



The evaluation of iron oxide, zinc oxide and aluminum oxide nanoparticles on the pre-parasitic stages of *Trichostrongylid* gastrointestinal nematodes in small ruminants

Sara Larki¹ | Alireza Alborzi² | Javad Jamshidian³ | Fatemeh Madankan⁴

1. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: s.larki@scu.ac.ir
2. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: a.alborzi@scu.ac.ir
3. Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: j.jamshidian@scu.ac.ir
4. Corresponding Author, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: f_madankan@scu.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:

Received 9 November 2024
Received in revised form
11 February 2025
Accepted 15 February 2025
Published online 4 May 2025

Keywords:

Aluminum oxide
Iron oxide
Nanoparticles
Trichostrongylid
Zinc oxide

ABSTRACT

Objective: Due to the development of resistance to common anthelmintic drugs, researchers are looking for efficient and cost-effective ways to combat parasitic infections. Nanoparticles are currently being used for biomedical applications due to their nanoscale size and high reactivity. Given the high prevalence of trichostrongylosis in small ruminants, any disruption in the development of the pre-parasitic stages can play an important role in the control and prevention of the disease. Nanoparticles, as a new, safe, cheap and available antiparasitic agent, can play an important role in reducing the incidence of gastrointestinal strongylosis in ruminants.

Method: A number of sheep feces samples were collected directly from the rectum of the animal and examined for parasitic infections with *Strongyloides* eggs using the fecal flotation method. Then, feces culture was performed on samples infected with *Strongyloides* eggs under appropriate temperature and humidity conditions for seven to 10 days. After 24 to 48 hours of cultivation, the first and second stage (L1 and L2) trichostrongylid larvae in the culture medium were collected using the Berman method and exposed to metal nanoparticle oxides such as aluminum, zinc, and iron in combination with 5% dimethyl sulfoxide (DMSO) and once without DMSO. Also, the third stage (L3) trichostrongylid larvae were exposed to these nanoparticles after stool culture and isolation using the Berman method. Then, the mortality rate of each larva was examined and counted under a stereomicroscope according to their movement. Distilled water and albendazole were used as negative and positive controls of the experiments, respectively. In order to examine the ultrastructural surface of the larvae cuticle treated with nanoparticles, a number of L3 trichostrongylid larvae were prepared before exposure to nanoparticles and after exposure using a scanning electron microscope (SEM).

Results: The real mortality rates of L1 and L2 larvae treated with aluminum oxide at concentrations of 0.02, 0.04, and 0.06 mg/ml were 23.9, 44.66, and 70.85%, respectively, zinc oxide were 43.03, 51.30, and 95.92%, respectively, and iron oxide were 84.33, 42.96, and 48.98%, respectively. No mortality was observed in the treatment group exposed to metal nanoparticles in L3 larvae. In the scanning electron microscope images were observed the cuticular layer of L1 and L2 trichostrongylid larvae treated with iron oxide nanoparticles had a rough and wrinkled appearance compared to the smooth and uniform appearance of the normal larvae.

Conclusion: Based on the results, and considering the low price and availability of iron and zinc nanoparticles, they can be widely used as a preventive agent against trichostrongylosis in small ruminants in pastures.

Cite this article: Larki, S., Alborzi, A., Jamshidian, J., & Madankan, F. (2025). The evaluation of iron oxide, zinc oxide and aluminum oxide nanoparticles on the pre-parasitic stages of *Trichostrongylid* gastrointestinal nematodes in small ruminants. *Journal of Animal Production*, 27 (1), 107-119. DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2025.381902.623804>



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2025.381902.623804>

Publisher: University of Tehran Press.



ارزیابی نانوذرات اکسید آهن، اکسیدروی و اکسید آلومینیوم بر مراحل پیش انگلی نماتودهای گوارشی تریکوسترونژیلید در نشخوار کنندگان کوچک

سارا لرکی^۱ | علیرضا البرزی^۲ | جواد جمشیدیان^۳ | فاطمه معدن کن^۴

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. رایانامه: s.larki@scu.ac.ir
۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. رایانامه: a.alborzi@scu.ac.ir
۳. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. رایانامه: j.jamshidian@scu.ac.ir
۴. نویسنده مسئول، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. رایانامه: f_madankan@scu.ac.ir

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۹

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۱/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۲۷

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۲/۱۴

هدف: به دلیل توسعه مقاومت به داروهای ضد کرمی رایج، پژوهشگران به دنبال راه‌های کارآمد و مقرون به صرفه برای مقابله با عفونت‌های انگلی هستند. نانوذرات به دلیل اندازه نانو مقیاس و سطح واکنش پذیری بالا در حال حاضر برای کاربردهای زیست پزشکی استفاده می‌شوند. با توجه به شیوع بالای تریکوسترونژیلوزیس در نشخوار کنندگان کوچک هرگونه اختلال در سیر تکاملی مراحل پیش انگلی می‌تواند نقش مهمی در کنترل و پیشگیری از بیماری داشته باشد. نانوذرات به عنوان یک عامل ضد انگلی جدید، ایمن، ارزان و در دسترس می‌تواند نقش مهمی در کاهش میزان استرونژیلوزیس گوارشی در نشخوار کنندگان داشته باشد.

روش پژوهش: تعدادی نمونه مدفوع گوسفندی پس از جمع‌آوری مستقیم از رکتوم حیوان، از نظر آلودگی به تخم‌های استرونگل فرم به کمک روش شناسایی مدفوع بررسی انگلی انجام گرفت. سپس کشت مدفوع بر روی نمونه‌های آلوده به تخم‌های استرونگل فرم در شرایط دمایی و رطوبت مناسب در مدت هفت تا ۱۰ روز صورت گرفت. پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت از کشت، نوزادان مراحل اول و دوم (L1 و L2) تریکوسترونژیلیدهای موجود در محیط کشت به کمک روش برمن جمع‌آوری و در مواجهه با اکسید نانوذرات فلزی مانند آلومینیوم، روی و آهن در ترکیب با دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) پنج درصد و یکبار بدون حضور DMSO قرار گرفتند. همچنین نوزادان مرحله سوم عفونت‌زای (L3) تریکوسترونژیلیدها پس از کشت مدفوع و جداسازی توسط روش برمن در معرض اکسید این نانوذرات قرار گرفتند. سپس میزان مرگومیر هریک از نوزادان در زیر استرومیروسکوپ با توجه به حرکت آن‌ها مورد بررسی و شمارش قرار گرفت. از آب مقطر و آلبندازول به ترتیب به عنوان کنترل منفی و مثبت آزمایشات استفاده گردید. به منظور بررسی فراساختاری سطح کوتیکول نوزادهای تیمار شده با نانوذرات، تعدادی نوزاد L3 تریکوسترونژیلید قبل از مواجهه با نانوذرات و پس از مواجهه به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) آماده‌سازی گردیدند.

یافته‌ها: درصد مرگومیر واقعی در نوزادان L1 و L2 تیمار شده با اکسید آلومینیوم در غلظت‌های ۰/۰۲ و ۰/۰۴ و ۰/۰۶ میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب ۹/۲۳ و ۴۴/۶۶ و ۷۰/۸۵ درصد، اکسیدروی به ترتیب ۴۳/۰۳، ۵۱/۳۰ و ۹۵/۹۲ درصد و اکسید آهن به ترتیب ۳۳/۸۴، ۹۶/۴۲ و ۹۸/۴۸ درصد بود. در گروه تیمار مواجهه نانوذرات فلزی با لارو L3 مرگومیری مشاهده نگردید. در تصاویر به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مشاهده گردید، لایه کوتیکولی لاروهای L1 و L2 تریکوسترونژیلیدهای تیمار شده با نانوذرات اکسید آهن واجد ظاهری ناصاف و چروکیده در مقایسه با ظاهر صاف و یکنواخت لاروهای طبیعی بودند.

نتیجه گیری: براساس نتایج حاصل و با توجه به ارزیابی قیمت و در دسترس بودن نانوذرات آهن و روی می‌توان از آن‌ها به عنوان عامل پیشگیرانه از بیماری‌های تریکوسترونژیلوزیس نشخوار کنندگان کوچک در مراتع به طور وسیع استفاده نمود.

کلیدواژه‌ها:

اکسید آلومینیوم

اکسید آهن

اکسیدروی

تریکوسترونژیلید

نانو ذرات

استناد: لرکی، سارا؛ البرزی، علیرضا؛ جمشیدیان، جواد و معدن کن، فاطمه (۱۴۰۴). ارزیابی نانوذرات اکسید آهن، اکسیدروی و اکسید آلومینیوم بر مراحل پیش انگلی نماتودهای گوارشی تریکوسترونژیلید در نشخوار کنندگان کوچک. نشریه تولیدات دامی، ۲۷ (۱)، ۱۰۷-۱۱۹.

DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2025.381902.623804>



مقدمه

در سراسر جهان، هزینه‌های سالانه مرتبط با بیماری‌های انگلی در گوسفند و گاو بدون احتساب زیان تولید، ده‌ها میلیارد دلار تخمین زده می‌شود (Roeber et al., 2013). بنابراین برای کنترل عفونت و کاهش تلفات باید فوراً اقدامات درمانی و پیشگیرانه مؤثرتری انجام داده شود. یکی از مهمترین عوامل انگلی التهابات گوارشی در نشخوارکنندگان کوچک در مناطق معتدل و گرمسیری جهان، نماتودهای خانواده تریکوسترونژیلیده از راسته استرونژیلیدا می‌باشد که پس از بلع لارو عفونی‌زای مرحله سوم (L3) همراه با علوفه توسط نشخوارکنندگان کوچک (گوسفند و بز) ایجاد می‌شود. کرم بالغ در شیردان و روده میزبان استقرار یافته و آسیب‌های مکانیکی ناشی از نماتود و پاسخ التهابی و ایمنی میزبان موجب درگیری دستگاه گوارش حیوان و عوارض ناشی از آن می‌شود. بیماری‌زایی تریکوسترونژیلیده‌های نشخوارکنندگان بسته به جنس و گونه انگل از متوسط تا شدید ارزیابی می‌گردد. از جمله گونه‌های نماتودپروس و مارشالایا مارشالی موجب تغییرات پاتوفیزیولوژیک و بافت‌شناسی مختلف و کاهش تولیدات در گوسفند می‌شود (Moradpour et al., 2013). همچنین همونکوس کونتورتوس که از نماتودهای خونخوار دستگاه گوارش گوسفند و بز می‌باشد، موجب بروز عوارض ناشی از کم‌خونی، لاغری و اسهال در دام‌های آلوده می‌گردد (Roberts et al., 2000). بنابراین آلودگی‌های ناشی از نماتودهای تریکواسترژیلیدی در صنعت دامپروری و کشاورزی زیان‌های اقتصادی فراوانی همراه با کاهش وزن و تولیدات دام، ضبط ارگان‌های آلوده پس از ذبح و مرگ‌ومیر حیوانات آلوده ایجاد می‌کند (Tsetetsi et al., 2003).

در حال حاضر، استراتژی اصلی برای کنترل نماتودهای انگلی، استفاده از داروهای ضدکرمی رایج مانند آلبندازول، آبورمکتین و لوامیزول در مراحل مختلف تکاملی نماتودها می‌باشد. با این حال، این اقدام کنترلی و درمانی، هزینه بالایی دارد و معمولاً به‌طور نسبی بر علیه نماتودهای تریکواسترژیلیدی مؤثر می‌باشند. علاوه بر این، نماتودها به‌دلیل مقاومت ناشی از استفاده بیش از حد و مکرر از داروهای ضدکرمی، دیگر به‌طور مطلوب به داروهای موجود پاسخ نمی‌دهند (Roeber et al., 2013). امروزه مبارزه شیمیایی و استفاده از سموم ضد انگلی در عمل بهترین نتایج کاربردی را در پیشگیری و کنترل بیماری‌های انگلی به‌دنبال داشته است. سمپاشی معمولاً جهت مبارزه با انگل‌های خارجی دام و انسان متداول است. از آنجایی که بخشی از سیرتکاملی بسیاری از نماتودهای خانواده تریکوسترونژیلیده در محیط و محل نگهداری دام صورت می‌گیرد، هرگونه گسستگی و اختلال در چرخه زندگی انگل در محیط زندگی و چرای حیوان علاوه بر محیط درونی بدن، می‌تواند منجر به کاهش آلودگی دام‌ها و خسارت‌های اقتصادی دامداران منتهی گردد. بنابراین به‌دلیل توسعه مقاومت به داروهای ضدکرمی رایج، پژوهش‌گران به‌دنبال راه‌های کارآمدتر و مقرون‌به‌صرفه‌تری برای مقابله با عفونت انگلی هستند. اگرچه برخی از آن‌ها واکسن‌های نو ترکیب جدیدی را برای کنترل نماتودهای انگلی پیشنهاد کرده‌اند (Nisbet et al., 2016; Sharma et al., 2015). برخی دیگر بر روی نانوذرات به‌عنوان یک عامل ضد انگلی جدید، ایمن، ارزان و در دسترس تمرکز کرده‌اند (Tomar et al., 2017).

نانوذرات (NPs) به‌دلیل اندازه نانو مقیاس و سایر خواص قابل توجه، از جمله سطح واکنش‌پذیری بالا در حال حاضر برای کاربردهای زیست‌پزشکی استفاده می‌شوند (Adeyemi et al., 2013). این ذرات می‌توانند مولکول‌های اکسیژن فعال (ROS) تولید کنند که توانایی کشتن میکروارگانیسم‌های عفونی را دارند (Bhardwaj et al., 2012; Butkus et al., 2004). علاوه بر این، ابعاد کوچک نانوذرات به آن‌ها اجازه عبور از موانع غشایی را می‌دهد که منجر به واکنش‌پذیری بیش‌تر آن‌ها می‌شود (Adeyemi et al., 2014).

در سال‌های اخیر، بسیاری از نانوذرات به‌عنوان یک عامل ضدکرم موردتوجه بوده و برخی از آن‌ها برای کنترل انواع متعددی از انگل‌ها موردارزیابی قرار گرفته است. Wang et al. (2009)، میزان مرگ‌ومیر نانوذرات اکسیدروی، اکسید

آلومینیوم و اکسید تیتانیوم را در تخم‌های سنورابدیتیس/گانس بررسی کرده‌اند. نتایج پژوهش‌های آنان نشان داد، که هر دو نانوذره‌ها سمی بودند و رشد و به‌ویژه قابلیت تولید مثل نماتود را مهار می‌کردند. LC50 در مدت ۲۴ ساعت برای نانوذرات اکسیدروی ۳/۲ میلی‌گرم بر لیتر و یون محلول روی تفاوت معنی‌داری نداشت، اما بین نانوذرات آلومینیوم (Al_2O_3) به میزان ۱۵۳ میلی‌گرم بر لیتر و دی‌اکسیدتیتانیوم تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. مطالعات آزمایشگاهی اثربخشی محلول‌های نانوذرات نقره و داروی گلکانتیم بر روی آماسیگوت‌های لیسمانیا مازور پس از قرارگرفتن در معرض ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نشان داد که میانگین تکثیر آماسیگوت‌های لیسمانیا مازور در هر دو گروه نانوذرات نقره و گلکانتیم کاهش یافته بود و بیش از ۸۵ درصد از ماکروفاژهای آلوده به لیسمانیا را از بین برده بود (Mohammadi et al., 2021). همچنین نانوذرات سولفید آنتیموان بر تکثیر فرم پروماستیگوت لیسمانیا/اینفانتوم تأثیر قابل‌توجهی دارد. این روند سمیت سلولی نانوذرات سولفید آنتیموان وابسته به دوز بود یعنی با افزایش غلظت این نانوذره، منحنی سمیت سلولی افزایش و منحنی زنده‌ماندن انگل به‌طور همزمان کاهش می‌یافت. از سوی دیگر، نانوذرات سولفید آنتیموان دارای اثر سمیت کم بر ماکروفاژهای غیرعفونی بود و می‌توانست فرایند آپوپتوز (مرگ خودخواسته سلولی) را در مرحله پروماستیگوت القا کند (Soflaei et al., 2012). همچنین نانوذره نقره در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پس از ۱۲۰ دقیقه مواجهه با پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک به‌ترتیب ۸۳ و ۹۰ درصد مرگ‌ومیر را نشان داد که اثر اسکولکس کشی قابل‌توجهی است (Rahimi et al., 2015). همچنین نانوذرات نقره بر روی همونکوس کونتوروس دارای خاصیت ضدکرمی و کاهش‌دهندگی پارامترهای تغذیه‌ای می‌باشد (Tomar et al., 2017). علاوه بر این تأثیرات کنه‌کشی نانوذرات اکسیدروی نیز نشان داد که نانوذرات اکسیدروی سنتز شده پس از یک، سه، شش و ۱۲ ساعت مواجهه با کنه ریپی سفالوس میکروپلوسا به‌ترتیب موجب تلفات در کنه‌ها به میزان ۴۳، ۶۴، ۷۸ و ۱۰۰ درصد می‌شوند (Kirthi et al., 2011). همچنین اثرات ضد کنه‌ای آن بر کنه پدیکولوس هومانوس کپیتیس مشخص کرد که میزان مرگ‌ومیر ۳۸، ۷۱، ۸۳ و ۱۰۰ درصد کنه‌ها به‌ترتیب در زمان‌های ۱۰، ۳۰ دقیقه، یک ساعت و شش ساعت مواجهه با کنه‌های این گونه در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر این نانوذره مشاهده گردید (Kirthi et al., 2011). بنابراین، با توجه به شیوع بالای درگیری نشخوارکنندگان کوچک ایران به نماتودهای تریکوسترونژیلید گوارشی، مبارزه ضد انگلی بر مراحل تکاملی پیش انگلی آن‌ها در محیط نگهداری و چرای دام از اهمیت بالایی برخوردار است. لذا در مطالعه حاضر به بررسی برخی از نانوذرات فلزی بر مراحل پیش انگلی نماتودهای خانواده تریکوسترونژیلید پرداخته شد.

۲. روش پژوهش

۲.۱. جمع‌آوری نمونه‌های مدفوعی

در این مطالعه تعداد ۹۰۰ نمونه‌های مدفوع درون رکتوم گوسفند و بز به جهت عدم آلودگی مدفوع به نماتودهای آزادزی همراه با انتهای لوله گوارش (رکتوم) به‌صورت تازه از تاریخ ۱۰ اردیبهشت‌ماه ۱۴۰۱ تا تاریخ ۳۱ فروردین‌ماه ۱۴۰۲ و در تمام فصول سال از کشتارگاه‌های اهواز و آبادان جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها بعد از انتقال به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز، به‌طور مجزا از لحاظ آلودگی به انگل‌های تریکوسترونژیلید دستگاه گوارش نشخوارکنندگان به‌روش کلیتون‌لین (روش شناورسازی تخم‌های انگلی) مورد مطالعه قرار گرفتند و تعداد تخم در هر گرم مدفوع (EPG) برای هر نمونه تعیین و شناسایی شد. نمونه‌های مدفوع با EPG بالای آلودگی به تخم‌های تریکوسترونژیلید، جهت کشت مراحل لاروی نماتود و سپس بررسی تأثیر اکسید نانوذرات فلزی در یک ظرف بزرگ جمع‌آوری و همگن شد.

۲.۲. کشت مدفوع و جداسازی نوزادان عفونت زای تریکوسترونژیلید

میزان شش گرم از نمونه مدفوع آلوده جمع‌آوری شده در ظروف کشت جداگانه ریخته شد. ظروف کشت برای رشد مراحل اول و دوم نوزادی (L1 و L2) به مدت ۴۸ ساعت و L3 به مدت هفت تا ۱۰ روز در شرایط محیطی مناسب با دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت‌رسانی و هوادهی روزانه قرار داده شد. سپس با استفاده از روش برمن یک‌بار نوزادان L1 و L2 و در مرحله بعد نوزادهای L3 به‌طور جداگانه از مدفوع جداسازی و در یخچال نگهداری شدند تا در مرحله بعد مطالعه در مواجهه با اکسید نانوذرات فلزی مختلف قرار گیرند. تمامی آزمایش‌ها در سه گروه تکرار مستقل انجام شد.

۳.۲. تهیه محلول اکسید نانوذرات فلزی

پس از تهیه اکسید نانوذرات فلزی روی، آهن، آلومینیوم از شرکت معتبر تجاری (نانو مواد گستران پارس، تهران، ایران)، غلظت‌های ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر آب مقطر محلول‌های یکنواخت تهیه گردید. برای همگن‌شدن نانوذرات فلزی و افزایش سطح تماس نانوذرات با لاروهای نماتودی، هریک از نانوذرات قبل از مواجهه با لاروها به کمک دستگاه اولتراسونیک سونیکاتور (Bandelin، آلمان)، در معرض امواج اولتراسونیک پنج پالس که هر پالس شامل ۸۰ سیکل ۱۵ ثانیه‌ای بود، قرار گرفتند. از داروی آلبندازول به‌عنوان کنترل مثبت و در گروه کنترل منفی به‌جای نانوذرات از آب مقطر استریل استفاده گردید. همچنین جهت افزایش نفوذپذیری نانوذرات و مرگ‌ومیر نوزادان، تمامی آزمایش‌ها در غلظت‌های مختلف گروه‌های تیمار و کنترل در دو گروه با حضور دی متیل سولفوکساید (DMSO) پنج درصد و بدون آن صورت گرفت تا بهترین غلظت تأثیرگذار بر میزان مرگ‌ومیر نوزادان انگلی به‌دست آید.

۴.۲. مواجهه نوزادان L1 و L2 تریکوسترونژیلید با محلول اکسید نانوذرات فلزی

پس از گذشت ۴۸ ساعت از کشت نمونه‌های مدفوع آلوده نماتودی و مشاهده آن‌ها در زیر میکروسکوپ نوری، محلول‌های نانوذرات اکسید آهن، روی و آلومینیوم آماده شده با غلظت‌های ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ۱ به‌کمک اسپری آب‌پاش بر روی ظروف کشت مدفوع در گروه‌های تیمار به‌طور مجزا یک‌بار همراه با DMSO پنج درصد و یک‌بار بدون آن پاشیده شد. سپس به مدت پنج تا هفت روز در همان شرایط کشت نگهداری شده و در انتها لاروهای تیمار شده با استفاده از روش برمن جمع‌آوری شدند. سپس درصد مرگ‌ومیر لاروها براساس میزان تحرک (به مدت ۲۰ ثانیه)، مورفولوژی و واکنش آن‌ها در برابر محرک‌های فیزیکی در شرایط یکسان در زیر میکروسکوپ نوری بررسی و شمارش گردید.

۵.۲. مواجهه نوزادان L3 تریکوسترونژیلید با محلول اکسید نانوذرات فلزی

پس از گذشت هفت تا ۱۰ روز از کشت نمونه‌های مدفوع آلوده نماتودی، نوزاد L3 با استفاده از دستگاه برمن جداسازی و جمع‌آوری شدند. جهت مواجهه با محلول‌های نانوذرات، تعداد ۲۵-۳۰ لارو زنده L3 (۳۰µl) شمارش و به میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال داده شد. سپس در معرض غلظت‌های مختلف ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و به میزان مشخص (۲۰۰µl) سوسپانسیون نانوذرات آلومینیوم، روی و آهن افزوده و در انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. همچنین آمفوتریپسین B جهت جلوگیری از رشد قارچ به میکروتیوپ‌ها افزوده گردید. گروه‌های کنترل مثبت (آلبندازول) و منفی (آب مقطر) در شرایط و غلظت‌های مشابه در مطالعه حاضر گنجانده شدند. سپس درصد مرگ‌ومیر لاروها براساس میزان تحرک (به مدت ۲۰ ثانیه)، مورفولوژی و واکنش آن‌ها در برابر محرک‌های فیزیکی در شرایط یکسان در زیر میکروسکوپ نوری بررسی و شمارش گردید.

۲.۶. روش آماری

برای بررسی همزمان پارامترهایی از قبیل مرگ‌ومیر و عدم توانایی نوزادان L1 و L2 در تبدیل شدن به نوزادان L3 قبل و بعد از مواجه با نانوذرات فلزی و همچنین مرگ‌ومیر نوزادان L3 قبل و بعد از مواجه با نانوذرات، میزان درصد مرگ‌ومیر واقعی در هر گروه تیمار و شاهد با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد.

$$\text{رابطه (۱)} = \text{درصد واقعی مرگ‌ومیر} \\ = [100 \times (\text{درصد مرگ‌ومیر گروه کنترل} - 100) / (\text{درصد مرگ‌ومیر گروه تیمار} - \text{درصد مرگ‌ومیر گروه کنترل})]$$

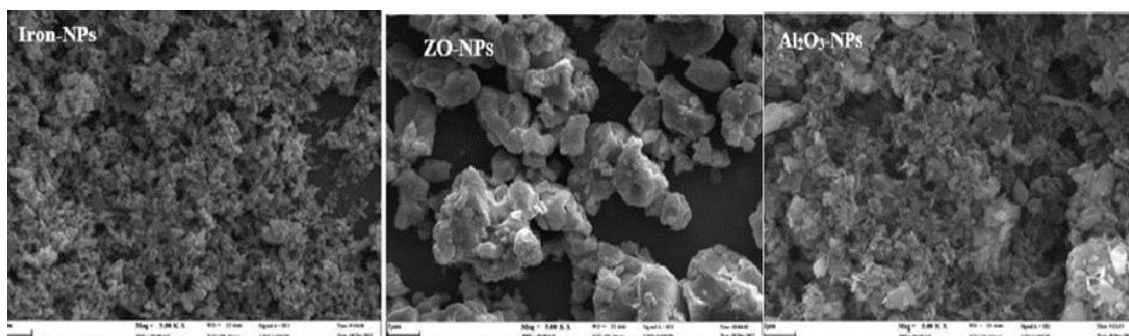
برای مقایسه گروه‌های تیمار و شاهد و بررسی روابط معنی‌داری آن‌ها از آزمون آماری تجزیه واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی LSD در نرم‌افزارهای آماری SPSS (نسخه ۱۶) در سطح معنی‌داری پنج درصد استفاده شد.

۲.۷. آماده‌سازی لاروها جهت تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

تعدادی نوزاد L3 تریکوسترونژیلید قبل از مواجهه با نانوذرات و پس از آن جهت عکس‌برداری سطوح خارجی لاروها به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) آماده‌سازی گردید. بدین صورت که نوزادان L3 تریکوسترونژیلید پس از شست‌وشو با محلول PBS، به مدت ۲۴ ساعت در گلو تار آلدئید ۲/۵ درصد در ترکیب با بافر ۰/۱ مولار سدیم کاکودیلات (۲/۷PH) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تثبیت و سپس به مدت یک تا سه ساعت در محلول تتراکسیداسمیوم در دمای ۴۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از آن جهت آبیگری به تدریج از رقت‌های ۳۰ الی ۱۰۰ درصد الکل اتانول عبور داده شدند و جهت عکس‌برداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) آماده شدند. همچنین برای تعیین کیفیت و ابعاد نانوذرات مورد مطالعه، پس از محلول‌سازی و انجام فرایند اولتراسونیک، به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از هر یک از نانوذرات تصویربرداری صورت گرفت.

۳. نتایج

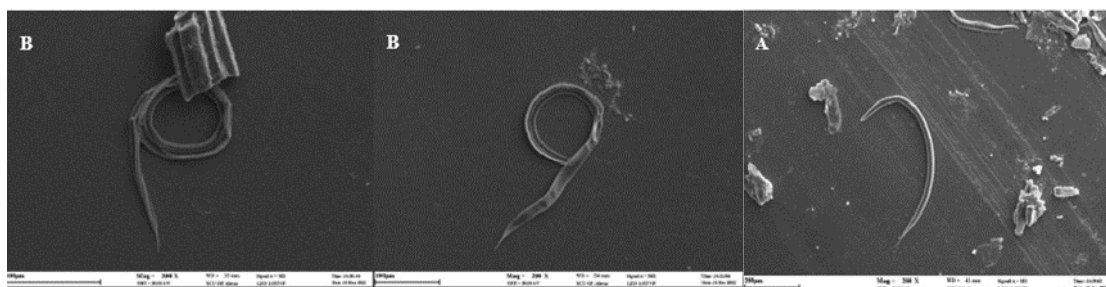
نتایج به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نشان داد که ابعاد نانوذرات اکسید آلومینیوم، آهن و روی حدود ۲۰-۸۰ نانومتر ارزیابی گردید. همان‌طور که تصاویر میکروسکوپ الکترونی اکسید نانوذرات مورد نظر نشان می‌دهد این ذرات به صورت جدا از هم و یا در اتصال به یکدیگر بودند که به کمک امواج اولتراسونیک تا حدودی مجزا کردن نانوذرات در اتصال به هم را تسهیل کرد (شکل ۱).



شکل ۱. ابعاد نانوذرات اکسید نانوذرات در زیر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) بزرگنمایی ۵۰۰X، آلومینیوم (Al₂O₃-NPs)، آهن (Iron-NPs) و روی (ZO-NPs) (منبع: یافته‌های پژوهش)

۳.۱. بررسی نوزادان L3 تیمار شده با نانوذرات زیر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

همان‌طور که در تصاویر به‌دست‌آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مشاهده می‌شود، لایه کوتیکولی لاروهای L1 و L2 تریکوسترونژیلیدهای تیمار شده با نانوذرات اکسید آهن (غلظت ۰/۰۶ mg/ml) ظاهری نامنظم (برجستگی و فرورفتگی) و چروکیده را نشان می‌دهد، درحالی‌که این لایه در لاروهای طبیعی ظاهری صاف و یکنواخت دارد (شکل ۲).



شکل ۲. نوزادان L1 و L2 تیمار شده با نانوذرات اکسید آهن (غلظت ۰/۰۶ mg/ml) (A) و کنترل (B) در زیر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) با بزرگمایی ۲۰۰X-۳۰۰X (منبع: یافته‌های پژوهش)

۳.۲. تأثیر DMSO بر نوزادهای L3 تریکوسترونژیلید

جهت افزایش نفوذپذیری نانوذرات و آلبندازول بر نوزادان L3 تریکوسترونژیلید، به بررسی اثر DMSO به‌تنهایی و نیز همراه با آلبندازول پرداخته شد. همان‌طور که جدول (۱) نشان می‌دهد DMSO موجب افزایش نفوذپذیری نوزادان L3 در مواجهه با داروی آلبندازول می‌شوند، همچنین با افزایش غلظت DMSO مرگ‌ومیر لاروها نیز در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌یابد (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین درصد مرگ‌ومیر نوزادان L3 در گروه تیمار مواجهه داده‌شده با غلظت‌های مختلف آلبندازول DMSO

غلظت آلبندازول (میلی‌گرم)	DMSO (درصد)	مرگ‌ومیر واقعی (درصد)
۳۰۰	صفر	۳۶/۷۴
	۱	۴۳/۳۰
	۲/۵	۴۷/۲۰
	۵	۵۶/۲۸
	۱۰	۵۸
۲۵۰	صفر	۲۵/۷۴
	۱	۳۳/۵۴
	۲/۵	۲۶/۷۱
	۵	۳۸/۲۸
	۱۰	۴۰/۴۱
۱۲۵	صفر	۱۴/۱۶
	۱	۲۱/۸۶
	۲/۵	۲۹/۴۷
	۵	۳۳/۱۴
	۱۰	۴۲/۸۱

همچنین جهت بررسی غلظت تأثیرگذار DMSO بر نفوذپذیری دارو بدون اثر مستقیم این ماده بر مرگ‌ومیر نوزادان L3، DMSO به‌تنهایی در غلظت‌های مختلف در مواجهه با نوزادان قرار گرفت تا غلظت تأثیرگذار بر نفوذپذیری دارو مشخص شود.

نتایج نشان داد که غلظت پنج درصد DMSO هیچ تأثیری در میزان مرگومیر نوزادهای L3 نداشت و بنابراین می‌توان از آن به‌عنوان تأثیرگذارترین و مناسب‌ترین غلظت DMSO که دارای بیش‌ترین اثر بر غلاف نوزادان L3 بوده اما آسیبی به بافت‌های داخلی نوزاد وارد نمی‌کند، نام برد (جدول ۲).

جدول ۲. درصد مرگومیر نوزادان L3 پس از مواجهه با درصدهای متفاوت DMSO

DMSO غلظت (درصد)	۵	۷/۵	۱۰	۱۲/۵	۲۵	۳۷	۵۰	۱۰۰
میزان مرگومیر (درصد)	۰	۴	۵	۵۷	۹۱	۹۴	۱۰۰	۱۰۰

۳.۳. تأثیر اکسید نانوذرات فلزی بر نوزادان L1 و L2 تریکوسترونژیلید

پس از کشت نوزادان L1 و L2 تیمار شده با غلظت‌های مختلف اکسید نانوذرات فلزی و جداسازی نوزادان L3، شمارش لاروهای مرده در زیر میکروسکوپ نوری (سه بار شمارش) انجام شد که نتایج آن در جدول (۳) آورده شده است. غلظت ۰/۰۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اکسید نانوذرات آهن، روی و آلومینیوم در ترکیب با پنج درصد DMSO به‌ترتیب با ۹۵/۹۲ و ۷۰/۸۵ درصد دارای بیش‌ترین میزان مرگومیر و غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدون DMSO این نانوذرات به‌ترتیب با ۱۳/۷۹، ۳/۴۰ و ۰/۸ درصد کم‌ترین میزان مرگومیر نوزادان L1 و L2 تریکوسترونژیلید را به خود اختصاص داده بودند (جدول ۳). در بررسی‌های آماری نیز نوزادان L1 و L2 در گروه‌های مختلف نانوذرات با گروه کنترل تفاوت داشتند ($P < 0.05$).

جدول ۳. میزان مرگومیر نوزادان L1 و L2 تریکوسترونژیلید در مواجهه با نانوذرات فلزی

اکسید نانوذرات	حضور / عدم حضور DMSO	غلظت (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	مرگومیر واقعی (درصد)
آلومینیوم	حضور DMSO	۰/۰۶	۷۰/۸۵ ^a
		۰/۰۴	۴۲/۶۶ ^a
		۰/۰۲	۹/۲۳ ^a
	عدم حضور DMSO	۰/۰۶	۹/۲۳ ^a
		۰/۰۴	۱/۷۲ ^a
		۰/۰۲	۰/۸ ^a
روی	حضور DMSO	۰/۰۶	۹۵/۹۲ ^b
		۰/۰۴	۵۱/۳۰ ^b
		۰/۰۲	۴۳/۰۳ ^b
	عدم حضور DMSO	۰/۰۶	۸۰/۳۷ ^b
		۰/۰۴	۲۵/۶۸ ^b
		۰/۰۲	۳/۴۰ ^b
آهن	حضور DMSO	۰/۰۶	۹۸/۴۸ ^c
		۰/۰۴	۹۶/۴۲ ^c
		۰/۰۲	۳۳/۸۴ ^c
	عدم حضور DMSO	۰/۰۶	۳۸/۲۳ ^c
		۰/۰۴	۳۵/۹۲ ^c
		۰/۰۲	۱۳/۷۹ ^c
آلیندازول (کنترل مثبت)	حضور DMSO	۰/۰۶	۱۰۰ ^d
		۰/۰۴	۱۰۰ ^d
		۰/۰۲	۹۰/۱۱ ^d
	عدم حضور DMSO	۰/۰۶	۱۰۰ ^d
		۰/۰۴	۱۰۰ ^d
		۰/۰۲	۱۰۰ ^d
کنترل منفی		آب	۳/۶ ^{abcd}

a-c: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است ($P < 0.05$).

۴.۳. تأثیر اکسید نانوذرات فلزی بر نوزادان L3 تریکوسترونژیلید

در این گروه باوجود تلاش‌های بسیار و مستمر به دلیل آن که لاروهای L3 تریکوسترونژیلید دارای یک غلاف کوتیکولی هستند، هیچ‌گونه مرگ‌ومیری در این گروه در مواجهه با اکسید نانوذرات آهن، روی و آلومینیوم مشاهده نگردید، اما در گروه کنترل مثبت با داروی آلبندازول در غلظت‌های ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ در یک میلی‌لیتر به ترتیب میزان مرگ‌ومیر ۴/۵۳، ۱۱/۵۴ و ۳۰/۳۰ درصد ثبت گردید که تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نشان دادند (جدول ۴).

جدول ۴. میزان مرگ و میر نوزادان L3 تریکوسترونژیلید در مواجهه با نانوذرات فلزی

اکسید نانوذرات	حضور / عدم حضور DMSO	غلظت (میلی گرم/میلی لیتر)	میزان واقعی مرگ و میر (درصد)
آلومینیوم	حضور DMSO	۰/۰۶	۰
		۰/۰۴	۰
		۰/۰۲	۰
	عدم حضور DMSO	۰/۰۶	۰
		۰/۰۴	۰
		۰/۰۲	۰
روی	حضور DMSO	۰/۰۶	۰
		۰/۰۴	۰
		۰/۰۲	۰
	عدم حضور DMSO	۰/۰۶	۰
		۰/۰۴	۰
		۰/۰۲	۰
آهن	حضور DMSO	۰/۰۶	۰
		۰/۰۴	۰
		۰/۰۲	۰
	عدم حضور DMSO	۰/۰۶	۰
		۰/۰۴	۰
		۰/۰۲	۰
آلبندازول	حضور DMSO	۰/۰۶	۳۰/۳۰ ^a
		۰/۰۴	۱۱/۵۴ ^a
		۰/۰۲	۴/۵۳ ^a
	عدم حضور DMSO	۰/۰۶	۰ ^a
		۰/۰۴	۰ ^a
		۰/۰۲	۰ ^a
کنترل منفی		آب	۰ ^b

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف نامشابه معنی‌دار است ($P < 0.05$).

۴.۴. بحث

کرم‌های خانواده تریکوسترونژیلیده از شایع‌ترین نماتودهای انگلی است که طیف وسیعی از حیوانات اهلی و وحشی را آلوده می‌کنند و در محدوده وسیعی از مناطق آب‌وهوایی از اکوسیستم‌های گرمسیری تا مناطق معتدل و حتی در قطب شمال نیز یافت شوند. آلودگی ناشی از این نماتودها می‌تواند موجب یبوست، کاهش اشتها و وزن، اسهال و حتی در موارد شدید مرگ را به دنبال داشته باشد. تریکوسترونژیلیدها سالانه میلیون‌ها نشخوارکننده را تحت تأثیر قرار می‌دهند که منجر به خسارت‌های اقتصادی قابل توجهی به دلیل کاهش تولید شیر، گوشت و پشم، کاهش وزن بدن و هزینه داروهای ضد کرم می‌شوند (Wang et al., 2017; Tariq, 2015).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نانوذرات آهن، روی و آلومینیوم بر مراحل پیش انگلی نماتودهای تریکوسترونژیلید در شرایط آزمایشگاهی مؤثر هستند که منجر به افزایش ۱۰۰ درصدی مرگ‌ومیر نوزادان L1 و L2 تریکوسترونژیلیدها در

غلظت‌های ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ درصد مشاهده گردید که با کاهش فعالیت و رشد انگل همراه می‌باشد. با این حال، مشخص شد که نانوذرات اکسید آهن مؤثرتر از اکسیدروی و اکسید آلومینیوم می‌باشد. درحالی که حتی در غلظت‌های بالاتر هیچ‌گونه تأثیری بر زنده‌مانی و تکامل لاروهای L3 نماتودهای خانواده تریکوسترونژیلید به‌علت غلاف کوتیکولی آن نداشتند.

مطالعات بسیاری به نقش ضدکرمی برخی از این نانوذرات فلزی پرداخته‌اند که نشان‌دهنده اهمیت این ترکیبات در دسترس، ایمن، غیرسمی و ارزان قیمت در قطع زنجیره تکاملی و چرخه زندگی انگل می‌باشد. Wang et al. (2009) بر روی سمیت نانوذره روی (ZnO) و آلومینیوم (Al_2O_3) در مقابل نماتود سنورابدیتیسی/گگانس پرداختند، آن‌ها نشان دادند که این نانوذرات سمی بوده و رشد و به‌ویژه قابلیت تولیدمثل نماتود را مهار می‌کنند. LC50 ۲۴ ساعته برای نانوذرات اکسیدروی (۲/۳ میلی‌گرم بر لیتر) و یون محلول روی تفاوت معنی‌داری نداشت، اما بین نانوذرات آلومینیوم (۸۵ میلی‌گرم بر لیتر) و آلومینیوم حجیم (۱۵۳ میلی‌گرم بر لیتر) تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. حلالیت اکسیدروی بر سمیت نانوذرات روی و آلومینیوم تأثیرگذار بود که با نتایج مطالعه حاضر و کشندگی اکسید نانوذرات روی و آلومینیوم در توافق است.

در پژوهشی که توسط تومار و همکاران (۲۰۱۷) در کشور هند بروی اثر ضد کرم نانوذره نقره به روی همونکوس کونتوروس انجام شد، مشاهده گردید که نانوذرات نقره واجد خاصیت ضد کرمی و کاهش‌دهنده پارامترهای تغذیه‌ای در همونکوس کونتوروس می‌باشند، بنابراین می‌توان از آن‌ها برای کنترل عفونت‌های تهدیدکننده و آسیب‌رسان ناشی از همونکوس کونتوروس در نشخوارکنندگان کوچک به‌خوبی استفاده کرد (Preet et al., 2017).

در پژوهشی که درستکار و همکاران (۲۰۱۷) در ارتباط با تأثیر نانوذرات اکسیدروی و اکسید آهن برای اثرات احتمالی ضد کرم در شرایط آزمایشگاهی بر توکسوکا/ویتولوروم انجام دادند، مشاهده گردید که هر دو نانوذره می‌توانند به‌طور قابل‌توجهی تحرک کرم را کاهش و میزان مرگ‌ومیر را افزایش دهند. هم‌چنین محتوای رادیکال‌های آزاد MDA و NO را نسبت به گروه کنترل به‌صورت وابسته به زمان و غلظت افزایش دهند. فعالیت سوپراکسیددسموتاز (SOD) با غلظت کم نانوذرات افزایش می‌یافت اما در ذرات بزرگتر کاهش می‌یافت.

هم‌چنین در مطالعه‌ای که توسط اسماعیل‌نژاد و همکاران (۲۰۱۸) به‌منظور ارزیابی بیومارکرهای استرس اکسیداتیو/نیتروژاتیو و آسیب DNA در همونکوس کونتوروس، به‌دنبال قرارگرفتن در معرض نانوذرات اکسیدروی صورت گرفت، مشاهده شد که غلظت‌های مختلف نانوذره در مدت ۲۴ ساعت مواجهه کرم‌ها در انکوباتور، بر میزان تحرک انگل، مرگ‌ومیر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (SOD، کاتالاز و GSH-Px)، پراکسیداسیون لیپیدی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل و هم‌چنین محتوای اکسید نیتریک (NO) و آسیب DNA سلولی تأثیر قابل‌توجهی می‌گذارد. این مطالعات نشان داد که نانواکسیدروی از طریق القای استرس اکسیداتیو/نیتروژاتیو و آسیب DNA، اثرات کرم کشی قابل‌توجهی را اعمال می‌کند.

در پژوهشی که توسط باغبانی و همکاران (۲۰۲۰) در مورد بررسی اثرات ضدانگلی نانوذرات اکسیدروی بر روی یکی از شایع‌ترین نماتودهای دستگاه گوارش، تلادورساحیا سیرکومسینتا انجام شد، مشخص گردید که نانوذره اکسیدروی بسته به زمان و غلظت مناسب، اثرات ضد کرم قابل‌توجهی دارد. علاوه بر این، یافته‌های بیوشیمیایی نشان داد که نانوذره اکسیدروی استرس اکسیداتیو/نیتروژاتیو شدید و آسیب DNA را در سلول‌های نماتودی القا می‌کند.

در مطالعه حاضر تأثیرگذاری ضد نوزاد تریکوسترونژیلیدی بالای نانوذرات اکسید آهن و روی را می‌توان به القای استرس اکسیداتیو/نیتروژاتیو در سلول‌های غشای سلولی نوزادان L1 و L2 نسبت داد. درحالی که لارو L3 نماتوهای که در محیط عفونت‌زا می‌شوند به‌دلیل داشتن غلافی از جنس کوتیکول مقاوم قادر به عبور هیچ‌گونه نانوذره‌ای نمی‌باشند و این غلاف همچون سدی در برابر نفوذپذیری نانوذرات مختلف عمل می‌کند. شاید همین امر دلیلی بر محدودبودن مطالعات نانوذرات بر نوزادان L3 نماتودهای تریکوسترونژیلید می‌باشد. هم‌چنین نوزادان L1 و L2 نماتودهای

تریکوسترونژیلید، برخلاف نوزاد L3 عفونت‌زای آن‌ها، تغذیه‌ای قابل‌توجهی داشته و علاوه بر نفوذپذیری نانوذرات از غشای سطح بدن، امکان تغذیه لاروها از نانوذرات پاشیده‌شده در محیط کشت نیز وجود دارد. مطالعه حاضر نشان داد که نانوذره اکسید آهن مؤثرتر از اکسیدروی و اکسید آلومینیوم در از بین بردن نوزادان آزادزی تریکوسترونژیلید در محیط می‌باشد. این امر می‌تواند به ماهیت نانوذرات مرتبط باشد. هر نانوذره با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاص خود مانند اندازه، سطح ویژه و واکنش‌پذیری سطح می‌تواند دارای رفتارهای نانوتوکسیکولوژیکی خاص باشند که بر عملکرد ضدکرمی هر نانوذرات تأثیر گذار می‌باشند که این آسیب به غشای سلولی در نهایت منجر به مرگ سلولی می‌شود. در مطالعه اخیر، مشاهده شد که تجویز DMSO در شرایط آزمایشگاهی در ترکیب با سایر نانوذرات فلزی موجب بهبود عملکرد ضدکرمی نانوذرات در غلظت پنج درصد می‌شود. این امر می‌تواند به علت تأثیر DMSO در افزایش نفوذپذیری غشای پلاسمایی سلول و آسیب غیرقابل برگشت به کوتیکول و ساختار غشای سلولی شود، علاوه بر آن DMSO می‌تواند اندامک‌های درون سلولی مانند میتوکندری را تخریب کرده و در نتیجه در فرایند تولید ATP اختلال ایجاد کند. این در نهایت می‌تواند منجر به فلجی کرم شود (Baghbani et al., 2020). دی متیل سولفوکساید یک ترکیب آمفیپاتیک است که با توجه به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خود یک حلال بسیار مفید برای ترکیبات نامحلول در آب است که به‌طور گسترده برای حل و تحویل بسیاری از داروهای غیر محلول در آب در تعداد زیادی از پروتکل‌های آزمایشگاهی استفاده می‌شود. مطالعات بسیاری نشان داده است که دی متیل سولفوکساید علاوه بر خاصیت حلالی دارای اعمال بیولوژیکی مختلف مثل خاصیت ضد آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد عفونی‌کنندگی نیز می‌باشد (Santos et al., 2003). همچنین DMSO با اعمال اثرات اسمزی و لیز انواع متخلفی از سلول‌ها می‌شود (Larsen et al., 1996). این ترکیب قابلیت نفوذپذیری غشای سلول‌ها را افزایش داده و ورود مواد را به داخل سلول تسهیل می‌کند (Gebel et al., 1999).

۵. نتیجه‌گیری

باتوجه به شیوع بالای درگیری نشخوارکنندگان کوچک ایران به نماتودهای تریکوسترونژیلید گوارشی، مبارزه ضدانگلی بر مراحل تکاملی پیش انگلی آن‌ها در محیط نگهداری و چرای دام از اهمیت بالایی برخوردار است. این مطالعه لزوم توجه به نانوذرات اعم از فلزی و غیر فلزی را بر روی لاروهای پیش انگلی تریکوسترونژیلیدهای نشخوارکنندگان به‌عنوان روشی جایگزین بسیاری از سموم و ترکیبات شیمیایی دارای اثرات زیست‌محیطی نشان می‌دهد. علاوه بر این به علت ارزان‌قیمت و در دسترس بودن آن به آسانی می‌تواند در سطح وسیع دامداری یا مراتع چرای دام مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به روند رو به رشد مقاومت دارویی بسیاری از نماتودهای انگلی از نانوذرات فلزی می‌توان به‌عنوان یک فناوری نوین گسستن چرخه تکاملی بسیاری از انگل‌های بیماری‌زای انسان و دام و پیشگیری از بیماری‌ها در سیستم‌های بهداشت و پایش سلامت نشخوارکنندگان و کنترل شیوع بیماری‌های ضد انگلی به‌طور وسیع به‌کار گرفت.

۶. مشارکت نویسندگان

سارا لرکی: استاد راهنمای پایان‌نامه، طراحی پژوهش، نظارت بر مراحل انجام پژوهش، بررسی و کنترل نتایج، اصلاح، بازبینی و نهایی‌سازی مقاله؛

علیرضا البرزی: مشارکت در طراحی پژوهش، نظارت بر پژوهش، مطالعه و بازبینی مقاله؛

جواد جمشیدیان: مشاور پایان‌نامه، مشارکت در طراحی پژوهش، نظارت بر پژوهش، انجام محاسبات، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها؛

فاطمه معدن‌کن: تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها، انجام آزمایش و گردآوری داده‌ها، تفسیر اطلاعات و نتایج، نگارش و تهیه پیش‌نویس مقاله.

۷. ملاحظات اخلاقی

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده اند و این موضوع مورد تأیید همه آنها می باشد.

۸. تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافی توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. حامی مالی

پژوهش حاضر با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز و از محل پژوهانه صورت گرفته است.

۱۰. تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می دانند تا مراتب تشکر صمیمانه خود را از کلیه حمایت های معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز به عمل آورند.

۱۱. منابع

- Adeyemi, O. S., & Whiteley, C. G. (2013). Interaction of nanoparticles with arginine kinase from *Trypanosoma brucei*: kinetic and mechanistic evaluation. *International journal of biological macromolecules*, 62, 450-456. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.09.008>.
- Adeyemi, O. S., & Faniyan, T. O. (2014). Antioxidant status of rats administered silver nanoparticles orally. *Journal of Taibah University for Science*, 9, 182-186. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2014.03.002>.
- Baghbani, Z., Esmaeilnejad, B., & Asri-Rezaei, S. (2020). Assessment of oxidative/ nitrosative stress biomarkers and DNA damage in *Teladorsagia circumcincta* following exposure to zinc oxide nanoparticles. *Journal of helminthology*, 94, e115, 1-5. <https://doi.org/10.1017/S0022149X19001068>.
- Bhardwaj, R., Saudagar, P., & Dubey, V. K. (2012). Nanobiosciences: a contemporary approach in antiparasitic drugs. *Molecular and Cellular Pharmacology*, 4, 97-103.
- Butkus, M. A., Labare, M. P., Starke, J. A., Moon, K., & Talbot, M. (2004). Use of aqueous silver to enhance inactivation of coliphage MS-2 by UV disinfection. *Applied and environmental microbiology*, 70, 2848-2853. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.5.2848-2853>.
- Dorostkar, R., Ghalavand, M., Nazarizadeh, A., Tat, M., & Hashemzadeh, M. S. (2017). Anthelmintic effects of zinc oxide and iron oxide nanoparticles against *Toxocara vitulorum*. *International nano letters*, 7, 157-164. <https://doi.org/10.1007/s40089-016-0198-3>.
- Esmaeilnejad, B., Samiei, A., Mirzaei, Y., & Farhang-Pajuh, F. (2018). Assessment of oxidative/nitrosative stress biomarkers and DNA damage in *Haemonchus contortus*, following exposure to zinc oxide nanoparticles. *Acta parasitologica*, 63, 563-571. <https://doi.org/10.1515/ap-2018-0065>.
- Gebel, T., & Koenig, A. (1999). Impact of dimethyl sulfoxide and examples of combined genotoxicity in the SOS chromotest. *Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 444(2), 405-411. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(99\)00111-4](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(99)00111-4).
- Kirithi, A. V., Rahuman, A. A., Rajakumar, G., Marimuthu, S., Santhoshkumar, T., Jayaseelan, C., & Velayutham, K. (2011). Acaricidal, pediculocidal and larvicidal activity of synthesized ZnO nanoparticles using wet chemical route against blood feeding parasites. *Journal of parasitology research*, 109, 461-472. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2277-8>.
- Larsen, J., Gasser, K., & Hahin, R. (1996). An analysis of dimethylsulfoxide-induced action potential block: a comparative study of DMSO and other aliphatic water soluble solutes. *Toxicology and applied pharmacology*, 140(2), 296-314. <https://doi.org/10.1006/taap.1996.0225>.

- Mohammadi, M., Zaki, L., KarimiPourSaryazdi, A., Tavakoli, P., Tavajjohi, A., Poursalehi, R., Delavari, H., & Ghaffarifar, F. (2021). Efficacy of green synthesized silver nanoparticles via ginger rhizome extract against *Leishmania major* in vitro. *PloS one*, 16(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255571>.
- Moradpour, N., Borji, H., Razmi, G., Maleki, M., & Kazemi, H. (2013). Pathophysiology of *Marshallagia marshalli* in experimentally infected lambs. *Parasitology*, 140(14), 1762-1767. <https://doi.org/10.1017/S0031182013001042>.
- Nisbet, A. J., McNeilly, T. N., Greer, A. W., Bartley, Y., Oliver, E. M., Smith, S., Palarea-Albaladejo, J., & Matthews, J. B. (2016). Protection of ewes against *Teladorsagia circumcincta* infection in the periparturient period by vaccination with recombinant antigens. *Veterinary parasitology*, 228, 130-136. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.09.002>.
- Preet, S., & Tomar, R. S. (2017). Anthelmintic effect of biofabricated silver nanoparticles using *Ziziphus jujuba* leaf extract on nutritional status of *Haemonchus contortus*. *Small Ruminant Research*, 154, 45-51. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.07.002>.
- Rahimi, M. T., Ahmadpour, E., Esboei, B. R., Spotin, A., Koshki, M. H. K., Alizadeh, A., Honary, S., Barabadi, H., & Ali-Mohammadi, M. (2015). Scolicidal activity of biosynthesized silver nanoparticles against *Echinococcus granulosus* protoscolices. *International surgery journal*, 19, 128-133. <https://doi.org/10.1016/j.ijisu.2015.05.043>.
- Roeber, F., Jex, A. R., & Gasser, R. B. (2013). Impact of gastrointestinal parasitic nematodes of sheep, and the role of advanced molecular tools for exploring epidemiology and drug resistance – an Australian perspective. *Parasites and vectors*, 6, 153-153. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-153>.
- Roberts, L. S., & Schmidt, G. D. (2000). Phylum Apicomplexa: gregarines, coccidia, and related organisms. *Parasitology*. 6th edition, pp: 15. McGraw-Hill Companies, New York.
- Santos, N. C., Figueira-Coelho, J., Martins-Silva, J., & Saldanha, C. (2003). Multidisciplinary utilization of dimethyl sulfoxide: pharmacological, cellular, and molecular aspects. *Biochemical pharmacology*, 1035-4(7), 65. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(03\)00002-9](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(03)00002-9).
- Sharma, N., Singh, V., & Shyma, K. P. (2015). Role of parasitic vaccines in integrated control of parasitic diseases in livestock. *Veterinary world*, 590-598. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.590-598>.
- Soflaei, S., Dalimi, A., Ghaffarifar, F., Shakibaie, M., Shahverdi, A. R., & Shafiepour, M. (2012). In vitro antiparasitic and apoptotic effects of antimony sulfide nanoparticles on *Leishmania infantum*. *Journal of parasitology research*, 756568. <https://doi.org/10.1155/2012/756568>.
- Tariq, K. A. (2015). A review of the epidemiology and control of gastrointestinal nematode infections of small ruminants. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 85, 693-703. <https://doi.org/10.1007/s40011-014-0385-9>.
- Tomar, R., & Preet, S. (2017). Evaluation of anthelmintic activity of biologically synthesized silver nanoparticles against the gastrointestinal nematode, *Haemonchus contortus*. *Journal of helminthology*, 91, 454-461. <https://doi.org/10.1017/S0022149X16000444>.
- Tsotetsi, A. M., & Mbatia, P. A. (2003). Parasitic helminthes of veterinary importance in cattle, sheep and goats on communal farms in the northeastern Free State, South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association*, 74, 45-48. <https://doi.org/10.4102/jsava.v74i2.503>.
- Wang, C., Li, F., Zhang, Z., Yang, X., Ahmad, A. A., Li, X., Du, A., & Hu, M. (2017). Recent research progress in China on *Haemonchus contortus*. *Frontiers in microbiology*, 8, 1509. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01509>.
- Wang, H., Wick, R. L., & Xing, B. (2009). Toxicity of nanoparticulate and bulk ZnO, Al₂O₃ and TiO₂ to the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environmental pollution*, 157, 1171-1177. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.11.004>.