطالعات اثرات فارماکولوژیک متنوعی را شامل خواص ضد التهابی، ضد دردی، ضد سرطان و ضد میکروبی از این ترکیب شرح داده اند. اثرات ضد انگلی منتول علیه عفونت شیستوزوما مانسونی گزارش شده است (۲۳). Maggioro و همکاران در سال ۲۰۱۲ اثرات ضد انگلی دو گونه از تیره نعنائیان را علیه پروتواسکولکس ها و متاستودهای کیست هیداتیک مورد بررسی قرار دادند. این محققین گزارش نمودند که از میان دو گونه ی نعنا ی وحشی و پونه، اسانس پونه اثر بیشتری را بر پروتواسکولکس ها داشته و پاسخ وابسته به دوز و زمان را موجب شده است. این محققین همچنین نتیجه گیری نموده اند که اثر اسکولکس کشی اسانس نعنا ی وحشی احتمالاً به علت تاثیر جزئی منتول آن بر پروتواسکولکس های کیست هیداتیک می باشد (۲۲).

#### روش کار:

تهیه پروتواسکولکس ها: برای انجام این پژوهش، کبد های آلوده به کیست هیداتیک گوسفند از کشتارگاه تهیه و به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل انتقال داده شدند. پس از ضد عفونی سطح کیست ها با الکل ۷۰٪، مایع هیداتیک درون کیست ها اسپیره شده و ۳ بار با استفاده از سرم نرمال سالین شستشو داده شد. درصد حیات اولیه (Primary viability) پروتواسکولکس ها، توسط رنگ آمیزی حیاتی با اتوزین ۰٫۱٪ و به کمک میکروسکوپ نوری تعیین گردید. پروتواسکولکس های زنده، بی رنگ و شفاف باقی مانده، در حالی که پروتواسکولکس های مرده به علت نفوذ رنگ اتوزین، قرمز رنگ مشاهده شدند.

تهیه نانو منتول: نانو مولسیون منتول به روش سیستم انرژي پايين با ۹۶٪ (حجمی/حجمی) آب و ۲٪ منتول و ۲٪ توئین ۸۰ تهیه گردید. منتول و توئین ۸۰ با استفاده از هموژنایزر و در مدت ۲۰ دقیقه با ۲۴۰۰ دور در دقیقه هم زده شدند. سپس آب به آرامی به مخلوط اضافه

شده و به مدت ۳۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه مخلوط شدند. تایید اندازه ی ذرات نانوامولسیون تهیه شده با استفاده از روش پراکندگی نور پویا انجام شد. میانگین اندازه ذرات نانوامولسیون تهیه شده ۶۰ نانومتر نشان داده شد.

**تست اسکولکس کشی:** جهت بررسی اثر پرتواسکولکس کشی منتول و نانو منتول غلظت های ۰٫۲۵، ۰٫۵، ۱، ۲٫۵، ۵، ۱۰، ۲۵ میکروگرم بر میلی لیتر از این مواد با سوسپانسیونی از پرتواسکولکس ها در میکروپلیت های ۲۴ خانه که در هر چاهک ۱۰۰۰ میکرولیتر مایع هیداتیک پر شده بود ترکیب گردید و سپس نتایج مرگ و میر را در زمان های ۱۰، ۳۰، ۶۰

دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین از آلبندازول با غلظت ۲ میکروگرم بر میلی لیتر به عنوان داروی کنترل مثبت در این مطالعه استفاده شد. تمام آزمایشات با سه بار تکرار انجام شدند.

**آنالیز آماری:** جهت انجام بررسی آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ استفاده شد. میانگین مرگ و میر در تیمارهای مختلف با استفاده از آنالیز یکطرفه واریانس و تست تعقیبی بنفرونی Bonferroni مورد آنالیز قرار گرفتند. داده ها بصورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شده اند. مقادیر P value کوچکتر یا مساوی ۰/۰۵ بعنوان معنی دار در نظر گرفته شدند.



تصویر ۱: نمونه ای از پرتواسکولکس های رنگ گرفته و مرده در مواجهه با ترکیب منتول

میر شد که در مقایسه با غلظت مشابه از منتول که موجب ۲۲/۶۶٪ مرگ در پرتواسکولکس ها شد، اختلاف معنی دار را نشان می دهد ( $P < 0.05$ ). در غلظت ۱  $\mu\text{g/mL}$  منتول پس از ۱۰ دقیقه منجر به ۳۵٪ مرگ و میر شد در حالیکه نانومنتول در همین غلظت و بازه زمانی ۱۰۰٪ مرگ و میر را سبب گردید ( $P < 0.001$ ). در غلظت ۲/۵  $\mu\text{g/mL}$  منتول ۸۳٪ مرگ و میر و نانومنتول ۱۰۰٪ مرگ و میر را نتیجه دادند که اختلاف میان این دو تیمار نیز معنی دار است

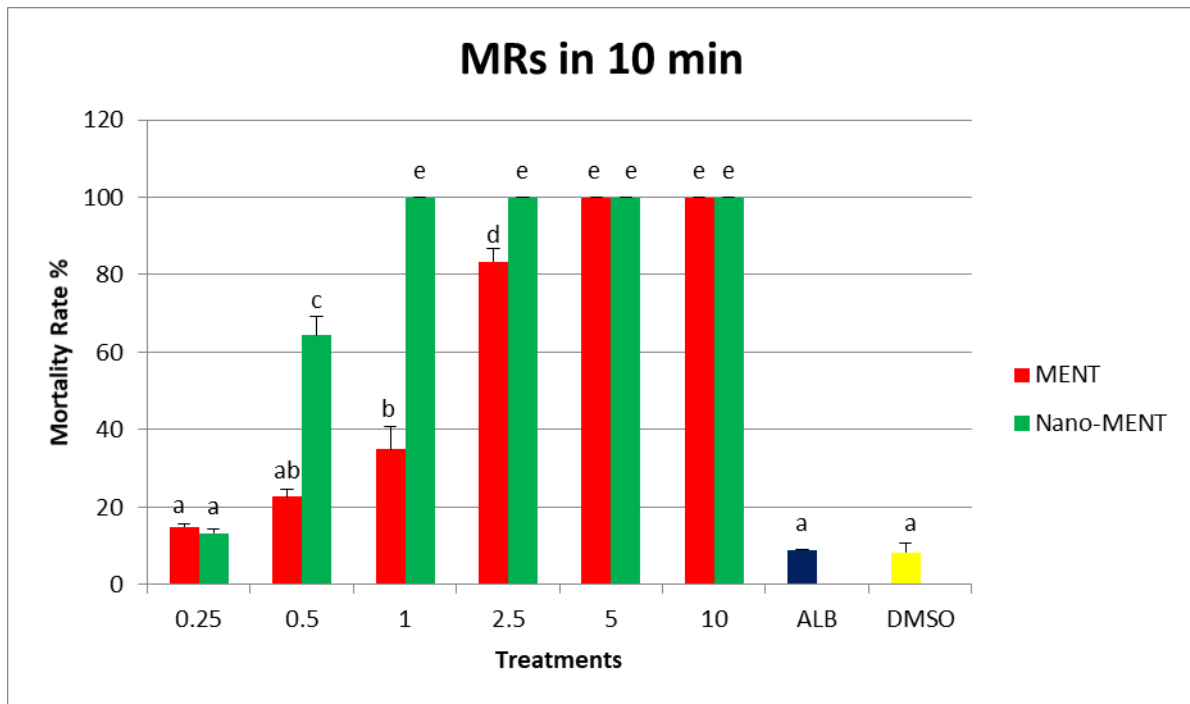
## نتایج:

مقایسه میزان مرگ و میر در پرتواسکولکس ها در زمان ۱۰ دقیقه در شکل ۱ نشان داده شده است. منتول و نانومنتول در غلظت ۰/۲۵  $\mu\text{g/mL}$  و منتول در غلظت ۰/۵  $\mu\text{g/mL}$  در مقایسه با آلبندازول تفاوت معنی دار را در میزان مرگ و میر نشان نمی دهد ( $P > 0.05$ ). سایر غلظت های منتول و نانومنتول همگی با اختلاف معنی دار نسبت به کنترل آلبندازول موجب مرگ در پرتواسکولکس ها شدند ( $P < 0.05$ ). مرگ و میر غلظت ۰/۵  $\mu\text{g/mL}$  نانو منتول موجب ۶۳/۳۳٪ مرگ و

۵. بررسی اثر اسکولکس کشی منتول و نانو منتول در مقایسه با داروی آلبندازول بر ...

( $P < 0.05$ ). غلظت های بالاتر از منتول و نانومنتول هر

دو موجب ۱۰۰٪ مرگ و میر شدند.

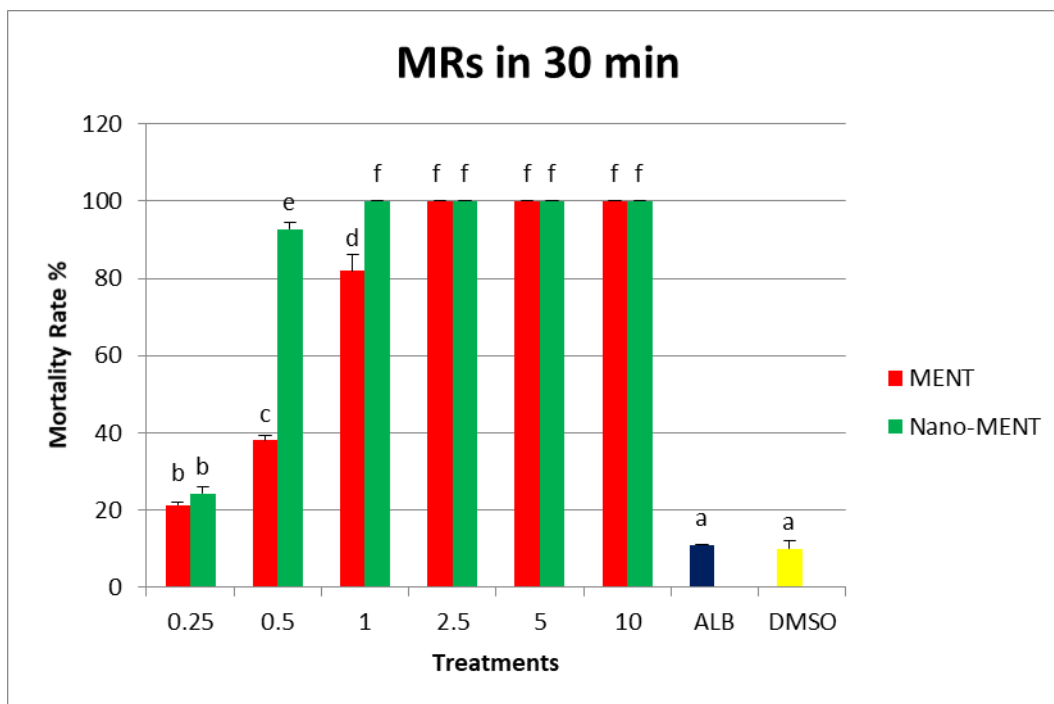


شکل ۱. میزان مرگ و میر پروتواسکولکس ها در بازه زمانی ۱۰ دقیقه در تیمار با منتول MENT، نانو امولسیون منتول Nano-MENT، آلبندازول ALB

ANOVA, Bonferroni. ستون ها با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار هستند.

سبب گردید ( $P < 0.05$ ). در غلظت ۱ منتول موجب ۸۲٪ مرگ و میر پروتواسکولکس ها شد و نانومنتول ۱۰۰٪ مرگ و میر را ایجاد نمود ( $P < 0.05$ ). غلظت های بالاتر از منتول و نانومنتول همگی موجب ۱۰۰٪ مرگ و میر شدند.

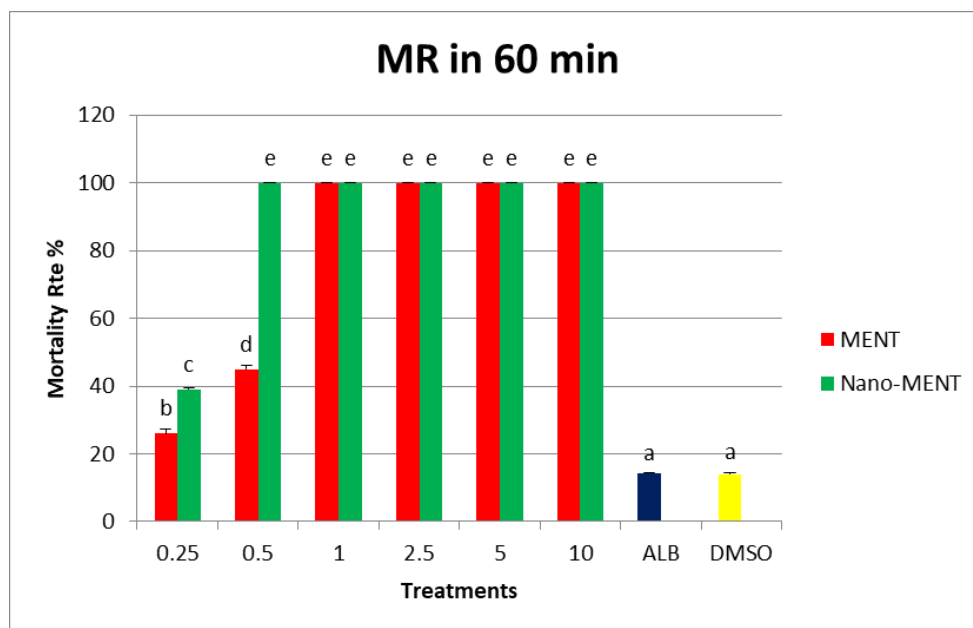
در زمان ۳۰ دقیقه منتول و نانومنتول حتی در کمترین غلظت منجر به مرگ و میر معنی دار در مقایسه با آلبندازول و کنترل حلال شدند ( $P < 0.05$ ). منتول در غلظت ۰/۵  $\mu\text{g/mL}$  موجب ۳۸٪ مرگ و میر شد در حالیکه نانومنتول در غلظت مشابه ۹۲/۶۶٪ مرگ و میر را



شکل ۲. میزان مرگ و میر پروتواسکولکس ها در بازه زمانی ۳۰ دقیقه در تیمار با منتول MENT، نانو امولسیون منتول Nano-MENT، آلبندازول ALB ستون ها با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار هستند. ANOVA, Bonferroni

غلظت ها ۱۰۰٪ مرگ و میر را در پروتواسکولکس ها سبب شدند. تمامی غلظت ها در مقایسه با کنترل معنی دار بودند ( $P < 0.05$ ).

در زمان ۶۰ دقیقه بجز غلظت های  $0.25 \mu\text{g/mL}$  از منتول و نانومنتول و غلظت  $0.5 \mu\text{g/mL}$  منتول که به ترتیب موجب ۲۶، ۳۹ و ۴۵٪ مرگ شدند، سایر



شکل ۳. میزان مرگ و میر پروتواسکولکس ها در بازه زمانی ۶۰ دقیقه در تیمار با منتول MENT، نانومنتول Nano-MENT، آلبندازول ALB ستون ها با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار هستند. ANOVA, Bonferroni

## بحث:

تاکنون اسکولکس کش های شیمیایی زیادی برای درمان هیداتیدوز حین جراحی به کار گرفته شده اند. به موادی چون فرمالین ۲ درصد، سرم نمکی هایپر تونیک ۲۰ تا ۳۰ درصد، محلول ستریماید - اسکولیساید، نترات نقره و بتادین می توان اشاره کرد که هر کدام از این مواد دارای عوارضی هستند که کاربرد آنها را محدود ساخته است (۱۵). بهترین اسکولکس کش ها ترکیباتی هستند که سمیت اندکی داشته باشند، و در غلظت اندک و زمان کوتاه موجب از بین رفتن تمام پروتواسکولکس ها شوند.

موزنی و همکاران در سال ۲۰۱۹ اثرات قوی اسکولکس کشی را از نانوامولسیون اسانس گیاه مرزه *Satureja hortensis* را گزارش نمودند. این محققین نشان دادند که این نانو امولسیون در غلظت های ۱ و ۲ میلی گرم بر میلی لیتر در زمان ۱۰ و ۲۰ دقیقه موجب ۱۰۰٪ مرگ در پروتواسکولکس ها گردیده است. همچنین این ترکیب اثرات قابل توجهی بر لایه ی زایای کیست ها را موجب شده است و به عنوان ترکیبی طبیعی برای استفاده حین عمل جراحی کیست هیداتیک پیشنهاد شده است (۱۳). همسو با این یافته ها، در مطالعه ی حاضر نیز نانو منتول در غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر در زمان ۱۰ دقیقه میزان کشندگی ۱۰۰٪ را موجب شد که در مقایسه با منتول اختلاف معنی دار را نشان می دهد. در مطالعه ی موزنی و همکاران در سال ۲۰۱۹ مقایسه ای میان اثرات اسکولکس کشی نانوامولسیون اسانس گیاه مرزه *Satureja hortensis* و اسانس گیاه مرزه انجام نشد. بنابراین میزان تاثیر فرمولاسیون نانو بر افزایش اثر اسکولکس کشی اسانس قابل ارزیابی نبود. در حالی که در مطالعه حاضر نشان داده شد که

نانو فرمولاسیون بطور قابل توجهی کارآیی منتول را علیه پروتواسکولکس ها افزایش می دهد. موزنی و همکاران در مطالعه ای دیگر در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی دارای اثرات اسکولکس کشی قابل توجهی می باشد و میتوان از این ماده به عنوان یک اسکولکس کش طبیعی استفاده نمود. این محققین گزارش نمودند که این نانوامولسیون در غلظت های ۱ و ۲ میلی گرم بر میلی لیتر در زمان های ۱۰ و ۲۰ دقیقه ۱۰۰٪ مرگ در پروتواسکولکس ها را سبب گردید همچنین تزریق این ماده به موش های آلوده با کیست هیداتیک موجب کاهش تعداد، وزن و اندازه ی کیست ها گردید. احتمالاً تیمول به عنوان بخش اصلی تشکیل دهنده ی اسانس آویشن شیرازی جزئی موثر در خاصیت اسکولکس کشی این اسانس است. تیمول نیز یک ترکیب مونوترپنوئیدی است که خاصیت کشندگی آن بر پروتواسکولکس های کیست هیداتیک در مطالعات گزارش شده است (۱۶). در مطالعه حاضر نیز منتول که از نظر ساختاری یک مونوترپنوئید محسوب میگردد اثرات اسکولکس کشی قابل توجهی را از خود نشان داده است. بنظر میرسد مونوترپنوئیدها دارای خاصیت اسکولکس کشی مناسبی هستند و تحقیق بیشتر بر روی این ترکیبات امیدی بر یافتن داروهای سبز در درمان هیداتیدوز باشد. کریمی یزدی و همکاران در سال ۲۰۲۰ نشان دادند در شرایط برون تنی با غلظت های ۱، ۲، ۵، ۱۰، ۲۰ میکرولیتر بر میلی لیتر نانوامولسیون اسانس آویشن در مقایسه با امولسیون اسانس اثر گذاری بهتر و موثرتری را بر روی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک از خود نشان می دهد (۲۷). در مطالعه ما نیز کارآیی بیشتر نانو منتول علیه پروتواسکولکس های کیست هیداتیک نشان داده شده است.

نشان می دهد (۲۶) همسو با این یافته ها، در مطالعه حاضر نیز نانومتول در مقایسه با متول اثر گذاری بیشتری از خود نشان داده است و اسکولکس کش قویتری بوده است.

نعمت الهی و همکاران در سال ۲۰۱۸ اثرات اسکولیسیدال نانوذرات نقره و سلنیوم را بر پروتواسکولکس های کیست هیداتیک مورد بررسی قرار دادند. این محققین در مطالعه خود نشان دادند که نانوذرات سلنیوم در تمامی غلظت و زمان های مورد استفاده اثر معنی داری را در مقایسه با گروه کنترل موجب شده است در حالیکه نانوذرات نقره در زمان ۱۰ و ۲۰ دقیقه اثر معنی داری را در مقایسه با کنترل موجب نشده است. بطور کلی نانوذرات سلنیوم اثر بخشی بیشتری را در مقایسه با نانوذرات نقره از خود نشان دادند و به عنوان ترکیبی با پتانسیل بالا برای مطالعات بیشتر درون تنی و درمان های ترکیبی پیشنهاد شده است (۲۹).

با در نظر گرفتن منشأ طبیعی متول، همچنین استفاده گسترده از این ماده در صنایع آرایشی-بهداشتی و غذایی، و نیز دسته بندی این ترکیب به عنوان به طور کلی ایمن شناخته شده (GRAS) و سمیت اندک آن (دوز کشنده ۵۰: ۳۴۰۰ mg/kg برای موش سوری) این ماده با غلظت ۱۶٪ به عنوان فرآورده ی بدون نیاز به نسخه مورد تایید قرار گرفته است (۱۸). با توجه به موارد ذکر شده و با در نظر داشتن خواص اسکولکس کشی بسیار مناسب از نانومتول در مطالعه حاضر، مطالعات بیشتر به منظور تحقیق و توسعه ی این ترکیب به عنوان یک اسکولکش کش جدید ضروری به نظر میرسد.

ناپونی و همکاران خاصیت اسکولکس کشی نانوذرات کیتوزان حاوی کورکومین را در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار داده و ۶۸٪ مرگ و میر را در غلظت ۴ میلی گرم بر میلی لیتر از این ماده گزارش نمودند (۱۷). مقایسه نتایج این مطالعه با مطالعه ی حاضر نشان می دهد که نانومتول اثر کشندگی بیشتری را موجب شده است و اثر اسکولکس کشی قویتری نسبت به نانوذرات کیتوزان حاوی کورکومین داشته است. نوروزی و همکاران در بررسی اثر اسکولکس کشی نانوذرات اکسید روی گزارش نمودند که این نانوذرات در غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر در زمان ۱۰ دقیقه ۱۹/۶٪ مرگ و میر را ایجاد نموده است و به عنوان اسکولکس کش قوی عمل نکرده است (۱۴). از سوی دیگر، در مطالعه حاضر اثرات اسکولکس کشی قابل توجهی از نانومتول مشاهده شده است که می توان این ماده را به عنوان یک اسکولکس کش کارآمد مطرح نماید.

ناپولی و همکاران در سال ۲۰۱۹ اثرات نانو ذرات طلا را بر روی پروتواسکولکس های کیست هیداتیک در شرایط آزمایشگاه با غلظت های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر در زمانهای ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت و نشان دادند در تمام غلظت ها نانو ذرات طلا اثر اسکولکس کشی مناسبی از خود در مقایسه با گروه شاهد نشان می دهند (۲۵). مهدی زاده بختیار و همکاران در سال ۲۰۱۹ بررسی آناتیمورف های نانو ذرات آلیندازول بر روی پروتواسکولکس های کیست آلوئولار و کیست هیداتیک تک حفره ای را در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که نانو ذرات بنزیمیدازول در مقایسه با بنزیمیدازول ها بر روی پروتواسکولکس ها اثرات بهتر و موثرتری از خود



8. Horton RJ. (1997). Albendazole in treatment of human cystic echinococcosis: 12 years of experience. *Acta tropica*. **64**: 79-93.
9. Pawlowski Z.S, Eckert D.A, Vuitton R.W, Ammann P, Kern P.S, Craig F.K. (2001). Echinococcosis in humans: clinical aspects, diagnosis and treatment. *Todorov Journal*. **66**: 20-66.
10. Shaw J.M, Bornman P.C. Krige J.E. (2006). Hydatid disease of the liver. *South Africa Journal Science*. **44**: 70-77.
11. Salehi N, Rouhani S, Kamalinejad M, Zayeri F, Motaghifar A. (2014). Scolicidal effects of Berberis vulgaris fruit extract on hydatid cyst protoscolices. *Tehran University Medical Journal*. **72**:121-128.
12. Youssefi A.R, Youssefi M.R., Abouhosseini Tabari M. (2020). Comparison of the in vitro effect of Cannabis sativa Essential Oil with Albendazole on Protoscolices of Hydatid Cyst. *Journal Gorgan University Medical Science*. **21**:107-113.
13. Moazeni M, Saharkhiz MJ, Alavi A. (2019). The lethal effect of a nano emulsion of Satureja hortensis essential oil on protoscolices and germinal layer of Hydatid cysts. *Iranian Journal of Parasitology*. **14**: 214-219.
14. Norouzi R, Hejazi M, Ataei A. (2019). Scolicidal activity of Zinc oxide nanoparticles against Hydatid cyst protoscolices in vitro. *Nanomedicine Research Journal*. **4**: 23-28.
15. Hazrati Tappeh K.H, Einshaei A, Mahmudloo R, Mohammadzadeh H, Tahermaram M, Mousavi S.J. (2011). Effect of different concentrations of hypertonic saline at different times on protoscolices

#### منابع

1. Ammann R, Eckert J. (1995). Clinical diagnosis and treatment of echinococcosis in human. *Centrefor Agriculture and Bioscience International, Wallingford, UK*. **56**: 411-463.
2. Gholami S.H, Rahimi-Esboei B, Ebrahimzadeh M.A, Pourhajibagher M. (2013). In vitro effect of Sambucus ebulus on scolices of Hidatid cysts. *European Review for Medical and Pharmaological Science*. **17**:1760-1765.
3. Horton R.J. (2003). Albendazole for the treatment of echinococcosis. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. **17**: 205-212.
4. Hosseini MJ, Youssefi MR, Abouhosseini M. (2017). Comparison of the Effect of Artemisia Sieberi Essential Oil and Albendazole Drug on Protoscolices of Hydatid Cyst under in Vitro Conditions. *Journal of Babol University of Medical Sience*. **19**:63-68
5. Mahmoudvand H, Mirbadie S.R, Kia M.G, Badparva E, Lori S.S, Harandi M.(2016). Efficacy of pistacia khinjuk fruits on viability of hydatid cyst protoscoleces and its acute toxicity in mice model. *Iranian journal of Parasitology*. **11**: 383.
6. Moazeni M, Nazer A. (2010). Invitro Effectiveness of Garlic (Allium sativum) Extract on Scolices of hydatid cyst. *World Journal of Surgery*. **34**: 2677-2681.
7. Moazeni M, Larki S, Saharkhiz M.J, Oryan A, Lari M.A, Alavi A.M.(2014). In Vivo Study of the Efficacy of the Aromatic Water of Zataria multiflora on Hydatid Cysts. *Antimicrobial agents chemotherapy*. **58**: 6003-6008.

22. Maggiore M.A, Albanese A.A, Gende L.B, Eguaras M.J, Denegri G.M, Elissondo M.C. (2012). Anthelmintic effect of Mentha spp. essential oils on Echinococcus granulosus protoscoleces and metacestodes. *Parasitology Research*. **110**:1103–1112.
23. Zaia M.G, Cagnazzo T.D. O, Feitosa K. A, Soares E.G, Faccioli L.H, Allegretti S.M, (2016). Anti-inflammatory properties of menthol and menthone in Schistosoma mansoni infection. *Frontiers in pharmacology*. **7**: 170-176.
24. Date A.A, Joshi M.D, Patravale V.B. (2017). Parasitic diseases: liposomes and polymeric nanoparticles versus lipid nanoparticles. *Advanced drug delivery reviews*. **59**:505-521.
25. Napooni S., Arbabi M., Delavari M., Hooshyar H. Rasti S. (2019). Lethal effects of gold nanoparticles on protoscolices of hydatid cyst: in vitro study Comparative. *Clinical Pathology*, **28**: 143–150.
26. Mehdizad Bakhtiar N., Akbarzadeh A., Casulli A., Mahami-Oskouei M., Ahmadpour E., Nami S., Rostami A. Spotin A. (2019). Therapeutic efficacy of nanocompounds in the treatment of cystic and alveolar echinococcoses: challenges and future prospects *Parasitology Research*, **118**: 2455–2466.
27. Karimi Yazdi M., Haniloo A., Ghaffari A., Torabi N. (2020). Antiparasitic effects of Zataria multiflora essential oil nano-emulsion on larval stages of Echinococcus granulosus. *Journal of Parasitic Diseases*, **44**: 429–435.
28. Tabari M.A., Youssefi M.R., Nasiri M., Hamidi M., Kiani K., Alian S., Maggi F. (2019). Towards green drugs against cestodes: Effectiveness of Pelargonium of hydatid cyst isolated from liver and lung. *Acta Parasitologica Turica / Turkish Society for Parasitology*. **35**: 148-150.
16. Moazeni M, Borji H, Saboor dehbandi M, Saharkhiz MJ. (2017). In vitro and in vivo antihydatid activity of a nano emulsion of Zataria multiflora essential oil. *Research in Veterinary Science*. **114**: 308-312.
17. Napooni S, Delavari M, Arbabi M, Barkheh H, Rasti S, Hooshyar H., (2019). Scolicidal effects of chitosan–curcumin nanoparticles on the hydatid cyst protoscolices. *Acta Parasitologica*. **64**: 367-375.
18. Wang Y, Wang X, Yang Z, Zhu G, Chen D, Meng Z. (2012). Menthol inhibits the proliferation and motility of prostate cancer DU145 cells. *Pathology & Oncology Research*. **18**: 903-910.
19. Caglar R, Yuzbasioglu MF, Bulbuloglu E, Gul M, Ezberci F, Kale IT. (2008). In vitro effectiveness of different chemical agents on scolices of Hydatid cyst. *Journal of Investigative Surgery*. **21**: 71-75.
20. Dehkordi A.B, Sanei B, Yousefi M, Sharafi S.M, Safarnezhad F, Jafari R., (2019). Albendazole and treatment of hydatid cyst: review of the literature. *Infectious Disorders- Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*. **19**:101-104.
21. Youssefi M.R., Nikpay A., Hassanpour N., Mirzapour A., Saleh Tabari P., Pavela R., Maggi F., Petrell R. (2020). In Vitro Scolicidal Activity of the Sesquiterpenes Isofuranodiene, - Bisabolol and Farnesol on Echinococcus granulosus Protoscoleces. *Molecules*. **25**: 3593-3603.

roseum and *Ferula gummosa* essential oils and their main component on *Echinococcus granulosus* protoscoleces. *Veterinary Parasitology*, **266**: 84–87.

29. Nematollahi A., Shahbazi P., Rafat A., Ghanbarlu M. (2018). Comparative survey on scolicidal effects of selenium and silver nanoparticles on protoscolices of hydatid cyst. *Open veterinary journal*, **8**: 374-377.