

مطالعه ای بر سر کرهای (لاروترماتدها) خانواده هتروفیده
در حلزونهای ملانویئیدس 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 حلزونهای نظیر هتروفیدوزیس، از دیر باز شناخته شده‌اند، ولی این بیماری تنها در یک دهه اخیر بعنوان یک بیماری انسانی در ایران و بدون تعیین میزبان واسط آن شناخته و معرفی شده است. هدف از این تحقیق شناسایی حلزونهای ناقل بیماری هتروفیدوزیس در استان خوزستان یعنی کانون اندمیک بیماری است. مواد و روشها: به همین منظور ۱۲۰۰ حلزون ملانویئیدس توبرکولاتا (*Melanoides tuberculata*) و ۱۷۰۰ حلزون 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*) حلزونهای آلوده بدست آمدند. سرکرای جمع‌آوری شده پس از ترسیم به کمک منابع معتبر و یا آلودگی تجربی در ماهی گامبوزیا (*Gambusia affinis*) تشخیص داده شدند. یافته‌ها: در این مطالعه سرکرای هاپلورکیس پومیلیو (*Haplorchis pumilio*) و هاپلورکیس تائیشوئی (*H. Taichui*) و استالنت کاسموس فالکاتوس (*Stellantchasmus Falcatus*) و سنتروسستوس فورموزانوس (*Centrocestus Formosamus*) که همگی از انگلهای خانواده هتروفیده هستند بدست آمدند. نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد حلزونهای ملانویئیدس توبرکولاتا و ملانوپسیس میزبان واسط اول بیماری هتروفیدوزیس در خوزستان هستند. واژگان کلیدی: هتروفیده، حلزون، میزبان واسط.

مقدمه

میلی‌متر هستند در روده کوچک پرندگان و پستانداران ماهی‌خوار و از جمله انسان زندگی می‌کنند (۱). ۳/۸٪ افراد اتوپسی شده در مانیل (فلیپین) آلوده به هتروفیدوزیس روده‌ای بوده‌اند. ۴۴٪ عفونتهای روده‌ای به شکل احشائی ظاهر شده‌اند. شکل احشائی قلب، مغز، طناب نخاعی، کبد، ریه و طحال را درگیر می‌سازد (۲). در هتروفیدوزیس یک دوز منفرد پرازیکوانتل (*Preziquantel*) به میزان ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم بدن یا نیکلوزاماید (*Niclosamide*) به میزان ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم بدن به مدت سه روز متناوب نتایج خوبی می‌دهد (۳، ۴). میزبان حلزونی (میزبان واسط 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 یوگواوائی (*Metagonimus yokogawai*)، هاپلورکیس پومیلیو (*Haplorchis pumilio*)، هاپلورکیس تائیشوئی (*Haplorchis taichui*)، استالنت کاسموس فالکاتوس (*Stellantchasmus falcatus*) و سنتروسستوس فورموزانوس (*Centrocestus formosamus*) که اغلب آنها انتشار جهانی دارند و در چرخه زندگی دارای یک حلزون و یک ماهی به عنوان میزبان واسط اول و دوم هستند. این ترماتدهای ریز که به طول ۲-۱ میلی‌متر و عرض ۰/۵-۰/۳

مواد و روشها

اگر چه حلزونهای مختلفی در منطقه مورد مطالعه ما زندگی می‌کنند اما بدلایلی که بعدا ذکر می‌شود فعالیت سرکریایی بر روی حلزونهای ملانویئیدس توبرکولاتا، ملانوپسیس پرامورسا، ملانوپسیس کوستاتا، ملانوپسیس دوریه، و ملانوپسیس ندوزا صورت گرفت. برای جمع‌آوری این حلزونها ابتدا نقشه رودخانه شاوور و کانالهای آبی زراعی منطقه مرکزی خوزستان یعنی منطقه پل شاوور تهیه و در طول مدت تحقیق ۱۳۷۲-۱۳۷۰ و در تمام سال بخصوص اواخر بهار تابستان و اوایل پاییز از این کانالها نمونه برداری می‌شد. اصولا جمع‌آوری ملانوپسیس که معمولا 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 ملانویئیدسها پاروی کناره کانالها و برکه‌ها کفایت نمی‌کرد و به اجبار از پاروهای بزرگتر که قدرت جمع‌آوری رسوب کف کانال را داشتند استفاده می‌شد. این پاروها دارای یک دسته چوبی به طول ۱/۵ متر و توری به ابعاد ۳۰×۴۰ 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 سرکریایی در آنها انجام شود.

عمل سرکریایی به دو روش صورت می‌گرفت: الف - روش لوله‌گذاری، ب - روش له کردن (crush).

در روش لوله‌گذاری عصر روز آزمایش حلزون از ناحیه رأسی (Apex) داخل لوله آزمایش قرار داده می‌شد. آنگاه ۱/۳ حجم لوله از آب بدون کلر پر شده و پشت پنجره قرار داده می‌شد تا در برابر نور ملایم صبح روز بعد و حرارت مناسب (۲۰ درجه سانتیگراد) اتاق سرکرها از حلزون خارج و در آب شناور شوند. صبح روز بعد با حرکت سرکرها در لوله‌ها حلزونهای آلوده از حلزونهای غیر آلوده 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 محتویات حلزون به آرامی با آنس روی لام گذاشته می‌شد و پس از مختصری فشار زیر لوپ عمل جستجوی سرکر در احشاء 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 ملانویئیدس به دو شکل به میراسیدیوم یا جنین مژه‌دار داخل تخم انگل (Miracidium) آلوده می‌شوند، یا از طریق نفوذ میراسیدیوم به بافت نرم حلزون مثل هاپلورکیس تائیشوئی، هاپلورکیس پومیلیو و سنتروستوس و یا از طریق بلع تخم انگل مثل استالنت کاسموس فالکاتوس (۷۶). در مورد اخیر تخم حاوی میراسیدیوم پس از بلع در روده حلزون باز می‌شود (۸).

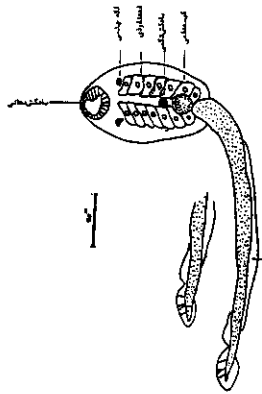
سرکر هتروفیده‌ها از جمله سرکر هاپلورکیس در اردن، عربستان و مصر از حلزونهای ملانویئیدس توبرکولاتا و ملانوپسیس پرامورسا گزارش گردیده است (۹-۱۱).

از ویژگی‌های سرکرهای خانواده هتروفیده وجود باله‌های 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 بطوریکه سرکراستالنت کاسموس و هاپلورکیس بزرگتر از سرکر سنتروستوس هستند (۱۲).

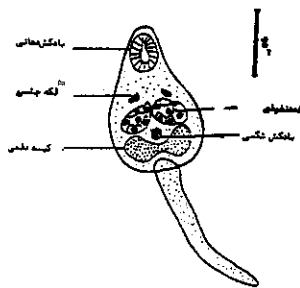
استان خوزستان بدلیل داشتن ۵ رودخانه کارون، دز، جراحی، کرخه و شاوور و دارا بودن چند سد بزرگ و چندین سد فرعی دارای کانالهای متعدد آبی و باتلاقهای بزرگ و کوچک است. به همین دلیل زیستگاههای طبیعی و مصنوعی برای انواع حلزونهای آبهای شیرین از جمله ملانویئیدس توبرکولاتا و گونه‌های مختلف ملانوپسیس بوجود آمده است (۱۳ و ۱۴).

مطالعات قبلی میزان شیوع تخم انگل هتروفیده را در انسان در خوزستان ۸٪ (۱۵) و ۱۹٪ (۱۶) نشان داده بود. با توجه به شیوع نسبی این انگل در جمعیت‌های انسانی هدف از این مطالعه شناسایی 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. بدلیل شباهت سرکر این گونه‌ها، تشخیص تفریقی اینها با بدست آوردن متاسرکر در ماهی‌ها انجام شد. از خصوصیات سرکر سنتروستوس 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 استالنت کاسموس فالکاتوس بدست آمده از حلزون ملانویدس و ملانوپسیس



شکل ۲- سرکر سنتروستوس بدست آمده از حلزون ملانویدس و ملانوپسیس

از ماهی‌های گامبوزیا آلوده شده به سرکرهای هاپلورکیس، استالنت کاسموس و سنتروستوس متاسرکر مراحل اولیه، متاسرکر مراحل میانی و متاسرکر نهائی به ترتیب ۲ ساعت پس از آلودگی، ۲ روز بعد از آلودگی و ۳۰-۲۰ 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 پومیلیو

سرکر در آب لوله‌های آزمایش یا احشاء حلزون 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 متابهی 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) جمع‌آوری و در فرمل ۵٪ فیکس گردیدند.

با روش‌های فوق ۱۲۰۰ حلزون ملانویدس و ۱۷۰۰ حلزون ملانوپسیس جمع‌آوری و لوله‌گذاری و یا کراش شدند. درجه حرارت آب اکواریوم حلزونها حدود ۱۵-۱۰ و درجه حرارت آزمایشگاه در فصول سرد ۲۵-۲۰ و در فصول گرم ۳۰-۲۵ درجه سانتیگراد بود.

جهت تعیین مشخصات بیشتر تشخیصی و برای بدست آوردن مراحل تکامل یافته‌تر سرکرها یعنی متاسرکر (Metacercorae) در اکواریوم حاوی حلزونهای آلوده ملانویدس و یا ملانوپسیس، ماهی گامبوزیا (Gambusia affinis) به مدت ۴۸ ساعت قرار داده می‌شد. سرکرها پس از نفوذ به بدن ماهی در عرض ۱-۲ ساعت و یا پس از بلع در آبشش کیسته می‌شدند. ماهیهای گامبوزیا آلوده شده به شکل فوق پس از ۲ روز به اکواریوم بدون حلزون 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 زیر فلس و یا دم ماهیان زیر لوپ و به کمک آنس جدا و سپس مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته‌ها

بطور کلی از مجموع حلزونهای ملانویدس ۵۴ حلزون آلوده به سرکر بودند (۴٪) و از مجموع حلزونهای ملانوپسیس ۴۷ حلزون آلوده به سرکر بودند (۲٪). انواع سرکرهای بدست آمده از حلزون ملانویدس و ملانوپسیس یکسان بوده و شامل سرکرهای انگل هاپلورکیس (تائیشوئی و پومیلیو) استالنت کاسموس فالکاتوس و سنتروستوس فورموزانوس بود که همگی از انگلهای خانواده هتروفیده (ترماتد) بودند. از ویژگیهای مورفولوژیک سرکر هاپلورکیس تائیشوئی، هاپلورکیس پومیلیو و استالنت

بحث

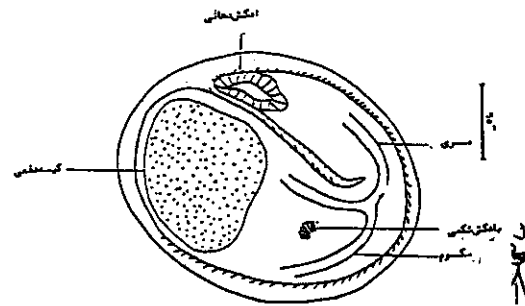
حلزون ملانوتیدس از جمله حلزونهای مشکوک از نظر انتقال هتروفیده‌ها در منطقه مورد مطالعه بود زیرا اصولاً در سایر نقاط دنیا نقش این حلزون بعنوان میزبان واسط اول شناخته شده است (۱ و ۷). علاوه بر این، این حلزون بوفور در مناطق دارای جمعیت بیمار (۱۵ و ۱۶) در خوزستان یافت می‌شود (۱۳ و ۱۴). حلزون ملانوتیدس بر 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 تطبیق 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 آنها دارند. عدم احتیاج به اکسیژن زیاد، تحمل محیط ایستا و ثابت اکواریوم، عدم نیاز به مواد غذایی زیاد، مقاومت به pH یا اسیدیته ۸-۶ 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 تحریک‌کننده 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 ترس از پدیده‌های خارجی باشد.

سرکرهائی که از حلزون ملانوتیدس و ملانوپسیس بدست آمدند جزو سرکره‌های با باله تحلیل رفته و یا سرکره‌های Parapleuroleufocercer (واجد باله‌های جانبی و پشتی - شکمی) بودند که این پدیده از ویژگیهای سرکره‌های خانواده هتروفیده است (۱ و ۱۲).

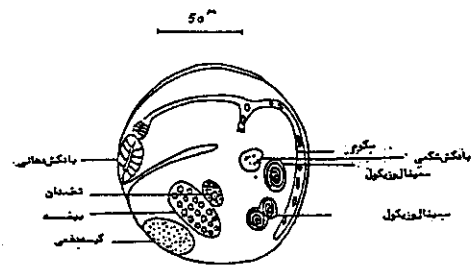
سرکر تحت تأثیر نور و بیشتر در اوقات اولیه روز خارج می‌شود (۱) که این امر در مشاهدات ما نیز یافت شد.

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

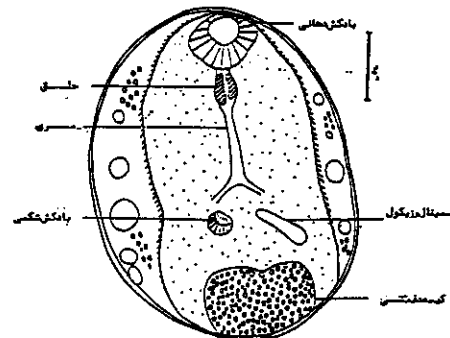
تعداد زیادی خار ریز و غیر قابل شمارش و تقریباً ناواضح در روی بادکش شکمی دیده می‌شود. از خصوصیات این دو متاسرکر مشاهده یک بیضه در انگل است که از اینرو به آن Haplo (یک) Orchis (بیضه) گفته شده است. متاسرکر استالنت کاسموس بر خلاف متاسرکرهای قبلی دارای دو بیضه در این مرحله لاروی هستند ولی علاوه بر این سمینال وزیکول در این متاسرکر کشیده و بادکنکی شکل است که از نظر ریخت شناسی با سمینال وزیکول متحدالمركز (spiral) قبلی متفاوت است. متاسرکر سنتروستوس فورموزانوس دارای قلاب در ناحیه رأسی (سر) و نیز کیسه دفعی x شکل است (شکل‌های ۶-۳).



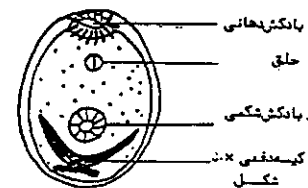
شکل ۳- متاسرکر هاپلورکیس تائیشونی



شکل ۴- متاسرکر هاپلورکیس پومیلیو



شکل ۵- متاسرکر استالنت کاسموس



شکل ۶- متاسرکر سنتروستوس

کیست تشکیل شده و از جهت تاکسونومی (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 و زیکول است که با این شاخص‌ها متاسرکر هاپلورکیس پومیلیو، هاپلورکیس تائیشوئی، استالتت کاسموس فالکاتوس و سنتروسستوس فورموزانوس تشخیص داده شدند (۱۹). نتایج این تحقیق نقش حلزون ملانئیدس توبرکولاتا و گونه‌های مختلف ملانئوپیس را در انتقال انگلهای هتروفیده در خوزستان مشخص می‌نماید. با توجه به انتشارگسترده 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 همه‌گیریهائی از طریق ماهی‌های مصرفی مردم باید مورد توجه مسئولین و دست اندرکاران 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 "حلزونهای بزرگ (یعنی حلزونهای 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، استالتت کاسموس فالکاتوس و سنتروسستوس فورموزانوس لازم بود که مرحله متاسرکر آنها بر روی ماهی نیز بدست آید. متاسرکر اگر چه در همان ساعات 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 میزبان 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 Anthelminthic Drugs. In : Katzung BG (ed) *Basic and clinical pharmacology*. Appelton & 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 intermediated 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.
- ۱۳- منصوریان الله، بهداشت مسعود بررسی فون حلزونهای آبهای شیرین ایران . پایان نامه شماره ۲۰۳۴، ۷۲-۱۳۷۱.
- 14- Massoud J, Headayati-Far M. Fresh water mollusk funa of the Khuzestan and Khorram-abad 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 camivores in khuzestan . *J Helminthology* 1981;55:255.

۱۶- فرهنگ علی , جعفر مسعود.. مطالعه ای بر شیوع انگل های خانواده هتروفیده در انسان و حیوان در خوزستان : *مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان*. دوره سوم , شماره ۴ , ۴ صفحات ۱۸۴-۱۸۱ , 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.