



## مقاله علمی - پژوهشی:

## اثر آنتی‌بیوتیک Ceftriaxone بر بندی شدن<sup>۱</sup> و قی کردن در زالوی شرقی (*Hirudo orientalis*)

سپیده فیروزبخش<sup>\*</sup>، ساجده حیدری<sup>۱</sup>، مبین مقصودلو کمالی<sup>۱</sup>، محمد سوداگر<sup>۱</sup>

\*sepide.firouzbakhsh\_s02@gau.ac.ir

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۳

### چکیده

از حدود ۷۰۰ گونه زالوی شناسایی شده در جهان، فقط ۱۵ گونه از آنها به عنوان زالوی طبی در طب سنتی، پزشکی مدرن، داروسازی و تولید محصولات آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. زالوهای پرورشی با خون پستاندارانی مانند: گاو، گوسفند، شتر، شترمرغ و... تغذیه می‌شوند. پس از تغذیه با خون، تعدادی از زالوها، خون بالا می‌آورند یا در اصطلاح خون را قی می‌کنند. همچنین تعدادی از آنها، دچار بندی شدن بدن می‌گردند که معمولاً به صورت سوسپسی، تسبیجی، ساعت شنی و خمره ای دیده می‌شوند. در این مطالعه، برای پیشگیری از بندی شدن بدن و قی کردن خون زالوی شرقی و بهبود زالوها، از داروی Ceftriaxone با دوز یک گرم محلول در آب، پس از خون دهی به زالوها، استفاده گردید. به این منظور تعداد ۷۵ قطعه زالوی شرقی در اندازه‌های کبریتی، آرایشی و طبی هر کدام به تعداد ۲۵ قطعه، در پت‌های ده لیتری، توزیع گردیدند. یک ویال داروی Ceftriaxone با دوز یک گرم در سه لیتر آب بدون کلر حل گردید. پس از تغذیه زالوها با خون، به میزان ۳ سی سی از این محلول به ظروف نگهداری زالوهای با اندازه کبریتی، آرایشی و طبی افزوده شد. پس از گذشت بیست و چهار ساعت، آب نگهداری زالوها تعویض شده و مجدداً داروی Ceftriaxone در دوزهای قبل، تکرار گردیدند. این عمل به مدت پنج روز ادامه یافت. برای تعیین اثر داروی Ceftriaxone در بهبود بندی شدن بدن زالو در روزهای مختلف، تصویربرداری به عمل آمد. بعد از گذشت دو هفته، کاهش میزان بندی شدن بدن زالوها و بهبود زالوهای بندی شده و کاهش تلفات مشاهده گردید. نتایج نشان داد حدود ۷۰-۹۰ درصد زالوها پس از استفاده از داروی Ceftriaxone بهبود یافتند. همچنین پس از استفاده از داروی Ceftriaxone، قی کردن خون در زالوها پس از تغذیه با خون، مشاهده نگردید. مطالعه حاضر نشان داد، استفاده از Ceftriaxone می‌تواند علاوه بر جلوگیری از قی کردن، سبب کاهش بندی شدن در زالوی شرقی گردد.

**کلمات کلیدی:** زالو، بندی شدن، Ceftriaxone، قی کردن خون

<sup>1</sup> Deforming

## مقدمه

کاربرد زالو و زالو درمانی در طب سنتی تاریخچه طولانی دارد و قبل از میلاد مسیح، برای حجامت استفاده شده و سوابق آن در رم باستان، یونان، هند و چین به اثبات رسیده است (Lemke; Vilcinskas, 2020 and بیدمال و همکاران، ۱۴۰۱). پزشک و فیلسوف ایرانی "ابن سینا" در قرن چهارم هجری شمسی، از زالو در کتاب قانون نام برده است که این موجود، می تواند خون را از قسمت های عمیق پوست خارج کرده و از این طریق به درمان بیماری های پوستی کمک نماید (Montinari and Minelli, 2022)، همچنین در دهه های اخیر، مطالعات مختلف نشان داده اند که بزاق زالوها دارای ترکیبات زیست فعال فراوان است. این ترکیبات، دارای عملکردهای ضد درد، ضد التهاب، ضد انعقاد خون، ضد میکروب، ضد تخریب سلولی، بهبود زخم، تقویت سیستم ایمنی، بهبود مشکلات پوستی، بهبود زخم های دیابت و بهبود سلامت قلب هستند. همچنین بزاق زالو در جراحی های ترمیمی استفاده می شود (فیروزبخش و سوداگر، ۱۴۰۳؛ Sig et al., 2017؛ Kun et al., 2022). این ترکیبات در دوزهای کم می توانند اثرات مفید بر سلامت میزبان داشته باشند و در بسیاری از موارد به عنوان بخشی از درمان دارویی مورد استفاده قرار گیرند. در سال های اخیر، استفاده گسترده از زالوها و آنزیم های موجود در بزاق آنها در پزشکی و درمان بیماری ها، باعث شد تا این موجودات بیشتر مورد توجه قرار گیرند (Montinari and Minelli., 2022; Ceylan et al., 2023). سازمان غذا و داروی امریکا (FDA)، در سال ۲۰۰۴ میلادی، زالودرمانی را تایید نمود و این امر باعث رونق بیشتر زالودرمانی در سراسر جهان گردید (Ceylan, 2023; Alaama et al., 2024).

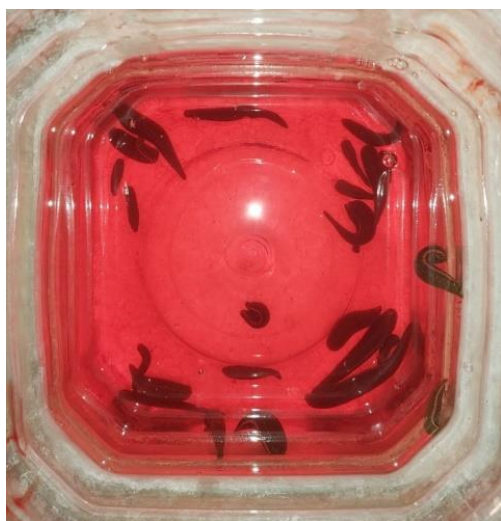
بیشتر زالوها در آبهای شیرین یافت می شوند. این موجودات در قسمت های با جریان ملایم نهرها، رودخانه ها و دریاچه ها زندگی می کنند (فیروزبخش و سوداگر، ۱۴۰۳؛ Saglam, 2018). بعضی گونه های زالو را می توان در خاک و اطراف دریاها نیز یافت (Phillips et al., 2020). چندین عامل در پخش و توزیع زالو در محیط های آب شیرین تاثیرگذارند (عمق آب، سختی آب، اکسیژن محلول، ماهیت بستر، کدورت و شوری) (Firouzbakhsh and Sudagar, 2024؛ کلاته جاری و سوداگر، ۱۳۹۷). زالوها موجودات هرمافرودیت هستند، اما برای جفت گیری به زالوی دیگر نیاز دارند تا بتوانند اسپرم خود را به

منفذ تناسلی زالوی ماده، انتقال دهند (Kutschera, 2017). سه گونه زالو، که در ایران بیشتر پرورش داده می شوند شامل *Hirudo verbana*، *Hirudo orientalis* و *Hirudo medicinalis* هستند (Lemke and Kutschera, 2012; Vilcinskas, 2020; Ceylan et al., 2024). در ایران تکثیر و پرورش زالوی شرقی مورد توجه قرار گرفته است. بدن این جانداران قابلیت انقباض و انبساط دارد، طول بدن زالوها ۲۵-۳ سانتی متر و عرض آن به حدود ۱ سانتی متر می رسد (Abdualkader et al., 2013). در دو انتهای بدن زالو، بادکش وجود دارد که دارای بافت عضلانی دیسک مانند هستند. یک بادکش در انتهای خلفی بدن زالو قرار گرفته است (Feng et al., 2015). بادکش خلفی از ۷ حلقه تشکیل شده است و به عنوان نقطه اتصال زالو به بدن میزبان برای ثبات در زمان تغذیه و حرکت کردن، کاربرد دارد (Dong et al., 2016). بادکش دیگر، در انتهای قدامی بدن زالو قرار گرفته که از ۲ حلقه تشکیل شده است. دهان زالو در این قسمت قابل مشاهده است که از آن برای گزش و ایجاد زخم، به منظور دسترسی به جریان خون و تغذیه از خون میزبان استفاده می گردد (Kou and Lai, 2019). در محیط طبیعی، زالوها از خون ماهیان، دوزیستان و پستانداران تغذیه می کنند. در پرورش زالو، برای تغذیه از خون گاو، گوسفند، شتر، شترمرغ، بز و ... استفاده می شود (Saglam et al., 2018; Lemke and Vilcinskas, 2020). همکاران، (۱۴۰۰). تراکم گلبول های قرمز خون پستانداران در مقایسه با سایر مهره داران بسیار بالاست. این ویژگی سبب افزایش حجم خون دریافتی زالو با تغذیه از خون پستانداران می گردد. همچنین اندازه گلبول های قرمز خون پستانداران کوچکتر از گلبول های قرمز خون سایر مهره داران است که سبب افزایش سطح تماس آنزیم های هضمی زالو شده و در نتیجه، سبب افزایش راندمان تغذیه زالو می گردد (Kwak et al., 2021). در زمان تغذیه، زالوها با انقباضات ماهیچه ای، خون میزبان را به داخل چینه دان خود می کشانند (بیدمال و همکاران، ۱۴۰۰). زالوها می توانند تا حدود ده برابر وزن بدن، از خون تغذیه نمایند (Maltz et al., 2015; Sawyer., 2020). معمولاً در دو هفته اول بعد از تغذیه، حدود ۵۰ درصد وزن زالوها، کاهش می یابد، اما بعد از آن زالو به ثبات وزنی می رسد (Petrauskiene et al., 2011; Maltz et al., 2015) (جدول ۱).

(Kou and Lai, 2019) جدول ۱: رده بندی زالوی شرقی

|                          |         |
|--------------------------|---------|
| Animalia                 | سلسله   |
| Annelida                 | شاخه    |
| Clitellata               | رده     |
| Arhyinchobdellida        | راسته   |
| Hirudinidae              | خانواده |
| <i>Hirudo</i>            | جنس     |
| <i>Hirudo orientalis</i> | گونه    |

مکرر و در حجم زیاد رخ دهد، می‌تواند منجر به ضعف و در نهایت مرگ زالو گردد (شکل ۱). زالوهایی که خون بالا می‌آورند، می‌توانند حامل عوامل بیماری‌زا (باکتری‌ها و ویروس‌ها)، باشند. اگر این خون به زالوی دیگر انتقال یابد، می‌تواند موجب انتقال بیماری گردد (Vaughan, 2009; Mane et al., 2021). از جمله دلایل قی کردن خون در زالوها، آلوده یا لخته بودن خون، آلودگی باکتریایی آب محیط زندگی زالوها، شرایط نامناسب محیطی، آلوده بودن ظرف نگهداری خون و تغذیه بیش از اندازه زالو هست (Ceylan et al., 2021). در برخی موارد، باکتری‌ها می‌توانند واکنش‌های التهابی در دستگاه گوارش زالو به وجود آورند که موجب آسیب بافتی و اختلال در عملکردهای حیاتی دستگاه گوارش خواهد شد (Sudagar and Firouzbakhsh, 2024). تنش‌های مختلف و وجود استرس در زالوها (تغییرات ناگهانی دما، جابه‌جایی ناگهانی یا قرار گرفتن در معرض مواد شیمیایی مضر)، باعث می‌شود که اگر زالو تغذیه کرده باشد، خون موجود در چینه‌دان خود را بالا بیاورد (Ceylan and Erbatur, 2012; Dong et al., 2016). شوک دمایی یکی از عوامل مهم این تنش‌هاست. ضروری است، مراحل کاهش یا افزایش دما به صورت پلکانی انجام گیرد تا مشکلاتی برای زالوها به وجود نیاید. همچنین در مواردی که زالو بیش از اندازه از خون تغذیه نماید، ممکن است دچار سیری شود و مقداری خون را به صورت استفراغ دفع نماید (Manav et al., 2019). این امر به‌ویژه زمانی اتفاق می‌افتد که زالو به منبع خون فراوان دسترسی داشته باشد (Nieoczyn et al., 2023) (شکل ۱).



شکل ۱: زالوهایی که پس از تغذیه خون را قی کرده‌اند.

با توجه به کاهش تعداد زالو در طبیعت و تقاضای روزافزون جهانی برای عرضه آن، پرورش زالو در کشورهای مختلف رونق بسیاری پیدا کرده است. کشورهایی مانند: روسیه، آلمان، فرانسه و چین از جمله کشورهایی هستند که در صنعت پرورش زالو فعالیت گسترده دارند (Kou and Lai, 2019; Senel et al., 2020). با توجه به نیاز داخل کشور در زمینه طب سنتی و تولید فرآورده و محصولات جانبی از زالو، پتانسیل بالای زالو جهت صادرات به سایر کشورها و علاقه‌مندی کارآفرینان برای ورود به عرصه تکثیر و پرورش زالو، یافتن راهکارهایی که منجر به تولید بیشتر و کم هزینه تر گردد، ارزشمند و با اهمیت است (بیدمال و همکاران، ۱۴۰۱؛ Sudagar and Firouzbakhsh, 2024). در تکثیر و پرورش زالوهای طبی، تغذیه، خصوصیات فیزیوشیمیایی آب و جلوگیری از ابتلا به بیماری می‌توانند در رشد، تکثیر، کوکون‌گذاری، زنده‌مانی و؛ افزایش کارایی بزاق زالوها در درمان بیماری‌های انسان، تاثیرگذار باشند (Gorgoń and Świątek, 2021). با ارائه راهکارهای مفید برای جلوگیری از ابتلا زالوها به بیماری و درمان زالوها در صورت ابتلا به بیماری، می‌توان زالوی باکیفیت تولید نمود. در این مطالعه به اثر داروی Ceftriaxone بر بندی شدن بدن زالو و کاهش میزان قی کردن خون پس از تغذیه، در زالوها پرداخته شده است.

### قی کردن خون پس از تغذیه

پس از تغذیه با خون، زالو مقداری خون بالا می‌آورد یا در اصطلاح خون را قی می‌کند. قی کردن به معنای بالا آوردن مواد غذایی و مواد مترشح در دستگاه گوارش زالو هست. قی کردن موجب تغییر رنگ آب، آلودگی آب، کاهش اکسیژن و در نهایت باعث افزایش تلفات می‌گردد (Ceylan and Erbatur, 2012; Kwak et al., 2021). بالا آوردن خون در مقادیر کم، ممکن است به طور موقت به زالو آسیبی نرساند، اما اگر این امر به طور

بندی‌شدن<sup>۱</sup> بدن زالو

بندی‌شدن به معنای تغییر شکل بدن زالو هست که معمولاً به صورت سوسپسی، تسبیحی، ساعت شنی، خمره‌ای و... دیده می‌شود. از جمله دلایل بندی‌شدن بدن زالو، استرس، ناهنجاری‌های ژنتیکی، عفونت‌ها، تغذیه نامناسب، آسیب‌های فیزیکی، تراکم زیاد، تغییرات pH آب، عدم رعایت بهداشت در زمان خون‌گیری و خون‌دهی، آلودگی باکتریایی در آب محل زیست زالوها، استفاده از روده آلوده برای غذادهی، آلودگی آب، افزودن مواد شیمیایی نامناسب به خون برای جلوگیری از انعقادخون، دمای نامناسب، کمبود اکسیژن، تزریق داروهای شیمیایی به دام در دامداری‌ها و عدم تعویض به‌موقع آب هستند (Saglam, 2018). از پیامدهای بندی‌شدن بدن زالو، کاهش تحرک آنهاست. زالویی که بدن آن دچار بندی‌شدن می‌گردد، ممکن است در حرکت و جابه‌جایی خود با مشکل مواجه شود. همچنین این مشکل بر توانایی باروری زالوها تأثیر می‌گذارد و منجر به کاهش تولیدمثل، کوکون‌گذاری و در نهایت تولید لارو زالو می‌گردد. بندی‌شدن بدن زالوها، موجب افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های شده و مانع رشد زالوها نیز می‌گردد؛ از عمر زالو به طور چشمگیری کاسته شده و در نهایت موجب مرگ زالوها می‌گردد (Aminov et al., 2021).

## آنتی‌بیوتیک Ceftriaxone

Ceftriaxone یک آنتی‌بیوتیک از نسل سوم خانواده Cephalosporin است که برای از بین بردن طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها و برای درمان عفونت‌های تنفسی، دستگاه ادراری، استخوان‌ها، مفاصل، پوست و مننژیت در انسان استفاده می‌گردد (Sonda et al., 2019; Alshammari et al., 2021; Tewabe, et al., 2021). Ceftriaxone از ساخت دیواره سلولی باکتری‌ها در بدن جلوگیری می‌کند. این امر موجب ضعیف شدن و در نهایت نابودی باکتری‌ها می‌گردد. ساختار دیواره سلولی باکتری‌ها از نوع پپتیدوگلیکان است که نقش اساسی در حفظ شکل و استحکام سلول دارد (Mshelia and Madusolumuo, 2021; Abulseoud et al., 2022). Ceftriaxone با مهار آنزیم ترانس پپتیداز که در مراحل پایانی ساخت دیواره سلولی نقش دارد، مانع از اتصال واحدهای پپتیدوگلیکان به یکدیگر می‌شود، در نتیجه دیواره سلولی

باکتری‌ها ضعیف شده و به راحتی به وسیله سیستم ایمنی بدن دفع می‌گردند. در این تحقیق، بلافاصله پس از خون‌دهی، برای رفع قی کردن خون در زالوها و درمان و جلوگیری از بندی‌شدن بدن زالوها، از آنتی‌بیوتیک Ceftriaxone استفاده گردید (Karungamye et al., 2022).

## مواد و روش‌ها

## مکان و زمان آزمایش

این پژوهش، در مرکز تحقیقات آبی پروری شهید ناصر فضلی برآبادی واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان از زمستان ۱۴۰۲ لغایت دی ماه ۱۴۰۳ انجام گرفته است.

## تهیه زالو

در این پژوهش از ۷۵ قطعه زالوی شرقی در اندازه‌های مختلف زالو شامل: ۲۵ قطعه زالوی کبریتی، ۲۵ قطعه زالوی آرایشی و ۲۵ قطعه زالوی طبی استفاده گردید. این زالوها از مراکز معتبر تهیه شده و به مرکز تحقیقات آبی پروری شهید ناصر فضلی برآبادی منتقل گردیدند. زالوها در این مرکز، در آب بدون کلر و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Aminov et al., 2021).

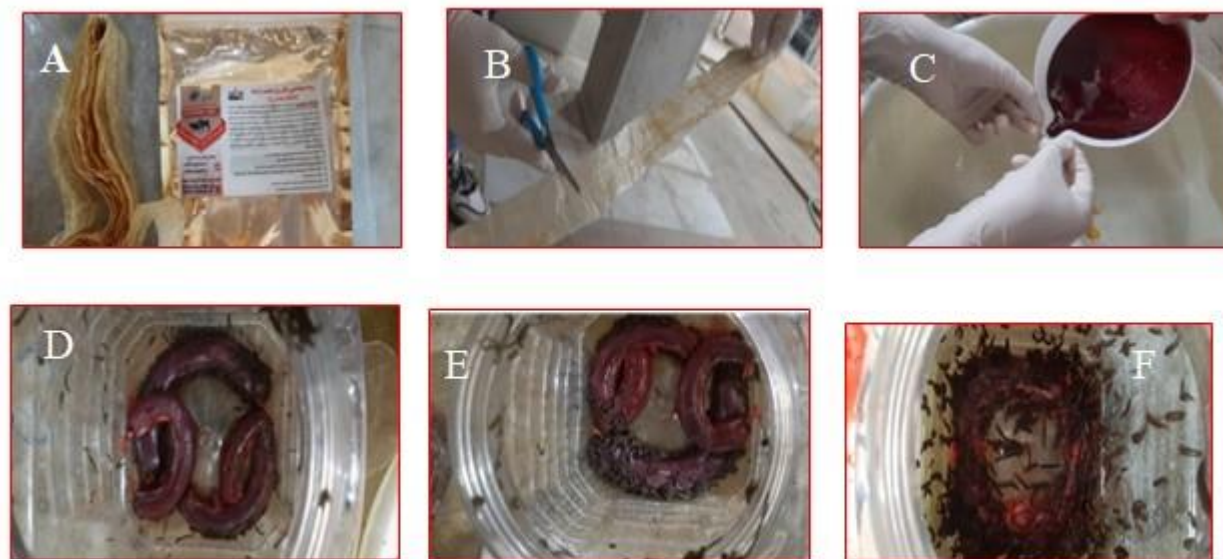
## تهیه خون از کشتارگاه

جهت تغذیه زالوها حدود دو لیتر خون گاو، از مراکز مجاز تهیه گردید. خون گاو، در پت‌های تمیز ریخته شد. از ضدانعقاد هپارین، برای جلوگیری از لخته شدن خون در زمان حمل‌ونقل تا خون‌دهی به زالو استفاده گردید.

## خون‌دهی به زالو

در فرآیند خون‌دهی، چون زالوها، در دمای ۳۷ درجه، از خون، بهتر تغذیه می‌کنند. آب برای گرم کردن خون (حدود ۳۷ درجه) آماده گردید (بیدمال و همکاران، ۱۴۰۱). سپس از حدود یک متر روده خشک گوسفند برای غذادهی به زالوها استفاده شد. پس از ریختن خون به داخل روده، روده را گره زده و در آب گرم از قبل تهیه شده قرار داده شدند. بعد از بالا آمدن دمای خون، روده به ظرف نگهداری زالوها انتقال داده شد. خون‌دهی به زالو با استفاده از روده گوسفند استریل شده انجام گرفت (شکل ۲).

<sup>1</sup> Deforming



شکل ۲: روده گوسفند خشک شده برای تغذیه زالوها با خون تازه (A)، بریدن روده به اندازه‌های حدود ۲۰ سانتی‌متر (B)، ریختن خون تازه درون روده‌هایی که انتهای آنها گره زده شده است (C)، قرار دادن روده‌های پر شده از خون گاو، درون پت‌ها برای تغذیه زالو (D)، چسبیدن و شروع تغذیه زالوها از خون تازه (E)، جدا شدن زالوها و ترک روده پر از خون پس از تغذیه از خون تازه و افزایش اندازه حدود ده برابری اندازه ابتدایی (F)

### آماده‌سازی و استفاده از Ceftriaxone

در یک پت، مقدار سه لیتر آب و ۲۵ قطعه زالوی کبریتی (تیمار شماره ۱)، در پت دوم، ۲۵ قطعه زالوی آرایشی (تیمار شماره ۲) و در پت سوم، ۲۵ قطعه زالوی طبی (تیمار شماره ۳) توزیع گردید. پس از این مرحله، یک ویال Ceftriaxone یک گرمی در سه لیتر آب حل و سپس، در هر ظرف زالوی سه لیتری، به مقدار سه سی سی از داروی رقیق شده Ceftriaxone اضافه گردید (۰/۰۰۳-۰/۰۰۴ گرم بر لیتر). پس از گذشت ۲۴ ساعت آب حاوی داروی Ceftriaxone، تعویض شد و این عمل به مدت پنج روز ادامه یافت. در زمان انجام آزمایش، میزان قی کردن و بندی‌شدن زالوهای مورد بررسی و تصویربرداری قرار گرفت.

### نتایج

پس از تغذیه زالوها، بندی‌شدن بدن به شکل‌های سوسپسی، تسبیحی، ساعت شنی و خمره‌ای مشاهده گردید (شکل ۳). همچنین قی کردن خون (بالا آوردن خون) در زالوها مشاهده گردید که در زالوهای اندازه کبریتی و آرایشی بالا آوردن خون پس از خون دهی نسبت به زالوهای طبی، کمتر مشاهده گردید. تلفات زالوها بعد از تغذیه و خون‌دهی در پت شماره یک، ۵ قطعه، در پت شماره دو، ۶ قطعه و در پت شماره سه، ۸ قطعه

مشاهده گردید. پس از افزودن داروی Ceftriaxone به آب پت‌های زالوها، تعداد تلفات پس از گذشت دو هفته در هر پت به یک قطعه کاهش یافت. همچنین Ceftriaxone بر زالوهای بندی‌شده تاثیر مثبت داشت و نشانه‌های بهبود پس از گذشت دو هفته مشاهده گردید که این نشانه‌ها شامل: از بین رفتن بندهای تشکیل شده روی بدن زالوها، قی نکردن خون، مشاهده آلودگی اندک در آب محل زیست زالوها، سرحال بودن و حرکت فعال زالوها، بود (شکل ۴). پس از گذشت چهار هفته، بیشتر زالوهای بندی‌شده بهبود یافتند؛ قی کردن خون پس از استفاده از داروی Ceftriaxone مشاهده نگردید؛ بهبود کیفیت آب درون پت‌ها مشاهده گردید به‌طوری‌که موجب کمتر آلوده شدن آب موجود در پت‌ها با قی کردن خون، در زالوهای بیمار شد. در شکل ۵، زالوهای مورد آزمایش، پس از گذشت چهار هفته از درمان با داروی Ceftriaxone نشان داده شده است. نتایج نشان داد با استفاده از داروی Ceftriaxone بندی‌شدن بدن زالوها ۷۰-۹۰ درصد بهبود یافته و قی کردن در آنها کاهش یافته است.



الف) تصویر بندی شدن بدن زالو به شکل ساعت شنی



ب) تصویر بندی شدن بدن زالو به شکل تسبیحی



ج) تصویر بندی شدن بدن زالو به شکل سوسپسی



د) تصویر بندی شدن بدن زالو به شکل خمره ای

شکل ۳: بندی شدن بدن زالوی شرقی پس از خون‌دهی به شکل‌های ساعت شنی، تسبیحی، خمره‌ای و سوسپسی



شکل ۴: زالوهای در حال درمان با داروی Ceftriaxone پس از گذشت دو هفته



شکل ۵: زالوهای درمان شده با داروی Ceftriaxone پس از گذشت چهار هفته

## بحث و نتیجه گیری

پس از تغذیه با خون، زالوها ممکن است دچار پدیده‌ای به نام "قی کردن خون" شوند که به معنای بالا آوردن مواد غذایی است. این پدیده می‌تواند منجر به تغییر رنگ و آلودگی آب محیط زندگی زالو، کاهش اکسیژن و افزایش تلفات آنها گردد. بالا آوردن خون در حجم زیاد می‌تواند نتیجه‌ای منجر به ضعف و مرگ زالو داشته باشد. زالوهایی که خون بالا می‌آورند، ممکن است که حامل عوامل بیماری‌زا (باکتری‌ها و ویروس‌ها) باشند که خطر انتقال بیماری به سایر زالوها را افزایش می‌دهد. همچنین بندی‌شدن زالوهای پرورشی یکی از معضلاتی است که اکثر پرورش‌دهندگان با آن روبرو هستند و بی‌توجهی به آن سبب تلفات سنگین می‌گردد. بندی‌شدن بدن زالو، بیانگر تغییر شکل‌های غیرطبیعی است که ممکن است به صورت سوسپسی، تسبیحی، ساعت شنی و خمره‌ای مشاهده شود. عدم تعویض به‌موقع آب، استفاده از روده آلوده هنگام تغذیه زالو، دمای نامناسب آب، کیفیت پایین آب، کمبود اکسیژن و افزودن مواد شیمیایی نامناسب برای جلوگیری از لخته شدن خون می‌توانند منجر به بندی‌شدن بدن زالو شوند. پیامدهای این بندی‌شدن موجب کاهش تحرک زالوهای مبتلا می‌شود. علاوه بر این، بندی‌شدن می‌تواند به کاهش باروری زالوها، کاهش تولیدمثل و کوکون‌گذاری منجر گردد. مدیریت صحیح محیط و رعایت بهداشت در فرایندهای مرتبط با نگهداری و تغذیه زالوها برای جلوگیری از بندی‌شدن اهمیت زیادی دارد. در نهایت، این مشکلات می‌توانند باعث افزایش حساسیت به بیماری‌ها و کاهش عمر زالوها شود که در نهایت منجر به مرگ آنها می‌شود. امروزه برای جلوگیری و درمان بندی‌شدن زالوها پس از تغذیه، از داروهای مختلف تجاری استفاده می‌شود تا بتوان از قی کردن و بندی‌شدن زالوها پس از تغذیه جلوگیری کرد. یکی از این داروها Ceftriaxone است. نتایج حاصل از تیمار و تکرارها نشان داد که استفاده از آن می‌تواند در درمان بندی‌شدن و قی کردن موثر باشد، ولی متأسفانه هنوز اطلاعات مناسبی وجود ندارد که بتوان به عنوان پشتوانه علمی به آن استناد نمود. داروی Ceftriaxone که در تحقیق حاضر استفاده شده، نشان داده است که از ایجاد بیماری و تلفات در زالوها پیشگیری کرده و این دارو بر درمان زالوهای بندی‌شده و جلوگیری از قی کردن خون پس از تغذیه نیز تاثیر مثبت گذاشته است. با این که مطالعات زیادی در زمینه درمان زالوها پس از بندی‌شدن و قی کردن خون صورت نگرفته، اما نتایج ما در این تحقیق نشان داد که استفاده از

Ceftriaxone باعث بهبودی زالوها شده است و از بندی‌شدن و قی کردن خون در آنها جلوگیری می‌کند.

## منابع

- Bidmal, H. and Sudagar, M., 2020.** The effect of two environments - water-moss and peat moss soil on the number of cocoons, cocoon weight and mortality of the oriental leech. (*Hirudo orientalis*) Journal of Plasma and Biomarkers. Year 13, No. 4.
- Bidmal, H., Sudagar, M. and Shakouri, M., 2022.** The effect of goat and sheep blood on sexual maturation, survival, and cocoon and larval production in the oriental leech (*Hirudo orientalis*). Quarterly Journal of Animal Ecology. Year 13, No. 4, pp. 301-306.
- Bidmal, H.; Sudagar, M. and Shakuri, M., 2023.** The effect of camel and frog blood on sexual maturation, survival, and cocoon and larval production in the oriental leech (*Hirudo orientalis*). Aquaculture Development Journal, Year 16, Issue 1.
- Firouzbakhsh, S. and Sudagar, M., 2024.** A review of the importance of leeches and enzymes derived from their saliva. Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics. (In press).
- Firouzbakhsh, S. and Sudagar, M., 2024.** A Review of Reproduction and Cocooning in Leeches. Journal of Ornamental Aquatic Animals, Volume 11, Number 4, Pages 53-64.
- Kalateh Jari, P. and Sudagar, M., 2018.** A review of optimal conditions for reproduction and rearing of medicinal leeches (*Hirudo* spp.). Caspian Sea Aquatic Journal. Year 3. Issue 1.
- Abdualkader, A.M., Ghawi, A.M., Alaama, M., Awang, M. and Merzouk, A., 2013.** "Leech Therapeutic Applications". *Indian Journal of*

- Pharmaceutical Sciences*, 75(2):127–137. ISSN 0250 474X. PMC 3757849. PMID 24019559.
- Abulseoud, O.A., Alasmari, F., Hussein, A.M. and Sari, Y., 2022.** Ceftriaxone as a novel therapeutic agent for hyperglutamatergic states: Bridging the gap between preclinical results and clinical translation. *Frontiers in Neuroscience*, 16, 841036. <http://doi.org/10.3389/fnins.2022.841036>
- Alaama, M., Kucuk, O., Bilir, B., Merzouk, A., Ghawi, A.M., Yerer, M.B. and Helaluddin, A.B.M., 2024.** Development of Leech extract as a therapeutic agent: A chronological review. *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*, 10, 100355. <http://doi.org/10.1016/j.prmcm.2023.100355>.
- Alshammari, F., Alshammari, B., and Moin, A., 2021.** Ceftriaxone mediated synthesized gold nanoparticles: A nano-therapeutic tool to target bacterial resistance. *Pharmaceutics* 13:1896. <http://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111896>.
- Aminov, R., Frolov, A. and Aminova, A., 2021.** The influence of the planting time and conditions on the reproductive properties of *Hirudo verbana* and *Hirudo medicinalis*. *Annals of parasitology*, 67(2). DOI:10.17420/ap6702.326.
- Ceylan, M. and Erbatur, I., 2012.** A study on nutrition of medicinal leech (*Hirudo verbana* Carena, 1820): Cannibalism. *Su Ürünleri Dergisi*, 29(4), 167-170. DOI:10.12714/egejfas.2012.29.4.03.
- Ceylan, M., Küçükkara, R., Erbatur, İ., Karataş, E., Tunç, M. and Sağlam, N., 2021.** Growth, survival, and reproduction of the Turkish medicinal leech, *Hirudo sulukii*. *Invertebrate Reproduction & Development*, 65(1):57-68.
- Ceylan, M., 2023.** Hirudinea Fauna of Lake Karagöl (Sındırgı-Balıkesir) and Lake Gölcük (Bigadiç-Balıkesir): A New Record for Türkiye. *Acta Aquatica Turcica*, 19(3):209-217. <http://doi.org/10.22392/actaquatr.1068061>.
- Ceylan, M., Küçükkara, R. and Karataş, E., 2023.** Effects of cocoon incubation angle on hatching success of medicinal leeches (*Hirudo* spp.). *Invertebrate Reproduction and Development*, 67(3-4):121-128. <http://doi.org/10.1080/07924259.2023.2241418>.
- Ceylan, M., Özdoğan, H.B.E. and Tunay, M., 2024.** Effects of light on reproduction of the Mediterranean medicinal leech, *Hirudo verbana* Carena, 1820: do circadian rhythm disruptions positively affect reproductive performance of leeches. *Invertebrate Reproduction and Development*, 1–6. <http://doi.org/10.1080/07924259.2024.2375069>.
- Dong, H., Ren, J.X., Wang, J.J., Ding, L.S., Zhao, J.J., Liu, S.Y. and Gao, H.M., 2016.** Chinese medicinal leech: ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1, 7895935. <http://doi.org/10.1155/2016/7895935>.
- Feng, H., Chai, N. and Dong, W., 2015.** Experimental investigation on the morphology and adhesion mechanism of leech posterior suckers. *PloS one*, 10(11):e0140776. DOI:10.1371/journal.pone.0140776.
- Firouzbakhsh, S. and Sudagar, M., 2024.** Factors affecting cannibalism in leeches. “1” international conference of innovative aquaculture. ICIA 2024- 50. Gorgan. Iran.
- Gorgoń, S. and Świątek, P., 2021.** The apical cell—An enigmatic somatic cell in leech ovaries—

- Structure and putative functions. *Developmental Biology*, 469, 111-124. <http://doi.org/10.1016/j.ydbio.2020.10.004>.
- Karungamye, P., Rugaika, A., Mtei, K. and Machunda, R., 2022.** A Review of Methods for Removal of Ceftriaxone from Wastewater. *Journal of Xenobiotics*, 12(3):223-235. <http://doi.org/10.3390/jox12030017>.
- Kun, W., Jieqin, M., Liangke, C., Fujuan, S., Chaojie, Y., Mijiti, M. and Yaojun, Y., 2022.** Comparative de novo transcriptomics reveals the effect of lead on Leech in aquaculture environments. *Aquaculture Reports*, 23, 101019. <http://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101019>.
- Kuo, D.H. and Lai, Y.T., 2019.** On the origin of leeches by the evolution of development. *Development, Growth and Differentiation*, 61(1):43-57. <http://doi.org/10.1111/dgd.12573>.
- Kutschera, U., 2012.** The *Hirudo medicinalis* species complex. *Naturwissenschaften*, 99, 433-434. DOI:10.1007/s00114-012-0906-4.
- Kutschera, U., 2017.** Sex-gender-conflicts in aquatic hermaphrodites: Are genes immortal J. *Marine Science Research and Development*, 7, 1-4. DOI:10.4172/2155-9910.1000225.
- Kwak, H.J., Kim, J.H., Kim, J.Y., Jeon, D. and Lee, D.H., 2021.** Behavioral variation according to feeding organ diversification in glossiphoniid leeches (Phylum: Annelida). *Sci Rep*, 11, 10940. <http://doi.org/10.1038/s41598-021-90421-1>.
- Lemke, S. and Vilcinskas, A., 2020.** European medicinal leeches—new roles in modern medicine. *Biomedicines*, 8(5):99. <http://doi.org/10.3390/biomedicines8050099>.
- Maltz, M., LeVarge, B. L. and Graf, J., 2015.** Identification of iron and heme utilization genes in *Aeromonas* and their role in the colonization of the leech digestive tract. *Frontiers in Microbiology*, 6, 763. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00763>.
- Manav, M., Ceylan, M. and Büyükçapar, H.M., 2019.** Investigation of reproductive efficiency, growth performance and survival of the southern medicinal leech, *Hirudo verbana* Carena, 1820 fed with mammalian and poultry blood. *Animal Reproduction Science*, 206, 27-37. <http://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.05.004>.
- Mane, Vijaykumar S., Shinde, Pradeep S., Vedantam, Giridhar, Pednekar, Harsha D. and Ramesh, K., 2021.** An Analytical Study to Evaluate the Safety of Reusing of the Vomited Leech in Leech Therapy: A Pilot Study. *Indian Journal of Ayurveda and Integrative Medicine Kleu*, 2(1):13-18, Jan–Jun 2021. DOI:10.4103/ijaim.ijaim\_5\_21.
- Montinari, M.R and Minelli, S., 2022.** From ancient leech to direct thrombin inhibitors and beyond New from old. *Biomedicine and pharmacotherapy*, 149, 112878. <http://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112878>.
- Mshelia, P.A. and Madusolumuo, M.A., 2021.** Effects of ceftriaxone on the hematology and lipid profile values in rats. *International Journal of Animal and Livestock Production Research*, 5(1):10-25. ISSN: 2059-903X.
- Nieoczym, M., Mencfel, R., Bielecki, A., Cichocka, J.M. and Kloskowski, J., 2023.** Abundance and composition of invertebrate-feeding leeches in relation to fish status in ponds. *The European Zoological Journal*, 90(2):877-888. <http://doi.org/10.1080/24750263.2023.2289585>.
- Petrauskienė, L., Utevskas, O. and Utevsky, S., 2011.** Reproductive biology and ecological, Strategies of three species of medicinal leeches (genus *Hirudo*). *Journal of Natural History*.

- DOI:10.1080/00222933.2010.535918 747-737:45.
- Phillips, A.J., Govedich, F.R. and Moser, W.E., 2020.** Leeches in the extreme: Morphological, physiological, and behavioral adaptations to inhospitable habitats. *International Journal for Parasitology: parasites and wildlife*, 12, 318-325.  
<http://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2020.09.003>.
- Saglam, N., 2018.** The effects of environmental factors on leeches. *Advances in Agriculture and Environmental Science*, 1(1):00001. DOI:10.30881/aaea.00001.
- Sağlam, N., Özbay, Ö., Demir, T., Balcı, M., Pala, A. and Kılıç, A., 2018.** Effect of water quality on monthly density variation of the endangered southern medicinal leech *Hirudo verbana* Carena, 1820 (Hirudinea: Arhynchobdellida: Hirudinidae). *Acta Zoologica Bulgarica*, 70, 433-441.
- Sawyer, R.T., 2020.** Reproduction without cross-fertilization in the invasive Asian leech *Barbronia weberi* (Blanchard, 1897) (Hirudinea: Arhynchobdellida). *Aquatic Invasions*, 15(2):271-281. DOI:10.3391/ai.2020.15.2.04.
- Şenel, E., Özkan, A.T. and Mumcuoglu, K.Y., 2020.** Scientometric analysis of medicinal leech therapy. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 11(4):534-538.  
<http://doi.org/10.1016/j.jaim.2018.11.006>.
- Sig, A.K., Guney, M., Guclu, A.U. and Ozmen, E., 2017.** Medicinal leech therapy—an overall perspective. *Integrative Medicine Research*, 6(4):337-343. <http://doi.org/10.1016/j.imr.2017.08.001>.
- Sonda, T.B., Horumpende, P.G., Kumburu, H.H., van Zwetselaar, M., Mshana, S.E., Alifrangis, M. and Kibiki, G.S., 2019.** Ceftriaxone use in a tertiary care hospital in Kilimanjaro, Tanzania: A need for a hospital antibiotic stewardship program. *PLoS One*, 14(8):e0220261.  
<http://doi.org/10.1371/journal.pone.0220261>.
- Sudagar, M. and Firouzbakhsh, S., 2024.** Hexamita parasite and its effects on leech mortality. “1” international conference of innovative aquaculture. ICIA 2024- 41. Gorgan. Iran.
- Sudagar, M. and Firouzbakhsh, S., 2024.** The role of Aeromonas bacteria in the digestive system of leeches. In “1” international conference of innovative aquaculture. ICIA 2024- 40. Gorgan. Iran.
- Tewabe, A., Marew, T. and Birhanu, G., 2021.** The contribution of nano-based strategies in overcoming ceftriaxone resistance: a literature review. *Pharmacology Research and Perspectives*, 9(4):e00849. DOI:10.1002/prp2.849.
- Vaughan, K., 2009.** Characterization of a hypothetical protein critical for the symbiotic interaction of *Aeromonas veronii* and *Hirudo verbana*. *Honors Scholar Theses*. 70.  
[https://digitalcommons.lib.uconn.edu/srhonors\\_theses/70](https://digitalcommons.lib.uconn.edu/srhonors_theses/70).

## The effect of Ceftriaxone on deformation and vomiting in oriental leech *Hirudo orientalis*

Firouzbakhsh S.<sup>1\*</sup>; Heidary S.<sup>1</sup>; Maghsudlo Kamali M.<sup>1</sup>; Sudagar M.<sup>1</sup>

\*Sepide.firouzbakhsh\_s02@gau.ac.ir

1- Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

### Abstract

Out of approximately 700 species of leeches identified worldwide, only 15 are used as medical leeches in traditional medicine, modern medicine, pharmacy, and the production of cosmetics and health products. Farmed leeches are fed with the blood of mammals such as cows, sheep, camels, ostriches, etc. After feeding on blood, some leeches vomit blood. Also, some of them suffer from deformities or body constrictions, which are usually seen in the form of sausages, beads, hourglasses, and jars. In this study, to prevent body constrictions and vomiting of blood by oriental leeches and to improve leeches, ceftriaxone was used at a dose of one gram dissolved in water after blood was given to the leeches. For this purpose, 75 pieces of oriental leeches in matchbox, cosmetic, and medical sizes, 25 pieces each, were distributed in ten-liter pots. A vial of ceftriaxone at a dose of one gram was dissolved in three liters of chlorine-free water. After feeding the leeches with blood, three ccs of this solution were added to the containers containing matchstick, cosmetic, and medical leeches. After twenty-four hours, the water holding the leeches was changed and ceftriaxone was repeated at the previous doses. This procedure continued for five days. To determine the effect of ceftriaxone on improving the deformity or banding of the leech body, imaging was performed on different days. After two weeks, a decrease in the bending and deformation of the leeches' bodies and improvement of the banded and deformed leeches were observed. The results showed that about 70 to 90 percent of the leeches improved after using ceftriaxone. Also; after using ceftriaxone, vomiting of blood was not observed in the leeches after feeding with blood. The present study showed that the use of ceftriaxone can, in addition to preventing vomiting, reduce deformity (banding) in eastern leeches.

**Keywords:** Leech, Deforming, Ceftriaxone, Vomiting blood