

TIỀM NĂNG ỨNG DỤNG VẬT LIỆU NANO ĐỂ KIỂM SOÁT VI KHUẨN GÂY BỆNH TRONG NUÔI TRỒNG THỦY SẢN

Phạm Thị Hải Hà¹, Trần Kiên Cường¹, Nguyễn Thành Luân²

Sự kháng kháng sinh (antimicrobial resistance - AMR) của vi khuẩn gây bệnh đang là một trong những mối nguy hại lớn cho sức khỏe con người và vật nuôi. Để khắc phục tình trạng phụ thuộc và từng bước thay thế kháng sinh, nhiều nghiên cứu hiện nay đề xuất tìm kiếm các phương pháp tiếp theo để ngăn ngừa sự biến đổi bằng công nghệ nano kháng khuẩn. Tiềm năng ứng dụng của công nghệ nano trong nông nghiệp, chăn nuôi, thú y và nuôi trồng thủy sản, hướng đến độ an toàn, phòng và trị bệnh và tăng năng suất chăn nuôi được trình bày trong bài viết này bao gồm sử dụng vật liệu nano trong truyền thuốc kháng khuẩn, phụ gia bảo quản thức ăn, độ an toàn thức ăn và cải thiện sức khỏe động vật nuôi. Đặc biệt, bước đầu trong nghiên cứu khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của vật liệu nano cho thấy vi khuẩn gây bệnh như Staphylococcus aureus và Enterococcus faecalis bị ức chế lần lượt bởi các nano Ag và nano Cu trong thử nghiệm in vitro. Những dữ liệu này sẽ là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo trong việc hỗ trợ phòng và trị bệnh nhiễm khuẩn, hạn chế sự phát tán vi khuẩn kháng kháng sinh, và tăng cường sức sống cho vật nuôi. Trong các nghiên cứu tương lai, các dạng nano sinh phẩm sẽ được thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn in vivo trên các đối tượng động vật và các loài thủy sản nuôi.

1. Tiềm năng ứng dụng kiểm soát vi khuẩn gây bệnh của công nghệ nano

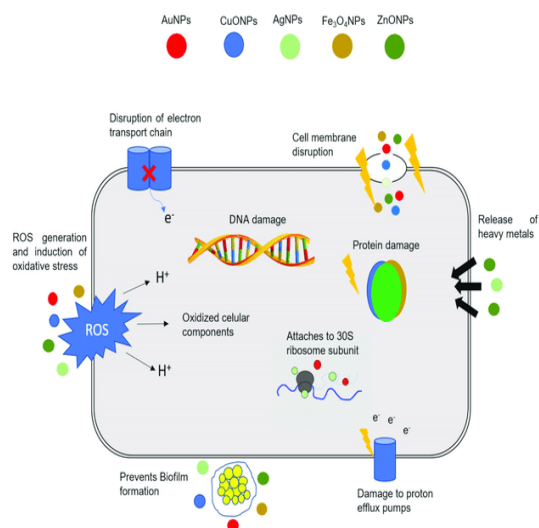
Công nghệ nano là một công nghệ phát triển nhanh chóng, có tác động lớn đến nhiều lĩnh vực khác nhau như: ứng dụng trong điều trị, ứng dụng trong sản xuất chăn nuôi. Công nghệ nano ban đầu được tạo ra để lắp ráp các vật liệu mới có kích thước từ 1 đến 100 nm (Savithramma N cs., 2011). Ngoài ra, vật liệu nano có tiềm năng trong nhiều lĩnh vực nghiên cứu, ở cả mô hình *in vivo* và *in vitro* (Singh M cs., 2008).

Sự kháng kháng sinh (antimicrobial resistance - AMR) được xác định là một trong những mối đe dọa lớn nhất đối với sức khỏe con người và vật nuôi (Bush cs., 2011). Hiện nay, sự gia tăng AMR làm cho các bệnh do nhiễm khuẩn trở thành mối quan tâm đáng lo ngại. Những vi khuẩn kháng thuốc có thể đề kháng lại các loại kháng sinh thông thường được sử dụng trong điều trị (Azeredo cs., 2017). Để khắc phục tình trạng AMR, định hướng nghiên cứu hiện nay tập trung tìm kiếm các phương pháp

mới bằng công nghệ nano (Elbourne cs., 2017). Vật liệu nano được sử dụng như vật liệu mang các loại thuốc mới hoặc các hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn vào trong cơ thể. Ngoài ra, một số loại hạt nano (nano kim loại, hữu cơ, carbon, v.v.) có thể phá vỡ cơ chế kháng thuốc và các cơ chế liên quan, và ức chế sự hình thành biofilm hoặc một số quá trình trao đổi chất ở vi khuẩn (hình 1). Bên cạnh đó, các khảo sát tính gây độc của vật liệu nano cũng như khả năng mang các hợp chất kháng khuẩn có nguồn gốc từ thực vật đang được thực hiện nhằm tối ưu khả năng tiêu diệt AMR bằng vật liệu nano. Phương pháp kết hợp các hạt nano và hợp chất kháng khuẩn tự nhiên (hoặc các hợp chất được tái sử dụng) để ức chế vi khuẩn dựa trên nguyên lý khóa các bơm efflux làm cho vi khuẩn không thể trao đổi chất với môi trường bên ngoài. Từ đó, giúp ngăn sự hình thành biofilm, can thiệp vào các tương tác quorum sensing và phá hủy plasmid. Phương pháp này đang là một trong những chiến lược tiêu diệt các loại vi khuẩn đa kháng thuốc.

¹ Viện Kỹ thuật công nghệ cao NTT, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

² Viện Khoa học ứng dụng HUTECH, Trường Đại học Công nghệ TP.HCM (HUTECH)



Hình 1. Cơ chế hoạt động khác nhau của hạt nano trong tế bào vi khuẩn. Sự kết hợp một vật liệu nano đơn lẻ trong vô số các hiệu ứng tế bào có tác động lên vi khuẩn MDR: DNA (deoxyribonucleic acid), ROS (Reactive oxygen species - phản ứng oxy hóa), AuNPs (gold NPs), CuONPs (Copper oxide NPs), AgNPs (silver NPs), Fe_3O_4 NPs (iron oxide NPs), ZnONPs (zinc oxide NPs).

2. Ứng dụng công nghệ nano trong thủy sản

2.1. Ứng dụng trong sản xuất thức ăn thủy sản

Sản xuất thức ăn chăn nuôi hiện là mục tiêu ứng dụng quan trọng nhất của công nghệ nano trong nuôi trồng thủy sản. Vật liệu nano mang lại nhiều lợi ích khi được dùng làm thức ăn chăn nuôi thủy sản, như NPs-chitosan giúp cung cấp các chất vi lượng. Ngoài ra công nghệ nano ứng dụng trong sản xuất thức ăn còn giúp kiểm soát lượng thức ăn sản xuất trên một đơn vị thời gian bằng ống nano cacbon có vách (SWCNTs), fullerene (C_{60}) và $nTiO_2$, hoặc thúc đẩy tăng trưởng của thủy sản (nFe , nSe , $nTiO_2$ và $nZnO$).

2.2. Ứng dụng trong cải thiện sức sinh sản của động vật thủy sản

Quá trình nuôi trồng thủy sản thường xuyên đối mặt với nhiều khó khăn. Quá trình sinh sản và loại thải trứng ở một số động vật thủy sản được xem là một trở ngại thường gặp. Điều này

gây ảnh hưởng đến chất lượng các thế hệ đời sau và suy thoái con giống. Để khắc phục điều này, các phương pháp kiểm soát và hỗ trợ quá trình sinh sản đã được nghiên cứu và áp dụng. Chitosan NPs được sử dụng để vận chuyển và giải phóng hormone nội sinh một cách có kiểm soát (Pulavendran cs., 2011). Rather và cs. (2013) sử dụng hormone sinh sản của cá hồi kết hợp với chitosan-nAu để khắc phục vấn đề thời gian tồn tại ngắn của hormone sinh sản trong máu, vì vậy có thể tránh sử dụng nhiều chất kích thích hóa học. Kết quả cho thấy, các hormone sinh sản tồn tại trong máu trong thời gian dài hơn ở các sinh vật được xử lý, số lượng và chất lượng trứng cải thiện và tỷ lệ thụ tinh cũng gia tăng đáng kể. Hơn nữa, nano chitosan còn kích thích giải phóng hormone luteinizing của cá hồi (CsLHRH), tăng mức độ biểu hiện của các bản sao Sox9 trong tuyến sinh dục và mức độ hormone steroid trong máu của cá trê *Batrachus*, hỗ trợ sự phát triển tuyến sinh dục (Bhat cs., 2016).

2.3. Ứng dụng trong phòng trị bệnh cho động vật thủy sản

Ngành nuôi trồng thủy sản phải đối mặt với nhiều mầm bệnh (vi khuẩn, nấm và virus) và thường được kiểm soát bằng các chất khử trùng hóa học và thuốc kháng sinh (Huang cs., 2015). Shaalan và cs. (2016) xem xét việc sử dụng NPs như một chất kháng khuẩn tiềm năng, tập trung chủ yếu vào vi khuẩn kháng kháng sinh trong thủy sản và phát triển các công cụ chẩn đoán nhanh vi khuẩn, nấm và virus gây bệnh trong nuôi trồng thủy sản. Ramya và cs. (2014) hỗ trợ tăng sức sống cho tôm càng xanh *Macrobrachium rosenbergii* khi đưa cấu trúc DNA chứa gen kháng virus nhỏ (XSVAS) của virus nốt sần được vận chuyển bằng NPs-chitosan. Guo và cs. (2016) thiết kế một hệ thống miễn dịch từ tính dựa trên việc tạo ra một microfluidic chip kết hợp với oxit thiếc indium (OTD) để phát hiện *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Độ nhạy và độ đặc hiệu của hệ thống này tương tự như phương pháp đếm khuẩn lạc, với thời gian phát hiện ngắn mà không cần nuôi

cấy khuẩn lạc. Tuy nhiên, các chế phẩm nano trong nuôi trồng thủy sản hiện nay mới chỉ đạt một số kết quả sơ khai, vẫn tồn đọng nhiều thiếu sót và tác dụng phụ cần xem xét, khắc phục.

2.4. Ứng dụng trong xử lý môi trường nuôi thủy sản

Các đặc tính hóa lý nước ao nuôi trồng thủy sản có thể bị ảnh hưởng bởi các yếu tố: thành phần đất, ô nhiễm môi trường, chất thải tồn dư của thuốc và thức ăn chăn nuôi (Venkat cs., 2011). Ô nhiễm môi trường nước đang là một trong những mối đe dọa lớn nhất đối với ngành sản xuất nuôi trồng thủy sản. Gần đây, việc ứng dụng của các sản phẩm nano dạng aerogel, polymer và vật liệu tổng hợp, các organoclays kỵ nước, và các NPs từ tính để xử lý và lọc nước được nghiên cứu (Bhattacharyya cs., 2015). nAu, nAg CNTs, nFe, lantan (La) và nTiO₂ có khả năng loại bỏ thuốc trừ sâu, amoniac, kim loại nặng và phosphat khỏi nước và nước thải (Rather cs., 2011). Các chấm lượng tử (QDs – Quantum dots) do các đặc tính quang đặc trưng được đề xuất nhằm phát hiện kim loại nặng trong môi trường nuôi trồng thủy sản (Chen cs., 2013).

2.5. Ứng dụng chữa lành vết thương

Vết thương sẽ làm mất chức năng bảo vệ của da, mất tính liên tục ở biểu mô, có thể gây tổn thương đến các mô liên kết dưới da như cơ, xương và dây thần kinh (Leaper, 1998). Khi đó, quá trình chữa lành vết thương sẽ diễn ra lần lượt theo trình tự viêm, biểu mô hóa, hạt hóa và tái tạo mô. Tuy nhiên, sự nhiễm khuẩn vết thương sẽ gây chậm quá trình hồi phục (Siddiqui, 2010). Trong trường hợp bị các vết lõ loét có nguy cơ nhiễm khuẩn cao, dẫn đến nhiễm trùng máu nặng và gây chết với tỷ lệ ~75%, thường liên quan đến sự xâm nhiễm của *Pseudomonas aeruginosa* hoặc *S. aureus* kháng methicillin. Trong trường hợp đó, hạt nano ZnO-NPs đặc biệt hiệu quả kháng *Pseudomonas spp.* và *S. aureus* và có thể dùng trong điều trị nhiễm khuẩn (Jalal cs., 2011). Nano ZnO cải thiện việc tái biểu mô, giảm viêm và ức chế vi khuẩn trên bề mặt vết thương (Agren, 1990) do ZnO sở hữu

hai đặc tính kháng khuẩn và kháng viêm, đồng thời thúc đẩy chữa lành các vết thương cấp tính và mạn tính (Padmavathy, 2008). Nano ZnO còn có tiềm năng điều trị các tình trạng khác như viêm da, mụn nước và vết loét ở da (Kumar cs., 2012). Các ZnO-NPs có các ưu thế vượt trội hơn so với ZnO thông thường về các hoạt động kháng khuẩn đặc biệt ở vi khuẩn gram dương (Tayel cs., 2011).

2.6. Ứng dụng trong bảo quản thức ăn chăn nuôi thủy sản

Tình trạng nhiễm khuẩn thực phẩm đang gia tăng trên toàn thế giới; do đó, việc kiểm soát chất lượng nguồn nguyên liệu đầu vào và sản phẩm đầu ra vô cùng cấp thiết, đảm bảo sự an toàn của nguồn thức ăn chăn nuôi. Do đó, chất bảo quản đóng vai trò quan trọng trong việc bảo quản, lưu trữ và vận chuyển các sản phẩm chăn nuôi lâu dài. Nhờ độ ổn định và tính an toàn cao, nano ZnO được đề xuất trong bảo quản thực phẩm (Stoimenov PK cs., 2002). Ngoài ra, các hạt nano bạc, kẽm, đồng và titan cũng được sử dụng trong ngành bao bì đóng gói, trong đó ZnO-NPs đã được sử dụng như một chất kháng khuẩn cho bao bì thực phẩm. Hoạt tính kháng khuẩn của polyvinyl clorua ZnO-NPs được quan sát hiệu quả kháng khuẩn *E. coli* và *S. aureus* (Li X cs., 2009)

2.7. Chất phụ gia cho thức ăn chăn nuôi thủy sản

Phụ gia là nguồn dinh dưỡng bổ sung ở nồng độ tối ưu vào nguồn thức ăn hoặc trong nguồn nước uống, nhằm nâng cao sức khỏe và sản lượng vật nuôi. Phụ gia còn có thể thay thế thuốc kháng sinh, đem lại hiệu quả cao, hạn chế tác dụng phụ và chi phí thấp. Việc bổ sung kẽm (hoặc kẽm oxit ZnO) ở nồng độ 2500 đến 3500 ppm trong thức ăn điều chỉnh mật độ và tình trạng vi khuẩn ở đường tiêu hóa và giảm tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy và tăng hiệu suất sản xuất chăn nuôi (Case CL cs., 2000).

3. Một số vật liệu nano thường dùng trong chăn nuôi thủy sản

3.1. Nano bạc (AgNPs)

Cấu trúc nano bạc có khả năng ảnh hưởng đến vi khuẩn gram dương *S. aureus* và vi khuẩn gram âm *E. coli*, *Klebsiella* và *Pseudomonas*. Các hạt nano bạc này ảnh hưởng đến chuỗi hô hấp và quá trình phân chia tế bào dẫn đến việc vi khuẩn bị chết. Ngoài ra, kỹ thuật chụp STEM xác nhận có sự hiện diện của bạc trên màng tế bào và bên trong vi khuẩn (Kim JS cs., 2007). Các nghiên cứu trước đây chứng minh, hạt nano bạc có nhiều cơ chế diệt khuẩn khác nhau bằng cách giải phóng các gốc tự do hoặc các dạng phản ứng oxy hóa (ROS). Ngoài ra, sự tương tác của các hạt nano bạc với tế bào vi khuẩn dưới dạng liên kết với các enzym hô hấp hoặc giảm mức ATP nội bào có thể phá vỡ thành tế bào vi khuẩn (Adibhesami M cs., 2017).

Các báo cáo cho thấy, nano bạc với các đặc tính khác nhau có khả năng kháng khuẩn riêng biệt. Ví dụ, nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của hạt nano bạc (AgNPs với kích thước hạt 13,4 nm) lần lượt 6,6 và 33 nM với *E. coli* và *S. aureus* (Kim JS cs., 2007). Tương tự, một nghiên cứu khác chỉ ra nồng độ ức chế tăng trưởng hiệu quả của các myramisin gắn NP_{Ag} với kích thước hạt 10nm lần lượt là 2,5 và 5µM đối với hai loại vi khuẩn nêu trên. Sản phẩm nano bạc thương mại ức chế hoàn toàn các khuẩn lạc của *E. coli* ở nồng độ là 300 µg/mL. Từ đó, kích thước hạt, capper bề mặt và hình dạng cấu trúc hạt ảnh hưởng rất lớn đến khả năng kháng khuẩn của nano bạc.

3.2. Nano vàng (AuNPs)

Các hạt nano vàng (AuNPs) thu hút sự quan tâm trong ứng dụng y sinh nhờ vào một số đặc tính ưu việt như không gây độc và tương hợp sinh học (Connor cs., 2005). Các hạt nano là công cụ rất linh hoạt, nhằm trúng mục tiêu dựa vào nhiều chức năng bề mặt kết hợp các cơ chế hoạt hóa linh động khác nhau (Kim cs., 2009). Các hạt nano vàng và que thử chứa nano vàng đang được sử dụng trên thị trường có tác dụng kháng khuẩn *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) và *E. coli* (Zhou Y cs., 2012), giúp phát hiện *Melissococcus plutonius* gây bệnh trên cá hồi châu Âu (Saleh M cs., 2012) và xác định năm chất quinoxaline-1,4-dioxit gây độc thức ăn gia

súc (Le T cs., 2016).

3.3. Nano kẽm oxide (ZnONPs)

ZnO-NPs được sử dụng trong thú y nhờ đặc tính kháng khuẩn, kháng ung thư, kháng viêm, phục hồi vết thương, tạo mạch, làm chất bảo quản thực phẩm và phụ gia thức ăn chăn nuôi. ZnO-NPs ngăn cản nhiều loại vi khuẩn trên diện rộng, tương tác mạnh mẽ và gây ra tổn thương tế bào vi khuẩn bằng cách tạo ra hydrogen peroxide trên bề mặt của ZnO và cuối cùng xâm nhập vào vi khuẩn, chèn vào các gốc chứa phospho và lưu huỳnh như DNA của vi khuẩn (Zhang cs., 2007). ZnO-NPs đang dần được thay thế kháng sinh trong phòng ngừa và điều trị nhằm giảm hiện trạng kháng kháng sinh nhờ vào hiệu quả kháng lại biofilm được tạo bởi tác nhân gây bệnh, như *S. aureus* và *E. coli* (Bajbal cs., 2012). Arabi và cs. (2012) phát hiện tác dụng diệt khuẩn gram dương, gram âm và kháng các bào tử (có thể tồn tại ở nhiệt độ và áp suất cao) theo cơ chế tăng tính thấm và ức chế sự vận chuyển màng làm chết tế bào vi khuẩn.

Các tiềm năng hứa hẹn cho sự phát triển của các công nghệ mới cũng gây nhiều rủi ro chưa được kiểm chứng trên động vật, môi trường và sức khỏe con người. FDA chứng nhận ZnO là chất an toàn (GRAS) được sử dụng. Vì vậy, việc chuyển đổi các chất vĩ mô này thành kích thước nano sẽ mang lại nhiều hiệu quả đặc biệt và hạn chế độc tính.

4. Kết luận

Công nghệ nano hiện đang phát triển nhanh chóng, mang lại nhiều ứng dụng điều trị khác nhau, giải quyết một số vấn đề liên quan đến sức khỏe và sản xuất nuôi trồng thủy sản và chăn nuôi nông nghiệp. Một số lĩnh vực đã và đang ứng dụng vật liệu nano trong sản xuất thức ăn, hỗ trợ sinh sản thủy sản, phòng chống các mầm bệnh gây hại và xử lý ao nuôi. Ngoài ra, công nghệ nano còn hỗ trợ chữa lành các vết thương trên thủy sản, làm chất phụ gia/chất bảo quản thức ăn giúp kiểm soát đảm bảo sức khỏe, nâng cao chất lượng và sản lượng thủy sản. Các loại nano phổ biến trong nuôi trồng thủy

sản như AgNPs có khả năng kháng khuẩn gram dương *S. aureus* và vi khuẩn gram âm *E. coli*, *Klebsiella* và *Pseudomonas spp.* Các hạt nano vàng (AuNPs) kháng khuẩn đối với *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) và *E. coli*. ZnO-NPs cp1 tác dụng diệt các loại vi khuẩn gram dương và gram âm. Bên cạnh đó, công nghệ nano mang lại tiềm năng cao trong việc thay thế dẫn thuốc kháng sinh trong điều trị và nâng cao giá trị sản xuất của ngành nuôi trồng thủy sản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Savithramma N, Lingarao M, Suvarnalatha P, *et al.*, 2011. Evaluation of antibacterial efficacy of biologically synthesized silver nanoparticles using stem barks of *Boswellia ovalifoliolata* Bal and henry and shorea tumbuggaia roxb. *J Biol Sci.* 11:39-45.
2. Singh M, Singh S, Prasada S, *et al.*, 2008. Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles. *Dig J Nanomater Biostrect.* 3:115-122.
3. Azeredo, J., Azevedo, N. F., Briandet, R., Cerca, N., Coenye, T., Costa, A. R., *cs.*, 2017. Critical review on biofilm methods. *Critical Reviews in Microbiology*, 43(3), 313-351.
4. Bush, K., Courvalin, P., Dantas, G., Davies, J., Eisenstein, B., Huovinen, P., 2011. Tackling antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 9(12), 894-896. Human Services.
5. Elbourne, A., Crawford, R. J., & Ivanova, E. P., 2017. Nano-structured antimicrobial surfaces: From nature to synthetic analogues. *Journal of Colloid and Interface Science*, 508, 603-616
6. Pulavendran S, Chellan R, Asit B., 2011. Hepatocyte growth factor incorporated chitosan nanoparticles augment the differentiation of stem cell into hepatocytes for the recovery of liver cirrhosis in mice. *J Nanobiotechnol* 9(1):1
7. Rather M, Sharma R, Aklakur M, Ahmad S, Kumar N, Khan M, Ramya, 2011. Nanotechnology: a novel tool for aquaculture and fisheries development. A prospective mini-review. *Fisheries Aquaculture J* 16:1-5
8. Bhat IA, Rather MA, Saha R, Pathakota G-B, Pavan-Kumar A, Sharma R, 2016. Expression analysis of Sox9 genes during annual reproductive cycles in gonads and after nanodelivery of LHRH in *Clarias batrachus*. *Res vet Sci* 106:100-106.
9. Huang S, Wang L, Liu L, Hou Y, Li L., 2015. Nanotechnology in agriculture, livestock, and aquaculture in China. *Rev Agron Sustain Dev* 35:369-400.
10. Shaalan M, Saleh M, El-Mahdy M, El-Matbouli M., 2016. Recent progress in applications of nanoparticles in fish medicine: a review. *Nanomedicine: NBM* 12:701-710.
11. Ramya VL, Sharma R, Gireesh-Babu P, Patchala SR, Rather A, NandaNPawar PC, Eswaran S., 2014. Development of chitosan conjugated DNA vaccine against nodavirus in *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). *J Fish dis* 37:815-824.
12. Guo J, Zhang R, Yang N., 2016. An Immunomagnetic-nanoparticle-based microfluidic system for rapid separation and detection of aquaculture pathogens. *J Comput Theor Nanosci* 13:2226-2231.
13. Venkat K., 2011. The climate change and economic impacts of food waste in the United States. *Int J Food Syst Dyn* 2:431-446.
14. Bhattacharyya A, Reddy SJ, Hasan MM, Adeyemi M, Marye RR., 2015. Nanotechnology-a unique future technology in aquaculture for the food security. *Int J Bioass* 4:4115-4126
15. Chen P-J, Wu W-L, Wu KC-W., 2013. The zerovalent iron nanoparticle causes higher developmental toxicity than its oxidation

- products in early life stages of medaka fish. *Water res* 47:3899-3909
16. Leaper DJ, Harding KG., 1998. *Wounds: Biology and Management*. Oxford University Press.
 17. Siddiqui AR, Bernstein JM., 2010. Chronic wound infection: facts and controversies. *Clin Dermatol* 28:519-526.
 18. Agren MS1., 1990. Studies on zinc in wound healing. *Acta Derm Venereol Suppl* (Stockh) 154:1-36.
 19. Kumar PT, Lakshmanan VK, Anilkumar TV, Ramya C, Reshmi P, 2012. Flexible and microporous chitosan hydrogel/nano ZnO composite bandages for wound dressing: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *ACS Appl Mater Interfaces* 4: 2618-2629.
 20. Tayel AA, El-tras WF, Moussa S, El-baz AF, Mahrous H, 2011. Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens. *J Food Safety* 31:211-218.
 21. Li X, Xing, Y, Jiang, Y Ding, Y, Li, W., 2009. Antimicrobial activities of ZnO powder-coated PVC film to inactivate food pathogens. *Int J Food Sci Tech* 44: 2161-2168.
 22. Case CL, Carlson MS., 2002. Effect of feeding organic and inorganic sources of additional zinc on growth performance and zinc balance in nursery pigs. *J Anim Sci* 80:1917-1924.
 23. Kim js, eunyeku k, namyu k, 2007. Antibacterial effect of silver nanoparticles. *Nanomedicine*. 3:95-101.
 24. Adibhesami M, Ahmadi M, Farshid AA, 2017. Effect of silver nanoparticles on the healing of *Staphylococcus aureus*-infected open wounds in rats: an experimental study. *Vet Res*. 8:23-28.
 25. Connor, E.E.; Mwamuka, J.; Gole, A.; Murphy, C.J.; Wyatt, M.D., 2005. Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. 1, 325-327.
 26. Kim, C.K.; Ghosh, P.; Rotello, V.M, 2005. Multimodal drug delivery using gold nanoparticles. *Nanoscale*. 1, 61–67.
 27. Zhou, Y.; Kong, Y.; Kundu, S.; Cirillo, J.D.; Liang, H., 2012. Antibacterial activities of gold and silver nanoparticles against *Escherichia coli* and *bacillus Calmette Guérin*. *J. Nanobiotechnol*. 10, 19.
 28. Saleh, M.; Soliman, H.; Sørum, H.; Fauske, A.K.; El-Matbouli, M., 2018. A novel gold nanoparticles-based assay for rapid detection of *Melissococcus plutonius*, the causative agent of European foulbrood. *Vet. Rec*. 2012, 171, *Int. J. Mol. Sci*. 19, 3299 27 of 32
 29. Le, T.; Zhu, L.; Shu, L.; Zhang, L., 2016. Simultaneous determination of five quinoxaline-1, 4-dioxides in animal feeds using an immunochromatographic strip. *Food. Addit. Contam*. 33, 244-251.
 30. Stoimenov, P.K.; Klinger, R.L.; Marchin, G.L.; Klabunde, K.J., 2002. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir*. 18, 6679-6686.
 31. Zhang, L.; Jiang, Y.; Ding, Y.; Povey, M.; York, D., 2007. Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *J. Nanopart. Res*. 9, 479-489.
 32. Arabi, Y.M.; Dara, S.I.; Memish, Z.; Al Abdulkareem, A.; Tamim, H.M.; Al-Shirawi, N.; Parrillo, J.E.; Dodek, P.; Lapinsky, S.; Feinstein, D., 2012. Antimicrobial therapeutic determinants of outcomes from septic shock among patients with cirrhosis. *Hepatology* 56, 2305-2315
 33. Bajpai, I.; Saha, N.; Basu, B., 2012. Moderate intensity static magnetic field has bactericidal effect on *E. coli* and *S. epidermidis* on sintered hydroxyapatite. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater*. 100, 1206-1217./.