

مطالعه ای بر سرکرهای (لاروتوماتدها) خانواده هتروفیده در حزونهای ملانوئیدس و ملانوپسیس

دکتر علی فرهنگ^{*} ، دکتر جعفر مسعود^{**}

^{*} استادیار، گروه انگلشناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

^{**} استاد، گروه انگلشناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

خلاصه

سابقه و هدف بیماریهای انگلی، از جمله بیماریهای منتقله توسط حزونهای نظیر هتروفیدوزیس، از دیر باز شناخته شده‌اند، ولی این بیماری تنهای در یک دهه اخیر بعنوان یک بیماری انسانی در ایران و بدون تعیین میزان واسطه آن شناخته و معروفی شده است.

هدف از این این تحقیق شناسائی حزونهای تاقل بیماری هتروفیدوزیس در استان خوزستان یعنی کانون اندامیک بیماری است. مواد و روشها به همین منظور ۱۲۰۰ حزون ملانوئیدس توبرکولاتا (*Melanoides tuberculata*) و ۱۷۰۰ حزون ملانوپسیس (*Melanopsis spp.*) موجود در کانونهای آلوده انسانی جمع‌آوری و در شرایط زنده به آزمایشگاه منتقل و سپس سرکرها به دو روش لوله‌گذاری و یا له کردن (*Crush*) حزونهای آلوده بدست آمدند. سرکرها جمع‌آوری شده پس از ترسیم به کمک منابع معتبر و یا آلوه‌گی تجربی در ماهی گامبوزیا (*Gambusia affinis*) تشخیص داده شدند.

یافته‌ها. در این مطالعه سرکرهای هاپلورکیس پومیلیو (*Haplorchis pumilio*) و هاپلورکسیس تائیشوئی (*H. taichui*) و استالت کاسموس فالکاتوس (*Centrocestus falcatus*) و سنتروسستوس فورموزانوس (*Stellantchasmus falcatus*) که همگی از انگل‌های خانواده هتروفیده هستند بدست آمدند.

نتیجه گیری و توصیه‌ها. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد حزونهای ملانوئیدس توبرکولاتا و ملانوپسیس میزان واسطه اول بیماری هتروفیدوزیس در خوزستان هستند.

وازگان کلیدی: هتروفیده، حزون، میزان واسطه.

مقدمه

میلی‌متر هستند در روده کوچک پرندگان و پستانداران ماهی خوار و از جمله انسان زندگی می‌کنند(۱). ۸/۳٪ افراد اتوپسی شده در مانیل (فلیپین) آلوده به هتروفیدوزیس روده‌ای بوده‌اند. ۴۴٪ عفونتهای روده‌ای به شکل احشائی ظاهر شده‌اند. شکل احشائی قلب، مغز، طناب تخاعی، کبد، ریه و طحال را در گیر می‌سازد (۲).

در هتروفیدوزیس یک دوز منفرد پرازیکوتل (Preziuantel) به میزان ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم بدن یا نیکلوزاماید (Niclosamide) به میزان ۲ گرم به ازای هر کیلو گرم بدن به مدت سه روز متناوب نتایج خوبی می‌دهد (۳). میزان حزونی (میزان واسطه اول) کرم‌های هتروفیده متعلق به بیش از یک خانواده است و این

هتروفیدوزیس (Heterophyidosis) یک بیماری زئونوز است که توسط ترماتدهای خانواده هتروفیده بوجود می‌آید که خود شامل چندین جنس و گونه است از جمله هتروفیس هتروفیس (*Heterophyes heterophyes*), متاگونیموس یوکوگاوائی (*Metagonimus yokogawai*), هاپلورکیس پومیلیو (*Haplorchis pumilio*), هاپلورکسیس تائیشوئی (*Haplorchis taichui*), استالت کاسموس فالکاتوس (*Centrocestus falcatus*) و سنتروسستوس فورموزانوس (*Stellantchasmus falcatus*) که اغلب آنها انتشار جهانی دارند و در چرخه زندگی دارای یک حزون و یک ماهی به عنوان میزان واسطه اول و دوم هستند. این ترماتدهای ریز که به طول ۰/۵-۱/۲ میلی‌متر و عرض ۰/۳-۰/۵

مواد و روشها

اگرچه حلزونهای مختلفی در منطقه مورد مطالعه ما زندگی می‌کنند اما بدلاًیلی که بعداً ذکر می‌شود فعالیت سرکریابی بر روی حلزونهای ملانوئیدس توبرکولاتا، ملانوپسیس پرامورسا، ملانوپسیس کوستاتا، ملانوپسیس دوریه، و ملانوپسیس ندوزا صورت گرفت. برای جمع‌آوری این حلزونها ابتدا نقشه رودخانه شاور و کانالهای آبی زراعی منطقه مرکزی خوزستان یعنی منطقه پل شاور و تهیه و در طول مدت تحقیق ۱۳۷۰-۱۳۷۲ و در تمام سال بخصوص اوخر بهار تابستان و اوایل پائیز از این کانالها نمونه برداری می‌شد. اصولاً جمع‌آوری ملانوپسیس که معمولاً در کنار آب کانالها و در فاصله بین آب و خشکی زندگی می‌کردند با پارو و حتی با دست قابل انجام بود، اما برای جمع‌آوری ملانوئیدس‌ها پاروی کناره کانالها و برکه‌ها کفايت نمی‌کرد و به اجبار از پاروها بزرگتر که قدرت جمع‌آوری رسوب کف کانال را داشتند استفاده می‌شد. این پاروها دارای یک دسته چوبی به طول $1/5$ متر و توری به ابعاد 40×30 سانتی‌متر می‌باشند. حلزونهای فوق پس از جمع‌آوری به داخل سطل منتقل و با مقداری از آب کانال به ایستگاه تحقیقاتی منتقل می‌شدند سپس در ظروف پلاستیکی و یا شیشه‌ای حاوی آب بدون کلر قرار داده می‌شدند تا در فرصت مناسب عمل سرکریابی در آنها انجام شود.

عمل سرکریابی به دو روش صورت می‌گرفت: الف - روش لوله گذاری، ب - روش له کردن (crush).

در روش لوله گذاری عصر روز آزمایش حلزون از ناحیه رأسی (Apex) داخل لوله آزمایش قرار داده می‌شد. آنگاه $1/3$ حجم لوله از آب بدون کلر پر شده و پشت پنجه قرار داده می‌شد تا در برابر نور ملامیم صحیح روز بعد و حرارت مناسب (20° درجه سانتیگراد) اتفاق سرکرها از حلزون خارج و در آب شناور شوند. صبح روز بعد با حرکت سرکرها در لوله‌ها حلزونهای آلوهه از حلزونهای غیر آلوهه تفکیک و جمع‌آوری می‌شدند.

در روش له کردن ابتدا حلزون بین دو لبه گاز انبر قرار داده می‌شد تا صدف آن در اثر فشار گاز انبر شکسته شود، سپس محتويات حلزون به آرامی با آنس روی لام گذاشته می‌شد و پس از مختصری فشار زیر لوب عمل جستجوی سرکر در احساء حلزون انجام می‌گرفت. پس از مشاهده

حلزونها در جاهای متنوعی مثل آبهای شیرین، آبهای نیمه شور و آب شور زندگی می‌کنند ولی بعضی خانواده‌های دیگر با چند گونه حلزون خود را تطابق داده‌اند، از این رو می‌توان تصور کرد که چرا بعضی از هتروفیده‌ها انتشار جغرافیای وسیعی دارند (۵).

حلزون ملانوئیدس به شکل به میراسیدیوم یا جنین مژه‌دار داخل تخم انگل (Miracidium) آلوهه می‌شوند، یا از طریق نفوذ میراسیدیوم به بافت نرم حلزون مثل هاپلورکیس تائیشوئی، هاپلورکیس پومیلیو و سترورستوس و یا از طریق بلع تخم انگل مثل استالت کاسموس فالکاتوس (۶و۷). در مورد اخیر تخم حاوی میراسیدیوم پس از بلع در روده حلزون باز می‌شود (۸).

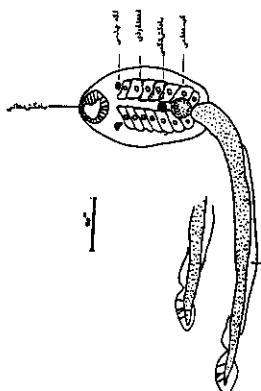
سرکر هتروفیده‌ها از جمله سرکر هاپلورکیس در اردن، عربستان و مصر از حلزونهای ملانوئیدس توبرکولاتا و ملانوپسیس پرامورسا گزارش گردیده است (۹-۱۱).

از ویژگی‌های سرکرهای خانواده هتروفیده وجود بالهای پشتی - شکمی (dorso ventral finfold) روی دم است. علاوه بر اینها لکه‌های چشمی (eye spot) واضح و غدد نفوذی (penetration gland) که ترشحات هیستولیتیک دارند نیز در بدن این سرکرها قابل رویت هستند. همچنین اندازه سرکرهای مختلف خانواده هتروفیده متفاوتند بطوريکه سرکراتالت کاسموس و هاپلورکیس بزرگتر از سرکر سترورستوس هستند (۱۲).

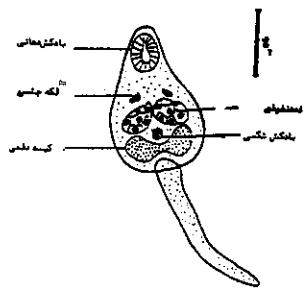
استان خوزستان بدلیل داشتن ۵ رودخانه کارون، دز، جراحی، کرخه و شاور و دارا بودن چند سد بزرگ و چندین سد فرعی دارای کانالهای متعدد آبی و باتلاقهای بزرگ و کوچک است. به همین دلیل زیستگاههای طبیعی و مصنوعی برای انواع حلزونهای آبهای شیرین از جمله ملانوئیدس توبرکولاتا و گونه‌های مختلف ملانوپسیس بوجود آمده است (۱۳و۱۴).

مطالعات قبلی میزان شیوع تخم انگل هتروفیده را در انسان در خوزستان $1/8\%$ (۱۵) و $1/9\%$ (۱۶) نشان داده بود. با توجه به شیوع نسبی این انگل در جمیعتهای انسانی هدف از این مطالعه شناسائی حلزونهای ناقل بیماری در منطقه بوده که در بین سالهای ۷۲-۱۳۷۰ انجام گرفته است.

کاسموس فالکاتوس وجود باله دمی، هفت جفت غدد نفوذی، لکه‌های چشمی درشت و مکعبی شکل و بالاخره کیسه دفعی که حاوی مواد متابولیزه دفعی است. بدليل شباهت سرکر این گونه‌ها، تشخیص ثغیری اینها با بست آوردن متاسرکر در ماهی‌ها انجام شد. از خصوصیات سرکر ستروستوتس فورموزانوس عدم وجود باله دمی واضح، هفت جفت غدد نفوذی و لکه‌های چشمی و کیسه دفعی که حاوی مواد دفعی است. (شکل ۱ و ۲)



شکل ۱- سرکر هاپلورکیس و استالت کاسموس فالکاتوس بدست آمده از حلوون ملانوئیدس و ملانوپسیس



شکل ۲- سرکر ستروستوتس بدست آمده از حلوون ملانوئیدس و ملانوپسیس

از ماهی‌های گامبوزیا آلوده شده به سرکرهای هاپلورکیس، استالت کاسموس و ستروستوتس متاسرکر مراحل اولیه، متاسرکر مراحل میانی و متاسرکر نهائی به ترتیب ۲ ساعت پس از آلودگی، ۲ روز بعد از آلودگی و ۲۰-۳۰ روز پس از آلوده شدن ماهی گامبوزیا بدست آمد. در مراحل اولیه فقط جدا شدن دم سرکر از بدن آن قابل توجه است، در مراحل میانی تشکیل کیست و تشکیل جدار لارو بدون ارگانهای حیاتی مشاهده می‌شود و بالاخره در متاسرکرهای مرحله نهائی انگل با ارگانهای حیاتی دیده می‌شود. از خصوصیات متاسرکر هاپلورکیس تائیشوئی وجود یک ردیف قلاب واضح درشت و کتینی (Chitinous) بر روی بادکش شکمی است. در حالی که در هاپلورکیس پرمیلیو

سرکر در آب لوله‌های آزمایش یا احتشاء حلوون تعدادی سرکر توسط پی‌پت پاستور بر روی لام منتقل و جزئیات ساختمانی آنها مورد مطالعه قرار می‌گرفت و اشکال آنها توسط لوله ترسیم (Camera lucida) کشیده می‌شد. تعداد متنابهی از سرکرها و مراحل تکاملی قبل از آنها یعنی اسپوروسیت (Sporocyst) و یا ردی (Redia) در صورت وجود(که فقط در روش له کردن قابل وصول هستند) جمع آوری و در فرم $\frac{1}{5}$ ٪ فیکس گردیدند.

با روش‌های فوق ۱۲۰۰ حلوون ملانوئیدس و ۱۷۰۰ حلوون ملانوپسیس جمع آوری و لوله گذاری و یا کراش شدند. درجه حرارت آب اکواریوم حلوونها حدود ۱۰-۱۵ و درجه حرارت آزمایشگاه در فصول سرد ۲۰-۲۵ و در فصول گرم ۲۵-۳۰ درجه سانتیگراد بود.

جهت تعیین مشخصات بیشتر تشخیصی و برای بدست آوردن مراحل تکامل یافته‌تر سرکرها یعنی متاسرکر (Metacercoriae) در اکواریوم حاوی حلوونهای آلوده Gambusia affinis به مدت ۴۸ ساعت قرار داده می‌شد. سرکرها پس از نفوذ به بدن ماهی در عرض ۲-۱ ساعت و یا پس از بلع در آبشش کیسته می‌شدند. ماهیهای گامبوزیا آلوده شده به شکل فوق پس از ۲ روز به اکواریوم بدون حلوون منتقل و برای مدت ۱ ماه نگه داشته می‌شدند تا متاسرکر در بدن آنها رسیده و عفونت زا شود. با این روش چندین ماهی گامبوزیا به سرکرهای مختلف آلوده گردیده و متاسرکر مربوطه از آبشش‌ها و یا زیرفلس و یا دم ماهیان زیر لوپ و به کمک آنس جدا و سپس مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته‌ها

بطور کلی از مجموع حلوونهای ملانوئیدس ۵۴ حلوون آلوده به سرکر بودند (۴٪) و از مجموع حلوونهای ملانوپسیس ۴۷ حلوون آلوده به سرکر بودند (۲٪). انواع سرکرهای بدست آمده از حلوون ملانوئیدس و ملانوپسیس یکسان بوده و شامل سرکرهای انگل هاپلورکیس (تائیشوئی و پرمیلیو) استالت کاسموس فالکاتوس و ستروستوتس فورموزانوس بود که همگی از انگلهای خانواده هترووفیده (ترماتود) بودند. از ویژگیهای مورفولوژیک سرکر هاپلورکیس تائیشوئی، هاپلورکیس پرمیلیو و استالت

پیش

حلزون ملانوئیدس از جمله حلزونهای مشکوک از نظر انتقال هتروفیده‌ها در منطقه مورد مطالعه بود زیرا اصولاً "در سایر نقاط دنیا نقش این حلزون بعنوان میزبان واسطه اول شناخته شده است (۱۵ و ۷). علاوه بر این، این حلزون بوفور در مناطق دارای جمعیت بیمار (۱۶ و ۱۵) در خوزستان یافت می‌شود (۱۳ و ۱۴). حلزون ملانوئیدس بر اساس مشاهدات ما یک حلزون مقاوم در برابر شرایط محیطی و مناسب برای نگهداری در شرایط آزمایشگاهی است، زیرا برخلاف حلزونهای دیگر از جمله ملانوپسیس از پتانسیل زیادی برای تطبيق خود با شرایط سخت برخوردار است. از جمله مقاومت در درجه حرارت بالا و پائین (زیر ۱۵ درجه سانتیگراد و بالای ۳۰ درجه سانتیگراد) که سایر حلزونها به ندرت تحمل آنرا دارند. عدم احتیاج به اکسیژن زیاد، تحمل محیط ایستا و ثابت اکواریوم، عدم نیاز به مواد غذائی زیاد، مقاومت به pH یا اسیدیته ۶-۸ از جمله خصوصیات این حلزون به شمار می‌آید. در شرایط صحرائی نیز این حلزون در برکه، کانال و زهکش مشاهده می‌شد که این نیز خود حاکی از وضعیت مقاوم و خصوصیات بیولوژیکی آن است. احتمالاً یکی از دلایل انتشار آن در سرتاسر دنیا این فاکتور بیولوژیک باشد. برخلاف روحیه مقاوم و سخت این حلزون بسیار ترسوست، بطوریکه در برابر کوچکترین عامل تحریک کننده در صدف خود فرو می‌رود (برخلاف ملانوپسیس) و احتمالاً یکی از دلایل اینکه این حلزون برخلاف ملانوپسیس در کف کانالها و برکه‌ها و... زندگی می‌کند ناشی از این حالت اختفاء و تمیز از بدیده‌های خارجی باشد.

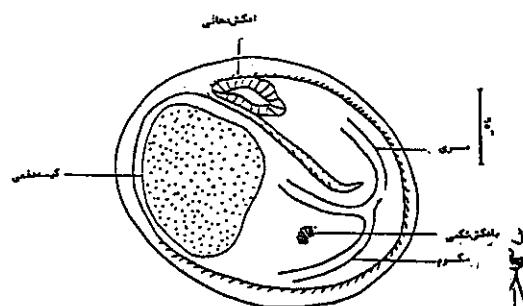
سرکرهایی که از حلزون ملانوئیدس و ملانوپسیس بدست آمدند جزو سرکرهای با باله تحلیل رفته و یا سرکرهای (واجد بالهای جانبی و پشتی-Parapleuroleufocercer) بودند که این پدیده از ویژگیهای سرکرهای شکمی) خانه اده هت و فده است (۱۲۰).

سرکر تحت تأثیر نور و بیشتر در اوقات اولیه روز خارج می‌شود^(۱) که این امر در مشاهدات مانیز یافت شد.

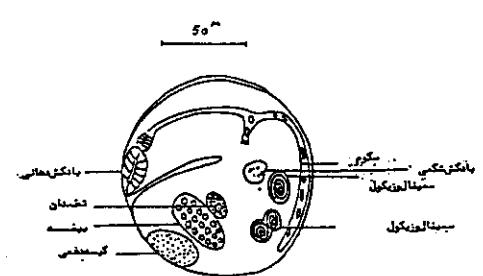
سرکر ستروسیتوس بدلیل وجود باله دمی تحلیل یافته از سرکر هاپلورکیس و استالتت کاسموس که دارای باله دمی است قابل تفکیک بود (۱۷ و ۱۸). در بررسی ما آلدگی

تعداد زیادی خار ریز و غیر قابل شمارش و تقریباً "ناواضع" در روی بادکش شکمی دیده می شود . از خصوصیات این دو متاسر کر مشاهده یک بیضه در انگل است که از اینزو به آن Haplo (یک) Orchis (بیضه) گفته شده است.

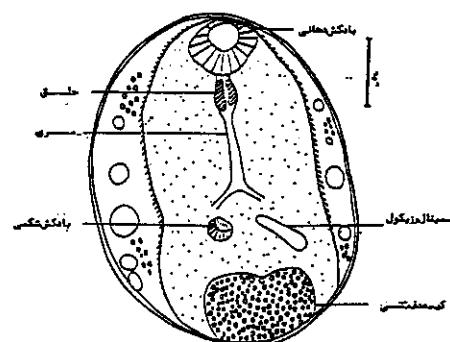
متاسر کر استالنت کاسموس بر خلاف متاسر کرهای قبلی دارای دو بیضه در این مرحله لاروی هستند ولی علاوه بر این سینیال وزیکول در این متاسر کر کشیده و بادکنکی شکل است که از نظر ریخت شناسی با سینیال وزیکول متعدد المرکز (spiral) قبلی متفاوت است. متاسر کر سنتروستوس فورموزانوس دارای قلاب در ناحیه رأسی (سر) و نیز کیسه دفعی × شکل است (شکلهای ۶-۳).



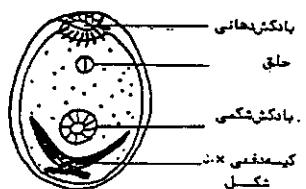
شکا۔ ۳۔ متاسر کر ہاپلور کیس نائیشوئی



شکل ۴- متاسر کر ہاپلور کیس یو میلیو



شكل ٥ - متاسر کر استالنت کاسموس



شكل ٦- متاسر کر ستر و سستوس

کیست تشکیل شده و از جهت تاکسونمی (Taxonomy) امکان تشخیص قطعی را میسر نمود. از اساسی‌ترین فاکتورهای تاکسونومیک در این مرحله مشاهده تعداد بیضه‌ها، خارها یا قلابهای روی بادکش شکمی و شکل سمینال وزیکول است که با این شاخص‌ها متاسرکر هاپلورکیس پومیلیو، هاپلورکیس تائیشوئی، استالت کاسموس فالکاتوس و سترورستوس فورموزانوس تشخیص داده شدند^(۱۹). نتایج این تحقیق نقش حلوون ملانوئیدس تویرکولاتا و گونه‌های مختلف ملانوپسیس را در انتقال انگلهای هتروفیده در خوزستان مشخص می‌نماید. با توجه به انتشار گسترده این انگل‌ها در مخازن حیوانی و شیوع نسبی در انسان^(۱۵ و ۱۶) پیدا کردن روش‌های مناسب برای مبارزه با این ناقلین در صورت بروز همه‌گیریهایی از طریق ماهی‌های مصرفی مردم باید مورد توجه مسئولین و دست اندکاران امور بهداشتی و درمانی منطقه باشد.

توأم به سرکرهای فوق مشاهده نگردیده و این مطالعه گزارش دیگران را تأیید می‌کند^(۱). مشاهدات ما نشان داد که معمولاً "حלוونهای بزرگ" (یعنی حلوونهای بزرگتر از ۲/۵ سانتی‌متر) به سرکر آلوده هستند و این مؤید گزارشات دیگران است^(۱۸). بدلیل شباهت نزدیک سرکر گونه‌های مختلف هتروفیده یعنی هاپلورکیس پومیلیو، هاپلورکیس تائیشوئی، استالت کاسموس فالکاتوس و سترورستوس فورموزانوس لازم بود که مرحله متاسرکر آنها بر روی ماهی نیز بدست آید. متاسرکر اگر چه در همان ساعت‌های اولیه تشکیل می‌شوند ولی از چند روز تا یک ماه طول می‌کشد تا همه ارگانهای حیاتی در آن مشاهده شوند (و قابلیت عفونت زائی برای میزان داشته باشند) از این‌رو جهت تشخیص قطعی از متاسرکرهای یک ماهه استفاده شد. متاسرکرهای بدست آمده از ماهی‌ها تشخیص ما را قطعی نمود زیرا در این مرحله بسیاری از ارگانهای حیاتی انگل در

REFERENCES

- 1- Malek EA. *Snail transmitted parasitic diseases*. Boca Raton , CRC Press , florid , 1980 , P: 107.
- 2- Africa CM. Heterophyidiasis V.ova in the spinal cord of man. *J Sci* 1937;62:393.
- 3- Goldsmith RS. Clinical pharmacology of the Anthelmintic Drugs. In : Katzung BG (ed) *Basic and clinical pharmacology*. Appelon & Lange , California, 1987 , P: 647.
- 4- Hawy AM, Safwat M, el-Nasr SS, et al. The cure rates of patients infected with praziquantel versus niclosamide. *J Egypt Soc Parasitol* 1988;18(2):437.
- 5- Ewers WH. An analysis of the malluscan host of the trematodes of birds and mammals and some speculations , an host specificity. *Parasitology* 1964;54:571.
- 6- Faust EC, Nishigori M. The life cycle of two new species of Heterophyidae , parasitic mammals and birds . *J Parasitol* 1962;13(2):1-32.
- 7- Noda K. The larval development of stellantchasmus falcatus (Trematoda, Heterophyidae) in the first intermediately host . *J Parasitol* 1952; 45(6):635.
- 8- Martin WE. The life histories of some Hawaiian Heterophyid trematodes. *J Parasitol* 1958;44(3):305.
- 9- Ismail NS, Addel-Hafez SK. Seasonal variation in infection rates of Melanoides tuberculata (Miller 1774) snails with larva termatodes in Azraq Jordan . *Helminthologia* 1987;24(4):293.
- 10-Ismail NS , Abdel-Hafez SK. Seasonal variation in infection rates of Melanopsis Praemorsa snails with Larvae trematodes in Azraq oasis , Jordan . *Japanese J Parasitol* 1987;36(1):13.
- 11- Ismail NS. Larval trematodes of some freshwater snails from Asir province , Soudi Arabia. *Japanese J Parasitol* 1988 ;37(3):169.
- 12- Morishita Kaoru , Komiga Y . Matsubayash H. *Progress of Medical Parasitology in Japan*. Vol . 1 Meguro parasitological Museum , Tokyo , Japan , 1964, P: 466.
- 13- منصوریان الله، بهداشت مسعود. بررسی فون حلوونهای آبهای شیرین ایران . پایان نامه شماره ۲۰۳۴-۷۲، ۱۳۷۱-۷۲. پایان نامه شماره ۲۰۳۴ ایران .
- 14- Massoud J, Headayati-Far M. Fresh water mollusk fauna of the Khuzestan and Khorramabad areas in south-western Iran . *Malacological review* 1979;12:96.

- 15- Massoud J, Jalali H , Reza M. Studies on trematodes of the family Heterophyidae (Odner 1914) in Iran : preliminary epidemiological surveys in man and carnivores in khuzestan . *J Helminthology* 1981;55:255.
- ۱۶- فرهنگ علی ، جعفر مسعود. مطالعه‌ای بر شیوع انگل‌های خانواده هتروفیده در انسان و حیوان در خوزستان : مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان. دوره سوم ، شماره ۴ ، ۱۸۱-۱۸۴ صفحات .۱۳۷۵
- 17- Khalifa R. Studies on Heterophyid cercaria from Assiut province, Egypt . 1 . notes on the life cycle of Haplorchis pumilio (looss , 1986) with a discussion of previously describes species . *Acta parasitologica polonica* 1979;25(3):25.
- 18_ Maties AW. Larval trematode infections in snails of different size . *J Parasitology* 1956; 42:429.
- 19- Morishita Kaoru , Komiga Y, Mastsubayash H. *Progress of Medical parasitology in Japan* Vol. 2, Meguro parasitological Museum , Tokgo , Japan, 1964,P:133.