

آلوده سازی حلزون‌های آب شیرین منطقه شادگان به میراسیدیوم *Ornithobilharzia turkestanicum* در محیط آزمایشگاه

• غلامرضا کریمی (نویسنده مسئول)، • سعید عالمیان و • شهلا ریواز

گروه انگل شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج

تاریخ دریافت: اردیبهشت ماه ۱۳۸۶ تاریخ پذیرش: آبان‌ماه ۱۳۸۶

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۲۶۱۴۵۷۰۰۳۸-۴۶

Email: karimighr2003@yahoo.com

چکیده

در این بررسی حساسیت حلزون‌های آب شیرین منطقه شادگان به *O. turkestanicum* انجام گرفت. به این طریق که ۲۰۰ عدد حلزون از منطقه شادگان به آزمایشگاه انگل شناسی موسسه رازی کرج انتقال یافته و شناسایی شدند. سپس در تشتک‌های مخصوص پرورش داده شده و در معرض میراسیدیوم *O. turkestanicum* قرار گرفتند. نتایج نشان داد که این حلزون‌ها از جنس ملانوییدس، فیزا و لیمنه آ بودند. از جنس لیمنه آ، گونه *Lymnaea gedrosiana* به *O. turkestanicum* حساس بود و به انگل فوق آلوده شد، در حالیکه جنس فیزا و گونه *L. Palastris* نسبت به میراسیدیوم *O. turkestanicum* مقاوم تشخیص داده شد.

کلمات کلیدی: حلزون‌های آب شیرین، *O. turkestanicum*، میراسیدیوم، شادگان

Veterinary Researches in Pajouhesh & Sazandegi No 82 pp: 2-5

Manual induced infection of laboratory reared snails by miracidium of *Ornithobilharzia turkestanicum* in Shadegan region, south- west of Iran

By: Karimi, (Corresponding Author Tel:) Gh.R. ; Alamian, S. ; Rivaz, Sh, Department of Parasitology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj- Iran.

In this study a laboratory research on sensitivity from fresh water snails of Shadegan area to *Ornithobilharzia turkestanicum* was investigated. Totally 200 snails from Shadegan area were collected and identified. The snails were identified as *Lymnaea gedrosiana*, *p. hysa* sp. and *melanoides* sp. The results showed *in-vitro* culture and exposition to the miracidia of *Ornithobilharzia turkestanicum* only *Lymnaea gedrosiana* was sensitive to infection by *O. turkestanicum* of transmitting while *physa* sp and *Lymnaea palustris* were resistant to that infection

Key words: Fresh water snails, *Ornithobilharzia turkestanicum*, Miracidium, Shadegan

مقدمه

میزبان‌های واسط ترما تودهای^۱ ایران عمدتاً از حلزون‌های آب شیرین و از جنس لیمنه آ^۲ می‌باشند، این نرم تنان از گروه شش داران^۳ و جزء دوزیستان هستند که در آب و خاک‌های مرطوب و گلی زندگی می‌کنند و می‌توانند به میراسیدیوم^۴ ترما تودها آلوده گردیده، مراحل رشد نوزادی انگل را در بدن خود فراهم نمایند. در این حلزون‌ها دستگاه تناسلی نر و ماده^۵ در یک نرم تن وجود دارد و تاکنون در ایران هفت گونه از آن‌ها شناسایی و بررسی که عبارتند از: *L. auriculari*, *L. truncatula*, *L. Pstagnails*, *L. Pergra*, *L. rufescens*, *L. Palastris*, *gedrosiana* (۱، ۲، ۳، ۴).

لیمنه آهای گروه اوریکولاریا^۶ (اوریکولاریا، گدروزینا، روفسنس و پرگرا) دارای صدفی نازک و شفاف با دریچه بزرگ^۷ هستند که پیچش انتهایی^۸ خیلی رشد کرده و شبیه به لاله گوش خارجی انسان می‌باشد. بلندی^۹ آن کوچک و راس^{۱۰} نوک تیز دارند. ابعاد صدف به طول ۱۳/۴ تا ۱۴/۴ میلی متر و به عرض ۷ تا ۱۴/۵ میلی متر بالغ می‌شود. این حلزون‌های آبی در تمام نقاط پست و در آب‌های با جریان ملایم، چشمه زارها، مرداب‌ها و استخرها تا عمق ۵۰ تا ۷۵ سانتی متری، جاهایی که گیاهان آبی فراوان هستند دیده می‌شوند.

تمام این حلزون‌ها در صورت نگهداری در شرایط مساعد حرارت، آب اکسیژن دار، نور کافی و تغذیه مناسب در شرایط آزمایشگاه قابل پرورش می‌باشند (۴، ۱۰).

شرایط مساعد برای رشد حلزون، pH مختصر اسیدی محیط و آب دارای جریان ملایم برای دور کردن مواد زائد دفعی حلزون می‌باشد. حلزون‌ها عمدتاً از جلبک‌ها^{۱۱} تغذیه می‌کنند و درجه حرارت مناسب برای رشد و تکامل آن‌ها ۱۵ تا ۲۲ درجه سانتی گراد است و در کمتر از ۵ درجه سانتی گراد رشدشان متوقف می‌شود (۱۳). بنابراین جهت مطالعه در آزمایشگاه این میزبان‌های واسط هر یک جداگانه در تشتک‌های مخصوص نگهداری شده و به آزمایش آنها اقدام شده است.

با توجه به اینکه حلزون‌ها در انتقال ترما تودها نقش میزبان واسط را دارند مطالعه و بررسی آن‌ها با توجه به مبارزه با خسارات اقتصادی ناشی از آلودگی با ترما تودها می‌توان حلزون‌ها را کنترل نمود، ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش کار

برای جمع آوری حلزون‌های منطقه شادگان، ابتدا منطقه را به چهار قسمت تقسیم کرده و از هر قسمت با استفاده از توری فلزی دسته دار و به طور تصادفی نمونه برداری شد. سپس زمان و مکان جمع آوری حلزون‌ها یادداشت و ثبت گردید.

در ۱۵ کانون جمعاً ۱۰۰۰ عدد حلزون جمع آوری شد که از سه جنس لیمنه آ، فیزا و ملانوییدس بودند، تعداد ۲۰۰ عدد حلزون زنده از منطقه شادگان خوزستان جمع آوری و به آزمایشگاه انگل شناسی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج انتقال داده شد. حلزون‌ها معمولاً از آبهای تمیز اطراف جوی‌ها، برکه‌ها و حوضچه‌های پرورش ماهی جمع آوری شدند که برای این منظور دستکش، چکمه و توری به کار برده می‌شد. چون حلزون‌ها به فاصله ۵۰ تا ۷۵ سانتی متری کنار آب زندگی می‌کنند صید آن‌ها با استفاده از توری دسته دار یا پارو و در موارد استثنایی دست انجام گرفت.

برای نگهداری و انتقال حلزون‌ها به آزمایشگاه ابتدا یک جعبه چهارگوش استفاده شد که ته آن پنبه مرطوب گذاشته شده بود و حلزون‌ها در فاصله ۱ تا ۲ سانتی متر از یکدیگر قرار داده شدند و دوباره روی آن‌ها پنبه گذاشته شد تا جعبه پر از پنبه شده و هنگام حرکت حلزون‌ها تکان نخورند. همچنین برای هوا دهی به حلزون‌ها سوراخ‌هایی روی جعبه تعبیه گردید و در مسیر راه مرتب پنبه‌ها مرطوب شدند.

در آزمایشگاه حلزون‌ها در درون تشتک‌های مخصوص که پر از آب تمیز بدون کلر بود، نگهداری شده و وقتی به سن نوجوانی رسیدند (حدود یک سانتی متر) با استفاده از روش زیر آلوده شدند (۶، ۹).

برای آلوده نمودن حلزون‌ها، ۲۰ گرم مدفوع گوسفند آلوده به تخم اورنیتوبیلارزیا ترکستانیکم کاملاً خرد و یکنواخت شد و پس از مخلوط کردن آب ولرم ۲۰ درجه سانتی گراد در الک آزمایشگاهی نمره ۱۰۰ صاف شده و مایع حاصل در بشرهای یک لیتری ریخته و رویش آب تمیز فاقد کلر ریخته شد. بشر ۱۰ تا ۱۲ دقیقه در تاریکی قرار داده شد تا تخم‌ها رسوب نمایند. مدت زمان بیشتر موجب خروج میراسیدیوم‌ها از تخم‌ها خواهد شد. سپس آب رویی را آنقدر خالی کرده تا مایعی به ارتفاع ۲ سانتی متر در ته ظرف باقی بماند. بعد از آن چند بار ۱۰۰ سانتی متر مکعب آب به رسوب اضافه گردید و مایع رویی خارج شد تا مایع باقی مانده در ته بشر شفاف

ایشان از دهستان جفال واقع در شرق هور *L. gedrosiana* جمع آوری گردید ولی در امام سه توپچی و مالکی آلبو ناظر همه فیزا بودند. از آبگیرهای شرق شادگان جنب کشتارگاه و جنوب شادگان (عنابتی و عبودی) حلزون فیزا جدا شد.

از حلزون‌های منطقه خنفره (گیداری) که ۱۰۰ درصد لیمنه آ بودند تعداد ۲۰۰ عدد برای پرورش به موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج منتقل شد، گونه‌های لیمنه آ به عنوان *L. gedrosiana* تشخیص داده شدند و به کرم *O. turkestanicum* آلوده شدند به طور تجربی مشاهده شد که ل *L. gedrosiana* برخلاف سایر حلزون‌ها قادر به انتقال *O. turkestanicum* در محیط آزمایشگاه می‌باشد. در صورتیکه حلزون *L. Palastris* که قبلاً از شمال ایران به آزمایشگاه آورده شد بود و با شرایط آزمایشگاه سازگار شده بود و فیزا، آلوده به میراسیدیوم *O. turkestanicum* نشدند.

بحث

در استان خوزستان *L. auricularia* و *L. gedrosiana* از سراسر استان و *L. trancatula* بیشتر در ارتفاعات و با پراکنش خیلی کم در دشت و *L. Stagnalis* فقط در باتلاق هور العظیم واقع در جنوب غربی استان دیده شده است (۵، ۸).

در بررسی‌های انجام شده طی سالهای ۸۲ - ۷۹ که در همه مناطق شهرستان شادگان صورت گرفت در اطراف هور خصوصاً جنوب شرقی حلزون‌های لیمنه آ وجود داشت و نسبت حلزون‌های راست گرد در منطقه به اینگونه بود که در مناطقی صددرصد لیمنه آ بودند و در مناطقی دیگر صددرصد فیزا و در تعداد معدودی از مناطق نیز حلزونی مشاهده نگردید. به علاوه در اطراف هور، خنفره در سمت جنوب غربی، ام الصخر در شمال شرق و دارخوین در غرب هور حلزون *L. gedrosiana* وجود داشت. زیرا وجود شرایط اکولوژیکی مناسب، برکه‌ها و آبگیرهای آب شیرین و آب و هوای مناسب (هوای گرم و مرطوب و آب شیرین) سبب شده اند که حلزون‌ها انتشار وسیعی داشته باشند و میزبان واسط *O. turkestanicum* و *Fasiola gigantica* شناخته شوند (۸، ۱۱). وجود *L. auricularia* و *L. gedrosiana* به عنوان میزبان‌های واسط احتمالی *O. turkestanicum* در منطقه فلاورجان اصفهان گزارش شده است. همچنین در بررسی حلزون‌های رودخانه زاینده رود نیز بیشترین فراوانی را *L. auricularia* داشته است (۷). در استان فارس ل *L. gedrosiana* توسط تجلی پور (۱) و منصوریان (۴) گزارش شده است که با توجه به همه گیری اورنیتوبیلارزیوزیس در سال ۱۳۷۲ از این مناطق، مؤید این مطلب می‌باشد که میزبان واسط *O. turkestanicum* در فارس ل *L. gedrosiana* می‌باشد (۳). در شمال ایران حلزون‌های جمع آوری شده از مناطق آلوده، عمدتاً از گونه‌های *L. auricularia* و ل *L. Palastris* بوده‌اند (۲).

بررسی پراکندگی حلزون‌های آب شیرین ایران (۴) نشان داد که این حلزون‌ها در کلیه نقاط کشور ایران وجود دارند. با توجه به اینکه میزبان واسط *O. turkestanicum* در شمال خوزستان *L. gedrosiana* می‌باشد (۱۰، ۱۱) و همچنین با در نظر گرفتن فون^{۱۳} حلزون‌های موجود در ایران که گونه‌های *L. auricularia* و *L. gedrosiana* را در خوزستان و در منطقه دشت فراوان گزارش می‌کند (۴).

شود. سپس مایع محتوی تخم‌های حاوی میراسیدیوم‌های رسیده در بوات دو پتری ریخته شد و به آن نور مصنوعی تابانده شد و در زیر نور قراردادده تا میراسیدیوم‌ها از تخم خارج شوند (۶).

در مرحله بعدی تعدادی لوله همولیز $\frac{1}{2}$ تا $\frac{1}{3}$ آب تمیز معمولی بدون کلر پر شده بود به هر یک ، یک عدد حلزون *L. gedrosiana* را با پنس مخصوص قرار داده و برای اینکه حلزون از لوله خارج نشود تور سیمی کوچکی در سطح آب گذاشته شد و بوسیله پیپت پاستور پوار دار از میراسیدیوم‌های فعال *O. turkestanicum* گرفته و به داخل هر یک از لوله‌های حلزون دار انداخته و پس از ۴ ساعت با اطمینان به اینکه میراسیدیوم به داخل بدن *L. gedrosiana* وارد شده، لیمنه آ‌ها در تشتک مخصوص^{۱۲} به ابعاد ۳۰*۳۰ و ارتفاع ۲۰ سانتی متر جمع آوری و در آزمایشگاه پرورش حلزون با درجه حرارت مناسب و ثابت قراردادده شد و تاریخ آلودگی روی ظرف مخصوص ثبت و در آزمایشگاه تحت نظر قرار گرفتند.

پس از آلوده شدن حلزون‌های *L. gedrosiana* یک لوله هوای باریک نیز به داخل آب گذاشته شد تا اکسیژن لازم در آب تأمین شده و جهت تغذیه از کاهو که قبلاً در فور استریل گردیده بود استفاده شد. آب تشتک‌ها هفته ای یک بار تعویض گردیده و محل نگهداری حلزون‌ها نیز تمیز می‌شدند. روزانه وضعیت لیمنه آ‌ها را بررسی کرده و تعداد تلف شده از محیط خارج می‌شدند. لیمنه آ‌ها از نظر آلودگی به مراحل نوزادی *O. turkestanicum* هفته ای دو بار زیر لوپ مورد بازرسی قرار گرفته و از روز ۱۷ به بعد هر روز با دقت بیشتری بررسی شده تا اولین سرکرهای خارج شده دیده شوند.

پس از رشد کامل سرکرها در درون حلزون‌های لی *L. gedrosiana* را از محل پرورش که حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد داشت در آورده و آن‌ها را یک مرتبه وارد آب ۵ تا ۱۰ درجه سانتی گراد کرده و به این ترتیب شوک وارده به حلزون‌ها در زیر نور کافی موجب خروج شدید سرکرهای آماده در حلزون شده و چندین هزار (۴۰۰-۶۰۰) سرکر از بدن حلزون خارج و به درون ظرف ریخته شدند و در صورت لزوم در کارهای تحقیقاتی استفاده می‌شود. مراحل بالا بر روی حلزون پالوستریس و فیزا نیز انجام گرفت.

نتایج

در اطراف هور، خنفره در سمت جنوب غربی، ام الصخر در شمال شرق، دارخوین واقع در غرب هور حلزون لیمنه آ وجود داشت در خنفره (گیداری) گونه غالب لیمنه آ بود. در شرق هور گونه غالب فیزا و در منطقه آبشار حلزونی صید نشد.

در دهستان بوزی از منطقه آبشار جدید و بوزی واقع در شرق شهرستان حلزون *L. auricularia* جمع آوری شد.

از رگبه و صراخیه واقع در غرب شادگان هر دو گونه اوریکولاریا و فیزا جمع آوری گردید. در دهستان آبشار و بندر دورق حلزونی مشاهده نشد. حلزون‌های گزارش شده از روستاهای امام زاده سید و گیداری از دهستان خنفره واقع در جنوب غربی شادگان لیمنه آ گذروزیانا بودند.

از منطقه دار خوین (علی بن حسین) واقع در غرب هور *L. gedrosiana* جمع آوری شد.

از روستاهای شاه ولی، توپچی، شبیشی بزرگ، ابوشکوک، ابوسوره و

منابع مورد استفاده

- ۱- تجلی پور، مهدی، ۱۳۶۱؛ نرم تنان زمینی و رودخانه ای در ایران، انتشارات موسسه مطالعاتی و تحقیقاتی فرهنگی.
- ۲- حسینی، حسین، اسلامی، علی و حدادزاده، حمیدرضا، ۱۳۷۶؛ گزارش همه گیری اورنیتوبیلارزیوزیس در گوسفندان بابلسر، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۳، دوره ۵۲ صفحه ۵۸ - ۵۳.
- ۳- رسولی بیرامی، ناصر، مؤذنی، جولا، غلامرضا و نوذری، نسیرین، ۱۳۷۳؛ اورنیتوبیلارزیوزیس دامها در فارس، انتشارات شبکه دامپزشکی و مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان فارس.
- ۴- کریمی، غلامرضا ۱۳۸۲؛ بررسی اپیدمیولوژی اورنیتوبیلارزیوزیس ترکستانیکم در حلزون و گوسفند شادگان و ارزیابی تست‌های سرولوژی برای تشخیص بیماری. پایان نامه دانشجویی جهت اخذ دکترای تخصصی انگل شناسی از دانشکده دامپزشکی اهواز، صفحه ۵۴.
- ۵- منصوریان، اله بداشت، ۱۳۷۱؛ بررسی فون حلزون‌های آبهای شیرین ایران، پایان نامه برای دریافت Ph.D. از دانشکده بهداشت علوم پزشکی تهران، شماره ۱۴۷۵۵.
- 6-Anonymous, A. 1975; Book For Farmers, Stock Diseases. Bayer, Leverkusen, Germany.
- 7-Ghadirian, E. and Hoghooghi, N. 1973; The Presence of snails of veterinary importance in Isfahan Iran, Br. vet. J. 129, 1 - III.
- 8- Karimi, Gh.R., Derakhshanfar, M. and Paykari, H. (2004). Population Density, Trematodal Infection and Ecology of Lymnaea Snails in Shadegan. Archives of Razi Institute 58:125-129.
- 9- Malek, E.A. 1980; Snail transmitted Parasitic diseases. Vol I & II. CRC press.
- 10- Massoud, J. 1974; Observation on Lymnaea gedrosiana, the intermediate host of Ornithobilharzia turkestanicum in Khuzestan, Iran. Journal of Helminthology, 48:133-138.
- 11- Massoud, J. 1974; The effect of Variation in miracidial dose on Laboratory infections of Ornithobilharzia turkestanicum in Lymnaea gedrosiana. Journal of Helminthology, 48:139-144.
- 12- Soulsby, E.J.L. 1982; Helminths, Arthropods and Protozoa of domesticated animals, 7th edition, Bailliere Tindall. London, 71-82.
- 13- Thompson, R. and cheney, S. 1996; Raising Snails, The Alternative Farming Systems Information center, National Agricultural Library, Beltsville MD 20705-2351.

درستی مطالب فوق در اطراف تالاب شادگان تأیید می‌شود به گونه‌ای که در برخی مناطق گونه غالب لیمنه آ می‌باشد و در جاهایی دیگر فیذا که با در نظر گرفتن این نکته که فیذا مقاوم به میراسیدیوم *O. turkestanicum* می‌باشد و با توجه به تحقیق فوق که گذرور یانه‌های جنوب خوزستان حساسیت بالایی به میراسیدیوم *O. turkestanicum* دارند می‌توان نتیجه گرفت که این حلزون به عنوان میزبان واسط این انگل می‌باشد.

پس با وجود آب و هوای مساعد در منطقه و وجود میزبان واسط و نهایی، شرایط برای مبتلا شدن دامها مهیا بوده و در صورتیکه دامها در معرض تعداد فراوانی سرکر اورنیتوبیلارزیوزیس قرار گیرند قطعاً امکان همه گیری در منطقه بوجود می‌آید. بنابراین شهرستان شادگان در منطقه جنوبی دشت خوزستان می‌تواند یکی از کانون‌های مستعد آلودگی دامها به *O. turkestanicum* باشد. چرا که حلزون میزبان واسط آن به وفور وجود دارد و چه بسا علاوه بر گوسفند و بز دیگر دامها مانند گاو، گاو میش، تک سمی‌ها و غیره نیز در معرض آلودگی باشند.

پاورقی‌ها

- 1- Trematoda
- 2- Lymnaea spp
- 3- pulmonata
- 4- Miracidium
- 5- Hermaphrodite
- 6- L. truncatula
- 7- L. auricularia
- 8- L. gedrosiana
- 9- L. palustris
- 10- L. pregra (preger)
- 11- L. rufescens
- 12- L. stagnalis
- 13- Lymnaea auricularia group
- 14- Aperture
- 15- Body whorl
- 16- Spire
- 17- Apex
- 18- Algae
- 19- Culture Pen
- 20- Fauna

