

آلودگی حلزون لیمنه آ استگنالیس *Lymnaea stagnalis* به لاروهای ترماتودها در چشمه وقت و ساعت شهرستان شهرکرد

شهلا ریواز^{۱*}، غلامرضا کریمی^۲، وحید نصیری^۳، محمدعبدی گودرزی^۴، حبیب الله پایکاری^۵، غلامرضا معتمدی^۲،
خاتون ریواز^۶

- ۱- کارشناس ارشد انگل شناسی، بخش انگل شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج
- ۲- انگل شناس، استادیار بخش انگل شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج
- ۳- انگل شناس، بخش انگل شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج
- ۴- حشره شناس، استادیار بخش انگل شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج
- ۵- انگل شناس، دانشیار بخش انگل شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج
- ۶- کارشناس، معلم، آموزش و پرورش کرج

* نشانی برای مکاتبه: s.rivaz@rvsri.ac.ir

پذیرش برای چاپ: آبان نود و دو

دریافت مقاله: مرداد نود و دو

چکیده

سابقه و هدف: این مطالعه جهت تعیین آلودگی حلزون لیمنه آ استگنالیس (*Lymnaea stagnalis*) به مراحل لاروی ترماتودها در یکی از چشمه های شهرستان شهرکرد در استان چهارمحال و بختیاری انجام گرفت.

روش کار: برای بررسی آلودگی لاروی ترماتودها ابتدا عمل صید حلزون انجام گرفت و به بخش انگل شناسی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی ارسال شد. سپس با تحریک حلزون ها در مقابل نور، لوله گذاری و له کردن اقدام به جدا سازی سرکر و شناسایی آنها گردید.

یافته ها: از ۴۰۰ حلزون صید شده از چشمه مورد نظر ۳۲۰ حلزون *Lymnaea stagnalis* تشخیص داده شد. سرکرهای مشاهده شده در دسته سرکرهای *Plagiorchiid* خانواده *plagiorchiidae* جنس *opisthioglyphe* و *plagiorchis* تشخیص داده شدند.

نتیجه گیری: استان چهارمحال و بختیاری بعثت دارا بودن بیش از ۱۰ درصد آبهای کشور در پرورش حلزون های حساس به ویژه لیمنه آ زیستگاه مناسبی به شمار می رود *Lymnaea stagnalis* یکی از این حلزون ها است که در این استان یافت می شود، لذا مطالعات تکمیلی برای بررسی شیوع ترماتودها در این حلزون در سراسر استان ضروری به نظر می رسد.

واژگان کلیدی: حلزون های آب شیرین، ترماتود، لیمنه آ استگنالیس، سرکر، شهرکرد

مقدمه

آگاهی نسبت به نحوه پراکنش جمعیت حلزون های منطقه و بیماری های انگلی منتقله توسط آنها یکی از الزامات پایه برای مبارزه با حلزون ها و بالا بردن سطح سلامت جامعه می باشد(۴). حلزون های خانواده لیمنه آیده *Lymnaeidae* در راسته بازوماتوفورا *Basomatophora* و زیر دسته پولماناتا *Pulmonata* از دسته شکم پایان قرار دارند(۵). حلزون *Lymnaea stagnalis* بزرگ ترین لیمنه آ میزبان واسط در ایران می باشد که صدف آن ۴۵ میلی متر درازا و ۲۵ میلی متر پهنا داشته، حاوی ۷-۸ پیچ بوده و دهانه صدف شبیه لاله گوش انسان می باشد. این حلزون در نواحی خوزستان، خرم آباد لرستان، شهرکرد و آذربایجان غربی مشاهده شده است(۶).

در میان بیماری های انگلی قابل انتقال به انسان، بیماری های منتقله از طریق حلزون *snail transmitted diseases* بخش مهمی را تشکیل می دهند(۱). بسیاری از حلزون های آب شیرین به عنوان میزبان واسط در برقراری چرخه ترماتودهای انگلی و ایجاد بیماری های انگلی نقش دارند که در برخی موارد علاوه بر اهمیت پزشکی و بهداشتی برای انسان، زیان قابل ملاحظه ای را به احشام و طیور، که یکی از منابع مهم پروتئینی می باشند، تحمیل می نماید(۲) و سبب کاهش پشم، شیر، گوشت و سایر فرآورده های دامی شده که نهایتا منجر به زیان اقتصادی می گردد(۳).

جهت شناسایی آلودگی حلزون ها به مراحل لاروی اقدام به شناسایی حلزون های آلوده گردید.

ابتدا حلزون مورد تحریک فیزیکی قرار گرفت به این شکل که با استفاده از چراغ مطالعه تحت تاثیر نور و حرارات قرار داده و فشار اندکی هم با یک پنس بر روی صدف حلزون وارد شد. در مرحله بعد از لوله های آزمایش جهت سرگرگیری استفاده شده به طوری که در هر لوله آزمایش کمی آب بدون کلر ریخته و در هر لوله یک حلزون و تور سیمی کوچکی سر هر لوله آزمایش گذاشته شد از توری برای جلوگیری از بیرون رفتن حلزون ها استفاده شد. این مجموعه تحت تاثیر نور مصنوعی قرار داده شد و در روز بعد از نظر وجود سرگر بررسی شد.

حلزونهایی که به وسیله روش های فوق از نظر سرگر منفی بودند بین دوسطح شیشه ای له شدند و در زیر لوپ دو چشمی به دقت مورد مطالعه قرار گرفتند. از نمونه های زنده سرگرها لام میکروسکوپی مستقیم تهیه شد و با میکروسکوپ نوری از نظر حرکت، شکل ظاهری و سایر موارد بررسی شدند.

برای فیکس کردن سرگرها فرمالین ۱۰ درصد را بر روی حرارت گرم نموده و یک سی سی از فرمالین گرم را با یک سی سی مایع حاوی سرگر مخلوط نموده (جهت تثبیت شکل ظاهری سرگرها) و سپس سرگرها رنگ آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری به وسیله کلیدهای معتبر شناسایی شدند.

یافته ها

از ۴۰۰ حلزون صید شده از چشمه مورد نظر ۳۲۰ مورد *Lymnaea stagnalis* تشخیص داده شد. جهت تشخیص حلزون طول صدف، طول *Spire* و طول پیچش انتهایی اندازه گیری شد. میانگین طول صدف ۳۰ سانتی متر، طول *Spire* آن ۱۳ سانتی متر، پیچش انتهایی *Bodywhorl* ۱۷ سانتی متر و طول *Spire* کوتاه تر از پیچش انتهایی بدست آمد. سپس با استفاده از کلید شناسایی حلزون ها و بررسی رادولا حلزون گونه *Lymnaea stagnalis* تشخیص داده شد که از نظر وجود سرگر و نوع سرگر بررسی شدند.

در حلزون های *Lymnaea stagnalis* صید شده آلودگی به مرحله لاروی ترماتودها نشان داده شد و آلودگی به سرگر به تعداد فراوان محرز گردید. در طی انجام مراحل سرگرگیری حلزون شروع به دفع سرگر کرد که به علت تحرک زیاد سرگرها به خوبی در زیر لوپ دو چشمی قابل مشاهده بودند و بیش از ۳۰ درصد حلزون های *Lymnaea stagnalis* مورد مطالعه آلوده به سرگر تشخیص داده شدند. این سرگرها با دم یک شاخه، دارای تیغه دهانی *Stylet* در بادکش دهانی، وجود بادکش شکمی هم اندازه یا بزرگ تر از بادکش دهانی و بادکش شکمی در میانه بدن مشاهده گردید. با توجه به خصوصیات ذکر شده سرگرهای مشاهده شده در دسته سرگرهای *Plagiorchoid* خانواده *Plagiorchiidae* قرار می گیرند و با تفاوتی که از نظر طول سرگر، شکل *stylet*، اندازه و شکل دم و سایر موارد مشاهده شد در دو جنس *opisthioglyphe* (شکل ۱) و *plagiorchis* (شکل ۲) تشخیص داده شدند.

این گروه از حلزون ها در برقراری چرخه زندگی حداقل ۷۱ گونه از ترماتودها نقش دارند (۸،۷). راسته دی ژنه آ مهم ترین راسته ترماتودها است که در سیر تکاملی خود نیاز به میزبان واسطی از گروه حلزون ها دارد. این گروه از انگل ها شامل ترماتودهای انسانی و حیوانی هستند که انواع بیماری های ریوی، گوارشی، خونی و کبدی را در میزبان اصلی ایجاد می کنند.

مراحل لاروی در ترماتودها شامل اسپروسیست *Sporocyst*، ردی *Redia* و سرگر *Cercaria* است که در بدن حلزون ها تشکیل می شوند و بالطبع شناسایی آنها در جهت شناسایی گونه انگلی از اهمیت ویژه ای برخوردار است (۹).

در برخی موارد آلودگی گونه هایی از حلزون های خانواده لیمنه آیده با نوزاد شیسوتوزوماهای انگل پرندهگان و پستانداران منجر به ایجاد سرگر می شود که مولد درماتیت در انسان می باشد (۱۲-۱۰). بروز همه گیری فاسیولوزیس انسانی و نقش حلزون ها در چرخه زندگی ترماتودهای با اهمیت اقتصادی در دام پزشکی از دیگر موارد قابل اشاره است (۱۴، ۱۳).

تا کنون سرگرهای مختلفی شناسایی شده اند. سرگر از اسپروسیست دختر یا ردی بوجود می آید (۱۵) و غالباً میزبان نرم تن خود را ترک می کنند و برای مدتی زندگی آزاد دارند و بعد میزبان دیگری را و یا محلی را برای کیسه دار شدن پیدا می کنند (۱۶). بیشتر سرگرها دارای دمی طویل برای شنا می باشند ولیکن در برخی دم کوتاه بوده و در عده ای دم وجود ندارد که در دسته آخر حرکت خزنی دیده می شود. آناتومی دستگاه دفعی در طبقه بندی سرگرها مورد توجه می باشد. کیسه های دفعی می توانند دارای دیواره ضخیم سلولی *epithelial* و یا نازک و غیر سلولی *non epithelial* باشند که از این مشخصه نیز در طبقه بندی استفاده می گردد (۱). این مطالعه با هدف تعیین آلودگی حلزون لیمنه آ استگنالیس *Lymnaea stagnalis* به لاروهای ترماتودها در چشمه وقت و ساعت شهرستان شهرکرد انجام گرفته است.

روش کار

حلزون های مورد مطالعه در این تحقیق از چشمه وقت و ساعت واقع در استان چهار محال و بختیاری جمع آوری شدند. این چشمه و جوی های جاری شده از آن به ۵ قسمت تقسیم شده و در طی فصل بهار ۱۳۹۲ از آنها نمونه گیری انجام شد. حلزون ها داخل ظروف پلاستیکی قرار داده شده و مقداری آب چشمه به آن اضافه شد و به بخش انگل شناسی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی ارسال گردید. برای نگه داری حلزون ها شرایطی مانند شرایط زیستی طبیعی فراهم گردید. حلزون ها در آکواریوم های نگه داری حلزون حاوی آب فاقد کلر قرار داده شده و تغذیه با استفاده از کاهو انجام گرفت. تشخیص حلزون ها با توجه به خصوصیات ظاهری با استفاده از کلیدهای معتبر انجام گرفت و جهت تایید تشخیص رادولا *Radula* بررسی گردید: قسمت نرم حلزون داخل پتاس ۱۰ درصد قرار داده شده و بعد از ۴ ساعت در پتری دیش زیر لوپ دوچشمی بررسی و رادولا با بقیه قسمت ها جدا گردید و پس از رنگ آمیزی با استفاده از شکل بافت رادولا شناسایی انجام پذیرفت.

مرگ جوجه بوقلمون ها و جوجه قرقاول ها در اثر آلودگی با این انگل گزارش شده است. آلودگی هر دو پرند با این انگل موجب افسردگی، عدم افزایش وزن و سرانجام مرگ خواهد بود (۱۸). در گونه پلاگیورکیس مگالورکیس *Plagiorchis megalorchis* میزبان واسط اولیه لیمنه آ و میزبان واسط دوم نماتوسراهای آبی هستند. ابتلای ماکیان به پلاگیورکیس الگانس *Plagiorchis elegans* و پلاگیورکیس ماکولوزوس *Plagiorchis maculosus* نیز وجود دارد که آلوده شدن طیور با خوردن سنجاقک و یا نوزاد حشرات آب زی که میزبان واسط دوم انگل هستند صورت می گیرد (۱۸). در مطالعه ای Zbikowska (۲۰۰۵) که بر روی حلزون های آب شیرین در بخشی از لهستان انجام شده نیز وجود پلاگی اورکیده ها در حلزون های لیمنه آ گزارش شده است (۱۹).

Faltýnková A و هم کاران (۲۰۰۷) پس از بررسی سرکر و متاسرکر های ۹۵۳ حلزون *Lymnaea stagnalis* در اروپای مرکزی نشان دادند که این حلزون ها به ۲۴ گونه ترماتود آلوده بودند: ۱۹ گونه سرکر و ۱۱ گونه متاسرکر که در ۸ خانواده قرار می گرفتند و شامل (۱۵۹) *Opisthioglyphe ranae* و (۱۴۱) *Plagiorchis elegans* مربوط به خانواده اکینوستوماتیده بودند (۲۰). میزبان واسط اولیه پلاگی اورکیس ها، حلزون های آب شیرین بوده و میزبان واسط دوم ماهی، بندپایان و حلزون ها هستند. عفونت های انسانی با *P. javensis* P. *philippiniensis*، *P. harinasutai* در فیلیپین، اندونزی و تایلند گزارش شده است. حلزون های *Lymnaea stagnalis* اسپروسیست های شیتوزوما دوتی تی و یک پلاگی اورکیس را پرورش داده و سرکر بیرون می دهند. به نظر می رسد که یک رابطه نزدیک بین این انگل ها و دوره ای از زندگی حلزون که قابلیت حصول انگل را دارد موجود است (۲۱).

با توجه به خسارات اقتصادی ناشی از آلودگی با ترماتودها و اینکه حلزون ها در انتقال ترماتودها نقش میزبان واسط را دارند مطالعه و بررسی آنها ضروری است.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که حلزون های *Lymnaea stagnalis* در تداوم چرخه زندگی تعدادی از ترماتودها نقش دارند که با توجه به وضعیت جغرافیایی استان، وجود آب و هوای مساعد در منطقه، وجود زیست گاه مناسب برای میزبان واسط، شرایط برای مبتلا شدن میزبان نهایی مهیا بوده و در صورتی که میزبان های نهایی در معرض تعداد فراوانی سرکر قرار گیرند امکان همه گیری در منطقه بوجود می آید. بنابراین مطالعات تکمیلی برای بررسی شیوع ترماتودها در این حلزون در سراسر استان ضروری به نظر می رسد.

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله از زحمات آقای نادر احمدی کارشناس ارشد آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده دام پزشکی دانشگاه شهرکرد و آقایان غفار الیکائی نژاد و ابراهیم خدردی تکنسین های بخش انگل شناسی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی که در اجرای این تحقیق همکاری صمیمانه ای داشتند تشکر و قدردانی می شود.



شکل ۱. سرکر *opisthioglyphe (plagiorchiidae)* از حلزون *Lymnaea stagnalis*



شکل ۲. سرکر *plagiorchis (plagiorchiidae)* از حلزون *Lymnaea stagnalis*

بحث

شهرکرد با ارتفاع ۱۹۹۱ متر از سطح دریا دارای بارندگی سالیانه ۲۴۸ میلی متر، درجه حرارت متوسط ۱۲/۸ سانتی گراد و رطوبت نسبی ۳۳ تا ۶۰ درصد می باشد. استان چهارمحال و بختیاری با دارا بودن بیش از هفت صد چشمه گواراترین آب های کشور را دارد، به گونه ای که این استان با داشتن تنها یک درصد از وسعت ایران بیش از ده درصد از آب های کشور را در خود جای داده است. محیط های زیست آبی در این استان بیش تر به صورت چشمه و در موارد خیلی کم هم بصورت باتلاق های کم عمق دیده می شود (۱).

'چشمه وقت و ساعت' در شهرستان شهرکرد در فاصله دو کیلومتری روستای شمس آباد و در جوار کوه های جهان بین واقع شده است. به دلیل فراوانی آب، جوی هایی جاری از این چشمه پدید می آید و دام داران برای چرای دام ها و شستن گوسفندان به کنار این جوی ها می آیند. هم چنین مردم منطقه نیز برای گردش به اطراف این چشمه آمده و مدتی از روز را در کنار چشمه مانده و از آب آن برای شست و شو، خوردن و پخت و پز استفاده می کنند.

در ایران حضور گونه هائی از حلزون های آب شیرین که توانائی بالقوه بعضی از آنها در برقراری بیماری های مهمی هم چون فاسیولیازیس، شیتوزومیازیس و هتروفیازیس به اثبات رسیده است (۱۷). با توجه به مطالعه ای که شهلاپور (۱۳۷۵) انجام داده و لیمنه آ های ایران را از نظر انتشار بیماری فاسیولیازیس بررسی نموده مشخص شده که برخلاف نظریه قبلی محققین *Lymnaea stagnalis* هم در انتقال *F. hepatica* و *F. gigantica* به حیوانات گیاه خوار و انسان نقش اساسی را دارا می باشد (۶).

REFERENCES

1. Mansourian A. Fresh water snail fauna of Iran. PhD dissertations, Tehran Medical Sciences University, Iran, 1992; 82 (in Persian).
2. Soulzby, E. J. L. Textbook of veterinary clinical parasitology. Vol. 1. Helminthes. Oxford: Blackwell Scientific 1965.
3. Karimi Gh, Alamian S, Rivaz Sh. Manual induced infection of laboratory reared snails by miracidium of *Ornithobilharzia turkestanicum* in Shadegan region, south-west of Iran, Veterinary journal (Pajouhesh & Sazandegi) 1388; No82, 2-5.
4. Zamini Gh, Massoud J. Distribution. Trematodes larval contamination of *Bullinus truncatus*. J Ghazvin univ Med sci 1999; 10: 50-60.
5. Macan TT. Snail-Transmitted parasitic disease Boca Rotan, Florida: CRC, 1980; 252.
6. Shahlapor AA. Study of changes in blood and tissue factors, and clinical Pathology Experimental Fascioliasis sheep {PhD thesis} Tehran University, 1993; 121-23 (Article in Persian).
7. Ashrafi A, Massoud J, Holakuei K, Mahmoodi M, Joafshani MA. Evidence suggesting that *Fasciola gigantica* may be the most prevalent causal agent of Fasciolosis in Northern Iran. Iran. J Public Health. 2004; 33: 31-7.
8. Bargues MD, Vigo M., Horak P, Dvorak J, Patzner RA, Pointier JP, Jackiewicz M, MeierBrook C, Mas Coma S. European Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda), intermediate hosts of trematodiasis, based on nuclear ribosomal DNA ITS-2 sequences. Infect Genet Evol 2001; 1: 85-107.
9. Mansoorian A, Rokni MB. Medical Malacology. Tabesh Andisheh, Tehran, 2003; 57-68.
10. Defrancesco CG, Isla FI. Distribution and Abundance of Hydrobiid snails in a mixed Estuary and a Coastal lagoon, Argentina, Estuaries. 2003; 26(3): 790-797.
11. Harman WN, Hart CW, Fuller SLH. Snails (Molluscan: Gastropoda). In. (Eds), Pollution Ecology of freshwater Invertebrates. New York and London. Academic Press, 1974; 275-312.
12. Karruki HC, Clennon JA, Brady M S, Kitron U, Sturrock RF, Ouma J H, et al. Distribution patterns and cercaria shedding of *Bullinus*, Kenya. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2004; 70(4):449-56.
13. Malek EA. Snail-Transmitted parasitic disease. Boca Raton, Florida: CRC, 1980; 252.
14. Malek E A. Snail hosts of schistosomiasis and other snail transmitted diseases in tropical America: A manual. PAHO, Washington, 1985; 325.
15. Krist A C, Lively CM. Experimental exposure of juvenile snails (*potamopyrgus antipodarum*) to infection by trematode larvae (*Microphalus* sp.): infectivity, fecundity compensation and growth oec.d. 1998; 116: 575-582.
16. Dawes Ben, The trematoda, London Cambridge the university press. 1956; Pp.32 -52.
17. Masoud J, Sadyadi S. Susceptibility of different species of lymnaea snails to miracidia of *fasciola gigantica* and *fasciola hepatica* in Iran. J. Hemintology 1980; 54, 201-2.

18. Eslami A, Veterinary Helminthology, Vol. I. Trematoda. (First, Second and Third edition, 1990, 1998 and 2006). University Publications.224.
19. Zbikowska E, Zbikowski J. Differences in shell shape of naturally infected *Lymnaea stagnalis* (L.) individuals as the effect of the activity of digenetic trematode larvae. 2005 oct; 91(5): 1046-51.
20. Faltýnková A, Nasincová V, Kablášková L. Larval trematodes (Digenea) of the great pond snail, *Lymnaea stagnalis* (L.), (Gastropoda, Pulmonata) in Central Europe: a survey of species and key to their identification. Parasite 2007; 14-1:39-51
21. Yoder HR, Coggins JR. Larval trematode assemblages in the snail *Lymnaea stagnalis* from southeastern Wisconsin. J Parasitol. 1998 Apr; 84(2):259-68.