DOI: 10.22092/vj.2025.370235.2241 No:150 Spring 1405 Veterinary Research & Biological Products

Original Article

Lethal effects of aqueous and alcoholic extracts of nettle (Urtica dioica) on nymphs of Linguatula serrata under in vitro conditions

Nasser Hajipour[1*], Yousef Panahi[2]

1. Department of Food Hygiene and Aquatic, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2. Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Submited: 2025.08.03 Accepted: 2025.09.26
Revised: 2025.09.17 Published: 2026.03.20

Corresponding author: n.hajipour@tabrizu.ac.ir

Abstract

Introduction: Linguatula serrata, commonly known as the tongue worm, is a zoonotic parasite belonging to the order Pentastomida. Its nymphal stage accumulates in the internal tissues of intermediate hosts such as ruminants, causing pathological lesions and economic losses in the livestock industry. **Objectives**: Considering the growing concerns about drug resistance and the adverse impacts of chemical anthelmintics on health and the environment, the present study was conducted to evaluate the lethal effects of aqueous and alcoholic extracts of nettle (Urtica dioica) against Linguatula serrata nymphs under in vitro conditions. **Methods**: In this study, nymphs were isolated from the mesenteric lymph nodes of slaughtered goats and exposed to four different concentrations of each extract (10, 1, 0.1, and 0.01 mg/mL) for 24, 48, 72, and 96 hours. Ivermectin was used as the positive control. Nymph mortality was recorded based on immobility and lack of response, and LC_{50} values were calculated using probit analysis. Data were analyzed by one-way ANOVA, and significant differences were further evaluated by Duncan's multiple range test. A p-value < 0.05 was considered statistically significant. **Results**: The findings revealed that the aqueous extract of nettle caused 100% mortality at a concentration of 10 mg/mL after 48 hours, with an LC_{50} of 0.964 mg/mL, while the alcoholic extract under the same conditions caused 84% mortality at 96 hours, with an LC_{50} of 1.188 mg/mL. Ivermectin induced 96–100% mortality within 12 hours at all tested concentrations (LC_{50} = 0.316). The phosphate buffer used as the negative control showed no lethal effect on nymphs. Overall, the aqueous extract exhibited a higher efficacy compared to the alcoholic extract.**Conclusion**: In general, the results indicate that both aqueous and alcoholic nettle extracts exert significant lethal effects against Linguatula serrata nymphs; however, the aqueous extract demonstrated greater potential due to its faster action and lower effective concentration, suggesting its promise for the development of plant-based antiparasitic formulations.

Keywords: Linguatula serrata, herbal extract, Urtica dioica, lethality, nymph, in vitro

Authors retain the copyright and full publishing rights.
Published by Razi Vaccine & Serum Research Institute This article is an open access article licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0)

تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک شماره ۱۵۰، بهار ۱۴۰۵ DOI: 10.22092/vj.2025.370235.2241

مقاله کامل

اثرات کشندگی عصاره‌های آبی و الکلی گزنه (*Urtica dioica*) علیه نوچه *لینگواتولا سراتا* (*Linguatula serrata*) : ارزیابی در شرایط آزمایشگاهی

ناصرحاجی پور*[1]، یوسف پناهی[2]

۱. گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲.گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۰۴
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۶/۲۶ تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۱/۰۱

ایمیل نویسنده مسئول: n.hajipour@tabrizu.ac.ir

چکیده

مقدمه: *لینگواتولا سراتا* که با نام رایج کرم زبانی شناخته می‌شود، یک انگل زئونوز از راسته پنتاستومیدا است که مرحله نوچه‌ای آن در بافت‌های داخلی میزبانان واسط مانند نشخوارکنندگان تجمع یافته و موجب ضایعات پاتولوژیک و زیان‌های اقتصادی در صنعت دامپروری می‌شود.**هدف:** مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات کشندگی عصاره‌های آبی و الکلی گیاه گزنه علیه نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت.**روش کار:** در این پژوهش، نوچه‌ها از غدد لنفاوی مزانتریک بزهای ذبح‌شده در کشتارگاه جدا شده و با چهار غلظت مختلف از هر دو عصاره (۱۰، ۱، ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تیمار شدند. برای مقایسه، از آیورمکتین به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. مرگ‌ومیر نوچه‌ها بر اساس عدم تحرک و واکنش‌ناپذیری ثبت شد و مقادیر LC_{50} با تحلیل پروبیت محاسبه گردید. برای تحلیل داده‌ها از آزمون واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد و در صورت معنی‌دار بودن نتایج، مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت. مقدار p کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.**نتایج:** عصاره آبی گزنه در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پس از ۴۸ ساعت موجب مرگ ۱۰۰ درصد نوچه‌ها شده و LC_{50} آن ۰/۹۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود؛ در حالی که عصاره الکلی در شرایط مشابه، مرگ‌ومیر ۸۴ درصد در ۹۶ ساعت ایجاد کرد و LC_{50} آن ۱/۱۸۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. آیورمکتین در تمام غلظت‌ها در مدت ۱۲ ساعت موجب مرگ ۹۶ تا ۱۰۰ درصد نوچه‌ها شد (LC_{50} =0/316). بافر فسفات به عنوان کنترل منفی اثر کشنده‌ای بر نوچه‌ها نشان نداد. بنابراین عصاره آبی گزنه نسبت به عصاره الکلی کارایی بیشتری در کشتن نوچه‌ها داشت.**نتیجه‌گیری کلی:** هر دو نوع عصاره گزنه دارای اثرات مرگبار علیه نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* هستند، عصاره آبی به دلیل اثربخشی سریع‌تر و غلظت مؤثر پایین‌تر، از پتانسیل بالاتری برای توسعه فرآورده‌های ضدانگل گیاهی برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: *لینگواتولا سراتا*، عصاره گیاهی، گزنه، کشندگی، نوچه، شرایط آزمایشگاهی

مقدمه

لینگواتولاسراتا که به‌طور رایج به نام کرم زبانی شناخته می‌شود، یک بندپای انگلی زئونوز از رده پنتاستومیدا است که عمدتاً دستگاه تنفسی فوقانی میزبانان نهایی گوشت‌خوار، مانند سگ‌ها و سگ‌های وحشی را آلوده می‌کند، در حالی که حیوانات علف‌خوار، از جمله نشخوارکنندگان، به عنوان میزبانان واسط عمل می‌کنند(۱). آلودگی انسان ممکن است به‌صورت تصادفی از طریق خوردن تخم دفع شده از گوشتخواران مانند سگ یا مصرف جگر و احشاء خام یا نیم‌پز نشخوارکنندگان آلوده به مرحله نوچه انگل رخ دهد که باعث بیماری لینگواتولوزیس احشایی با علایمی شامل درد شکمی، تب، خستگی، کاهش وزن، و مشکلات تنفسی(۲) و یا سندرم هالزون یا مارارا با علایم درد گلو، سرفه، اختلال در بلع، و التهاب در ناحیه حلق می شود(۳،۴). مرحله نوچه‌گی این انگل به اندام‌های داخلی میزبانان واسط، مانند کبد، ریه و غدد لنفاوی مهاجرت کرده و ضایعات پاتولوژیک ایجاد می‌کند که نه تنها سلامت حیوان را به خطر می‌اندازد، بلکه منجر به زیان‌های اقتصادی قابل توجهی به علت ضبط اندام‌ها در کشتارگاهها می‌شود(۷-۵).

استراتژی‌های رایج کنترل *لینگواتولا سراتا* عمدتاً بر بهبود بهداشت کشتارگاهها، دفع صحیح احشاء آلوده، و درمان دوره‌ای میزبانان نهایی تمرکز دارد. با این حال، نگرانی‌های فزاینده درباره مقاومت دارویی، باقی‌ماندن باقیمانده‌های دارویی در فرآورده‌های دامی، و اثرات زیست‌محیطی داروهای ضدانگل شیمیایی، باعث شده است که جستجو برای یافتن عوامل ضدانگل جایگزین و پایدار شدت گیرد(۸). در میان گزینه‌های مختلف، گیاهان دارویی به دلیل ترکیبات فعال زیستی، مقرون‌به‌صرفه بودن، و اثرات زیست‌محیطی کمتر، توجه فزاینده‌ای را به خود جلب کرده‌اند(۹).

گزنه (*Urtica dioica*) که به‌طور گسترده‌ای پراکنده است، گیاهی دارویی با خواص دارویی متنوع شناخته می‌شود که شامل فعالیت‌های ضدالتهابی، ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و ضدانگلی می‌باشد(۱۵-۱۰). هر دو عصاره آبی و الکلی این گیاه دارای ترکیبات فعال زیستی فراوانی از جمله فلاونوئیدها، تانن‌ها، استرول‌ها و اسیدهای فنولیک هستند که در مطالعات پیشین، فعالیت ضدانگلی قابل توجهی را در شرایط آزمایشگاهی و حیوانی نشان داده‌اند(۱۸-۱۶). به‌ویژه، عصاره‌های الکلی به دلیل حل‌پذیری بهتر و غلظت بالاتر ترکیبات لیپوفیلیک، که می‌توانند به‌طور مؤثرتری به پوشش خارجی انگل نفوذ کنند، کارایی بیشتری از خود نشان می‌دهند(۱۹). مصرف گزنه به صورت خشک‌شده یا پخته در انسان معمولاً بی‌خطر است و عوارض جدی گزارش نشده است. با این حال، در برخی افراد ممکن است ناراحتی گوارشی (مانند اسهال یا یبوست)، واکنش‌های پوستی (کهیر، خارش) یا در موارد بسیار نادر واکنش‌های آلرژیک رخ دهد(۲۰). در حیوانات بویژه در طیور، استفاده از گزنه خشک در جیره طیور منجر به بهبود رنگ زرده تخم‌مرغ بدون عوارض منفی بر سلامت یا عملکرد تخم‌گذاری شده است. در نشخوارکنندگان نیز مصرف گزنه خشک یا پژمرده معمولاً مشکلی ایجاد نمی‌کند، هرچند داده‌های تجربی در این زمینه محدود بوده و نیاز به بررسی بیشتر دارد(۲۱).

با وجود پتانسیل قابل توجه بیولوژیکی گزنه، اثربخشی آن بر علیه نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* به‌طور جامع مورد بررسی قرار نگرفته است. با توجه به اینکه نوع حلال استخراج می‌تواند پروفایل ترکیبات فعال و اثرات بیولوژیک عصاره را تغییر دهد، مقایسه عصاره آبی و الکلی گزنه برای ارزیابی کشندگی نوچه‌ها اهمیت ویژه‌ای دارد. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی و مقایسه اثرات عصاره‌های آبی و الکلی گزنه بر میزان زنده مانی نوچه *لینگواتولا سراتا* تحت شرایط کنترل شده آزمایشگاهی بود تا داده‌های پایه‌ای برای استفاده بالقوه از درمان‌های گیاهی در برنامه‌های کنترل انگل فراهم گردد.

روش کار

جمع آوری گیاه گزنه

برای جمع‌آوری گیاه گزنه، ابتدا نواحی بومی و رویشگاه‌های طبیعی این گیاه در مناطق حاشیه‌ای و مرطوب انتخاب شدند. نمونه‌های سالم و بالغ، شامل برگ‌ها و ساقه‌های هوایی، در فصل رشد فعال گیاه (بهار و اوایل تابستان) به‌صورت دستی و با استفاده از دستکش‌های محافظ به منظور جلوگیری از تحریک پوستی ناشی از کرک‌های گزنده برداشت گردیدند. برای حفظ کیفیت و جلوگیری از آلودگی، نمونه‌ها بلافاصله پس از جمع‌آوری در کیسه‌های کاغذی تمیز قرار داده

شدند تا تهویه مناسب و کاهش رطوبت اضافی فراهم گردد. شناسایی علمی نمونه‌های گیاه جمع‌آوری شده توسط آقای دکتر سبزی، استاد گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، انجام گرفت و صحت گونه‌ی مورد استفاده تأیید شد.

استخراج عصاره آبی و اتانولی گزنه

برگ‌های خشک‌شده‌ی گیاه گزنه به کمک مخلوط‌کن برقی تجاری به‌صورت مکانیکی آسیاب شدند تا به پودر ریز تبدیل شوند. سپس، مقدار ۲۵ گرم از پودر حاصل به ۲۵۰ میلی‌لیتر اتانول خالص افزوده و فرآیند استخراج عصاره‌ی اتانولی به وسیله دستگاه سوکسله انجام شد. پس از اتمام استخراج اتانولی، تفاله‌ی باقی‌مانده به مدت یک شب خشک گردید و استخراج دوم با آب مقطر در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد صورت گرفت. عصاره‌ی اتانولی با استفاده از دستگاه تبخیرکننده‌ی دوار (روتاری اواپراتور) تغلیظ شد و عصاره‌ی آبی نیز با استفاده از خشک‌کن انجمادی (فریزدرایر) به پودر خشک تبدیل گردید. در نهایت، عصاره‌های خام خشک‌شده در کیسه‌های پلاستیکی تیره‌رنگ، تحت خلأ بسته‌بندی و تا زمان استفاده در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری شدند(۲۲).

تهیه غلظت‌های مختلف عصاره آبی و اتانولی گزنه

برای ارزیابی اثرات کشندگی عصاره‌های آبی و الکلی گزنه علیه نوچه‌های *لینگواتولا سراتا*، چهار غلظت مختلف از هر دو نوع عصاره تهیه گردید. به‌منظور آماده‌سازی این غلظت‌ها، مقدار معین از عصاره‌های خشک شده در حجم مشخصی از حلال (آب مقطر برای عصاره آبی و اتانول برای عصاره الکلی) حل شد. بر اساس مطالعات انجام گرفته شده بر روی انگل‌های مختلف غلظت‌های نهایی مورد استفاده در این مطالعه شامل ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بودند(۲۳،۲۴). برای هر غلظت، محلول‌های تازه به‌صورت روزانه تهیه شده و تا زمان انجام آزمایش‌ها در شرایط سرد (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. انتخاب این غلظت‌ها بر اساس مطالعات پیشین و به‌منظور بررسی اثر غلظت‌های پایین تا نسبتاً بالا جهت تعیین دامنه اثربخشی عصاره‌ها صورت گرفت. تمامی آزمایش‌ها به‌صورت سه بارتکرار انجام شدند تا از صحت و قابلیت تکرار نتایج اطمینان حاصل گردد. از آیورمکتین و بافر فسفات به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده شد.

روش جمع‌آوری نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* از غدد لنفاوی مزانتریک بزها

ابتدا پس از ذبح دام در کشتارگاه، روده‌ها به همراه مزانتر جدا شده و غدد لنفاوی مزانتریک که به‌صورت توده‌های کوچک بیضوی یا گرد در امتداد مزانتر قرار دارند، با دقت شناسایی و جدا شدند. این غدد در ظروف استریل حاوی محلول بافر فسفات قرار گرفته و با رعایت شرایط سرد (۴–۸ درجه سانتی‌گراد) به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه، غدد با چاقوی استریل باز شده و پس از ایجاد برش در سطح آن‌ها، در ظرف پتری قرار داده شده و با افزودن مقدار کمی محلول فیزیولوژیک، نوچه‌ها بعد از مدتی از بافت‌ها جدا شده و در محلول بافر فسفات شناور شدند. با استفاده از استریومیکروسکوپ (لوپ)، نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* که معمولاً به رنگ کرم روشن، نیمه‌شفاف و دارای حرکات مشخص هستند، شناسایی و با پنس جدا و در محلول محلول بافر فسفات تا زمان استفاده حداکثر ۲۴ ساعت در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگه داری شدند. زنده مانی نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* بر اساس میزان تحرک‌شان ارزیابی شد و تمامی نوچه‌های بدست آمده کاملا زنده بودند.

تیمار نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* در غلظت‌های مختلف محلول آبی و الکلی گزنه در زمان‌های مختلف

۲۵ عدد نوچه *لینگواتولا سراتا* در غلظت‌های ۱۰، ۱، ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی لیتر از محلول آبی و الکلی گزنه در مدت زمانهای ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت تیمار شدند. پس از هریک زمانها، میزان زنده مانی نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* بر اساس تحرک بررسی شدند(جدول ۱).

آنالیز داده‌ها

مقادیر LC50 (غلظت کشنده برای ۵۰٪ جمعیت) برای سه داروی مورد آزمایش شامل ایورمکتین، عصاره آبی گزنه، عصاره الکلی گزنه، با استفاده از تحلیل پروبیت تعیین شد. این روش آماری به‌طور گسترده‌ای برای تحلیل روابط دوز ـ پاسخ در مطالعات سم‌شناسی و فارماکولوژی به‌کار می‌رود. تحلیل پروبیت با استفاده از نسخه ۴.۱.۰ نرم‌افزار R (Rcore Team ,2021) انجام شد. این تحلیل به ما امکان داد تا منحنی سیگموئیدی دوز ـ پاسخ را از طریق تبدیل درصد نوچه‌های کشته‌شده به «واحدهای احتمال» یا «پروبیت» به یک رابطه خطی تبدیل کنیم. غلظت هر دارو برای خطی‌سازی رابطه دوز ـ پاسخ به‌صورت لگاریتمی تبدیل شد. درصد نمف‌های کشته‌شده در هر غلظت، با استفاده از تابع 5+NORMSINV(P) که در آن P نسبت نوچه‌های کشته‌شده است، به مقادیر پروبیت تبدیل شد. سپس رگرسیون خطی بین مقادیر پروبیت و غلظت‌های تبدیل‌شده به لگاریتم انجام گرفت. مقدار LC50 برای هر دارو به‌عنوان غلظتی که با مقدار پروبیت ۵ (که معادل ۵۰٪ تلفات است) متناظر بود، محاسبه شد. همچنین برای ارزیابی دقت برآوردها، فاصله اطمینان ۹۵٪ برای مقادیر LC50 محاسبه شد.

برای مقایسه اثربخشی داروها، هم مقادیر LC50 و هم مدت زمان لازم برای ایجاد این اثر در نظر گرفته شد؛ داروهایی که دارای LC50 پایین‌تر و زمان تماس کوتاه‌تری بودند، به‌عنوان گزینه‌های قوی‌تر و مؤثرتر تلقی شدند. برای ارزیابی برازش مدل پروبیت با داده‌های مشاهده‌شده، آزمون نیکویی برازش کای‌دو (Chi-square goodness-of-fit) انجام شد برای تحلیل داده‌ها از آزمون واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد و در صورت معنی‌دار بودن نتایج، مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت. در تمام آزمون‌ها، مقدار p کمتر از ۰٫۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

نتایج

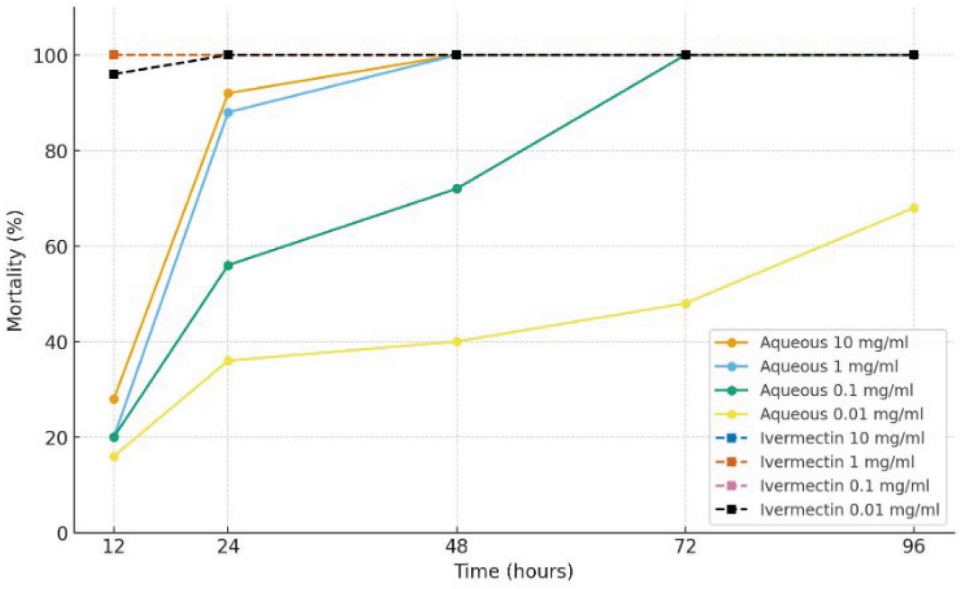
نتایج آزمون دانکن نشان داد که بین تیمارهای مختلف از نظر مرگ‌ومیر نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<0/05$). در هر دو عصاره آبی و الکلی گزنه، افزایش غلظت و طول مدت تماس با نوچه‌ها باعث افزایش قابل توجه مرگ‌ومیر شد، به‌طوری که در غلظت بالای ۱۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر و زمان ۴۸ تا ۷۲ ساعت، مرگ کامل نوچه‌ها مشاهده شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد عصاره آبی در غلظت‌های پایین و مدت زمان کوتاه‌تر اثر کشندگی بیشتری نسبت به عصاره الکلی داشت، در حالی که عصاره الکلی نیز در غلظت‌های پایین اثر قابل توجهی ایجاد کرد. آیورمکتین به عنوان شاهد مثبت، در تمامی غلظت‌ها و زمان‌ها بیشترین مرگ‌ومیر را ایجاد کرد و تفاوت آن با سایر تیمارها معنی‌دار بود، در حالی که گروه کنترل منفی (بافر فسفات) هیچ‌گونه مرگ‌ومیری نشان نداد (جدول ۱).

بر اساس داده‌ها، LC50 عصاره آبی گزنه برابر با ۰/۹۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و عصاره الکلی ۱/۱۸۸ میلی‌گرم بر میلی لیتر محاسبه شد، در حالی که LC50 آیورمکتین ۰/۳۱۶ میلی‌گرم بر میلی لیتر بود. در غلظت‌های پایین(۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی لیتر)، هر دو عصاره اثر محدودی داشتند و در گروه‌های آماری پایین‌تر قرار گرفتند، در حالی که آیورمکتین بیش از ۹۶٪ مرگ‌ومیر ایجاد کرد. این نتایج نشان می‌دهد که هر دو عصاره گزنه اثر ضدانگلی قابل توجهی دارند، اما اثربخشی آن‌ها کمتر از آیورمکتین است و اختلاف آن از نظر آماری معنی‌دار است.

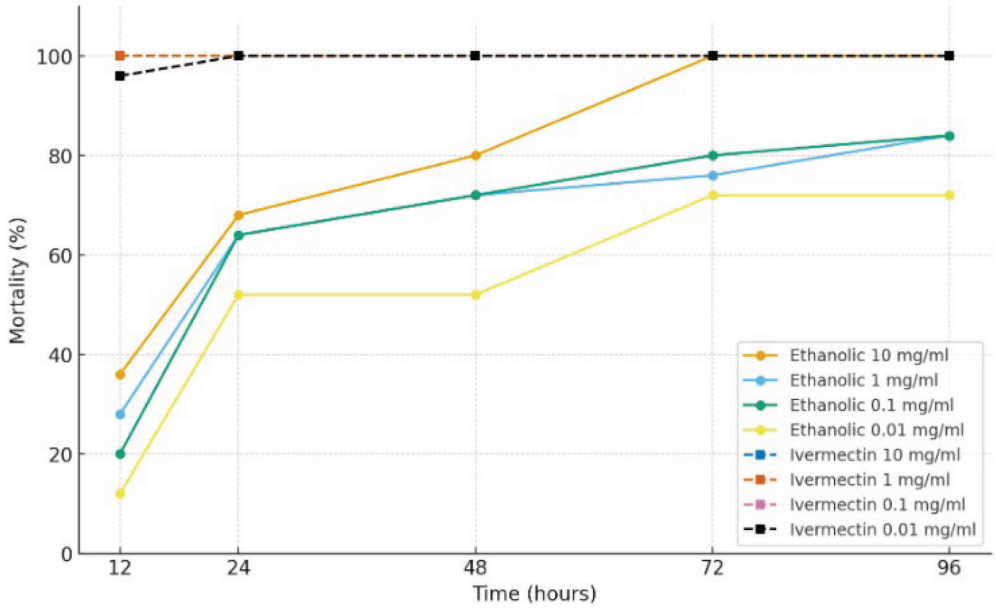
جدول۱: تعداد (درصد مرگ و میر± خطای استاندارد میانگین) نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* در غلظت و زمان‌های مختلف عصاره آبی و الکلی گزنه

* حروف کوچک انگلیسی در هر ستون بیانگراختلاف معنی داری بین غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و الکلی گزنه در هر زمان می‌باشد.

عصاره	غلظت (میلی‌گرم بر میلی لیتر) / زمان (ساعت)	۱۲	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	غلظت کشنده ۵۰٪ از نوچه ها
عصاره آبی گزنه	۱۰	۷ (۲۸ ± ۶/۹) ^{bc}	۲۳ (۹۲ ± ۶/۱) ^{b}	۲۵ (۱۰۰) ^{a}	۲۵ (۱۰۰) ^{a}		۰/۹۶۴
	۱	۵ (۲۰ ± ۲/۳) ^{cd}	۲۲ (۸۸ ± ۲/۳) ^{a}	۲۵ (۱۰۰) ^{a}	۲۵ (۱۰۰) ^{a}	–	
	۰/۱	۵ (۲۰ ۳/۲±) ^{cd}	۱۴ (۵۶ ± ۴/۶) ^{bc}	۱۸ (۷۲ ± ۴/۶) ^{b}	۲۵ (۱۰۰) ^{a}	–	
	۰/۰۱	۴ (۱۶ ± ۲/۳) ^{d}	۹ (۳۶ ± ۶/۹) ^{d}	۱۰(۴۰ ± ۱۱/۵) ^{c}	۱۲ (۴۸ ± ۹/۲) ^{c}	۱۷ (۶۸ ± ۲/۳) ^{c}	
عصاره الکلی گزنه	۱۰	۹ (۳۶ ± ۴/۶) ^{b}	۱۷ (۶۸ ± ۲/۳) ^{b}	۲۰ (۸۰ ± ۴/۶)^{b}	۲۵ (۱۰۰) ^{a}	۲۵ (۱۰۰) ^{a}	۱/۱۸۸
	۱	۷ (۲۸ ± ۲/۳) ^{bc}	۱۶ (۶۴ ± ۶/۹) ^{bc}	۱۸ (۷۲ ± ۴/۶)^{b}	۱۹ (۷۶ ± ۶/۹)^{b}	۲۱ (۸۴ ± ۲/۳)^{b}	
	۰/۱	۵ (۲۰ ± ۶/۹) ^{cd}	۱۶ (۶۴ ± ۴/۴) ^{bc}	۱۸ (۷۲ ± ۶/۹)^{b}	۲۰ (۸۰ ± ۴/۶)^{b}	۲۱ (۸۴ ± ۶/۹)^{b}	
	۰/۰۱	۳ (۱۲±۰)^{d}	۱۳ (۵۲ ± ۲/۳) ^{c}	۱۳ (۵۲ ± ۲/۳)^{c}	۱۸ (۷۲ ± ۲/۳)^{b}	۱۸ (۷۲ ± ۹/۲)^{bc}	
آیورمکتین	۱۰	۲۵ (۱۰۰)^{a}	۲۵ (۱۰۰)^{a}	–	–	–	۰/۳۱۶
	۱	۲۵ (۱۰۰)^{a}	۲۵ (۱۰۰)^{a}	–	–	–	
	۰/۱	۲۴ (۹۶)^{a}	۲۵ (۱۰۰)^{a}	–	–	–	
	۰/۰۱	۲۴ (۹۶)^{a}	۲۵ (۱۰۰)^{a}	–	–	–	
بافرفسفات	–	۰	۰	۰	۰	۰	–



نمودار ۱: نتایج اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گزنه و آیورمکتین بر درصد مرگ‌ومیر نوچه *لینگواتولا سراتا* در طول زمان



نمودار ۲: نتایج اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی گزنه و آیورمکتین (کنترل مثبت) بر درصد مرگ‌ومیر نوچه *لینگواتولا سراتا* در طول زمان

بحث

یافته‌های این مطالعه نشان داد که عصاره‌های آبی و الکلی گزنه هر دو دارای اثرات کشندگی قابل‌توجهی علیه نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* هستند و مرگ‌ومیر نوچه‌ها به‌طور واضح وابسته به غلظت و زمان بود. مقایسه بین دو عصاره نشان داد که عصاره آبی در غلظت‌های پایین‌تر و در مدت زمان کوتاه‌تر، کشندگی بیشتری نسبت به عصاره الکلی ایجاد کرد. این موضوع می‌تواند ناشی از انحلال بهتر ترکیبات فعال گزنه در آب و قابلیت دسترسی زیستی بالاتر آنها برای نفوذ به بدن انگل باشد. ترکیباتی نظیر فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک و سایر متابولیت‌های محلول در آب ممکن است نقش اصلی را در این اثر ایفا کرده باشند(۲۵).

در مقایسه، عصاره الکلی اثرگذاری کندتر و اثربخشی کلی پایین‌تری داشت و حداکثر مرگ‌ومیر آن (۱۰۰٪) پس از ۷۲ ساعت در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. این تفاوت احتمالاً ناشی از ترکیب متفاوت مواد مؤثره در دو نوع عصاره‌گیری است. عصاره‌گیری با آب معمولاً ترکیبات قطبی‌تری نظیر فلاونوئیدها، فنول‌ها و لکتین‌ها را استخراج می‌کند که خواص ضدانگلی شناخته‌شده‌ای دارند(۲۱،۲۲).

در مقابل، عصاره‌های الکلی ممکن است بیشتر حاوی ترکیبات غیرقطبی باشند که ممکن است اثرات ضعیف‌تری در تعامل با پوشش خارجی یا سامانه‌های متابولیک انگل داشته باشند(۲۶،۲۷).

مقایسه اثر عصاره‌های گیاهی با آیورمکتین به‌عنوان شاهد مثبت نشان داد که این دارو همچنان بیشترین اثربخشی را دارد و در غلظت‌های ۱۰ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر طی ۱۲ ساعت موجب مرگ کامل نوچه‌ها شد. با وجود این، باید توجه داشت که استفاده از فرآورده‌های گیاهی به دلیل دسترسی آسان‌تر، قیمت کمتر و احتمال عوارض جانبی کمتر می‌تواند جایگزین مناسبی در شرایطی باشد که دسترسی به داروهای شیمیایی محدود است. این یافته با گزارش‌های قبلی که به اثرات سریع و قوی نوروتوکسیک آیورمکتین از طریق فعال‌سازی کانال‌های کلر وابسته به گلوتامات در نماتودها و بندپایان اشاره دارند، مطابقت دارد(۲۸).

در مطالعه‌ای، فعالیت ضدانگلی عصاره‌های آبی و اتانولی گزنه به‌صورت درون‌تنی علیه انگل‌های استرونژیلیده دستگاه گوارش گاوهای آلوده بررسی شد. در این پژوهش، عصاره‌ها در غلظت‌های ۰/۷۸ تا ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آزمایش شدند و نتایج نشان داد که هر دو عصاره آبی و الکلی گزنه

در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اثر مهاری کامل(۱۰۰٪) بر تکوین جنینی تخم‌ها، تفریخ و مرگ‌ومیر لاروها داشتند؛ به‌طوری‌که مقادیر LC_{50} برای عصاره‌های اتانولی و آبی این گیاه در محدوده ۲/۵۷ تا ۴/۹۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قرار گرفت (۲۹). در مقایسه با مطالعه حاضر، که در آن عصاره آبی گزنه در غلظت بسیار پایین‌تر (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) توانست طی ۴۸ ساعت مرگ کامل (۱۰۰٪) در نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* ایجاد کند و حتی در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نیز این اثر طی ۷۲ ساعت به‌دست آمد، به‌وضوح می‌توان دریافت که عصاره آبی گزنه در مواجهه با نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* اثربخشی بسیار بالاتری دارد. این تفاوت می‌تواند به حساسیت بیشتر نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* نسبت به ترکیبات موجود در عصاره آبی گزنه، تفاوت در ساختار بیولوژیکی و فیزیولوژیکی انگل‌ها، یا نفوذپذیری بیشتر ترکیبات فعال به بدن نوچه‌ها نسبت داده شود. بنابراین، نتایج ما ضمن تأیید پتانسیل بالای عصاره گزنه در کنترل انگل‌های دامی، نشان می‌دهد که این گیاه به‌ویژه در قالب عصاره آبی می‌تواند با کارایی بالا و در غلظت‌های بسیار پایین، به‌عنوان یک عامل ضدانگلی طبیعی در کنترل نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* مورد استفاده قرار گیرد.

اثر عصاره‌های الکلی و آبی برگ‌های گزنه بر زنده‌مانی پروتواسکولکس‌های *اکینوکوکوس گرانولوزوس* به‌صورت درون‌تنی مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که میزان مرگ‌ومیر پروتواسکولکس‌ها با استفاده از عصاره آبی با افزایش غلظت و مدت زمان تماس بیشتر شد و در غلظت ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر طی ۳۰ دقیقه به ترتیب به ۹۶/۲ درصد رسید. با این حال، مشخص شد که اثر عصاره اتانولی در همان غلظت‌ها با افزایش زمان تماس کاهش یافت؛ به‌طوری‌که نرخ مرگ‌ومیر پروتواسکولکس‌ها در مواجهه با عصاره اتانولی با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از ۶۹ درصد در زمان ۱۰ دقیقه به ۴/۲ درصد در زمان ۳۰ دقیقه کاهش یافت(۲۳). اختلاف در نتایج مطالعات ناشی از نوع انگل مورد بررسی، بازده‌های زمانی و روش‌های ارزیابی مرگ‌ومیر، غلظت عصاره‌ها، حلال استخراج و کیفیت عصاره‌ها و اثر متقابل زمان و حلال می باشد(۳۰).

در مطالعه انجام شده توسط سروستانی و همکاران در سال ۲۰۲۱ گزارش دادند که عصاره الکلی گزنه در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پس از ۶۰ دقیقه ۹۰/۵۱درصد پروتواسکولکس‌های *اکینوکوکوس گرانولوزوس* را از بین برد(۲۴).

نتایج مطالعه اثر کشندگی عصاره گیاه گزنه بر روی پروتواسکولکس‌های *اکینوکوکوس گرانولوزوس* نشان داد که اثر قابل توجهی داشت. فلاونوئیدها در غلظت‌های مذکور و بازه‌های زمانی یاد شده تأثیر کشنده‌ای روی پروتواسکولکس‌ها داشتند و غلظت ۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین اثر را نشان داد. آلکالوئیدها نیز تأثیری مشابه فلاونوئیدها در کشندگی پروتواسکولکس‌ها داشتند، در حالی که آلکالوئیدهای استخراج شده از آنونا موریکاتا اثری متوسط در همان غلظت‌ها و زمان‌ها داشتند. اما گلیکوزیدها و فلاونوئیدهای استخراج شده از گزنه در همان غلظت‌ها و زمان‌ها هیچ تأثیری نشان ندادند(۳۱).

مکانیسم اثر گیاه گزنه بر انگل‌ها ناشی از حضور ترکیبات زیستی فعالی مانند فلاونوئیدها، تانن‌ها، آلکالوئیدها و مواد فنولی است که به روش‌های متعددی موجب آسیب به انگل می‌شوند(۳۲). این ترکیبات با تداخل در ساختار و نفوذپذیری غشای سلولی انگل باعث تخریب سلول و مرگ آن می‌گردند. همچنین، ترکیبات فنولی موجود در گزنه می‌توانند تولید گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش داده و از این طریق استرس اکسیداتیو شدیدی به سلول‌های انگل وارد کنند که به آسیب DNA، پروتئین‌ها و غشاهای سلولی منجر می‌شود. علاوه بر اثرات مستقیم، این ترکیبات با مهار آنزیم‌های متابولیکی حیاتی انگل، رشد و تکثیر آن را مختل می‌کنند(۳۳،۳۴). افزون بر این، گزنه می‌تواند پاسخ ایمنی میزبان را تحریک کند؛ به‌ویژه با افزایش تولید سایتوکین‌هایی مانند اینترفرون ـ گاما که به تقویت سیستم ایمنی و حذف انگل کمک می‌کند. به طور کلی، اثر ضد انگلی گزنه ترکیبی از تاثیرات مستقیم بر سلول‌های انگل و تقویت سیستم ایمنی میزبان است که در نهایت منجر به کاهش بار انگلی و کنترل عفونت می‌شود(۱۵،۳۵).

نتیجه گیری کلی

یافته‌های این مطالعه نشان داد که هر دو نوع عصاره آبی و الکلی گیاه گزنه اثرات کشندگی قابل‌توجهی بر نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* در شرایط آزمایشگاهی دارند، اما عصاره

آبی با عملکرد سریع‌تر و LC_{50} پایین‌تر نسبت به عصاره الکلی، اثربخشی بالاتری را نشان داد. در مقایسه با آیورمکتین به‌عنوان داروی مرجع، اگرچه عصاره‌های گیاهی در زمان اثرگذاری و غلظت مؤثر ضعیف‌تر عمل کردند، اما با توجه به منشأ طبیعی، در دسترس بودن و پتانسیل عوارض جانبی کمتر، می‌توانند به‌عنوان گزینه‌های مکمل یا جایگزین بالقوه در کنترل انگل‌های مشابه مدنظر قرار گیرند. با این حال، باید توجه داشت که نتایج حاصل از این مطالعه در شرایط برون‌تنی الزاماً به معنای کارایی در شرایط درون‌تنی نیست و استفاده درمانی از این عصاره‌ها بدون بررسی‌های تکمیلی قابل توصیه نمی‌باشد. بنابراین، انجام مطالعات بیشتر در مدل‌های حیوانی و انسانی برای بررسی کارایی، مکانیسم‌های اثر، ایمنی و سمیت این ترکیبات ضروری است.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از تمامی کسانی که در انجام این تحقیق همکاری و مساعدت لازم را به عمل آوردند تقدیر و تشکر می‌کند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌نمایند که در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافعی ندارند.

منابع

1. Soulsby EJL. Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. Vol. 6. Philadelphia: Lea and Febiger; 1982.

2. Sarmadian H, Nasiri Z, Saeedinia S, Moradi Y, Eshrati B, Ghasemikhah R, et al. Clinical manifestation and epidemiological findings of human linguatula serrate infection in Iran: systematic review. J Parasit Dis. 2021;45(1):50–8.

3. Yazdani R, Sharifi I, Bamorovat M, Mohammadi MA. Human Linguatulosis Caused by Linguatula serrata in the City of Kerman, South-eastern Iran-Case Report. Iran J Parasitol. 2014;9(2):282.

4. Khalil G, Haddad C, Otrock ZK, Jaber F, Farra A. Halzoun, an allergic pharyngitis syndrome in Lebanon: the trematode Dicrocoelium dendriticum as an additional cause. Acta Trop. 2012/10/02. 2013;125(1):115–8.

5. Hajipour N, Ketzis J, Esmaeilnejad B. Pathological characteristics of Linguatula serrata (Aberrant arthropod) infestation in sheep and factors associated with prevalence in Iran. Prev Vet Med. 2019;172:104781.

6. Hajipour N, Ketzis J, Esmaeilnejad B, shahbazfar AA. Pathological characteristics of Linguatula serrata (aberrant arthropod) infestation in sheep and factors associated with prevalence in Iran. Prev Vet Med. 2019;172.

7. Hajipour N, Tavassoli M. Prevalence and associated risk factors of Linguatula serrata infection in definitive and intermediate hosts in Iran and other countries: a systematic review. Vet Parasitol Reg Stud Reports. 2019;16:100288.

8. Bowman DD. Georgis' Parasitology for Veterinarians. Philadelphia: Saunders Elsevier, St. Louis; 1999. 215–220 p.

9. Murthy PK, Joseph SK. Plant products in the treatment and control of filariasis and other helminth infections and assay systems for antifilarial/anthelmintic activity. Planta Med. 2011;77(06):647–61.

10. Chrubasik JE, Roufogalis BD, Wagner H, Chrubasik S. A comprehensive review on the stinging nettle effect and efficacy profiles. Part II: urticae radix. Phytomedicine. 2007;14(7–8):568–79.

11. Bhusal KK, Magar SK, Thapa R, Lamsal A, Bhandari S, Maharjan R, et al. Nutritional and pharmacological importance of stinging nettle

(Urtica dioica L.): A review. Heliyon. 2022;8(6).
12. Monfared M, Kamkar A, Khaligh SG, Javan AJ, Asadi F, Basti AA. Antioxidative effects of Iranian Urtica dioica L. extracts on the oxidation of sunflower oil. J Med Plants Res. 2011;5(18):4438–45.
13. Singh R, Dar SA, Sharma P. Antibacterial activity and toxicological evaluation of semi purified hexane extract of Urtica dioica leaves. Res J Med Plants. 2012;6(2):123–35.
14. Kataki MS, Murugamani V, Rajkumari A, Singh P, Mehra DA, Yadav RS. Antioxidant, hepatoprotective, and anthelmintic activities of methanol extract of Urtica dioica L. leaves. Pharm Crop. 2012;3:38–46.
15. Joshi BC, Mukhija M, Kalia AN. Pharmacognostical review of Urtica dioica L. Int J Green Pharm. 2014;8(4).
16. Asgarpanah J, Mohajerani R. Phytochemistry and pharmacologic properties of Urtica dioica L. J Med Plants Res. 2012;6(46):5714–9.
17. Athanasiadou S, Kyriazakis I. Plant secondary metabolites: antiparasitic effects and their role in ruminant production systems. Proc Nutr Soc. 2004;63(4):631–9.
18. Gül S, Demirci B, Başer KHC, Akpulat HA, Aksu P. Chemical Composition and In Vitro cytotoxic, genotoxic effects of essential oil from Urtica dioica L. Bull Environ Contam Toxicol. 2012;88(5):666–71.
19. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999;12(4):564–82.
20. Baumgardner DJ. Stinging nettle: the bad, the good, the unknown. J Patient-Centered Res Rev. 2016;3(1):48–53.
21. Moula N, Sadoudi A, Touazi L, Leroy P, Geda F. Effects of stinging nettle (Urtica dioica) powder on laying performance, egg quality, and serum biochemical parameters of Japanese quails. Anim Nutr. 2019;5(4):410–5.
22. Flórez M, Cazón P, Vázquez M. Antioxidant extracts of nettle (Urtica dioica) leaves: evaluation of extraction techniques and solvents. Molecules. 2022;27(18):6015.
23. Al-Barway LT. The anthelmintic effect of Urtica dioica and Tanacetum vulgare L. on protoscoleces of Echinococcus granulosus. Int J Sci Basic Appl Res. 2013;11(1):84–9.
24. Sarvestani A, Karimian A, Mohammadi R, Cheraghipour K, Zivdri M, Nourmohammadi M, et al. Scolicidal effects of Cassia fistula and Urtica dioica extracts on protoscoleces of hydatid cysts. J Parasit Dis. 2021;45(1):59–64.
25. Iordache A, Culea M, Gherman C, Cozar O. Characterization of some plant extracts by GC–MS. Nucl Instruments Methods Phys Res Sect B Beam Interact with Mater Atoms. 2009;267(2):338–42.
26. Githiori JB, Athanasiadou S, Thamsborg SM. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. Vet Parasitol. 2006;139(4):308–20.
27. Ahmad S, Humak F, Ahmad M, Altaf H, Qamar W, Hussain A, et al. Phytochemicals as alternative anthelmintics against poultry parasites: a review. 2023;
28. Shoop WL, Mrozik H, Fisher MH. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. Vet Parasitol. 1995;59(2):139–56.
29. Moussouni L, Besseboua O, Ayad A. Anthelmintic Activity of Aqueous and Ethanol Extracts of Urtica dioica L. and.pdf. Ataturk Univ J Vet Sci. 2019;14(3):273–83.

30. Ali R, Rooman M, Mussarat S, Norin S, Ali S, Adnan M, et al. A systematic review on comparative analysis, toxicology, and pharmacology of medicinal plants against Haemonchus contortus. Front Pharmacol. 2021;12:644027.

31. Hasan RS, Ali AA, Ali AA, Sultan SM, Yousf SA. The effect of Annona muricata and Urtica dioica on killing the proscolex of Echinococcus granulosus. EurAsian J Biosci. 2020;14(2):2949–52.

32. Veerakumari L. Botanical anthelmintics. Asian J Sci Technol. 2015;6:1881–94.

33. Palombo EA. Phytochemicals from traditional medicinal plants used in the treatment of diarrhoea: modes of action and effects on intestinal function. Phyther Res An Int J Devoted to Pharmacol Toxicol Eval Nat Prod Deriv. 2006;20(9):717–24.

34. Barlow RB, Dixon ROD. Choline acetyltransferase in the nettle Urtica dioica L. Biochem J. 1973;132(1):15–8.

35. Dar SA, Ganai FA, Yousuf AR, Balkhi M ul H, Bhat TM, Sharma P. Pharmacological and toxicological evaluation of Urtica dioica. Pharm Biol. 2013;51(2):170–80.